

Synthese eines Ansamycin Hybrids

-

Studien zur Identifikation der ungewöhnlichen Azidreduktaseaktivität in *A. pretiosum*

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades

Doktor der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.

genehmigte Dissertation

von

M. Sc. Gerrit Jürjens

geboren am 06.06.1985 in Coburg

2014

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juni 2010 bis März 2014 unter der Anleitung von Prof. Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover angefertigt.

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel sowie eventuell zur Hilfestellung herangezogenen Institutionen vollständig angegeben wurden.

Die Dissertation wurde nicht bereits als Master- oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet.

Hannover, den 25.03.2014

Referent: Prof. Dr. Andreas Kirschning

Koreferent: Prof. Dr. Markus Kalesse

Tag der Promotion: 16.05.2014

gewidmet meiner Mutter

Lisa Yew-Neo Jürjens geb. Tay

(1957-1992)

„Kayirā ce kayirāthenaṃ daḷhamenaṃ parakkame.“

(Siddhattha Gotama Buddha, 563-483 v. Chr.)

Zusammenfassung

Gerrit Jürjens

Synthese eines Ansamycin Hybrids –

Studien zur Identifikation der ungewöhnlichen Azidreduktaseaktivität in *A. pretiosum*

Schlagworte: Totalsynthese – Mutasyntese – Ansamitocin – Geldanamycin – Enzymatische Azidreduktion

Ansamitocin und Geldanamycin sind 19-gliedrige Ansamycin Antibiotika, welche starke Aktivität gegenüber Krebszelllinien aufweisen. Die strukturell verwandten Verbindungen adressieren jedoch zwei unterschiedliche biologische Targets: Ansamitocin inhibiert die Tubulin Polymerisation und Geldanamycin ist ein Hsp90 Inhibitor.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit dem Ziel, synthetisch ein sogenanntes Ansamycinhybrid zu erzeugen, welches auf dem Grundgerüst des Ansamycins und dem aromatischen Kern des aktiven Geldanamycins basiert, welches potentiell beide biologischen Targets adressiert. Das Westfragment **56**, welches den aromatischen Kern enthält, wurde über eine NEGISHI Kupplung als auch einer Zirkonium-vermittelten Carbaluminierung dargestellt. Das Ostfragment **32**, welches die Ansakette enthält, wurde über eine BROWN Allylierung, einer vinylogen MUKAIYAMA Aldol Reaktion als auch über eine substratkontrollierte, anionische Acetat Aldol Reaktion aufgebaut. Beide Fragmente wurden über eine HECK Kupplung unter JEFFREY Bedingungen zusammengefügt und der Makrozyklus über eine Kupfer-vermittelte GOLDBERG Reaktion geschlossen. Nach Oxidation und Entschützung wurde das Carbamat stereo- und chemoselektiv über eine mutasyntetische Verfütterung an *S. hygroscopicus* K390-61-1, einer Δ AHBA Mutante des Geldanamycin Produzenten, eingefügt. Die Einführung der Esterseitenkette wurde unter STEGLICH Bedingungen realisiert.

In einem weiteren Teilprojekt wurde die ungewöhnliche Reduktaseaktivität gegenüber Arylaziden in *A. pretiosum* HGF073 untersucht, welche im Rahmen von Mutasyntesen mit der Blockmutante des Ansamitocin P-3 Produzenten offenbar wurde. Die Supplementierung der Mutasyntese **111-113**, **115** und **117** lieferte Hinweise auf einen frühen Zeitpunkt der Reduktion und offenbarte eine Substratspezifität für 1,3,5-trisubstituierte Benzoesäuren. Ein proteomischer Ansatz zeigte, dass die Azidreduktase nicht durch Verfütterung von Aziden spezifisch induziert werden kann. Genetische Untersuchungen in Kombination mit den Ergebnissen aus den Supplementierungsexperimenten, offenbarten eine potentielle Verbindung zu den verbleibenden AHBA Biosynthesegenen *asm22-24*. Versuche zur Isolierung dieser Gene und Erzeugung von Δ *asm22-24* Mutanten wurden initiiert.

Abstract

Gerrit Jürjens

Synthesis of an ansamycin hybrid –

Studies towards the identification of the unusual azide reductase activity in

A. pretiosum

Key words: total synthesis – mutasynthesis – ansamitocin – geldanamycin – enzymatic azide reduction

Ansamitocin and geldanamycin are both 19-membered ansamycin antibiotics which show proficient activity against cancer cell lines. Both structurally related compounds target different biological targets: ansamitocin addresses the microtubule polymerization while geldanamycin targets Hsp90.

This work features a synthetic approach towards an ansamycin hybrid, containing the ansamitocin P-3 backbone as well as the aromatic core of the active geldanamycin, in order to obtain a compound which might have the potential to address both biological targets. The western fragment **56**, consisting of the aromatic core, was built up using a NEGISHI coupling and a zirconium mediated carboalenylation. The eastern fragment **32**, containing the ansachain, was constructed via BROWN allylation, a vinylogous MUKAIYAMA aldol reaction as well as a substrate controlled anionic acetate aldol reaction. Both fragments were joined at the southern hemisphere *via* HECK coupling under JEFFREY, while macrolactamization was achieved by a copper catalyzed GOLDBERG coupling. After oxidation and deprotection, the chemo- and stereoselective introduction of the carbamate moiety was performed by mutasynthetic feeding of the compound to *S. hygroscopicus* K390-61-1, a Δ AHBA mutant of the geldanamycin producer. The final introduction of the ester side chain was achieved utilizing the STEGLICH conditions.

In another instance, the unusual reduction of azides during mutasynthesis using the blocked mutant of ansamitocin P-3, *A. pretiosum* HGF073, was investigated. The feeding of mutasynthons **111-113**, **115** and **117** provided several hints about an early timing of the reduction as well as a substrate specificity for 1,3,5-trisubstituted benzoic acids. A proteomic approach towards identification of the enzyme revealed that the azide reductase cannot be specifically induced by supplementation of azides. Genetic investigations along with results from the feeding experiments showed a potential link to the remaining AHBA synthesis genes and several attempts of isolating *asm22-24* for feeding experiments and creation of Δ *asm22-24* mutants were made.

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	1
1 Einleitung	4
1.1 Naturstoffe und Naturstoffhybride	4
1.2 Ansamycine	6
1.3 Maytansinoide	8
1.3.1 Biologische Aktivität.....	9
1.3.2 Biosynthese	11
1.4 Geldanamycin.....	14
1.4.1 Biologische Aktivität.....	16
1.4.2 Biosynthese	19
1.5 Mutasythese.....	20
1.6 Azide und Azidreduktionen in der Natur	21
2 Zielsetzung	24
2.1 Synthese eines Hybriderivates.....	24
2.2 Studien zur Identifikation der ungewöhnlichen Azidreduktaseaktivität in <i>A. pretiosum</i>	27
3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse.....	29
3.1 Synthese eines Hybriderivates.....	29
3.1.1 Vorarbeiten.....	29
3.1.2 Retrosynthese	31
3.1.3 Synthese des Westfragments	32
3.1.4 Synthese des Ostfragments.....	39
3.1.5 Endspiel.....	62
3.1.6 Biologische Aktivität.....	73
3.2 Studien zur Identifikation der ungewöhnlichen Azidreduktaseaktivität von <i>A. pretiosum</i> ...	74
3.2.1 Supplementierungs-Experimente	75
3.2.2 Proteomikansätze zur Identifikation der reduzierenden Fähigkeiten von <i>A. pretiosum</i>	81
3.2.3 Genomikansätze zur Identifikation.....	83
4 Zusammenfassung und Ausblick.....	92

4.1	Synthese eines Ansamycin Hybrids	92
4.1.1	Zusammenfassung	92
4.1.2	Ausblick.....	93
4.2	Studien zur Identifikation einer ungewöhnlichen Azidreduktase-aktivität in <i>A. pretiosum</i> ..	95
4.2.1	Zusammenfassung	95
4.2.2	Ausblick.....	95
5	Experimenteller Teil.....	97
5.1	Molekularberechnungen	97
5.1.1	Modeling	97
5.1.2	Docking	109
5.2	Allgemeine Hinweise zu den chemisch synthetischen Arbeiten	110
5.3	Auxiliare und Hilfsreagenzien aus Kapitel 3.1	112
5.4	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1.2	129
5.5	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1.3	139
5.6	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1.4	161
5.7	Allgemeine Hinweise zu den mikro- und molekularbiologischen Arbeiten	169
5.8	Experimente zu Kapitel 3.2	171
5.8.1	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.2	171
5.8.2	2D-PAGE für Proteomuntersuchung von <i>A. pretiosum</i> HGF073 (Kapitel 3.2.2)	183
5.8.3	Versuche zu <i>asm22-24</i> (Kapitel 3.2.3)	185
6	Anhang	187
6.1	Gen- und Proteinsequenzen.....	187
7	Spektrenanhang	190

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

δ	<i>NMR</i> : chemische Verschiebung
Δ	Erhitzen bis zum Rückfluss
Äq.	Äquivalente
Ac	Acetyl
ACP	Acyl Carrier Protein
ADME	Pharmakokinetik (<i>engl.</i> absorption, distribution, metabolism, excretion)
AHBA	3,5-Aminohydroxybenzoesäure
Ar	Aryl
AT	Acyltransferase
Aufl.	Auflage
br	<i>NMR</i> : breit; <i>IR</i> : breit
BINAP	2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl
BINOL	1,1'-Bi-2-naphthol
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
BSA	<i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)acetamid
Bu	Butyl
CoA	Coenzym A
cod	1,5-Cyclooctadien
CyDMEDA	<i>trans-N,N'</i> -Dimethylcyclohexan-1,2-diamin
d	Tage; <i>NMR</i> : Dublett
Da	Dalton
DAHP	3-Deoxy-D-arabino-heptulosonsäure-7-phosphat
DBBP	4,4'-Di- <i>tert</i> -butylbiphenyl
dd	doppelt destilliert
DHS	Dehydroshikimisäure
DHQ	Dehydrochinasäure
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dest.	destilliert
DH	Dehydratase
DIC	Diisopropoxycarbodiimid
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMEDA	<i>N,N'</i> -Dimethylethylendiamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMP	DESS-MARTIN Periodinan
DMPU	<i>N,N'</i> -Dimethylpropylenurea
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure (<i>engl.</i> deoxy ribonucleic acid)
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazin
dNTP	Desoxyribonukleotidtriphosphat
DPEphos	Bis-[2-(diphenylphosphino)phenyl]ether
dppf	1,1'- Bis(diphenylphosphino)ferrocen
E4P	Erythrose-4-phosphat
EE	Essigester
<i>E/Z</i>	entgegen/zusammen (Doppelbindungskonfiguration)
EI	<i>MS</i> : Elektronenstoßionisation (<i>engl.</i> electron impact ionization)

ER	Enoylreduktase
ESI	<i>MS</i> : Electron spray ionization
Et	Ethyl
F6P	Fructose-6-phosphat
FMN	Flavinmononukleotid
g	Gramm
GCMS	Gaschromatographie – Massenspektrometrie
gef.	gefunden
Glc	Glucose
<i>goi</i>	Gen des Interesses (<i>engl.</i> gene of interest)
h	Stunden
HMPA	Hexamethylphosphoramid
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (<i>engl.</i> high performance liquid chromatography)
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie (<i>engl.</i> high resolution mass spectrometry)
Hz	Hertz
<i>i</i>	iso
<i>J</i>	<i>NMR</i> : skalare Kopplungskonstante
kat.	katalytisch
KS	Ketosynthese
konz.	konzentriert
LA	Lewissäure
LiHMDS	Lithium Hexamethyldisilazid
M	Molar
m	<i>NMR</i> : Multiplett
min	Minuten
Me	Methyl
MHz	Megahertz
mmol	Millimol
MOM	Methoxymethyl
MS	Molekularsieb <i>oder</i> Massenspektrometrie
MTPA	α -Methoxy- α -(trifluormethyl)phenylacetyl
m/z	<i>MS</i> : Masse/Ladung
N ₃ HBA	3,5-Azidohydroxybenzoesäure
NAC	<i>N</i> -Acetylcysteamin
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
NEP	<i>N</i> -Ethylpiperidin
NRPS	Nicht-ribosomale Peptidsynthese
NMR	Kernresonanzspektroskopie (<i>engl.</i> nuclear magnetic resonance spectroscopy)
NP	Nukleotidphosphat
PE	Petrolether
PEP	Phosphoenolpyruvat
PG	Schutzgruppe (<i>engl.</i> protective group)
Ph	Phenyl
PMP	<i>p</i> -Methoxyphenyl
ppm	parts per million
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
Pr	Propyl
Py	Pyridin
q	<i>NMR</i> : Quartett
quant.	quantitativ
<i>R_f</i>	<i>DC</i> : Retentionsfaktor
RP	Umkehrphase (<i>engl.</i> reversed phase)
RT	Raumtemperatur
s	<i>NMR</i> : Singulett; <i>IR</i> : stark
SAR	Struktur-Aktivitäts-Beziehung (<i>engl.</i> structure-activity-relationship)
t	<i>NMR</i> : Triplett

TASF	Tris(dimethylamino)sulfoniumdifluorotrimethylsilicat
TBABr	Tetrabutylammoniumbromid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TCA	Trichloressigsäure
Tm	Schmelztemperatur (<i>engl.</i> melting temperature)
TMEDA	Tetramethylethyldiamin
TMS	Trimethylsilyl
TTMSS	Tri(trimethylsilyl)silyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
Ts	Tosyl
UDP	Uracildiphosphat
VMAR	Vinyloge Mukaiyama Aldol Reaktion
VKE	Vinylketenacetal
w	<i>IR</i> oder <i>2D-NMR</i> : schwach (<i>engl.</i> weak)

proteinogene Aminosäuren

Aminosäure	Dreibuchstabencode	Einbuchstabencode
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asparaginsäure	Asp	D
Asparagin/Asparaginsäure		Z
Cystein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q
Glutaminsäure	Glu	E
Glutamin/Glutaminsäure		Z
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V
Lücke		-

Nukleobasen

a	Adenin
c	Cytosin
g	Guanin
t	Thymin
u	Uracil

1 EINLEITUNG

1.1 NATURSTOFFE UND NATURSTOFFHYBRIDE

Lebewesen haben über die letzten vier Milliarden Jahre die unterschiedlichsten Mechanismen entwickelt, um sich gegenüber Fraßfeinden, Parasiten und ökologischen Konkurrenten zu behaupten. Während tierische Zellen das Immunsystem und makroskopische Antworten entwickelten mit denen sie Parasiten und pathogene Mikroorganismen bekämpfen, haben v.a. Mikroorganismen, aber auch die sessilen Pflanzen, andere Mechanismen entwickelt. Einer der bemerkenswertesten ist dabei die Produktion von sogenannten Sekundärmetaboliten.¹

Sekundärmetabolite werden auf Stoffwechselwegen produziert, welche nicht direkt essentiell für das Überleben des Organismus sind. Sie sind in verschiedene Klassen aufgeteilt, die entweder auf der Biosynthese (z. B. Terpene oder Polyketide) oder auf ihrer Struktur (Alkaloide) beruhen. Dabei sind nicht alle Sekundärmetaboliten dazu gedacht sich gegenüber Feinde und Konkurrenten zu behaupten, auch Signalübertragung und andere Funktionen sind bekannt, jedoch soll im Weiteren speziell auf andere Lebewesen schädlich wirkende Sekundärmetaboliten eingegangen werden. Ähnlich wie Antikörper ist ihre Struktur in der Regel so beschaffen, dass sie ein hochspezifisches biologisches Target besitzen, welches adressiert wird. Der genaue Wirkmechanismus variiert dabei von Sekundärmetabolit zu Sekundärmetabolit und kann z. B. aus einer kovalente Bindung an die aktive Tasche eines Enzyms bestehen, wodurch eine Blockade für das natürliche Substrat entsteht und das Enzym permanent deaktiviert wird.

Die hohe Spezifität, welche häufig über Millionen von Jahren evolutiv von diesen Organismen verfeinert wurde, hat sich der Mensch bereits in der Vergangenheit häufig zunutze gemacht, um die Verbindungen als wirksame Medikamente gegen Krankheiten einzusetzen. So wurde das vom Pilz *Penicillium notatum* produzierte Penicillin G (**1**, Abbildung 1), welches dieser zur Verteidigung gegen Bakterien einsetzt, seit 1941 als Antibiotikum gegen bakterielle Infektionen benutzt, da es spezifisch die Zellwandbiosynthese von Prokaryoten inhibiert. Tatsächlich sind 68.3 % aller Antiinfektiva und 79.8 % der Antitumormittel, welche zwischen 1981 und 2008 entwickelt wurden, entweder natürliche Sekundärmetabolite oder wurden von ihnen inspiriert.²

¹ F. C. Schröder, J. J. Farmer, A. B. Attygalle, S. R. Smedley, T. Eisner, J. Meinwald. *Science* **1998**, 281, 428.

² G. M. Cragg, P. G. Grothaus, D. J. Newman, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 3012-3043.

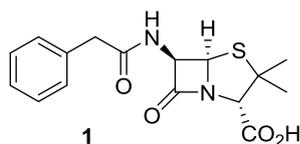


Abbildung 1: Penicillin G (1).

Die chemische Kombination mehrerer Naturstoffe zu sogenannten Hybriden ist ein Verfahren mit dem versucht wird, mehrere pharmakologisch interessante Strukturmerkmale in einer Verbindung zu vereinen, um einen multifunktionalen Wirkstoff zu erzeugen. Dieser kann theoretisch zwei verschiedene Targets adressieren, wodurch eine Resistenzbildung gegen den Wirkstoff schwieriger wird.³

Auch die Natur selbst bedient sich dem Konzept, zwei unterschiedliche Molekülstrukturen zu kombinieren. Ein beeindruckendes Beispiel für ein solches ‚natürliches‘ Naturstoffhybrid ist das Vincristin (2)⁴, welches sich aus den beiden Alkaloiden Vindolin und Cataranthin zusammensetzt (Abbildung 2) und aus *Cataranthus roseus* isoliert wurde. Diese zeigen separat keine biologische Aktivität, Vincristin ist jedoch ein sehr effizienter Microtubuli Polymerisationsinhibitor. Microtubuli bilden essentielle Teile des Cytoskeletts in eukaryotischen Zellen und deren Neuordnung spielt, v.a. in der Mitosephase, eine Schlüsselrolle. So gehören Vincristin (2) und andere Vinca Alkaloide heute zu den wichtigsten Wirkstoffen in der Krebstherapie.⁵

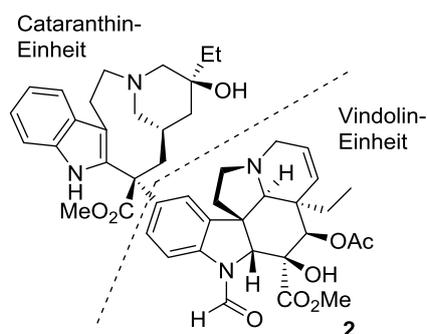


Abbildung 2: Vincristin (2).

Das relativ junge Feld der synthetischen Hybridforschung hat bisher noch keine angewandten Wirkstoffe hervorgebracht. Für eine Übersicht zu einigen synthetischen Hybridansätzen sei auf eine Zusammenfassung von TIETZE³ verwiesen.

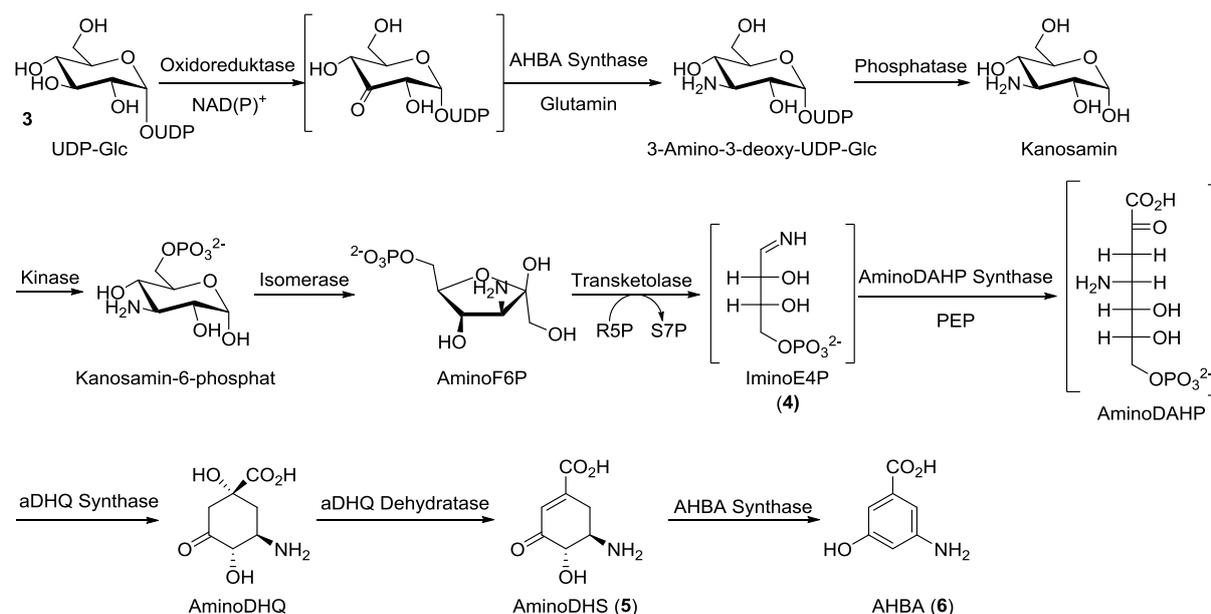
³ L. F. Tietze, H. P. Bell, S. Chandrasekhar, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4128-4160, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3996-4028.

⁴ a) P. Magnus, J. S. Mendoza, A. Stamford, M. Ladlow, P. Willis, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10232-10245; b) W. G. Bornmann, M. E. Kuehne, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1752-1760.

⁵ F. Gueritte, J. Fahy, *Anticancer Agents from Natural Products*, G. M. Cragg, D. G. I. Kingston, D. J. Newman, CRC Press LLC, Boca Raton, FL, 2005, S. 123.

1.2 ANSAMYCINE

Die Ansamycine sind eine Klasse von Sekundärmetaboliten, welche durch eine aromatische Einheit definiert wird, welche über einen aliphatischen ‚Henkel‘ (*lat. ansa*) einen Zyklus bildet. Die aromatische Einheit ist dabei eine sogenannte mC7N Einheit, ein sechsgliedriger Kohlenstoffring welcher mit einem weiteren Kohlenstoff und einem weiteren Stickstoff substituiert ist.⁶ Diese mC7N Einheiten, die häufig im Naturstoff als Aromat oder Chinon in Erscheinung treten, basieren biosynthetisch auf 3-Amino-5-hydroxybenzoesäure (AHBA), welche aus UDP-Glucose (**3**) gebildet wird (Schema 1). Der Biosyntheseweg ist dabei eng verwandt mit dem Shikimisäure Biosyntheseweg, über den die Natur beispielsweise aromatische Aminosäuren aufbaut. Der Hauptunterschied besteht in der Einführung einer Aminogruppe und der daraus folgenden Kondensation von Phosphoenolpyruvat mit Iminoerythrose-4-phosphat.⁷ Die Biosynthesegene von AHBA sind in bekannten Ansamycinen hochgradig homolog und wurden am ersten identifizierten Ansamycin, dem Rifamycin, aufgeklärt. Die AHBA Synthase zeigt in der Biosynthese zusätzlich die Besonderheit, dass sie sowohl im zweiten Schritt die Transaminierung zu 3-Amino-3-deoxy-UDP Glucose katalysiert, als auch die Wassereliminierung von Aminodehydroshikimisäure (**5**) zu AHBA (**6**).^{8,9}



Schema 1: Biosynthese von AHBA (**6**).

⁶ a) H. G. Floss, *Nat. Prod. Rep.* **1997**, *14*, 433-452; b) C. G. Kim, A. Kirschning, P. Bergon, P. Zou, E. Su, B. Sauerbrei, S. Ning, Y. Ahn, M. Breuer, E. Leistner, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7486-7491.

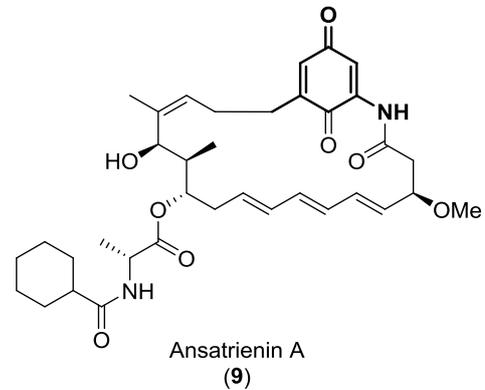
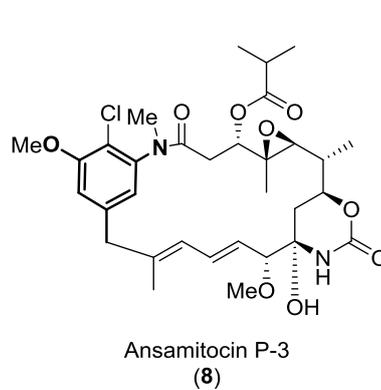
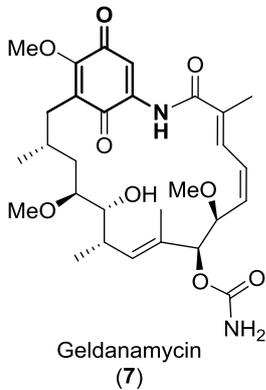
⁷ a) C.-G. Kim, T.-W. Yu, C. B. Fryhle, S. Handa, H. G. Floss, *J. Biol. Chem.* **1997**, *11*, 6030-6040; b) K. Arakawa, R. Müller, T. Mahmud, T. -W. Yu, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10644-10645.

⁸ P. R. August, L. Tang, Y. J. Yoon, S. Ning, R. Müller, T. W. Yu, M. Taylor, D. Hoffmann, C. G. Kim, X. Zhang, C. R. Hutchinson, H. G. Floss, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 69-79.

⁹ Für eine Zusammenfassung der AHBA Biosynthese, und darauf basierenden Naturstoffen, siehe: Q. Kang, Y. Shen, L. Bai, *Nat. Prod. Rep.* **2012**, *29*, 243-263.

Ansamycine werden in die zwei großen Klassen der benzenischen und naphthalenischen Ansamycine unterteilt (Abbildung 3), je nachdem in welcher Form die AHBA Einheit im Produkt vorliegt. Die naphthalenischen Ansamycine zeigen dabei oft eine antibakterielle und antifungale Wirkung, während die benzenischen Ansamycine meist eine Cytotoxizität gegen eukaryotische Zellen aufweisen.¹⁰

Benzenische Ansamycine



Naphthalenische Ansamycine

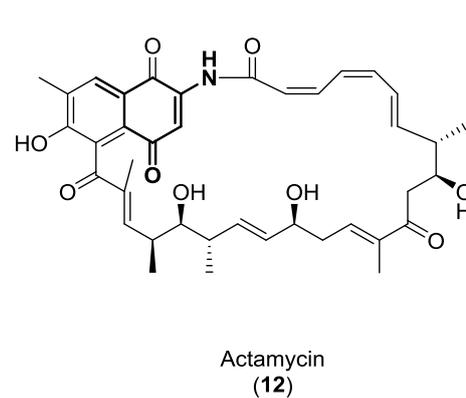
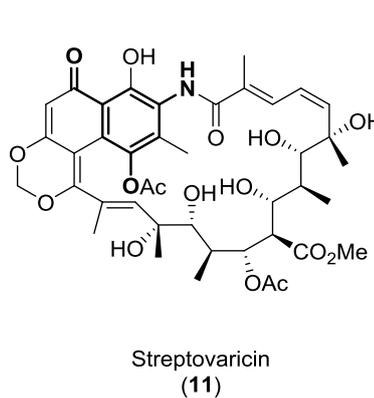
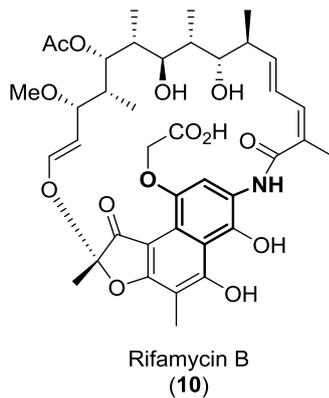


Abbildung 3: Benzenische und naphthalenische Ansamycine. Die AHBA Startereinheit ist fett hervorgehoben.⁹

¹⁰ I. W. Allen, D. A. Ritchie, *Mol. Gen. Genet.* **1994**, 243, 593-599.

1.3 MAYTANSINOIDE

Ansamitocin P-3 (**8**) ist ein 19-gliedriges benzenisches Ansamycin, welches aufgrund seiner Struktur und Biosynthese zu den sogenannten Maytansinoiden gehört (Abbildung 4).

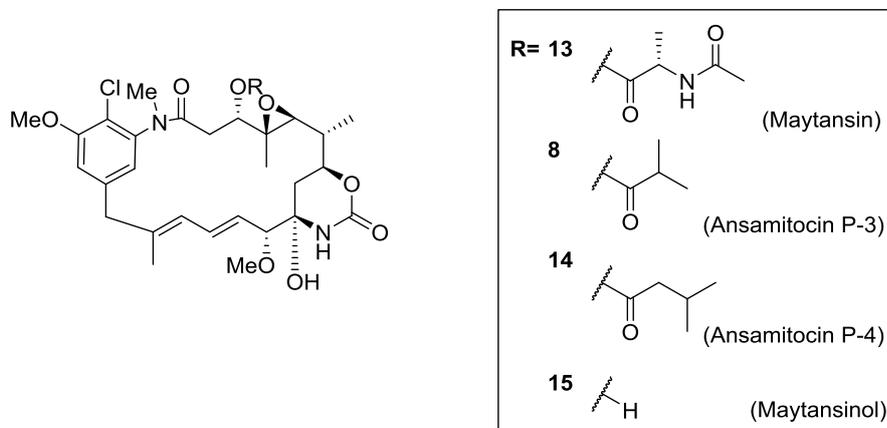


Abbildung 4: Struktur ausgewählter Maytansinoide.

Maytansinoide sind Makrolactame mit einer stark konservierten Struktur, welche sich ausschließlich in der Esterseitenkette an C3 unterscheidet (Abbildung 4). Alle Maytansinoide zeigen starke Aktivität gegen Krebszelllinien und weisen dabei eine ausgesprochen hohe Cytotoxizität auf.

KUPCHAN und Mitarbeiter entdeckte das erste dieser Moleküle, das Maytansin (**13**), aus dem äthiopischen Busch *Maytanus serrata* und konnte seine Struktur mittels Röntgenkristallographie aufklären.¹¹ Es folgten weitere Isolationen eng verwandter Maytansinoide, welche aus Pflanzen aber auch aus Bodenbakterien, wie etwa das Ansamitocin P-3 (**8**), welches von dem Actinomyceten *Actinosynnema pretiosum* produziert wird, gewonnen werden konnten.

Es blieb lange ein Rätsel wie die sehr eng verwandten Molekülen aus unterschiedlichen taxonomischen Domänen isoliert werden konnten. Neuere Erkenntnisse gehen jedoch davon aus, dass die Pflanzen, welche zunächst als Maytansinoid Produzenten galten, die Sekundärmetaboliten nur von assoziierten Mikroorganismen aufnehmen, da den Pflanzen eine eigene AHBA Synthase fehlt.¹²

Insgesamt wurden bisher mehr als 50 verschiedene Maytansinoide entdeckt, für detailliertere Ausführungen über Maytansinoide sei auf eine Übersicht von LEISTNER¹³ verwiesen.

¹¹ S. M. Kupchan, Y. Komoda, W. A. Court, G. J. Thomas, R. M. Smith, A. Karim, C. J. Gilmore, R. C. Haltiwanger, R. F. Bryan, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 1354-1356.

¹² C. B. Pullen, P. Schmietz, D. Hoffmann, K. Meurer, T. Boettcher, D. von Bamberg, A. M. Pereira, S. de Castro Franca, M. Hauser, H. Geertsema, A. van Wyk, T. Mahmud, H. G. Floss, E. Leistner, *Phytochemistry*, **2003**, *63*, 377-387.

¹³ J. M. Cassady, K. C. Kenneth, H. G. Floss, E. Leistner, *Chem. Pharm. Bull.* **2004**, *52*, 1-26.

1.3.1 BIOLOGISCHE AKTIVITÄT

Ähnlich den Vinca Alkaloiden beruht die Cytotoxizität der Maytansinoide auf einer antimitotischen Wirkung durch Verhinderung von Mikrotubulopolymerisation. Sie binden dabei an die Vinblastin-Bindestellen¹⁴ der β -Tubulinuntereinheiten¹⁵. Die Mitose wird dabei in der Metaphase arretiert, da die Chromosomen durch den aus Mikrotubuli bestehenden Spindelapparat nicht mehr zu den Zellpolen bewegt werden können. Da die Zellteilung besonders in Krebszellen ausgeprägt ist während sich der Großteil der restlichen menschlichen Zellen in der G Phase befinden, sind Mikrotubuli Inhibitoren potentielle Antitumorverbindungen.

Auch wenn die kompletten pharmakologisch aktiven Stellen der Struktur nicht vollständig aufgeklärt wurden, konnten bereits anhand der natürlichen Maytansinoiden und 29 semisynthetisch hergestellter Derivate des Maytansins wichtige Struktur-Aktivitäts Beziehungen (SAR, *engl.* structure-activity-relationship) entdeckt werden (Abbildung 5).¹⁶

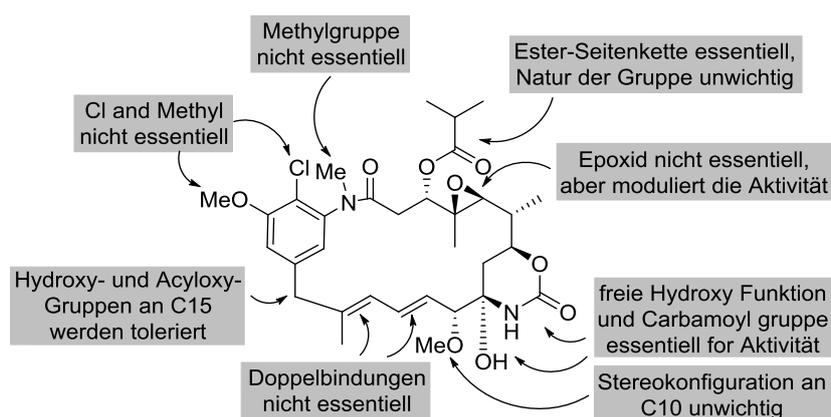


Abbildung 5: Struktur-Aktivitäts-Beziehung der Maytansinoide am Beispiel von Ansamitocin P-3.

Besonders wichtig für die cytotoxische Wirkung der Maytansinoide ist die Esterseitengruppe – so zeigt das Maytansinol (**15**) im Gegensatz zu den Estern nur etwa 1/10 000 der biologischen Aktivität.¹⁷ Auch das Stereozentrum am C3 erweist sich dabei als essentiell.¹⁸ Die Natur der Estergruppe moduliert dabei die biologische Aktivität. Interessanterweise erwies sich das Epoxid nicht als

¹⁴ B. Bhattacharya, J. Wolff, *FEBS Lett.* **1977**, 75, 159-162.

¹⁵ a) S. Remillard, L. Rebhun, G. Howie, S. Kupchan, *Science*, **1975**, 189, 1002-1005. b) E. Hamel, *Pharmacol. Therap.* **1992**, 55, 31-51.

¹⁶ A. Kawai, H. Akimoto, Y. Kozai, K. Ootsu, S. Tanida, N. Hashimoto, H. Nomura, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, 32, 3441-3451.

¹⁷ S. Kupchan, Y. Komoda, A. Branfman, R. Daily Jr., V. Zimmerly, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 1578-1579.

¹⁸ H. Akimoto, A. Kawai, N. Hashimoto, H. Nomura, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, 32, 2565-2570.

essentiell für die biologische Aktivität, das Carbinolamid an C9 hingegen wirkt vermutlich alkylierend und ist für die Aktivität ebenfalls essentiell.¹⁹

Aufgrund der hohen Komplexität der Maytansinoide sind die SAR jedoch immer noch nicht vollständig geklärt.

Alle Maytansinoide zeigen eine sehr hohe Aktivität gegen viele tierische Tumortestsyste und humane KB Zellen (Maytansin: $ED_{50} = 10^{-4} - 10^{-5} \mu\text{g mL}^{-1}$), ihr Einsatz ist jedoch aufgrund von Neurotoxizität und gastrointestinaler Toxizität in seiner Dosis als potielles Medikament eingeschränkt. Maytansin (**13**) wurde in Kombination mit anderen Präparaten als Antitumormittel in klinischen Studien bis Phase II getestet, wo allerdings nur ein Patient auf das Präparat ansprach, woraufhin die Studien abgebrochen wurden.²⁰

Maytansinoide bleiben jedoch trotz allem wegen ihren hohen Toxizität als potentielle ‚warheads‘ in Antikörpern oder anderen dirigierenden Konjugaten von Interesse.²¹ So wurde 2013 das Trastuzumab Emtansin²², ein Konjugat aus Mertansin, einem Maytansinoid aus Maytansin, mit einem Antikörper, welcher HER2 adressiert, das in Tumorzellen überexprimiert wird, unter dem Handelsnamen KadcyloTM von Roche als Antikrebstherapeutikum veröffentlicht (Abbildung 6).

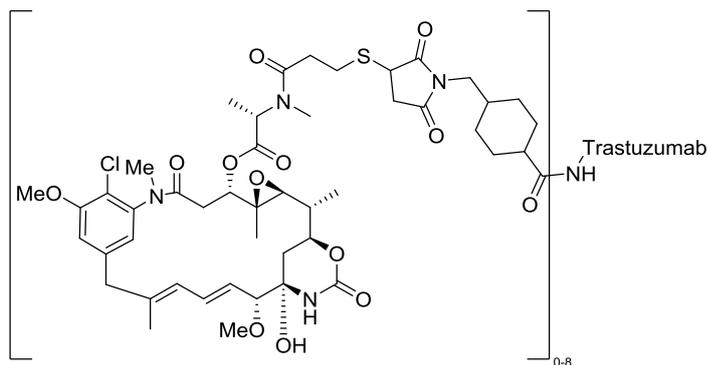


Abbildung 6: KadcyloTM, ein Maytansinoid Antikörper Konjugat Krebstherapeutikum.

¹⁹ a) S. Kupchan, A. Sneden, A. Branfman, G. Howie, L. Rebhun, W. Melvor, R. Wang, T. Schnaitmann, *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 31-37; b) 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.

²⁰ a) J. Thigpen, C. Ehrlich, W. Creasman, S. Curry, J. Blessing, *Am. J. Clin. Oncol.* **1983**, *6*, 273-275. b) J. Thigpen, C. Ehrlich, J. Conroy, J. Blessing, *Am. J. Clin. Oncol.* **1983**, *6*, 427-430; c) M. J. Ravry, G. Omura, R. Birch, *Am. J. Clin. Oncol.* **1985**, *8*, 148-150.

²¹ a) W. Widdison, S. Wilhelm, E. Cavanagh, K. Whiteman, B. Leece, Y. Kovtun, V. Goldmacher, H. Xie, R. Stevens, R. Lutz, R. Zhao, L. Wang, W. Blättler, R. Chari, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4392-4395; b) J. Lambert *Curr. Opin. Pharmacol.* **2005**, *5*, 543-549; c) F. Kratz, K. Ajaj, A. Warnecke, *Expert Opin. Investig. Drugs* **2007**, *16*, 1037-1058.

²² I. Niculescu-Duvac, *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2010**, *12*, 350-360.

1.3.2 BIOSYNTHESE

Maytansinoide sind Polyketide des Typs I, welche in der Natur über Multienzymkomplexe hergestellt werden.

Diese Multienzymkomplexe besitzen verschiedene, kovalent verknüpfte katalytische Domänen, welche über decarboxylierende CLAISEN-Kondensationen neue Bausteine mit der vorhandenen Kette verbinden. Dabei wird die wachsende Kette auf ein Acyl-Carrier-Protein (ACP) aufgeladen und reagiert anschließend mit einem, als Thioester aktivierten und von der Acyl-Transferase speziell ausgewählten, Baustein (meist Methylmalonyl-CoA, aber z. B. auch Methoxymalonyl-CoA) zum Polyketid (Abbildung 7).²³

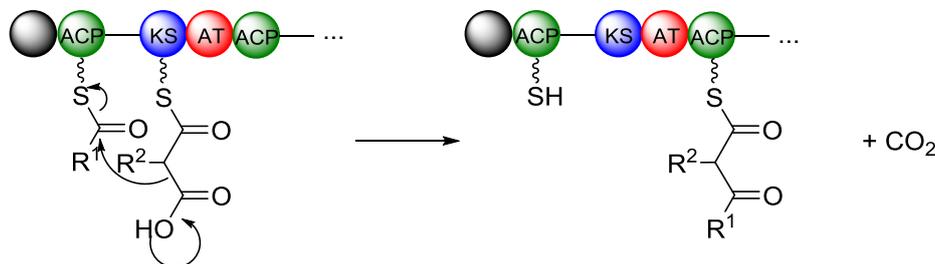


Abbildung 7: Prinzipieller Mechanismus der Biosynthese von Polyketiden durch decarboxylierende CLAISEN-Kondensation.

Diese großen Enzymkomplexe sind strukturell eng mit den Fettsäuresynthasen aus dem Primärmetabolismus verwandt. Sie reduzieren ein entstandenes Polyketid mittels den enzymatisch aktiven Einheiten Ketoreduktase (KR), Enoylreduktase (ER) und Dehydratase (DH) auf dem Multienzymkomplex bis zum gesättigten Kohlenstoff zu Fettsäuren. Polyketidsynthasen hingegen, zeigen hier einen größeren Spielraum und tragen nicht zwangsweise alle drei katalytische Domänen nach einem Kondensationsschritt, sodass nicht unbedingt eine gesättigte Alkylkette entsteht. Zu den drei Domänen kennt man bei Polyketiden des Typs I auch weitere Domänen die in α -Position methylieren, halogenieren oder oxygenieren. Im Gegensatz zu Fettsäuresynthasen werden die Enzyme vom Polyketidtyp I in der Regel nicht iterativ verwendet, sondern bestehen aus vielen zusammenhängenden Elongationseinheiten. Die wachsende Kette wird am Ende mittels einer Thioesterase (TE) vom Enzym abgespalten (Abbildung 8). Eine nachträgliche, sogenannte post-ketidische Modifikation des Polyketids ist ebenfalls möglich.²³

²³ a) E. Sattely, M. Fischbach, C. Walsh, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 757-793; b) S. Smith, S.-C. Tsai, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 1041-1072; c) C. Carreras, R. Pieper, C. Khosla, *The chemistry of biology fatty acid, polyketide, and ribosomal peptide biosynthesis*, in Topics in Current Chemistry, Vol. 188, Springer-Verlag, Heidelberg **1997**, S. 86-126.

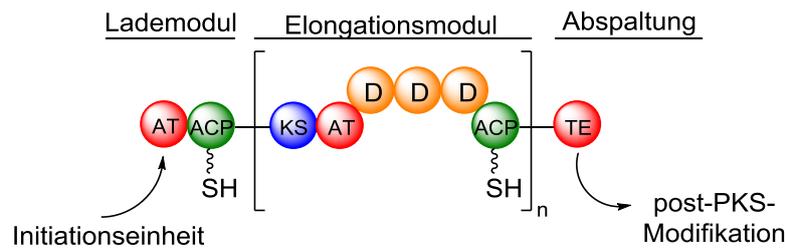
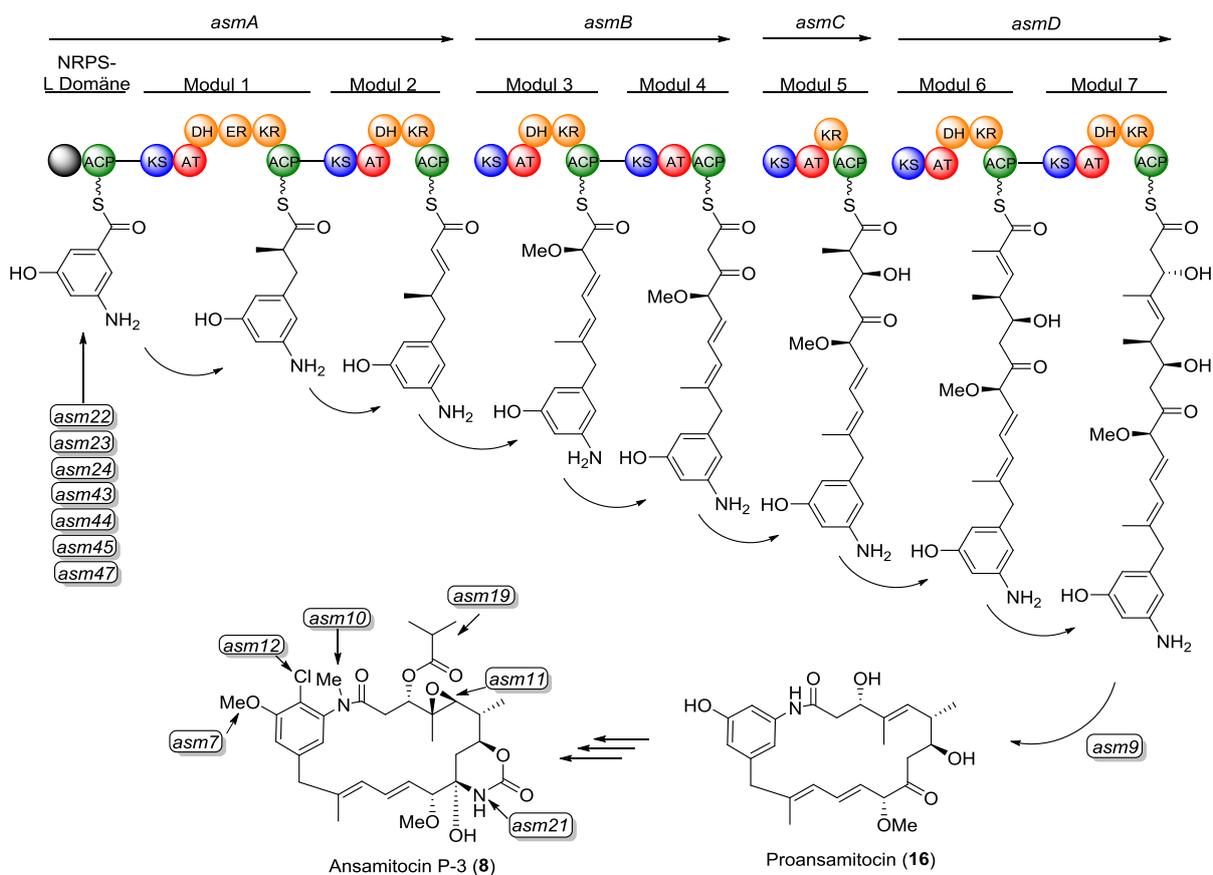


Abbildung 8: Genereller Aufbau einer Polyketidsynthase Typ I; D: katalytische Domäne.

Neben diesen, reinen, PKS basierten, Naturstoffen gibt es ebenfalls Hybridenzyme mit anderen Typen der Biosynthese, wie der nicht-ribosomalen Peptidsynthase (NRPS), die in der Natur vorkommen.²⁴

Die Biosynthese des Ansamitocin P-3 besitzt dabei als Startbaustein die AHBA die auf einem Multienzymkomplex aus vier Enzymen mit insgesamt sieben Modulen zum Proansamitocin (**16**) führen, welches durch sechs postketidische Enzyme zum Ansamitocin P-3 (**8**) umgesetzt wird (Schema 2).²⁵



Schema 2: Biosynthese von Ansamitocin P-3 (**8**).

²⁴ C. Walsh, *Science* **2004**, *303*, 1805-1810.

²⁵ T.-W. Yu, L. Bai, D. Hoffmann, S. Toelzer, K. Trinh, J. Xu, S. Moss, E. Leistner, H. Floss, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 7968-7973.

In der Biosynthese der Ansamitocine finden sich zwei Besonderheiten: a) eine Doppelbindungswanderung welche noch auf der eigentlichen PKS im Modul 3 stattfindet,²⁶ und b) die Biosynthese und Verwendung von Methoxymalonyl CoA, welche zu einer Kettenverlängerung mit einer ungewöhnlichen Glycolat Einheit führt.²⁷

²⁶ a) T. Kubota, M. Brünjes, T. Frenzel, J. Xu, A. Kirschning, H. G. Floss, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1221-1225; b) F. Taft, M. Brünjes, T. Knobloch, H. G. Floss, A. Kirschning, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3812-3813.

²⁷ a) B. J. Carroll, S. J. Moss, L. Bai, Y. Kato, S. Zoelzer, T. -W. Yu, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4176-4177; b) S. C. Wenzel, R. M. Williamson, C. Grünanger, J. Xu, K. Gerth, R. A. Martinez, S. J. Moss, B. J. Carroll, S. Grond, C. J. Unkefer, R. Müller, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14325-14336.

1.4 GELDANAMYCIN

Geldanamycin (**7**) ist ebenfalls ein benzenisches Ansamycin-Derivat, welches als 19-gliedriges Makrolactam vorliegt (Abbildung 9). Es gibt mehrere strukturell eng verwandte Naturstoffe, welche sich nur in wenigen funktionellen Gruppen vom Geldanamycin unterscheiden; so das Macbecin (**18** und **19**)²⁸, das Reblastin (**20**)²⁹ und das Herbimycin (**21-23**)³⁰ (Abbildung 9).

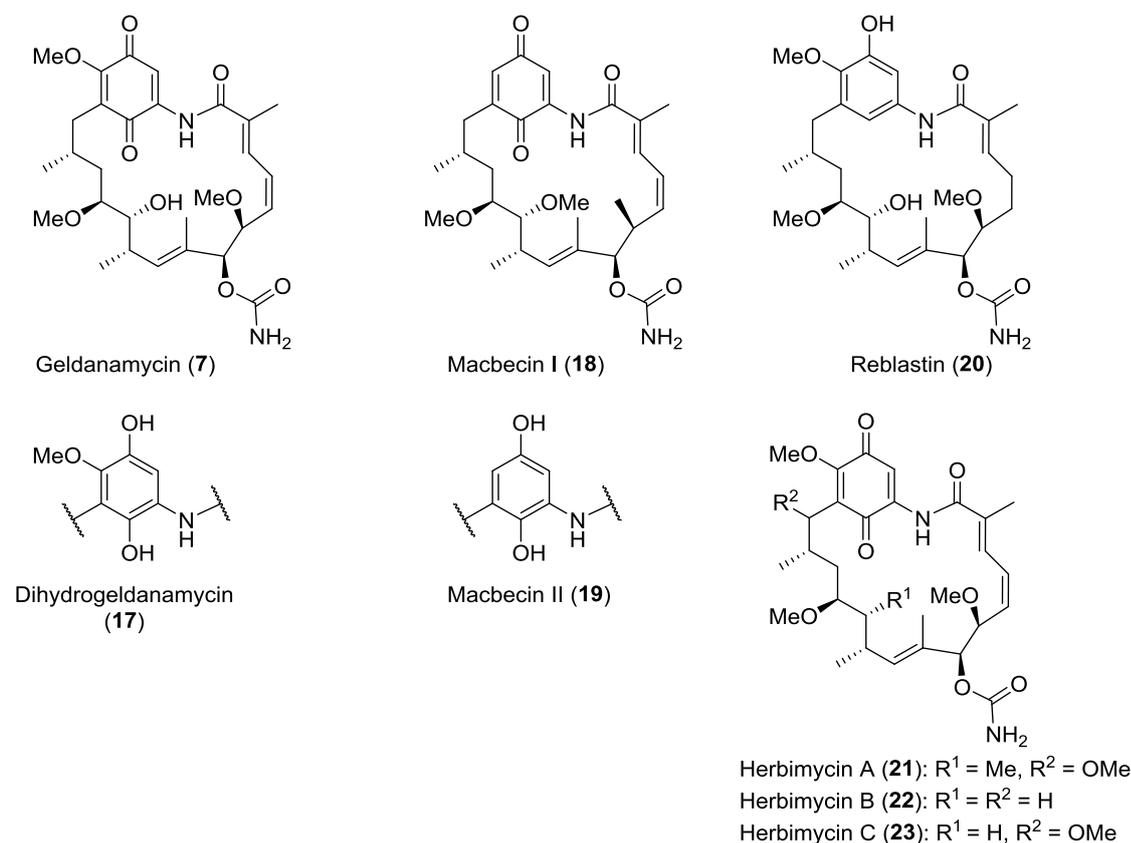


Abbildung 9: Geldanamycin (**7**) und verwandte Naturstoffe.

Geldanamycin weist neben einigen biologischen Aktivitäten gegen Mikroorganismen vor allem eine starke Inhibition des Wachstums bei Krebszelllinien im nanomolaren Bereich auf.³¹

Geldanamycin wurde 1970 von DEBOER aus dem Bodenbakterium *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* var. *nova* isoliert,³² die Aufklärung der Konstitution erfolgte von OLSEN im gleichen Jahr.³³ Geldanamycin ist chemisch nicht stabil, was v. a. auf das Benzochinonsystem zurückgeht. So sind

²⁸ M. Muroi, K. Haibara, M. Asai, *Tetrahedron* **1981**, *37*, 1123-1130.

²⁹ a) T. Takatsu, M. Ohtsuki, A. Muramatsu, R. Enokita, S. I. Kurakata *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 1310-1312; b) K. Patel, M. Piogentini, A. Rascher, Z.-Q. Tian, G. O. Buchanan, R. Regentin, Z. Hu, C. R. Hutchinson, R. McDaniel, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1625-1633.

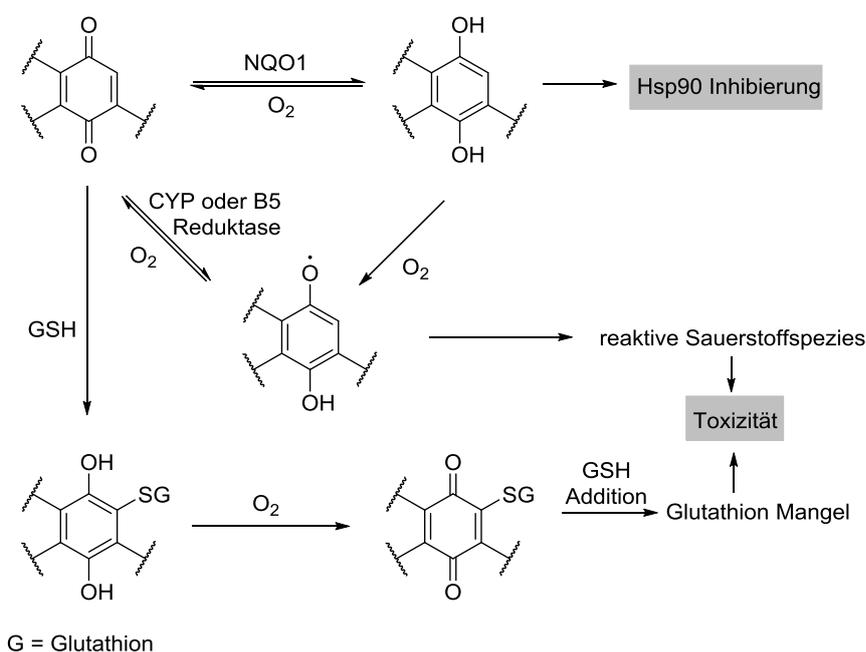
³⁰ a) S. Omura, Y. Iwai, Y. Takahashi, N. Sadakane, A. Nakagawa, H. Oiwa, Y. Hasegawa, T. Ikai, *J. Antibiot.* **1979**, *32*, 255-261; b) L. Z. Lin, G. Blasko, G. A. Cordell, *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 1161-1165.

³¹ J. G. Supko, R. L. Hickmann, M. R. Grever, L. Malspeis, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1995**, *36*, 305-315.

³² C. DeBoer, P. A. Meulman, R. J. Wunk, D. H. Peterson, *J. Antibiot.* **1970**, *23*, 442-447.

³³ K. Sasaki, K. L. Rinehart, G. Slomp, M. F. Grostic, E. C. Olsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 7591-7593.

Geldanamycin-Derivate bei denen keine Chinonsystem gebildet werden kann,³⁴ oder das natürliche Reblastin, deutlich stabiler bei vergleichbarer biologischer Aktivität. Auch die schlechte Wasserlöslichkeit und die Hepatotoxizität der Verbindung, ebenfalls mit der Benzochinoneinheit assoziiert, sorgten dafür, dass Geldanamycin selbst nicht als Medikament eingesetzt wurde.³¹ Die hohe Lebertoxizität wird auf zwei Effekte zurückgeführt: Durch Bildung einer reaktiven Sauerstoffspezies bei einer ein-Elektronen Reduktion und dem Verbrauch von Glutathion in der Leber durch MICHAEL Addition (Schema 3). Die eigentlich biologisch aktive Form des Geldanamycin ist das Dihydrogeldanamycin, welches eine stark erhöhte Affinität zu Hsp90, hat verglichen mit Geldanamycin, und *in vivo* durch Reduktion entsteht.³⁵



Schema 3: Vorgeschlagener Mechanismus zur Hepatotoxizität von Geldanamycin.³⁵

³⁴ S. Eichner, Dissertation, *Darstellung neuer Ansamycin-Derivate über Mutasythese in Kombination mit Semisynthese*. 2011, Leibniz Universität Hannover.

³⁵ W. Guo, P. Reigan, D. Siegel, D. Ross, *Drug Metab. Dispos.* 2008, 36, 2050-2057.

1.4.1 BIOLOGISCHE AKTIVITÄT

Studien zu den SAR von Geldanamycin zeigte eine große Toleranz von strukturellen Veränderungen am Grundgerüst von Geldanamycin bei ähnlicher biologischer Aktivität (Abbildung 10).³⁶

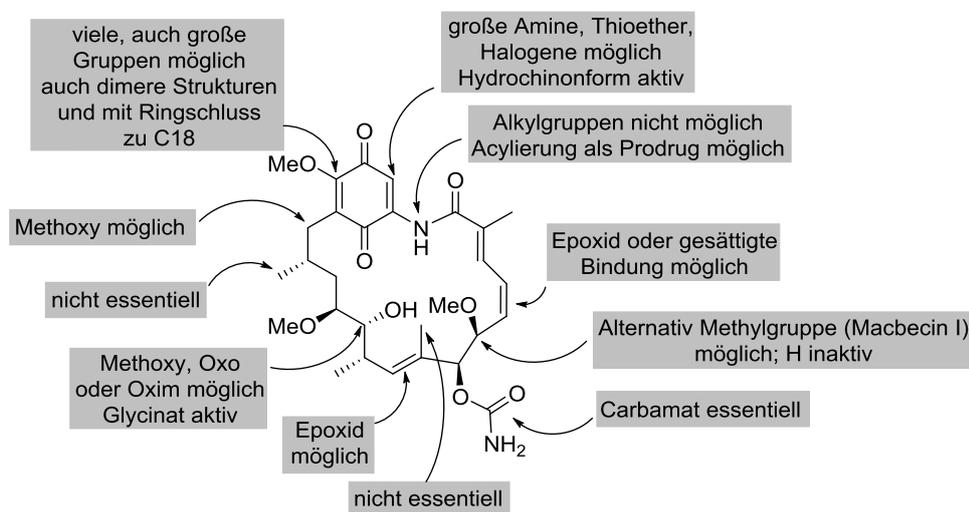


Abbildung 10: SAR von Geldanamycin.

Geldanamycin bindet in der ATP-Bindetasche von Hsp90 (Abbildung 11). Während der genaue Bindungsmodus des Ansamitocins nach wie vor nicht geklärt ist, wurde die Bindungsstelle des Geldanamycins am Hsp90 kristallographisch als Protein-Ligand Cokristall von PAVLETICH identifiziert. Die Konformation in der Bindungstasche unterscheidet sich dabei stark vom Molekül in organischen Lösemitteln und nimmt verglichen mit diesen eine sehr kompakte, thermodynamisch ungünstige, Konformation (etwa $9 \times 9 \times 9 \text{ \AA}$) ein.³⁷

³⁶ J. L. Janin, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7503-7510.

³⁷ C. E. Stebbins, A. A. Russo, C. Schneider, N. Rosen, F. U. Hartl, N. P. Pavletich, *Cell* **1997**, *89*, 239-250.

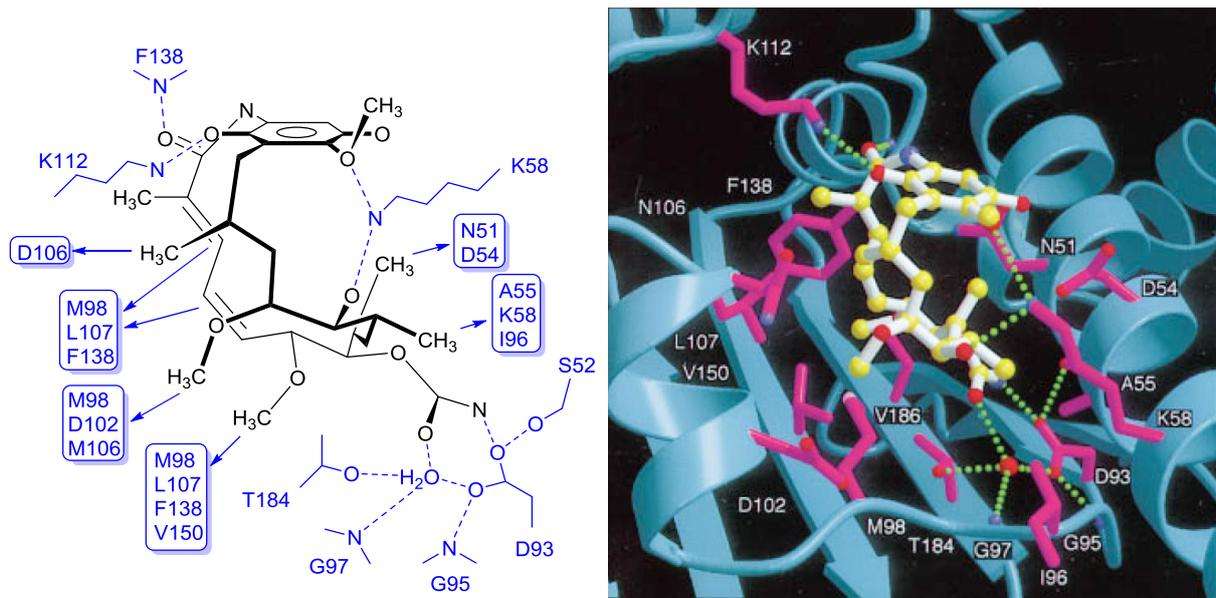


Abbildung 11: Schematischer Bindungsmodus des Dihydrogeldanamycins in der ATP Bindungstasche von Hsp90 (ohne Protonen dargestellt).³⁷

Hsp90 gehört zur Klasse der Hitzeschockproteine, welche wiederum eine Klasse von Chaperonen sind. Die Expression dieser Moleküle, die für die Faltung anderer Proteine mitverantwortlich sind, wird vor allem durch Zellstress wie z. B. Hitze oder Hypoxie verstärkt.

Das Monomer von Hsp90 wiegt 90 kDa, liegt im Cytosol vorwiegend als Dimer vor, und ist in drei funktionelle Domänen aufgeteilt: Die *N*-terminale Domäne, welche die ATP Bindestelle enthält,³⁸ die durch Geldanamycin blockiert wird, eine Mitteldomäne (MD), welche für die Bindung der *client* Proteine, d. h. von Hsp90 abhängige, ungefaltete Proteine, verantwortlich ist und die ATP Hydrolyse unterstützt,³⁹ und die *C*-terminale Domäne (CTD) welche für die Dimerisierung des Proteins als auch die Bindung von Cochaperonen verantwortlich ist.⁴⁰ Es gibt verschiedene Isoformen von Hsp90. Im Cytosol des Menschen gibt es Hsp90 α und Hsp90 β , wobei Erstere in Tumorzellen überexprimiert wird.

Die eigentliche Faltung der *client* Proteine wird durch verschiedene Cochaperone (HIP, HOP, Hsp70, Hsp40, Aha1, Cdc37) mediiert, wodurch *client* Proteine zum intermediären Komplex aufgeladen werden können. Bei der Bindung von ATP an Hsp90, dissoziieren die Cochaperone und werden durch andere Proteine wie p23/Sba1 und Immunophiline ersetzt, um den maturierten Komplex zu formen, welcher die Faltung durchführt und dann wieder dissoziiert. Geldanamycin oder andere Inhibitoren, die an der ATP Bindestellen wirken, können anstelle von ATP binden, wodurch der maturierte

³⁸ C. Prodromou, S. M. Roe, R. O'Brien, J. E. Ladbury, P. W. Piper, L. H. Pearl, *Cell* **1997**, *90*, 65-75

³⁹ a) P. Meyer, C. Prodromou, B. Hu, C. Vaughan, S. M. Roe, B. Panaretou, P. W. Piper, L. H. Pearl, *Mol. Cell* **2003**, *11*, 647-658; b) S. Sato, N. Fujita, T. Tsuruo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 10832-10837.

⁴⁰ a) S. F. Harris, A. K. Shiau, D. A. Agard, *Structure* **2004**, *12*, 1087-1097; b) Y. Minami, Y. Kimura, H. Kawasaki, K. Suzuki, I. Yahara, *Mol. Cell. Biol.* **1994**, *14*, 1459-1464.

Komplex nicht mehr gebildet werden kann und das *client* Protein stattdessen durch Ubiquitinierung zum Abbau im Proteasom prozessiert wird (Abbildung 9).⁴¹

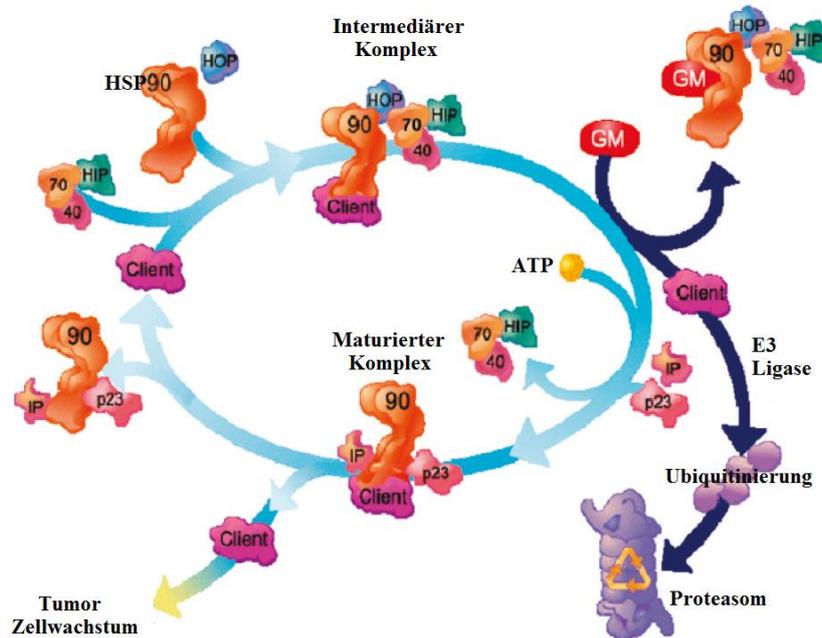


Abbildung 12: Wirkweise von Geldanamycin (GM) auf Hsp90 Aktivität; HIP = Hsp70-interacting-protein; HOP = Hsp70/Hsp90 organizing protein; IP = Immunophilin. Cdc37 und Aha1 sind hier nicht gezeigt.⁴¹

Obwohl Hsp90 mehr als 600 identifizierte *client* Proteine besitzt, legen empirische Studien nahe, dass onkogene Proteine stärker abhängig von Hsp90 sind als *house-keeping* Proteine. Dadurch wird Hsp90 ein wirksames Antitumortarget, vor allem da es für die korrekte Faltung gleich mehrerer Onkogene verantwortlich ist und eine Inhibition die Resistenzbildung erschwert. Unter den *client* Proteinen befinden sich verbreitete Onkogene wie z. B. mutiertes p53, Raf-1-, Akt, cdk4, Src, Flt-3, hTert, c-Met und VEGF.⁴² Die höhere Sensibilität von Tumorzellen wird unter anderem darauf zurückgeführt, dass Cochaperone in Krebszellen verstärkt exprimiert werden, was die Hsp90-Aktivität erhöht und die Zelle gleichzeitig für Inhibitoren anfälliger macht.⁴³

Für eine ausführliche Wirkungsweise von Hsp90 als Antitumortarget in Wechselwirkung mit Geldanamycin sei auf eine Übersicht von LEE⁴¹ und KIRSCHNING⁴⁴ verwiesen.

⁴¹ 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.

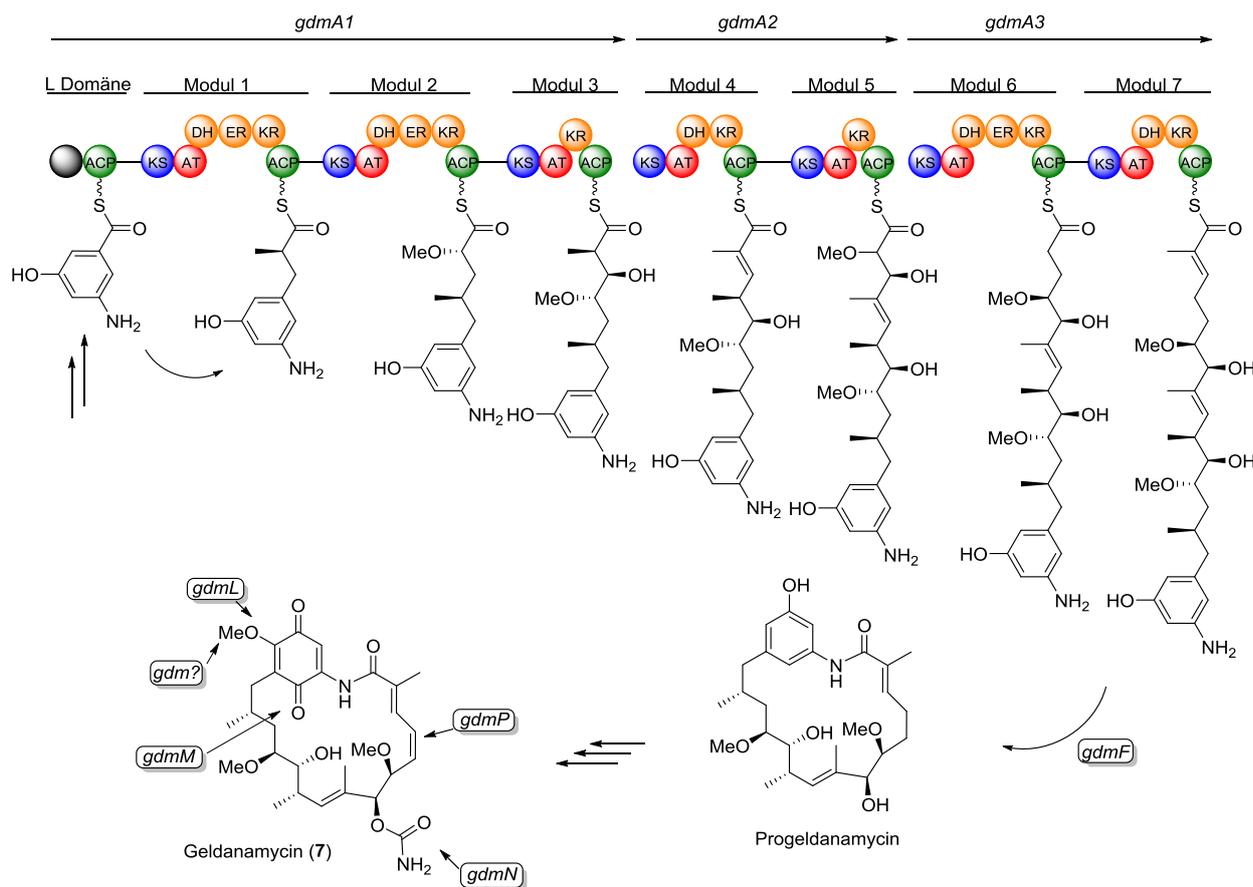
⁴² a) S. Messaoudi, J. F. Peyrat, J. D. Brion, M. Alami, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2008**, 8, 761-782; b) A. Sawai, S. Chandarlapatay, H. Greulich, M. Gonen, Q. Ye, C. L. Arteaga, W. Sellers, N. Rosen, D. B. Solit, *Cancer Res.* **2008**, 68, 589-596.

⁴³ A. Kamal, L. Thao, J. Sensintaffar, L. Zhang, M. F. Boehm, L. C. Fritz, F. J. Burrows, *Nature* **2003**, 425, 407-410.

⁴⁴ J. Franke, S. Eichner, C. Zeilinger, A. Kirschning, *Nat. Prod. Rep.* **2013**, 30, 1299-1323.

1.4.2 BIOSYNTHESE

Wie Ansamitocin P-3 (**8**; siehe 1.3.2) handelt sich auch bei Geldanamycin um ein Polyketid des Typs I. AHBA wird analog über einen Shikimisäure-ähnlichen Biosyntheseweg hergestellt und auf den MEK bestehend aus drei Megaenzymen geladen die über sieben Module verlängert wird und anschließend mit *gdmF* zum Progeldanamycin zyklisiert werden. Fünf postketidische Enzyme – von denen eines bis dato noch nicht identifiziert wurde – prozessieren dieses zum Naturstoff Geldanamycin (**7**; Schema 4).⁴⁵



Schema 4: Biosynthese von Geldanamycin (**7**).

In der Biosynthese von Geldanamycin wird dabei an zwei Stellen das seltene Methoxymalonyl eingebaut. Der Aufbau der ungewöhnlichen (*Z*)-konfigurierten Doppelbindung erfolgt postketidisch aus der gesättigten Alkylkette.

⁴⁵ a) A. Rascher, Z. Hu, N. Visnawathan, 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.

1.5 MUTASYNTHESE

Um Derivate von Naturstoffen zu gewinnen, kann prinzipiell auf drei unterschiedliche Methoden zurückgegriffen werden: a) Totalsynthese, b) Semisynthese und c) die Manipulation der Biosynthese. Während die Totalsynthese das größte Potential besitzt, die Struktur effektiv, auch im Grundgerüst, zu ändern erweist sie sich häufig als zu aufwendig, um praktikabel zu sein. Die Semisynthese hingegen ermöglicht meist nur eine begrenzte Manipulation von Naturstoffen. Neben diesen beiden rein chemischen Methoden besteht die Möglichkeit, die Biosyntheseleistung von Naturstoffproduzenten selbst zu verwenden. Um hier eine Derivatisierung zu erreichen, hat sich in der Vergangenheit besonders die Mutasynthese hervorgetan.

Bei der Mutasynthese⁴⁶ handelt es sich prinzipiell um eine logische Erweiterung der sogenannten Vorläufer-dirigierten Biosynthese⁴⁷. Bei Letzterer werden Bausteine verfüttert, welche mit Intermediaten des Naturstoffs chemisch verwandt sind, sodass diese teilweise aufgenommen werden und theoretisch neben dem Naturstoff ein Derivat gewonnen werden kann. Hierbei ergibt sich häufig das Problem, dass die Ausbeuten des Derivates, falls der synthetische Baustein angenommen wird, nur sehr gering sind. Da die enzymatische Kaskade auf das natürliche Substrat zugeschnitten ist und dieses meist bevorzugt, kann es so schneller zu Detoxifizierungsprozessen des supplementierten Substrates kommen. Ein weiteres Problem ergibt sich daraus, dass Derivat und Naturstoff oft noch strukturell eng miteinander verwandt sind, sodass sich eine Reinigung und Trennung oft als kompliziert erweist.

Die Mutasynthese löst diese Probleme durch Verwendung von Mutanten der Naturstoffproduzenten die in einem Schritt ihrer Naturstoffbiosynthese gehemmt sind.⁴⁸ Diesen Blockmutanten fehlt folglich die Fähigkeit, den Naturstoff zu produzieren, da die Biosynthesemaschinerie bis auf ein Enzym ansonsten in der Regel intakt ist, lassen sich chemisch verwandte Intermediate, sogenannte Mutasynthone, supplementieren, welche aufgenommen werden und zu Naturstoffderivaten führen können. Diese Vorgehensweise vermeidet die Konkurrenz eines chemisch modifizierten Verläufers mit dem Natürlichen, wodurch theoretisch die Ausbeute höher sein sollte und sich die Reinigung einfacher gestalten sollte (Schema 5).⁴⁹ Konzeptionell eignet sich die Mutasynthese auch um Substratspezifität als auch die einzelne Schritte der Biosynthese nachzuvollziehen.^{26, 50}

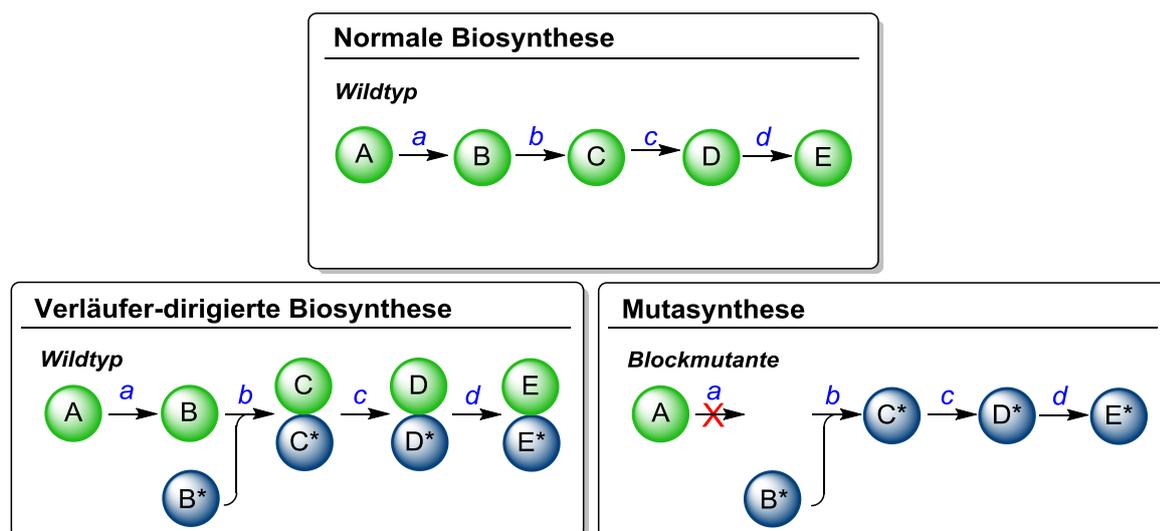
⁴⁶ W. T. Shier, K. L. Rinehart, D. Gottlieb, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **1969**, 63, 198-204.

⁴⁷ R. Thiercke, R. Rohr, *Nat. Prod. Rep.* **1993**, 10, 265-289.

⁴⁸ a) J. Kennedy, *Nat. Proc. Rep.* **2008**, 25, 25-34; b) S. Weist, R. Süßmuth, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, 68, 141-150.

⁴⁹ a) S. Kozhushkov, B. Zlatopolskiy, M. Brandl, P. Alvermann, B. Geers, A. de Meijere, A. Zeeck, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 854-863. b) B. Zlatopolskiy, A. Zeeck, A. De Meijere, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1525-1534. c) F. Ritacco, E. Graziani, M. Summers, T. Zabriskie, K. Yu, V. Bernan, G. Carter, M. Greenstein. *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, 1971-1976.

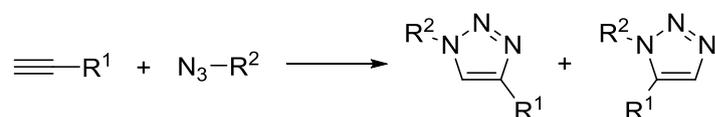
⁵⁰ I. Hartung, M. Rude, N. Schnarr, D. Hunziker, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11202-11203.



Schema 5: Schematische Darstellung des Mutasythesekonzepts verglichen mit der Verläufer-dirigierten Biosynthese und der natürlichen Biosynthese. a-d = Enzyme; A-D = Intermediate der Biosynthese; E = Naturstoff; B* = Mutasynthon; C*-D* = intermediäre Derivate; E* = Naturstoffderivat.

1.6 AZIDE UND AZIDREDUKTIONEN IN DER NATUR

Die Funktionalität der Azide⁵¹ erlebte in den letzten Jahren durch die Entdeckung der ‚Click‘ Reaktionsbedingungen⁵² für die HUISGEN Zyklisierung (Schema 6) eine Renaissance.



Schema 6: HUISGEN Zyklisierung.

Aufgrund der milden Reaktionsbedingungen und der großen Toleranz anderer Funktionalitäten, gilt die Reaktion deshalb auch als bioorthogonal. Oft dient die Funktionalität daher als Ausgangspunkt für *in vitro* und *in vivo* Konjugatchemie.⁵³

Bei Aziden handelt es sich um eine synthetische, vom Menschen geschaffene, funktionelle Gruppe, welche in dieser Form bisher nicht in der Natur entdeckt wurde. Es verwundert also nicht, dass die Natur kaum in der Lage ist, diese funktionelle Gruppe sinnvoll zu transformieren. Dies geht häufig mit

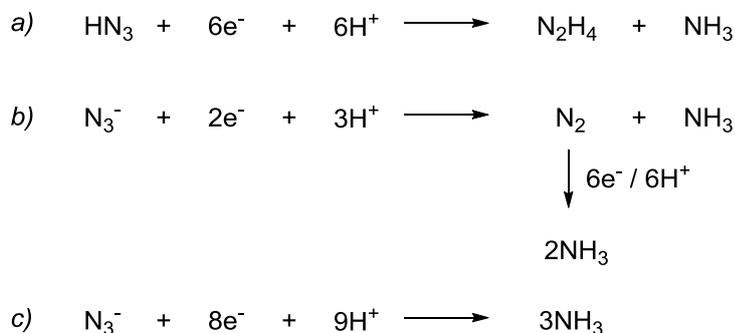
⁵¹ Für eine generelle Übersicht über Historie der Azide als auch modern Azidchemie siehe: S. Bräse, C. Gil, K. Knepper, V. Zimmermann, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5320-5374.

⁵² für Cu(I) Katalyse: a) V. V. Rostovtev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599; b) C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064; für Kupfer-freie Varianten: a) N. J. Agard, J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15046-15047; b) J. M. Baskin, C. R. Bertozzi, *QSAR Comb. Sci.* **2006**, *26*, 1211-1219.

⁵³ Für eine Übersicht über chemische Ligationstechniken siehe C. P. R. Hackenberger, D. Schwarzer, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 10182-10228. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 10030-10074; (b) S. S. van Berkel, M. B. van Eldijk, J. C. M. van Hest, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 8968-8989. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 8806-8827.

einer Toxizität einher: Natriumazid beispielsweise findet Einsatz als Bakteriostatikum, da es, ähnlich Kohlenmonoxid oder Cyanid, irreversibel an die Sauerstoffbindungsstelle der Cytochrom C-Oxidase bindet. Verdünnte Lösungen (01.-0.001 %) werden daher eingesetzt wo ein bakterielles Wachstum unerwünscht ist, so in der Mikro- und Molekularbiologie.

Es sind daher bis heute nur wenige Biotransformationen von Aziden bekannt. Ebenfalls kann davon ausgegangen werden, dass Transformationen, welche Azide involvieren, Nebenreaktionen der eigentlich ‚beabsichtigten‘ Reaktion eines Enzyms sind, welche durch Ähnlichkeit zum eigentlichen Substrat erfolgen. Die Vanadium- und Molybden- abhängigen Nitrogenasen beispielsweise, welche in Knöllchenbakterien elementaren Stickstoff fixieren, sind in der Lage neben, Stickstoff auch anorganisches Azid zu reduzieren (Schema 7). Ebenso sind einige Archaea zu dieser Transformation in der Lage.⁵⁴



Schema 7: Redoxprozesse von N_3 über Nitrogenasekatalyse.

Die Reduktion erfolgt dabei vermutlich über einen Ein-Elektronen Übertragungsmechanismus, welcher auch N_2 reduziert aber ebenso bei Aziden und Cyaniden funktioniert. Dabei ist neben Ammoniak auch Hydrazin als Produkt möglich (Schema 7, a).

Die Reduktion von organischen Aziden durch biologische Systeme ist bisher nur spärlich dokumentiert. Eine solche Reduktion mittels Lipasen ist unter Mikrowellenbestrahlung möglich. Die für ein Protein ungewöhnlichen Reaktionsbedingungen geben jedoch kaum Aufschluss über einen möglichen Mechanismus dieser Transformation, da unter anderem auch das Reduktionsmittel unbekannt ist.⁵⁵

⁵⁴ a) K. Fisher, M. J. Dilworth, W. E. Newton, *Biochemistry* **2006**, *45*, 4190–4198; b) J. M. Rivera-Ortiz, R. H. Burris, *J. Bacteriol.* **1975**, *123*, 537–545.

⁵⁵ S. Mazumder, D. D. Laskar, D. Prajapati, M. K. Roy, *Chem. Biodivers.* **2004**, *6*, 925-929.

Auch eine Reduktionen von Aziden mithilfe von *Saccharomyces cerevisiae* ist möglich. Da hier ein Ganzzellsystem für die Transformation verwendet wird, verbleibt auch hier sowohl das verantwortliche Enzym als auch der genaue Mechanismus der Reduktion unbekannt.⁵⁶

Die reduktive Metabolisierung in den sogenannten Mikrosomen – das sind Fragmente des Endoplasmatischen Reticulums aus höheren Lebewesen die künstlich im Labor erzeugt werden – unter anaeroben Bedingungen konnte bei Anwesenheit von NADPH nachgewiesen werden.⁵⁷

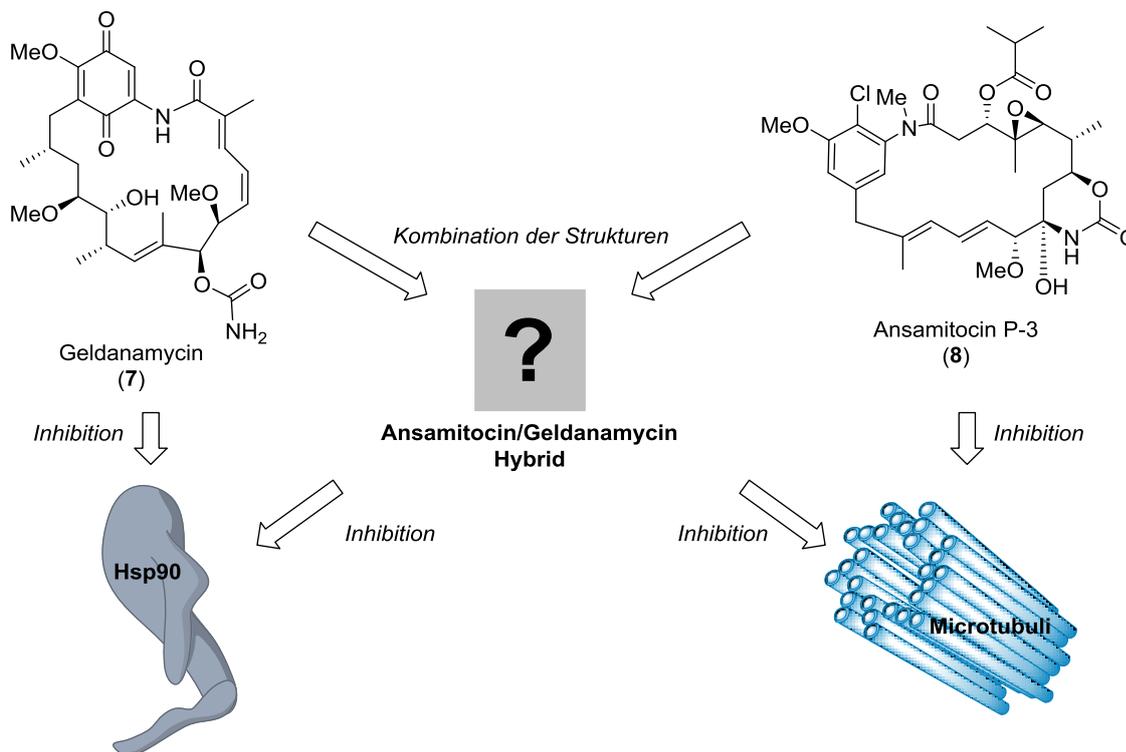
⁵⁶ A. Kamal, Y. Damayanthi, B. S. Narayan Reddy, B. Lakminarayana, B. S. Praveen Reddy, *Chem. Commun.* **1997**, 1015–1016. (b) A. Kamal, B. Laxminarayana, N. Lakshmi Gayatri, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 6871–6874.

⁵⁷ D. Nicholls, A. Gescher, R. J. Griffin, *Xenobiotica* **1991**, 935–943.

2 ZIELSETZUNG

2.1 SYNTHESE EINES HYBRIDDERIVATES

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein Hybridderivat zu entwickeln, welches sowohl Hsp90 als auch Microtubuli Polymerisation inhibiert. Um dies zu erreichen sollten die Struktur motive der verwandten Ansamycine, Geldanamycin und Ansamitocin miteinander kombiniert werden um ein Hybrid zu erhalten welches beide biologische Targets adressiert (Schema 8).



Schema 8: Konzept für ein Hybrid welches Hsp90 und Microtubuli Polymerisation inhibiert.

Um die eine Zielstruktur zu entwickeln wurden zunächst strukturelle Gemeinsamkeiten in Kombination mit den jeweiligen SAR der beiden Ansamycine betrachtet. Geldanamycin (7) und Ansamitocin P-3 (8) sind an sich bereits strukturell eng miteinander verwandt. Beide Ansamycine sind 19-gliedrige Makrolaktame welche über eine Anilingruppe geschlossen werden. Die für die Naturstoffe essentielle Carbamoyleinheit ist in beiden Fällen am Sauerstoff von C7 lokalisiert, auch tragen beide eine Methylgruppe an C14. Ein *syn*-1,2 Hydroxy-methoxy Strukturmotiv findet sich bei Geldanamycin an C11 und C12 und bei Ansamitocin an C9 und C10. Auch die Position 6 ist vergleichbar und zwar wenn man die SAR von Geldanamycin berücksichtigt. Diese zeigen, dass an C6 anstatt einer Methoxyfunktion auch eine Methylgruppe möglich ist, so wie sie im Naturstoff Macbecin I anzutreffen ist (Abbildung 13).

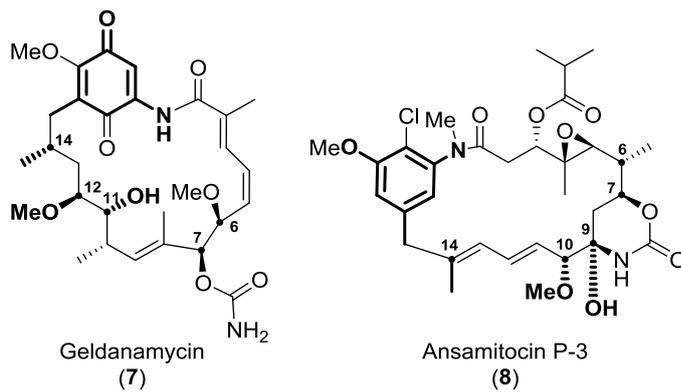


Abbildung 13: Strukturen von Geldanamycin und Ansamitocin P-3; verwandte Strukturmodule sind fett hervorgehoben.

Da der genaue Bindungsmodus von Ansamitocin P-3 unbekannt war, sollte das Grundgerüst für das Hybrid aus Ansamitocin stammen, um eine ausreichende Affinität zu Tubulin zu bieten, und mit strukturellen Veränderungen aus Geldanamycin versehen werden.

Für die Ermittlung dieser, wurde der Bindungsmodus von Dihydrogeldanamycin³⁷ genauer betrachtet. Aus der Kristallstruktur wird ersichtlich, dass der Aromat des Ansamycins durch zwei Wasserstoffbrückenbindungen fixiert ist, welche von Sauerstoffatomen an der zwei und sechs Position im Aromaten mit Lysin in Hsp90 ausgebildet werden (Abbildung 14). Dadurch bildet der Aromat eine Art Deckel der Bindungstasche.

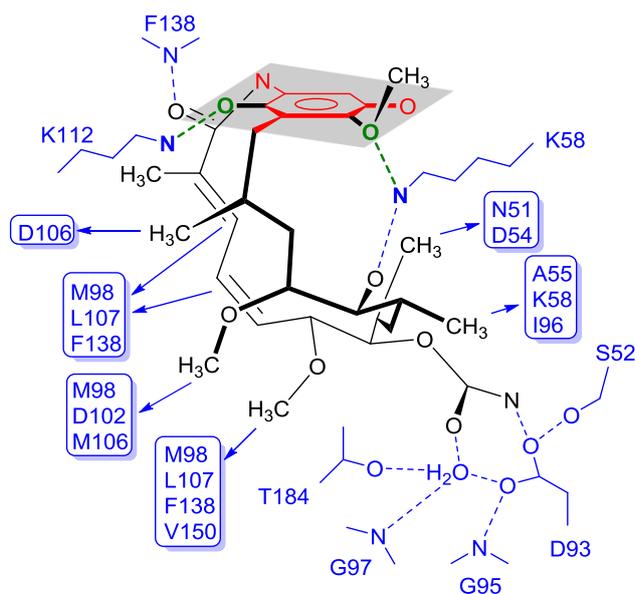


Abbildung 14: Bindungsmodus von Geldanamycin an Hsp90; die AHBA Einheit ist rot hervorgehoben, am Bindungsmodus beteiligte Einheiten des Aromaten sind grün gehalten.

Diese Interaktionen sind mit dem Ansamitocin Grundgerüst nicht möglich da beide aromatischen Position unsubstituiert vorliegen, weshalb entschieden wurde, die Dihydro-Form der aromatischen Einheit aus Geldanamycin in Ansamitocin P-3 zu integrieren (**24**, Abbildung 15) und zu überprüfen ob eine zusätzliche Affinität für Hsp90 entsteht.

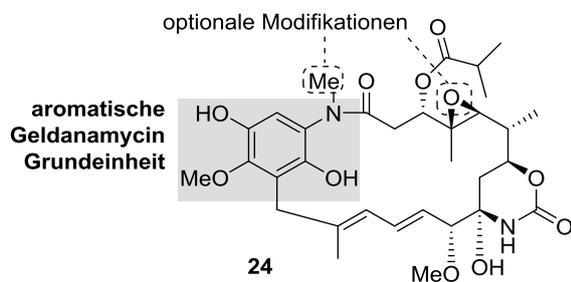


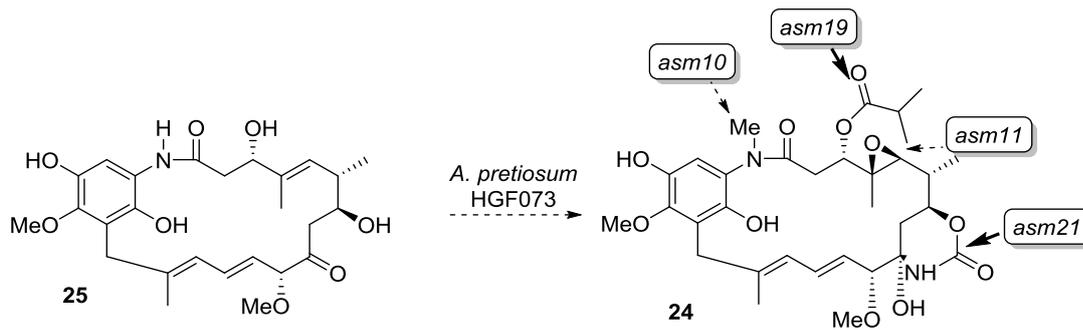
Abbildung 15: Zielverbindung **24** der geplanten Hybridsynthese.

In der Synthese sollte dabei kein rein totalsynthetischer Ansatz gewählt werden, sondern essentielle Strukturelemente durch Mutasynthese eingeführt werden. Da eine Mutasynthese mit nur der Verfütterung des Geldanamycin Aromaten an *A. pretiosum* HGF073, der Δ AHBA Blockmutante von Ansamitocin, nicht möglich war – der Produzent toleriert keine Substitution in zwei und sechs Position am Aromaten beim Einbau – und die Verfütterung eines intermediären Ketids nicht erfolgsversprechend war – solche Ketide werden nur sehr bedingt auf die PKS aufgeladen – wurde entschieden, die post-PKS Schritte des Organismus zu nutzen, indem ein Proansamitocin-Derivat verfüttert werden sollte (Schema 9). Dabei sollten vor allem die Carbamoylierung von *asm21* und die Veresterung von *asm19* durchgeführt werden, da diese essentiell für die biologische Aktivität sind. Aus vorherigen Arbeiten von TAFT⁵⁸, KNOBLOCH⁵⁹ und HARMROLFS⁶⁰ war bekannt, dass diese biosynthetischen Transformationen die wahrscheinlichsten sind. Eine mutasynthetische Transformation des Aromaten wurde aufgrund der unterschiedlichen Struktur und Substitution nicht erwartet.

⁵⁸ F. Taft, Dissertation, *Studien zur Ansamitocin-Biosynthese in Actinosynnema pretiosum / Synthese Tumorgerichteter Ansamitocin-Derivate*. 2009, Leibniz Universität Hannover.

⁵⁹ T. Knobloch, Dissertation, *Studien zur Flexibilität der Ansamitocin-Biosynthese in Actinosynnema pretiosum*. 2010, Leibniz Universität Hannover.

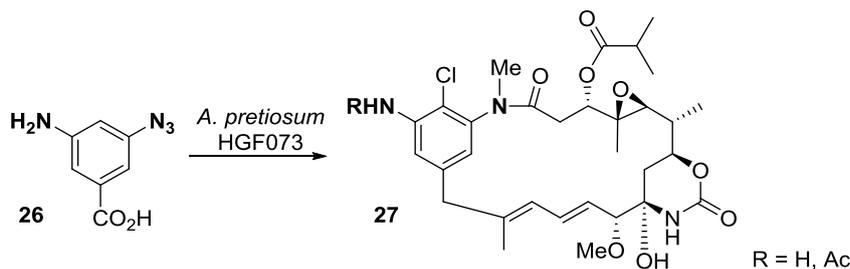
⁶⁰ K. R. Harmrolfs, Dissertation, *Chemische und chemoenzymatische Syntheszugänge zu neuen Ansamitocinderivaten*. 2010, Leibniz Universität Hannover.



Schema 9: Geplante Mutasynthese von Proansamitocinderivat **25**.

2.2 STUDIEN ZUR IDENTIFIKATION DER UNGEWÖHNLICHEN AZIDREDUKTASEAKTIVITÄT IN *A. PRETIOSUM*

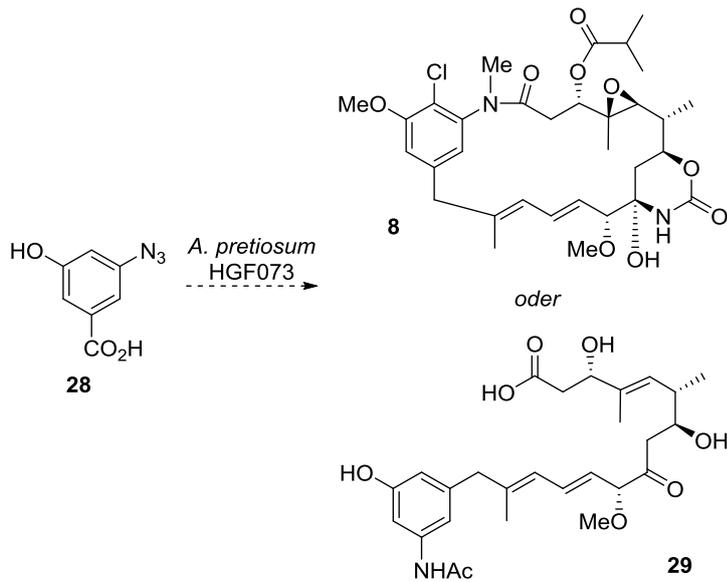
Im Rahmen der Arbeiten zur Darstellung von Ansamitocinkonjugaten entdeckte MANCUSO eine ungewöhnliche Reduktion bei der Verfütterung des Mutasynthons **26** zum Anilin **27** (Schema 10).



Schema 10: Beobachtung von MANCUSO im Zuge mutasynthetischer Experimente mit *A. pretiosum* HGF073.

Da diese Art der Biotransformation eine kaum bekannte war, sollte diese verifiziert und genauer untersucht werden. Sowohl der Zeitpunkt der Azidreduktion im Rahmen der Biosynthese sollte erörtert werden, als auch nach potentiellen Reduktasen, welche diese Reaktion katalysieren, gesucht werden.

Im Rahmen der Untersuchungen sollten zunächst Supplementierungsexperimente durch ausgewählte Mutasynthone das Ergebnis verifizieren als auch den groben Zeitpunkt (vor dem Ringschluss oder erst im Anschluss) der Reduktion. Als Mutasynthon, welches beide Ziele erreichen sollte wurde 3-Azido-5-hydroxybenzoesäure (N_3 HBA, **28**) gewählt, da hier eine Zyklisierung zu Ansamitocin P-3 ohne vorherige Reduktion nicht möglich ist (Schema 11).



Schema 11: Geplante Verfütterung von N_3 HBA mit den beiden denkbaren Produkten im Falle einer Azidreduktion.

Weitere Experimente zur Bestimmung, dass es sich im vorliegenden Fall nicht um eine unkatalysierte Hintergrundreaktion im Cytosol des Organismus handelt, sollten durchgeführt werden. Ferner sollten diese durch molekularbiologische und bioinformatische Techniken zur Suche nach dem möglichen Enzym für eine derartige Reaktion erweitert werden.

Die Verfütterung weiterer Mutasyntone sollte Aufschluss über die Flexibilität der Azidreduktaseaktivität geben.

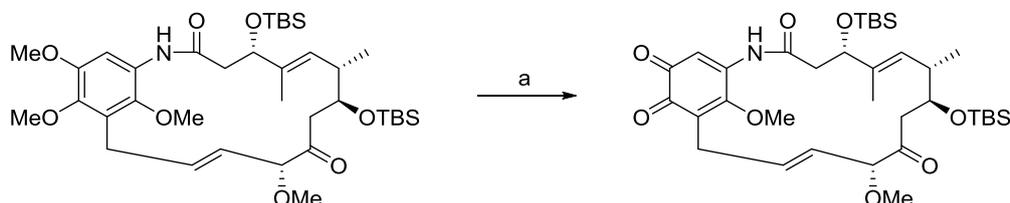
3 BESCHREIBUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE

3.1 SYNTHESE EINES HYBRIDDERIVATES

3.1.1 VORARBEITEN

Zu dem anvisierten Ansamycin-Hybridderivat gab es zu Beginn der Promotion noch keine Synthesestudien, die dem Autor bekannt gewesen wären. Aufgrund der Struktur des Zielmoleküls können als wichtige Vorarbeiten die Totalsynthese von Geldanamycin von PANEK⁶¹ sowie die in der Gruppe gesammelten Erfahrungen von FRENZEL, BRÜNJES, MEYER und HARMROLFS gelten.

Synthetische Studien am „kleinen Progeldanamitocin“, einem verkleinerten Hybridderivat aus Geldana- und Ansamitocin, zeigten die Problematik der Schutzgruppen für die Chinoneinheit. Um eine hinreichend zuverlässige Synthese zu gewährleisten, wurden Methylgruppen zum Schutz des Hydrochinons gewählt. Analog zu Arbeiten von ANDRUS⁶² zeigte sich aber hier, dass die selektive Oxidation zum *para*-Chinon nicht möglich war, sondern stets eine Oxidation zum *ortho*-Chinon erfolgte (Schema 12).⁶³



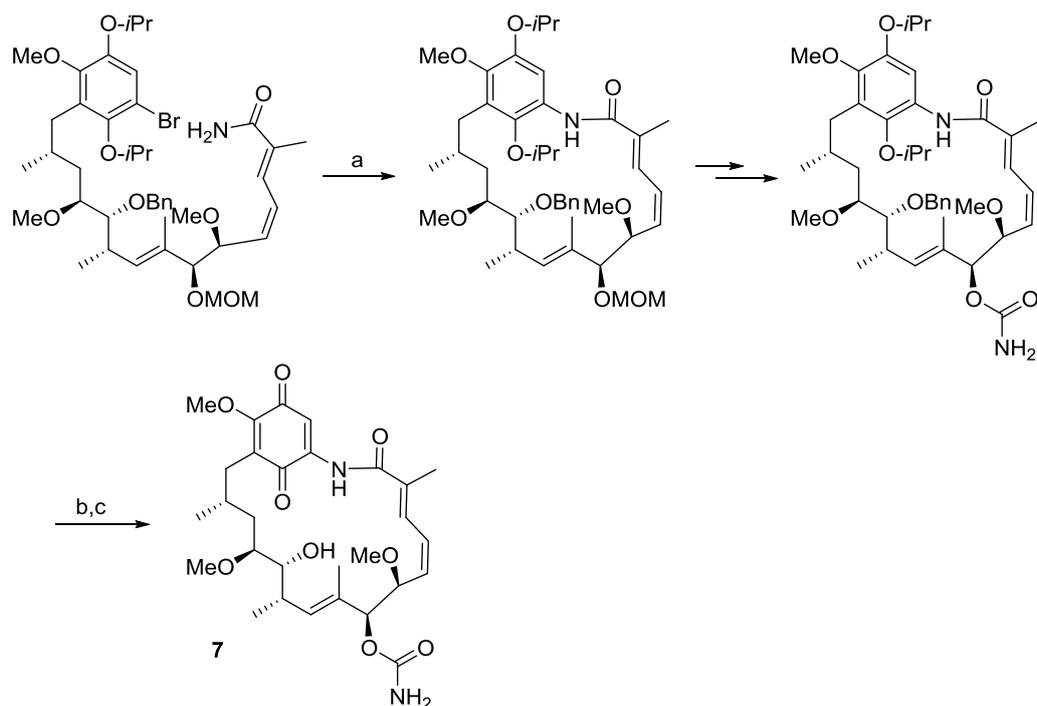
Schema 12: Oxidation des „kleinen Progeldanamitocins“ nach MEYER. Bedingungen: a) CH₃CN, (NH₄)₂Ce(NO₃)₆, 71 %.

In der Totalsynthese von Geldanamycin⁶¹ verwendete PANEK Isopropylether als Schutzgruppe für das Hydrochinon, welches im letzten Schritt selektiv mit AlCl₃ freigesetzt und mit Pd/C, sowie Luftsauerstoff in die Chinonform transformiert wurde (Schema 13). Ebenfalls interessant ist die Lactamisierung über eine GOLDBERG Reaktion, da Arbeiten in der Arbeitsgruppe von KIRSCHNING gezeigt hatten, dass eine direkte Lactamisierung mit Anilinen, aufgrund der verringerten Nukleophilie der Aminogruppe am Aromaten, häufig nicht zufriedenstellend verläuft.

⁶¹ H.-L. Qin, S. Panek, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2477-2479.

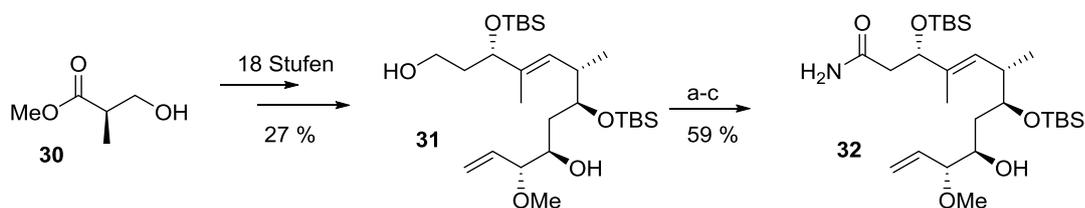
⁶² M. B. Andrus, E. L. Meredith, E. J. Hicken, B. L. Simmons, R. R. Glancey, W. Ma, *J. Org. Chem.* **2008**, *68*, 8162-8169.

⁶³ A. Meyer, Dissertation, *Chemische und chemoenzymatische Studien zu hybriden Ansamycin-Antibiotika / Synthese von Proansamitocin*, **2006**, Leibniz Universität Hannover.



Schema 13: Ausschnitt aus der Totalsynthese von Geldanamycin (**7**) nach PANEK. Reaktionsbedingungen: a) CuI, DMEDA, K_2CO_3 , PhMe, $110\text{ }^\circ\text{C}$, 81 %; b) i) $AlCl_3$, Anisol, CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$; ii) 10 % Pd/C, EtOAc, Luft, 55 % über 2 Stufen.

