

Synthetische und mutasynthetische Zugänge zu neuen Hsp90 Inhibitoren

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktorin der Naturwissenschaften
- Dr. rer. nat. -
genehmigte Dissertation

von
M. Sc. Jekaterina Hermane
geboren am 30.12.1984 in Riga

2013

Die vorliegende Dissertation wurde in der Zeit von November 2010 bis September 2013 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover angefertigt.

Hierdurch erkläre ich, dass die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel sowie eventuell zur Hilfeleistung herangezogene Institutionen vollständig angegeben wurden. Die Dissertation wurde nicht schon als Master- oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet.

Hannover, den 25.09.13

Referent: Prof. Dr. A. Kirschning

Korreferent: Prof. Dr. M. Kalesse

Tag der Promotion: 10.12.2013

Zusammenfassung

Jekaterina Hermene

Synthetische und mutasynthetische Zugänge zu neuen Hsp90 Inhibitoren

Schlagworte: Hitzeschockprotein 90 (Hsp90), Geldanamycin, Amidsynthase, Mutasynthese

Das Hitzeschockprotein 90 (Hsp90) ist eines der am häufigsten vorkommenden Proteine in der Zelle. In seiner Funktion als molekulares Chaperon ist Hsp90 an der korrekten Faltung und Reifung von *Client*-Proteinen beteiligt. Viele Hsp90-*Client*-Proteine sind Proteinkinasen oder Transkriptionsfaktoren, die eine wichtige Rolle für die Entstehung und Progression von Krebs spielen. Geldanamycin ist ein starker Hsp90 Inhibitor, welcher an die *N*-terminale-ATP-Bindungsdomäne des Hsp90 bindet und somit die ATPase Aktivität des Chaperons blockiert, was zu der Degradierung von vielen onkogenen *Client*-Proteinen führt. Trotz erfolgversprechender präklinischer Studien mussten die klinischen Entwicklungen aufgrund des Auftretens starker Nebenwirkungen abgebrochen werden.

Im ersten Teil der vorliegenden Dissertation konnte die Totalsynthese von drei *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivaten realisiert werden, welche für die Studien der Substratflexibilität der Amidsynthase *GdmF*, die für die Makrolactamisierung in der Geldanamycin Biosynthese verantwortlich ist, verwendet wurden. Die entwickelte Totalsynthese-Strategie konnte auch für die Synthese des Progeldanamycin-Derivates angewendet werden. Die Supplementierungsexperimente mit den *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivaten an die *Streptomyces hygroscopicus var. geldanus* Block-Mutante K390-61-1 lieferten allerdings keine Information über die Flexibilität der Amidsynthase *GdmF*, was auf die geringe Stabilität und schlechte Membrangängigkeit der Substrate zurückgeführt werden konnte. Die Umsetzung der *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate mit heterolog exprimierter Amidsynthase *GdmF* zeigte, dass die Amidsynthase fortgeschrittene, veränderte, komplexe Biosyntheseintermediate akzeptiert und zum Makrolactam transformiert.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde der mutasynthetische Ansatz zur Herstellung neuer Geldanamycin-Derivate mit AHBA-Analoga untersucht. Eine breite Substratflexibilität der PKS-Maschinerie der *S. hygroscopicus* Block-Mutante K390-61-1 konnte festgestellt werden, wobei 13 neuartige, im aromatischen System modifizierte Geldanamycin-Derivate erhalten wurden. Die Untersuchungen der antiproliferierenden Aktivitäten und Hsp90 inhibierenden Eigenschaften gewährten weiterführende Einsichten in Struktur-Aktivitäts-Beziehungen.

Abstract

Jekaterina Hermene

Synthetic and mutasynthetic approaches towards new Hsp90 inhibitors

Key words: heat shock protein 90 (Hsp90), geldanamycin, amide-synthase, mutasynthesis

The heat shock protein 90 (Hsp90) is one of the most abundant cellular chaperone proteins. Its function as molecular chaperone is the correct folding and maturation of so called *client* proteins. The most of its known *clients* are protein kinases or transcription factors that are essential for the formation and progression of cancer. Geldanamycin is a potential Hsp90 inhibitor that binds to the *N*-terminal ATP-binding domain of Hsp90 and inhibits its ATP-dependent chaperone activity. That results in degradation of many oncogenic client proteins essential for cancer cells. Despite its anti-cancer potential *in vitro*, the clinical use of geldanamycin was not considered due to strong side effects.

In the first part of this thesis three *seco*-progeldanamycin acid derivatives were synthesized. These substrates were used for the studies towards the flexibility of the amide synthase *GdmF*, which is responsible for the macrolactamisation in the biosynthesis of Geldanamycin. The developed total synthetic strategy was also successfully employed for the synthesis of the progeldanamycin derivative. The feeding experiments with *seco*-progeldanamycin acid derivatives to the mutant strain of *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* K390-61-1 did not provide satisfying information on the flexibility of the amide synthase, probably because of instability or poor membrane permeability of the substrates. The implementation of the *seco*-progeldanamycin acid derivative with heterologously expressed amide synthase showed, that *GdmF* accepts these kind of complex modified biosynthetic intermediates and transforms them to the corresponding macrolactams.

In the second part of this work the mutasynthetic approach towards new geldanamycin derivatives using AHBA-analogous were examined. Wide substrate flexibility of the PKS-machinery of *S. hygroscopicus* mutant strain K390-61-1 was encountered and 13 new geldanamycin derivatives in the aromatic unit modified were obtained. The evaluation of their antiproliferative activities as well as Hsp90 inhibitory properties provided new knowledge about structure-activity relationships.

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis:	1
2. Einleitung	3
2.1. Hitzeschockprotein 90 (Hsp90) in der Krebstherapie	3
2.1.1. Funktionen der Hitzeschockproteine	3
2.1.2. Hitzeschockprotein 90 (Hsp90)	4
2.1.3. Hsp90 als Zielmolekül für die Antikrebstherapie.....	6
2.2. Geldanamycin-Derivate als Hsp90 Inhibitoren.	8
2.2.1. Biologische Wirkung der Geldanamycin-Derivate	8
2.2.2. Geldanamycin Biosynthese	13
2.2.3. Struktur-Aktivitäts-Beziehungen des Geldanamycins.....	16
2.3. Mutasyntese	18
3. Zielsetzung	22
3.1. Synthese der SNAC-Ester von den <i>seco</i> -Progeldanamycin-Derivate	22
3.2. Mutasyntese von AHBA-Analoga.....	23
4. Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse	24
4.1. Synthese von <i>seco</i> -Progeldanamycinsäure Derivaten	24
4.1.1. Vorarbeiten	24
4.1.2. Retrosynthese.....	24
4.1.3. Synthese des Westfragments	27
4.1.4. Synthese der Ostfragmente.....	29
4.1.5. Abschluss der Totalsynthese	36
4.2. Studien zur Flexibilität der Amidsynthese <i>GdmF</i>	54
4.2.1. Supplementierungsexperimente.....	54
4.2.2. Enzym-Tests	56
4.3. Synthese des Progeldanamycin-Derivates	61
4.4. Synthesen von AHBA-Analoga.....	64
4.4.1. Synthese des SNAC-Esters der Benzotriazolcarbonsäure	64
4.4.2. Synthese der Cyclopropylaminobenzoessäure	64
4.4.3. Synthese der 3-Azido-5-aminobenzoessäure	66
4.4.4. Synthese der Hydroxylamin- und Hydrazin-Derivate.....	67
4.5. Fütterungsexperimente	73

4.5.1.	Analytik der Geldanamycin-Derivate.....	73
4.5.2.	Mutasynthese mit fluorierten Aminobenzoesäuren.....	73
4.5.3.	Mutasynthese mit <i>meta</i> -substituierten Aminobenzoesäuren.....	76
4.5.4.	Mutasynthese mit heterocyclischen Mutasynthonen.....	79
4.5.5.	Mutasynthese mit Hydroxylamin und Hydrazin-Derivaten.....	81
4.5.6.	Biologische Aktivitäten der Geldanamycin-Derivate.....	85
5.	Zusammenfassung und Ausblick.....	88
5.1.	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	88
5.2.	Ausblick.....	91
6.	Experimenteller Teil.....	93
6.1.	Allgemeine Hinweise zu chemisch-synthetischen Arbeiten.....	93
6.2.	Darstellung der Reagenzien und Ausgangsverbindungen.....	96
6.3.	Synthese des SNAC-Esters von Geldanamycin.....	97
6.3.1.	Synthese des Westfragments.....	97
6.3.2.	Synthese der Ostfragmente.....	109
6.3.3.	Synthese des SNAC-Esters von 2,8-desdi-Methyl-6,7- <i>epi-seco</i> -Progeldanamycin.....	128
6.3.4.	Synthese des SNAC-Esters von 2,8-desdi-Methyl-6- <i>epi-seco</i> -progeldanamycin.....	145
6.3.5.	Synthese des SNAC-Esters von 2,8,6-destri-Methyl-6- <i>epi-seco</i> -Progeldanamycin.....	159
6.3.6.	Synthese des SNAC-Esters von 8-Des-methyl- <i>seco</i> -Progeldanamycin.....	171
6.4.	Synthese des Progeldanamycin-Derivates.....	179
6.5.	Synthese von Mutasynthonen.....	186
6.6.	Molekularbiologische und Mutasyntheseexperimente.....	206
6.6.1.	Allgemeine Hinweise zu den mikro- und molekularbiologischen Arbeiten ..	206
6.6.2.	Darstellung der mutasynthetisch hergestellten Geldanamycin-Derivate.....	211
7.	Anhang.....	231
7.1.	pRSET B- Vektor.....	231
7.2.	Massenspektroskopische Daten.....	231
7.3.	NMR-Spektren.....	232

1. Abkürzungsverzeichnis:

Ac	Acetyl
ACP	Acyl Carrier Protein
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AcOH	Essigsäure
AHBA	3-Amino-5-hydroxybenzoesäure
APS	Ammoniumperoxodisulfat
Äq	Äquivalente
Ar	Aryl
ATP	Adenosintriphosphat
br	NMR: breit
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
<i>t</i> -BuXPhos	2-Di- <i>tert</i> -butylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyl
CBS	COREY-BAKSHI-SHIBATA
<i>c</i>	Konzentration
CoA	Coenzym A
COSY	correlation spectroscopy
CSA	α -Camphorsulfonsäure
Δ	NMR: chemische Verschiebung
DB	Doppelbindung
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DET	Diethyltartrat
d. h.	das heißt
DIPEA	Di- <i>iso</i> -propylethylamin
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMP	DESS-MARTIN-Periodinat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
d.r.	diastereomeric ratio
DTT	Dithiothreitol
<i>E/Z</i>	Entgegen/zusammen (Doppelbindungskonfiguration)
EDC	<i>N</i> -Ethyl- <i>N'</i> -(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EDTA	Ethylenediaminetetraessigsäure
ESI	electrospray ionisation
Et	Ethyl
Et ₂ O	Diethylether
EtOAc	Ethylacetat
g	Gramm
<i>gdm</i>	Gene der Geldanamycin-Biosynthese in <i>Streptomyces hygroscopicus</i>
<i>Gdm</i>	Enzyme der Geldanamycin-Biosynthese in <i>Streptomyces hygroscopicus</i>
h	Stunde
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry

Hsp90	Hitzeschockprotein 90
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
IC	inhibitory concentration
IPTG	Isopropyl β -D-1-Thiogalactopyranosid
konz.	konzentriert
L	Liter
LDA	Lithium Diisopropylamid
μ	Mikro
M	molar
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
min	Minute
mmol	Milimol
MSMS	Tandem-Massenspektrometrie
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Buthyllithium
NEt ₃	Triethylamin
NMR	Kernresonanzspektroskopie
Nu	Nukleophil
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PE	Petrolether
PG	protecting group
PKS	Polyketidsynthase
PMB	<i>para</i> -Methoxybenzyl
ppm	parts per million
Ph	Phenyl
PhI(OAc) ₂	(Diacetoxyiodo)benzol
Phth	Phthalimid
PPh ₃	Triphenylphosphan
Py	Pyridin
quant.	quantitativ
rpm	rounds per minute
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
SAR	Structure-activity relationship
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese
Sm	Schmelzpunkt
SNAC	<i>N</i> -Acetylcysteaminyl
TBAF	Tetrabutylamoniumfluorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TBS	<i>tert</i> -Butyl-dimethylsilyl
TBSOTf	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyltrifluormethansulfonat
TE	Thioesterase
TEMPO	(2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yl)oxy
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylenediamin
TES	Triethylsilyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
<i>t_R</i>	Retentionszeit

2. Einleitung

Kaum eine Krankheit ist mit so vielen Ängsten verbunden wie Krebs. Laut Angaben des Robert-Koch-Institutes erkranken jährlich in Deutschland etwa 480.000 Menschen neu an Krebs. Da das Risiko, an Krebs zu erkranken, mit dem Alter zunimmt, gehen Experten vor dem Hintergrund des demographischen Wandels davon aus, dass die Zahl der Erkrankungen bis zum Jahr 2030 um 50 % steigen wird.¹ Doch in den heutigen Zeiten ist eine Krebsdiagnose längst kein Todesurteil mehr. Dank bedeutender Fortschritte in Diagnose und Therapie kann Krebs heute viel besser behandelt werden.

Trotzdem bleibt die Krankheit immer noch eine Herausforderung für Mediziner und Naturwissenschaftler. Die klassische Chemotherapie wirkt relativ unspezifisch als Zellgift und tötet nicht nur die Krebszellen sondern auch die gesunden Zellen ab. Zusätzlich treten sehr oft Resistenzen gegen Medikamente auf. Resistente Zellen pumpen beispielsweise die Chemotherapeutika direkt wieder aus den Zellen heraus, oder die Zellen reparieren gezielt die Schäden in der DNA, die von dem Medikament verursacht wurden.² Hat ein Tumor erst einmal eine Resistenz gegen eine klassische Chemotherapie entwickelt, ist er meist auch gegen andere Chemotherapeutika unempfindlich. Daher ist die Suche nach neuen, spezifisch wirksamen und besser verträglichen Arzneimitteln für die gezielte Krebstherapie, nach wie vor höchst aktuell.

2.1. Hitzeschockprotein 90 (Hsp90) in der Krebstherapie

2.1.1. Funktionen der Hitzeschockproteine

Bakterien sowie eukaryotische Zellen reagieren auf eine Temperaturerhöhung mit der Synthese einer bestimmten Klasse von Proteinen, die für das Überleben der Zelle unter diesen extremen Bedingungen notwendig sind. Dieses Phänomen wurde zuerst im Jahre 1962 beschrieben und Hitzeschock-Antwort genannt.³ Zusätzlich wird die Überexpression von diesen sogenannten Hitzeschockproteinen durch Hypoxie, niedrige pH-Werte oder Nährstoffkonzentrationen und UV-Bestrahlung stimuliert. Viele Hitzeschockproteine bilden

¹ Pressemitteilung des Robert Koch-Instituts, *Krebs in Deutschland*, http://www.rki.de/DE/Content/Service/Presse/Pressemitteilungen/2012/01_2012.html, [Stand: 21.02. 2012], Abruf: 21.08.2013.

² a) C. P. J. Vendrik, J. J. Bergers, W. H. De Jong, P. A. Steerenberg, *Cancer Chemother. Pharmac.* **1992**, 29, 6, 413-429; b) H. van den Berg, J. N. van den Anker, J. H. Beijnen, *Cancer Treat. Rev.* **2012**, 38, 3-26.

³ F. Ritossa, *Experientia* **1962**, 18, 571-573.

mehrmolekulare Komplexe, die als molekulare Chaperone bezeichnet werden, welche an dem Transport, der korrekten Faltung und Reifung von *Client*-Proteinen beteiligt sind. Sie schützen Proteine unter Anderem vor Denaturierung und Aggregation. Hitzeschockproteine unterscheiden sich in ihrer Zelllokalisierung und ihren Funktionen. Die Säugetier-Hitzeschockproteine sind in mehrere Familien gemäß ihrer molekularen Größe eingeteilt worden: Hsp90, Hsp70, Hsp60 und Hsp40 und kleinere Hitzeschockproteine, wie Hsp27.⁴

2.1.2. Hitzeschockprotein 90 (Hsp90)

Das Hitzeschockprotein 90 (Hsp90) ist eines der am häufigsten vorkommenden Proteine in der Zelle und macht unter normalen physiologischen Bedingungen etwa 1-2 % des gesamten löslichen Zellproteins aus. Unter Stress kann dieser Anteil 4-6 % erreichen. Hsp90 unterscheidet sich von anderen Chaperonen, wie z. B. dem Hsp70 dadurch, dass es weniger für die Faltung von neusynthetisierten Proteinen zuständig ist. Die meisten Hsp90-*Client*-Proteine sind bereits nahezu vollständig gefaltet und werden durch eine subtile Konformationsänderung in die aktive Konformation überführt.⁵

In humanen Zellen existieren mehrere Isoformen von Hsp90 in verschiedenen Kompartimenten der Zellen. Im Cytoplasma wurden zwei Homologe gefunden: Hsp90 α und Hsp90 β , die durch unterschiedliche Gene kodiert sind, aber die gleichen konservierten Domänen besitzen. Allerdings weisen die Unterschiede in der Aminosäuresequenz der Hsp90-Isoformen auf mögliche, dafür spezifische Funktionen hin.⁶ Während Hsp90 β konstitutiv in den meisten Geweben exprimiert wird, ist Hsp90 α als die stressinduzierte Isoform bekannt und scheint an vielen zellulären Prozessen beteiligt zu sein.⁷

Hsp90 liegt im Cytosol als phosphoryliertes

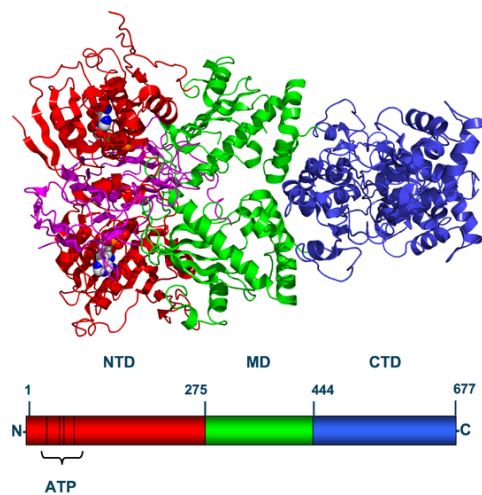


Abbildung 1: Struktur von Hsp90 (NTD-N-terminale ATPase-Domäne (rot), MD-Mittlere-Domäne (grün), CTD-C-terminale Domäne (blau)) übernommen aus *Nature*. **2006**, 440, 1013-1017.

⁴ a) R. I. Morimoto, M. P. Kline, D. N. Bimston, J. J. Cotto, *Essays Biochem* **1997**, 32, 17-29. b) F. U. Hartl, M. Hayer-Hartl, *Science* **2002**, 295, 1852-1858.

⁵ L. H. Pearl, C. Prodromou, *Annual Review of Biochemistry* **2006**, 75, 271-294.

⁶ A. S. Sreedhar, E. Kalmár, P. Csermely, Y.-F. Shen, *FEBS Letters* **2004**, 562, 11-15.

⁷ a) G. Marcu, A. Chadli, I. Bouhouche, M. Catelli, L. M. Neckers, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 37181-37186; b) M. G. Marcu, T. W. Schulte, L. Neckers, *J. Nat. Canc. Inst.* **2000**, 92, 242-248. c) S. Chaudhury, T. R. Welch, B. S. J. Blagg, *ChemMedChem* **2006**, 1, 1331-1340.

Homodimer vor, das zwei oder drei kovalent gebundene Phosphatmoleküle auf jedem Monomer enthält. Jedes Monomer besteht aus drei Hauptdomänen: die *N*-terminale ATPase-Domäne, welche für die Bindung von ATP verantwortlich ist,⁸ die Substrat-Bindungs-Domäne, und die *C*-terminale-Domäne, welche bei der Dimerisierung und bei der Bindung anderer *Co-Chaperone* eine wichtige Rolle spielt (Abbildung 1).⁹

In der Abbildung 2 ist der Hsp90-Chaperon-Cyclus dargestellt. Das *Client*-Protein wird zunächst vom Hsp40/Hsp70-Chaperon-Komplex gebunden. Anschließend erfolgt die Bindung des Adapter-Proteins HOP und Hsp90, was zur Bildung des intermediären Komplexes **A** führt. Im nächsten Schritt wird durch die Bindung von ATP die Konformation des Komplexes von der offenen zu der geschlossenen Form geändert, wobei der Hsp70/Hsp40-Komplex und HOP freigesetzt werden. Die anschließende Bindung von weiteren *Co-Chaperonen* führt zu dem aktiven Komplex **B**, welcher die Reifung der *Client*-Proteine katalysiert. Ist die Bindungstasche von ATP durch Hsp90-Inhibitoren blockiert, können die *Client*-Proteine ihre eigentliche Konformation nicht erlangen und es kommt zur Ubiquitinierung des Proteins und zum Abbau durch das Proteasom (Abbildung 2).¹⁰

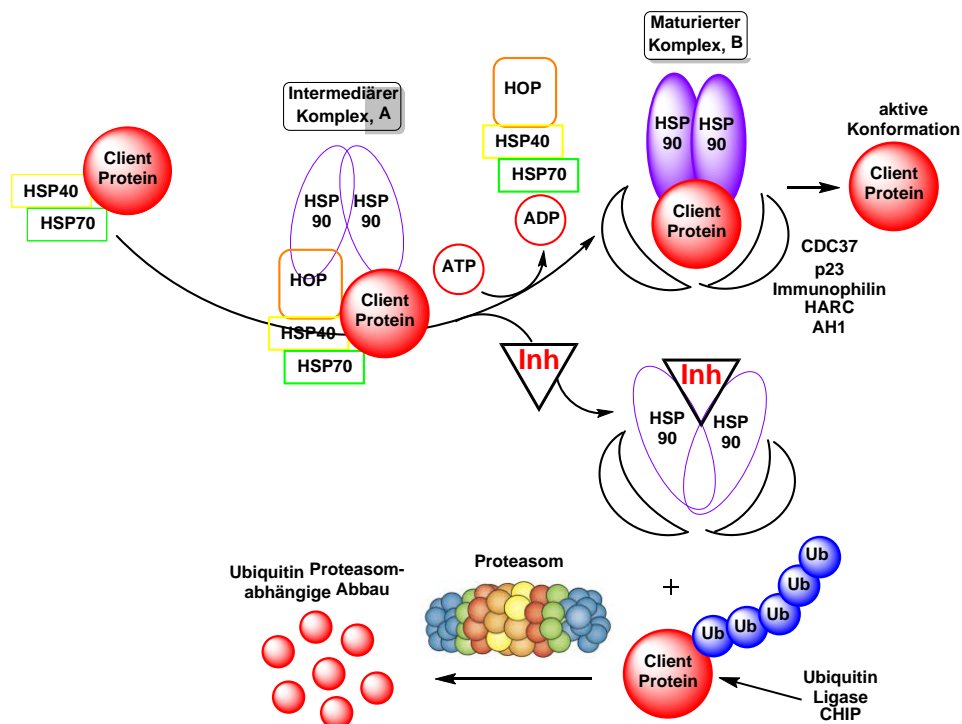


Abbildung 2: Hsp90-Chaperon-Cyclus.

⁸ C. Prodromou, S. M. Roe, R. O'Brien, J. E. Ladbury, P. W. Piper, L. H. Pearl, *Cell* **1997**, 90, 65-75.

⁹ C. Garnier, D. Lafitte, P. O. Tsvetkov, P. Barbier, J. Leclerc-Devin, J.-M. Millot, C. Briand, A. A. Makarov, M. G. Catelli, V. Peyrot, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 12208-12214.

¹⁰ Y. Fukuyo, C. R. Hunt, N. Horikoshi, *Cancer Lett.* **2010**, 290, 24-35.

2.1.3. Hsp90 als Zielmolekül für die Antikrebstherapie

HANAHAN und WEINBERG postulierten, dass die Transformation von normalen Zellen in Krebszellen wesentliche Veränderungen in der Zellphysiologie verlangt, einschließlich Inhibition der Apoptose, permanentes Wachstum, Resistenz gegen wachstumshemmende Signale, Metastasierung und Eindringen in fremde Gewebe, unbegrenzte Teilungsfähigkeit und erhöhte Angiogenese.¹¹ Wie in Tabelle 1 dargestellt ist, sind viele Hsp90-*Client*-Proteine Proteinkinasen oder Transkriptionsfaktoren, die an den Signalübertragungsprozessen in der Zelle beteiligt sind und somit eine wichtige Rolle für die Entstehung und Progression von Krebs spielen.¹² Die Hemmung von Hsp90 führt zu der Degradierung von vielen onkogenen *Client*-Proteinen.¹³ Dies macht Hsp90 zu einem interessanten Zielmolekül für die Antikrebstherapie.

Tabelle 1: Onkogen *Client*-Proteins von Hsp90.

Oncogen <i>Client</i> -Proteins	Funktion
Akt Kinase, IGF-1R	Inhibition der Apoptose
HER2, KIT, MET	unkontrolliertes Wachstum
MMP2, Urokinase	Metastasierung
Telomerase	unbegrenzte Teilungsfähigkeit
HIF, MET, src, VEGF	Angiogenese
CDK4, CDK6, Cyclin D	Resistenz gegen wachstumshemmende Signale

KIT, MET-Tyrosin Kinase Rezeptoren, HER-humane epidermale Wachstumsfaktor, CDK-Cyclin-abhängigen Kinasen, VEGF-vaskular endothelial Wachstumsfaktor, HIF-Hypoxie induzierender Faktor, MMP-Matrixmetalloproteinase, IGF-1R- Insulin Wachstumsfaktor-1-Rezeptor.

Dazu zeigten die Untersuchungen, dass Hsp90 in Tumorzellen hauptsächlich in einem Multi-chaperonkomplex mit hoher ATPase-Aktivität und hoher Substrataffinität vorkommt, wohingegen es in normalen Zellen größtenteils in latentem, unkomplexiertem Zustand vorliegt (Abbildung 3).¹⁴ Außerdem wird die Aktivität des Hsp90 durch sogenannte *Co-Chaperone* reguliert. Krebszellen, die einen höheren Grad dieser *Co-Chaperone* besitzen,

¹¹ D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2000**, 100, 57-70.

¹² a) W. Xu, L. Neckers, *Clin. Cancer Res.* **2007**, 13, 1625-1629; b) A. Maloney, P. Workman, *Expert Opin. Biol. Ther.* **2002**, 2, 3-24; c) M. P. Goetz, D. O. Toft, M. M. Ames & C. Erlichman, *Annals of Oncology* **2003**, 14, 1169-1176.

¹³ a) J. C. Young, I. Moarefi, F. U. Hartl, *J. Cell Biol.* **2001**, 154, 267-273; b) W. B. Pratt, D. O. Toft, *Endocr. Rev.* **1997**, 18, 306-360; c) K. Richter, J. Buchner, *J. Cell Physiol.* **2001**, 188, 281-290.

¹⁴ P. Workman, *Trends Mol. Med.* **2004**, 10, 283-290.

weisen eine höhere Aktivität von Hsp90 verglichen mit gesunden Zellen auf. Die onkogenen Proteine, insbesondere, wenn diese mutiert vorliegen, sind stärker auf die Stabilisierung durch Hsp90 angewiesen als andere zelluläre Proteine. Die *in vitro* Tests zeigten, dass für die Zerstörung von Tumorgewebe eine geringere Konzentration der Hsp90-Inhibitoren als für die Zerstörung der normalen Zellen notwendig war.¹⁵

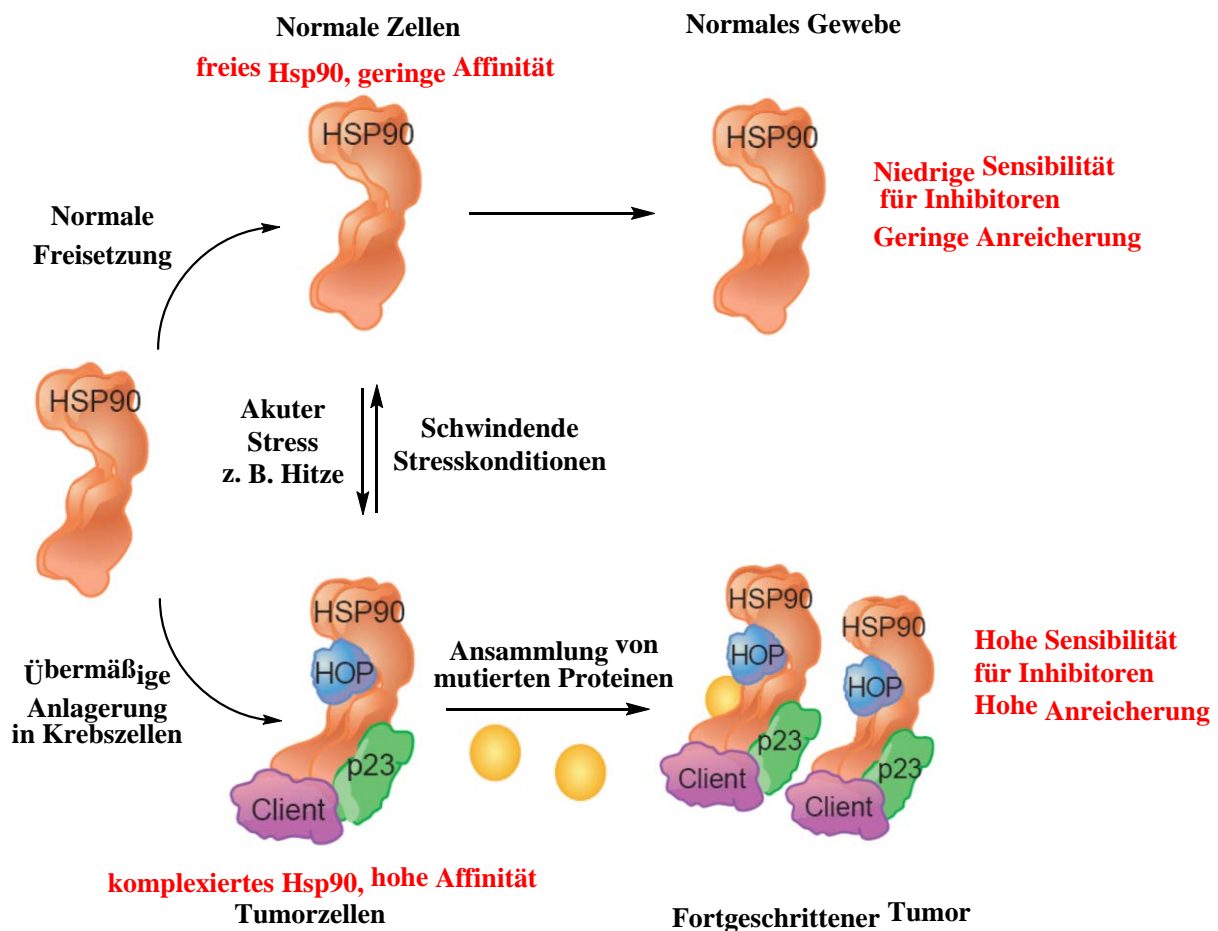


Abbildung 3: Hsp90 in Tumorzellen. Übernommen aus *Trends Mol. Med.* **2004**, *10*, 283-290.

Das wichtigste onkogene *Client*-Protein des Hsp90 ist der Transkriptionsfaktor p53. Dieses Protein ist ein Tumorsuppressor, dessen Aktivität das Tumorstwachstum stoppen soll. Die Funktion des Proteins p53 ist die Kontrolle des Zellzyklus am G1/S-Regulierungspunkt auf die DNA-Schädigung. Wenn DNA-Schädigungen auftreten, kann p53 entweder die DNA-Reparatur-Proteine aktivieren, oder die Apoptose, den programmierten Zelltod, induzieren, wenn die DNA-Schäden nicht mehr zu reparieren sind. Es wurde festgestellt, dass p53 in

¹⁵ M. A. Biamonte, R. Van de Water, J. W. Arndt, R. H. Scannevin, D. Perret, W.-C. Lee, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3-17.

ungefähr der Hälfte aller menschlichen Krebsfälle mutiert vorliegt oder nicht vorhanden ist.¹⁶ BLAGOSKLONNY konnte demonstrieren, dass die Behandlung mit Hsp90 Inhibitoren zur Destabilisierung des mutierten Proteins p53 führte, wobei die normale transkriptionelle Aktivität des Wildtyp-Proteins p53 wiederhergestellt wurde.¹⁷

Zusammenfassend ermöglicht die Hsp90-Inhibition die simultane Unterbrechung vieler Signalwege, die zur Entstehung und Progression von Krebs führen. Dadurch stellt eine Hsp90-Inhibition indirekt eine Multi-Target-Antitumorthherapie dar.

Auch andere Krankheiten könnten durch die falsche Proteinfaltung verursacht werden. Besonders deutlich wird dies bei spezifischen Proteinfaltungskrankheiten wie den Prion-Erkrankungen, dem Huntington Syndrom oder Morbus Alzheimer.¹⁸ Die Hauptursache von neurodegenerativen Erkrankungen und der Prionkrankheit ist die Anhäufung falsch gefalteter Proteine, sodass Amyloidablagerungen auftreten. Hitzeschockproteine spielen dabei eine wichtige Rolle. Es wurde festgestellt, dass die Hsp90-Inhibierung den Hitzeschock-Faktor-1 (HSF-1) aktiviert, welcher die Produktion von Hsp70 und Hsp40 sowie anderer Chaperone induziert, die wiederum die Disaggregation und den Abbau falsch gefalteter Proteine fördern. Zusätzlich stabilisiert Hsp90 mutierte oder überaktivierte, neuronale Proteine und dadurch steigt die Anhäufung toxischer Aggregate.¹⁹ Des Weiteres könnte in Zukunft die Entwicklung von Blut-Hirn-Schranke durchlässigen Hsp90-Inhibitoren ein neuer Therapieansatz zur Behandlung der neurodegenerativen Erkrankungen werden.

2.2. Geldanamycin-Derivate als Hsp90 Inhibitoren

2.2.1. Biologische Wirkung der Geldanamycin-Derivate

Die erste Substanzklasse, die als Inhibitoren von Hsp90 identifiziert wurden, sind Benzochinon-Ansamycin-Antibiotika. Zu dieser Familie gehören Geldanamycin (**1**), das im Jahr 1970 aus dem Bakterienstamm *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* var. *nova* isoliert wurde,²⁰ und seine Struktur-Analoga Herbimycin (**2**)²¹ und Macbecin (**3**),²² die zwischen 1970 und 1988 beschrieben wurden. Außerdem wurden in den letzten Jahren drei

¹⁶T. M. Gottlieb, M. Oren, *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, 1287, 77-102.

¹⁷M. V. Blagosklonny, J. Toretsky, L. Neckers, *Oncogene* **1995**, 11, 933-939.

¹⁸a) S. Chaudhury, T. R. Welch, B. S. J. Blagg, *ChemMedChem* **2006**, 1, 1331-1340.

¹⁹a) W. Luo, W. Sun, T. Taldone, A. Rodina, G. Chiosis, *Molecular Neurodegeneration* **2010**, 5, 24; b) A. Salminen, J. Ojala, K. Kaarniranta, M. Hiltunen, H. Soininen, *Prog. Neurobiol.* **2011**, 93, 99-110.

²⁰C. Deboer, P.A. Meulman, R. J. Wunk, D. H. Peterson, *J. Antibiot.* **1970**, 23, 442-447.

²¹a) S. Omura, Y. Iwai, Y. Takahashi, N. Sarakane, A. Akagawa, H. Oiwa, Y. Hasegawa, T. Ikai, *J. Antibiot.* **1979**, 32, 255-261; b) L. Z. Lin, G. Blasko, G. A. Gordell, *J. Nat. Prod.* **1988**, 51, 1161-1165.

²²M. Muroi, K. Haibara, M. Asai, *Tetrahedron* **1981**, 37, 1123-1130.

weitere an C-19 funktionalisierte Derivate **4-6** in der Fermentation von *Streptomyces hygroscopicus* 17997 identifiziert (Abbildung 4).²³ Diese Naturstoffe zeigen eine höhere Antitumoraktivität, welche zunächst durch die Inhibierung der Tyrosin-Kinase erklärt wurde.

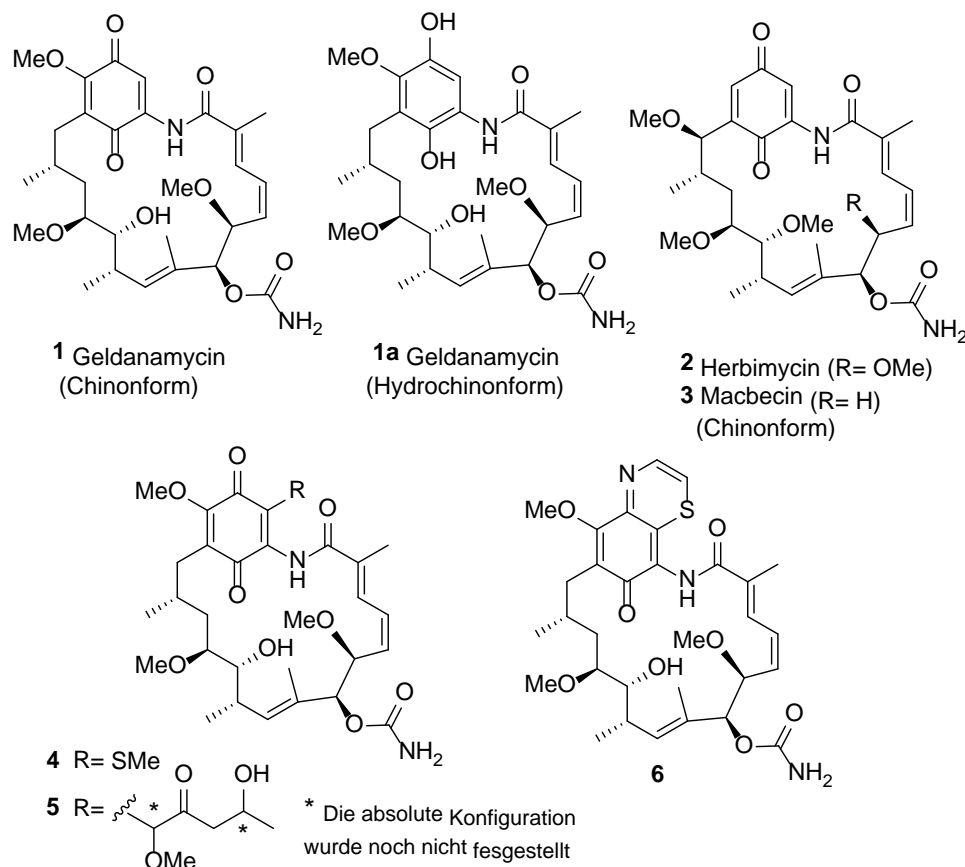


Abbildung 4: Strukturen der Benzochinon-Ansamycin-Antibiotika.

Im Rahmen eines Screening-Programms nach antitumoral wirkenden Naturstoffen am National Cancer Institut (NCI) zeigte Geldanamycin (**1**) eine starke Antitumoraktivität, wobei ein 50 %-ige Wachstumshemmung (GI_{50}) schon bei 13 nM Konzentration gegen die meisten Zelllinien erreicht werden konnte.²⁴ Im Jahr 1994 konnte die Arbeitsgruppe WHITESELL zeigen, dass diese hervorragende antikanziroge Wirkung mit der spezifischen Bindung des Naturstoffes an Hsp90 verbunden ist.²⁵ Die nachfolgende Kristallstrukturanalyse des Hsp90-Komplexes mit Geldanamycin (**1**) identifizierte, dass der Inhibitor an die *N*-terminale-

²³ a) S. Li, S. Ni, L. Wu, L. Li, B. Jiang, H. Wang, G. Sun, M. Gan, J. Li, W. He, L. Lin, Y. Wang, S. Bai, S. Si, *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 969-973; b) X. Liu, J. Li, S. Ni, L. Wu, H. Wang, L. Lin, W. He, Y. Wang, *J. Antibiot. (Tokyo)* **2011**, 64, 519-522; c) L. Lin, S. Ni, L. Wu, Y. Wang, Y. Wang, P. Tao, W. He, X. Wang, *Biosc. Biotechn. Biochem.* **2011**, 75, 2042-2045.

²⁴ J. G. Supko, R. L. Hickmann, M. R. Grever, L. Malspeis, *Cancer Chemoth. Pharmacol.* **1985**, 36, 305-315.

²⁵ L. Whitesell, E. G. Mimnaugh, B. Costa, C. E. Myers, L. M. Neckers, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1994**, 91, 8324-8328.

Domäne des Hsp90 bindet und somit die Aktivität der ATPase hemmt.²⁶ Die Bindung von Geldanamycin (**1**) an Hsp90 blockiert das Chaperon in seiner ADP-gebundenen Konformation, sodass der ATP Zyclus angehalten wird. Infolge dessen löst sich das ungefaltete *Client*-Protein von dem intermediären Komplex und wird durch das Ubiquitin-abhängige-Proteasom abgebaut. Außerdem wird eine Deaktivierung und Destabilisierung des (HIF)-1 α induziert, was zur Apoptose führt.

Die Affinität von Geldanamycin (**1**) für die ATP-Bindungstasche ist 100-fach höher als die von ATP. Die wichtigsten Wechselwirkungskontakte von ATP und Geldanamycin mit dem Hsp90N Kristall sind in Abbildung 5 dargestellt. Geldanamycin (**1**) nimmt die so genannte *C-clamp*-Konformation an, wobei der Benzochinonring sehr ähnliche Wechselwirkungen zum ATP/ADP Phosphat-Rückgrat ausbildet und das Carbamat an C-7 Wasserstoffbrücken-Bindungen von dem Purinsystem des ATPs imitiert.²⁷

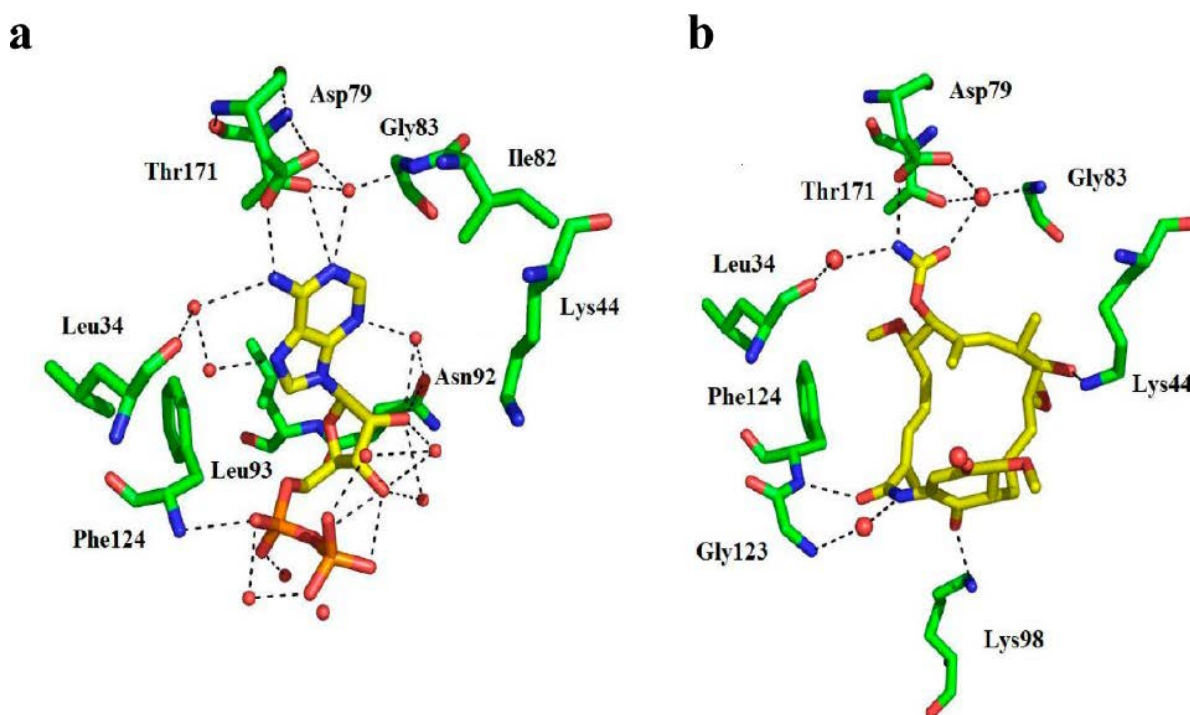


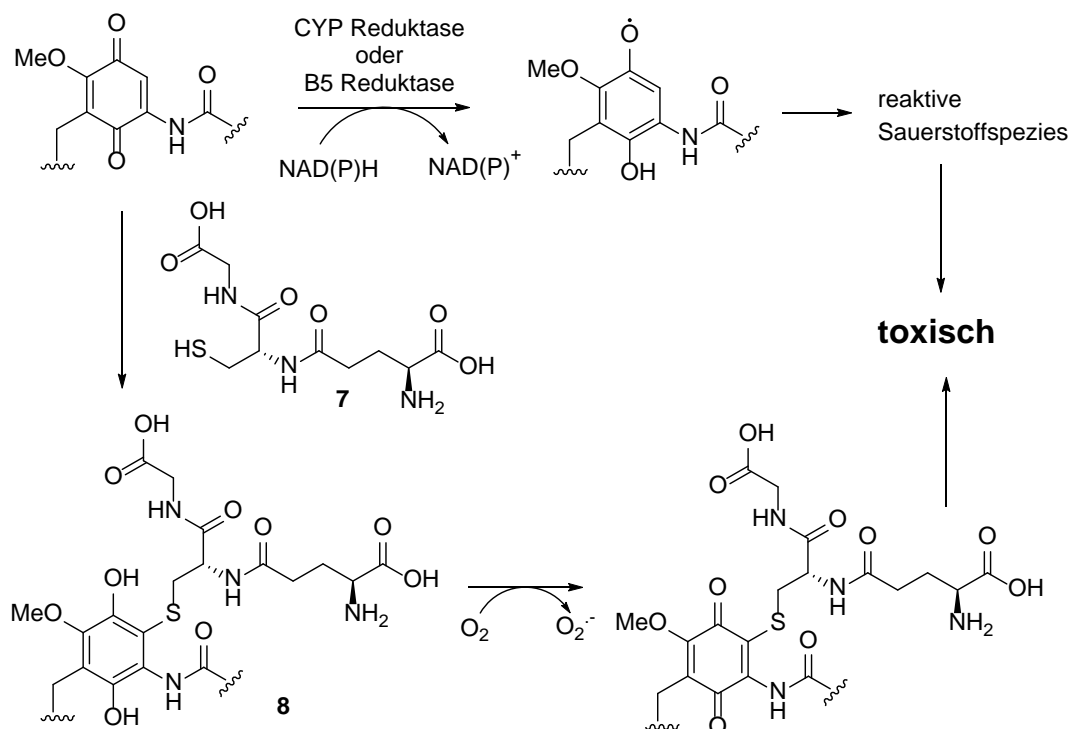
Abbildung 5: Kristallstrukturen a) Hsp90 mit ATP b) Hsp90 mit Geldanamycin (**1**). Übernommen aus *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5117-5141.

Obwohl Geldanamycins (**1**) *in vitro* ein hohes antikrebs-Potenzial aufweist, wurde die klinische Anwendung des Wirkstoffes wegen schlechter pharmazeutischer Eigenschaften, wie Lipophilie und Stabilität, sowie hohes Hepatotoxizität, welche mit dem Metabolismus des

²⁶ C. E. Stebbins, A. A. Russo, C. Schneider, N. Rosen, F. U. Hartl, and N. P. Pavletich, *Cell* **1997**, *89*, 239-250.

²⁷ S. R. Roe, C. Prodromou, R. O'Brien, J. E. Ladbury, P. W. Piper, L. H. Pearl, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 260-266.

Benzochinonsystemes verbunden ist, nicht zugelassen. Die hohe Lebertoxizität des Geldanamycins (**1**) lässt sich zum einem durch die Bildung von reaktiven, schädigenden Sauerstoffspezien, die bei der Ein-Elektronen-Reduktion des Benzochinons entstehen, erklären. Des Weiteren wurde die MICHAEL-Addition von Glutathion (**7**) an das Chinonsystem festgestellt, wodurch die Aktivität als Radikalfängers in Leber deaktiviert wird (Schema 1).²⁸



Schema 1: Metabolismus des Benzochinons.

Um wirksame und besser verträgliche Hsp90-Inhibitoren zu entwickeln, wurden weitere Geldanamycin-Derivate semi-synthetisch hergestellt. Der Austausch der Methoxygruppe an C-17 durch einen Allylaminorest demonstrierte eine verringerte Toxizität bei gleich bleibender biologischer Aktivität. 17-Allylamino-17-desmethoxygeldanamycin (17-AAG, **9**) befindet sich momentan in der klinischen Phase 3 in Kombination mit anderen Chemotherapeutika (Bortezomib) für die Behandlung von vielfachen Myeloma.²⁹ Die größten Probleme, die während der Behandlung vorkommen, sind die geringe Löslichkeit in Wasser, wodurch die orale Bioverfügbarkeit beschränkt wird. Um diese Probleme zu umgehen, wurde

²⁸ W. Guo, P. Reigan, D. Spiegel, D. Ross, *Drug Metab. Dispos.* **2008**, *36*, 2050-2057.

²⁹ a) Y. S. Kim, S. V. Alarcon, S. Lee, M. J. Lee, G. Giaccone, L. Neckers, J. B. Trepel, *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, *9*, 1479-1492; b) S. Modi, A. T. Stopeck, M. S. Gordon, D. Mendelson, D. B. Solit, R. Bagatell, W. Ma, J. Wheler, N. Rosen, L. Norton, *J. Clin. Oncol.* **2007**, *25*, 5410-5417.

17-(2-Dimethylaminoethyl)amino-17-desmethoxygeldanamycin (17-DMAG, **10**) entwickelt, das zum einen eine starke Hsp90-Inhibition und zum anderen eine bessere Löslichkeit in Wasser durch die Bildung eines Ammoniumsalzes des Amin-Restes aufzeigt. Jedoch wurde die weitere klinische Entwicklung des Derivates **10** wegen der hohen Lebertoxizität nicht weiter verfolgt.³⁰ Ein weiteres semisynthetisch hergestelltes Geldanamycin-Derivat, welches sich in der klinischen Phase 2 als oral verabreichtes Medikament befindet, ist 17-Amino-17-desmethoxygeldanamycin (17-AG, **11**) (Abbildung 6).³¹

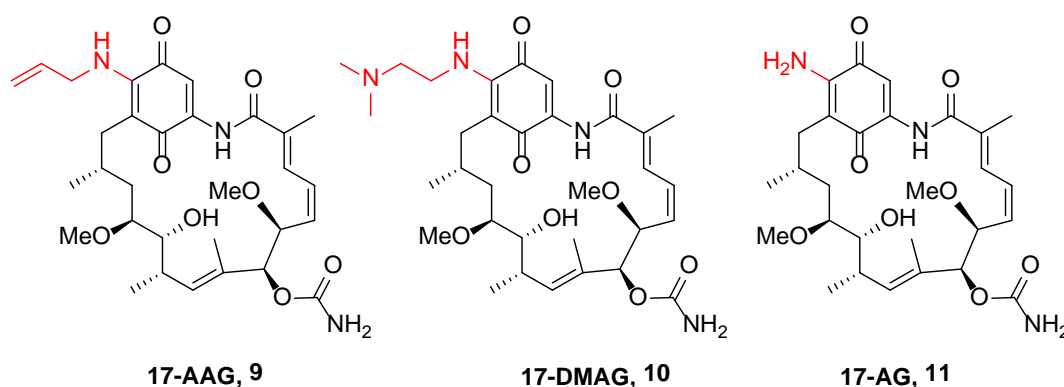


Abbildung 6: Strukturen der Geldanamycin-Derivate **9**, **10** und **11**.

Um die pharmazeutischen Mängel des 17-AAG **9** zu umgehen, sollte das Chinonsystem in das entsprechende Hydrochinon umwandelt werden. Die Protonierung des 17-Stickstoffatoms stabilisiert das Hydrochinon als ein Salz und vergrößert die Löslichkeit in Wasser. Es konnte auch demonstriert werden, dass das freie Hydrochinon im Vergleich mit 17-AAG **9** der stärkere Hsp90-Inhibitor ist. Das Geldanamycin-Derivat **12** befindet sich zurzeit in der klinischen Phase 2 für Patienten mit fortgeschrittenem nichtkleinzelligem Lungenkarzinom und Brustkrebs.³² Um die potenziellen, mit dem Benzochinon-System verbundenen Probleme zu umgehen, haben die Forscher eine interessante Klasse von Phenol-Ansamycin-Inhibitoren **13**, **14** entwickelt, welche durch die biosynthetische Gentechnologie hergestellt

³⁰ a) M. Hollingshead, M. Alley, A. M. Burger, S. Borgel, C. Pacula-Cox, H. H. Fiebig, E. A. Sausville, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2005**, *56*, 115-125; b) E. R. Glaze, A. L. Lambert, A. C. Smith, J. G. Page, W. D. Johnson, D. L. McCormick, A. P. Brown, B. S. Levine, J. M. Covey, M. J. Egorin, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2005**, *56*, 637-647.

³¹ a) M. J. Egorin, E. G. Zuhowski, D. M. Rosen, D. L. Sentz, J. M. Covey, J. L. Eiseman, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2001**, *47*, 291-302.

³² J. R. Porter, J. Adams, R. Ahn, V. Ammoscato, B. Arsenault, B. C. Austad, G. Baker, J. Basuki, M. R. Booth, M. J. Campbell, B. Carter, M. Curtis, K. Depew, M. A. Douglas, J. Ge, L. Grenier, J. Helble, J. Henderson, N. Goltz, D. Ionescu, L. Kott, J. T. Kropp, J. Lee, K. Li, B. Maurer, D. Mayes, R. H. Pak, J. Piotrowski, J. R. Porter, D. Rusch, G. E. Sylvester, S. Wong, J. Wright, *Drug Development Research* **2010**, *71*, 429-438.

wurden. Die Phenol-Derivate befinden sich zurzeit in der präklinischen Phase der Entwicklung (Abbildung 7).³³

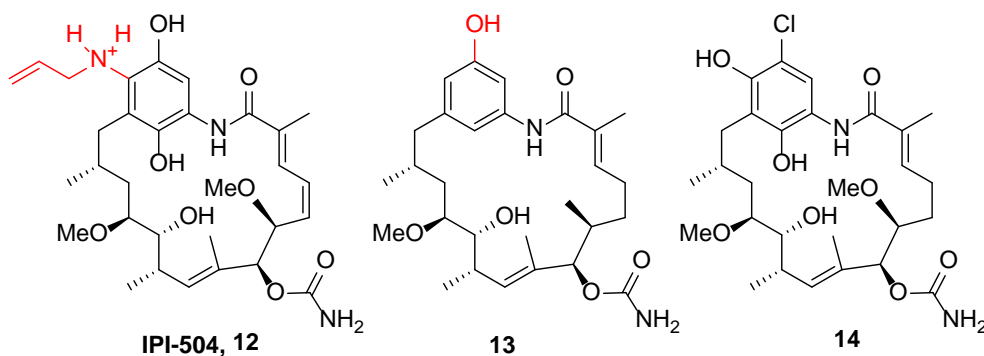


Abbildung 7: Strukturen der Geldanamycin-Derivate 12, 13 und 14.

2.2.2. Geldanamycin Biosynthese

Der Biosyntheseweg des Geldanamycins (**1**) wurde in der Arbeitsgruppe von HUTCHINSON aufgeklärt und ist in Abbildung 8 zusammengefasst.³⁴ Die Beschreibung der Biosynthese kann in zwei Abschnitte unterteilt werden: a) in die Biosynthese des aromatischen Kerns und b) in die Biosynthese der Ansa-Kette. Die Synthese des *mC*₇N-Startbausteins 3-Amino-5-hydroxybenzoesäure (**15**) erfolgt über eine Variante der Shikimat-Biosynthese von UDP-Glucose (**16**), wobei die Amino-Gruppe über die Bildung von Kanosamin eingeführt wird.³⁵ Der Aufbau der aliphatischen Kette wird durch den großen Multi-Enzymkomplex einer bakteriellen, modularen Polyketidsynthase (PKS, Typ I) katalysiert.

³³ a) M. Q. Zhang, S. Gaisser, M. Nur-E-Alam, L. S. Sheehan, W. A. Vousden, N. Gaitatzis, G. Peck, N. J. Coates, S. J. Moss, M. Radzom, T. A. Foster, R. M. Sheridan, M. A. Gregory, S. M. Roe, C. Prodromou, L. Pearl, S. M. Boyd, B. Wilkinson, C. J. Martin, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5494-5497. b) H. G. Menzella, T. T. Tran, J. R. Carney, J. Lau-Wee, J. Galazzo, C. D. Reeves, C. Carreras, S. Mukadam, S. Eng, Z. Zhong, P. B. Timmermans, S. Murli, G. W. Ashley, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1518-1521.

³⁴ a) A. Rascher, Z. Hu, N. Viswanathan, A. Schirmer, R. Reid, W. C. Nierman, M. Lewis, C. R. Hutchinson, *FEMS Microbiol. Lett.* **2003**, *218*, 223-230; b) A. Rascher, Z. Hu, G. O. Buchanan, R. Reid, C. R. Hutchinson, *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 4862-4871.

³⁵ C.-G. Kim, A. Kirschning, P. Bergon, P. Zhou, E. Su, B. Sauerbrei, S. Ning, Y. Ahn, M. Breuer, E. Leistner, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7486-7491.

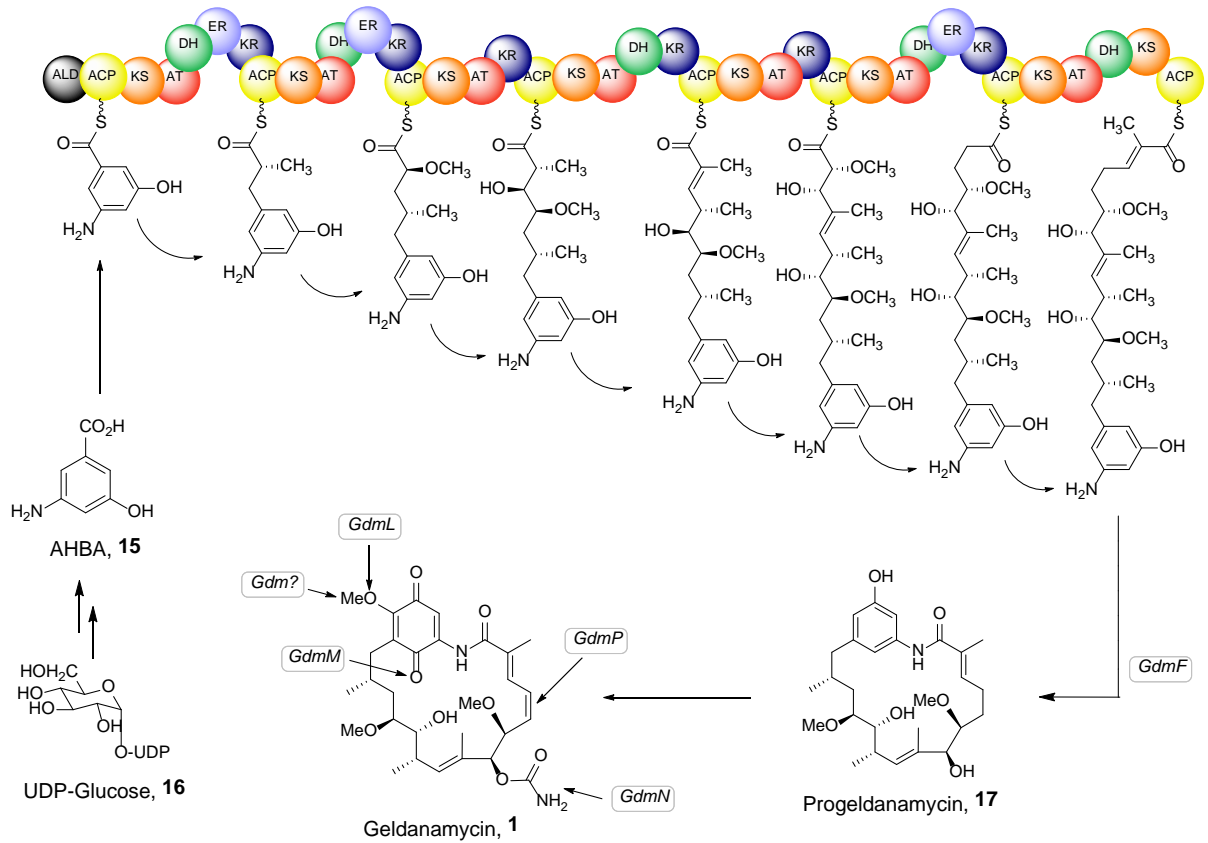


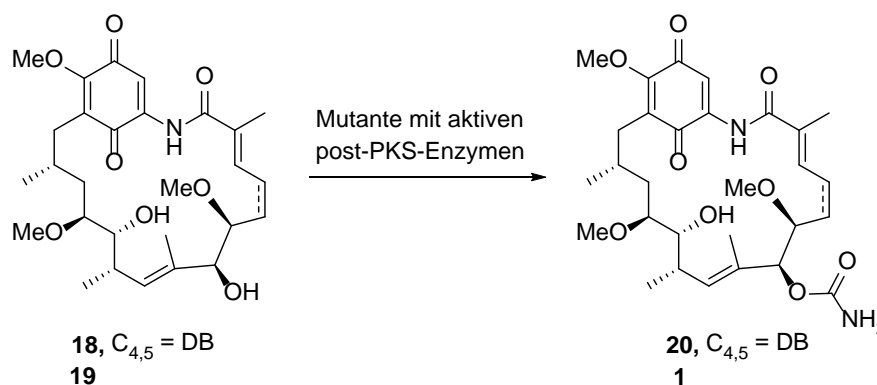
Abbildung 8: Geldanamycin-Biosynthese in *Streptomyces hygroscopicus*.

ACP = Acyl-Carrier-Protein; KS = Ketosynthase; AT = Acyltransferase; DH = Dehydratase; ER = Enoylreduktase; KR = Ketoreduktase.

Nach der Übertragung der Starteinheit auf das Acyl-Carrier-Protein (ACP) wird das polyketidische Kohlenstoff-Grundgerüst in sieben Verlängerungsschritten durch den Einbau von einem Acetat-, vier Propionat- und zwei ungewöhnlichen Glycolat-Einheiten aufgebaut. Die Amidsynthase *GdmF* katalysiert die Abspaltung der Polyketid-Kette und die Makrolactambildung zum Progeldanamycin (17). Das biologisch aktive Geldanamycin wird nach fünf post-PKS-Modifikationen gebildet: Oxidation an C-17 (*GdmL*), Oxidation an C-21 (*GdmM*), Dehydrogenierung an C4-C5 (*GdmP*), Carbamoylierung an C-7 (*GdmN*) und *O*-Methylierung an C-17 (noch unbekanntes Enzym).³³

Die Abfolge der post-PKS-Schritte wurde in mehreren Forschungsgruppen untersucht. In der Arbeitsgruppe HONG wurde die folgende Reihenfolge postuliert. Zuerst findet die Oxidation an C-17 mit anschließender *O*-Methylierung statt, dann erfolgt die Oxidation an C-21, wobei die spontane Oxidation zum Chinon abläuft. Im nächsten Schritt soll die Carbamoylierung an C-7 stattfinden und als letztes wird die C4-C5 Bindung dehydrogeniert. Diese Hypothese konnte durch Experimente mit den Mutanten *Streptomyces hygroscopicus subsp. duamyceticus* JCM4427, welche unfähig ist die Carbamoylierung an C-7 durchzuführen,

nachgewiesen werden. Aus der Fermentation dieser Blockmutante konnten zwei Geldanamycin-Derivate **18**, **19** isoliert werden, welche anschließend an den Bakterien, deren post-PKS-Enzyme vollständig aktiv waren, verfüttert wurden. Geldanamycin (**1**) und 4,5-Hydrogeldanamycin (**20**) konnten isoliert werden. Damit wurde postuliert, dass die Carbamoylierung nach der Oxidation des Benzolrings zum Chinon stattfindet.³⁶ Ähnliche Ergebnisse lieferte auch die Arbeitsgruppe Ni. Allerdings wurde bei der Verfütterung der Derivaten **18** und **19**, nur Derivat **19** von den Bakterien angenommen und zum Geldanamycin (**1**) prozessiert. Dies bedeutet, dass die Carbamoylierung vor der Oxidation der C4-C5-Bindung stattfinden muss, da das Derivat **18**, welches schon die Doppelbindung enthält, nicht carbamoyliert wurde (Schema 2).³⁷



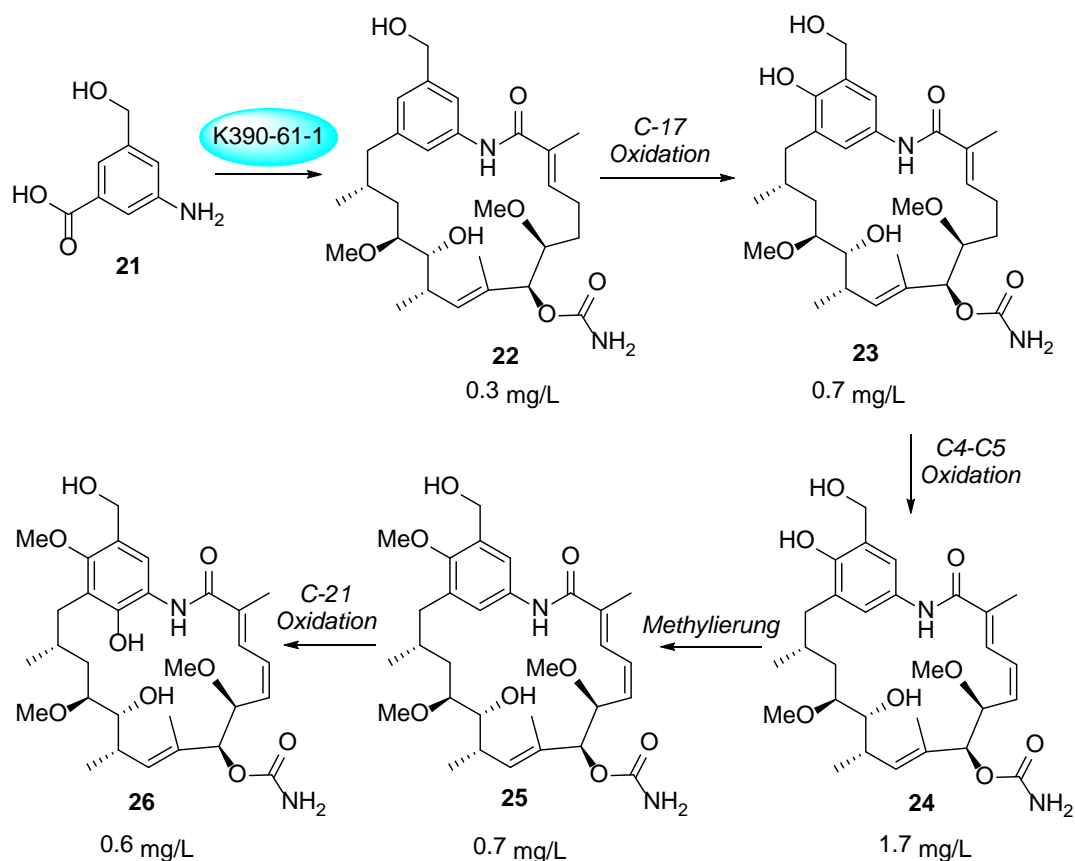
Schema 2: Untersuchung der post-PKS-Modifikationen durch mutasynthetische Experimente.

Jedoch zeigten mutasynthetische Experimente mit dem Bakterienstamm *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* K390-61-1, welcher in der Biosynthese des Startbausteins AHBA **15** blockiert ist, dass die Carbamoylierung an C-7 als erster post-PKS-Schritt stattfindet, da bei der Verfütterung von unterschiedlichen AHBA-Analoga kein Produkt ohne Carbamatfunktion detektiert wurde. Zusätzlich konnte in dem Fütterungsexperiment mit Benzylalkohol **21** die Reihenfolge aller post-PKS-Enzyme festgestellt werden. Nach der Carbamoylierung erfolgt die Oxidation an C-17. Anschließend wird die C4-C5 Bindung oxidiert. Des Weiteren findet die Methylierung der Hydroxygruppe an C-17 statt und abschließend erfolgt die Oxidation an C-21 (Schema 3).³⁸

³⁶ a) Y. S. Hong, D. Lee, W. Kim, J. K. Jeong, C. G. Kim, J. K. Sohng, J. H. Lee, S. G. Paik, J. J. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11142-11143; b) J. C. Shin, Z. Na, D. H. Lee, W. C. Kim, K. Lee, Y. M. Shen, S. G. Paik, Y. S. Hong, J. J. Lee, *J. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *18*, 1101-1108.

³⁷ S. Ni, L. Wu, H. Wang, Y. Wang, W. He, Y. Li, C. Jia, S. Li, *J. Antibiot.* **2010**, *63*, 623-625.

³⁸ S. Eichner, T. Eichner, H.G. Floss, J. Fohrer, E. Hofer, F. Sasse, C. Zeilinger, A. Kirschning, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 1673-1679.



Schema 3: Fütterung von Benzylalkohol 21.

2.2.3. Struktur-Aktivitäts-Beziehungen des Geldanamycins

Für die rationale Erzeugung modifizierter Verbindungen mit verbessertem Wirkprofil sind Kenntnisse des Einflusses der Struktur auf die zytotoxische Aktivität von großem Interesse. Die Struktur-Aktivitäts-Studien wurden an insgesamt mehr als 500 synthetisch und mutasynthetisch dargestellten Geldanamycin-Derivaten durchgeführt.³⁹ Einen Überblick über die gesammelten Erkenntnisse ist in Abbildung 9 dargestellt.

³⁹ a) J. Franke, S. Eichner, C. Zeilinger, A. Kirschning, *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *10*, 1299-1323; b) J. L. Janin, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7503-7510.

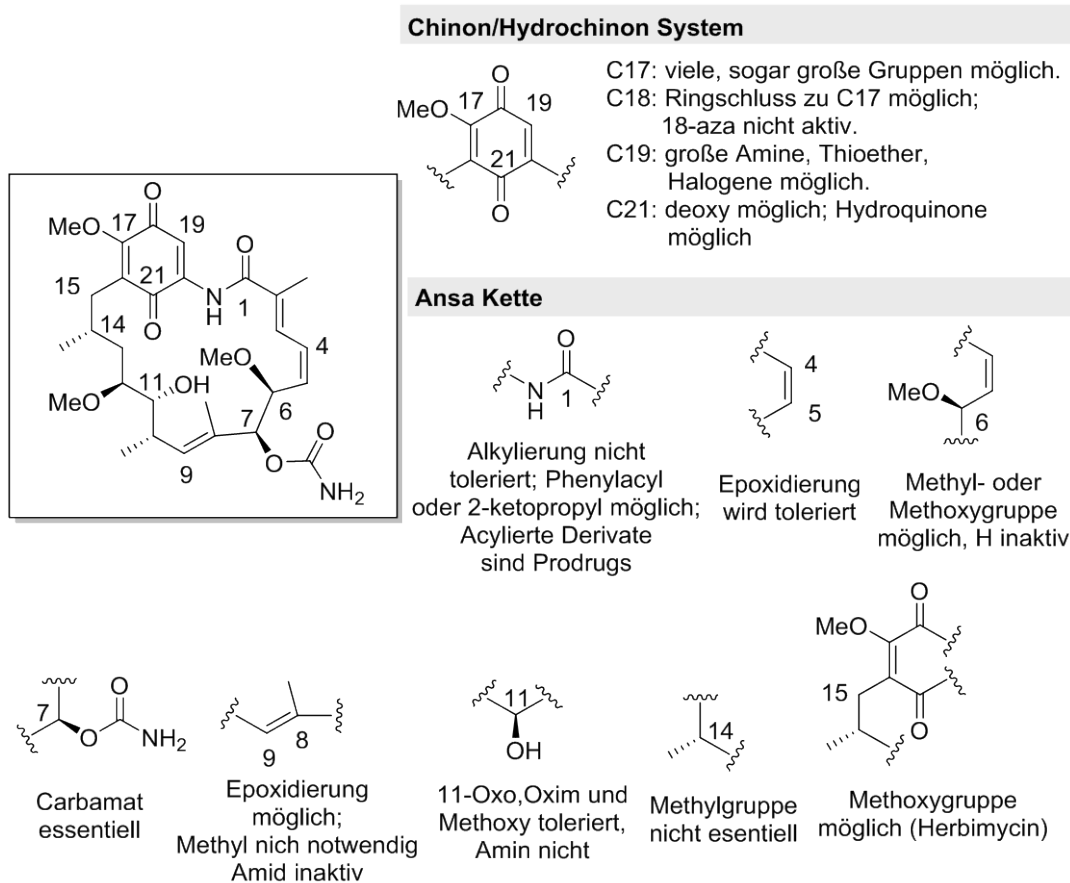


Abbildung 9: Struktur-Aktivitäts-Beziehungen im Geldanamycin (1).

Es konnte festgestellt werden, dass Geldanamycin eine Vielzahl an Struktur-Modifizierungen toleriert. Das Vorhandensein des Carbamats an C-7 stellte sich als entscheidend heraus, da dieses mit dem Asp79-Carboxylrest in der Bindungstasche des Hsp90 wechselwirkt.^{25,26} Variationen im C15-C8-Teil der Struktur haben keinen bedeutenden Einfluss auf die biologische Aktivität, ebenso das Substitutionsmuster am aromatischen Ring. Hingehen führte die Alkylierung des Lactam-Stickstoffatoms sowie die Entfernung des Substituenten an C-6 zu einem Verlust an Zytotoxizität.

Trotz der intensiven Forschung an diesen Substanzen ist es bislang nicht gelungen, einen der Naturstoffe erfolgreich durch die verschiedenen klinischen Phasen der Medikamentenzulassung zu bringen. Es erscheint also sinnvoll, durch weitere Modifizierungen mögliche neue Analoga herzustellen, die Struktur-Aktivitäts-Studien ermöglichen und zu neuen Strukturen mit besseren pharmakologischen Eigenschaften führen.

2.3. Mutasyntese

Während die Naturstoffe eine wichtige Rolle bei der Medikamententwicklung spielen, wiesen die Derivate dieser Wirkstoffe häufig bessere pharmakologische Eigenschaften und weniger Nebenwirkungen auf. Deswegen ist die Herstellung neuer Naturstoff-Analoga nach wie vor hoch aktuell.

Für die Darstellung von neuen Derivaten werden verschiedene Verfahren angewendet. Totalsynthetisch dargestellte Naturstoffe können durch kleine Veränderungen der Syntheseroute zu Derivaten führen. Ein gutes Beispiel ist das Epothilon-Derivat ZK-EPO **27**.⁴⁰ Allerdings bleibt die klassische Totalsynthese wegen der strukturellen Komplexität der Naturstoffe eine Herausforderung und führt selten zur Herstellung ausreichender Mengen des Wirkstoffes für klinische Anwendungen und zum Erzeugen von Naturstoff-Bibliotheken für die Struktur-Aktivitäts-Studien. Auch die häufig für die Derivatisierung von Naturstoffen angewendete Semisyntese ist durch die vielen funktionellen Gruppen des Naturstoffes beschränkt. Eine alternative Methode stellt die Verwendung von Mikroorganismen, die sekundäre Metaboliten produzieren dar. Ein berühmtes und klassisches Beispiel ist das Antibiotikum Erythromycin A (**28**), welches von *Streptomyces erythreus* (heute *Saccharopolyspora erythraea*) produziert wird (Abbildung 10).⁴¹

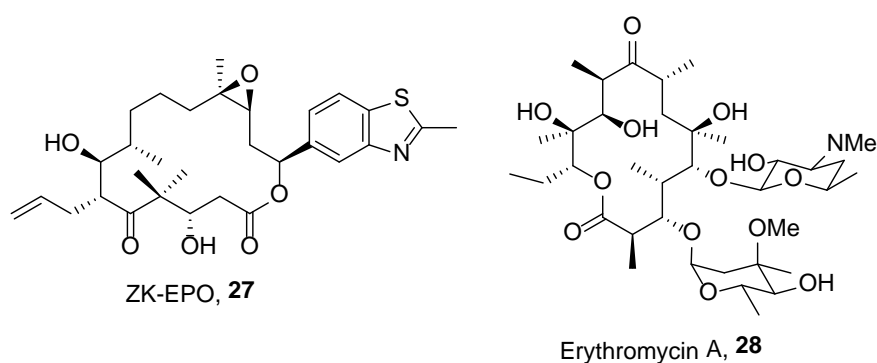


Abbildung 10: Strukturen des Epothilon-Derivates ZK-EPO (**27**) und Erythromycins A (**28**).

Eine der ältesten Strategien, um neue sekundäre Metaboliten fermentativ zu erzeugen, ist die vorläuferdirigierte Biosynthese. Hier wird die Biosynthesemaschinerie eines natürlich vorkommenden Produzenten (Wildtyp) genutzt. Die Verfütterung der Analoga des natürlichen

⁴⁰ U. Klar, B. Buchmann, W. Schwede, W. Skuballa, J. Hoffmann, R. B. Lichtner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7942-7948; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 8110-8116.

⁴¹ a) S. Donadio, L. Katz, *Gene* **1992**, *111*, 51-60; b) J. Hamedi, F. Malekzadeh, A. E. Saghafi-nia, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, *31*, 447-756.

Vorläufers zu den Kulturen führt zu einem Gemisch aus natürlichen und unnatürlichen Naturstoffderivaten. Allerdings wird das gewünschte neue Naturstoffderivat wegen Vorläuferkonkurrenz nur in geringer Ausbeute produziert, wodurch eine aufwendige Reinigung und Isolierung nötig wird.⁴²

Eine weitere Methode zur Gewinnung bioaktiver Substanzen ist die Mutasynthese.⁴³ Hier werden statt Wildtyp-Produzenten genetisch veränderte Organismen, die in der Biosynthese an einer bestimmten Stelle blockiert sind, verwendet. In diesem Fall werden nur synthetische Analoga des Vorläufers von den Biosynthese-Enzymen akzeptiert und zu den neuen Naturstoffderivaten umgesetzt (Abbildung 11).

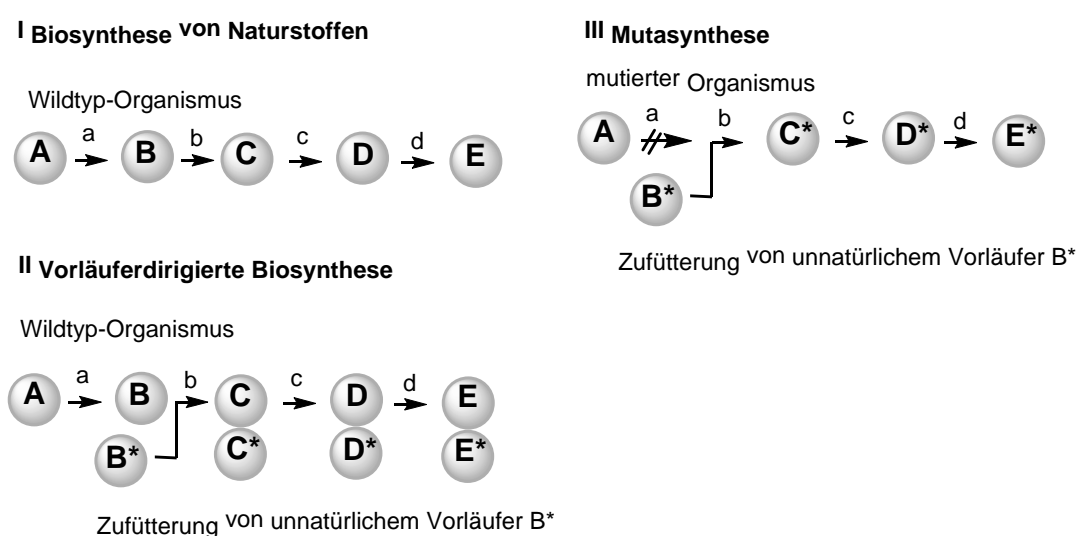


Abbildung 11: Biosynthetische Konzepte zur Darstellung von Naturstoffderivaten.

Mittlerweile hat sich die Mutasynthese zu einem eleganten Ansatz für die Herstellung von Bibliotheken struktureller Derivate pharmakologisch interessanter Naturstoffe entwickelt.⁴⁴ Im Falle des Geldanamycins (**1**) konnten bereits diverse Derivate auf diesem Weg erzeugt werden, wobei die Blockmutante, welche in der Biosynthese des Startbausteins AHBA **15** blockiert ist, verwendet wurde.^{45, 38}

⁴² a) R. Traber, H. Hofmann, H. Kobel, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 591-597; b) H. Kobel, R. Traber, *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1982**, *14*, 237-240. c) P. A. S. Lowden, G. A. Böhm, S. Metcalfe, J. Staunton, P. F. Leadly, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 535-538.

⁴³ K. L. Rinehardt, *Pure Appl. Chem.* **1977**, *49*, 1361-1384.

⁴⁴ a) S. Weist, R. D. Süßmuth, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *68*, 141-150; b) A. Kirschning, F. Taft, T. Knobloch, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3245-3259; c) K. Weissman, *Trends Biotechnol.* **2007**, *25*, 139-142.

⁴⁵ a) W. Kim, J. S. Lee, D. Lee, X. F. Cai, J. C. Shin, K. Lee, C. H. Lee, S. Ryu, S. G. Paik, J. J. Lee, Y. C. Hong, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1491-1494; b) H. G. Menzella, T. T. Tran, J. R. Carney, J. Lau-Wee, J. Galazzo, C. D. Reeves, C. Carreras, S. Mukadam, S. Eng, Z. Zhong, P. B. Timmermans, S. Murli, G. W. Ashley, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1518-1521; c) S. Eichner, H. G. Floss, F. Sasse, A. Kirschning, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 1801-1805.

Eine erweiterte Variante der Mutasyntese stellt die Chemobiosynthese dar. Hier werden die chemisch synthetisierten fortgeschrittenen Biosyntheseintermediate zu den Kulturen supplementiert, so dass Derivatisierungen des Naturstoffes in vielfältigen Positionen möglich sind.⁴⁶ Alternativ konnten die Enzyme aus Biosynthesewegen heterolog überexprimiert werden und mit Vorläufer-Molekülen *in vitro* zum Naturstoffderivate umgesetzt werden.

Die Verwendung von Enzymen in der Synthese ermöglicht die Reaktionen unter milden Reaktionsbedingungen, bei Atmosphärendruck und in wässrigen Medien bei neutralem pH-Wert durchzuführen. Die besondere Stärke von Biotransformationen liegt jedoch in der meist hohen Chemo-, Regio- und Stereoselektivität der katalysierten Reaktionen, wodurch die Verwendung von Schutzgruppen überflüssig und damit die Herstellung neuer komplexer Naturstoffderivate vereinfacht wird.⁴⁷ Deswegen wurde die unmittelbare Nutzung solcher Enzyme als „chemische Werkzeuge“ für anspruchsvolle Transformationen, wie Makrocyclisierungen, in letzter Zeit vielfach untersucht.⁴⁸

Im Jahr 2005 berichtete SCHERMAN über die Anwendung einer Thioesterase *CrpTE* für die Makrolactonisierung in der Synthese neuer Derivate des Anti-Tumor-Wirkstoffes Cryptophycin.⁴⁹ Um eine Akzeptanz der synthetisierten *seco*-Vorläufer zu erhöhen, wurden diese als *N*-Acetylcysteamin-Thioester (SNAC-Ester) synthetisiert. Der SNAC-Rest stellt ein Mimetikum für die Phosphopantetheinyl-Gruppe eines ACP dar, wodurch eine höhere Akzeptanz dieser Substrate bei den Enzymen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* erreicht werden kann.⁵⁰ Die Inkubation der SNAC-Ester **29a-d** mit der Thioesterase *CrpTE* zeigte die hohe Effizienz des Enzyms für Makrocyclisierung im Vergleich zur einfachen Hydrolyse. Neben kinetischen Studien wurde auch die Substratspezifität der Thioesterase untersucht. Diese zeigte eine Flexibilität in der *seco*-Cryptophycin β -Alanin-Einheit, aber strenge Strukturvoraussetzungen der Phenylgruppe im Westfragment des Moleküls (Schema 4).⁵¹ Später wurde gezeigt, dass die Cryptophycin-Thioesterase auch viele andere Variationen in *seco*-Cryptophycin Grundgerüst toleriert, wobei die interessanteste Modifikation die

⁴⁶ a) J. R. Jacobsen, C. R. Hutchinson, D. E. Cane, K. Khosla, *Science*, **1997**, 277, 367-369; b) K. Harmrolfs, M. Brünjes, G. Dräger, H. G. Floss, F. Sasse, F. Taft, A. Kirschning, *ChemBioChem* **2010**, 11, 2517-2520; c) C. J. B. Harvey, J. D. Puglisi, V. S. Pande, D. E. Cane, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 12259-12265.

⁴⁷ B. G. Davis, V. Boyer, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, 18, 618-640.

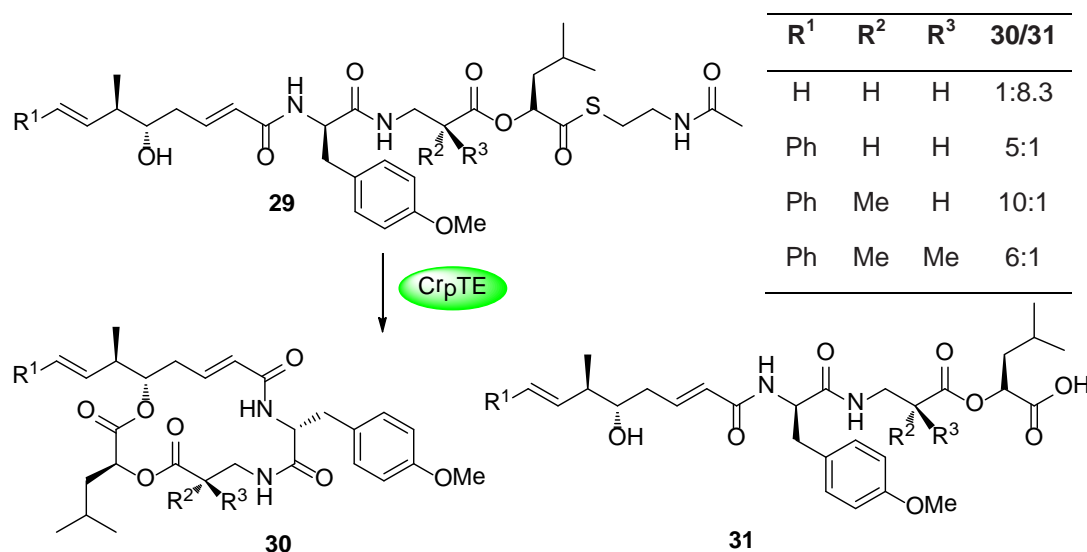
⁴⁸ a) M. Wang, H. Zhou, M. Wirz, Y. Tang, C. N. Boddy, *Biochemistry* **2009**, 48, 6288-6290; b) A. Pinto, M. Wang, M. Horsman, C. N. Boddy, *Org. Lett.* **2012**, 14, 2278-2281.

⁴⁹ D. Panda, R. H. Himes, R. E. Moore, L. Wilson, M. A. Jordan, *Biochemistry* **1997**, 36, 12948-12953.

⁵⁰ S. Yue, J. S. Duncan, Y. Yamamoto, C. R. Hutchinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 1253-1255.

⁵¹ Z. Q. Beck, C. C. Aldrich, N. A. Magarvey, G. I. Georg, H. D. Sherman, *Biochemistry* **2005**, 44, 13457-13466.

Verwendung von mobilisierten Substraten statt SNAC-Ester war. Damit konnte die Kombination von Festphasensynthese mit Biosynthese demonstriert werden.⁵²



Schema 4: Die von der Thioesterase CrpTE katalysierte Makrocyclisierung.

Zusammenfassend wird deutlich, dass mit einem tieferen Verständnis der Biosynthese von komplexen, sekundären Metaboliten und der Entwicklung von Werkzeugen der Gen-Sequenzierung und Manipulation eine neue Epoche in der Synthese der Naturstoffderivate, eröffnet wurde.⁵³

⁵² W. Seufert, Z. Q. Beck, D. H. Sherman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9298-9300; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 9458-9460; b) N. A. Magarvey, Z. Q. Beck, T. Golakoti, Y. Ding, U. Huber, T. K. Hemscheidt, D. Abelson, R. E. Moore, D. H. Sherman, *ACS Chem. Biol.* **2006**, *1*, 766-779.

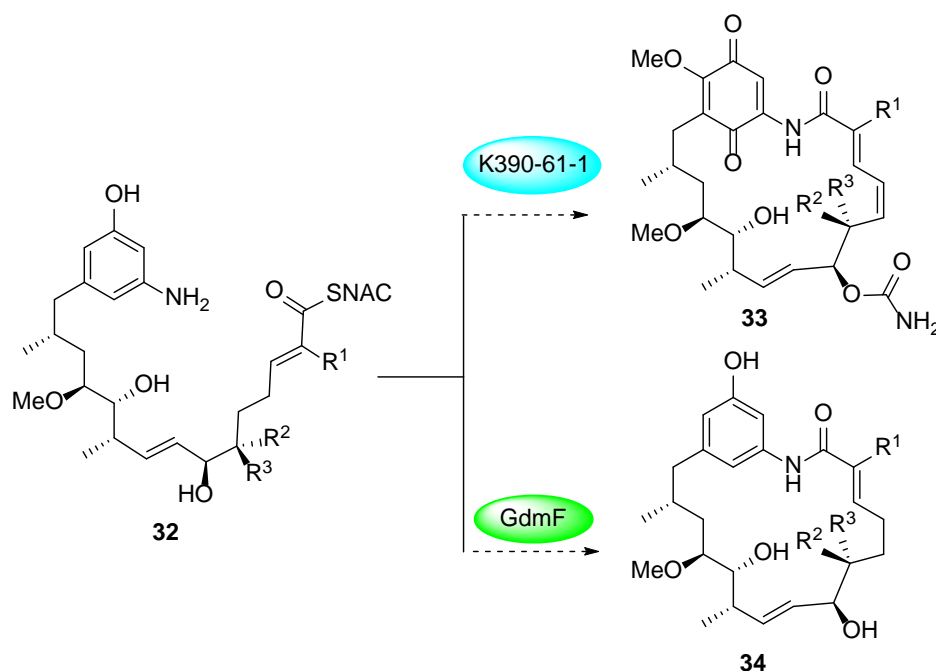
⁵³ a) A. Kirschning, F. Hahn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4012-4022; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 4086-4096; b) F. Taft, S. Eichner, T. Knobloch, K. Harmrolfs, J. Hermans, A. Kirschning, *Synlett* **2012**, *23*, 1416-1426.

3. Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit ist die Darstellung von neuen Geldanamycin-Derivaten, die zum einen Derivatisierungen im aromatischen System und zum anderen Derivatisierungen in den aliphatische Kette haben. Dabei soll die Kombination von chemischer Synthese mit Mutasynthese verwendet werden. Die so erhaltene Geldanamycin-Derivate werden zur Bestimmung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen dienen, auf deren Grundlage eine Entwicklung von neuen Hsp90-Inhibitoren mit verbessertem Wirkpotenzial ermöglicht werden kann.

3.1. Synthese der SNAC-Ester von den *seco*-Progeldanamycin-Derivate

Der erste Teil der Arbeit soll sich mit der Untersuchung der Substratflexibilität der Amidsynthase *GdmF*, die die Makrolactamisierung in der Biosynthese von Geldanamycin katalysiert, befassen. Dafür sollen die SNAC-Ester der *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate **32** totalsynthetisch hergestellt und in die mutasynthetischen Experimente mit der *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* Block-Mutante K390-61-1 eingesetzt werden, wobei neue Geldanamycin-Derivate **33** gebildet werden sollen. Zusätzlich sollen die Enzymtests mit der heterolog exprimierten und isolierten Amidsynthase *GdmF* durchgeführt werden, wobei neue Progeldanamycin-Derivate **34** gebildet werden sollen (Schema 5).

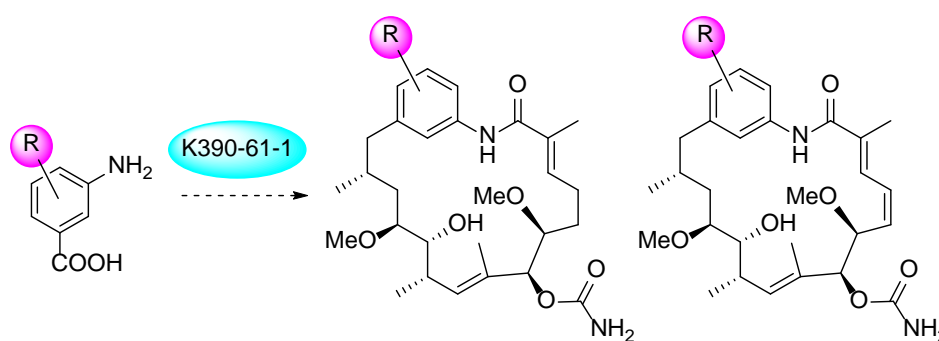


Schema 5: Geplante Untersuchung der Substratflexibilität der Amidsynthase *GdmF*.

In Zukunft soll die Amidsynthese *GdmF* als komplementierendes Werkzeug zur Makrolactamisierung in der Totalsynthese anderer Naturstoffe verwendet werden.

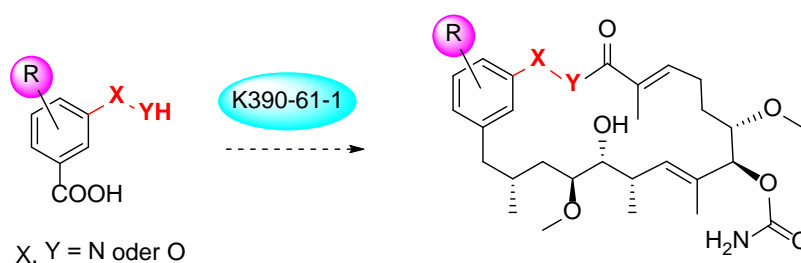
3.2. Mutasynthese von AHBA-Analoga.

In dem zweiten Teil der Arbeit sollen verschiedene Analoga des natürlichen Startbausteines AHBA **15** hergestellt und an die Bakterien verfüttert werden, um einerseits eine Information über die Substratflexibilität der *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* Block-Mutante K390-61-1 zu bekommen und andererseits neue Geldanamycin-Derivate zu isolieren. Der Fokus soll dabei auf den fluorierten und heterocyclischen Mutasynthonsen liegen (Schema 6).



Schema 6: Geplante Fütterungsexperimente mit AHBA-Analoga.

Zusätzlich sollte die Akzeptanz und biologische Transformationen von unterschiedlichen Hydroxylaminen und Hydrazin-Derivaten untersucht werden, wodurch ein Zugang zu neuen 20-gliedrigen Geldanamycin-Derivaten mit veränderter biologischer Aktivität ermöglicht werden kann (Schema 7).



Schema 7: Geplante Fütterungsexperimente mit Hydroxylamin- und Hydrazin-Derivaten.

4. Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

4.1. Synthese von *seco*-Progeldanamycinsäure Derivaten

4.1.1. Vorarbeiten

Für die Synthese der SNAC-Ester von *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate sollte auf die vorherigen Arbeiten von MONIKA VOGT und SASCHA CEYLAN zurückgegriffen werden, die die Synthese des stark vereinfachten SNAC-Esters von *seco*-Progeldanamycinsäure **35** entwickelt haben (Abbildung 12).⁵⁴

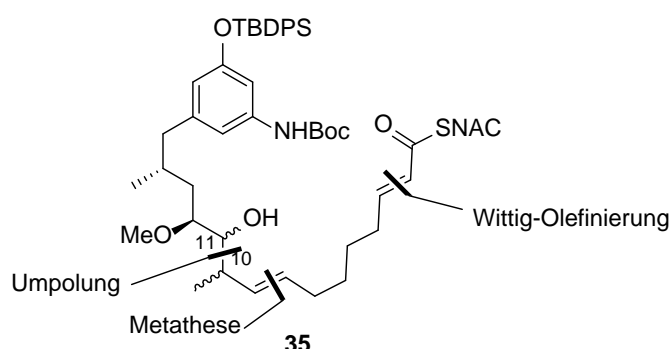


Abbildung 12: Strukturen der *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate **35**.

Die Schlüsselschritte der Synthese waren eine WITTIG-Reaktion zur Einführung des SNAC-Esters und eine Olefin-Metathese zur Verknüpfung der West- und Ostfragmente. Für den Aufbau der Stereochemie an C-10 und C-11 wurde eine Bor-vermittelte Umpolungsstrategie⁵⁵ verwendet. Es konnte allerdings nur ein Diastereomerenüberschuss von 1.4:1 erreicht werden, wobei die Diastereomere nicht getrennt werden konnten. Wegen der Instabilität des Substrates konnte die Synthese nicht abgeschlossen werden.

4.1.2. Retrosynthese

Bei der Auswahl der Zielstrukturen, die im Rahmen dieser Arbeit hergestellt werden sollen, sollten schon bekannte Struktur-Aktivitäts-Beziehungen berücksichtigt werden, da die

⁵⁴ a) M. Vogt, Dissertation, *Umpolung von Allyl-Palladium-Komplexen und Anwendung in der Synthese von Naturstoff-Fragmenten*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2010**; b) S. V. Ceylan, Dissertation, *Entwicklung eines Induktionsheizkonzepts für Durchflussreaktoren und Untersuchungen zur Palladium-katalysierte Umpolungsallylierung*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2011**.

⁵⁵ M. Vogt, S. Ceylan, A. Kirschning, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 6450-6456.

synthetisierten Zielverbindungen Informationen über die Substratflexibilität der Amidsynthese und neue Kenntnisse in Struktur-Aktivitäts-Beziehungen liefern sollen.

Da die Carbamoyl-Funktion wichtig für die Bindung an Hsp90 ist, sollte die Hydroxyfunktion an C-7 nicht verändert werden. Ebenfalls, wie in Kapitel 2.2.3. beschrieben, spielt der Substituent an C-6 eine wichtige Rolle, allerdings ist die Natur des Substituenten nicht relevant. Im Gegensatz dazu, ist die Methylgruppe an C-8 für die Anti-Krebs-Aktivität nicht notwendig.

Unter Betrachtung von diesen Kenntnissen wurden die drei *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate **36**, **37** und **38** als Zielsubstrate ausgewählt (Abbildung 13). Die biologischen Experimente mit diesen Derivaten sollten Informationen zum einen über den Einfluss der Methylgruppen an C-2 und C-8 auf die Akzeptanz der Amidsynthese und zum anderen über den Einfluss des Substituenten an C-6 auf die biologische Aktivität liefern.

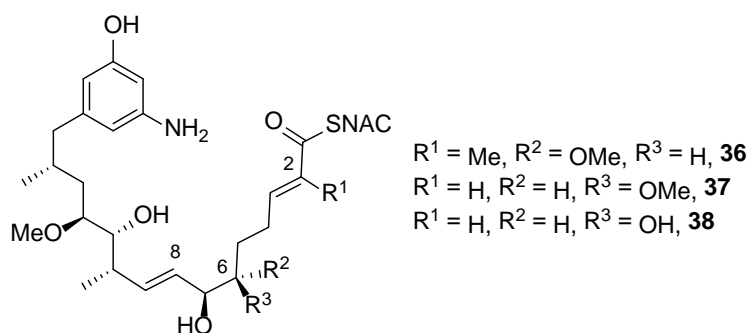


Abbildung 13: Strukturen der *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate.

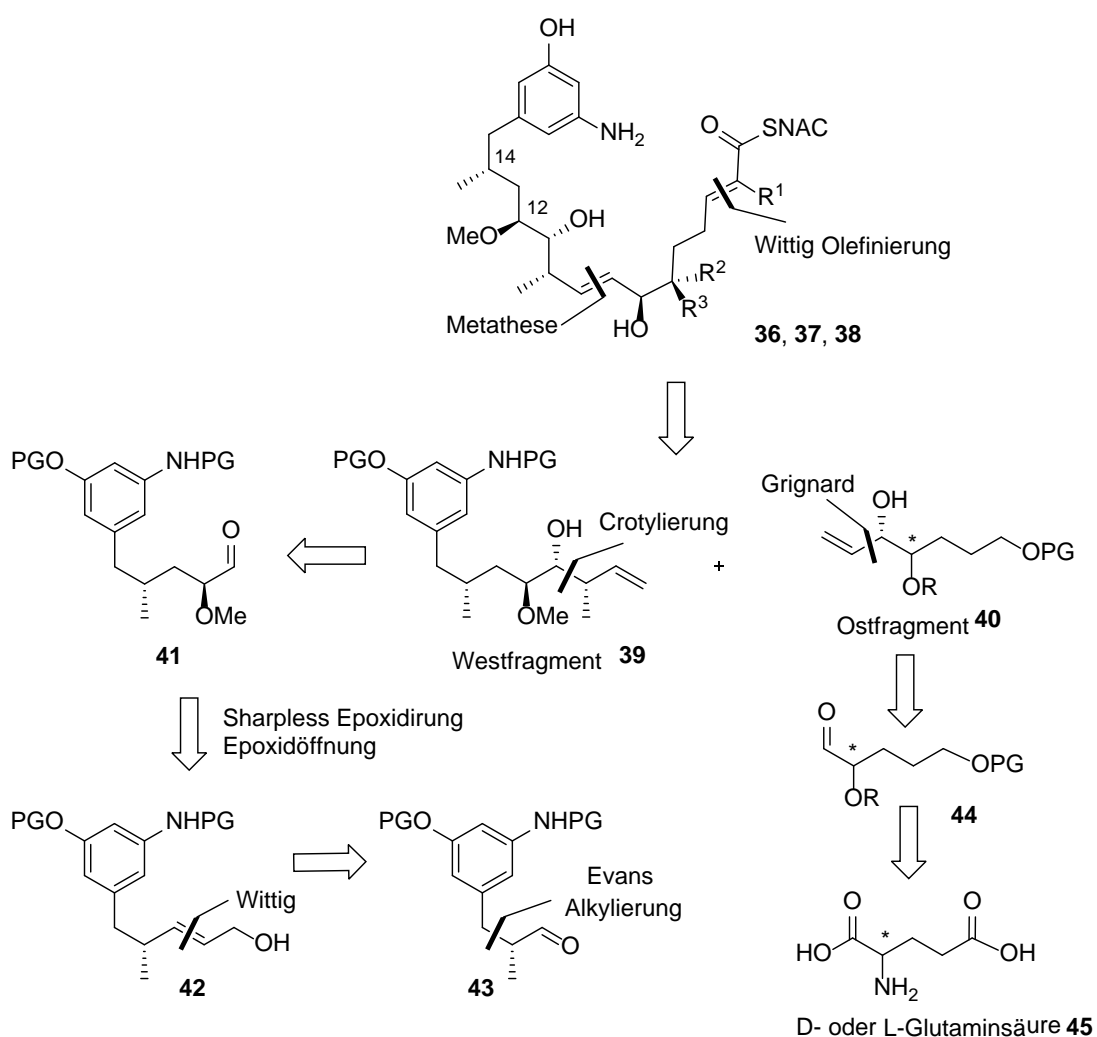
Um eine Aufladung der synthetisierten *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate auf das PKS-Modul zu ermöglichen, sollten diese als *N*-Acetylcysteamin-Thioester (SNAC-Ester) synthetisiert werden.⁴⁹

Die Synthese der *seco*-Säure-Derivate sollte zum einem konvergent und modular aufgebaut sein, um einen späteren Zugang zu Derivaten zu erleichtern, zum anderem auf die vorherigen Arbeiten in der Arbeitsgruppe KIRSCHNING und auf schon bekannte Methoden basieren, um einen schnellen Zugang zu Substraten für die weiteren biologischen Transformationen zu ermöglichen.

Im Schema 8 ist die geplante Synthesestrategie dargestellt. Analog zu vorherigen Arbeiten wurde der SNAC-Ester der *seco*-Progeldanamycinsäure retrosynthetisch in zwei Hauptfragmente geteilt, welche mittels Olefin-Metathese verknüpft werden sollten. Die Einführung des SNAC-Esters sollte durch eine WITTIG-Reaktion realisiert werden.

Eine selektive ROUSH-Crotylierung sollte den Zugang zum Westfragment **39** ausgehend von Aldehyd **41** ermöglichen. Die Synthese von Aldehyd **41** wurde bereits von MONIKA VOGT entwickelt und optimiert und wurde in der vorliegenden Arbeit analog durchgeführt. Die Schlüsselschritte der Synthese des Aldehyds **41** sind SHARPLESS-Exoxidierung mit anschließender Epoxidöffnung zum Aufbau des Stereozentrums an C-12 und EVANS-Alkylierung zum Aufbau des Stereozentrums an C-14.

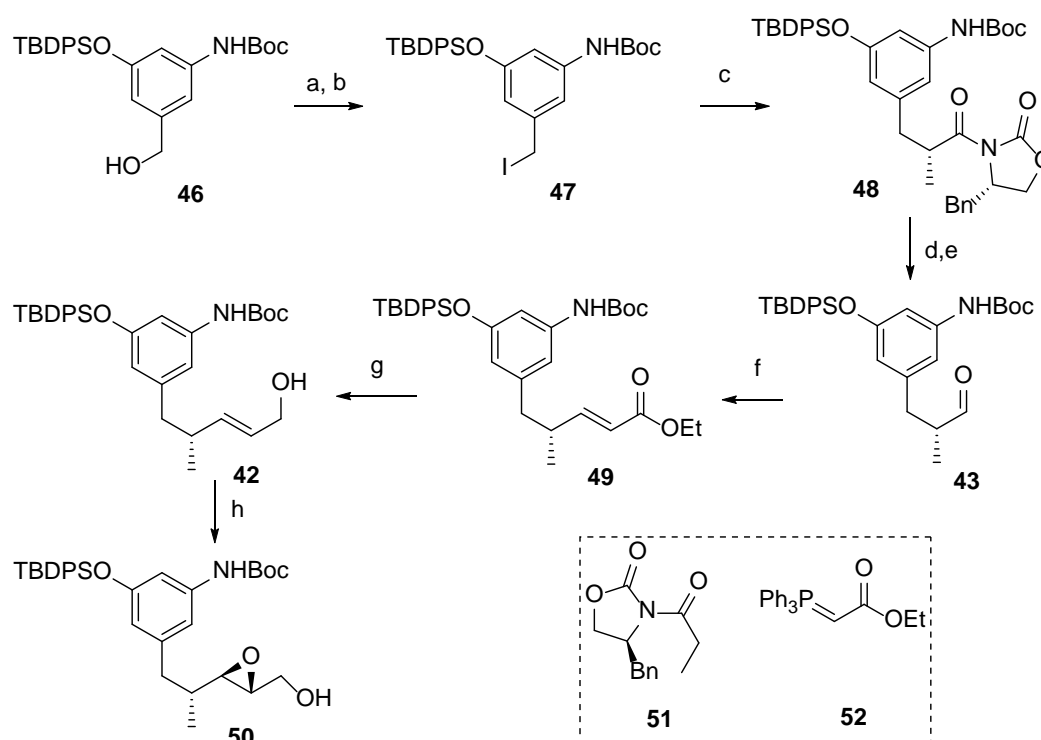
Die Einführung der terminalen Doppelbindung in Ostfragment **40** sollte durch *syn*- oder *anti*-selektive GRIGNARD-Addition zum Aldehyd **44** realisiert werden. Die Synthese von Aldehyd **44** sollte ausgehend von kommerziell erhältlicher Glutaminsäure **45** durchgeführt werden, wobei die Konfiguration der Glutaminsäure **45** abhängig von der Stereochemie, die in Endprodukt vorgesehen war, ausgewählt werden sollte.



Schema 8: Retrosynthese des SNAC-Esters von *seco*-Progeldanamycinsäure.

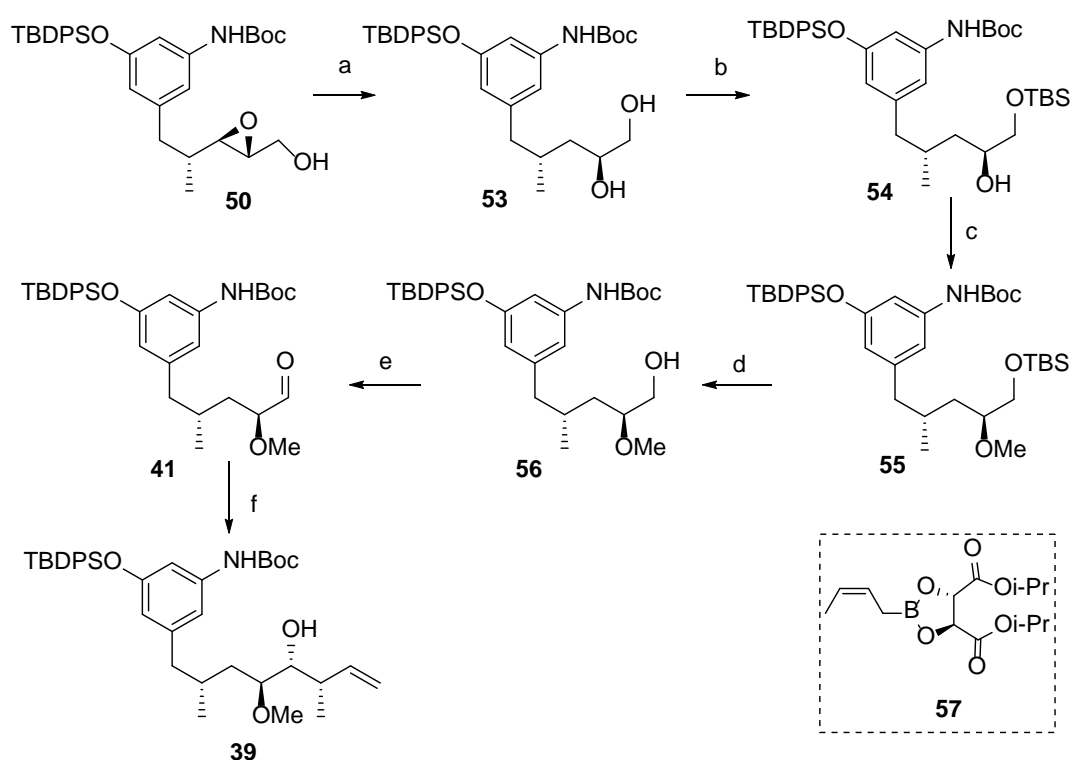
4.1.3. Synthese des Westfragments 39

Die Synthese von Westfragment **39** startet mit TBDPSO und Boc-geschützten Benzylalkohol **46**, welcher von MONIKA VOGT ausgehend von 3,5-Dihydroxybenzoesäure in fünf Stufen synthetisiert und zur Verfügung gestellt wurde.^{54a} Zunächst wurde Benzylalkohol **46** in APPEL-Reaktion mit anschließender FINKELSTEIN-Reaktion in das Iodid **47** überführt (Schema 9). Die darauf folgende EVANS-Alkylierung lieferte das gewünschte Produkt in guter Ausbeute, wobei nur das gewünschte Diastereomer NMR-spektroskopisch nachweisbar war. Nach der Entfernung des Auxiliars durch Reduktion mit Lithiumborhydrid erfolgte eine DMP-Oxidation zum Aldehyd **43** mit anschließender WITTIG-Reaktion mit Phosphorylid **52**. Der so erhaltene α,β -ungesättigte Ester **49** wurde zum Allylalkohol reduziert und anschließend per SHARPLESS-Epoxidierung zum korrespondierenden Epoxid **50** umgesetzt, wobei ein Diastereomerenüberschuss von mehr als 10:1 erreicht werden konnte.



Schema 9: Synthese des Epoxids **50**; Reaktionsbedingungen: a) PPh_3 , CBr_4 , CH_2Cl_2 , RT, 30 min, 93 %; b) NaI, Aceton, RT, 2 h, 98 %; c) Oxazolidinon (*S*)-**51**, LDA, THF, -35°C , 13 h, 81 %, *d.r.* $> 10:1$; d) LiBH_4 , Et_2O , 0°C , 1.5 h, 78 %; e) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , RT, 1.5 h, 99 %; f) **52**, CHCl_3 , 50°C , 12 h, 97 %; g) DIBAL-H, CH_2Cl_2 , -78°C , 5 h, 76 %; h) $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$, *t*-BuOOH, D-(-)-DET, Molsieb 4 Å, CH_2Cl_2 , -20°C , 95 %, *d.r.* $> 10:1$.

Durch die Umsetzung des Epoxids **50** mit DIBAL-H konnte Diol **53** in 85 % Ausbeute generiert werden (Schema 10). Nach der TBS-Schützung des primären Alkohols konnte die selektive Methylierung der Hydroxygruppe in guter Ausbeute realisiert werden. Im nächsten Schritt erfolgte die selektive TBS-Entschützung mit anschließender DMP-Oxidation. Der so erhaltene Aldehyd **41** konnte als nächstes im Schlüsselschritt der Synthese des Westfragments erprobt werden. Für die stereoselektive Crotylierung wurde in der Totalsynthese des Reblastatins beschriebene⁵⁶ ROUSH-Crotylierung mit dem Boronat **57** vorgesehen. Das Boronat wurde in zwei Stufen ausgehend von *cis*-Buten und (*S,S*)-Di-*iso*-propyltartrat synthetisiert. Die Umsetzung des Aldehyds **41** mit Boronat **57** lieferte das gewünschte Westfragment **39** in fast quantitativer Ausbeute, wobei nur Spuren von dem ungewünschten Diastereomer detektiert wurden, die mittels Flash-Chromatographie abgetrennt werden konnten.



Schema 10: Synthese des Westfragments **39**; Reaktionsbedingungen: a) DIBAL-H, Et₂O, RT, 5 h, 85 %; b) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 0 °C, 20 min, 74 %; c) Protonenschwamm, Me₃OBF₄, CH₂Cl₂, RT, 1 h, 89 %; d) LiBF₄, MeCN, CH₂Cl₂, RT, 2 d, 75 %; e) DMP, NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, 1.5 h, quant.; f) **57**, Molsieb 4 Å, Toluol, -78 °C, 20 h, 97 %, *d.r.* > 10:1.

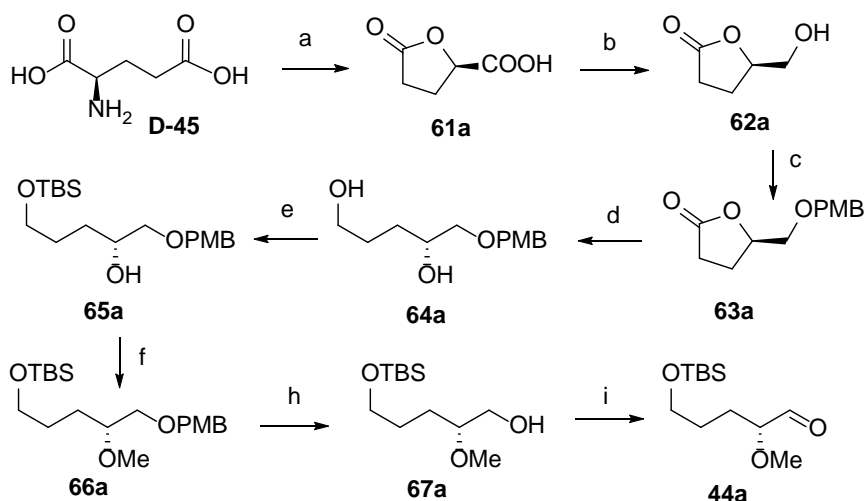
⁵⁶ I. E. Wrona, A. E. Gabarda, G. Evano, J. S. Panek, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15026-15027.

Insgesamt konnte das Westfragment **39** in 14 Stufen und einer Gesamtausbeute von 16 % synthetisiert werden.

4.1.4. Synthese der Ostfragmente **58**, **59** und **60**.

4.1.4.1. Synthese des Ostfragments **58**

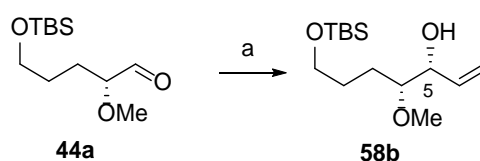
Die Synthese des Ostfragments **58** beginnt mit der Diazotierung von kommerziell erhältlichlicher D-Glutaminsäure (D-**45**) (Schema 11). Als nächstes sollte die Säurefunktion in Anwesenheit vom Ester selektiv reduziert werden. Dieses gelang mit dem Boran Dimethylsulfid Komplex.⁵⁷ Anschließend wurde die freie Hydroxygruppe unter Verwendung von *p*-Methoxybenzyltrichloacetimidat PMB geschützt. Im nächsten Schritt erfolgte die Reduktion des Lactons zum Diol **64a**, welche unter Verwendung von Lithiumaluminiumhydrid in guter Ausbeute verlief. Nach Silyl-Schätzung des primären Alkohols konnte die selektive Methylierung der Hydroxygruppe an C-4 durchgeführt werden. Die Entfernung der PMB-Schutzgruppe verlief ohne Probleme und lieferte Alkohol **67a** in 89 % Ausbeute, welcher anschließend mit Hilfe vom DMP-Reagenz zum Aldehyd **44a** oxidiert wurde.



Schema 11: Synthese des Aldehyds **44a**; Reaktionsbedingungen: a) NaNO_2 , HCl , H_2O , 0°C , 2 h, RT, 12 h, 67 %; b) $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$, THF, RT, 3 h, 93 %; c) PMB-Trichloracetimidat, CSA, CH_2Cl_2 , RT, 24 h, 81 %; d) LiAlH_4 , THF, 0°C , 30 min, 79 %; e) TBSCl, Imidazol, CH_2Cl_2 , RT, 1 h, 90 %; f) NaH, MeI, THF, RT, 24 h, 76 %; h) DDQ, CH_2Cl_2 , Phosphatpuffer (pH 7), RT, 1.5 h, 89 %; i) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , RT, 1 h, quant.

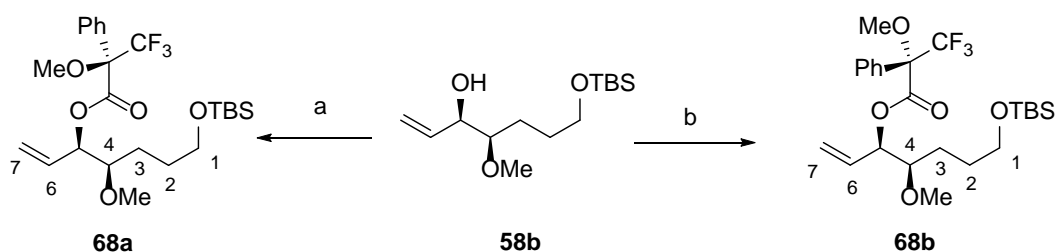
⁵⁷ C. Herdeis, *Synth. Commun.* **1986**, 232-233.

Der Schlüsselschritt in der Synthese des Ostfragments ist die GRIGNARD-Addition zum α -chiralen Aldehyd, wobei die Stereoselektivität der Reaktion durch die α -Methoxygruppe kontrolliert werden sollte. Unter Standard-GRIGNARD-Reaktionsbedingungen ließ sich nur ein Diastereomerenüberschuss von 3:1 erreichen, wobei statt des gewünschten *anti*-Produkts **58a** das *syn*-Produkt **58b** als Hauptdiastereomer gebildet wurde (Schema 12). Der Diastereomerenüberschuss wurde mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestimmt, wobei die Signale von H-5 integriert wurden.



Schema 12: Synthese des Ostfragments **58b**; Reaktionsbedingungen: a) VinylMgBr, Et₂O, -78 °C, 35 min, 62 %, *d.r.* 3:1 = *syn:anti*.

Zur Überprüfung der absoluten Konfiguration an C-5 wurde der sekundäre Alkohol in guter Ausbeute in die entsprechenden MOSHER-Ester **68a**, **68b** überführt und NMR-spektroskopisch untersucht (Schema 13, Tabelle 2).



Schema 13: Synthese der MOSHER-Ester **68a**, **68b**; Reaktionsbedingungen: a) (*S*)-MOSHER Säurechloride, NEt₃, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 20 h, 96 %; b) (*R*)-MOSHER Säurechloride, NEt₃, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 20 h, 91 %.

Die MOSHER-Ester Analyse basiert auf dem Befund, dass die Protonen der beiden Diastereomeren der α -Methoxy- α -trifluoromethylphenylelessigsäure (MTPA) Ester verschiedene Änderungen der chemischen Verschiebungen (δ) in ihren $^1\text{H-NMR}$ Spektren zeigen. Aufgrund des Ringstromeffekts des Phenylrings werden die $^1\text{H}_{\text{a,b,c}}$ -NMR-Signale des (*R*)-MTPA-Esters im Vergleich zu denen des (*S*)-Esters diamagnetisch verschoben. Für die $^1\text{H}_{\text{x,y,z}}$ -NMR-Signale gilt dies entsprechend entgegengesetzt. Wie in Abbildung 14 dargestellt ist, haben die Protonen auf der linken Seite negative, die auf den rechten Seite positive

$\Delta\delta$ - Werte, wobei $\Delta\delta = \delta_S - \delta_R$ die Differenz der chemischen Verschiebungen eines NMR-Signals des (*S*)- und (*R*)-Esters ist.⁵⁸

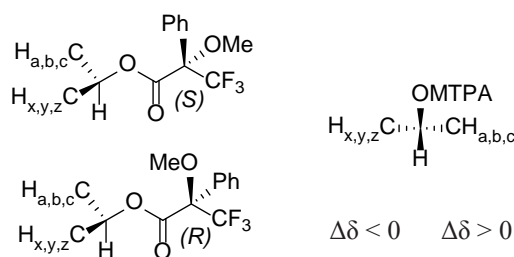


Abbildung 14: MOSHER-Ester Analyse.

Tabelle 2: Auswertung von ¹H-NMR von MOSHER-Estern **68a** und **68b**.

Signal	δ <i>S</i> -MOSHER-Ester [ppm]	δ <i>R</i> -MOSHER-Ester [ppm]	$\delta_S - \delta_R$
H-6	5.84	5.74	0.10
H-7a	5.43	5.32	0.11
H-7b	5.34	5.28	0.06
H-4	3.27	3.34	-0.07
OMe	3.24	3.38	-0.14

Im diesem Fall konnte durch die Analyse von ¹H-NMR-Daten von den beiden MOSHER-Estern **68a** und **68b** die gezeigte *syn*-Konfiguration bestätigt werden.

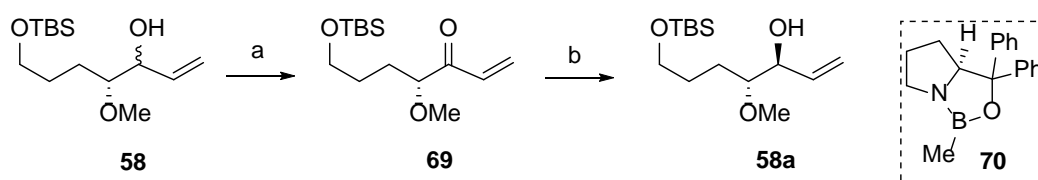
Da statt des gewünschten *anti*-Produktes **58a** das *syn*-Produkt **58b** als Hauptdiastereomer gebildet wurde, wurden die Reaktionsbedingungen der GRIGNARD-Reaktion modifiziert. Trotz einer Erniedrigung der Reaktionstemperatur sowie Wechsel des Lösungsmittels konnte jedoch keine wesentliche Verbesserung der Diastereoselektivität erreicht werden (Tabelle 3).

Tabelle 3: Optimierung der GRIGNARD-Reaktion.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ausbeute, % (<i>d.r.</i> = <i>anti:syn</i>)
1	Et ₂ O, -78 °C, 35 min	62 %, (1:3.3)
2	Et ₂ O, -90 °C, 35 min	57 % (1:3)
3	THF, -90 °C, 35 min	50 % (1:4)

⁵⁸T. R. Hoye, C. S. Jeffrey, F. Shao, *Nat. Protoc.* **2007**, 2451-2458.

Da die Versuche zur *anti*-stereoselektiven GRIGNARD-Addition erfolglos verliefen und nicht trennbare Diastereomergemische im Verhältnis 3:1 (*syn:anti*) lieferten, sollte das Diastereomergemisch vollständig in das gewünschte *anti*-Diastereomer überführt werden. Dies sollte durch Oxidation des Alkohols mit darauffolgender selektiver Reduktion gelingen. Das Keton **69** wurde dazu in guter Ausbeute durch Oxidation mit DMP-Reagenz generiert. Zur diastereoselektiven Reduktion wurde das Keton **69** unter Verwendung von (*S*)-Methyl-CBS-oxazaborolidin (**70**)⁵⁹ zum Alkohol **58a** umgesetzt (Schema 14). Allerdings konnte nur ein Diastereomerenüberschuss von 3:1 (*anti:syn*) erhalten werden, wobei anzumerken ist, dass für große Ansätze längere Komplexierungszeiten zwischen Substrat und CBS-Reagenz **70** erforderlich waren (Tabelle 4).



Schema 14: Synthese des Ostfragments **58b**; Reaktionsbedingungen: a) DMP, NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, 1 h, 99 %; b) BH₃*SMe₂, siehe Tabelle 4.

Tabelle 4: Bedingungen für die CBS-Reduktion.

Eintrag	Einsatz	Reaktionsbedingungen	Ausbeute (<i>anti:syn</i>)
1 ^a	10 mg	(<i>S</i>)-CBS (6.0 Äq.), BH ₃ *SMe ₂ , -78 °C, 2 h	70 % (3:1)
2 ^a	500 mg	(<i>S</i>)-CBS (1.5 Äq.), BH ₃ *SMe ₂ , -78 °C, 4 h	81 % (1:1)
3 ^{a,b}	300 mg	(<i>S</i>)-CBS (2.0 Äq.), BH ₃ *SMe ₂ , -78 °C, 4 h	77 % (1:1)
4 ^{a,c}	45 mg	(<i>S</i>)-CBS (6.0 Äq.), BH ₃ *SMe ₂ , -78 °C, 4 h	75 % (2:1)
5 ^{a,d}	2* 60 mg	(<i>S</i>)-CBS (6.0 Äq.), BH ₃ *SMe ₂ , -78 °C, 4 h	78 % (3:1)

^a (*S*)-CBS wurde bei -78 °C zugegeben; ^b (*S*)-CBS wurde vorher in THF gelöst; ^c 1.5 h Lewisäure-Substrat Komplexierungszeit, ^d 3 h Lewisäure-Substrat Komplexierungszeit.

Da die CBS-Reduktion ebenfalls nicht zum gewünschten Erfolg führte, was auf die geringen sterischen Unterschiede zwischen beiden Substituenten des Ketons zurückgeführt werden kann, wurde zu einer anderen Strategie gewechselt. Die falsche Diastereoselektivität aus der GRIGNARD-Reaktion mit Vinylmagnesiumbromid könnte mit der Bildung eines CRAM-

⁵⁹ E. J. Corey, C. J. Helal, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1986-2012; *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2092-2118.

Chelatkomplexes mit der Methoxygruppe erklärt werden (Abbildung 15). Um diese Chelatisierung zu vermeiden, können Organolithium-Verbindungen verwendet werden.

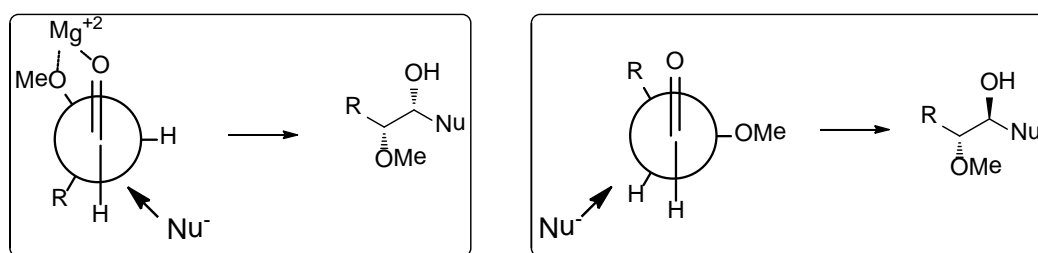
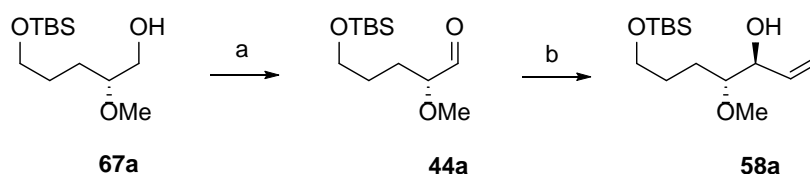


Abbildung 15: Stereoselektivität der GRIGNARD-Reaktion.

Vinylolithium ist nicht kommerziell erhältlich, aber kann in einer Stufe, ausgehend von Tetravinylzinn, hergestellt werden.⁶⁰ Zunächst wurde Alkohol **67a** unter SWERN-Bedingungen in den Aldehyd **44a** überführt (Schema 15). Die anschließende Vinylolithium Addition lieferte das Ostfragment **58a** in guter Ausbeute. Allerdings konnte nur eine Diastereoselektivität von 4:1 (*anti:syn*) erreicht werden.



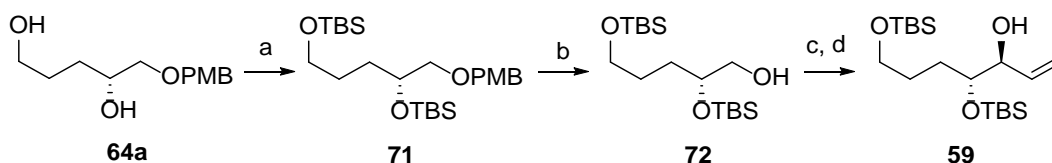
Schema 15: Synthese des Ostfragments **58a**; Reaktionsbedingungen: a) $(\text{ClCO})_2$, DMSO, DIPEA, CH_2Cl_2 , $-60\text{ }^\circ\text{C}$, 1,5 h; b) Vinylolithium, Et_2O , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h, 67 % über 2 Stufen, *d.r.* 4:1 = *anti:syn*.

