





# **Totalsynthese strukturell modifizierter und Isotopen-markierter offenkettiger Tetrapyrrole**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

**Sebastian Gandor**

aus Düsseldorf

März 2013



Die vorliegende Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Chemische Energiekonversion in Mülheim an der Ruhr unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Gärtner von Dezember 2008 bis Dezember 2012 ausgeführt.

Gedruckt mit der Genehmigung der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Wolfgang Gärtner  
Korreferent: Prof. Dr. Thomas J.J. Müller

Tag der mündlichen Prüfung: 21.05.2013



**“Learn from the mistakes of others.  
You can never live long enough to make them all yourself.”**

***Groucho Marx***



**Für Silke**



## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei folgenden Damen und Herren herzlich bedanken, die auf ihre Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

- Herrn Prof. Dr. Wolfgang Gärtner für die Vergabe des interessanten Themas, den mir gewährten Freiraum zur Gestaltung dieser Arbeit, sowie seine Anregungen und stete Diskussionsbereitschaft.
- Herrn Prof. Dr. Thomas J. J. Müller für die Übernahme des Zweitgutachtens.
- Herrn Priv.-Doz. Dr. Klaus Schaper für die Hilfe bei der Auswertung einiger schwer zu interpretierender NMR-Spektren.
- Frau Dagmar Merkel, Frau Kerstin Neurieder und Herrn Jörg Bitter für die Aufnahme zahlreicher NMR-Spektren.
- Herrn Heinz-Werner Klein sowie allen Mitarbeitern der Abteilung Massenspektroskopie des Max-Planck-Instituts für Kohlenforschung für die Aufnahme und Auswertung der Massenspektren.
- Frau Manuela Trinoga, Frau Schmitz und Frau Miriam Frenzer für die Analysen und die oft aufwendigen Trennungen mittels HPLC.
- Frau Inge Heise für ihre durch jahrelange Laborpraxis erworbenen guten Ratschläge, sowie ihre stete Hilfsbereitschaft.
- Frau Dr. Simone Ringsdorf für die entstandene Freundschaft, die sehr gute Zusammenarbeit, sowie die vielen fachlichen und persönlichen Gespräche.
- Frau Dr. Alessandra Hoppe für ihre Hilfsbereitschaft und die vielen netten Gespräche, sowie für ihre leckere Erdbeertorte.
- Frau Dr. Virginia Helena Albarracin für das gute Büroklima, die gemeinsamen Kaffeerunden und die Fußballerevents.

- Frau M. Sc. Sarah Raffelberg für die Bereitstellung der Proteine und die Hilfe bei der Assemblierung der Chromophore ins Protein.
- Frau Dipl. Bio. Jana Riethausen für den Austausch in der schwierigen Anfangsphase.
- Herrn Dennis Naumann für seine hilfreiche Unterstützung im Labor, die gemeinsamen Fußballerevents und die fast jeden nervenden Fußballfachgespräche.
- Frau Natalia Kowalew für die angenehme Arbeitsatmosphäre und ihre hilfreiche Unterstützung im Labor (vor allem in ihrem geliebten Grünlichtlabor).
- Frau Johanna Taing für die gute Laborgemeinschaft.
- Herrn M. Sc. Björn Zorn und Frau Helene Steffen für die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe.
- Allen Studenten/ Praktikanten für ihre Beiträge zu meinen Synthesen. Außerdem allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Gärtner für die gute Gemeinschaft und Hilfsbereitschaft.

Besonderer Dank gilt vor allem:

- Meiner Frau Silke für ihre unendliche Liebe in über zehn wundervollen, gemeinsamen Jahren. Ebenso für ihren Glauben an mich trotz der langen Erfolgsluststrecke, sowie ihren liebevollen Beistand in schwierigen privaten Zeiten.
- Meinen Eltern für das Ermöglichen meines Studiums und ihre immerwährende Unterstützung.
- Meinen Großeltern für ihre Unterstützung und ihr Verständnis in schweren, stressigen Zeiten.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Theoretische Grundlagen</b> .....	<b>- 1 -</b>
1.1 Photorezeptoren .....	- 2 -
1.2 Phytochrome.....	- 4 -
1.2.2 Photochemie des Phytochroms .....	- 6 -
1.2.2.1 Die P <sub>r</sub> -Form .....	- 7 -
1.2.2.2 Der Photozyklus des Phytochroms.....	- 8 -
1.2.2.3 Die P <sub>fr</sub> -Form.....	- 10 -
1.3 Tetrapyrrole .....	- 11 -
1.3.1 Biosynthese .....	- 12 -
1.3.2 Chemische Totalsynthese.....	- 13 -
<b>2 Ziele der Arbeit</b> .....	<b>- 15 -</b>
<b>3 Syntheseplanung</b> .....	<b>- 16 -</b>
3.1 Allgemeine Syntheseroute für Phycocyanobilin (1).....	- 16 -
3.1.1 Synthese des A-Rings (7).....	- 16 -
3.1.2 Synthese der B/C-Ringvorstufe (19).....	- 17 -
3.1.3 Synthese des B-Rings (25).....	- 18 -
3.1.4 Synthese des C-Rings (26).....	- 19 -
3.1.5 Synthese der AB-Hälfte (57).....	- 19 -
3.1.6 Synthese der CD-Hälfte (60).....	- 20 -
3.1.7 Synthese des Phycocyanobilin (1).....	- 21 -
3.2 Syntheseroute der verschiedenen Phycocyanobilinderivate .....	- 22 -
3.2.1 Synthese von (15- <sup>13</sup> C)-Phycocyanobilin (69).....	- 22 -
3.2.2 Synthese von (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilin (72).....	- 22 -

3.2.3	Synthese von (13H)-Phycocyanobilin (74).....	- 24 -
3.3	Syntheseplanung der verschiedenen Biliverdinderivate.....	- 25 -
3.3.1	Synthese von (5- <sup>13</sup> C)-Biliverdin (76).....	- 25 -
3.3.2	Synthese von (15- <sup>13</sup> C)-Biliverdin (77).....	- 26 -
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>- 29 -</b>
4.1	Synthese der Phycocyanobiline .....	- 29 -
4.1.1	Synthese des A-Rings (7).....	- 29 -
4.1.2.	Synthese der B/C-Ringvorstufen .....	- 32 -
4.1.2.1	Isocyanoessigsäure- <i>tert</i> -butylesters (9).....	- 32 -
4.1.2.2	( <sup>15</sup> N)-Isocyanoessigsäuremethylesters (12) .....	- 33 -
4.1.2.3	4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (16).....	- 33 -
4.1.2.4	4-Pentinsäuremethylesters (18).....	- 37 -
4.1.2.5	B/C-Ringvorstufe (19).....	- 37 -
4.1.2.6	( <sup>15</sup> N)-markierten B/C-Ringvorstufe (20) .....	- 39 -
4.1.2.7	(4H)-B/C-Ringvorstufe (21).....	- 39 -
4.1.3	Synthese des B-Rings (25).....	- 40 -
4.1.4	Synthese der C-Ringe .....	- 43 -
4.1.4.1	(5- <sup>13</sup> C)-C-Ring (27).....	- 44 -
4.1.4.2	( <sup>15</sup> N)-markierter C-Ring (28).....	- 44 -
4.1.4.3	(4H)-C-Ring (29).....	- 44 -
4.1.5	Synthese der AB-Hälfte (57).....	- 45 -
4.1.6	Synthese der CD-Hälften.....	- 46 -
4.1.6.1	(5- <sup>13</sup> C)-CD-Hälfte (62) .....	- 48 -
4.1.6.2	(10- <sup>15</sup> N)-markierte CD-Hälfte (65).....	- 48 -
4.1.6.3	(7H)-CD-Hälfte (67) .....	- 49 -

4.1.7	Synthese der Tetrapyrrole .....	- 50 -
4.1.7.1	(15- <sup>13</sup> C)-Phycocyanobilin (69) .....	- 53 -
4.1.7.2	(22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilin (72) .....	- 54 -
4.1.7.3	(13H)-Phycocyanobilin (74) .....	- 55 -
4.2	Synthese der Biliverdine .....	- 56 -
4.2.1	Synthese des A-Rings .....	- 56 -
4.2.2	Synthese des D-Rings .....	- 58 -
4.2.2.1	Variante A.....	- 58 -
4.2.2.2	Variante B.....	- 59 -
4.2.2.3	Variante C.....	- 61 -
4.3	Assemblierung der Phycocyanobilin-Chromophore in das Protein 1393 GAF 3 des Cyanobakteriums <i>Synechocystis</i> .....	- 63 -
<b>5</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>- 66 -</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>- 67 -</b>
<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>- 69 -</b>
<b>8</b>	<b>Experimentaltteil.....</b>	<b>- 71 -</b>
8.1	Geräte, Materialien und Methoden.....	- 71 -
8.1.1	NMR-Spektroskopie.....	- 71 -
8.1.2	Massenspektroskopie .....	- 71 -
8.1.3	UV/VIS-Spektroskopie .....	- 71 -
8.1.4	Säulenchromatographie.....	- 72 -
8.1.5	HPLC .....	- 72 -
8.2	Lösungsmittel und Reagentien .....	- 73 -

8.3	Synthese der Phycocyanobilinderivate .....	- 76 -
8.3.1	Synthese des A-Rings (7).....	- 76 -
8.3.1.1	Darstellung von (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (4) ..	- 76 -
8.3.1.2	Darstellung von (E)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl- pyrrolidin-2,5-dion (5).....	- 77 -
8.3.1.3	Darstellung von (E)-3-Ethyliden-4-methylpyrroliden-2,5-dion (6) .	- 79 -
8.3.1.4	Darstellung von (E)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (7)....	- 80 -
8.3.2	Synthese der B/C-Ringvorstufe (19).....	- 82 -
8.3.2.1	Darstellung von N-Formylglycin- <i>tert</i> -butylester (8) .....	- 82 -
8.3.2.2	Darstellung von Isocyanoessigsäure- <i>tert</i> -butylester (9).....	- 83 -
8.3.2.3	Darstellung von Glycinmethylesterhydrochlorid (10) .....	- 84 -
8.3.2.4	Darstellung von N-Formylglycinmethylester (11) .....	- 85 -
8.3.2.5	Darstellung von Isocyanoessigsäuremethylester (12) .....	- 86 -
8.3.2.6	Darstellung von 4-Nitrobutansäuremethylester (13) .....	- 87 -
8.3.2.7	Darstellung von 4,4-Dimethoxybutansäuremethylester (14) .....	- 89 -
8.3.2.8	Darstellung von 4-Oxobutansäuremethylester (15) .....	- 90 -
8.3.2.9	Darstellung von 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (16) ...	- 91 -
8.3.2.10	Darstellung von 4-Pentinsäure (17) .....	- 93 -
8.3.2.11	Darstellung von 4-Pentinsäuremethylester (18).....	- 94 -
8.3.2.12	Darstellung von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H- pyrrol-2-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (19).....	- 95 -
8.3.2.13	Darstellung von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H- pyrrol-2-carbonsäuremethylester (20) .....	- 97 -
8.3.2.14	Darstellung von 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-1H-pyrrol-2- carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (21) .....	- 98 -
8.3.3	Synthese des B-Rings (25).....	- 100 -
8.3.3.1	Darstellung von D-(-)-Weinsäuredibenzylester (22).....	- 100 -

8.3.3.2	Darstellung von Glyoxylsäurebenzylester (23) .....	- 101 -
8.3.3.3	Darstellung von 3-(5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-( <i>tert</i> -butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl)-propionsäuremethylester (24).....	- 102 -
8.3.3.4	Darstellung von Benzyloxycarbonyl-(5- <i>tert</i> -butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonylethyl)-3-methylpyrrol-2-yl)-(triphenylphosphonid)methanid (25).....	- 104 -
8.3.4	Synthese des C-Rings (26).....	- 106 -
8.3.4.1	Darstellung von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (26) .....	- 106 -
8.3.4.2	Darstellung von 5-Formyl-3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (28) .....	- 108 -
8.3.4.3	Darstellung von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (29).....	- 109 -
8.3.5	Synthese der AB-Hälfte (57).....	- 111 -
8.3.5.1	Darstellung von 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9- <i>tert</i> -butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrrin-1-(10H)-on-8-yl)-propionsäuremethylester (56).....	- 111 -
8.3.5.2	Darstellung von 9- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethylidipyrrin-1-(10H)-on-5-carbonsäure (57).....	- 113 -
8.3.6	Synthese der CD-Hälfte (60).....	- 114 -
8.3.6.1	Darstellung von 2-Ethyl-9-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1H-pyrrol (59)-	114 -
8.3.6.2	Darstellung von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1H-pyrrol (60).....	- 116 -
8.3.6.3	Darstellung von (5- <sup>13</sup> C)-2-Ethyl-9-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1H-pyrrol (61) .....	- 118 -

8.3.6.4	Darstellung von (5- <sup>13</sup> C)-2-Ethyl-9-formyl -8-(2-methoxy-carbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1H-pyrrol (62) .....	119 -
8.3.6.5	Darstellung von ( <sup>15</sup> N)-2-Ethyl-9-carbonsäuremethylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1H-pyrrol (63)-	121 -
8.3.6.6	Darstellung von ( <sup>15</sup> N)-2-Ethyl-9-carbonsäure-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1H-pyrrol (64).....	122 -
8.3.6.7	Darstellung von ( <sup>15</sup> N)-2-Ethyl-9-formyl-8-propionsäure-3,7-dimethyl-pyrromethen-1H-pyrrol (65).....	124 -
8.3.6.8	Darstellung von 2-Ethyl-9-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrromethen-1H-pyrrol (66) ..	125 -
8.3.6.9	Darstellung von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrromethen-1H-pyrrol (67) .....	127 -
8.3.7	Synthese der Phycocyanobilin-Tetrapyrrole .....	129 -
8.3.7.1	Darstellung von (15- <sup>13</sup> C)-Phycocyanobilindimethylester (68) ....	129 -
8.3.7.2	Darstellung von (15- <sup>13</sup> C)-Phycocyanobilin (69).....	130 -
8.3.7.3	Darstellung von (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilindimethylester (70) und (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilinmethylester (71).....	132 -
8.3.7.4	Darstellung von (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilin (72).....	134 -
8.3.7.5	Darstellung von (13H)-Phycocyanobilindimethylester (73) .....	136 -
8.3.7.6	Darstellung von (13H)-Phycocyanobilin (74) .....	137 -
8.3.7.7	Isolierung von Phycocyanobilin (1) aus <i>Spirulina platensis</i> .....	139 -
8.3.8	Assemblierung der Chromophore .....	141 -
8.4	Synthese der Biliverdinderivate .....	141 -
8.4.1	Synthese des A-Rings (55).....	141 -
8.4.1.1	Darstellung von 3-Tolylsulfonylpropanal (50).....	141 -
8.4.1.2	Darstellung von 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan (51) .....	142 -
8.4.1.3	Darstellung von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1H-pyrrol (52)-	144 -

8.4.1.4	Darstellung von 5-Brom-4-methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1H-pyrrol (53) .....	145 -
8.4.1.5	Darstellung von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1H-pyrrol-5-on (54) .....	147 -
8.4.2	Synthese des D-Rings (34).....	148 -
8.4.2.1	Darstellung von 2Z/2E-2-Cyano-4,4dimethoxy-3-methylbut-2-enamid (30) .....	148 -
8.4.2.2	Darstellung von 2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbutanamid (31) .....	149 -
8.3.5.3	Darstellung von 3-Cyano-4-methyl-3-pyrrolin-2-on (32).....	151 -
8.4.2.4	Darstellung von 4-(4-Chlorphenylselanyl)butansäure (35).....	152 -
8.4.2.5	Darstellung von Acetamidoaceton (36).....	153 -
8.4.2.6	Darstellung von Aminoaceton-hydrochlorid (37).....	154 -
8.4.2.7	Darstellung von 1-Amino-2,2-dimethoxypropan (38) .....	155 -
8.4.2.8	Darstellung von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butylamino]propan-2-on (39) .....	156 -
8.4.2.9	Darstellung von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butyl]-(2-oxopropyl)-carbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (40) .....	158 -
8.4.2.10	Darstellung von (4-Methoxybenzyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dion (45) .....	159 -
8.4.2.11	Darstellung von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion (46) .....	160 -
8.4.2.12	Darstellung von 3-(Brommethyl)-4-methylpyrrol-2,5-dion (47)...	162 -
8.4.2.13	Darstellung von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion-3-phosphoniumbromid (48) .....	163 -
8.4.2.14	Darstellung von 3-Vinyl-4-methylpyrrol-2,5-dion (49) .....	164 -
8.4.3	Synthese der Biliverdin-Tetrapyrrole.....	166 -
8.4.3.1	Darstellung von Biliverdin IX $\alpha$ (2) aus Bilirubin .....	166 -

<b>9 Anhang</b> .....	<b>- 169 -</b>
9.1 Substanzen.....	- 169 -
9.2 Abkürzungsverzeichnis.....	- 172 -
9.3 Abbildungsverzeichnis.....	- 174 -
9.4 Literaturverzeichnis.....	- 181 -

# 1 Theoretische Grundlagen

Die Reaktion von Pflanzen auf Licht fasziniert die Wissenschaft schon weit über 100 Jahre. Die Kontrolle der Lichtqualität und -quantität ist für die Pflanzen von essentieller Bedeutung, da sie Licht für die Photosynthese benötigen<sup>[1]</sup>. Dies drückt sich u.a. in verstärktem Längenwachstum und somit zum Antizipieren des Schattens bei Veränderungen in der Lichtqualität durch benachbarte Pflanzen aus<sup>[10]</sup>. Daneben gibt es im Leben der Pflanzen von der Samenkeimung über Wachstum und das Ergrünen bis zur Blütenbildung zahlreiche lichtgesteuerte Prozesse<sup>[12]</sup>. Die unterschiedlichen Aufgaben beanspruchen ebenso viele sensorische Steuereinheiten, die man bei Lichtdetektion als Photorezeptoren bezeichnet. Photorezeptoren sind Proteine, die in Verbindung mit niedermolekularen organischen Verbindungen, so genannten Chromophoren (altgriechisch: Farbträger), Licht einer bestimmten Wellenlänge absorbieren und damit eine Signalkette auslösen, die letztendlich eine physiologische Reaktion induziert<sup>[15]</sup> (siehe Abb. 1).

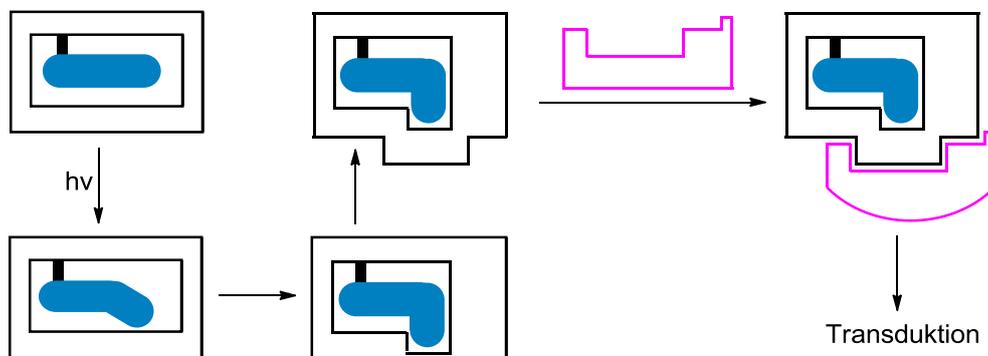


Abb. 1: Schematische Darstellung einer durch Belichtung initiierten Signaltransduktion. Die ersten vier Teilschritte zeigen die durch Belichtung hervorgerufene konformelle Änderung zunächst im Chromophor (blau) und anschließend im Protein (die zwei umgebenden schwarzen Vierecke). Im letzten Schritt ist die Anbindung eines weiteren zellulären Proteins (pink) zu sehen, welches nach Komplexbildung seinerseits eine Änderung erfährt (hier beispielsweise ebenfalls eine konformelle Änderung)<sup>[6]</sup>.

## 1.1 Photorezeptoren

Photorezeptoren sind bei nahezu allen Lebewesen nachgewiesen worden. Sie agieren als optische Schalter, die durch Belichtung von einem inaktiven Zustand in einen aktiven, signalgebenden Zustand übergehen. Sie werden nach der Stoffklasse und Photochemie der Chromophore in bisher sechs verschiedene Kategorien eingeteilt<sup>[13]</sup>:

### ◆ Rhodopsine

sind Membranproteine, deren Lichtdetektion (Absorption je nach Protein von 350 bis > 600 nm) mit Hilfe von Retinal (Vitamin-A Aldehyd) als Chromophor, welcher kovalent an ein Lysin gebunden ist, erreicht wird. Einer der am besten charakterisierten Photorezeptoren ist das Bacteriorhodopsin, das allerdings, trotz gleicher Funktionsweise wie die sensorischen Rhodopsine, als lichtgetriebene Protonenpumpe fungiert: Nach Grünlichtabsorption verändert sich die Konfiguration des Chromophors, indem er eine all-trans → 13-cis Isomerisierung eingeht<sup>[7]</sup>.

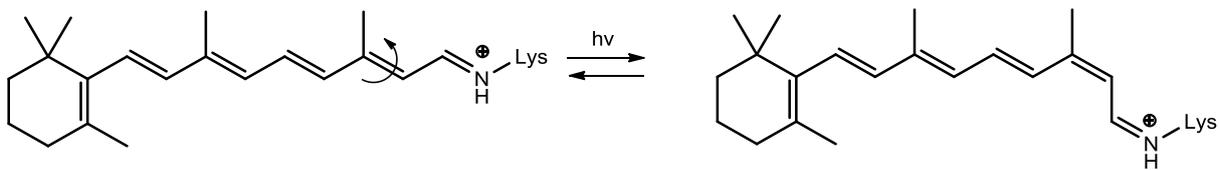


Abb. 2: Isomerisierung des Retinals<sup>[7,13]</sup>

### ◆ Xanthopsine

Das „Photoactive Yellow Protein“ (PYP) ist ein kleiner, cytoplasmatischer Photorezeptor mit 4-Hydroxymethylsäure als Chromophor, welcher kovalent über eine Thioesterbindung an ein Cystein gebunden ist. Nach Absorption von Blaulicht (400-450 nm) findet eine trans → cis Isomerisierung statt.

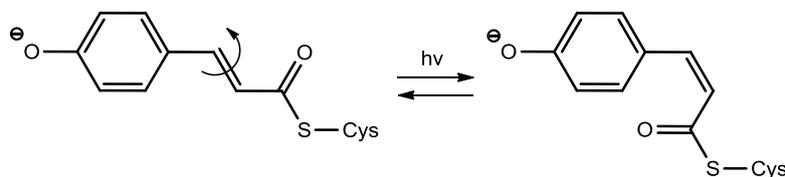


Abb. 3: Isomerisierung der 4-Hydroxymethylsäure<sup>[7,13]</sup>

◆ Phytochrome

nutzen offenkettige Tetrapyrrole als Chromophore, die über eine Thioetherbindung mit einem Cystein verknüpft sind. Beispielsweise ist in PhyA nach Rotlichtabsorption (665 nm) eine Z → E Isomerisierung der Methinbrücke zwischen den Ringen C und D zu beobachten.