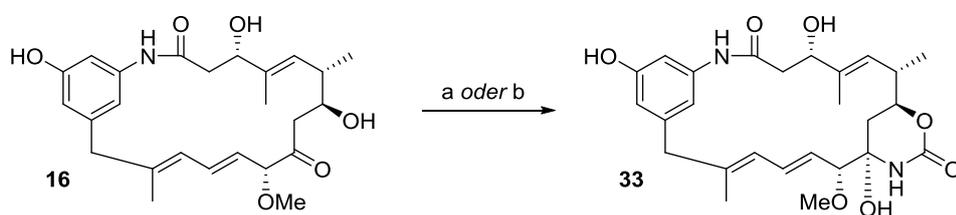
Neben den Totalsynthesen wurden in der Gruppe KIRSCHNING auch andere Synthesen erarbeitet, welche für die geplante Ansamycinsynthese hilfreich sein sollten. Basierend auf den Arbeiten von FRENZEL und BRÜNJES⁶⁴ entwickelte HARMROLFS eine Synthese zum Ostfragment **32**.⁶⁰ Dabei wurde in einer linearen Synthese von 18 Stufen (*R*)-Roche Ester (**30**) in Alkohol **31** übergeführt. Oxidation und Reaktion mit Ammoniak nach Aktivierung als gemischtes Anhydrid ergaben Ostfragment **32** in insgesamt 16 % Ausbeute über 21 Stufen.



Schema 14: Synthese des Ostfragments **32** nach HARMROLFS, FRENZEL und BRÜNJES, ausgehend von Roche Ester **30**. Bedingungen: a) DMP, $NaHCO_3$, CH_2Cl_2 , RT, 1.5 h; b) $NaClO_2$, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 2-Methyl-2-buten, *t*BuOH/ H_2O , RT, 1 h, 76 % über 2 Stufen; c) Et_3N , EtOCOCl, CH_2Cl_2 , $-20\text{ }^\circ\text{C}$, 45 min, dann $NH_3(g)$, 77 %.

⁶⁴ T. Frenzel, M. Brünjes, M. Quitschalle, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 135-138.

Ebenfalls als wichtige Vorarbeiten für die geplante Synthese können die mutasynthetischen Experimente von EICHNER⁶⁵ und die enzymatischen Arbeiten von HEUTLING⁶⁶ aus der Arbeitsgruppe KIRSCHNING angesehen werden (Schema 15).



Schema 15: Mutasynthetische oder enzymatische Transformation von Proansamitocin (**16**) nach EICHNER und HEUTLING. a) K390-61-1, GPMd, 28 °C, 21 %; b) Zellfreier Extrakt *A. pretiosum* HGF073, Li₂Carbamoylphosphat, Na₂ATP, MgCl₂, Tris-HCl pH 7.4; bisher nur µg Maßstab.

Die Ergebnisse zeigen, dass das Proansamitocin entweder die Supplementierung an die Blockmutante des Geldanamycin Produzenten *S. hygroscopicus* K390-61-1 zur stereoselektiven Carbamoylierung in der gewünschten Position führt, oder ein Umsatz mit dem zellfreien Extrakt des Organismus *A. pretiosum* HGF073. Falls eine direkte mutasynthetische Transformation mit *A. pretiosum* HGF073 fehlschlägt, bieten sich diese Methoden an chemoselektiv das zyklische Carbamat einzuführen.

Eine prinzipielle Mutasynthese von Proansamitocin mit *A. pretiosum* HGF073 wurde von MEYER bereits durchgeführt, jedoch konnten keine präparativen Mengen des Ansamitocin P-3 isoliert werden.⁶⁷

3.1.2 RETROSYNTHESE

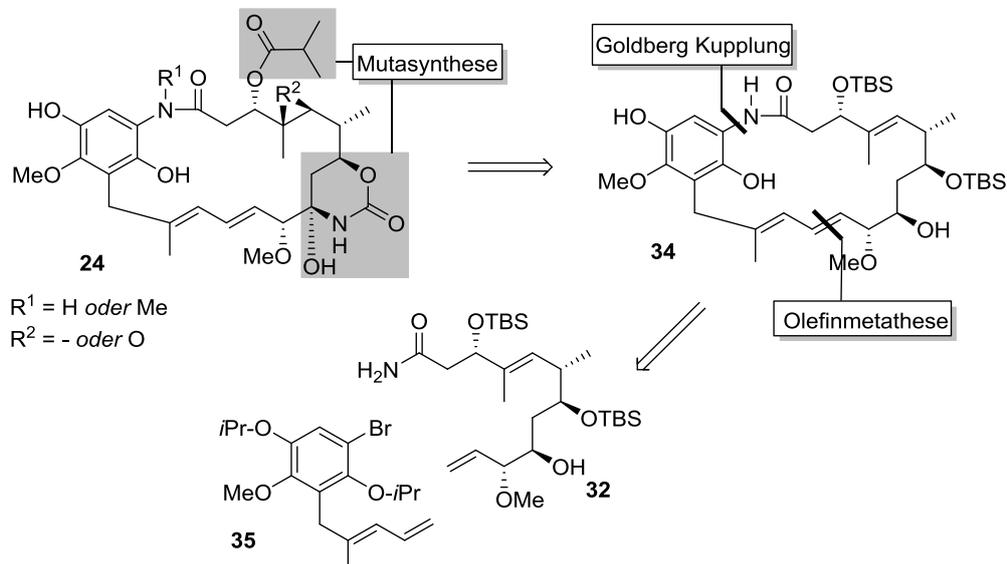
Die finalen Funktionalisierungen des Makrolactam-Rings sollten falls möglich mutasynthetisch erfolgen und von den post-PKS Enzymen von *A. pretiosum* übernommen werden. Für die weitere Retrosynthese dieses Moleküls sollte auf die aus den Vorarbeiten gewonnenen Erfahrungen zurückgegriffen werden (siehe 3.1.1). Dementsprechend erfolgten die Schnitte zu dem literaturbekannten Ostfragment **32** und dem Westfragment **35**, welches den Aromaten und die zum Aromaten dekonjugierte Dieneinheit enthält. Mit dieser Aufteilung wurde die sehr elektronenreiche, penta-substituierte und vermutlich oxidationsempfindliche aromatische Einheit vom Aufbau der Stereochemie im Ostfragment entkoppelt.

⁶⁵ S. Eichner, Dissertation, *Darstellung neuer Ansamycin-Derivate über Mutasynthese in Kombination mit Semisynthese*. 2011, Leibniz Universität Hannover

⁶⁶ A. Heutling, A. Kirschning, unveröffentlichte Ergebnisse.

⁶⁷ A. Meyer, M. Brünjes, F. Taft, T. Frenzel, F. Sasse, A. Kirschning, *Org. Lett.* 2007, 9, 1489-1492.

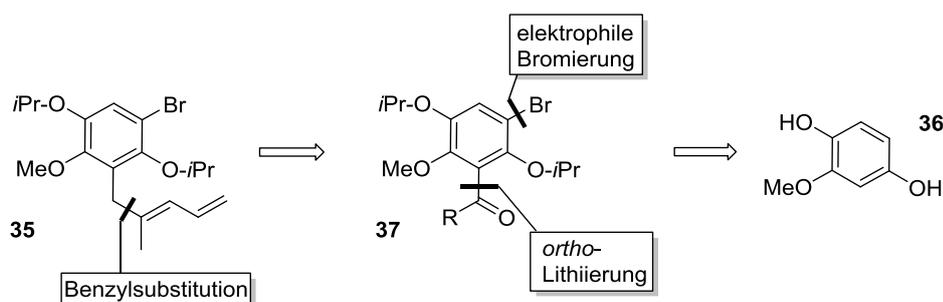
Die Knüpfung der Amidbindung sollte, statt über eine klassische Lacatmisierung, über eine GOLDBERG Reaktion erfolgen, womit die mangelnde Nukleophilie des Anilins umgangen werden sollte. Der südliche Schnitt sollte über eine Olefinmetathese zwischen der Dieneinheit und dem terminalen Olefin erfolgen (Schema 16).



Schema 16: Geplante Retrosynthese von 24.

3.1.3 SYNTHESE DES WESTFRAGMENTES

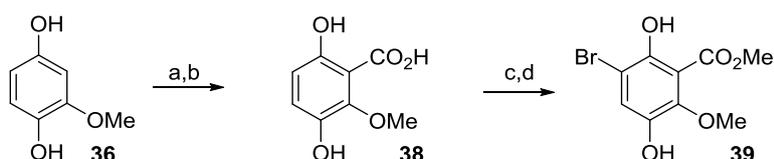
Das Westfragment 35 sollte zunächst durch Dekorierung des Aromatensystems über *ortho* Lithiierung (Schema 14) und elektrophile Bromierung ausgehend von 2-Methoxyhydrochinon (36) erfolgen. Die Seitenkette sollte anschließend über eine Benzylsubstitution eingeführt werden. Aufgrund der Vorarbeiten (siehe 3.1.1) wurden Isopropylether als Schutzgruppen für das Hydrochinon gewählt, da eine selektive Entschützung in Anwesenheit der Methoxyfunktion bei gleichzeitiger Stabilität gegenüber metallorganischen Transformationen, wie einer GOLDBERG Reaktion, möglich sein sollte. Auf ein spätes Einführen einer Sauerstofffunktion im Aromaten durch Oxidation sollte aufgrund der Komplexität der Zielverbindung verzichtet werden.



Schema 17: Retrosyntheseroute für das Westfragment 35.

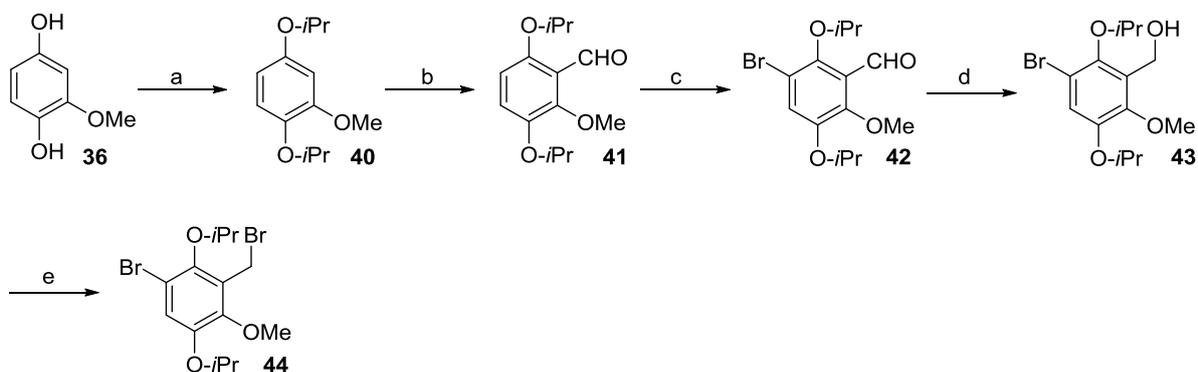
3.1.3.1 Synthese des Aromaten

Ein erster Ansatz zu dem Westfragment **35** nach HÖGBERG⁶⁸ lieferte in Kürze den aromatischen Kern wobei sehr gute Regioselektivitäten erzielt wurden (Schema 18). Es zeigte sich jedoch, dass sich das Hydrochinon **39** nur schwer schützen ließ. Auch unter sehr milden basischen Bedingungen, wie z. B. mit Aminen, war der Aromat nicht hinreichend stabil. Unter sauren Bedingungen erwies sich dieser jedoch als nicht reaktiv genug für eine erfolgreiche Schützung. So musste diese Route aufgegeben werden. Die sehr ausgeprägte Labilität des freien Hydrochinons **39** gegenüber Basen war jedoch eine wichtige Erkenntnis für die sich anschließende Synthese.



Schema 18: Erster Synthesansatz in Analogie zu HÖGBERG. Reaktionsbedingungen: a) Allylvinylether, TCA, RT, 5 d, 98 %; b) *n*BuLi, TMEDA, THF, RT dann CO₂(s) dann Salzsäure (konz.), 81 %; c) Br₂, 1,4-Dioxan, 0 °C, 1 h, quant.; d) TMSCHN₂, MeOH, PhMe, 0 °C, 10 min, quant.

Es wurde eine Syntheseroute ähnlich der von PANEK⁶¹ für die Grundeinheit des Aromaten gewählt (Schema 19). Dabei wurde nach Isopropylschützung eine *ortho*-Lithiierung-Formylierungsreaktion durchgeführt, gefolgt von einer elektrophilen Bromierung. Reduktion und APPEL Reaktion ergaben Benzylbromid **44**, welches für eine Benzylsubstitution verwendet werden sollte.

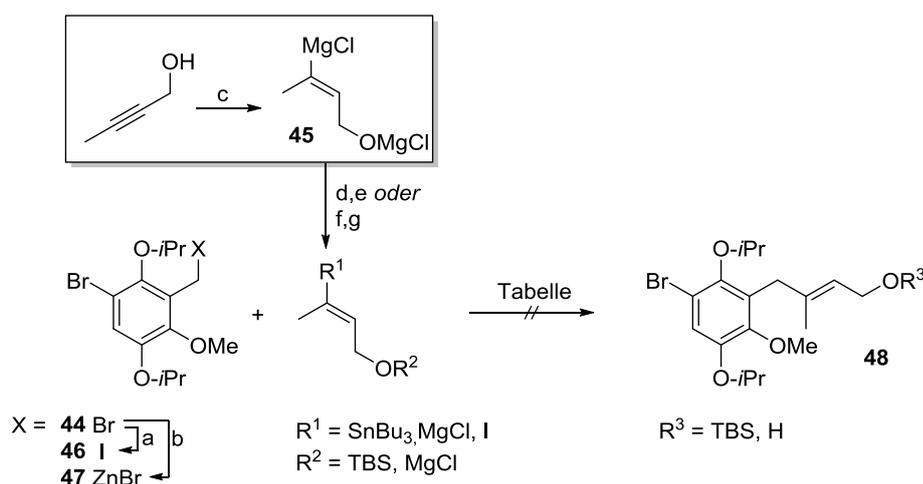


Schema 19: Aufbau des Aromaten **44**. Reaktionsbedingungen: a) Isopropylbromid, TBAI, K₂CO₃, Aceton, Δ, 36 h, 90 %; b) *n*BuLi, THF, RT, 2 h dann DMF; c) Br₂, NaOAc, AcOH, RT, 40 min, 81 % über zwei Stufen; d) NaBH₄, THF, RT, 12 h, 97 %; e) CBr₄, PPh₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 1.5 h, 99 %.

⁶⁸ S. Bengtsson, T. Högborg, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3538-3542.

3.1.3.2 Benzylsubstitution

Die benötigte Vinylereinheit **45** wurde über eine Titan-vermittelte Hydromagnesierung⁶⁹ hergestellt und entweder mit dem gewünschten Elektrophil abgefangen oder direkt weiter verwendet. Die ersten Experimente, das Benzylbromid mit dem Vinyl-GRIGNARD Reagenz **45** zu substituieren, schlugen jedoch fehl. Auch die Substitution des Bromids durch Iodid im Sinne einer FINKELSTEIN Reaktion führte nicht zum Umsatz (Schema 20).



Schema 20: Reaktionsbedingungen: a) Aceton, NaI, RT, 3 h, quant.; b) Zn, THF/NMP 2:1, 60 °C, 12 h, quant.; c) i) Cp_2TiCl_2 , *i*BuMgCl, Et_2O , 0 °C; ii) Bu_3SnCl , 73 %; e) TBSCl, Im, THF, 0 °C → RT, 6 h, 85 %; f) I_2 ; g) TBSCl, Im, THF, 0 °C → RT, 6 h, 39 % über zwei Stufen.

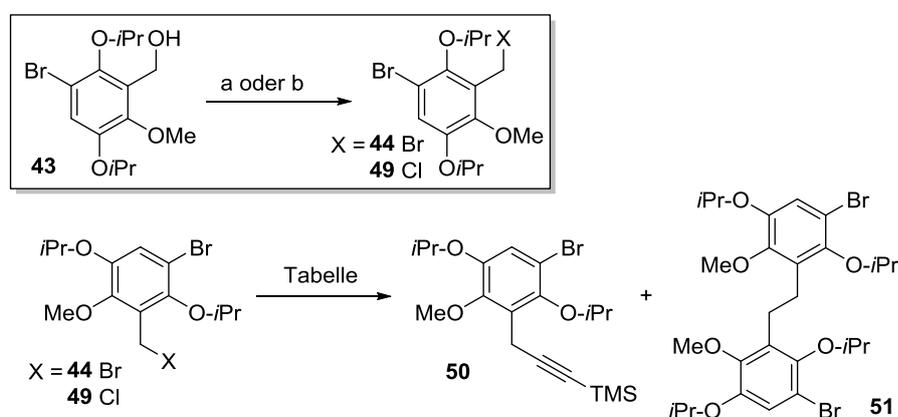
Tabelle 1: Exemplarische Bedingungen für die Benzylsubstitution.

	X	R ¹	R ²	Bedingungen	Anmerkung
1	Br	MgCl	MgCl	THF, -10 °C	keine Reaktion
2	Br	MgCl	MgCl	CuI, THF, -10 °C	keine Reaktion
3	Br	SnBu ₃	TBS	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, AsPh ₃ , THF, RT	keine Reaktion
4	I	SnBu ₃	TBS	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, CuI, DMF, RT	keine Reaktion
5	Br	SnBu ₃	TBS	AIBN, PhMe, Δ	Polymerisation
6	ZnBr	I	TBS	PEPPSI- <i>i</i> Pr, ZnBr ₂ oder ZnCl ₂ , THF/NMP, 50 °C	keine Reaktion
7	ZnBr	I	TBS	$\text{Pd}(t\text{Bu}_3\text{P})_2$, THF, 50 °C	keine Reaktion

Die direkte Reaktion des Vinylgrignards Reagenzes **45** zeigte keinen Umsatz (Tabelle 1, Eintrag 1). Auch der Zusatz von Kupfer führte nicht zum Erfolg (Eintrag 2). Die Verwendung der

⁶⁹ F. Sato, Y. Kobayashi, *Org. Synth.* **1990**, *69*, 106-110.

Vinylstannanspezies unter STILLE Kupplungsbedingungen führte weder mit dem Benzylbromid **44** noch dem Benzyljodid **46** zum Umsatz (Eintrag 3 und 4). Der Versuch, die Reaktion radikalisch zu initiieren, resultierte in starker Polymerisation (Eintrag 5). Auch der Versuch, nukleophile und elektrophile Spezies zu vertauschen und unter NEGISHI Bedingungen zu koppeln, schlug fehl (Eintrag 6 und 7). Letztlich wurde entschieden, die ursprüngliche Alkeneinheit durch eine schlankere Acetyleneinheit zu ersetzen und die Kupplung mit TMS-Acetylen durchzuführen, welche anschließend durch Carboaluminierung in das gewünschte Methylvinylmotiv überführt werden sollte. Für eine solche Substitution (Schema 21) wurden zunächst Reaktionsbedingungen mit einem Indiumorganyl und Pd(dppf)Cl₂ getestet, welche von HARMROLFS⁶⁰ für ein ähnliches Benzylbromid entwickelt wurden. Das System führte leider nicht zum gewünschten Erfolg, sodass verschiedene weitere Reaktionsbedingungen getestet wurden (Tabelle 2).



Schema 21: Kupplungsversuche mit Benzylhalogenid **44** bzw. **49**. Reaktionsbedingungen: a) CBr₄, PPh₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 99 % b) NCS, PPh₃, CH₂Cl₂, -20 → 0 °C, 2 h, 93 %.

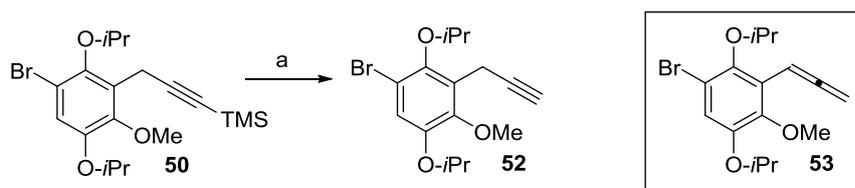
Tabelle 2: Exemplarische Bedingungen zur NEGISHI Kupplung mit TMS-Acetylen.

	X	Metallorganyl	Katalysator	Bedingungen	50 : 51	Anmerkung
1	Br	0.33 Äq. R ₃ In	2 mol% Pd(dppf)Cl ₂	65 °C, THF, 24 h	-	keine Reaktion
2	Br	1.2 Äq. RZnBr	1 mol% Pd(DPEphos)Cl ₂	RT, THF, 24 h	3 : 2	50 % ^a
3	Br	5.0 Äq. RZnBr	0.1-5 mol% Pd(DPEphos)Cl ₂	RT, THF, 24 h	3 : 2	51 % ^a
4	Br	1.0 Äq. R ₃ In	0.1-1 mol% Pd(DPEphos)Cl ₂	RT, THF, 24 h	3 : 2	52 % ^a
5	Cl	1.3 Äq. RZnBr	1 mol% Pd(DPEphos)Cl ₂	RT, THF, 24 h	98 : 2	98 % ^a

R = -≡-TMS; ^a bezogen auf **50**.

Ein Wechsel vom ursprünglichen Katalysatorsystem (Tabelle 2, Eintrag 1) auf den von NEGISHI empfohlenen⁷⁰ Pd(DPEphos)Cl₂ (Eintrag 2) in Kombination mit dem Zinkorganyl des TMS-Acetylen brachte dabei erste zufriedenstellende Ergebnisse. Der Katalysator zeigte eine stark verbesserte Reaktivität, sodass die Reaktion schon bei Raumtemperatur durchgeführt werden konnte. Die Reaktionsdauer ist, verglichen mit anderen Benzylkupplungen, trotzdem entschieden langsamer, was vermutlich auf die sterische Abschirmung der benzylichen Position durch die Isopropyletherschutzgruppe zurückzuführen ist. Es wurden dabei allerdings ebenfalls beträchtliche Mengen des Dimers **51** gebildet (Eintrag 2), dessen Bildung auch nicht durch eine Erhöhung der Menge des Metallorganyls verringert werden konnte (Eintrag 3). Indiumorganyle zeigten hier kein abweichendes Reaktionsverhalten (Eintrag 4), und eine Variation der Katalysatormenge zeigte ebenfalls keinen entscheidenden Einfluss (Eintrag 3 und 4). Um die Reaktivität der Benzylposition zu senken und so eine höhere Chemoselektivität zu erreichen, wurde das Bromid durch das weniger reaktive Chlorid getauscht. Tatsächlich ließ sich durch Einsatz des Benzylchlorids **49** die Menge des Dimers **51** schließlich beträchtlich senken, und so konnte nach Optimierung der Äquivalentanzahl des Metallorganyls – bei höherer Menge lässt sich gegen Ende der Reaktionszeit auch eine Kupplung am Aromaten detektieren – ein sehr gutes Reaktionsergebnis erhalten werden (Eintrag 5). Auch hier bleibt anzumerken, dass kein nennenswerter Unterschied bei Verwendung des Indiumorganyls zu erkennen ist, weshalb an dieser Stelle aus ökonomischen und ökologischen Gründen das Zinkorganyl empfohlen wird.

Das Entfernen der TMS Gruppe ließ sich mit KF in Methanol realisieren (Schema 22). Harschere Bedingungen wie K₂CO₃ in Methanol oder TBAF resultierten in vermehrter Isomerisierung zum Allen **53** (bis zu 9:1 Allen : Alkin).



Schema 22: Entschützung der TMS Gruppe. Reaktionsbedingungen: a) KF, MeOH, 45 °C, 60 h, 94 %.

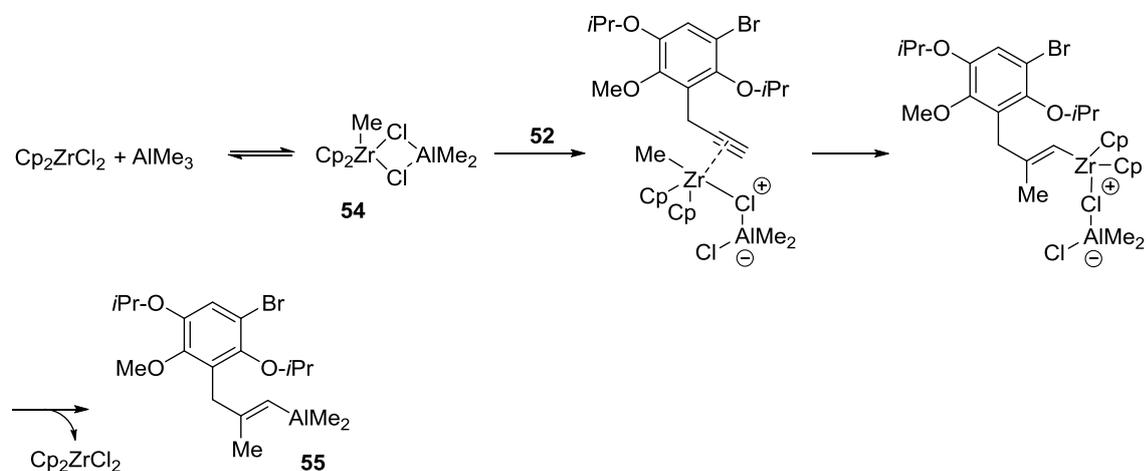
3.1.3.3 Carboaluminierung und Aufbau des Diensystems

Ausgehend vom Alkin **52** sollte die fehlende Methylgruppe eingeführt und zeitgleich eine nukleophile Gruppe installiert werden, welche für die Kupplung und Bildung des Diens verwendet werden kann. Da die Carboaluminierung nach NEGISHI⁷¹ eine gute Selektivität für die Alanierung von terminalen

⁷⁰ M. Qian, E. Negishi, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2927-2930.

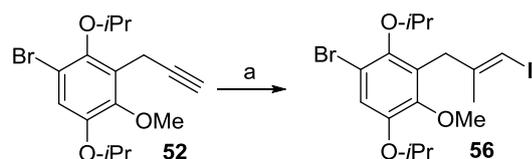
⁷¹ a) D. E. Van Horn, E. Negishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 2252-2254; b) E. Negishi, T. Yoshida, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 4985-4987; c) E. Negishi, D. E. Van Horn, T. Yoshida, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 6639-6647.

Alkinen zeigt und dabei eine *syn* spezifische Addition darstellt, bot sich diese als bevorzugte Methode an. Mechanistisch gesehen (Schema 23), bildet sich bei der Reaktion eine bimetallische Spezies **54** aus, bei der das Zirkonium, durch Komplexierung des Alkins (**52**), die *syn* spezifische Übertragung des Alans vermittelt und der Zirkonium Katalysator regeneriert wird.



Schema 23: Mechanismus der Zirkonium-vermittelten Carboaluminierung nach NEGISHI.

Erste Versuche, die Carboaluminierung unter Standardbedingungen in 1,2-Dichlorethan durchzuführen, zeigten allerdings, dass die Reaktion mit Alkin **52** nur sehr langsam voranschritt. Nach vier Tagen war der Umsatz noch immer mangelhaft, eine Erhöhung der Temperatur auf 40 °C führte zur Isomerisierung des Alkins in das Allen **53** (Analyse durch GC-MS). Um die Reaktion dennoch bei Raumtemperatur ermöglichen zu können, wurde ein Protokoll nach WIPF⁷² verwendet, welches den Zusatz von einem Äquivalent Wasser als Beschleuniger vorsieht. Mechanistisch gesehen schlägt WIPF hier den Austausch eines Chlorides im Bimetallkomplex **54** durch Hydroxid vor, welcher kinetisch reaktiver sein soll. Die Reaktion konnte unter diesen Bedingungen in guten Ausbeuten durchgeführt werden, jedoch verhinderte der Zusatz von Wasser eine direkte *in situ* Umsetzung des Alans **55** mit Vinyljodid nach NEGISHI⁷³ und Bildung des gewünschten Diens **35**. Die Iodolyse des Alans **55** und Bildung von Vinyljodid **56** ermöglichte die Kreuzkupplung mit einem entsprechenden Metallorganyl (Schema 24).

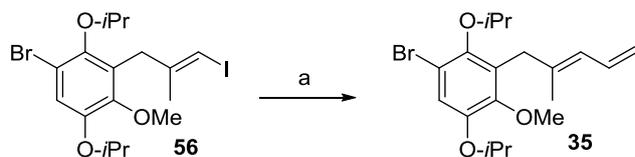


Schema 24: Carboaluminierung von **52**. Reaktionsbedingungen: a) Cp_2ZrCl_2 , AlMe_3 , H_2O , CH_2Cl_2 , RT, 12 h, dann I_2 , THF, $-78 \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 30 min, 94 %.

⁷² a) P. Wipf, S. Lim, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1068-1071; b) G. Zhu, E. Negishi, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 311-318.

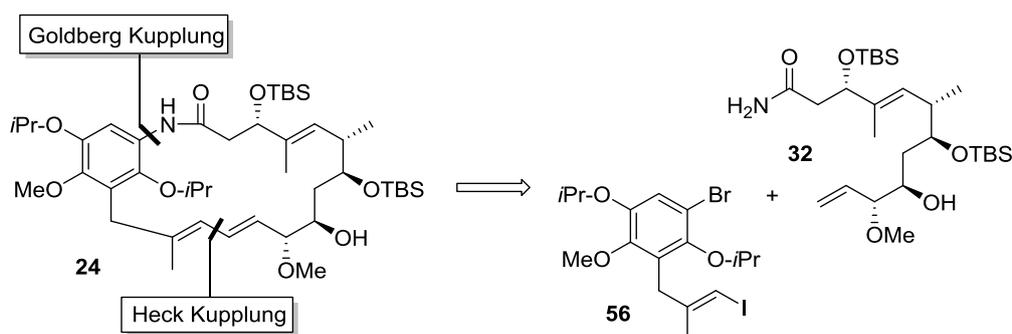
⁷³ M. Qian, Z. Huang, E. Negishi, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1531-1534.

Die sich daran anschließende NEGISHI Kupplung erwies sich als unproblematisch und lieferte das gewünschte Dien **35** in sehr guten Ausbeuten (Schema 25).



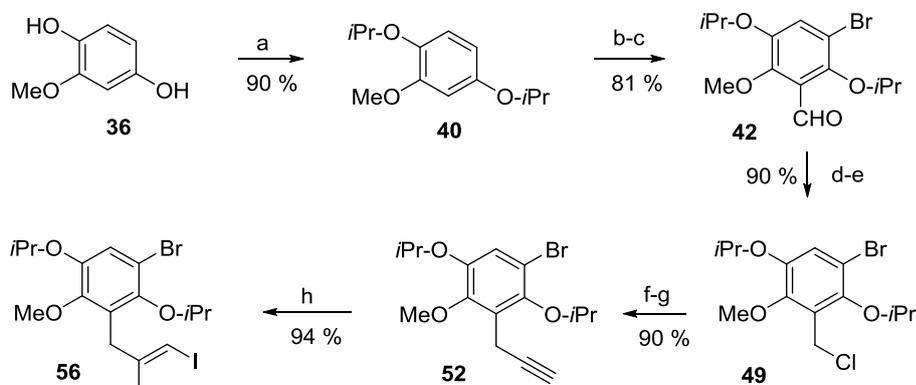
Schema 25: NEGISHI Kupplung zum Dien **35**. Reaktionsbedingungen: a) Vinylzinkbromid, Pd(DPEphos)Cl₂, THF, RT, 1 h, quant.

Das Dien **35** zeigte sich jedoch als nicht reaktiv genug für die Olefinmetathese und konnte nicht mit anderen terminalen Olefinen zur Reaktion gebracht werden. Als Konsequenz sollte die Verknüpfung der Südenden des Zielmoleküls **24** nun über eine HECK Reaktion erfolgen, wodurch der Vorläufer des Diens **35**, das Vinylidiod **56**, genutzt werden sollte, welches damit nun das benötigte Westfragment **56** darstellt (Schema 26).



Schema 26: Neuer retrosynthetischer Ansatz über eine HECK Kupplung.

Das Westfragment **56** konnte somit in 56 % Ausbeute über acht Stufen ausgehend von 2-Methoxyhydrochinon (**36**) dargestellt werden (Schema 27).

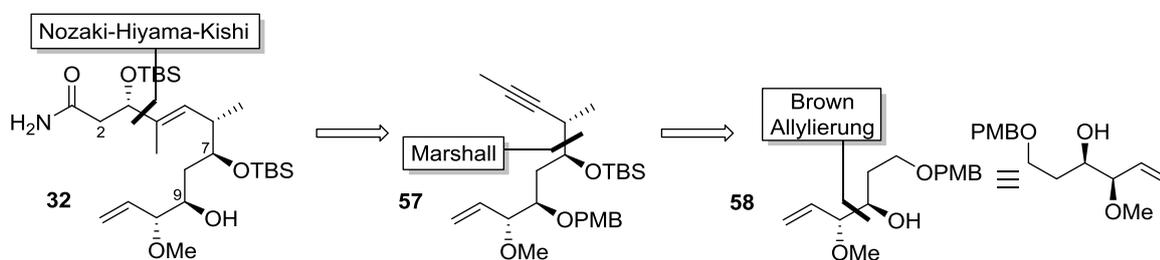


Schema 27: Synthese des Westfragments **56**. a) Isopropylbromid, TBAI, K₂CO₃, Aceton, Δ, 36 h, 90 %; b) *n*BuLi, THF, RT, 2 h, dann DMF; c) Br₂, NaOAc, AcOH, RT, 40 min, 81 % über zwei Stufen; d) NaBH₄, THF, RT, 12 h, 97 %; e) NCS, PPh₃, CH₂Cl₂, -20 – 0 °C, 2 h, 93 %; f) TMS≡ZnBr, Pd(DPEphos)Cl₂, THF, RT, 24 h, 98 %; g) KF, MeOH, 40 °C, 94 %; h) Cp₂ZrCl₂, AlMe₃, H₂O, CH₂Cl₂, RT dann I₂, -78 → 0 °C, 30 min, 94 %.

3.1.4 SYNTHESE DES OSTFRAGMENTS

Für das Ostfragment hätte ursprünglich direkt auf die Vorarbeiten von HARMROLFS und FRENZEL zurückgegriffen werden können (siehe 3.1.1). Da die entwickelte lineare Synthese zum gewünschten Ostfragment **32** beim *up-scaling* jedoch Probleme bereitete und die Ausbeuten bei Vergrößerung des Reaktionsansatzes drastisch sanken, wurde ein neuer synthetischer Zugang gesucht, der zugleich auch schneller zum Ziel führen sollte.

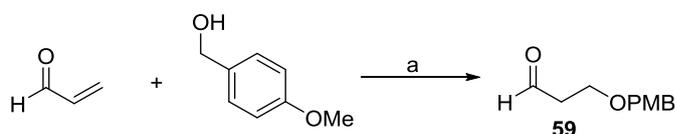
Der neue retrosynthetische Ansatz basiert dabei auf einer BROWN Allylierung, einer MARSHALL Reaktion und einer NOZAKI-HIYAMA-KISHI Kupplung (Schema 28). Als Schutzgruppensystem wurden PMB und Silylether gewählt, da sich beide orthogonal entschützen lassen und der Alkohol an C9 später zum Keton oxidiert werden sollte. PMB wurde ebenfalls gewählt, um die Möglichkeit zu gewähren, die Stereochemie an C7 durch 1,3-Chelatisierung zu kontrollieren.



Schema 28: Neue retrosynthetische Route für das Ostfragment **32**.

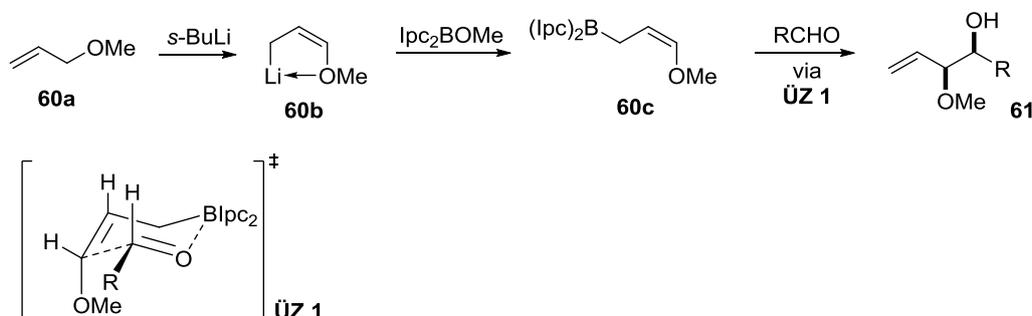
3.1.4.1 BROWN Allylierung

Der benötigte Vorläufer **59** für die BROWN Allylierung kann durch eine MICHAEL Addition von Anisalkohol an Acrolein dargestellt werden (Schema 29).⁷⁴



Schema 29: Darstellung von Baustein **59**. Reaktionsbedingungen: a) Chloressigsäure, NaOH, AcOH, H₂O, 40 °C, 7 d, 68 %.

Die Allylierung nach BROWN ermöglicht die stereoselektive Addition an einen Alkohol, wobei beide entstehenden Stereozentren relativ und absolut kontrolliert werden können, was die Reaktion präparativ besonders wertvoll macht. In diesem Fall wird bei der Deprotonierung von Allylmethylether mit *s*BuLi durch Koordination des Lithiumatoms spezifisch das *syn*-konfigurierte Lithiumorganyl **60b** erzeugt. Nach Austausch des Lithiums mit Bor zu **60c** verläuft die Reaktion bei Zugabe eines Aldehyds über einen ZIMMERMANN-TRAXLER ähnlichen Übergangszustand **ÜZ 1**, welcher die relative Stereochemie über die Doppelbindungsgeometrie festlegt (Schema 30). Die absolute Stereochemie bestimmt sich durch die Wahl des Ipc Restes, eine detaillierte Erklärung über die Faktoren, die die Facialität des Angriffs kontrollieren, wird in der Literatur aber nicht geliefert.⁷⁵



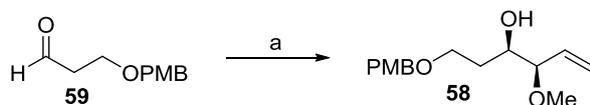
Schema 30: Mechanismus der BROWN Allylierung mit Allylmethylether **16a**.

Die BROWN Allylierung von **59** zu Alkohol **58** mit Allylmethylether gelang mit frisch hergestelltem (-)-Ipc₂BOMe in guten Ausbeuten und Selektivitäten (Schema 31), während kommerziell erhältliches Boran ausschließlich schlechte Selektivitäten (2:1 *syn* : *anti*) lieferte. Der Autor möchte bei dieser Reaktion explizit auf die aufwendige Aufarbeitung hinweisen: Da die Hydrolyse mit H₂O₂ schwer abtrennbare Nebenprodukte liefert, erfolgte die Hydrolyse mit Triethanolamin, welches jedoch die

⁷⁴ C. Herb, M. E. Meier, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 8129-8135.

⁷⁵ a) H. C. Brown, P. K. Jadhav, K. S. Bhat, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1535-1538; b) H. C. Brown, P. K. Jadhav, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4091-4092.

entstehende Borspezies nicht vollständig freisetzt und die nachfolgende säulenchromatographische Reinigung erschwert.



Schema 31: BROWN Allylierung zu Alkohol **58**. Reaktionsbedingungen: a) Allylmethylether, *s*BuLi, (-)-Ipc₂BOMe, BF₃·OEt₂, THF, -78 °C → RT, 15 h, 82 %, 90 % *e.e.*, *d.r.* >10:1 *syn* : *anti*.

Das Stereozentrum am freien Alkohol und der Enantiomerenüberschuss wurde durch die MOSHER Methode bestätigt. Das von MOSHER entwickelte System⁷⁶ zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von sekundären Alkoholen verläuft über eine Veresterung mit α -Methoxy- α -trifluormethylphenylacetat (MTPA). Der MTPA Ester spannt eine Vorzugsebene auf (Abbildung 16, links), welche die beiden Substituenten des Carbinol C-Atoms jeweils dem Phenylring (hier: β' , γ' , δ') und dem Methoxyether (hier: β , γ , δ) gegenüberstellen. Durch den Ringstromeffekt erfahren die Protonen, die dem Phenylrest entgegenstehen, eine diamagnetische Verschiebung im ¹H-NMR Spektrum. Durch eine Differenzbildung der chemischen Verschiebung der Ester mit jeweils dem (*R*)- bzw. (*S*)-MOSHER Esters, kann so bestimmt werden, welche Seite sich wo von der MTPA Ebene befindet und so die absolute Stereochemie festgelegt werden (Abbildung 16, rechts).

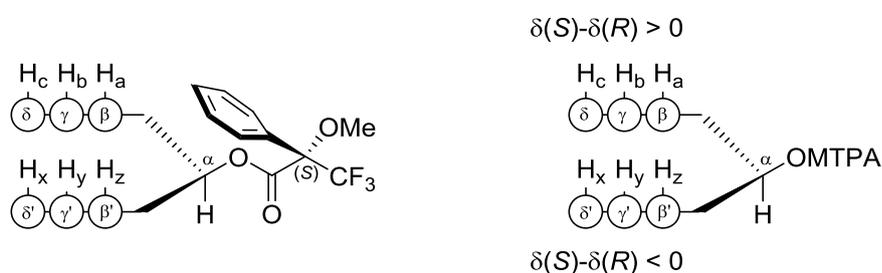
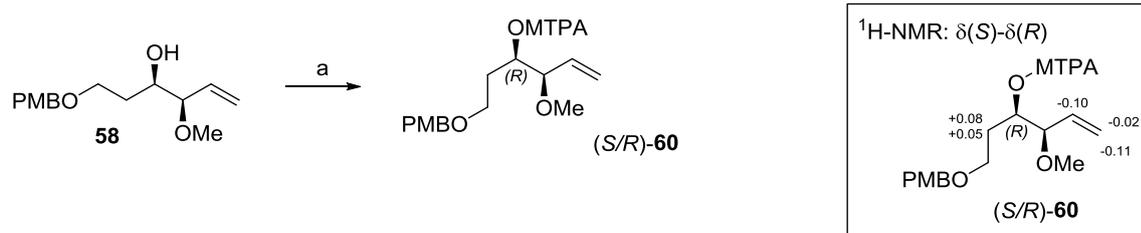


Abbildung 16: MTPA Vorzugsebene am Beispiel eines (*S*)-MOSHER Esters. Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration wird das rechte Modell aus der Differenzbildung der δ -Werte der beiden MOSHER Ester im ¹H-NMR verwendet.

Eine Überführung des Alkohols in den MTPA Ester bestätigt die Konfiguration des Carbinols als (*R*) (Schema 32).

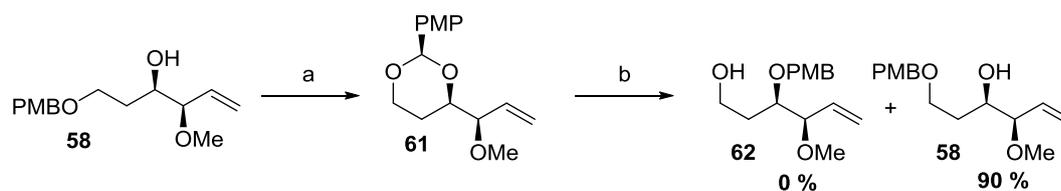
⁷⁶ a) J. A. Dale, D. L. Dull, H. S. Mosher, *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 2543-2549; b) I. Ohtani, T. Kasumi, Y. Kashman, H. Kakisawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4092-4096; c) T. R. Hoye, C. S. Jeffrey, F. Shao, *Nature Prot.* **2007**, *2*, 2451-2454.



Schema 32: Nachweis der Konfiguration von Alkohol **58**. Reaktionsbedingungen: a) (*R*) bzw. (*S*) MOSHER Säurechlorid, Et₃N, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 12 h, 78 % (*S*)-Ester bzw. 91 % (*R*)-Ester.

Die Konfiguration des benachbarten Stereozentrums konnte nicht direkt festgelegt werden. Sie ergibt sich durch Analogieschluss aus den Originalarbeiten von BROWN über den Mechanismus der Reaktion.⁷⁵

Versuche, die PMB-Schutzgruppe nach Oxidation in das PMP Acetal **61**, gefolgt von einer reduktiven Öffnung in den primären Alkohol **62** zu überführen, schlugen fehl. Es konnte ausschließlich nur der primär geschützte Alkohol **58** isoliert werden (Schema 33).



Schema 33: Oxidation und versuchte reduktive Öffnung zu **62**. Reaktionsbedingungen: a) DDQ, MS 4 Å, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h, 70 %; b) DIBAL, CH₂Cl₂, 0 °C, 2.5 h.

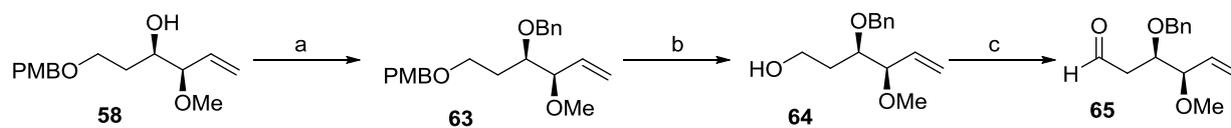
Bei der Reduktion ließ sich mit verschiedenen Reduktionsmitteln wie DIBAL-H oder NaCNBH₃/TMSCl⁷⁷ ausschließlich wieder der sekundäre Alkohol **58** isolieren (Schema 33). Dies geht vermutlich auf die Koordination der Methoxygruppe zurück. Ähnliche Fälle mit Aziden in der α -Position, oder Ethern und Carbonylgruppen in β -Position wurden bereits in der Literatur beschrieben.⁷⁸ Die Positionselektivität für das entsprechende Regioisomer ist im vorliegenden Fall jedoch außergewöhnlich hoch.

Daher wurde als Alternative der sekundäre Alkohol **58** mit einer Benzylgruppe versehen, um nach Entfernen der PMB-Gruppe und Oxidation zum Aldehyd **65** zu gelangen: Dies ist ein geeigneter

⁷⁷ a) R. Johansson, B. Samuelsson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1984**, 2371-2374. b) T. K. Chakraborty, V. R. Reddy, T. J. Reddy, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 8613-8622.

⁷⁸ a) T. Gustafsson, M. Schou, F. Almqvist, J. Kihlberg, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 8694-8701; b) J. Mulzer, A. Mantoulidis, E. Öhler, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 7456-7467.

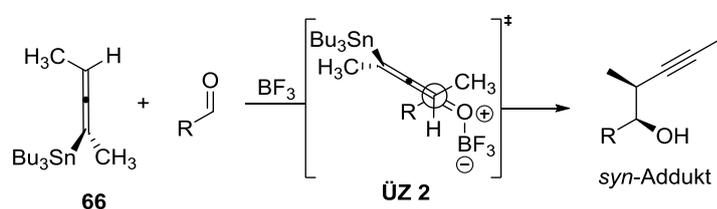
Vorläufer für die MARSHALL Reaktion, der mit seinem 1,3-Abstand zum Benzylether noch zur Chelatbildung befähigt ist (Schema 34).



Schema 34: Darstellung des Aldehyds **65** ausgehend von **58**. Reaktionsbedingungen: a) BnBr, TBAI, NaH, THF, RT, 24 h, 85 %; b) DDQ, H₂O, CH₂Cl₂, 0 °C, 2.5 h, 98 %; c) (COCl)₂, DMSO, Et₃N, CH₂Cl₂, -78 → -40°C, quant.

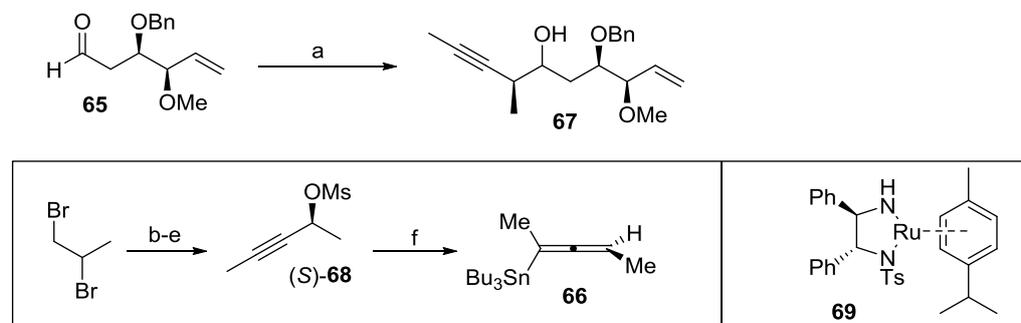
3.1.4.2 MARSHALL Reaktion

Die MARSHALL Reaktion⁷⁹ ermöglicht die stereoselektive Addition einer Allenylmetallspezies an Aldehyde. Die Addition verläuft dabei über einen azyklischen Übergangszustand und kann eine FELKIN-ANH ähnliche Kontrolle zeigen oder aber über ein CRAM Chelatmodell verlaufen. Dies hängt von der Art der verwendeten Lewisäure ab. Die MARSHALL Reaktion zeigt auch bei Abwesenheit eines Stereozentrums in α -Position oft sehr gute Selektivitäten, da Teile der Stereokontrolle von dem verwendeten chiralen Allen übernommen werden. Um die gewünschte *syn*-Stereochemie des Produktes zu erhalten, werden dabei in der Regel Allenylstannane verwendet, während für *anti*-Addukte weniger problematische Metalle, wie Zink, Indium oder Silizium zur Verfügung stehen. Bei dem Übergangszustand für eine *syn*-Addition zeigt der sterisch anspruchsvolle Stannylrest antiperiplanar vom Aldehyd weg (Schema 35, ÜZ 2).⁸⁰



Schema 35: Denkbare Übergangszustand ÜZ 2 zum *syn*-Addukt unter Einsatz von Allenylstannan 66.

Das Allenylstannan 66 wurde ausgehend von 1,2-Dibrompropan 26 dargestellt (Schema 36).⁸¹



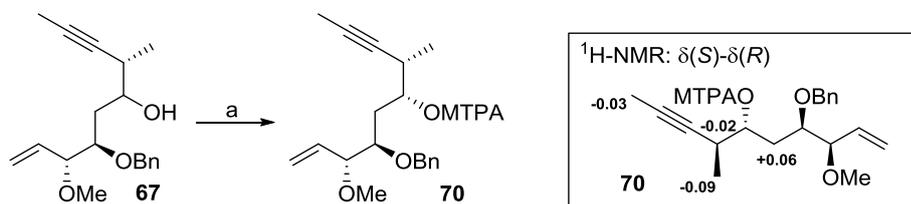
Schema 36: Erste Beobachtung bei der MARSHALL Reaktion unter Standardbedingungen mit Allenylstannanen. Reaktionsbedingungen: a) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , -78°C , 1 h, 65 %, *d.r.* >10 : 1; b) LDA, THF, $-78 \rightarrow 0^\circ\text{C}$, dann Acetaldehyd, 57 %; c) MnO_2 , CH_2Cl_2 , 12 h, RT; d) 69, *i*PrOH, CH_2Cl_2 , 4 d, RT, 42 % über 2 Stufen, 95 % *ee*; e) MsCl, Et_3N , CH_2Cl_2 , -78°C ; f) LDA, Bu_3SnH , $\text{CuBr} \cdot \text{SMe}_2$, THF, -40°C , 60 % über 2 Stufen.

⁷⁹ Für eine Übersicht der MARSHALL Reaktion siehe: J. A. Marshall, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 8153-8166.

⁸⁰ J. A. Marshall, X.-j. Wang, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1242-1252.

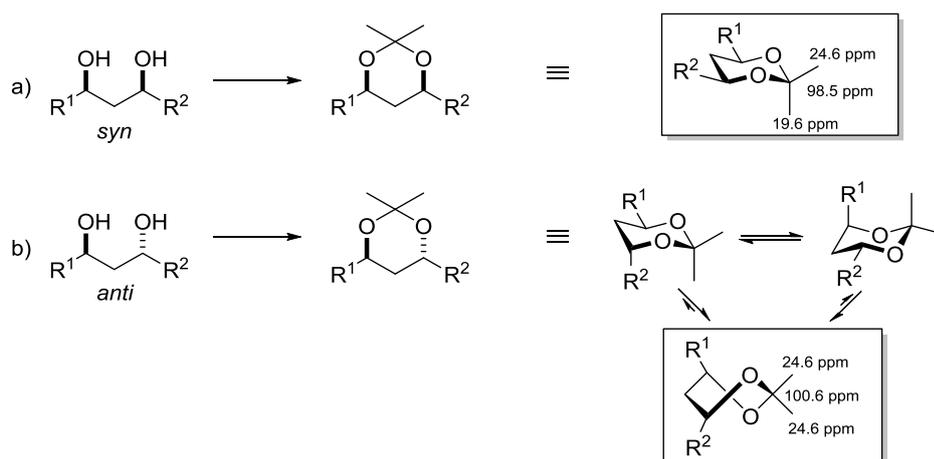
⁸¹ a) J.A. Marshall, P. Eidam, H. S. Eidam, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4840-4844; b) G. W. Gribble, H. H. Joyner, F. L. Switzer, *Synth. Commun.* **1992**, 22, 2997-3002; c) J. K. Belardi, G. C. Micalizio, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 4005-4008.

Die Stereochemie am Alkohol wurde dabei zunächst mittels MOSHER Methode ermittelt (Schema 38) und offenbarte die nicht erwartete *anti*-Konfiguration (die Konfiguration der Methylgruppe wird durch das chirale Allenylstannan festgelegt).



Schema 37: Ermittlung der Stereochemie der MARSHALL Reaktion nach MOSHER. Reaktionsbedingungen: a) (*R*)- bzw. (*S*)-MOSHER Säurechlorid, Et₃N, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 12 h, 96 % (*S*)-Ester bzw. 86 % (*R*)-Ester.

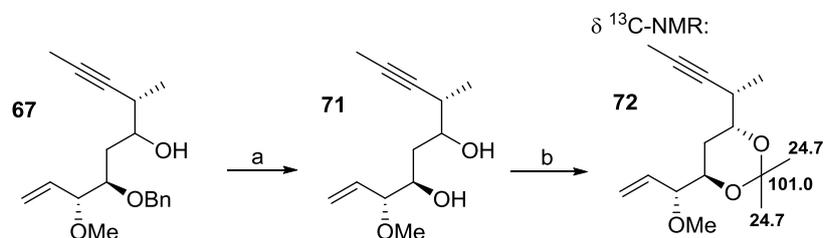
Da die *anti*-Selektivität nicht erwartet war, wurde die Konfiguration nicht nur über die MOSHER Methode ermittelt, sondern auch mittels Acetonidmethode⁸² verifiziert. Die von RYCHNOVSKY entwickelte Methode ermöglicht die Ermittlung der relativen Stereochemie bei 1,3-Diolen durch Nutzen der eingeschränkten Konformationsmöglichkeiten bei den korrespondierenden *syn*- bzw. *anti*-Acetoniden (Schema 38). Aufgrund der 1,3-diaxialen Wechselwirkungen im *anti*-Acetonid kann keine Sesselkonformation eingenommen werden, sodass sich eine *twistboat*-Konformation bildet, bei welchem die Methylgruppen des Acetonids chemisch sehr ähnlich werden und dementsprechend im ¹³C-NMR Spektrum auch ähnliche Verschiebungen aufweisen (Fall b), während die Methylgruppen in der Sesselform (Fall a) klar unterscheidbar sind. Auch das Kohlenstoffatom des Ketons lässt sich aufgrund der chemischen Umgebung im ¹³C-NMR Spektrum unterscheiden.



Schema 38: Acetonidmethode zur Ermittlung der relativen Stereochemie in 1,3-Diolen.

⁸² a) S. D. Rychnovsky, D. J. Sklitzky, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 945-948; b) S. D. Rychnovsky, B. N. Rogers, T. I. Richardson, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 9-17; c) D. A. Evans, D. L. Rieger, J. R. Gage, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 7099-7100.

In Verbindung mit der Bildung des Acetonids sollte auch die chemoselektive Entfernung der Benzylgruppe getestet werden. Die Wahl fiel dabei auf eine Entfernung mittels radikal-anionischer Reduktion. Mithilfe von DBBP und Lithiummetall ließ sich die Benzylgruppe zuverlässig, chemoselektiv und in sehr guter Ausbeute abspalten, wobei sogar die Dreifachbindung unberührt blieb. Die folgende Acetonidbildung erfolgte ohne Komplikationen (Schema 39).



Schema 39: Bildung des Acetonids **72**. Reaktionsbedingungen: a) DBBP, Li, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, b) 2,2-Dimethoxypropan, PPTS, RT, 12 h, quant. über 2 Stufen.

Das $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum des Acetonids **72** (Abbildung 17) bestätigte die *anti*-Konfiguration der beiden Alkohole, womit die ungewünschte *anti*-Addition an den Aldehyd nachgewiesen wurde.

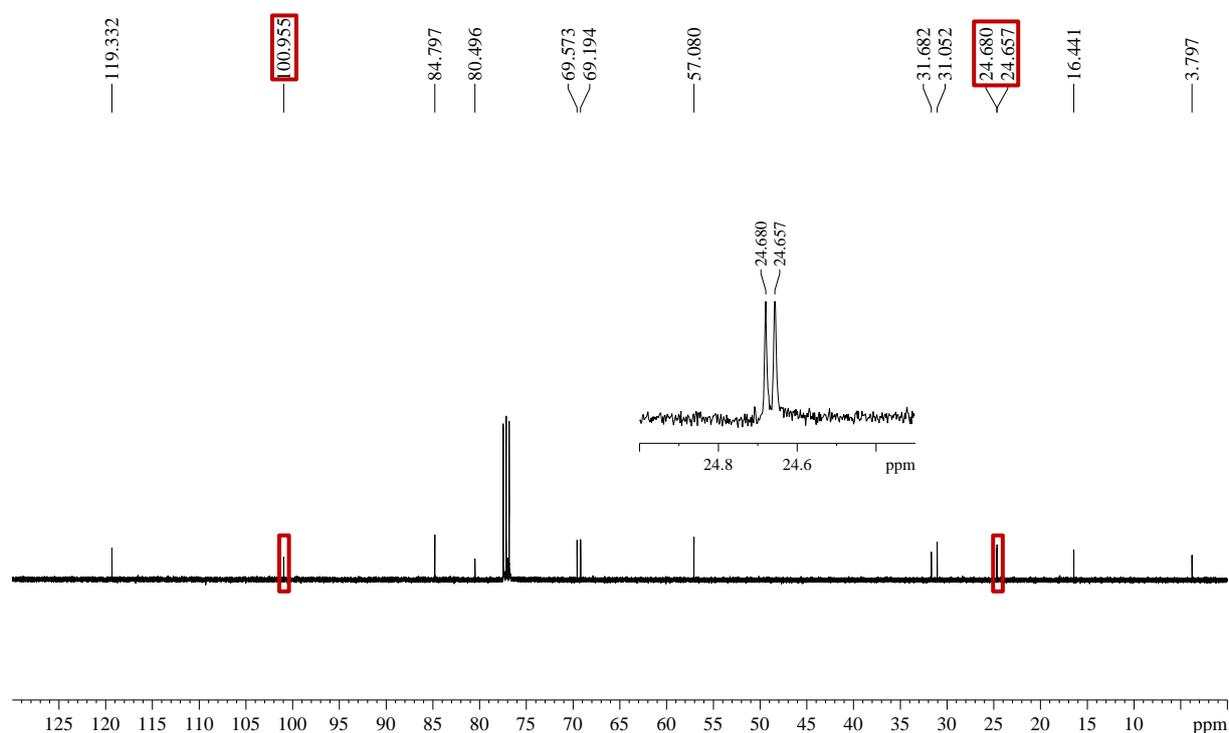
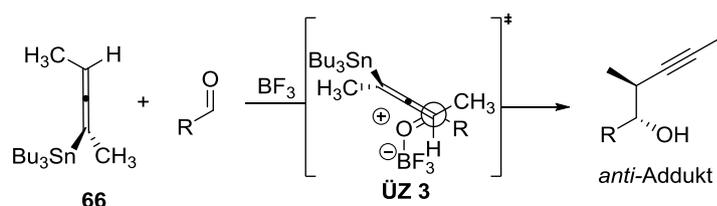


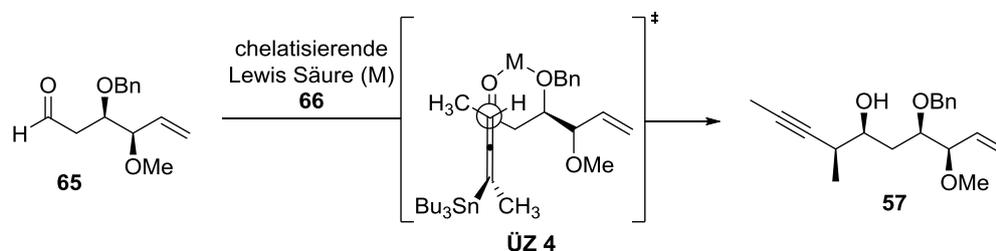
Abbildung 17: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum des Acetonids **72**.

Die *anti*-Selektivität weist damit auf den anderen, möglichen Übergangszustand **ÜZ 3** (Schema 40) hin. Es bleibt an dieser Stelle ungeklärt, warum eine klare Bevorzugung von **ÜZ 3** zu **ÜZ 2** vorliegt.



Schema 40: Übergangszustand der *anti*-selektiven MARSHALL Reaktion mit Allenylstannan **66**.

Da die gewünschte *syn*-Stereoselektivität ausblieb, wurden weitere Experimente mit chelatbildenden Lewissäuren durchgeführt (Tabelle 3), welche, laut Literatur⁸⁰, die Stereochemie besser dirigieren sollen. Deshalb wurde auch ursprünglich eine koordinierungsfähige PMB bzw. Benzyl Schutzgruppe gewählt, welche in der MARSHALL Reaktion über den Übergangszustand **ÜZ 4** zum gewünschten Produkt führen sollte (Schema 41).



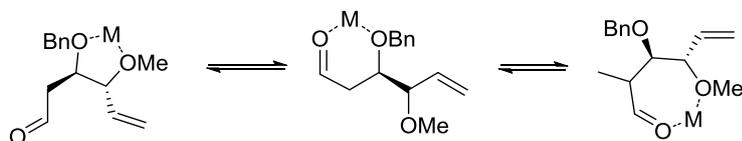
Schema 41: Erwarteter Übergangszustand **ÜZ 4** bei Verwendung chelatierender Lewis Säuren in der MARSHALL Reaktion.

Tabelle 3: Exemplarische Bedingungen zur MARSHALL Reaktion.

	Bedingungen	Lewissäure	Ausbeute	<i>syn</i> : <i>anti</i>	Anmerkung
1	CH ₂ Cl ₂ , -78 °C	BF ₃ ·OEt ₂	65 %	1 : 10 <	
2	CH ₂ Cl ₂ , -40 °C → RT	MgBr ₂ ·OEt ₂	85 %	1.2 : 1	
3	CH ₂ Cl ₂ , -40 °C → RT	Mg(OTf) ₂	-		Keine Reaktion
4	CH ₂ Cl ₂ , -40 °C	Sn(OTf) ₂	60 %	1 : 1.5	Zersetzung
5	CH ₂ Cl ₂ , -40 °C → RT	Zn(OTf) ₂	-		Keine Reaktion
6	CH ₂ Cl ₂ , -78 °C	TiCl ₄	38 %	1 : 5	Zersetzung

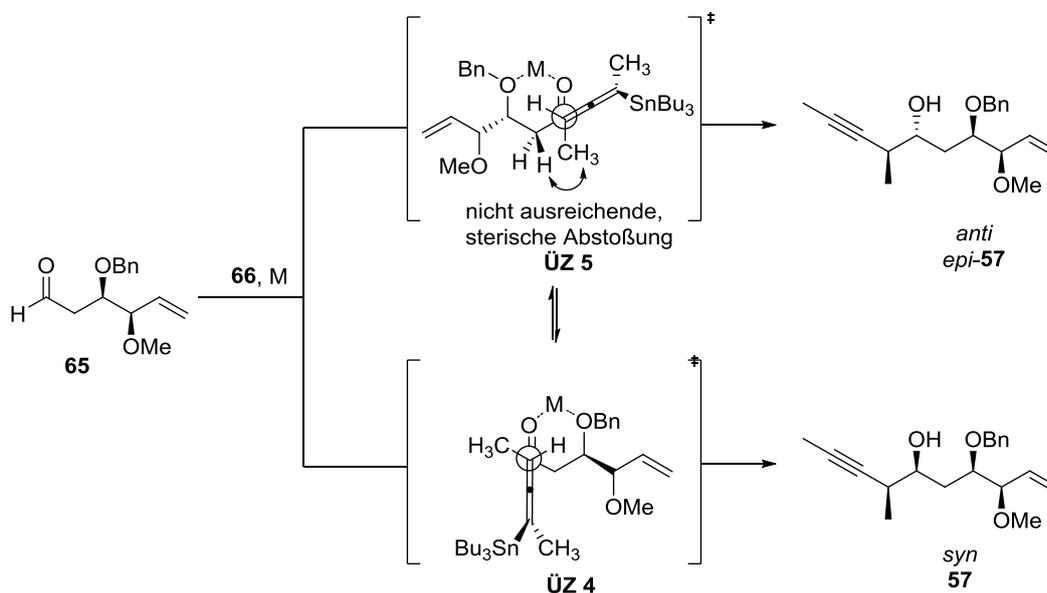
Die Selektivitäten für die MARSHALL Reaktion waren aber auch trotz Chelatkontrolle enttäuschend. Während einige, chelatierende Lewissäuren gar keine Reaktion einleiteten (Tabelle 3, Eintrag 3 und 5), lieferte Sn(OTf)₂ immer noch eine schwache Bevorzugung des *anti*-Produktes (Eintrag 4). Die Reaktion mit MgBr₂·OEt₂ (Eintrag 2) führte zu einer minimalen Bevorzugung des *syn*-Adduktes. Eine Begründung für diesen Selektivitätsmangel kann an dieser Stelle nicht endgültig gegeben werden. Es liegt aber nahe, dass die Methoxygruppe mit dem Chelatbildner interferieren kann, um einen 5-Ring zwischen beiden Ether-Gruppen oder aber einen 7-Ring zwischen dem Ether und dem Aldehyd zu

bilden. Diese beiden liegen ggf. in einem dynamischen Gleichgewicht mit dem 6-Ring des 1,3-Chelates, sodass sich keine Vorzugskonformation herausbilden kann (Schema 42).



Schema 42: Denkbare Chelate einer chelatfähigen Lewissäure mit Aldehyd **65**.

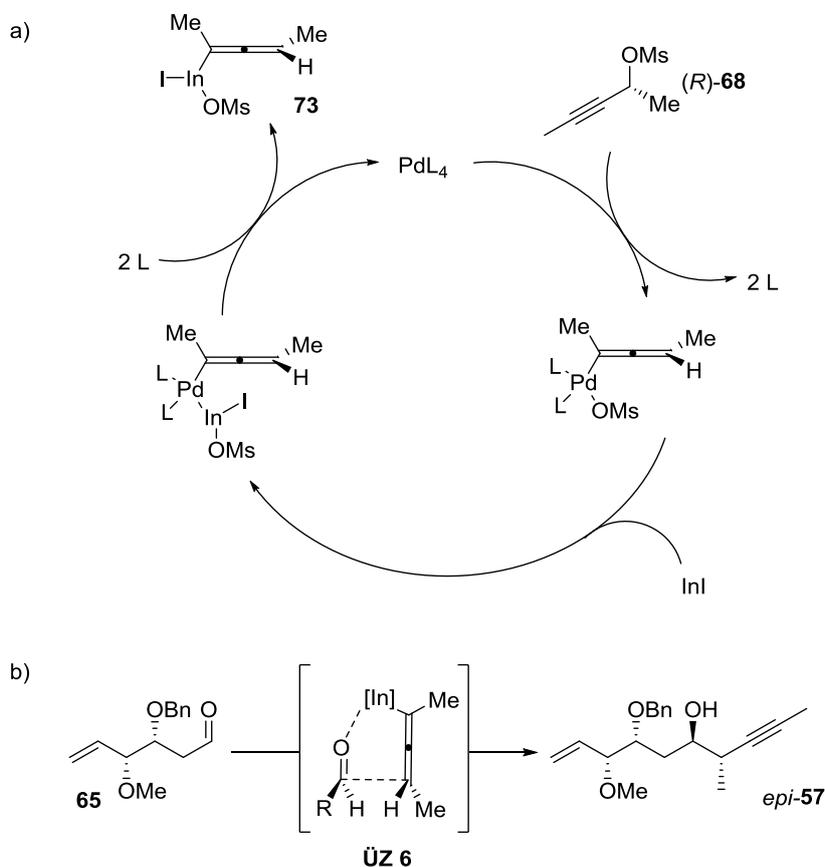
Der Selektivitätsmangel der Reaktion kann auch auf das Fehlen einer sterisch überfrachteten α -Position in Zusammenhang gebracht werden. In der spärlich vorhandenen Literatur dazu, findet man, dass die Selektivität bei Anwesenheit von einfachen Methylengruppen in α -Position meist nur schwach ausgeprägt ist.⁸⁰ Im vorliegenden Fall (Schema 43) ist es denkbar, dass keine Substitution in α -Position dazu führt, dass ein denkbarer Übergangszustand **ÜZ 5** durch mangelnde Repulsion zur Methylgruppe des Allens nicht mehr zum gewünschten Übergangszustand **ÜZ 4** benachteiligt wird, wodurch die Stereoselektivität der Addition verloren geht. Die hohe Selektivität bei Verwendung von $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (wenn auch zur ungewünschten Stereochemie) demonstriert jedoch generell das große Potential der MARSHALL Reaktion für die stereoselektive Synthese.



Schema 43: Denkbare Übergangszustände die einen Mangel an Selektivität bei der Chelatisierung begründen.

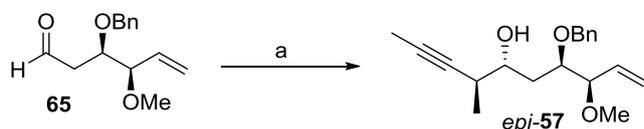
Da sich keine *syn*-Selektivität erreichen ließ, wurde versucht, den resultierenden Alkohol zu invertieren. Der dafür benötigte Alkohol *epi-57* ließ sich direkt aus (*R*)-**68** mittels Pd-Katalyse, über eine *in situ* geformte Allenylindium Spezies, herstellen (Schema 44), wodurch die Verwendung des aufwendig herzustellenden und toxischen Allenylstannans verhindert werden kann. Da bei dem

Mechanismus zur Addition an die Carbonylgruppe, das Metall des Allens dem Carbonylsauerstoffatom zugewandt ist (Schema 44, **ÜZ 6**), ganz im Gegensatz zur Addition mit Stannanen, muss vom anderen Enantiomer des Propargylmesylats **68** ausgegangen werden.⁸³



Schema 44: a) Mechanismus der Pd-katalysierten Allenylindiumformierung und b) Übergangszustand **ÜZ 3** der zur *anti* Stereochemie führt.

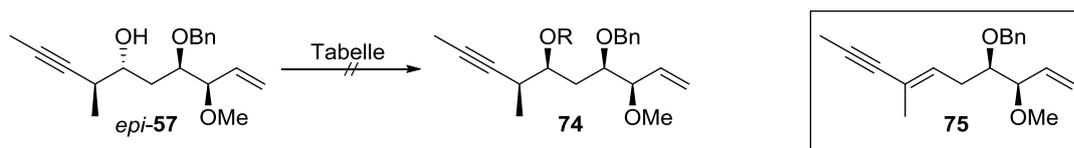
Die Reaktion verlief in guter Selektivität und in guten Ausbeuten ohne weitere Komplikationen (Schema 45).



Schema 45: MARSHALL Reaktion zum *anti*-Produkt *epi-57* unter Verwendung von Pd und In. Reaktionsbedingungen: a) (*R*)-**68**, Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂, InI, HMPA, RT, 16 h, 65 %, *d.r.* 10:1.

Verschiedene Bedingungen zur Herbeiführung der MITSUNOBU Reaktion mit Alkohol *epi-57* führten jedoch nicht zum Erfolg (Tabelle 4).

⁸³ a) J. A. Marshall, C. M. Grant, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 696-697; b) J. A. Marshall, N. D. Adams, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5201-5204.



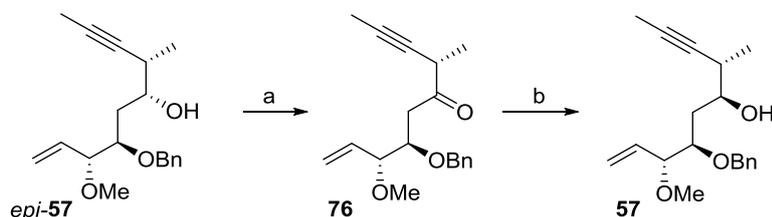
Schema 46: MITSUNOBU Reaktion zur Invertierung von Alkohol *epi-57*.

Tabelle 4: MITSUNOBU Bedingungen zur Inversion des Alkohols.

	Reagenzien	Lösemittel	Bedingungen	Anmerkung
1	PPh ₃ , <i>p</i> -Nitrobenzoesäure dann DEAD	THF	0 °C, 1 h	Kein Umsatz
2	PPh ₃ , <i>p</i> -Nitrobenzoesäure dann DEAD	THF	RT, 60 h	Kein Produkt 20-30 % 75
3	PPh ₃ , Chloressigsäure dann DEAD	THF	0 °C → RT, 12 h	Kein Produkt 20 % 75
4	PPh ₃ , <i>p</i> -Nitrobenzoesäure dann DEAD	Benzol	0 °C → RT, 48 h	Kein Produkt 5 % 75

Es konnte weder mit *p*-Nitrobenzoesäure als Nukleophil noch mit Chloressigsäure Umsatz zum Produkt beobachtet werden (Eintrag 1 und 3). Das Erwärmen auf Raumtemperatur (Eintrag 2-4) führte nur zur Eliminierung und Bildung des konjugierten Enins **75**. Auch der Wechsel auf Benzol (Eintrag 4) als Lösemittel, welches in einigen kritischen Fällen gemäß Literatur zum Erfolg führte,⁸⁴ veränderte das Reaktionsverhalten nicht.

Alternativ gelang die Oxidation zum Keton gefolgt von einer *syn*-selektiven Reduktion. Diese Sequenz erwies sich jedoch als problematisch (Schema 47).



Schema 47: Inversion des Stereozentrums durch Oxidation-Reduktionssequenz. Reaktionsbedingungen: a) DMP, NaHCO₃, CH₂Cl₂, 0 °C, quant., b) DIBAL, CH₂Cl₂, -78 °C, 31 %, *syn* : *anti* 4:1.

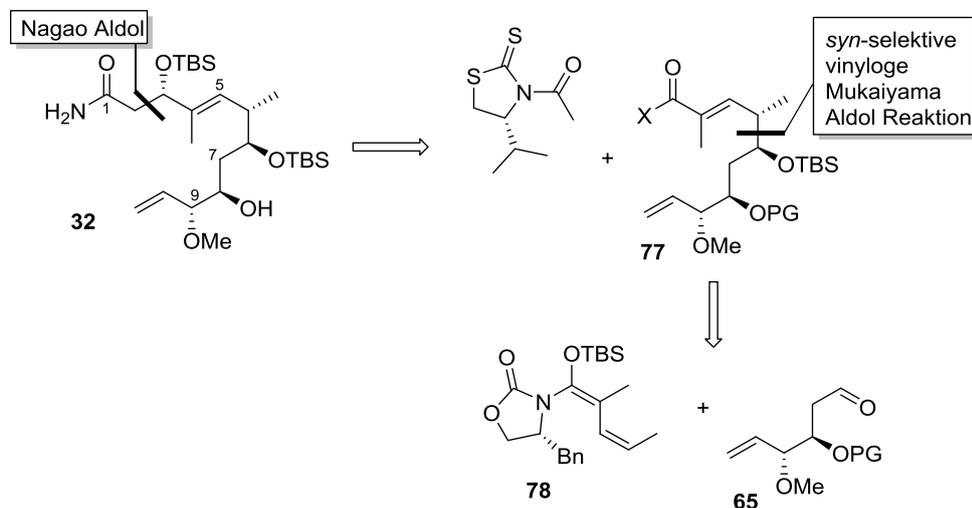
⁸⁴ S. F. Martin, J. A. Dodge, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3017-3020.

Denn obwohl die *syn* : *anti* Selektivität akzeptabel war, wurde das Produkt nur in geringer Ausbeute isoliert. Desweiteren wurde die nicht erwartete Epimerisierung des α -Stereozyentrums zum Keton beobachtet, welche bereits bei Lagerung nach einer Stunde nachgewiesen wurde.

Aufgrund dieser Gegebenheit wurde der Ansatz der Inversion abgebrochen, der ursprüngliche Synthesepfad verworfen, und ein neuer retrosynthetischer Ansatz für das Ostfragment gesucht.

Eine neue Variante der MARSHALL Reaktion, welche *syn*-selektive Addukte mittels chiraler Brønstedt Säuren und Allenylboronaten zugänglich macht, wurde 2012 von ROUSH publiziert.⁸⁵ Sie wurde im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht getestet, da bereits ein neuer Synthesezugang gesucht wurde, ist aber für die ursprüngliche Syntheseroute potentiell interessant.

Als neuer retrosynthetischer Ansatz wurde ein Schnitt zwischen C7 und C6 gewählt. Mittels der von KOBAYASHI entwickelten vinylogen MUKAIYAMA Aldol Reaktion (VMAR), welche von KALESSE⁸⁶ auf *syn*-Produkte erweitert wurde, sollten sowohl die Stereozentren an C6 und C7 als auch die Konfiguration der olefinischen Doppelbindung gesteuert werden. Für das letzte Stereozentrum an C3 wurde eine Acetaldolreaktion nach NAGAO geplant, da sich diese in der Vergangenheit als zuverlässig erwiesen hatte und das Auxiliar direkt durch Ammoniak⁸⁷ substituierbar ist (Schema 48). Die neuen retrosynthetischen Schnitte ermöglichen es, den aus der ursprünglichen Route bekannten Aldehyd **65** für das Ostfragment (**32**) zu verwenden.



Schema 48: Neuer retrosynthetischer Ansatz zu Ostfragment **32** über eine vinyloge MUKAIYAMA Aldol, die ebenfalls auf Vorläufer **65** zurückführbar ist.

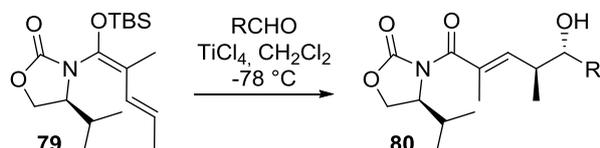
⁸⁵ M. Chen, W. R. Roush, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10947-10952.

⁸⁶ G. Symkenberg, M. Kalesse, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1608-1611.

⁸⁷ D. Romo, R. M. Rzasa, H. A. Shea, K. Park, J. M. Langenhan, L. Sun, A. Akhiezer, J. O. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12237-12254.

3.1.4.3 Vinyloge MUKAIYAMA Aldol Reaktion

Um eine *syn*-selektive VMAR zu realisieren, findet man in der Literatur die von KOBAYASHI *et al.*⁸⁸ entwickelte Methode als eine von verschiedenen Vielversprechenden. Das an das EVANS-Auxiliar gekoppelte *N,O*-Silylketenacetal **79** wird dabei verwendet, und bietet gute Voraussetzungen für die hier gewünschte Transformation (Schema 49).



Schema 49 Vinyloge MUKAIYAMA Aldol Reaktion nach KOBAYASHI.

Die Reaktion verläuft dabei in der Regel *anti*-selektiv, jedoch wird im Falle einer Chelatkontrolle über die α -⁸⁹ oder β -Positionen⁹⁰ das *syn*-Produkt gebildet. KALESSE erweiterte die Reaktion durch Verwendung der (*Z*)-Vinylketenacetale zur *syn*-selektiven nicht-chelatisierten KOBAYASHI Aldol. Bei Chelatisierung wird auch hier das *anti*-Addukt gebildet. Die Stereoselektivität lässt sich durch die Übergangszustände **ÜZ 7-10** (Abbildung 18) begründen, wobei die Lewisäure, welche sich *anti* zum Kohlenstoffrest auf das Sauerstoffatom des Aldehyds setzt, eine tragende Rolle bei der Stereokontrolle einnimmt.

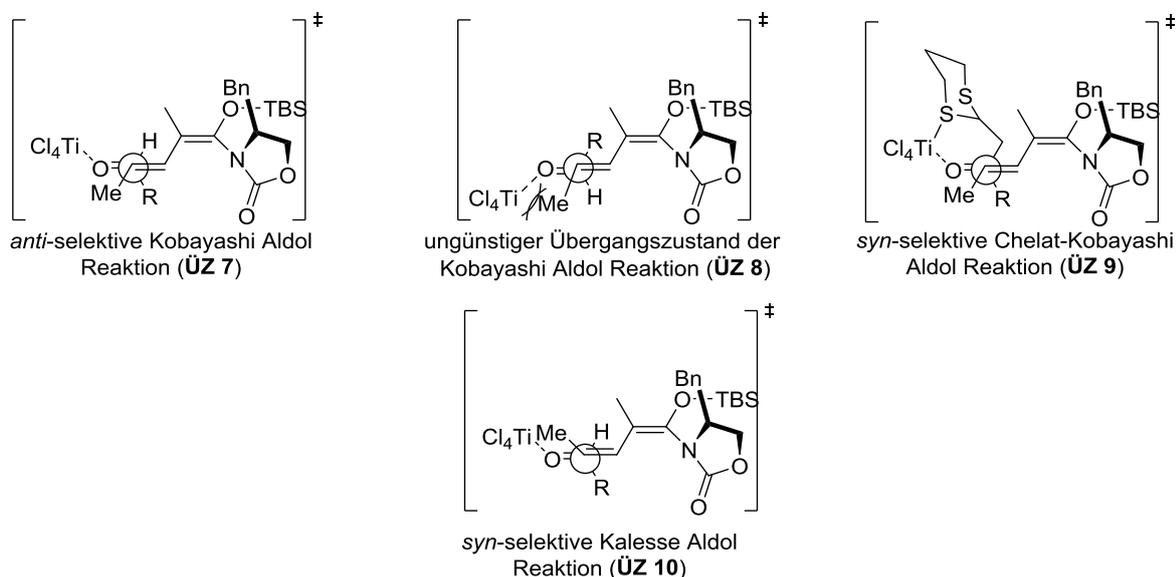


Abbildung 18: Mögliche Übergangszustände **ÜZ 7-10** für die KOBAYASHI Aldol Reaktionen.

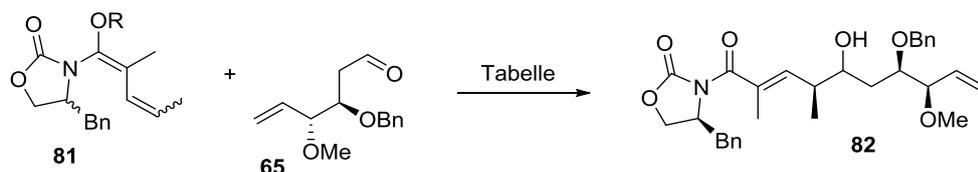
Die Reaktion wurde jedoch bisher in Totalsynthesen immer mit recht einfachen Aldehyden durchgeführt und das Vinylketenacetal (VKE) als limitierendes Substrat verwendet. Da im

⁸⁸ S.-i. Shirokawa, M. Kamiyama, T. Nakamura, M. Okada, A. Nakazaki, S. Hosokawa, S. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13604-13605.

⁸⁹ M. Shinoyama, S. Shirokawa, A. Nakazaki, S. Kobayashi, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1277-1280.

⁹⁰ a) L. Wang, J. Gong, L. Deng, Z. Xiang, Z. Chen, Y. Wang, J. Chen, Z. Yang, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1809-1812;
b) L. Wang, Y. Xi, S. Yang, R. Zhu, Y. Liang, J. Chen, Z. Yang, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 74-77.

vorliegenden Fall der Aldehyd komplexer und schwieriger darzustellen war, wurde dieser als limitierende Komponente verwendet (Schema 50, Tabelle 5).



Schema 50: VMAR von Aldehyd **65** mit VKE **81** nach KOBAYASHI.

Tabelle 5: Exemplarische Bedingungen der VMAR Reaktion.

	Lewis Säure	Bedingungen	(R):(S)	Ausbeute	R	VKE	Anmerkung
1	1 Äq. TiCl ₄	-78 °C, 4 d	10:1	30 %	TBS	(R,E)	Zers. ^a
2	1 Äq. [4 TiCl ₄ : 1 Ti(O <i>i</i> Pr) ₄]	-78 → -50 °C, 5 d	10 : 1	16 %	TBS	(R,E)	Leichte Zers. ^a
3	1 Äq. [100 TiCl ₄ : 1 Ti(O <i>i</i> Pr) ₄]	-78 °C, 4 d	4 : 1	5 %	TBS	(R,E)	^a
4	1 Äq. Ti(O <i>i</i> Pr)Cl ₃	-78 → -45 °C, 9 d	10:1	20 %	TBS	(R,E)	^a
5	2 Äq. TiCl ₄	-78 °C, 4 d	2 : 1	15 %	TBS	(R,E)	Zers. ^a
6	2 Äq. TiCl ₄	-78 → 0 °C, 4 d	1 : 5	15 %	TBS	(R,E)	Zers. ^a
7	2 Äq. Ti(O <i>i</i> Pr)Cl ₃	-78 → 0 °C, 4 d	1 : 0.9	15 %	TBS	(R,E)	Zers. ^a
8	2 Äq. Ti(O <i>i</i> Pr)Cl ₃ ^c	-78 → -55 °C, 4 d	1 : 10	42 %	TBS	(R,E)	^a
9	2 Äq. TiCl ₄	-78 → -55 °C, 4 d	n.b.	10 %	TES	(R,E)	Zers. ^a
10	2 Äq. Ti(O <i>i</i> Pr)Cl ₃ ^c	-78 → -55 °C, 4 d	-	-	TBS	(R,E)	kein Umsatz ^a
11	2 Äq. Ti(O <i>i</i> Pr)Cl ₃ ^c	-78 → -55 °C, 4 d	5 : 1	10 %	TBS	(R,E)	^b
12	2 Äq. Ti(O <i>i</i> Pr)Cl ₃ ^c	-78 → -55 °C, 4 d	5 : 1	10 %	TES	(R,E)	^b
13	1 Äq. BF ₃ ·OEt ₂	-78 → -55 °C, 4 d	1 : 1	70 %	TBS	(S,Z)	^a
14	1 Äq. (C ₆ F ₅) ₃ B	-78 → -55 °C, 4 d	n.b.	15 %	TBS	(S,Z)	^a

^a Reaktion in CH₂Cl₂, ^b Reaktion in PhMe, ^c 10 mol% H₂O.

Die Verwendung von reinem TiCl_4 (Eintrag 1) erwies sich schnell als problematisch, da sie immer mit der Zersetzung des Aldehyds einhergeht. Bei der Verwendung von abgeschwächten TiCl_4 durch Mischung mit $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ lässt sich diese Zersetzung auch mit nur kleinen Mengen von $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ stark reduzieren (Eintrag 2 und 3), wobei auch hier die Reaktionstemperatur nicht zu hoch gewählt werden durfte (Eintrag 7). Erstaunlicherweise entstand bei der Verwendung von einem Äquivalent Titan, das nicht erwartete *anti*-Produkt als bevorzugtes Diastereomer (Eintrag 1-4). Diese Beobachtung kann darauf zurück geführt werden, dass sich im Substrat **65** mit der Methoxygruppe in γ -Position eine weitere Lewis-basische Gruppe befindet, sodass sich bei der Verwendung von einem Äquivalent Lewissäure kein definiertes 1,3-Chelataddukt bildet, sondern eine Mischung von Koordinationsprodukten mit der Titan-Lewissäure, welche sich nicht einheitlich verhalten. Durch Zugabe eines weiteren Äquivalents sollte, ähnlich einer *anti*-EVANS Aldol Reaktion⁹¹, eine weitere Koordinationsstelle frei werden, was zu einem definierten Übergangszustand **ÜZ 11** führen sollte, der das *syn*-Produkt liefern sollte (Abbildung 19). Die Verwendung von zwei Äquivalenten Lewissäure und leicht erhöhten Reaktionstemperaturen resultierte dann tatsächlich in der Bevorzugung des gewünschten *syn*-Addukts (Eintrag 5-9). Trotz allem benötigten sämtliche Reaktionen sehr lange Reaktionszeiten von mehreren Tagen bei nur niedrigem Umsatz. Falls keine Zersetzung stattfand konnten aber beide Substrate in vollem Umfang reisoliert werden (100 % Ausbeute b.r.s.m.). Eine akzeptable Ausbeute ließ sich einmalig mit den Bedingungen unter Eintrag 8 erreichen; jedoch war die Reproduzierbarkeit dieser Reaktion mangelhaft und zeigte dann meist nur Ausbeuten im Bereich von 15 %. Der Zusatz von H_2O oder die Durchführung in Toluol, wie sie in Einzelfällen von KOBAYASHI beschrieben werden, um bessere Reproduzierbarkeit, offensichtlich ist diese häufiger nicht gegeben, und Geschwindigkeitssteigerung zu erreichen, konnten hier nicht zur Reaktionsbeschleunigung beitragen und führten ebenfalls zur unerwünschten Stereoinduktion (Eintrag 10-12).⁹² Auch die Verwendung des TES Ketenacetals resultierte nicht in der gewünschten Reaktionsbeschleunigung (Eintrag 9 und 12). Bei allen Reaktionen wurde stets nur die Bildung von zwei verschiedenen Diastereomeren beobachtet.

Als Alternative zur Chelatkontrolle wurde das KALESSE Protokoll mit einer einzähnigen Lewissäure verwendet. BF_3 scheint zu klein zu sein, um entscheidend Stereoselektivität zu induzieren, es führte jedoch zu einer stark erhöhten Reaktionsgeschwindigkeit (Eintrag 13). Die Verwendung von $(\text{C}_6\text{F}_5)_3\text{B}$ als Lewissäure sollte das Problem des sterischen Anspruchs beheben, zeigte jedoch ähnlich der Titan-Lewissäuren ebenfalls eine stark verminderte Reaktivität (Eintrag 14).

⁹¹ M. T. Crimmins, B. W. King, E. A. Tabet, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7883-7884.

⁹² M. Yamaoka, A. Nakazaki, S. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 287-289.

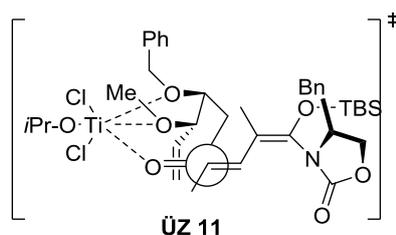
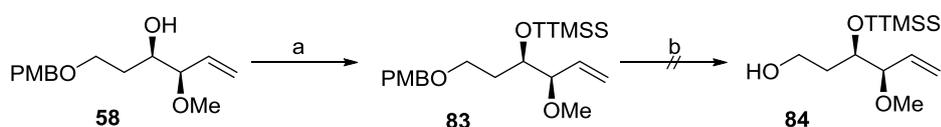


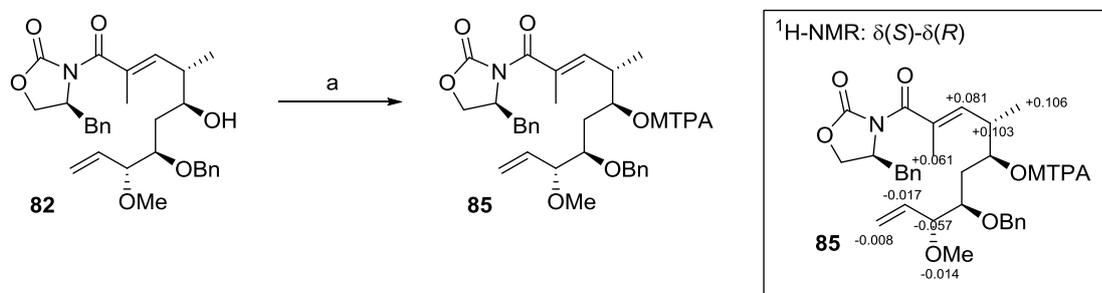
Abbildung 19: Postulierter Übergangszustand der VMAR mit zwei Äquivalenten Lewis Säure.

Alternativ sollte eine stark sterisch abgeschirmte Schutzgruppe auf dem Alkohol an C9 installiert werden, welche nicht chelatisierungsfähig ist, um die KOBAYASHI Aldolreaktion nach dem KALESSE Protokoll mit Titan-Lewisäure *syn*-selektiv zu gestalten. Als Schutzgruppe sollte die Supersilylgruppe TTMS verwendet werden, die sich orthogonal zu TBS abspalten lassen sollte. Die Einführung gelang ohne Komplikationen, jedoch ließ sich die PMB Gruppe nicht orthogonal entfernen. Eine Reaktion mit DDQ führte zur bevorzugten Entschützung der TTMS Gruppe und Bildung von **58**. Auch alternative Protokolle zum Entfernen der PMB Gruppe versagten. Zusätzlich musste festgestellt werden, dass der TTMS Ether bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ und trotz Lichtausschlusses nicht lagerstabil ist, was damit eine Synthese über mehrere Stufen ausschloss. So musste schließlich auch von dieser Strategie abgerückt werden.



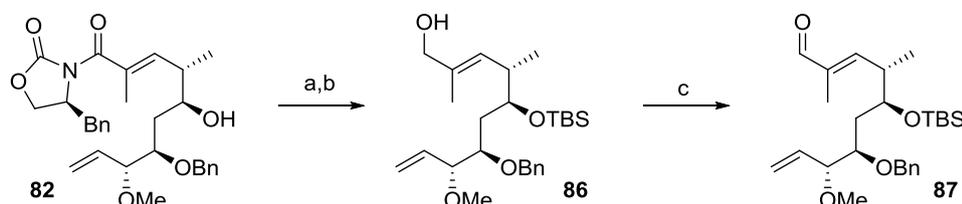
Schema 51: Alternative Schutzgruppenstrategie für die VMAR. Reaktionsbedingungen: a) TTMSH, TfOH, dann **58**, 2,6-Lutidin, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ \rightarrow RT, 12 h, 80 %; b) u.a.: DDQ, H_2O , CH_2Cl_2 .

Die Stereochemie des Carbinols in dem Aldol Produkt wurde über die MOSHER Methode bestimmt (Schema 52) und die Stereochemie der Methylgruppe wurde zunächst analog zu den Vorarbeiten angenommen.



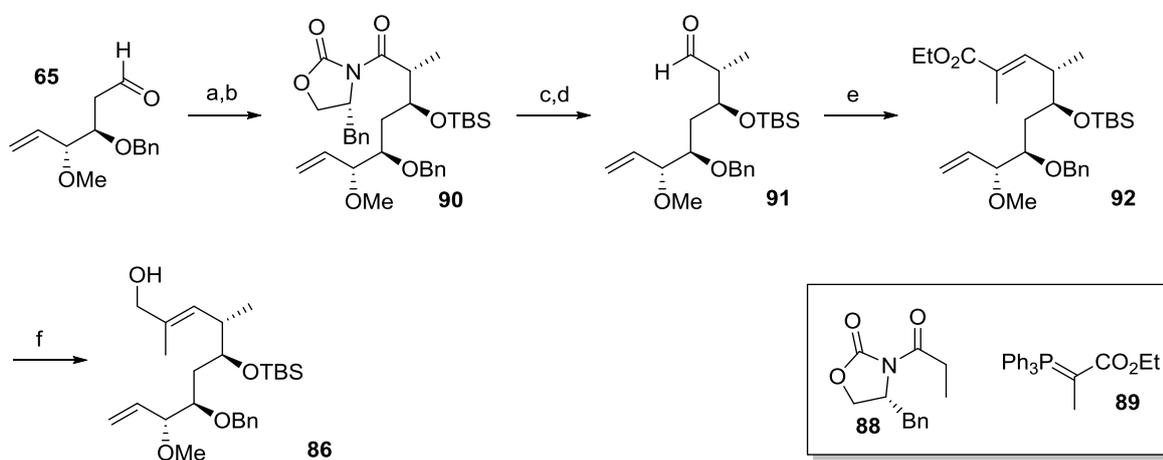
Schema 52: Darstellung der Mosherester und Bestätigung der Stereokonfiguration von **82**. Reaktionsbedingungen: a) (*R*)- bzw. (*S*)-MOSHER Säurechlorid, Et_3N , DMAP, CH_2Cl_2 , RT, 12 h, 62 % (*S*)-Ester bzw. 62 % (*R*)-Ester.

Schätzung, reduktive Abspaltung des EVANS Auxiliars gefolgt von Oxidation lieferte den für die folgende Acetaldol Reaktion benötigten Aldehyd **87** (Schema 53). Es bleibt anzumerken, dass die Oxidation mit MnO_2 zwar möglich ist, aber nur mit verringerter Ausbeute erfolgte. Mehrere, nicht identifizierbare, Nebenprodukte wurden stattdessen gebildet, weshalb hier bevorzugt DMP verwendet wurde.



Schema 53: Reduktive Spaltung und Reduktions-Oxidationssequenz zu Aldehyd **87**. Reaktionsbedingungen: a) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 12 h, 83 %; b) LiBH_4 , Et_2O , MeOH, 0°C , 12 h, 63 %; c) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , 0°C , 30 min, 97 %.

Die endgültige Bestätigung der Konfiguration der Methylverzweigung erfolgte später über eine alternative Syntheseroute. In dieser wurden die beiden Stereozentren an C6 und C7 mit einer Standard EVANS Aldol-Reaktion generiert. Der Aufbau der Doppelbindung erfolgte nach Schätzung, reduktiver Spaltung und Oxidation zum α -chiralen Aldehyd **91** über eine WITTIG Reaktion mit **89** zu **92**. Dieser ergab nach Reduktion Allylalkohol **86**, welcher auch durch die VMAR Route erzeugt wurde (Schema 54).



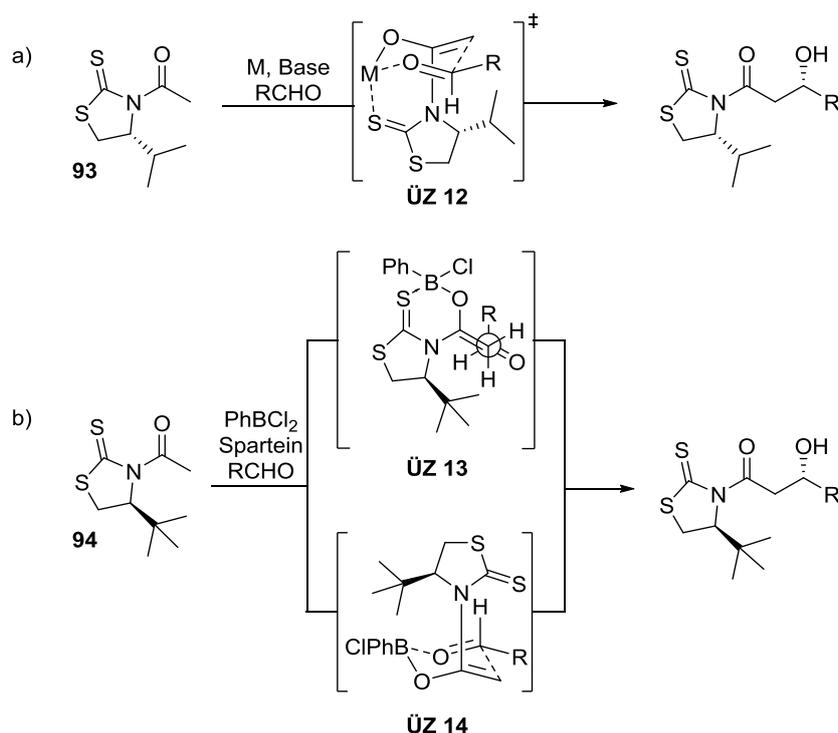
Schema 54: Alternative Route über EVANS Aldol und Schätzung zu **86**, gefolgt von WITTIG Reaktion und Reduktion. Reaktionsbedingungen: a) **88**, $n\text{Bu}_2\text{BOTf}$, Et_3N , CH_2Cl_2 , -78°C , 12 h; b) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 12 h, 83 % über 2 Stufen; c) LiBH_4 , Et_2O , MeOH, 12 h, 0°C , 83 %; d) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , 0°C , 2,5 h; e) **89**, CH_2Cl_2 , 55°C , 78 h, 85 % über 2 Stufen; f) DIBAL, CH_2Cl_2 , $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 2 h, quant.

Auch wenn die Route formell drei Stufen länger ist als mit der vinylogenen Aldol-Reaktion, ist sie aufgrund der langen Reaktionsdauer der VMAR nicht wesentlich zeitintensiver und liefert bessere Ausbeuten, wenn die Reisolierung der Startmaterialien bei der KOBAYASHI Aldol-Reaktionen unberücksichtigt bleibt.

3.1.4.4 Acetaldol-Reaktion

Acetaldol-Reaktionen erweisen sich, verglichen mit Propionaldol-Reaktionen, häufig als schwierig bezüglich der absoluten Stereokontrolle.⁹³ Eine robuste Methode für die Acetaldol-Reaktion ist die Aldol-Reaktionen nach NAGAO,⁹⁴ welche daher als Startpunkt für die Reaktion dienen sollte. Da von den Vorarbeiten von HARMROLFS⁶⁰ bekannt war, dass das Ostfragment besonders sensitiv gegenüber oxidativen Bedingungen ist, wurde besonderer Wert darauf gelegt, dass entsprechende Reste am Enol-Baustein einfach zum primären Amid austauschbar sind.

Die NAGAO Aldol-Reaktion verläuft dabei über einen chelatisierten ZIMMERMANN-TRAXLER Übergangszustand **ÜZ 12** (Schema 55, a) unter Verwendung von Thiazolidinthion-abgeleiteten Titan- oder Zinnenolaten. Im Gegensatz zur EVANS Aldol-Reaktion werden chelatisierende Lewisäuren, wie $\text{Sn}(\text{OTf})_2$ oder TiCl_4 , verwendet, welche zusätzlich den Thionschwefel komplexieren und so den Fünfring im Übergangszustand fixieren. Eine Variante nach SAMMAKIA⁹⁵ verwendet zur verbesserten Stereokontrolle *t*Bu-Leucin als Ausgangssubstanz für das Thiazolidinthion **94** und PhBCl_2 als Lewisäure. Es sind zwei Übergangszustände möglich: a) einen offenkettigen (**ÜZ 13**) und b) einen EVANS-aldolartigen, bei dem die Orientierung des Thiazolidinthionringes über Dipolminimierung verläuft (**ÜZ 14**). Beide führen dabei zum selben beobachteten Produkt (Schema 55, b).



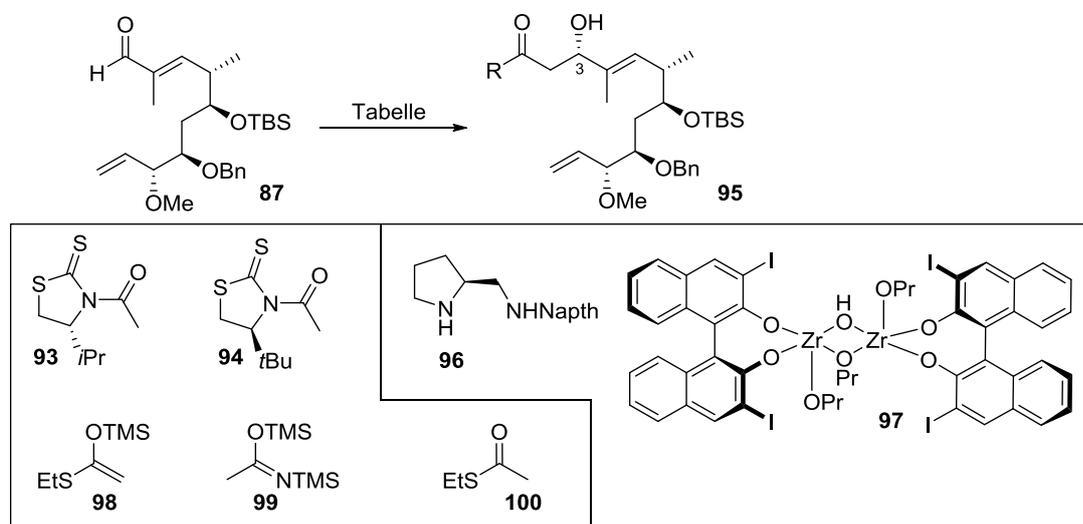
Schema 55: Mechanismus der Acetaldol-Reaktion nach NAGAO und Variante nach SAMMAKIA.

⁹³ X. Ariza, J. Garcia, P. Romea, F. Urpí, *Synthesis*, **2011**, 2175-2191.

⁹⁴ a) Y. Nagao, S. Yamada, T. Kumagi, M. Ochiai, E. Fujita, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1418-1419; b) Y. Nagao, Y. Hagiwara, T. Kumagi, M. Ochiai, T. Inoue, K. Hashimoto, E. Fujita, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2391-2393; c) A. Gonzalez, J. Aiguade, F. Urpi, J. Vilarrasa, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8949-8952.

⁹⁵ Y. Zhang, A. J. Philips, T. Sammakia, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 23-25.

Für die Acetataldol-Reaktion wurden neben der NAGAO Aldol-Reaktion auch noch weitere Acetataldolreaktionen in Erwägung gezogen, welche einfach hydrolysierbare Thioester liefern sollten (Schema 56).



Schema 56: Acetataldol-Experimente zum Aufbau des Stereozentrums an C3.

Tabelle 6: Exemplarische Bedingungen zur Acetataldol.

	Nukleophil	Lewis Säure	Bedingungen	Anmerkung
1	93	TiCl ₄	DIPEA, CH ₂ Cl ₂ , -78 °C	Zersetzung
2	93	Sn(OTf) ₂	NEP oder DIPEA, CH ₂ Cl ₂ , -78 → 0 °C	Keine Reaktion
3	94	PhBCl ₂	(-)-Sparteine, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	Zersetzung
4	98	Sn(OTf) ₂ ,	SnBu ₂ (OAc) ₂ , 96, CH ₂ Cl ₂ oder EtCN, -78 → -55 °C	< 5 %, d.r. 1:1
5	98	97	<i>n</i> -PrOH, PhMe, 0 °C	Spuren Produkt, Zersetzung
6	93	-	LiHMDS, THF, -78 °C	Keine Reaktion
7	100	-	LiHMDS, THF, -78 °C	70 %, d.r. 1:1
8	99	-	<i>n</i> BuLi, THF, -78 °C	100 %, d.r. 2.44:1
9	99	-	<i>n</i> BuLi, THF, -98 °C	74 %, d.r. 5:1
10	99	-	<i>n</i> BuLi, THF, -105 → -78 °C	100 %, d.r. 4.22:1

Der Aldehyd **87** zeigte, auch in Anwesenheit von Basen, eine ausgeprägte Sensitivität gegenüber Lewissäuren. Wurden starke Lewissäuren wie TiCl₄ (Tabelle 6, Eintrag 1) zur Enolatbildung eingesetzt, führte dies sehr rasch zur völligen Zersetzung des Aldehyds. Mildere Lewissäuren ermöglichten häufig erst bei erhöhter Temperatur den Einstieg in die Reaktion, allerdings ging diese

mit Zersetzung einher, so wie bei PhBCl_2 (Eintrag 3), oder zu keinerlei Diastereoselektivität bei niedriger Ausbeute (Eintrag 4),⁹⁶ falls überhaupt eine Reaktivität zu beobachten war (Eintrag 2). Auch ein gemäß den Arbeiten von KOBAYASHI besonders mildes Protokoll⁹⁷ mit dem frisch synthetisierten Katalysator **97** führte nur zur Bildung von Spuren des Produktes (Nachweis per LC-MS) während sich der Großteil der Reaktionspartner zersetzte. Letztendlich wurde der Versuch unternommen, die Reaktionsführung rein anionisch zu gestalten. Da in der modernen Aldolchemie die Enolatbildung fast ausschließlich über Verwendung von Lewissäuren erfolgt, standen vorwiegend symmetrische Varianten zur Verfügung. Der Versuch, eine Induktion über die Deprotonierung des NAGAO Auxiliars analog zu anionischen Varianten der EVANS Aldolreaktion zu erreichen, schlug fehl. Deshalb wurde entschlossen, die Reaktion symmetrisch zu führen und auf einen stereoinduktiven Einfluss des Substrates zu setzen. Die Verwendung des Lithiumenolats des *S*-Ethylthioacetat (**100**)⁹⁸ lieferte das gewünschte Aldoladdukt in guter Ausbeute aber ohne jegliche Stereokontrolle (Eintrag 7).