Insgesamt konnte das Ostfragment **58** erfolgreich in neun Stufen und einer Gesamtausbeute von 17,8 % als Diastereomerenmischung im Verhältnis 4:1 (*anti:syn*) synthetisiert werden. Um eine bessere Diastereoselektivität zu erreichen, sollte zunächst die Kupplung von Westfragment **39** und Ostfragment **58** durchgeführt und dann das Diastereomerenmischung vollständig in das gewünschte *anti*-Diastereomer überführt werden. Diese Strategie ist im Kapitel 4.1.5.3. beschrieben.

⁶⁰ P. A. Bartlett, J. D. Meadows, E. Ottow, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5304-5311.

4.1.4.2. Synthese des Ostfragments 59

Die Synthese des Ostfragments **59** gelang ausgehend von Diol **64a** (Schema 16). Zunächst wurden die beide Hydroxygruppen TBS-geschützt. Anschließend wurde die PMB-Schutzgruppe abgespalten und freie Hydroxygruppe unter Verwendung von DMP-Reagenz oxidiert. Der so erhaltene Aldehyd konnte direkt in der GRIGNARD-Reaktion erprobt werden.



Schema 16: Synthese des Ostfragments **59**; Reaktionsbedingungen: a) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, RT, 2.5 h, 86 %; b) DDQ, CH₂Cl₂, Phosphatpuffer (pH 7), RT, 1.5 h, 85 %; c) DMP, NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, 1 h, 95 %; j) VinylMgBr, siehe Tabelle 5.

Tabelle 5: Optimierung der GRIGNARD-Reaktion.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ausbeute, % (<i>anti:syn</i>)
1	Et ₂ O, -78 °C, 35 min	65 % (4:1)
2	Et ₂ O, -90 °C, 35 min	60 % (7:1)
3	THF, -90 °C, 35 min	56 % (4:1)

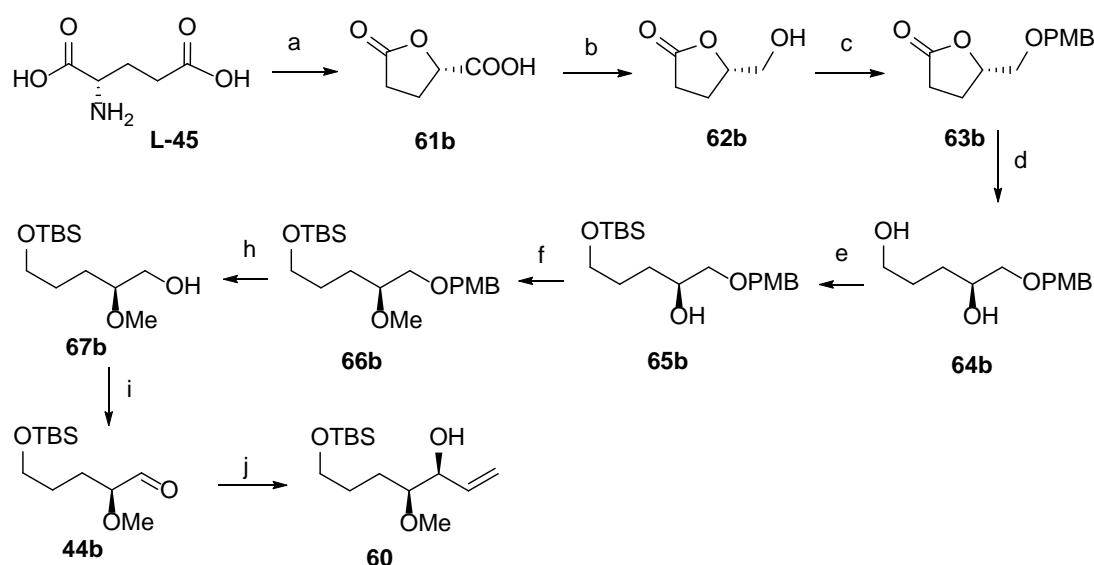
Unter Standard-GRIGNARD-Reaktionsbedingungen konnte das gewünschte Ostfragment in guter Ausbeute als Diastereomergemisch von 4:1 (*anti:syn*) erhalten werden (Tabelle 5, Eintrag 1). Die Diastereoselektivität der Reaktion konnte durch eine Absenkung der Reaktionstemperatur auf 7:1 (*anti:syn*) erhöht werden (Eintrag 2). Beim Wechsel des Lösungsmittels auf THF konnte allerdings keine Verbesserung der Stereoselektivität erreicht werden (Eintrag 3).

Weitere Optimierungen der Reaktion wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt, da ein Diastereomenüberschuss von 7:1 für die Zielsetzung der Arbeit ausreichend war. Die Diastereomere konnten allerdings weder mittels Säulen-Chromatographie noch mittels präparativer-HPLC getrennt werden und wurden zunächst als Gemisch weiter verwendet.

Insgesamt konnte die Synthese des Ostfragments **59** in acht Stufen und einer Gesamtausbeute von 17 % realisiert werden.

4.1.4.3. Synthese des Ostfragments **60**

Für die Synthese von Ostfragment **60** mit natürlicher Stereochemie wurde die im Kapitel 4.1.4.1. beschriebene Strategie verwendet. Die Diazotierung von L-Glutaminsäure (**L-45**) und anschließende Reduktion der Säurefunktion lieferte Alkohol **62b** in guter Ausbeute (Schema 17). Die darauf folgende PMB-Schützung verlief unter Verwendung von *p*-Methoxybenzyltrichloacetimidat in geringer Ausbeute, wurde aber nicht weiter optimiert, da genügend Substanz für die weitere Synthese vorhanden war. Das so erhaltene Lacton **63b** wurde durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in das korrespondierende Diol **64b** umgesetzt, welches anschließend in zwei Stufen in den geschützten Alkohol **66b** überführt wurde. Nach PMB-Entschützung und nachfolgende Oxidation der Hydroxygruppe zum Aldehyd **44b** konnte die *syn*-selektive GRIGNARD-Reaktion getestet werden.



Schema 17: Synthese des Ostfragments **60**; Reaktionsbedingungen: a) NaNO_2 , HCl , H_2O , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, RT, 12 h, 51 %; b) $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$, THF, RT, 3 h, 97 %; c) PMB-Trichloroacetimidat, CSA, CH_2Cl_2 , RT, 24 h, 30 %; d) LiAlH_4 , THF, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min, 79 %; e) TBSCl, Imidazol, CH_2Cl_2 , RT, 1 h, 99 %; f) NaH, MeI, THF, RT, 24 h, 88 %; h) DDQ, CH_2Cl_2 , Phosphatpuffer (pH 7), RT, 1.5 h, 92 %; i) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , RT, 1 h, quant.; j) VinylMgBr, siehe Tabelle 6.

Wie im Kapitel 4.1.4.1. beschrieben, konnte unter Standard-GRIGNARD-Reaktionsbedingungen nur ein Diastereomerenüberschuss von 3:1 (*syn:anti*) erreicht werden. Es ist bekannt, dass das Lösungsmittel und die Reaktionstemperatur die Stereoselektivität der Addition auch in Richtung *syn*-Selektivität beeinflussen können, wobei Toluol als bestes

Lösungsmittel für die *syn*-selektive Addition beschrieben wurde.⁶¹ Die Umsetzung des Aldehyds **44b** mit Vinylmagnesiumbromid in Toluol bei -20 °C lieferte einere bessere Diastereoselektivität von 6.5:1 (*syn:anti*) (Tabelle 6, Eintrag 1). Die andere Möglichkeit für die *syn*-selektive Addition besteht in der Verwendung von Lewis Säuren.⁶² Unter Verwendung von Magnesiumbromid konnte das gewünschte Ostfragment **60** in guter Ausbeute und mit gutem Diastereomerenüberschuss von 7.2:1 (*syn:anti*) generiert werden (Eintrag 2).

Tabelle 6: Bedingungen für *syn*-selektive GRIGNARD Reaktion.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ausbeute (<i>syn:anti</i>)
1	Toluol, -20 °C, 2 h →RT	46 % (6.5:1)
2	MgBr ₂ *OEt ₂ , CH ₂ Cl ₂ , -78 °C, 3 h →RT	51 % (7.2:1)

Auch in diesem Fall konnten die beiden Diastereomeren nicht voneinander getrennt werden und wurden als Gemisch weiter umgesetzt. Insgesamt konnte das Ostfragment **60** erfolgreich in neun Stufen und einer Gesamtausbeute von 4.8 % als 7:1 (*syn:anti*) Diastereomeregemisch synthetisiert werden.

4.1.5. Abschluss der Totalsynthese

In den folgenden Unterkapiteln werden nun die abschließenden Synthesestufen zu den geplanten *seco*-Säure-Derivaten beschrieben.

4.1.5.1. Optimierung der Olefin-Metathese

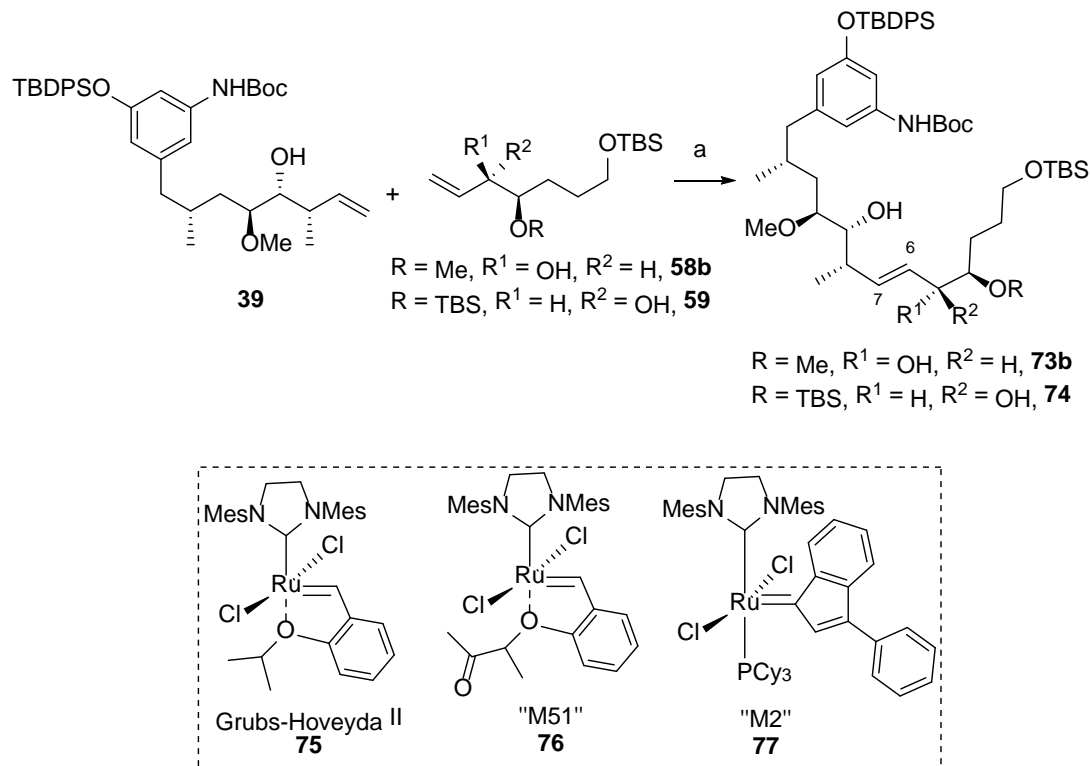
Die Verknüpfung der Fragmente sollte mittels Olefin-Metathese geschehen. Das grundsätzliche Problem hierbei ist, dass die Olefine auch Homodimerisierung eingehen können. Um diese unerwünschte Reaktion zu verhindern, sollte eines der beiden Fragmente im Überschuss eingesetzt werden. Da sich die Synthese des Westfragments als wesentlich aufwendiger erwies, wurde entschieden, das Ostfragment im Überschuss einzusetzen.

Da zu dem Zeitpunkt nur die Synthese der Ostfragmente **58b** und **59** abgeschlossen war, sollte die Metathese mit diesen Fragmenten erprobt und optimiert werden (Schema 18). Zunächst

⁶¹ J. Luo, X. Yu, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 2450-2453.

⁶² D. C. Ebner, J. T. Bagdanoff, E. M. Ferreira, R. M. McFadden, D. D. Caspi, R. M. Trend, B. M. Stoltz, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 12978-12992.

wurde die Olefin-Metathese unter Verwendung der von SASCHA CEYLAN optimierten Bedingungen^{54b} untersucht (Tabelle 7, Einträge 1 und 2). Die gewünschten Produkte konnten in moderaten Ausbeuten von 43 % und 33 % isoliert werden. Die Kopplungskonstanten von H-6 zu H-7 von 15.5 Hz bzw. 15.2 Hz deuteten auf eine *E*-Doppelbindung in den hergestellten Produkten **74** und **73b** hin. Um bessere Ausbeuten zu erhalten wurden die Reaktionsbedingungen bezüglich Temperatur, Lösungsmittel und Katalysator modifiziert. Bei dem Wechsel des Katalysators von GRUBBS-HOVEYDA II (**75**) zu M51 (**76**) und M2 (**77**) konnte das gewünschte Produkt **74** nur in Spuren identifiziert werden (Einträge 3 und 4). Bei der Erhöhung der Temperatur stieg die Homodimerisierungsgrad, wobei auch die Verwendung von 2.5 statt 1.7 Äquivalenten des Ostfragments nicht zur Verbesserung der Ausbeute führte (Einträge 5 und 6). Ebenfalls lieferte die Erniedrigung der Temperatur auf Raumtemperatur und Verlängerung der Reaktionszeit nur die geringen Menge des Produktes **74** (Eintrag 7). Beim Wechsel des Lösungsmittels auf Toluol konnte nur 16 % des Produktes isoliert werden. Jedoch konnte die Verbesserung der Ausbeuten durch zusätzliche Zugabe von Katalysator alle 10 h erreicht werden, wobei das Produkt **73b** in 47 % und das Produkt **74** in 51 % Ausbeute isoliert werden konnten (Einträge 8 und 9).



Schema 18: Optimierung der Olefin-Metathese Reaktion; Reaktionsbedingungen: siehe Tabelle 7.

Tabelle 7: Optimierung der Olefin-Metathese Reaktion.

Eintrag	R	Reaktionsbedingungen					Ergebnis
		Katalysator	Lösungsmittel	t, °C	Zeit, h	58b, 59, Äq.	
1	TBS	75	(CH ₂ Cl) ₂	40	48	1.7	43 %
2	Me	75	(CH ₂ Cl) ₂	40	48	1.7	33 %
3	TBS	76	(CH ₂ Cl) ₂	40	48	3.0	Spuren
4	TBS	77	(CH ₂ Cl) ₂	40	48	3.0	Spuren
5	Me	75	(CH ₂ Cl) ₂	80	16	1.7	29 %
6	TBS	75	(CH ₂ Cl) ₂	60	48	2.5	24 %
7	TBS	75	(CH ₂ Cl) ₂	RT	144	1.7	wenig
8	TBS	75	Toluol	80	24	3.0	16 %
9*	TBS	75	(CH ₂ Cl) ₂	40	48	3.0	51 %
10*	Me	75	(CH ₂ Cl) ₂	40	48	3.0	47 %

* Zugabe von Katalysator alle 10 h

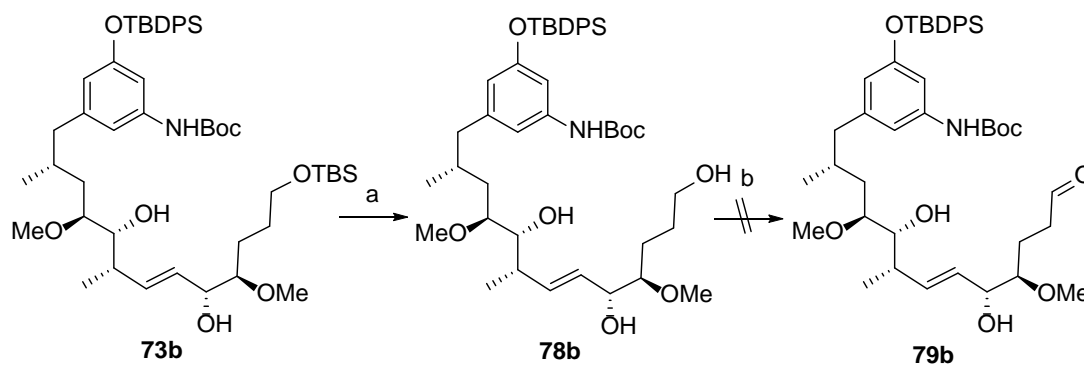
Im Fall von Produkt **74** konnte das unerwünschte C-5-*epi* Diastereomer mittels präparativer-HPLC abgetrennt werden.

4.1.5.2. Synthese des SNAC-Esters von 2,8-desdi-Methyl-6,7-*epi-seco*-Progeldanamycin (**37b**)

Aus den vorherigen Arbeiten war bekannt, dass die offenkettigen *seco*-Säure-Derivate sehr labil sind und die Handhabung dieser Derivate sehr schwierig sein kann. Während der Entschützung der Boc- oder Silylschutzgruppen könnten diverse Eliminierungen auftreten. Zusätzlich wurde die Instabilität der Thioester gegenüber Hydrolyse mehrfach in der Literatur beschrieben. Deswegen sollen für die letzten Stufen der Totalsynthese zunächst möglichst milde Reaktionsbedingungen erprobt werden. Die Testreaktionen sollen in einem sehr kleinen Maßstab durchgeführt werden, wobei der Ablauf der Reaktionen massenspektrometrisch verfolgt werden soll, um die Reaktion im richtigen Moment zu stoppen und die Zersetzung des Eduktes oder Produktes zu verhindern.

Für die Optimierung des Abschlusses der Totalsynthese wurde zunächst das Produkt **73b** als Diastereomerenmischung im Verhältnis 4:1 (5*R*:5*S*) verwendet. Zunächst sollte die primäre Hydroxygruppe zum Aldehyd oxidiert und in einer WITTIG-Reaktion zum SNAC-Ester umgesetzt werden. Die selektive Entschützung der TBS-Gruppe erfolgte unter Verwendung

von α -Camphorsulfonsäure⁶³ und lieferte Alkohol **78b** in guter Ausbeute (Schema 19). Für die selektive Oxidation der primären Hydroxygruppe in Anwesenheit von Sekundären war die TEMPO-Oxidation^{64,54b} vorgesehen. Allerdings lieferte die Reaktion ein komplexes Gemisch, wobei der gewünschte Aldehyd **79b** mittels Massenspektrometrie nicht identifiziert werden konnte.



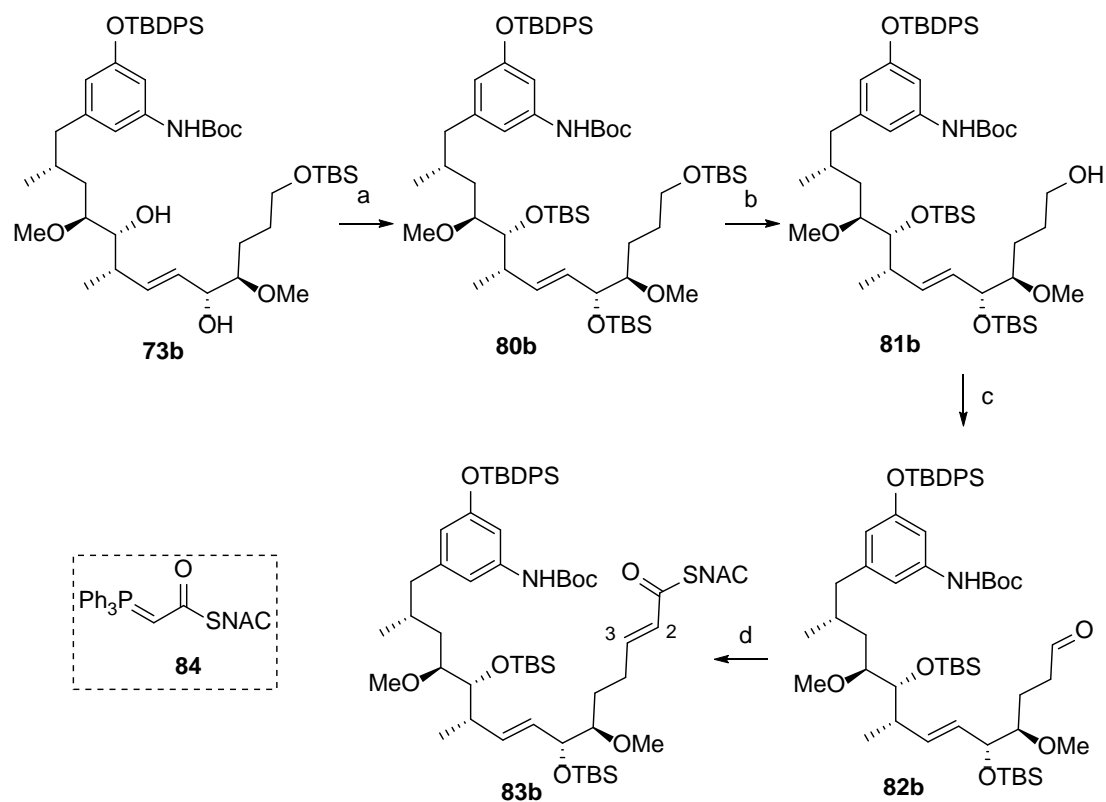
Schema 19: Synthese des Aldehyds **79b**; Reaktionsbedingungen: a) CSA, CH₂Cl₂/MeOH (3:2), 0 °C, 4 h, 88 %; b) TEMPO, PhI(OAc)₂, CH₂Cl₂, RT, 5 h.

Um Nebenreaktionen während der Oxidation zu vermeiden, sollten andere Oxidationsmethoden erprobt werden. Dafür sollte zunächst die freien Hydroxygruppen TBS-geschützt werden. Die Schützung verlief glatt und lieferte das gewünschte Polyol **80b** in guter Ausbeute von 88 % (Schema 20). Nach der selektiven Entfernung der primären TBS-Gruppe konnte die DMP-Oxidation durchgeführt werden und der gewünschte Aldehyd **82b** erhalten werden. Im nächsten Schritt erfolgte die WITTIG-Reaktion mit dem SNAC-Ester von Phosphorylid **84**, wobei das gewünschte (*E*)-Isomer ($J_{H_2-H_3} = 15.7$ Hz) in sehr guter Ausbeute gebildet wurde. Der SNAC-Ester von Phosphorylid **84** wurde von GERRIT JÜRJENS hergestellt und zur Verfügung gestellt.⁶⁵

⁶³ R. D. Crouch, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5833-5871.

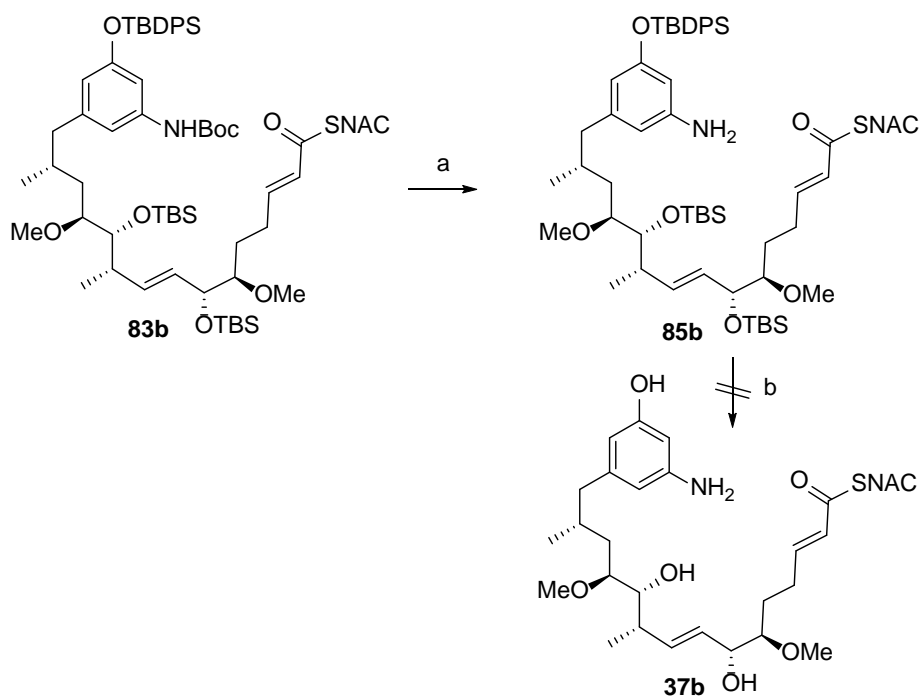
⁶⁴ S. Barriga, *Synlett* **2001**, 563.

⁶⁵ G. Jürjens, Masterarbeit, *Synthese von (R/S)-S-2-Acetamidoethyl-3-(3-amino-5-hydroxyphenyl) butanthioat als Mutasynton in der Ansamitocin Mutasyntese*. Leibniz Universität Hannover, Hannover **2010**.



Schema 20: Synthese des SNAC-Esters **83b**; Reaktionsbedingungen: a) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , RT, 3 h, 88 %; b) CSA, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (3:2), 0 °C, 4 h, 83 %; c) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , RT, 1 h, 70 %; d) **84**, CHCl_3 , 40 °C, 24 h, 83 %, $E/Z > 10:1$.

Zunächst sollten die Schutzgruppen abgespalten werden. Die ersten Versuche zur Boc-Eenschutzung mit Trifluoressigsäure schlugen fehl. Allerdings konnte nach der Modifizierung der Reaktionsbedingungen bezüglich Konzentration und Äquivalenten der Säure das gewünschte Anilin **85b** in guter Ausbeute von 80 % erhalten werden (Schema 21, Tabelle 8).



Schema 21: Versuche zur Synthese des SNAC-Esters **37b**; a) TFA, CH₂Cl₂, siehe Tabelle 8; b) Reaktionsbedingungen: siehe Tabelle 9.

Tabelle 8: Boc-Entschützung.

Eintrag	Reaktionsbedingungen				Ergebnis
	c _{Edukt} , mg/mL	TFA, Äq.	Zeit, h	t, °C	
1	1	60	3	0	keine Reaktion
2	5	300	2	0	Zersetzung, TBS Entschützung
3	2	300	2	0	66 %
4	2	300	3	0	80 %

Zunächst wurde die TBS- und TBDPS-Entschützung untersucht (Tabelle 9). Unter Verwendung von TBAF bei -78 °C konnte nur die Entfernung der TBDPS-Gruppe festgestellt werden (Eintrag 1). Beim Erwärmen des Reaktionsgemisches auf Raumtemperatur konnte schon nach 5 Minuten weder Produkt noch Edukt massenspektrometrisch identifiziert werden (Eintrag 2). Um die Zersetzungsreaktion zu unterdrücken, wurde zunächst die Strategie verfolgt, die Basizität von TBAF durch Zusatz von Essigsäure zu verringern.⁶⁶ Allerdings fand in diesem Fall auch nach 20 Stunden keine Reaktion statt (Eintrag 3). Die Verlängerung der Reaktionszeit führte lediglich zur Zersetzung des Eduktes (Eintrag 4). Ebenfalls lieferten

⁶⁶ A. B. Smith, G. R. Ott, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13095-13098.

die Umsetzungen mit Flusssäure, entweder als Pyridin Komplex⁶⁷ oder als 48 %-ige wässrige Lösung,⁶⁸ kein gewünschtes Produkt. Stattdessen konnten nur diverse Zersetzungsprodukte detektiert werden (Einträge 5-8). Eine weitere Möglichkeit, Silyl-Schutzgruppen zu entfernen, ist die Verwendung von Lewis-Säuren wie zum Beispiel $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.⁶⁹ Allerdings konnte mit dieser Methode nur die Entschützung der TBS-Gruppen beobachtet werden. Dabei ist anzumerken, dass sich Acetonitril als Lösungsmittel für diese Reaktion besser als Dichlormethan eignete (Einträge 9 und 10).

Tabelle 9: TBS und TBDPS Entschützung.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	TBAF, THF, -78 °C, 2 h	nur TBDPS Entschützung
2	TBAF, THF, -78 °C → RT, 5 min	Zersetzung
3	TBAF, AcOH, THF, RT, 20 h	keine Reaktion
4	TBAF, AcOH, THF, Molsieb 4Å, RT, 7 Tage	Zersetzung
5	HF*Py, THF, RT, 4 h	keine Reaktion
6	HF*Py, THF, RT, 20 h	Produkt (Spuren), Zersetzung
7	HF*Py, Py, THF, RT, 20 h	Zersetzung
8	HF (48 %), THF, 48 h	Zersetzung
9	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , -5 °C, 15 min	Zersetzung
10	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, MeCN, -45 °C → RT, 48 h	nur TBS Entschützung

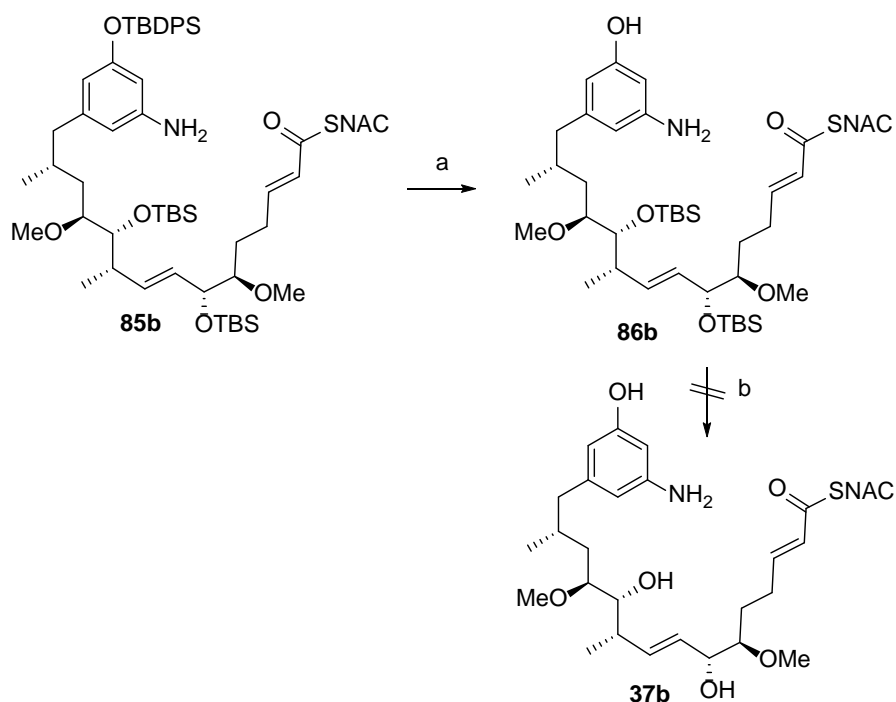
Da die Versuche zur gleichzeitigen TBS- und TBDPS-Entschützung nicht zum gewünschten Erfolg führten, wurde zu einer schrittweisen Vorgehensweise gewechselt. Zunächst sollte die TBDPS-Schutzgruppe unter Verwendung von TBAF bei -78 °C entfernt werden. Anschließend sollten die TBS-Gruppen durch die Umsetzung mit $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ abspalten werden (Schema 22). Die TBAF-Entschützung verlief ohne Probleme und das gewünschte Phenol **86b** konnte in guter Ausbeute von 83 % erhalten werden. Allerdings lieferte die TBS-Entschützung unter Verwendung von $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ nur geringe Menge des gewünschten Produktes, welches auch nicht in reiner Form isoliert werden konnte (Tabelle 10, Einträge 1 und 2). Um die Zersetzungsreaktionen zu unterdrücken und höhere Ausbeute zu erreichen, wurde in der Literatur explizit nach der TBS-Entschützungsmethoden für die labilen SNAC-

⁶⁷ A. Toro, P. Nowak, P. Deslongchamps, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4526-4527.

⁶⁸ J. M. Harris, G. A. O'Doherty, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2983-2986.

⁶⁹ T. Hanadate, K. Takaia, N. Abe, T. Yamada, S. Kuwahara, H. Kiyota, *Heterocycl. Commun.* **2011**, *17*, 93-98.

Ester gesucht. Die Recherche zeigte, dass eine Essig-⁷⁰ oder Ameisensäure⁷¹ katalysierte Entschützung zum gewünschten Produkt führen könnte. Allerdings konnte unter diesen Bedingungen nur Spuren des Produktes **37b** detektiert werden, wobei die Zersetzung des Eduktes auch feststellbar war (Einträge 3 und 4).



Schema 22: Versuche zur TBDPS- und TBS-Entschützung; Reaktionsbedingungen: a) TBAF*3H₂O, THF, -78 °C, 3 h, 83 %; b) siehe Tabelle 10.

Tabelle 10: TBS-Entschützung.

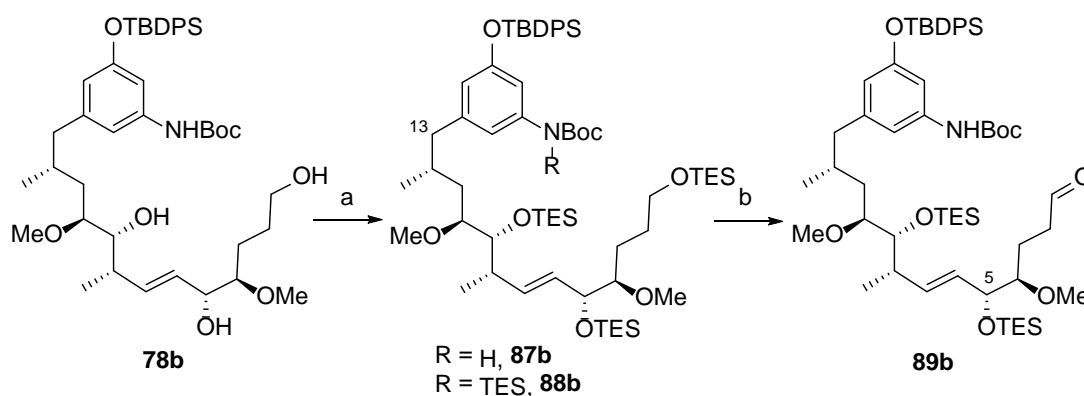
Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	BF ₃ *OEt ₂ , MeCN, RT, 2 Tage	Produkt (Spuren), Zersetzung
2	BF ₃ *OEt ₂ , MeCN, -30 °C, 4 h	Produkt (Spuren), Zersetzung
3	AcOH, THF, H ₂ O, 30 h, 40 °C	Produkt (Spuren), Zersetzung
4	Ameisensäure, THF, H ₂ O, 24 h, RT, 24 h, 40 °C	Produkt (Spuren), Zersetzung

Weitere Versuche zur Entschützung schienen aufgrund dieser Resultate nicht sinnvoll. Es musste also eine alternative Strategie entworfen werden. So sollten die TBS-Gruppen durch TES-Schutzgruppen ersetzt werden. Diese sollten sich wesentlich leichter unter milden Reaktionsbedingungen entfernen lassen. Die Umsetzung von Polyol **78b** mit TESOTf und 2,6-Lutidin lieferte den TES-geschützten Alkohol **87b** in moderater Ausbeute (Schema 23).

⁷⁰ Z. Gao, J. Wang, A. K. Norquay, K. Qiao, Y. Tang, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1735 - 1738.

⁷¹ F. Hahh, N. Kanziora, S. Friedrich, P. F. Leadlay, *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, submitted.

Als Nebenprodukt wurde das zusätzlich am Stickstoffatom silylierte Produkt **88b** erhalten, welches sich trotzdem in der nächsten Stufe einsetzen ließ und dann auch zum gewünschten Produkt führte. Die Strukturaufklärung dieses Derivates **88b** gelang mittels NMR-Spektroskopie, wobei die paramagnetische Verschiebung der Signale des Aromaten und H-13 festgestellt wurde. Als nächstes sollte die geschützte primäre Hydroxygruppe direkt zu dem Aldehyd **89b** oxidiert werden. Dieses gelang unter SWERN-Bedingungen,⁷² wobei anzumerken ist, dass die Reaktion bei -60 °C durchgeführt werden musste, da eine höhere Temperatur zur zusätzlichen Oxidation vom allylischen Alkohol an C-5 führte (Tabelle 11).



Schema 23: Synthese des Aldehyds **89b**; Reaktionsbedingungen: a) TESOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, RT, 1 h, 60 % (**87b**), 38 % (**88b**); b) (CICO)₂, DMSO, DIPEA, CH₂Cl₂, siehe Tabelle 11.

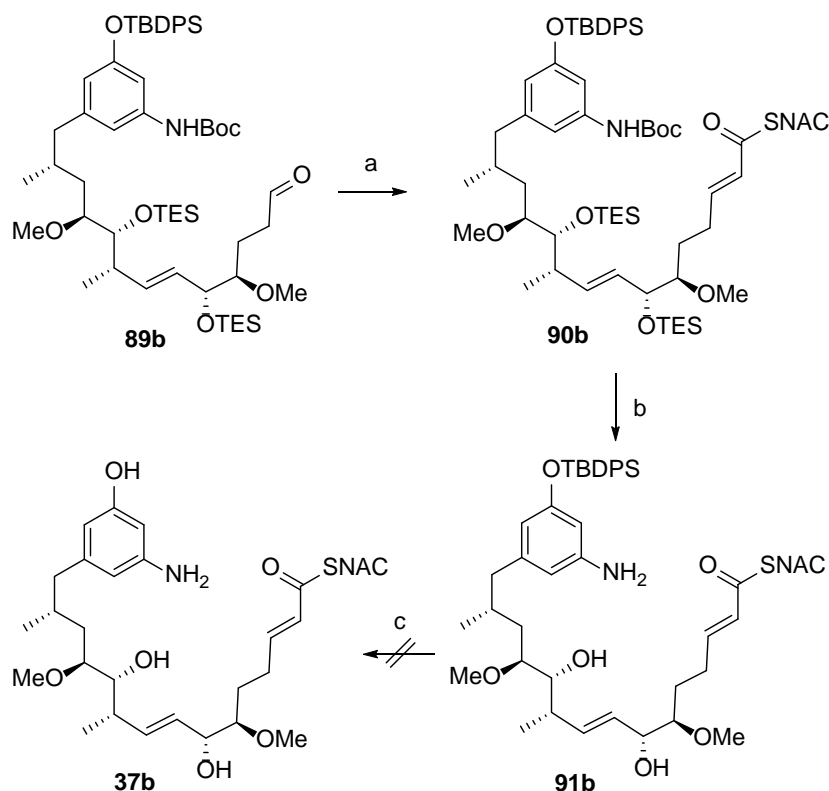
Tabelle 11: SWERN-Oxidation.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	20 min -78 °C → 1.5 h, -40 °C	37 % + C-5-oxidierte Produkt (63 %)
2	20 min -78 °C → 1.5 h, -50 °C	78 % + C-5-oxidierte Produkt
3	20 min -78 °C → 1.5 h, -60 °C	85 %

Im nächsten Schritt erfolgte die Umsetzung des Aldehyds **89b** mit dem SNAC-Ester von Phosphorylid **84**, was den α,β -ungesättigten Ester **90b** in guter Ausbeute und als gewünschte (*E*)-Isomer lieferte (Schema 24). Während der anschließenden Boc-Entschützung wurden auch TES-Schutzgruppen entfernt und das Amin **91b** konnte in 71 % Ausbeute erhalten werden. Nun sollte die letzte Schutzgruppe abgespalten werden. Dieses wurde unter Verwendung von TBAF bei -78 °C getestet. Allerdings konnte kein gewünschtes Produkt

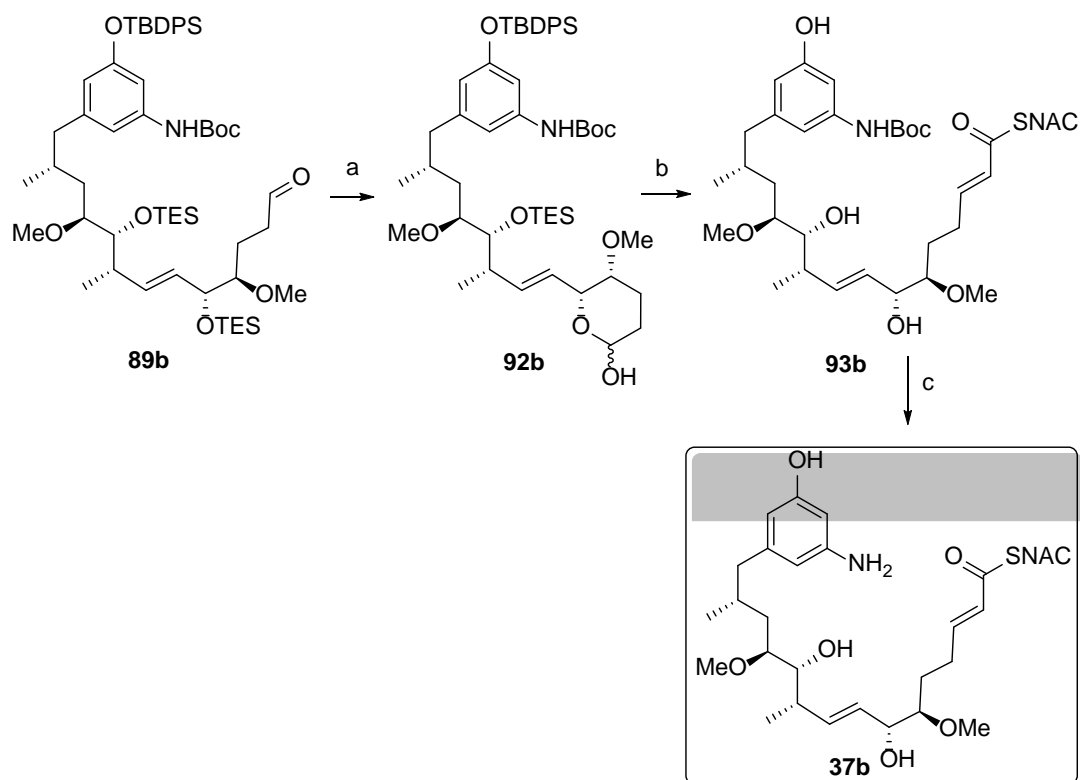
⁷² A. Fürstner, L. C. Bouchez, J.-A. Funel, V. Liepins, F.-H. Porée, R. Gilmour, F. Beaufile, D. Laurich, M. Tamiya, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9265-9270; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 9425-9430.

isoliert werden; stattdessen wurden diverse Zersetzungsprodukte massenspektrometrisch detektiert.



Schema 24: Versuche zur Synthese der SNAC-Ester **37b**; Reaktionsbedingungen: a) **84**, CHCl₃, 40 °C, 24 h, 87 %, *E/Z* > 10:1; b) TFA, 0 °C, 6 h, 71 %; c) TBAF*3H₂O, THF, -78 °C, 3 h.

Das Misslingen beider Entschützungsstrategien kann wahrscheinlich auf die geringe Stabilität des SNAC-Esters zurückgeführt werden. Deswegen sollte die Einführung des labilen SNAC-Esters erst nach dem Entfernen der Silyl-Schutzgruppen durchgeführt werden. Dafür sollten zunächst die TBDPS- und die TES-Schutzgruppen von Aldehyd **89b** abgespalten werden. Dieses gelang unter Verwendung des Flusssäure-Pyridin Komplexes, wobei anzumerken ist, dass die zusätzliche Zugabe von Pyridin erforderlich war, um Zersetzung des Produktes zu vermeiden (Schema 25). Das so erhaltene Lactol **92b** wurde anschließend in der Olefinierungsreaktion eingesetzt. Unter Standard-WITTIG-Bedingungen (40 °C) konnte kein gewünschtes Produkt isoliert werden, stattdessen wurde die intramolekulare MICHAEL-Addition der Hydroxygruppe an C-7 auf das Enon-System beobachtet. Um diese Nebenreaktion zu verhindern, wurde die Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt und der gewünschte SNAC-Ester **93b** konnte in 60 % Ausbeute isoliert werden. Abschließend erfolgte die Boc-Entschützung mit Trifluoressigsäure, die das gewünschte *seco*-Progeldanamycin-Derivat **37b** lieferte.

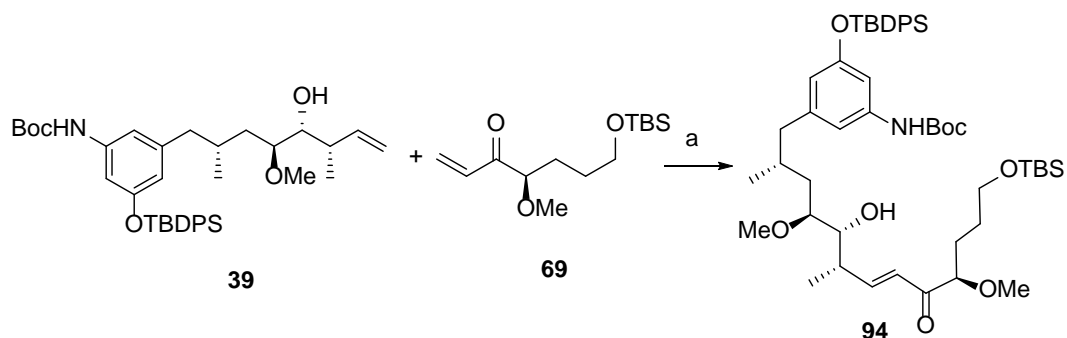


Schema 25: Synthese der SNAC-Ester **37b**; Reaktionsbedingungen: a) HF*Py, Py, THF, RT, 4 Tage, 85 %; b) **84**, CHCl₃, RT, 7 Tage, 60 %, *E/Z* > 10:1; b) TFA, 0 °C, 3 h, 80 %.

Damit wurde die Totalsynthese abgeschlossen und diese optimierte Entschützungsstrategie konnte auf die Synthese anderer *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate übertragen werden.

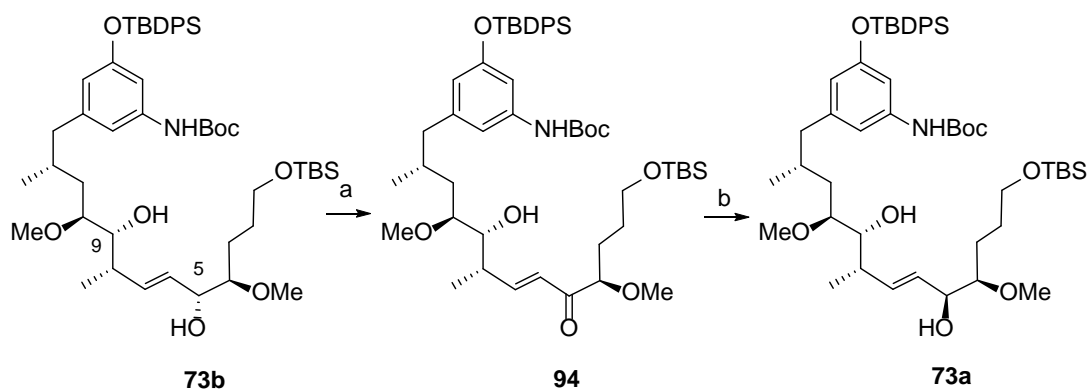
4.1.5.3. Synthese des SNAC-Esters von 2,8-desdi-Methyl-6-*epi*-*seco* Progeldanamycin (**37a**)

Da die Versuche zur diastereoselektiven Synthese des Ostfragments **58a** sowohl für die Addition von Vinylolithium, als auch für die selektive Reduktion des entsprechenden Ketons **69** fehlschlagen und nicht trennbare Diastereomergemische im Verhältnis *anti:syn* von etwa 4:1 lieferten, wurde zunächst die CBS-Reduktion von Keton **94** geprüft. Das Keton **94** könnte durch Kupplung des Westfragments **39** mit Enon **69** synthetisiert werden (Schema 26). Allerdings verlief die Olefin-Metathese unter den in Kapitel 4.1.5.1. optimierten Reaktionsbedingungen mit geringerer Ausbeute, was auf die Epimerisierung des Enons **69** zurückgeführt werden könnte.



Schema 26: Synthese des Ketons **94**; Reaktionsbedingungen: a) GRUBBS-HOVEYDA II, $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$, 40 °C, 48 h, 24 %, *E/Z* < 10:1.

Die selektive Oxidation der Hydroxygruppe an C-5 des Metathese-Produktes **73b** lieferte das gewünschte Keton **94** in moderater Ausbeute (Schema 27). Um die Hydroxyfunktionen an C-5 und C-9 zu differenzieren, wurde Mangandioxid als Oxidationsmittel verwendet, das selektiv allylische Alkohole oxidiert. Unter Verwendung des (*R*)-CBS-Reagenzes wurde das *syn*-Produkt als Hauptdiastereomer generiert (Tabelle 12, Eintrag 1). Unter gleichen Reaktionsbedingungen lieferte das (*S*)-CBS-Reagenz das gewünschte *anti*-Diastereomer in einem *anti:syn* Verhältnis von 3:1 (Eintrag 2). Variationen der Reaktionstemperaturen führten zu keinen verbesserten Diastereoselektivitäten (Einträge 2-5). Jedoch konnte durch die Zugabe des CBS-Reagenzes bei -78 °C und längeren Komplexierungszeiten der gewünschte Alkohol in 70 % Ausbeute bei einer *anti:syn* Diastereoselektivität von 10:1 erhalten werden (Eintrag 7).



Schema 27: Synthese des Alkohols **73a**; Reaktionsbedingungen: a) MnO_2 , CH_2Cl_2 , RT, 4 h, 56 %; b) $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$, siehe Tabelle 12.

Tabelle 12: Bedingungen für die CBS-Reduktion des Ketons **94**.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ausbeute (<i>anti:syn</i>)
1 ^a	(<i>R</i>)-CBS, -78 °C → -40 °C, 2 h	83 % (1:20)
2 ^a	(<i>S</i>)-CBS, -78 °C → -40 °C, 2 h	80 % (3.3:1)
3 ^a	(<i>S</i>)-CBS, -78 °C → -20 °C, 2 h	85 % (3.5:1)
4 ^a	(<i>S</i>)-CBS, 0 °C → RT, 30 min	79 % (2.2:1)
5 ^a	(<i>S</i>)-CBS, -78 °C, 2 h, (Umsatz: 40 %) → 0 °C, 1 h	75 % (1.5:1)
6 ^b	(<i>S</i>)-CBS, -78 °C, 1 h, -50 °C, 2 h	67 % (3.8:1), 30 % (Edukt)
7 ^{b,c}	(<i>S</i>)-CBS, -78 °C, 1 h, -50 °C, 2 h	70 % (10:1)

^a (*S*)-CBS wurde bei RT zugegeben; ^b (*S*)-CBS wurde bei -78 °C zugegeben; ^c 1.5 h Lewisäure-Substrat Komplexierungszeit.

Der Diastereomenüberschuss wurde mittels ¹H-NMR-Spektroskopie bestimmt, wobei die Signale von H-5 integriert wurden (Abbildung 16).

Da die Oxidation mit nachfolgender Reduktion nur in moderaten Ausbeuten verlief, wodurch 60 % des Substrates verloren ging, wurde entschieden, das Produkt **73a** über

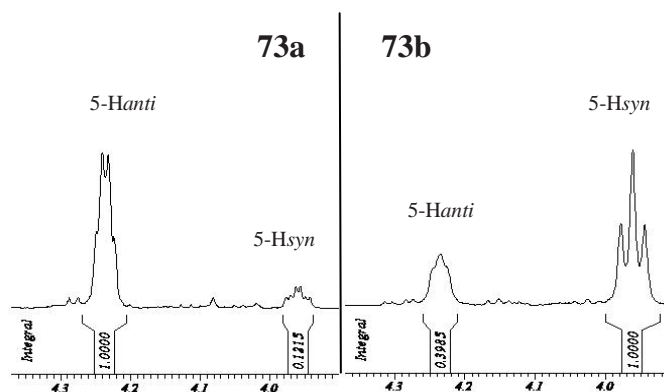
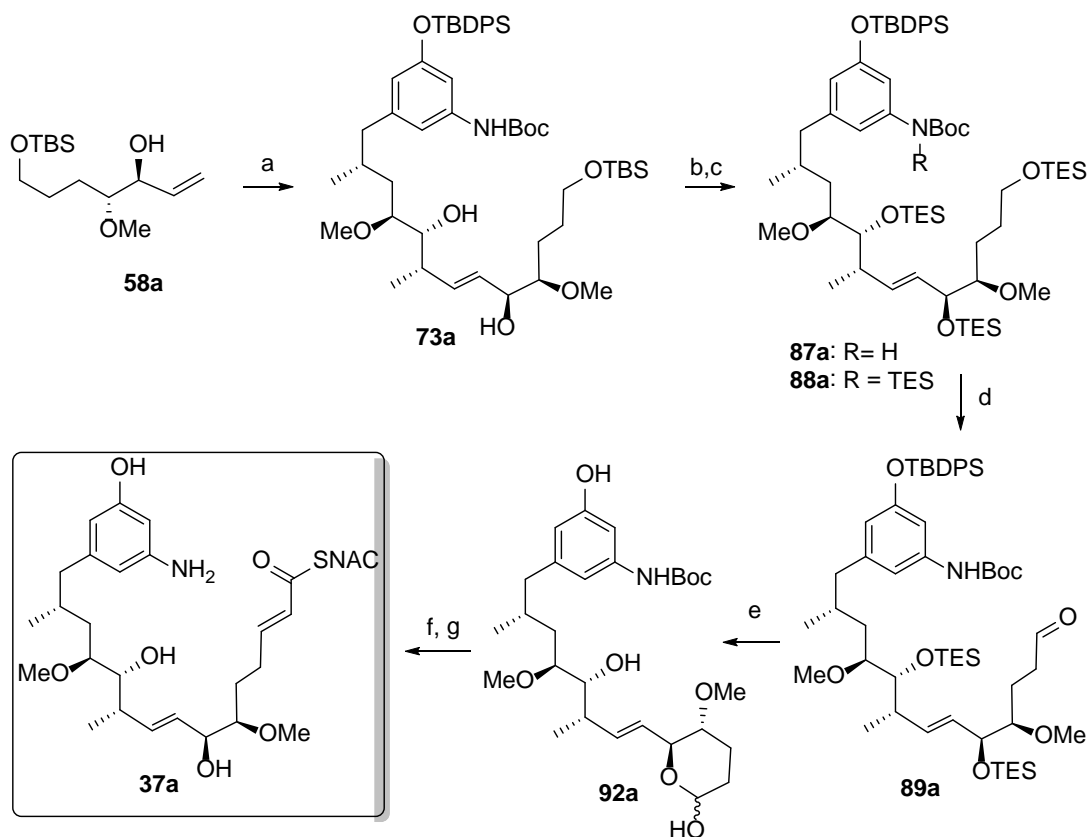


Abbildung 16. Bestimmung vom Diastereomenüberschuss von **73a** und **73b** mittels ¹H-NMR.

Metathese mit dem Ostfragment **58a** als 4:1 (*anti:syn*) Diastereomergemisch zu synthetisieren. Mittels der im Kapitel 4.1.5.1. optimierten Metathese Bedingungen konnte der Alkohol **73a** in 39 % Ausbeute erhalten werden, wobei nach der Optimierung der HPLC-Bedingungen bezüglich mobiler Phase und Gradient die Diastereomere getrennt werden konnten (Schema 28). Anschließend wurde Alkohol **73a** nach optimierter Strategie in den SNAC-Ester überführt. Nach der Abspaltung der TBS-Schutzgruppe, die unter Verwendung von α -Campher-Sulfonsäure unproblematisch verlief, wurde das so erhaltene Polyol in das TES-geschützte Produkt **87a** überführt, wobei zusätzlich *N*-silyliertes Produkt **88a** in 49 % Ausbeute erhalten wurde. Im nächsten Schritt erfolgte die Oxidation der primären Hydroxygruppe unter optimierten SWERN-Bedingungen, wobei Aldehyd **89a** in 67 % Ausbeute erhalten wurde. Die darauf folgende Entfernung der Silylschutzgruppen lieferte Lactol **92a**, welches anschließend mit dem Phosphorylid **84** zum SNAC-Ester umgesetzt wurde. Das gewünschte Produkt wurde in 59 % Ausbeute erhalten. Allerdings konnte die

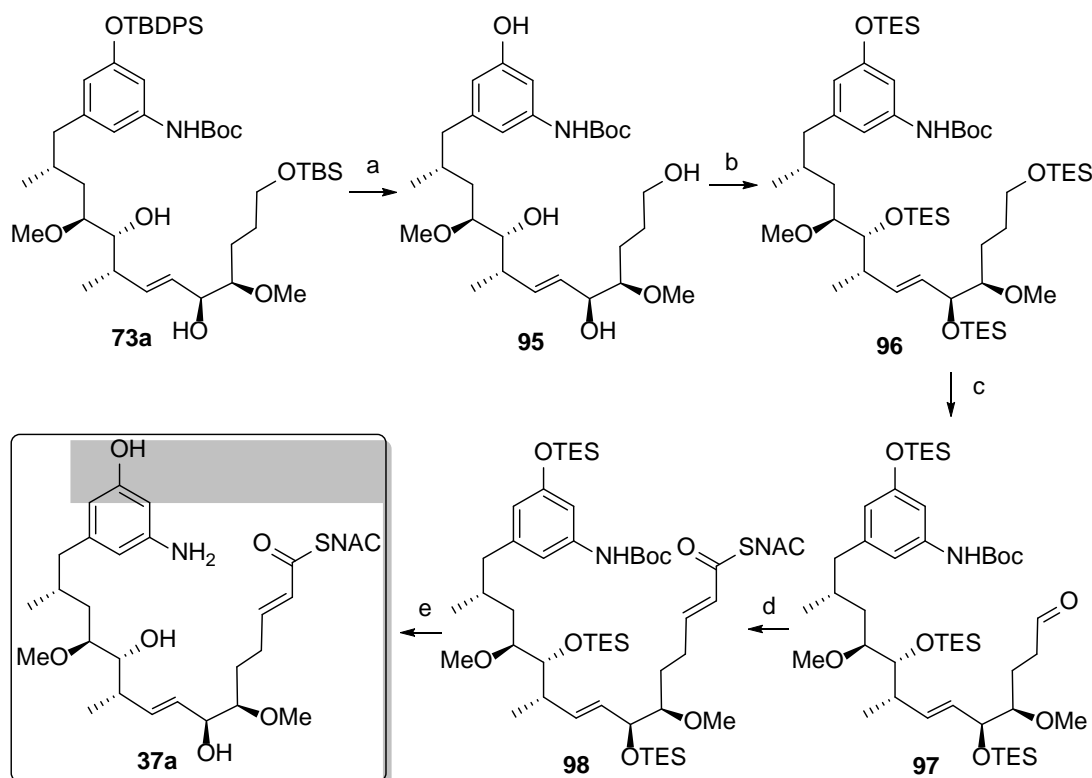
Olefinierung in dieser Ausbeute nicht reproduziert werden, stattdessen wurden viele Nebenprodukte isoliert. Die Strukturen der Nebenprodukte konnten allerdings wegen der geringen Menge nicht festgestellt werden. Abschließend erfolgte die Boc-Entschützung mit Trifluoressigsäure, die das gewünschte *seco*-Progeldanamycin-Derivat **37a** lieferte.



Schema 28: Synthese der *seco*-Progeldanamycinsäure **37a**; Reaktionsbedingungen: a) **39**, GRUBBS-HOVEYDA II, (CH₂Cl)₂, 40 °C, 48 h, 39 %; b) CSA, CH₂Cl₂/MeOH (3:2), 0 °C, 4 h, 80 %; c) TESOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 1 h, **87a** (50 %), **88a** (49%); d) (ClCO)₂, DMSO, DIPEA, CH₂Cl₂, -60 °C, 1.5 h, 67 %; e) HF*Py, Py, THF, RT, 4 Tage, 67 %; f) **84**, CHCl₃, RT, 7 Tage, 59 %, *E/Z* > 10:1; g) TFA, 0 °C, 3 h, 79 %.

Aufgrund mangelnder Reproduzierbarkeit und schlechter Ausbeute der WITTIG-Reaktion wurde nach einer alternativen Entschützungsstrategie gesucht. Um Nebenreaktionen zu vermeiden, sollte die Olefinierung mit dem geschützten Aldehyd untersucht werden. Da die Versuche zur TBDPS-Entschützung vom SNAC-Ester erfolglos verliefen und nur zur Zersetzung des Eduktes führten, sollte die TBDPS-Gruppe durch die TES-Schutzgruppe ersetzt werden. Unter Verwendung von Flusssäure in Pyridin konnte beide Silyl-Schutzgruppen in **73a** abgespalten werden (Schema 29). Um die Silylierung des Stickstoffatoms, welche in Kapitel 4.1.5.2. beschrieben wurde, zu vermeiden, wurde die TES-Schutzung bei -78 °C durchgeführt, wobei das Produkt **96** in 89 % Ausbeute erhalten wurde.

Die darauf folgende SWERN-Oxidation lieferte Aldehyd **97**, welcher mittels Umsetzung mit Phosphorylid **84** in den SNAC-Ester **98** überführt wurde. In diesem Fall konnte eine bessere Ausbeute erhalten werden. Die Reaktion verlief reproduzierbar und ohne Nebenreaktionen. Während der Boc-Entschützung mit Trifluoressigsäure konnten auch die Silyl-Schutzgruppen abgespalten und schließlich das *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivat **37a** isoliert werden.



Schema 29: Synthese des *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivates **37a**; Reaktionsbedingungen: a) HF*Py, Py, THF, RT, 4 Tage, 98 %; b) TESOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, -78 °C → RT, 1 h, 89 %; c) (ClCO)₂, DMSO, DIPEA, CH₂Cl₂, -60 °C, 1.5 h, 62 %; d) **84**, CHCl₃, RT, 7 Tage, 86 %, *E/Z* > 10:1; e) TFA, 0 °C, 3 h, 79 %.

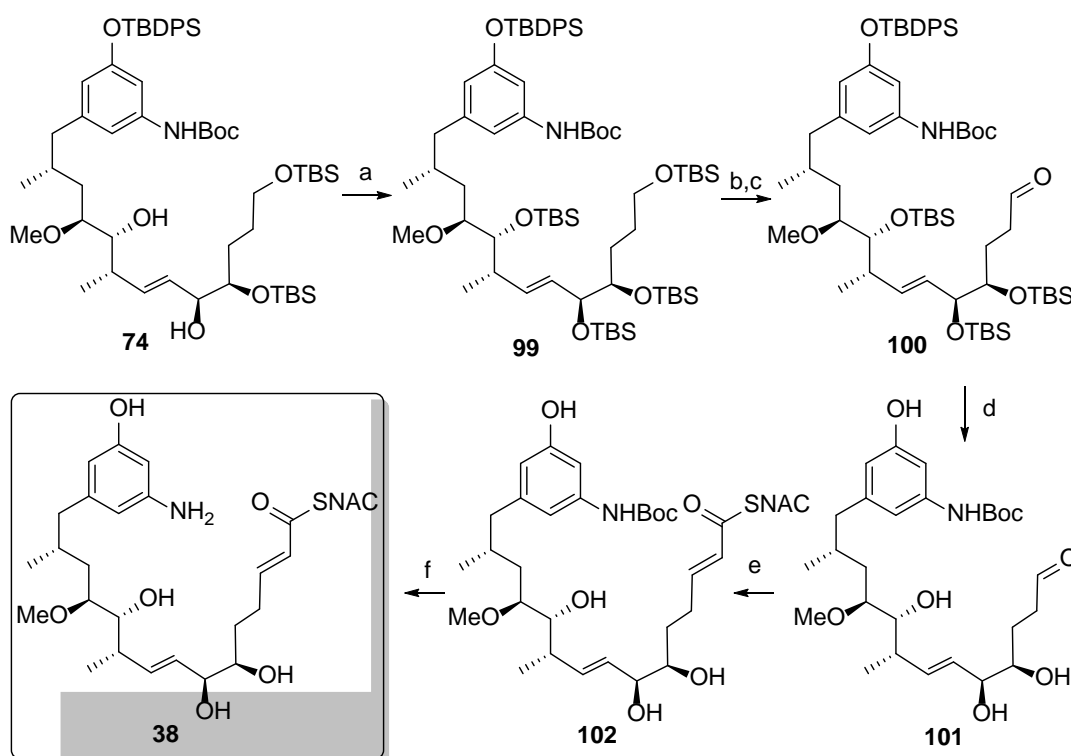
Der SNAC-Ester der *seco*-Progeldanamycinsäure **37a** wurde damit über 20 Stufen (längste lineare Sequenz) in einer Gesamtausbeute von 2.3 % synthetisiert.

4.1.5.4. Synthese des SNAC-Esters von 2,8,6-desdi-Methyl-6-*epi*-*seco*-Progeldanamycin (**38**)

Da zu dem Zeitpunkt die mangelnde Reproduzierbarkeit und schlechte Ausbeute für die WITTIG-Reaktion noch nicht bekannt war, wurde für die Synthese des SNAC-Esters **38** die in Kapitel 4.1.5.2. entwickelte Entschützungsstrategie verwendet. In diesem Fall sollte allerdings auf die Umschützung von TBS-Gruppen verzichtet werden, um die Probleme zu vermeiden,

welche bei der selektiven Entfernung der TBS-Gruppe an C-4 in Anwesenheit der TBDPS-Gruppe auftreten können.

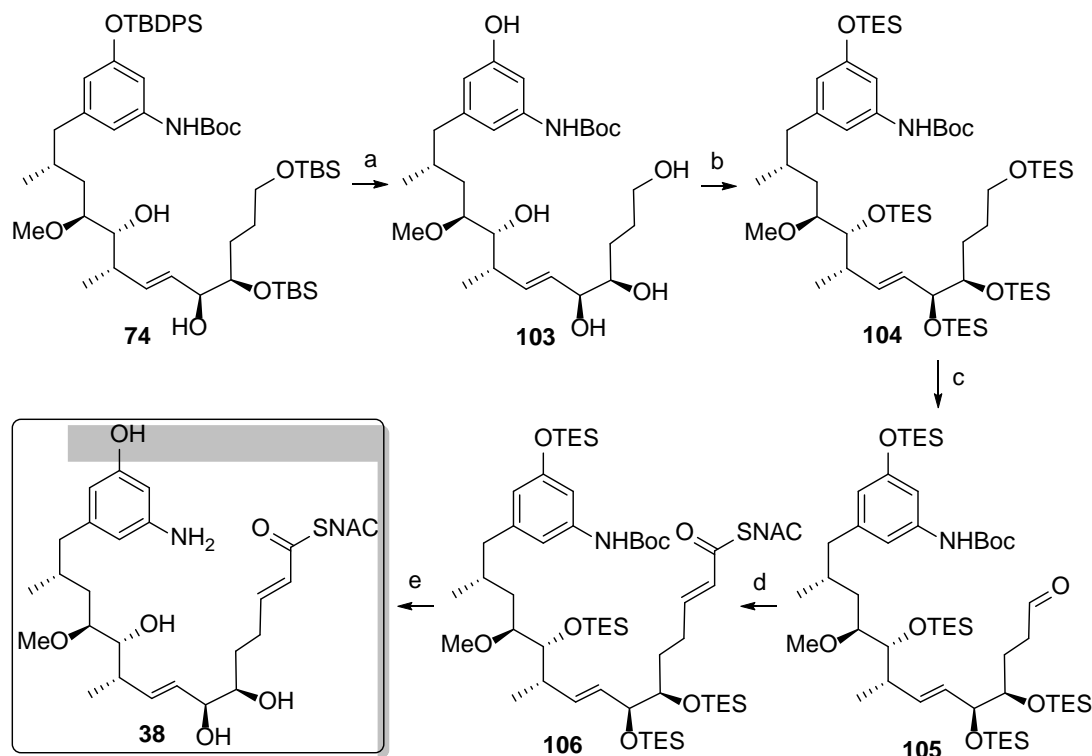
Zunächst wurde ausgehend von dem Metathese-Produkt **74** das TBS-geschützte Polyol **99** synthetisiert, welches nach der Entschützung der primären Hydroxygruppe mittels anschließender DMP-Oxidation zum Aldehyd **100** umgesetzt wurde (Schema 30). Im nächsten Schritt erfolgte die Abspaltung der Silyl-Schutzgruppen unter Verwendung von Flusssäure in Pyridin, wobei diese Umsetzung wesentlich mehr Äquivalente der Flusssäure verlangte als im Fall vom TES-geschütztem Aldehyd **89b** beschrieben; auch dauerte sie länger. Die anschließende WITTIG-Olefinierung lieferte den gewünschten α,β -ungesättigten Ester **102** in guter Ausbeute, allerdings konnte in diesem Fall ebenfalls die Reaktion nicht reproduziert werden. Die Umsetzung mit Trifluoressigsäure lieferte das *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivat **38** in geringen Mengen, die leider nicht ausreichend für die Enzymtests und Fütterungsexperimente waren.



Schema 30: Synthese des SNAC-Esters **38**; Reaktionsbedingungen: a) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , RT, 3 h, 81 %; b) CSA, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (3:2), 0 °C, 4 h, 93 %; c) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , RT, 1 h, 99 %; d) HF*Py, Py, THF, RT, 7 Tage, 86 %; e) **84**, CHCl_3 , RT, 7 Tage, 68 %, $E/Z > 10:1$; f) TFA, 0 °C, 3 h, 59 %.

Um ausreichende Mengen des *seco*-Säure-Derivates für weitere Tests zu erhalten, sollte die neue Entschützungsstrategie, die im Kapitel 4.1.5.3. beschrieben wurde, erprobt werden. Der Austausch von TBS- und TBDPS-Gruppen gegen TES führte auch in diesem Fall zur

Verbesserung der Ausbeute der WITTIG-Reaktion (Schema 31). Somit konnte nach der Entschützung mit Trifluoressigsäure das *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivat **38** in ausreichender Menge hergestellt werden.



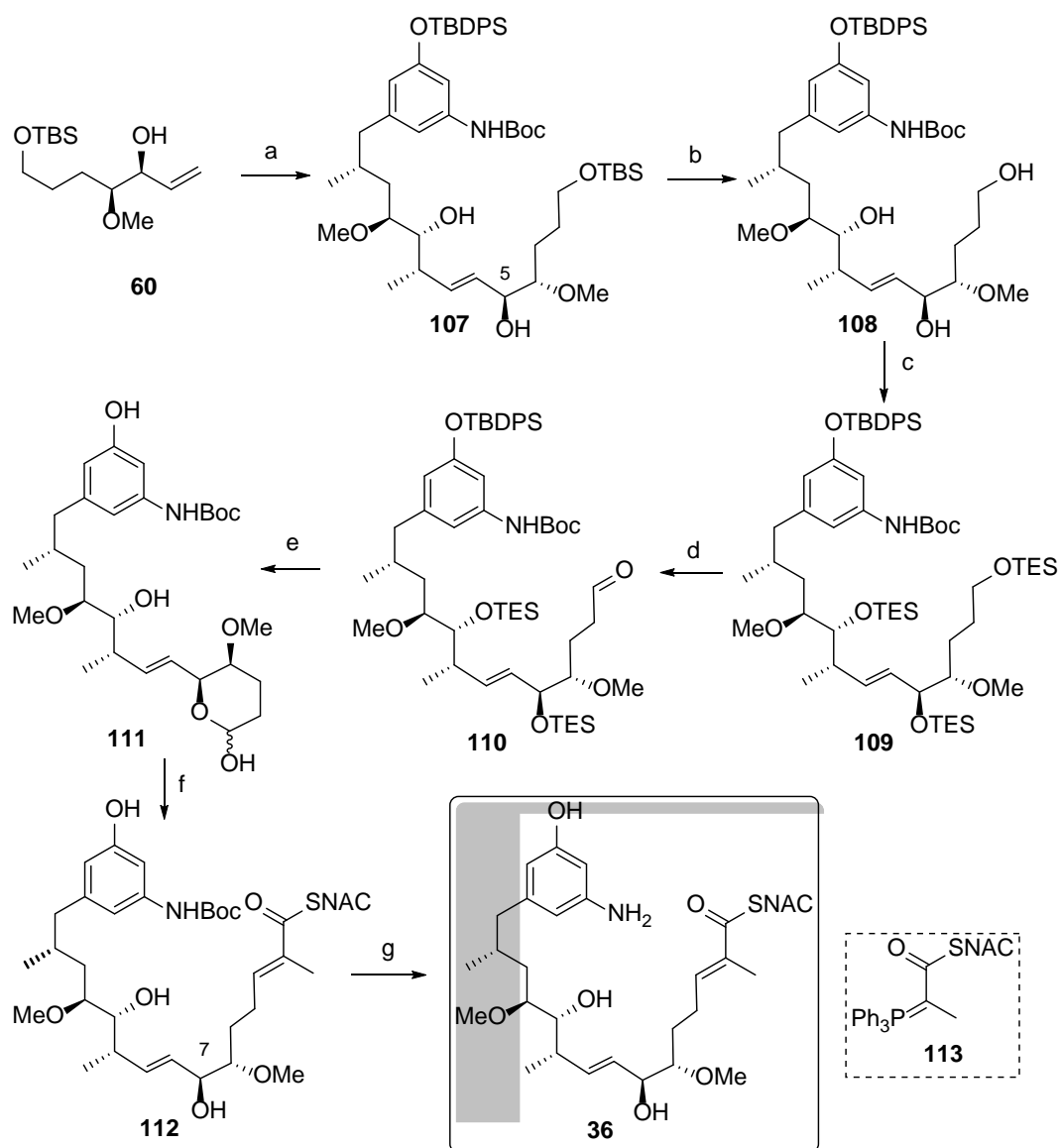
Schema 31: Synthese des *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivates **38**; Reaktionsbedingungen: a) HF*Py, Py, THF, RT, 4 Tage, 90 %; b). TESOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, RT, 1 h, 80 %; c) (ClCO)₂, DMSO, DIPEA, CH₂Cl₂, -60 °C, 1.5 h, 85 %; d) **84**, CHCl₃, RT, 7 Tage, 88 %, *E/Z* > 10:1; e) TFA, 0 °C, 3 h, 86 %.

Der SNAC-Ester der *seco*-Progeldanamycinsäure **38** wurde damit über 20 Stufen (längste lineare Sequenz) in einer Gesamtausbeute von 3.3 % synthetisiert.

4.1.5.5. Synthese des SNAC-Esters von 8-des-Methyl-*seco*-Progeldanamycin (**36**)

Für die Synthese des SNAC-Esters mit der natürlichen Stereochemie wurde zunächst das Ostfragment **60** mit dem Westfragment **39** unter optimierten Metathese-Bedingungen gekoppelt (Schema 32). Die Versuche, an dieser Stelle das ungewünschte C-5-*epi*-Isomer mittels HPLC abzutrennen, schlugen fehl. Deswegen wurde der Alkohol **107** als Diastereomerengemisch im Verhältnis 7:1 (5*S*:5*R*) direkt weiter verwendet. Zunächst wurde das Metathese-Produkt **107** gemäß der vorher beschriebenen Entschützungsstrategie in vier Stufen in das Lactol **111** überführt. Anschließende WITTIG-Reaktion mit Phosphorylid **113** lieferte den SNAC-Ester **112** in 54 % Ausbeute, wobei das ungewünschte C-7-*epi*-Isomer

mittels präparativer HPLC abgetrennt werden konnte. In diesem Fall wurden geringere Mengen von Nebenprodukten detektiert und die Reaktion konnte mehrfach reproduziert werden. Wahrscheinlich behindert die zusätzliche Methylgruppe am α -Kohlenstoffatom des Olefinierungsproduktes die intramolekulare MICHAEL-Addition. Eine abschließende Boc-Entschützung lieferte den SNAC-Ester **36** in guter Ausbeute.



Schema 32: Synthese des SNAC-Esters **36**; Reaktionsbedingungen: a) **39**, GRUBBS-HOVEYDA II, $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$, 40°C , 48 h, 39 %; b) CSA, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (3:2), 0°C , 4 h, 92 %; c) TESOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , RT, 1 h, 81 %; d) $(\text{CICO})_2$, DMSO, DIPEA, CH_2Cl_2 , -60°C , 1.5 h, 73 %; e) HF*Py, Py, THF, RT, 4 Tage, 91 %; f) **113**, CHCl_3 , RT, 5 Tage, 54 %, $E/Z > 10:1$; g) TFA, 0°C , 3 h, 78 %.

Der SNAC-Ester der *seco*-Progeldanamycinsäure **36** wurde damit über 21 Stufen (längste lineare Sequenz) in einer Gesamtausbeute von 1.3 % synthetisiert.

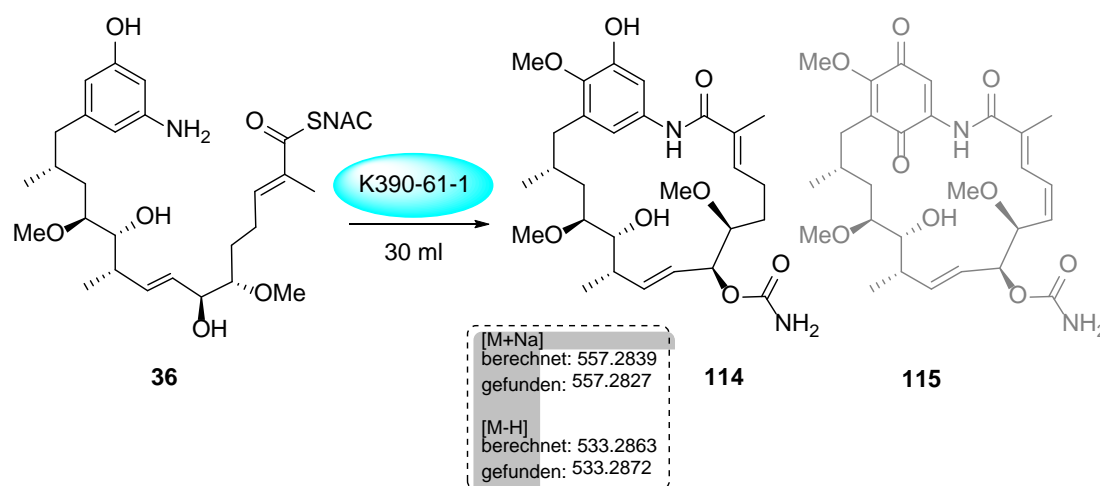
4.2. Studien zur Flexibilität der Amidsynthese *GdmF*

4.2.1. Supplementierungsexperimente

Mit dem erfolgreichen Abschluss der Synthesen der thioaktivierten *seco*-Progeldanamycin-säure-Derivate **36**, **37** und **38** konnte mit den Supplementierungsexperimenten begonnen werden. Dabei sollte überprüft werden, ob die hochkomplexen Biosyntheseintermediate vom PKS-Modul erkannt und zu neuen Geldanamycin-Derivaten weiter prozessiert werden.

Die Fütterung der *seco*-Säure-Derivate erfolgte an der Block-Mutante K390-61-1 von *S. hygroscopicus*, die in der Biosynthese des Startbausteins AHBA **15** geblockt ist. Um die Aktivität des Stammes zu überprüfen, wurde parallel der natürliche Startbaustein AHBA **15** zu den Bakterien supplementiert.

Zunächst wurde das Fütterungsexperiment mit dem *seco*-Säure-Derivat **36** geführt, der gegenüber dem natürlich Geldanamycinvorläufer nur eine strukturelle Varianz enthält, nämlich die fehlende Methylgruppe an C-8. Nach der Fütterung über einen Zeitraum von drei Tage wurden die Rohextrakte der Fermentation massenspektrometrisch untersucht. Wie erwartet, konnte in der Fermentation mit AHBA **15** Geldanamycin (**1**) detektiert werden, wobei die Signalintensität des gebildeten Naturstoffes auf sehr gute Produktion hinwies. Allerdings konnten in der Fermentation mit dem *seco*-Säure-Derivat **36** nur Spuren des Geldanamycin-Derivates **114** massenspektrometrisch nachgewiesen werden, wobei das [M+Na] und [M-H] Signale hochaufgelöst werden konnten (Schema 33). Das erwartete komplett prozessierte Geldanamycin-Derivat **115** wurde nicht identifiziert, was auf die geringe Stabilität solcher Derivate zurückgeführt werden kann.



Schema 33: Fütterungsexperiment mit dem SNAC-Ester **36**.

Nach der HPLC-Reinigung des Rohextrakts konnte allerdings das neue Geldanamycin-Derivat **114** nicht isoliert werden, stattdessen konnten 35 % des Eduktes zurückgewonnen werden. Die nicht vollständige Umsetzung der *seco*-Säure mit der Amidsynthese könnte mit dem geringen Membrangängigkeit des Substrates erklärt werden.

Um die Struktur des Geldanamycin-Derivates **114** zu überprüfen, wurde MS/MS-Fragmentierungsexperiment durchgeführt. Das erhaltene MS-Spektrum ist in der Abbildung 17 dargestellt. Es konnten die erwarteten Verluste von Carbamat, Methanol und Wasser detektiert werden, allerdings ist die Intensität der Signale sehr gering, was auf eine nur geringe Menge des Produktes zurückgeführt wurde.

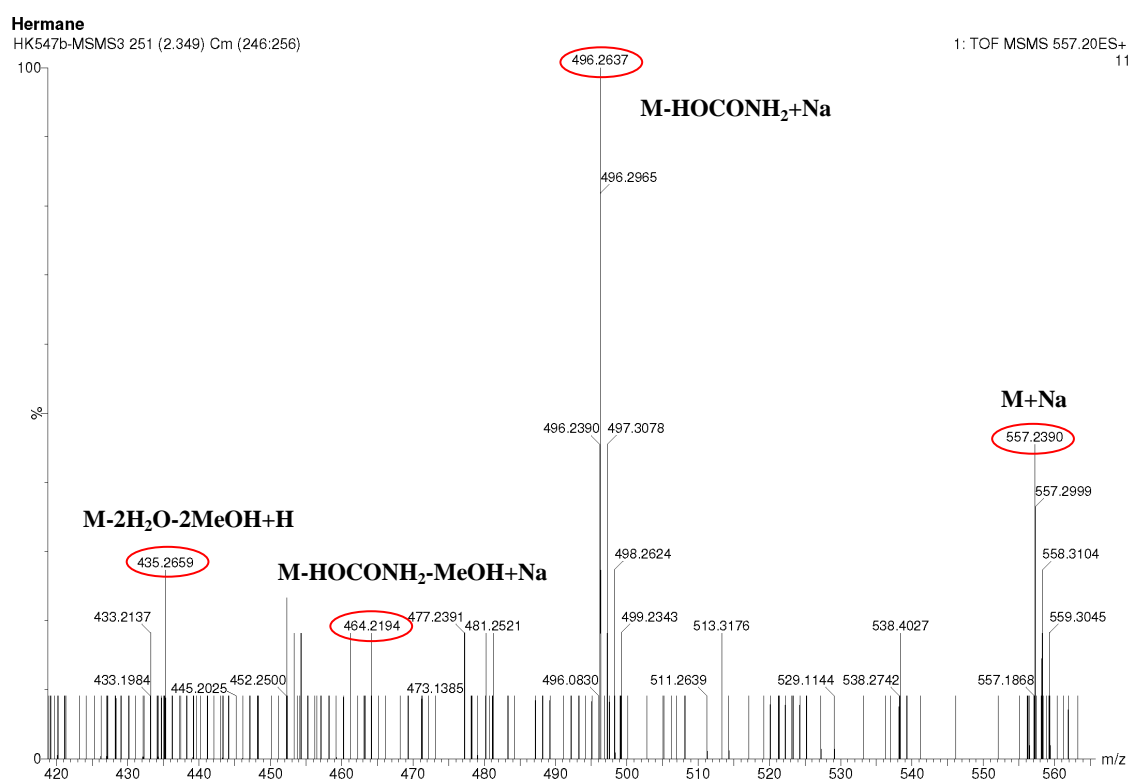
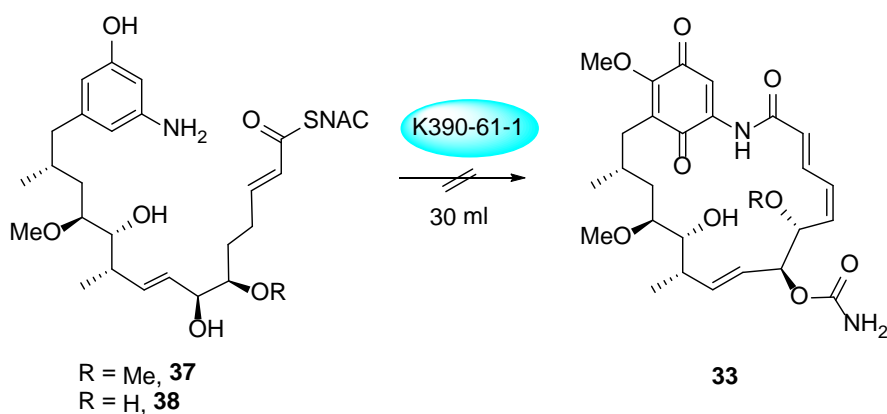


Abbildung 17: Fragmentierungsexperiment des Geldanamycin-Derivates **114**.

Die Fütterungsexperimente mit zwei weiteren *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivaten **37** und **38** zeigten, dass die Substrate unter Fermentationsbedingungen nicht stabil sind, da in den Rohextrakten der Fermentationen weder Geldanamycin-Derivate noch Edukte massenspektrometrisch identifiziert werden konnten (Schema 34). Wie schon bei den Synthesen zu diesen *seco*-Säuren festgestellt wurde ist die Methyl-Gruppe in der α -Position für die Stabilität der Substrate notwendig.



Schema 34: Fütterungsexperiment mit dem SNAC-Ester **37** und **38**.

Um die mögliche geringere Membrangängigkeit und die Gefahr von schnellen Zersetzungen der Substrate zu umgehen, wurden für die Makrolactamisierung zellfreie Extrakte von *S. hygroscopicus* K390-61-1 verwendet, die durch den Aufschluss der Zellen im Tris-Puffer (50 mM, pH-7.4) mittels Ultraschall oder French-Press hergestellt wurden. Allerdings konnte keines des erwarteten cyclisierten Derivate erhalten werden, wobei im Fall der *seco*-Säure **36** nur das Edukt und im Fall der *seco*-Säure **37** nur die Zersetzung detektiert werden konnten.

Da mittels Fütterungsexperimente keine genaue Aussage über die Substratspezifität der Amidsynthase *GdmF* gemacht werden konnte, sollte anschließend die Amidsynthase *GdmF* heterolog exprimiert werden und in Enzymassays mit den *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate **36**, **37** und **38** getestet werden.

4.2.2. Enzym-Tests

Die Herstellung der Amidsynthase *GdmF* wurde in Kooperation mit ANJA HEUTLING und Dr. CARSTEN ZEILINGER durchgeführt, wofür zwei unterschiedliche Verfahren verwendet wurden.

Zunächst wurde das gewünschte Gen *gdmf* aus dem Organismus *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* mittels PCR isoliert und in den Expressionsvektor pRSET-B (siehe Anhang 7.1.) kloniert.⁷³ Im nächsten Schritt wurden *E. coli*-Zellen mit der erhaltenen Plasmid-DNA transformiert. Dies erfolgte nach dem Hitzeschock-Prinzip unter Verwendung von kommerziell erhältlichen kompetenten *E. coli* BL21(DE3)pLysP-Zellen. Im Anschluss wurden Ampicillin und Chloramphenicol-resistente Kolonien ausgewählt, wobei Ampicillin für die Selektion der *E. coli*, die das gewünschte Gen enthalten, und Chloramphenicol für die

⁷³ Diese Experimente wurden von Anja Heutling durchgeführt und werden in ihre Dissertation veröffentlicht: A. Heutling, Dissertation, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2014**.

Selektion der Bakterien, die das pLysS-Plasmid enthalten, verwendet wurde. Das Vorhandensein des PLysS-Plasmids ist für die Unterdrückung der Expression toxischer Proteine vor Induktion mit IPTG notwendig, die das Wachstum der Bakterien beeinflussen können. Die ersten Expressionsversuche sowie die Optimierungsversuche führten allerdings nur zu einer schwachen Expression des gewünschten Proteins, welches hauptsächlich in unlöslicher Form vorlag (Abbildung 18, Tabelle 13).

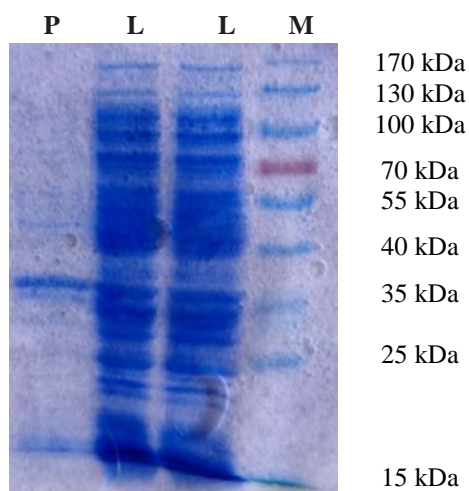


Abbildung 18: SDS-Polyacrylamidgel (15%) der Expression der *GdmF*. M: Protein-Größenstandard PageRuler™ Presatined Broad Range Protein Ladder (FERMENTAS), L: lösliche Fraktion nach Zellaufschluss, P: nicht-lösliche Fraktion nach Zellaufschluss. Theoretisches Molekulargewicht der Amidsynthase *GdmF*: 34 kDa.

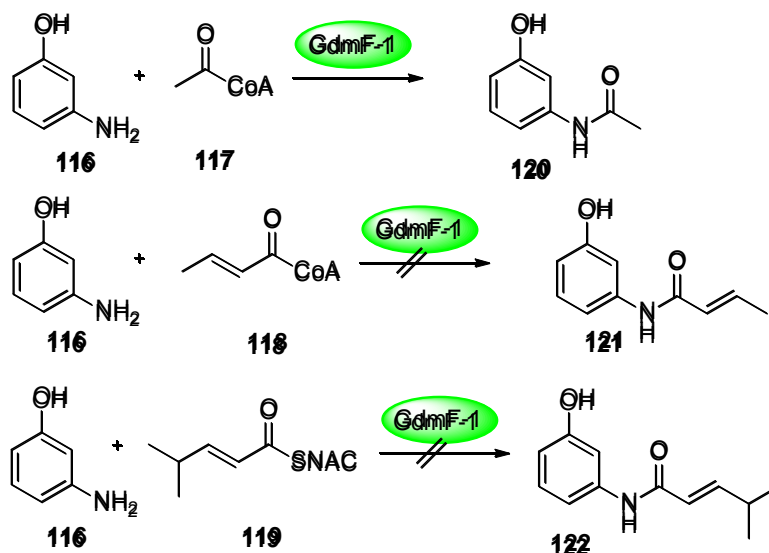
Tabelle 13: Optimierungsversuche der Proteinexpression.

#	Kultivierung	Expression	Ergebnis
1	SOB-Medium, 3.5 h, (bis OD ₅₉₅ = 1.0)	16 °C, 20 h	Protein im Pellet
2	SOB-Medium, über Nacht	16 °C, 20 h	Protein im Pellet
3	SOB-Medium, 3.5 h (bis OD ₅₉₅ = 1.0)	28 °C, 20 h	Protein im Pellet
4	SOB-Medium, über Nacht	28 °C, 20 h	Protein im Pellet

Die weiteren Optimierungen der Expressionsbedingungen und der Reinigung des Enzyms wurden von Dr. CARSTEN ZEILINGER im Institut für Biophysik durchgeführt. Letztendlich konnte das Protein in löslicher Form erhalten werden.⁷⁴ Die Umsetzung der so erhaltenen Amidsynthase *GdmF-I* mit dem *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivat **36** führte allerdings nicht zum gewünschten Makrolactam, stattdessen konnte nur das Edukt massenspektrometrisch detektiert werden. Um die Reaktionsbedingungen zu optimieren wurde die Aktivität des Enzymes mit den Testsubstraten **117-119** untersucht. Es wurde festgestellt, dass das Enzym die Übertragung der Acetylgruppe von Acetyl-CoA **117** auf

⁷⁴C. Zeilinger, *unveröffentlichte Ergebnisse*, 2014.

Aminophenol (**116**) katalysiert (Schema 35). Allerdings wurde Crotonyl-CoA **118** oder SNAC-Ester **119** nicht von dem Enzym prozessiert, was vermutlich auf die inkorrekte Faltung der exprimierten Amidsynthase zurückzuführen war. Versuche, die Bedingungen durch die Zugabe von ATP oder Magnesium zu optimieren, schlugen ebenfalls fehl.

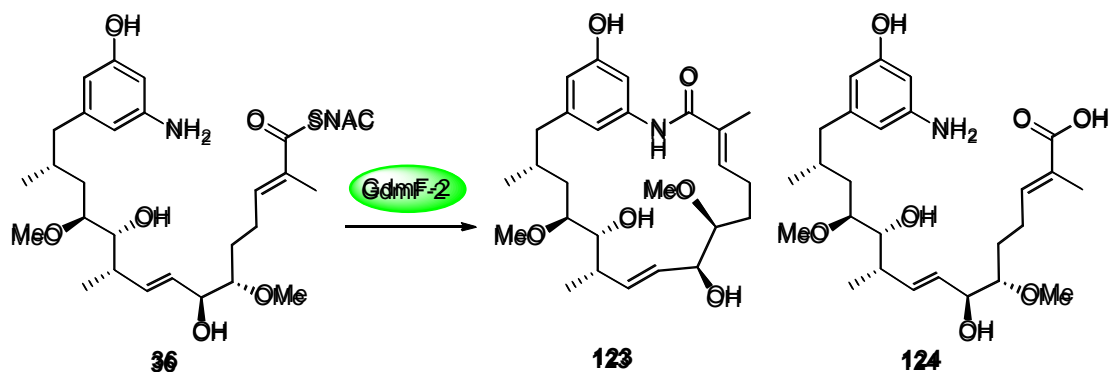


Schema 35: Enzymreaktionen mit den Testsubstraten **117-119**. Reaktionsbedingungen: ATP, MgCl₂, Tris Puffer (pH 7.4) (10 mM), 37 °C, 24 h.

Weitere Versuche zur Makrolactamisierung mit *GdmF-1* schienen aufgrund dieser Ergebnisse nicht sinnvoll. Es musste also eine alternative Strategie zur Herstellung des Enzyms entworfen werden.

Heterologe Expression führt sehr oft zu geringen Mengen des gewünschten Proteins. Allerdings lässt sich die Genexpression in vielen Fällen durch die Anpassung der Gene für bestimmten Organismus um den Faktor 2 bis 10 verbessern.⁷⁵ Um eine bessere Expression der Amidsynthase zu erreichen, wurde ein modifiziertes, synthetisches Gen eingesetzt. Das über dieses Gen auf obigem Wege erhaltene Protein *GdmF-2*⁷³ wurde mit den *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivat **36** in HEPES-Puffer (25 mM HEPES, 150 nM NaCl, pH 6.8) inkubiert, wobei das gewünschte Makrolactam **123** in Spuren massenspektrometrisch nachgewiesen wurde. Die Optimierungen der Reaktionsbedingungen führten zur Verbesserung des Umsatzes (Schema 36, Abbildung 19). Als Nebenreaktion wurde die Hydrolyse des SNAC-Esters zu der Säure **124** festgestellt.

⁷⁵ M. Welch, S. Govindarajan, J. E. Ness, A. Villalobos, A. Gurney, J. Minshull, C. Gustafsson, *PLoS One* **2009**, *4*, e7002.



Schema 36: Enzymreaktionen mit dem SNAC-Ester **36**. Reaktionsbedingungen: Hepes-Puffer (25 mM Hepes, 150 nM NaCl, pH 6.8), 37 °C, 24 h.

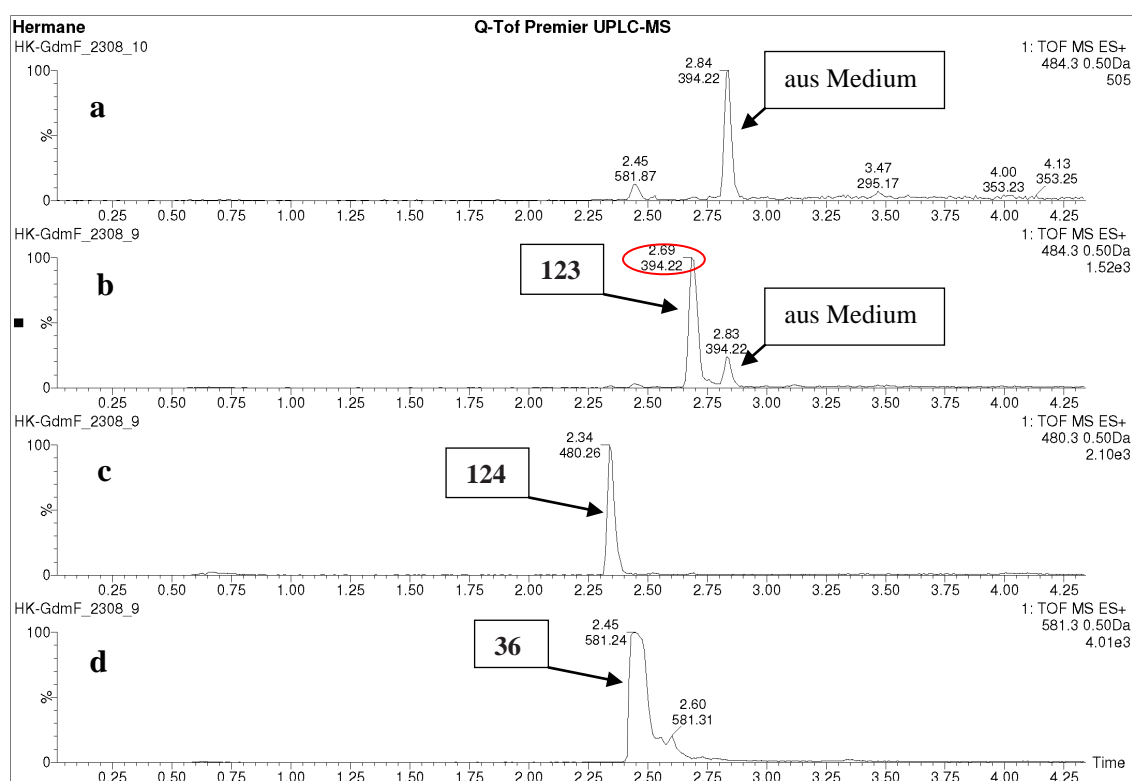


Abbildung 19: Massenspuren der enzymatischen Umsetzung mit *seco*-Progledanamycinsäure-Derivat **36**; a: Negativkontrolle, b: Progledanamycin **123** [M+Na], c: *seco*-Säure **124** [M+H], d: SNAC-Ester **36** [M+H].

Die Struktur des so erhaltenen Progledanamycins **123** konnte durch ein MS/MS-Fragmentierungsexperiment belegt werden. Das erhaltene Spektrum ist in der Abbildung 20 dargestellt. Es konnten die im Massenspektrum erwarteten Verluste von Methanol und Wasser nachgewiesen werden.

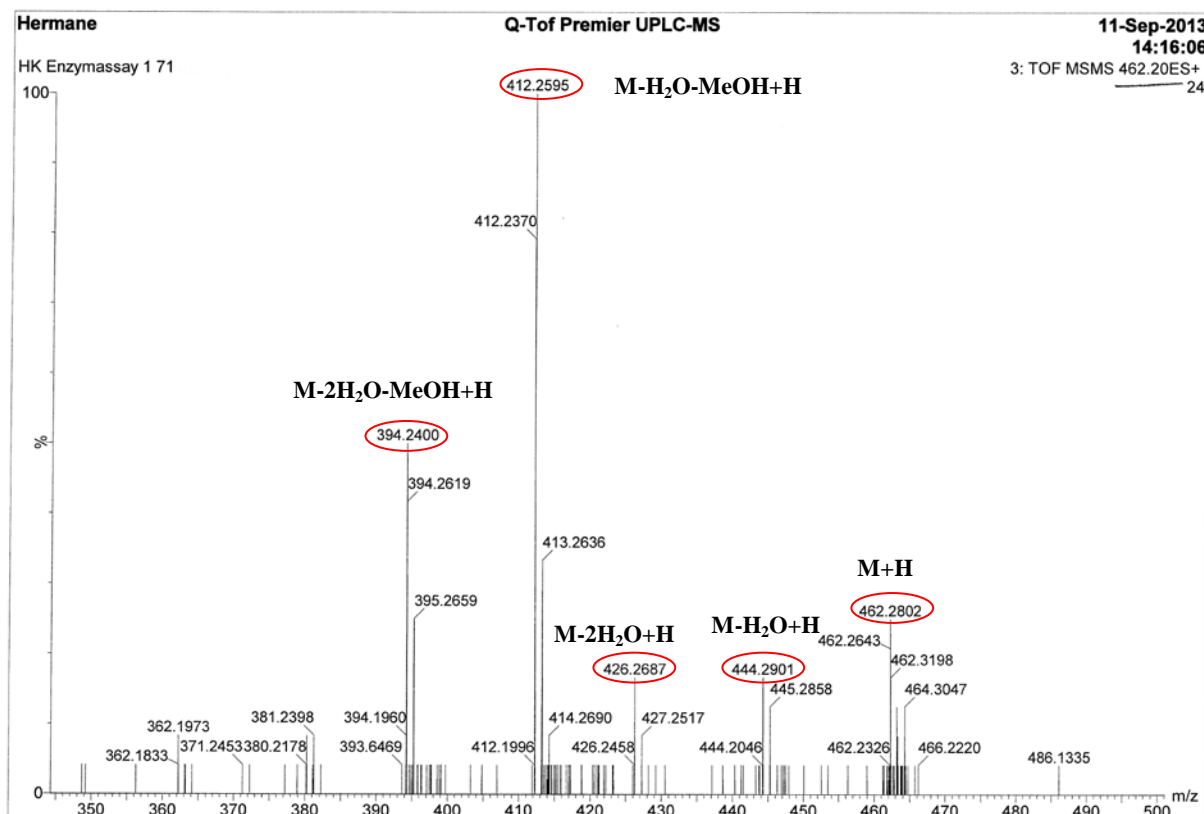


Abbildung 20: Fragmentierungsexperiment des Progeldanamycin-Derivates **123**.

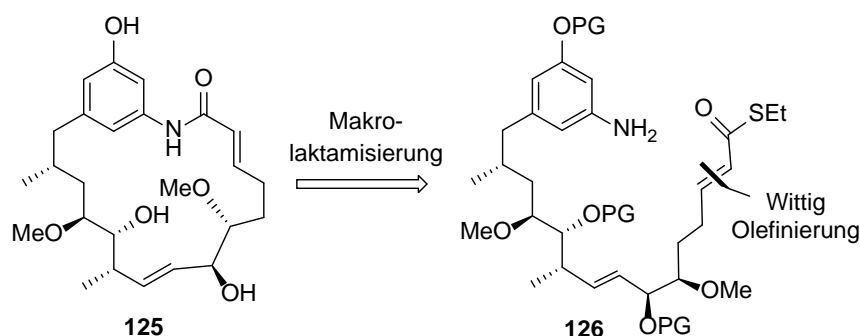
Weitere Optimierungen der Reaktion, sowie weitere Studien zur Substratflexibilität dieses Enzyms konnten im Rahmen dieser Arbeit allerdings nicht mehr durchgeführt werden. In Zukunft sollen einzelne Reaktionsbedingungen wie Puffer, pH-Wert, Temperatur sowie Cofaktoren getestet werden, um die Hydrolyse des SNAC-Esters zu unterdrücken, einen vollständigen Umsatz zu erreichen und die neuen Progeldanamycin-Derivate auch NMR-spektroskopisch zu untersuchen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Amidsynthase *GdmF* fortgeschrittene, veränderte, komplexe Biosyntheseintermediate akzeptiert und in die Makrolactame transformiert. Diese Ergebnisse bereiten den Weg für detaillierte Untersuchungen zur Substratflexibilität der Amidsynthase *GdmF* und können langfristig dazu dienen, diese Klasse von Enzymen als Synthesewerkzeug für Makrolactamierungen zu entwickeln.

4.3. Synthese des Progeldanamycin-Derivates 125

Wie in Kapitel 4.2.1. beschrieben, führten die Fütterungsexperimente mit den *seco*-Säure-Derivaten **36-38** nicht zu neuen gewünschten Geldanamycin-Derivaten. Des Weiteren lag zu dem Zeitpunkt die Amidsynthese für Untersuchungen zu enzymatischen Makrolactamierungen nicht vor, sodass die Makrolactamierungen zunächst chemisch durchgeführt werden sollte. Die so erhaltenen Progeldanamycin-Derivate sollten anschließend an die *S. hygroscopicus* Bakterien-Mutante K390-61-1 verfüttert werden.

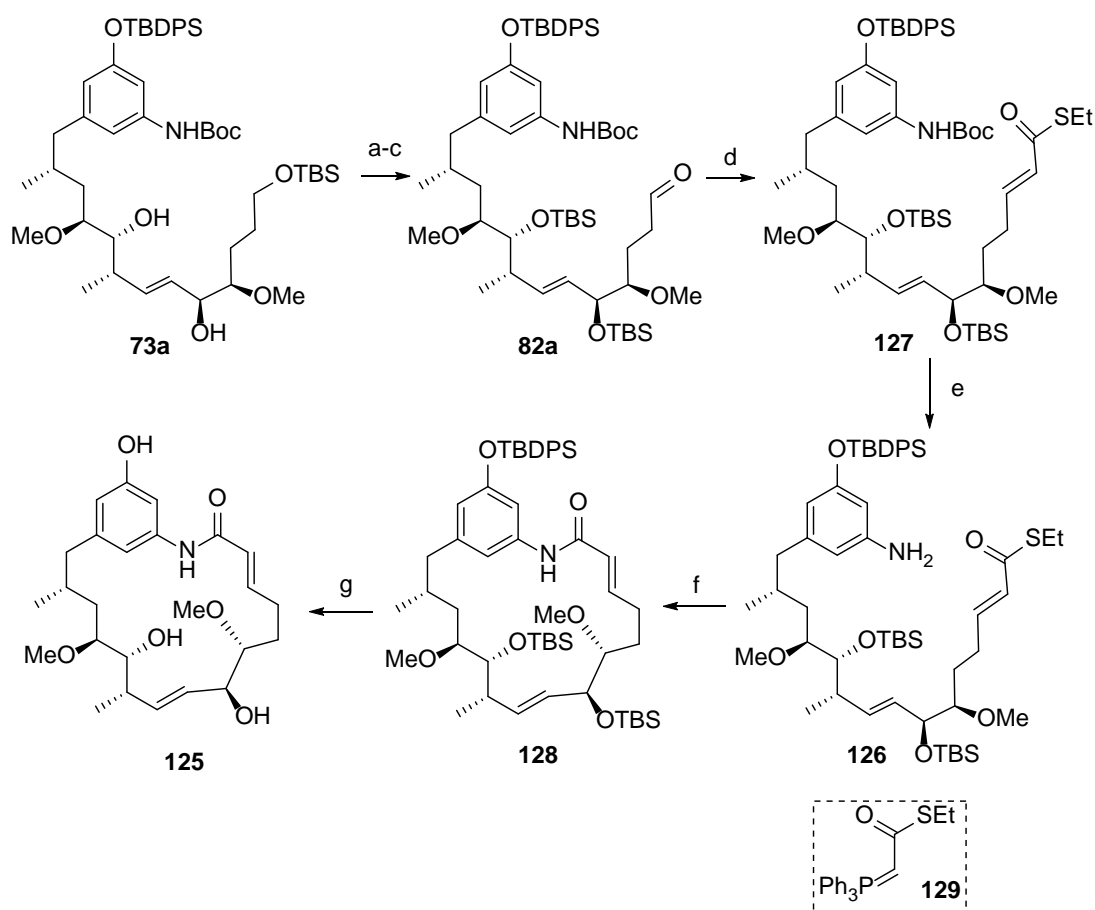
Die Synthese des Progeldanamycin-Derivates **125** sollte auf die bereits entwickelte Synthese der *seco*-Säure-Derivate, die im Kapitel 4.1.5.3. beschrieben ist, basieren. Als Vorläufer für die chemische Makrolactamierung wurde der Thioethylester **126** ausgewählt, da vorherige Arbeiten in der Arbeitsgruppe KIRSCHNING zeigten, dass *seco*-Säure-Derivate sehr instabil und sich nur eingeschränkt für Kupplungsreaktionen eignen (Schema 37). Die Einführung des Thioesters sollte analog zur Synthese des SNAC-Esters mittels einer WITTIG-Reaktion realisiert werden.



Schema 37: Geplante Synthese des Progeldanamycin-Derivates **124**.

Die Synthese startet mit dem Metathese-Produkt **73a**. Zunächst sollten die freien Hydroxygruppen geschützt werden wobei die TBS-Schutzgruppe ausgewählt wurde, da diese unter sauren Bedingungen stabiler als die TES-Gruppe ist. Dieser Aspekt ist entscheidend, da die Boc-Schutzgruppe unter sauren Bedingungen entfernt wird. Das so erhaltene Triol konnte anschließend in zwei Stufen zu dem Aldehyd **82a** umgesetzt werden (Schema 38). Die darauf folgende WITTIG-Reaktion mit dem Phosphorylid **129** lieferte den Thioester **127** in guter Ausbeute und mit der gewünschten (*E*)-Konfiguration. Das Phosphorylid **129** wurde von GERRIT JÜRJENS hergestellt und zur Verfügung gestellt.⁶⁵ Für die Boc-Entschützung wurden die im Kapitel 4.1.2.2. optimierten Bedingungen verwendet. Allerdings konnte das gewünschte Anilin **126** nur in 40 % Ausbeute erhalten werden. Alle weiteren

Optimierungsversuche bezüglich Äquivalente der Säure und Reaktionszeit, schlugen fehl, wobei als Nebenreaktionen diverse Eliminierungen massenspektrometrisch identifiziert werden konnten (Tabelle 14). Trotzdem konnte ausreichende Mengen des Produktes für die nächsten Stufen erhalten werden. Die ersten Versuche zur Makrolactamisierung unter Verwendung von DIPEA bei Raumtemperatur scheiterten. Auch bei der Erhöhung der Temperatur auf 80 °C fand keine Reaktion statt (Tabelle 15, Eintrag 1). Die Deprotonierung des Anilins mit LDA lieferte ebenfalls kein gewünschtes Produkt. Es wurde lediglich das Edukt reisoliert (Eintrag 2). Das Makrolactam **128** konnte schließlich unter Verwendung von Silbernitrat, welches zur Aktivierung des Thioesters dient,⁷⁶ in 53 % Ausbeute erhalten werden (Eintrag 3). Die abschließende Entschützung mit Flusssäure in Pyridin lieferte das gewünschte Progeldanamycin-Derivat **125**.



Schema 38: Synthese des Progeldanamycin-Derivates **125**; Reaktionsbedingungen: a) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, -78 °C → RT, 3 h, 93 %; b) CSA, CH₂Cl₂/MeOH (3:2), 0 °C, 4 h, 88 %; c) DMP, NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, 1 h, 94 %; d) **129**, CHCl₃, 40 °C, 24 h, 86 %, *E/Z* > 10:1; e) TFA, CH₂Cl₂, siehe Tabelle 14; f) siehe Tabelle 15; g) HF*Py, Py, THF, RT, 4 Tage, 60 %.

⁷⁶G. E. Keck, J. A. Murry, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6606-6611.

Tabelle 14: Boc-Entschützung.

Eintrag	Reaktionsbedingungen				Ergebnis
	c _{Edukt} , mg/mL	TFA, Äq.	Zeit, h	t, °C	
1	2	500	3	0	28 %, 20 % (Edukt)
2	2	500	5	0	28 %
3	2	500	4	0	40 %
4	0.7	300	10	0	30 %,

Tabelle 15: Bedingungen für die Makrolactamisierung.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	DIPEA, DMF, RT, 20 h → 40 °C 3 h, → 80 °C, 2 h	keine Reaktion
2	LDA, THF, -78 °C → RT	keine Reaktion
3	AgNO ₃ , 2,6-Lutidin, THF, 55 °C, 32 h	53 %

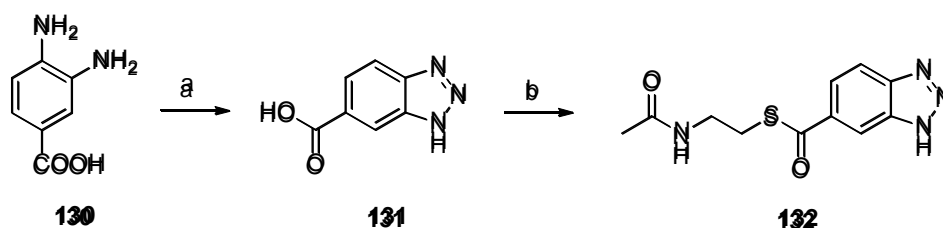
Insgesamt konnte der Progeldanamycin **125** über 22 Stufen (längste lineare Sequenz) in einer Gesamtausbeute von 0.5 % synthetisiert werden. Es dient nun als Vergleichsubstanz für die oben beschriebenen enzymatischen Untersuchungen zu Makrolactamisierungen.

Das so erhaltene Progeldanamycin-Derivat konnte im Rahmen dieser Arbeit an der *S. hygroscopicus* Bakterien-Mutante K390-61-1 wegen Probleme der Stammkultivierung von *S. hygroscopicus* noch nicht verfüttert werden.

4.4. Synthesen von AHBA-Analoga

4.4.1. Synthese des SNAC-Esters der Benzotriazolcarbonsäure 132

Die Benzotriazolcarbonsäure **131** wurde ausgehend von kommerziell erhältlicher 3,4-Diaminobenzoessäure **130** in eine Stufe nach der von LENA MANCUSO entwickelten Methode hergestellt.⁷⁷ Um die Akzeptanz dieses Mutasythons bei den Bakterien zu verbessern, sollte ebenfalls der korrespondierende SNAC-Ester **132** synthetisiert werden. Dieses gelang durch die Umsetzung der Säure **131** mit EDC*HCl und *N*-(2-Mercaptoethyl)acetamid (Schema 39). Allerdings konnte das gewünschte Produkt nur in 15 % Ausbeute isoliert werden, wobei bei größeren Ansätzen die Ausbeute noch wesentlich geringer war. Dies konnte auf die schlechte Löslichkeit des SNAC-Esters in MeOH und EtOAc, welche die Isolierung verkomplizierte, zurückgeführt werden.



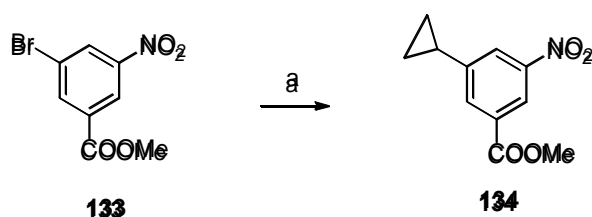
Schema 39: Synthese des Triazols **132**; Reaktionsbedingungen: a) NaNO₂, HCl, NaN₃, H₂O, -5 °C, 7 h, RT, 12 h, 88 %; b) EDC*HCl, HSCH₂CH₂NHAc, DMAP, DMF, RT, 24 h, 15 %.

4.4.2. Synthese der Cyclopropylaminobenzoessäure 136

Die Synthese der Cyclopropylaminobenzoessäure **136** wurde zum ersten Mal im Rahmen der Diplomarbeit von LENA MANCUSO durchgeführt.⁷⁵ Der Schlüsselschritt der Reaktion war die SUZUKI-Kupplung zwischen dem aromatischen Bromid **133** und der Cyclopropylboronsäure (Schema 40). Die Kupplung lieferte nur 53 % Ausbeute und keinen vollständigen Umsatz (Tabelle 16, Eintrag 1). Da Produkt und Edukt eine ähnliche Polarität aufweisen und dadurch die Isolierung verkompliziert wurde, sollten die Kupplungsbedingungen im Rahmen dieser Arbeit optimiert werden. Unter Verwendung der Mikrowelle bei 150 °C konnte die Ausbeute auf 80 % erhöht werden, wobei ein Umsatz von 90 % erreicht werden konnte (Eintrag 3). Bei der Verlängerung der Reaktionszeit auf 1.5 Stunden konnte der Umsatz auf 100 % erhöht

⁷⁷ L. Mancuso, Diplomarbeit, *Mutasythesen von Tumor-adressierenden Ansamitocinen*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2010**.

werden. Allerdings stieg dabei der Zersetzungsgrad und das Produkt konnte nur in 51 % Ausbeute isoliert werden (Eintrag 4).

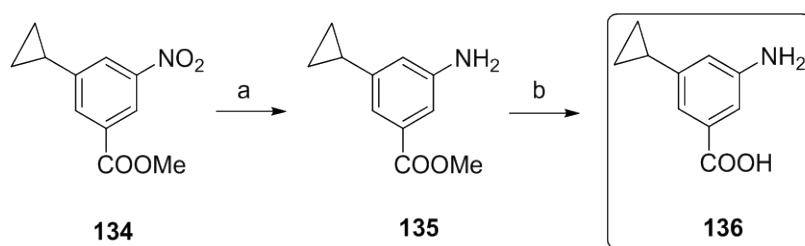


Schema 40: SUZUKI-Kupplung; Reaktionsbedingungen: a) Cyclopropylboronsäure, Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃, Toluol (siehe Tabelle 16).

Tabelle 16: Optimierung der SUZUKI-Kupplung.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Umsatz, %	Ausbeute, %
1	48 h, 95 °C	62	53
2	1 h, 130 °C (Mikrowelle)	50	40
3	1 h, 150 °C (Mikrowelle)	90	80
4	1.5 h, 150 °C (Mikrowelle)	100	51

Im nächsten Schritt erfolgte die Reduktion der Nitrogruppe unter Verwendung von Zinnchlorid. Dies lieferte das Amin **135** in sehr guter Ausbeute von 91 % (Schema 41). Abschließend wurde der Methyl ester unter basischen Bedingungen gespalten, wobei als Nebenreaktion die Cyclopropylringöffnung detektiert wurde. Das gewünschte Produkt **136** konnte nach der Reinigung mittels präparativer HPLC in 45 % Ausbeute isoliert werden.

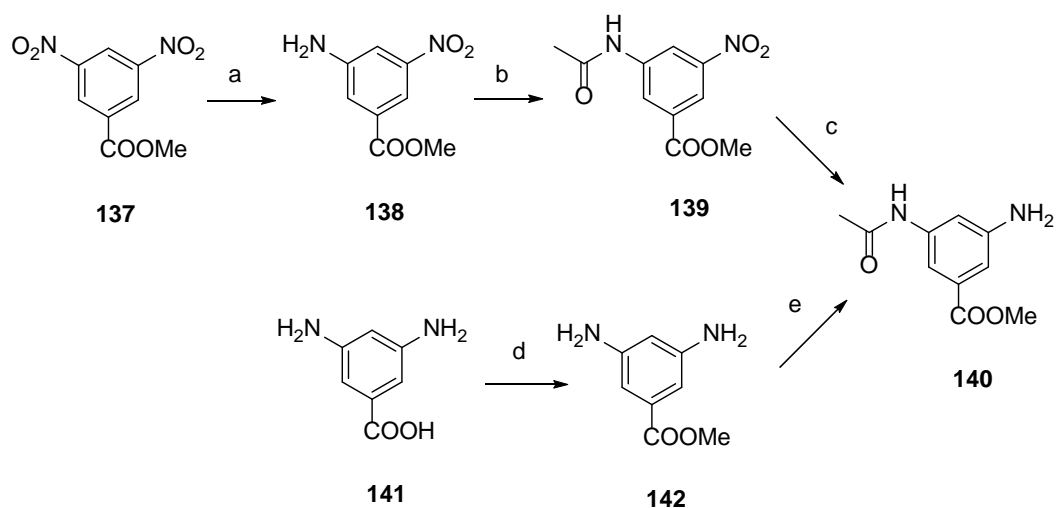


Schema 41: Synthese der 3-Amino-5-cyclopropylbenzoesäure **136**; Reaktionsbedingungen: a) SnCl₂·2H₂O, EtOAc, 70 °C, 24 h, 91 %; b) LiOH (1 M), MeOH, RT, 15 h, 45 %.

4.4.3. Synthese der 3-Azido-5-aminobenzoesäure **145**

Die Synthese der 3-Azido-5-aminobenzoesäure **145** wurde bereits von TOBIAS KNOBLOCH⁷⁸ und LENA MANCUSO⁷⁵ entwickelt und optimiert und sollte in der vorliegenden Arbeit analog durchgeführt werden. Die Ausgangsverbindung für die Synthese war der 3,5-Dinitrobenzoesäuremethylester **137**. Zunächst sollte selektiv eine der beiden Nitrogruppen reduziert werden. Dieses gelang unter Verwendung von Ameisensäure und Palladium auf Kohle, wobei das Produkt allerdings nur in 26 % Ausbeute isoliert werden konnte (Schema 42). Viele Nebenreaktionen, einschließlich der Überreduktion, konnten detektiert werden. Im nächsten Schritt wurde die Aminogruppe als Acetat geschützt und die zweite Nitrogruppe zum Amin umgesetzt.

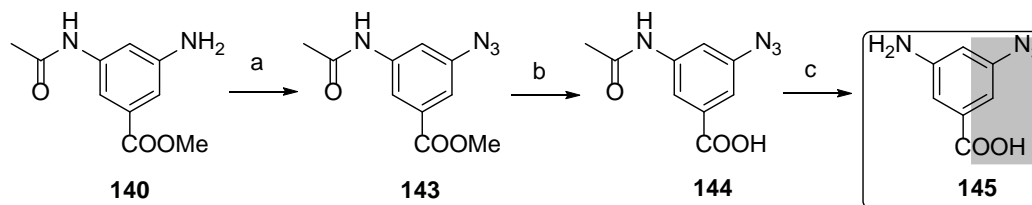
Da die erste Stufe der Synthese zu aufwendig war und ein komplexes Gemisch und schlechte Ausbeuten lieferte, sollte eine alternative Strategie zur Herstellung des Amins **140** entwickelt werden. Das Amin **140** sollte durch die selektive Schützung einer Aminogruppe ausgehend von 3,5-Diaminobenzoesäuremethylester **142** synthetisiert werden. Zunächst wurde die kommerziell erhältliche Diaminobenzoesäure **141** zum Methylester umgesetzt. Anschließend konnte unter Verwendung von einem Äquivalent Acetanhydrid das gewünschte Produkt **140** in guter Ausbeute erhalten werden (Schema 42).



Schema 42: Synthese des Amins **140**; Reaktionsbedingungen: a) Pd/C, HCOOH, NEt₃, 90 °C, 1 h, 26 %; b) Ac₂O, Py, 1,4-Dioxan, RT, 48 h, 72 %; c) SnCl₂·2H₂O, EtOAc, 70 °C, 24 h, 91 %; d) MeOH, H₂SO₄, 60 °C, 10 h, 64 %; e) Ac₂O, Py, 1,4-Dioxan, RT, 24 h, 62 %.

⁷⁸T. Knobloch, Dissertation, *Studien zur Flexibilität der Ansamitocin-Biosynthese in Actinosynnema pretiosum*, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2010.

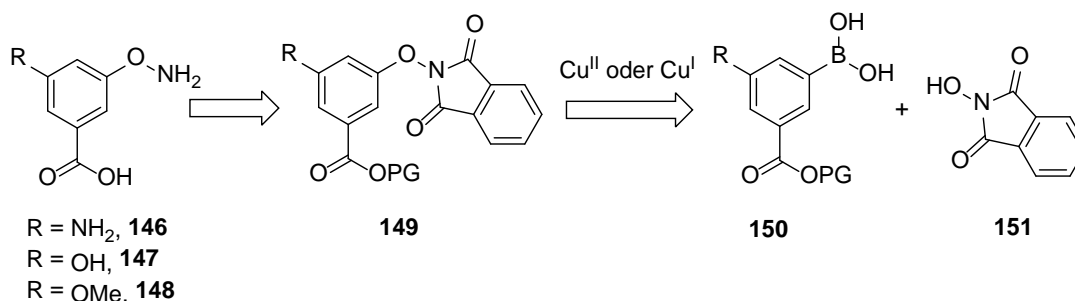
Im nächsten Schritt erfolgte die Einführung der Azidofunktion, welche ohne Probleme verlief und das Produkt **143** in guter Ausbeute lieferte (Schema 43). Die anschließende Abspaltung der Schutzgruppen beendete die Synthese des gewünschten Mutasythons **145**.



Schema 43: Synthese des Azids **145**; Reaktionsbedingungen: a) NaNO_2 , HCl , NaN_3 , H_2O , $-5\text{ }^\circ\text{C}$, 6 h, RT, 10 h, 81 %; b) LiOH (1 M), MeOH , $55\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, 95 %; c) konz. HCl , H_2O , $120\text{ }^\circ\text{C}$, 10 h, 96 %.

4.4.4. Synthese der Hydroxylamin- und Hydrazin-Derivate.

Die neuen Hydroxylamine **146**, **147** und **148** sollten über eine Kupfer-vermittelte Kupplung zwischen der aromatischen Boronsäure **150** und dem *N*-Hydroxyphthalimid **151** hergestellt werden (Schema 44).



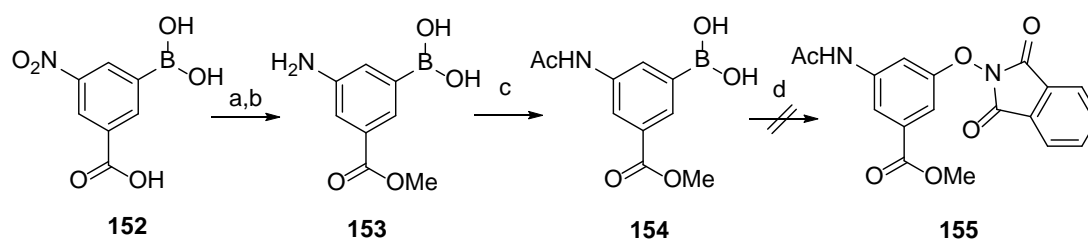
Schema 44: Geplante Synthese der Hydroxylamine **146-148**.

Die Kupfer-vermittelte Kreuz-Kupplung zur Herstellung von Aryloxyaminen wurde 2001 in der Arbeitsgruppe KELLY entwickelt.⁷⁹ Das *N*-Hydroxyphthalimid **151** wurde als Hydroxylamin-Donor verwendet, welches anschließend durch die Umsetzung mit Hydrazin in das freie Hydroxylamin umgesetzt werden kann. Die Reaktion wird durch Cu^{I} oder Cu^{II} Salze katalysiert, wobei die besten Ergebnisse mit Kupfer^(I)-Chlorid und Kupfer^(II)-Acetat beschrieben sind. Es ist interessant, dass die Reaktion unter Argon-Atmosphäre nur eine geringe Menge des Kupplungsproduktes lieferte. Die mögliche Erklärung dieses Phänomens, welches auch in anderen Kupfer-vermittelten Kreuz-Kupplungen beschrieben wurde, wurde

⁷⁹ H. M. Pertassi, K. B. Sharpless, J. W. Kelly, *Org. Lett.* **2001**, 3, 139-142.

bei LAM postuliert.⁸⁰ Nach dem vorgeschlagenen Mechanismus koordiniert der Kupfer-Komplex zunächst das *N*-Hydroxyphthalimid **151**, die anschließende Transmetallierung der Boronsäure setzt Borsäure frei. Im nächsten Schritt kann der molekulare Sauerstoff den Pyridin-koodinierten Kupfer-Komplex zu Cu^(III) oxidieren, wodurch die reduktive Eliminierung des *N*-Aryloxyphthalimides möglich wird. Die oxidierenden Reaktionsbedingungen fördern die Bildung von Peroxiden, welche zur Zersetzung der Boronsäure führen kann. Deswegen muss die Boronsäure im Überschuss eingesetzt werden.

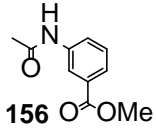
Wie im Schema 45 gezeigt, beginnt die Synthese des Hydroxylamins **146** mit der Veresterung von kommerziell erhältlicher Boronsäure **152**, welche unter Schwefelsäure-Katalyse in Methanol problemlos erfolgte. Die darauf folgende Reduktion der Nitrogruppe lieferte das Amin **153** in guter Ausbeute. Anschließend sollte die freie Aminogruppe geschützt werden, um eine Nebenreaktion der Aminogruppe mit der Boronsäure zu vermeiden. Die Umsetzung des Anilins **153** mit Acetanhydrid lieferte das geschützte Amin **154** in 94 % Ausbeute, welches direkt für die Kupplung mit *N*-Hydroxyphthalimid getestet werden konnte. Unter Verwendung von Kupfer^(I)-Chlorid konnte das gewünschte Produkt **155** nicht erhalten werden, stattdessen wurde das protodeboronylierte Produkt **156** detektiert (Tabelle 17, Eintrag 1). Der Wechsel der Kupferquelle zu Kupfer^(II)-Acetat lieferte ein komplexes Gemisch, wobei das gewünschte Kupplungsprodukt **155** massenspektrometrisch nicht nachgewiesen werden konnte (Eintrag 2). Da der Sauerstoff eine entscheidende Rolle in dieser Reaktion spielt, wurde diese unter Sauerstoff-Atmosphäre durchgeführt. Allerdings lieferte diese Methode ebenfalls nicht das gewünschte Produkt (Eintrag 3).



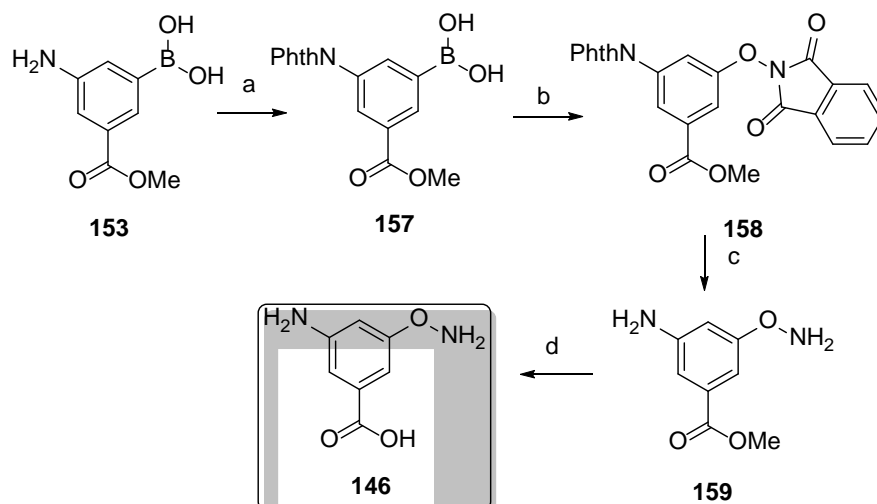
Schema 45: Versuche zur Synthese des Hydroxylamins **155**; Reaktionsbedingungen: a) MeOH, H₂SO₄, 65 °C, 24 h, 96 %; b) SnCl₂·2H₂O, EtOAc, 90 °C, 2 h, 92%; c) Ac₂O, Py, 1,4-Dioxan, RT, 24 h, 94 %; d) **151**, Py, (CH₂Cl)₂, siehe Tabelle 17.

