

**Enantioselektive Synthese  
des Agelorin A-Chromophors**

Vom Fachbereich Chemie der Universität Hannover  
zur Erlangung des Grades

**Doktor der Naturwissenschaften**

- Dr. rer. nat. -

genehmigte

**Dissertation**

von

Dipl. Chem. Kim Goldenstein  
geboren am 4. August 1971 in Lingen

1999

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. E. Winterfeldt

Korreferent: Prof. Dr. H. Meyer

Tag der Promotion: 01.12.1999

## Abstract

Goldenstein, Kim

### Enantioselektive Synthese des Agelorin A-Chromophors

Es wurde eine Synthese zur Darstellung des Agelorin A-Chromophors entwickelt, der neben drei Chiralitätszentren mit der korrekten absoluten Konfiguration die Amidgruppe enthält, die im Naturstoff die Kernstruktur mit einem teilweise aromatischen Mittelteil verbindet.

Durch Optimierung der Einzelschritte und Wechsel einer Schutzgruppe konnte die Ausbeute der 5-stufigen enantioselektiven Synthese des Spiroisoxazolindiols **51** von 31 % auf 46 % erhöht werden. Von diesem chiralen Baustein ausgehend konnte aufbauend auf schon bestehende Studien ein Zugang zu einer Agelorin A-Kernstruktur **85** geschaffen werden, die statt eines Amids in der Carboxylposition einen Methylester aufwies. Diese Synthesesequenz enthält vier Stufen mit einer Gesamtausbeute von 52 %.

Für die Umwandlung des Alkohols **51** in das Bromid **84** wurde eine neue Bromierungsmethode entwickelt. Diese Methode wurde auf ihre allgemeine Anwendbarkeit überprüft, wobei sich herausstellte, daß sie auch für hochfunktionalisierte Moleküle geeignet ist.

Durch Verwendung eines *tert*-Butylesters als Schutzgruppe der Carboxylfunktion konnte die Diolcarbonsäure **147** generiert werden, die eine Transformation zum entsprechenden Amid **148** möglich machte. Weiterhin gelang die Darstellung der Epoxycarbonsäure **153**, die mit  $\alpha,\alpha'$ -Diamino-*p*-xylol in das Bisamid **154** umgewandelt werden konnte. Dieses Bisamid **154** enthält, wie das Agelorin A, zwei Spiroisoxazolineinheiten, die durch einen Mittelteil miteinander verknüpft sind.

Durch Anwendung der Erfahrungen, die bei der Amidierung und der Darstellung der Methylesterkernstruktur **85** gemacht worden waren, konnte schließlich der Chromophor **158** synthetisiert werden, der den korrekt substituierten Cyclohexenonring, das Spiroisoxazolin sowie die Amidfunktionalität in der Carboxylposition enthält.

## Abstract

Goldenstein, Kim

### Enantioselective Synthesis of the Agelorine A-Chromophore

A synthesis of the agelorine A-chromophore, with the correct absolute configuration at all three chiral centers and the amido-moiety, which connects in the natural product the chromophore to a partly aromatic middle part, has been developed.

The yield of the five-step synthesis of the spiroisoxazoline-diol **51** has been improved from 31 % to 46 % by optimising each step and the change of a protecting group. This chiral building-block has been successfully transformed into the agelorine A-chromophore **85** having a methyl-ester instead of the amide in a four-step synthesis with an overall yield of 52 %.

A new bromination-method for the transformation of the alcohol **51** into the bromide **84** has been developed. The applicability of this bromination-method has been checked for other functionalised molecules, too and found suitable.

By using a *tert*-butylester instead of the methyl-ester as protecting group of the carboxyl-function in diol **141**, the diolcarboxylic acid **147** was generated, which was transformed into amide **148**. Moreover, it was possible to synthesize the epoxycarboxylic acid **153**, which further reacted with  $\alpha,\alpha'$ -diamino-*p*-xylene to form bisamide **154**. This bisamide contains, like the agelorine A, two spiroisoxazoline units as terminating amide groups.

By applying the experiences made with the amidation and the synthesis of the methyl-ester **85**, the chromophore **158** was generated, which contains the correctly substituted cyclohexenone-ring, the spiroisoxazoline and also the amide-functionality.

**Schlagworte:**

Spiroisoxazoline - Agelorin A - Amidierung

**Keywords:**

spiroisoxazolines - agelorine A - amidation



Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1997 bis Juli 1999 im Institut für Organische Chemie der Universität Hannover unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. E. Winterfeldt angefertigt.

Bei Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. E. Winterfeldt möchte ich mich für die interessante Themenstellung, die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit sowie alle gegebenen Anregungen bedanken.





## Inhalt

<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1 Allgemeines.....	1
1.2 Die Agelorine A ( <b>2a</b> ) und B ( <b>2b</b> ) sowie verwandte Verbindungen.....	2
1.3 Etablierte Synthesen der Spiroisoxazolinalkaloide.....	5
1.4 Enantioselektive Synthese mit dem <i>p</i> -Methoxyphenyldien <b>28</b> .....	14
1.5 Darstellung eines chiralen Spiroisoxazolinadduktes: Stand der Forschung.....	19
<b>2 AUFGABENSTELLUNG</b> .....	<b>23</b>
<b>3 DERIVATE DES SPIROETHERS</b> .....	<b>24</b>
<b>4 ORIENTIERENDE VERSUCHE UND OPTIMIERUNG DER HERSTELLUNG DES RETROPRODUKTES 50</b> .....	<b>30</b>
4.1 Optimierung der Cycloaddition.....	30
4.2 Epoxidierung der Enondoppelbindung.....	33
4.3 Kinetische Untersuchungen der Diels-Alder-Cycloaddition.....	36
4.4 Darstellung des Retroproduktes <b>50</b> <i>via</i> Spiroisoxazolindiol <b>48</b> .....	39
<b>5 REAKTIONEN DES RETROPRODUKTES 78</b> .....	<b>43</b>
5.1 Synthese der Methylesterkernstruktur <b>85</b> .....	43
5.1.1 Darstellung <i>via</i> Diolbromid <b>82</b> .....	43
5.1.2 Darstellung <i>via</i> Epoxid <b>86</b> .....	50
5.2 Studien zur Bromierungsmethode.....	53
<b>6 BILDUNG DES SÄUREAMIDS</b> .....	<b>66</b>
6.1 Versuche zur Amidierung direkt aus dem Ester.....	66
6.2 Übertragung der Synthese auf den <i>tert</i> -Butylester.....	80
6.3 Darstellung der Carbonsäure <b>147</b> .....	84
6.4 Synthese des Bisamids <b>154</b> .....	89
6.5 Darstellung der Amidokernstruktur <b>158</b> .....	94
6.6 Synthese eines Mittelteilvorläufers.....	98

---

<b>7 UNTERSUCHUNGEN ZUR HEMMUNG DES ZELLWACHSTUMS SOWIE CYTOTOXIZITÄT DER SPIROISOXAZOLINE.....</b>	<b>102</b>
<b>8 ÖKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR WUNDINDUZIERTEN ABWEHR- REAKTION VON MARINEN SCHWÄMMEN AN DER UNIVERSITÄT WÜRZBURG.....</b>	<b>106</b>
8.1 Einleitung <sup>55</sup> .....	106
8.2 Charakterisierung des Enzyms .....	109
<b>9 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....</b>	<b>115</b>
<b>10 ALLGEMEINE VERFAHREN .....</b>	<b>120</b>
10.1 Verwendete Geräte.....	120
10.2 Chromatographische Trennungen .....	121
10.3 Sonstiges .....	122
<b>11 VERSUCHE ZU KAPITEL 3 .....</b>	<b>123</b>
<b>12 VERSUCHE ZU KAPITEL 4 .....</b>	<b>131</b>
<b>13 VERSUCHE ZU KAPITEL 5 .....</b>	<b>146</b>
<b>14 VERSUCHE ZU KAPITEL 6 .....</b>	<b>164</b>
<b>15 LITERATUR UND ANMERKUNGEN .....</b>	<b>204</b>
<b>16 ANHANG .....</b>	<b>208</b>
16.1 Abkürzungen.....	208
16.2 Experimentelles zur Substratspezifitätsuntersuchung .....	211
16.2.1 Ablauf des Enzymassays .....	211
16.2.2 Hemmung des Isofistularin-3-Abbaus durch verschiedene Substrate .....	212
16.2.3 Kinetikversuche .....	213
16.2.4 Abbau in Abhängigkeit von der Zeit von Isofistularin-3 und Benzylverbindung.....	214

# I Theoretischer Teil

## 1 Einleitung

### 1.1 Allgemeines

Seit Jahrtausenden versuchen die Menschen, ihre Leiden mit Hilfe aus der Natur gewonnener Substanzen zu lindern. Es ist allerdings erst seit einigen Jahrzehnten bekannt, daß der Ursprung der biologischen Aktivität auf molekularer Ebene zu suchen ist, d.h. im Zusammenspiel von Pharmakon und Wirkort. Die moderne Wissenschaft verwendet in diesem Zusammenhang oftmals den Begriff der Leitstruktur, die den Grundkörper eines Wirkstoffes definiert. Basierend auf diesen Tatsachen ist man stets auf der Suche nach neuen Leitstrukturen, die eine Grundlage für die Entwicklung von Medikamenten schaffen. Dieser Suche schließt sich eine intensive Optimierung des strukturellen Grundkörpers in bezug auf Nebenwirkungen und maximalen medizinischen Nutzen an, denn jede kleinste Manipulation einer Leitstruktur kann einen positiven oder negativen Effekt auf die pharmazeutische Wirkung erzielen. An dieser Stelle ist die präparative Chemie gefragt, denn sie besitzt das Handwerkszeug, mit möglichst wenig Aufwand viele Naturstoff-Analoga herzustellen, die dann mit Hilfe moderner Screening-Verfahren auf ihre pharmakologischen Eigenschaften überprüft werden.

Noch immer liefert die Natur mit ihrer biosynthetischen Vielfalt die meisten Leitstrukturen, wobei seit einigen Jahren ein Schwerpunkt der Forschung auf der Untersuchung von marinen Naturstoffen liegt, da sich die Tier- und Pflanzenwelt des Meeres auch auf struktureller Ebene sehr stark von der der Kontinente unterscheidet.

Viele dieser Naturstoffe kommen jedoch in so geringen Mengen vor, daß eine wirtschaftliche Nutzung erst mit der Bereitstellung einer effektiven Totalsynthese möglich wird. Im Idealfall ist diese Synthese kurz und bietet die Möglichkeit einer strukturellen Varianz.

Aus den oben beschriebenen Gründen steht die Entwicklung eines synthetischen Zuganges zum Grundkörper des Ageorin A, einem Naturstoff marinen Ursprungs, im Mittelpunkt der vorliegenden Dissertation.

## 1.2 Die Agelorine A (2a) und B (2b) sowie verwandte Verbindungen

Innerhalb der letzten 20 Jahre hat das Interesse an marinen Naturstoffen immer mehr zugenommen, weil sie ungewöhnliche strukturelle Eigenschaften wie z.B. Halogensubstituenten aufweisen, die bei Naturstoffen der Kontinente recht selten sind.<sup>1</sup>

Organismen, die solche Verbindungen enthalten, sind u.a. Schwämme, die der Ordnung *Verongida* angehören, dazu zählen z.B. die Gattungen *Aplysina*, *Ianthella*, *Psammaplysilla*, *Pseudoceratina* und *Verongula*.<sup>2</sup> Aus solchen Schwämmen sind eine Reihe von Bromotyrosin-Alkaloiden isoliert worden, die sich durch ihre ungewöhnliche Spiroisoxazolin-Einheit auszeichnen. Die Strukturen einiger dieser Naturstoffe sind in Abb. 2 angegeben.

Die Verbindungen **2a**, **2b** und **3** stammen aus dem Schwamm *Agelas oroides*<sup>3a</sup> Schmidt (Abb. 1), der im Großen Barriere Riff (Australien) vorkommt, und wurden 1993 isoliert. Es handelt sich um drei Fistularin-3-Derivate<sup>3b</sup>, nämlich die Agelorine A und B (**2a** und **b**) sowie das 11-*epi*-Fistularin-3 (**3**). Die Numerierung der Kohlenstoffatome ist in der Zeichnung angegeben, sie erfolgte analog *M. König* und *A. D. Wright*.<sup>3b</sup>

Dabei sind die Namen der Verbindungen von denen der Schwämme abgeleitet, d.h. Fistularin kommt von *Aplysina fistularis* und Agelorin von *Agelas oroides*.

Die Struktur des Aerothionins **1** (Abb. 2) wurde von *I.C. Paul et al.*<sup>4</sup> durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt, und die absolute Konfiguration an C-6 wurde durch Circular-Dichroismus bestimmt. Die Stereochemie der beiden Alkohole an C-11 und C-17 vom Agelorin A (**2a**) und B (**2b**) ist noch nicht geklärt. Bei 11-*epi*-Fistularin-3 (**3**) ist die Stereochemie an C-11 variabel, beide Konfigurationen können in der Natur vorkommen.

Abb. 1: *Agelas oroides*<sup>3a</sup>

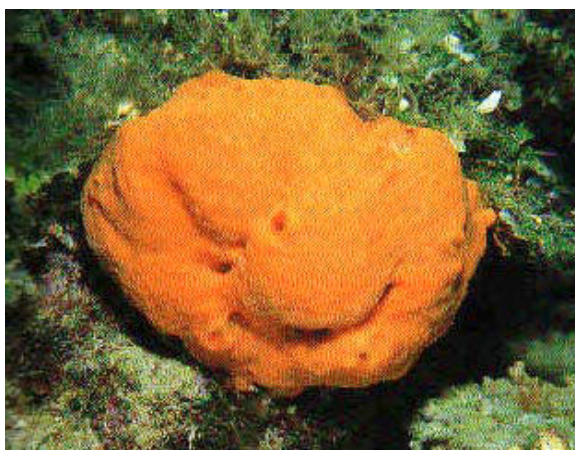
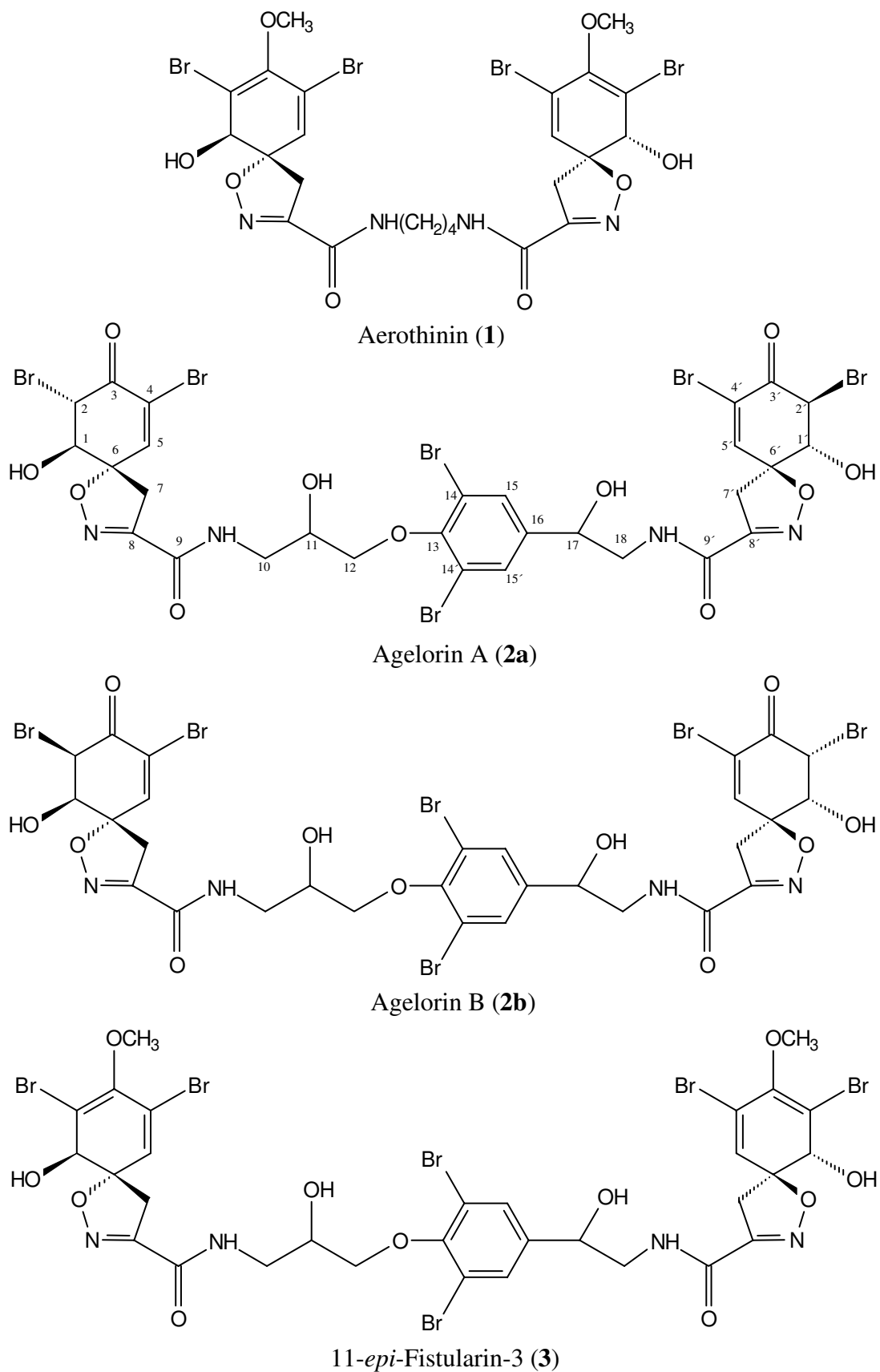
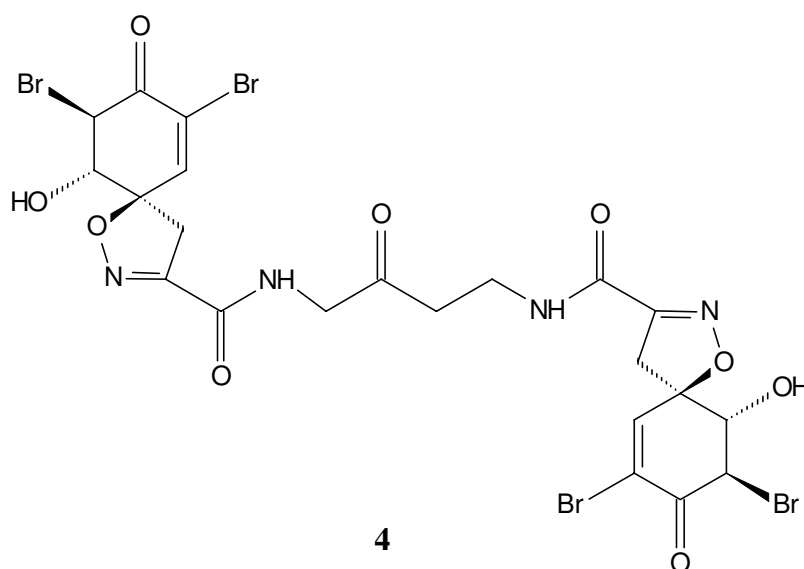


Abb. 2: Aerothionin (1), Agelorin A, B (2a, 2b) und 11-*epi*-Fistularin-3 (3)

Bei den Agelorinen A (**2a**) und B (**2b**) und 11-*epi*-Fistularin-3 (**3**) handelt es sich um Bromotyrosin-Alkaloide, die sich im allgemeinen durch ihre hohen biologischen Aktivitäten auszeichnen. So weisen auch die drei isolierten Verbindungen eine antibakterielle Wirkung gegen *Bacillus subtilis* und *Micrococcus luteus* auf.

Ein anderes, mit dem Agelorin A (**2a**) sehr stark verwandtes Bromotyrosinderivat ist die Verbindung **4** (Abb. 3).<sup>5</sup>

Abb. 3: Ein Agelorin-A-verwandtes Bromotyrosinderivat **4**



Dabei ist das Grundgerüst, d.h. der Cyclohexenonring und das Spiroisoxazolin dieser Verbindung **4** identisch mit dem des Agelorin A (**2a**). Aktivitätsstudien zeigten eine antifugale Wirkung gegen *Cryptococcus neoformans* ATCC90113. Auch hier wurde die absolute Konfiguration der Chiralitätszentren der Cyclohexenonringe durch Circular-Dichroismus bestimmt.

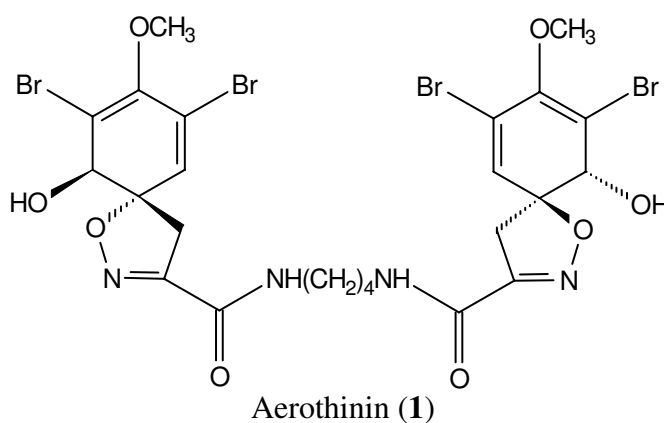
Alle in diesem Kapitel vorgestellten Naturstoffe haben eine sehr einmalige Struktur, wobei besonders die hohe Funktionalitätsdichte ins Auge fällt. Deshalb stellen sie ein lohnendes Synthesziel dar. Eine Totalsynthese einer dieser Naturstoffe könnte definitiven Aufschluß über die Stereochemie des spiroanellierten Zentrums geben. In dieser Arbeit sollte der Agelorin-A-Cromophor synthetisiert werden, dabei hat man sich dafür entschieden, die S-Konfiguration anzustreben.

### 1.3 Etablierte Synthesen der Spiroisoxazolinalkaloide

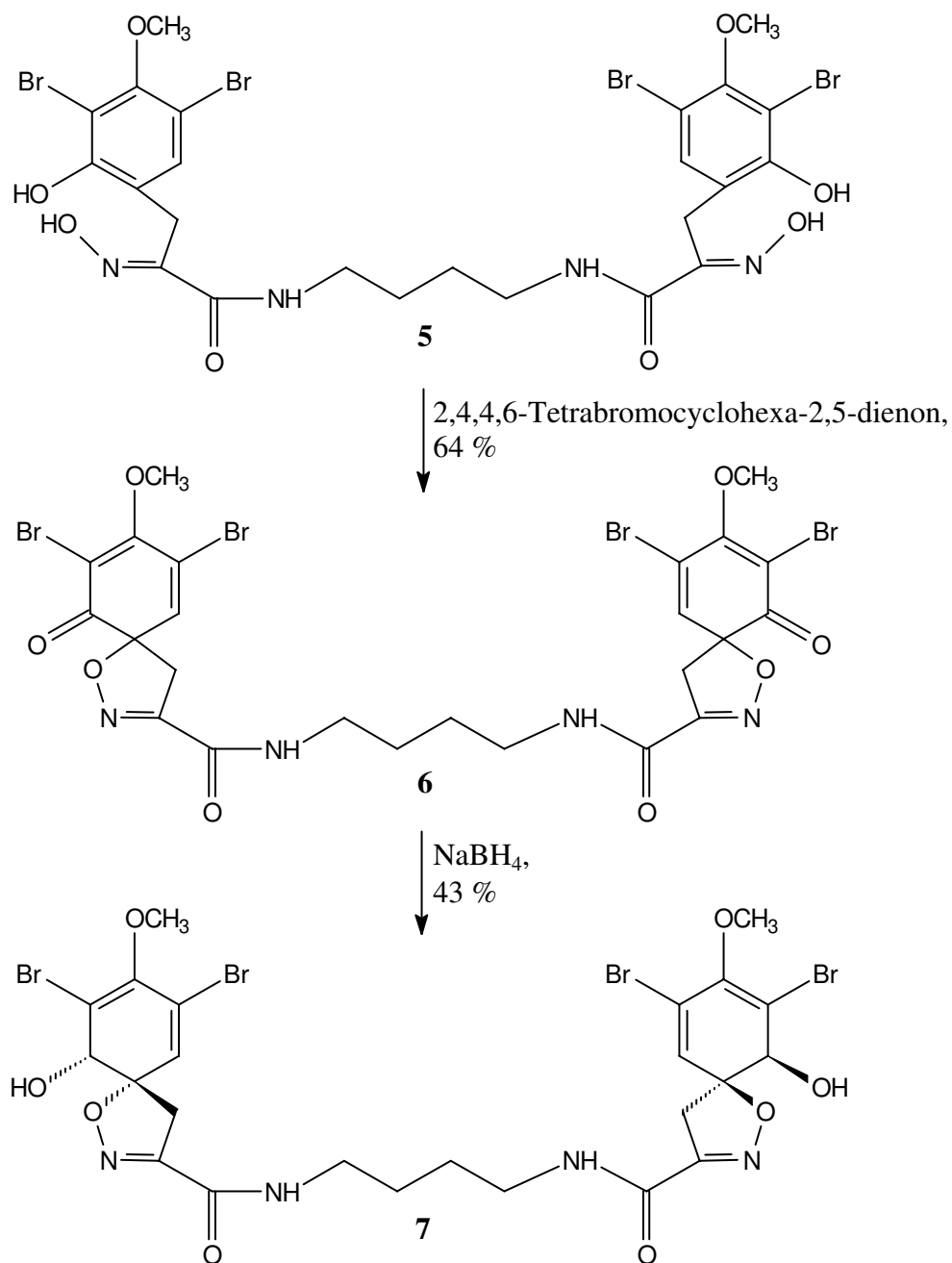
An dieser Stelle soll eine Zusammenfassung über die schon existierenden Synthesen von Spiroisoxazolininen gegeben werden. Dabei steht die Ähnlichkeit der Konzepte und nicht die chronologische Aufzählung im Vordergrund.

Die erste Darstellung eines Spiroisoxazolins stammt von *R. H. Thomson*;<sup>6</sup> das Syntheseziel war dabei das Aerothionin (Abb. 4).

Abb. 4: Aerothionin (1)



Die Spiroisoxazolin-Einheit des Aerothionins (1) ist dabei identisch mit der der Fistularine. *H. Thomson* ging bei seiner Methode von einem Oxim **5** aus (Abb. 5), das er mit Hilfe von 2,4,4,6-Tetrabromocyclohexa-2,5-dienon einer oxidativen Cyclisierung unterworfen hat. Die nachfolgende Reduktion mit Natriumborhydrid gab das unnatürliche *cis,cis*-Aerothionin (7) in 43 %iger Ausbeute. Nachteile dieser ersten Darstellungsmethode sind zum einen, daß das falsche Diastereomer gebildet wurde, zum anderen gewann man das Ausgangsmaterial, das Oxim **5**, durch Behandlung des Naturstoffes Aerothionin (1) mit Alkali. Es handelt sich demnach nur um eine formale Synthese.

Abb. 5: Synthese von *cis,cis*-Aerothionin (**7**) nach Thomson

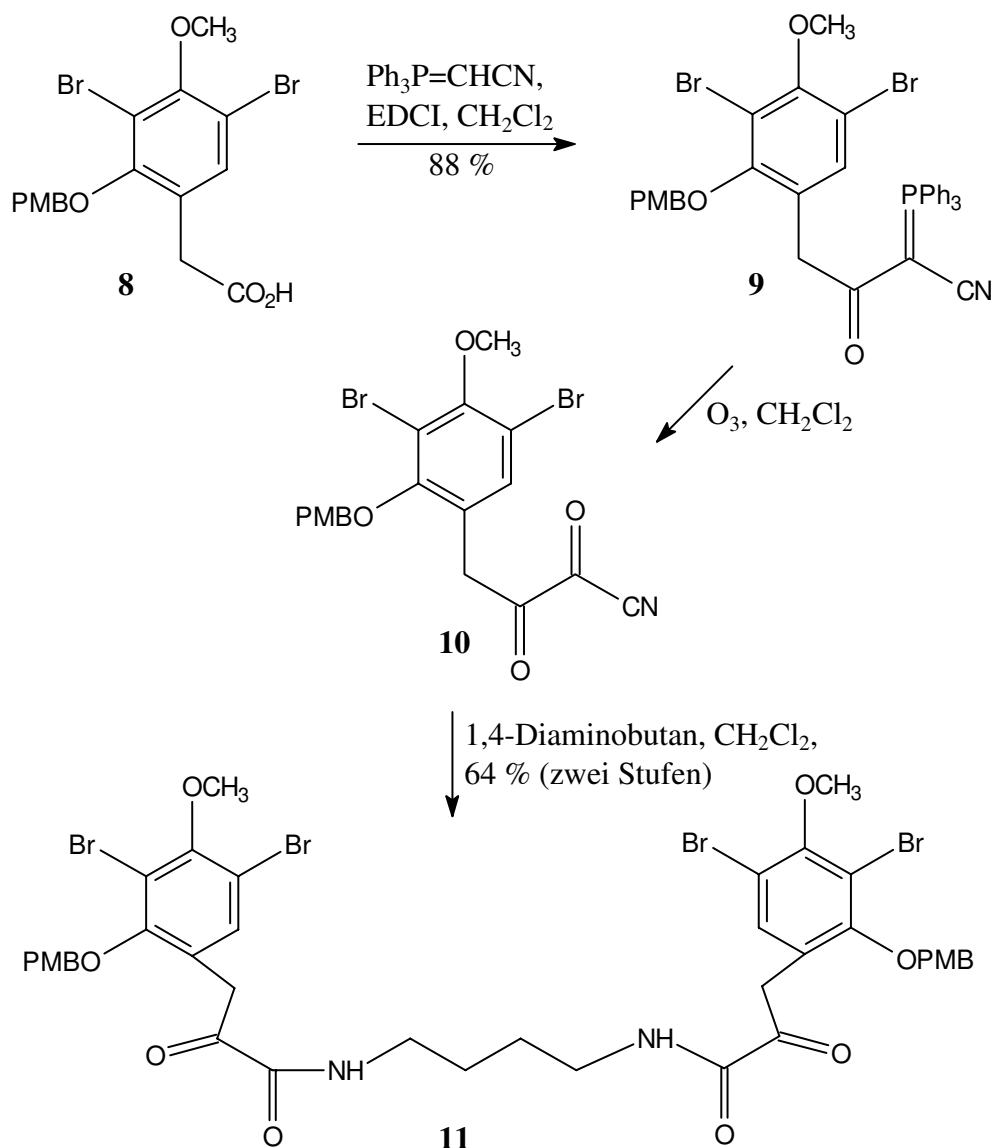
Ein besserer Weg zum Aerethionin (**1**) wurde von *H. H. Wasserman*<sup>7</sup> entwickelt. Er etablierte eine effektive Möglichkeit zur Darstellung der Cyclisierungsvorstufe und generierte durch ein geeigneteres Reduktionsmittel das korrekte Diastereomer des Aerothionins (**1**).

Er ging dabei von der Carbonsäure **8** aus (Abb. 6) und überführte diese durch Kupplung mit (Triphenylphosphoraniliden)-acetonitril (Ph<sub>3</sub>P=CHCN) in ein entsprechendes Ylid **9**. Durch

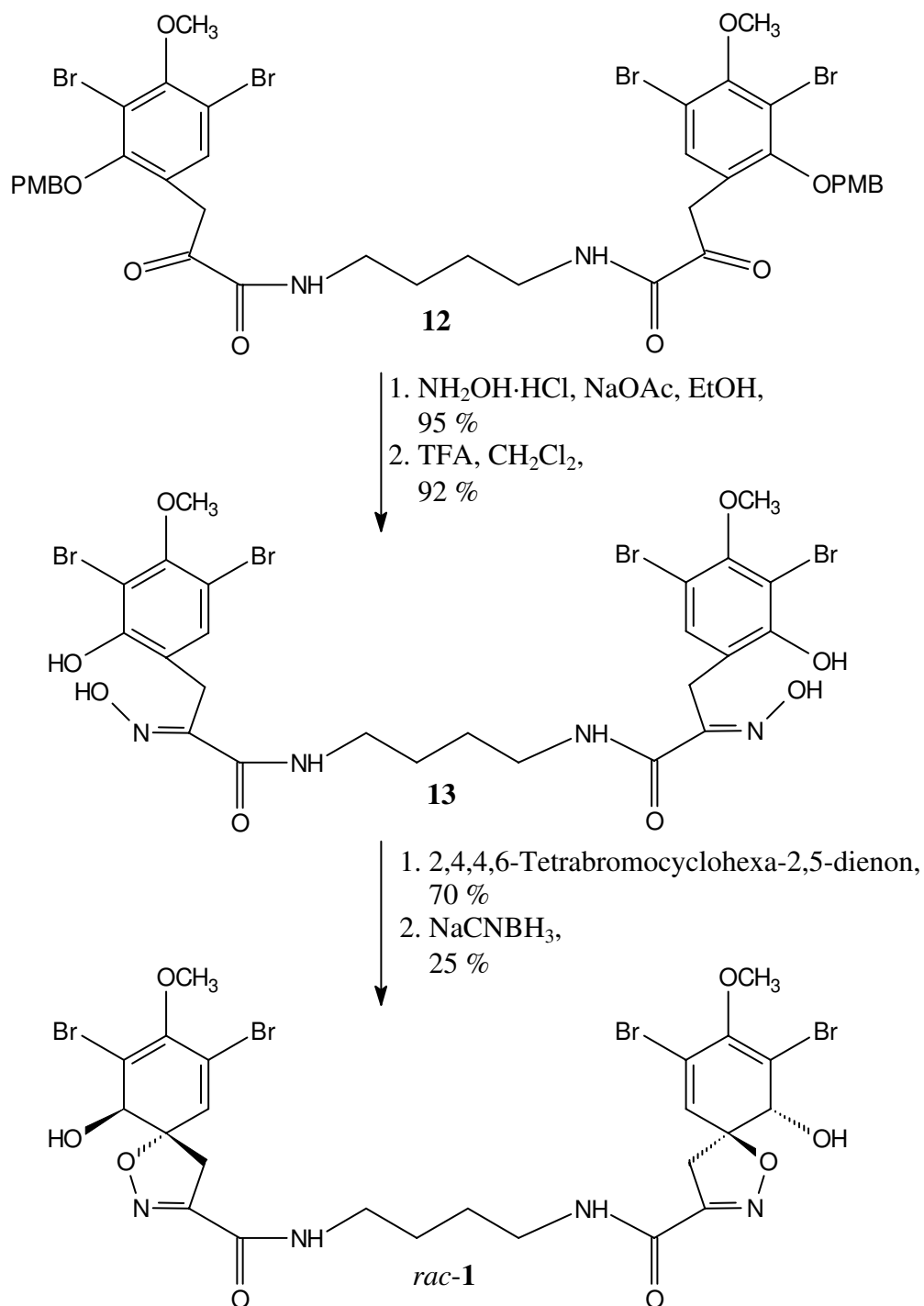


Ozonolyse von **9** erhielt man ein  $\alpha,\beta$ -Diketonitril **10**, das mit 1,4-Diaminobutan gekuppelt wurde.

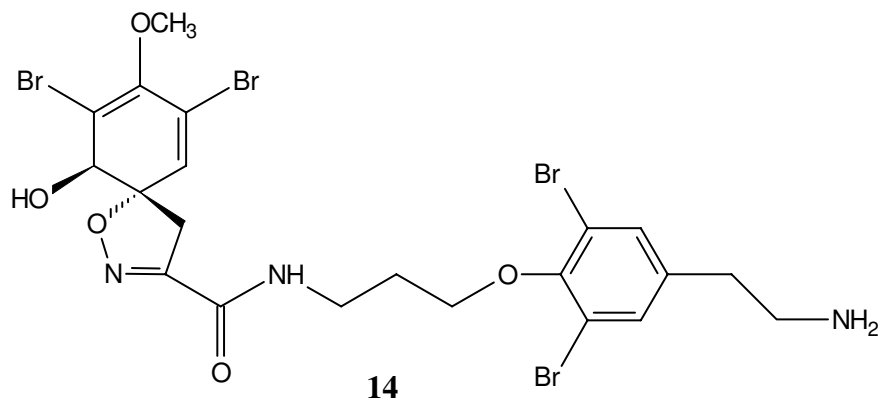
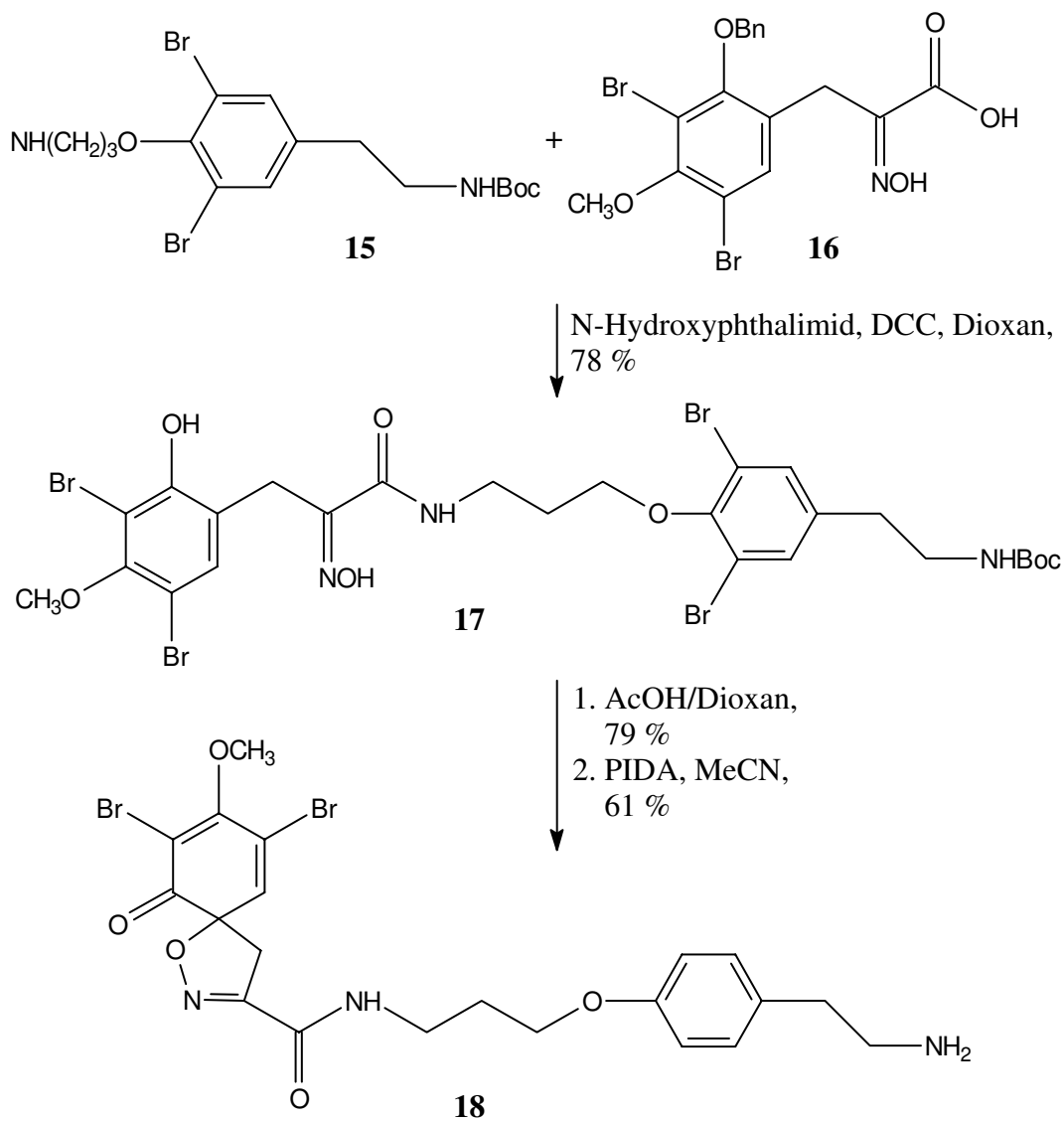
Abb. 6: Synthese des Aerothionins (**1**) nach *H. H. Wasserman et al.* (Teil 1)



Nun schloß sich eine Umwandlung zum Oxim an, das mit TFA behandelt wurde, um den Cyclisierungsprecursor **13** freizusetzen. Die oxidative Cyclisierung erfolgte analog zu *R. H. Thomson et al.* unter Verwendung von 2,4,4,6-Tetrabromo-2,5-cyclohexadienon mit 70 % Ausbeute. Das Spiroisoxazolin mußte nun noch mit Natriumcyanoborhydrid reduziert werden, damit das racemische Aerothinin (*rac-1*) mit 25 % Ausbeute und der richtigen relativen Konfiguration isoliert werden konnte (Abb. 7).

Abb. 7: Synthese des Aerothionins (*rac-1*) nach *H. H. Wasserman et al.* (Teil 2)

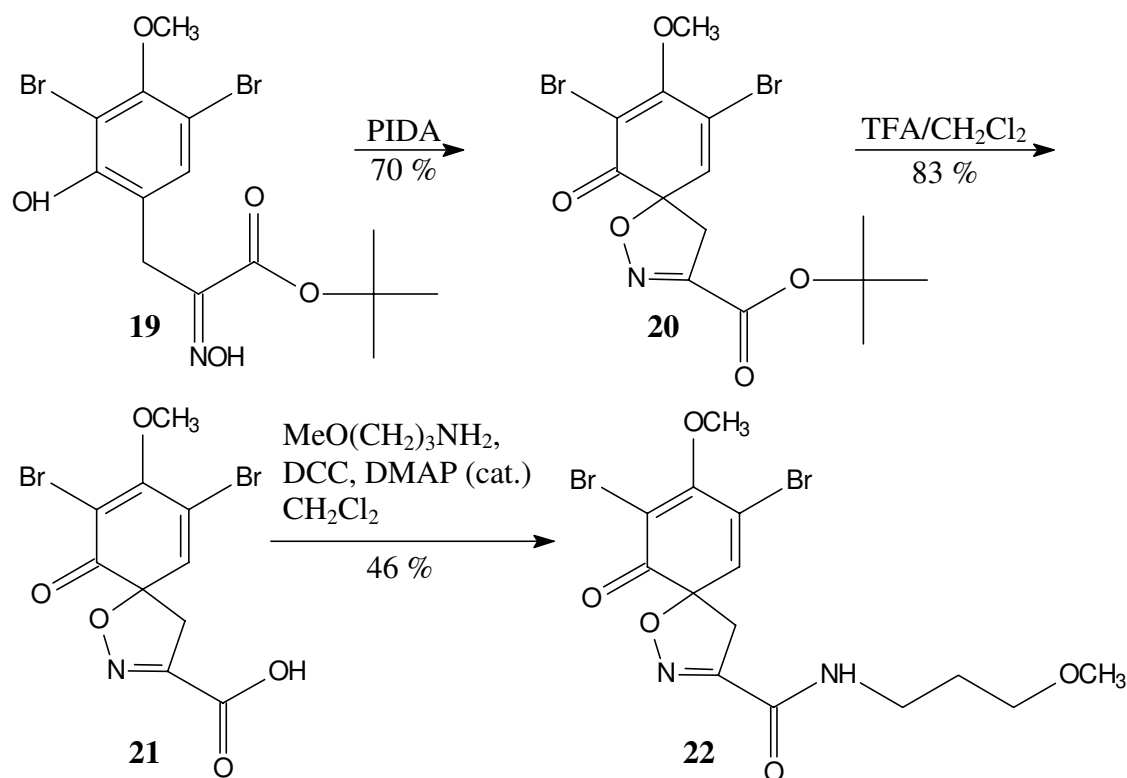
Ein ganz ähnlicher Ansatz wurde von *O. Hoshino*<sup>8</sup> gewählt, allerdings war hierbei das monomere Araplysillin I (**14**) (Abb. 8) der angestrebte Naturstoff. Die Kupplung zum Amid wurde auch hier vor der phenolischen Oxidation durchgeführt.

Abb. 8: Araplysillin (**14**)Abb. 9: Darstellung des Araplysillin-Vorläufers **18** nach *O. Hoshino*

Ausgangspunkt war das geschützte Dibromotyrosin-Derivat **15** (Abb. 9), das durch Kupplung mit **16** in Gegenwart von *N*-Hydroxyphthalimid und DCC mit 78 % Ausbeute in das Oxim **17** überführt wurde. Nach dem Entfernen der Benzylschutzgruppe (79 % Ausbeute) und phenolischer Oxidation mit Phenyliodoniumdiacetat (PIDA) resultierte das Spiroisoxazolin **18** mit 61 % Ausbeute. Auf eine analoge Reduktion nach *H. H. Wasserman* wurde verzichtet.

*Hoshino et al.* schlagen in derselben Arbeit<sup>8</sup> einen alternativen Syntheseweg vor, der mit der phenolischen Oxidation eines Esters **19** beginnt. Nach Freisetzung einer Carbonsäure **21** erfolgte die Umwandlung ins Amid **22** (Abb. 10).

Abb. 10: Alternativer Syntheseweg nach *O. Hoshino*



Die Cyclisierung erfolgte wieder mit PIDA in 70 %iger Ausbeute, die Spaltung des *tert*-Butylesters konnte mit TFA in Dichormethan (83 %) realisiert werden. Die nun nachfolgende Amidierung erfolgte unter Standardbedingungen mit DCC in einer Ausbeute von 46 %.

Ein etwas anderes Konzept verfolgte *S. Yamamura*<sup>9</sup> bei seiner Totalsynthese des Aerothinins (*rac-1*) (Schema 1). Er ging von einem Oximester **C** aus, dann erfolgte die

Cyclisierung zu **B**, der sich eine Amidierung direkt aus dem Ester unter Generierung von **A** anschloß.

Schema 1: Retrosyntheseschema nach S. Yamamura

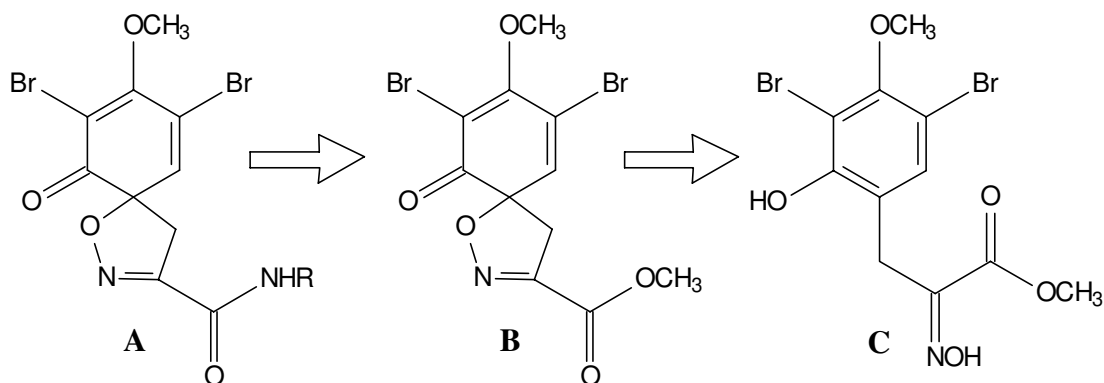
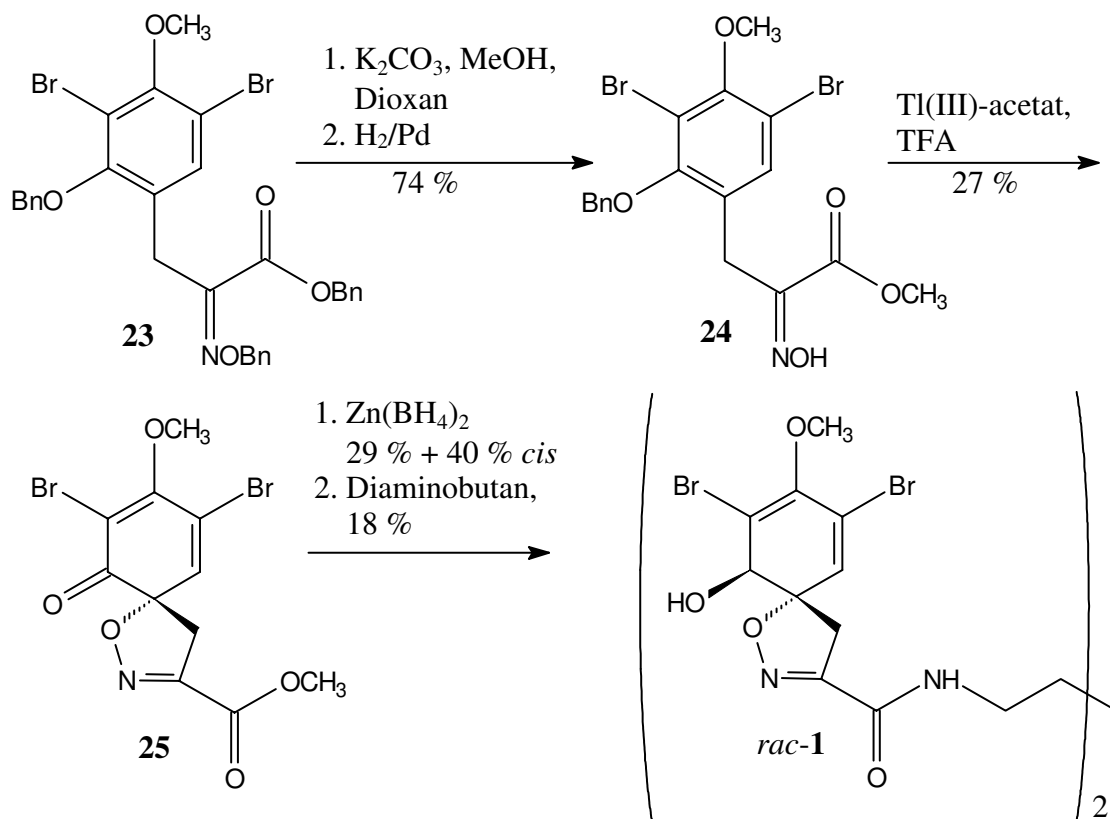


Abb. 11: Synthese des Aerothionins (*rac-1*) nach S. Yamamura



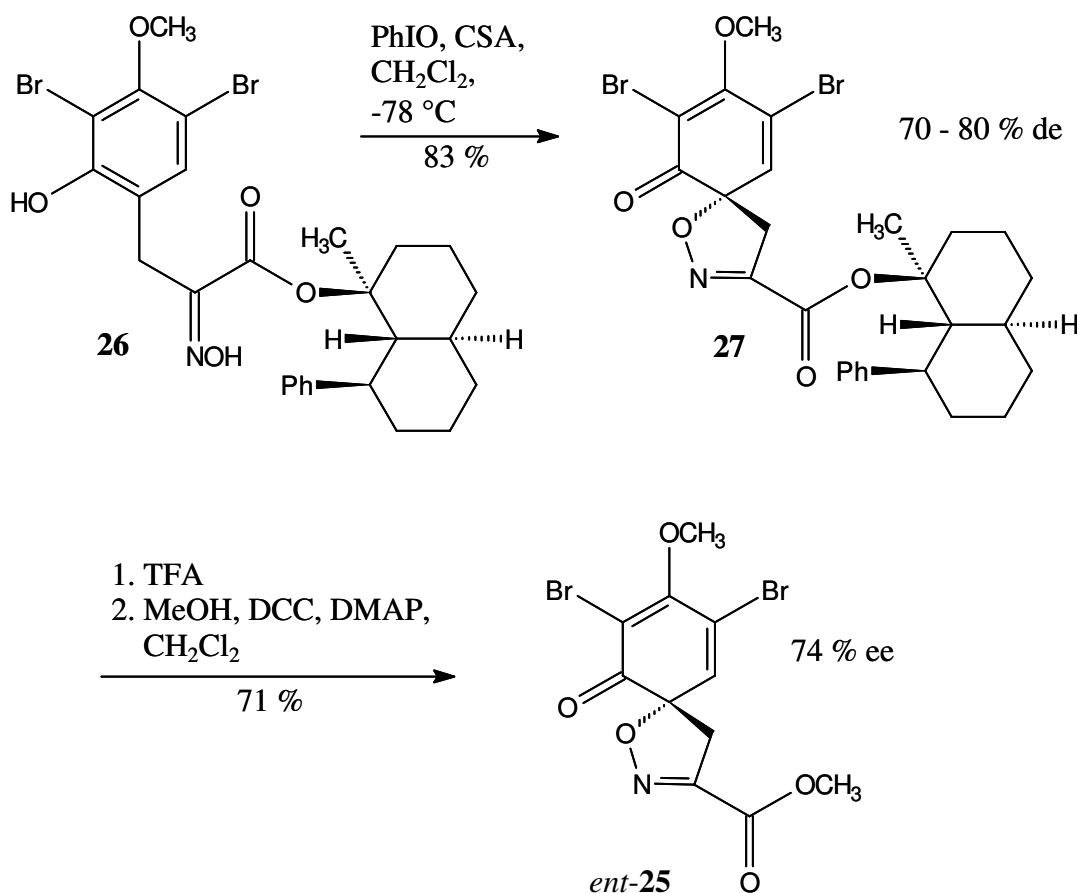
Das Ausgangsmaterial war in diesem Fall ein benzylgeschütztes Oxim **23** (Abb. 11), das durch Umesterung und Hydrierung in den Methylester **24** überführt wurde. Die oxidative

Cyclisierung des phenolischen Oxims **24** wurde mit Thallium(III)-trifluoacetat eingeleitet, so daß der Heterocyclus **25** resultierte. Nach der sich anschließenden Reduktion mit einem Überschuß  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$  erhielt man ein Diastereomergemisch im Verhältnis 1.3:1 beider Alkohole. Das *trans*-Isomer ließ man über Nacht in 1,4-Diaminobutan stehen, so daß man 18 % des angestrebten Naturstoffes *rac*-**1** isolieren konnte.

Die Nachteile dieser Synthese sind zum einen die schlechten Ausbeuten der Cyclisierung sowie der Amidierung; zum anderen verlief die Reduktion sehr unselektiv, wobei bevorzugt das falsche Diastereomer gebildet wurde. Außerdem handelt es sich um die Darstellung eines Racemates.

*O. Hoshino et al.*<sup>10</sup> entwickelten einen enantioselektiven Zugang zum Spiroisoxazolinmethylester *ent*-**25** (Abb. 12).

Abb. 12: Enantioselektive Synthese eines Spiroisoxazolinmethylesters *ent*-**25**



Prinzipiell führte er ein 8-Phenyl-decanol als chirales Auxiliär in die Carbonylposition ein,

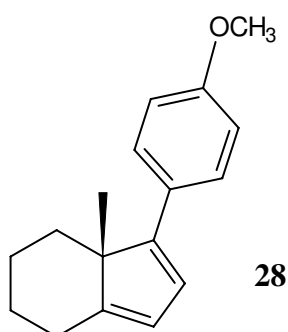
das dann die oxidative Cyclisierung stereochemisch beeinflusste. Den entstandenen Oximester **26** behandelte man dann mit PhIO, um das Spiroisoxazolin **27** mit 70 - 80 % de zu generieren. Das chirale Auxiliar wurde nun mit TFA wieder abgespalten, woraufhin mit DCC und MeOH der Methylester *rac*-**25** mit 74 % ee etabliert wurde, der nach der bereits vorgestellten Methode von *S. Yamamura* mit  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$  und Diaminobutan in das (+)-Aerotionin (**1**) überführt werden konnte.

Dieses Konzept ist neben dem enantioselektiven Weg von *E. Winterfeldt* und *F. Nerenz* das einzige, das wenigstens eine Enantiomerenanreicherung eines Spiroisoxazolins erlaubt. Deshalb soll nun das allgemeine Prinzip der enantioselektiven Darstellung von Spiroisoxazolin-Alkaloiden mit Hilfe des *Winterfeldt*-Diens vorgestellt werden.

## 1.4 Enantioselektive Synthese mit dem *p*-Methoxyphenyldien **28**

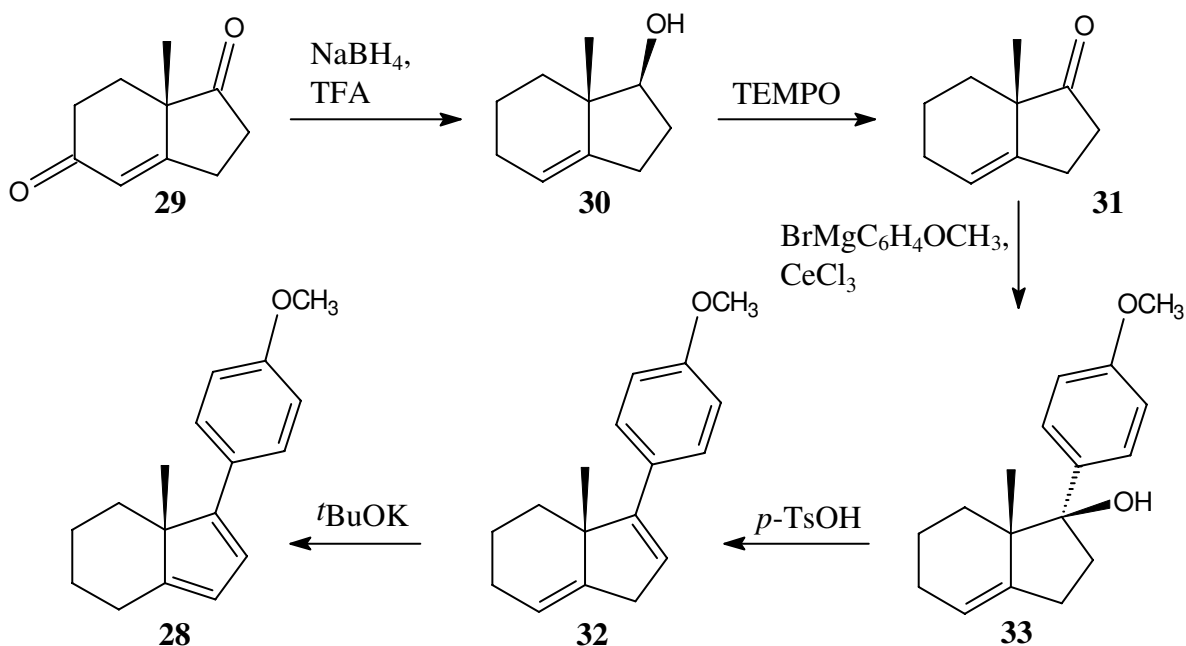
Das chirale Dien **28** (Abb. 13) und dessen Anwendung als chirales Auxiliär ist seit einigen Jahren Gegenstand intensiver Untersuchungen im Arbeitskreis *Winterfeldt*.<sup>11</sup>

Abb. 13: *p*-Methoxyphenyldien **28**



Bei den *p*-Methoxyphenyldien **28** handelt sich um ein Hydrindanfragment der Steroide, das seine chirale Information auf andere Moleküle zu übertragen vermag. Unterwirft man dieses Dien **28** einer Reaktionssequenz aus Diels-Alder-Reaktion / diastereoselektive Transformation / Retro-Diels-Alder-Reaktion, so erhält man wertvolle enantiomerenreine Synthesebausteine.

Abb. 14: Synthese des Diens **28**



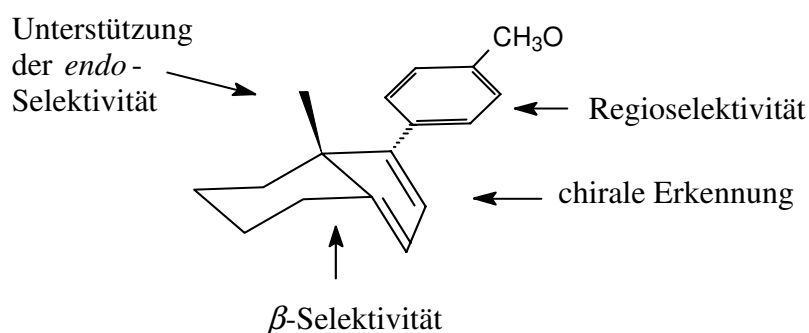


Die Darstellung des Diens **28** erfolgt ausgehend vom Hajos-Wiechert-Keton **29**<sup>12</sup> (Abb. 14), das in beiden möglichen absoluten Konfigurationen erhältlich ist. Es wird im ersten Schritt zum Alkohol **30** reduziert, der dann mit TEMPO reoxidiert wird. Dabei entsteht das Keton **31**. Durch eine  $\text{CeCl}_3$ -vermittelte Grignard-Reaktion wird der Arylrest eingeführt, so daß der tertiäre Alkohol **33** erhalten wird. Die beiden letzten Schritte beinhalten eine Eliminierung und Isomerisierung, wobei sich das Dien **28** auf effektive Weise bildet.<sup>13</sup>

Führt man mit dem *p*-Methoxyphenyldien **28** nun eine Diels-Alder-Reaktion durch, so kann man sich einige wichtige Eigenschaften dieses Moleküls zunutze machen (Abb. 15):

1. Der Phenylsubstituent definiert als konjugierter, elektronenreicher Rest die Regioselektivität der Reaktion.
2. Die enantiofaciale Differenzierung, d.h. der Angriff lediglich von der  $\beta$ -Seite, wird durch die *konkave* Form des Diens **28** hervorgerufen.
3. Es wird das unter kinetischer Kontrolle (Raumtemperatur, 6.5-14 kbar Hochdrucktechnik) bevorzugte *endo*-Produkt gebildet, was durch die anguläre Methylgruppe noch unterstützt wird.
4. Die chirale Erkennung optisch aktiver Dienophile und die Unterscheidung enantiotoper Gruppen im *endo*-Übergangszustand wird von der olefinischen Brücke gesteuert.

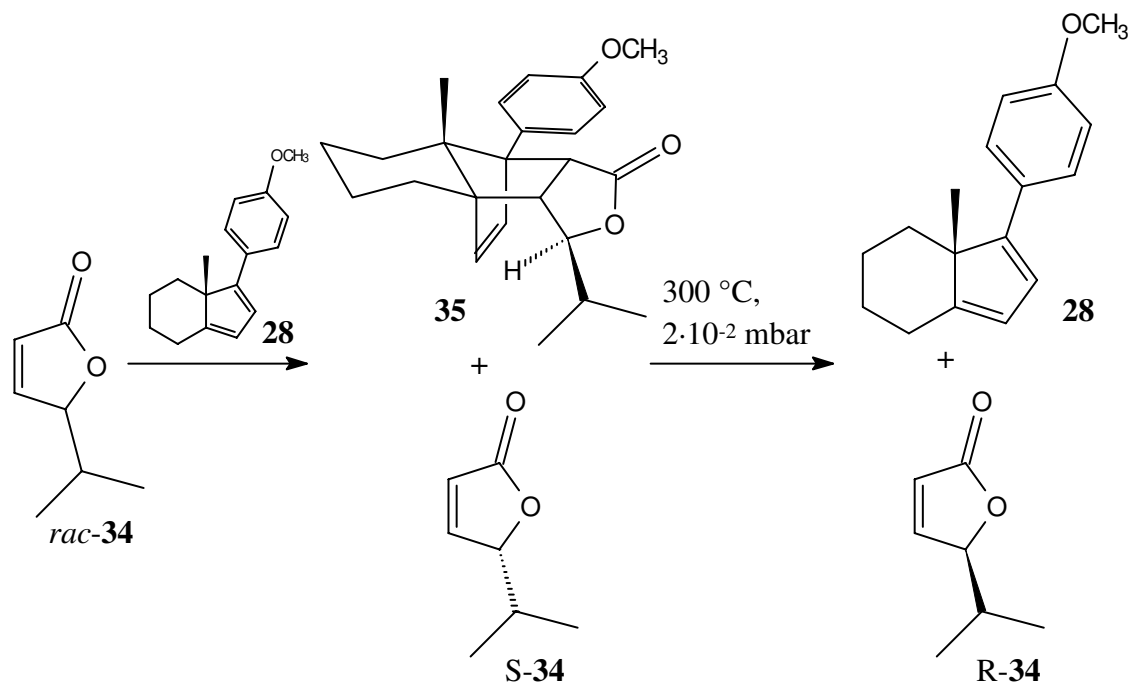
Abb. 15: Konformation und lenkende Wirkung des Diens **28**



Punkt 4 soll in diesem Zusammenhang etwas näher erläutert werden. Setzt man das *p*-Methoxyphenyldien **28** mit einem racemischen alkylsubstituierten Butenolid *rac*-**34** um (Abb. 16), so bildet das *R*-Enantiomer *R*-**34** ein Diels-Alder-Addukt **35** in quantitativer Ausbeute. Das *S*-Enantiomer *S*-**34** hingegen reagiert nicht mit dem Dien **28**, es kann mit hoher Enantiomereneinheit (>98 % ee) abgetrennt werden. Durch thermische Retro-Diels-

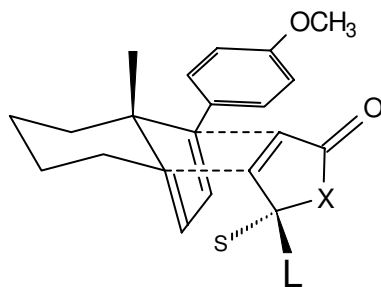
Alder-Reaktion kann nun das *R*-Enantiomer *R*-**34** wieder freigesetzt werden, so daß auf diese Weise beide Enantiomere durch kinetische Resolution voneinander getrennt werden können.<sup>14</sup>

Abb. 16: kinetische Resolution eines Butenolids *rac*-**34**



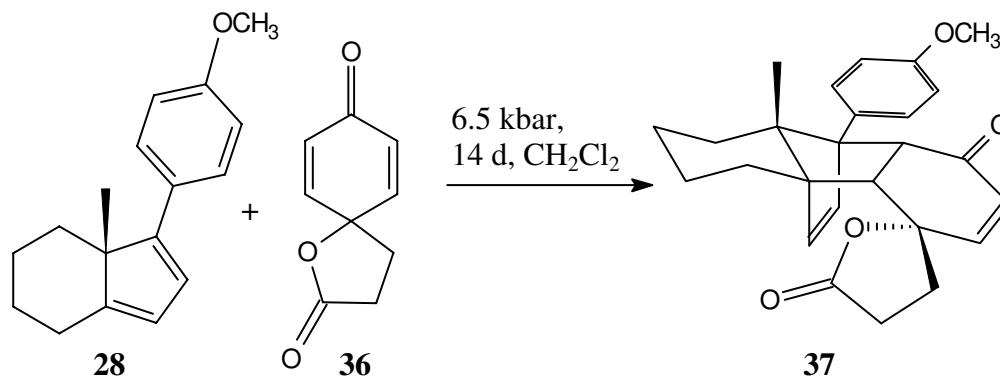
Dieses Ergebnis kann dadurch erklärt werden, daß der *iso*-Propylrest eine starke sterische Hinderung auf die olefinische Brücke des Diens **28** ausübt. Folglich bildet sich der energetisch günstigere Übergangszustand, bei dem der kleinere Substituent nach innen gerichtet ist (Abb. 17).

Abb. 17: Übergangszustand der kinetischen Resolution



Auch eine Erkennung enantiotoper Gruppen ist mit diesem Konzept möglich. Bringt man das prochirale Spirolacton **36** mit dem Dien **28** unter Hochdruckbedingungen zur Reaktion, dann resultiert ein einheitliches Addukt **37** (Abb. 18).

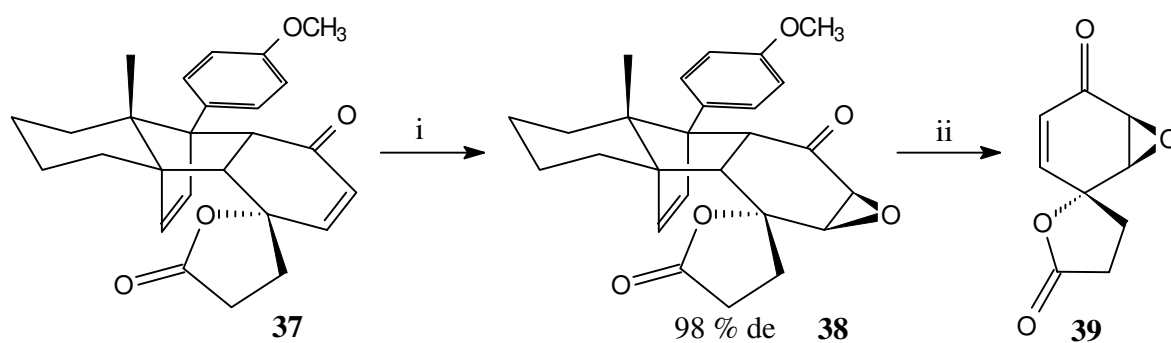
Abb. 18: Differenzierung enantiotoper Gruppen



Auch diese Tatsache kann durch eine genaue Betrachtung des Übergangszustandes verstanden werden. Es wird immer das Produkt entstehen, dessen Bildung über den Übergangszustand verläuft, bei dem der kleinere Substituent nach innen gerichtet ist. Umfangreiche Studien im Arbeitskreis *Winterfeldt* haben ergeben, daß das Sauerstoffatom mit seinen beiden Elektronenpaaren weniger Raum beansprucht als die Methylengruppe. Diese Anordnung des Spirozentrums im Addukt **37** konnte von *H. Weinmann* mittels Röntgenstrukturanalyse bewiesen werden.<sup>15</sup>

Mit der Doppelbindung des Diels-Alder-Adduktes konnten erfolgreich Transformationen durchgeführt werden, die aufgrund der *konvex-konkaven* Anordnung von **37** mit hoher Diastereoselektivität nur von der Außenseite her erfolgten (Abb. 19).

Abb. 19: Darstellung eines enantiomerenreinen Bausteins **39**



i:  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ , THF, 90 %;  
 ii:  $10^{-2}$  mbar,  $330^\circ\text{C}$ , 81 %

Ein Beispiel dafür ist die Epoxidierung des Spiroadduktes **37**. Die anschließende Retro-Diels-Alder-Reaktion setzte in einer Flash-Vakuum-Pyrolyse einen enantiomerenreinen Baustein **39** frei (Abb. 19).

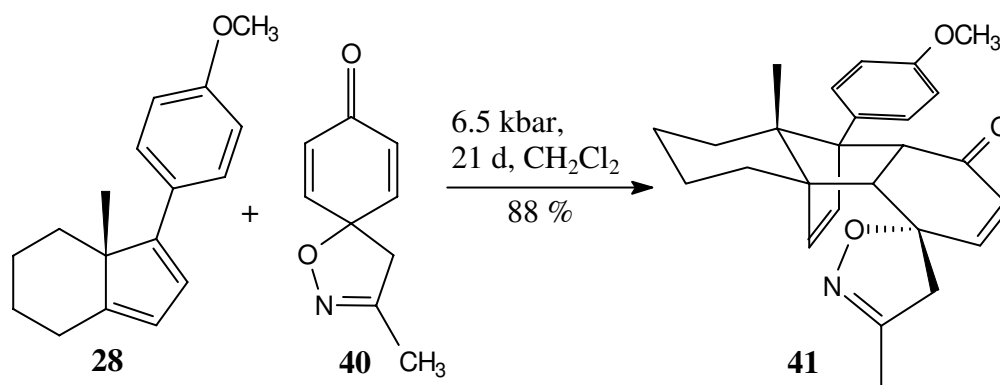
Mit der hier beschriebenen Methode steht eine gute Möglichkeit zur Verfügung, enantiomerenreine Verbindungen mit exzellenten Selektivitäten darzustellen. Ein weiterer Vorteil dieses Auxiliars ist, daß beide Antipoden leicht zugänglich sind. Die kinetische Resolution hat allerdings den Nachteil, daß immer mindestens 50 % des Materials verloren gehen.

Die Differenzierung enantiotoper Gruppen dagegen ist ein guter Ausgangspunkt für die Planung einer Naturstoffsynthese, da ein prochirales Molekül effektiv in ein enantiomerenreines umgewandelt wird.

## 1.5 Darstellung eines chiralen Spiroisoxazolinadduktes: Stand der Forschung

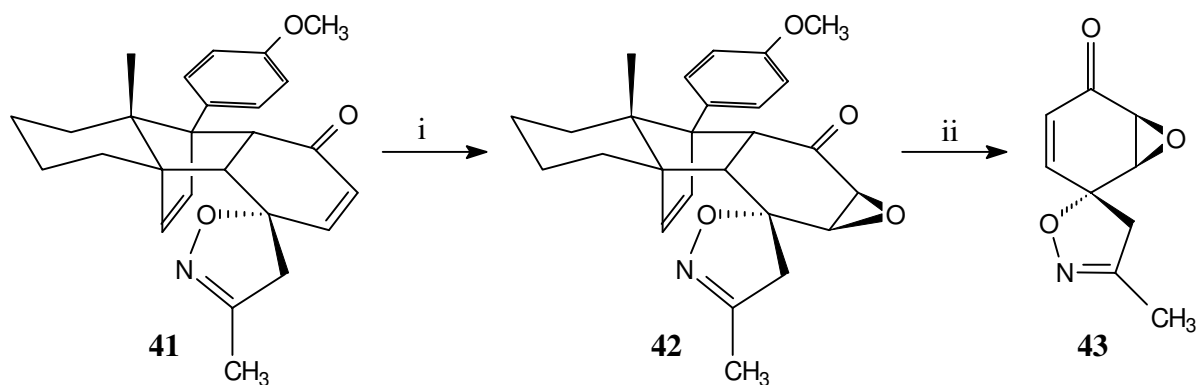
F. Nerenz<sup>16</sup> ist es erstmals gelungen, das Konzept der Differenzierung enantiotoper Gruppen auf ein Spiroisoxazolin **40** zu übertragen (Abb. 20). Das Cyclohexanon **40** ist besonders interessant, weil es bereits das für die Agelorine charakteristische quartäre Zentrum und den Heterocyclus enthält.

Abb. 20: Bildung des Spiroisoxazolinadduktes **41**



Die Cycloaddition des Diens **28** an das Cyclohexenon **40** verlief bei 6.5 kbar in drei Wochen Reaktionszeit glatt mit einer Ausbeute von 88 %. Das Addukt **41** bildete sich regio- und diastereoselektiv. Durch Röntgenstrukturanalyse konnte eindeutig bewiesen werden, daß auch in diesem Fall das Sauerstoffatom in den Molekülinnenraum gerichtet ist.

Im Anschluß daran wurde die Doppelbindung transformiert. Man epoxidierte das Addukt **41** mit Kaliumhydroxid und Wasserstoffperoxid (Abb. 21), wobei die Verbindung **42** mit einer Ausbeute von 96 % erhalten werden konnte. Dabei wurde beobachtet, daß der Michael-Angriff des Sauerstoff-Nucleophils wegen der *konkav-konvexen* Form des Adduktes **41** nur von der  $\beta$ -Seite her erfolgte. Nun wurde eine thermische Flash-Vakuum-Pyrolyse bei 300 °C und  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar durchgeführt, bei der sich das enantiomerenreine Epoxyspiroisoxazolin **43** in 83 % Ausbeute mit einem Enantiomerenüberschuß von mehr als 90 % bildete (Abb. 21).

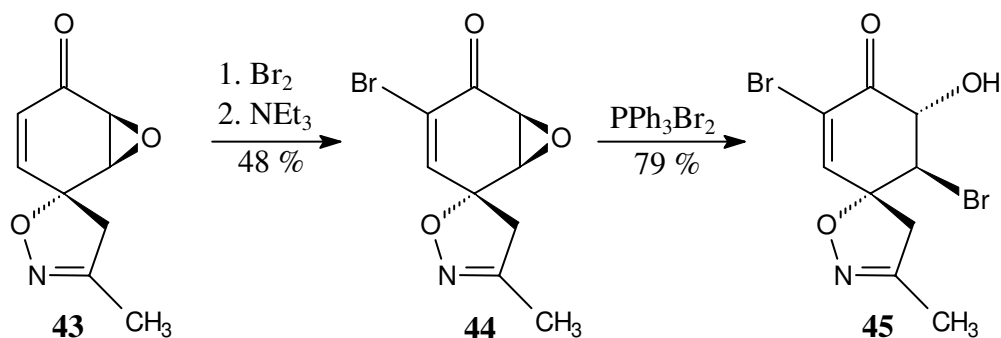
Abb. 21: Synthese eines chiralen Ketoepoxids **43**

i:  $K_2CO_3$ ,  $H_2O_2$ ,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , THF, 96 %;  
 ii:  $10^{-2}$  mbar,  $300\text{ }^\circ\text{C}$ , 83 %

Besondere Beachtung verdient die Tatsache, daß durch das beschriebene Verfahren ein relativ einfacher Zugang zum quartären Chiralitätszentrum des Spiroisoxazolins zur Verfügung steht.

Das generierte Spiroisoxazolinepoxid **43** stellte ein ideales Ausgangsmaterial für die Synthese einer modellhaften Kernstruktur dar. Auch diese Versuche sind von *F. Nerenz*<sup>16</sup> bereits durchgeführt worden.

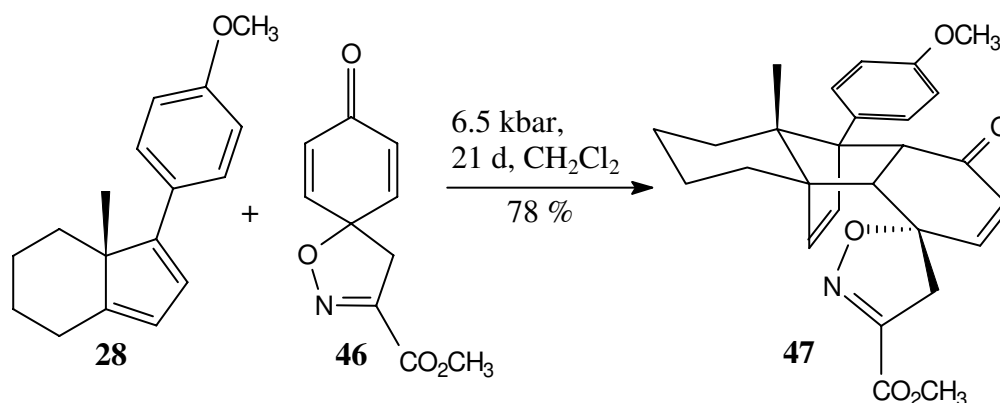
Ausgehend vom Spiroisoxazolinepoxid **43** war es möglich, durch eine Additios-Eliminierungssequenz das Vinylbromid einzuführen. Dazu verwendete man elementares Brom in Chlorform und leitete anschließend die Eliminierung durch Zugabe von Triethylamin ein. Das gewünschte Produkt **44** wurde in einer Ausbeute von 48 % erhalten (Abb. 22).

Abb. 22: Synthese der Methylkernstruktur **45**

Anschließend wurde das Epoxid **44** mit Triphenylphosphindibromid in Dichlormethan bei 0 °C regio- und diastereoselektiv geöffnet. Damit hatte *F. Nerenz* ein Molekül hergestellt, das die Chiralitätszentren der Agelorin A Kernstruktur in der korrekten absoluten und relativen Konfiguration als Antipoden der natürlichen Struktur aufwies.

Der nächste naheliegende Schritt war nun, die CH<sub>3</sub>-Gruppe durch eine Funktionalität zu ersetzen, die die Möglichkeit bietet, das für die Totalsynthese der Agelorine (**2a**, **b**) notwendige Amid zu generieren. Die sinnvollste und einfachste Lösung dieses Problems schien die Einführung einer Methylestergruppe zu sein. Das entsprechende Dienophil **46** ließ sich mit dem Dien **28** mit 78 % Ausbeute bei 6.5 kbar in 21 Tagen in das gewünschte Addukt **47** umwandeln (Abb. 23).