Da der Thioester erstaunlicherweise zahlreichen Methoden der Aminolyse zum primären Amid trotzte und nur minimale Ausbeuten lieferte, wurde nach weiteren Methoden einer geeigneten Aldol-Reaktion gesucht. Ein Protokoll nach MORWICK⁹⁹, dass das Silylierungsreagenz BSA für die Bildung eines Lithiumenolates nutzt, führte schließlich direkt zum gewünschten primären Amid und zwar in sehr guten Ausbeuten und mit der gewünschten Stereoinduktion (Eintrag 8). Die Stereoinduktion konnte durch Verringerung der Reaktionstemperatur noch weiter verbessert werden, wobei jedoch die Ausbeuten zurückgingen (Eintrag 9). Erwärmen auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ nach Zugabe bei $-105\text{ }^\circ\text{C}$ (Eintrag 10) führte hier zu der gewünschten hohen Ausbeute mit einer zufriedenstellenden Selektivität von 4.2:1 für das gewünschte Diastereomer **95**.

Die Diastereoselektivität der Reaktion lässt sich über Modeling Experimente nachvollziehen. Die Vorzugskonformation des Moleküls basiert auf der Allylspannung, sodass die *re* Seite des Aldehyds sowohl von der Benzyl- wie auch der TBS-Gruppe sterisch abgeschirmt wird (Abbildung 20). Da das Lithiumenolat von BSA aufgrund der Silylether sterisch recht anspruchsvoll ist, erklärt sich der Selektivitätsunterschied zu Eintrag 7 mit dem Lithiumenolat von *S*-Ethylthioacetat (**100**). Da die Konformation des Aldehyds trotzdem flexibel ist, erweist sich die Selektivität bei $-78\text{ }^\circ\text{C}$ nur als moderat.

⁹⁶ S. Kobayashi, H. Uchiro, Y. Fujishita, I. Shiina, T. Mukaiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4247-4252.

⁹⁷ Y. Yamashita, H. Ishitani, H. Shimizu, S. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3292-3302.

⁹⁸ I. Shiina, Y.-j. Takasuna, R.-s. Suzuki, H. Oshiumi, Y. Komiyama, S. Hitomi, H. Fukui, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5279-5282.

⁹⁹ a) T. Morwick, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3227-3230; b) R. A. Gobao, M. L. Bremmer, S. M. Weinreb, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7065-7068; c) D. A. Evans, R. Y. Wong, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 350-352.

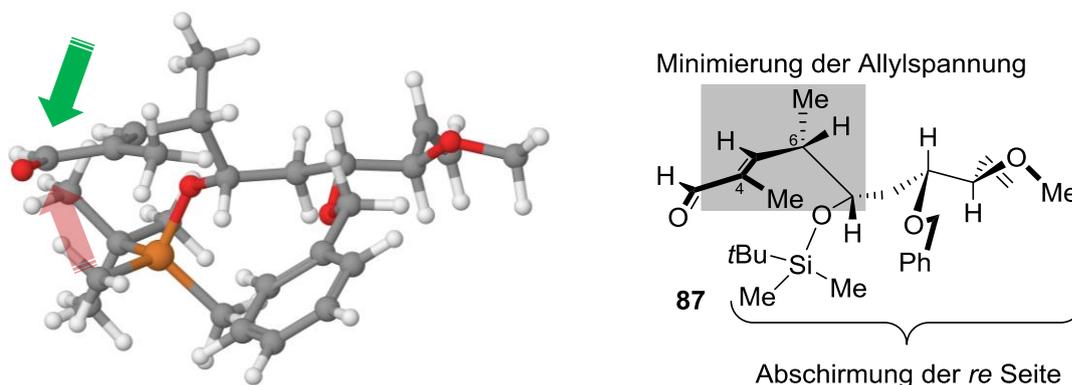
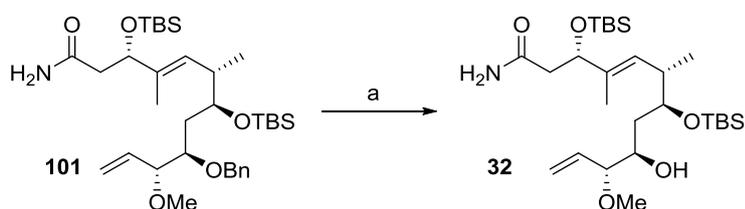


Abbildung 20: Die thermodynamisch günstigste Konformation des Aldehyds begünstigt den Angriff von der *si* Seite (grüner Pfeil), während der Angriff der *re* Seite (roter Pfeil) durch Benzyl- und TBS-Gruppe gehindert ist. Die Methylgruppen an C4 und C6 nehmen dabei den größtmöglichen Abstand ein.

Eine Kuriosität, die bei der Aldolreaktion zu beobachten war, ist, dass das ungewünschte Diastereomer eine weitaus höhere Säurelabilität aufweist. Die Aufarbeitung mit 1 M Salzsäure bei Raumtemperatur sollte die TMS-Silylether entfernen. Die Bedingungen führen innerhalb von wenigen Minuten zur vollständigen Eliminierung beim ungewünschten (*R*)-Diastereomer und Bildung des α,β -ungesättigten Amids. Da die Ausbeute des (*S*)-Diastereomers jedoch ebenfalls um ~10 % sinkt, muss die Desilylierung bei 0 °C durchgeführt werden, wobei dann keine Eliminierung auftritt. Es sei darauf hingewiesen, dass das Eliminierungsprodukt leicht vom gewünschten Diastereomer abtrennbar ist.

Die Stereochemie des resultierenden Alkohols wurde nach Entschützung durch Identität der NMR-Spektren des Ostfragments **32** mit den Spektren von HARMROLFS bestätigt.⁶⁰

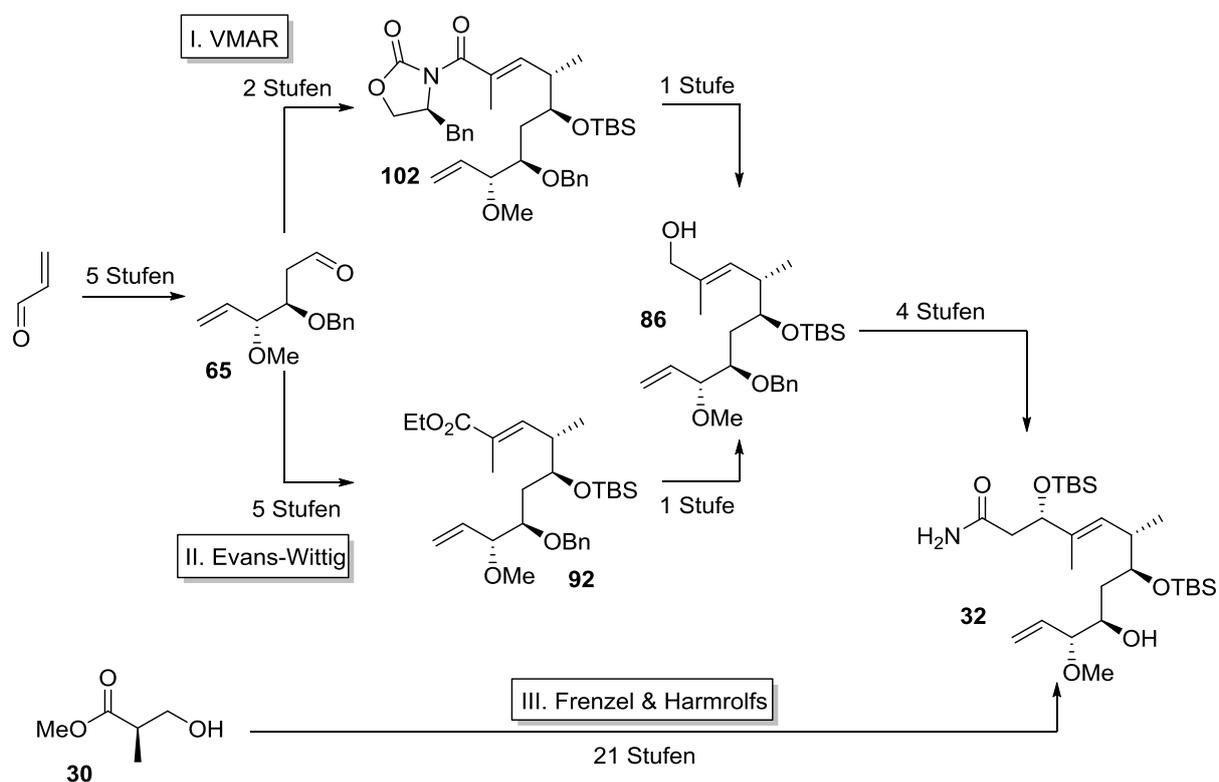
Die Schützung des Aldoladduktes als TBS Ether erfolgte bei allen Experimenten direkt mit dem Rohprodukt der Aldol-Reaktionen und zwar ohne säulenchromatographische Reinigung, da gerade Acetataldol-Addukte zu Retroaldolreaktionen neigen.¹⁰⁰ Die für die Fertigstellung des Ostfragments **32** fehlende Entschützung des Benzylethers wurde wie zuvor mittels DBBP durchgeführt und erwies sich, trotz zweier Doppelbindungen im Molekül, als wenig problematisch (Schema 57).



Schema 57: Entschützung des Benzylethers zu Ostfragment **32**. Reaktionsbedingungen: a) DBBP, Li, THF, -78 °C, 98 % **101**.

¹⁰⁰ Reaktionsbedingungen: **95**, 2,6-Lutidin, TBSOTf, CH₂Cl₂, -78 °C → RT, quant.

Damit wurde ein neuer synthetischer Zugang des Ostfragments **32** entwickelt, der auch in präparativ interessanterem Maßstab durchgeführt werden kann. Die Verwendung der Route mit vinyloger MUKAIYAMA Aldol benötigt 12 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 8 % (19 % *brsm*), über EVANS Aldol und WITTIG Reaktion umfasst die Sequenz 15 Stufen mit einer Ausbeute von 22 %, ausgehend von Acrolein. Dies stellt eine Verkürzung der Sequenz um 9 bzw. 6 Stufen zur Route von FRENZEL und HARMROLFS dar (Schema 58).

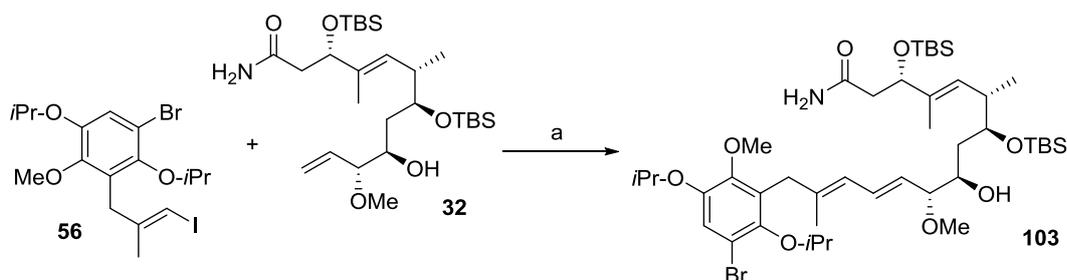


Schema 58: Übersicht der Routen zu Ostfragment **32**.

3.1.5 ENDSPIEL

3.1.5.1 HECK Kupplung

Nachdem die Kupplung der beiden Fragmente durch Metathese nicht vielversprechend verlaufen war (siehe 3.1.3.3), wurde die Kupplung durch Verwendung der HECK Reaktion unter JEFFREY Bedingungen¹⁰¹ realisiert (Schema 59), welche sich bereits in Synthese zu Proansamitocin bewährt hatte.^{63,60}



Schema 59: HECK Kupplung von West- **56** und Ostfragment **32**. Reaktionsbedingungen: a) Pd(OAc)₂, TBAB, Cs₂CO₃, Et₃N, DMF, RT, 12 h, 71 %.

Die Reaktion verlief in guten Ausbeuten und bedurfte daher keiner weiteren Optimierungen.

3.1.5.2 GOLDBERG Zyklisierung

Die Kupplung nach GOLDBERG¹⁰² ist eine Kupfer-katalysierte Reaktion von elektronenreichen Arylhalogeniden mit Amiden zu den entsprechenden substituierten Amiden und ist damit komplementär zur BUCHWALD-HARTWIG Reaktion, welche als Substrate bevorzugt elektronenarme Arylhalogenide, aktiviert unter Verwendung von Palladium-Katalyse, und Amide nutzt. Die ursprünglich harschen Reaktionsbedingungen, welche von GOLDBERG auf Grundlage der ULLMANN Kupplung entwickelt wurden, konnten durch ein Protokoll von BUCHWALD durch Zusatz von Diaminliganden¹⁰³ bedeutend gemildert werden, was die Anwendung in der modernen Naturstoffsynthese¹⁰⁴ ermöglicht. Der Mechanismus der Reaktion verbleibt bis heute unverstanden, obwohl gelegentlich Untersuchungen zu mechanistischen Aspekten der Reaktion publiziert wurden.¹⁰⁵

¹⁰¹ a) T. Jeffrey, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 2667-2670; b) T. Jeffrey, *Tetrahedron* **1996**, 52, 10113-10130.

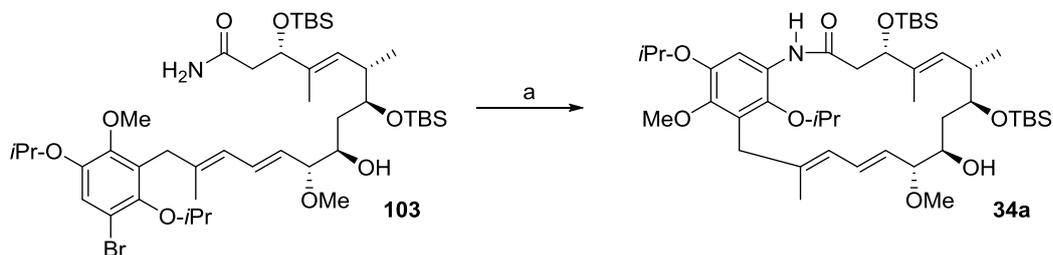
¹⁰² I. Goldberg; *Chem. Ber.* **1906**, 39, 1691-1692.

¹⁰³ L. Jiang, G. E. Job, A. Klapars, S. L. Buchwald, *Org. Lett.* **2003**, 20, 3667-3669.

¹⁰⁴ Für eine Übersicht über die modernen Varianten der Reaktion: D. S. Surry, S. L. Buchwald, *Chem. Sci.* **2010**, 1, 13-31.

¹⁰⁵ Einige Beispiele für mechanistische Studien zur Reaktion: a) E. R. Strieter; B. Bhayana, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 78-88; b) J. W. Tye, Z. Wenig, A. M. Johns, C. D. Incarvito, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 9971-9983; c) A. Casitas, A. E. King, T. Parella, M. Costas, S. S. Stahl, X. Ribas, *Chem. Sci.* **2010**, 1, 326-330.

Die Zyklisierung zu **34** verläuft ab einer Temperatur von 110 °C in Toluol mit DMEDA und K₂CO₃ zuverlässig (Schema 60).



Schema 60: Zyklisierung nach GOLDBERG. Reaktionsbedingungen: a) CuI, DMEDA, K₂CO₃, PhMe, 110 °C, 14 d, 46%.

Die erfolgreiche Zyklisierung wurde per Massenspektrometrie und durch ein HMBC Experiment belegt, welches z. B. die Arylierung des freien Alkohols ausschließt (Abbildung 21).

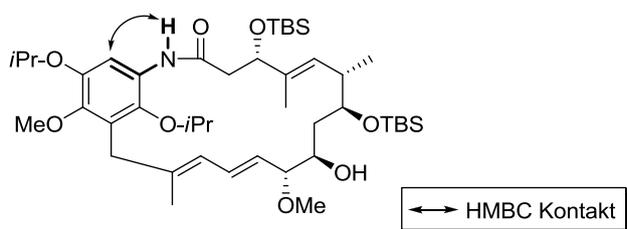


Abbildung 21: Wichtiger HMBC-Kontakt, der die Zyklisierung des Arylbromids mit dem freien Amid belegt.

Zur Senkung der langen Reaktionszeit von mehr als 14 Tagen wurden Lösemittel (Toluol, THF, 1,4-Dioxan, α,α,α -Trifluortoluol), Basen (K₃PO₄, K₂CO₃, Cs₂CO₃), Liganden (DMEDA, CyDMEDA, Pipecolinsäure¹⁰⁶) oder Wärmequellen (Ölbad oder Mikrowelle) variiert. In allen Fällen lief die Reaktion gleichermaßen langsam ab, obwohl der Initialumsatz bei 1,4-Dioxan am Höchsten war (bereits 15 % Umsatz¹⁰⁷ nach 24 h, danach Verlangsamung der Reaktionskinetik). Bei einer erhöhten Temperatur von 120-130 °C war der Umsatz signifikant schneller (40 % Umsatz¹⁰⁷ nach 4 Tagen), jedoch kam es bei dieser Temperatur auch zur partiellen Dehalogenierung des Startmaterials (etwa 30 %), welches in allen anderen Fällen vollständig zurückgewonnen werden konnte (100 % Ausbeute *brsm*). Das Dehalogenierungsprodukt konnte allerdings nicht vom Arylbromid getrennt werden.

Bei kürzerer Reaktionszeit als 14 Tage aber bei erhöhter Temperatur (125-130 °C) ist ebenfalls ein zweites Reaktionsprodukt zu beobachten (Verhältnis zum anderen Produkt meist 1 : 1). Dieses scheint in Lösung strukturell keine stabile Konformation einzunehmen. Die Aufnahme eines ¹H-NMR Spektrums führt in Chloroform zu einer starken Verbreiterung der Signale, sodass eine Auswertung

¹⁰⁶ X. Gao, H. Rao, H. Fu, Y. Jiang, Y. Zhao, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 2197-2202.

¹⁰⁷ Der Umsatz bezieht sich nur auf das umgewandelte Startmaterial; die tatsächliche Ausbeute entfällt gleichmäßig auf die beiden Atropisomere **34a** und **34b** (siehe darunter).

nicht möglich ist. In Methanol nimmt der Makrocyclus eine hinreichend stabile Konformation ein, sodass ein auswertbares Spektrum erhalten wird. Die Signale zeigen trotzdem noch eine starke Verbreiterung. Da es theoretisch denkbar ist, dass der Ringschluss von zwei diastereotopen Seiten des Aromaten erfolgt, und beide Reaktionsprodukte eine identische Masse haben, ist davon auszugehen, dass es sich bei dem zweiten Produkt um das Atropisomer **34b** handelt. Der sterische Anspruch der Isopropylether sollte die Konversion des einen Atropisomers in das andere stark behindern. Es ist zu vermerken, dass die beiden Produkte eine stark unterschiedliche Polarität aufweisen wie per Dünnschichtchromatographie mit PE/EE zu beobachten ist (der R_f -Wert des Atropisomers A liegt in PE/EE = 4:1 bei 0.67, der des Atropisomers B bei 0.33). In der LC-MS mit einer RP-Säule hingegen ist der Unterschied der Retentionszeiten nur geringfügig. Das zweite Atropisomer lässt sich thermisch in das Erste umwandeln. Dazu wurde das reine Atropisomer **34b** in DMF auf 145 °C erhitzt. Es wurde ein Verhältnis von 1:1.7 für die Atropisomere A : B nach 24 h erhalten. Das Verhältnis veränderte sich nicht weiter nach weiterem Erhitzen.

Um die Identität der beiden Atropisomere zu klären, wurde ein NOESY-Spektrum vom Atropisomer A angefertigt (Abbildung 22) und die nachweisbaren Kontakte mit Modeling-Experimenten verglichen.

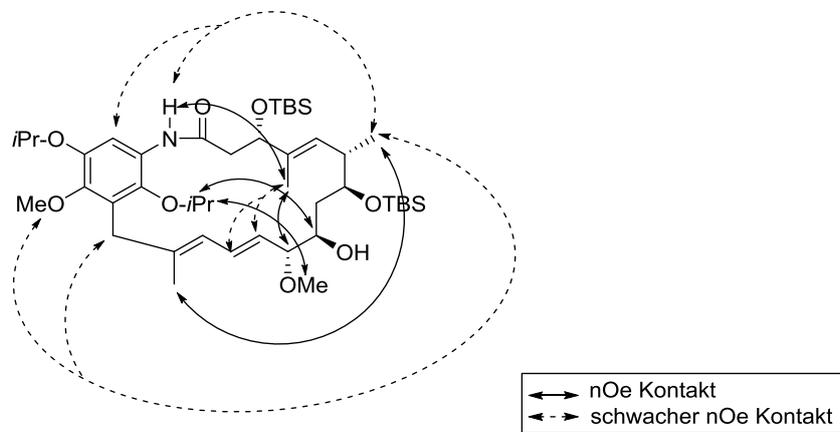


Abbildung 22: Strukturelevante Kontakte aus dem NOESY Experiment von **34a**.

Das gemessene NOESY Spektrum weist auf eine Konformation hin, die mit dem thermodynamisch günstigeren, berechneten, Atropisomer verwandt ist. Aufgrund der sehr starken diamagnetischen chemischen Verschiebung der 6-Methyl Gruppe (-0.11 ppm im $^1\text{H-NMR}$) ist jedoch davon auszugehen, dass die gemessene Konformation nicht identisch mit der berechneten Konformation (Abbildung 23) ist, sondern dass das Molekül noch etwas kompakter gefaltet sein muss, sodass die 6-Methyl Gruppe direkt vor dem Aromaten liegt, um sowohl die ungewöhnliche chemische Verschiebung als auch die entsprechenden nOe Kontakte zu erklären.

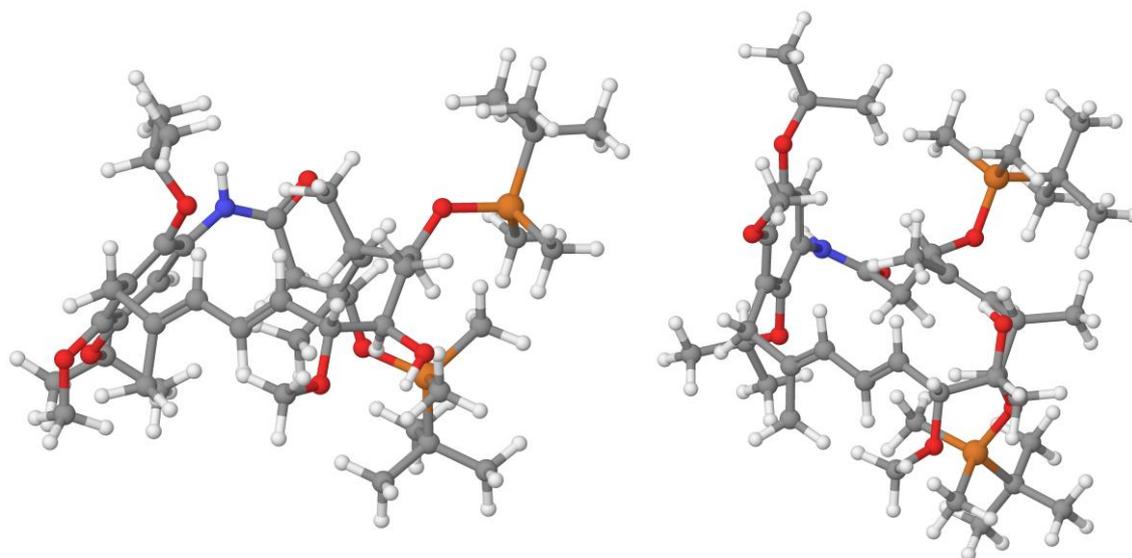
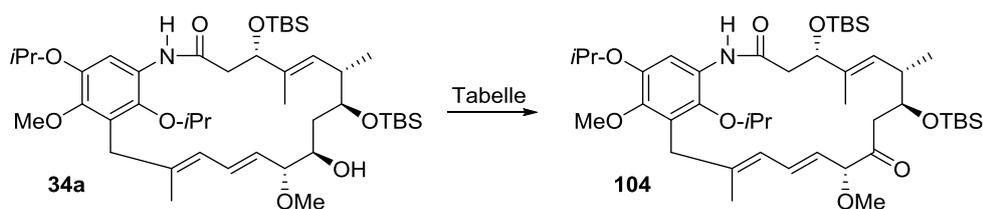


Abbildung 23: Modellierungsergebnisse der beiden Atropisomere **34a** und **34b**. Links das thermodynamisch günstigere Isomer, rechts das Ungünstigere.

Das andere, thermodynamisch weniger stabilere Atropisomer **34b**, welches sich thermisch in Atropisomer **34a** überführen lässt, sollte eine ähnliche Konformation haben wie die Berechnete. Aufgrund der schlechteren Auflösung im NMR-Spektrum konnte hier kein verwertbares NOESY angefertigt werden. Jedoch weist die chemische Verschiebung von 0.95 ppm auf eine reguläre chemische Umgebung der 6-Methyl Gruppe hin, welche in dem berechneten, thermodynamisch ungünstigeren, Atropisomer B gegeben ist. Letztendlich kann die Struktur der Atropisomere an dieser Stelle nicht vollständig geklärt werden, da die Beobachtungen nicht konform mit den berechneten Strukturen sind.

3.1.5.3 Oxidation

Die Oxidation des sekundären Alkohols, welches das geschützte Proansamitocinderivat **104** ergeben sollte, erwies sich aufgrund der aromatischen Einheit unerwartet als kompliziert (Schema 61). Die Oxidation des Atropisomers **34b** konnte in keinem Fall erreicht werden. Jeder Oxidationsversuch führte stets zur Zersetzung des Edukts.



Schema 61: Oxidation des sekundären Alkohols zum geschützten Proansamitocinderivat **103**.

Tabelle 7: Exemplarische Bedingungen zur Oxidation von **34a**.

	Oxidationsmittel	Bedingungen	Anmerkung
1	DMP	NaHCO ₃ , CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	Zersetzung
2	(COCl) ₂ , DMSO	Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , -55 °C	Zersetzung
3	TPAP, NMO	CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	Spuren; Zersetzung
4	TPAP	CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	70 % nur im sub-mg Maßstab
5	PDC	NaOAc, CH ₂ Cl ₂ , RT → 40 °C	keine Reaktion
6	PDC	DMF, 40 °C	30 %; Zersetzung
7	PDC	MS 3 Å, DMF, 40 °C	37 %; Zersetzung
8	PDC	MS 3 Å, CH ₂ Cl ₂ , RT	45 %
9	PDC	MS 3 Å, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	52 %
10	Al ₂ O ₃ , Chloral	CCl ₄ , RT	keine Reaktion
11	EtOAlEt ₂ , CF ₃ COCH ₃	CH ₂ Cl ₂ , RT	Zersetzung

Nachdem Standardoxidationsmethoden wie DESS-MARTIN Oxidation (Tabelle 7, Eintrag 1) oder Swern Bedingungen (Eintrag 2), unerwarteterweise zur rapiden Zersetzung des Eduktes führten, wurden andere Methoden wie die Ley Oxidation mit TPAP, getestet. Diese erwies sich aber nur in sehr geringen Ansatzmengen als zuverlässig und praktikabel. Bereits ab einer Menge von 1 mg Alkohol führte die Oxidation zur Zersetzung des Moleküls (Eintrag 4). Radikalische Oxidationsmethoden wie die TEMPO vermittelte Oxidation sollten aufgrund der empfindlichen C15 Position, welche benachbart zu einem Diensystem auf der einen Seite und einem Aromaten auf der anderen Seite liegt, vermieden werden. Der Einsatz des milden CORNFORTH-Reagenzes führte letztlich zur erfolgreichen Oxidation des Alkohols. Während die Reaktion unter sehr milden und gepufferten Bedingungen mit NaOAc (Eintrag 5) nicht zur Reaktion führte, zeigte sich rasch ein Umsatz bei Verwendung von DMF und dem beschleunigenden Zusatz von 3 Å Molekularsieb¹⁰⁸ (Eintrag 7). Durch gezieltes Abmildern der Reaktionsbedingungen (Eintrag 8 und 9), die durch Einsatz des Molsiebs ermöglicht wurde, ließ sich die Ausbeute bis auf 52 % verbessern (Eintrag 9). Auch hier führte die Reaktion jedoch zu einem beträchtlichen Anteil von Zerfallsprodukten. Die NMR-Analytik dazu konnte zwar kein Zerfallsprodukt eindeutig identifizieren, jedoch war in allen Zerfallsprodukten auffällig, dass das verbliebende Proton der letzten freien Position im Aromaten fehlte. Es ist daher anzunehmen, dass aufgrund des Elektronenreichtums des Aromaten auch eine Oxidation am Aromaten möglich ist, welche vermutlich dann zur Bildung eines empfindlichen Chinonsystems führt, welches

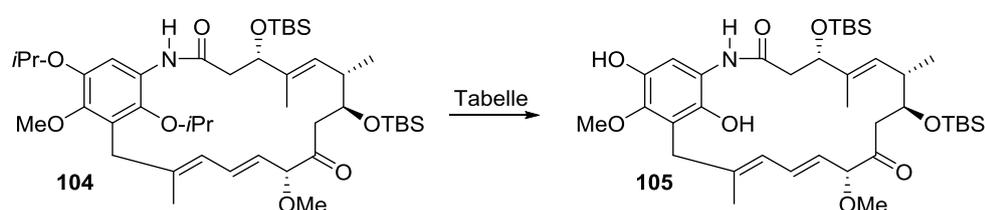
¹⁰⁸ J. Herscovici, M.-J. Egron, K. Antonakis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1982**, 1967-1973.

instabil ist und durch Folgechemie zerfällt. Um dieses Szenario zu verhindern und die Verwendung von Chrom zu vermeiden, sollten auch die für komplexe Synthesen eher unorthodoxen OPPENAUER Bedingungen getestet werden, da diese über eine Transferhydrierung und nicht über einen elektrophilen Angriff eines Oxidationsmittels funktionieren.

Die milden Reaktionsbedingungen mit neutralem Aluminiumoxid und Chloral als Hydridakzeptor¹⁰⁹ scheinen jedoch nicht reaktiv genug für eine Oxidation zu sein (Eintrag 10), während die Verwendung von α,α,α -Trifluoraceton und Diethylaluminiummethoxid,¹¹⁰ vermutlich aufgrund der Lewisäure, zur Zersetzung führt (Eintrag 11). Von einer Verwendung von $\text{Al}(\text{O}i\text{Pr})_3$ bei erhöhten Temperaturen wurde aufgrund der Isopropylether abgesehen.

3.1.5.4 Entschützung

Bevor die Carbamoylierung erfolgen sollte, sollte an dieser Stelle ursprünglich alle Schutzgruppen inklusive der Isopropylether entfernt werden. Die erst im Laufe dieser Arbeit veröffentlichte Publikation zur Entschützung von Diisopropoxygeldanamycin von BACH¹¹¹ gab bereits einen starken Hinweis darauf, dass eine Entschützung, wie bei PANEK,⁶¹ nicht komplikationsfrei verlaufen würde (Schema 62).



Schema 62: Entschützungsexperimente zur Isopropylabspaltung.

Tabelle 8: Exemplarische Bedingungen zur Abspaltung der Isopropylether.

	Lewisäure	Bedingungen	Anmerkung
1	BCl_3	CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$	keine Reaktion
2	BCl_3	CH_2Cl_2 , $-50\text{ }^\circ\text{C}$	Zersetzung
3	Et_2AlCl	CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow -45\text{ }^\circ\text{C}$	keine Reaktion
4	Et_2AlCl	CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$	Monoentschützung, Zersetzung

Sämtliche Bedingungen zur Entschützung führten nicht zum gewünschten Erfolg (Tabelle 8). Die Verwendung von BCl_3 , welches z. B. zum Entfernen der Isopropylether im Westfragment **56**

¹⁰⁹ G. H. Posner, R. B. Perfetti, A. W. Runquist, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 39, 3499-3502.

¹¹⁰ R. Mello, J. Martínez-Ferrer, G. Asensio, M. E. González-Núñez, *J. Org. Chem.* **2007**, 24, 9376-9378.

¹¹¹ T. Hampel, T. Neubauer, T. van Leeuwen, T. Bach, *Chem. Eur. J.* **2012**, 18, 10382-10392.

verwendet werden kann, führt hier bei -78 °C zu keinerlei Reaktion (Eintrag 1) und bereits bei Erwärmung auf -50 °C zur vollständigen Zersetzung des Produktes (Eintrag 2). Eine etwas mildere Lewisäure als das von PANEK und BACH verwendete AlCl_3 nämlich Et_2AlCl führte bei erniedrigter Temperatur ebenfalls zu keinem Umsatz (Eintrag 3). Bei Erwärmen auf 0 °C konnte jedoch eine langsame Monoentschützung der beiden Isopropylether per LC-MS detektiert werden (Eintrag 4). Die Reaktion stoppte allerdings nicht an diesem Punkt, sodass keine Isolation der Produkte vorgenommen werden konnte. Das gewünschte Produkt **105** konnte dabei auch nicht massenspektrometrisch in der Reaktion nachgewiesen werden.

Aufgrund der in Eintrag 4 beschriebenen Ergebnisse ist davon auszugehen, dass das freie Hydrochinon **105** nicht hinreichend stabil ist, weshalb an dieser Stelle auf weitere Anstrengungen zur Entschützung verzichtet wurde. Stattdessen wurde entschieden, die Isopropoxygruppen im Zielmolekül intakt zu lassen und die biologische Aktivität mit diesen Gruppen zu erproben.

Eine theoretische Betrachtung des Bindungsmodus von Dihydrogeldanamycin zeigt, dass das freie Hydrochinon nicht für die Bindung mit den Lysinen 112 und 58 notwendig ist, um eine biologische Aktivität zu erreichen, da die Sauerstoffatome als H-Akzeptoren und nicht als Donoren fungieren. An dieser Stelle ist es aber von Relevanz, ob der Aromat mit Isopropylethern noch in die Bindungstasche passt.

Dockingstudien¹¹² mit Diisopropoxygeldanamycin und der Vergleich mit Geldanamycin zeigen, dass die aromatische Einheit mit Isopropoxyethern in der Bindungstasche tatsächlich noch Platz findet (Abbildung 24). Die Bindungsenergie ist zwar nicht so günstig (Tabelle 9; vergleiche Eintrag 1 mit 2), da es durch die Isopropoxygruppe an C17 eine leichte Kollision mit dem rigide gedockten Protein gibt. Werden die Seitenketten K112 und N51 jedoch als flexibel betrachtet, gibt es durch die Van-der-Waals Wechselwirkungen wieder einen Energiezugewinn, sodass beim Herausdrehen der Lysinseitenkette wieder eine Bindungsenergie in ähnlicher Ordnung erhalten wird (Eintrag 3). Es ist jedoch ebenfalls denkbar, dass die Kollision in der Realität auch ohne Herausdrehen des Lysins verhindert wird, da die benötigte Distanz zur Verhinderung der Kollision nur sehr gering ist und in der Berechnung nur von einem starren Protein ausgegangen werden kann. Die Bindungsaffinität könnte bei einem flexibleren Fall etwa gleich groß sein.

¹¹² Dockingstudien wurden mit Autodock Vina 1.1.2 durchgeführt und mit PyMol (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.5.0.4 Schrödinger, LLC.) visualisiert. O. Trott, A. J. Olson, *J. Comp. Chem.* **2010**, *31*, 455-461.

Tabelle 9: Dockingstudien zu Diisopropoxygeldanamycin.

	Molekül	Docking	Bindungsenergie
1	Geldanamycin	starr	-10.7 kcal mol ⁻¹
2	Diisopropoxygeldanamycin	starr	-7.6 kcal mol ⁻¹
3	Diisopropoxygeldanamycin	flexible Seitenketten (K112 und N51)	-9.4 kcal mol ⁻¹

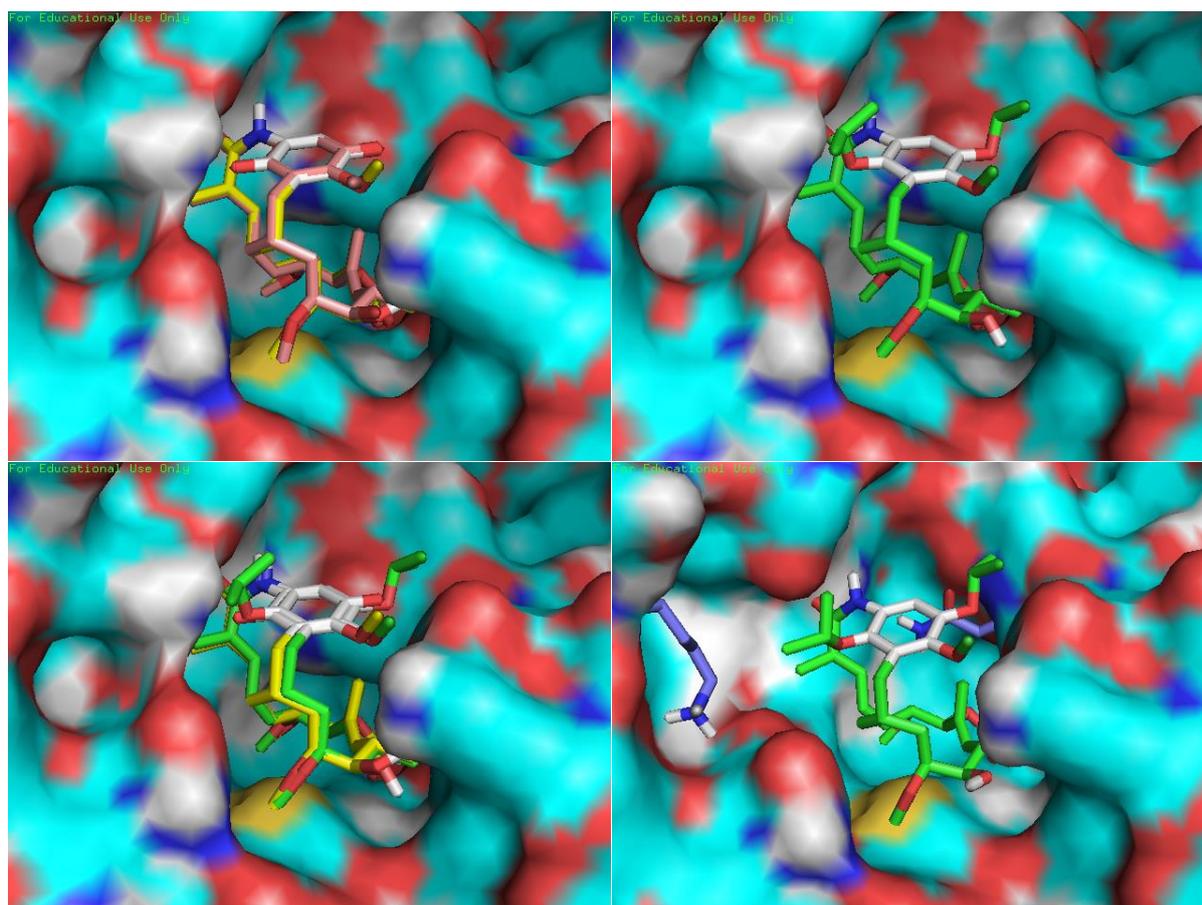
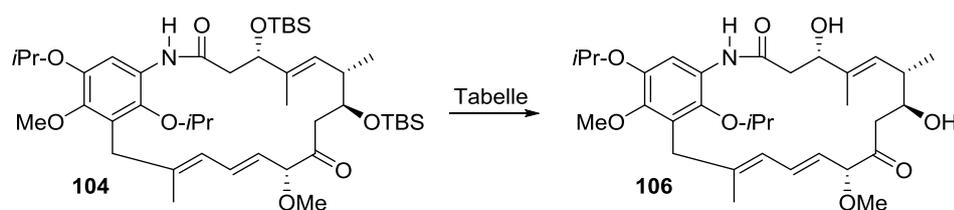


Abbildung 24: Dockingstudien zu Geldana- und Diisopropoxygeldanamycin. Oben links: Vergleich von Geldanamycin aus der Kristallstruktur (rosa) mit dem Dockingergebnis (gelb). Oben rechts: Diisopropoxygeldanamycin (grün). Unten links: Vergleich von Diisopropoxygeldanamycin (grün) mit dem berechneten Geldanamycin (gelb). Unten rechts: Docking von Diisopropoxygeldanamycin (grün) und Hsp90 mit flexiblen Seitenketten von K112 und N51 (blau).

In der Synthese wurde daher mit der TBS Entschützung zum Proansamitocinderivat **105** fortgefahren (Schema 63), welche sich als problematischer als erwartet erwies (Tabelle 10).



Schema 63: TBS Abspaltung des geschützten Proansamitocins **104**.

Tabelle 10: Exemplarische Entschützungsbedingungen der TBS Gruppen.

	Reagenz	Bedingungen	Anmerkung
1	TBAF	THF, -20 °C	sofortige Zersetzung
2	HF·Pyr	THF, RT	Zersetzung
3	HF·Pyr	Pyr, RT	langsame Zersetzung
4	TASF	THF, RT	sofortige Zersetzung
5	HCO ₂ H	THF/H ₂ O/HCO ₂ H (3:2:1), RT	langsame TBS Abspaltung Bildung der Ameisensäureester
6	PPTS	MeOH, 50 °C	langsame TBS Abspaltung 63 %; 1.5 : 1 106a : 106b

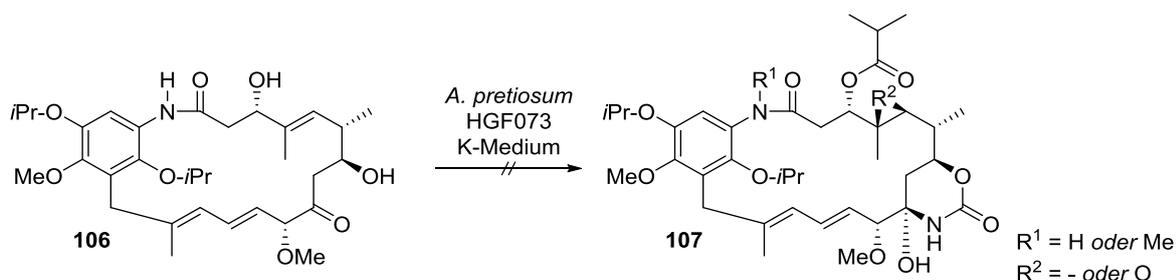
Im Gegensatz zu den Silylethern von Proansamitocin zeigte das Molekül eine starke Sensitivität gegenüber Fluoridionen und zersetzte sich rasch mit gängigen Methoden wie TBAF (Tabelle 10, Eintrag 1) aber auch mit sehr milden Fluoridquellen, wie HF·Pyr in THF und auch in Pyridin (Eintrag 2 und 3). Eine Produktbildung konnte in keinem Fall beobachtet werden. Die Verwendung des laut Literatur sehr milden TASF, führte zu fast augenblicklicher Zersetzung bei Zugabe des Reagenzes (Eintrag 4). Die milde, saure Hydrolyse mit Ameisensäure (Eintrag 5), wie sie auch in der Totalsynthese von Lankacidin C eingesetzt wurde,¹¹³ führte zur Abspaltung der TBS Gruppen, jedoch bildete sich bereits vor vollständiger Spaltung einer der beiden TBS Gruppen bereits der Formiatester des freigesetzten Alkohols. Die Verseifung der Ester gelang weder mit LiOH noch mit KHCO₃ in Methanol und führte in beiden Fällen zur Zersetzung des Eduktes, sodass nach einer neuen Entschützungs Methode gesucht wurde. Die Verwendung der schwachen Brønstedt Säure PPTS in konzentrierter methanolischer Lösung bei leicht erhöhten Temperaturen führte dabei zum Erfolg (Eintrag 6). Während der Entschützung bildeten sich aus der Verbindung zwei Atropisomere, welche mittels HPLC getrennt werden konnten. Es zeigte sich jedoch, dass sich eines der beiden Atropisomere auch bei Raumtemperatur in das Andere umwandelt, sodass nur eines der beiden tatsächlich in reiner Form erhalten wurde, während das Andere immer als Atropisomergemisch vorlag. Interessanterweise suggeriert die chemische Verschiebung der 6-Methyl Gruppe, dass in diesem Fall das stabilere

¹¹³ A. S. Kende, K. Liu, I. Kaldor, G. Dorey, K. Koch, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8258-8270.

Atropisomer nicht der Konformation des TBS geschützten Atropisomers **34a** entspricht, da hier das Isomer mit der nicht durch den Ringstromeffekt abgeschirmten 6-Methyl Gruppe stabiler ist.

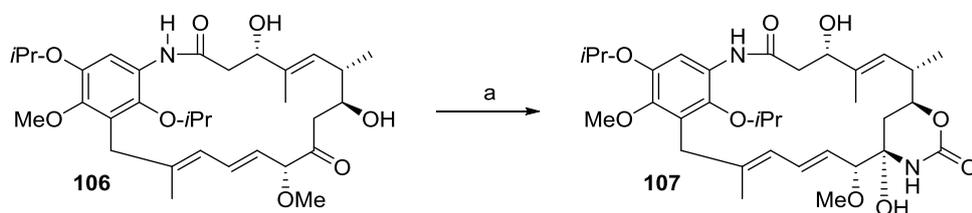
3.1.5.5 Mutasyntetische Derivatisierung

Das Proansamitocin **106** sollte zunächst vom Ansamitocinproduzenten *A. pretiosum* HGF073 in das entsprechende Ansamitocinderivat transformiert werden (Schema 64).



Schema 64: Fehlgeschlagenes Mutasyntesexperiment von **105**.

Leider führt die Verfütterung von Atropisomer **106a** als auch des Gemisches beider Atropisomere **106a** und **106b** nicht zu den gewünschten Biotransformationen. Obwohl das Substrat nicht mehr reisoliert werden konnte, ließ sich weder eine Carbamoylierung, Veresterung, Epoxidierung, Methylierung, Glykosidierung oder der Verlust der Isopropylether beobachten, sodass unklar bleibt wie der Mikroorganismus die Verbindung metabolisiert. Per ESI-MS-Analyse ließ sich ein Metabolit mit dem m/z-Wert von 482 aus dem Fermentations-Experiment isolieren, welcher nicht in den Kontrollexperimenten ohne Mutasynton und mit AHBA detektierbar war. Dieser Masse konnte jedoch keine weitere Struktur zugeordnet werden. Da die gemessene Masse im Vergleich zu **105** reduziert ist, sollte es sich um ein unbekanntes Abbauprodukt handeln.

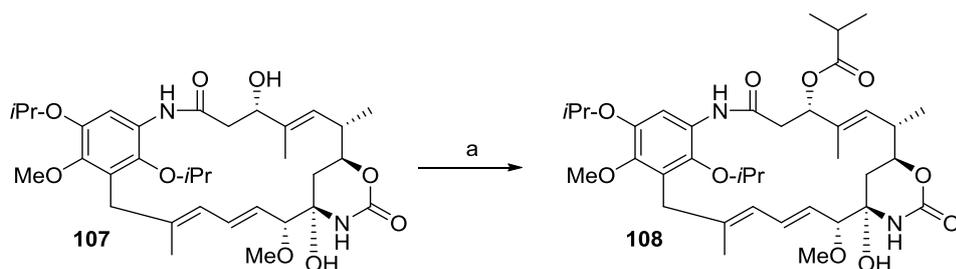


Schema 65: Mutasyntese von Proansamitocin **106** zu Carbamat **107**. Reaktionsbedingungen: a) *S. hygroscopicus* K390-61-1, GPMD, 28 °C, 50 %.

Bei der Fermentation zeigt sich kein Unterschied im Ergebnis, wenn entweder das reine Atropisomer **105a** oder ein Gemisch aus den Atropisomeren **106a** und **106b** supplementiert wurde. Auch im Fall

des reinen **106a** konnte eine weitere Verbindung, bei der es sich vermutlich um das Atropisomer **107b** handelt isoliert werden. **107b** lieferte unter verschiedenen NMR Bedingungen kein auswertbares Spektrum. Dies kann darauf zurückzuführen sein das es wie bei **34b** kein stabiles Konformer in Lösung ergibt. Massenspektrometrisch war die Substanz identisch zu **107a**.

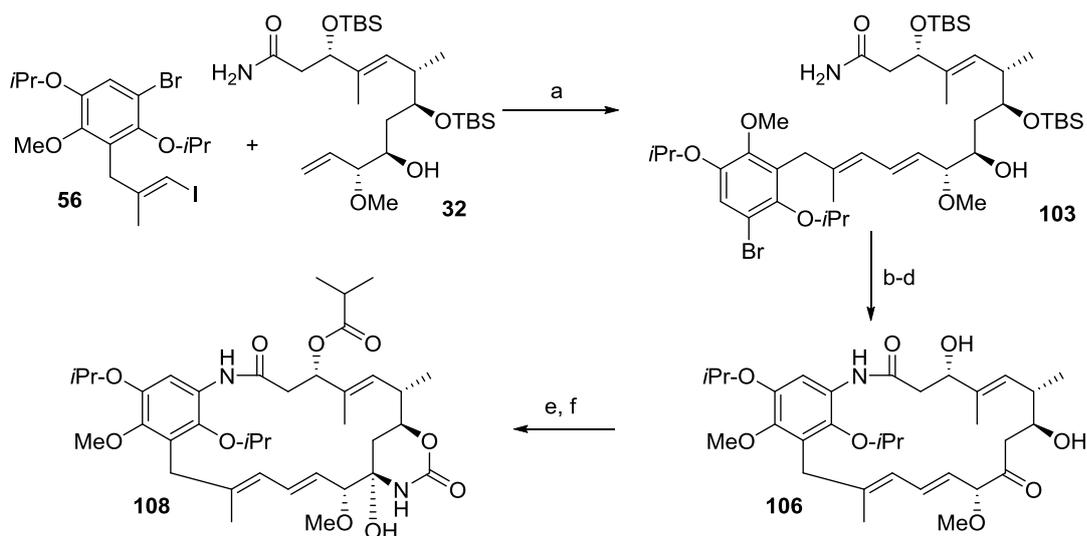
Um die Synthese des Ansamycin Hybrid **108** abzuschließen, musste noch die Esterseitenkette eingeführt werden. Hierbei kamen die STEGLICH Bedingungen zum Einsatz, welche in Proansamitocin Semisynthesen von EICHNER bereits erfolgreich genutzt wurden (Schema 66).¹¹⁴



Schema 66: Veresterung des Ansamycin Hybrids **108**. Reaktionsbedingungen: a) *i*PrCO₂H, DIC, DMAP, CH₂Cl₂, 1 h, RT, für **108a** (ausgehend von **107a**): 87 %, für **108b** (ausgehend von **107b**): quant.

Die Veresterung verlief sowohl mit **107a** als auch **107b** problemlos. Auch hier konnte **108b** jedoch nur massenspektrometrisch charakterisiert werden.

Zusammenfassend konnte so das Ansamycin Hybrid **108** über sechs Stufen in einer Ausbeute von 4.7 % aus den beiden Fragmenten **56** und **32** hergestellt werden (Schema 67).



Schema 67: Endspiel zur Ansamycin Hybridsynthese. Reaktionsbedingungen: a) Pd(OAc)₂, TBAB, Cs₂CO₃, Et₃N, DMF, RT, 12 h, 71 %; b) CuI, DMEDA, K₂CO₃, PhMe, 110 °C, 14 d, 46 %; c) PDC, MS 3 Å, CH₂Cl₂, 0 °C, 52 %; d) PPTS, MeOH, 50 °C, 63 %; e) *S. hygroscopicus* K390-61-1, GPMd, 28 °C, 50 %; f) *i*PrCO₂H, DIC, DMAP, CH₂Cl₂, 1 h, RT, 87 %.

¹¹⁴ S. Eichner, T. Knobloch, H. G. Floss, J. Fohrer, K. Harmrolfs, J. Hermene, A. Schulz, F. Sasse, P. Spitteller, F. Taft, A. Kirschning, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 752-757.

3.1.6 BIOLOGISCHE AKTIVITÄT

Jeweils beide vorliegenden Atropisomere von Verbindungen **107** und **108** (Abbildung 25) wurden auf Hsp90 Aktivität und Zytotoxizität untersucht.

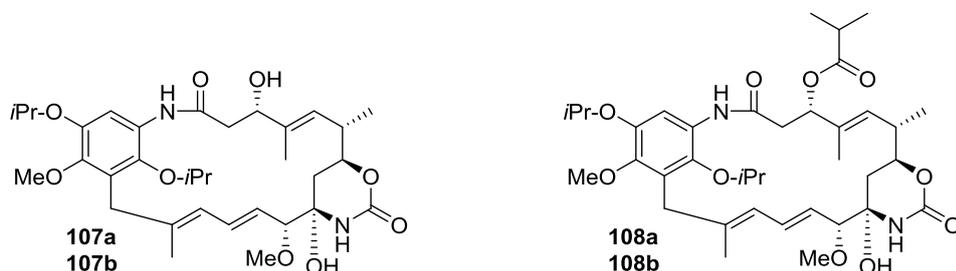


Abbildung 25: Zielverbindungen **107** und **108**, jeweils beide Atropisomere.

Die Hsp90 Aktivität wurde von DR. CARSTEN ZEILINGER aus dem Institut für Biophysik der Leibniz Universität Hannover untersucht.¹¹⁵ Keine der vier vorliegenden Verbindungen zeigte, wie Ansamitocin P-3 oder Proansamitocin auch, Aktivität gegen Hsp90.

Die Tests auf Zytotoxizität wurden von DR. FLORENZ SASSE vom Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig durchgeführt. Die Ergebnisse lagen zum Abschluss der Arbeit noch nicht vor.

¹¹⁵ Getestet wurde gegen die humanen Hsp90 α und Hsp90 β und HtpG. Als Kontrolle wurde SEB01 und 17AAG verwendet.

3.2 STUDIEN ZUR IDENTIFIKATION DER UNGEWÖHNLICHEN AZIDREDUKTASEAKTIVITÄT VON *A. PRETIOSUM*

Die Azidreduktaseaktivität sollte zunächst über Supplementierungs-Experimente verifiziert und sowohl mögliche Grenzen der Reduktionsfähigkeit ausgelotet werden, als auch eine grobe zeitliche Einordnung des Biosyntheseschrittes ermöglichen. Auf der Basis dieser Experimente sollte eine weitere Vorgehensweise entwickelt werden, die eine genauere Identifizierung ermöglicht.

Generell sind verschiedene Möglichkeiten für eine Azidreduktion denkbar:

- 1) Reduktion durch freie Reduktionsmittel wie Thiole (z. B. Glutathion)
- 2) Reduktion durch ein unbekanntes Redoxenzym aus der Zelle (nicht mit der Ansamitocin Biosynthese assoziiert)
- 3) Reduktion durch ein Ansamitocin Biosynthese-assoziiertes Enzym
 - a) Reduktion durch ein prä-PKS (AHBA Synthese-) Enzym
 - b) Reduktion durch PKS Enzym
 - c) Reduktion durch post-PKS Enzym

Die Reduktion durch freie Reduktionsmittel wie Thiole, sollte durch einfache chemische Studien im Modell nachweisbar bzw. widerlegbar sein. Supplementierungsstudien können Hinweise auf eine ggf. vorhandene Substratspezifität geben.

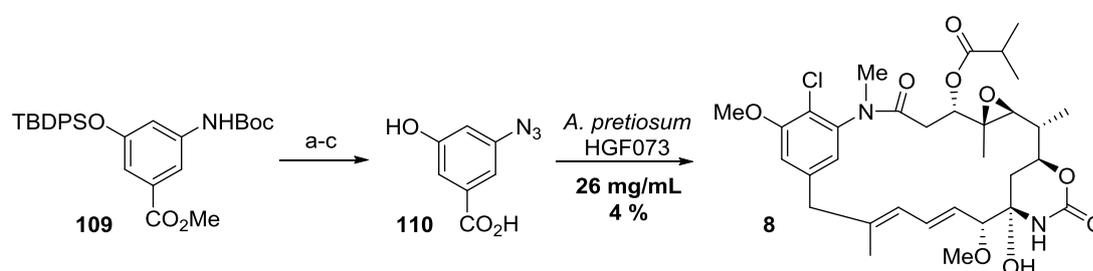
Die Reduktion durch ein unbekanntes Redoxenzym, welches nicht mit der Ansamitocin-Biosynthese assoziiert ist, ist schwer nachweisbar. Der Fall ließe sich durch Verfütterung eines Arylazides an ein *knock-out* Konstrukt des gesamten Ansamitocin Biosyntheseclusters nachweisen. Falls die Reduktion stattfindet, stehen für die Identifikation jedoch nur wenige Organismus-umfassende Analysemethoden zur Verfügung. Da das Genom von *A. pretiosum* nicht sequenziert vorliegt, ist eine holistische Suche auf genetischer Ebene nicht möglich. Desweiteren wird eine Identifikation erschwert, da bis heute kein Enzym, mit Ausnahme der Nitrogenase, mit Azidreduktase-Funktion publiziert ist und so eine Suche nach Homologien mithilfe von Datenbankrecherchen nicht erfolgen kann. Die Nitrogenase fällt als homologes Protein eigentlich aus dem Raster, da es sich um ein sauerstoffsensitives Protein handelt bei dem das katalytische Metallzentrum durch Sauerstoff vergiftet wird, und daher unter aeroben Bedingungen nicht funktionsfähig ist. Im vorliegenden Fall muss die Reduktion jedoch unter aeroben Bedingungen stattgefunden haben. Zur Suche eines solchen Enzyms eignet sich die Erstellung einer Genbank oder ggf. die Proteomanalyse, bei einem induzierbaren Protein.

Für die Reduktion durch ein PKS bzw. prä-/post-PKS Enzym, kann die Analyse auf genetischer Ebene erfolgen, da der Biosynthesecluster zur Biosynthese von Ansamitocin P-3 bekannt ist. Auch hier ist zwar eine direkte Suche nach homologen Proteinen nicht möglich, doch besteht z. B. die Möglichkeit, potentielle Redoxproteine mittels bioinformatischer Methoden, z. B. über eine Proteinmotivsuche zu

identifizieren. Auch lassen sich durch Kombination von Supplementierungsexperimenten auf die Substratspezifität und angenommene Rollen in der Biosynthese potentielle Enzyme identifizieren.

3.2.1 SUPPLEMENTIERUNGS-EXPERIMENTE

Um die Beobachtungen von MANCUSO (siehe 2.2) zu verifizieren, sollte N_3 HBA (**110**) hergestellt und verfüttert werden. Eine Verunreinigung von Spuren von freiem AHBA sollte verhindert werden, indem das geschützte AHBA **109** als Ausgangsmaterial verwendet wurde, welches in anderen Projekten bereits hergestellt wurde. Die säulenchromatographische Trennung nach der Diazotierung und Einführung der Azidofunktion ermöglichte die saubere Abtrennung des freien Anilins, welches auch massenspektrometrisch nicht mehr im freien N_3 HBA nachgewiesen werden konnte, sodass eine Verfütterung an *A. pretiosum* HGF073 erfolgen konnte (Schema 68).¹¹⁶



Schema 68: Verfütterung von N_3 HBA (**109**) zur Verifizierung der Beobachtungen von MANCUSO. Reaktionsbedingungen: a) TFA, CH_2Cl_2 , 0 °C, 2.5 h; b) AcOH, 10 % $HCl_{(aq)}$, $NaNO_2$, 30 min, 0 °C, dann NaN_3 , 1 h, 0 °C; c) LiOH, THF, 50 °C, 3 h, 89 % über drei Stufen.

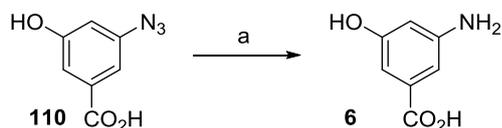
Die Mutasythese von N_3 HBA (**109**) zu AP-3 (**8**), welche für vergleichbare Mutasytheseexperimente in sehr guten Ausbeuten von 32 mgL^{-1} erfolgte, offenbart, dass eine Verunreinigung bei den Experimenten von MANCUSO mit evtl. vorhandener 3,5-Diaminobenzoesäure sehr unwahrscheinlich war, und tatsächlich die Reduktion des Amins erfolgte. Sowohl die hohe Ausbeute bei der Verfütterung von N_3 HBA, als auch das Faktum, dass sonst keine Zyklisierung zu AP-3 (**8**) erfolgen kann, bestätigen dies. Auch zeigt das Experiment, dass die Reduktion bereits vor den postketidischen Transformationen in der Biosynthese stattfinden muss.

Die Reduktion von organischen Aziden zu Aminen ist prinzipiell auch chemisch mit freien Thiolen bekannt. Dabei wird in der Regel DL-Dithiothreitol (DTT) verwendet. Es reduziert organische Azide. Aber auch andere Thiole reagieren reduzierend, wenn auch langsamer.¹¹⁷ Um zu überprüfen, ob wir es in unserem Fall mit einer unkatalysierten Reduktion durch freie Thiole, wie z. B. Glutathion in Zellen

¹¹⁶ L. Mancuso, G. Jürjens, J. Hermene, K. Harmrolfs, S. Eichner, J. Fohrer, W. Collisi, F. Sasse, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4442-4445.

¹¹⁷ a) J. V. Staros, H. Bayley, D. N. Standring, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, *80*, 568-572. b) A. L. Handlon, N. J. Oppenheimer, *Pharm. Research* **1988**, *5*, 297-299.

zu tun haben, wurde N₃HBA (**110**) einigen freien Thiolen für mehrere Tage in Puffer ausgesetzt (Schema 69). Für die Reduktion wurde Ethanthiol als Vertreter für aliphatische Thiole, Thiophenol für arylische Thiole und Glutathion als biogenes Thiol verwendet. Die Oxidation der Thiole durch Sauerstoff sollte verhindert werden, indem die Experimente unter Schutzgas durchgeführt wurden.



Schema 69: Versuche zur Reduktion von N₃HBA (**109**) mit freien Thiolen. Reaktionsbedingungen: a) N₃HBA, pH 7 Puffer (entgast), Thiol (10 Äq.), RT, 60 h.

Um auch Spuren des Anilins detektieren zu können, wurden die Reaktionen sorgfältig mittels UPLC-MS verfolgt (Abbildung 26).

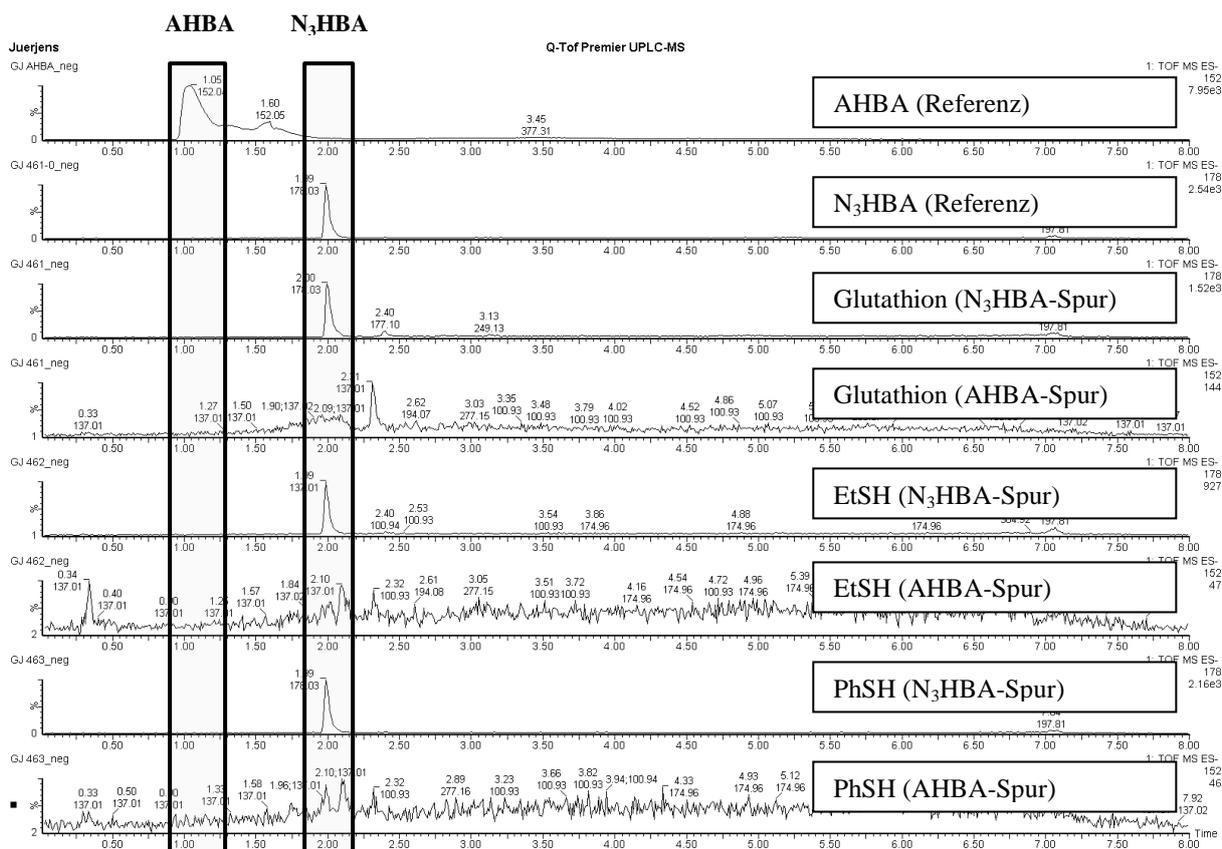
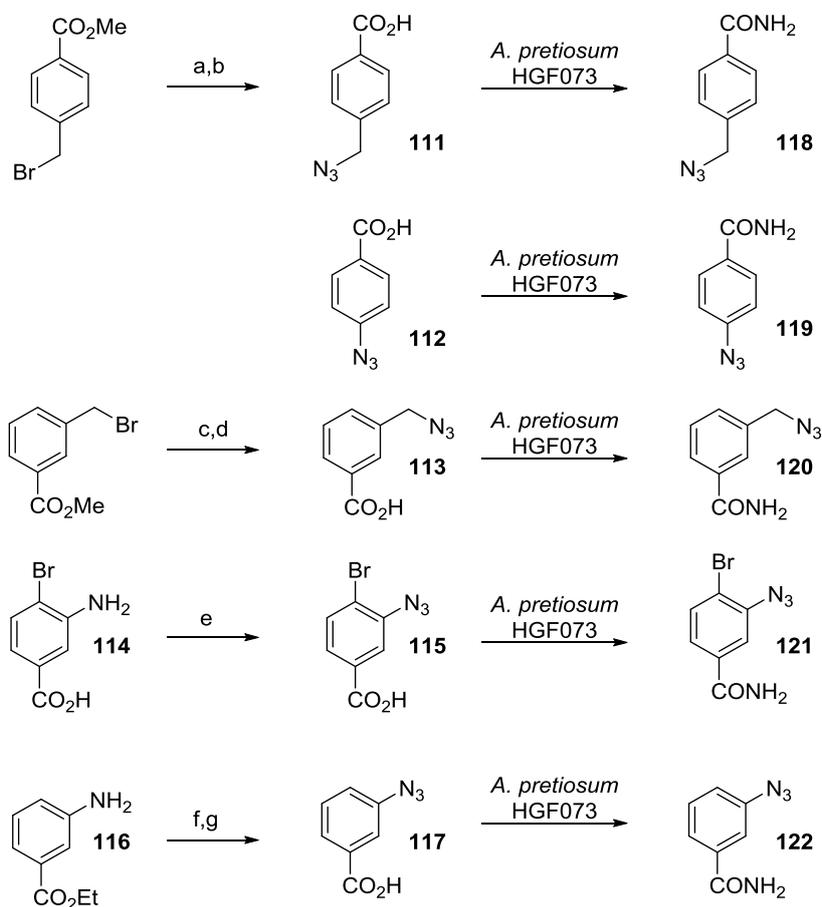


Abbildung 26: UPLC-MS Chromatogramme (negative Ionisierung mittels ESI) der Reduktionsexperimente von N₃HBA mit verschiedenen Thiolen. In der N₃HBA-Spur wurde jeweils das Chromatogramm des m/z 178 und in der AHBA-Spur nach einem m/z von 152 gesucht (Hervorhebung durch Rahmen).

Eine Reduktion der N₃HBA konnte bei keinem Thiol detektiert werden. Eine unkatalysierte Reduktion in der Zelle ist daher nicht sehr wahrscheinlich. Um mehr Information über Substratspezifität und Zeitpunkt der Reduktion zu erhalten, wurden mehrere Azidobenzoesäuren hergestellt und an *A. pretiosum* HGF073 verfüttert (Schema 70).

Bei den benzylichen Aziden **11** und **113** sowie der *para*-Azidobenzoesäure (**112**) wurde der Einbau in das Ansamitocingerüst aufgrund ihrer Struktur bereits vor der Verfütterung ausgeschlossen, da ein solches Substitutionsmuster als Mutasynton üblicherweise nicht akzeptiert wird.^{58,59,60} Die Supplementierung dieser Verbindungen sollte ausschließlich Auskunft über die Flexibilität der Reduktaseaktivität geben. Die Azide **115** und **117** wurden ausgewählt, da beide Substrate in den korrespondierenden Anilinformen, also 3-Amino-4-brombenzoesäure (**114**) und 3-Aminobenzoesäure (**116**), generell von *A. pretiosum* HGF073 als Mutasynton akzeptiert werden. Während **114** ein gut akzeptiertes Mutasynton ist, wird **116** nur in minimalen Mengen biotechnologisch transformiert.



Schema 70: Darstellung und Verfütterung verschiedener Arylazide. Reaktionsbedingungen: a) NaN₃, TBAI, DMF, 60 °C, 16 h, quant; b) LiOH, 1,4-Dioxan, RT, 4 h, 97 %; c) NaN₃, TBAI, DMF, 60 °C, 16 h, 98 %; d) LiOH, 1,4-Dioxan, RT, 4 h, quant.; e) HCl (konz.), NaNO₂, H₂O, 0 °C, 30 min dann NaN₃, 5 min, 89 %; f) HCl (10 %), NaNO₂, H₂O, 0 °C, 30 min dann NaN₃, 1 h, RT, quant.; g) LiOH, 1,4-Dioxan, RT, 4 h, 97 %.

Die Ergebnisse der verschiedenen Verfütterungen zeigen, dass es sich bei der vorliegenden Transformation um eine sehr chemoselektive Reaktion handelt. Die Reduktion der Azidfunktion konnte weder in den Fällen in denen keine Inkorporation in das Ansamitocingerüst erwartet wurde, noch in den anderen Fällen beobachtet werden, was auf eine hohe Substratspezifität für die Transformation hinweist, welche nicht direkt mit der Polyketidbiosynthese zusammenzuhängen scheint. Bei allen Verfütterungen wurde die erwartete Detoxifizierung der freien Säuren zu primären Amiden beobachtet. Da keine kettenverlängerten Abbruchprodukte detektiert werden konnten, auch nicht von **115** und **117**, kann es sein, dass die freie Anilinfunktion essentiell für die Aufladung auf die AT ist, oder die entsprechende Aufladung in so geringem Maße erfolgt, dass entsprechende Produkte nicht in hinreichenden, nachweisbaren Mengen gebildet wurden. Diese Beobachtung legt auch nahe, dass die Reduktion vor der PKS Biosynthese stattfinden muss. Die Verfütterung von **123**,¹¹⁸ bei der beobachtet wurde, dass ein Teil reduziert und zu AP-3 prozessiert, ein Teil reduziert und detoxifiziert wurde und ein Teil in nicht reduzierter Form und als detoxifizierte Derivate zurückblieb, stützt die obige Hypothese, da auch hier keine kettenverlängerten PKS-Produkte, die die Azidofunktion enthielten, detektiert werden konnten.

Betrachtet man eine Zusammenstellung aller Supplementierungsexperimente (Abbildung 27) ist auffällig, dass die Reduktion scheinbar nur am 1,3,5-trisubstituierten Aromaten stattfindet.

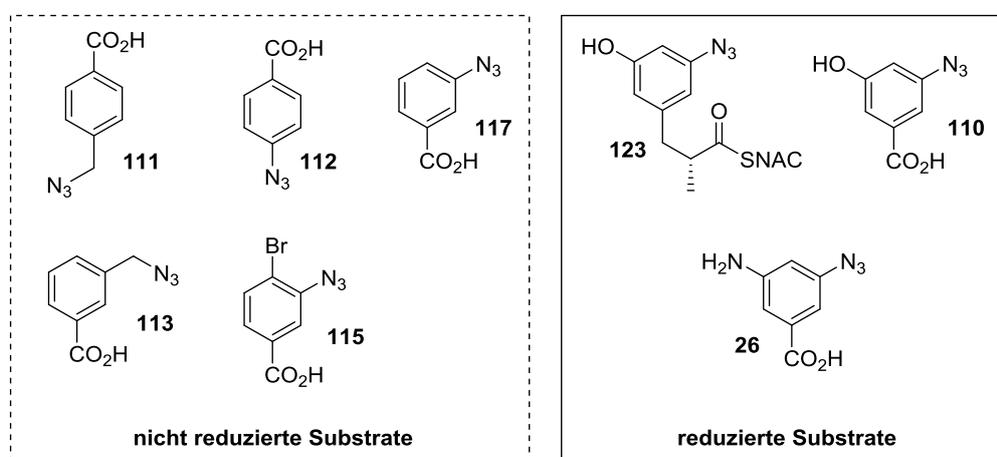


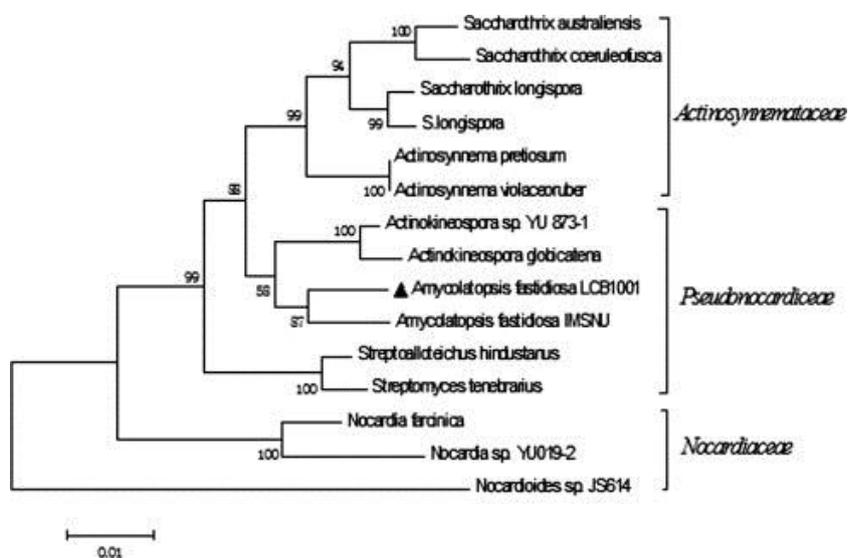
Abbildung 27: Zusammenstellung der Verfütterungsexperimente für die Azidreduktaseaktivität. **122** wurde von L. MANCUSO¹¹⁹ synthetisiert und verfüttert.

Diese hohe Chemoselektivität legt eine spezifische Bindungstasche des beteiligten Enzyms nahe, welche eine Bindung zu einem Substituenten in der 5-Position ausbildet. Die Verlängerung der Säurefunktion wie in **123** ist möglich, senkt jedoch den Umsatz bei der Reduktion, was auf hohe Spezifität der Bindungsstelle im Enzym hinweist.

¹¹⁸ Die Verbindung **123** wurde von L. MANCUSO synthetisiert und verfüttert.

¹¹⁹ L. Mancuso, A. Kirschning, *unveröffentlichte Ergebnisse*.

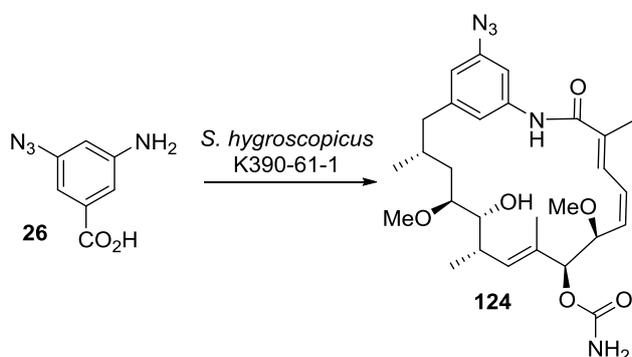
Um herauszufinden, ob auch weitere nahe Verwandte diese Fähigkeit zur Reduktion besitzen, wurden N_3HBA und AHBA auch an die mit *A. pretiosum* eng verwandten *Saccharothrix longispora* DSM 43749 (Schema 71; Phylogenie nach 16S rRNA erstellt; Genomsequenz zur Zeit der Dissertation nicht vorhanden)¹²⁰ und *Actinosynnema mirum* DSM 43827 (nächster genetischer Verwandter nach NCBI) verfüttert.



Schema 71: Phylogenetischer Baum von *A. pretiosum* und dem nahen Verwandten *S. longispora*.¹²⁰

Leider konnten aus dem Experiment keine verwertbaren Daten gezogen werden, da weder in den Kulturen von *A. mirum*, noch in *S. longispora*, N_3HBA bzw. AHBA oder deren denkbare Detoxifizierungsprodukte nachgewiesen werden konnten.

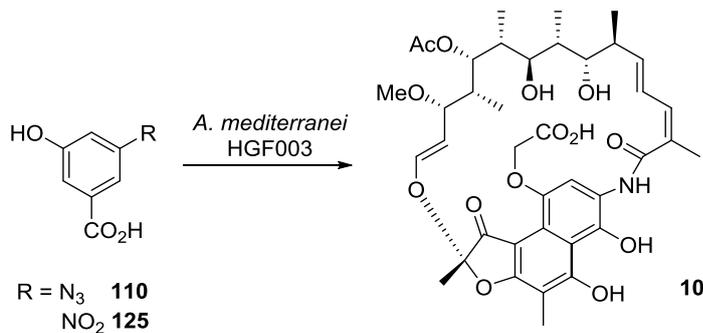
Das Supplementierungsexperiment von HERMANE¹¹⁶ zeigte jedoch den Einbau von **26** durch *S. hygroscopicus* K390-61-1 zu dem nicht reduzierten Geldanamycinderivat **124**, sodass es sich bei dieser Azidreduktion um keine generelle Eigenschaft der Ordnung *Actinomycetales* handelt (Schema 72), da der Streptomycet keine Reduktion des Azids vornimmt.



Schema 72: Verfütterung von **26** an den Geldanamycinproduzenten *S. hygroscopicus*.¹¹⁶

¹²⁰ M. Wei, S. Wang, Y. Fang, Y. Chen, *Biores. Technol.* **2010**, *101*, 3617-3622.

Ein weiteres Supplementierungsexperiment von BUŁYSZKO zeigte jedoch, dass die Reduktaseaktivität sich auch in *Amycolatopsis mediterranei* HGF003 wiederfindet, einer Δ AHBA Mutante des Rifamycinproduzenten. Rifamycin nutzt ebenfalls AHBA als Startbaustein einer PKS (Schema 73). Interessant ist, dass auch der verfütterte Nitroaromat **125** reduziert und inkorporiert wurde. Betrachtet man den Ein-Elektronen Übertragungsmechanismus der für die Nitrogenase postuliert wird,⁵⁴ liegt es nahe, dass das reduzierende Enzym für die Azidogruppe und die Nitrofunktion dasselbe ist.



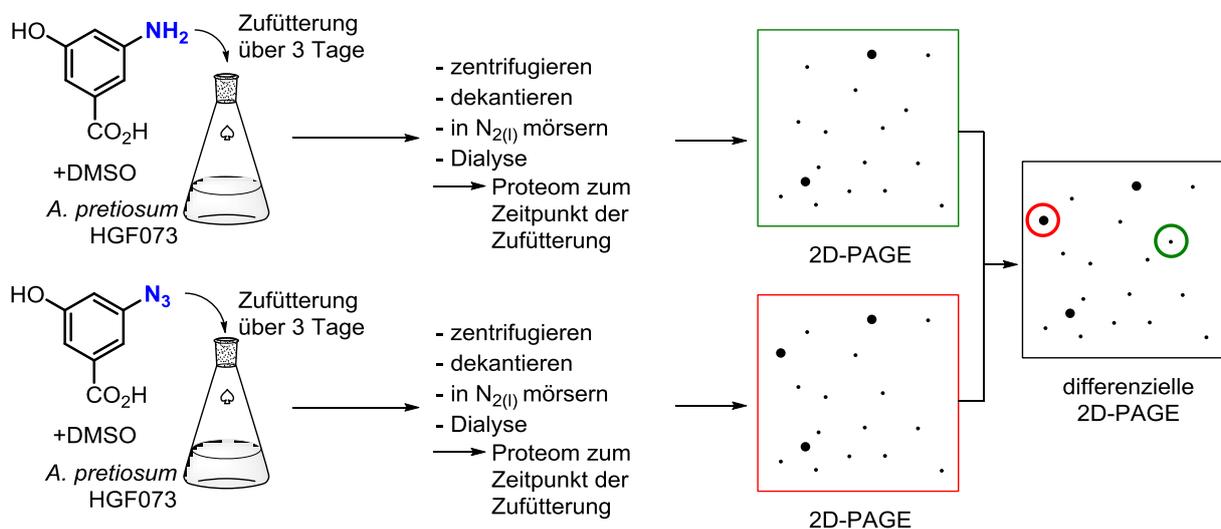
Schema 73: Verfütterung von **110** bzw. **125** an den Rifamycinproduzenten *A. mediterranei*.¹²¹

¹²¹ I. Bułyszko, A. Kirschning, *unveröffentlichte Ergebnisse*.

3.2.2 PROTEOMIKANSÄTZE ZUR IDENTIFIKATION DER REDUZIERENDEN FÄHIGKEITEN VON *A. PRETIOSUM*

Es ist nicht davon auszugehen, dass die Azidreduktaseaktivität die eigentliche Funktion eines Enzyms in der Natur ist, da es sich um eine nicht natürlich vorkommende chemische Funktionalität handelt. Die Fähigkeit kann theoretisch von jedem reduzierend wirkendem Enzym in der Zelle ausgehen. Da kein konkretes Enzym für eine derartige Biotransformation unter physiologischen Bedingungen bekannt ist, ist auch die direkte Untersuchung des Genoms auf genetischer Ebene kaum hilfreich, weshalb hier ein Ansatz auf Proteomebene gesucht wurde.

Die Proteinexpression wird bei vielen Enzymen durch das Substrat reguliert, daher sollte erprobt werden, ob sich eine Induktion der Genexpression durch Verfütterung erreichen lässt. Dazu sollten parallel AHBA und N_3 HBA an *A. pretiosum* HGF073 verfüttert und die beiden resultierenden Proteome verglichen werden (Schema 74). Dies sollte über eine 2D-PAGE erfolgen, eine Methode mit der Proteine durch isoelektrische Fokussierung zunächst nach ihren isoelektrischen Punkten getrennt werden und anschließend in einer zweiten Dimension nach ihrer Größe. Diese Herangehensweise hat den Vorteil, schnell die Gesamtheit der Proteine zu untersuchen, obwohl die genetische Sequenz des gesamten Organismus nicht vollständig bekannt ist.



Schema 74: Konzept der differentiellen 2D Proteomanalyse zur Identifizierung der Azidreduktase.

Die Experimente für die 2D-PAGE wurden in Kooperation mit dem Arbeitskreis von Prof. HANS PETER BRAUN am Institut für Pflanzengenetik der Leibniz Universität Hannover durchgeführt. Die erhaltenen SDS-Gele des Experiments sind in Abbildung 28 dargestellt.

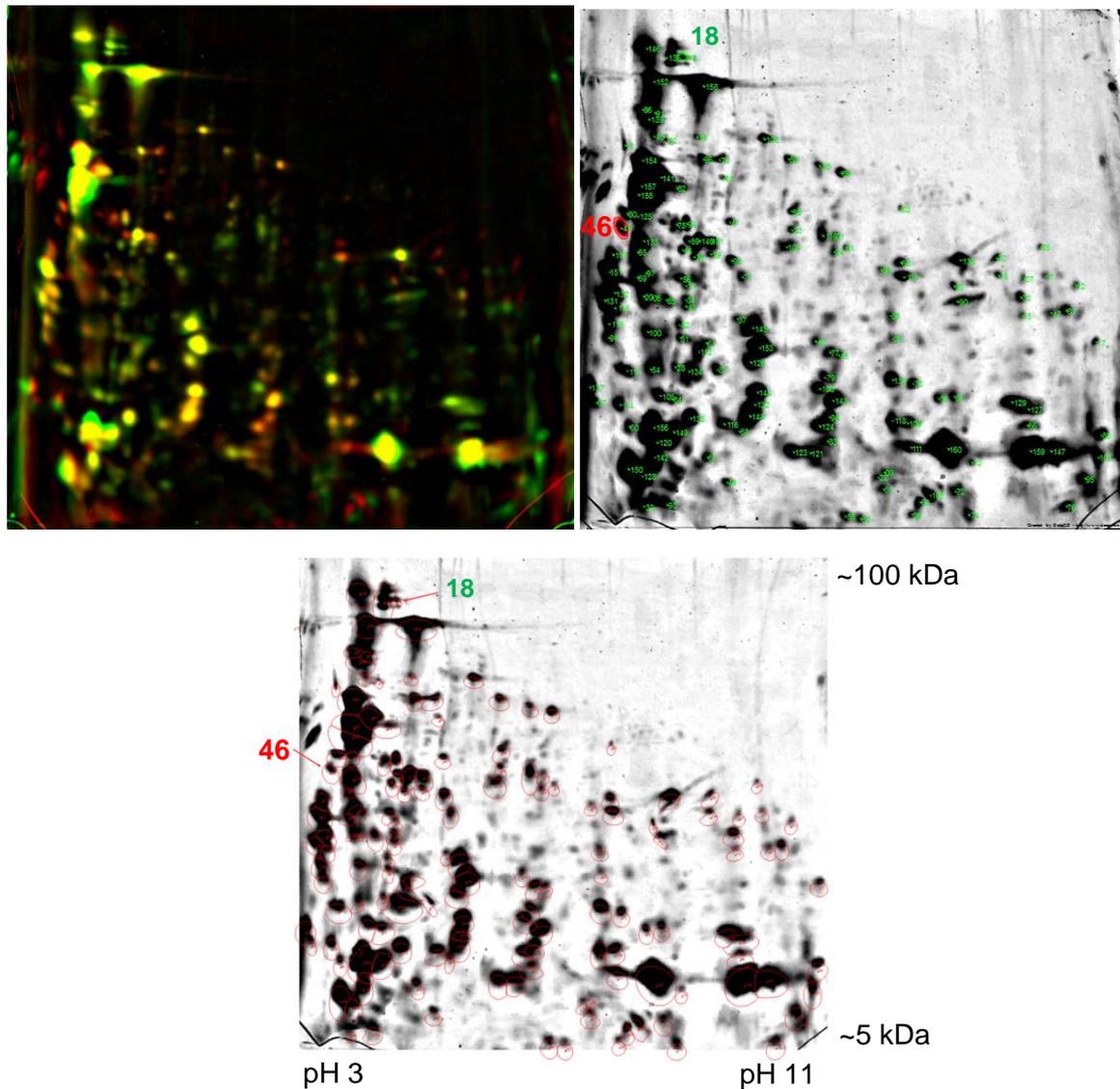


Abbildung 28: Kombinierte Gele der differentiellen 2D-PAGE (Berechnung aus drei Wiederholungen). *Oben links:* Expressionsmuster durch rot-grün Kontrast dargestellt; *oben rechts:* Markierung der Proteine mit Nummern; *unten:* Proteinspots durch rote Umrandung hervorgehoben mit Skala. Protein 18 wurde bei der Fermentation mit AHBA relativ vermehrt exprimiert, Protein 46 relativ vermindert in Anwesenheit von AHBA (Tabelle 11).

Tabelle 11: Auswertung der Proteinspots in der 2D-PAGE.

\emptyset normiertes Volumen von N_3HBA Verfütterung	Koeffizientenvariabilität von N_3HBA Verfütterung	\emptyset Verhältnis von normierter N_3HBA Verfütterung/ normierte AHBA Verfütterung	t-Test des \emptyset normierten Volumen N_3HBA Verfütterung / \emptyset normierten Volumen AHBA Verfütterung	Bezeichnung
0.04908	37.67006	0.42557	0.03466	18
0.22926	11.9003	1.88844	0.02883	46

Eine MS Analytik ergab, dass es sich bei Protein 18 um einen Na-Ca Tauscher bzw. um Integrin-Beta4 (homolog zum Protein aus *Actinosynnema mirum* DSM 43827; GenBank: ACU37905.1; MASCOT Score: 1252) handelt, welche bei Verfütterung mit N₃HBA weniger stark exprimiert (Tabelle 11, Bezeichnung 18) wurde als in der AHBA Kontrolle. Bei Protein 46 handelt es sich um die Aminopeptidase Y (homolog zum Protein aus *Actinosynnema mirum* DSM 43827; GenBank: ACU34112.1; MASCOT Score: 300), die bei Verfütterung von N₃HBA stärker (Tabelle 11, Bezeichnung 46) exprimiert wird.

Beide Enzyme sind keine Redoxenzyme. Bei Betrachtung der beiden identifizierten Proteine, ist daher davon auszugehen, dass diese nicht die Rolle der Azidreduktase übernehmen. Das unterschiedliche Expressionsmuster lässt sich evtl. auch darüber erklären, dass die Zufütterung von AHBA in Form des Hydrochlorids erfolgt und daher etwas saurer ist.

Da aus der Proteomanalytik keine klare Induktion eines Redoxenzym zu erkennen ist, ist deshalb die Identifikation einer möglichen Azidreduktase dadurch nicht möglich. Für die Azidreduktase lässt sich daher ausschließlich schlussfolgern, dass eine spezifische Substratinduktion für Azide nicht stattfindet, sondern die Azidreduktase vermutlich konstitutiv exprimiert wird. Es besteht auch die Möglichkeit, dass N₃HBA und AHBA gleichermaßen für das entsprechende Enzym induzierend wirken. Für eine Identifikation der reduzierenden Fähigkeiten sollte daher zu einem genomischen Ansatz übergegangen werden.

3.2.3 GENOMIKANSÄTZE ZUR IDENTIFIKATION

Da *A. pretiosum* bisher nicht komplett sequenziert wurde, wurde zunächst darüber nachgedacht, eine Cosmid Datenbank zu erstellen, um den Genort des Enzyms auszumachen. Aufgrund des großen Zeitaufwandes konnte dieses jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden.

Für eine direkte Analyse auf genetischer Ebene stehen in *A. pretiosum* ausschließlich die Biosynthesecluster von AP-3 (8) zur Verfügung, welche von FLOSS¹²² untersucht wurden. Die Biosynthese ist dabei in zwei Cluster organisiert, wobei Cluster I weitestgehend Enzyme zur PKS und post-PKS enthält und Cluster II Gene für die Biosynthese von AHBA (Abbildung 29). Die beiden Cluster sind genetisch etwa 30 kbp voneinander entfernt. Die Deletionsmutante *A. pretiosum* HGF073 verfügt nicht über Cluster II, sodass keine AHBA Biosynthese stattfinden kann.

¹²² T.-W. Yu, L. Bai, D. Clade, D. Hoffmann, S. Toelzer, K. Q. Trinh, J. Xu, S. J. Moss, E. Leistner, H. G. Floss, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 7968-7973.

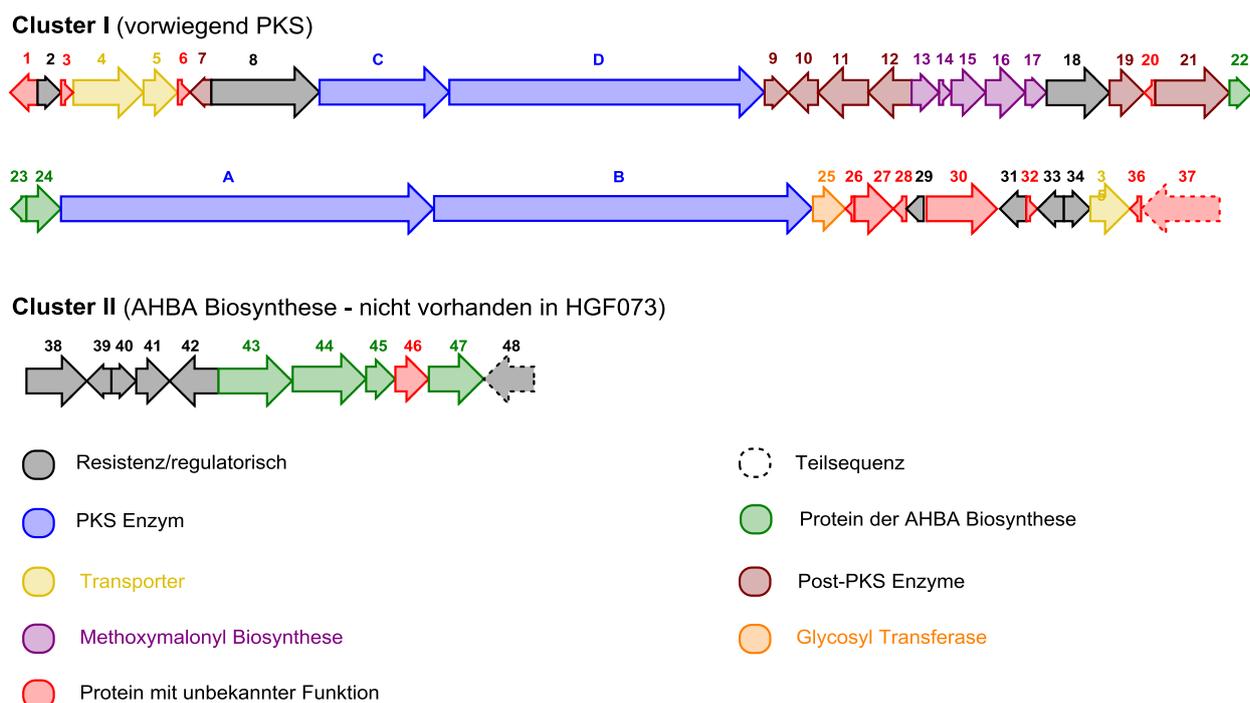
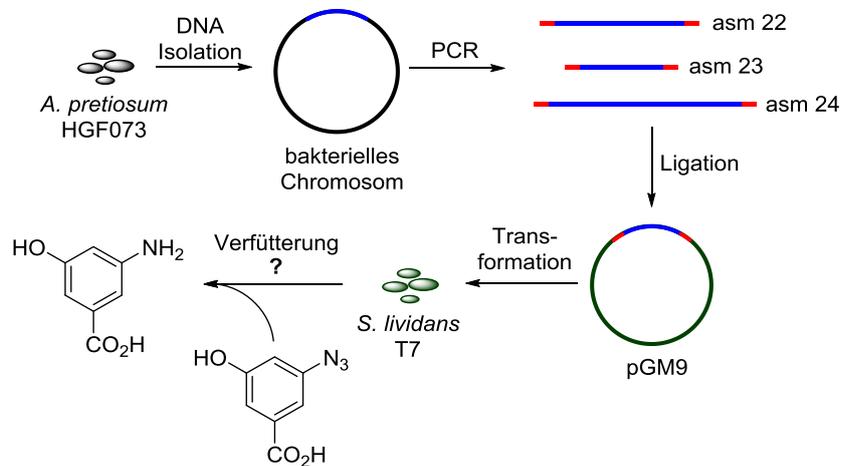


Abbildung 29: Schematische Darstellung der Genssequenz der Biosynthesecluster von AP-3.

Aus den Verfütterungsexperimenten (siehe 3.2.1) zeigte sich eine starke Bevorzugung den 1,3,5-Trisubstitutionsmusters eines Benzolringes für die Reduktion. Da dieses Substitutionsmuster so kaum in anderen Metaboliten vorkommt, liegt es nahe, dass späte Enzyme aus der AHBA Synthese für eine chemoselektive Transformation von N_3 HBA verantwortlich sein könnten, wobei diese eine entsprechend geformte Bindungstasche haben sollten. Die Genclusteranalyse der Biosynthese von AP-3 zeigt zwar, dass die meisten verantwortlichen Gene für die AHBA Synthese im Gencluster II vorkommen, welcher aus *A. pretiosum* HGF073 entfernt wurden, jedoch finden sich drei Gene, *asm22-24*, die man der AHBA Synthese zurechnet auch in Cluster I. In Anbetracht dessen, dass N_3 HBA auch bei Abwesenheit von Cluster II reduziert werden kann, sind die drei verbliebenden Enzyme *Asm22-24* von potentiellem Interesse. Durch Sequenzvergleiche mit AHBA Synthesegenen von Rifamycin, wurden die drei Enzyme als Kinase (*Asm22*), aDHQ Dehydratase (*Asm23*) und AHBA Synthase (*Asm24*) identifiziert. Ungewöhnlich ist weiterhin, dass eine weitere AHBA Synthase (*Asm43*) in Cluster I vorliegt, sodass insgesamt zwei Enzyme im Organismus vorhanden sind welche die gleiche Reaktion katalysieren.

Um die Proteine auf Azidreduktaseaktivität zu prüfen, sollte die DNA der Gene *asm22-24* aus *A. pretiosum* HGF073 mittels PCR isoliert werden, und in den Streptomyetenvektor pGM9 eingebracht werden, der im heterologen Expressionssystem *Streptomyces lividans* T7 exprimiert werden kann. *S. lividans* sollte als Expressionssystem genutzt werden, da es genetisch näher mit *A. pretiosum* verwandt ist, als beispielsweise *Escherichia coli* und daher Probleme mit tRNA Codonverteilung und

Expression minimieren sollte. Durch Verfütterungsexperimente der genetisch veränderten Organismen mit N₃HBA soll die Biotransformation untersucht werden (Schema 75).



Schema 75: Erstes Konzept zur Überprüfung der Azidreduktaseaktivität.

Die Isolation der genomischen DNA, die als Templat für die PCR dienen sollte, gelang mit einem Protokoll für die Isolation von Pflanzen DNA.¹²³ Gängigere Methoden schlugen fehl.

Die PCR wurde mit den folgenden Primern durchgeführt:

asm24:

Für 5' → 3': 5' (*Hind*III)aagcttatgcacctgaaggccc 3' Tm: 62.1 °C; 22 Basen
 Für 3' → 5': 5' (*Hind*III)aagcttctcaggcctcctcca 3' Tm: 61.8 °C; 21 Basen

asm23:

Für 5' → 3': 5' (*Hind*III)aagcttatgccccacctgetcc 3' Tm: 64.0 °C; 22 Basen
 Für 3' → 5': 5' (*Hind*III)aagcttccaaccaacacctaccg 3' Tm: 64.4 °C; 24 Basen

asm22:

Für 5' → 3': 5' (*Hind*III)aagcttatgctctggtcgggcggt 3' Tm: 64.2 °C; 23 Basen
 Für 3' → 5': 5' (*Hind*III) aagcttcgtactcccggttccc 3' Tm: 66.1 °C; 24 Basen

¹²³ D. Weigel, J. Glazebrook, *Arabidopsis – A laboratory manual*, S. 165, 2002, Cold spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Es wurde Phusion (THERMO SCIENTIFIC) als DNA Polymerase in GC Puffer nach Vorschrift verwendet. Sowohl der Einsatz von genomischer DNA als auch des Mikroorganismus selbst, welcher im PCR Reaktionsgefäß thermisch aufgeschlossen wurde, waren dabei nicht erfolgreich. Für alle gewählten Temperaturen ließ sich für *asm22* und *asm24* keinerlei PCR Produkt im Gel beobachten oder unspezifische Bindungsprodukte der Primer. Es wurden dabei die Temperaturen für den Schmelzvorgang und Annealing variiert als auch auf Temperaturgradienten zurückgegriffen. Nur die PCR Amplifikation und Klonierung von *asm23* verlief erfolgreich (Abbildung 30), die Klonierung in den Vektor konnte aufgrund von Zeitmangel nicht mehr durchgeführt werden.

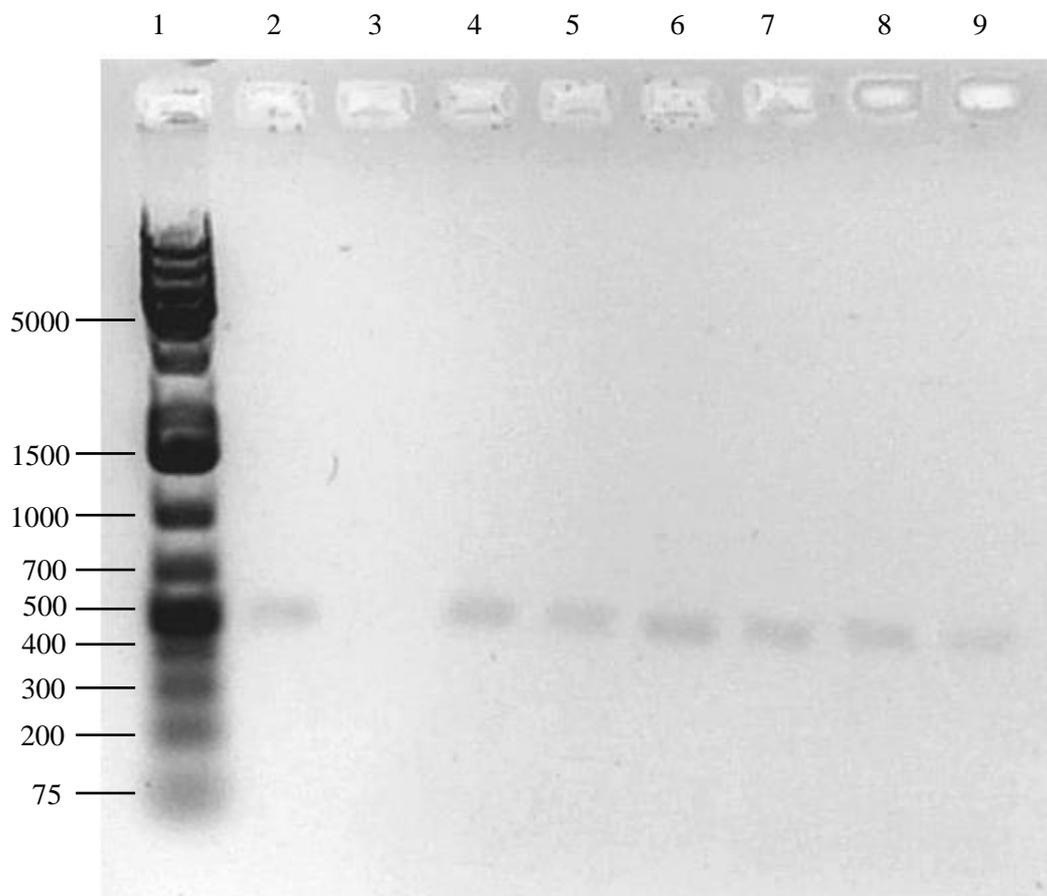
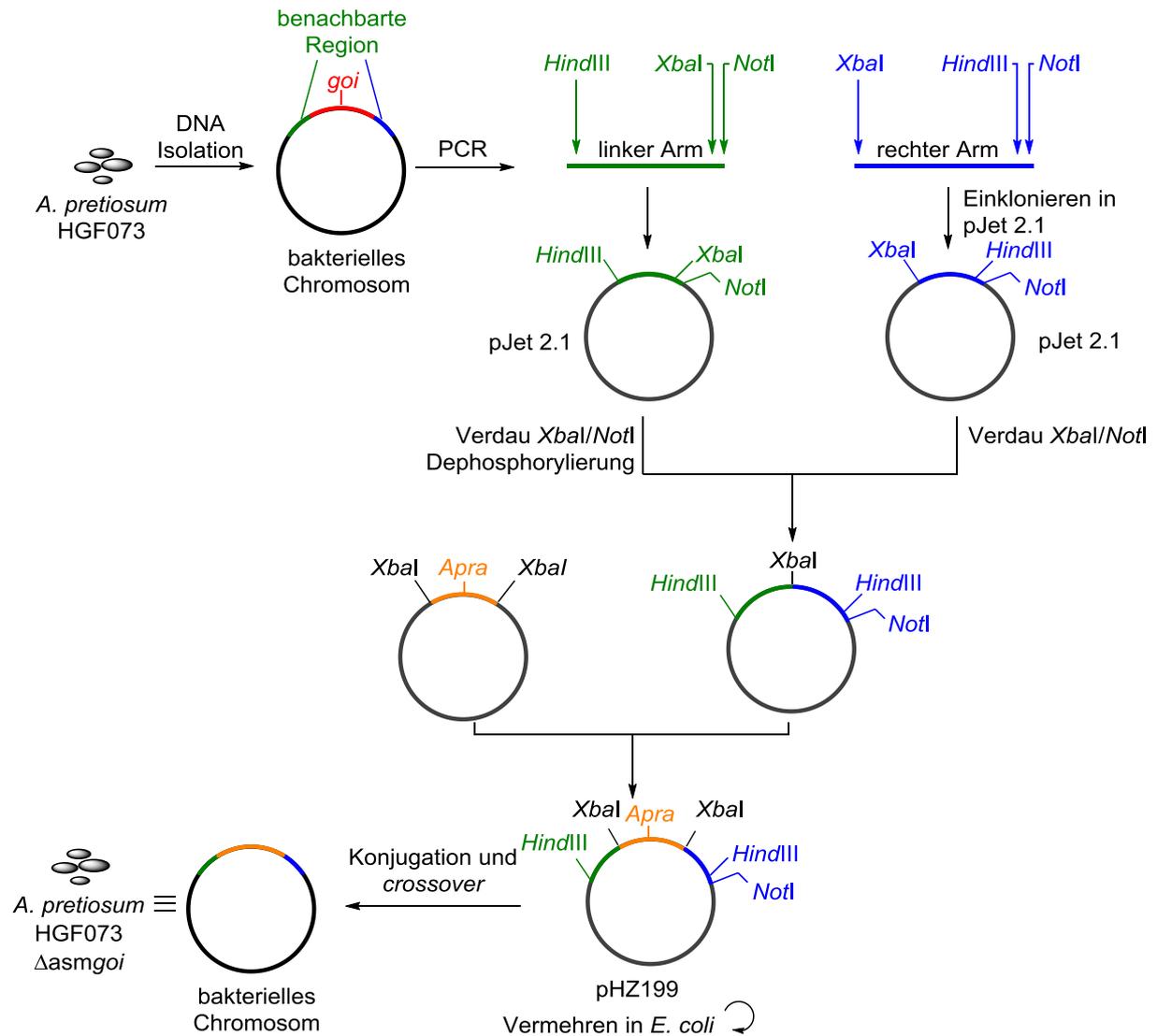


Abbildung 30: 1% Agarose in TAE; Taschen v. l. n. r.: 1) Marker: Thermo Scientific Fermentas™ O'GeneRuler™ 1kb Plus DNA Ladder, (1 und 3-9) PCR Ansätze zu *asm23*: 5µL PCR Produkt. Für das Amplifikat wird eine Länge von 435 bp erwartet.

Als alternatives Konzept sollten die entsprechenden Blockmutanten $\Delta asm22$, $\Delta asm23$ und $\Delta asm24$ hergestellt werden. Diese Vorgehensweise umgeht Probleme, die bei der heterologen Genexpression in *S. lividans* auftreten können, wie Substratinkompatibilität aufgrund von Unterschieden im Metabolismus als auch Expressionsprobleme.

Die Blockmutanten sollten über homologe Rekombination eines Plasmids, welches die benachbarte Sequenz eines *goi* mit einem Resistenzgen statt des Gens aufweist, erzeugt werden (Schema 76).



Schema 76: Konzeptuelles Schema zur Darstellung von Blockmutanten.