⁸⁰ P. Y. C. Lam, C. G. Clark, S. Saubern, J. Adams, k. M. Averill, D. M. T. Chan, A. Combs, *Synlett* **2000**, 5, 674-676.

Tabelle 17: Kupfer-Katalysierte C-O Kupplung.

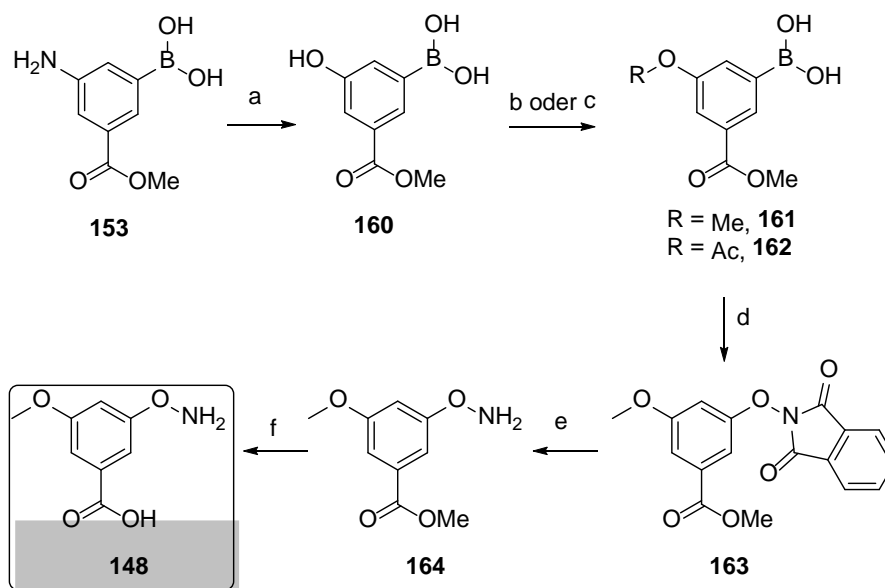
Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	CuCl, Molsieb (4Å), 72 h, RT → 40 °C, 24 h, Luft	 156
2	Cu(OAc) ₂ , Molsieb (4Å), 24 h, 40 °C, Luft	komplexes Gemisch
3	Cu(OAc) ₂ , Molsieb (4Å), 48 h, RT, O ₂	komplexes Gemisch

Das Misslingen der Kupplung könnte auf die Nukleophilie der Amidfunktion zurückgeführt werden. Es musste also eine andere Schutzgruppe für die Aminofunktion gesucht werden. Als Schutzgruppe wurde die Phthalimid-Gruppe ausgewählt, weil hier die Nukleophilie des Amidstickstoffatoms gegenüber Amiden reduziert sein sollte. Außerdem lässt sich die Gruppe relativ leicht unter milden Reaktionsbedingungen mit Hydrazin entfernen. Die Umsetzung des Amins **153** mit Phthalanhydrid lieferte das geschützte Produkt **157** in 48 % Ausbeute, wobei anzumerken ist, dass die Reaktion bei 80 °C durchgeführt werden sollte, da höhere Temperaturen zu Bildung eines unbekanntes Nebenproduktes führte (Schema 46). Die anschließende Kreuz-Kupplung erfolgte unter Verwendung von Kupfer^(II)-Acetat und lieferte das Hydroxylamin **158** in 88 % Ausbeute, und zwar berechnet auf die eingesetzte Menge des *N*-Hydroxyphthalimides. Als nächstes wurden die Phthalimid-Schutzgruppen durch die Umsetzung mit Hydrazin entfernt. Das so erhaltene freie Amin **159** sollte direkt in der nächsten Stufe eingesetzt werden, da schnelle Zersetzung des Produktes schon während der NMR-analytischen Untersuchungen festgestellt wurde. Abschließend wurde der Methylester unter basischen Bedingungen gespalten. Die Isolierung des Produktes **146** sollte mittels präparativer HPLC durchgeführt werden, da die Standard-Säure-Base-Extraktion nur zu Zersetzungsprodukten führte. Daher wurde das Amin durch Zugabe von Essigsäure in das Acetat überführt und anschließend mittels HPLC gereinigt und das Hydroxylamin **146** konnte in 50 % Ausbeute erhalten werden.



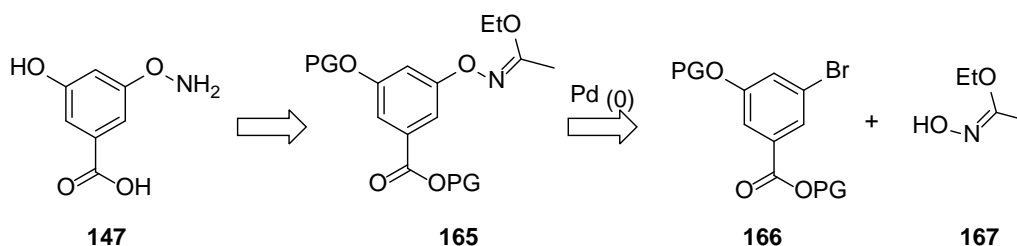
Schema 46: Synthese des Hydroxylamins **146**; Reaktionsbedingungen: a) Phthalanhydrid, AcOH, 80 °C, 2 h, 48 %; b) **151**, Py, $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$, $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, Molsieb 4 Å, 48 h, RT, O_2 , 88 %; c) NH_2NH_2 , CHCl_3 , THF, RT, 20 h, 63 %; d) $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, MeOH/THF/ H_2O (1:3:1), 50 %.

Für die Synthese der Hydroxylamine **147** und **148** sollte eine analoge Strategie verwendet werden. Dafür wurde zunächst das Amin **153** in den Alkohol **160** überführt (Schema 47). Dieses gelang unter Diazotierungsbedingungen und lieferte das Phenol **160** in 32 % Ausbeute. Nach der Schützung als Acetat oder als Methylether konnten die Boronsäuren **161** und **162** in Kupfer-vermittelten Kupplungen getestet werden. Allerdings wurde nur im Fall des Methylethers **161** das gewünschte Kupplungsprodukt **163** erhalten. Im Fall der Acetat-geschützten Boronsäure **162** wurden nur Zersetzungsprodukte massenspektrometrisch nachgewiesen. Anschließend wurden die Schutzgruppen gemäß der oben beschriebenen Strategie entfernt. So wurde schließlich das Hydroxylamin **148** in 73 % Ausbeute isoliert, wobei die Überführung in das Acetat-Salz mit anschließender HPLC-Reinigung nicht notwendig waren, da das Produkt mittels Säure-Base-Extraktion gereinigt werden konnte.



Schema 47: Synthese des Hydroxylamins **147**, **148**; Reaktionsbedingungen: a) NaNO_2 , HCl , H_2O , $-5\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min, 32 %; b) Ac_2O , Py, 1,4-Dioxan, RT, 48 h, 96 % (R = Ac); c) MeI , K_2CO_3 , Aceton, $70\text{ }^\circ\text{C}$, 20 h, 88 % (R = Me); d) **151**, Py, $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$, $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, Molsieb (4 \AA), 48 h, RT, O_2 , 39 %; e) NH_2NH_2 , CHCl_3 , THF, RT, 20 h, 85 %; f) $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{MeOH}/\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:3:1), 73 %.

Das Hydroxylamin **147** könnte durch Abspalten der Methylgruppe ausgehend von Hydroxylamin **148** hergestellt werden, allerdings wurde im Rahmen dieser Arbeit dieser Strategie auf Grund der Instabilität des Eduktes nicht untersucht. Stattdessen wurde eine alternative Möglichkeit zur Synthese der Hydroxylamine verfolgt. Die Palladium-katalysierte HARTWIG-BUCHWALD Kupplung⁸¹ mit dem Ethyl-*N*-hydroxy-acetimidat **167** könnte ebenfalls zum gewünschten Produkt **147** führen (Schema 48).

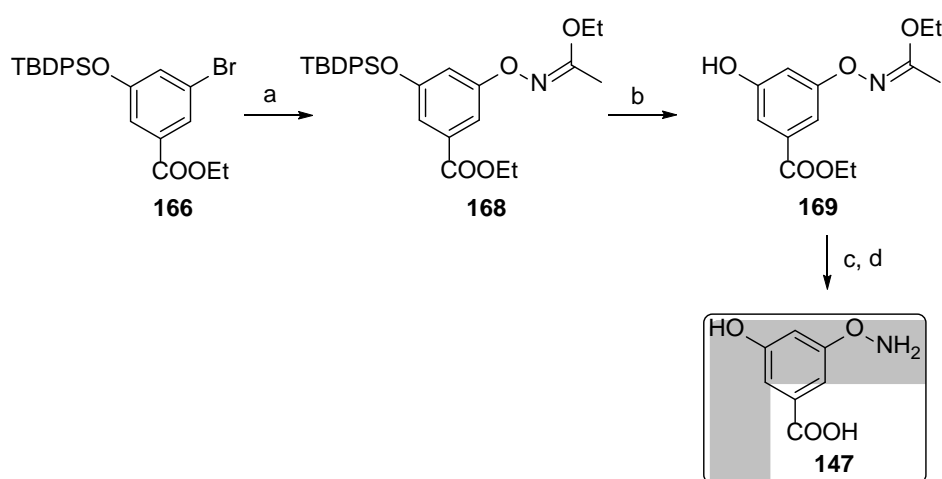


Schema 48: Geplante Synthese des Hydroxylamins **147**.

Da das TBDPS-geschützte Bromid **166** von früheren Arbeiten schon vorhanden war, konnte es direkt in der Palladium-katalysierten Kupplung erprobt werden. Das gewünschte Kupplungsprodukt **168** wurde in sehr guter Ausbeute von 82 % isoliert (Schema 49). Die anschließende TBDPS-Eenschutzung verlief ohne Probleme und lieferte Phenol **169** in nahezu

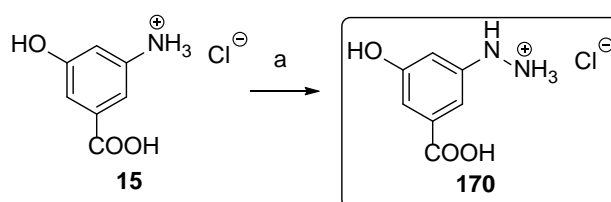
⁸¹ T. J. Maimone, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 9990–9991.

quantitativer Ausbeute. Durch die Umsetzung mit Salzsäure konnte das Oxim hydrolysiert werden. Das so erhaltene Hydroxylamin wurde ohne Reinigung direkt weiter verwendet. Nach dem Abspalten des Ethylesters wurde das gewünschte Mutasynthon **147** massenspektrometrisch detektiert, welches allerdings per Extraktion nicht isolieren ließ. Die Überführung des Produktes in die Salzform, analog zur oben beschriebenen Strategie, gefolgt von der Reinigung mittels HPLC lieferte schließlich das Hydroxylamin **147** in 11 % Ausbeute.



Schema 49: Synthese des Hydroxylamins **147**; Reaktionsbedingungen: a) **167**, (allylPdCl)₂, *t*-BuXPhos, Cs₂CO₃, Toluol, 65 °C, 10 h, 82 %; b) TBAF*3H₂O, THF, 0 °C, 20 min, 99 %; c) HCl (6.0 M), 1,4-Dioxan, 0 °C, RT, 1 h; d) LiOH*H₂O, THF/MeOH/H₂O (3:1:1), RT, 10 h, 11 % (über 2 Stufen).

Das Hydrazin-Derivat **170** wurde in einer Stufe ausgehend von AHBA **15** hergestellt. Zunächst wurde die Aminobenzoesäure durch die Umsetzung mit Natriumnitrit in Anwesenheit von Salzsäure in das Diazoniumsalz überführt, welches anschließend mit Zinnchlorid zum Hydrazin reduziert wurde (Schema 50). Das Hydrazin-Derivat **170** konnte in 93 % Ausbeute erhalten werden.



Schema 50: Synthese des Hydrazins **170**; Reaktionsbedingungen: a) (i) NaNO₂, konz. HCl, H₂O, -10 °C, 30 min, (ii) SnCl₂*2H₂O, -10 °C, 3 h, 93%.

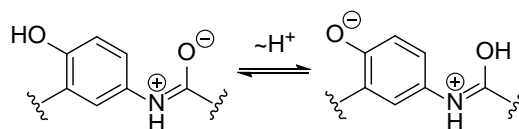
4.5. Fütterungsexperimente

4.5.1. Analytik der Geldanamycin-Derivate

In diesem Absatz wird die prinzipielle Vorgehensweise bei der Analyse der Geldanamycin-Derivate mittels Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie erläutert.

Bei der massenspektroskopischen Analyse der Geldanamycin-Derivate soll zum einen die Retentionszeit der Derivate, die bei einer Analyse mit der UPLC-MS in einem Bereich von 1.5 bis 2.6 Minuten liegen sollen, und zum anderem die charakteristische Fragmentierung in den Massenspektren, zum Beispiel Verluste von Carbamat, Methanol und Wasser, berücksichtigt werden. Zusätzlich kann die Bildung von doppelt ionisierten Addukten bei der Feststellung des Molekularions nützlich sein.

Aus der Arbeit von SIMONE EICHNER ist bekannt, dass die NMR-Analytik der Geldanamycin-Derivate oft Schwierigkeiten bereitet haben, welche sich auf Grund der vorhandenen Amid-Resonanz in breiten Signalen sowohl in den ^1H - als auch in den ^{13}C -Spektren äußert. Bei zusätzlichen Oxidationen am Aromaten sind



Schema 51: Zwitterionische System

Signalverbreiterungen noch deutlicher zu erkennen. Dies wurde mit der Bildung eines zwitterionischen Systemes erklärt (Schema 51).⁸² Um die Signalverbreiterung zu umgehen, sollte die NMR-Analytik der Geldanamycin-Derivate in Tetrahydrofuran bei 323 K durchgeführt werden.

4.5.2. Mutasynthese mit fluorierten Aminobenzoesäuren

Kohlenstoff-Fluor-Bindungen sind in der Natur kaum verbreitet.⁸³ Allerdings enthalten viele Pharmawirkstoffe mindestens eine C-F-Bindung.⁸⁴ Der Grund dafür ist, dass Fluoratome wegen ihrer extremen Elektronegativität und ihrer kleinen Größe stark polare Wechselwirkungen ausbilden können und damit wichtige pharmakologische Eigenschaften des Wirkstoffes beeinflussen können.⁸⁵ Zum Beispiel ist die Kohlenstoff-Fluor-Bindung

⁸² S. Eichner. Dissertation, *Darstellung neuer Ansamycin-Derivate über Mutasynthese in Kombination mit Semisynthese*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2011**.

⁸³ a) D. O'Hagan, J. T. G. Hamilton, C. D. Murphy, *Nature* **2002**, 416, 279; b) C. Dong, F. Huang, H. Deng, C. Schaffrath, J. B. Spencer, D. O'Hagan & J. H. Naismith, *Nature* **2004**, 427, 561-565.

⁸⁴ a) S. Purser, P. R. Moore, S. Swallow, V. Gouverneur, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 320-330.

⁸⁵ a) T. Furuya, A. S. KamLet, T. Ritter, *Nature* **2011**, 473, 470-477. b) T. Furuya, A. S. KamLet, T. Ritter, *Nature*, **2011**, 473, 470-477. c) K. Müller, C. Faeh, F. Diederich, *Science* **2007**, 317, 1881-1886.

(485 kJ/mol) viel stärker als die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindung (416 kJ/mol). Deswegen sind die fluorierten Wirkstoffe meistens resistenter gegenüber metabolischer Degradierung verglichen mit nicht-fluorierten Analoga.⁸⁶ Zusätzlich führt die Einführung des Fluoratoms in Arzneimittel zur verbesserten Bioverfügbarkeit, Lipophilie und zu verstärkten Wechselwirkungen mit dem Zielprotein.⁸⁷ So ist es nicht erstaunlich, dass ungefähr ein Fünftel aller kommerziell vertriebenen Pharmawirkstoffe mindestens eine C-F-Bindung enthalten. Bekannte Beispiele hierfür sind das Antidepressivum Fluoxetine (Prozac) **171**⁸⁸ oder das Antitumor-Medikament Fluoruracil **172**⁸⁹ (Abbildung 21).

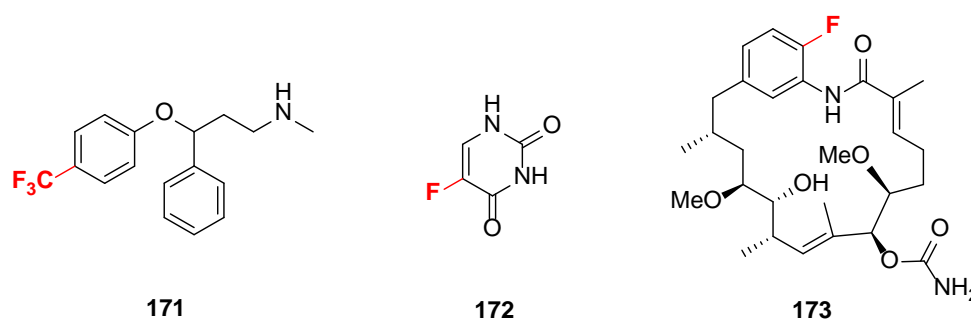


Abbildung 21: Die Strukturen von Fluoxetine **171**, Fluoruracil **172** und Fluorogeldanamycin **173**.

Das erste Fluor-Derivat des Geldanamycins wurde von SIMONE EICHNER während ihrer Doktorarbeit beschrieben. Die Verbindung **173** zeigte eine sehr gute antiproliferierende Aktivität gegenüber unterschiedliche Krebs Zellen ($IC_{50} = 18-73$ nmol, Abbildung 21).^{45c} Um die Auswirkung von Fluoratomen an anderen Positionen des aromatischen Kerns auf die biologische Aktivität dieser Naturstoffklasse zu untersuchen, sollten weitere Mutasynthesen mit positionsveränderten Fluor-substituierten Aminobenzoesäuren durchgeführt werden. Die Fluor-Aminobenzoesäuren **174**, **175** und **176** wurden hierfür von ILONA BULYSZKO hergestellt und zur Verfügung gestellt (Abbildung 22).⁹⁰

⁸⁶ a) S. B. Rosenblum, T. Huynh, A. Afonso, H. R. Davis, J. N. Yumibe, J. W. Clader, D. A. Burnett, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 973-980; b) K. Bannai, T. Toru, T. Oba, T. Tanaka, N. Okamura, K. Watanabe, A. Hazato and S. Kurozumi, *Tetrahedron* **1983**, *39*, 3807-3819.

⁸⁷ a) J. A. Olsen, D. W. Banner, P. Seiler, B. Wagner, T. Tschopp, U. Obst-Sander, M. Kansy, K. Müller, F. Diederich, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 666-675; b) B. E. Smart, *J. Fluorine Chem.* **2001**, *109*, 3-11; c) N. Muller, *J. Pharm. Sci.* **1986**, *75*, 987-991.

⁸⁸ D. T. Wong, J. S. Horng, F. P. Bymaster, K. L. Hauser, B. B. Molloy, *Life Sci.* **1974**, *15*, 471-479.

⁸⁹ D. B. Longley, D. P. Harkin, P. G. Johnston, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 330-338.

⁹⁰ I. Bulyszko, *Dissertation*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2015**.

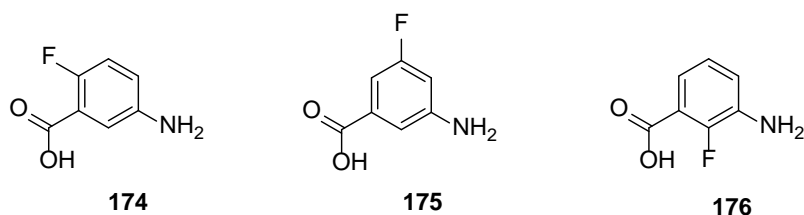


Abbildung 22: Fluor-Aminobenzoesäuren **174-176**.

Die Testfermentationsexperimente zeigten, dass alle drei Aminobenzoesäuren von der Block-Mutante K390-61-1 angenommen, auf die PKS geladen und zu Geldanamycin-Derivaten prozessiert wurden. Deswegen wurden die Fermentationen im großen Maßstab (1.2 L Fermentationsmedium) wiederholt. Die Fütterung der Fluorbenzoesäure **174** lieferte das cyclisierte und an C-7 carbamoylierte Geldanamycin-Derivat **177** in sehr guter Ausbeute von 6.7 mg/L. Die NMR-Analytik des Derivates wurde in Methanol-d₄ durchgeführt, wobei die im Kapitel 4.5.1. beschriebene Signalverbreiterung festgestellt wurde. Dennoch konnten mit Hilfe von COSY-, HSQC- und HMBC-Spektren alle Signale zugeordnet werden. Im Fall der 3,5-substituierten Benzoesäure **175** konnten zwei Geldanamycin-Derivate massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Allerdings konnte nur das an C-7 carbamoylierte und an C-17 oxidierte Derivat **178** isoliert werden. Zusätzlich wurde das an C-17 methylierte Derivat **179** in Spuren gebildet, das aber nicht isoliert werden konnte. Die Mutasyntese mit der Aminobenzoesäure **176** resultierte in zwei neuen Derivaten, zum einen in dem an C-7 carbamoylierten Geldanamycin-Derivat **180** und zum anderen in dem an C-7 carbamoylierten und an C-17 oxidierten Derivat **181**. Die beiden Geldanamycin-Derivate konnten in guten Ausbeuten von jeweils 3.5 mg/L erhalten werden (Abbildung 23).

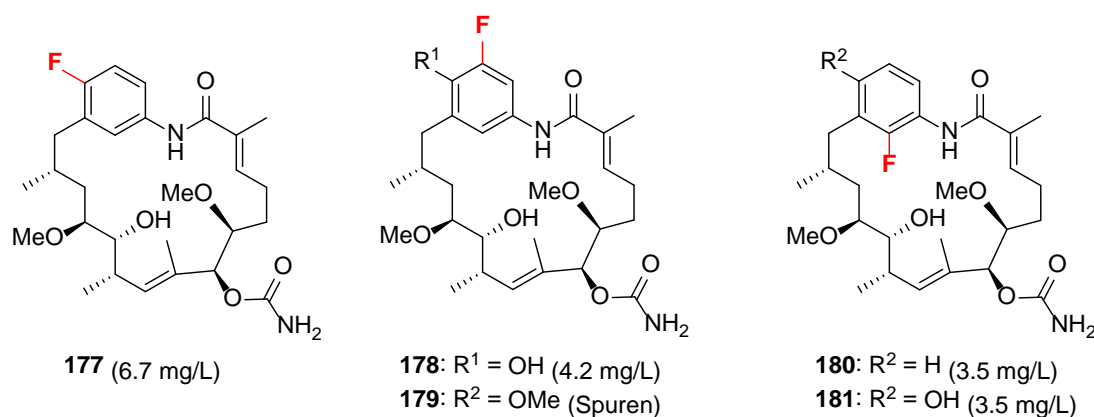


Abbildung 23: Fluor-Geldanamycin-Derivate.

4.5.3. Mutasynthese mit *meta*-substituierten Aminobenzoesäuren

Die Test-Fütterungen mit den Aminobenzoesäuren **145**, **136** und **182** wurden von SIMONE EICHNER im Rahmen ihre Doktorarbeit durchgeführt (Abbildung 24).⁸² Alle drei Mutasynthone wurden von der Bakterien-Mutante akzeptiert und zu verschiedenen Geldanamycin-Derivaten umgesetzt. Im Rahmen dieser Arbeit sollten die Fermentationen im großen Maßstab wiederholt werden, um die Geldanamycin-Derivate zu isolieren und zu charakterisieren.

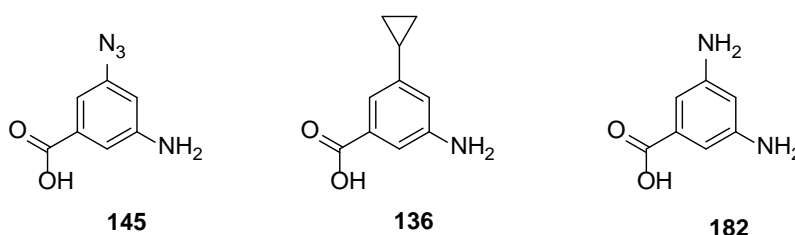


Abbildung 24: *meta*-substituierte Aminobenzoesäuren **145**, **136** und **182**.

Das Azido-Geldanamycin-Derivat stellt ein interessantes Substrat für weitere Modifizierungen mittels „Click“-Chemie dar, so zum Beispiel für die Herstellung von Biokonjugaten, die die selektive Bekämpfung von Krebszellen ermöglichen.⁹¹ Allerdings erwies sich die Produktion des gewünschten Geldanamycin-Derivates **183** als zu gering, um eine ausreichende Menge für weitere Semisynthesen zu isolieren. Aus dem insgesamt 2 L Fermentationsmedium konnten nur 0.6 mg des Mutaproduktes **183** isoliert werden, was einer Ausbeute von 0.3 mg/L entspricht (Abbildung 25). Es ist interessant, dass die Reduktion der Azidogruppe, die in der Mutasynthese mit der AHBA(-)-Block-Mutante von *Actinosynnema pretiosum* HGF073 beschrieben wurde, in diesem Fall nicht erfolgt.⁹²

Die Mutasynthese mit der 3-Amino-5-cyclopropylbenzoesäure **136** lieferte zwei neue Geldanamycin-Derivate **184** und **185** (Abbildung 25). Das an C-7 carbamoylierte Derivat **184** konnte dabei in guter Ausbeute isoliert werden. Zusätzlich wurde das an C-17 oxidierte Derivat **185** allerdings nur in geringer Menge produziert; es wurde aus einem

⁹¹ a) Y. V. Kovtun, C. A. Audette, M. F. Mayo, G. E. Jones, H. Doherty, E. K. Maloney, H. K. Erickson, X. Sun, S. Wilhelm, O. Ab, K. C. Lai, W. C. Widdison, B. Kellogg, H. Johnson, J. Pinkas, R. J. Lutz, R. Singh, V. S. Goldmacher, R. V.J. Chari, *Cancer Res.* **2010**, *70*, 2528-2537. b) R. V. J. Chari, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 98-107; c) H. K. Erickson, P. U. Park, W. C. Widdison, Y. V. Kovtun, L. M. Garrett, K. Hoffman, R. J. Lutz, V. S. G., and W. A. Blättler, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 4426-4433.

⁹² L. Mancuso, G. Jürjens, J. Hermane, S. Eichner, K. Harmrolfs, J. Fohrer, F. Sasse, W. Collisi, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2013**, *17*, 4442-4445.

Fermentationsansatz von 1.2 L lediglich 0.4 mg isoliert. Die Menge reichte nicht aus, um detaillierte NMR-Analysen durchzuführen.

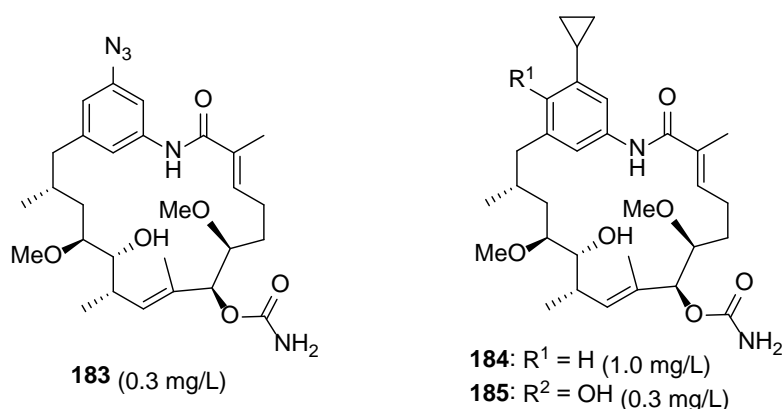


Abbildung 25: Isolierte Geldanamycin-Derivate **183-185**.

Im Fall der Mutasythese mit der Diaminobenzoesäure **182** konnten insgesamt acht Geldanamycin-Derivate massenspektrometrisch identifiziert werden, von denen acht Derivate auch isolierbar waren (Abbildung 26). Alle Derivate enthalten die Carbamat-Funktion an C-7. Als weitere post-PKS Modifizierungen wurden die Oxidation an C-17 und die Dehydrierung an C-4 und C-5 festgestellt. Zusätzlich konnten zwei am Stickstoffatom acetylierte Produkte **189** und **190** isoliert werden. Die Acetylierung, als Detoxifizierungsprozess, wurde bereits mehrfach in der Literatur beschrieben.^{84, 86} Das Geldanamycin-Derivat **190** stellt ein seltenes Produktbeispiel dar, weil die Oxidase hier eine Oxidation von C-21 bewirkt, ohne dass eine *O*-Methylierung an C-17 vorliegt. Die Strukturaufklärung dieses Derivates gelang mittels NMR-Spektroskopie, wobei nur ein Signal im aromatischen Bereich auftrat. Dies weist auf einen fünffach-substituierten Aromaten hin. Das Vorhandensein der Acetylgruppe konnte sowohl im ¹H- als auch im ¹³C-Spektrum nachgewiesen werden.

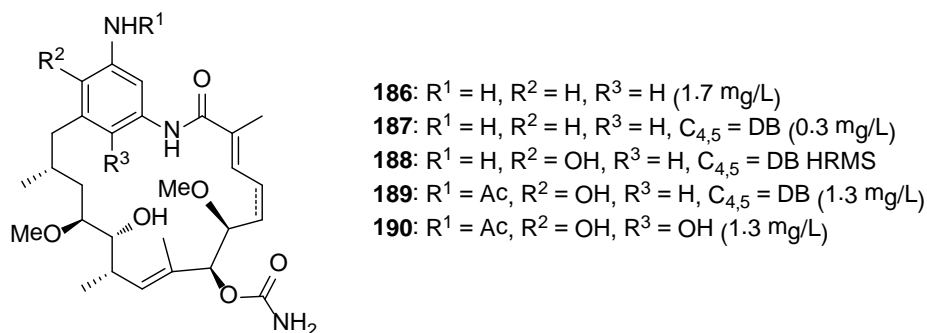


Abbildung 26: Amino-Geldanamycin-Derivate.

Zusätzlich konnten Geldanamycin (**1**), Dihydrogeldanamycin (**1b**) und das Phenol-Derivat **191** isoliert werden, wobei Geldanamycin als Hauptprodukt in dieser Fermentation gebildet wurde (Abbildung 27). Um Fehler auszuschließen, wurde das Mutasynton **182** auf mögliche Verunreinigungen massenspektrometrisch untersucht. Es wurden keine Spuren von AHBA **15**, die zur Bildung von Geldanamycin (**1**) führen könnten, nachgewiesen.

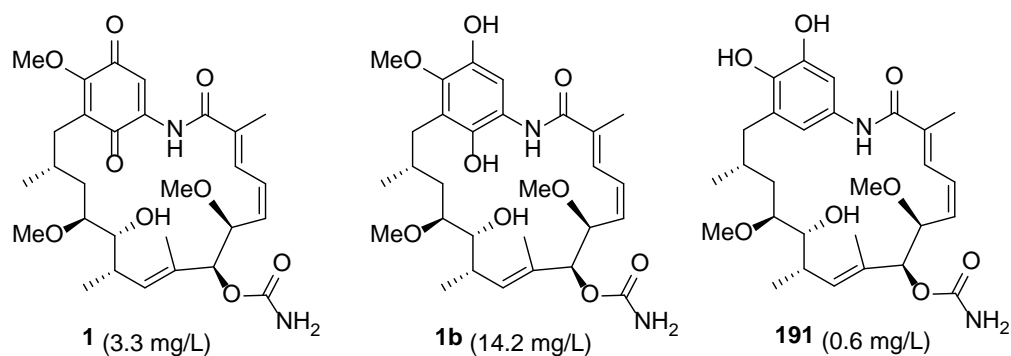
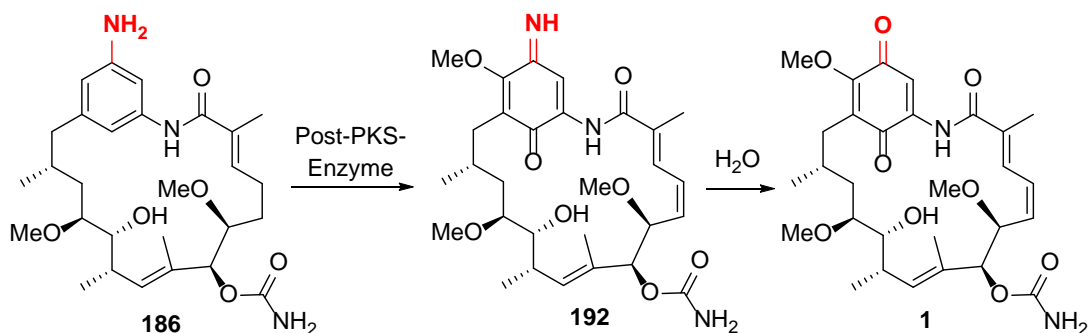


Abbildung 27: Geldanamycin-Derivate **1**, **1b** und **191**.

Die Bildung von Geldanamycin bei Einsatz des Mutasyntons **182** lässt sich gemäß des in Schema 52 dargestellten Hydrolyse-Mechanismus des Aza-Geldanamycin-Derivates **192** erklären. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde das Amino-Geldanamycin-Derivat **186** an die Block-Mutante K390-61-1 verfüttert. Allerdings wurde die Bildung von Geldanamycin (**1**) massenspektrometrisch nicht nachgewiesen. Auch konnte keine Acetylierung der Aminogruppe nachgewiesen werden. Das bedeutet, dass das Geldanamycin-Derivat **186** nicht in der Zelle aufgenommen wurde. Der Vergleich der Konzentrationen von während der Produktion gebildetem Geldanamycin (**1**) und dem Aza-Geldanamycin-Derivat **186** abhängig von der Zeit lieferte ebenfalls keinen Beweis für den vorgeschlagenen Mechanismus. Dafür wurde die Produktion der beiden Verbindungen nach jeweils 24 Stunden innerhalb von vier Tagen massenspektrometrisch untersucht. Es wurde erwartet, dass die Menge des Geldanamycins (**1**) mit der Zeit steigen und die Menge des Derivates **186** zuerst steigen und dann wegen der Hydrolyse sinken wird. Allerdings konnte nur eine Steigerung der Konzentrationen von beiden Naturstoffen mit der Zeit detektiert werden.



Schema 52: Vorgeschlagener Mechanismus zur Bildung von Geldanamycins (**1**) aus Anilin **186**.

4.5.4. Mutasynthese mit heterocyclischen Mutasyntonen

Heterocyclen sind weitverbreitete Strukturmodule in vielen kommerziellen Medikamenten. Die Einführung von Heterocyclen kann als nützliches Werkzeug dienen, um Lipophilie, Polarität und Wasserstoffbrücken-Kapazität von Molekülen zu manipulieren.⁹³ Deswegen soll die Mutasynthese mit heteroaromatischen Aminosäuren untersucht werden, um neue Geldanamycin-Derivate mit verbesserten oder neuen biologischen Eigenschaften zu erzeugen. Hierfür wurden fünf unterschiedliche Heterocyclen an die Block-Mutante *S. hydroscopicus* verfüttert, und zwar Benzotriazol (als Säure **131** oder als SNAC-Ester **132**), die beiden Thiazole **193** und **194**, das Triazol **195** und das Thiophen **196** (Abbildung 28). Thiazole **193**, **194** und Triazol **195** sind käuflich erhältlich. Das Thiophen **196** wurde von LENA MANCUSO synthetisiert und zur Verfügung gestellt.⁹⁴

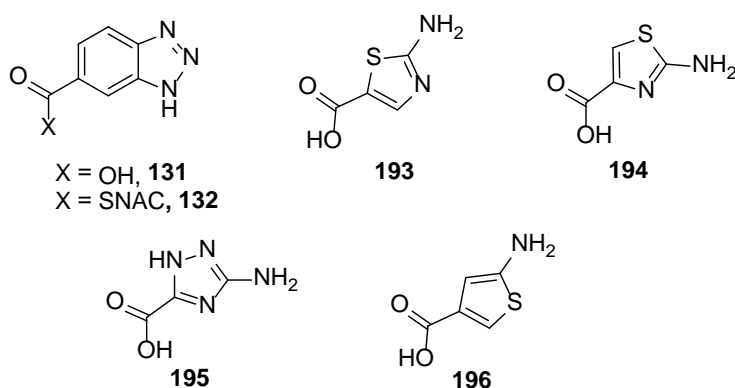


Abbildung 28: Heteroaromatische Aminosäuren.

⁹³ A. Gomtsyan *Chem. Heterocycl. Compd.* **2012**, 48, 7-10.

⁹⁴ L. Mancuso, Dissertation, *Mutasynthesen von Tumor-adressierenden Ansamitocinen*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2013**.

Das Fütterungsexperiment mit dem Benzotriazol **131** lieferte ausschließlich das offenkettige *seco*-Progeldanamycin-Derivat **197** (Abbildung 29). Da die Testfermentation eine geringe Ausbeute vorhersagte, wurde erst der SNAC-Ester des Mutasythons **132** hergestellt, welcher die Aufladung der Säure auf die PKS vereinfachen sollte. Allerdings zeigte die Verfütterung des SNAC-Esters **132** nur eine sehr geringe Verbesserung der Produktion. Zusätzlich verkomplizierte die schlechte Löslichkeit des Thioesters in DMSO das Fütterungsverfahren. Deswegen wurde die Fermentation im großen Maßstab mit der Säure **131** durchgeführt. Aus dem insgesamt 1.2 L großen Fermentationsansatz konnten 0.5 mg des Produktes **197** isoliert werden, was einer Ausbeute von 0.4 mg/L entspricht. Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass die Säure **197** als Gemisch von zwei strukturell ähnlichen Verbindungen vorliegt. Dabei könnte es sich um zwei Isomere des Triazols handeln. Versuche die Isomere mittels HPLC zu trennen, führten zur Zersetzung des Produktes. Die Instabilität der offenkettigen Derivate wurde auch in anderen Mutasythosexperimenten beobachtet.

Im Fall der Mutasythese der Thiazole **193** und **194** wurde nur ersteres von der Block-Mutante K390-61-1 angenommen, auf die PKS geladen und zu den neuen Geldanamycin-Derivaten **198** und **199** prozessiert (Abbildung 28). Allerdings war die Produktion dieser Geldanamycin-Derivate zu gering, um ausreichende Mengen für detaillierte NMR-analytische Untersuchungen zu erhalten. Das Mutasythons **195** wurde in noch geringerem Maße von den Bakterien prozessiert, sodass nur Spuren von dem *N*-acetyliertem und an C-7 carbamoyliertem Derivat **200** massenspektrometrisch identifiziert werden konnten.

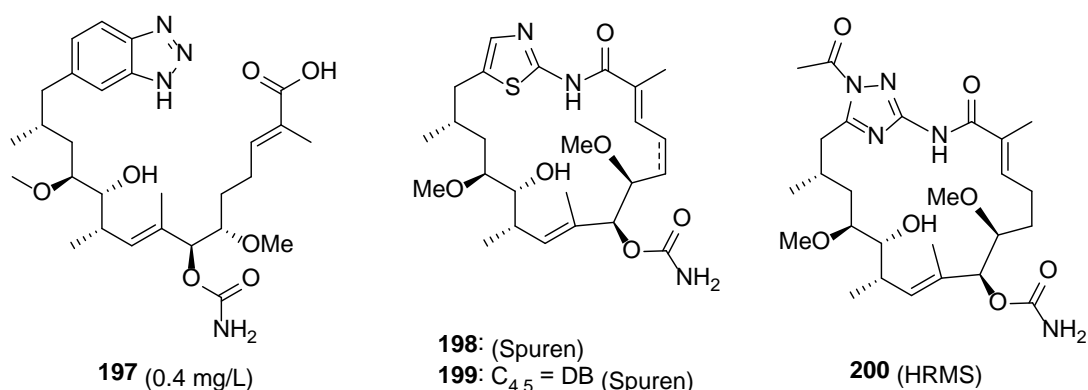
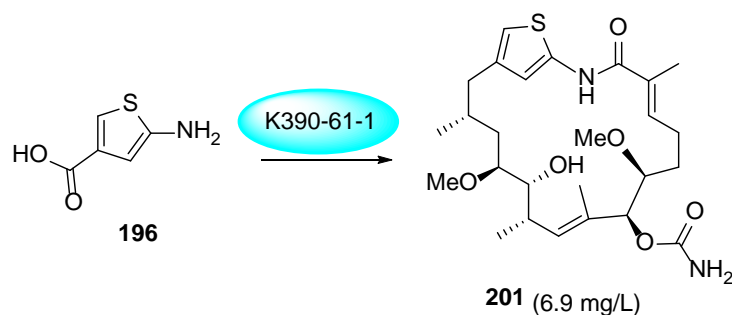


Abbildung 29: Heterocyclische Geldanamycin-Derivate.

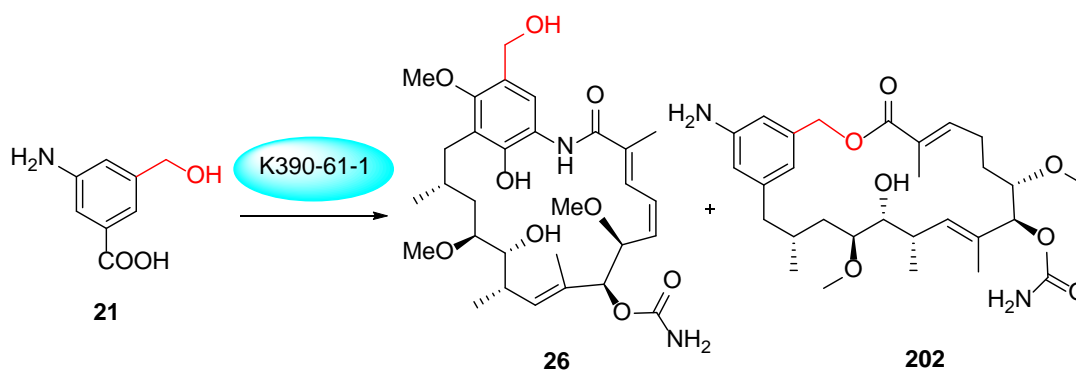
Die Fütterung vom Thiophen **196** lieferte das cyclisierte und an C-7 carbamoylierte Geldanamycin-Derivat **201** in sehr guter Ausbeute von 6.9 mg/L (Schema 53). Somit konnte das erste heterocyclische Thio-Geldanamycin-Derivat erhalten werden.



Schema 53: Mutasynthese mit Thiophen-Derivat **196**.

4.5.5. Mutasynthese mit Hydroxylamin und Hydrazin-Derivaten

Die früheren Arbeiten von SIMONE EICHNER zeigten, dass die Amidsynthese die Bildung von den 19-gliedrigen Makrolactamen sowie die Bildung von den 20-gliedrigen Makrolactonen katalysieren kann (Schema 54). Die Molekulardynamikrechnungen zeigten, dass die Orientierung des Aromaten bei Eintritt in die Bindungstasche der Amidsynthese eine entscheidende Rolle spielt, wobei im Fall der Hydroxymethyl-Substituenten die sterische Hinderung der Prolingruppe des Enzyms den Konformationswechsel verhindert und somit statt zur Bildung des Lactams zur Bildung des Lactons führt.³⁸



Schema 54: Mutasynthese mit Hydroxymethyl-substituiertem Mutasynthon **21**.

Dadurch könnte die Mutasynthese mit Hydroxylamin- und Hydrazin-Derivaten auch zur Bildung neuer 20-gliedriger Geldanamycin-Derivate mit neuer biologischer Aktivität führen. Um dieses zu untersuchen, wurden das *N*-Arylhydroxylamin **203**, drei *O*-Arylhydroxylamine **146-148** und das Hydrazin-Derivat **170** an die Block-Mutante von *S. hygroscopicus* verfüttert (Abbildung 30). Das *N*-Arylhydroxylamin **203** wurde von LENA MANCUSO synthetisiert und zur Verfügung gestellt.⁸⁸

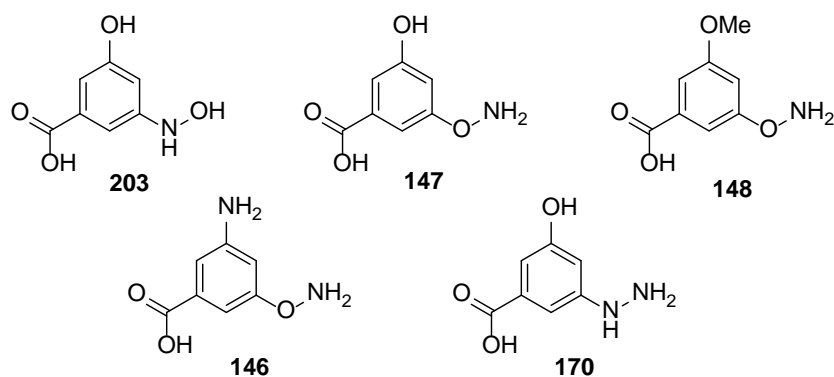


Abbildung 30: Hydroxylamin- und Hydrazin-Derivate **146-148**, **170** und **203**.

Das Testfermentationsexperiment mit dem *N*-Arylhydroxylamin **203** zeigte, dass das Mutasynton von den Bakterien angenommen, auf die PKS geladen und zu Geldanamycin-Derivaten prozessiert wurde. Als Hauptprodukt in der Fermentation wurde allerdings Geldanamycin (**1**) identifiziert, was wahrscheinlich durch die Reduktion der Hydroxylamino-Gruppe gebildet wurden (Abbildung 31, a).

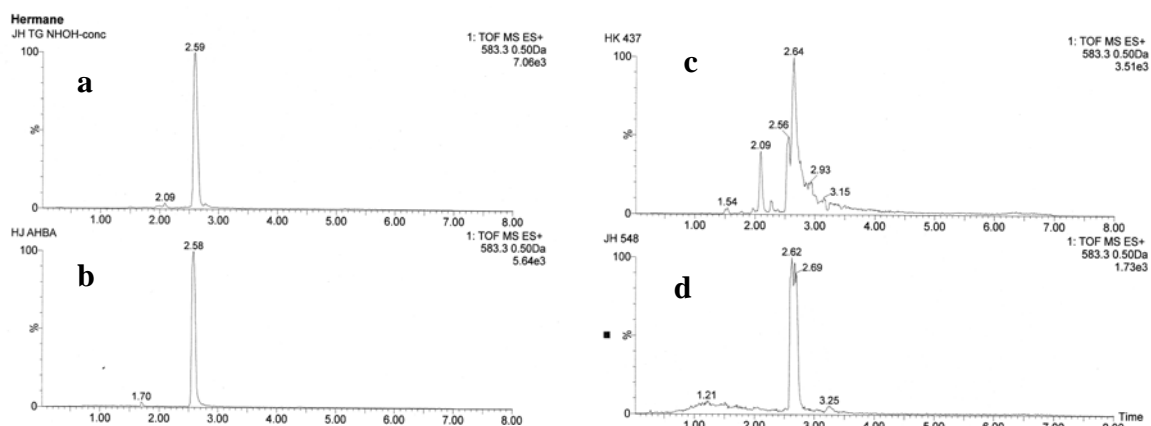


Abbildung 31: Geldanamycin Massenspuren in **a**: Verfütterung von Hydroxylamin **203**; **b**: Verfütterung von AHBA **15**; **c**: Verfütterung von Hydroxylamin **146**; **d**: Verfütterung von Hydrazin **170**.

Zusätzlich konnten zwei weitere Geldanamycin-Derivate **204** und **205** in Spuren nachgewiesen werden. Die Retentionszeiten der Derivate **204** und **205** deuteten auf die Entstehung von polaren Verbindungen hin, wobei die Retentionszeit des Derivates **204** ähnlich der Retentionszeit von Geldanamycin ($t_R = 2.5$ min) und die Retentionszeit des Derivates **205** ähnlich der von Dihydrogeldanamycin ($t_R = 1.96$ min) ist. Die möglichen Strukturen, die unter Berücksichtigung der Retentionszeiten ermittelt wurden, sind in der Abbildung 32 gezeigt. Aufgrund der geringen Produktion wurde in diesem Fall auf die

Fermentation im großen Maßstab verzichtet und somit konnten die Strukturen der Derivate **204** und **205** nicht abschließend aufgeklärt werden.

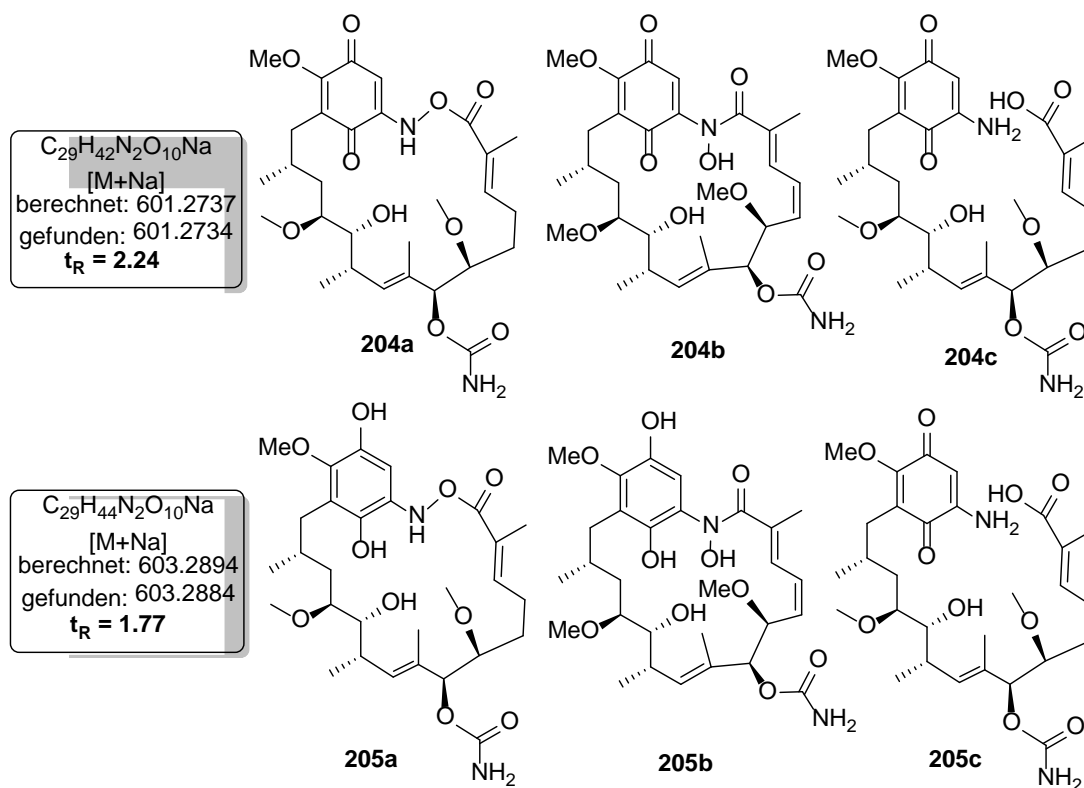


Abbildung 32: Strukturvorschläge für die Geldanamycin-Derivate **204** und **205**.

Die beiden Hydroxylamin-Derivate **147** und **148** wurden von den Bakterien nicht akzeptiert bzw. prozessiert. Da auch keinerlei *seco*-Produkte in der Fermentationsbrühe gefunden wurden, ist davon auszugehen, dass diese Startbausteine nicht auf die PKS geladen wurden. Dies weist auf die Reduktion der *N-O*-Bindung vor der Aufladung auf die PKS hin, da in diesem Fall die Phenol-Derivate entstehen, die, wie von vorherigen Arbeiten bekannt ist, von den Bakterien nicht weiter prozessiert werden.

Um die Reduktion der *O*-Arylhydroxylamine zu beweisen, wurde das Hydroxylamin-Derivat **146** an die Bakterien verfüttert, welches im Fall der Reduktion zum Geldanamycin (**1**) führen sollte. Die Testverfütterung zeigte tatsächlich die Bildung von Geldanamycin (**1**) (Abbildung 31, c). Zusätzlich wurden drei weitere Geldanamycin-Derivate **206**, **207** und **208** massenspektrometrisch nachgewiesen. Um die Strukturen dieser Derivate aufzuklären, wurde die Fermentation im großen Maßstab wiederholt. Aus insgesamt 1.2 L Fermentationsmedium konnten 3.0 mg von Geldanamycin (**1**) und 4.0 mg des Dihydroderivates (**1b**) isoliert werden, was Ausbeuten von 2.5 mg/L bzw. 3.3 mg/L entspricht. Das Derivat **206** wurde in geringer Menge erhalten, die nur für die 1H -NMR nicht für die ^{13}C -NMR-Analytik ausreichte. Zwei

weitere Derivate konnten wegen geringer Stabilität nicht isoliert werden. Die Polarität und Instabilität der Verbindungen **207** und **208** weist auf eine offenkettige Struktur hin (Abbildung 33).

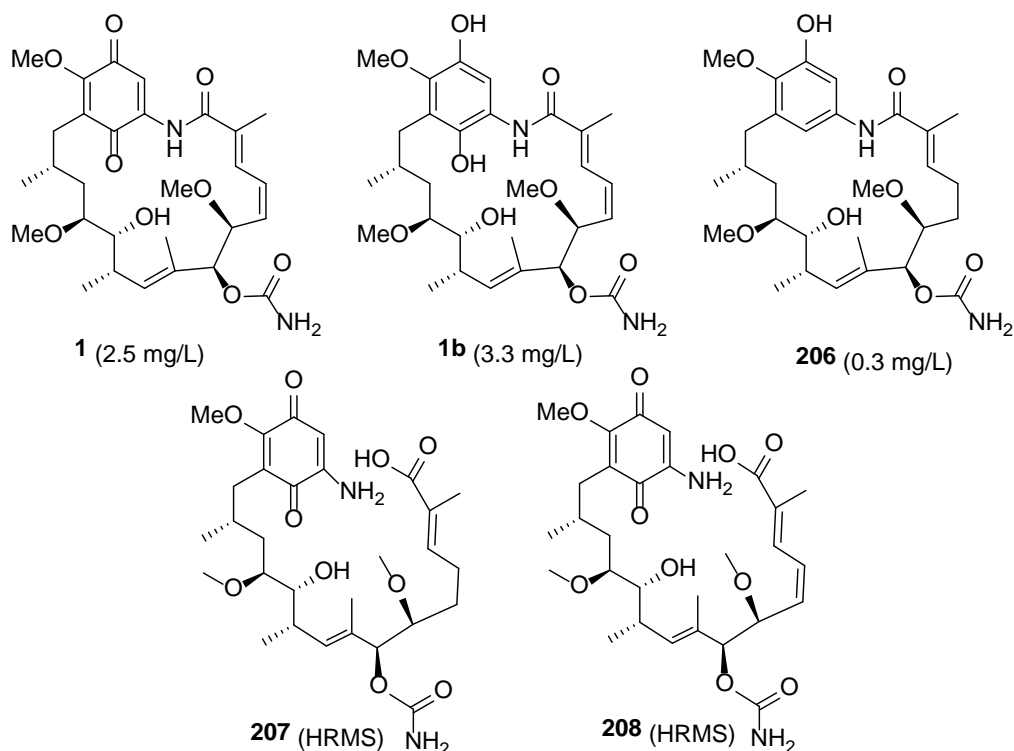


Abbildung 33: Geldanamycin-Derivate.

Um die Reduktion weiter zu untersuchen, wurde das Hydrazin-Derivat **170**, das eine stabilere Stickstoff-Stickstoff-Bindung enthält, an die Bakterien verfüttert. In diesem Fall wurde ebenfalls die Reduktion, dieses Mal der N-N Bindung festgestellt, wobei Geldanamycin (**1**) als einziger Metabolit in der Fermentationsbrühe per massenspektrometrischer Analyse nachgewiesen werden konnte (Abbildung 31, d).

4.5.6. Biologische Aktivitäten der Geldanamycin-Derivate

Die in Kapitel 4.5 hergestellten Geldanamycin-Derivate wurden am Institut für Biophysik in der Arbeitsgruppe ZEILINGER auf ihre inhibitorische Wirkung auf Hsp90 α untersucht. Hierfür wurde ein Verdrängungsassay mit humanen Hsp90 α und bakteriellen HtpG aus *H. pylori*, welches ein interessantes Target in infektiösen Krankheiten darstellt, entwickelt. Diese Assays basieren auf der Verdrängung von fluoreszenzmarkiertem Cy3-ATP aus der ATP-Bindungstasche des Hitzeschockproteins durch potenzielle Inhibitoren.⁹⁵ Um die Qualität der Assays zu beurteilen, wurde jeweils der Z-Faktor gemäß der Arbeit von ZHANG⁹⁶ berechnet. Der Z-Faktor ist ein Parameter ohne Dimension mit Werten zwischen $-\infty < Z < 1$, der von positiven und negativen Kontrolexperimenten abhängig ist (Abbildung 34). In diesem Fall wurde der Bindepuffer als negative Kontrolle und der gut akzeptierte Standard 17-AAG **9** (in einer Konzentration von 5 μ M) als positive Kontrolle verwendet.

$$\mathbf{Z\text{-Faktor}} = \mathbf{1 - 3(\sigma_p + \sigma_n)/|\mu_p - \mu_n|}$$

Mit: σ = Standardabweichung, μ = Mittelwert, n = negativ, p = positiv.

Abbildung 34: Die Berechnung des Z-Faktors.

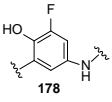
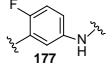
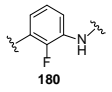
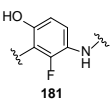
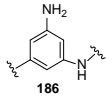
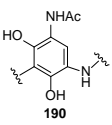
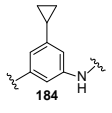
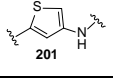
Die Qualität der Assays ist ideal, wenn der Z-Faktor den Wert von 1 hat. Wenn der Z-Faktor zwischen 0.5 und 1 liegt, ist der Assay sehr zuverlässig, während ein Wert zwischen 0 und 0.5 einen schlecht reproduzierbaren Assay darstellt.

Wie in Tabelle 18 zu sehen ist, zeigen vor allem die fluorinierten Derivate **178-181** eine starke Bindung zu Hsp90, wobei eine höhere Affinität zu den humanen Hsp90 α als zur den bakteriellen HtpG festzustellen ist. Die Einführung der Aminogruppe führte zur Verstärkung der Bindungselektivität an humanem Hsp90 α mit einem IC₅₀-Wert von 17 nM. Jedoch zeigte das acylierte Derivat **190** nur eine sehr schwache Bindung, was auf die geringe Wasserstoffbrückenbildung und die Konformationsänderung wegen der großen Acetyl-Gruppe zurückgeführt werden kann. Im Fall des Cyclopropyl-Derivates **184** konnte keine Bindung zu den beiden Proteinen festgestellt werden. Dieses kann mit den fehlenden Wasserstoffbrückenakzeptoren, welche für die Bindung an Hsp90 notwendig sind, erklärt werden. Das neue Thiophen-Derivat **201** zeigte nur eine mittelmäßige Bindungsaffinität.

⁹⁵ E. Schax, J.-G. Walter, H. Märzhäuser, F. Stahl, T. Scheper, D. A. Agard, S. Eichner, A. Kirschning, C. Zeilinger, *in Vorbereitung*

⁹⁶ J. H. Zhang, T. D. Y. Chung, K. R. Oldenburg, *J. Biomol. Screen.* **1999**, *4*, 67-73.

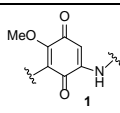
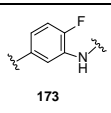
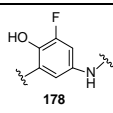
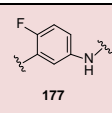
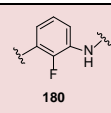
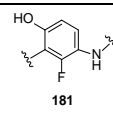
Tabelle 18: IC₅₀-Werte von Hsp90α aus *H. sapiens* und von HtpG aus *H. pylori*.

	IC ₅₀ (nM)			
	Hsp90	Z	HtpG	Z
	57.0 ± 15.51	0.78	163.26 ± 31.77	0.69
	10±2.7	0.68	64.0±2.34	0.78
	39.05 ± 11.39	0.76	103.38 ± 29.47	0.53
	18.22 ± 4.11	0.77	38.48 ± 7.48	0.55
	17.01 ± 23.75	0.81	nb	0.62
	608.0 ± 305.27	0.56	154.12 ± 75.04	0.8
	nb	0.72	nb	0.53
	127.49 ± 42.18	0.45	56.63 ± 24.96	0.77

Um weitere Aussage über Struktur-Aktivitäts-Beziehungen dieser Verbindungen machen zu können, wurden von FLORENZ SASSE am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig (HZI) Untersuchungen zu antiproliferierenden Wirkungen auf verschiedene humane Krebszelllinien mittels MTT-Test⁹⁷ durchgeführt. Die ersten Ergebnisse sind in Tabelle 19 zusammengefasst. Als Referenzen sind die IC₅₀-Werte von Geldanamycin (**1**) und 19-Fluor-Geldanamycin **173** angegeben.

⁹⁷ T. Mosmann, *J. Immunol. Methods.* **1983**, 65, 55-63.

Tabelle 19: Antiproliferative Aktivität IC₅₀ [nM] der Geldanamycin-Derivate.

Zelllinie (Ursprung)	IC ₅₀ (nM)					
	 1	 173	 178	 177	 180	 181
KB-3-1 (Cervix-Karzinom)	53	73	49	54	46	131
PC-3 (Prostata-Karzinom)	18	42	121	60	67	187
SK-OV-3 (Ovarial-Karzinom)	125	54	187	77	79	350
A-431 (Epidermoid-Karzinom)	18	62	45	37	37	101

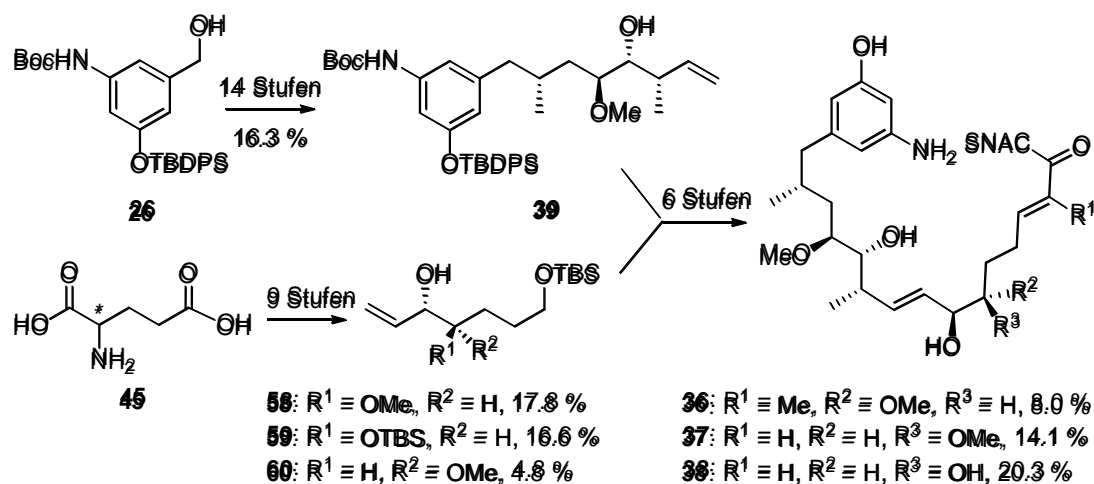
Aus den Zytotoxizitätstests ist ersichtlich, dass alle fluorierten Geldanamycin-Derivate eine hohe antiproliferierende Wirkung auf die Krebszelllinien besitzen. Vor allem zeigten die Verbindungen **177** und **180** eine Aktivität ähnlich der von 19-Fluor-Geldanamycin, welche im Fall vom Eierstock-Adenokarzinom sogar besser als bei Geldanamycin (**1**) ist. Zusammenfassend lässt sich die Aussage treffen, dass die Position von Fluor wenig Einfluss auf die Zytotoxizität hat, wobei das Vorhandensein der Hydroxylgruppe an C-17 zur starken Reduktion der biologischen Aktivität führt. Es scheint, dass für die hohe Aktivität der fluorinierte Geldanamycin-Derivate die veränderte Konformation verantwortlich ist. Um diese Hypothese zu überprüfen, soll in Zukunft Kristallstrukturanalysen von Hsp90 mit den fluorierten Inhibitoren angefertigt werden.

5. Zusammenfassung und Ausblick

5.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

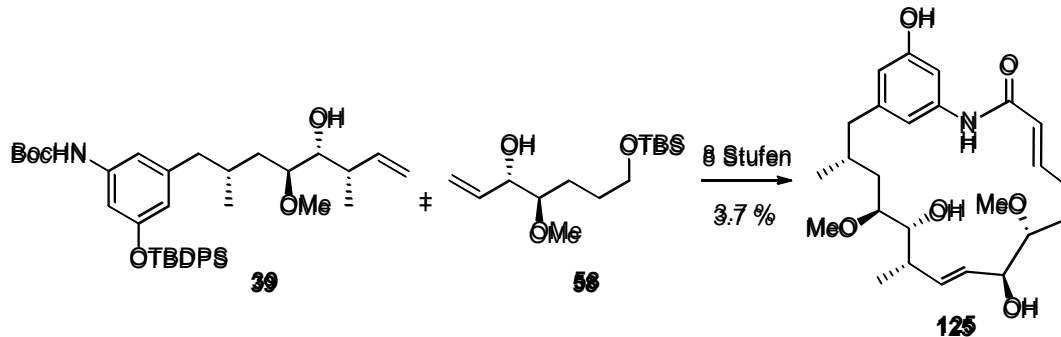
Die vorliegende Promotionsarbeit beschäftigt sich mit chemisch-mutasynthetischen Studien zur Bereitstellung von neuen Geldanamycin-Derivaten und ihre biologische Prüfung als Hsp90 Inhibitoren. Hierbei verfolgt die Arbeit zwei Hauptrichtungen. Zum einen sollte ein Schlüsselenzym der Geldanamycin Biosynthese, die Amidsynthase *GdmF* im Geldanamycin Produzenten *Streptomyces hygroscopicus*, die für die Makrolactamisierung verantwortlich ist, eingehend auf Substratflexibilität untersucht werden. Zum andern sollten per Mutasynthese weitere Geldanamycin-Derivate, vor allem heterocyclische, erzeugt werden.

Im ersten Teil dieser Arbeit konnte die Totalsynthese von drei *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivaten realisiert werden, welche als Substrate für Studien zur Flexibilität der Amidsynthase *GdmF* des Geldanamycin Produzenten *Streptomyces hygroscopicus* eingesetzt wurden. Schlüsselschritte der Synthese stellten zum einen die Olefin-Metathese zur Verknüpfung der West- und Ostfragmente zum anderen die WITTIG-Reaktion zur Einführung des SNAC-Esters dar. Auf Basis der vorherigen Arbeiten wurde das Westfragment **39** ausgehend vom Benzylalkohol **46** in 14 Stufen synthetisiert. Für den Aufbau der Stereozentren an C-10 und C-11 wurde die ROUSH-Crotylierung angewendet. Die Synthese der Ostfragmente wurde ausgehend von D- oder L-Glutaminsäure **45** in neun Stufen realisiert, wobei der Einbau der terminalen Doppelbindung durch eine Substrat-kontrollierte *syn*- bzw. *anti*-selektive GRIGNARD-Addition erfolgte (Schema 55).



Schema 55: Synthese der *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate **36**, **37**, **38**.

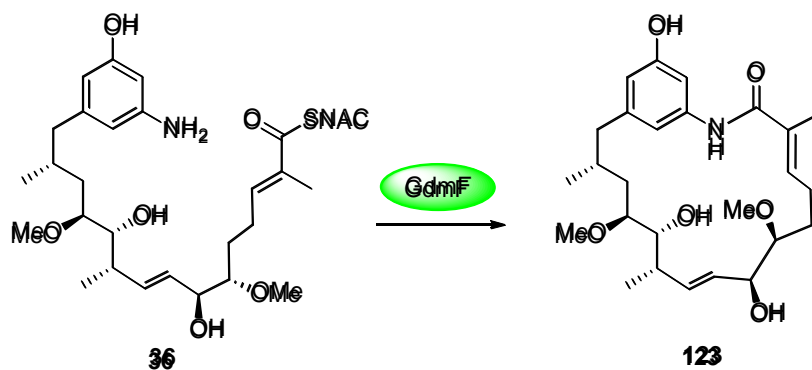
Die entwickelte Synthese gelangte auch für die präparativen Zugang des Progeldanamycin-Derivates **125** zum Einsatz, wobei die Makrolactamisierung durch die nur selten genutzte Kupplung des Thioesters **126**, welcher durch Silber aktiviert wurde, realisiert werden konnte (Schema 56).



Schema 56: Synthese des Progeldanamycin-Derivates **125**.

Die Supplementierungsexperimente mit den *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivaten **36**, **37** und **38** an die *S. hygroscopicus* Block-Mutante K390-61-1 lieferten allerdings keine Information über die Flexibilität der Amidsynthase *GdmF*, was auf die geringe Stabilität und die schlechte Membrangängigkeit der Substrate zurückgeführt werden kann. Es konnte festgestellt werden, dass die Methylgruppe an C-2 für die Stabilität der *seco*-Derivate notwendig ist.

Hingegen zeigte die Umsetzung der *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivate mit der heterolog exprimierter Amidsynthase *GdmF* einen guten Umsatz, wobei die Bildung der Progeldanamycin-Derivate **123** massenspektrometrisch nachgewiesen werden konnten (Schema 57). Die Isolierung des Progeldanamycin-Derivates, sowie die weiteren Studien zur Substratflexibilität der Amidsynthase konnte allerdings im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden.



Schema 57: Enzymreaktionen mit den SNAC-Ester **36**.

Es konnte gezeigt werden, dass die Amidsynthase *GdmF* fortgeschrittene, veränderte, komplexe Biosyntheseintermediate akzeptiert und zu Makrolactamen transformiert. Diese Ergebnisse bereiten den Weg zur Verwendung der Amidsynthase als komplementierendes Werkzeug zur Makrolactamisierung.

Im zweiten Teil dieser Arbeit, die die mutasynthetischen Arbeiten beinhalten, konnten 17 aromatische Mutasynthone an die Block-Mutante K390-61-1 von *S. hygroscopicus* verfüttert werden. Es zeigte sich eine breite Substratflexibilität der PKS-Maschinerie, wobei von 17 Mutasynthonen lediglich drei *AHBA*-Analoge **147**, **148** und **194** von den Bakterien nicht angenommen und in entsprechenden fortgeschrittenen Metaboliten transformiert wurden (Abbildung 35).

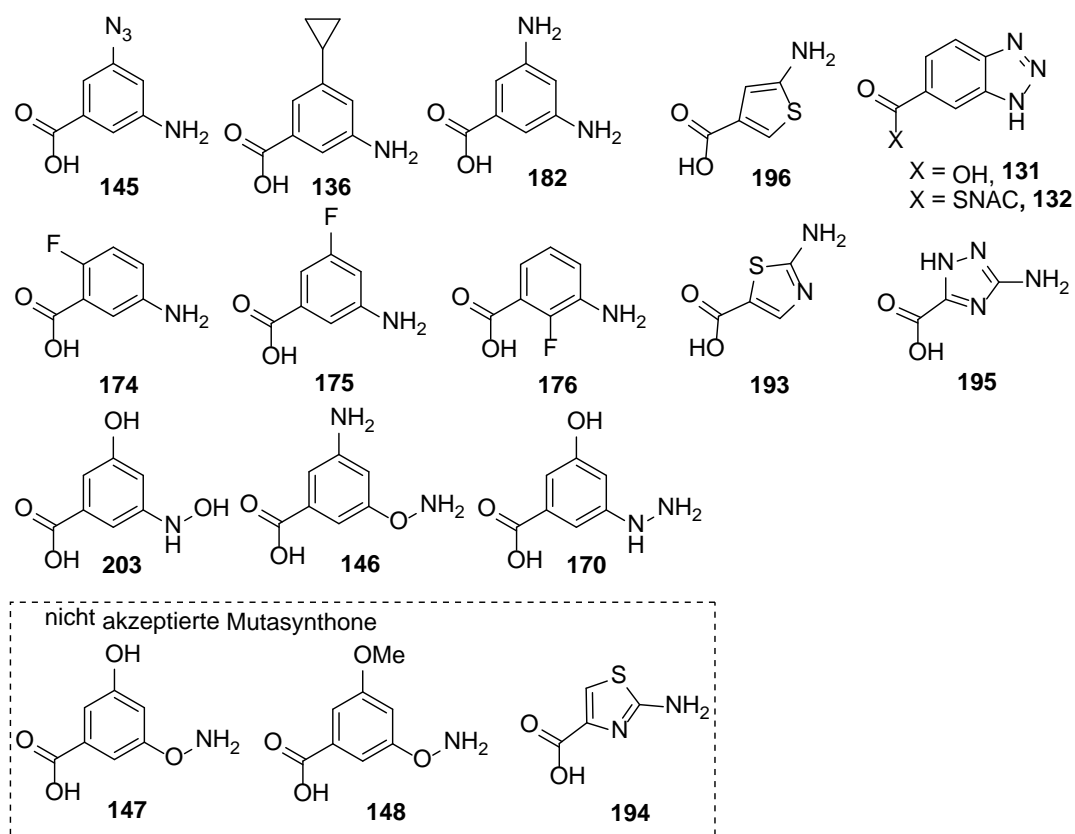


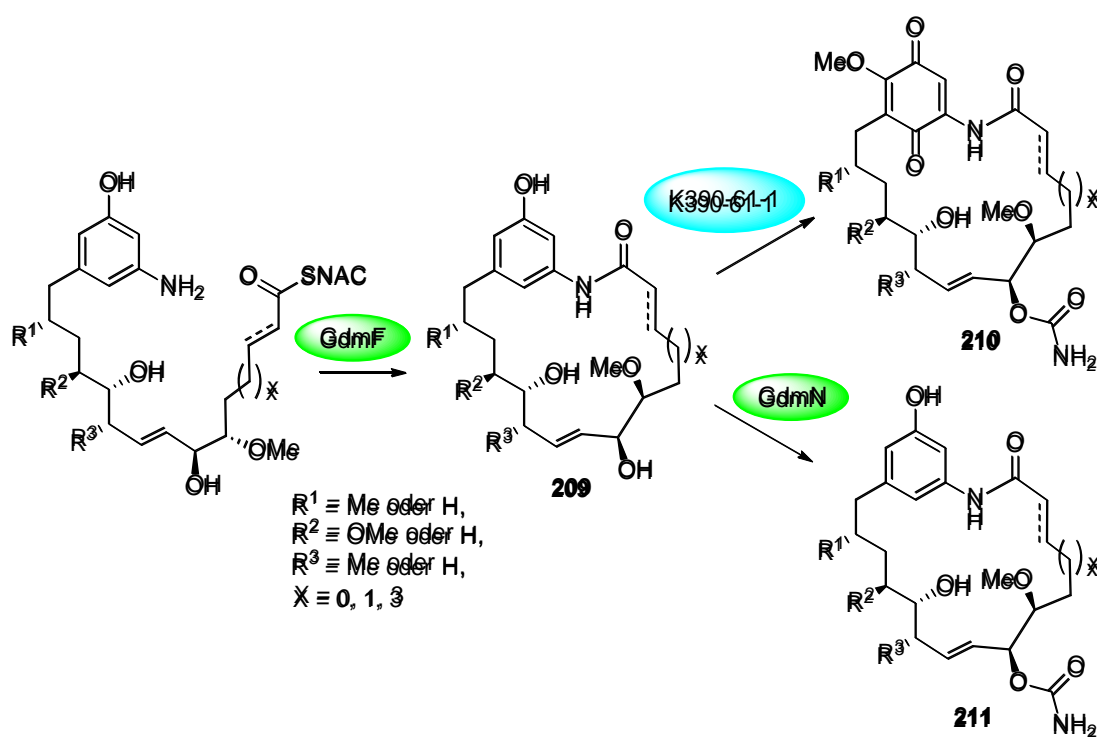
Abbildung 35: Verfütterte Mutasynthone.

In diesem Zusammenhang sind die fluorierten Mutasynthone und das Thiophen **196** herauszustellen, die in sehr guten Ausbeuten zu neuen Geldanamycin-Derivate prozessiert wurden. Alle Versuche, 20-gliedrige Geldanamycin-Derivate durch die Mutasynthese mit Hydroxylamin- oder Hydrazin-Derivaten herzustellen, scheiterten bislang, wobei stattdessen die Reduktion von Stickstoff-Sauerstoff- oder Stickstoff-Stickstoff-Bindungen festgestellt wurden.

Insgesamt konnten 13 neue Geldanamycin-Derivate isoliert werden. Vorläufige biologische Tests zeigten, dass besonders die fluorierten Geldanamycin-Derivate ausgesprochen hohe Hsp90-inhibitorische Wirkung und antiproliferierende Wirkung auf verschiedenen Krebszelllinien besitzen. Um die Auswirkung des Substitutionsmusters am Aromaten auf die biologische Aktivität zu bestimmen, sollen weitere biologische Tests mit unterschiedlichen Krebs-Zelllinien durchgeführt werden.

5.2. Ausblick

Für die zukünftigen Studien zur Substratspezifität der Amidsynthase *GdmF* sollen weitere *seco*-Progeldanamycin-Derivate hergestellt werden. Hierbei sollen die Schwerpunkte zum einem auf vereinfachten Substraten liegen und zum anderen auch Substrate, die die Herstellung von 20-gliedrigen oder 18-gliedrigen Makrolactamen ermöglichen können, beinhalten. Die so erhaltenen Progeldanamycin-Derivate **209** sollen an die *S. hygroscopicus* Block-Mutante K390-61-1 verfüttert werden, um neue Geldanamycin-Derivate **210** zu erhalten. Zusätzlich soll die Carbamoyl-Transferase *GdmN* heterolog exprimiert werden, sodass die Carbamoylierung der Progeldanamycin-Derivate untersucht werden kann, wobei biologisch aktive phenolische Ansamycin-Derivate **211** entstehen könnten (Schema 58). Die biologischen Aktivitäten dieser Verbindungen könnten einen tieferen Einblick in Struktur-Aktivitäts-Beziehungen liefern.



Schema 58: Möglichkeiten für weitere Untersuchungen zur Substratspezifität der Amidsynthase *GdmF*.

Aufbauend auf den erfolgreichen Mutasynteseexperimenten mit fluorierten und heterocyclischen AHBA-Analoga könnten zukünftig weitere Mutasynthone synthetisiert und verfüttert werden. Dabei bieten sich vor allem difluorierte Benzoesäuren, Thiophen-Derivate und andere fünf- oder sechsgliedrige Heteroaromaten, wie Oxazole, Imidazole und Pyrimidine, an (Abbildung 36).

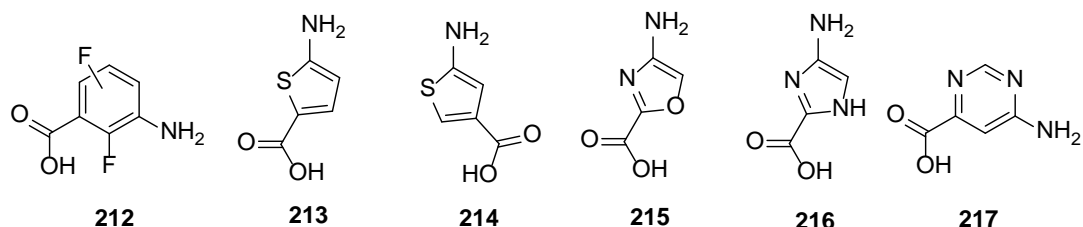


Abbildung 36: Interessante Mutasynthone.

Des Weiteren wäre es interessant, das Konzept der Semisynthese für die neuen Geldanamycin-Derivate zu erweitern, welche die Herstellung von Biokonjugaten ermöglichen kann. Hierfür soll die Mutasyntese mit Aromaten, die semisynthetisch derivatisierbare Funktionen (wie Br, I, NH₂, Vinyl, thiny, Azido) enthalten, untersucht werden.

Die daraus ableitbaren Struktur-Aktivitäts-Beziehungen würden einen tieferen Einblick in die strukturellen Voraussetzungen für die biologische Aktivität der Geldanamycin-Derivate erlauben.

6. Experimenteller Teil

6.1. Allgemeine Hinweise zu chemisch-synthetischen Arbeiten

Gerätschaften

Alle Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien wurden in ausgeheizten Glasgefäßen unter Inertgasatmosphäre (Argon) durchgeführt. Spritzen und Kanülen wurden bei 80 °C getrocknet und mit Inertgas gespült.

Lösungsmittel und Reagenzien

Lösungsmittel für den Einsatz in feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden nach Standardverfahren getrocknet und unter Inertgasatmosphäre aufbewahrt bzw. frisch destilliert eingesetzt: Diethylether (Et₂O) und Tetrahydrofuran (THF) wurden über Natriumdraht unter Rückfluss mit Benzophenon als Indikator gekocht, Dichlormethan (CH₂Cl₂) wurde über Calciumhydrid unter Rückfluss gekocht. Alle weiteren absoluten Lösungsmittel wurden käuflich erworben (FLUKA, ACROS). Bei sauerstoffsensiblen Reaktionen wurde das Lösungsmittel vor Gebrauch durch Spülen mit Inertgas oder nach Gefrieren im Vakuum (freeze-pump-thraw degassing) entgast. Alle Reagenzien, deren Herstellung nicht angegeben ist, stammen von den Firmen ACROS, ALDRICH, FLUKA und ABCR. Bei wässrigen Lösungen handelt es sich um gesättigte Lösungen, sofern nicht anders angegeben.

Säulenchromatographie

Säulenchromatographie wurde mit Kieselgel der Firma ACROS (Korngröße 40-63 µm) bei leichtem Überdruck durchgeführt. Das verwendete Lösungsmittel ist jeweils angegeben.

Dünnschichtchromatographie

Dünnschichtchromatographie wurde mit DC Aluminiumfolien Kieselgel 60 der Firma MERCK durchgeführt. Die Indikation erfolgt mit Hilfe einer UV Lampe ($\lambda = 254 \text{ nm}$) und Anisaldehyd, Kaliumpermanganat oder 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) als Tauchreagenz mit anschließender Wärmebehandlung.

Sephadex-Chromatographie

Größenausschluss-Chromatographie wurde mit Sephadex[®] LH-20 als stationärer Phase (Abmessungen: 500 mm * Ø 20 mm) und unter Verwendung von einfach destilliertem Methanol als Eluenten durchgeführt.

HPLC

Für *reversed phase*-HPLC-Anwendungen wurden grundsätzlich membran-filtriertes und danach bidestilliertes Wasser, sowie kommerziell verfügbare HPLC-Qualität-Lösungsmittel (Methanol oder Acetonitril) verwendet, die zuvor im Ultraschallbad entgast wurden.

Präparative HPLC wurde an einer HPLC-Anlage der Firma MERCK HITACHI (Pumpe L-7150, Interface D-7000, Diode Array Detector L-7450) durchgeführt. Hierfür kommen folgende stationäre Phasen zur Anwendung: (**C18-SP**) TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18 AQ 5 µm, 250 mm * Ø 8 mm, mit entsprechender Vorsäulenkartusche, 40 mm * Ø 8 mm; (**CN-SP**) TRENTEC Reprosil 100 CN 5 µm, 250 mm * Ø 8 mm, mit entsprechender Vorsäulenkartusche, 40 mm * Ø 8 mm; (**C18-ISIS-SP**) TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18-ISIS AQ 5 µm, 250 mm * Ø 8 mm, mit entsprechender Vorsäulenkartusche, 40 mm * Ø 8 mm. Alternativ wurde präparative HPLC an einer VARIAN HPLC-Anlage (Pumpen Prepstar Model 218, Variabler Wellenlängendetektor Prostar { $\lambda = 248 \text{ nm}$ }) mit paralleler Massendetektion (MICROMASS Typ ZMD ESI-Quad-Spektrometer) unter Verwendung der stationären Phasen **C18-P** (TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18 AQ 5 µm, 250 mm * Ø 25 mm, mit entsprechender Vorsäulenkartusche, 30 mm * Ø 20 mm) oder **C18-ISIS-P** (TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18-ISIS AQ 5 µm, 250 mm * Ø 21 mm, mit entsprechender Vorsäulenkartusche, 30 mm * Ø 20 mm) durchgeführt. Die verwendeten Elutionsprogramme und Retentionszeiten (t_R) sind in den jeweiligen Versuchsvorschriften angegeben.

NMR-Spektroskopie

¹H-NMR Spektren wurden mit den Geräten DPX-200, DPX-400, Avance 400 und DRX-500 der Firma BRUKER aufgenommen. Als Solvens wurden Deuteromethanol, Deuterobenzol, Deuteriochloroform oder Deuterotetrahydrofuran verwendet. Die Kalibrierung wurde jeweils zusammen mit den experimentellen Daten der Substanz angegeben. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm, die der Kopplungskonstante J in Hz. Für die Signale wurden folgende Abkürzungen verwendet: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, p = pseudo, br = breit.

^{13}C -NMR Spektren wurden mit den Geräten DPX-400, Avance 400 und DRX-500 der Firma BRUKER aufgenommen. Als Solvens wurden Deuteromethanol, Deuterobenzol oder Deuterotetrahydrofuran verwendet. Die Kalibrierung wurde jeweils zusammen mit den experimentellen Daten der Substanz angegeben.⁹⁸ Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm. Für den Substitutionsgrad wurden folgende Abkürzungen verwendet: s = Singulett (entspricht quartärem Kohlenstoff), d = Dublett (tertiärer Kohlenstoff), t = Triplett (sekundärer Kohlenstoff), q = Quartett (primärer Kohlenstoff). Wenn nötig wurden zur vollständigen Interpretation ^1H - ^1H -Korrelationsspektren (COSY), ^1H - ^{13}C -Korrelationspektren (HSQC, HMBC) oder NOE-Experimente durchgeführt. Bei der Diastereomergemischen wurde die Signalen des Hauptdiastereomers eingegeben.

Massenspektren

Hochaufgelöste Massenspektren (HRMS) wurden mit einem MICROMASS LCT mit Lock-Spray-Einheit gemessen. Die Injektion erfolgt im Loop-Modus in einer HPLC-Anlage der Firma WATERS (Alliance 2695). Alternativ wurden die Messungen an einer Acquity-UPLC (WATERS) Anlage gekoppelt mit einem Q-Tof Premier Massenspektrometer (WATERS) im Lock-Spray-Modus gemessen. Die Ionisierung erfolgte durch Elektrospray-Ionisation (ESI) oder durch chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI). MS/MS-Fragmentierungsexperimente wurden mit Argon als Kollisionsgas bei einer Kollisionsenergie von 15 bis 35 eV durchgeführt. Angegeben sind berechnete und gefundene Masse.

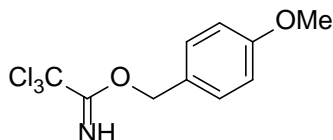
Drehwerte

Die spezifische optische Rotation $[\alpha]$ wurde mit Polarimetern der Firma PERKIN-ELMER des Typs 341 oder 241 in einer Quarzglasküvette (Länge 10 cm) bei $\lambda = 589$ nm (Natrium D-Linie) gemessen. Die Angabe der Drehwerte erfolgt in $[\text{° mL}/(\text{g}\cdot\text{dm})]$. Dabei ist die Konzentration $c = 1$ definitionsgemäß in 10 mg/mL Lösung angegeben. Das jeweilige Lösungsmittel ist angegeben.

⁹⁸ H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

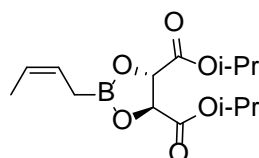
6.2. Darstellung der Reagenzien und Ausgangsverbindungen

4-Methoxybenzyl-2,2,2-trichloracetimidat



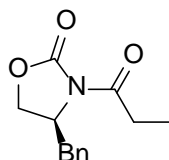
Die Darstellung erfolgt wie bei YONEMITSU beschrieben⁹⁹

Z-Crotylboronat 57



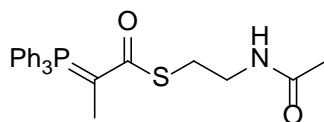
Die Darstellung erfolgt wie bei WHITE beschrieben¹⁰⁰

(4S)-4-Benzyl-3-propionyl-2-oxazolidinon (S-51)



Die Darstellung erfolgt wie bei ORGAN beschrieben¹⁰¹

Phosphorylid (113)



Die Darstellung erfolgt wie bei HAHN beschrieben⁷¹

⁹⁹ N. Nakajima, K. Horita, R. Abe, O. Yonemitsu, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 4139-4142.

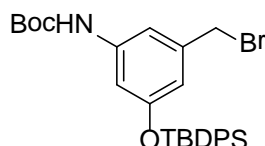
¹⁰⁰ J. D. White, R. Hanselmann, R. W. Jackson, W. J. Porter, Y. Ohba, T. Tiller, S. Wang, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 5217-5231.

¹⁰¹ M. G. Organ, Y. V. Bilokin, S. Bratovanov, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 5176-5183.

6.3. Synthese des SNAC-Esters von Geldanamycin

6.3.1. Synthese des Westfragments

3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-benzylbromid (**46a**)

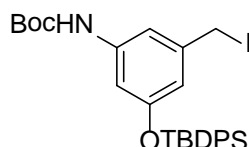


Der Benzylalkohol **46** (7.00 g, 14.7 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (120 mL) gelöst und mit Triphenylphosphan (4.61 g, 17.6 mmol, 1.2 Äq.) und Tetrabrommethan (5.83 g, 17.6 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 30 min bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 5:1) gereinigt und das Bromid **46a** (7.40 g, 13.7 mol, 93 %) als braun-roter Schaum erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 5:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 7.73-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.46-7.35 (m, 6H, SiPh), 7.16 (s, 1H, Ph), 6.58 (s, 1H, Ph), 6.44 (s, 1H, Ph), 6.28 (s, 1H, NH), 4.23 (s, 2H, CH₂Br), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.10 (s, 9H, *Si*-*t*-Bu) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 156.3 (s, C-Ar), 152.5 (s, NCOO*t*-Bu), 139.6 (s, C-Ar), 139.5 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 132.7 (s, C-Ar), 130.1 (d, C-Ar), 128.0 (d, C-Ar), 115.3 (d, C-Ar), 111.9 (d, C-Ar), 109.9 (d, C-Ar), 80.8 (s, *t*-Bu), 33.4 (t, CH₂Br), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Si*-*t*-Bu), 19.6 (s, *Si*-*t*-Bu) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₂₈H₃₄BrNO₃SiNa [M+Na]⁺: berechnet: 562.1389, gefunden: 562.1385.

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.¹⁰²

3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-benzyljodid (**47**)



Das Benzylbromid **46a** (10.0 g, 18.5 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in Aceton (80 mL) gelöst und mit Natriumiodid (4.16 g, 27.8 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Nach 2 h

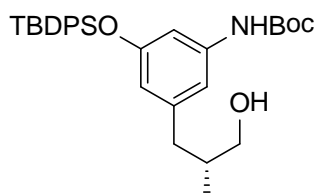
¹⁰²T. Frenzel, M. Bruenjes, M. Quitschalle, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 135-138.

gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 4:1) gereinigt und der Oxazolidinon **48** (10.2 g, 14.7 mmol, 81 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.70-7.67 (m, 4H, SiPh), 7.42-7.30 (m, 6H, SiPh), 7.11-7.09 (m, 2H, Ph), 6.85 (bs, 1H, Ph), 6.71 (bs, 1H, Ph), 6.27 (bs, 1H, Ph), 6.22 (bs, 1H, NH), 4.70-4.60 (m, 1H, CHBn), 4.20-4.09 (m, 2H, CH_2CHBn), 3.87-3.78 (m, 1H, CHCH_3), 3.15 (dd, $J = 13.4, 3.0$ Hz, 1H, CH_2Ph), 2.93 (dd, $J = 13.1, 6.1$ Hz, 1H, CH_2CHCH_3), 2.59 (dd, $J = 13.4, 9.5$ Hz, 1H, CH_2Ph), 2.32 (dd, $J = 13.1, 8.3$ Hz, 1H, CH_2CHCH_3), 1.44 (s, 9H, *t*-Bu), 1.06 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.92 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 176.5 (s, NCOCH), 156.0 (s, C-Ar), 153.0 (s, NCOO*t*-Bu), 152.5 (s, NCOO), 140.9 (s, C-Ar), 139.3 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 135.4 (s, C-Ar), 132.9 (s, C-Ar), 132.8 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-Ar), 129.5 (d, C-Ar), 129.0 (d, C-Ar), 127.9 (d, C-Ar), 127.5 (d, C-Ar), 127.3 (d, C-Ar), 115.8 (d, C-Ar), 112.1 (d, C-Ar), 108.2 (d, C-Ar), 83.0 (s, *t*-Bu), 66.1 (t, CH_2O), 55.3 (d, CHN), 39.6 (t, CH_2Ph), 39.5 (d, CHCH_3), 38.0 (d, CH_2CH), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 16.2 (q, CH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{41}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_6\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 715.3179, gefunden: 715.3180; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -3.4^\circ$ ($c = 1.5$, CHCl_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -3.4^\circ$ ($c = 1.5$, CHCl_3).¹⁰³

(2*R*)-3-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-2-methylpropan-1-ol (48a)



Der Oxazolidinon **48** (10.2 g, 14.7 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in Et_2O (70 mL) gelöst, mit Wasser (0.23 mL, 14.7 mmol, 1.0 Äq.) versetzt und auf 0°C gekühlt. Dann wurde Lithiumborhydrid (2 M Lösung in THF) (16.2 mL, 32.4 mmol, 2.2 Äq.) langsam zugetropft und das Reaktionsgemisch für 1.5 h bei 0°C gerührt. Die Reaktion wurde durch

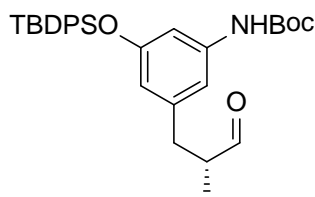
¹⁰³ F. Taft, M. Brünjes, T. Knobloch, H. G. Floss, A. Kirschning, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3812-3813.

Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und der Alkohol **48a** (5.95 g, 11.5 mmol, 78 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.71-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.43-7.37 (m, 6H, SiPh), 6.80 (bs, 1H, Ph), 6.68 (dd, $J = 2.1, 2.1$ Hz, 1H, Ph), 6.25 (bs, 1H, NH), 6.09 (dd, $J = 1.7, 1.7$ Hz, 1H, Ph), 3.26 (dd, $J = 10.5, 5.6$ Hz, 1H, CH_2OH), 3.17 (dd, $J = 10.5, 5.9$ Hz, 1H, CH_2OH), 2.39 (dd, $J = 13.3, 6.9$ Hz, 1H, ArCH_2), 2.15 (dd, $J = 13.3, 7.7$ Hz, 1H, ArCH_2), 1.66-1.58 (m, 1H, CHCH_3), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.25 (bs, CH_2OH), 1.07 (s, 9H, *t*-SiBu), 0.70 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CHCH_3) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 155.8 (s, C-Ar), 152.5 (s, NCOO), 142.3 (s, C-Ar), 139.1 (s, C-Ar), 135.5 (d, C-Ar), 132.9 (s, C-Ar), 129.8 (d, C-Ar), 127.7 (d, C-Ar), 115.3 (d, C-Ar), 111.9 (d, C-Ar), 107.5 (d, C-Ar), 80.3 (s, *t*-Bu), 67.1 (t, CH_2), 39.4 (t, CH_2), 37.3 (d, CH), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.4 (q, *Sit*-Bu), 19.4 (s, *Sit*-Bu), 16.4 (q, CH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{NO}_4\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 542.2703, gefunden: 542.2699; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4.9^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +3.9^\circ$ ($c = 1.2$, CHCl_3).⁹⁷

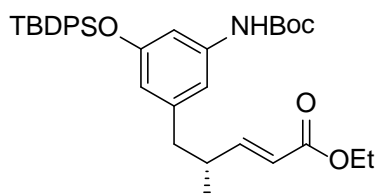
(2R)-3-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-2-methylpropanal (43)



Der Alkohol **48a** (5.90 g, 11.4 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (170 mL) gelöst, auf 0°C gekühlt und mit NaHCO_3 (1.16 g, 13.6 mmol, 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz (5.76 g, 13.6 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Nach 1 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen Na_2SO_3 -Lösung beendet und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Aldehyd **43** (5.80 g, 11.2 mmol,

99 %) wurde als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.6$ (PE:EtOAc = 2:1). Der Aldehyd **43** wurde ohne Charakterisierung direkt weiterverwendet.

(4R)-5-[3-(tert-Butoxycarbonylamino)-5-(tert-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-2-methylpent-2-ensäureethylester (15)

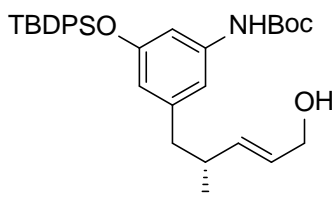


Der Aldehyd **43** (5.80 g, 11.2 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CHCl_3 (35 mL) gelöst und mit dem Phosphorylid **52** (5.85 g, 16.8 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 50 °C erhitzt und für weitere 15 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 15:1 → 4:1) gereinigt und der Ester **49** (6.40 g, 10.9 mmol, 97 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.3$ (PE:EtOAc = 5:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.72-7.68 (m, 4H, SiPh), 7.44-7.34 (m, 6H, SiPh), 6.81 (dd, $J = 15.7, 7.0$ Hz, 1H, 3-H), 6.79 (bs, 1H, NH), 6.64 (s, 1H, Ph), 6.27 (bs, 1H, Ph), 6.09 (s, 1H, Ph), 5.63 (dd, $J = 15.7, 0.6$ Hz, 1H, 2-H), 4.16 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2), 2.52-2.48 (m, 1H, 5-Ha), 2.27 (dq, $J = 6.8, 6.7$ Hz, 1H, 4-H), 2.23-2.17 (m, 1H, 5-Hb), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.27 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 1.07 (s, 9H, Si*t*-Bu), 0.78 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 6-H) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 166.9 (s, COOEt), 156.1 (s, C-Ar), 153.6 (d, C-3), 152.6 (s, NHCOO), 141.5 (s, C-Ar), 139.2 (s, C-Ar), 133.0 (d, C-Ar), 133.0 (s, C-Ar), 130.0 (d, C-Ar), 130.0 (d, C-Ar), 128.7 (d, C-Ar), 119.8 (d, C-2), 115.3 (d, C-Ar), 112.0 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 80.5 (s, *t*-Bu), 60.2 (t, OCH_2), 42.2 (t, C-5), 37.9 (d, C-4), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, Si*t*-Bu), 19.5 (s, Si*t*-Bu), 18.5 (q, C-6), 14.4 (q, OCH_2CH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{NO}_5\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 610.2965, gefunden: 610.2962; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -19.1^\circ$ ($c = 1.2$, CHCl_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -18.9^\circ$ ($c = 1.3$, CH_2Cl_2).^{54a}

(4*R*)-5-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-methylpent-2-enol (42)

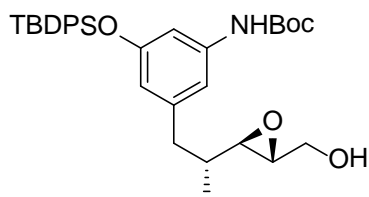


Der Ester **49** (6.35 g, 10.8 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (100 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit DIBAL-H (1.2 M Lösung in Toluol) (22.5 mL, 27.0 mmol, 2.5 Äq.) langsam versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 5 h bei -78 °C gerührt und anschließend auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na-K-Tartrat-Lösung beendet und das Reaktionsgemisch über Nacht bei RT gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 2:1) gereinigt und der Alkohol **42** (4.50 g, 8.25 mmol, 76 %) als farbloser Schaum erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 7.71-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.43-7.33 (m, 6H, SiPh), 6.91 (s, 1H, Ph), 6.46 (m, 1H, Ph), 6.23 (bs, 1H, NH), 6.14 (m, 1H, Ph), 5.50 (dd, *J* = 15.5, 7.0 Hz, 1H, 3-H), 5.39 (dt, *J* = 15.5, 5.5 Hz, 1H, 2-H), 3.99 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, 1-H), 2.39 (dd, *J* = 13.1, 7.3 Hz, 1H, 5-Ha), 2.28 (dd, *J* = 13.1, 6.7 Hz, 1H, 5-Hb), 2.16 (m, 1H, 4-H), 1.73 (bs, 1H, CH₂OH), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.09 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.80 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, 5-Me) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 155.8 (s, C-Ar), 152.9 (s, NHCOO), 142.4 (s, C-Ar), 138.7 (s, C-Ar), 138.0 (d, C-3), 135.6 (d, C-Ar), 133.0 (s, C-Ar), 130.0 (d, C-Ar), 127.8 (d, C-2), 115.7 (d, C-Ar), 112.9 (d, C-Ar), 107.7 (d, C-Ar), 80.6 (s, *t*-Bu), 63.9 (t, C-1), 43.4 (t, C-5), 37.8 (d, C-4), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 19.7 (q, 5-Me), 19.6 (s, *Sit*-Bu) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₃₃H₄₄NO₄Si [M+H]⁺: berechnet: 546.3040, gefunden: 546.3031; [α]_D²⁰ = -10.7° (*c* = 1.0, CHCl₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. [α]_D²⁰ = -1.1° (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).^{54a}

(4*R*, 2*R*, 3*R*)-5-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-methyl-2,3-oxiranylpentan-2-ol (50)

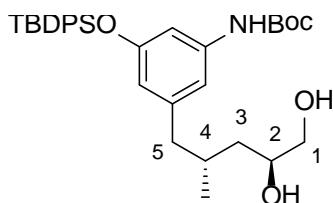


Molsieb 4Å (20.0 g) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (400 mL) suspendiert, auf -20 °C gekühlt und mit D-(-)-Diethyltartrat (1.80 mL, 10.5 mmol, 1.2 Äq.) und Titan-tetra-*iso*-propoxid (2.70 mL, 8.77 mmol, 1.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 30 min bei -20 °C gerührt und anschließend mit *tert*-Butylhydroperoxid (2.30 mL, 11.4 mmol, 1.3 Äq.) versetzt. Nach 30 min wurde der Alkohol **42** (4.78 g, 8.77 mmol, 1.0 Äq.) in CH₂Cl₂ (50 mL) gelöst, zum Reaktionsgemisch gegeben und das Reaktionsgemisch für 20 h bei -20 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NaOH-Lösung (2.0 M) beendet. Nach 3 h Rühren wurde das Reaktionsgemisch über Celite™ filtriert und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 2:1) gereinigt und das Epoxid **50** (4.66 g, 8.29 mmol, 95 %) als farbloser Schaum erhalten; R_f = 0.2 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 7.70-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.41-7.33 (m, 6H, SiPh), 6.85 (s, 1H, Ph), 6.61 (m, 1H, Ph), 6.25 (bs, 1H, NH), 6.12 (m, 1H, Ph), 3.80 (ddd, *J* = 12.3, 5.9, 2.6 Hz, 1H, 1-Ha), 3.56 (ddd, *J* = 12.3, 6.9, 4.3 Hz, 1H, 1-Hb), 2.84 (ddd, *J* = 4.3, 2.6, 2.4 Hz, 1H, 2-H), 2.69 (dd, *J* = 6.8, 2.4 Hz, 1H, 3-H), 2.61 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H, 5-Ha), 2.22 (dd, *J* = 13.3, 8.5 Hz, 1H, 5-Hb), 1.72 (dd, *J* = 6.9, 5.9 Hz, 1H, OH), 1.53-1.49 (m, 1H, 4-H), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.59 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, 5-Me) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 156.0 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 141.4 (s, C-Ar), 139.1 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 135.5 (d, C-Ar), 133.0 (s, C-Ar), 132.9 (s, C-Ar), 130.0 (d, C-Ar), 129.9 (d, C-Ar), 127.9 (d, C-Ar), 127.8 (d, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 80.5 (s, *t*-Bu), 61.8 (t, C-1), 59.8 (d, C-3), 57.0 (d, C-2), 40.1 (t, C-5), 36.4 (d, C-4), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 14.7 (q, 5-Me) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₃₃H₄₃NO₅SiNa [M+Na]⁺: berechnet: 584.2808, gefunden: 584.2809; [α]²⁰_D = +9.3° (*c* = 1.0, CHCl₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +2.2^{\circ}$ ($c = 0.9$, CH_2Cl_2).^{54a}

(4*R*, 2*S*)-5-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-methyl-1,2-pentandiol (53**)**

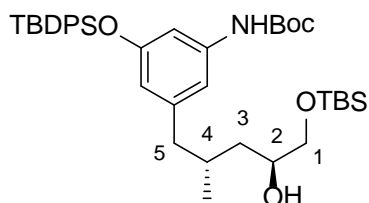


Das Epoxid **50** (7.16 g, 12.8 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in Et_2O (450 mL) gelöst, auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und mit DIBAL-H (1.2 M Lösung in Toluol) (53.1 mL, 63.7 mmol, 5.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 5 h bei RT gerührt. Es wurde Na-K-Tartrat-Lösung zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei RT gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 1:1 \rightarrow 1:4) gereinigt und das Diol **53** (6.09 g, 10.8 mmol, 85 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 1:4).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.71-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.41-7.34 (m, 6H, SiPh), 6.80 (s, 1H, Ph), 6.63 (m, 1H, Ph), 6.26 (bs, 1H, NH), 6.11 (m, 1H, Ph), 3.72-3.65 (m, 1H, 2-H), 3.52 (ddd, $J = 10.8, 5.8, 3.3$ Hz, 1H, 1-Ha), 3.30 (ddd, $J = 10.8, 7.3, 4.0$ Hz, 1H, 1-Hb), 2.31 (dd, $J = 13.3, 6.6$ Hz, 1H, 5-Ha), 2.19 (dd, $J = 13.3, 7.8$ Hz, 1H, 5-Hb), 1.86 (dd, $J = 5.8, 4.0$ Hz, 1H, 1-OH), 1.77 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, 2-OH), 1.73-1.64 (m, 1H, 4-H), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.31 (ddd, $J = 13.8, 9.3, 4.6$ Hz, 1H, 3-Ha), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.97 (ddd, $J = 13.8, 9.7, 3.9$ Hz, 1H, 3-Hb), 0.69 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 5-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 142.6 (s, C-Ar), 139.0 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 133.0 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-Ar), 127.8 (d, C-Ar), 115.5 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 80.5 (s, *t*-Bu), 70.1 (d, C-2), 67.5 (t, C-1), 44.0 (t, C-5), 39.7 (t, C-3), 30.8 (d, C-4), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 14.7 (q, 5-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{NO}_5\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 586.2965, gefunden: 586.2964; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10.1^{\circ}$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_D^{20} = -11.0^\circ$ ($c = 0.6$, CH_2Cl_2).^{54a}

(4R, 2S)-5-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-methyl-1-(*tert*-butyldemethylsiloxy)-pentan-2-ol (54)

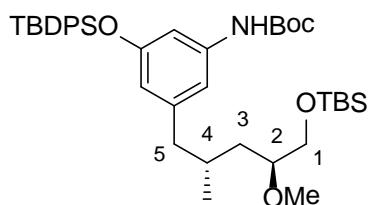


Der Alkohol **53** (5.50 g, 9.76 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (400 mL) gelöst, auf 0°C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (1.12 mL, 9.76 mmol, 1.0 Äq.) und anschließend mit TBSOTf (2.24 mL, 9.76 mmol, 1.0 Äq.) versetzt. Nach 20 min wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 15:1 \rightarrow 4:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **54** (4.91 g, 7.25 mmol, 74 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 4:1);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.71-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.40-7.34 (m, 6H, SiPh), 6.77 (s, 1H, Ph), 6.63 (m, 1H, Ph), 6.23 (bs, 1H, NH), 6.14 (m, 1H, Ph), 3.75-3.60 (m, 1H, 2-H), 3.51 (dd, $J = 9.8, 3.4$ Hz, 1H, 1-Ha), 3.30 (dd, $J = 9.8, 7.4$ Hz, 1H, 1-Hb), 2.39 (dd, $J = 13.2, 5.9$ Hz, 1H, 5-Ha), 2.23 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, 2-OH), 2.12 (dd, $J = 13.3, 8.5$ Hz, 1H, 5-Hb), 1.81-1.72 (m, 1H, 4-H), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.36-1.29 (m, 1H, 3-Ha), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.98-0.93 (m, 1H, 3-Hb), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.66 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 5-Me), 0.06 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 142.6 (s, C-Ar), 139.0 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 133.1 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-Ar), 127.8 (d, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.2 (d, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 80.4 (s, *t*-Bu), 79.7 (d, C-2), 67.9 (t, C-1), 44.2 (t, C-5), 39.7 (t, C-3), 31.0 (d, C-4), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 26.0 (q, *Sit*-Bu), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 18.9 (q, 5-Me), 18.4 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{39}\text{H}_{59}\text{NO}_5\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 700.3830, gefunden: 700.3838; $[\alpha]_D^{20} = -2.5^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -4.7^\circ$ ($c = 1.8$, CH_2Cl_2).^{54a}

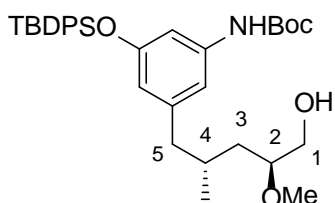
(4*R*, 2*S*)-5-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-methyl-1-(*tert*-butyldemethylsiloxy)-2-methoxypentan (55)



Der Alkohol **54** (4.40 g, 6.49 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (120 mL) gelöst und mit 1,8-Bis(dimethylamino)-naphthalin (4.87 g, 22.7 mmol, 3.5 Äq.) und Me_3OBF_4 (3.08 g, 16.2 mmol, 2.5 Äq.) versetzt. Nach 1 h wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 15:1 \rightarrow 4:1) gereinigt und der methylierte Alkohol **55** (3.98 g, 5.76 mmol, 89 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.72-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.43-7.33 (m, 6H, SiPh), 6.75 (s, 1H, Ph), 6.67 (m, 1H, Ph), 6.24 (bs, 1H, NH), 6.15 (m, 1H, Ph), 3.58 (dd, $J = 10.5, 5.8$ Hz, 1H, 1-Ha), 3.46 (dd, $J = 10.5, 4.6$ Hz, 1H, 1-Hb), 3.36 (s, 3H, OMe), 3.25-3.19 (m, 1H, 2-H), 2.42 (dd, $J = 13.2, 5.5$ Hz, 1H, 5-Ha), 2.06 (dd, $J = 13.2, 9.0$ Hz, 1H, 5-Hb), 1.75-1.66 (m, 1H, 4-H), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.38-1.31 (m, 1H, 3-Ha), 1.08 (s, 9H, *Si**t*-Bu), 0.98-0.93 (m, 1H, 3-Hb), 0.89 (s, 9H, *Si**t*-Bu), 0.62 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 5-Me), 0.05 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.6 (s, NHCOO), 143.1 (s, C-Ar), 139.0 (s, C-Ar), 135.7 (d, C-Ar), 133.1 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-Ar), 127.8 (d, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 80.4 (s, *t*-Bu), 80.0 (d, C-2), 66.1 (t, C-1), 58.2 (q, OMe), 44.4 (t, C-5), 39.2 (t, C-3), 31.2 (d, C-4), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Si**t*-Bu), 26.1 (q, *Si**t*-Bu) 19.6 (s, *Si**t*-Bu), 19.0 (q, 5-Me), 18.4 (s, *Si**t*-Bu), -5.2 (q, SiMe) ppm; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7.4^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

(4*R*, 2*S*)-5-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-methyl-2-methoxypentan (56)

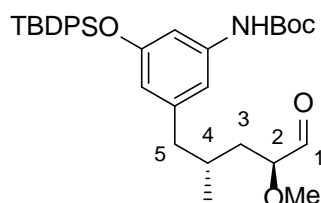


Der Alkohol **55** (3.98 g, 5.76 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (40 mL) gelöst und mit Acetonitril (40 mL) und LiBF₄ (1.62 g, 17.3 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Nach 48 h wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 2:1), gefolgt von präparativer HPLC (C18-P) (H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 80:20 → 0:100 {85 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15 mL/min) (*t_R* = 85.0 min) gereinigt und der methylierte Alkohol **56** (2.50 g, 4.32 mmol, 75 %) als farbloser Schaum erhalten; *R_f* = 0.3 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 7.71-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.41-7.34 (m, 6H, SiPh), 6.77 (s, 1H, Ph), 6.66 (m, 1H, Ph), 6.26 (bs, 1H, NH), 6.11 (m, 1H, Ph), 3.61-3.58 (m, 1H, 1-Ha), 3.40-3.35 (m, 1H, 1-Hb), 3.30 (s, 3H, OMe), 3.28-3.22 (m, 1H, 2-H), 2.38 (dd, *J* = 13.2, 5.8 Hz, 1H, 5-Ha), 2.07 (dd, *J* = 13.2, 8.7 Hz, 1H, 5-Hb), 1.85 (br. s, 1H, 1-OH), 1.66-1.59 (m, 1H, 4-H), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.50-1.46 (m, 1H, 3-Ha), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.10-1.05 (m, 1H, 3-Hb), 0.69 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, 5-Me) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 142.6 (s, C-Ar), 139.0 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 133.0 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-Ar), 127.8 (d, C-Ar), 115.5 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 80.5 (s, *t*-Bu), 79.6 (d, C-2), 64.3 (t, C-1), 57.0 (q, OMe), 44.0 (t, C-5), 37.9 (t, C-3), 31.4 (d, C-4), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 19.5 (q, 5-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₃₇H₄₈NO₅Si [M+H]⁺: berechnet: 578.3454, gefunden: 578.3467; [α]_D²⁰ = +6.1° (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

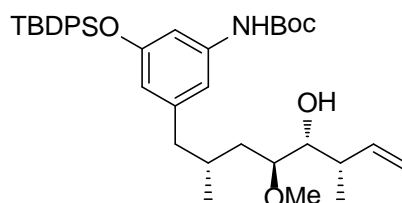
Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. [α]_D²⁰ = +5.0° (*c* = 1.1, CH₂Cl₂).^{54a}

(4*R*, 2*S*)-5-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-methyl-2-methoxy-1-pentanal (41**)**



Der Alkohol **56** (0.15 g, 0.25 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (20 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaHCO₃ (0.03 g, 0.30 mmol, 1.2 Äq.) und DMP-Reagenz (0.13 g, 0.30 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Nach 1 h bei RT wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen Na₂SO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, unter vermindertem Druck eingengt und der Aldehyd **41** (0.15 g, 0.25 mmol, 99 %) als farbloser Schaum erhalten; R_f = 0.8 (PE:EtOAc = 2:1). Der Aldehyd **41** wurde ohne Charakterisierung direkt weiterverwendet.

(3*S*, 4*R*, 5*S*, 7*R*)-8-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsiloxy)-phenyl]-4-hydroxy-5-methoxy-3,7-dimethyl-oct-2-en (39**)**

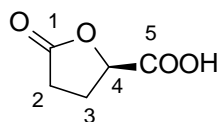


Z-Crotylboronat **57** (0.18 g, 0.61 mmol, 2.5 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in Toluol (2.0 mL) gelöst. Dann wurde Molsieb 4Å (0.10 g) zugegeben, der Reaktionsansatz für 20 min bei RT gerührt und dann auf -78 °C gekühlt. Der Aldehyd **41** (0.14 g, 0.24 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Toluol (1.0 mL) gelöst und langsam zum Reaktionsgemisch gegeben. Nach 20 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaOH-Lösung (1.0 M) beendet. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Das Molsieb wurde über Celite™ abfiltriert und die wässrige Phase dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 4:1) gereinigt und das Alken **39** (0.15 g, 0.24 mmol, 97 %) als farbloser Schaum erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 5:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 7.72-7.69 (m, 4H, SiPh), 7.42-7.34 (m, 6H, SiPh), 6.77 (s, 1H, Ph), 6.66 (m, 1H, Ph), 6.28 (bs, 1H, NH), 6.16 (m, 1H, Ph), 5.61 (ddd, *J* = 17.2, 10.2, 8.6 Hz, 1H, 2-H), 5.03 (d, *J* = 10.2 Hz, 1-Ha), 4.99 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H, 1-Hb), 3.58 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 4-H), 3.29 (s, 3H, OMe), 3.21-3.19 (m, 1H, 5-H), 2.42 (dd, *J* = 13.3, 5.5 Hz, 1H, 8-Ha), 2.26-2.16 (m, 1H, 3-H), 2.09 (br. s, 1H, 4-OH), 2.09-2.03 (m, 1H, 8-Hb), 1.76-1.63 (m, 1H, 7-H), 1.57-1.51 (m, 1H, 6-Ha), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.13 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 3-Me), 1.08 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.07-1.02 (m, 1H, 6-Hb), 0.58 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 7-Me) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 143.1 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-2), 139.0 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 133.1 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-Ar), 115.6 (t, C-1), 115.3 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 80.5 (s, *t*-Bu), 80.2 (d, C-5), 73.5 (d, C-4), 57.1 (q, OMe), 44.7 (t, C-8), 40.5 (d, C-3), 34.7 (t, C-6), 30.9 (d, C-7), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 18.5 (q, 7-Me), 17.5 (q, 3-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₃₈H₅₃NO₅SiNa [M+Na]⁺: berechnet: 654.3591, gefunden: 654.3577; **[α]_D²⁰** = -17.8° (*c* = 1.0, CHCl₃).

6.3.2. Synthese der Ostfragmente 58, 59, und 60.

(*R*)-5-Oxotetrahydrofuran-2-carbonsäure (61a)

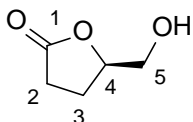


D-Glutaminsäure **45** (21.0 g, 143 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Wasser (143 mL) gelöst, mit Salzsäure (2 M, 85 mL) versetzt und auf -10 °C gekühlt. NaNO₂ (11.8 g, 171 mmol, 1.2 Äq.) wurde in Wasser (85 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch innerhalb von 3 h langsam gegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 12 h bei RT gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingedunstet. Die Säure **61a** (12.4 g, 95.3 mmol, 67 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 5.00 (dd, *J* = 7.8, 4.9 Hz, 1H, H-4), 2.70-2.55 (m, 2H, H-2), 2.55-2.40 (m, 1H, H-3a), 2.38-2.25 (m, 1H, H-3b) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₅H₅O₄ [M-H]⁻: berechnet: 129.0188, gefunden: 129.0190; **T_{sm}** = 71 °C; **[α]_D²⁰** = -13.1° (*c* = 1.0, MeOH).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_D^{20} = -16.0^\circ$ ($c = 2.0$, EtOH)¹⁰⁴

(R)-5-(Hydroxymethyl)-2-oxotetrahydrofuran (62a)

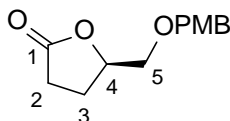


Die Säure **61a** (12.2 g, 93.8 mmol, 1.0 Äq) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (200 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ (13.4 mL, 140 mmol, 1.5 Äq.) langsam versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für weitere 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von MeOH beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Lacton **62a** (10.1 g, 87.0 mmol, 93 %) als farbloses Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD-d_4 , MeOH = 3.31 ppm): δ 4.72-4.56 (m, 1H, 4-H), 3.91 (dd, $J = 1.9, 3.4$ Hz, 1H, 5-Ha), 3.66 (dd, $J = 11.9, 4.4$ Hz, 1H, 5-Hb), 2.68-2.53 (m, 2H, 2-H), 2.35-2.05 (m, 2H, 3-H) ppm; $[\alpha]_D^{20} = -44.5^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_D^{20} = -33.0^\circ$ ($c = 3.0$, EtOH).¹⁰⁴

(R)-5-[(4-Methoxybenzyl)oxymethyl]-2-oxotetrahydrofuran (63a)



Der Alkohol **62a** (1.00 g, 8.61 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (50 mL) gelöst und mit PMB-trichloracetimidat (9.73 g, 34.5 mmol, 4.0 Äq.) und CSA (0.80 g, 3.45 mmol, 0.4 Äq.) versetzt. Nach 24 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-

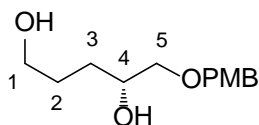
¹⁰⁴ C. Herdeis, *Synth. Commun.* **1986**, 232-233.

Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 2:1) gereinigt und der PMB-geschützte Alkohol **63a** (1.65 g, 6.98 mmol, 81 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.3$ (PE:EtOAc = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.26 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, PMB), 6.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, PMB), 4.69-4.64 (m, 1H, 4-H), 4.55-4.49 (m, 2H, PMB), 3.82 (s, 3H, PMB), 3.66 (dd, $J = 10.8, 3.4$ Hz, 1H, 5-Ha), 3.57 (dd, $J = 10.8, 4.3$ Hz, 1H, 5-Hb), 2.67-2.58 (m, 1H, 2-Ha), 2.53-2.44 (m, 1H, 2-Hb), 2.34-2.24 (m, 1H, 3-Ha), 2.18-2.08 (m, 1H, 3-Hb) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 177.7 (s, C-1), 159.6 (s, PMB), 129.6 (d, PMB), 114.1 (d, PMB), 79.3 (d, C-4), 73.5 (t, PMB), 71.5 (t, C-5), 55.6 (q, PMB), 28.7 (t, C-2), 24.4 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 259.0946, gefunden: 259.0958; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -9.6^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -9.8^\circ$ ($c = 0.43$, CHCl_3).¹⁰⁵

(R)-5-[(4-Methoxybenzyl)oxy]pentan-1,4-diol (64a)



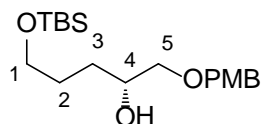
Das Lacton **63a** (1.50 g, 6.35 mmol, 1.0 Äq) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (150 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit LiAlH_4 (0.27 g, 6.98 mmol, 1.1 Äq.) portionsweise versetzt. Nach 30 min wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet. Nach weiteren 10 min wurde der Niederschlag über Celite™ abfiltriert, das Filtrat mit Wasser verdünnt und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 1:1 → 1:5) gereinigt und das Diol **64a** (1.20 g, 4.99 mmol, 79 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.2$ (PE:EtOAc = 2:3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.28 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, PMB), 6.91 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, PMB), 4.51 (s, 2H, PMB), 3.89-3.85 (m, 1H, 4-H), 3.83 (s, 3H, PMB), 3.73-3.63 (m, 2H, 1-H), 3.49 (dd, $J = 9.2, 3.4$ Hz, 1H, 5-Ha), 3.35 (dd, $J = 8.7, 8.4$ Hz, 5-Hb), 2.85 (br. s, 1H, 4-OH), 2.43 (br. s, 1H, 1-OH), 1.75-1.69 (m, 2H, 2-H), 1.66-1.58 (m, 1H, 3-Ha), 1.56-1.47 (m, 1H, 3-Hb) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 159.5 (s,

¹⁰⁵ D. L. Boger, S. Ichikawa, W. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 4161-4167.

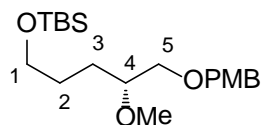
PMB), 129.6 (d, PMB), 114.0 (d, PMB), 74.3 (d, C-4), 73.2 (t, PMB), 70.5 (t, C-5), 63.0 (t, C-1), 55.4 (q, PMB), 30.3 (t, C-2), 29.3 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{13}H_{20}O_4Na$ $[M+Na]^+$: berechnet: 263.1259, gefunden: 263.1266; $[\alpha]_D^{20} = -2.0^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$).

(R)-5-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1-[(4-methoxybenzyl)oxy]pentan-2-ol (65a)



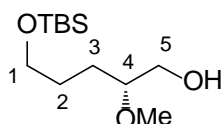
Das Diol **64a** (0.50 g, 2.08 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (20 mL) gelöst, auf $0^\circ C$ gekühlt und mit Imidazol (0.28 g, 4.16 mmol, 2.0 Äq.) und anschließend mit TBSCl (0.35 g, 2.29 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger $NaCl$ -Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **65a** (0.66 g, 1.86 mmol, 90 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.7$ (PE:EtOAc = 1:1).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm) δ 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, PMB), 6.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, PMB), 4.53 (s, 2H, PMB), 3.90-3.81 (m, 1H, 4-H), 3.85 (s, 3H, PMB), 3.73-3.63 (m, 2H, 1-H), 3.51 (dd, $J = 9.3, 3.7$ Hz, 1H, 5-Ha), 3.38 (dd, $J = 9.3, 7.4$ Hz, 5-Hb), 2.86 (br. s, 1H, 4-OH), 1.75-1.50 (m, 2H, 2-H), 1.75-1.50 (m, 2H, 3-H), 0.93 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.09 (s, 6H, SiMe) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm) δ 159.4 (s, PMB), 130.4 (s, PMB), 129.5 (d, PMB), 114.0 (d, PMB), 74.4 (d, C-4), 73.1 (t, PMB), 70.4 (t, C-5), 63.4 (t, C-1), 55.4 (q, PMB), 30.4 (t, C-2), 29.1 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{19}H_{35}O_4Si$ $[M+H]^+$: berechnet: 355.2305, gefunden: 355.2305; $[\alpha]_D^{20} = +2.4^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$).

(R)-5-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1-[(4-methoxybenzyl)oxy]-4-(methoxy)pentan (66a)

Der Alkohol **65a** (0.56 g, 1.58 mmol, 1.0 Äq) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (20 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaH (60 % Suspension in Mineralöl) (0.10 g, 2.37 mmol, 1.5 Äq.) und anschließend mit MeI (0.1 mL, 1.74 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für weitere 24 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 → 2:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **66a** (0.44 g, 1.20 mmol, 76 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.7 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 7.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, PMB), 6.87 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, PMB), 4.48 (s, 2H, PMB), 3.80 (s, 3H, PMB), 3.63-3.57 (m, 2H, 1-H), 3.45 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, 5-H), 3.04 (s, 3H, OMe), 3.38-3.34 (m, 1H, 4-H), 1.61-1.48 (m, 2H, 2-H), 1.61-1.48 (m, 2H, 3-H), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 159.3 (s, PMB), 130.6 (s, PMB), 129.4 (d, PMB), 113.9 (d, PMB), 80.1 (d, C-4), 73.1 (t, PMB), 71.9 (t, C-5), 63.3 (t, C-1), 57.6 (q, OMe), 55.4 (q, PMB), 28.8 (t, C-2), 27.9 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.1 (q, SiMe) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₂₀H₃₆O₄SiNa [M+Na]⁺: berechnet: 391.2281, gefunden: 391.2290; [α]_D²⁰ = +6.3° (*c* = 1.0, CHCl₃).

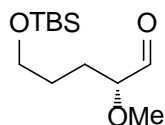
(R)-5-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-4-methoxypentan-1-ol (67a)

Der Alkohol **66a** (0.40 g, 1.09 mmol, 1.0 Äq) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (30 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Phosphatpuffer (pH 7, 3 mL) und DDQ (0.30 g, 1.30 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 1.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die

Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und der entschützte Alkohol **67a** (0.24 g, 0.97 mmol, 89 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 2:1).

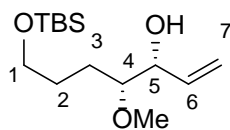
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 3.71-3.65 (m, 1H, 5-Ha), 3.63-3.60 (m, 2H, 1-H), 3.52-3.47 (m, 1H, 5-Ha), 3.04 (s, 3H, OMe), 3.32-3.27 (m, 1H, 4-H), 1.98-1.95 (m, 1H, OH), 1.65-1.47 (m, 2H, 3-H), 1.65-1.47 (m, 2H, 2-H), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.05 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 81.5 (d, C-4), 64.1 (t, C-5), 63.2 (t, C-1), 57.2 (q, OMe), 28.6 (t, C-2), 26.7 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 271.1705, gefunden: 271.1704; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -20.8^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

(*R*)-5-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)-4-methoxypentan-1-al (44a**)**



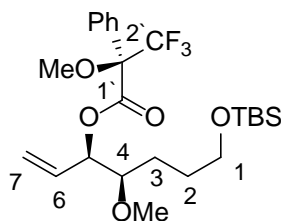
Der Alkohol **67a** (0.16 g, 0.65 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (30 mL) gelöst, auf 0°C gekühlt und mit NaHCO_3 (0.07 g, 0.77 mmol, 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz (0.33 g, 0.77 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na_2SO_3 -Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt und der Aldehyd **44a** (0.16 g, 0.65 mmol, 99 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.7$ (PE:EtOAc = 2:1).

Der Aldehyd **44a** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

(3*S*,4*R*)-7-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)-4-methoxyhept-1-en-3-ol (58b)

Der Aldehyd **44a** (0.25 g, 1.02 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (50 mL) gelöst, auf $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und mit Vinylmagnesiumbromid (0.7 M Lösung in THF) (1.7 mL, 1.22 mmol, 1.2 Äq.) langsam versetzt. Nach 35 min wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und das Alken **58b** (0.14 g, 0.51 mmol, 50 %, *anti:syn d.r.* = 1:4) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , CHCl_3 = 7.26 ppm) δ : 5.91-5.81 (m, 1H, 6-H), 5.36 (d, J = 17.1 Hz, 1H, 7-Ha), 5.21 (d, J = 10.2 Hz, 1H, 7-Hb), 4.04-4.01 (m, 1H, 5-H), 3.70-3.63 (m, 2H, 1-H), 3.42 (s, 3H, OMe), 3.15-3.10 (m, 1H, 4-H), 2.53 (d, J = 3.8 Hz, 1H, 5-OH), 1.70-1.48 (m, 2H, 3-H), 1.70-1.48 (m, 2H, 2-H), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 77.16 ppm) δ 137.6 (d, C-6), 117.1 (t, C-7), 83.9 (d, C-4), 74.5 (t, C-5), 63.2 (t, C-1), 58.1 (q, OMe), 28.3 (t, C-2), 28.3 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 271.1705, gefunden: 271.1704.