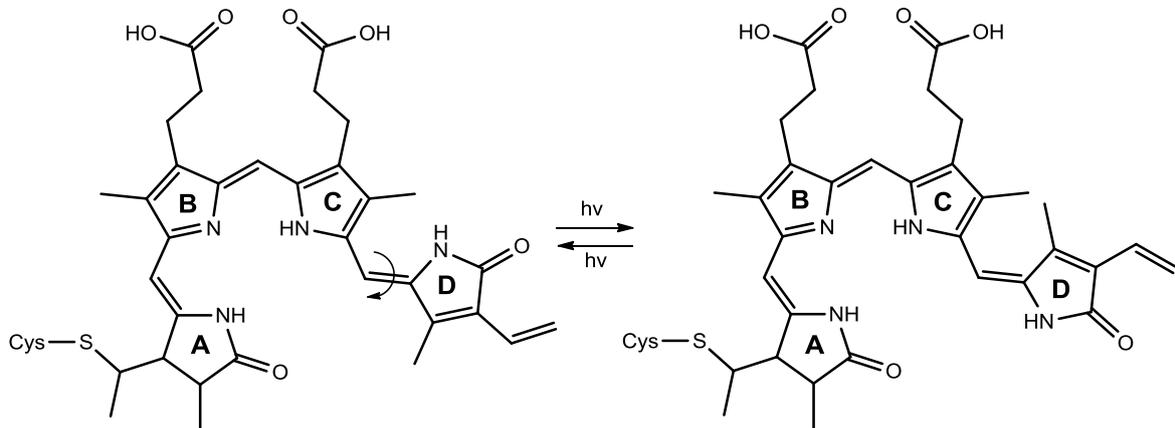


Abb. 4: Isomerisierung von Phytylmobilin (**3**)<sup>[7,13]</sup>

◆ Cryptochrome

sind Flavoproteine, die zwei nicht-kovalent gebundene Chromophore, das Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) und das Methenyl-tetrahydrofolat (MTHF), enthalten. Blaulichtabsorption (380-440 nm) führt bei Cryptochromen zum Elektronentransfer.

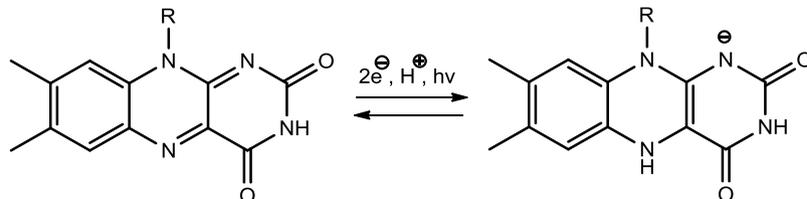


Abb. 5: Elektronentransfer des FADs<sup>[7,13]</sup>

◆ „Light-Oxygen-Voltage“-Sensoren (LOVs)

Die bekanntesten Vertreter der LOVs sind Phototropine, welche Flavin-Mononukleotid (FMN) als Chromophor binden. Durch Blaulichtabsorption (450 nm) geht ein konserviertes Cystein eine transiente kovalente Bindung mit FMN ein<sup>[14]</sup>.

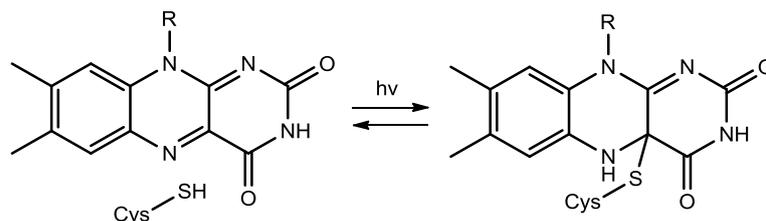


Abb. 6: Photozyklus der LOVs<sup>[7,13]</sup>

◆ „blue-light utilizing FAD“-Sensoren (BLUF).

benutzen ebenfalls FAD als Chromophor. Im Gegensatz zu LOVs ist in BLUFs nach Blaulichtabsorption (380-440 nm) ein Elektronentransfer, eine Rearrangierung der Wasserstoffbrücken-Umgebung und eine Konformationsänderung zu sehen.

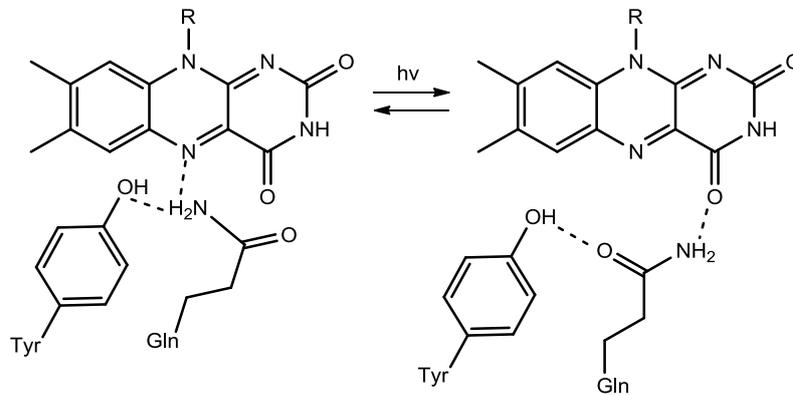


Abb. 7: Elektronentransfer der BLUFs<sup>[7,13]</sup>

## 1.2 Phytochrome

In dieser Arbeit werden ausschließlich die Phytochrome untersucht: 1959 vergab Warren L. Butler einem Rotlicht-Photorezeptor den Namen „Phytochrom“ (Phyton griechisch: Pflanze; Chromos griechisch: Farbe)<sup>[1,15,19]</sup>. In den folgenden Jahren konnte der Rezeptor isoliert und seine optischen Eigenschaften sowie die Kinetik der lichtinduzierten Veränderungen vermessen werden<sup>[20-24]</sup>. Genomsequenzierungen ermöglichten den Bereich der Rotlichtrezeptoren zu erweitern<sup>[25,26]</sup>: Neben dem Vorkommen in höheren Pflanzen (pflanzliche Phytochrome, z.B. PhyA), wurden Phytochrom-ähnliche Rezeptoren in Bakterien (bakteriellen Phytochrome, BphPs)<sup>[27]</sup>, Cyanobakterien (cyanobakterielle Phytochrome, CphPs)<sup>[28,29]</sup>, Moosen und Pilzen (Fphs)<sup>[30]</sup> nachgewiesen.

### 1.2.1 Aufbau der Phytochrome

Allen Phytochromen gemeinsam ist der Aufbau in Domänen (Bereiche, die eine spezifische Faltung der Proteinkette besitzen und durch unspezifische gefaltete Abschnitte miteinander verbunden sind) und das Vorliegen als Dimer in der Zelle. Das Dimer ist aus zwei gleichen Untereinheiten aufgebaut, wobei jede Untereinheit aus einer N-terminalen photosensorischen Region und einer C-terminalen regulatorischen Region besteht. Die photosensorische Region besteht aus drei

wichtigen Domänen (siehe Abb. 8): Einer GAF-Domäne (cGMP spezifische Phosphodiesterase), gefolgt von einer PAS-Domäne (PER ARNT SIM: period clock protein, aromatic hydrocarbon receptor nuclear translocator, single minded), gefolgt von einer Phytochrom spezifischen PHY-Domäne. Anschließend an die PHY-Domäne befindet sich in der regulatorischen Region eine Histidinkinase oder eine Histidinkinase-ähnliche, signalübertragende Domäne<sup>[17,31]</sup>.

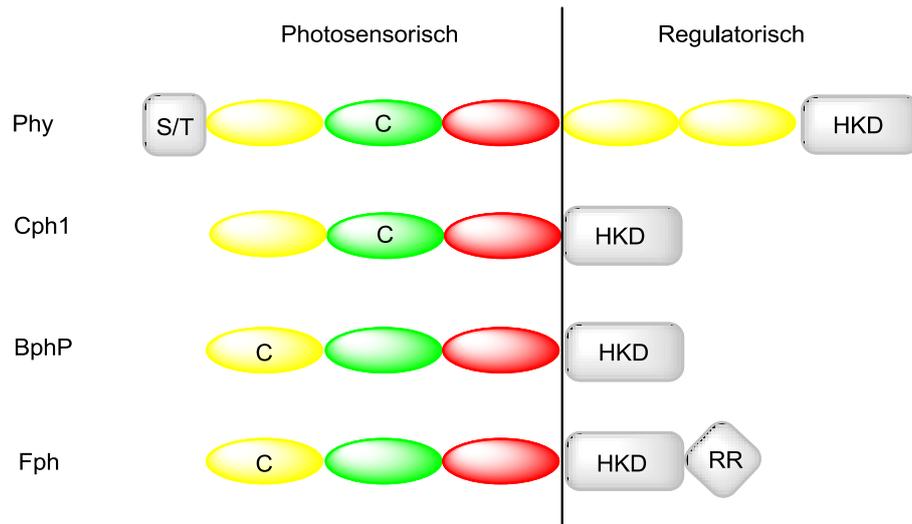


Abb. 8: Aufbau der Phytochromregionen (pflanzliche: Phy, bakterielle: BphP, cyanobakterielle: CphPs, Fungi: Fphs). Die drei wichtigsten Domänen sind farblich hervorgehoben: GAF in grün, PAS in gelb und PHY in rot. Die Chromophorbindingstelle ist mit C gekennzeichnet. S/T = Serin- oder Threonin reiche Region; HKD = Histidin-Kinase-Domäne; RR = Response-Regulator-Domäne<sup>[15,17]</sup>

Außerdem befindet sich in dieser photosensorischen Region die Bindungsstelle des Chromophors. In pflanzlichen Phytochromen und Cyanobakterien befindet sich das bindungsbildende Cystein in der GAF-Domäne, während es in bakteriellen und Fungi-Phytochromen in der PAS-Domäne lokalisiert ist. Für die verschiedenen Phytochromgruppen dienen jeweils unterschiedliche Tetrapyrrole als Chromophor (siehe Abb. 9). In pflanzlichen Phytochromen (z.B. PhyA) dient das Phytochromobilin (PΦB) (**3**) als Chromophor, während in Cyanobakterien (z.B. Cph1) das Phycocyanobilin (PCB) (**1**) und in bakteriellen und Pilz-artigen Phytochromen (BphPs, Fphs) das Biliverdin IX $\alpha$  (BV) (**2**) zu finden ist<sup>[15,17]</sup>.

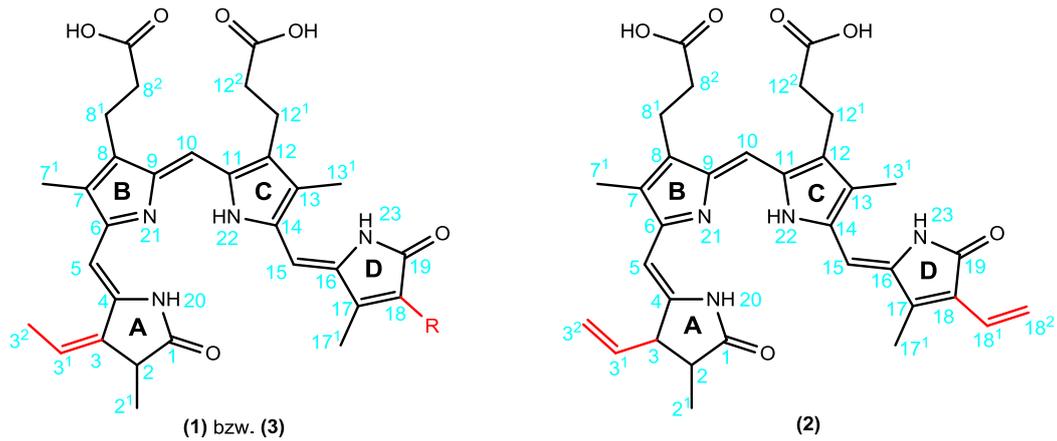


Abb. 9: Chromophore der Phytochrome. Die Nummerierung ist in blauen Ziffern angegeben. Die strukturellen Unterschiede, die Bindungsstelle von Position C3 zum Cystein und die Position C18 im D-Ring sind rot markiert. Links: Phycocyanobilin (1) [bei R = Ethyl] bzw. Phytochromobilin (3) [bei R = Vinyl]. Rechts: Biliverdin IX $\alpha$  (2)

### 1.2.2 Photochemie des Phytochroms

Die lichtinduzierte physiologische Funktion des Phytochroms beruht auf der Absorption eines Lichtquants im Wellenlängenbereich um 650-670 nm<sup>[6]</sup>. Phytochrom kann daher in zwei thermisch stabilen Zuständen vorliegen: Der physiologisch inaktive Grundzustand P<sub>r</sub> (r = red-absorbing form) mit einem Absorptionsmaximum von 665 nm (PhyA) und ein physiologisch aktiver Zustand P<sub>fr</sub> (fr = far-red-absorbing form) mit einem Absorptionsmaximum von 730 nm<sup>[1,6,12,15]</sup>.

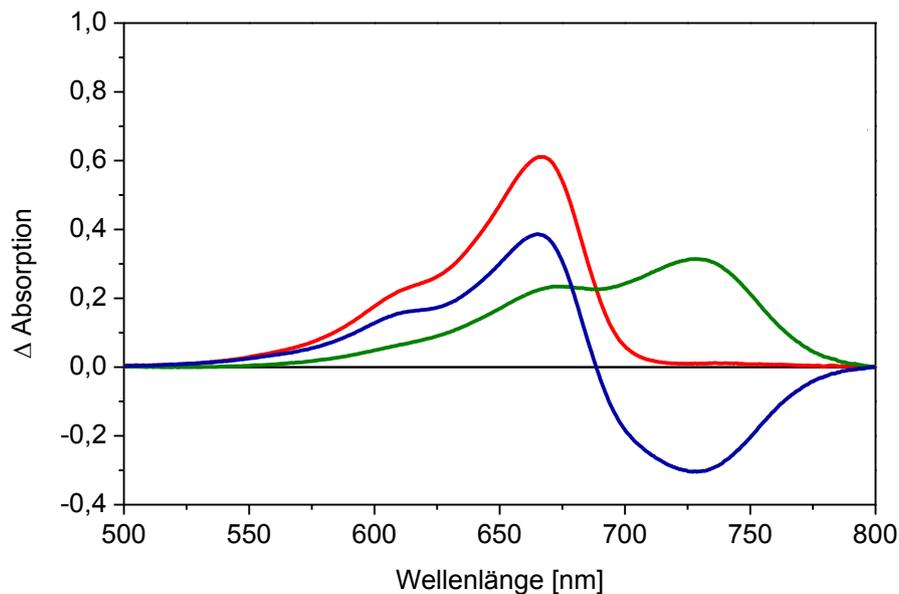


Abb. 10: Absorptionsspektrum von Phytochrom mit P $\Phi$ B (3) in der P<sub>r</sub>-Form (rot) und P<sub>fr</sub>-Form (grün), sowie das resultierende Differenzspektrum (blau)<sup>[6,15,16]</sup>

Durch Einstrahlung von Licht einer geeigneten Wellenlänge lassen sich beide Formen ineinander überführen: Sättigende Bestrahlung der  $P_r$ -Form mit hellrotem Licht führt zu  $\sim 85\%$   $P_{fr}$ -Form, während sättigende Bestrahlung der  $P_{fr}$ -Form mit dunkelrotem Licht  $\sim 99\%$  der  $P_r$ -Form bildet<sup>[12]</sup>. Die Quantenausbeute für beide Reaktionen beträgt etwa  $\Phi = 0.15$ <sup>[15,35]</sup>.

### 1.2.2.1 Die $P_r$ -Form

Die Kristallstruktur einer vollständigen photosensorischen Phytochromregion (bestehend aus PAS-, GAF-, PHY-Domäne mit Phycocyanobilin (**1**) als gebundenem Chromophor) eines Cyanobakteriums (Cph1) ermöglichte einen genaueren Blick auf die  $P_r$ -Form<sup>[4,5,18]</sup>. In Cph1 liegt die Chromophorbindungsstelle in der GAF-Domäne, genauer eine Thioesterbindung verknüpft das C3<sup>1</sup> des A-Rings mit dem Schwefel des Cystein-259. Die Thioetherbindung wird durch Tyrosin-458, Leucin-469 und Prolin-471 vom umgebenden Lösungsmittel isoliert (siehe Abb. 12). Der A- und B-Ring des Chromophors wird u.a. durch Leucin-15, Leucin-18 und Isoleucin-20 hydrophob abgeschirmt. Die Cph1 Struktur zeigt einwandfrei, dass der gebundene Chromophor in seiner Bindungstasche in einer ZZZssa Konformation vorliegt (siehe Abb. 11)<sup>[4,5,18]</sup>.

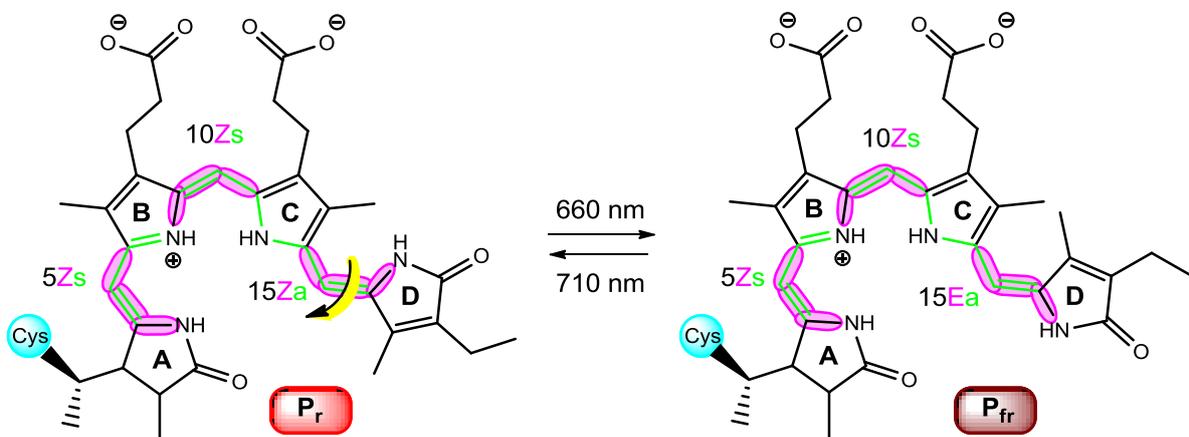


Abb. 11: Proteingebundenes Phycocyanobilin (**1**) in der ZZZssa ( $P_r$ -Form) und ZZEssa ( $P_{fr}$ -Form) Konformation. Die Z/E-Isomerisierung ist durch einen gelb-schwarzen Pfeil markiert. Grün eingefärbte Bindungen bestimmen die syn- und anti-Konformation, pink unterlegte Bindungen bestimmen die Z- und E-Konformation<sup>[15]</sup>.

Arginin-472 bildet in dem freien Raum zwischen A- und D-Ring eine Salzbrücke zu Asparaginsäure-207 aus. Histidin-260 und ein Wassermolekül konservieren die NH-Bindungen der ersten drei Ringe. Die Propionsäuren des B- und C-Rings sind

durch Wasserstoffbrückenbindungen mit Arginin-254 und einem Wassermolekül verknüpft. Um den D-Ring schließen Tyrosin-176, Valin-186, Tyrosin-203, Prolin-204 und Tyrosin-263 eine kleinere hydrophobe Tasche, wobei der D-Ring Wasserstoffbrückenbindungen über seine Carbonylgruppe am C19 zum Histidin-290, sowie von der Methylgruppe C17<sup>1</sup> zum Tyrosin-263 ausbildet (siehe Abb. 12). Die Tasche des D-Rings ist jedoch groß genug für die Rotation in der Z→E Isomerisierung, dem photochemischen Hauptereignis beim Übergang der P<sub>r</sub>-Form in die P<sub>fr</sub>-Form<sup>[4,5,18]</sup>.

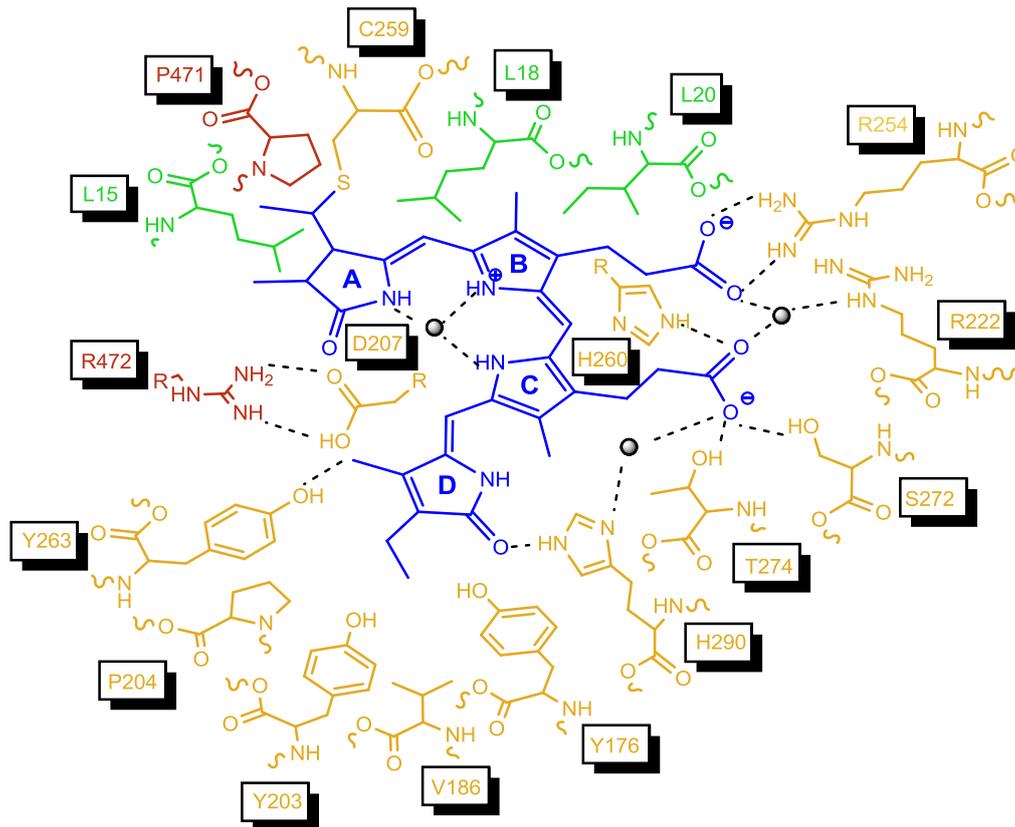


Abb. 12: Kristallstruktur von Cph1. In der Mitte befindet sich der gebundene Chromophor, Phycocyanobilin (**1**), blau eingefärbt. Die umgebenden Aminosäuren sind entsprechend ihrer Domäne farblich markiert: N-Terminus (grün), PHY (rot) und GAF (ocker). Wassermoleküle sind als schwarze Kugeln, Wasserstoffbrückenbindungen als schwarze gestrichelte Linien dargestellt<sup>[18]</sup>.

### 1.2.2.2 Der Photozyklus des Phytochroms

Die Absorption eines Lichtquants initiiert die Isomerisierung der C15-C16-Doppelbindung als ersten Schritt der Konversion zwischen den beiden stabilen Formen P<sub>r</sub> und P<sub>fr</sub> (photochemische Schalter)<sup>[33,34,35]</sup>. Diese Photoisomerisierung findet in beiden Reaktionswegen („vorwärts“ und „rückwärts“) statt. Der photoinduzierte Zyklus (siehe Abb. 13) beinhaltet mehrere kurzlebige Intermediate, die

innerhalb von ps bis ms in einander übergehen, wobei sich die jeweiligen Endprodukte,  $P_r$  und  $P_{fr}$ , innerhalb mehrerer Hundert ms ausbilden. Bei tiefen Temperaturen kann der Reaktionsweg in Teilabschnitte zerlegt und die eingefrorenen, stabilen Intermediate untersucht werden. Die Bildung des ersten Intermediates ( $P_r \rightarrow \text{Lumi-R}$ ,  $P_{fr} \rightarrow \text{Lumi-F}$ ) wird mit der Chromophor-Isomerisierung in Verbindung gebracht und zeigt ein bathochromes ( $P_r$  Reaktionsweg) bzw. hypsochromes ( $P_{fr}$  Reaktionsweg) Absorptionsspektrum. Allerdings weist auch das von der  $P_{fr}$  Form ausgehende, extrem kurzlebige erste Intermediat ein rotverschobenes Absorptionsmaximum auf<sup>[62]</sup>. Auf die Photochemie des Chromophors folgen strukturelle Relaxationsprozesse der Chromophorbindungstasche des Proteins die zur Bildung des Intermediates  $\text{Meta-R}_a$  führen. Durch Chromophor-Protein-Protonentransfer wird das Intermediat  $\text{Meta-R}_c$  gebildet, welches dann durch Protein-Chromophor-Protonenrücktransfer und Veränderungen der Proteinstruktur in die aktive  $P_{fr}$ -Form übergeht. Die Veränderungen innerhalb der Proteinstruktur führen wahrscheinlich zur Signalübertragung des Photorezeptors. Ein fast gleichartiger, allerdings über andere Zwischenprodukte verlaufender Reaktionsweg kann auch für die  $P_r$  Form nachgewiesen werden<sup>[8,9,15]</sup>.