Zur Herstellung der Doppelblockmutanten wurde die DNA wie zuvor isoliert. Die PCR wurde mit den folgenden Primern durchgeführt:

asm24:

linker Arm:

Für 5' → 3': (*Hind*III) 5' aagcttcgtagctgtggcccatcag 3'

Tm: 66.3 °C; 25 Basen

Für 5' → 3': (*Not*I) 5' gcggccgcaagcttcgtagctgtg 3'

Tm: 69.6 °C; 24 Basen

Für 3' → 5': 5' tctagataatccggcggaattcctt 3'

Tm: 63.2 °C; 26 Basen

rechter Arm:

Für 5' → 3': 5' tctagatgccctctctctctctcg 3'

Tm: 69.5 °C; 27 Basen

Für 3' → 5': 5' aagcttccggtgacgtgcggacagc 3' Tm: 69.5 °C; 25 Basen

asm23:

linker Arm:

Für 5' → 3': (*HindIII*) 5' aagcttgcgatgcgcccggtgac 3' Tm: 67.8 °C; 24 Basen

Für 5' → 3': (*NotI*) 5' gcggccgcaagcttgcgatgcg 3' Tm: 69.9 °C; 23 Basen

Für 3' → 5': 5' tctagagaacacctgcagagcgcaaa 3' Tm: 66.5 °C; 27 Basen

rechter Arm:

Für 5' → 3': 5' tctagaggcgctgctggacc 3' Tm: 65.7 °C; 21 Basen

Für 3' → 5': 5' aagcttctcgtgctcgccctgaa 3' Tm: 64.2 °C; 23 Basen

asm22:

linker Arm:

Für 5' → 3': (*HindIII*) 5' aagcttcaccagtcggtgcggaacag 3' Tm: 69.5 °C; 27 Basen

Für 5' → 3': (*NotI*) 5' gcggccgcaagcttcaccagtcgg 3' Tm: 72.8 °C; 25 Basen

Für 3' → 5': 5' tctagatgtggcagcgcggtgacgtg 3' Tm: 69.5 °C; 26 Basen

rechter Arm:

Für 5' → 3': 5' tctagaggtcttcgccagcagaagcgccg 3' Tm: 72.3 °C; 29 Basen

Für 3' → 5': 5' aagcttcctcctcgcgcccgggtgacgtgc 3' Tm: 73.9 °C; 28 Basen

Da auch hier keine positive Ergebnisse gesammelt wurden und sich bei keinem der sechs Genbereiche Banden im Agarose Gel detektieren ließen, wurde beschlossen, zur Vereinfachungen der PCR Bedingungen zunächst schnittstellenfreie Primer zu verwenden, um anschließend die Schnittstellen durch eine zweite PCR einzufügen.

Primer ohne Schnittstellen:

asm24:

linker Arm:

Für 5' → 3': 5' cgtagtcgtggcccatcag 3' Tm: 61.0 °C; 19 Basen

Für 3' → 5': 5' taatccggcggcaattcctt 3' Tm: 57.3 °C; 20 Basen

rechter Arm:

Für 5' → 3': 5' tcgccctcgtctctgctctcg 3' Tm: 65.7 °C; 21 Basen

Für 3' → 5': 5' ccggtgacgtgcggacagc 3' Tm: 65.3 °C; 19 Basen

asm23:

linker Arm:

Für 5' → 3': 5' gtcgatgcgcccggtgac 3' Tm: 62.8 °C; 18 Basen

Für 3' → 5': 5' gaacacctcgcagagcgcaaa 3' Tm: 61.8 °C; 21 Basen

rechter Arm:

Für 5' → 3': 5' gggcgctgctggacc 3' Tm: 58.8 °C; 15 Basen

Für 3' → 5': 5' ctcgtgctcggcctgaa 3' Tm: 57.6 °C; 17 Basen

asm22:

linker Arm:

Für 5' → 3': 5' caccagtcgggtgcggaacag 3' Tm: 65.7 °C; 21 Basen

Für 3' → 5': 5' tgtggcagcgcggtgacgtg 3' Tm: 65.5 °C; 20 Basen

rechter Arm:

Für 5' → 3': 5' ggtcttcgcccagcagaagcgccg 3' Tm: 69.6 °C; 23 Basen

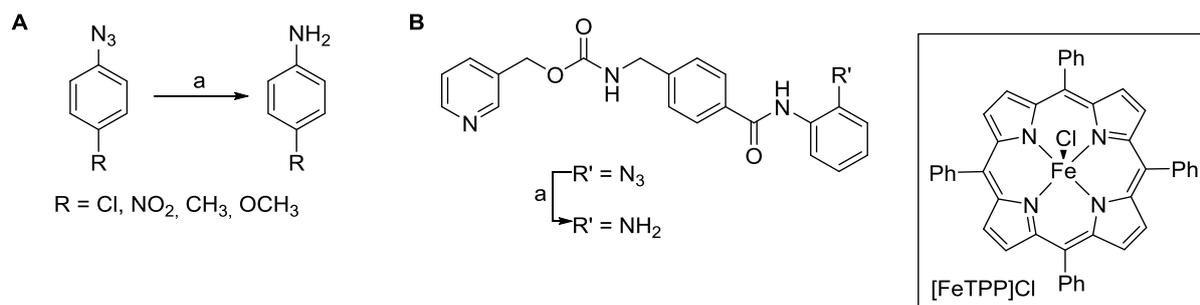
Für 3' → 5': 5' cctcctcgcgccggtgacgtgc 3' Tm: 71.4 °C; 22 Basen

Auch hier waren die PCRs problematisch, es konnte bei keinem Primersystem die Bildung eines PCR Produktes beobachtet werden. Auch Additive wie z. B. DMSO, Detergenzien oder BSA führten nicht zum Erfolg. An dieser Stelle wurden die Experimente aufgrund von Zeitmangel eingestellt.

Neben den drei Genen *asm22-24*, welche durch ihre Relevanz in der AHBA Biosynthese interessant sind, verbleibt noch die Möglichkeit, nach anderen Redoxenzymen zu suchen, welche die Azidreduktion katalysieren könnten. Solche Redoxenzyme des Biosyntheseclusters könnten eine Rolle für bisher unbekannte Schritte im Biosyntheseprozess von AP-3 (**8**) spielen und daher auf Substrate mit dem 1,3,5-Substitutionsmuster des Aromaten beschränkt sein.

Für eine mechanistische Betrachtung der Bioreduktion ist durch die Eisen-Porphyrin katalysierte Reduktion von Arylaziden zu Anilinen unter Verwendung von Thiolen als Reduktionsmittel (Schema 77) interessant.¹²⁴ Auch andere Reduktionsmittel als Thiole, wie Ascorbat, sind laut MEGGERS in einem solchen System möglich. Das katalytische System, welches zur bioorthogonalen Verwendung entwickelt wurde, zeigt eine verblüffende Ähnlichkeit zur natürlich vorkommenden Häm-Gruppe in Proteinen und biologischen Systemen im Allgemeinen.

¹²⁴ P. K. Sasmal, S. Carregal-Romero, A. A. Han, C. N. Streu, Z. Lin, K. Namikawa, S. L. Elliott, R. W. Köster, W. J. Parak, E. Meggers, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1116-1120.



Schema 77: Reduktion von einfachen (**A**) und komplexeren (**B**) Arylaziden zu Anilinen nach MEGGERS unter Verwendung des Porphyrin-Eisen Katalysators [FeTPP]Cl. Reaktionsbedingungen: a) [FeTPP]Cl 1 mol%, β -Mercaptoethanol (5 Äq.), CH₂Cl₂/MeOH (95:5), 30 °C, Luft, 76-88 %.

Aufgrund der Ähnlichkeit des Modells ist es denkbar, dass bei der Bioreduktion eine prosthetische Häm Gruppe vorhanden sein könnte.

In diesem Zusammenhang könnte auch das Gen *asm30* des Biosynthesecusters I interessant sein, welches in seiner Proteinsequenz (siehe unten) über verschiedene Profile und Muster verfügt die auf ein Redoxprotein mit Häm Gruppe hinweisen. Dementsprechend wurde es von FLOSS als Cytochrom P450 mit unbekannter Funktion eingordnet.¹²⁵

In der Proteinsequenz finden sich die Profile einer Flavodoxin-artigen Domäne und einer FAD Bindedomäne des Ferredoxin Reduktase Typs.



Abbildung 31: Grafische Darstellung der Profil und Domänenanalyse von Asm30.

Flavodoxinartiges Domänenprofil PS50902:

488 - 626: score = 16.122

LHVFYGSNGGSGEGLARTIAGDGAARGWATSVAPLDD-AVRAL--PASGPVVIVSSSYNG
APP-DNAAHFVWRWLTQDGPDLGVDYLVLGCGNLDWSA^tYQRVPTLIDEAMAAAGARRLR
E---RGATDARADFFGDWERWYEPLW

Domäne	488- 626	Flavodoxinartig
NP Bindestelle	494-498	FMN (durch Ähnlichkeit)
NP Bindestelle	571-603	FMN (durch Ähnlichkeit)

¹²⁵ Analyse mit PROSITE Suche von EXPasy.

Ferredoxin Reduktase Typ FAD Bindungsdomänenprofil PS51384:

656-864: **score** = 13.878

```
GDLASAVVLENRELvrgpdAGSKRHLELRLP--DGTSYRTGDYLSVLPQNHPDlvrrava
rlgtraervvtvessaptglvpvgralrvdelltrcvdlsapagagvvarlaercpcppe
raelaattgatllellerfpscavdlalalellpAPRTRLYSISAAEEQRaEVALTVSV
TGVTSGYLSRVRPGDRVAVGiasPPESFRPP
```

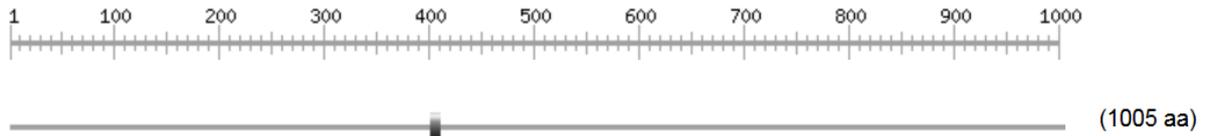


Abbildung 32: Grafische Darstellung der Musteranalyse von Asm30.

Cytochrom P450 Cystein Häm-Eisen Ligand Signatur

401 - 410: FGhGARACIG

Aus der Motiv- und der Profilanalyse von Asm30 geht hervor, dass das hypothetische Protein mit seiner Bindungsstelle für Flavin Mononukleotid und FAD vermutlich für Redoxprozesse im Molekül verantwortlich ist. So machten FLOSS *et al.*¹²² dieses ursprünglich für die Epoxidierung von Proansamitocin verantwortlich. Da sich jedoch durch spezifischen *knock-out* herausstellte, dass Asm11 für diese Transformation verantwortlich ist,¹²⁶ verbleibt die Funktion von Asm30 unbekannt. Ein *knockout* führte nicht zur veränderten die Ansamitocin P-3 Produktion. Zusammen mit den Erkenntnissen von MEGGERS und dem Faktum, dass das Gen in einem Biosynthesecluster liegt und zwar in der räumlichen Nähe der AHBA Synthesegene *asm22-24*, macht *asm30* zu einem interessanten Kandidaten für die weitere Untersuchung der Reduktaseaktivität.

¹²⁶ P. Spiteller, L. Bai, G. Shang, B. J. Carroll, T.-W. Yu, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14236-14237.

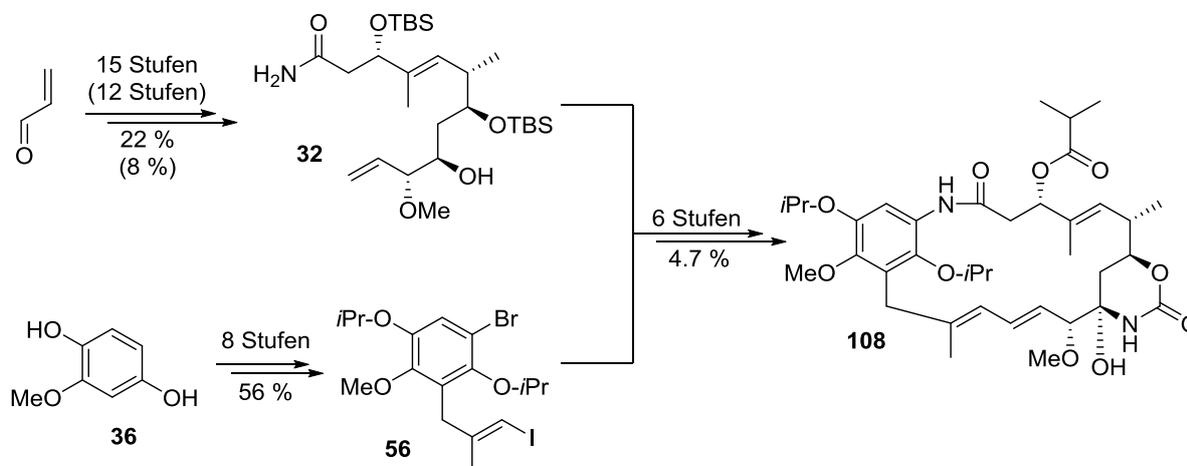
4 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

4.1 SYNTHESE EINES ANSAMYCIN HYBRIDS

4.1.1 ZUSAMMENFASSUNG

Um die biologischen Eigenschaften der beiden Ansamycine, Ansamitocin P-3 (**8**) und Geldanamycin (**7**), potentiell in einer Struktur zu vereinigen, sollte in dieser Arbeit ein Hybrid der beiden Naturstoffe hergestellt werden. Strukturell wurde entschieden, den Naturstoffhybriden auf dem Grundgerüst des Ansamitocins aufzubauen und mit der aktiven aromatischen Einheit des Geldanamycins zu versehen. Die entstehende Struktur sollte dann auf seine Aktivität gegen Hsp90, dem biologischen Target von Geldanamycin getestet werden.

Das synthetische Ansamycin **108**, welches als Hybridstruktur die Hydrochinoneinheit des Dihydrogeldanamycins mit einem Ansamitocin Rückgrat kombiniert, konnte über 29 Stufen in einer Gesamtausbeute von 0.6 % bzw. 21 Stufen in der längsten linearen Sequenz in einer Gesamtausbeute von 1.0 % hergestellt werden (Schema 78).



Schema 78: Zusammenfassung der Totalsynthese von Ansamycinhybrid **108**.

In der Synthese des Westfragments **56** wurden als Schlüsselschritte eine NEGISHI-Kupplung und eine Zirkonium-vermittelte Carboaluminierung verwendet, während im Ostfragment **32** eine BROWN Allylierung, eine VMAR und eine Substrat-kontrollierte anionische Acetaldol-Reaktion verwendet wurden. Die Fragmente wurden mittels HECK Reaktion unter JEFFREY Bedingungen zusammengefügt und das Lactam über eine GOLDBERG Reaktion geschlossen. Im Endspiel des Hybrids **108** wurde als Schlüsselschritt selektiv eine mutasynthetische Carbamoylierung durch Supplementierung zur Δ AHBA Mutante des Geldanamycin Produzenten durchgeführt. Bei der Synthese entstanden ab der

Makrolactamisierung zwei Atropisomere, von denen eines durchweg schwierig mittels NMR-Spektroskopie zu analysieren war, da offenbar keine stabile Konformation in Lösung eingenommen wurde.

Allerdings ließen sich die Isopropylether von **108**, welche als Schutzgruppe des Hydrochinons fungierten, nicht entfernen. Sie sollten aber, sofern der Aromat die gleiche Funktion wie bei der Bindung von Geldanamycin an Hsp90 erfüllt, keinen Einfluss auf die biologische Aktivität haben, da die Sauerstoffatome der Isopropylether immer noch als H-Akzeptoren in Wasserstoffbrückenbindungen fungieren können (Abbildung 33).

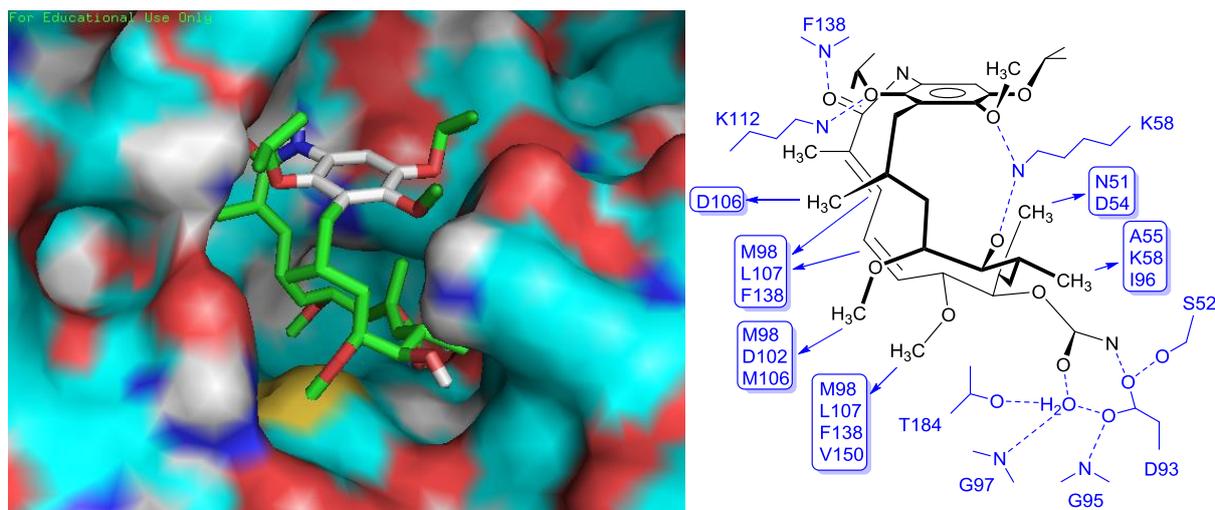


Abbildung 33: Bindungsmodus von Diisopropoxygeldanamycin an Hsp90: *links*: aus dem Dockingexperiment; *rechts*: schematisch (siehe 3.1.5.4).

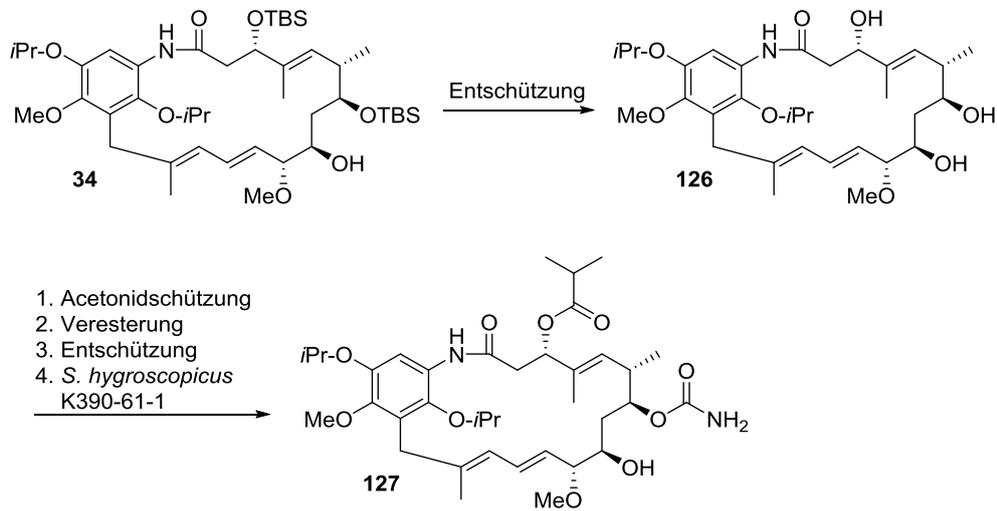
Sowohl die beiden Atropisomere des freien Alkohols **107a** und **107b**, als auch die beiden Atropisomere **108a** und **108b**, zeigten keine Aktivität gegen Hsp90, wodurch das Ziel ein Ansamycin zu entwickeln, welches sowohl Hsp90 als auch Mikrotubuli als biologisches Target adressiert, nicht erreicht wurde. Die Ergebnisse der allgemeinen Tests auf Zytotoxizität lagen bis zum Ende der Arbeit noch nicht vor.

4.1.2 AUSBLICK

Es bleibt die Möglichkeit zu prüfen, ob eine Hsp90-Aktivität mit einem freien Carbamat an C7 noch zu erreichen ist. Aus den Ergebnissen von EICHNER ist bekannt, dass Ansamitocin-Derivate, denen das zyklische Carbamat fehlt, ihre biologische Aktivität verlieren.³⁴ Dadurch würde vermutlich die Inhibition der Mikrotubulipolymerisation verloren gehen, jedoch gleicht die Struktur **127** eher Geldanamycin, bei dem das freie Carbamat tief in die Bindungstasche hinein reicht (Abbildung 33). Hieraus könnte so eine inhibitorische Aktivität gegenüber Hsp90 hervorgehen. Dadurch resultierte

eine synthetische Verbindung, welche auf einem Ansamitocin Rückgrat basiert, jedoch dennoch potentiell Hsp90 als biologisches Target adressiert.

Analog zu den Arbeiten von EICHNER könnte ein solches Derivat durch Verfüterung des freien Triols **126** an *S. hygroscopicus* K390-61-1 dargestellt werden (Schema 79).



Schema 79: Denkbare Darstellung des nicht-zyklischen Carbamats **127** analog zu EICHNER.

4.2 STUDIEN ZUR IDENTIFIKATION EINER UNGEWÖHNLICHEN AZIDREDUKTASE-AKTIVITÄT IN *A. PRETIOSUM*

4.2.1 ZUSAMMENFASSUNG

Während mutasynthetischer Studien von AHBA Derivaten mit der Δ AHBA Blockmutante *A. pretiosum* HGF073 für Ansamitocin „Klick“ Konjugaten, konnte eine ungewöhnliche Azidreduktion von Arylaziden zu den korrespondierenden Anilinen beobachtet werden. In der vorliegenden Arbeit sollte die Reduktion verifiziert und der Zeitpunkt und die Natur der Reduktion ermittelt werden. Falls möglich sollte eine Identifikation des Enzyms mit Azidreduktaseaktivität erfolgen.

Die Transformation von N_3 HBA mittels *A. pretiosum* HGF073 bestätigte die Azidreduktion des Ansamitocin-Produzenten. Der Umsatz mit verschiedenen Thiolen von N_3 HBA zeigte, dass die Reduktion vermutlich enzymatischer Natur ist und es sich nicht um eine Hintergrundreaktion handelt. Die Verfütterung von verschiedenen Aziden (Abbildung 27) offenbarte, dass die Reduktion bei weitem nicht für die meisten Azide gelingt, sondern, dass bevorzugt 1,3,5-trisubstituierte Azidobenzoesäuren reduziert werden. Auch legen die Versuche nahe, dass die Reduktion vor der Beladung auf die PKS stattfindet.

Der Versuch, das Enzym direkt in einem parallelen Supplementierungsexperiment von AHBA und N_3 HBA über 2D-PAGE zu identifizieren zeigte lediglich, dass das entsprechende Enzym nicht durch eine Azidfunktion in einem Substrat spezifisch induziert werden kann.

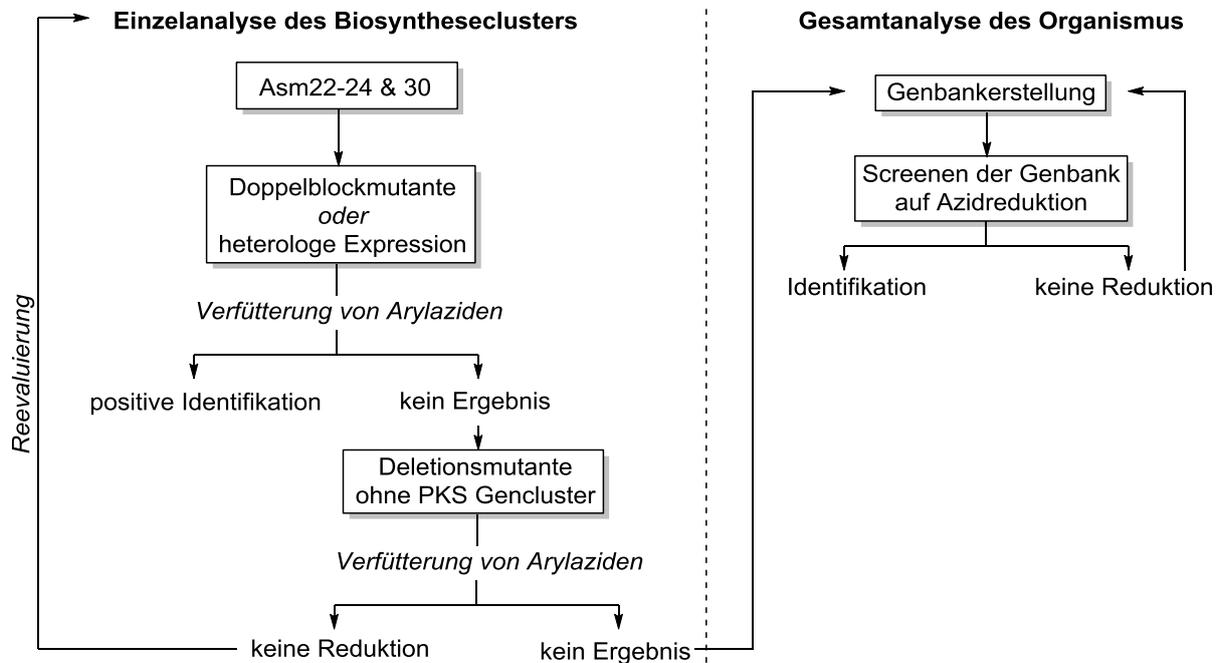
Die genetische Analyse des Biosyntheseclusters zeigte das *asm22-24* und *asm30* von besonderem Interesse sein können, eine Isolierung oder Darstellung von Blockmutanten der Gene konnten im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht mehr realisiert werden.

4.2.2 AUSBLICK

Die Isolierung und Expression der Gene *asm22-24* und *asm30* bzw. die Herstellung entsprechender Blockmutanten sollten weitergehenden Aufschluss über die entsprechende Azidreduktasefunktion geben. Die in dieser Arbeit begonnenen Experimente müssen vor allem bezüglich der PCR Bedingungen optimiert werden, da der Mikroorganismus viele Komplikationen bei diesem Operationsschritt mit sich brachte.

Ebenfalls wäre es möglich, vor allem wenn die Gene keinen weiteren Anhaltspunkt auf die Azidreduktase bieten, ist die zeitaufwendige Erstellung einer Genbank von *A. pretiosum* HGF073. Eine ausgehende Analytik einer Genbank sollte letztlich eine gute Chance zur Identifikation der Azidreduktase liefern. Bevor ein solcher Schritt in der Gesamtanalyse des Organismus unternommen

wird, sollte jedoch zuvor eine Deletionsmutante von *A. pretiosum*, welche keinen Biosynthesecuster von Ansamitocin mehr enthält, durch Verfütterung von N_3HBA auf Azidreduktaseaktivität getestet werden, um zu verifizieren, dass es sich um ein Enzym handelt, welches nicht in der Biosynthese von AP-3 involviert ist (Schema 80).



Schema 80: Vorgeschlagene Vorgehensweise für die Identifikation der Azidreduktase.

5 EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 MOLEKULARBERECHNUNGEN

5.1.1 MODELING

Moleküle für das Modeling wurde zunächst mit ChemBioDraw Ultra 13.0 gezeichnet und mit Chem3D Pro 13.0 von PerkinElmer Informatics vorminimiert und als mol2 Datei gespeichert. Atropisomere wurden vor dem Vorminimieren durch manuelles Darstellen des Moleküls erzeugt. Das eigentliche Modeling von Konformationen wurde mit Maestro Macromodel von Schrödinger durchgeführt.

a) Aldehyd 87

Für die Konformationssuche wurde *mixed low-frequency-mode conformational search* (LMCS) mit einem OPLS2005 Kraftfeld verwendet. Als Lösemittelhintergrund wurde Chloroform verwendet. Die Limitierung der Stufen betrug 1400 mit 10 gespeicherten Konformeren.

Ergebnis:

```

447 unique conformations found so far
417 minimized with good convergence
Found      7 confs within  1.00 kcal/mol ( 4.18 kJ/mol) of glob. min.
Found     36 confs within  2.00 kcal/mol ( 8.37 kJ/mol) of glob. min.
Found     86 confs within  3.00 kcal/mol (12.55 kJ/mol) of glob. min.
Found    258 confs within  5.00 kcal/mol (20.92 kJ/mol) of glob. min.
Found    447 confs within 10.00 kcal/mol (41.84 kJ/mol) of glob. min.
Global minimum E =  -210.81 found      5 times.
1400 steps performed so far, out of 1400
E of low-energy structures above global min [kJ/mol], and no. times found:
  E:  0.00  0.47  0.71  2.12  2.93  3.52  3.93  4.33  4.58  4.60  4.88  4.93
  No.:   5   12   7    2    1    6    4    1    1    6    1    6

```

Die zehn energieärmsten Konformationen unterscheiden sich nur durch Ausrichtung des Phenylrings an der Benzylgruppe. Die energieärmste Konformation aus Abbildung 20 ist hier in mol2 Dateiformat angegeben:

```

@<TRIPOS>MOLECULE
****
73   73   1
SMALL
USER_CHARGES

```

```

@<TRIPOS>ATOM
  1 C          0.0616   2.7749   2.7605 C.2      1 ****      0.0000
  2 C          0.3361   3.1950   4.1482 C.2      1 ****      0.4500
  3 O          0.8499   2.4693   4.9995 O.2      1 ****     -0.4500
  4 C          0.4358   1.3410   2.4048 C.3      1 ****     -0.1800
  5 C         -2.8735   3.0276  -1.1217 C.3      1 ****     -0.1200

```

6	C	-2.3724	3.3419	0.3035	C.3	1	****	0.1333
7	C	-0.8419	3.4863	0.4569	C.3	1	****	-0.0600
8	C	-0.4888	3.6793	1.9232	C.2	1	****	-0.1150
9	C	-0.2586	4.6337	-0.3851	C.3	1	****	-0.1800
10	C	-2.3239	1.7157	-1.7262	C.3	1	****	0.1700
11	C	-3.0766	2.5589	-4.0226	C.2	1	****	-0.1840
12	C	-2.9615	1.3576	-3.0963	C.3	1	****	0.2390
13	C	-4.2266	3.0203	-4.5401	C.2	1	****	-0.2300
14	O	-2.9749	4.5510	0.7329	O.3	1	****	-0.4969
15	Si	-4.2527	4.6420	1.8354	Si	1	****	0.8643
16	C	-4.7714	6.4741	1.9664	C.3	1	****	-0.1869
17	C	-3.6486	4.0022	3.5048	C.3	1	****	-0.5103
18	C	-5.6780	3.5825	1.2016	C.3	1	****	-0.5103
19	C	-5.2267	6.9631	0.5806	C.3	1	****	-0.1800
20	C	-3.5631	7.3032	2.4349	C.3	1	****	-0.1800
21	C	-5.9246	6.6115	2.9755	C.3	1	****	-0.1800
22	O	-2.6255	0.7074	-0.7630	O.3	1	****	-0.4000
23	C	-2.0014	-1.3577	0.3802	C.ar	1	****	-0.0418
24	C	-1.6675	-2.7260	0.2947	C.ar	1	****	-0.1150
25	C	-1.8157	-3.5652	1.4170	C.ar	1	****	-0.1150
26	C	-2.2931	-3.0380	2.6329	C.ar	1	****	-0.1150
27	C	-2.6209	-1.6713	2.7261	C.ar	1	****	-0.1150
28	C	-2.4739	-0.8334	1.6031	C.ar	1	****	-0.1150
29	C	-1.8146	-0.4592	-0.8296	C.3	1	****	0.1818
30	O	-2.1484	0.3661	-3.7128	O.3	1	****	-0.4000
31	C	-2.7804	-0.3252	-4.7813	C.3	1	****	0.1100
32	H	0.0511	4.2204	4.3859	H	1	****	0.0000
33	H	-0.0473	0.9877	1.4965	H	1	****	0.0600
34	H	1.5150	1.2548	2.2783	H	1	****	0.0600
35	H	0.1350	0.6573	3.2001	H	1	****	0.0600
36	H	-3.9615	2.9676	-1.1021	H	1	****	0.0600
37	H	-2.6384	3.8708	-1.7700	H	1	****	0.0600
38	H	-2.7028	2.5356	0.9612	H	1	****	0.0600
39	H	-0.3707	2.5707	0.1081	H	1	****	0.0600
40	H	-0.7260	4.6667	2.2967	H	1	****	0.1150
41	H	0.8153	4.7311	-0.2246	H	1	****	0.0600
42	H	-0.4102	4.4653	-1.4509	H	1	****	0.0600
43	H	-0.7210	5.5884	-0.1316	H	1	****	0.0600
44	H	-1.2460	1.8257	-1.8516	H	1	****	0.0300
45	H	-2.1485	3.0562	-4.2651	H	1	****	0.1150
46	H	-3.9614	0.9594	-2.9118	H	1	****	0.0300
47	H	-4.2368	3.8806	-5.1937	H	1	****	0.1150
48	H	-5.1729	2.5475	-4.3196	H	1	****	0.1150
49	H	-3.3025	2.9721	3.4356	H	1	****	0.1078
50	H	-4.4426	4.0324	4.2496	H	1	****	0.1078
51	H	-2.8241	4.6033	3.8835	H	1	****	0.1078
52	H	-6.5346	3.6262	1.8723	H	1	****	0.1078
53	H	-6.0119	3.9188	0.2212	H	1	****	0.1078
54	H	-5.3861	2.5374	1.1069	H	1	****	0.1078
55	H	-6.0912	6.4028	0.2234	H	1	****	0.0600
56	H	-5.5039	8.0173	0.5995	H	1	****	0.0600
57	H	-4.4333	6.8432	-0.1589	H	1	****	0.0600
58	H	-3.2226	6.9910	3.4224	H	1	****	0.0600
59	H	-3.8049	8.3647	2.4919	H	1	****	0.0600
60	H	-2.7211	7.1928	1.7496	H	1	****	0.0600
61	H	-6.2463	7.6487	3.0722	H	1	****	0.0600
62	H	-6.7928	6.0264	2.6702	H	1	****	0.0600
63	H	-5.6297	6.2662	3.9670	H	1	****	0.0600
64	H	-1.2962	-3.1352	-0.6338	H	1	****	0.1150
65	H	-1.5609	-4.6129	1.3457	H	1	****	0.1150
66	H	-2.4056	-3.6810	3.4942	H	1	****	0.1150
67	H	-2.9839	-1.2645	3.6590	H	1	****	0.1150
68	H	-2.7235	0.2144	1.6822	H	1	****	0.1150
69	H	-0.7592	-0.1878	-0.8829	H	1	****	0.0300
70	H	-2.0537	-1.0340	-1.7235	H	1	****	0.0300
71	H	-3.6851	-0.8316	-4.4425	H	1	****	0.0300
72	H	-3.0413	0.3442	-5.6017	H	1	****	0.0300
73	H	-2.1028	-1.0826	-5.1751	H	1	****	0.0300

@<TRIPOS>BOND

1 1 2 1

2	1	4	1
3	1	8	2
4	2	3	2
5	2	32	1
6	4	33	1
7	4	34	1
8	4	35	1
9	5	6	1
10	5	10	1
11	5	36	1
12	5	37	1
13	6	7	1
14	6	14	1
15	6	38	1
16	7	8	1
17	7	9	1
18	7	39	1
19	8	40	1
20	9	41	1
21	9	42	1
22	9	43	1
23	10	12	1
24	10	22	1
25	10	44	1
26	11	12	1
27	11	13	2
28	11	45	1
29	12	30	1
30	12	46	1
31	13	47	1
32	13	48	1
33	14	15	1
34	15	16	1
35	15	17	1
36	15	18	1
37	16	19	1
38	16	20	1
39	16	21	1
40	17	49	1
41	17	50	1
42	17	51	1
43	18	52	1
44	18	53	1
45	18	54	1
46	19	55	1
47	19	56	1
48	19	57	1
49	20	58	1
50	20	59	1
51	20	60	1
52	21	61	1
53	21	62	1
54	21	63	1
55	22	29	1
56	23	24	ar
57	23	28	ar
58	23	29	1
59	24	25	ar
60	24	64	1
61	25	26	ar
62	25	65	1
63	26	27	ar
64	26	66	1
65	27	28	ar
66	27	67	1
67	28	68	1
68	29	69	1
69	29	70	1
70	30	31	1
71	31	71	1

```

72 31 72 1
73 31 73 1
@<TRIPOS>SUBSTRUCTURE
1 **** 1 GROUP 0 **** 0 ROOT

```

b) Atropisomere **34**

Für die Konformationssuche wurde *mixed low-frequency-mode conformational search* (LMCS) mit einem OPLS2005 Kraftfeld verwendet. Als Lösemittelhintergrund wurde Chloroform verwendet. Die Limitierung der Stufen betrug 1000 mit 10 gespeicherten Konformeren.

Ergebnis (Atropisomer **34a**):

```

403 unique conformations found so far
19 minimized with good convergence
Found 38 confs within 1.00 kcal/mol ( 4.18 kJ/mol) of glob. min.
Found 188 confs within 2.00 kcal/mol ( 8.37 kJ/mol) of glob. min.
Found 304 confs within 3.00 kcal/mol (12.55 kJ/mol) of glob. min.
Found 403 confs within 5.00 kcal/mol (20.92 kJ/mol) of glob. min.
Global minimum E = -416.39 found 1785 times.
1000 steps performed so far, out of 1000
E of low-energy structures above global min [kJ/mol], and no. times found:
E: 0.00 0.41 0.47 0.83 1.00 1.16 1.19 1.35 1.56 1.58 1.64 1.66
No.: 1785 510 510 1020 1785 1275 1020 1020 1530 765 1020 1275

```

Die energieärmste Konformation des Atropisomers **34a** aus Abbildung 23 ist hier in mol2 Dateiformat angegeben:

```

@<TRIPOS>MOLECULE
innen
132 133 1
SMALL
USER_CHARGES

```

```

@<TRIPOS>ATOM
1 C -4.9956 4.2823 1.8038 C.2 1 **** 0.0000
2 C -4.6161 3.7704 0.6143 C.2 1 **** -0.1150
3 C -4.2564 4.0554 3.1144 C.3 1 **** -0.1800
4 C -9.9284 0.4879 0.8809 C.2 1 **** 0.5000
5 O -10.4769 -0.0427 -0.0817 O.2 1 **** -0.5000
6 C -9.3050 -0.4086 1.9665 C.3 1 **** -0.1200
7 C -8.2271 -1.3586 1.4076 C.3 1 **** 0.1333
8 C -7.0409 -0.6037 0.8140 C.2 1 **** 0.0000
9 C -6.8332 -0.5812 -0.5188 C.2 1 **** -0.1150
10 C -6.1729 0.1351 1.8247 C.3 1 **** -0.1800
11 C -5.7541 0.1783 -1.2706 C.3 1 **** -0.0600
12 C -4.8205 -0.7959 -2.0237 C.3 1 **** 0.1333
13 C -3.4790 -0.1767 -2.4723 C.3 1 **** -0.1200
14 C -2.4811 0.0661 -1.3118 C.3 1 **** 0.2050
15 C -6.4020 1.2251 -2.1935 C.3 1 **** -0.1800
16 C -1.9921 1.5221 -1.1610 C.3 1 **** 0.2390
17 C -3.1400 2.4684 -0.8467 C.2 1 **** -0.1840
18 O -1.3127 -0.6890 -1.5560 O.3 1 **** -0.6830
19 C -3.4654 2.9183 0.3780 C.2 1 **** -0.1150
20 N -9.8569 1.8259 0.9429 N.am 1 **** -0.3850
21 C -9.1908 2.6289 1.8975 C.ar 1 **** 0.0850
22 C -9.5393 2.5872 3.2611 C.ar 1 **** -0.1150
23 C -8.8527 3.3800 4.2127 C.ar 1 **** 0.0850
24 C -7.7773 4.2020 3.7692 C.ar 1 **** 0.0850

```

25	C	-7.4650	4.2793	2.3879	C.ar	1	****	-0.1150
26	C	-8.2137	3.5351	1.4453	C.ar	1	****	0.0850
27	C	-6.2682	5.1077	1.9286	C.3	1	****	-0.0050
28	O	-7.8152	-2.2126	2.4635	O.3	1	****	-0.4969
29	Si	-7.0269	-3.6961	2.2648	Si	1	****	0.8643
30	C	-6.9393	-4.5259	3.9824	C.3	1	****	-0.1869
31	C	-8.0258	-4.7633	1.0724	C.3	1	****	-0.5103
32	C	-5.2843	-3.3952	1.6061	C.3	1	****	-0.5103
33	C	-8.3691	-4.7352	4.5103	C.3	1	****	-0.1800
34	C	-6.1645	-3.6062	4.9418	C.3	1	****	-0.1800
35	C	-6.2223	-5.8820	3.8637	C.3	1	****	-0.1800
36	O	-5.5146	-1.2660	-3.1664	O.3	1	****	-0.4969
37	Si	-5.6207	-2.8851	-3.6381	Si	1	****	0.8643
38	C	-6.5267	-2.9343	-5.3171	C.3	1	****	-0.1869
39	C	-3.8809	-3.5944	-3.7951	C.3	1	****	-0.5103
40	C	-6.5992	-3.8306	-2.3346	C.3	1	****	-0.5103
41	C	-7.9228	-2.3106	-5.1475	C.3	1	****	-0.1800
42	C	-6.6575	-4.3925	-5.7900	C.3	1	****	-0.1800
43	C	-5.7187	-2.1212	-6.3431	C.3	1	****	-0.1800
44	O	-1.0280	1.4967	-0.1088	O.3	1	****	-0.4000
45	C	-0.1512	2.6164	-0.1055	C.3	1	****	0.1100
46	O	-9.1926	3.4053	5.5530	O.3	1	****	-0.2850
47	C	-10.2098	2.5543	6.0725	C.3	1	****	0.1700
48	C	-9.6704	1.1247	6.2460	C.3	1	****	-0.1800
49	C	-10.6241	3.1542	7.4201	C.3	1	****	-0.1800
50	O	-7.0133	4.9763	4.6201	O.3	1	****	-0.2850
51	C	-6.6673	4.4432	5.8916	C.3	1	****	0.1100
52	O	-7.9644	3.6261	0.0957	O.3	1	****	-0.2850
53	C	-8.5629	4.7425	-0.5624	C.3	1	****	0.1700
54	C	-7.7139	5.0539	-1.7998	C.3	1	****	-0.1800
55	C	-10.0173	4.4363	-0.9491	C.3	1	****	-0.1800
56	H	-5.2506	3.9810	-0.2344	H	1	****	0.1150
57	H	-4.1758	4.9918	3.6666	H	1	****	0.0600
58	H	-4.8099	3.3481	3.7321	H	1	****	0.0600
59	H	-3.2458	3.6747	2.9857	H	1	****	0.0600
60	H	-8.8721	0.1589	2.7849	H	1	****	0.0600
61	H	-10.1106	-0.9980	2.4036	H	1	****	0.0600
62	H	-8.6833	-1.9762	0.6313	H	1	****	0.0600
63	H	-7.5150	-1.1265	-1.1560	H	1	****	0.1150
64	H	-6.5595	1.1401	1.9916	H	1	****	0.0600
65	H	-6.1646	-0.3826	2.7835	H	1	****	0.0600
66	H	-5.1344	0.2124	1.5094	H	1	****	0.0600
67	H	-5.1604	0.7247	-0.5463	H	1	****	0.0600
68	H	-4.5930	-1.6456	-1.3766	H	1	****	0.0600
69	H	-3.0241	-0.8516	-3.1980	H	1	****	0.0600
70	H	-3.6555	0.7392	-3.0340	H	1	****	0.0600
71	H	-2.9059	-0.2687	-0.3635	H	1	****	0.0600
72	H	-5.6600	1.8175	-2.7253	H	1	****	0.0600
73	H	-7.0180	1.9148	-1.6177	H	1	****	0.0600
74	H	-7.0456	0.7575	-2.9394	H	1	****	0.0600
75	H	-1.5211	1.8461	-2.0916	H	1	****	0.0300
76	H	-3.7413	2.7625	-1.6943	H	1	****	0.1150
77	H	-0.6693	-0.3527	-0.9420	H	1	****	0.4180
78	H	-2.8633	2.5845	1.2090	H	1	****	0.1150
79	H	-10.1044	2.2879	0.0817	H	1	****	0.3000
80	H	-10.3438	1.9318	3.5514	H	1	****	0.1150
81	H	-6.4837	5.5677	0.9672	H	1	****	0.0600
82	H	-6.0953	5.9506	2.5975	H	1	****	0.0600
83	H	-7.5700	-5.7430	0.9386	H	1	****	0.1078
84	H	-8.1051	-4.3024	0.0902	H	1	****	0.1078
85	H	-9.0389	-4.9199	1.4398	H	1	****	0.1078
86	H	-5.3011	-2.8946	0.6412	H	1	****	0.1078
87	H	-4.7367	-4.3284	1.4841	H	1	****	0.1078
88	H	-4.7130	-2.7642	2.2851	H	1	****	0.1078
89	H	-8.3667	-5.1786	5.5063	H	1	****	0.0600
90	H	-8.9430	-5.3951	3.8592	H	1	****	0.0600
91	H	-8.9082	-3.7886	4.5714	H	1	****	0.0600
92	H	-6.1181	-4.0252	5.9472	H	1	****	0.0600
93	H	-5.1396	-3.4491	4.6045	H	1	****	0.0600
94	H	-6.6370	-2.6253	5.0138	H	1	****	0.0600

95	H	-6.7482	-6.5526	3.1833	H	1	****	0.0600
96	H	-5.2060	-5.7639	3.4864	H	1	****	0.0600
97	H	-6.1562	-6.3821	4.8303	H	1	****	0.0600
98	H	-3.9022	-4.6392	-4.1005	H	1	****	0.1078
99	H	-3.3400	-3.5361	-2.8513	H	1	****	0.1078
100	H	-3.2984	-3.0477	-4.5350	H	1	****	0.1078
101	H	-7.5881	-3.3967	-2.1954	H	1	****	0.1078
102	H	-6.7365	-4.8725	-2.6196	H	1	****	0.1078
103	H	-6.0934	-3.8193	-1.3718	H	1	****	0.1078
104	H	-8.4677	-2.2871	-6.0914	H	1	****	0.0600
105	H	-7.8534	-1.2854	-4.7801	H	1	****	0.0600
106	H	-8.5270	-2.8709	-4.4334	H	1	****	0.0600
107	H	-7.1698	-4.4539	-6.7504	H	1	****	0.0600
108	H	-5.6803	-4.8617	-5.9091	H	1	****	0.0600
109	H	-7.2244	-4.9931	-5.0778	H	1	****	0.0600
110	H	-5.5860	-1.0905	-6.0105	H	1	****	0.0600
111	H	-4.7253	-2.5441	-6.4949	H	1	****	0.0600
112	H	-6.2158	-2.0939	-7.3129	H	1	****	0.0600
113	H	0.5434	2.5327	0.7302	H	1	****	0.0300
114	H	0.4359	2.6582	-1.0238	H	1	****	0.0300
115	H	-0.6910	3.5576	0.0037	H	1	****	0.0300
116	H	-11.0949	2.5611	5.4363	H	1	****	0.0300
117	H	-10.4278	0.4704	6.6781	H	1	****	0.0600
118	H	-9.3616	0.6838	5.2990	H	1	****	0.0600
119	H	-8.8037	1.1119	6.9073	H	1	****	0.0600
120	H	-11.4119	2.5649	7.8902	H	1	****	0.0600
121	H	-11.0009	4.1694	7.2928	H	1	****	0.0600
122	H	-9.7805	3.1986	8.1093	H	1	****	0.0600
123	H	-6.5527	3.3581	5.8696	H	1	****	0.0300
124	H	-7.4070	4.7129	6.6457	H	1	****	0.0300
125	H	-5.7139	4.8661	6.2072	H	1	****	0.0300
126	H	-8.5606	5.6202	0.0862	H	1	****	0.0300
127	H	-6.6912	5.3061	-1.5220	H	1	****	0.0600
128	H	-7.6740	4.2004	-2.4770	H	1	****	0.0600
129	H	-8.1204	5.9008	-2.3531	H	1	****	0.0600
130	H	-10.0836	3.5382	-1.5639	H	1	****	0.0600
131	H	-10.6436	4.2982	-0.0681	H	1	****	0.0600
132	H	-10.4486	5.2596	-1.5192	H	1	****	0.0600

@<TRIPOS>BOND

1	1	2	2
2	1	3	1
3	1	27	1
4	2	19	1
5	2	56	1
6	3	57	1
7	3	58	1
8	3	59	1
9	4	5	2
10	4	6	1
11	4	20	am
12	6	7	1
13	6	60	1
14	6	61	1
15	7	8	1
16	7	28	1
17	7	62	1
18	8	9	2
19	8	10	1
20	9	11	1
21	9	63	1
22	10	64	1
23	10	65	1
24	10	66	1
25	11	12	1
26	11	15	1
27	11	67	1
28	12	13	1
29	12	36	1
30	12	68	1
31	13	14	1

BACKBONE | DICT | INTERRES

32	13	69	1
33	13	70	1
34	14	16	1
35	14	18	1
36	14	71	1
37	15	72	1
38	15	73	1
39	15	74	1
40	16	17	1
41	16	44	1
42	16	75	1
43	17	19	2
44	17	76	1
45	18	77	1
46	19	78	1
47	20	21	1
48	20	79	1
49	21	22	ar
50	21	26	ar
51	22	23	ar
52	22	80	1
53	23	24	ar
54	23	46	1
55	24	25	ar
56	24	50	1
57	25	26	ar
58	25	27	1
59	26	52	1
60	27	81	1
61	27	82	1
62	28	29	1
63	29	30	1
64	29	31	1
65	29	32	1
66	30	33	1
67	30	34	1
68	30	35	1
69	31	83	1
70	31	84	1
71	31	85	1
72	32	86	1
73	32	87	1
74	32	88	1
75	33	89	1
76	33	90	1
77	33	91	1
78	34	92	1
79	34	93	1
80	34	94	1
81	35	95	1
82	35	96	1
83	35	97	1
84	36	37	1
85	37	38	1
86	37	39	1
87	37	40	1
88	38	41	1
89	38	42	1
90	38	43	1
91	39	98	1
92	39	99	1
93	39	100	1
94	40	101	1
95	40	102	1
96	40	103	1
97	41	104	1
98	41	105	1
99	41	106	1
100	42	107	1
101	42	108	1

```

102  42  109  1
103  43  110  1
104  43  111  1
105  43  112  1
106  44   45  1
107  45  113  1
108  45  114  1
109  45  115  1
110  46   47  1
111  47   48  1
112  47   49  1
113  47  116  1
114  48  117  1
115  48  118  1
116  48  119  1
117  49  120  1
118  49  121  1
119  49  122  1
120  50   51  1
121  51  123  1
122  51  124  1
123  51  125  1
124  52   53  1
125  53   54  1
126  53   55  1
127  53  126  1
128  54  127  1
129  54  128  1
130  54  129  1
131  55  130  1
132  55  131  1
133  55  132  1
@<TRIPOS>SUBSTRUCTURE
  1 ****          1 GROUP          0          ****          0 ROOT

```

Ergebnis (Atropisomer **34b**):

```

379 unique conformations found so far
20 minimized with good convergence
Found   15 confs within  1.00 kcal/mol ( 4.18 kJ/mol) of glob. min.
Found   89 confs within  2.00 kcal/mol ( 8.37 kJ/mol) of glob. min.
Found  219 confs within  3.00 kcal/mol (12.55 kJ/mol) of glob. min.
Found  379 confs within  5.00 kcal/mol (20.92 kJ/mol) of glob. min.
Global minimum E = -394.39 found  480 times.
1000 steps performed so far, out of 1000
E of low-energy structures above global min [kJ/mol], and no. times found:
  E:  0.00  1.33  1.54  2.36  2.52  2.56  2.57  3.10  3.23  3.61  3.87  3.94
  No.: 480   240   800    80    80    80    80    80   240  1760   320   480

```

Die energieärmste Konformation des Atropisomers **34b** aus Abbildung 23 ist hier in mol2 Dateiformat angegeben:

```

@<TRIPOS>MOLECULE
aussen
132  133   1
SMALL
USER_CHARGES

@<TRIPOS>ATOM
  1 C          -0.6771   -3.6619   4.9900 C.2          1 ****          0.0000
  2 C           0.2355   -4.0350   5.9115 C.2          1 ****          -0.1150
  3 C          -1.3738   -4.6201   4.0348 C.3          1 ****          -0.1800

```

4	C	0.4598	0.2867	9.6364	C.2	1	****	0.5000
5	O	1.1154	1.0724	10.3150	O.2	1	****	-0.5000
6	C	0.7256	-1.2226	9.7330	C.3	1	****	-0.1200
7	C	-0.3203	-1.9636	10.5923	C.3	1	****	0.1333
8	C	-0.3514	-3.4494	10.2703	C.2	1	****	0.0000
9	C	0.3476	-4.3389	11.0050	C.2	1	****	-0.1150
10	C	-1.2847	-3.8066	9.1238	C.3	1	****	-0.1800
11	C	0.4210	-5.8451	10.8353	C.3	1	****	-0.0600
12	C	1.8722	-6.2612	10.5043	C.3	1	****	0.1333
13	C	2.0335	-7.6817	9.9213	C.3	1	****	-0.1200
14	C	1.5693	-7.9453	8.4626	C.3	1	****	0.2050
15	C	-0.1407	-6.5511	12.0810	C.3	1	****	-0.1800
16	C	2.1902	-7.0728	7.3397	C.3	1	****	0.2390
17	C	1.5308	-5.7088	7.1525	C.2	1	****	-0.1840
18	O	0.1606	-7.9645	8.3389	O.3	1	****	-0.6830
19	C	0.7345	-5.3832	6.1202	C.2	1	****	-0.1150
20	N	-0.4839	0.7471	8.8011	N.am	1	****	-0.3850
21	C	-1.2946	-0.0339	7.9431	C.ar	1	****	0.0850
22	C	-2.6438	-0.2238	8.2898	C.ar	1	****	-0.1150
23	C	-3.4809	-1.0702	7.5236	C.ar	1	****	0.0850
24	C	-2.9343	-1.7229	6.3840	C.ar	1	****	0.0850
25	C	-1.5902	-1.4877	6.0050	C.ar	1	****	-0.1150
26	C	-0.7725	-0.6214	6.7667	C.ar	1	****	0.0850
27	C	-1.0202	-2.1933	4.7772	C.3	1	****	-0.0050
28	O	-0.0467	-1.7465	11.9646	O.3	1	****	-0.4969
29	Si	-1.2276	-1.5810	13.1600	Si	1	****	0.8643
30	C	-0.3250	-1.4992	14.8375	C.3	1	****	-0.1869
31	C	-2.1887	0.0062	12.8221	C.3	1	****	-0.5103
32	C	-2.3773	-3.0744	13.0943	C.3	1	****	-0.5103
33	C	0.5092	-2.7804	15.0078	C.3	1	****	-0.1800
34	C	-1.3544	-1.3848	15.9747	C.3	1	****	-0.1800
35	C	0.6037	-0.2729	14.8434	C.3	1	****	-0.1800
36	O	2.6285	-6.1616	11.6995	O.3	1	****	-0.4969
37	Si	4.0964	-5.3347	11.8463	Si	1	****	0.8643
38	C	4.6524	-5.4634	13.6677	C.3	1	****	-0.1869
39	C	5.3592	-6.1489	10.7083	C.3	1	****	-0.5103
40	C	3.8427	-3.5303	11.3538	C.3	1	****	-0.5103
41	C	3.5934	-4.7949	14.5603	C.3	1	****	-0.1800
42	C	6.0066	-4.7549	13.8437	C.3	1	****	-0.1800
43	C	4.7842	-6.9488	14.0457	C.3	1	****	-0.1800
44	O	3.5828	-6.9429	7.5877	O.3	1	****	-0.4000
45	C	4.3401	-6.4868	6.4750	C.3	1	****	0.1100
46	O	-4.8140	-1.2799	7.8232	O.3	1	****	-0.2850
47	C	-5.3657	-0.8406	9.0608	C.3	1	****	0.1700
48	C	-6.8876	-0.9203	8.9044	C.3	1	****	-0.1800
49	C	-4.8808	-1.7400	10.2106	C.3	1	****	-0.1800
50	O	-3.6638	-2.5810	5.5885	O.3	1	****	-0.2850
51	C	-4.4916	-3.5359	6.2397	C.3	1	****	0.1100
52	O	0.5390	-0.4282	6.3970	O.3	1	****	-0.2850
53	H	2.7126	2.0708	5.9471	H	1	****	0.0600
54	H	2.9805	0.3409	5.7297	H	1	****	0.0600
55	H	2.5789	0.9790	7.3212	H	1	****	0.0600
56	H	0.6739	-3.2464	6.5084	H	1	****	0.1150
57	H	-2.4434	-4.4111	4.0125	H	1	****	0.0600
58	H	-1.2642	-5.6662	4.3126	H	1	****	0.0600
59	H	-0.9852	-4.4907	3.0246	H	1	****	0.0600
60	H	1.7185	-1.3793	10.1553	H	1	****	0.0600
61	H	0.7739	-1.6435	8.7303	H	1	****	0.0600
62	H	-1.3157	-1.5679	10.3881	H	1	****	0.0600
63	H	0.9543	-3.9626	11.8159	H	1	****	0.1150
64	H	-1.1487	-4.8071	8.7242	H	1	****	0.0600
65	H	-2.3222	-3.7070	9.4429	H	1	****	0.0600
66	H	-1.1288	-3.1204	8.2944	H	1	****	0.0600
67	H	-0.2158	-6.1338	10.0099	H	1	****	0.0600
68	H	2.3021	-5.5565	9.7974	H	1	****	0.0600
69	H	3.0955	-7.9254	9.9593	H	1	****	0.0600
70	H	1.5626	-8.4063	10.5846	H	1	****	0.0600
71	H	1.8823	-8.9695	8.2535	H	1	****	0.0600
72	H	0.4324	-6.3036	12.9754	H	1	****	0.0600
73	H	-1.1750	-6.2582	12.2612	H	1	****	0.0600

74	H	-0.1255	-7.6344	11.9669	H	1	****	0.0600
75	H	2.0568	-7.6283	6.4088	H	1	****	0.0300
76	H	1.7828	-4.9427	7.8679	H	1	****	0.1150
77	H	-0.1286	-7.0697	8.2297	H	1	****	0.4180
78	H	0.5237	-6.1486	5.3883	H	1	****	0.1150
79	H	-0.6511	1.7407	8.8301	H	1	****	0.3000
80	H	-3.0064	0.2719	9.1756	H	1	****	0.1150
81	H	-1.7398	-2.0952	3.9635	H	1	****	0.0600
82	H	-0.1233	-1.6919	4.4183	H	1	****	0.0600
83	H	-2.9176	0.2037	13.6068	H	1	****	0.1078
84	H	-2.7241	-0.0395	11.8763	H	1	****	0.1078
85	H	-1.5164	0.8624	12.7754	H	1	****	0.1078
86	H	-3.1555	-3.0121	13.8534	H	1	****	0.1078
87	H	-2.8648	-3.1657	12.1257	H	1	****	0.1078
88	H	-1.8254	-3.9974	13.2663	H	1	****	0.1078
89	H	1.0826	-2.7671	15.9348	H	1	****	0.0600
90	H	1.2148	-2.8978	14.1843	H	1	****	0.0600
91	H	-0.1201	-3.6707	15.0226	H	1	****	0.0600
92	H	-0.8659	-1.3342	16.9480	H	1	****	0.0600
93	H	-1.9671	-0.4890	15.8681	H	1	****	0.0600
94	H	-2.0276	-2.2426	15.9904	H	1	****	0.0600
95	H	1.3204	-0.3184	14.0215	H	1	****	0.0600
96	H	0.0417	0.6547	14.7312	H	1	****	0.0600
97	H	1.1704	-0.2039	15.7721	H	1	****	0.0600
98	H	6.3334	-5.6690	10.7854	H	1	****	0.1078
99	H	5.0464	-6.0955	9.6665	H	1	****	0.1078
100	H	5.4897	-7.2014	10.9549	H	1	****	0.1078
101	H	3.4820	-3.4396	10.3308	H	1	****	0.1078
102	H	4.7712	-2.9663	11.4261	H	1	****	0.1078
103	H	3.1159	-3.0392	12.0000	H	1	****	0.1078
104	H	3.8438	-4.8865	15.6173	H	1	****	0.0600
105	H	3.5004	-3.7317	14.3375	H	1	****	0.0600
106	H	2.6108	-5.2464	14.4126	H	1	****	0.0600
107	H	6.3501	-4.8066	14.8772	H	1	****	0.0600
108	H	5.9424	-3.7007	13.5718	H	1	****	0.0600
109	H	6.7773	-5.2080	13.2192	H	1	****	0.0600
110	H	5.5347	-7.4512	13.4348	H	1	****	0.0600
111	H	3.8400	-7.4762	13.9007	H	1	****	0.0600
112	H	5.0741	-7.0715	15.0894	H	1	****	0.0600
113	H	5.3949	-6.4473	6.7470	H	1	****	0.0300
114	H	4.0420	-5.4851	6.1634	H	1	****	0.0300
115	H	4.2403	-7.1616	5.6239	H	1	****	0.0300
116	H	-5.1199	0.2034	9.2547	H	1	****	0.0300
117	H	-7.3962	-0.5912	9.8109	H	1	****	0.0600
118	H	-7.2268	-0.2859	8.0851	H	1	****	0.0600
119	H	-7.2105	-1.9393	8.6889	H	1	****	0.0600
120	H	-5.3255	-1.4382	11.1592	H	1	****	0.0600
121	H	-3.7998	-1.7002	10.3318	H	1	****	0.0600
122	H	-5.1500	-2.7815	10.0331	H	1	****	0.0600
123	H	-4.0982	-3.8318	7.2138	H	1	****	0.0300
124	H	-4.5529	-4.4336	5.6250	H	1	****	0.0300
125	H	-5.5062	-3.1566	6.3626	H	1	****	0.0300
126	H	1.1188	0.3210	3.8704	H	1	****	0.0600
127	H	-0.4956	0.9015	4.2764	H	1	****	0.0600
128	H	0.8339	2.0412	4.1178	H	1	****	0.0600
129	C	0.8845	0.8864	5.9638	C.3	1	****	0.1700
130	H	0.3294	1.6501	6.5087	H	1	****	0.0300
131	C	0.5675	1.0448	4.4708	C.3	1	****	-0.1800
132	C	2.3757	1.0806	6.2547	C.3	1	****	-0.1800

@<TRIPOS>BOND

1	1	2	2
2	1	3	1
3	1	27	1
4	2	19	1
5	2	56	1
6	3	57	1
7	3	58	1
8	3	59	1
9	4	5	2
10	4	6	1

11	4	20	am	BACKBONE DICT INTERRES
12	6	7	1	
13	6	60	1	
14	6	61	1	
15	7	8	1	
16	7	28	1	
17	7	62	1	
18	8	9	2	
19	8	10	1	
20	9	11	1	
21	9	63	1	
22	10	64	1	
23	10	65	1	
24	10	66	1	
25	11	12	1	
26	11	15	1	
27	11	67	1	
28	12	13	1	
29	12	36	1	
30	12	68	1	
31	13	14	1	
32	13	69	1	
33	13	70	1	
34	14	16	1	
35	14	18	1	
36	14	71	1	
37	15	72	1	
38	15	73	1	
39	15	74	1	
40	16	17	1	
41	16	44	1	
42	16	75	1	
43	17	19	2	
44	17	76	1	
45	18	77	1	
46	19	78	1	
47	20	21	1	
48	20	79	1	
49	21	22	ar	
50	21	26	ar	
51	22	23	ar	
52	22	80	1	
53	23	24	ar	
54	23	46	1	
55	24	25	ar	
56	24	50	1	
57	25	26	ar	
58	25	27	1	
59	26	52	1	
60	27	81	1	
61	27	82	1	
62	28	29	1	
63	29	30	1	
64	29	31	1	
65	29	32	1	
66	30	33	1	
67	30	34	1	
68	30	35	1	
69	31	83	1	
70	31	84	1	
71	31	85	1	
72	32	86	1	
73	32	87	1	
74	32	88	1	
75	33	89	1	
76	33	90	1	
77	33	91	1	
78	34	92	1	
79	34	93	1	
80	34	94	1	

```
81 35 95 1
82 35 96 1
83 35 97 1
84 36 37 1
85 37 38 1
86 37 39 1
87 37 40 1
88 38 41 1
89 38 42 1
90 38 43 1
91 39 98 1
92 39 99 1
93 39 100 1
94 40 101 1
95 40 102 1
96 40 103 1
97 41 104 1
98 41 105 1
99 41 106 1
100 42 107 1
101 42 108 1
102 42 109 1
103 43 110 1
104 43 111 1
105 43 112 1
106 44 45 1
107 45 113 1
108 45 114 1
109 45 115 1
110 46 47 1
111 47 48 1
112 47 49 1
113 47 116 1
114 48 117 1
115 48 118 1
116 48 119 1
117 49 120 1
118 49 121 1
119 49 122 1
120 50 51 1
121 51 123 1
122 51 124 1
123 51 125 1
124 52 129 1
125 53 132 1
126 54 132 1
127 55 132 1
128 126 131 1
129 127 131 1
130 128 131 1
131 129 130 1
132 129 131 1
133 129 132 1
@<TRIPOS>SUBSTRUCTURE
1 **** 1 GROUP 0 **** 0 ROOT
```

5.1.2 DOCKING

Dockingexperimente wurden mit Autodock Vina 1.1.2¹¹² durchgeführt. Als Rezeptor wurde Hsp90 aus der Cokristallstruktur mit Geldanamycin (PDB Id 1YET)³⁷ verwendet. Der Ligand wurde entfernt und separat weiter prozessiert. Das Kristallwasser bis auf die Wassermoleküle 381, 383 und 520 wurde entfernt. Wasserstoffatome für die Berechnung und Gasteiger Ladungen wurden mittels AutoDock Tools hinzugefügt, die Wasserstoffatome wurde anschließend bis auf die polarisierten mit dem Molekül verschmolzen. Bei allen Modifikationen wurden transformierte Koordinaten der einzelnen Moleküle mitgespeichert. Die Ringkonformation von Diisopropoxygeldanamycin wurde aus dem Geldanamycin Liganden des Kristalls übernommen. Das Docking wurde mit folgenden Parametern durchgeführt:

```
num_modes = 50

center_x = 39
center_y = -46
center_z = 63

size_x = 18
size_y = 18
size_z = 16

exhaustiveness = 8
energy_range = 3
```

Für das Docking mit flexiblen Seitenketten wurde folgende Datei für die Seitenketten verwendet:

```
BEGIN_RES ASN A 51
ROOT
ATOM 397 CA ASN A 51 36.396 -43.313 66.948 1.00 7.70 0.185 C
ENDROOT
BRANCH 397 400
ATOM 400 CB ASN A 51 36.132 -44.625 66.196 1.00 9.17 0.137 C
BRANCH 400 401
ATOM 401 CG ASN A 51 36.320 -45.855 67.077 1.00 10.67 0.217 C
ATOM 402 OD1 ASN A 51 36.691 -45.746 68.249 1.00 9.89 -0.274 OA
ATOM 403 ND2 ASN A 51 36.072 -47.030 66.517 1.00 10.26 -0.370 N
ATOM 404 1HD2 ASN A 51 35.765 -47.120 65.548 1.00 0.00 0.159 HD
ATOM 405 2HD2 ASN A 51 36.198 -47.853 67.106 1.00 0.00 0.159 HD
ENDBRANCH 400 401
ENDBRANCH 397 400
END_RES ASN A 51
BEGIN_RES LYS A 112
ROOT
ATOM 972 CA LYS A 112 45.637 -56.042 70.657 1.00 16.04 0.176 C
ENDROOT
BRANCH 972 975
ATOM 975 CB LYS A 112 44.285 -55.413 70.316 1.00 15.13 0.035 C
BRANCH 975 976
ATOM 976 CG LYS A 112 44.281 -54.778 68.913 1.00 18.05 0.004 C
BRANCH 976 977
ATOM 977 CD LYS A 112 42.998 -54.015 68.625 1.00 22.45 0.027 C
BRANCH 977 978
ATOM 978 CE LYS A 112 42.914 -52.716 69.415 1.00 26.46 0.229 C
BRANCH 978 979
ATOM 979 NZ LYS A 112 43.920 -51.677 69.027 1.00 23.40 -0.079 N
ATOM 980 HZ1 LYS A 112 43.864 -50.807 69.556 1.00 0.00 0.274 HD
ATOM 981 HZ2 LYS A 112 43.862 -51.486 68.027 1.00 0.00 0.274 HD
ATOM 982 HZ3 LYS A 112 44.863 -52.062 69.080 1.00 0.00 0.274 HD
```

```
ENDBRANCH 978 979
ENDBRANCH 977 978
ENDBRANCH 976 977
ENDBRANCH 975 976
ENDBRANCH 972 975
END_RES LYS A 112
```

Die Visualisierung erfolgt mit PyMol. Bindungsenergien der Dockingergebnisse finden sich in Tabelle 9.

5.2 ALLGEMEINE HINWEISE ZU DEN CHEMISCH SYNTHETISCHEN ARBEITEN

Reaktionen

Alle Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien wurden in im Vakuum ausgeheizten Glasgefäßen in einer sauerstofffreien, trockenen Inertgasatmosphäre (Stickstoff oder Argon) durchgeführt.

Säulenchromatographie wurde mit Kieselgel 60 Å von Acros durchgeführt. Qualitative Dünnschichtchromatographie erfolgte mittels Kieselgel beschichteten Aluminiumfolien 60 F₂₅₄ der Firma Merck oder mittels beschichteten Aluminiumfolien Alugram® Xtra SIL G/UV₂₅₄ der Firma Macherey-Nagel. Der Nachweis erfolgte unter einer UV-Lampe ($\lambda = 254$ nm) oder mit Tauchreagenzien (DNPH-, Bromkresolgrün-, Anisaldehyd-, Vanillin- oder Kaliumpermanganat-Tauchreagenz).

Alle Reagenzien deren Herstellung nicht beschrieben ist, wurden von den Firmen ABCR, Acros, Aldrich, Alfa Aesar, Fluka, Merck, Solvay, Bayer, Fluorochem oder TCI käuflich erworben.

Lösemittel

Alle Lösemittel wurden wie folgt getrocknet und unter einer Inertgasatmosphäre (Stickstoff bzw. Argon) aufbewahrt oder dem Lösungssystem SPS der Firma MBraun entnommen.

Tetrahydrofuran wurde über Natrium mit Benzophenon als Indikator unter Rückfluss erhitzt und dann destilliert.

Zum vollständigen Entgasen von Lösemitteln wurde die *Freeze-Pump-Thaw* Technik verwendet. Zum Entfernen von Sauerstoff aus Lösemitteln bei weniger empfindlichen Reaktionen wurde durch das Lösemittel für 10 bis 30 Minuten Argon eingeleitet.

Puffer

pH 7 Puffer wird aus 102.5 g KH_2PO_4 und 167.6 g Na_2HPO_4 in 1 L H_2O als Konzentrat hergestellt. Vor Verwendung wird der Puffer 1:10 verdünnt.

pH 4 Puffer wird als 1 M Acetatlösung aus 60 g Essigsäure und 82 g Natriumacetat in 1 L H_2O hergestellt.

Kernresonanzspektren

Die Kernresonanzspektren wurden an den Geräten DPX-200, DPX-400, AVANCE-400 und DRX-500 der Firma Bruker bei Raumtemperatur erstellt. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben und wurden im ^1H -NMR Spektrum auf den Restprotonengehalt des Lösemittels (CDCl_3 : $\delta = 7.26$ ppm; MeOD: $\delta = 3.31$ ppm; d_6 -Aceton: $\delta = 2.05$ ppm, d_6 -DMSO: $\delta = 2.50$ ppm) bezogen. Im ^{13}C -NMR Spektrum diente das deuteriumgekoppelte Signal des Lösemittels (CDCl_3 : $\delta = 77.0$ ppm; MeOD: $\delta = 49.1$ ppm; d_6 -Aceton: $\delta = 29.9$ ppm, d_6 -DMSO: $\delta = 39.5$ ppm) als Bezug.

Die Spektren wurden computergestützt mit dem Programm TOPSPIN der Firma Bruker ausgewertet. Zur Beschreibung der Signale wurden folgende Signale verwendet:

^1H -NMR: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett, br = breites Signal.

^{13}C -NMR: s = quartär, d = tertiär, t = sekundär, q = primär.

Wenn nötig, wurden zur vollständigen Interpretation der Kernresonanzspektren COSY, HMBC und HSQC Experimente durchgeführt.

Massenspektren

Die Massenspektren wurden unter Verwendung von Elektronenspray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) an einem Gerät des Typs LCT der Firma Micromass gemessen. Alternativ wurden die Messungen an einem Q-Tof Premier Massenspektrometer der Firma Waters im *Lock Spray* Modus mit vorgeschalteter Aquity-UPLC (Waters) Anlage gemessen. Die Ionisierung erfolgte hier durch Elektronenspray-Ionisation. Verbindungen, welche nicht mittels ESI ionisiert werden können, wurden mit einem Finnigan MAT 312 mittels Elektronenstoß-Ionisation (EI) mit einem Ionisierungspotential von 70 eV vermessen. Für alle Verbindungen sind berechnete und gefundene Masse angegeben.

IR-Spektren

IR-Spektren wurden mit einem FT-IR Gerät Vector 22 der Firma Bruker gemessen, die Aufnahme der Spektren erfolgte über eine ATR-Einheit im Messbereich 4000 bis 600 cm^{-1} . Die Lage der Schwingungsbanden wird in cm^{-1} angegeben. Besonders charakteristische oder intensive Banden sind mit br für breit und/oder s für stark versehen.

Schmelzpunkte

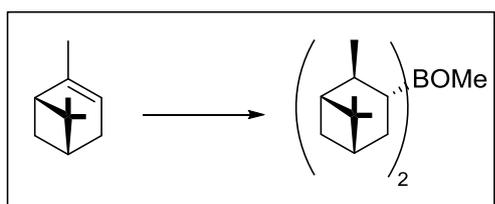
Schmelzpunkte sind unkorrigiert und wurden an einem Gerät des Typs OptiMelt der Firma SRS vermessen.

Drehwerte

Die Drehwerte wurden an einem Polarimeter 341 der Firma Perkin-Elmer gemessen. Dazu wurde Chloroform zur Spektroskopie der Firma Merck (Uvasol[®]) verwendet. Die Drehwerte wurden bei Raumtemperatur (23 °C) bei einer Wellenlänge von 589.3 nm (Natriumlampe) bestimmt. Die verwendete Quarzglaszelle hatte ein Volumen von 1 mL und eine Länge von 1 dm. Die Konzentrationen c sind in $[\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}]$ und die Drehwerte α in $[\text{° mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}]$ angegeben.

5.3 AUXILIARE UND HILFSREAGENZIEN AUS KAPITEL 3.1

(-)-Ipc₂BOMe¹²⁷



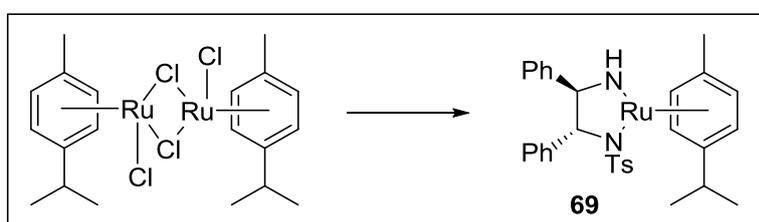
a) Hydroborierung

(+)- α -Pinen (24 mL; 20 g; 140 mmol; 2.0 Äq.) wird in THF gelöst und $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ (6.8 mL; 72 mmol; 1.0 Äq.) langsam zugetropft. Die Lösung wird etwa 15 min gerührt und anschließend für 24 h stehen gelassen, wobei ein farbloser Niederschlag entsteht. Das Lösemittel wird im Vakuum per Kanüle entfernt und der Feststoff drei Mal mit absolutem Hexan gewaschen. Das restliche Lösemittel wird im Vakuum entfernt um (-)-Ipc₂BH als farblosen Feststoff zu erhalten der unter Schutzgas gelagert werden kann.

¹²⁷ U. S. Racheria, H. C. Brown, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 401-404.

b) Methanololyse

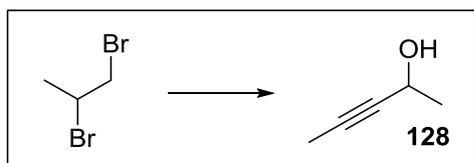
(-)-Ipc₂BH (7.6 g; 1.0 Äq.) wird in Ether (28 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Methanol (1.35 mL; 1.06 g; 1.2 Äq.) wird auf -78 °C vorgekühlt und per Spritzenpumpe über 30 min zugegeben, wobei eine klare farblose Lösung entsteht. Die Reaktion wird für 2 h bei 0 °C gerührt, dann wird das Lösemittel und restliches Methanol direkt im Hochvakuum (Kühlung der Lösung auf 0 °C) entfernt und (-)-Ipc₂BOMe als farblose Kristalle zu erhalten. Diese werden direkt ohne weitere Analyse in der nächsten Reaktion verwendet.

RuCl[(*S,S*)-NTsCH(C₆H₅)CH(C₆H₅)NH₂](η⁶-Cymol) (Noyori Katalysator) (69)¹²⁸

Zu einer Lösung von (*S,S*)-*N-p*-Tosyl-1,2-diphenylethylenediamin (0.191g; 0.52 mmol; 2.0 Äq.) und Dichlor(η⁶-Cymol)ruthenium-Dimer (0.159 g; 0.26 mmol; 1.0 Äq.) in Dichlormethan (8 mL) wird KOH (0.219 g; 3.9 mmol; 15.0 Äq.) gegeben und die orangefarbene Lösung für ca. 7 min gerührt bevor H₂O (5 mL) zugegeben wird. Die Lösung wird gut 15 min gerührt, wobei sie sich intensiv violett färbt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Calciumhydrid getrocknet, der Feststoff über Magnesiumsulfat abfiltriert und das Lösemittel des Filtrats im Vakuum entfernt, um (*S,S*)-Noyori Katalysator als violetten Feststoff zu erhalten, der ohne weitere Reinigung weiter verwendet wurde.

Der enantiomere (*R,R*)-Noyori Katalysator wird entsprechend mit (*R,R*)-*N-p*-Tosyl-1,2-diphenylethylenediamin hergestellt.

¹²⁸ J. A. Marshall, P. Eidam, H. S. Eidam, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4840-4844.

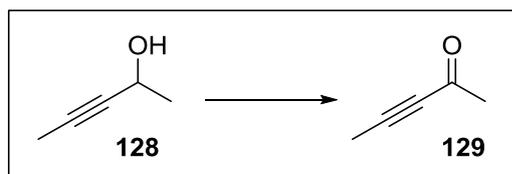
Pent-3-in-2-ol (128)¹²⁹

*i*Pr₂NH (45.54 mL; 32.79 g; 324 mmol; 3.3 Äq.) wird in THF (300 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit *n*-BuLi (2.5 M in Hexan; 129.6 mL; 324 mmol; 3.3 Äq.) versetzt. Die Lösung wird auf -50 °C erwärmt und dort 30 min gerührt. Die Lösung wird auf -78 °C gekühlt und 1,2-Dibrompropan (10.1 mL; 19.49 g; 97 mmol; 1.0 Äq.) zugetropft, woraufhin sich die Lösung orange färbt. Die Lösung wird auf 0 °C erwärmt und dann erneut auf -78 °C gekühlt. Es wird frisch destillierter Acetaldehyd (6.8 mL; 5.3 g; 120 mmol; 1.24 Äq.) zugetropft, worauf die Lösung farblos wird, und es wird 30 min bei der Temperatur gerührt. Anschließend wird auf 0 °C erwärmt und die Reaktion durch Zugabe einer Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird durch Destillation im Vakuum (40 mbar) gereinigt um Pent-3-in-2-ol (**128**; 4.65 g; 55.3 mmol; 57 %) als farblose, klare Flüssigkeit mit charakteristischem Geruch erhalten.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹²⁹

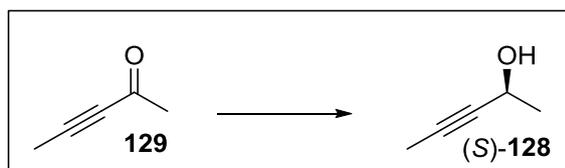
Sdp. (40 mbar): 59 °C (Lit.: 50 °C / 20 mbar); **¹H-NMR** (200 MHz, CDCl₃): 4.40-4.58 (m, 1H, OH), 1.83 (d, 3H, *J* = 2.1 Hz CHCH₃), 1.80 (m, 1H, CH), 1.41 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz, CCH₃) ppm; **R_f** (EE/PE 1:1): 0.40.

¹²⁹ G. W. Gribble, H. H. Joyner, F. L. Switzer, *Chem. Commun.* **1992**, 22, 2997-3002.

Pent-3-in-2-on (127)

Pent-3-in-2-ol (**128**; 4.64 g; 55.16 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (250 mL) gelöst und mit Braunstein (96 g; 1.1 mol; 20.0 Äq.) versetzt. Die Reaktion wird über Nacht gerührt und dann über Kieselgur abfiltriert. Die Lösung wird zunächst am Rotationsverdampfer und dann über eine kleine Destillationsapparatur eingengt. Die eingengte Lösung wird direkt in der nächsten Reaktion verwendet.

R_f (PE/EE 1:1): 0.78.

(S)-Pent-3-in-2-ol ((S)-126)

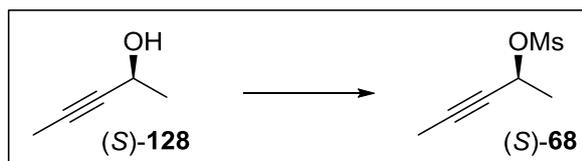
Die Lösung von Pent-3-in-2-on (**127**; 55.16 mmol; 1.0 Äq.) in wenig Dichlormethan wird in *iso*-Propanol (300 mL) gelöst und mit (*S,S*)-Noyori Katalysator (0.31 g; 0.52 mmol; 0.01 Äq.) in Dichlormethan (10 mL) versetzt. Die Reaktion wird 4 d bei Raumtemperatur gerührt und dann das *iso*-Propanol durch Destillation über eine große Vigreuxkolonne abdestilliert (70 °C Metallbad; 180 mbar). Die eingengte Lösung wird in einen 100 mL Kolben überführt und über eine einfache Destillationsapparatur getrennt. Das Produkt (*S*)-Pent-3-in-2-ol ((*S*)-**128**; 1.94 g; 23.17 mmol; 42 % über 2 Stufen) geht bei 62 °C (66 mbar) als klare, farblose Flüssigkeit mit charakteristischem Geruch über.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹³⁰

Der entsprechende (*R*)-Alkohol wird mittels (*R,R*)-Noyori Katalysator hergestellt.

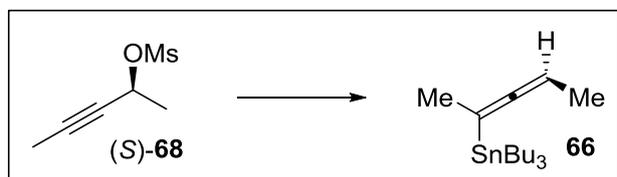
Sdp. (66 mbar): 62 °C (Lit.: 50 °C / 20 mbar); R_f (EE/PE 1:1): 0.40; $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): 4.9 (m, 1H, OH), 1.83 (d, 3H, $J = 2.0$ Hz, CHCH_3), 1.67-1.78 (m, 1H, CH), 1.42 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CCH_3) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ ($c = 1.0$; CH_2Cl_2): -35.4 ° (Lit. -31.5 °).

¹³⁰ a) T. Brodmann, *Studien zur Totalsynthese von Argyrinen und Totalsynthese von Chivosazol F*, Dissertation, 2010, Leibniz Universität Hannover; b) T. Schmidt, *Totalsynthese von Carolacton*, Dissertation, 2012, Leibniz Universität Hannover

(S)-Pent-3-in-2-ylmethansulfonat (68)

(S)-Pent-3-in-2-ol ((S)-**128**; 0.1 g; 1.19 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (10 mL) gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Triethylamin (0.33 mL; 0.24 g; 2.38 mmol; 2.0 Äq.) wird zugegeben und dann Mesylchlorid (0.14 mL; 0.21 g; 1.79 mmol; 1.5 Äq.) zugetropft. Die Reaktion wird 1 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und dann durch Zugabe einer NaHCO_3 -Lösung gestoppt. Die Lösung wird auf Raumtemperatur erwärmt, die Phasen getrennt, und die wässrige Phase mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das konfigurativ instabile (S)-Pent-3-in-2-ylmethansulfonat ((S)-**68**) wird ohne weitere Reinigung direkt weiter verwendet.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): 5.20-5.35 (m, 1H, CH), 3.1 (s, 3H, Ms), 1.89 (d, 3H, $J = 2.1\text{ Hz}$, CHCH_3), 1.61 (d, 3H, $J = 6.6\text{ Hz}$, CCH_3) ppm.

M-(-)-2-(Tributylstannyl)-2,3-pentadien (66)¹³¹

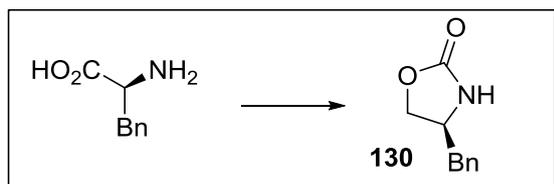
$i\text{Pr}_2\text{NH}$ ((S)-**68**; 0.35 mL; 0.25 g; 2.50 mmol; 2.1 Äq.) wird in THF (8 mL) gelöst und auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. $n\text{-BuLi}$ (2.5 M in Hexan; 0.95 mL; 2.38 mmol; 2.0 Äq.) wird zugetropft und die Lösung bei dieser Temperatur für 30 min gerührt. In die Lösung wird HSnBu_3 (0.61 mL; 0.61 mL; 2.26 mmol; 1.9 Äq.) getropft und diese für 20 min gerührt. Anschließend wird die Reaktion auf $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (0.46 g; 2.26 mmol; 1.9 Äq.) zugegeben und weitere 30 min gerührt bevor (S)-Pent-3-in-2-ylmethansulfonat (1.19 mmol; 1.0 Äq.) in THF (6 mL) zgetropft wird. Die Reaktion wird über 40 min von $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt und dort durch Zugabe einer 1 M NaCN Lösung gestoppt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Pentan) gereinigt, dann in Petrolether aufgenommen und mit einer KF-Lösung gewaschen und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wird in THF (20 mL) aufgenommen und mit Silberacetat (0.45 g) versetzt

¹³¹ J. K. Belardi, G. C. Micalizio, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4005-4008.

und für 30 min gerührt. Die Suspension wird über Kieselgur/Silicagel filtriert und mit Pentan nachgespült. Alternativ kann eine Reinigung per Säulenchromatographie mit Aluminiumoxid (Laufmittel PE) und Kugelrohrdestillation erfolgen. Entfernen des Lösemittels ergibt *M*-(-)-2-(Tributylstannyl)-2,3-pentadien (**66**; 0.21 g; 0.59 mmol; 50 % über 2 Stufen).

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): 4.51-4.59 (m, 1H), 1.81 (m, 3H), 1.61 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz), 1.27-1.39 (m, 6H), 0.87-1.04 (m, 15H) ppm; [α]_D²⁰ (c = 1.0; CH₂Cl₂): -28.7 °; *R*_f (Pentan): 0.98.

(*S*)-EVANS Auxiliar (**130**)¹³²



a) Bildung des Methylester Hydrochlorids

L-Phenylalanin (40 g; 240 mmol; 1.0 Äq.) wird in Methanol (350 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Acetylchlorid (55 mL; 60 g; 770 mmol; 3.2 Äq.) wird über 30 min zugetropft und die Reaktion anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Die Lösung wird 12 h gerührt bevor das Lösemittel im Vakuum entfernt wird um L-Phenylalaninmethylester Hydrochlorid als farblose Kristalle zu erhalten. Diese werden direkt ohne weitere Aufarbeitung verwendet.

b) Carbamoylierung

L-Phenylalaninmethylester Hydrochlorid (242 mmol, 1.0 Äq.) wird in H₂O (1.2 L) aufgenommen und portionsweise mit Natriumhydrogencarbonat (100 g; 119 mmol; 5.0 Äq.) versetzt. Anschließend wird Chlorameisensäureethylester (27.5 mL; 31.2 g; 287 mmol; 1.2 Äq.) zugetropft und die Reaktion für 4 h gerührt. Die wässrige Reaktionslösung wird mit Essigester extrahiert, die organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene carbamoylierte Produkt wird direkt ohne weitere Reinigung weiter verwendet.

c) Reduktion

Das Carbamat wird in THF/EtOH (600 mL; 2:1) gelöst, mit Calciumchlorid (46 g) versetzt, für 5 min gerührt und anschließend portionsweise NaBH₄ (33.2 g; 878 mmol; 3.6 Äq.) zugegeben. Die Reaktion wird 12 h gerührt und anschließend durch Zugabe von Zitronensäure-Lösung (1 M; 1.2 L) für 1 h hydrolysiert. Die Lösung wird durch Zugabe von festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und

¹³² a) N. Lewis, A. McKillkop, R. J. K. Taylor, R. J. Watson, *Synth. Comm.* **1995**, *25*, 561-568; b) H. Adams, R. C. Collins, S. Jones, C. J. A. Warner, *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 6576-6579; c) S. Zheng, F. Li, J. Liu, C. Xia, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *24*, 5883-5886.

anschließend mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Alkohol wird ohne weitere Reinigung direkt weiter verwendet.

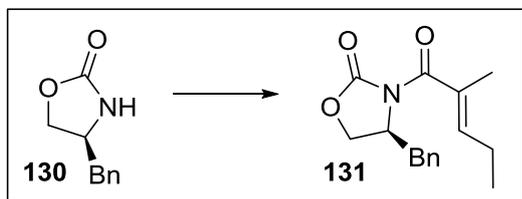
d) Zyklisierung

Der Alkohol wird mit festem Kaliumcarbonat (48 g; 174 mmol; 1.4 Äq.) versetzt und am Rotationsverdampfer bei 90 °C und 50 mbar für 5 h rotiert. Die Reaktion wird anschließend in Essigester und H₂O aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mehrfach mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird durch Umkristallisation aus PE/EE (1:1) gereinigt, um (*S*)-EVANS Auxiliar (**130**; 28 g; 160 mmol; 66 % über 4 Stufen) zu erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein. Die Darstellung des (*R*)-Enantiomers erfolgt analog zu dieser Vorschrift ausgehend von D-Phenylalanin.

Smp.: 86.7 °C (Lit. 86.0-87.5 °C);^{132b} $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH₂Cl₂): -58.2 ° (Lit. c = 1.0; CHCl₃; -62 °)^{132c}.

(*S,E*)-4-Benzyl-3-(2-methylpent-2-enoyl)oxazolidin-2-on (**131**)¹³³



(*E*)-2-Methylpentensäure (1.93 g; 16.93 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (50 mL) gelöst, mit Triethylamin (2.93 mL; 21.16 mmol; 2.5 Äq.) versetzt und auf -78 °C gekühlt. Zu der Lösung wird Pivaloylchlorid (1.04 mL; 1.02 g; 8.48 mmol; 1.0 Äq.) zugetropft und die Lösung anschließend auf 0 °C erwärmt, bei der sie für 1 h gerührt wird. Die Lösung wird erneut auf -78 °C gekühlt und (*S*)-EVANS Auxiliar (**130**; 3.00 g; 16.93 mmol; 1.0 Äq.) und flammgetrocknetes LiCl (1.08 g; 25.34 mmol; 1.5 Äq.) zugegeben. Die Lösung wird auf Raumtemperatur erwärmt und dort für 12 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und die Phasen getrennt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 6.5:1) um (*S,E*)-4-Benzyl-3-(2-methylpent-2-enoyl)oxazolidin-2-on (**131**; 4.13 g; 15.11 mmol; 89 %) als farbloses Öl zu erhalten.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹³³

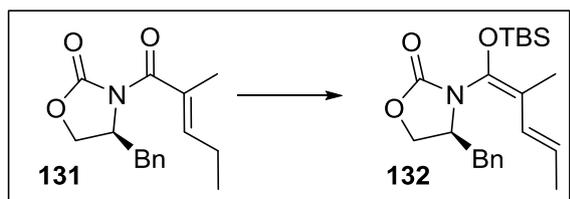
¹³³ K.C. Nicolaou, Y. P. Sun, R. Guduru, B. Banerji, D. Y. K. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3633-3644.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.25-7.36 (m, 3H, Ph), 7.18-7.22 (m, 2H, Ph), 6.08 (tq, 1H, $J = 7.4$, 1.4 Hz, Olefin-H), 4.71 (dddd, 1H, $J = 8.7$, 9.1, 5.3, 3.5 Hz, CHN), 4.25 (dd, 1H, $J = 8.7$, 8.4 Hz, CH_2O), 4.15 (dd, 1H, $J = 8.4$, 5.3 Hz, CH_2O), 3.35 (dd, 1H, $J = 13.5$, 3.5 Hz, Bn), 2.82 (dd, 1H, $J = 13.5$, 9.1 Hz, Bn), 2.22 (qdd, 2H, $J = 7.5$, 7.4, 0.4 Hz, CH_2), 1.90 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, αMe), 1.06 (t, 3H, $J = 7.5$ Hz, δMe) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH_2Cl_2): +73.5 °.

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der *N,O*-Silylvinylketenacetale

Amid (1.0 Äq.) wird in THF (0.05 M) gelöst und auf -78 °C gekühlt. NaHMDS (2 M in THF; 1.0 Äq.) wird langsam zugetropft und die Reaktion für 90 min gerührt. Trialkylsilylchlorid (2.0 Äq.) gelöst in THF (0.3 M bezogen auf das Silylchlorid) wird sehr langsam zugetropft und die Reaktion weitere 90 min gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Das Lösemittel wird im Vakuum weitestgehend entfernt und die verbliebene Phase mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das so erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt. Ggf. wird mehrfach mit Toluol koevaporiert um Reste von R_3SiOH zu entfernen und sauberes *N,O*-Silylvinylketenacetal zu erhalten.

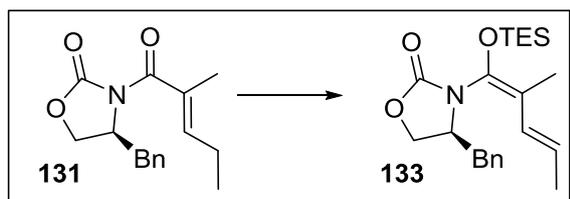
(*S*)-4-Benzyl-3-{(1*E*,3*E*)-1[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2-methylpenta-1,3-dien-1-yl}oxazolidin-2-on (**132**)¹³³



Nach der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung der *N,O*-Silylvinylketenacetale wird aus (*S,E*)-4-Benzyl-3-(2-methylpent-2-enoyl)oxazolidin-2-on (**131**; 2.9 g; 10.6 mmol), 5.3 mL NaHMDS (2 M in THF) und TBSCl (3.2 g; 21.2 mmol; 2.0 Äq.) nach säulenchromatographischer Reinigung (100 % PE → PE/EE 10:1) (*S*)-4-Benzyl-3-{(1*E*,3*E*)-1[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2-methylpenta-1,3-dien-1-yl}oxazolidin-2-on (**132**; 4.2 g; 10.6 mmol; quant.) als farbloses, klares Öl erhalten.

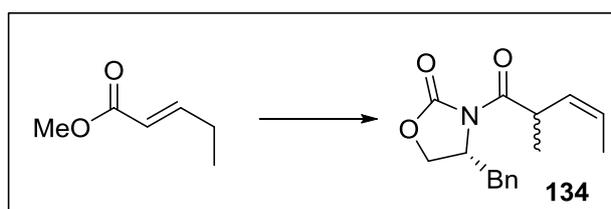
Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹³³

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.11-7.34 (m, 5H, Ph), 6.16 (d, 1H, $J = 15.2$, H β), 5.68 (dq, 1H, $J = 15.2$, 6.7, H γ), 4.08-4.30 (m, 3H, CHN & CH_2O), 3.13 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H, Bn), 2.62 (m, Bn), 1.82 (s, 3H, αMe), 1.81 (d, $J = 6.7$ Hz, γMe), 0.99 (s, 9H, TBS), 0.21 (s, 3H, TBS), 0.14 (s, 3H, TBS).

(S)-4-Benzyl-3-((1E,3E)-1[(triethylsilyl)oxy]-2-methylpenta-1,3-dien-1-yl)oxazolidin-2-on (133)

Nach der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung der *N,O*-Silylvinylketenacetale wird aus (*S,E*)-4-Benzyl-3-(2-methylpent-2-enoyl)oxazolidin-2-on (**131**; 0.10 g; 0.37 mmol), 0.18 mL NaHMDS (2 M in THF) und TESCl (0.13 mL; 0.12 g; 0.77 mmol; 2.0 Äq.) nach säulenchromatographischer Reinigung (100 % PE → PE/EE 10:1) (*S*)-4-Benzyl-3-((1*E*,3*E*)-1[(triethylsilyl)oxy]-2-methylpenta-1,3-dien-1-yl)oxazolidin-2-on (**133**; 0.15 g; 0.37 mmol; quant.) als farbloses, klares Öl erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.22-7.33 (m, 3H, Ph), 7.12-7.16 (m, 2H, Ph), 6.12 (dd, 1H, *J* = 15.4, 1.5 Hz, H_β), 5.66 (dq, 1H, *J* = 15.4, 6.5 Hz, H_γ), 4.20-4.29 (m, 2H, Evans), 4.08-4.17 (m, 1H, Evans), 3.09-3.21 (m, 1H, Bn), 2.55-2.67 (m, 1H, Bn), 1.83 (s, 3H, αMe), 1.80 (dd, 3H, *J* = 6.5, 1.5 Hz, γMe), 1.01 (t, 9H, *J* = 7.9 Hz, TES), 0.74 (q, 6H, *J* = 7.9 Hz, TES) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 170.7 (s, COSi), 150.1 (s, Evans), 135.7 (d, Evans), 128.9 (d, γ), 128.8 (d, Evans), 127.8 (d, Evans), 127.0 (d, Evans), 115.8 (d, β), 87.8 (s, Evans), 67.7 (s, α), 56.3 (t, Evans), 18.8 (q, γMe), 12.4 (q, αMe), 6.6 (q, TES), 4.9 (t, TES) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₂₂H₃₄NO₃SiNa 388.2308 ([M+Na]⁺), gefunden bei 388.2303 m/z; [α]_D²⁰ (c = 1.0; CH₂Cl₂): -49.4 °; **R_f** (PE/EE 8:1): 0.48.

(4*R*)-4-Benzyl-3-[(*Z*)-2-methylpent-3-enoyl]oxazolidin-2-on (134)⁸⁶*a) Dekonjugierung*

Diisopropylamin (7.39 mL; 5.32 g, 52.58 mmol; 1.2 Äq.) wird in THF (110 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt, *n*BuLi (2.5 M in Hexan, 19.28 mL; 48.20 mmol; 1.1 Äq.) wird zugetropft und die Lösung auf 0 °C erwärmt, wo sie eine Stunde gerührt wird. Die Lösung wird erneut auf -78 °C gekühlt und mit DMPU (5.83 mL, 6.18 g, 48.20 mmol; 1.1 Äq.) versetzt, 10 min gerührt und anschließend Methyl-(*E*)-pent-2-enoat (4.98 g, 43.82 mmol; 1.0 Äq.) in THF (10 mL) über 30 min zugetropft. Anschließend wird Methyljodid (13.7 mL; 31.1 g; 219.10 mmol; 5.0 Äq.) zugetropft und die Reaktion weitere 20 min gerührt bevor sie durch Zugabe von H₂O gestoppt wird. Die Mischung wird auf

Raumtemperatur erwärmt, mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit H₂O und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Der Ether wird vorsichtig am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand unter vermindertem Druck destilliert um das dekonjugierte Methyl-(Z)-2-methylpent-3-enoat (3.73 g; 29.10 mmol; 66 %) als leichtflüchtige, farblose, klare Flüssigkeit zu erhalten, welche direkt weiter umgesetzt wird.

Sdp. (250 mbar): 93 °C.

b) Verseifung

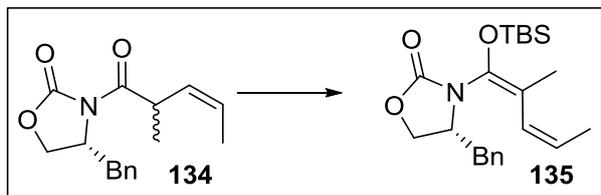
Methyl-(Z)-2-methylpent-3-enoat (3.73 g; 29.10 mmol; 1.0 Äq.) wird in einem Gemisch aus H₂O, Methanol und Ether (2:1:4; 160 mL) gelöst und mit LiOH-Lösung (0.5 M; 70 mL, 34.92 mmol; 1.2 Äq.) versetzt und für 5 h der Verseifung unterzogen. Die Reaktion wird durch Zugabe von Salzsäure (2 M; 25 mL) gestoppt und das Gemisch mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt um (Z)-2-Methylpent-3-ensäure (2.94 g; 25.76 mmol; 89 %) als farbloses Öl zu erhalten.

c) Kupplung

(Z)-2-Methylpent-3-ensäure (2.94 g; 25.76 mmol; 1.1 Äq.) wird in Dichlormethan (50 mL) gelöst und mit (R)-Evans Auxiliar (4.15 g; 23.42 mmol; 1.0 Äq.) versetzt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt und mit 4-DMAP (0.43 g; 3.51 mmol; 0.15 Äq.) und DCC (5.07 g; 24.59 mmol; 1.05 Äq.) versetzt, 10 min gerührt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 60 h wird die Reaktionslösung über Kieselgur filtriert und durch Zugabe von NaHCO₃-Lösung gestoppt. Die Phasen werden getrennt, die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und das Rohprodukt chromatographisch (PE/EE 4.5:1) gereinigt. Es wird (4R)-4-Benzyl-3-[(Z)-2-methylpent-3-enoyl]oxazolidin-2-on (**134**; 5.05 g; 18.48 mmol; 79 %) als farbloser Feststoff erhalten.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein (es liegt ein Gemisch beider Diastereomere vor).⁸⁶

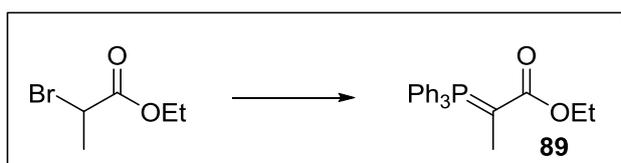
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.26-7.34 (m, 6H, Ph), 7.17-7.25 (m, 4H, Ph), 5.47-5.72 (m, 4H), 4.60-4.89 (m, 4H, H_β, H_γ), 3.26 (ddd, 2H, *J* = 17.0, 13.4, 3.3 Hz,), 2.77 (dt, 2H, *J* = 13.4, 9.9 Hz), 1.73 (dd, 3H, *J* = 6.7, 1.7 Hz), 1.68 (dd, 3H, *J* = 6.3, 1.2 Hz), 1.30 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz, αMe), 1.27 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz, γMe) ppm; **R_f** (PE/EE 4:1): 0.62 und 0.71.

(R)-4-Benzyl-3-[(1E,3Z)-1[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2-methylpenta-1,3-dien-1-yl]oxazolidin-2-on (135)⁸⁶

Nach der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von *N,O*-Silylvinylketenacetalen wird aus (4*R*)-4-Benzyl-3-[(*Z*)-2-methylpent-3-enoyl]oxazolidin-2-on (0.25 g; 0.93 mmol), 0.69 mL NaHMDS (2 M in THF) und TBSCl (0.28 g) nach säulenchromatographischer Reinigung (100 % PE → PE/EE 10:1) (*S*)-4-Benzyl-3-[(1*E*,3*E*)-1[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2-methylpenta-1,3-dien-1-yl]oxazolidin-2-on (**135**; 0.29 g; 0.75 mmol; 80 %) als farbloses, klares Öl erhalten.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁸⁶

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.22-7.34 (m, 3H, Ph), 7.11-7.15 (m, 2H, Ph), 5.97 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, βH), 5.50 (dq, 1H, *J* = 11.0, 7.2 Hz, γH), 4.15-4.24 (m, 2H, CH₂O, CHN), 4.01-4.09 (m, 1H, CH₂O), 3.19 (dd, 1H, *J* = 13.5, 3.2 Hz, Bn), 2.59 (dd, 1H, *J* = 13.5, 9.6 Hz, Bn), 1.93 (s, 3H, αMe), 1.78 (dd, 3H, *J* = 7.2, 1.8 Hz, γMe), 1.00 (s, 9H, TBS), 0.24 (s, 3H, TBS), 0.18 (s, 3H, TBS) ppm; **R_f** (PE/EE 4:1): 0.84.

Ethyl-2-(triphenyl-*l*5-phosphanlyden)propanoat (89)¹³⁴*a) Bildung des Wittig Salzes*

2-Bromopropanoäureethylester (38 mL; 53 g; 290 mmol; 1.0 Äq.) wird in Toluol (500 mL) gelöst und mit Triphenylphosphin (76 g; 290 mmol; 1.0 Äq.) versetzt, für 5 min gerührt, und die Lösung für 24 h auf 90 °C ohne Rühren erhitzt. Das ausgefallene Wittig Salz wird über die Nutsche abfiltriert und mit Toluol gewaschen um das Wittig Salz (1-Ethoxy-1-oxopropan-2-yl)triphenylphosphoniumbromid als farblosen Feststoff (83 g; 188 mmol; 65 %) zu erhalten.

¹³⁴ G. Alvernhe, A. Laurent, K. Touhami, *J. Fluorine Chem.* **1985**, 29, 363–384.

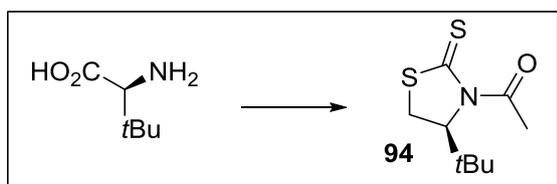
b) Deprotonierung zum stabilisierten P-Ylid

(1-Ethoxy-1-oxopropan-2-yl)triphenylphosphoniumbromid (83 g; 188 mmol; 1.0 Äq.) wird in H₂O (1 L) angelöst und mit NaOH (33 mL einer 70 wt % Lösung; 8.27 g; 206 mmol; 1.1 Äq.) in einem Scheidetrichter versetzt. Die Lösung wird mehrfach geschüttelt und die sich abscheidende organische Phase in Dichlormethan aufgenommen und die verbleibende wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt um das Wittig Ylid Ethyl-2-(triphenyl-*l*-phosphanyliden)propanoat (**89**; 63 g; 188 mmol; quant.) als intensiv gelben Feststoff zu erhalten.

Zinn(II)-triflat¹³⁵

Zinn(II)chlorid (6.2 g; 32 mmol; 1.0 Äq.) wird vorgelegt und unter Schutzgas mit TfOH (50 mL; 85 g; 566 mmol; 17.5 Äq.) versetzt. Die Suspension wird für 36 h auf 83 °C erhitzt. Die noch warme Lösung wird mittels Schlenk-Fritte filtriert und mehrfach mit Ether unter Schutzgas gewaschen. Der farblose Feststoff wird für 12 h am Hochvakuum bei 80 °C getrocknet und anschließend unter Schutzatmosphäre aufbewahrt.

Das Produkt wurde ohne weitere Analytik in Reaktionen verwendet.