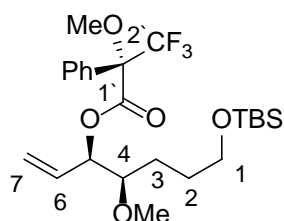
(*R*)-Mosher Ester (68a)

Der Alkohol **58a** (5.0 mg, 18 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (1.0 mL) gelöst, auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und mit NEt_3 (10 μL , 7.0 μmol , 4.0 Äq.), DMAP (0.2 mg, 1.8 μmol , 0.1 Äq.) und anschließend mit (*S*)-Mosher Säurechlorid (6.0 mg, 22 μmol , 1.2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für weitere 20 h bei RT gerührt.

Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flasch-Chromatographie (PE:EtOAc = 20:1 \rightarrow 4:1) gereinigt und der Ester **68a** (8.5 mg, 17 μmol , 96 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ : 7.56-7.54 (m, 2H, Ph), 7.40-7.39 (m, 3H, Ph), 5.78-5.70 (m, 1H, 6-H), 5.52-5.48 (m, 1H, 5-H), 5.32 (d, $J = 17.4$ Hz, 1H, 7-Ha), 5.28 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, 7-Hb), 3.61-3.56 (m, 2H, 1-H), 3.57 (s, 3H, 2'-OMe), 3.38 (s, 3H, 4-OMe), 3.36-3.32 (m, 1H, 4-H), 3.28 (s, 1H, 2'-H), 1.66-1.55 (m, 2H, 3-H), 1.66-1.55 (m, 2H, 2-H), 0.88 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.03 (s, 6H, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{O}_5\text{SiF}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 513.2260, gefunden: 513.2261.

(*S*)-Mosher Ester (**68b**)

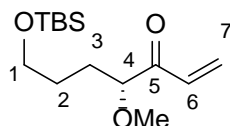


Der Alkohol **58b** (5.0 mg, 18 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (1.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NEt_3 (10 μL , 7.0 μmol , 4.0 Äq.), DMAP (0.2 mg, 1.8 μmol , 0.1 Äq.) und (*R*)-Mosher Säurechlorid (6.0 mg, 22 μmol , 1.2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für weitere 20 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flasch-Chromatographie (PE:EtOAc = 20:1 \rightarrow 4:1) gereinigt und der Ester **68b** (8.0 mg, 16 μmol , 91 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.59-7.53 (m, 2H, Ph), 7.40-7.38 (m, 3H, Ph), 5.88-5.79 (m, 1H, 6-H), 5.56-5.51 (m, 1H, 5-H), 5.43 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H, 7-Ha), 5.34 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, 7-Hb), 3.58-3.53 (m, 2H, 1-H), 3.56 (s, 3H, 2'-OMe), 3.40 (s, 1H, 2'-H), 3.29-3.26 (m, 1H, 4-H), 3.25 (s, 3H, 4-OMe), 1.61-1.45 (m, 2H, 3-H), 1.61-1.45 (m, 2H,

2-H), 0.88 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.02 (s, 6H, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{24}H_{37}O_5SiF_3Na$ $[M+Na]^+$: berechnet: 513.2260, gefunden: 513.2260.

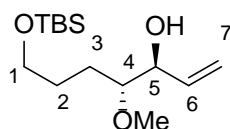
(R)-7-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-4-methoxyhept-1-en-3-on (69)



Der Alkohol **58** (0.05 g, 0.18 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit $NaHCO_3$ (0.02 g, 0.22 mmol, 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz (0.09 g, 0.22 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na_2SO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 2:1) gereinigt und das Keton **69** (0.05 g, 0.18 mmol, 99 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.6 (PE:EtOAc = 4:1).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3$ = 7.26 ppm) δ : 6.71 (dd, J = 17.5, 10.5 Hz, 1H, 6-H), 6.43 (dd, J = 17.5, 1.7 Hz, 1H, 7-Ha), 5.79 (dd, J = 10.5, 1.7 Hz, 1H, 7-Hb), 3.79 (dd, J = 7.5, 5.5 Hz, 1H, 4-H), 3.64-3.58 (m, 2H, 1-H), 3.33 (s, 3H, OMe), 1.76-1.51 (m, 2H, 3-H), 1.76-1.51 (m, 2H, 2-H), 0.87 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.03 (s, 6H, SiMe) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 77.16 ppm) δ 201.6 (s, C-5), 131.4 (d, C-6), 129.8 (t, C-7), 86.2 (d, C-4), 62.7 (t, C-1), 58.1 (q, OMe), 28.7 (t, C-2), 28.4 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{14}H_{28}O_3SiNa$ $[M+Na]^+$: berechnet: 295.1705, gefunden: 295.1703; $[\alpha]_D^{20}$ = +41.1° (c = 1, CH_2Cl_2).

(3S,4R)-7-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-4-methoxyhept-1-en-3-ol (58a)



Methode 1

Das Keton **69** (10.0 mg, 0.04 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (4.0 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit (*S*)-CBS (0.06 g, 0.22 mmol, 6.0 Äq.) versetzt.

Nach weiteren 10 min wurde $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ (0.1 mL, 0.93 mmol, 25.0 Äq.) zugegeben und der Reaktionsansatz für 2 h bei $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von MeOH beendet. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und mit Wasser verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und der Alkohol **58a** (7.00 mg, 0.03 mmol, 70 %, *anti:syn d.r.* = 3:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 2:1).

Methode 2

Herstellung von Vinylolithium

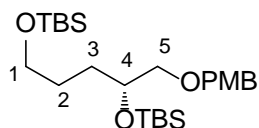
n-BuLi (13.0 mL, 32.5 mmol, 2.0 Äq.) (2.5 M Lösung in Hexan) wurde unter Argon-Atmosphäre in Hexan (10 mL) gelöst und mit Tetravinylzinn (3.00 mL, 16.4 mmol, 1.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 2 h bei RT gerührt, wobei ein weißer Feststoff ausfiel. Der Feststoff wurde unter Argon-Atmosphäre abfiltriert, mit Hexan gewaschen und im Vakuum getrocknet. Vinylolithium wurde in Et_2O (13 mL) gelöst und direkt weiter verwendet.

Vinylolithium (3.30 mL, 8.12 mmol, 2.0 Äq.) (2.5 M Lösung in Et_2O) wurde unter Argon-Atmosphäre in Et_2O (200 mL) gelöst, auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und mit dem Aldehyd **44a** (1.00 g, 4.06 mmol, 1.0 Äq.) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und das Alken **58a** (0.75 g, 2.73 mmol, 67 %, *anti:syn d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ : 5.90-5.80 (m, 1H, 6-H), 5.32 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H, 7-Ha), 5.21 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, 7-Hb), 4.29-4.25 (m, 1H, 5-H), 3.66-3.56 (m, 2H, 1-H), 3.43 (s, 3H, OMe), 3.25-3.20 (m, 1H, 4-H), 1.70-1.48 (m, 2H, 3-H), 1.70-1.48 (m, 2H, 2-H), 0.90 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 136.7 (d, C-6), 116.6 (t, C-7), 84.1 (d, C-4), 73.1 (t, C-5), 63.2 (t, C-1), 58.1 (q, OMe), 29.0 (t, C-2), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 25.4 (t, C-3), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q,

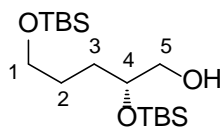
SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{12}H_{28}O_3SiNa$ $[M+Na]^+$: berechnet: 271.1705, gefunden: 271.1704.

(R)-2,5-Bis(tert-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-methoxybenzyl)oxypentan (71)



Der Alkohol **64a** (2.50 g, 10.4 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (60 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (4.20 mL, 36.4 mmol, 3.5 Äq.) und anschließend mit TBSOTf (5.30 mL, 22.9 mmol, 2.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 2.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger $NaCl$ -Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 → 10:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **71** (4.21 g, 8.98 mmol, 86 %) als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 10:1).

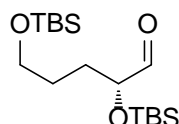
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm) δ 7.25 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, PMB), 6.87 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, PMB), 4.45 (s, 2H, PMB), 3.90-3.81 (m, 1H, 4-H), 3.81 (s, 3H, PMB), 3.61-3.58 (m, 1H, 1-H), 3.39-3.31 (m, 2H, 5-H), 1.62-1.41 (m, 2H, 2-H), 1.62-1.41 (m, 2H, 3-H), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.88 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.05 (s, 6H, SiMe), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm) δ 159.2 (s, PMB), 130.8 (s, PMB), 129.3 (d, PMB), 113.8 (d, PMB), 74.6 (d, C-5), 73.1 (t, PMB), 71.5 (t, C-4), 63.5 (t, C-1), 55.4 (q, PMB), 31.2 (t, C-3), 28.8 (t, C-2), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), 18.3 (s, *Sit*-Bu), -4.2 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe), -5.1 (q, SiMe); **HRMS** (ESI) m/z für $C_{25}H_{48}O_4Si_2Na$ $[M+Na]^+$: berechnet: 491.2989, gefunden: 491.2981; $[\alpha]_D^{20} = +10.3^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$).

(R)-2,5-Bis(tert-butyldimethylsilyloxy)pentan-1-ol (72)

Der Alkohol **71** (3.73 g, 7.96 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (240 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Phosphatpuffer (pH 7, 24 mL) und DDQ (2.17 g, 9.55 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 15:1 → 5:1) gereinigt und der entschützte Alkohol **72** (2.35 g, 6.74 mmol, 85 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 5:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 3.79-3.74 (m, 1H, 4-H), 3.64-3.54 (m, 2H, 1-H), 3.64-3.54 (m, 1H, 5-Ha), 3.48-3.41 (m, 1H, 5-Hb), 1.90-1.85 (m, 1H, OH), 1.58-1.47 (m, 2H, 3-H), 1.58-1.47 (m, 2H, 2-H), 0.90 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.09 (s, 6H, SiMe), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 72.9 (d, C-4), 66.4 (t, C-5), 63.3 (t, C-1), 30.5 (t, C-3), 28.7 (t, C-2), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 26.0 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), 18.2 (s, *Sit*-Bu), -4.3 (q, SiMe), -4.3 (q, SiMe), -5.2 (q, SiMe) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₁₇H₄₀O₄Si₂Na [M+Na]⁺: berechnet: 371.2414, gefunden: 371.2422; [α]_D²⁰ = -12.0° (*c* = 1.0, CHCl₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. [α]_D²⁰ = -13.3° (*c* = 2.0, CHCl₃).¹⁰⁶

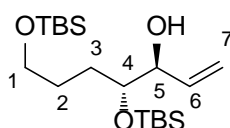
(R)-2,5-Bis(tert-butyldimethylsilyloxy)pentan-1-al (72a)

Der Alkohol **72** (0.10 g, 0.29 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (10 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaHCO₃ (0.03 g, 0.34 mmol, 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz

¹⁰⁶T. Hirose, T. Sunazuka, S. Tsuchiya, T. Tanaka, Y. Kojima, R. Mori, M. Iwatsuki, S. Ōmura. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 8220-8238.

(0.15 g, 0.34 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na₂SO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Aldehyd **72a** (0.09 g, 0.27 mmol, 95 %) wurde als farbloser Schaum erhalten; $R_f = 0.7$ (PE:EtOAc = 9:1). Der Aldehyd **72a** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

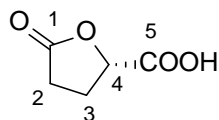
(3*S*,4*R*)-4,7-Bis(*tert*-butyldimethylsilyloxy)hept-1-en-3-ol (**59**)



Der Aldehyd **72a** (0.50 g, 1.44 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in Et₂O (150 mL) gelöst, auf -90 °C gekühlt und mit Vinylmagnesiumbromid (0.7 M Lösung in THF) (2.5 mL, 1.73 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Nach 35 min wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 20:1 → 10:1) gereinigt und das Alken **59** (0.32 g, 0.87 mmol, 60 %, *anti:syn d.r.* = 7:1) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 9:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ : 5.89-5.79 (m, 1H, 6-H), 5.30 (dd, $J = 15.1, 8.2$ Hz, 1H, 7-Ha), 5.18 (dd, $J = 15.1, 4.4$ Hz, 1H, 7-Hb), 4.11-4.06 (m, 1H, 5-H), 3.73-3.69 (m, 1H, 4-H), 3.63-3.56 (m, 2H, 1-H), 2.27 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, 5-OH), 1.67-1.43 (m, 2H, 3-H), 1.67-1.43 (m, 2H, 2-H), 0.90 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.88 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.09 (s, 6H, SiMe), 0.03 (s, 6H, SiMe) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ : 136.6 (d, C-6), 116.6 (t, C-7), 75.9 (d, C-5), 75.4 (t, C-4), 63.3 (t, C-1), 29.0 (t, C-2), 28.2 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 26.0 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), 18.2 (s, *Sit*-Bu), -4.1 (q, SiMe), -4.3 (q, SiMe), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₁₉H₄₂O₃Si₂Na [M+Na]⁺: berechnet: 397.2570, gefunden: 397.2571.

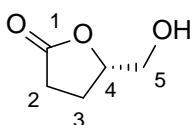
Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.¹⁰⁶

(S)-5-Oxotetrahydrofuran-2-carbonsäure (61b)

L-Glutaminsäure **45** (19.0 g, 129 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Wasser (140 mL) gelöst, mit Salzsäure (2 M, 85 mL) versetzt und der Reaktionsansatz auf -10 °C gekühlt. NaNO₂ (10.7 g, 155 mmol, 1.2 Äq.) wurde in Wasser (85 mL) gelöst und innerhalb von 3 h langsam zum Reaktionsgemisch gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 12 h bei RT gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Die Säure **61b** (8.57 g, 65.9 mmol, 51 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 5.00 (dd, *J* = 7.8, 4.9 Hz, 1H, H-4), 2.70-2.55 (m, 2H, H-2), 2.55-2.40 (m, 1H, H-3a), 2.38-2.25 (m, 1H, H-3b) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₅H₅O₄ [M-H]⁻: berechnet: 129.0188, gefunden: 129.0190; T_{sm} = 69 °C; [α]_D²⁰ = +14.5° (*c* = 1.0, MeOH).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. [α]_D²⁰ = +15.6° (*c* = 2.0, EtOH).¹⁰⁷

(S)-5-(Hydroxymethyl)-2-oxotetrahydrofuran (62b)

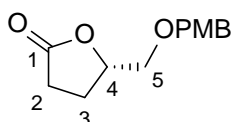
Die Säure **61b** (7.50 g, 57.7 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (200 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit BH₃*SMe₂ (8.20 mL, 86.5 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von MeOH beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Lacton **62b** (6.5 g, 56.0 mmol, 97 %) als farbloses Öl erhalten.

¹⁰⁷ U. Ravid, R. M. Silverstein, L. R. Smith, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1449-1452.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 4.72-4.56 (m, 1H, 4-H), 3.91 (dd, *J* = 1.9, 3.4 Hz, 1H, 5-Ha), 3.66 (dd, *J* = 11.9, 4.4 Hz, 1H, 5-Hb), 2.68-2.53 (m, 2H, 2-H), 2.35-2.05 (m, 2H, 3-H) ppm; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +44.6^{\circ}$ (*c* = 1.0, CHCl₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +31.3^{\circ}$ (*c* = 2.92, EtOH).¹⁰⁷

(*S*)-5-[(4-Methoxybenzyl)oxymethyl]-2-oxotetrahydrofuran (**63b**)

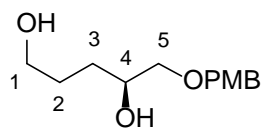


Der Alkohol **62b** (6.50 g, 56.0 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (300 mL) gelöst und mit PMB-Trichloracetimidat (63.3 g, 224 mmol, 4.0 Äq.) und CSA (5.20 g, 22.4 mmol, 0.4 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 48 h bei RT gerührt, mit gesättigter NaHCO₃-Lösung versetzt und dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 2:1) gereinigt und der PMB-geschützte Alkohol **63b** (3.93 g, 16.8 mmol, 30 %) als farbloses Öl erhalten; *R_f* = 0.3 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 7.26 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, PMB), 6.89 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, PMB), 4.69-4.64 (m, 1H, 4-H), 4.55-4.49 (m, 2H, PMB), 3.82 (s, 3H, PMB), 3.66 (dd, *J* = 10.8, 3.4 Hz, 1H, 5-Ha), 3.57 (dd, *J* = 10.8, 4.3 Hz, 1H, 5-Hb), 2.67-2.58 (m, 1H, 2-Ha), 2.53-2.44 (m, 1H, 2-Hb), 2.34-2.24 (m, 1H, 3-Ha), 2.18-2.08 (m, 1H, 3-Hb) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 177.7 (s, C-1), 159.6 (s, PMB), 129.6 (d, PMB), 114.1 (d, PMB), 79.3 (d, C-4), 73.5 (t, PMB), 71.5 (t, C-5), 55.6 (q, PMB), 28.7 (t, C-2), 24.4 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₁₃H₁₆O₄Na [M+Na]⁺: berechnet: 259.0946, gefunden: 259.0958; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +9.0^{\circ}$ (*c* = 1.0, CHCl₃).

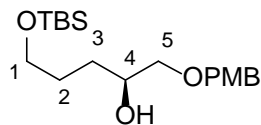
Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +10.6^{\circ}$ (*c* = 1.0, CHCl₃).¹⁰⁸

¹⁰⁸ R. A. Pilli, M. M. Victor, A. de Meijere, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5910-5916.

(S)-5-[(4-Methoxybenzyl)oxy]pentane-1,4-diol (64b)

Das Lacton **63b** (1.30 g, 5.50 mmol, 1.0 Äq) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (150 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit LiAlH₄ (0.23 g, 6.05 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Nach 30 min wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet. Nach weiteren 10 min wurde der Niederschlag über Celite™ abfiltriert, das Filtrat wurde mit Wasser verdünnt und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 1:1 → 1:5) gereinigt und das Diol **64b** (1.04 g, 4.34 mmol, 79 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.2 (PE:EtOAc = 2:3).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 7.28 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, PMB), 6.91 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, PMB), 4.51 (s, 2H, PMB), 3.89-3.85 (m, 1H, 4-H), 3.83 (s, 3H, PMB), 3.73-3.63 (m, 2H, 1-H), 3.49 (dd, *J* = 9.2, 3.4 Hz, 1H, 5-Ha), 3.35 (dd, *J* = 8.7, 8.4 Hz, 5-Hb), 2.85 (br. s, 1H, 4-OH), 2.43 (br. s, 1H, 1-OH), 1.75-1.69 (m, 2H, 2-H), 1.66-1.58 (m, 1H, 3-Ha), 1.56-1.47 (m, 1H, 3-Hb) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 159.6 (s, PMB), 129.8 (d, PMB), 114.2 (d, PMB), 74.4 (d, C-4), 73.4 (t, PMB), 70.7 (t, C-5), 63.2 (t, C-1), 55.6 (q, PMB), 30.5 (t, C-2), 29.5 (t, C-3) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₁₃H₂₀O₄Na [M+Na]⁺: berechnet: 263.1259, gefunden: 263.1266; [α]_D²⁰ = +1.9° (c = 1.0, CHCl₃).

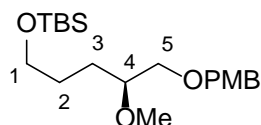
(S)-5-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1-[(4-methoxybenzyl)oxy]pentan-2-ol (65b)

Das Diol **64b** (0.85 g, 3.54 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (25 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Imidazol (0.48 g, 7.08 mmol, 2.0 Äq.) und anschließend mit TBSCl (0.59 g, 3.90 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt.

Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 → 2:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **65b** (1.25 g, 3.53 mmol, 99 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.7$ (PE:EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, PMB), 6.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, PMB), 4.53 (s, 2H, PMB), 3.90-3.81 (m, 1H, 4-H), 3.85 (s, 3H, PMB), 3.73-3.63 (m, 2H, 1-H), 3.51 (dd, $J = 9.3, 3.7$ Hz, 1H, 5-Ha), 3.38 (dd, $J = 9.3, 7.4$ Hz, 5-Hb), 2.86 (br. s, 1H, 4-OH), 1.75-1.50 (m, 2H, 2-H), 1.75-1.50 (m, 2H, 3-H), 0.93 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.09 (s, 6H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 159.6 (s, PMB), 129.7 (d, PMB), 114.2 (d, PMB), 74.6 (d, C-4), 73.3 (t, PMB), 70.6 (t, C-5), 63.6 (t, C-1), 55.6 (q, PMB), 30.6 (t, C-2), 29.3 (t, C-3), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.00 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{O}_4\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 355.2305, gefunden: 355.2305; $[\alpha]_D^{20} = -2.3^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

(S)-5-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1-[(4-methoxybenzyl)oxy]-4-(methoxy)pentan (66b)

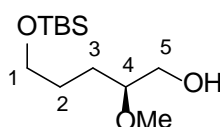


Der Alkohol **65b** (1.20 g, 3.39 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in Et_2O (20 mL) gelöst, auf 0°C gekühlt und mit NaH (60 % Suspension in Mineralöl) (0.20 g, 5.08 mmol, 1.5 Äq.) und anschließend mit MeI (0.21 mL, 0.53 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 72 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 → 2:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **66b** (1.09 g, 2.96 mmol, 88 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm) δ 7.24 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, PMB), 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, PMB), 4.48 (s, 2H, PMB), 3.80 (s, 3H, PMB), 3.63-3.57 (m, 2H, 1-H), 3.45 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H, 5-H), 3.04 (s, 3H, OMe), 3.38-3.34 (m, 1H, 4-H), 1.61-1.48 (m, 2H, 2-H), 1.61-1.48 (m, 2H, 3-H), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,

CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 159.5 (s, PMB), 130.8 (s, PMB), 129.6 (d, PMB), 114.1 (d, PMB), 80.3 (d, C-4), 73.3 (t, PMB), 72.1 (t, C-5), 63.5 (t, C-1), 57.8 (q, OMe), 55.6 (q, PMB), 29.0 (t, C-2), 28.1 (t, C-3), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 18.7 (s, *Sit*-Bu), -4.9 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₂₀H₃₆O₄SiNa [M+Na]⁺: berechnet: 391.2281, gefunden: 391.2290; $[\alpha]_D^{20} = -6.0^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

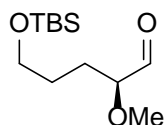
(S)-5-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-4-methoxypentan-1-ol (67b)



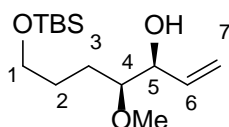
35

Der Alkohol **66b** (1.05 g, 2.85 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (80 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Phosphatpuffer (pH 7, 8 mL) und DDQ (0.78 g, 3.42 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 → 2:1) gereinigt und der entschützte Alkohol **67b** (0.65 g, 2.62 mmol, 92 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 3.71-3.65 (m, 1H, 5-Ha), 3.63-3.60 (m, 2H, 1-H), 3.52-3.47 (m, 1H, 5-Ha), 3.04 (s, 3H, OMe), 3.32-3.27 (m, 1H, 4-H), 1.98-1.95 (m, 1H, OH), 1.65-1.47 (m, 2H, 3-H), 1.65-1.47 (m, 2H, 2-H), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.05 (s, 6H, SiMe) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 81.5 (d, C-4), 64.1 (t, C-5), 63.2 (t, C-1), 57.2 (q, OMe), 28.6 (t, C-2), 26.7 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₁₂H₂₈O₃SiNa [M+Na]⁺: berechnet: 271.1705, gefunden: 271.1704; $[\alpha]_D^{20} = +20.0^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

(S)-5-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-4-methoxypentan-1-al (44b)

Der Alkohol **67b** (0.10 g, 0.40 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (30 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaHCO₃ (0.04 g, 0.48 mmol, 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz (0.21 g, 0.48 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na₂SO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Aldehyd **44b** (0.10 g, 0.39 mmol, 99 %) wurde als farbloser Schaum erhalten; R_f = 0.7 (PE:EtOAc = 2:1). Der Aldehyd **44b** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

(3S,4R)-7-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-4-methoxyhept-1-en-3-ol (60)

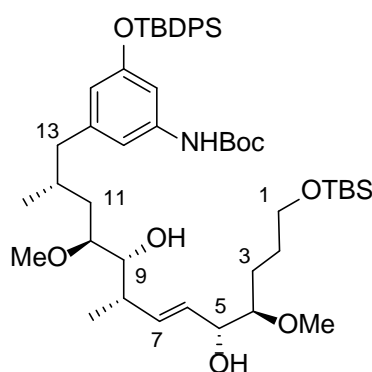
Der Aldehyd **44b** (0.05 g, 0.20 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (3.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MgBr₂*Et₂O (0.13 g, 0.49 mmol, 2.4 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 30 min bei 0 °C gerührt, anschließend auf -78 °C gekühlt und mit Vinylmagnesiumbromid (0.72 mL, 0.51 mmol, 2.5 Äq.) (0.7 M Lösung in THF) langsam versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 → 2:1) gereinigt und das Alken **60** (0.03 g, 0.10 mmol, 51 %, *syn:anti d.r.* = 7:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm) δ 5.89-5.80 (m, 1H, 6-H), 5.35 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H, 7-Ha), 5.21 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, 7-Hb), 4.05-4.00 (m, 1H, 5-H), 3.63-3.57 (m, 2H, 1-H), 3.42 (s, 3H, OMe), 3.14-3.10 (m, 1H, 4-H), 2.55 (s, 1H, 5-OH), 1.70-1.48 (m, 2H, 3-H), 1.70-1.48 (m, 2H, 2-H), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; **¹³C-NMR**

(100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 137.5 (d, C-6), 117.2 (t, C-7), 83.9 (d, C-4), 74.5 (t, C-5), 63.2 (t, C-1), 58.1 (q, OMe), 28.2 (t, C-2), 26.2 (t, C-3), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -5.2 (q, SiMe; **HRMS** (ESI) m/z für C₁₂H₂₈O₃SiNa [M+Na]⁺: berechnet: 271.1705, gefunden: 271.1704.

6.3.3. Synthese des SNAC-Esters von 2,8-desdi-Methyl-6,7-*epi*-*seco*-Progeldanamycin 37b

Methathese Produkt 73b

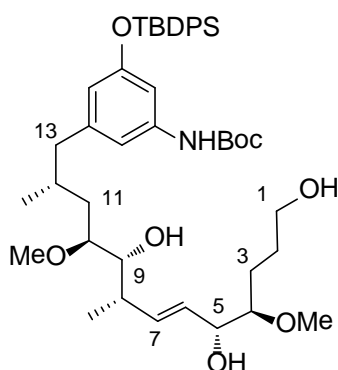


Das Alken **39** (0.10 g, 0.16 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in (CH₂Cl)₂ (6.0 mL) gelöst und mit dem Alken **58b** (0.13 g, 0.47 mmol, 3.0 Äq.) und GRUBBS-HOVEYDA II Katalysator (9.90 mg, 15.8 μ mol, 0.1 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 40 °C erhitzt. Nach jeweils 10 h wurde portionsweise eine weitere Menge des GRUBBS-HOVEYDA II Katalysators (9.90 mg, 15.8 μ mol, 0.1 Äq.) zugegeben. Nach 48 h wurde das Reaktionsgemisch auf RT gekühlt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 2:1), gefolgt von präparativer HPLC (C18-P) (H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 80:20 \rightarrow 0:100 {85 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15 mL/min) (t_R = 83.0 min) gereinigt und der Alkohol **73b** (0.07 g, 0.07 mmol, 47 %, 5*R*:5*S* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.1 (PE:EtOAc = 2:3).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 7.87-7.84 (m, 4H, SiPh), 7.25 (s, 1H, 17-H), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 6.73 (s, 1H, 15-H), 6.46 (s, 1H, 19-H), 6.24 (s, 1H, NH), 5.60 (dd, J = 15.2, 8.5 Hz, 1H, 7-H), 5.60 (dd, J = 15.2, 6.5 Hz, 6-H), 4.04-4.01 (m, 1H, 5-H), 3.59-3.54 (m, 1H, 9-H), 3.59-3.54 (m, 2H, 1-H), 3.26-3.24 (m, 1H, 10-H), 3.16 (s, 3H, 4-OMe), 3.04 (s, 3H, 10-OMe), 3.01-2.97 (m, 1H, 4-H), 2.45-2.33 (m, 1H, 13-Ha), 2.45-2.33

(m, 1H, 8H), 2.12-2.05 (m, 1H, 13-Hb), 1.98-1.87 (m, 1H, 12-H), 1.75-1.50 (m, 2H, 2-H), 1.75-1.50 (m, 2H, 3-H), 1.75-1.65 (m, 1H, 11-Ha), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.28 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.18-1.13 (m, 1H, 11-Hb), 0.99 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.78 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.08 (s, 6H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.5 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.2 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.3 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.4 (d, C-6), 130.1 (s, C-Ar), 115.7 (d, C-19), 112.5 (d, C-15), 108.0 (d, C-17), 84.5 (d, C-4), 80.7 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 74.3 (d, C-9), 74.1 (d, C-5), 63.4 (t, C-1), 56.6 (q, 4-OMe), 56.6 (q, 10-OMe), 44.7 (t, C-13), 39.4 (d, C-8), 35.3 (t, C-11), 31.6 (d, C-12), 29.4 (t, C-2), 28.3 (t, C-3), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 19.8 (q, 12-Me), 19.3 (s, *Sit*-Bu), 18.6 (q, 8-Me), 17.8 (s, *Sit*-Bu), -5.1 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{50}\text{H}_{79}\text{NO}_8\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 900.5242, gefunden: 900.5239.

Triol 78b

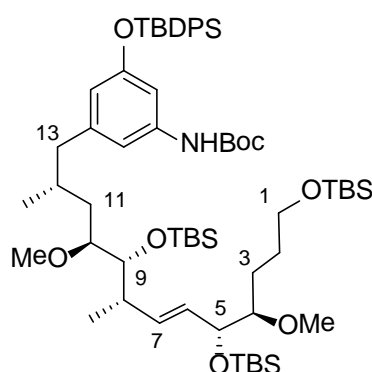


Der Alkohol **73b** (10.0 mg, 11.4 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (3.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MeOH (2.0 mL) und CSA (0.80 mg, 3.40 μmol , 0.3 Äq.) versetzt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 1:1) gereinigt und der Alkohol **78b** (7.00 mg, 9.20 μmol , 88 %, 5R:5S *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 2:3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 7.87-7.85 (m, 4H, SiPh), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 7.12 (s, 1H, 17-H), 6.82 (s, 1H, 15-H), 6.48 (s, 1H, 19-H), 6.18 (s, 1H, NH), 5.62

(dd, $J = 15.5, 8.4$ Hz, 1H, 7-H), 5.44 (dd, $J = 15.5, 6.7$ Hz, 6-H), 4.04-4.00 (m, 1H, 5-H), 3.57-3.54 (m, 1H, 9-H), 3.41-3.37 (m, 2H, 1-H), 3.24-3.20 (m, 1H, 10-H), 3.11 (s, 3H, 4-OMe), 3.03 (s, 3H, 10-OMe), 2.96-2.93 (m, 1H, 4-H), 2.44 (dd, $J = 13.0, 5.8$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.40-2.35 (m, 1H, 8H), 2.10-2.05 (m, 1H, 13-Hb), 1.99-1.91 (m, 1H, 12-H), 1.69-1.45 (m, 2H, 2-H), 1.69-1.45 (m, 2H, 3-H), 1.69-1.55 (m, 1H, 11-Ha), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.26 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.18-1.13 (m, 1H, 11-Hb), 0.77 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 143.5 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.5 (d, C-7), 133.5 (d, C-Ar), 130.2 (s, C-Ar), 129.5 (d, C-6), 115.8 (d, C-19), 112.7 (d, C-15), 108.0 (d, C-17), 84.7 (d, C-4), 80.6 (d, C-10), 79.8 (s, *t*-Bu), 74.1 (d, C-5), 72.7 (d, C-9), 62.7 (t, C-1), 57.7 (q, 4-OMe), 56.6 (q, 10-OMe), 50.2 (t, C-13), 44.8 (d, C-8), 39.1 (t, C-11), 35.5 (d, C-12), 31.6 (t, C-3), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (t, C-2), 19.7 (q, 12-Me), 19.3 (s, *Sit*-Bu), 17.0 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{44}\text{H}_{66}\text{NO}_8\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 764.4558, gefunden: 764.4536.

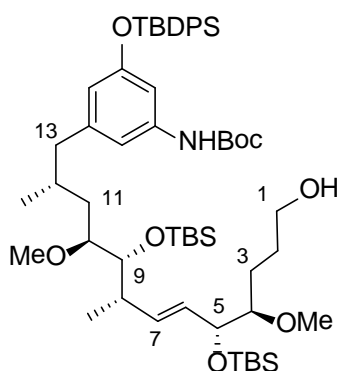
Silyliertes Polyol **80b**



Der Alkohol **73b** (40.0 mg, 45.5 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (26.0 μL , 228 μmol , 5.0 Äq.) und anschließend mit TBSOTf (31.0 μL , 137 μmol , 3.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 3 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 20:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **80b** (45.0 mg, 40.7 μmol , 88 %, 5*R*:5*S* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 7.87-7.85 (m, 4H, SiPh), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 7.19 (s, 1H, 17-H), 6.60 (s, 1H, 15-H), 6.46 (s, 1H, 19-H), 5.95 (s, 1H, NH), 5.66-5.62 (m, 1H, 7-H), 5.66-5.62 (m, 1H, 6-H), 4.32-4.30 (m, 1H, 5-H), 3.69-3.61 (m, 1H, 9-H), 3.69-3.61 (m, 2H, 1-H), 3.35-3.32 (m, 1H, 10-H), 3.30 (s, 3H, 4-OMe), 3.22 (s, 3H, 10-OMe), 3.17-3.11 (m, 1H, H-4), 2.45 (dd, $J = 12.8, 6.0$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.36-2.25 (m, 1H, 8-H), 2.15-2.09 (m, 1H, 13-Hb), 2.02-1.93 (m, 1H, 12-H), 1.85-1.80 (m, 2H, 2-H), 1.85-1.80 (m, 1H, 11-Ha), 1.73-1.67 (m, 1H, 3-Ha), 1.55-1.47 (m, 1H, 3-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.22 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 8-Me), 1.22-1.24 (m, 1H, 11-Hb), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.00 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.78 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.21 (s, 3H, SiMe), 0.15 (s, 9H, SiMe), 0.08 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.7 (d, C-7), 133.7 (d, C-Ar), 130.1 (s, C-Ar), 130.0 (d, C-6), 115.7 (d, C-19), 112.5 (d, C-15), 107.9 (d, C-17), 85.5 (d, C-4), 81.5 (d, C-10), 79.5 (s, *t*-Bu), 76.8 (d, C-9), 74.0 (d, C-5), 63.6 (t, C-1), 58.3 (q, 4-OMe), 57.0 (q, 10-OMe), 45.1 (t, C-13), 40.7 (d, C-8), 36.3 (t, C-11), 31.8 (d, C-12), 29.9 (t, C-2), 29.9 (t, C-3), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 19.8 (q, 12-Me), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 18.9 (q, 8-Me), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -3.5 (q, SiMe), -4.1 (q, SiMe), -4.5 (q, SiMe), -5.1 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Alkohol 81b

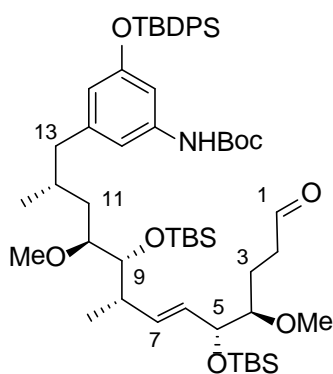


Der Alkohol **80b** (40.0 mg, 36.1 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (8.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MeOH (5.0 mL) und CSA (2.50 mg, 10.8 μmol , 0.3 $\text{\AA}q.$) versetzt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das

Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 5:1) gereinigt und der Alkohol **81b** (30.0 mg, 30.2 μmol , 83 %, 5*R*:5*S* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.1 (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 7.87-7.84 (m, 4H, SiPh), 7.20-7.19 (m, 6H, SiPh), 7.19 (s, 1H, 17-H), 6.70 (s, 1H, 15-H), 6.45 (s, 1H, 19-H), 6.10 (s, 1H, NH), 5.67 (dd, $J = 15.5, 8.5$ Hz, 1H, 7-H), 5.56 (dd, $J = 15.5, 5.1$ Hz, 1H, 6-H), 4.30-4.28 (m, 1H, 5-H), 3.67 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 9-H), 3.50-3.48 (m, 2H, 1-H), 3.33-3.30 (m, 1H, 10-H), 3.26 (s, 3H, 4-OMe), 3.20 (s, 3H, 10-OMe), 3.11-3.07 (m, 1H, H-4), 2.52 (dd, $J = 13.0, 6.0$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.33-2.22 (m, 1H, 8-H), 2.11 (dd, $J = 13.0, 9.2$ Hz, 1H, 13-Hb), 2.01-1.96 (m, 1H, 12-H), 1.85-1.72 (m, 1H, 11-Ha), 1.85-1.72 (m, 1H, 3-Ha), 1.69-1.56 (m, 2H, 2-H), 1.69-1.56 (m, 1H, 3-Hb), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.16 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19-1.16 (m, 1H, 11-Hb), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.02 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.77 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.21 (s, 3H, SiMe), 0.15 (s, 6H, SiMe), 0.13 (s, 3H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.5 (s, NHCOO), 143.6 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.7 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.1 (s, C-Ar), 129.7 (d, C-6), 115.8 (d, C-19), 112.5 (d, C-15), 107.9 (d, C-17), 85.6 (d, C-4), 81.7 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 76.7 (d, C-9), 73.7 (d, C-5), 62.8 (t, C-1), 58.3 (q, 4-OMe), 56.9 (q, 10-OMe), 45.0 (t, C-13), 40.9 (d, C-8), 36.3 (t, C-11), 31.9 (d, C-12), 29.7 (t, C-2), 29.7 (t, C-3), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.9 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 19.8 (q, 12-Me), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 18.9 (q, 8-Me), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -3.5 (q, SiMe), -4.2 (q, SiMe), -4.5 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

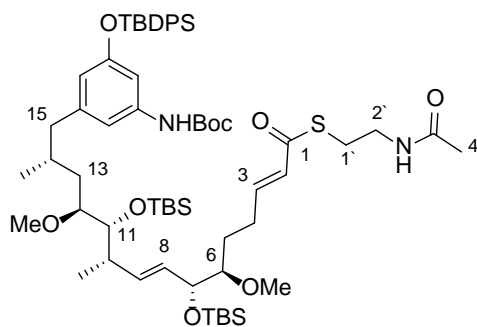
Aldehyd **82b**



Der Alkohol **81b** (30.0 mg, 30.2 μmol , 1.0 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (8.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaHCO_3 (3.00 mg, 36.3 μmol , 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz

(15.4 mg, 36.3 μmol , 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na_2SO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und der Aldehyd **82b** (21.0 mg, 21.2 μmol , 70 %, 5*R*:5*S* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H}$ = 7.16 ppm): δ 9.44 (s, 1H, 1-H), 7.86-7.84 (m, 4H, SiPh), 7.21-7.17 (m, 6H, SiPh), 7.19 (s, 1H, 17-H), 6.65 (s, 1H, 15-H), 6.47 (s, 1H, 19-H), 5.97 (s, 1H, NH), 5.64 (dd, J = 15.5, 8.5 Hz, 1H, 7-H), 5.51 (dd, J = 15.5, 5.3 Hz, 1H, 6-H), 4.25-4.20 (m, 1H, 5-H), 3.67 (d, J = 8.5 Hz, 1H, 9-H), 3.31-3.25 (m, 1H, 10-H), 3.21 (s, 3H, 4-OMe), 3.18 (s, 3H, 10-OMe), 3.03-2.99 (m, 1H, H-4), 2.48 (dd, J = 12.6, 5.5 Hz, 1H, 13-Ha), 2.35-2.24 (m, 1H, 8-H), 2.18-2.08 (m, 2H, 2-H), 2.18-2.08 (m, 1H, H-13b), 2.01-1.92 (m, 1H, 12-H), 1.89-1.75 (m, 1H, 11-Ha), 1.89-1.75 (m, 1H, 3-Ha), 1.65-1.54 (m, 1H, 3-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.16 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 8-Me), 1.19-1.16 (m, 1H, 11-Hb), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.01 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.75 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 12-Me), 0.21 (s, 3H, SiMe), 0.15 (s, 6H, SiMe), 0.12 (s, 3H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , C_6D_6 = 128.06 ppm) δ 200.6 (d, C-1), 156.5 (s, C-Ar), 152.4 (s, NHCOO), 143.5 (s, C-Ar), 140.2 (d, C-Ar), 136.1 (s, C-Ar), 135.2 (d, C-7), 133.7 (d, C-Ar), 130.2 (s, C-Ar), 129.5 (d, C-6), 115.8 (d, C-19), 112.6 (d, C-15), 108.0 (d, C-17), 84.6 (d, C-4), 81.6 (d, C-10), 79.7 (s, *t*-Bu), 76.8 (d, C-9), 73.9 (d, C-5), 58.5 (q, 4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 45.1 (t, C-13), 40.9 (d, C-8), 40.7 (t, C-2), 36.4 (t, C-11), 31.8 (d, C-12), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.9 (q, *Sit*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 23.3 (t, C-3), 19.9 (q, 12-Me), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 19.0 (q, 8-Me), 18.6 (s, *Sit*-Bu), -3.4 (q, SiMe), -4.1 (q, SiMe), -4.5 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

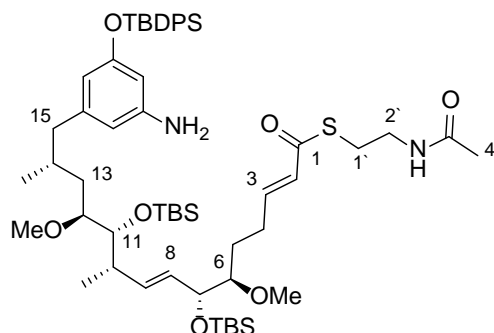
Silylierter SNAC-Ester **83b**

Der Aldehyd **82b** (21.0 mg, 21.2 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde in CHCl_3 (0.5 mL) gelöst und mit dem Phosphorylid **84** (10.7 mg, 25.4 μmol , 1.2 $\text{\AA}q.$) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 40 °C erhitzt und für weitere 24 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 15:1 \rightarrow 1:1) gereinigt. Der SNAC-Ester **83b** (20.0 mg, 17.6 μmol , 83 %, 7*R*:7*S* *d.r.* = 4:1) wurde als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.2 (PE:EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 7.87-7.85 (m, 4H, SiPh), 7.29 (s, 1H, 21-H), 7.21-7.20 (m, 6H, SiPh), 7.04-6.96 (m, 1H, 3-H), 6.72 (s, 1H, 17-H), 6.48 (s, 1H, 19-H), 6.36 (s, 1H, Ar-NH), 6.11 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H, H-2), 5.65 (dd, $J = 15.5, 8.7$ Hz, 1H, 9-H), 5.53 (dd, $J = 15.5, 5.0$ Hz, 8-H), 4.89 (br. s., 1H, NH), 4.27-4.25 (m, 1H, 7-H), 3.67 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 11-H), 3.30-3.19 (m, 1H, 12-H), 3.30-3.19 (m, 2H, 2'-H), 3.21 (s, 3H, 6-OMe), 3.19 (s, 3H, 12-OMe), 3.03-2.99 (m, 1H, 6-H), 2.91-2.87 (m, 2H, 1'-H), 2.49 (dd, $J = 13.1, 6.0$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.35-2.24 (m, 1H, 10-H), 2.18-1.97 (m, 1H, 15-Hb), 2.18-1.97 (m, 2H, 4-H), 2.02-1.95 (m, 1H, 14-H), 1.85-1.79 (m, 1H, 13-Ha), 1.74-1.63 (m, 1H, 5-Ha), 1.51 (s, 3H, 4'-H), 1.45-1.39 (m, 1H, 5-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.20 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.17 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 10-Me), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.01 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03-1.00 (m, 1H, 13-Hb), 0.77 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 14-Me), 0.20 (s, 3H, SiMe), 0.14 (s, 6H, SiMe) 0.12 (s, 3H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 189.6 (s, C-1), 169.0 (s, C-3'), 156.4 (s, C-Ar), 152.5 (s, NHCOO), 146.1 (d, C-3), 143.4 (s, C-Ar), 140.2 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.9 (d, C-9), 133.7 (d, C-Ar), 130.1 (d, C-Ar), 129.0 (d, C-8), 128.9 (d, C-2), 115.7 (d, C-21), 112.6 (d, C-17), 108.0 (d, C-19), 84.5 (d, C-6), 81.6 (d, C-12), 79.5 (s, *t*-Bu), 76.7 (d, C-11), 73.2 (d, C-7), 58.4 (q, 6-OMe), 57.1 (q, 12-OMe), 45.1 (t, C-15), 40.8 (d, C-10), 39.8 (t, C-2'), 36.5 (t, C-13), 31.8 (d, C-14), 31.8 (t, C-5), 28.9 (t, C-4), 28.5 (t, C-1'), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 22.8 (q, C-4'), 19.8 (q, 14-Me), 19.5 (s, *Sit*-Bu), 18.9 (q, 10-Me), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -3.5 (q, SiMe), -4.3 (q,

SiMe), -4.5 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Silylierter SNAC-Ester **85b**

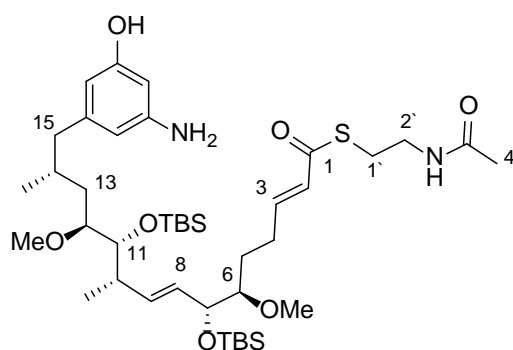


Der SNAC-Ester **83b** (9.0 mg, 7.9 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde in CH_2Cl_2 (4.5 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (184 μL , 2.4 mmol, 300 $\text{\AA}q.$) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 1:1) gereinigt und das Amin **85b** (6.5 mg, 6.3 μmol , 80 %, 7*R*:7*S* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H}$ = 7.16 ppm): δ 7.90-7.88 (m, 4H, SiPh), 7.22-7.20 (m, 6H, SiPh), 7.04-6.98 (m, 1H, 3-H), 6.37 (s, 1H, Ph), 6.12 (d, J = 15.4 Hz, 1H, H-2), 6.03 (s, 1H, Ph), 5.94 (s, 1H, Ph), 5.66 (dd, J = 15.4, 8.7 Hz, 1H, 9-H), 5.53 (dd, J = 15.4, 5.0 Hz, 8-H), 4.75 (br. s, 1H, NH), 4.26-4.25 (m, 1H, 7-H), 3.68 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 11-H), 3.35-3.28 (m, 1H, 12-H), 3.25-3.22 (m, 2H, 2'-H), 3.21 (s, 3H, 6-OMe), 3.20 (s, 3H, 12-OMe), 3.03-2.98 (m, 1H, 6-H), 2.89-2.86 (m, 2H, 1'-H), 2.55 (dd, J = 13.0, 5.5 Hz, 1H, 15-Ha), 2.37-2.28 (m, 1H, 10-H), 2.21-2.00 (m, 1H, 15-Hb), 2.21-2.00 (m, 2H, 4-H), 2.21-2.00 (m, 1H, 14-H), 1.95-1.87 (m, 1H, 13-Ha), 1.74-1.61 (m, 1H, 5-Ha), 1.47 (s, 3H, 4'-H), 1.45-1.39 (m, 1H, 5-Hb), 1.21 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.21-1.25 (m, 3H, 10-Me), 1.08 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.02 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03-1.00 (m, 1H, 13-Hb), 0.87 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 14-Me), 0.23 (s, 3H, SiMe), 0.16 (s, 3H, SiMe) 0.13 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , C_6D_6 = 128.06 ppm) δ 189.5 (s, C-1), 168.9 (s, C-3'), 156.8 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 148.2 (s, C-Ar), 146.1 (d, C-3), 143.7 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.9 (d, C-9), 133.9 (d, C-Ar), 130.1 (d, C-Ar), 129.3 (d, C-8), 129.0 (d, C-2), 111.4 (d, C-Ar), 109.6 (d, C-Ar), 104.4 (d, C-Ar), 84.5 (d,

C-6), 81.6 (d, C-12), 79.5 (s, *t*-Bu), 76.7 (d, C-11), 73.3 (d, C-7), 58.4 (q, 6-OMe), 57.1 (q, 12-OMe), 45.3 (t, C-15), 40.9 (d, C-10), 39.8 (t, C-2'), 36.7 (t, C-13), 31.6 (d, C-14), 29.9 (t, C-5), 28.8 (t, C-4), 28.5 (t, C-1'), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 22.8 (q, C-4'), 19.8 (q, 14-Me), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 19.0 (q, 10-Me), 18.5 (s, *Sit*-Bu), -3.5 (q, SiMe), -4.3 (q, SiMe), -4.5 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{57}H_{93}N_2O_7Si_3S$ $[M+H]^+$: berechnet: 1033.6011, gefunden: 1033.6002.

Silylierter SNAC-Ester **86b**

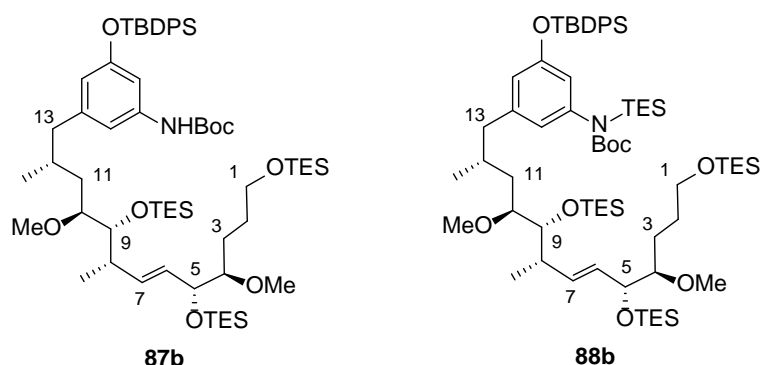


Das Amin **85b** (4.0 mg, 3.9 μ mol, 1.0 \AA q.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (4.0 mL) gelöst, auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und mit TBAF \cdot 3H₂O (3.7 mg, 12 mmol, 3.0 \AA q.) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (CN-SP) (H₂O:MeCN = 80:20 {5 min}, Gradient H₂O:MeCN = 80:20 \rightarrow 0:100 {70 min}, H₂O:MeCN = 0:100 {25 min}, 2.25 mL/min) (t_R = 56.0 min) gereinigt und der Alkohol **86b** (2.5 mg, 3.1 μ mol, 83 %, 7R:7S *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.1 (PE:EtOAc = 1:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 7.03-6.97 (m, 1H, 3-H), 6.31 (s, 1H, Ph), 6.11 (s, 1H, Ph), 6.08 (d, J = 15.4 Hz, 1H, H-2), 5.95 (s, 1H, Ph), 5.73 (dd, J = 15.6, 8.9 Hz, 1H, 9-H), 5.56 (dd, J = 15.6, 4.3 Hz, 8-H), 4.72 (br. s, 1H, NH), 4.26-4.24 (m, 1H, 7-H), 3.72 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 11-H), 3.38-3.36 (m, 1H, 12-H), 3.22 (s, 3H, 6-OMe), 3.20 (s, 3H, 12-OMe), 3.19-3.14 (m, 2H, 2'-H), 3.01-2.94 (m, 1H, 6-H), 2.84-2.78 (m, 2H, 1'-H), 2.70 (dd, J = 13.0, 5.5 Hz, 1H, 15-Ha), 2.39-2.29 (m, 1H, 10-H), 2.39-2.29 (m, 1H, 15-Hb), 2.23-2.12 (m, 1H, 4-Ha), 2.23-2.12 (m, 1H, 14-H), 2.02-1.93 (m, 1H, 4-Hb), 2.02-1.93 (m,

1H, 5-Ha), 1.74-1.56 (m, 1H, 13-Ha), 1.74-1.56 (m, 1H, 5-Hb), 1.45 (s, 3H, 4'-H), 1.39-1.36 (m, 1H, 13-Hb), 1.22 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 10-Me), 1.09 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.01 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 14-Me), 0.30 (s, 3H, SiMe), 0.16 (s, 3H, SiMe) 0.12 (s, 6H, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{41}H_{75}N_2O_7Si_2S$ $[M+H]^+$: berechnet: 795.4834, gefunden: 795.4813.

Silyliertes Polyol **87b** und *N*-silyliertes Polyol **88b**



Der Alkohol **78b** (40.0 mg, 52.4 μ mol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (20 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (30.0 μ L, 262 μ mol, 5.0 Äq.) und anschließend mit TESOTf (45.0 μ L, 210 μ mol, 4.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger $NaCl$ -Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingedunstet. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 20:1) gereinigt. Der geschützte Alkohol **87b** (35.0 mg, 32.0 μ mol, 60 %, 5*R*:5*S* *d.r.* = 4:1) [R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 10:1)] und *N*-silyliertes Produkt **88b** (24.4 mg, 20.0 μ mol, 38 %, 5*R*:5*S* *d.r.* = 4:1) [R_f = 0.6 (PE:EtOAc = 10:1)] wurden als farblose Öle erhalten.

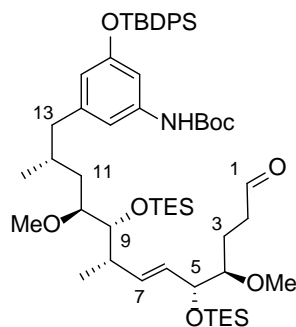
87b:

1H -NMR (400 MHz, C_6D_6 , $C_6D_5H = 7.16$ ppm): δ 7.87-7.85 (m, 4H, SiPh), 7.31 (s, 1H, Ph), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 6.59 (s, 1H, Ph), 6.46 (s, 1H, Ph), 5.98 (s, 1H, NH), 5.74-5.58 (m, 1H, 7-H), 5.74-5.58 (m, 1H, 6-H), 4.38-4.35 (m, 1H, 5-H), 3.74-3.64 (m, 1H, 9-H), 3.74-3.64 (m, 2H, 1-H), 3.37-3.35 (m, 1H, 10-H), 3.32 (s, 3H, 4-OMe), 3.23 (s, 3H, 10-OMe), 3.20-3.17 (m, 1H, H-4), 2.49 (dd, $J = 12.8, 5.6$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.38-2.31 (m, 1H, 8-H), 2.15-2.07 (m, 1H, 13-Hb), 2.02-1.93 (m, 1H, 12-H), 1.91-1.80 (m, 1H, 2-Ha), 1.91-1.80 (m, 1H, 11-Ha),

1.91-1.80 (m, 1H, 3-Ha), 1.78-1.73 (m, 1H, 2-Hb), 1.59-1.50 (m, 1H, 3-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.27 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 8-Me), 1.22-1.24 (m, 1H, 11-Hb), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.11-1.01 (m, 27H, SiCH₂CH₃), 0.79-0.60 (m, 18H, SiCH₂CH₃), 0.79-0.60 (m, 3H, 12-Me) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.4 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 131.4 (d, C-6), 130.1 (s, C-Ar), 115.7 (d, C-Ar), 112.4 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 85.6 (d, C-4), 81.3 (d, C-10), 79.5 (s, *t*-Bu), 77.0 (d, C-9), 73.9 (d, C-5), 63.3 (t, C-1), 58.4 (q, 4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 45.0 (t, C-13), 40.6 (d, C-8), 36.3 (t, C-11), 31.8 (d, C-12), 30.0 (t, C-2), 29.6 (t, C-3), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 19.8 (s, *Sit*-Bu), 19.3 (q, 12-Me), 18.5 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.3 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.5 (t, SiCH₂CH₃), 4.9 (t, SiCH₂CH₃) ppm; HRMS (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

88b:

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 7.87-7.81 (m, 4H, SiPh), 7.22-7.20 (m, 6H, SiPh), 6.88 (s, 1H, Ph), 6.70 (s, 1H, Ph), 6.57 (s, 1H, Ph), 5.76-5.57 (m, 1H, 7-H), 5.76-5.57 (m, 1H, 6-H), 4.37-4.35 (m, 1H, 5-H), 3.74-3.62 (m, 1H, 9-H), 3.74-3.62 (m, 2H, 1-H), 3.39-3.36 (m, 1H, 10-H), 3.33 (s, 3H, 4-OMe), 3.24 (s, 3H, 10-OMe), 3.20-3.17 (m, 1H, H-4), 2.71 (dd, $J = 12.7, 4.4$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.40-2.31 (m, 1H, 8-H), 2.22 (dd, $J = 12.7, 9.4$ Hz, 1H, 13-Hb), 2.13-2.09 (m, 1H, 12-H), 1.95-1.85 (m, 1H, 2-Ha), 1.91-1.80 (m, 1H, 11-Ha), 1.78-1.71 (m, 1H, 3-Ha), 1.78-1.71 (m, 1H, 2-Hb), 1.62-1.50 (m, 1H, 3-Hb), 1.35 (s, 9H, *t*-Bu), 1.27 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 8-Me), 1.22-1.24 (m, 1H, 11-Hb), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.14-1.00 (m, 27H, SiCH₂CH₃), 0.93-0.84 (m, 9H, SiCH₂CH₃), 0.72-0.61 (m, 24H, SiCH₂CH₃), 0.79-0.60 (m, 3H, 12-Me) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 157.1 (s, NHCOO), 156.0 (s, C-Ar), 143.2 (s, C-Ar), 142.6 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.5 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.1 (s, C-Ar), 129.1 (d, C-6), 124.2 (d, C-Ar), 119.2 (d, C-Ar), 118.9 (d, C-Ar), 85.6 (d, C-4), 81.5 (d, C-10), 79.4 (s, *t*-Bu), 77.2 (d, C-9), 74.1 (d, C-5), 63.3 (t, C-1), 58.4 (q, 4-OMe), 57.3 (q, 10-OMe), 44.9 (t, C-13), 40.6 (d, C-8), 39.3 (t, C-11), 31.9 (d, C-12), 30.0 (t, C-2), 29.6 (t, C-3), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 19.7 (s, *Sit*-Bu), 19.1 (q, 12-Me), 18.5 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.4 (q, SiCH₂CH₃), 7.3 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.5 (t, SiCH₂CH₃), 5.0 (t, SiCH₂CH₃), 4.9 (t, SiCH₂CH₃) ppm; HRMS (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

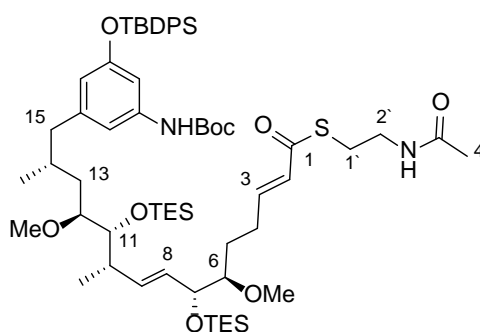
TES-geschutzter Aldehyd **89b**

DMSO (5.7 μL , 81 μmol , 3.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (5.0 mL) gelöst, auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und mit Oxalylchloride (4.6 μL , 54 μmol , 2.0 Äq.) versetzt. Nach weiteren 10 min wurde der Alkohol **87b** (30 mg, 27 μmol , 1.0 Äq.) in CH_2Cl_2 (0.6 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch gegeben. Nach weiteren 10 min wurde der Reaktionsansatz auf $-60\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt und für 1.5 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch wieder auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt, mit DIPEA (31 μL , 189 μmol , 7.0 Äq.) versetzt und auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und der Aldehyd **89b** (23 mg, 23 μmol , 85 %, 5R:5S *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H}$ = 7.16 ppm): δ 9.44 (s, 1H, 1-H), 7.86-7.84 (m, 4H, SiPh), 7.28 (s, 1H, Ph), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 6.63 (s, 1H, Ph), 6.47 (s, 1H, Ph), 5.98 (s, 1H, NH), 5.70 (dd, J = 15.5, 8.7 Hz, 1H, 7-H), 5.56 (dd, J = 15.5, 5.3 Hz, 1H, 6-H), 4.28-4.26 (m, 1H, 5-H), 3.72 (d, J = 7.9 Hz, 1H, 9-H), 3.32-3.29 (m, 1H, 10-H), 3.22 (s, 3H, 4-OMe), 3.20 (s, 3H, 10-OMe), 3.06-3.00 (m, 1H, H-4), 2.53-2.46 (m, 1H, 13-Ha), 2.38-2.28 (m, 1H, 8-H), 2.21-2.06 (m, 1H, 2-Ha), 2.21-2.06 (m, 1H, H-13b), 2.21-2.06 (m, 1H, 3-Ha), 2.02-1.96 (m, 1H, 12-H), 1.92-1.78 (m, 1H, 11-Ha), 1.92-1.78 (m, 1H, 2-Hb), 1.67-1.57 (m, 1H, 3-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.24 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 8-Me), 1.19-1.16 (m, 1H, 11-Hb), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.11-1.02 (m, 18H, SiCH_2CH_3), 0.78-0.62 (m, 12H, SiCH_2CH_3), 0.78-0.71 (m, 3H, 12-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , C_6D_6 = 128.06 ppm) δ 200.5 (t, C-1), 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.1 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.8 (s, C-Ar), 130.1 (d, C-6), 115.7 (d, C-Ar), 112.4 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 84.6 (d, C-4), 81.4 (d, C-10), 76.9 (s, *t*-Bu), 76.4 (d, C-9), 73.5 (d, C-5), 58.3 (q,

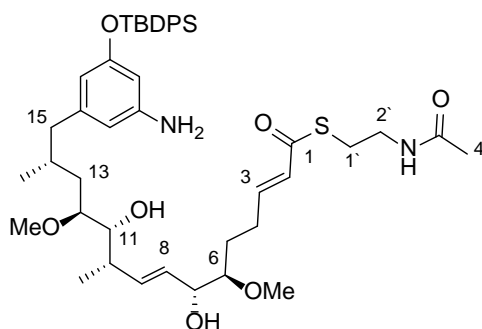
4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 45.0 (t, C-13), 40.7 (d, C-8), 40.7 (t, C-2), 36.3 (t, C-11), 31.8 (d, C-12), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 23.2 (t, C-3), 19.8 (s, *Sit*-Bu), 19.3 (q, 12-Me), 18.5 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 6.9 (q, SiCH₂CH₃), 6.2 (t, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

TES-geschützter SNAC-Ester **90b**



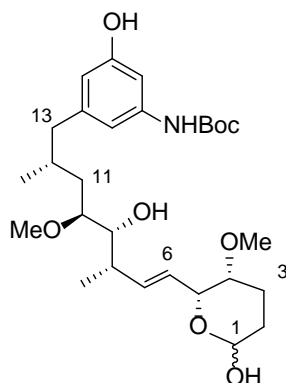
Der Aldehyd **89b** (4.0 mg, 4.0 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in CHCl₃ (0.5 mL) gelöst und mit dem Phosphorylid **84** (2.6 mg, 6.1 μ mol, 1.5 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 40 °C erhitzt und für weitere 48 h bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 15:1 → 1:1) gereinigt. Der SNAC-Ester **90b** (4.0 mg, 3.5 μ mol, 87 %, 7*R*:7*S* *d.r.* = 4:1) wurde als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.3 (PE:EtOAc = 1:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 7.88-7.85 (m, 4H, SiPh), 7.29 (s, 1H, Ph), 7.21-7.20 (m, 6H, SiPh), 7.02-6.98 (m, 1H, 3-H), 6.70 (s, 1H, Ph), 6.48 (s, 1H, Ph), 6.37 (s, 1H, Ar-NH), 6.11 (d, J = 15.7 Hz, 1H, H-2), 5.72 (dd, J = 15.8, 8.2 Hz, 1H, 9-H), 5.57 (dd, J = 15.7, 4.8 Hz, 8-H), 4.80 (br. s, 1H, NH), 4.33-4.31 (m, 1H, 7-H), 3.72 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 11-H), 3.31-3.24 (m, 1H, 12-H), 3.31-3.24 (m, 2H, 2'-H), 3.23 (s, 3H, 6-OMe), 3.21 (s, 3H, 12-OMe), 3.09-3.02 (m, 1H, 6-H), 2.89-2.86 (m, 2H, 1'-H), 2.52 (dd, J = 13.0, 5.1 Hz, 1H, 15-Ha), 2.38-2.32 (m, 1H, 10-H), 2.20-1.94 (m, 1H, 15-Hb), 2.20-1.94 (m, 2H, 4-H), 2.20-1.94 (m, 1H, 14-H), 1.87-1.79 (m, 1H, 13-Ha), 1.79-1.69 (m, 1H, 5-Ha), 1.50 (s, 3H, 4'-H), 1.50-1.39 (m, 1H, 5-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.27-1.23 (m, 3H, 10-Me), 1.20 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.13-1.00 (m, 1H, 13-Hb), 1.11-1.03 (m, 18H, SiCH₂CH₃), 0.93-0.62 (m, 12H, SiCH₂CH₃), 0.78-0.64 (m, 3H, 14-Me) ppm.; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

TBDPS-geschützter SNAC-Ester **91b**

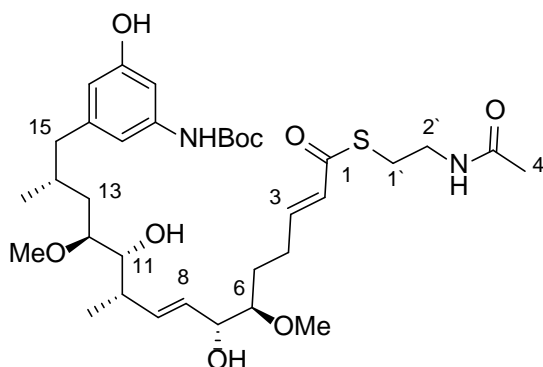
Der SNAC-Ester **90b** (2.0 mg, 1.8 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (1.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (42 μL , 0.5 mmol, 300 Äq.) versetzt. Nach 7 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-SP) ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN} = 90:10$ {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN} = 90:10 \rightarrow 0:100$ {70 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN} = 0:100$ {25 min}, 2.25 mL/min) ($t_R = 60.7$ min) gereinigt und das Amin **91b** (1.0 mg, 1.3 μmol , 71 %, 7R:7S *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.3$ (PE:EtOAc = 1:4).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.72- 7.69 (m, 4H, SiPh), 7.42-7.33 (m, 6H, SiPh), 6.95-6.88 (m, 1H, 3-H), 6.14 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H, H-2), 6.04 (s, 1H, Ph), 6.00 (s, 1H, Ph), 5.97 (s, 1H, Ph), 5.87 (s, 1H, NH), 5.60 (dd, $J = 15.1, 8.5$ Hz, 1H, 9-H), 5.46 (dd, $J = 15.1, 6.7$ Hz, 8-H), 4.01-3.98 (m, 1H, 7-H), 3.62-3.58 (m, 1H, 11-H), 3.47-3.44 (m, 2H, 2'-H), 3.42 (s, 3H, 6-OMe), 3.31 (s, 3H, 12-OMe), 3.22-3.17 (m, 1H, 12-H), 3.10-3.07 (m, 1H, 6-H), 3.10-3.07 (m, 2H, 1'-H), 2.39 (dd, $J = 12.8, 5.6$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.35-2.22 (m, 1H, 10-H), 2.35-2.22 (m, 2H, 4-H), 2.10-2.04 (m, 1H, 15-Hb), 2.01 (s, 3H, 4'-H), 1.79-1.67 (m, 1H, 14-H), 1.67-1.58 (m, 1H, 13-Ha), 1.66-1.58 (m, 1H, 5-Ha), 1.55-1.49 (m, 1H, 5-Hb), 1.15-1.11 (m, 1H, 13-Hb), 1.12 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 10-Me), 0.66 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 14-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{45}\text{H}_{65}\text{N}_2\text{O}_7\text{SiS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 805.4282, gefunden: 805.4285.

Hemiacetal 92b

Der Aldehyd **89b** (15.0 mg, 13.6 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (7.5 mL) gelöst und mit Pyridin (100 μl) und HF*Py (0.5 mL) versetzt. Nach 4 Tagen wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger CuSO_4 -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-SP) ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 90:10$ {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 90:10 \rightarrow 0:100$ {55 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 0:100$ {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 54.9$ min) gereinigt und das Lactol **92b** (6.0 mg, 11.5 μmol , 85 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 1:1). Die Verbindung **92b** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

HRMS (ESI) m/z für $\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{NO}_8\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: berechnet: 546.3043, gefunden: 546.3047.

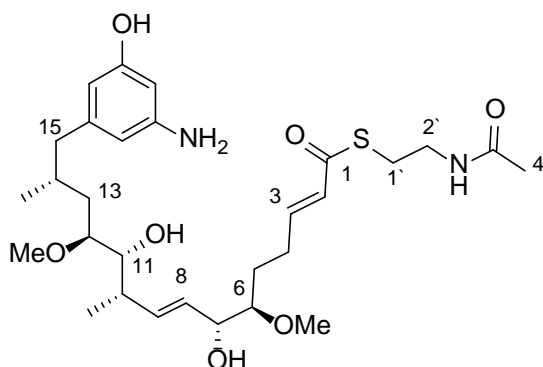
N-Boc SNAC-Ester 93b

Das Lactol **92b** (4.0 mg, 7.6 μmol , 1.0 Äq.) wurde in CHCl_3 (0.5 mL) gelöst, mit dem Phosphorylid **84** (8.0 mg, 19 μmol , 2.5 Äq.) versetzt und der Reaktionsansatz für 6 Tage bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das

Rohprodukt per Flash-Chromatographie (EtOAc) gereinigt. Der SNAC-Ester **93b** (3.0 mg, 4.5 μmol , 60 %, $7R:7S$ *d.r.* = 4:1) wurde als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.1 (EtOAc).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , CHCl_3 = 7.26 ppm): δ 6.95-6.88 (m, 1H, 3-H), 6.83 (s, 1H, Ph), 6.63 (s, 1H, Ph), 6.56 (s, 1H, OH), 6.34 (s, 1H, Ph), 6.15 (d, J = 15.4 Hz, 1H, H-2), 5.95 (s, 1H, NH), 5.63 (dd, J = 15.2, 8.6 Hz, 1H, 9-H), 5.45 (dd, J = 15.2, 6.5 Hz, 8-H), 4.05-4.01 (m, 1H, 7-H), 3.64-3.61 (m, 1H, 11-H), 3.48-3.44 (m, 2H, 2'-H), 3.43 (s, 3H, 6-OMe), 3.32 (s, 3H, 12-OMe), 3.24-3.17 (m, 1H, 12-H), 3.11-3.08 (m, 1H, 6-H), 3.11-3.08 (m, 2H, 1'-H), 2.60-2.53 (m, 1H, 15-Ha), 2.32-2.25 (m, 1H, 10-H), 2.32-2.25 (m, H, 4-Ha), 2.32-2.25 (m, 1H, 15-Hb), 2.20-2.15 (m, H, 4-Hb), 1.97 (s, 3H, 4'-H), 1.97-1.90 (m, 1H, 14-H), 1.76-1.70 (m, 1H, 13-Ha), 1.76-1.70 (m, 1H, 5-Ha), 1.55-1.49 (m, 1H, 5-Hb), 1.50 (s, 9H, *t*-Bu), 1.15-1.11 (m, 1H, 13-Hb), 1.13 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 10-Me), 0.87 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 77.0 ppm) δ 190.8 (s, C-1), 170.6 (s, C-3'), 156.5 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 145.8 (d, C-3), 143.2 (s, C-Ar), 139.3 (s, C-Ar), 133.0 (d, C-9), 128.9 (d, C-8), 128.6 (d, C-2), 111.0 (d, C-Ar), 111.9 (d, C-Ar), 103.3 (d, C-Ar), 83.4 (d, C-6), 80.1 (d, C-12), 77.5 (s, *t*-Bu), 73.8 (d, C-11), 73.6 (d, C-7), 58.3 (q, 6-OMe), 57.0 (q, 12-OMe), 44.2 (t, C-15), 39.7 (t, C-2'), 38.7 (d, C-10), 34.4 (t, C-13), 30.9 (d, C-14), 29.7 (t, C-1'), 28.3 (q, *t*-Bu), 28.1 (t, C-5), 27.6 (t, C-4), 23.2 (q, C-4'), 19.3 (q, 14-Me), 17.7 (q, 10-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_9\text{SNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 689.3448, gefunden: 689.3448.

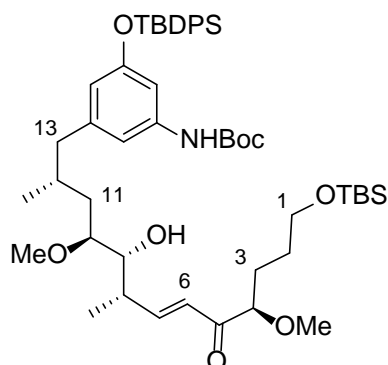
SNAC-Ester **37b**



Der SNAC-Ester **93b** (3.0 mg, 4.5 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (2.5 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (350 μL) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen

Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-SP) (H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 80:20 → 0:100 {85 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 59.0 min) gereinigt und das Amin **37b** (2.0 mg, 3.5 μmol, 80 %, 7*R*:7*S* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 6.95-6.85 (m, 1H, 3-H), 6.22 (s, 2H, NH₂), 6.15 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, H-2), 6.07 (s, 2H, Ph), 6.04 (s, 1H, Ph), 5.91 (s, 1H, NH), 5.63 (dd, *J* = 15.2, 8.7 Hz, 1H, 9-H), 5.46 (dd, *J* = 15.2, 5.0 Hz, 8-H), 4.03 (dd, *J* = 8.7, 5.4 Hz, 1H, 7-H), 3.60-3.69 (m, 1H, 11-H), 3.47-3.43 (m, 2H, 2'-H), 3.44 (s, 3H, 6-OMe), 3.33 (s, 3H, 12-OMe), 3.25-3.19 (m, 1H, 12-H), 3.11-3.08 (m, 1H, 6-H), 3.11-3.08 (m, 2H, 1'-H), 2.49 (dd, *J* = 13.2, 5.4 Hz, 1H, 15-Ha), 2.37-2.27 (m, 1H, 10-H), 2.37-2.27 (m, 2H, 4-H), 2.23 (dd, *J* = 13.2, 6.8 Hz, 1H, 15-Hb), 1.97 (s, 3H, 4'-H), 1.94-1.89 (m, 1H, 14-H), 1.76-1.68 (m, 1H, 13-Ha), 1.76-1.68 (m, 1H, 5-Ha), 1.55-1.49 (m, 1H, 5-Hb), 1.15-1.11 (m, 1H, 13-Hb), 1.11 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.87 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.0 ppm) δ 190.8 (s, C-1), 170.6 (s, C-3'), 156.9 (s, C-Ar), 147.6 (d, C-3), 145.9 (s, C-Ar), 143.6 (s, C-Ar), 135.5 (d, C-9), 128.9 (d, C-8), 128.6 (d, C-2), 108.6 (d, C-Ar), 106.8 (d, C-Ar), 99.9 (d, C-Ar), 83.5 (d, C-6), 80.1 (d, C-12), 73.8 (d, C-11), 73.6 (d, C-7), 58.4 (q, 6-OMe), 57.0 (q, 12-OMe), 44.3 (t, C-15), 39.6 (t, C-2'), 38.7 (d, C-10), 34.5 (t, C-13), 30.9 (d, C-14), 29.7 (t, C-1'), 28.3 (t, C-5), 27.6 (t, C-4), 23.2 (q, C-4'), 19.4 (q, 14-Me), 17.7 (q, 10-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₉H₄₇N₂O₇S [M+H]⁺: berechnet: 567.3104, gefunden: 567.3105.

6.3.4. Synthese des SNAC-Esters von 2,8-desdi-Methyl-6-*epi*-seco-progeldanamycin 37a**Keton 94****Methode 1: Kreuz-Methathese**

Das Alken **39** (15.0 mg, 0.02 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (1.0 mL) gelöst und mit dem Alken **69** (20.0 mg, 0.07 mmol, 3.0 Äq.) und GRUBBS-HOVEYDA II Katalysator (2.50 mg, 4.00 μmol , 0.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 40 °C erhitzt. Nach jeweils 10 h wurde portionsweise eine weitere Menge des GRUBBS-HOVEYDA II Katalysators (2.50 mg, 4.00 μmol , 0.2 Äq.) zugegeben. Nach 48 h wurde das Reaktionsgemisch auf RT gekühlt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und das Keton **94** (5.00 mg, 6.00 μmol , 24 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 4:1).

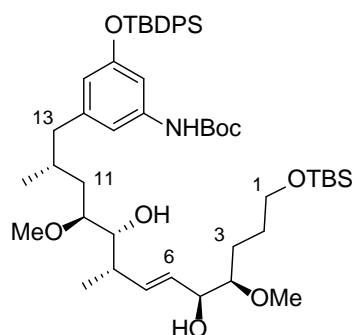
Methode 2: MnO_2 Oxidation

Der Alkohol **73b** (16.0 mg, 0.02 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (5.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MnO_2 (130 mg, 1.44 mmol, 80 Äq.) versetzt. Nach 4 h wurde MnO_2 über Celite™ abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und das Keton **94** (9.00 mg, 0.01 mmol, 56 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.72-7.66 (m, 4H, SiPh), 7.42-7.33 (m, 6H, SiPh), 6.90 (dd, $J = 15.7, 8.9$ Hz, 1H, 7-H), 6.76 (s, 1H, Ph), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.45 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H, 6-H), 6.28 (s, 1H, NH), 6.14 (s, 1H, Ph), 3.73-3.66 (m, 1H, 4-H), 3.73-3.66 (m, 1H, 9-H), 3.62-3.59 (m, 2H, 1-H), 3.32 (s, 3H, 4-OMe), 3.28 (s, 3H, 10-OMe), 3.11-3.05 (m, 1H, 10-H), 2.44-2.33 (m, 1H, 13-Ha), 2.44-2.33 (m, 1H, 8H), 2.12-2.08 (m, 1H, 13-Hb), 1.70-1.52 (m, 1H, 12-H), 1.70-1.52 (m, 2H, 2-H), 1.70-1.52 (m, 2H, 3-H), 1.70-1.52 (m, 1H,

11-Ha), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.18 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 8-Me), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.02-0.96 (m, 1H, 11-Hb), 0.88 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.57 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.03 (s, 6H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 201.2 (s, C-5), 156.0 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 149.7 (s, C-Ar), 142.8 (d, C-Ar), 139.9 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 133.1 (s, C-Ar), 129.9 (s, C-Ar), 127.9 (s, C-Ar), 127.8 (d, C-7), 124.5 (d, C-6), 115.5 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.7 (d, C-Ar), 86.6 (d, C-4), 80.2 (d, C-10), 73.2 (d, C-9), 62.7 (t, C-1), 58.1 (q, 4-OMe), 57.3 (q, 10-OMe), 44.6 (t, C-13), 39.6 (d, C-8), 34.9 (t, C-11), 30.7 (d, C-12), 28.8 (t, C-2), 28.5 (t, C-3), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 18.9 (q, 12-Me), 18.5 (s, *Sit*-Bu), 16.9 (q, 8-Me), -5.2 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{50}\text{H}_{77}\text{NO}_8\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 898.5085, gefunden: 898.5085; $[\alpha]_D^{20} = -2.7^\circ$ ($c = 0.15$, CH_2Cl_2).

Alkohol 73a



Methode 1: CBS-Reduktion

Das Keton **94** (1.0 mg, 1.1 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (0.5 mL) gelöst, auf -78 $^\circ\text{C}$ gekühlt und mit (*S*)-CBS (1.9 mg, 6.8 μmol , 6.0 $\text{\AA}q.$) versetzt. Nach 1.5 h wurde $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ (3.0 μL , 29 μmol , 25 $\text{\AA}q.$) zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 1 h bei -78 $^\circ\text{C}$ und für 2 h bei -50 $^\circ\text{C}$ gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von MeOH beendet. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und mit Wasser verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 2:1) gereinigt und der Alkohol **73a** (0.7 mg, 0.8 μmol , 70 %, 5*R*:5*S* *d.r.* = 1:10) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 4:1).

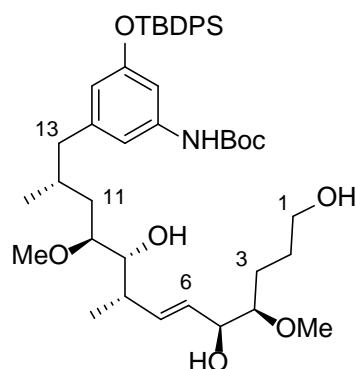
Methode 2: Kreuz-Methathese

Das Alken **39** (0.10 g, 0.16 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in (CH₂Cl)₂ (6.0 mL) gelöst und mit dem Alken **58a** (0.13 g, 0.47 mmol, 3.0 Äq.) und Grubbs-Hoveyda II Katalysator (9.90 mg, 15.8 µmol, 0.1 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 40 °C erhitzt. Nach jeweils 10 h wurde portionsweise eine weitere Menge des GRUBBS-HOVEYDA II Katalysators (9.90 mg, 15.8 µmol, 0.1 Äq.) zugegeben. Nach 48 h wurde das Reaktionsgemisch auf RT gekühlt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 2:1), gefolgt von präparativer HPLC (C18-ISIS-P) (Gradient H₂O:MeOH = 50:50 → 15:85 {30 min}, H₂O:MeOH = 15:85 → 14:86 {50 min}, H₂O:MeOH = 14:86 → 0:100 {10 min} H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15 mL/min) gereinigt. Es wurden das Keton **73a** (0.05 g, 0.06 mmol, 39 %) (*t_R* = 57.0 min) und das Keton **73b** (0.01 g, 0.01 mmol, 8 %) (*t_R* = 59.0 min) als farblose Öle erhalten; *R_f* = 0.4 (PE:EtOAc = 4:1).

73a:

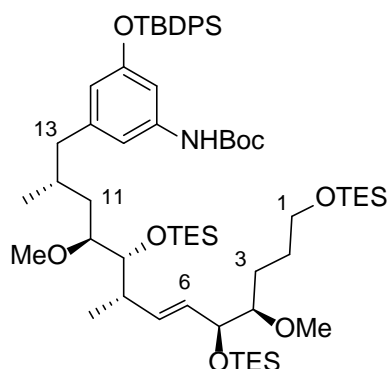
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 7.72-7.66 (m, 4H, SiPh), 7.42-7.33 (m, 6H, SiPh), 6.77 (s, 1H, Ph), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.28 (s, 1H, NH), 6.16 (s, 1H, Ph), 5.58 (dd, *J* = 15.7, 8.3 Hz, 7-H), 5.47 (dd, *J* = 15.7, 5.6 Hz, 1H, 6-H), 4.28-4.18 (m, 1H, 5H), 3.67-3.53 (m, 1H, 9-H), 3.67-3.53 (m, 2H, 1-H), 3.41 (s, 3H, 4-OMe), 3.28 (s, 3H, 10-OMe), 3.21-3.13 (m, 1H, 4-H), 3.21-3.13 (m, 1H, 10-H), 2.40 (dd, 1H, *J* = 13.4, 5.6 Hz, 13-Ha), 2.30-2.20 (m, 1H, 8H), 2.12-2.03 (m, 1H, 13-Hb), 1.80-1.71 (m, 1H, 12-H), 1.78-1.60 (m, 2H, 2-H), 1.78-1.60 (m, 2H, 3-H), 1.78-1.60 (m, 1H, 11-Ha), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.12 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 8-Me), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.02-0.96 (m, 1H, 11-Hb), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.59 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 12-Me), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.6 (s, NHCOO), 143.1 (s, C-Ar), 139.0 (d, C-Ar), 135.6 (s, C-Ar), 134.0 (d, C-7), 133.1 (s, C-Ar), 129.9 (s, C-Ar), 128.9 (d, C-6), 127.9 (s, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 84.0 (d, C-4), 80.1 (d, C-10), 73.8 (d, C-9), 72.3 (d, C-5), 63.3 (t, C-1), 57.9 (q, 4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 44.7 (t, C-13), 38.9 (d, C-8), 34.9 (t, C-11), 30.9 (d, C-12), 29.0 (t, C-2), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 25.3 (t, C-3), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 18.8 (q, 12-Me), 18.5 (s, *Sit*-Bu), 17.5 (q, 8-Me), -5.1 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₅₀H₇₉NO₈Si₂Na [M+Na]⁺: berechnet: 900.5242, gefunden: 900.5239; [α]_D²⁰ = -12.8° (*c* = 0.5, CH₂Cl₂).

Alkohol 78a



Der Alkohol **73a** (6.0 mg, 6.8 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (1.5 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MeOH (1.0 mL) und CSA (0.5 mg, 2.1 μmol , 0.3 $\text{\AA}q.$) versetzt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 1:1) gereinigt und der Alkohol **78a** (4.0 mg, 5.2 μmol , 80 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 2:3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 7.87-7.82 (m, 4H, SiPh), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 7.11 (s, 1H, Ph), 6.85 (s, 1H, Ph), 6.47 (s, 1H, Ph), 6.29 (s, 1H, NH), 5.63 (dd, $J = 15.8$, 7.8 Hz, 1H, 7-H), 5.50 (dd, $J = 15.8$, 6.0 Hz, 6-H), 4.20-4.14 (m, 1H, 5-H), 3.58 (dd, 1H, $J = 7.9$, 3.5 Hz, 9-H), 3.49-3.42 (m, 2H, 1-H), 3.24 (dt, 1H, $J = 9.6$, 3.5 Hz, 10-H), 3.14 (s, 3H, 4-OMe), 3.06 (s, 3H, 10-OMe), 3.05-2.99 (m, 1H, 4-H), 2.45 (dd, $J = 13.0$, 5.8 Hz, 1H, 13-Ha), 2.40-2.35 (m, 1H, 8H), 2.09 (dd, 1H, $J = 13.1$, 8.8 Hz, 13-Hb), 1.99-1.91 (m, 1H, 12-H), 1.69-1.45 (m, 2H, 2-H), 1.69-1.45 (m, 2H, 3-H), 1.69-1.55 (m, 1H, 11-Ha), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.28 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19 (s, 9H, *Si*-t-Bu), 1.18-1.13 (m, 1H, 11-Hb), 0.75 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 12-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 143.5 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.8 (d, C-7), 133.5 (d, C-Ar), 130.1 (s, C-Ar), 129.7 (d, C-6), 115.8 (d, C-19), 112.7 (d, C-15), 108.0 (d, C-17), 84.7 (d, C-4), 80.6 (d, C-10), 79.8 (s, *t*-Bu), 74.1 (d, C-5), 72.7 (d, C-9), 62.7 (t, C-1), 57.5 (q, 4-OMe), 56.6 (q, 10-OMe), 44.9 (t, C-13), 39.3 (d, C-8), 35.4 (t, C-11), 31.6 (d, C-12), 29.1 (t, C-3), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Si*-t-Bu), 26.1 (t, C-2), 19.8 (q, 12-Me), 19.2 (s, *Si*-t-Bu), 17.3 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{44}\text{H}_{66}\text{NO}_8\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 764.4558, gefunden: 764.4536; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -11.9^\circ$ ($c = 1.0$, CH_2Cl_2).

Silyliertes Polyol **87a**

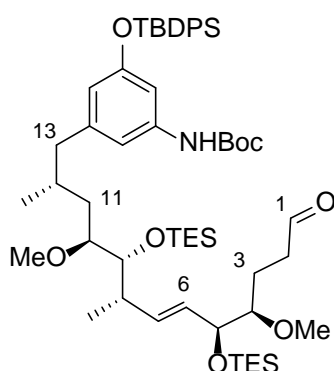
Der Alkohol **78a** (22.0 mg, 28.8 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (16.5 μL , 144 μmol , 5.0 Äq.) und anschließend mit TESOTf (24.8 μL , 115 μmol , 4.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 20:1) gereinigt. Der geschützte Alkohol **87a** (16.0 mg, 14.5 μmol , 50 %) [R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 10:1)] und *N*-silyliertes Produkt **88a** (17.0 mg, 14.1 μmol , 49 %) [R_f = 0.6 (PE:EtOAc = 10:1)] wurden als farblose Öle erhalten.

87a:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H}$ = 7.16 ppm): δ 7.88-7.85 (m, 4H, SiPh), 7.28 (s, 1H, Ph), 7.22-7.19 (m, 6H, SiPh), 6.60 (s, 1H, Ph), 6.47 (s, 1H, Ph), 5.93 (s, 1H, NH), 5.62 (dd, 1H, J = 15.5, 6.3 Hz, 7-H), 5.52 (dd, 1H, J = 15.5, 8.6 Hz, 6-H), 4.22 (dd, 1H, J = 6.2, 3.6 Hz, 5-H), 3.74-3.62 (m, 1H, 9-H), 3.74-3.62 (m, 2H, 1-H), 3.36 (s, 3H, 4-OMe), 3.37-3.30 (m, 1H, 10-H), 3.24 (s, 3H, 10-OMe), 3.20-3.16 (m, 1H, H-4), 2.48 (dd, J = 13.0, 5.7 Hz, 1H, 13-Ha), 2.36-2.28 (m, 1H, 8-H), 2.11 (dd, 1H, J = 13.0, 9.0 Hz, 13-Hb), 2.02-1.93 (m, 1H, 12-H), 1.93-1.80 (m, 1H, 2-Ha), 1.93-1.80 (m, 1H, 11-Ha), 1.79-1.66 (m, 1H, 3-Ha), 1.79-1.66 (m, 1H, 2-Hb), 1.59-1.50 (m, 1H, 3-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.25 (d, J = 6.7 Hz, 3H, 8-Me), 1.22-1.24 (m, 1H, 11-Hb), 1.20 (s, 9H, *Si**t*-Bu), 1.13-1.01 (m, 27H, SiCH_2CH_3), 0.78-0.66 (m, 18H, SiCH_2CH_3), 0.78-0.66 (m, 3H, 12-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , C_6D_6 = 128.06 ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.0 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.8 (d, C-7), 133.7 (d, C-Ar), 131.4 (d, C-6), 130.0 (s, C-Ar), 115.7 (d,

C-Ar), 112.4 (d, C-Ar), 104.9 (d, C-Ar), 85.4 (d, C-4), 81.4 (d, C-10), 79.5 (s, *t*-Bu), 76.5 (d, C-9), 76.0 (d, C-5), 63.3 (t, C-1), 58.4 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 45.1 (t, C-13), 41.2 (d, C-8), 36.0 (t, C-11), 31.7 (d, C-12), 29.7 (t, C-2), 28.3 (t, C-3), 27.2 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 19.8 (s, *Sit*-Bu), 19.2 (q, 12-Me), 18.6 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.3 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.6 (t, SiCH₂CH₃), 5.0 (t, SiCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_D^{20} = +0.7^\circ$ ($c = 1.0$, CH₂Cl₂).

TES-geschützter Aldehyd **89a**

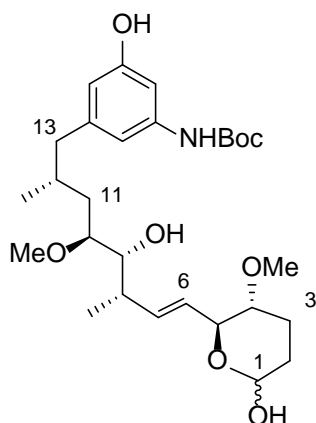


DMSO (5.7 μ L, 81 μ mol, 3.0 \ddot{A} q.) wurde unter Argon-Atmosphäre mit CH₂Cl₂ (5.0 mL) gemischt, auf -78 °C gekühlt und mit Oxalylchlorid (4.6 μ L, 54 μ mol, 2.0 \ddot{A} q.) versetzt. Nach 10 min wurde der Alkohol **87a** (30 mg, 27 μ mol, 1.0 \ddot{A} q.) in CH₂Cl₂ (0.6 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch gegeben. Nach weiteren 10 min wurde der Reaktionsansatz auf -60 °C erwärmt und für 1.5 h gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz wieder auf -78 °C gekühlt, mit DIPEA (31 μ L, 189 μ mol, 7.0 \ddot{A} q.) versetzt und auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und der Aldehyd **89a** (18 mg, 18 μ mol, 67 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 9:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 9.44 (s, 1H, 1-H), 7.89-7.82 (m, 4H, SiPh), 7.24 (s, 1H, Ph), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.48 (s, 1H, Ph), 5.95 (s, 1H, NH), 5.49-5.44 (m, 1H, 7-H), 5.49-5.44 (m, 1H, 6-H), 4.14-4.10 (m, 1H, 5-H), 3.68 (dd, $J = 9.2$, 1.4 Hz, 1H, 9-H), 3.29-3.25 (m, 1H, 10-H), 3.24 (s, 3H, 4-OMe), 3.22 (s, 3H, 10-OMe), 2.97 (dt, $J = 9.0$, 3.3 Hz, 1H, H-4), 2.49 (dd, $J = 13.2$, 5.6 Hz, 1H, 13-Ha), 2.34-2.23 (m, 1H, 8-H),

2.21-2.06 (m, 1H, 2-Ha), 2.21-2.06 (m, 1H, H-13b), 2.21-2.06 (m, 1H, 3-Ha), 2.03-1.96 (m, 1H, 12-H), 1.88-1.78 (m, 1H, 11-Ha), 1.88-1.78 (m, 1H, 2-Hb), 1.73-1.63 (m, 1H, 3-Hb), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.22 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19-1.16 (m, 1H, 11-Hb), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.11-1.02 (m, 18H, SiCH₂CH₃), 0.78-0.62 (m, 12H, SiCH₂CH₃), 0.78-0.71 (m, 3H, 12-Me) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 200.6 (t, C-1), 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.1 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.8 (s, C-Ar), 130.1 (d, C-6), 115.7 (d, C-Ar), 112.4 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 84.6 (d, C-4), 81.4 (d, C-10), 79.5 (s, *t*-Bu), 76.5 (d, C-9), 75.4 (d, C-5), 58.3 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 45.1 (t, C-13), 41.2 (d, C-8), 40.6 (t, C-2), 36.0 (t, C-11), 31.7 (d, C-12), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 23.2 (t, C-3), 19.8 (s, *Sit*-Bu), 19.2 (q, 12-Me), 18.6 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.5 (t, SiCH₂CH₃) ppm; HRMS (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_D^{20} = +3.6^\circ$ ($c = 1.0$, CH₂Cl₂).

Hemiacetal **92a**

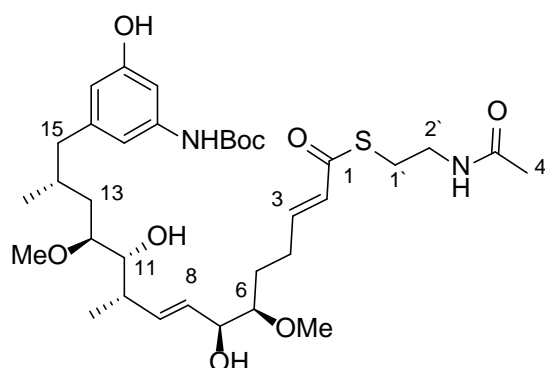


Der Aldehyd **89a** (12.0 mg, 10.9 μmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (5.0 mL) gelöst, mit Pyridin (500 μl) und HF*Py (300 μl) versetzt. Nach 4 Tagen wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger CuSO₄-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) (H₂O:MeOH = 90:10 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 90:10 → 0:100 {55 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 54.9$ min) gereinigt und das Lactol **92a** (4.00 mg, 7.60 μmol, 67 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 1:1).

Die Verbindung **92a** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt in der nächsten Stufe eingesetzt.

HRMS (ESI) m/z für $C_{28}H_{45}NO_8Na [M+Na]^+$: berechnet: 546.3043, gefunden: 546.3047.

N*-Boc SNAC-Ester **93a*

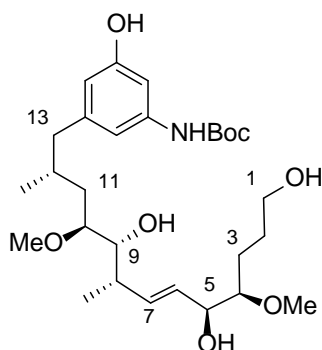


Das Lactol **92a** (2.0 mg, 3.8 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in $CHCl_3$ (0.2 mL) gelöst, mit dem Phosphorylid **84** (8.0 mg, 19 μ mol, 5.0 Äq.) versetzt und der Reaktionsansatz 6 Tage bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (EtOAc) und präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) ($H_2O:MeOH = 70:30$ {5 min}, Gradient $H_2O:MeOH = 70:30 \rightarrow 40:60$ {45 min}, $40:60 \rightarrow 15:85$ {40 min}, $15:85 \rightarrow 0:100$ {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 57.7$ min) gereinigt. Der SNAC-Ester **93a** (1.5 mg, 2.3 μ mol, 59 %) wurde als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (EtOAc).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): δ 6.95-6.88 (m, 1H, 3-H), 6.83 (s, 1H, Ph), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.57 (s, 1H, OH), 6.33 (s, 1H, Ph), 6.15 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H, H-2), 5.96 (s, 1H, NH), 5.57 (dd, $J = 15.5, 8.8$ Hz, 1H, 9-H), 5.42 (dd, $J = 15.5, 6.4$ Hz, 8-H), 4.29 (dd, $J = 5.9, 2.8$ Hz, 1H, 7-H), 3.63 (dd, $J = 9.1, 2.9$ Hz, 1H, 11-H), 3.50-3.44 (m, 2H, 2'-H), 3.43 (s, 3H, 6-OMe), 3.33 (s, 3H, 12-OMe), 3.19 (dt, $J = 10.2, 2.6$ Hz, 1H, 12-H), 3.11-3.08 (m, 1H, 6-H), 3.11-3.08 (m, 2H, 1'-H), 2.58 (dd, $J = 13.3, 5.5$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.44-2.36 (m, 1H, 10-H), 2.32-2.25 (m, H, 4-Ha), 2.32-2.25 (m, 1H, 15-Hb), 2.20-2.15 (m, H, 4-Hb), 1.97 (s, 3H, 4'-H), 1.97-1.90 (m, 1H, 14-H), 1.76-1.70 (m, 1H, 13-Ha), 1.76-1.70 (m, 1H, 5-Ha), 1.55-1.49 (m, 1H, 5-Hb), 1.50 (s, 9H, *t*-Bu), 1.15-1.11 (m, 1H, 13-Hb), 1.14 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 10-Me), 0.77 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 14-Me) ppm; **^{13}C -NMR** (125 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm) δ 191.4 (s, C-1), 170.9 (s, C-3'), 156.7 (s, C-Ar), 152.8 (s, NHCOO), 146.4 (d, C-3), 143.3 (s, C-Ar), 139.5 (s, C-Ar), 135.2 (d, C-9), 128.8 (d, C-8), 128.5 (d, C-2), 111.3 (d, C-Ar), 111.3 (d, C-Ar), 103.4 (d, C-Ar), 83.3 (d, C-6), 80.2 (d, C-12), 77.4 (s, *t*-Bu),

73.3 (d, C-11), 71.9 (d, C-7), 58.1 (q, 6-OMe), 57.2 (q, 12-OMe), 44.6 (t, C-15), 39.8 (t, C-2'), 39.3 (d, C-10), 34.5 (t, C-13), 30.8 (d, C-14), 28.7 (t, C-1'), 28.5 (q, *t*-Bu), 28.4 (t, C-5), 27.3 (t, C-4), 23.4 (q, C-4'), 19.0 (q, 14-Me), 18.1 (q, 10-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{34}H_{54}N_2O_9SNa$ $[M+Na]^+$: berechnet: 689.3448, gefunden: 689.3448.

Polyol 95

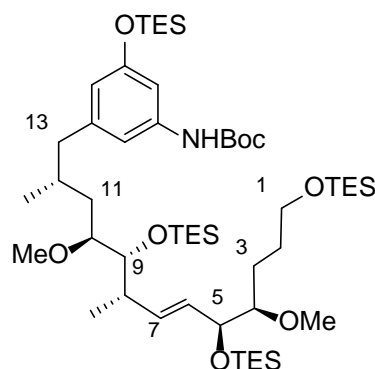


Der Alkohol **73a** (20.0 mg, 23.2 μ mol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (8.0 mL) gelöst, mit Pyridin (1.0 mL) und HF*Py (700 μ L) versetzt und 4 Tage bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen $NaHCO_3$ -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger $CuSO_4$ -Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) ($H_2O:MeOH = 80:20$ {5 min}, Gradient $H_2O:MeOH = 80:20 \rightarrow 50:50$ {45 min}, $50:50 \rightarrow 30:70$ {40 min}, $30:70 \rightarrow 0:100$ {1 min}, $H_2O:MeOH = 0:100$ {9 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 61.0$ min) gereinigt und der Alkohol **95** (12.0 mg, 22.8 μ mol, 98 %) als farbloses Öl erhalten.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): δ 6.84 (s, 1H, Ph), 6.62 (s, 1H, Ph), 6.51 (s, 1H, NH), 6.33 (s, 1H, Ph), 5.96 (s, 1H, OH), 5.60 (dd, $J = 15.7, 8.2$ Hz, 1H, 7-H), 5.46 (dd, $J = 15.7, 6.2$ Hz, 6-H), 4.28-4.24 (m, 1H, 5-H), 3.72-3.65 (m, 2H, 1-H), 3.65-3.59 (m, 1H, 9-H), 3.44 (s, 3H, 4-OMe), 3.34 (s, 3H, 10-OMe), 3.26-3.17 (m, 1H, 10-H), 3.26-3.17 (m, 1H, 4-H), 2.72 (s, 1H, OH), 2.66 (s, 1H, OH), 2.48 (dd, $J = 13.4, 6.5$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.35-2.19 (m, 1H, 8H), 2.35-2.19 (m, 1H, 13-Hb), 2.01-1.90 (m, 1H, 12-H), 1.72-1.59 (m, 2H, 2-H), 1.72-1.59 (m, 2H, 3-H), 1.72-1.59 (m, 1H, 11-Ha), 1.50 (s, 9H, *t*-Bu), 1.30-1.21 (m, 1H, 11-Hb), 1.11 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, 8-Me), 0.84 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, 12-Me) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm) δ 156.7 (s, C-Ar), 153.0 (s, NHCOO), 143.4 (s,

C-Ar), 139.3 (d, C-Ar), 135.2 (d, C-7), 128.8 (d, C-6), 111.6 (d, C-Ar), 111.2 (d, C-Ar), 103.7 (d, C-Ar), 84.3 (d, C-4), 80.4 (d, C-10), 77.4 (s, *t*-Bu), 74.0 (d, C-5), 72.5 (d, C-9), 62.8 (t, C-1), 58.0 (q, 4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 44.4 (t, C-13), 38.9 (d, C-8), 34.7 (t, C-11), 30.9 (d, C-12), 28.8 (t, C-3), 28.5 (q, *t*-Bu), 25.7 (t, C-2), 19.6 (q, 12-Me), 17.0 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{28}H_{47}NO_8Na$ $[M+Na]^+$: berechnet: 548.3199, gefunden: 548.3199; $[\alpha]_D^{20} = -26.8^\circ$ ($c = 1.0$, MeOH).

Persilyliertes Polyol **96**

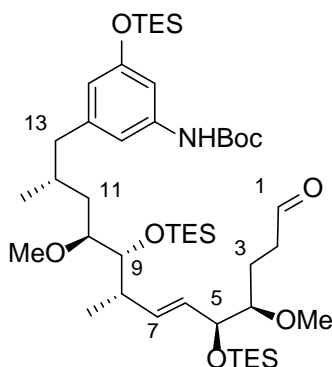


Der Alkohol **95** (12.0 mg, 22.8 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (7.0 mL) gelöst, auf -78°C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (23.0 μl , 202 μmol , 7.0 Äq.) und anschließend mit TESOTf (25.0 μl , 114 μmol , 5.0 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei -78°C gerührt und auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 20:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **96** (20.0 mg, 20.4 μmol , 89 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 7.49 (s, 1H, Ph), 6.63 (s, 1H, Ph), 6.39 (s, 1H, Ph), 6.09 (s, 1H, NH), 5.65 (dd, 1H, $J = 15.5, 6.5$ Hz, 7-H), 5.53 (dd, 1H, $J = 15.5, 8.7$ Hz, 6-H), 4.22 (dd, 1H, $J = 5.2, 3.3$ Hz, 5-H), 3.80-3.70 (m, 1H, 9-H), 3.70-3.60 (m, 2H, 1-H), 3.48-3.37 (m, 1H, 10-H), 3.33 (s, 3H, 4-OMe), 3.27 (s, 3H, 10-OMe), 3.24-3.11 (m, 1H, H-4), 2.64 (dd, $J = 13.2, 6.1$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.44-2.32 (m, 1H, 8-H), 2.44-2.32 (m, 1H, 13-Hb), 2.26-2.11 (m, 1H, 12-H), 2.02-1.92 (m, 1H, 2-Ha), 2.02-1.92 (m, 1H, 11-Ha), 2.02-1.92 (m, 1H, 3-Ha), 1.81-1.66 (m, 1H, 2-Hb), 1.81-1.66 (m, 1H, 3-Hb), 1.43 (s, 9H, *t*-Bu),

1.25-1.17 (m, 3H, 8-Me), 1.17-1.15 (m, 1H, 11-Hb), 1.15-0.94 (m, 36H, SiCH₂CH₃), 0.83-0.49 (m, 24H, SiCH₂CH₃), 0.78-0.66 (m, 3H, 12-Me) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 156.7 (s, C-Ar), 152.5 (s, NHCOO), 143.5 (s, C-Ar), 140.1 (s, C-Ar), 134.8 (d, C-7), 131.4 (d, C-6), 115.9 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.7 (d, C-Ar), 85.5 (d, C-4), 81.4 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 76.4 (d, C-9), 76.0 (d, C-5), 63.3 (t, C-1), 58.4 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 45.3 (t, C-13), 41.3 (d, C-8), 35.9 (t, C-11), 31.8 (d, C-12), 29.7 (t, C-2), 28.4 (q, *t*-Bu), 27.2 (t, C-3), 19.5 (q, 12-Me), 18.7 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.3 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 7.1 (q, SiCH₂CH₃), 7.0 (q, SiCH₂CH₃), 6.9 (q, SiCH₂CH₃), 5.6 (t, SiCH₂CH₃), 5.5 (t, SiCH₂CH₃), 4.9 (t, SiCH₂CH₃) ppm; HRMS (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; [α]_D²⁰ = +0.8° (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

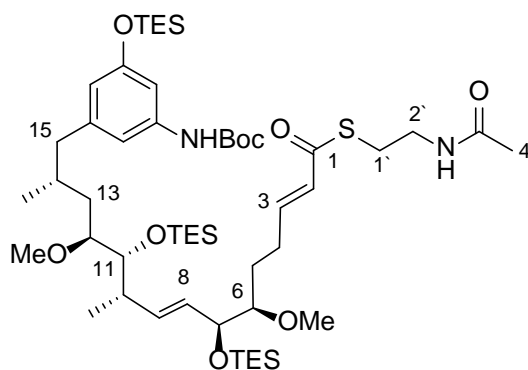
Silylierter Aldehyd 97



DMSO (2.4 μL, 34 μmol, 3.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre mit CH₂Cl₂ (3.0 mL) gemischt, auf -78 °C gekühlt und mit Oxalylchlorid (1.9 μL, 22 μmol, 2.0 Äq.) langsam versetzt. Nach weiteren 10 min wurde der Alkohol **96** (11 mg, 11 μmol, 1.0 Äq.) in CH₂Cl₂ (0.5 mL) gelöst und zum Reaktionsansatz gegeben. Nach 10 min wurde das Reaktionsgemisch auf -60 °C erwärmt und für 1.5 h gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz wieder auf -78 °C gekühlt, mit DIPEA (13 μL, 78 μmol, 7.0 Äq.) versetzt und auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 → 10:1) gereinigt und der Aldehyd **97** (6.0 mg, 6.9 μmol, 62 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 9.44 (s, 1H, 1-H), 7.44 (s, 1H, Ph), 6.64 (s, 1H, Ph), 6.42 (s, 1H, Ph), 6.11 (s, 1H, NH), 5.55-5.44 (m, 1H, 7-H), 5.55-5.44 (m, 1H, 6-H), 4.16-4.10 (m, 1H, 5-H), 3.71 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 9-H), 3.42-3.15 (m, 1H, 10-H), 3.27 (s, 3H, 4-OMe), 3.22 (s, 3H, 10-OMe), 2.97 (dt, $J = 9.1, 3.2$ Hz, 1H, H-4), 2.66 (dd, $J = 13.3, 6.0$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.45-2.28 (m, 1H, 8-H), 2.45-2.28 (m, 1H, H-13b), 2.25-2.03 (m, 2H, 2-H), 2.25-2.03 (m, 1H, 12-H), 2.03-1.86 (m, 1H, 3-Ha), 2.03-1.86 (m, 1H, 11-Ha), 1.75-1.47 (m, 1H, 3-Hb), 1.42 (s, 9H, *t*-Bu), 1.22 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19-1.16 (m, 1H, 11-Hb), 1.11-1.02 (m, 27H, SiCH_2CH_3), 0.88-0.71 (m, 3H, 12-Me), 0.82-0.45 (m, 18H, SiCH_2CH_3) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 200.6 (t, C-1), 156.7 (s, C-Ar), 152.5 (s, NHCOO), 143.5 (s, C-Ar), 140.1 (s, C-Ar), 135.0 (d, C-7), 130.8 (d, C-6), 115.9 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.8 (d, C-Ar), 84.6 (d, C-4), 81.5 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 76.4 (d, C-9), 75.4 (d, C-5), 58.3 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 45.2 (t, C-13), 41.4 (d, C-8), 40.6 (t, C-2), 36.0 (t, C-11), 31.8 (d, C-12), 28.4 (q, *t*-Bu), 23.2 (t, C-3), 19.5 (q, 12-Me), 18.7 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH_2CH_3), 7.3 (q, SiCH_2CH_3), 7.0 (q, SiCH_2CH_3), 5.7 (t, SiCH_2CH_3), 5.5 (t, SiCH_2CH_3) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +0.43^\circ$ ($c = 1.0$, CH_2Cl_2).

Silylierter SNAC-Ester **98**

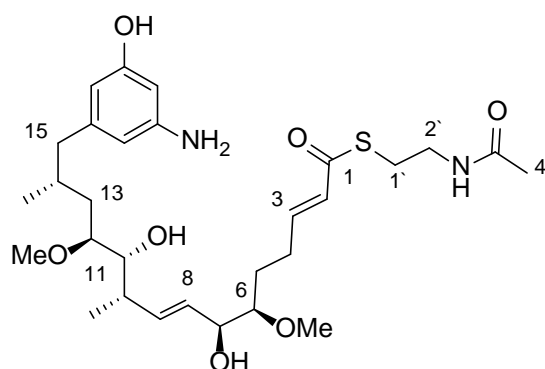


Der Aldehyd **97** (6.0 mg, 6.9 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde in CHCl_3 (0.5 mL) gelöst, mit dem Phosphorylid **84** (15 mg, 35 μmol , 5.0 $\text{\AA}q.$) versetzt und der Reaktionsansatz zwei Tage bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 1:1) gereinigt und der SNAC-Ester **98** (6.0 mg, 5.9 μmol , 86 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.3$ (PE:EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 6.91 (dt, $J = 15.5, 6.9$ Hz, 1H, 3-H), 6.79 (s, 1H, Ph), 6.69 (s, 1H, Ph), 6.47 (s, 1H, NH), 6.34 (s, 1H, Ph), 6.11 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H,

H-2), 5.93 (s, 1H, NH), 5.57-5.42 (m, 1H, 9-H), 5.57-5.42 (m, 1H, 8-H), 4.13-4.08 (m, 1H, 7-H), 3.57 (dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz, 1H, 11-H), 3.45-3.37 (m, 2H, 2'-H), 3.38 (s, 3H, 6-OMe), 3.25 (s, 3H, 12-OMe), 3.23-3.14 (m, 1H, 12-H), 3.11-3.04 (m, 2H, 1'-H), 3.04-2.97 (m, 1H, 6-H), 2.56 (dd, $J = 13.2, 5.7$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.41-2.30 (m, H, 4-Ha), 2.30-2.14 (m, 1H, 10-H), 2.30-2.14 (m, 1H, 15-Hb), 2.30-2.14 (m, H, 4-Hb), 1.96 (s, 3H, 4'-H), 1.95-1.84 (m, 1H, 14-H), 1.70-1.57 (m, 1H, 13-Ha), 1.70-1.57 (m, 1H, 5-Ha), 1.55-1.49 (m, 1H, 5-Hb), 1.51 (s, 9H, *t*-Bu), 1.11-1.06 (m, 1H, 13-Hb), 1.06 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 10-Me), 1.06-0.90 (m, 27H, SiCH₂CH₃), 0.81-0.71 (m, 3H, 14-Me), 0.82-0.53 (m, 18H, SiCH₂CH₃) ppm; ¹³C-NMR (125 Hz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 190.5 (s, C-1), 170.4 (s, C-3'), 156.0 (s, C-Ar), 146.7 (d, C-3), 143.5 (s, C-Ar), 139.2 (s, C-Ar), 135.1 (d, C-9), 130.4 (d, C-8), 128.5 (d, C-2), 115.7 (d, C-Ar), 112.5 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 84.6 (d, C-6), 81.1 (d, C-12), 77.4 (s, *t*-Bu), 76.1 (d, C-11), 74.9 (d, C-7), 58.6 (q, 6-OMe), 57.3 (q, 12-OMe), 44.9 (t, C-15), 40.8 (d, C-10), 40.0 (t, C-2'), 36.0 (t, C-13), 31.3 (t, C-5), 28.8 (d, C-14), 28.6 (t, C-4), 28.5 (q, *t*-Bu), 28.4 (t, C-1'), 23.4 (q, C-4'), 19.2 (q, 14-Me), 18.1 (q, 10-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 7.0 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.5 (t, SiCH₂CH₃) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₅₂H₉₇N₂O₉SSi₃ [M+H]⁺: berechnet: 1009.6223, gefunden: 1009.6223. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -0.75^{\circ}$ ($c = 1.0, \text{CH}_2\text{Cl}_2$).

SNAC-Ester 37



Methode 1

Der SNAC-Ester **93a** (1.5 mg, 2.3 μmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (1.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (180 μL) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC

(C18-ISIS-SP) (H₂O:MeOH = 70:30 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 70:30 → 40:60 {45 min}, 40:60 → 15:85 {40 min}, 15:85 → 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 37.9 min) gereinigt und das Amin **37** (1.0 mg, 1.8 μmol, 79 %) als farbloses Öl erhalten.

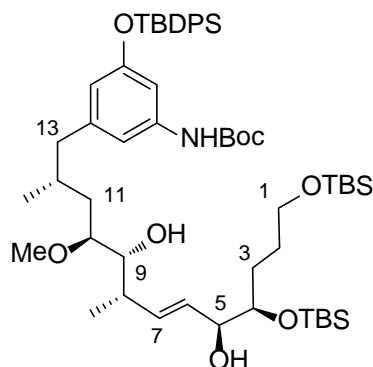
Methode 2

Der TES-geschützte SNAC-Ester **98** (8.0 mg, 7.9 μmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (4.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (550 μl) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) (H₂O:MeOH = 70:30 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 70:30 → 40:60 {45 min}, 40:60 → 15:85 {40 min}, 15:85 → 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 37.9 min) gereinigt und das Amin **37** (3.5 mg, 6.2 μmol, 78 %) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 6.99-6.88 (m, 1H, 3-H), 6.15 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H, H-2), 6.16 (s, 1H, Ph), 6.07 (s, 1H, Ph), 6.04 (s, 1H, Ph), 5.89 (s, 1H, NH), 5.59 (dd, *J* = 15.2, 8.7 Hz, 1H, 9-H), 5.46 (dd, *J* = 15.2, 5.0 Hz, 8-H), 4.34-4.28 (m, 1H, 7-H), 3.60-3.69 (m, 1H, 11-H), 3.50-3.43 (m, 2H, 2'-H), 3.43 (s, 3H, 6-OMe), 3.34 (s, 3H, 12-OMe), 3.24-3.17 (m, 1H, 12-H), 3.14-3.06 (m, 1H, 6-H), 3.14-3.06 (m, 2H, 1'-H), 2.53 (dd, *J* = 13.2, 5.4 Hz, 1H, 15-Ha), 2.47-2.37 (m, 1H, 10-H), 2.34-2.25 (m, 1H, 15-Hb), 2.25-2.10 (m, 2H, 4-H), 1.96 (s, 3H, 4'-H), 1.98-1.93 (m, 1H, 14-H), 1.73-1.62 (m, 1H, 13-Ha), 1.73-1.62 (m, 1H, 5-Ha), 1.55-1.49 (m, 1H, 5-Hb), 1.17-1.15 (m, 1H, 13-Hb), 1.15 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.79 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 191.3 (s, C-1), 170.6 (s, C-3'), 157.1 (s, C-Ar), 147.8 (d, C-3), 146.4 (s, C-Ar), 143.8 (s, C-Ar), 135.4 (d, C-9), 128.8 (d, C-8), 128.6 (d, C-2), 108.6 (d, C-Ar), 107.2 (d, C-Ar), 100.1 (d, C-Ar), 83.5 (d, C-6), 80.3 (d, C-12), 73.4 (d, C-11), 72.1 (d, C-7), 58.1 (q, 6-OMe), 57.2 (q, 12-OMe), 44.7 (t, C-15), 39.8 (t, C-2'), 39.3 (d, C-10), 34.7 (t, C-13), 30.9 (d, C-14), 28.8 (t, C-1'), 28.5 (t, C-5), 27.4 (t, C-4), 23.4 (q, C-4'), 19.1 (q, 14-Me), 18.1 (q, 10-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₉H₄₇N₂O₇S [M+H]⁺: berechnet: 567.3104, gefunden: 5673101; [α]_D²⁰ = -4.0° (*c* = 0.1, MeOH).

6.3.5. Synthese des SNAC-Esters von 2,8,6-destri-Methyl-6-*epi*-secoprogeldanamycin 38

Methathese Produkt 74



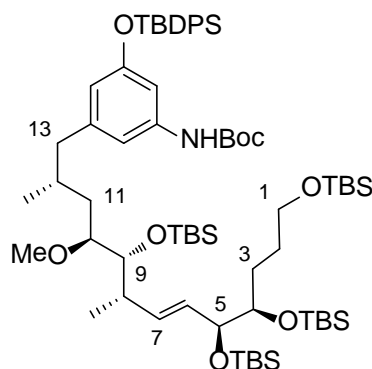
Das Alken **39** (0.05 g, 0.08 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in (CH₂Cl)₂ (3.0 mL) gelöst, mit dem Alken **59** (0.09 g, 0.24 mmol, 3.0 Äq.) und GRUBBS-HOVEYDA II Katalysator (5.0 mg, 7.98 µmol, 0.1 Äq.) versetzt und auf 40 °C erhitzt. Nach jeweils 10 h wurde portionsweise eine weitere Menge des GRUBBS-HOVEYDA II Katalysators (5.0 mg, 7.98 µmol, 0.1 Äq.) zugegeben. Nach 48 h wurde das Reaktionsgemisch auf RT gekühlt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 4:1), gefolgt von präparativer HPLC (C18-P) (H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 80:20 → 0:100 {75 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {20 min}, 15 mL/min) (*t_R* = 88.0 min) gereinigt. Es wurden 34.0 mg (34.8 µmol, 44 %) des Produktes **74** und 6.0 mg (6.1 µmol, 7 %) des Produktes **5-epi-74** als farblose Öle erhalten; *R_f* = 0.3 (PE:EtOAc = 5:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 7.92-7.78 (m, 4H, SiPh), 7.35-7.20 (m, 6H, SiPh), 7.10 (s, 1H, 17-H), 6.78 (s, 1H, 15-H), 6.48 (s, 1H, 19-H), 5.94 (s, 1H, NH), 5.70 (dd, *J* = 15.5, 7.9 Hz, 1H, 7-H), 5.60 (dd, *J* = 15.5, 5.5 Hz, 6-H), 4.14 (br. s, 1H, 5-H), 3.75-3.71 (m, 1H, 4-H), 3.61-3.56 (m, 1H, 9-H), 3.61-3.56 (m, 2H, 1-H), 3.26-3.23 (m, 1H, 10-H), 3.05 (s, 3H, 10-OMe), 2.41 (dd, *J* = 13.1, 6.0 Hz, 1H, 13-Ha), 2.45-2.35 (m, 1H, 8-H), 2.12 (dd, *J* = 13.1, 8.7 Hz, 1H, 13-Hb), 2.03 (br. s., 1H, 5-OH), 1.96 (br. s., 1H, 9-OH), 1.99-1.90 (m, 1H, 12-H), 1.78-1.68 (m, 1H, 2-Ha), 1.78-1.68 (m, 1H, 3-Ha), 1.78-1.68 (m, 1H, 11-Ha), 1.65-1.54 (m, 1H, 2-Hb), 1.65-1.54 (m, 1H, 3-Hb), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.32 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 8-Me), 1.20 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.18-1.13 (m, 1H, 11-Hb), 1.00 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.97 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.76 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 12-Me), 0.11 (s, 6H, SiMe), 0.09 (s, 6H, SiMe) ppm;

¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.4 (s, NHCOO), 143.4

(s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 134.2 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.1 (s, C-Ar), 129.4 (d, C-6), 115.7 (d, C-19), 112.6 (d, C-15), 107.9 (d, C-17), 80.5 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 76.1 (d, C-4), 75.4 (d, C-5), 73.9 (d, C-9), 63.5 (t, C-1), 56.7 (q, 10-OMe), 45.0 (t, C-13), 39.3 (d, C-8), 35.3 (t, C-11), 31.4 (d, C-12), 29.4 (t, C-2), 29.0 (t, C-3), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 19.8 (s, *Sit*-Bu), 19.2 (q, 12-Me), 18.6 (s, *Sit*-Bu), 18.4 (s, *Sit*-Bu), 17.5 (q, 8-Me), -4.2 (q, SiMe), -4.3 (q, SiMe), -5.1 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{55}H_{91}NO_8Si_3Na$ $[M+Na]^+$: berechnet: 1000.5950, gefunden: 1000.5927; $[\alpha]_D^{20} = -18.2^\circ$ ($c = 0.33$, $CHCl_3$).

Silyliertes Polyol **99**

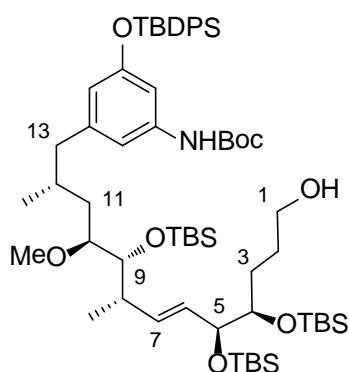


Der Alkohol **74** (50.0 mg, 51.1 μ mol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (30.0 μ L, 256 μ mol, 5.0 Äq.) und anschließend mit TBSOTf (35.0 μ L, 153.3 μ mol, 3.0 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für weitere 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger $NaCl$ -Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 50:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **99** (50.0 mg, 41.4 μ mol, 81 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.7$ (PE:EtOAc = 10:1).

1H -NMR (400 MHz, C_6D_6 , $C_6D_5H = 7.16$ ppm): δ 7.92-7.78 (m, 4H, SiPh), 7.25-7.15 (m, 6H, SiPh), 7.16 (s, 1H, 17-H), 6.65 (s, 1H, 15-H), 6.49 (s, 1H, 19-H), 5.85 (s, 1H, NH), 5.64 (dd, $J = 15.7, 7.2$ Hz, 1H, 6-H), 5.46 (dd, $J = 15.7, 8.9$ Hz, 7-H), 4.13-4.11 (m, 1H, 5-H), 3.81-3.75 (m, 1H, 4-H), 3.68-3.62 (m, 1H, 9-H), 3.68-3.62 (m, 2H, 1-H), 3.35-3.29 (m, 1H, 10-H), 3.23 (s, 3H, 10-OMe), 2.43 (dd, $J = 13.1, 6.5$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.35-2.25 (m, 1H, 8-H),

2.20 (dd, $J = 13.1, 8.2$ Hz, 1H, 13-Hb), 2.05-1.97 (m, 1H, 12-H), 1.93-1.62 (m, 2H, 2-H), 1.93-1.62 (m, 2H, 3-H), 1.93-1.62 (m, 1H, 11-Ha), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.28 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 8-Me), 1.20 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.08 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.06 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.08-1.03 (m, 1H, 11-Hb), 1.00 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.81 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.23 (s, 3H, SiMe), 0.21 (s, 3H, SiMe), 0.19 (s, 3H, SiMe), 0.17 (s, 3H, SiMe), 0.16 (s, 6H, SiMe), 0.10 (s, 6H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.0 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.1 (d, C-7), 133.7 (d, C-Ar), 130.7 (s, C-6), 130.0 (d, C-Ar), 115.7 (d, C-19), 112.5 (d, C-15), 107.9 (d, C-17), 81.6 (d, C-10), 79.5 (s, *t*-Bu), 78.5 (d, C-5), 77.5 (d, C-4), 76.1 (d, C-9), 63.5 (t, C-1), 57.2 (q, 10-OMe), 45.3 (t, C-13), 41.2 (d, C-8), 35.7 (t, C-11), 31.5 (d, C-12), 30.3 (t, C-3), 29.7 (t, C-2), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (q, *Sit*-Bu), 26.4 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 19.9 (s, *Sit*-Bu), 19.6 (q, 12-Me), 18.9 (q, 8-Me), 18.7 (s, *Sit*-Bu), 18.6 (s, *Sit*-Bu), -3.4 (q, SiMe), -3.6 (q, SiMe), -3.7 (q, SiMe), -4.1 (q, SiMe), -4.3 (q, SiMe), -4.5 (q, SiMe), -5.1 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +0.7^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

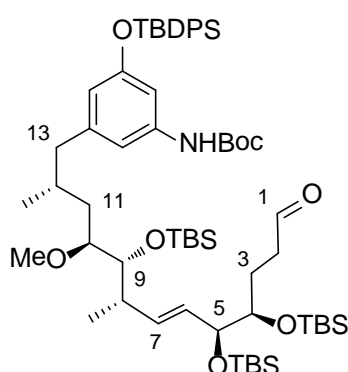
Polyol 99a



Der Alkohol **99** (30.0 mg, 24.9 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (6.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MeOH (4.0 mL) und CSA (1.70 mg, 7.50 μmol , 0.3 Äq.) versetzt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 5:1) gereinigt und der Alkohol **99a** (25.0 mg, 22.9 μmol , 93 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.2$ (PE:EtOAc = 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 7.87-7.84 (m, 4H, SiPh), 7.22-7.19 (m, 6H, SiPh), 7.08 (s, 1H, 17-H), 6.75 (s, 1H, 15-H), 6.50 (s, 1H, 19-H), 5.99 (s, 1H, NH), 5.60 (dd, *J* = 15.4, 7.4 Hz, 1H, 6-H), 5.37 (dd, *J* = 15.4, 9.1 Hz, 7-H), 4.07 (dd, *J* = 7.4, 1.9 Hz, 1H, 5-H), 3.77-3.73 (m, 1H, 4-H), 3.61 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 9-H), 3.46-3.43 (m, 2H, 1-H), 3.28 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, 10-H), 3.21 (s, 3H, 10-OMe), 2.52 (dd, *J* = 13.1, 5.8 Hz, 1H, 13-Ha), 2.28-2.20 (m, 1H, 8-H), 2.16 (dd, *J* = 13.1, 8.9 Hz, 1H, 13-Hb), 2.04-1.95 (m, 1H, 12-H), 1.86-1.79 (m, 1H, 11-H), 1.71-1.60 (m, 1H, 2-Ha), 1.71-1.60 (m, 1H, 3-Ha), 1.58-1.46 (m, 1H, 2-Hb), 1.58-1.46 (m, 1H, 3-Hb), 1.37 (s, 9H, *t*-Bu), 1.20 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.18 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 8-Me), 1.08 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.04 (s, 18H, *Sit*-Bu), 1.03-1.00 (m, 1H, 11-Hb), 0.80 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 12-Me), 0.23 (s, 6H, SiMe), 0.18 (s, 3H, SiMe), 0.15 (s, 9H, SiMe) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.4 (s, NHCOO), 143.6 (s, C-Ar), 140.0 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.3 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.5 (s, C-6), 130.1 (d, C-Ar), 115.8 (d, C-19), 112.5 (d, C-15), 107.9 (d, C-17), 81.8 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 78.6 (d, C-5), 77.6 (d, C-4), 76.1 (d, C-9), 62.9 (t, C-1), 57.0 (q, 10-OMe), 45.1 (t, C-13), 41.4 (d, C-8), 35.7 (t, C-11), 31.8 (d, C-12), 30.5 (t, C-3), 29.7 (t, C-2), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 26.4 (q, *Sit*-Bu), 19.8 (q, 12-Me), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 19.0 (q, 8-Me), 18.9 (s, *Sit*-Bu), 18.6 (s, *Sit*-Bu), -3.4 (q, SiMe), -3.6 (q, SiMe), -3.6 (q, SiMe), -4.1 (q, SiMe), -4.3 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_D^{20} = +4.8^\circ$ (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

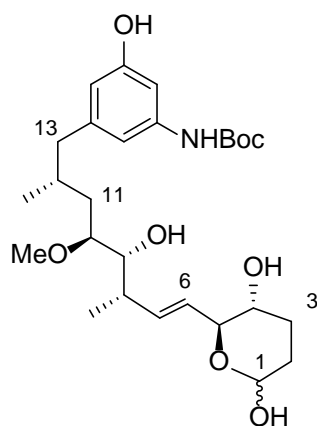
Silylierter Aldehyd 100



Der Alkohol **99a** (25.0 mg, 22.9 μmol, 1.0 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (5.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaHCO₃ (2.30 mg, 27.5 μmol, 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz (11.7 mg, 27.5 μmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na₂SO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert.