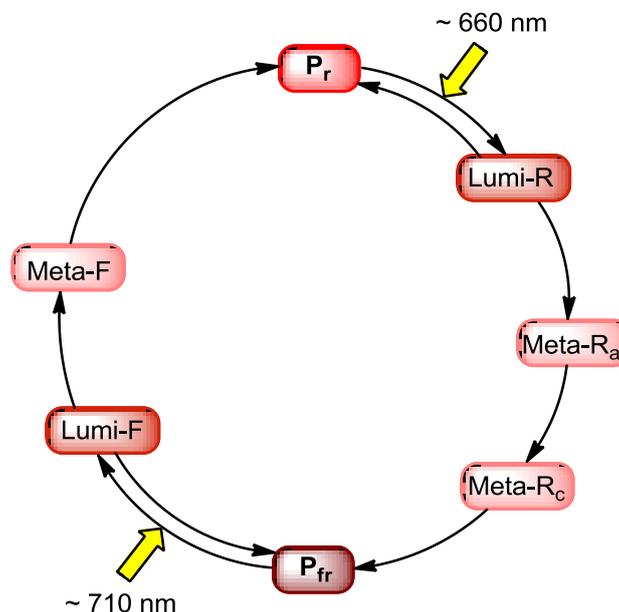


Abb. 13: Photozyklus von Cph1. Die photochemisch aktivierten Reaktionen sind durch einen gelben Pfeil markiert<sup>[8,9,15]</sup>.

### 1.2.2.3 Die P<sub>fr</sub>-Form

Die Anwendung von MELODI-HETCOR NMR Spektroskopie für das Phytochrom Cph1 konnte eine Reihe struktureller Veränderungen der P<sub>r</sub>-Form gegenüber der P<sub>fr</sub>-Form, sowie die Photoisomerisierung der C-D-Methinbrücke nachweisen<sup>[5]</sup>. Zunächst wurden die NH-Kontakte in den Focus gerückt: Der Erhalt der Kontakte zwischen H<sup>N20</sup> des A-Rings und den Kohlenstoffatomen C6 und C9 des B-Rings konnte eindeutig beweisen, dass die A-B-Methinbrücke unbeteiligt an der P<sub>r</sub>→P<sub>fr</sub> Photokonversion ist. In der P<sub>r</sub>-Form korreliert H<sup>N23</sup> des D-Rings mit den Kohlenstoffatomen C-13, C13<sup>1</sup>, C14 des C-Rings. Das Verschwinden dieser Kontakte in der P<sub>fr</sub>-Form ist auf die Rotation des D-Rings, in welcher H<sup>N23</sup> von den Kohlenstoffatomen wegklappt und damit die Messreichweite von 3.5 Å überschreitet, zurückzuführen. Außerdem zeigt die Photokonversion zu der P<sub>fr</sub>-Form, dass die meisten intramolekularen <sup>1</sup>H-Kontakte der Ringe A,B und C erhalten bleiben, während die Kohlenstoffatome C17<sup>1</sup> und C19 des D-Rings deutliche Veränderungen aufweisen<sup>[5,11]</sup>.

Der Übergang von P<sub>r</sub>→P<sub>fr</sub> unterbricht die Wechselwirkung der Carbonylgruppe am C19 des D-Rings zum Histidin-290 sowie die Salzbrücke zwischen Arginin-472 und Asparaginsäure-207. Im P<sub>fr</sub> kommt es nun zu einer Wasserstoffbrückenbindung der Carbonylgruppe C19 zu Tyrosin-263 und dem Stickstoff des D-Rings mit Asparaginsäure-207. Die Photokonversion führt auch zu einem Partnerwechsel der Propionate des B- und C-Rings von Arginin-254 zu Arginin-222. Sowohl der Bruch der Salzbrücke zwischen Arginin-472 und Asparaginsäure-207 als auch die Veränderung der Seitenkette von Arginin-222 ist möglicherweise entscheidend in der Signalweitergabe<sup>[5,11]</sup>.

### 1.3 Tetrapyrrole

Die Chromophore der Phytochrome gehören in die Substanzklasse der offenkettigen Tetrapyrrole. Tetrapyrrole sind weit verbreitete Moleküle, die eine wichtige Rolle in vielen biologischen Prozessen haben. Wichtige Vertreter der cyclischen Tetrapyrrole sind Chlorophylle, Cytochrome der Atmungskette und die Hämgruppe im Hämoglobin (siehe Abb. 14). In der Photosynthese sind Chlorophylle (derivatisierter Porphyrin-Ring mit  $Mg^{2+}$  als Zentralion) als Antennen für die Lichtabsorption organisiert. Die meisten aktiven Komponenten des Photosyntheseapparates sind ebenfalls Tetrapyrrolverbindungen. Hämoglobine sind eisenhaltige sauerstofftransportierende Proteine. Die Bindung des Sauerstoffs erfolgt über die eingebundene Hämgruppe (Porphyrinring mit  $Fe^{2+}$  als Zentralion)<sup>[36]</sup>. In der Galle (engl.: bile) wird das Hämoglobin durch oxidative Spaltung einer Methinbrücke abgebaut und ein grün-gelbliches Produkt, das Biliverdin IX $\alpha$  (**2**) gebildet. Biliverdin IX $\alpha$  (**2**) wurde zum Namensgeber der offenkettigen Tetrapyrrole, den Bilinen<sup>[15]</sup>. Durch oxidativen Abbau mit Chromsäure gelang der Nachweis einer offenkettigen Tetrapyrrolstruktur auch im Phytochrom<sup>[12]</sup>, allerdings wird Biliverdin IX $\alpha$  (**2**) fast nur in bakteriellen, nicht-photosynthetisch aktiven Bakterien als Chromophor gefunden, während Cyanobakterien und Pflanzen noch weiter reduzierte Derivate des Biliverdins IX $\alpha$  (**2**) Phycocyanobilin (**1**) oder Phytochromobilin (**3**) verwenden.

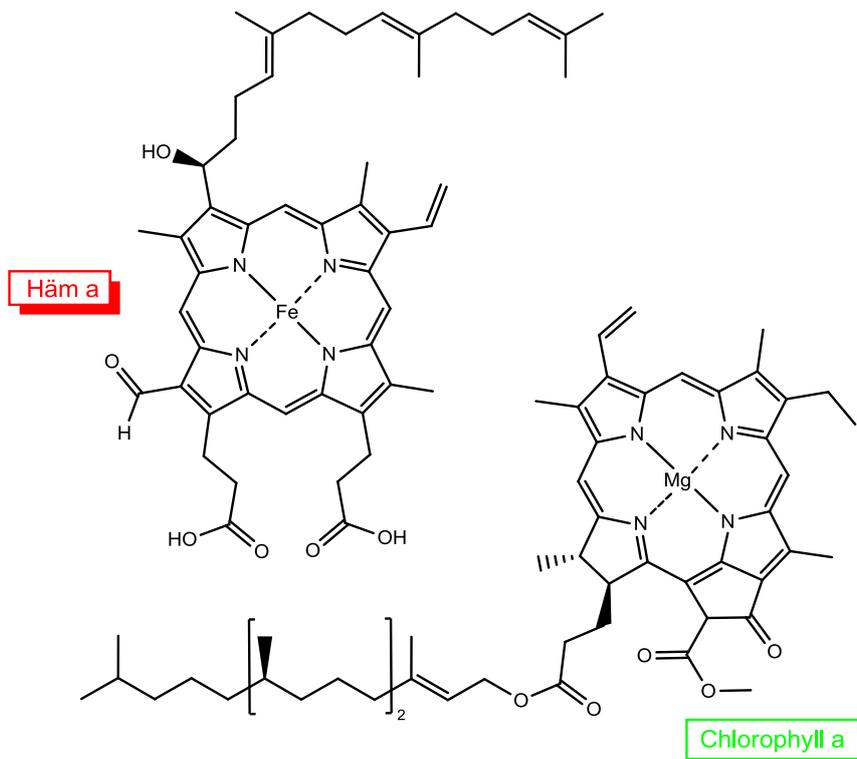


Abb. 14: Cyclische Tetrapyrrole

### 1.3.1 Biosynthese

Die Biosynthese von Tetrapyrrolen ist ein vielstufiger Prozess, der zunächst für alle Derivate (Chlorophyll, Häm, Biliverdin, Phycocyanobilin) über eine gemeinsame Syntheseroute erfolgt (siehe Abb. 15). Enzymatisch wird aus Glutamat zuerst  $\delta$ -Aminolävulinat erzeugt, welches dann von der Porphobilinogen-Synthase zu Porphobilinogen, dem Grundbaustein der Tetrapyrrole, kondensiert wird. Die Porphobilinogen-Desaminase bildet aus vier Porphobilinogenmolekülen das Protoporphyrin IX, die letzte gemeinsame Vorstufe der biorelevanten Tetrapyrrole. Nach Einbau eines  $Mg^{2+}$ -Ions entstehen nach mehreren Reaktionsschritten die Chlorophylle, wohingegen der Einbau eines  $Fe^{2+}$ -Ions zum Protohäm IX und nach weiterer Umsetzung zum Häm oder durch enzymkatalysierte Oxidation zum Biliverdin IX $\alpha$  (**2**) führt. Das Biliverdin IX $\alpha$  (**2**) kann jetzt entweder durch P $\Phi$ B-Synthase und P $\Phi$ B-Isomerase zu Phytochromobilin (**3**) oder durch Reduktase zunächst zu Phycoerythrin (PEB) und dann durch Isomerisierung und elektronische Umlagerung zu Phycocyanobilin (**1**) umgesetzt werden. Die Anlagerung des Chromophors an das Apoprotein erfolgt ohne weitere enzymatische Aktivierung<sup>[15,36]</sup>.

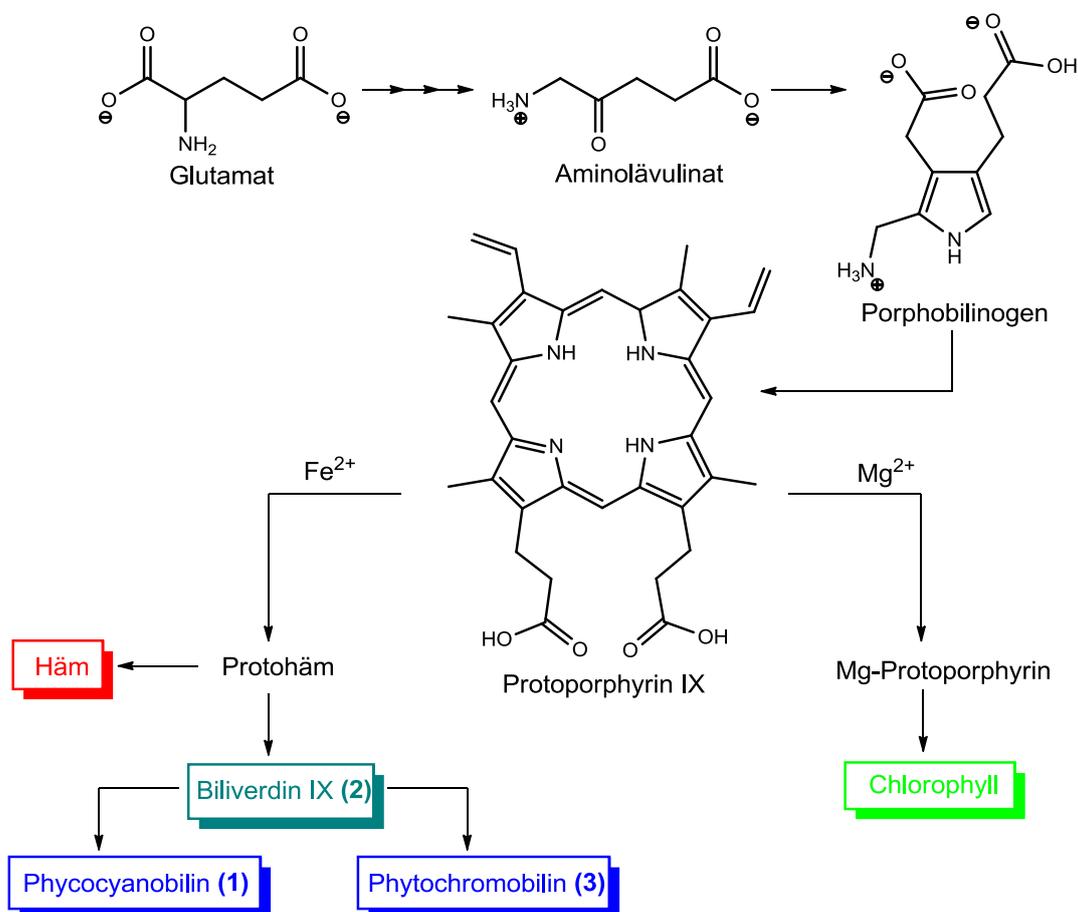


Abb. 15: Überblick der Tetrapyrrolbiosynthese

### 1.3.2 Chemische Totalsynthese

Das komplexe Substitutionsmuster der Tetrapyrrole ist eine echte Herausforderung für den Synthesechemiker. Wegbereiter in der Totalsynthese offenkettiger Tetrapyrrole war vor allen die Gruppe von Gossauer<sup>[37]</sup>, die in mehrstufigen Reaktionen zunächst die einzelnen Pyrrolringe (A-D), durch Kupplung dann die Dipyrrolhälften (AB, CD) und durch erneute zentrale Kupplung das Tetrapyrrol (ABCD) synthetisierten (siehe Abb. 16).

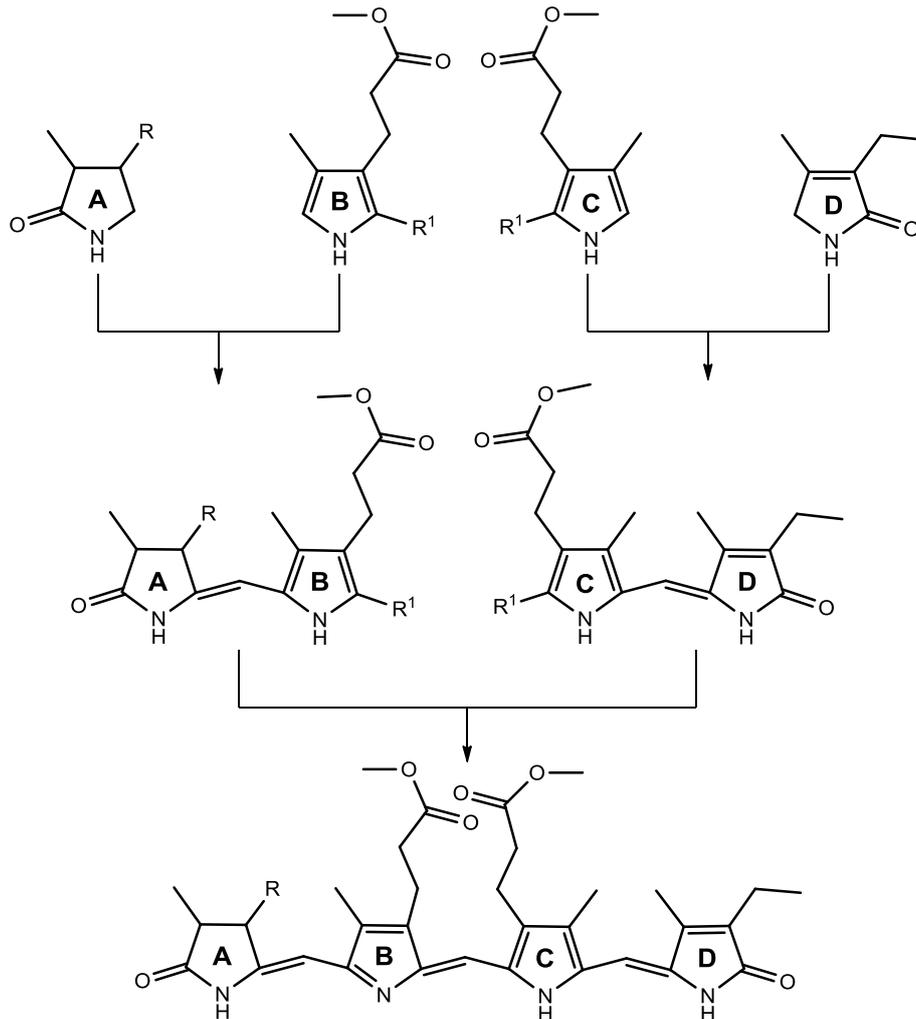


Abb. 16: Klassische Tetrapyrrolsynthese nach Gossauer (R = Ethyliden oder Vinyl; R<sup>1</sup> = *tert*-Butylester)<sup>[15,37]</sup>

Diese konvergente Synthese erlaubt zahlreiche Variationen des Tetrapyrrols und wurde 1981 auch die Grundlage für die Arbeiten der Gruppe von Inomata, deren in der Furan-synthese gewonnenen Erfahrungen auf die Pyrrole übertragen wurden (siehe Abb. 17)<sup>[38]</sup>. Hierbei konnten zahlreiche Substituenten verändert werden, u.a. wurden photoaktive Schutzgruppen eingeführt, sowie C-D verbrückte Biliverdine dargestellt.

Im Jahre 1984 bereicherte die Gruppe von Jacobi die Tetrapyrrolsynthese um sigmatrope Umlagerungen und Sonogashira-Kupplungen (modifizierte Darstellung der AB-Hälfte)<sup>[39,40]</sup>.

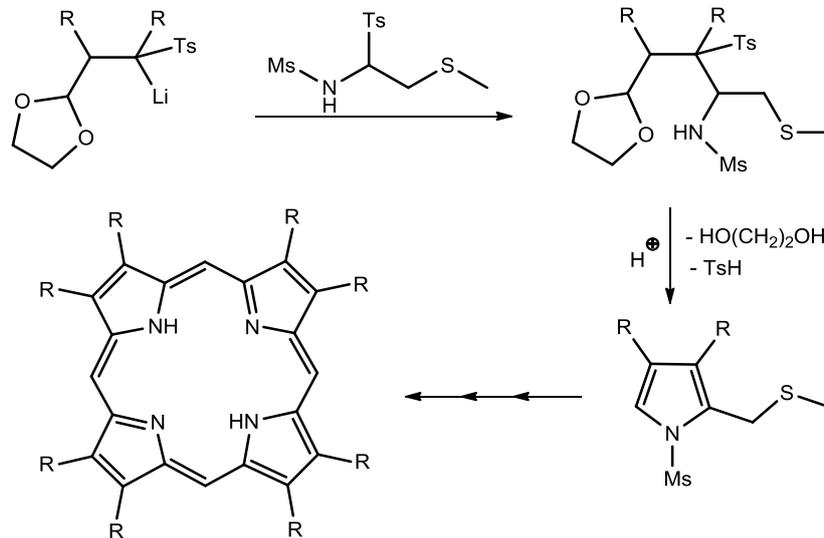


Abb. 17: Synthese von symmetrisch substituierten Porphyrinen nach Inomata *et al.* analog der Darstellung der Furan-Derivate

## 2 Ziele der Arbeit

Obwohl die Phytochromforschung in den letzten Jahrzehnten viele Puzzleteile an ihren richtigen Platz rücken und manchmal sogar miteinander verknüpfen konnte, so weist das Gesamtbild immer noch viele freie Stellen auf. Die Frage nach dem Mechanismus, wie der Chromophor die durch Rotlichtabsorption erhaltene Information an das Protein überträgt, ist bislang nur ansatzweise geklärt. Ausschlaggebend sollten die in der  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Form unterschiedlichen Wechselwirkungen des Chromophors mit den umgebenden Aminosäuren sein. Jedoch ist die Analyse dieser Chromophor-Protein-Wechselwirkungen aufgrund der geringen Größe des Chromophors zum Protein problematisch. Die Verwendung von isotopenmarkierten Chromophoren sind wertvolle Hilfen bei spektroskopischen Untersuchungen (FTIR- oder Raman-Spektroskopie, unterstützt durch die QM/MM Hybrid-methode, oder die Festkörper-NMR). In diesen spektroskopischen Methoden erlaubt dann der Vergleich der Spektren des mit markiertem assemblierten Proteins mit seinem nicht-markierten Pendant die Zuordnung selektiver Signale.

Auch die gezielte Einführung von Isotopen basiert prinzipiell auf der konvergenten Synthese nach Gossauer<sup>[37]</sup>. Allerdings muss, da isotopenmarkierte Edukte sehr kostenintensiv sind und nicht immer in der direkt verwendbaren chemischen Struktur bereitstehen, häufig die Syntheseroute modifiziert werden, so dass sowohl die Anzahl der Synthesestufen als auch deren Umsatz optimiert werden müssen.

Das Ziel dieser Arbeit ist die Synthese von unterschiedlich markierten bzw. strukturell modifizierten Phycocyanobilinen (**1**) und Biliverdinen IX (**2**). Die Darstellung von markierten ( $15\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilin (**69**), sowie ( $5\text{-}^{13}\text{C}$ )-Biliverdin (**76**) und ( $15\text{-}^{13}\text{C}$ )-Biliverdin (**77**) soll die genaue Zuordnung der Brückensignale ermöglichen. Außerdem soll zur Zuordnung der einzelnen Stickstoffsignale markiertes ( $22\text{-}^{15}\text{N}$ )-Phycocyanobilin (**71**) dargestellt werden. Als strukturell modifiziertes Phycocyanobilin-Derivat sollte das ( $13\text{H}$ )-Phycocyanobilin (**74**) erzeugt werden, da die Methylgruppe an dieser Position des C-Rings möglicherweise einen inhibierenden Einfluss auf die Interaktionen zwischen Chromophor und Protein hat. Durch Austausch der relativ großen Methylgruppe gegen ein Wasserstoffatom soll die Photoisomerisierung genauer untersucht werden.

### 3 Syntheseplanung

#### 3.1 Allgemeine Syntheseroute für Phycocyanobilin (1)

Neben der Extraktion aus dem Cyanobakterium *Spirulina platensis* kann Phycocyanobilin (1) durch chemische Totalsynthese gewonnen werden. In dem allgemeinen Synthesekonzept der chemischen Totalsynthese nach Gossauer<sup>[37]</sup> werden zunächst die einzelnen Pyrrolringe synthetisiert, bevor die Kupplung zunächst zum Di- und dann zum Tetrapyrrol erfolgt.

##### 3.1.1 Synthese des A-Rings (7)

Nach Inomata *et al.*<sup>[15,16,38,41,45]</sup> wird der A-Ring (7) ausgehend von Citraconsäureanhydrid synthetisiert (siehe Abb. 18). Zunächst wird durch Reaktion mit 4-Methoxybenzylamin der Anhydridsauerstoff ausgetauscht und in einer Michael-Addition mit Nitroethan die Ethylidengruppe eingeführt. Die Schutzgruppe am Stickstoff wird oxidativ mittels Ammoniumcer(IV)-nitrat (CAN) entfernt und der bereits fertige Pyrrolring wird in einer Reaktion mit Lawesson-Reagenz nachbarständig zur Ethylidenfunktion durch Umwandlung in das Thioketon aktiviert.