(S)-1-[4-(*tert*-Butyl)-2-thioxothiazolidin-3-yl]ethan-1-on (**94**)⁹⁵*a) Reduktion*

(*S*)-*tert*-Leucin (5 g; 38.12 mmol; 1.0 Äq.) wird in THF (100 mL) gelöst und mit NaBH₄ (4.33 g; 114 mmol; 3.0 Äq.) versetzt und die Suspension auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung aus Iod (11.61 g; 45.7 mmol; 1.2 Äq.) in THF (30 mL) wird über 30 min zugetropft und anschließend 24 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktion wird auf Raumtemperatur gekühlt, mit 50 mL MeOH versetzt und gerührt bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten ist. Die Lösung wird im Vakuum weitestgehend eingengt, anschließend mit 100 mL NaOH_(aq) (20 wt%) versetzt und für 4 h gerührt. Die Reaktion wird mehrfach mit Dichlormethan extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel

¹³⁵ D. A. Evans, A. E. Weber, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6757-6761.

vorsichtig im Vakuum entfernt um *tert*-Leucinol als Rohprodukt zu erhalten, welches ohne Charakterisierung und weitere Reinigung direkt weiter verwendet wird.

b) Zyklisierung

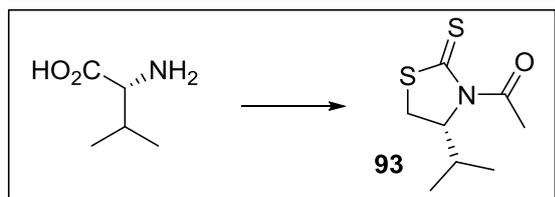
Das *tert*-Leucinol Rohprodukt (38 mmol; 1.0 Äq.) wird in KOH_(aq) (5 M; 200 mL) gelöst und mit CS₂ (18.3 mL; 8.0 Äq.) versetzt und für 60 h bei 125 °C unter Rückfluss erhitzt. Die entstehende graugrüne Lösung wird auf Raumtemperatur gekühlt und mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/CH₂Cl₂ 2:1 → 100 % CH₂Cl₂) gereinigt, um (*S*)-4-(*tert*-Butyl)thiazolidine-2-thion (5.23 g; 29.83 mmol; 78 % über 2 Stufen) als gräulichen Feststoff zu erhalten.

d) Acetylierung

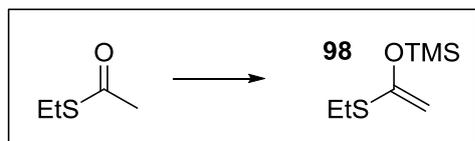
(*S*)-4-(*tert*-Butyl)thiazolidine-2-thion (5.23 g; 29.83 mmol; 1.0 Äq.) wird in THF (100 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. *n*BuLi (13.13 mL; 2.5 M in Hexan; 1.1 Äq.) wird langsam zugetropft, die Lösung für 30 min gerührt, anschließend langsam Acetylchlorid (2.34 mL; 2.58 g; 32.82 mmol; 1.1 Äq.) zugetropft und die Reaktion für weitere 30 min gerührt bevor sie auf Raumtemperatur erwärmt wird und dort 1 h gerührt wird. Die Reaktion wird durch Zugabe von gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Die Reaktion wird mit Dichlormethan versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt per Säulenchromatographie (PE/EE 15:1) gereinigt, um (*S*)-1-[4-(*tert*-Butyl)-2-thioxothiazolidin-3-yl]ethan-1-on (5.75 g; 26.46 mmol; 89 %) als intensiv gelbes Öl, welches beim Stehen erstarrt, zu erhalten.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁹⁵

Smp.: < 30 °C; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): 5.32 (dd, 1H, *J* = 8.3, 0.4 Hz, NCH), 3.53 (dd, 1H, *J* = 11.7 Hz, 8.3 Hz, SCH), 3.10 (dd, 1H, *J* = 11.7, 0.4 Hz, SCH), 2.78 (s, 3H, Ac), 1.04 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **[α]_D²⁰** (c = 1.1; CH₂Cl₂): +496.0 ° (Lit. c = 0.23; CHCl₃; +558.9 °).

(R)-1-(4-Isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)ethan-1-on (NAGAO Auxiliar; 93)¹³⁶

Das NAGAO Auxiliar wird analog zu (*S*)-1-[4-(*tert*-Butyl)-2-thioxothiazolidin-3-yl]ethan-1-on hergestellt. Aus 11.9 g (101 mmol) D-Valin wird nach Reduktion mit NaBH₄ (9.22 g; 244 mmol; 4.0 Äq.) und Iod (25 g; 101 mmol; 1.0 Äq.) mit anschließender Reaktion mit CS₂ (40 mL) das freie Nagao Auxiliar 11.16 g (79 mmol; 78 % über 2 Stufen) erhalten, welches per Säulenchromatographie gereinigt wird (PE/EE 3:1). Acetylierung mit Acetylchlorid (6.78 mL; 7.45 g; 95 mmol; 1.2 Äq.) liefert (*R*)-1-(4-Isopropyl-2-thioxothiazolidin-3-yl)ethan-1-on (14.04 g; 69 mmol; 87 %) als intensiv gelbes Öl.

{[1-(Ethylthio)vinyl]oxy}trimethylsilan (98)¹³⁷

S-Ethylethanthioat (5.31 mL; 5.20 g; 50 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (50 mL) gelöst, mit Triethylamin (8.32 mL; 6.07 g; 60 mmol; 1.2 Äq.) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Zu der Lösung wird TMSOTf (9.05 g; 11.11 g; 50 mmol; 1.0 Äq.) zugetropft und für 2 h gerührt. Das Dichlormethan wird im Vakuum entfernt und die entstehenden Phasen getrennt. Die obere Produktphase wird im Vakuum destilliert, um {[1-(Ethylthio)vinyl]oxy}trimethylsilan (4.93 g; 27.9 mmol; 56 %) als farblose Flüssigkeit zu erhalten, die direkt weiter verwendet werden kann.

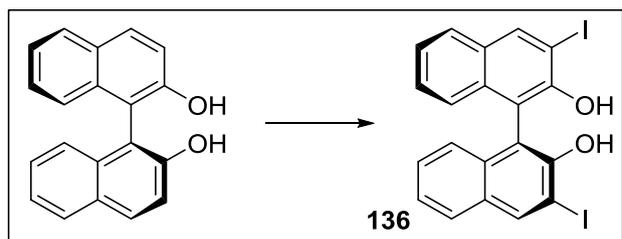
Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur ein.^{137,138}

Sdp.: 68 °C / 27 mbar (Lit.: 54 °C / 15 mbar), ¹H-NMR (200 MHz, C₆D₆): 4.51 (d, *J* = 1.6 Hz, vinylβ), 4.45 (d, *J* = 1.6 Hz, vinylα), 2.47 (q, 2H, *J* = 7.4 Hz, Et), 1.09 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, Et), 0.18 (s, 9H, TMS) ppm.

¹³⁶ a) M. J. McKennon, A. I. Meyers, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3568-3571; b) D. Delaunay, L. Toupet, M. L. Corre, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6604-6607.

¹³⁷ G. Simchen, W. West, *Synthesis* **1977**, 247-248.

¹³⁸ I. Shiina, M. Hashizume, Y.-S. Yamai, H. Oshiumi, T. Shimazaki, Y.-J. Takasuna, R. Ibuka, *Chem. Eur. J.* **2005**, 11, 6601-6608.

(S)-3,3'-Diiodo-[1,1'-binaphthalene]-2,2'-diol (136)¹³⁹*a) MOM-Schützung*

NaH (0.37 g; 15.37 mmol; 2.2 Äq.) wird in THF (30 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung aus (S)-BINOL (2 g; 6.99 mmol; 1.0 Äq.) in THF (10 mL) wird zur Suspension zugetropft, dort 1 h gerührt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt, wo die Reaktion weitere 15 min gerührt wird, wobei die Lösung trüb gelb wird. Die Suspension wird auf 0 °C gekühlt und MOMCl (1.15 mL; 1.24 g; 15.37 mmol; 2.2 Äq.) in THF (10 mL) zur Reaktion zugetropft. Die Reaktion wird auf Raumtemperatur erwärmt, wobei die Reaktion zu trüb aber farblos umschlägt. Nach 24 h wird die Reaktion durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt, das Lösemittel im Vakuum entfernt und Dichlormethan zugegeben. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt per Säulenchromatographie (PE/EE 10:1 → 5:1) gereinigt um (S)-2,2'-Bis(methoxymethoxy)-1,1'-binaphthalen (2.38 g; 6.34 mmol; 91 %) als farblosen Feststoff zu erhalten.

b) Iodierung

(S)-2,2'-Bis(methoxymethoxy)-1,1'-binaphthalen (2.38 g; 6.34 mmol; 1.0 Äq.) wird in Ether (110 mL) gelöst und *n*BuLi (7.61 mL; 2.5 M in Hexan; 19.02 mmol; 3.0 Äq.) zugetropft und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. THF (70 mL) wird zur entstehenden Suspension zugegeben, diese 1 h gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Iod (4.83 g; 19.02 mmol; 3.0 Äq.) wird zugegeben und die Reaktion für weitere 15 min gerührt bevor sie durch Zugabe von einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt wird. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und das Rohprodukt per Säulenchromatographie (PE/EE 10:1) gereinigt, um (S)-3,3'-Diiodo-2,2'-bis(methoxymethoxy)-1,1'-binaphthalen (2.55 g; 4.10 mmol; 65 %) als farblosen Feststoff zu erhalten.

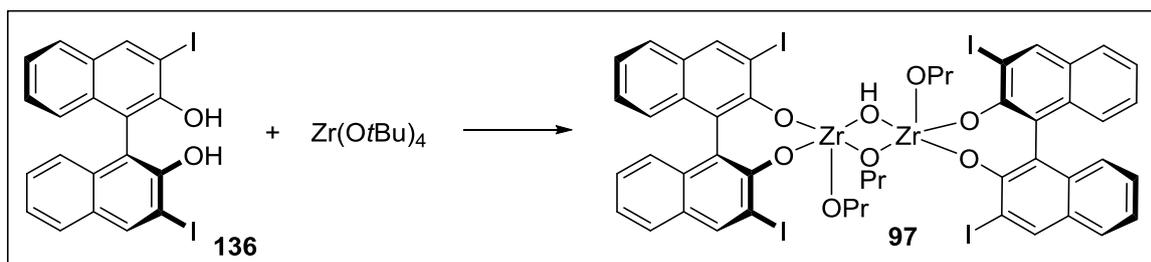
¹³⁹ T. R. Wu, L. Shen, J. M. Chong, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2701-2704.

c) Entschüttung

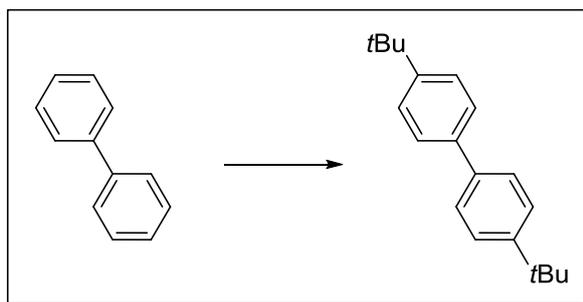
(*S*)-3,3'-Diiodo-2,2'-bis(methoxymethoxy)-1,1'-binaphthalen (2.50 g; 4.02 mmol; 1.0 Äq.) wird in THF/MeOH (100 mL; 1:1) gelöst und mit Amberlyst[®] 15 versetzt. Die Reaktion wird auf 70 °C für 18 h erhitzt. Das Polymer wird abfiltriert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt per Säulenchromatographie (PE/EE 1:1) gereinigt. Das Produkt wird aus PE/EE umkristallisiert und (*S*)-3,3'-Diiodo-[1,1'-binaphthalen]-2,2'-diol (**136**; 1.58 g; 2.93 mmol; 73 %) als schwach gelbe Kristalle erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur ein.¹³⁹

(*S*)-3,3'-Diiodo-[1,1'-binaphthalen]-2,2'-diol ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.52 (s, 2H), 7.79 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.38 (dd, 2H, *J* = 7.2, 7.2 Hz), 7.31 (dd, 2H, *J* = 7.2, 7.2 Hz), 7.07 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz) ppm; [α]_D²⁰ (c = 1.0; THF): -104.3 ° (Lit.: -102.7 °), **Smp.:** 320-324 °C (Zers.) (Lit.: 312-314 °C).

(*S*)-Kobayashi's Katalysator⁹⁷

(*S*)-3,3'-Diiodo-[1,1'-binaphthalen]-2,2'-diol (**136**; 0.65 g; 1.2 mmol; 1.2 Äq.) und Zr(OtBu)₄ (0.39 mL; 0.38 g; 1.0 mmol; 1.0 Äq.) werden in entgastem Toluol (2 mL) gelöst und vorgelegt. Eine Lösung aus *n*PrOH (0.60 mL; 0.48 g; 8.0 mmol; 8.0 Äq.) und H₂O (36 µL; 36 µg, 2.0 mmol; 2.0 Äq.) in Toluol (2 mL) wird langsam zugetropft und die Reaktion für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird 100 mL entgastes Hexan zugegeben und der Reaktionsansatz für 12 h gerührt. Der entstandene farblose Feststoff wird mittels Schlenk-Filtration unter Schutzgas abfiltriert und mehrfach mit Hexan gewaschen. Der entstandene (*S*)-Kobayashi Katalysator (**97**) wird trocken unter Schutzgas gelagert und direkt ohne weitere Analytik eingesetzt.

4,4'-Di-*tert*-butylbiphenyl (DBBP)¹⁴⁰

Biphenyl (13.2 g; 85 mmol; 1.0 Äq.) wird in Nitromethan (75 mL) gelöst und dann mit Aluminiumchlorid (3.00 g; 22 mmol; 0.3 Äq.) versetzt. In die tiefviolette Lösung wird eine Lösung aus *tert*-Butylchlorid (20.7 mL; 17.4 g; 190 mmol; 2.2 Äq.) in Nitromethan (20 mL) über 30 min zugetropft. Gegen Ende der Zugabe kommt es dabei zu einer starken HCl-Gas Entwicklung. Die Reaktion wird 12 h bei Raumtemperatur gerührt und dann auf Eis gegeben. Die Phasen werden getrennt und die Nitromethan Phase und die wässrige Phase mehrfach mit Pentan extrahiert. Die vereinigten Pentanphasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und mit Kieselgel (100 g) versetzt, nochmals abfiltriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der bräunliche Feststoff wird aus Nitromethan umkristallisiert und DBBP (22.0 g; 82 mmol; 97 %) als farblose nadelförmige Kristalle erhalten.

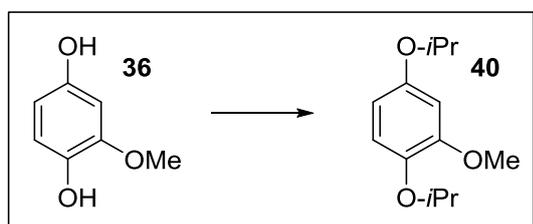
Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁰

Smp.: 127.3 °C (Lit.: 127.5 °C); **¹H-NMR** (200 MHz, CDCl₃): 7.43-7.59 (m, 8H, ArH), 1.38 (s, 18H, *t*Bu) ppm.

¹⁴⁰ M. T. Hossain, J. W. Timberlake, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6282-6285.

5.4 DARSTELLUNG DER VERBINDUNGEN AUS KAPITEL 3.1.2

1,4-Diisopropoxy-2-methoxybenzol (40)

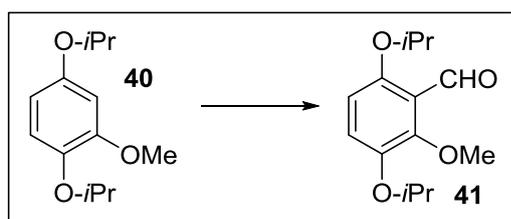


2-Methoxyhydrochinon (1.5 g; 10.7 mmol; 1.0 Äq.), K_2CO_3 (5.91 g; 42.81 mmol; 4.0 Äq.) und TBAI (0.4 g; 1.07 mmol; 0.1 Äq.) werden vorgelegt und in entgastem Aceton (35 mL) suspendiert. 2-Brompropan (3.01 mL; 3.95 g; 32.1 mmol; 3.0 Äq.) wird zugegeben und das Reaktionsgemisch 36 h unter Rückfluss erhitzt. Die erhaltene Suspension wird über Kieselgur filtriert und mehrfach mit Aceton gewaschen. Das Filtrat wird auf Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel PE/EE 20:1 \rightarrow 15:1) um 1,4-Diisopropoxy-2-methoxybenzol (**40**; 2.16 g; 9.63 mmol; 90 %) als farbloses, viskoses Öl zu erhalten.

Spektroskopische Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴¹

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 6.81 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, H_{Ar}), 6.49 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H_{Ar}), 6.37 (dd, 1H, $J = 8.7, 2.8$ Hz, H_{Ar}), 4.45 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 4.36 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 2.81 (s, 3H, OMe), 1.32 (m, 12H, *iPr*) ppm.

3,6-Diisopropoxy-2-methoxybenzaldehyd (41)



Diisopropoxy-2-methoxybenzol (**40**; 2.15 g; 9.58 mmol; 1.0 Äq.) wird in trockenem THF (40 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. *n*-BuLi (4.22 mL; 2.5 M in Hexan; 10.54 mmol; 1.1 Äq.) wird zugetropft, die Lösung langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für zwei Stunden gerührt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt und trockenes DMF (0.811 mL; 0.77 g; 10.54 mmol; 1.1 Äq.) zugetropft und die Reaktion für drei Stunden gerührt. Die Reaktion wird mit Et_2O verdünnt und mit H_2O hydrolysiert. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, um nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum

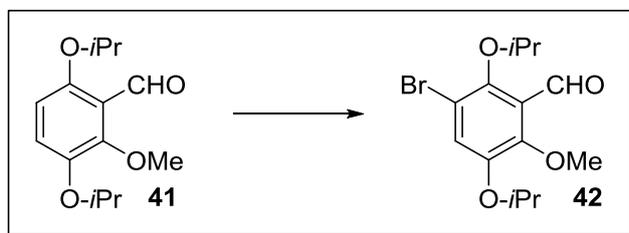
¹⁴¹ J. P. Gillespie, L. G. Amoros, F. R. Stermitz, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 3239-3241.

3,6-Diisopropoxy-2-methoxybenzaldehyd (**41**; 1.95 g; 7.73 mmol; 81 %) als farbloses Öl zu erhalten, welches keiner weiteren Reinigung bedurfte und so direkt weiter verwendet wurde.

Spektroskopische Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴²

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 10.44 (s, 1H, CHO), 7.07 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 6.64 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 4.51 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 4.41 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz), 3.91 (s, 3H, OMe), 1.36 (d, 6H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 1.32 (d, 6H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 190.0 (d, CHO), 154.8 (s, C_{Ar}), 153.0 (s, C_{Ar}), 144.8 (s, C_{Ar}), 124.8 (d, C_{Ar}), 121.3 (s, C_{Ar}), 109.9 (d, C_{Ar}), 73.1 (d, *iPr*), 72.2 (d, *iPr*), 61.6 (q, OMe), 22.2 (q, *iPr*), 22.0 (q, *iPr*).

3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxybenzaldehyd (**42**)



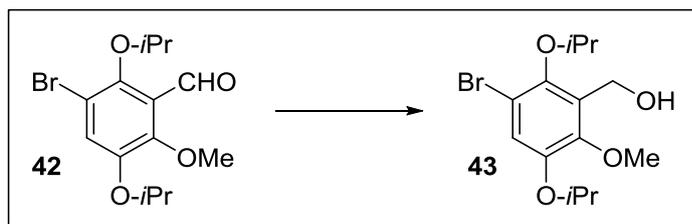
3,6-Diisopropoxy-2-methoxybenzaldehyd (**41**; 1.95 g; 7.71 mmol; 1.0 Äq.) wird mit Natriumacetat (0.70 g; 8.48 mmol; 1.1 Äq.) in Eisessig (60 mL) gelöst und langsam Brom (0.41 mL; 1.29 g; 8.10 mmol; 1.05 Äq.) zugetropft. Die Reaktion wird 40 min lang gerührt, dann H₂O und Dichlormethan zugegeben. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, über Kieselgel filtriert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und anschließend säulenchromatographisch (Laufmittel PE/EE 20:1 → 10:1) gereinigt um 3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxybenzaldehyd (**42**; 2.15 g; 6.49 mmol; 84 %) als farbloses, viskoses Öl zu erhalten.

Spektroskopische Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴³

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 10.34 (s, 1H, CHO), 7.31 (s, 1H, H_{Ar}), 4.48 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 4.41 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 3.91 (s, 3H, OMe), 1.37 (d, 6H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 1.33 (d, 6H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 190.0 (d, CHO), 151.6 (s, C_{Ar}), 149.9 (s, C_{Ar}), 147.8 (s, C_{Ar}), 126.0 (s, C_{Ar}), 125.6 (d, C_{Ar}), 112.4 (s, C_{Ar}), 78.7 (d, *iPr*), 72.6 (d, *iPr*), 61.9 (q, OCH₃), 22.1 (q, *iPr*) ppm; **ESI-MS (HRMS)**: berechnet für C₁₄H₁₉O₄BrNa [M+Na]⁺ 353.0364 gefunden bei 353.0362 m/z.

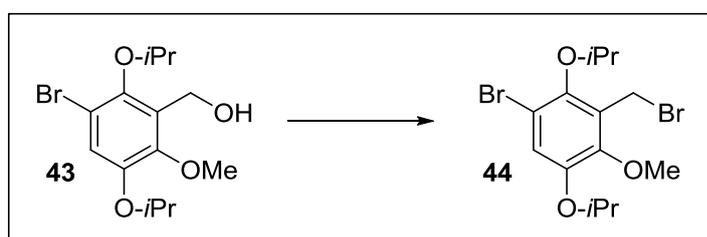
¹⁴² A. Lemarchend, T. Bach, *Synthesis* **2005**, 1977-1990.

¹⁴³ H.-L. Qin, J. S. Panek, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2477-2479.

(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)methanol (43)

3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxybenzaldehyd (1.08 g; 3.26 mmol; 1.0 Äq.) wird in trockenem THF (20 mL) gelöst, mit Natriumborhydrid (0.123 g; 3.26 mmol; 1.0 Äq.) versetzt und für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird mit 1 M HCl (0.6 mL) versetzt und für 30 min hydrolysiert. Nach Zugabe von Et₂O werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel PE/EE 8:1) um (3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)methanol (**43**; 1.05 g; 3.15 mmol; 97 %) als farbloses Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.05 (s, 1H, H_{Ar}), 4.72 (d, 2H, *J* = 6.8 Hz, CH₂), 4.47 (sept, 1H, *J* = 6.4 Hz, *i*Pr), 4.46 (sept, 1H, *J* = 6.4 Hz, *i*Pr), 3.90 (s, 3H, OMe), 2.69 (t, 1H, *J* = 6.8 Hz, OH), 1.36 (d, 6H, *J* = 6.4 Hz, *i*Pr), 1.34 (d, 6H, *J* = 6.4 Hz, *i*Pr) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 148.6 (s, C_{Ar}), 147.2 (s, C_{Ar}), 146.9 (s, C_{Ar}), 130.2 (d, C_{Ar}), 119.6 (s, C_{Ar}), 111.4 (s, C_{Ar}), 71.7 (d, *i*Pr), 60.9 (q, OMe), 57.1 (t, CH₂), 22.2 (q, *i*Pr), 22.1 (q, *i*Pr) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₁₄H₂₁O₄BrNa [M+Na]⁺ 355.0521 gefunden bei 355.0521 m/z, **R_f** (PE/EE 5:1): 0.31.

1-Brom-3-(brommethyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (44)

(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)methanol (0.5 g; 1.50 mmol; 1.0 Äq.) wird in trockenem Dichlormethan (25 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Triphenylphosphan (0.51 g; 1.95 mmol; 1.3 Äq.) und Tetrabrommethan (0.62 g; 1.88 mmol; 1.25 Äq.) werden in einer Portion zugegeben und die Reaktion für 1.5 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von H₂O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel entfernt und das so erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch (Laufmittel PE 100 % → PE/EE 10:1) gereinigt, um 1-Brom-3-

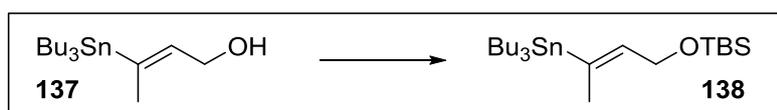
(brommethyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (**44**; 0.58 g; 1.45 mmol; 97 %) als viskoses, farbloses Öl zu erhalten, welches beim Stehen kristallisiert.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.06 (s, 1H, H_{Ar}), 4.65 (sept, 1H, *J* = 6.1 Hz, CH₂), 4.60 (s, 2H, CH₂), 4.47 (sept, 1H, *J* = 6.1 Hz, *i*Pr), 3.99 (s, 3H, OMe), 1.36 (d, 6H, *J* = 6.1 Hz, *i*Pr), 1.35 (d, 6H, *J* = 6.1 Hz, *i*Pr) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 148.6 (s, C_{Ar}), 147.2 (s, C_{Ar}), 146.9 (s, C_{Ar}), 130.2 (d, C_{Ar}), 119.6 (s, C_{Ar}), 111.4 (s, C_{Ar}), 71.7 (d, *i*Pr), 60.9 (q, OMe), 57.1 (t, CH₂), 22.2 (q, *i*Pr), 22.1 (q, *i*Pr) ppm; **Smp.:** < 25 °C; **EI-MS (HRMS)** berechnet für C₁₄H₂₀O₃Br₂ 393.977917 (M⁺), gefunden bei 393.978196 m/z.

(*E*)-3-(Tributylstannyl)but-2-en-1-ol (**137**)



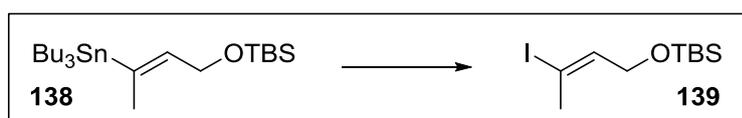
iso-Butylmagnesiumchlorid (1.54 mL; 2 M in Et₂O; 2.3 Äq.) wird mit Ether (2 mL) verdünnt und auf 0 °C gekühlt. Titanocendichlorid (16 mg; 0.067 mmol; 0.05 Äq.) wird zugegeben und das Gemisch für 10 Minuten gerührt. 2-Butin-1-ol (0.1 mL; 0.094 g; 1.34 mmol; 1.0 Äq.) gelöst in Ether (0.5 mL) wird vorsichtig langsam zugetropft, die Reaktion anschließend auf Raumtemperatur erwärmt, und dort für zwei Stunden gerührt. Die Reaktion wird erneut auf 0 °C gekühlt und weiteres Titanocendichlorid (16 mg; 0.067 mmol; 0.05 Äq.) zugegeben. Nach der Zugabe wird die Reaktion für weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann auf -78 °C gekühlt und Tributylzinnchlorid (0.84 mL; 1.0 g; 3.08 mmol; 2.3 Äq.) zugetropft. Die Kühlung wird entfernt und das Reaktionsgemisch eine weitere Stunde gerührt während sie langsam Raumtemperatur erreicht. Die Reaktion wird durch Zugabe von pH 7 Puffer bei 0 °C gestoppt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Laufmittel PE/EE 10:1) gereinigt, um (*E*)-3-(Tributylstannyl)but-2-en-1-ol (**137**; 0.35 g 0.98 mmol; 73 %) als farbloses Öl zu erhalten, welches direkt weiter verwendet wurde.

(*E*)-*tert*-Butyldimethyl[3-(tributylstannyl)but-2-enyloxy]silan (138)

(*E*)-3-(Tributylstannyl)but-2-en-1-ol (**137**; 0.33 g; 0.92 mmol; 1.0 Äq.) wird in THF (3 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt, mit Imidazol (66 mg; 0.97 mmol; 1.05 Äq.) und TBSCl (146 mg; 0.97 mmol; 1.05 Äq.) versetzt, und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 6 Stunden wird die Reaktion durch Zugabe gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet, Ether zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Laufmittel PE/Et₂O 40:1) gereinigt um (*E*)-*tert*-Butyldimethyl[3-(tributylstannyl)but-2-enyloxy]silan (**138**; 0.37 g; 0.79 mmol; 85 %) als farbloses Öl zu erhalten.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.65 (m, 1H, CH), 4.29 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H CH₂), 1.83 (t, *J*_{Sn-H} = 22.9 Hz, 3H, CH₃), 1.44-1.53 (m, 6H, Bu), 1.25-1.36 (m, 7H, Bu), 0.91 (s, 9H, TBS), 0.85-0.92 (m, 14H, Bu), 0.08 (s, 6H, TBS) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 140.7 (s, SnC=C), 139.2 (d, SnC=C), 60.0 (t, CH₂), 29.1 (tt, *J*_{Sn-C} = 9.9 Hz, Bu), 27.4 (tt, *J*_{Sn-C} = 26.6 Hz, Bu), 26.0 (q, TBS), 19.4 (q, CH₃), 18.4 (s, TBS), 13.7 (t, Bu), 9.1 (tp, CH₂Sn, *J*_{Sn-C} = 160.6 Hz, Bu), -5.0 (q, TBS) ppm.

Eine Ionisierung zwecks massenspektrometrischer Analyse war nicht möglich.

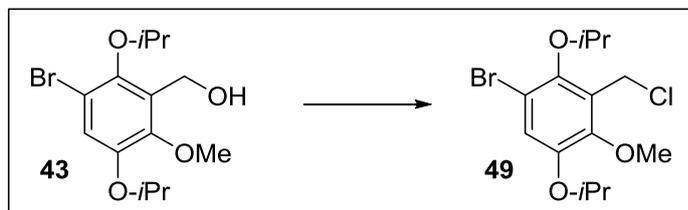
(*E*)-*tert*-Butyl(3-iodobut-2-enyloxy)dimethylsilan (139)

(*E*)-*tert*-Butyldimethyl[3-(tributylstannyl)but-2-enyloxy]silan (**138**; 0.10 g; 0.21 mmol; 1.0 Äq.) wird in trockenem Dichlormethan (2 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt, mit Iod (60 mg; 0.23 mmol; 1.1 Äq.) versetzt und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach einer Stunde wird die Reaktion durch Zugabe von gesättigter KF-Lösung gestoppt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Nach Filtration über Kieselgel werden (*E*)-*tert*-Butyl(3-iodobut-2-enyloxy)dimethylsilan (**139**; 57 mg; 0.18 mmol; 86 %) als farbloses Öl erhalten.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.29 (t, 1H, *J* = 6.5 Hz, H-Olefin), 4.12 (d, *J* = 6.5 Hz, CH₂), 2.41 (s, CH₃), 0.90 (s, 9H, Boc), 0.07 (s, 6H, Boc) ppm; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 140.6 (d, C=CH), 96.0

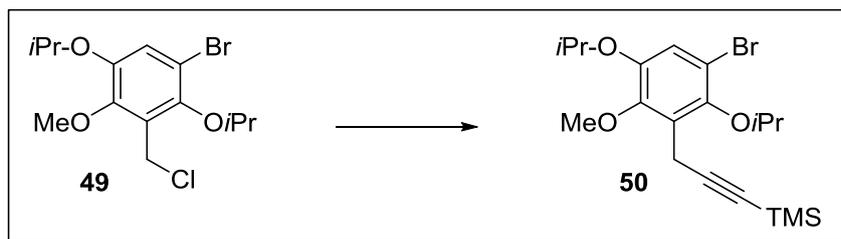
(s, $\underline{C}=\text{CH}$), 60.7 (t, CH_2), 28.1 (q, CH_3), 25.9 (q, TBS), 18.3 (s, TBS), -5.2 (q, TBS) ppm; **EI-MS (LRMS)**: 312.0 (M^+), 254.9, 184.9, 75.0.

1-Brom-3-(chlormethyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (**49**)



(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)methanol (**43**; 7.56 g; 22.7 mmol; 1.0 Äq.) wird in trockenem Dichlormethan (350 mL) gelöst und auf $-10\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Triphenylphosphan (8.34 g; 31.8 mmol; 1.4 Äq.) wird in einer Portion zugegeben und eine auf $-10\text{ }^\circ\text{C}$ vergekühlte Lösung von *N*-Chlorsuccinimid (7.25 g; 31.8 mmol; 1.4 Äq.) in Dichlormethan (150 mL) per Transferkanüle zugegeben. Die Reaktion wird 15 min bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt, dann auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt und dort 2 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von H_2O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Rohprodukt auf Kieselgel aufgezogen und säulenchromatographisch (Laufmittel PE/EE 60:1 \rightarrow 30:1) gereinigt um 1-Brom-3-(chlormethyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (**49**; 7.32 g; 20.8 mmol; 93 %) als viskoses, farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.08 (s, 1H, H_{Ar}), 4.60 (sept, 1H, $J = 6.2\text{ Hz}$, CH_2), 4.47 (sept, 1H, $J = 6.2\text{ Hz}$, *iPr*), 3.96 (s, 2H, CH_2), 3.99 (s, 3H, OMe), 1.36 (d, 6H, $J = 6.1\text{ Hz}$, *iPr*), 1.36 (d, 6H, $J = 6.1\text{ Hz}$, *iPr*) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): 149.2 (s, C_{Ar}), 147.3 (s, C_{Ar}), 147.2 (s, C_{Ar}), 127.6 (d, C_{Ar}), 120.6 (s, C_{Ar}), 111.0 (d, C_{Ar}), 76.8 (d, *iPr*), 71.7 (d, *iPr*), 61.2 (q, OMe), 36.8 (t, CH_2), 22.4 (q, *iPr*), 22.1 (q, *iPr*) ppm; **EI-MS (LRMS)** 352/350, 309/307, 267/265, 231/229, 216/214, 188/186, 124 m/z; **EI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{BrCl}$ 350.0284 (M^+), gefunden bei 350.0281 m/z.

[3-(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)prop-1-in-1-yl]trimethylsilan (50)

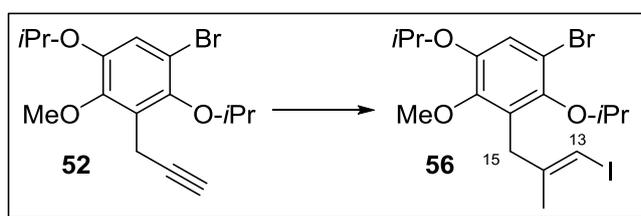
Trimethylsilylacetylen (3.8 mL; 2.7 g; 27 mmol; 1.3 Äq.) wird in absolutem, entgastem THF (75 mL) vorgelegt und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. *n*-BuLi (2.5 M in Hexan; 10.9 mL; 27 mmol; 1.3 Äq.) wird langsam zugetropft und die Reaktion bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 60 min gerührt. Eine Lösung aus zuvor in der Flamme ausgeheiztem Zinkbromid (6.08 g; 27 mmol; 1.3 Äq.) in THF (20 mL) wird zugetropft und die Lösung für 15 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt bevor sie auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt wird. Nach 30 min wird die entstandene Lösung aus Zinkbromidtrimethylsilylacetylid auf Raumtemperatur erwärmt und 1-Brom-3-(chlor-methyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (**49**; 7.3 g; 21 mmol; 1.0 Äq.) gelöst in THF (10 mL) und Pd(DPEphos)Cl₂ (0.45 g; 0.6 mmol; 0.03 Äq.) zugegeben. Die Reaktion für 24 h bei Raumtemperatur gerührt (Überwachung durch GC-MS) und dann mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt. Die Phasen werden getrennt, die wässrige mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über eine kurze Kieselgelsäule gereinigt (PE/EE 60:1→40:1) um [3-(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)prop-1-in-1-yl]trimethylsilan (**50**; 8.4 g; 20.3 mmol; 98 %) als schwach gelbliches, viskoses Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.00 (s, 1H, H_{Ar}), 4.54 (sept, 1H, *J* = 6.2 Hz, CH₂), 4.46 (sept, 1H, *J* = 6.2 Hz, *i*Pr), 3.94 (s, 3H, OMe), 3.59 (s, 2H, CH₂), 1.36 (d, 6H, *J* = 3.8 Hz, *i*Pr), 1.34 (d, 6H, *J* = 3.8 Hz, *i*Pr), 0.09 (s, 9H, TMS) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 148.6 (s, C_{Ar}), 147.5 (s, C_{Ar}), 146.6 (s, C_{Ar}), 127.3 (d, C_{Ar}), 118.5 (s, C_{Ar}), 111.1 (d, C_{Ar}), 105.8 (s, TMS-C), 83.8 (s, TMS-C≡C), 76.5 (d, *i*Pr), 71.5 (d, *i*Pr), 60.7 (q, OMe), 22.4 (q, *i*Pr), 22.1 (q, *i*Pr), 16.7 (t, CH₂), -0.1 (q, TMS) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₁₉H₂₉O₃BrSiNa 435.0967 ([M+Na]⁺), gefunden bei 435.0955 m/z, **EI-MS (LRMS)**: 414/412 (M⁺), 372/370, 330/328, 311/309, 287/285, 249, 176, 73 m/z; **R_f** (PE/EE 20:1): 0.63.

1-Brom-2,5-diisopropoxy-4-methoxy-3-(prop-2-in-1-yl)benzol (52)

[3-(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)prop-1-in-1-yl]trimethylsilan (**50**; 8.27 g; 20.0 mmol; 1.0 Äq.) wird in entgastem, wässrigem, Methanol (500 mL) gelöst und mit Kaliumfluorid (11.62 g; 200 mmol; 10.0 Äq.) versetzt. Die Reaktion wird für 60 h bei 45 °C gerührt, auf Raumtemperatur gekühlt und durch Zugabe von Wasser und Ether gestoppt. Die wässrige Phase wird mehrfach mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 50:1) gereinigt um 1-Brom-2,5-diisopropoxy-4-methoxy-3-(prop-2-in-1-yl)benzol (**52**; 6.41 g; 18.8 mmol; 94 %) als schwach gelblichen Feststoff zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.01 (s, 1H, H_{Ar}), 4.52 (sept, 1H, *J* = 6.1 Hz, CH₂), 4.47 (sept, 1H, *J* = 6.2 Hz, *i*Pr), 3.94 (s, 3H, OMe), 3.56 (d, 2H, *J* = 2.7 Hz, CH₂), 1.97 (t, 1H, *J* = 2.7 Hz, ≡C-H), 1.35 (d, 12H, *J* = 6.1 Hz, *i*Pr) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 148.5 (s, C_{Ar}), 147.4 (s, C_{Ar}), 146.7 (s, C_{Ar}), 126.8 (d, C_{Ar}), 118.8 (s, C_{Ar}), 111.1 (d, C_{Ar}), 83.0 (s, HC≡C), 76.6 (d, *i*Pr), 71.6 (d, *i*Pr), 67.8 (d, ≡CH), 60.7 (q, OMe), 22.4 (q, *i*Pr), 22.1 (q, *i*Pr), 15.3 (t, CH₂) ppm; GC-MS (LRMS) C₁₆H₂₁O₃Br gefunden bei 340/342 (M⁺) m/z; Smp. 33.8 °C; R_f(PE/EE 20:1): 0.50.

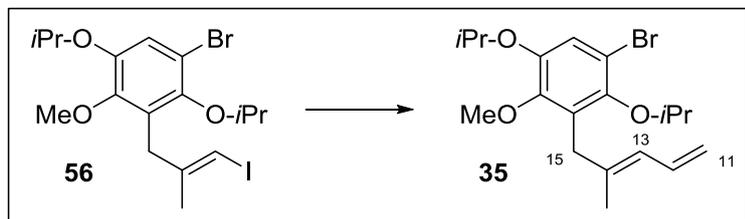
(E)-1-Brom-3-(3-iod-2-methylallyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (56)

Cp₂ZrCl₂ (0.013 g; 0.044 mmol; 0.3 Äq.) wird in entgastem Dichlormethan gelöst, tropfenweise mit AlMe₃ (1 M in Heptan, 0.59 mL, 0.59 mmol; 4.0 Äq.) versetzt und auf -78 °C gekühlt. Entgastes Wasser (2.7 µL; 2.7 mg; 0.15 mmol; 1.0 Äq.) wird zugegeben, wobei ein weißer Niederschlag ausfällt, für 30 min bei dieser Temperatur gerührt, dann auf Raumtemperatur erwärmt und dort weitere 30 min gerührt. Die Lösung wird erneut auf -78 °C gekühlt und 1-Brom-2,5-diisopropoxy-4-methoxy-3-(prop-2-in-1-yl)benzol (**52**; 50 mg; 0.15 mmol; 1.0 Äq.) in Dichlormethan (0.5 mL) zugegeben. Die Reaktion wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und dort für 12 h gerührt. Nach Abschluss der Reaktion

(Kontrolle per GC-MS) wird die Lösung mit dem Vinylalan auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und eine Lösung aus Iod (0.37 g; 1.47 mmol; 10.0 Äq.) in THF (2 mL) zugetropft und bei dieser Temperatur 30 min gerührt. Die Lösung wird erwärmt auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ und dort weitere 30 min gerührt wonach sie mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ und ROCHELLE-Salz-Lösung gestoppt wird. Die wässrige Phase wird mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels wird das entstandene Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE 40:1) gereinigt um (*E*)-1-Brom-3-(3-iod-2-methylallyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (**56**; 65 mg; 0.14 mmol; 93 %) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.00 (s, 1H, H_{Ar}), 5.75 (tq, 1H, $J = 1.3, 1.3\text{ Hz}$, H13), 4.45 (sept, 1H, $J = 6.1\text{ Hz}$, *iPr*), 4.41 (sept, 1H, $J = 6.1\text{ Hz}$, *iPr*), 3.76 (s, 3H, OMe), 3.53 (d, 2H, 1.3 Hz, H15), 1.85 (d, 3H, $J = 1.3\text{ Hz}$, C14Me), 1.35 (d, 6H, $J = 6.1\text{ Hz}$, *iPr*), 1.27 (d, 6H, $J = 6.1\text{ Hz}$, *iPr*) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 148.5 (s, C_{Ar}), 147.2 (s, C_{Ar}), 147.2 (s, C14), 128.2 (d, C_{Ar}), 118.4 (s, C_{Ar}), 111.0 (d, C_{Ar}), 76.0 (d, C13), 76.0 (d, *iPr*), 71.5 (d, *iPr*), 60.5 (q, OMe), 34.7 (t, C15), 24.4 (q, C14Me), 22.3 (q, *iPr*), 22.1 (q, *iPr*) ppm; **GC-MS (LRMS)** $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{BrI}$ gefunden bei 481/483 (M^+) m/z ; \mathbf{R}_f (PE/EE 20:1): 0.62.

(*E*)-1-Brom-2,5-diisopropoxy-4-methoxy-3-(2-methylpenta-2,4-dienyl)benzol (35)



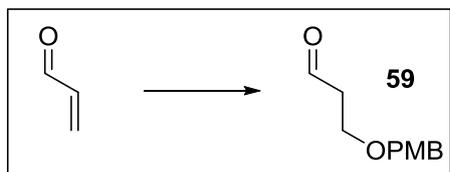
Vinylmagnesiumbromid (1 M in THF; 0.16 mL; 0.16 mmol; 1.2 Äq.) wird in entgastem THF (1 mL) gelöst und auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Eine Lösung aus frisch ausgeheiztem ZnBr_2 (36 mg; 0.16 mmol; 1.2 Äq.) in THF (0.5 mL) wird zugetropft und die Lösung auf Raumtemperatur erwärmt und dort 10 min gerührt. (*E*)-1-Brom-3-(3-iod-2-methylallyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (**56**; 65 mg; 0.13 mmol; 1.0 Äq.) in THF (0.5 mL) und $\text{Pd}(\text{DPEphos})\text{Cl}_2$ (2.8 mg; 3.9 μmol ; 0.03 Äq.) wird zugegeben und die Reaktion 90 min gerührt. Die Lösung wird mit Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt, die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels wird das Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE 50:1) gereinigt, um (*E*)-1-Brom-2,5-diisopropoxy-4-methoxy-3-(2-methylpenta-2,4-dienyl)benzol (**35**; 50 mg; 0.13 mmol; quant.) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.00 (s, 1H, H_{Ar}), 6.55 (ddd, 1H, $J = 16.9, 10.6, 10.3\text{ Hz}$, H12), 5.65 (dt, 1H, $J = 10.6, 0.3\text{ Hz}$, H13), 5.00 (dd, 1H, $J = 16.9, 2.0\text{ Hz}$, H11a), 4.93 (dd, 1H, $J = 10.3, 2.0\text{ Hz}$,

H11b), 4.46 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 4.40 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 3.74 (s, 3H, OMe), 3.42 (d, 2H, $J = 0.3$ Hz, H15), 1.77 (s, 3H, H14Me), 1.35 (d, 6H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 1.28 (d, 6H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 148.9 (s, C_{Ar}), 147.5 (s, C_{Ar}), 147.2 (s, C_{Ar}), 138.2 (s, C14), 133.3 (d, C12), 129.2 (s, C_{Ar}), 125.7 (d, C13), 118.5 (d, C_{Ar}), 114.7 (t, C11), 111.1 (s, C_{Ar}), 76.0 (d, *i*Pr), 71.6 (d, *i*Pr), 60.4 (q, OMe), 35.0 (t, C15), 22.3 (q, *i*Pr), 22.1 (q, *i*Pr), 17.3 (q, C14Me) ppm; **EI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{Br}$ 382.1144 gefunden bei 382.1144 (M^+) **EI-MS (LRMS)** 384/382, 342/340, 300/298, 259/257/255, 248/246, 178 m/z.

5.5 DARSTELLUNG DER VERBINDUNGEN AUS KAPITEL 3.1.3

3-(4-Methoxybenzyloxy)propanal (**59**)⁷⁴

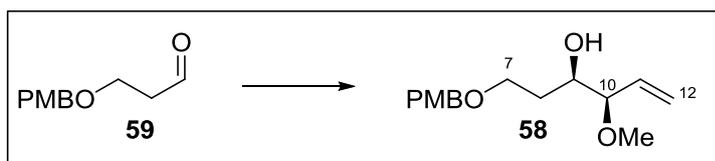


Eine Lösung aus Anisalkohol (18 mL; 20 g; 145 mmol; 1.0 Äq.), NaOH (0.35 g, 8.7 mmol; 0.06 Äq.) und Chloressigsäure (0.82 g; 8.7 mmol; 0.06 Äq.) in H₂O (1.8 mL) wird unter Rühren zu frisch destilliertem Acrolein (12 mL; 10.1 g; 180 mmol; 1.25 Äq.) zugetropft, anschließend mit Essigsäure (3.64 mL; 3.82 g; 64 mmol; 0.44 Äq.) versetzt und für 7 d bei 40 °C gerührt. Die Lösung wird mit Dichlormethan verdünnt, mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Die leichtflüchtigen Verbindungen werden am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbliebene Anisalkohol durch Destillation im Hochvakuum bei 140 °C entfernt, und das zurückbleibende 3-(4-Methoxybenzyloxy)propanal (**59**; 19.2 g; 98.5 mmol; 68 %) wird als schwach gelbliches Öl erhalten.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁷⁴

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): 9.78 (s, 1H, CHO), 7.25 (m, 2H, PMB), 6.88 (m, 2H, PMB), 4.45 (s, 2H, PMB), 3.78 (t, *J* = 6.1 Hz, OCH₂), 2.68 (t, *J* = 6.1 Hz, COCH₂) ppm.

(3*R*,4*R*)-4-Methoxy-1-(4-methoxybenzyloxy)hex-5-en-3-ol (**58**)



Allylmethylether (3 mL; 2.3 g; 32 mmol; 1.5 Äq.) wird in THF (25 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. *sec*-BuLi (1.3 M in Hexan/Cyclohexan; 19.67 mL; 25.56 mmol; 1.2 Äq.) wird langsam zugetropft und die entstehende gelbe Lösung 15 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. (-)-Ipc₂BOMe (~28 mmol) in THF (30 mL) wird langsam zugetropft und die nun klare Lösung für eine Stunde bei -78 °C gerührt. BF₃·OEt₂ (3.6 mL; 4.02 g; 28.33 mmol; 1.33 Äq.) wird langsam zugetropft und unmittelbar danach eine auf -78 °C vorgekühlte Lösung von 3-(4-Methoxybenzyloxy)propanal (**59**; 3.71 g; 19.1 mmol; 1.0 Äq.) über MS 4 Å in THF (5 mL) per Transferkanüle zugegeben. Die Reaktion wird 3 h weiter bei -78 °C gerührt, danach langsam auf Raumtemperatur erwärmt und bei dieser Temperatur weitere 24 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Triethanolamin (4.5 g; ~28 mmol) in PE/EE (14 mL /

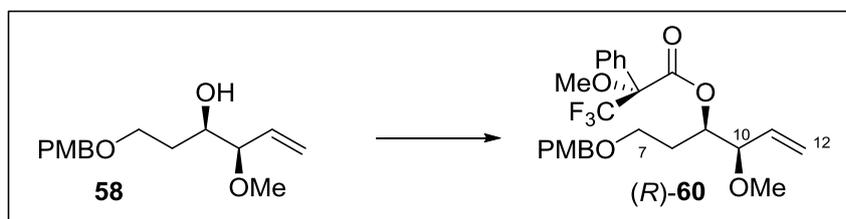
14 mL) bei 0 °C beendet und das Reaktionsgemisch für 12 h hydrolisiert. Die Lösung wird mit Ammoniumchlorid-Lösung versetzt und mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösemittel entfernt, mehrfach mit MeOH koevaporiert, und das so erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE 10:1→3:1) gereinigt, um (3*R*,4*R*)-4-Methoxy-1-(4-methoxybenzyloxy)hex-5-en-3-ol (**58**; 4.04 g; 15.7 mmol; 82 %; *e.e.* 90 %; *d.r.* 10:1) als farbloses Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.22-7.27 (m, 2H, PMB), 6.84-6.88 (m, 2H, PMB), 5.65 (ddd, 1H, *J* = 17.2, 10.4, 7.9 Hz, H11), 5.25-5.35 (m, 2H, H12), 4.44 (s, 2H, PMB), 3.80 (s, 3H, PMB), 3.66-3.73 (m, 1H, H10), 3.63 (dd, 2H, *J* = 6.4, 6.4, 1.8 Hz, H7), 3.40 (dd, 1H, *J* = 7.8, 7.9 Hz, H9), 3.31 (s, 3H, OMe), 2.92 (s, 1H, OH), 1.84-1.85 (m, 1H, H6α), 1.62-1.72 (m, 1H, H6β) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 159.2 (d, C11), 134.9 (d, PMB), 130.4 (s, PMB), 129.3 (d, PMB), 128.6 (s, PMB), 120.0 (t, C12), 113.8 (d, PMB), 86.6 (d, C10), 72.8 (t, PMB), 71.6 (d, C11), 67.4 (t, C7), 56.5 (q, OMe), 55.26 (q, PMB), 32.5 (t, C6) ppm; [α]_D²⁰ (c = 1.0; CH₂Cl₂): -7.4 °; ESI-MS (HRMS) berechnet für C₁₅H₂₂O₄Na 289.1416 ([M+Na]⁺), gefunden bei 289.1408 m/z, R_f (PE/EE 5:1): 0.21.

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung von MOSHER-Estern

Ein Alkohol wird in Dichlormethan gelöst, Triethylamin (4 Äq.), 4-DMAP (0.1 Äq.) und schließlich Moshersäurechlorid (1.2 Äq.) bei 0 °C zugegeben und bis zum Abschluss der Reaktion auf Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung erhält man den MOSHER-Ester.

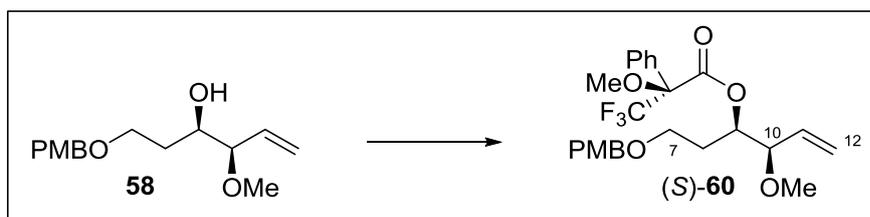
(*R*)-MOSHER-Ester ((*R*)-60)



Ausgehend von der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von MOSHER Estern wird (3*R*,4*R*)-4-Methoxy-1-(4-methoxybenzyloxy) hex-5-en-3-ol (10 mg; 32 μmol) mit (*S*)-Moshersäurechlorid umgesetzt und der (*R*)-MOSHER-Ester **60** (14 mg; 29 μmol; 91 %) nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 10:1) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.58-7.64 (m, 2H, Ph), 7.34-7.42 (m, 3H, Ph), 7.23 (m, 2H, PMB), 6.87 (m, 2H, PMB), 5.64 (ddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 7.6$ Hz, H11), 5.38 (m, 1H, H12 α), 5.28 (m, 1H, H12 β), 4.28-4.37 (m, 2 H, PMB), 3.80 (s, 3H, $\text{OMe}_{\text{Mosher}}$), 3.66 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz, H9), 3.57 (m, 2H, H7), 3.26-3.37 (m, 1H, H10), 3.26 (s, 3H, OMe), 1.91-2.02 (m, 1H, H6 α), 1.70-1.81 (m, 1H, H6 β) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{F}_3$ 483.1994 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), gefunden bei 483.2000 m/z, R_f (PE/EE 6:1): 0.51.

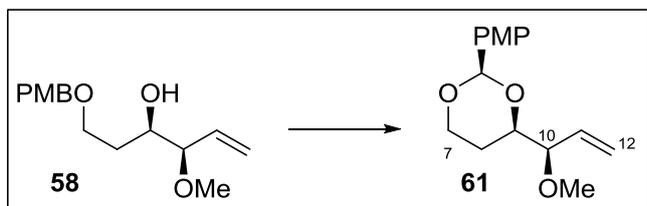
(S)-MOSHER Ester ((S)-60)



Ausgehend von der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von MOSHER Estern wird (3*R*,4*R*)-4-Methoxy-1-(4-methoxybenzyloxy)-hex-5-en-3-ol (10 mg; 32 μmol) mit (*R*)-Mosher'säurechlorid umgesetzt um (*S*)-MOSHER-Ester **60** (12 mg; 25 μmol ; 78 %) nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 10:1) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.53-7.63 (m, 2H, Ph), 7.33-7.43 (m, 3H, Ph), 7.24 (m, 2H, PMB), 6.86 (m, 2H, PMB), 5.54 (ddd, 1H, $J = 17.4, 10.2, 7.3$ Hz, H11), 5.36 (m, 1H, H12 α), 5.17 (m, 1H, H12 β), 4.39 (s, 2 H, PMB), 3.80 (s, 3H, $\text{OMe}_{\text{Mosher}}$), 3.60 (m, 1H, H9), 3.50 (m, 2H, H7), 3.39-3.49 (m, 1H, H10), 3.17 (s, 3H, OMe), 1.98-2.08 (m, 1H, H6 α), 1.79-1.84 (m, 1H, H6 β) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{F}_3$ 483.1994 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), gefunden bei 483.1993 m/z, R_f (PE/EE 6:1): 0.51.

(2*R*,4*R*)-4-[(*R*)-1-methoxyallyl]-2-(4-methoxyphenyl)-1,3-dioxan (61**)**

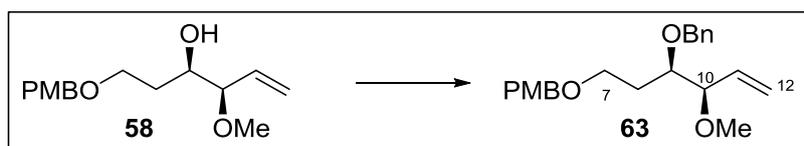


DDQ (0.094; 0.41; 1.1 Äq.) wird in Dichlormethan (8 mL) gelöst, über MS 4 Å 1 h bei Raumtemperatur gerührt, dann auf -15 °C gekühlt und (3*R*,4*R*)-4-Methoxy-1-(4-methoxybenzyloxy)-hex-5-en-3-ol (**58**; 0.10 g; 0.38 mmol; 1.0 Äq.) in Dichlormethan (1 mL) zugetropft. Die Reaktion ist nach 2.5 h abgeschlossen und wird durch Zugabe von Na_2SO_3 und einer gesättigter NaHCO_3 -Lösung

hydrolysiert. Sobald sich der entstandene Niederschlag gelöst hat, werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 7.6:1) gereinigt, um (2*R*,4*R*)-4-[(*R*)-1-Methoxyallyl]-2-(4-methoxyphenyl)-1,3-dioxan (**61**; 0.76 g; 0.29 mmol; 76 %) als farbloses, klares Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.42 (m, 2H, PMP), 6.87 (m, 2H, PMP), 5.74 (ddd, 1H, *J* = 17.7, 10.0, 7.3 Hz, H11), 5.30-5.38 (m, 2H, H12), 4.25 (ddd, 1H, *J* = 11.6, 6.0, 1.7 Hz, H10), 3.94 (dd, 1H, *J* = 11.4, 2.2 Hz, H7a), 3.91 (ddd, 1H, *J* = 11.4, 4.3, 2.7 Hz, H7b), 3.69 (ddd, 1H, *J* = 7.3, 6.0, 0.9 Hz, H10), 1.84 (dddd, 1H, *J* = 13.1, 11.6, 12.2, 4.3 Hz, H6a), 1.43 (ddd, 1H, *J* = 13.1, 2.2, 1.7 Hz, H6b) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 159.9 (s, PMP), 134.2 (C11), 131.2 (s, PMP), 127.5 (d, PMP), 119.3 (t, C12), 113.5 (d, PMP), 101.1 (d, PMPCHO₂), 84.8 (d, C10), 78.7 (d, C11), 66.7 (t, C7), 57.1 (q, OMe), 55.3 (q, PMP), 26.9 (t, C6) ppm; [α]_D²⁰ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +9.5 °; ESI-MS (HRMS) berechnet für C₁₅H₂₁O₄ 265.1440 ([M+H]⁺), gefunden bei 265.1432 m/z, R_f (PE/EE 5:1): 0.53.

1-[[*(3R,4R)*-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-enyloxy]methyl]-4-methoxybenzol (**63**)

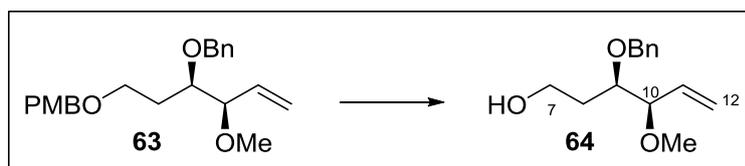


(*3R,4R*)-4-Methoxy-1-(4-methoxybenzyloxy)hex-5-en-3-ol (**58**; 3.7 g; 13.9 mmol; 1.0 Äq.) wird in THF (300 mL) gelöst, Benzylbromid (3.3 mL; 4.8 g; 27.8 mmol; 2.0 Äq.) und TBAI (0.5 g; 1.4 mmol; 0.1 Äq.) zugegeben und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Natriumhydrid (0.67 g; 27.8 mmol; 2.0 Äq.) wird portionsweise zugegeben, die Lösung auf Raumtemperatur erwärmt und die Reaktion für 24 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer Ammoniumchlorid-Lösung beendet und THF im Vakuum entfernt. Nach Zugabe von Ether werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 16:1→5.5:1) gereinigt, um 1-[[*(3R,4R)*-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-enyloxy]methyl]-4-methoxybenzol (**63**; 4.19 g; 11.8 mmol; 85 %) als farbloses klares Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.20-7.34 (m, 5H, Bn), 7.20-7.34 (m, 2H, PMB), 6.83-6.89 (m, 2H, PMB), 5.70-5.81 (m, 1H, H11), 5.21-5.33 (m, 2H, H12), 4.71 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, PMB), 4.50 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, PMB), 4.40 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, Bn), 4.35 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, Bn), 3.79 (s, 3H, PMB), 3.60-3.68 (m, 1H, H10), 3.60-3.68 (m, 1H, H9), 3.47-3.58 (m, 1H, H7), 3.30 (s, 3H, OMe), 1.84-1.94 (m, 1H, H6_o), 1.64-1.74 (m, 1H, H6_p) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 159.1 (s, PMB), 138.9 (s, Bn), 135.3 (d, C11), 130.6 (d, PMB), 129.3 (s, PMB), 128.2 (d, Bn), 128.0 (d, Bn), 127.5 (d, Bn),

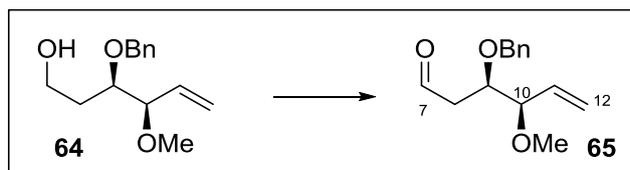
118.6 (t, C12), 113.7 (d, PMB), 85.3 (d, C10), 78.1 (d, C9), 73.5 (t, Bn), 72.5 (t, PMB), 66.4 (t, C7), 56.8 (q, OMe), 55.3 (q, PMB), 31.2 (t, C8) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +21.4 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₂₂H₂₈O₄Na 379.1885 ([M+Na]⁺), gefunden bei 379.1885 m/z, **R_f** (PE/EE 5:1): 0.91.

(3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-en-1-ol (64)



1-[[3-(3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-en-1-yloxy]methyl]-4-methoxybenzol (**63**; 4.19 g; 11.75 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (300 mL) gelöst, mit H₂O (2 mL) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Zu der Lösung wird DDQ (3.2 g; 14.11 mmol; 1.2 Äq.) zugegeben und die Reaktion für 1.5 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer NaHCO₃-Lösung und festem Natriumsulfit gestoppt und 30 min gerührt bis sich der Niederschlag gelöst hat. Die Phasen werden getrennt, die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wird entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE 5:1) gereinigt, um (3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-en-1-ol (**64**; 2.71 g; 11.46 mmol; 98 %) als farbloses, klares Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.27-7.38 (m, 5H, Bn), 5.76 (ddd, 1H, *J* = 17.2, 10.4, 7.0 Hz, H11), 5.26-5.36 (m, 2H, H12), 4.78 (d, 1H, *J* = 11.3 Hz, Bn), 4.61 (d, 1H, *J* = 11.3 Hz), 3.66-3.78 (m, 4H, H10, H9, H8), 3.33 (s, 3H, OMe), 2.22 (s, br, 1H, OH), 1.77-1.88 (m, 1H, 6α), 1.65-1.75 (m, 1H, 6β) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 138.3 (s, Bn), 134.7 (d, C11), 128.5 (d, Bn), 128.1 (d, Bn), 127.8 (d, Bn), 119.1 (t, C12), 84.9 (d, C10), 79.7 (d, C9), 73.2 (t, Bn), 60.4 (t, C7), 56.8 (q, OMe), 33.2 (t, C8) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +30.2 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₁₄H₂₀O₃Na 259.1310 ([M+Na]⁺), gefunden bei 259.1310 m/z, **R_f** (PE/EE 6:1): 0.18.

(3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-enal (65)*a) Swern Oxidation*

Oxalylchlorid (0.37 mL; 0.54 g; 4.23 mmol; 2.0 Äq.) wird in Dichlormethan (8 mL) gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. DMSO (0.45 mL; 0.5 g; 6.35 mmol; 3.0 Äq.) wird vorsichtig zugetropft (Gasentwicklung) und die Reaktion für 30 min gerührt und anschließend (3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-en-1-ol (**64**; 0.50 g; 2.11 mmol; 1.0 Äq.) in Dichlormethan (0.5 mL) zugetropft. Die Reaktion wird 15 min gerührt und anschließend auf $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt. Nach 1 h wird Triethylamin (2.05 mL; 1.50 g; 14.81 mmol; 7.0 Äq.) zugegeben und die Reaktion auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung und Ether gestoppt. Die Phasen werden getrennt, die wässrige mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit H_2O und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Entfernen des Lösemittels im Vakuum ergibt (3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-enal (**65**; 0.50 g; 2.11 mmol; quant.) in hinreichender Reinheit als farbloses Öl.

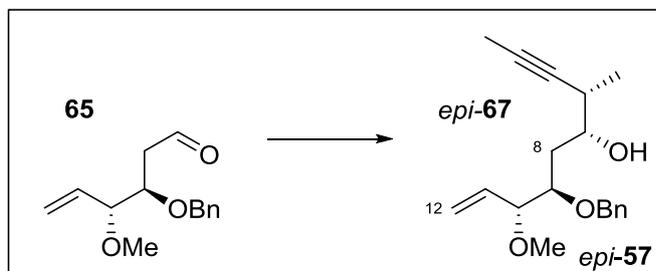
b) DESS-MARTIN Oxidation

(3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-en-1-ol (**64**; 0.056 g; 0.24 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan gelöst und auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. NaHCO_3 (20 mg; 0.24 mmol; 1.0 Äq) und Dess-Martin Periodinan (0.120 g; 0.28 mmol; 1.2 Äq.) wird zugegeben und die Reaktion bis zum vollständigen Umsatz gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer NaHCO_3 -Lösung und einer $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung gestoppt und für eine halbe Stunde gerührt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 6:1) gereinigt, um (3*R*,4*R*)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-enal (**65**; 0.055 g; 0.22 mmol; 92 %) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 9.74 (dd, 1H, $J = 2.4, 1.7\text{ Hz}$, C7), 7.27-7.37 (m, 5H, Bn), 5.77 (ddd, 1H, $J = 17.1, 10.6, 7.2\text{ Hz}$, H11), 5.35 (m, 1H, H12 α), 5.31 (m, 1H, H12 β), 4.71 (d, 1H, $J = 11.4\text{ Hz}$, Bn), 4.63 (d, 1H, $J = 11.4\text{ Hz}$, Bn), 4.07 (dt, 1H, $J = 7.6, 4.8\text{ Hz}$, H9), 3.75 (dddd, 1H, $J = 7.2, 5.0, 1.0, 0.8\text{ Hz}$, H10), 2.66 (ddd, 1H, $J = 16.7, 4.8, 1.7\text{ Hz}$, H6 α), 2.58 (ddd, 1H, $J = 16.7, 7.6, 2.4\text{ Hz}$, H6 β) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 201.0 (d, C7), 138.0 (s, Bn), 134.3 (d, C11), 128.4 (d, Bn), 128.0 (d, Bn), 127.8 (d, Bn), 119.4 (t, C11), 83.7 (d, C10), 75.9 (t, Bn), 73.1 (d, C9), 56.9 (q, OMe),

45.1 (t, C6) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +23.6 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₁₄H₁₈O₃Na 257.1154 ([M+Na]⁺), gefunden bei 257.1154 m/z, **R_f** (PE/EE 6:1): 0.65.

(4S,5R,7R,8R)-7-(Benzyloxy)-8-methoxy-4-methyldec-9-en-2-yn-5-ol (*epi-57*)



a) Allenylstannanmethode

Aldehyd **65** (0.05 g; 0.21 mmol; 1.0 Äq.) und Allenylstannan **66** (0.11g; 0.32 mmol; 1.5 Äq.) werden in Dichlormethan (2.5 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt und BF₃·OEt₂ (48 µL; 0.38 mmol; 1.8 Äq.) zugetropft. Die Reaktion wird 2 h bei -78 °C gerührt und dann durch Zugabe einer MeOH/NaHCO₃-Lösung (3 mL; 5:1 v/v) gestoppt. Die Reaktion wird mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 10:1) gereinigt um isomerenreines *epi-57* (0.041 g; 0.21 mmol; 65 %) als farbloses Öl zu erhalten.

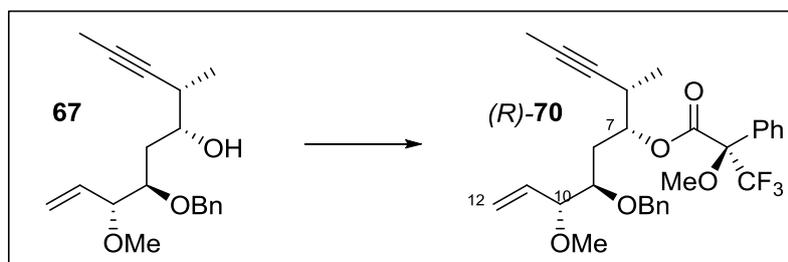
b) Pd-katalysierte Methode

Aldehyd **65** (0.060 g; 0.26 mmol; 1.0 Äq.) und Propargylmesylat (*R*)-**68** (0.31 mmol; 1.2 Äq.) werden in THF (8 mL) gelöst und mit HMPA (2.5 mL) versetzt. Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂ (0.01 g; 13 µmol; 0.05 Äq.) und InI (0.087 g; 0.36 mmol; 1.4 Äq.) werden zugegeben und der Reaktionsansatz für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Wasser und Ether gestoppt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mehrfach mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 7:1) gereinigt um isomerenreines *epi-57* (0.05 g; 0.165 mmol; 65 %) als farbloses Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.27-7.39 (m, 5H, Bn), 5.76 (ddd, 1H, *J* = 16.9, 10.8, 7.5 Hz, H11), 5.26-5.34 (m, 2H, H12), 4.77 (d, 1H, *J* = 11.3 Hz, Bn), 4.63 (d, 1H, *J* = 11.3 Hz, Bn), 3.78-3.84 (m, 1H, H10), 3.70-3.75 (m, 1H, H9), 3.59-3.64 (m, 1H, H7), 3.33 (s, 3H, OMe), 2.43 (dq, 1H, *J* = 9.4, 6.8, 2.3 Hz, H6), 1.81 (d, 3H, *J* = 2.3 Hz, 4Me), 1.61-1.74 (m, 2H, H5), 1.15 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, 6Me) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 138.7 (s, Ph), 135.0 (d, C11), 128.3 (d, C_{Ph}), 128.0 (d, C_{Ph}), 127.6 (d, C_{Ph}), 118.9 (t, C12), 85.0 (d, C10), 79.8 (d, C9), 78.5 (s, C4), 78.3 (s, C5), 73.7 (t, Bn), 71.1 (d,

C7), 56.8 (q, OMe), 36.3 (t, C8), 33.7 (d, C6), 13.6 (q, 6Me), 3.6 (q, 4Me) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +23.6 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₁₄H₁₈O₃Na 257.1154 ([M+Na]⁺), gefunden bei 257.1154 m/z, **R_f** (PE/EE 7:1): 0.28.

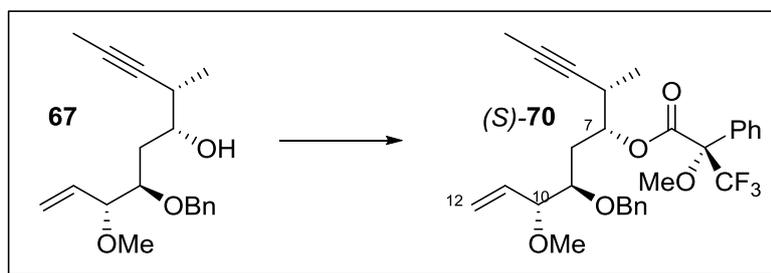
(R)-Mosher-Ester ((R)-70)



Ausgehend von der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von Mosher Estern wird *epi*-**67** (10 mg; 32 μmol) mit (*S*)-Moshersäurechlorid umgesetzt, um den (*R*)-Mosher-Ester **70** (14 mg; 29 μmol; 96 %) nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 20:1) als farbloses Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.62-7.66 (m, 2H, Ph), 7.26-7.42 (m, 8H, Ph), 5.63 (ddd, 1H, J = 17.3, 10.3, 7.1 Hz, H2), 5.35-5.42 (m, 1H, H7), 5.25 (m, 2H, H1), 4.67 (d, 1H, J = 10.8 Hz, Bn), 4.47 (d, 1H, J = 10.8 Hz, Bn), 3.61 (s, 3H, OMe_{Mosher}), 3.54-3.62 (m, 1H, H10), 3.27-3.33 (m, 1H, H9), 3.22 (s, 3H, OMe), 2.74 (m, 1H, H6), 1.75 (s, 3H, 4Me), 1.70-1.88 (m, 2H, H6), 1.11 (s, 3H, 6Me) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₂₉H₃₃O₅F₃Na 541.2178 ([M+Na]⁺), gefunden bei 541.2181 m/z.

(S)-Mosher Ester ((S)-70)

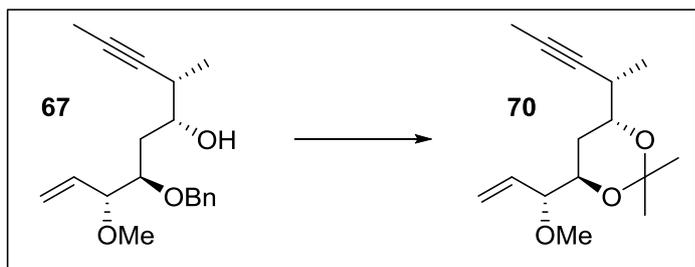


Ausgehend von der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von Mosher Estern wird *epi*-**67** (10 mg; 32 μmol) mit (*R*)-Moshersäurechlorid umgesetzt, um den (*S*)-Mosher-Ester **70** (12 mg; 25 μmol; 90 %) nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 20:1) als farbloses Öl zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.58-7.64 (m, 2H, Ph), 7.27-7.43 (m, 8H, Ph), 5.71 (ddd, 1H, J = 17.3, 10.3, 7.3 Hz, H11), 5.34-5.41 (m, 1H, H7), 5.30-5.34 (m, 2H, H12), 4.68 (d, 1H, J = 10.9 Hz, Bn),

4.50 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz, Bn), 3.66 (m, 1H, H10), 3.54 (s, 3H, OMe_{Mosher}), 3.42-3.48 (m, 1H, H9), 3.29 (s, 3H, OMe), 2.72 (m, 1H, H6), 1.76-1.97 (m, 2H, H8), 1.71 (d, 3H, $J = 2.4$ Hz, 4Me), 1.02 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz, 6Me) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₂₉H₃₃O₅F₃Na 541.2178 ([M+Na]⁺), gefunden bei 541.2178 m/z.

(3R,4R,6R,7S)-3-Methoxy-7-methyldec-1-en-8-in-4,6-diol (72)



a) Bildung des Radikalanions

4,4'-Di-*tert*-butylbiphenyl (0.38 g; 1.44 mmol) wird in THF gelöst und Lithium (0.017 g; 2.40 mmol) zugegeben und gerührt. Nachdem etwa 10 min ist eine Grünfärbung zu beobachten und die Reaktionsmischung wird auf 0 °C gekühlt und für 6 h intensiv gerührt.

b) Entfernung der Benzylgruppe

Alkohol **67** (5.0 mg; 18 µmol; 1.0 Äq.) wird in THF gelöst und auf -78 °C gekühlt. Die Radikallösung wird tropfenweise zugegeben, wobei sie sich zunehmend langsamer entfärbt, bis die Reaktion abgeschlossen ist (Kontrolle per DC). Die Reaktion wird durch Zugabe einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung beendet und mehrfach mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird über Säulenchromatographie (PE/EE 1:1) gereinigt um das Diol **71** als farblosen Feststoff (4 mg; 16 µmol; quant.) zu erhalten, welche direkt weiter verwendet wird.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.49 (m, 1H, OH), 5.63 (ddd, 1H, $J = 17.0, 10.2, 8.2$ Hz, H12), 5.28-5.39 (m, 2H, H11), 3.83 (ddd, 1H, $J = 7.8, 9.4, 1.4$ Hz, H9), 3.76 (ddd, 1H, $J = 9.8, 9.4, 3.1$ Hz, H7), 3.44 (dd, 1H, $J = 7.8, 7.9$ Hz, H10), 2.49 (dq, 1H, $J = 9.8, 6.4, 2.4$ Hz, H6), 1.80 (d, 3H, $J = 2.4$ Hz, 4Me), 1.70 (ddd, 1H, $J = 14.5, 9.4, 3.1$ Hz, H8a), 1.59 (ddd, 1H, $J = 14.5, 7.8, 1.4$ Hz, H8b), 1.36 (s, 1H, OH), 1.17 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz, 6Me) ppm.

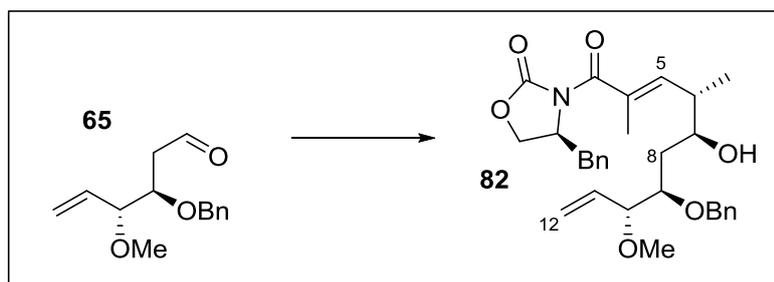
c) Bildung des Acetonids

Diol **71** (4 mg; 16 µmol; 1.0 Äq.) wird in 2,2-Dimethoxypropan (0.5 mL) gelöst und mit wenigen Kristallen PPTS versetzt. Die Reaktion wird über Nacht gerührt und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung

gestoppt. Die Reaktion wird mehrfach mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organische Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Acetonid **72** (4.6 mg; 18 μ mol; 100% über 2 Stufen) wird so in hinreichender Reinheit als farbloses Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 5.72 (ddd, 1H, $J = 16.9, 10.8, 7.9$ Hz, H11), 5.26-5.34 (m, 2H, H12), 3.84 (dd, 1H, $J = 9.8, 6.1$ Hz, H10), 3.71 (ddd, 1H, $J = 9.8, 6.1, 6.2$ Hz, H9), 3.52-3.57 (m, 1H, H7), 3.33 (s, 3H, OMe), 2.51 (m, 1H, H8), 1.79 (d, 3H, $J = 2.4$ Hz, 4Me), 1.75 (ddd, 1H, $J = 12.7, 9.5, 6.1$ Hz, H8 α), 1.64 (ddd, 1H, $J = 12.7, 9.6, 6.2$ Hz, H8 β), 1.38 (s, 6H, CH_3 -Acetonid), 1.12 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): 134.8 (d, C11), 119.3 (t, C12), 101.0 (s, Acetonid), 84.8 (d, C10), 80.5 (s, C5), 77.0 (s, C4), 69.6 (d, C7), 69.2 (d, C9), 57.1 (q, OMe), 31.7 (t, C8), 31.1 (d, C6), 24.7 (q, AcetonidMe α), 24.7 (q, AcetonidMe β), 16.4 (q, C6Me), 3.8 (q, C4Me) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ ($c = 0.46$; CH_2Cl_2): +12.0 $^\circ$; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{Na}$ 275.1623 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 275.1620 m/z.

(S)-4-Benzyl-3-[(4S,5S,7R,8R,E)-7-(benzyloxy)-5-hydroxy-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dienoyl]oxazolidin-2-on (82**)**

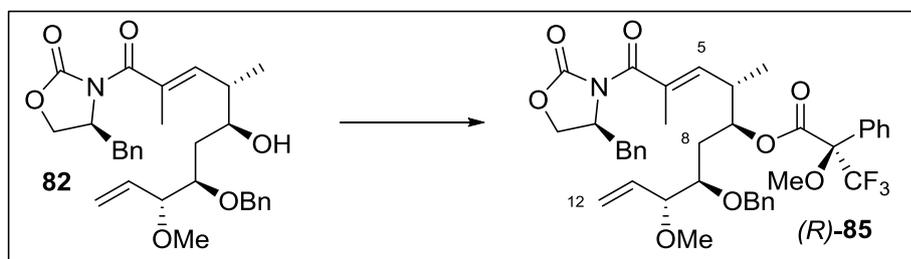


(3R,4R)-3-(Benzyloxy)-4-methoxyhex-5-enal (**65**; 0.05 g; 0.21 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (1 mL) gelöst und auf -78 $^\circ\text{C}$ gekühlt. 1 M $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})\text{Cl}_3$ -Lösung (0.42 mL, 0.22 mmol; 2.0 Äq.) wird langsam zugetropft und die Lösung 1 h zum Vorkomplexieren gerührt bevor Ketenacetal **X** (0.09 g, 0.23 mmol; 1.2 Äq.) in Dichlormethan (0.5 mL) zugetropft wird. Die Lösung wird langsam auf -50 $^\circ\text{C}$ aufgewärmt und dort für 48 h gerührt. Die Reaktionsgemisch wird durch Zugabe einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung und ROCHELLE-Salz-Lösung gestoppt, auf Raumtemperatur erwärmt und für 1 h gerührt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige mehrfach mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 4:1) gereinigt, um Alkohol **82** (0.045 g; 0.089 mmol; 42 %, *d.r.* 10:1) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.24-7.39 (m, 8H, Ph), 7.17-7.21 (m, 2H, Ph), 5.88 (dd, 1H, $J = 1.4, 11.6$ Hz, H5), 5.78 (dd, 1H, $J = 6.9, 10.5, 17.1$ Hz, H 11), 5.25-5.32 (m, 2H, H12), 4.76 (d, 1H, $J = 11.4$ Hz, OBn), 4.72 (m, 1H, Evans), 4.60 (d, 1H, $J = 11.4$ Hz, OBn), 4.25 (dd, 1H, $J = 8.7, 8.5$ Hz

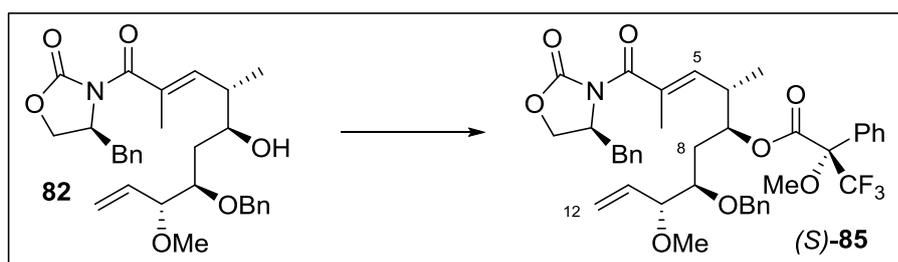
Evans), 4.14 (dd, 1H, $J = 8.7, 5.6$ Hz, Evans), 3.67-3.77 (m, 3H, Evans, H10, H7), 3.31 (s, 3H, OMe), 3.29-3.34 (m, 1H, H9), 2.84 (dd, 1H, $J = 13.5, 9.1$ Hz, Evans), 2.62 (ddq, 1H, $J = 6.7, 11.6, 5.4$ Hz, H6), 1.91 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, 4Me), 1.86-1.96 (m, 1H, H8 α), 1.51-1.61 (m, 1H, H8 β), 1.05 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 171.8 (s, C3), 153.3 (s, Evans), 141.6 (d, C5), 138.1 (s, C_{Ph}), 135.0 (s, Evans), 134.8 (d, C11), 130.3 (s, C6), 129.4 (d, C_{Ph}), 128.9 (d, Evans), 128.4 (d, C_{Ph}), 128.0 (d, Evans), 127.7 (d, C_{Ph}), 127.3 (d, Evans), 118.9 (t, C12), 84.7 (d, C10), 80.8 (d, C9), 73.6 (d, C6), 72.8 (t, OBn), 66.3 (t, Evans), 56.7 (q, OMe), 55.3 (d, Evans), 39.3 (t, Evans), 37.5 (d, C6), 34.7 (t, C8), 14.6 (q, 4Me), 13.7 (q, 6Me) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{NO}_6\text{Na}$ 530.2519 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 530.2519 m/z, R_f (PE/EE 5:1): 0.23.

(*R*)-MOSHER-Ester ((*R*)-**85**)



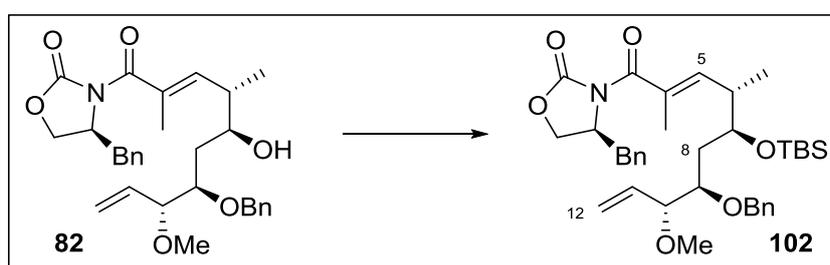
Ausgehend von der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von MOSHER Estern wird **82** (10 mg; 20 μmol) mit (*S*)-Moshersäurechlorid umgesetzt, um den (*R*)-MOSHER-Ester (*R*)-**85** (9 mg; 12 μmol ; 62 %) nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.54-7.59 (m, 2H, Ph), 7.18-7.54 (m, 8H, Ph), 5.80 (ddd, 1H, $J = 7.0, 9.8, 17.2$ Hz, H11), 5.69 (dd, 1H, $J = 1.5, 9.9$ Hz, H5), 5.26-5.33 (m, 2H, H12), 5.23-5.26 (m, 1H, H7), 4.65 (m, 1H, Evans), 4.58 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.51 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.21 (dd, 1H, $J = 8.5, 8.7$ Hz, Evans), 4.14 (dd, 1H, $J = 5.0, 8.7$ Hz, Evans), 3.76 (dd, 1H, $J = 4.9, 9.8$ Hz, H10), 3.52-3.57 (m, 1H, H9), 3.47 (s, 3H, $\text{OMe}_{\text{Mosher}}$), 3.34 (dd, 1H, $J = 3.4, 13.5$ Hz, Evans), 3.30 (s, 3H, OMe), 2.85 (m, 1H, H6), 2.80 (dd, 1H, $J = 9.4, 13.5$ Hz, Evans), 2.05 (dd, 1H, $J = 5.7, 14.5$ Hz, H8 α), 1.91 (dd, 1H, $J = 7.3, 14.5$ Hz, H8 β), 1.75 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz, 4Me), 0.95 (d, 1H, $J = 6.8$ Hz, 6Me) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ ($c = 0.9$; CH_2Cl_2): +38.44 $^\circ$; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{NO}_8\text{F}_3\text{Na}$ 746.2910 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 746.2913 m/z, R_f (PE/EE 3:1): 0.44.

(S)-MOSHER-Ester ((S)-85)

Ausgehend von der allgemeinen Vorschrift zur Darstellung von MOSHER Estern wird **82** (10 mg; 20 μmol) mit (*R*)-Moshersäurechlorid umgesetzt, um den (*S*)-MOSHER-Ester (*S*)-**85** (9 mg; 12 μmol ; 62 %) nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1) als farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.54-7.58 (m, 2H, Ph), 7.17-7.42 (m, 8H, Ph), 5.78 (ddd, 1H, $J = 17.3, 10.5, 7.1$ Hz, H11), 5.76 (dd, 1H, $J = 10.9, 0.7$ Hz, H5), 5.25-5.32 (m, 2H, H12), 5.20 (ddd, 1H, $J = 5.1, 7.9, 5.1$ Hz, H7), 4.62-4.71 (m, 1H, Evans), 4.46 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.40 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.22 (dd, 1H, $J = 8.6, 8.2$ Hz, Evans), 4.14 (dd, 1H, $J = 8.6, 4.8$ Hz, Evans), 3.70 (dd, 1H, $J = 7.1, 4.6$ Hz, H10), 3.50 (s, 3H, $\text{OMe}_{\text{Moshers}}$), 3.39 (m, 1H, Evans), 3.34 (ddd, 1H, $J = 13.7, 4.0, 0.3$ Hz, H9), 3.28 (s, 3H, OMe), 2.95 (m, 1H, H6), 2.81 (dd, 1H, $J = 13.3, 9.2$ Hz, Evans), 2.03 (ddd, 1H, $J = 14.3, 6.9, 4.0$ Hz, H8 α), 1.87 (ddd, 1H, $J = 14.3, 0.3, 6.7$ Hz, H8 β), 1.81 (d, 3H, $J = 0.7$ Hz, 4Me), 1.01 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz, 6Me) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ ($c = 0.9$; CH_2Cl_2): +4.78 $^\circ$; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{NO}_8\text{F}_3\text{Na}$ 746.2910 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 746.2917 m/z, R_f (PE/EE 3:1): 0.44.

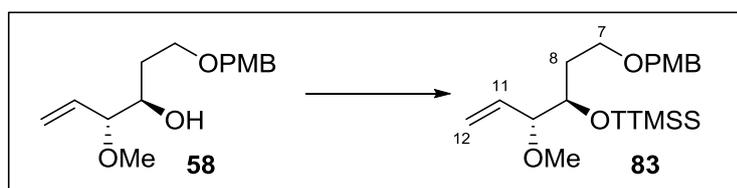
(S)-4-Benzyl-3-[(4*S*,5*S*,7*R*,8*R*,*E*)-7-(benzyloxy)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dienoyl]oxazolidin-2-on

(*S*)-4-Benzyl-3-[(4*S*,5*S*,7*R*,8*R*,*E*)-7-(benzyloxy)-5-hydroxy-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dienoyl]oxazolidin-2-on (**82**; 20 μg ; 41 μmol ; 1.0 \AA q.) wird in Dichlormethan gelöst und mit 2,6-Lutidin (8 μL ; 8 μg ; 74 μmol ; 1.8 \AA q.) versetzt und auf -78 $^\circ\text{C}$ gekühlt. TBSOTf (15 μL ; 18 μg ; 69 μmol ; 1.7 \AA q.) wird langsam zugetropft und die Reaktion 10 min gerührt, anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 12 h weiter gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan

extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel entfernt und das so erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 8:1→5:1), um (*S*)-4-Benzyl-3-[(4*S*,5*S*,7*R*,8*R*,*E*)-7-(benzyloxy)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dienoyl]oxazolidin-2-on (**102**; 21 µg; 34 µmol; 83 %) als farblosen Schaum zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.30-7.38 (m, 6 H, Ph), 7.24-7.29 (m, 2H, Ph), 7.18-7.22 (m, 2H, Ph), 5.99 (dd, 1H, *J* = 1.1, 10.0 Hz, H5), 5.76 (ddd, 1H, *J* = 7.2, 10.3, 17.3 Hz, H11), 5.25-5.34 (m, 2H, H12), 4.75 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, Bn), 4.62-4.71 (m, 1H, Evans), 4.58 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, Bn), 4.21 (dd, 1H, *J* = 8.6, 8.4 Hz, Evans), 4.12 (dd, 1H, *J* = 5.1, 8.6 Hz, Evans), 3.84 (ddd, 1H, *J* = 8.3, 4.5, 4.0 Hz, H7), 3.66 (dd, 1H, *J* = 7.2, 5.6 Hz, H10), 3.57 (ddd, 1H, *J* = 8.7, 5.6, 3.8 Hz, H9), 3.37 (dd, 1H, *J* = 13.5, 9.4 Hz, Evans), 3.31 (s, 3H, OMe), 2.79 (dd, 1H, *J* = 9.4, 13.5 Hz, Evans), 2.69 (ddq, 1H, *J* = 10.0, 4.4, 6.0 Hz, H6), 1.81 (ddd, 1H, *J* = 14.3, 8.7, 4.0 Hz, H8α), 1.78 (d, 3H, *J* = 1.1 Hz, 4Me), 1.64 (ddd, 1H, *J* = 14.3, 5.6, 4.5 Hz, H8β), 0.97 (d, 3H, *J* = 6.0 Hz, 6Me), 0.89 (s, 9H, TBS), 0.04 (s, 6H, TBS) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 172.1 (s, C3), 152.9 (s, Evans), 142.4 (d, C5), 138.8 (s, C_{Ph}), 135.3 (s, C_{Ph}), 135.1 (d, C11), 129.4 (s, C4), 129.4 (d, C_{Ph}), 128.9 (d, Evans), 128.3 (d, C_{Ph}), 127.8 (d, Evans), 127.4 (d, C_{Ph}), 127.3 (d, Evans), 118.7 (t, C12), 85.0 (d, C10), 78.1 (d, C9), 73.0 (t, OBn), 71.5 (d, C7), 66.3 (t, Evans), 56.7 (q, OMe), 55.6 (d, Evans), 37.5 (t, Evans), 37.1 (d, C6), 35.9 (t, C8), 25.9 (q, TBS), 18.1 (s, TBS), 13.5 (q, 4Me), 13.1 (q, 6Me), -4.1 (q, TBS), -4.8 (q, TBS) ppm; [α]_D²⁰ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +24.1 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₃₀H₅₁NO₆SiNa 644.3383 ([M+Na]⁺), gefunden bei 644.3387 m/z.

2-[[*(3R,4R)*-4-Methoxy-1-[(4-methoxybenzyl)oxy]hex-5-en-3-yl]oxy]-1,1,1,3,3,3-hexamethyl-2-(trimethylsilyl)trisilan (83**)**



Trifluormethansulfonsäure (0.036 mL; 0.41 mmol; 1.1 Äq.) wird zu einer Lösung bestehend aus TTMSS-H (0.13 mL; 0.105 g; 0.41 mmol; 1.1 Äq.) in Dichlormethan (1.5 mL) getropft und für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Lösung des TTMSSOTf wird auf -78 °C gekühlt und per Transferkanüle in eine ebenfalls auf -78 °C gekühlte Lösung von Alkohol **58** (0.10 g; 0.38 mmol; 1.0 Äq.) und 2,6-Lutidin (0.07 mL, 0.06 g; 0.56 mmol; 1.4 Äq.) in Dichlormethan (0.5 mL) gegeben. Die Reaktion wird für 10 min bei -78 °C gerührt, anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und bei dieser Temperatur für weitere 12 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer gesättigten

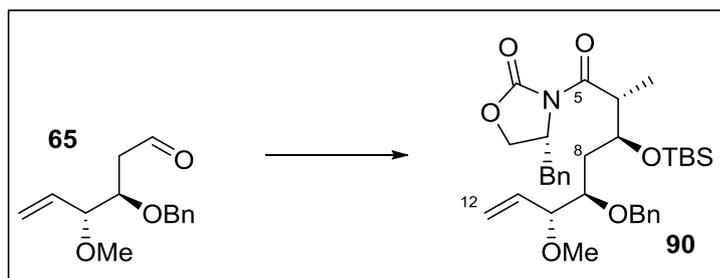
Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das so erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE 40:1) gereinigt um 2-[[*(3R,4R)*-4-Methoxy-1-[(4-methoxybenzyl)oxy]hex-5-en-3-yl]oxy]-1,1,1,3,3,3-hexamethyl-2-(trimethylsilyl)trisilan (**83**; 0.16 g; 0.31 mmol; 81 %) als farbloses Öl zu erhalten.

Das Produkt ist auch unter Schutzgas und Lichtausschluss bei -20 °C nicht langfristig haltbar und zeigt bereits nach 24 h Zersetzung.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.22-7.26 (m, 2H, PMB), 6.84-6.88 (m, 2H, PMB), 5.77 (ddd, 1H, *J* = 17.1, 10.8, 6.3 Hz, H11), 5.14-5.28 (m, 2H, H12), 4.42 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, PMB), 4.38 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz, PMB), 3.80 (s, 3H, PMB), 3.46-3.59 (m, 4H, H7, H9, H10), 3.25 (s, 3H, OMe), 1.83 (dddd, 1H, *J* = 6.7, 13.7, 6.7, 5.1 Hz, H8 α), 1.64 (dddd, 1H, *J* = 13.7, 8.5, 5.1, 5.1 Hz, H8 β), 0.19 (s, 27H, TTMSS) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 159.0 (s, PMB), 134.8 (d, C11), 130.8 (s, PMB), 129.2 (d, PMB), 117.9 (t, C12), 113.7 (d, PMB), 85.0 (d, C10), 75.7 (d, C9), 72.4 (t, PMB), 66.5 (t, C7), 56.6 (q, OMe), 55.2 (q, PMB), 33.0 (t, C8), 1.8 (q, TTMSS), 0.6 (q, TTMSS), 0.3 (q, TTMSS), -0.7 (q, TTMSS) ppm; [α]_D²⁰ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +8.4 °; *R*_f (PE/EE 40:1): 0.35.

Die Ionisierung zwecks Massenspektrometrie war nicht möglich.

(*R*)-4-Benzyl-3-{{*(2R,3S,5R,6R)*-5-(benzyloxy)-3-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-6-methoxy-2-methyloct-7-enoyl}oxazolidin-2-on (90)



a) Aldol-Reaktion

(*R*)-EVANS Propionyloxazolidinon **88** (6.34 g; 27.18 mmol; 1.1 Äq.) wird in Dichlormethan (100 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt, mit Triethylamin (4.28 mL; 30.89 mmol; 1.25 Äq.) versetzt und über 30 min *n*Bu₂BOTf (1M in Dichlormethan; 27.18 mL; 27.18 mmol; 1.1 Äq.) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 1 h bei -78 °C gerührt, dann auf 0 °C erwärmt. Es wird bei dieser Temperatur für eine Stunde gerührt bevor der Reaktionsansatz erneut auf -78 °C gekühlt wird und Aldehyd **65** (24.71 mmol; 1.0 Äq.) in Dichlormethan langsam zugetropft wird. Die Reaktion wird für 12 h bei -78 °C gerührt, dann auf Raumtemperatur erwärmt und mit NaOAc (21 g) in MeOH (95 mL) und pH 7

Puffer (10 mL) versetzt. Eine Lösung aus H₂O₂ (30 %ig; 45 mL) in MeOH (285 mL) wird über 30 min zugetropft und die Lösung für 2 h gerührt. Im Anschluss werden die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Für eine Charakterisierung wird eine kleine Menge des Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE 3:1) gereinigt um (*R*)-4-Benzyl-3-[(2*R*,3*S*,5*R*,6*R*)-5-(benzyloxy)-3-hydroxy-6-methoxy-2-methyloct-7-enoyl]oxazolidin-2-on (**90**) als farbloses Öl zu erhalten.

(*R*)-4-Benzyl-3-[(2*R*,3*S*,5*R*,6*R*)-5-(benzyloxy)-3-hydroxy-6-methoxy-2-methyloct-7-

enoyl]oxazolidin-2-on ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.18-7.37 (m, 5H, Bn), 5.78 (ddd, 1H, *J* = 7.1, 10.5, 17.5 Hz, H11) 5.27-5.36 (m, 2H, H12), 4.77 (d, 1H, *J* = 11.2 Hz, OBn), 4.61- 4.69 (m, 1H, CHN), 4.59 (d, 1H, *J* = 11.2 Hz, OBn), 4.09-4.17 (m, 3H, H7 + CH₂CHN), 3.75 (m, 3H, H10,H9,H6), 3.56 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz, OH), 3.31 (s, 3H, OMe), 3.27 (dd, 1H, *J* = 3.2, 13.4 Hz, Bn), 2.75 (dd, 1H, *J* = 9.9, 13.4 Hz, Bn), 1.79 (ddd, 1H, *J* = 3.9, 4.0, 14.4 Hz, H8α), 1.70 (ddd, 1H, *J* = 14.4, 8.5, 0.1 Hz, H8β), 1.24 (d, 3H, *J* = 7.2 Hz, 6Me) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 175.9 (s, C5), 153.0 (s, C=O_{Evans}), 138.0 (s, C_{Ar}), 135.2 (d, C11), 134.5 (s, C_{Ar}), 129.4 (d, C_{Ar}), 128.9 (d, C_{Ar}), 128.4 (d, C_{Ar}), 128.0 (d, C_{Ar}), 127.8 (d, C_{Ar}), 127.3 (d, C_{Ar}), 119.2 (t, C12), 84.3 (d, C10), 80.1 (d, C9), 72.8 (t, OBn), 70.3 (d, C7), 66.0 (t, CH₂CHN), 56.7 (q, OMe), 55.3 (d, CH₂CHN), 42.6 (d, C6), 37.7 (t, Bn), 34.6 (t, C8), 11.0 (q, 6Me) ppm; [α]_D²⁰ (c = 1.2; CH₂Cl₂): -20.33 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₂₇H₃₃NO₆Na 490.2206 ([M+Na]⁺), gefunden bei 490.2210 m/z, **R_f** (PE/EE 2:1): 0.47.

b) Schützung

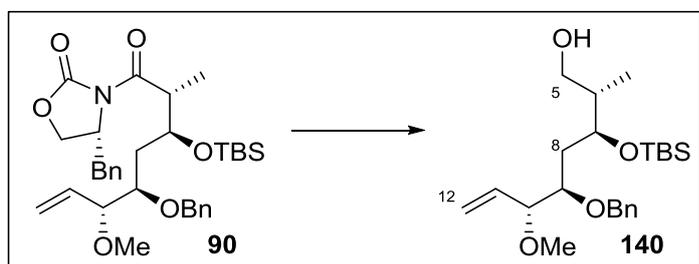
Das Rohprodukt (24.71 mmol) wird in Dichlormethan gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit 2,6-Lutidin (4.56 mL; 29.54 mmol; 1.6 Äq.) versetzt. TBSOTf (7.34 mL; 32.12 mmol; 1.3 Äq.) wird vorsichtig zugetropft und die Reaktion anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 12 h wird die Reaktion mit einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mehrfach mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 8:1) gereinigt um **90** (11.88 g; 20.42 mmol; 83 % über 2 Stufen) als farbloses Öl zu erhalten.

(*R*)-4-Benzyl-3-[(2*R*,3*S*,5*R*,6*R*)-5-(benzyloxy)-3-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-6-methoxy-2-

methyloct-7-enoyl]oxazolidin-2-on ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.13-7.35 (m, 10H, Ph), 5.76 (ddd, 1H, *J* = 7.1, 10.3, 17.3 Hz, H11), 5.22-5.32 (m, 2H, H12), 4.72 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz, OBn), 4.59 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz, OBn), 4.36 (m, 1H, CHN), 4.14 (m, 1H, H9), 3.85 (dd, 1H, *J* = 2.0, 8.8 Hz, CH₂CHN), 3.69-3.81(m, 3H, H6, H7, H10), 3.28-3.33 (m, 1H, CH₂CHN), 3.27 (s, 3H, OMe), 3.16 (dd, 1H, *J* = 13.3, 3.1 Hz, Bn), 2.66 (dd, 1H, *J* = 13.3, 9.5 Hz, Bn), 1.90 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 5.7, 15.0 Hz, H8α), 1.77 (ddd, 1H, *J* = 3.0, 9.0, 15.0 Hz, H8β), 1.26 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, 4Me), 0.90 (s, 9H, TBS), 0.05 (s, 3H,

TBS), 0.03 (s, 3H, TBS) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 175.5 (s, C5), 152.7 (s, $\text{C}=\text{O}_{\text{Evans}}$), 139.3 (s, C_{Ar}), 135.5 (d, C11), 135.0 (s, C_{Ar}), 129.4 (d, C_{Ar}), 128.8 (d, C_{Ar}), 128.0 (d, C_{Ar}), 127.2 (d, C_{Ar}), 127.0 (d, C_{Ar}), 118.6 (C12), 83.2 (d, C10), 75.9 (d, C9), 71.1 (d, C7), 70.8 (OBn), 65.6 (t, CH_2CHN), 56.7 (q, OMe), 55.3 (d, CH_2CHN), 43.0 (d, C6), 37.5 (t, Bn), 35.5 (t, C8), 25.9 (q, TBS), 18.0 (s, TBS), 14.4 (q, 4Me), -4.2 (q, TBS), -4.9 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.1; CH_2Cl_2): -37.1 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{NO}_6\text{SiNa}$ 604.3070 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 604.3067 m/z.

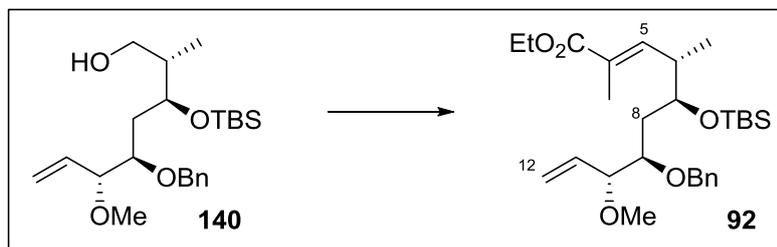
(2*S*,3*S*,5*R*,6*R*)-5-(Benzyloxy)-3-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-6-methoxy-2-methyloct-7-en-1-ol (138)



90 (11.88 g; 20.42 mmol; 1.0 Äq.) wird in Ether (200 mL) und MeOH (abs.; 10 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiBH_4 (0.67 g; 30.63 mmol; 1.5 Äq.) wird zugegeben und die Reaktion für 12 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 1 M Salzsäure (30 min rühren) gestoppt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 5:1) gereinigt, um (2*S*,3*S*,5*R*,6*R*)-5-(Benzyloxy)-3-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-6-methoxy-2-methyloct-7-en-1-ol (**140**; 6.94 g; 16.98 mmol; 83 %) als klares, farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.26-7.36 (m, 5H, Ph), 5.77 (ddd, 1H, $J = 7.8, 9.6, 18.1$ Hz, H11), 5.25-5.33 (m, 2H, H12), 4.70 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.55 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 3.90 (ddd, 1H, $J = 7.5, 5.4, 3.0$ Hz, H7), 3.66 (dd, 1H, $J = 5.0, 7.8$ Hz, H5 β), 3.52 (dd, 1H, $J = 7.5, 10.6$ Hz, H10), 3.48 (dd, 1H, $J = 4.1, 5.0$ Hz, H9), 3.44 (dd, 1H, $J = 5.3, 10.6$ Hz, H5 α), 3.31 (s, 3H, OMe), 1.83 (ddd, 1H, $J = 14.3, 7.5, 4.1$ Hz, H8 α), 1.64 (dd, 1H, $J = 14.3, 5.5$ Hz, H8 β), 0.87 (s, 9H, TBS), 0.79 (d, 3H, 6Me), 0.06 (s, 3H, TBS), 0.04 (s, 3H, TBS) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 138.7 (s, C_{Ar}), 135.1 (d, C11), 128.3 (d, C_{Ar}), 128.1 (d, C_{Ar}), 127.6 (d, C_{Ar}), 118.7 (t, C12), 84.7 (d, C10), 77.7 (d, C9), 72.7 (t, OBn), 71.6 (d, C7), 66.2 (t, C5), 56.8 (q, OMe), 38.9 (d, C6), 34.6 (t, C8), 25.8 (q, TBS), 17.9 (s, TBS), 10.9 (q, 4Me), -4.2 (q, TBS), -4.7 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.1; CH_2Cl_2): +26.6 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{O}_4\text{SiNa}$ 431.2594 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 431.2592 m/z, R_f (PE/EE 6:1): 0.41.

Ethyl-(4*S*,5*S*,7*R*,8*R*,*E*)-7-(benzyloxy)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dienoat (92**)**



a) Oxidation

(2*S*,3*S*,5*R*,6*R*)-5-(Benzyloxy)-3-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-6-methoxy-2-methyloct-7-en-1-ol (**140**; 0.50 g; 1.22 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (10 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und nacheinander mit NaHCO₃ (0.15 g; 1.84 mmol; 1.5 Äq.) und DMP (0.78 g; 1.84 mmol; 1.5 Äq.) versetzt. Die Reaktion wird für 2.5 h bei 0 °C gerührt und danach durch Zugabe einer gesättigten NaHCO₃ und gesättigten Na₂S₂O₃-Lösung gestoppt. Nach Erklären der Lösung werden die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtrieren wird das Lösemittel entfernt und der als klares, farbloses Öl erhaltene α -chirale Aldehyd direkt in der nachfolgenden WITTIG Reaktion eingesetzt.

R_f (PE/EE 5:1): 0.72.

b) WITTIG Reaktion

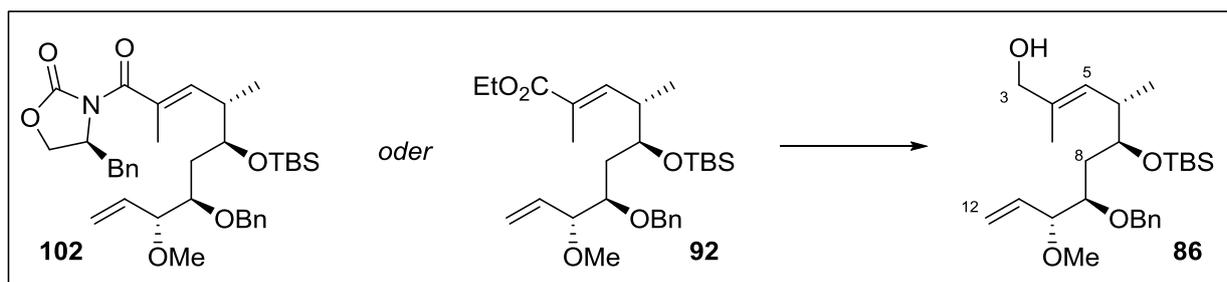
Der α -chirale Aldehyd (1.22 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan gelöst und mit dem WITTIG Ylid **98** (1.11 g; 3.05 mmol; 2.5 Äq.) versetzt. Die Lösung wird im verschlossenen Kolben auf 55 °C erhitzt und für 78 h gerührt. Nach Abschluss wird die Reaktion auf Raumtemperatur gekühlt und auf Kieselgel aufgezogen. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 20:1) wird der Ester **92** (0.51 g; 1.04 mmol; 85 % über 2 Stufen) als klares, farbloses Öl erhalten.