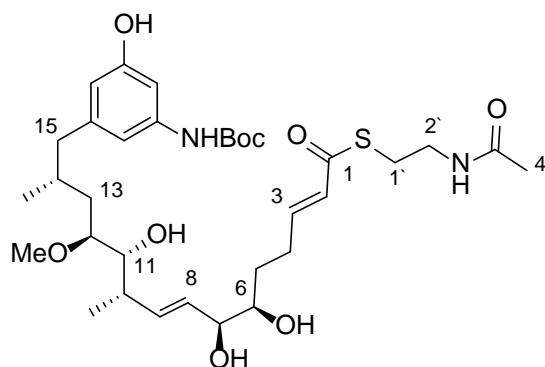
Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 → 10:1) gereinigt und der Aldehyd **100** (25.0 mg, 22.9 μmol, 99 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.6 (PE:EtOAc = 9:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 9.43 (s, 1H, 1-H), 7.87-7.85 (m, 4H, SiPh), 7.21-7.19 (m, 6H, SiPh), 7.08 (s, 1H, 17-H), 6.67 (s, 1H, 15-H), 6.50 (s, 1H, 19-H), 5.89 (s, 1H, NH), 5.53 (dd, *J* = 15.0, 7.0 Hz, 1H, 6-H), 5.39 (dd, *J* = 15.0, 9.0 Hz, 7-H), 4.01 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, 5-H), 3.68-3.65 (m, 1H, 4-H), 3.62 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 9-H), 3.28-3.24 (m, 1H, 10-H), 3.24 (s, 3H, 10-OMe), 2.45 (dd, *J* = 12.3, 5.8 Hz, 1H, 13-Ha), 2.29-2.09 (m, 1H, 8-H), 2.29-2.09 (m, 1H, 13-Hb), 2.29-2.09 (m, 2H, 2-H), 2.03-1.98 (m, 1H, 12-H), 1.89-1.64 (m, 1H, 11-H), 1.89-1.64 (m, 2H, 3-H), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.18 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, 8-Me), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.01 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03-1.00 (m, 1H, 11-Hb), 0.77 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 12-Me), 0.22 (s, 3H, SiMe), 0.19 (s, 3H, SiMe), 0.16 (s, 9H, SiMe) 0.15 (s, 3H, SiMe) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 200.5 (d, C-1), 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.0 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.5 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.2 (s, C-6), 130.1 (d, C-Ar), 115.7 (d, C-19), 112.5 (d, C-15), 107.9 (d, C-17), 81.5 (d, C-10), 79.5 (s, *t*-Bu), 78.6 (d, C-5), 76.4 (d, C-4), 76.0 (d, C-9), 57.2 (q, 10-OMe), 45.2 (t, C-13), 41.3 (d, C-8), 40.6 (t, C-2), 35.7 (t, C-11), 31.5 (d, C-12), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (q, *Sit*-Bu), 26.4 (q, *Sit*-Bu), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 25.7 (t, C-3), 19.8 (q, 12-Me), 19.4 (s, *Sit*-Bu), 18.9 (q, 8-Me), 18.9 (s, *Sit*-Bu), 18.6 (s, *Sit*-Bu), 18.6 (s, *Sit*-Bu), -3.4 (q, SiMe), -3.6 (q, SiMe), -3.7 (q, SiMe), -4.2 (q, SiMe), -4.5 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +0.8^{\circ}$ (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

Hemiacetal 101

Der Aldehyd **100** (3.0 mg, 2.8 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (1.5 mL) gelöst und mit Pyridin (30 μL) und HF*Py (240 μL) versetzt. Nach 7 Tagen wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit CuSO_4 -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-SP) ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 90:10$ {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 90:10 \rightarrow 0:100$ {55 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 0:100$ {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 53.0$ min) gereinigt und das Lactol **101** (1.2 mg, 2.4 μmol , 86 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 1:2). Die Verbindung **101** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

HRMS (ESI) m/z für $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_8\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: berechnet: 532.2886, gefunden: 532.2883.

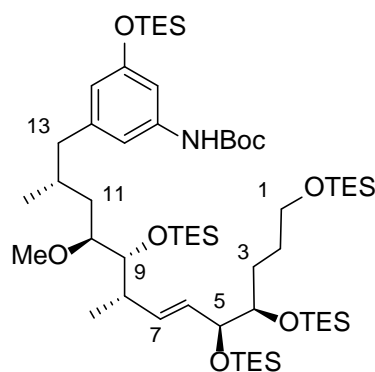
N-Boc SNAC-Ester 102

Das Lactol **101** (1.2 mg, 2.4 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde in CHCl_3 (0.5 mL) gelöst, mit dem Phosphorylid **84** (2.5 mg, 5.9 μmol , 2.5 $\text{\AA}q.$) versetzt und 6 Tage bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt per präparativer

getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit CuSO₄-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) (H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 80:20 → 50:50 {45 min}, 50:50 → 30:70 {40 min}, 30:70 → 0:100 {1 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {9 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 54.5 min) gereinigt und der Alkohol **103** (9.00 mg, 17.6 μmol, 90 %) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 6.78 (s, 1H, Ph), 6.59 (s, 1H, Ph), 6.26 (s, 1H, Ph), 5.62-5.48 (m, 1H, 7-H), 5.62-5.48 (m, 1H, 6-H), 3.90-3.82 (m, 1H, 5-H), 3.57-3.47 (m, 2H, 1-H), 3.57-3.47 (m, 1H, 9-H), 3.46-3.40 (m, 1H, 4-H), 3.29-3.25 (m, 1H, 10-H), 3.28 (s, 3H, 10-OMe), 2.45 (dd, *J* = 13.2, 6.5 Hz, 1H, 13-Ha), 2.29 (dd, *J* = 13.2, 7.9 Hz, 1H, 13-Hb), 2.26-2.18 (m, 1H, 8-H), 1.97-1.86 (m, 1H, 12-H), 1.76-1.51 (m, 2H, 2-H), 1.76-1.51 (m, 2H, 3-H), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.42-1.30 (m, 1H, 11-Ha), 1.24-1.10 (m, 1H, 11-Hb), 1.06 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 8-Me), 0.84 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 12-Me) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD, MeOD = 49.0 ppm): δ 158.6 (s, C-Ar), 155.2 (s, NHCOO), 144.2 (s, C-Ar), 141.2 (s, C-Ar), 136.3 (d, C-7), 130.8 (d, C-6), 112.2 (d, C-Ar), 111.7 (d, C-Ar), 104.6 (d, C-Ar), 81.4 (d, C-10), 80.6 (s, *t*-Bu), 76.9 (d, C-4), 75.6 (d, C-5), 75.2 (d, C-9), 63.1 (t, C-1), 57.0 (q, 10-OMe), 45.9 (t, C-13), 40.8 (d, C-8), 36.2 (t, C-11), 32.3 (d, C-12), 30.1 (t, C-3), 30.1 (t, C-2), 28.7 (q, *t*-Bu), 19.7 (q, 12-Me), 17.7 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₇H₄₅NO₈Na [M+Na]⁺: berechnet: 534.3043, gefunden: 534.3040; [α]²⁰_D = -34.1° (*c* = 1.0, MeOH).

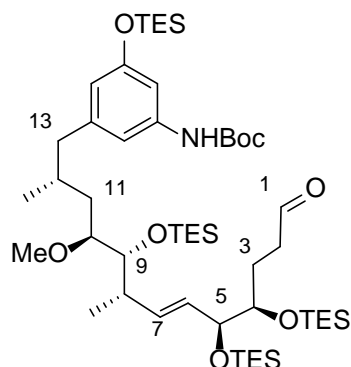
Silyliertes Polyol **104**



Der Alkohol **103** (12.0 mg, 23.0 μmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (10 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (21.0 μL, 184 μmol, 8.0 Äq.) und

anschließend mit TESOTf (30.0 μ L, 141 μ mol, 6.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 1 h bei -78 °C gerührt und auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 20:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **104** (20.0 mg, 18.5 μ mol, 80 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.7 (PE:EtOAc = 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 7.46 (s, 1H, Ph), 6.63 (s, 1H, Ph), 6.37 (s, 1H, Ph), 6.00 (s, 1H, NH), 5.75 (dd, 1H, *J* = 15.5, 7.3 Hz, 6-H), 5.44 (dd, 1H, *J* = 15.5, 8.7 Hz, 7-H), 4.08 (dd, *J* = 7.3, 1.8 Hz, 1H, 5-H), 3.88-3.82 (m, 1H, 4-H), 3.75-3.62 (m, 2H, 1-H), 3.75-3.62 (m, 1H, H-9), 3.44-3.37 (m, 1H, 10-H), 3.30 (s, 3H, 10-OMe), 2.61 (dd, *J* = 13.2, 6.5 Hz, 1H, 13-Ha), 2.41-2.37 (m, 1H, 13-Hb), 2.37-2.29 (m, 1H, 8-H), 2.26-2.13 (m, 1H, 12-H), 2.07-1.93 (m, 1H, 11-Ha), 1.92-1.79 (m, 1H, 2-Ha), 1.77-1.57 (m, 2H, 3-H), 1.77-1.57 (m, 1H, 2-Hb), 1.42 (s, 9H, *t*-Bu), 1.25 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 8-Me), 1.20-1.16 (m, 1H, 11-Hb), 1.16-0.98 (m, 45H, SiCH₂CH₃), 1.08-0.98 (m, 3H, 12-Me), 0.84-0.59 (m, 30H, SiCH₂CH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 156.7 (s, C-Ar), 152.4 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.1 (s, C-Ar), 135.0 (d, C-7), 130.9 (d, C-6), 115.9 (d, C-Ar), 112.2 (d, C-Ar), 107.8 (d, C-Ar), 81.4 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 78.3 (d, C-5), 77.5 (d, C-4), 76.1 (d, C-9), 63.3 (t, C-1), 57.3 (q, 10-OMe), 45.4 (t, C-13), 41.5 (d, C-8), 35.7 (t, C-11), 31.6 (d, C-12), 30.6 (t, C-2), 30.0 (t, C-3), 28.4 (q, *t*-Bu), 19.7 (q, 12-Me), 18.5 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.4 (q, SiCH₂CH₃), 7.3 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 7.0 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.6 (t, SiCH₂CH₃), 5.5 (t, SiCH₂CH₃), 4.9 (t, SiCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +2.5^{\circ}$ (*c* = 0.1, CH₂Cl₂).

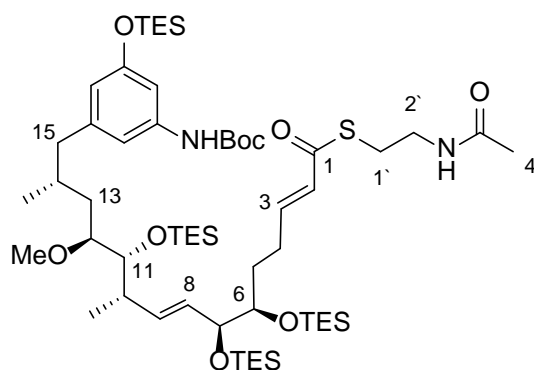
Silylierter Aldehyd **105**

DMSO (3.9 μL , 55 μmol , 3.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre mit CH_2Cl_2 (5.0 mL) gemischt, auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und mit Oxalylchlorid (3.2 μL , 37 μmol , 2.0 Äq.) langsam versetzt. Nach 10 min wurde der Alkohol **104** (20 mg, 18 μmol , 1.0 Äq.) in CH_2Cl_2 (0.5 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch gegeben. Nach weiteren 10 min wurde der Reaktionsansatz auf $-60\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt und für 1.5 h gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz wieder auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt, mit DIPEA (21 μL , 129 μmol , 7.0 Äq.) versetzt und auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und der Aldehyd **105** (15.0 mg, 16 μmol , 85 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.6$ (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H} = 7.16$ ppm): δ 9.46 (s, 1H, 1-H), 7.46 (s, 1H, Ph), 6.63 (s, 1H, Ph), 6.40 (s, 1H, Ph), 6.05 (s, 1H, NH), 5.64 (dd, $J = 15.4, 7.5$ Hz, 1H, 6-H), 5.37 (dd, $J = 15.4, 9.0$ Hz, 1H, 7-H), 3.88-3.94 (m, 1H, 5-H), 3.71 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 9-H), 3.75-3.69 (m, 1H, H-4), 3.38-3.32 (m, 1H, 10-H), 3.31 (s, 3H, 10-OMe), 2.63 (dd, $J = 13.2, 6.2$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.38-2.35 (m, 1H, H-13b), 2.35-2.24 (m, 1H, 8-H), 2.35-2.24 (m, 1H, 2-Ha), 2.24-2.06 (m, 1H, 2-Hb), 2.24-2.06 (m, 1H, 12-H), 2.04-1.94 (m, 1H, 11-Ha), 1.82-1.70 (m, 1H, 3-Ha), 1.70-1.58 (m, 1H, 3-Hb), 1.42 (s, 9H, *t*-Bu), 1.22 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19-1.16 (m, 1H, 11-Hb), 1.11-1.02 (m, 36H, SiCH_2CH_3), 0.97 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.78-0.62 (m, 24H, SiCH_2CH_3) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_6 = 128.06$ ppm): δ 200.6 (t, C-1), 156.7 (s, C-Ar), 152.5 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.1 (s, C-Ar), 135.5 (d, C-7), 130.4 (d, C-6), 115.9 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.8 (d, C-Ar), 81.4 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 78.4 (d, C-5), 76.4 (d, C-4), 76.1 (d, C-9), 57.3 (q, 10-OMe), 45.4 (t, C-13),

41.6 (d, C-8), 40.7 (t, C-2), 35.7 (t, C-11), 31.6 (d, C-12), 28.4 (q, *t*-Bu), 26.1 (t, C-3), 19.6 (q, 12-Me), 18.6 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.4 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 7.0 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.6 (t, SiCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar; $[\alpha]_D^{20} = +4.9^\circ$ ($c = 1.0$, CH₂Cl₂).

Silylierter SNAC-Ester **106**

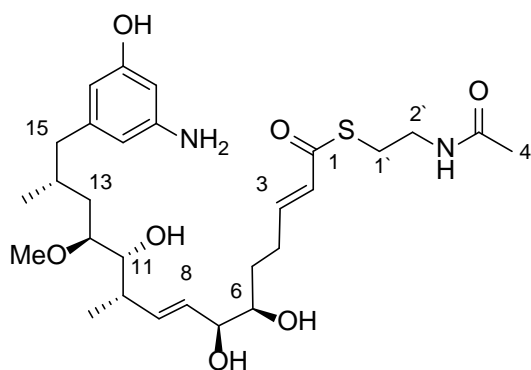


Der Aldehyd **105** (5.0 mg, 5.2 μ mol, 1.0 \AA q.) wurde in CHCl₃ (0.5 mL) gelöst, mit dem Phosphorylid **84** (10.9 mg, 25.9 μ mol, 5.0 \AA q.) versetzt und 2 Tage bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 1:1) gereinigt. Der SNAC-Ester **106** (5.0 mg, 4.5 μ mol, 88 %) wurde als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 1:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 6.96-6.86 (m, 1H, 3-H), 6.80 (s, 1H, Ph), 6.69 (s, 1H, Ph), 6.46 (s, 1H, NH), 6.34 (s, 1H, Ph), 6.10 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H, H-2), 5.96 (s, 1H, NH), 5.48 (dd, $J = 15.5, 8.8$ Hz, 1H, 9-H), 5.37 (dd, $J = 15.5, 6.4$ Hz, 8-H), 3.94 (dd, $J = 6.9, 2.6$ Hz, 1H, 7-H), 3.65-3.59 (m, 1H, 6-H), 3.59-3.52 (m, 1H, 11-H), 3.48-3.40 (m, 2H, 2'-H), 3.25 (s, 3H, 12-OMe), 3.21-3.15 (m, 1H, 12-H), 3.11-3.04 (m, 2H, 1'-H), 2.54 (dd, $J = 13.3, 5.5$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.40-2.30 (m, H, 4-Ha), 2.30-2.22 (m, 1H, 15-Hb), 2.22-2.11 (m, 1H, 10-H), 2.22-2.11 (m, H, 4-Hb), 1.95 (s, 3H, 4'-H), 1.93-1.84 (m, 1H, 14-H), 1.72-1.62 (m, 1H, 13-Ha), 1.71-1.61 (m, 1H, 5-Ha), 1.55-1.49 (m, 1H, 5-Hb), 1.51 (s, 9H, *t*-Bu), 1.10-1.05 (m, 1H, 13-Hb), 1.04 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 10-Me), 1.02-0.89 (m, 36H, SiCH₂CH₃), 0.79 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 14-Me) 0.79-0.53 (m, 24H, SiCH₂CH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm) δ 190.5 (s, C-1), 170.4 (s, C-3'), 156.0 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 146.7 (d, C-3), 143.5 (s, C-Ar), 139.2 (s, C-Ar), 134.9 (d, C-9), 130.3 (d, C-8), 128.4 (d, C-2), 115.7 (d, C-Ar), 112.5 (d, C-Ar), 108.0 (d, C-Ar), 81.1 (d, C-7), 77.8 (d, C-12), 77.4 (s, *t*-Bu), 76.3 (d, C-6), 75.9 (d, C-11), 57.4 (q, 12-OMe), 45.0 (t, C-15), 40.9 (d,

C-10), 40.0 (t, C-2'), 35.8 (t, C-13), 31.7 (t, C-5), 31.2 (d, C-14), 29.9 (t, C-4), 28.9 (t, C-1'), 28.5 (q, *t*-Bu), 23.4 (q, C-4'), 19.2 (q, 14-Me), 18.0 (q, 10-Me), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 76.8 (q, SiCH₂CH₃), 5.3 (t, SiCH₂CH₃), 5.2 (t, SiCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₅₇H₁₀₉N₂O₉Si₄S [M+H]⁺: berechnet: 1109.6931, gefunden: 1109.6938; [α]_D²⁰ = +1.6° (*c* = 0.7, CH₂Cl₂).

SNAC-Ester 38



Methode 1

SNAC-Ester **102** (1.0 mg, 1.5 μmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (1.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (100 μL) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) (H₂O:MeOH = 70:30 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 70:30 → 40:60 {80 min}, 40:60 → 15:85 {5 min}, 15:85 → 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 30.0 min) gereinigt und das Amin **38** (0.5 mg, 0.9 μmol, 59 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

Methode 2

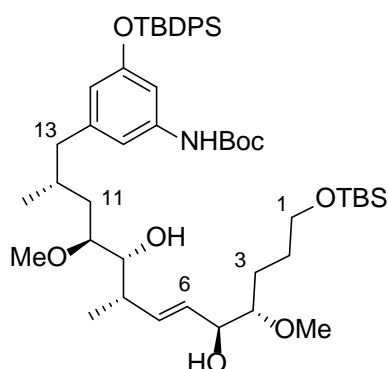
Der SNAC-Ester **106** (7.0 mg, 6.3 μmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (4.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (550 μL) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) (H₂O:MeOH = 70:30 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 70:30 → 40:60 {80 min}, 40:60 →

15:85 {5 min}, 15:85 → 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 30.0$ min) gereinigt und das Amin **38** (3.0 mg, 5.4 μ mol, 86 %) als farbloses Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_4 , MeOH = 3.31 ppm): δ 7.00-6.89 (m, 1H, 3-H), 6.18 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, H-2), 6.09 (s, 1H, Ph), 6.04 (s, 1H, Ph), 6.02 (s, 1H, Ph), 5.62-5.54 (m, 1H, 9-H), 5.62-5.54 (m, 1H, 8-H), 4.00-3.86 (m, 1H, 7-H), 3.56 (dd, $J = 8.4, 3.4$ Hz, 1H, 11-H), 3.50-3.43 (m, 1H, 6-H), 3.35 (s, 3H, 12-OMe), 3.35-3.27 (m, 2H, 2'-H), 3.35-3.27 (m, 1H, 12-H), 3.07-3.02 (m, 2H, 1'-H), 2.47-2.38 (m, 1H, 15-Ha), 2.47-2.38 (m, 1H, 4-Ha), 2.32-2.19 (m, 1H, 10-H), 2.32-2.19 (m, 1H, 15-Hb), 2.32-2.19 (m, 1H, 4-Hb), 1.99-1.91 (m, 1H, 14-H), 1.92 (s, 3H, 4'-H), 1.74-1.62 (m, 1H, 13-Ha), 1.74-1.62 (m, 1H, 5-Ha), 1.61-1.47 (m, 1H, 5-Hb), 1.26-1.16 (m, 1H, 13-Hb), 1.10 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 10-Me), 0.85 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 14-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, MeOD, MeOD = 49.0 ppm): δ 191.0 (s, C-1), 158.9 (s, C-3'), 157.7 (s, C-Ar), 149.4 (d, C-3), 147.3 (s, C-Ar), 144.6 (s, C-Ar), 136.5 (d, C-9), 130.8 (d, C-8), 129.6 (d, C-2), 109.8 (d, C-Ar), 107.8 (d, C-Ar), 101.5 (d, C-Ar), 81.5 (d, C-7), 76.9 (d, C-12), 75.1 (d, C-6), 74.9 (d, C-11), 57.0 (q, 12-OMe), 46.0 (t, C-15), 40.2 (d, C-10), 32.3 (t, C-2'), 31.9 (t, C-13), 29.6 (t, C-5), 28.9 (d, C-14), 29.9 (t, C-4), 28.9 (t, C-1'), 22.5 (q, C-4'), 19.8 (q, 14-Me), 17.8 (q, 10-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 553.2947, gefunden: 553.2947; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.0^\circ$ ($c = 0.1$, MeOH).

6.3.6. Synthese des SNAC-Esters von 8-Des-methyl-*seco*-Progeldanamycin

Alkohol 107

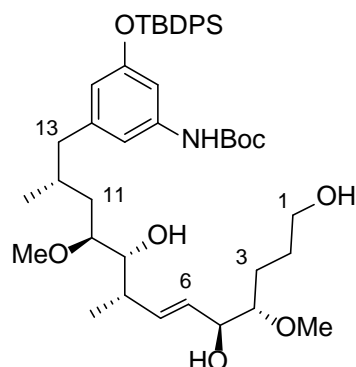


Das Alken **39** (50.0 mg, 0.08 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in (CH_2Cl_2) (3.0 mL) gelöst, mit dem Alken **60** (40.0 mg, 0.13 mmol, 1.7 Äq.) und GRUBBS-HOVEYDA II Katalysator (4.90 mg, 8.00 μ mol, 0.1 Äq.) versetzt und der Reaktionsansatz auf 40 °C erhitzt. Nach jeweils 10 h wurde portionsweise eine weitere Menge des GRUBBS-HOVEYDA II

Katalysators (4.90 mg, 8.00 μmol , 0.1 Äq.) zugegeben. Nach 48 h wurde das Reaktionsgemisch auf RT gekühlt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 2:1), gefolgt von präparativer HPLC (C18-P) ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ = 80:20 {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ = 80:20 \rightarrow 0:100 {85 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ = 0:100 {10 min}, 15 mL/min) (t_R = 83.0 min) gereinigt und der Alkohol **107** (27.0 mg, 30.7 μmol , 39 %, 5S:5R *d.r.* = 6:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.1 (PE:EtOAc = 2:3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , CHCl_3 = 7.26 ppm): δ 7.73-7.67 (m, 4H, SiPh), 7.42-7.33 (m, 6H, SiPh), 6.77 (s, 1H, Ph), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.29 (s, 1H, NH), 6.16 (s, 1H, Ph), 5.60 (dd, J = 15.7, 8.3 Hz, 7-H), 5.48 (dd, J = 15.7, 5.6 Hz, 1H, 6-H), 4.01-3.95 (m, 1H, 5H), 3.63-3.55 (m, 1H, 9-H), 3.63-3.55 (m, 2H, 1-H), 3.41 (s, 3H, 4-OMe), 3.29 (s, 3H, 10-OMe), 3.23-3.15 (m, 1H, 4-H), 3.11-3.06 (m, 1H, 10-H), 2.54 (s, 1H, OH), 2.41 (dd, 1H, J = 13.4, 5.6 Hz, 13-Ha), 2.28-2.20 (m, 1H, 8H), 2.10-2.02 (m, 1H, 13-Hb), 1.80-1.71 (m, 1H, 12-H), 1.78-1.60 (m, 2H, 2-H), 1.78-1.60 (m, 2H, 3-H), 1.78-1.60 (m, 1H, 11-Ha), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 1.12 (d, J = 6.6 Hz, 3H, 8-Me), 1.08 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.02-0.96 (m, 1H, 11-Hb), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.59 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 12-Me), 0.05 (s, 6H, SiMe) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 77.16 ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 143.1 (s, C-Ar), 139.0 (d, C-Ar), 135.6 (s, C-Ar), 134.4 (d, C-7), 133.1 (s, C-Ar), 130.0 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-6), 127.9 (s, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 84.0 (d, C-4), 80.1 (d, C-10), 73.7 (d, C-9), 73.6 (d, C-5), 63.3 (t, C-1), 58.2 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 44.7 (t, C-13), 38.8 (d, C-8), 35.1 (t, C-11), 30.9 (d, C-12), 28.5 (t, C-2), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 26.2 (q, *Sit*-Bu), 26.1 (t, C-3), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 18.8 (q, 12-Me), 18.5 (s, *Sit*-Bu), 17.4 (q, 8-Me), -5.1 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{50}\text{H}_{79}\text{NO}_8\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 900.5242, gefunden: 900.5239.

Polyol 108

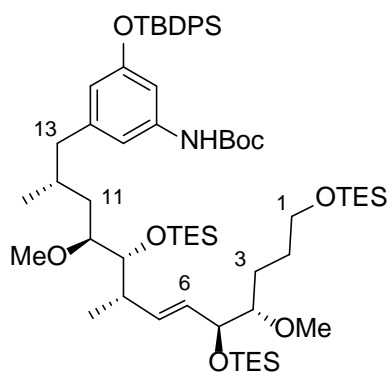


Der Alkohol **107** (15.0 mg, 17.1 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (3.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MeOH (2.0 mL) und CSA (2.00 mg, 5.10 μmol , 0.3 $\text{\AA}q.$) versetzt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 \rightarrow 1:1) gereinigt und der Alkohol **108** (12.0 mg, 15.7 μmol , 92 %, 5S:5R *d.r.* = 6:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.1 (PE:EtOAc = 2:3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.73-7.67 (m, 4H, SiPh), 7.43-7.32 (m, 6H, SiPh), 6.82 (s, 1H, NH), 6.59 (s, 1H, Ph), 6.35 (s, 1H, Ph), 6.16 (s, 1H, Ph), 5.61 (dd, $J = 15.8, 7.8$ Hz, 1H, 7-H), 5.45 (dd, $J = 15.8, 6.0$ Hz, 6-H), 4.04-3.97 (m, 1H, 5-H), 3.68-3.61 (m, 2H, 1-H), 3.57 (dd, 1H, $J = 7.9, 3.5$ Hz, 9-H), 3.43 (s, 3H, 4-OMe), 3.29 (s, 3H, 10-OMe), 3.22-3.15 (m, 1H, 10-H), 3.13-3.08 (m, 1H, 4-H), 2.52 (s, 1H, OH), 2.43 (dd, $J = 13.0, 5.8$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.30-2.20 (m, 1H, 8H), 2.07 (dd, 1H, $J = 13.1, 8.8$ Hz, 13-Hb), 1.80-1.58 (m, 1H, 12-H), 1.80-1.58 (m, 2H, 2-H), 1.80-1.58 (m, 2H, 3-H), 1.69-1.55 (m, 1H, 11-Ha), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.30-1.20 (m, 1H, 11-Hb), 1.11 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 8-Me), 1.08 (s, 9H, *Si*-t-Bu), 0.60 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 12-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 143.1 (s, C-Ar), 139.0 (d, C-Ar), 135.7 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-7), 133.1 (d, C-Ar), 129.9 (s, C-Ar), 129.6 (d, C-6), 129.0 (s, C-Ar), 127.9 (s, C-Ar), 115.7 (d, C-19), 112.3 (d, C-15), 107.6 (d, C-17), 84.1 (d, C-4), 80.2 (d, C-10), 79.8 (s, *t*-Bu), 73.9 (d, C-5), 73.8 (d, C-9), 62.9 (t, C-1), 58.3 (q, 4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 44.6 (t, C-13), 39.0 (d, C-8), 35.0 (t, C-11), 31.0 (d, C-12), 28.5 (q, *t*-Bu), 28.0 (t,

C-3), 26.6 (q, *Sit*-Bu), 26.5 (t, C-2), 19.6 (q, 12-Me), 18.8 (s, *Sit*-Bu), 17.3 (q, 8-Me) ppm;
HRMS (ESI) m/z für $C_{44}H_{65}NO_8SiNa$ $[M+Na]^+$: berechnet: 786.4377, gefunden: 786.4372.

Silyliertes Polyol **109**

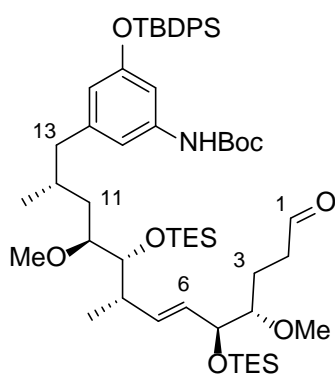


Der Alkohol **108** (30.0 mg, 39.0 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (15 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (23.0 μL , 195 μmol , 5.0 Äq.) und anschließend mit TESOTf (30.0 μL , 137 μmol , 3.5 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 20:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **109** (35.0 mg, 31.6 μmol , 81 %, 5*S*:5*R* *d.r.* = 6:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{H}$ = 7.16 ppm): δ 7.89-7.83 (m, 4H, SiPh), 7.27 (s, 1H, Ph), 7.23-7.19 (m, 6H, SiPh), 6.59 (s, 1H, Ph), 6.48 (s, 1H, Ph), 5.89 (s, 1H, NH), 5.66 (dd, 1H, J = 15.5, 6.3 Hz, 7-H), 5.56 (dd, 1H, J = 15.5, 8.6 Hz, 6-H), 4.38-4.34 (m, 1H, 5-H), 3.73-3.63 (m, 1H, 9-H), 3.73-3.63 (m, 2H, 1-H), 3.31 (s, 3H, 4-OMe), 3.35-3.30 (m, 1H, 10-H), 3.25 (s, 3H, 10-OMe), 3.22-3.17 (m, 1H, H-4), 2.46 (dd, J = 13.0, 5.7 Hz, 1H, 13-Ha), 2.36-2.27 (m, 1H, 8-H), 2.12 (dd, 1H, J = 13.0, 9.0 Hz, 13-Hb), 2.05-1.95 (m, 1H, 12-H), 1.93-1.84 (m, 1H, 2-Ha), 1.93-1.84 (m, 1H, 11-Ha), 1.79-1.68 (m, 1H, 3-Ha), 1.79-1.68 (m, 1H, 2-Hb), 1.64-1.50 (m, 1H, 3-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.25 (d, J = 6.7 Hz, 3H, 8-Me), 1.20 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.15-1.05 (m, 1H, 11-Hb), 1.12-1.03 (m, 27H, SiCH_2CH_3), 0.79-0.60 (m, 18H, SiCH_2CH_3), 0.79-0.60 (m, 3H, 12-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, C_6D_6 , C_6D_6 = 128.06 ppm) δ 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.5 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar),

136.0 (s, C-Ar), 134.7 (d, C-7), 133.7 (d, C-Ar), 130.2 (d, C-6), 130.1 (s, C-Ar), 115.7 (d, C-Ar), 112.4 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 85.4 (d, C-4), 81.4 (d, C-10), 79.5 (s, *t*-Bu), 76.5 (d, C-9), 74.1 (d, C-5), 63.4 (t, C-1), 58.3 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 45.2 (t, C-13), 41.2 (d, C-8), 35.9 (t, C-11), 31.6 (d, C-12), 30.2 (t, C-2), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 26.6 (t, C-3), 19.8 (s, *Sit*-Bu), 19.3 (q, 12-Me), 18.8 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.3 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.5 (t, SiCH₂CH₃), 4.9 (t, SiCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

TES-geschützter Aldehyd **110**

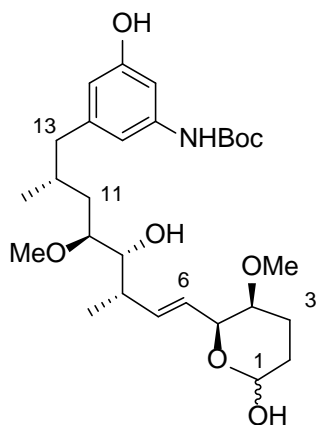


DMSO (3.9 μ L, 54 μ mol, 3.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH₂Cl₂ (4.0 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit Oxalylchlorid (3.1 μ L, 36 μ mol, 2.0 Äq.) versetzt. Nach 10 min wurde der Alkohol **109** (20 mg, 18 μ mol, 1.0 Äq.) in CH₂Cl₂ (0.6 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch gegeben. Nach weiteren 10 min wurde der Reaktionsansatz auf -60 °C erwärmt und für 1.5 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch wieder auf -78 °C gekühlt, mit DIPEA (21 μ L, 126 μ mol, 7.0 Äq.) versetzt und auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7) beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und der Aldehyd **110** (13 mg, 13 μ mol, 73 %, 5*S*:5*R* *d.r.* = 6:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 9:1).

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆D₅H = 7.16 ppm): δ 9.44 (s, 1H, 1-H), 7.90-7.81 (m, 4H, SiPh), 7.24 (s, 1H, Ph), 7.22-7.19 (m, 6H, SiPh), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.48 (s, 1H, Ph), 5.94 (s, 1H, NH), 5.51-5.46 (m, 1H, 7-H), 5.51-5.46 (m, 1H, 6-H), 4.25-4.20 (m, 1H, 5-H), 3.67 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, 9-H), 3.29-3.25 (m, 1H, 10-H), 3.23 (s, 3H, 4-OMe), 3.20 (s, 3H, 10-OMe), 3.07-3.00 (m,

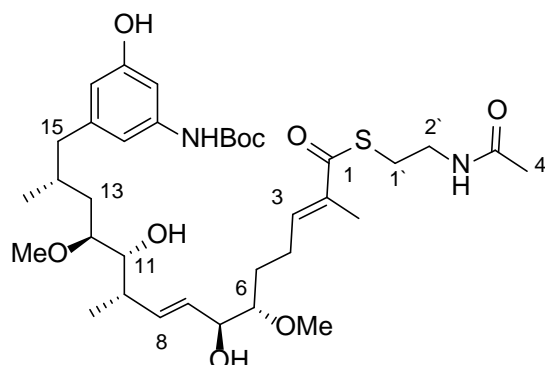
¹H, H-4), 2.49 (dd, $J = 13.2, 5.6$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.34-2.23 (m, 1H, 8-H), 2.21-2.06 (m, 2H, 2-H), 2.21-2.06 (m, 1H, H-13b), 2.06-1.93 (m, 1H, 12-H), 1.93-1.78 (m, 1H, 3-Ha), 1.93-1.78 (m, 1H, 11-Ha), 1.66-1.52 (m, 1H, 3-Hb), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 1.22 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 8-Me), 1.19-1.12 (m, 1H, 11-Hb), 1.19 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.12-1.04 (m, 18H, SiCH₂CH₃), 0.79-0.64 (m, 12H, SiCH₂CH₃), 0.79-0.71 (m, 3H, 12-Me) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆, C₆D₆ = 128.06 ppm) δ 200.6 (t, C-1), 156.4 (s, C-Ar), 152.3 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 140.1 (d, C-Ar), 136.0 (s, C-Ar), 135.3 (d, C-7), 133.6 (d, C-Ar), 130.1 (s, C-Ar), 129.8 (d, C-6), 115.7 (d, C-Ar), 112.4 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 84.3 (d, C-4), 81.4 (d, C-10), 79.6 (s, *t*-Bu), 76.4 (d, C-9), 74.4 (d, C-5), 58.4 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 45.1 (t, C-13), 41.3 (d, C-8), 40.8 (t, C-2), 35.9 (t, C-11), 31.6 (d, C-12), 28.3 (q, *t*-Bu), 26.8 (q, *Sit*-Bu), 23.3 (t, C-3), 19.8 (s, *Sit*-Bu), 19.3 (q, 12-Me), 18.8 (q, 8-Me), 7.5 (q, SiCH₂CH₃), 7.2 (q, SiCH₂CH₃), 5.7 (t, SiCH₂CH₃), 5.4 (t, SiCH₂CH₃) ppm; HRMS (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Hemiacetal **111**



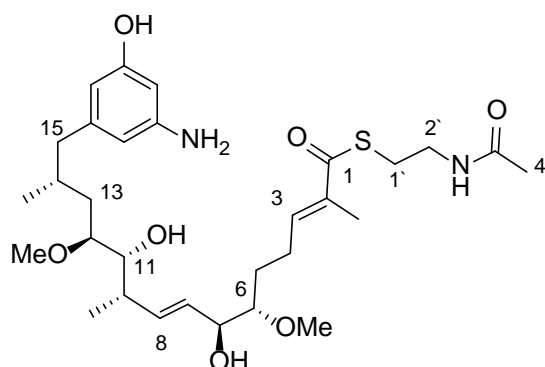
Der Aldehyd **110** (21 mg, 21 μmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (8.0 mL) gelöst und mit Pyridin (1.0 mL) und HF*Py (700 μL) versetzt. Nach 4 Tagen wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) (H₂O:MeOH = 90:10 {5 min}, Gradient H₂O:MeOH = 90:10 → 0:100 {55 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 54.6$ min) gereinigt und das Lactol **111** (10 mg, 19 μmol, 91 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 1:1). Die Verbindung **111** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

HRMS (ESI) m/z für C₂₈H₄₅NO₈Na [M+Na]⁺: berechnet: 546.3043, gefunden: 546.3045.

N-Boc SNAC-Ester 112

Das Lactol **111** (5.0 mg, 9.6 μmol , 1.0 Äq.) wurde in CHCl_3 (0.2 mL) gelöst, mit dem Phosphorylid **113** (21 mg, 49 μmol , 5.0 Äq.) versetzt und über 5 Tage bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (EtOAc), gefolgt von präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 70:30$ {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 70:30 \rightarrow 40:60$ {45 min}, $40:60 \rightarrow 15:85$ {40 min}, $15:85 \rightarrow 0:100$ {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 50.0$ min) gereinigt. Der SNAC-Ester **112** (3.5 mg, 5.1 μmol , 54 %) wurde als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.1$ (EtOAc).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 6.83 (s, 1H, Ph), 6.72 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, 3-H), 6.64 (s, 1H, Ph), 6.49 (s, 1H, OH), 6.41 (s, 1H, NH), 6.34 (s, 1H, Ph), 5.92 (s, 1H, NH), 5.62 (dd, $J = 15.5, 8.8$ Hz, 1H, 9-H), 5.46 (dd, $J = 15.5, 6.4$ Hz, 8-H), 4.03-3.99 (m, 1H, 7-H), 3.65-3.60 (m, 1H, 11-H), 3.51-3.41 (m, 2H, 2'-H), 3.44 (s, 3H, 6-OMe), 3.33 (s, 3H, 12-OMe), 3.26-3.20 (m, 1H, 12-H), 3.14-3.09 (m, 1H, 6-H), 3.07-3.00 (m, 2H, 1'-H), 2.58 (dd, $J = 13.3, 5.5$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.45 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, 7-OH), 2.35-2.25 (m, 1H, 10-H), 2.35-2.25 (m, 2H, 4-H), 2.35-2.25 (m, 1H, 15-Hb), 2.14 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 11-OH), 1.98 (s, 3H, 4'-H), 1.97-1.90 (m, 1H, 14-H), 1.88 (s, 3H, 2-Me), 1.76-1.59 (m, 1H, 13-Ha), 1.76-1.59 (m, 1H, 5-Ha), 1.76-1.59 (m, 1H, 5-Hb), 1.50 (s, 9H, *t*-Bu), 1.28-1.17 (m, 1H, 13-Hb), 1.14 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 10-Me), 0.81 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 14-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 194.5 (s, C-1), 170.9 (s, C-3'), 156.8 (s, C-Ar), 152.8 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 141.3 (d, C-3), 139.5 (s, C-Ar), 136.3 (d, C-2), 135.8 (d, C-9), 129.6 (d, C-8), 111.4 (d, C-Ar), 111.2 (d, C-Ar), 103.5 (d, C-Ar), 83.4 (d, C-6), 80.3 (d, C-12), 73.9 (d, C-7), 73.6 (d, C-11), 58.6 (q, 6-OMe), 57.2 (q, 12-OMe), 44.6 (t, C-15), 40.0 (t, C-2'), 39.1 (d, C-10), 34.8 (t, C-13), 31.0 (d, C-14), 28.9 (t, C-1'), 28.5 (q, *t*-Bu), 28.5 (t, C-5), 24.4 (t, C-4), 23.4 (q, C-4'), 19.3 (q, 14-Me), 17.8 (q, 10-Me), 12.7 (q, 2-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{35}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_9\text{SNa} [\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 703.3604, gefunden: 703.3610.

SNAC-Ester **36**

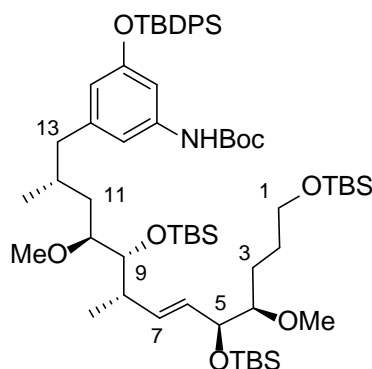
Der SNAC-Ester **112** (3.0 mg, 4.4 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (3.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TFA (350.0 μl) versetzt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 70:30$ {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 70:30 \rightarrow 40:60$ {80 min}, $40:60 \rightarrow 15:85$ {5 min}, $15:85 \rightarrow 0:100$ {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 55.6$ min) gereinigt und der SNAC-Ester **36** (2.0 mg, 3.4 μmol , 78 %) als farbloses Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 6.75-6.70 (m, 1H, 3-H), 6.23 (s, 1H, OH), 6.07 (s, 1H, Ph), 6.07 (s, 1H, Ph), 6.04 (s, 1H, Ph), 5.89 (s, 1H, NH), 5.62 (dd, $J = 15.7$, 8.2 Hz, 1H, 9-H), 5.48 (dd, $J = 15.7$, 6.5 Hz, 8-H), 4.05-4.00 (m, 1H, 7-H), 3.66-3.61 (m, 1H, 11-H), 3.49-3.46 (m, 2H, 2'-H), 3.44 (s, 3H, 6-OMe), 3.34 (s, 3H, 12-OMe), 3.26-3.21 (m, 1H, 12-H), 3.15-3.09 (m, 1H, 6-H), 3.09-3.06 (m, 2H, 1'-H), 2.53 (dd, $J = 13.2$, 5.8 Hz, 1H, 15-Ha), 2.45 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, 7-OH), 2.35-2.26 (m, 1H, 10-H), 2.35-2.26 (m, 2H, 4-H), 2.19 (dd, $J = 13.2$, 8.2 Hz, 1H, 15-Hb), 2.12 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 11-OH), 1.97 (s, 3H, 4'-H), 1.98-1.88 (m, 1H, 14-H), 1.89 (s, 3H, 2-Me), 1.75-1.58 (m, 1H, 13-Ha), 1.73-1.62 (m, 2H, 5-H), 1.26-1.17 (m, 1H, 13-Hb), 1.14 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 10-Me), 0.82 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 14-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 194.4 (s, C-1), 170.9 (s, C-3'), 157.2 (s, C-Ar), 147.7 (s, C-Ar), 143.8 (d, C-3), 141.3 (s, C-Ar), 136.4 (s, C-2), 135.8 (d, C-9), 129.6 (d, C-8), 108.7 (d, C-Ar), 107.1 (d, C-Ar), 100.2 (d, C-Ar), 83.4 (d, C-6), 80.4 (d, C-12), 73.9 (d, C-7), 73.6 (d, C-11), 58.6 (q, 6-OMe), 57.2 (q, 12-OMe), 44.7 (t, C-15), 40.0 (t, C-2'), 39.0 (d, C-10), 34.9 (t, C-13), 30.9 (d, C-14), 28.9 (t, C-1'), 28.5 (t, C-5), 24.4 (t, C-4), 23.4 (q, C-4'), 19.4 (q, 14-Me), 17.7 (q, 10-Me), 12.7 (q, 2-Me) ppm; **HRMS** (ESI)

m/z für $C_{30}H_{49}N_2O_7S$ $[M+H]^+$: berechnet: 581.3260, gefunden: 581.3262; $[\alpha]_D^{20} = -9.0^\circ$ ($c = 0.6$, MeOH).

6.4. Synthese des Progeldanamycin-Derivates

Silyliertes Polyol 80a

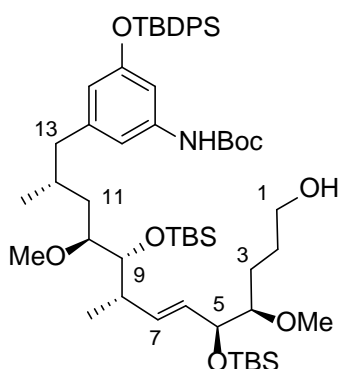


Der Alkohol **73a** (24.0 mg, 27.3 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst, auf -78°C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (15.6 μL , 137 μmol , 5.0 Äq.) und anschließend mit TBSOTf (19.0 μL , 82.0 μmol , 3.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 100:1 \rightarrow 20:1) gereinigt und der geschützte Alkohol **80a** (28.0 mg, 25.3 μmol , 93 %, 5*S*:5*R* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.5$ (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.74-7.68 (m, 4H, SiPh), 7.42-7.31 (m, 6H, SiPh), 6.71 (s, 1H, Ph), 6.68 (s, 1H, Ph), 6.24 (s, 1H, NH), 6.17 (s, 1H, Ph), 5.47-5.37 (m, 1H, 7-H), 5.47-5.37 (m, 1H, 6-H), 4.10-4.03 (m, 1H, 5-H), 3.65-3.47 (m, 1H, 9-H), 3.65-3.47 (m, 2H, 1-H), 3.38 (s, 3H, 4-OMe), 3.21 (s, 3H, 10-OMe), 3.15-3.09 (m, 1H, 10-H), 3.09-3.00 (m, 1H, H-4), 2.40 (dd, $J = 13.2, 5.8$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.23-2.12 (m, 1H, 8-H), 2.05-2.00 (m, 1H, 13-Hb), 1.76-1.60 (m, 1H, 12-H), 1.76-1.60 (m, 1H, 2-Ha), 1.58-1.53 (m, 1H, 11-Ha), 1.56-1.49 (m, 1H, 2-Hb), 1.48-1.36 (m, 1H, 3-Ha), 1.25-1.17 (m, 1H, 3-Hb), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.07-1.03 (m, 1H, 11-Hb), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 8-Me), 0.90 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.86 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.58 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 12-Me), 0.07

(s, 3H, SiMe), 0.06 (s, 9H, SiMe), 0.04 (s, 6H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.6 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 138.9 (s, C-Ar), 135.6 (d, C-Ar), 134.6 (d, C-7), 133.2 (s, C-Ar), 130.5 (d, C-6), 129.8 (s, C-Ar), 127.8 (d, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.5 (d, C-Ar), 85.3 (d, C-4), 81.3 (d, C-10), 80.3 (s, *t*-Bu), 75.3 (d, C-9), 73.7 (d, C-5), 63.5 (t, C-1), 58.5 (q, 4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 44.7 (t, C-13), 40.7 (d, C-8), 36.0 (t, C-11), 31.2 (d, C-12), 29.2 (t, C-2), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.7 (q, *Sit*-Bu), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 26.1 (q, *Sit*-Bu), 25.8 (t, C-3), 19.6 (q, 12-Me), 19.0 (s, *Sit*-Bu), 18.6 (q, 8-Me), 18.3 (s, *Sit*-Bu), -3.8 (q, SiMe), -4.0 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe), -5.1 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Alkohol 81a

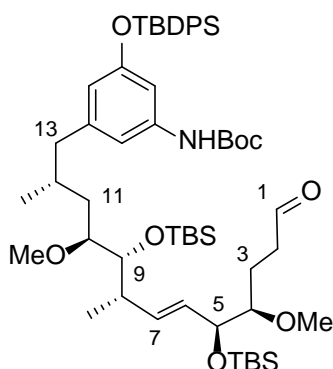


Der Alkohol **80a** (10 mg, 9.0 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (2.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit MeOH (1.3 mL) und CSA (0.6 mg, 2.7 μmol , 0.3 $\text{\AA}q.$) versetzt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 \rightarrow 5:1) gereinigt und der Alkohol **81a** (8.0 mg, 8.1 μmol , 89 %, 5*S*:5*R* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.1 (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.74-7.67 (m, 4H, SiPh), 7.45-7.30 (m, 6H, SiPh), 6.73 (s, 1H, Ph), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.30 (s, 1H, NH), 6.17 (s, 1H, Ph), 5.51-5.35 (m, 1H, 7-H), 5.51-5.35 (m, 1H, 6-H), 4.17-4.08 (m, 1H, 5-H), 3.67-3.57 (m, 2H, 1-H), 3.52 (dd, $J = 8.7, 1.3$ Hz, 1H, 9-H), 3.40 (s, 3H, 4-OMe), 3.21 (s, 3H, 10-OMe), 3.19-3.10 (m, 1H, 10-H), 3.10-3.03 (m, 1H, H-4), 2.42 (dd, $J = 13.3, 5.6$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.23-2.15 (m, 1H, 8-H), 2.09-2.02 (m, 1H, 13-Hb), 1.74-1.60 (m, 1H, 12-H), 1.74-1.60 (m, 2H, 2-H), 1.60-1.46

(m, 2H, 3-H), 1.60-1.46 (m, 1H, 11-Ha), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.03 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 8-Me), 1.03-0.89 (m, 1H, 11-Hb), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.86 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.58 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.06 (s, 3H, SiMe), 0.03 (s, 6H, SiMe), 0.02 (s, 3H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 155.9 (s, C-Ar), 152.7 (s, NHCOO), 143.4 (s, C-Ar), 138.9 (s, C-Ar), 135.7 (d, C-Ar), 134.8 (d, C-7), 133.2 (s, C-Ar), 130.3 (d, C-6), 129.8 (s, C-Ar), 127.8 (d, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.5 (d, C-Ar), 85.5 (d, C-4), 81.4 (d, C-10), 80.3 (s, *t*-Bu), 75.9 (d, C-9), 74.9 (d, C-5), 63.1 (t, C-1), 58.4 (q, 4-OMe), 57.1 (q, 10-OMe), 44.7 (t, C-13), 40.9 (d, C-8), 36.1 (t, C-11), 31.3 (d, C-12), 29.4 (t, C-2), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.8 (t, C-3), 26.7 (q, *Sit*-Bu), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 26.0 (q, *Sit*-Bu), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 19.0 (q, 12-Me), 18.6 (s, *Sit*-Bu), 18.3 (q, 8-Me), -3.8 (q, SiMe), -4.0 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Aldehyd 82a

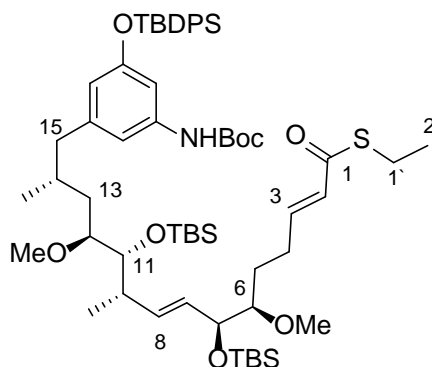


Der Alkohol **81a** (17.0 mg, 17.1 μmol , 1.0 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (8.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaHCO_3 (1.70 mg, 20.5 μmol , 1.2 Äq.) und anschließend mit DMP-Reagenz (8.70 mg, 20.5 μmol , 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen Na_2SO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 50:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und der Aldehyd **82a** (16.0 mg, 16.2 μmol , 94 %, 5*S*:5*R* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 9.69 (s, 1H, 1-H), 7.77-7.66 (m, 4H, SiPh), 7.45-7.31 (m, 6H, SiPh), 6.73 (s, 1H, Ph), 6.65 (s, 1H, Ph), 6.24 (s, 1H, NH), 6.17 (s, 1H, Ph), 5.60-5.30 (m, 1H, 7-H), 5.60-5.30 (m, 1H, 6-H), 4.17-4.10 (m, 1H, 5-H), 3.53 (dd,

$J = 8.7, 1.4$ Hz, 1H, 9-H), 3.32 (s, 3H, 4-OMe), 3.22 (s, 3H, 10-OMe), 3.16-3.10 (m, 1H, 10-H), 3.05-2.97 (m, 1H, H-4), 2.50-2.43 (m, 2H, 2-H), 2.40 (dd, $J = 13.3, 5.8$ Hz, 1H, 13-Ha), 2.24-2.10 (m, 1H, 8-H), 2.10-2.01 (m, 1H, H-13b), 1.87-1.75 (m, 2H, 3-Ha), 1.74-1.63 (m, 1H, 12-H), 1.63-1.50 (m, 1H, 11-Ha), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.04 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 8-Me), 1.05-1.00 (m, 1H, 11-Hb), 0.90 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.86 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.57 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 12-Me), 0.06 (s, 3H, SiMe), 0.03 (s, 6H, SiMe), 0.02 (s, 3H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 202.6 (d, C-1), 155.9 (s, C-Ar), 152.6 (s, NHCOO), 143.3 (s, C-Ar), 139.0 (d, C-Ar), 135.7 (s, C-Ar), 134.9 (d, C-7), 133.2 (d, C-Ar), 130.1 (s, C-Ar), 129.9 (d, C-6), 127.8 (d, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 84.5 (d, C-4), 81.3 (d, C-10), 80.3 (s, *t*-Bu), 75.9 (d, C-9), 74.5 (d, C-5), 58.3 (q, 4-OMe), 57.2 (q, 10-OMe), 44.7 (t, C-13), 40.8 (d, C-8), 40.7 (t, C-2), 36.1 (t, C-11), 31.2 (d, C-12), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.7 (q, *Sit*-Bu), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 26.0 (q, *Sit*-Bu), 22.9 (t, C-3), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 19.0 (q, 12-Me), 18.6 (s, *Sit*-Bu), 18.3 (q, 8-Me), -3.8 (q, SiMe), -4.0 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Silylierter Thioester **127**

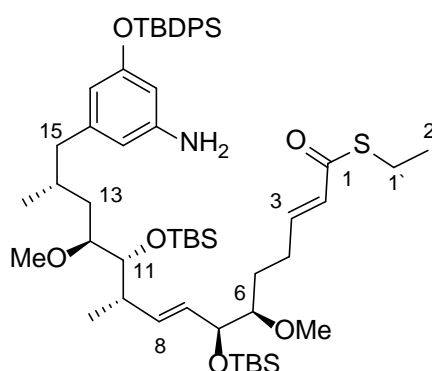


Der Aldehyd **82a** (14.0 mg, 14.1 μmol , 1.0 $\text{\AA}q.$) wurde in CHCl_3 (2.5 mL) gelöst und mit dem Phosphorylid **129** (6.20 mg, 16.9 μmol , 1.2 $\text{\AA}q.$) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 40 °C erwärmt und für weitere 24 h bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 20:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und der Thioester **127** (13.0 mg, 12.1 μmol , 86 %, 7*S*:7*R* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.77-7.66 (m, 4H, SiPh), 7.45-7.29 (m, 6H, SiPh), 6.87 (ddd, $J = 15.5, 9.3, 4.8$ Hz, 1H, 3-H), 6.72 (s, 1H, Ph), 6.68 (s, 1H, Ph), 6.26 (s, 1H, NH), 6.16 (s, 1H, Ph), 6.09 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, H-2), 5.54-5.31 (m, 1H, 9-H), 5.54-

5.31 (m, 1H, 8-H), 4.12-4.08 (m, 1H, 7-H), 3.52 (dd, $J = 8.6, 1.3$ Hz, 1H, 11-H), 3.37 (s, 3H, 6-OMe), 3.21 (s, 3H, 12-OMe), 3.16-3.10 (m, 1H, 12-H), 3.05-2.97 (m, 1H, H-6), 2.97-2.87 (m, 2H, SCH_2CH_3), 2.39 (dd, $J = 13.3, 5.7$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.35-2.26 (m, 1H, 4-Ha), 2.26-2.13 (m, 1H, 10-H), 2.26-2.13 (m, 1H, 4-Hb), 2.13-1.97 (m, 1H, H-15b), 1.77-1.60 (m, 1H, 14-H), 1.64-1.43 (m, 2H, 5-Ha), 1.63-1.50 (m, 1H, 13-Ha), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu), 1.28-1.25 (m, 3H, SCH_2CH_3), 1.08 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.04 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 10-Me), 1.05-1.00 (m, 1H, 13-Hb), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.86 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.58 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 14-Me), 0.05 (s, 3H, SiMe), 0.03 (s, 6H, SiMe), 0.02 (s, 3H, SiMe) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm) δ 190.3 (d, C-1), 155.9 (s, C-Ar), 152.6 (s, NHC(O)), 145.3 (d, C-3), 143.3 (s, C-Ar), 139.0 (s, C-Ar), 135.7 (d, C-Ar), 135.1 (d, C-9), 133.2 (s, C-Ar), 130.2 (d, C-8), 129.9 (d, C-Ar), 129.0 (d, C-2), 127.8 (d, C-Ar), 115.6 (d, C-Ar), 112.3 (d, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 84.4 (d, C-6), 81.3 (d, C-12), 80.3 (s, *t*-Bu), 75.9 (d, C-11), 74.7 (d, C-7), 58.5 (q, 6-OMe), 57.2 (q, 12-OMe), 44.7 (t, C-15), 40.8 (d, C-10), 36.0 (t, C-13), 31.2 (d, C-14), 28.6 (t, C-4), 28.6 (t, C-5), 28.5 (q, *t*-Bu), 26.7 (q, *Sit*-Bu), 26.3 (q, *Sit*-Bu), 26.0 (q, *Sit*-Bu), 23.2 (t, SCH_2CH_3), 19.6 (s, *Sit*-Bu), 19.0 (q, 14-Me), 18.6 (s, *Sit*-Bu), 18.3 (q, 10-Me), 15.0 (q, SCH_2CH_3), -3.8 (q, SiMe), -4.0 (q, SiMe), -4.6 (q, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Silylierter Thioester 126



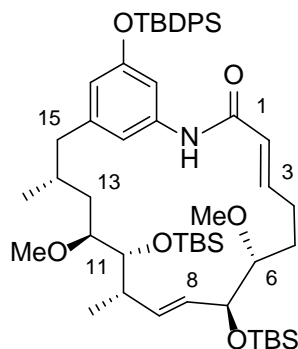
Der Thioester **127** (11.0 mg, 10.2 μmol , 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in CH_2Cl_2 (6.0 mL) gelöst, auf 0°C gekühlt und mit TFA (400 μL) versetzt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie

(PE:EtOAc = 10:1 → 3:1) gereinigt und das Amin **126** (4.00 mg, 4.10 μ mol, 40 %, 7S:7R *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.2 (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , CHCl_3 = 7.26 ppm): δ 7.79-7.66 (m, 4H, SiPh), 7.45-7.29 (m, 6H, SiPh), 6.95-6.79 (m, 1H, 3-H), 6.09 (d, J = 15.4 Hz, 1H, H-2), 6.05 (s, 1H, Ph), 6.01 (s, 1H, Ph), 5.94 (s, 1H, Ph), 5.54-5.34 (m, 1H, 9-H), 5.54-5.34 (m, 1H, 8-H), 4.19-4.02 (m, 1H, 7-H), 3.59-3.53 (m, 1H, 11-H), 3.37 (s, 3H, 6-OMe), 3.23 (s, 3H, 12-OMe), 3.20-3.10 (m, 1H, 12-H), 3.05-2.98 (m, 1H, H-6), 2.98-2.93 (m, 2H, SCH_2CH_3), 2.40 (dd, J = 13.3, 5.7 Hz, 1H, 15-Ha), 2.35-2.26 (m, 1H, 4-Ha), 2.26-2.13 (m, 1H, 10-H), 2.26-2.13 (m, 1H, 4-Hb), 2.07-1.97 (m, 1H, H-15b), 1.80-1.70 (m, 1H, 14-H), 1.65-1.43 (m, 2H, 5-Ha), 1.65-1.43 (m, 1H, 13-Ha), 1.31-1.22 (m, 3H, SCH_2CH_3), 1.07 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.04 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 10-Me), 1.05-1.00 (m, 1H, 13-Hb), 0.89 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.88 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.62 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 14-Me), 0.07 (s, 3H, SiMe), 0.05 (s, 6H, SiMe), 0.02 (s, 3H, SiMe) ppm; **HRMS** (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Das Amin **126** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

Silyliertes Progeldanamycin-Derivat **128**



Der Thioester **126** (4.0 mg, 4.1 μ mol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (6.0 mL) gelöst und mit 2,6-Lutidin (40 μ L) und Silbernitrat (11 mg, 62 μ mol, 15 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 32 h bei 55 °C gerührt und anschließend auf RT gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen CuSO_4 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 3:1) gereinigt und das Progeldanamycin-Derivat **128**

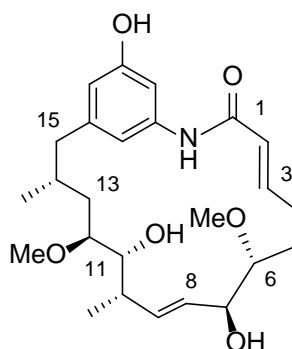
(2.0 mg, 2.2 μmol , 53 %, 7*S*:7*R* *d.r.* = 4:1) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.2 (PE:EtOAc = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , CHCl_3 = 7.26 ppm): δ 7.77-7.64 (m, 4H, SiPh), 7.47-7.34 (m, 6H, SiPh), 6.97-6.84 (m, 1H, 3-H), 6.47 (s, 1H, Ph), 6.40 (s, 1H, Ph), 6.28 (s, 1H, Ph), 5.85 (d, J = 15.4 Hz, 1H, H-2), 5.43 (dd, J = 15.3, 8.5 Hz, 1H, 8-H), 5.30 (dd, J = 15.3, 5.9 Hz, 1H, 9-H), 4.37-4.30 (m, 1H, 7-H), 3.58-3.53 (m, 1H, 11-H), 3.42 (s, 3H, 6-OMe), 3.28 (s, 3H, 12-OMe), 3.20-3.12 (m, 1H, 12-H), 3.12-3.07 (m, 1H, H-6), 2.91-2.81 (m, 1H, 15-Ha), 2.28-2.15 (m, 1H, 10-H), 2.15-2.00 (m, 2H, 4-H), 2.15-2.00 (m, 1H, H-15b), 1.76-1.70 (m, 1H, 14-H), 1.65-1.43 (m, 2H, 5-H), 1.65-1.43 (m, 1H, 13-Ha), 1.13 (s, 9H, *Sit*-Bu), 1.09-1.00 (m, 1H, 13-Hb), 1.09 (d, J = 6.4 Hz, 3H, 10-Me), 0.92 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.90 (s, 9H, *Sit*-Bu), 0.56 (d, J = 6.2 Hz, 3H, 14-Me), 0.09 (s, 3H, SiMe), 0.06 (s, 6H, SiMe), 0.04 (s, 3H, SiMe) ppm;

HRMS (ESI): Substanz massenspektrometrisch nicht nachweisbar.

Das Progeldanamycin-Derivat **128** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

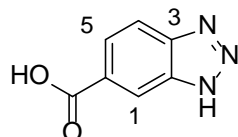
Progeldanamycin-Derivat 125



Das Progeldanamycin-Derivat **128** (2.0 mg, 2.2 μmol , 1.0 $\ddot{\text{A}}\text{q.}$) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (2.0 mL) gelöst und mit Pyridin (500 μL) und HF*Py (500 μL) versetzt. Nach 7 Tagen wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit CuSO_4 -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-ISIS-SP) ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ = 90:10 {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ = 90:10 \rightarrow 40:60 {65 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ = 40:60 \rightarrow 0:100 {20 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (t_R = 36.5 min) gereinigt. Es wurden Lactam **125** (0.6 mg, 1.3 μmol , 60 %) und Lactam **125b** (0.2 mg, 0.5 μmol , 20 %) als farblose Öle erhalten.

125:

¹H-NMR (500 MHz, MeOD, MeOD = 3.31 ppm): δ 6.89-6.80 (m, 1H, 3-H), 6.49 (s, 1H, Ph), 6.42 (s, 1H, Ph), 6.37 (s, 1H, Ph), 6.00 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H, H-2), 5.52-5.40 (m, 1H, 8-H), 5.52-5.40 (m, 1H, 9-H), 4.23 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, 7-H), 3.65-3.54 (m, 1H, 11-H), 3.41 (s, 3H, 6-OMe), 3.34 (s, 3H, 12-OMe), 3.34-3.20 (m, 1H, 12-H), 3.13-3.05 (m, 1H, H-6), 2.97-2.81 (m, 1H, 15-Ha), 2.46-2.34 (m, 1H, 4-Ha), 2.24-2.15 (m, 1H, 10-H), 2.15-2.10 (m, 1H, H-15b), 2.10-1.96 (m, 1H, 4-Hb), 1.80-1.70 (m, 1H, 14-H), 1.73-1.59 (m, 1H, 5-Ha), 1.73-1.59 (m, 1H, 13-Ha), 1.48-1.36 (m, 1H, 5-Hb), 1.27-1.19 (m, 1H, 13-Hb), 1.12 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 10-Me), 0.76 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, 14-Me); **¹³C-NMR** (125 MHz, MeOD, MeOD = 49.0 ppm): δ 166.4 (d, C-1), 159.4 (s, C-Ar), 146.5 (d, C-3), 139.4 (s, C-Ar), 137.2 (d, C-9), 133.8 (s, C-Ar), 130.4 (d, C-8), 123.6 (d, C-2), 120.7 (d, C-Ar), 115.2 (d, C-Ar), 109.3 (d, C-Ar), 86.3 (d, C-6), 83.3 (d, C-12), 74.0 (d, C-11), 74.0 (d, C-7), 58.1 (q, 6-OMe), 58.1 (q, 12-OMe), 44.8 (t, C-15), 41.9 (d, C-10), 35.8 (t, C-13), 33.5 (d, C-14), 30.6 (t, C-4), 28.9 (t, C-5), 19.9 (q, 14-Me), 19.1 (q, 10-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₂₅H₃₇NO₆Na [M+Na]⁺: berechnet: 470.2519, gefunden: 470.2514.

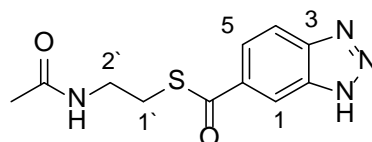
6.5. Synthese von Mutasyntonen**1H-Benzo[d][1,2,3]triazol-6-carbonsäure (131)**

Das Amin **130** (1.00 g, 65.7 mmol, 1.0 Äq.) wurde in konzentrierter Salzsäure (500 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. NaNO₂ (6.80 g, 98.6 mmol, 1.5 Äq.) wurde in Wasser (100 mL) gelöst und innerhalb von 1.5 h langsam zum Reaktionsansatz gegeben. Nach 4 h wurde NaN₃ (6.4 g, 98.6 mmol, 1.5 Äq.) in Wasser (100 mL) gelöst und langsam zum Reaktionsgemisch gegeben. Es wurde für 3 h bei -5 °C gerührt, dann auf RT erwärmt und für weitere 12 h bei RT gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Triazol **131** (9.42 g, 57.7 mmol, 88 %) wurde als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm) δ 8.62 (s, 1H, H-1), 8.16 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.91 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD-d₄, MeOD = 49.0 ppm): δ 169.0 (s, COOH), 141.5 (s, C-Ar), 140.5 (s, C-Ar), 129.6 (s, C-Ar),

128.4 (d, C-Ar), 119.7 (d, C-Ar), 114.5 (d, C-Ar) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_7H_6N_3O_2$ $[M+H]^+$: berechnet: 164.0460, gefunden: 164.0456; $T_{sm} > 250$ °C (Zersetzung).

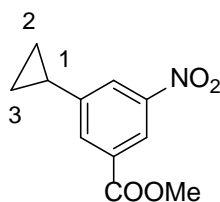
S-(2-Acetamidoethyl) 1H-benzo[d][1,2,3]triazol-6-carbothioat (**132**)



Das Triazol **131** (0.20 g, 1.23 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in DMF (5.0 mL) suspendiert, mit EDC*HCl (0.28 g, 1.47 mmol, 1.2 Äq.), *N*-(2-Mercaptoethyl)acetamid (0.16 mL, 1.47 mmol, 1.2 Äq.) und DMAP (0.18 g, 1.47 mmol, 1.2 Äq.) versetzt und für 24 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (EtOAc:MeOH = 4:1), gefolgt von präparativer HPLC (C18-P) (H₂O:MeOH = 95:5 {10 min}, Gradient H₂O:MeOH = 95:5 → 60:40 {50 min}, H₂O:MeOH = 60:40 → 30:70 {30 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {10 min}, 15 mL/min) ($t_R = 73.1$ min) gereinigt und der SNAC-Ester **132** (0.05 g, 0.19 mmol, 15 %) als farbloser Feststoff erhalten; $R_f = 0.4$ (EtOAc:MeOH = 4:1).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD, MeOH = 3.31 ppm) δ 8.61 (s, 1H, H-1), 8.10 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.95 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, H-4), 3.55-3.45 (m, 2H, H-1'), 3.29-3.25 (m, 2H, H-2'), 1.97 (s, 3H, COCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD, MeOD = 49.0 ppm): δ 192.1 (s, COOH), 173.6 (s, COMe), 135.5 (s, C-Ar), 125.8 (s, C-Ar), 117.5 (d, C-Ar), 115.0 (d, C-Ar), 40.1 (t, C-1'), 29.7 (t, C-2'), 22.5 (q, Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_{11}H_{13}N_4O_2S$ $[M+H]^+$: berechnet: 265.0759, gefunden: 265.0759.

Methyl 3-cyclopropyl-5-nitrobenzoat (**134**)

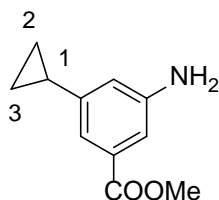


Das Bromid **133** (1.00 g, 3.86 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in Toluol (20 mL) gelöst, mit Pd(PPh₃)₄ (0.22 g, 0.19 mmol, 0.05 Äq.), Cyclopropylboronsäure (0.50 g, 5.79 mmol, 1.5 Äq.) und K₂CO₃ (1.76 g, 12.8 mmol, 3.3 Äq.) versetzt und für 1 h unter

Mikrowelleneintrag bei 150 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT gekühlt und mit EtOAc/H₂O Gemisch verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 20:1 → 10:1) gereinigt und der Ester **134** (0.68 g, 3.07 mmol, 80 %) als farbloser Feststoff erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ; 8.63 (s, 1H, Ph), 8.10 (s, 1H, Ph), 8.05 (s, 1H, Ph), 3.89 (s, 3H, COOCH₃), 2.11-2.04 (m, 1H, H-1), 1.18-1.13 (m, 1H, H-2a), 1.18-1.13 (m, 1H, H-3a), 0.87-0.84 (m, 1H, H-2b), 0.87-0.84 (m, 1H, H-3b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.0 ppm): δ 165.2 (s, COOCH₃), 148.4 (s, C-Ar), 147.1 (s, C-Ar), 132.5 (d, C-Ar), 131.6 (s, C-Ar), 124.4 (d, C-Ar), 121.5 (d, C-Ar), 52.7 (q, COOCH₃), 15.4 (d, C-1), 10.3 (t, C-2), 10.3 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₁₁H₁₂NO₄ [M+H]⁺: berechnet: 222.0766, gefunden: 222.0766; **T_{Sm}** = 65 °C.

Methyl 3-amino-5-cyclopropylbenzoat (**135**)

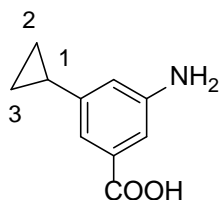


Der Ester **134** (1.14 g, 5.15 mmol, 1.0 Äq.) wurde in EtOAc (200 mL) gelöst, mit SnCl₂*2H₂O (5.80 g, 25.7 mmol, 5.0 Äq.) versetzt und für 24 h bei 70 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT gekühlt und mit EtOAc/H₂O Gemisch verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 5:1 → 3:1) gereinigt und das Amin **135** (0.89 g, 4.66 mmol, 91 %) als gelber Feststoff erhalten; $R_f = 0.1$ (PE:EtOAc = 5:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 7.25 (s, 1H, Ph), 7.23 (s, 1H, Ph), 6.58 (s, 1H, Ph), 3.87 (s, 3H, COOCH₃), 1.91-1.84 (m, 1H, H-1), 0.99-0.94 (m, 1H, H-2a), 0.99-0.94 (m, 1H, H-3a), 0.73-0.67 (m, 1H, H-2b), 0.73-0.67 (m, 1H, H-3b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.0 ppm): δ 167.4 (s, COOCH₃), 146.4 (s, C-Ar), 145.6 (s, C-Ar), 131.0 (s,

C-Ar), 117.1 (d, C-Ar), 116.9 (d, C-Ar), 113.1 (d, C-Ar), 52.0 (q, COOCH₃), 15.3 (d, C-1), 9.1 (t, C-2), 9.1 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₁₁H₁₄NO₂ [M+H]⁺: berechnet: 192.1025, gefunden: 192.1023; **T_{sm}** = 67 °C

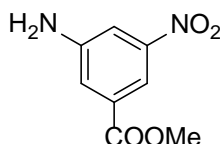
3-Amino-5-cyclopropylbenzoesäure (136)



Der Ester **135** (0.80 g, 4.19 mmol, 1.0 Äq.) wurde in MeOH (150 mL) gelöst, mit LiOH-Lösung (1.0 M) (20.9 mL, 20.9 mmol, 5.0 Äq.) versetzt und für 15 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit einem EtOAc/H₂O Gemisch verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die wässrige Phase wurde auf pH 2 mit HCl-Lösung (1.0 M) angesäuert und anschließend dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Die Säure **136** (0.33 g, 1.86 mmol, 45 %) wurde als gelber Feststoff erhalten; $R_f = 0.1$ (CH₂Cl₂:MeOH = 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD, MeOH = 3.31 ppm) δ 7.15-7.14 (m, 1H, Ph), 7.07-7.06 (s, 1H, Ph), 6.67-6.65 (m, 1H, Ph), 1.90-1.78 (m, 1H, H-1), 0.98-0.89 (m, 1H, H-2a), 0.98-0.89 (m, 1H, H-3a), 0.70-0.62 (m, 1H, H-2b), 0.70-0.62 (m, 1H, H-3b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD, MeOD = 49.0 ppm): δ 170.6 (s, COOH), 149.0 (s, C-Ar), 146.6 (s, C-Ar), 132.5 (s, C-Ar), 118.1 (d, C-Ar), 117.7 (d, C-Ar), 114.7 (d, C-Ar), 16.0 (d, C-1), 9.5 (t, C-2), 9.5 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₁₀H₁₀NO₂ [M-H]⁻: berechnet: 176.0712, gefunden: 176.0708; **T_{sm}** = 159 °C.

Methyl 3-amino-5-nitrobenzoat (138)

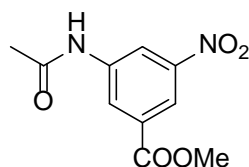


Der Ester **137** (25.0 g, 111 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (1.22 g, 1.20 mmol, 1.1 Äq.) wurden mit Triethylamin (70.0 mL, 498 mmol, 4.5 Äq.) versetzt und unter kräftigem Rühren unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde Ameisensäure (97 %) (18.5 mL, 476 mmol, 4.3 Äq.)

innerhalb von 1 h langsam hinzugegeben. Nach 1 h wurde das Reaktionsgemisch auf RT gekühlt, mit CH₂Cl₂ verdünnt und über Celite™ filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 4:1) gereinigt und das Amin **138** (5.67 g, 28.9 mmol, 26 %) als gelber Feststoff erhalten; R_f = 0.7 (PE:EtOAc = 1:1).

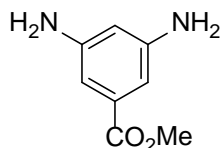
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 8.21 (s, 1H, Ph), 7.68 (s, 1H, Ph), 7.65 (s, 1H, Ph), 3.95 (s, 3H, COOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.0 ppm): δ 165.3 (s, COOCH₃), 149.3 (s, C-Ar), 147.3 (s, C-Ar), 132.4 (s, C-Ar), 121.1 (d, C-Ar), 114.1 (d, C-Ar), 112.8 (d, C-Ar), 52.7 (q, COOCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₈H₉N₂O₄ [M+H]⁺: berechnet: 197.0562, gefunden: 197.0563; T_{Sm} = 149 °C.

Methyl-3-acetamido-5-nitrobenzoat (**139**)



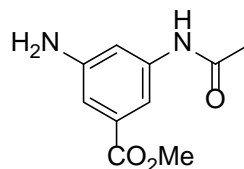
Das Amin **138** (5.67 g, 28.9 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 1,4-Dioxan (85 mL) gelöst und mit Pyridin (7.00 mL, 86.7 mmol, 3.0 Äq.) und Acetylanhydrid (5.45 mL, 57.8 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Nach zwei Tagen wurde die Reaktion durch Zugabe von H₂SO₄ (1.0 M) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde umkristallisiert (PE:EtOAc) und das Amin **139** (4.99 g, 20.9 mmol, 72 %) als gelber Feststoff erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 1:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 8.78 (s, 1H, Ph), 8.60 (s, 1H, Ph), 8.40 (s, 1H, Ph), 4.00 (s, 3H, COOCH₃), 2.28 (s, 3H, NCOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.0 ppm): δ 164.7 (s, COOCH₃), 164.7 (s, NCOCH₃), 139.2 (s, C-Ar), 132.3 (s, C-Ar), 125.6 (s, C-Ar), 119.7 (d, C-Ar), 118.3 (d, C-Ar), 52.9 (q, COOCH₃), 24.6 (q, NCOCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₁₀H₁₁N₂O₅ [M+H]⁺: berechnet: 239.0668, gefunden: 239.0667; T_{Sm} = 170 °C.

Methyl 3,5-diaminobenzoat (142)

Die Säure **141** (1.50 g, 9.86 mmol, 1.0 Äq.) wurde in MeOH (40 mL) gelöst und mit H₂SO₄ (konz., 0.1 mL) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 65 °C erhitzt, für weitere 24 h bei 65 °C gerührt und anschließend auf RT gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Ester **142** (1.05 g, 6.32 mmol, 64 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten; R_f = 0.3 (PE:EtOAc = 1:4).

Die Verbindung **142** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

Methyl-3-acetamido-5-aminobenzoat (140)**Methode 1**

Der Ester **139** (4.99 g, 20.9 mmol, 1.0 Äq.) wurden in EtOAc (600 mL) gelöst und mit SnCl₂·H₂O (23.6 g, 105 mmol, 5.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde über Nacht bei 70 °C unter Rückfluss erhitzt und anschließend auf RT gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Amin **140** (3.84 g, 18.5 mmol, 88 %) wurde als gelber Feststoff erhalten; R_f = 0.2 (PE:EtOAc = 1:4).

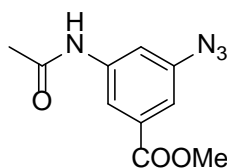
Methode 2

Der Ester **142** (0.90 g, 5.42 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 1,4-Dioxan (100 mL) gelöst und mit Pyridin (1.3 mL, 16.3 mmol, 3.0 Äq.) und Acetylanhydrid (0.56 mL, 5.96 mmol, 1.1 Äq.)

versetzt. Nach 24 h wurde die Reaktion durch Zugabe von H₂SO₄ (1.0 M) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde umkristallisiert (PE:EtOAc) und das Amin **140** (0.70 g, 3.36 mmol, 62 %) als gelber Feststoff erhalten; R_f = 0.2 (PE:EtOAc = 1:4).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 7.43 (s, 1H, Ph), 7.25 (s, 1H, Ph), 7.09 (s, 1H, Ph), 3.85 (s, 3H, COOCH₃), 2.11 (s, 3H, NCOCH₃) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD-d₄, MeOD = 49.0 ppm): δ 171.7 (s, COOCH₃), 168.8 (s, NCOCH₃), 150.0 (s, C-Ar), 140.8 (s, C-Ar), 132.4 (s, C-Ar), 112.7 (d, C-Ar), 112.0 (d, C-Ar), 111.5 (d, C-Ar), 52.5 (q, COOCH₃), 23.8 (q, NCOCH₃) ppm; HRMS (ESI) m/z für C₁₀H₁₃N₂O₃ [M+H]⁺: berechnet: 209.0926, gefunden: 209.0924; T_{Sm} = 175 °C.

Methyl 3-acetamido-5-azidobenzoat (**143**)

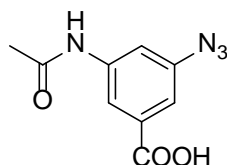


Das Amin **140** (0.60 g, 2.88 mmol, 1.0 Äq) wurde in HCl-Lösung (2 N, 9.0 mL) vorgelegt und auf -5 °C gekühlt. NaNO₂ (0.59 g, 8.65 mmol, 3.0 Äq.) wurde in Wasser (3.0 mL) gelöst und innerhalb von 30 min zum Reaktionsansatz gegeben. Nach 3 h wurde NaN₃ (0.28 g, 4.32 mmol, 1.5 Äq.) in Wasser (1.5 mL) gelöst und langsam zum Reaktionsgemisch gegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 3 h bei -5 °C gerührt, dann auf RT erwärmt und für weitere 12 h bei RT gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 1:1 → 1:2) gereinigt und das Azid **143** (0.55 g, 1.06 mmol, 81 %) als gelber Feststoff erhalten; R_f = 0.5 (PE:EtOAc = 1:4).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 7.75 (s, 1H, Ph), 7.68 (s, 1H, Ph), 7.43 (s, 1H, Ph), 3.92 (s, 3H, COOCH₃), 2.20 (s, 3H, NCOCH₃) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.0 ppm): δ 168.5 (s, COOCH₃), 165.8 (s, COCH₃), 141.6 (s, C-Ar), 139.4 (s, C-Ar), 132.2 (s, C-Ar), 116.7 (d, C-Ar), 115.5 (d, C-Ar), 114.6 (d, C-Ar), 52.5 (q, COOCH₃),

24.6 (q, OCCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₁₀H₁₀N₄O₃Na [M+Na]⁺: berechnet: 257.0651, gefunden: 257.0651; **T_{sm}** = 148 °C.

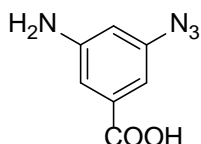
3-Acetamido-5-azidobenzoessäure (144)



Das Azid **143** (0.56 g, 2.39 mmol, 1.0 Äq.) wurde in MeOH (40 mL) gelöst und mit einer LiOH-Lösung (1.0 M) (23.9 mL, 23.9 mmol, 10 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 1 h bei 55 °C gerührt und mit einem EtOAc/H₂O Gemisch verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die wässrige Phase wurde auf pH 2 mit HCl (1.0 M) angesäuert und anschließend dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Die Säure **144** (0.50 g, 2.27 mmol, 95 %) wurde als gelber Feststoff erhalten; $R_f = 0.2$ (CH₂Cl₂:MeOH = 4:1).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD, MeOH = 3.31 ppm): δ 7.91-7.89 (m, 1H, Ph), 7.73-7.72 (m, 1H, Ph), 7.39-7.38 (m, 1H, Ph), 2.14 (s, 3H, NCOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD, MeOD = 49.0 ppm): δ 172.0 (s, COOH), 168.4 (s, NCOCH₃), 142.5 (s, C-Ar), 141.8 (s, C-Ar), 134.2 (s, C-Ar), 118.3 (d, C-Ar), 116.0 (d, C-Ar), 115.1 (d, C-Ar), 23.9 (q, NCOCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₉H₇N₄O₃ [M-H]⁻: berechnet: 219.0518, gefunden: 219.0516; **T_{sm}** > 200 °C (Zersetzung).

3-Amino-5-azidobenzoessäure (145)

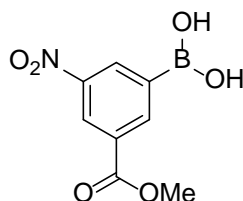


Das Azid **144** (0.45 g, 2.04 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Wasser (110 mL) suspendiert und konzentrierte HCl (0.67 mL, 21.7 mmol, 10.6 Äq.) zugesetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 10 h bei 120 °C gerührt, auf RT gekühlt und anschließend dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄

getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Die Säure **145** (0.35 g, 1.97 mmol, 96 %) als brauner Feststoff erhalten; $R_f = 0.3$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 4:1$).

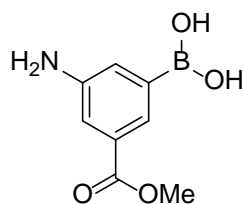
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD-d_4 , $\text{MeOH} = 3.31$ ppm): δ 7.13-7.12 (m, 1H, Ph), 6.94-6.93 (m, 1H, Ph), 6.56-6.55 (m, 1H, Ph) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD-d_4 , $\text{MeOD} = 49.0$ ppm): δ 169.4 (s, COOH), 151.2 (s, C-Ar), 142.5 (s, C-Ar), 134.2 (s, C-Ar), 113.9 (d, C-Ar), 109.7 (d, C-Ar), 109.5 (d, C-Ar) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_7\text{H}_5\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M-H}]^-$: berechnet: 177.0413, gefunden: 177.0412; $T_{\text{Sm}} = 173$ °C.

[3-(Methoxycarbonyl)-5-nitrophenyl]boronsäure (**152a**)



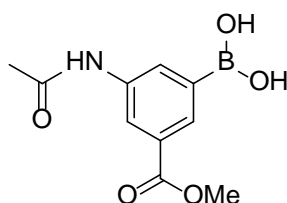
Die Boronsäure **152** (2.00 g, 9.48 mmol, 1.0 Äq.) wurde in MeOH (40 mL) gelöst und konzentrierte H_2SO_4 (0.1 mL) zugesetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 24 h bei 65 °C gerührt und anschließend auf RT gekühlt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und die Säure **152a** (2.05 g, 9.11 mmol, 96 %) als farbloser Feststoff erhalten; $R_f = 0.6$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 10:1$).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): δ 8.84 (s, 1H, Ph), 8.76 (s, 1H, Ph), 8.65 (s, 1H, Ph), 3.93 (s, 3H, COOCH_3) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): δ 164.8 (s, COOCH_3), 147.7 (s, C-Ar), 140.5 (s, C-Ar), 132.5 (s, C-Ar), 130.5 (d, C-Ar), 125.1 (d, C-Ar), 52.8 (q, COOCH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_8\text{H}_9\text{BNO}_6$ $[\text{M+H}]^+$: berechnet: 226.0523, gefunden: 226.0521; $T_{\text{Sm}} > 250$ °C (Zersetzung).

[3-Amino-5-(methoxycarbonyl)phenyl]boronsäure (153)

Die Boronsäure **152a** (1.90 g, 8.45 mmol, 1.0 Äq.) wurde in EtOAc (200 mL) gelöst und mit $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (9.52 g, 42.3 mmol, 5.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 90 °C erhitzt, für weitere 2 h bei 90 °C gerührt und auf RT gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Die Säure **153** (1.51 g, 7.74 mmol, 92 %) wurde als gelber Feststoff erhalten; $R_f = 0.5$ (CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 10:1$).

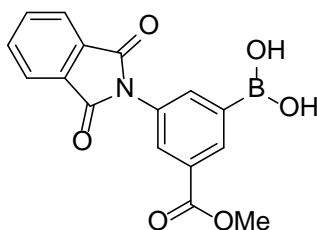
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD-d_4 , $\text{MeOH} = 3.31$ ppm): δ 7.56 (s, 1H, Ph), 7.39 (s, 1H, Ph), 7.18 (s, 1H, Ph), 3.87 (s, 3H, COOCH_3) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, MeOD-d_4 , $\text{MeOD} = 49.0$ ppm): δ 169.3 (s, COOCH_3), 141.1 (s, C-Ar), 133.1 (s, C-Ar), 131.3 (s, C-Ar), 125.8 (d, C-Ar), 124.9 (d, C-Ar), 118.0 (d, C-Ar), 52.4 (q, COOCH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{BNO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 196.0781, gefunden: 196.0776; $T_{\text{sm}} = 245$ °C.

[3-Acetamido-5-(methoxycarbonyl)phenyl]boronsäure (154)

Die Boronsäure **153** (0.10 g, 0.51 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 1,4-Dioxan (10 mL) gelöst und mit Pyridin (0.12 mL, 1.54 mmol, 3.0 Äq.) und Acetylanhydrid (0.1 mL, 0.77 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Nach 24 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen HCl -Lösung (1.0 M) beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten, organischen Phasen mit wässriger NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Die Säure **154** (0.12 g, 0.49 mmol, 94 %) wurde als gelber Feststoff erhalten; $R_f = 0.2$ (CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 10:1$).

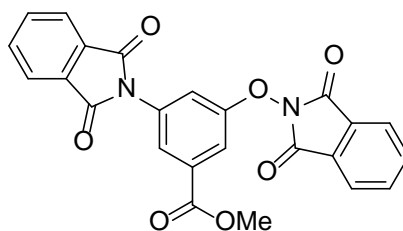
¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 8.29 (s, 1H, Ph), 8.01 (s, 1H, Ph), 8.01 (s, 1H, Ph), 3.90 (s, 3H, COOCH₃), 2.14 (s, 3H, NCOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD-d₄, MeOD = 49.0 ppm): δ 171.8 (s, COCH₃), 168.5 (s, COOCH₃), 139.7 (s, C-Ar), 133.1 (s, C-Ar), 131.1 (s, C-Ar), 130.3 (d, C-Ar), 123.1 (d, C-Ar), 113.9 (d, C-Ar), 52.7 (q, COOCH₃), 23.8 (s, NCOCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₁₀H₁₃BNO₅ [M+H]⁺: berechnet: 238.0887, gefunden: 238.0888; **T_{sm}** > 250 °C (Zersetzung).

[3-(1,3-Dioxisoindolin-2-yl)-5-(methoxycarbonyl)phenyl]boronsäure (157)



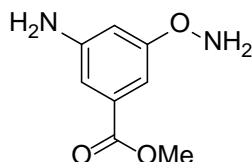
Das Amin **153** (0.09 g, 0.46 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Essigsäure (5.0 mL) gelöst und mit Phthalanhydrid (0.07 mg, 0.46 mmol, 1.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 80 °C erhitzt, für weitere 2 h bei 80 °C gerührt und auf RT gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (CH₂Cl₂:MeOH = 50:1 → 10:1) gereinigt und das Amin **157** (0.07 g, 0.22 mmol, 47 %) als gelbes Öl erhalten; *R_f* = 0.8 (CH₂Cl₂:MeOH = 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ 8.48 (s, 1H, Ph), 8.45 (s, 2H, Ph), 7.99-7.95 (m, 2H, Phth), 7.93-7.88 (m, 2H, Phth), 3.89 (s, 3H, COOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ 167.0 (s, C=O_{Phth}), 165.9 (s, COOCH₃) 137.0 (s, C-Ar), 134.8 (s, C-Ar_{Phth}), 134.8 (s, C-Ar), 134.3 (s, C-Ar), 131.8 (d, C-Ar), 131.6 (d, C-Ar_{Phth}), 129.7 (d, C-Ar), 129.6 (d, C-Ar), 123.5 (d, C-Ar_{Phth}), 52.4 (s, COOCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₁₆H₁₃BNO₆ [M+H]⁺: berechnet: 326.0836, gefunden: 326.0841.

Methyl 3-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-5-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)oxy)benzoat (158)

Die Boronsäure **157** (50.0 mg, 0.15 mmol, 2.0 Äq.) wurde in (CH₂Cl)₂ (2.0 mL) gelöst, mit Hydroxyphthalimid (13.0 mg, 0.08 mmol, 1.0 Äq.), Molsieb 4 Å (0.10 g), Cu(OAc)₂ (14.0 mg, 0.08 mmol, 1.0 Äq.) und Pyridin (6.0 µL, 0.08 mmol, 1.0 Äq.) versetzt und unter Luft-Atmosphäre für 48 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck eingengt, das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 1:1) gereinigt und das Hydroxylamin **158** (30.0 mg, 0.07 mmol, 88 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ 8.00-7.98 (m, 1H, Ph), 7.98-7.92 (m, 4H, Phth), 7.85-7.79 (m, 4H, Phth), 7.85-7.79 (m, 1H, Ph), 7.63-7.58 (m, 1H, Ph), 3.91 (s, 3H, COOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.0 ppm): δ 166.7 (s, COOCH₃), 165.5 (s, C=O), 162.9 (s, C=O), 159.3 (s, C=O), 135.2 (d, C-Ar_{Phth}), 134.9 (d, C-Ar_{Phth}), 133.4 (s, C-Ar), 132.7 (s, C-Ar), 131.6 (s, C-Ar), 128.9 (s, C-Ar), 124.4 (d, C-Ar_{Phth}), 124.2 (d, C-Ar_{Phth}), 123.6 (d, C-Ar), 117.5 (d, C-Ar), 114.4 (d, C-Ar), 52.8 (q, COOCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₄H₁₅N₂O₇ [M+H]⁺: berechnet: 443.0879, gefunden: 443.0881.

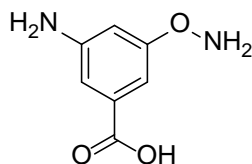
Methyl 3-amino-5-(aminoxy)benzoat (159)

Das Hydroxylamin **158** (0.50 g, 1.13 mmol, 1.0 Äq.) wurde in MeOH/CHCl₃ (100 mL, 1:9) gelöst und mit Hydrazin Monohydrat (0.5 mL) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 12 h bei RT gerührt, wobei ein farbloser Niederschlag ausfiel. Das Reaktionsgemisch wurde über Kieselgel filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 1:1) gereinigt und das Hydroxylamin **159** (0.13 g, 0.71 mmol, 63 %) als farbloses Öl erhalten; R_f = 0.4 (PE:EtOAc = 1:1).

Das Amin **159** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt verwendet.

HRMS (ESI) m/z für $C_8H_{11}N_2O_3$ $[M+H]^+$: berechnet: 183.0770, gefunden: 183.0767.

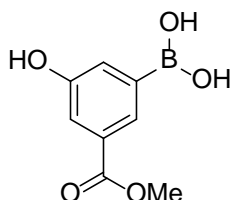
3-Amino-5-(aminooxy)benzoesäure (**146**)



Das Hydroxylamin **159** (0.12 g, 0.66 mmol, 1.0 Äq.) wurde in THF/MeOH/H₂O (25 mL, 3:1:1) gelöst und mit Lithiumhydroxid Monohydrat (0.17 g, 3.96 mmol, 6.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 12 h bei RT gerührt, mit EtOAc verdünnt und mit Essigsäure (5.0 mL) versetzt. Das Lösungsmittel wurde anschließend unter vermindertem Druck entfernt und lieferte ein Rohprodukt, welches per präparativer HPLC (C18-P) (Gradient: H₂O:MeOH = 97:3 → 95:5 {20 min}, H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {60 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15 mL/min) (t_R = 24.5 min) gereinigt wurde. Die Säure **146** (55.0 mg, 0.33 mmol, 50 %) wurde als brauner Schaum erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ 6.80 (s, 1H, Ph), 6.79 (br. s., 1H, COOH), 6.72 (s, 1H, Ph), 6.51 (s, 1H, Ph), 5.24 (br. s. 2H, NH₂) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ 168.0 (s, COOH), 162.5 (s, C-Ar), 149.8 (s, C-Ar), 132.3 (s, C-Ar), 107.6 (d, C-Ar), 102.3 (d, C-Ar), 101.8 (d, C-Ar) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_7H_9N_2O_3$ $[M+H]^+$: berechnet: 169.0613, gefunden: 169.0612.

[3-Hydroxy-5-(methoxycarbonyl)phenyl]boronsäure (**160**)

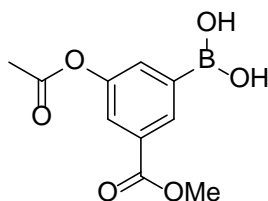


Die Boronsäure **153** (0.50 g, 2.56 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Wasser (16 mL) gelöst, mit konzentrierter H₂SO₄ (16 mL) versetzt und auf -5 °C gekühlt. NaNO₂ (0.27 g, 3.85 mmol, 1.5 Äq.) wurde in Wasser (15 mL) gelöst und innerhalb von 30 min zum Reaktionsgemisch

gegeben. Nach 3 h wurde Wasser (200 mL) zugegeben und der Reaktionsansatz auf 60 °C erhitzt und für weitere 30 min bei 60 °C gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (CH₂Cl₂:MeOH = 50:1 → 10:1) gereinigt und das Phenol **160** (0.16 g, 0.82 mmol, 32 %) als gelbes Öl erhalten; R_f = 0.2 (CH₂Cl₂:MeOH = 10:1).

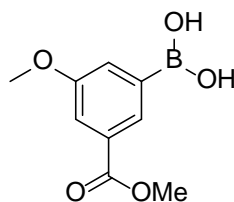
¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 7.72 (s, 1H, Ph), 7.43 (s, 1H, Ph), 7.25 (s, 1H, Ph), 3.88 (s, 3H, COOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD-d₄, MeOD = 49.0 ppm): δ 168.7 (s, COOCH₃), 131.9 (s, C-Ar), 126.6 (s, C-Ar), 126.0 (s, C-Ar), 118.1 (d, C-Ar), 108.8 (d, C-Ar), 108.2 (d, C-Ar), 52.6 (q, COOCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₈H₁₀BO₅ [M+H]⁺: berechnet: 197.0621, gefunden: 197.0620.

[3-Acetoxy-5-(methoxycarbonyl)phenyl]boronsäure (**162**)



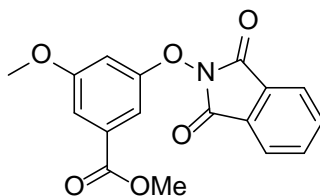
Die Boronsäure **160** (0.06 g, 0.31 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 1,4-Dioxan (10 mL) gelöst und mit Pyridin (0.08 mL, 0.92 mmol, 3.0 Äq.) und Acetylanhydrid (0.04 mL, 0.46 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Nach 48 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen HCl-Lösung (1.0 M) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Die Säure **162** (0.07 g, 0.29 mmol, 96 %) wurde als gelbes Öl erhalten; R_f = 0.4 (CH₂Cl₂:MeOH = 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 7.82 (s, 1H, Ph), 7.42 (s, 1H, Ph), 7.33 (s, 1H, Ph), 3.85 (s, 3H, COOCH₃), 1.98 (s, 3H, OCOCH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD-d₄, MeOD = 49.0 ppm): δ 168.7 (s, COOCH₃), 157.9 (s, COCH₃), 131.6 (s, C-Ar), 126.9 (s, C-Ar), 126.2 (s, C-Ar), 118.3 (d, C-Ar), 52.4 (q, COOCH₃), 20.4 (s, COCH₃) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₁₀H₁₁BO₆Na [M+Na]⁺: berechnet: 261.0546, gefunden: 261.0542.

[3-Methoxy-5-(methoxycarbonyl)phenyl]boronsäure (161)

Die Boronsäure **160** (0.06 g, 0.33 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Aceton (10 mL) gelöst und mit K_2CO_3 (0.09 g, 0.66 mmol, 2.0 Äq.) und Methyljodid (0.03 mL, 0.50 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 20 h unter Rückfluss erhitzt und auf RT gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen HCl-Lösung (1.0 M) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (CH_2Cl_2 :MeOH = 50:1 \rightarrow 10:1) gereinigt und die Säure **161** (0.06 g, 0.29 mmol, 86 %) als gelbes Öl erhalten; R_f = 0.5 (CH_2Cl_2 :MeOH = 10:1).

1H -NMR (400 MHz, MeOD- d_4 , MeOH = 3.31 ppm): δ 7.95 (s, 1H, Ph), 7.51 (s, 2H, Ph), 3.88 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.81 (s, 3H, OCH_3) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, MeOD- d_4 , MeOD = 49.0 ppm): δ 168.6 (s, $COOCH_3$), 160.5 (s, C-Ar), 131.7 (d, C-Ar), 131.7 (d, C-Ar), 128.2 (s, C-Ar), 125.1 (s, C-Ar), 116.8 (d, C-Ar), 55.7 (q, OCH_3), 52.6 (s, $COOCH_3$) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $C_9H_{10}BO_5$ [M-H] $^-$: berechnet: 209.0621, gefunden: 209.0619.

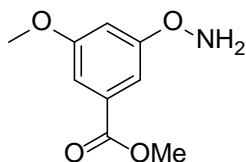
Methyl-3-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)oxy]-5-methoxybenzoat (163)

Der Ester **161** (0.05 g, 0.24 mmol, 2.0 Äq.) wurde in $(CH_2Cl)_2$ (2.0 mL) gelöst und es wurden Hydroxyphthalimid (0.02 g, 0.12 mmol, 1.0 Äq.), Molsieb 4 Å (0.10 g), $Cu(OAc)_2$ (0.02 g, 0.12 mmol, 1.0 Äq.) und Pyridin (0.01 mL, 0.12 mmol, 1.0 Äq.) zugesetzt. Der Reaktionsansatz wurde unter Luft-Atmosphäre für 48 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per Flash-

Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 1:1) gereinigt und das Hydroxylamin **163** (12.0 mg, 0.04 mmol, 39 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.6$ (PE:EtOAc = 2:1).

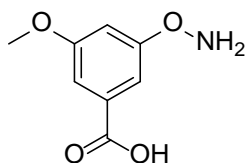
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.99-7.91 (m, 2H, Ph), 7.88-7.80 (m, 2H, Ph), 7.37 (s, 1H, Ph), 7.35 (s, 1H, Ph), 6.92 (s, 1H, Ph), 3.88 (s, 3H, COOCH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.0$ ppm): δ 166.0 (s, COOCH_3), 162.7 (s, NCOPh), 160.7 (s, C-Ar), 159.8 (s, C-Ar), 135.0 (d, C-Ar), 135.0 (d, C-Ar), 132.5 (s, C-Ar), 128.8 (s, C-Ar), 124.1 (d, C-Ar), 124.1 (d, C-Ar), 110.9 (d, C-Ar), 106.9 (d, C-Ar), 105.5 (d, C-Ar), 55.8 (q, OCH_3), 52.4 (q, COOCH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 350.0641, gefunden: 350.0640.

Methyl 3-(aminooxy)-5-methoxybenzoat (**164**)



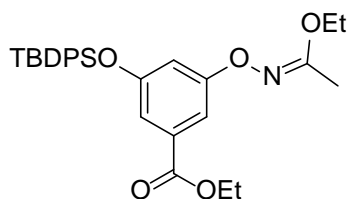
Das Hydroxylamin **163** (6.00 mg, 0.02 mmol, 1.0 Äq.) wurde in $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (0.5 mL, 1:9) gelöst und mit Hydrazin Monohydrat (2.70 μL , 0.05 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 12 h bei RT gerührt, wobei sich ein weißer Niederschlag bildete. Das Reaktionsgemisch wurde über Kieselgel filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 1:1) gereinigt und das Hydroxylamin **164** (3.00 mg, 0.09 mmol, 85 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.3$ (PE:EtOAc = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.44-7.40 (m, 1H, Ph), 7.19-7.14 (m, 1H, Ph), 6.95-6.90 (m, 1H, Ph), 3.90 (s, 3H, OMe), 3.83 (s, 3H, OMe); **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.0$ ppm): δ 167.0 (s, COOCH_3), 162.5 (s, C-Ar), 160.7 (s, C-Ar), 132.0 (s, C-Ar), 107.5 (d, C-Ar), 107.3 (d, C-Ar), 104.5 (d, C-Ar), 55.8 (q, OCH_3), 52.4 (q, OCH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: berechnet: 198.0761, gefunden: 198.0766.

3-(Aminooxy)-5-methoxybenzoesäure (148)

Das Hydroxylamin **164** (3.00 mg, 0.02 mmol, 1.0 Äq.) wurde in THF/MeOH/H₂O (1.0 mL, 3:1:1) gelöst und mit Lithiumhydroxid Monohydrat (3.40 mg, 0.08 mmol, 5.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 12 h bei RT gerührt und dann mit EtOAc/H₂O Gemisch verdünnt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert. Die wässrige Phase wurde auf pH 3 mit HCl (1.0 M) angesäuert und anschließend dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Die Säure **148** (2.00 mg, 0.01 mmol, 73 %) wurde als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50) δ 7.26-7.24 (m, 1H, Ph), 7.00-6.95 (m, 1H, Ph), 6.95-6.93 (m, 1H, Ph), 3.76 (s, 3H, OMe); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ 167.1 (s, COOH), 162.8 (s, C-Ar), 160.1 (s, C-Ar), 106.5 (s, C-Ar), 106.4 (d, C-Ar), 103.5 (d, C-Ar), 55.3 (q, OCH₃) ppm; HRMS (ESI) *m/z* für C₈H₁₀NO₄ [M+H]⁺: berechnet: 184.0604, gefunden: 184.0610.

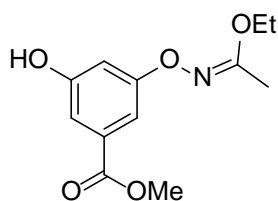
Methyl-3-[(*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy]-5-[(1-ethoxyethylidene)amino]oxy}benzoat (168)

Der Ester **166** (47.0 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in entgastem Toluol (2.0 mL) gelöst und mit (AllylPdCl)₂ (0.70 mg, 1.94 μmol, 0.02 Äq.), *t*-BuXPhos (3.30 mg, 7.76 μmol, 0.08 Äq.), Cs₂CO₃ (48.0 mg, 0.15 mmol, 1.5 Äq.) und Ethyl-*N*-hydroxyacetimidat (12.6 mg, 0.12 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 65 °C erhitzt und für weitere 24 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt und über Celite™ filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 40:1 → 20:1) gereinigt und das

Hydroxylamin **168** (40.0 mg, 0.08 mmol, 82 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.4$ (PE:EtOAc = 20:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.77-7.72 (m, 4H, SiPh), 7.48-7.34 (m, 6H, SiPh), 7.35 (m, 1H, Ph), 7.14 (m, 1H, Ph), 6.76 (m, 1H, Ph), 4.29 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3.91 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 2.00 (s, 3H, CH_3), 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1.12 (s, 9H, *Sit*-Bu) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.0$ ppm): δ 166.4 (s, C=N), 165.8 (s, C=O), 160.3 (s, C-Ar), 156.5 (s, C-Ar), 135.6 (d, SiPh), 132.8 (d, SiPh), 132.0 (s, C-Ar), 130.0 (s, SiPh), 127.9 (s, SiPh), 114.0 (d, C-Ar), 110.1 (d, C-Ar), 108.3 (d, C-Ar), 63.0 (q, CH_2CH_3), 61.0 (q, CH_2CH_3), 29.8 (s, *Sit*-Bu), 26.7 (q, *Sit*-Bu), 19.63 (q, CH_2CH_3), 14.3 (q, CH_2CH_3) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NO}_5\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 528.2177, gefunden: 528.2182.

Methyl-3-[[[(1-ethoxyethylidene)amino]oxy]-5-hydroxybenzoat (**169**)

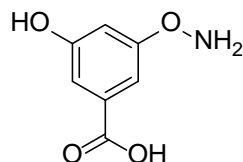


Das Hydroxylamin **168** (11.0 mg, 22.0 μmol , 1.0 Äq.) wurde in THF (3.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit TBAF*3H₂O (10.4 mg, 33.0 μmol , 1.5 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf RT erwärmt und für weitere 20 min bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer wässrigen NH₄Cl-Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten, organischen Phasen anschließend mit einer wässrigen NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (PE:EtOAc = 10:1 → 5:1) gereinigt und der Phenol **169** (6.4 mg, 22.0 μmol , 99 %) als farbloses Öl erhalten; $R_f = 0.2$ (PE:EtOAc = 10:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ 7.34 (m, 1H, Ph), 7.14 (m, 1H, Ph), 6.92 (m, 1H, Ph), 4.35 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 4.21 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 2.11 (s, 3H, CH_3), 1.38 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.0$ ppm): δ 166.4 (s, C=N), 166.1 (s, C=O), 160.8 (s,

C-Ar), 156.5 (s, C-Ar), 132.2 (s, C-Ar), 109.2 (d, C-Ar), 107.9 (d, C-Ar), 105.7 (d, C-Ar), 63.1 (q, CH₂CH₃), 61.2 (q, CH₂CH₃), 14.4 (q, CH₂CH₃), 14.3 (q, CH₂CH₃) ppm.

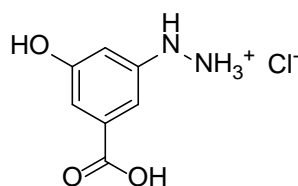
3-(Aminooxy)-5-hydroxybenzoesäure (147)



Das Hydroxylamin **169** (21.0 mg, 0.08 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 1,4-Dioxan (1.0 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Salzsäure (6 M, 80.0 µL) versetzt. Nach 1 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt in THF/MeOH/H₂O (3.0 mL, 3:1:1) gelöst. Lithiumhydroxid Monohydrat (17.0 mg, 0.40 mmol, 5.0 Äq.) wurde zugegeben, der Reaktionsansatz für 12 h bei RT gerührt und dann EtOAc verdünnt. Essigsäure (1.0 mL) wurde zugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde per präparativer HPLC (C18-P) (Gradient: H₂O:MeOH = 97:3 → 95:5 {20 min}, H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {60 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15 mL/min) (*t_R* = 76.0 min) gereinigt und die Säure **147** (2.00 mg, 0.01 mmol, 11 %) als brauner Schaum erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ 7.06 (s, 1H, Ph), 6.88 (s, 1H, Ph), 6.85 (br. s., 1H, COOH), 6.66 (s, 1H, Ph), 3.39 (br. s., 2H, NH₂), 3.39 (br. s., 1H, OH), ppm;
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ 162.5 (s, COOH) 157.9 (s, C-Ar), 134.3 (s, C-Ar), 108.4 (d, C-Ar), 104.9 (d, C-Ar), 103.4 (d, C-Ar) ppm.

2-(3-Carboxy-5-hydroxyphenyl)hydrazin-1-ium chlorid (170)



Das Amin **15** (0.10 g, 0.53 mmol, 1.0 Äq.) wurde in konzentrierter HCl (5.0 mL) suspendiert und auf -10 °C gekühlt. NaNO₂ (0.06 g, 0.80 mmol, 1.5 Äq.) wurde in Wasser (0.5 mL) gelöst

und zum Reaktionsgemisch gegeben. Nach 30 min wurde $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.36 g, 1.58 mmol, 3.0 Äq.) in konzentrierter HCl (0.5 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch gegeben. Die Reaktion wurde für 3 h bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Die Säure **170** (0.10 mg, 0.49 mmol, 93 %) wurde als gelber Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , DMSO = 2.50 ppm): δ 10.1 (br. s. 3H, NH_3), 9.91 (br. s., 1H, NH), 8.33 (br.s., 1H, OH), 7.00 (s, 1H, Ph), 6.96 (s, 1H, Ph), 6.59 (s, 1H, Ph) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, DMSO-d_6 , DMSO = 39.52 ppm): δ 167.1 (s, COOH) 158.1 (s, C-Ar), 146.9 (s, C-Ar), 132.6 (s, C-Ar), 109.6 (d, C-Ar), 105.9 (d, C-Ar), 105.7 (d, C-Ar) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M-H}]^-$: berechnet: 167.0459, gefunden: 167.0455.

6.6. Molekularbiologische und Mutasynteseexperimente

6.6.1. Allgemeine Hinweise zu den mikro- und molekularbiologischen Arbeiten

Gerätschaften

Alle mikrobiologischen Arbeiten wurden in einem S1-Labor unter keimfreien Bedingungen durchgeführt. Die hierfür verwendeten Geräte und Nährmedien wurden durch Autoklavieren sterilisiert. Hitzempfindliche Materialien wurden durch Isopropanol- oder Ethanoleinwirkung sterilisiert, während nicht autoklavierbare Zusätze vor der Verwendung als Lösung durch einen Sterilfilter filtriert wurden.

Tabelle 20: Geräte.

Beschreibung	Firma
Autoklav VX-95	SYSTEC
French Press R 125	AMERICAN INSTRUMENT COMPANY
Heizblock Blockthermostat tcr 100	ROTH
Inkubator VT5042EK	HERAEUS
Netzteile	
Power Supply E833	CONSORT
Power Supply E835	CONSORT
pH-Meter Checker	HANNA
Photometer UV-1601 PC Spectrophotometer	SHIMADZU
Schüttler	
CH-4103	INFORS-AG
Innova 4900 Multi-Tier Environmental Shaker	NEW BRONSWICK SCIENTIFIC
Thermoblock Thermostat 5320	EPPENDORF
Thermomixer comfort	EPPENDORF
Vortex Genie 2	SCIENTIFIC INDUSTRIES
Zentrifugen	
5147 R Mikrozentrifuge	EPPENDORF
Heraeus Megafuge 16R	THERMO SCIENTIFIC
Qikspin Mikrozentrifuge	EDWARSS INSTRUMENTS
Spritzenpumpe BS-9000-8	BRAINTREE SCIENTIFIC

Nährmedien

Zur Herstellung der verwendeten Medien wurde ausschließlich bidest. Wasser benutzt.

Tabelle 21: Zusammensetzung der Agar-Platten.

R5-Agar-Platten		Spurenelement-Lösung	
Saccharose	30.9 g	ZnCl ₂	40 mg
K ₂ SO ₄	0.075 g	FeCl ₃ * 6H ₂ O	200 mg
MgCl ₂ * 6H ₂ O	3.036 g	CuCl ₂ * 2H ₂ O	10 mg
D-Glucose*H ₂ O	3.0 g	MnCl ₂ * 4H ₂ O	10 mg
<i>Casamino acids</i> (Difco)	0.03 g	Na ₂ B ₄ O ₇ * 10H ₂ O	10 mg
Hefe-Extrakt	1.5 g	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ * 4H ₂ O	10 mg
TES Puffer	1.723 g	Bidest. Wasser	100 mL
Agar	6.171 g		
Spurenelement-Lösung	60 µL		
Bidest. Wasser	300 mL		

Zu der Lösung der R5-Medium-Platten wurden nach dem Autoklavieren 0.30 mL KH₂PO₄-Lösung (0.5 %), 0.12 mL CaCl₂-Lösung (5.0 M), 0.45 mL L-Prolin-Lösung (20%) und 0.21 mL NaOH-Lösung (1.0 M) hinzugefügt.

Tabelle 22: Zusammensetzung verwendeter Medien.

GYP-Medium		Fermentations-Medium (GPMd)	
D-Glucose*H ₂ O	1.0 g	D-Glucose*H ₂ O	32.0 g
Hefeextrakt	4.0 g	Hefeextrakt	2.0 g
Penton	4.0 g	Penton	2.0 g
Xanthan	1.2 g	Trypton	2.0 g
Bidest. Wasser	400 mL	Haferbrei (ALNATURA)	4.0 g
		Xanthan	2.4 g
		Bidest. Wasser	800 mL

Kryo-Medium: Glycerin (20 g), Saccharose (10 g), Bidest. Wasser (70 mL).

Tabelle 23: Zusammensetzung verwendeter Medien.

Beschreibung	Komponenten pro 1000 mL	Beschreibung	Komponenten pro 1000 mL
<i>SOB-Medium</i>	20.0 g Trypton 0.5 g NaCl 5.0 g Hefe-extrakt 186 mg KCl 0.2 ml NaOH (5 M)	<i>SOC-Medium</i>	20.0 g Trypton 0.5 g NaCl 5.0 g Hefe-extrakt 186 mg KCl 0.2 ml NaOH (5 M)
<i>SOB-Agar</i>	SOB-Medium 15.0 g Agar		

Zu der Lösung der SOB-Medium wurden nach dem Autoklavieren 10 mL MgCl₂-Lösung (1 M) hinzugefügt.

Zu der Lösung der SOC-Medium wurden nach dem Autoklavieren 10 mL MgCl₂-Lösung (1 M) und 10 ml Glucose-Lösung (50 %) hinzugefügt.

Tabelle 24: Puffer für die SDS-PAGE.

Beschreibung	Komponenten
<i>Lower</i> Tris-Puffer	1.5 M Tris 4% (w/v) SDS pH 8.8
<i>Upper</i> Tris-Puffer	0.5 M Tris 4% (w/v) SDS pH 6.8
Ammoniumperoxodisulfat	10% (w/v)
Sammelgel (5%)	0.63 mL <i>Lower</i> Tris-Puffer 3.4 mL dd H ₂ O 0.83 mL Rotiophoresegel 30 0.005 mL TEMED 0.08 mL 10% APS 0.05 mL SDS
Trenngel (12%)	3.8 mL <i>Upper</i> Tris-Puffer 4.9 mL dd H ₂ O 6.0 mL Rotiophorese Gel 30 0.15 mL 10% APS 0.006 mL TEMED 0.15 mL SDS
Ladepuffer	1x Lämmli-Mix 1% (w/v) SDS 100 mM DTT
10x Lämmli-Mix	150 mM Tris pH 6.8 6% (w/v) SDS 30% (v/v) Glycerin 0.02% (w/v) Bromphenolblau
50x SDS-TAE-Laufpuffer	2 M Tris-Acetat 5 mM EDTA pH 8.0
Färbelösung	25% (v/v) Isopropanol 10% (v/v) Essigsäure 1% (v/v) Coomassie Brilliant Blue R-250
Entfärbelösung	25% (v/v) Isopropanol 10% (v/v) Essigsäure

Kultivierung der *E. coli*

Die Stämme von *E. coli*-Bakterien wurden bei 37 °C bzw. 34 °C über Nacht auf SOB-Agarplatten mit dem entsprechenden Antibiotikum kultiviert. Für die Übernachtskultur von *E. coli*-Stämmen wurde eine Kolonie in 5 mL SOB-Medium mit dem entsprechendem Antibiotikum überführt und über Nacht bei 37 °C und 200 rpm inkubiert.

Transformation mit Plasmid DNA

Die Transformation wurde mit kommerziell erhältlichen *E. coli* BL21(DE3)pLysS kompetenten Zellen, die zuvor auf Eis aufgetaut wurden, durchgeführt. Dazu wurde 1 µL Plasmid-DNA mit 100 µL kompetenter Zellen vermischt und 30 min auf Eis inkubiert. Im Anschluss erfolgte der Hitzeschock bei 42 °C für 45 s und Inkubation auf Eis für 2 min. Nach der Zugabe von 1 mL SOC-Medium wurde für 45 min bei 37 °C inkubiert und anschließend 1 min bei 7800 rpm zentrifugiert. 700 µL des Überstandes wurden verworfen und das Zellpellet im restlichen Volumen resuspendiert. Der Transformationsansatz wurde auf SOB-Agarplatten mit Ampicillin (50 µg/mL) und Chloramphenicol (50 µg/mL) ausplattiert und über Nacht bei 37 °C inkubiert.

Expression

Die heterologe Expression erfolgte ausgehend aus einer Transformation von *E. coli* BL21(DE3)pLysS-Zellen mit dem Plasmid und Selektion auf Agarplatten, die die Antibiotika Ampicillin und Chloramphenicol enthielten. Anschließend wurde eine Übernachtskultur mit Zellmaterial einer Einzelkolonie inokuliert und bei 37 °C über Nacht inkubiert. Mit dieser Flüssigkultur wurde eine Hauptkultur auf einen $OD_{595}=0.05$ angeimpft und unter Selektionsdruck (50 µg/mL Ampicillin und 50 µg/mL Chloramphenicol) bei 37 °C und 160 rpm kultiviert. Nachdem die Kultur einen $OD_{595}=1$ erreicht hatte, wurde die Expression mit 0.1 mM IPTG induziert und für 20 h bei 16 °C inkubiert. Nach dem Zentrifugieren bei 4 °C und 4500 rpm für 30 min wurde das Lysat verworfen und das Zellpellet für den anschließenden Zellaufschluss auf Eis gelagert.

Zellaufschluss mit Ultraschall

Der Zellaufschluss in Volumina von 1-5 mL wurde mit einem Ultraschall-Homogenisator (*duty cycle*: 30%, *output control*: 20 W) unter Eiskühlung in jeweils drei Cyclen (2 min Ultraschall, 1 min Eiskühlung) durchgeführt. Die Zelltrümmer wurden anschließend bei 11000 rpm und 4 °C für 30 min zentrifugiert.

Zellaufschluss mit FRENCH-PRESS-Verfahren

Der Zellaufschluss von Volumina zwischen 5 und 15 mL wurde nach dem FRENCH-PRESS-Verfahren in zwei Cyclen bei 1000 psi (high) durchgeführt. Dazu wurde zunächst das verwendete Gerät für 5 min bei -80 °C gelagert. Die Zelltrümmer wurden anschließend bei 11000 rpm und 4 °C für 30 min zentrifugiert.

SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE)

Die SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) wurde zur Analyse der Reinheit der Proben durchgeführt. Hierzu wurden 5%ige Sammel- und 12%ige Trenngele verwendet. Zur Analyse der Zellproben wurden 10 µL Lysat mit 10 µL SDS-Ladepuffer sowie eine Pipettenspitze des Zellpellets mit jeweils 10 µL SDS-Ladepuffer und 10x Lämmli-Mix vermischt und bei 95 °C für 10 min inkubiert. Aufgetragen wurden 5 µL PageRuler™ Prestained/Unstained Protein Ladder der Firma FERMENTAS als Proteinstandard und jeweils 10 µL Proteinprobe. Die Proben wurden bei 125 V für 10 min fokussiert und bei 175 V für 50 min aufgetrennt. Die Gele wurden über Nacht in Färbelösung gefärbt und anschließend mit Entfärbelösung bis zur gewünschten Farbintensität entfärbt.

Kultivierung der Mutante K390-61-1

Der verwendete Bakterienstamm *S. hygroscopicus* K390-61-1 wurde von H. G. FLOSS zur Verfügung gestellt und wurde in Form von Kryokulturen bei -80 °C gelagert.

Die Anzucht der Mutante erfolgte auf R5-Agar-Platten, die vorher mit 250 µl Neomycin-Lösung (10 mg/mL) behandelt wurden. Die Agar-Platten wurden bei 28°C für 7 Tage inkubiert. Anschließend wurden mehrere Einzelkolonien selektiert, mit einer Impf-Öse abgenommen und in einem sterilen Eppendorfgefäß mit sterilen Glasperlen sowie 1.0 mL Wasser zerkleinert. Die Lösung wurde zum Animpfen der Vorkultur (40 mL GYP-Medium pro Kolben) verwendet. Diese wurden für zwei Tage bei 28 °C und 200 rpm geschüttelt und anschließend zum Animpfen der Hauptkulturen verwendet.

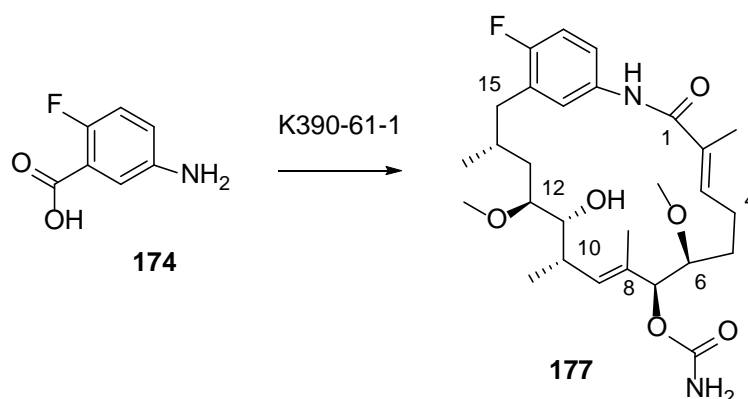
Des Weiteren wurde aus einer gut produzierenden Vorkultur Kryokulturen hergestellt. Hierfür wurden 200 µL Vorkultur mit 200 µL Kryokulturmedium gemischt und diese dann bei -80°C gelagert. Diese Kryokulturen wurden ebenfalls zum Animpfen der Vorkultur verwendet (100 µL von Kryokultur für 40 mL GYP-Medium).

Für die Hauptkulturen wurde das GPMd-Medium verwendet. Die Testverfütterung wurde in einem 250 mL Schikanekolben durchgeführt, hierbei wurde 1.0 mL Vorkultur für 30 mL GPMd-Medium verwendet. Für große Fütterungsexperimente wurden 500 mL Schikanekolben mit 75 mL GPMd-Medium und 2 mL Vorkultur verwendet. Diese wurden für 24 h bei 28°C und 200 rpm geschüttelt. Dann wurde das AHBA-Derivat innerhalb von 3 oder 4 Tagen zugefüttert. Hierfür wurde der entsprechende Aromat in DMSO oder DMSO/Wasser gelöst und anschließend steril filtriert. Nach 6-7 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt

wurde per Kieselgelsäule, Sephadex-Chromatographie, präparativer HPLC und semi-präparativer HPLC gereinigt.

6.6.2. Darstellung der mutasynthetisch hergestellten Geldanamycin-Derivate

Mutasynthese mit dem Mutasynthon 2-Fluor-5-aminobenzoessäure



Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 16 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Das Fluorid **174** (233 mg, 1.50 mmol) wurden in DMSO:H₂O (1:1, 20 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 µL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gegeben. Nach 4 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.2 L GPMd-Medium konnten 8.0 mg (6.7 mg/L) des 17-Fluor-18-deshydroxy-reblastatins **177** als farbloser Feststoff isoliert werden.

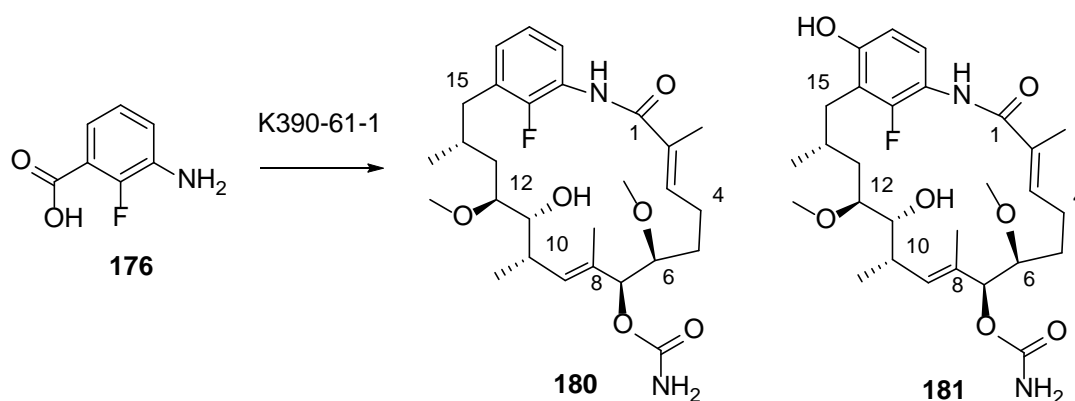
1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 55.0$ min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 44.0$ min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, H₂O:MeOH = 80:20 → 60:40 {75 min}, H₂O:MeOH = 60:40 → 0:100 {10 min}, 3.0 mL/min) ($t_R = 81.5$ min).

¹H-NMR (500 MHz, MeOD-d₄, MeOH = 3.31 ppm): δ 7.12 (s, 1H, Ph), 6.99 (m, 1H, Ph), 6.89 (s, 1H, Ph), 5.81-5.71 (m, 1H, 3-H), 5.25 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, 9-H), 4.93 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, 7-H), 3.61-3.51 (m, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OMe), 3.36 (s, 3H, 12-OMe), 3.29-3.23 (m, 1H, 6-H), 3.16-3.08 (m, 1H, 12-H), 2.78 (dd, *J* = 13.5, 5.3 Hz, 1H, 15-Ha), 2.56 (dd, *J* = 13.5, 3.9 Hz, 15-Hb), 2.47-2.36 (m, 1H, 10-H), 2.35-2.22 (m, 1H, 4-Ha), 2.17-2.07 (m, 1H, 4-Hb), 2.06-1.94 (m, 1H, 14-H), 1.81 (s, 3H, 2-Me), 1.78-1.66 (m, 1H, 13-Ha), 1.44 (s, 3H, 8-Me), 1.35-1.14 (m, 2H, 5-H), 1.13-1.02 (m, 1H, 13-Hb), 1.02 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.81 (d, *J* = 5.9 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, MeOD-d₄, MeOD = 49.0 ppm): δ 175.1 (s, C-1), 159.1 (s, CONH₂), 136.8 (d, C-3), 136.1 (s, C-Ar), 134.4 (d, C-9), 132.3 (s, C-8), 131.2 (s, C-Ar), 131.2 (s, C-Ar), 131.2 (s, C-Ar), 116.6 (d, C-Ar), 116.4 (d, C-Ar), 108.5 (d, C-Ar), 83.2 (d, C-7), 82.1 (d, C-12), 81.3 (d, C-6), 74.8 (d, C-11), 59.7 (q, 6-OMe), 57.2 (q, 12-OMe), 36.1 (t, C-15), 36.0 (t, C-10), 34.6 (t, C-13), 31.7 (d, C-14), 31.3 (t, C-5), 24.6 (t, C-4), 18.6 (q, 14-Me), 17.7 (q, 10-Me), 13.8 (q, 2-Me), 12.2 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₁N₂O₆FNa [M+Na]⁺: berechnet: 543.2846 gefunden: 543.2849.

Mutasyntese mit dem Mutasynton 2-Fluor-3-aminobenzoesäure



Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 15 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Das Fluor-Derivat **176** (180 mg, 1.16 mmol) wurden in DMSO:H₂O (1:1, 19 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 µL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gefüttert. Nach 4 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.0 L GPMd-Medium konnten folgende Geldanamycin-Derivate isoliert werden.