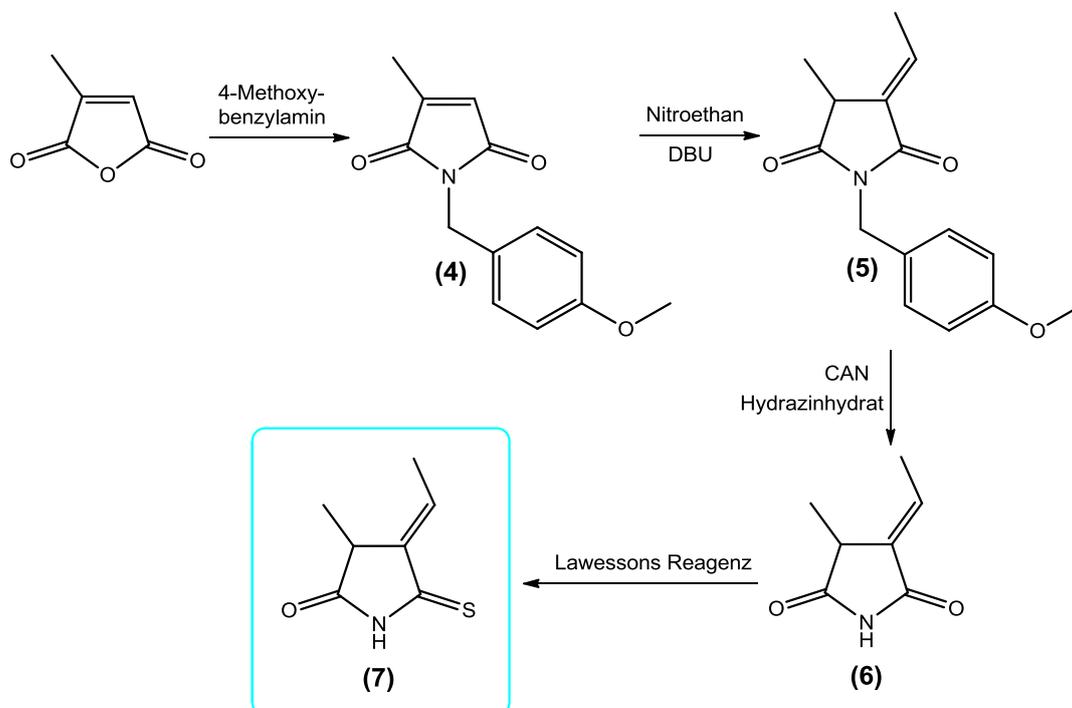


Abb. 18: Synthesekonzept des A-Rings (7)

### 3.1.2 Synthese der B/C-Ringvorstufe (19)

Aufgrund der Spiegelbildisomerie können Vorstufen des B- und C-Rings des Phycocyanobilins (**1**) über eine gemeinsame Route synthetisiert werden. Ausgehend von zwei separat dargestellten Molekülhälften (Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) und 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**)) wird die B/C-Ringvorstufe (**19**) nach Barton *et al.* synthetisiert (siehe Abb. 19)<sup>[15,16,70]</sup>. Die Synthese der ersten Molekülhälfte erfolgt durch nucleophile Substitution von Formamid und Chloressigsäure-*tert*-butylester; anschließende Dehydratisierung liefert den Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**). Die Synthese der zweiten Molekülhälfte startet mit einer Michael-Addition von Acrylsäuremethylester mit Nitromethan, gefolgt von einer abgewandelten Nef-Reaktion. Nach Acetalhydrolyse wird der Aldehyd (**15**) in einer Henry-Reaktion zum 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**) umgesetzt. Abschließend reagieren beide Molekülhälften basenkatalysiert zum  $\alpha$ -unsubstituierten Pyrrolderivat, der B/C-gemeinsamen Ringvorstufe (**19**).

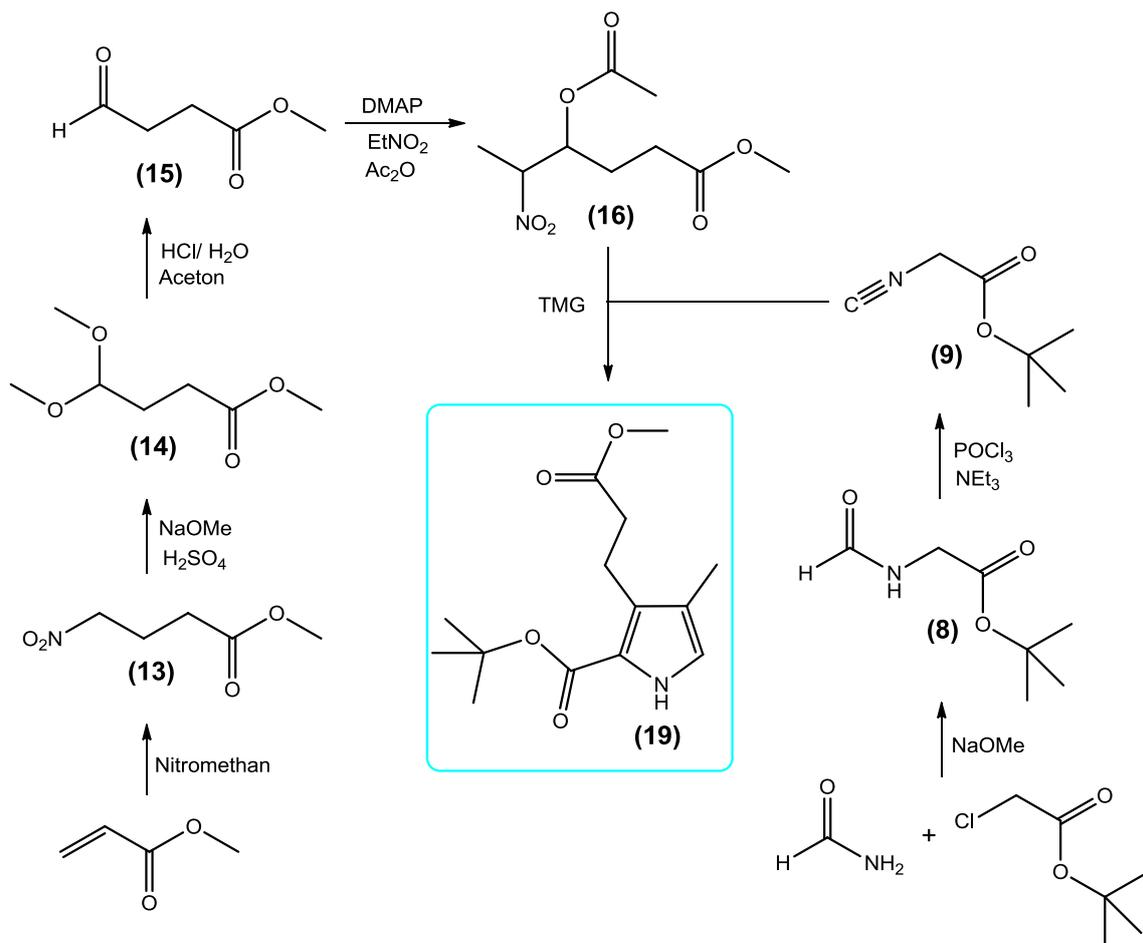


Abb. 19: Synthesekonzept der B/C-Ringvorstufe (**19**)

### 3.1.3 Synthese des B-Rings (25)

Die freie  $\alpha$ -Position der B/C-Ringvorstufe (**19**) muss zur weiteren Synthese funktionalisiert werden, um im nächsten Schritt mit dem A-Ring (**7**) zur AB-Hälfte umgesetzt zu werden. Das dazu benötigte Ylid wird nach Bishop *et al.* dargestellt (siehe Abb. 20). Durch Veresterung von D-(-)-Weinsäure und anschließende Spaltung mit Perjodsäure wird der Glyoxylsäurebenzylester (**23**) als benötigte Schutzgruppe erhalten. In einer elektrophilen aromatischen Substitution reagiert die B/C-Ring-vorstufe (**19**) mit der Schutzgruppe zunächst zum Hydroxid (**24**), welches dann mit Triphenylphosphin in das gewünschte Ylid (**25**) überführt wird<sup>[15,16]</sup>.

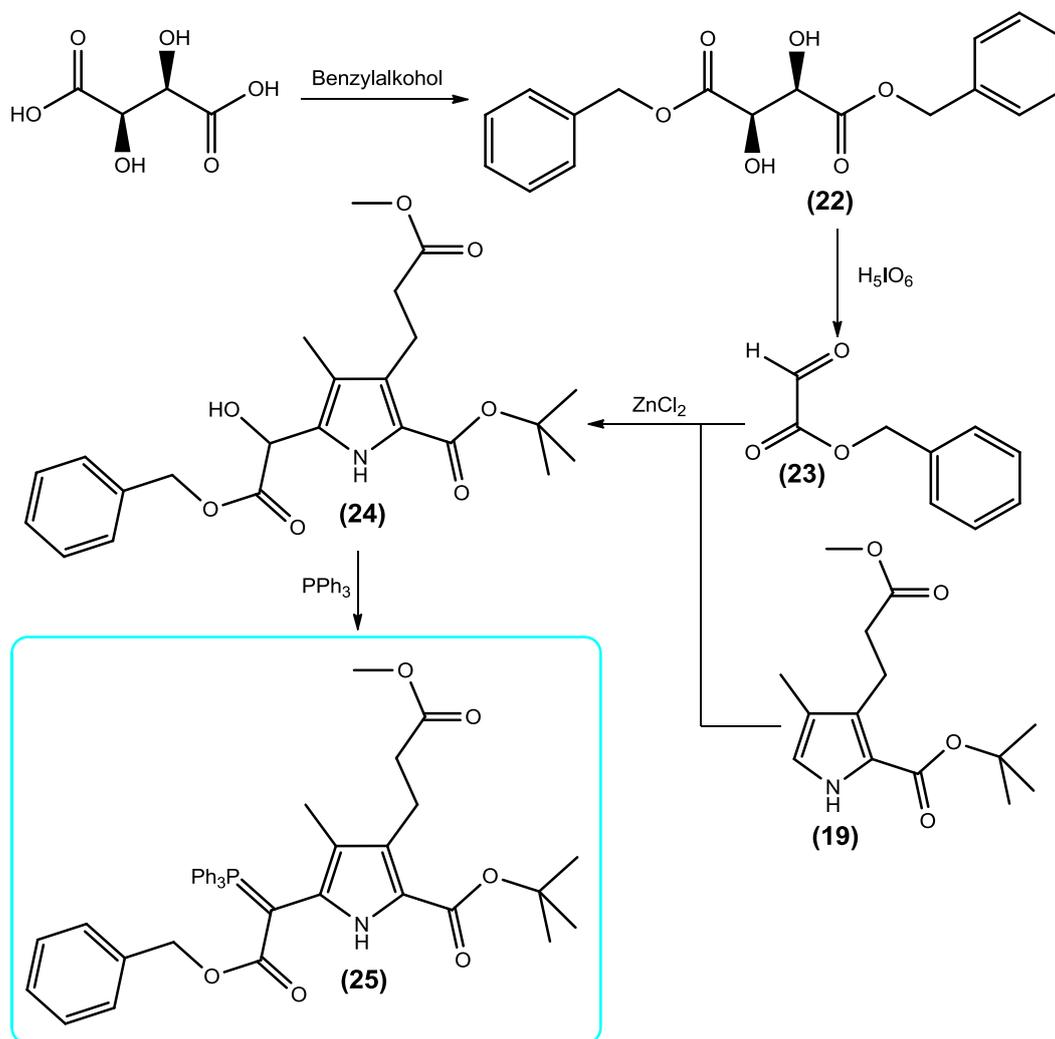


Abb. 20: Synthesekonzept des B-Rings (**25**)

### 3.1.4 Synthese des C-Rings (26)

In einer Vilsmeier-Reaktion an der freien  $\alpha$ -Position wird die B/C-Ringsvorstufe (19) nach dem Konzept von Gossauer *et al.*<sup>[15,16,37,43]</sup> funktionalisiert (siehe Abb. 21).

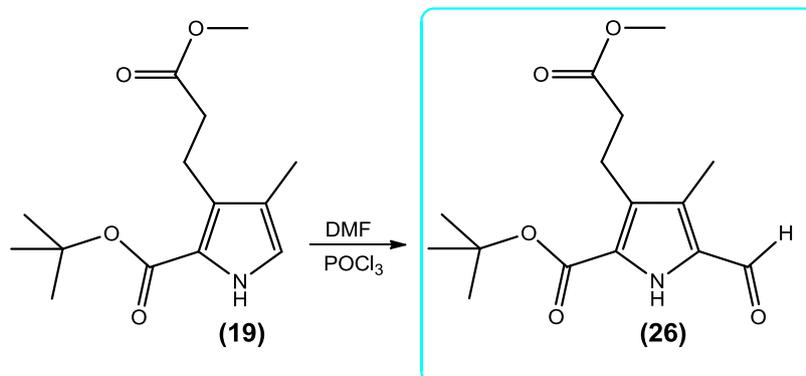


Abb. 21: Synthesekonzept des C-Rings (26)

### 3.1.5 Synthese der AB-Hälfte (57)

Durch Kupplung des A-Rings (7) mit dem B-Ring (25) in einer Thio-Wittig-Reaktion und anschließender Entfernung der Benzyl-Schutzgruppe durch Hydrierung wird die AB-Hälfte (57) dargestellt (siehe Abb. 22). Diese ist zunächst noch funktionalisiert und trägt an Position 5 noch einen Carboxylatrest<sup>[15,16,42]</sup>.

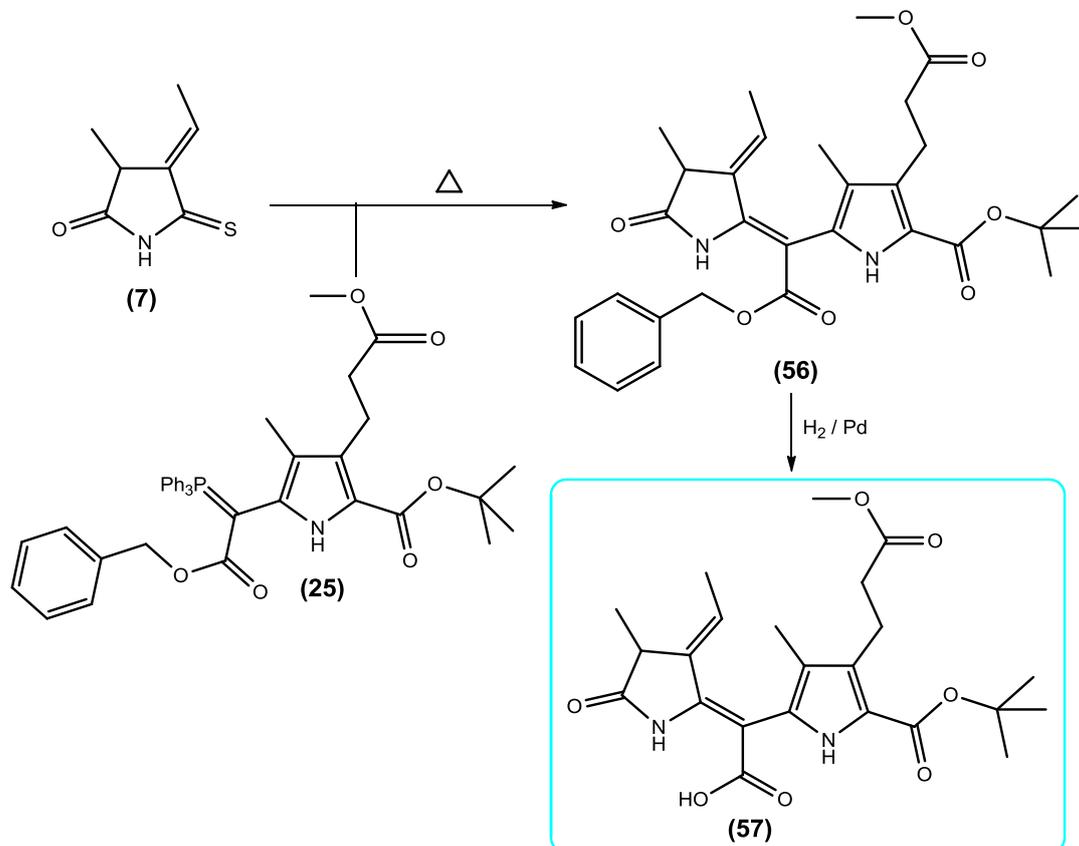


Abb. 22: Synthesekonzept der AB-Hälfte (57)

### 3.1.6 Synthese der CD-Hälfte (60)

Die Verknüpfung des C-Ring (26) mit dem kommerziell erhältlichen D-Ring (58) erfolgt in einer basenkatalysierten Knoevenagel-Reaktion (siehe Abb. 23). Nach Weller und Gossauer wird die erhaltene CD-Hälfte (59) für die weitere Synthese des Tetrapyrrols nach Abspaltung des *tert*-Butylesters formyliert<sup>[15,16,42,44]</sup>.

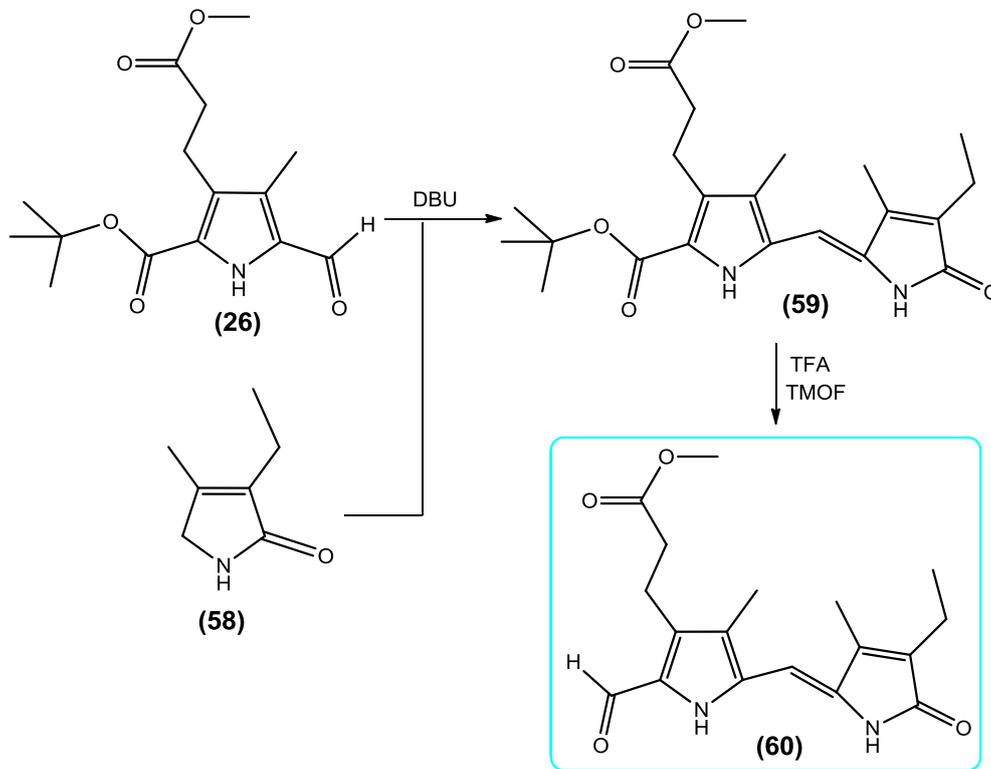


Abb. 23: Synthesekonzept der CD-Hälfte (60)

### 3.1.7 Synthese des Phycocyanobilin (1)

Eine säurekatalysierte Abspaltung des *tert*-Butylrestes der AB-Hälfte (**57**), gefolgt von der Decarboxylierung, ermöglicht die Kondensation mit der Formylgruppe der CD-Hälfte (**60**) zum gewünschten Phycocyanobilindimethylesters (**75**). Anschließend werden die Esterschutzgruppen an saurem Ionenaustauscher abgespalten und das Phycocyanobilin (**1**) gewonnen (siehe Abb. 24)<sup>[15,16,42,44]</sup>.

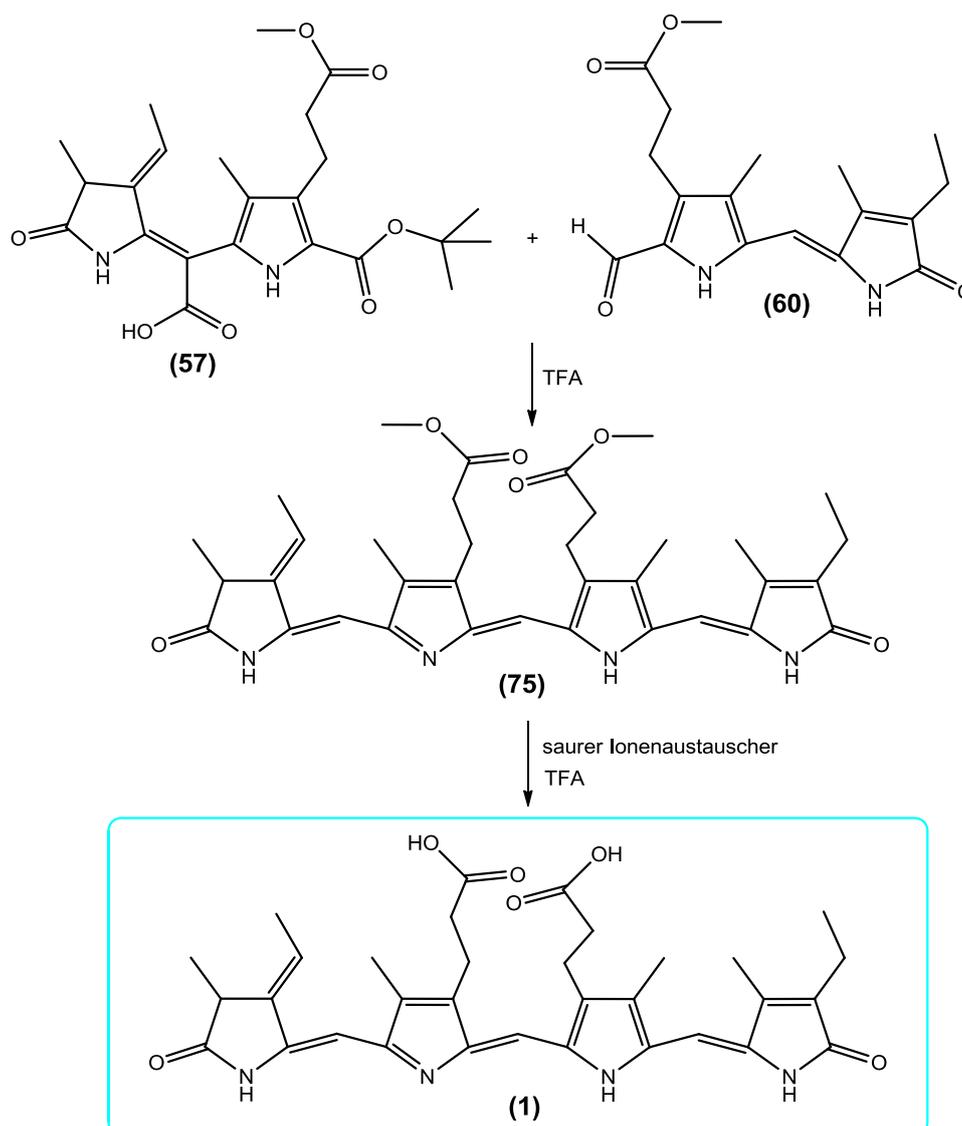


Abb. 24: Synthese des Phycocyanobilins (1)

## 3.2 Syntheseroute der verschiedenen Phycocyanobilinderivate

### 3.2.1 Synthese von (15-<sup>13</sup>C)-Phycocyanobilin (69)

Die Funktionalisierung der B/C-Ringsvorstufe (**19**) zum C-Ring (**26**) wird zur Einführung der <sup>13</sup>C-markierten Methinbrücke an der späteren Position 15 genutzt. Die Formylierungs-Reaktion wurde von Dr. S. Ringsdorf mit <sup>13</sup>C-markierten N,N-Dimethylformamid durchgeführt und so der <sup>13</sup>C-markierte C-Ring (**27**) gewonnen (siehe Abb. 25)<sup>[15]</sup>. Die folgenden Syntheseschritte entsprechen der allgemeinen Syntheseroute für Phycocyanobilin (**1**).