Ethyl-(4*S*,5*S*,7*R*,8*R*,*E*)-7-(benzyloxy)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dienoat (92**)**

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.24-7.33 (m, 5H, Ph), 6.71 (dd, 1H, *J* = 1.4, 9.9 Hz, H5), 5.74 (ddd, 1H, *J* = 7.4, 10.5, 17.2 Hz, H11), 5.24-5.32 (m, 2H, H12), 4.74 (d, 1H, *J* = 11.4 Hz, Bn), 4.54 (d, 1H, *J* = 11.4 Hz, Bn), 4.18 (dq, 1H, *J* = 7.2, 14.3 Hz, Et), 4.17 (dq, 1H, *J* = 7.2, 14.3 Hz, Et), 3.77 (ddd, 1H, *J* = 4.2, 4.4, 8.4 Hz, H7), 3.66 (dd, 1H, *J* = 5.5, 7.4 Hz, H10), 3.53 (ddd, 1H, *J* = 3.8, 5.5, 9.3 Hz, H9), 3.30 (s, 3H, OMe), 2.60 (ddq, 1H, *J* = 4.2, 6.4, 9.9 Hz, H6), 1.82 (ddd, 1H, *J* = 3.8, 8.4, 14.3 Hz, H8 α), 1.73 (d, 3H, *J* = 1.4 Hz, 4Me), 1.61 (ddd, 1H, *J* = 4.4, 9.3, 14.3 Hz, H8 β), 1.28 (dd, 3H, *J* = 7.2, 7.2 Hz, Et), 0.95 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz, 6Me), 0.89 (s, 9H, TBS), 0.02 (s, 6H, TBS) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 168.3 (s, C3), 145.7 (d, C5), 138.7 (s, C_{Ar}), 135.0 (d, C11), 128.2 (d, C_{Ar}), 127.7 (d, C_{Ar}), 127.5 (d, C_{Ar}), 126.4 (s, C4), 118.8 (t, C12), 84.9 (d, C10), 78.2

(d, C9), 72.8 (t, OBn), 71.6 (d, C7), 60.3 (t, Et), 56.7 (q, OMe), 37.5 (d, C6), 36.2 (d, C8), 25.9 (q, TBS), 18.1 (s, TBS), 14.3 (q, 6Me), 13.3 (q, 4Me), 12.5 (q, Et), -4.1 (q, TBS), -4.8 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH₂Cl₂): +17.7 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₂₈H₄₆O₅SiNa 513.3012 ([M+Na]⁺), gefunden bei 513.3012 m/z.

(4S,5S,7R,8R,E)-7-(Benzyloxy)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dien-1-ol (86)



I. ausgehend vom Oxazolidinon über VMAR

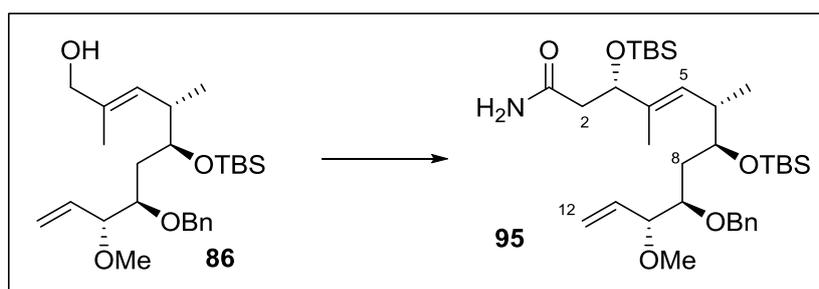
(*S*)-4-Benzyl-3-[(4*S*,5*S*,7*R*,8*R*,*E*)-7-(benzyloxy)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-8-methoxy-2,4-dimethyldeca-2,9-dienoyl]oxazolidin-2-on (**102**; 20 mg; 32 μmol; 1.0 Äq.) wird in Et₂O (1 mL) und MeOH (50 μL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiBH₄ (1.1 mg; 48 μmol; 1.5 Äq.) wird in einer Portion zugegeben und die Reaktion für 12 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer 1 M HCl gestoppt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 5:1) wird der Alkohol **86** (9 mg; 20 μmol; 63 %) als klare farblose Flüssigkeit erhalten.

II. ausgehend vom Ester über WITTIG Reaktion

Ester **92** (5.17 g; 10.54 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (230 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Unter Rühren wird die Lösung mit DIBAL-H (1 M in Hexan; 26.35 mL; 26.35 mmol; 2.5 Äq.) tropfenweise versetzt und für 30 min gerührt. Die Lösung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt, dort 5 min gehalten, anschließend wieder auf -78 °C gekühlt und durch Zugabe einer gesättigten ROCHELLE Salz-Lösung hydrolysiert. Die Lösung wird auf Raumtemperatur erwärmt und dort für 12 Stunden gehalten, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organische Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, und das nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 5:1) gereinigt, um Alkohol **86** (4.71 g; 10.50 mmol; quant.) als klares, farbloses Öl zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.25-7.35 (m, 5H, Ph), 5.74 (ddd, 1H, $J = 6.8, 10.3, 17.3$ Hz, H11), 5.20-5.33 (m, 3H, H1 & H8), 4.72 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.54 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 3.95 (s br, 2H, H3), 3.67 (dd, 1H, $J = 8.5, 6.8$ Hz, H10), 3.64 (dd, 1H, $J = 8.2, 3.9$ Hz, H7), 3.54 (ddd, 1H, $J = 8.5, 4.2, 4.0$ Hz, H9), 3.29 (s, 3H, OMe), 2.50 (m, 1H, H6), 1.80 (ddd, 1H, $J = 4.4, 8.2, 14.1$ Hz, H8 β), 1.59 (d, 3H, $J = 0.9$ Hz, 4Me), 1.58 (ddd, 1H, $J = 0.2, 3.9, 14.1$ Hz, H8 α), 0.89 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, 6Me), 0.88 (s, 9H, TBS), 0.02 (s, 3H, TBS), 0.01 (s, 3H, TBS) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 138.8 (s, C_{Ar}), 135.0 (d, C11), 133.6 (s, C4), 130.4 (d, C5), 128.2 (d, C_{Ar}), 127.9 (d, C_{Ar}), 127.4 (d, C_{Ar}), 118.8 (t, C12), 84.8 (d, C10), 78.4 (d, C9), 72.7 (t, OBn), 72.6 (d, C7), 69.3 (d, C3), 56.7 (q, OMe), 37.4 (d, C6), 36.6 (t, C8), 26.0 (q, TBS), 18.1 (s, TBS), 15.2 (q, 6Me), 13.9 (q, 4Me), -4.1 (q, TBS), -4.6 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ ($c = 0.9$; CH_2Cl_2): +24.7 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_4\text{SiNa}$ 471.2907 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 471.2904 m/z, R_f (PE/EE 5:1): 0.31.

(3*S*,6*S*,7*S*,9*R*,10*R*,*E*)-9-(Benzyloxy)-3,7-bis[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-10-methoxy-4,6-dimethyldodeca-4,11-dienamid (95)



a) Oxidation

Allylalkohol **86** (0.83 g; 1.85 mmol; 1.0 Äq) wird in Dichlormethan (20 mL) gelöst, mit NaHCO_3 (0.62 g; 7.4 mmol; 4.0 Äq.) und DMP (1.57 g; 3.7 mmol; 2.0 Äq.) versetzt und die Suspension für 30 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von weiterem festem NaHCO_3 , gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung gestoppt und für 3 h gerührt. Anschließend werden die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 10:1) um den α,β -ungesättigten Aldehyd **87** (0.80 g; 1.79 mmol; 97 %) als farbloses, klares Öl zu erhalten, welches ohne weitere Charakterisierung weiter verwendet wird.

R_f (PE/EE 12:1): 0.29.

b) Aldol

BSA (0.22 g; 1.10 mmol; 2.0 Äq.) wird in THF (10 mL) gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. *n*-BuLi (2.5 M; 0.44 mL; 1.10 mmol; 2.0 Äq.) wird zugetropft und die Lösung für 30 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Die Lösung wird auf $-105\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und der α,β -ungesättigte Aldehyd **87** (0.24 g; 0.54 mmol; 1.0 Äq.) in THF (3 mL) gelöst, vorgekühlt auf $-105\text{ }^{\circ}\text{C}$, per Transferkanüle zugegeben. Der Reaktionsansatz wird über 1 h langsam auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt, dann für 2 h gerührt und anschließend wird eine Mischung aus 1 M $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ /THF 1:1 (20 mL) zugegeben. Die Lösung wird langsam auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt (*Hinweis*: rasche Eliminierung bei Raumtemperatur) und dort für 1 h gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von festem NaHCO_3 bis zur Neutralisation beendet wird. Das THF wird im Vakuum entfernt, Essigester zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird mehrfach mit Essigester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Aldoladdukt **95** wird direkt, ohne weitere Reinigung oder Lagerung für die Schätzung genutzt.

R_f (PE/EE 1:1): 0.13 (richtiges Diast), 0.19 (falsches Diast.).

c) TBS Schützung

Das Aldoladdukt **95** (0.54 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (10 mL) gelöst, auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und mit 2,6-Lutidin (0.22 mL; 0.21 g; 1.93 mmol; 3.5 Äq.) versetzt. TBSOTf (0.32 mL; 0.36 g; 1.36 mmol; 2.5 Äq.) wird langsam zugetropft und die Lösung für 5 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und der Reaktionsansatz anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt, und für weitere 12 h gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt, die Phasen getrennt, und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mehrfach säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 2:1 \rightarrow 1:1), um das geschützte Aldoladdukt **96** (0.27 g; 0.44 mmol; 83 %) als klares, farbloses Öl zu erhalten. Das nicht gewünschte Diastereomer (3*R*)-**96** (0.07 g; 0.10 mmol; 17 %) kann ebenfalls isoliert werden, womit sich ein *d.r.* von 4.22 : 1 ergibt.

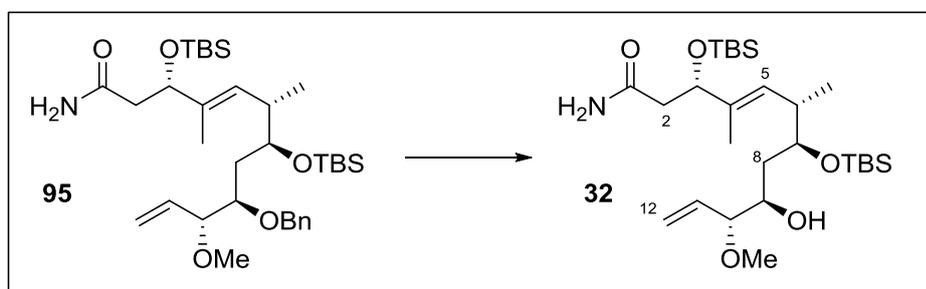
(3*S*,6*S*,7*S*,9*R*,10*R*,*E*)-9-(Benzyloxy)-3,7-bis[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-10-methoxy-4,6-

dimethyldodeca-4,11-dienamid (96) $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.22-7.34 (m, 5H, Ph), 5.91 (s br, 1H, NH), 5.77 (ddd, 1H, $J = 7.2, 10.3, 17.3\text{ Hz}$, C11), 5.46 (qd, 1H, $J = 0.8, 8.0\text{ Hz}$, H5), 5.22-5.31 (m, 2H, H12), 4.69 (d, 1H, $J = 11.4\text{ Hz}$, Bn), 4.55 (d, 1H, $J = 11.4\text{ Hz}$, Bn), 4.35 (dd, 1H, $J = 3.8, 7.6\text{ Hz}$, H3), 3.71 (ddd, 1H, $J = 4.6, 4.6, 7.7\text{ Hz}$, H7), 3.64 (dd, 1H, $J = 5.0, 7.2\text{ Hz}$, H10), 3.59 (ddd, 1H, $J = 5.0, 7.2, 8.5\text{ Hz}$, H9), 3.29 (s, 3H, OMe), 2.59 (m, 1H, H6), 2.39 (dd, 1H, $J = 7.6, 14.2\text{ Hz}$, H2 α), 2.32 (dd, 1H, $J = 3.8, 14.2\text{ Hz}$, H2 β), 1.82 (ddd, 1H, $J = 4.6, 7.2, 14.1\text{ Hz}$, H8 α), 1.61 (ddd, 1H, $J = 4.9, 8.5, 14.1\text{ Hz}$, H8 β), 1.51 (d, 3H, $J = 0.8\text{ Hz}$, 4Me), 0.89 (s, 9H, TBS), 0.89 (s, 9H, TBS), 0.86 (d, 3H, $J = 7.2\text{ Hz}$, 6Me), 0.06 (s, 3H, TBS), 0.04 (s, 3H, TBS), 0.02 (s, 3H, TBS), 0.01 (s, 3H, TBS) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 173.41 (s, C1), 138.9 (s, C_{Ph}), 135.2 (d, C11), 135.2 (s, C4), 129.3 (d, C5), 128.2 (d, C_{Ph}), 127.6 (d, C_{Ph}), 127.4 (d, C_{Ph}), 118.5 (t, C12), 84.8 (d, C10), 78.4 (d, C9), 74.8 (d, C3), 72.9 (t, OBn), 72.8 (d, C7), 56.8 (q, OMe), 44.0 (t, C2), 36.9 (d, C6), 35.5 (t, C8), 26.0 (q, TBS), 25.8 (q, TBS), 18.1 (s, TBS), 18.1 (s, TBS), 15.3 (q, 6Me), 12.5 (q, 4Me), -4.0 (q, TBS), -4.4 (q, TBS), -4.5 (q, TBS), -5.3 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 0.6; CH_2Cl_2): +1.7 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{62}\text{NO}_5\text{Si}_2$ 620.4167 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), gefunden bei 620.4144 m/z, \mathbf{R}_f (PE/EE 1:1): 0.58.

(3R,6S,7S,9R,10R,E)-9-(Benzyloxy)-3,7-bis[(tert-butyldimethylsilyl)oxy]-10-methoxy-4,6-dimethyldodeca-4,11-dienamid (falsches Diastereomer) $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.24-7.36 (m, 5H, Ph), 5.89 (s br, 1H, NH), 5.77 (ddd, 1H, $J = 7.1, 10.4, 17.4$ Hz, H11), 5.22-5.31 (m, 3H, H12, H5), 4.67 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.55 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, Bn), 4.36 (dd, 1H, $J = 3.6, 8.2$ Hz, H3), 3.56-3.66 (m, 3H, H7, H9, H10), 3.29 (s, 3H, OMe), 2.53 (dq, 1H, $J = 4.9, 7.0$ Hz, H6), 2.43 (dd, 1H, $J = 8.2, 14.0$ Hz, H2 α), 2.26 (dd, 1H, $J = 3.6, 14.0$ Hz, H2b), 1.79 (ddd, 1H, $J = 14.3, 4.6, 6.7$ Hz, H8a), 1.61 (ddd, 1H, $J = 4.5, 8.5, 14.4$ Hz, H8 β), 1.45 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, 4Me), 0.88 (s, 9H, TBS), 0.87 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, 6Me), 0.87 (s, 9H, TBS), 0.05 (s, 3H, TBS), 0.03 (s, 3H, TBS), 0.02 (s, 3H, TBS), 0.00 (s, 3H, TBS) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 173.4 (s, C1), 138.8 (s, C_{Ph}), 135.4 (d, C11), 135.3 (s, C4), 130.2 (d, C5), 128.2 (d, C_{Ph}), 127.9 (d, C_{Ph}), 127.4 (d, C_{Ph}), 118.5 (t, C12), 84.5 (d, C10), 78.0 (d, C9), 75.9 (d, C3), 72.9 (t, OBn), 72.6 (d, C7), 56.8 (q, OMe), 43.4 (t, C2), 37.3 (d, C6), 35.2 (t, C8), 25.9 (q, TBS), 25.8 (q, TBS), 18.1 (s, TBS), 18.1 (s, TBS), 15.6 (q, 6Me), 11.2 (q, 4Me), -4.1 (q, TBS), -4.5 (q, TBS), -4.5 (q, TBS), -5.2 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 0.7; CH_2Cl_2): +12.3 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{62}\text{NO}_5\text{Si}_2$ 620.4167 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), gefunden bei 620.4145 m/z, \mathbf{R}_f (PE/EE 1:1): 0.68.

(3S,6S,7S,9R,10R,E)-3,7-Bis[(tert-butyldimethylsilyl)oxy]-9-hydroxy-10-methoxy-4,6-dimethyldodeca-4,11-dienamid (32)



a) Bildung des Radikalanions

DBBP (2.72 g; 10.2 mmol; 10.0 Äq.) wird in THF (20 mL) gelöst, Lithium (0.10 g; 15.3 mmol, 15.0 Äq.) zugegeben und gerührt. Nach etwa 10 min ist eine Grünfärbung zu beobachten und der Reaktionsansatz wird auf 0 °C gekühlt und für weitere 6 h intensiv gerührt. Das Radikalanion kann

anschließend unter Argonatmosphäre bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert werden und ist so für etwa eine Woche haltbar.

b) Entschüttung

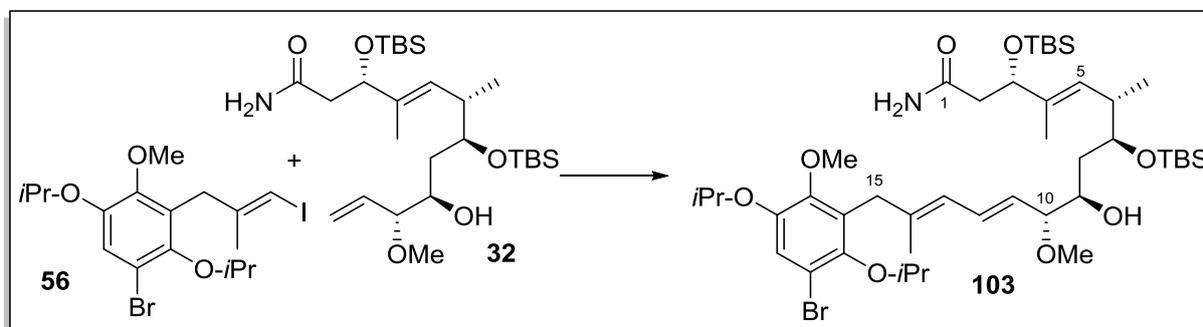
(3*S*,6*S*,7*S*,9*R*,10*R*,*E*)-9-(Benzyloxy)-3,7-bis[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-10-methoxy-4,6-dimethyldodeca-4,11-dienamid (**95**; 0.63 g; 1.02 mmol; 1.0 Äq.) wird in THF (5 mL) gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Die Lösung des Radikalanions in THF wird langsam zugetropft, bis keine Entfärbung mehr auftritt und die Reaktion abgeschlossen ist (Kontrolle per DC). Die Reaktion wird durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und auf Raumtemperatur erwärmt. THF wird im Vakuum entfernt und der Rest in Essigester aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und das so erhaltene Rohprodukt wird chromatographisch gereinigt (PE/EE 2:1→1:1) um (3*S*,6*S*,7*S*,9*R*,10*R*,*E*)-3,7-Bis[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-9-hydroxy-10-methoxy-4,6-dimethyldodeca-4,11-dienamid (**32**; 0.52 g; 0.99 mmol; 97 %) als farbloses Öl zu erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁶⁰ Es lässt sich in allen Spektren ein weiteres Rotamer detektieren (in einem Verhältnis von 5:1) – im Folgenden werden ausschließlich die Verschiebungen für das Hauptrotamer angegeben.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.97 (s br, 1H, NH), 5.66 (ddd, 1H, $J = 8.1, 10.5, 17.2$ Hz, H11), 5.41-5.50 (m, 1H, H5), 5.24-5.37 (m, 2H, H12), 4.36 (dd, 1H, $J = 6.7, 4.3$ Hz, H3), 3.76 (ddd, 1H, $J = 10.6, 6.9, 5.3$ Hz, H7), 3.66 (dddd, 1H, $J = 6.6, 0.2, 0.1, 2.8$ Hz, H9), 3.35 (dd, 1H, $J = 7.2, 7.2$ Hz, H10), 3.30 (s, 3H, OMe), 2.78 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, OH), 2.64 (dq, 1H, $J = 6.9, 4.8$ Hz, H6), 2.28-2.51 (m, 2H, H2), 1.74 (s br, NH), 1.68 (ddd, 1H, $J = 2.6, 0.2, 14.2$ Hz, H8a), 1.74 (s, 3H, 4Me), 1.52 (ddd, 1H, $J = 9.6, 0.1, 14.2$ Hz, H8b), 0.89 (s, 9H, TBS), 0.88 (s, 9H, TBS), 0.85 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz, 6Me), 0.06 (s, 3H, TBS), 0.06 (s, 3H, TBS), 0.06 (s, 3H, TBS), 0.03 (s, 3H, TBS) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): 173.6 (s, C1), 135.2 (s, C4), 135.0 (d, C11), 128.8 (d, C5), 119.9 (t, C12), 86.8 (d, C10), 75.5 (d, C3), 74.1 (d, C7), 70.9 (d, C9), 56.5 (q, OMe), 43.9 (t, C2), 36.9 (t, C8), 36.9 (d, C6), 25.9 (q, TBS), 25.8 (q, TBS), 18.1 (s, TBS), 18.0 (s, TBS), 15.8 (q, 6Me), 12.8 (q, 4Me), -4.2 (q, TBS), -4.3 (q, TBS), -4.6 (q, TBS), -5.3 (q, TBS) ppm; **[α]_D²⁰** ($c = 0.87$; CH₂Cl₂): -8.3 ° ; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₂₇H₅₅NO₅Si₂ 552.351 ([M+Na]⁺), gefunden bei 552.3513 m/z; **R_f** (PE/EE 1:1): 0.29.

5.6 DARSTELLUNG DER VERBINDUNGEN AUS KAPITEL 3.1.4

(3*S*,4*E*,6*S*,7*S*,9*S*,11*E*,13*E*)-15-(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)-3,7-bis[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-9-hydroxy-4,6,14-trimethylpentadeca-4,11,13-trienamid (**103**)

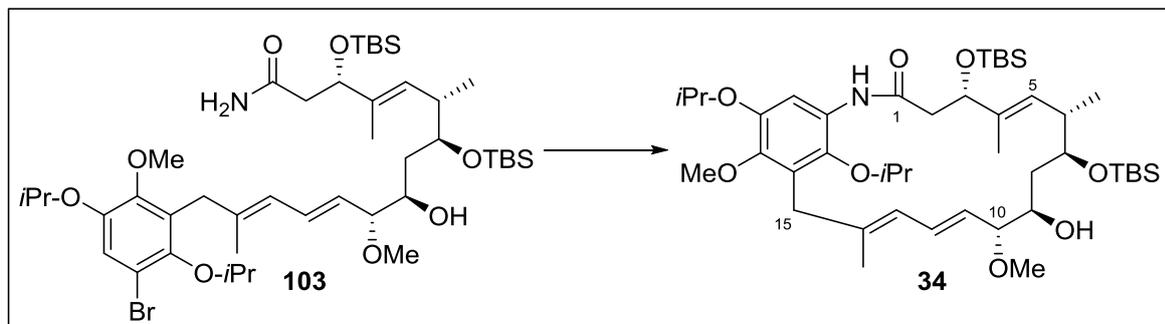


(*E*)-1-Brom-3-(3-iod-2-methylallyl)-2,5-diisopropoxy-4-methoxybenzol (**56**; 49 mg; 0.1 mmol; 1.4 Äq.) und (3*S*,6*S*,7*S*,9*S*,*E*)-3,7-bis[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-9-hydroxy-4,6-dimethyldodeca-4,11-dienamid (38 mg; 0.072 mmol; 1.0 Äq.) werden in entgastem DMF (0.3 mL) gelöst, mit TBABr (23 mg; 0.072 mmol; 1.0 Äq.), Cs₂CO₃ (26 mg; 0.079 mmol; 1.1 Äq.) und Pd(OAc)₂ (16 mg; 0.072 mmol; 1.0 Äq.) versetzt und der Reaktionsansatz nach Zugabe von Triethylamin (10 µL; 7 mg; 0.072 mmol, 1.0 Äq.) über Nacht gerührt. Die Reaktionslösung wird direkt auf eine Kieselgelsäule (konditioniert mit PE/EE 5:1) aufgetragen und chromatographisch gereinigt (PE/EE 5:1→1:1) um (3*S*,4*E*,6*S*,7*S*,9*S*,11*E*,13*E*)-15-(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)-3,7-bis[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-9-hydroxy-4,6,14-trimethylpentadeca-4,11,13-trienamid (**103**; 45 mg; 0.051 mmol; 71 %) als orange-braunen Schaum zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.02 (s, 1H, H_{Ar}), 6.45 (dd, 1H, *J* = 15.1, 11.1 Hz, H₁₂), 5.98 (br s, 1H, NH), 5.71 (d, 1H, *J* = 10.9 Hz, H₁₃), 5.48 (d, 1H, *J* = 9.6 Hz, H₅), 5.30 (dd, 1H, *J* = 15.1, 8.5 Hz, H₁₁), 5.36 (s, br, 1H, NH), 4.48 (sept, 1H, *J* = 6.3 Hz, *i*Pr), 4.43 (sept, 1H, *J* = 6.1 Hz, *i*Pr), 4.37 (dd, 1H, *J* = 6.8, 4.1 Hz, H₃), 3.76 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.77 (m, 1H, H₇), 3.37 (dd, 1H, *J* = 7.5, 7.9 Hz, H₁₀), 2.70 (br s, 1H, OH), 2.59-2.70 (m, 1H, H₆), 2.34-2.46 (m, 2H, H₂), 1.78 (s, 3H, 14Me), 1.64 (m, 1H, H_{8α}), 1.62 (s, 3H, 4Me), 1.51 (ddd, 1H, *J* = 14.3, 9.6, 4.7 Hz, H_{8β}), 1.37 (d, 6H, *J* = 6.1 Hz, *i*Pr), 1.30 (d, 6H, *J* = 6.3 Hz, *i*Pr), 0.92 (s, 9H, TBS), 0.90 (s, 9H, TBS), 0.84 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, 6Me), 0.08 (s, 3H, TBS), 0.07 (s, 3H, TBS), 0.06 (s, 3H, TBS), 0.05 (s, 3H, TBS) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 173.6 (s, C₁), 148.7 (s, C_{Ar}), 147.4 (s, C_{Ar}), 147.2 (s, C_{Ar}), 139.0 (s, C₁₄), 135.0 (s, C₄), 131.7 (s, C₁₂), 129.1 (s, C_{Ar}), 127.2 (d, C₅), 126.6 (d, C₁₁), 124.1 (d, C₁₃), 118.3 (s, C_{Ar}), 111.1 (d, C_{Ar}), 86.6 (d, C₁₀), 76.0 (d, *i*Pr), 74.5 (d, C₃), 73.8 (d, C₇), 71.5 (d, *i*Pr), 71.0 (d, C₉), 60.4 (q, OMe_{Ar}), 56.3 (q, OMe_{Alk}), 43.9 (t, C₂), 37.4 (t, C₈), 36.6 (d, C₆), 35.1 (t, C₁₅), 25.9 (q, TBS), 25.8 (q, TBS), 22.3 (q, *i*Pr), 22.1 (q, *i*Pr), 18.1 (q, TBS), 18.1 (q, TBS), 17.3 (q, 14CMe), 15.4 (q, 7CMe), 12.8 (q, 4CMe), -4.1 (q, TBS), -4.4 (q, TBS), -4.6 (q, TBS), -5.3 (q, TBS) ppm; [α]_D²⁰ (c = 0.9;

CH_2Cl_2): -8.7° ; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{44}\text{H}_{78}\text{NO}_8\text{BrSi}_2\text{Na}$ 906.4371 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 906.4347 m/z.

Lactam 34



(3*S*,4*E*,6*S*,7*S*,9*S*,11*E*,13*E*)-15-(3-Brom-2,5-diisopropoxy-6-methoxyphenyl)-3,7-bis[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-9-hydroxy-4,6,14-trimethylpentadeca-4,11,13-trienamid (**103**; 30 mg; 34 μmol ; 1.0 \AA q.) wird in entgastem Toluol (3.5 mL) gelöst und mit CuI (6.5 mg; 34 μmol ; 1.0 \AA q.), *N,N'*-Dimethylethylen-1,2-diamin (7.4 μL ; 6 mg; 68 μmol ; 2.0 \AA q.) und K_2CO_3 (14 mg; 102 μmol ; 3.0 \AA q.) versetzt und bei 110°C für 12 d gerührt. Die Lösung wird auf Raumtemperatur gekühlt, mit Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 8:1 \rightarrow 1:1), um das Lactam als Atropisomer **34a** (13 mg; 16 μmol ; 46 %) als farblosen Feststoff zu erhalten. Wird die Reaktion nach vier Tagen unterbrochen findet sich ein Verhältnis von 1.2:1 der Atropisomere **34a** zu **34b**.

Atropisomer A (**34a**)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.99 (s, 1H, H_{Ar}), 7.50 (s, 1H, NH), 6.40 (dd, 1H, $J = 15.1, 10.9$ Hz, H12), 6.14 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz, H13), 5.30 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, H5), 5.18 (dd, 1H, $J = 15.1, 8.5$ Hz, H11), 4.52 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 4.40 (dd, 1H, $J = 10.4, 4.9$ Hz, H3), 4.15 (sept, 1H, $J = 5.9$ Hz, *iPr*), 3.78 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.56 (ddd, 1H, $J = 10.2, 2.4, 1.0$ Hz, H9), 3.34 (s, 3H, OMe_{Alk}), 3.24-3.40 (m, 3H, H15, H10), 3.15-3.21 (m, 1H, H7), 2.97 (s, 1H, OH), 2.59 (dd, 1H, $J = 11.6, 4.8$ Hz, H2 α), 2.45 (dd, 1H, $J = 11.8, 10.8$ Hz, H2 β), 1.86-1.97 (m, 1H, H6), 1.79 (s, 3H, 14Me), 1.67 (s, 3H, 4Me), 1.44 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 1.40-1.44 (m, 1H, 8 α), 1.24-1.27 (m, 1H, 8 β), 1.32 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, *iPr*), 1.31 (d, 6H, $J = 5.9$ Hz, *iPr*), 0.88 (s, 9H, TBS), 0.81 (s, 9H, TBS), 0.07 (s, 3H, TBS), 0.02 (s, 6H, TBS), -0.04 (s, 3H, TBS), -0.12 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 167.9 (s, C1), 146.8 (s, C_{Ar}), 144.0 (s, C_{Ar}), 139.5 (s, C14), 137.7 (s, C_{Ar}), 133.3 (d, C5), 132.2 (s, C4), 132.0 (d, C12), 129.3 (s, C_{Ar}), 128.1 (d, C11), 127.7 (s, C_{Ar}), 125.6 (d, C13), 104.6 (s, C_{Ar}), 104.6

(d, C_{Ar}), 85.9 (d, C10), 77.2 (d, C3), 76.5 (d, *i*Pr), 74.1 (d, C9), 72.1 (d, C7), 71.3 (d, *i*Pr), 60.8 (q, OMe_{Ar}), 56.6 (q, OMe_{Alk}), 47.3 (t, C2), 39.4 (t, C8), 34.9 (d, C6), 33.4 (t, C15), 25.8 (q, TBS), 25.7 (q, TBS), 23.1 (q, *i*Pr), 22.4 (q, *i*Pr), 22.1 (q, *i*Pr), 22.0 (q, *i*Pr), 18.0 (q, TBS), 17.6 (q, 14Me), 17.5 (s, TBS), 17.3 (s, TBS), 10.3 (q, 6Me), 10.2 (q, 4Me), 1.01 (q, TBS), -4.3 (q, TBS), -4.7 (q, TBS), -4.9 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.1; CH₂Cl₂): -130.5°; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₄₄H₇₇NO₈Si₂Na 826.5085 ([M+Na]⁺), gefunden bei 826.5102 m/z; **R_f** (PE/EE 4:1): 0.67.

NOESY (CDCl₃, 400 MHz):

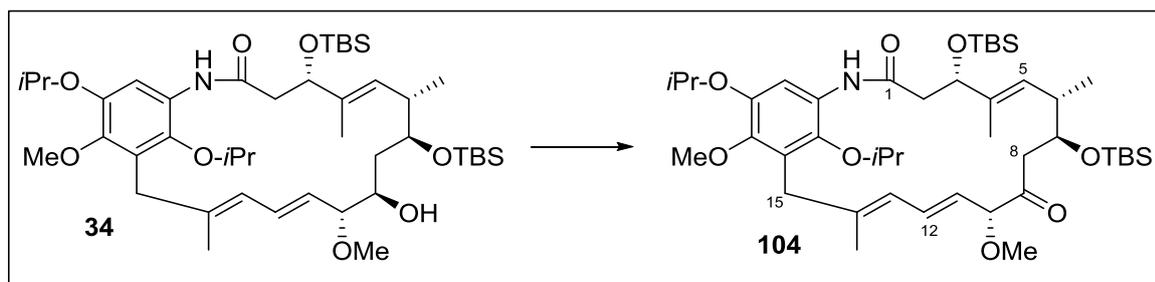
Proton	nOe Kontakte
2α	NH (w), 2b, 3, 4Me (w)
2β	NH, 2α, 3, 4Me
3	NH, 5, 2α, 2b, 4Me
4Me	NH, 12 (w), 11 (w), 3 (w), 9, 7, 10, 2α (w), 2β, 6, 6Me
5	3, 6Me
6	NH (w), 12 (w), 13 (w), 9, 7, 10, 4Me, 6Me
6Me	19 (w), NH (w), 12 (w), 13 (w), 5, 9 (w), 6, 14Me, 15 (w), 4Me, 17OMe (w)
7	13, 11, 9, OH, 6, 14Me (w), 4Me
9	11, 10OMe, 6, 4Me, 8a, 8b
10OMe	13, 11, 21 <i>Oi</i> Pr, 14Me
11	12, 13, 10OMe, 6 (w), 4Me (w), 6Me (w)
12	13, 11, 10, 14Me, 6Me (w)
13	11, 10OMe, 14Me, 4Me (w), 6Me (w)
14Me	12, 13 (w), 17OMe, 15, 6Me
15	13, 11, 21 <i>Oi</i> Pr, 14Me, 6Me (w)
17OMe	13 (w), 18 <i>Oi</i> Pr (w), 14Me, 6Me (w)
18<i>Oi</i>Pr	19
19	NH (w), 18 <i>Oi</i> Pr, 17OMe (w), 6Me (w)
21<i>Oi</i>Pr	NH, 10OMe
NH	11 (w), 3 (w), 2α, 2β, 4Me, 6Me (w), 21 <i>Oi</i> Pr (w)

Atropisomer B (34b)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 283K): 6.69 (s, H_{Ar}), 6.46 (dd, 1H, *J* = 10.9, 14.8 Hz, H12), 5.36 (d, 1H, *J* = 9.7 Hz, H5), 5.16 (d, 1H, *J* = 10.9 Hz, H13), 5.05 (dd, 1H, *J* = 8.8, 14.8 Hz, H11), 4.51 (sept, 1H, *J* = 5.7 Hz, *i*Pr), 4.46-4.55 (m, 1H, H3), 4.20 (sept, 1H, *J* = 5.7 Hz, *i*Pr), 3.77 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.67-3.82 (m, 2H, H7, H9), 3.36-3.43 (m, 2H, H15), 3.21 (s, 3H, OMe_{Alk}), 2.48 (qd, 1H, *J* = 6.3, 15.1 Hz, H6), 2.40 (d, 1H, *J* = 15.8 Hz, H2α), 2.15 (dd, 1H, *J* = 6.3, 15.2 Hz, 2β), 1.94 (s, 3H, 14Me), 1.58-1.65 (m,

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.99 (s, 1H, HAr), 7.44 (s, 1H, NH), 6.62 (dd, 1H, $J = 10.9, 15.0$ Hz, H12), 6.15 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz, H13), 5.16 (dd, 1H, $J = 8.5, 15.0$ Hz, H11), 5.06 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, H5), 4.53 (sept, 1H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 4.38 (dd, 1H, $J = 5.5, 10.9$ Hz, H7), 4.28 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, H10), 4.14 (sept, 1H, $J = 5.9$ Hz, *i*Pr), 4.10 (dd, 1H, $J = 2.9, 11.1$ Hz, H3), 3.79 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.34 (s, 3H, OMe_{Alk}), 3.34 (s, 2H, H15), 2.86 (dd, 1H, $J = 11.1, 15.7$ Hz, H2 α), 2.56 (dd, 1H, $J = 5.5, 11.5$ Hz, H8 α), 2.43 (dd, 1H, $J = 11.5, 10.9$ Hz, H8 β), 2.07 (dd, 1H, $J = 2.9, 15.7$ Hz, H2 β), 1.78 (s, 3H, 14Me), 1.72 (dd, 1H, $J = 6.5, 9.6$ Hz, H6), 1.57 (s, 3H, 4Me), 1.41 (d, 3H, $J = 5.9$ Hz, *i*Pr), 1.34 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.31 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.22 (d, 3H, $J = 5.9$ Hz, *i*Pr), 0.88 (s, 9H, TBS), 0.80 (s, 9H, TBS), 0.07 (s, 3H, TBS), 0.03 (s, 3H, TBS), -0.03 (s, 3H, TBS), -0.04 (s, 3H, TBS), -0.06 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 204.0 (s, C9), 167.9 (s, C1), 146.8 (s, CAr), 176.7 (s, C1), 149.4 (s, CAr), 148.2 (s, CAr), 147.2 (s, CAr), 140.3 (s, C14), 138.0 (s, C4), 132.4 (s, CAr), 130.1 (d, C12), 128.6 (d, C11), 127.6 (s, CAr), 127.4 (d, C4), 124.5 (d, C13), 115.0 (d, CAr), 88.7 (d, C10), 76.8 (d, *i*Pr), 76.0 (d, C7), 74.8 (d, *i*Pr), 72.7 (d, C3), 71.4 (d, C9), 61.1 (q, OMe_{Ar}), 56.5 (q, OMe_{Alk}), 42.0 (t, C2), 41.4 (d, C6), 40.7 (t, C8), 34.3 (t, C15), 26.8 (q, TBS), 26.7 (q, TBS), 23.1 (q, *i*Pr), 22.6 (q, *i*Pr), 22.4 (q, *i*Pr), 22.4 (q, *i*Pr), 19.1 (q, 14Me), 18.2 (q, 6Me), 15.0 (q, 4Me), -3.5 (q, TBS), -3.8 (q, TBS), -4.2 (q, TBS), -4.8 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 1.0; CH_2Cl_2): -24.8°; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{44}\text{H}_{77}\text{NO}_8\text{Si}_2\text{Na}$ 826.5085 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 826.5084 m/z; **R_f** (PE/EE 4:1): 0.33

TBS-Proansamitocin 104

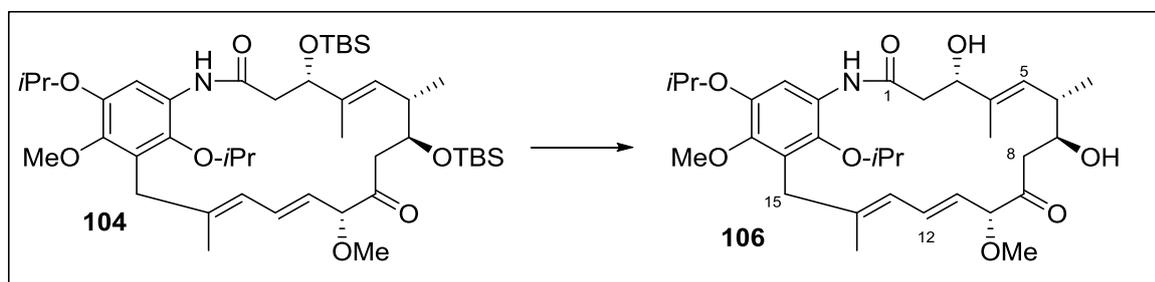


Proansaalkohol **34a** (59 mg; 73 μmol ; 1.0 Äq.) wird in trockenem Dichlormethan (5 mL) gelöst, mit Pyridiniumdichromat (140 mg; 360 μmol ; 5.0 Äq.) und einer Spatelspitze MS 3 Å versetzt und für 3 h bei 0 °C gerührt. Die Lösung wird über Kieselgel filtriert, mit Ether nachgewaschen und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (PE/EE 8:1) gereinigt, um TBS-Proansamitocin **104** (30 mg; 38 μmol ; 52 %) als farblose Flüssigkeit zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.99 (s, 1H, HAr), 7.44 (s, 1H, NH), 6.62 (dd, 1H, $J = 10.9, 15.0$ Hz, H12), 6.15 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz, H13), 5.16 (dd, 1H, $J = 8.5, 15.0$ Hz, H11), 5.06 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, H5), 4.53 (sept, 1H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 4.38 (dd, 1H, $J = 5.5, 10.9$ Hz, H7), 4.28 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, H10), 4.14 (sept, 1H, $J = 5.9$ Hz, *i*Pr), 4.10 (dd, 1H, $J = 2.9, 11.1$ Hz, H3), 3.79 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.34 (s, 3H, OMe_{Alk}), 3.34 (s, 2H, H15), 2.86 (dd, 1H, $J = 11.1, 15.7$ Hz, H2 α), 2.56 (dd, 1H, $J = 5.5, 11.5$ Hz, H8 α), 2.43 (dd, 1H, $J = 11.5, 10.9$ Hz, H8 β), 2.07 (dd, 1H, $J = 2.9, 15.7$ Hz, H2 β), 1.78 (s, 3H, 14Me), 1.72 (dd, 1H, $J = 6.5, 9.6$ Hz, H6), 1.57 (s, 3H, 4Me), 1.41 (d, 3H, $J = 5.9$ Hz, *i*Pr), 1.34 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.31 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.22 (d, 3H, $J = 5.9$ Hz, *i*Pr), 0.88 (s, 9H, TBS), 0.80 (s, 9H, TBS), 0.07 (s, 3H, TBS), 0.03 (s, 3H, TBS), -0.03 (s, 3H, TBS), -0.04 (s, 3H, TBS), -0.06 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 204.0 (s, C9), 167.9 (s, C1), 146.8 (s, CAr),

143.8 (s, C₁₄), 141.0 (s, C_{Ar}), 137.6 (s, C_{Ar}), 133.6 (s, C₄), 133.2 (d, C₁₂), 132.6 (d, C₅), 129.3 (s, C_{Ar}), 127.3 (s, C_{Ar}), 125.2 (d, C₁₃), 123.4 (d, C₁₁), 104.4 (d, C_{Ar}), 88.6 (d, C₁₀), 76.9 (d, C₇), 76.3 (d, *i*Pr), 71.2 (d, C₃), 71.1 (d, *i*Pr), 60.9 (q, OMe_{Ar}), 56.6 (q, OMe_{Alk}), 47.3 (t, C₂), 45.5 (t, C₈), 35.3 (d, C₆), 33.7 (t, C₁₅), 25.7 (q, TBS), 23.1 (s, TBS), 22.3 (s, TBS), 22.1 (q, *i*Pr), 22.0 (q, *i*Pr), 17.3 (q, 14Me), 10.7 (q, 6Me), 9.7 (q, 4Me), -4.5 (q, TBS), -4.6 (q, TBS), -4.7 (q, TBS), -4.8 (q, TBS) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 0.4; CH₂Cl₂): -302.0 °; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₄₄H₇₅NO₈Si₂Na 824.4929 ([M+Na]⁺), gefunden bei 824.4929 m/z; **R_f** (PE/EE 8:1): 0.21

Proansamitocin 106



TBS-Proansamitocin **104** (29 mg; 36 μmol; 1.0 Äq.) wird in wässrigem Methanol (1 mL) gelöst und mit PPTS (0.57 g; 2.28 mmol; 60 Äq.) versetzt. Die Reaktion wird bei 40 °C für 48 h gerührt (Reaktionskontrolle mit LC-MS). Die Reaktion wird mit einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung versetzt und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Es wird Essigester zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wird per HPLC gereinigt (MACHEREY NAGEL; NUCLEODUR C18 Isis, 5 μm; Acetonitril/H₂O: 5:95 → 60:40 min 40) um das ungeschützte Proansamitocin **106** als reines Atropisomer **106a** (*t_R*: 25 min; 5.5 mg; 9.6 μmol; 26 %) und Atropisomer **106b** (*t_R*: 27 min; 7.6 mg; 13.2 μmol; 37 %) zu erhalten. Atropisomer **106b** isomerisiert während der Aufarbeitung teilweise zurück in das Atropisomer **106a**. Aufgrund der starken Überlagerung und der Bildung von verschiedenen Konformeren in Lösung ließ sich Atropisomer **106b** per NMR-Spektroskopie nicht hinreichend charakterisieren.

Atropisomer **106a**:

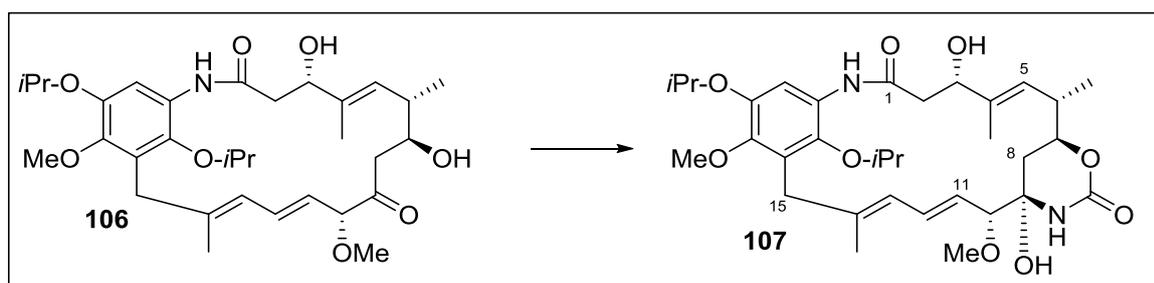
¹H-NMR (500 MHz, MeOD, 283 K): 6.76 (dd, 1H, *J* = 11.5, 15.1 Hz, H₁₂), 6.73 (s, 1H, H_{Ar}), 5.19 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz, H₅), 5.07 (d, 1H, *J* = 11.5 Hz, H₁₃), 4.90 (dd, 1H, *J* = 9.7, 15.1 Hz, H₁₁), 4.56 (sept, 1H, *J* = 6.1 Hz, *i*Pr), 4.49 (dd, 1H, *J* = 0.8, 10.0 Hz, H₃), 4.25 (d, 1H, *J* = 9.7 Hz, H₁₀), 4.20 (sept, 1H, *J* = 6.0 Hz, *i*Pr), 3.78 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.69 (ddd, 1H, *J* = 2.1, 9.8, 9.5 Hz, H₇), 3.52 (d, 1H, *J* = 16.4 Hz, H_{15α}), 3.33 (d, 1H, *J* = 16.4 Hz, H_{15β}), 3.26 (s, 3H, OMe_{Alk}), 2.75 (dd, 1H, *J* = 0.8, 16.8 Hz, H_{2α}), 2.48 (dd, 1H, *J* = 2.1, 18.5 Hz, H_{8α}), 2.37 (dd, 1H, *J* = 9.8, 18.5 Hz, H_{8β}), 2.35 (m, 1H,

H6), 2.01 (s, 3H, 14Me), 1.83 (dd, 1H, $J = 10.0, 16.8$, Hz, H2 β), 1.50 (s, 3H, 4Me), 1.36 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 1.33 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 1.26 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.17 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.01 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD, 283 K): 207.5 (s, C9), 176.2 (s, C1), 149.2 (s, C17), 148.3 (s, C18), 146.2 (s, C21), 143.0 (s, C14), 138.0 (s, C4), 135.5 (d, C12), 129.8 (s, C16), 127.2 (s, C20), 126.5 (d, C5), 126.0 (d, C11), 123.8 (d, C13), 114.2 (d, C19), 89.4 (d, C10), 77.0 (d, *i*Pr), 72.5 (d, *i*Pr), 72.2 (d, C3), 71.5 (d, C7), 61.2 (q, OMeAr), 56.5 (q, OMeAlk), 45.8 (t, C8), 39.9 (d, C6), 39.1 (t, C2), 34.2 (t, C15), 23.1 (q, *i*Pr), 22.5 (q, *i*Pr), 22.5 (q, *i*Pr), 22.3 (q, *i*Pr), 19.2 (q, 14Me), 17.9 (q, 6Me), 15.0 (q, 4Me) ppm; $[\alpha]_D^{20}$ (c = 0.5; MeOH): -230.0° ; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{47}\text{NO}_8\text{Na}$ 596.3199 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 596.3183 m/z.

Atropisomer 106b:

ESI-MS (HRMS) berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{47}\text{NO}_8\text{Na}$ 596.3199 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 596.3195 m/z.

Carbamat 107



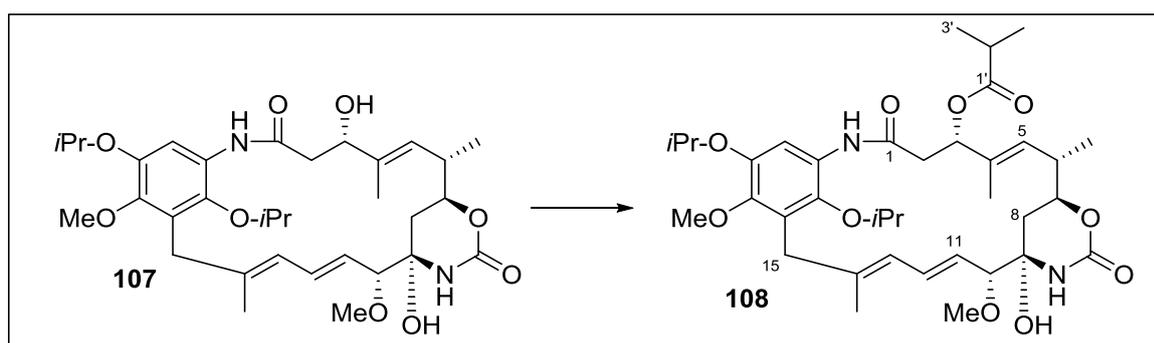
Die Zufütterung von Proansamitocin **106** (3.9 mg; 6.80 μmol ; 1.0 Äq; beide Atropisomere gemischt; gelöst in 2 mL $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ 1:1) zu einer, nach 48 h angeimpften, Hauptkultur von *S. hygroscopicus* K390-61-1 in GPMd Medium (25 mL) erfolgte in vier Portionen je nach 24, 48, 72 und 96 h. Nach 132 h Fermentation wird die Kultur mit Essigester vermischt und die Extraktion mittels Zentrifugation unterstützt. Das Rohprodukt wird über eine kurze Kieselgelsäule filtriert und anschließend per HPLC (MACHEREY NAGEL; NUCLEODUR C18 Isis, 5 μm ; 1. Reinigung: Acetonitril/ H_2O : 5:95 \rightarrow 20:80 bei min 10; \rightarrow 50:50 bei min 40; \rightarrow 70:30 bei min 65; \rightarrow 100:0 bei min 80; 2. Reinigung: MeOH/ H_2O : 5:95 \rightarrow 15:85 bei min 10; \rightarrow 58:42 bei min 40; \rightarrow 65:35 bei min 65; \rightarrow 100:0 bei min 80) gereinigt um die Atropisomere **107a** (t_{R} : 61 min; 1.8 mg; 3.0 μmol ; 43 %) und **107b** (t_{R} : 64 min; 0.3 mg; 0.5 μmol ; 7 %) als farbloser Feststoff zu erhalten. Das Substrat **106** (t_{R} : 58 und 63 min; 1.5 mg; 2.6 μmol ; 38 %) kann zurückgewonnen werden. Aufgrund der starken Überlagerung und der Bildung von verschiedenen Konformeren in Lösung ließ sich Atropisomer **107b** per NMR-Spektroskopie nicht hinreichend charakterisieren.

Atropisomer 107a:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): 6.73 (s, 1H, H_{Ar}), 6.55 (dd, 1H, $J = 10.8, 15.1$ Hz, H12), 5.26 (dq, 1H, $J = 10.2, 0.2$ Hz, H5), 5.19 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz, H13), 5.11 (dd, 1H, $J = 9.6, 15.1$ Hz, H11), 4.57 (sept, 1H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 4.50 (dd, 1H, $J = 10.3, 0.9$ Hz, H3), 4.25 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 4.10 (ddd, 1H, $J = 1.3, 10.1, 12.1$ Hz, H7), 3.83 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.57 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, H15 α), 3.49 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, H10), 3.28 (s, 3H, OMe_{Alk}), 3.23 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, H15 β), 2.67 (dd, 1H, $J = 0.9, 16.7$ Hz, H2 α), 2.57 (qdd, 1H, $J = 5.4, 13.1, 10.1$ Hz, H6), 1.99 (s, 3H, 14Me), 1.84 (dd, 1H, $J = 10.3, 16.7$ Hz, H2 β), 1.59 (d, 1H, $J = 1.3, 13.9$ Hz, H8 α), 1.39 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.35 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, *i*Pr), 1.27 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 1.22 (dd, 1H, $J = 12.1, 13.9$ Hz, H8 β), 1.17 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, *i*Pr), 1.12 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): 176.2 (s, C1), 156.0 (s, Carbamat), 149.3 (s, C_{Ar}), 148.4 (s, C_{Ar}), 146.2 (s, C_{Ar}), 142.0 (s, C14), 139.7 (s, C4), 134.7 (d, C12), 130.5 (s, C_{Ar}), 127.2 (s, C_{Ar}), 126.9 (d, C11), 124.7 (d, C5), 124.5 (d, C13), 114.2 (d, C_{Ar}), 88.8 (d, C10), 81.8 (s, C9), 79.0 (d, C7), 76.6 (d, *i*Pr), 72.6 (d, *i*Pr), 72.4 (d, C3), 61.3 (q, OMe_{Ar}), 56.4 (q, OMe_{Alk}), 39.1 (t, C2), 38.8 (d, C6), 36.4 (t, C8), 33.9 (t, C15), 23.1 (q, *i*Pr), 22.6 (q, *i*Pr), 22.5 (q, *i*Pr), 22.3 (q, *i*Pr), 19.4 (q, 14Me), 17.6 (q, 6Me), 15.2 (q, 4Me) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_9$ 617.3438 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), gefunden bei 617.3438 m/z; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ (c = 0.04; MeOD): -30.0° .

Atropisomer 107b:

ESI-MS (HRMS) berechnet für $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_9$ 617.3438 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), gefunden bei 617.3436 m/z.

Ansamycinhybrid 108

Carbamat **107a** (0.6 mg; 1.0 μmol ; 1.0 $\ddot{\text{A}}\text{q.}$) wird in CH_2Cl_2 (1 mL) gelöst und mit *iso*-Buttersäure (1.0 μL ; 10 μmol ; 10 $\ddot{\text{A}}\text{q.}$), DIC (1.6 μL ; 10 μmol ; 10 $\ddot{\text{A}}\text{q.}$) und 4-DMAP (0.22 mg; 20 μmol ; 20 $\ddot{\text{A}}\text{q.}$) versetzt und für 1 h gerührt. Die Mischung wird über Kieselgur filtriert und mit EE nachgespült. Nach Entfernen des Lösemittels wird das Rohprodukt per HPLC (MACHEREY NAGEL; NUCLEODUR C18 Isis, 5 μm ; MeOH/ H_2O : 5:95 \rightarrow 15:85 bei min 10; \rightarrow 58:42 bei min 40; \rightarrow 65:35 bei min 65; \rightarrow 100:0

bei min 80) gereinigt um Ansamycinhybrid **108a** (t_R : 64 min; 0.6 mg; 0.87 μmol ; 87 %) als farblosen Feststoff zu erhalten.

Carbamat **107b** (0.3 mg; 0.5 μmol) wird analog dazu umgesetzt um Ansamycinhybrid **108b** (t_R : 70 min; 0.4 mg, 0.5 μmol ; quant.) als farblosen Feststoff zu erhalten. Die Substanz bildete in gängigen NMR Lösemitteln keine hinreichend stabile Konformation für ein NMR Spektrum und konnte deshalb nicht hinreichend charakterisiert werden.

Atropisomer 108a:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD, 283 K): 6.69 (s, 1H, H_{Ar}), 6.57 (dd, 1H, $J = 15.3, 10.6$ Hz, H12), 5.53 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz, H3), 5.25 (d, 1H, $J = 10.6$ Hz, H13), 5.17 (dd, 1H, $J = 15.3, 9.4$ Hz, H11), 4.88 (d, $J = 10.3$ Hz, H5), 4.56 (sept, 1H, $J = 6.0$ Hz, $i\text{Pr}$), 4.24 (sept, 1H, $J = 6.1$ Hz, $i\text{Pr}$), 4.07 (ddd, 1H, $J = 11.9, 0.1, 1.7$ Hz, H7), 3.84 (s, 3H, OMe_{Ar}), 3.58 (d, 1H, $J = 15.7$ Hz, $\text{H15}\alpha$), 3.51 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, H10), 3.29 (s, 3H, OMe_{Alk}), 3.23 (d, 1H, $J = 15.7$ Hz, $\text{H15}\beta$), 2.78 (dd, 1H, $J = 17.0, 1.5$ Hz, $\text{H2}\alpha$), 2.58 (sept, 1H, $J = 6.8$ Hz, $\text{H2}'$), 2.55 (m, 1H, H6), 2.10 (dd, 1H, $J = 17.1, 10.9$ Hz, 2β), 2.00 (s, 3H, 14Me), 1.59 (s, 3H, 4Me), 1.52 (dd, 1H, $J = 13.7, 1.3$ Hz, $\text{H8}\alpha$), 1.39 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, $i\text{Pr}$), 1.35 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, $i\text{Pr}$), 1.26 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, $i\text{Pr}$), 1.25 (dd, 1H, $J = 13.7, 11.8$ Hz, $\text{H8}\beta$), 1.17 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz, $\text{H3}'$), 1.17 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, $i\text{Pr}$), 1.16 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz, $3\text{H}'$), 1.03 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz, 6Me) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): 177.3 (s, $\text{C1}'$), 174.4 (s, C1), 155.8 (s, Carbamat), 149.5 (s, C_{Ar}), 148.4 (s, C_{Ar}), 146.2 (s, C_{Ar}), 142.0 (s, C14), 136.0 (s, C4), 134.7 (d, C12), 130.7 (s, C16), 127.1 (s, C_{Ar}), 126.9 (d, C11), 124.6 (d, C5), 124.6 (d, C13), 114.0 (d, C_{Ar}), 88.7 (d, C10), 81.9 (s, C9), 78.7 (d, C7), 76.7 (d, $i\text{Pr}$), 74.2 (d, C3), 72.7 (d, $i\text{Pr}$), 61.4 (q, OMe_{Ar}), 56.5 (q, OMe_{Alk}), 38.7 (d, C6), 36.8 (t, C2), 36.2 (t, C8), 35.3 (d, $\text{C2}'$), 33.9 (t, C15), 23.1 (q, $i\text{Pr}$), 22.6 (q, $i\text{Pr}$), 22.5 (q, $i\text{Pr}$), 22.3 (q, $i\text{Pr}$), 19.5 (q, $\text{C3}'$), 19.4 (q, 14Me), 19.4 (q, $\text{C3}'$), 17.5 (q, 6Me), 15.1 (q, 4Me) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na}$ 709.3676 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 709.3668 m/z; $[\alpha]_D^{20}$ ($c = 0.06$; MeOD): -333.3 °.

Atropisomer 108b:

ESI-MS (HRMS) berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na}$ 709.3676 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), gefunden bei 709.3694 m/z.

5.7 ALLGEMEINE HINWEISE ZU DEN MIKRO- UND MOLEKULARBIOLOGISCHEN ARBEITEN

Alle mikrobiologischen Arbeiten wurden unter keimfreien Bedingungen in einem S1 Labor durchgeführt. Hitzeempfindliche Materialien wurden durch Ethanol oder Isopropanollösung sterilisiert, nicht autoklavierbare Zusätze über Sterilfilter filtriert.

Die folgenden Geräte wurden für mikro- und molekularbiologische Standardoperationen verwendet:

Autoklav VX-95	SYSTEC
French Press R 125	AMERICAN INSTRUMENT COMPANY
Heizblock Blockthermostat tcr 100	ROTH
Inkubator VT5042EK	HAREUS
pH-Meter Checker	HANNA
Photometer UV-1601 PC Spectrophotometer	SHIMADZU
<i>Schüttler</i> : CH-4103	INFORS-AG
<i>Schüttler</i> : Innova 4900 Multi-Tier Environmental Shaker	NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC
Thermoblock Thermostat 5320	EPPENDORF
Thermomixer comfort	EPPENDORF
Vortex Genie 2	SCIENTIFIC INDUSTRIES
<i>Zentrifuge</i> : 5147 R Mikrozentrifuge	EPPENDORF
<i>Zentrifuge</i> : Hareus Megafuge 16R	THERMO SCIENTIFIC

Dialyse

Die Dialyse der Proteomlösungen erfolgte mit den Dialyseschläuchen Visking (CARL ROTH, Deutschland) mit einer Ausschlussgrenze MWCO von 14 kDa.

Gefriertrocknung

Die Lyophilisierung der Proteine erfolgte mittels Sublimation gefrorener wässriger Lösungen mit dem Gerät Alpha 2-4 (CHRIST, Osterode, Deutschland).

Nährmedien

- YMG Agar 250 mL**

Hefeextrakt	1.00 g
Malzextrakt	2.50 g
D-Glucose Monohydrat	1.00 g
Agar	5.50 g
ddH ₂ O	250 mL

- YMG 250 mL**

Hefeextrakt	1.00 g
Malzextrakt	2.50 g
D-Glucose Monohydrat	1.00 g
ddH ₂ O	250 mL

- Korea Medium (K-Medium) 1 L**

Dextrin	60 g
Baumwollsaatmehl	5.25 g
D-Maltose Monohydrat	30 g
Hefeextrakt	4.50 g
K ₂ HPO ₄	0.30 g
Fe ₂ SO ₄ · 7 · H ₂ O	2 mg
CaCO ₃	5.00 g
ddH ₂ O	1 L

- R5 Agar 350 mL**

Saccharose	36.05 g
K ₂ SO ₄	0.09 g
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.95 g
D-Glucose Monohydrat	3.50 g
<i>Casamino acids</i>	0.04 g
Hefextrakt	1.75 g
TES Puffer	2.01 g
Agar	7.70 g
Spurenelementlösung	0.07 mL
ddH ₂ O	350 mL

Zur Lösung des R5-Mediums werden nach dem Autoklavieren 0.3 mL KH₂PO₄-Lösung (0.5 %), 0.12 mL CaCl₂-Lösung (5 M) , 0.45 mL Prolin-Lösung (20 %) und 0.21 mL NaOH-Lösung (1 M) hinzugefügt.

- Spurenelementlösung 100 mL**

ZnCl ₂	40 mg
FeCl ₃ · 6H ₂ O	200 mg
CuCl ₂ · 2H ₂ O	10 mg
MnCl ₂ · 4H ₂ O	10 mg
Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O	10 mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	10 mg
ddH ₂ O	100 mL

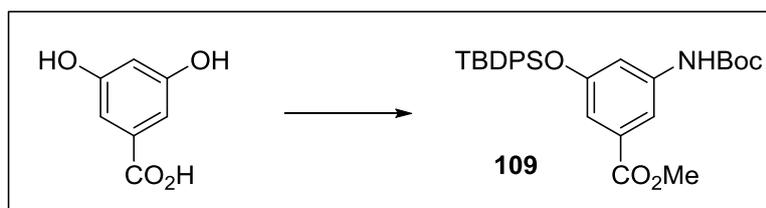
• GYP		400 mL
	Hefeextrakt	1.00 g
	Pepton	4.00 g
	D-Glucose Monohydrat	4.00 g
	Xanthan	1.20 g
	ddH ₂ O	400 mL
• Kryomedium		70 mL
	Glycerin	20 g
	Saccharose	10 g
	ddH ₂ O	70 mL
• GPMd		1 L
	D-Glucose Monohydrat	40.00 g
	Pepton	2.50 g
	Trypton	2.50 g
	Haferbrei	5.00 g
	Hefeextrakt	2.50 g
	Xanthan	3.00 g
	ddH ₂ O	1 L

5.8 EXPERIMENTE ZU KAPITEL 3.2

5.8.1 DARSTELLUNG DER VERBINDUNGEN AUS KAPITEL 3.2

a. Chemische Darstellung der Mutasythone

3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)benzoesäuremethylester (109)¹⁴⁴



3,5-Dihydroxybenzoesäure (22.5 g; 146 mmol; 1.0 Äq.), Ammoniumchlorid (19.1 g; 358 mmol; 2.45 Äq.) und konzentrierter Ammoniak (30 %; 68 mL) werden in einer Stahlbombe (Modell T304, PARR INSTRUMENT COMPANY) für 40 h auf 180 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch *in vacuo* eingedunstet, in MeOH (500 mL) aufgenommen und vorsichtig mit Acetylchlorid (20.8 mL; 18.1 g; 292 mmol; 2.0 Äq.) versetzt und für 36 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt, der Rückstand in Eiswasser aufgenommen und zwei Mal mit Ether extrahiert (die Etherphasen werden verworfen). Die wässrige Phase wird mit NaHCO₃-Lösung neutralisiert und drei Mal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über

¹⁴⁴ T. Uemura, X. Zhang, K. Matsumura, N. Sayo, H. Kumobayashi, T. Ohta, K. Nozaki, H. Takaya, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5510–5516.

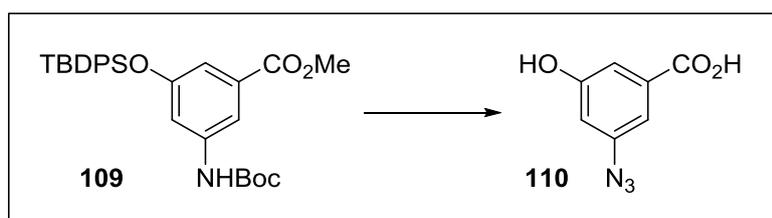
Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Die so erhaltene 3,5-Aminohydroxybenzoesäure kann an dieser Stelle mit konz. Salzsäure als Hydrochlorid umkristallisiert werden (Referenz bei Verfütterungsexperimenten) oder als Rohprodukt direkt weiter verwendet werden.

Das Rohprodukt (146 mmol) des Methyl-3-amino-5-hydroxybenzoats werden in einer Mischung aus THF (80 mL) und gesättigter NaHCO₃-Lösung (320 mL) gelöst und Boc₂O (25.3 g; 175.2 mmol; 1.2 Äq.) zugegeben. Es wird für 1 h bei Raumtemperatur gerührt, dann NaHCO₃ (11.8 g; 204.4 mmol; 1.4 Äq.) zugegeben und die Reaktion für weitere 4 d gerührt. Das THF wird im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Essigester versetzt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird drei Mal mit Essigester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt.

Das Phenolrohprodukt (146 mmol; 1.0 Äq.) wird mit Imidazol (11 g; 175.2 mmol; 1.2 Äq.) in Dichlormethan (300 mL) gelöst, DMAP (1.5 g; 14.6 mmol; 0.1 Äq.) und TBDPSCI (35 mL; 37.0 g; 153.3 mmol; 1.05 Äq.) zugegeben und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert, die Phasen getrennt und die wässrige Phase drei Mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, flitriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (100 % PE → PE/EE 5:1) gereinigt um **109** (47.8 g; 94 mmol; 65 % über 3 Stufen) als farblosen Schaum zu erhalten.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁴

3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)benzoesäuremethylester **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.73 – 7.69 (m, 4H, TBDPS), 7.63 (m, 1H, H_{Ar}), 7.46 – 7.34 (m, 6H, TBDPS), 7.09 (m, 1H, H_{Ar}), 6.96 (m, 1H, H_{Ar}), 6.36 (s, br, 1H, NH), 3.79 (s, 3H, CO₂CH₃), 1.47 (s, 9H, Boc), 1.10 (s, 9H, TBDPS) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ: 166.6 (CO₂), 156.1 (s, Boc), 139.3 (s, C_{Ar}), 135.5 (d, TBDPS), 132.4 (s, C_{Ar}), 131.6 (s, TBDPS), 130.0 (d, TBDPS), 127.8 (d, TBDPS), 115.4 (d, C_{Ar}), 114.2 (d, C_{Ar}), 112.3 (d, C_{Ar}), 80.8 (s, Boc), 52.0 (q, CO₂CH₃), 28.2 (q, Boc), 26.5 (q, TBDPS), 19.4 (s, TBDPS) ppm; **HRMS (ESI):** m/z berechnet für C₂₉H₃₆NO₅Si [M+H]⁺ 506.2363, gefunden bei 506.2365 m/z.

3-Azido-5-hydroxybenzoesäure (N₃HBA; 110)

Methyl-3-(*tert*-butoxycarbonylamino)-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)benzoat (**109**; 2.0 g; 3.96 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dichlormethan (40 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. TFA (15.2 mL; 22.5 g; 197 mmol; 50 Äq.) wird langsam zugetropft und der Reaktionsansatz für 2.5 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wird das Gemisch durch Zugabe von einer NaHCO₃-Lösung neutralisiert. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mehrfach mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Laufmittel PE/EE 3:1) gereinigt, um Methyl-3-amino-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)benzoat (1.79 g; 3.96 mmol; quant.) als gelben Schaum zu erhalten.

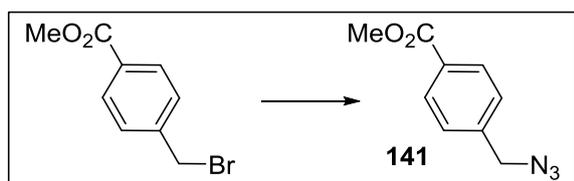
Das Methyl-3-amino-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)benzoat wird in Eisessig (2 mL) gelöst, mit 10 % HCl (6.5 mL) versetzt und auf 0 °C gekühlt. NaNO₂ (0.3 g; 4.366 mmol; 1.4 Äq.) gelöst in kaltem Wasser (1 mL) wird langsam zugetropft und die rot-orange-farbene Lösung wird bei 0 °C für 30 min intensiv gerührt. NaN₃ (0.19 g; 3.0 mmol; 1.5 Äq.) gelöst in Wasser (1 mL) wird langsam zugetropft und der Ansatz für 1 h bei 0 °C gerührt, wobei der entstehende Ester als oranger Feststoff ausfällt. Das Reaktionsgemisch wird auf Raumtemperatur erwärmt, mit Dichlormethan versetzt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird mehrfach mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt, das Rohprodukt über eine kurze Filtersäule (Laufmittel PE/EE 7:1 → 3:1) gereinigt, um Methyl-3-azido-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)benzoat (1.72 g; 3.96 mmol; quant.) als orange-farbene Kristalle zu erhalten.

Methyl-3-azido-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)benzoat (1.72 g; 3.96 mmol, 1.0 Äq.) wird in THF (12 mL) gelöst und mit einer 1 M LiOH (12 mL; 12 mmol; 3.0 Äq.) versetzt. Die Mischung wird für 3 h bei 50 °C gerührt und auf Raumtemperatur gekühlt. Das THF wird im Vakuum weitestgehend entfernt, die Lösung mit Ether gewaschen und anschließend mit 10 %iger Salzsäure angesäuert. Die etherischen Phasen werden verworfen und die wässrige Phase mit Essigester extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet, um nach Filtration und dem Entfernen des Lösemittels 3-Azido-5-hydroxybenzoesäure (**110**; 0.63 g; 3.52 mmol; 89 % über 3 Stufen) als orangen-farbene Kristalle zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, d₆-Aceton): 7.33 (dd, 1H, *J* = 2.1, 1.4 Hz, H_{Ar}), 7.20 (dd, 1H, *J* = 2.1, 1.4 Hz), 6.76 (dd, 1H, *J* = 2.1, 2.1 Hz, H_{Ar}) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, d₆-Aceton): 166.7 (s, CO₂H), 159.6 (s,

C_{Ar}), 142.5 (s, C_{Ar}), 134.2 (s, C_{Ar}), 114.2 (d, C_{Ar}), 111.9 (d, C_{Ar}), 111.0 (d, C_{Ar}) ppm; **IR**: 3065 (bw), 2113 (s, Azidschwingung), 1694 (s, C=O), 1599, 1498, 1442, 1334, 1249, 969, 863, 764, 743 cm^{-1} ; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $C_7H_4N_3O_3$ $[M-H]^-$ 178.0253 gefunden bei 178.0251 m/z.

Methyl-4-(azidomethyl)benzoat

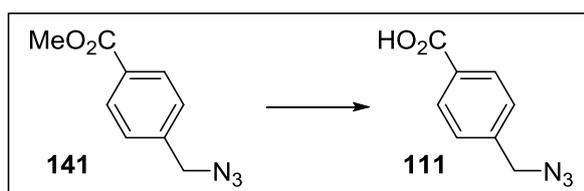


Methyl-4-(bromomethyl)benzoat (1.0 g; 4.37 mmol; 1.0 Äq.) wird in DMF (10 mL) gelöst, mit Natriumazid (1.14 g; 17.47 mmol; 4.0 Äq.) und TBAI (16 mg; 0.044 mmol; 0.01 Äq.) versetzt und auf 60 °C erhitzt. Nach 16 h wird die Reaktionslösung auf Raumtemperatur gekühlt und mit H_2O versetzt. Essigester wird zugegeben und die Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird mit Essigester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird über eine kurze Säule chromatographisch (PE/EE 20:1) gereinigt, um Methyl-4-(azidomethyl)benzoat (**141**; 0.84 g; 4.37 mmol; quant.) als farbloses Öl zu erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁵

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 8.06 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_{Ar}), 7.39 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_{Ar}), 4.42 (s, 2H, CH_2), 3.93 (s, 3H, CH_3) ppm; **^{13}C -NMR** (100, $CDCl_3$): 166.6 (s, CO_2), 140.4 (s, C_{Ar}), 130.1 (d, C_{Ar}), 130.1 (s, C_{Ar}), 127.9 (d, C_{Ar}), 54.3 (q, CH_3), 53.2 (t, CH_2) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $C_9H_{10}N_3O_2$ $[M+H]^+$ 192.0773 gefunden bei 192.0767 m/z, R_f (PE/EE 20:1): 0.31.

4-(Azidomethyl)benzoesäure



Methyl-4-(azidomethyl)benzoat (**141**; 0.81 g; 4.24 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dioxan (5 mL) gelöst und 1 M LiOH (5 mL) Lösung zugegeben. Die Reaktion wird für 3 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor

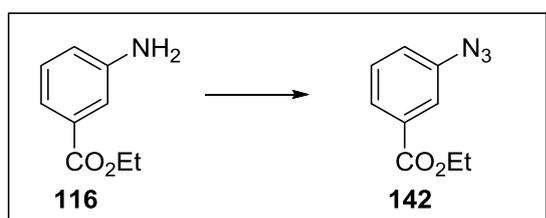
¹⁴⁵ Y. Li, L.-X. Gao, F.-S. Han, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 7969-7972.

Et₂O und eine 1 M NaOH-Lösung zugegeben werden. Die Phasen werden getrennt, die wässrige Phase wird mit Et₂O extrahiert und die etherischen Phasen verworfen. Die wässrige Phase wird mit einer 10 % KHSO₄-Lösung angesäuert, mit Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wird 4-(Azidomethyl)benzoesäure (**111**; 0.73 g; 4.12 mmol; 97 %) als schwach gelblicher Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁶

¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO): 7.96 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz), 7.46 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz), 4.54 (s, 2H, CH₂) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, d₆-DMSO): 167.4 (s, CO₂), 140.1 (s, C_{Ar}), 131.7 (s, C_{Ar}), 129.7 (d, C_{Ar}), 128.3 (d, C_{Ar}), 53.2 (t, CH₂) ppm; IR: 2539 (bw), 2105 (s, Azidschwingung), 1676 (s, C=O), 1609, 1575, 1514, 1422, 1343, 1288, 1179, 1116, 1019, 930, 840, 783, 750, 685, 666 cm⁻¹; ESI-MS (HRMS) berechnet für C₈H₆N₃O₂ [M-H]⁻ 176.0460 gefunden bei 176.0466 m/z; Smp.: 134.3 °C (Lit: 129-131 °C)¹⁴⁷.

Ethyl-3-azidobenzoat (**142**)



Ethyl-3-aminobenzoat (**116**; 0.9 g; 5.5 mmol; 1.0 Äq.) wird in einer 10 %igen Salzsäure (50 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eiskalte NaNO₂-Lösung (0.45 g; 6.6 mmol; 1.2 Äq.) in Wasser wird zugetropft und das Reaktionsgemisch für 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wird NaN₃ (0.53 g; 8.2 mmol; 1.5 Äq.) in Wasser gelöst zugetropft, auf Raumtemperatur erwärmt und für 1 h gerührt. Die Reaktion wird mehrfach mit Et₂O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wird das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch (Laufmittel PE/EE 20:1 → 15:1) gereinigt um Ethyl-3-azidobenzoat (**142**; 1.0 g; 5.5 mmol; quant.) als gelbliches Öl zu erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁸

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.85 (ddd, 1H, *J* = 8.0, 1.8, 0.8 Hz, H_{Ar}), 7.73 (dd, 1H, *J* = 1.8, 2.2 Hz, H_{Ar}), 7.45 (dd, 1H, *J* = 8.0, 8.0 Hz, H_{Ar}), 7.22 (ddd, 1H, *J* = 0.8, 2.2, 8.0 Hz, H_{Ar}), 4.41 (q, 2H, *J* =

¹⁴⁶ Q. Liu, Y. Tor, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2571-2572.

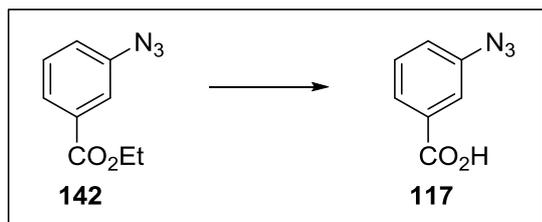
¹⁴⁷ C. J. Fahrni, Z. Zhou, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8862-8863.

¹⁴⁸ M. Hu, J. Li, S. Q. Yao, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5529-5531.

7.2 Hz, Et), 1.43 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, Et) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 165.7 (s, CO_2), 140.49 (s, C_{Ar}), 132.3 (s, C_{Ar}), 129.8 (d, C_{Ar}), 126.0 (d, C_{Ar}), 123.3 (d, C_{Ar}), 119.9 (d, C_{Ar}), 61.3 (t, Et), 14.3 (q, Et) ppm.

Eine Ionisierung mittels ESI war nicht möglich.

3-Azidobenzoensäure (**117**)



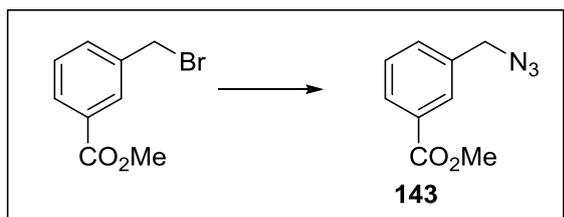
Ethyl-3-azidobenzoat (**142**; 1.2 g; 6.3 mmol; 1.0 Äq.) wird in Dioxan (7 mL) gelöst und eine 1 M $\text{LiOH}_{(\text{aq})}$ -Lösung (7 mL) zugegeben. Die Reaktion wird für 3 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor Ether und eine 1M NaOH-Lösung zugegeben werden. Die Phasen werden getrennt die wässrige Phase wird mit Ether extrahiert und die etherischen Phasen verworfen. Die wässrige Phase wird mit einer 1 M Salzsäure angesäuert, mit Essigester extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wird 3-Azidobenzoensäure (**117**; 1.0 g; 6.1 mmol; 97 %) als schwach gelblicher Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁹

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): 7.96 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.46 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 4.54 (s, 2H, CH_2) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100, d_6 -DMSO): 167.4 (s, CO_2H), 140.1 (s, C_{Ar}), 131.7 (s, C_{Ar}), 129.7 (d, C_{Ar}), 128.3 (d, C_{Ar}), 53.2 (t, CH_2) ppm; **IR**: 2814 (bw), 2130 (s, Azidschwingung), 1682 (s, $\text{C}=\text{O}$), 1608, 1581, 1454, 1416, 1304 (s), 1262, 1154, 1095, 929, 910, 891, 810, 751, 698, 671 cm^{-1} ; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 162.0304 gefunden bei 162.0305 m/z; **Smp.:** 160.1 °C (Lit.: 159-160 °C)¹⁵⁰.

¹⁴⁹ H. Juwarker, J. M. Lenhardt, D. M. Pham, S. L. Craig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2740-3743.

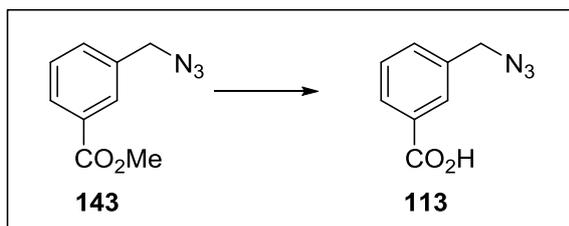
¹⁵⁰ W. Bamberger, *Chem. Ber.* **1902**, *35*, 3718.

Methyl-3-(azidomethyl)benzoat (143)

Methyl-3-(bromomethyl)benzoat (1.0 g; 4.37 mmol; 1.0 Äq.) wird in DMF (10 mL) gelöst und mit NaN₃ (1.14 g, 17.47 mmol, 4.0 Äq.) und TBAI (16 mg; 0.044 mmol; 0.01 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wird bei 60 °C für 16 h erhitzt, anschließend auf Raumtemperatur gekühlt und H₂O und Essigester zugegeben. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Laufmittel PE/EE 20:1) gereinigt, um Methyl-3-(azidomethyl)benzoat (**143**; 0.82 g; 4.3 mmol; 98 %) als farbloses Öl zu erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁵¹

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.01 (ddd, 1H, *J* = 7.5, 1.5, 0.7 Hz, H_{Ar}), 7.99-8.01 (m, 1H, H_{Ar}), 7.53 (ddd, 1H, *J* = 7.7, 1.5, 1.3 Hz, H_{Ar}), 7.41 (ddd, 1H, *J* = 7.5, 7.5, 0.7 Hz, H_{Ar}), 4.41 (s, 2H, CH₂), 3.93 (s, 3H, OMe) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 166.6 (s, CO₂), 135.9 (s, C_{Ar}), 132.5 (s, C_{Ar}), 130.8 (d, C_{Ar}), 129.5 (d, C_{Ar}), 129.2 (d, C_{Ar}), 129.0 (d, C_{Ar}), 54.3 (t, CH₂), 52.2 (q, OMe) ppm.

3-(Azidomethyl)benzoesäure (113)

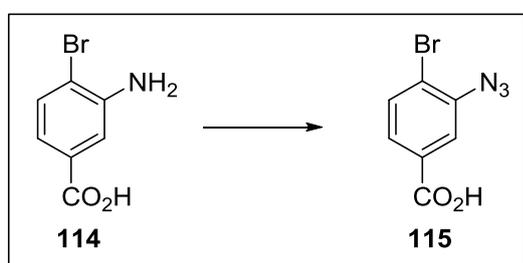
Methyl-3-(azidomethyl)benzoat (**143**; 0.81 g; 4.24 mmol; 1.0 Äq.) wird in 1,4-Dioxan (5 mL) gelöst und wässrige LiOH-Lösung (1 M; 5 mL) zugegeben. Die Reaktion wird für 3 h gerührt und anschließend mit Ether und NaOH-Lösung (1 M) versetzt. Die Phasen werden getrennt, die etherische Phase verworfen, die wässrige Phase mit 10 % KHSO₄ angesäuert und anschließend mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das

¹⁵¹ Y. Okada, M. Yokozawa, M. Akiba, K. Oishi, K. O-kawa, T. Akeboshi, Y. Kawamura, S. Inokuma, Y. Nakamura, J. Nishimura, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 2506-2511.

Lösemittel im Vakuum entfernt. 3-(Azidomethyl)benzoesäure (**113**; 0.75 g; 4.24 mmol; quant.) wird als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): 8.01 (dd, 1H, $J = 1.1, 0.2$ Hz, H_{Ar}), 8.00 (ddd, 1H, $J = 1.2, 0.2, 7.8$ Hz, H_{Ar}), 7.58 (ddd, 1H, $J = 1.2, 1.1, 7.5$ Hz, H_{Ar}), 7.50 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.8$ Hz, H_{Ar}), 4.44 (s, 2H, Bn) ppm; **¹³C-NMR** (100, MeOD): 169.4 (s, CO₂), 137.8 (s, C_{Ar}), 133.8 (d, C_{Ar}), 132.5 (s, C_{Ar}), 130.5 (d, C_{Ar}), 130.5 (d, C_{Ar}), 130.4 (d, C_{Ar}), 55.1 (t, Bn) ppm; **IR**: 2362 (s), 2105 (s, Azidschwingung), 1686 (s, C=O), 1608, 1445, 1411, 1343, 1274, 1205, 907, 814, 746, 686, 665, 649 cm⁻¹; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₈H₆N₃O₂ [M-H]⁻ 176.0460 gefunden bei 176.0462 m/z; **Smp.:** 63.4 °C.

3-Azido-4-brombenzoesäure (**115**)



3-Amino-4-brombenzoesäure (**114**; 0.15 g; 0.69 mmol; 1.0 Äq.) wird in H₂O (1 mL) suspendiert, konz. Salzsäure (0.3 mL) zugetropft und die entstehende Lösung auf 0 °C gekühlt. NaNO₂ (0.052 g; 0.76 mmol; 1.1 Äq.) gelöst in H₂O wird langsam zugetropft und der Reaktionsansatz für 30 min gerührt und anschließend NaN₃ (0.054 g; 0.83 mmol; 1.2 Äq.) in H₂O zugegeben, wobei eine N₂-Gasentwicklung zu beobachten ist. Nach 5 min wird die Reaktion durch Zugabe von H₂O und Essigester gestoppt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Essigester extrahiert. Die restliche wässrige Phase wird verworfen und die vereinigten organischen Phasen mit 0.49 M NaOH extrahiert. Die vereinigten wässrigen NaOH Phasen werden mit einer 1 M Salzsäure angesäuert und anschließend mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt, um 3-Azido-4-brombenzoesäure (**115**; 0.15 g; 0.62 mmol; 89 %) als farblosen Feststoff zu erhalten.

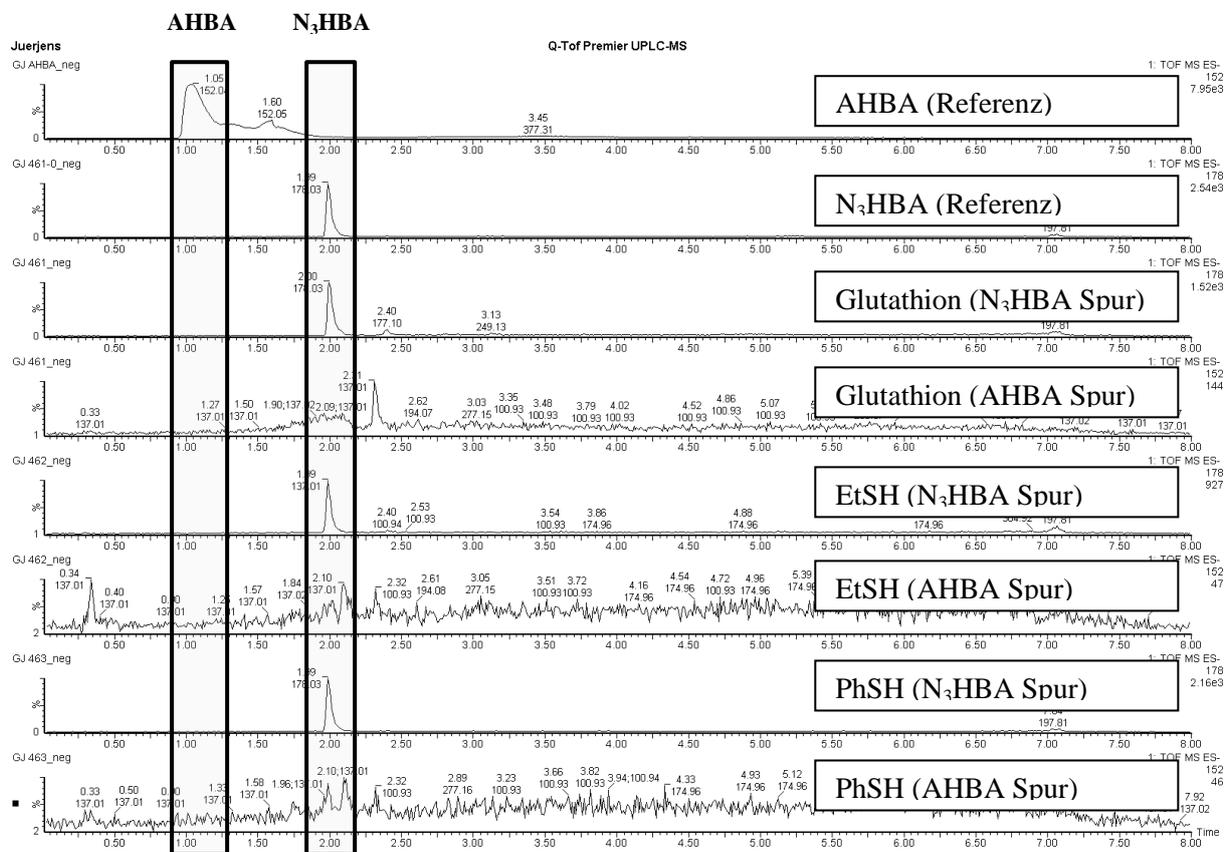
¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO): 7.76-7.81 (m, 2H), 7.62 (dd, 1H, $J = 8.4, 1.9$ Hz) ppm; **¹³C-NMR** (100, d₆-DMSO): 166.0 (s, CO₂), 138.7 (s), 133.9 (d, C_{Ar}), 131.6 (s, C_{Ar}), 126.8 (d, C_{Ar}), 120.5 (d, C_{Ar}), 117.8 (s, C_{Ar}) ppm; **IR**: 2831 (bw), 2362 (w), 2120 (s, Azidschwingung), 1686 (s, C=O), 1586, 1568, 1480, 1419, 1282, 1258, 1155, 1115, 1033, 919, 1033, 919, 883, 830, 774, 756, 707, 651 cm⁻¹; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₇H₃N₃O₂Br [M-H]⁻ 239.9409 gefunden bei 239.9406 m/z; **Smp.:** 190 °C (Zers.).

b. Chemische Reduktionsversuche mit N_3HBA

Es werden drei Reaktionsansätze mit je N_3HBA (**110**; 2.5 mg; 14 μmol ; 1.0 $\ddot{A}\text{q.}$) unter Argon in entgastem pH 7 Puffer gelöst und jeweils mit Glutathion (42 mg; 140 μmol ; 10 $\ddot{A}\text{q.}$), Ethanthiol (10 μL ; 8.7 mg; 140 μmol ; 10 $\ddot{A}\text{q.}$) oder Thiophenol (14 μL ; 15 mg; 140 μmol ; 10 $\ddot{A}\text{q.}$) versetzt und für 60 h bei Raumtemperatur gerührt.

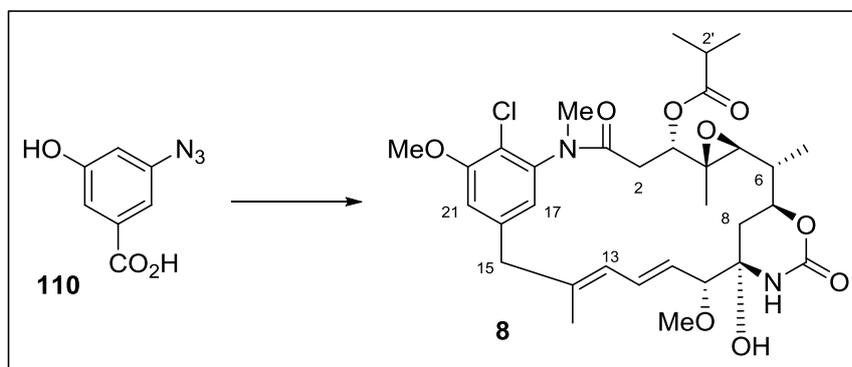
Der Umsatz wird per UPLC-MS überwacht und mit einer Referenzprobe aus AHBA in pH 7 Puffer verglichen.

Ergebnisse der massenspektrometrischen Untersuchung:



c. Verfütterungsexperimente

Ansamitocin P-3 (AP-3)



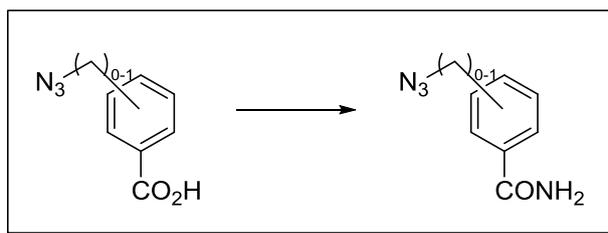
Die Zufütterung einer Lösung von 3-Azido-5-hydroxybenzoesäure (6.3 mg; 35.2 μmol ; gelöst in 2.21 mL H₂O/DMSO 1:1) zu einer, nach 48 h angeimpften, Hauptkultur von *A. pretiosum* HGF073 in Korea Medium (25 mL) erfolgte in drei Portionen jeweils nach 48, 72 und 96 h. Die Kultur wird zwei weitere Tage fermentiert bevor sie mit gesättigter NaCl-Lösung versetzt und mehrfach mit Essigester extrahiert wird. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird über Kieselgel filtriert (Laufmittel Essigester), das Lösemittel im Vakuum entfernt und per HPLC gereinigt (TRENTEC Reprisil 100 CN 5 μm , 250 mm * 8 mm, Acetonitril/Wasser), um AP-3 (0.8 mg; 1.3 μmol ; 4%; 32 mgL^{-1}) als farblosen Feststoff zu erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁵²

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): 7.16 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz, 21-H), 6.97 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz, 17-H), 6.63 (dd, 1H, $J = 15.3, 11.1$ Hz, 12-H), 6.25 (d, 1H, $J = 11.1$ Hz, 13-H), 5.52 (dd, 1H, $J = 15.3, 9.1$ Hz, 11-H), 4.70 (dd, 1H, $J = 12.0, 3.1$ Hz, 3-H), 4.20 (dt, 1H, $J = 2.4, 11.1$ Hz, 7-H), 3.99 (s, 3H, 20-OMe), 3.57 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, 15-H α), 3.56 (d, 1H, $J = 13.2$ Hz, 10-H), 3.35 (s, 3H, 10-OMe), 3.14 (s, 3H, NMe), 2.82 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz, 5H), 2.73 (sept, 1H, $J = 7.0$ Hz, 2'-H), 2.64 (dd, 1H, $J = 13.9, 12.1$ Hz, 2-H α), 2.15 (dd, 1H, $J = 13.9, 3.1$ Hz, 2-H β), 1.73 (s, 3H, 14-Me), 1.48-1.59 (m, 2H, 8-H α , 6-h) 1.28 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, 2'-Me α), 1.22 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, 2'-Me β), 0.87 (s, 3H, 4-Me) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₃₁H₄₂N₂O₉Cl [M+H]⁺ 621.2577 gefunden bei 621.2579 m/z.

¹⁵² K. Sakai, T. Ichikawa, K. Yamada, M. Yamachita, M. Tanimoto, A. Hikita, Y. Ijuin, K. Kondo, *J. Nat. Prod.* **1988**, 51, 845-850.

Verfütterung anderer Arylazide



Die Zufütterung einer Lösung von Azidobenzoessäure (10 mg; gelöst in 3.6 mL H₂O/DMSO 1:1) zu einer, nach 48 h angeimpften, Hauptkultur von *A. pretiosum* HGF073 in Korea Medium (25 mL) erfolgt in drei Portionen jeweils nach 48, 72 und 96 h. Die Kultur wird für zwei weitere Tage fermentiert bevor sie mit einer gesättigten NaCl-Lösung versetzt und mehrfach mit Essigester extrahiert wird. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wird über Kieselgel filtriert (Laufmittel Essigester), das Lösemittel im Vakuum entfernt und mittels präparativer DC (Laufmittel Essigester) gereinigt, um 4-6 mg des korrespondierenden Amids zu erhalten.

4-Azidobenzamid (119) aus 4-Azidobenzoessäure:

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): 7.91 (m, 2H), 7.15 (m, 2H) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): 171.3 (s, CONH₂), 145.2 (s, C_{Ar}), 131.5 (s, C_{Ar}), 130.6 (d, C_{Ar}), 119.9 (d, C_{Ar}) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₇H₇N₄O [M+H]⁺ 163.0620 gefunden bei 163.0618 m/z.

3-Azidobenzamid (122) aus 3-Azidobenzoessäure:

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): 7.66 (ddd, 1H, *J* = 7.8, 1.4, 0.6 Hz), 7.58 (dd, 1H, *J* = 1.4, 2.0), 7.48 (dd, 1H, *J* = 7.8, 7.9 Hz), 7.25 (ddd, 1H, *J* = 7.9, 2.0, 0.6 Hz) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): 168.1 (s, CONH₂), 142.1 (s, C_{Ar}), 131.2 (d, C_{Ar}), 125.1 (d, C_{Ar}), 123.3 (s, C_{Ar}), 119.3 (s, C_{Ar}) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₇H₇N₄O [M+H]⁺ 163.0620 gefunden bei 163.0612 m/z.

4-(Azidomethyl)benzamid (118) aus 4-(Azidomethyl)benzoessäure:

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): 7.89 (m, 2H), 7.45 (m, 2H), 4.45 (s, 2H, Bn) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): 171.9 (s, CO₂), 141.2 (s, C_{Ar}), 134.8 (s, C_{Ar}), 129.3 (d, C_{Ar}), 129.1 (d, C_{Ar}), 55.0 (t, Bn) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₈H₈N₄ONa [M+Na]⁺ 199.0596 gefunden bei 199.0593 m/z.

3-(Azidomethyl)benzamid (120) aus 4-(Azidomethyl)benzoesäure:

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): 7.87 (m, 1H), 7.85 (ddd, 1H, $J = 7.5, 0.8, 1.3$), 7.55 (ddd, 1H, $J = 7.6, 1.3, 1.2$ Hz), 7.49 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.6$ Hz), 4.45 (s, 2H) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD): 171.8 (s, CONH₂), 137.8 (s, C_{Ar}), 135.6 (s, C_{Ar}), 132.7 (d, C_{Ar}), 130.0 (s, C_{Ar}), 128.6 (s, C_{Ar}), 128.4 (s, C_{Ar}), 55.2 (t, Bn) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₈H₈N₄ONa [M+Na]⁺ 199.0596 gefunden bei 199.0595 m/z.

3-Azido-4-brombenzamid (121) aus 3-Azido-4-brombenzoesäure:

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): 7.80 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz), 7.69 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 7.54 (dd, 1H, $J = 8.2, 2.0$ Hz) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, MeOD): 170.0 (s, CONH₂), 138.6 (s, C_{Ar}), 135.0 (d, C_{Ar}), 131.2 (s, C_{Ar}), 126.0 (d, C_{Ar}), 120.0 (d, C_{Ar}), 115.1 (s, C_{Ar}) ppm; **ESI-MS (HRMS)** berechnet für C₇H₅N₄OBrNa [M+Na]⁺ 262.9544 gefunden bei 262.9548 m/z.

5.8.2 2D-PAGE FÜR PROTEOMUNTERSUCHUNG VON *A. PRETIOSUM* HGF073 (KAPITEL 3.2.2)

Gerätschaften

Alle mikrobiologischen Arbeiten wurden in einem S1-Labor unter keimfreien Bedingungen mittels durch Autoklavieren sterilisierten Geräten und Nährmedien durchgeführt. Hitzeempfindliche Gerätschaften wurden durch Ethanoleinwirkung sterilisiert, nicht autoklavierbare Zusätze (L-Valin, Bausteine zur Verfütterung) wurden vor Verwendung als Lösung über einen Sterilfilter filtriert.

- **Rehydrationslösung:** **25 mL**

Harnstoff	8 M	12.0 g
Thioharnstoff	2 M	1.9 g
Triton X-100	2 % (v/v)	0.5 mL
Bromphenolblau		Spt
ddH ₂ O		ad 25.0 mL
Die Lösung wird auf 2 mL aliquotiert und bei -20 °C gelagert		
DTT*		5.6 mg/ 2 mL
IPG-Puffer*	0.5 % (v/v)	10.0 µl / 2 mL
DeStreak*		24µl / 2 mL

*werden unmittelbar vor Gebrauch zugegeben

- **Äquilibrierungslösung:** **200 mL**

1,5 M Tris-Cl (pH 8.8)	50 mM	6.7 mL
Harnstoff	6 M	72.07 g
Glycerin (87 %)	30 % (v/v)	69.0 mL
SDS	2 % (w/v)	4.0 g
Bromphenolblau		Spt
ddH ₂ O		ad 200.0 mL

(Aliquotierung auf je 40 mL und bei -20° C einfrieren)

- **Agarose-Lösung:** **100 mL**

Tricin-Gelpuffer		100.0 mL
Agarose	0,5 %	0.5 g
Bromphenolblau		Spt

- **Anoden-Puffer:** **1.5 L**

Tris		36.4 g
pH mit HCl auf 8.9 einstellen		

Eine Vorkultur von *A. pretiosum* HGF073 wird in YMG Medium inokuliert und bei 28 °C für 48 h bei 200 rpm inkubiert. Aus dieser Vorkultur werden Verfütterungen mit AHBA und eine mit N₃HBA zu je 3 x 25 mL nach der allgemeinen Vorschrift für Verfütterungsstudien abgesetzt. Die Produktbildung wird mittels LC-MS überwacht. Die Kulturen werden bei 5000 * g zentrifugiert und die verbliebene Lösung abdekantiert und verworfen. Die Bakterien werden mit N_{2(l)} versetzt und gemörsert.

Als Alternative für den Aufschluss kann der Überstand in 0.1 M NaCl-Lösung aufgenommen, mittels *French Press* aufgeschlossen (5 Zyklen, 2000 psi) und die Salze durch Dialyse gegen destilliertes Wasser über 24 h entfernt werden. Das restliche Wasser wird mittels Gefriertrocknung entfernt.

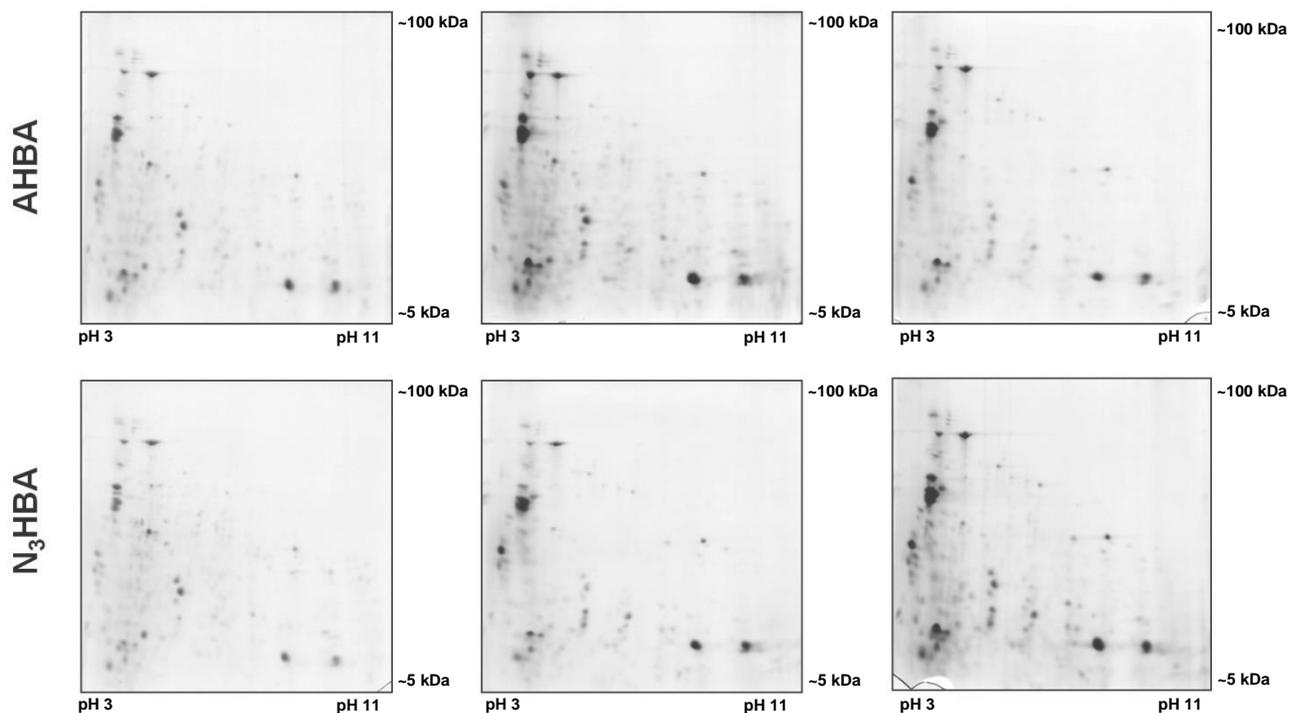
Das verbliebende Pellet wird in Rehydrationslösung (300 μ L) aufgenommen und bei 17000 * g und 4 °C für 5 min zentrifugiert. Der Überstand wird in einen Keramikhalter pipetiert und einem Gelstreifen versehen und mit IPG-Cover-Fluid überschichtet. Die isoelektrische Fokussierung erfolgt bei 100000 Vh über 12 h.

Die fokussierten Gelstreifen werden für 15 min in Äquibrierlösung mit DTT (0.4 g / 40 mL) äquilibriert und anschließend in eine weitere Äquibrierlösung mit Iodacetamid (1 g / 40 mL) überführt und für weitere 15 min äquilibriert. Der Gelstreifen wird mit Tricine Gelpuffer gespült.

Es wird ein 12 % Polyacrylamidgel aus den folgenden Stoffen hergestellt:

Acrylamidlösung 40 %	13.5 mL
Tricine Gelpuffer	15 mL
Glycerin 87 %	6 mL
ddH ₂ O	10.5 mL
APS	150 μ L
TMEDA	15 μ L

Der Gelstreifen wird auf dem Gel plaziert und in einer Gelkammer mit Anoden und Kathodenpuffer bei 500 V und 30 mA für 20 h laufen gelassen.



Die Rohgele wurden vom Institut für Pflanzengenetik, Abteilung Pflanzenproteomik der Leibniz Universität Hannover, am Computer kombiniert und digital ausgewertet. Die Ergebnisse sind Kapitel 3.2.2 zu entnehmen.

5.8.3 VERSUCHE ZU ASM22-24 (KAPITEL 3.2.3)

Extraktionspuffer

100 mM Tris-HCl pH 8.0
50 mM EDTA pH 8.0
500 mM NaCl
0.2 % SDS
0.07 % 2-Mercaptoethanol

DNA Isolierung¹²³

Eine 50 mL Vorkultur von *A. pretiosum* HGF073 wird in YMG Medium inokuliert und bei 28 °C für 48 h bei 200 rpm geschüttelt. Die Kultur wird bei 5000 * g zentrifugiert und die verbliebene Lösung abdekantiert und verworfen. Das Pellet wird mit ddH₂O gewaschen und anschließend in 5 mL ddH₂O aufgenommen. Die Bakteriensuspension wird in N₂(l) getropft und anschließend gemörsert.

Der Überstand wird mit 25 mL Extraktionspuffer versetzt, in ein 50 mL Reaktionsgefäß überführt und darin bei 65 °C für 20 min unter Schütteln inkubiert. Die Lösung wird mit 10 mL CHCl₃ versetzt, stark geschüttelt und bei Raumtemperatur 20 min auf einem Gefäßinvertierer platziert. Das Gemisch wird anschließend bei 1000 * g für 5 min zentrifugiert um die Phasen zu trennen. Die wässrige Phase wird in ein neues Reaktionsgefäß überführt und mit 17 mL Isopropanol versetzt, gemischt und anschließend für 10 min auf Eis gekühlt. Nach der Fällung wird bei 1000 * g für 5 min zentrifugiert, um das Präzipitat zu erhalten. Der Überstand wird verworfen und das Reaktionsgefäß auf der Innenseite mit einem Papiertuch getrocknet (jedoch nicht das Präzipitat). Das Präzipitat wird in 4 mL TE Puffer durch sanftes Invertieren aufgelöst und anschließend mit 4 mL 4 M Kaliumacetat-Lösung versetzt und 20 min auf Eis inkubiert. Die Mischung wird bei 1000 * g für 10 min zentrifugiert und der Überstand in ein neues Reaktionsgefäß überführt, 16 mL 100 % EtOH zugefügt und für 20 min auf Eis inkubiert.

Das Präzipitat kann durch Zentrifugieren bei 1000 * g für 5 min erhalten werden, der Überstand wird verworfen. Das innere des Reaktionsgefäßes wird mit einem Papiertuch getrocknet (nicht das Präzipitat) und die erhaltene DNA in 900 µL TE Puffer durch sanftes Pipettieren aufgelöst. 100 µL 3 M Natriumacetat-Lösung wird zugegeben und das Gemisch in zwei gleichgroße Mengen in Mikrozentrifugenröhrchen aufgeteilt. Eine gleiche Menge Phenol wird zu beiden Röhrchen zugegeben, die Phasen gemischt und durch Zentrifugation (1000 * g) getrennt. Die organischen Phasen werden verworfen, die wässrigen Phasen mit einer gleichen Menge Phenol : CHCl₃ (5:1)

versetzt, gemischt und anschließend die Phasen durch Zentrifugation (1000 * g) erneut getrennt. Die organischen Phasen werden verworfen und der Prozess nach Zugabe von CHCl₃ wiederholt. Die beiden wässrigen Phasen werden mit zwei Volumen 100 % EtOH versetzt und für 5 min auf Eis inkubiert. Durch Zentrifugation für 5 min bei 5000 * g lässt sich die saubere DNA als Präzipitat nach Verwerfen des Überstands erhalten.