Abb. 23: Übertragung der Differenzierung enantiotoper Gruppen auf den Isoxazolinmethylester **46**

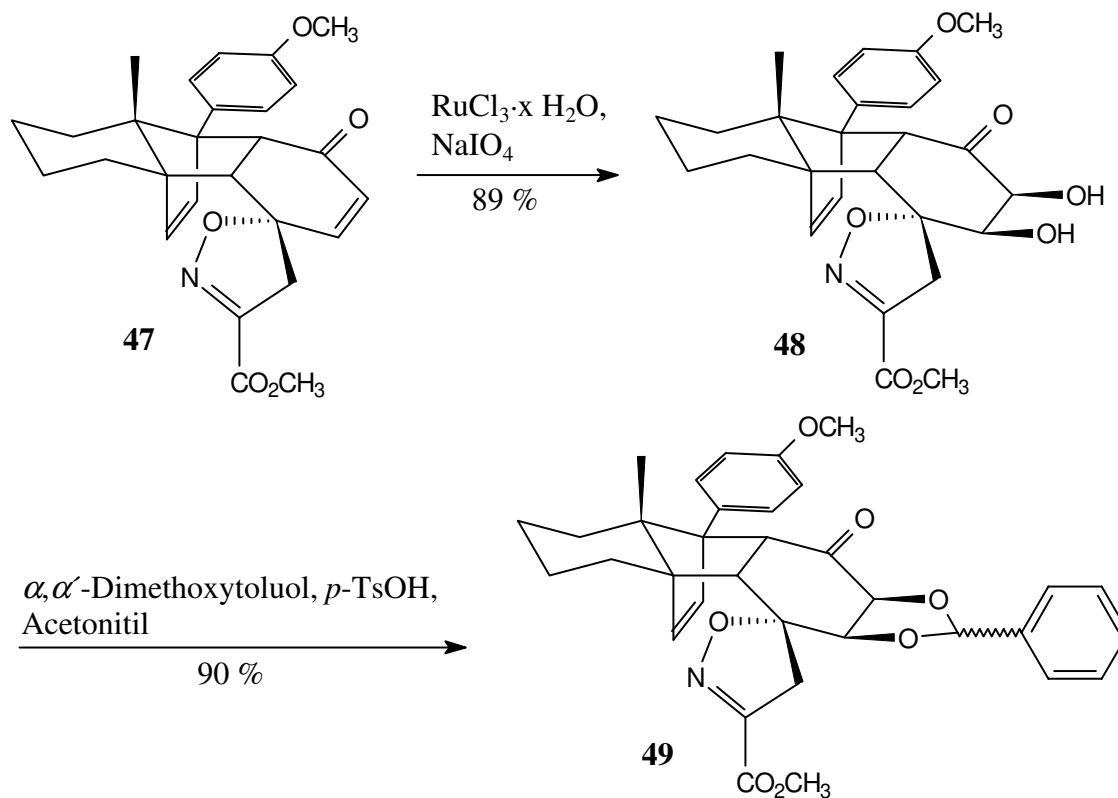


Die Standardmethode der Epoxydierung der Addukte (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0 °C) war allerdings nicht auf das Spiroisoxazolinmethylesteraddukt **47** übertragbar. Auch der Versuch, die Doppelbindung mittels Dimethyldioxiran<sup>25</sup> zu transformieren, scheiterte. Man suchte deshalb nach einer anderen Syntheseroute zum Spiroisoxazolinepoxid. Eine vielversprechende Alternative zur Funktionalisierung der Doppelbindung bot die RuCl<sub>3</sub>-katalysierte Dihydroxylierung nach *Shing et al.*<sup>26</sup> Diese Oxidation konnte mit Rutheniumtrichlorid und Natriumperodat (10 min Reaktionszeit, 0 °C) in 89 % Ausbeute realisiert werden (Abb. 24).

Aufgrund der folgenden Pyrolysereaktion schien eine Schützung des Diols **48** notwendig.

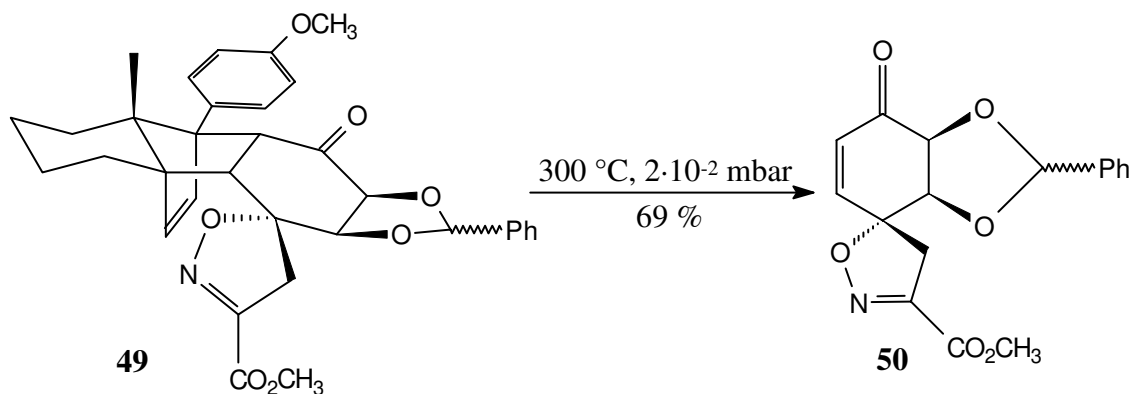
Man setzte dafür das Diol **48** mit Benzaldehyddimethylacetal unter Protonenkatalyse um und erhielt das Acetal **49** (Abb. 24).

Abb. 24: Dihydroxylierung und Schützung von **47**



Durch eine Flash-Vakuum-Pyrolyse bei 300 °C konnte das benzaldehydgeschützte Spiroisoxazolidinol **50** in 69 % Ausbeute freigesetzt werden (Abb. 25). Durch Variation der Verdampfungstemperatur war an dieser Stelle noch Optimierungspotential zu erwarten.

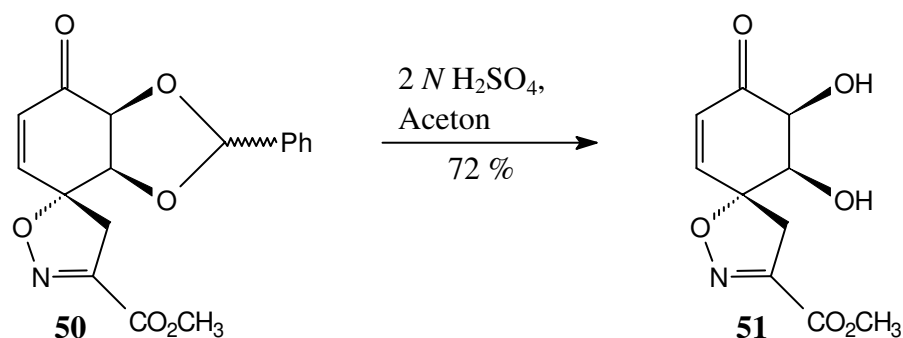
Abb. 25: Pyrolyse des geschützten Spiroisoxazolidinols **49**





Die Entschützung des Diols verlief unter Säurekatalyse mit einer Ausbeute von 72 %, wobei ein enantiomerenreiner Vorläufer des Spiroisoxazolinepoxids **51** isoliert werden konnte (Abb. 26).

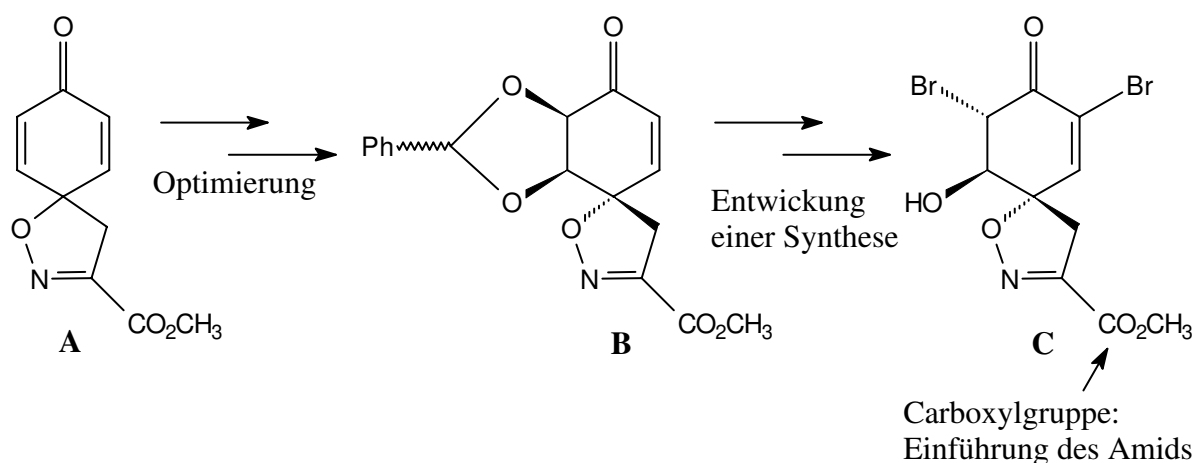
Abb. 26: Entschützung des Diols **50**



## 2 Aufgabenstellung

Anknüpfend an die Arbeiten von *F. Nerenz*<sup>16</sup> sollte in der vorliegenden Dissertation die Synthese des Spirohexadienonmethylesters **A**, des Cycloadduktes **47** und des Retroproduktes **B** optimiert werden (Schema 2). Ferner sollten Studien zum Reaktionsverhalten des Retroproduktes **B** im Hinblick auf die Darstellung einer entsprechenden Kernstruktur **C** des Agelorin A in der Methylestereihe durchgeführt werden. Außerdem sollte die Einführung einer Amidgruppe an die Carboxylfunktion untersucht werden.

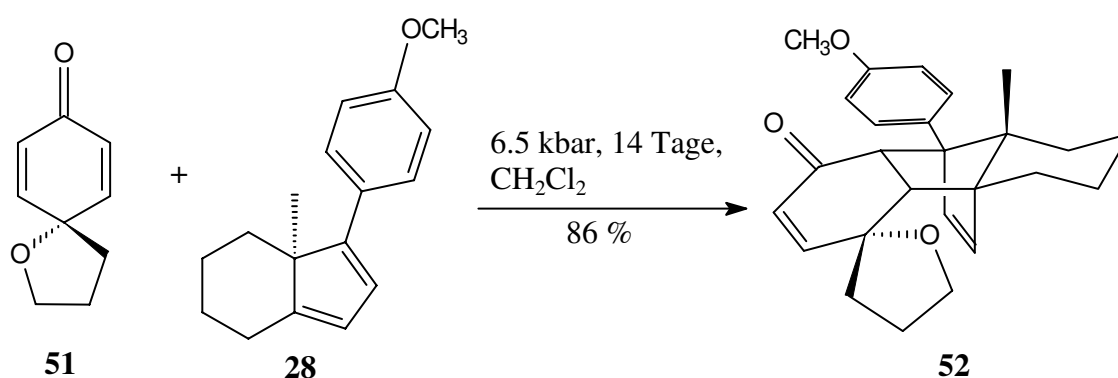
Schema 2: Graphische Darstellung der Aufgabenstellung



### 3 Derivate des Spiroethers

Ein sehr leicht zugängliches und auch gut zu handhabendes Dienophil in der Reihe der Spirohexadienone ist der in Abb. 27 gezeigte Spiroether **51**. Nach *H. Weinmann*<sup>17</sup> kann man dieses Dienophil **51** zusammen mit dem *p*-Methoxyphenyldien **28** mit einer Diels-Alder-Reaktion bei 6.5 kbar leicht in ein Addukt **52** überführen.

Abb. 27: Darstellung des Spiroetheradduktes **52**



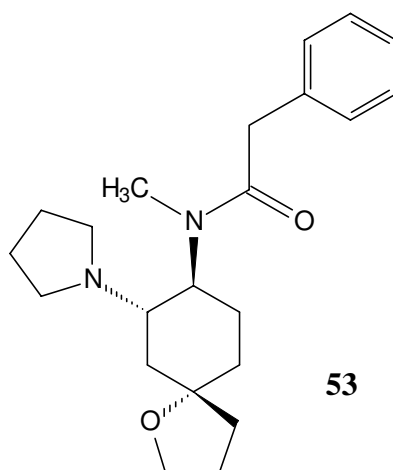
Die Verbindung **52** wurde in dieser Arbeit für orientierende Studien zur Reaktionsweise des Adduktes und seiner Folgeprodukte herangezogen. Die Gründe für diese Vorgehensweise werden hier kurz skizziert:

1. *H. Weinmann* hat durch Röntgenstrukturanalyse die Konfiguration des Spiroetheradduktes **52** eindeutig nachgewiesen. Man hat folglich ein gut studiertes und leicht herstellbares Molekül zur Verfügung.
2. Wie beim Spiroisoxazolin ist auch hier ein Cyclohexenon vorhanden, es besteht die Möglichkeit mit dem Addukt **52** als Modellsystem die Reaktionsweise des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons zu untersuchen.
3. Die Spiroetherfunktionalität ist sehr einfach aufgebaut und deshalb äußerst stabil, man kann daher den Cyclohexenonring transformieren, ohne die Gefahr von Nebenreaktionen des Furanringes berücksichtigen zu müssen.

Es schien sinnvoll, eine Synthese des synthetischen Opioids U69,593<sup>18</sup> anzustreben (Abb. 28). Wie auch das Morphin wirkt Verbindung **53** analgetisch, jedoch löst sie als selektiver  $\kappa$ -Agonist keine Suchteffekte aus. Neben dem Spiroether weist das U69,593 **53** als

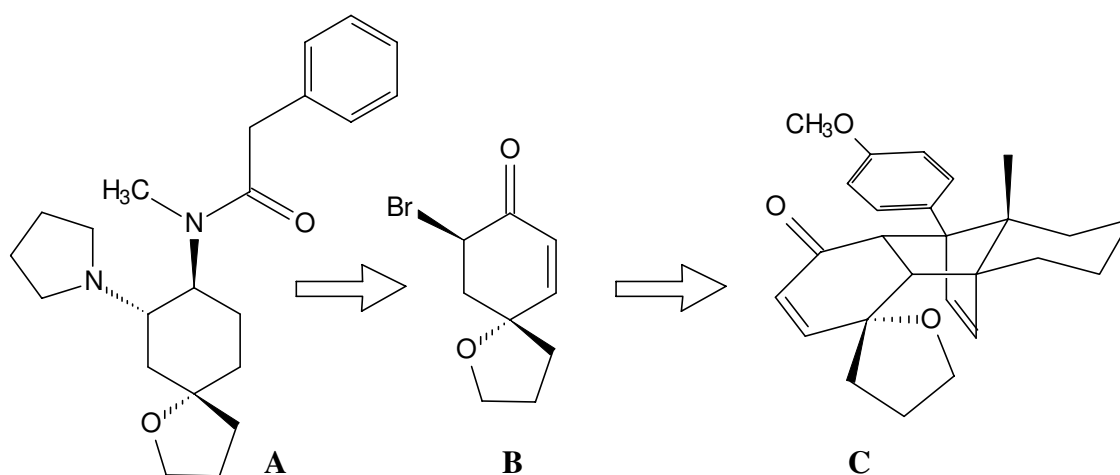
weitere funktionelle Gruppen ein Amid und ein cyclisches Amin auf.

Abb. 28: Das Analgetikum U69,593 **53**



Die Funktionalisierung der Doppelbindung des Adduktes **C** in  $\alpha$ -Position zum Keton schien eine gute Syntheseroute zur Darstellung des Analgetikums **53** zu sein (Schema 3). Nach einer Retro-Diels-Alder-Reaktion erhielt man dann einen wertvollen Baustein **B** zur Darstellung des Wirkstoffes **A**.

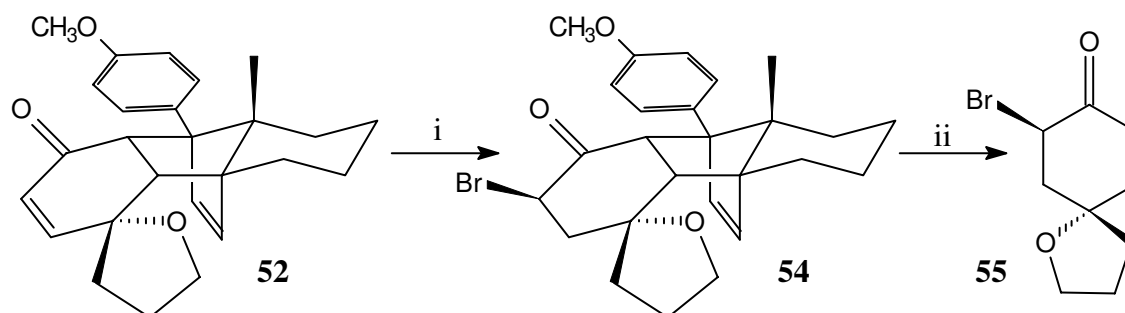
Schema 3: mögliche Syntheseroute zum U69,583 **A**



Die in Abb. 29 gezeigten Vorstufen waren von *H. Weinmann*<sup>17</sup> bereits dargestellt worden. Eine Reduktion der Doppelbindung und anschließende  $\alpha$ -Bromierung führten zum

$\alpha$ -Bromketon **54**, das nach der Retro-Diels-Alder-Reaktion den chiralen Baustein **55** lieferte. Beim Versuch einer Reproduktion der Synthesesequenz traten bei der Retro-Diels-Alder-Reaktion jedoch Unstimmigkeiten auf, so daß diese Möglichkeit verworfen wurde.

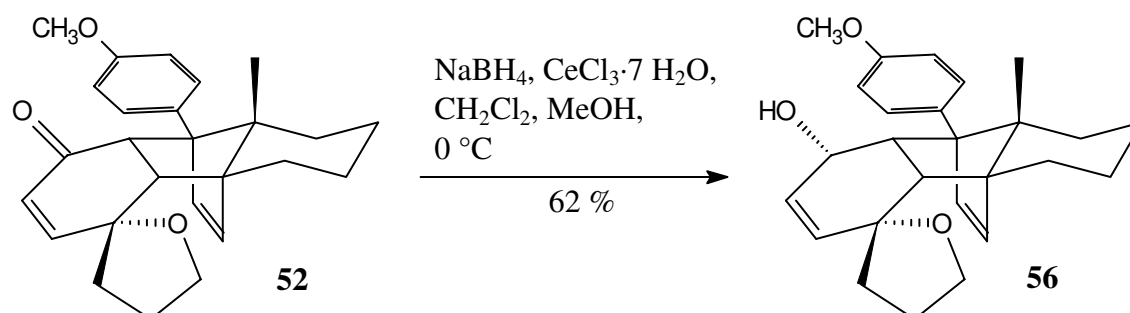
Abb. 29: Generierung des  $\alpha$ -Bromketons **54** und Retro-Diels-Alder-Reaktion



i: 1.  $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , Zn, Ultraschall, 2-Methoxymethanol,  $\text{H}_2\text{O}$ , 86 %; 2.  $\text{Me}_3\text{NPhBr}_3$ , THF,  $0^\circ\text{C}$ , 65 %;  
ii:  $10^{-2}$  mbar,  $330^\circ\text{C}$

Aus diesem Grund wurde auf eine andere - bereits von *H. Weinmann* durchgeführte - Methode zurückgegriffen, und zwar die der chemoselektiven Reduktion des Ketons **52** nach *Luche*<sup>19</sup> (Abb. 30), die den Alkohol **56** mit 62 % Ausbeute lieferte.

Abb. 30: Selektive Reduktion des Ketons **52**



Es war geplant, die zweite benötigte Funktionalität durch eine Hydroborierung der Doppelbindung einzuführen. Um dies zu ermöglichen, wurde der Alkohol **56** vorher mit Natriumhydrid und Benzylbromid am Rückfluß erhitzt und so mit 84 % Ausbeute als Benzylalkohol geschützt (Abb. 31).

Die Hydroborierung des Adduktes **57** verlief nicht wie geplant, es trat statt dessen eine  $S_N1$ -Reaktion auf, die in 40 % Ausbeute das Olefin **58** lieferte (Abb. 32).<sup>20</sup>

Abb. 31: Benzylschützung des Alkohols **56**

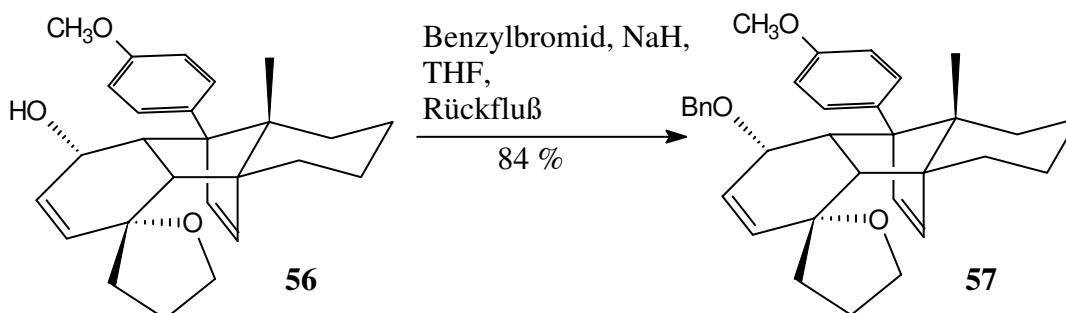
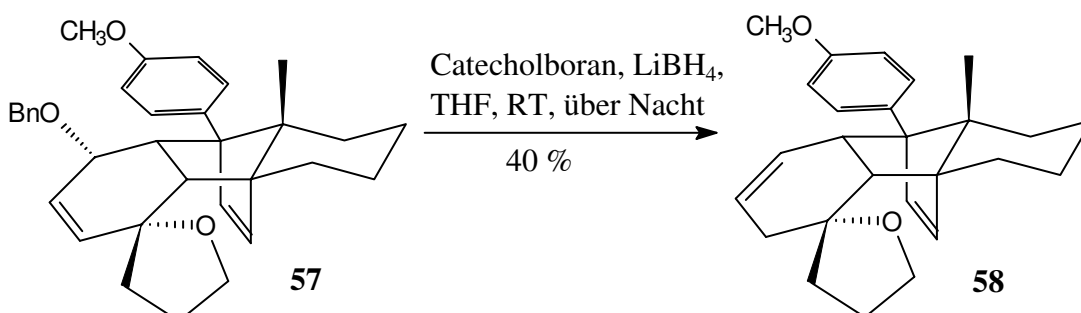


Abb. 32: Bildung des Olefins **58**



Daraufhin wurden andere Methoden der Addition an die Doppelbindung herangezogen. Zunächst wurde das Addukt **57** (Abb. 32) mit TMSBr und SiO<sub>2</sub><sup>21</sup> zur Reaktion gebracht, was jedoch eine Spaltung des Ethers bewirkte. Darüberhinaus konnte auch die olefinische Brücke im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum nicht mehr detektiert werden. Auch die Bedingungen einer Hydratisierung mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in Wasser und Aceton oder einer Reaktion mit Iodwasserstoffsäure waren für das Addukt **57** zu drastisch, so daß von weiteren Additionsversuchen an die Doppelbindung des Adduktes **37** abgesehen wurde.

Es schien allerdings sinnvoll, die Hydroborierung noch einmal nach der Retro-Diels-Alder-Reaktion zu versuchen. Dazu reduzierte man das Keton sowie die Doppelbindung bei -78 °C bis Raumtemperatur mit L-Selektrid<sup>22</sup> in einem Schritt mit quantitativer Ausbeute zum gesättigten Alkohol **59** (Abb. 33).

In Hinblick auf die nun folgende Retro-Diels-Alder-Reaktion, die relativ hohe Temperaturen erfordert (300 °C), wurde dieser Alkohol **59** benzylgeschützt (Abb. 34).

Abb. 33: Reduktion zum gesättigten Alkohol **59**

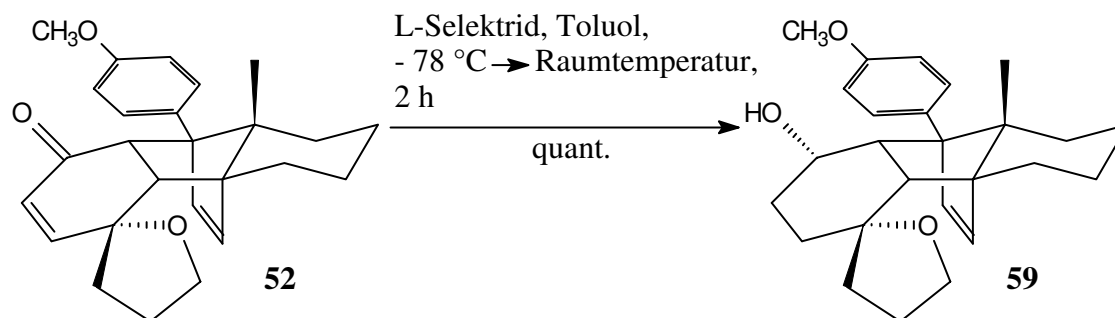
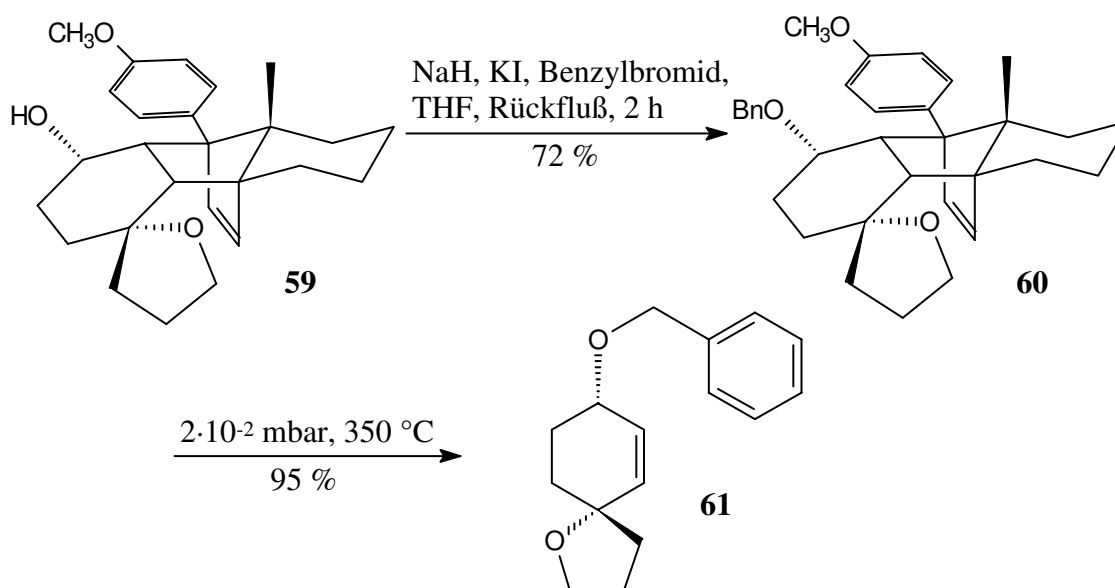


Abb. 34: Schützung von **59** und Retro-Diels-Alder-Reaktion



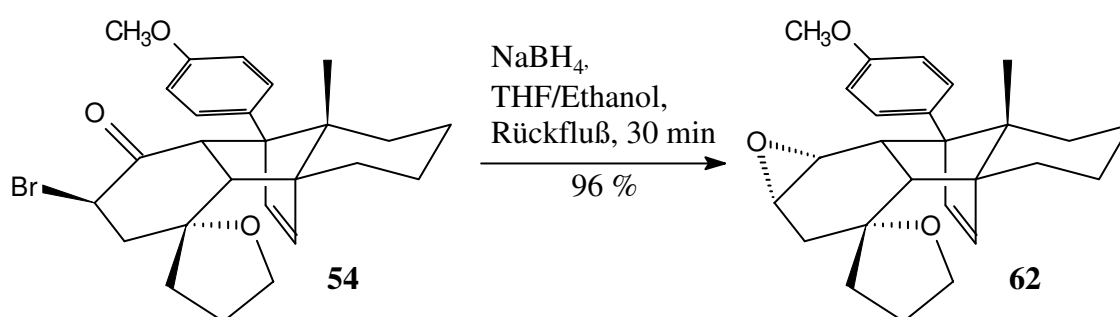
Die Reaktion verlief mit Natriumborhydrid, Kaliumiodid und Benzylbromid am Rückfluß (2 h) mit 72 % Ausbeute. Das erhaltene Molekül **60** wurde einer Flash-Vakuum-Pyrolyse bei  $1 \cdot 10^{-2}$  mbar und 350 °C unterworfen, wobei man den Enolether **61** mit einer Ausbeute von 95 % erhielt (Abb. 34).

Die Hydroborierung der Doppelbindung mit Catecholboran brachte auch hier nicht die gewünschten Ergebnisse und führte zu undefinierten Produktgemischen. Ein Grund dafür könnte die Koordination des Catecholborans an die bereits vorhandenen beiden

Sauerstoffatome sein, die das Reagenz desaktivieren.

Nun wurde versucht, die beiden Stickstofffunktionen über ein Epoxid zu etablieren. Dazu wurde das  $\alpha$ -Bromketonaddukt **54** (siehe oben) mit  $\text{NaBH}_4$  reduziert. Nach 30 minütigem Refluxieren war die Reaktion beendet und die Verbindung **62** konnte mit 96 % Ausbeute isoliert werden (Abb. 35).

Abb. 35: Darstellung des Epoxids **62**



Die Retro-Diels-Alder-Reaktion des Epoxids **62** führte leider zur Zersetzung. Aus diesem Grund wurde auf eine weitere Bearbeitung des Spiroethers verzichtet.

Die Reaktionen mit dem Spiroether hatten jedoch wertvolle Erfahrungen im Umgang mit den Spiroaddukten geliefert:

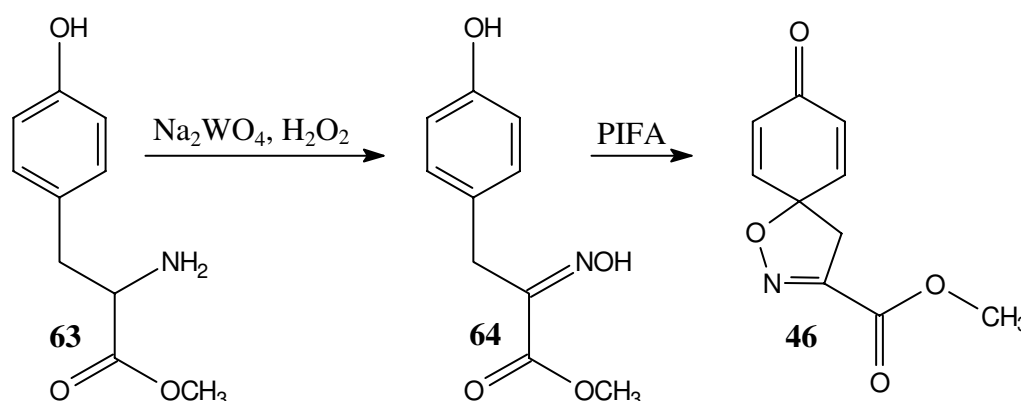
Einige Transformationen am Addukt, wie die Reduktion der Doppelbindung und/oder des Ketons sind leicht ausführbar und hochdiastereoselektiv. Im Hinblick auf eine Synthese der Agelolin A Kernstruktur zeigen die hier gewonnenen Erkenntnisse, daß die Einführung der Bromatome erst nach der Retro-Diels-Alder-Reaktion erfolgen sollte. Dies läßt sich auch gut mit den Ergebnissen von *F. Nerenz*<sup>16b</sup> in Einklang bringen. Im Rahmen seiner Dissertation konnten Retro-Diels-Alder-Reaktionen mit einem Spiroisoxazolin- $\alpha$ -bromketonaddukt nicht erfolgreich durchgeführt werden.

## 4 Orientierende Versuche und Optimierung der Herstellung des Retroproduktes 50

### 4.1 Optimierung der Cycloaddition

Zunächst sollte durch das Studium der Literatur ein möglichst kurzer Weg zur Synthese des Dienophils **46** gefunden werden. Aus diesem Grund sollte nach *C. D. Spilling*<sup>23</sup> vom Tyrosinmethylester **63** ausgegangen werden, den man leicht mit Wasserstoffperoxid unter Natriumwolframatkatalyse oxidieren konnte (Abb. 36).

Abb. 36: Darstellung des Dienophils **46**

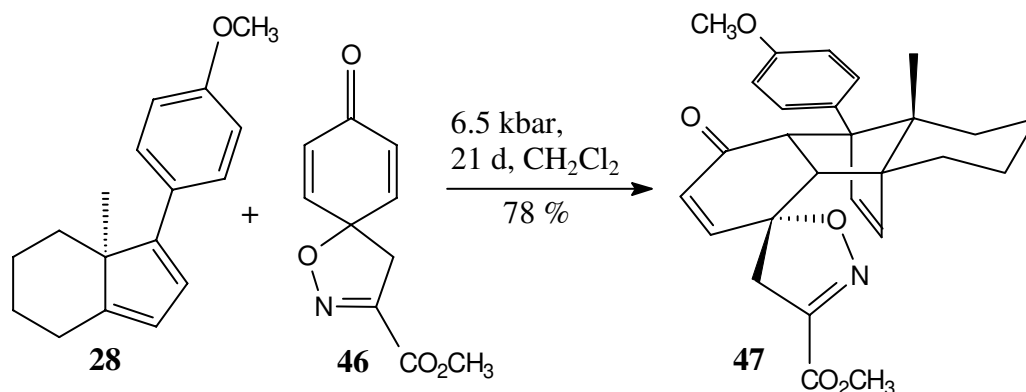


Den Oximester **64** überführte man nach einer Methode von *A. McKillop*<sup>24</sup> mit [Bis(trifluoracetoxy)-iod]-benzol (PIFA) in das Spiroisoxazolindienon **46**. Damit hatte man eine nur zweistufige Sequenz zur Herstellung des Dienophils zu absolvieren.

Dieses prochirale Dienon **46** wurde unter den von *F. Nerenz*<sup>16</sup> beschriebenen Bedingungen mit dem *p*-Methoxyphenyldien **28** zur Reaktion gebracht (Kap. 1.5). Es wurde allerdings das andere Enantiomer des Diens **28** verwendet, um die gewünschte absolute Konfiguration des Spiroisoxazolins der Naturstoffe zu etablieren. Die Ausbeute von 78 % an Addukt **47** schien jedoch noch verbesserungswürdig (Abb. 37).

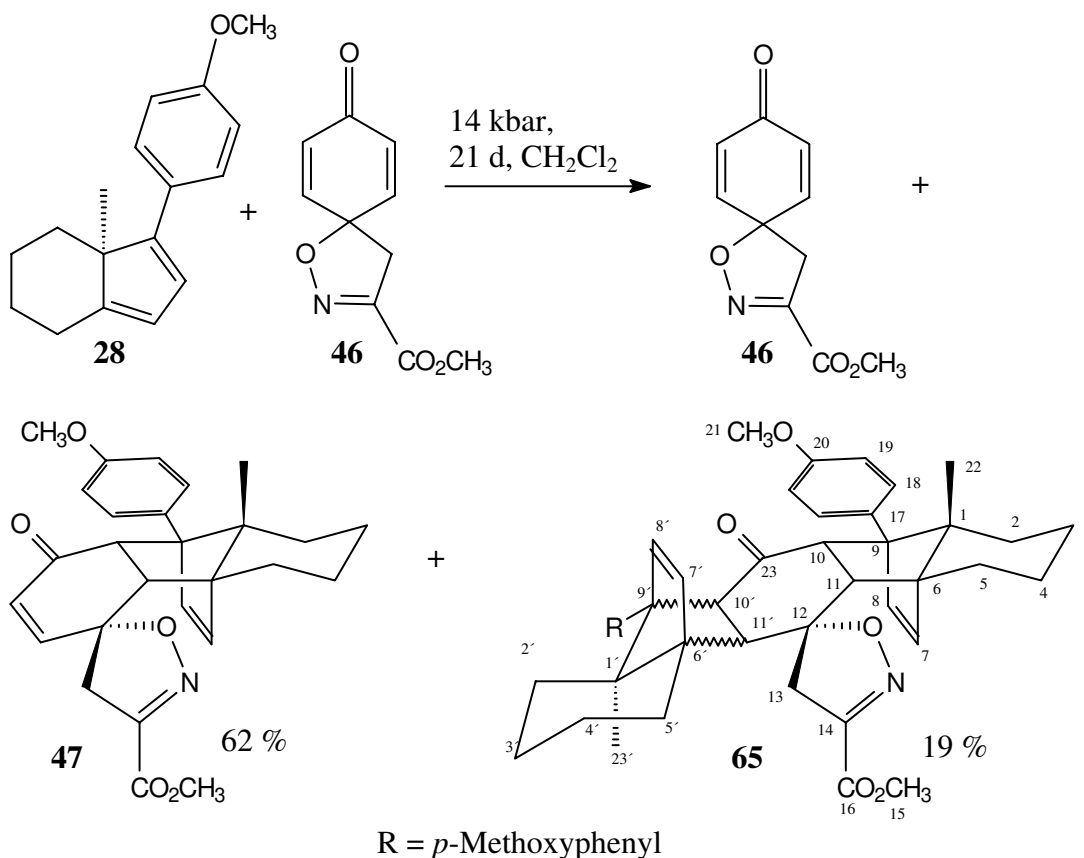


Abb. 37: Darstellung des Methylesteradduktes 47



Im nächsten Versuch wurde der Druck von 6.5 kbar auf 14 kbar erhöht, was zur Folge hatte, daß nicht nur das Monoaddukt 47 (62 % Ausbeute), sondern auch das Bisaddukt 65 (19 % Ausbeute) neben Resten des Dienophils isoliert wurde (Abb. 38).

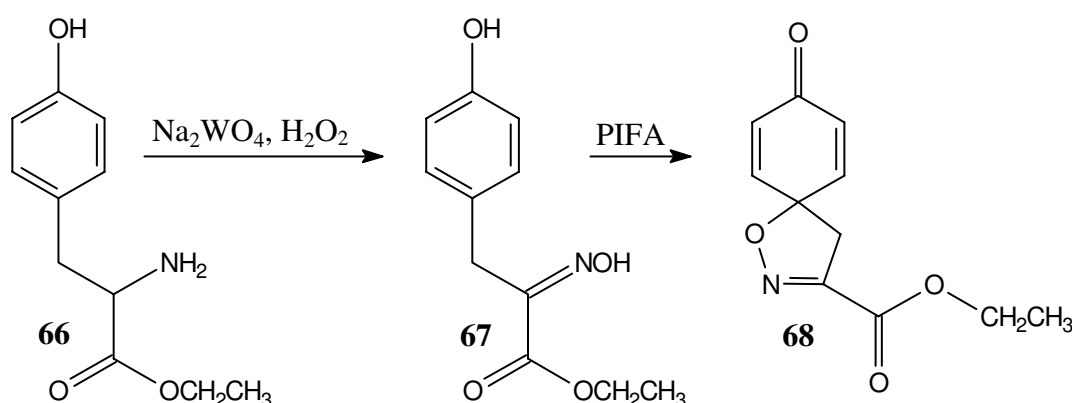
Abb. 38: Bildung des Methylesterbisadduktes 65



Die Zusammensetzung des Bisadduktes **65** konnte mit Hilfe von  $^1\text{H-NMR}$ - und  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie sowie Massenspektrometrie eindeutig bestimmt werden. Es hatte ein Äquivalent des Dienophils **46** mit zwei Äquivalenten des Diens **28** reagiert, d.h. es hatte zweimal eine Diels-Alder-Reaktion stattgefunden. Es wurde erwartet, daß die Regiochemie der zweiten Addition durch den *p*-Methoxyphenylrest des Diens **28** bestimmt wird, deshalb war vor allem die Frage nach der relativen Konfiguration an C-10' und C-11' des Bisadduktes **65** zu klären. Die vier Signale der Protonen der beiden olefinischen Brücken (C-7, C-7', C-8 und C-8') sowie die beiden Signale der Wasserstoffatome der Methylengruppe des Dienophils (C-13) waren separiert. Es wurden entsprechende NOE-Experimente durchgeführt. Wenn ein *endo*-Angriff erfolgt wäre, dann müßten ein oder zwei Protonen einer olefinischen Brücke mit den Protonen an C-13 wechselwirken. Es wurden aber keine nennenswerten NOE-Effekte beobachtet. Da eine Kristallisation des Bisadduktes **65** nicht gelang, konnten letztlich keine definitiven Aussagen über die Regio- und Stereochemie des Angriffes des zweiten Äquivalentes des Diens **28** auf das Monoaddukt **47** gemacht werden.

Ausgehend von diesen Erkenntnissen stellte sich die Frage, ob der Austausch des Methylrestes gegen einen Ethylester einen Effekt auf das Additionsverhalten haben würde. Zu diesem Zweck wurde das Ethylesterdienophil **68** auf die gleiche Weise wie der Methylrest **46** dargestellt (Abb. 39).<sup>23, 24</sup>

Abb. 39: Darstellung des Ethylesterdienophils **68**



Die Diels-Alder-Reaktion (14 kbar, 21 Tage) brachte 30 % des Bisadduktes und 44 % des Monoadduktes hervor, eine solche Modifikation des Dienophils war demnach nicht sinnvoll.

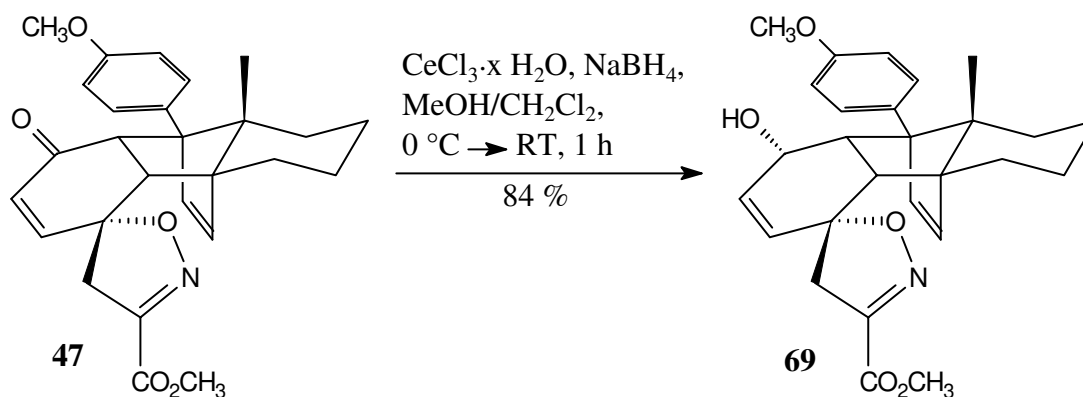
Man ging deshalb zu etwas niedrigerem Druck zurück. Die Reaktion wurde wieder bei 6.5 kbar durchgeführt, wobei diesmal so konzentriert wie möglich (0.52 g Dienophil **46** pro ml Dichlormethan; vorher: 0.35 g Dienophil **46** pro ml Dichlormethan) gearbeitet wurde. Dadurch konnte die Ausbeute an Monospiroisoxazolinaddukt **47** von 78 % auf 92 % gesteigert werden.

## 4.2 Epoxidierung der Enondoppelbindung

Die folgenden Versuche hatten eine Epoxidierung des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons des Methylesteradduktes **47** zum Ziel. Wie *F. Nerenz*<sup>16</sup> festgestellt hatte, war die Übertragung der Reaktionsbedingungen, die beim Methylspiroisoxazolin **41** zum Erfolg geführt hatten ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{KOH}$ , Kap. 1.5), nicht möglich. Die sehr drastischen Bedingungen führten zu einer Spaltung des Esters. Die Basizität des milderen  $\text{K}_2\text{CO}_3$  konnte, wie sich im Laufe dieser Dissertation herausstellte, dagegen keine Reaktion auslösen, unabhängig von der Konzentration. Auch eine Behandlung des Adduktes **47** mit DMDO<sup>25</sup>, *tert*-BuOOH oder *m*-CPBA konnte keine Epoxidierung herbeiführen.

Aus diesem Grund wurde der Allylalkohol **39** (Abb. 40) dargestellt, um an diesem Addukt **39** eine Epoxidierung zu versuchen. Dazu setzte man mit  $\text{CeCl}_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$  und  $\text{NaBH}_4$  um, was eine Reduktion zum Alkohol **69** in 84 % Ausbeute bewirkte.<sup>19</sup>

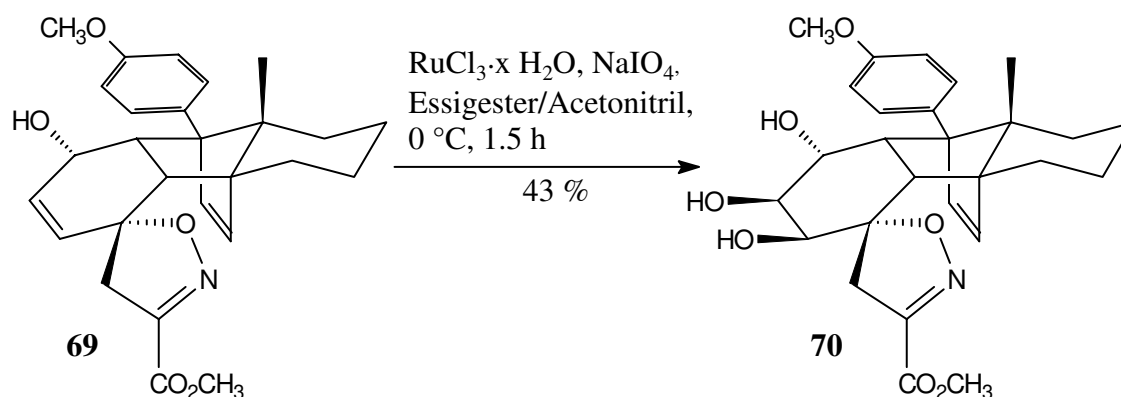
Abb. 40: Synthese des ungesättigten Alkohols **69**



Eine Epoxidierung konnte auch bei diesem Molekül **69** mit *m*-CPBA oder DMDO nicht

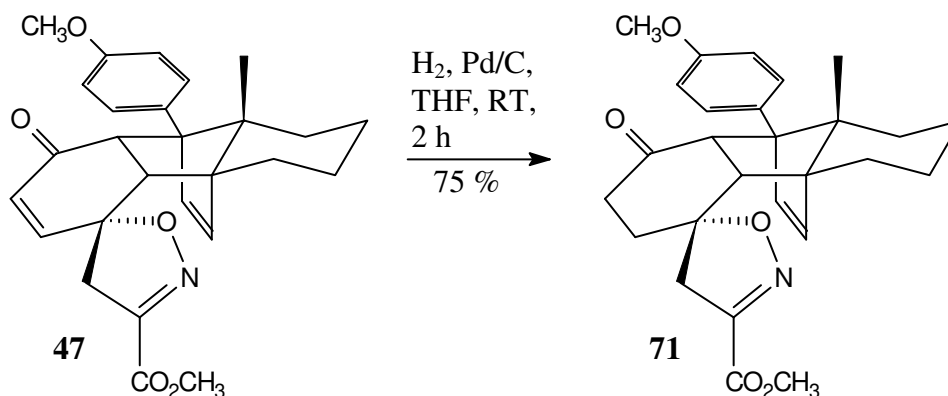
erreicht werden. Statt dessen wurde eine Dihydroxilierung mit Rutheniumtrichlorid und Natriumperiodat<sup>26</sup> versucht, nach der man das Triol **70** mit 43 % Ausbeute isolieren konnte (Abb. 41).

Abb. 41: Generierung des Triols **70**



Eine andere Möglichkeit, das Spiroisoxazolinmethylesteraddukt **47** zu transformieren, ist die Hydrierung der Enondoppelbindung. Zu diesem Zweck behandelte man es mit  $\text{NiCl}_2$  und Zink im Ultraschallbad,<sup>27</sup> eine Methode, die beim Spirolactonaddukt **37** (siehe Abb. 18, S. 19) zum Erfolg geführt hatte. Im hier vorliegenden Fall konnte jedoch keine Reaktion festgestellt werden, was einmal mehr zeigte, daß das  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Keton des Spiroisoxazolin-methylesteraddukts **47** nur geringe Reaktionsneigung zeigt. Daraufhin behandelte man mit Wasserstoff unter heterogener Katalyse, wodurch es möglich war, das hydrierte Spiroisoxazolinaddukt **71** in 75 % Ausbeute zu isolieren (Abb. 42).

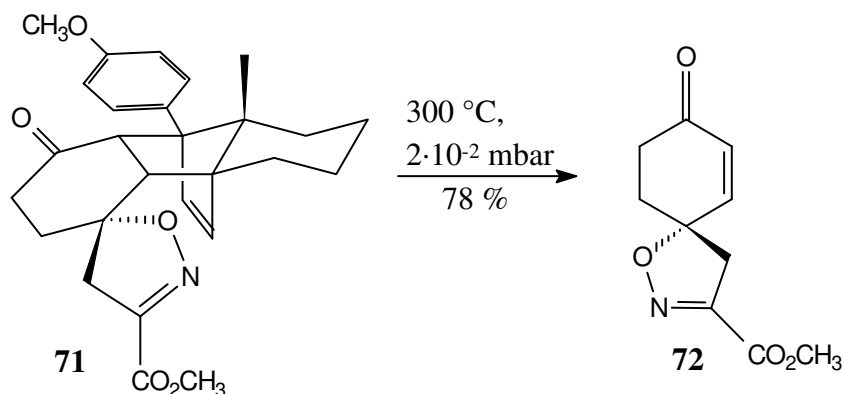
Abb. 42: Hydrierung des Spiroisoxazolinadduktes **71**



Um den einfachen chiralen Baustein **72** freizusetzen, der einem Test auf biologische Aktivität

unterzogen werden konnte (Kap. 7), erfolgte nun eine Retro-Diels-Alder-Reaktion, die das hydrierte Spiroisoxazolin **72** mit 78 % Ausbeute lieferte (Abb. 43).

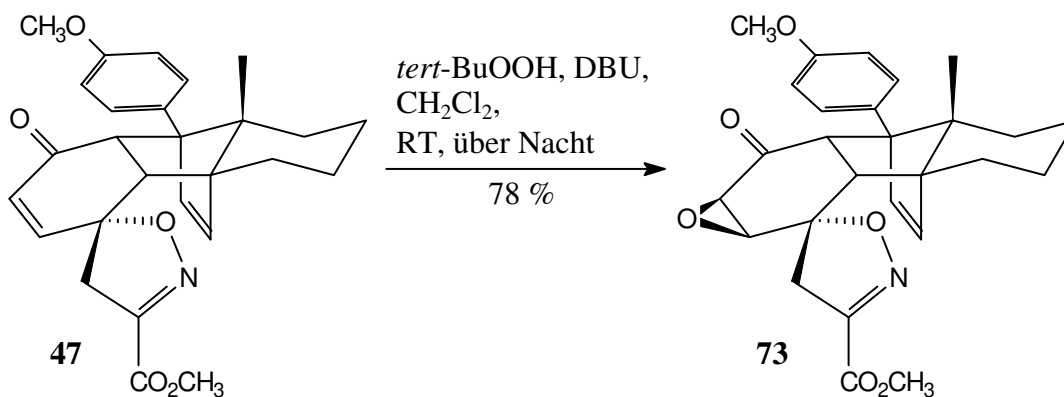
Abb. 43: Freisetzung des hydrierten Spiroisoxazolins **72**



Die biologische Aktivität dieses Moleküls **72** sollte bestimmt werden, um herauszufinden, ob es genauso wirksam ist wie die entsprechende Verbindung in der Methylreihe (an Stelle des Esters eine Methylgruppe, siehe Kap. 1.5), deren Wirksamkeit über der des 5-Fluorouacils (siehe Kap. 7) liegt.<sup>16</sup>

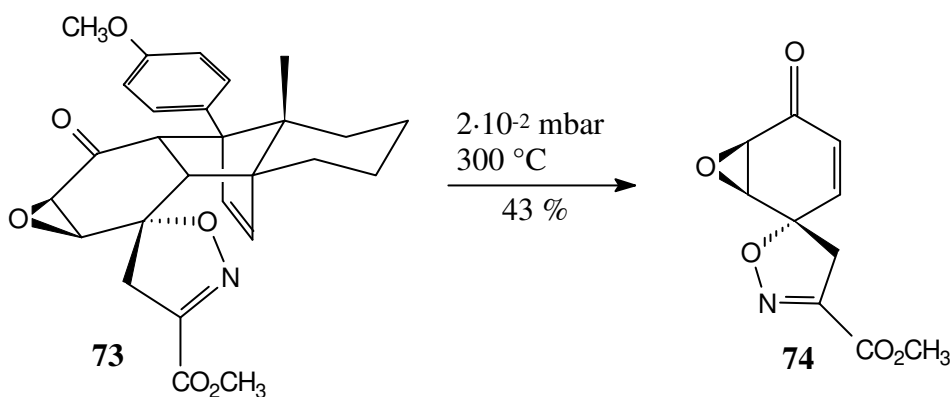
Zu einem späteren Zeitpunkt der Doktorarbeit und nach einer erneuten Literatursuche fand man eine Vorschrift zur Epoxidierung von elektronenarmen Doppelbindungen von *R. Taylor*<sup>28</sup>, die die Verwendung von *tert*-BuOOH in Kombination mit DBU vorschlägt. Die Anwendung dieser Reaktionsbedingungen auf das Addukt **47** brachte das Epoxid **73** in 78 % Ausbeute hervor (Abb. 44).

Abb. 44: Generierung des Epoxids **73**



Nach der erfolgreichen Funktionalisierung der Doppelbindung mußte als nächstes das chirale Auxiliar abgespalten werden (Abb. 45).

Abb. 45: Pyrolyse des Epoxids **73**



Die Pyrolyse bei  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar und  $300\text{ °C}$  erwies sich als schwierig. So wurde das Epoxyenon **74** mit nur 43 % Ausbeute gebildet.

Im Laufe dieser Doktorarbeit stellte sich heraus, daß es günstiger ist, den Methyl- gegen einen *tert*-Butylester auszutauschen. Auch das resultierende *tert*-Butylesteraddukt wurde epoxidiert (siehe Kap. 6.2) und retro-gespalten, wobei die Pyrolyse mit einer sehr schlechten Ausbeute (13 %) verlief, so daß der alternative Syntheseweg über das Spiroisoxazolindioladdukt **48** unerlässlich wurde (siehe Kap. 4.4).

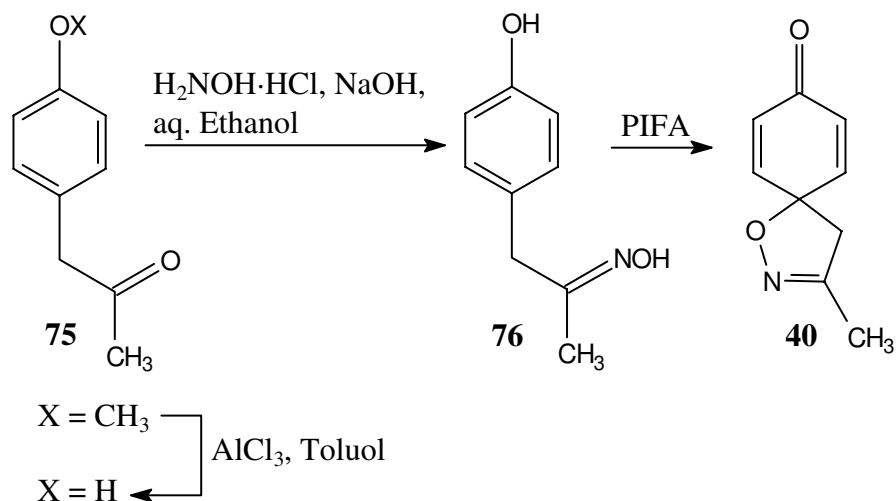
### 4.3 Kinetische Untersuchungen der Diels-Alder-Cycloaddition

Die Doppelbindung des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons des Methylsteradduktes **47** war reaktionsträger als die des Methylderivates **41**, wie die Versuche zur Epoxidierung gezeigt hatten. Dieses Reaktionsverhalten der Enoldoppelbindung war sehr bemerkenswert, ließ es doch nur den Schluß zu, daß die Doppelbindung des Methylsteradduktes **47** elektronenärmer ist als die des Methyladduktes **41**. Um dieses Postulat zu überprüfen, wurden kinetische Experimente durchgeführt. Man bediente sich dabei der Diels-Alder-Reaktion des Diens **28** mit zwei Dienophilen (Abb. 47). In diesem Zusammenhang sollte sich die Elektronendichte an der Doppelbindung sowohl bei der Epoxidierung als auch bei der Cycloaddition

bemerkbar machen.

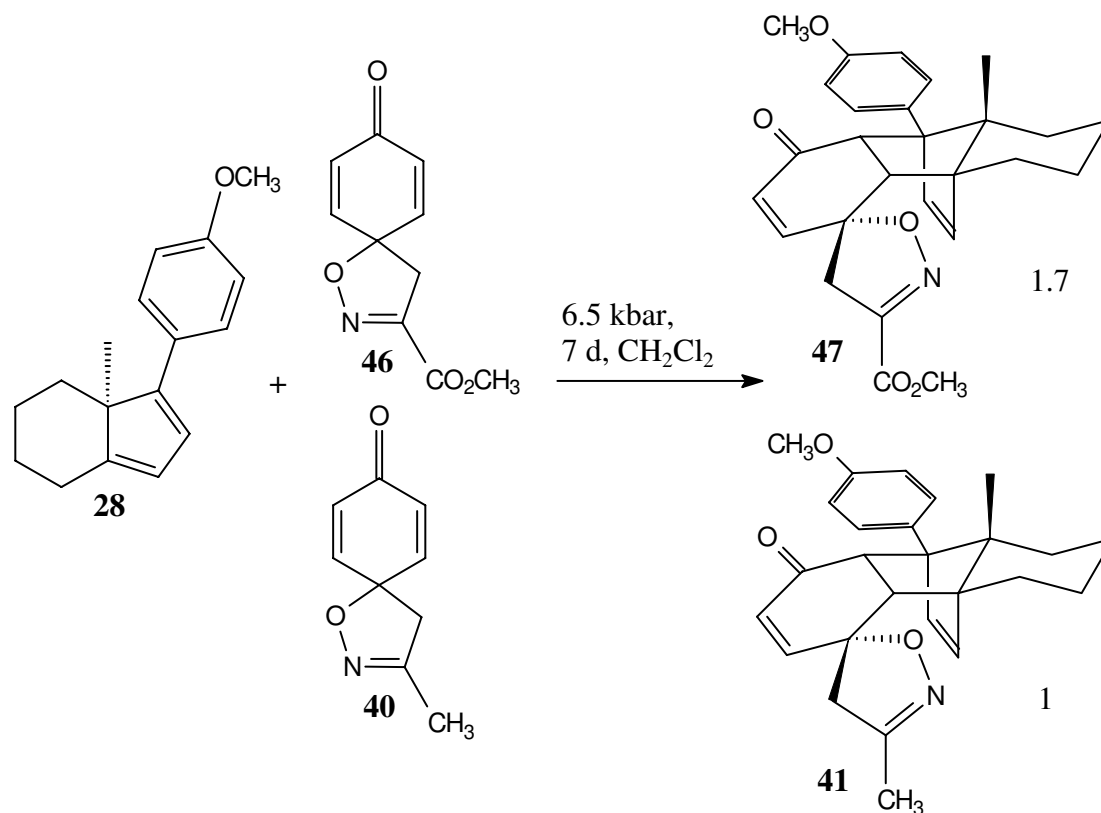
Zu diesem Zweck wurde das Methyldienophil **40** dargestellt (Abb. 46), das von *p*-Methoxyphenylacetone **75** ausgehend in drei Stufen gut zugänglich ist.<sup>29</sup>

Abb. 46: Darstellung des Spiroisoxazolindienons **40**



Man setzte ein Äquivalent des Diens **28** in einer Reaktionslösung mit einem Äquivalent des Methyldienophils **40** und einem des Methylesterdienophils **46** um. Dabei beobachtete man eine bevorzugte Bildung (1.7:1) des Methylesteradduktes **47** (Abb. 47).

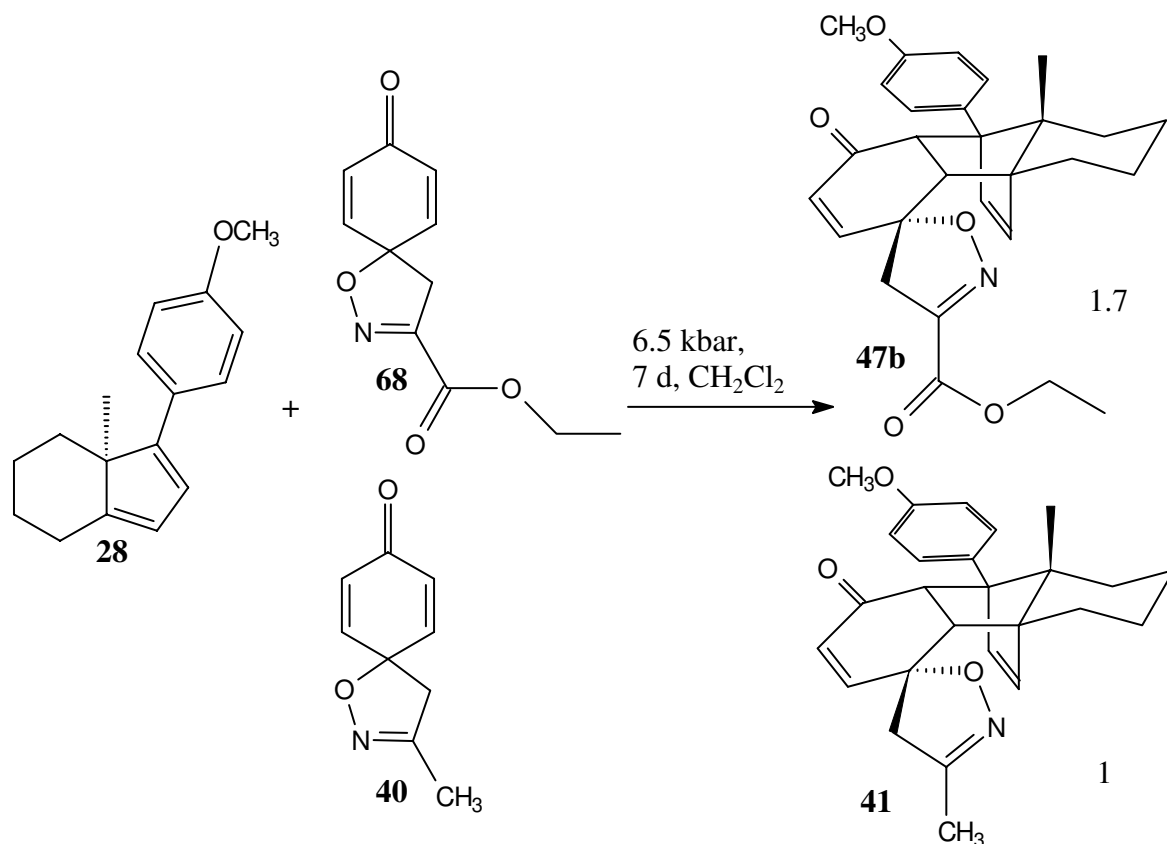
Das Ergebnis zeigt eindeutig, daß die Esterverbindung **47** tatsächlich elektronenärmer ist. Diese Beobachtung ist durch die Annahme eines „durch den Raum-Effekts“ zu erklären. Der Elektronenzug des Sauerstoffatoms im Heterocyclus ist bei der Esterverbindung **47** durch die Mesomerie (–M-Effekt) und durch die elektronenziehende Wirkung des Esters verstärkt. Bei der Methylverbindung **41** dagegen steht an der C-N-Doppelbindung ein Donor, dadurch ist das Sauerstoffatom des Oximeters nicht so elektronenarm, was sich auch auf die Doppelbindung auswirkt.

Abb. 47: Konkurrenzreaktion des Diens **28** mit den zwei Dienophilen **40** und **46**

Um die Diels-Alder-Reaktion noch genauer zu untersuchen und um zu überprüfen, ob sterische Effekte des Esters berücksichtigt werden müssen, wiederholte man das kinetische Experiment mit der Methylverbindung **40** und dem Ethylester **68** (Abb. 48). Wie im vorangegangenen Versuch beobachtete man ebenso eine vermehrte Bildung des Esteradduktes **47b** (Methyladdukt : Ethylesteraddukt = 1:1.7).

Dieses Ergebnis ist bemerkenswert, weist der Ethylester doch mehr Rotationsfreiheitsgrade auf als der Methyl ester. Der Substituent scheint so weit in der Peripherie des Moleküls zu liegen, daß sich der sterische Effekt bei der Diels-Alder-Reaktion offensichtlich nicht bemerkbar macht.

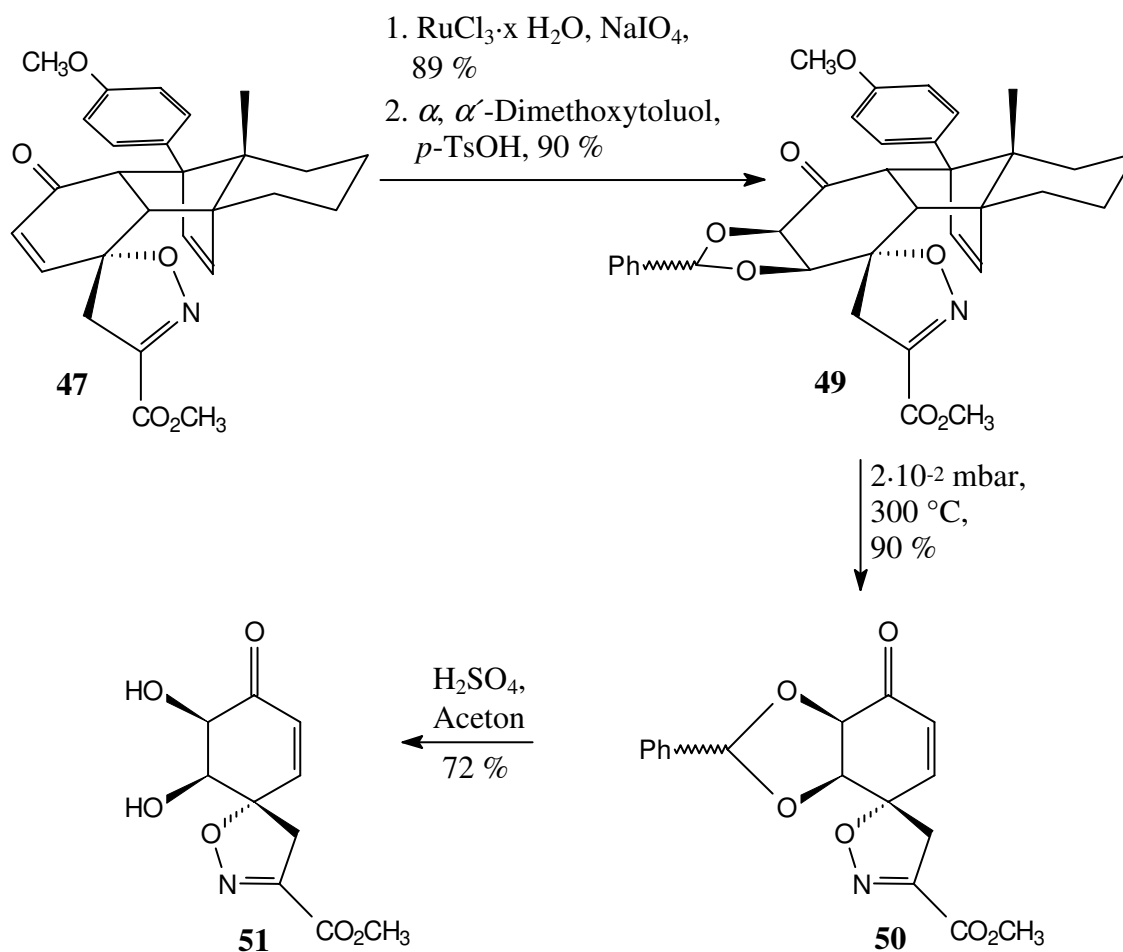


Abb. 48: kinetisches Experiment mit dem *p*-Methoxyphenyldien 28

#### 4.4 Darstellung des Retroproduktes 50 via Spiroisoxazolidinol 48

In Kap. 4.2 war beschrieben worden, daß eine Epoxidierung des Adduktes **47** mit anschließender Retro-Diels-Alder-Reaktion zu schlechte Ausbeuten für eine Anwendung in einer Naturstoffsynthese lieferte. Aus diesem Grund wurde auf einen alternativen Syntheseweg von *F. Nerenz*<sup>16</sup> über das Spiroisoxazolidinol **48** zurückgegriffen, wobei eine Optimierung der einzelnen Schritte erfolgen sollte.

Die Enondoppelbindung des Adduktes **47** wurde mittels Flash-Dihydroxylierung oxidativ funktionalisiert (Abb. 49). Die von *F. Nerenz* erhaltene Ausbeute von 89 % konnte dabei ohne Schwierigkeiten reproduziert werden (siehe Kap. 1.5).

Abb. 49: Darstellung des Retroproduktes **51**

Die Freisetzung des Diols **51** mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in Aceton verlief wie erwartet glatt. Auch die Schützung mit  $\alpha, \alpha'$ -Dimethoxytoluol verlief problemlos. Die sich anschließende Abspaltung des Diens **28** setzte zwar das geschützte Spiroisoxazolidiol **50** frei, die Ausbeute war mit 69 % aber noch verbesserungswürdig. *F. Nerenz* war bei der Retro-Diels-Alder-Reaktion so vorgegangen, die gesamte Substanz im Pyrolysekolben zur Verdampfung zu bringen, um im Pyrolyserohr die Spaltung bei 300 °C herbeizuführen. So drastische Bedingungen waren nicht erforderlich, wie sich bei späteren Optimierungsversuchen herausstellte. Wenn man den Kolben auf 150 °C erhitzte, war die Spalttemperatur des Adduktes bereits erreicht und man konnte das Dien **28** abdestillieren, wobei das Dienophil **50** im Pyrolysekolben zurückblieb. Durch diese Maßnahmen konnte die Ausbeute von 69 % auf 90 % gesteigert werden.

Weil vermutet wurde, daß die Hydrolyse von Folgeprodukten des Spiroisoxazolins **50** sehr milde Bedingungen erfordern würde, entschied man sich für eine andere - leichter zu

entfernende - Schutzgruppe für das Diol **48** (Abb. 50).

Abb. 50: Austausch der Schutzgruppen

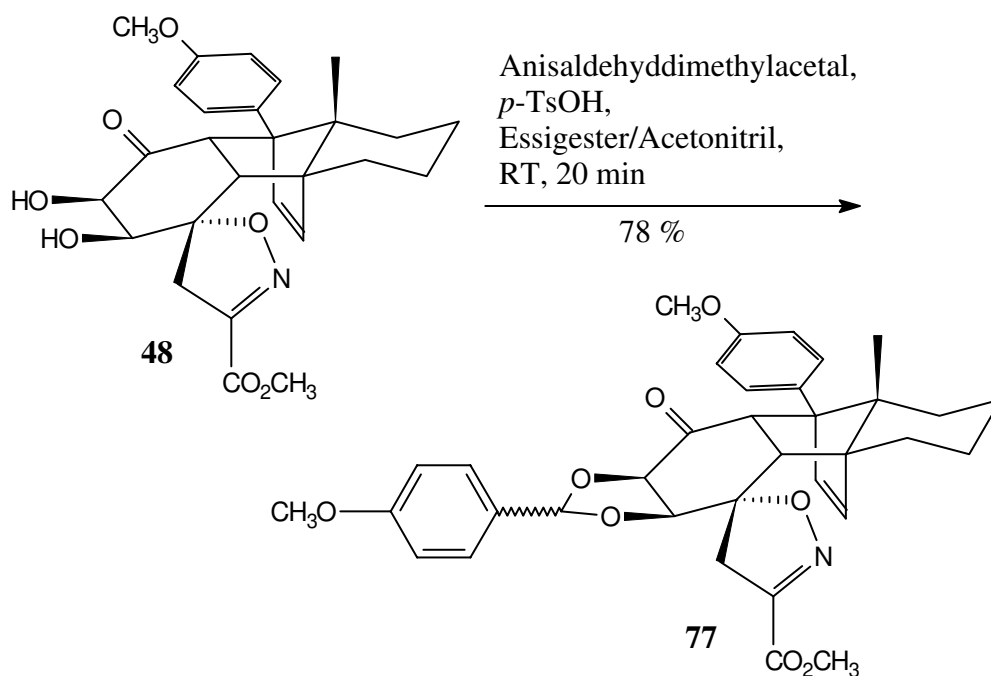
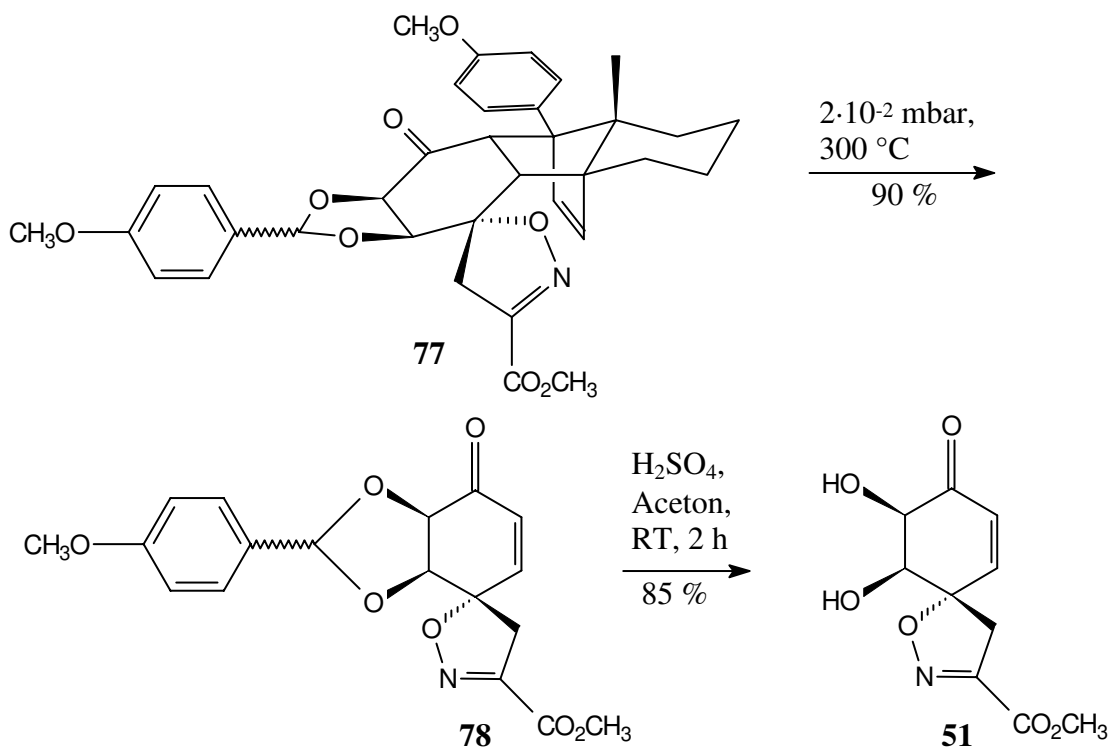


Abb. 51: Freisetzung des Diols **51**



Das Dioladdukt **48** wurde unter Protonenkatalyse mit Anisaldehyddimethylacetal umgesetzt und konnte in 78 % Ausbeute in das *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützte Spiroisoxazolinaddukt **77** umgewandelt werden (Abb. 50).

Die folgende Retro-Diels-Alder-Reaktion bei 150 °C ( $2 \cdot 10^{-2}$  mbar) zeigte, daß auch in diesem Fall die Abspaltung des Diens **28** leicht möglich ist (90 % Ausbeute) (Abb. 51).

Die säureinduzierte Entfernung des Anisaldehyds mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/Aceton bei Raumtemperatur verlief mit erfreulichen 85 % Ausbeute. Zum Vergleich: Die Hydrolyse des benzaldehyd-geschützten Derivates brachte nur 72 % Ausbeute.

Zieht man nun Bilanz, so kann man sagen, daß die Optimierung und der Wechsel der Schutzgruppe dazu beigetragen haben, eine effektive Synthese des Spiroisoxazolins **51** zu entwickeln.

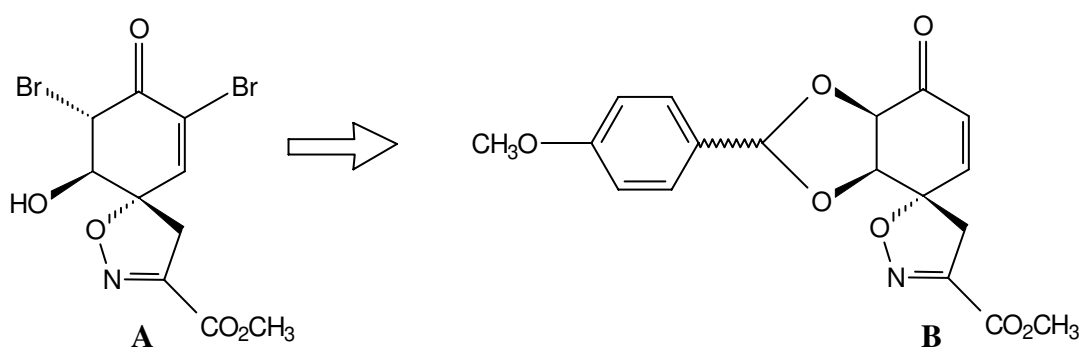
## 5 Reaktionen des Retroproduktes 78

### 5.1 Synthese der Methylesterkernstruktur 85

#### 5.1.1 Darstellung *via* Diolbromid 82

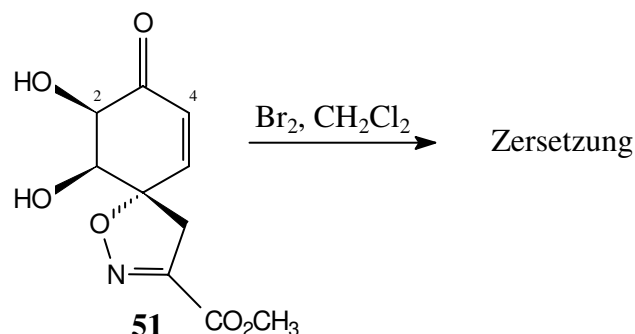
Die sich anschließende Aufgabe bestand darin, aus dem Retroprodukt **B** das Methylester-Analogon des Agelorin A-Chromophors **A** zu synthetisieren (Schema 4).

#### Schema 4: Retrosynthese des Chromophors A



Eine sinnvolle Vorgehensweise schien dabei, das Bromhydrin direkt oder indirekt aus der Diolfunktion zu generieren. Außerdem mußte ein Vinylbromid eingeführt werden. Völlig offen war an dieser Stelle jedoch, in welcher Reihenfolge diese Funktionalisierung erfolgen sollte.