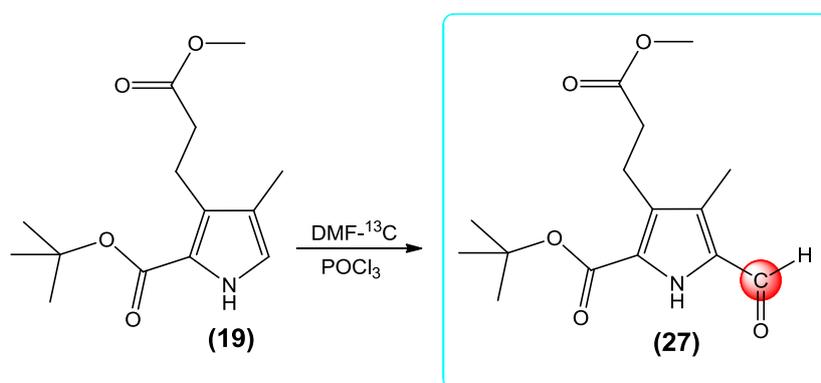


Abb. 25: Synthese des <sup>13</sup>C-markierten C-Rings (**27**)

### 3.2.2 Synthese von (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilin (72)

Da das <sup>15</sup>N-markierte Formamid im Überschuss eingesetzt werden müsste, wird die allgemeine Syntheseroute abgeändert. Die neue Syntheseroute startet mit <sup>15</sup>N-markierten Glycin<sup>[15]</sup>. Nach der Veresterung wird die Aminogruppe formyliert, bevor anschließend durch Dehydratisierung der <sup>15</sup>N-Isocyanoessigsäuremethylester (**12**) gewonnen wird. Die folgende basenkatalysierte Reaktion mit 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**) bildet die modifizierte B/C-Ringvorstufe (**20**), die dann abschließend zum <sup>15</sup>N-markierten C-Ring (**28**) formyliert wird (siehe Abb. 26). Der <sup>15</sup>N-markierten C-Ring (**28**) wurde von Dr. S. Ringsdorf synthetisiert.

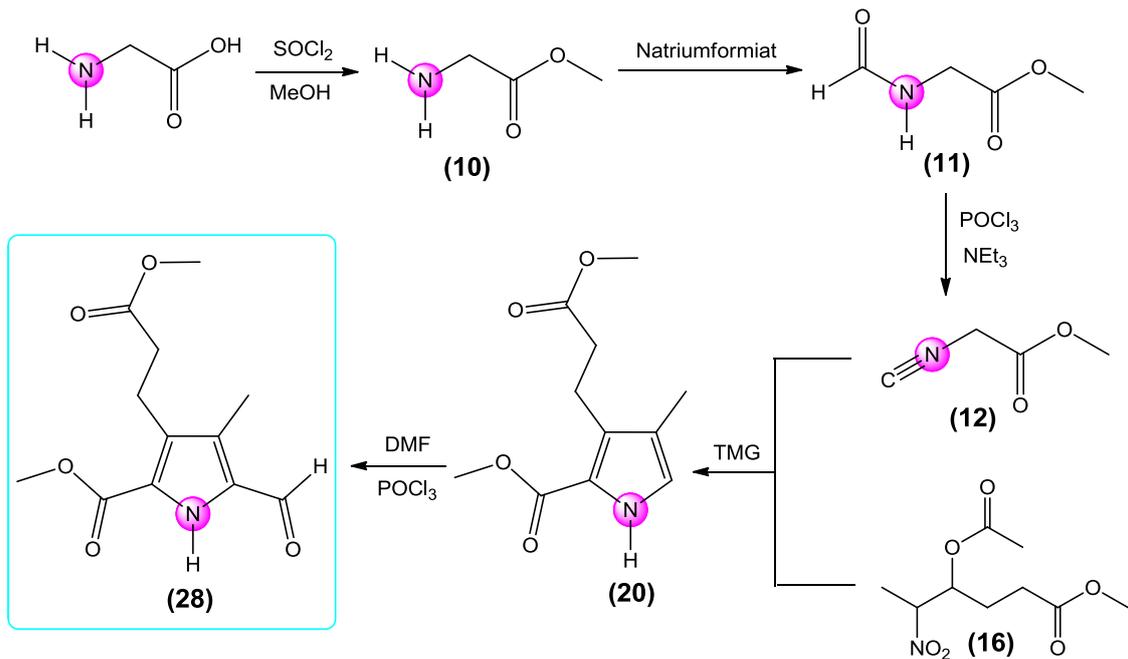


Abb. 26: Synthese des <sup>15</sup>N-markierte C-Rings (28)

Der <sup>15</sup>N-markierte C-Ring (28) wird dann mit dem D-Ring (58) verknüpft. Die <sup>15</sup>N-markierte CD-Hälfte (63) wird zunächst zur Disäure (64) verseift und dann formyliert (siehe Abb. 27). Die folgenden Syntheseschritte entsprechen der allgemeinen Syntheseroute für Phycocyanobilin (1).

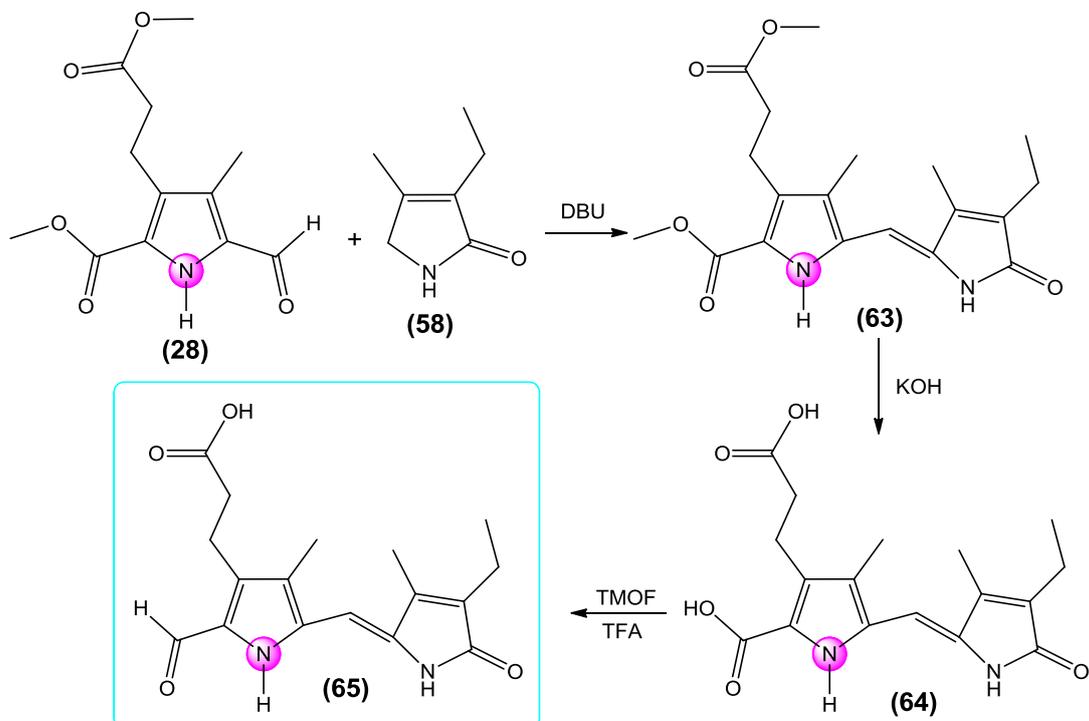


Abb. 27: Synthese der <sup>15</sup>N-markierten CD-Hälfte (65)

### 3.2.3 Synthese von (13H)-Phycocyanobilin (74)

Da die Umsetzung von 4-Oxobutansäuremethylester (**15**) mit Nitromethan zu 4-Acetoxy-5-nitropentansäuremethylester in der folgenden Ringschlussreaktion nicht die benötigten Ausbeuten liefert, wird eine neuartige alternative Syntheseroute ausgearbeitet. In einer Jones-Oxidation wird 4-Pentin-1-ol oxidiert und anschließend verestert. Der 4-Pentinsäuremethylester (**18**) wird in einer kupferkatalysierten Reaktion mit dem Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) zu der modifizierten B/C-Ringvorstufe (**21**) umgesetzt (siehe Abb. 28)<sup>[46,47]</sup>. Die folgende Formylierungsreaktion, sowie die folgenden Syntheseschritte entsprechen der allgemeinen Syntheseroute für Phycocyanobilin (**1**).

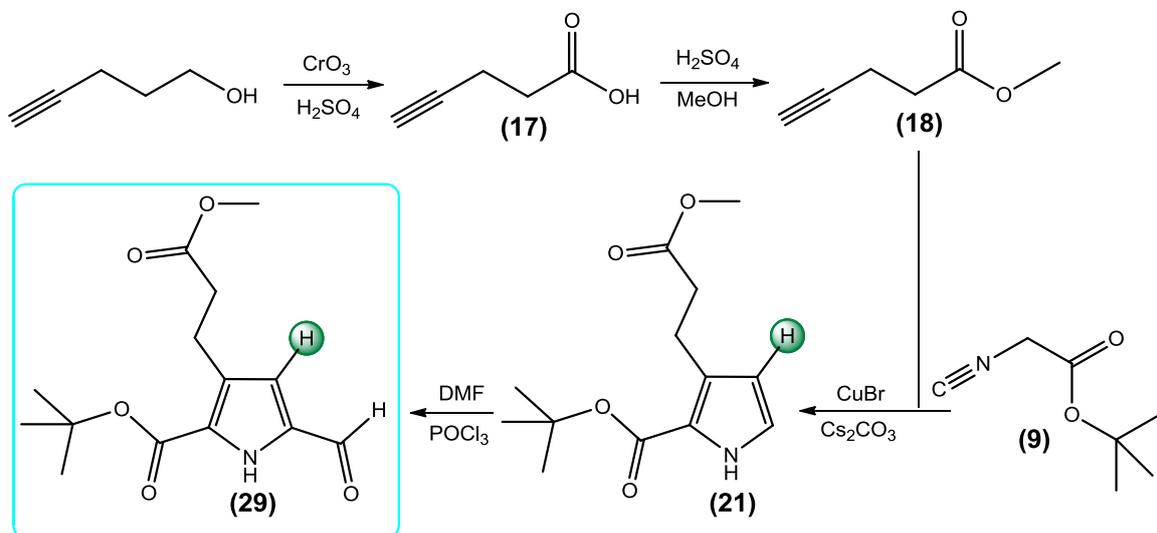


Abb. 28: Synthese des modifizierten C-Rings (**29**)

### 3.3 Syntheseplanung der verschiedenen Biliverdinderivate

#### 3.3.1 Synthese von (5-<sup>13</sup>C)-Biliverdin (76)

Die gewählte Syntheseroute geht von einer modifizierten B/C-Ringvorstufe aus: Der Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) wird durch das kommerziell erhältliche 3-Tolylsulfonylmethylisocyanat ersetzt. Anstelle des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**) wird 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan (**51**) synthetisiert. Die aus diesen Molekülen zusammengesetzte, modifizierte B/C-Ringvorstufe (**52**) wird in einer von Inomata *et al.*<sup>[38,48]</sup> entwickelten Methode zum A-Ring (**55**) umgesetzt (siehe Abb. 29). Die <sup>13</sup>C-Markierung der Methinbrücke wird analog zum (15-<sup>13</sup>C)-Phycocyanobilin (**69**) über den C-Ring in die Hälfte eingeführt.

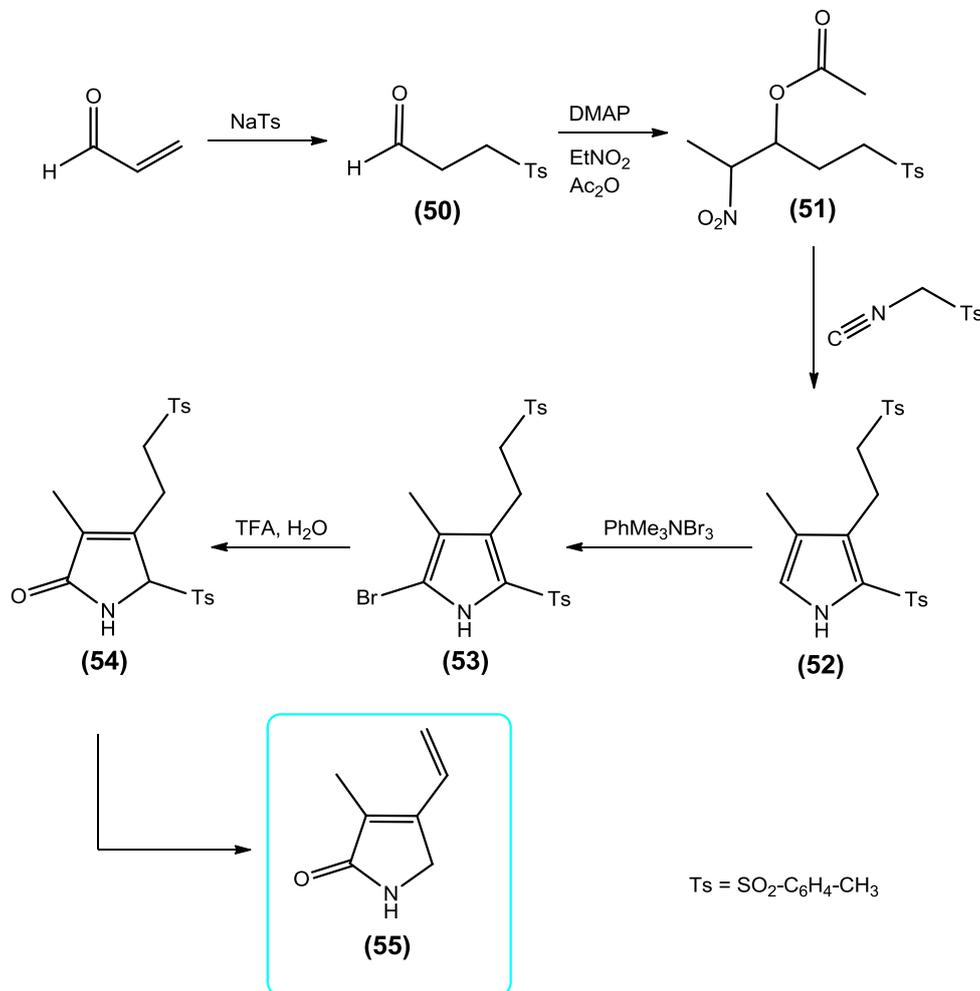


Abb. 29: Synthese des Biliverdin A-Rings (**55**)

### 3.3.2 Synthese von (15-<sup>13</sup>C)-Biliverdin (77)

In drei verschiedenen Syntheserouten wird versucht den D-Ring (**34**) bzw. ein D-Ring-Derivat (**41**) und (**49**) zu gewinnen. Die <sup>13</sup>C-Markierung der Methinbrücke soll dann in den ersten beiden Syntheserouten über den C-Ring (**27**) eingeführt werden. Bei der dritten Syntheseroute soll ein abgewandeltes Synthesekonzept des B-Rings nach Makhynya *et al.*<sup>[2]</sup> zur Isotopeneinführung genutzt werden.

Die erste Syntheseroute nach Lugtenburg *et al.*<sup>[49,50]</sup> beginnt mit einer Knoevenagel-Kondensation von 1,1-Dimethoxyacetone mit 2-Cyanoacetamid. Nach Reduktion wird der Pyrrolring (**32**) in einer säurekatalysierten Ringschlussreaktion gebildet. Durch partielle Reduktion wird die Nitrilgruppe mit DiBAL-H zunächst zum Aldehyd (**33**) umgesetzt<sup>[50,55,56]</sup>, bevor in einer Wittig-Reaktion der Biliverdin D-Ring (**34**) erhalten wird (siehe Abb. 30).

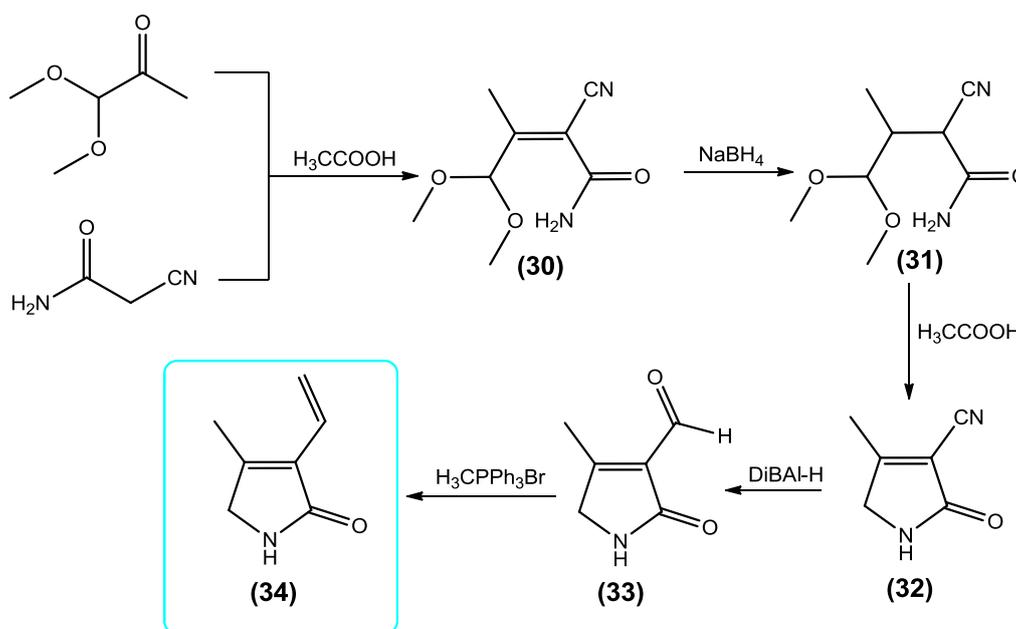


Abb. 30: Synthese des Biliverdin D-Rings (**34**)

Die zweite Syntheseroute folgt dem Konzept von Jacobi *et al.*, das auf einer Selanylschutzgruppe basiert (siehe Abb. 31)<sup>[39,40]</sup>. Nach einer Ringöffnenden Reaktion von  $\gamma$ -Butyrolacton mit Bis(4-chlorphenyl)-diselenid und anschließender Aminierung wird in einer intramolekularen Aldolkondensation der modifizierte Biliverdin D-Ring (**41**) gebildet.

## Syntheseplanung

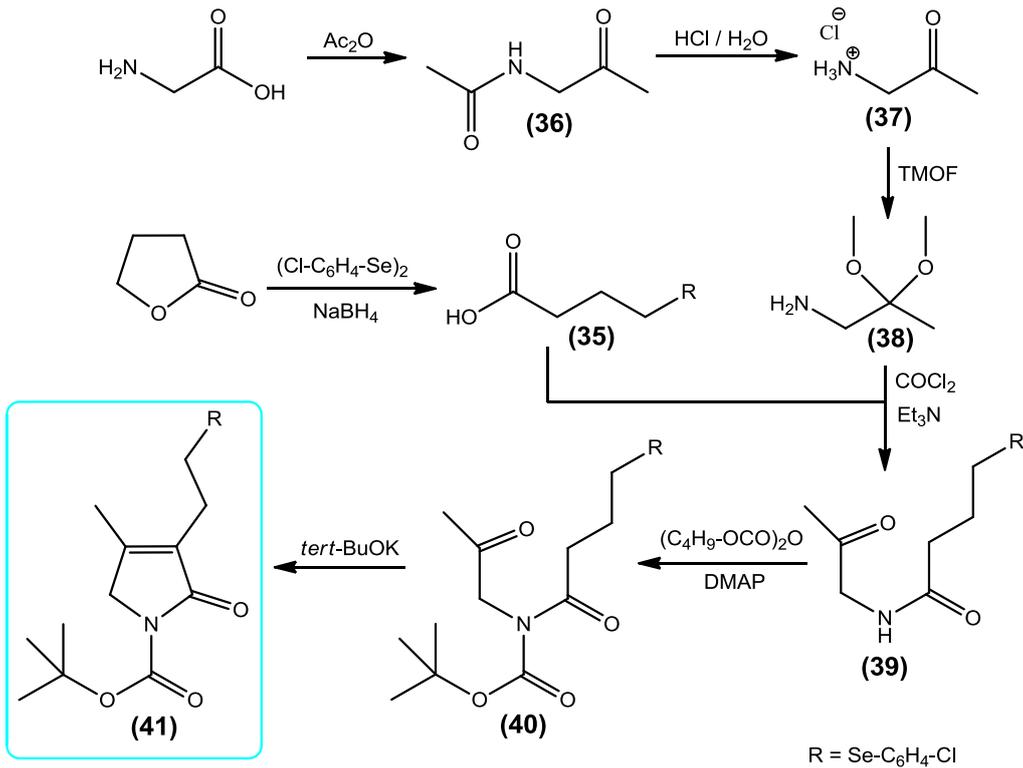


Abb. 31: Synthese des modifizierten D-Rings (41)

Danach wird der modifizierte D-Ring (41) mit dem C-Ring (26) gekuppelt, die erhaltene CD-Hälfte (42) formyliert und abschließend die Selanylschutzgruppe abgespalten (siehe Abb. 32).

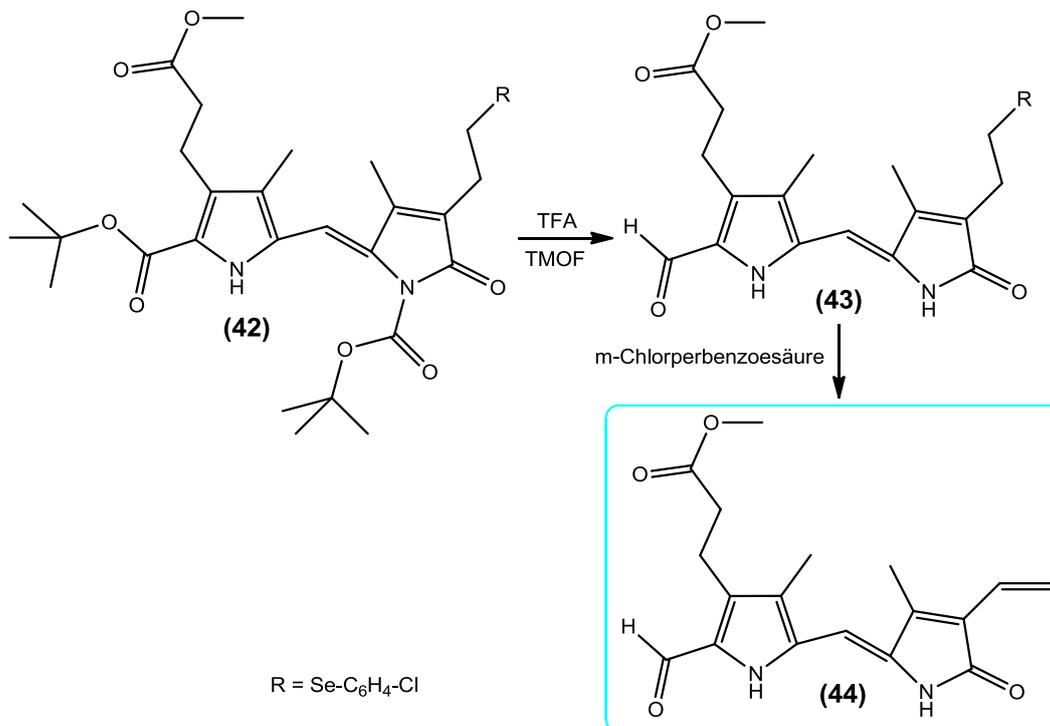


Abb. 32: Synthese der Biliverdin CD-Hälfte (44)

Die dritte Syntheseroute ist eine neuartige Variante zur gleichzeitigen Darstellung des Biliverdin A-/D-Rings (siehe Abb. 33). Die ersten zwei Schritten gleichen denen des nach Inomata *et al.* synthetisierten A-Rings, allerdings dient hier 3,4-Dimethylmaleinsäureanhydrid als Edukt. Eine der beiden äquivalenten Methylgruppen wird photochemisch mit N-Bromsuccinimid selektiv bromiert<sup>[51]</sup>, mit Triphenylphosphin zum Ylid **(48)** umgesetzt und abschließend wird in einer Wittig-Reaktion das D-Ring-Derivat **(49)** gebildet. Mit Lawessons-Reagenz kommt es abschließend zum Sauerstoff-Schwefel-Austausch<sup>[38,41,43]</sup>. Die gebildeten Isomere entsprechen dann dem A- und D-Ring des Biliverdins und können zur Synthese von (5-<sup>13</sup>C)- bzw. (15-<sup>13</sup>C)-Biliverdin verwendet werden.