PCR Amplifikation von *asm23*

Aus einer zwei Tage alten Vorkultur von *A. pretiosum* HGF073 in YMG Medium wird 500 µL Probe entnommen und für 5 min bei 5000 * g zentrifugiert. Die Lösung wird verworfen und der Überstand mit 500 µL ddH₂O gewaschen und anschließend in weiteren 500 µL ddH₂O aufgenommen. Aus der Lösung werden 10 µL abgenommen und auf 100 µL mit ddH₂O aufgefüllt.

PCR Ansatz	50 µL
verdünnte Vorkultur <i>A. pretiosum</i> HGF073	0.5µL
5x Phusion Puffer	10 µL
dNTPs (jeweils 10 mM)	4 µL
Phusion Polymerase	0.4 µL
Primer (10 pmol)	2 µL
ddH ₂ O	ad 50 µL

Primer

Für 5' → 3': 5' (HindIII)aagcttatgccccgacctgctcc 3' Tm: 67.43 °C; 22 Basen
 Für 3' → 5': 5' (HindIII)aagcttccaaccaacacctaccg 3' Tm: 67.51 °C; 24 Basen

Es wird eine initiale Denaturierung vorgenommen um die Mikroorganismen zu öffnen:

Vordenaturierung: 98 °C, 10 min

Es werden 50 Zyklen von folgendem PCR Programm verwendet:

Denaturierung: 98 °C, 30 s
 Annealing: 63-68 °C (Gradient), 15 s
 Elongation: 72 °C, 30 s

Die PCR wird mit einem finalen Elongationsschritt abgeschlossen:

Finale Elongation: 72 °C, 5 min

6 ANHANG

6.1 GEN- UND PROTEINSEQUENZEN

asm24

Leserichtung: Antisense

GC-Gehalt: 75 %

Basen (ORF): 1167

Sequenz in Publikation:

gtgggcctgcctccggggcgcgcgccccggcgggggcagcccgccgagagcccgcccc**tc**aggcctcctccagcgcgca
 ggcgacggcctccgccaccagcggcatctgctcctccgccccagcagcaccgggtggtgcagccacacgcagtcgctgc
 tgagcgcttccgtgaccggggcaggcgcggggcagggcgctccaccgctggtgctcggggggcggcgctccccagaacgcggcg
 gtgcggtagatcgcgcggaacccggcgaacgcgggactccgcgctcgaccagcgcgctcgaccaggcggcgggcgctc
 ctgcccgatgcccgggacctggaacatggccatgtagtgccgggtgctgctgcagcgcgggtcgggtccctgcccggacga
 cgcggggcacctcggcgagcagccgcgacagcagcggccagtgccgctcgcgcacgctcggctctgctgctggagcctgccg
 agctggggcgcgcagcagcggcggaactcgttcatgcccgaagtgcaccggccgctgcccgggtggtggtaggcccggtc
 ggcgagcggggcccccgaggcgtggcgcaggaacgcctcctcgtgctggtccccgctccgggagcagcagcggcgccgcct
 cccccgggtcatcagcttgccgttctggaagctgaaggcggcgatcgagccgagcgcgcgaggggctcgcgcgcccac
 cgcgcgcgctggcgctgcccggcgtcctgggagcagcgggacgcgggtctcggcggacagggcgcgagcgcgctccatgct
 ggcgagctggccccccatgtgacgggcatgatcgcctgggtgctcgggtgatcgcggcccgcacggcgccgggtcga
 cgcagtaggtgtccgggtgacgctgcaggggacgacgaccgcgcgagccgctggggcggcctgcgaggaggagatgaag
 gtgaacgcgggacgatcacctcgggtgcccaggccccggcgcccatgacctccaggacgagttcgagggcgtgctgcccgt
 ggtgacggcgagcgcgctgcccggcgccgtgggcccctgcgcgaactcccgctcgaacgagacgacctcgtccccgggtgatcc
 gccaccaccggccgctgctgagcgtgcccagcagggcctcgcgctcggctcgagtcgaactgcccggccaggcgggggaactcc
 agcttctgcccggcctcagggtg**cac**gggtcggctgcctcgtctctgctct

Codogene Sequenz:

agagcagagacgagggcagccgacc**gtg**cacctgaaggccccgcagaagctggagttccccgcctggccgcagttcgact
 cgaccgagcgcgagggccctgctgcccacgctcgcacagcggccgggtggtggggatcacccggggacgaggtcgtctcgttc
 gagcgggagttcgcgagggcccacggcggccggcagcgcgctcggcgtcaccacgggacagcagccctcgaactcgtcct
 ggaggtcatggggcggcggcctggcaccgaggtgatcgtgcccgcgttcaccttcatctcctcctcgcagggccgcccagc
 ggtcggcgcggtcgtcgtccccgctgcagctgcagccggacacctactgctcgcagccggccgctgcccggccgcatc
 accgagcgcaccagggcgatcatgcccgtgcacatggcggggcagctcgcgcgacatggacgcgctgcccgcctgtccgc
 cgagaccggcgtcccgtgctccaggacgcgcgcagcccacggcgcggtggcgcggcgagccccctcggcgcgctcg
 gctcgatcggcccttcagcttccagaacggcaagctgatgaccgcggcgagggcgcgccgtgctgctcccggacggg
 gaccagcagcagggagggcgttccctgcccacgcctgcccggcggcggcctcgcgcgaccgggctaccaccaccgcagcggccg
 gtcgaacttccgatgaacgagttctccgcgcgctgctgcccggcagctcggcaggtccagcagcagaccgacgctgc
 gcgagcggcactggcccgtgctgctcggcgtgctcggcaggtgcccggcgtcgtcccgcaggggaccgaccgcgctgc
 gaccgcaaccgcactacatggccatgttccagggtccccggcatcggcgaggagcggccgcccgcctggtcgcagcgcct
 ggtcgcagcgcggagtcggggcgttccgggggttccgcgcgatctaccgcaaccgcccgttctgggagcgcgcgcccccg
 acaccaggtggacgcctcggcccgcctgcccgggtcaggaagcgtcagcagcgaactgctggtggtgctgaccaccgg
 gtgctgctggggggcgaggagcagatgccgctgggtggcggaggccgtcgcctcgcgcgctggaggaggcc**tga**ggggggcg
 gctctcggccgggctgccccgcggggcggcggccccggaggcaggcccac

Proteinsequenz:

VHLKAPQKLEFPWPQFDSTEREALLRTLDSGRWWRTGDEVVSFEREFQAQAHGARHALAVTTGTHALELVLEVMGAGPGTEV
 IVPAFTFISSSQAAQRLGAVVVPVDVDPDYCVDPAAVRAAITERTRAIMPVHMAGQLADMDALRALSAETGVPLLQDAAHAH
 GARWRGEPLGALGSIAAFSFQNGKLMTAGEGGAVLLPDGDQHEEAFLRHACGRPLADRAYHHRTAGSNFRMNEFSAALLRAQL
 GRLQQQTDVRRERHWPVLSRLLAEVPGVVPQGTDPDRNPHYMAMFQVPGIGEERRARLVDALVERGVPAFAGFRAIYRTAAF
 WERAAPDTTVDALARACPVTEALSSDCVWLHHRVLLGAEEQMPLVAEAVACALEEA*

asm23

Leserichtung: Sense

GC-Gehalt: 72 %

Basen (ORF): 435

Sequenz:

tttgcgctctgcgaggtgttcctggtgcccgcacctgctcctgctgaacggcccgaacctgggaatcctgggcccgcgcga
 acccgaggtgtacgggaccgcgacgctcgcgcacatcgaggacgcggtggccgacgaggtggcgaccgggggtggaagg
 tgggtggcgaggcagcacgacggcgaagccgagatgatcgggacctccaggacagctacgacacggtggcgctatcgtg
 aaccccggcgcgctcatgatcgcggctggagcctgcgggacgcctggcgaactaccgagcccgtggatcgaggtcca
 cctgtcgaacgtgtggcccgcgagccgttccgccaccagtccgtgatcgcgccgctggcgacgggectgatcgcgggcg
 tggcgccctgggctaccgcctggcggcacggcgctgctggaccgggtcggggttgcgggtaggtgttggttggcgcg
 gcgagggctggctgggggacgggctgctggaccggccgctggcgagcgagtgttggttggcgggcgctggcgagc

Proteinsequenz:

VPDLLLLNGPNLILGRREPEVYGTATLADIEDAVADEVADRGWKVVARQHDGAEEMIGTIQDSYDTVGAIVNPG
 ALMIAGWSLRDALANYPSWIEVHLSNVWAREPFRHQSVIAPLATGLIAGVGALGYRLAARALLDRVGG*

Asm22

Leserichtung: Antisense

GC-Gehalt: 75 %

Basen (ORF): 756

Sequenz in Publikation:

gctgggggacggcgctgctggaccggccgctggcgagcgagtgttggttggcgggcggtggcgagcgggtcgactga
 ggggcaagccggttgggtggcctgaccggcggttagctccgcagttccgacgcgggtgggccacgtcctggccaaccggcg
 ggctgccctggccaacgacgtcaccgcgcgccacgtcaccgcgctgccacatcgccgccccgaccagcgcgctactcc
 cggtttccccacgcgccaggacaagcggccgctgcagcgaggactcggccccgagcaccgcggctgcaccgatggcac
 cgggtgcccggtcctgccagcccggcgaccgcctcggccacagcgggacgagccctggcagcgcggtgggtgacaccac
 cgccgatcagcgccaactcggggccgaaccagctccccacccgatcaccagcgcggccaacgcggacgcggcgtcctca
 caagcctccaccgcccaccgctccccacgcgcgaccccgctcccgacgtccccagcccaccgggcccaccacgcgcg
 gacggccccgcgcagaatcgggggcccggacgcgaacgcctgcacgcacccccgcccgcagtcgcacagccccccac

cccggttcgacgaccacgtgccccacctcgcacgagccacccgagttcagcggcagtcaccccgagacgatcccgccacca
 accccggtgcccacaccgacgtacagcagctcacccgacccggcggcatcggcctcggcaagcgcgcgaggtcacccgtc
 atccccgtgcccaccgagggcgcggggaacatcgccccaacgcaccgagcagctccaccccgaccacccgggcccac
 ccggccagggcgaccacgacgcccggaccgatcgagcgtggcaggcacagcgacaccaaccgacctgacccccacccccca
 ccagcccgtcgcaccgcccgaacgagcatggcgaggtcttcgccagcagaagcgcgcgtctcccaccgc

Codogene Sequenz:

gccggtgggagagcggcgcttctgctggcgaagacctcgccttgctcgttcgggcggtcgagcgggctggtgggggtgggg
 gtgtcaggtcgggttggtgctgctgtgctgcccacgctcgatcggctcggcgtcgtggtcgctggccgggtcggcccggg
 tgggtcgggggtggactgctcgggtcgcttgggggcatggtccccggcgcctcgggtcggcaccggggatgacgggtgacct
 cgcggcgcttgccgagccgatgccgcgggtgctgtagctgctgtacgtcgggtggtggcaccggggttggtggcggga
 tcgtctcgggtggactgccgctgaactcgggtggctcgtgaggtggggcacgtggtcgtcgaacggggtggggggctg
 tgcgactcggggcgccgggggtgctgtagggcgttcgctcgggcccgcgattctgctcggggccgctcgcgctggtgg
 gggcccgggtgggctgggggacgtccgggacggggtcgcgctggggagcgggtgggcggtggaggcttgtgaggacgccg
 cgtccgcttgcccgctggtgatcgggggtgggggagctggttcggcccaggttgccgctgatcggcggtggtgtcacc
 accgctgcccagggtcgtgcccgctgtggccgagcgggtcgcgggctgggacgggaccgggaccgggtgcccacggt
 gcgaccggcgggtgctcggggccgagtcctcgtgtagcggggcgttctcctggcgcgtgggggaaaccgggagtagcgcg
 ctggtcggggcgccgatgtggcagcgcgggtgacgtggcggcgcggtgacgtcgttggccagggcagcccgcgggtggc
 caggacgtggggcccaccgctcggaaactgaggagctagccgcccgggtcaggccaccaaccggcttgcccctcagtcgacc
 gctcgcagccgcccgaaccaactcgtcgcagcggcccgggtccagcagcggccgctccccagc

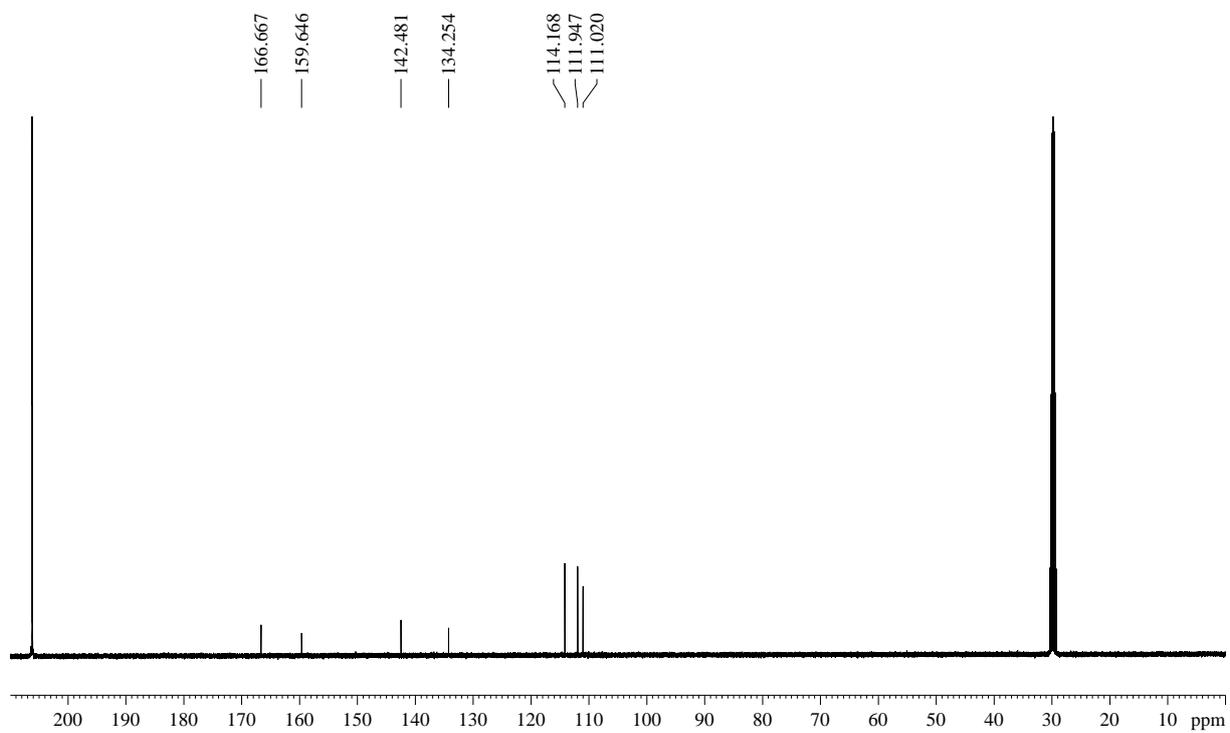
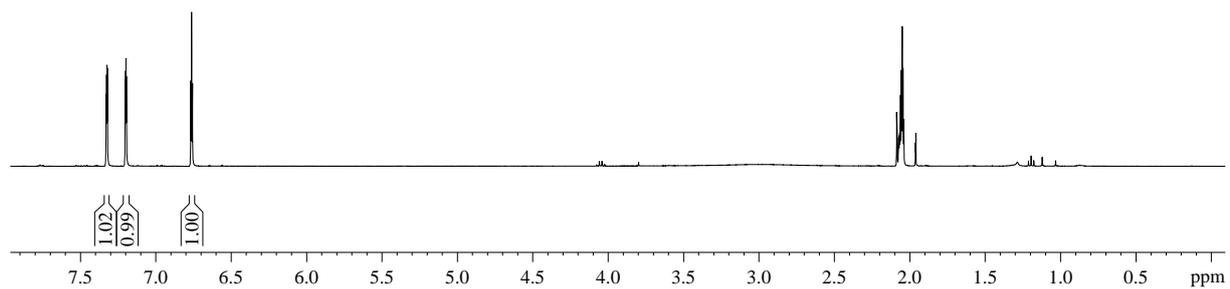
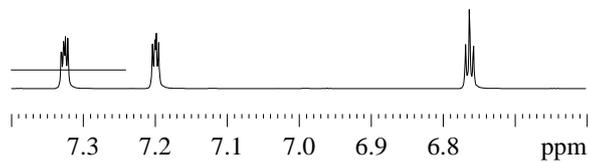
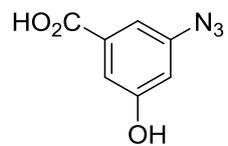
Proteinsequenz:

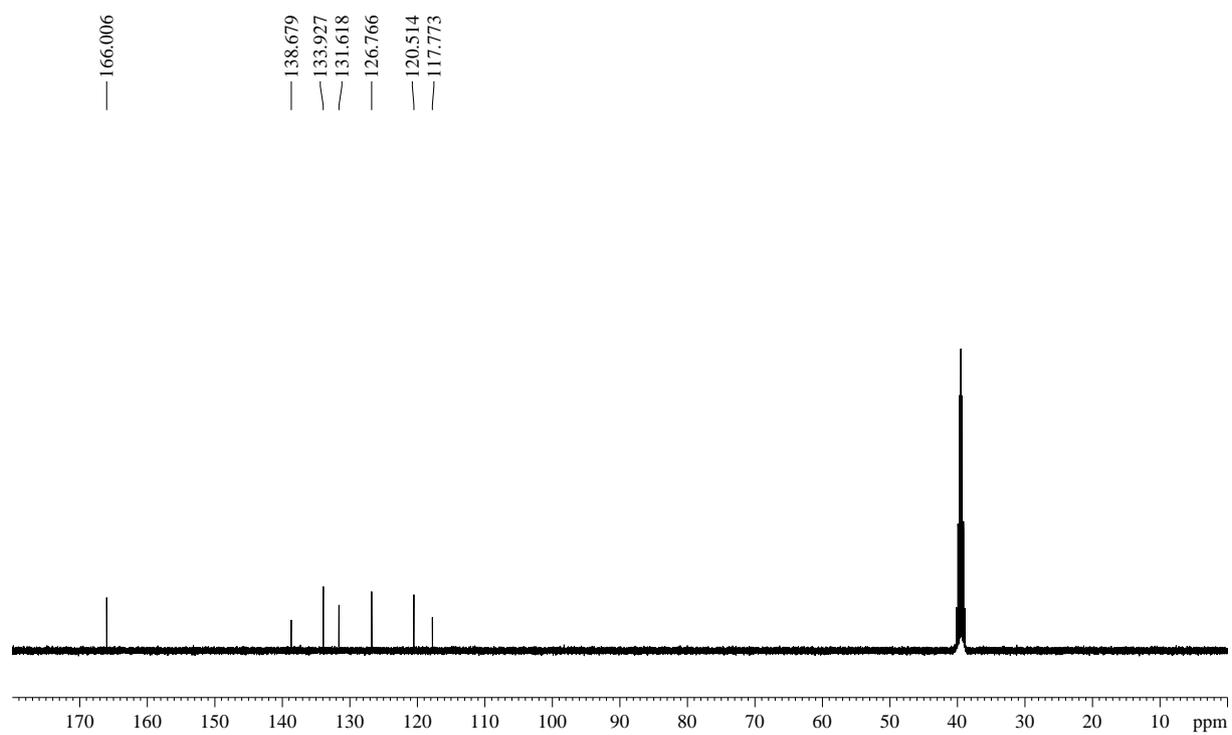
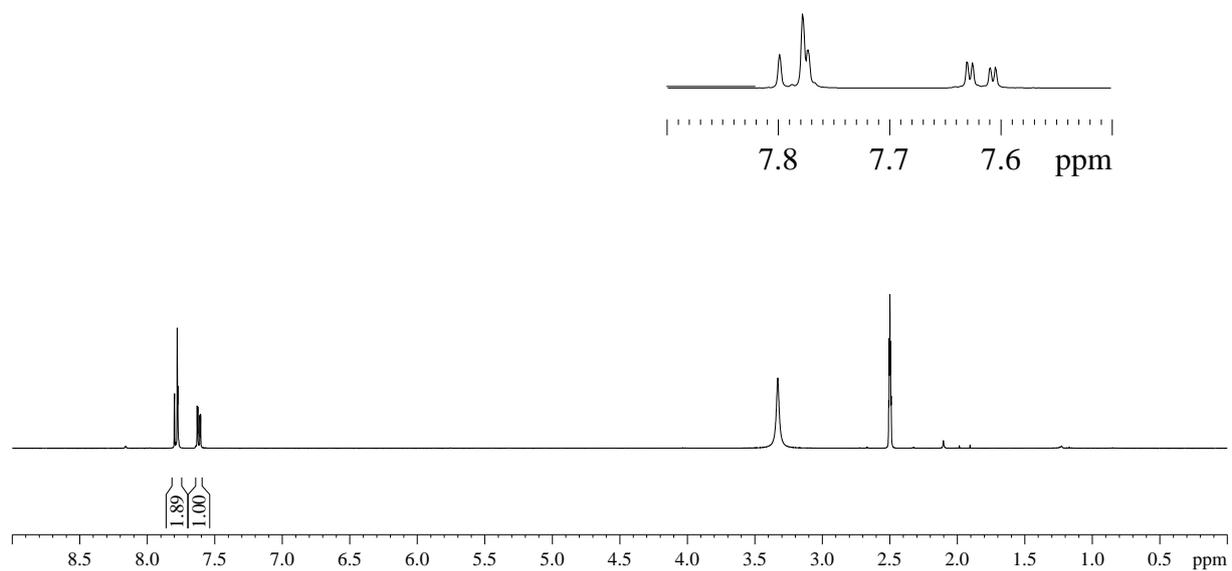
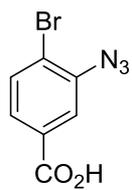
LLVRAVERAGGGGVRVSVGVAVPATLDRSGVVVAWPGRPGWVGVVDVLGALGAMFPGASVRHGDDGDLAALAEADA
 AGCGELLYVGVGTGVGGGIVSGLPLNSGGSCVGHVVVERGGGLCDCGRRGCVQAFASGPAILRGAVARGGRPG
 GLGDVRDGVARGERWAVEACEDAASALAALVIGVDELVRPELALIGGGVTTALPGLVPAVAERVAGLGRTHGHPVP
 SVRPAVLGAESSLHGALVLRAGGNRE *

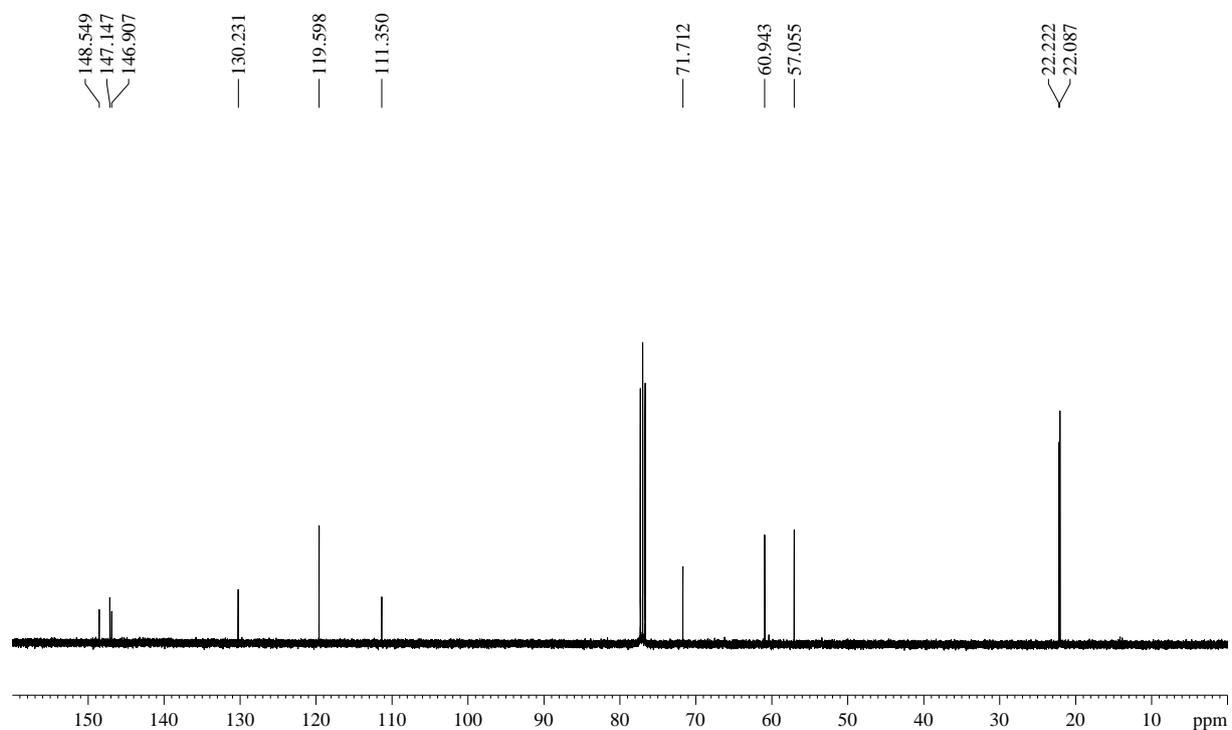
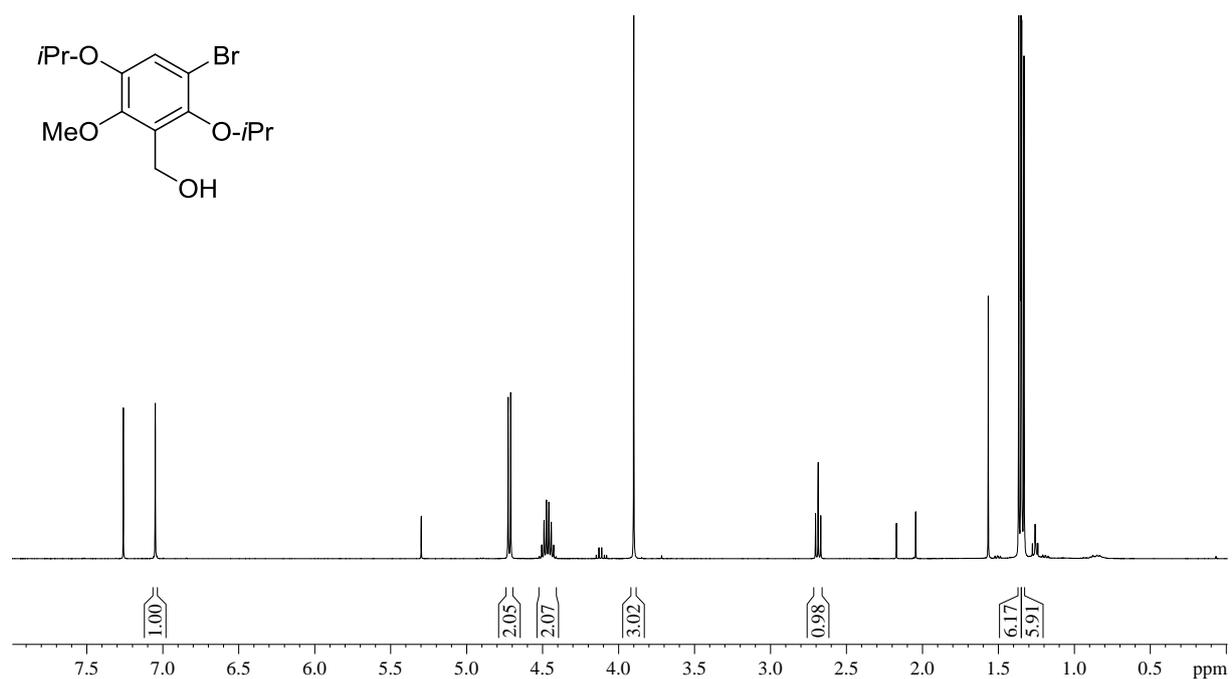
Proteinsequenz von *asm30*:

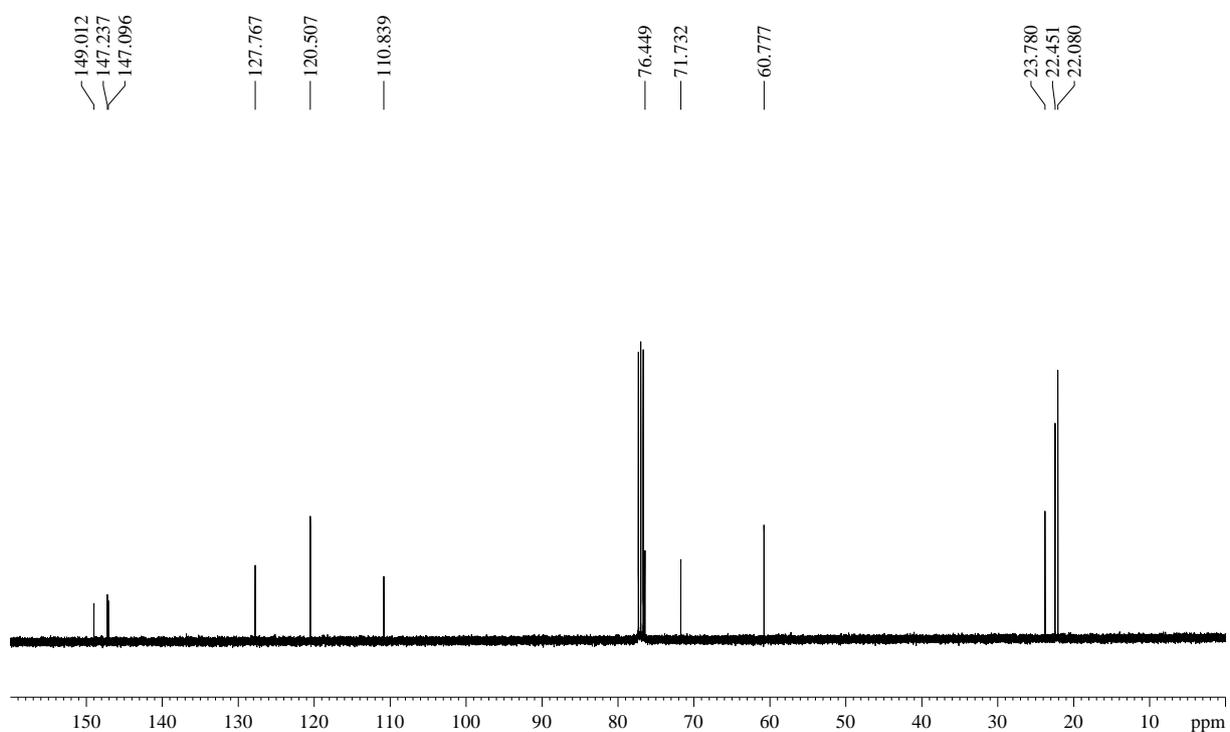
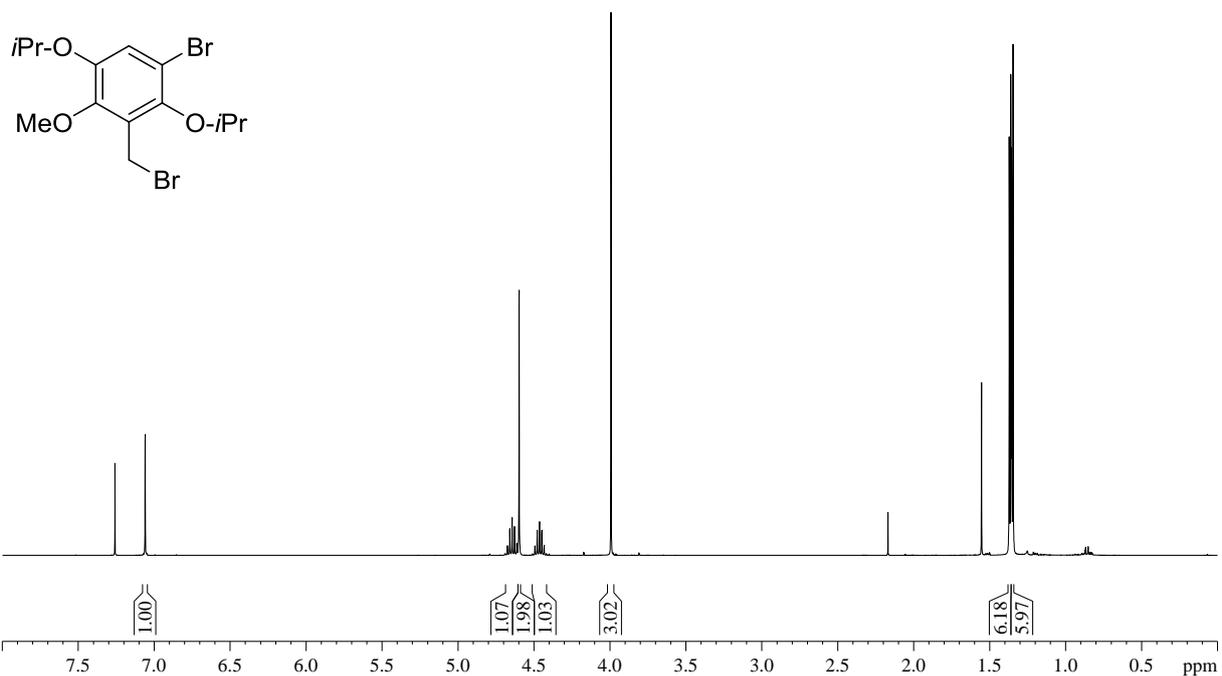
MVATGTRIPGPKPLPLVGNLLDVLTSDDLTDVDFLDRCHREHGGIVALTFAGQRQVFASSHELVARMCSDPSWGK
 AVHPALEQVRDFAGDGLFTARGDEPNWGAHRLMLPAFGPTAMRDHFPAMLDIAEQMLVRRRFGPDHRI DVADD
 MTRLTLDTIALCAFGARFNSFYRDRAHPFVDAMVRSLSVEAGERAERLPGVQPFVLRNQRVYRDDIATMNR IADGI
 VAARAALPAGERPDDLRLMLTCDPVTGERLSARNVRYQLATFLIAGHETTSGLLSFAVHRLLAHPEVLRKAKD
 AVDGVLDGRVPAFEDLARLDYLGQVLRRETLRLHPTAPAFALAPDEPAELGGHAIGAGEPVLVMLPTLHRDPAVWR
 DPDVFDPERFAPERMEIPACAWMPFGHGARACIGRPFALQEATLVLALVLRQFDLALADPDHRLTIKQTLTLKP
 DSLVVRARPRADRPGATATVETVVPHPQVPATHRHGTPLHVIFYGNSGGSGEGLARTIAGDGAARGWATSVAPLDDA
 VRALPASGPVIVSSSYNGAPPDAAHFVRWLTQDGPDLGSDYLVLGCGNLDWSATYQRVPTLIDEAMAAAGAR
 RLREERGATDARADFFGDWERWYEPLWPLLSAECGVEVEIGRPRFRVVEDAADGLGLDASAVVLENRELVRGPDA
 GSKRHLELRPLDGTSYRTGDYLSVLPQNHPDLVRRAVARLGTAEERVVTVESSAPTGLVPVGRALRVDELTRCV
 DLSAPAGAGVVARLAERCPCPPERAEALATGATLLELLERFPSCAVDLALALELLPAPRTRLYSISAAEEQRA
 EVALTVSVTGVTSGLSRVVRPGDRVAVGASPPESFRPPADNTVPVVLIAAGTGIAFRGFLRARAALGGEPGPA
 LLLFGCRGPELDDLYAEFEALGDWLEVDRAYSRHPDGEVRHVQHRLWQRRDRVRELVDAGARVYLCGDATR VGP
 AVEEVLGRIGPGAGWLDALRAGGRYATDVF

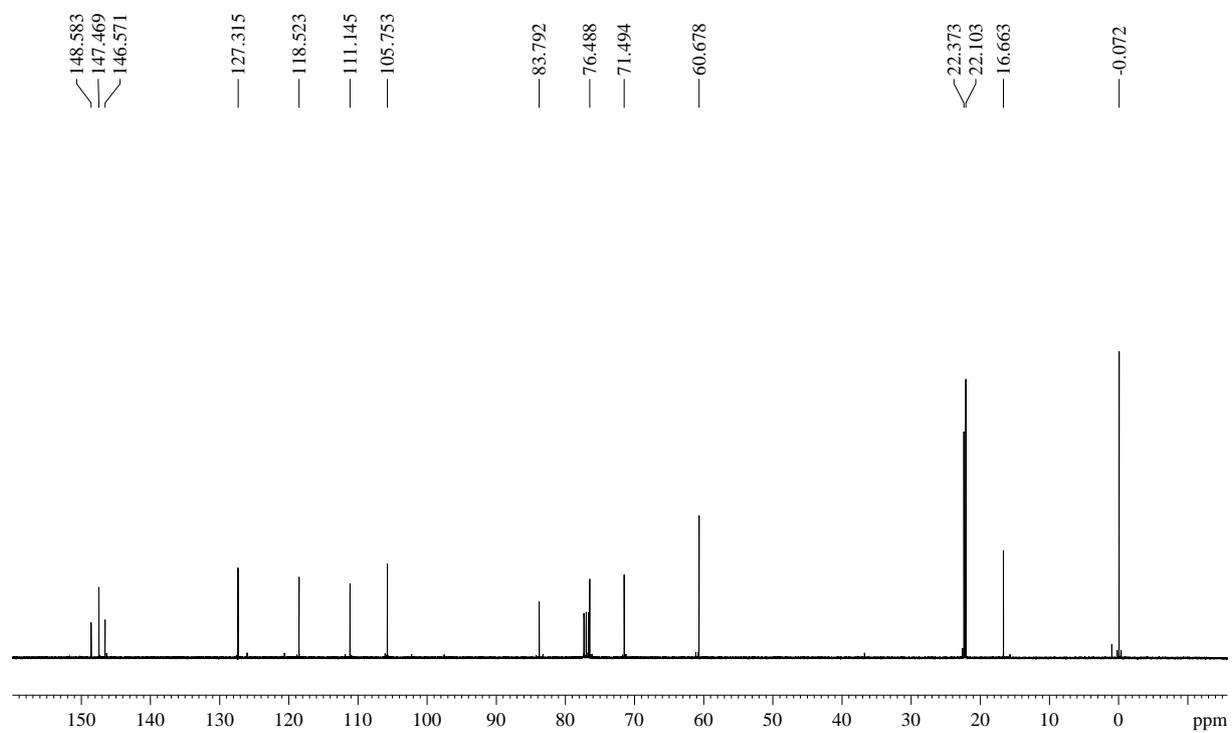
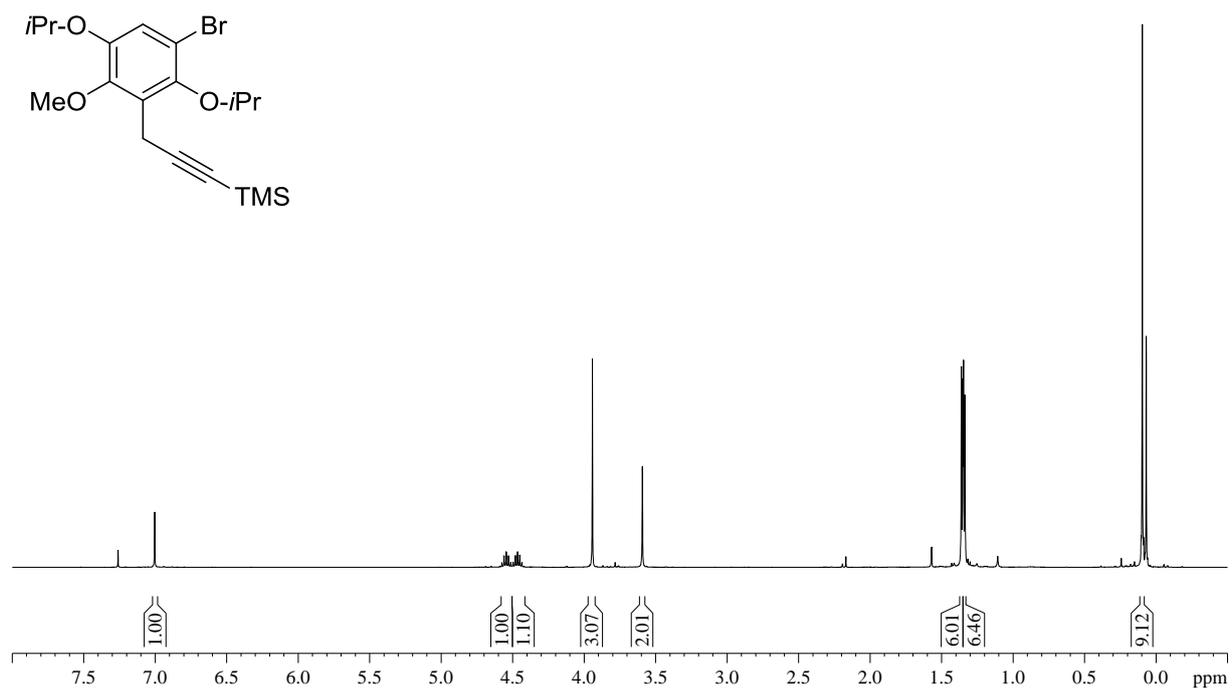
7 SPEKTRENANHANG

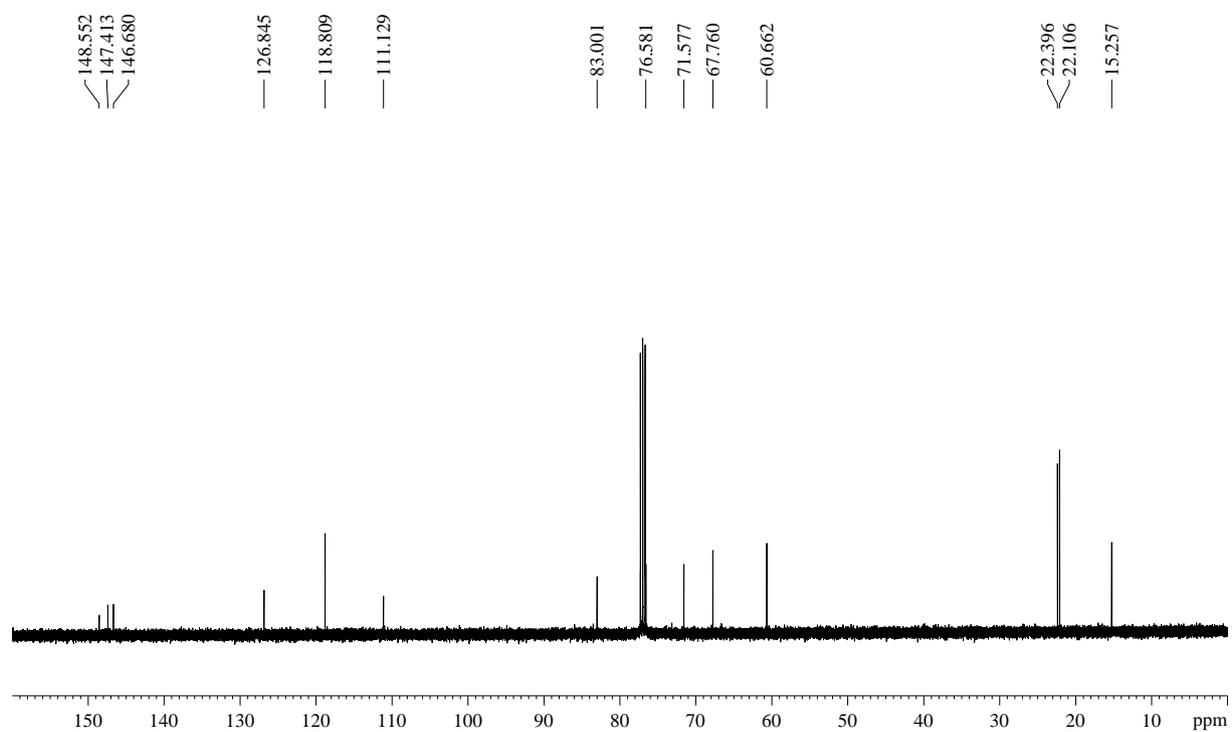
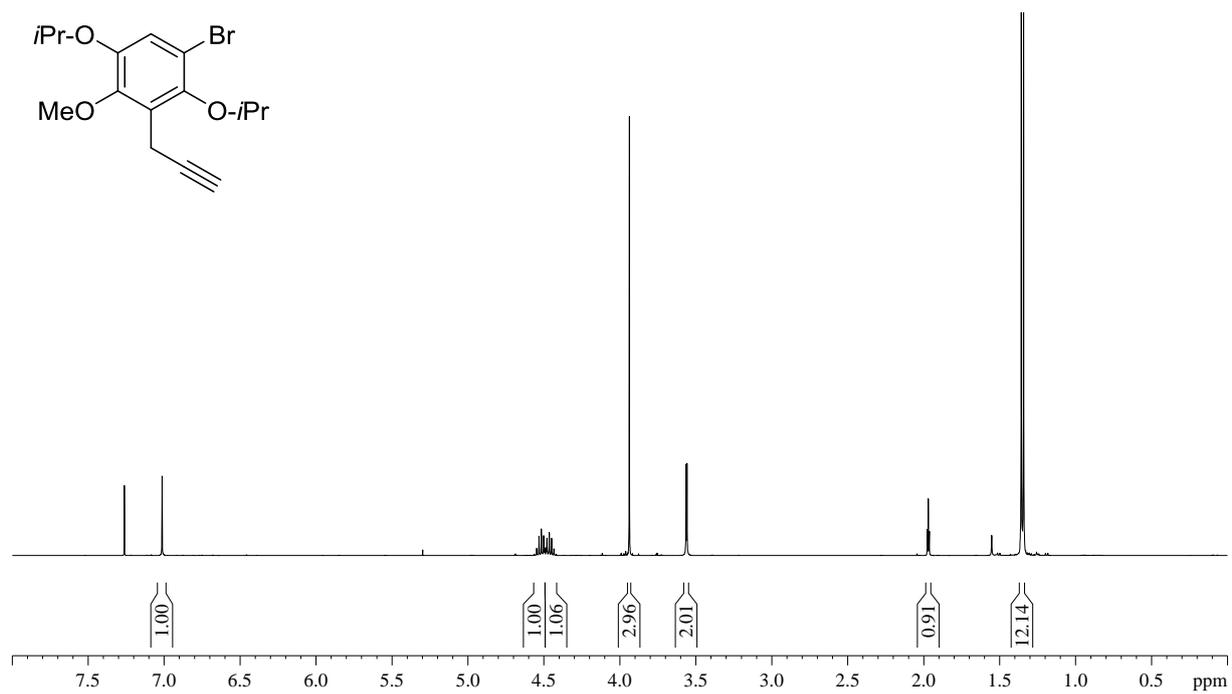


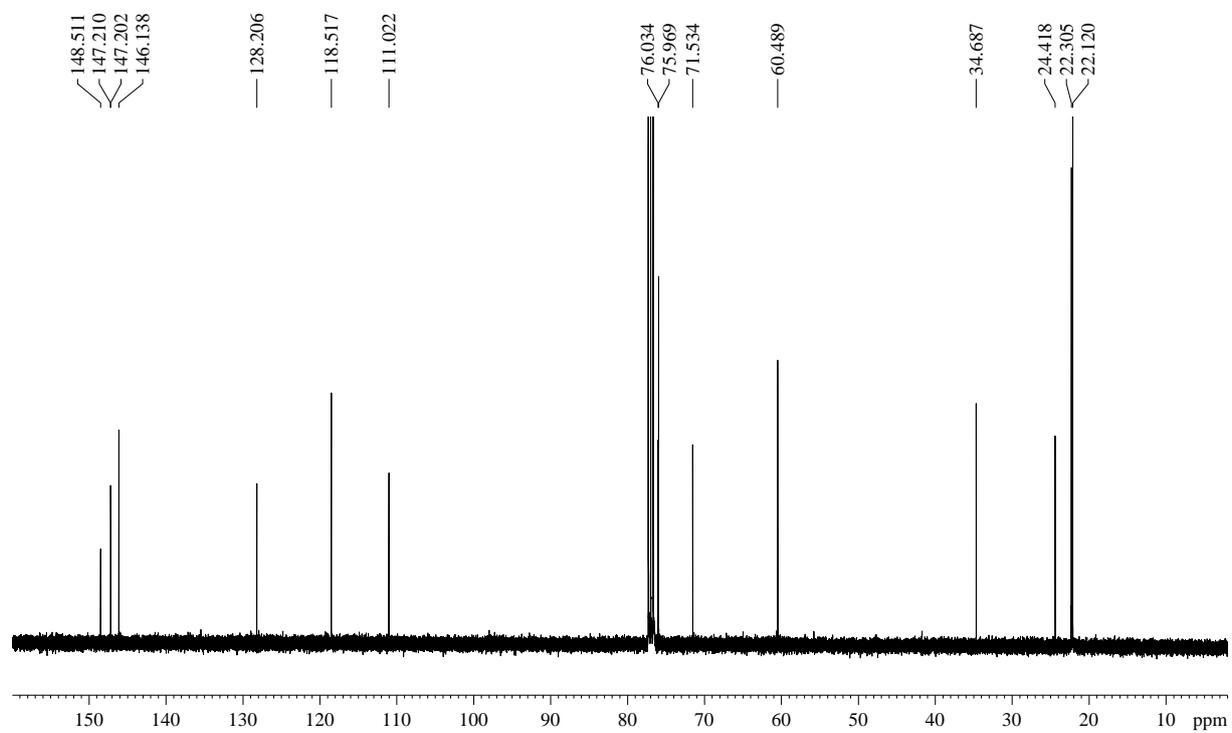
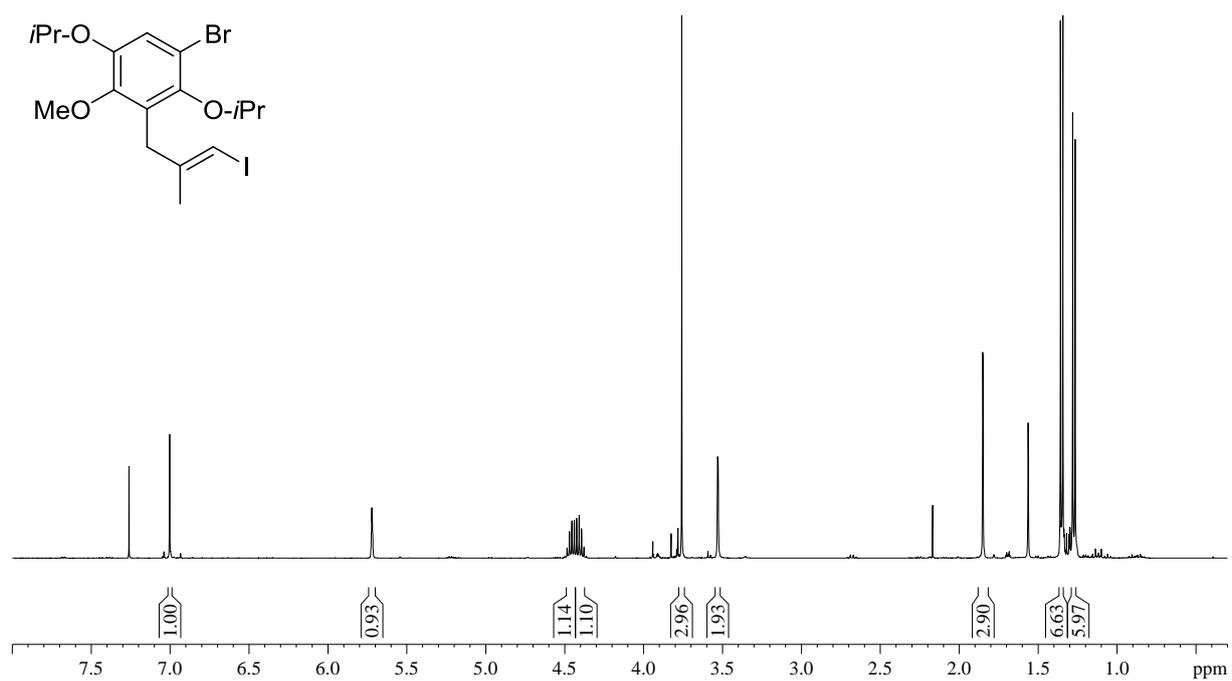


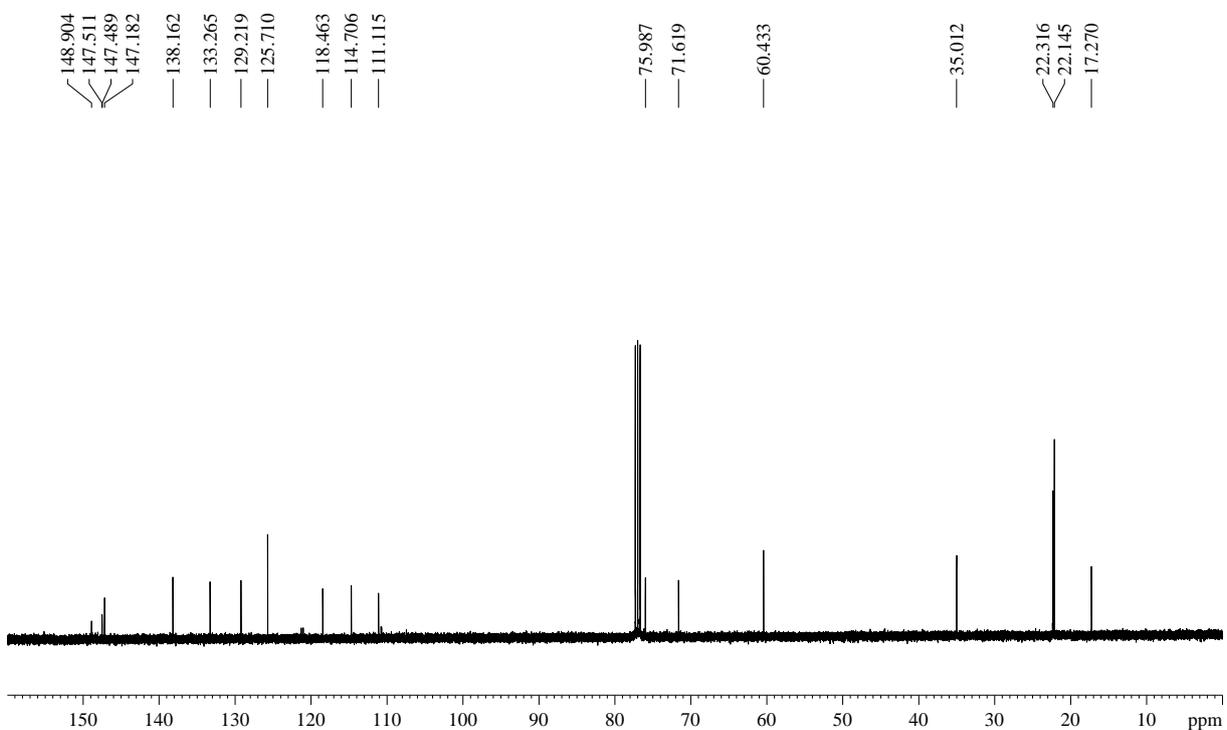
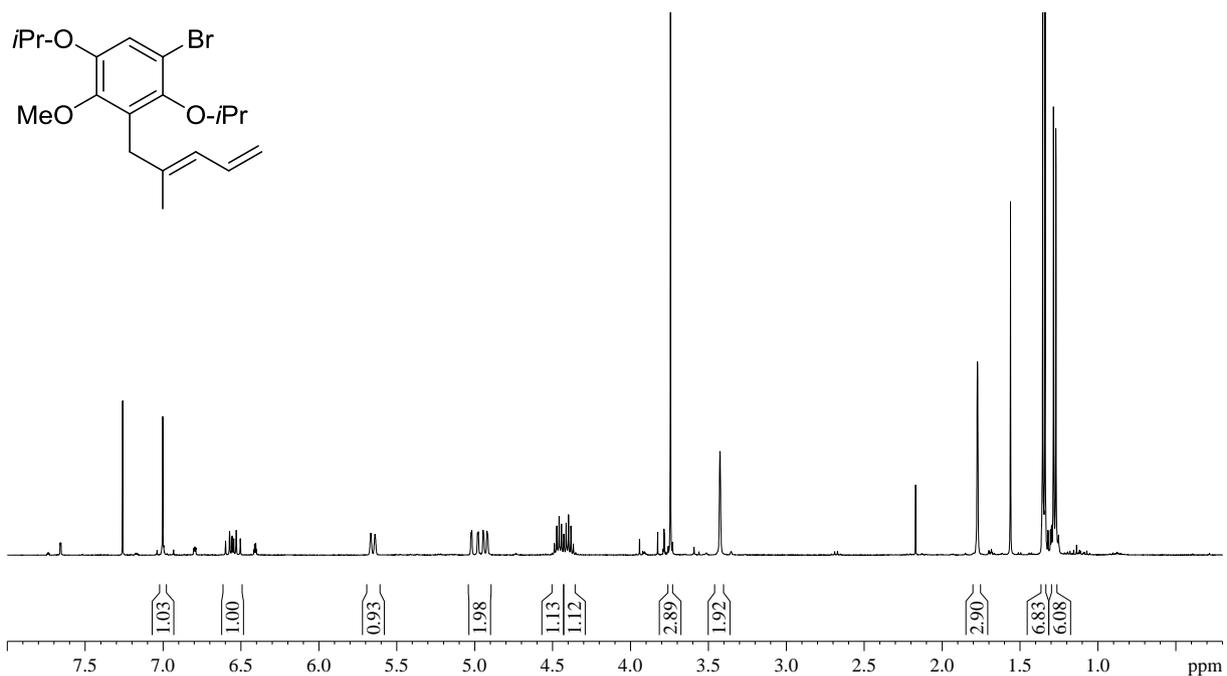


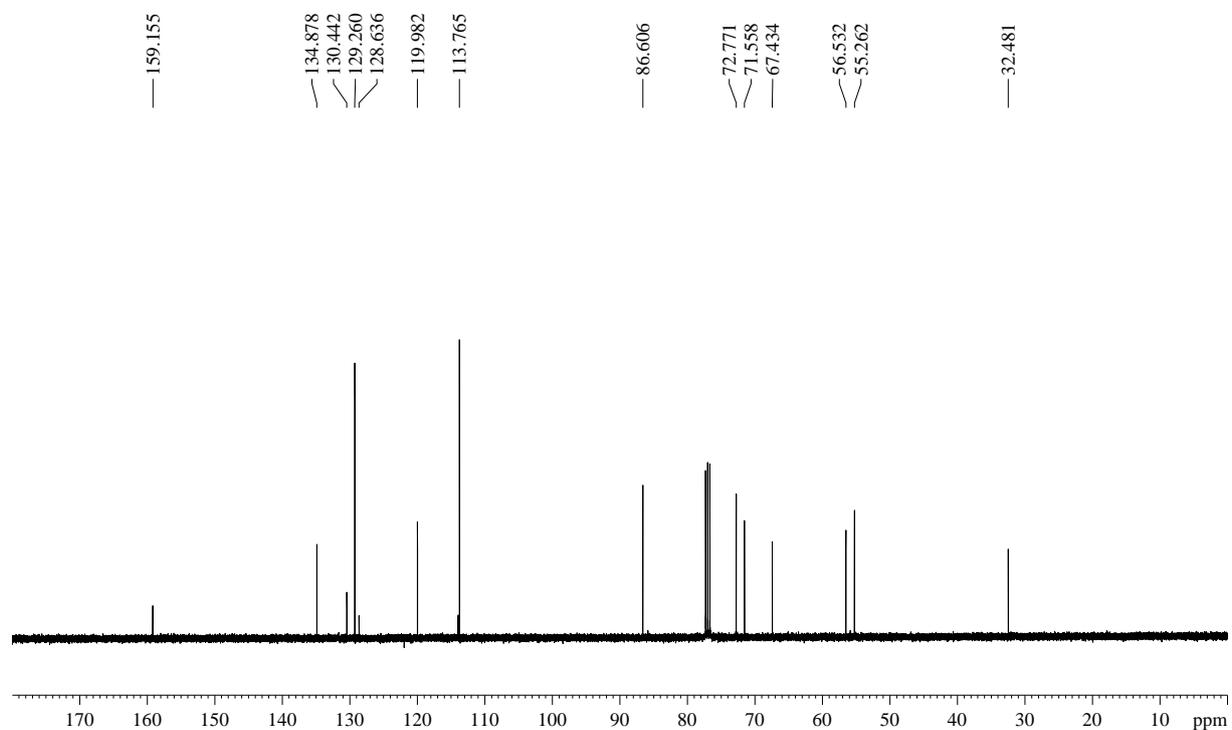
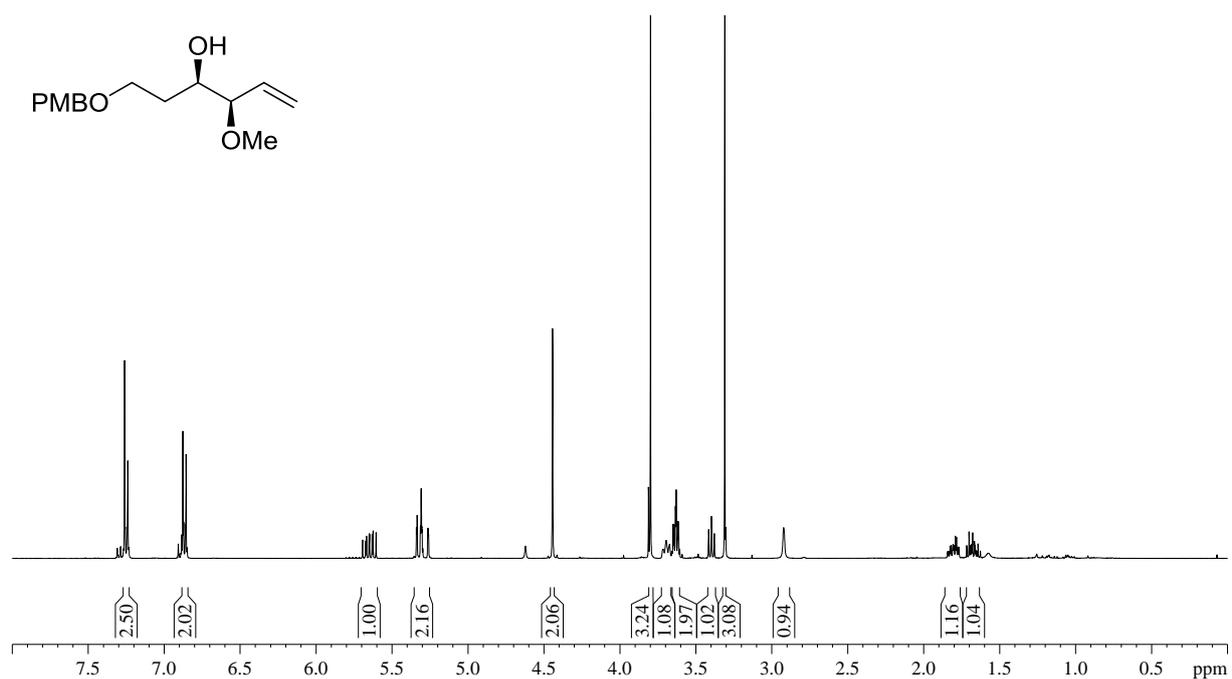


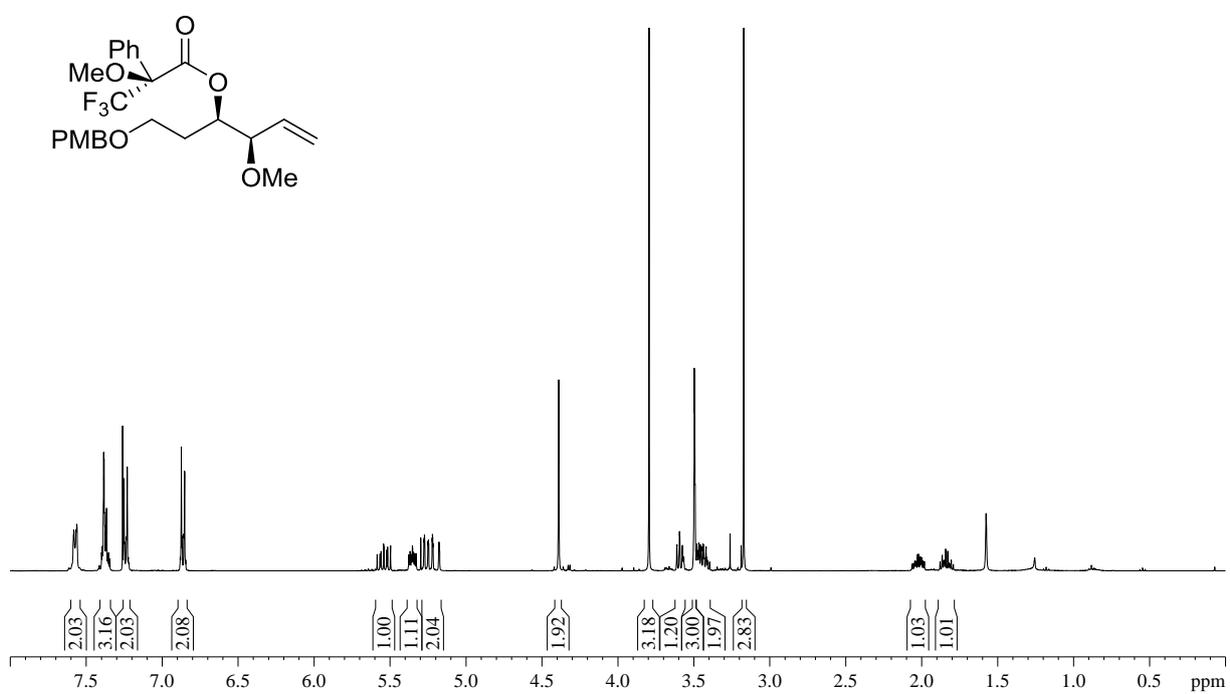
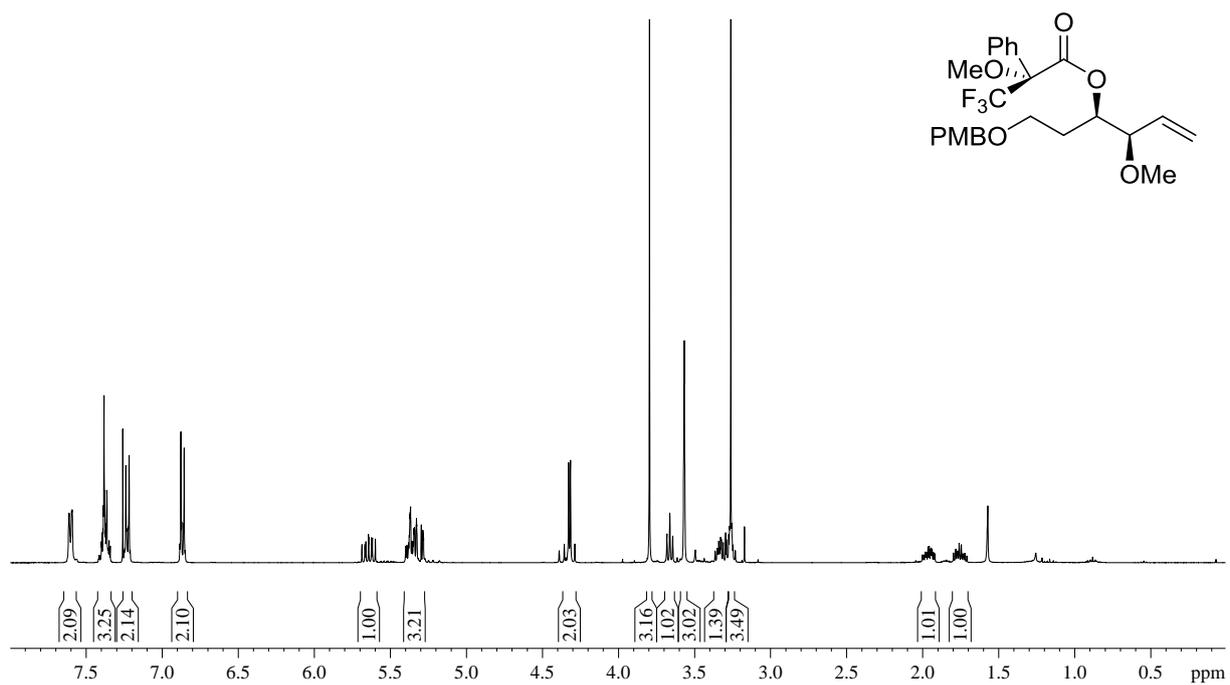


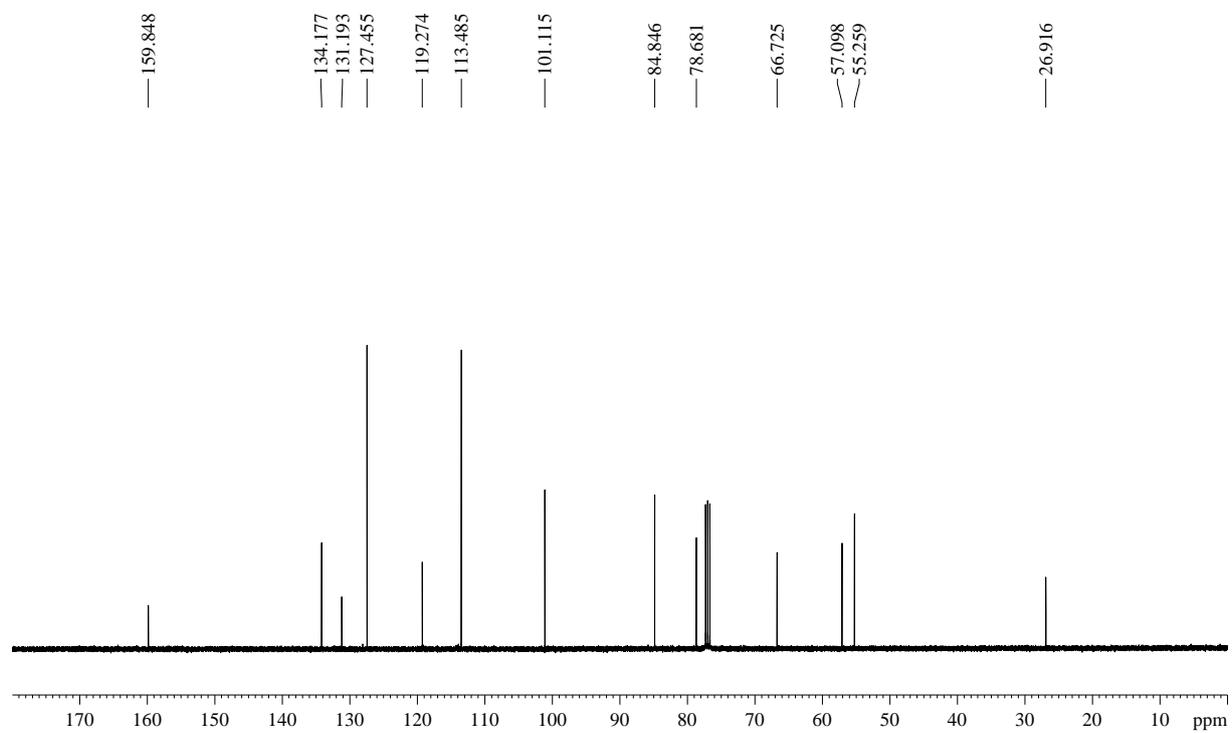
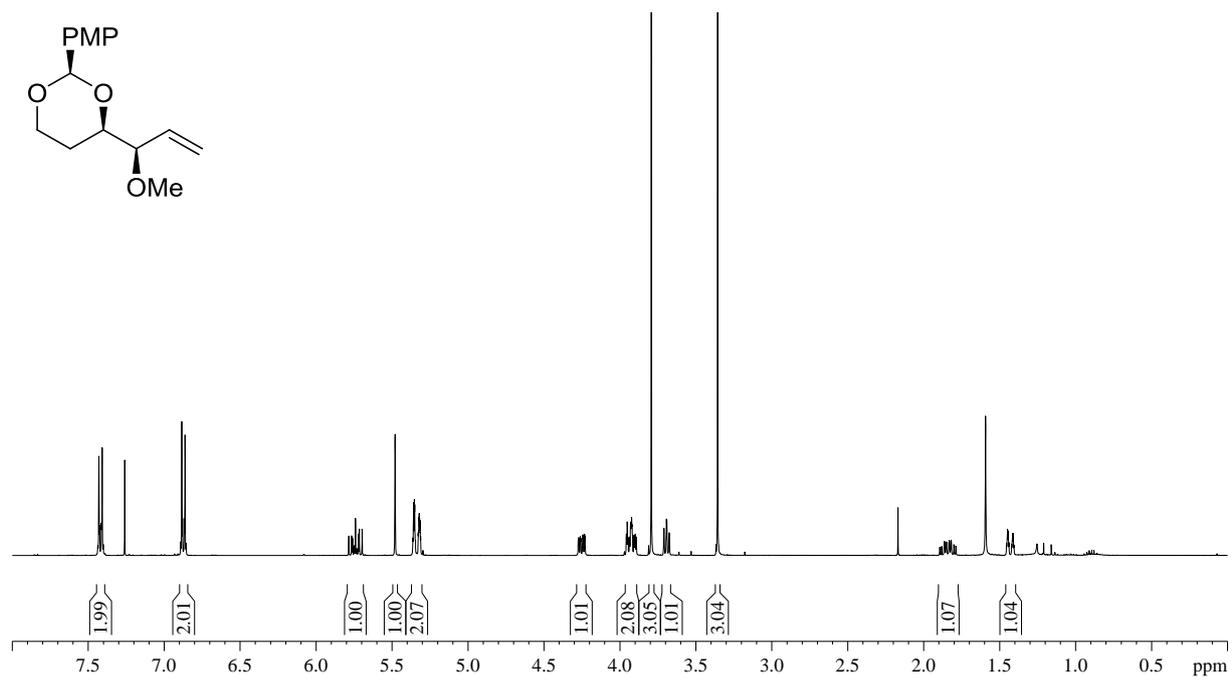


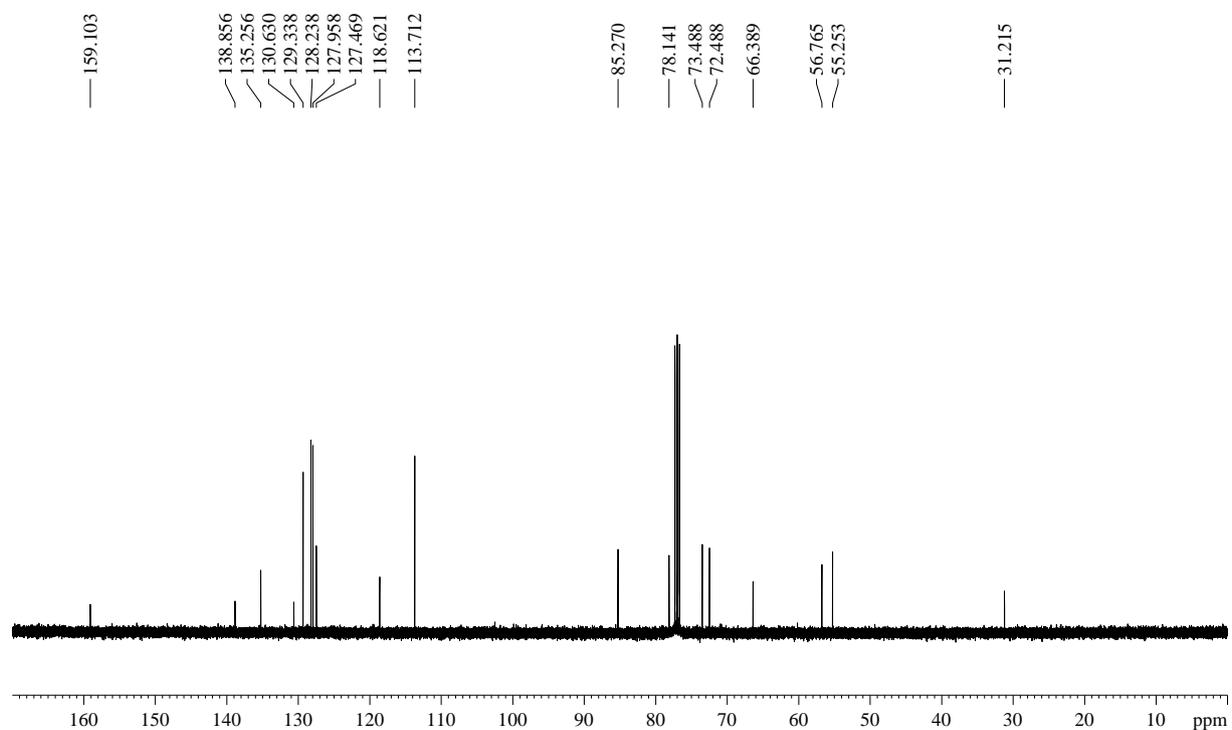
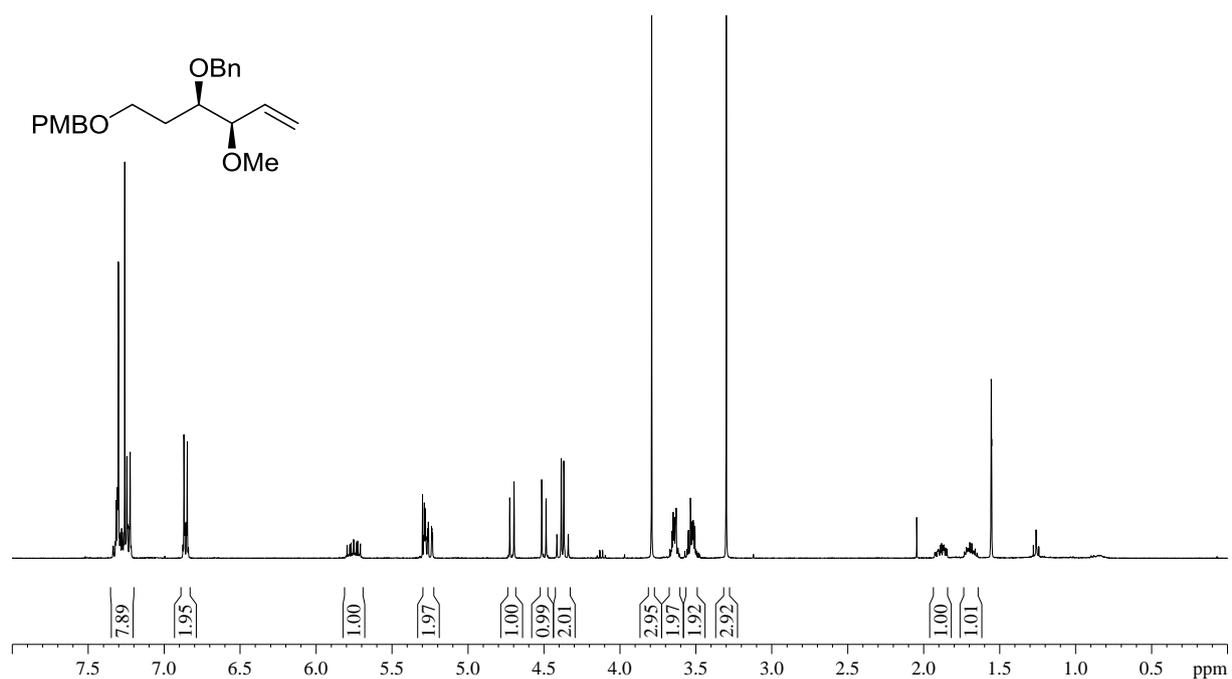


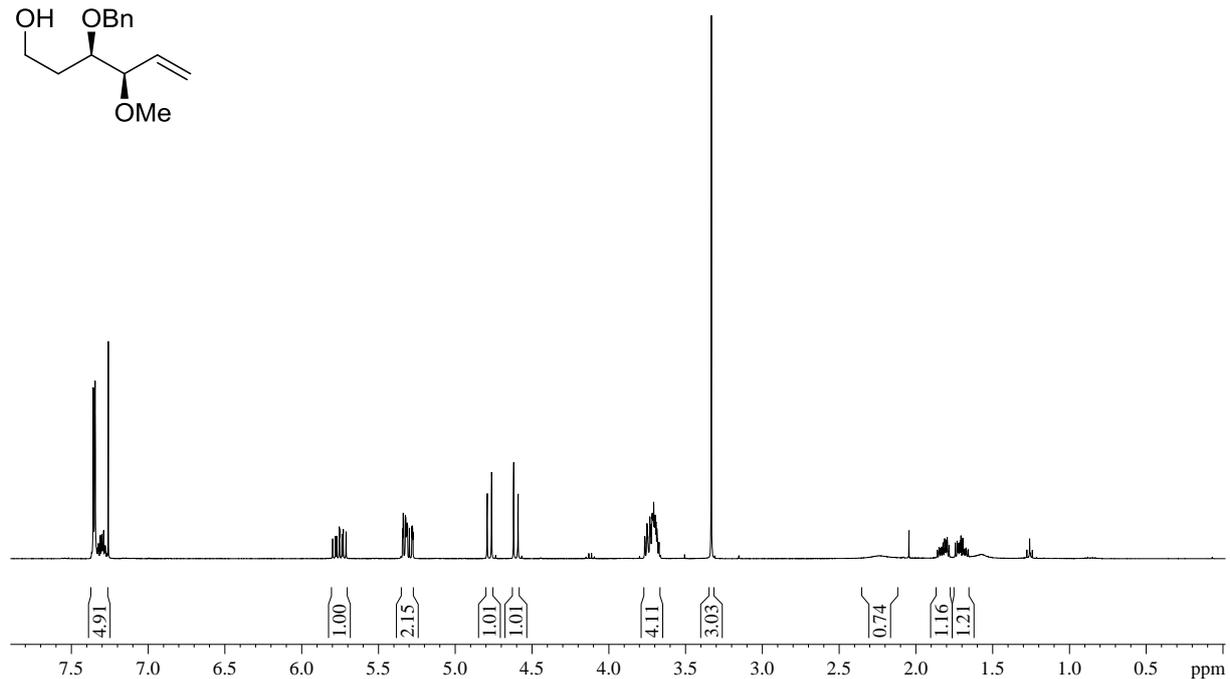
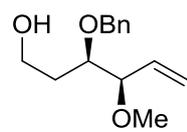








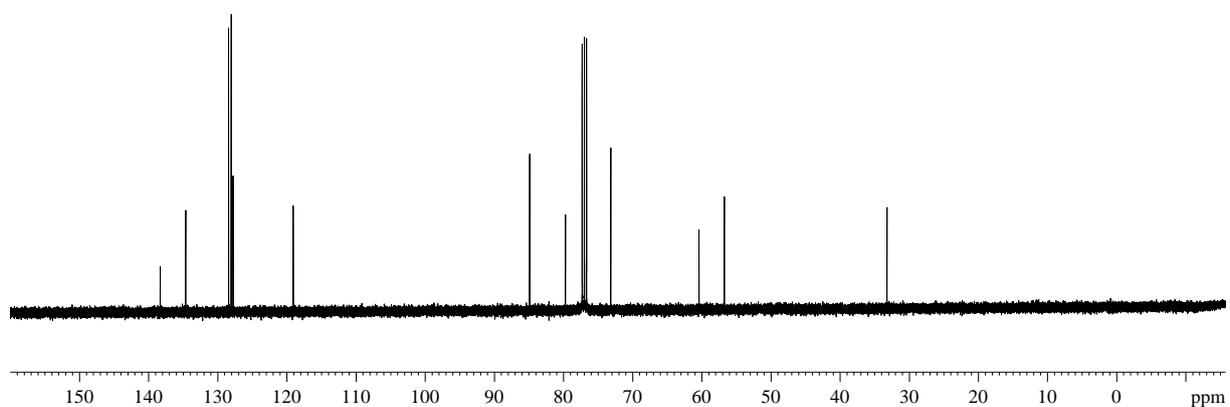


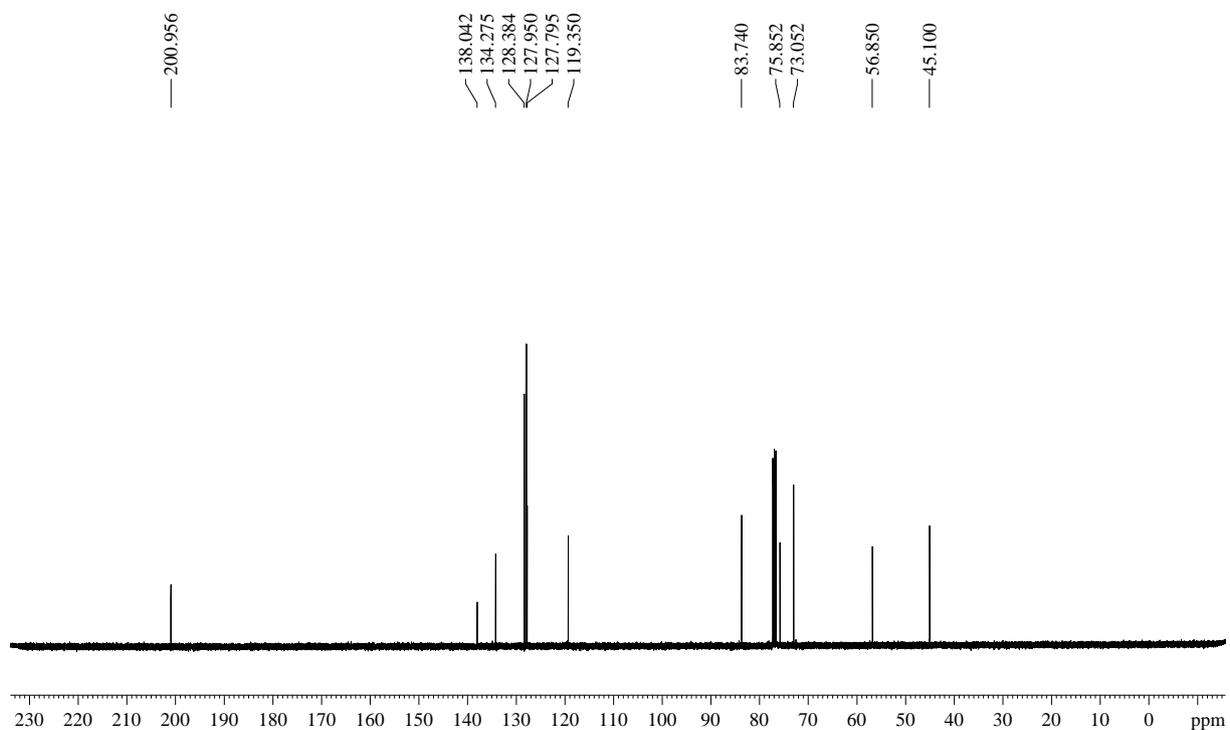
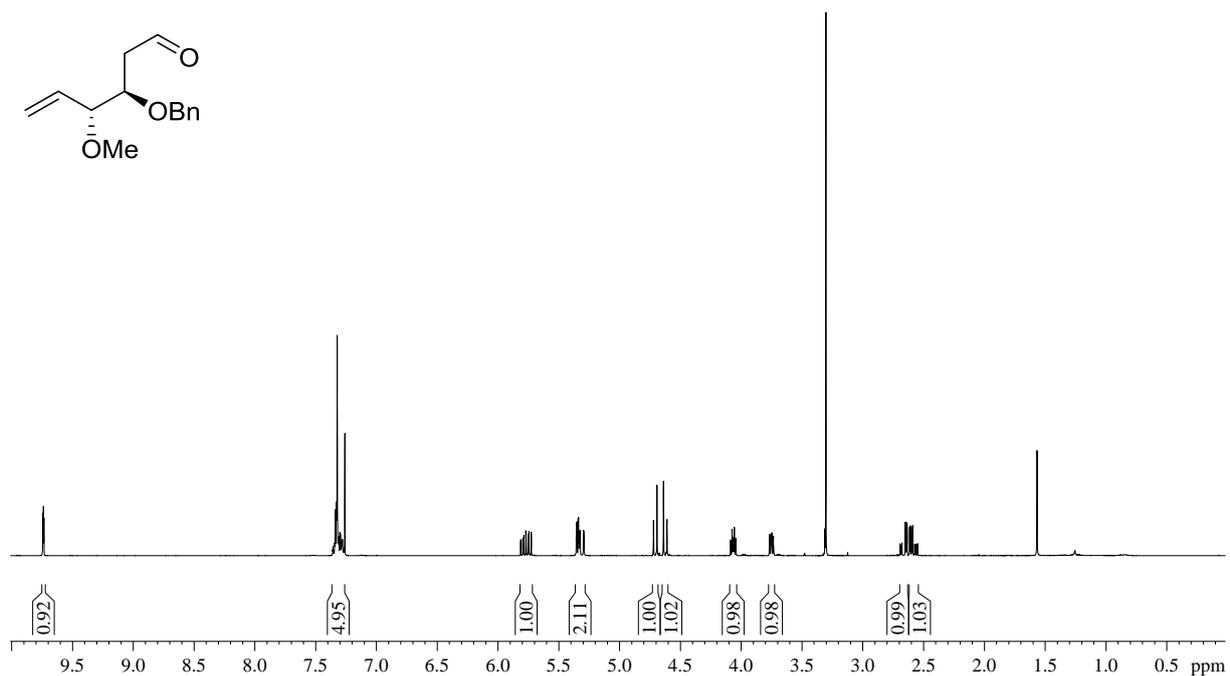
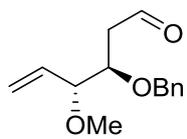


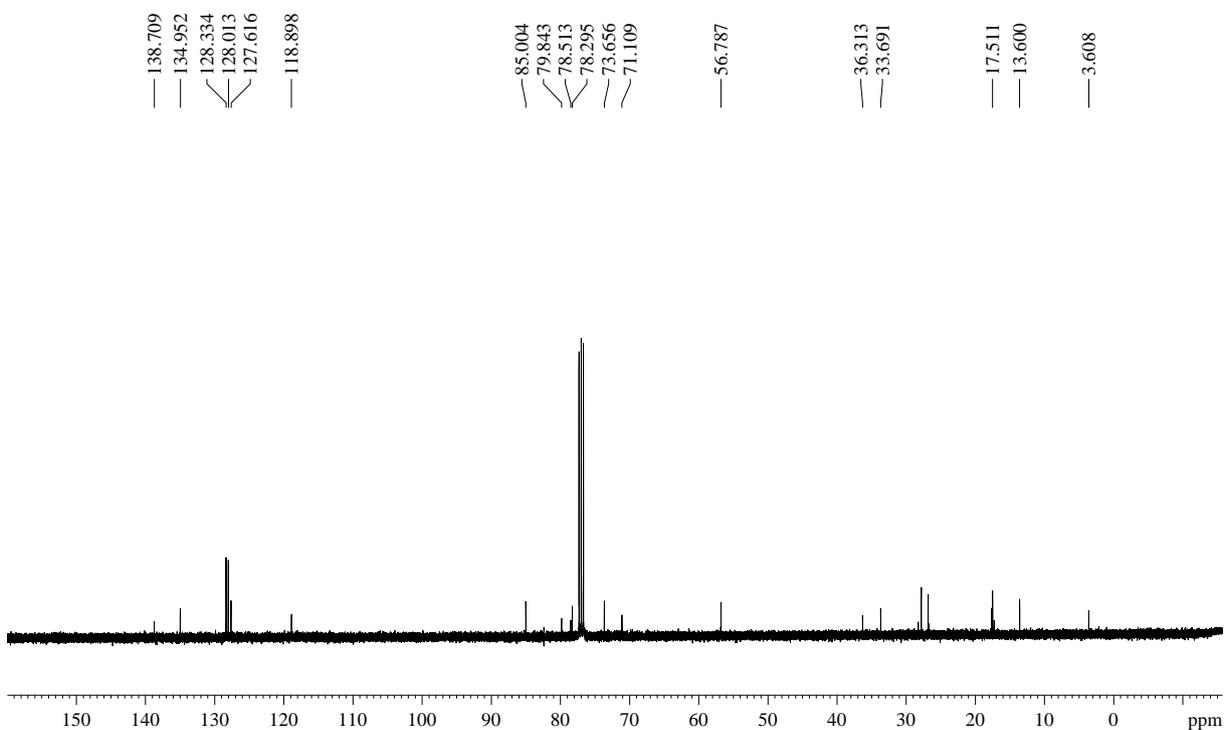
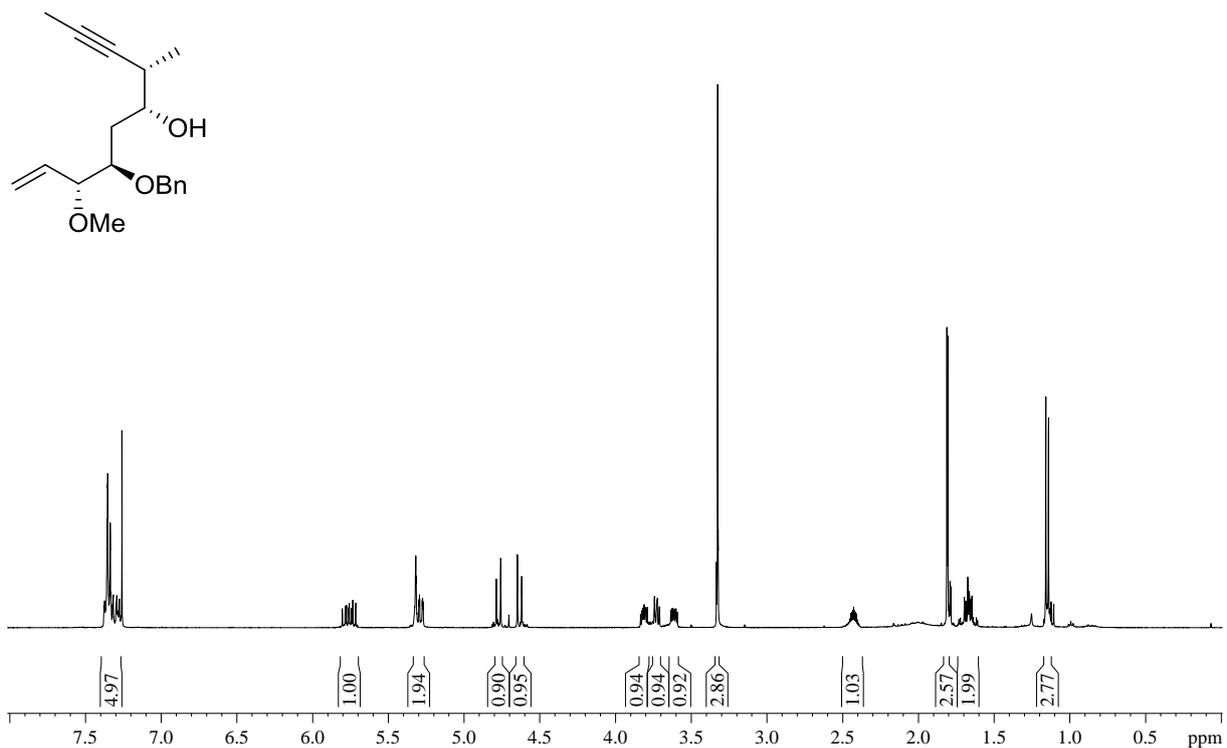
— 138.334
— 134.651
— 128.453
— 128.066
— 127.801
— 119.107

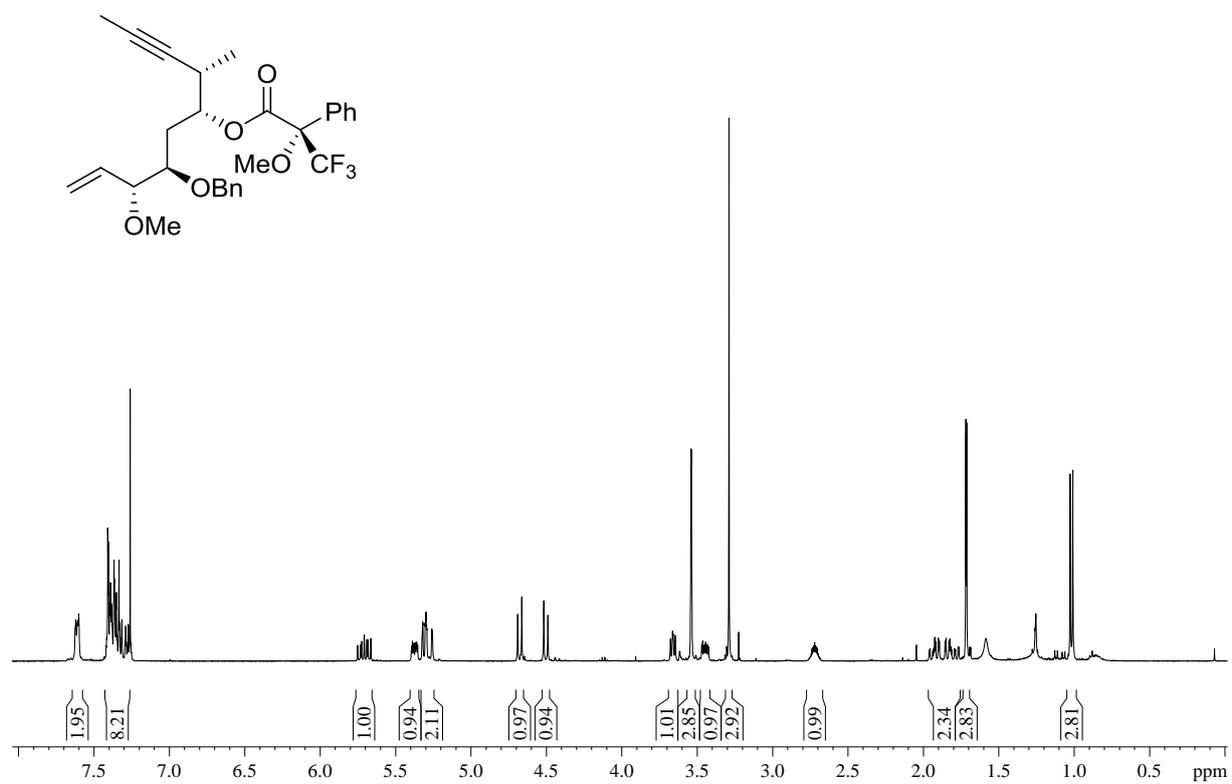
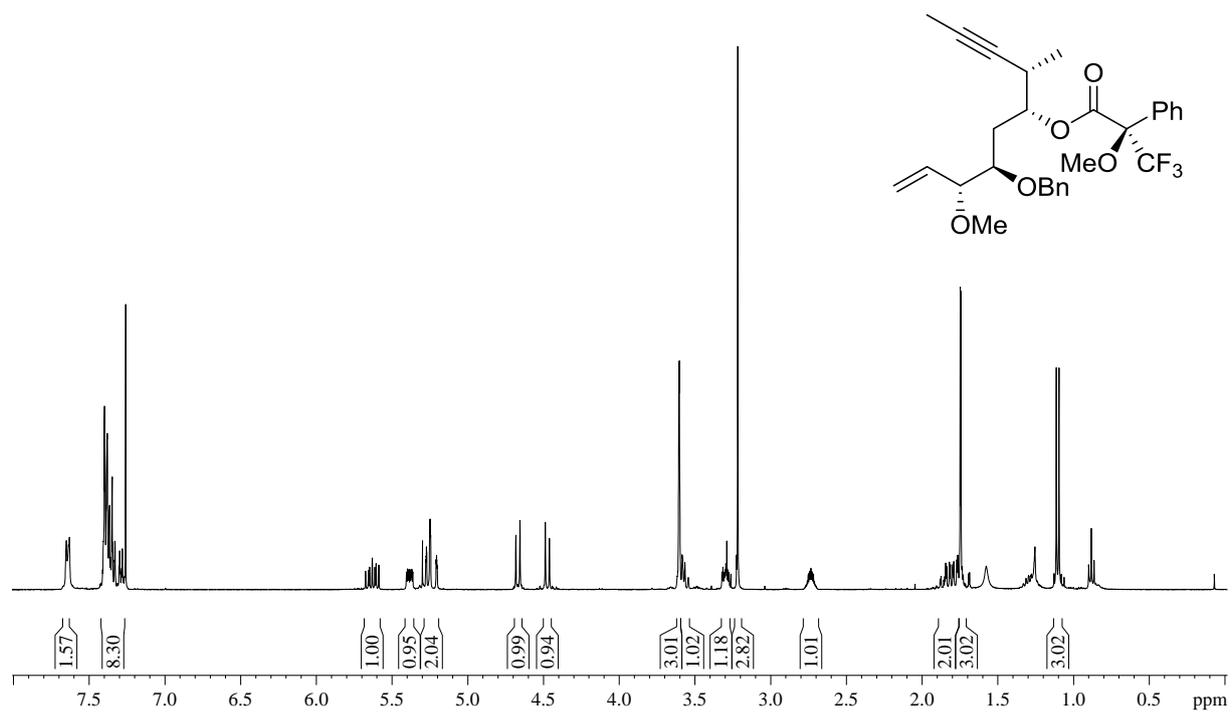
— 84.907
— 79.730
— 73.181
— 60.423
— 56.755

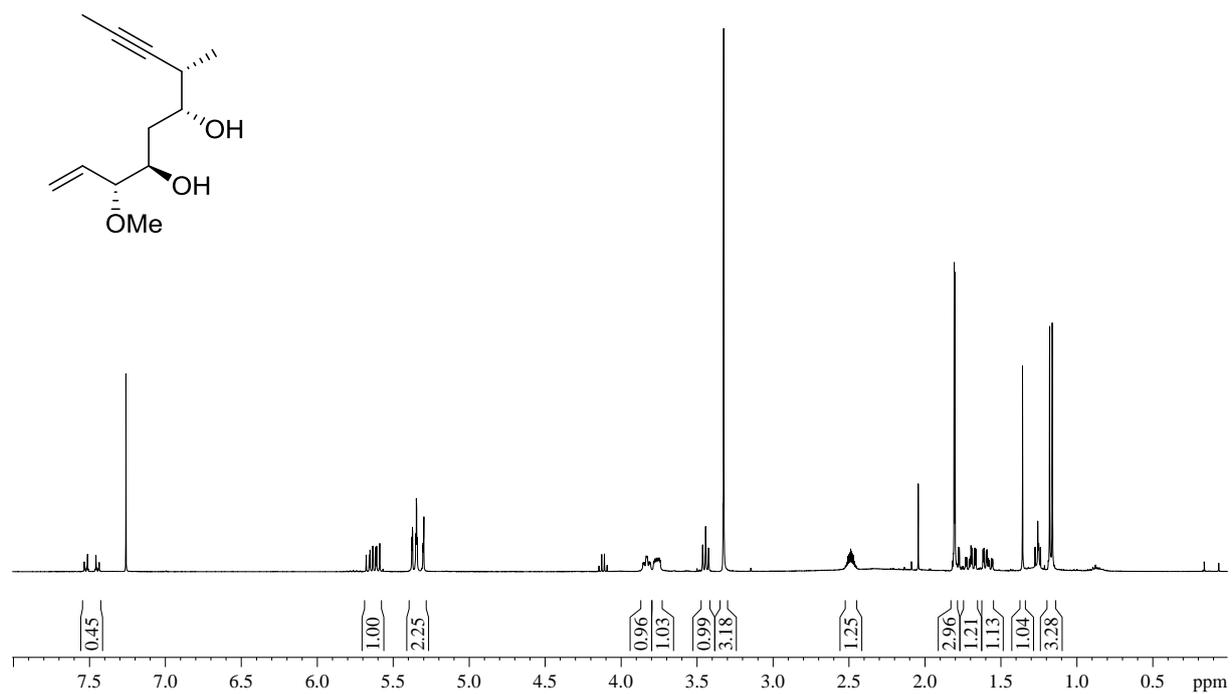
— 33.230

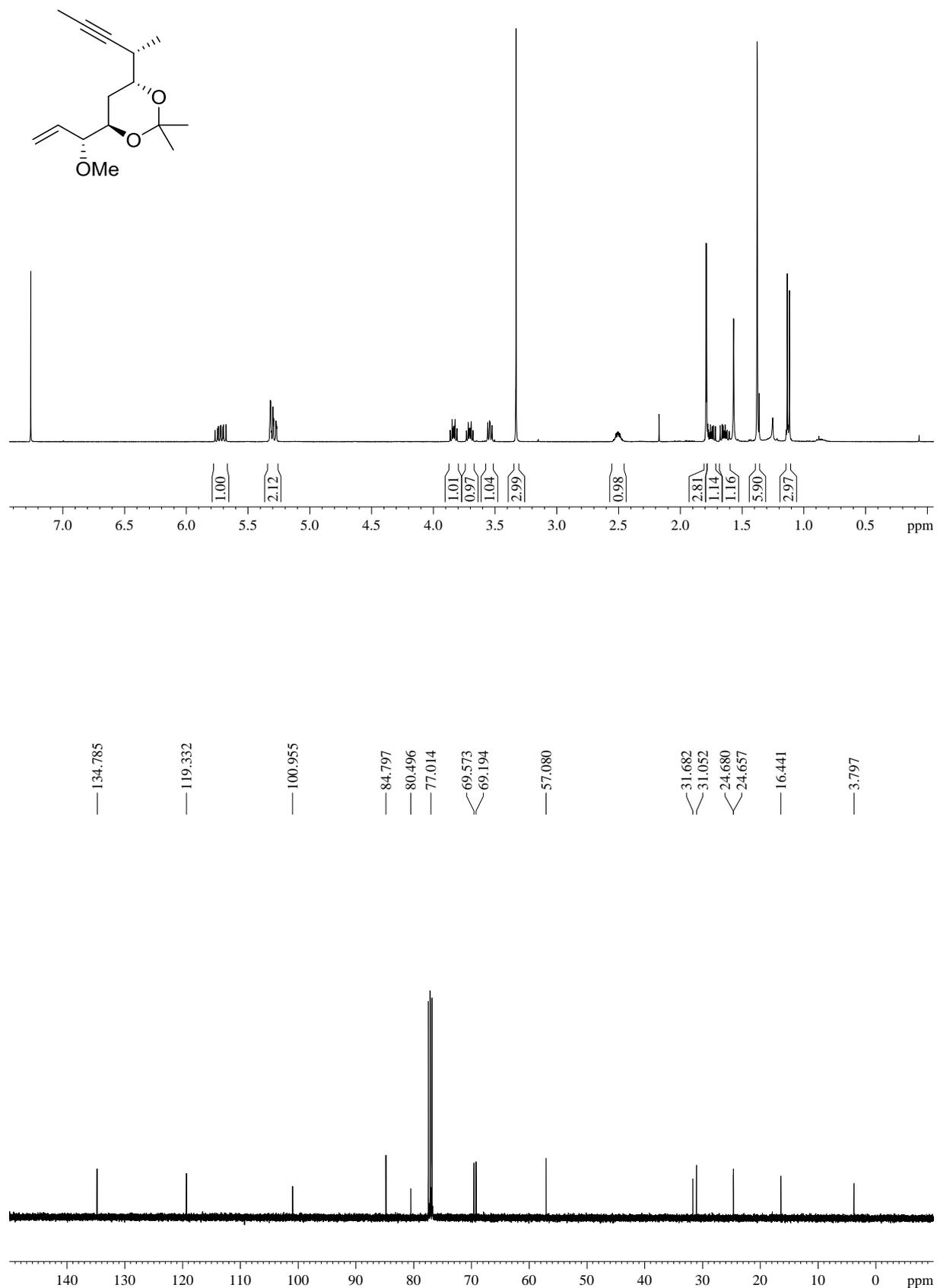


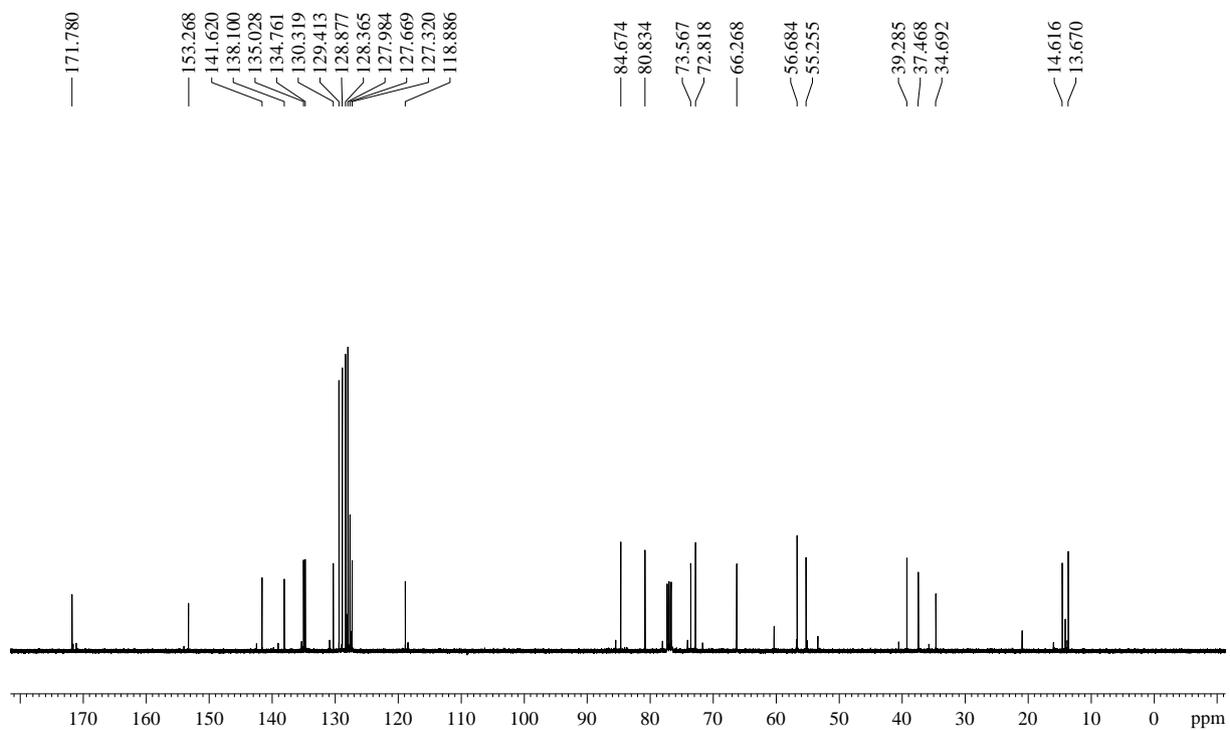
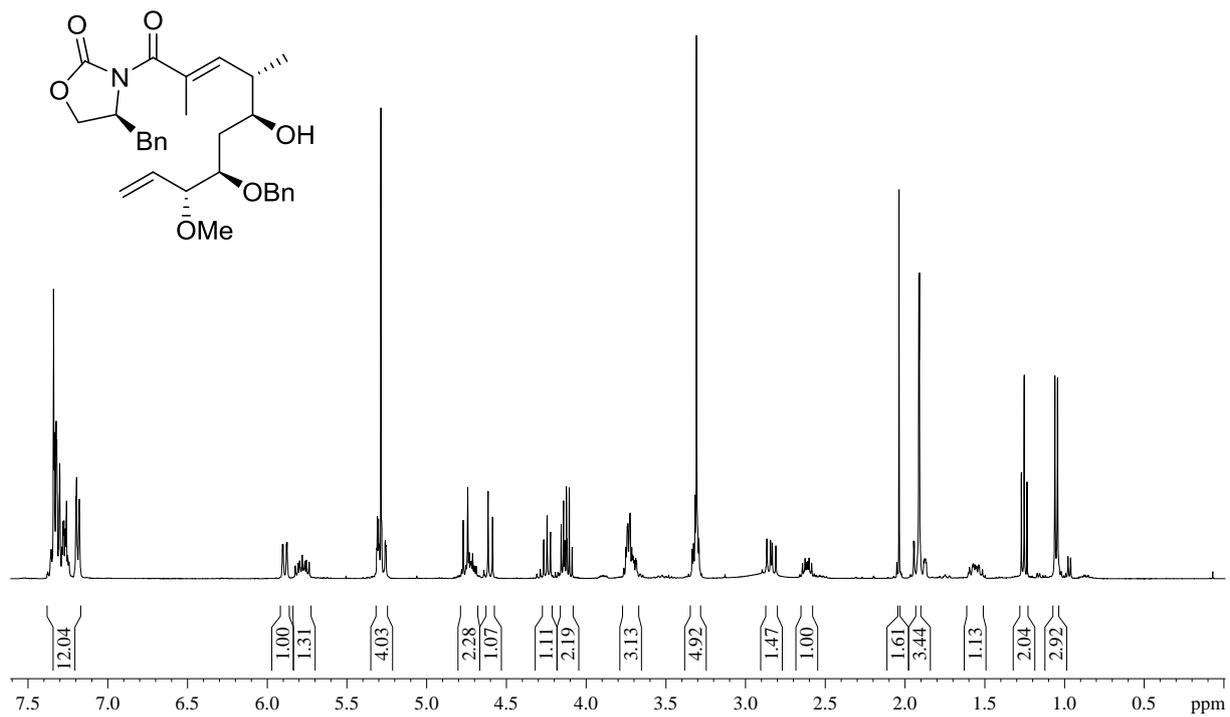