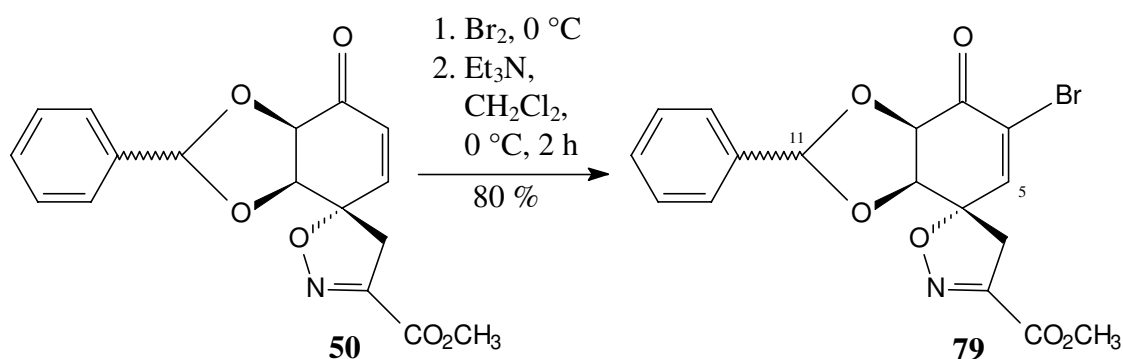
Eine erste Syntheseroute sah vor, das Diol **51** einer Additions-Eliminierungs-Sequenz<sup>30</sup> zu unterziehen, um das Bromatom an C-4 einzuführen (Abb. 52).

Abb. 52: Versuch der Bromierung des Diols **51**

Das Behandeln von **51** mit Brom in Dichlormethan bei 0 °C führte zur sofortigen Zersetzung. Eine mögliche Ursache besteht darin, daß das freie Diol die Reaktion stört. Es wurde daraufhin das Benzaldehyd-geschützte Spiroisoxazolin **50** in die Reaktion eingesetzt, diesmal mit Erfolg. Bei vollständigem Ausschluß von Feuchtigkeit, Sauerstoff und Licht konnte man Verbindung **50** mit elementarem Brom in Dichlormethan bei 0 °C umsetzen.

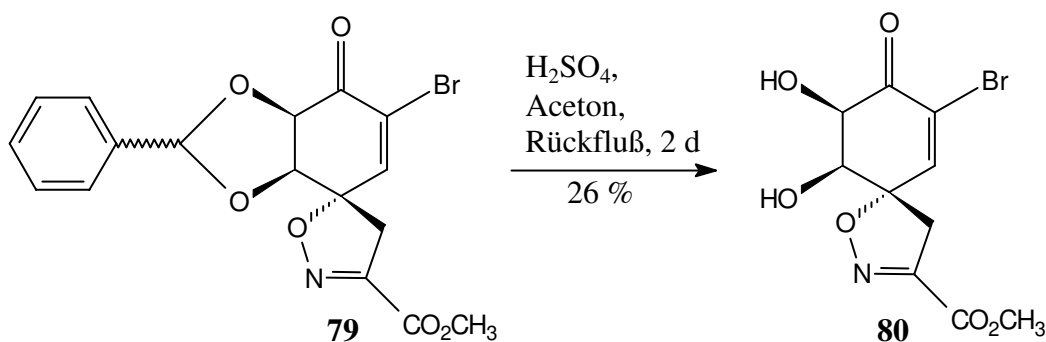
Die anschließende Eliminierung erfolgte mit Triethylamin bei Raumtemperatur. Man erhielt das Vinylbromid **79** in 80 % Ausbeute (Abb. 53). Erfreulicherweise verlief die Reaktion vollständig regioselektiv, da sich C-5 in Nachbarschaft zu einem quartären Zentrum befindet. Die Analyse des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums unterstützt diese These. Man hat durch die beiden Konfigurationen an C-11 ein Diastereomergemisch vorliegen. Aus diesem Grund werden für H-5 zwei Dubletts bei 7.19 und 7.23 ppm mit  $J = 2$  Hz beobachtet. Diese beiden Signale sind sehr weit ins Tieffeld verschoben, was nur durch den  $\beta$ -Effekt des Ketons erklärt werden kann.

Abb. 53: Einführung des Vinylbromids



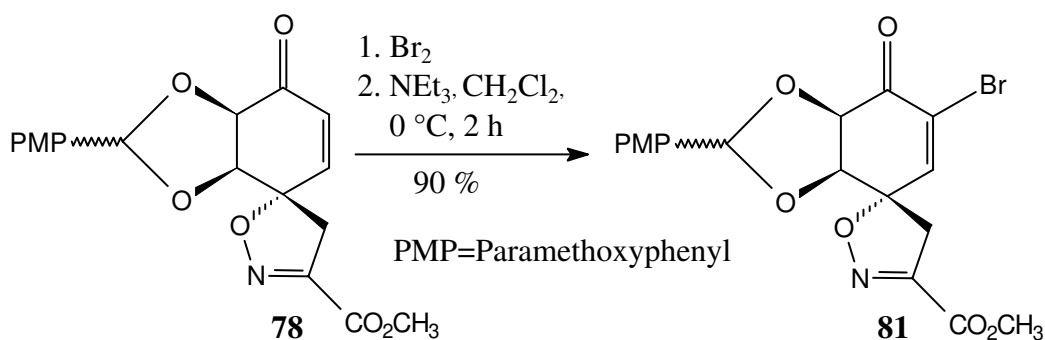
Die Hydrolyse des geschützten Diols **79** bereitete große Schwierigkeiten. Die Reaktion mit 2 *N* Schwefelsäure in Aceton brachte nach zwei Tagen Rühren am Rückfluß nur 26 % des Spiroisoxazolins **80** (Abb. 54).

Abb. 54: Hydrolyse von **79**



Auch der Versuch einer Umacetalisierung mit *p*-TsOH und Glycol in Dichlormethan scheiterte, man erhielt nur das Edukt **79** zurück. Die Vermutung, daß das Benzaldehydacetal als Schutzgruppe unter zu drastischen Bedingungen entfernt werden mußte (siehe Kap. 4.4), wurde somit bestätigt. Man wiederholte daher die Bromierung mit der *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Verbindung **78**, die mit der sehr guten Ausbeute von 90 % verlief. Erstaunlich ist hierbei die Stabilität der eigentlich labileren PMP-Schutzgruppe unter den verwendeten Reaktionsbedingungen.

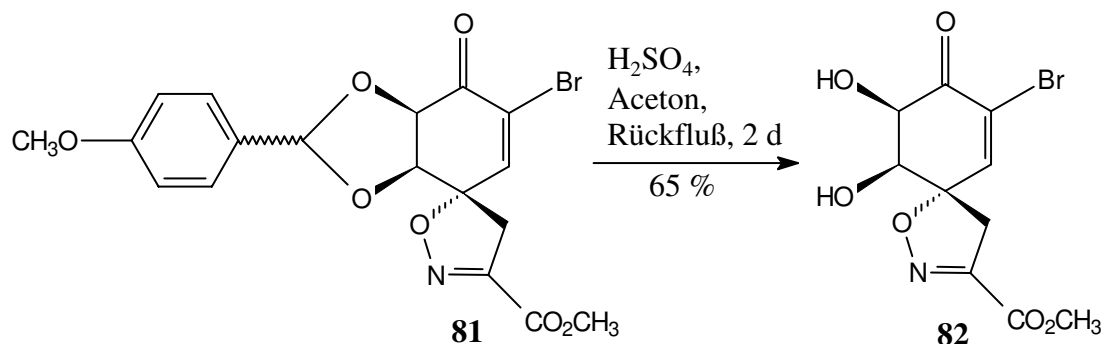
Abb. 55: Übertragung der Bromierungsbedingungen auf das Derivat **78**



Die Abspaltung der Schutzgruppe erfolgte durch Umsetzung mit 2 *N* Schwefelsäure in Aceton, wobei man über Nacht rühren ließ. Es wurden 65 % Ausbeute an Verbindung **82**

erhalten (Abb. 56).

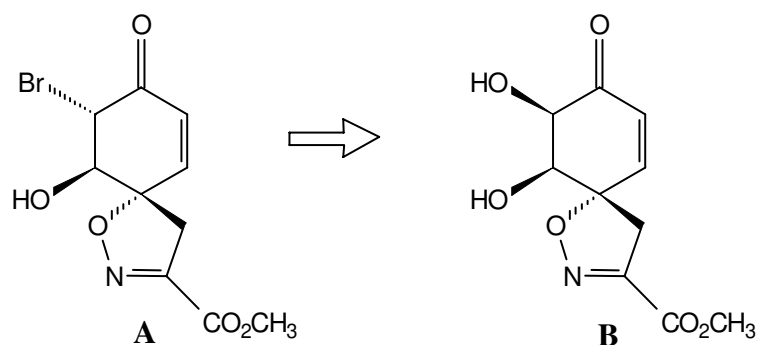
Abb. 56: Acetalspaltung von **81**



Mit dem so erhaltenen Diolvinylbromid **82** hatte man einen direkten Vorläufer der Agelirin A-Kernstruktur vorliegen. In der Literatur sind einige Verfahren zur Transformation eines Alkohols in ein Bromid bekannt. Dabei sind besonders die Appel-Reaktion<sup>31</sup>, die Verwendung von Triphenylphosphindibromid<sup>32</sup> und die Mesylierung oder Tosylierung des Alkohols<sup>33</sup> in Gegenwart eines Brom-Nucleophils von Bedeutung. Man erwartete, daß der Austausch der  $\alpha$ -Hydroxyfunktion gegen Brom zur Etablierung des Bromhydrins aufgrund der Neopentylstellung des zweiten Alkohols regioselektiv verlaufen sollte.

Es wurde versucht, mit Triphenylphosphindibromid eine  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion zu erreichen, man isolierte jedoch nur das Edukt **82**. Da auf einer so späten Stufe der Synthese das Ausgangsmaterial für Optimierungsversuche nicht ausreichte, wurde das einfachere Diol **B** als Modellsystem in der  $\text{S}_{\text{N}}2$ -artigen Bromierung untersucht (Schema 5, Tabelle 1).

Schema 5: Das einfache Diol **B** als Modellverbindung der Bromierung





Auch das Diol **51** ließ sich nicht mit Triphenylphosphindibromid ins Bromhydrin überführen (Tabelle 1, Versuch 1). *F. Nerenz* hatte schon ohne Erfolg versucht, das Diol **51** Bedingungen einer Appel-Reaktion<sup>31</sup> zu unterwerfen (Tabelle 1, Versuch 2). Deswegen wurde angestrebt, die Abgangsgruppenqualität der  $\alpha$ -Hydroxyfunktion durch Mesylierung oder Tosylierung zu verbessern.

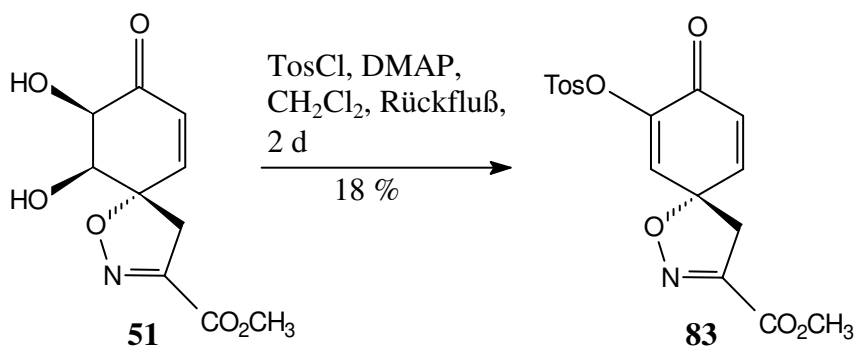
Man behandelte dazu das Diol **51** mit Mesylchlorid in Pyridin, wobei sich das Diol **51** allerdings zersetzte (Tabelle 1, Versuch 3). Aus diesem Grund tauschte man Pyridin gegen die mildere Base 2,4,6-Trimethylpyridin aus und wählte als Lösungsmittel DMF (Tabelle 1, Versuch 4). Die Bildung eines unpolaren Produktes konnte per Dünnschichtkontrolle beobachtet werden, es erwies sich aber als zu instabil für eine spektroskopische Charakterisierung. So schien eine Darstellung des Mesylates *in situ* in Gegenwart von Brom-Anionen als Nucleophil die bessere Vorgehensweise zu sein.

Es wurde der vorherige Versuch in Gegenwart von LiBr wiederholt, und man erhielt das gleiche Ergebnis (Tabelle 1, Versuch 5). Verwendete man Triphenylphosphindibromid als Brom-Nucleophil-Quelle, so wurde eine unselektive Formylierung beobachtet (Tabelle 1, Versuch 6). Das DMF wurde nun gegen Dichlormethan ausgetauscht (Tabelle 1, Versuch 7), weil es wahrscheinlich für die Formylierung verantwortlich war. Diese Maßnahme brachte aber auch keinen Fortschritt.

Aufgrund der höheren Stabilität von Tosylaten wurde nun statt der Mesylierung eine Tosylierung versucht. Die Umsetzung des Diols **51** mit Tosylchlorid und DMAP in Dichlormethan am Rückfluß lieferten 18 % eines ungesättigten Tosylates **83** (Tabelle 1, Versuch 8, Abb. 57).

Tabelle 1: Versuche zur S<sub>N</sub>2-artigen Bromierung

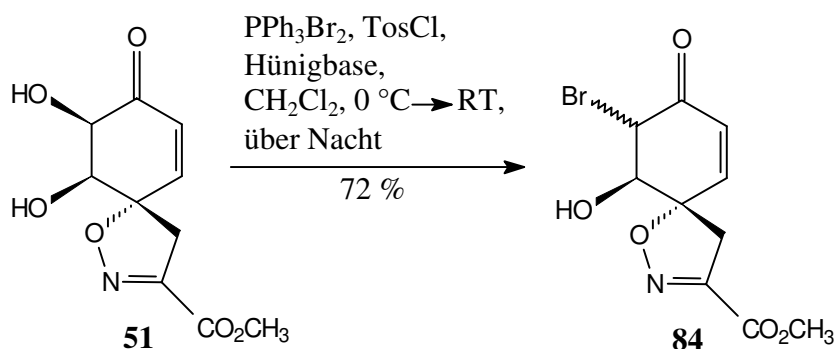
Nr.	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	PPh <sub>3</sub> Br <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C → RT <sup>32</sup>	keine Reaktion
2	CBr <sub>4</sub> , PPh <sub>3</sub> (Appel <sup>31</sup> )	keine Reaktion
3	MesCl, Pyridin, 0 °C → RT	Zersetzung
4	MesCl, 2,4,6-Trimethylpyridin, DMF	unpolares, nicht zu charakterisierendes Produkt
5	MesCl, 2,4,6-Trimethylpyridin, DMF, LiBr	unpolares, nicht zu charakterisierendes Produkt
6	MesCl, 2,4,6-Trimethylpyridin, DMF, PPh <sub>3</sub> Br <sub>2</sub>	unselektive Formylierung
7	MesCl, 2,4,6-Trimethylpyridin, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , PPh <sub>3</sub> Br <sub>2</sub>	nicht zu charakterisierendes Produkt
8	TosCl, DMAP, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , Rückfluß	18 % ungesättigtes Tosylat <b>83</b>
9	TosCl, Pyridin, KBr	keine Reaktion
10	TosCl, Hünigbase, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	zu langsame Bildung eines Tosylates
11	TosCl, Hünigbase, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , LiBr	langsame Zersetzung
12	TosCl, Hünigbase, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , NaBr	ungesättigtes Tosylat <b>83</b>
13	TosCl, Hünigbase, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , PPh <sub>3</sub> Br <sub>2</sub>	Bildung des Bromhydrins <b>84</b> in 72 % Ausbeute

Abb. 57: Bildung des Tosylates **83**

Die Verwendung von Tosylchlorid, Pyridin und KBr als weitere Möglichkeit (Tabelle 1, Versuch 9) konnte keine Reaktion auslösen. Bei Behandlung mit TosCl und Hünigbase in Dichlormethan (Tabelle 1, Versuch 10) beobachtete man einen schwachen Schatten eines unpolaren Produktes auf der Dünnschicht, was auf eine Umsetzung schließen ließ. Diese Tosylierung verlief aber zu langsam, um präparativ von Nutzen zu sein. Bevor sich genügend Produkt für eine Isolierung bilden konnte, begann die Zersetzung. Fügt man den eben genannten Reaktionsbedingungen LiBr (Tabelle 1, Versuch 11) hinzu, wurde lediglich langsame Zersetzung beobachtet. Verwendete man statt dessen NaBr (Tabelle 1, Versuch 12), dann beobachtete man wieder die Eliminierung zum ungesättigten Tosylat **83**.

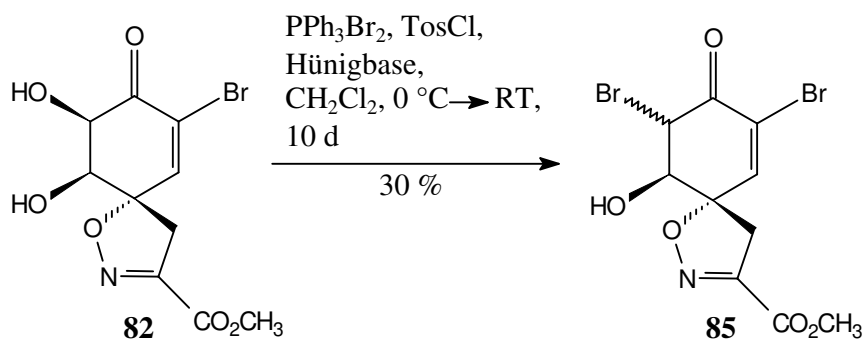
Diese Ergebnisse zeigen, daß Alkalisalze nicht die geeigneten Bromid-Quellen für diese Reaktion sind. Deshalb setzte man das Diol **51** mit Triphenylphosphindibromid in Gegenwart von TosCl und Hünigbase in Dichlormethan ( $0\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$ ) um (Tabelle 1, Versuch 13). Dabei sollten Tosylchlorid und Hünigbase ein Tosylat generieren, das dann sofort von Triphenylphosphindibromid unter Bildung des Bromhydrins abgefangen wird. Diese neuartigen Bromierungsbedingungen führten nach ausführlicher Optimierung in 72 % Ausbeute zum Bromhydrin **84** (Abb. 58), allerdings als Diastereomergemisch im Verhältnis 2:1 (*trans*-Bromhydrin : *cis*-Bromhydrin). Im nächsten Kapitel werden die Ergebnisse der ausführlichen Untersuchungen dieser effizienten Bromierungsmethode vorgestellt.

Abb. 58: Generierung des Bromhydrins **84**



Im nächsten Schritt wurde die Übertragbarkeit der Bromierungsbedingungen vom Modellsystem des einfachen Diols **51** auf das Diolbromid **82** getestet. Nach Behandlung mit  $\text{PPh}_3\text{Br}_2$ , Hünigbase und TosCl erhielt man allerdings nur 30 % des Agelorin A-Chromophors **85** als Diastereomergemisch im Verhältnis 2:1 (*cis*-Bromhydrin : *trans*-Bromhydrin) (Abb. 59).

Abb. 59: Übertragung der Bromierungsbedingungen auf das Vinylbromid **82**

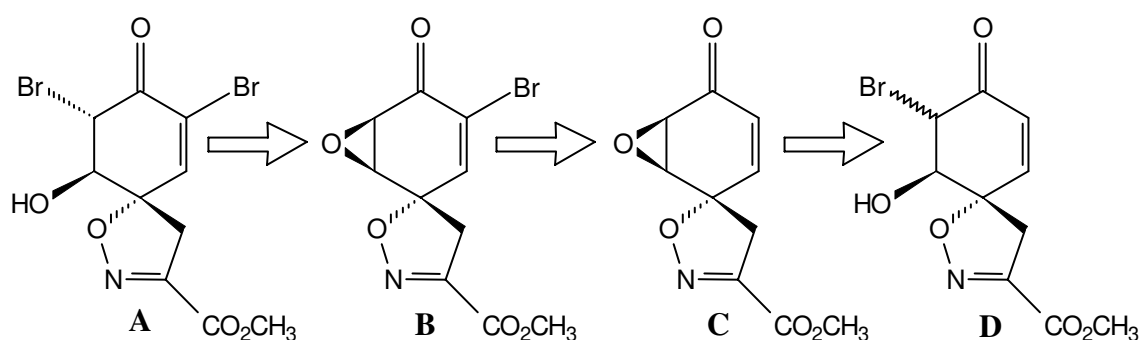


Selbst wenn die Bromierung  $S_N2$ -artig verlief, d.h. stereospezifisch war, kann eine Isomerisierung wegen der Anwesenheit der Base nicht ausgeschlossen werden, weil sich das kritische Chiralitätszentrum in  $\alpha$ -Position zu einem Keton befindet. Durch einen Enolisierungsmechanismus ist das Chiralitätszentrum nicht mehr konfigurationsstabil. Da außerdem die Ausbeute des letzten Schrittes unbefriedigend war, wurde noch ein zweiter Weg zur Agelorin A-Kernstruktur **85** entwickelt.

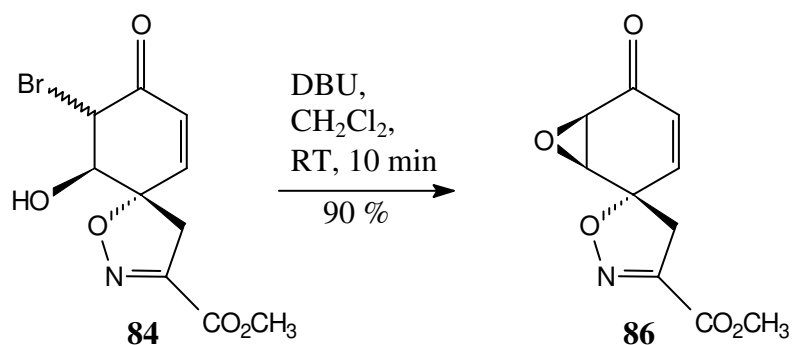
### 5.1.2 Darstellung via Epoxid **86**

Bei diesem zweiten Syntheseweg war geplant, auf das Modellsystem des Spiroisoxazolinbromhydrins **D** zurückzugreifen. Es sollte das Bromhydrin **D** zum Epoxid **C** geschlossen werden und nach Einführung des Vinylbromids schließlich das Epoxid wieder geöffnet werden zu **A** (Schema 6).

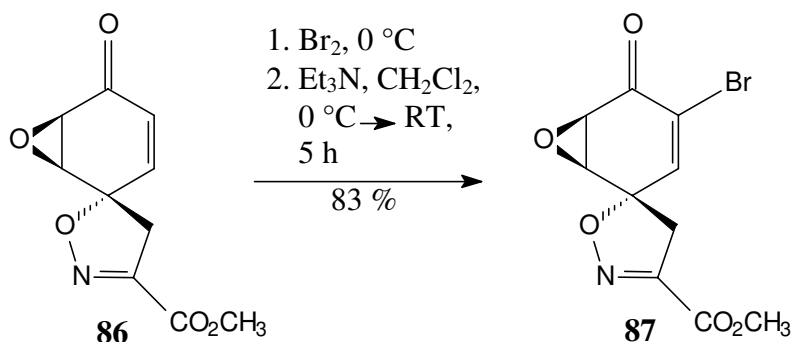
Schema 6: alternativer Syntheseweg zur Methylesterkernstruktur **A**



Das Bromhydrin **84** wurde in Aceton gelöst und mit KOH versetzt, um den Ringschluß des Epoxids zu erreichen. Man beobachtete dabei lediglich die Zersetzung des Ausgangsmaterials. Den Erfahrungen zufolge, die während dieser Doktorarbeit gesammelt wurden, toleriert das Spiroisoxazolin im allgemeinen keine anorganischen Basen. Das Bromhydrin wurde daraufhin in abs. Dichlormethan gelöst und mit DBU versetzt. So gelangte man in einer nucleophilen Substitution in 90 % Ausbeute zum Spiroisoxazolinepoxid **86** (Abb. 60). Diese Substitution war nur von der  $\beta$ -Seite möglich. Das *cis*-Isomer mußte demnach vorher - durch die Base DBU katalysiert - in das *trans*-Derivat isomerisieren. Auf diese Weise gingen beide Bromhydrinisomere in das Epoxid **86** über.

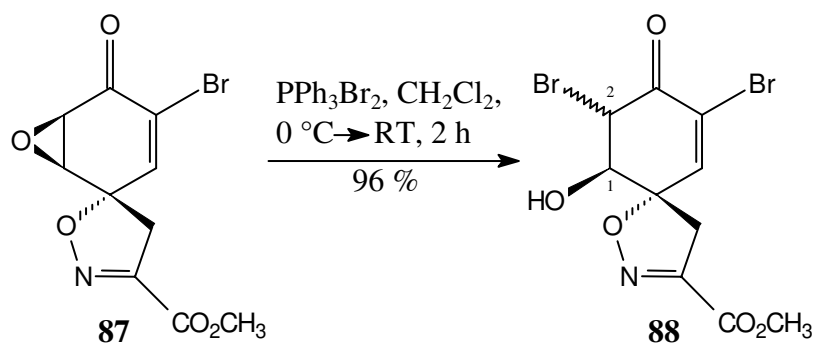
Abb. 60: Generierung des Epoxids **86**

Das so gebildete Epoxid **86** wurde nun mit der schon erwähnten Additions-Eliminierungs-Sequenz<sup>30</sup> in das Epoxibromid **87** umgewandelt. Dazu wurde in Dichlormethan mit Brom behandelt und mit Triethylamin die Eliminierung eingeleitet, die mit 83 % Ausbeute das angestrebte Bromid **87** lieferte (Abb. 61).

Abb. 61: Transformation zum Vinylbromid **87**

Jetzt stand noch die Öffnung des Epoxids **86** bevor. Diese erreichte man durch Reaktion mit Triphenylphosphindibromid<sup>32</sup> in 96 % Ausbeute (Abb. 62).

Abb. 62: Darstellung der Methylester-Kernstruktur 88



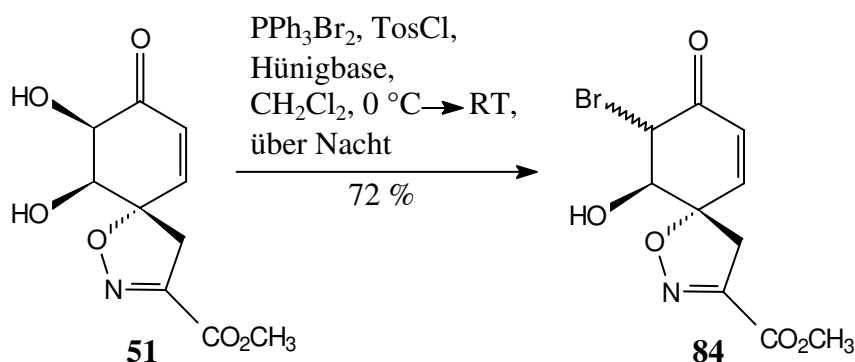
Die Umsetzung verlief wegen der Neopentylstellung von C-1 regioselektiv, aber auch hier isolierte man ein Diastereomerenmisch im Verhältnis 2:1 (*cis*-Bromhydrin : *trans*-Bromhydrin). Der stereochemische Verlauf der Ringöffnung wird durch den Mechanismus bestimmt, das Nucleophil kann nur von der  $\alpha$ -Seite angreifen. Folglich mußte auch in diesem Fall die Isomerisierung durch Enolisierung stattgefunden haben. Die Frage, ob die Epimerisierung schon während der Reaktion oder während der Säulenchromatographie an Kieselgel eingetreten ist, konnte nicht eindeutig geklärt werden. Es wurde jedoch erwartet, daß sobald das Amid in die Carboxylposition eingeführt ist, das Molekül bezüglich der Konfiguration an C-2 stabiler ist, weil ein Amid leichte pH-Schwankungen ausgleichen kann, da es wie ein innerer Puffer wirkt.

Vergleicht man beide Wege zur Kernstruktur miteinander, dann ist die über das Epoxid **86** verlaufende Syntheseroute zwei Stufen länger als die andere. Die hohen Ausbeuten und die gute Reproduzierbarkeit der einzelnen Schritte sind jedoch gute Argumente für diese Vorgehensweise. Die als erstes beschriebene Synthese *via* Diolbromid **82** hat den Nachteil, daß die letzte Stufe mit der schlechten Ausbeute von 30 % nicht zufriedenstellend verlief. Außerdem war die Einführung des Vinylbromids präparativ schwierig auszuführen, man mußte sehr genau darauf achten, daß kein Sauerstoff, keine Feuchtigkeit und kein Licht in die Reaktion gelangte, denn andernfalls hatte man mit großen Ausbeuteverlusten zu rechnen. Wiegt man Vor- und Nachteile gegeneinander ab, dann ist die Darstellung über das Epoxid **86**, obwohl sie zwei Stufen länger ist, die bessere Alternative.

## 5.2 Studien zur Bromierungsmethode

Im Rahmen der Untersuchungen zur Synthese der Methylester-Agelorin A-Kernstruktur **88** war eine neue Bromierungsmethode entdeckt worden (siehe Kap. 5.1). Dazu war das Diol **51** mit Triphenylphosphindibromid, TosCl und Hünigbase behandelt worden, um das Bromhydrin **84** zu generieren (Abb. 63, Tabelle 2, Nr. 1).

Abb. 63: Generierung des Bromhydrins **84**

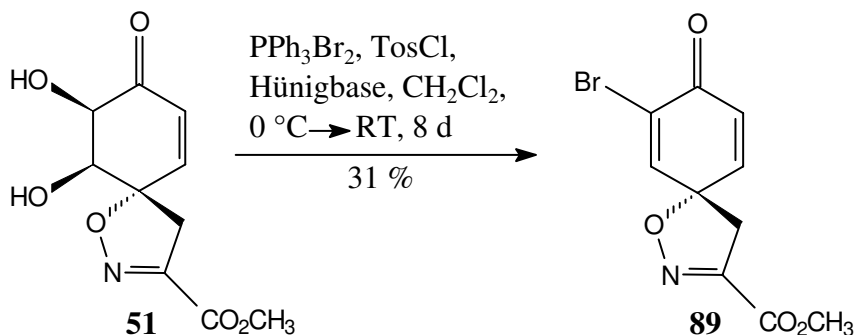


Da die Reaktion Teil der Gesamtsynthesestrategie war, wurde sie auf das Spiroisoxazolindiol **51** optimiert. In bezug auf das Diol **51** als Ausgangsmaterial mußte folgendes beachtet werden, um einen optimalen Reaktionsverlauf und hohe Ausbeuten zu erzielen:

1. Die Reihenfolge der Zugabe erwies sich als sehr wichtig. Man mußte Triphenylphosphin bei 0 °C in Dichlormethan vorlegen und anschließend mit Brom versetzen. Nach 5 min Rühren bei 0 °C gab man nacheinander die Hünigbase, das Tosylchlorid und zum Schluß den Alkohol hinzu. Bei Abweichungen in der Reihenfolge der Zugabe fand im Falle des Spiroisoxazolindiols **51** keine Reaktion statt.
2. Für jedes reduktionsfähige Sauerstoffäquivalent mußte mindestens ein Äquivalent Triphenylphosphin vorhanden sein.
3. Ließ man die Reaktionslösung zu lange rühren (länger als vier Tage) oder setzte man mehr als 1.5 Äquivalente Brom hinzu, dann beobachtete man die Eliminierung zum kreuzkonjugierten Keton **89** (Abb. 64).
4. Die Reaktion mußte unter Argon-Schutzgas-Atmosphäre und wasserfrei durchgeführt werden. Andernfalls kam die Reaktion zum Stillstand.

5. Es war von Vorteil, fabrikneue Spritzen zu verwenden.

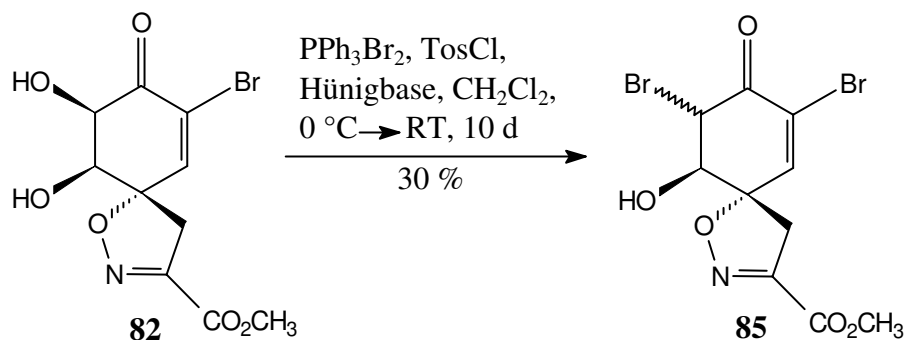
Abb. 64: Eliminierung zum Endienon **89**



6. Das Tosylchlorid mußte nicht unbedingt in äquimolaren Mengen eingesetzt werden. Dabei muß angemerkt werden, daß eine Bromierungsreaktion mit  $\text{PPh}_3\text{Br}_2$  in Abwesenheit von  $\text{TosCl}$  im Falle des Spiroisoxazolidiols **51** nicht beobachtet werden konnte.

Diese Verfahrensweise konnte mit 30 % Ausbeute auf das Diolbromid **82** übertragen werden (Abb. 65, Tabelle 2, Nr. 2). Die längere Reaktionszeit war durch den langsameren Verlauf der Reaktion notwendig. Dabei konnte mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie ein Nebenprodukt nachgewiesen werden, bei dem es sich wahrscheinlich um ein Eliminierungsprodukt handelte. Da diese Verbindung im Hinblick auf die Totalsynthese der Agelolin A-Kernstruktur jedoch nicht von Interesse war, wurde auf eine Charakterisierung verzichtet.

Abb. 65: Umsetzung des Diolbromids **82** mit  $\text{PPh}_3\text{Br}_2$ ,  $\text{TosCl}$  und Hünigbase

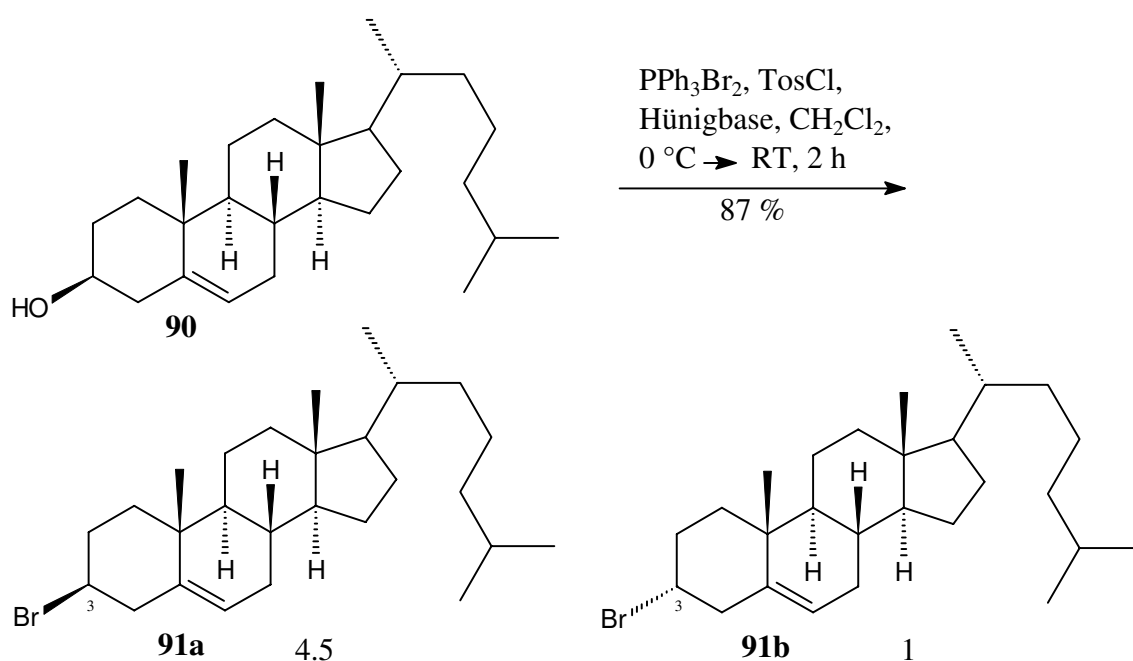


Da es sich im Falle der Spiroisoxazoline um komplexe Moleküle handelt, lohnte es sich, die



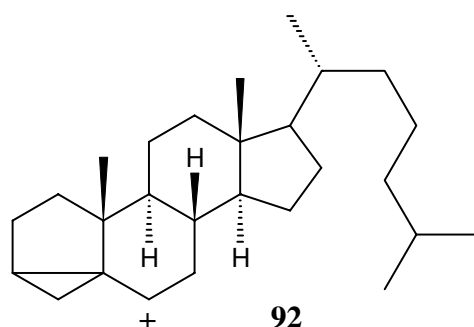
allgemeine Anwendbarkeit der Bromierungsmethode zu überprüfen. Dabei sollte als erstes untersucht werden, ob es sich um eine  $S_N2$ -Reaktion handelt, d.h. ob die Reaktion stereospezifisch verläuft. Zu diesem Zweck wurden einige stereochemisch definierte Ausgangsmaterialien ausgewählt: Cholesterin **90**, Menthol **93** sowie *cis*- und *trans*-Androsteron **95a** und **95b**. Man setzte zunächst Cholesterin **90** unter den in Abb. 66 angegebenen Reaktionsbedingungen um (Tabelle 2, Nr. 3) und erhielt ein Diastereomergemisch im Verhältnis 4.5:1 ( $\beta$ -Bromid :  $\alpha$ -Bromid,  $^1\text{H-NMR}$ ).

Abb. 66: Reaktion zum Cholesterinbromid **91**



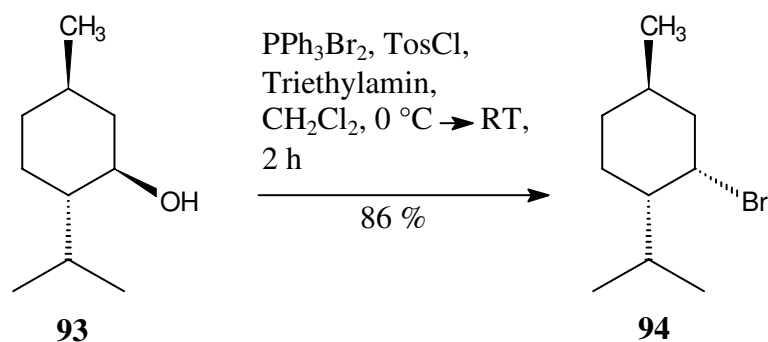
Aus der Literatur<sup>34</sup> ist allerdings bekannt, daß das Chiralitätszentrum an C-3 wegen der in Ring B befindlichen Doppelbindung über eine Cyclopropyl-Zwischenstufe **92** isomerisieren kann. Die Bildung des Diastereomergemisches ist aus diesem Grund nicht verwunderlich.

Abb. 67: Cyclopropanyl-Zwischenstufe **92**



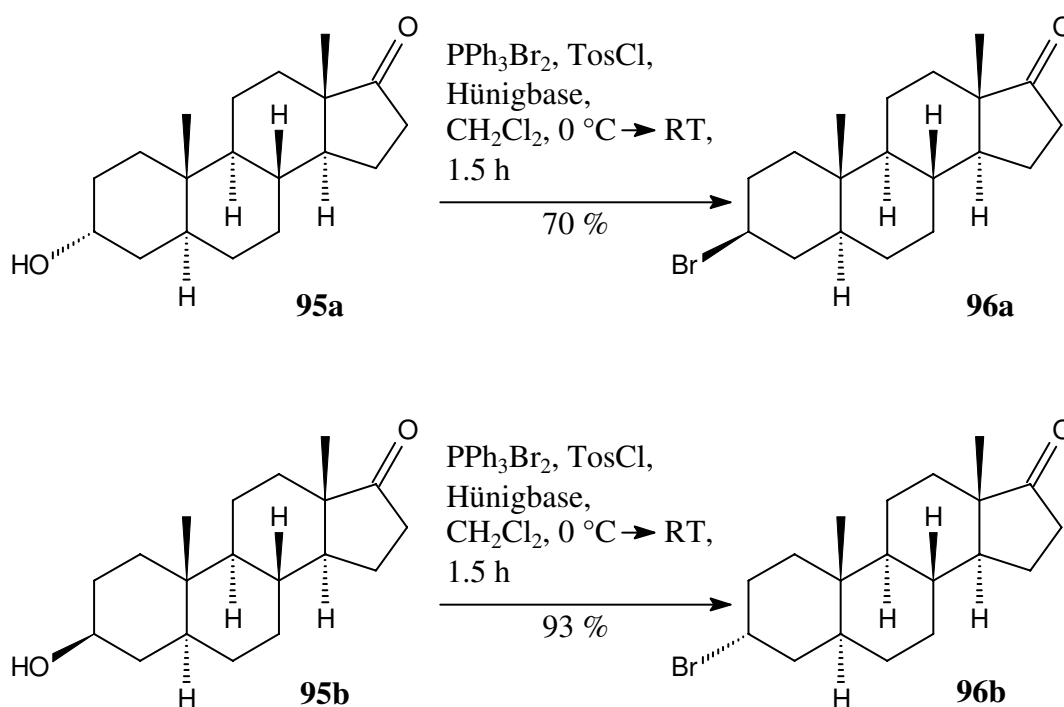
Eine solche störende Funktionalität ist in Menthol **93** nicht vorhanden. So verlief dessen Umsetzung mit Triphenylphosphindibromid, TosCl und Triethylamin selektiv und lieferte in 86 % Ausbeute lediglich das  $\alpha$ -Bromid **94** (Abb. 68, Tabelle 2, Nr 4). Die Hünigbase konnte demnach auch durch Triethylamin ersetzt werden.

Abb. 68: Umsetzung von Menthol **93** unter den Bromierungsbedingungen



Ein ähnlich erfreuliches Ergebnis wurde erhalten, als man *cis*-Androsteron **95a** (Tabelle 2, Nr. 5) den Bromierungsbedingungen aussetzte. Es wurde mit 70 % Ausbeute die Bildung des  $\beta$ -Androsteronbromids **96a** (Abb. 69) beobachtet.

Abb. 69: Anwendung der Bromierungsbedingungen auf *cis*- und *trans*-Androsteron **95a**, **95b**

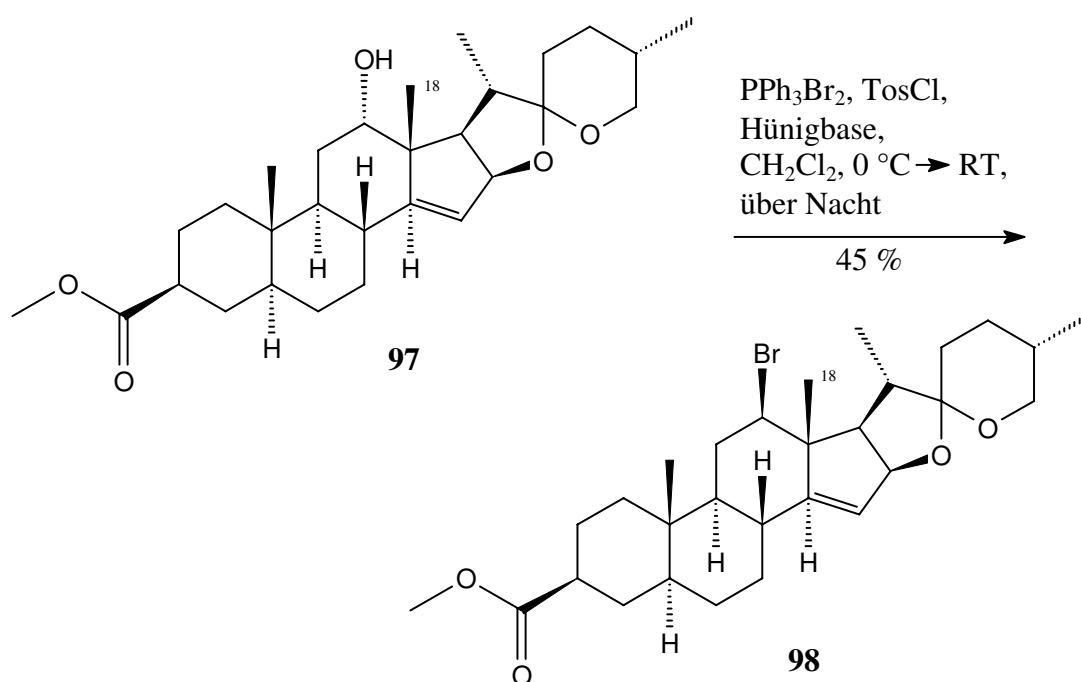


Analog konnte auch das *trans*-Andosteron **95b** (Tabelle 2, Nr. 6) mit der sehr guten Ausbeute von 94 % in das  $\alpha$ -Androsteronbromid **96b** umgewandelt werden. Es wurde keine Bildung eines Diastereomers beobachtet.

Die oben genannten Versuche gaben Anlaß zu der Annahme, daß es sich bei der neuen Bromierungsmethode um eine S<sub>N</sub>2-Reaktion handelt, da sie wahrscheinlich stereospezifisch verläuft.

Nachdem diese Frage des stereochemischen Verlaufes geklärt war, wurde im Anschluß untersucht, inwieweit eine sterische Hinderung toleriert wird. Die Homoallylalkoholfunktion der Verbindung **97** (Abb. 70) ist durch die C-18-Methylgruppe für das Reagenz nicht so leicht zu erreichen. Trotzdem konnte man mit Hilfe der oben genannten Bedingungen in 45 % Ausbeute eine Bromierung erreichen (Tabelle 2, Nr. 7).

Abb. 70: Transformation des Homoallylalkohols **97** in das Homoallylbromid **98**

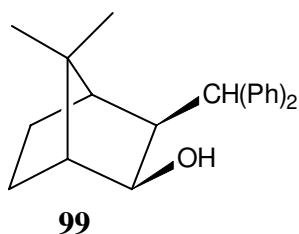


Dieses Ergebnis ist um so erstaunlicher, als eine Transformation zum Bromid **98** mit TosCl, KBr in Pyridin nicht möglich war. Es konnte nur Edukt detektiert werden. Auch eine Behandlung mit Triphenylphosphindibromid ohne Hünigbase und TosCl führte nicht zum

gewünschten Bromid **98**, sondern nur zu einem nicht charakterisierbaren Zersetzungsprodukt. Um sicherzugehen, daß nicht die während der Reaktion entstehende Bromwasserstoffsäure für die Zersetzung verantwortlich ist, wiederholte man den Versuch unter Anwesenheit der Hünigbase (aber ohne TosCl). Es wurde das gleiche Zersetzungsprodukt erhalten.

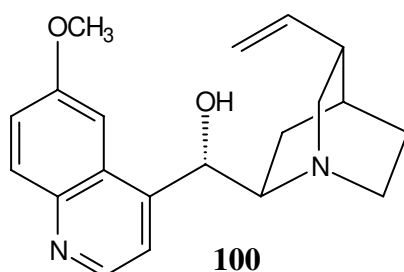
Eine noch größere Herausforderung bezüglich der sterischen Hinderung stellt das Borneol **99** dar (Abb. 71). So konnte mit den hier entwickelten Reaktionsbedingungen auch nach mehreren Wochen Rühren kein Umsatz festgestellt werden (Tabelle 2, Nr. 8).

Abb. 71: Struktur des Borneols **99**



Das Chinidin **100** (Abb. 72) ist ein relativ hochfunktionalisierter Naturstoff, der neben einer Doppelbindung, einem Alkohol und einem Aromaten auch zwei Stickstoffatome aufweist. Eine interessante Frage war, ob diese Funktionalitäten mit der Reaktionsführung in Einklang zu bringen waren.

Abb. 72: Chinidin **100**



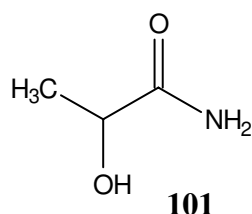
Man beobachtete zwar eine Bromierung, aber es traten zahlreiche Nebenprodukte auf. Außerdem war das Chinidinbromid nicht vom Triphenylphosphinoxid (siehe unten) abzutrennen (Tabelle 2, Nr. 9).

Tabelle 2: Versuche zur Bromierungsmethode

Nr.	Edukt	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	Diol <b>51</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.1 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.3 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C → RT, über Nacht	72 % Bromhydrin <b>84</b>
2	Diolbromid <b>82</b>	4.3 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 1 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C → RT, 10 d	30 % Methylesterkernstruktur <b>85</b>
3	Cholesterin <b>90</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.2 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C → RT, 2 h	87 % Cholesterinbromid ( $\alpha:\beta = 4.5:1$ ) <b>91</b>
4	Menthol <b>93</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Triethylamin, 0.2 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 1.5 h	86 % Mentholbromid <b>94</b>
5	<i>cis</i> -Androsteron <b>95a</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.3 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 1.5 h	70 % $\beta$ -Androsteronbromid <b>96a</b>
6	<i>trans</i> -Androsteron <b>95b</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.3 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 1.5 h	93 % $\alpha$ -Androsteronbromid <b>96b</b>
7	Homoallylalkohol <b>97</b>	2.6 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.37 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C → RT, über Nacht	45 % Hecogeninhomoallylbromid <b>98</b>
8	Borneol <b>99</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.2 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C → RT, 3 Wochen	Edukt
9	Chinidin <b>100</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Triethylamin, 0.2 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, über Nacht	nicht zu reinigendes Bromierungsprodukt
10	Milchsäureamid <b>101</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.2 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 1.5 h	Produktgemisch dreier Komponenten
11	<i>cis-tert</i> -Butylcyclohexanol <b>102a</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.2 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 1.5 h	nicht zu reinigendes Bromierungsprodukt
12	<i>trans-tert</i> -Butylcyclohexanol <b>102b</b>	2.2 eq PPh <sub>3</sub> , 1.3 eq Br <sub>2</sub> , 1.3 eq Hünigbase, 0.2 eq TosCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 1.5 h	nicht zu reinigendes Bromierungsprodukt

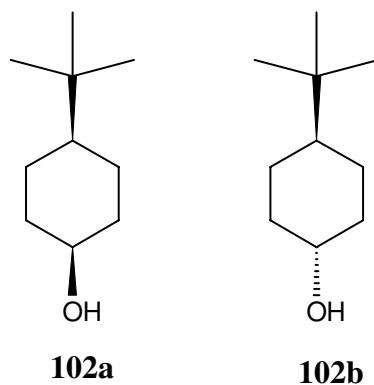
Als nächstes wurde Milchsäureamid **101** (Abb. 73) in die Reaktion eingesetzt. Diese Verbindung wurde als Modell ausgewählt, da sie eine Amidfunktion besitzt. Besonders im Hinblick auf die Synthese eines Agelirin A-Analogons war es interessant zu erfahren, ob ein Amid die Reaktion stört. Beobachtet wurde die Bildung dreier nicht zu identifizierender und nicht trennbarer Produkte, wobei nicht geklärt werden konnte, ob das Amid oder die Nähe des Alkohols zum Amid für den negativen Verlauf der Umsetzung verantwortlich war (Tabelle 2, Nr. 10).

Abb. 73: Milchsäureamid **101**



Zum Schluß wurden noch die beiden epimeren *tert*-Butylcyclohexanole **102a** und **102b** den Bromierungsbedingungen unterworfen. Da die Reaktionsprodukte leicht flüchtig und sehr unpolar waren, konnten sie zwar mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie detektiert werden, jedoch war eine Aufreinigung zur vollständigen Charakterisierung nicht möglich (Tabelle 2, Nr. 11 und 12).

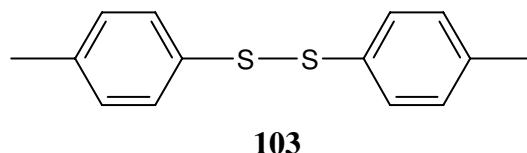
Abb. 74: Die beiden Cyclohexanole **102a** und **102b**



Um Aussagen über einen möglichen Reaktionsmechanismus zu machen, muß man noch zwei Punkte anmerken: Zum einen entsteht im Verlauf der Reaktion Triphenylphosphinoxid; zum

anderen konnte noch ein Nebenprodukt aus dem Reaktionsgemisch isoliert werden, bei dem es sich um das Bisulfid **103** (Abb. 75) handelte.

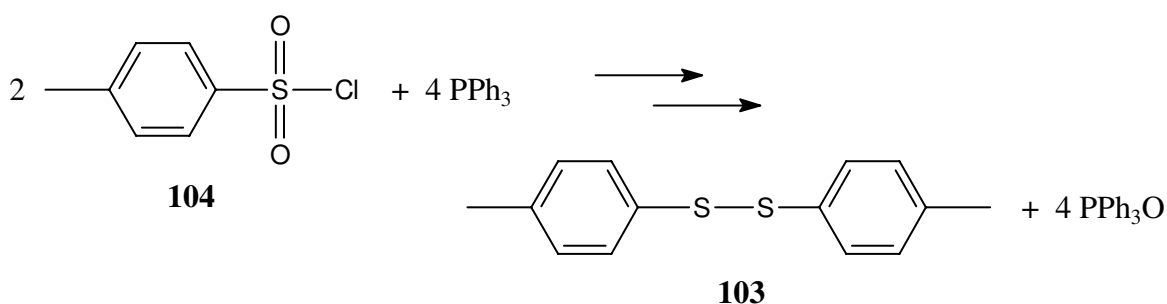
Abb. 75: Bisulfid **103**



Die Bildung von Triphenylphosphinoxid läßt sich leicht durch die Oxophilie des Phosphors erklären. Darüberhinaus entsteht auch bei der einfachen Bromierung mit  $\text{PPh}_3\text{Br}_2$  Triphenylphosphinoxid,<sup>32</sup> wobei das Sauerstoffatom aus dem Alkohol stammt.

Das Entstehen des Bisulfids **103** ist auf den ersten Blick erstaunlich, aber auch diese Tatsache läßt sich durch die hohe Affinität des Phosphors zu Sauerstoff verstehen. Es wäre denkbar, daß zwei Äquivalente Triphenylphosphin ein Äquivalent TosCl reduzieren (Abb. 76).

Abb. 76: Reduktion zum Bisulfid **103**



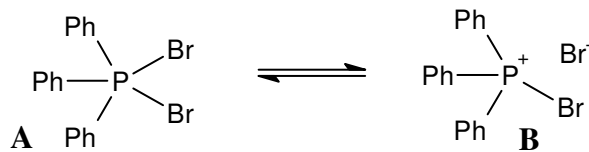
Wie wichtig diese Verbindung **103** für den Verlauf der Reaktion ist, ließ sich nicht so leicht feststellen. Man postulierte daher einen Mechanismus und versuchte, diesen durch Kontrollexperimente zu untermauern.

Der Grund für die Kombination der Chemikalien ( $\text{PPh}_3\text{Br}_2$ , TosCl, Hünigbase) in einer Reaktion war die Erwartung, daß sich im zweiten Schritt durch die Hünigbase und das TosCl

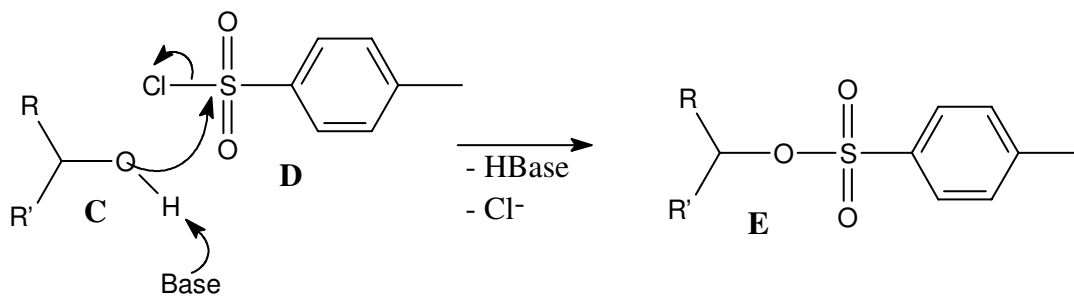
**D** aus dem Alkohol **C** das Tosylat **E** bilden könnte, das durch ein Bromnucleophil **B** unter Bildung des Bromids **F** abgefangen werden sollte. Daraus ergibt sich ein möglicher Mechanismus, der in Schema 7 dargestellt ist.

### Schema 7: Möglicher Mechanismus der Bromierung

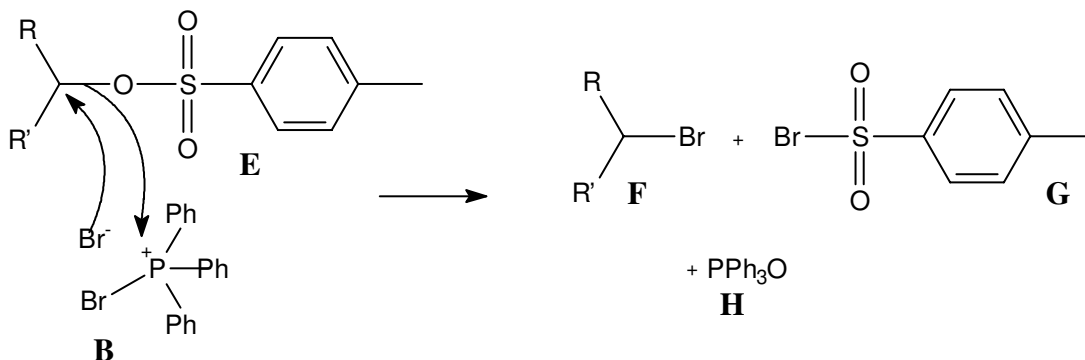
#### 1. Bildung des Brom-Nucleophil-Komplexes **B**<sup>32</sup>



#### 2. Bildung des Tosylates **E**



#### 3. Abfang durch das Nucleophil



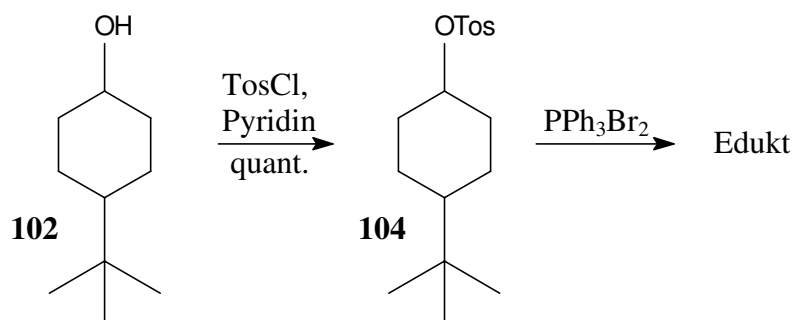
Ein solcher Ablauf der Reaktion würde erklären, warum man das TosCl **D** nicht in äquimolaren Mengen benötigt, es wird während der Umsetzung quasi (nämlich als Tosylbromid **G**) zurückgebildet.

Das Kontrollexperiment sah nun vor, einen Alkohol ins Tosylat **104** zu überführen und dieses dann mit Triphenylphosphindibromid zu behandeln. Die Generierung des Tosylates **104**



erfolgte durch Standardbedingungen (TosCl in Pyridin<sup>35</sup>) mit quantitativer Ausbeute. Die Umsetzung zum Bromid konnte jedoch durch Versetzen mit  $\text{PPh}_3\text{Br}_2$  nicht eingeleitet werden, es wurde nur Ausgangsmaterial detektiert (Abb. 77).

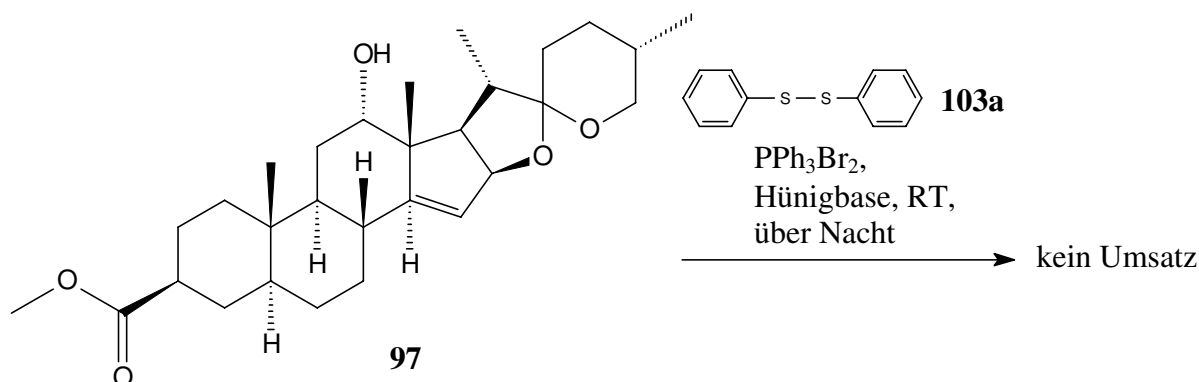
Abb. 77: Kontrollexperiment zum hypothetischen Mechanismus



Hiermit konnte der oben postulierte Mechanismus eindeutig ausgeschlossen werden. Außerdem hätte man auf dieser Grundlage auch die Wichtigkeit der Reihenfolge der Zugabe der Reagenzien nicht erklären können.

Wie oben schon erwähnt, wurde das Bisulfid **103** aus der Reaktionslösung isoliert. Es mußte nun geklärt werden, ob ein solches Sulfid in der Lage ist, die Bromierungen zu katalysieren. Dazu wurde der Hecogeninhomoallylalkohol **97** mit  $\text{PPh}_3\text{Br}_2$  und Hünigbase in Gegenwart von Diphenyldisulfid (**103a**) umgesetzt. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur, d.h. nach der für diese Umsetzung üblichen Reaktionszeit, konnte lediglich Edukt nachgewiesen werden. Das Disulfid **103** kommt demnach als Katalysator nicht in Frage.

Abb. 78: Kontrollexperiment bezüglich des Disulfids **103** als Katalysator



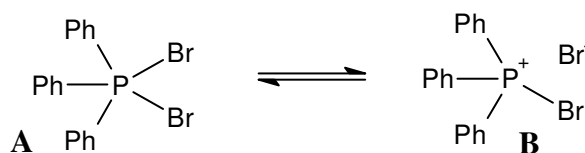
Nach diesen Erfahrungen scheint folgender Ablauf wahrscheinlich: Während man die Reaktionslösung ansetzt, d.h. das  $\text{PPh}_3\text{Br}_2$  vorlegt, dann die Hünigbase und anschließend das

TosCl zusetzt, entsteht eine die Reaktion katalysierende Spezies. Aus diesem Grund ist auch die Reihenfolge der Zugabe relevant.

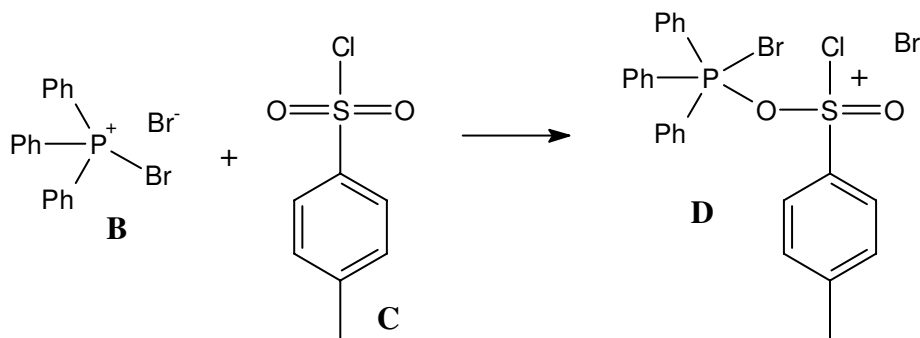
Das Triphenylphosphin ist aus zweierlei Gründen von Bedeutung. Es wird einerseits als Reduktionsmittel gebraucht, andererseits bildet es den Triphenylphosphindibromid-Komplex. Inwieweit es an einer Verbesserung der Abgangsgruppenqualität des Alkohols oder der Bildung des Katalysators beteiligt ist, konnte noch nicht geklärt werden.

### Schema 9: Hypothetischer Mechanismus der Bromierung

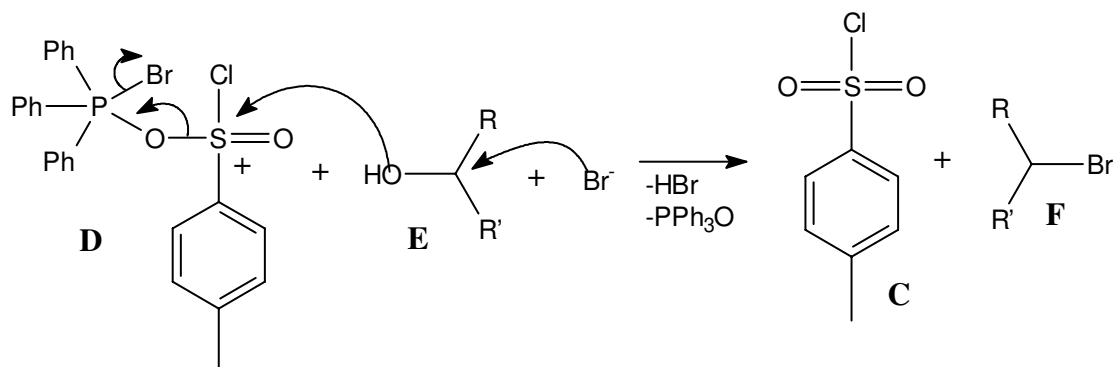
#### 1. Bildung des Brom-Nucleophil-Komplexes **B**<sup>32</sup>



#### 2. Bildung von **D**



#### 3. Bildung des Bromids **F**



Ein in Schema 9 zur Diskussion gestellter Mechanismus trägt den bisher gemachten Beobachtungen rechnung; er harrt aber noch der Überprüfung.

Durch Reaktion des Triphenylphosphindibromid-Komplexes **B** mit Tosylchlorid **C** könnte eine Zwischenstufe **D** entstehen, die vom Alkohol **E** unter Bildung des Bromids **F** abgefangen werden könnte. Ein solcher Mechanismus würde auch erklären, warum nach der Bildung des Triphenylphosphindibromid-Komplexes das Tosylchlorid hinzugefügt werden muß. Diese Vorgehensweise ist nötig zur Generierung der Spezies **D**.

Zusammenfassend kann man sagen, daß eine neue Bromierungsmethode mit noch unbewiesenem Reaktionsmechanismus entwickelt werden konnte. Sie ist auch für komplizierte Moleküle geeignet, besonders für Steroide und Spiroisoxazoline. Selbst sterische Hinderung wird bis zu einem gewissen Ausmaß toleriert. Bei bestimmten Verbindungen kann es allerdings zu Problemen bei der Abtrennung des Triphenylphosphinoxids kommen.

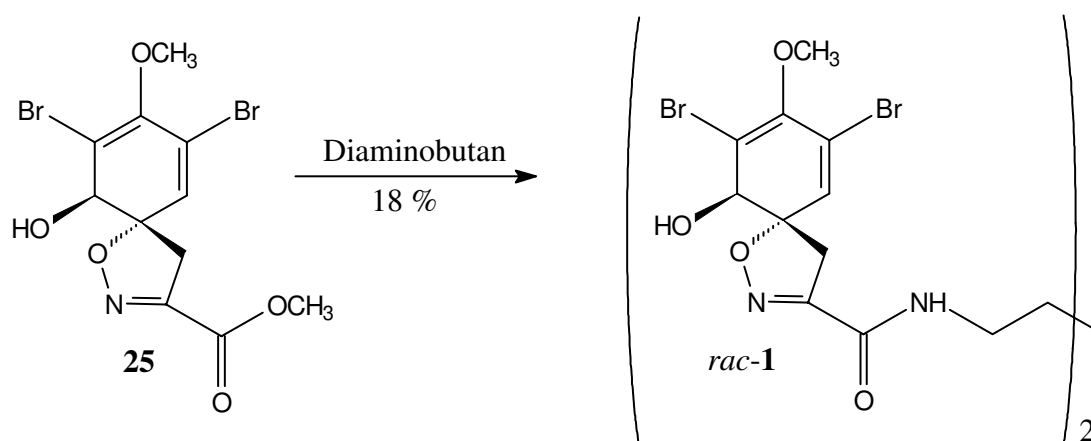
## 6 Bildung des Säureamids

### 6.1 Versuche zur Amidierung direkt aus dem Ester

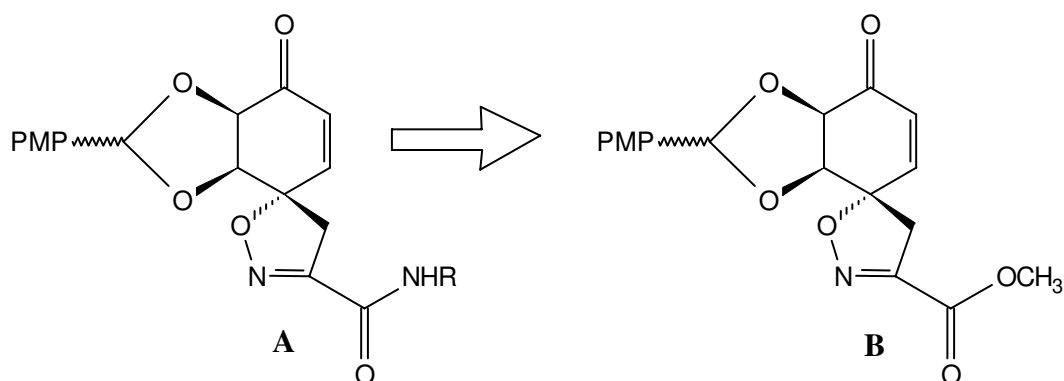
Da nun bekannt war, wie man die Funktionalisierung des 6-gliedrigen Ringes etabliert, d.h. wie das Bromhydrin und das Vinylbromid einzuführen sind, war der nächste folgerichtige Schritt die Einführung der Amidgruppe in die Carboxylposition.

Wie bereits in Kap. 1.3 beschrieben, konnte *S. Yamamura*<sup>9</sup> bei seiner Totalsynthese des Aerothionins (**1**) das Amid direkt aus dem Ester darstellen (Abb. 79). Durch Umsetzen mit Diaminobutan wurde in 18 %iger Ausbeute das Aerothionin (*rac*-**1**) (als Racemat) isoliert.

Abb. 79: Einführung des Amids nach *S. Yamamura*

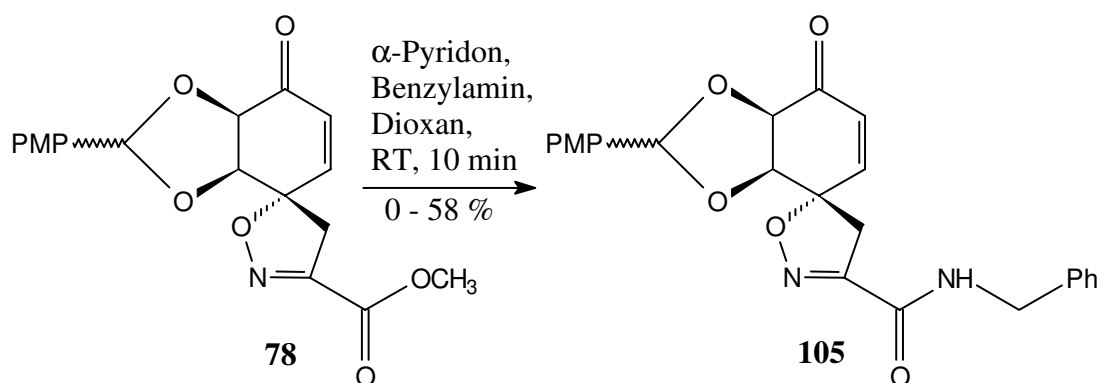


Im Falle des Agelorins A (**2a**) lag ein etwas anderes Funktionalisierungsmuster vor; so weist der 6-gliedrige Ring ein  $\alpha,\beta$ -ungesättigtes Keton auf. Eine denkbare Schwierigkeit bei der Amidierung ist, daß das Stickstoffatom des Amins auch das Keton oder die Doppelbindung (Michael-Addition) angreifen kann. Da aber Stickstoff-Nucleophile eher zu Michael-Additionen neigen und neben der Doppelbindung ein quartäres Zentrum steht, wurde erwartet, daß eine Michael-Addition nicht so leicht möglich ist, weil dazu normalerweise thermisch sehr drastische Bedingungen nötig sind. Aus diesem Grund wurde nun versucht, das Retro-Diels-Alder-Produkt **B** bei milden Bedingungen in ein Amid **A** zu transformieren (Schema 9).

Schema 9: Generierung des Amids **A** aus dem Ester **B**

Es gibt zwei Methoden, ein Amid aus einem Ester zu generieren. Zum einen hat man die Möglichkeit, mit  $\alpha$ -Pyridon in Dioxan zu katalysieren,<sup>36</sup> zum anderen ist auch die Umsetzung eines Esters zu einem Amid unter hohem Druck<sup>37</sup> beschrieben worden.

Diesen Überlegungen entsprechend brachte man das *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützte Spiroisoxazolindiol **78** mit  $\alpha$ -Pyridon und Benzylamin zur Reaktion. Es wurde jedoch festgestellt, daß die Umsetzung nur schlecht reproduzierbar, d.h. nicht zu kontrollieren war. So erhielt man bei einem Versuch 58 % Ausbeute und bei einem anderen, der genauso durchgeführt wurde, überhaupt kein Produkt (Abb. 80).

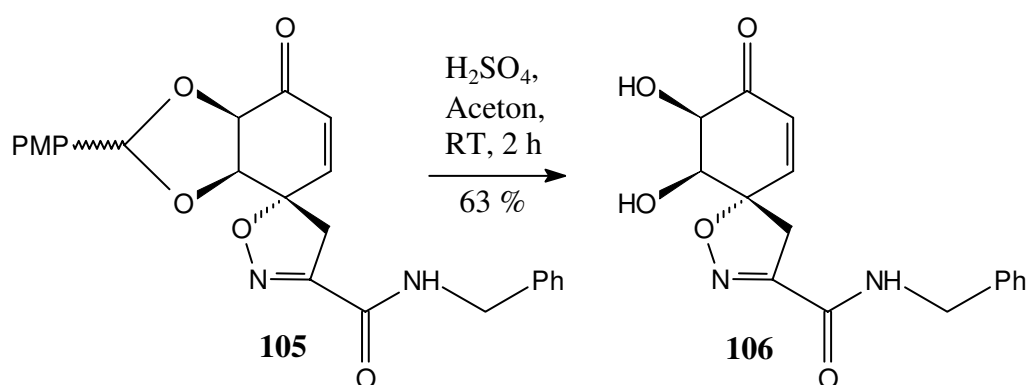
Abb. 80: Darstellung des Benzylamids **105**

Versuche, die Zuverlässigkeit der Reaktion durch Zusatz von Radikalfängern wie Iod oder TEMPO zu erhöhen, scheiterten. Auch das Hinzufügen von Natriumhydrid, um die

Nucleophilie des Amins zu verbessern, brachte keinen Fortschritt.

Ein weiteres Problem der Umsetzung des Retro-Diels-Alder-Produktes mit  $\alpha$ -Pyridon und Benzylamin war, daß die Reaktion sehr unsauber verlief und das Produkt **105** nur schlecht zu reinigen war. Aus diesem Grund wurde eine Acetalspaltung mit 2 N Schwefelsäure in Aceton bei Raumtemperatur durchgeführt. Man erhielt das freie, leicht zu reinigende und daher gut zu charakterisierende Diol **106** in 63 % Ausbeute (Abb. 81).

Abb. 81: Entschützung des *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Spiroisoxazolidiols **105**

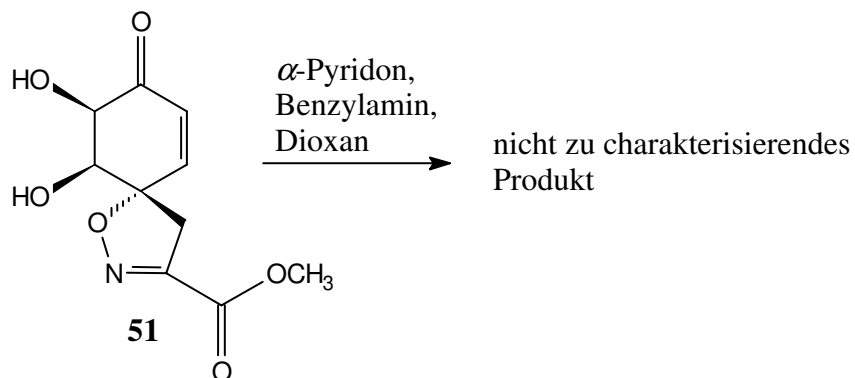


Daraufhin wurde angestrebt, die Amidierung durch hohen Druck<sup>37</sup> auszulösen. Dazu wurden Versuche bei 14 kbar, 6.5 kbar und 4.5 kbar unternommen. Was man beobachtete, war allerdings nur die mehr oder weniger stark eintretende Zersetzung des Eduktes **78**. Bei höheren Drücken war die Zersetzung vollständig, bei niedrigen Drücken konnte noch Edukt **78** reisoliert werden.

Die oben beschriebene Methode zur Amidierung mit  $\alpha$ -Pyridon konnte nicht für eine Totalsynthese herangezogen werden, sie war zu unzuverlässig. Man beschloß daher, andere Spiroisoxazoline der Amidierung zu unterwerfen.

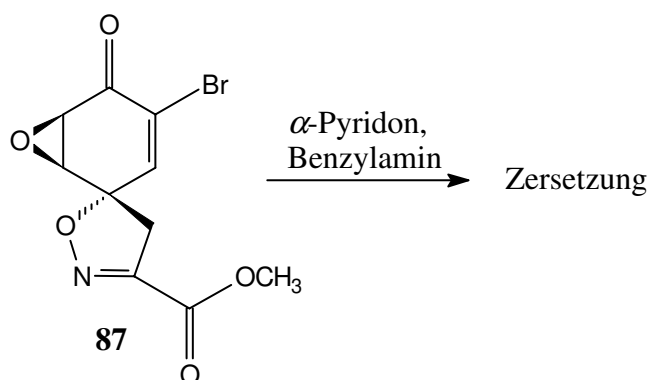
Als erstes wurde der Diolmethylester **51** mit  $\alpha$ -Pyridon und Benzylamin in Dioxan umgesetzt (Abb. 82). Man erhielt ein nicht eindeutig zu charakterisierendes Produkt, dessen  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine Signale eines Enons mehr aufwies. Dies legte die Vermutung nahe, daß eine Michael-Addition an die Doppelbindung trotz der Neopentylstellung stattgefunden hatte.

Abb. 82: Umsetzung des Diols **51** mit Benzylamin und  $\alpha$ -Pyridon



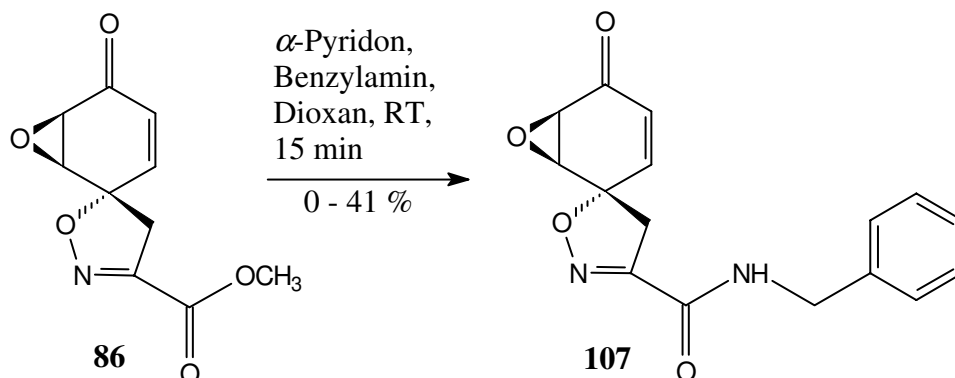
Als nächstes wurde das Epoxybromid **87** mit  $\alpha$ -Pyridon und Benzylamin versetzt, was zur Zersetzung des Ausgangsmaterials führte.