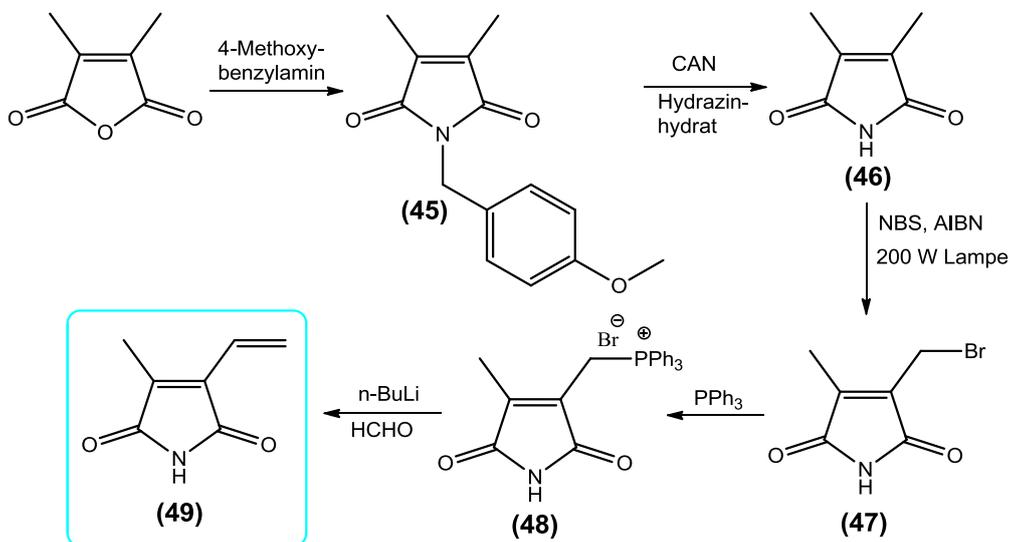


Abb. 33: Synthese des modifizierten A/D-Rings **(49)**

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Synthese der Phycocyanobiline

#### 4.1.1 Synthese des A-Rings (7)

Die Synthese des A-Rings (**7**) erfolgt über vier Synthesestufen. Ausgehend von Citraconsäureanhydrid wird der Anhydrid-Sauerstoff gegen Stickstoff in einem Additions-Eliminierungs-Mechanismus (siehe Abb. 34) ausgetauscht. Das 4-Methoxybenzylamin greift nucleophil eine der beiden äquivalenten Carbonylgruppen des Citraconsäureanhydrids unter Ringöffnung an. Durch erneuten nucleophilen Angriff des 4-Methoxybenzylamins kommt es zum Ringschluss unter Wasserabspaltung. Das Produkt, (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**4**) konnte mit einer sehr guten Ausbeute von 90 % gewonnen werden (Lit. 100 %<sup>[15,16]</sup>).

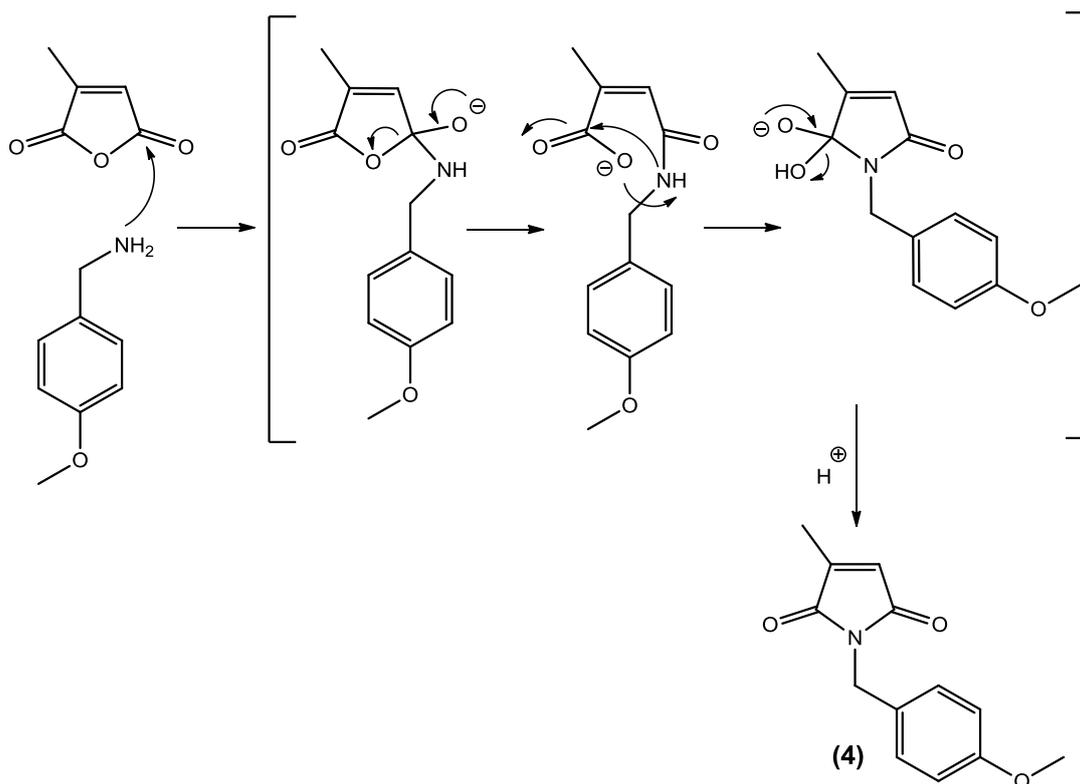


Abb. 34: Additions-Eliminierungs-Mechanismus

In einer Michael-Addition wird diese Verbindung (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**4**), mit Nitroethan umgesetzt (siehe Abb. 35). Nachdem das Nitroethan durch Einwirken von DBU an der  $\alpha$ -Position deprotoniert wird, greift das freie

Elektronenpaar nucleophil an die unsubstituierte C4 Position des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten (4-Methoxy-benzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**4**) an. Nach Abspaltung von salpetriger Säure und Ausbildung der Doppelbindung wird als Rohprodukt ein E/Z-Isomeren-gemisch erhalten. Allerdings ist nur das E-Isomer für die weitere Synthese von PCB (**1**) geeignet und wird deswegen mittels MPLC vom Z-Isomer getrennt. Das Produkt wird als gelbliches, hoch viskoses Öl mit einer gegenüber der Literatur (20 %<sup>[15]</sup>) erhöhten Ausbeute von 31 % gewonnen.

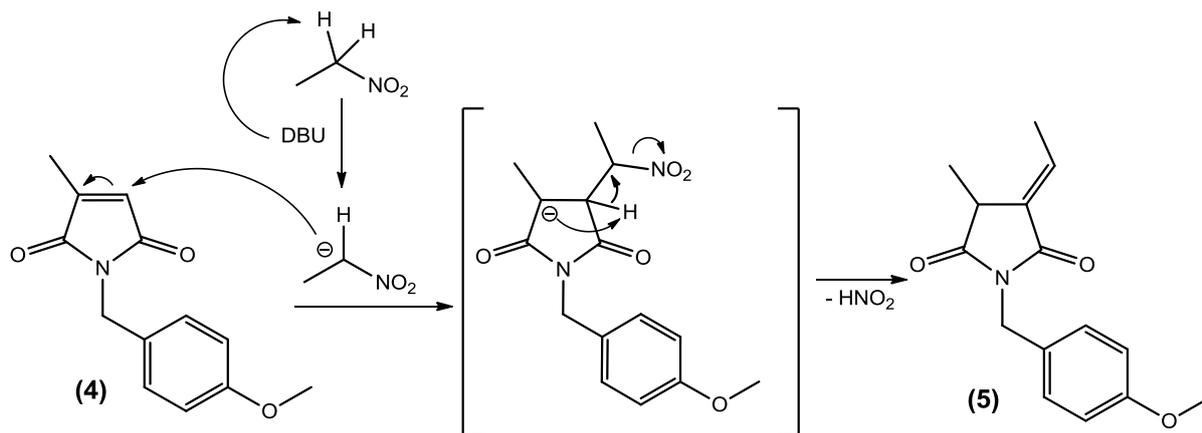


Abb. 35: Mechanismus der Michael-Addition

Nachdem durch die Einführung der Ethylidengruppe das Substitutionsmuster des A-Rings vollständig vorhanden ist, wird im nächsten Schritt die Schutzgruppe des Stickstoffs durch Oxidation mit Ammoniumcer(IV)-nitrat entfernt (siehe Abb. 36). Unter Reduktion der  $\text{Ce}^{4+}$ -Ionen zu  $\text{Ce}^{3+}$  wird zunächst Wasser an die Methylengruppe angelagert, wodurch sich ein Alkohol bildet, der dann nach Weiterreaktion als 4-Methoxybenzaldehyd, unter gleichzeitiger Protonierung des Stickstoffes, abgespalten wird. Die Ausbeute konnte gegenüber der Literatur durch Optimierung der MPLC-Chromatographie auf 68 % verbessert werden (Lit. 41 %<sup>[15]</sup>).

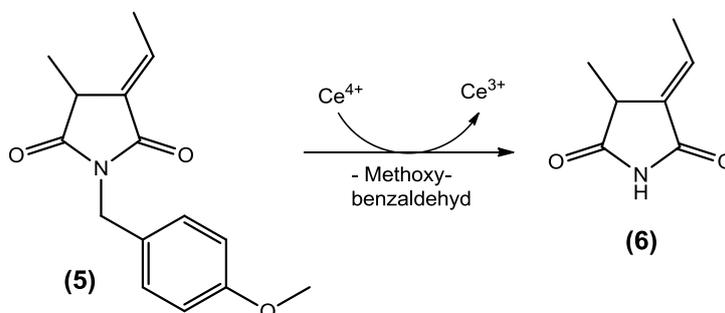


Abb. 36: Mechanismus der Oxidation

Für die Weiterreaktion mit dem B-Ring (**25**) muss selektiv eine der beiden äquivalenten Carbonylgruppen aktiviert werden. Dies gelingt durch die Überführung der Carbonylgruppe an C2 in das Thioderivat. Der in der Literatur für die Einwirkung von Lawessons-Reagenz bekannte regioselektive Angriff, der sich einerseits durch den geringeren sterischen Anspruch der Ethylidengruppe gegenüber der Methylgruppe und andererseits durch die zusätzliche Stabilisierung des Alkoholations durch die Konjugation der Ethyliden-Doppelbindung erklärt, wird in dieser Reaktion genutzt. Lawessons-Reagenz liegt in Lösung in einem thermischen Gleichgewicht mit zwei hoch reaktiven Dithiophosphin-Yliden vor. Der Phosphor des Ylids greift dann elektrophil den Carbonylsauerstoff an C2 an, bevor in einer Wittig-analogen Reaktion unter Ausbildung einer cyclischen Zwischenstufe das Thioketon (**7**) gebildet wird (siehe Abb. 37). Die höhere Bindungsaffinität des Phosphors zu Sauerstoff ist die Triebkraft des Sauerstoff-Schwefel-Austauschs. Nach HPLC-Aufreinigung konnte der A-Ring (**7**) in einer Ausbeute von 19 % isoliert werden (Lit. 22 %<sup>[15]</sup>).

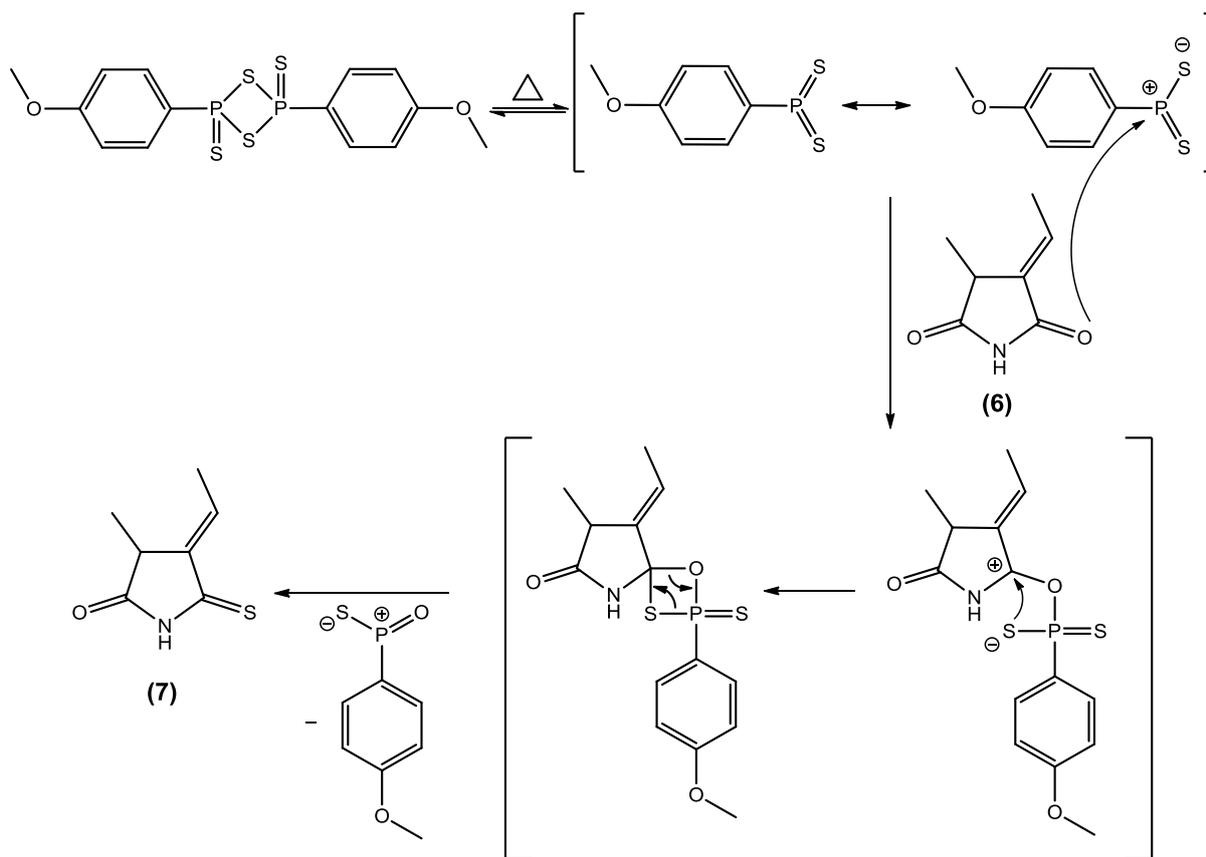


Abb. 37: Mechanismus der Thionylierung der Carbonylfunktion

Der A-Ring (**7**) kann nun aufgrund der höheren Reaktivität der Thiocarbonylgruppe regioselektiv in einer Thio-Wittig-Reaktion mit dem B-Ring (**25**) verknüpft werden.

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des A-Rings (**7**) (siehe Abb.80) zeigt die charakteristischen Signale der Ethylidengruppe bei 1.90 und 6.85 ppm, sowie das Signal des pyrrolischen Stickstoff bei 8.14 ppm.

#### 4.1.2. Synthese der B/C-Ringvorstufen

Der B- und C-Ring können, wie in der Syntheseplanung in Abschnitt 3.1.2 beschrieben, aufgrund ihrer Spiegelbildisomerie bis zu einer gemeinsamen Vorstufe synthetisiert werden. Die B/C-Ringvorstufe (**19**) wird aus zwei Molekülhälften, dem Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) und dem 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**), zusammengesetzt.

##### 4.1.2.1 Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**9**)

Der Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) wird in zwei Stufen synthetisiert: Zuvor hergestelltes Natriummethanolat deprotoniert zugegebenes Formamid, bevor der Stickstoff das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom des Chloroessigsäure-*tert*-butylesters nucleophil angreift (siehe Abb. 38). Nach Destillation wird der N-Formylglycin-*tert*-butylester (**8**) mit einer guten Ausbeute von 64 % (Lit. 61 %<sup>[15]</sup>) erhalten.

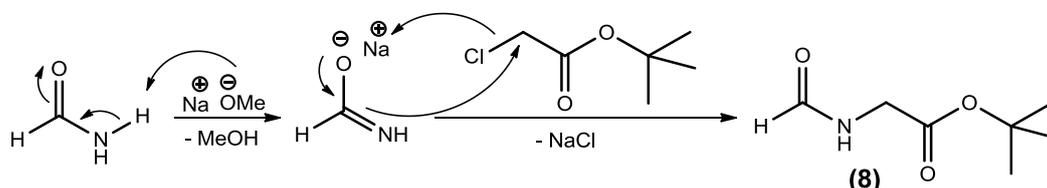


Abb. 38: Mechanismus der Synthese von N-Formylglycin-*tert*-butylester (**8**)

Die Carbonylgruppe des N-Formylglycin-*tert*-butylester (**8**) greift im nächsten Schritt das Phosphoratom des Phosphorylchlorids nucleophil an. Die entstehende Salzsäure wird durch das zugesetzte Triethylamin abgefangen. Nach Abspaltung von  $\text{HPO}_2\text{Cl}_2$  wird das Isonitril (**9**) mit einer guten Ausbeute von 78 % (Lit. 80 %<sup>[15]</sup>) gewonnen.

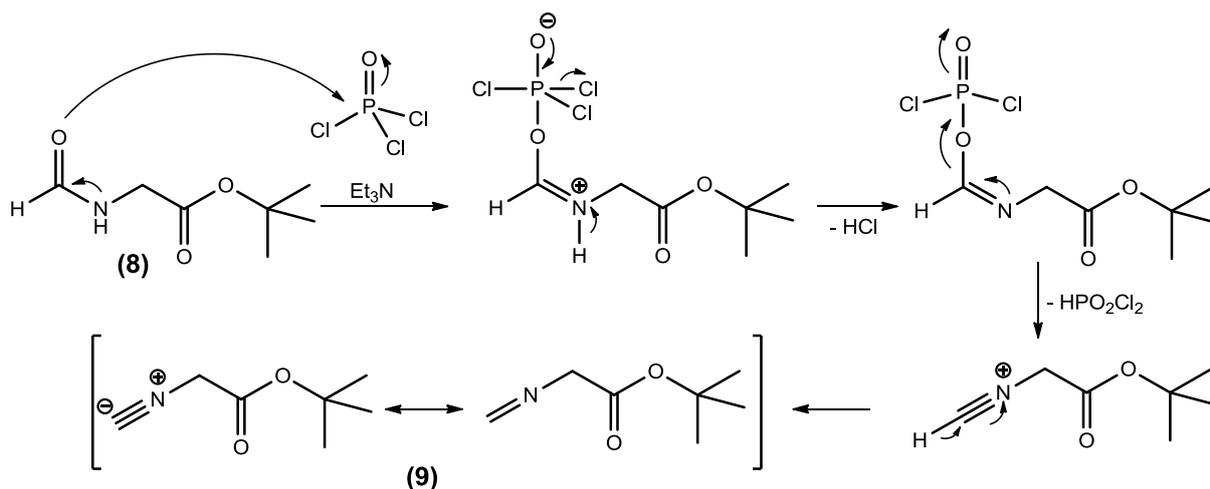


Abb. 39: Mechanismus der Isonitrilsynthese

#### 4.1.2.2 (<sup>15</sup>N)-Isocyanoessigsäuremethylesters (12)

Für die Einführung des <sup>15</sup>N-Isotops muss die Synthese des Isonitrils modifiziert werden, da das einzusetzende <sup>15</sup>N-markierte Formamid nicht nur als Reagenz, sondern auch als Solvens dient und somit in großem Überschuss einzusetzen wäre, was sich aus Preisgründen verbietet. Die neue Synthese startet mit kommerziell erhältlichem <sup>15</sup>N-markiertem Glycin<sup>[15]</sup>. Säurekatalytisch wird das Glycin durch Sulfurylchlorid und Methanol verestert (siehe Abb. 40). Nachdem die Aminogruppe durch Reaktion mit Natriumformiat und Ameisensäure formyliert ist, erfolgt die Umsetzung zum (<sup>15</sup>N)-Isocyanoessigsäuremethylesters (12) analog der Darstellung zum Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (9).

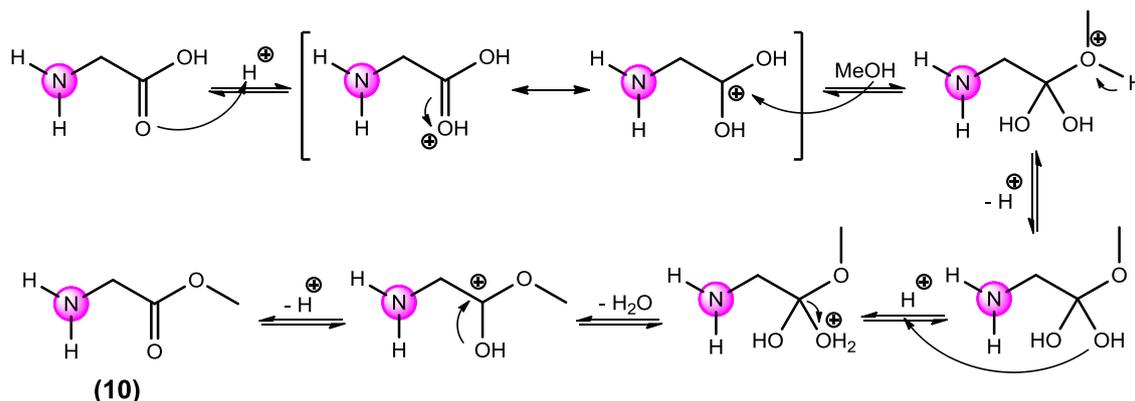


Abb. 40: Mechanismus der Glycinveresterung

#### 4.1.2.3 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (16)

Die Synthese des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (16) verläuft über vier Stufen. Zunächst wird Nitromethan durch eine Base deprotoniert. In einer Michael-Reaktion (siehe Abb. 41) greift das entstandene Carbanion den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten

Acrylsäuremethylester nucleophil an. Nach Protonierung wird der 4-Nitrobutansäuremethylester (**13**) mit einer der Literatur entsprechenden Ausbeute von 33 % erhalten<sup>[15]</sup>.

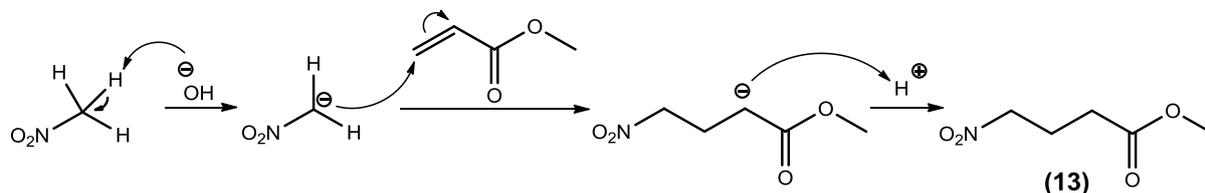


Abb. 41: Mechanismus der Synthese von 4-Nitrobutansäuremethylester (**13**)

In einer abgewandelten Nef-Reaktion wird der 4-Nitrobutansäuremethylester (**13**) zum Acetal (**14**) umgesetzt (siehe Abb. 42). Das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom wird zunächst durch Natriummethanolat deprotoniert. Nachdem das Nitronat an beiden Sauerstoffatomen protoniert ist, kann Methanol nucleophil das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom angreifen, wodurch sich ein Halbacetal bildet. Anschließend wird nach Abspaltung von Wasser und Nitrosowasserstoff das mesomeriestabilisierte Carbeniumion erneut von Methanol nucleophil angegriffen. Nach Deprotonierung wird der 4,4-Dimethoxybutansäuremethylester (**14**) mit einer Ausbeute von 46 % (Lit. 46 %<sup>[15]</sup>) isoliert.