17-Desmethoxy-18-deshydroxy-21-fluor-reblastatin 180

3.5 mg (3.5 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 40.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 44.5 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, H₂O:MeOH = 80:20 → 55:45 {75 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {10 min}, 3.0 mL/min) (*t_R* = 79.0 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.21 (s, 1H, NH), 7.23 (s, 1H, Ph), 6.97-6.88 (m, 1H, Ph), 6.97-6.88 (m, 1H, Ph), 5.60 (br. s., 1H, 3-H), 5.56 (br. s, 2H, CONH₂), 5.20 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, 9-H), 5.03 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, 7-H), 3.62-3.58 (m, 1H, 11-H), 3.36 (s, 3H, 6-OMe), 3.32 (s, 3H, 12-OMe), 3.20-3.10 (m, 1H, 6-H), 3.20-3.10 (m, 1H, 12-H), 3.03 (dd, *J* = 13.1, 4.5 Hz, 1H, 15-Ha), 2.43-2.28 (m, 1H, 10-H), 2.43-2.28 (m, 1H, 15-Hb), 2.28-2.17 (m, 1H, 4-Ha), 2.17-2.04 (m, 1H, 14-H), 2.04-1.93 (m, 1H, 4-Hb), 1.80 (s, 3H, 2-Me), 1.70-1.62 (m, 1H, 13-Ha), 1.44 (s, 3H, 8-Me), 1.32-1.22 (m, 1H, 5-Ha), 1.23-1.14 (m, 1H, 13-Hb), 1.14-1.03 (m, 1H, 5-Hb), 1.00 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.75 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₈ = 25.5 ppm): δ 172.4 (s, C-1), 157.0 (s, CONH₂), 156.8 (s, C-Ar), 155.1 (s, C-Ar), 135.07 (d, C-3), 133.3 (d, C-9), 132.6 (s, C-2), 131.4 (s, C-8), 129.8 (s, C-Ar), 128.5 (d, C-Ar), 124.2 (d, C-Ar), 123.9 (d, C-Ar), 82.2 (d, C-6), 81.3 (d, C-12), 80.6 (d, C-7), 74.3 (d, C-11), 58.8 (q, 6-OMe), 57.0 (q, 12-OMe), 37.3 (t, C-15), 35.6 (d, C-10), 33.3 (t, C-13), 31.3 (t, C-5), 30.4 (d, C-14), 25.5 (t, C-4), 18.2 (q, 14-Me), 17.5 (q, 10-Me), 13.4 (q, 2-Me), 13.0 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₂N₂O₆F [M+H]⁺: berechnet: 521.3027 gefunden: 521.3026.

17-Desmethyl-18-deshydroxy-21-fluor-reblastatin 181

3.5 mg (3.5 mg/L); farbloser Feststoff.

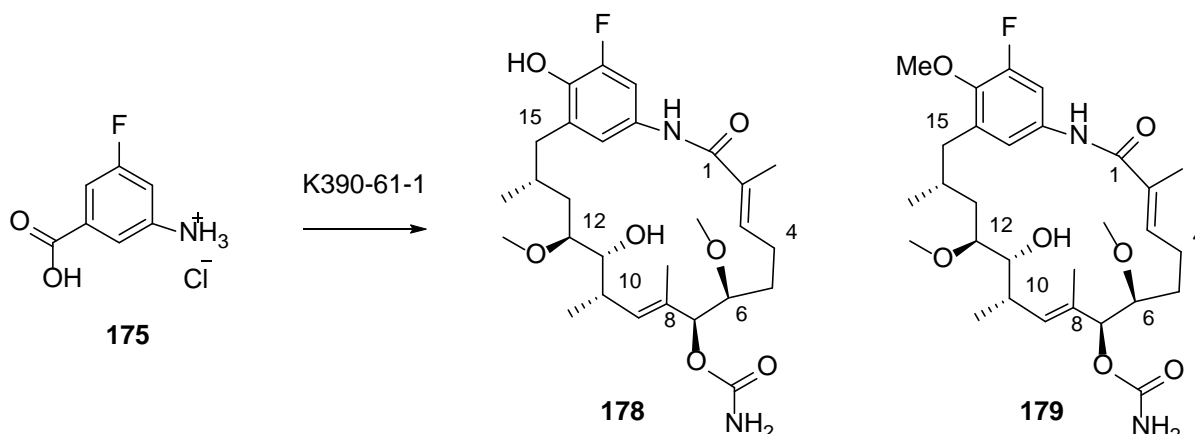
1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 40.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 35.5 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, H₂O:MeOH = 80:20 → 60:40 {75 min}, H₂O:MeOH = 60:40 → 0:100 {10 min}, 3.0 mL/min) (*t_R* = 80.0 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.31 (s, 1H, Ph-OH), 7.89 (s, 1H, NH), 6.95 (br. s, 1H, Ph), 6.44 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, Ph), 5.59 (br. s., 1H, 3-H), 5.54 (br. s., 2H, CONH₂), 5.17 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, 9-H), 5.01 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H, 7-H), 3.57-3.52 (m, 1H, 11-H), 3.37 (s, 3H, 6-OMe), 3.32 (s, 3H, 12-OMe), 3.17-3.10 (m, 1H, 6-H), 3.17-3.10 (m, 1H, 12-H), 2.74-2.64 (m, 1H, 15-Ha), 2.74-2.64 (m, 1H, 15-Hb), 2.46-2.28 (m, 1H, 10-H), 2.17-2.05 (m, 1H, 4-Ha), 2.05-2.01 (m, 1H, 14-H), 2.01-1.91 (m, 1H, 4-Hb), 1.87-1.78 (m, 1H, 13-Ha), 1.77 (s, 3H, 2-Me), 1.46 (s, 3H, 8-Me), 1.24-1.14 (m, 1H, 5-Ha), 1.14-1.01 (m, 1H, 13-Hb), 1.14-1.01 (m, 1H, 5-Hb), 1.99 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.76 (d, *J* = 5.3 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₈ = 25.5 ppm): δ 172.7 (s, C-1), 156.8 (s, CONH₂), 156.8 (s, C-Ar), 155.7 (s, C-Ar), 134.4 (d, C-3), 133.7 (d, C-9), 132.3 (s, C-2), 131.2 (s, C-8), 124.2 (d, C-Ar), 121.4 (s, C-Ar), 116.3 (s, C-Ar), 111.0 (d, C-Ar), 82.0 (d, C-6), 81.7 (d, C-12), 81.1 (d, C-7), 74.3 (d, C-11), 58.9 (q, 6-OMe), 57.0 (q, 12-OMe), 35.6 (d, C-10), 33.6 (t, C-13), 31.4 (t, C-5), 31.4 (d, C-14), 30.4 (t, C-15), 25.5 (t, C-4), 18.3 (q, 14-Me), 17.6 (q, 10-Me), 13.6 (q, 2-Me), 12.6 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₁N₂O₇FNa [M+Na]⁺: berechnet: 559.2796 gefunden: 559.2796.

Mutasyntese mit dem Mutasynton 3-Amino-5-fluorobenzoessäure



Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 16 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Das Fluor-Derivat **175** (287 mg, 1.50 mmol) wurden in DMSO:H₂O (1:1, 20 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 µL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gefüttert. Nach 4 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.2 L GPMd-Medium konnten 17-Desmethyl-18-fluor-reblastatin **178** (5.0 mg, 4.2 mg/L) und 18-Fluor-reblastatin **179** (Spuren) isoliert werden. Das Fluor-Derivat **178** wurde als farbloser Feststoff erhalten.

17-Desmethyl-18-fluor-reblastatin **178**

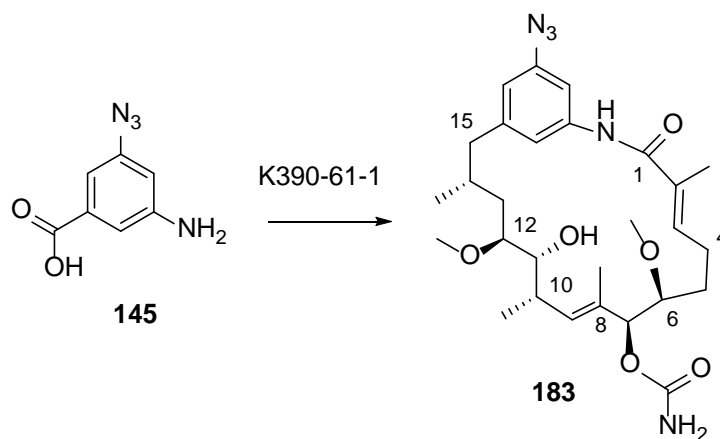
- HPLC:** präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 45.0 min),
- HPLC:** semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 32.0 min),
- HPLC:** semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 {5 min}, H₂O:MeOH = 80:20 → 60:40 {75 min}, H₂O:MeOH = 60:40 → 0:100 {10 min}, 3.0 mL/min) (*t_R* = 61.5 min).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, T = 323 K, THF- d_8 , THF- d_7 = 1.73 ppm): δ 8.44 (s, 1H, Ph-OH), 8.06 (s, 1H, NH), 7.25 (br. s, 1H, Ph), 6.63 (s, 1H, Ph), 5.97 (br. s., 1H, 3-H), 5.80 (br. s, 2H, CONH₂), 5.35 (d, J = 9.7 Hz, 1H, 9-H), 5.09 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 7-H), 3.54-3.49 (m, 1H, 11-H), 3.36 (s, 3H, 6-OMe), 3.32 (s, 3H, 12-OMe), 3.29-3.24 (m, 1H, 6-H), 3.17-3.12 (m, 1H, 12-H), 2.76 (dd, J = 13.7, 5.8 Hz, 1H, 15-Ha), 2.46-2.43 (m, 1H, 10-H), 2.43-2.35 (m, 1H, 15-Hb), 2.27-2.23 (m, 1H, 4-Ha), 2.22-2.13 (m, 1H, 4-Hb), 1.96-1.87 (m, 1H, 14-H), 1.80 (s, 3H, 2-Me), 1.70-1.61 (m, 1H, 13-Ha), 1.53 (s, 3H, 8-Me), 1.50-1.40 (m, 2H, 5-H), 1.33-1.23 (m, 1H, 13-Hb), 0.99 (d, J = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, T = 323 K, THF- d_8 , THF- d_8 = 25.5 ppm): δ 170.6 (s, C-1), 157.5 (s, CONH₂), 157.5 (s, C-Ar), 151.4 (s, C-Ar), 140.6 (s, C-Ar), 134.6 (d, C-3), 134.1 (s, C-2), 132.8 (d, C-9), 132.6 (d, C-Ar), 131.7 (s, C-8), 131.1 (s, C-Ar), 121.1 (s, C-Ar), 107.2 (d, C-Ar), 83.0 (d, C-12), 81.6 (d, C-6), 81.0 (d, C-7), 75.5 (d, C-11), 58.8 (q, 6-OMe), 57.2 (q, 12-OMe), 36.5 (t, C-15), 35.4 (d, C-10), 35.1 (t, C-13), 33.0 (d, C-14), 31.0 (t, C-5), 25.5 (t, C-4), 20.4 (q, 14-Me), 17.0 (q, 10-Me), 13.5 (q, 2-Me), 13.1 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₂₈H₄₁N₂O₇F [M+H]⁺: berechnet: 537.2976 gefunden: 537.2973.

18-Fluor-reblastatin **179**

HRMS (ESI) m/z für C₂₉H₄₃N₂O₇F [M+Na]⁺: berechnet: 573.2952 gefunden: 573.2945.

Mutasyntese mit dem Mutasynton **3-Amino-5-azidobenzoessäure**



Die Mutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 27 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Das Azid **145** (455 mg, 2.5 mmol) wurde in DMSO (34 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 4 Tagen zu den Bakterien gefüttert. Nach 6 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde per Flasch-Chromatographie (EtOAc), Sephadex-Chromatographie und

HPLC gereinigt. Aus 2.0 L GPMd-Medium konnten 0.6 mg (0.3 mg/L) von 17-Desmethoxy-18-azido-reblastatin **183** isoliert werden. Das Azid-Derivat **183** wurde als farbloser Feststoff erhalten.

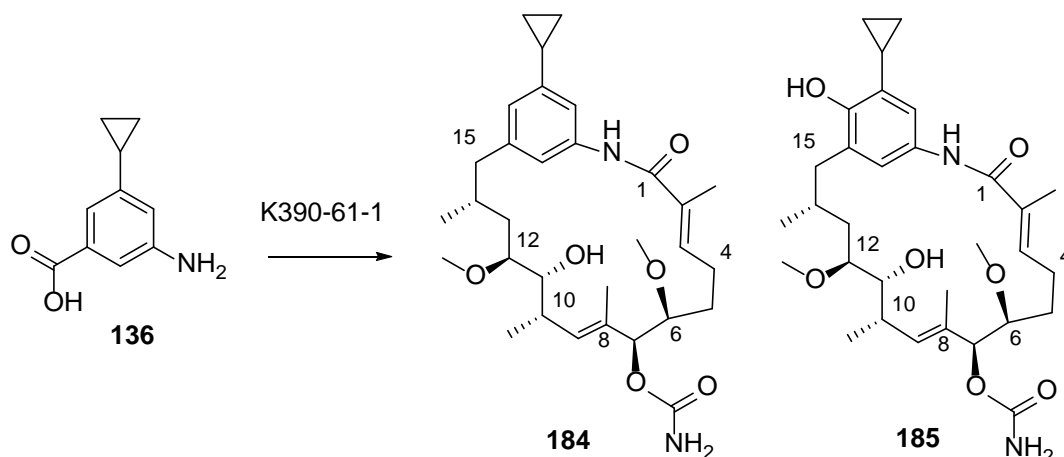
1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 70.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 70.5 min),

3. HPLC semi-präparative HPLC (CN) Gradient: H₂O:MeCN = 90:10 → 85:15 {20 min}, H₂O:MeCN = 85:15 {40 min}, H₂O:MeCN = 85:15 → 75:25 {20 min}, H₂O:MeCN = 75:25 → 55:45 {20 min}, H₂O:MeCN = 55:45 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeCN = 0:100 {5 min}, 4.0 mL/min) (*t_R* = 32.0 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 3.58 ppm): δ 8.75 (s, 1H, NH), 7.36 (s, 1H, Ph), 6.73 (s, 1H, Ph), 6.52 (s, 1H, Ph), 6.01-5.98 (m, 1H, 3-H), 5.89-5.72 (br. s, 2H, CONH₂), 5.37 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, 9-H), 5.12 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, 7-H), 3.53-3.51 (m, 1H, 11-H), 3.37-3.35 (m, 1H, 6-H), 3.35 (s, 3H, 6-OMe), 3.32 (s, 3H, 12-OMe), 3.17-3.14 (m, 1H, 12-H), 2.69 (dd, *J* = 12.2, 5.6 Hz, 1H, 15-Ha), 2.55-2.45 (m, 1H, 10-H), 2.37-2.32 (m, 1H, 4-Ha), 2.37-2.32 (m, 1H, 15-Hb), 2.23-2.16 (m, 1H, 4-Hb), 1.86-1.82 (m, 1H, 14-H), 1.86-1.82 (m, 1H, 5-Ha), 1.82 (s, 3H, 2-Me), 1.60-1.52 (m, 1H, 5-Hb), 1.60-1.52 (m, 1H, 13-Ha), 1.52 (s, 3H, 8-Me), 1.45-1.41 (m, 1H, 13-Hb), 1.19-1.10 (m, 3H, 10-Me), 0.91-0.86 (m, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₈ = 67.7 ppm): δ 169.3 (s, C-1), 157.7 (s, CONH₂), 150.3 (s, C-Ar), 143.2 (s, C-Ar), 141.3 (s, C-Ar), 135.2 (d, C-3), 135.0 (s, C-2), 132.2 (s, C-8), 131.8 (d, C-9), 119.3 (d, C-Ar), 113.4 (d, C-Ar), 108.5 (d, C-Ar), 81.7 (d, C-12), 80.8 (d, C-6), 80.8 (d, C-7), 74.0 (d, C-11), 58.7 (q, 6-OMe), 57.1 (q, 12-OMe), 43.5 (t, C-15), 36.4 (t, C-13), 35.4 (d, C-10), 33.2 (d, C-14), 30.8 (d, C-5), 26.6 (t, C-4), 17.0 (q, 10-Me), 14.5 (q, 14-Me), 13.3 (q, 8-Me), 13.3 (q, 2-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₁N₅O₆Na [M+Na]⁺: berechnet: 566.2955, gefunden: 566.2953.

Mutasyntese mit dem Mutasynton 3-Amino-5-cyclopropylbenzoesäure



Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 16 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Das Cyclopropyl-Derivat **136** (287 mg, 1.50 mmol) wurde in DMSO:H₂O (1:1, 20 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 µL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gefüttert. Nach 6 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt per Flasch-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.2 L GPMd-Medium konnten folgende Geldanamycin-Derivate isoliert werden.

17-Desmethoxy-18-cyclopropyl-reblastatin **184**

1.3 mg (1.1 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 65.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 63.0 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {80 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {5 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 64.4 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.43 (s, 1H, NH), 7.02 (s, 1H, Ph), 6.61 (s, 1H, Ph), 6.58 (s, 1H, Ph), 5.88-5.80 (m, 1H, 3-H), 5.69 (br. s, 2H, CONH₂), 5.30 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, 9-H), 5.06 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, 7-H), 4.54 (br. s., 1H, 11-OH), 3.54-3.48 (m, 1H, 11-H), 3.35 (s, 3H, 6-OMe), 3.31 (s, 3H, 12-OMe), 3.30-3.24 (m, 1H, 6-H), 3.15-3.08 (m, 1H, 12-H), 2.65 (dd, *J* = 13.2, 5.0 Hz, 1H, 15-Ha), 2.47-2.40 (m, 1H, 10-H), 2.37-2.25 (m, 1H, 15-Hb), 2.37-2.25 (m, 1H, 4-Ha), 2.17-2.05 (m, 1H, 4-Hb), 1.91-1.82 (m, 1H, 14-H), 1.91-1.82 (m, 1H, CH_{cyclopropyl}) 1.79 (s, 3H, 2-Me), 1.60-1.52 (m, 1H, 13-Ha), 1.48 (s, 3H, 8-Me), 1.40-1.32 (m, 2H, 5-H), 1.27-1.20 (m, 1H, 13-Hb), 1.00 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.90-0.86 (m, 2H, CH_{2 cyclopropyl}), 0.82 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, 14-Me), 0.66-0.61 (m, 2H, CH_{2 cyclopropyl}) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₈ = 25.5 ppm): δ 171.2 (s, C-1), 157.3 (s, CONH₂), 145.4 (s, C-Ar), 141.8 (s, C-Ar), 141.3 (s, C-Ar), 134.7 (d, C-3), 133.0 (s, C-2), 133.0 (s, C-9), 131.7 (d, C-8), 124.3 (d, C-Ar), 123.5 (d, C-Ar), 116.3 (d, C-Ar), 82.7 (d, C-12), 81.6 (d, C-6), 81.3 (d, C-7), 75.1 (d, C-11), 58.9 (q, 6-OMe), 57.0 (q, 12-OMe), 43.9 (t, C-15), 35.5 (d, C-10), 34.6 (t, C-13), 32.8 (d, C-14), 31.0 (t, C-5), 25.5 (t, C-4), 19.8 (q, 14-Me), 17.3 (d, CH_{cyclopropyl}), 16.2 (q, 10-Me), 13.6 (q, 2-Me), 13.2 (q, 2-Me), 9.7 (t, CH_{2 cyclopropyl}), 9.6 (t, CH_{2 cyclopropyl}) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₃₁H₄₆N₂O₆Na [M+Na]⁺: berechnet: 565.3254 gefunden: 565.3254.

17-Desmethyl-18-cyclopropyl-reblastatin **185**

0.3 mg (0.25 mg/L); farbloser Feststoff.

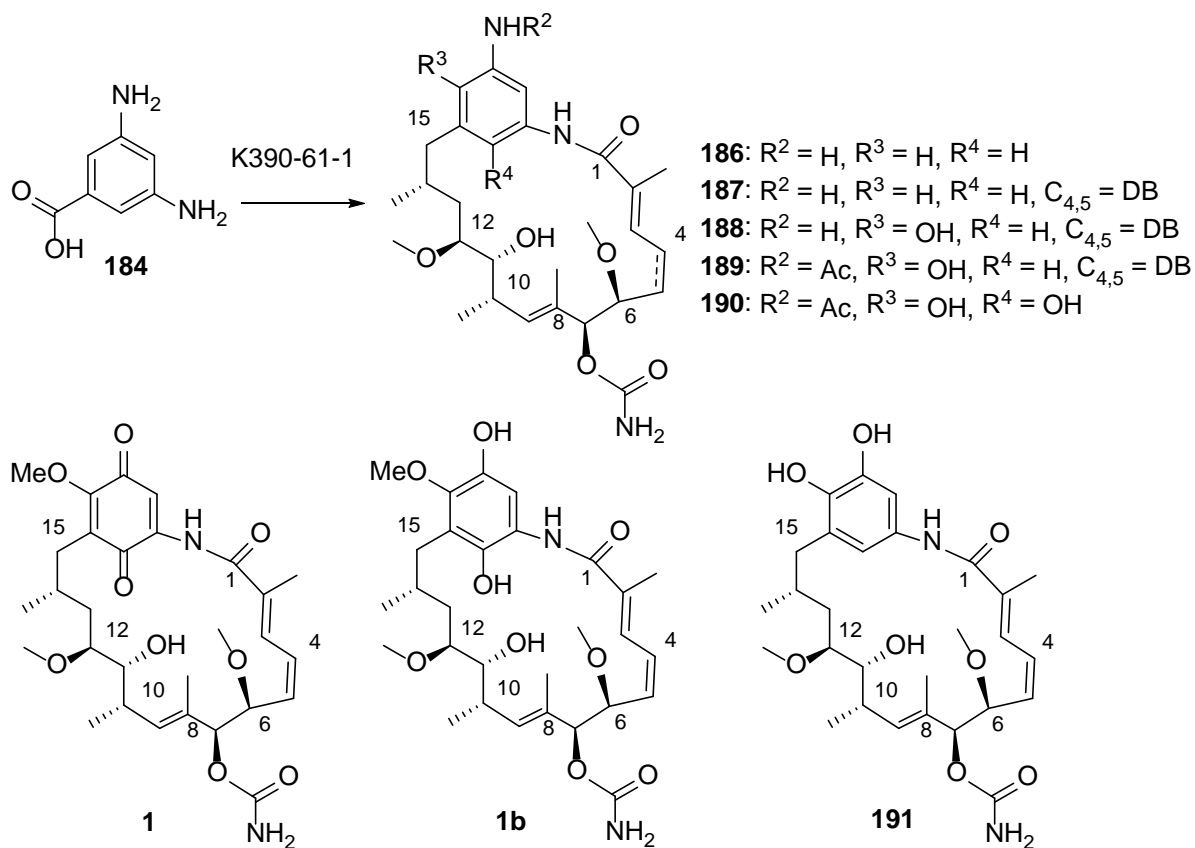
1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 65.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 61.0 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 70:30 {5 min}, H₂O:MeOH = 70:30 → 40:60 {80 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {5 min}, 3.0 mL/min) (*t_R* = 60.2 min) gereinigt.

HRMS (ESI) *m/z* für C₃₁H₄₆N₂O₇Na [M+Na]⁺: berechnet: 581.3203 gefunden: 581.3208.

Mutasythese mit dem Mutasythron 3,5-Diaminobenzoesäure



Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 16 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Die Diaminobenzoesäure **184** (228 mg, 1.50 mmol) wurden in DMSO:H₂O (1:1, 20 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 µL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gefüttert. Nach 4 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt per Flasch-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.2 L GPMd-Medium konnten folgende Geldanamycin-Derivate isoliert werden.

17-Desmethoxy-18-amino-reblastatin **186**

2.0 mg (1.7 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 15.0$ min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {65 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {20 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 67.5 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {75 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {5 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {5 min}, 3.5 mL/min) (*t_R* = 57.2 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.22 (s, 1H, NH), 6.62 (s, 1H, Ph), 6.09 (s, 1H, Ph), 6.08 (s, 1H, Ph), 5.88-5.80 (m, 1H, 3-H), 5.70-5.60 (br. s, 2H, CONH₂), 5.30 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, 9-H), 5.05 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, 7-H), 4.54 (s, 2H, NH₂), 4.28 (br. s., 1H, OH-11), 3.55-3.48 (m, 1H, 11-H), 3.36 (s, 3H, 6-OMe), 3.30-3.24 (m, 1H, 6-H), 3.30 (s, 3H, 12-OMe), 3.15-3.07 (m, 1H, 12-H), 2.56 (dd, *J* = 13.2, 5.0 Hz, 1H, 15-Ha), 2.47-2.40 (m, 1H, 10-H), 2.37-2.25 (m, 1H, 4-Ha), 2.23 (dd, *J* = 13.2, 6.2 Hz, 15-Hb), 2.16-2.04 (m, 1H, 4-Hb), 1.91-1.82 (m, 1H, 14-H), 1.78 (s, 3H, 2-Me), 1.57-1.52 (m, 1H, 13-Ha), 1.52 (s, 3H, 8-Me), 1.42-1.33 (m, 2H, 5-H), 1.33-1.22 (m, 1H, 13-Hb), 0.99 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.82 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₈ = 25.5 ppm): δ 171.3 (s, C-1), 157.2 (s, CONH₂), 149.8 (s, C-Ar), 142.3 (s, C-Ar), 141.8 (s, C-Ar), 134.3 (d, C-3), 134.3 (s, C-2), 133.2 (d, C-9), 131.9 (s, C-8), 112.9 (d, C-Ar), 112.9 (d, C-Ar), 105.7 (d, C-Ar), 82.7 (d, C-12), 81.6 (d, C-6), 81.5 (d, C-7), 75.0 (d, C-11), 58.9 (q, 6-OMe), 57.0 (q, 12-OMe), 44.3 (t, C-15), 35.5 (d, C-10), 34.6 (t, C-13), 32.5 (d, C-14), 31.1 (t, C-5), 25.5 (t, C-4), 19.9 (q, 14-Me), 17.3 (q, 10-Me), 13.6 (q, 2-Me), 13.0 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₄N₃O₆ [M+H]⁺: berechnet: 518.3230 gefunden: 518.3220.

4,5-Dehydro-17-Desmethoxy-18-amino-reblastatin **187**

0.3 mg (0.25 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 15.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {65 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {20 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 64.0 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {75 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {5 min} H₂O:MeOH = 0:100 {5 min}, 3.5 mL/min) (*t_R* = 66.2 min),

4. HPLC: semi-präparative HPLC (CN) (Gradient: H₂O:MeOH = 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {75 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {5 min} H₂O:MeOH = 0:100 {5 min}, 3.5 mL/min) (*t_R* = 39.1 min).

HRMS (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₂N₃O₆ [M+H]⁺: berechnet: 516.3074 gefunden: 516.3076.

4,5-Dehydro-17-Desmethyl-18-amino-reblastatin **188**

HRMS (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₂N₃O₇ [M+H]⁺: berechnet: 532.3023 gefunden: 532.3007.

4,5-Dehydro-17-Desmethyl-18-amino-*N*-acetyl-reblastatin **189**

1.5 mg (1.25 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 35.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 20.5 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {65 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {20 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 62.0 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.72 (s, 1H, NH), 7.91 (s, 1H, Ph), 7.43 (s, 1H, Ph), 7.09-6.99 (m, 1H, 3-H), 6.51 (t, 1H, 4H), 5.77-5.50 (br. s, 2H, CONH₂), 5.77-5.50 (m, 1H, 9-H), 5.77-5.50 (m, 1H, 5-H), 5.03 (s, 1H, 7-H), 4.35 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, 6-H), 3.55-3.48 (m, 1H, 11-H), 3.34 (s, 3H, 6-OMe), 3.37-3.28 (m, 1H, 12-H), 3.16 (s, 3H, 12-OMe), 2.88-2.72 (m, 1H, 15-Ha), 2.88-2.72 (m, 1H, 10-H), 2.47-2.25 (m, 1H, 15-Hb), 1.91-1.82 (m, 1H, 14-H), 1.99 (s, 3H, 2-Me), 1.97 (s, 3H, Ac), 1.67-1.52 (m, 1H, 13-Ha), 1.72 (s, 3H, 8-Me), 1.39-1.25 (m, 1H, 13-Hb), 0.99 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, 14-Me), 0.93 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, 10-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₃₀H₄₅N₃O₈Na [M+Na]⁺: berechnet: 596.2948 gefunden: 596.2946.

17-Desmethyl-18-amino-*N*-acetyl-21-hydroxy-reblastatin 190

1.5 mg (1.25 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 35.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 23.5 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {65 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {20 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 68.0 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-*d*₈, THF-*d*₇ = 1.73 ppm): δ 9.32 (s, 1H, NHAc), 8.22 (s, 1H, NH), 7.58 (s, 1H, Ph), 6.97 (br. s., 1H, 3-H), 5.67-5.45 (br. s, 2H, CONH₂), 5.67-5.45 (m, 1H, 9-H), 5.04 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H, 7-H), 3.53 (s, 3H, 6-OMe), 3.40 (s, 3H, 12-OMe), 3.40-3.31 (m, 1H, 11-H), 3.40-3.31 (m, 1H, 6-H), 3.40-3.31 (m, 1H, 12-H), 2.96 (dd, *J* = 13.6, 3.4 Hz, 1H, 15-Ha), 2.87-2.66 (m, 1H, 10-H), 2.87-2.66 (m, 1H, 15-Hb), 2.37-2.25 (m, 1H, 4-Ha), 2.25-2.16 (m, 1H, 4-Hb), 2.16-2.10 (m, 1H, 14-H), 2.10 (s, 3H, Ac), 1.78 (s, 3H, 2-Me), 1.52 (s, 3H, 8-Me), 1.57-1.52 (m, 1H, 13-Ha), 1.42-1.30 (m, 2H, 5-H), 1.33-1.22 (m, 1H, 13-Hb), 0.94 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, 10-Me), 0.94 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, T = 323 K, THF-*d*₈, THF-*d*₈ = 25.5 ppm): δ 171.0 (s, C=O), 169.2 (s, C-1), 157.0 (s, CONH₂), 146.1 (s, C-Ar), 143.2 (s, C-Ar), 143.2 (s, C-Ar), 135.7 (d, C-3), 135.3 (d, C-9), 135.2 (s, C-2), 132.3 (s, C-8), 119.7 (s, C-Ar), 116.7 (s, C-Ar), 111.3 (d, C-Ar), 84.3 (d, C-12), 83.1 (d, C-6), 82.5 (d, C-7), 77.5 (d, C-11), 59.3 (q, 6-OMe), 59.3 (q, 12-OMe), 36.9 (t, C-13), 33.9 (d, C-10), 33.1 (t, C-5), 32.5 (d, C-14), 30.8 (t, C-15), 25.5 (t, C-4), 23.0 (q, Ac), 19.9 (q, 14-Me), 17.3 (q, 10-Me), 13.0 (q, 2-Me), 12.5 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₃₀H₄₅N₃O₉Na [M+Na]⁺: berechnet: 614.3054 gefunden: 614.3046.

4,5-Dehydro-17-Desmethyl-reblastatin 191

0.7 mg (0.6 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 15.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {65 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {20 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 64.0 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {75 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {5 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {5 min}, 3.5 mL/min) (*t_R* = 64.0 min),

4. HPLC: semi-präparative HPLC (CN) (Gradient: H₂O:MeOH = 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {75 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {5 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {5 min}, 3.5 mL/min) (*t_R* = 33.5 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.81 (s, 1H, NH), 7.32 (s, 1H, Ph), 7.06 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, 3-H), 6.55 (t, *J* = 11.4 Hz, 1H, 4-H), 6.42 (s, 1H, Ph), 5.89 (dd, *J* = 10.3, 9.0 Hz, 1H, 5-H), 5.76-5.60 (br. s, 2H, CONH₂), 5.60 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, 9-H), 5.01 (s, 1H, 7-H), 4.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, 6-H), 3.31-3.22 (m, 1H, 11-H), 3.31 (s, 3H, 6-OMe), 3.28 (s, 3H, 12-OMe), 3.16-3.07 (m, 1H, 12-H), 2.86-2.74 (m, 1H, 10-H), 2.46 (dd, *J* = 12.4, 5.4 Hz, 1H, 15-Ha), 2.25 (dd, *J* = 12.4, 9.0 Hz, 15-Hb), 2.17-2.08 (m, 1H, 14-H), 1.99 (s, 3H, 2-Me), 1.75-1.70 (s, 3H, 8-Me), 1.730-1.63 (m, 1H, 13-Ha), 1.60-1.48 (m, 1H, 13-Hb), 1.05 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 10-Me), 0.83 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₁N₂O₈ [M+H]⁺: berechnet: 533.2863 gefunden: 533.2877.

Geldanamycin (**1**)

4.0 mg (3.3 mg/L); gelber Feststoff.

1. HPLC präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 35.0 min),

2. HPLC semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 76.5 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.92 (s, 1H, NH), 7.18 (s, 1H, Ph), 7.08 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, 3-H), 6.55 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, 4-H), 5.88 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, 5-H), 5.67-5.45 (br. s, 2H, CONH₂), 5.63 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, 9-H), 5.03 (s, 1H, 7-H), 4.37 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, 6-H), 4.04 (s, 3H, 17-OMe), 3.37-3.31 (m, 1H, 11-H), 3.30 (s, 3H, 6-OMe), 3.26 (s, 3H, 12-OMe), 3.22-3.14 (m, 1H, 12-H), 3.22-3.14 (m, 1H, 11-OH), 2.82-2.73 (m, 1H,

10-H), 2.51 (dd, $J = 13.6, 3.4$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.42-2.30 (m, 1H, 15-Hb), 2.06-2.00 (m, 1H, 14-H), 1.98 (s, 3H, 2-Me), 1.74 (s, 3H, 8-Me), 1.66-1.57 (m, 2H, 13-H), 1.02 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 10-Me), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 14-Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $T = 323$ K, THF- d_8 , THF- $d_8 = 25.5$ ppm): δ 185.1 (s, $\text{C}_{\text{Ar}}=\text{O}$), 184.9 (s, $\text{C}_{\text{Ar}}=\text{O}$), 169.1 (s, C-1), 157.9 (s, CONH_2), 157.0 (s, C-Ar), 140.3 (s, C-Ar), 139.2 (d, C-5), 135.1 (s, C-8), 135.0 (s, C-2), 133.4 (d, C-9), 129.1 (d, C-3), 128.9 (s, C-Ar), 126.5 (d, C-4), 111.9 (d, C-Ar), 83.6 (d, C-12), 82.6 (d, C-7), 82.2 (d, C-6), 73.8 (d, C-11), 61.7 (q, 17-OMe), 57.3 (q, 6-OMe), 56.9 (q, 12-OMe), 33.6 (t, C-13), 33.4 (d, C-10), 33.3 (t, C-15), 28.0 (d, C-14), 24.1 (q, 14-Me), 13.0 (q, 10-Me), 12.7 (q, 8-Me), 12.5 (q, 2-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_9\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 583.2632 gefunden: 583.2632.

Dihydrogeldanamycin (**1b**)

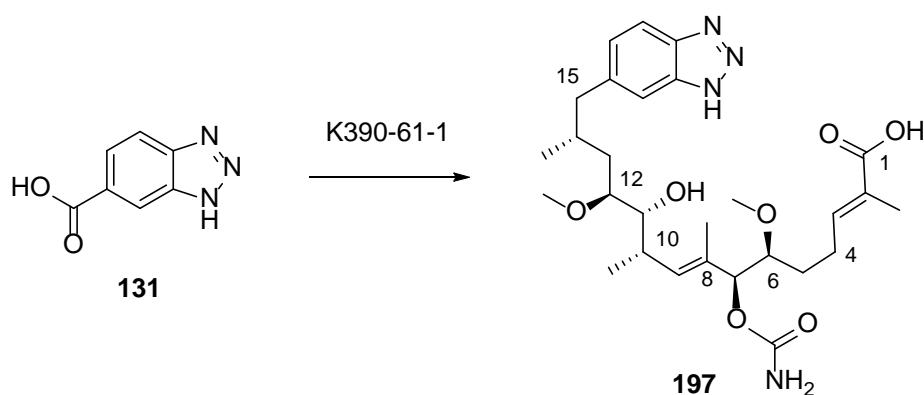
17.0 mg (14.2 mg/L); gelber Feststoff.

1. HPLC präparative HPLC (C18) (Gradient: $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 60:40$ {5 min}, $60:40 \rightarrow 50:50$ {15 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 50:50 \rightarrow 30:70$ {65 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 30:70 \rightarrow 0:100$ {15 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 0:100$ {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 35.0$ min),

2. HPLC semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 80:20 \rightarrow 65:35$ {5 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 65:35 \rightarrow 40:60$ {65 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 40:60 \rightarrow 0:100$ {10 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 0:100$ {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 26.5$ min).

HRMS (ESI) m/z für $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_9\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: berechnet: 585.2788 gefunden: 585.2784.

Mutasyntese mit dem Mutasynton Benzotriazol



Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 16 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Das Benzotriazol-Derivat **131** (245 mg, 1.50 mmol) wurde in

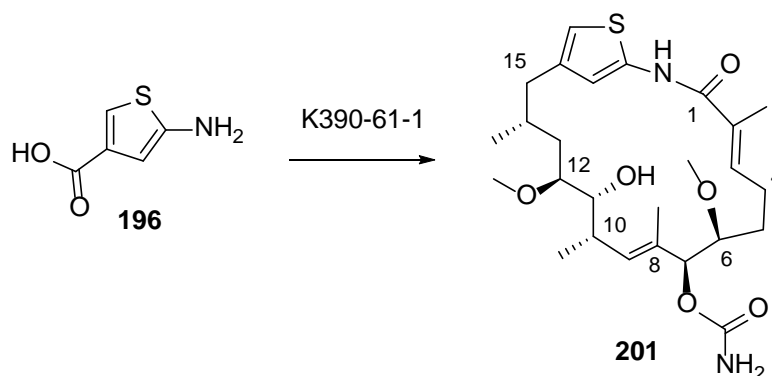
DMSO:H₂O (1:1, 20 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 µL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gefüttert. Nach 4 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt per Flasch-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.2 L GPMd-Medium konnten 0.5 mg (0.42 mg/L) des *seco*-Progeldanamycinsäure-Derivates **197** isoliert werden. Die *seco*-Säure wurde als farbloser Feststoff erhalten.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 55.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 52.0 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (CN) (Gradient: H₂O:MeCN = 90:10 → 85:15 {20 min}, H₂O:MeCN = 85:15 {40 min}, H₂O:MeCN = 85:15 → 75:25 {20 min}, H₂O:MeCN = 75:25 → 55:45 {20 min}, H₂O:MeCN = 55:45 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeCN = 0:100 {5 min}, 4.0 mL/min) (*t_R* = 53.5 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 7.72 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, Ph), 7.56 (s, 1H, Ph), 7.20 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ph), 6.77-6.69 (m, 1H, 3-H), 5.53 (br. s, 2H, CONH₂), 5.28 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, 9-H), 4.90 (dd, *J* = 8.6, 2.9 Hz, 1H, 7-H), 3.86 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, 11-H), 3.42 (s, 3H, 6-OMe), 3.30 (s, 3H, 12-OMe), 3.35-3.25 (m, 1H, 6-H), 3.25-3.12 (m, 1H, 12-H), 2.84 (dd, *J* = 13.5, 5.7 Hz, 1H, 15-Ha), 2.79-2.69 (m, 1H, 10-H), 2.61-2.50 (m, 1H, 15-Hb), 2.28-2.17 (m, 2H, 4-H), 2.14-1.98 (m, 1H, 14-H), 1.80 (s, 3H, 2-Me), 1.75-1.02 (m, 1H, 5-Ha), 1.70-1.62 (m, 1H, 13-Ha), 1.60 (s, 3H, 8-Me), 1.50-1.36 (m, 1H, 13-Hb), 1.17-1.07 (m, 1H, 5-Hb), 0.97 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 10-Me), 0.83 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₈H₄₃N₄O₇ [M+H]⁺: berechnet: 547.3132 gefunden: 547.3137.

Mutasythese mit dem Mutasythron 2-Amino-4-carboxythiophen

Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 16 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Das Thiophen-Derivat **196** (215 mg, 1.50 mmol) wurde in DMSO:H₂O (1:1, 20 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 µL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gefüttert. Nach 4 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt per Flasch-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.2 L GPMd-Medium konnten 8.3 mg (6.9 mg/L) von dem Geldanamycin-Derivat **201** isoliert werden. Das Thiophen-Derivat wurde als farbloser Feststoff erhalten.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 55.0 min),

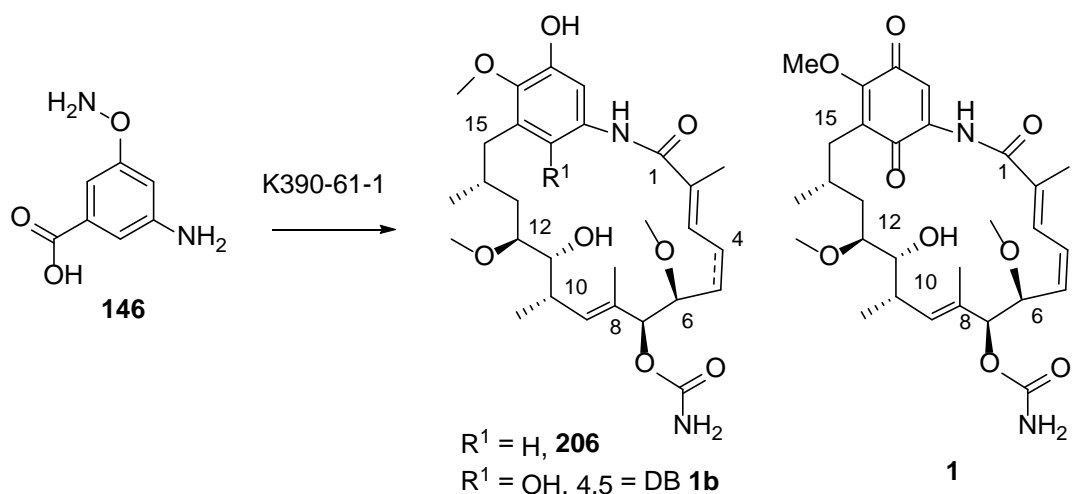
2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 47.0 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (CN) (Gradient: H₂O:MeCN = 90:10 → 85:15 {20 min}, H₂O:MeCN = 85:15 {40 min}, H₂O:MeCN = 85:15 → 75:25 {20 min}, H₂O:MeCN = 75:25 → 55:45 {20 min}, H₂O:MeCN = 55:45 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeCN = 0:100 {5 min}, 4.0 mL/min) (*t_R* = 40.0 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 8.61 (s, 1H, NH), 6.57 (s, 1H, Ar), 6.38 (s, 1H, Ar), 5.72 (br. s., 1H, 3-H), 5.57 (br. s., 2H, CONH₂), 5.22 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, 9-H), 4.99 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, 7-H), 3.56-3.51 (m, 1H, 11-H), 3.37 (s, 3H, 6-OMe), 3.31 (s, 3H, 12-OMe), 3.28-3.19 (m, 1H, 6-H), 3.11-3.05 (m, 1H, 12-H), 2.65 (dd,

$J = 13.6, 5.4$ Hz, 1H, 15-Ha), 2.45-2.35 (m, 1H, 10-H), 2.45-2.35 (m, 1H, 15-Hb), 2.22-2.05 (m, 2H, 4-H), 2.05-1.91 (m, 1H, 14-H), 1.75 (s, 3H, 2-Me), 1.66-1.58 (m, 1H, 13-Ha), 1.55 (s, 3H, 8-Me), 1.24-1.14 (m, 2H, 5-H), 1.20-1.11 (m, 1H, 13-Hb), 1.00 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 10-Me), 0.75 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 14-Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, T = 323 K, THF- d_8 , THF- $d_8 = 25.5$ ppm): δ 172.3 (s, C-1), 156.9 (s, CONH₂), 143.2 (s, C-Ar), 139.6 (s, C-Ar), 135.3 (d, C-3), 134.0 (d, C-9), 131.8 (s, C-2), 131.7 (s, C-8), 124.4 (d, C-Ar), 117.3 (d, C-Ar), 82.1 (d, C-12), 81.8 (d, C-7), 81.4 (d, C-6), 74.2 (d, C-11), 59.1 (q, 6-OMe), 57.0 (q, 12-OMe), 39.0 (t, C-15), 35.7 (d, C-10), 33.3 (t, C-13), 31.4 (t, C-5), 30.5 (d, C-14), 24.5 (t, C-4), 18.7 (q, 14-Me), 17.9 (q, 10-Me), 14.1 (q, 2-Me), 12.7 (q, 8-Me) ppm; **HRMS** (ESI) m/z für C₂₆H₄₁N₂O₆S [M+H]⁺: berechnet: 509.2685 gefunden: 509.2666.

Mutasythese mit dem Mutasythron 3-Amino-5-aminooxy-benzoesäure



Die Blockmutante K390-61-1 wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 16 Schikanekolben (500 mL) kultiviert. Die Aminobenzoesäure **146** (252 mg, 1.50 mmol) wurden in DMSO:H₂O (1:1, 20 mL) gelöst, steril filtriert und innerhalb von 3 Tagen (415 μL pro Kolben und Tag) zu den Bakterien gefüttert. Nach 4 Tagen wurden die Kulturen nach Zentrifugation je dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt per Flasch-Chromatographie (EtOAc) und HPLC gereinigt. Aus 1.2 L GPMd-Medium konnten folgende Geldanamycin-Derivate isoliert werden.

Reblastatin **206**

0.5 mg (0.4 mg/L); farbloser Feststoff.

1. HPLC: präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 45.0 min),

2. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 39.0 min),

3. HPLC: semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 95:5 → 90:10 {5 min}, H₂O:MeOH = 90:10 → 55:45 {65 min}, H₂O:MeOH = 55:45 → 0:100 {20 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 68.0 min).

¹H-NMR (500 MHz, T = 323 K, THF-d₈, THF-d₇ = 1.73 ppm): δ 7.22-7.15 (m, 1H, Ph), 6.83 (s, 1H, NH), 6.37 (s, 1H, Ph), 6.02-5.94 (m, 1H, 3-H), 5.84-5.61 (br. s, 2H, CONH₂), 5.39-5.36 (m, 1H, 9-H), 5.10 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, 7-H), 3.69 (s, 3H, Ar-OMe), 3.55-3.48 (m, 1H, 11-H), 3.36 (s, 3H, 6-OMe), 3.32 (s, 3H, 12-OMe), 3.28-3.25 (m, 1H, 6-H), 3.23-3.19 (m, 1H, 12-H), 2.16-2.13 (m, 1H, 10-H), 2.60-2.55 (m, 1H, 15-Ha), 2.49-2.43 (m, 1H, 15-Hb), 2.22-2.05 (m, 2H, 4-H), 1.91-1.81 (m, 1H, 14-H), 1.78 (s, 3H, 2-Me), 1.66-1.58 (m, 1H, 13-Ha), 1.56 (s, 3H, 8-Me), 1.24-1.14 (m, 2H, 5-H), 1.20-1.11 (m, 1H, 13-Hb), 0.98 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, 10-Me), 0.90 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 14-Me) ppm; **HRMS** (ESI) *m/z* für C₂₉H₄₀N₂O₉Na [M+Na]⁺: berechnet: 571.2632 gefunden: 571.2608.

Geldanamycin (**1**)

3.0 mg (2.5 mg/L); gelber Feststoff.

1. HPLC präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 35.0 min),

2. HPLC semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) (*t_R* = 76.5 min).

HRMS (ESI) *m/z* für C₂₉H₄₀N₂O₉Na [M+Na]⁺: berechnet: 583.2632 gefunden: 583.2632.

Dihydrogeldanamycin (**1b**)

4.0 mg (3.3 mg/L); gelber Feststoff.

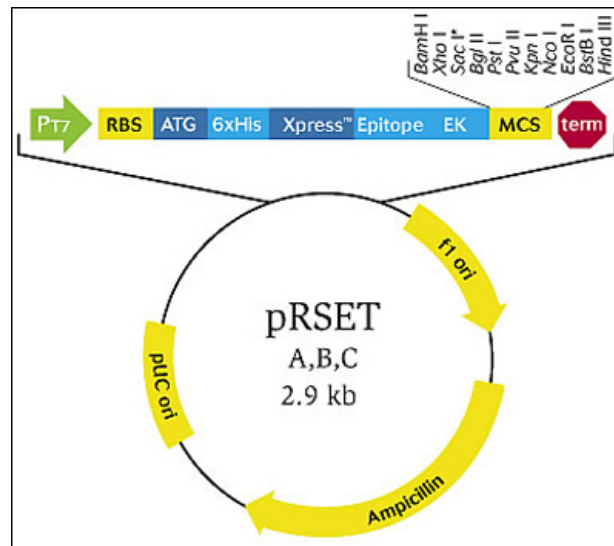
1. HPLC präparative HPLC (C18) (Gradient: H₂O:MeOH = 60:40 {5 min}, 60:40 → 50:50 {15 min}, H₂O:MeOH = 50:50 → 30:70 {65 min}, H₂O:MeOH = 30:70 → 0:100 {15 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 35.0$ min),

2. HPLC semi-präparative HPLC (C18-ISIS) (Gradient: H₂O:MeOH = 80:20 → 65:35 {5 min}, H₂O:MeOH = 65:35 → 40:60 {65 min}, H₂O:MeOH = 40:60 → 0:100 {10 min}, H₂O:MeOH = 0:100 {10 min}, 2.5 mL/min) ($t_R = 26.5$ min).

HRMS (ESI) m/z für C₂₉H₄₂N₂O₉Na [M+Na]⁺: berechnet: 585.2788 gefunden: 585.2784.

7. Anhang

7.1. pRSET B- Vektor¹⁰⁹

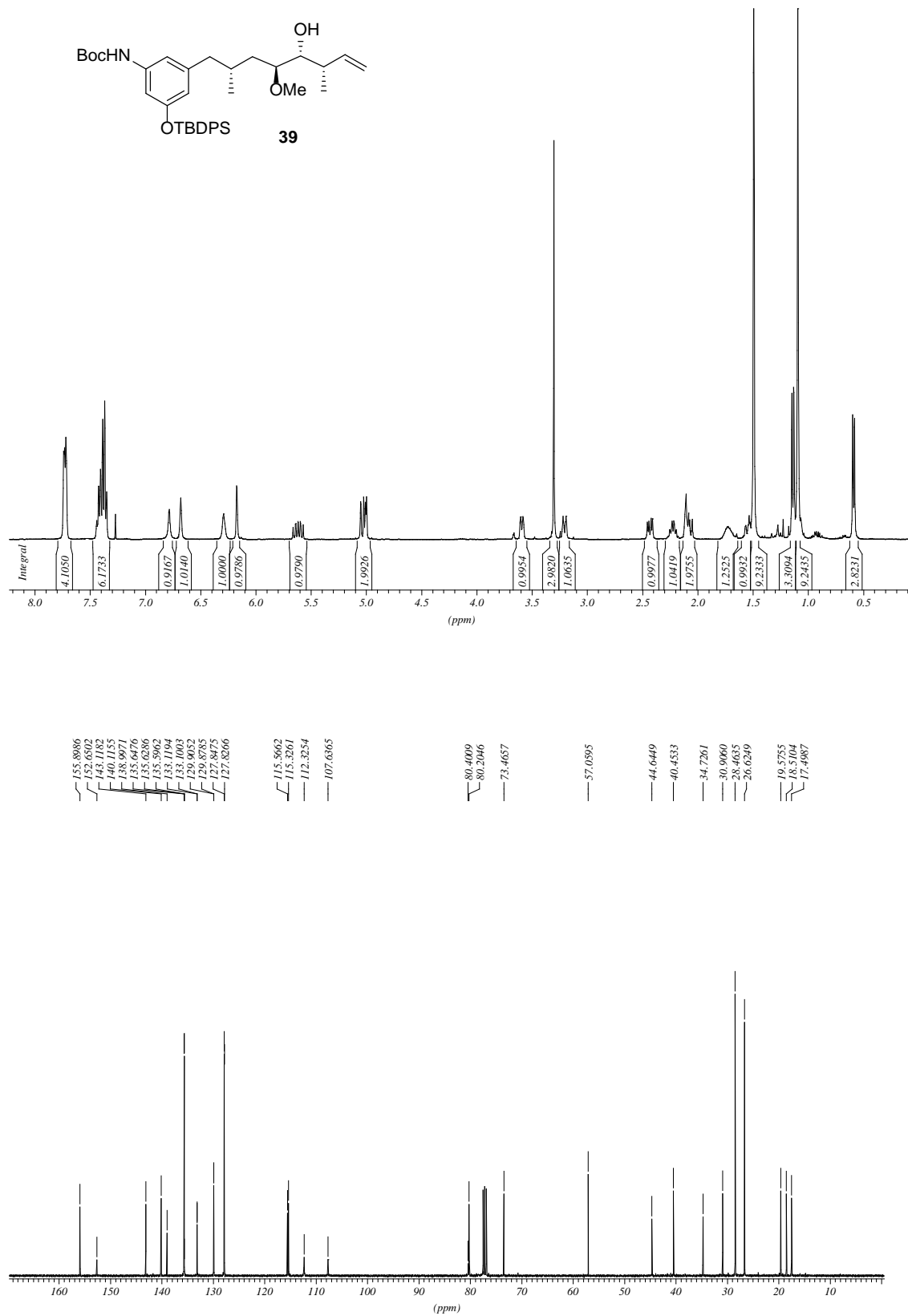


7.2. Massenspektroskopische Daten

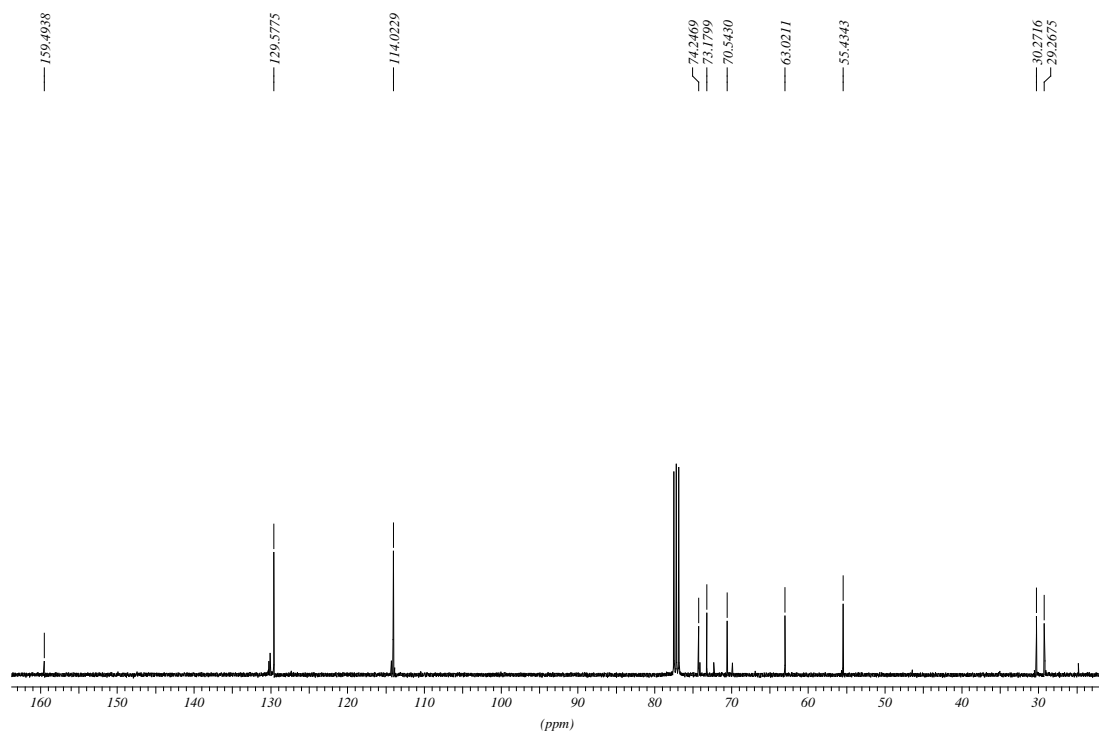
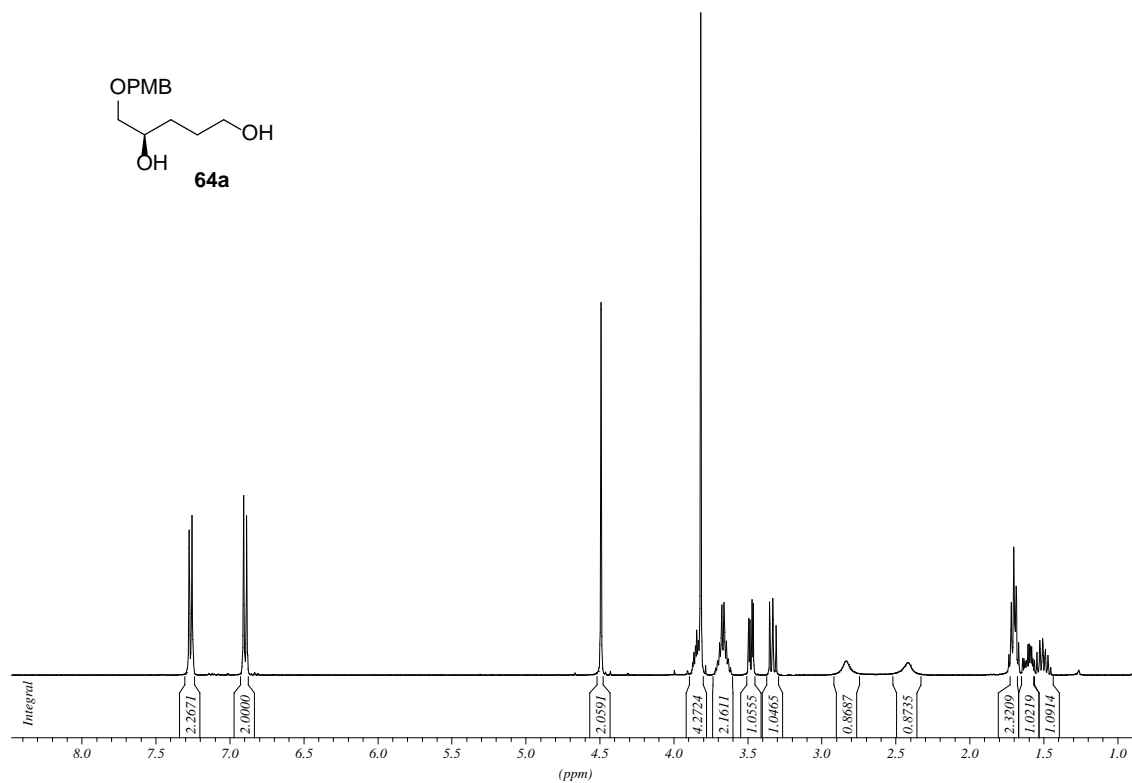
Mutasynton	Produkt	t_R	HRMS
		<p>2.07</p> <p>$C_{4,5} = DB\ 2.03$</p>	<p>$C_{25}H_{40}N_3O_6S\ [M+H]^+$: gefunden: 510.2626 berechnet: 510.2638</p> <p>$C_{25}H_{38}N_3O_6S\ [M+H]^+$: gefunden: 508.2481 berechnet: 508.2481</p>
		<p>2.11</p>	<p>$C_{26}H_{42}N_5O_7\ [M+H]^+$: gefunden: 536.3082 berechnet: 536.3100</p>

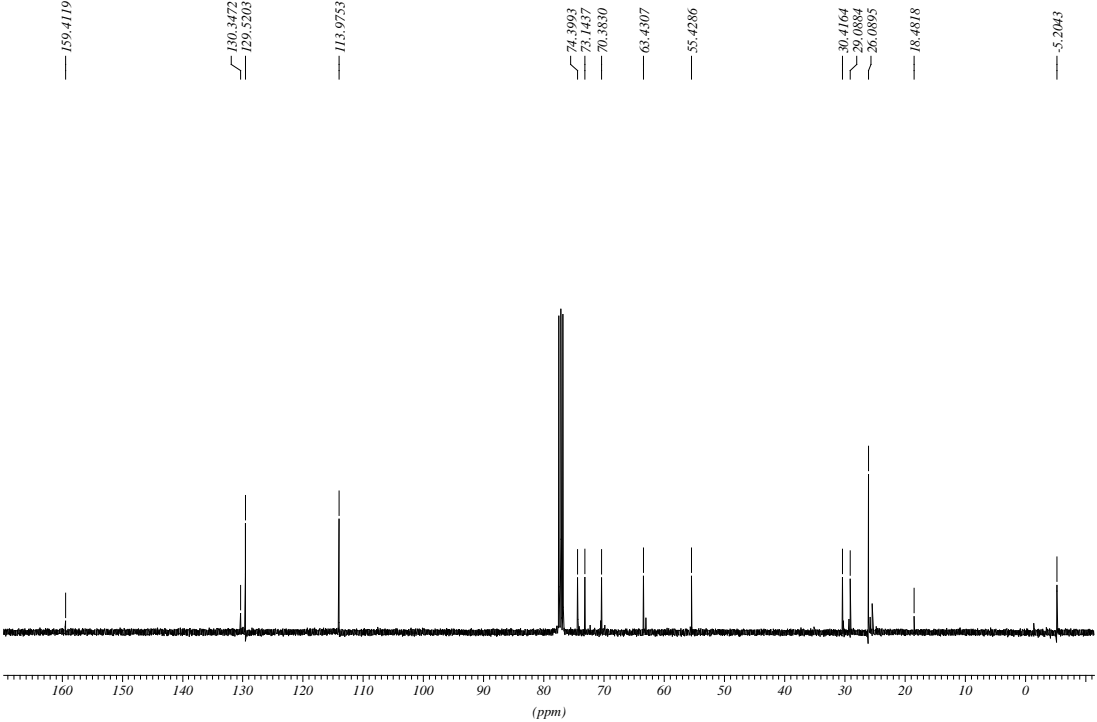
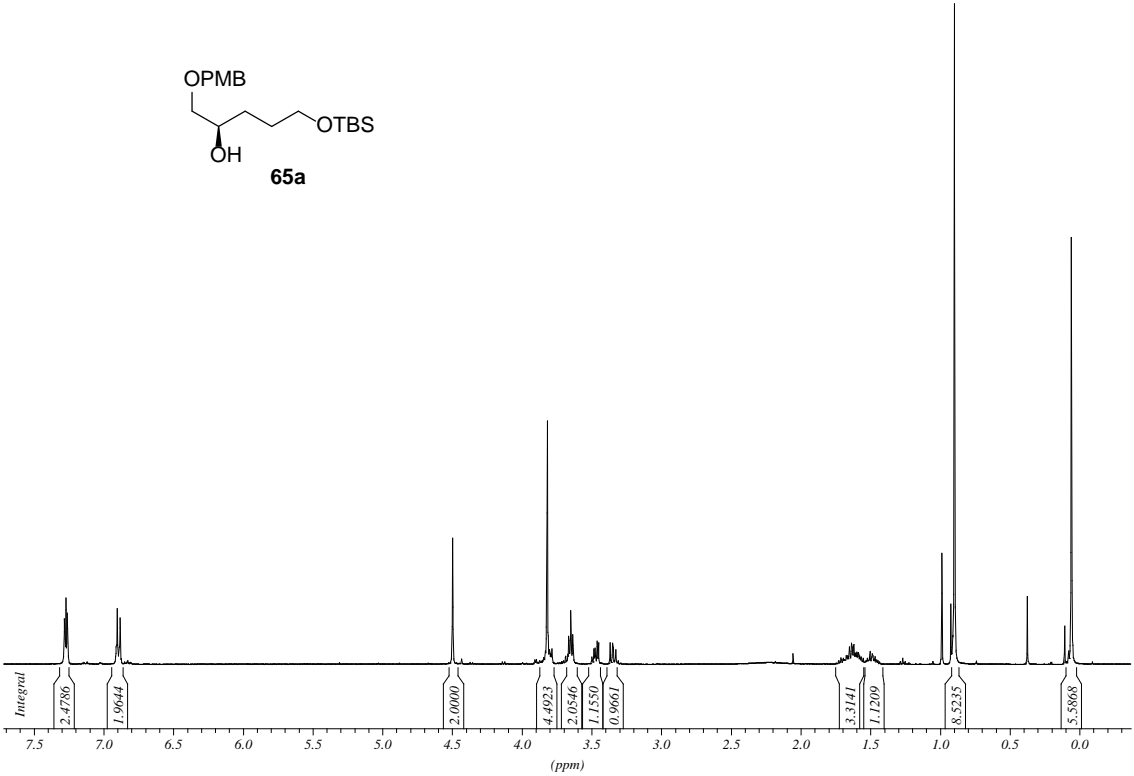
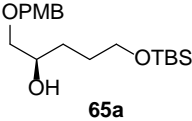
¹⁰⁹ Vector Database, <http://www.addgene.org/vector-database/3991/> [Stand: 25.09. 2013], Abruf: 25.09.2013.

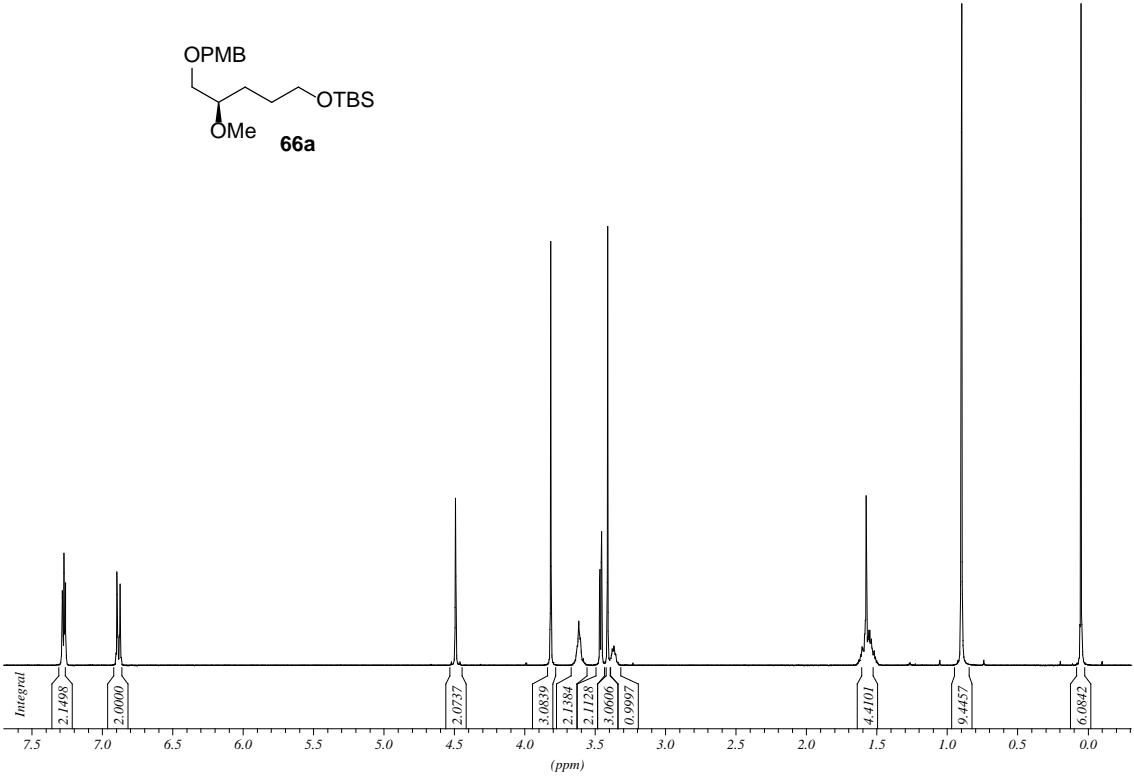
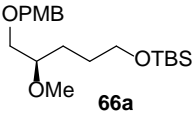
7.3. NMR-Spektren



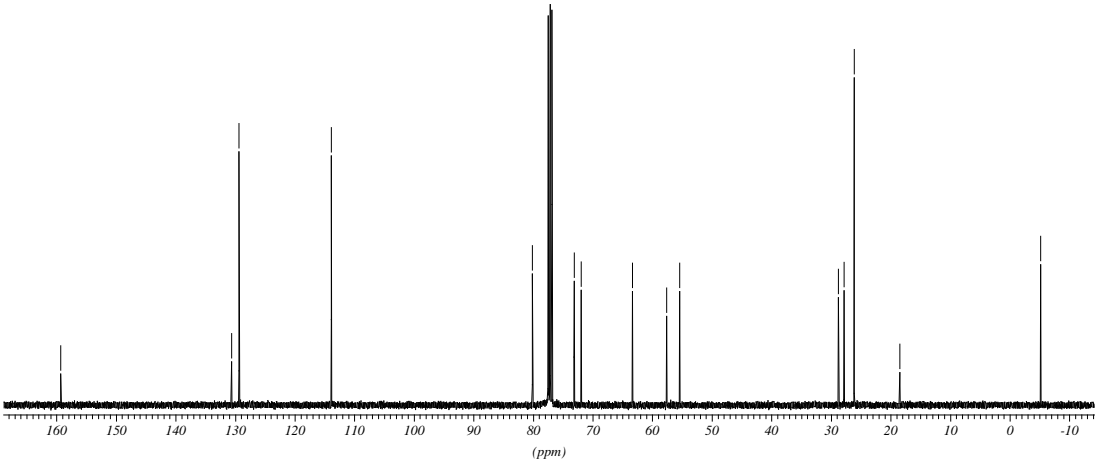
Anhang



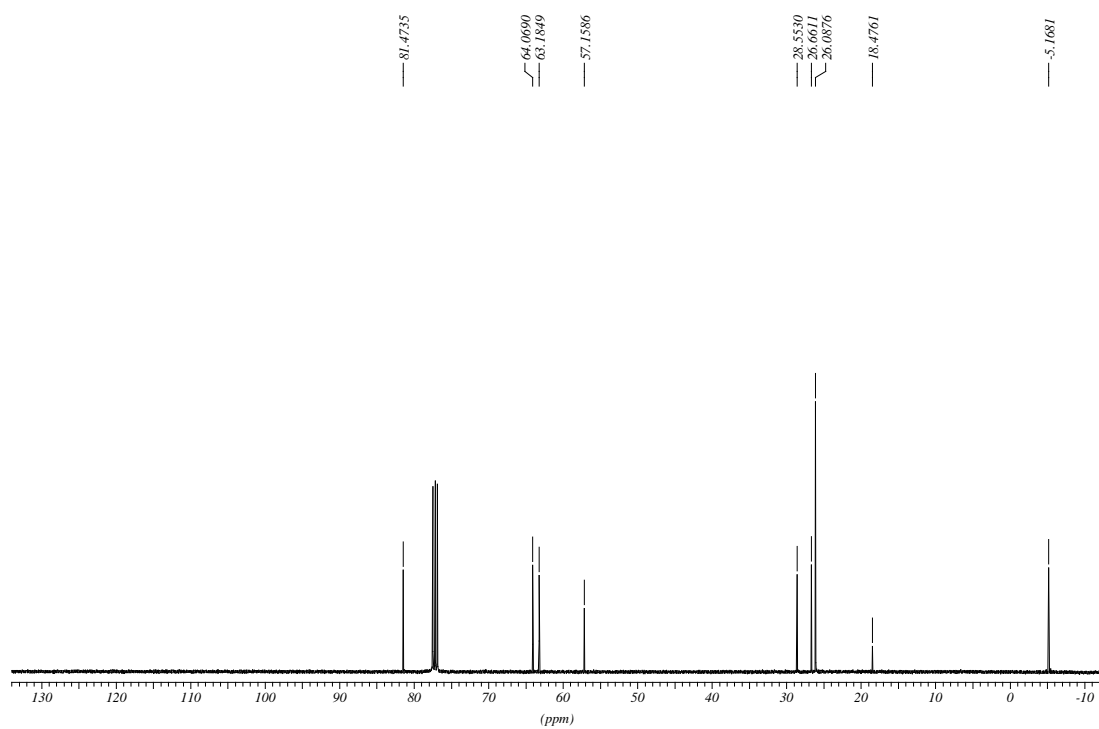
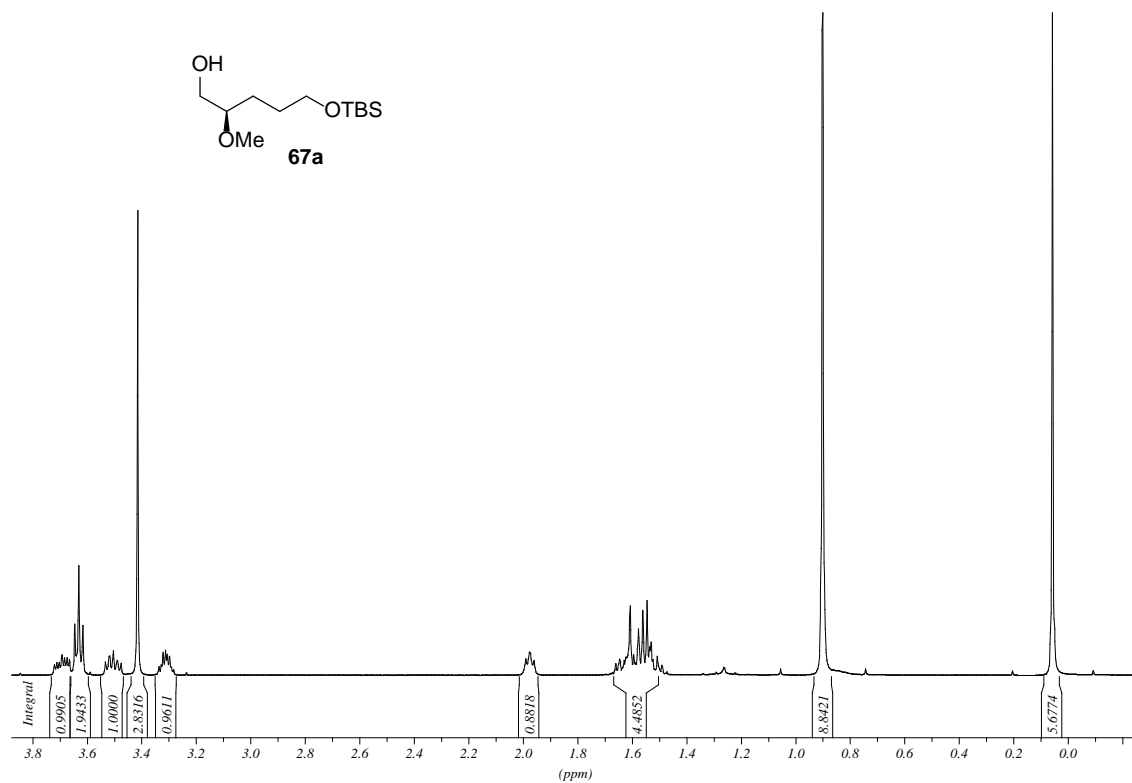


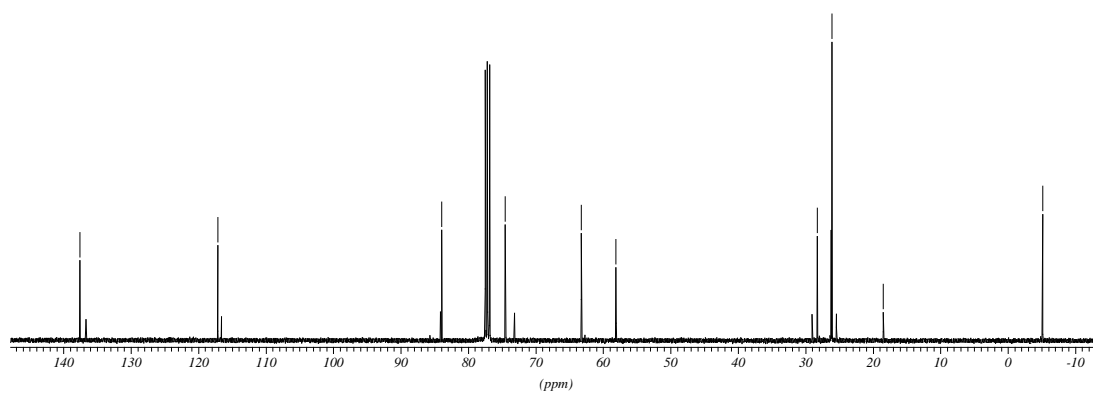
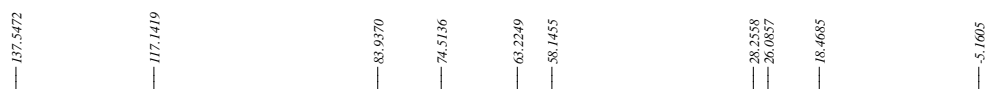
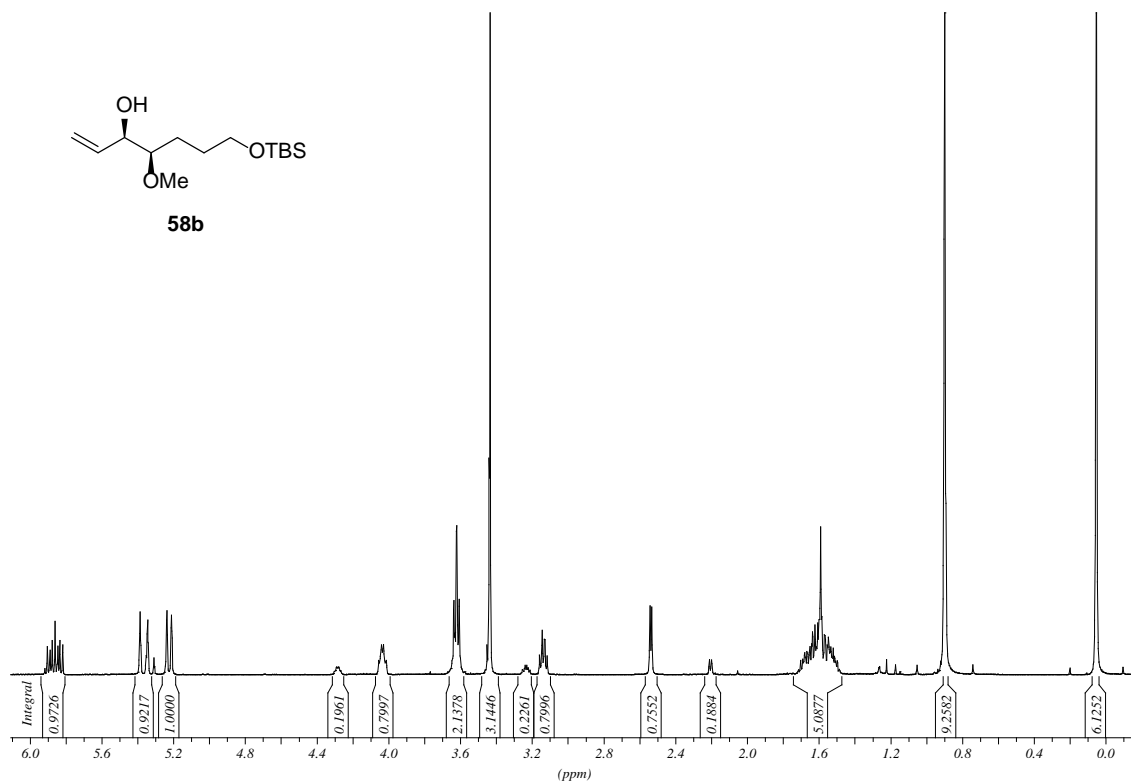
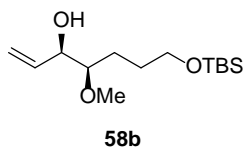


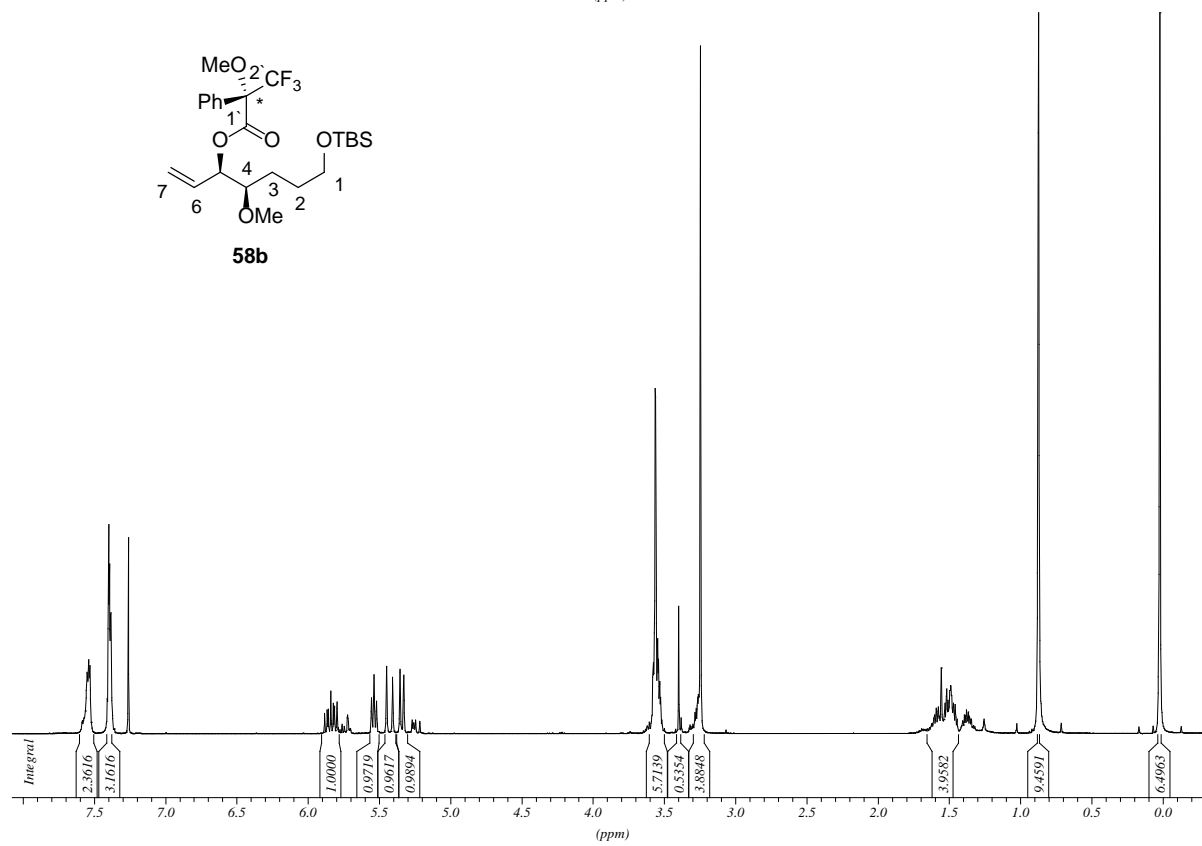
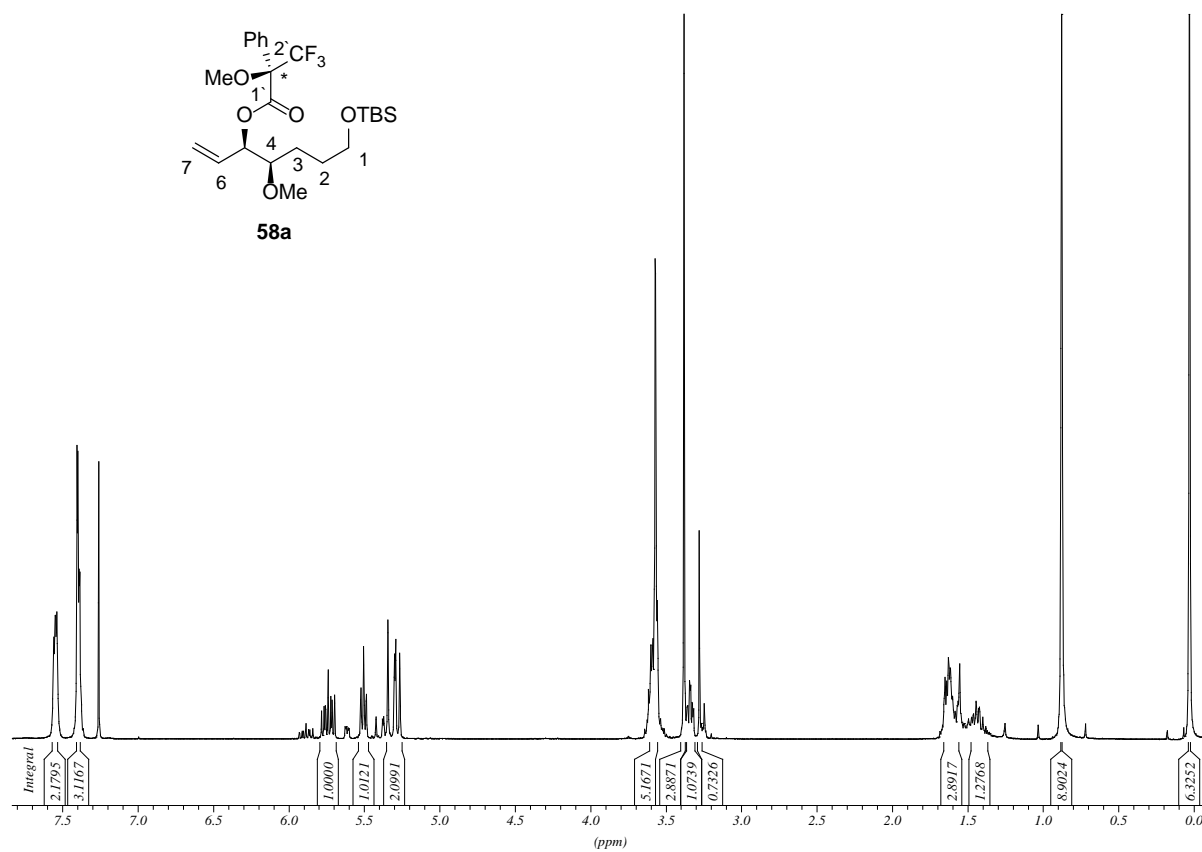
- 159.2824
- 130.6063
- 129.3812
- 113.8839
- 80.1341
- 73.1418
- 71.9339
- 63.3316
- 57.5930
- 55.4115
- 29.7550
- 27.6506
- 26.1143
- 18.4933
- 5.1415



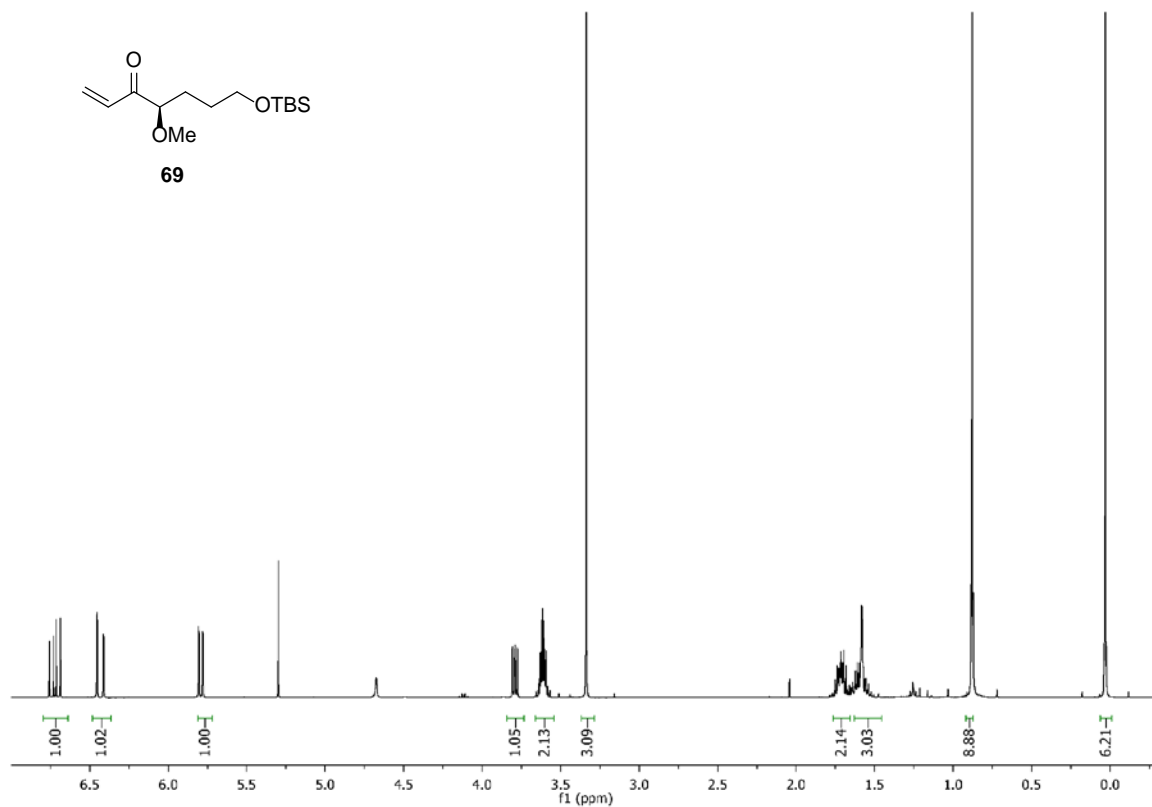
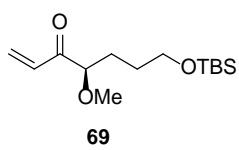
Anhang







Anhang



—201.56

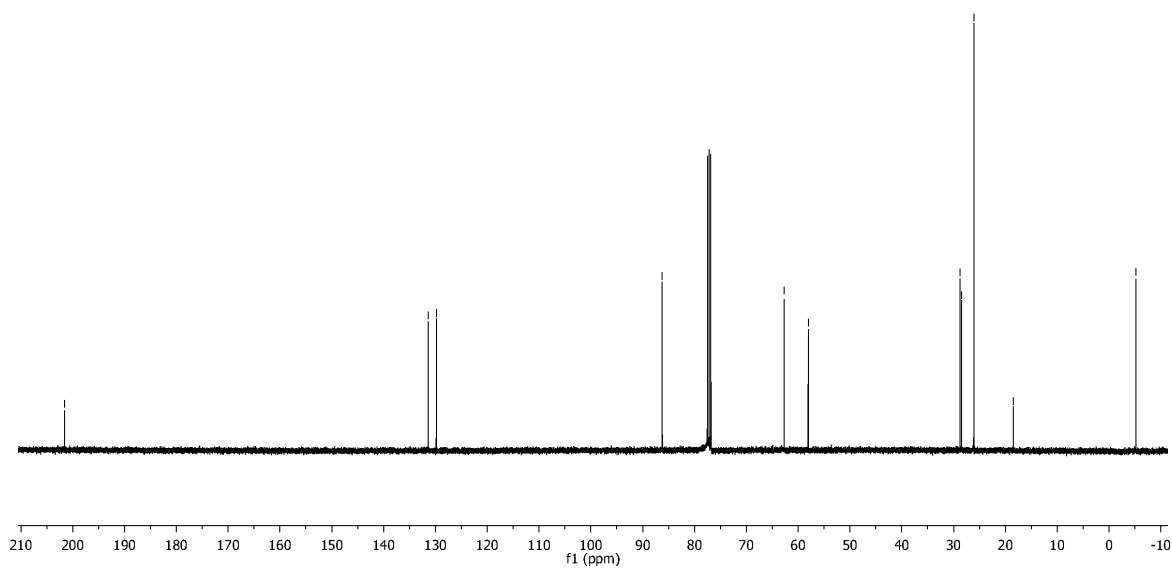
~131.37
~129.79

—86.22

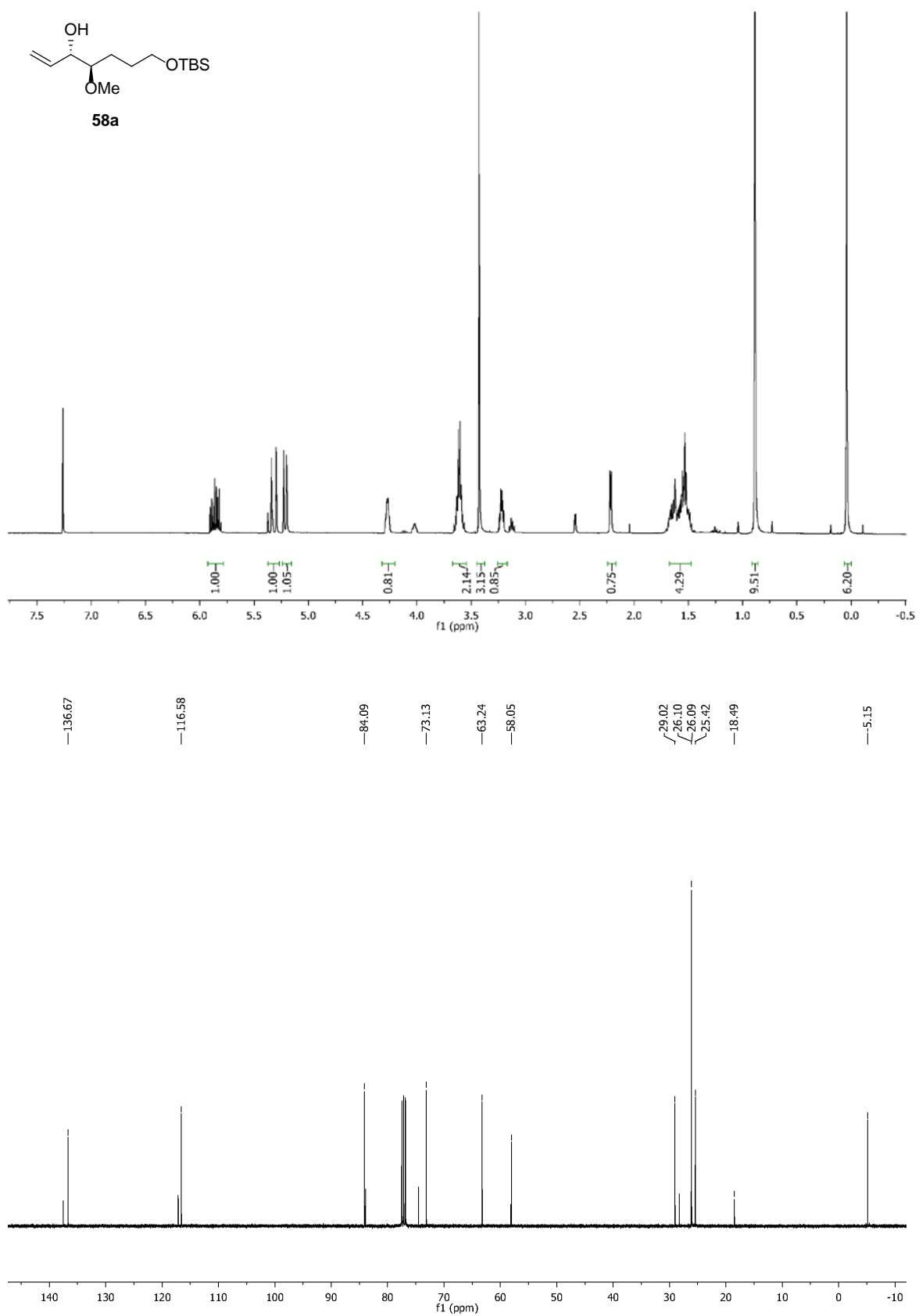
—62.70
—58.05

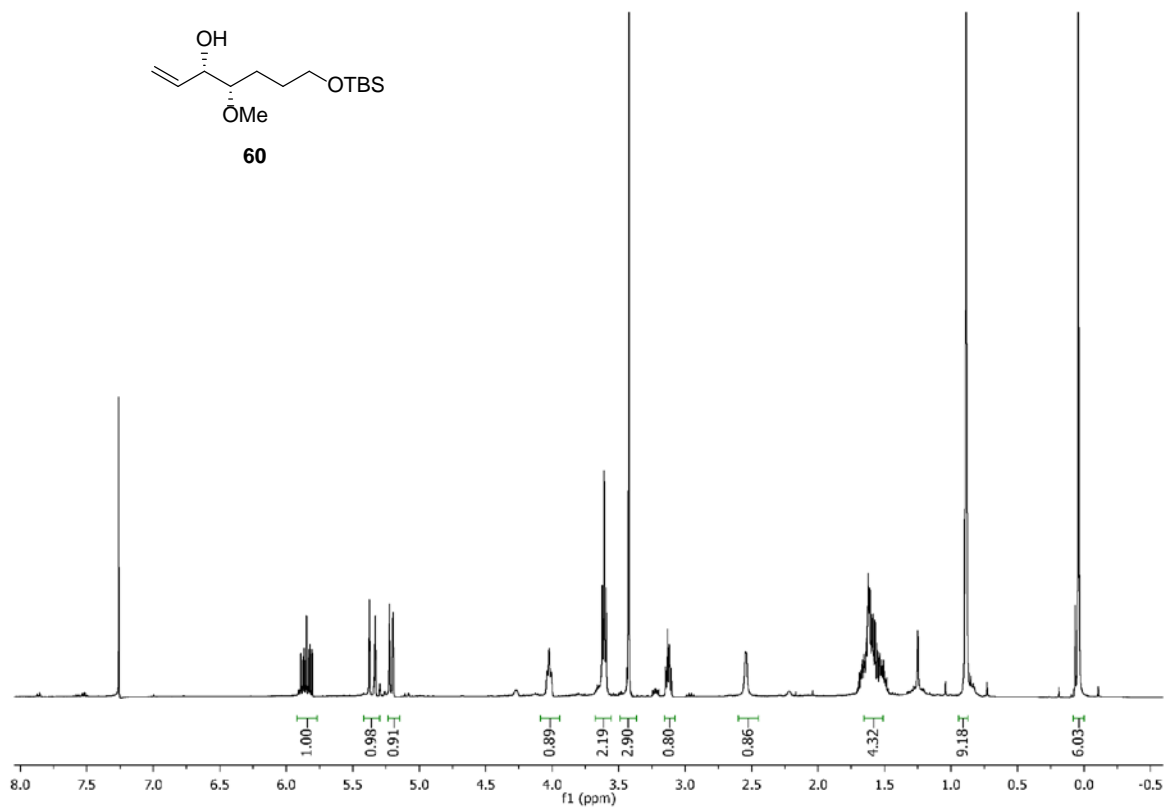
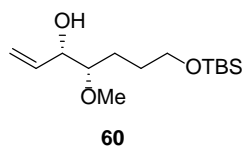
28.72
28.43
26.08
—18.46

—5.18

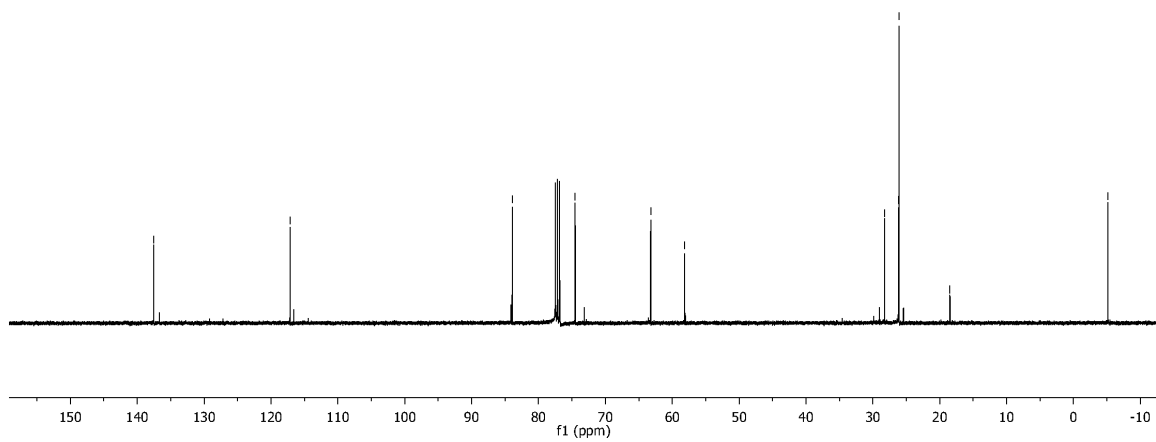


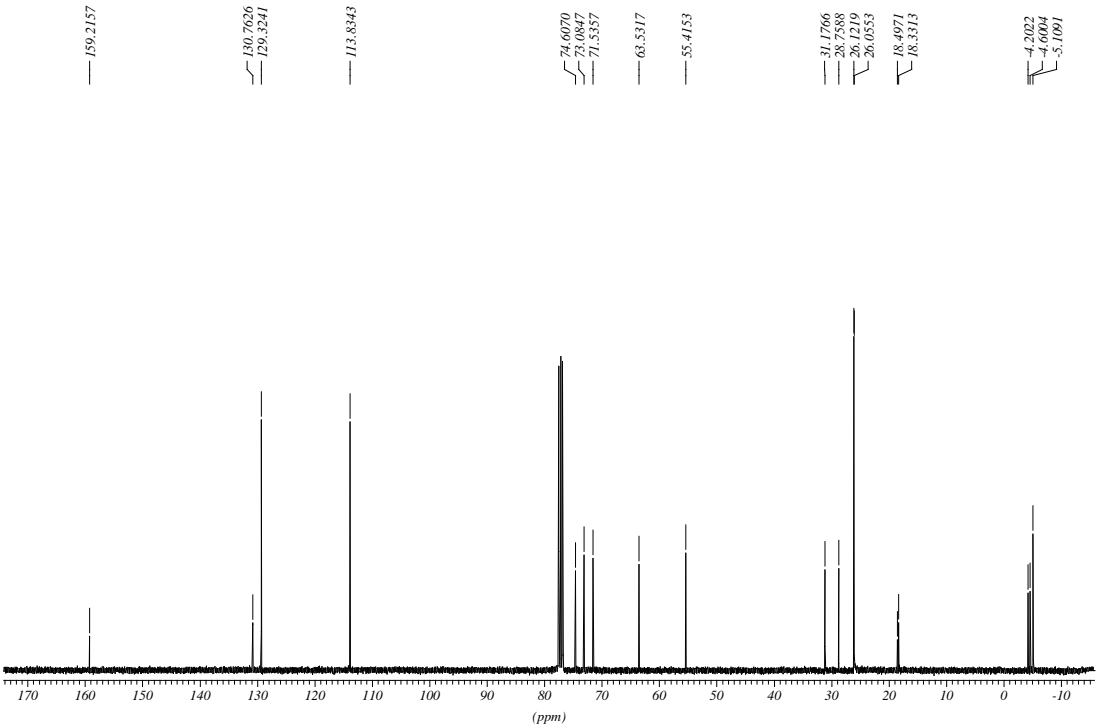
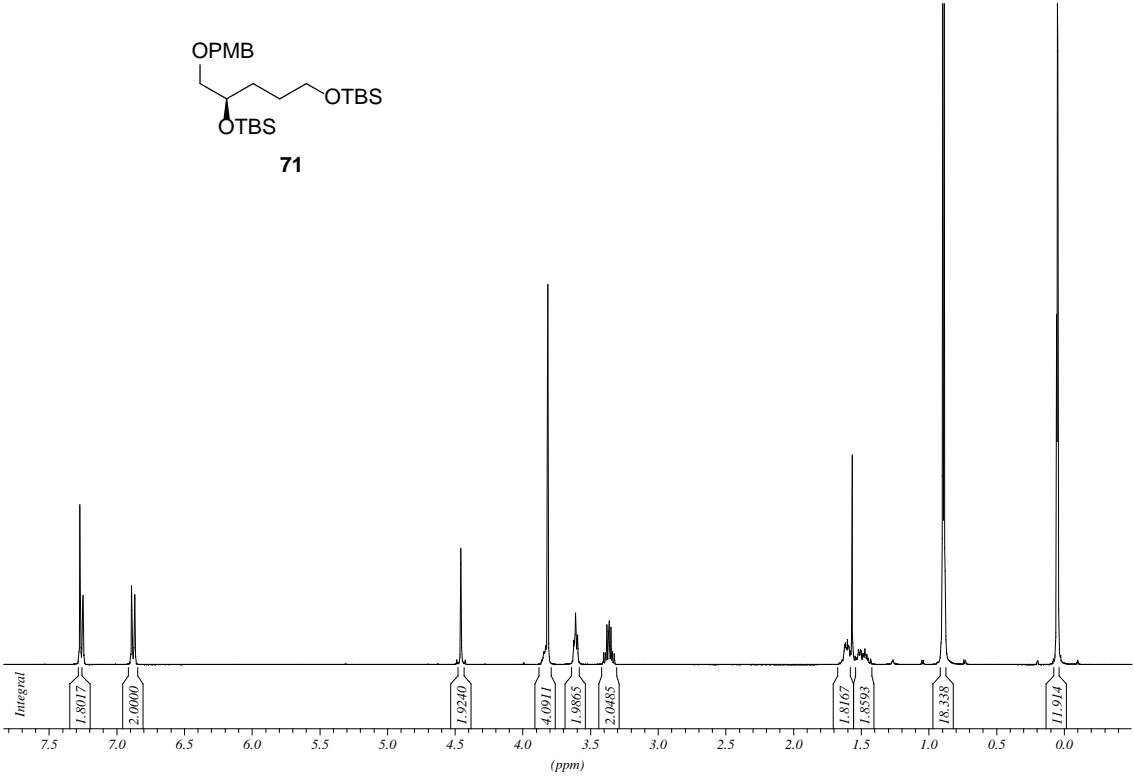
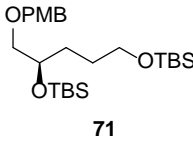
Anhang

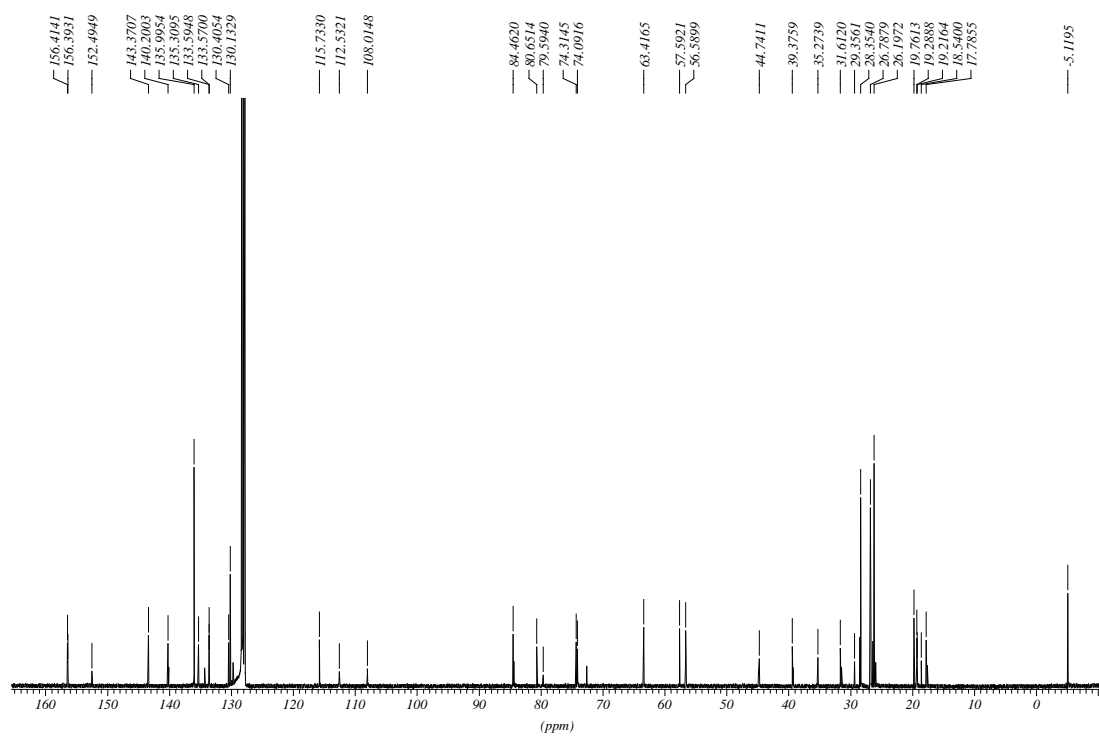
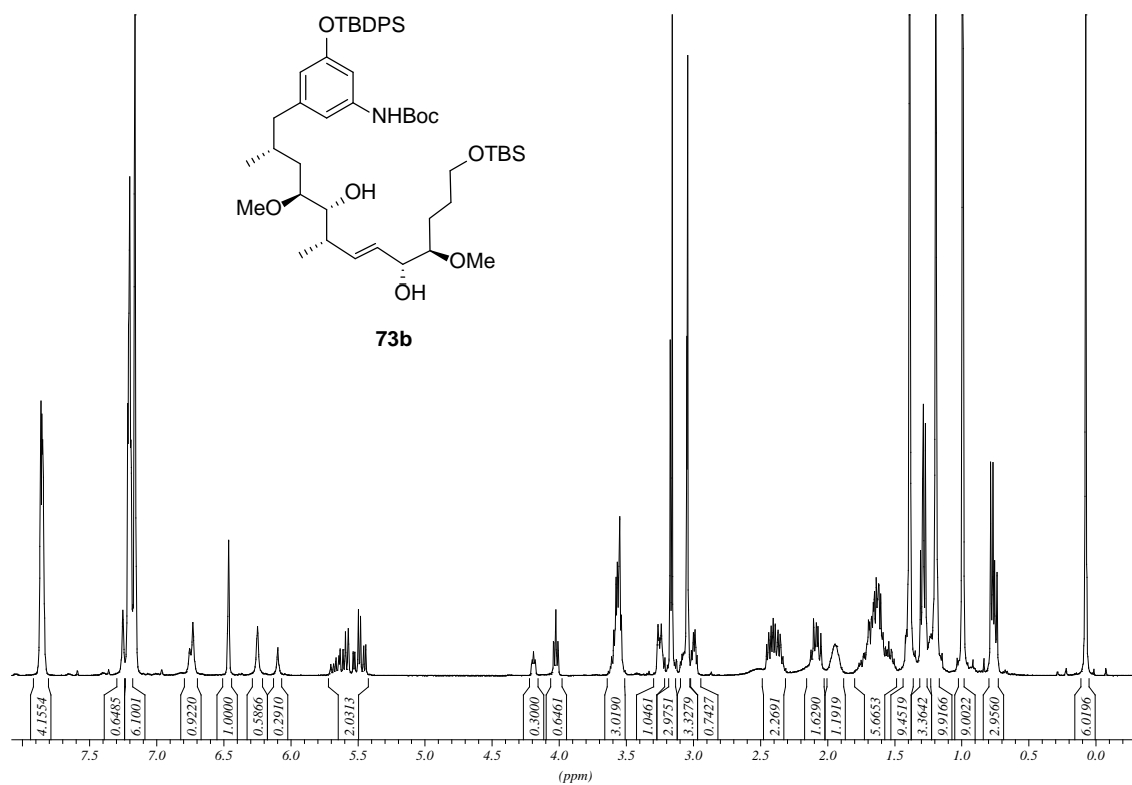


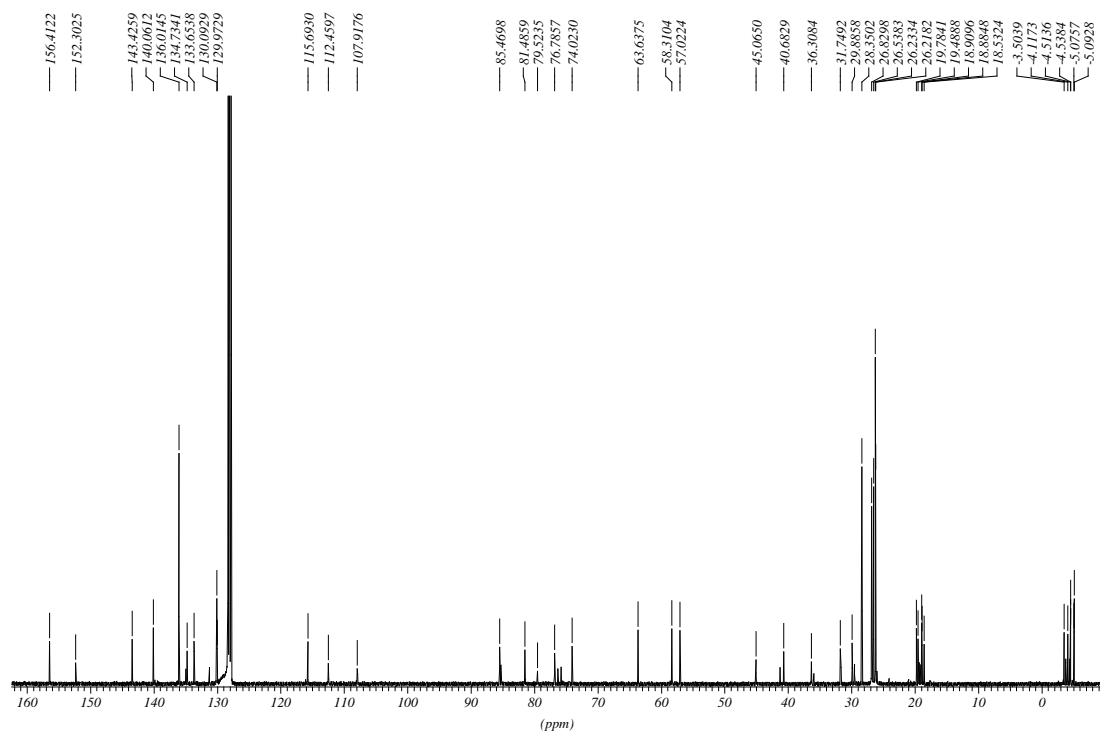
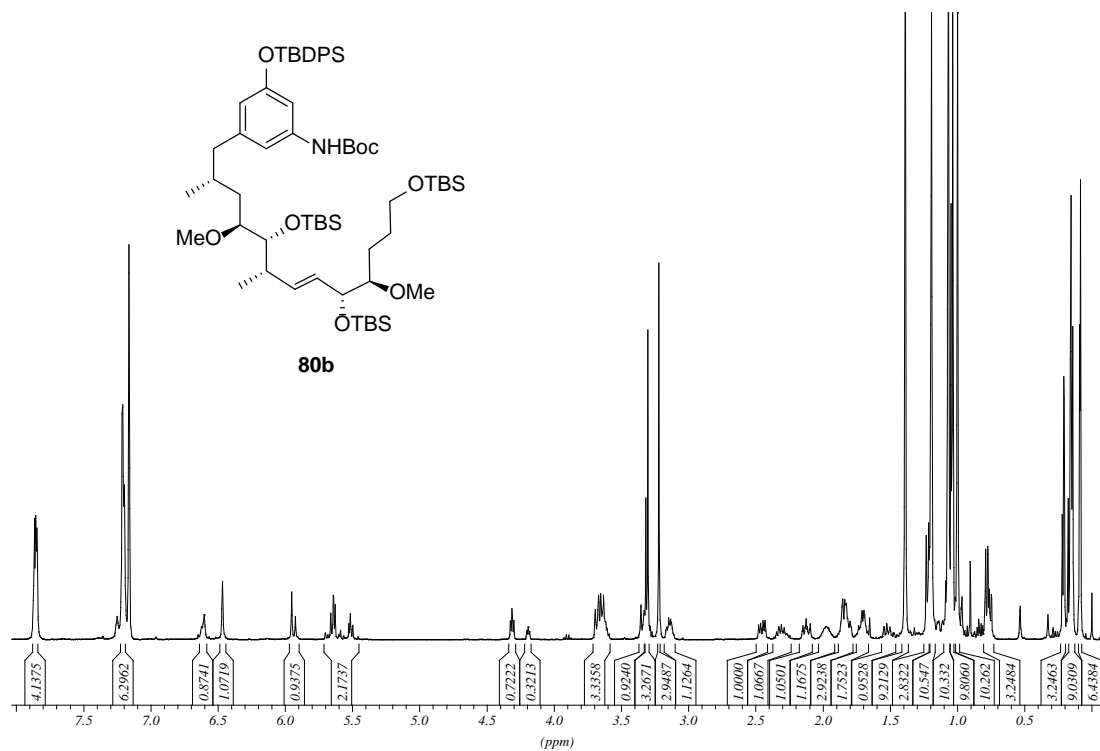


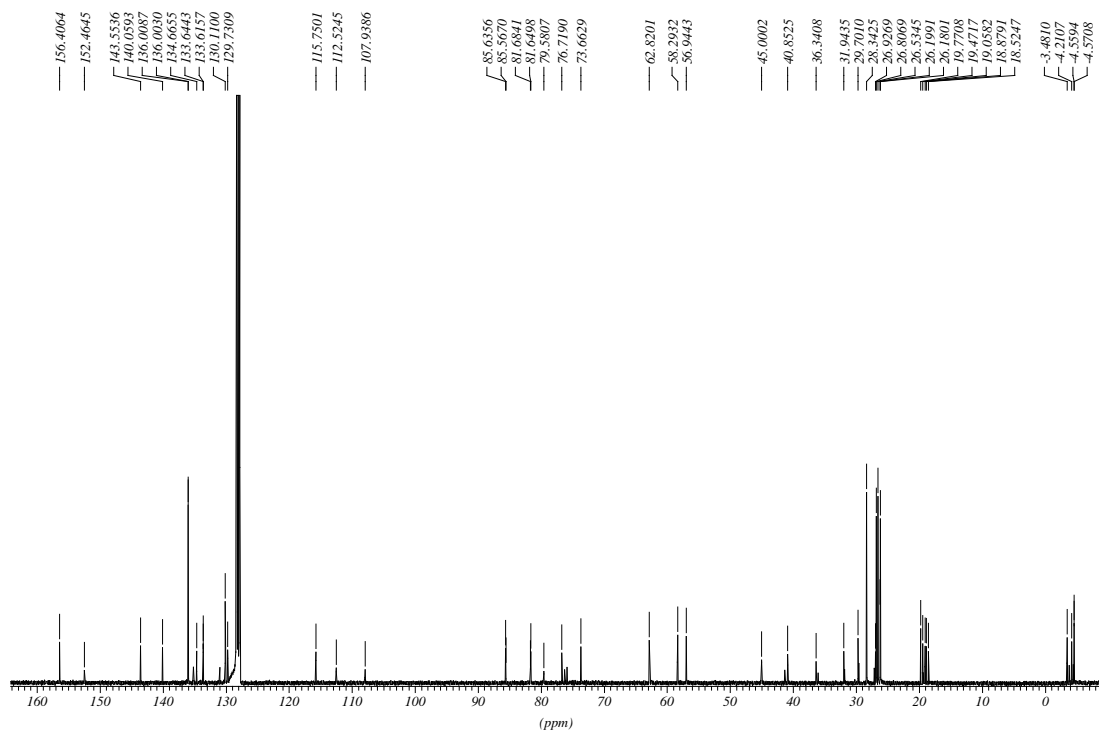
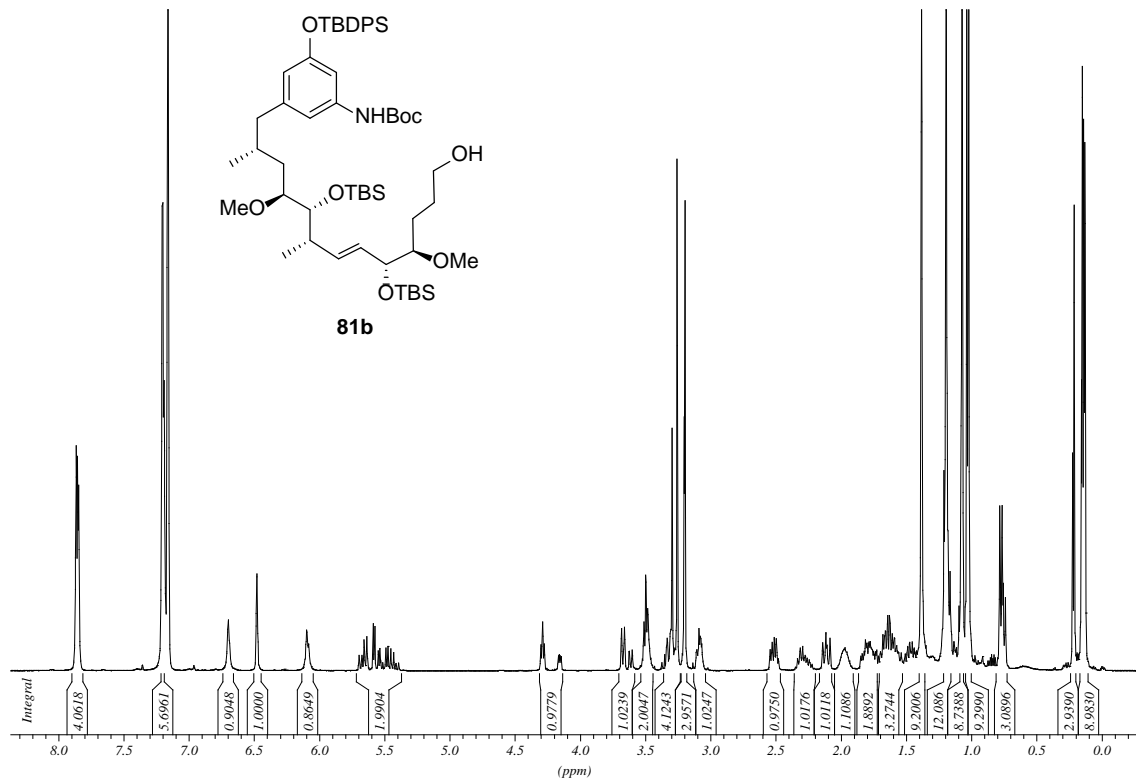
137.53, 117.15, 83.93, 74.51, 63.25, 63.22, 58.15, 28.25, 26.18, 26.09, 18.47, 5.15

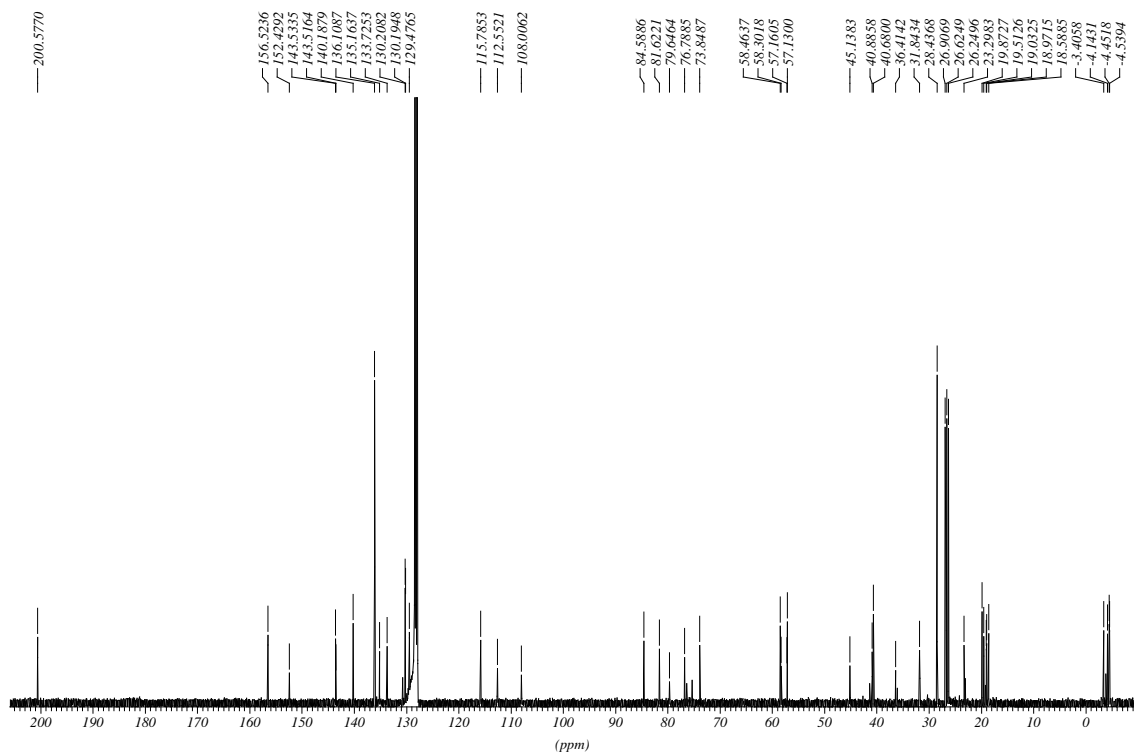
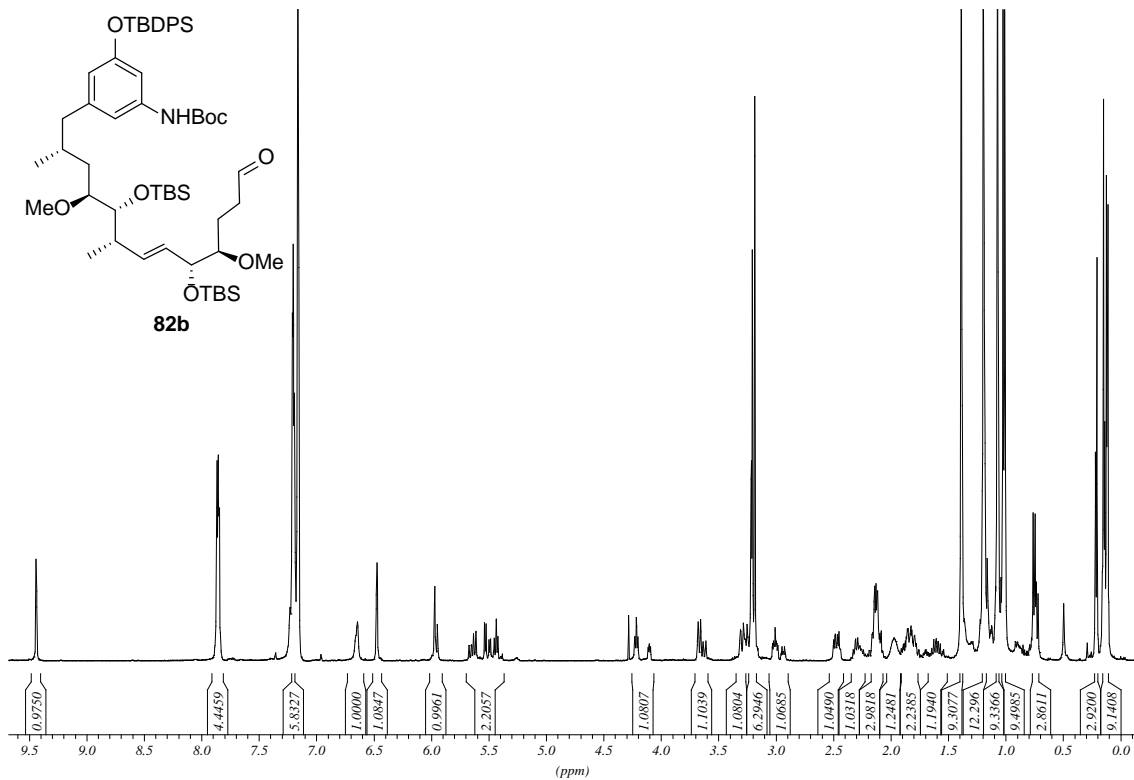