Abb. 83: Versuch zur Umsetzung des Epoxybromids **87**



Dieses Ergebnis war besonders enttäuschend, denn durch Einführung des Amids auf dieser Stufe hätte nur noch die Öffnung des Epoxids zur Generierung der Kernstruktur gefehlt.

Nun wurde das Epoxid **86** den Amidierungsbedingungen unterworfen (Abb. 84), wobei man die gleichen Beobachtungen machte wie beim *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Spiroisoxazolidinol **78**. In einigen Fällen verlief die Reaktion mit bis zu 41 % Ausbeute, in anderen Fällen beobachtete man lediglich eine Zersetzung des Eduktes.

Abb. 84: Reaktion des Epoxids **86** mit  $\alpha$ -Pyridon und Benzylamin

Um herauszufinden, warum die Reaktion keine reproduzierbaren Ergebnisse lieferte, wurden daraufhin die Amine variiert. Man hatte festgestellt, daß die Zersetzungsprodukte im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine Signale des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons mehr aufwiesen, was darauf hindeutete, daß das Benzylamin zwar im Prinzip amidieren kann, die Michael-Addition aber Konkurrenzreaktion war. Deshalb setzte man nun sterisch anspruchsvollere Amine ein, um dadurch die Michael-Addition zurückzudrängen.

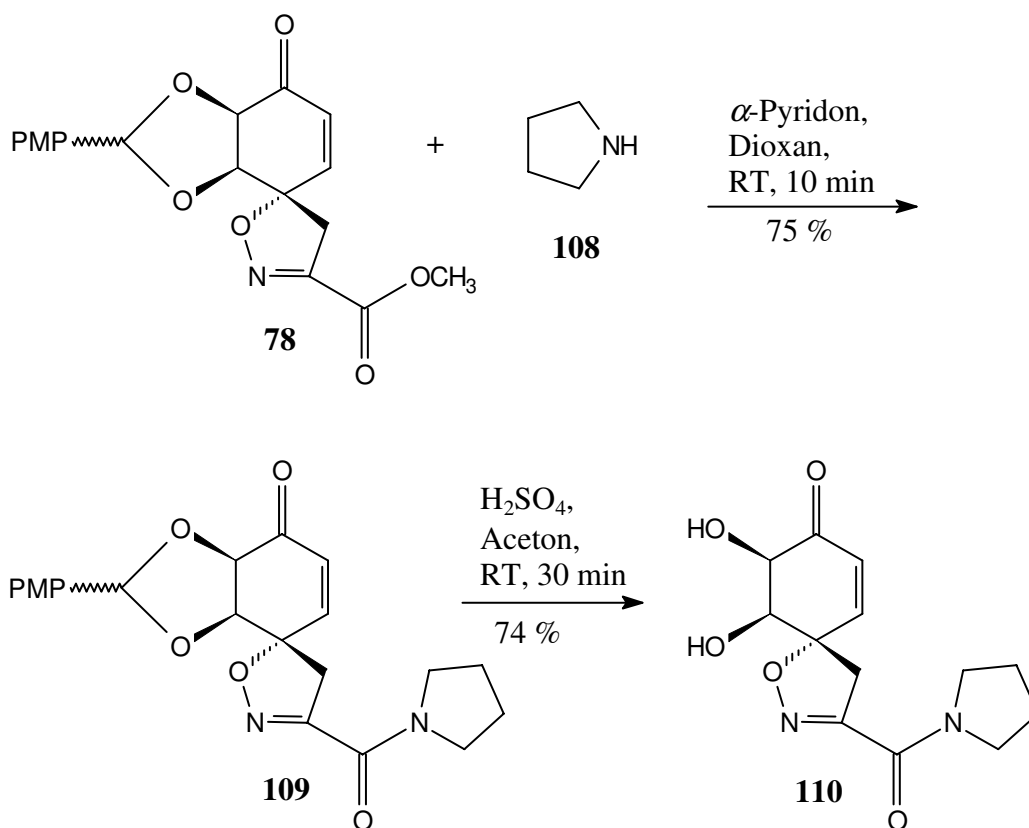
Zunächst wurden cyclische, sekundäre Amine unter  $\alpha$ -Pyridon-Katalyse mit dem geschützten Diol **78** zur Reaktion gebracht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3: cyclische Amine als *N*-Nucleophile in der Amidierungsreaktion

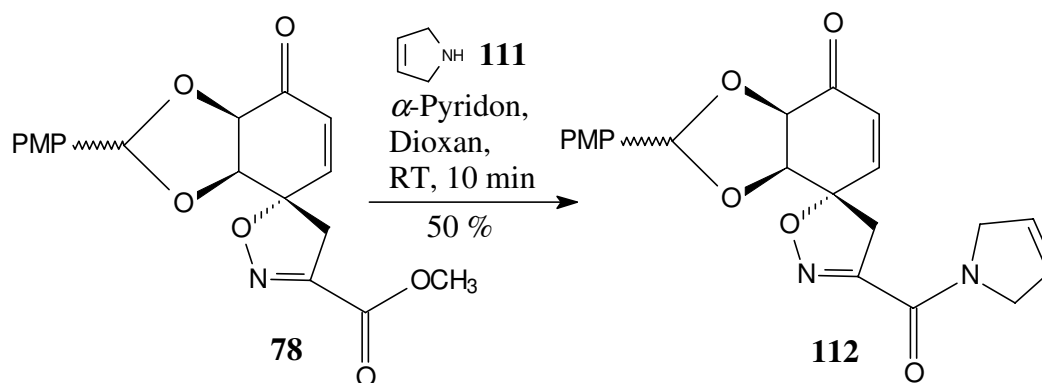
Nr.	Amin	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	Pyrrolidin <b>108</b>	4 eq $\alpha$ -Pyridon, 7 eq Pyrrolidin, Dioxan, RT, 10 min	75 % Ausbeute
2	3-Pyrrolin <b>111</b>	3.7 eq $\alpha$ -Pyridon, 5 eq 3-Pyrrolin, Dioxan, RT, 2 h	50 % Ausbeute
3	Piperidin <b>113</b>	3.7 eq $\alpha$ -Pyridon, 15 eq Piperidin, Dioxan, RT, 6 h	48 % Ausbeute

Die Umsetzung von Verbindung **78** mit Pyrrolidin **108** (Tabelle 3, Nr. 1) in Gegenwart von  $\alpha$ -Pyridon in Dioxan brachte nach 10 min bei Raumtemperatur 75 % des Amids **109** hervor (Abb. 85). Dieses Amid **109** wurde mit 2 *N* Schwefelsäure versetzt, um eine Acetalspaltung zu erreichen. Man erhielt mit 75 % Ausbeute das gewünschte freie Diol **110**.



Abb. 85: Darstellung des Diols **110**

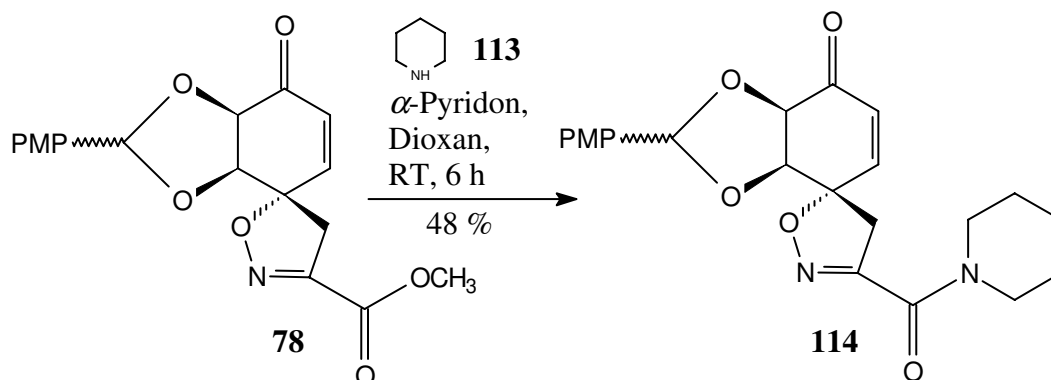
Mit 3-Pyrrolin **111** war eine analoge Amidierung möglich (Tabelle 3, Nr. 2), wobei die Reaktion mit nur 50 % Ausbeute das 3-Pyrrolinamid **112** lieferte.

Abb. 86: Umsetzung des Diels-Alder-Produktes mit 3-Pyrrolin **111**

Bei der entsprechenden Umsetzung mit Piperidin **113** konnten lediglich 48 % des

Piperidinamids **114** erhalten werden (Tabelle 3, Nr 3, Abb. 87).

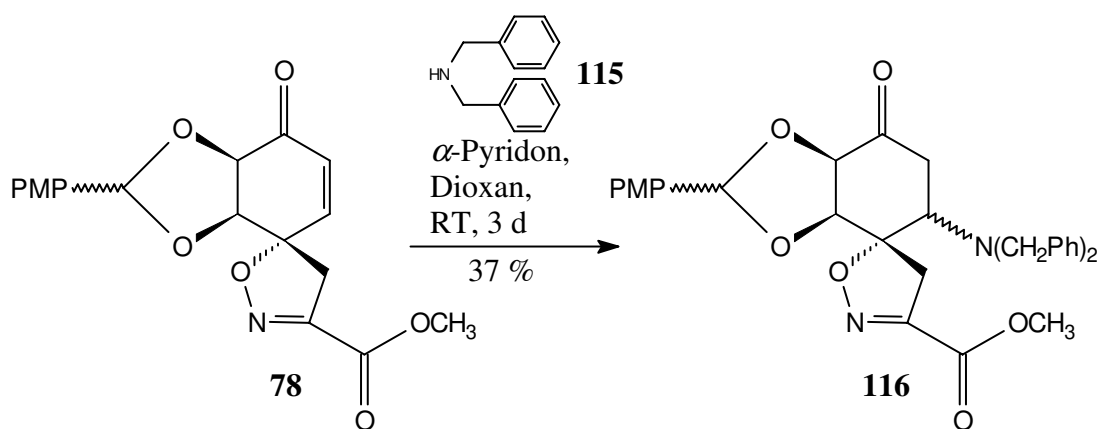
Abb. 87: Darstellung des Piperidinamids **114**



Cyclische, sekundäre Amine sind für diese Amidierung demnach relativ gut geeignet.

Im nächsten Schritt sollte ein noch sperrigeres Amin eingesetzt werden, wobei man erwartete, daß eine Michael-Addition in diesem Falle nicht möglich sein sollte. Ein räumlich sehr anspruchsvolles Amin ist Dibenzylamin **115** (Abb. 88). Setzte man es mit dem Spiroisoxazolimethylester **78** in Gegenwart von  $\alpha$ -Pyridon um, so konnte kein Amid detektiert werden. Statt dessen beobachtete man die Bildung des Michael-Adduktes **116**.

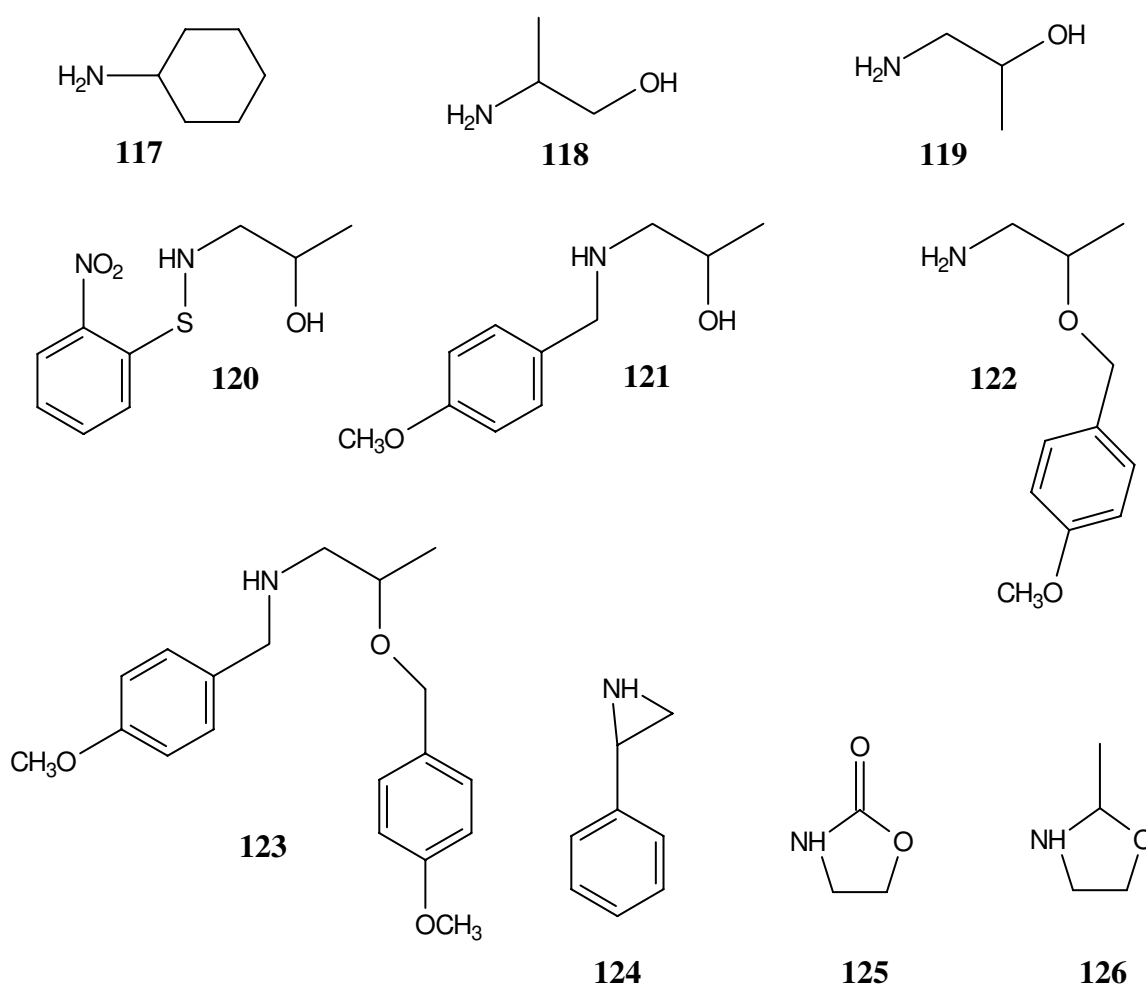
Abb. 88: Bildung des Michael-Additions-Produktes **116**



Die Entstehung dieser Verbindung **116** war nicht vorherzusehen. Aller sterischer Hinderung

zum Trotz war eine Michael-Addition abgelaufen, und die Amidierung, die vom räumlichen Standpunkt aus gesehen viel einfacher hätte möglich sein müssen, fand überhaupt nicht statt. Da man diese Tatsache nicht erklären konnte, wurden in zusätzlichen Versuchen die in Abb. 89 gezeigten Amine **117** - **126** in die Amidierungsreaktion eingesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Abb. 89: Amin-Reaktionspartner für das *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützte Spiroisoxazolidiol **78**

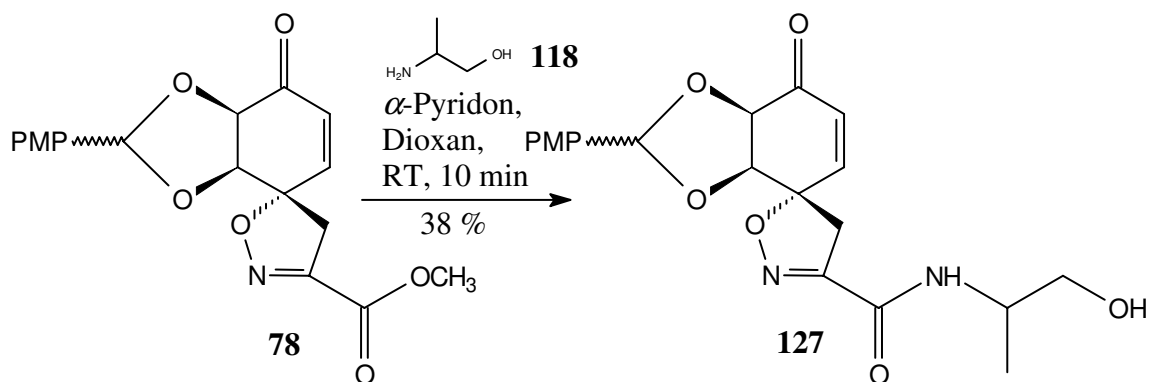


Setzte man Cyclohexylamin **117** mit dem Retro-Diels-Alder-Produkt **78** und  $\alpha$ -Pyridon um, erhielt man nur ein nicht aufzutrennendes Produktgemisch (Tabelle 4, Nr. 1).

Nun wurde 2-Amino-1-propanol (**118**) zur Amidierung herangezogen. (Tabelle 4, Nr. 2). Dieses Amin **118** weist eine ähnliche Funktionalisierung auf wie die Seitenkette des

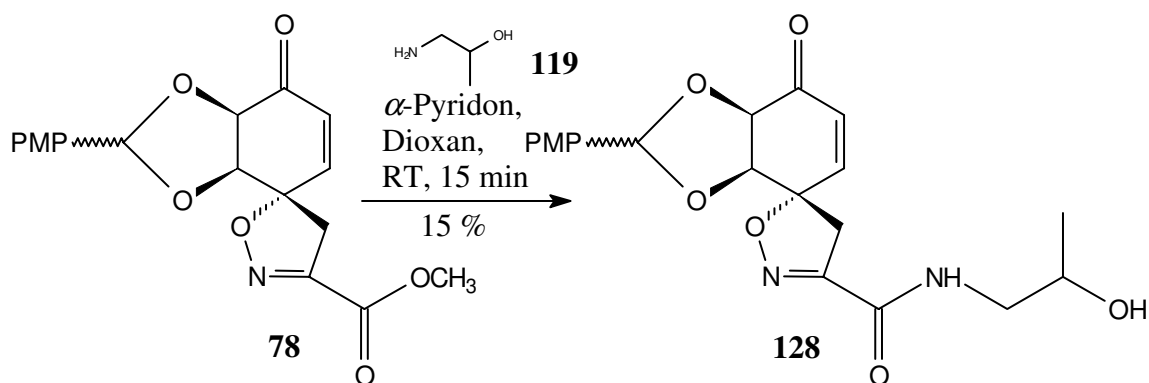
Agelorin A (**2a**), weshalb es als Modellsystem dienen sollte. Die sterische Hinderung sollte über die CH<sub>3</sub>-Gruppe erzielt werden. Man erhielt mit 38 % Ausbeute das Amid **127** (Abb. 90).

Abb. 90: Generierung des Amids **127**



Das als nächstes verwendete 1-Amino-2-propanol (**119**) verfügt, da die CH<sub>3</sub>-Gruppe sich nun an demjenigen C-Atom befindet, das auch die Hydroxygruppe trägt, über nur wenig räumlichen Anspruch in bezug auf das Amin. So konnte bei fünf gleichen Amidierungsversuchen mit diesem Amin **119** nur einmal mit 15 % Ausbeute das Amid **128** isoliert werden (Tabelle 4, Nr. 3, Abb. 91).

Abb. 91: Einmalige Amidierung mit 1-Amino-2-propanol **119**



Ein Wechsel des Lösungsmittels von Dioxan zu *iso*-Propanol brachte keinen Fortschritt (Tabelle 4, Nr. 4). Da aber das 1-Amino-2-propanol (**119**) ein gutes Modellsystem für den

Mittelteil des Agelorin A (**2a**) darstellt, wurde es zusätzlich auf verschiedene Weisen geschützt und die resultierenden Amine mit dem Spiroisoxazolin **78** umgesetzt.

Dazu wurde 1-Amino-2-propanol (**119**) mit *o*-Nitrobenzolsulfonylchlorid<sup>38</sup> zur Reaktion gebracht, wobei sich der geschützte Aminoalkohol **120** mit einer Ausbeute von 75 % bildete (Abb. 92).

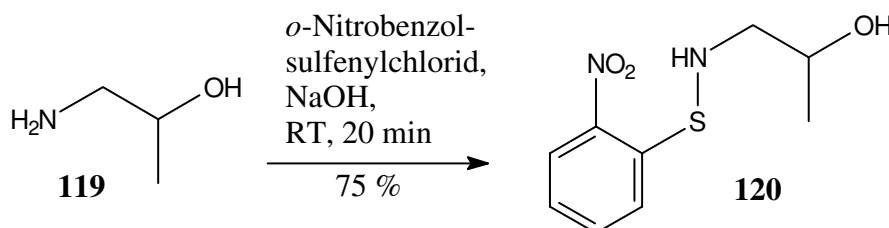
Tabelle. 4: Amidierungsversuche mit dem Spiroisoxazolinester **78**

Nr.	Amin	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	Cyclohexylamin ( <b>117</b> )	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT, 10 min	nicht aufzutrennendes Produktgemisch
2	2-Amino-1-propanol ( <b>118</b> )	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT, 10 min	38 % <b>127</b>
3	1-Amino-2-propanol ( <b>119</b> )	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT, 15 min	0 - 15 % <b>128</b>
4	1-Amino-2-propanol ( <b>119</b> )	$\alpha$ -Pyridon, <i>iso</i> -Propanol, RT, 10 min	Zersetzung
5	<i>o</i> -Nitrobenzolsulfonyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol <b>120</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT	keine Reaktion
6	<i>N,p</i> -Methoxybenzyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol <b>121</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT	Zersetzung
7	<i>O,p</i> -Methoxybenzyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol <b>122</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT	keine Reaktion
8	<i>O,p</i> -Methoxybenzyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol <b>122</b>	14 kbar, 4 h	Zersetzung
9	<i>O/N,p</i> -Methoxybenzyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol <b>123</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT, über Nacht	langsame Zersetzung
10	<i>O/N,p</i> -Methoxybenzyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol <b>123</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT, 14 kbar, 4 h	teilweise Edukte zurück, Produktgemisch
11	Aziridin <b>124</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT, 10 min	Produktgemisch, kein Enon mehr detektierbar
12	Oxazolidinon <b>125</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT	keine Reaktion
13	<i>N/O</i> -Acetal <b>126</b>	$\alpha$ -Pyridon, Dioxan, RT, 10 min	nicht zu identifizierendes Reaktionsprodukt

Der Versuch, dieses Amin **120** mit dem Spiroisoxazolin **78** und  $\alpha$ -Pyridon umzusetzen,

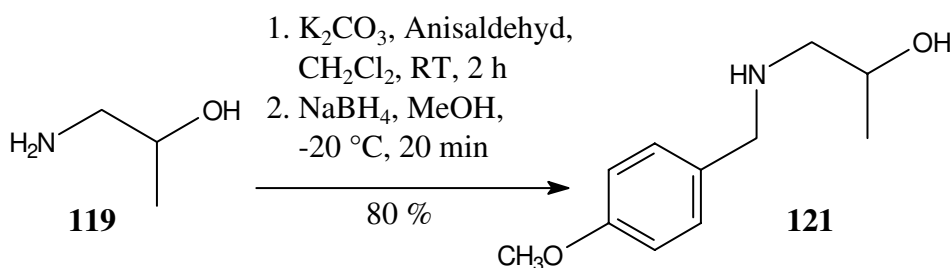
brachte nur das Edukt zurück (Tabelle 4, Nr. 5). Da diese Schutzgruppe durch ihren  $-M$ -Effekt die Nucleophilie des Stickstoffatoms zu weit herabsetzte, wurde nun die *p*-Methoxybenzyl-Schutzgruppe ausgewählt.

Abb. 92: Generierung des *o*-Nitrobenzolsulfonylgeschützten 1-Amino-2-propanols **120**



Man versetzte 1-Amino-2-propanol (**119**) mit Kaliumcarbonat sowie Anisaldehyd und ließ 3 h bei Raumtemperatur rühren. Danach wurde mit dem Rohprodukt eine Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  durchgeführt, wodurch 80 % *N,p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes 1-Amino-2-propanol **121** erhalten wurden (Abb. 93).<sup>39</sup>

Abb. 93: *p*-Methoxybenzyl-Schätzung des 1-Amino-2-propanols (**119**)



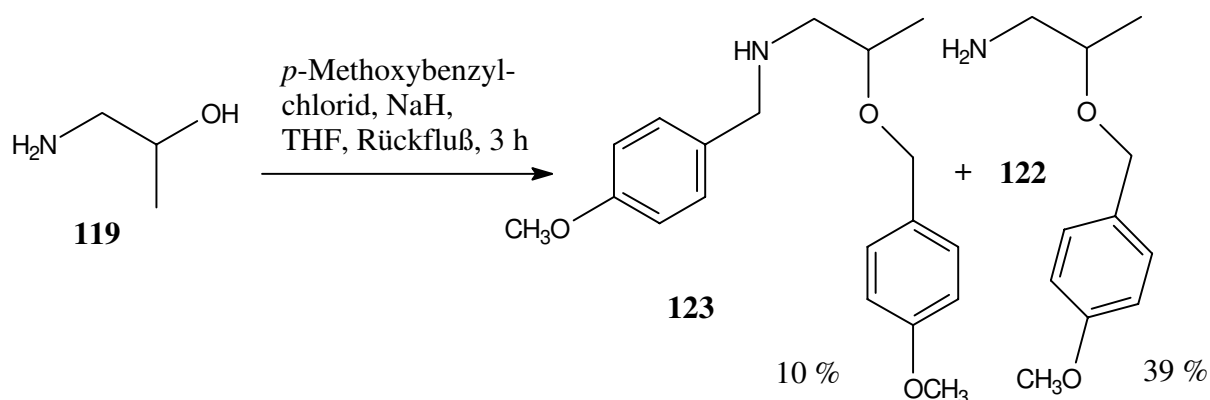
Doch auch mit diesem Amin **121** konnte keine Amidierung erreicht werden. Bei der Reaktion mit  $\alpha$ -Pyridon in Dioxan (Tabelle 4, Nr. 6) konnte nur die Zersetzung des Eduktes beobachtet werden.

Daraufhin wurde 1-Amino-2-propanol (**119**) an der Alkoholfunktion geschützt, da auch das Sauerstoffatom über freie Elektronenpaare verfügt. Diese könnten in das Geschehen eingreifen, wodurch es zu einer vermehrten Bildung von Nebenprodukten käme.

Man brachte dazu 1-Amino-2-propanol (**119**) mit *p*-Methoxybenzylchlorid und

Natriumhydrid zur Reaktion. Auf diesem Weg erhielt man 39 % *O,p*-Methoxybenzyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol **122** sowie 10 % *O/N,p*-Methoxybenzyl-geschütztes 1-Amino-2-propanol **123** (Abb. 94), die man gut voneinander trennen konnte.

Abb. 94: Reaktion von 1-Amino-2-Propanol (**119**) mit *p*-Methoxybenzylchlorid

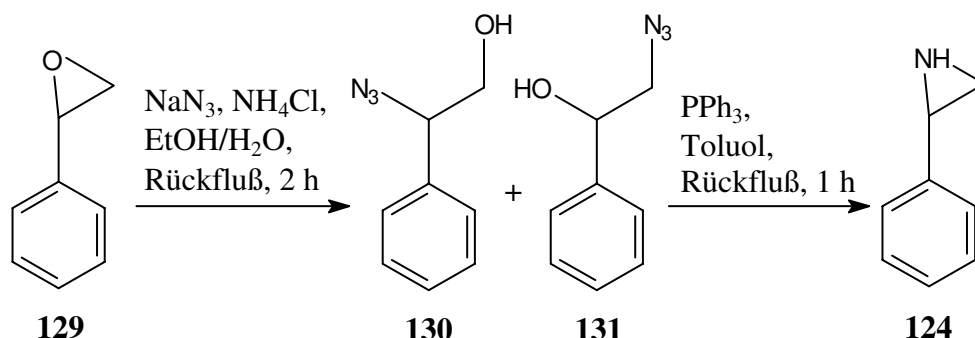


Die beiden so dargestellten geschützten Amine **122** und **123** wurden mit dem Spiroisoxazolin **78** umgesetzt. Das *O*-geschützte Derivat **122** zeigte bei der  $\alpha$ -Pyridon-Methode keine Reaktion (Tabelle 4, Nr. 7). Setzte man ein Gemisch des Methylesters **78** und des Amins **122** einem Druck von 14 kbar aus, so führte dies zur Zersetzung (Tabelle 4, Nr. 8).

Die *N/O*-geschützte Verbindung **123** brachte ähnliche Ergebnisse (Tabelle 4, Nr. 9/10), nur verlief die Zersetzung langsamer.

Die einzigen Amine, mit denen die Amidierung relativ erfolgreich war, waren die sekundären, cyclischen Amine (siehe oben). Um ihrer Struktur möglichst nahe zu kommen, setzte man in den folgenden Versuchen cyclische Amine um, bei denen die Möglichkeit zur Umfunktionalisierung zum Aminoalkohol besteht.

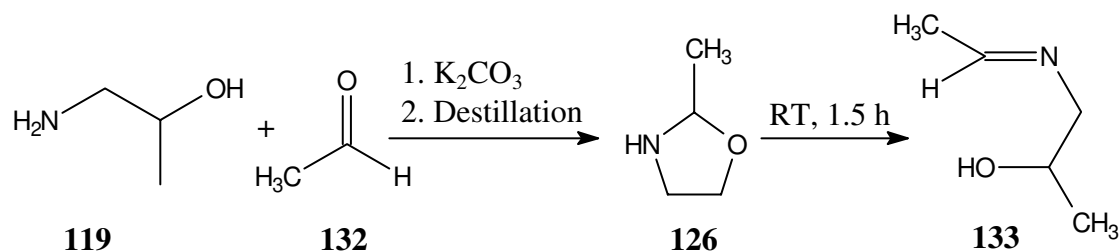
Als erstes Beispiel ist dabei das Aziridin **124** zu nennen. Nach der Kupplung könnte die Öffnung des Aziridins mit einem Sauerstoff-Nucleophil zum Aminoalkohol führen.

Abb. 95: Darstellung des Aziridins **124**

Es wurde durch Behandeln des Epoxids **129** (Abb. 95) mit Natriumazid und anschließende Reduktion mit Triphenylphosphin dargestellt.<sup>40</sup> Dieses Aziridin **124** führte bei der Amidierungsreaktion des Spiroisoxazolins **78** und  $\alpha$ -Pyridon zu einem Produktgemisch, in dessen <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum keine Signale eines Enons mehr vorhanden waren (Tabelle 4, Nr. 11).

Das Oxazolidinon **125** war nicht nucleophil genug, um eine Amidierung oder überhaupt einen Umsatz herbeiführen zu können (Tabelle 4, Nr. 12).

Als letztes wurde noch das *N/O*-Acetal des Aminoalkohols **119** hergestellt. Dabei ging man so vor, dass man Acetaldehyd (**132**) mit 1-Amino-2-propanol (**119**) in Gegenwart von Kaliumcarbonat umsetzte. Die nachfolgende Destillation sollte laut Literatur<sup>41</sup> das *N/O*-Acetal **126** liefern, das sich innerhalb von 1.5 h bei Raumtemperatur in die Schiffsbasis **133** umlagern kann (Abb. 96).

Abb. 96: Reaktion von 1-Amino-2-propanol (**119**) mit Formaldehyd (**132**)



---

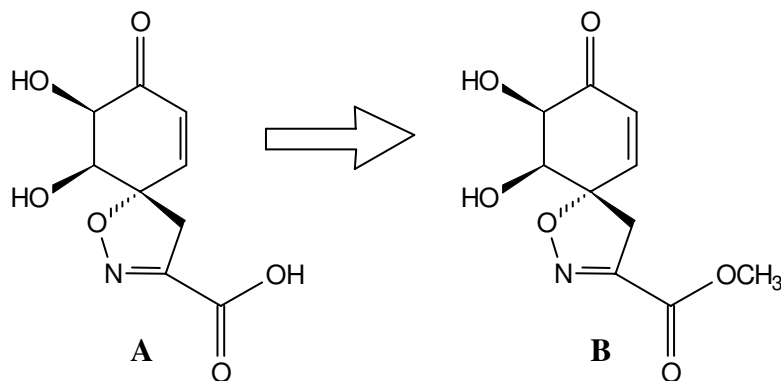
Bei der anschließenden Kupplungsreaktion war daher zügiges Arbeiten erforderlich, um der Umlagerung zuvorzukommen. Es wurde dabei jedoch ein nicht zu identifizierendes Reaktionsprodukt isoliert (Tabelle 4, Nr. 13).

Die oben genannten Erfahrungen zeigen deutlich, daß es nicht möglich ist, im Rahmen der Synthese des Agelotin-A-Chromophors das Amid direkt aus dem Ester zu generieren. Die Frage, warum die sekundären, cyclischen Amine für die Amidierungsreaktion geeignet waren und alle anderen Amine nicht, konnte nicht geklärt werden.

## 6.2 Übertragung der Synthese auf den *tert*-Butylester

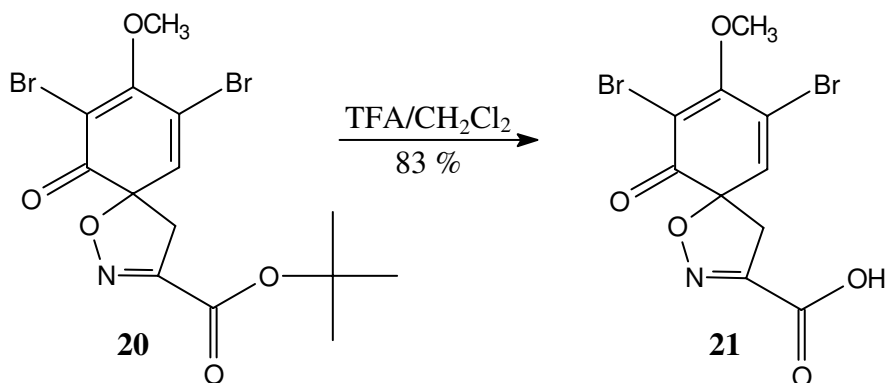
Da eine Amidierung des Methylesters **78** nicht durchzuführen war, wurde versucht, das Spiroisoxazolindiol **B** zur Carbonsäure **A** zu hydrolisieren (Schema 10).

Schema 10: Hydrolyse zur Carbonsäure **A**



Aus der Literatur<sup>42</sup> ist bekannt, daß Methylester nur schwer zu spalten sind, was mit dem hier vorgestellten Beispiel nur bestätigt wurde. Bei einer Behandlung des Diols **B** mit NaOH in Aceton setzte sofortige Zersetzung ein, dasgleiche wurde beobachtet, wenn man das Diol **B** mit LiI<sup>43</sup> am Rückfluß kochte. Auch ein Versetzen mit Säure brachte keinen Erfolg; mit einer katalytischen Menge TFA in Essigsäure oder mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> war nur Edukt zu detektieren.

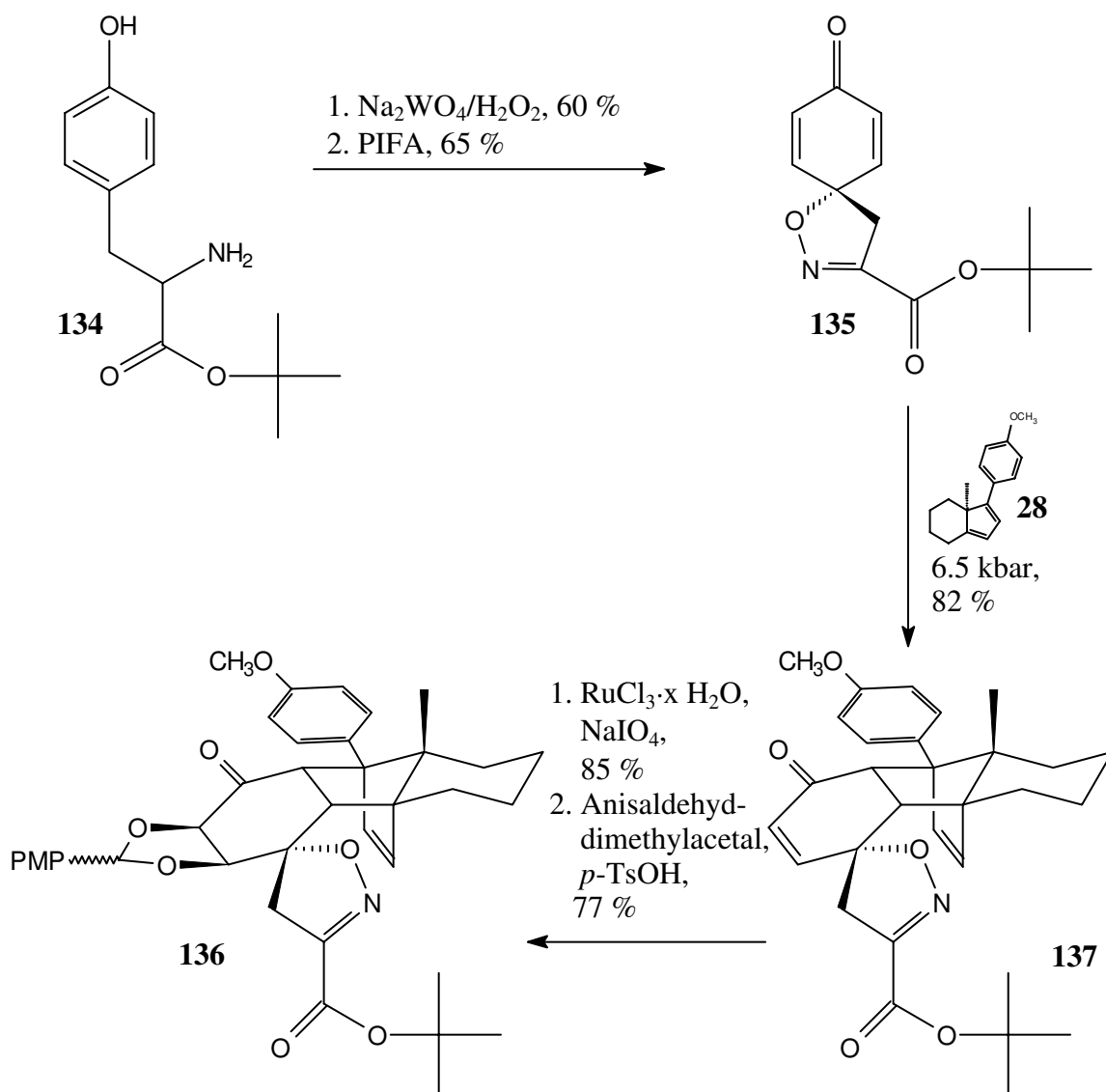
Abb. 97: Hydrolyse des *tert*-Butylesters **20** nach *O. Hoschino*



Daraufhin wurde der Methylester gegen einen *tert*-Butylester ausgetauscht, weil man hoffte,

mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> diesen Ester zur Carbonsäure hydrolysieren zu können. Der obige Versuch, das Spiroisoxazolindiol **78** mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> umzusetzen, lieferte nicht umgesetztes Edukt **B** zurück, womit jedoch bewiesen war, daß der Heterocyclus diese drastischen Bedingungen übersteht. Darüberhinaus hat *O. Hoshino*<sup>8</sup> (Kap. 1.3) einen ähnlichen Ester **20** mit Hilfe dieser sauren Methode gespalten (Abb. 97). Ein Nachteil war nur, daß man wieder ganz am Anfang der Synthese beginnen mußte, weil der Ester im Edukt schon mitgebracht wurde. Man konnte aber die Synthesequenz bis zum *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Addukt **136** (Abb. 98) leicht auf den *tert*-Butylester übertragen.

Abb. 98: Synthese des Spiroisoxazolin-*tert*-butylesteradduktes **136**



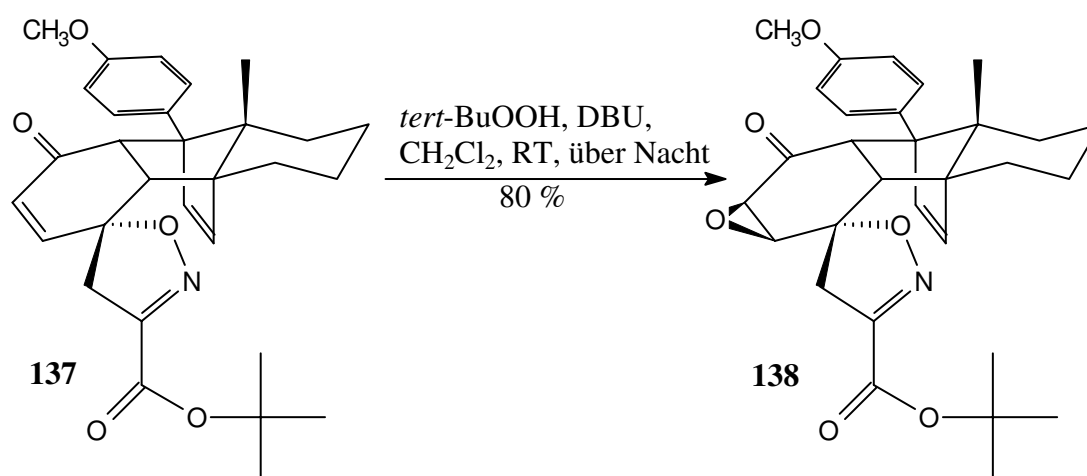
Eine Natriumwolframat/Wasserstoffperoxid-Oxidation des Tyrosin-*tert*-butylesters **134** brachte das Oxim in 60 % Ausbeute. Anschließend wurde mit PIFA (65 % Ausbeute) zum *tert*-Butylesterdienophil **135** cyclisiert. Nun versetzte man mit dem *p*-Methoxyphenyldien **28** und gelangte durch Hochdruck (6.5 kbar) mit 82 % Ausbeute zum Diels-Alder-Addukt **137**.

Die Kinetikversuche in Kap. 4.1 hatten ergeben, daß der Ester so weit in der Peripherie des Moleküls liegt, daß eine Vergrößerung der Seitenkette keine Auswirkungen auf die Cycloaddition hat. Durch die Verwendung des *tert*-Butylesters wurde dieses Ergebnis noch einmal bestätigt.

Die Dihydroxylierung mit  $\text{RuCl}_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$  und  $\text{NaIO}_4$  verlief mit 85 % Ausbeute, so daß die Schützung mit Anisaldehyddimethylacetal unter Protonenkatalyse angeschlossen werden konnte (77 % Ausbeute).

Mit dem Diels-Alder-Addukt **137** wurde noch ein Epoxidierungsexperiment durchgeführt, um zu untersuchen, ob man die Synthese durch eine Epoxidierungs-Retrospaltungs-Sequenz unter Bildung des Spiroisoxazolinepoxids **138** (Abb. 99) abkürzen kann. Wäre die Bildung des Epoxidbausteins auf diese Weise erfolgreich, bedeutete dies eine Verringerung der Stufenzahl um vier Schritte.

Abb. 99: Epoxydierung des *tert*-Butylesteradduktes **137**

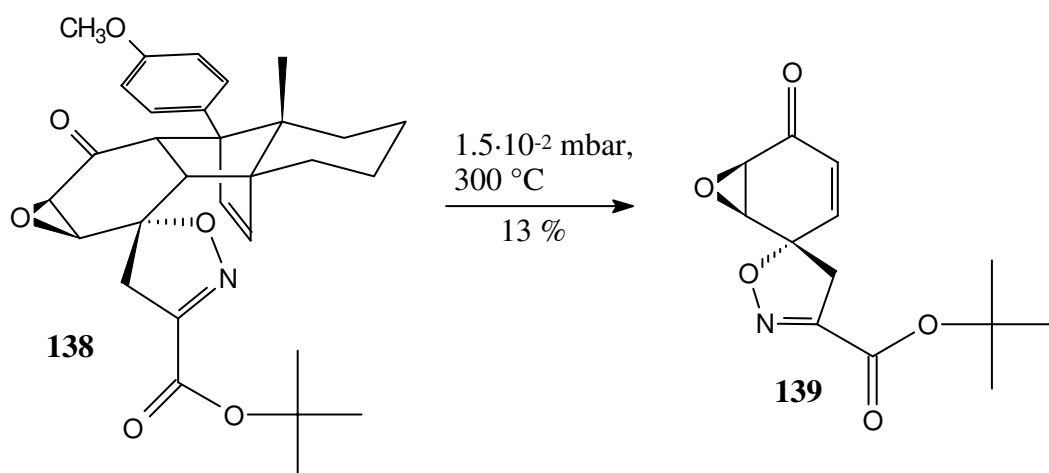


Dazu wurde das Addukt **137** mit *tert*-Butylhydroperoxid und DBU unter Bildung von 80 %

des Epoxyadduktes **138** umgesetzt (Abb. 99).

Hiernach mußte überprüft werden, ob eine Retro-Diels-Alder-Reaktion mit Verbindung **138** möglich ist. Man erhitze das Epoxyaddukt **138** in einer Pyrolyseapparatur auf 150 °C und erhielt lediglich 13 % des Epoxyenons **139** (Abb. 100). Hinzu kam, daß das Epoxyenon **139** nicht vollständig gereinigt werden konnte. Es erwies sich demnach als unerläßlich, den alternativen Syntheseweg über das Diol zu gehen.

Abb. 100: Retro-Diels-Alder-Reaktion des Epoxyadduktes **138**

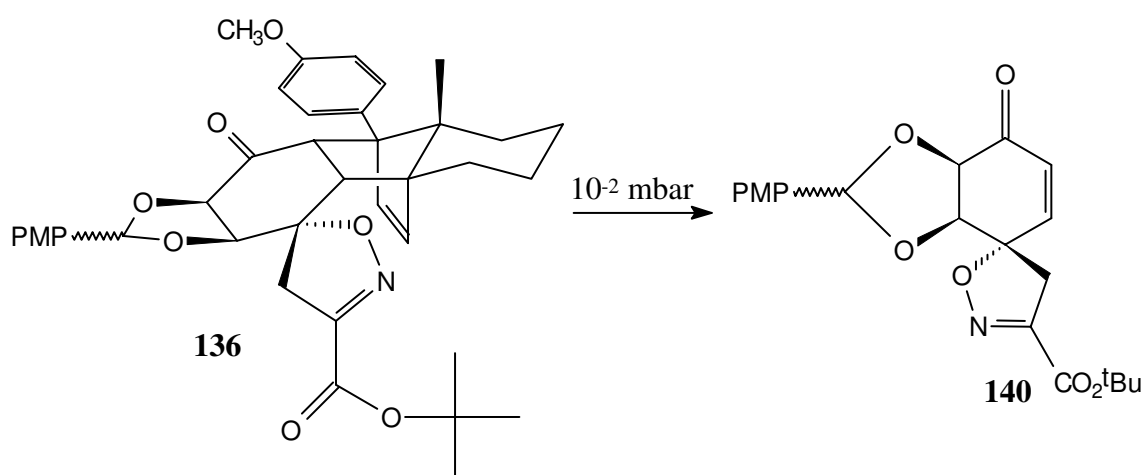


Die Ausführungen in Kap. 6.1 machen deutlich, daß eine Spaltung des Methylresters nicht möglich war. Deshalb wurde er durch einen *tert*-Butylester ersetzt. Durch den wenig erfolgreichen Versuch der Epoxidierung des Diels-Alder-Adduktes **137** und anschließender Retro-Spaltung wurde der alternative Syntheseweg über das Diol als effizientere Methode bestätigt. Durch Übertragung der Syntheseroute auf die *tert*-Butylesterverbindungen konnte das geschützte Dioladdukt **136** dargestellt werden, das auf die nachfolgende Retro-Diels-Alder-Reaktion vorbereitet war.

### 6.3 Darstellung der Carbonsäure 147

Bis zur Stufe des geschützten Adduktes **136** (Abb. 101) war die für den Methylester entwickelte Syntheseroute gut auf die *tert*-Butylesterverbindungen anwendbar. Allerdings ist mit der leichteren Spaltbarkeit des *tert*-Butylesters eine höhere Empfindlichkeit im Vergleich zu den Methylesterverbindungen verbunden. Die Auswirkungen dieser Tatsache erwartete man bei der Retro-Diels-Alder-Reaktion, da diese Transformation mit einer hohen thermischen Belastung der Ausgangsmaterialien einhergeht. Die Pyrolyse bei  $1 \cdot 10^{-2}$  mbar und  $135 \text{ }^\circ\text{C}$  verlief den obigen Überlegungen entsprechend mit einer relativ niedrigen Ausbeute von nur 40 % (Tabelle 5, Nr. 1, Abb.).

Abb. 101/Tabelle 5: Pyrolyse des *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Spiroisoxazolinadduktes **136**



Nr.	Zeit [min]	Temp. [ $^\circ\text{C}$ ]	Bemerkungen	Ausbeute [%]
1	45	135	-	40
2	45	125	Retrokolben mit $\text{NEt}_3$ gespült	43
3	45	125	Retrokolben mit $\text{TMSCl}$ gespült	26
4	45	110	Retrokolben mit $\text{NEt}_3$ gespült	50

Daraufhin wurde der Retrokolben vor der Zugabe des Eduktes **136** mit Triethylamin gespült, denn eine Glaswand ist durch die freien OH-Gruppen des Silicates immer ein wenig sauer, was bei den relativ hohen Temperaturen zur Zersetzung führen könnte. Zusätzlich wurde bei Versuch 2 (Tabelle 5) mit einer etwas niedrigeren Temperatur gearbeitet ( $125 \text{ }^\circ\text{C}$ ), wodurch

die Ausbeute nur unwesentlich stieg.

Die Maßnahme, den Kolben mit TMSCl zu behandeln, um die freien OH-Gruppen zu binden, brachte nur eine geringe Ausbeute von 26 % (Tabelle 5, Nr. 3). In Versuch Nr. 4 (Tabelle 5) wurde neben dem Behandeln des Kolbens mit  $\text{NEt}_3$  eine Temperatur von 110 °C eingestellt, was die Ausbeute immerhin auf 50 % steigen ließ.

Dennoch war dieses Ergebnis nicht zufriedenstellend, und es mußte untersucht werden, ob eine etwas stabilere Schutzgruppe des Diols für die Retro-Diels-Alder-Reaktion von Vorteil wäre. Es wurden dazu das Acetonid **143** (Abb. 103, nächste Seite) sowie das Benzaldehydacetal **145** mit dem *p*-Methoxybenzaldehydacetal **136** bezüglich ihrer Effektivität und Stabilität bei der Abspaltung des Diens **28** verglichen. Die Umsetzung des Dioladduktes **142** mit 2,2-Dimethoxypropan und *p*-TsOH brachte mit 74 % Ausbeute das angestrebte Acetonid **143**, dessen Retro-Diels-Alder-Reaktion aber nur mit 23 % Ausbeute verlief (Weg A). Danach wurde das Dioladdukt **142** als Benzaldehydacetal geschützt (53 % Ausbeute, Weg B) und den Pyrolysebedingungen unterworfen, wobei man eine Ausbeute von 27 % erhielt. Aus Abb. 103 ist ersichtlich, daß beide Schritte, d.h. die Schützung und die Retro-Diels-Alder-Reaktion mit der *p*-Methoxybenzaldehyd-Schutzgruppe die besten Ausbeuten lieferten. Alles in allem war sie als die am stärksten basische der getesteten drei doch die optimale Schutzgruppe für dieses System. Auf eine weitere Optimierung über die erreichten 50 % hinaus wurde daher verzichtet (Weg C).

Der so gewonnene chirale Baustein **140** wurde mit 2 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in Aceton versetzt, um die Hydrolyse des Acetals herbeizuführen. Dies gelang mit einer Ausbeute von 84 % (Abb. 102).

Abb. 102: Acetalspaltung zum Diol **141**

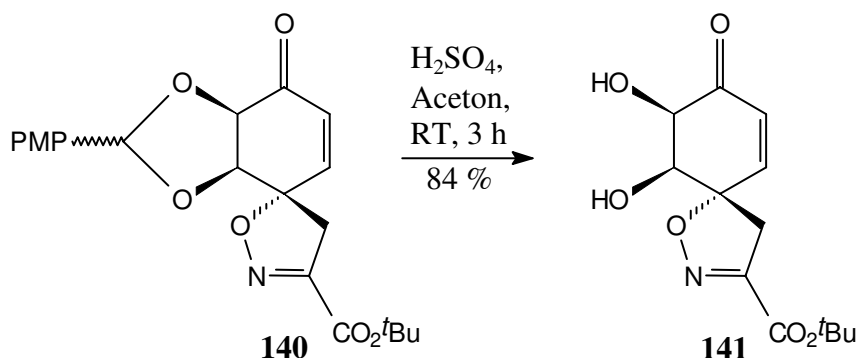
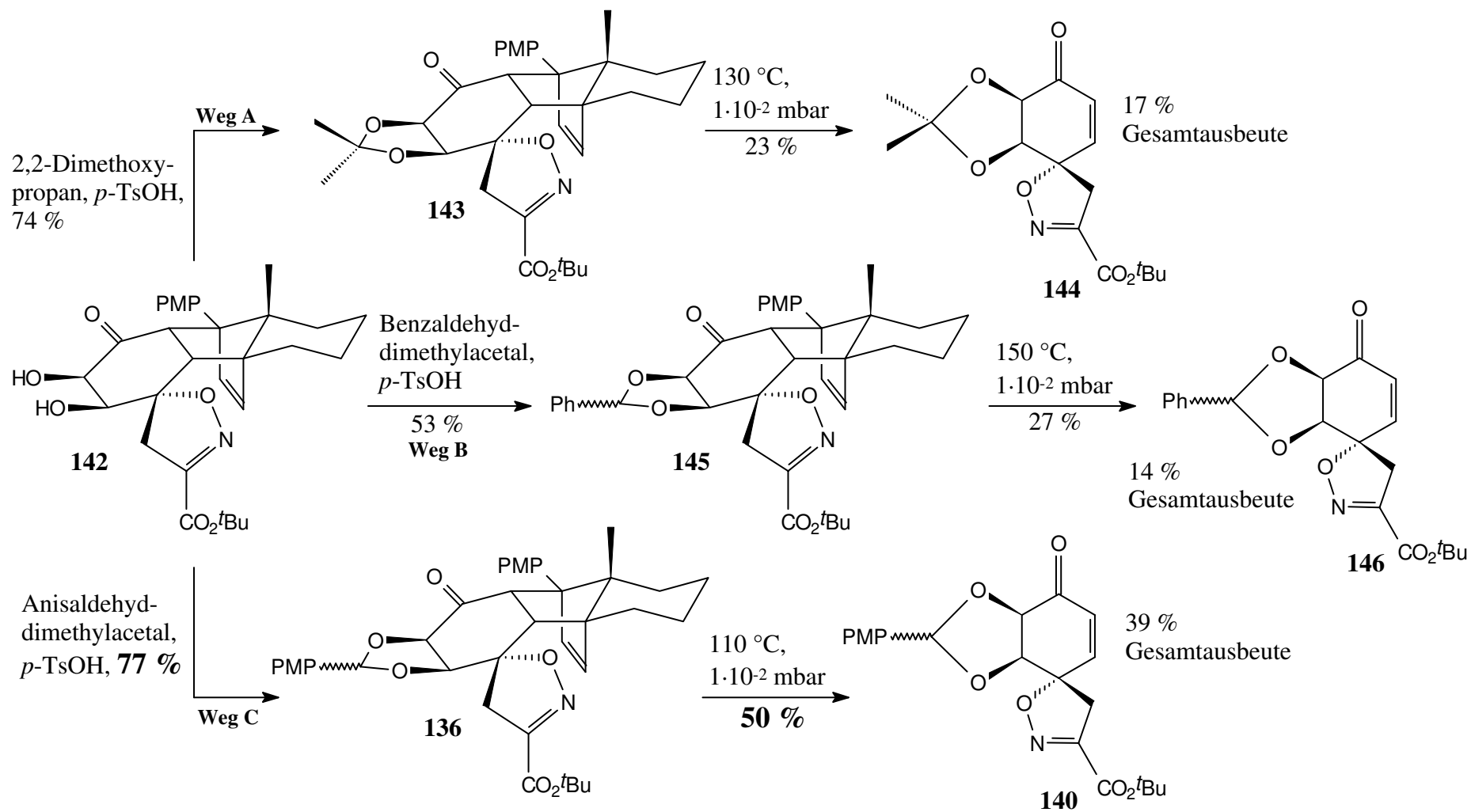


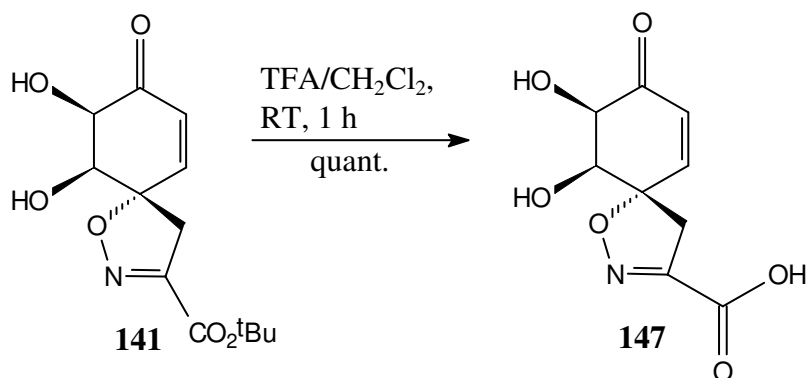
Abb. 103: Vergleich der Schutzgruppen bei der Retro-Diels-Alder-Reaktion der *tert*-Butyl-spiroisoxazolinaddukte **143**, **145** und **136**





Als nächstes wurde durch Behandeln mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> bei Raumtemperatur die Carbonsäure **147** in quantitativer Ausbeute freigesetzt (Abb. 104).

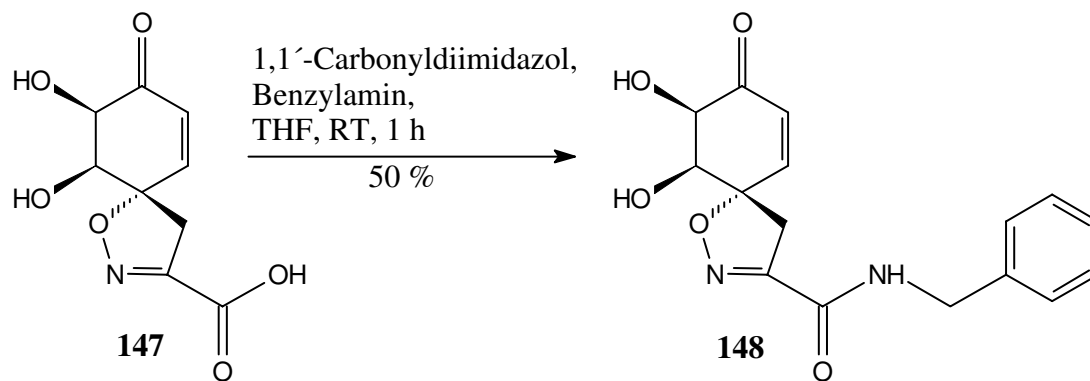
Abb. 104: Darstellung der Carbonsäure **147**



Der Vorteil dieser Methode ist, daß alle Komponenten bis auf die Spiroisoxazolin-carbonsäure **147** leicht flüchtig sind. Aus diesem Grund war eine Reinigung auf dieser Stufe nicht erforderlich, man entfernte die flüchtigen Bestandteile bei Raumtemperatur im Vakuum. Eine Reinigung im klassischen Sinn wäre auch nicht möglich gewesen, weil die Carbonsäure **147** für eine wäßrige Aufarbeitung oder eine Säulenchromatographie an Kieselgel zu polar war. An dieser Stelle wird auch deutlich, warum man die Spaltung des Acetals und des Esters nicht in einer Stufe vollzogen hat, es wäre nicht einfach gewesen, den anfallenden Anisaldehyd von der Carbonsäure **147** abzutrennen.

Die nun anstehende Aufgabe bestand darin, eine geeignete Methode zur Bildung des Amids zu finden. Ein sehr gängiges und effektives Reagenz für eine solche Kupplung ist Dicyclohexylcarbodiimid.<sup>44</sup> In diesem Fall führte die Reaktion der Diolcarbonsäure **147** und Benzylamin in Gegenwart von DCC jedoch zu einem nicht charakterisierbaren Produkt. Auch ein Versuch mit Cyanurfluorid<sup>45</sup> scheiterte, da eine vollständige Zersetzung des Eduktes erfolgte.

Daraufhin behandelte man die Diolcarbonsäure **147** mit dem Staab-Reagenz<sup>46</sup> (1,1'-Carbonyl-diimidazol) in THF und ließ 30 min bei Raumtemperatur rühren. Danach wurde mit Benzylamin versetzt, wodurch die Kupplung mit 50 % Ausbeute verlief (Abb. 105).

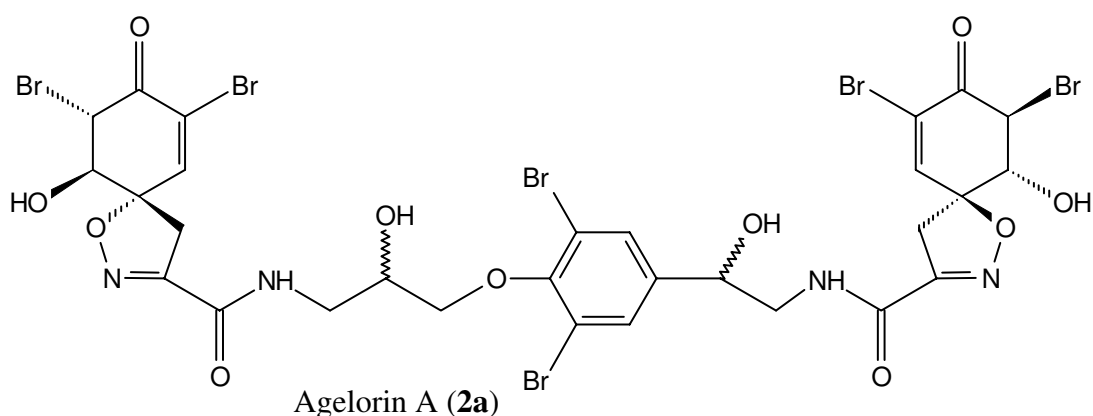
Abb. 105: Bildung des Amids **148**

Durch die Einführung des *tert*-Butylesters in die Carboxylposition war die Darstellung der Spiroisoxazolindiolcarbonsäure **147** möglich geworden, die man mit Hilfe des Staab-Reagenzes in das entsprechende Benzylamid **148** überführen konnte.

## 6.4 Synthese des Bisamids 154

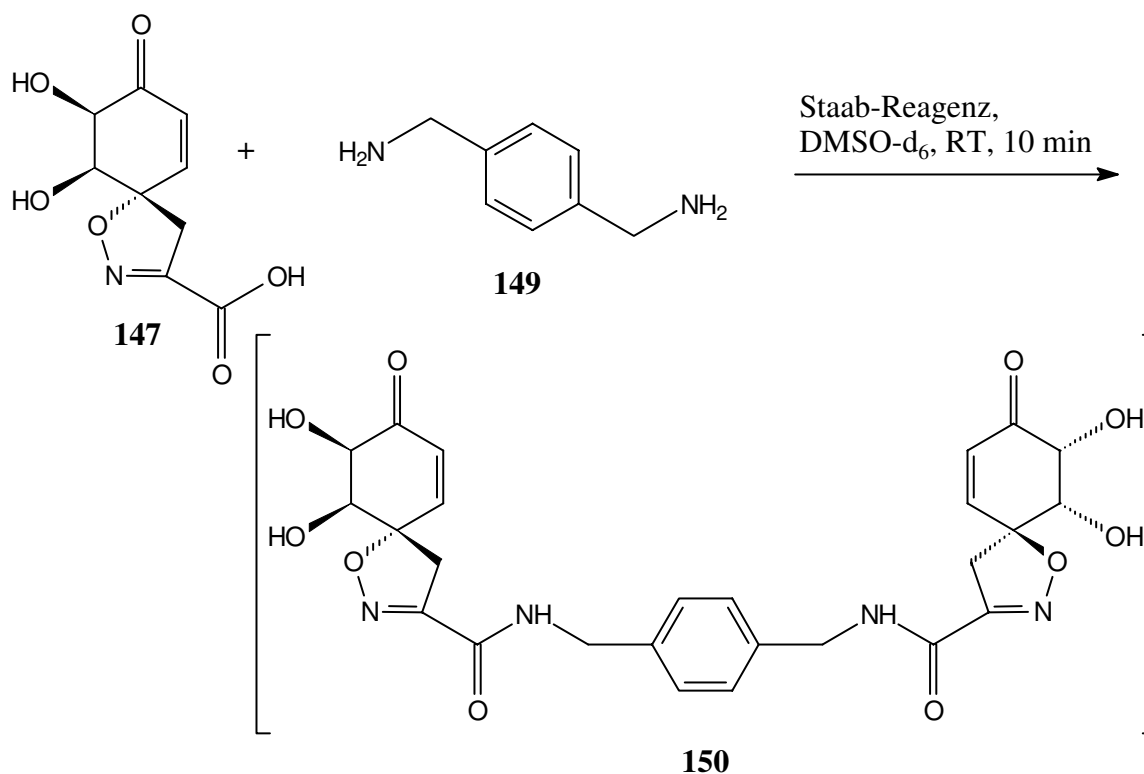
Eine Besonderheit des Agelorin A (**2a**) (Abb. 106) besteht darin, daß der Chromophor in einem Molekül doppelt vorhanden ist, dabei sind die beiden Kernstruktureinheiten über einen teilweise aromatischen Mittelteil miteinander verbunden.

Abb. 106: Agelorin A (**2a**)



Im vorigen Kapitel (Kap. 6.3) wurde die erfolgreiche Amidierungsreaktion der Diolcarbonsäure **147** (Abb. 105) mit Benzylamin geschildert. Das nächste Ziel sollte nun eine Bisamidierung von  $\alpha,\alpha$ -Diamino-*p*-xylol (**149**) und Carbonsäure **147** sein (Abb. 107). Dazu wurde die Säure **147** in DMSO vorgelegt und mit dem Staab-Reagenz versetzt. Nach 10 min Rühren bei Raumtemperatur erfolgte die Zugabe des Diamins **149**. Dünnschichtchromatographisch konnte man ein Amid nach weiteren 10 min Rühren bei Raumtemperatur detektieren. Dabei war die Eigenschaft der Amide hilfreich, daß sie sich mit Vanillin-Schwefelsäure als Färbereagenz gut nachweisen lassen (gelbgrüne Färbung).

Um auszuschließen, daß es sich dabei um das Monoamid handelte, wurde noch mit Bromkresolgrün angefärbt, eine freie Aminofunktion müßte sich durch ein intensives Blau bemerkbar machen, was jedoch ausblieb. Es mußte sich folglich bei dem entstandenen Produkt um das Bisamid **150** handeln.

Abb. 107: Bildung des Bisamids **150**

Das Diolbisamid **150** ist wegen seiner vier OH- und zwei NH-Funktionen sehr polar, weshalb keine wäßrige Aufarbeitung erfolgte. Statt dessen wurde eine Säulenchromatographie durchgeführt (EE/PE = 3:1), wobei sich das Bisamid **150** relativ gut reinigen ließ (keine Zersetzung laut DC). Nach dem Entfernen der Lösungsmittel im Vakuum ließ sich jedoch weder dünnschichtchromatographisch noch <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch das Amid **150** nachweisen.

Eine mögliche Erklärung dieser Beobachtungen ist die Annahme, daß das Bisamid nicht besonders stabil ist. Fände unter den oben angegebenen Bedingungen, d.h. beim Entfernen des DMSO im Vakuum, eine Zersetzung statt und wären die entstehenden Zersetzungsprodukte leicht flüchtig, dann ist eine Verdampfung dieser Verbindung durchaus denkbar.

Um die Entstehung des Bisamids nachzuweisen, wurde das Experiment wiederholt, nur verwendete man nun DMSO-d<sub>6</sub> als Lösungsmittel, und es wurde nach der Säulenchromatographie (EE/PE = 3:1) nicht vollständig eingedampft. Weil DMSO-d<sub>6</sub> einen

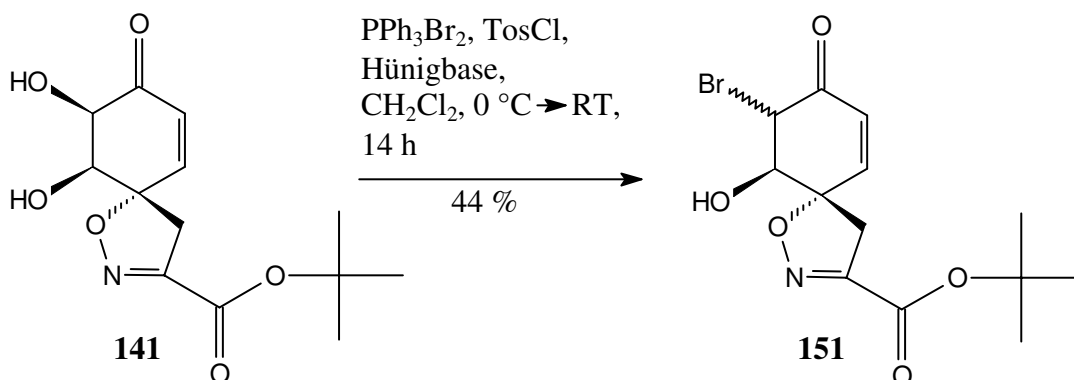
sehr hohen Siedepunkt hat, sollte es das Lösungsmittel sein, das am schwierigsten zu entfernen ist, wodurch eine spektroskopische Untersuchung des Bisamids **150** in Lösung möglich wurde. Der Rückstand wurde durch ein  $^1\text{H-NMR}$ - sowie ein FAB-Massenspektrum charakterisiert, eine Ausbeute wurde nicht bestimmt (Abb. 107).

Da die Entfernung des DMSO im Vakuum mit so großen Schwierigkeiten verbunden war, sollte ein leichter flüchtiges Lösungsmittel bei der Amidierungsreaktion verwendet werden. Die beiden einzigen Lösungsmittel, in denen sowohl die Diolcarbonsäure **147** als auch  $\alpha,\alpha'$ -Diamino-*p*-xylol **149** lösten, waren DMSO und DMF. Durch Verwendung von DMF konnte jedoch kein Fortschritt erzielt werden.

Aus diesen Ergebnissen zog man den Schluß, daß man eine unpolare Carbonsäure in diese prinzipiell erfolgreiche Bisamidierungsreaktion einsetzen mußte. In einem solchen Fall wäre eine wäßrige Aufarbeitung möglich, und das DMSO bliebe in der Wasserphase zurück. Dadurch sollte das Eindampfen der Lösungsmittel wesentlich einfacher werden. Deshalb wurde nun die Darstellung einer Epoxycarbonsäure **153** angestrebt.

Zu diesem Zweck wurde die in Kap. 5.2 beschriebene Bromierungsreaktion auf das Spiroisoxazolin-*tert*-butylesterdiol **141** angewandt (Abb. 108).

Abb. 108: Bildung des Bromhydrins **151**

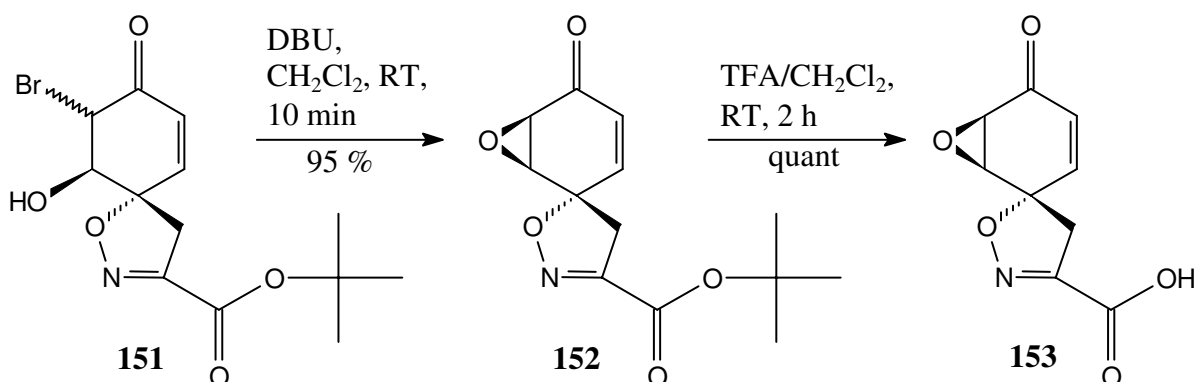


Die Bildung des Bromhydrins **151** war jedoch schwieriger als erwartet, denn die Reaktion des *tert*-Butylesterderivates **141** verlief langsamer als die der Methyl ester Verbindung **51**. Das Problem war, daß sich die *tert*-Butylester Verbindung **141** auch schneller zersetzte als das

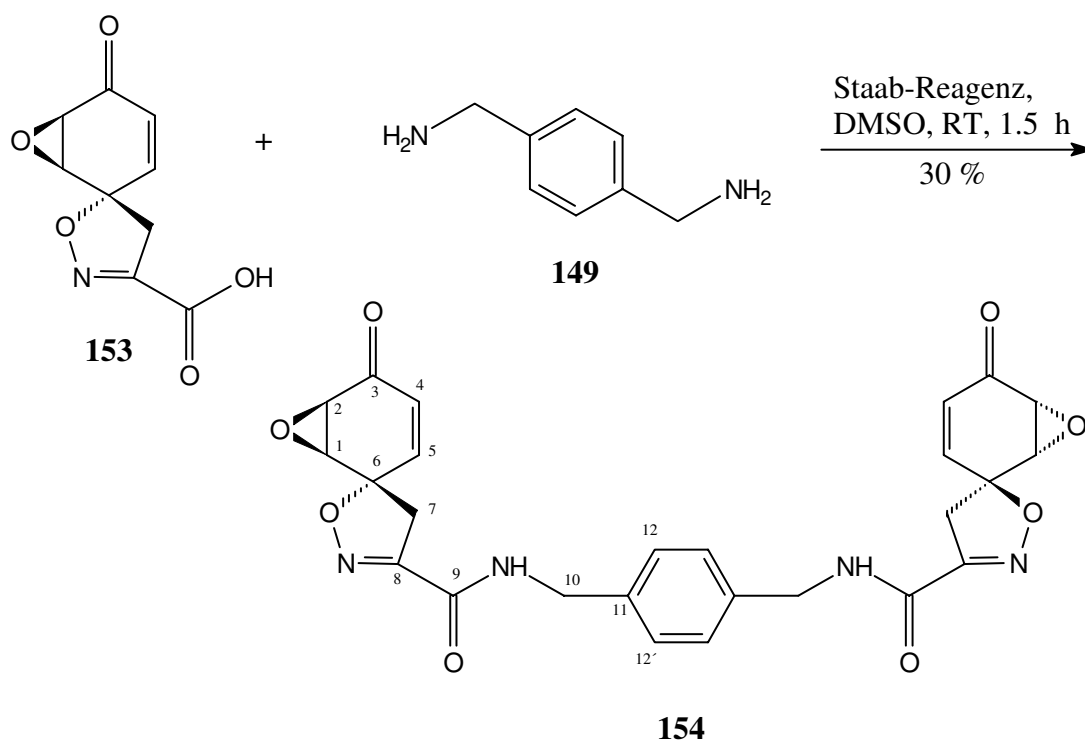
Methylesterderivat **51**, weshalb die Reaktionszeit nicht beliebig erhöht werden konnte. Es mußte vielmehr so konzentriert wie möglich gearbeitet werden. Außerdem war der Zusatz von 0.3 eq TosCl nicht mehr ausreichend, es mußte in äquimolaren Mengen zugegeben werden. Durch diese Modifikationen der Reaktionsbedingungen konnte das Bromhydrin **151** mit einer Ausbeute von 44 % als Diastereomerenmisch (*trans*-Bromhydrin : *cis*-Bromhydrin = 0.8:1) generiert werden.

Der Ringschluß zum Epoxid mit DBU verlief analog zur Methylesterverbindung mit sehr guter Ausbeute von 95 % (Abb. 109). Nun stand die Hydrolyse des Esters bevor. Dazu ließ man das Spiroisoxazolineepoxid **152** zwei Stunden bei Raumtemperatur in einem TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Gemisch (1:1) rühren. Man erhielt mit quantitativer Ausbeute die angestrebte Säure, die ohne weitere Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt werden konnte (Abb. 109).

Abb. 109: Generierung des Epoxids **152** und anschließende Hydrolyse des Esters



Nach der Kupplung der Epoxycarbonsäure **153** mit  $\alpha, \alpha$ -Diamino-*p*-xylool (**149**) sollte das entstandene Bisamid unpolar genug für eine wäßrige Aufarbeitung sein. Man brachte also die Epoxycarbonsäure **153** mit dem Staab-Reagenz und  $\alpha, \alpha$ -Diamino-*p*-xylool (**149**) in DMSO bei Raumtemperatur zur Reaktion, wodurch nach wäßriger Aufarbeitung und Säulenchromatographie 30 % des Epoxybisamids **154** isoliert werden konnten.

Abb. 110: Bildung des Epoxybisamids **154**

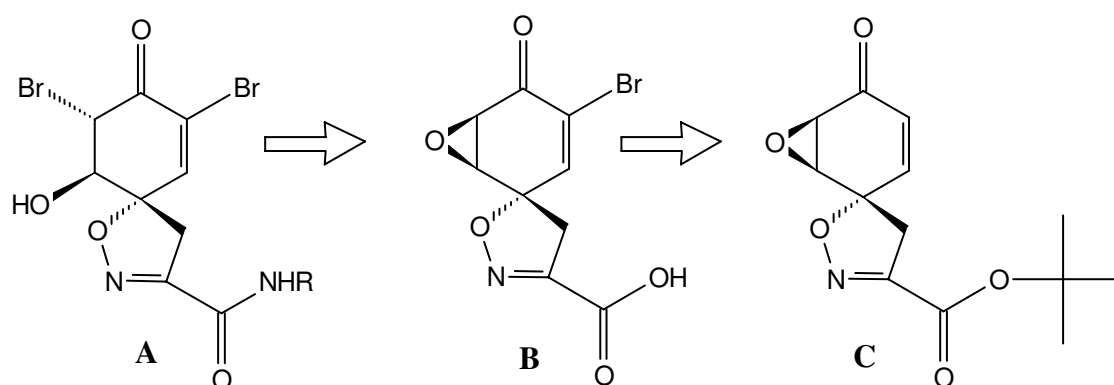
An dieser Stelle soll auf einige wichtige Eigenschaften dieses Bisamids **154** hingewiesen werden. Zum einen war es nicht möglich, die verwendeten Lösungsmittel vollständig aus dem Produkt zu entfernen, was ein allgemeines Phänomen der Spiroisoxazoline ist. Dies wurde von *T. Fendert*<sup>47</sup> bestätigt, der sich mit dem Isofistularin-3 und dessen enzymatischen Abbau (Kap. 8) beschäftigt. Aus diesem Grund war eine Anfertigung von Elementaranalysen nicht möglich. Zum anderen ist dieses Molekül **154** C<sub>2</sub>-symmetrisch, weshalb das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum nur einen halben Signalsatz aufweist. Im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum machte sich die Amidmesomerie durch Verdopplung der Signale von C-12 bzw. C-12', C-11 und C-6 bemerkbar.

Durch die in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß eine Bisamidierung in einem Schritt mit dem Staab-Reagenz durchführbar ist.