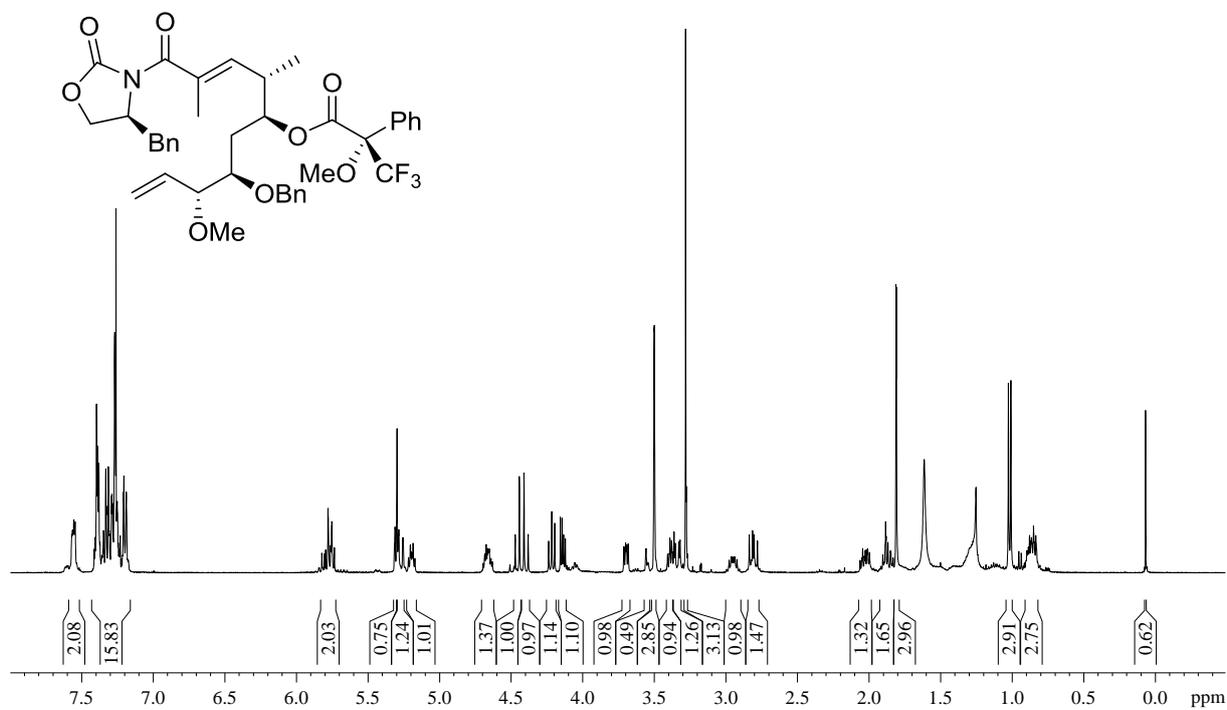
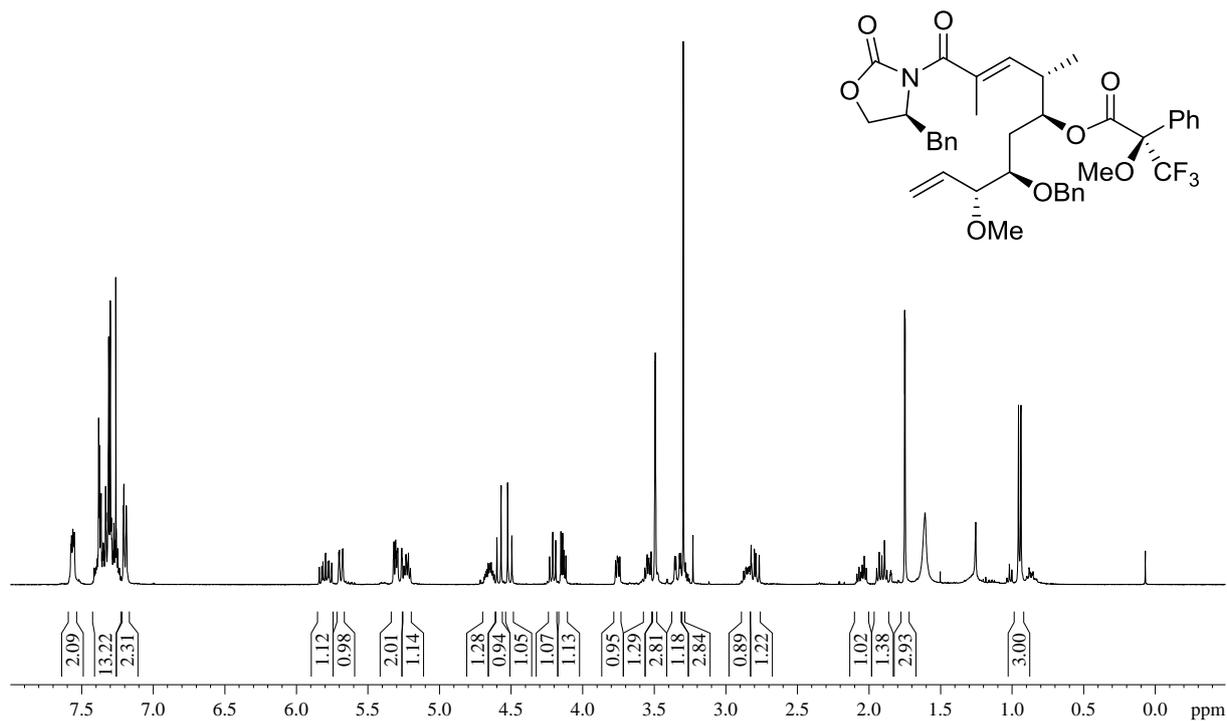


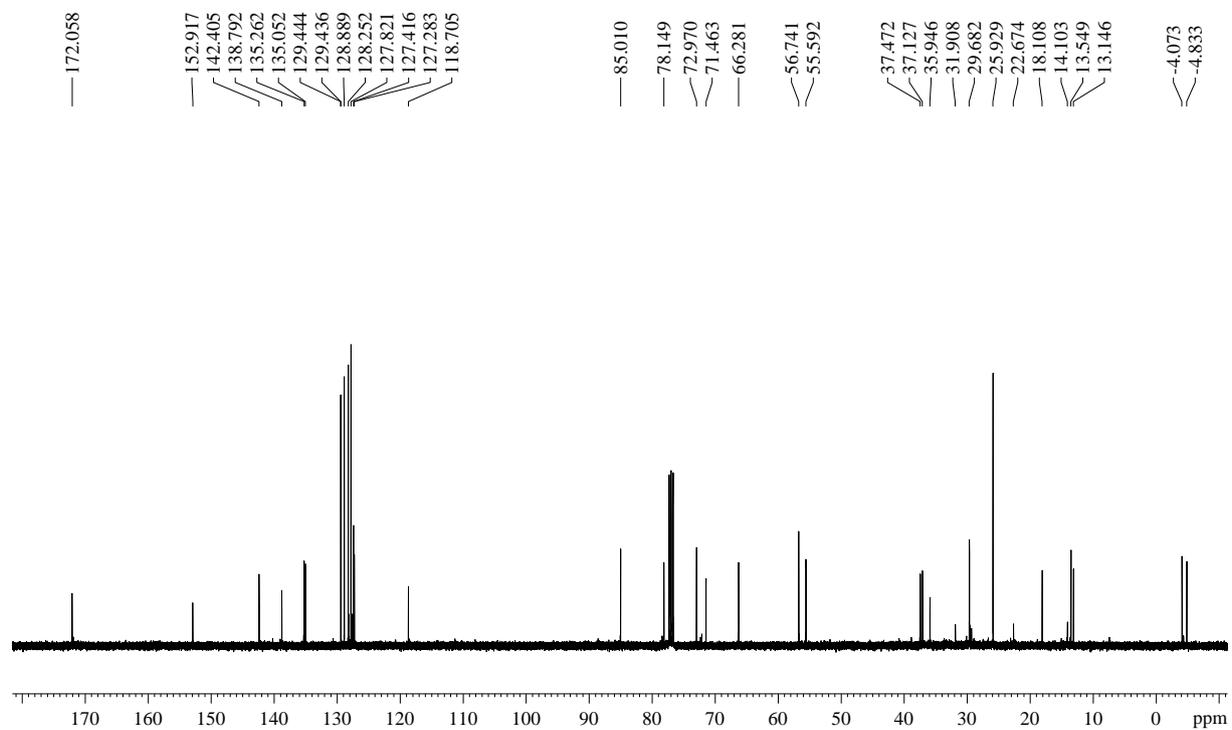
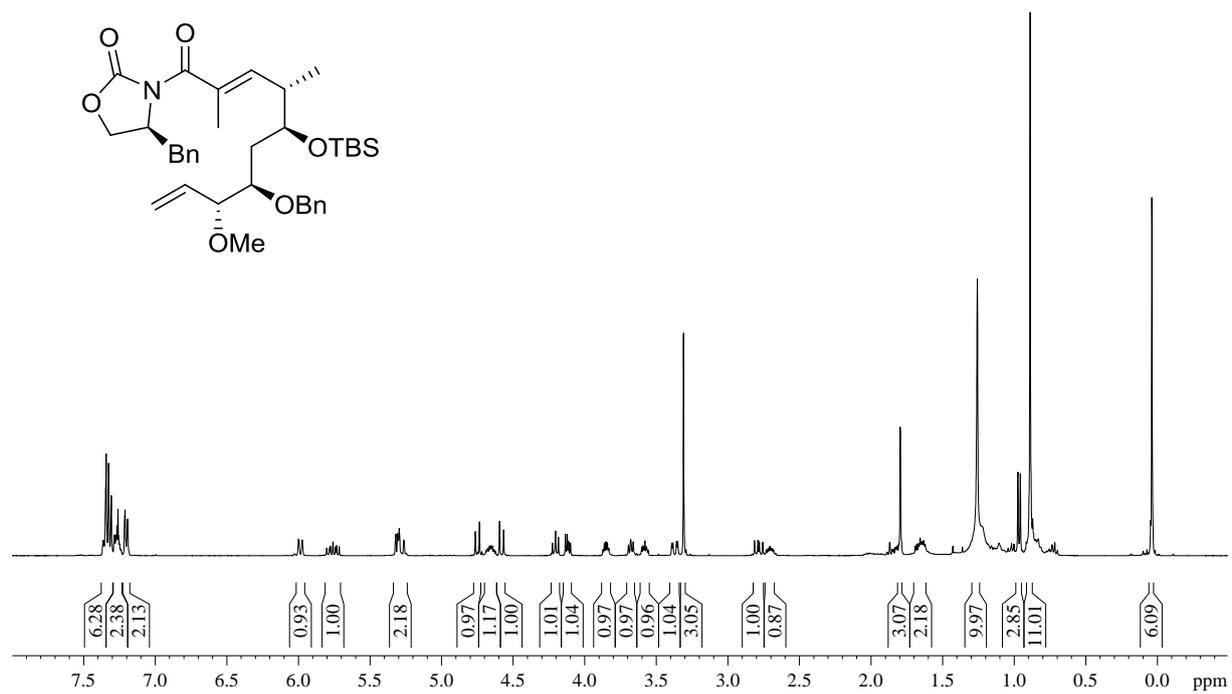


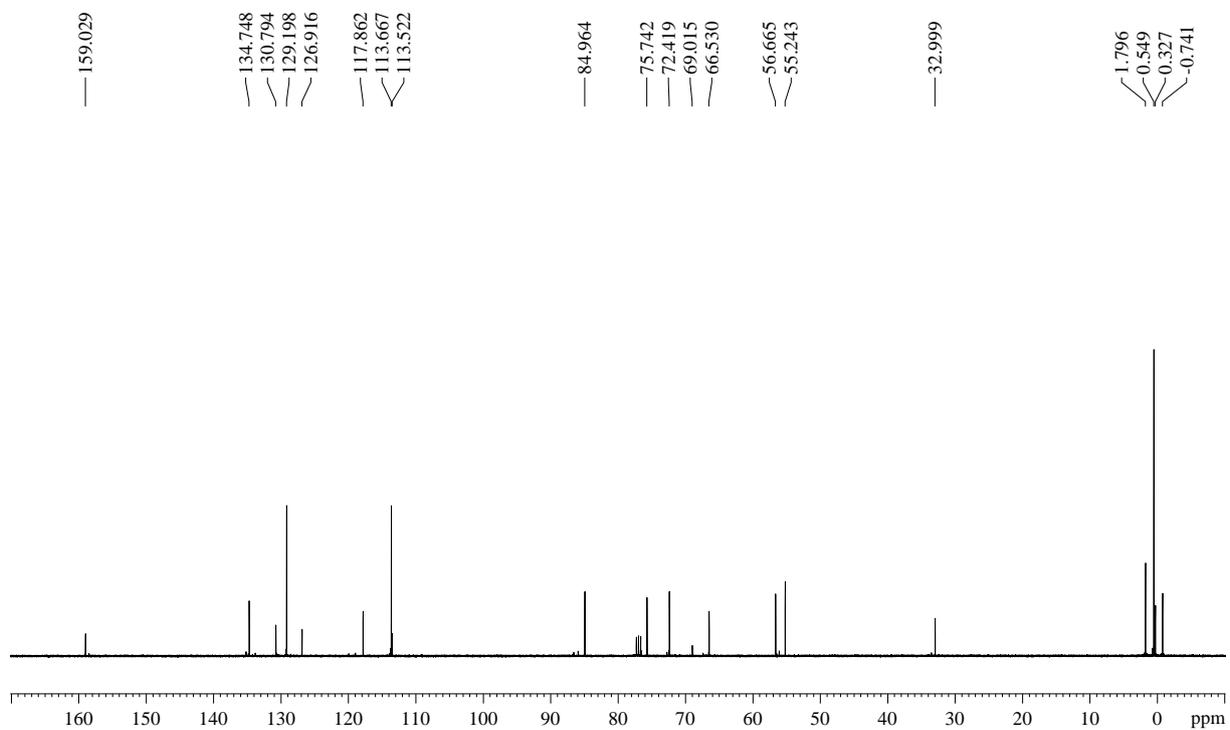
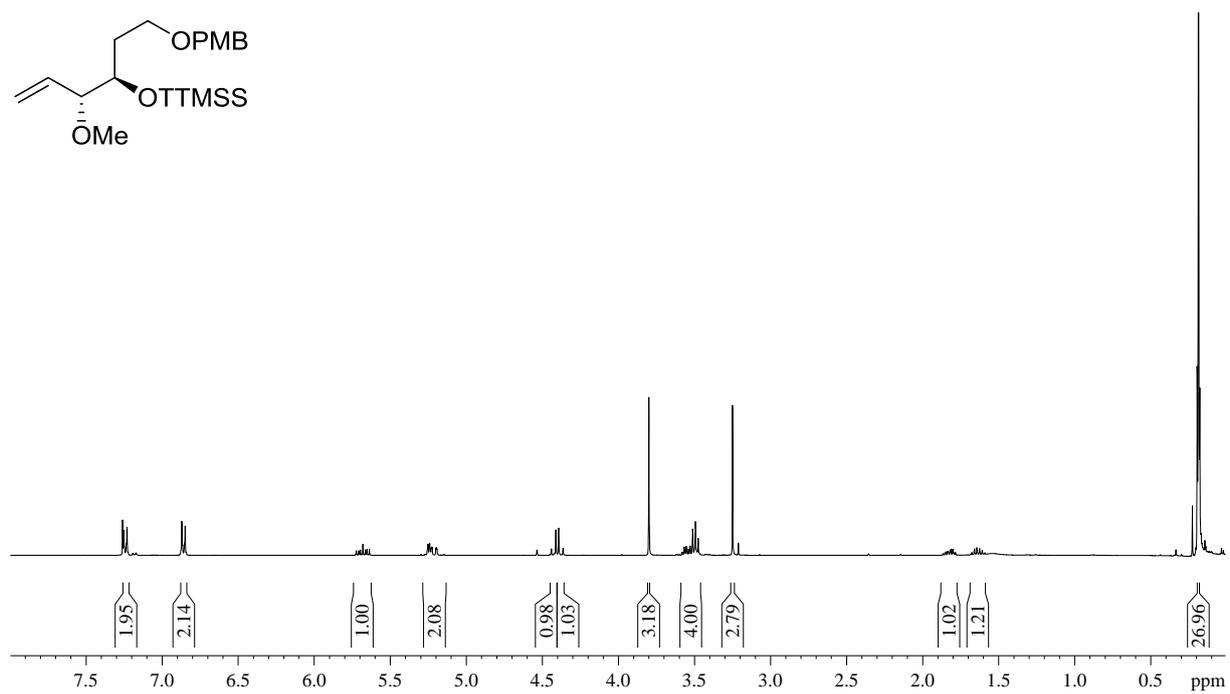
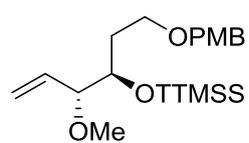


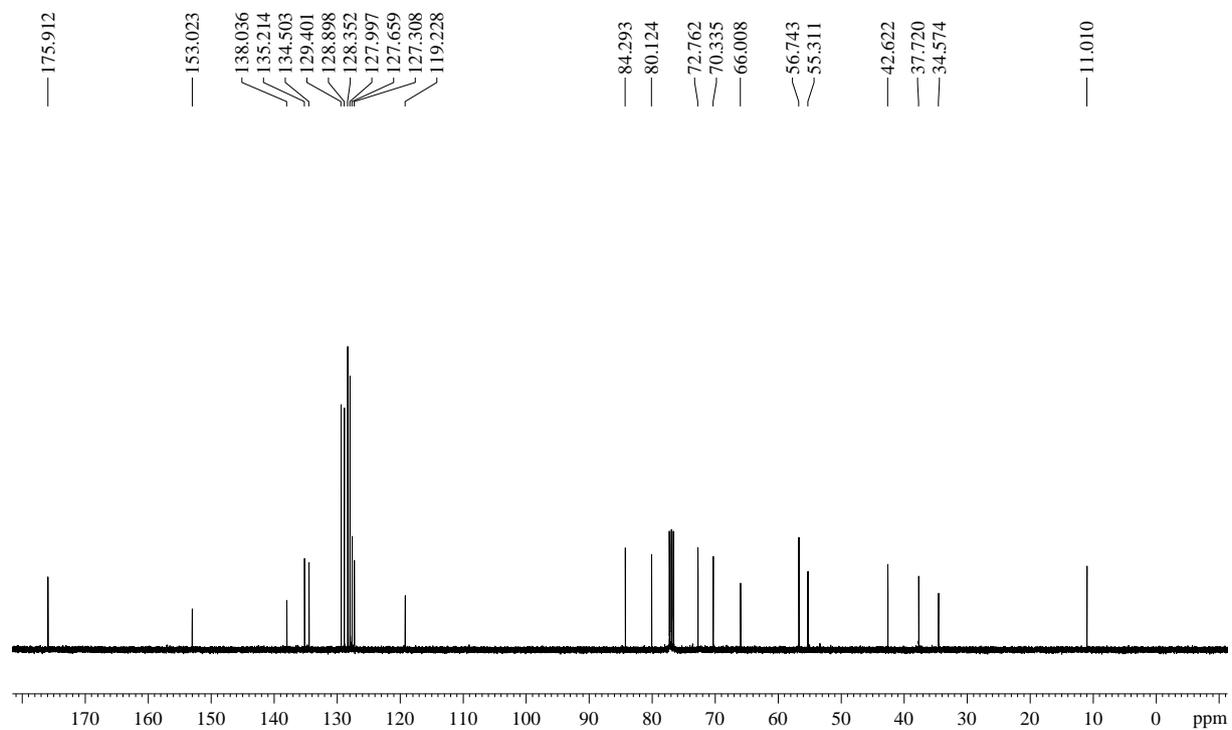
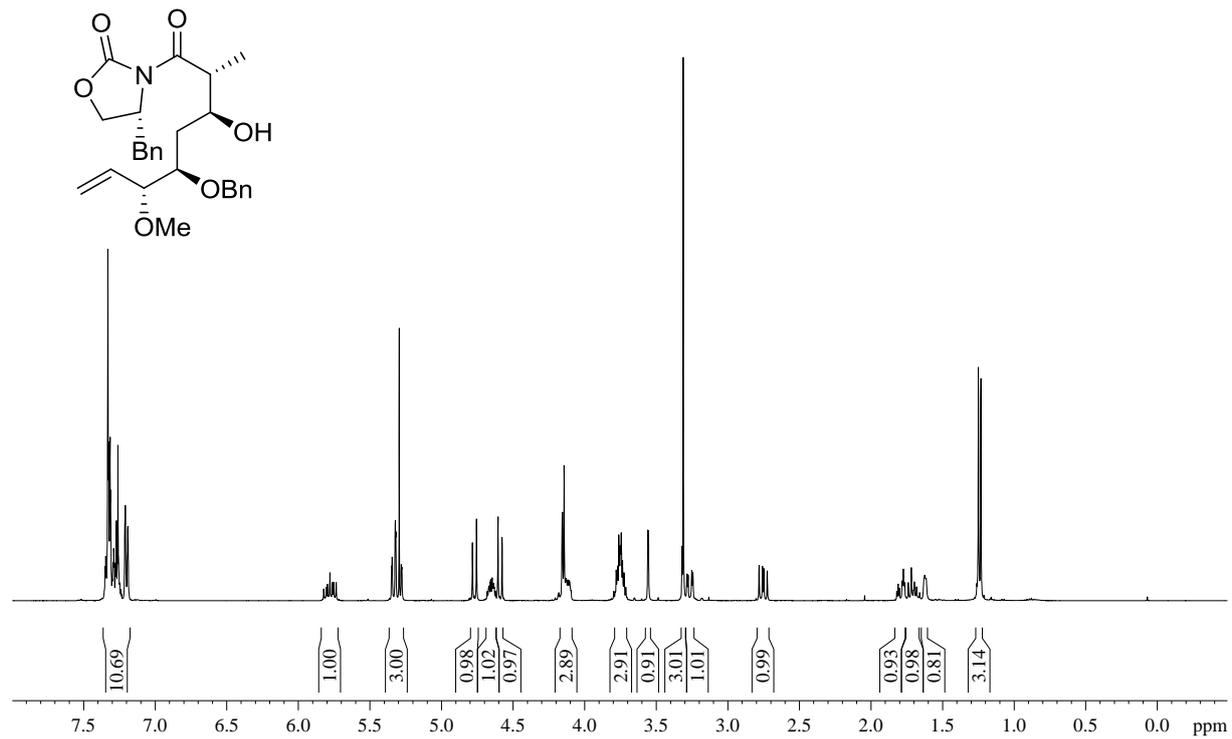


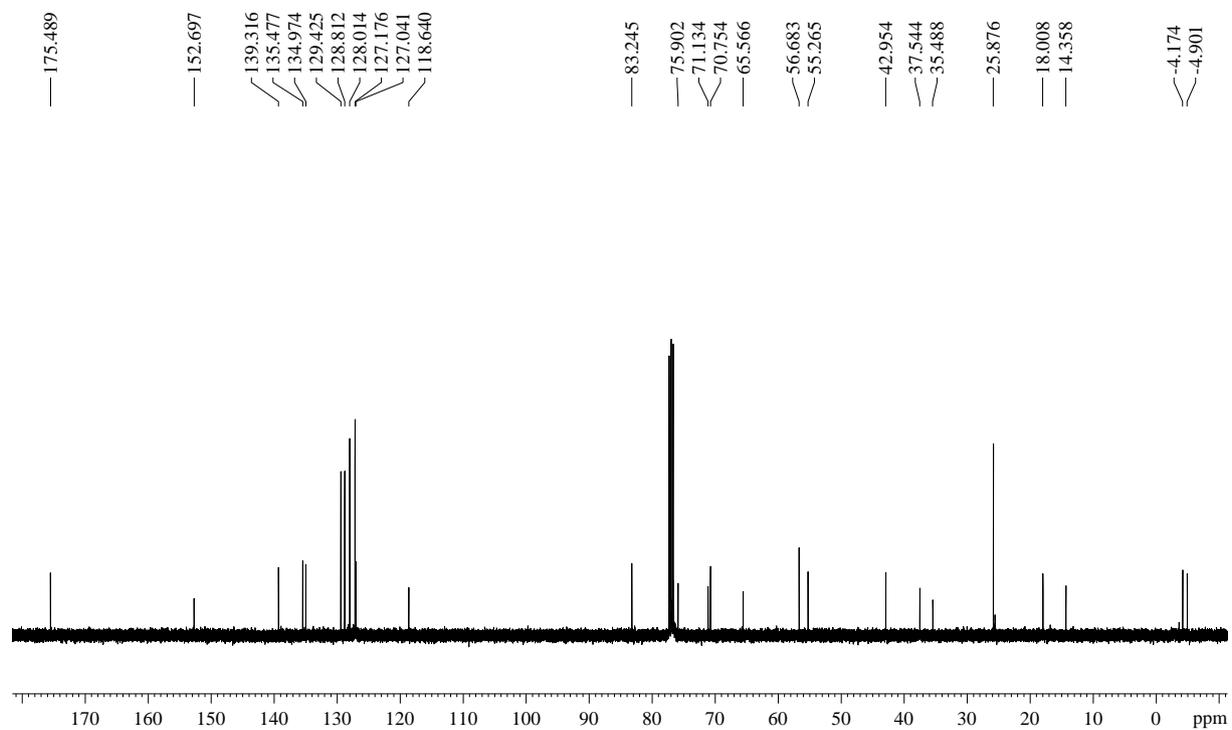
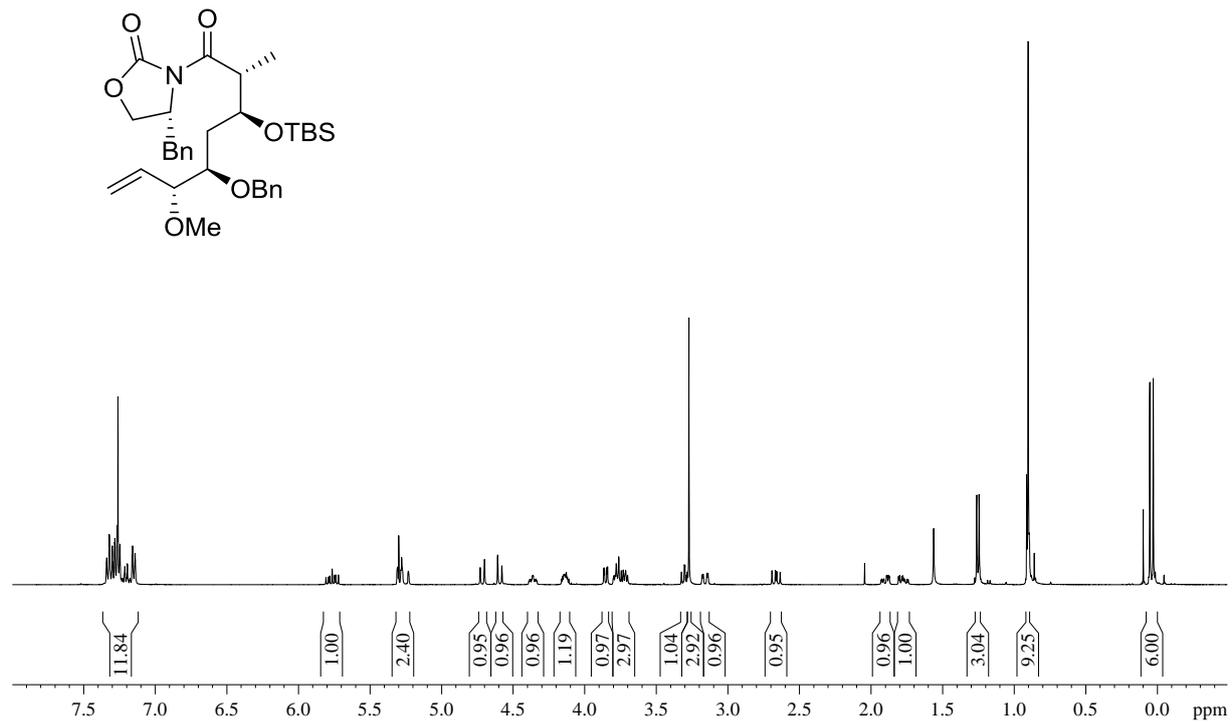


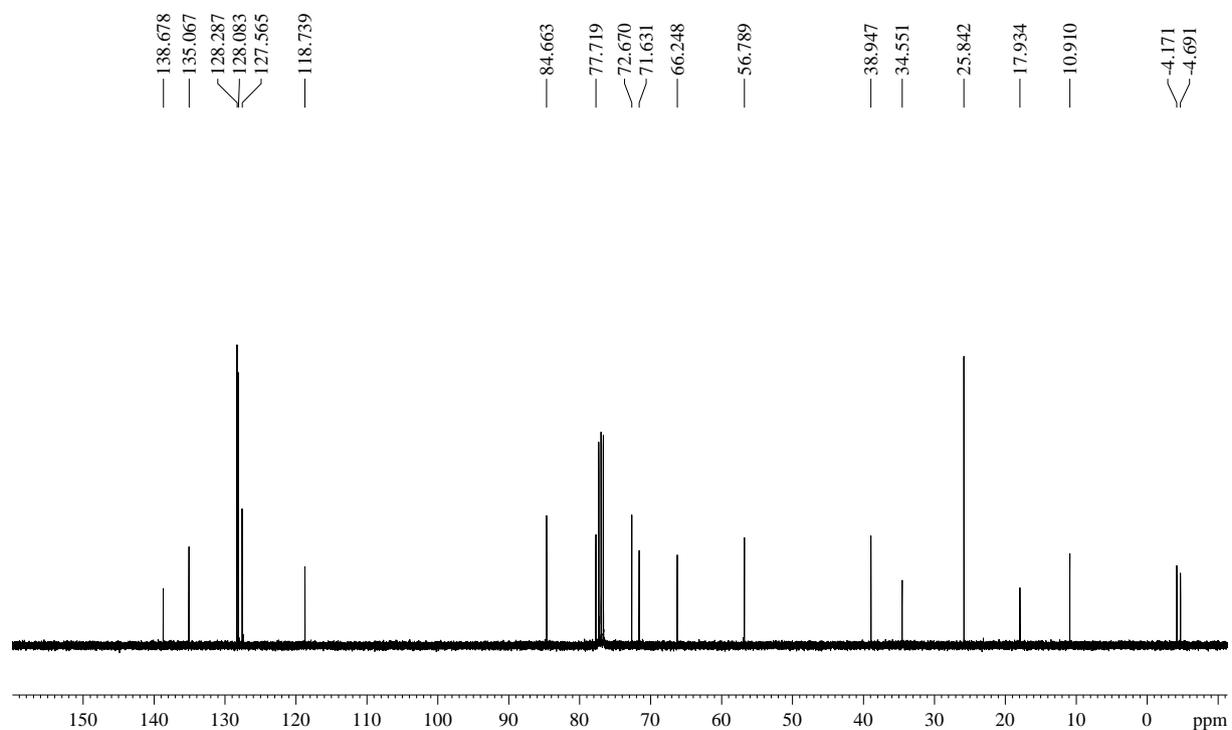
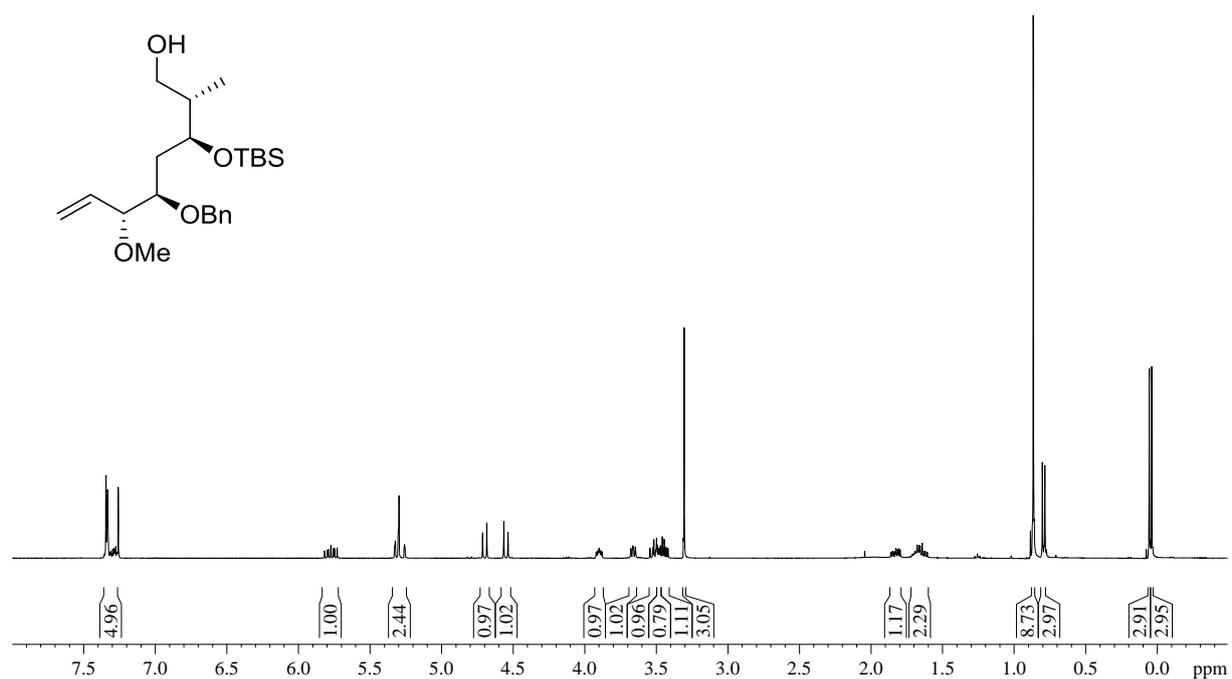


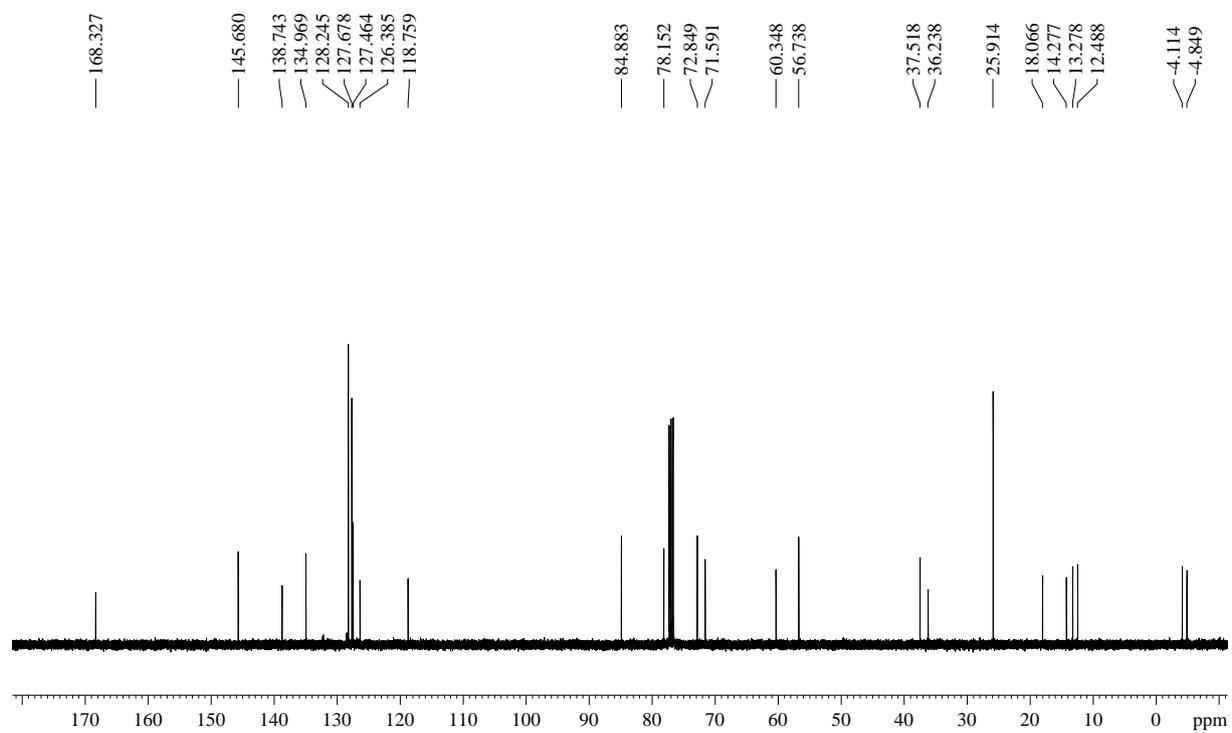
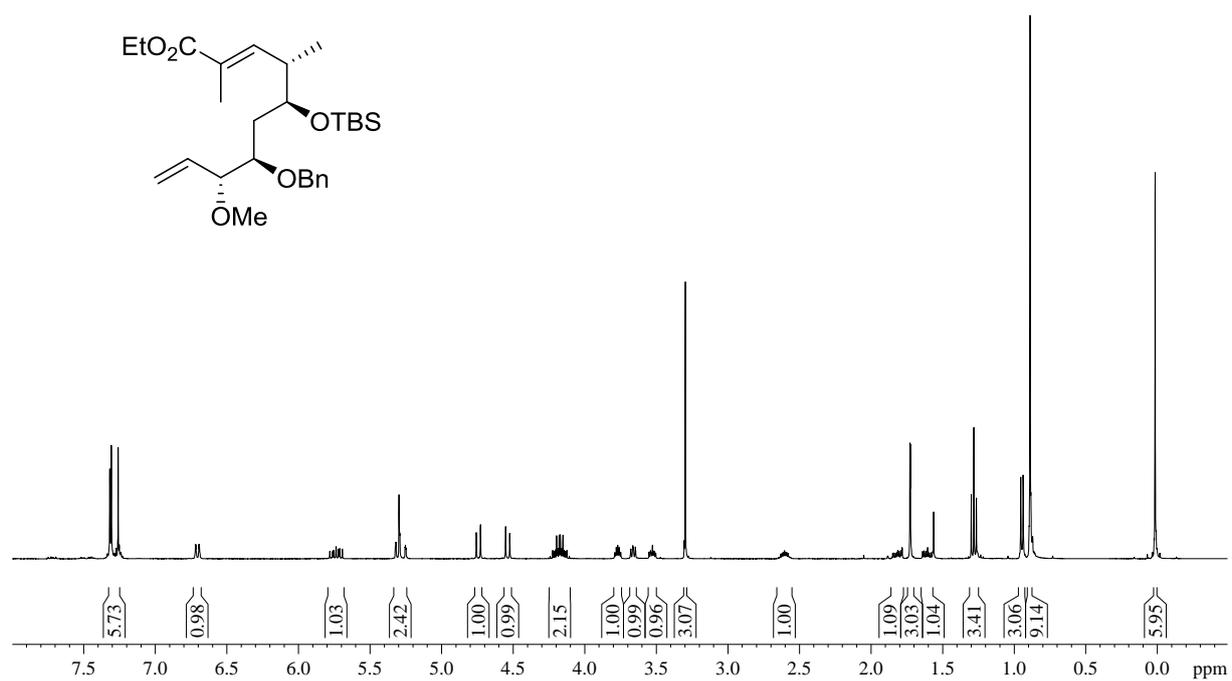


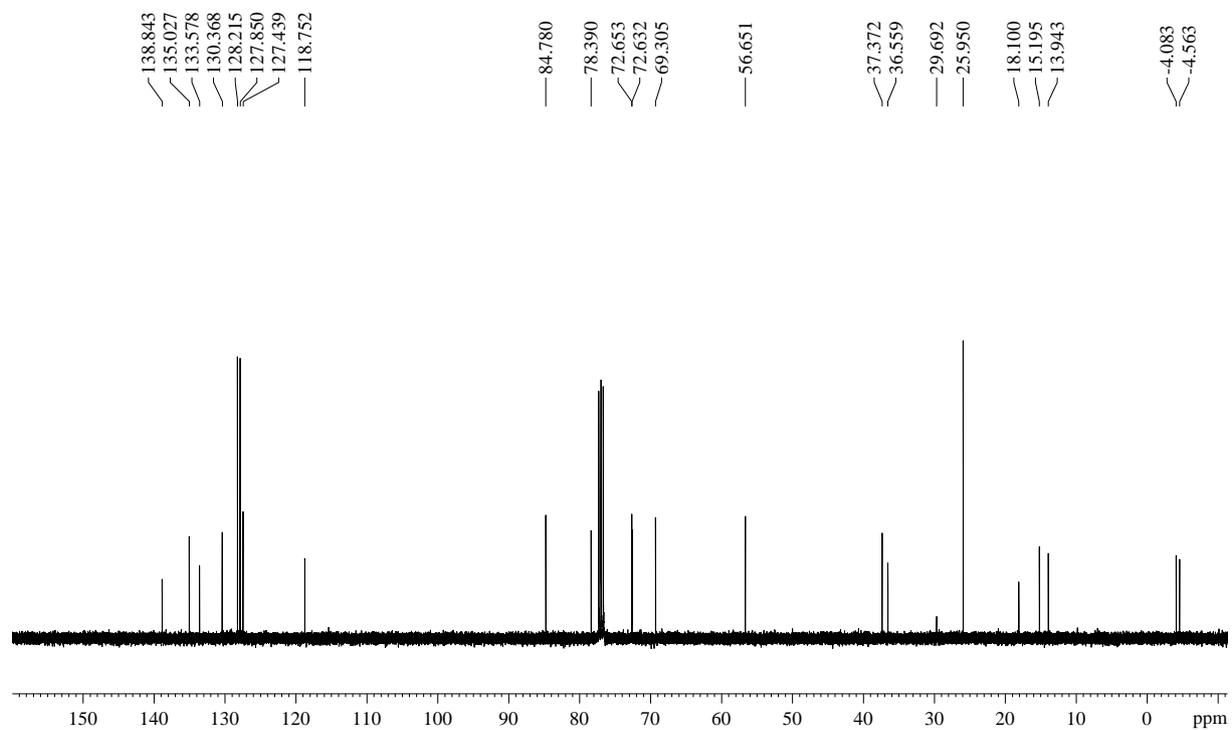
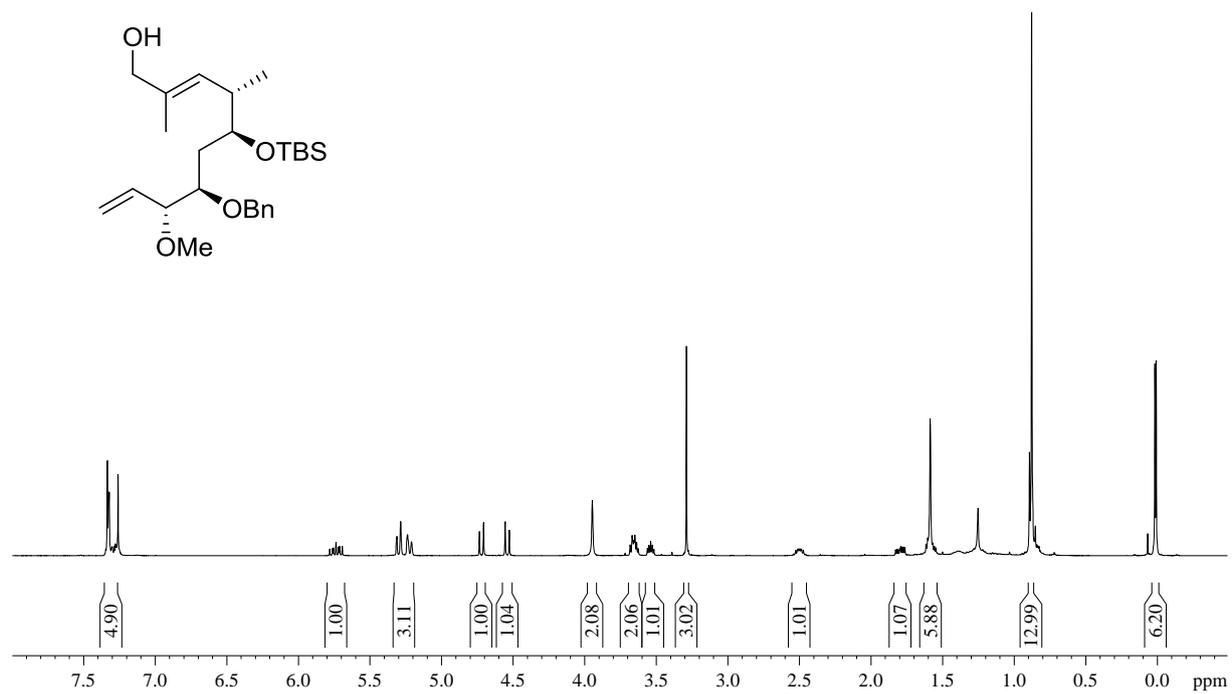


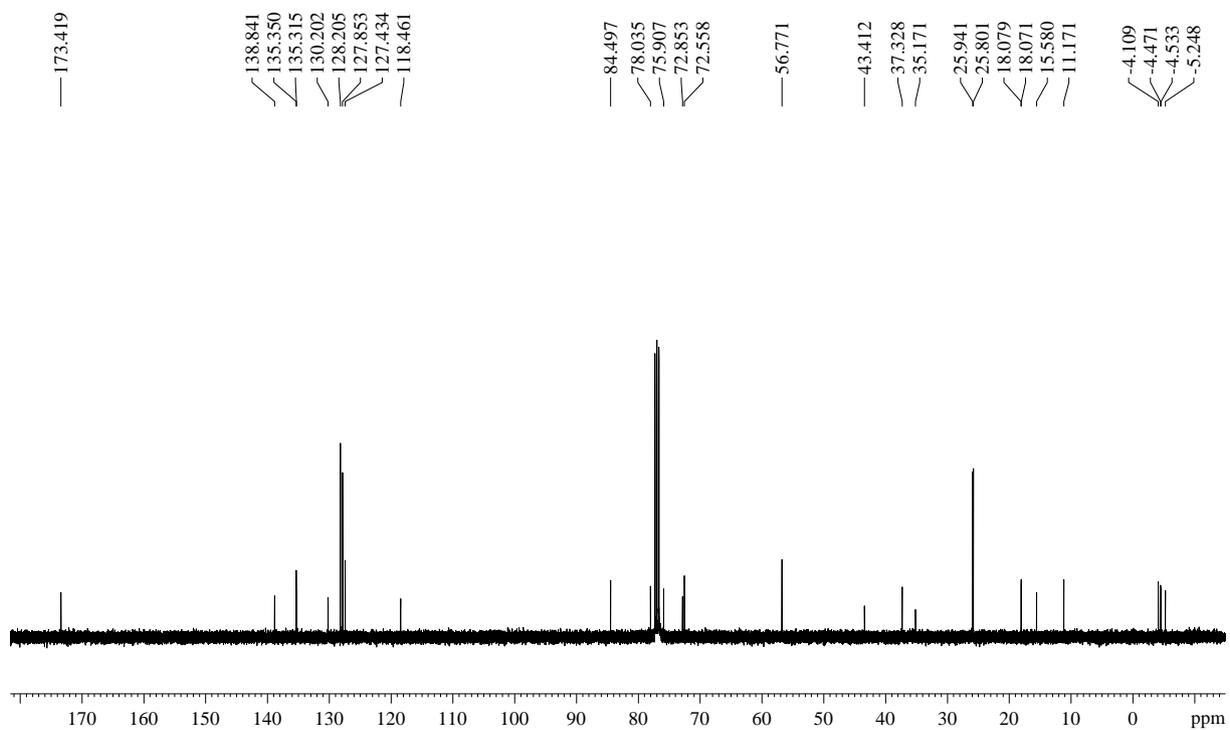
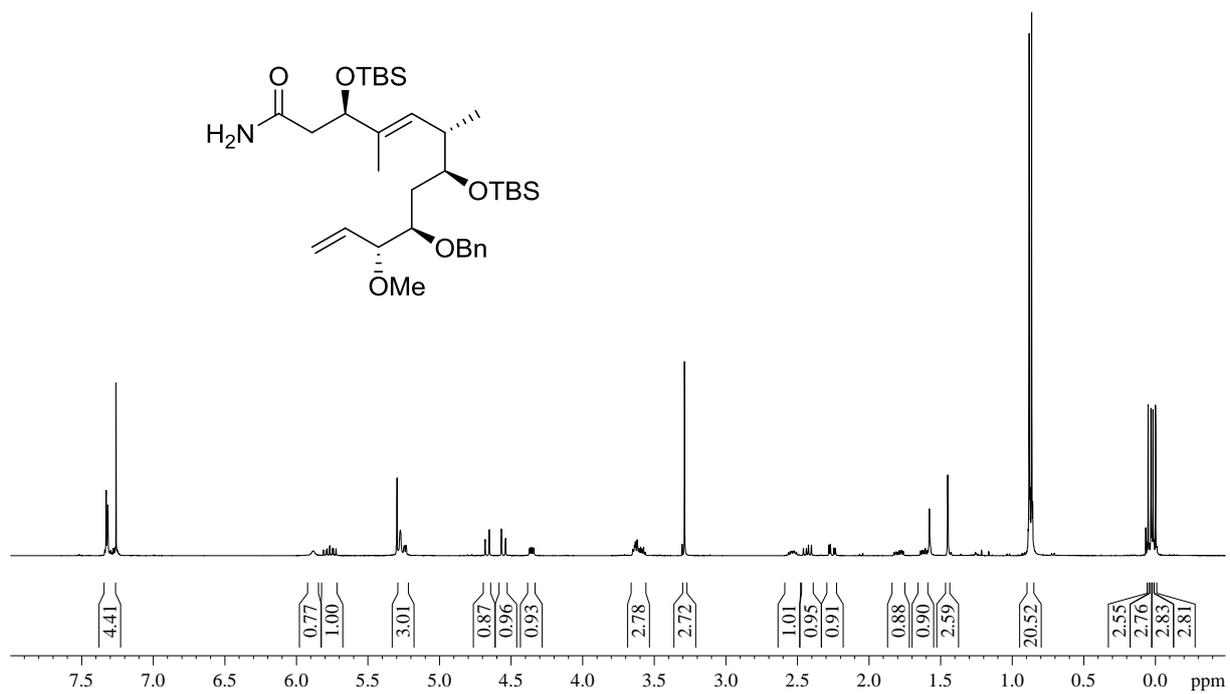


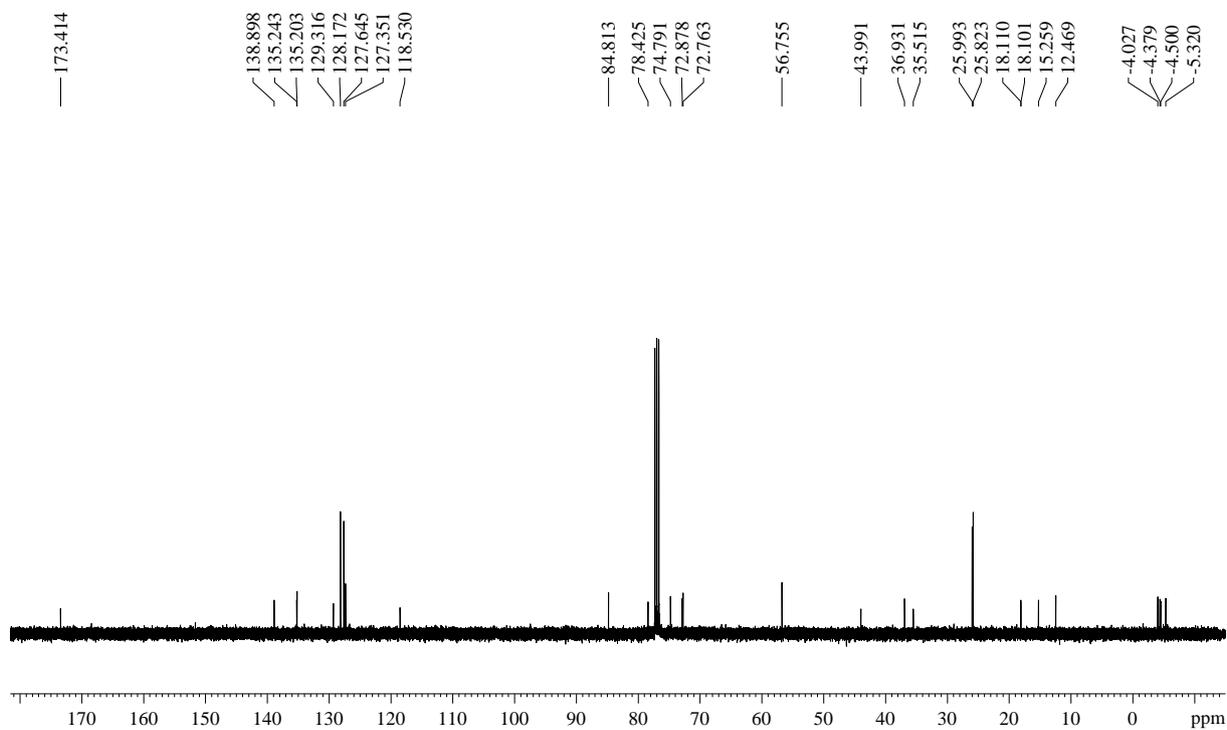
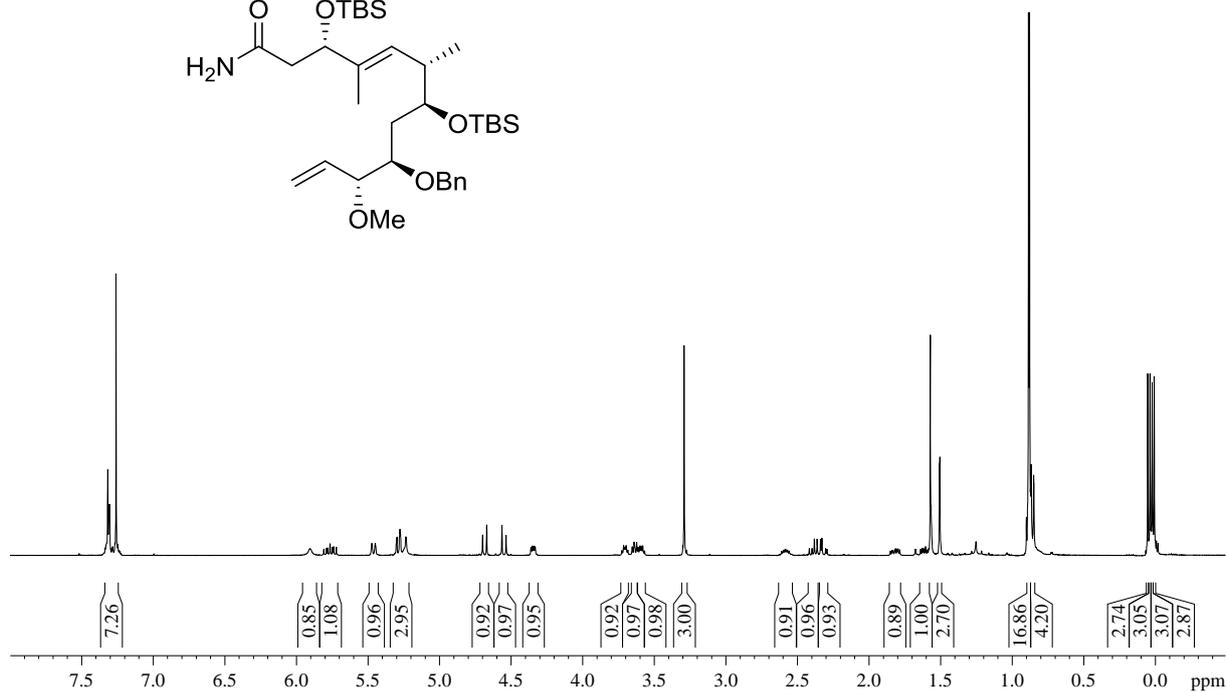
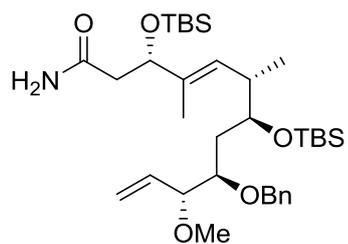


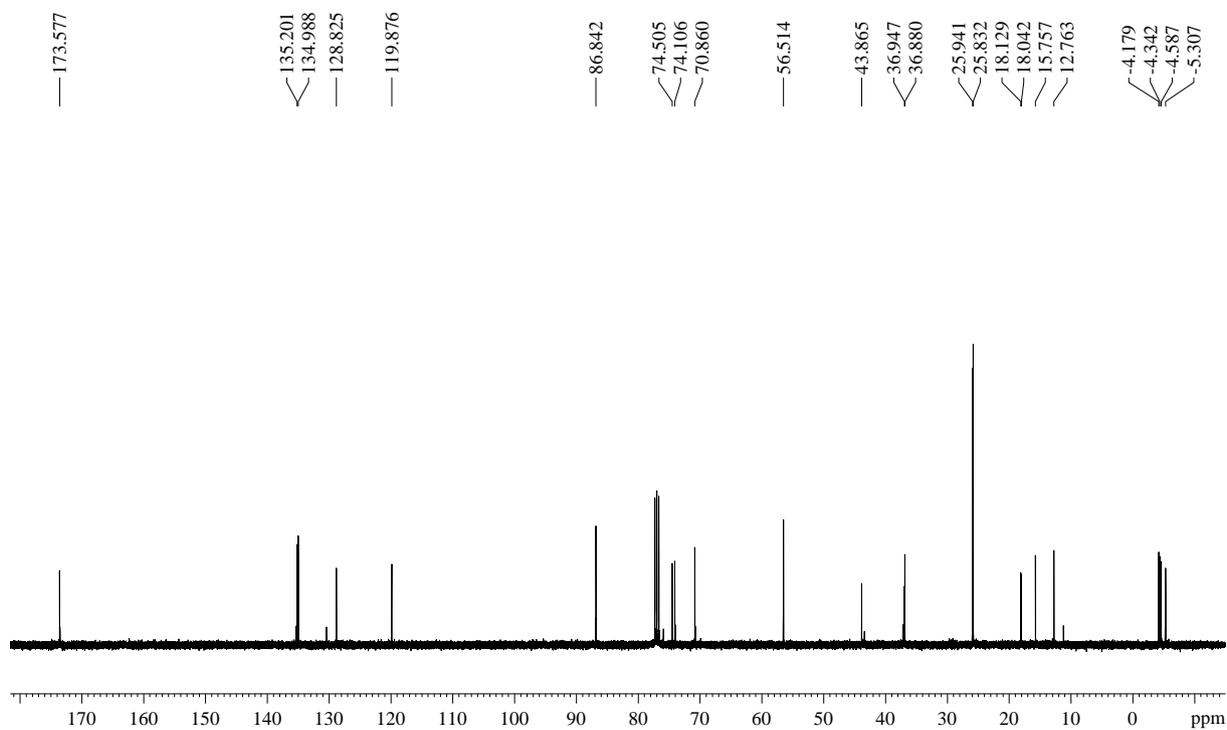
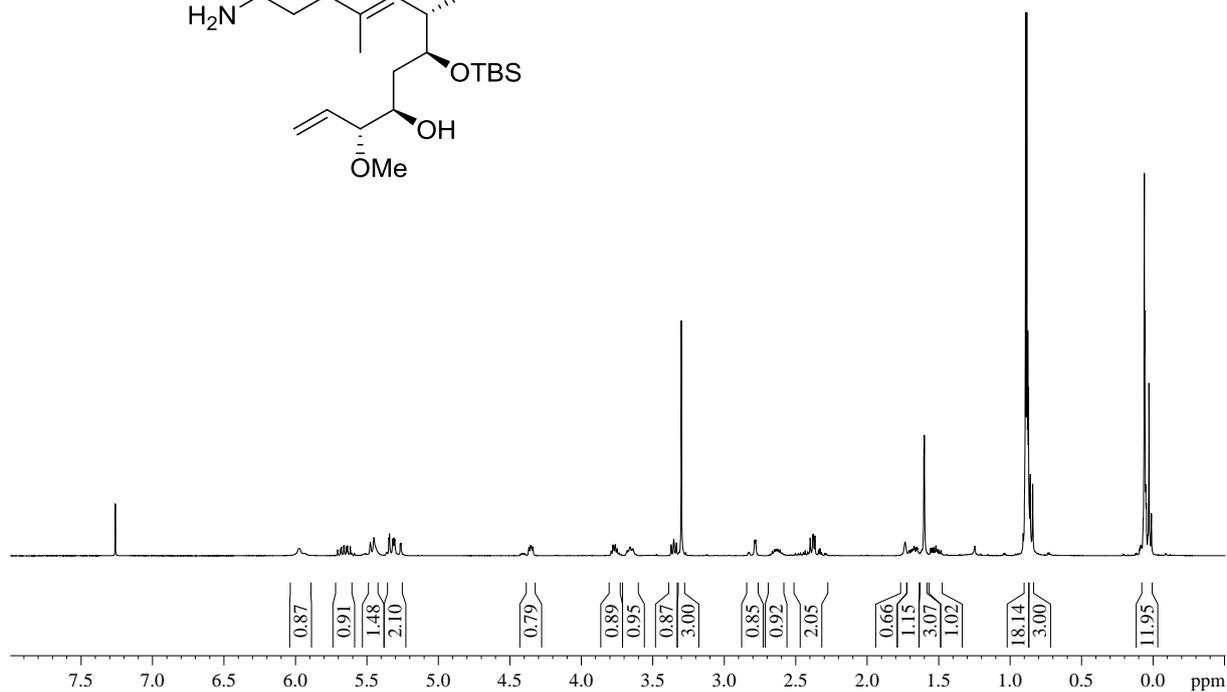
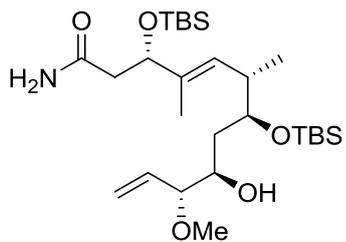


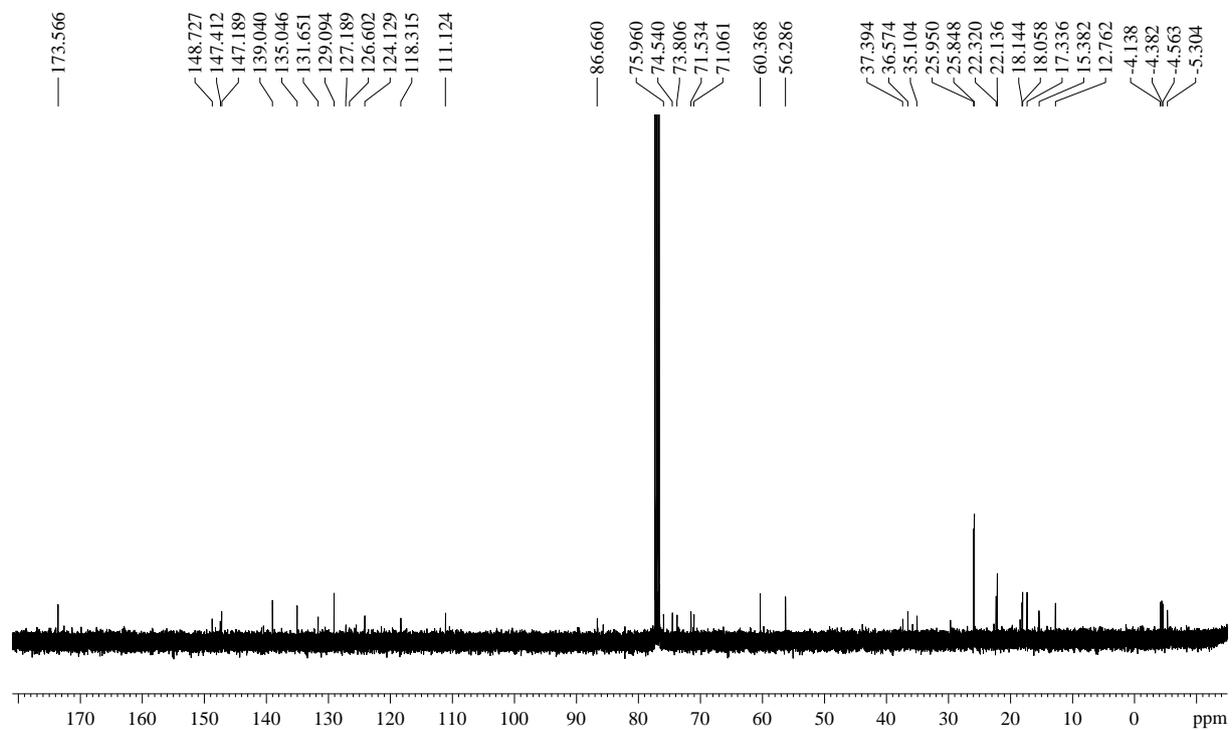
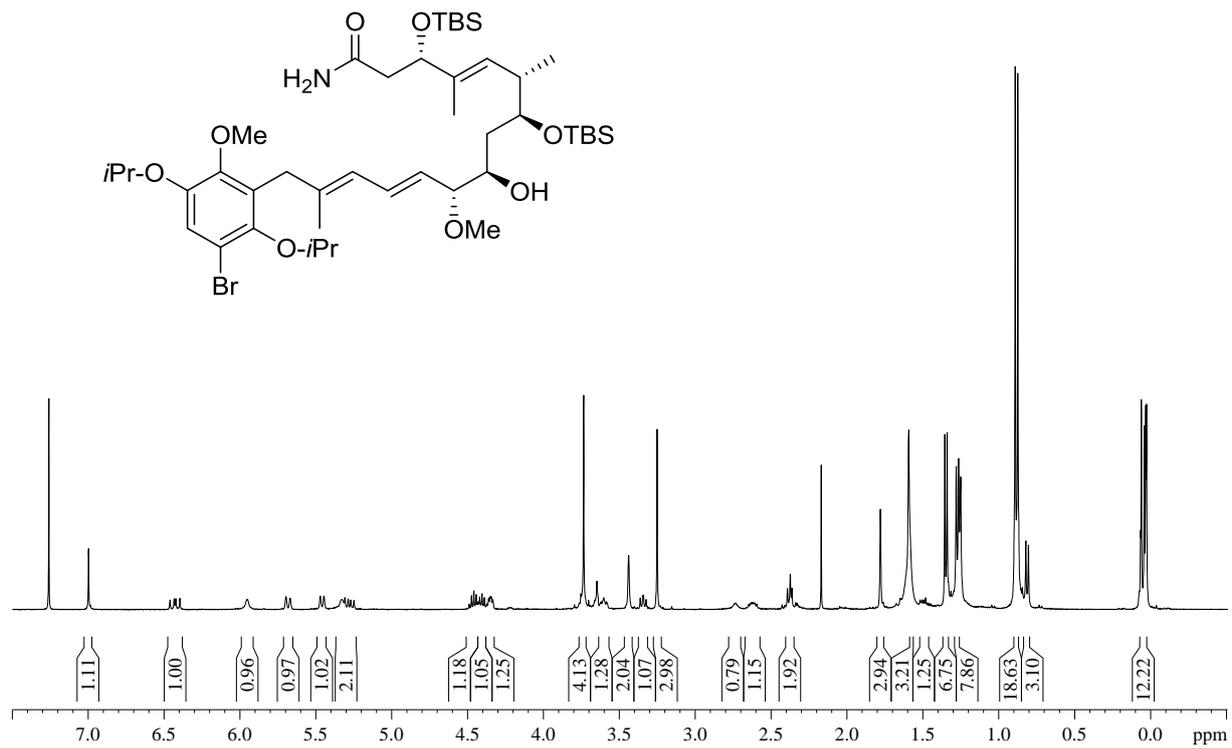


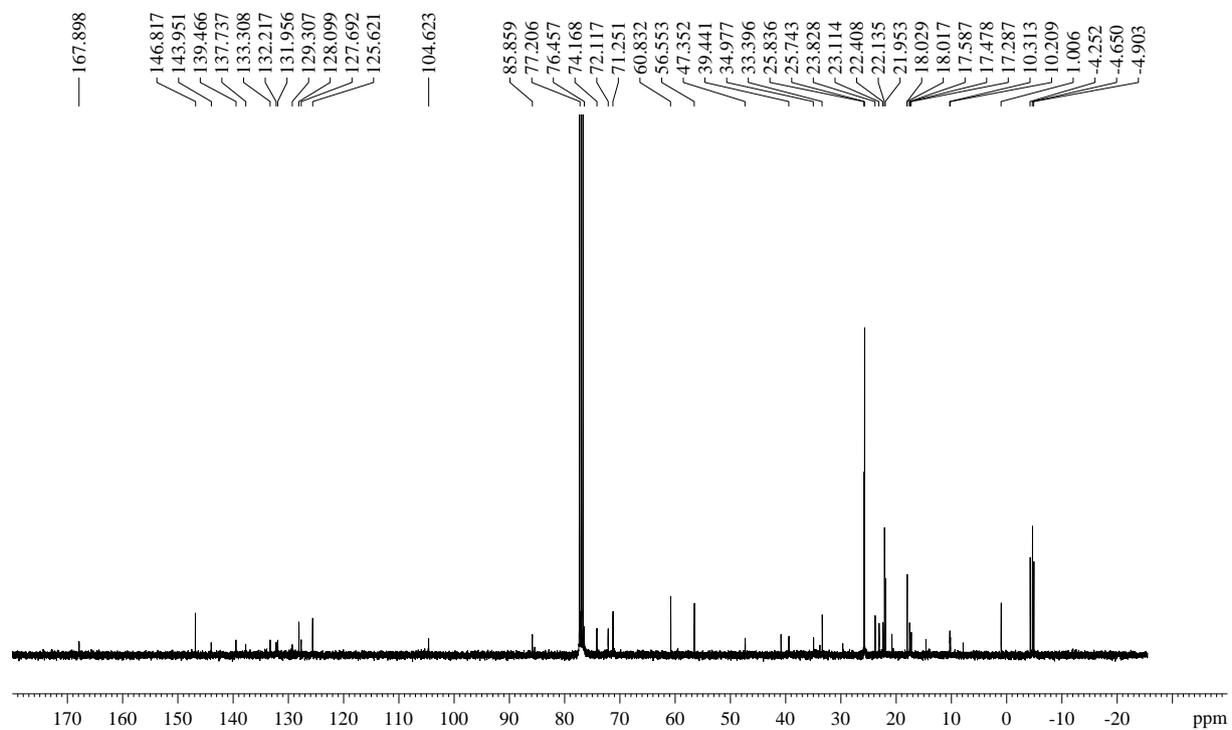
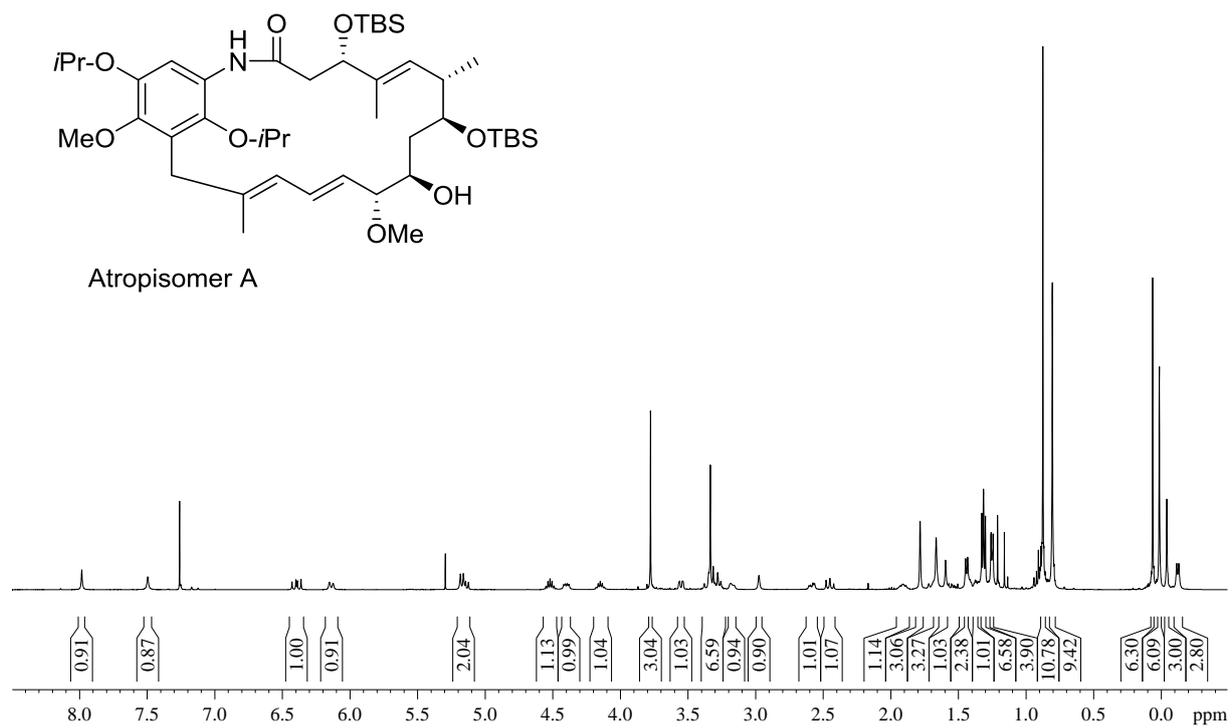


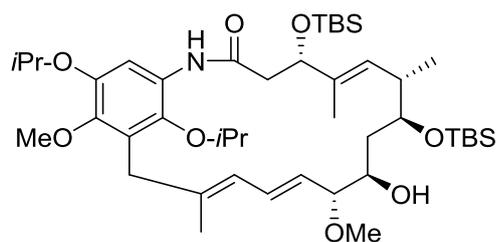




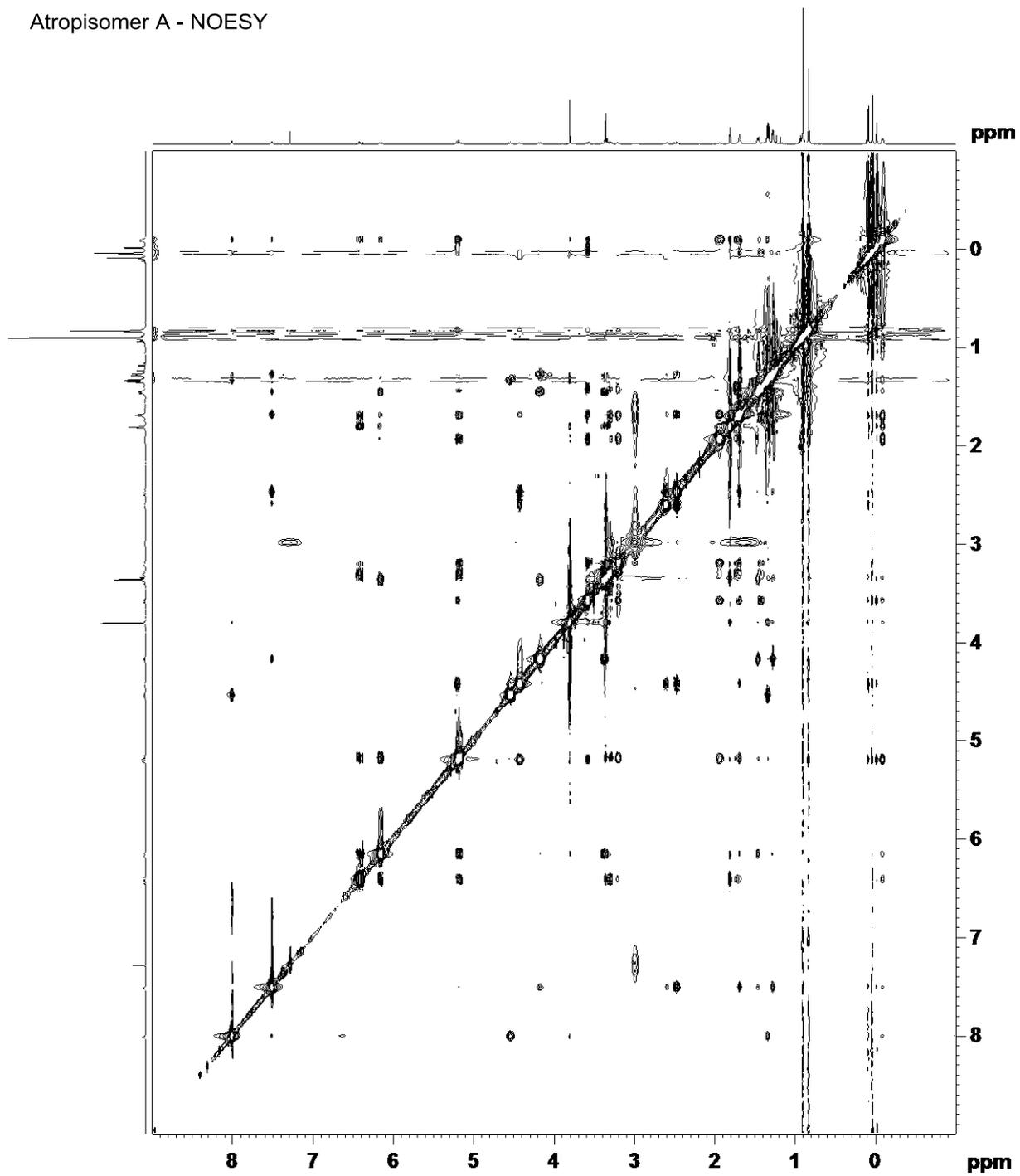


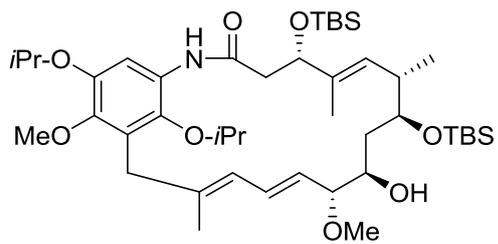




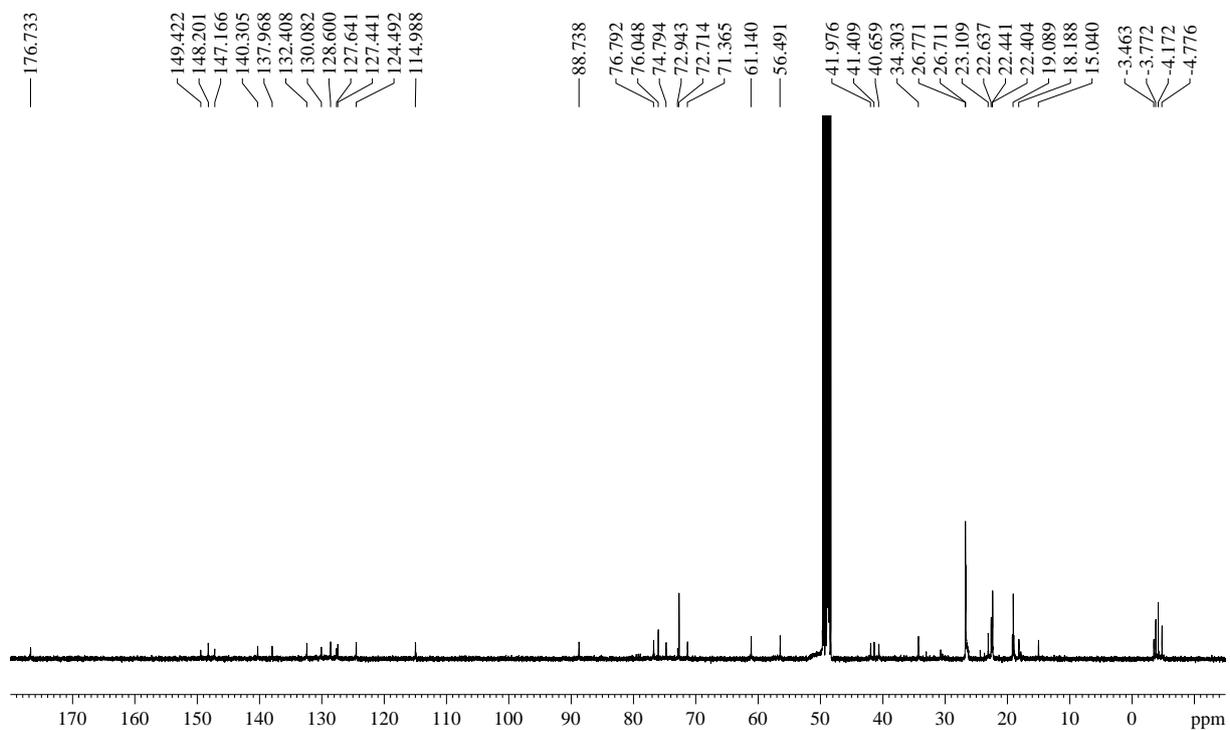
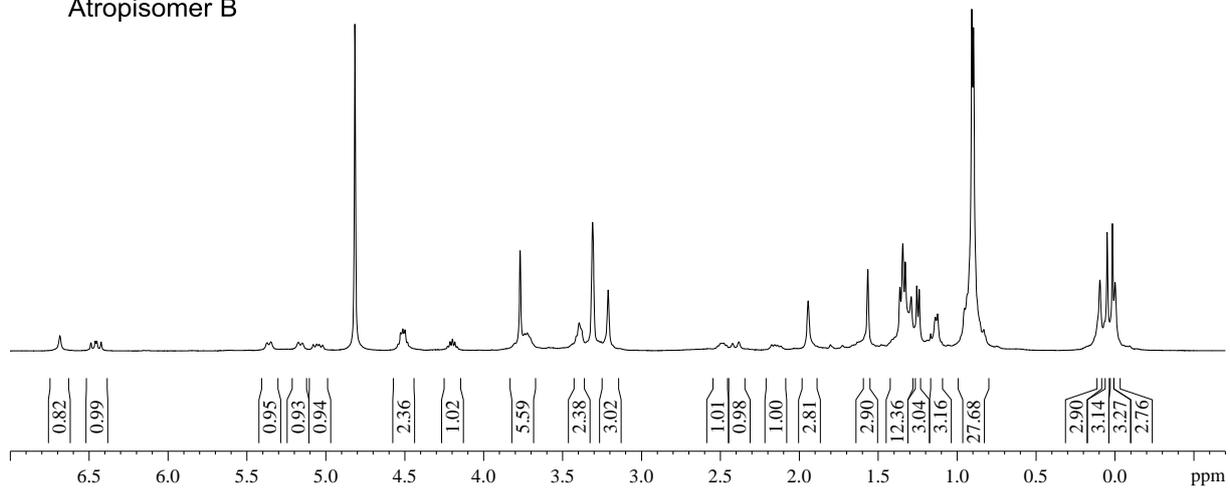


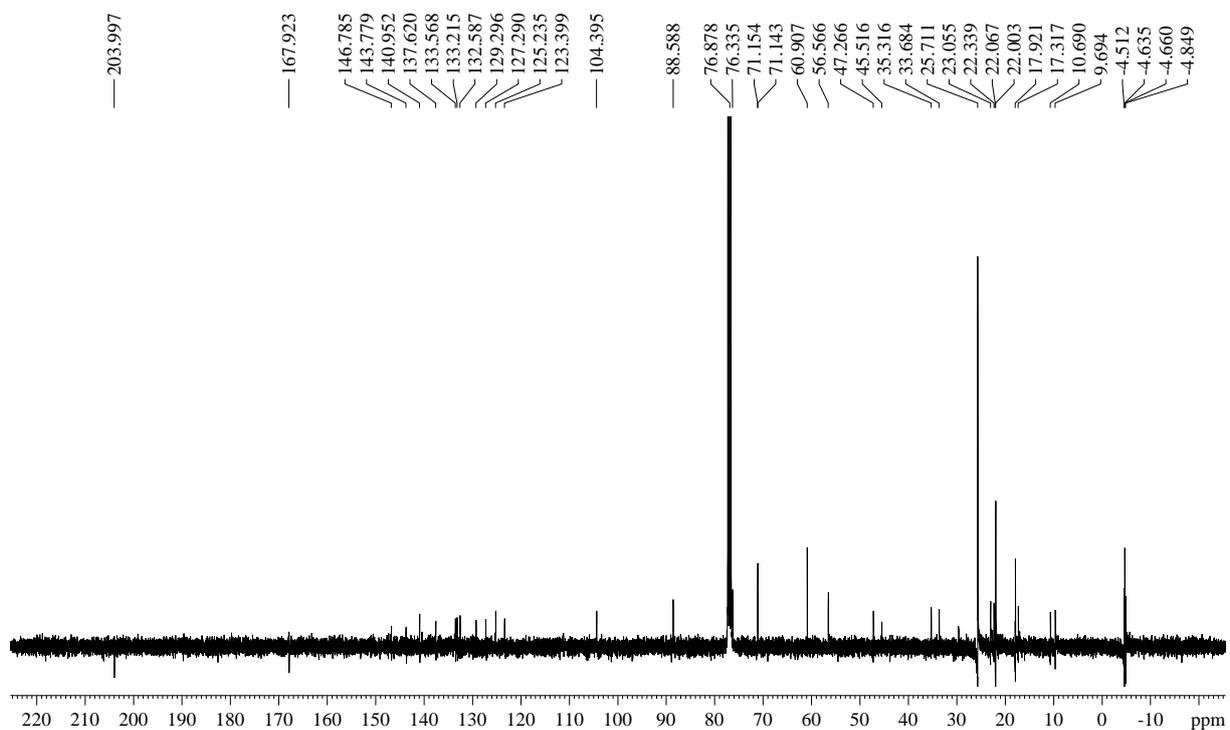
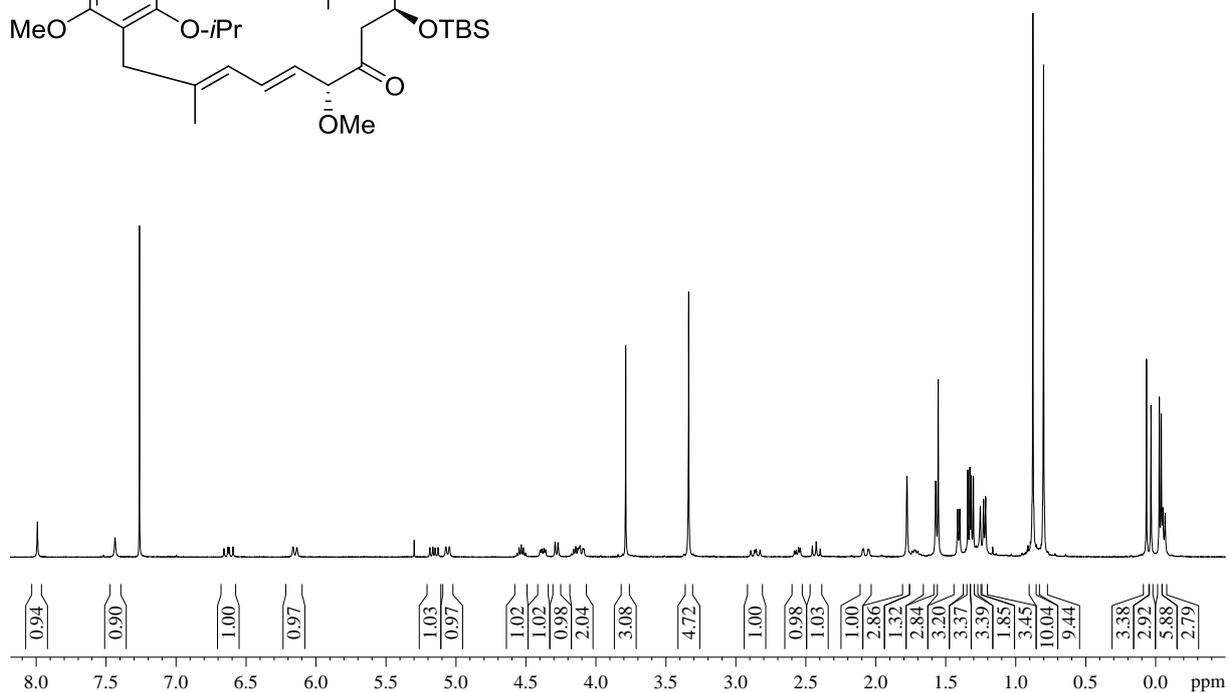
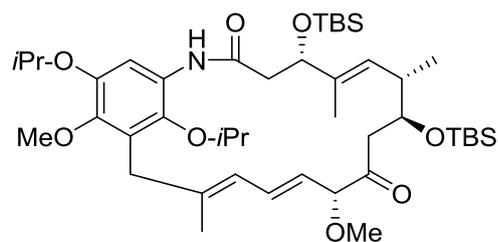
Atropisomer A - NOESY

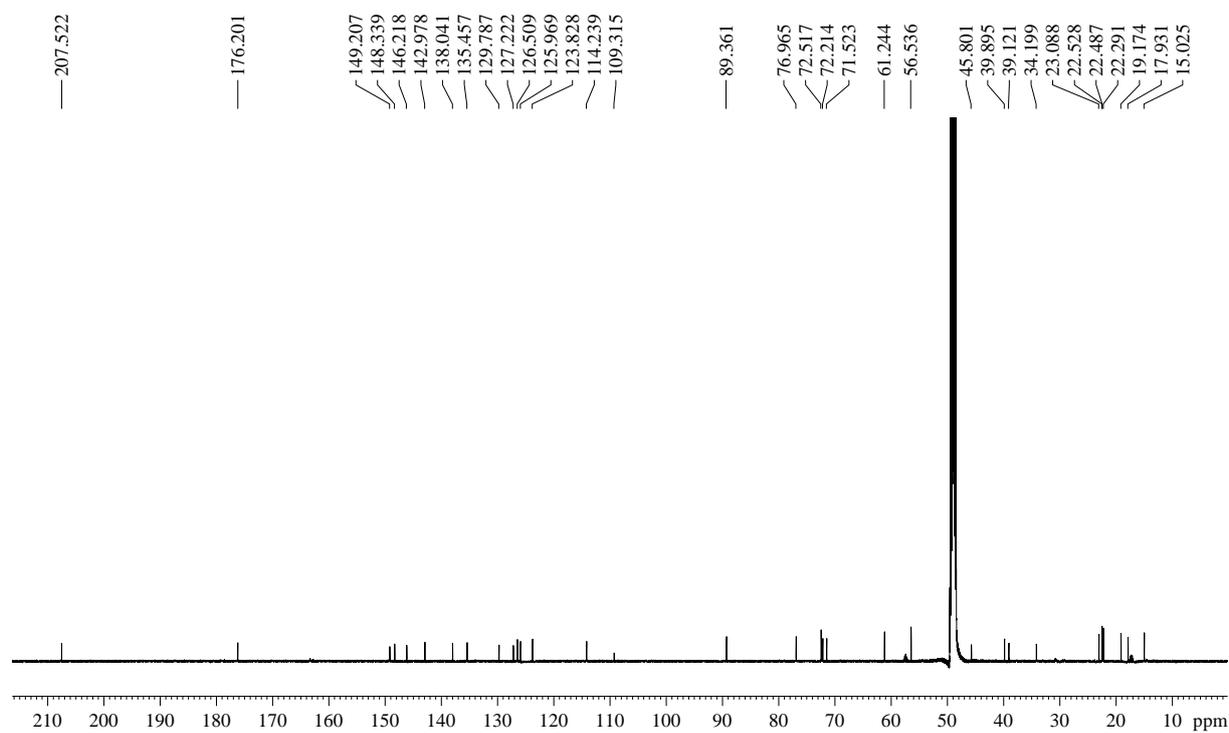
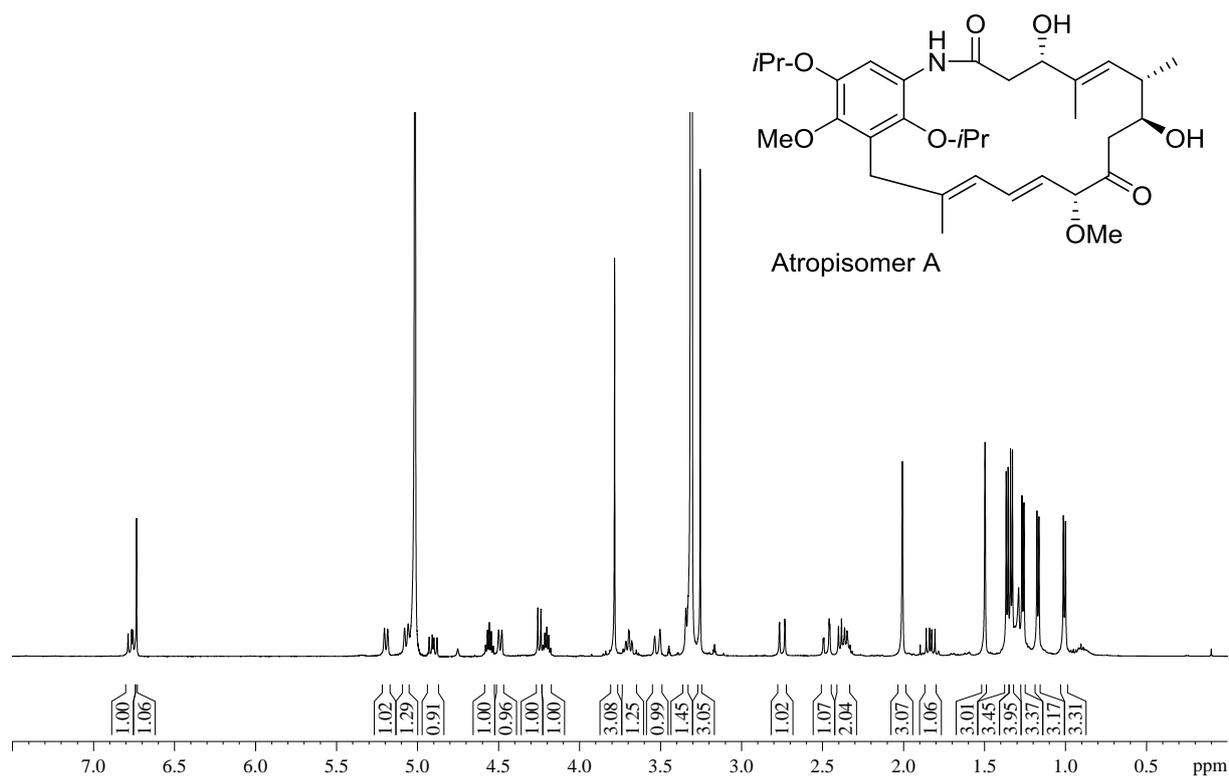




Atropisomer B







LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN Name: Gerrit Jürjens

Geburtsdatum / -ort: 06.06.1985 / Coburg

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Familienstand: ledig

AKADEMISCHER WERDEGANG

- 06/2010 – 05/2014 Promotion in organischer Chemie
Betreuer: Prof. Dr. A. Kirschning
Institut für Organische Chemie, Leibniz Universität Hannover
*Synthese eines Ansamycin Hybrids / Identifikation der ungewöhnlichen
Azidreduktaseaktivität in A. pretiosum*
- 10/2008-04/2010 M.SC. WIRK- UND NATURSTOFFCHEMIE
Leibniz Universität Hannover (Note: 'A – mit Auszeichnung')
Masterarbeit in der Gruppe von Prof. Dr. Andreas Kirschning:
*Synthese von (R/S)-S-(2-acetamidoethyl) 3-(3-amino-5-
hydroxyphenyl)butanethioat als Mutasython für die Ansamitocin Biosynthese*
- 02/2009-08/2009 ICES A*STAR / SINGAPORE
Auslandsaufenthalt in der Gruppe von Dr. Christina L. L. Chai
Small molecules for stem cell differentiation
- 10/2005-08/2008 B.SC. LIFE SCIENCE
Leibniz Universität Hannover (Note: 'A – ausgezeichnet')
Bachelorarbeit in der Gruppe von Prof. Dr. Markus Kalesse:
Chemosynthetische Studien zu Vioprolid D
- 07/2005 ABITUR
Gymnasium Ernestinum Coburg (Note: 1.6)
- 01/2002-12/2002 AFS AUSTAUSCH PROGRAMM / MALAYSIA
SMK Alor Akar Kuantan / SMK St. Michael's Institution Ipoh
-

AUSZEICHNUNGEN

- 02/2009-08/2009 Singapore International Pre-Graduate Award (SIPGA)
- 07/2005 Auszeichnungen für herausragende Abiturleistungen der Stadt Coburg
-

SONSTIGES

- 2008-2010 Studierendenvorsteher in der Studienkommission Chemie
- 2007-2008 Gewählter Präsident des Fakultätsfachschaftsrates der Naturwissenschaftlichen Fakultät
- 2006-2010 Gewählter Vertreter im Fakultätsfachschaftsrat der Naturwissenschaftlichen Fakultät
Zusätzliches Engagement in Fachrat Chemie/Biochemie/Life Science
(Studierendeneinführung, Studienberatung und Tutorien für Organische Chemie)
- 2007-2009 Studentischer Vertreter der Strategiekommission der Naturwissenschaftlichen Fakultät
- 2005-2008 Studentischer Vertreter des Prüfungsausschusses und der Studienkommission Life Science
-

WISSENSCHAFTLICHE PRÄSENTATIONEN

- [1] Vortrag; Chemistry and Biology of Natural Products VI, 2011, Bristol,
„Diversity oriented muta-/semisynthesis of new ansamycins“.
- [2] Vortrag; 1st Warberg-Symposium on Natural Product Chemistry; NTH Bottom-Up Symposium, 2011, Warberg, *„Studies towards the total synthesis of an ansamycin hybrid“*.
- [3] Poster; Challenges in Organic Chemistry and Chemical Biology (ISACS VII), 2012, Edinburgh,
„Studies towards the total synthesis of an ansamycin hybrid“.
- [4] Poster; 25. Irseer Naturstofftage, 2013, Irsee, *“An unprecedented aryl azide reductase activity during ansamitocin P-3 mutasynthesis”*.
-

WISSENSCHAFTLICHE PUBLIKATIONEN

- [1] *“Lessons from the synthetic chemist Nature.”* G. Jürjens, A. Kirschning, D. Candito, *eingereicht*.
- [2] *“Synthesis of a cytotoxic ansamycin hybrid.”* G. Jürjens, A. Kirschning, *akzeptiert, Org. Lett. 2014*.
- [3] *“Bioreduction of aryl azides during mutasynthesis of new ansamitocins.”* L. Mancuso, G. Jürjens, J. Hermans, K. Harmrolfs, S. Eichner, J. Fohrer, W. Collisi, F. Sasse, A. Kirschning, *Org. Lett. 2013, 17, 4442-4445*.
- [4] *“Tri-substituted imidazole analogues of SB203580 as inducers for cardiomyogenesis of human embryonic stem cells.”* J.-L. Low, G. Jürjens, J. Seayad, J. Seow, S. Ting, F. Laco, S. Reuveny, S. Oh, C. L. L. Chai, *Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013, 23, 3300-3303*.

Danksagung

Ich möchte mich zunächst bei meinem Doktorvater Prof. Andreas Kirschning sowohl für die gute Unterstützung während, aber auch vor meiner Doktorarbeitszeit bedanken, und für die Möglichkeit mit der OC III Übung eine interessante Lehrveranstaltung zu entwickeln und zu begleiten. Auch für die Möglichkeit ein totalsynthetisches Thema trotz meines formell biologischen Hintergrunds zu bearbeiten, möchte ich ihm danken.

Bei Prof. Markus Kalesse möchte ich mich für die Übernahme der Rolle als Zweitprüfers als auch dafür bedanken, dass er im 2. Semester meine Begeisterung für die organische Chemie wecken konnte, die mich seither geprägt hat.

Desweiteren möchte ich mich bei Dr. Gerald Dräger mit seinem großen Gerätepool bedanken, der sowohl bei theoretisch aber vor allem aber bei allen praktischen Fragen immer zur Verfügung stand.

Ich bedanke mich für die zügige Analytik der NMR und massenspektrometrischen Abteilung.

Meinen Laborkollegen des Labors 129 – sowohl den ‚alten‘ Dr. Thomas Schmidt, Jana Franke und Thomass Baikstis als auch den ‚neuen‘ Franziska Gille, Michael Wolling und Maik Siebke – gilt mein spezieller Dank, da sie mich während der Doktorarbeit moralisch, theoretisch und praktisch begleiteten und dem Labor eine einzigartige, angenehme Arbeitsatmosphäre verliehen. Auch Bastian Dieter möchte ich hierbei als meinen Laborkollegen für die provisorische Zeit in Labor 309 danken. Meinen Kollegen der Mutasynthesegruppe Dr. Simone Eichner, Anja Heutling, Dr. Jekaterina Hermane, Dr. Lena Mancuso, Ilona Bulyszko, Katja Seidel, Wang Liang Liang und Benjamin Schröder möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit danken, unter anderem auch für die Bereitstellung von Kryostocks und AHBA. Anja Heutling, Edda Janssen und Marcel Armbrrecht gilt spezieller Dank für die molekularbiologischen Hilfeleistungen. Dr. Jekaterina Hermane und Dr. Lena Mancuso gilt dabei ebenfalls mein Dank für die angenehme Zeit bei den gemeinsam verbrachten Tagungen. Für das Korrekturlesen der Arbeit danke ich Darius Schwarzer, Gesche Berkhahn, Michael Wolling, Maik Siebke, Franziska Gille, Nadine Kandziora, Anja Heutling, Franziska Hemmerling, Dr. Arne Weber und L. Peter Kupracz.

Bei meinen Paddeltourkollegen Bastian Dieter und Jan Hartwig als auch bei Gerald Dräger, Frank Hahn und Nick Dibbert möchte ich mich bedanken da sie diese Veranstaltung mit mir zu einzigartigen Erlebnis während der Doktorarbeitszeit machten. Bei Nadine Kandziora, Jessica Buchholz, Michael Wolling und Maik Siebke möchte ich mich desweiteren für die angenehme Zeit während der Pausen danken. Bei L. Peter Kupracz bedanke ich mich für die tief sinnigen und sehr interessanten Gespräche, welche bei allen möglichen Gelegenheiten und Zeiten entstanden. Bei Dr. Arne Weber möchte ich mich für seine Experimentierfreude zu ungewöhnlichen Zeiten bedanken. Bei Jana Franke und Dr. Thomas Schmidt möchte ich mich speziell noch einmal dafür bedanken, dass sie einem immer mit Rat und Tat zur Seite standen, auch bei Dingen die nur indirekt mit der Doktorarbeit zu tun hatten. Bei den Anorganikern Fabian Kempf, Philip Zerner, Dr. Andreas Schneider und Marc Kieke möchte ich mich für die Mitveranstaltung und Durchführung der Knallvorlesung bedanken. Weiterer Dank ohne konkreten Anlass gebührt Darius Schwarzer und Jan Hartwig. Auch bei allen anderen Mitgliedern des Instituts, speziell der Arbeitskreise Kirschning, Dräger und Hahn, aber ebenfalls der Arbeitskreise Kalesse, Boysen, Butenschön und Gaich möchte ich mich bedanken – ich danke allen für die angenehme Zeit und all die Hilfestellungen.

Ebenfalls danke ich dem Sekretariat, insbesondere Frau Griese und Kristina Struckmeier. Nicht nur weil beide immer mit Rat und Tat zur Seite standen, sondern prägte letztlich auch der unkonventionelle Sekretariatshumor die angenehme Atmosphäre im Institut.

Last but not least, I would also like to thank my family, relatives and my 契媽 for their continuous support throughout my life.