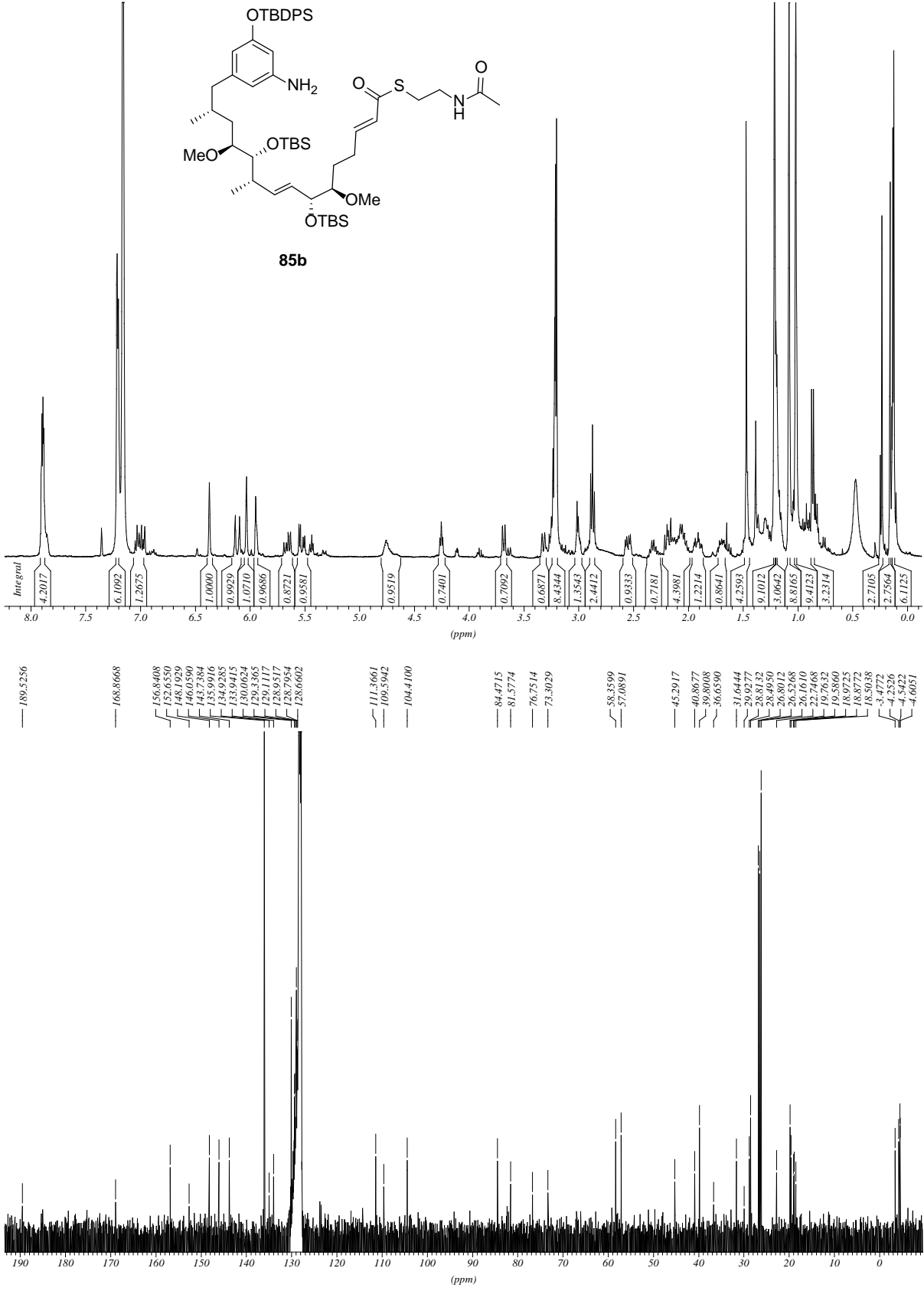


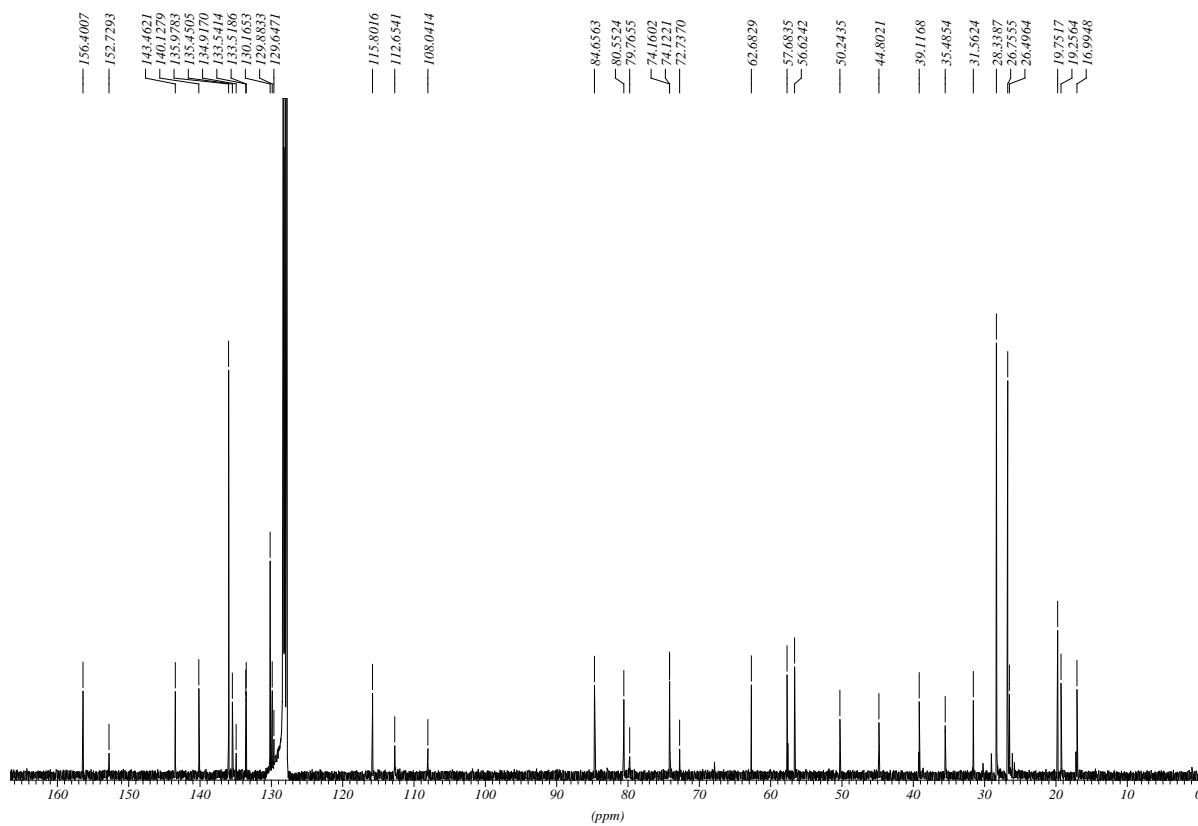
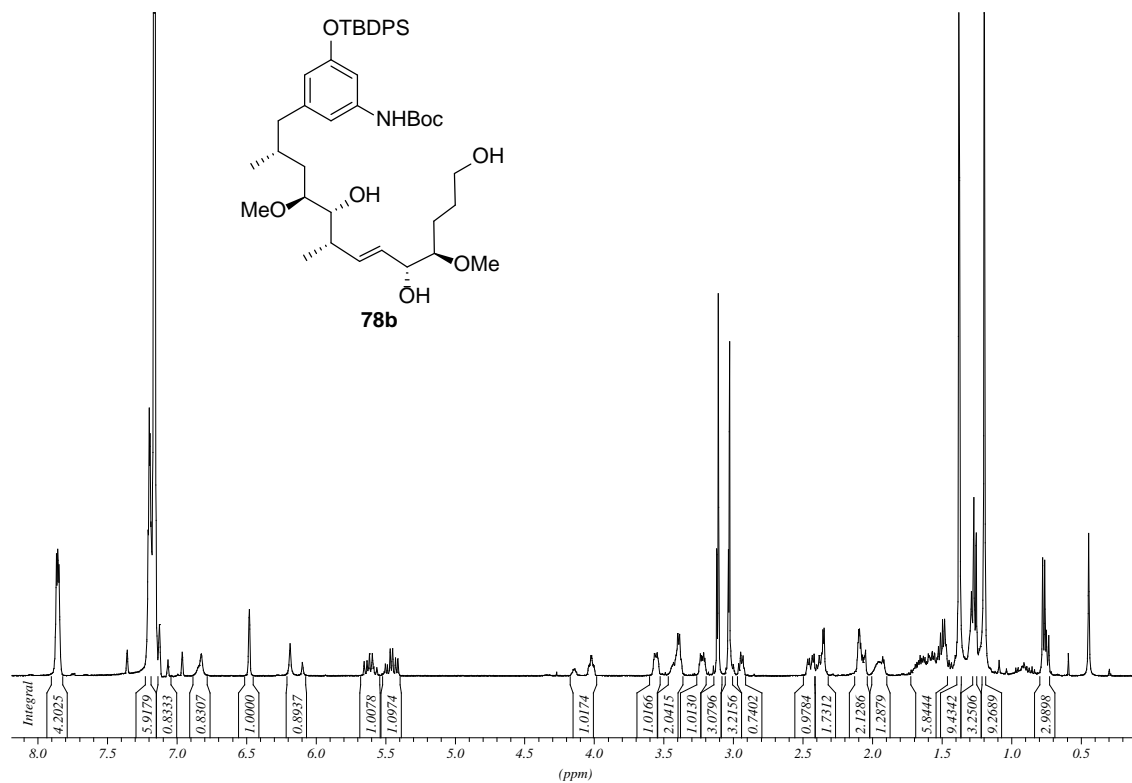


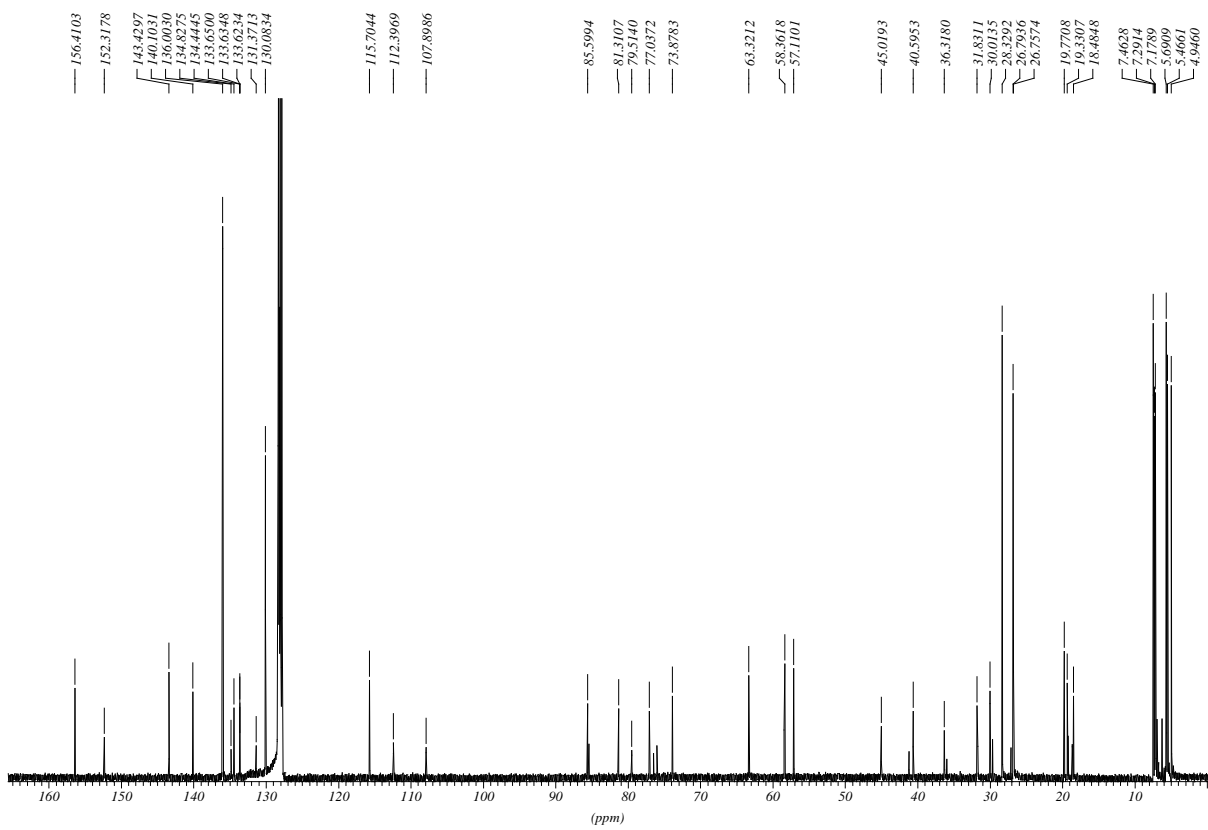
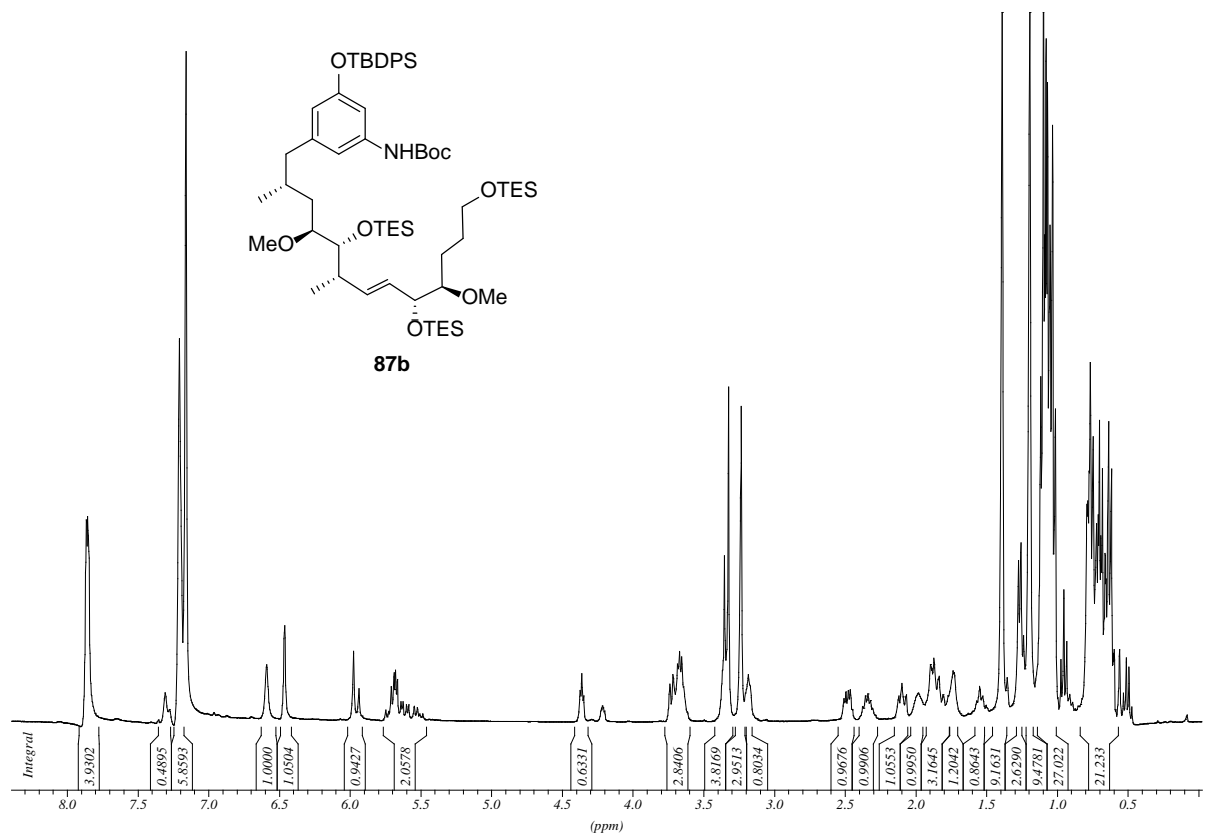


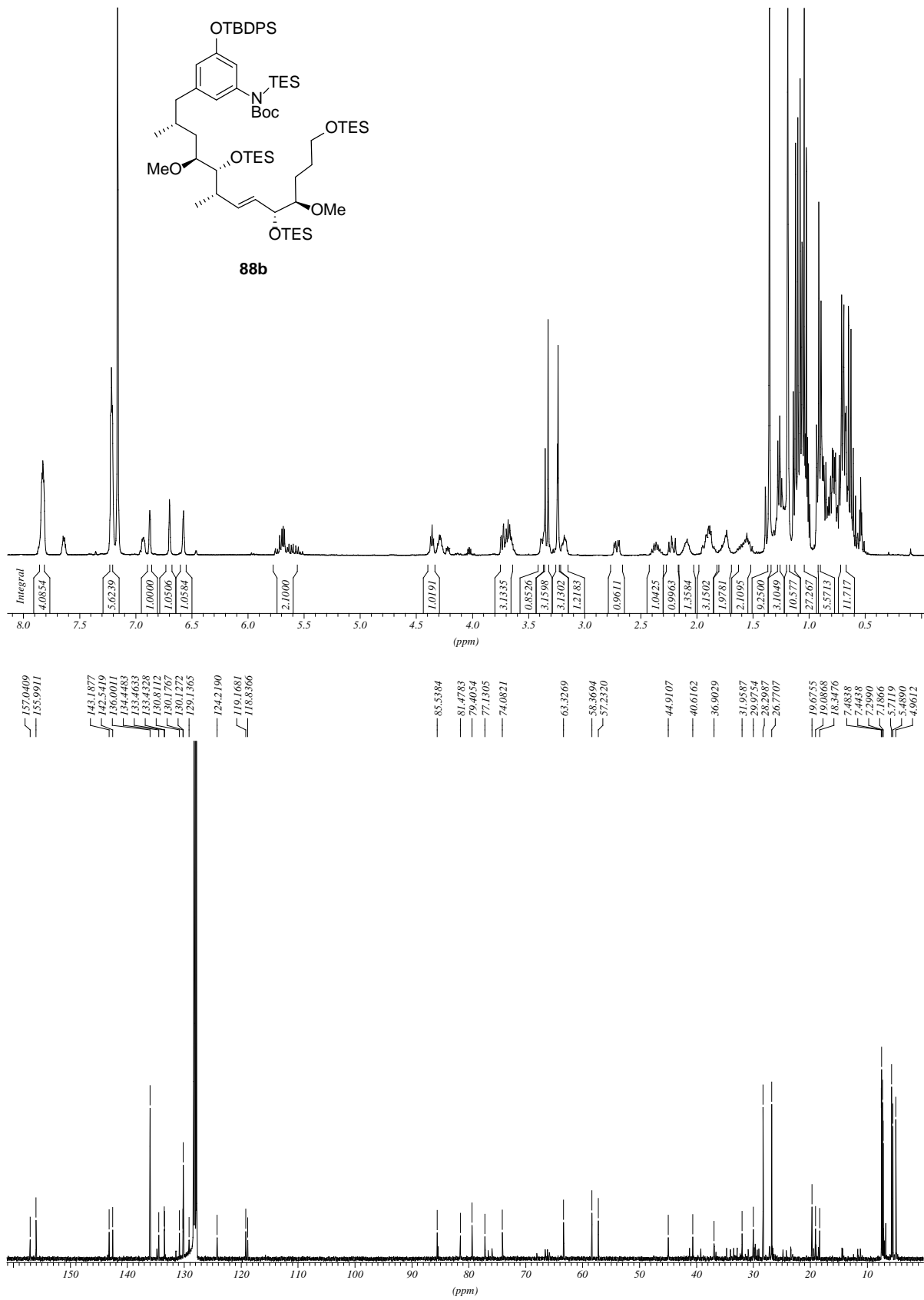


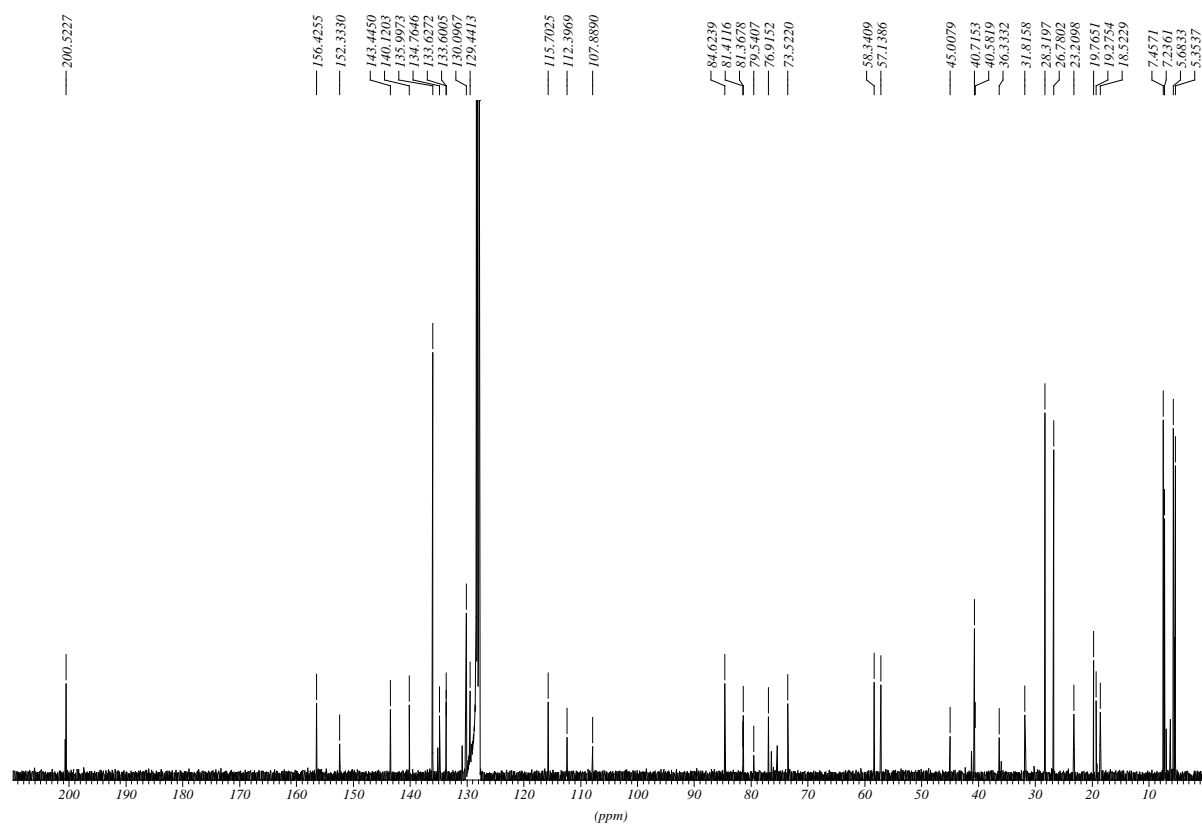
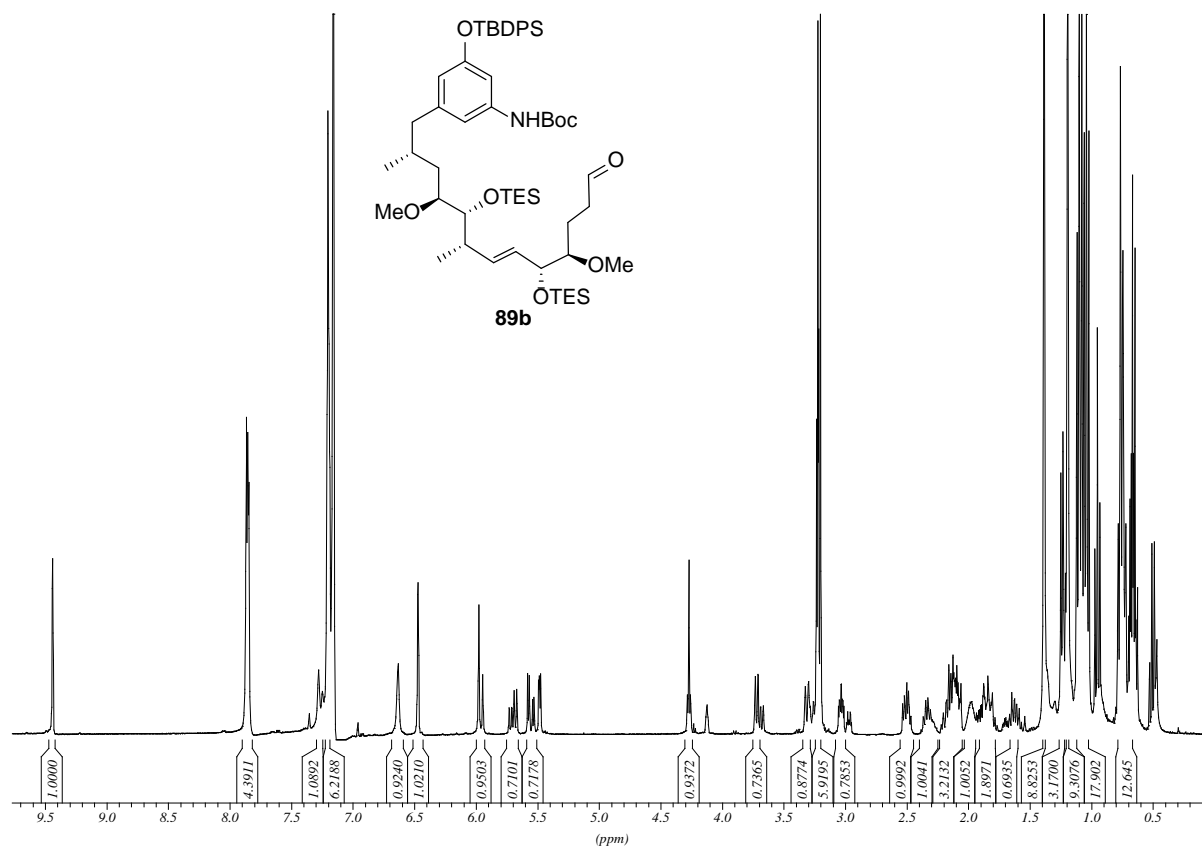


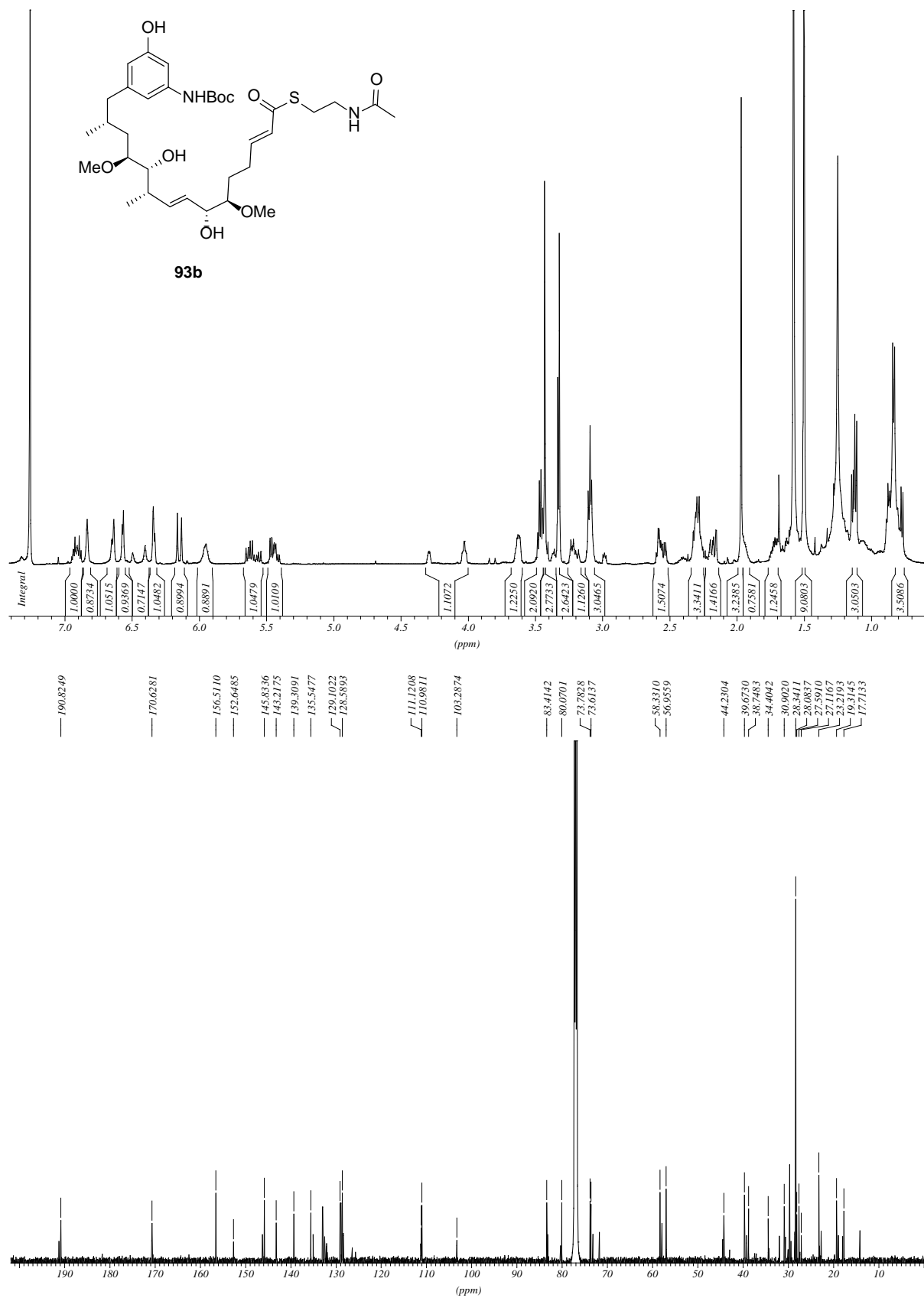


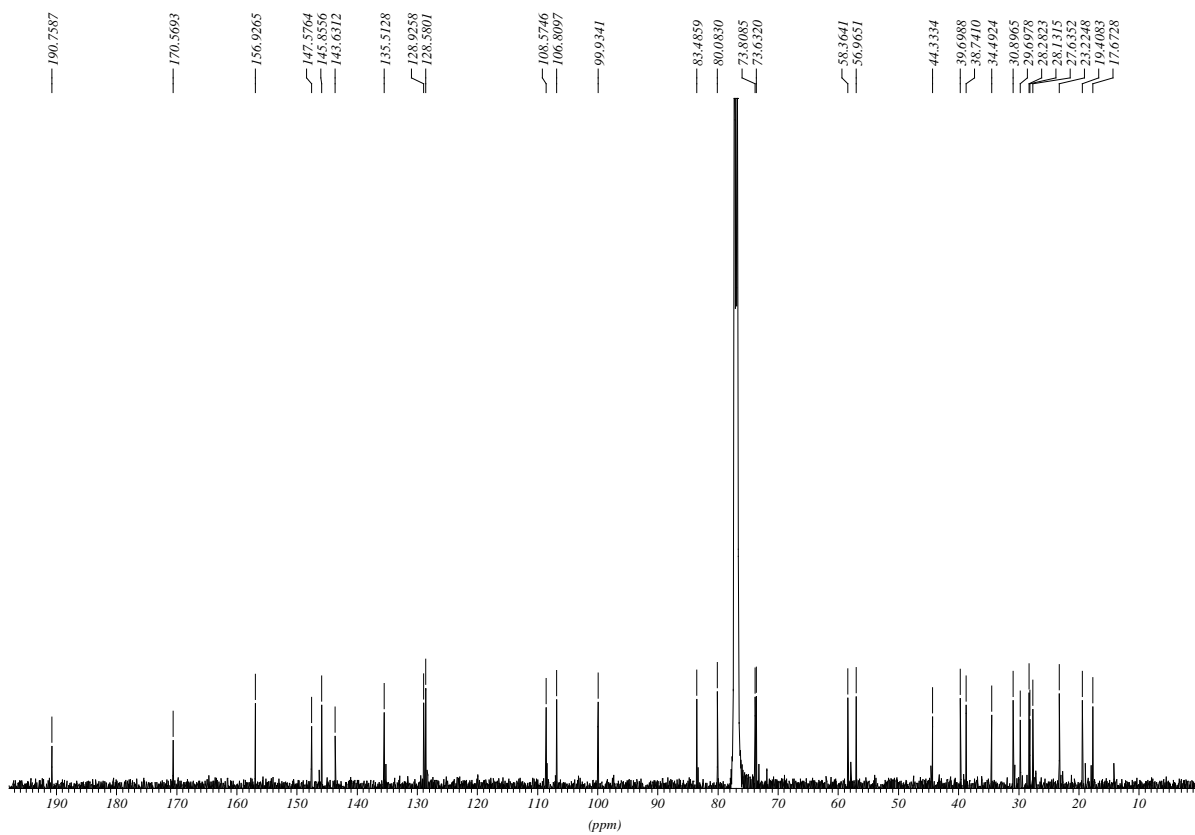
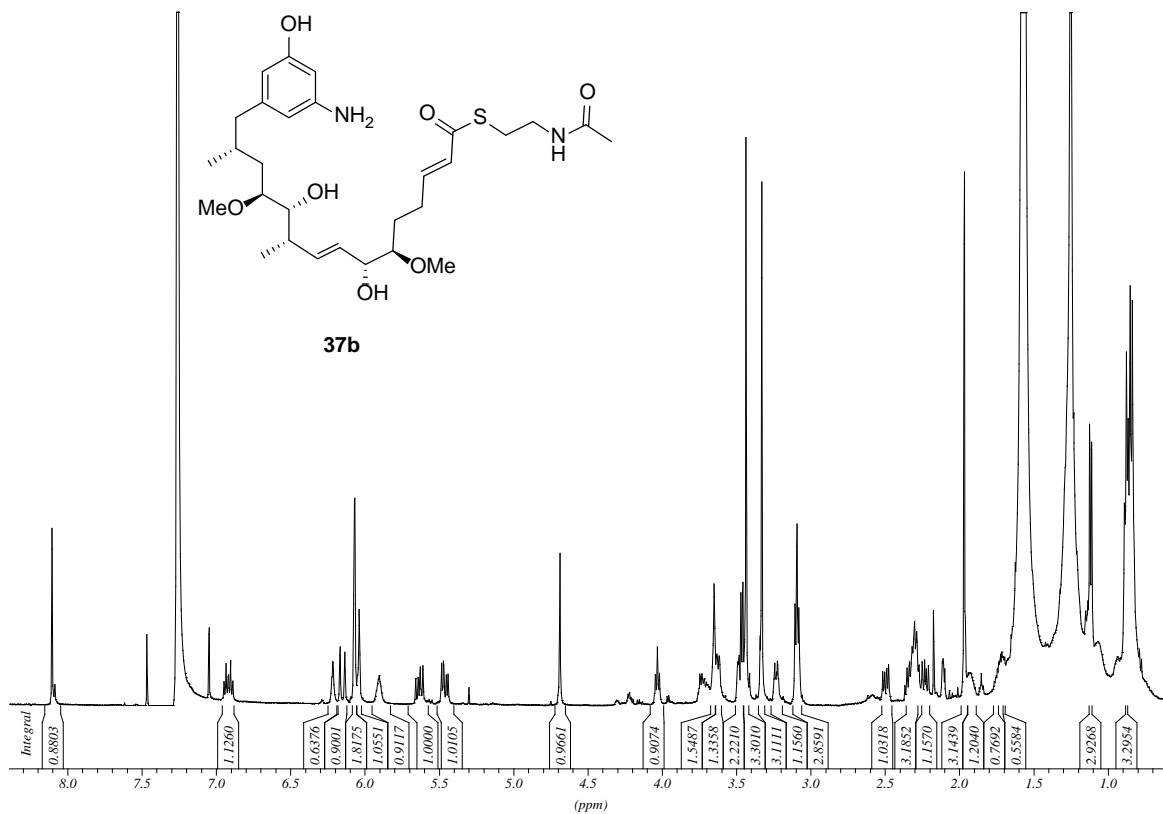


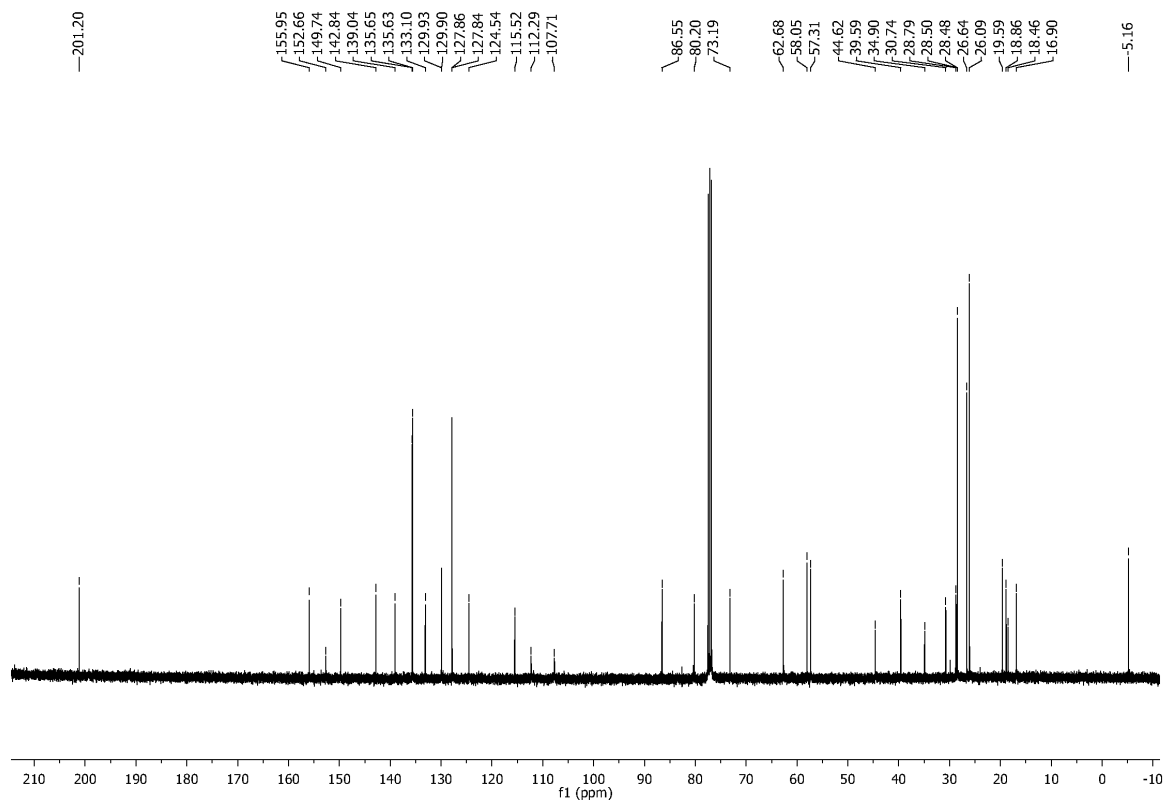
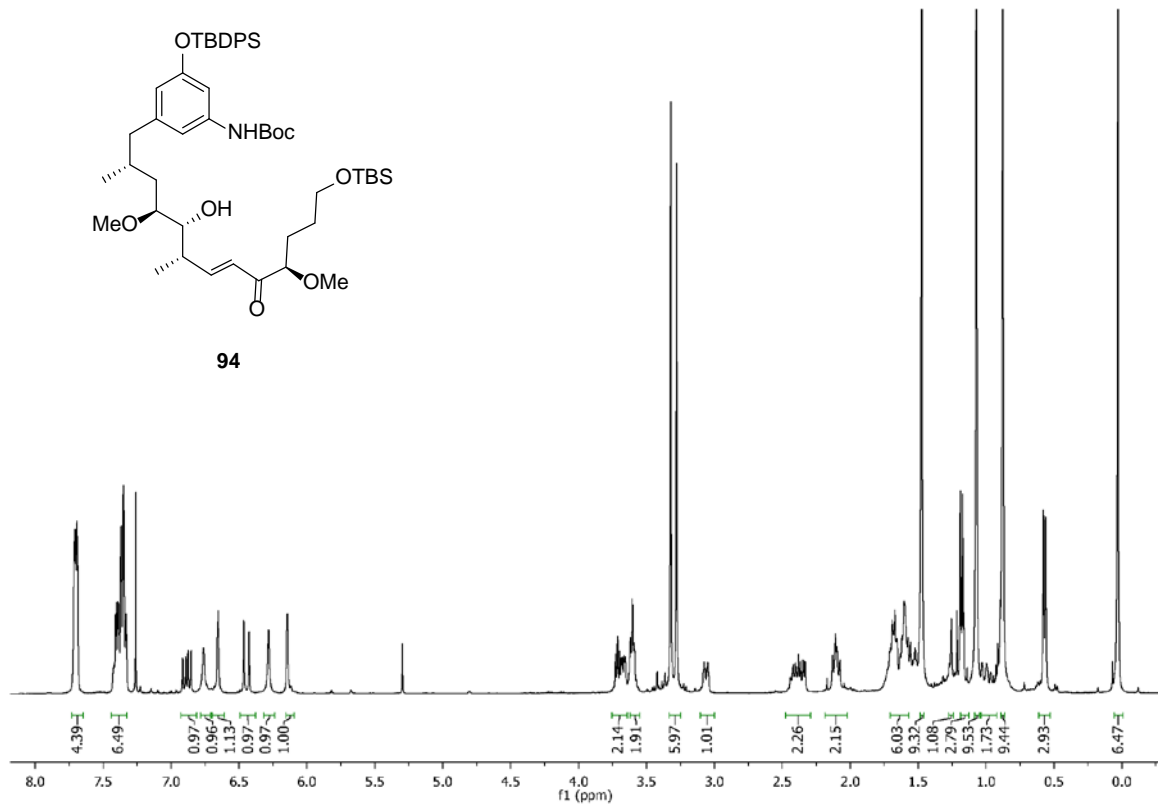


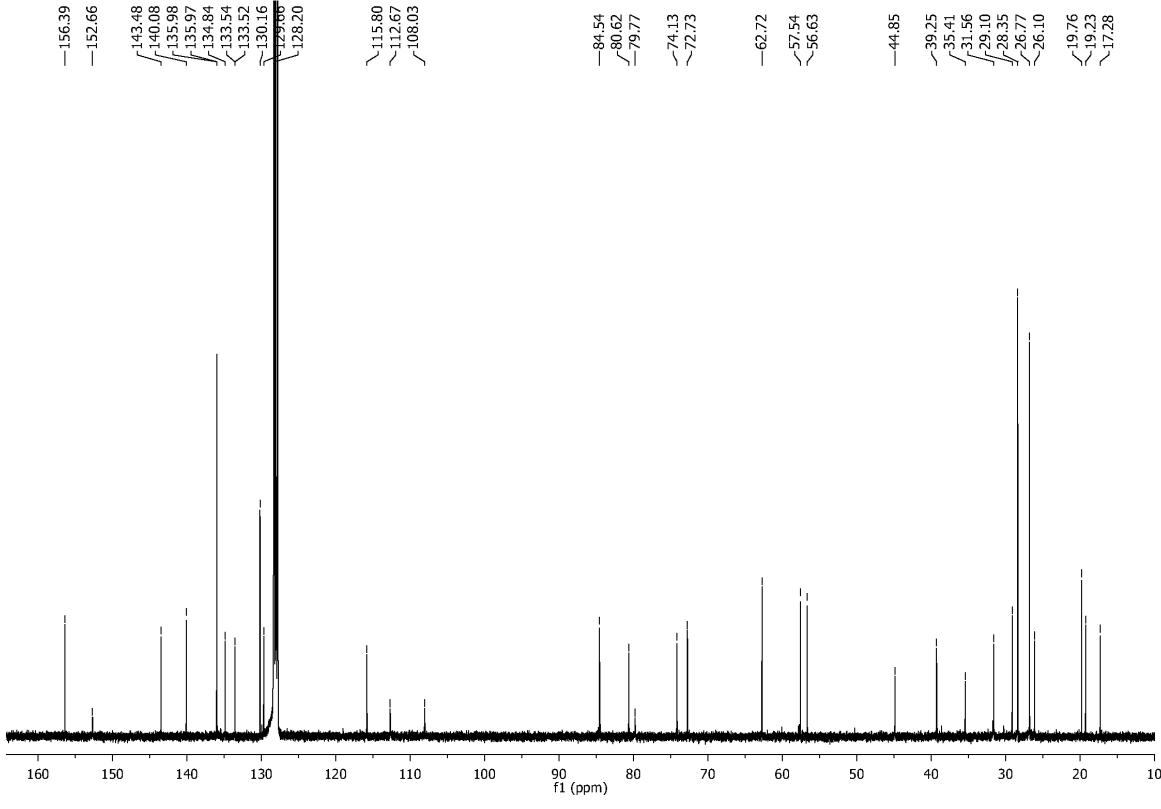
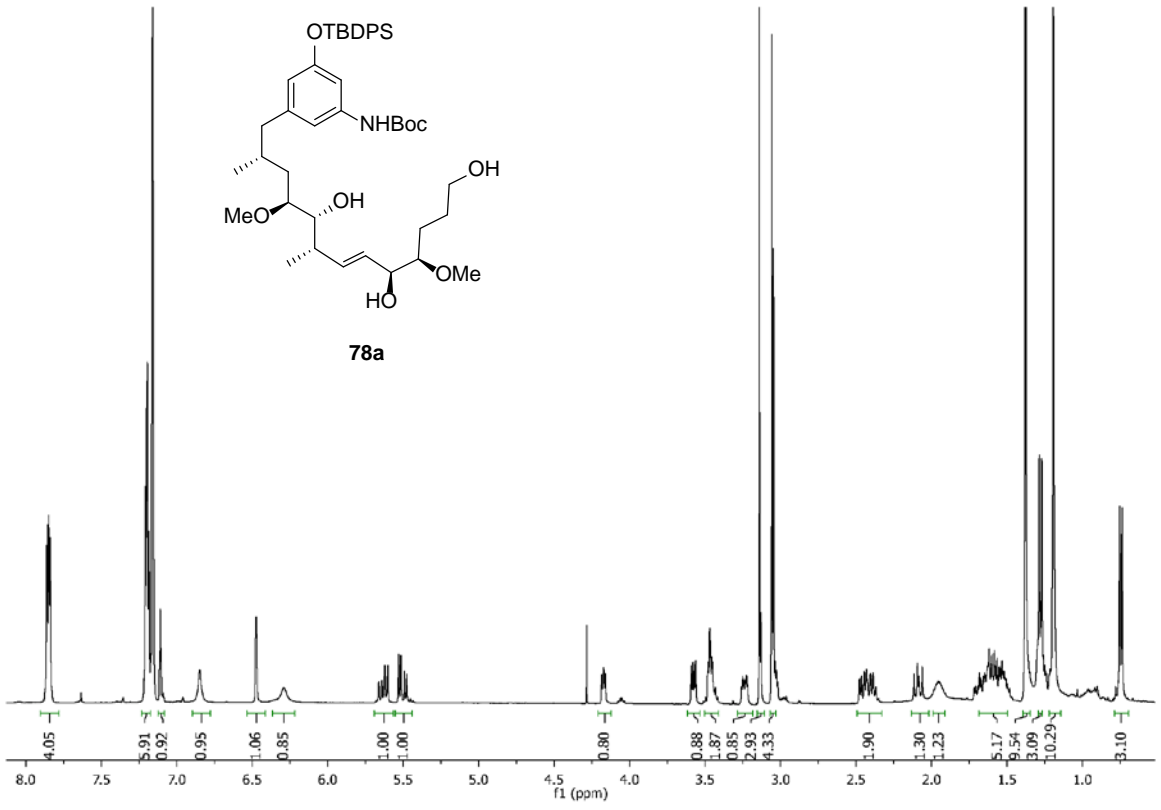


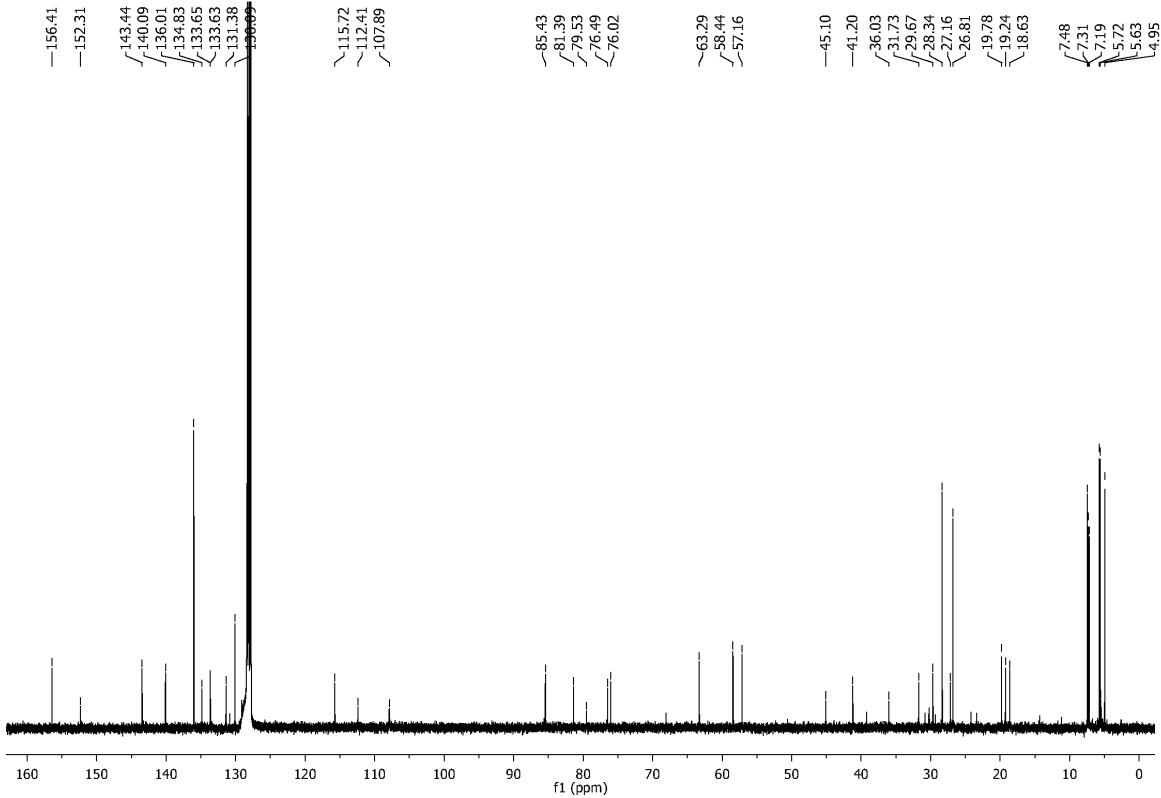
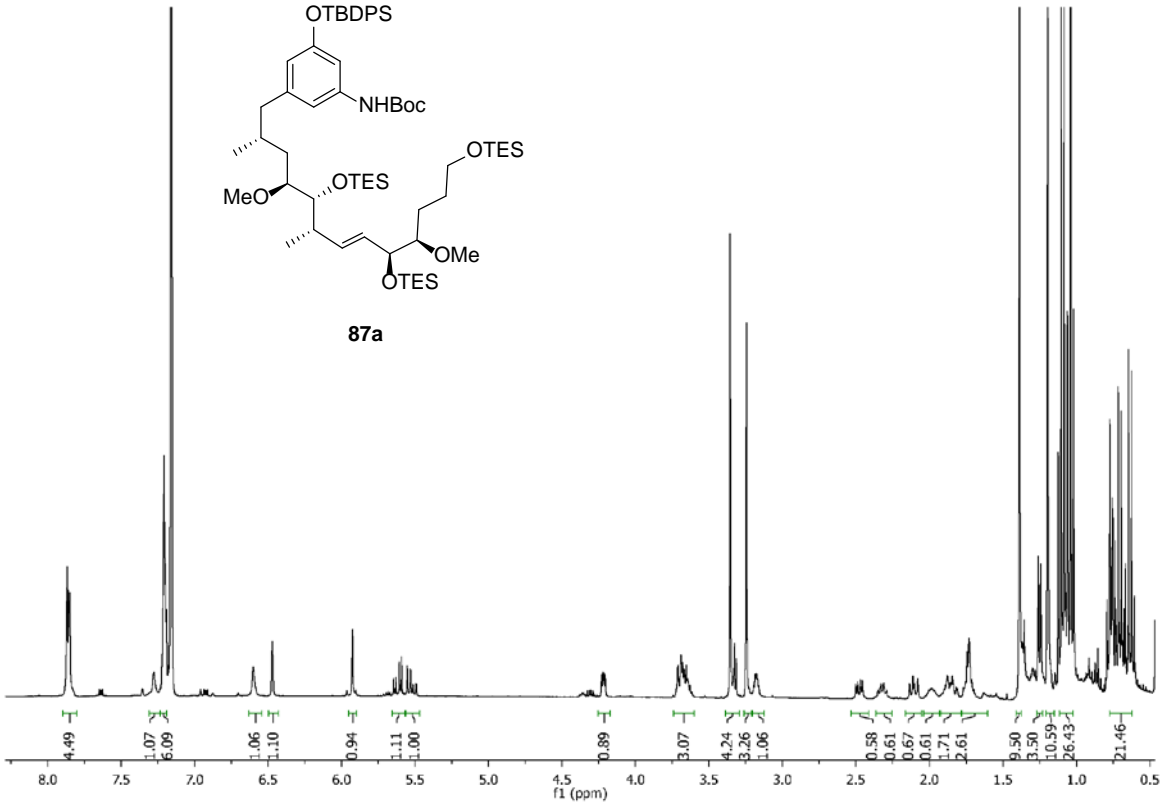


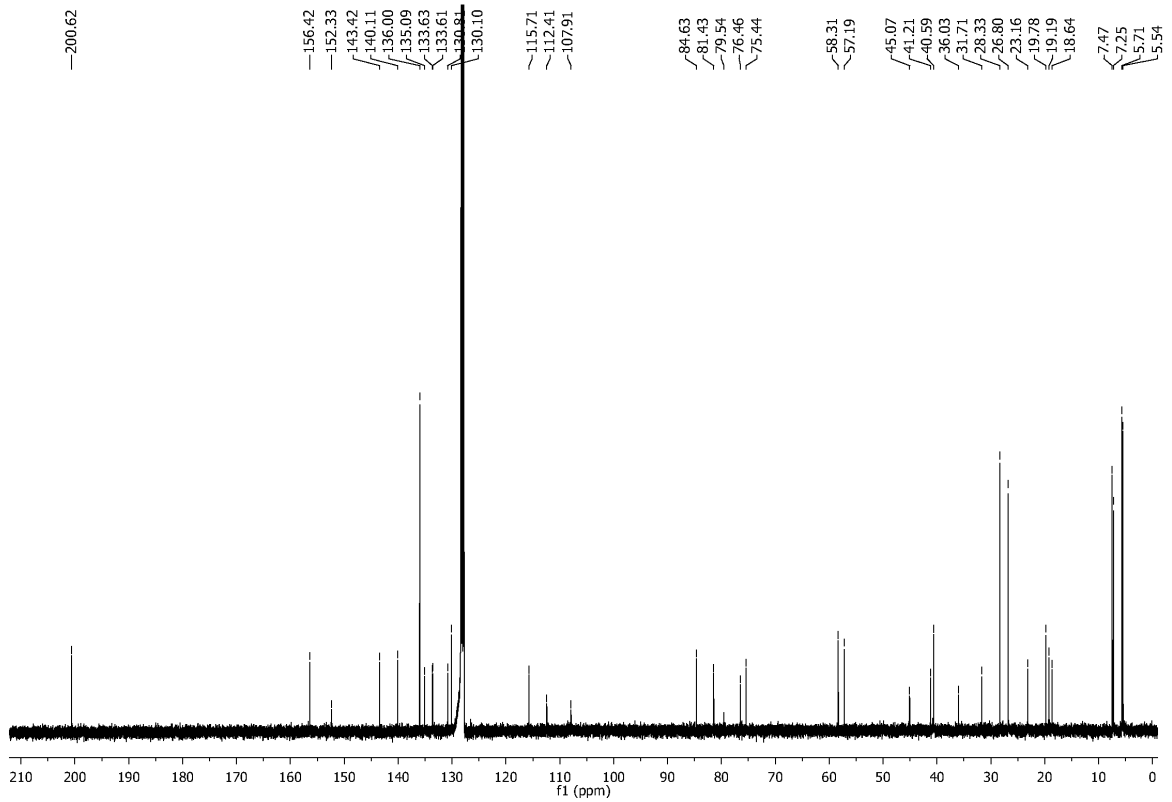
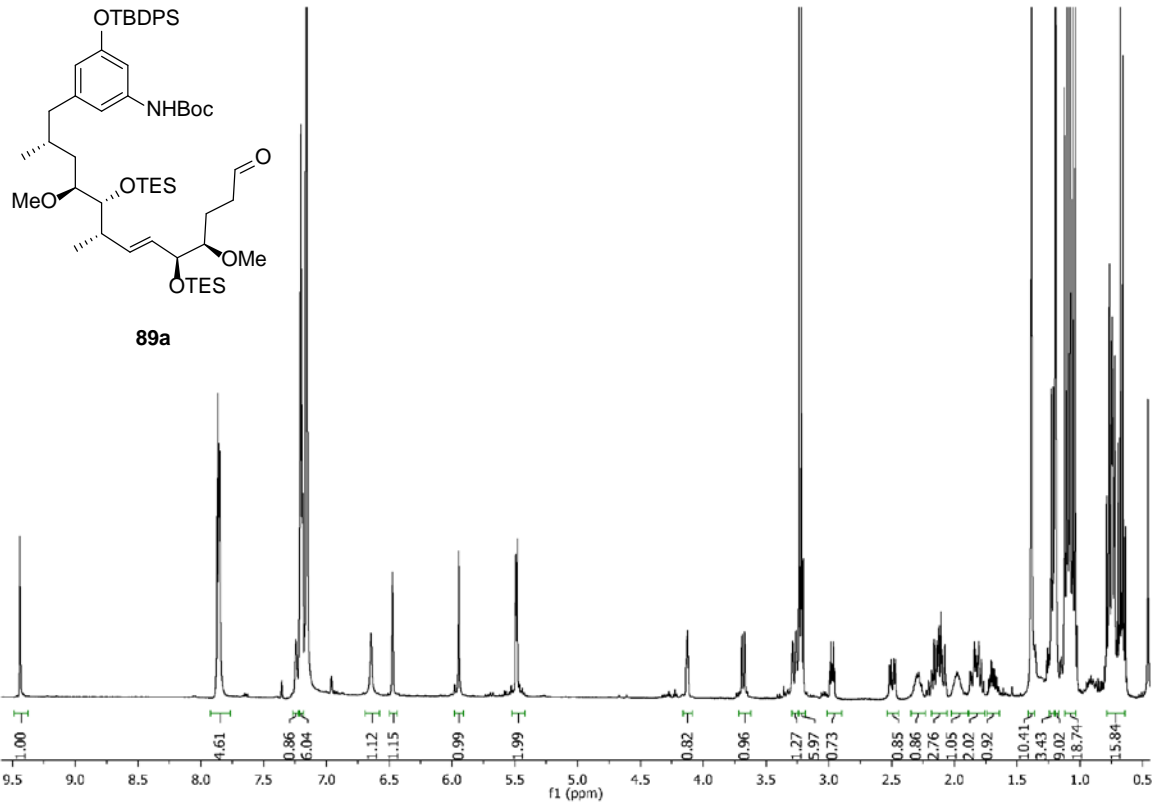


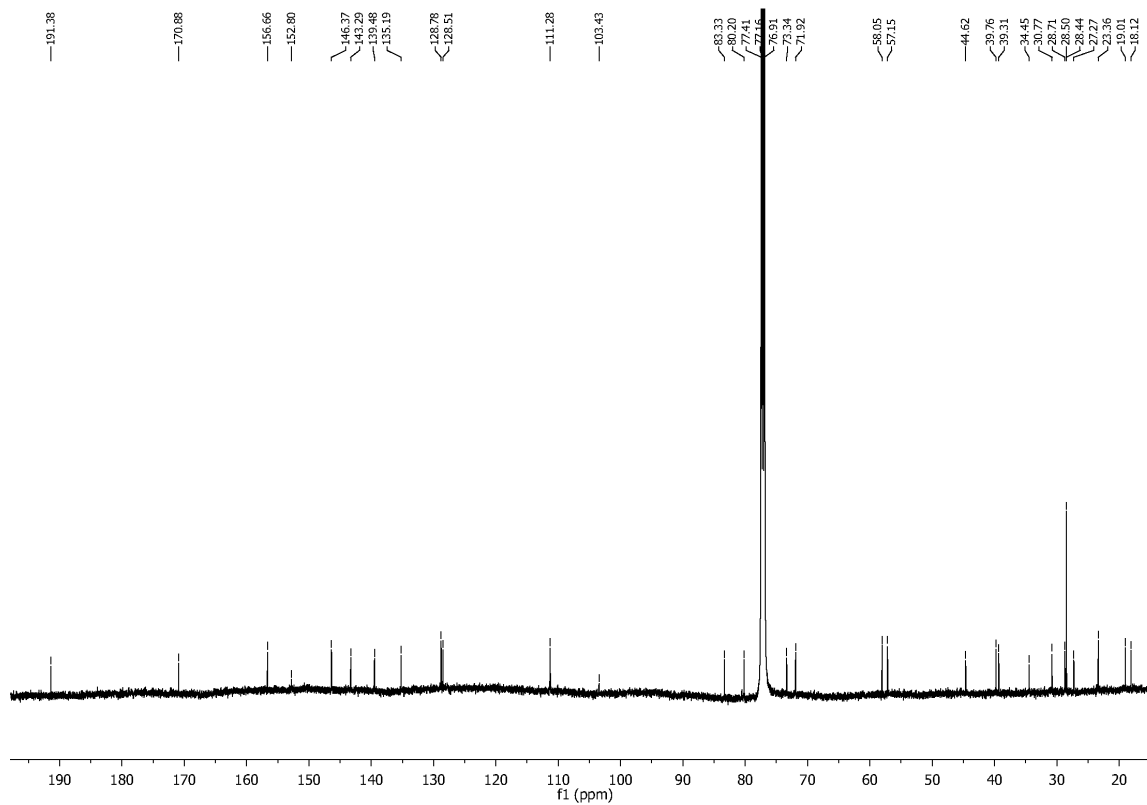
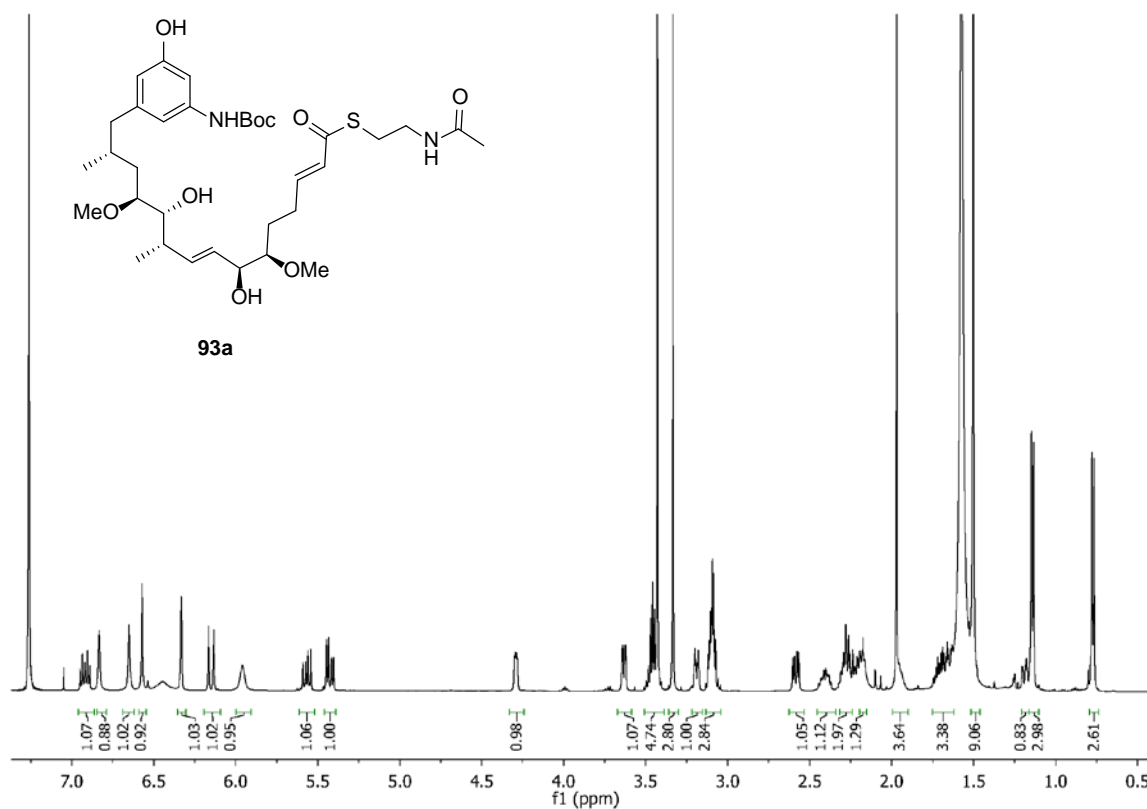


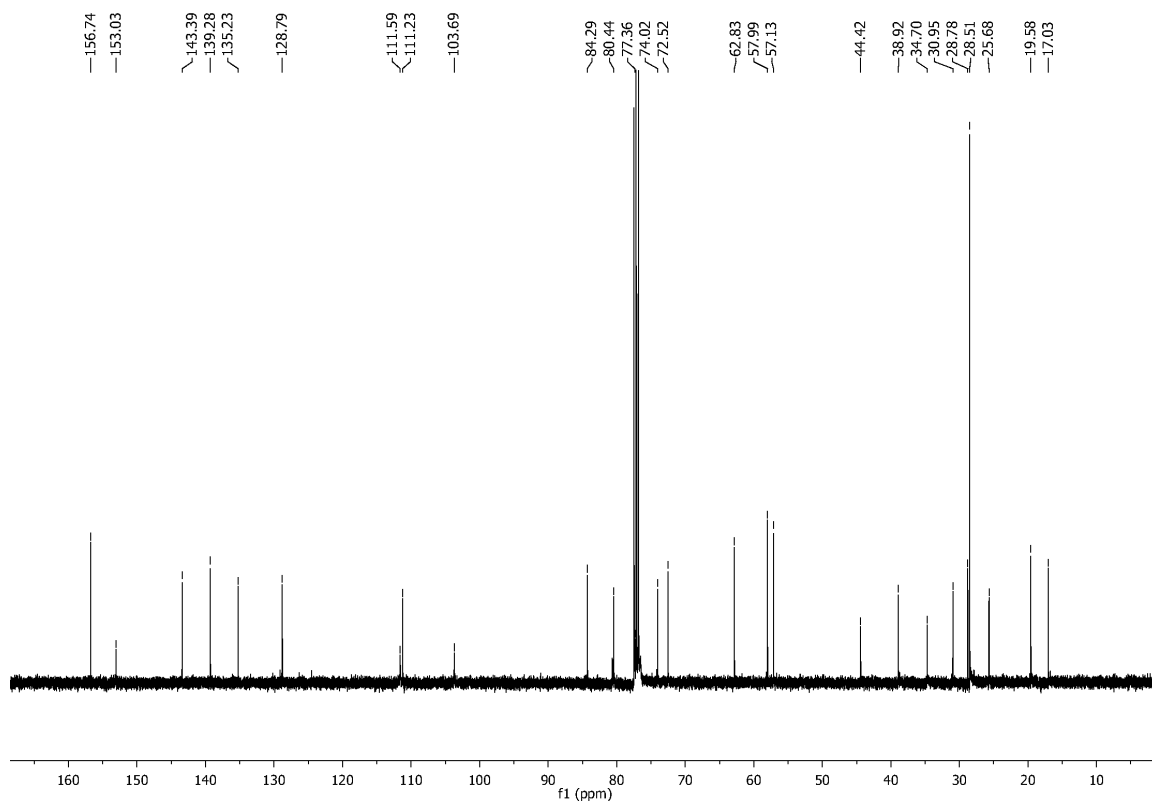
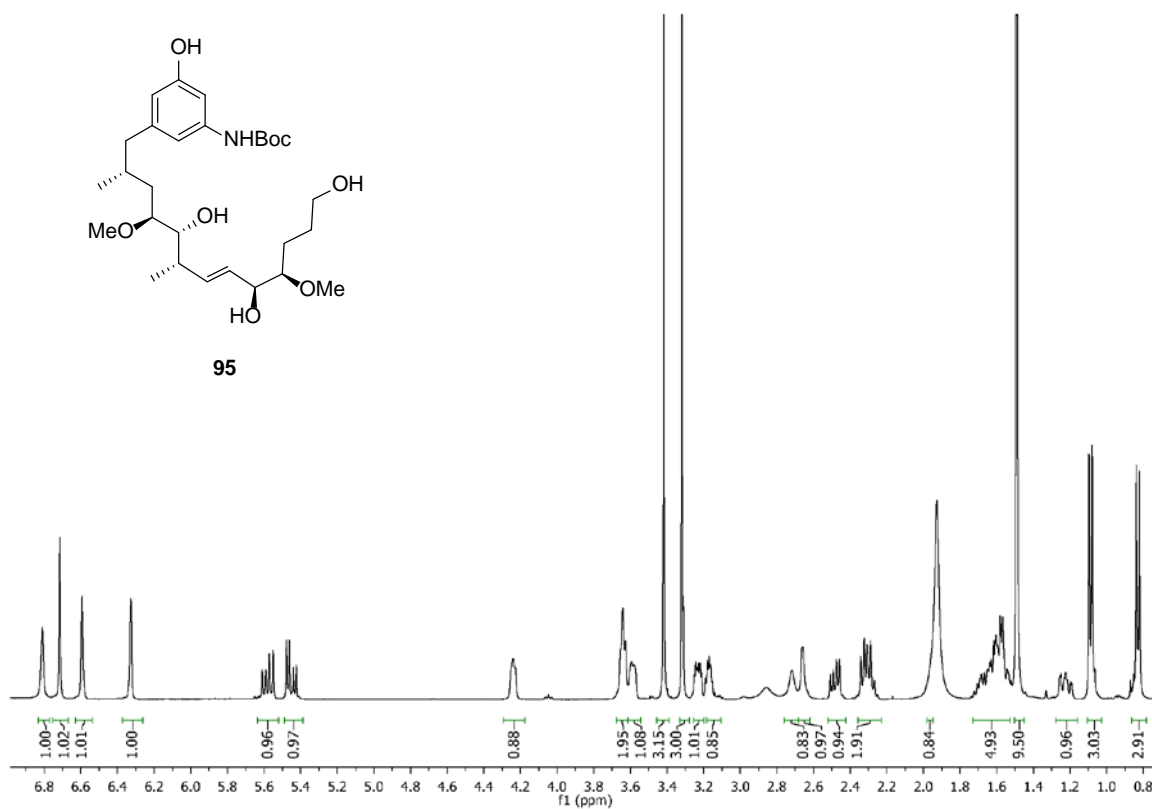
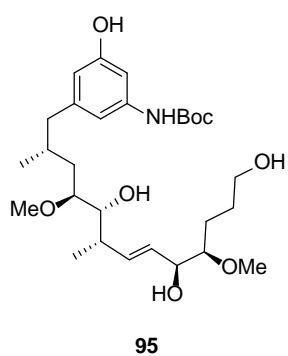


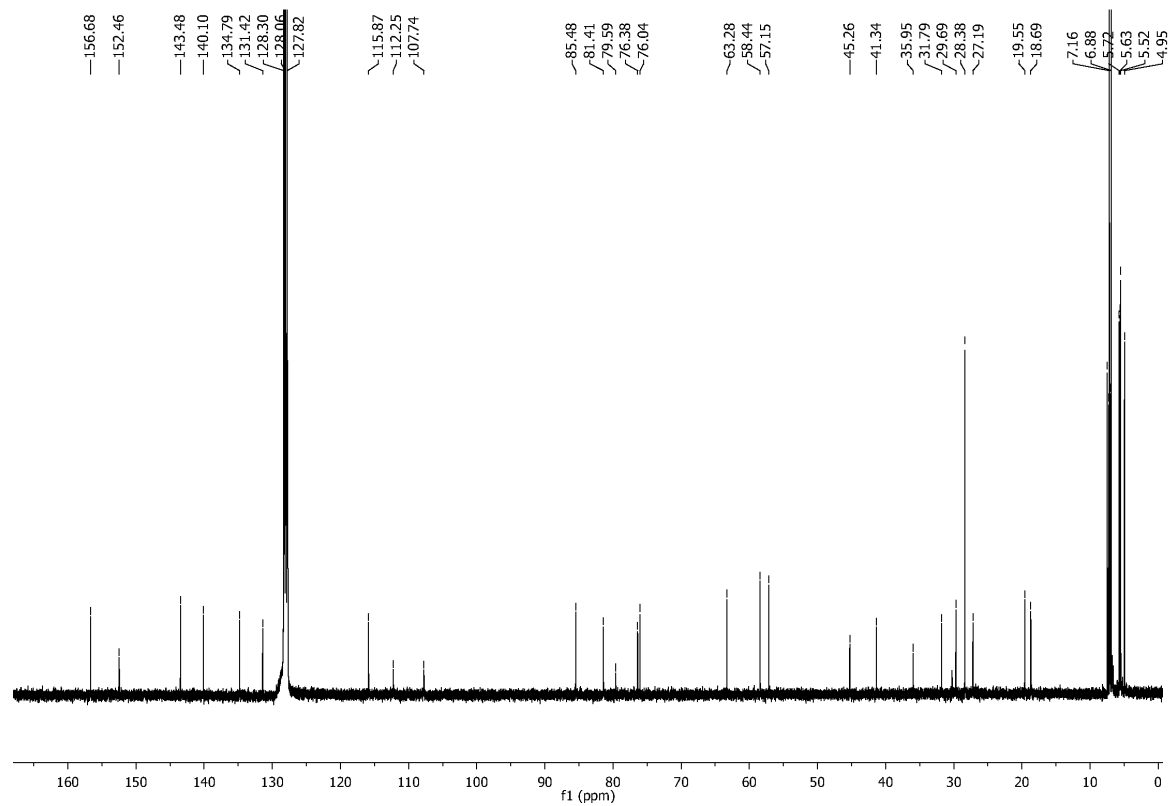
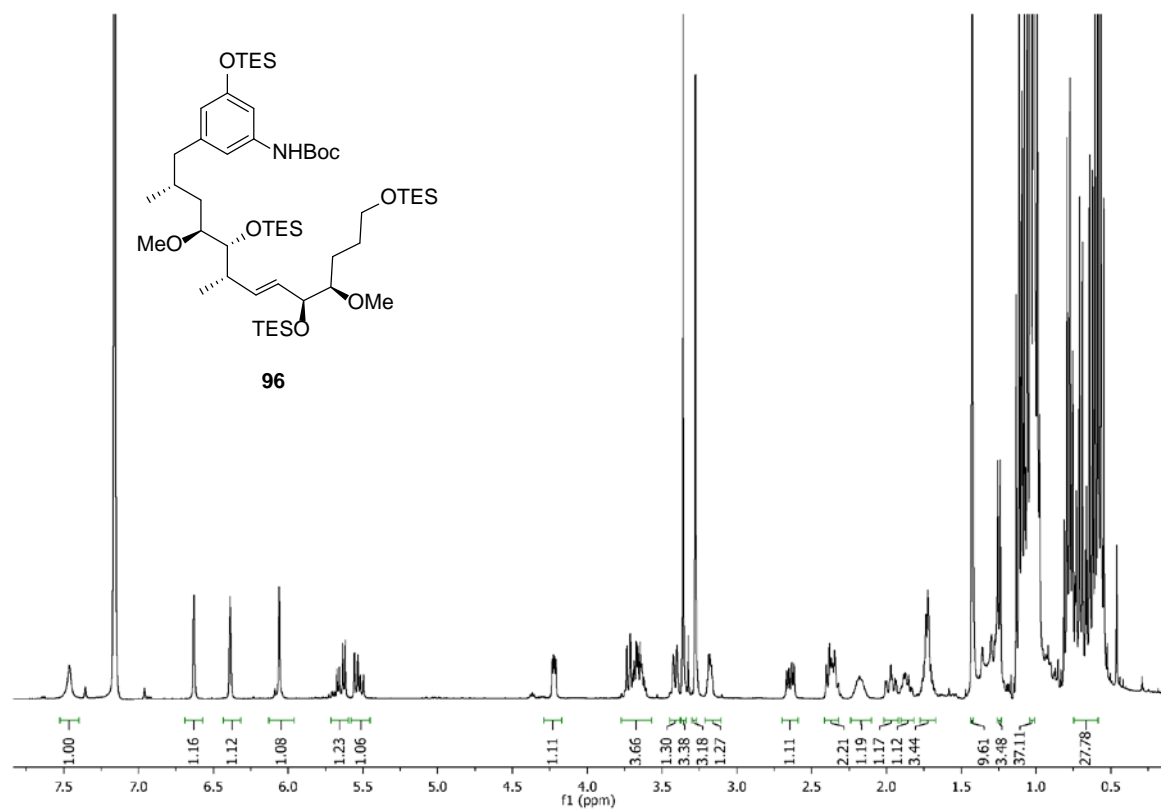


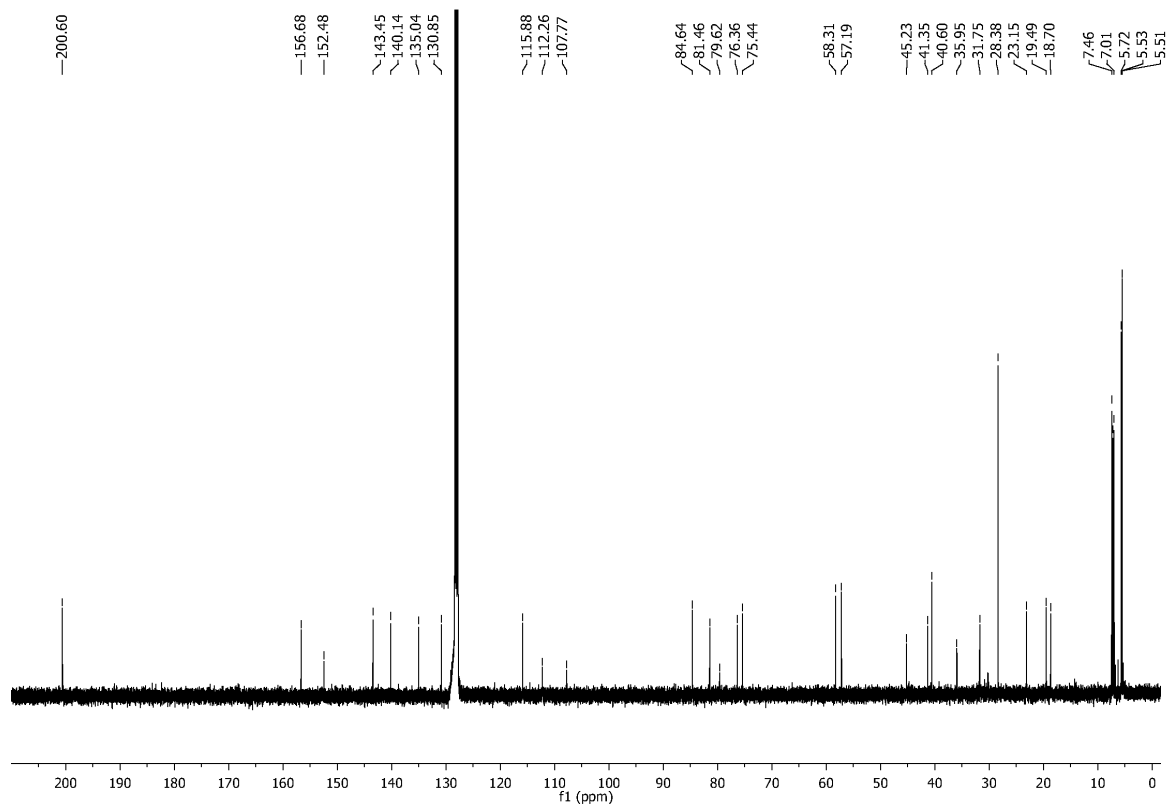
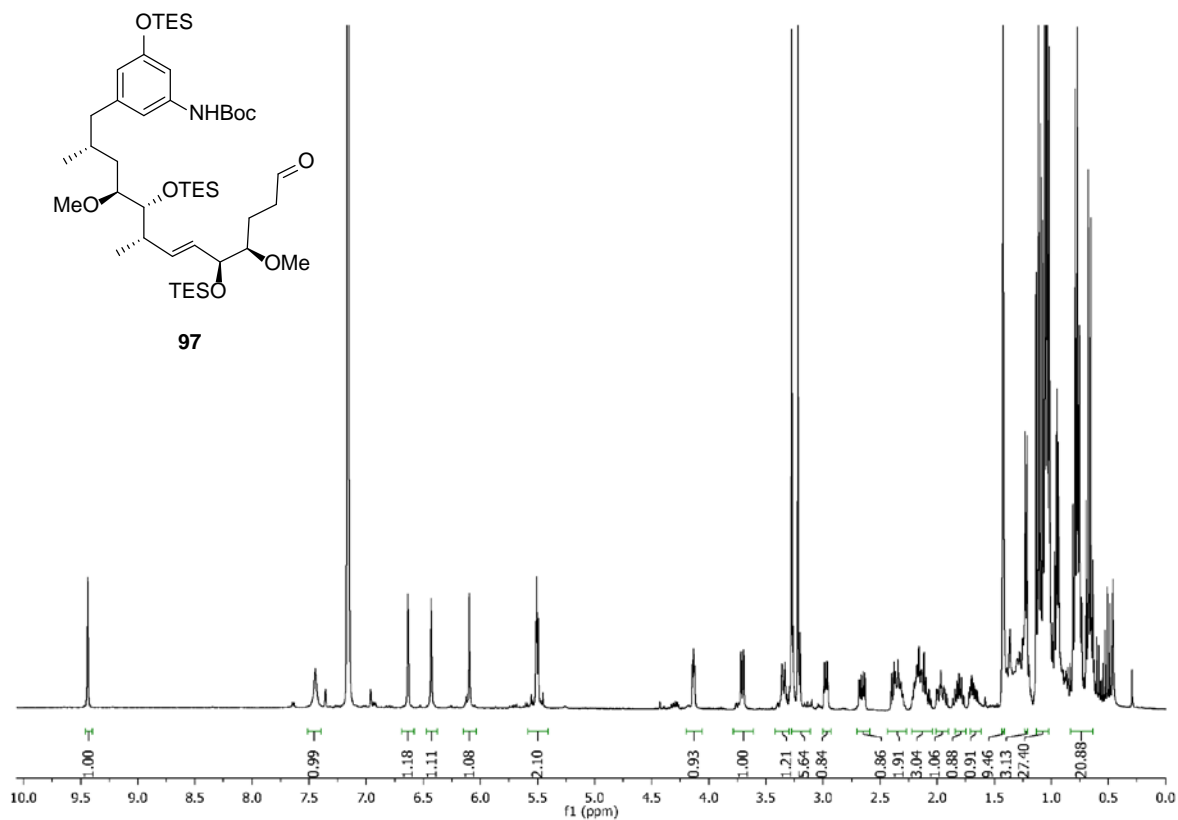


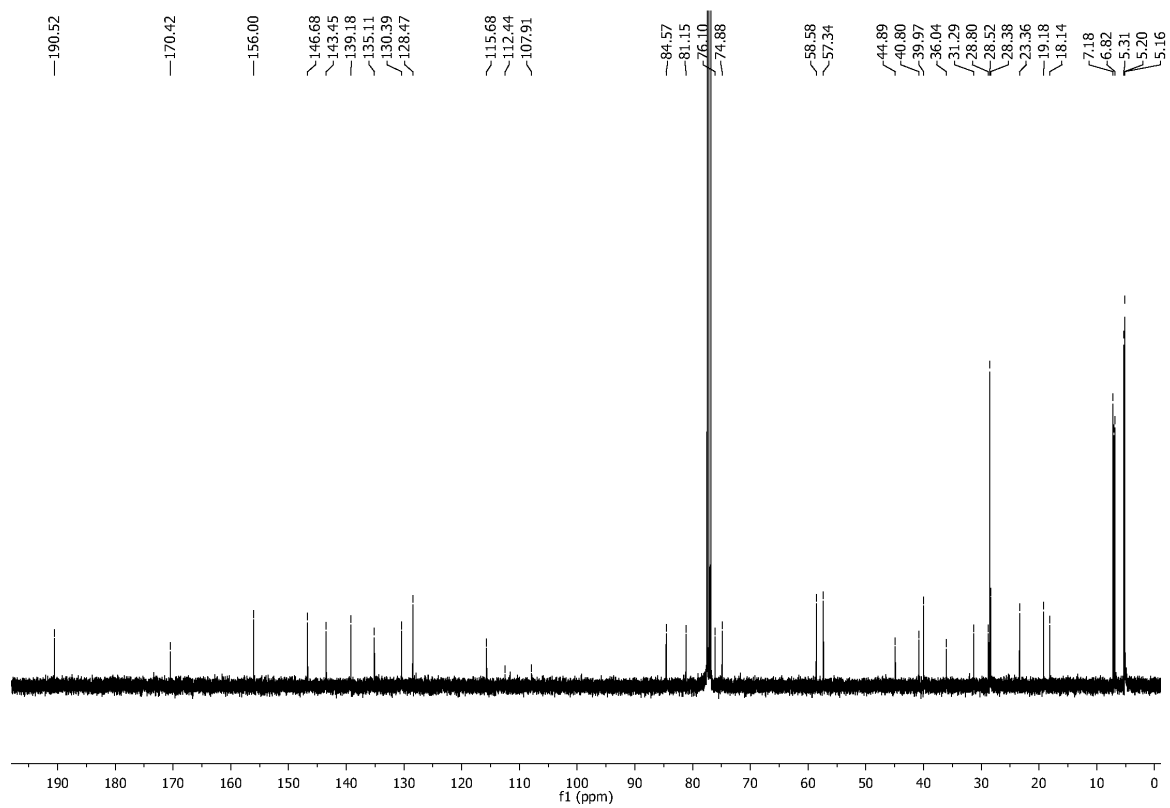
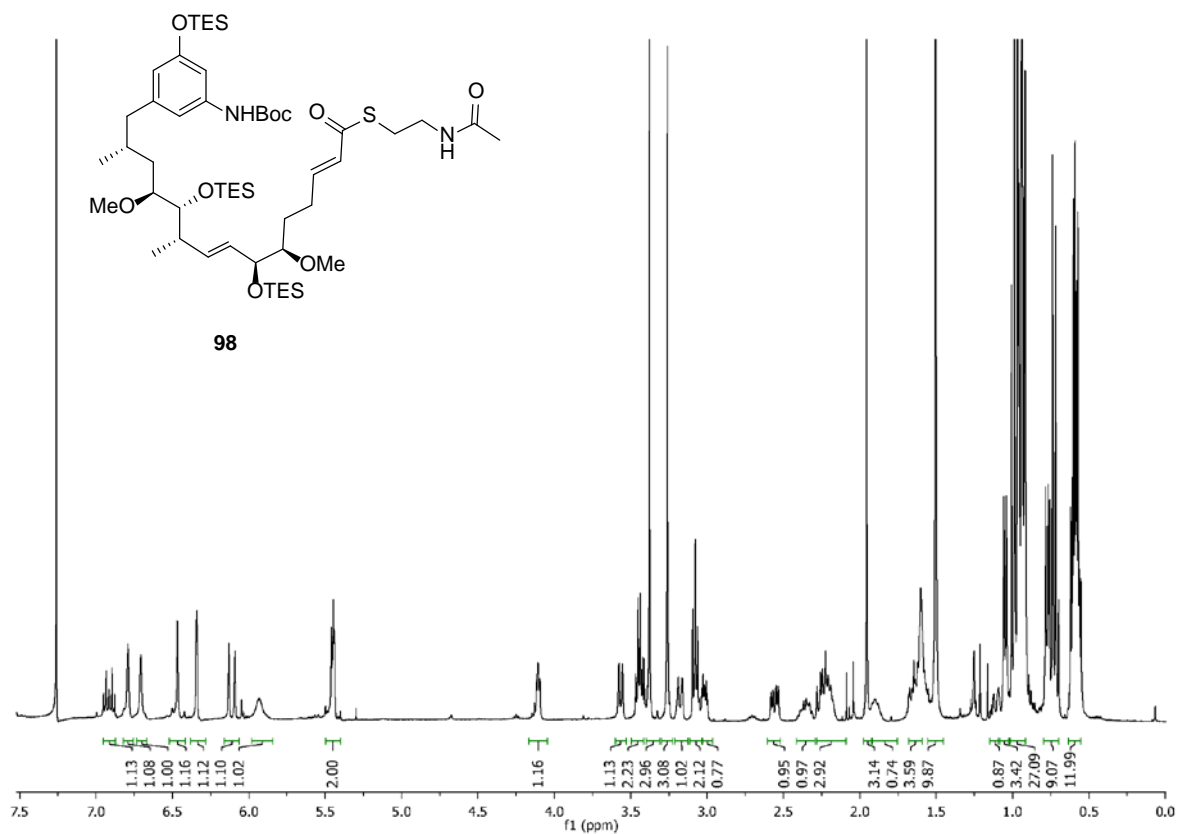


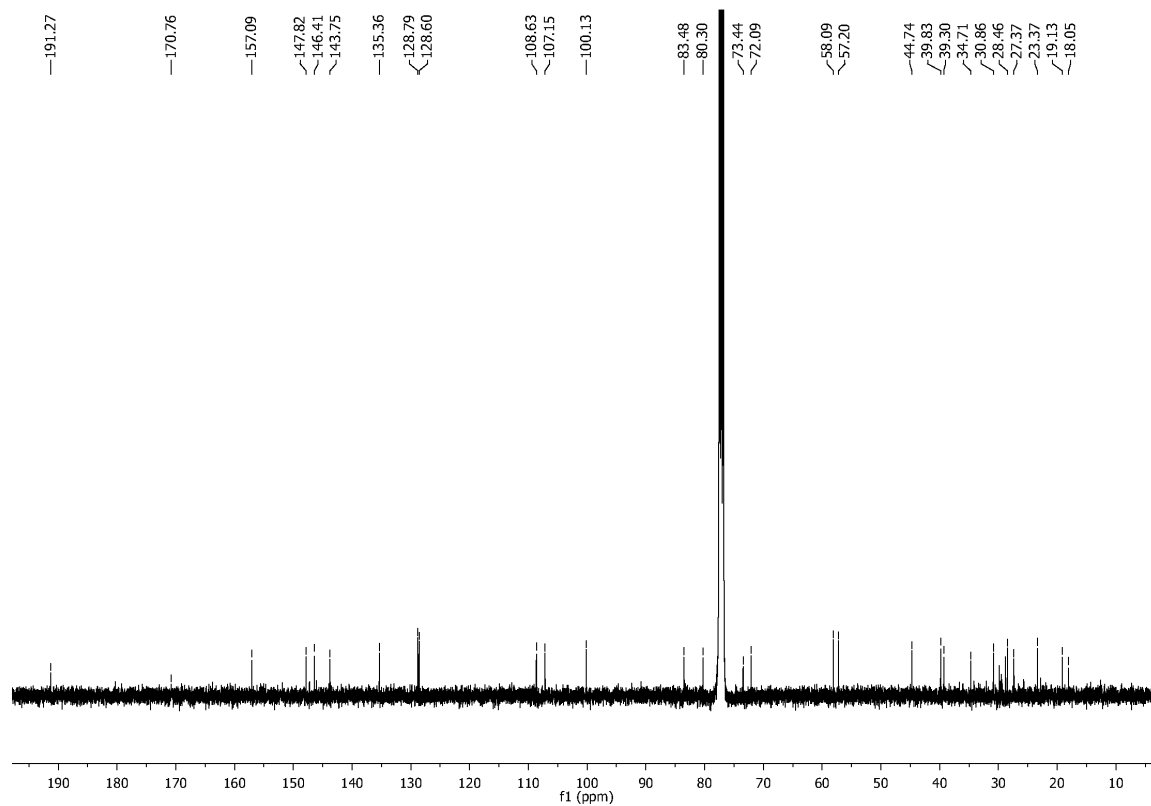
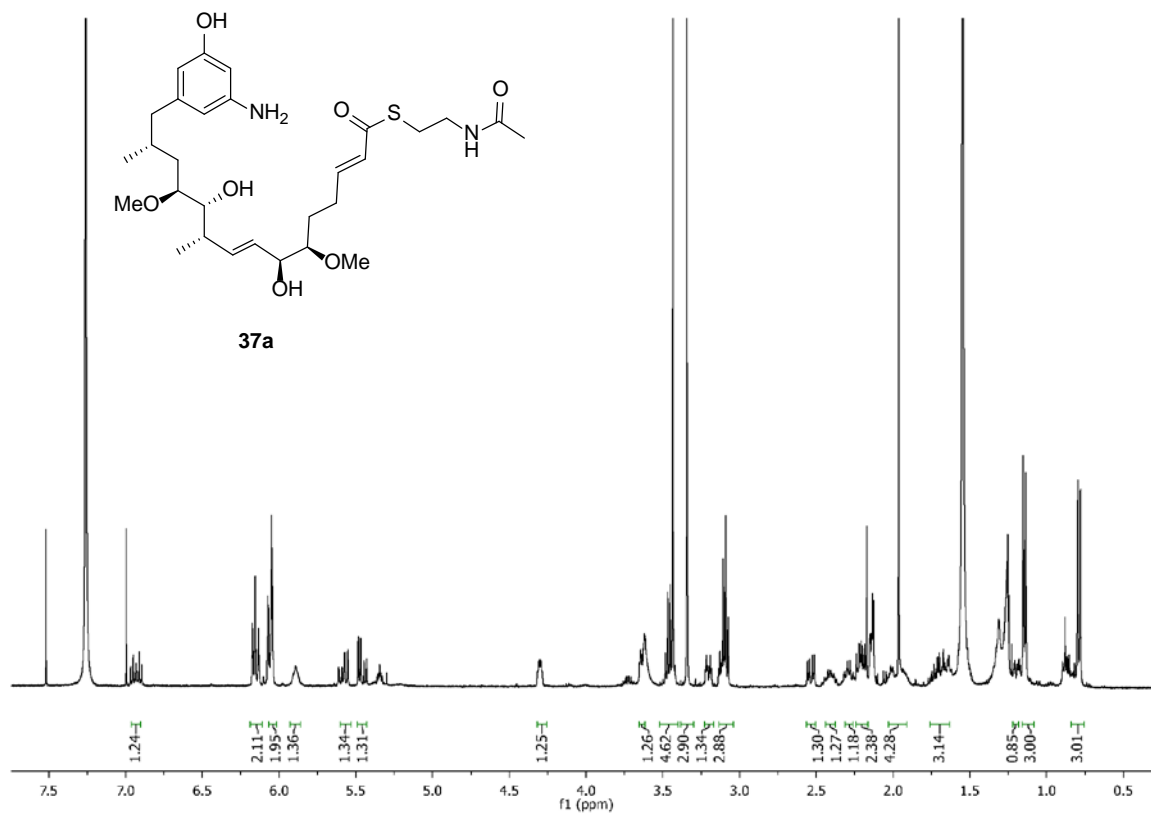


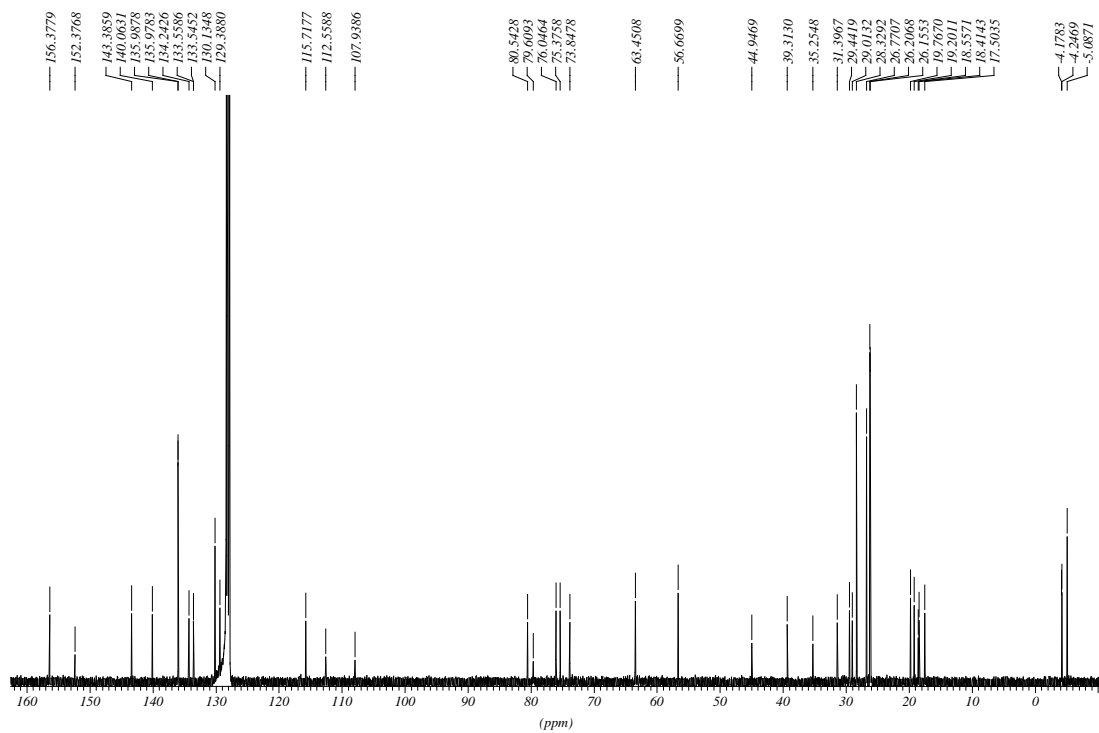
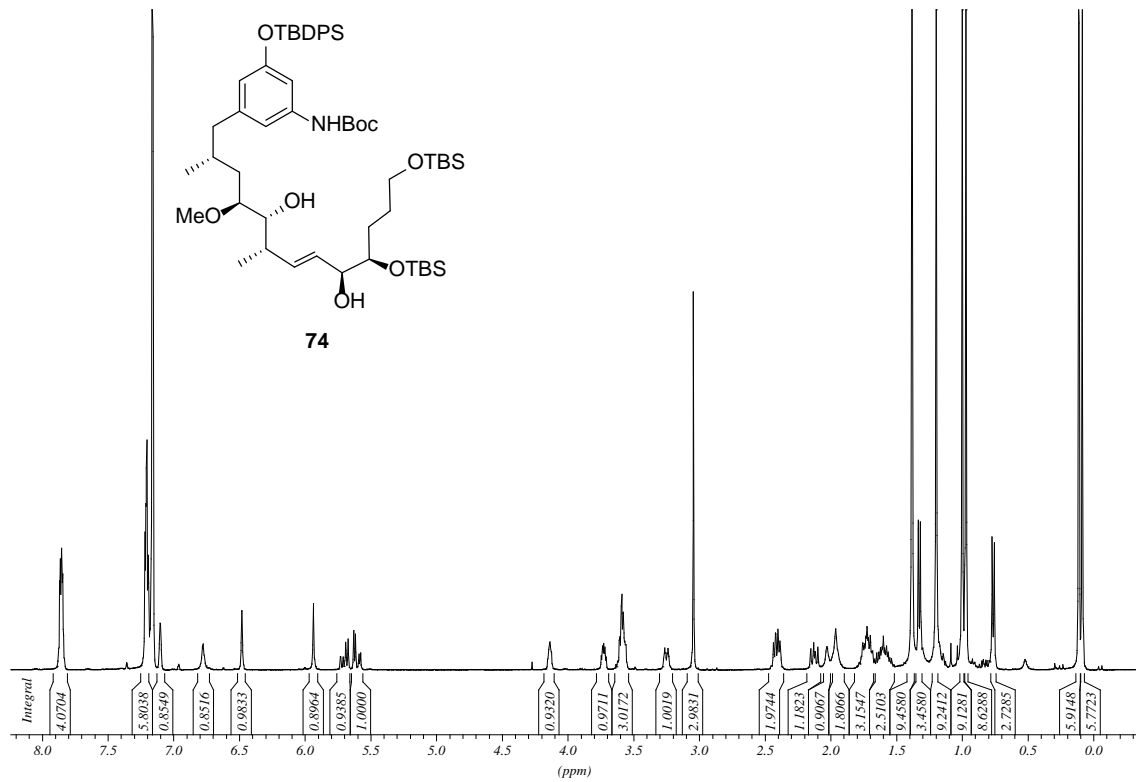


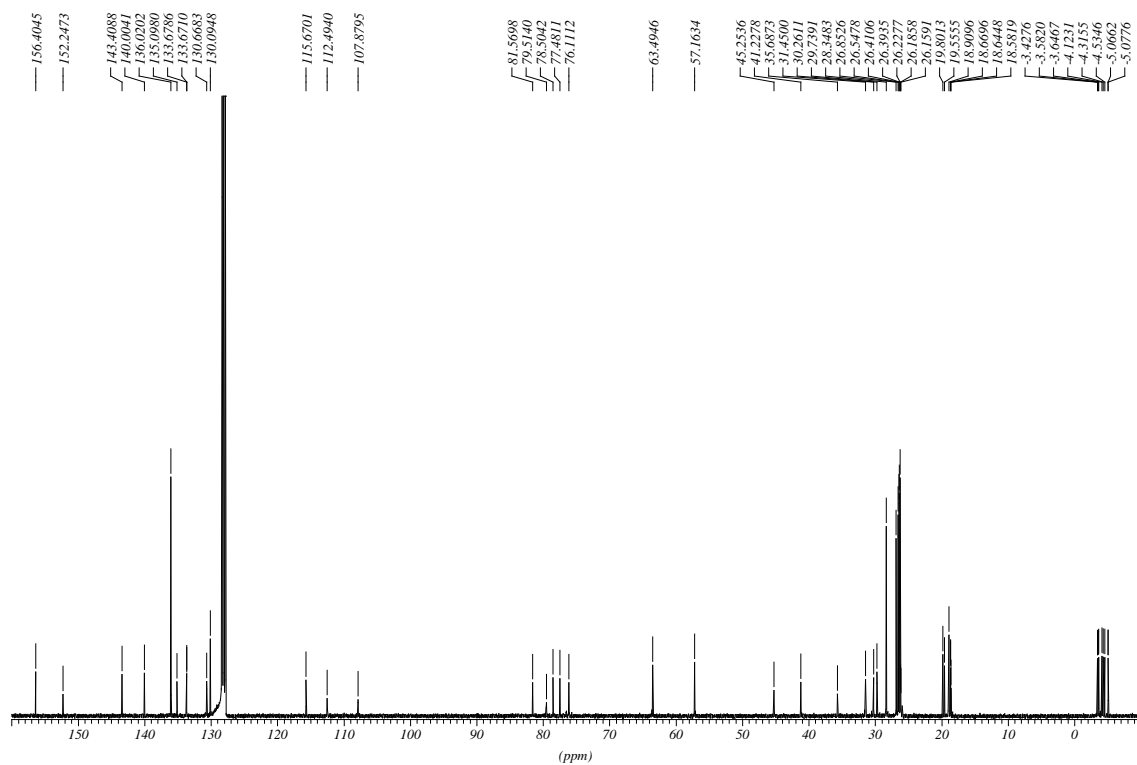
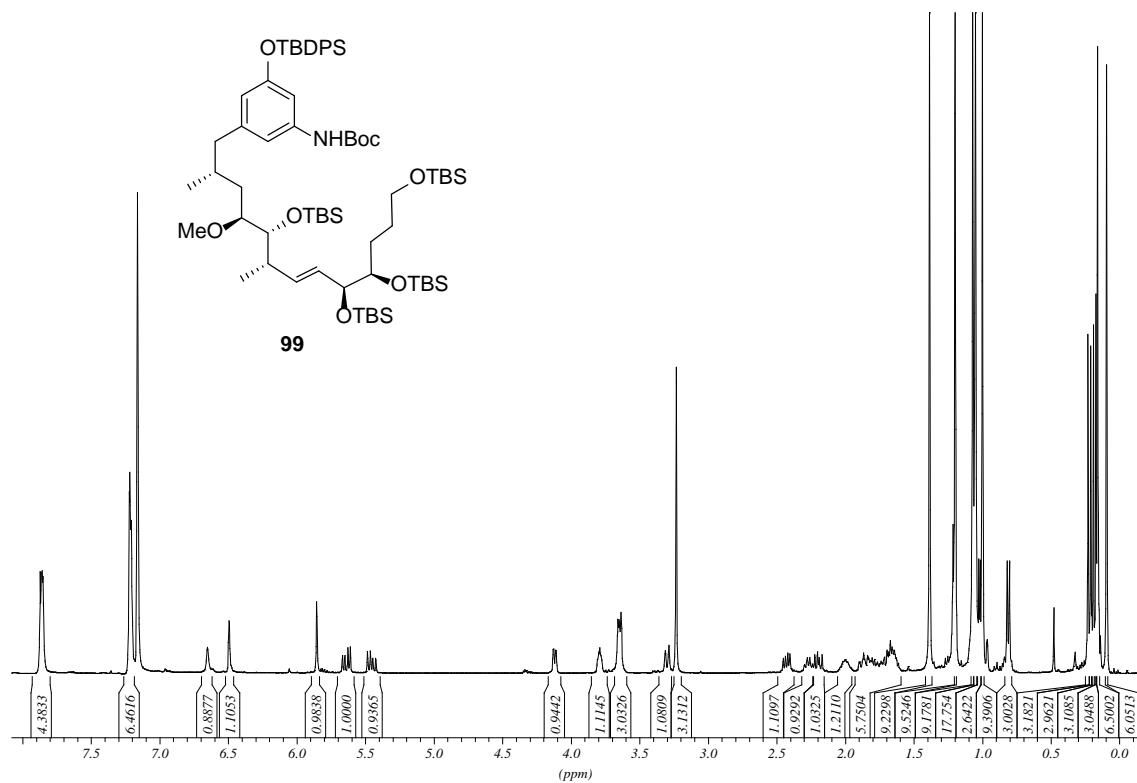


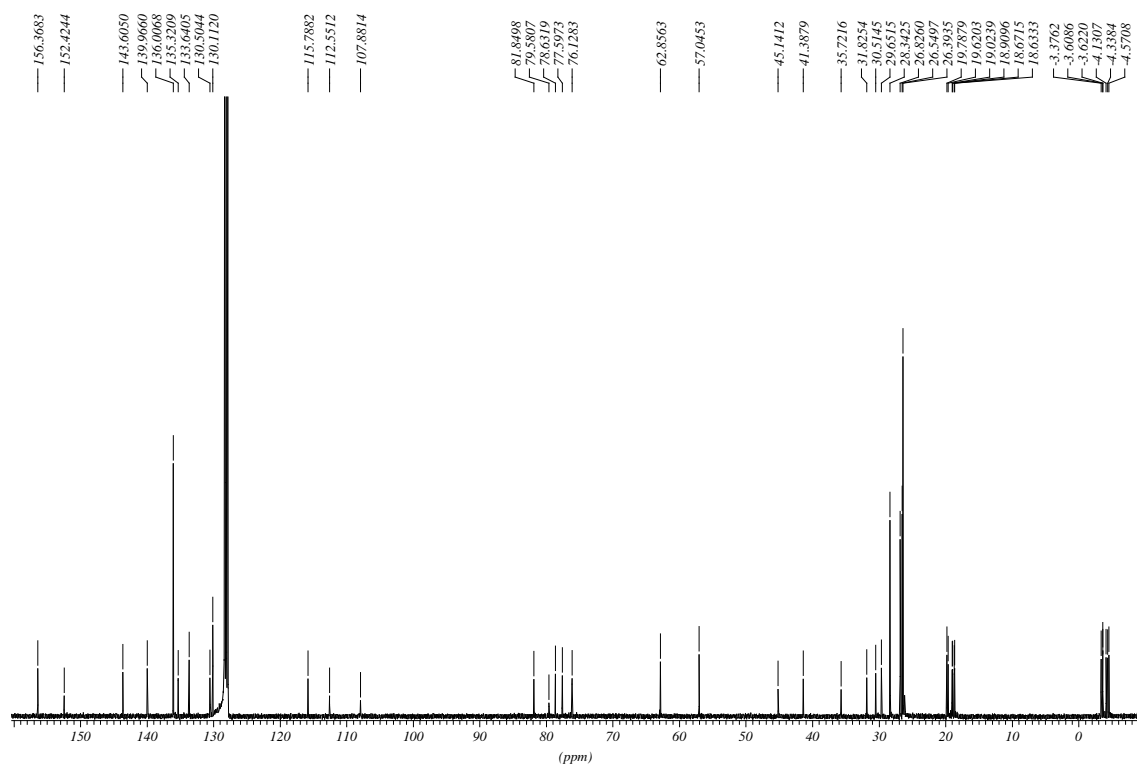


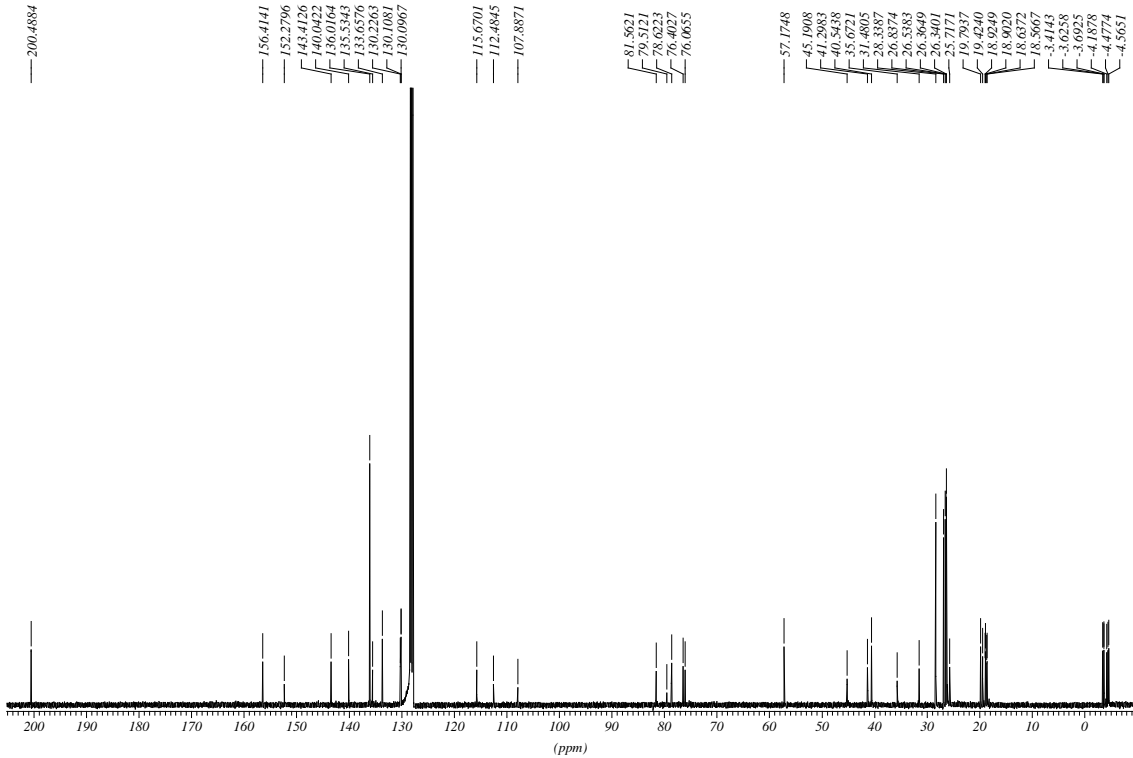
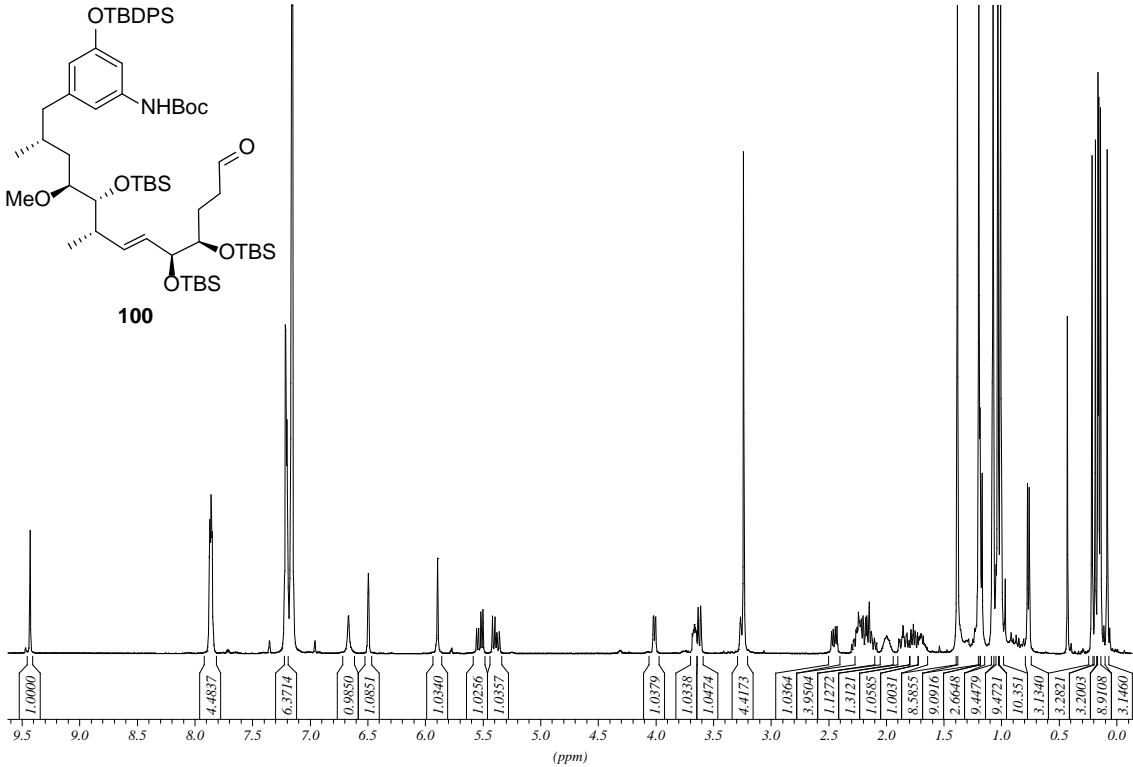


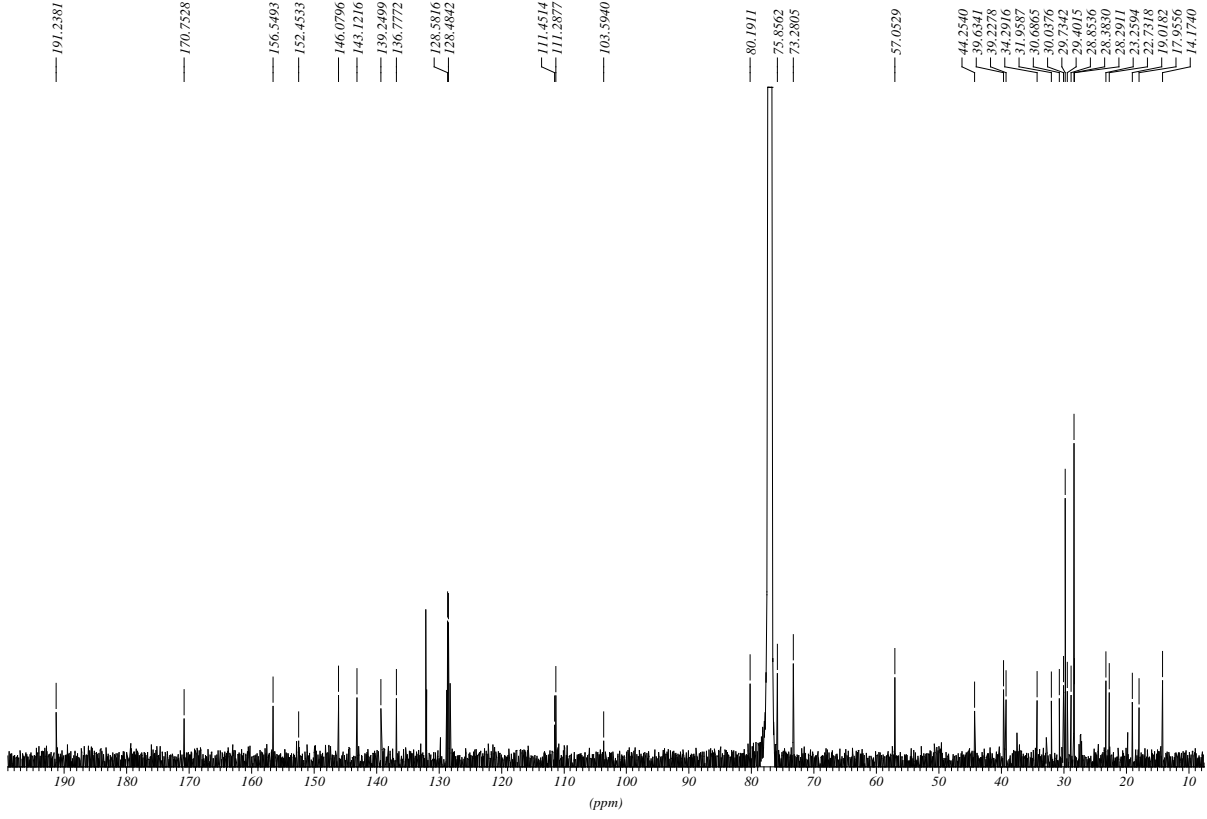
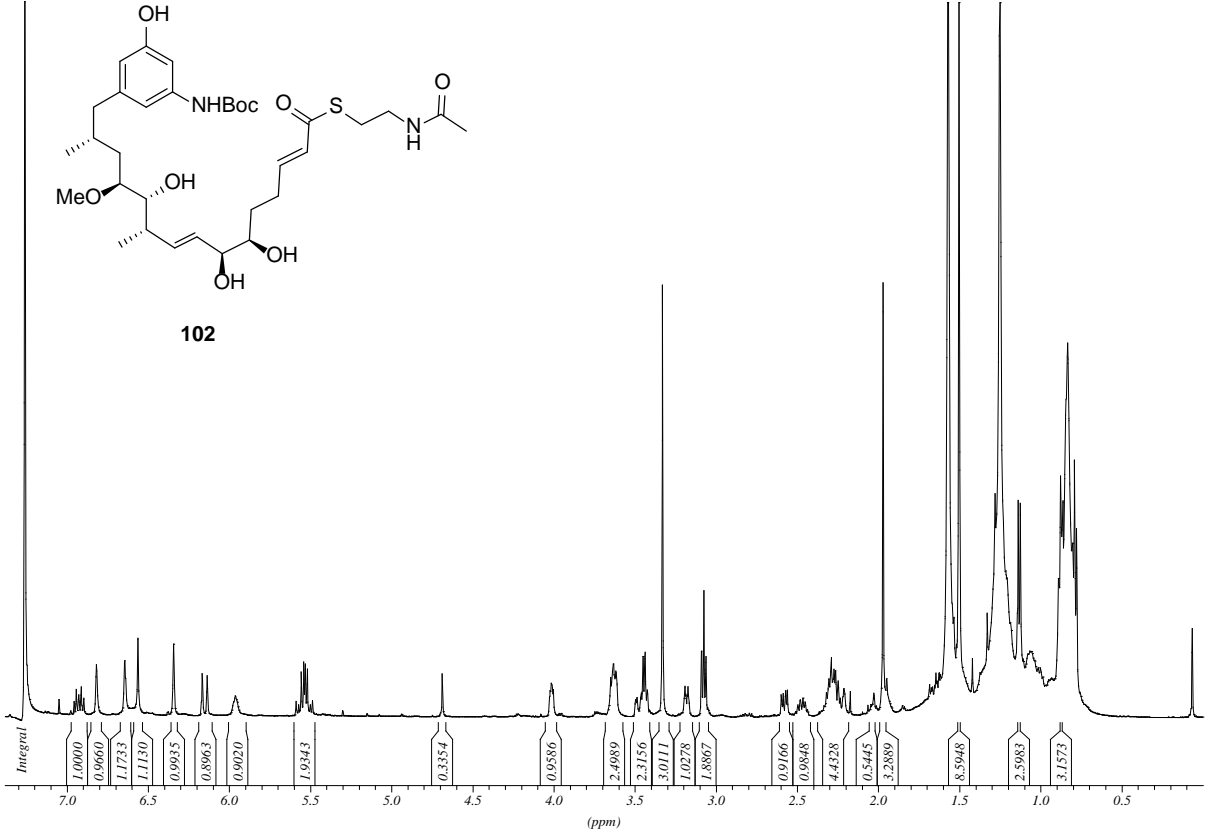


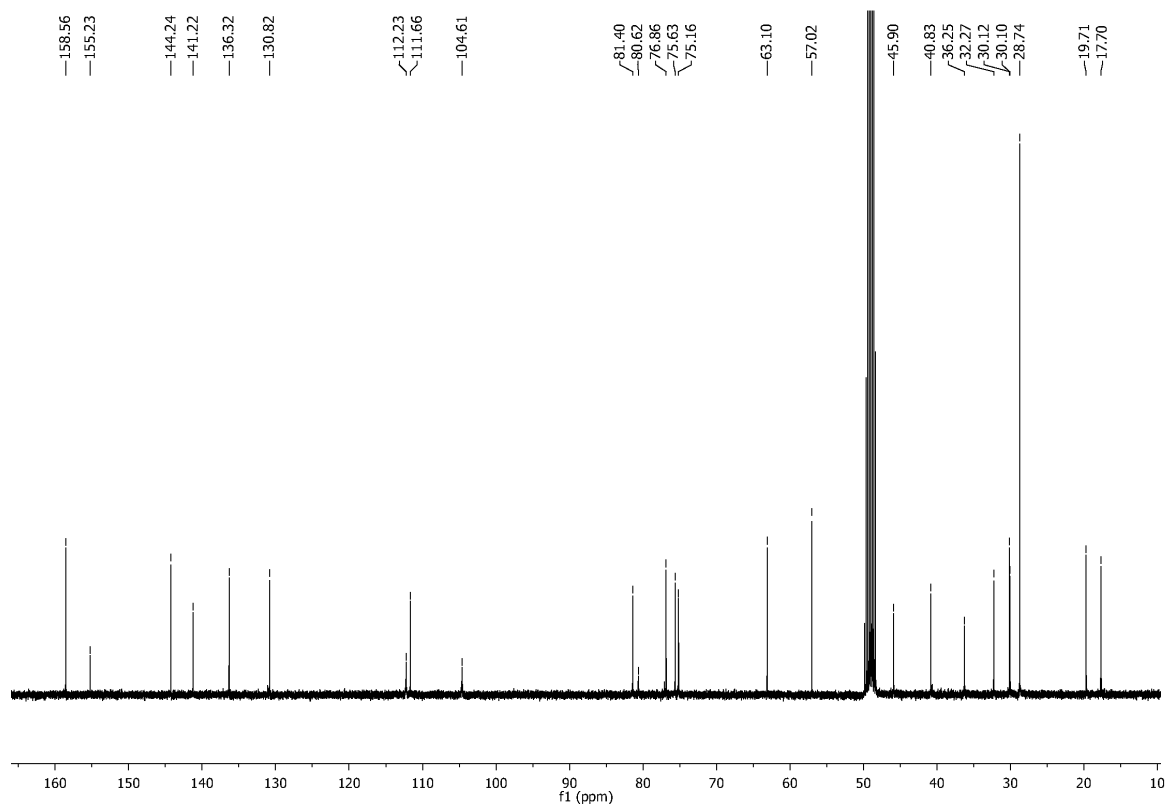
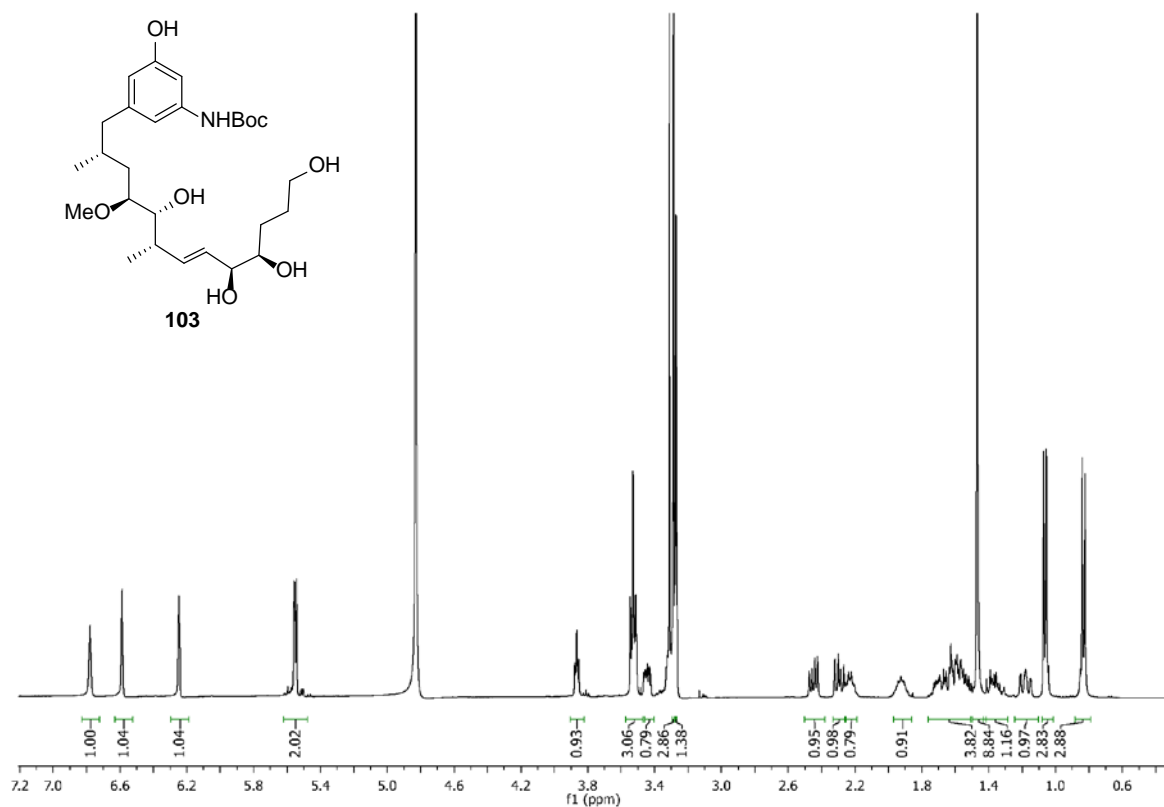


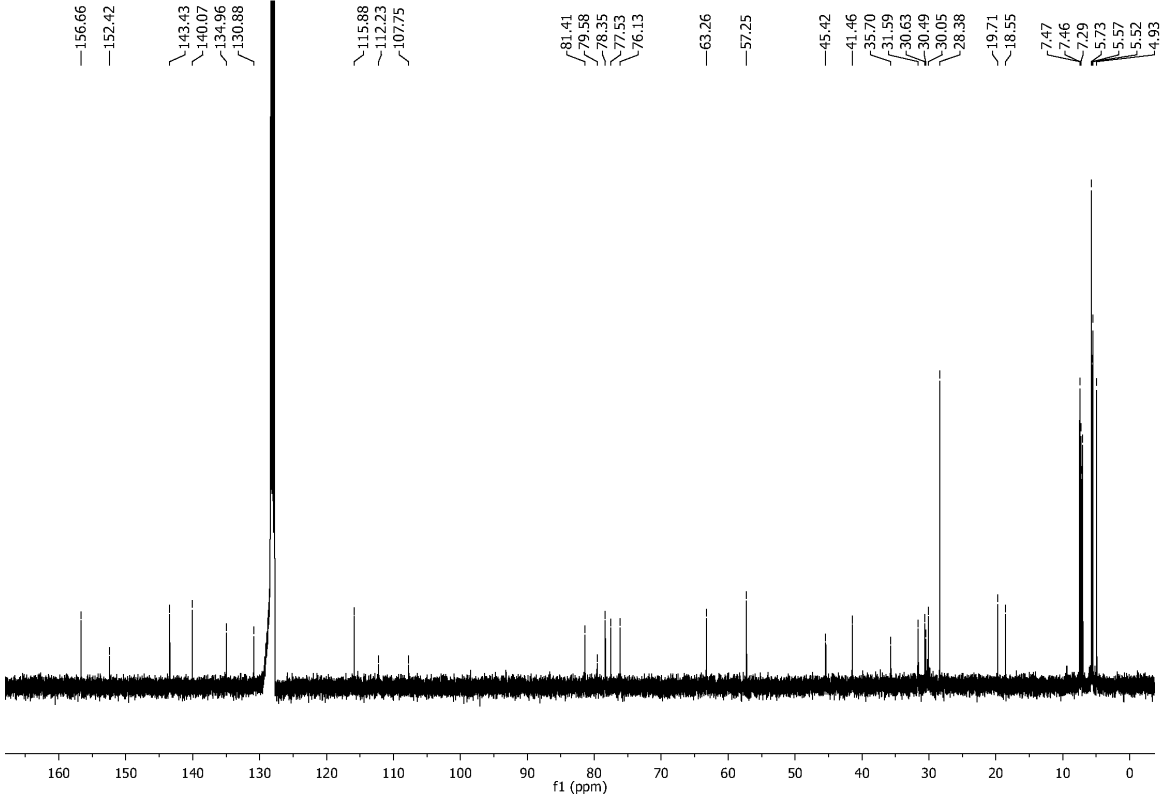
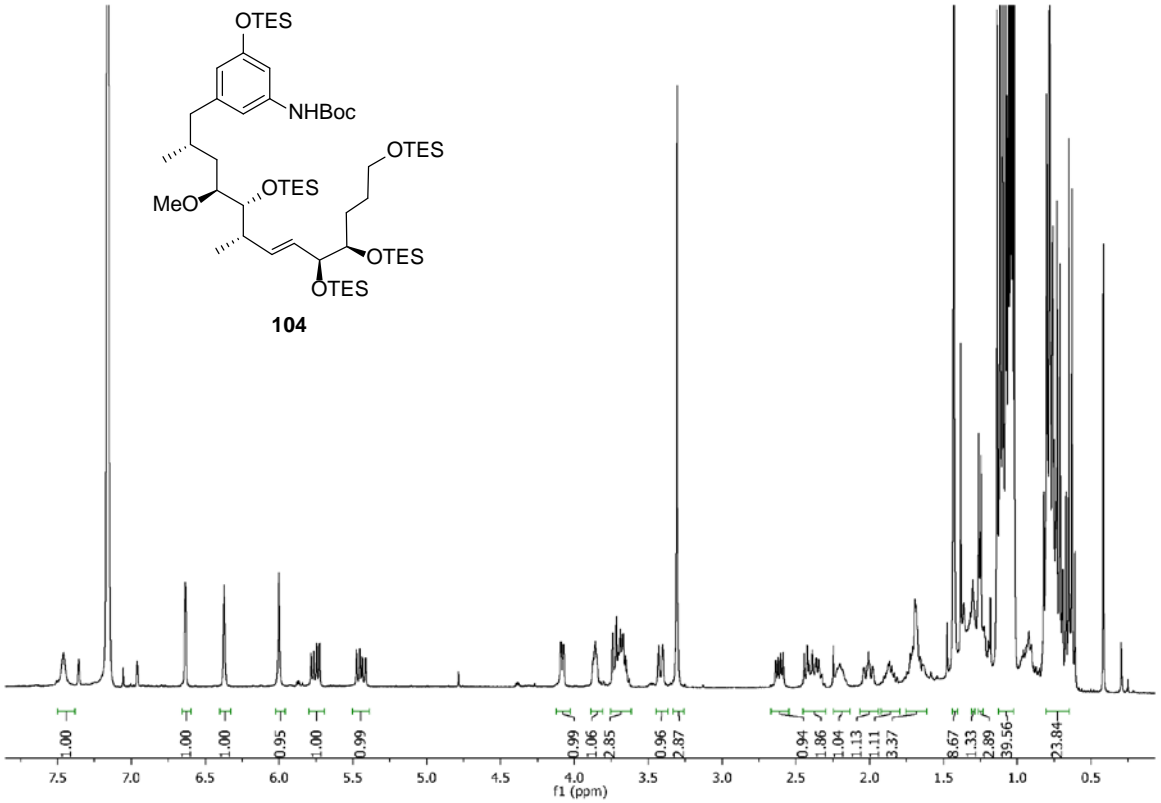