## 6.5 Darstellung der Amidokernstruktur 158

In der Reihe der Methylesterverbindungen war die Synthese einer Kernstruktur gelungen (Kap. 5.1). Durch Austausch des Methylesters gegen einen *tert*-Butylester war die Darstellung einer Carbonsäure und die nachfolgende Amidierungsreaktion möglich geworden. Der nun anstehende Schritt bestand darin, beide Synthesekonzepte miteinander in Einklang zu bringen, um eine Amidokernstruktur **A** generieren zu können (Schema 11). Ein geeignetes Ausgangsmaterial für dieses Vorhaben stellte das Epoxid **C** dar.

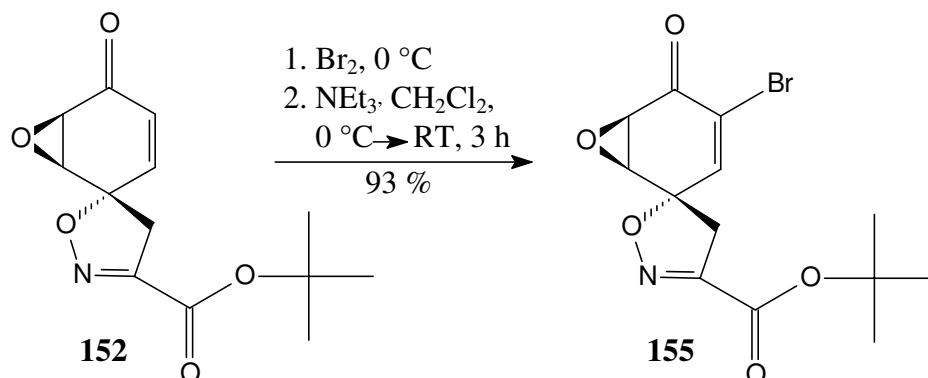
Schema 11: Weg zur Amidokernstruktur **A**



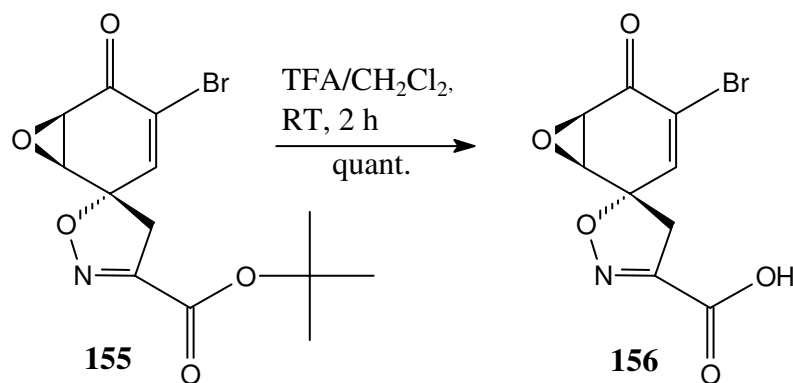
Geplant war, auf der Stufe des Epoxids **C** das Vinylbromid einzuführen, dann die Carbonsäure unter Bildung von **B** zu generieren, woran die Kupplung zum Amid angeschlossen werden sollte. Zum Schluß sollte dann das Epoxid unter Bildung der Amidokernstruktur **A** geöffnet werden.

Bei der Einführung des Vinylbromids konnte man auf die bewährte Additions-Eliminierungs-Sequenz<sup>30</sup> zurückgreifen, die in dieser Arbeit schon mehrfach verwendet worden war. Durch Behandeln mit einem Äquivalent elementarem Broms und anschließendes Zusetzen von Hünigbase wurden 93 % des Epoxybromids **155** erhalten (Abb. 111).

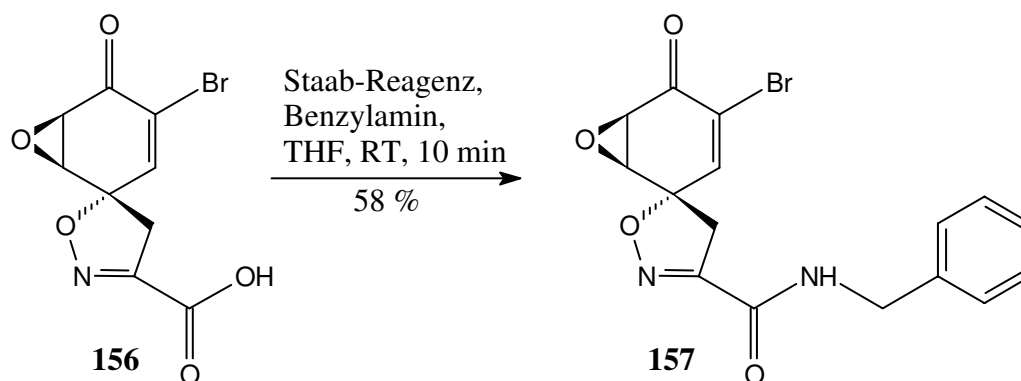


Abb. 111: Transformation zum Epoxybromid **155**

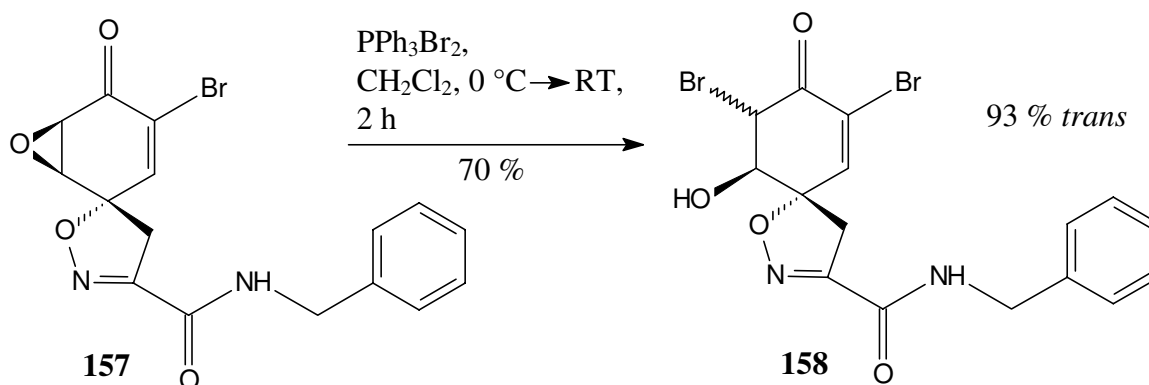
Die Hydrolyse des Esters **155** wurde wieder durch Umsetzen mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> erreicht und man erhielt mit quantitativer Ausbeute die 4-Bromspiroisoxazolincarbonsäure **156** (Abb. 112).

Abb. 112: Säureinduzierte Spaltung des Esters **155**

Das Rohprodukt dieser Säure **156** wurde in die nun folgende Amidierungsreaktion eingesetzt. Man ließ die Carbonsäure **156**, das Staab-Reagenz und Benzylamin 10 min bei Raumtemperatur miteinander reagieren, wobei sich mit 58 % Ausbeute das Kupplungsprodukt **157** bildete (Abb. 113).

Abb. 113: Amidierung der 4-Bromepoxysäure **156**

Den letzten noch zu vollziehenden Schritt stellte die nucleophile Öffnung des Epoxids durch Bromanionen dar. Diese Transformation erfolgte mit Hilfe von Triphenylphosphindibromid in 70 % Ausbeute, das Produkt **158** lag dabei als nicht trennbares Diastereomergemisch im Verhältnis 93:7 (*trans*-Bromhydrin : *cis*-Bromhydrin,  $^1\text{H-NMR}$ ) vor (Abb. 114).

Abb. 114: Letzte Stufe der Synthese der Amidokernstruktur **158**

Die Bildung des Bromhydrins sollte eigentlich regio- und stereoselektiv verlaufen. Regioselektiv, da C-1 neben einem quartären Kohlenstoffatom steht, stereoselektiv, weil der Angriff des Nucleophils nur von der  $\alpha$ -Seite erfolgen kann. Das betreffende Chiralitätszentrum befindet sich jedoch neben einer Carbonylgruppe, weshalb eine Epimerisierung stattfinden konnte. Dabei wurde sicherlich ein Enol durchlaufen, dessen Bildung durch Säure katalysiert wird. Aus diesem Grund lag die Vermutung nahe, daß die Isomerisierung während der Säulenchromatographie eingetreten war. Daraufhin erfolgte die

Reinigung des Produktes beim nächsten Versuch mit Alox N, was jedoch zur Zersetzung führte.

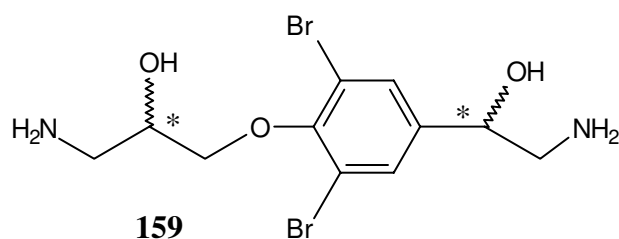
Die Amidokernstruktur **158** wurde neben einigen anderen Verbindungen in Würzburg am Julius-von-Sachs-Institut auf ihre Enzymaktivität (siehe Kap. 8) untersucht. Der Test erfolgte bei einem pH-Wert von 6.0 und einer Temperatur von 50 °C, wodurch sich ein Diastereomergemisch im Verhältnis 1:2 bildete (HPLC). Diese Beobachtungen lassen den Schluß zu, daß eine Isomerisierung der Amidokernstruktur **158** ebenso wie bei der Methylesterkernstruktur **88** leicht möglich ist. Man konnte in diesem Zusammenhang nicht klären, ob sie schon während der Reaktion oder erst bei der säulenchromatographischen Reinigung einsetzte.

Im Rahmen der Studien zur Herstellung einer Amidokernstruktur **158** konnte bewiesen werden, daß die Hydrolyse des Esters auch auf der Stufe des 4-Bromepoxides **155** erreicht werden kann. Die resultierende Carbonsäure **156** konnte mit Benzylamin zum Amid umfunktionalisiert werden, was die allgemeine Anwendbarkeit der Staab-Methode auf die Spiroisoxazoline deutlich macht. Auch die Öffnung des Epoxids ist gelungen, womit die Synthese des Amido-Agelorin-A-Chromophors **158** abgeschlossen war.

## 6.6 Synthese eines Mittelteilvorläufers

Parallel zur Synthese des Chromophors wurden Versuche unternommen, den Mittelteil des Agelirin A (**2a**) zu generieren. Das in diesem Zusammenhang angestrebte Diamin **159** ist in Abb. 115 aufgezeichnet.

Abb. 115: Diamin **159**, dem Mittelteil entsprechend



Wie in Kap. 1.2 bereits besprochen, ist die absolute Konfiguration der beiden Chiralitätszentren im Mittelteil nicht aufgeklärt. Eine Totalsynthese des Agelirin A (**2a**) könnte hier Aufschluß bringen.

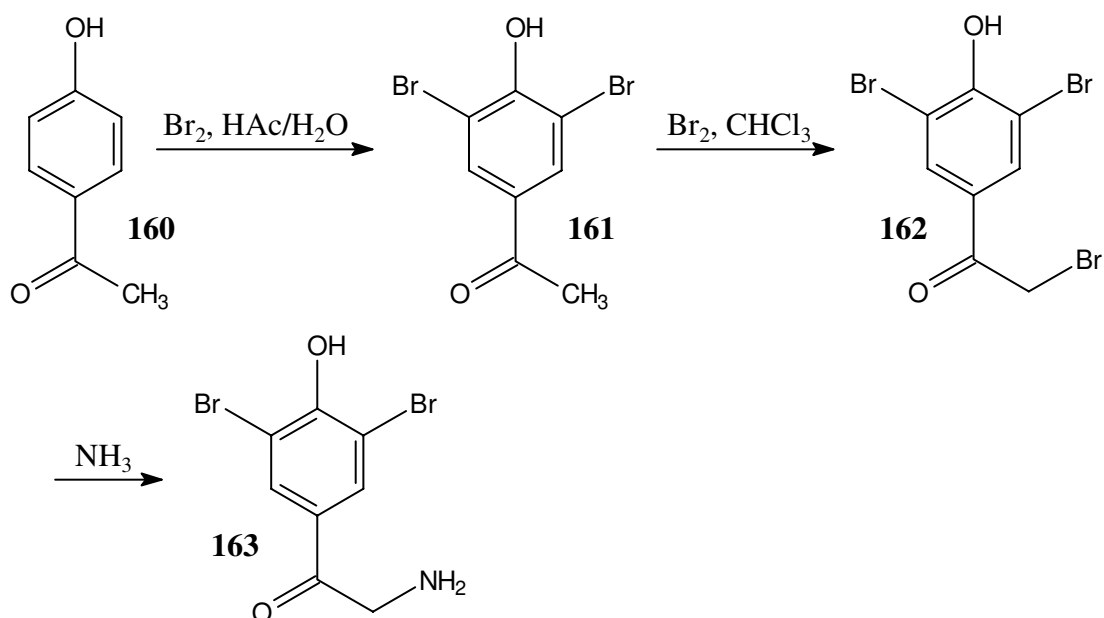
Eine Literaturrecherche ergab, daß sich das Dibromphenol **163** (Abb. 116) leicht in drei Stufen bereitstellen ließ.<sup>48</sup> Diese Verbindung schien als Ausgangspunkt der Synthese des Mittelteils gut geeignet zu sein, da der Aromat und die Seitenkette das richtige Substitutionsmuster aufwiesen. Das Phenol sollte später in den Ether umfunktionalisiert werden.

Die Synthese nach *Nye et. al.*<sup>48a</sup> ließ sich gut reproduzieren. Durch elektrophile Substitution am Aromaten konnten die beiden Bromatome an das 4-Hydroxyacetophenon (**160**) gebunden werden. Danach erfolgte eine radikalische Bromierung der Seitenkette unter Bildung des  $\alpha$ -Bromketons **162**. Nun wurde mit Ammoniak umgesetzt, wodurch das Bromatom der Seitenkette in ein Amin umgewandelt werden konnte.

Man mußte jedoch feststellen, daß das Ketoamin **163** nur noch in konzentrierter Salzsäure zu lösen war, weshalb vorgezogen wurde, mit dem Bromketon **162** Versuche zur Etherkupplung zu unternehmen. Außerdem hat man bei **162** kein freies Amin vorliegen, so daß das Molekül

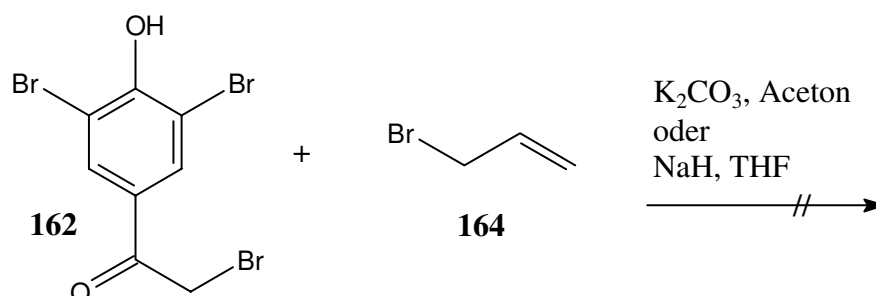
nur noch ein Nucleophil enthält, das zu berücksichtigen war.

Abb. 116: Darstellung des Aminoketons nach Nye



Es zeigte sich, daß die Transformation zum Ether nicht ablief. Ein Umsetzen des Bromketons **162** mit Allylbromid (**164**) und  $\text{K}_2\text{CO}_3$ <sup>49</sup> führte zu einem nicht identifizierbaren, unlöslichen Feststoff. Das gleiche Ergebnis beobachtete man, wenn man die beiden oben genannten Edukte mit Natriumhydrid in THF<sup>50</sup> versetzte (Abb. 117).

Abb. 117: Versuche zur Generierung des Ethers



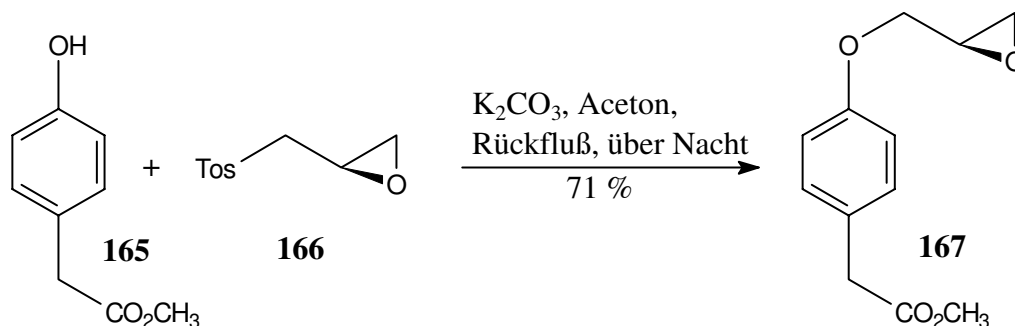
Eine genaue Betrachtung des Moleküls **162** zeigte deutlich, daß der -M-Effekt der Ketofunktion von **162** eine Etherbildung auf jeden Fall erschwert, wenn nicht gar verhindert. Aus diesem Grund wurde versucht, das Keton als Ketal mit 2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan<sup>51a</sup> zu

schützen, was jedoch nicht gelang. Der Versuch mit PPTS<sup>51b</sup> als Katalysator schlug ebenso fehl wie die Verwendung von BF<sub>3</sub>-Etherat, um die Reaktion zu beschleunigen.

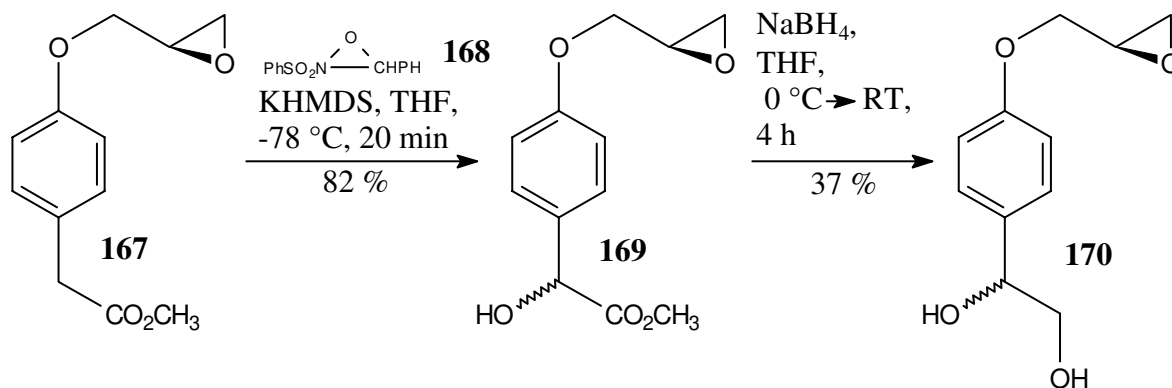
Was die Reaktion zusätzlich erschwert, sind die beiden Bromatome, die sich jeweils in  $\alpha$ -Position zum Phenol befinden. Ihre große räumlich Ausdehnung sowie ihr -I-Effekt führen sicherlich zu einer Desaktivierung der OH-Gruppe.

Man griff daraufhin auf das 4-Hydroxyacetophenon (**160**) zurück und versuchte, es mit (2S)-(+)-*p*-Toluolsulfonsäure-(2,3-epoxypropylester) (**166**) zur Reaktion zu bringen. Dies gelang weder mit Natriumhydrid in THF, noch mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in Aceton. Man zog daraus den Schluß, daß eine Etherkupplung nur dann möglich ist, wenn beide kontraproduktiven Faktoren (Keton, Bromatome) umgangen wurden. Aus diesem Grund versuchte man, *p*-Hydroxyphenyl-essigsäuremethylester (**165**) mit (2S)-(+)-*p*-Toluolsulfonsäure-(2,3-epoxypropylester) (**166**) zu kuppeln. Das Experiment mit Natriumhydrid in THF brachte keinen Erfolg, dagegen gelang die Reaktion mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in Aceton unter Rückfluß mit 71 % Ausbeute (Abb. 118).

Abb. 118: Knüpfen der Etherbindung



Weil die Methylengruppe von **165** in  $\alpha$ -Position zum Ester zusätzlich durch den Aromaten aktiviert war, wurde nun zur Einführung der OH-Gruppe mit dem Davis-Reagenz **168** und Kaliumhexamethyldisilazan (KHMDs)<sup>52</sup> versetzt. Die Oxidation zum Alkohol gelang auf diese Weise mit 82 % Ausbeute. Man hatte jedoch keine Selektivität induziert, weshalb man ein Diastereomerenmisch zu erwarten hatte. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum deutete nichts darauf hin, wohingegen im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum zwei Signale für C-8 zu sehen waren, die nur schlecht separiert waren, weshalb auf eine Angabe des Diastereomerenverhältnisses verzichtet werden muß (Abb. 119).

Abb. 119: Oxidation mit dem Davis-Reagenz **168** und Reduktion

An dieser Stelle sollte der Ester reduziert werden. Dazu wurde mit Natriumborhydrid umgesetzt, was in 37 % Ausbeute zum Diol **170** führte.

Mit dem Diol **170** war es gelungen, einen guten Vorläufer für den Mittelteil des Agelorin A (**2a**) bereitzustellen. Durch Tosylierung der primären OH-Gruppe und anschließendem nucleophilen Angriff der sekundären Alkoholfunktion könnte ein Diepoxid generiert werden, das durch Behandeln mit Ammoniak zum Diamin transformiert werden könnte. Ob diese Reaktionssequenz zum Erfolg führt und auf welcher Stufe die Bromatome einzuführen sind, muß Gegenstand zukünftiger Forschung bleiben.

## 7 Untersuchungen zur Hemmung des Zellwachstums sowie Cytotoxizität der Spiroisoxazoline

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die von *F. Nerenz*<sup>16</sup> begonnenen Studien zur biologischen Aktivität der Spiroisoxazoline weitergeführt. Ziel war es, durch Variation der absoluten Konfiguration und des Substitutions- sowie Funktionalisierungsmusters Aussagen über Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu machen.

Die dazu notwendigen Tests wurden von *W. Beil*<sup>53</sup> und seinen Mitarbeitern am Institut für Allgemeine Pharmakologie der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten gemäß den NCI-Richtlinien<sup>54</sup> mit den Tumorzellen HM02 (Magenadenocarcinom), HEP G2 (Lebercarzinom) und Kato III (Koloncarcinom) bzw. MCF 7 (Mammacarcinom). Die Zellen wurden auf 96-well Mikrotiterplatten mit dem Medium RPMI 1640 mit 10 % fetalem Kälberserum kultiviert. 24 h nach der Aussaat wurden die Prüfsubstanzen als methanolische Lösung (Konz.: 0,5, 1, 5, 10, 50 oder 100  $\mu\text{mol/l}$ ) zugegeben und die Zellen für weitere 48 h kultiviert. Nach dieser Zeit wurde die Zellzahl bestimmt (Proteinbestimmung mit Sulforhodamin).

Die Testsubstanzen sind in Abb. 120 zu sehen. Die dazugehörigen Werte  $\text{GI}_{50}$ , TGI und  $\text{LC}_{50}$  sind in Tabelle 6 aufgelistet. Dabei gibt der  $\text{GI}_{50}$ -Wert die Konzentration an, die eine halbmaximale Hemmung des Zellwachstums bewirkt. Der TGI-Wert gibt die molare Wirkkonzentration an, die zu einem Erliegen des Zellwachstums führt. Der  $\text{LC}_{50}$ -Wert beschreibt die Konzentration, die für eine halbmaximale cytotoxische Wirkung nötig ist. Im Falle der Zelllinie HM02 wurden zum Vergleich die Daten der Cytostatika 5-Fluorouracil, *cis*-Platin und Doxorubizin hinzugefügt. Die Daten der Methylverbindungen wurden der Dissertation von *F. Nerenz* entnommen. Alle anderen Verbindungen waren im Rahmen dieser Arbeit dargestellt worden. Von den Verbindungen **51**, **74** und **87** wurden jeweils beide Enantiomere der Untersuchung unterzogen.

Allgemein ist festzustellen, daß die Methylverbindungen sehr viel wirksamer sind als die Methylesterderivate und das Amid **109**. Besonders ausgeprägt ist dieser Unterschied bei den beiden Enonen **43** und **72**.



Abb. 120: getestete Verbindungen

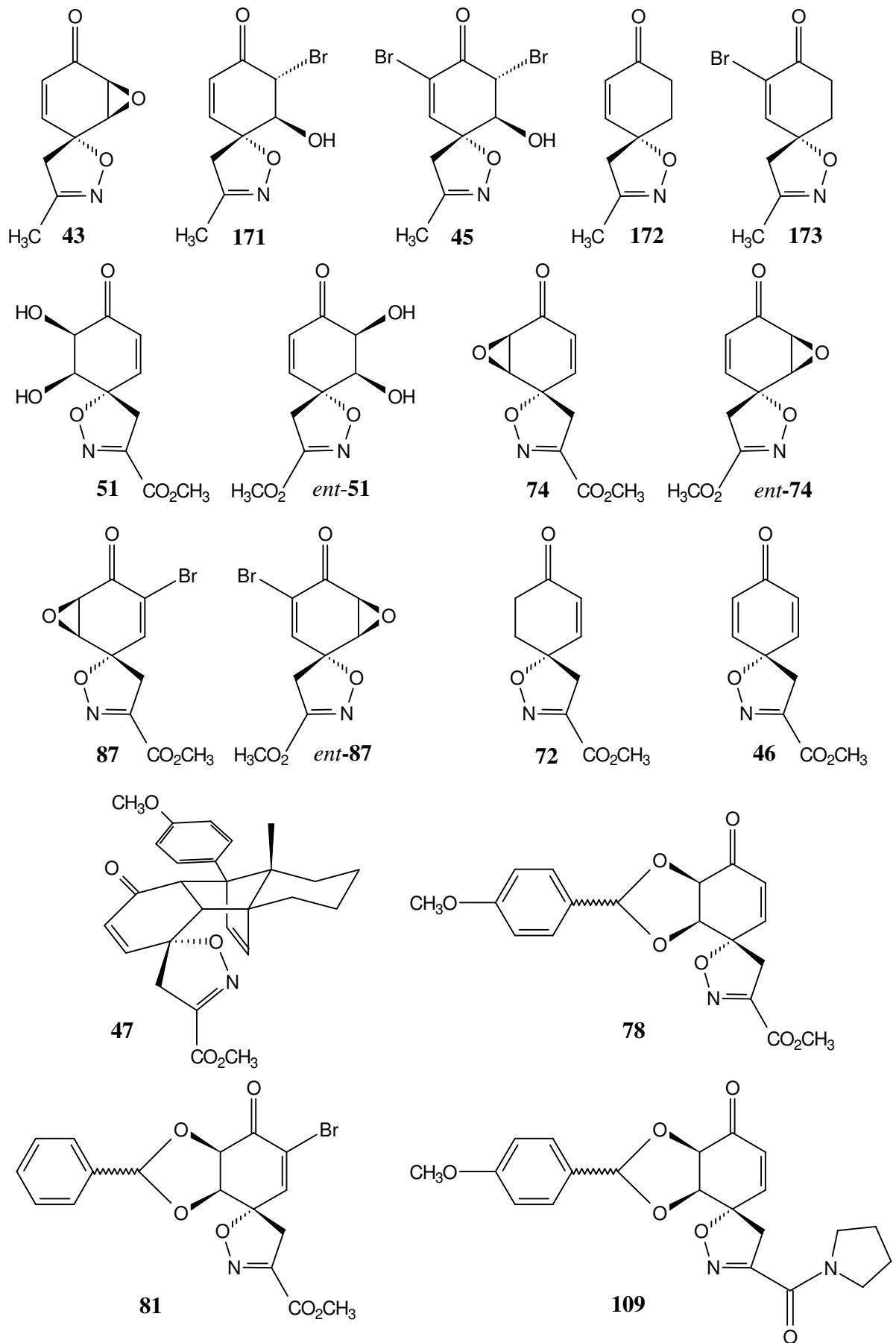


Tabelle 6: GI50-, TGI- und LC50-Werte der Testsubstanzen bei den einzelnen Zelllinien [ $\mu\text{mol/l}$ ]

Substanz	HM02			HEP G2			Kato III			MCF 7		
	GI <sub>50</sub>	TGI	LC <sub>50</sub>	GI <sub>50</sub>	TGI	LC <sub>50</sub>	GI <sub>50</sub>	TGI	LC <sub>50</sub>	GI <sub>50</sub>	TGI	LC <sub>50</sub>
Ketoepoxid <b>43</b>	0.065	0.11	0.19	0.015	0.05	0.65	0.023	0.05	0.085			
Bromhydrin <b>171</b>	< 0.01	< 0.01	0.03	0.017	0.05	0.07	< 0.01	< 0.01	< 0.01			
Kernstruktur <b>45</b>	0.05	0.04	0.05	0.11	0.018	0.06	0.026	0.036	0.05			
Enon <b>172</b>	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.01	0.03	0.31	< 0.01	< 0.01	< 0.01			
Bromenon <b>173</b>	0.024	0.034	0.075	0.012	0.02	0.06	0.042	0.07	0.26			
Diol <b>51</b>	0.59	8.5	50	3.3	10	> 50	< 0.50	0.55	4			
<i>ent</i> -Diol <i>ent</i> - <b>51</b>	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50				> 50	> 50	> 50
Epoxid <b>74</b>	5.5	9.0	> 50	11	50	> 50				14	> 50	> 50
<i>ent</i> -Epoxid <i>ent</i> - <b>74</b>	0.75	1.2	10	1.2	2.6	6.5				1.4	5.0	> 50
Epoxybromid <b>87</b>	1.0	5.0	3.0	1.0	5.0	22				1.2	10	> 50
<i>ent</i> -Epoxybromid <i>ent</i> - <b>87</b>	6.2	10	32	0.6	5.0	10				1.0	5.0	> 50
Enon <b>72</b>	16	42	> 50	0.5	5.0	33				1.8	10	> 50
Endion <b>46</b>	28	> 50	> 50	5.7	> 50	> 50	3.4	34	> 100			
Addukt <b>47</b>	10	> 50	> 50	0.87	6.4	> 50	0.5	20	> 100			
gesch. Diol <b>78</b>	0.77	10.0	50	0.5	0.9	> 50	< 0.5	0.75	28			
Bromid <b>81</b>	11	44	> 50	0.5	2.8	> 50	2.2	12	38			
Amid <b>109</b>	5.5	10	33	0.6	5.0	30				1.0	10	> 50
5-Fluorouracil	23	ca. 50	> 50									
<i>cis</i> -Platin	0.1	3	10									
Doxorubicin	1.2	19	> 50									

Die Frage, ob eine bestimmte absolute Konfiguration am Spirozentrum zu einer erhöhten biologischen Aktivität führt, sollte durch die Testung der Verbindungen **51**, *ent*-**51**, **74**, *ent*-**74**, **87** und *ent*-**87** geklärt werden. Die Testergebnisse zeigen, daß zwei Antipoden zu einer unterschiedlichen biologischen Aktivität führen können, jedoch konnte dem stärkeren Effekt keine bestimmte Konfiguration am spiroanellierten Zentrum zugewiesen werden. Im Fall der Diole **51** und *ent*-**51** ist die Verbindung **51** wirksamer als *ent*-**51**. Von den beiden Epoxiden **74** und *ent* **74** dagegen ist das Derivat *ent*-**74** aktiver.

Das Dienon **46** und das Addukt **47** erwiesen sich als unwirksam. Damit konnte die These, die Spiroisoxazolin-Struktur bedinge eine allgemeinen Giftigkeit, widerlegt werden.

Das Amid **109** hemmt das Zellwachstum befriedigend. Diese Verbindung wurde zusätzlich dem Enzymassay der Arbeitsgruppe *Proksch* (siehe nächstes Kap.) unterzogen, war aber am Enzym inaktiv. Die Fähigkeit, das Zellwachstum hemmen zu können, hat demnach nichts mit der enzymatischen Spaltbarkeit zu tun.

Eine gute Hemmwirkung in allen drei Zelllinien wurde bei den Substanzen **78** und **51** nachgewiesen, die Wirkung lag über der von 5-Fluorouracil. Da sich die beiden Verbindungen **78** und **51** lediglich durch eine Schutzgruppe am Diol unterscheiden, verwundern die ähnlichen Hemmeigenschaften nicht.

Aufgrund dieser Ergebnisse konnten keine zuverlässigen Regeln bezüglich der Struktur-Wirkungs-Beziehungen in Abhängigkeit vom Substitutionsmuster gemacht werden. Man fand, daß verschiedene Antipoden zu unterschiedlichen Wirksamkeiten führen können und daß der Spiroisoxazolin-Heterocyclus nicht gezwungenermaßen mit einer Toxizität der Verbindungen einhergeht.

## 8 Ökologische Untersuchungen zur wundinduzierten Abwehrreaktion von marinen Schwämmen an der Universität Würzburg

### 8.1 Einleitung<sup>55</sup>

In marinen Schwämmen der Familie der *Aplysinidae* (z.B. *Aplysina aerophoba*, *Aplysina fistularis* und *Aplysina cauliformis*, Abb. 121) findet man ungewöhnliche bromierte Spiroisoxazolin-Alkaloide, wie z.B. Isofistularin-3 (**174**) (Abb. 122).<sup>56</sup>

Abb. 121: *Aplysina aerophoba*, *Aplysina fistularis* und *Aplysina cauliformis*<sup>57</sup>



Dieses Bromotyrosin-Derivat wird bei Verwundung des Schwammes z.B. durch einen Freßfeind enzymatisch zu den Metaboliten Aeroplysinin-1 (**176**) und Dienon **178** abgebaut. Die dabei ablaufenden Prozesse sind in Abbildung 122 dargestellt.

Die Ausgangsmaterialien erfahren eine C-C-Bindungsspaltung zwischen dem Isoxazolin-Ring und dem Amid, danach erfolgt eine Öffnung des Heterocyclus. Im Falle des Isofistularins-3 (**174**) entstehen dabei Aeroplysinin (**176**) und das Zwischenprodukt Fistularin-1 (**175**). Da das Fistularin-1 (**175**) noch eine weitere Spiroisoxazolin-Einheit enthält, kann hier eine zweite enzymatische Spaltung erfolgen, wobei ein Bisoxazolidinon-Derivat **177** entsteht. Das Aeroplysinin-1 (**176**) wird höchstwahrscheinlich durch eine Nitril-Hydratase in das Dienon **178** umgewandelt, was formal einer Addition von Wasser an das Nitril entspricht.

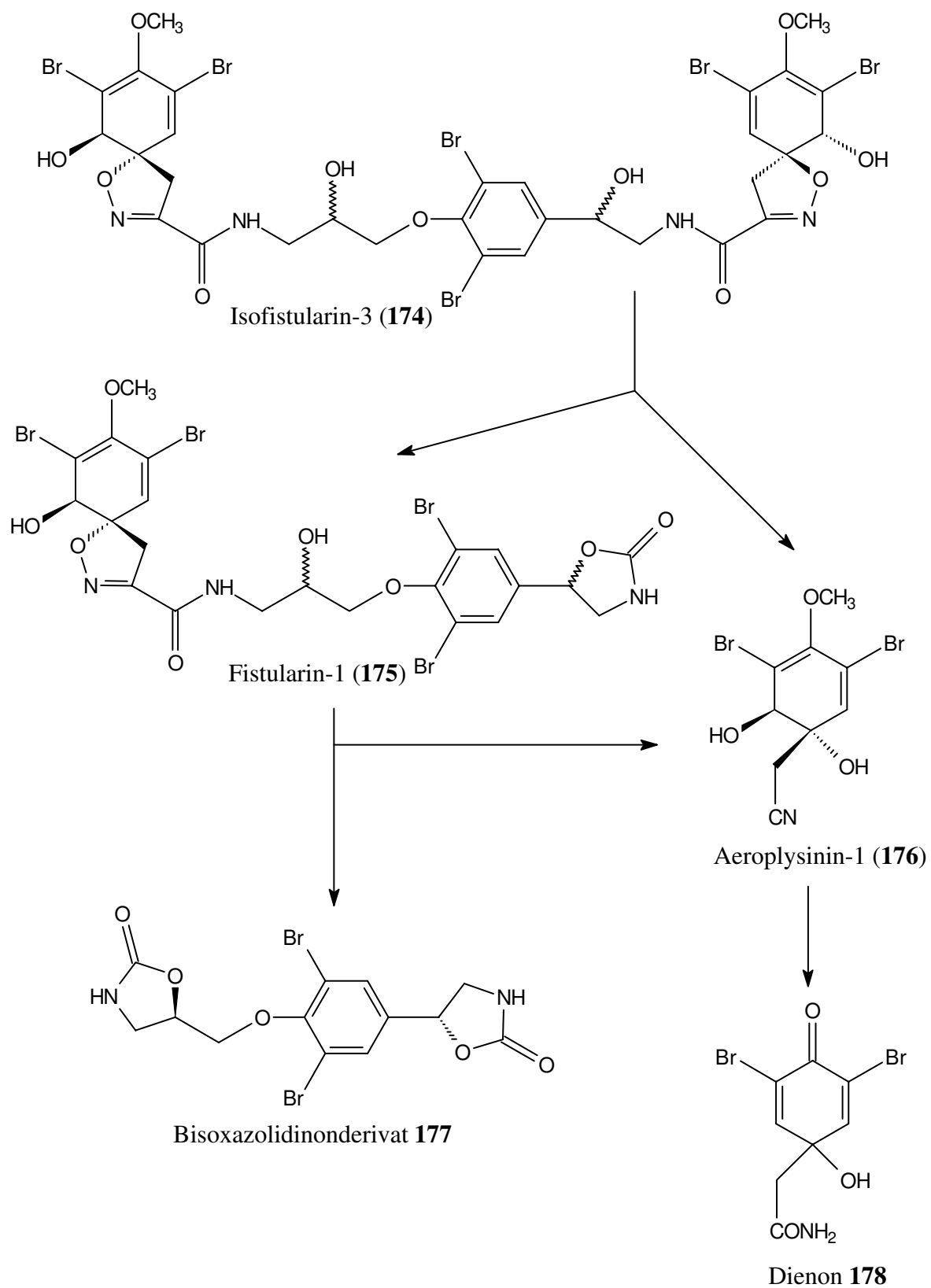
Die auf diesem Weg gebildeten Abwehrstoffe Aeroplysinin-1 (**176**) und Dienon **178** sind im Vergleich zu ihren Vorstufen biologisch sehr aktiv. Während Isofistularin-3 (**174**) entweder nur geringe oder überhaupt keine biologische Aktivität aufweist, zeigen die niedermolekularen Metabolite **176** und **178** u.a. antibiotische, mutagene und zytotoxische Eigenschaften.<sup>58</sup> Dies macht deutlich, warum der Organismus die bromierten Metabolite herstellt: Sie dienen ihm zur chemischen Abwehr von Feinden aller Art. Diese These wird durch die Tatsache unterstützt, daß man die Abbauprodukte Aeroplysinin-1 (**176**) und Dienon **178** in gesunden Zellen des Schwammes nicht detektieren kann.

Da der Schwamm nach einer Verletzung inaktive Vorstufen in biologisch wirksame Metabolite umwandelt, spricht man in diesem Fall von einer „wundinduzierten Abwehrreaktion“.

Die Spaltung der Isoxazolinalkaloide zu Aeroplysinin-1 (**176**) ist eine sehr ungewöhnliche enzymkatalysierte Hydrolysereaktion, zu der es offensichtlich kein biochemisches Pendant gibt, weshalb eine genaue Charakterisierung des Enzyms von besonderem Interesse ist.

Es sollte mit einem Schwamm gearbeitet werden, bei dem eine besonders hohe Aktivität des betreffenden Enzyms beobachtet wurde. Diese Voraussetzung erfüllte *Aplysina cauliformis*, ein Schwamm aus der Familie der *Aplysinidae*, der auf Long Island (Bahamas) in drei Meter Tiefe im Sommer 1995 gesammelt wurde.

Abb. 122: Vollständige enzymatische Spaltung von Isofistularin-3 (174)



Alle Untersuchungen wurden im Julius-von-Sachs Institut Lehrstuhl für pharmazeutische Biologie der Universität Würzburg im Arbeitskreis *Proksch* durchgeführt.<sup>59</sup>

## 8.2 Charakterisierung des Enzyms

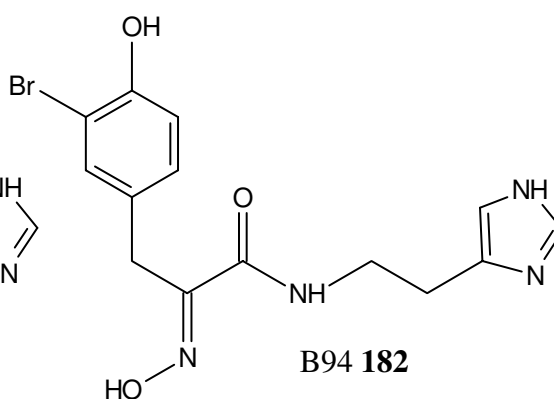
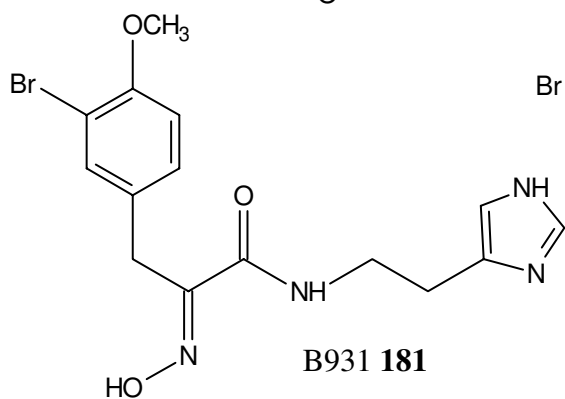
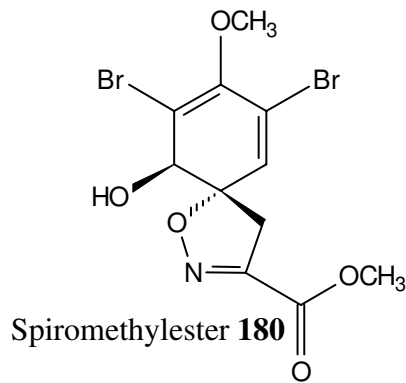
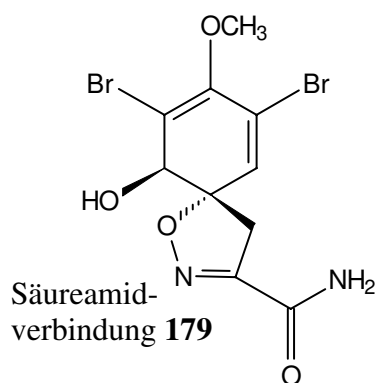
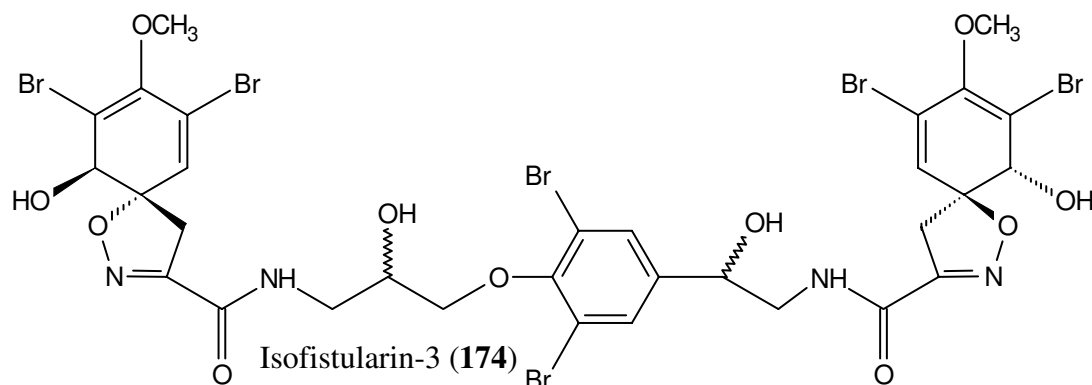
Um die Selektivität des Enzyms näher zu untersuchen, wurden zahlreiche Spiroisoxazolinderivate mit einem Enzym-Extrakt aus *Aplysina cauliformis* umgesetzt. Der optimale Arbeitsbereich dieses Enzyms liegt bei einer Temperatur zwischen 40 - 60 °C und einem pH-Wert von 6.0. Getestet wurden Isolate, im Rahmen dieser Dissertation totalsynthetisch hergestellte Analoga und ein Oxim **183**, das aus Isofistularin-3 (**174**) synthetisiert worden war. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

Jede Verbindung wurde zunächst einmal daraufhin untersucht, ob sie vom Enzymkomplex abgebaut wird. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe von HPLC-Chromatogrammen. Dabei wurde die Veränderung der Integrale der Eduktpeaks als Kriterium für einen Abbau herangezogen. Sofern vorhanden, wurden neu auftretende Produktpeaks per HPLC-MS analysiert.

Bei den Untersuchungen beobachtete man, daß neben dem Isofistularin-3 (**174**) (Tabelle 7, Nr. 1) nur die Säureamidverbindung **179** (Tabelle 7, Nr. 2) und das Dibrombenzylamid **158** (Tabelle 7, Nr. 3)<sup>60</sup> quantitativ umgesetzt wurden. Das Diolbenzylamid **148** wurde zu einem geringeren Prozentsatz abgebaut (Tabelle 7, Nr. 4), ein Befund, der zu einem Kinetik-Experiment Anlaß gab. Hierbei wurden nach 20, 40 und 60 min Inkubationszeit Proben entnommen und analysiert. Dabei fand man, daß eine längere Reaktionszeit zu einem vermehrten Abbau führte (Abb. 126). Das HPLC-MS-Spektrum des einzigen, aber viel zu geringen Produktpeaks gab keinen Aufschluß darüber, ob das Substrat vom Enzym abgebaut wurde oder ob nur eine Zersetzung für den Umsatz verantwortlich war. Nach den Erfahrungen, die mit dem Diolbisamid **150** (Kap. 6.4, Abb. 125) gemacht wurden, ist es denkbar, daß ein Umsatz stattgefunden hat, das Produkt jedoch nicht stabil war und die daraus entstehenden Zersetzungsprodukte leichtflüchtig waren. Bei einer Temperatur von 50 °C (optimale Temperatur für den Enzymassay) mußte eine Verdampfung der Abbauprodukte in Betracht gezogen werden. Eine definitive Aussage über die Spaltbarkeit dieses Substrates läßt sich mit den vorliegenden Ergebnissen daher nicht machen.

Abb. 123: Substrate des Enzymtests I

**1. Isolate**



**2. Oxim, das aus Isofistularin-3 gewonnen wurde**

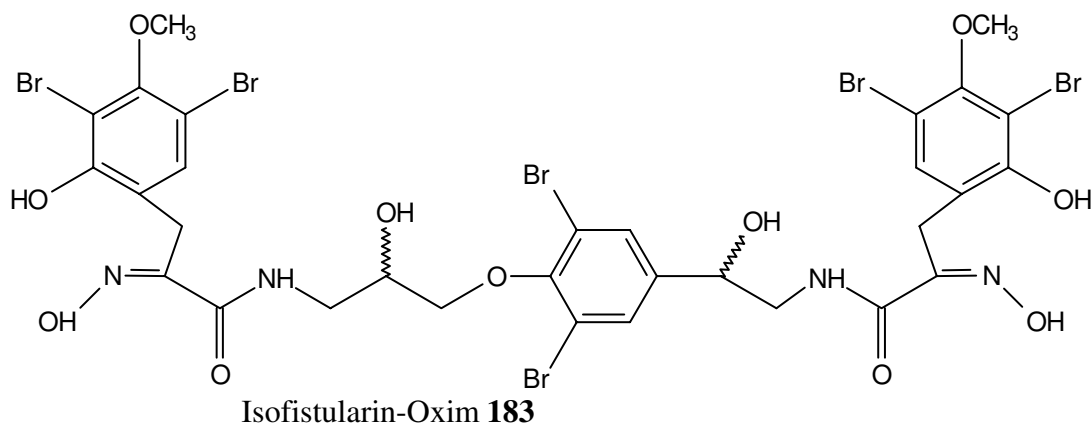




Abb. 124: Substrate des Enzymtests II

**3. Totalsynthetisch dargestellte Analoga**

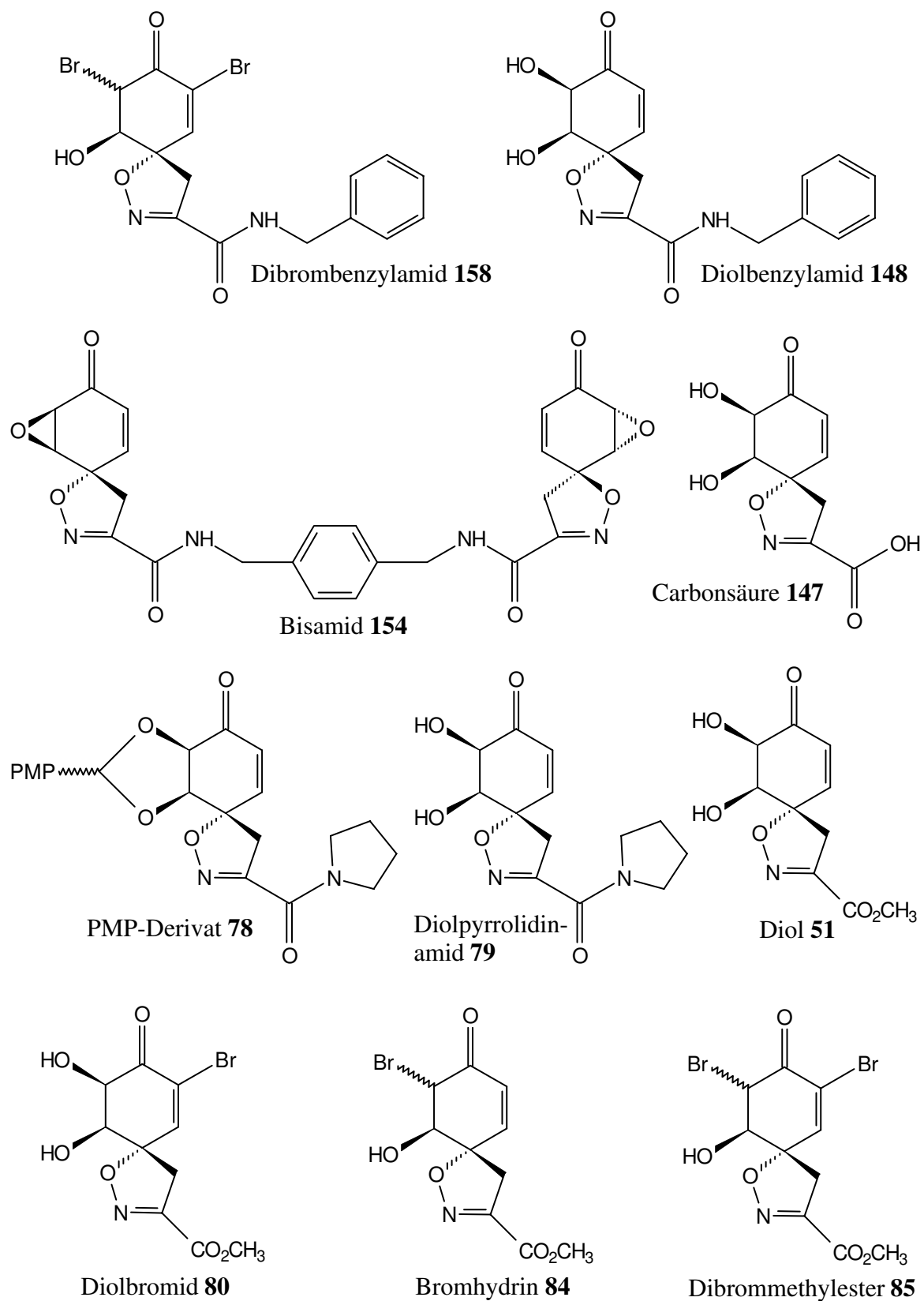
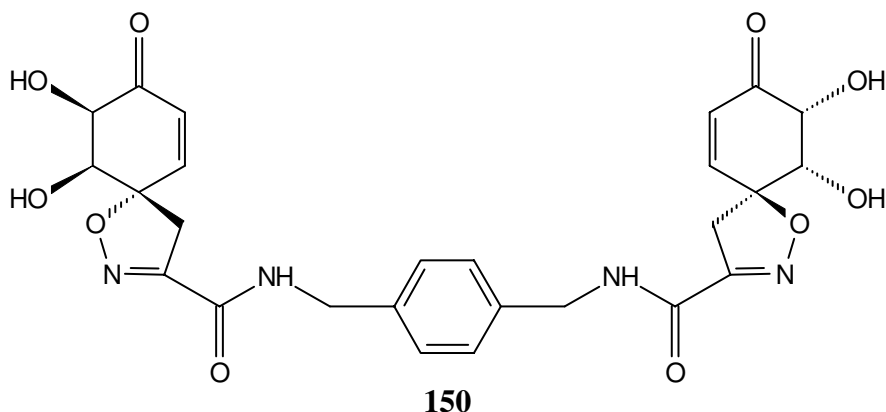
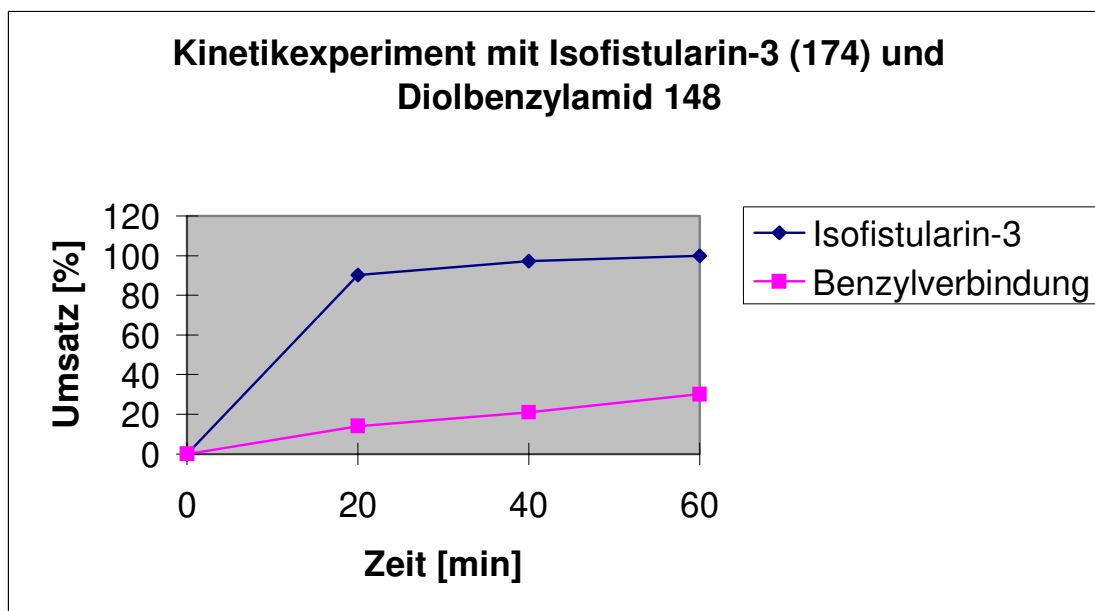


Abb. 125: Das Diolbisamid **150**

Bei allen anderen getesteten Substraten lag der Umsatz im Bereich der üblicherweise beobachteten Schwankungen, außerdem konnte jeweils kein definiertes Folgeprodukt nachgewiesen werden (Tabelle 7, Nr. 5 - 16).

Abb. 126: Diagramm zur Kinetik des Diolbenzylamids **148**

Im Fall des Bromhydrins **84** (Tabelle 7, Nr. 13), des Diolbromids **80** (Tabelle 7, Nr. 11) und des Dibrommethylester **85** (Tabelle 7, Nr. 8) erfolgten aufgrund der sehr hohen strukturellen Ähnlichkeit zur Isofistularin-Kernstruktur zusätzliche Versuche zur kinetischen Hemmung. Dazu setzte man ein Gemisch aus dem jeweiligen Substrat und Isofistularin-3 (**174**) mit dem

Enzym um und entnahm nach verschiedenen Reaktionszeiten Proben um sie bezüglich des Umsatzes von Isofistularin-3 (**174**) zu untersuchen. Bei einer kinetischen Hemmung hätte der Umbau des Isofistularin-3 (**174**) langsamer verlaufen müssen als bei einem einfachen Spaltversuch, bei dem nur das Isofistularin-3 (**174**) mit dem Enzym zur Reaktion gebracht worden war.

Es wurde erwartet, daß besonders der Dibrommethylester **85** einen Effekt zeigen würde. Wenn man davon ausgeht, daß das Ringsystem gut an die Enzymtasche angepaßt sein muß, könnte es zu Wechselwirkungen kommen, so daß dieses Enzym für eine Umsetzung des Isofistularins-3 (**174**) nicht mehr zur Verfügung steht. Man konnte jedoch für alle drei Substrate keine Hemmung feststellen, was darauf schließen läßt, daß das Amid eine wichtige Rolle bei der Bindung des Substrates an das Enzym spielt.

Da die Carbonsäure **147** nicht umgesetzt worden war (Tabelle 7, Nr 16), konnte ein zweistufiger Mechanismus, der im ersten Schritt eine Säure liefert, ausgeschlossen werden.

Tabelle 7: Übersicht der Substratspezifitätsuntersuchung des Isofistularin-3-abbauenden Enzymkomplexes aus *Aplysina*-Schwämmen

Nr.	Substratname	Umsetzung absolut [%]	Umsetzung relativ [%]	zusätzliche Versuche
1	Isofistularin-3 ( <b>174</b> )	90	100	Kinetik/Hemmung
2	Säureamid <b>179</b>	≥90	100	/
3	Dibrombenzylamid <b>158</b>	92,0	100	/
4	Diobenzylamid <b>148</b>	27,6	30,6	Kinetik
5	Bisamid <b>154*</b>	18,5	20,6	/
6	PMP-Derivat <b>78</b>	13,0	14,4	
7	Diolpyrrolidinamid <b>79</b>	11,3	12,6	/
8	Dibrommethylester <b>85</b>	11,3	12,6	Hemmung
9	Spiromethylester <b>180</b>	10,3	11,4	/
10	Isofistularin-Oxim <b>183</b>	7,8	8,7	Hemmung
11	Diobromid <b>80</b>	6,7	7,4	/
12	Diol <b>51</b>	6,7	7,4	/
13	Bromhydrin <b>84</b>	4,1	7,3	Hemmung
14	B 93/1 <b>181</b>	+2,6	-1,5	/
15	B 94 <b>182</b>	7,5	13,3	/
16	Carbonsäure <b>147</b>	5,8 und 2,5	Kein Umsatz	/

\*kein Produkt nachweisbar

Aufgrund der beschriebenen Beobachtungen konnten folgende Schlüsse gezogen werden:

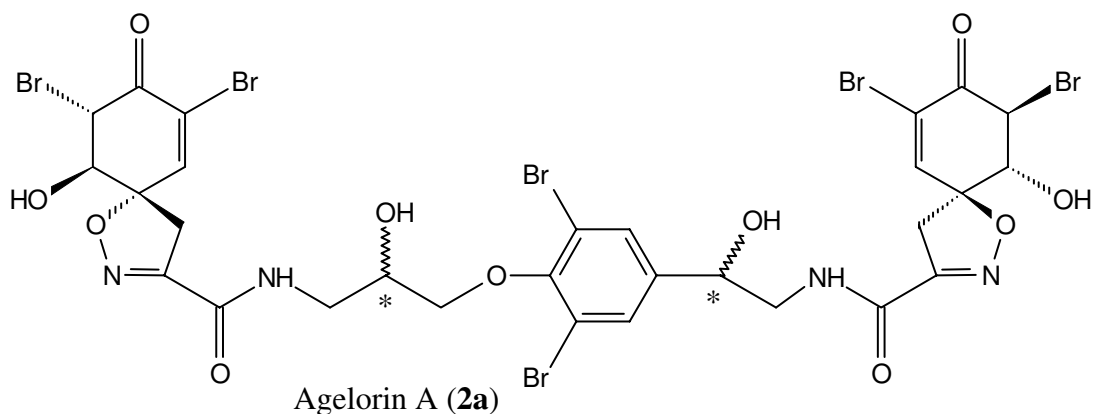
1. Die Versuche mit den drei Oximen **181**, **182** und **183** (Tabelle 7, Nr. 10, 14 und 15) machen deutlich, daß der Heterocyclus für die enzymatische Umsetzung essentiell ist. Dies zeigt besonders Versuch Nr. 10, denn das Isofistularin-3-Oxim **183** ist bis auf das Spiroisoxazolin mit dem Naturstoff identisch.
2. Nur die Verbindungen, die eine freie NH-Funktion aufweisen, werden abgebaut. Dies sieht man besonders gut, wenn Versuche 2 und 9 (Tabelle 7) miteinander verglichen werden. Das Säureamid **179** wird gespalten, die analoge Methylesterverbindung **180** dagegen nicht. Ebenso wird das Dibrombenzylamid **158** umgesetzt, aber der Dibrommethylester **85** nicht (Tabelle 7, Nr. 3, 8).
3. Geht man davon aus, daß der Umsatz des Diolbenzylamids **148** auf eine Reaktion mit dem Enzym zurückzuführen ist (Tabelle 7, Nr. 4), kann man folgern, daß die OH-Gruppe an C-1 unbedingt erforderlich ist. Diese These wird durch die Tatsache untermauert, daß das Epoxybisamid **154** (Tabelle 7, Nr. 5) keinen Umsatz zeigt.
4. Für eine effektive Spaltung braucht man die beiden Bromatome, was durch die Versuche 1, 2 und 3 eindrucksvoll gezeigt werden konnte. Nur bei den Substraten mit den Bromatomen konnte eine quantitative Umsetzung beobachtet werden.
5. Das Dibrombenzylamid **158** (Tabelle 7, Nr. 3) wird ebenso wie das Isofistularin-3 (**174**) (Tabelle 7, Nr. 1) quantitativ gespalten. Ob an C-3 ein Enolether oder ein Keton vorliegt, scheint keine Rolle zu spielen.

Diese Ergebnisse machen deutlich, daß man es mit einem hochspezifischen Enzym zu tun hat, das nur dazu bestimmt ist, die bromierten Spiroisoxazolin-Derivate mit Säureamidseitenkette zu spalten. Für einen optimalen Umsatz müssen alle oben genannten fünf Kriterien erfüllt sein.

## 9 Zusammenfassung und Ausblick

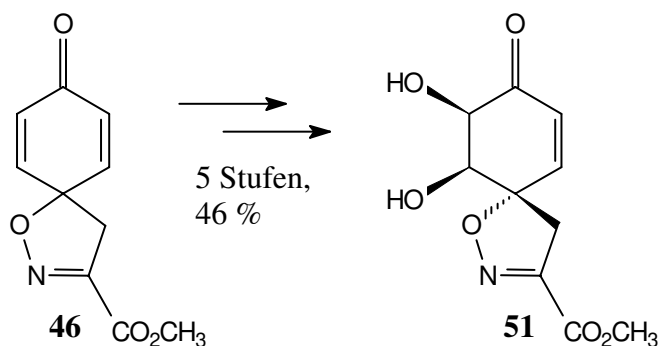
Der dieser Arbeit zugrunde liegende Naturstoff ist das Agelorin A (**2a**), dessen Struktur in Abb. 127 angegeben ist.

Abb. 127: Agelorin A (**2a**)



Aufbauend auf den Studien von *F. Nerenz* sollte zunächst der Zugang zum Diol **51** optimiert werden. Durch Wechsel der Schutzgruppe und Verbesserung der Ausbeute der Einzelschritte konnte eine Steigerung der Gesamtausbeute der fünfstufigen Synthese von 31 % auf 46 % erreicht werden (Abb. 128).

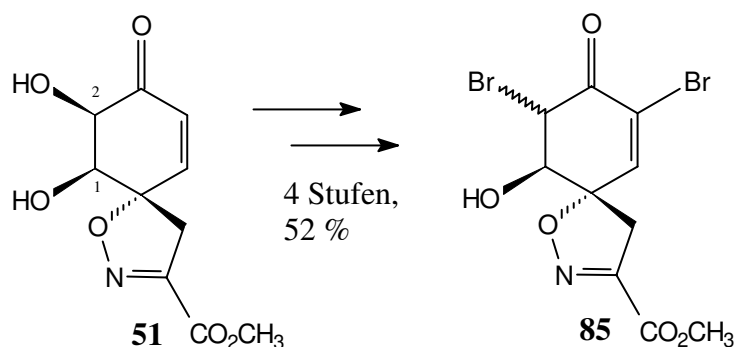
Abb. 128: Darstellung des Diols **51**



Die Nutzung des Diols **51** als chiralen Baustein ermöglichte die Darstellung einer Agelorin-A-Kernstruktur **85** in der Methylesterreihe. Dabei waren zwei Synthesewege ausgearbeitet

worden, von denen sich der eine durch bessere Reproduzierbarkeit und höhere Ausbeuten auszeichnete. Durch Bromierung der OH-Gruppe an C-2 (Abb. 129) und anschließende Behandlung mit Base entstand ein Epoxid, das sich an der Doppelbindung durch eine Additions-Eliminierungs-Sequenz bromieren ließ. Die Öffnung dieses Epoxids brachte die Kernstruktur **85** als Diastereomergemisch im Verhältnis 2:1 (*cis*-Bromhydrin : *trans*-Bromhydrin) hervor.

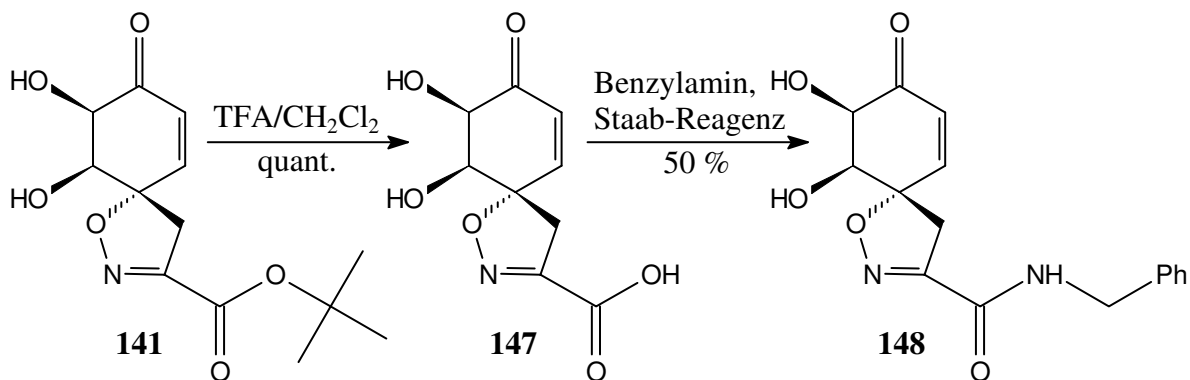
Abb. 129: Synthese einer Methylester-Agelorin-A-Kernstruktur **85**



Im Verlauf der Untersuchungen zur Synthese der Agelorin-A-Kernstruktur wurde eine neue Bromierungsmethode entwickelt, die auch für komplizierte Moleküle geeignet ist. Sie basiert auf der Verwendung von Triphenylphosphindibromid als Brom-Nucleophil-Quelle, wobei man unter Zusatz von TosCl und Hünigbase arbeitete, was eine Beschleunigung und Effektivitätssteigerung der Reaktion mit sich brachte.

Um das Funktionalisierungsmuster dem Agelorin A (**2a**) noch weiter anzugleichen, sollte eine direkte Amidierung des Esters erfolgen, was jedoch nicht möglich war.

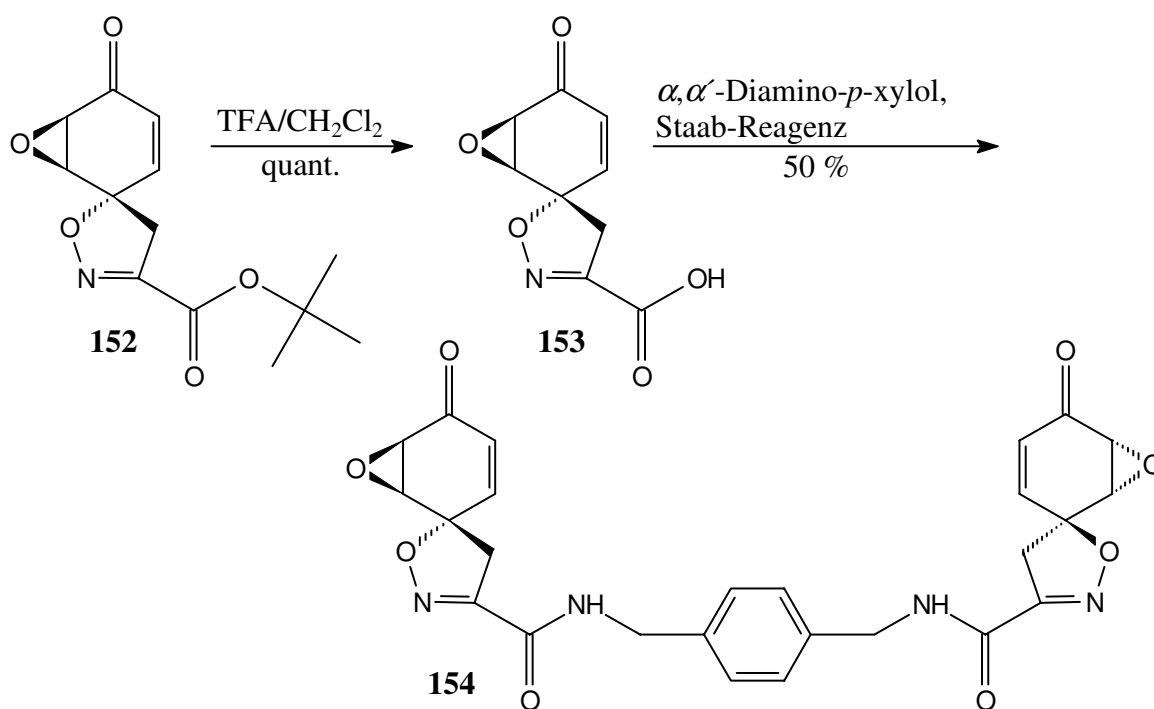
Abb. 130: Herstellung der Diolcarbonsäure **147** und anschließende Amidierung



Statt dessen wurde der Methylester durch einen *tert*-Butylester ersetzt und die Synthese zum Diol **141** auf die *tert*-Butylesterverbindungen übertragen, wodurch es gelang, die Diolcarbonsäure **147** zu generieren, die mit Hilfe des Staab-Reagenzes amidiert werden konnte (Abb. 130).

Weiterhin gelang die Darstellung eines *tert*-Butylesterepoxids **152** durch Bromhydrinbildung und Ringschluß zum Epoxid. Auch hier ließ sich eine entsprechende Carbonsäure **153** etablieren, die durch Behandeln mit  $\alpha,\alpha'$ -Diamino-*p*-xyloil in Gegenwart des Staab-Reagenzes in das Bisamid **154** umgewandelt werden konnte (Abb. 131).

Abb. 131: Synthese des Bisamids **154**

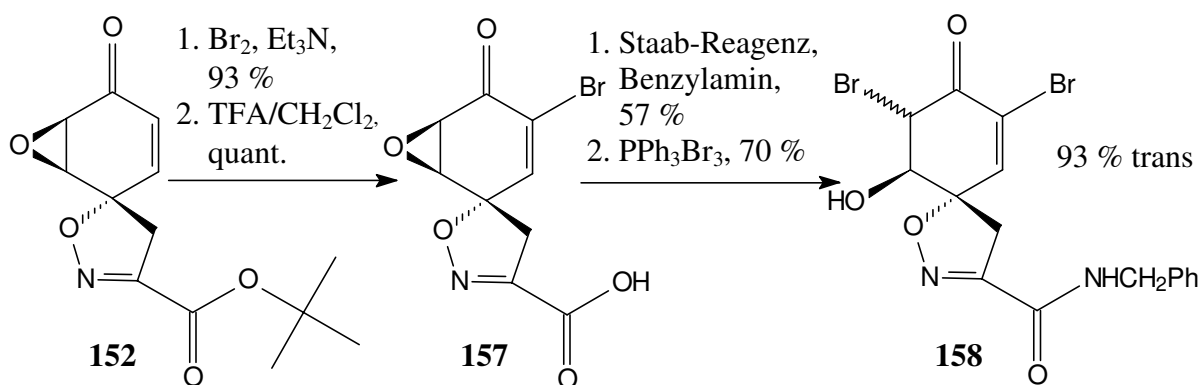


Dieses Bisamid **154** war von besonderem Interesse, weil es wie das Agelorin A (**2a**) zwei Spiroisoxazolineinheiten aufweist, die über einen teilweise aromatischen Mittelteil miteinander verknüpft sind.

Mit Hilfe der Erfahrungen, die man durch die Synthese der Methylesterkernstruktur **85** und der Amidierungsversuche gesammelt hatte, ist es abschließend gelungen, eine Amido-Agelorin-A-Kernstruktur **158** darzustellen (Abb. 132). Zu diesem Zweck behandelte man das Epoxid **152** mit Brom und Hünigbase, um das Vinylbromid zu etablieren. Die Hydrolyse des Esters mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelang mit quantitativer Ausbeute, woran sich die Amidierung mit

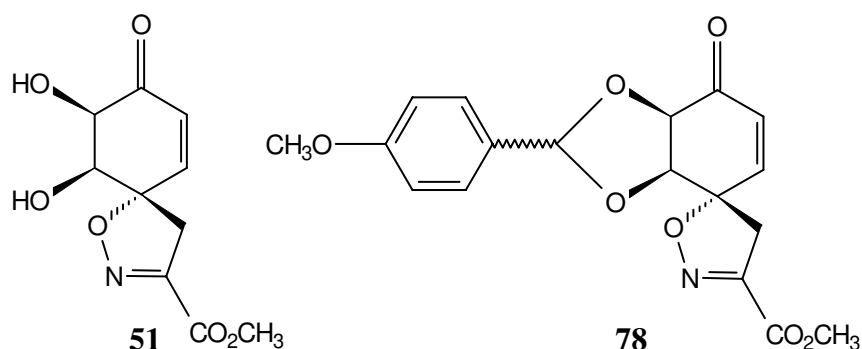
dem Staab-Reagenz und Benzylamin anschloß. Schließlich brachte die Umsetzung mit Triphenylphosphindibromid die Amido-Kernstruktur **158** hervor, die als Diastereomerenmisch im Verhältnis 93:7 vorlag (93 % gewünschtes *trans*-Bromhydrin).

Abb. 132: Darstellung der Amidokernstruktur **158**



Eine große Anzahl der synthetisierten Spiroisoxazolin-Derivate wurden an der Medizinischen Hochschule Hannover unter der Leitung von *W. Beil* auf ihre Fähigkeiten, das Zellwachstum zu hemmen und auf ihre Cytotoxizität geprüft. Eine gute Hemmwirkung wurde bei den Substanzen **51** und **78** (Abb. 133) nachgewiesen; ihre Aktivität lag über der von 5-Fluorouracil.

Abb. 133: Das Zellwachstum hemmende Substanzen **51** und **78**



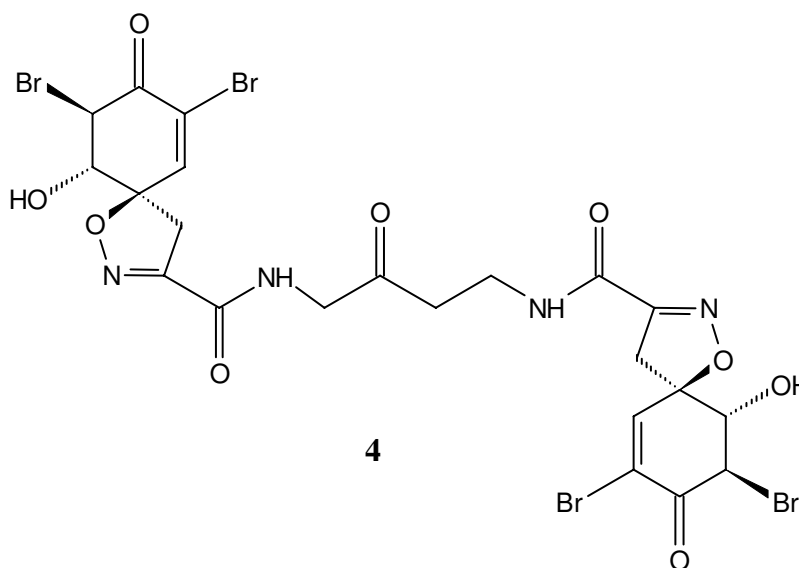
Der dieser Arbeit als Vorbild dienende Naturstoff stammt aus der Gruppe der Fistularine. Diese Bromtyrosin-Alkaloide kommen in marinen Schwämmen wie *Aplysina fistularis* oder *Aplysina cauliformis* vor. Die Schwämme benutzen diese Substanzen zur wundinduzierten



Abwehrreaktion, wobei eine zweistufige enzymatische Spaltung dieser Naturstoffe unter Bildung biologisch sehr aktiver Metabolite erfolgt. In Zusammenarbeit mit *T. Fendert* unter der Leitung von *P. Proksch* konnte das Enzym des ersten Schrittes der enzymatischen Spaltung auf seine Substratspezifität untersucht werden. Dazu wurden zehn der in dieser Arbeit dargestellten Derivate einem Enzymassay unterworfen. Diese Testungen erfolgten im Julius-von-Sachs-Institut der Universität Würzburg. Die Ergebnisse zeigen, daß es sich um ein hochspezifisches Enzym handelt, das nur dazu bestimmt ist, die bromierten Spiroisoxazolin-Derivate mit Säureamidseitenkette zu spalten.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß ein gutes Konzept zur Darstellung des Agelorin A (**2a**) und verwandter Verbindungen erarbeitet worden ist. Es ist gelungen, den vollständigen Chromophor mit allen Chiralitätszentren in der richtigen absoluten Konfiguration aufzubauen. Der Naturstoff **4**, der in Abb. 134 aufgezeichnet ist, sollte mit Hilfe des etablierten Synthesewegs darstellbar sein. Auch die Herstellung des Agelorin A (**2a**) stellt für die Zukunft ein lohnendes Betätigungsfeld dar, denn die Konfiguration der beiden Alkohole im Mittelteil ist noch nicht bekannt. Eine Totalsynthese des Agelorin A (**2a**) könnte zur Aufklärung dieses strukturellen Problems beitragen.

Abb. 134: Ein dem Agelorin A (**2a**) sehr ähnlicher Naturstoff **4**



## II Experimenteller Teil

### 10 Allgemeine Verfahren

#### 10.1 Verwendete Geräte

##### Schmelzpunkte:

Schmelzpunktbestimmungsapparat nach *Dr. Tottoli* der Firma *Gallenkamp*. Die Werte sind nicht korrigiert.

##### Infrarotspektren:

FT-IR-Spektrometer 580 oder FT 1710 der Firma *Perkin-Elmer*. Die Proben wurden als KBr-Preßlinge, als kapillarer Film (Kap. Film) oder in  $\text{CHCl}_3$  gelöst gemessen. Die Wellenzahlen  $\nu$  charakteristischer Absorptionsbanden sind in  $\text{cm}^{-1}$  angegeben. Die Intensitäten sowie die Form werden durch folgende Abkürzungen beschrieben: s = stark, m = mittel, w = schwach, br = breit.