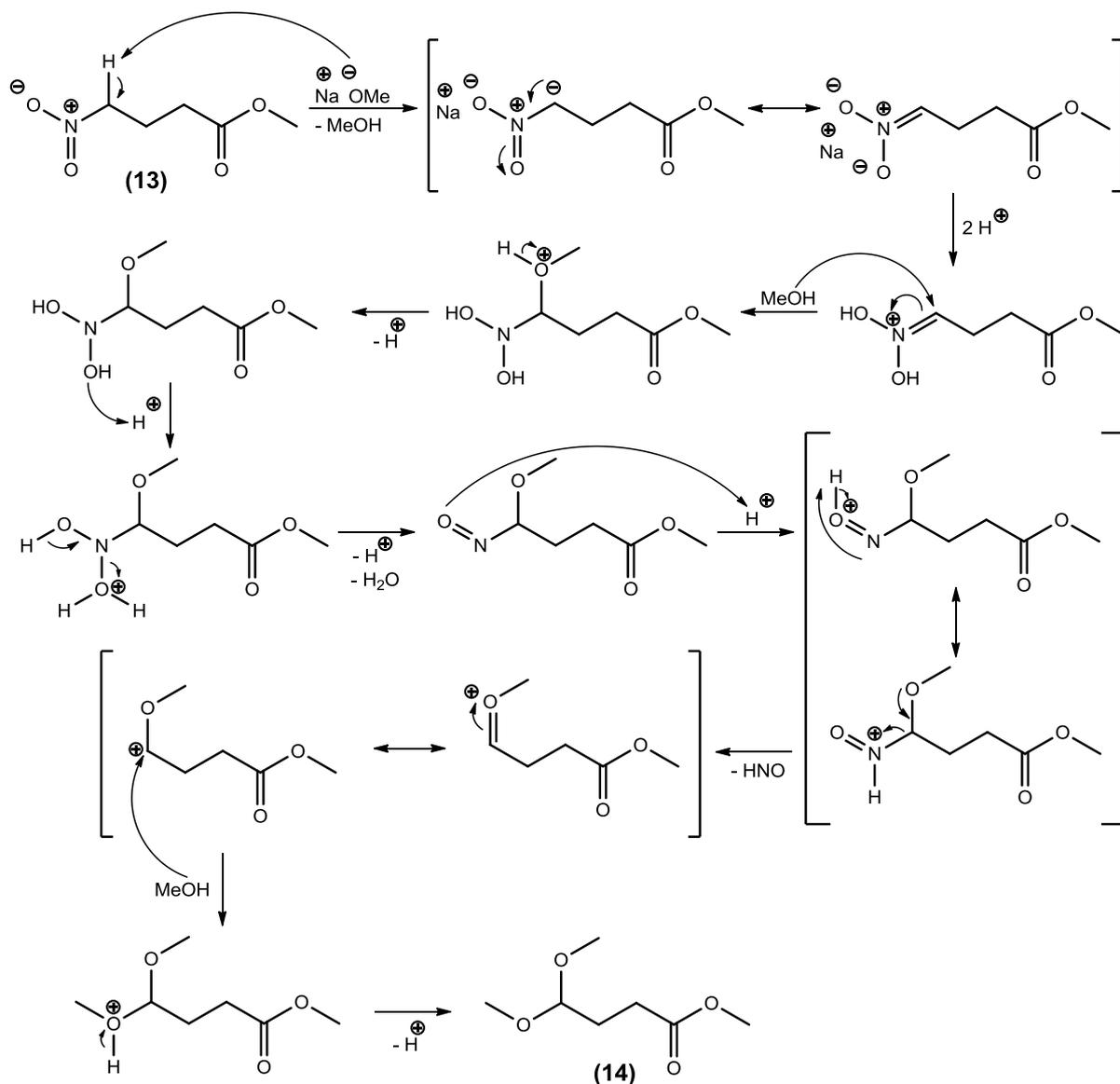


Abb. 42: Mechanismus der abgewandelten Nef-Reaktion

In Folge wird das Acetal **(14)** durch saure Hydrolyse in den Aldehyd **(15)** überführt (siehe Abb. 43). Hierbei wird zunächst der Sauerstoff einer Methoxygruppe protoniert, woraufhin sich nach Abspaltung von Methanol Wasser anlagert. Nach Umlagerung wird ein zweites Methanolmolekül abgespalten und nach Deprotonierung der 4-Oxobutansäure-methylester **(15)** in sehr guter Ausbeute von 97 % erhalten. Hierbei ist die Konzentration der Salzsäure entscheidend, da bei einer zu geringen Konzentration nur ~ 20 % Ausbeute<sup>[15]</sup> isoliert werden können.

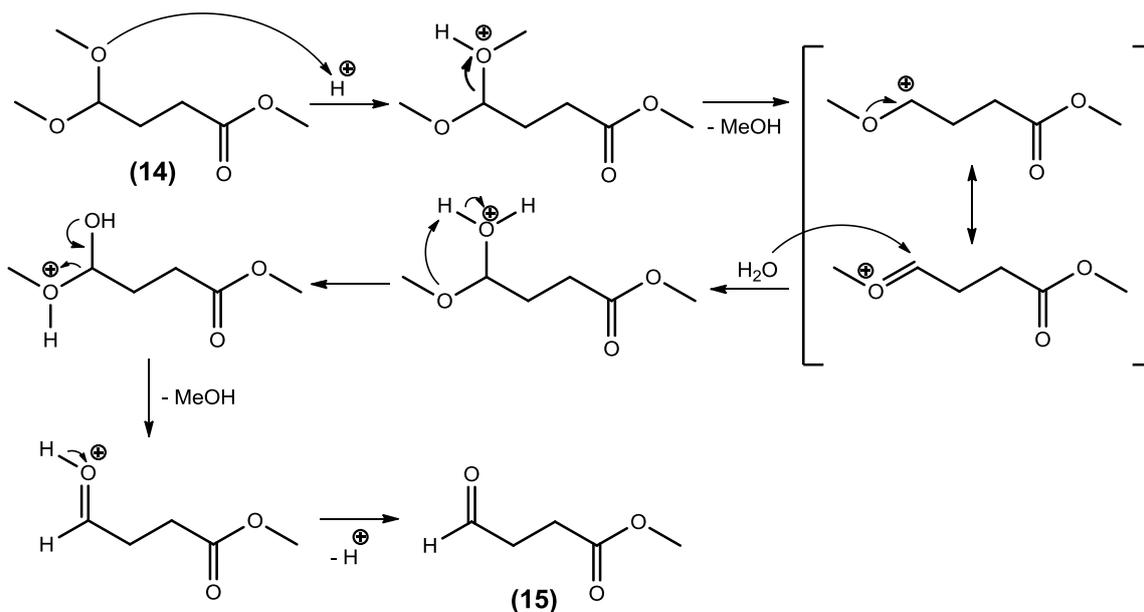


Abb. 43: Mechanismus der Acetalhydrolyse

Der erhaltene Aldehyd **(15)** wird in einer Henry-Reaktion um einen C2-Baustein verlängert und gleichzeitig für den abschließenden Ringschluss aktiviert (siehe Abb. 44). Dazu wird Nitroethan an der  $\alpha$ -Position durch DMAP deprotoniert. Die Carbonylfunktion des Aldehyds **(15)** wird dann von dem Mesomerie-stabilisierten Carbanion nucleophil angegriffen. Durch Zugabe von Essigsäureanhydrid kann der negativ geladene Sauerstoff nucleophil eine der beiden Carbonylfunktionen des Essigsäureanhydrids angreifen. Nach Abspaltung von Essigsäure wird das 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester **(16)** in guter Ausbeute von 56 % (Lit. 56 %<sup>[16]</sup>) gewonnen.

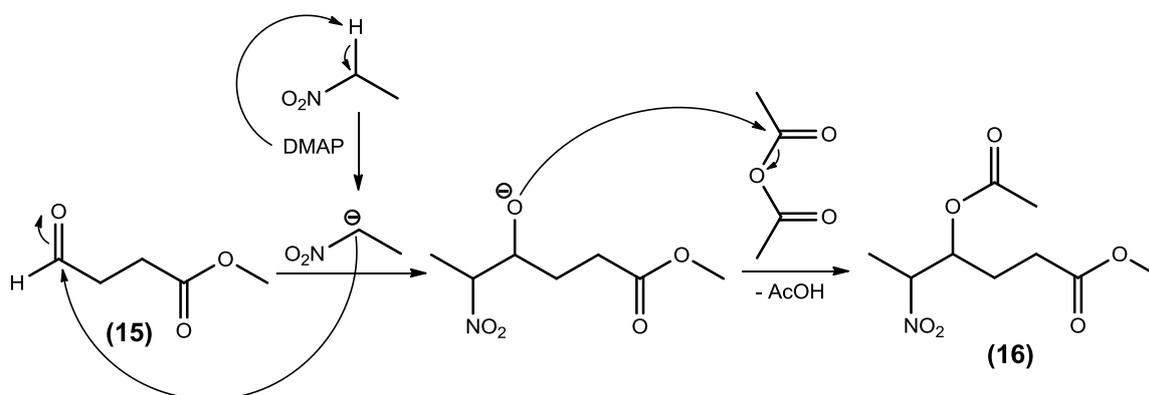


Abb. 44: Mechanismus der Henry-Reaktion

#### 4.1.2.4 4-Pentinsäuremethylesters (18)

Für die Synthese der 2,3-disubstituierten B/C-Ringvorstufe (**21**) wird in zwei Syntheseschritten der 4-Pentinsäuremethylester (**18**) dargestellt (siehe Abb. 45). In einer Jones Oxidation wird 4-Pentin-1-ol durch Chrom(VI)-oxid zur 4-Pentinsäure (**17**) mit einer Ausbeute von 57 % (Lit. 66 %<sup>[46]</sup>) umgesetzt. Der Mechanismus der Jones Oxidation ist noch nicht vollständig geklärt, denkbar ist ein nucleophiler Angriff des Alkohols an das Chromatom. Nach Deprotonierung kommt es zur  $\alpha$ -Eliminierung der Chromverbindung und zur Bildung des Carbonyls. Anschließend wird die 4-Pentinsäure (**17**) säurekatalytisch verestert (Ausbeute 63 %; Lit. 38 %<sup>[46]</sup>).

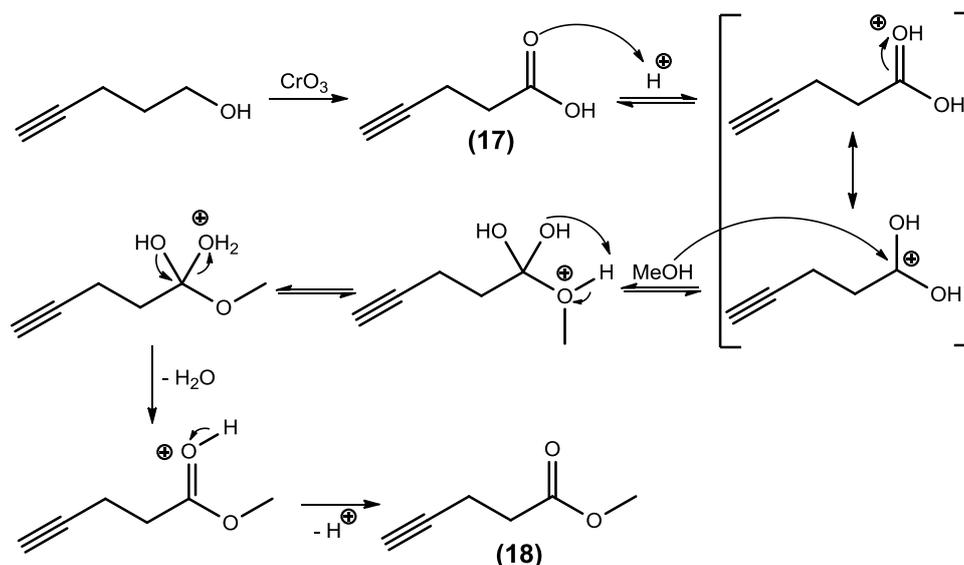


Abb. 45: Mechanismus der Synthese von 4-Pentinsäuremethylester (**18**)

#### 4.1.2.5 B/C-Ringvorstufe (19)

Nach erfolgreicher Synthese der beiden Molekülhälften, die die B/C-Ringvorstufe ergeben, kann der Ringschluss erfolgen (siehe Abb. 46). Das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom der Nitrogruppe des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**) wird durch TMG deprotoniert, wodurch sich nach Abspaltung der Acetoxygruppe ein Nitroolefin bildet. Die Methylengruppe des Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**9**) wird ebenfalls durch TMG deprotoniert. Das mesomeriestabilisierte Carbanion greift jetzt das zur Nitrogruppe  $\beta$ -ständige, olefinische Kohlenstoffatom des Nitroolefins nucleophil an. Durch einen weiteren nucleophilen Angriff des so entstandenen Carbanions an die Isonitrilgruppe kommt es anschließend zum Ringschluss. Nach Protonierung und Abspaltung der Nitrogruppe über einen postulierten E1cB-Mechanismus führt eine finale [1,3]-sigmatrope Umlagerung des Protons am C3 zum Stickstoff zum

3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester **(19)**.

Die Ausbeute dieser Reaktion beläuft sich auf 58 % (Lit. 56 %<sup>[15]</sup>).

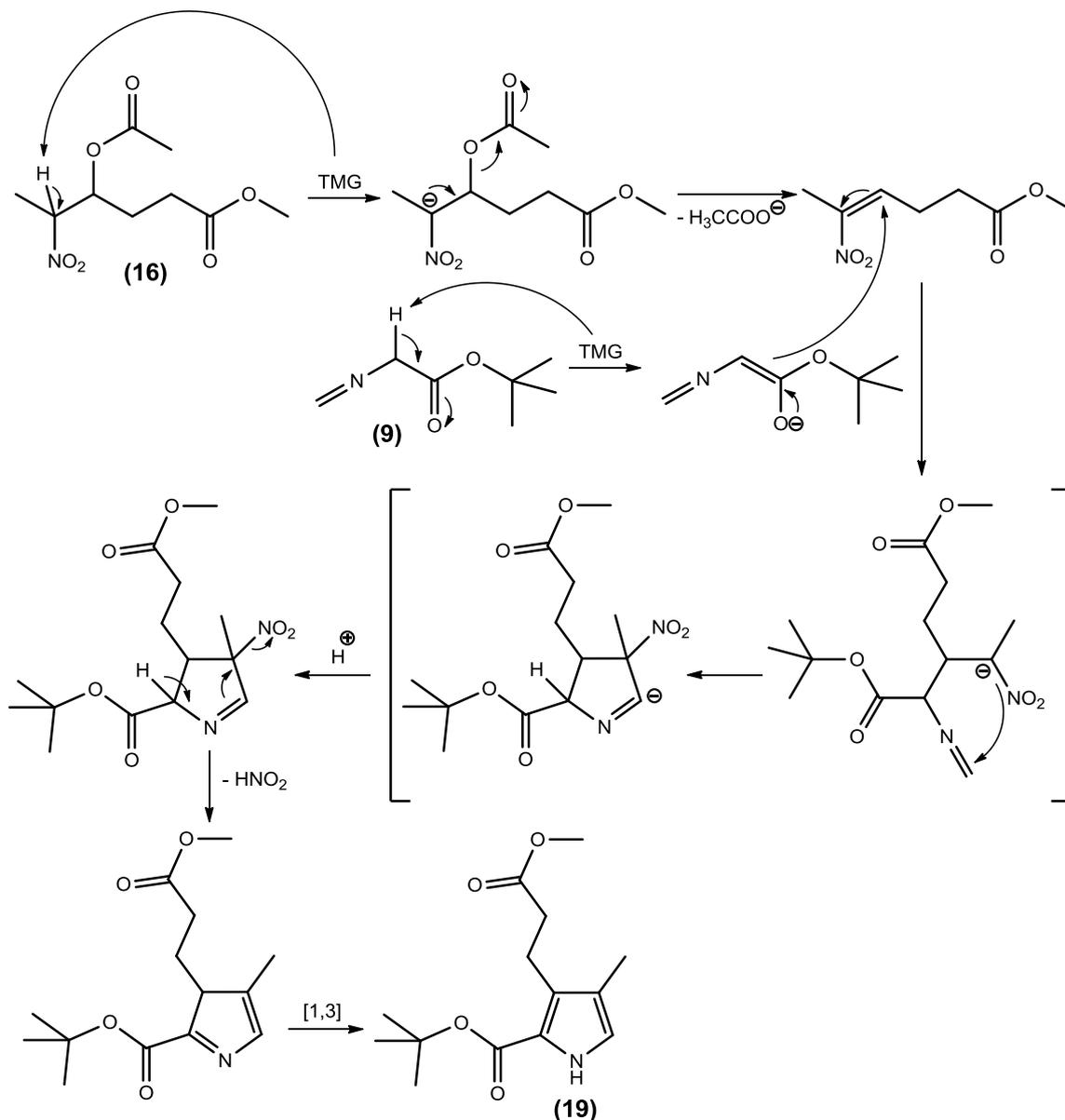


Abb. 46: Mechanismus des Ringschluss der B/C-Ringvorstufe **(19)**

Die B/C-Ringvorstufe **(19)** kann jetzt zum B- oder C-Ring funktionalisiert werden. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der B/C-Ringvorstufe **(19)** (siehe Abb. 92) zeigt neben den Signalen der beiden Ester, der Methylgruppe und den beiden Triplets der beiden CH<sub>2</sub>-Gruppen des Propionsäurerestes folgende charakteristische Signale: Das Proton am pyrrolischen Stickstoff gibt ein breites Signal bei 8.90 ppm. Durch die <sup>3</sup>J-Kopplung mit diesem Proton ist für das Proton am C5 ein Duplett bei 6.57 ppm zu sehen.

#### 4.1.2.6 (<sup>15</sup>N)-markierten B/C-Ringvorstufe (20)

Der Ringschluss des <sup>15</sup>N-Isocyanoessigsäuremethylesters (**12**) mit dem 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**) zur <sup>15</sup>N-markierten B/C-Ringvorstufe (**20**) erfolgt nach dem in Abschnitt 4.1.2.5 beschriebenen Mechanismus. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum ist aufgrund der <sup>15</sup>N-Markierung des Pyrrolstickstoffs, der die Spinquantenzahl  $S = \frac{1}{2}$  besitzt, das Signal des pyrrolischen Stickstoffs zum Duplett und das Signal des aromatischen Protons am C5 zum Triplet aufgespalten. Da in dieser Synthese der *tert*-Butylester gegen einen Methyl ester ausgetauscht ist, gibt es dementsprechend kein Signal bei 1.51 ppm, sondern es erscheint ein Singulett bei 3.75 ppm.

#### 4.1.2.7 (4H)-B/C-Ringvorstufe (21)

Die Bildung des 2,3-disubstituierten Pyrrols in der Kupfer-katalysierten Reaktion zwischen dem Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) und dem inaktivierten terminalen Acetylen 4-Pentinsäuremethylester (**18**) kann nach de Meijere<sup>[47]</sup> wie folgt erklärt werden (siehe Abb. 47): Nach Deprotonierung und Kupferanlagerung an beide Moleküle kommt es zu einer Carbometallierung unter Insertion eines Kupferatoms. Durch nucleophilen Angriff der Isonitrilgruppe und Umlagerung eines Kupferatoms erfolgt der Ringschluss. Nach einer [1,5]-sigmatropen Umlagerung und Protonierung wird die (4H)-B/C-Ringvorstufe (**21**) mit 41 % Ausbeute (Lit. 38 %<sup>[46]</sup>) gewonnen.

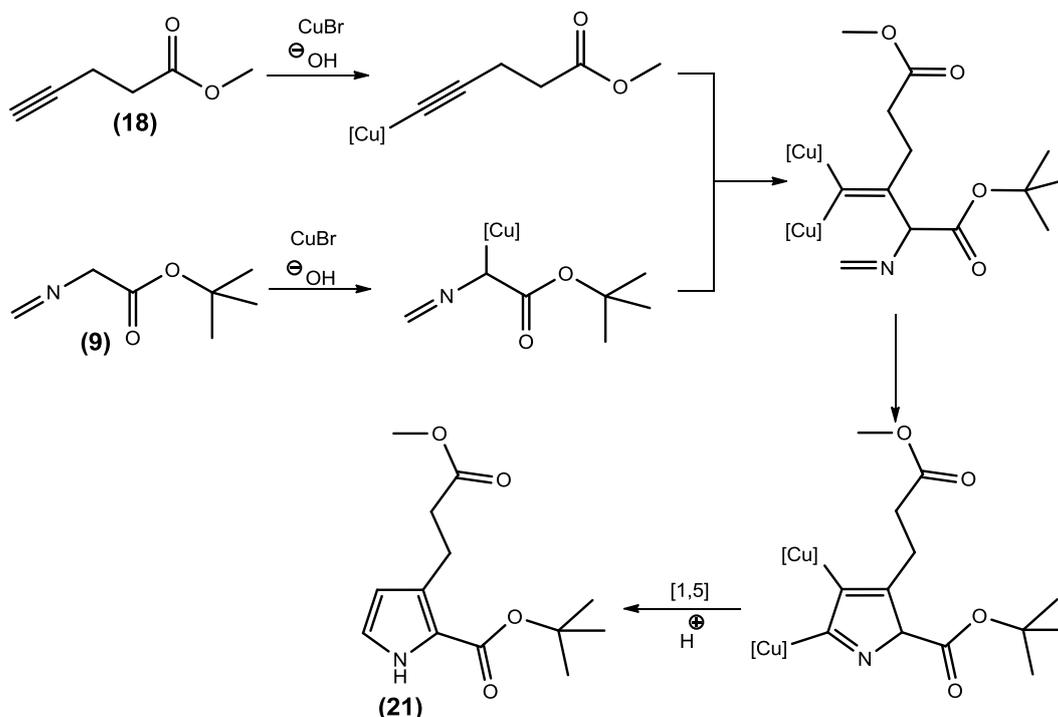


Abb. 47: Mechanismus der Ringschlussreaktion der (4H)-B/C-Ringvorstufe (**21**)

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der (4H)-B/C-Ringvorstufe (**21**) (siehe Abb. 94) zeigt neben den typischen Signalen der B/C-Ringvorstufe für die beiden aromatischen Protonen an C4 und C5 jeweils ein zum Triplett aufgespaltenes Signal bei 6.08 und 6.77 ppm.

#### 4.1.3 Synthese des B-Rings (**25**)

Die B/C-Ringvorstufe (**19**) ergibt zusammen mit der Schutzgruppe (**23**) nach Funktionalisierung den B-Ring (**25**). Zur Synthese der Schutzgruppe wird D(-)-Weinsäure mit einer Ausbeute von 98 % verestert. Analog einer 1,2-Diol-Spaltung wird der entstandene Weinsäuredibenzylester (**22**) durch Periodsäure gespalten. Nach Wasserabspaltung bildet sich als Zwischenprodukt ein Fünfring zwischen der Periodsäure und den Hydroxygruppen aus, der dann in Iodsäure und zwei Moleküle des Glyoxylsäurebenzylester (**23**) zerfällt (siehe Abb. 48). Die Schutzgruppe wird nach Destillation mit einer Ausbeute von 75 % (Lit. 70 %<sup>[15]</sup>) gewonnen.