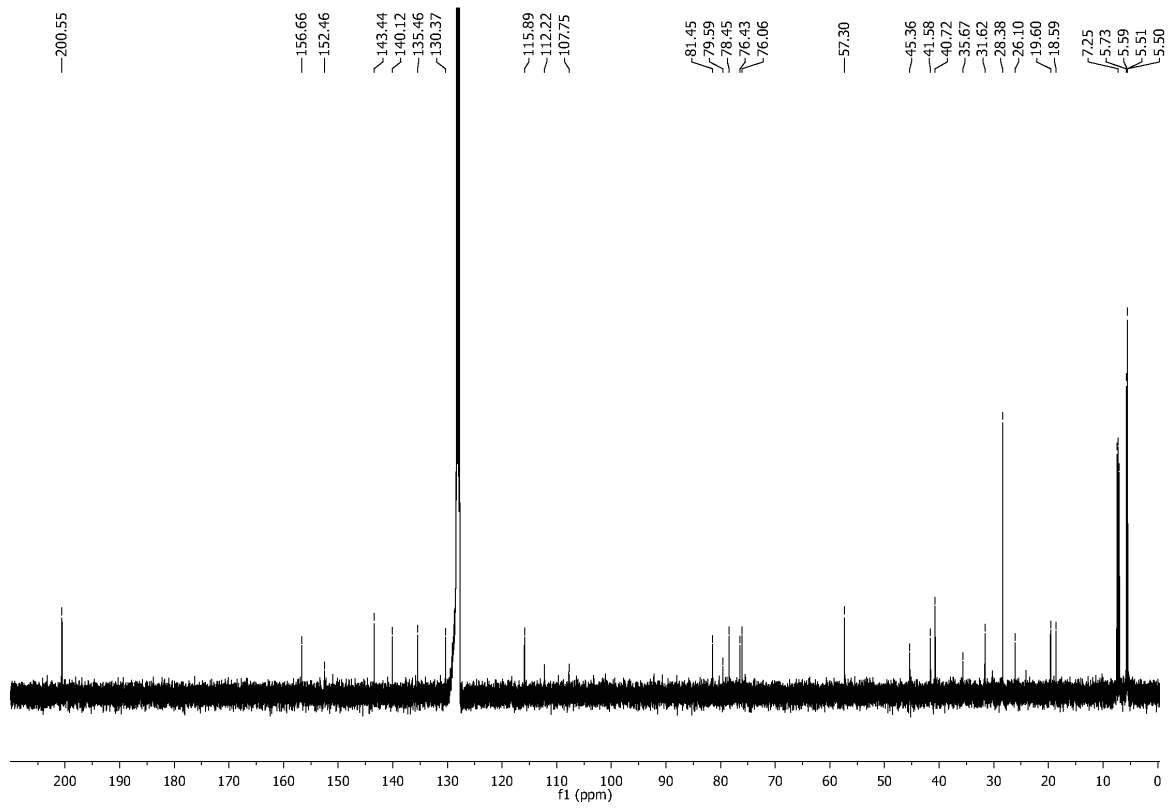
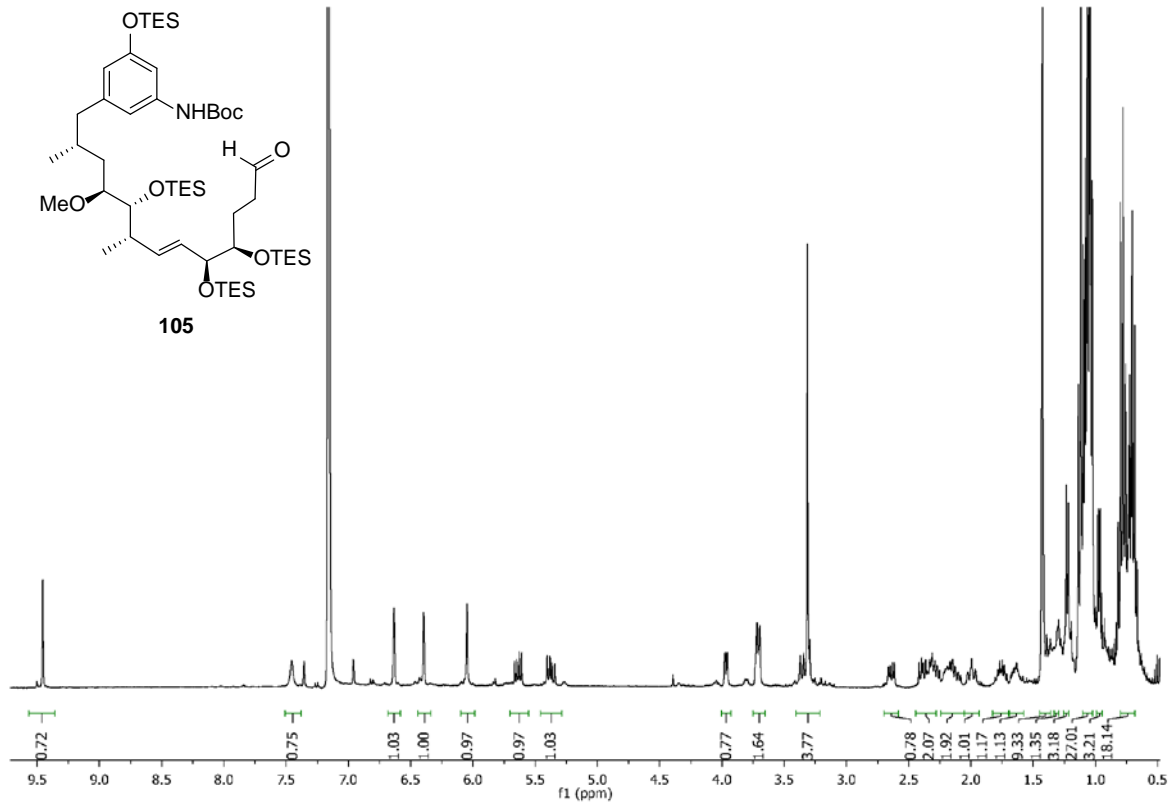


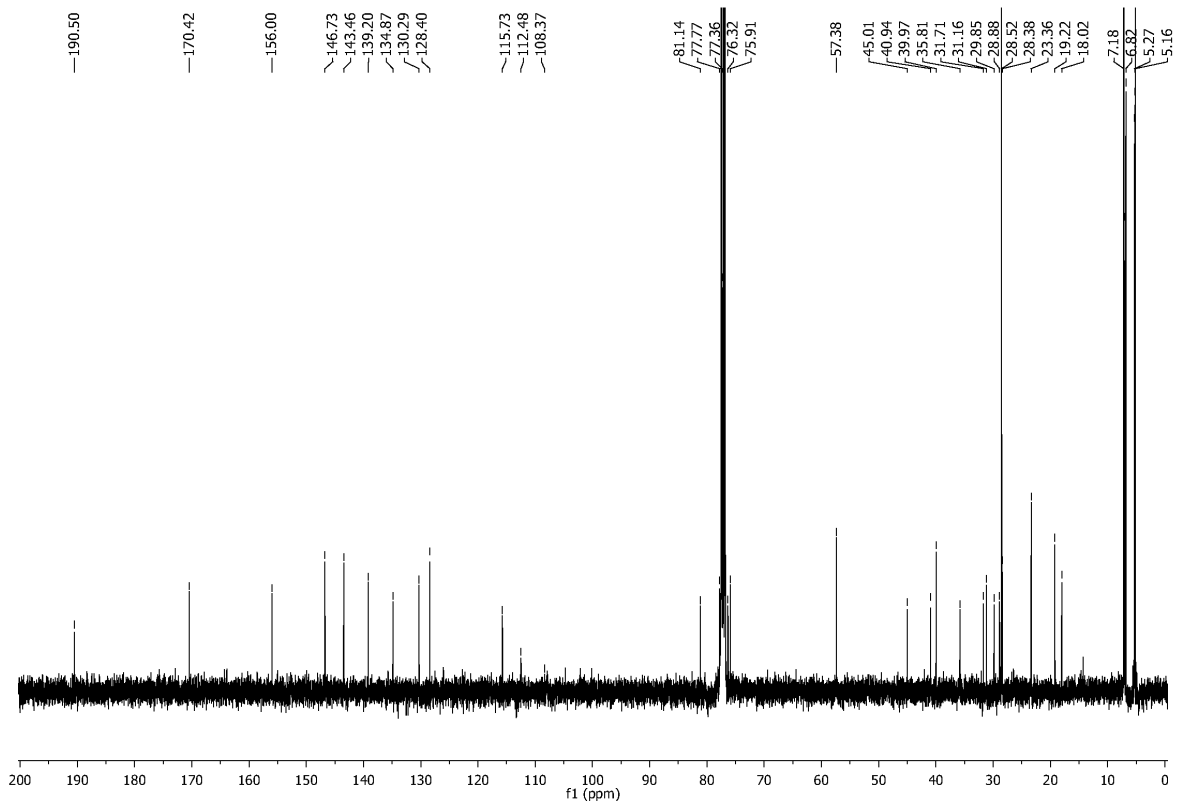
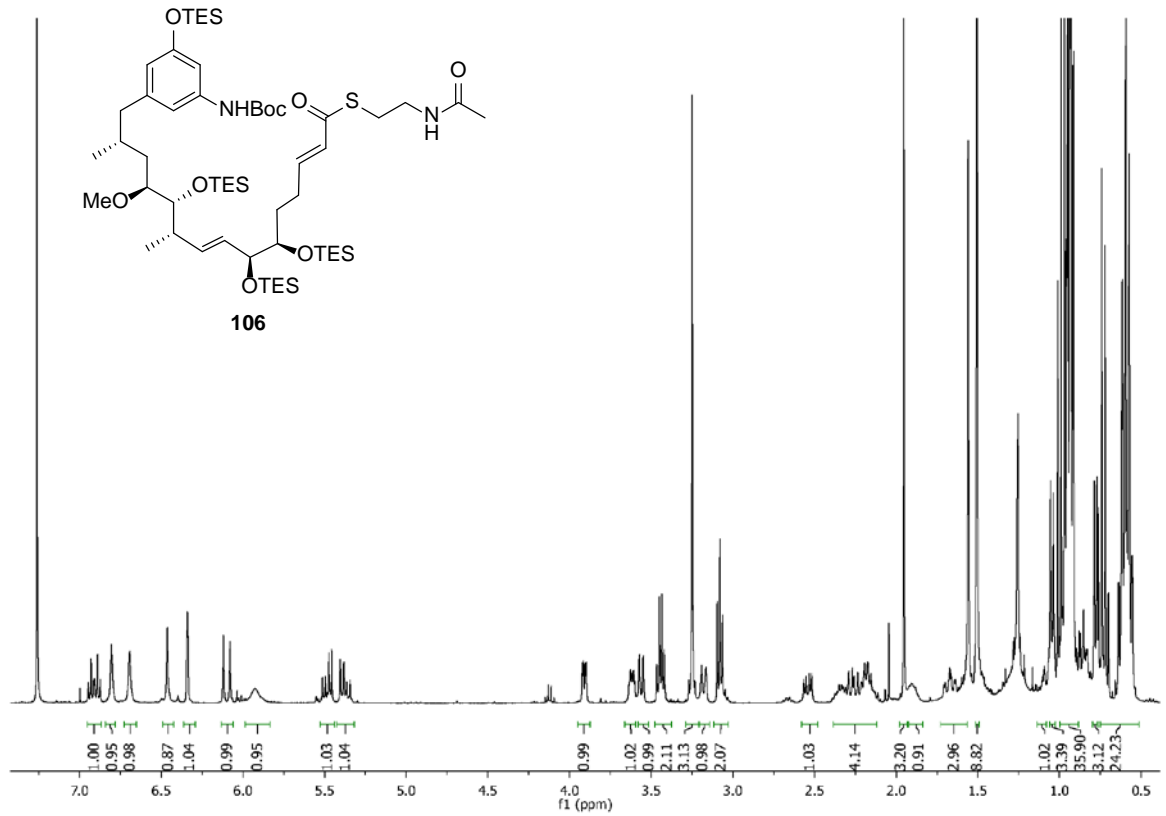


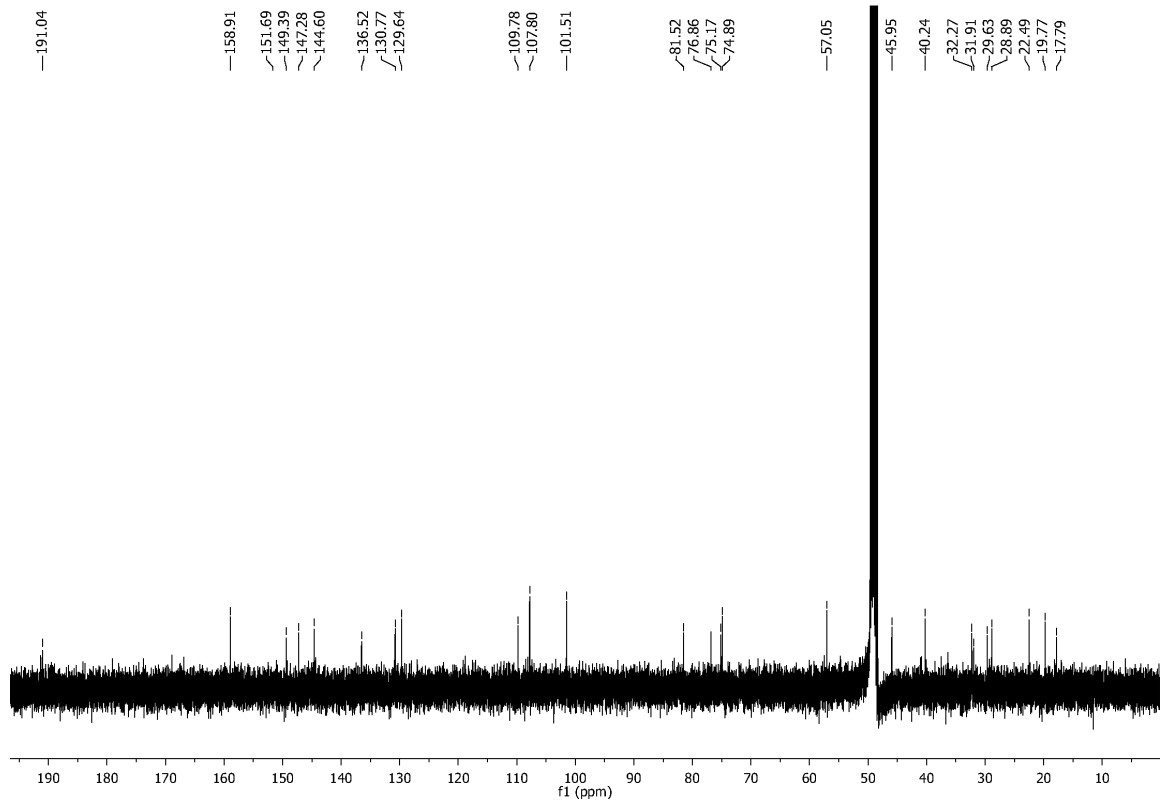
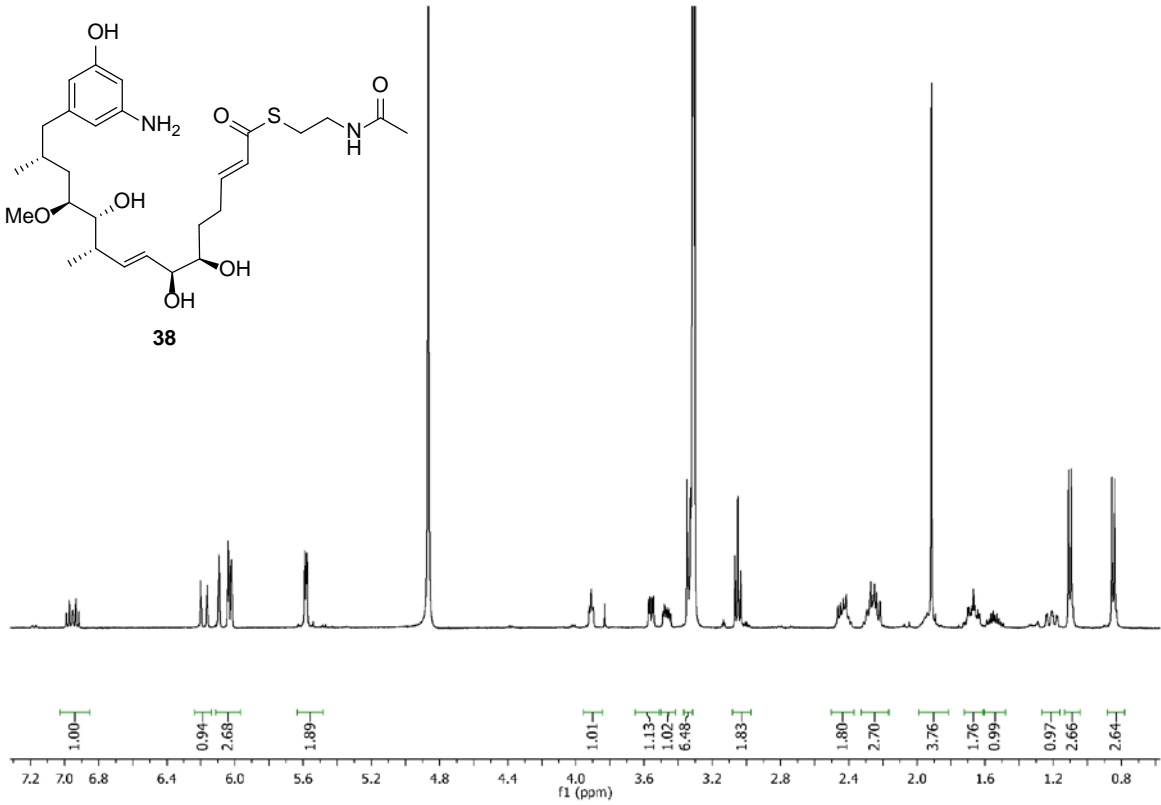
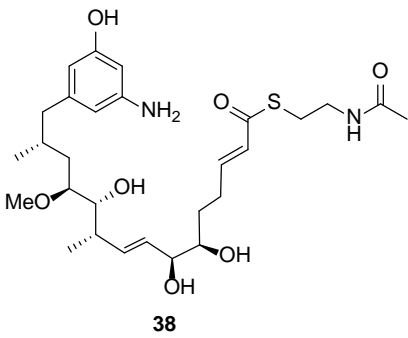


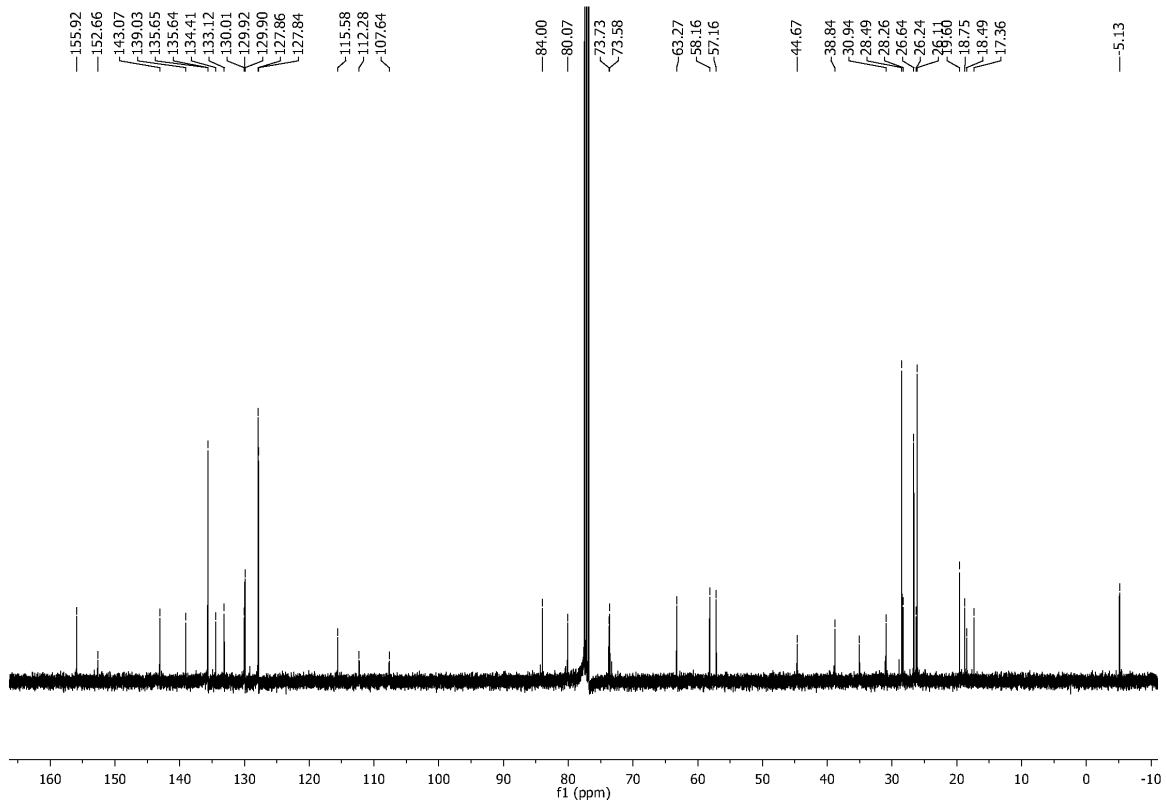
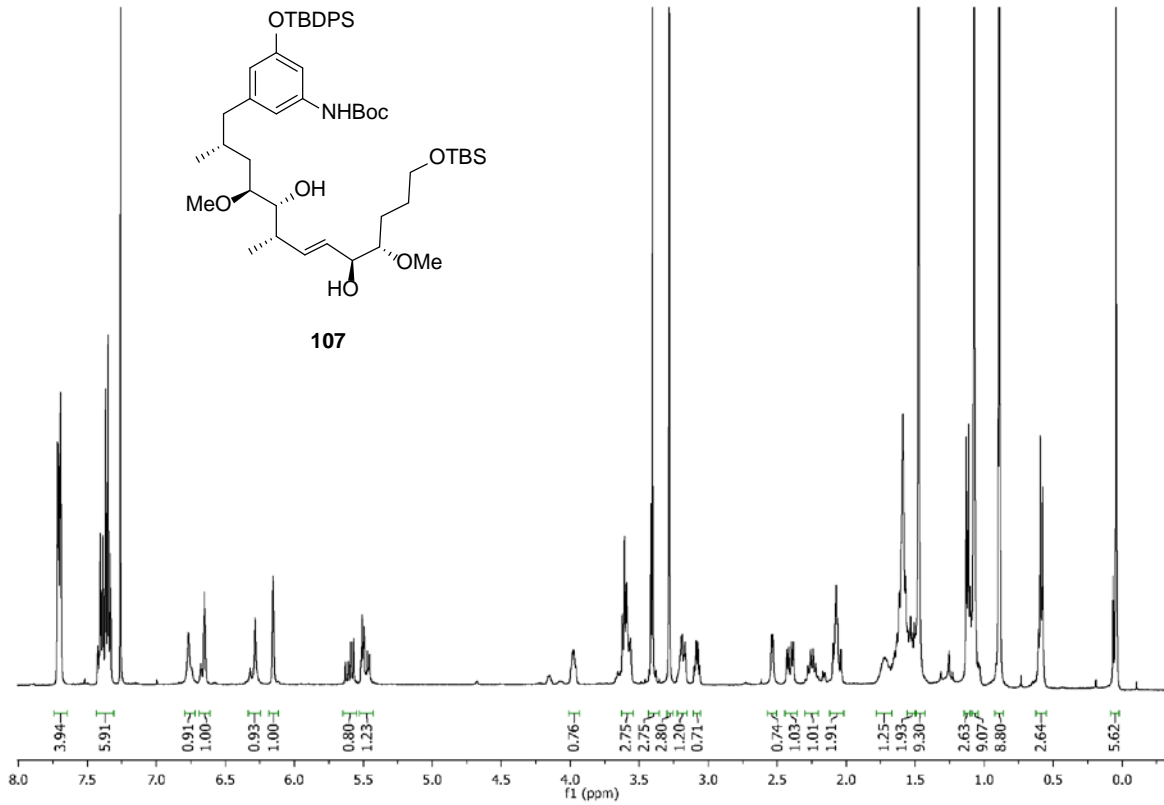


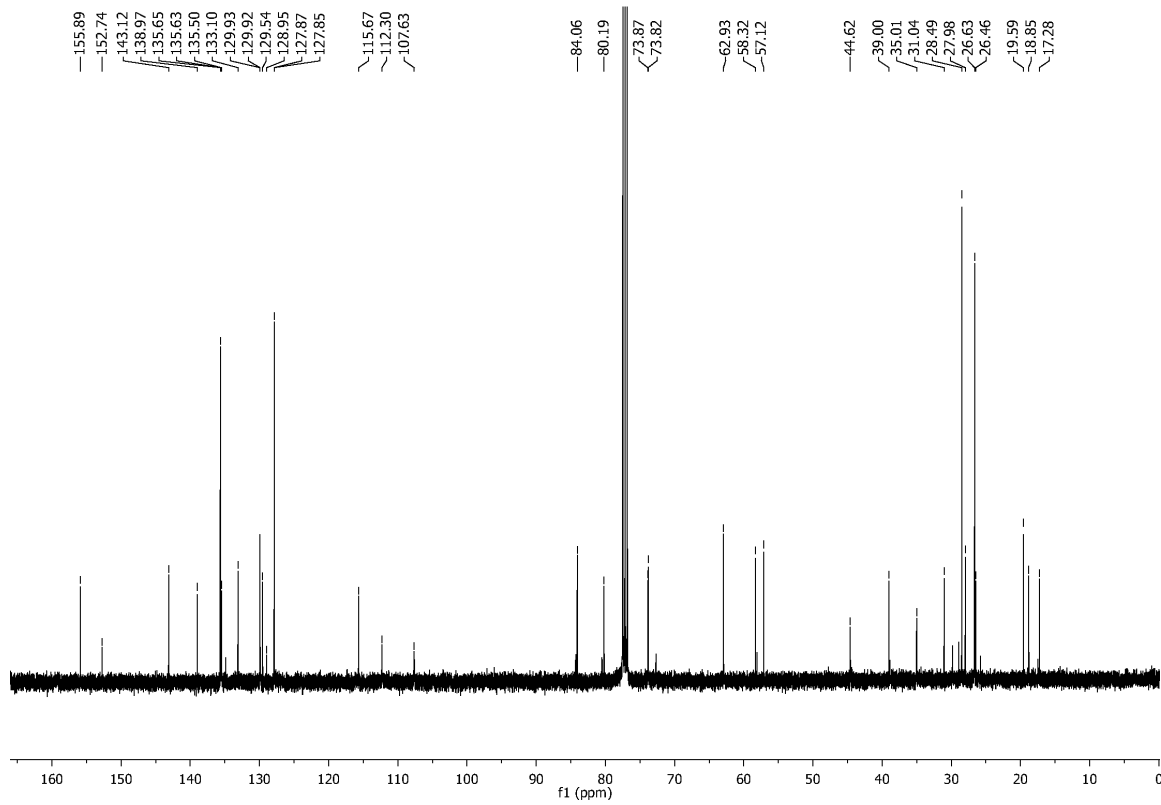
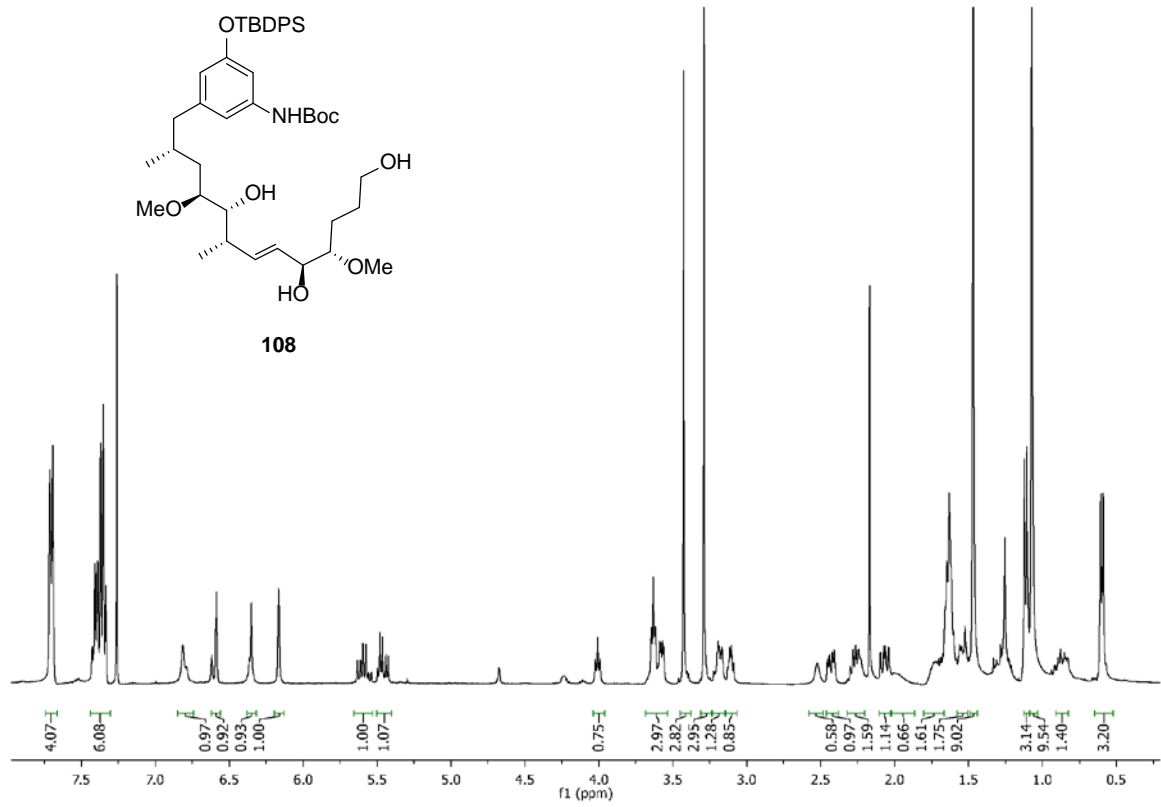
Anhang

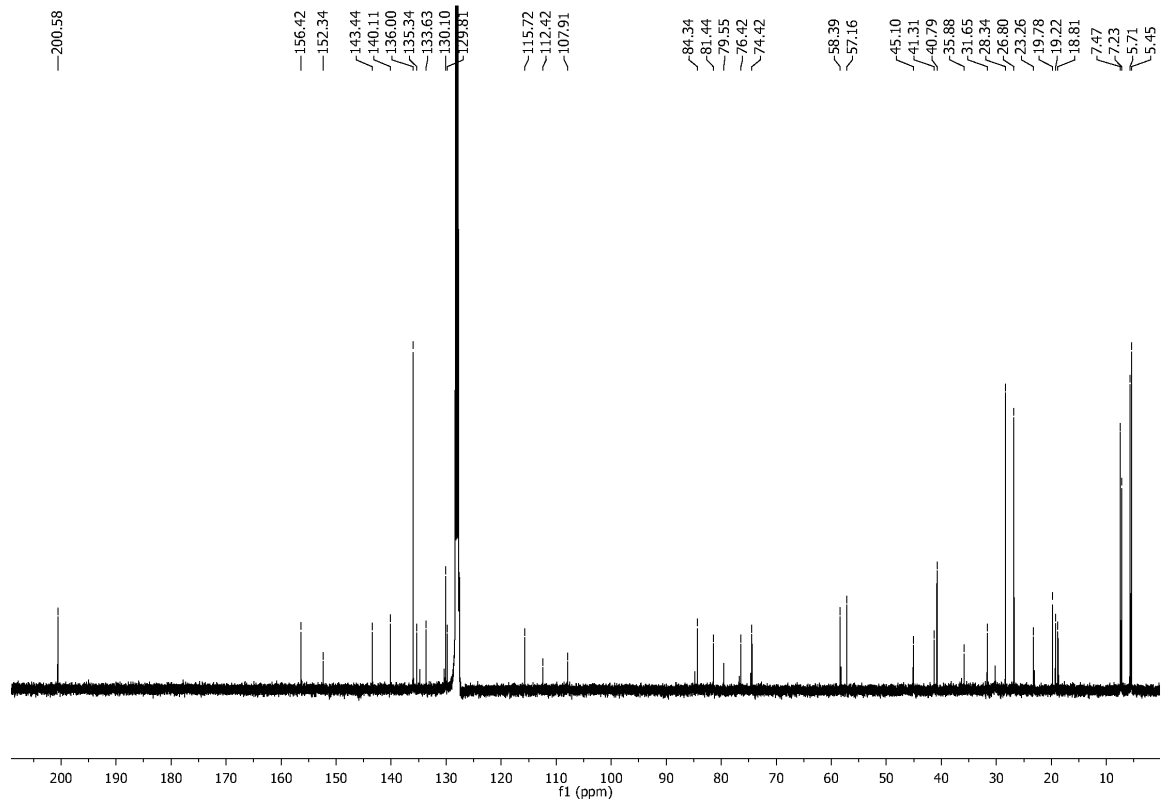
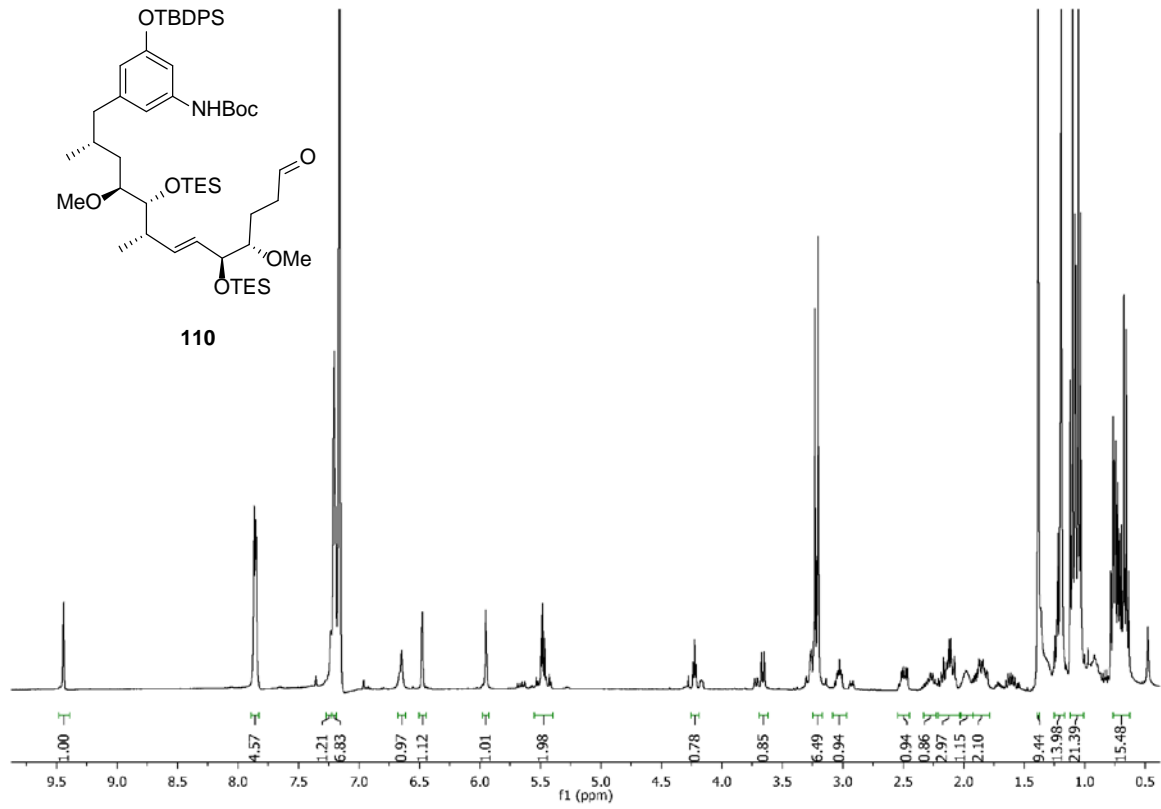


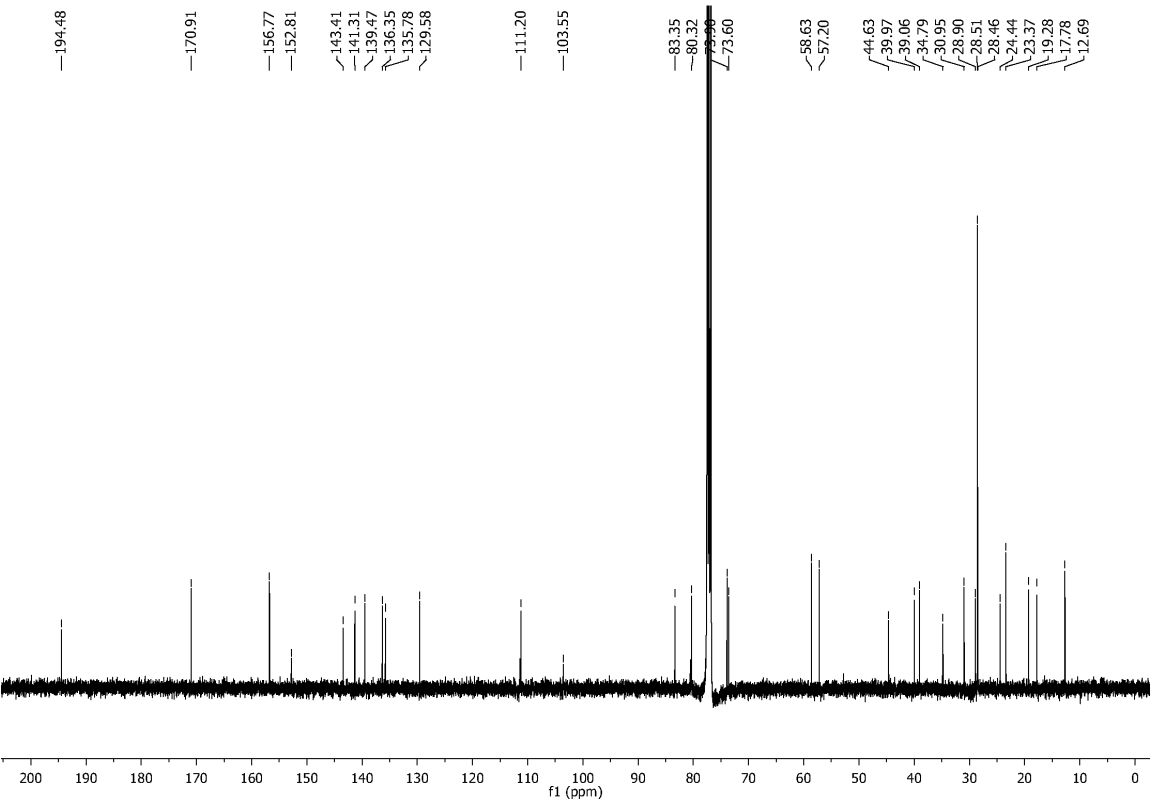
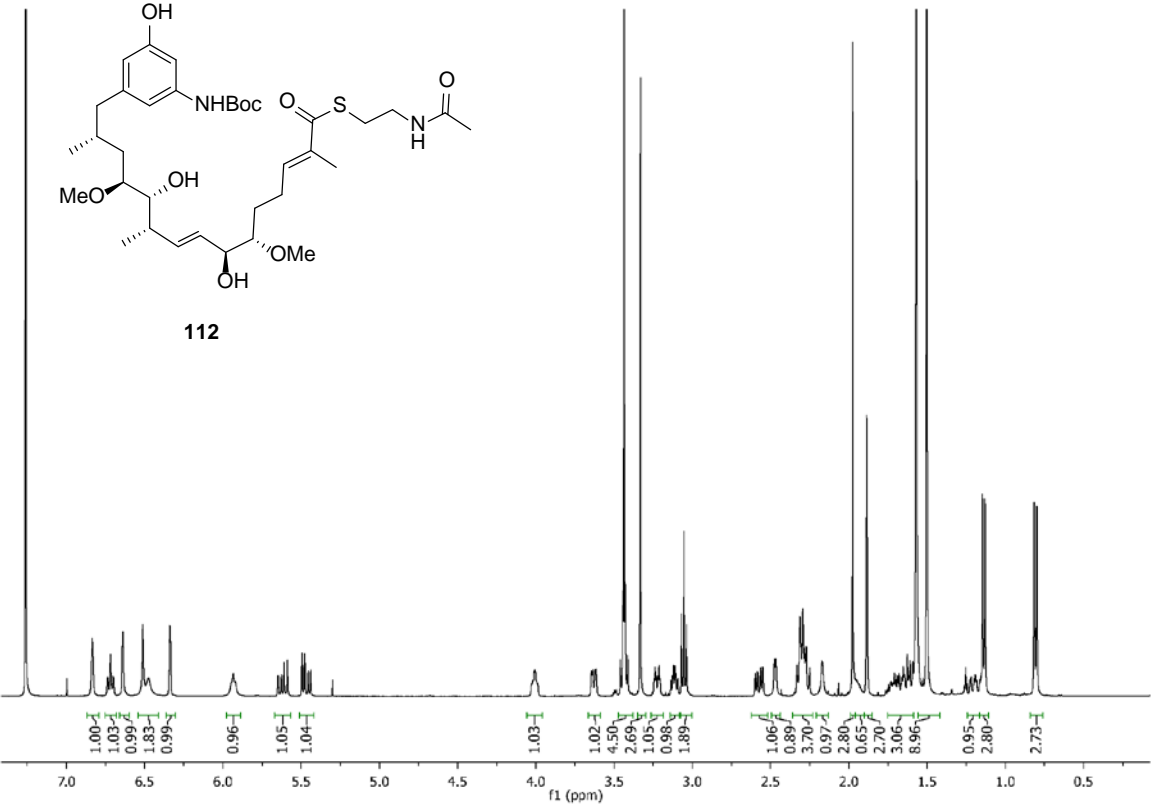


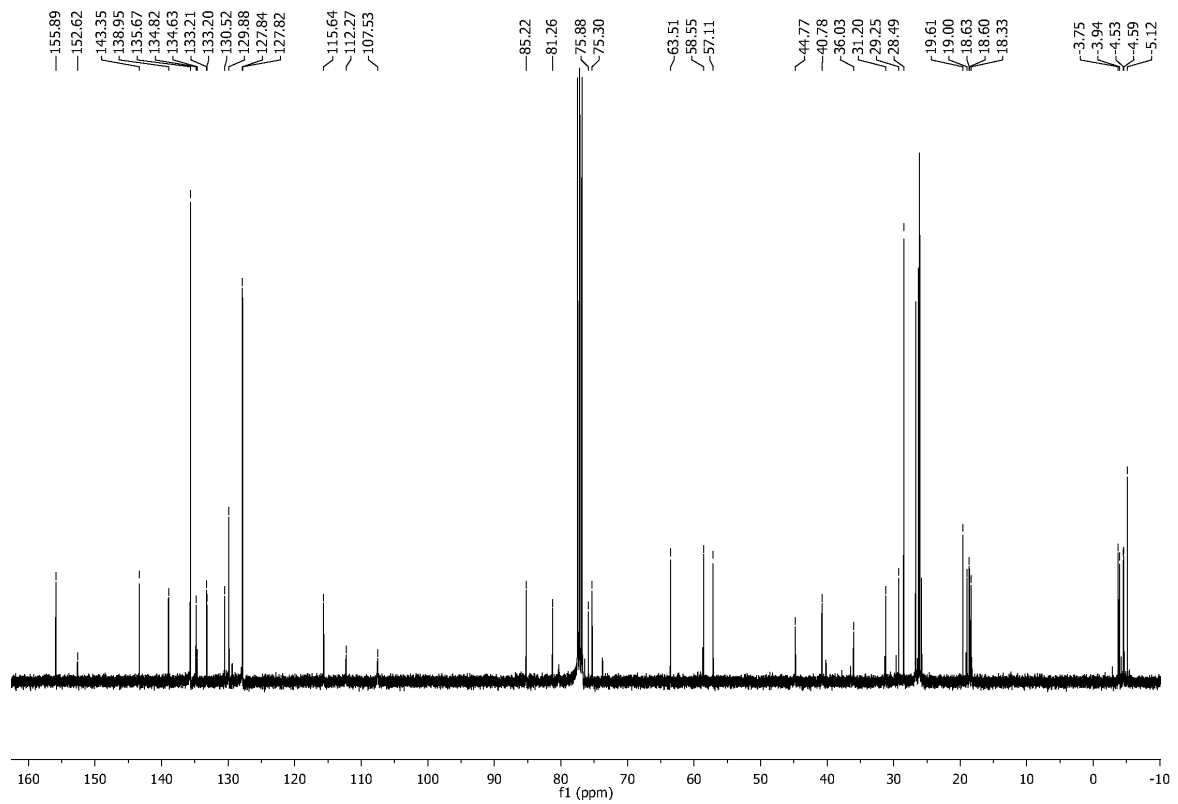
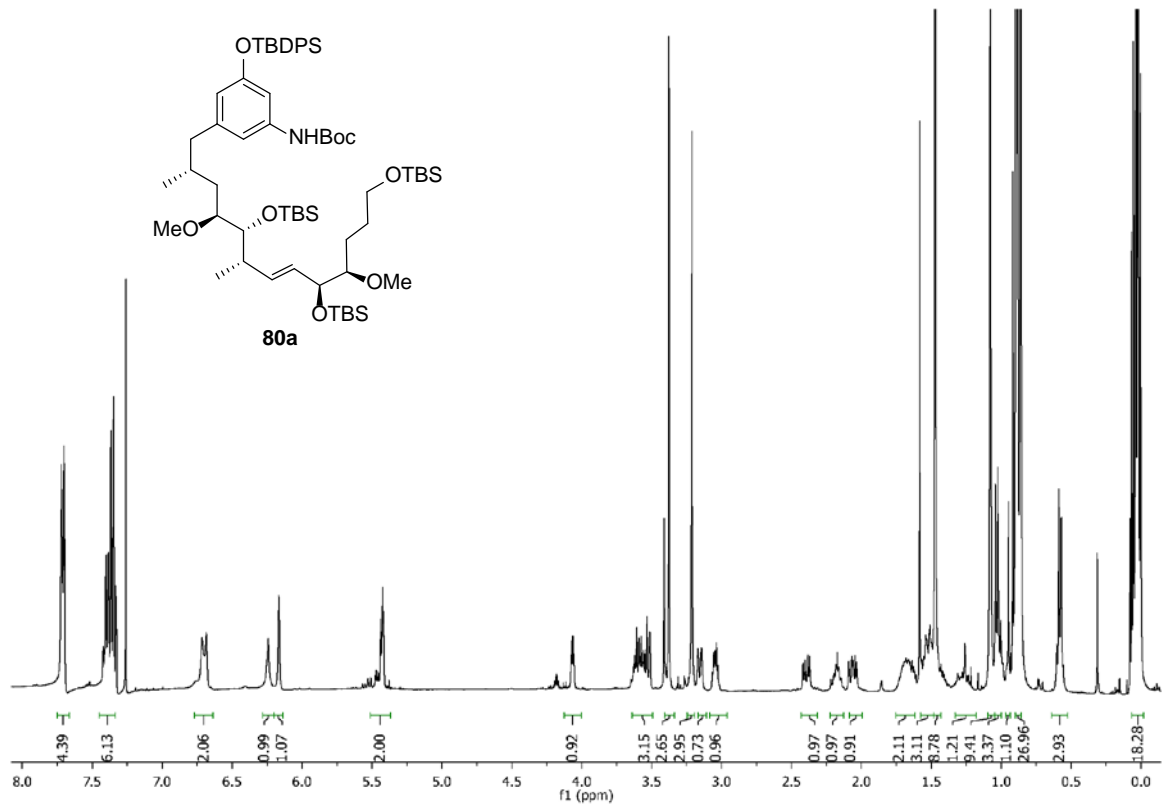


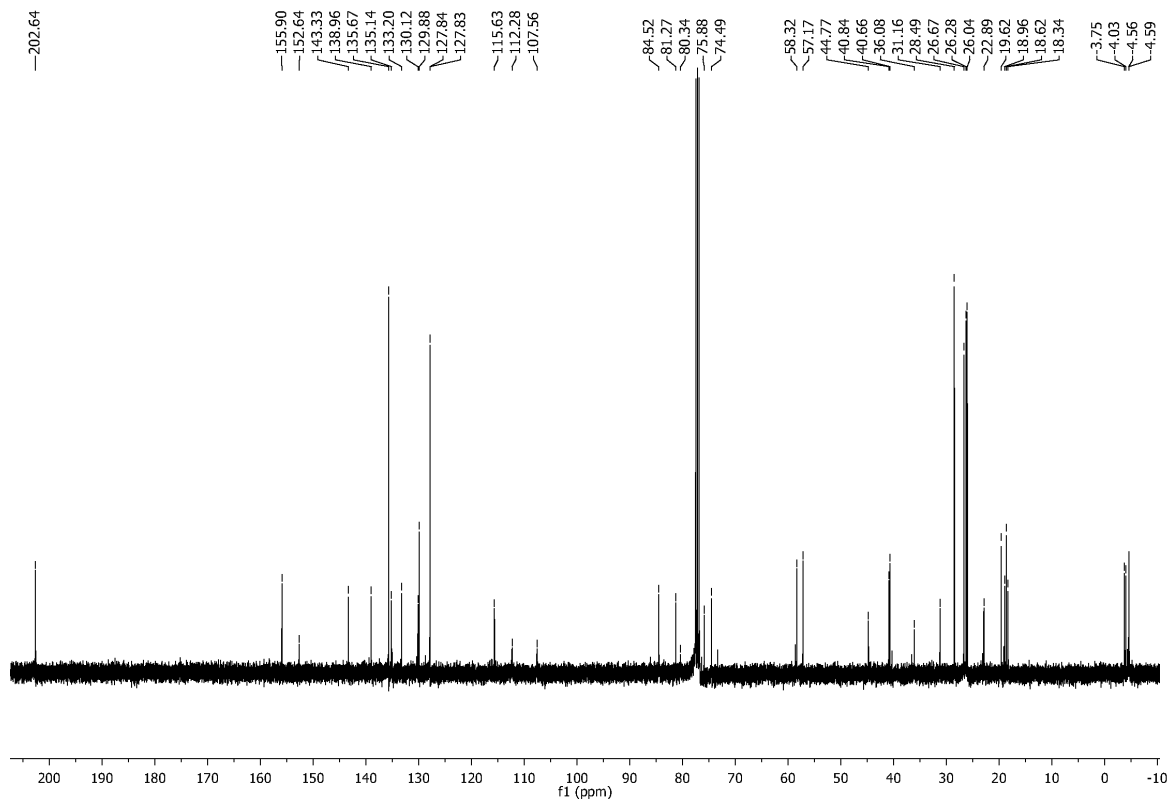
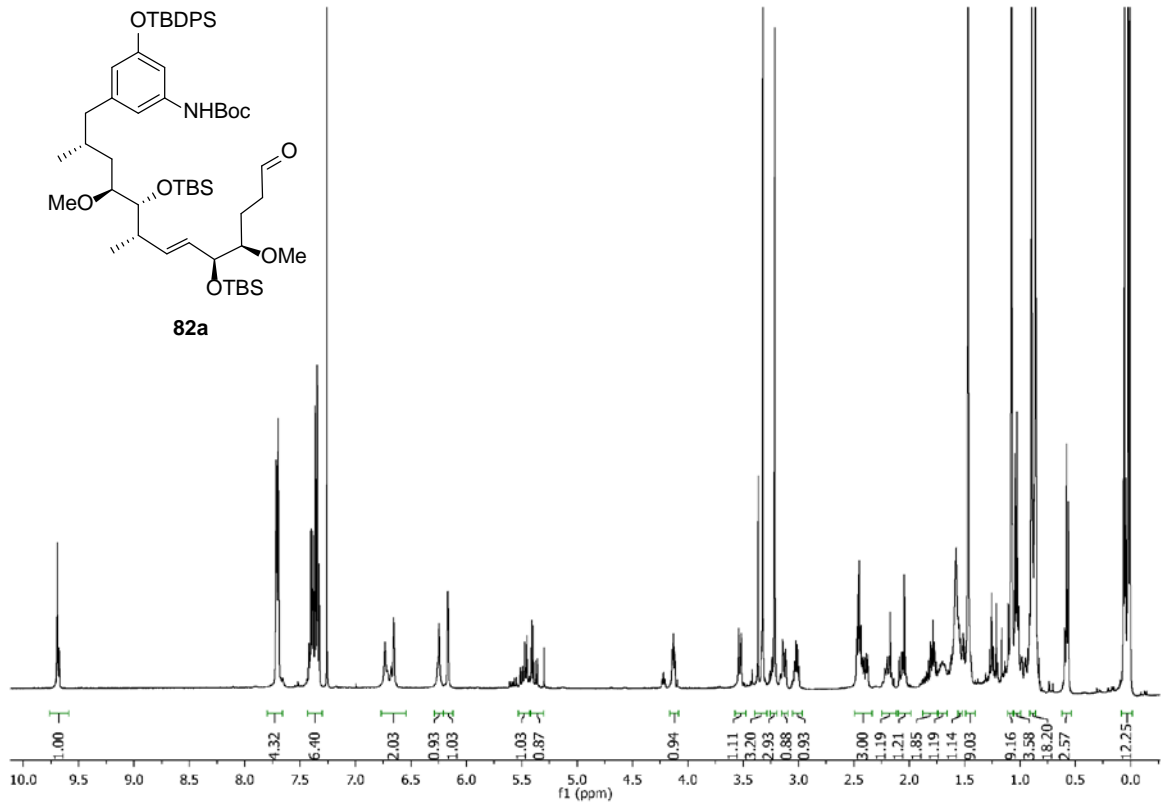


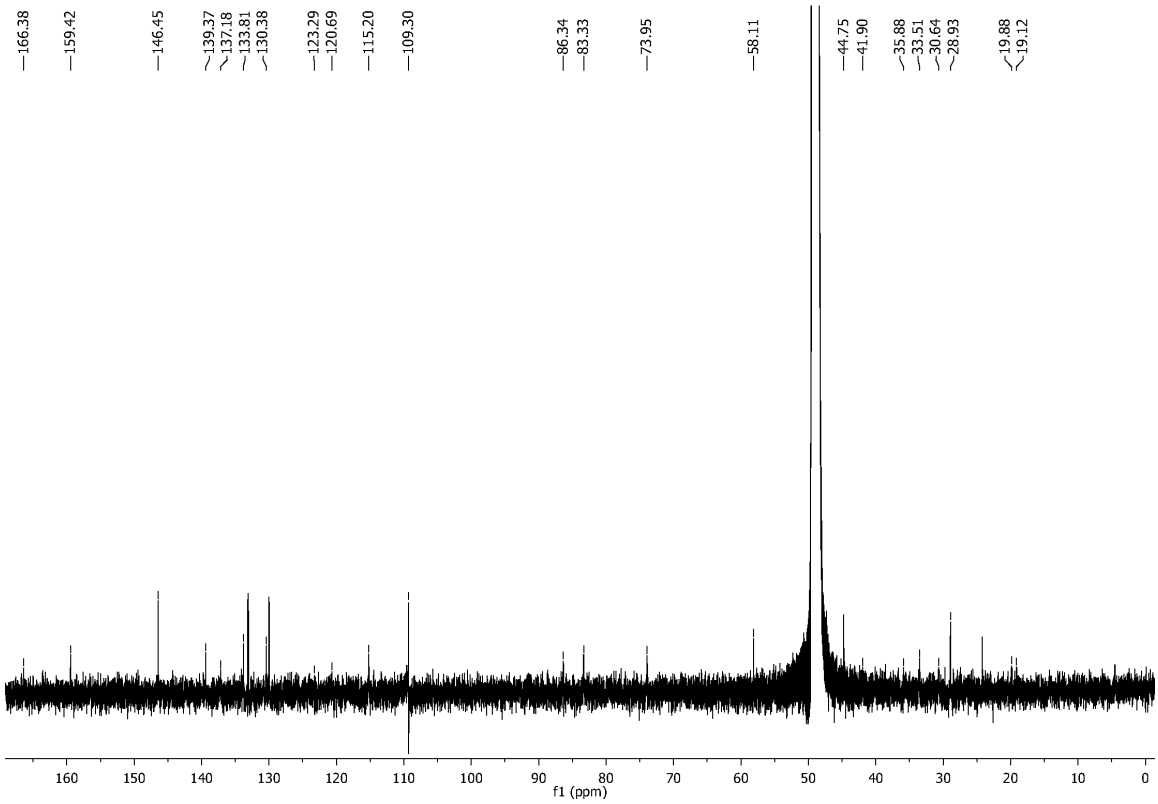
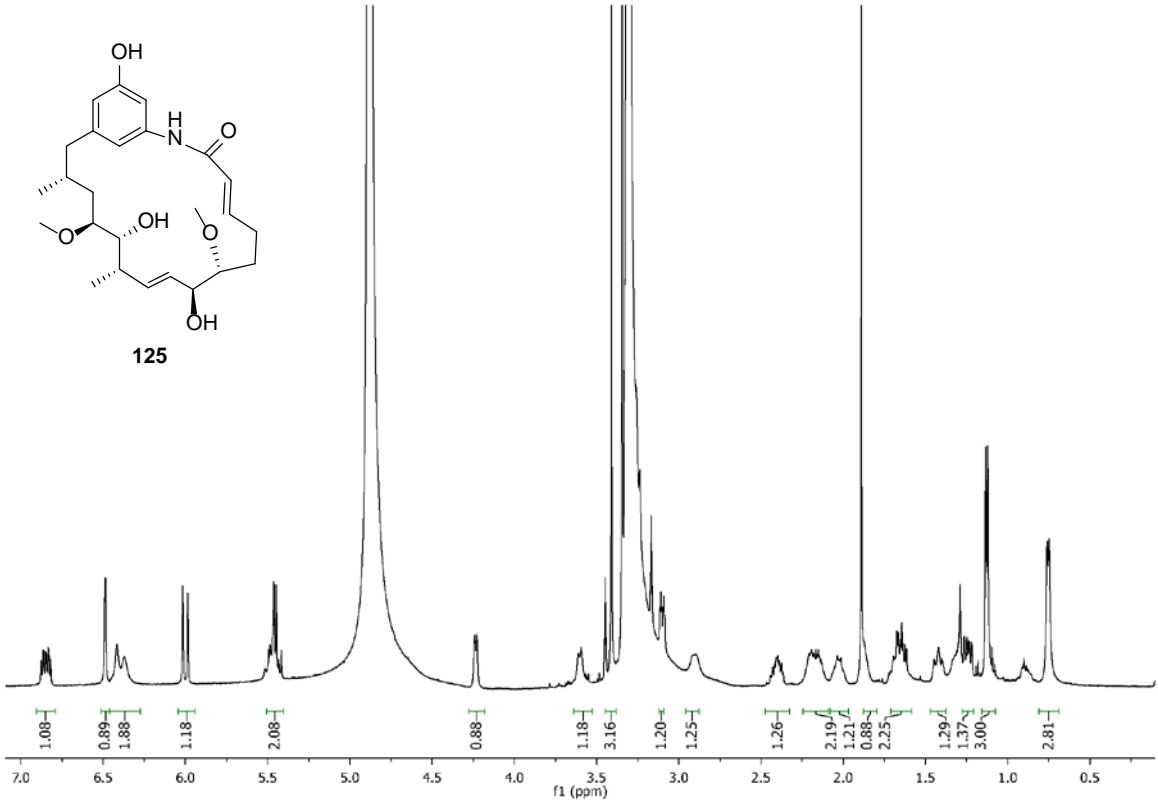


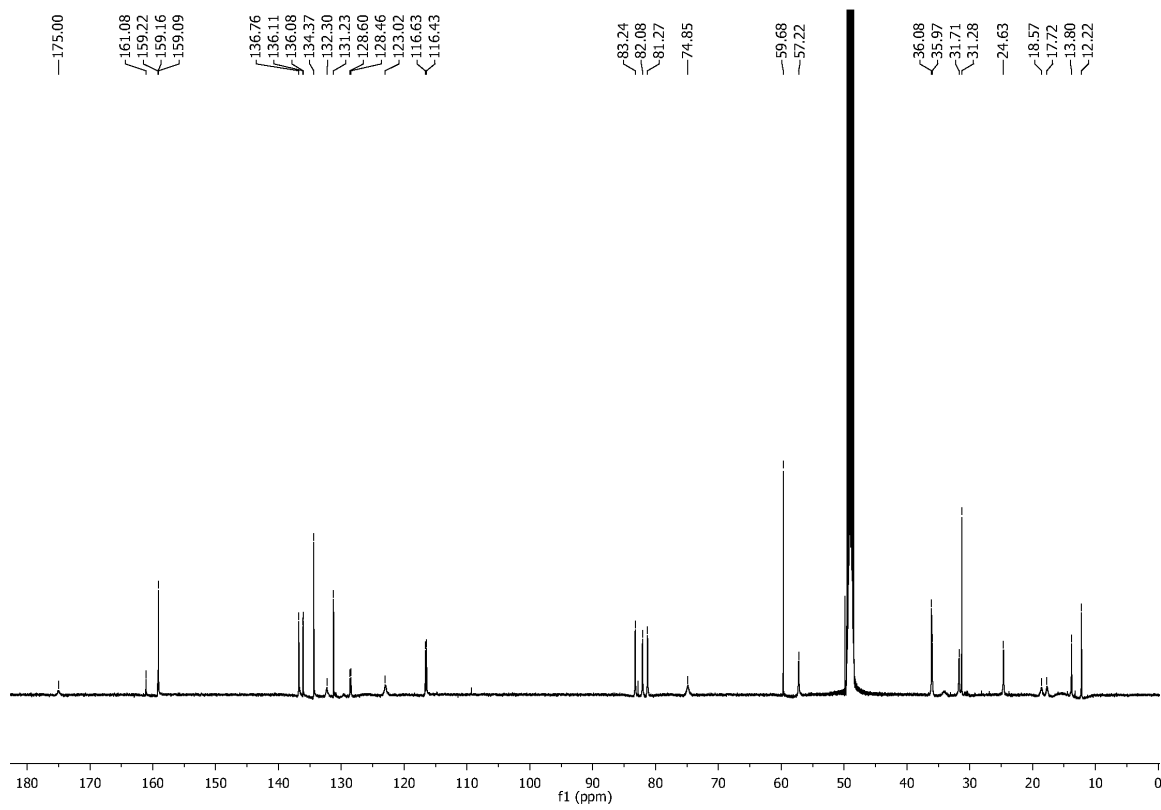
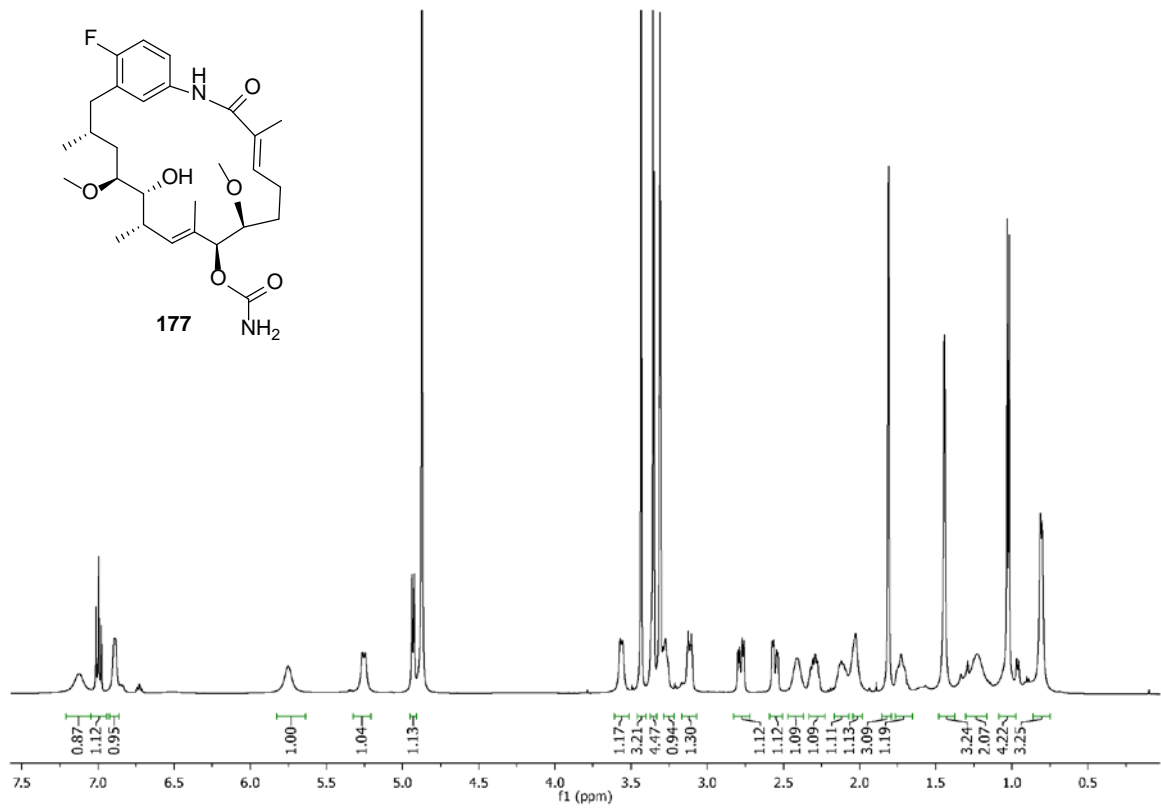


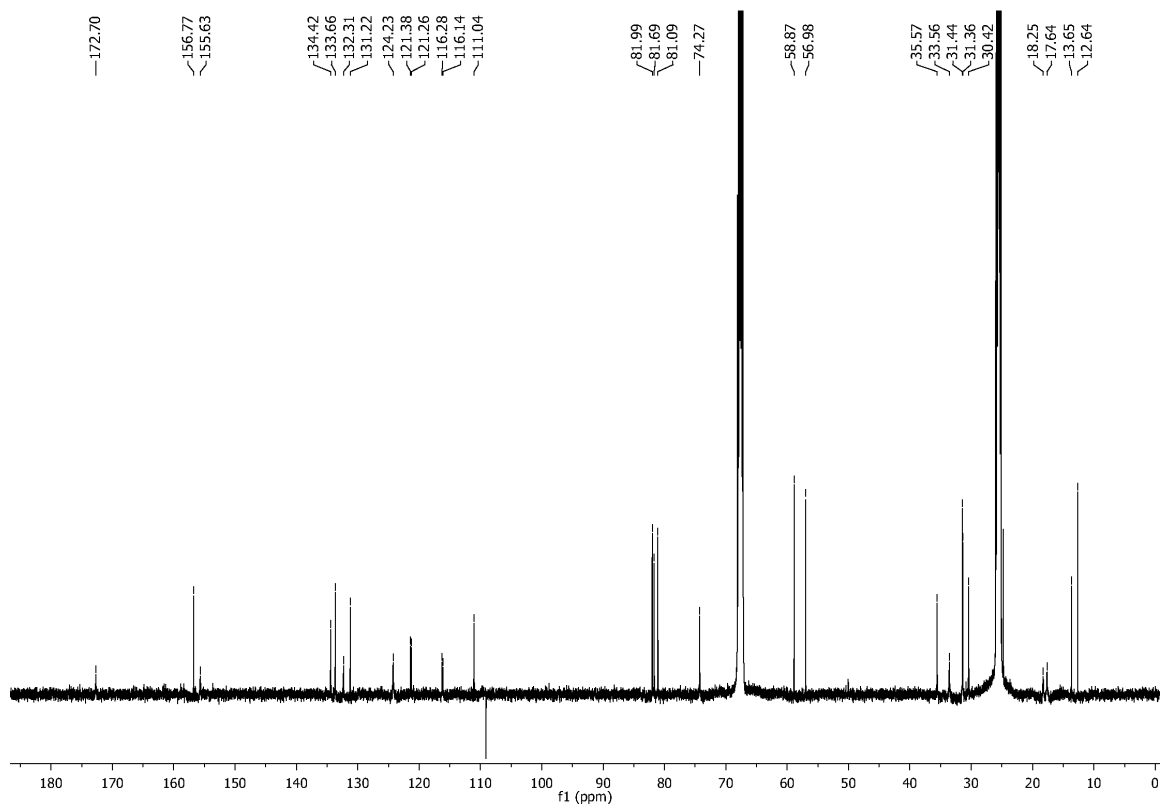
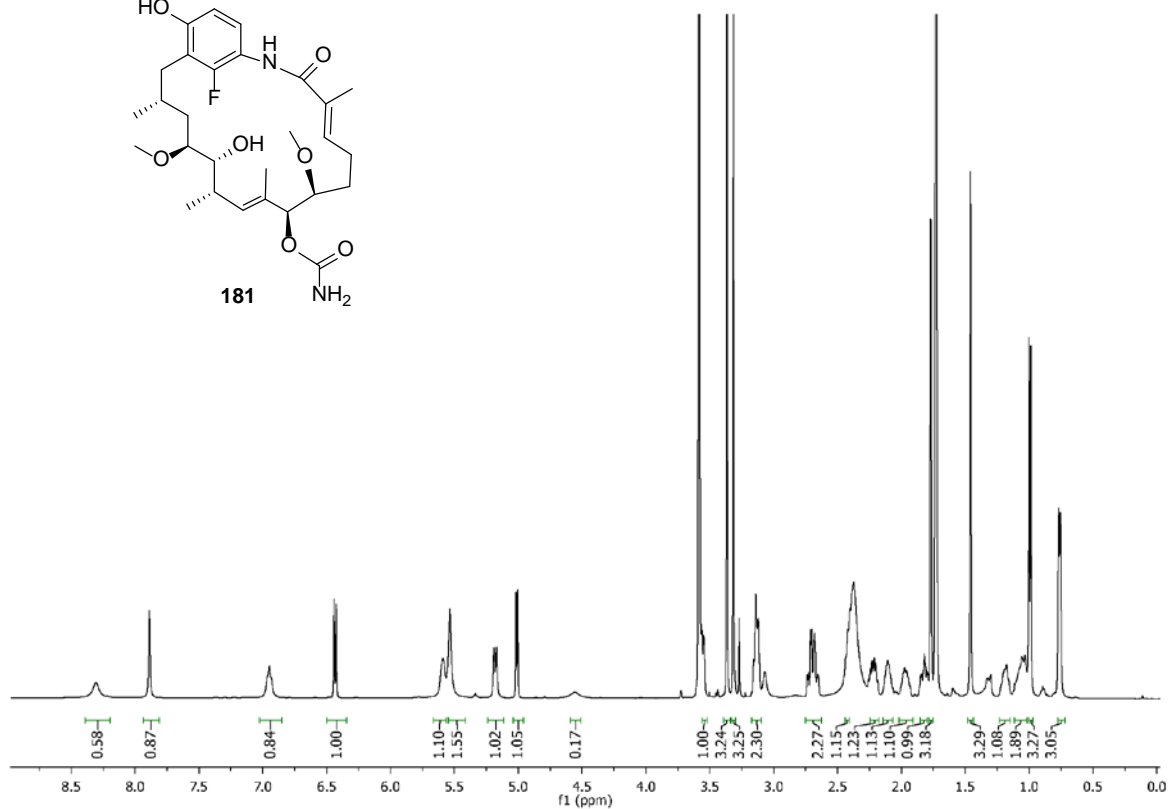
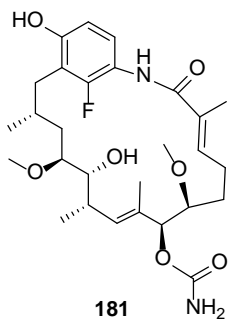


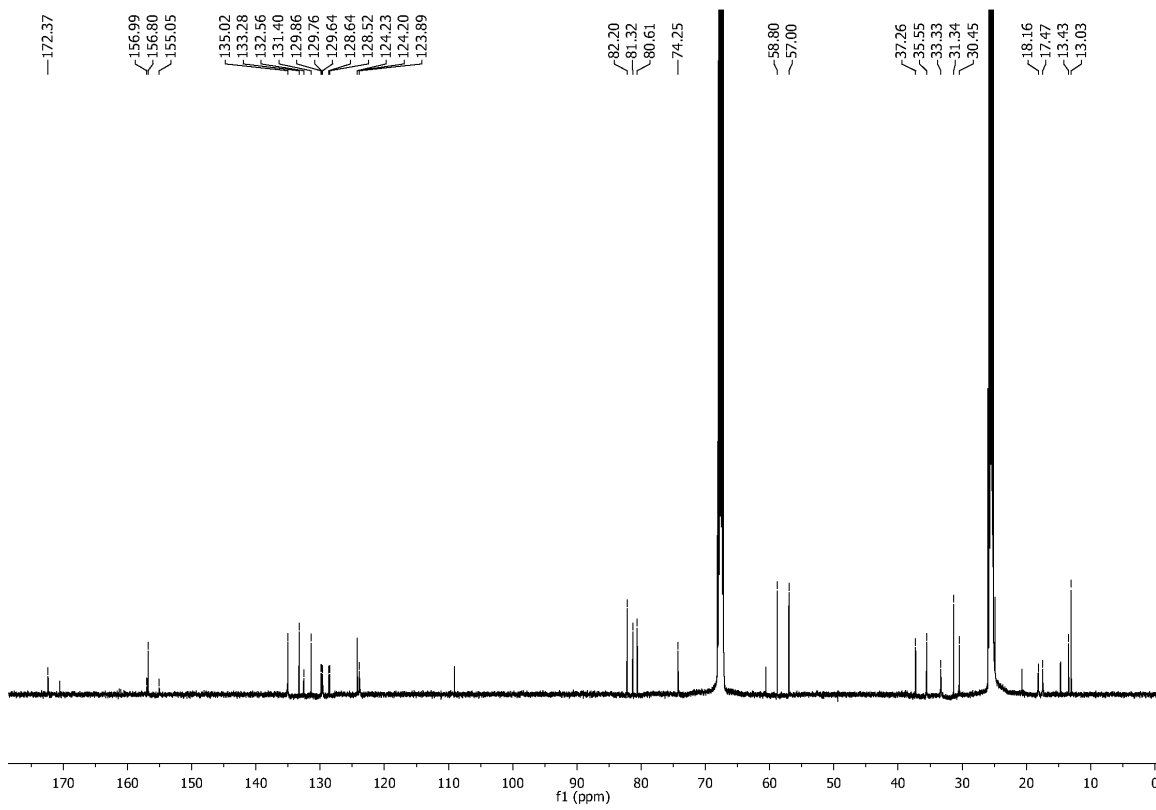
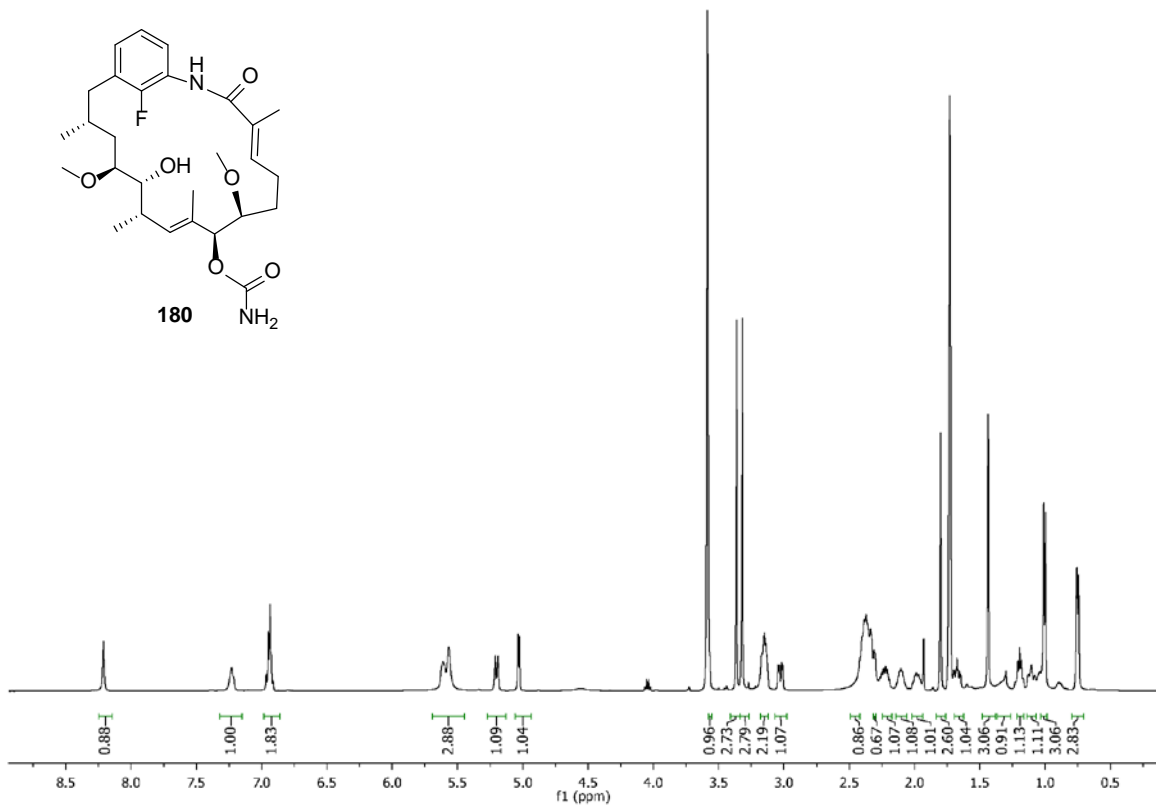
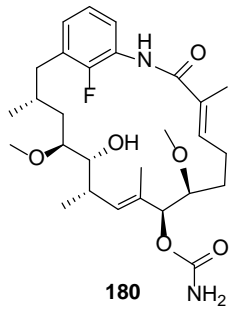


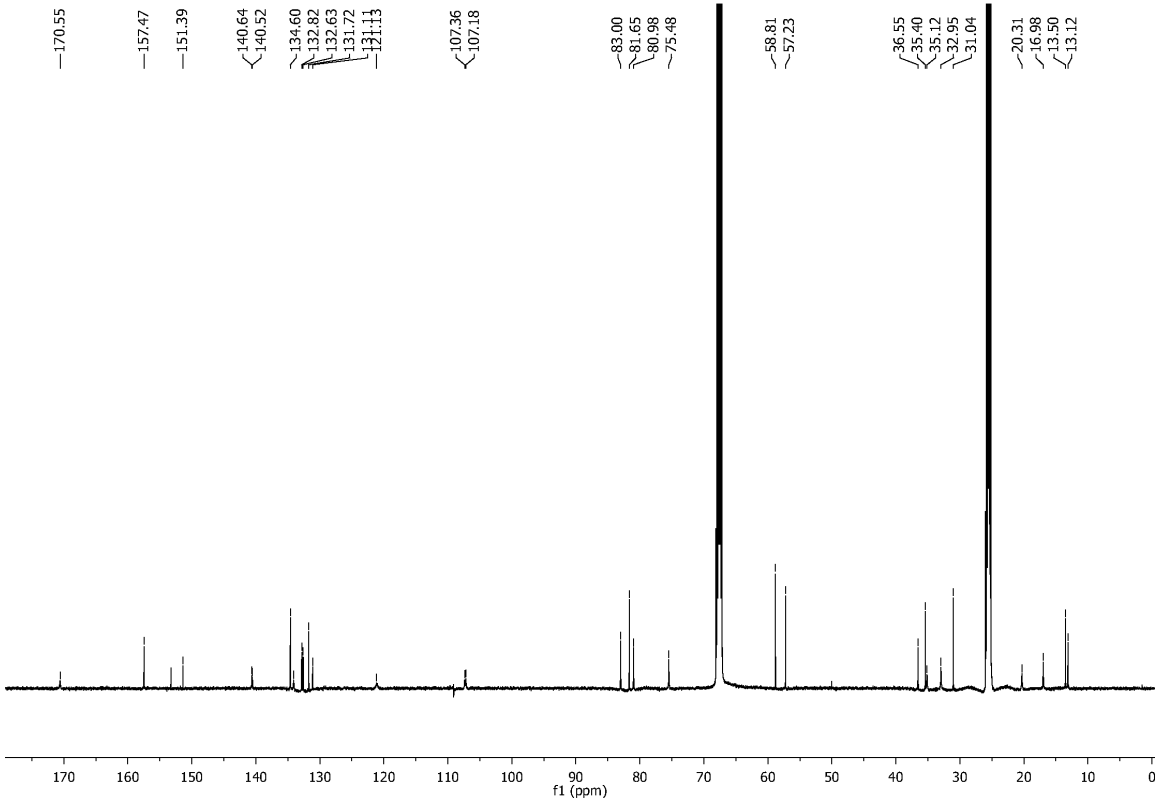
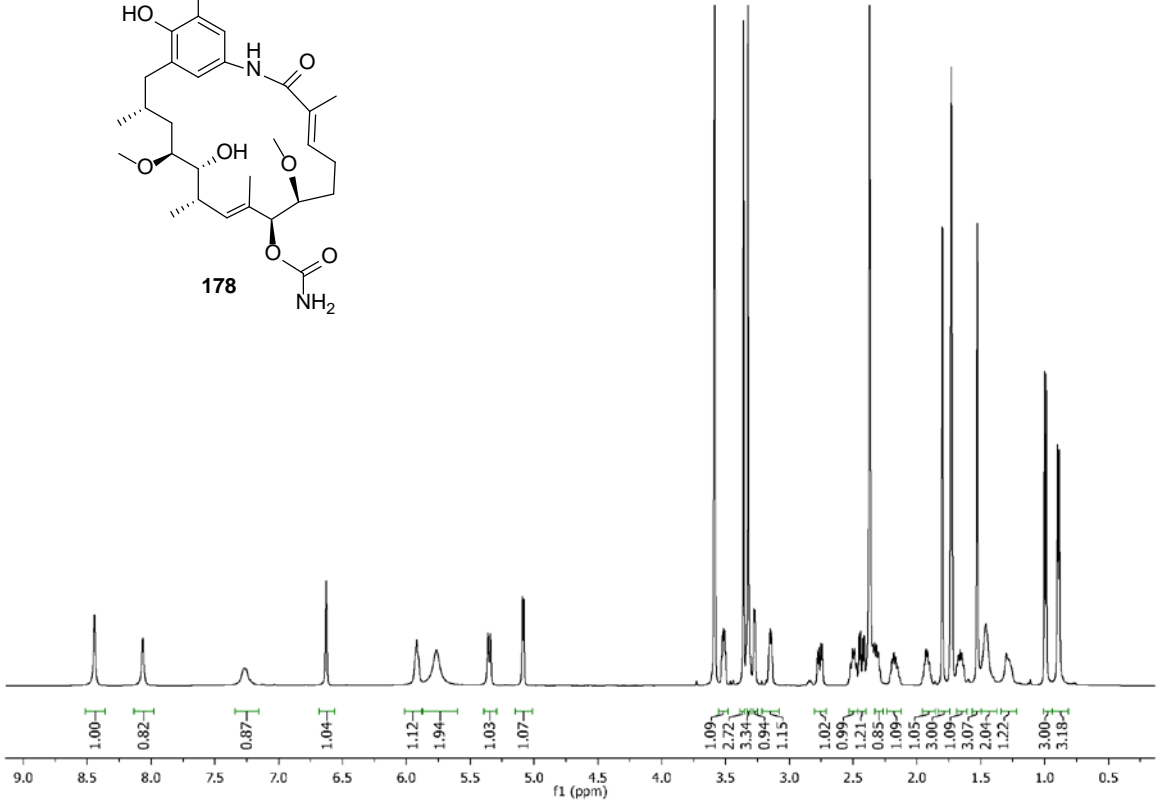
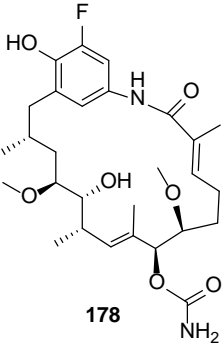


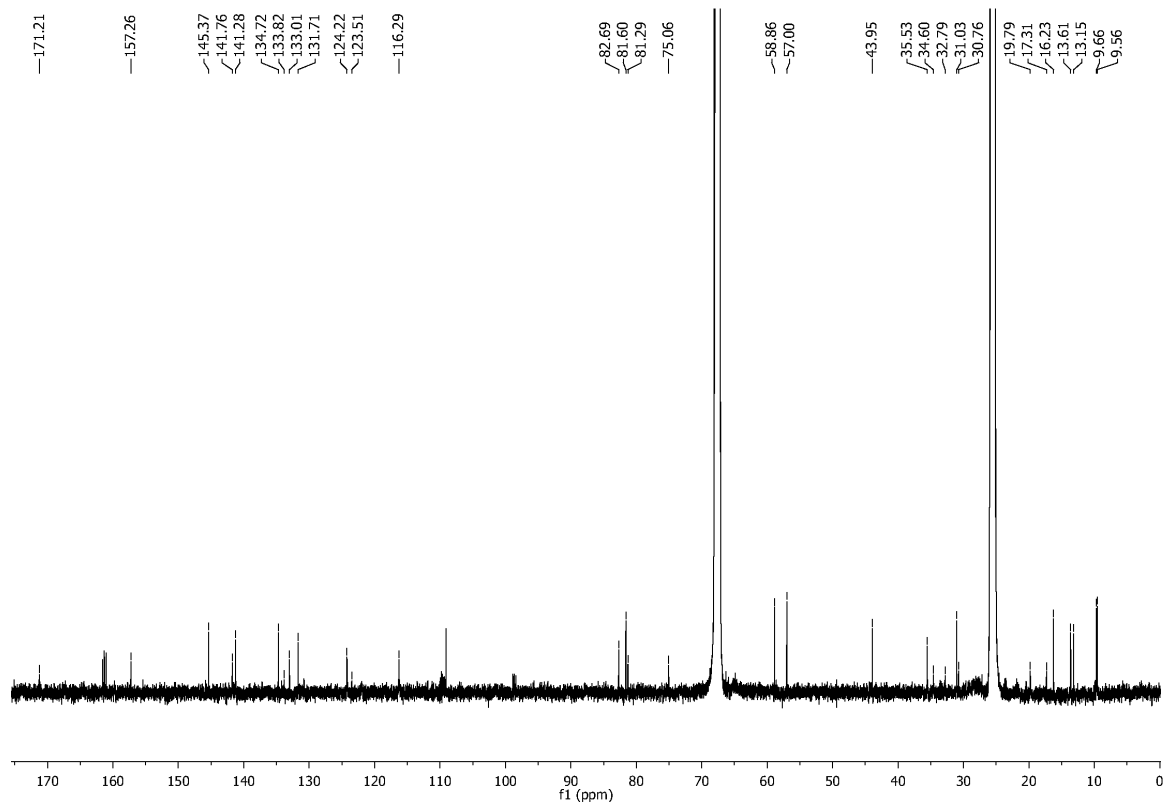
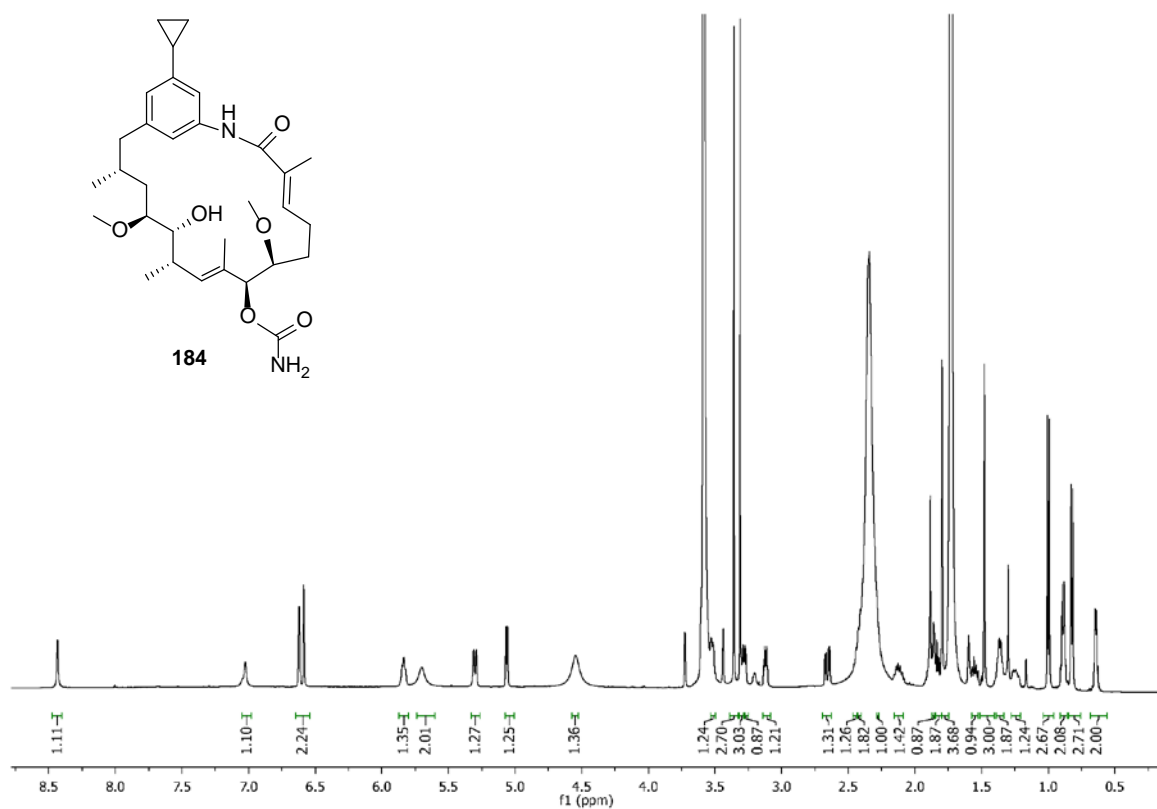


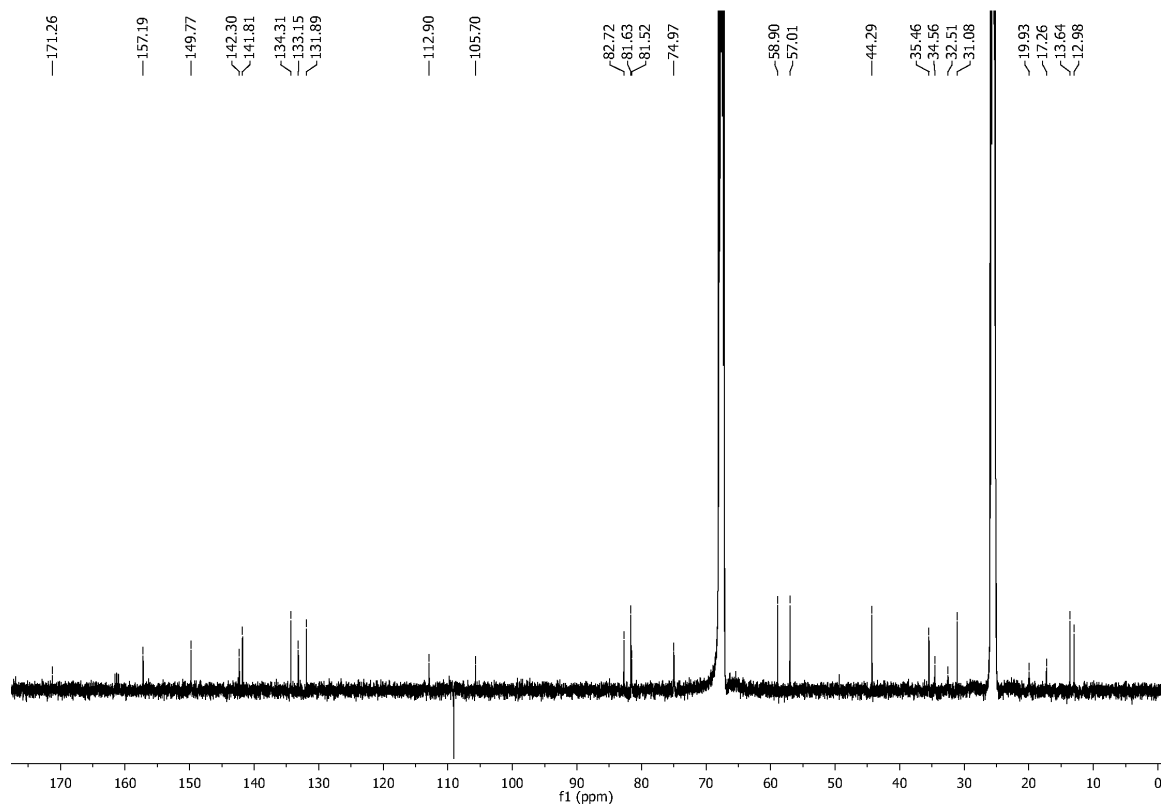
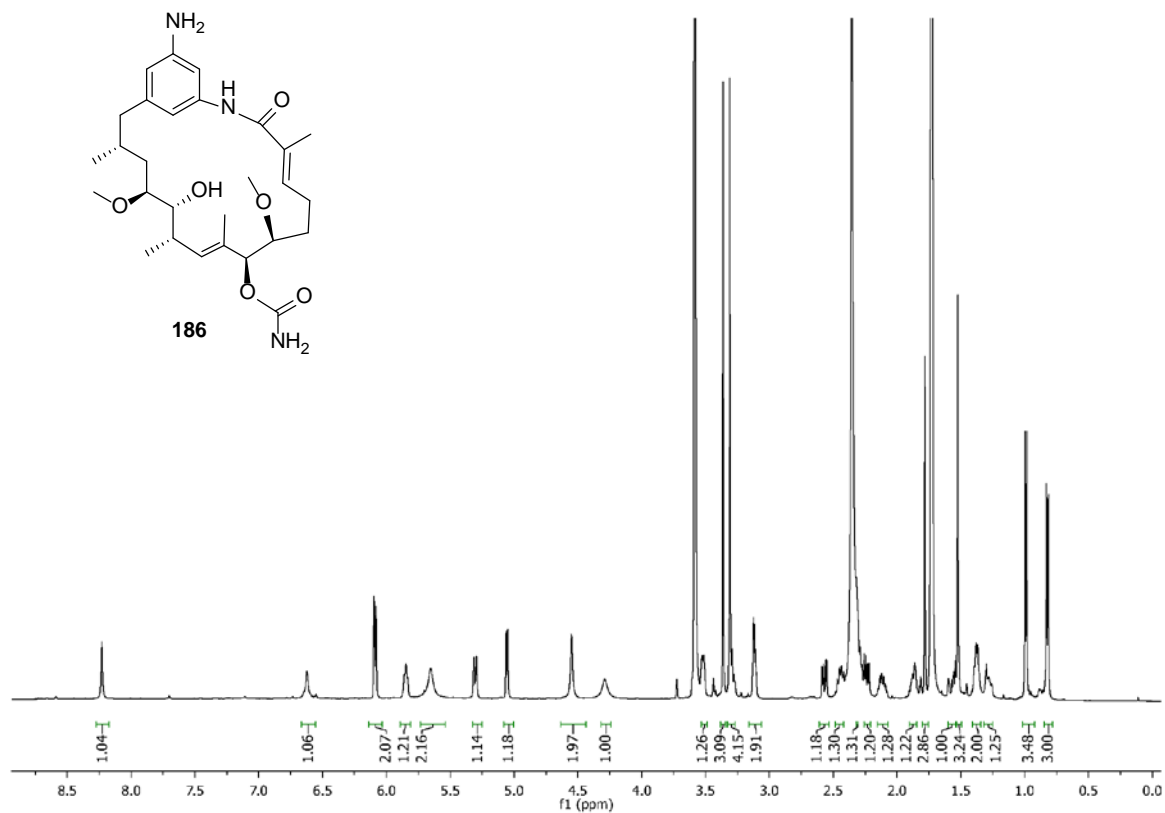


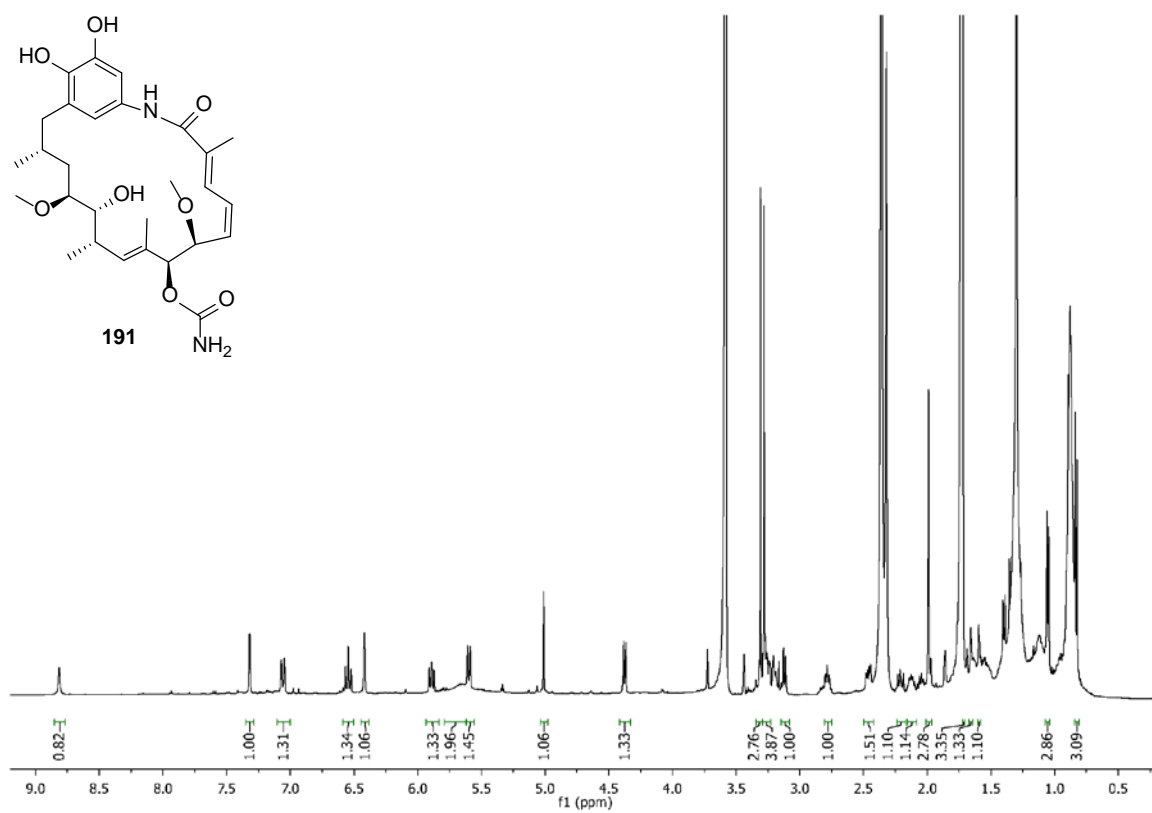
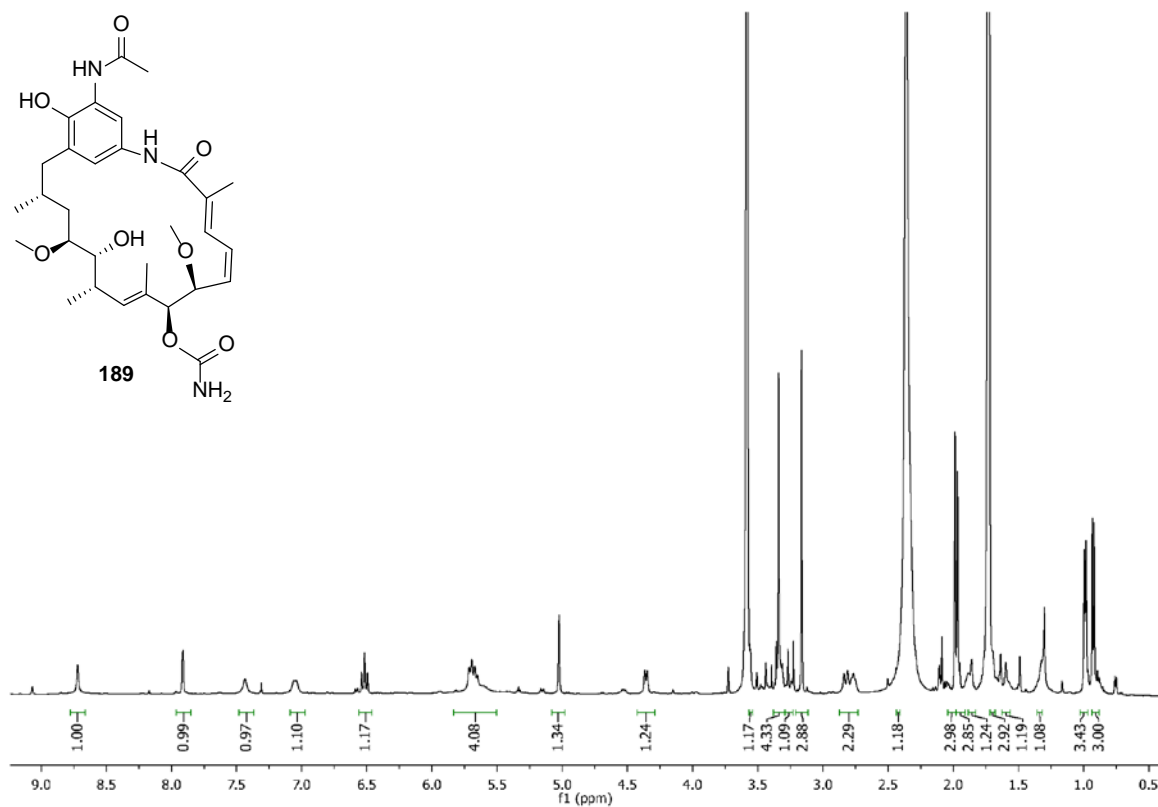


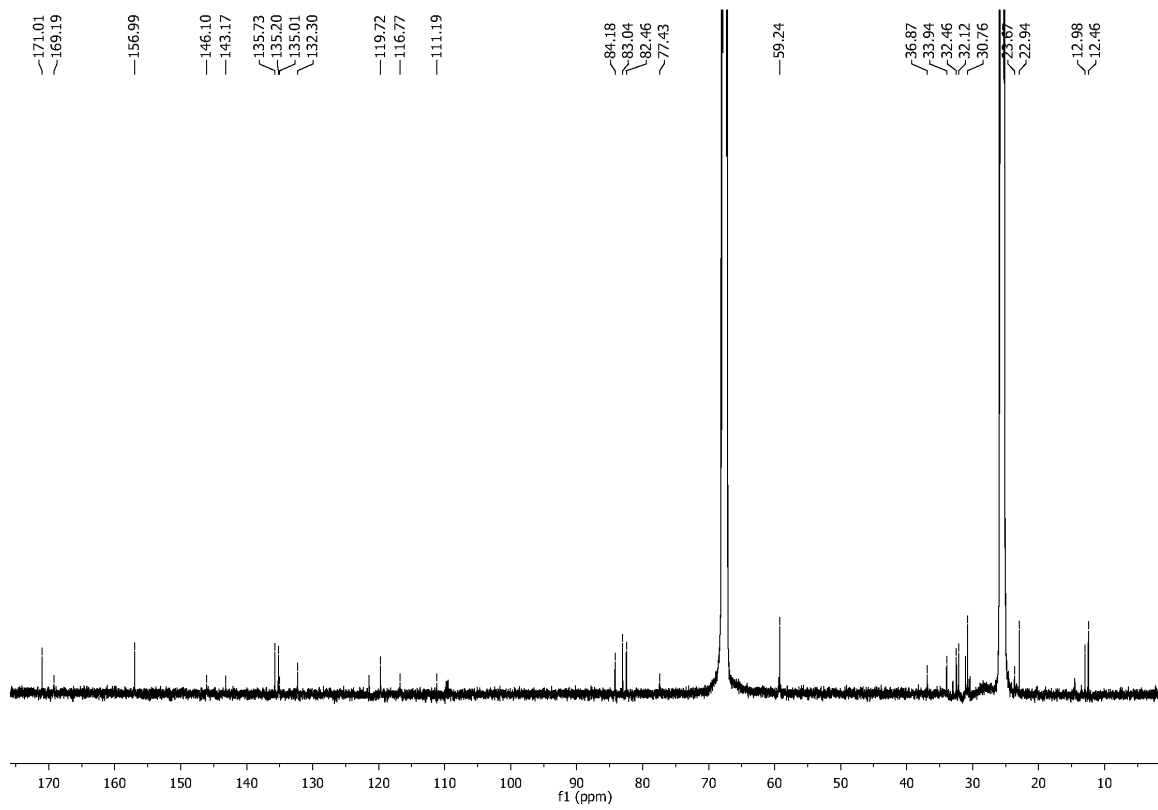
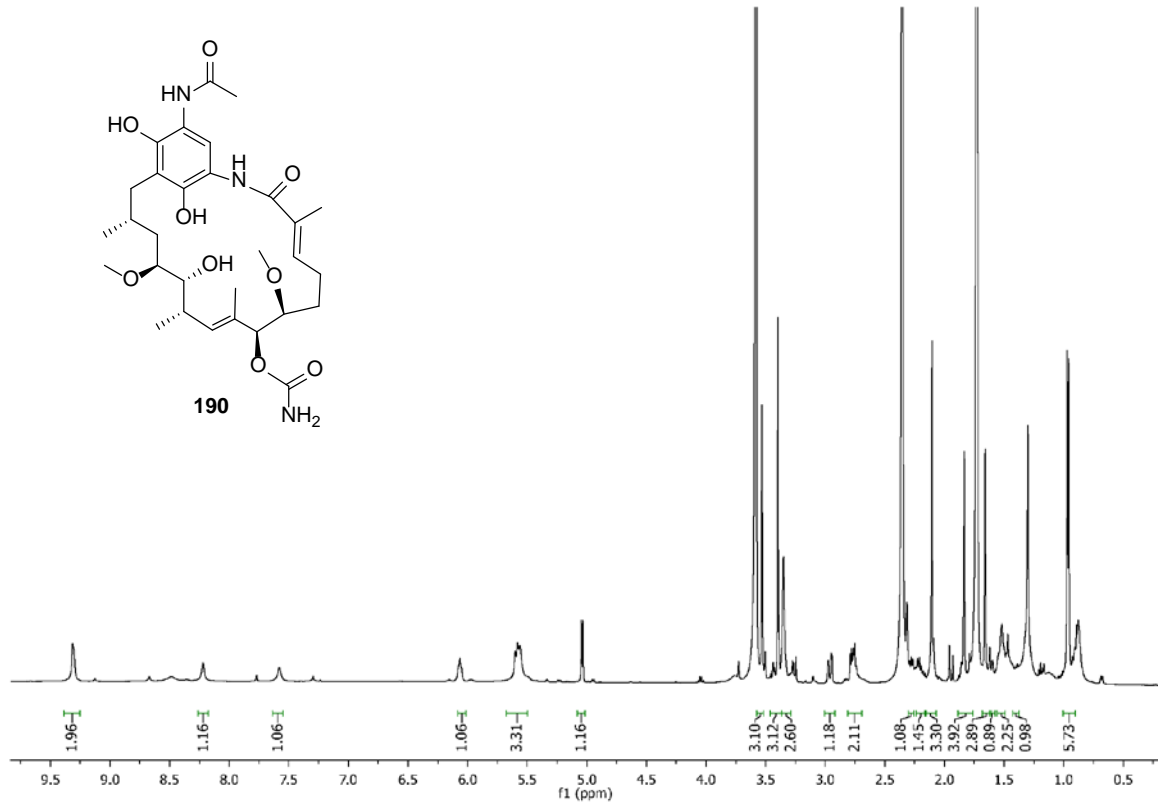


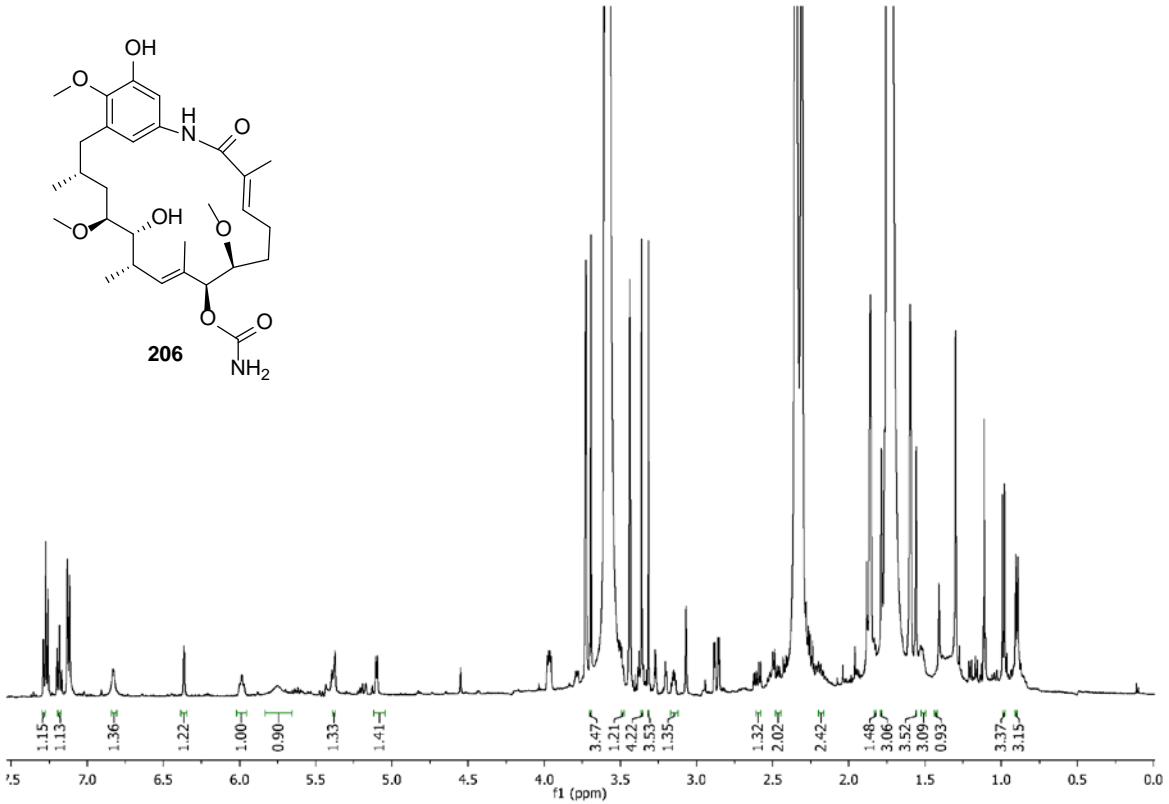
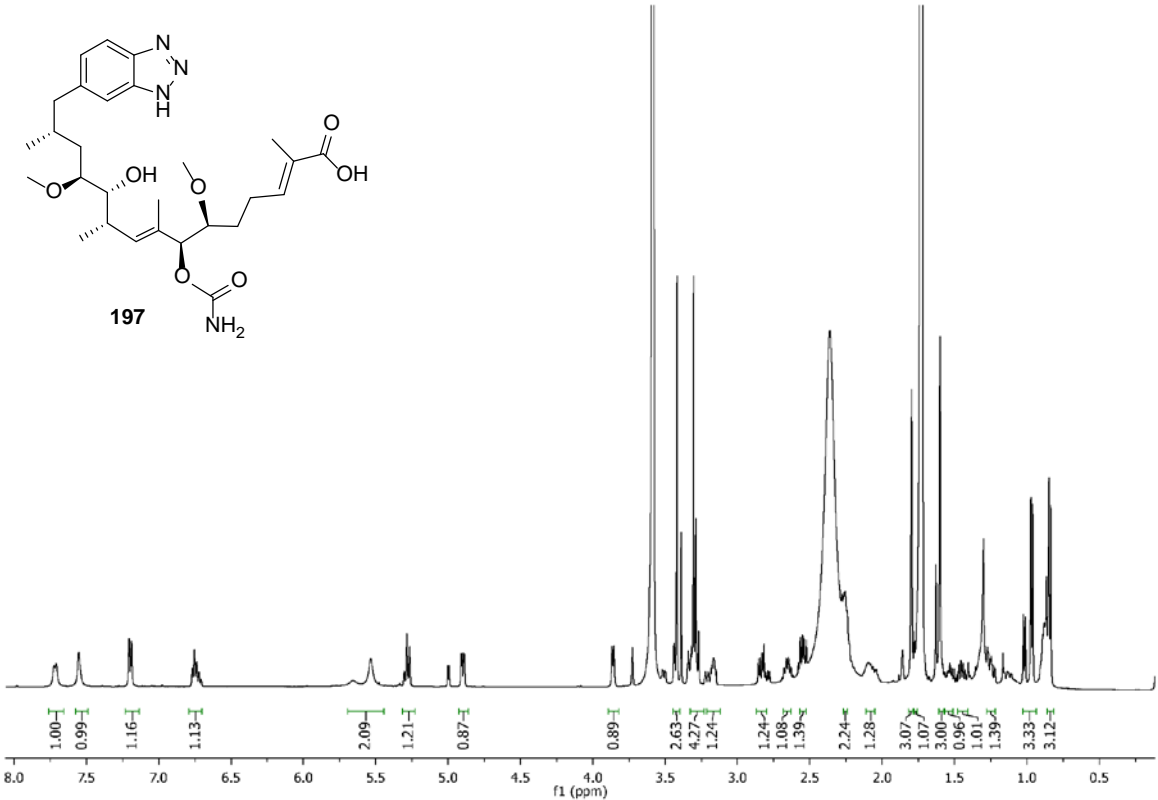


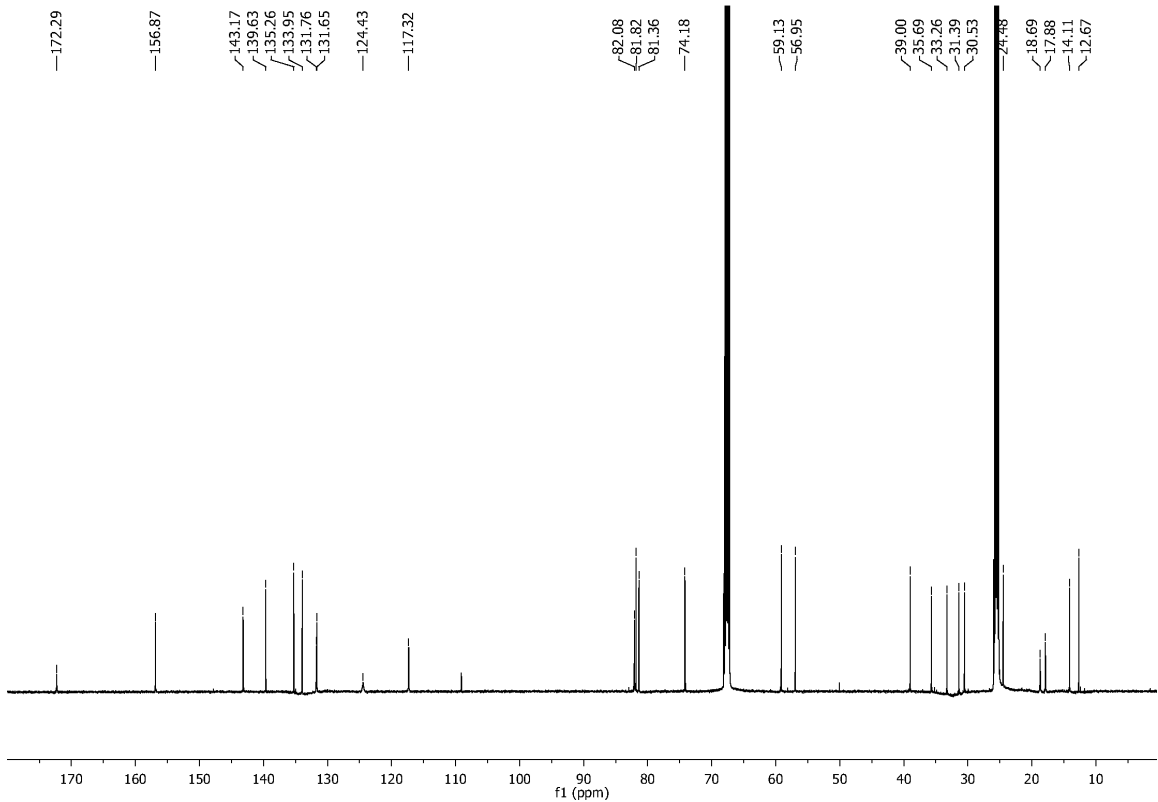
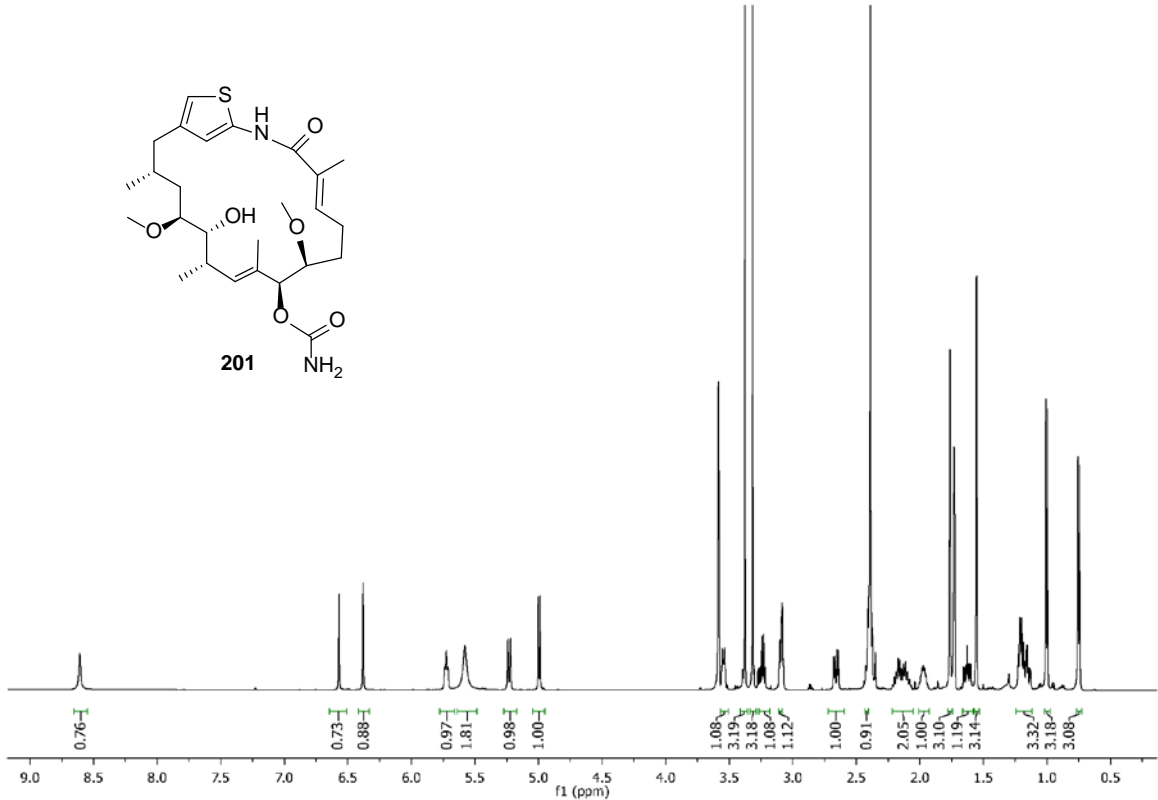
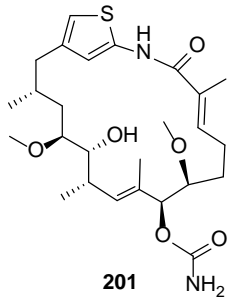


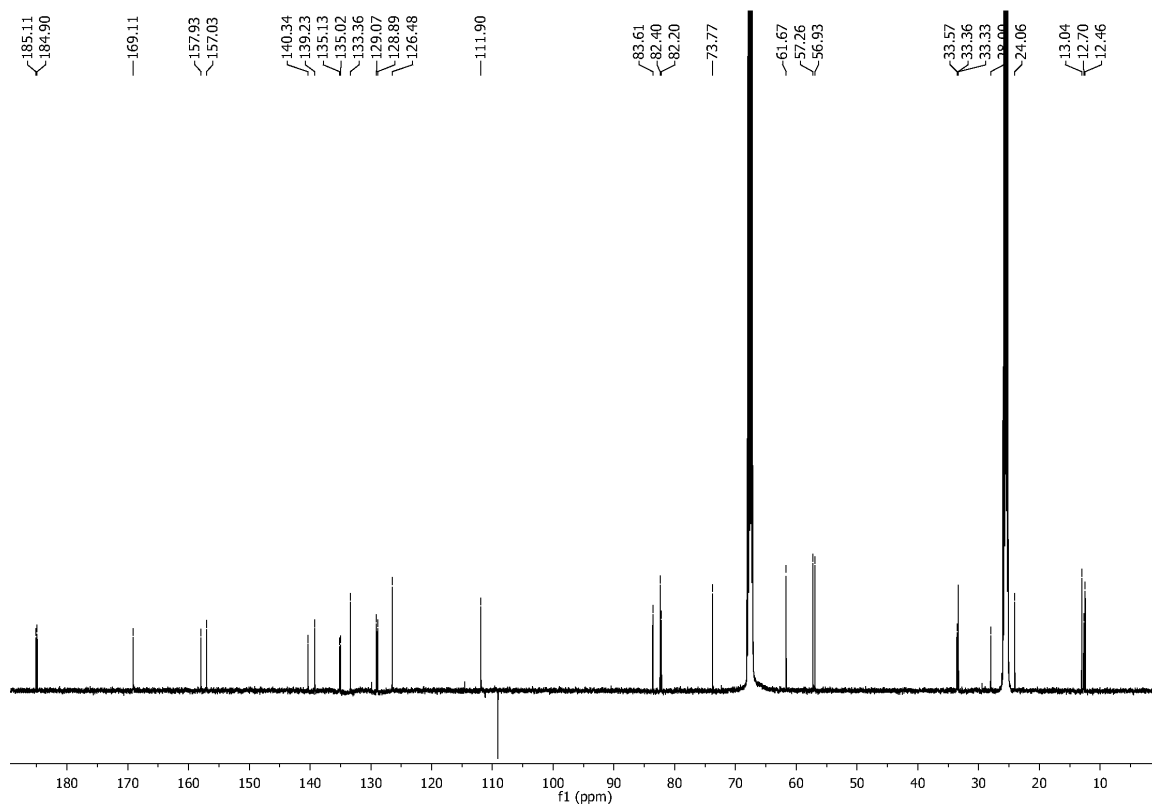
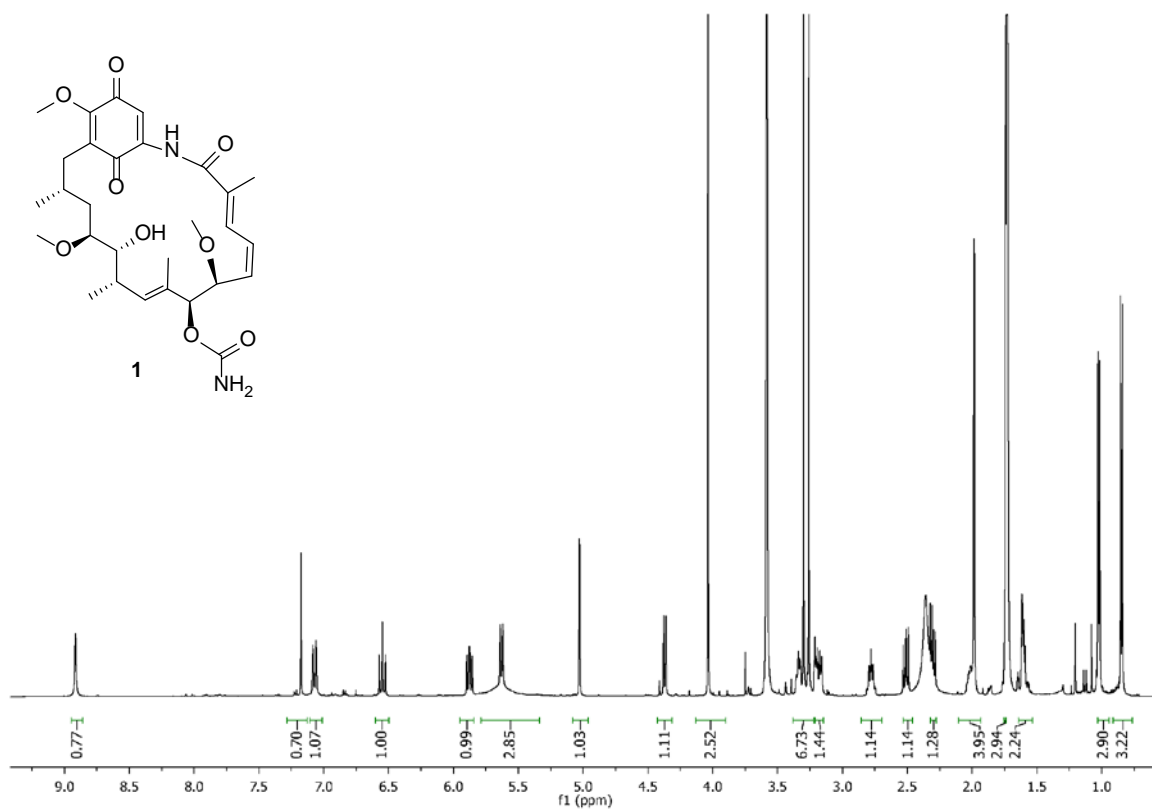












LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Jekaterina Hermane, geboren am 30.12.1984 in Riga, Lettland

Studium

11.2010-12.2013	Promotion am Institut für Organische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover (Prof. Dr. Andreas Kirschning) „Synthetische und Mutasyntetische Zugänge zu neuen Hsp90 Inhibitoren“
10.2008 - 10.2010	Chemie Studium an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Master Abschluss (DAAD Stipendium)
09.2007 - 07.2008	Chemie Studium an der Universität von Lettland, Riga, Masterstudiengang
09.2003 - 07.2007	Chemie Studium an der Universität von Lettland, Riga, Bachelor Abschluss
10.2006 - 03.2007	Schwerpunktspraktikum an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Erasmus Programm

Schulbildung

09.1991 - 07.2003 Riga 72 Mittelschule, Abitur

Weiterbildung

03.2004 - 07.2008 Laborantin am Institut für Organische Synthese, Riga

Publikationen

1. „Acyl migration from N to C in aziridine-2-carboxylic esters“ B. Strumfs, J. Hermane, S. Belyakov, P. Trapencieris, *Tetrahedron*, **2014**, 70, 355-362.
2. „Bioreduction of aryl azides during mutasynthesis of new ansamitocins“ L. Mancuso, G. Jürjens, J. Hermane, S. Eichner, K. Harmrolfs, J. Fohrer, F. Sasse, W. Collisi, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2013**, 15, 4442-4445.
3. „Mutant manufacturers“ A. Kirschning, S. Eichner, J. Hermane, T. Knobloch, *Drug Discovery from Natural Products* **2012**, 58-78.
4. „The Interplay between Mutasynthesis and Semisynthesis: Generation and Evaluation of an Ansamitocin Library“ S. Eichner, T. Knobloch, H. G. Floss, J. Fohrer, K. Harmrolfs, J. Hermane, A. Schulz, F. Sasse, P. Spittler, F. Taft, A. Kirschning, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 752-757.
5. „Ansamitocin Libraries by Combining Mutasynthesis with Chemical Synthesis; A New Version of Total Synthesis.“ F. Taft, S. Eichner, T. Knobloch, K. Harmrolfs, J. Hermane, A. Kirschning, *Synlett* **2012**, 23, 1416-1426.
6. „Unnatural amino acids. 3. Aziridinyl ketones from esters and amides of aziridine-2-carboxylic acids.“ B. Shtrumfs, J. Hermane, I. Kalvinsh, P. Trapencieris, *Chem. Het. Compds.*, **2007**, 43, 169-174.

Wissenschaftliche Poster Präsentationen

1. „*Total synthesis of seco-acid derivates of ansamycin antibiotics: Probing of the amide synthase of Geldanamycin*”, The 18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC), Marseille (Frankreich), **2013**.
2. „*Total synthesis of seco-acid derivates of ansamycin antibiotics: Probing of the amide synthase of Geldanamycin*”, Challenges in Organic Chemistry and Chemical Biology (ISACS7), Edinburg (Schottland), **2012**.
3. „*Probing of the amide synthase in Ansamycin biosynthesis*”, From Natural Products to Chemical Biology VI, Bristol (UK), **2011**.
4. „*Reactions of 1-acyl-aziridine-2-carboxylic acid derivatives with LDA.*” International Conference on Organic Synthesis BOS 2008, Vilnius (Litauen), **2008**.
5. „*Reactions of 1-alkyloxycarbonyl-aziridine-2-carboxylic acid esters with LDA.*” Paul Walden 5th Symposium on Organic Chemistry 2007, Riga (Lettland), **2007**, (Poster Preis)
6. „*Reactions of 1-Boc-aziridine-2-carboxylic acid esters with LDA.*” International Conference on Organometallic Chemistry ICOMC 2006, Zaragoza (Spanien), **2006**.
7. „*Catalytic hydrogenation of N-Cbz- α -amino acids Bis-Boc amides.*” International Conference on Organic Synthesis BOS 2006, Tallinn (Estland), **2006**.
8. „*Reactions of 1-Boc-2-carbonyl aziridines with organolithiums.*” Paul Walden 4th Symposium on Organic Chemistry 2005, Riga (Lettland), **2005**.

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Andreas Kirschning herzlich für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die sehr gute Betreuung und Förderung während dieser Arbeit und nicht zuletzt für die äußerst interessante Themenstellung.

Herrn Prof. Dr. Markus Kalesse danke ich für die fachlich wertvollen Diskussionen im gemeinsamen Seminar und für die Übernahme des Korreferats.

Dr. Carsten Zeilinger und Anja Heutling danke ich für die Vorarbeiten, Diskussionen und die gute Zusammenarbeit im Amidsynthese-Projekt.

Ich bedanke mich bei allen Mitgliedern des Arbeitskreises Kirschning für die tolle Atmosphäre und gute Zusammenarbeit. Ein besonderer Dank gilt den Mitgliedern der Mutasynthesegruppe Lena Mancuso, Gerrit Jürjens, Anja Heutling und Ilona Bulyszko für die ständige Hilfsbereitschaft sowie für die tolle Zeit im Biolabor. Lena Mancuso und Gerrit Jürjens danke ich für die nette Zeit auf allen unseren Reisen.

Meinen ehemaligen Laborkollegen Dr. Yi Su, Steffen Friedrich, Claudia Holec, Gesche Berkhan, Nadine Kandziora und Anja Heutling danke ich für die angenehme und freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, wobei ich mich vor allem bei Nadine für die interessanten Frauengespräche und Tanzabende ☺ bedanken möchte, durch die die langen Abende im Labor ertragbar waren. Weiterhin danke ich Gerrit Jürjens, Nadine Kandziora, Anja Heutling, Franziska Gille und Jessica Buchholz für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Den Mitarbeitern der Spektroskopie-Abteilung: Monika Rettstadt, Dr. Edgar Hofer, Dagmar Körtje, und Dr. Jörg Fohrer danke ich für die zügige und kompetente Bearbeitung der NMR-Proben und die Bereitstellung der häufig langen Messzeiten. Dank auch an Gerald Dräger für die Hilfsbereitschaft in der massenspektrometrischen Abteilung und das Reparieren der HPLC-Anlagen.

Im Besonderen gebührt mein Dank an Nadine Kandziora, Lena Mancuso, Franziska Gille, Jessica Buchholz, Arne Weber, Lukas Kupracz und Steffen Friedrich für die tollen gemeinsamen Kochabende, Frühstücke, Silvesterparty und andere tolle Abende außerhalb des Labors.

Ich danke meiner Freundin Marina Wall, die immer für mich da war und mir, wann immer es nötig war, den Rücken freigeht und mich in meiner Arbeit bestärkt hat.

Ich danke meiner Hund Tobi für das gute Benehmen allein zu Hause während ich lange Abende im Labor verbracht habe.

Я хотела бы сердечно поблагодарить моих родителей и мою семью за поддержку во время всей учебы. Не смотря на расстояние я знаю, что вы всегда помнили и верили в меня.

Ein ganz lieber Dank geht an Gontran Ongouta, der mir stets verständnisvoll und unterstützend zur Seite stand, meine Tränen und Wutausbrüche ertragen musste und trotzdem immer an mich geglaubt hat. Ohne dich wurde ich es nie schaffen!