##### UV/Vis-Spektren:

Modell UV-1601 der Firma *Shimadzu*.

##### $^1\text{H}$ -NMR-Spektren:

Modelle WP 200 SY (200 MHz), AM 400 (400 MHz) und AVS 400 (400 MHz) der Firma *Bruker*. Die verwendeten Feldstärken sind jeweils angegeben. Die Aufnahme der Spektren erfolgte bei Raumtemperatur und als Lösungsmittel dienten  $\text{CDCl}_3$ , Aceton- $\text{d}_6$  oder  $\text{DMSO-}d_6$ . Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der  $\delta$ -Skala angegeben. Als interner Standard diente Tetramethylsilan ( $\delta_{\text{TMS}} = 0.00$  ppm). Die Multiplizität der Signale wurde durch folgende Abkürzungen angegeben: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, dd = Dublett vom Dublett, dt = Dublett vom Triplett etc., m = Multipllett, weiterhin br für breite Signale. Die Kopplungskonstanten  $J$  sind in Hertz (Hz) angegeben. Die angegebenen Protonenzahlen wurden elektronisch integriert.

##### $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren:

Modelle AM 400 (100 MHz) und AVS 400 (100 MHz) der Firma *Bruker*. Als interner

Standard diente Tetramethylsilan (siehe oben). Die chemischen Verschiebungen der Signale entnahm man  $^1\text{H}$ -Breitband-entkoppelten Spektren, ihre Feinstruktur wurde durch Attached Proton Test-(APT)-Experimente oder mit DEPT-Technik ( $90^\circ$  und  $135^\circ$ ) bestimmt.

### **Massenspektren:**

Modelle MAT 312 (niederaufgelöste Spektren) der Firma *Finnigan* und Autospec (hochaufgelöste Spektren, MS-FAB) der Firma *VG*. Das Ionisierungspotential betrug 70 eV, und die Messungen erfolgten bei der jeweils angegebenen Temperatur. Die in Klammern gesetzten Prozentzahlen geben die Intensitäten der Peaks bezogen auf den Basispeak ( $I = 100\%$ ) an. MS-FAB-Spektren wurden bei Raumtemperatur in *m*-Nitrobenzylalkohol gemessen.

### **Elementaranalysen:**

Die Elementaranalysen wurden mit dem Gerät CHN-Rapid der Firma *Heraeus* im mikroanalytischen Labor der Universität Hannover durchgeführt. Bestimmt wurden die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff.

### **Drehwerte:**

Die Drehwerte wurden mit einem Polarimeter *Perkin-Elmer* 341 bei Raumtemperatur ermittelt. Die Wellenlänge des monochromatischen Lichts betrug 589 nm (Natrium-D-Linie). Das verwendete Lösungsmittel sowie die Konzentration der Substanz [10 g/ml] sind jeweils angegeben.

### **Hochdruck:**

Hochdruckpresse der Firma *Hofer* (max. 14 kbar).

## **10.2 Chromatographische Trennungen**

### **Dünnschichtchromatographie:**

DC Alufolien der Firma *Merck* des Typs Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Schichtdicke 0.2 mm). Die Detektion erfolgte in der Regel durch UV-Licht (254 nm, 356 nm). Als Anfärbereagenz wurde ein Cer(IV)- bzw. Bromkresolgrün-Tauchreagenz oder ein Gemisch aus 0.5 g Vanillin, 3 ml Schwefelsäure, 85 ml Methanol und 10 ml Essigsäure verwendet.<sup>61</sup>

**Säulenchromatographie:**

Kieselgel (Korngröße 60-80  $\mu\text{m}$ ) der Firma *T. J Baker*. Wenn nicht anders angegeben, wurde ein Verhältnis von Substanz : Adsorbens zwischen 1 : 100 bis 1 : 200 bei präparativen Trennungen und ein Verhältnis von 1 : 10 bis 1 : 15 bei Säulenfiltrationen eingestellt. Die Trennung erfolgte unter leichtem Überdruck und mit den angegebenen Laufmitteln.

**Lösungsmittel für die Chromatographie:**

Die verwendeten Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert. Es wurde Petrolether mit einem Siedebereich von 35 °C bis 65 °C verwendet.

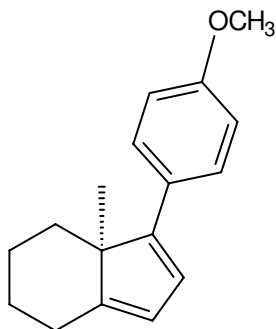
### 10.3 Sonstiges

**Reagenzien/Lösungsmittel:**

Die Lösungsmittel für chemische Reaktionen wurden destilliert und, soweit notwendig, entsprechend den üblichen Laboratoriumsmethoden getrocknet.<sup>62</sup> Käufliche Substanzen wurden in der Regel ohne weitere Reinigung eingesetzt. Bei Verwendung trockener Lösungsmittel wurden die Glasgeräte 2 h im Trockenschrank bei 140 °C ausgeheizt und unter Argon abgekühlt. Die Zugabe von Substanzen sowie die weitere Reaktion fand ebenfalls unter Argon statt.

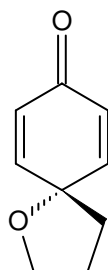
## 11 Versuche zu Kapitel 3

### *p*-Methoxyphenyldien 28



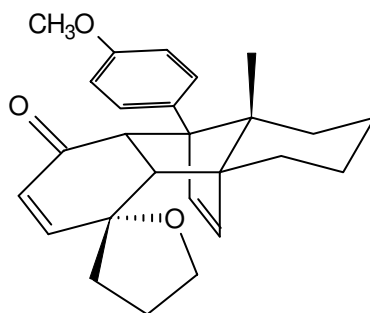
Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>13</sup>

### Spiroethercyclohexadienon 51



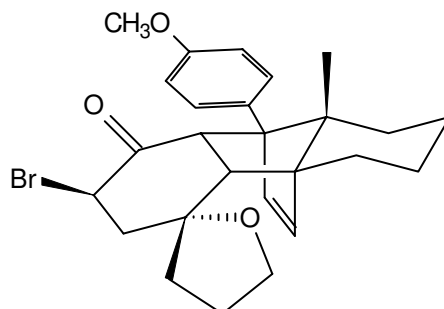
Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>17, 61</sup>

### Spiroetheraddukt 52



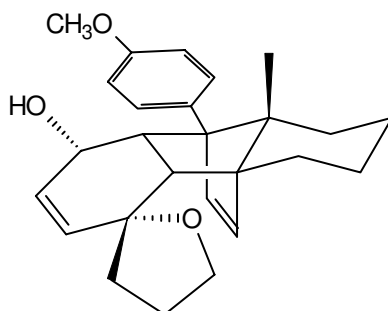
Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>17</sup>

### Bromiertes Spiroetheraddukt 54



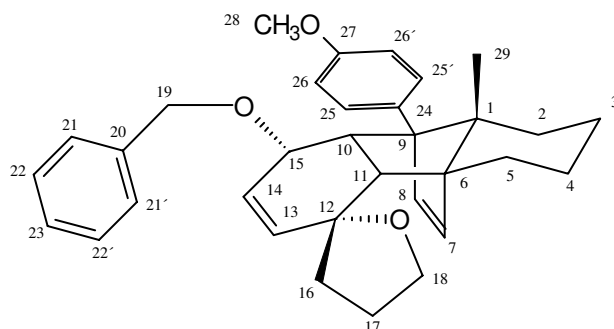
Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>17</sup>

### Reduziertes Spiroetheraddukt 56



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>17</sup>

### Benzylgeschütztes Hydroxyspiroetheraddukt 57



Eine Lösung von 260 mg (0.663 mmol) Spiroetherhydroxyaddukt **52** und 183 mg

(1.071 mmol, 1.6 eq) Benzylbromid in 5 ml abs. THF wurde mit 140 mg (3.57 mmol, 5.4 eq) Natriumhydrid versetzt und 1.5 h am Rückfluß erhitzt. Man goß auf Eis, extrahierte dreimal mit MTB-Ether und trocknete die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Man entfernte das Lösungsmittel im Vakuum und reinigte mittels Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:6). Auf diese Weise wurden 289 mg (84 %) eines farblosen Öls isoliert.

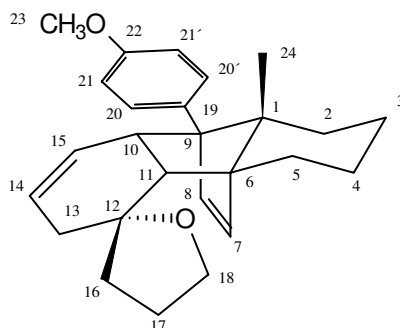
**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3064 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 3000 (s, CH-aliph.), 2824 (m, CH-aliph.), 2860 (m, C-O), 1612 (w, C=C), 1512 (s), 1452 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1384 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1248 (m, C-O), 1180 (m), 1092 (m), 1072 (m), 1036 (m), 908 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.30$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.87 (s, 3H, 29-H), 1.14-1.67 (m, 6H), 1.82-2.12 (m, 5H), 2.41 (dd,  $J = 3/10 \text{ Hz}$ , 1H), 2.52 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 3.79 (tr,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H, 10-H), 3.84 (s, 3H, 28-H), 3.87 (m, symmetrisch, 1H, 18-H), 3.97 (m, symmetrisch, 1H, 18-H), 4.14 (d,  $J = 12 \text{ Hz}$ , 1H, 19-H), 4.20 (dd,  $J = 1/9 \text{ Hz}$ , 1H, 15-H), 4.38 (d,  $J = 12 \text{ Hz}$ , 1H, 19-H), 5.55 (s, 2H, 13-H, 14-H), 5.74 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 5.99 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.64-6.70 (m, 2H, 21-H, 21'-H), 6.87 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 26-H, 26'-H), 7.11-7.20 (m, 3H, 22-H, 22'-H, 23-H), 7.31 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 25-H, 25'-H).

**MS** (130 °C):  $m/z$  (%) = 482 ( $\text{M}^+$ , 0.3), 240 (100), 225 (3), 197 (3), 165 (1), 125 (2), 91 (14), 77 (2).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{O}_3$ ): ber.: 482.2821, gef.: 482.2813.

## Olefinisches Spiroetheraddukt **58**



Man löste 20 mg (0.041 mmol) benzylgeschütztes Spiroetheraddukt **57** in 4 ml abs. THF und fügte katalytische Mengen Lithiumborhydrid und 48 mg (0.415 mmol, 10 eq) Catecholboran hinzu. Man ließ über Nacht bei Raumtemperatur rühren. Danach versetzte man mit 2 ml

Ethanol, 4 Tropfen Wasserstoffperoxid und 4 Tropfen 6 N NaOH-Lösung. Nach 2 h bei Raumtemperatur wurde auf Natriumdisulfid-Lösung gegossen und dreimal mit MTB-Ether extrahiert. Man trocknete über Magnesiumsulfat und entfernte das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Es wurden 6 mg (40 %) farbloses Öl isoliert.

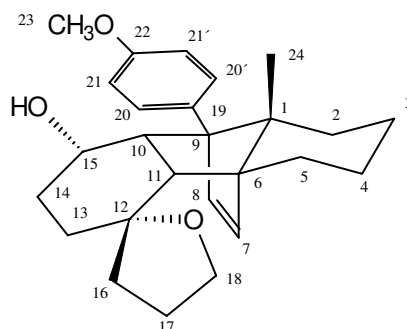
**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2996 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 2924 (s, CH-aliph.), 2856 (M, C-O), 1612 (w, C=C), 1512 (s), 1464 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1384 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1252 (m, C-O), 1180 (m), 1056 (m), 1036 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.51$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 12.5 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.80 (s, 3H, 24-H), 0.81 -2.01 (m, 10H), 2.18 (dq,  $J = 2/16 \text{ Hz}$ , 1H), 2.32 (dd,  $J = 1.5/8.5 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 2.40 (dd,  $J = 2/8.5 \text{ Hz}$ , 1H, 10-H), 3.43-3.49 (m, 1H), 3.79 - 3.94 (m, 5H, 23-H, 18-H), 5.51 (dddd,  $J = 1/2.5/6/10 \text{ Hz}$ , 1H, 14-H), 5.63 (ddd,  $J = 3.5/6/9.5 \text{ Hz}$ , 1H, 15-H), 5.95 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.09 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.87 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 21-H, 21'-H), 7.26 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 20-H, 20'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.56$  (C-24), 21.49 (C-4), 24.03 (C-3), 25.21 (C-13), 27.87 (C-16), 29.43 (C-5), 36.80 (C-2), 42.08 (C-17), 44.79 (C-11), 52.88 (C-10), 55.20 (C-23), 62.32 (C-6), 62.63 (C-1), 64.78 (C-9), 67.21 (C-18), 85.91 (C-12), 113.38 (C-21, C-21'), 126.12 (C-14), 128.66 (C-20, C-20'), 128.83 (C-15), 131.60 (C-19), 135.97 (C-7), 138.44 (C-8), 157.99 (C-22).

**FAB-MS**  $m/z$  (%) = 399 (M+23, 19), 377 (M+1, 53), 375 (65), 329 (31), 307 (39), 279 (45).

## Hydroxyspiroetheraddukt 59



100 mg Spiroetheraddukt **52** (0.256 mmol) wurden in 4 ml abs. Toluol gelöst und bei  $-78 \text{ }^\circ\text{C}$



mit 0.51 ml *L*-Selektrid-Lösung (1 M Lösung in THF, 0.512 mmol, 2 eq) versetzt. Es wurde 2 h gerührt, wobei man langsam auf Raumtemperatur kommen ließ. Man beendete die Reaktion mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung und extrahierte dreimal mit MTB-Ether. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernte das Lösungsmittel im Vakuum und reinigte durch Flash-Chromatographie (EE/PE = 1:4). Man isolierte 100 mg (quant.) eines farblosen Feststoffes.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3616 \text{ cm}^{-1}$  (s, OH), 2964/2928 (s, CH-aliph.), 2864 (m, C-O), 1612 (w, C=C), 1512 (s), 1464 (s, CH<sub>3</sub>), 1384 (m, CH<sub>3</sub>), 1248 (s, C-O), 1180 (m), 1044 (m), 908 (w).

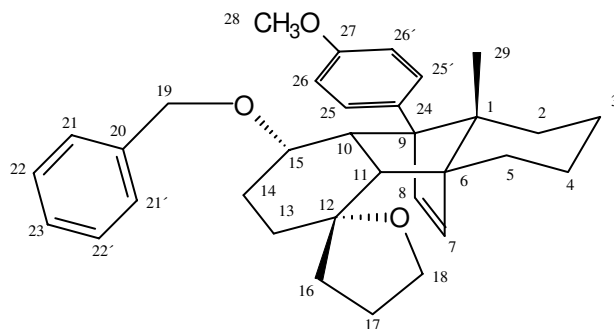
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.48$  (d<sub>br</sub>,  $J = 13$  Hz, 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.88 (s, 3H, 24-H), 1.35-1.95 (m, 13H), 2.02 (d<sub>br</sub>,  $J = 12$  Hz, 1H), 2.09 (dd,  $J = 4/12$  Hz, 1H), 2.17 (ddd,  $J = 6.5/9/12.5$  Hz, 1H), 2.30 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 11-H), 3.02 (dd,  $J = 4/10$  Hz, 1H, 10-H), 3.69-3.98 (m, 5H, 23-H, 15-H, 18-H), 4.12 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, 18-H), 5.78 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 7-H), 6.14 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 8-H), 6.85 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 21-H, 21'-H), 7.23 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 20-H, 20'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 15.74$  (C-24), 21.30 (C-4), 24.00 (C-3), 25.57 (C-13), 27.91 (C-16), 28.47 (C-5), 29.36 (C-2), 32.75 (C-17), 37.51 (C-14), 48.62 (C-11), 53.04 (C-10), 55.20 (C-23), 59.75 (C-6), 64.57 (C-15), 65.12 (C-1), 66.67 (C-9), 67.28 (C-18), 83.23 (C-12), 113.34 (C-21, C-21'), 128.60 (C-20, C-20'), 131.59 (C-19), 134.78 (C-7), 135.86 (C-8), 157.89 (C-22).

**MS** (170 °C):  $m/z$  (%) = 394 (M<sup>+</sup>, 4), 390 (4), 298 (6), 280 (5), 240 (100), 225 (9), 212 (9), 197 (9), 167 (9), 149 (18), 121 (9), 115 (6), 97 (9), 71 (12).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>): ber.: 394.2508, gef.: 394.2524.

## Benzylgeschütztes Hydroxyspiroetheraddukt **60**



Man stellte eine Suspension aus 48 mg (60 %ig in Mineralöl, 2.015 mmol, 1.3 eq) Natriumhydrid und 5 ml abs. THF her. Nach 10 min Rühren bei Raumtemperatur spritzte man vorsichtig 611 mg (1.55 mmol) Hydroxyspiroetheraddukt **59** in 1 ml abs. THF hinzu. Nach weiteren 30 min bei Raumtemperatur fügte man 345 mg (0.24 ml, 2.015 mmol, 1.3 eq) Benzylbromid und eine Spatelspitze Kaliumiodid zu. Man erhitze 2 h am Rückfluß, dann war die Reaktion laut Dünnschichtkontrolle beendet. Man goß auf Eis und extrahierte dreimal mit MTB-Ether. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und die flüchtigen Komponenten im Vakuum entfernt. Nach Flash-Chromatographie

(Et<sub>2</sub>O/PE = 1:5) isolierte man 358 mg (72 %) eines farblosen Öls.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3064 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 3000 (s, CH-arom.), 2924 (m, CH-aliph.), 2856 (m, C-O), 1608 (w, C=C), 1512 (s), 1452 (w, CH<sub>3</sub>), 1376 (w, CH<sub>3</sub>), 1248 (m, C-O), 1180 (m), 1096 (m), 1068 (m), 1040 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.38$  (d<sub>br</sub>,  $J = 13$  Hz, 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.87 (s, 3H, 29-H), 1.15-2.07 (m, 15H), 2.31 (d<sub>br</sub>,  $J = 13$  Hz, 1H), 2.40 (d,  $J = 9$  Hz, 1H, 11-H), 3.63 (tr,  $J = 9$  Hz, 1H, 10-H), 3.78-3.92 (m, 6H, 15-H, 18-H, 28-H), 4.06 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, 19-H), 4.33 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, 19-H), 6.15 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 7-H), 6.31 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 8-H), 6.68-6.74 (m, 2H, 21-H, 21'-H), 6.88 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 26-H, 26'-H), 7.11-7.18 (m, 3H, 22-H, 22'-H, 23-H), 7.33 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 25-H, 25'-H).

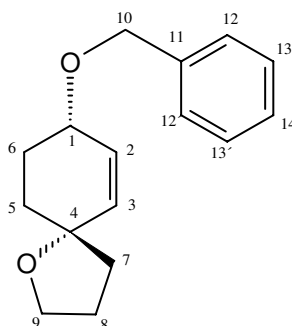
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 15.79$  (C-29), 21.43 (C-4), 23.92 (C-3), 25.20 (C-13), 25.74 (C-16), 27.56 (C-5), 28.36 (C-2), 31.47 (C-17), 42.82 (C-14), 45.63 (C-10), 53.64 (C-11), 55.20 (C-28), 61.24 (C-6), 62.41 (C-1), 66.57 (C-9), 66.72 (C-18), 70.89 (C-19),

75.19 (C-15), 84.23 (C-12), 112.84 (C-23), 126.59 (C-26, C-26'), 126.81 (C-21, C-21'), 127.89 (C-22, C-22'), 128.08 (C-25, C-25'), 133.59 (C-24), 134.72 (C-7), 136.85 (C-8), 139.23 (C-20), 157.43 (C-27).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 507 (M+23, 3), 485 (M+1, 11), 377 (6), 240 (100), 176 (7), 154 (13), 137 (14), 121 (9), 109 (8).

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 9.0° (c = 1.18).

## Benzylgeschützter Spiroether 61



227 mg (0.468 mmol) Benzyl-geschütztes Hydroxyspiroetheraddukt **60** wurden in einer Flash-Vakuum-Apparatur bei  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar einer Temperatur von 300 °C ausgesetzt. Durch Flash-Chromatographie (Et<sub>2</sub>O/PE = 1:6) isolierte man 102 mg (95 %) eines farblosen Öls.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu$  = 3088/3064 cm<sup>-1</sup> (m, CH-arom.), 300/2948 (CH-aliph.), 2868 (m, C-O), 1452 (w), 1068 (s), 1028 (s).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.48-1.56 (m, 1H), 1.72-1.78 (m, 2H), 1.86-2.00 (m, 3H), 3.78-3.95 (m, 4H, 6-H, 9-H), 4.58 (d,  $J$  = 12 Hz, 1H, 10-H), 4.59 (d,  $J$  = 12 Hz, 1H, 10-H), 5.68 (dd,  $J$  = 1/10 Hz, 1H, 2-H), 5.87 (dd,  $J$  = 2.5/10 Hz, 1H, 3-H), 7.25-7.37 (m, 5-H, 12-H, 12'-H, 13-H, 13'-H, 14-H).

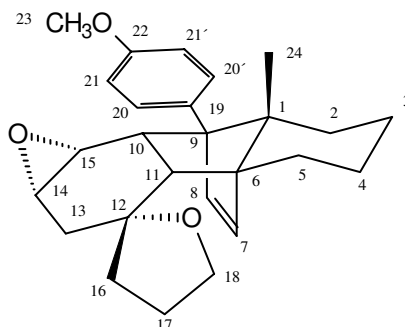
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 26.02 (C-7), 26.40 (C-8), 32.07 (C-5), 37.53 (C-6), 67.32 (C-9), 69.82 (C-10), 79.24 (C-4), 127.42 (C-2), 127.56 (C-12, C-12'), 128.33 (C-13, C-13'), 129.65 (C-14), 134.31 (C-3), 138.96 (C-11).

**MS** (RT):  $m/z$  (%) = 244 (M<sup>+</sup>, 1), 187 (2), 153 (23), 138 (46), 125 (24), 110 (11), 91 (100), 79 (15).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>): ber.: 244.1463, gef.: 244.1466.

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): -22.1° (c = 0.78).

## Spiroetherepoxyaddukt 62



Man löste 20 mg (0.0423 mmol) 14-Bromspiroetheraddukt **54** und 5 mg (0.132 mmol, 3 eq) Natriumborhydrid in 5 ml abs. THF und 1 ml abs. Ethanol und erhitzte 30 min am Rückfluß. Man goß auf Eis, extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester, trocknete die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und entfernte das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1) gereinigt, wodurch 16 mg (96 %) eines farblosen Öls erhalten wurden.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 2928 (s, CH-aliph.), 2856 (m, C-O), 1612 (w, C=C); 1512 (s), 1464/1444 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1394 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1252 (m, C-O), 1180 (m), 1040 (m), 908 (m).

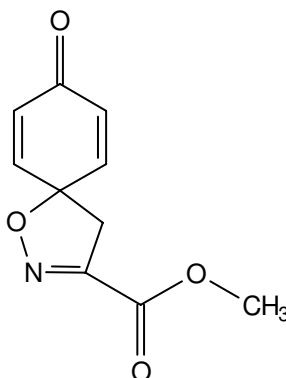
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.53$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.84 (s, 3H, 24-H), 1.18-2.14 (m, 13H), 2.26 (dd,  $J = 3.5/15 \text{ Hz}$ , 1H), 2.42 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 3.02 (tr,  $J = 3.5 \text{ Hz}$ , 1H, 14-H), 3.18 (dd,  $J = 2/4.5 \text{ Hz}$ , 1H, 15-H), 3.40 (dd,  $J = 2/10 \text{ Hz}$ , 1H, 10-H), 3.73-4.00 (m, 5H, 18-H, 23-H), 6.10 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.15 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.93 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 21-H, 21'-H), 7.33 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 20-H, 20'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.64$  (C-24), 21.42 (C-4), 23.95 (C-3), 24.36 (C-13), 28.17 (C-16), 28.20 (C-5), 34.55 (C-2), 41.67 (C-17), 42.30 (C-11), 49.61 (C-14), 49.80 (C-15), 50.58 (C-10), 55.22 (C-23), 60.28 (C-6), 61.13 (C-1), 66.35 (C-9), 68.05 (C-18), 82.10 (C-12), 113.46 (C-21, C-21'), 128.69 (C-20, C-20'), 131.12 (C-19), 132.47 (C-7), 139.88 (C-8), 158.04 (C-22).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 415 (M+23, 70), 393 (M+1, 26), 355 (10), 341 (13), 329 (16), 307 (26), 289 (18), 281 (30), 240 (50), 221 (35), 207 (32), 176 (37), 154 (100), 147 (77), 136 (92).

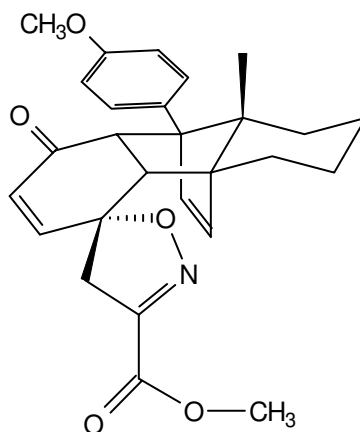
## 12 Versuche zu Kapitel 4

### Spiroisoxazolindienonmethylester **46**



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>23, 24</sup>

### Spiroisoxazolinmethylesteraddukt **47**

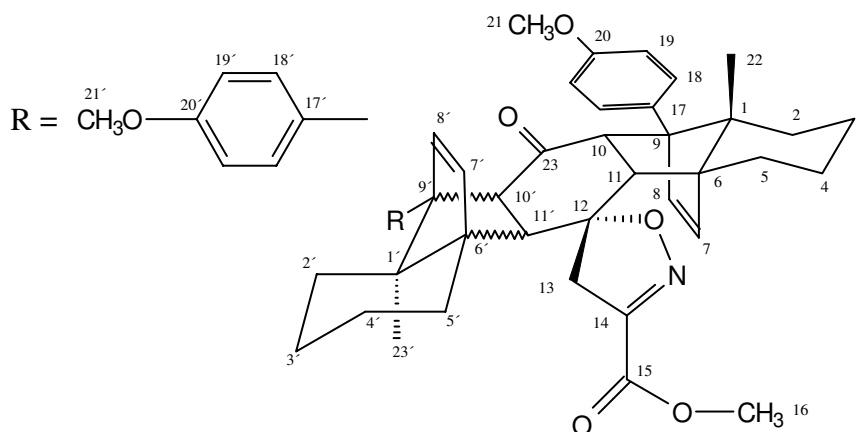


Eine Lösung von 3.32 g (13.8 mmol, 1.1 eq) *p*-Methoxyphenyldien **28** und 2.60 g (12.6 mmol) Spiroisoxazolinmethylester **46** in 5 ml abs. Dichlormethan wurden in einem Teflonschlauch während 21 Tagen einem Druck von 6.5 kbar ausgesetzt. Dabei war es wichtig, möglichst konzentriert zu arbeiten. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Reinigung des Rückstandes durch Flash-Chromatographie (PE/Et<sub>2</sub>O = 2:1) konnten 5.2 g (92 %) eines gelben Schaums erhalten werden.

Spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>16</sup>

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $31.1^\circ$  ( $c = 0.63$ ).

### Spiroisoxazolinmethylesterbisaddukt **65**



Man löste 1.28 g (6.15 mmol) Spiroisoxazolinmethylester **46** und 1.62 g (6.77 mmol, 1.1 eq) Dien **28** in 5 ml abs. Dichlormethan, danach schweißte man diese Lösung in einen Teflonschlauch ein. Dieser Teflonschlauch wurde während 3 Wochen einem Druck von 14 kbar ausgesetzt. Nach Säulenchromatographie ( $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE} = 1:4$ ) erhielt man 800 mg (19 %) Spiroisoxazolinbisaddukt **65** als farbloses Öl. Außerdem konnten 1.7 g (62 %) Spiroisoxazolinmethylesteraddukt **47** isoliert werden.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 2928 (s, CH-aliph.), 2856 (m, C-O), 1716 (m, Ester), 1700 (m, Keton), 1612 (w, C=C), 1588 (w, C=C), 1516 (s), 1464 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1380 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1248 (s, C-O), 1180 (m), 1036 (w).

**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.47$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.65 (s, 3H, 22'-H), 0.73 (s, 3H, 22-H), 1.00-2.15 (m, 15H), 2.38 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 11'-H), 2.72 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 3.01 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 3.45 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 3.62-3.98 (m, 11H, 10-H, 10'-H, 16-H, 21-H, 21'-H), 5.87 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.20 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.32 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7'-H), 6.43 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8'-H), 6.82 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 19'-H), 6.80 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 18'-H), 6.94 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 19-H), 7.23 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 18-H).

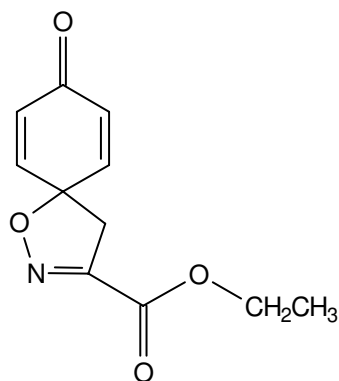
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.58/1586$  (C-22, C-22'), 20.92/21.03 (C-4, C-4'), 23.49/23.52 (C-3, C-3'), 27.74/28.01 (C-5, C-5'), 28.19/29.35 (C-2, C-2'), 41.92 (C-13), 52.78 (C-16), 55.04/55.09 (C-21, C-21'), 56.12/56.99 (C-11, C-11'), 57.69 (C-10, C-10'),

60.54/60.73 (C-6, C-6'), 62.6/64.5 (C-1, C-1'), 65.83/67.5 (C-9, C-9'), 93.79 (C-12), 113.31/113.35 (C-19, C-19'), 127.62/128.62 (C-18, C-18'), 128.62/130.64 (C-17, C-17'), 135.89/136.80 (C-7, C-7'), 138.39/138.45 (C-8, C-8'), 151.20/157.82 (C-20, C-20'), 158.27 (C-14), 161.28 (C-15), 209.53 (C-23).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 688 (M+1, 2), 687 (M<sup>+</sup>, 2), 448 (4), 307 (3), 265 (3), 240 (100), 154 (10), 136 (7), 121 (4).

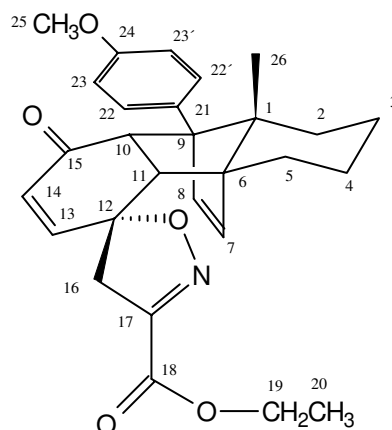
**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 27.7° (c = 0.24).

### Spiroisoxazolindienonethylester **68**



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>23, 24</sup>

### Spiroisoxazolinethylesteraddukt



Eine Lösung von 179 mg (0.75 mmol, 1.1 eq) Dien **28** und 150 mg (0.68 mmol) Spiroisoxazolinethylester **68** in 1 ml abs. Dichlormethan wurde in einem Teflonschlauch

während 14 d einem Druck von 14 kbar ausgesetzt. Man entfernte das Lösungsmittel im Vakuum und reinigte das Rohprodukt an Kieselgel (PE/Et<sub>2</sub>O = 4:1) und erhielt 143 mg (30 %) Spiroisoxazolinethylesterbisaddukt (siehe unten) und 137 mg (44 %) Spiroisoxazolinethylesteraddukt jeweils als gelben Schaum.

Spiroisoxazolinethylesteraddukt (Hauptprodukt):

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 2984/2936 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 2836 (w, C-O), 1720 (s, Ester), 1668 (s, Keton), 1592 (w, C=C), 1516 (s, C=N), 1464/1444 (w, CH<sub>3</sub>), 1380 (m, CH<sub>3</sub>), 1248 (s, C-O), 1180 (m), 928 (m), 824 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.46$  (d<sub>br</sub>,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.80 (s, 3H, 26-H), 1.07-1.95 (m, 11H), 2.40 (dd,  $J = 2/12 \text{ Hz}$ , 1H), 2.87 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 3.28 (d,  $J = 2 \text{ Hz}$ , 2H, 16-H), 3.76-3.88 (m, 4H, 10-H, 25-H), 4.25/4.47 (m, 2H, 19-H), 5.86 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 14-H), 5.91 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.18 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.52 (dd,  $J = 1/10 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 6.88 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 23-H, 23'-H), 7.30 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 22-H, 22'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 14.11$  (C-26), 15.39 (C-20), 21.10 (C-4), 23.78 (C-3), 27.07 (C-5), 28.55 (C-2), 50.25 (C-16), 51.34 (C-11), 51.64 (C-10), 55.16 (C-25), 61.34 (C-6), 62.29 (C-1), 62.35 (C-19), 70.86 (C-9), 87.96 (C-12), 113.12 (C-23, C-23'), 128.88 (C-21), 129.01 (C-23, C-23'), 131.29 (C-14), 135.69 (C-7), 138.86 (C-8), 146.86 (C-13), 150.58 (C-17), 158.33 (C-18), 197.97 (C-15).

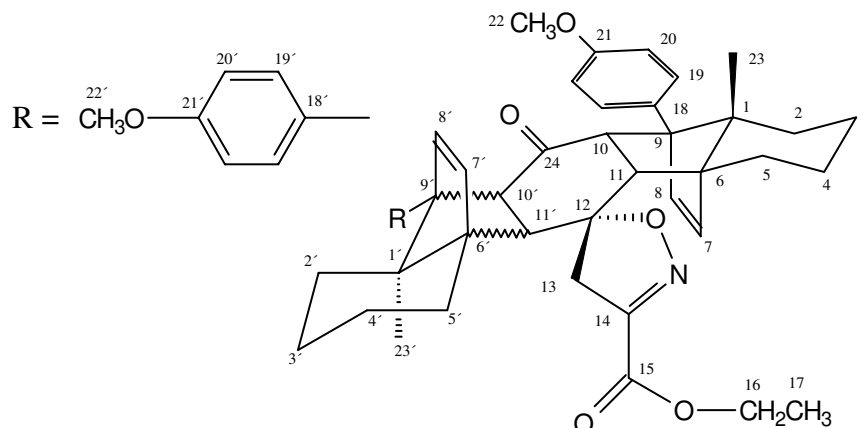
**MS** (140 °C):  $m/z$  (%) = 461 (M<sup>+</sup>, 1), 241 (21), 240 (100), 225 (22), 197 (24), 165 (15), 148 (10), 132 (9), 106 (12), 78 (18).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>28</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>5</sub>): ber.: 461.2202, gef.: 461.2207.

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 151.1° (c = 3.67).



Spiroisoxazolinethylesterbisaddukt (Nebenprodukt):



**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 2932 (s, CH-aliph.), 2864 (w, C-O), 1700 (s, C=O), 1612 (w, C=C), 1588 (w, C=C), 1516 (s), 1464/1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1380 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1248 (s, C-O), 1180 (s), 1036 (m), 828 (w).

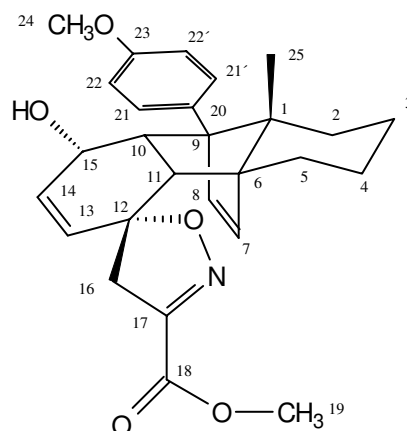
**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.48$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.65 (s, 3H, 23'-H), 0.73 (s, 3H, 23-H), 1.01-2.17 (m, 17H), 2.38 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 11'-H), 2.72 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 3.10 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 3.45 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 3.61-3.91 (m, 8H, 22-H, 22'-H, 10-H, 10'-H), 4.25-4.52 (m, 2H, 16-H), 6.00 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.22 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.32 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7'-H), 6.42 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8'-H), 6.82 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 20'-H), 6.80 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 19'-H), 6.94 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 20-H), 7.24 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 19-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.63/15.93$  (C-23, C-23'), 17.18 (C-17), 21.01/21.11 (C-4, C-4'), 23.56/23.57 (C-3, C-3'), 27.80/28.05 (C-5, C-5'), 28.29/29.42 (C-2, C-2'), 42.12 (C-13), 55.11/55.15 (C-22, C-22'), 55.21/56.30 (C-11, C-11'), 56.98/57.73 (C-10, C-10'), 60.62/60.80 (C-6, C-6'), 62.10 (C-16), 62.6/64.4 (C-1, C-1'), 65.88/67.5 (C-9, C-9'), 93.70 (C-12), 113.39/113.43 (C-20, C-20'), 127.79/128.68 (C-19, C-19'), 135.93 (C-7, C-7'), 136.90/138.50 (C-18, C-18'), 138.48 (C-8, C-8'), 151.54/157.91 (C-21, C-21'), 158.35 (C-14), 160.96 (C-15), 209.51 (C-24).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%): = 724 ( $\text{M}+23$ , 16), 702 ( $\text{M}+1$ , 8), 701 ( $\text{M}^+$ , 7), 484 (5), 460 (15), 265 (9), 240 (100), 197 (8), 165 (5), 137 (10), 121 (20).

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $27.5^\circ$  ( $c = 0.97$ ).

## Spiroisoxazolinhydroxymethyesteraddukt **69**



Man löste 200 mg (0.447 mmol) Spiroisoxazolinmethyesteraddukt **47**, 500 mg (1.34 mmol, 3 eq) Certrichlorid und 1 ml Methanol in 5 ml Dichlormethan und fügte bei 0 °C vorsichtig 54 mg (1.42 mmol, 3.2 eq) Natriumborhydrid hinzu. Nach beendeter Zugabe ließ man auf Raumtemperatur kommen. Nach einer Stunde arbeitete man auf, indem man mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung versetzte und viermal mit Dichlormethan extrahierte. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, danach das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (PE/EE = 1:2) erhielt man 169 mg (84 %) eines farblosen Öls.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3584 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 3000 (m, CH-arom.), 2928 (m, CH-aliph.), 2828 (w, C-O), 1720 (s, C=O), 1612 (w, C=C), 1588 (m, C=C), 1512 (s), 1444 (m, CH<sub>3</sub>), 1380 (w, CH<sub>3</sub>), 1252 (s, C-O), 1128 (m), 932 (w).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.51$  (d<sub>br</sub>,  $J = 13$  Hz, 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.88 (s, 3H, 25-H), 1.20-1.50 (m, 4H), 1.60-1.71 (m, 2H), 1.98 (m, 1H), 2.06 (dtr,  $J = 2/6.5$  Hz, 1H), 2.67 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 11-H), 3.19 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 16-H), 3.39 (m, 2H, 16-H, 10-H), 4.40 (m, 1H, 3-H), 5.90 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 13-H), 5.98 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 7-H), 6.29 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 8-H), 6.33 (dd,  $J = 5/10$  Hz, 1H, 14-H), 6.93 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 22-H, 22'-H), 7.31 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 21-H, 21'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 14.46$  (C-25), 21.09 (C-4), 23.60 (C-3), 27.48 (C-5), 27.77 (C-2), 46.64 (C-11), 46.94 (C-16), 52.74 (C-24), 54.21 (C-10), 55.12 (C-19), 60.39 (C-6), 63.45 (C-1), 63.92 (C-15), 64.86 (C-9), 89.00 (C-12), 113.55 (C-22, C-22'), 128.10

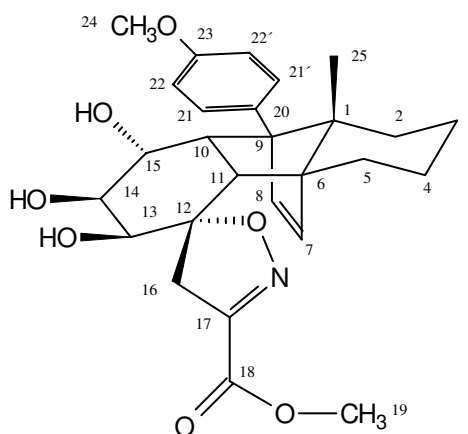
(C-21, C-21'), 130.65 (C-20), 133.85 (C-7), 135.63 (C-8), 136.42 (C-13), 137.71 (C-14), 150.46 (C-23), 158.10 (C-17), 161.05 (C-8).

**MS** (160 °C):  $m/z$  (%) = 449 ( $M^+$ , 15), 447 (23), 432 (11), 390 (13), 356 (12), 348 (27), 303 (12), 282 (14), 266 (68), 252 (100), 247 (17).

**MS-Hochauflösung** ( $C_{27}H_{31}NO_5$ ): ber.: 449.2202, gef.: 449.2207.

**Drehwert** ( $CHCl_3$ ):  $58.2^\circ$  ( $c = 0.17$ ).

## Spiroisoxazolintriolmethylesteraddukt **70**



Zu einer Lösung von 20 mg (0.067 mmol) Spiroisoxazolinhydroxymethylesteraddukt **69** in 0.5 ml Essigsäureethylester und 0.5 ml Acetonitril gab man unter starkem Rühren und bei 0 °C 3 mg (0.013 mmol, 0.2 eq) Rutheniumtrichlorid sowie 20 mg (0.95 mmol, 1.4 eq) Natriumperodat in 0.2 ml Wasser. Man ließ 1.5 Stunden rühren, danach versetzte man mit gesättigter Natriumbisulfid-Lösung. Anschließend extrahierte man viermal mit Essigsäureethylester, trocknete die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und reinigte mittels Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:1). Es wurden 14 mg (43 %) eines farblosen Öls erhalten.

**IR** ( $CHCl_3$ ):  $\nu = 3592\text{ cm}^{-1}$  (m, OH), 3008 (m, CH-arom.), 2932 (m, CH-aliph.), 2864 (w, C-O), 1728 (s, C=O), 1612 (w, C=C), 1512 (s), 1444 (m,  $CH_3$ ), 1380 (w,  $CH_3$ ), 1252 (s, C-O), 1180 (m), 1124 (m), 1036 (m), 908 (w).

**$^1H$ -NMR** (200 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 0.43$  ( $d_{br}$ ,  $J = 13$  Hz, 1H, 2- $H_{eq}$ ), 0.78 (s, 3H, 25-H),

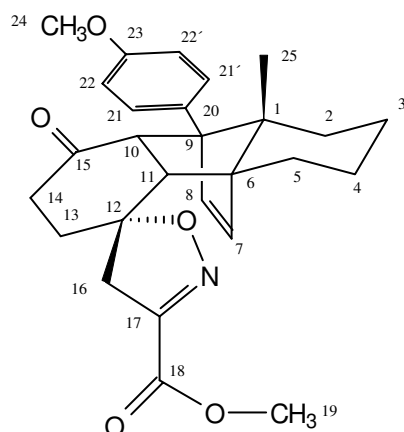
1.02-2.09 (m, 7H), 2.70 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 11-H), 2.92 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 16-H), 3.14 (s<sub>br</sub>, 1H, 15-H), 3.60-3.95 (m, 10H, 10-H, 16-H, 14-H, 13-H, 19-H, 24-H), 6.19 (s, 2H, 7-H, 8-H), 6.91 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 22-H, 22'-H), 7.26 (d,  $J = 9$  Hz, 1H, 21-H, 21'-H).

**MS** (220 °C):  $m/z$  (%) = 483 ( $M^+$ , 19), 465 (24), 424 (60), 406 (18), 382 (16), 362 (14), 296 (16), 294 (18), 277 (25), 266 (100).

**MS-Hochauflösung** ( $C_{27}H_{33}NO_7$ ): ber.: 483.2257, gef.: 483.2252.

**Drehwert** ( $CHCl_3$ ):  $53.5^\circ$  ( $c = 0.32$ ).

## Hydriertes Spiroisoxazolinaddukt 71



Zu einer Lösung von 200 mg (0.447 mmol) Spiroisoxazolinaddukt **47** in 5 ml abs. Tetrahydrofuran wurde eine Spatelspitze Pd (10 % auf Aktivkohle) gegeben. Nachdem man 4 Stunden mit Wasserstoff bei Atmosphärendruck und Raumtemperatur umgesetzt hatte, entfernte man den Katalysator durch eine Säulenfiltration über Watte. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und man isolierte 150 mg (75 %) eines farblosen Feststoffes.

**IR** ( $CHCl_3$ ):  $\nu = 3000\text{ cm}^{-1}$  (w, CH-arom.), 2956/2928 (m, CH-aliph.), 1716 (s, C=O), 1588 (m, C=C), 1516 (s), 1444 (m,  $CH_3$ ), 1380 (w,  $CH_3$ ), 1248 (s), 1180 (m), 1120 (m), 1036 (m), 908 (m).

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 0.51$  (d,  $J = 13$  Hz, 1H, 2- $H_{eq}$ ), 0.77 (s, 3H, 19-H), 1.09-1.50 (m, 5H), 6.61 (d,  $J = 13$  Hz, 1H), 1.82-1.99 (m, 4H), 2.25 (ddd,  $J = 2.5/6/19$  Hz, 1H), 2.40 (ddd,  $J = 6/12/19$  Hz, 1H), 2.92 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 11-H), 3.13 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 16-

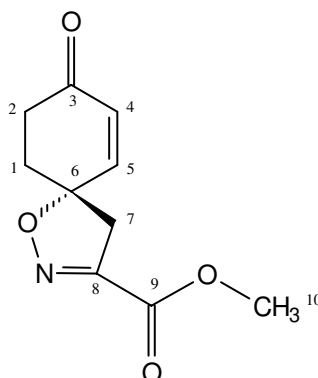
H), 3.32 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 16-H), 3.71 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 10-H), 3.79 (s, 3H, 24-H), 3.91 (s, 3H, 19-H), 6.09 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 7-H), 6.11 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 8-H), 6.85 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 22-H, 22'-H), 7.18 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 21-H, 21'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 16.20$  (C-25), 21.07 (C-4), 23.47 (C-3), 27.01 (C-5), 28.33 (C-2), 33.59 (C-13), 34.98 (C-14), 46.26 (C-16), 52.83 (C-24), 54.22 (C-11), 54.68 (C-10), 55.17 (C-19), 60.06 (C-6), 61.41 (C-1), 66.83 (C-9), 89.58 (C-12), 113.24 (C-22, C-22'), 128.03 (C-21, C-21'), 130.78 (C-20), 135.69 (C-7), 139.26 (C-8), 150.95 (C-23), 157.97 (C-17), 161.25 (C-18), 209.89 (C-15).

**FAB-MS** :  $m/z$  (%) = 472 ( $\text{M}+23$ , 9), 449 ( $\text{M}^+$ , 20), 427 (7), 391 (16), 329 (8), 307 (16), 289 (11), 259 (16), 241 (100), 176 (17), 154 (54), 136 (43).

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $32.8^\circ$  ( $c = 0.63$ ).

## Hydrierter Spiroisoxazolinmethylester 72



71 mg (0.159 mmol) des hydrierten Spiroisoxazolins **71** wurden in einer Flash-Vakuum-Pyrolyse bei  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar einer Spaltrohr-Temperatur von  $300^\circ\text{C}$  ausgesetzt. Mittels Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:1) erhielt man 26 mg (78 %) eines farblosen Öls.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3040$   $\text{cm}^{-1}$  (w), 2956 (w, CH-aliph.), 1728 (s, Ester), 1684 (s, Keton), 1592 (m, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1376 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1264 (s), 1228 (m), 1124 (m), 924 (m).

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.15$ -2.33 (m, 1H, 1-H), 2.37-2.56 (m, 2H, 1-H, 2-H), 2.67-2.90 (m, 1H, 2-H), 3.27 (d,  $J = 1.5$  Hz, 2H, 7-H), 3.92 (s, 3H, 10-H), 6.08 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.80 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 5-H).

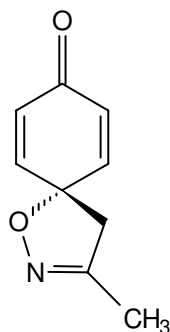
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 32.79$  (C-1), 33.24 (C-2), 42.69 (C-7), 51.99 (C-10), 85.28 (C-6), 130.05 (C-4), 145.74 (C-5), 149.82 (C-8), 159.61 (C-9), 196.02 (C-3).

**MS** (RT):  $m/z$  (%) = 241 ( $M+1$ , 2), 240 ( $M^+$ , 5), 210 (12), 209 (100), 192 (54), 180 (20), 177 (23), 160 (24), 150 (55), 132 (50), 122 (17), 104 (25), 91 (27), 79 (41), 66 (21).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_4$ ): ber.: 209.0688, gef.: 209.0692.

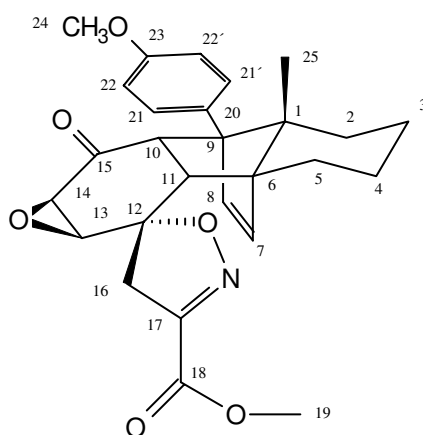
**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $18.0^\circ$  ( $c = 1.0$ ).

## Methyl-spiroisoxazolindienon 40



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>29</sup>

## Spiroisoxazolinepoxymethylesteraddukt 75



200 mg (0.447 mmol) Spiroisoxazolinmethylesteraddukt **47** wurden in 5 ml abs. Dichlormethan gelöst und mit 0.32 ml *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (2.459 mmol, 80 %ige

Lösung in *tert*-Butylperoxid, 5.5 eq) und 4 Tropfen DBU versetzt. Man ließ über Nacht bei Raumtemperatur rühren, dann beendete man die Reaktion mit gesättigter Natriumpyrosulfid-Lösung, extrahierte dreimal mit MTB-Ether und reinigte durch Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:3). Es wurden 162 mg (78 %) eines gelben Schaums erhalten.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 2956/2931 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 1721 (s, C=O), 1677 (w), 1593 (m, C=C), 1516 (s), 1444 (m, CH<sub>3</sub>), 1380 (w, CH<sub>3</sub>), 1252 (s, Epoxid), 1182 (m), 926 (m), 909 (m).

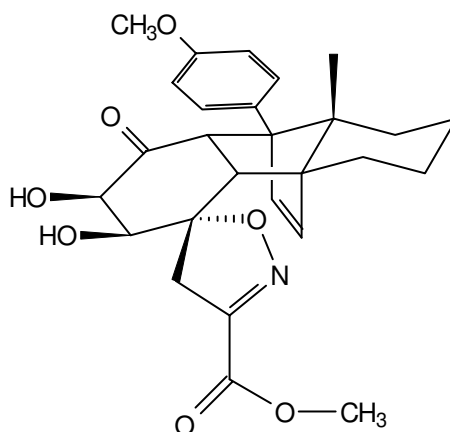
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.56$  (d<sub>br</sub>,  $J = 13$  Hz, 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.76 (s, 3H, 25-H), 1.09-1.68 (m, 5H), 1.73 (d<sub>br</sub>,  $J = 12$  Hz, 1H), 1.98 (dtr,  $J = 3.5/13$  Hz, 1H), 3.04 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 11-H), 3.34 (d,  $J = 4$  Hz, 1H, 13-H), 3.37 (d,  $J = 4$  Hz, 1H, 14-H), 3.43 (d,  $J = 18.5$  Hz, 1H, 16-H), 3.69 (d,  $J = 18.5$  Hz, 1H, 16-H), 3.79 (s, 3H, 24-H), 3.93 (s, 3H, 19-H), 3.98 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 10-H), 6.03 (d,  $J = 5.5$  Hz, 1H, 7-H), 6.15 (d,  $J = 5.5$  Hz, 1H, 8-H), 6.85 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 22-H, 22'-H), 7.12 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 21-H, 21'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 14.49$  (C-25), 19.77 (C-4), 22.05 (C-3), 25.65 (C-5), 26.78 (C-2), 44.80 (C-16), 51.72 (C-11), 51.81 (C-24), 51.85 (C-10), 53.93 (C-19), 54.68 (C-13), 59.03 (C-6), 59.34 (C-10), 59.84 (C-1), 62.59 (C-9), 87.82 (C-12), 112.22 (C-22, C-22'), 126.46 (C-21, C-21'), 129.06 (C-20), 134.46 (C-7), 137.64 (C-8), 149.73 (C-23), 156.87 (C-17), 159.41 (C-18), 202.88 (C-15).

**FAB-MS** :  $m/z$  (%) = 486 (M+23, 11), 464 (M+1, 16), 465 (M<sup>+</sup>, 10), 448 (7), 391 (10), 329 (7), 307 (12), 289 (7), 259 (11), 240 (100), 176 (8), 154 (31), 136 (21).

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 38.4° (c = 0.79).

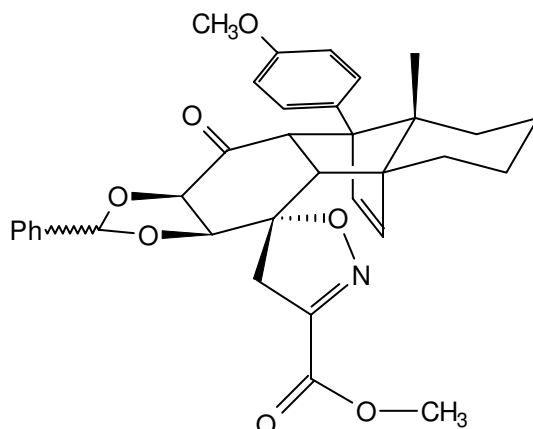
### Spiroisoxazolindiolmethylesteradduk 48



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>16</sup>

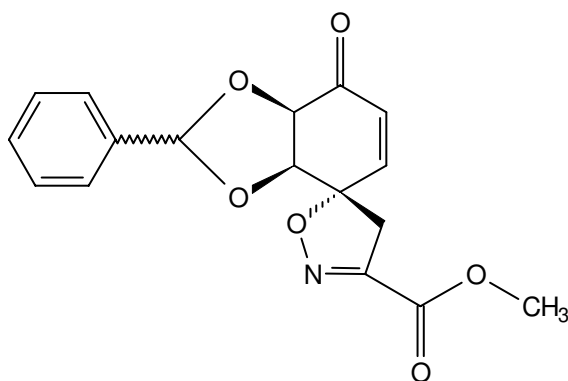
**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 90.5° (c = 0.93).

### Benzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindioldaddukt **49**



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>16</sup>

### Benzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiol **50**



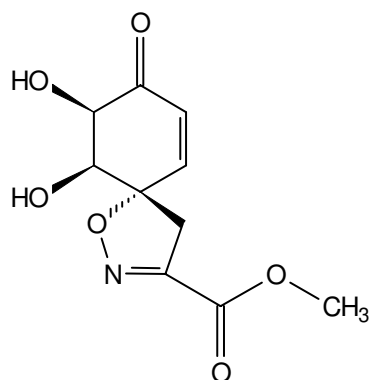
655 mg (1.15 mmol) Benzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindioldaddukt **49** wurden in einen Kolben einer Pyrolyseapparatur überführt. Man erhitze den Kolben auf 150 °C und das Pyrolyserohr auf 300 °C. Auf diese Weise wurde das Edukt im Kolben gespalten und das entstehende Dien **28** abdestilliert. Nach etwa 1.5 h Stunden war die Reaktion beendet, und der Rückstand, der im Kolben zurückgeblieben war, wurde mittels Flash-Chromatographie



gereinigt. Man erhielt 337 mg (89 %) eines gelben Schaums.

Spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>16</sup>

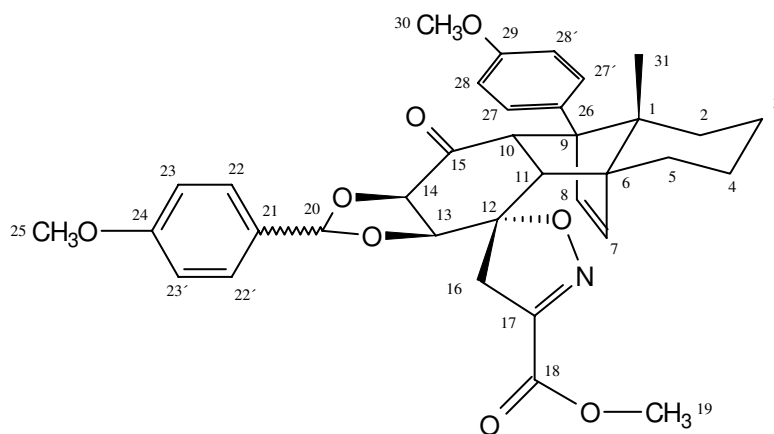
### Spiroisoxazolindiol 51



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Lit.<sup>16</sup>

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 115° (c = 0.67).

### *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolinmethylesteraddukt 77



1.96 g (4.06 mmol) Spiroisoxazolindioladdukt **48** in 100 ml abs. Acetonitril wurden mit 2.22 g (12.18 mmol, 3 eq) Anisaldehyddimethylacetal und einer Spatelspitze *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Es wurde 10 min bei Raumtemperatur gerührt, dann war die Reaktion

laut Dünnschichtkontrolle beendet. Man versetzte mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, extrahierte dreimal mit MTB-Ether und trocknete die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Nach dem Einengen des Lösungsmittels im Vakuum und Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel (PE/EE = 4:1) erhielt man 1.89 g (78 %) eines gelben Schaums.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$  (w, CH-arom.), 2956/2932 (m, CH-aliph.), 2864 (w, C-O), 1728 (s, C=O), 1612 (m, C=C), 1592 (w, C=C), 1516 (s, C=N), 1444 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1380 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1252 (s, C-O), 1128 (m), 908 (m).

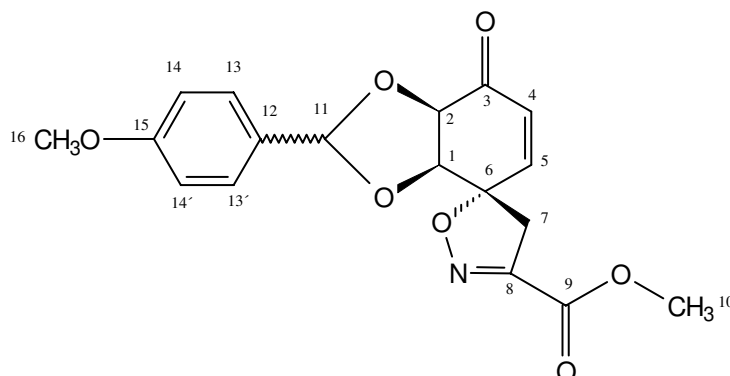
**UV** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 254 nm (3.76).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.62$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.80 (s, 3H, 31-H), 1.12 (m, 5H), 1.95-2.05 (m, 1H), 2.10 ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H), 3.11-3.19 (m, 2H, 11-H, 16-H), 3.56 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 16-H), 3.78 (s, 3H, 25-H), 3.80 (s, 3H, 30-H), 3.88 (s, 3H, 19-H), 4.15-4.20 (m, 10-H, 13-H), 4.40 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H, 14-H), 6.08 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.13 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.44 (s, 1H, 20-H), 6.86 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 23-H, 23'-H), 6.88 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 28-H, 28'-H), 7.21 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 22-H, 22'-H), 7.33 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 27-H, 27'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.77$  (C-31), 21.03 (C-4), 23.43 (C-3), 27.55 (C-5), 28.65 (C-2), 42.84 (C-16), 52.68 (C-11), 52.20 (C-25), 53.30 (C-10), 55.20 (C-30), 55.31 (C-19), 60.72 (C-6), 63.98 (C-1), 65.83 (C-9), 77.85 (C-13), 78.98 (C-14), 91.07 (C-12), 104.70 (C-20), 113.55 (C-23, C-23'), 113.95 (C-28, C-28'), 127.04 (C-22, C-22'), 128.23 (C-27, C-27'), 129.26 (C-21), 129.89 (C-26), 136.16 (C-7), 139.05 (C-8), 151.31 (C-24), 158.47 (C-29), 160.24 (C-17), 160.77 (C-18), 204.57 (C-15).

**MS** (190 °C):  $m/z$  (%) = 599 ( $\text{M}^+$ , 1), 359 (6), 300 (3), 240 (100), 225 (19), 197 (18), 165 (10), 135 (37), 121 (21), 94 (15), 77 (15).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{NO}_8$ ): ber.: 599.2519, gef.: 599.2524.

***p*-Methoxybenzaldehyd-geschützter Spiroisoxazolinmethylester 78**

1.21 g (2.025 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolinolmethylesteraddukt **77** wurden in einer Flash-Vakuum-Pyrolyse bei  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar einer Kolben-Temperatur von 150 °C ausgesetzt, wobei man das entstehende Dien **28** abdestillierte. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel gereinigt (PE/EE = 3:1), so daß man 657 mg (90 %) eines gelben Schaums erhielt.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3032 \text{ cm}^{-1}$  (w, CH-arom.), 2956/2936/2900 (w, CH-aliph.), 1728 (s, Ester), 1696 (s, Keton), 1612 (m, C=C), 1596 (m, C=C), 1444 (m, CH<sub>3</sub>), 1376 (m, CH<sub>3</sub>), 1252 (s, C-O), 1124 (m), 1092 (m), 908 (s).

**UV** (CHCl<sub>3</sub>):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 260 nm (3.63).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 3.24/3.29$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.79/3.81 (s, 3H, 16-H), 3.86 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.89/3.91 (s, 3H, 10-H), 4.53/4.61 (dd,  $J = 2/6$  Hz, 1H, 1-H), 4.65/4.80 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 2-H), 5.92/5.95 (s, 1H, 11-H), 6.28/6.34 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.74/6.87 (dd,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 5-H), 6.84-6.93 (m, 2H, 14-H, 14'-H), 7.27/7.36 (d,  $J = 9$  Hz, 1H, 13-H, 13'-H).

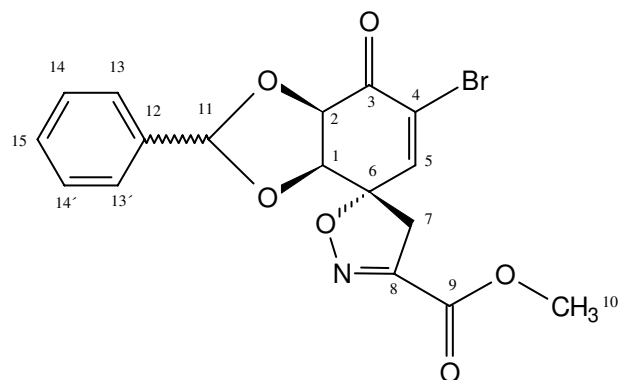
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 42.75/42.90$  (C-7), 53.12 (C-16), 55.31/55.33 (C-10), 73.88/75.122 (C-1), 76.59/78.25 (C-2), 85.06/85.24 (C-6), 103.01/105.02 (C-11), 113.87 (C-14, C-14'), 127.57/129.26 (C-12), 127.70/128.23 (C-13, C-13'), 131.00/131.49 (C-4), 143.42/143.92 (C-5), 151.69/151.80 (C-15), 160.10/160.13 (C-8), 160.64/160.84 (C-9), 192.65/193.44 (C-3).

**MS** (130 °C):  $m/z$  (%): = 359 (M<sup>+</sup>, 10), 195 (11), 194 (10), 167 (9), 149 (25), 135 (40), 121 (14), 99 (32), 83 (100), 73 (43).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>7</sub>): ber.: 359.1005, gef.: 359.1015.

## 13 Versuche zu Kapitel 5

### Benzaldehyd-geschützter 4-Bromspiroisoxazolindiolmethylester **79**



Zu einer Lösung von 20 mg (0.061 mmol) Benzaldehyd-geschütztem Spiroisoxazolindiolmethylester **50** in 3 ml abs. Dichlormethan wurden bei 0 °C 0.12 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.061 mmol, 1 eq) gegeben. Nach einer Stunde bei dieser Temperatur spritzte man 24 mg (0.244 mmol, 4 eq) Triethylamin zu. Nun ließ man langsam auf Raumtemperatur kommen. Nach 3 Stunden Rühren war die Reaktion laut Dünnschichtkontrolle beendet, so daß man die Reaktion mit Wasser beenden konnte. Es wurde mit MTB-Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel (PE/EE = 1:3) erhielt man 20 mg (80 %) eines gelben Öls.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3068/3040 \text{ cm}^{-1}$  (w, CH-arom.), 2956/2928 (w, CH-aliph.), 2860 (w, C-O), 1728 (s, C=O), 1596 (m, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1376 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1256 (s, C=O), 1096 (s), 908 (w).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.31/3.33$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.83/3.87 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.92/3.93 (s, 3H, 10-H), 4.52/4.64 (dd,  $J = 2/5$  Hz, 1H, 1-H), 4.84/4.97 (d,  $J = 5$  Hz, 1H, 2-H), 6.00/6.02 (s, 1H, 11-H), 7.19/7.23 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, 5-H), 7.30-7.45 (m, 5H, 13-H, 13'-H, 14-H, 14'-H, 15-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 40.85/40.95$  (C-7), 51.23/51.24 (C-10), 72.30/73.61 (C-1), 76.44 (C-2), 83.82/83.97 (C-6), 102.13/103.34 (C-11), 124.12/124.62 (C-13, C-13'),

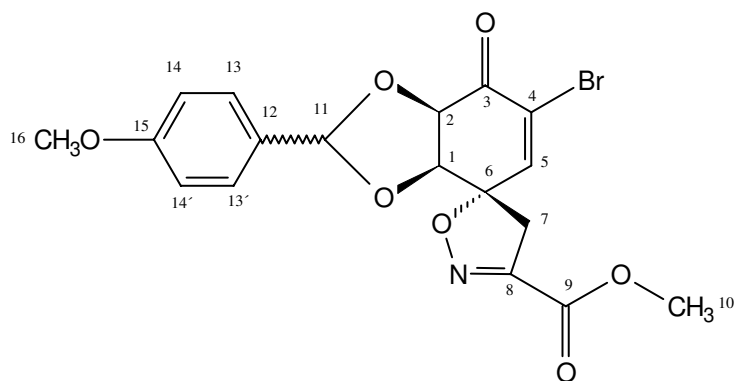
125.60/125.71 (C-12), 126.55/126.56 (C-14, C-14'), 127.75/128.05 (C-15), 133.00/134.65 (C-4), 141.40/142.07 (C-5), 149.69 (C-8), 157.85 (C-9), 183.70 (C-3).

**MS** (90 °C):  $m/z$  (%) = 279 (M-79-18-31, 5), 220 (9), 205 (18), 167 (8), 149 (21), 137 (5), 121 (5), 99 (16), 85 (70), 83 (100), 72 (11).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>16</sub>H<sub>9</sub>N<sub>1</sub>O<sub>4</sub>): ber.: 279.0532, gef.: 279.0528.

## ***p*-Methoxybenzaldehyd-geschützter 4-Bromspiroisoxazolindiolmethylester**

### **81**



Eine Lösung von 200 mg (0.557 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztem Spiroisoxazolindiolmethylester **78** in 4 ml abs. Dichlormethan wurde bei 0 °C mit 1.1 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.557 mmol, 1 eq) versetzt. Man ließ 2 h rühren, wobei die Temperatur langsam auf Raumtemperatur kam. Danach spritze man 220 mg (0.30 ml, 2.20 mmol, 4 eq) Triethylamin zu. Man ließ weitere 3 h rühren, danach wurde die Reaktion mit Wasser beendet, und man extrahierte dreimal mit MTB-Ether. Man trocknete die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat, entfernte die flüchtigen Bestandteile im Vakuum und reinigte durch Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1). Es wurden 217 mg (89 %) eines gelben Schaums erhalten.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu$  = 3040 cm<sup>-1</sup> (w, CH-arom.), 2956/2932 (w, CH-aliph.), 2856 (w, C-O), 1728 (s, C=O), 1612 (m, C=C), 1516 (m), 1444 (m, CH<sub>3</sub>), 1376 (w, CH<sub>3</sub>), 1252 (s, C-O), 1096 (m), 908 (m).

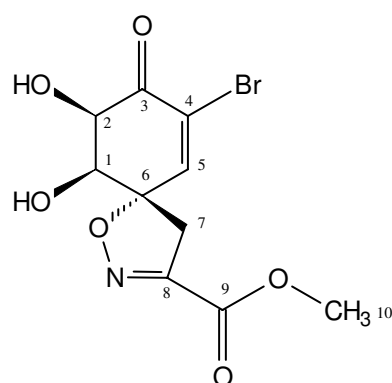
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.30/3.32 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 3.77-3.95 (m, 7-H, 16-

H, 10-H), 4.52/4.61 (dd,  $J = 2/5$  Hz, 1H, 1-H), 4.82/4.97 (d,  $J = 5$  Hz, 1H, 2-H), 5.95/5.96 (s, 1H, 11-H), 6.86-6.93 (m, 2H, 14-H, 14'-H), 7.19 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, 5-H), 7.24/7.35 (d,  $J = 9$  Hz, 1H, 13-H, 13'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 40.84/40.93$  (C-7), 51.26 (C-16), 53.31/53.32 (C-10), 72.24/73.64 (C-1), 74.56/76.33 (C-2), 83.81/84.01 (C-6), 102.02/103.37 (C-11), 111.88/111.93 (C-14, C-14'), 125.04/126.71 (C-12), 125.63/126.17 (C-13, C-13'), 141.37/142.13 (C-5), 149.60/149.71 (C-15), 157.87 (C-8), 158.70/158.92 (C-9).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 462 (M+23, 6), 460 (M+23, 6), 429 (7), 401 (16), 355 (20), 341 (23), 325 (27), 281 (84), 267 (31), 249 (17), 221 (81), 207 (100), 191 (33), 176 (13).

#### 4-Bromspiroisoxazolindiolmethylester **80**



Zu einer Lösung von 19 mg (0.0434 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztem 4-Bromspiroisoxazolindiolmethylester **79** in 3 ml Aceton fügte man 3 Tropfen 2 *N* Schwefelsäure zu. Man ließ 4 h bei Raumtemperatur rühren, dann wurde im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen, und man extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester. Man entfernte das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und reinigte mittels Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1). Auf diese Weise konnten 9 mg (65 %) eines gelben Schaums isoliert werden.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3576/3524$   $\text{cm}^{-1}$  (w, OH), 2956/2928 (w, CH-aliph.), 2856 (w, C-O), 1732 (s, C=O), 1596 (w, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1376 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1296 (m), 1252 (s, C-O), 1128 (m), 1112 (m).

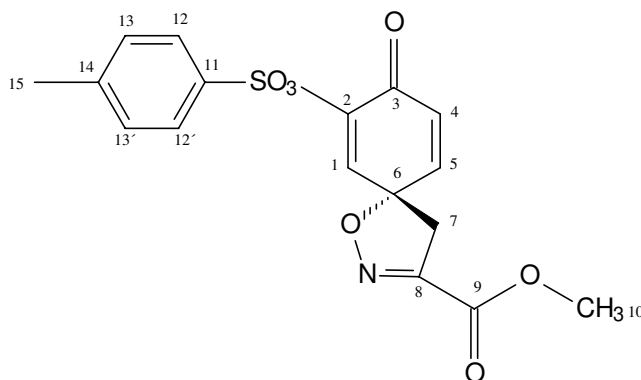
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.83$  (d,  $J = 2$  Hz,  $\text{D}_2\text{O}$ -austauschbar, 1H, OH), 3.29 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 6-H), 3.66 (d,  $J = 2$  Hz,  $\text{D}_2\text{O}$ -austauschbar, 1H, OH), 3.90 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.99 (s, 3H, 10-H), 4.28-4.32 (m, 1H, 1-H), 4.81-4.85 (m, 1H, 2-H), 7.08 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, 5-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 42.66$  (C-7), 53.22 (C-10), 73.03 (C-1), 73.57 (C-2), 88.49 (C-6), 124.77 (C-4), 143.22 (C-5), 160.56 (C-9), 191.05 (C-3).

**MS** (130 °C):  $m/z$  (%) = 7.13 ( $\text{M}^+$ , 6), 319 ( $\text{M}^+$ , 7), 290 (13), 259 (14), 244 (12), 216 (20), 202 (19), 176 (91), 174 (100), 152 (12), 124 (12), 99 (23), 78 (19), 69 (37).

**Drehwert** ( $\text{CDCl}_3$ ):  $132.5^\circ$  ( $c = 0.28$ ).

## 2-Tosylspiroisoxazolinmethylester **83**



Man löste 20 mg (0.0830 mmol) Spiroisoxazolinolmethylester **51**, 48 mg (0.249 mmol, 3 eq) Tosylchlorid, 30 mg (0.249 mmol, 3eq) DMAP und zwei Spatelspitzen Natriumbromid in 3 ml abs. Dichlormethan und kochte 2 Tage am Rückfluß. Danach beendete man die Reaktion mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung und extrahierte dreimal mit MTB-Ether. Es erfolgte Trocknung über Magnesiumsulfat sowie Entfernung der flüchtigen Komponenten im Vakuum. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel gereinigt, und es wurden 2 mg (6 %) eines farblosen Öls erhalten.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3040/2956/2928$   $\text{cm}^{-1}$  (CH- $\alpha$ h.), 1728 (s, Ester), 1692 (s, Keton), 1596 (m, C=C), 1620 (m, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1376 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1192 (s), 1180 (s), 1136 (s), 1068 (s), 908 (s).

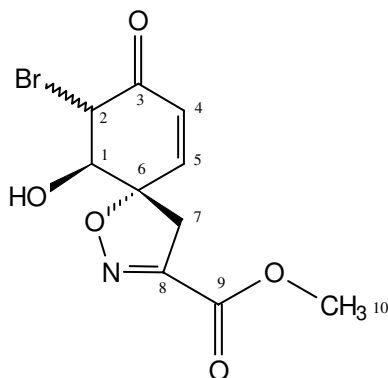
**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.46$  (s, 3H, 15-H), 3.43 (s, 2H, 7-H), 4.93 (s, 3H, 10-H), 6.22 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.78 (d,  $J = 3$  Hz, 1H, 1-H), 6.82 (dd,  $J = 3/10$  Hz, 1H, 5-H), 7.27 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 12-H, 12'-H), 8.99 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 13-H, 13'-H).

**MS** (190 °C):  $m/z$  (%) = 379 (M+2, 2), 222 (4), 194 (4), 155 (77), 120 (15), 91 (100).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_7\text{S}$ ): ber.: 378.9787, gef.: 378.9789.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $-43.7^\circ$  ( $c = 0.18$ ).

## Spiroisoxazolinbromhydrinmethylester **84**



Man legte 240 mg (0.916, 2.2 eq) Triphenylphosphin in 10 ml abs. Dichlormethan vor. Dann spritzte man bei 0 °C 0.95 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.475 mmol, 1.1 eq) zu. Anschließend wurden 0.09 ml (0.548 mmol, 1.3 eq) Hünigbase und 26 mg (0.137 mmol, 0.3 eq) Tosylchlorid zugefügt. Es wurde 10 min bei 0 °C gerührt, bevor man 100 mg (0.415 mmol) Spiroisoxazolinolmethylester **51** zugab. Man ließ über Nacht rühren, wobei man die Temperatur langsam auf Raumtemperatur kommen ließ. Man versetzte mit Wasser, um die Reaktion zu beenden. Es wurde mit Essigsäureethylester extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel gereinigt, und man erhielt 71 mg (72 %) eines gelben Öls als Diastereomerenmisch im Verhältnis 1:2 (*cis*-Bromhydrin:*trans*-Bromhydrin,  $^1\text{H-NMR}$ ).

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3592$   $\text{cm}^{-1}$  (w, OH), 3040/2956/2928 (w, CH-aliph.), 1728 (s, Ester), 1704 (s, Keton), 1600 (m, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1373 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1352 (s), 1264 (m, C-O), 1124 (m), 920 (m).



$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 37.46$  (C-7), 53.14/53.16 (C-10), 57.32 (C-1), 75.03 (C-2), 90.14 (C-6), 127.80 (C-4), 147.39 (C-5), 151.01/152.10 (C-8), 160.13/160.18 (C-9), 188.20 (C-3)

**MS** (140 °C):  $m/z$  (%) = 274 (M-31, 5), 272 (M-31, 5), 224 (89), 192 (32), 181 (30), 154 (13), 138 (28), 122 (22), 96 (100), 77 (19), 68 (36).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_4\text{Br}$ ): ber.: 271.9558, gef.: 271.9557.

Hauptprodukt (*trans*-Bromhydrin):

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.10$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.92 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.96 (s, 3H, 10-H), 4.41 (dd,  $J = 3/12$  Hz, 1H, 1-H), 4.57 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, 2-H), 6.27 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 7.01 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 5-H).

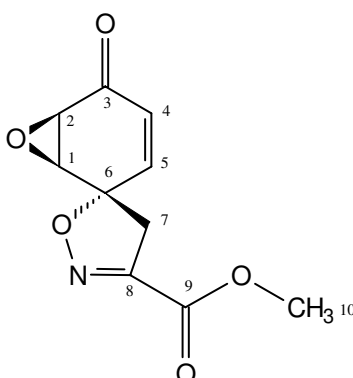
Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

Nebenprodukt (*cis*-Bromhydrin):

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.24$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.97 (s, 3H, 10-H), 4.44 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 4.48 ( $s_{\text{br}}$ , 1H, 1-H), 4.98 ( $s_{\text{br}}$ , 1H, 2-H), 6.25 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.76 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 5-H).

Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

## Spiroisoxazolinepoxymethylester **86**



Methode A:

Zu einer Lösung von 50 mg (0.165 mmol) Spiroisoxazolinbromhydrinmethylester **84** in 5 ml abs. Dichlormethan gab man bei Raumtemperatur 5 Tropfen DBU. Man ließ 10 min bei

dieser Temperatur rühren, dann war nach Dünnschichtkontrolle die Reaktion beendet. Die Reaktionslösung wurde einer Säulenchromatographie an Kieselgel unterzogen, und man erhielt 33 mg (90 %) eines weißen Feststoffes.

Methode B:

73 mg (0.158 mmol) Spiroisoxazolinmethylesterepoxyaddukt **75** wurden in einer Flash-Vakuum-Pyrolyse bei  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar einer Spaltrohrtemperatur von 300 °C ausgesetzt. Mittels Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:2) erhielt man 15 mg (43 %) farbloses Öl.

**Schmelzpunkt:** 77.4 °C.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3040/2956/2928 \text{ cm}^{-1}$  (w, CH-aliph.), 1728 (s, Ester), 1692 (s, Keton), 1596 (m, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1372 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1260 (s, C-O), 1228 (m), 1124 (m), 912 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.37$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.59 (dd,  $J = 2/4$  Hz, 1H, 1-H), 3.70-3.77 (m, 2H, 2-H, 7-H), 3.95 (s, 3H, 10-H), 6.12 (dd,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 4-H), 6.46 (dd,  $J = 3/10$  Hz, 1H, 5-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 43.88$  (C-7), 53.23 (C-10), 53.51 (C-1), 57.14 (C-2), 83.81 (C-6), 128.53 (C-4), 140.87 (C-5), 151.46 (C-8), 160.02 (C-9), 191.14 (C-3).

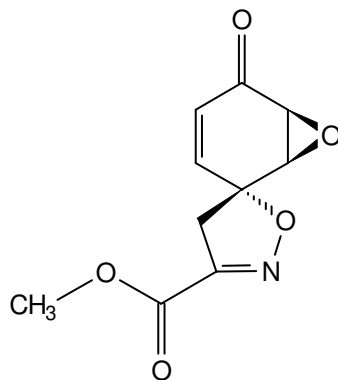
**MS** (90 °C):  $m/z$  (%) = 223 ( $\text{M}^+$ , 49), 206 (10), 194 (29), 174 (11), 164 (17), 146 (37), 136 (24), 119 (20), 94 (100), 77 (26), 66 (53).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_5$ ): ber.: 223.0481, gef.: 223.0484.

**Elementaranalyse:** ber.: C: 53.83, H: 4.06, N: 6.38; gef.: C: 53.40, H: 4.16, N: 5.48.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $275.5^\circ$  ( $c = 0.79$ ).

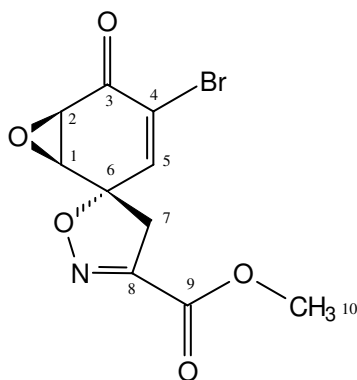
### ***ent*-Spiroisoxazolinepoxymethylester *ent*-86**



Darstellung und spektroskopische Daten siehe Spiroisoxazolinepoxymethylester **86**.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $-288.9^\circ$  ( $c = 1.1$ ).

#### 4-Bromspiroisoxazolinepoxymethylester **87**



Zu einer Lösung von 20 mg (0.0897 mmol) Spiroisoxazolinepoxymethylester **86** in 3 ml abs. Dichlormethan wurden bei  $0^\circ\text{C}$  0.21 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.108 mmol, 1.2 eq) gegeben. Nach einer Stunde bei dieser Temperatur gab man 0.03 ml (0.179 mmol, 2 eq) Hünigbase hinzu und ließ 5 h bei Raumtemperatur rühren. Dann wurde mit MTB-Ether extrahiert, anschließend mit Wasser gewaschen und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Eindampfen des Lösungsmittels und Flash-Chromatographie erhielt man 22 mg (83 %) eines gelben Feststoffes.

**Schmelzpunkt:**  $158.0^\circ\text{C}$ .

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3040/2956\text{ cm}^{-1}$  (w, CH-aliph.), 1728 (s, Ester), 1708 (s, Keton), 1596 (m, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1376 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1260 (s, C-O), 1140 (m), 908 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.41$  (d,  $J = 18\text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.68-3.82 (m, 3H, 1-H, 2-H, 7-H), 3.95 (s, 3H, 10-H), 6.92 ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 2\text{ Hz}$ , 1H, 5-H).

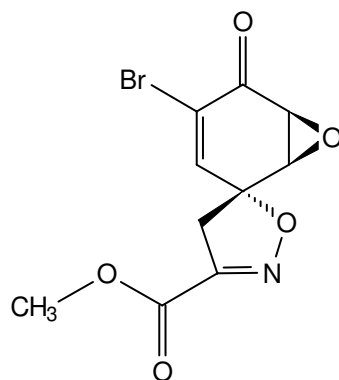
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 44.78$  (C-7), 54.35 (C-10), 54.37 (C-1), 58.10 (C-2), 86.37 (C-6), 126.30 (C-4), 142.01 (C-5), 152.41 (C-8), 160.78 (C-9), 185.59 (C-3).

**MS** ( $110^\circ\text{C}$ ):  $m/z$  (%) = 304 ( $\text{M}+1$ , 5), 303 ( $\text{M}^+$ , 35), 302 ( $\text{M}+1$ , 6), 301 ( $\text{M}^+$ , 41), 286 (14), 284 (12), 272 (32), 242 (43), 222 (48), 203 (45), 194 (75), 172 (61), 162 (32), 146 (50), 93 (100), 77 (36), 66 (83).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{NO}_5$ ): ber.: 222.0402, gef.: 222.0406.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $202.8^\circ$  ( $c = 0.64$ ).

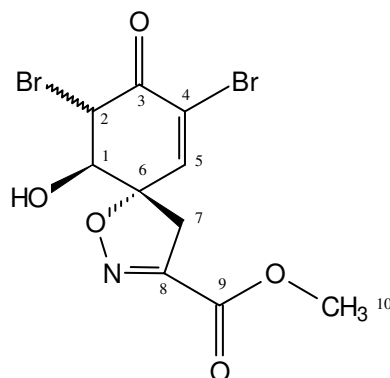
### *ent*-4-Bromspiroisoxazolinepoxymethylester *ent*-87



Darstellung und spektroskopische Daten siehe 4-Bromspiroisoxazolinepoxymethylester **87**.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $-207.7^\circ$  ( $c = 0.90$ ).

### 4-Bromspiroisoxazolinbromhydrinmethylester **88**



Methode A:

In 4 ml abs. Dichlormethan wurden 35 mg (0.135 mmol, 4.3 eq) Triphenylphosphin gelöst und auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlt. Danach gab man 0.08 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.081 mmol, 1.3 eq), 2 Tropfen Hünigbase und 8 mg (0.0313 mmol, 1 eq) Tosylchlorid sowie zum Schluß 10 mg (0.0313 mmol) 4-Bromspiroisoxazolindiol **82** hinzu.

Man ließ langsam auf Raumtemperatur kommen und ließ 10 Tage rühren. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser gestoppt. Man extrahierte dreimal mit Essigsäuremethylester, trocknete über Magnesiumsulfat und entfernte die flüchtigen Komponenten im Vakuum. Danach erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE/EE = 2:1). Man erhielt 3.6 mg (30 %) eines gelblichen Öls.

#### Methode B:

Man legte 25 mg (0.0945 mmol, 1.5 eq) Triphenylphosphin bei 0 °C in abs. Dichlormethan vor. Danach wurden 0.13 ml Brom-Lösung (0.063 mmol, 1 eq) zugespritzt. Nun fügte man 19 mg (0.063 mmol) 4-Bromspiroisoxazolinepoxid **87** hinzu. Es wurde 2 Stunden lang gerührt, bevor laut Dünnschichtkontrolle die Reaktion beendet war. Anschließend wurde mit Wasser versetzt und dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Danach erfolgte die Trocknung der vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und eine Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel. Nach Entfernen der flüchtigen Komponenten im Vakuum isolierte man 23 mg (96 %) eines gelben Öls.

Das Produkt lag jeweils als Diastereomerenmisch im Verhältnis 1:2 (*trans*-Bromhydrin:*cis*-Bromhydrin, <sup>1</sup>H-NMR) vor.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3584 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 3040/2956/2928 (w, CH-aliph.), 1728 (s, C=O), 1600 (m, C=C), 1444 (m, CH<sub>3</sub>), 1376 (m, CH<sub>3</sub>), 1260 (s, C-O), 1128 (m, C-O), 908 (s).

**MS** (RT):  $m/z$  (%) = 305 (M-78, 5), 303 (M-78, 4), 281 (4), 271 (10), 261 (3), 242 (3), 222 (8), 212 (4), 176 (3), 149 (4), 99 (10), 85 (68), 83 (100), 77 (7).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>5</sub>Br): ber.: 302.9743, gef.: 302.9745.

#### *cis*-Bromhydrin (Hauptprodukt)

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 3.12$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.87 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.92 (s, 3H, 10-H), 4.37 (dd,  $J = 3/12$  Hz, 1H, 1-H), 4.56 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, 2-H), 7.41 (s, 1H, 5-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 37.28$  (C-7), 53.27 (C-10), 55.56 (C-2), 74.45 (C-1), 90.80 (C-6), 123.01 (C-4), 147.29 (C-5), 152.11 (C-8), 159.97 (C-9), 181.72 (C-3).

Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

#### *trans*-Bromhydrin (Nebenprodukt):

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.26 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 3.93 (s, 3H, 10-H), 3.97 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 4.44 (s<sub>br</sub>, 1H, 1-H), 5.12 (d,  $J$  = 3 Hz, 1H, 2-H), 7.14 (d,  $J$  = 1 Hz, 1H, 5-H).

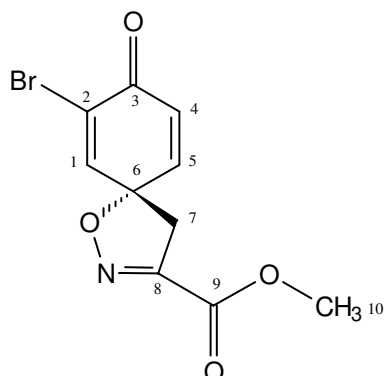
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 47.67 (C-7), 53.23 (C-10), 55.56 (C-2), 74.44 (C-1), 89.92 (C-6), 124.37 (C-4), 143.89 (C-5), 151.03 (C-8), 159.94 (C-9), 182.12 (C-3).

Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

### **Allgemeine Arbeitsvorschrift AAV1: Umsetzung von Triphenylphosphindibromid, Tosylchlorid und Hünigbase mit Alkoholen**

In einem ausgeheizten Zweihalskolben löste man unter Schutzgas das Triphenylphosphin in abs. Dichlormethan und kühlte auf 0 °C ab. Nun fügte man die entsprechende Menge Brom als 0.5 M Lösung in Dichlormethan zu. Dann wurden nacheinander die Hünigbase, das Tosylchlorid und zum Schluß der Alkohol zugegeben. Man ließ rühren, bis dünnschichtchromatographisch kein Edukt mehr erkennbar war, wobei man langsam auf Raumtemperatur kommen ließ. Es war darauf zu achten, daß die Reaktion stets wasser- und sauerstofffrei war. Es wurde zum Beenden der Reaktion mit Wasser versetzt, mit MTB-Ether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte durch Flash-Chromatographie. Die Mengen der Reagenzien und Edukte sind an der entsprechenden Stelle einzeln angegeben.

## 2-Bromspiroisoxazolinmethylester **89**



Man setzte nach **AAV1** 100 mg (0.414 mmol) Spiroisoxazolindiolmethylester **51**, 15 mg Tosylchlorid (0.078 mmol, 0.2 eq), 240 mg (0.911 mmol, 2.2 eq) Triphenylphosphin, 1.075 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.538 mmol, 1.3 eq) und 0.09 ml (0.538 mmol, 1.3 eq) Hünigbase um. Man ließ 8 Tage rühren, bevor man aufarbeitete und mit Hilfe von Flash-Chromatographie 36 mg (31 %) gelbes Öl isolierte.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3040/2956 \text{ cm}^{-1}$  (w, CH-aliph.), 1728 (s, Ester), 1680 (s, Keton), 1596 (m, C=C), 1444 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1372 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1256 (s, C=C), 1132 (s), 908 (s).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.40$  (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.46 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.93 (s, 3H, 10-H), 6.41 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 4-H), 6.91 (dd,  $J = 3/10 \text{ Hz}$ , 1H, 5-H), 7.31 (d,  $J = 3 \text{ Hz}$ , 1H, 1-H).

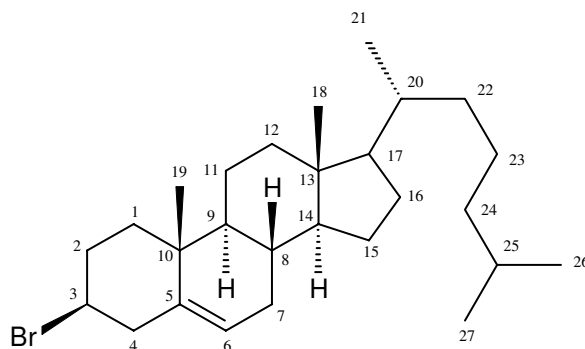
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 43.20$  (C-7), 53.27 (C-10), 85.03 (C-6), 126.22 (C-2), 128.04 (C-4), 143.84 (C-5), 143.85 (C-1), 151.11 (C-8), 159.77 (C-9), 177.14 (C-3).

**MS** (100 °C):  $m/z$  (%) = 287 ( $\text{M}^+$ , 10), 285 ( $\text{M}^+$ , 10), 255 (14), 253 (14), 228 (67), 226 (79), 206 (96), 186 (100), 184 (99), 178 (49), 174 (61), 158 (34), 106 (35), 90 (27), 78 (66).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{NO}_4\text{Br}$ ): ber.: 284.9636, gef.: 284.9639.

**Drehwert** ( $\text{CDCl}_3$ ):  $-34.4^\circ$  ( $c = 0.31$ ).

## Cholesterinbromid 91



Man setzte gemäß **AAV1** 200 mg (0.517 mmol) Cholesterin **90** mit 289 mg (1.138 mmol, 2.2 eq) Triphenylphosphin, 1.3 ml Brom-Lösung (0.672 mmol, 1.3 eq, 0.5 M Lösung in Dichlormethan), 20 mg (0.103 mmol, 0.2 eq) Tosylchlorid und 0.12 ml (0.672 mmol, 1.3 eq, 87 mg) Hünigbase um. Nach 2 Stunden wurde aufgearbeitet und man erhielt nach Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:7) 208 mg (87 %) eines weißen Feststoffes. Das Produkt lag als Diastereomerenmisch im Verhältnis 4.5:1 ( $\beta$ -Bromid: $\alpha$ -Bromid,  $^1\text{H-NMR}$ ) vor.

**Schmelzpunkt:** 91.5 °C.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2948 \text{ cm}^{-1}$  (s, CH-aliph.), 2868 (m), 1464 (m,  $\text{CH}_3$ ) 1376 (w,  $\text{CH}_3$ ), 908 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.67$  (s, 3H, 19-H), 0.85 (d,  $J = 0.7$  Hz, 1H, 26-H), 0.88 (d,  $J = 0.7$  Hz, 1H, 27-H), 0.91 (d,  $J = 7.5$  Hz, 3H, 21-H), 1.04 (s, 3H, 18-H), 0.83-1.69 (m, 20H), 1.73-2.25 (m, 6H), 2.57 (ddd,  $J = 2/5/13.5$  Hz, 1H), 2.75 (dtr,  $J = 2/13.5$  Hz, 1H), 3.83-4.02 (m, symmetrisch, 1H, 3-H), 4.69 (tr,  $J = 3\text{Hz}$ , 3-H), 5.36 (d<sub>br</sub>,  $J = 5\text{Hz}$ , 1H, 6-H).

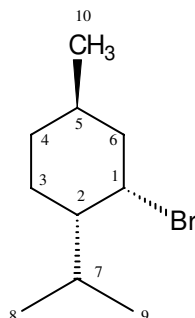
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 11.86$  ( $\text{CH}_3$ ), 18.73 ( $\text{CH}_3$ ), 19.25 ( $\text{CH}_3$ ), 20.93 ( $\text{CH}_2$ ), 22.57 ( $\text{CH}_3$ ), 22.82 ( $\text{CH}_3$ ), 23.85 ( $\text{CH}_2$ ), 24.28 ( $\text{CH}_2$ ), 28.02 (CH), 28.22 ( $\text{CH}_2$ ), 31.76 (CH), 31.83 ( $\text{CH}_2$ ), 34.38 ( $\text{CH}_2$ ), 35.79 (CH), 36.21 ( $\text{CH}_2$ ), 36.42 (C), 39.54 ( $\text{CH}_2$ ), 39.72 ( $\text{CH}_2$ ), 40.36 ( $\text{CH}_2$ ), 42.34 (C), 44.32 ( $\text{CH}_2$ ), 50.22 (CH), 52.59 (CH), 56.18 (CH), 56.72 (CH), 122.33 (C-6), 141.59 (C-5).

**MS** (110 °C):  $m/z$  (%) = 450 ( $\text{M}^+$ , 93), 448 ( $\text{M}^+$ , 100), 435 (27), 433 (26), 370 (34), 369 (50), 354 (14), 337 (25), 335 (26), 296 (27), 294 (26), 276 (34), 248 (28), 213 (17), 159 (22), 145 (36), 133 (24), 107 (35).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{Br}$ ): ber.: 448.2705, gef.: 448.2703.



## Mentholbromid **94**



Man setzte 200 mg (1.282 mmol) Menthol **93** nach **AAV1** mit 738 mg (2.821 mmol, 2.2 eq) Triphenylphosphin, 3.33 ml Brom-Lösung (1.67 mmol, 0.5 M Lösung in Dichlormethan, 1.3 eq), 49 mg (0.256 mmol, 0.2 eq) Tosylchlorid und 0.23 ml (1.67 mmol, 1.3 eq) Triethylamin um. Nach 1.5 Stunden war die Reaktion beendet. Nach Aufarbeitung und Flash-Chromatographie (PE) erhielt man 479 mg (86 %) einer farblosen Flüssigkeit.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2948/2924$  (s, CH-aliph.), 2868 (m), 2844 (m), 1480 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1456 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1384 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1368 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1272 (m), 1228 (m), 1188 (m).

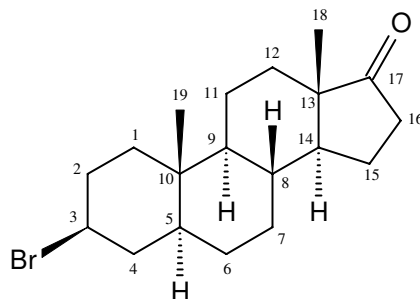
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.78$  (m, 1H), 0.89 (d,  $J = 7$  Hz, 3H, 10-H), 0.92 ( $s_{\text{br}}$ , 3H, 8-H), 0.93 ( $s_{\text{br}}$ , 3H, 9-H), 1.31-1.59 (m, 3H), 1.70-1.79 (m, symmetrisch, 2H), 1.90-2.02 (m, 1H), 2.16 (dq,  $J = 4/14$  Hz, 1H), 4.65-4.69 (m, 1H, 1-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 20.09/20.66/27.78$  ( $\text{CH}_3$ ), 25.08 ( $\text{CH}_2$ ), 26.79 (CH), 31.39 (CH), 34.85 ( $\text{CH}_2$ ), 43.94 ( $\text{CH}_2$ ), 49.27 (CH), 60.65 (C-1)

**MS** (RT):  $m/z$  (%) = 139 (M-Br, 81), 123 (13), 109 (3), 95 (51), 83 (100), 81 (41), 69 (36).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{10}\text{H}_{19}$ ): ber.: 139.1487, gef.: 139.1487.

## $\beta$ -Androsteronbromid **96a**



Man brachte nach **AAV1** 200 mg (0.690 mmol) *cis*-Androsteron **95a** mit 415 mg (1.59 mmol, 2.3 eq) Triphenylphosphin, 1.79 ml einer 0.5 M Bromlösung (in Dichlormethan, 0.897 mmol, 1.3 eq), 115 mg Hünigbase (0.15 ml, 0.897 mmol, 1.3 eq) und 26 mg (0.138 mmol, 0.2 eq) Tosylchlorid zur Reaktion. Nach 1.5 Stunden arbeitete man auf und reinigte durch Flash-Chromatographie, wobei man 208 mg (70 %)  $\beta$ -Androsteronbromid **96a** als weißen Feststoff erhielt.

**Schmelzpunkt:** 136.7 °C.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu$  = 2936 cm<sup>-1</sup> (m, CH-aliph.), 2852 (m, CH-aliph.), 1732 (s, C=O), 1464 (w, CH<sub>3</sub>), 1452 (w, CH<sub>3</sub>), 1372 (w, CH<sub>3</sub>), 1160 (w), 908 (m).

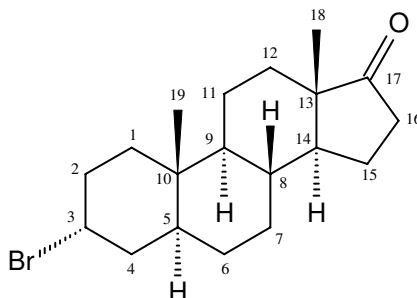
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.71 (dtr,  $J$  = 4/12 Hz, 1H), 0.86 (s, 3H, 18-H), 0.88 (s, 3H, 19-H), 0.94 (dd,  $J$  = 5/12 Hz, 1H), 1.10 (dd,  $J$  = 5/12 Hz, 1H), 1.05 (dtr,  $J$  = 4/14 Hz, 1H), 1.14-2.19 (m, 13H), 2.44 (ddd,  $J$  = 1/10/18 Hz, 1H, 16-H), 3.98-4.05 (m, symmetrisch, 1H, 3-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 12.28 (C-18), 13.80 (C-19), 20.31 (CH<sub>2</sub>), 21.73 (CH<sub>2</sub>), 28.09 (CH<sub>2</sub>), 30.72 (CH<sub>2</sub>), 31.48 (CH<sub>2</sub>), 31.48 (CH<sub>2</sub>), 34.06 (CH<sub>2</sub>), 34.92 (CH), 35.51 (C), 35.80 (CH<sub>2</sub>), 35.70 (CH<sub>2</sub>), 40.47 (CH<sub>2</sub>), 47.75 (C), 47.95 (CH), 51.12 (CH), 52.12 (CH), 54.32 (CH), 221 (C).

**MS** (RT):  $m/z$  (%) = 354 (M<sup>+</sup>, 13), 352 (14), 310 (4), 295 (3), 273 (3), 217 (3), 107 (6), 69 (38).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>OBr): ber.: 352.1402, gef.: 352.1404.

**Elementaranalyse:** ber.: C:64.59, H: 8.27; gef.: C: 64.96, H: 8.51.

**$\alpha$ -Androsteronbromid 96b**

Durch Umsetzung von 200 mg (0.690 mmol) *trans*-Androsteron **95b** mit 415 mg (1.59 mmol, 2.3 eq) Triphenylphosphin, 1.79 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.897 mmol, 1.3 eq) 115 mg (0.897 mmol, 1.3 eq) Hünigbase und 26 mg (0.138 mmol, 0.2 eq) Tosylchlorid nach **AAV1**, Aufarbeitung (nach 1.5 h) und Reinigung des Rohproduktes mittels Flash-Chromatographie konnten 225 mg (93 %) eines weißen Feststoffes erhalten werden.

**Schmelzpunkt:** 168.0 °C.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 2932 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 2860 (m, CH-aliph.), 1732 (s, C=O), 1452 (m, CH<sub>3</sub>), 1368 (w, CH<sub>3</sub>), 1252 (m), 1052 (m), 1012 (m), 908 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.81$  (s, 3H, 18-H), 0.86 (s, 3H, 19-H), 0.88-1.99 (m, 16H), 2.08 (dtr,  $J = 9/18 \text{ Hz}$ , 1H, 16-H), 2.41 (dd,  $J = 8/18 \text{ Hz}$ , 1H, 16-H), 4.73 (q,  $J = 3 \text{ Hz}$ , 1H, 3-H).

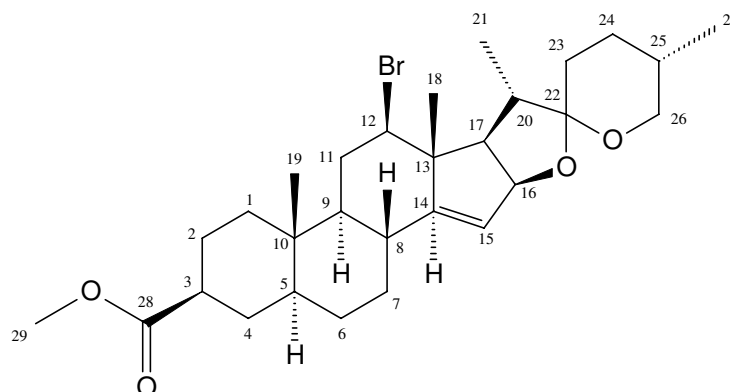
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 12.33$  (C-18), 13.83 (C-19), 20.05 (CH<sub>2</sub>), 21.73 (CH<sub>2</sub>), 27.57 (CH<sub>2</sub>), 30.63 (CH<sub>2</sub>), 30.94 (CH<sub>2</sub>), 31.51 (CH<sub>2</sub>), 32.85 (CH<sub>2</sub>), 34.99 (CH), 35.82 (CH<sub>2</sub>), 36.39 (C), 37.22 (CH<sub>2</sub>), 40.16 (CH), 47.77 (C), 51.42 (CH), 53.98 (CH), 55.59 (CH), 221.17 (C).

**MS** (130 °C):  $m/z$  (%) = 355 (M+1, 23), 354 M<sup>+</sup>, 95), 353 (M+1, 24), 352 (M<sup>+</sup>, 100), 319 (12), 310 (30), 296 (24), 282 (20), 218 (35), 164 (10), 147 (13), 123 (20), 121 (19), 97 (26), 95 (20), 93 (30), 81 (24).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>OBr): ber.: 352.1402, gef.: 352.1401.

**Elementaranalyse:** ber.: C: 64.59, H: 8.27; gef.: C: 64.83, H 8.27.

## Hecogeninhomoallylbromid **98**



Es wurden nach **AAV1** 200 mg (0.424 mmol) Homoallylalkohol **97** mit 290 mg (1.107 mmol, 2.6 eq) Triphenylphosphin, 1.1 ml Brom-Lösung (0.5 M Lösung in Dichlormethan, 0.550 mmol, 1.3 eq), 0.1 ml (0.551 mmol, 1.3 eq) Hünigbase und 30 mg (0.158 mmol, 0.37 eq) Tosylchlorid zur Reaktion gebracht. Nach Rühren über Nacht wurde aufgearbeitet, und man reinigte das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE = 1:6). Es wurden 102 mg (45 %) eines braunen Feststoffes isoliert.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2952 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 2932 (s, CH-aliph.), 2860 (m), 1724 (s, C=O), 1648 (w, C=C), 1456 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1380 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1264 (s), 1128 (m), 1060 (m), 1032 (m), 976 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.80$  (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H, 27-H), 0.90 (s, 3H, 19-H), 1.08 (d,  $J = 7$  Hz, 3H, 21-H), 1.16 (s, 3H, 18-H), 0.81-2.19 (m, 16H), 2.03 (s, 3H, 29-H), 2.52 (tr,  $J = 9$  Hz, 1H, 17-H), 3.42 (tr,  $J = 11$  Hz, 1H, 26-H), 3.51 (ddd,  $J = 2/4.5/11$  Hz, 1H, 26-H), 3.78 (dd,  $J = 4/12$  Hz, 1H, 12-H), 4.67 (m, 1H, 3-H), 4.85 (dd,  $J = 2/8$  Hz, 16-H), 5.47 (tr,  $J = 2$  Hz, 1H, 15-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 12.02/13.01/16.30/17.15/21.39$  (C-18, C-19, C-21, C-27, C-29), 27.26 ( $\text{CH}_2$ ), 27.98 ( $\text{CH}_2$ ), 28.73 ( $\text{CH}_2$ ), 29.46 ( $\text{CH}_2$ ), 30.32 (CH), 31.07 ( $\text{CH}_2$ ), 33.35 ( $\text{CH}_2$ ), 33.71 ( $\text{CH}_2$ ), 33.97 (CH), 36.22 (C), 36.43 ( $\text{CH}_2$ ), 44.25 (CH), 44.42 (CH), 53.88 (C-13), 56.06 (CH), 57.72 (CH), 67.07 (C-12), 67.14 (C-26), 73.18 (C-3), 83.72 (C-16), 106.83 (C-22), 120.49 (C-15), 156.60 (C-14), 170.58 (C-28).

**FAB-MS** :  $m/z$  (%) = 537 (M+1, 30), 535 (M+1, 100), 518 (25), 475 (14), 455 (52), 437

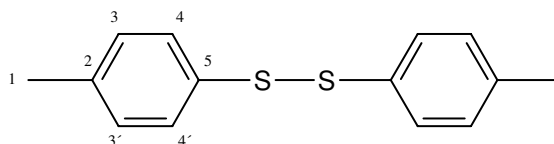
(18), 391 (19), 339 (45), 307 (16), 259 (22), 207 (15).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 536 ( $M^+$ , 9), 534 ( $M^+$ , 10), 518 (8), 516 (8), 455 (19), 454 (17), 436 (21), 422 (13), 383 (16), 340 (62), 339 (100), 311 (28), 280 (15), 266 (13), 246 (10), 226 (9), 185 (11), 171 (22), 126 (23), 69 (27).

**MS-Hochauflösung** ( $C_{29}H_{43}O_4Br$ ): ber.: 534.2345, gef.: 534.2330.

**Drehwert** ( $CHCl_3$ ):  $29.5^\circ$  ( $c = 0.30$ ).

### Bisulfid 103



Das Bisulfid **103** wurde als unpolares Nebenprodukt aus der Bromierungsreaktion von Menthol **93** zum Mentholbromid **94** gewonnen.

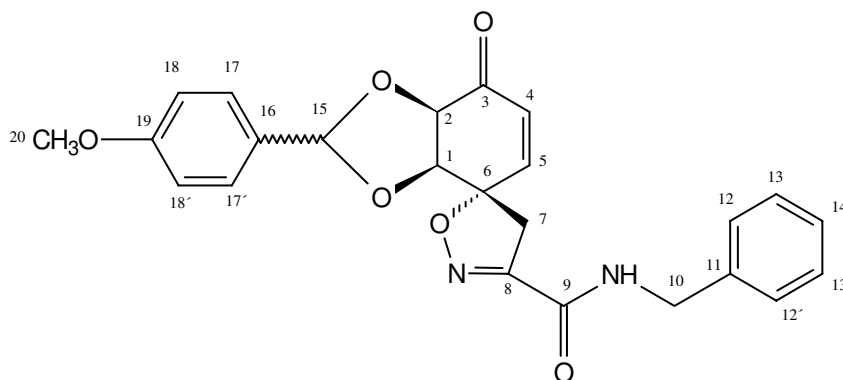
**IR** ( $CHCl_3$ ):  $\nu = 3072/3000\text{ cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 2856 (m, CH-aliph.), 1596 (w), 1488 (s), 1448 (m), 1396 (m), 1380 (w), 1116 (w), 1016 (m).

**$^1H$ -NMR** (200 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 2.32$  (s, 3H, 1-H), 7.10 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, 4-H, 4'-H), 7.38 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, 3-H, 3'-H).

**MS** (RT):  $m/z$  (%) = 248 ( $M+2$ , 11), 247 ( $M+1$ , 17), 246 ( $M^+$ , 100), 214 (3), 182 (4), 123 (73), 105 (5), 91 (12), 77 (12).

## 14 Versuche zu Kapitel 6

### *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiolbenzylamid 105



Zu einer Lösung von 20 mg (0.0557 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztem Spiroisoxazolindiolmethylester **78** in Dioxan gab man bei Raumtemperatur 24 mg (0.248 mmol, 4.5 eq)  $\alpha$ -Pyridon und 2 Tropfen Benzylamin. Nach 10 min wurde mit Wasser versetzt, dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Mit Hilfe von Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1) konnten 0 bis 14 mg (0 bis 58 %) eines weißen Schaums erhalten werden.

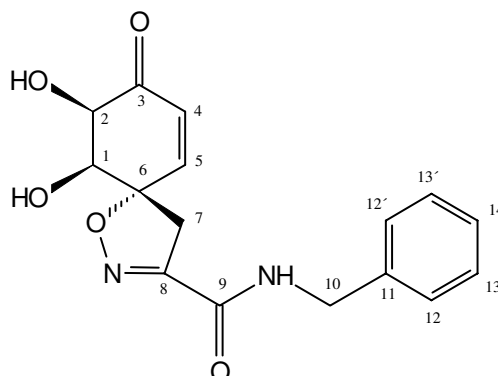
**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3420 \text{ cm}^{-1}$  (w, NH), 3000 (w, CH-arom.), 2956/2936 (w, CH-aliph.), 1732 (s, C=O), 1680 (m, Amid), 1612 (m, C=C), 1516 (m, Amid), 1452 (w, CH<sub>3</sub>), 1376 (w, CH<sub>3</sub>), 1252 (s), 1088 (m), 1032 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 3.28$  (d,  $J = 18.5$  Hz, 1H, 7-H), 3.80 (s, 3H, 20-H), 3.93 (d,  $J = 18.5$  Hz, 1H, 7-H), 4.41-4.66 (m, 4H, 1-H, 2-H, 10-H), 5.92 (s, 1H, 15-H), 6.26 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.72 (dd,  $J = 10/2$  Hz, 1H, 5-H), 6.81-7.04 (m, 6H, NH, 18-H, 18'-H, 13-H, 13'-H), 7.16-7.45 (m, 5H, 14-H, 12-H, 12'-H, 17-H, 17'-H).

**MS** (50 °C):  $m/z$  (%) = 435 (M+1, 5), 434 (M<sup>+</sup>, 7), 417 (5), 409 (9), 408 (28), 407 (100), 373 (5), 182 (19), 135 (11), 105 (33).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>): ber.: 434.1478, gef.: 434.1479.

## Spiroisoxazolindiolbenzylamid **106**



### Methode A:

26 mg (0.0599 mmol) in 5 ml Aceton gelöstes *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiolbenzylamid **105** wurden mit 3 Tropfen 2 *N* Schwefelsäure versetzt, und bei Raumtemperatur 2 Stunden lang gerührt. Man beendete die Reaktion durch Zugabe einer Spatelspitze Natriumhydrogencarbonat. Die Lösung wurde eingeeengt, mit Wasser aufgenommen und fünfmal mit Essigsäureethylester extrahiert. Man trocknete die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und erhielt nach Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) 12 mg (63 %) braunen Schaum.

### Methode B:

15 mg (0.0441 mmol) der Diolcarbonsäure **147** wurden bei Raumtemperatur in 3 ml abs. THF gelöst. Nun wurden 7 mg (0.0441 mmol, 1 eq) Carbonyldiimidazol hinzugefügt und 10 min gerührt. Danach versetzte man mit 5 mg (0.0467 mmol, 1.1 eq) Benzylamin und ließ 1 h bei Raumtemperatur rühren. Die Säulenfiltration der Reaktionslösung lieferte 7 mg (50 %) braunes Öl.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3580 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 3504 (w, OH), 3416 (m, NH), 3064/3040 (w, CH-arom.), 2928 (w, CH-aliph.), 1700 (s, Keton), 1680 (s, Amid), 1600 (m, C=C), 1528 (s, Amid), 1252 (m), 1128 (m), 1108 (m), 908 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 3.23$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.89 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 4.21 (tr,  $J = 2.5$  Hz, 1H, 1-H), 4.54 (dd,  $J = 2/6$  Hz, 2H, 10-H), 4.63 (d,  $J = 3$  Hz, 1H, 2-H), 6.24 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.59 (dd,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 5-H), 6.98 (tr,  $J = 6$  Hz, 1H, NH),

7.27-7.39 (m, 5H, 12-H, 12'-H, 13-H, 13'-H, 14-H).

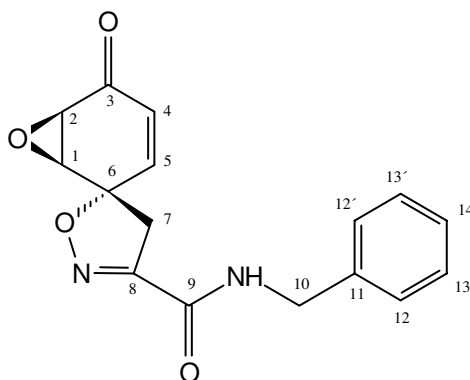
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 42.66$  (C-10), 43.66 (C-7), 73.02 (C-1), 73.07 (C-2), 87.45 (C-6), 127.91 (C-14), 127.92 (C-13, C-13'), 128.87 (C-12, C-12'), 129.01 (C-4), 137.10 (C-11), 143.40 (C-5), 154.26 (C-8), 158.85 (C-9), 197.15 (C-3).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 316 ( $\text{M}^+$ , 6), 256 (3), 175 (15), 160 (6), 106 (71), 91 (100).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ ): ber.: 316.1059, gef.: 316.1057.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $71.5^\circ$  ( $c = 0.38$ ).

### Spiroisoxazolineepoxybenzylamid 107



Man löste 20 mg (0.0897 mmol) Spiroisoxazolineepoxymethylester **86** und 0.18 ml Benzylamin-Lösung (0.5 M Lösung in Dioxan, 0.900 mmol, 1 eq) in 5 ml Dioxan und versetzte bei Raumtemperatur mit 38 mg (0.406 mmol, 4.5 eq)  $\alpha$ -Pyridon. Man ließ 15 min bei Raumtemperatur rühren. Man beendete die Reaktion durch Zugabe von Wasser und extrahierte fünfmal mit Essigsäureethylester. Es wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, und man erhielt 0 bis 11 mg (0 bis 41 %) eines farblosen Öls.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3416$   $\text{cm}^{-1}$  (w, NH), 3040 (w, CH-arom.), 2928 (w, CH-aliph.), 1680 (s, C=O), 1600 (w, C=C), 1528 (s, Amid), 1252 (m, Epoxid).

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.50$  (d,  $J = 18.5$  Hz, 1H, 7-H), 3.56 (dd,  $J = 2/3,5$  Hz, 1H, 1-H), 3.70-3.84 (m, 2H, 7-H, 2-H), 4.56 (d,  $J = 6$  Hz, 2H, 10-H), 6.10 (dd,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 4-H), 6.44 (dd,  $J = 3/10$  Hz, 1H, 5-H), 6.95 ( $s_{\text{br}}$ , 1H, NH), 7.32 (m, 5H, 12-H, 12'-H, 13-H, 13'-H, 14-H).

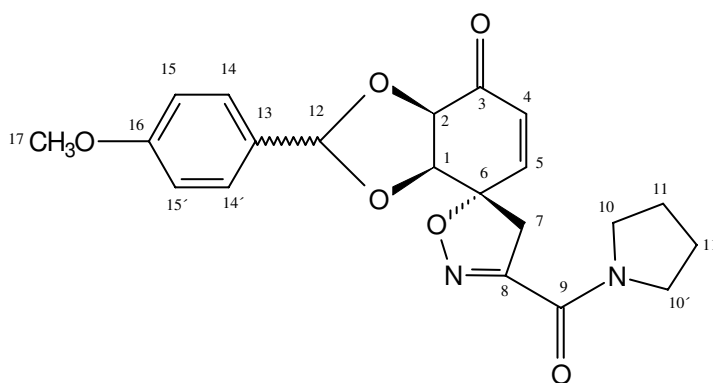


**MS** (190 °C):  $m/z$  (%) = 299 (M+1, 3), 298 (M<sup>+</sup>, 10), 271 (4), 174 (23), 173 (15), 132 (10), 106 (100), 91 (95), 71 (18).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>): ber.: 298.0953, gef.: 298.0956.

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 49.4° (c = 0.49).

### ***p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiolpyrrolidinamid 109**



Man löste 25 mg (0.0696 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Spiroisoxazolindiolmethylester **78** in 2 ml Dioxan, gab dann 28 mg (0.288 mmol, 4 eq)  $\alpha$ -Pyridon und danach 35 mg (0.478 mmol, 7 eq) Pyrrolidin **108** hinzu. Man ließ 10 min bei Raumtemperatur rühren, versetzte mit Wasser und extrahierte dreimal mit Essigsäuremethylester. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt an Kieselgel gesäubert. Auf diese Weise erhielt man 21 mg (75 %) eines weißen Schaums.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu$  = 2984 cm<sup>-1</sup> (w, CH-arom.), 2956 (m, CH-aliph.), 2928 (w, CH-aliph.), 1696 (m, C=O), 1628 (s, C=C), 1592 (m, C=C), 1452 (m, CH<sub>3</sub>), 1400 (m), 1264 (s), 1092 (m), 908 (s).

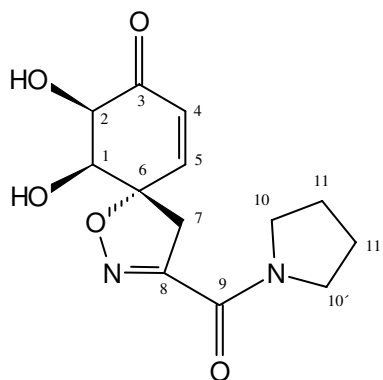
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.86-2.02 (m, 4H, 11-H, 11'-H), 3.38 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 3.55-3.62 (m, 2H, 10-H, 10'-H), 3.71-3.85 (m, 5H, 10-H, 10'-H, 17-H), 3.95 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 4.58 (dd,  $J$  = 2/6 Hz, 1H, 1-H), 4.64 (d,  $J$  = 6 Hz, 1H, 2-H), 5.93 (s, 1H, 12-H), 6.28 (d,  $J$  = 10 Hz, 1H, 4-H), 6.75 (dd,  $J$  = 2/10 Hz, 1H, 5-H), 6.87 (d,  $J$  = 9 Hz, 2H, 15-H, 15'-H), 7.27 (d,  $J$  = 9 Hz, 2H, 14-H, 14'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 23.82 (C-11), 26.24 (C-11'), 45.08 (C-7), 47.14 (C-10), 48.75 (C-10'), 55.30 (C-17), 73.94 (C-1), 78.43 (C-2), 82.63 (C-6), 105.05 (C-12), 113.87 (C-15, C-15'), 127.72 (C-13), 128.24 (C-14, C-14'), 130.87 (C-4), 144.09 (C-5), 155.38 (C-16), 157.91 (C-8), 160.81 (C-9), 193.05 (C-3).

**MS** (180 °C):  $m/z$  (%) = 399 ( $M+1$ , 1), 398 ( $M^+$ , 6), 371 (1), 300 (11), 245 (13), 152 (9), 137 (22), 135 (100), 122 (14), 98 (65), 92 (9), 77 (19), 70 (29).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ ): ber.: 398.1478, gef.: 398.1478.

### Spiroisoxazolindiolpyrrolidinamid 110



Man löste 21 mg (0.0528 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiolpyrrolidinamid **109** in 3 ml Aceton und fügte 3 Tropfen 2 *N* Schwefelsäure hinzu. Man ließ 30 min bei Raumtemperatur rühren, bevor man mit einer Spatelspitze Natriumhydrogencarbonat die Reaktion beendete. Es wurde am Rotationsverdampfer eingengt, anschließend der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Man extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester, trocknete mit Magnesiumsulfat und entfernte die flüchtigen Komponenten im Vakuum. Durch Reinigung an Kieselgel wurden 11 mg (74 %) weißer Schaum erhalten.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu$  = 3496  $\text{cm}^{-1}$  (w, OH), 3400 (w, OH), 3004 (CH-arom.), 2980 (m, CH-aliph.), 2956 (w, CH-aliph.), 1700 (s, C=O), 1624 (s, C=C), 1596 (m, C=C), 1452 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1380 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1264 (s), 1112 (m), 908 (m).

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.88-2.03 (m, symmetrisch, 4H, 11-H, 11'-H), 3.30

(d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.50 (s, 1H, OH), 3.59 (tr,  $J = 7$  Hz, 2H, 10-H, 10'-H), 3.75-3.83 (m, 3H, 10-H, 10'-H, OH), 3.94 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 4.21 (d<sub>br</sub>,  $J = 2$  Hz, 1H, 1-H), 4.68 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H, 2-H), 6.23 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.62 (d,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 5-H).

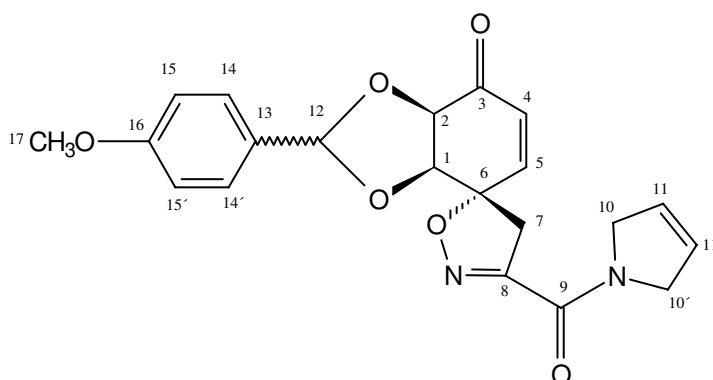
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 23.82$  (C-11'), 26.23 (C-11), 44.86 (C-7), 47.21 (C-10'), 48.85 (C-10), 73.17 (C-1), 73.19 (C-2), 85.73 (C-6), 129.10 (C-4), 143.81 (C-5), 155.18 (C-8), 158.27 (C-9), 197.43 (C-3).

MS (150 °C):  $m/z$  (%) = 281 (M+1, 2), 280 (M<sup>+</sup>, 14), 251 (6), 220 (9), 193 (8), 149 (6), 139 (11), 136 (25), 135 (36), 125 (9), 98 (54), 86 (20), 70 (100).

MS-Hochauflösung (C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>): ber.: 280.1059, gef.: 280.1060.

Drehwert (CHCl<sub>3</sub>): 79.5° (c = 0.64).

### ***p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolidioldehydropyrrolidinamid 112**



Man löste 20 mg (0.0557 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Spiroisoxazolidiolmethylester **78**, 19 mg (0.279 mmol, 5 eq) 3-Pyrrolin (**111**) und 20 mg (0.206 mmol, 3.7 eq)  $\alpha$ -Pyridon in Dioxan und ließ 2 h bei Raumtemperatur rühren. Man beendete die Reaktion durch Zugabe von Wasser, extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester und trocknete über Magnesiumsulfat. Anschließend wurden mittels Flash-Chromatographie 11 mg (50 %) eines weißen Schaums erhalten.

IR (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3029$  cm<sup>-1</sup> (m, CH-arom.), 2927/2870 (m, CH-aliph.), 1730 (m, C=O), 1696 (m, Amid), 1645 (s, C=C), 1680 (s, C=C), 1592 (m, C=C), 1461 (s, CH<sub>3</sub>), 1358 (w, CH<sub>3</sub>),

1264 (s), 909 (s).

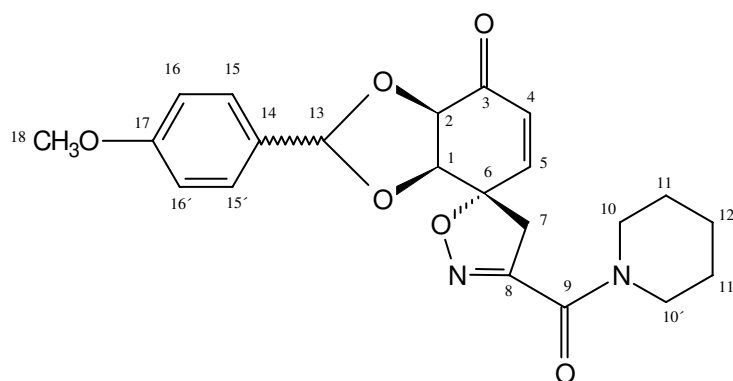
$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.38$  (d,  $J = 18.5$  Hz, 1H, 7-H), 3.79 (s, 3H, 17-H), 3.98 (d,  $J = 18.5$  Hz, 1H, 7-H), 4.32-4.41 (m, 2H, 10-H, 10'-H), 4.52-4.68 (m, 4H, 10-H, 10'-H, 1-H, 2-H), 5.83-5.95 (m, 3H, 12-H, 11-H, 11'-H), 6.29 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.75 (dd,  $J = 2$  Hz, 1H, 5-H), 6.86 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 15-H, 15'-H), 7.27 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 14-H, 14'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 44.92$  (C-7), 54.33 (C-10), 55.31 (C-17), 55.49 (C-10'), 73.94 (C-1), 78.41 (C-2), 82.90 (C-6), 105.08 (C-12), 113.89 (C-15, C-15'), 124.64 (C-11), 125.80 (C-11'), 127.70 (C-13), 128.23 (C-14, C-14'), 130.96 (C-4), 143.95 (C-5), 155.14 (C-16), 157.76 (C-8), 160.83 (C-9), 192.99 (C-3).

**MS** (180 °C):  $m/z$  (%) = 397 (M+1, 3), 396 (M<sup>+</sup>, 11), 379 (4), 334 (3), 301 (8), 260 (11), 243 (13), 197 (4), 149 (12), 135 (100), 121 (22), 108 (10), 96 (41), 77 (17), 68 (57).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$ ): ber.: 396.1321, gef.: 396.1311.

### *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiolpiperidinamid **114**



Eine Lösung von 20 mg (0.0557 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztem Spiroisoxazolin-dioldimethylester **78**, 70 mg (0.882 mmol, 15 eq) Piperidin (**113**) und 20 mg (0.206 mmol, 3.7 eq)  $\alpha$ -Pyridon wurde 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde mit Wasser versetzt, und man extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend die flüchtigen Komponenten im Vakuum entfernt. Nach Flash-Chromatographie wurden 11 mg (48 %) eines weißen Schaums erhalten.

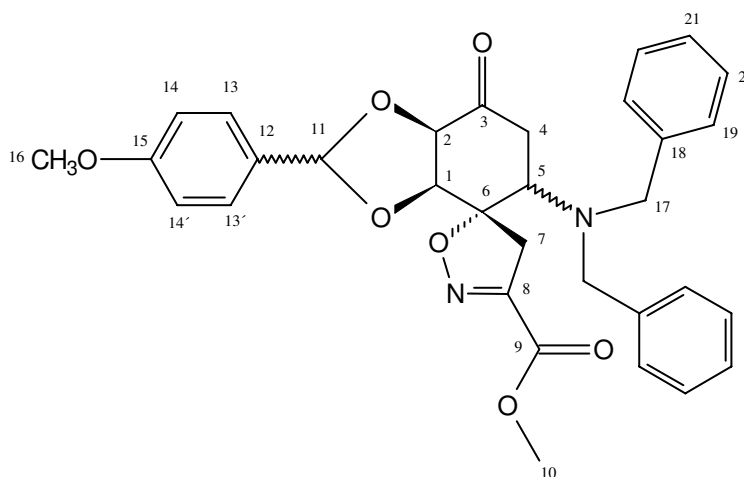
**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3029 \text{ cm}^{-1}$  (w, CH-arom.), 2942 (m, CH-aliph.), 2860 (w), 1696 (m, C=O), 1630 (s, C=C), 1518 (m), 1480 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1399 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1254 (s), 1093 (m), 1002 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.45\text{-}1.58$  (m, 6H, 11-H, 11'-H, 12-H), 3.38 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.58-3.97 (m, 8H, 10-H, 10'-H, 18-H, 7-H), 4.58-4.68 (m, 2H, 1-H, 2-H), 5.95 (s, 1H, 13-H), 6.28 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.77 (dd,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 5-H), 6.87 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 16-H, 16'-H), 7.29 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 15-H, 15'-H).

**MS** (180 °C):  $m/z$  (%) = 413 ( $M+1$ , 2), 412 ( $M^+$ , 9), 387 (21), 301 (25), 259 (26), 199 (3), 149 (9), 135 (79), 121 (13), 112 (100), 84 (59), 77 (16), 69 (43).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ ): ber.: 412.1634, gef.: 412.1635.

### Spiroisoxazolin-Michael-Addukt 116



Eine Lösung von 20 mg (0.0557 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztem Spiroisoxazolin-diolmethylester **78**, 46 mg (0.234 mmol, 4 eq) Dibenzylamin (**115**) und 20 mg (0.206 mmol, 3.7 eq)  $\alpha$ -Pyridon in Dioxan wurde 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Man beendete die Reaktion durch Zugabe von Wasser, extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester, trocknete die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und erhielt nach Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1) 14 mg (45 %) gelben Schaum.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3030 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 2956/2839 (w, CH-aliph.), 1731 (s, C=O), 1614 (m, C=C), 1518 (m), 1253 (s), 1097 (m), 830 (w, Aromat).

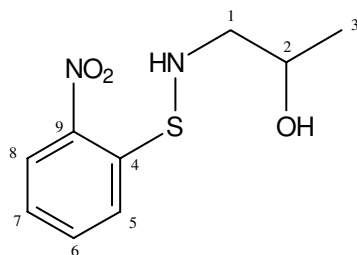
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.90$  (dd,  $J = 4/14$  Hz, 1H, 4-H), 3.13 (tr,  $J = 14$  Hz, 1H,

17-H), 3.24 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.37 (d,  $J = 14$  Hz, 2H, 17-H), 3.47 (dd,  $J = 4/14$  Hz, 1H, 4-H), 3.81-3.96 (m, 10 H, 5-H, 17-H, 7-H, 10-H, 16-H), 4.27 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 1-H), 4.56 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 2-H), 5.73 (s, 1H, 11-H), 6.82 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 14-H, 14'-H), 7.01 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 13-H, 13'-H), 7.20-7.38 (m, 10H, 19-H, 20-H, 21-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 35.02$  (C-4), 38.52 (C-7), 52.70 (C-17, C-17'), 52.99 (C-16), 54.41 (C-5), 55.33 (C-10), 77.81 (C-1), 79.83 (C-2), 92.17 (C-6), 105.16 (C-11), 113.78 (C-12), 127.20 (C-14, C-14'), 127.45 (C-13, C-13'), 127.49 (C-18), 128.22 (C-20), 128.36 (C-20), 128.48 (C-19), 128.59 (C-19), 128.59 (C-18), 153.27 (C-15), 160.63 (C-8), 160.71 (C-9), 203.63 (C-3).

**FAB-MS** :  $m/z$  (%) = 579 (M+23, 21), 557 (M+1, 79), 497 (62), 421 (18), 250 (19), 198 (100), 154 (33), 137 (37).

### ***O*-Nitrobenzolsulfenyl-geschützter 1-Amino-2-propanol 120**



Man löste 375 mg (0.39 ml, 5 mmol) 1-Amino-2-propanol (**119**) in 6.25 ml Dioxan und 2.5 ml 2 N Natriumhydroxid-Lösung. Nun gab man zu der gut gerührten Lösung 1.04 g (5.5 mmol, 1.1 eq) *o*-Nitrobenzolsulfenylchlorid in 10 gleichen Portionen während 15 min zu, gleichzeitig wurden 3 ml 1 N Natriumhydroxid-Lösung zugetropft. Man ließ 5 min bei Raumtemperatur rühren. Nun versetzte man mit 1 N Schwefelsäure-Lösung und extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel (MeHO/EE = 1:5) wurden 857 mg (75 %) eines gelben Öls erhalten.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3616$   $\text{cm}^{-1}$  (w, OH), 3384 (w, NH), 3000 (w, CH-arom.), 2972/2932/2908 (w, CH-aliph.), 1732 (m), 1592/1568 (m, C=C), 1512 (s,  $\text{NO}_2$ ), 1448 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1372 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1340 (s,  $\text{NO}_2$ ), 1304 (m), 1248 (m).

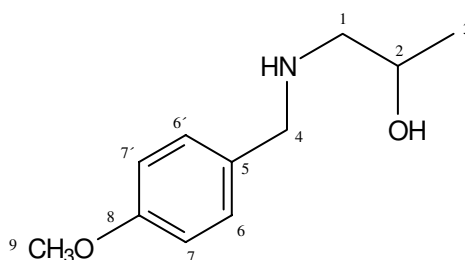
**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.22$  (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H, 3-H), 2.82 (s<sub>br</sub>, 1H, OH), 2.99 (tr,  $J = 2$  Hz, 1-H), 3.37 (tr,  $J = 6$  Hz, 1H, NH), 3.96-4.18 (m, 1H, 2-H), 7.25 (ddd,  $J = 1/7/9.5$  Hz, 1H, 7-H), 7.65 (ddd,  $J = 1/7/9.5$  Hz, 1H, 6-H), 7.91 (dd,  $J = 1/8$  Hz, 1H, 5-H), 8.22 (dd,  $J = 1/8$  Hz, 1H, 8-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 20.66$  (C-3), 58.64 (C-1), 64.24 (C-2), 124.23 (C-7), 124.69 (C-6), 125.89 (C-5), 133.92 (C-8), 142.59 (C-4), 145.83 (C-9).

**MS** (90 °C):  $m/z$  (%) = 229 (M+1, 2), 228 (M<sup>+</sup>, 11), 183 (4), 156 (6), 155 (12), 154 (99), 138 (34), 106 (51), 105 (46), 98 (57), 78 (100).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ ): ber.: 228.0569, gef.: 228.0569.

### *N-p*-Methoxybenzyl-geschützter 1-Amino-2-Propanol **121**



420 mg (5.60 mmol, 0.51 ml) 1-Amino-2-propanol (**119**), 770 mg (5.60 mmol, 1 eq) Kaliumcarbonat und 1.1 g (8.40 mmol, 1.5 eq) Anisaldehyd wurden 2 Stunden in 3 ml abs. Dichlormethan gerührt. Man filtrierte vom Feststoff ab und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Es wurde mit 2 ml abs. Methanol aufgenommen, anschließend bei -20 °C mit 317 mg (8.40 mmol, 1.5 eq) Natriumborhydrid versetzt. Man rührte 20 min bei dieser Temperatur, danach wurde die Reaktion mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet. Man extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester, trocknete über Magnesiumsulfat und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Nach Säulenchromatographie (MeOH/EE = 1:5) wurden 740 mg (80 %) eines farblosen Öls isoliert.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3616$   $\text{cm}^{-1}$  (w, OH), 3460 (w, NH), 3000 (m, CH-arom.), 2968/2936/2908/2836 (m, CH-aliph.), 1612 (m, C=C), 1512 (s), 1464 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1376 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1248 (s), 1036 (m).

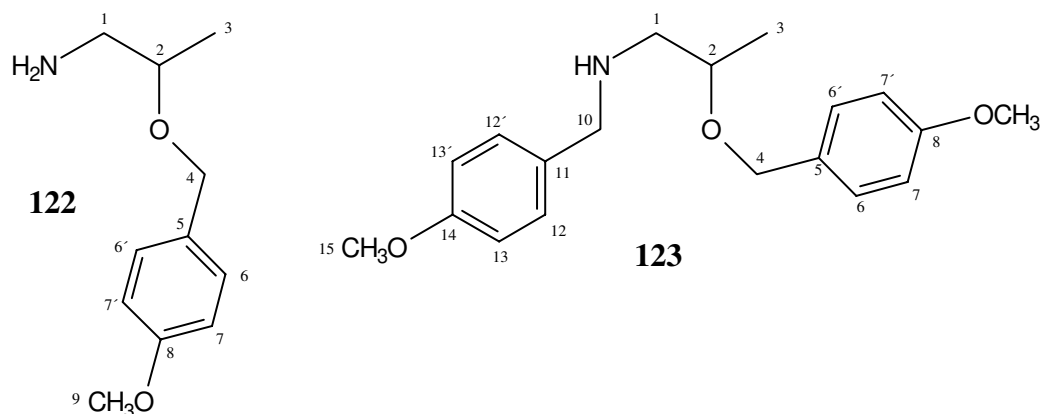
**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.12$  (d,  $J = 6$  Hz, 3H, 3-H), 2.41 (dd,  $J = 9/12$  Hz, 1H,

1-H), 2.67 (dd,  $J = 3/12$  Hz, 1H, 1-H), 3.68-3.83 (m, 6H, 4-H, 9-H, 2-H), 6.86 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 7-H, 7'-H), 7.21 (d,  $J = 9$  Hz, 6-H, 6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 20.69$  (C-3), 53.06 (C-1), 55.22 (C-9), 56.30 (C-4), 65.63 (C-2), 113.82 (C-7, C-7'), 129.30 (C-6, C-6'), 132.16 (C-5), 156.70 (C-8).

**MS** (RT):  $m/z$  (%): = 196 (M+1, 5), 169 (2), 150 (19), 121 (100), 109 (1), 92 (3), 77 (3).

### ***O-p*-Methoxybenzyl-geschützter 1-Amino-2-propanol **122**, *O/N-p*-Methoxybenzyl-geschützter 1-Amino-2-propanol **123****



200 mg (0.21 ml, 2.66 mmol) 1-Amino-2-propanol (**119**), 415 mg (0.36 ml, 5.32 mmol, 2 eq) *p*-Methoxybenzylchlorid und 213 mg (60 %ige Suspension in Mineralöl, 5.32 mmol, 2 eq) Natriumhydrid wurden in 10 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst. Diese Suspension wurde 3 Stunden am Rückfluß gekocht. Man versetzte mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung, extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester und trocknete über Magnesiumsulfat. Nach Einengen und Flash-Chromatographie (MeOH/EE = 1:5) erhielt man 200 mg (39 %) *O-p*-Methoxybenzyl-geschützten 1-Amino-2-propanol **122** und 80 mg (10 %) *O/N-p*-Methoxybenzyl-geschützten 1-Amino-2-propanol **123** jeweils als farbloses Öl.

#### **122:**

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3000$   $\text{cm}^{-1}$  (m, CH-arom.), 2968/2936 (m, CH-aliph.), 2864/2836 (w, CH-aliph.), 1612 (m, C=C), 1584 (w, C=C), 1512 (s), 1464 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1372 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1264/1248 (s), 1072/1036 (m).

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.17$  (d,  $J = 6$  Hz, 3H, 3-H), 2.72 ( $s_{\text{br}}$ , 2H, NH), 3.42-3.58



(m, 1H, 2-H), 3.80 (s, 5H, 1-H, 9-H), 4.40 (d,  $J = 11$  Hz, 1H, 4-H), 4.55 (d,  $J = 11$  Hz, 1H, 4-H), 6.98 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 7-H, 7'-H), 7.28 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 6-H, 6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 17.17$  (C-3), 47.56 (C-1), 55.24 (C-9), 70.30 (C-4), 76.28 (C-2), 113.80 (C-7, C-7'), 129.25 (C-6, C-6'), 130.90 (C-5), 159.15 (C-8).

**MS** (RT):  $m/z$  (%) = 195 ( $\text{M}^+$ , 4), 137 (2), 121 (100), 105 (56), 78 (8), 77 (10).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ ): ber.: 195.1259, gef.: 195.1258.

### 123:

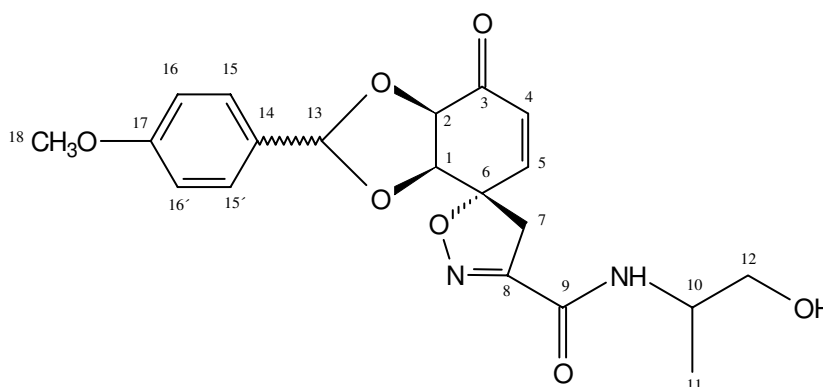
**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3000$   $\text{cm}^{-1}$  (w, CH-arom.), 2956/2932/2856 (w, CH, aliph.), 1612 (m, C=C), 1584 (w, C=C), 1512 (s), 1464 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1376 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1248 (s), 1036 (m).

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.18$  (d,  $J = 6$  Hz, 3H, 3-H), 2.62-2.68 (m, 2H, 1-H), 3.68-3.81 (m, 9H, 10-H, 2-H, 15-H, 9-H), 4.36 (d,  $J = 11$  Hz, 1H, 4-H), 4.54 (d,  $J = 11$  Hz, 1H, 4-H), 6.82-6.90 (m, 4H, 6-H, 6'-H, 12-H, 12'-H), 7.16-7.29 (m, 4H, 7-H, 7'-H, 13-H, 13'-H).

**MS** (80 °C):  $m/z$  (%) = 315 ( $\text{M}^+$ , 1), 240 (1), 179 (6), 150 (5), 137 (23), 121 (100), 105 (2), 91 (2), 77 (3).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_3$ ): ber.: 315.1834, gef.: 315.1836.

## *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiol-12-hydroxypropanamid 127



Man brachte 11 mg (0.0360 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Spiroisoxazolindiolmethylester **78** in 3 ml Dioxan mit 22 mg (0.360, 10 eq) 2-Amino-1-propanol (**118**) und

11 mg (0.133 mmol, 3.7 eq)  $\alpha$ -Pyridon zur Reaktion. Nach 10 min Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet, und man extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester. Es wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, und nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum sowie Flash-Chromatographie (PE/EE =2:1) erhielt man 5 mg (38 %) eines weißen Schaums.

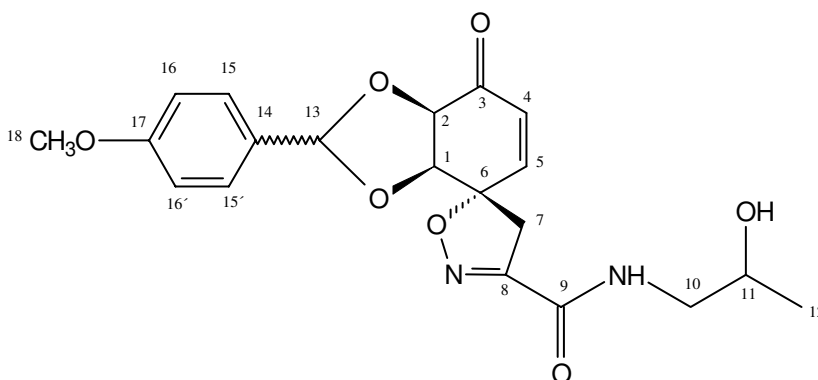
**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3396 \text{ cm}^{-1}$  (m, NH), 3000 (m, CH-arom.), 2968/2932/2840 (m, CH-aliph.), 1696 (s, C=O), 1676 (s, Amid), 1612 (m, C=C), 1516 (s, Amid), 1464 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1372 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1252 (s), 1092 (m), 908 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.38$  (s, 3H, 11-H), 3.27 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.60-3.95 (m, 7H, 18-H, 12-H, 10-H, 7-H), 4.59 (dd,  $J = 2/6 \text{ Hz}$ , 1H, 1-H), 4.64 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 2-H), 5.94 (s, 1H, 13-H), 6.28 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 4-H), 6.68 ( $s_{\text{br}}$ , 1H, NH), 6.74 (dd,  $J = 2/10 \text{ Hz}$ , 1H, 5-H), 6.87 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 16-H, 16'-H), 7.27 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 15-H, 15').

**MS** (180 °C):  $m/z$  (%) = 385 (M-17, 34), 340 (3), 300 (8), 195 (8), 191 (8), 176 (11), 149 (14), 135 (100), 121 (13), 111 (12), 100 (11), 92 (11), 22 (22), 69 (11).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$ ): ber.: 385.1400, gef.: 385.1400.

### ***p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiol-11-hydroxypropanamid 128**



Man versetzte 20 mg (0.0557 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschützten Spiroisoxazolindiolmethylester **78** in 3 ml Dioxan mit 0.12 ml 1-Amino-2-propanol-(**119**)-Lösung (0.05 M Lösung in Dioxan, 0.0557 mmol, 1 eq) und 20 mg (0.206 mmol, 3.7 eq)  $\alpha$ -Pyridon.

Man ließ 15 min bei Raumtemperatur rühren, beendete dann die Reaktion durch Zugabe von Wasser, extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester, trocknete die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Man reinigte das Rohprodukt an Kieselgel und konnte 0 bis 3 mg (0 bis 15 %) eines farblosen Öls isolieren.

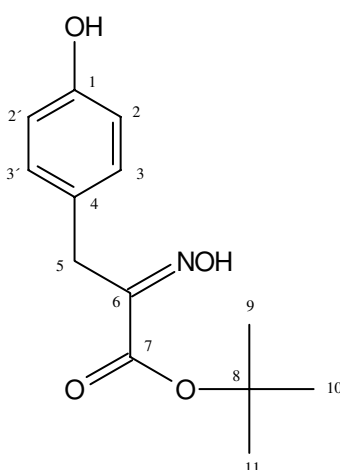
**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3620 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 3420 (w, NH), 3000 (w, CH-arom.), 2968/2932 (m, CH-aliph.), 1680 (s, C=O), 1612 (m, C=C), 1536 (m, Amid), 1516 (m), 1456 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1252 (s), 1032 (m), 908 (s).

**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.24$  (d,  $J = 6$  Hz, 3H, 12-H), 3.15-3.37 (m, 2H, 10-H, 7-H), 3.57 (dddd,  $J = 1/3/7/14$  Hz, 1H, 11-H), 3.80 (s, 3H, 18-H), 3.86-4.06 (m, 2H, 7-H, 10-H), 4.59 (dd,  $J = 2/6$  Hz, 1H, 1-H), 4.64 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 2-H), 5.94 (s, 1H, 13-H), 6.28 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.74 (ddd,  $J = 1/2/10$  Hz, 1H, 5-H), 6.87 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 16-H, 16'-H), 7.00 (tr,  $J = 5$  Hz, 1H, NH), 7.27 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 15-H, 15'-H).

**MS** (190 °C):  $m/z$  (%) = 403 ( $M+1$ , 2), 402 ( $M^+$ , 11), 300 (20), 249 (16), 192 (7), 161 (8), 149 (13), 138 (10), 135 (100), 121 (20), 102 (23), 84 (32), 77 (17).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7$ ): ber.: 402.1427, gef.: 402.1426.

### Tyrosin-*tert*-butylesteroxim



Es wurden 100 mg (0.422 mmol) Tyrosin-*tert*-butylester **134** in 1 ml Ethanol gelöst, und man fügte bei Raumtemperatur eine Lösung von 124 mg (0.422 mmol, 1 eq) Natriumwolframat in 0.6 ml Wasser hinzu. Nun wurden 480 mg 28 %ige  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung (4.22 mmol, 10 eq)

zugetropft. 10 min nach dem Ende der Zugabe war die Reaktion laut Dünnschichtkontrolle beendet, und man versetzte mit gesättigter Natriumpyrosulfid-Lösung. Es wurde dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1) erhielt man 60 mg (57 %) eines orangen Feststoffes.

**Schmelzpunkt:** 151.5 °C (Zersetzung).

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3455 \text{ cm}^{-1}$  (s, OH), 3244 (s, OH), 2978, 2934 (m, CH-aliph.), 1708 (s, C=O), 1617 (m, C=C), 1517 (s), 1444 (m, CH<sub>3</sub>), 1371 (m, CH<sub>3</sub>), 1004 (s), 841 (m),

**UV** (CHCl<sub>3</sub>):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 247 nm (3.30), 279 nm (3.43).

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>):  $\delta = 1.44$  (s, 9H, 9-H, 10-H, 11-H), 3.80 (s, 2H, 5-H), 6.73 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 2'-H, 2'-H), 7.11 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 3-H, 3'-H).

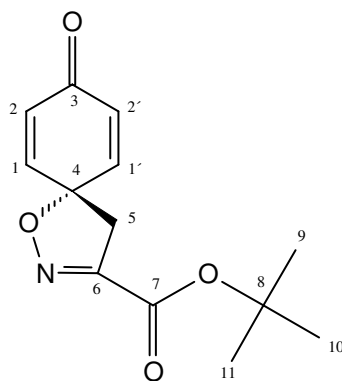
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>):  $\delta = 26.34$  (C-9, C-10, C-11), 80.08 (C-5), 114.17 (C-2, C-2'), 126.53 (C-4), 129.10 (C-3, C-3'), 151.15 (C-1), 154.82 (C-6), 161.94 (C-7).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 252 (M+1, 4), 251 (M<sup>+</sup>, 13), 236 (5), 195 (100), 178 (44), 160 (18), 134 (68), 133 (68), 132 (78), 107 (72).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>): ber.: 251.1158, gef.: 251.1157.

**Elementaranalyse:** ber.: C: 62.14, H: 6.82, N: 5.57; gef.: C: 62.08, H: 6.68, N: 5.50.

## Spiroisoxazolin 135



Man löste 3.0 g (6.977 mmol, 1 eq) Bistrifluoracetoxyiodobenzol in 100 ml abs. Dichlormethan und kühlte auf 0 °C ab. Nun tropfte man eine Lösung von 1.7 g (6.746 mmol) Tyrosin-*tert*-butylesterhydroxylamin in 50 ml abs. Acetonitril zu. Es wurde 3 Stunden gerührt, wobei man langsam auf Raumtemperatur kommen ließ. Danach beendete

man die Reaktion durch Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und extrahierte dreimal mit Dichlormethan, trocknete über Magnesiumsulfat und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Durch Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1) wurden 1.1 g (65 %) eines weißen Feststoffes isoliert.

**Schmelzpunkt:** 75.3 °C.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 2984 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 2935 (w, CH-aliph.), 1713 (s, Ester), 1676 (s, C=O), 1637 (m, C=C), 1597 (m), 1477 (w, CH<sub>3</sub>), 1371 (m, CH<sub>3</sub>), 1261 (s), 1134 (s).

**UV** (CHCl<sub>3</sub>):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 260 nm (3.41).

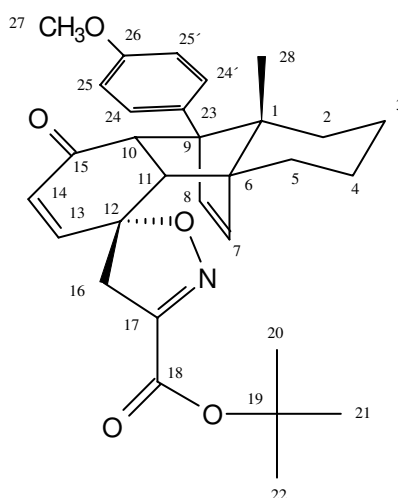
**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.58$  (s, 9H, 9-H, 10-H, 11-H), 3.33 (s, 2H, 5-H), 6.27 (d,  $J = 10$  Hz, 2H, 2-H, 2'-H), 6.87 (d,  $J = 10$  Hz, 2H, 1-H, 1'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 28.00$  (C-9, C-10, C-11), 43.80 (C-5), 82.83 (C-8), 84.35 (C-4), 129.21 (C-2, C-2'), 143.95 (C-1, C-1'), 152.34 (C-6), 158.73 (C-7), 184.31 (C-3).

**MS** (70 °C):  $m/z$  (%) = 249 (M<sup>+</sup>, 3), 235 (2), 234 (9), 193 (100), 175 (34), 148 (32), 119 (8), 106 (8), 83 (10), 78 (9).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>): ber.: 249.1001, gef.: 249.1002.

### Spiroisoxazolinaddukt **137**



Eine Lösung von 2.3 g (9.237 mmol) Spiroisoxazolin **135** und 2.66 g *p*-Methoxyphenyldien **28** in 7.5 ml frisch destilliertem Dichlormethan wurden in einem Teflonschlauch während 14 d einem Druck von 6.5 kbar ausgesetzt. Nach dem Entfernen der flüchtigen Bestandteile und Reinigung des Rückstandes durch Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:4) erhielt man 4.30 g eines weißen Schaums.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2984, 2934, 2864 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 1711 (s, Ester), 1669 (s, C=O), 1637 (w), 1612 (m, C=C), 1593 (m, C=C), 1515 (s), 1443 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1371 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1252 (s), 1180 (m), 1140 (s), 910 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.45$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 13 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.80 (s, 3H, 28-H), 1.06-1.64 (m, 5H), 1.57 (s, 9H, 20-H, 21-H, 22-H), 1.86 ( $d_{\text{tr}}$ ,  $J = 3/13 \text{ Hz}$ , 1H), 2.42 ( $dd$ ,  $J = 2.5/8.5 \text{ Hz}$ , 1H), 2.86 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 3.20 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 16-H), 3.26 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 16-H), 3.80-3.84 (m, 4H, 10-H, 27-H), 5.84 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 14-H), 5.88 (d,  $J = 5.5 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.17 (d,  $J = 5.5 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.51 ( $dd$ ,  $J = 1/10 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 6.87 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 25-H, 25'-H), 7.29 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 24-H, 24'-H).

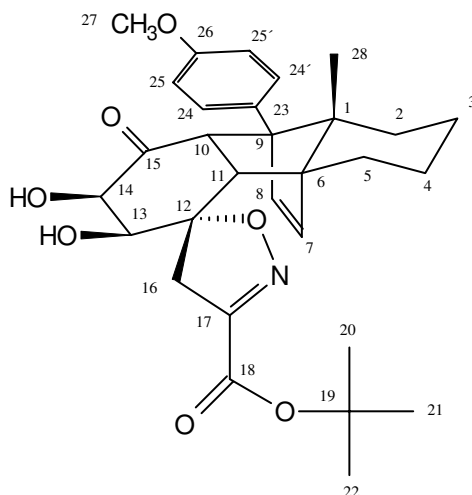
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.40$  (C-28), 21.13 (C-4), 23.81 (C-3), 27.13 (C-5), 28.03 (C-20, C-21, C-22), 28.57 (C-2), 50.26 (C-11), 51.67 (C-16), 51.68 (C-10), 55.17 (C-27), 61.31 (C-6), 62.36 (C-1), 70.87 (C-9), 83.84 (C-19), 87.66 (C-12), 113.10 (C-25, C-25'), 128.94 (C-23), 129.03 (C-24, C-24'), 130.99 (C-7), 135.62 (C-14), 138.62 (C-8), 147.29 (C-13), 151.64 (C-26), 158.31 (C-17), 159.38 (C-18), 198.09 (C-15).

**MS** (80 °C):  $m/z$  (%) = 489 ( $\text{M}^+$ , 4), 372 (7), 371 (6), 305 (6), 240 (30), 234 (14), 211 (11), 210 (9), 193 (12), 176 (100), 153 (16), 119 (29).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 512 ( $\text{M}+23$ , 81), 490 ( $\text{M}+1$ , 100), 460 (25), 434 (94).

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $123.6^\circ$  ( $c = 1.35$ ).

## Spiroisoxazolindioladdukt 142



Man legte 4.30 g (8.810 mmol) Spiroisoxazolinaddukt **137** in 50 ml Essigsäureethylester und 50 ml Acetonitril vor. Danach wurde bei 0 °C eine Lösung von 3.58 g (16.729 mmol, 1.9 eq) Natriumperiodat und 461 mg Rutheniumtrichlorid (2.227 mmol, 0.25 eq) in 20 ml Wasser hinzugefügt. Man ließ 30 min rühren, bevor man mit gesättigter Natriumpyrosulfid-Lösung die Reaktion beendete. Anschließend wurde dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Flash-Chromatographie (PE/EE = 2:1) erhielt man 3.92 g (85 %) eines gelben Schaums.

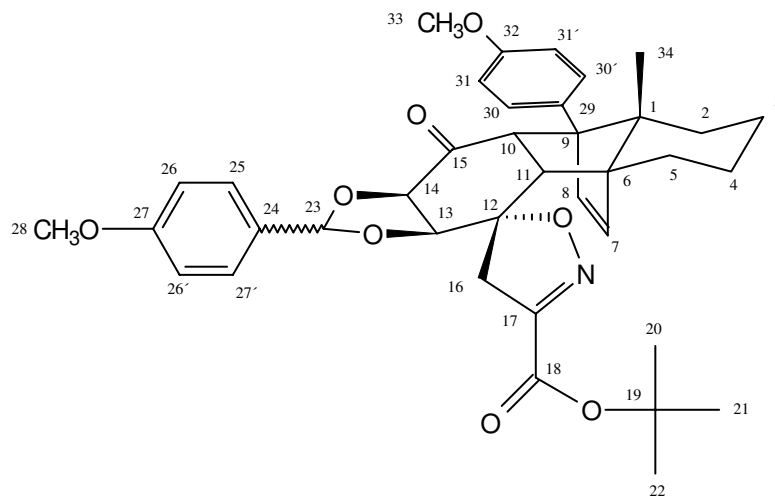
**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3587\text{cm}^{-1}$  (w, OH), 2985/2934 (w, CH-aliph.), 1710 (s, C=O), 1595 (w, C=C), 1516 (m), 1443 (w, CH<sub>3</sub>), 1371 (m, CH<sub>3</sub>), 1265 (s, C-O), 1127 (m), 1106 (m), 909 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.51$  (d<sub>br</sub>,  $J = 13$  Hz, 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.79 (s, 3H, 28-H), 1.11-1.98 (m, 7H), 1.58 (s, 9H, 20-H, 21-H, 22-H), 2.94 (d,  $J = 9$  Hz, 1H, 11-H), 3.03 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 16-H), 3.72-3.94 (m, 6H, 27-H, 16-H, 10-H, 14-H), 4.18 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, 13-H), 5.97 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 7-H), 6.45 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, 8-H), 6.88 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 25-H, 25'-H), 7.28 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 24-H, 24'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 16.08$  (C-28), 21.18 (C-4), 23.60 (C-3), 26.35 (C-5), 28.04 (C-20, C-21, C-22), 28.41 (C-2), 45,47 (C-16), 52.05 (C-10), 52.95 (C-11), 55.18 (C-27), 61.81 (C-6), 62.81 (C-1), 69.03 (C-9), 74.00 (C-13), 75.91 (C-14), 83.84 (C-19), 90.20 (C-12), 113.17 (C-25, C-25'), 128.87 (C-23), 128.94 (C-24, C-24'), 132.50 (C-7), 142.93 (C-8), 152.61 (C-29), 158.61 (C-17), 159.67 (C-18), 211.23 (C-15).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 546 (M+23, 100), 524 (M+1, 17), 523 (27), 508 (7), 495 (10), 490 (12).

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 74.9° (c = 0.41).

***p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolinaddukt 136**

4.06 g (7.755 mmol) Spiroisoxazolinoladdukt **142** wurden in 50 ml Acetonitril gelöst und bei Raumtemperatur 4.00 g (22.099 mmol, 2.8 eq) Anisaldehyddimethylacetal und katalytische Mengen *p*-Toluolsulfonsäure zugegeben. Man ließ 30 min bei Raumtemperatur rühren, bevor man durch Zugabe gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung die Reaktion beendete. Es wurde mit MTB-Ether extrahiert, dann trocknete man die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat. Man entfernte das Lösungsmittel im Vakuum und reinigte durch Flash-Chromatographie. Es wurden 3.87 g (78 %) eines gelblichen Feststoffes erhalten.

**Schmelzpunkt:** 80.7 °C.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu$  = 2935 cm<sup>-1</sup> (m, CH-aliph.), 1714 (s, C=O), 1614/1594 (C=C), 1517 (s), 1463, 1441 (m CH<sub>3</sub>), 1371 (m, CH<sub>3</sub>), 1252 (s, C-O), 1181 (m), 1171 (m), 1935 (m), 909 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.62 (d<sub>br</sub>, 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.79 (s, 3H, 34-H), 1.12-1.73 (m, 4H), 1.54 (s, 9H, 20-H, 21-H, 22-H), 1.95-2.14 (m, 3H), 3.20 (m, 2H, 11-H, 16-H), 3.54 (d, *J* = 18 Hz, 1H, 16-H), 3.78 (s, 3H, 28-H), 3.83 (s, 3H, 33-H), 4.27 (d, *J* = 8 Hz, 1H, 13-H), 4.29 (d, *J* = 10 Hz, 1H, 10-H), 4.48 (d, *J* = 8 Hz, 1H, 14-H), 5.79 (s, 1H, 23-H), 6.09 (d, *J* = 6 Hz, 1H, 7-H), 6.23 (d, *J* = 6 Hz, 1H, 8-H), 6.85 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 31-H, 31'-H), 6.96 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 26-H, 26'-H), 7.16 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 30-H, 30'-H), 7.45 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 25-H, 25'-H).

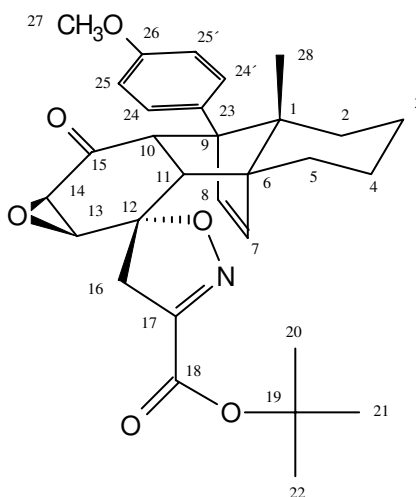
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 15.73 (C-34), 21.03 (C-4), 23.44 (C-3), 27.66 (C-5), 28.00 (C-20, C-21, C-22), 28.55 (C-2), 43.17 (C-16), 51.75 (C-11), 52.37 (C-10), 55.21 (C-



28), 55.31 (C-33), 60.50 (C-6), 63.22 (C-1), 64.92 (C-9), 78.27 (C-13), 80.81 (C-14), 80.68 (C-19), 89.84 (C-12), 104.83 (C-23), 113.52 (C-31, C-31'), 114.09 (C-26, C-26'), 127.13 (C-24), 128.06 (C-30, C-31'), 128.09 (C-25, C-25'), 129.72 (C-29), 136.25 (C-7), 138.67 (C-8), 152.76 (C-32), 158.32 (C-27), 159.34 (C-17), 160.98 (C-18), 203.78 (C-15).

**FAB-MS** :  $m/z$  (%) = 664 (M+23, 25), 642 (M+1, 26), 586 (8), 540 (9), 402 (100), 391 (5), 368 (8), 346 (37), 329 (9), 307 (19), 289 (11).

### Spiroisoxazolin-*tert*-butylesterepoxydaddukt **138**



Man löste 35 mg (0.0716 mmol) Spiroisoxazolin-*tert*-butylesteraddukt **137** in 3 ml abs. Dichlormethan und fügte 0.05 ml *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (44 mg, 0.384 mmol, 80 %ige Lösung in *tert*-Butylperoxid, 5.5 eq) sowie 2 Tropfen DBU hinzu. Es wurde über Nacht gerührt, bevor man mit gesättigter Natriumpyrosulfid-Lösung versetzte, dreimal mit MTB-Ether extrahierte und mittels Flash-Chromatographie reinigte. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhielt man 29 mg (80 %) eines gelben Schaums.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu$  = 2984/2933 cm<sup>-1</sup> (m, CH-aliph.), 1716 (s, C=O), 1594 (m, C=C), 1516 (s), 1461 (w, CH<sub>3</sub>), 1443 (w, CH<sub>3</sub>), 1385 (m, CH<sub>3</sub>), 1352 (m, CH<sub>3</sub>), 1275 (m), 1252 (s, Epoxid), 1181 (m), 1149 (m), 1130 (m), 909 (m), 822 (m).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.56 (d<sub>br</sub>,  $J$  = 13 Hz, 1H, 2-H<sub>eq</sub>), 0.76 (s, 3H, 28-H), 1.12-1.66 (m, 5H), 1.58 (s, 9H, 20-H, 21-H, 22-H), 1.73 (d<sub>br</sub>,  $J$  = 12 Hz, 1H), 1.99 (dtr,  $J$  = 3.5/13 Hz, 1H), 3.04 (d,  $J$  = 10 Hz, 1H, 11-H), 3.35 (d,  $J$  = 4 Hz, 1H, 13-H), 3.37 (d,  $J$  = 4 Hz, 1H, 14-H), 3.39 (d,  $J$  = 18.5 Hz, 1H, 16-H), 3.64 (d,  $J$  = 18.5 Hz, 1H, 16-H),

3.79 (s, 3H, 27-H), 3.96 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 10-H), 6.06 (d,  $J = 5.5$  Hz, 1H, 7-H), 6.14 (d,  $J = 5.5$  Hz, 1H, 8-H), 6.85 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 25-H, 25'-H), 7.12 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 24-H, 24'-H).

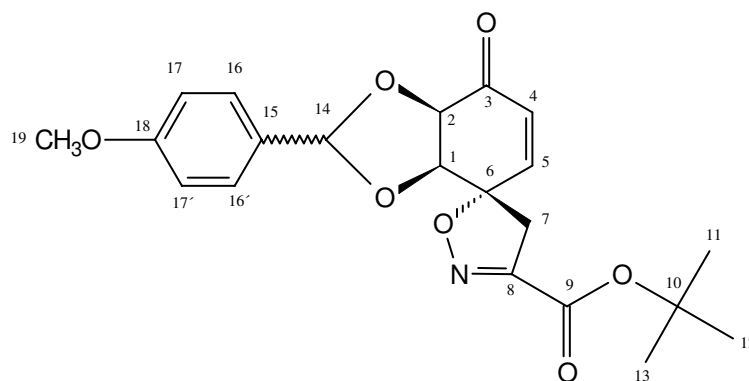
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.77$  (C-27), 21.06 (C-4), 23.34 (C-3), 26.89 (C-5), 26.92 (C-2), 28.06 (C-20, C-21, C-22), 46.35 (C-16), 52.64 (C-11), 53.07 (C-10), 55.18 (C-27), 56.00 (C-13), 60.31 (C-6), 60.58 (C-14), 61.01 (C-1), 63.86 (C-9), 84.09 (C-19), 88.55 (C-12), 113.46 (C-25, C-25'), 127.71 (C-24, C-24'), 130.43 (C-23), 135.64 (C-7), 139.00 (C-8), 152.30 (C-26), 158.09 (C-17), 159.39 (C-18), 204.29 (C-15).

**MS** (180 °C):  $m/z$  (%) = 266 (Dienophil+1, 2), 240 (Dien, 100), 197 (6), 121 (3).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 528 (M+23, 7), 506 (M+1, 4), 505 ( $\text{M}^+$ , 4), 504 (M-1, 4), 241 (74), 240 (100).

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $37.2^\circ$  ( $c = 0.65$ ).

### *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindiol 140



Man überführte 500 mg (0.780 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztes Spiroisoxazolindioladdukt **136** in einen Kolben einer Pyrolyseapparatur, den man vorher mit Triethylamin gespült hatte. In diesem Kolben wurde die Substanz bei  $2.0 \cdot 10^{-2}$  mbar auf  $110^\circ\text{C}$  erhitzt, wobei das entstehende Dien **28** abdestilliert wurde. Mittels Flash-Chromatographie erhielt man 156 mg (50 %) eines gelben Feststoffes.

**Schmelzpunkt**:  $122.2^\circ\text{C}$ .

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2984, 2936\text{ cm}^{-1}$  (w, CH, aliph.), 1714 (s, C=O), 1614 (C=C), 1597 (w, C=C), 1459 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1371 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1254 (s, C-O), 1173 (m), 1151 (m), 1126 (m), 830

(m).

**UV** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 261 nm (3.64).

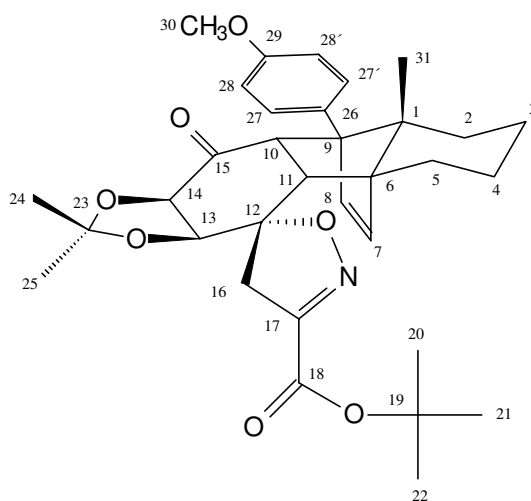
**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.56 (s, 9H, 11-H, 12-H, 13-H), 3.21 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 3.70-3.89 (m, 4H, 7-H, 19-H), 4.58-4.77 (m, 2H, 1-H, 2-H), 5.94 (s, 1H, 14-H), 6.27 (d,  $J$  = 10 Hz, 1H, 4-H), 6.74 (dd,  $J$  = 10/1.5 Hz, 1H, 5-H), 6.87 (d,  $J$  = 9 Hz, 2H, 17-H, 17'-H), 7.28 (d,  $J$  = 9 Hz, 2H, 16-H, 16'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 27.98 (C-11, C-12, C-13), 43.11 (C-7), 55.31 (C-19), 73.91 (C-1), 78.40 (C-2), 84.24 (C-10), 84.63 (C-6), 105.05 (C-14), 113.90 (C-17, C-17'), 127.66 (C-15), 128.26 (C-16, C-16'), 130.83 (C-4), 143.65 (C-5), 153.09 (C-18), 158.75 (C-8), 166.86 (C-9), 192.80 (C-3).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 424 (M+23, 7), 402 (M+1, 34), 391 (7), 346 (14), 329 (18), 307 (29), 289 (20), 259 (26), 241 (12), 176 (35), 154 (100).

**Elementaranalyse**: ber.: C: 62.83, H: 5.78, N: 3.49; gef.: C 61.98, H: 5.49, N: 3.12.

### Spiroisoxazolindiolacetonidaddukt **143**



200 mg (0.382 mmol) Spiroisoxazolindioladdukt **142** wurden in 10 ml Acetonitril gelöst, und man gab 0.5 ml 2,2-Dimethoxypropan und katalytische Mengen *p*-Toluolsulfonsäure hinzu. Dann ließ man 6 h bei Raumtemperatur rühren. Es wurde mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg. versetzt, und man extrahierte dreimal mit MTB-Ether. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde durch Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:4) gereinigt. Man erhielt 160 mg (74 %) eines farblosen Öls.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2935 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph), 1713 (s, C=O), 1657 (w, C=C), 1516 (m), 1459 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1384 (s,  $\text{CH}_3$ ), 1181 (m).

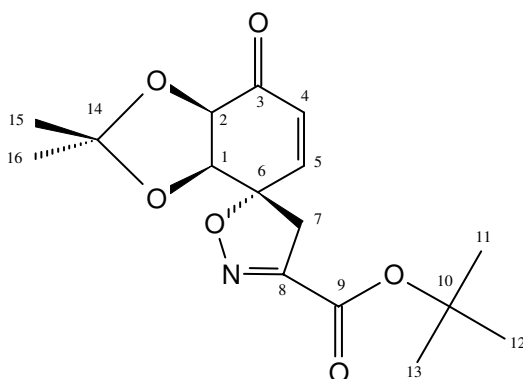
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.63$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 12 \text{ Hz}$ , 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.78 (s, 3H, 31-H), 1.1-2.3 (m, 7H), 1.33 (s, 3H, 24-H), 1.55 (s, 9H, 20-H, 21-H, 22-H), 1.59 (s, 3H, 25-H), 3.10 (d;  $J = 18 \text{ Hz}$ , 16-H), 3.12 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 11-H), 3.74-3.81 (m, 4H, 30-H, 10-H), 4.20 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 4.47 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H, 14-H), 6.11 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.19 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.85 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 28-H, 28'-H), 7.18 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 27-H, 27'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.70$  (C-31), 21.07 (C-4), 23.46 (C-3), 28.84 (C-24), 26.23 (C-25), 27.63 (C-5), 28.03 (C-20, C-21, C-22), 28.62 (C-2), 42.94 (C-16), 51.52 (C-11), 52.55 (C-10), 55.20 (C-30), 60.52 (C-6), 63.67 (C-1), 65.23 (C-9), 78.06 (C-13), 79.72 (C-14), 83.62 (C-19), 90.41 (C-12), 111.00 (C-23), 113.50 (C-28, C-28'), 128.14 (C-27, C-27'), 129.61 (C-26), 136.08 (C-7), 138.84 (C-8), 152.74 (C-29), 158.37 (C-17), 159.45 (C-18), 204.86 (C-15).

**FAB-MS** :  $m/z$  (%) = 526 ( $\text{M}+23$ , 33), 563 ( $\text{M}^+$ , 20), 463 (15), 401 (24), 355 (42), 329 (C-37), 307 (63), 289 (39), 281 (100).

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $8.8^\circ$  ( $c = 0.43$ ).

## Spiroisoxazolindiolacetonid **144**



135 mg (0.240 mmol) des Acetonid-geschützten Spiroisoxazolindioladdukes **143** wurden einer Flash-Vakuum-Pyrolyse bei  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar einer Kolben-Temperatur von  $130 \text{ }^\circ\text{C}$

ausgesetzt. Mittels Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:4) erhielt man 18 mg (23 %) eines weißen Schaums.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2986 \text{ cm}^{-1}$  (m. CH-aliph.), 1714 (s, C=O), 1597 (m, C=C), 1457 (s,  $\text{CH}_3$ ), 1372 (s,  $\text{CH}_3$ ), 1264 (m, C-O).

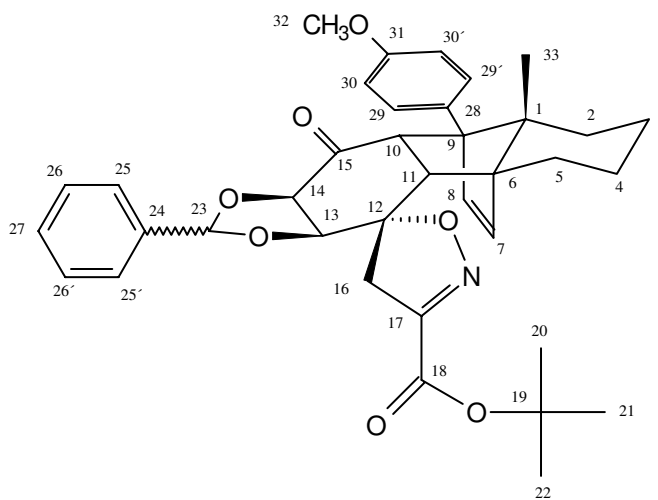
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.35$  (s, 3H, 15-H), 1.42 (s, 2H, 16-H), 1.58 (s, 9H, 11-H, 12-H, 13-H), 3.21 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.79 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 4.49 (dd,  $J = 3/2 \text{ Hz}$ , 1H, 1-H), 4.51 (d,  $J = 3 \text{ Hz}$ , 1H, 2-H), 6.23 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 4-H), 6.69 (dd,  $J = 2/10 \text{ Hz}$ , 1H, 5-H).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 223 ( $\text{M}^+$ , 2), 308 (14), 250 (46), 199 (26), 181 (16), 153 (23), 136 (33), 100 (54), 83 (100).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_6$ ): ber.: 323.1369, gef.: 323.1385.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $25.2^\circ$  ( $c = 0.49$ ).

## Benzaldehydacetal-geschütztes Spiroisoxazolindioldaddukt **145**



Zu einer Lösung von 200 mg (0.382 mmol) Spiroisoxazolinaddukt **142** in 10 ml abs. Acetonitril wurden bei Raumtemperatur 174 mg (1.147 mmol, 3 eq) Benzaldehyddimethylacetal sowie katalytische Mengen *p*-Toluolsulfonsäure gegeben. Nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur gab man die Reaktionslösung auf ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und extrahierte dreimal mit MTB-Ether. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Anschließend entfernte man die leicht

flüchtigen Komponenten im Vakuum und reinigte durch Flash-Chromatographie (PE/EE = 4:1). So wurden 124 mg (53 %) eines gelben Schaums erhalten.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2933 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph), 1714 (s, C=O), 1595 (m, C=C), 1516 (s), 1460 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1371 (m,  $\text{CH}_3$ ), 909 (s), 829 (w, Aromat).

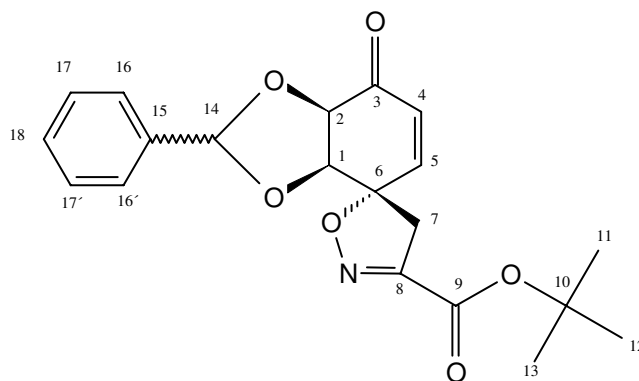
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.62$  ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 12 \text{ Hz}$ , 1H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 0.77 (s, 3H, 33-H), 1.13-1.70 (m, 4H), 1.54 (s, 9H, 20-H, 21-H, 22-H), 1.98-2.10 (m, 3H), 3.20 (m, 2H, 11-H, 16-H), 3.53 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 16-H), 3.78 (s, 3H, 32-H), 4.25 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 10-H), 4.30 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H, 13-H), 4.51 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H, 14-H), 5.85 (s, 1H, 23-H), 6.10 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 6.23 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 1H, 8-H), 6.85 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 30-H, 30'-H), 7.15 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 2H, 29-H, 29'-H), 7.42-7.47 (m, 3H, 26-H, 26'-H, 27-H), 7.50-7.55 (m, 2H, 25-H, 25'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.70$  (C-33), 21.04 (C-4), 23.45 (C-3), 27.65 (C-5), 28.03 (C-20, C-21, C-22), 28.56 (C-2), 43.20 (C-16), 51.86 (C-11), 52.42 (C-10), 55.19 (C-32), 60.50 (C-6), 63.28 (C-1), 65.01 (C-9), 78.37 (C-13), 80.88 (C-14), 83.70 (C-19), 89.89 (C-12), 104.82 (C-23), 113.90 (C-30, C-30'), 126.60 (C-26, C-26'), 128.06 (C-29, C-29'), 128.67 (C-25, C-25'), 129.66 (C-28), 130.03 (C-27), 135.11 (C-24), 136.25 (C-7), 138.72 (C-8), 152.75 (C-31), 158.33 (C-17), 159.32 (C-18), 203.73 (C-15).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 611 ( $\text{M}^+$ , 3), 510 (3), 407 (3), 300 (5), 275 (6), 240 (100), 197 (13), 153 (8), 105 (77).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{NO}_7$ ): ber.: 611.2883, gef.: 611.2879.

## Spiroisoxazolindiolbenzaldehydacetal 146



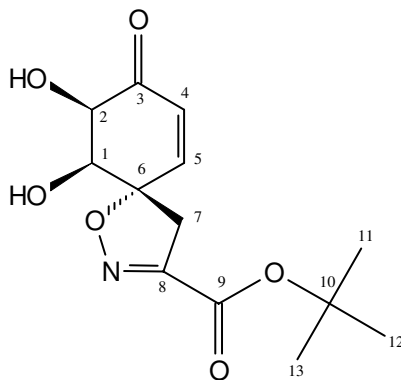
100 mg (0.164 mmol) des Benzaldehyd-acetal-geschützten Spiroisoxazolinadduktes **145** wurden in einer Flash-Vakuum-Pyrolyse bei  $2.0 \cdot 10^{-2}$  mbar einer Temperatur von 150 °C ausgesetzt. Mittels Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:3) erhielt man 16 mg (27 %) eines weißen Schaumes.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2984 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph), 1714 (s, C=O), 1597 (m, C=C), 1459 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1371 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1260 (s, C-O), 1127 (s, CH-O), 1097 (m), 910 (m), 830 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.56$  (s, 9H, C-11, C-12, C-13), 3.21 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.81 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7'-H), 4.65 (m, 2H, 2-H), 5.99 (s, 1H, 14-H), 6.26 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.74 (dd,  $J = 10/2$  Hz, 1H, 5-H), 7.36 (m, 5H, 16-H, 17-H, 18-H, 16'-H, 17'-H).

**FAB-MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 394 (M+23, 7), 372 ( $\text{M}^+$ , 14), 316 (22), 295 (21), 281 (83), 221 (100), 207 (74).

## Spiroisoxazolindiol **141**



Eine Lösung von 550 mg (1.376 mmol) *p*-Methoxybenzaldehyd-geschütztem Spiroisoxazolindiol **140** in 3 ml Acteon wurde bei Raumtemperatur mit katalytischen Mengen 2 *N* Schwefelsäure versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend gab man eine Spatelspitze  $\text{NaHCO}_3$  hinzu und engte im Vakuum ein. Es wurde mit Wasser aufgenommen und dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:2) wurden 327 mg (84 %) eines weißen Schaums erhalten.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3580 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 3506 (w, OH), 2984 (w, CH-aliph), 1703 (s, C=O), 1597 (m, C=C), 1458 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1371 (m,  $\text{CH}_3$ ), 1261 (m), 1127 (m), 909 (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ ):  $\delta = 1.53$  (s, 9H, 11-H, 12-H, 13-H), 3.27 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.73 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 4.17 (m, 1H, 1-H), 4.40 (d,  $J = 4 \text{ Hz}$ , 1H, OH), 4.54 (tr<sub>br</sub>,  $J = 4 \text{ Hz}$ , 1H, 2-H), 5.07 (d,  $J = 4 \text{ Hz}$ , 1H, OH), 6.14 (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ , 1H, 4-H), 6.81 (d,  $J = 10/2 \text{ Hz}$ , 1H, 5-H).

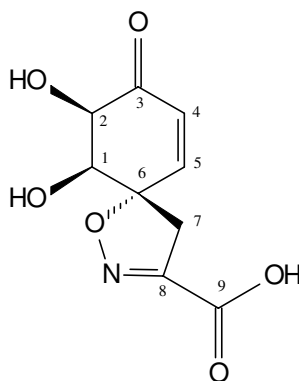
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ ):  $\delta = 28.13$  (C-11, C-12, C-13), 43.07 (C-7), 74.51 (C-1), 74.78 (C-2), 83.50 (C-10), 98.46 (C-6), 129.84 (C-4), 144.42 (C-5), 153.94 (C-8), 159.98 (C-9), 198.17 (C-3).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 227 (M- $^1\text{Bu}+1$ , 211 (9), 210 (100), 181 (3), 136 (17), 123 (3), 87 (4), 83 (41).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_6$ ): ber.: 227.0430, gef.: 227.0430.

**Drehwert** (MeOH):  $19.6^\circ$  ( $c = 0.14$ ).

## Spiroisoxazolindiolcarbonsäure **147**



Zu einer Lösung von 10 mg (0.0353 mmol) Spiroisoxazolindiol **141** in 1 ml Dichlormethan gab man 1 ml Trifluoressigsäure. Man ließ eine Stunde bei Raumtemperatur rühren. Danach entfernte man die leichtflüchtigen Komponenten im Vakuum, wobei 8 mg (100 %) eines braunen Öls erhalten wurden.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3411 \text{ cm}^{-1}$  (s, OH, Säure), 2925 (m, CH-aliph.), 1703 (s, C=O), 1599 (m, C=C), 1514 (w), 1257 (m), 1162 (m), 1116 (m), 918 (m), 736 (w).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ ):  $\delta = 3.31$  (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.78 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H,



7-H), 4.19 (dd,  $J = 2/2.5$  Hz, 1H, 1-H), 4.55 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H, 2-H), 6.15 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.85 (d,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 5-H).

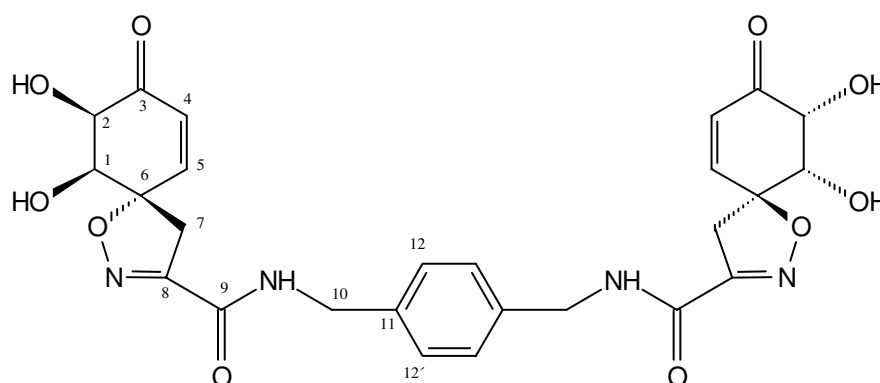
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, Aceton- $d_6$ ):  $\delta = 42.93$  (C-7), 74.54 (C-1), 74.80 (C-2), 89.80 (C-6), 129.95 (C-4), 144.36 (C-5), 153.20 (C-8), 161.54 (C-9), 198.18 (C-3).

**MS** (70 °C):  $m/z$  (%) = 228 (M+1, 3), 227 ( $M^+$ , 11), 223 (17), 211 (10), 210 (100), 198 (10), 182 (13), 164 (7), 140 (12), 123 (12), 109 (7), 96 (20), 84 (9).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_6$ ): ber.: 227.0430, gef.: 227.0434.

**Drehwert** (MeOH):  $44.4^\circ$  ( $c = 1.08$ ).

### Spiroisoxazolindiolbisamid **150**



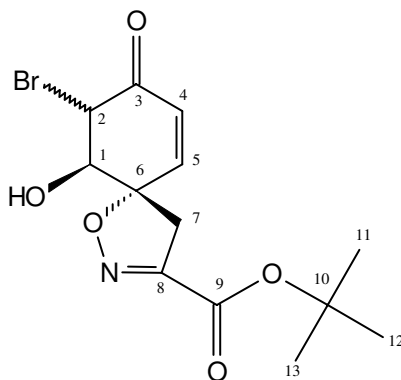
Es wurden 30 mg (0.132 mmol, 1 eq) Diolcarbonsäure **147** in 0.5 ml DMSO- $d_6$  vorgelegt und 28 mg (0.173 mmol, 4 eq) Staab-Reagenz hinzugefügt. Man ließ 10 min bei Raumtemperatur rühren, danach wurde mit 6 mg (0.426 mmol, 1 eq)  $\alpha,\alpha'$ -Diamiono-*p*-xylol (**149**) versetzt. Man beendete die Reaktion nach weiteren 10 min bei Raumtemperatur durch Zugabe von 3 Tropfen Wasser und führte mit der Reaktionslösung eine Flash-Chromatographie durch (EE/PE = 3:1). Man engte die Lösung ein, ohne vollständig einzudampfen. Diese Probe wurde spektroskopisch vermessen.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 3.26$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.59 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.89 ( $s_{br}$ , 1H, OH), 4.31-4.36 (m, 3H, 1-H, 2-H, OH), 6.05 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.80 (dd,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 5-H), 7.23 (s, 2H, 12-H, 12'-H), 9.13 (tr,  $J = 6.5$  Hz, 1H, NH).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 577 (M+23, 18), 555 (M+1, 16), 531 (17), 413 (31), 391 (100), 329

(28), 307 (27), 259 (36), 241 (22).

## Spiroisoxazolinbromhydrin **151**



Man legte bei 0 °C 119 mg Triphenylphosphin (0.456 mmol, 4.3 eq) vor und fügte dann 0.28 ml Brom-Lösung (0.139 mmol, 0.5 M Lösung in Dichlormethan, 1.3 eq) hinzu. Man ließ 5 min bei 0 °C rühren. Anschließend wurden 3 Tropfen Hünigbase, dann 20 mg (0.106 mmol, 1 eq) Tosylchlorid hinzugegeben. Diese Lösung wurde 10 min bei 0 °C gerührt. Zum Schluß spritzte man eine Lösung des Spiroisoxazolindiol **141** (0.106 mmol, 1 eq) in 1.5 ml Dichlormethan zu. Man ließ 14 h rühren, wobei man auf Raumtemperatur kommen ließ. Es erfolgte keine Aufarbeitung, sondern man chromatographierte die Reaktionslösung an 10 g Kieselgel (EE/PE = 1:3). Auf diese Weise wurden 16 mg (44 %) eines gelben Öls als Diastereomergemisch im Verhältnis 0.8:1 (*trans:cis*) erhalten.

**IR** (CHCl<sub>3</sub>):  $\nu = 3590 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 2984 (m, CH-aliph.), 1712 (s, C=O), 1601 (w, C=C), 1264 (m, C-Br), 1129 (C-O).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 369 (M+23, 7), 348 (M<sup>+</sup>, 9), 329 (18), 307 (36), 289 (23), 259 (32), 176 (27), 154 (100), 137 (82).

*cis*-Isomer (Hauptprodukt):

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.57$  (s, 9H, 11-H, 12-H., 13-H), 3.01 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.83 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 4.38 (m, 1H, 2-H), 4.97 (s<sub>br</sub>, 1H, 1-H), 6.20 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.97 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 5-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 28.01$  (C-11, C-12, C-13), 37.73 (C-7), 57.27 (C-1), 75.03

(C-2), 84.27 (C-10), 89.83 (C-6), 127.55 (C-4), 147.84 (C-5), 152.38 (C-8), 158.83 (C-9), 188.25 (C-3).

Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

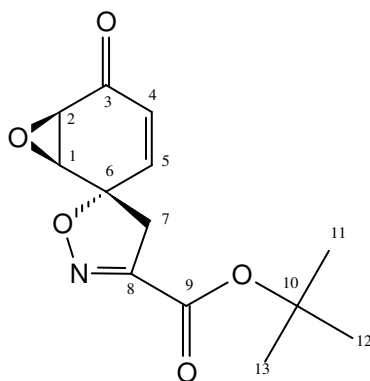
*trans*-Isomer (Nebenprodukt):

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.56$  (s, 9H, 11-H, 12-H, 13-H), 3.16 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.93 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 4.38 (m, 1H, 1-H), 4.50 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, 2-H), 6.20 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 4-H), 6.70 (d,  $J = 10$  Hz, 1H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 28.01$  (C-11, C-12, C-13), 37.73 (C-7), 57.27 (C-1), 75.03 (C-2), 84.33 (C-10), 88.36 (C-6), 127.55 (C-4), 147.84 (C-5), 153.44 (C-8), 158.71 (C-9), 188.84 (C-3).

Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

## Spiroisoxazolinepoxid 152



Methode A:

Man löste das Spiroisoxazolinbromhydrin **151** in 3 ml Dichlormethan und fügte 3 Tropfen DBU hinzu. Man ließ 10 min bei Raumtemperatur rühren. Danach wurde sogleich eine Säulen-filtration (MTB-Ether) durchgeführt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und man erhielt 16 mg (95 %) eines farblosen Öls.

Methode B:

15 mg (0.0297 mmol) des Spiroisoxazolinepoxyadduktes **138** wurden in einer Flash-Vakuum-Pyrolyse bei  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar einer Spaltrohr-Temperatur von 300 °C ausgesetzt. Mittels Flash-Chromatographie erhielt man 1 mg (13 %) eines farblosen Öls.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 2984 \text{ cm}^{-1}$  (m, CH-aliph.), 1710 (s, C=O), 1597 (m, C=C), 1269 (s, Epoxid), 1140 (m, C-O).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.58$  (s, 9H, 11-H, 12-H, 13-H), 3.33 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.58 (dd,  $J = 2/3.5 \text{ Hz}$ , 1H, 1-H), 3.68 (d,  $J = 18 \text{ Hz}$ , 1H, 7-H), 3.76 (dd,  $J = 2.5/3.5 \text{ Hz}$ , 1H, 2-H), 6.09 (dd,  $J = 10.5/2 \text{ Hz}$ , 1H, 4-H), 6.45 (dd,  $J = 2.5/10 \text{ Hz}$ , 1H, 5-H).

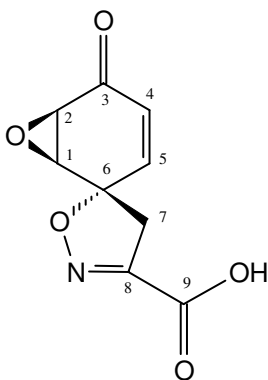
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 28.01$  (C-11, C-12, C-13), 44.20 (C-7), 53.55 (C-1), 57.29 (C-2), 83.40 (C-10), 84.48 (C-6), 128.30 (C-4), 141.24 (C-5), 152.79 (C-8), 158.66 (C-9), 191.27 (C-3).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%) = 266 (M+1, 3), 251 (14), 209 (59), 192 (100), 164 (16), 123 (10).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_5$ ): ber.: 265.0950, gef.: 265.0949.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $195.1^\circ$  ( $c = 0.50$ ).

### Spiroisoxazolinepoxycarbonsäure **153**



Man legte 16 mg (0.0604 mmol) Spiroisoxazolinepoxid **152** in 0.75 ml Dichlormethan vor und fügte dann bei Raumtemperatur 0.75 ml Trifluoressigsäure hinzu. Man ließ 2 Stunden rühren, bevor das Lösungsmittel, die Säure und der Alkohol im Vakuum entfernt wurden. Man erhielt 13 mg (100 %) eines braunen Öls, das ohne eine weitere Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt wurde.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3494 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 2927 (m, CH-aliph.), 1694 (s, C=O), 1599 (m, C=C), 1263 (m, Epoxid).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ ):  $\delta = 3.56$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.61 (dd,  $J = 3.5/2$  Hz, 1H, 2-H), 3.73 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 4.02 (dd,  $J = 2.5/3.5$  Hz, 1H, 1-H), 6.10 (dd,  $J = 2/10$  Hz, 1H, 4-H), 6.80 (dd,  $J = 2.5/10$  Hz, 1H, 5-H).

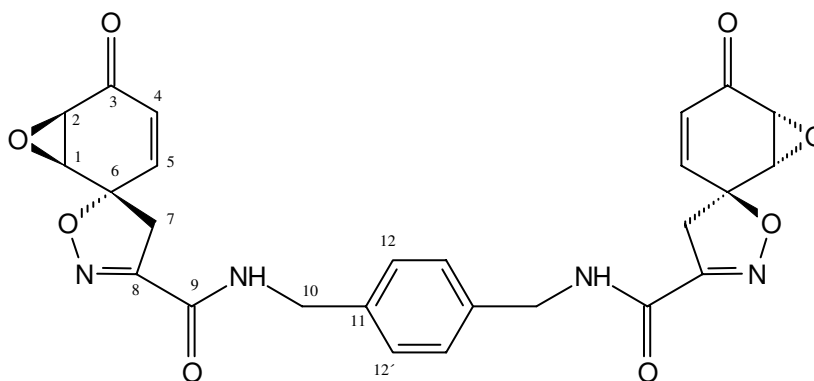
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ ):  $\delta = 45.45$  (C-7), 55.27 (C-1), 59.09 (C-2), 85.61 (C-6), 129.42 (C-4), 144.35 (C-5), 154.50 (C-8), 162.22 (C-9), 193.85 (C-3).

**MS** (140 °C):  $m/z$  (%): 210 (M+1, 2), 209 (M<sup>+</sup>, 13), 180 (7), 165 (10), 149 (16), 125 (38), 97 (100).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_5$ ): ber.: 209.0324, gef.: 209.0324.

**Drehwert** (MeOH): 199.7° ( $c = 0.34$ ).

## Spiroisoxazolinepoxybisamid **154**



Man löste bei Raumtemperatur 20 mg (0.0957 mmol, 3 eq) der Epoxycarbonsäure **153** in 0.3 ml DMSO und versetzte mit 16 mg (0.0957 mmol, 3 eq) Staab-Reagenz. Man ließ 5 min rühren, bevor man 4.3 mg (0.0319 mmol, 1 eq)  $\alpha,\alpha'$ -Diamino-*p*-xylol (**149**) in 0.1 ml DMSO hinzufügte. Nun wurde 1.5 h gerührt. Danach beendete man die Reaktion durch Zugabe von gesättigter Natriumchlorid-Lösung, extrahierte fünfmal mit Essigsäureethylester, trocknete die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und erhielt nach Flash-Chromatographie (PE/EE = 1:2) 5 mg (30 %) eines weißen Feststoffes.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3418$   $\text{cm}^{-1}$  (w, NH), 2999 (w, CH-aliph), 2928 (m, CH-aliph.), 1686 (s, C=O), 1601 (m, C=C), 1530 (m, Amid), 1259 (m, Epoxid), 1230 (m), 1015 (w), 830 (w, Aromat).

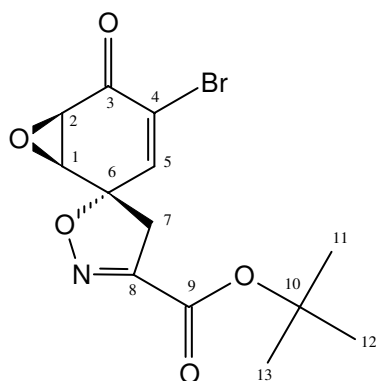
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Aceton- $d_6$ ):  $\delta$  = 3.55 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 3.59 (dd,  $J$  = 2/3.5 Hz, 1H, 1-H), 3.72 (d,  $J$  = 18 Hz, 1H, 7-H), 4.00 (d,  $J$  = 2.5/3.5 Hz, 1H, 2-H), 4.50 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 2H, 10-H), 6.08 (dd,  $J$  = 2/10.5 Hz, 1H, 4-H), 6.80 (dd,  $J$  = 2.5/10 Hz, 1H, 5-H), 7.34 (s, 2H, 12-H, 12'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Aceton- $d_6$ ):  $\delta$  = 43.31 (C-10), 44.50 (C-7), 54.17 (C-1), 58.06 (C-2), 83.77/83.78 (C-6), 128.20 (C-4), 128.74/128.75 (C-12, C-12'), 138.85/138.86 (C-11), 143.53 (C-5), 155.52 (C-8), 159.61 (C-9), 192.84 (C-3).

**FAB-MS**:  $m/z$  (%) = 541 (M+23, 10), 519 (M+1, 16), 460 (17), 413 (28), 392 (31), 391 (100), 329 (44), 307 (98), 289 (55), 259 (66), 241 (17).

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $151.3^\circ$  ( $c$  = 0.21).

#### 4-Bromspiroisoxazolineoxid 155



Man löste 15 mg (0.0566 mmol) des Spiroisoxazolineoxids **152** in 2 ml Dichlormethan und kühlte auf  $0^\circ\text{C}$  ab. Danach gab man 0.11 ml Brom-Lösung (0.0566 mmol, 0.5 M Lösung in Dichlormethan, 1 eq) hinzu. Nun ließ man langsam auf Raumtemperatur kommen (3 Stunden). Anschließend wurden 4 Tropfen Hünigbase hinzugefügt, und man ließ weitere 30 min bei Raumtemperatur rühren. Dann wurde die Reaktion abgebrochen, indem direkt eine Säulenfiltration (MTB-Ether) durchgeführt wurde. Nach Entfernen des Lösungsmittels erhielt man 18 mg (93 %) eines farblosen Öls.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu$  =  $2984\text{ cm}^{-1}$  (w, CH-aliph.),  $1710$  (s, C=O),  $1599$  (m, C=C),  $1260$  (m),  $1142$  (m).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.58$  (s, 9H, 11-H, 12-H, 13-H), 3.38 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.69 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.72 (d,  $J = 3.5$  Hz, 1H, 2-H), 3.80 (dd,  $J = 3.5/2.5$  Hz, 1H, 1-H), 6.39 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H, 5-H).

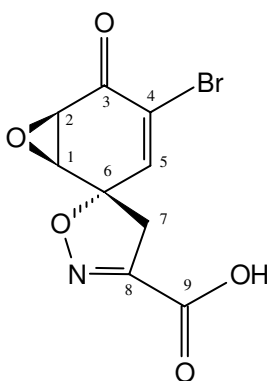
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 31.15$  (C-11, C-12, C-13), 46.27 (C-7), 55.78 (C-1), 86.86 (C-10), 87.14 (C-6), 127.15 (C-4), 143.57 (C-5), 154.90 (C-8), 160.56 (C-9), 186.85 (C-3).

**MS** (120 °C):  $m/z$  (%) = 364 (M+19, 10), 362 (M+19, 9), 345 ( $\text{M}^+$ , 5), 343 ( $\text{M}^+$ , 4), 330 (10), 328 (11), 289 (3), 287 (24), 272 (57), 270 (60), 244 (27), 242 (27), 149 (21), 84 (100).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{NO}_5\text{Br}$ ): ber.: 269.9402, gef.: 269.9402.

**Drehwert** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $172.1^\circ$  ( $c = 0.82$ ).

#### 4-Bromspiroisoxazolinepoxycarbonsäure **156**



Man löste 18 mg (0.0525 mmol) 4-Bromspiroisoxazolinepoxid **155** in 1 ml abs. Dichlormethan und spritzte bei Raumtemperatur 1 ml Trifluoressigsäure hinzu. Man ließ 2 Stunden bei dieser Temperatur rühren. Danach wurde das Lösungsmittel, die Trifluoressigsäure und der entstandene Alkohol im Vakuum entfernt. Eine weitere Reinigung erfolgte nicht, sondern man setzte das Rohprodukt in die nächste Reaktion ein. Es wurden 15 mg (100 %) eines braunen Öls erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Aceton- $d_6$ ):  $\delta = 3.68$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.79 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.89 (d,  $J = 3.5$  Hz, 1H, 2-H), 4.14 (dd,  $J = 2.5/3.5$  Hz, 1H, 1-H), 7.41 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H, 5-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Aceton- $d_6$ ):  $\delta = 44.22$  (C-7), 54.18 (C-1), 58.04 (C-2), 86.17 (C-6),

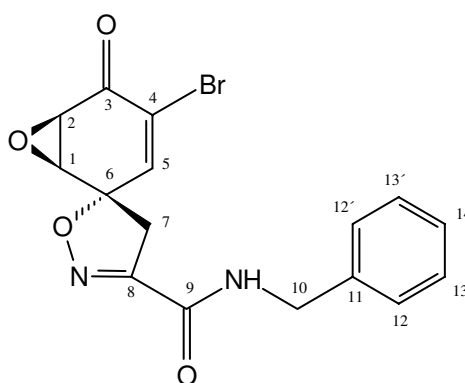
124.37 (C-4), 143.82 (C-5), 153.51 (C-8), 160.93 (C-9), 186.23 (C-3).

**MS** (150 °C):  $m/z$  (%): 289 ( $M^+$ , 4), 287 (4), 205 (92), 177 (15), 175 (18), 123 (25), 121 (26).

**MS-Hochauflösung** ( $C_9H_6NO_5Br$ ): ber.: 286.9429, gef.: 286.9416.

**Drehwert** (MeOH): 171.4° ( $c = 0.69$ ).

#### 4-Bromspiroisoxazolineoxyamid 156



Es wurden 25 mg (0.0871 mmol) der 4-Bromspiroisoxazolineoxy-carbonsäure **157** in 2 ml abs. THF vorgelegt und 14 mg (0.0871 mmol, 1 eq) Staab-Reagenz hinzugegeben. Nach 10 min Rühren bei Raumtemperatur spritzte man 9 mg (0.0871 mmol, 1 eq) Benzylamin in 1 ml absoluten THF hinzu. Man ließ wiederum 10 min bei Raumtemperatur rühren, bevor man zur Aufarbeitung eine Säulenfiltration (MTB-Ether) durchführte. Nach dem Einengen im Vakuum erhielt man 19 mg (58 %) eines gelben Feststoffes.

**Schmelzpunkt:** 158.0 °C.

**IR** ( $CHCl_3$ ):  $\nu = 3417\text{ cm}^{-1}$  (m, NH), 3043 (w, CH-arom.), 2929 (w, CH-aliph.), 1707 (s, Keton), 1681 (s, Amid), 1602 (m, C=C), 1530 (s, Amid), 1340 (w), 1252 (m), 910 (m).

**UV** ( $CHCl_3$ ):  $\lambda_{max}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 280 nm (3.80).

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 3.45$  (d,  $J = 18$  Hz, 7-H), 3.78 (m, 3H, 7-H, 2-H, 1-H), 4.55 (d,  $J = 6$  Hz, 2H, 10-H), 6.91 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H, 5-H), 6.94 (tr<sub>br</sub>,  $J = 7$  Hz, 1H, NH), 7.35 (m, 5H, 11-H, 12-H, 13-H, 11'-H, 12'-H).

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 43.46$  (C-7), 43.79 (C-10), 53.37 (C-1), 57.16 (C-2), 85.05



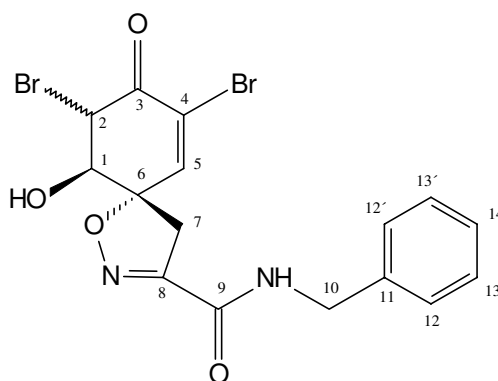
(C-6), 125.04 (C-4), 127.97 (C-13, C-13'), 128.04 (C-14), 128.95 (C-12, C-12'), 136.94 (C-11), 141.35 (C-5), 153.98 (C-8), 158.14 (C-9), 184.80 (C-3).

**MS** (160 °C): m/z (%): 378 (M<sup>+</sup>, 3), 376 (M<sup>+</sup>, 3), 344 (3), 341 (3), 256 (1), 254 (2), 228 (2), 174 (17), 173 (15), 132 (14), 107 (88), 91 (100).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>): ber.: 376.0059, gef.: 376.0060.

**Drehwert** (CHCl<sub>3</sub>): 146.1° (c = 0.64).

#### 4-Bromspiroisoxazolinbromhydrinamid **158**



Man legte eine Lösung von 16 mg (0.0606 mmol, 1.2 eq) Triphenylphosphin in 2 ml Dichlormethan vor und fügte bei 0 °C 0.10 ml Brom-Lösung (0.0505 mmol, 0.5 M Lösung in Dichlormethan, 1.0 eq) hinzu. Nun erfolgte die Zugabe von 19 mg (0.0505 mmol) 4-Bromspiroisoxazolinamid **157**, wonach man innerhalb von 2 Stunden auf Raumtemperatur kommen ließ. Man brach die Reaktion ab, indem direkt eine Säulenfiltration (MTB-Ether) durchgeführt wurde. Nach dem Einengen des Lösungsmittels im Vakuum erhielt man 16 mg (70 %) eines farblosen Öls als Diastereomergemisch im Verhältnis 93:7 (*trans*-Bromhydrin:*cis*-Bromhydrin, <sup>1</sup>H-NMR).

**IR** (CHCl<sub>3</sub>): ν = 3593 cm<sup>-1</sup> (w, OH), 3417 (m, NH), 2928 (w, CH-aliph.), 1715 (s, Keton), 1678 (s, Amid), 1605 (m, C=C), 1531 (s), 1315 (w), 1258 (m), 910 (s), 792 (s).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 37.37 (C-7), 43.71 (C-10), 55.87 (C-1), 74.39 (C-2), 90.51 (C-6), 122.68 (C-4), 127.94 (C-13, C-13'), 128.90 (C-12, C-12'), 136.99 (C-11), 147.62 (C-5), 153.64 (C-8), 158.48 (C-9), 181.82 (C-3).

**MS** (190 °C): m/z (%): 460 (M<sup>+</sup>, 1), 458 (M<sup>+</sup>, 2), 456 (M<sup>+</sup>, 1), 361 (7), 359 (6), 341 (1), 291

(2), 241 (3), 175 (17), 106 (100), 91 (97).

**MS-Hochauflösung** ( $C_{16}H_{14}O_4N_2Br_2$ ): ber.: 455.9320, gef.: 455.9322.

Hauptprodukt (*trans*-Bromhydrin):

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 3.16$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.38 (d,  $J = 3$  Hz, 1H, OH), 3.91 (d,  $J = 18$  Hz, 1H 7-H), 4.32 (dd<sub>br</sub>,  $J = 2/12$  Hz, 1H, 1-H), 4.50 (dd,  $J = 6/15$  Hz, 1H, 10-H), 4.56 (dd,  $J = 6/15$  Hz, 1H, 10-H), 4.58 (d,  $J = 12$  Hz, 1H, 2-H), 6.39 (tr<sub>br</sub>,  $J = 6$  Hz, 1H, NH), 7.33 (m, 6H, 5-H, 12-H, 13-H, 14-H, 12'-H, 13'-H).

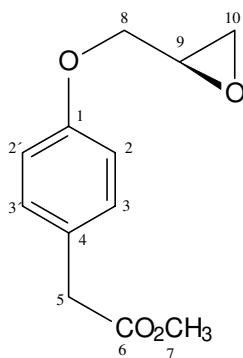
Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

Nebenprodukt (*cis*-Bromhydrin):

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 3.28$  (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 3.98 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, 7-H), 4.37 (s<sub>br</sub>, 1H, 1-H), 4.53 (m, 3H, 10-H, 2-H), 7.11 (d,  $J = 1$  Hz, 1H, 5-H), 7.33 (m, 5H, 12-H, 13-H, 14-H, 12'-H, 13'-H).

Die spektroskopischen Daten wurden den Gemischspektren entnommen.

## Epoxyester 167



Man heizte 200 mg Kaliumcarbonat im Vakuum aus, versetzte es dann mit 5 ml abs. Aceton, 75 mg (0.452 mmol) *p*-Hydroxyphenylelessigsäuremethylester (**165**) und 100 mg (0.452 mmol, 1 eq) (2*S*)-(+)-*p*-Toluolsulfonsäure-(2,3-epoxypropylester) (**166**). Man kochte über Nacht am Rückfluß, engte im Vakuum ein, nahm mit Wasser auf und extrahierte dreimal mit Diethylether. Nach Säulenchromatographie (PE/EE = 1:2) und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 71 mg (71 %) einer farblosen Flüssigkeit erhalten.

**IR** ( $CHCl_3$ ):  $\nu = 2999$   $cm^{-1}$  (w, CH-arom.), 2953/2928 (w, CH-aliph.), 1734 (s, C=O), 1614

(w, C=C), 1512 (s), 1455 (w, CH<sub>3</sub>), 1299 (m), 1243 (s, Epoxid), 1159 (m), 1040 (m).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.75 (dd, *J* = 2.5/5 Hz, 1H, 10-H), 2.90 (dd, *J* = 4/5 Hz, 1H, 10-H), 3.32-3.37 (m, 1H, 9-H), 3.57 (s, 2H, 5-H), 3.68 (s, 3H, 7-H), 3.94 (dd, *J* = 5.5/11 Hz, 1H, 8-H), 4.20 (dd, *J* = 3/11 Hz, 1H, 8-H), 6.88 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 2-H, 2'-H), 7.19 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 3-H, 3'-H).

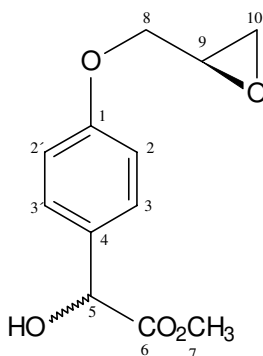
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 40.28 (C-10), 44.72 (C-8), 50.15 (C-9), 52.02 (C-7), 68.81 (C-5), 114.78 (C-2, C-2'), 126.69 (C-4), 130.36 (C-3, C-3'), 157.65 (C-1), 172.32 (C-6).

MS (RT): *m/z* (%) = 223 (M+1, 14), 222 (M<sup>+</sup>, 96), 179 (8), 166 (9), 163 (97), 149 (12), 133 (13), 119 (7), 107 (100), 89 (7), 78 (9), 77 (9).

MS-Hochauflösung (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>): ber.: 222.0892, gef.: 222.0891.

Drehwert (CHCl<sub>3</sub>): 1.4° (c = 0.55).

## Epoxyesterhydroxid 169



Man legte 0.60 ml Kaliumhexamethyldisilazan-Lösung (0.270 mmol, 0.5 M Lösung in Toluol, 1.5 eq) bei -78 °C in 5 ml abs. Tetrahydrofuran vor und versetzte diese Lösung mit 40 mg (0.180 mmol) Epoxyester **167**. Nach 30 min Rühren fügte man 70 mg (0.270 mmol, 1.5 eq), des Davis-Reagenz **168** hinzu. Es wurde weitere 20 min bei -78 °C gerührt. Man beendete die Reaktion bei dieser Temperatur durch Zugabe von gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung, extrahierte dreimal mit Essigsäureethylester und reinigte das Rohprodukt an Kieselgel (PE/EE =1:2). Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 35 mg (82 %) Epoxyesterhydroxid **169** als farbloses Öl isoliert.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3529 \text{ cm}^{-1}$  (w, OH), 3041 (w, CH-arom.), 2956/2928 (w, CH-aliph.), 1734 (s, C=O), 1610 (m, C=C), 1511 (s), 1455 (w,  $\text{CH}_3$ ), 1248 (s, Epoxid), 1175 (m), 1082 (m), 1038 (m), 978 (m).

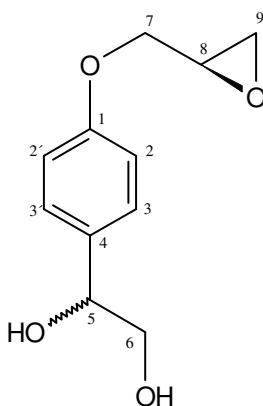
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.76$  (dd,  $J = 2.5/5$  Hz, 1H, 10-H), 2.91 (dd,  $J = 4/5$  Hz, 1H, 10-H), 3.33-3.38 (m, 1H, 9-H), 3.75 (s, 3H, 7-H), 3.95 (dd,  $J = 5.5/11$  Hz, 1H, 8-H), 4.22 (dd,  $J = 3/11$  Hz, 1H, 8-H), 5.13 (s, 1H, 5-H), 6.91 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 2-H, 2'-H), 7.32 (d,  $J = 9$  Hz, 2H, 3-H, 3'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 44.69$  (C-10), 50.11 (C-9), 52.97 (C-7), 68.81/68.82 (C-8), 72.45 (C-5), 114.78 (C-2, C-2'), 127.97 (C-3, C-3'), 131.07 (C-4), 158.69 (C-1), 174.27 (C-6).

**MS** (90 °C):  $m/z$  (%) = 239 (M+1, 1), 238 ( $\text{M}^+$ , 8), 179 (100), 155 (3), 123 (19), 107 (3), 91 (7), 77 (7).

**MS-Hochauflösung** ( $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_5$ ): ber.: 238.0841, gef.: 238.0841.

### Epoxydiol 170



Man legte 35 mg (0.147 mmol) Epoxyesterhydroxid **169** in 1 ml abs. Tetrahydrofuran vor und versetzte die Reaktionslösung bei 0 °C mit 6 mg (0.147 mmol, 1.0 eq) Natriumborhydrid. Nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur war die Reaktion beendet, und man versetzte mit 3 Tropfen Wasser. Diese Lösung wurde direkt säulenchromatographiert, und man erhielt 11 mg (37 %) eines weißen Feststoffes.

**Schmelzpunkt:** 75.0 °C.

**IR** ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\nu = 3681/3680 \text{ cm}^{-1}$  (m, OH), 2999/2928 (m, CH-aliph.), 2827 (m), 1612

(m, C=C), 1586 (w), 1513 (s), 1243 (s, Epoxid), 833 (s, Aromat).

**UV** (CHCl<sub>3</sub>):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 242 nm (3.21), 275 nm (2.82).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.07 (dd,  $J$  = 2.5/5 Hz, 1H, 9-H), 2.83 (dd,  $J$  = 4/5 Hz, 1H, 9-H), 2.87 (s<sub>br</sub>, 1H, OH), 3.30 (m, 1H, 8-H), 3.46-3.53 (m, 1H, 6-H), 3.55-3.62 (m, 1H, 6-H), 3.86 (dd,  $J$  = 6/11 Hz, 1H, 7-H), 4.22 (d<sub>br</sub>,  $J$  = 3.5 Hz, 1H, OH), 4.20 (dd,  $J$  = 2.5/11 Hz, 1H, 7-H), 4.65 (q,  $J$  = 4 Hz, 1H, 5-H), 6.91 (d,  $J$  = 9 Hz, 2H, 2-H, 2'-H), 7.30 (d,  $J$  = 9 Hz, 2H, 3-H, 3'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 44.70 (C-9), 50.56 (C-8), 68.06 (C-6), 68.86 (C-7), 74.24 (C-5), 114.77 (C-2, C-2'), 127.42 (C-3, C-3'), 133.33 (C-4), 158.36 (C-1).

**MS** (80 °C):  $m/z$  (%) = 210 (M<sup>+</sup>, 5), 192 (2), 179 (100), 163 (4), 123 (23), 105 (11), 95 (10), 77 (10).

**MS-Hochauflösung** (C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>): ber.: 210.0892, gef.: 210.0892.

## 15 Literatur und Anmerkungen

- [1] R. Teeyapant, P. Kreis, V. Wrang, L. Witte, P. Proksch, *Z. Naturforsch.* **1993**, 48c, 640.
- [2] P. Ciminiello, E. Fattorusso, S. Magno, *Journal of Natural Products* **1994**, 57, 1564.
- [3] a) H. Erhardt, D. H. Moosleiter, *Mergus Seewasseratlas*, Band 2, Mergus Verlag Melle, 1. Auflage, **1995**, S. 77; b) G. M. König, A. D. Wright, *Heterocycles* **1993**, 36, 1351.
- [4] J. A. McMillan, I. C. Paul, Y. M. Goo, K. I. Rinehart, W. C. Krueger, L. M. Pschigoda, *Tet. Lett.* **1981**, 22, 39.
- [5] P. Ciminiello, C. Dell'Aversano, E. Fattorusso, S. Magno, *Tetrahedron* **1996**, 52, 9863.
- [6] A. R. Forrester, R. H. Thomson, S. Woo, *Liebigs Ann. Chem.* **1978**, 66.
- [7] H. H. Wasserman, J. Wang, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5581.
- [8] M. Murakata, K. Yamada, O. Hoshino, *Heterocycles* **1998**, 47, 921 und dort zitierte Literatur.
- [9] a) S. Nishiyama, S. Yamamura, *Tet. Lett.* **1983**, 24, 3351; b) S. Nishiyama, S. Yamamura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, 58, 3456.
- [10] M. Murakata, M. Tamura, O. Hoshino, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 4428.
- [11] a) E. Winterfeldt, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 827; b) C. Borm, D. Meibom, E. Winterfeldt, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1996**, 887; c) C. Borm, F. Nerenz, E. Winterfeldt, *Advances in Asymmetric Synthesis*, JAI Press Inc., **1997**, Vol. 2, 1.
- [12] a) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem.* **1971**, 83, 492; b) Z. G. Hajos, D. R. Parrisch, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1615; c) Z. G. Hajos, D. R. Parrisch, *Organic Synthesis* **1985**, 63, 26.
- [13] M. Beckmann, T. Meyer, F. Schulz, E. Winterfeldt, *Chem. Ber.* **1994**, 127, 2505.
- [14] B. Wegener, M. Hansen, E. Winterfeldt, *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, 4, 345.
- [15] P. G. Jones, H. Weinmann, E. Winterfeldt, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 489.
- [16] a) W. Beil, P. G. Jones, F. Nerenz, E. Winterfeldt, *Tetraheron* **1998**, 54, 7273; b) F. Nerenz, *Dissertation*, Universität Hannover **1997**; c) K. Goldenstein, F. Nerenz, E. Winterfeldt, *Polish J. Chem.* **1999**, 73, 3.
- [17] H. Weinmann, *Dissertation*, Universität Hannover **1995** und dort zitierte Lit.

- [18] a) P. F. Voigtländer, R. A. Lewis, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1988**, 246, 259; b) M. Doi, T. Ishida, M. Inoue, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38, 1815.
- [19] J.-L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 2226.
- [20] A. Arase, Y. Nunokawa, Y. Masuda, M. Hoshi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 205.
- [21] P. J. Kropp, K. A. Daus, M. W. Tubergen, K. D. Kepler, V. P. Wilson, S. L. Craig, M. M. Baillargeon, G. W. Breton, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3071.
- [22] D. Meibom, mündliche Mitteilung.
- [23] a) T. R. Boehlow, C. D. Spilling, *Natural Product Letters* **1995**, 7, 1; b) K. Kahr, C. Berther, *Chem. Ber.* **1960**, 93, 132.
- [24] M. Kacan, D. Koyuncu, H. McKillop, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1993**, 1771.
- [25] W. Adam, J. Bialas, L. Hadjarapoglu, *Chem. Ber.* **1991**, 124, 2377.
- [26] T. K. M. Shing, V. W.-F. Tai, E. K. W. Tam, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 2408.
- [27] C. Petrier, J. L. Luche, *Tet. Lett.* **1987**, 28, 2347.
- [28] T. Genski, G. Macdonald, X. Wie, N. Lewis, R. J. K. Taylor, *Synlett* **1999**, 6, 795 und dort zitierte Literatur.
- [29] a) H. Bretshneider, R. Lutz, *Monatshefte* **1964**, 95, 1702; b) I. A. Vogel, *Practical Organic Chemistry*, Longmans, London, **1948**, 341; c) M. Kacan, D. Koyuncu, A. J. McKillop, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 1771.
- [30] B. Zwanenburg, P. P. M. A. Dois, A. J. H. Kluder, *Tetrahedron* **1993**, 49, 11373.
- [31] R. Appel, *Angew. Chem.* **1975**, 87, 863.
- [32] G. Palumbo, C. Ferreri, R. Caputo, *Tet. Lett.* **1983**, 24, 1307.
- [33] a) E. R. Buckman, D. H. Deutsch, G. I. Fujimoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 6228; b) J. Canson, J. S. Carreia, *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 3645.
- [34] L. H. Konox, E. Velarde, S. Berger, D. Cuadriello, A. D. Cross, *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 2187.
- [35] E. L. Eliel, R. S. Ro, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 5995.
- [36] P. R. Roney, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 6090.
- [37] J. Grante, U. Kalthof, F.-G. Klärner, T. Weber, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 1081.
- [38] a) P. J. Kocienski, *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1. Auflage, **1994**; b) E. M. Gordon, M. A. Ondetti, J. Pluscec, C. M. Cimarusti, D. P. Bonner, R. B. Sykes, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6053.

- [39] a) A. B. Smith, T. A. Rano, N. Chida, G. A. Sulikowski, J. L. Wood, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8008; b) J. E. Saavedra, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2271.
- [40] R. V. Rama Rao, M. K. Gurjar, V. Kaiwar, *Tetrahedron Asymmetry* **1992**, *3*, 859.
- [41] A. M. Paquin, *Chem. Ber.* **1949**, *82*, 316.
- [42] M. Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, New York, London, 2. Auflage, **1993**.
- [43] F. Elsinger, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *Helvetica Chimica Acta* **1960**, 113.
- [44] a) M. Bodanszky, *Peptide Chemistry: A Practical Textbook*, Springer-Verlag, New York, London, **1988**; b) J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067; c) M. Bodanszky, A. Bodanszky, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, New York, London, 2. Auflage, **1994**.
- [45] G. A. Olah, M. Nojima, I. Kerekes, *Synthesis* **1973**, 487.
- [46] H. A. Staab, M. Lükling, F. H. Dürr, *Chem. Ber.* **1962**, *95*, 1275.
- [47] T. Fendert, mündliche Mitteilung.
- [48] a) J. M. Nye, E. F. V. Scriven, *Canadian Journal of Chemistry* **1971**, *49*, 3572; b) H. M. Priestley, E. Moness, *J. Org. Chem.* **1940**, *5*, 358.
- [49] Z.-M. Wang, M. Shen, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1414.
- [50] M. H. K. D. Janda, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 889.
- [51] a) H. J. Dauben, B. Löken, H. J. Ringold, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 1359; b) R. Sterzycki, *Synthesis* **1979**, 724.
- [52] a) F. A. Davis, L. C. Vishwakarma, J. M. Billmers, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3243; b) D. A. Evans, M. M. Morrissey, R. L. Dorow, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4346.
- [53] Ich danke W. Beil für die Durchführung der Untersuchungen.
- [54] Grever et al., *Seminars in Oncology* **1992**, *19*, 622.
- [55] a) R. Teeyapant, H. J. Woerdenbag, H. J. Gross, P. Proksch, *Planta Med.* **59**, Supplement Issue **1993**, A641; b) R. Ebel, M. Brenzinger, A. Kunze, H. J. Gross, P. Proksch, *Journal of Chemical Ecology* **1997**, *23*, 1451; c) P. Proksch, R. Ebel, *Alkaloids: Biochemistry Ecology and Medical Applications*, Plenum Press, New York, London, **1998**, S. 379; d) R. Ebel, *Dissertation*, Universität Würzburg **1998**.
- [56] a) Y. Gopichand, F. J. Schmitz, *Tet. Lett.* **1979**, *41*, 3921; b) G. Cimino, S. De Rosa, S. De Stefano, R. Self, G. Sodac, *Tet. Lett.* **1983**, *24*, 3029.



- 
- [57] a) H. Erhardt, D. H. Moosleiter, *Mergus Seewasseratlas*, Band 2, Mergus Verlag Melle, 1. Auflage, **1995**, S. 116, 119, 120.
- [58] R. Teeyapant, H. J. Woerdenbag, P. Kreis, J. Hacker, V. Wray, L. Witte, P. Proksch, *Z. Naturforsch.* **1993**, 48c, 939.
- [59] unveröffentlichte Ergebnisse aufgrund Mitteilung von *T. Fendert*.
- [60] Anhand des HPLC-Chromatogrammes konnte eindeutig der Abbau des Substrates sowie die Entstehung zweier Produkte nachgewiesen werden. Bei einem anschließenden HPLC-MS-Experiment konnten die entstandenen Produkte mit der gewählten Meßart (ESI positiv) nicht gemessen werden.
- [61] *Anfärbereagenzien für Dünnschichtchromatographie*, E. Merck, Darmstadt **1970**.
- [62] J. Leonard, B. Lygo, G. Procter, *Praxis der Organischen Chemie*, VCH Weinheim **1996**.
- [63] Y. Tamura, T. Yakura, J. Hartura, Y. Hito, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 3927.

## 16 Anhang

### 16.1 Abkürzungen

$\alpha$	Substituent unterhalb der Ringebene bzw. Substituent in 2-Position
AAV	allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
aliph.	aliphatisch
APT	Attached Proton Test
arom.	aromatisch
$\beta$	Substituent oberhalb der Ringebene bzw. Substituent in 3-Position
ber.	berechnet
br	breit
Bu	Butyl
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
CSA	Camphersulfonsäure
d	Dublett / Tag
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie, -chromatogramm
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
de	Diastereomerenüberschuß
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
d.h.	das heißt
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMDO	Dimethyldioxiran
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDCI	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid
EE	Essigsäureethylester
ee	Enantiomerenüberschuß
ent-	Enantiomer
eq	equatorial / Äquivalente

---

Et	Ethyl
<i>et al.</i>	und Mitarbeiter
eV	Elektronenvolt
FAB	Fast Atom Bombardement
FT	Fourier Transform
gef.	gefunden
ges.	gesättigte
h	Stunde(n)
HPLC	Analytische Hochdruckflüssigkeitschromatographie
Hz	Hertz
I	Intensität
IR	Infrarot
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Kap.	Kapitel
kap.	kapillar
KHMDS	Kaliumhexamethyldisilazid
Konz.	Konzentration
L	großer Substituent
Lit.	Literatur
Lsg.	Lösung
M	Molar
M <sup>+</sup>	Molekülionenpeak
m	Multipllett / mittel
max	maximal
<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
Me	Methyl
MesCl	Mesylchlorid
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
MS	Massenspektrum
MTB	Methyl- <i>tert</i> -butylether
<i>N</i>	normal
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
Nr.	Nummer

---

<i>p</i>	<i>para</i>
PE	Petrolether
Ph	Phenyl
PhIO	Iodosobenzol
PIDA	Phenyliodoniumacetat
PIFA	[Bis(trifluoracetoxy)-iod]benzol
PMP	<i>para</i> -Methoxyphenyl
ppm	parts per million
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
quant.	quantitativ
R	organischer Rest
<i>rac</i> -	razemisch
RT	Raumtemperatur
s	Singulett / stark
S	kleiner Substituent
<i>t</i>	<i>tertiär</i>
t	Triplett
Tab.	Tabelle
<i>tert.</i>	<i>tertiär</i>
Temp.	Temperatur
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yloxy bzw. korrespondierendes 4-Aminoacetat
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan, Trimethylsilyl
TosCl	Tosylchlorid
u.a.	unter anderem
UV	Ultraviolett-Spektroskopie
w	schwach
z.B.	zum Beispiel

## 16.2 Experimentelles zur Substratspezifitätsuntersuchung

### 16.2.1 Ablauf des Enzymassays

#### Standard-Methode

Beispiel:	8 µl Isofistularin-3 bzw. Substrat	+	32 µl pD-10-Extrakt
<u>o.S.</u>	8 µl HPLC-MeOH bzw. Substrat	+	32 µl pD-10-Extrakt
<u>o.E.</u>	8 µl Isofistularin-3 bzw. Substrat	+	32 µl Puffer

Konzentration der Isofistularin-3 Lösung : 10 mg/ml

Gesamtvolumen: **40 µl**

- Reihenfolge:
- Pipettieren des Puffers
  - Pipettieren des Substrates in vorgelegte Puffer-Lösung
  - Inkubation (Standard: 20 min bei 50° C)
  - Abstoppen der Reaktion durch einwerfen des Eppis in fl. N<sub>2</sub>
  - Zugabe von 400 µl HPLC-MeOH (Lichrosolv MeOH v. Merck 1.06007.5000), Lösen des Pellets
  - zum Homogenisieren Probe kurz in Ultraschallbad (Bandelin Sonorex RK 102 Transistor) halten
  - Zentrifugation 5 min bei 10000 U/min (SIGMA Laborzentrifuge 2-15, Rotor 12145) (Abtrennen der Proteinreste)
  - zum Homogenisieren Probe kurz in Ultraschallbad halten
  - HPLC-Analyse (Gynkotek mit Photodiodenarray-UV-Detektor, HPLC-Säule KNAUER Eurospher 100-C18 4.00mm i.D. 5µm Packing Material)
  - Lagern über Nacht in —20°C Tiefkühltruhe möglich

Ansatz: pro Substrat wurden jeweils drei Parallelansätze durchgeführt

Kontrolle: als Kontrolle diente ein Dreifachansatz mit dem Standard Isofistularin-3 und ein Ansatz ohne Substrat mit reinem Enzymextrakt

Isofistularin-3-Lösung: $M_R$  [Isofistularin-3] = 1114 g/mol

c (Substrat-Lösung) = 10 mg/ml (= Konz. Substrate)

8  $\mu$ l = 80  $\mu$ g Isofistularin-3 im Gesamtassayentspricht 4  $\mu$ g/ $\mu$ l im Gesamtassay80  $\mu$ g =  $7.1814 \times 10^{-8}$  mol40  $\mu$ g = 0.072  $\mu$ mol Isofistularin-3Puffer-Lösung:

Piperazin-Puffer 50 mM (SIGMA P-5777 Piperazin Dihydrochlorid)

PH 5,77 hergestellt mit Nanopur-Wasser

HPLC: folgender Gradient zur HPLC-Trennung verwendet

Zeit in Minuten	Anteil MeOH in %	Anteil Wasser-Phosphorsäure pH 2 (0,15 % H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )
0	10	90
2	10	90
17	100	0
20	100	0
22	10	90
30	10	90

PD-10-Extrakt: entsalzter Rohextrakt von *Aplysina cauliformis*

Auswertung: die Auswertung der Chromatogramme erfolgte über Peakflächen der Substratpeaks

**16.2.2 Hemmung des Isofistularin-3-Abbaus durch verschiedene Substrate**

Assay:

Zugesetzte Lösung	Isofistularin-3 im Mix mit Substrat	Isofistularin-3 ohne Substrat = Vergleich	Substrat ohne Isofistularin-3	Ansatz ohne Substrate
Isofistularin-3	8 $\mu$ l	8 $\mu$ l	-	-
Substrat	8 $\mu$ l	-	8 $\mu$ l	-
MeOH	-	8 $\mu$ l	8 $\mu$ l	16 $\mu$ l
Puffer	-	-	-	32 $\mu$ l
PD-10-Extrakt	32 $\mu$ l	32 $\mu$ l	32 $\mu$ l	-

Ansonsten weiteres Verfahren wie bei Standardassay

ANMERKUNG: die Auswertung der Chromatogramme erfolgte über Peakflächen der Substratpeaks wie auch im Standardassay

### 16.2.3 Kinetikversuche

Hemmung von Isofistularin-3-abbau bei äquimolarer Substratzugabe

Zeit	Isof-3 Abbau	Mono-Mix Isof-3 Abbau	Dibr-Mix Isof-3 Abbau	Brhy-Mix Isof-3 Abbau
0	0	0	0	0
1	73,3	70,1	52,8	40,3
1	75,4	75,9	54,6	25,7
1	87,2	81,7	51,2	40,1
5	96,1	100	100	95,2
5	94,8	94,5	97,6	96,1
5	100	100	93,2	95,3
10	100	94,7	94,2	96,4
10	100	100	94,2	100
10	100	93,7	96,7	100
20	100	100	95,9	100
20	100	100	93,8	100
20	100	97,1	89,3	96,4

Hemmung von Isofistularin-3-abbau bei dreifach molarer Substratzugabe

Zeit	Isof.-3	Bromhydrin-Isof.-3/Mix	Monobromderivat-Isof.-3/Mix	Dibromderivat-Isof.-3/Mix	MW Isof-3	MW Bromhy.	MW Monobr.
0	0	0	0	0			
0	0	0	0	0			
0	0	0	0	0	0	0	0
1	10,3	3,3	2,6	40			
1	7,2	3	6,8	57,7			
1	3	4	7,6	61,7	6,83333333	3,43333333	5,66666667
5	63,6	19	57,2	58,9			
5	44,9	16,6	45,7	87,7			
5	77,4	39,4	43,2	52,1	61,9666667	25	48,7
10	79	90,5	81	64,4			
10	86,5	60,4	94,4	92,4			
10	82,3	63,3	92,1	95,9	82,6	71,4	89,1666667
20	88	95,1	88,8	94,9			
20	95,3	96	93,6	92			
20	94,3	100	96,6	94,7	92,5333333	97,0333333	93

**16.2.4 Abbau in Abhängigkeit von der Zeit von Isofistularin-3 und Benzylverbindung**

	<b>Isofistularin-3</b>	<b>Benzylverbindung</b>
<b>0</b>	0	0
<b>20</b>	90,2	14,1
<b>40</b>	97,2	21
<b>60</b>	100	30,1

Das Pipettierschema ist dem obigem Schema zur Hemmung von Isofistularin-3 zu entnehmen.

Sonstige Versuchsbedingungen sind unter Standardassay nachzulesen.



## Danksagung

Ich danke den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der analytischen Abteilung des Institutes für die Aufnahme der zahlreichen Spektren. Mein besonderer Dank gilt dabei Frau D. Körtje, Frau M. Rettstadt und Herrn Dr. E. Hofer.

Frau G. Haß danke ich recht herzlich für die tatkräftige Unterstützung in allen organisatorischen Fragen.

Für das Anfertigen der Tests auf biologische Aktivität gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. W. Beil von der Medizinischen Hochschule Hannover.

Ich danke Herrn Prof. Dr. P. Proksch und Herrn T. Fendert vom Julius-von-Sachs Institut der Universität Würzburg für die gute und konstruktive Zusammenarbeit bei den Untersuchungen zur wundinduzierten Abwehrreaktion mariner Schwämme.

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* danke ich für die Förderung des Promotionsvorhabens im Rahmen des Graduiertenkollegs „*Chemische und technische Grundlagen der Naturstofftransformation*“ (April 1997 - April 1998).

Allen Freunden, Mitarbeitern und Kollegen, die mich beim Anfertigen dieser Arbeit unterstützt haben, danke ich recht herzlich. Für das gute Klima im „Cheflabor“ danke ich C. Knappwost, U. Yunus, N. Pleuß, H. Siebeneicher, C. Borm, T. Fleßner und M. Wolter. Weiterhin danke ich C. Knappwost, J. Frackenpohl sowie B. Luerßen für das engagierte Korrekturlesen der Arbeit und die zahlreichen interessanten Anregungen. Mein Dank gilt außerdem U. Yunus für das Aufbessern meiner Englischkenntnisse.

Meine Eltern und meinem Bruder danke ich für alles, was sie im Laufe meines Studiums für mich getan haben, insbesondere in schwierigen Zeiten waren sie oft eine große Hilfe für mich.