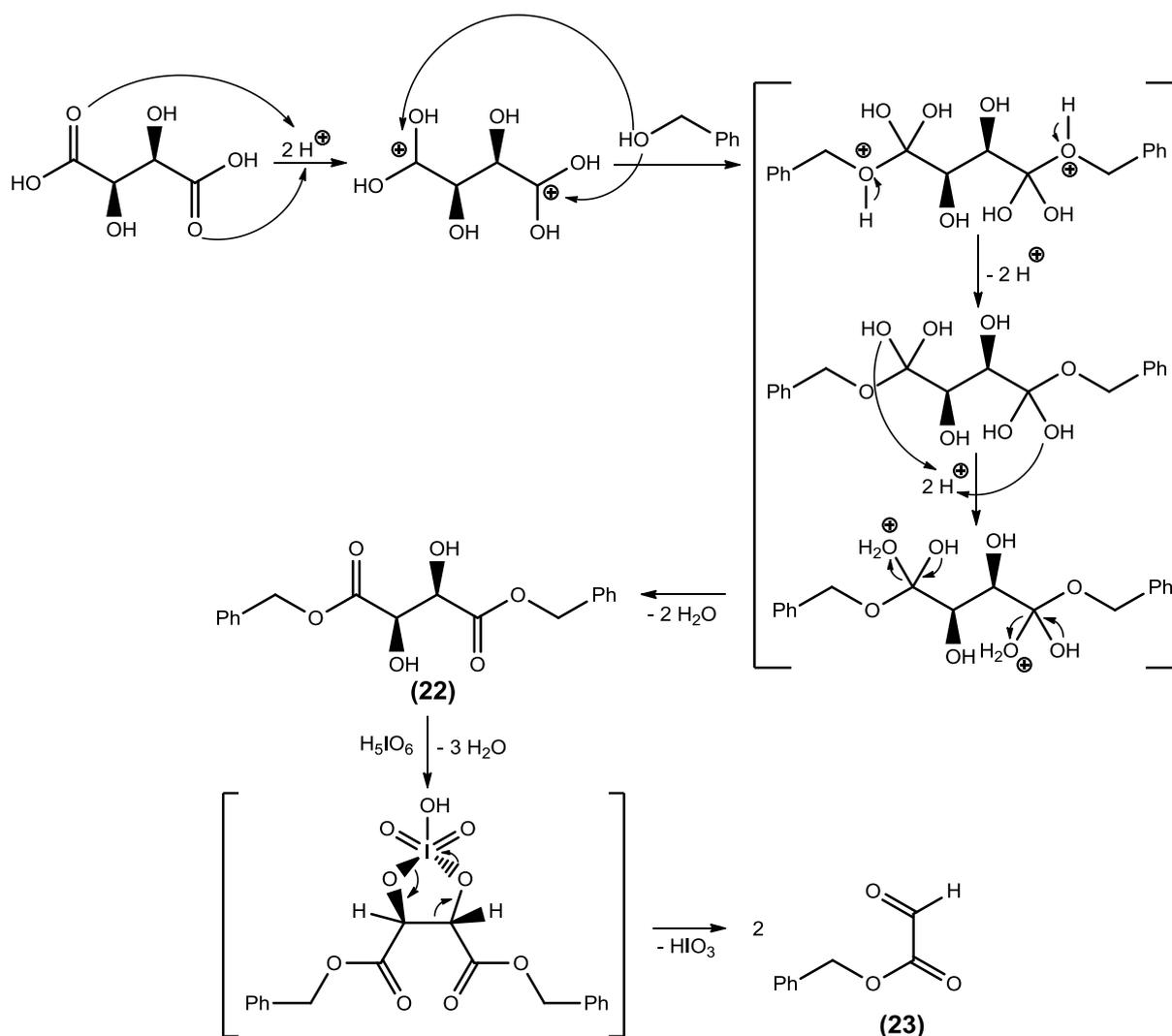


Abb. 48: Mechanismus der Synthese von Glyoxylsäurebenzylester (**23**)

Durch Anlagerung von Zinkchlorid an den Sauerstoff der Aldehydgruppe wird die Schutzgruppe aktiviert (siehe Abb. 49). Das entstandene Carbeniumion kann jetzt elektrophil an das C5 des aromatischen Pyrrolrings (**19**) angreifen. Nach Abspaltung von Zinkchlorid wird durch Deprotonierung das aromatische Ringsystem wiederhergestellt und die B-Ringvorstufe (**24**) mit einer Ausbeute von 56 % erhalten. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sind, verglichen mit dem Ausgangsprodukt (**19**), mehrere signifikante Veränderungen zu beobachten: Bei 5.07 ppm tritt für das Proton am C5<sup>1</sup> ein Singulett auf, wogegen das Duplett der unsubstituierten  $\alpha$ -Position der B/C-Ringvorstufe (**19**) bei 6.57 ppm und das Singulett des Aldehyds der Schutzgruppe (**23**) bei 9.40 ppm fehlen.

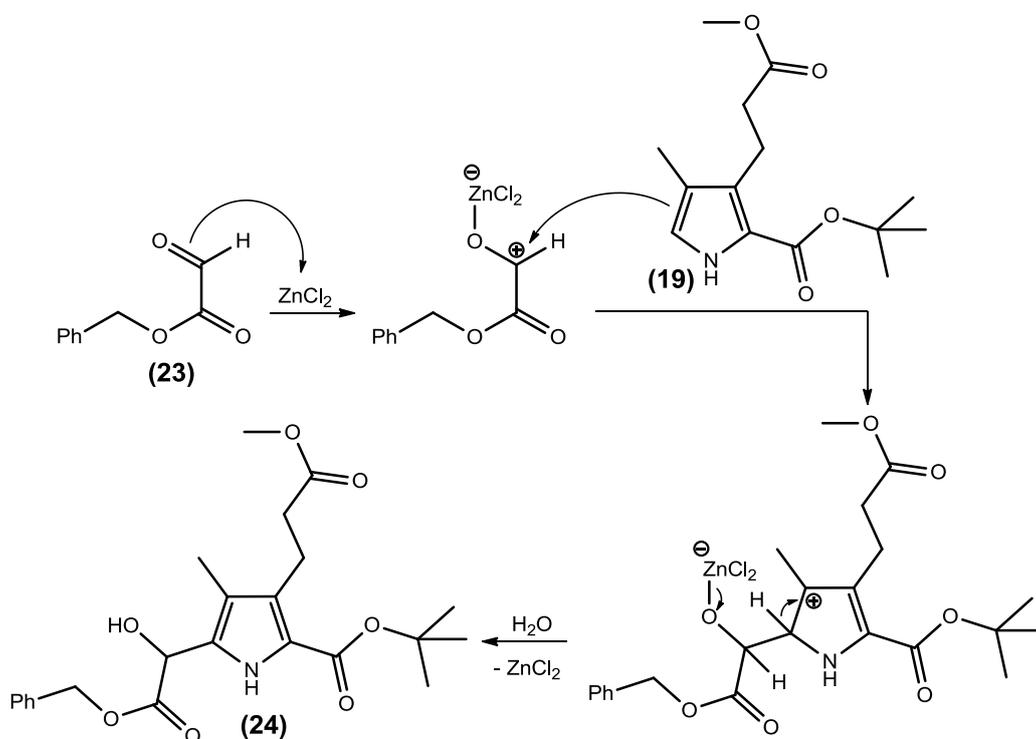


Abb. 49: Mechanismus der elektrophilen aromatischen Substitution

Die B-Ringvorstufe (**24**) wird in das Ylid (**25**) umgewandelt (siehe Abb. 50). Nachdem N-Chlorsuccinimid mit Dimethylsulfid einen Komplex gebildet hat, kann das jetzt positiv polarisierte Schwefelatom von den  $\pi$ -Elektronen des Hydroxids unter Abspaltung von Succinimid angegriffen werden. Unter Abspaltung von Dimethylsulfoxid wird die C5<sup>1</sup> Position nucleophil von dem Chloridion angegriffen. Das instabile Zwischenprodukt wird nicht isoliert, sondern in einer „Ein-Topf“-Reaktion durch nucleophile Substitution mit Triphenylphosphin zum B-Ring (**25**) mit einer Ausbeute von 39 % umgesetzt.

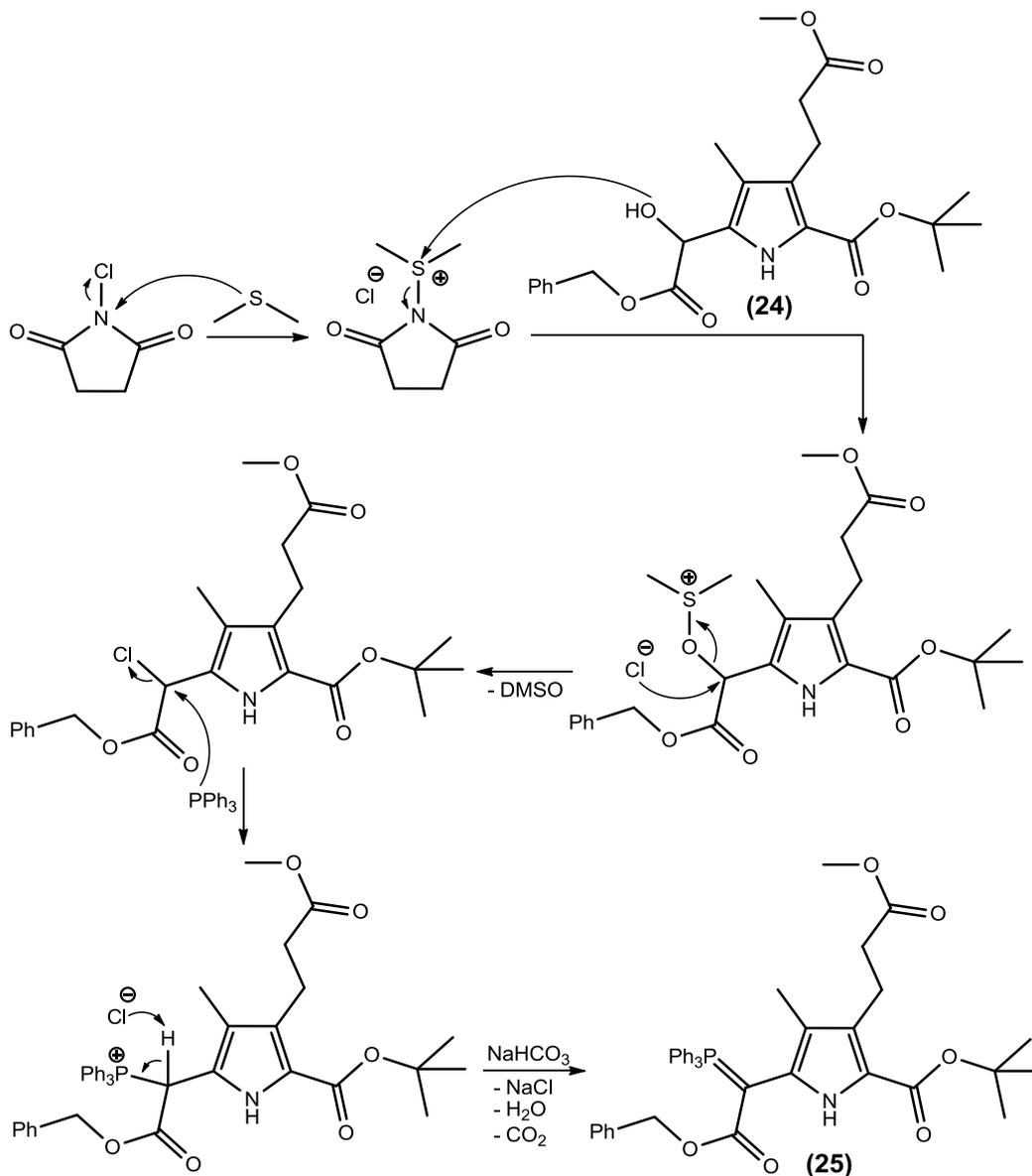


Abb. 50: Mechanismus der Synthese des B-Rings (25)

Im <sup>1</sup>H-NMR Spektrum des B-Rings (25) finden sich im Bereich von 7.24-7.68 ppm die Signale der drei Phenylringe. Das Singulett des Protons am C5<sup>1</sup> ist verschwunden (siehe Abb. 98).

#### 4.1.4 Synthese der C-Ringe

Die B/C-Ringvorstufe (**19**) wird in einer Vilsmeier-Formylierungsreaktion in den C-Ring (**26**) überführt (siehe Abb. 51), welcher dann für die Verknüpfung mit dem D-Ring (**58**) zur Verfügung steht. Zunächst erzeugt man das Formylierungsreagenz durch Reaktion von Dimethylformamid mit Phosphorylchlorid. In Folge kann dann in einer elektrophilen, aromatischen Substitution das mesomeriestabilisierte Carbeniumion die unsubstituierte  $\alpha$ -Position der B/C-Ringvorstufe (**19**) angreifen. Nach Wiederherstellung der Aromatizität wird durch Hydrolyse der Aldehyd (**26**) mit einer Ausbeute von 88 % (Lit. 86 %<sup>[15]</sup>) gewonnen.

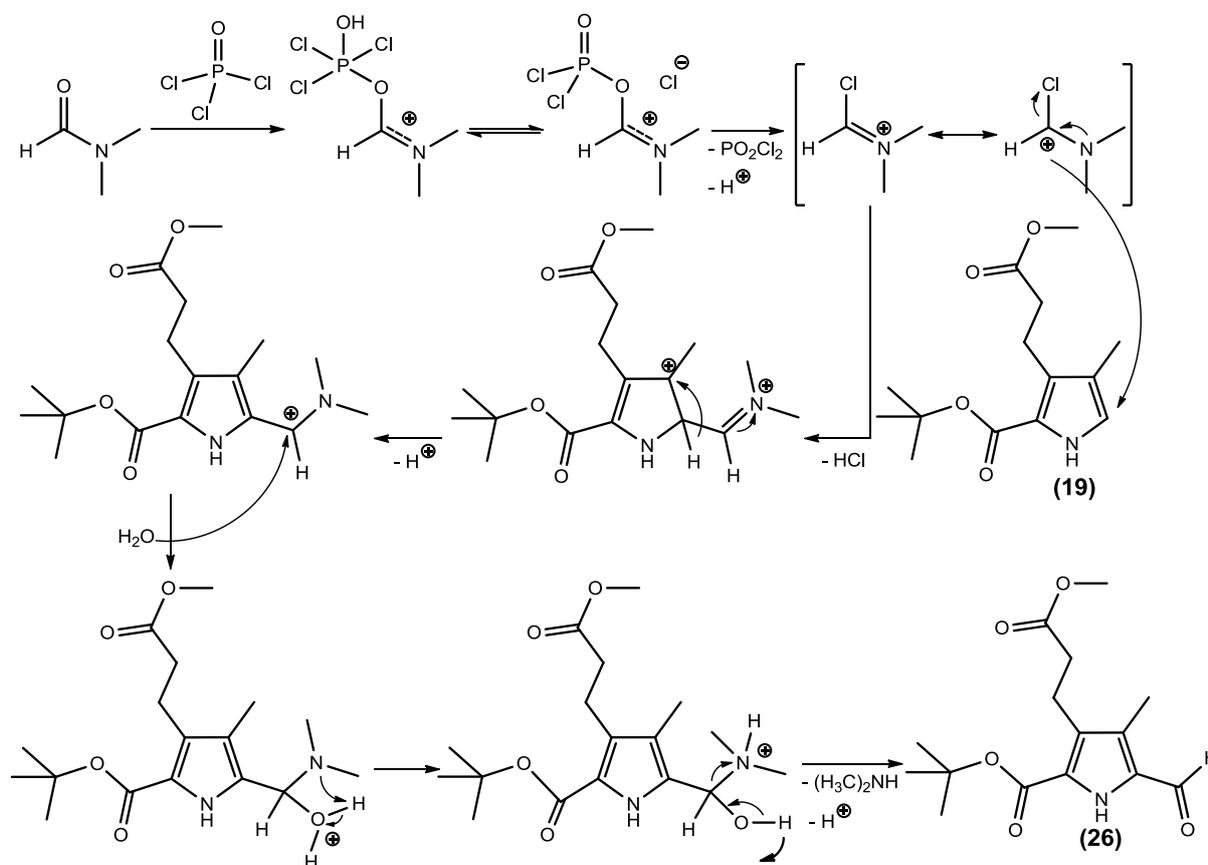


Abb. 51: Mechanismus der Vilsmeier-Formylierungsreaktion

Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des C-Rings (**26**) zeigt neben den typischen Signalen für die neue Aldehydgruppe ein Singulett bei 9.74 ppm. Das Duplett des C5-Protons der B/C-Ringvorstufe (**19**) bei 6.57 ppm fehlt (siehe Abb. 99).

#### 4.1.4.1 (5-<sup>13</sup>C)-C-Ring (27)

Die Vilsmeier-Formylierungs-Reaktion erfolgt mit <sup>13</sup>C-markiertem N,N-Dimethylformamid nach dem in Abschnitt 4.1.4 beschriebenen Mechanismus. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des (5-<sup>13</sup>C)-C-Ring (27) ist aufgrund der <sup>13</sup>C-Markierung der Aldehydgruppe (Spinquantenzahl  $S = \frac{1}{2}$ ) das Signal des Aldehydprotons zum Duplett aufgespalten. Im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum ist ein intensives Signal bei 179.09 ppm zu sehen.

#### 4.1.4.2 (<sup>15</sup>N)-markierter C-Ring (28)

Die <sup>15</sup>N-markierte B/C-Vorstufe (20) wird nach dem in Abschnitt 4.1.4 beschriebenen Mechanismus formyliert. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des (<sup>15</sup>N)-C-Rings (28) bleibt die Aufspaltung des <sup>15</sup>N-markierten Pyrrolstickstoffs erhalten. Das Signal des C5-Protons der B/C-Ringvorstufe (20) ist durch das Singulett des Aldehydprotons bei 9.70 ppm ersetzt.

#### 4.1.4.3 (4H)-C-Ring (29)

Die (4H)-B/C-Ringvorstufe (21) ist im Gegensatz zur normalen B/C-Ringvorstufe (19) nur 2,3 disubstituiert und besitzt zusätzlich zur freien Position an C5 eine weitere freie Position an C4. In der folgenden Vilsmeier-Reaktion (Mechanismus siehe Abschnitt 4.1.4) ist eine Formylierung daher sowohl an C4 als auch an C5 denkbar. Die Betrachtung der möglichen Resonanzstrukturen für die elektrophile Substitution am C4 und C5 des 2,3-disubstituierten Pyrrols (21) zeigt eine Bevorzugung des Angriffs am C5 (siehe Abb. 52). Der (4H)-C-Ring (29) wird mit einer Ausbeute von 54 % (Lit. 48 %<sup>[46]</sup>) gewonnen. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (siehe Abb. 101) bleibt das Signal des Protons am C4 bei 6.77 ppm erhalten. Das Signal des C5-Protons ist verschwunden und durch das Signal des Aldehydprotons bei 9.56 ppm ersetzt.

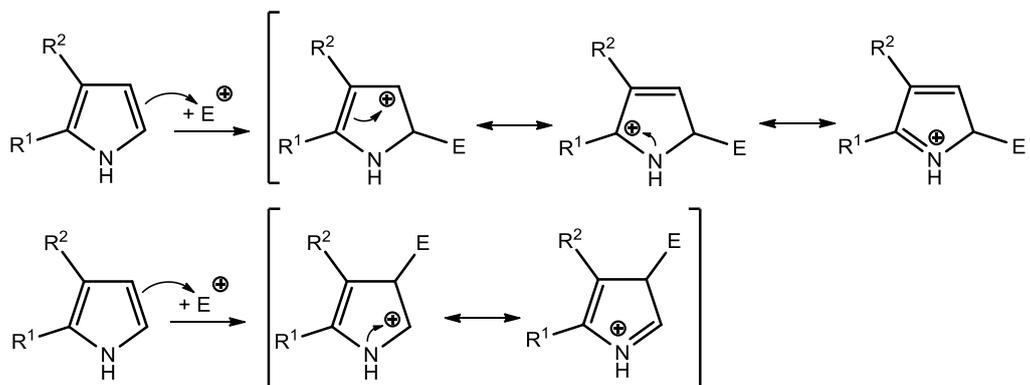


Abb. 52: Resonanzstrukturen für die elektrophile Substitution am C2 und C3

#### 4.1.5 Synthese der AB-Hälfte (57)

Der A-Ring (7) wird in einer Thio-Wittig-Reaktion mit dem B-Ring (25) verknüpft (siehe Abb. 53). Das negativ geladene Kohlenstoffatom des Ylids (25) greift nucleophil an das positiv polarisierte Kohlenstoffatom des Thiocarbonyls an unter Ausbildung eines Thio-Betain-Intermediats. Das durch Weiterreaktion entstehende cyclische Thiophosphetan zerfällt aufgrund der Ausbildung der starken Phosphor-Schwefel-Bindung in Triphenylphosphinsulfid und das Olefin (56). Die geschützte AB-Hälfte (56) wird mit einer Ausbeute von 25 % erhalten. Durch Hydrierung an Palladium wird die Benzylschutzgruppe selektiv abgespalten und die fertige AB-Hälfte, Carboxy-substituiert an der C5 Position, mit einer Ausbeute von 43 % (Lit. 30%<sup>[15]</sup>) gewonnen.

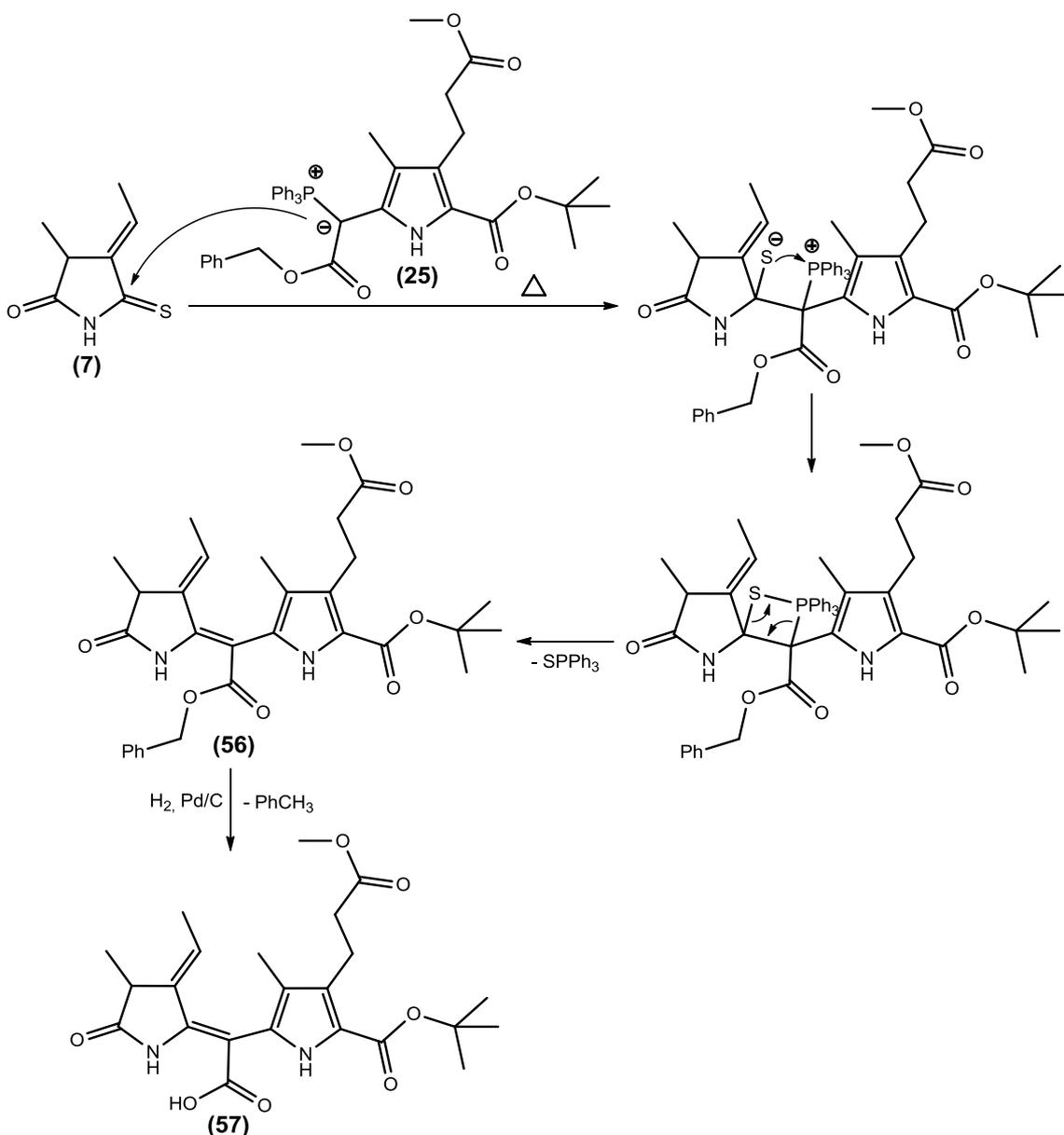


Abb. 53: Mechanismus der Thio-Wittig-Reaktion

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der AB-Hälfte (**57**) zeigt zwei breite Signale für die beiden Protonen der pyrrolischen Stickstoffe bei 8.45 und 10.74 ppm, sowie die charakteristischen Signale der beiden Ringe (siehe Abb. 103).

#### 4.1.6 Synthese der CD-Hälften

In einer basenkatalysierten Knoevenagel-Reaktion wird der C-Ring (**26**) mit dem D-Ring (**58**) verknüpft (siehe Abb. 54). Zunächst wird die Methylengruppe an C5 des D-Rings (**58**) durch DBU deprotoniert, so dass die Carbonylfunktion des Aldehyds durch das entstandene Carbanion nucleophil angegriffen werden kann. Unter Wasserabspaltung wird die CD-Hälfte mit einer Ausbeute von 23 % (Lit. 31 %<sup>[15]</sup>) isoliert. Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der CD-Hälfte (**59**) zeigt das neue Signal der Methinbrücke als Singulett bei 5.91 ppm.

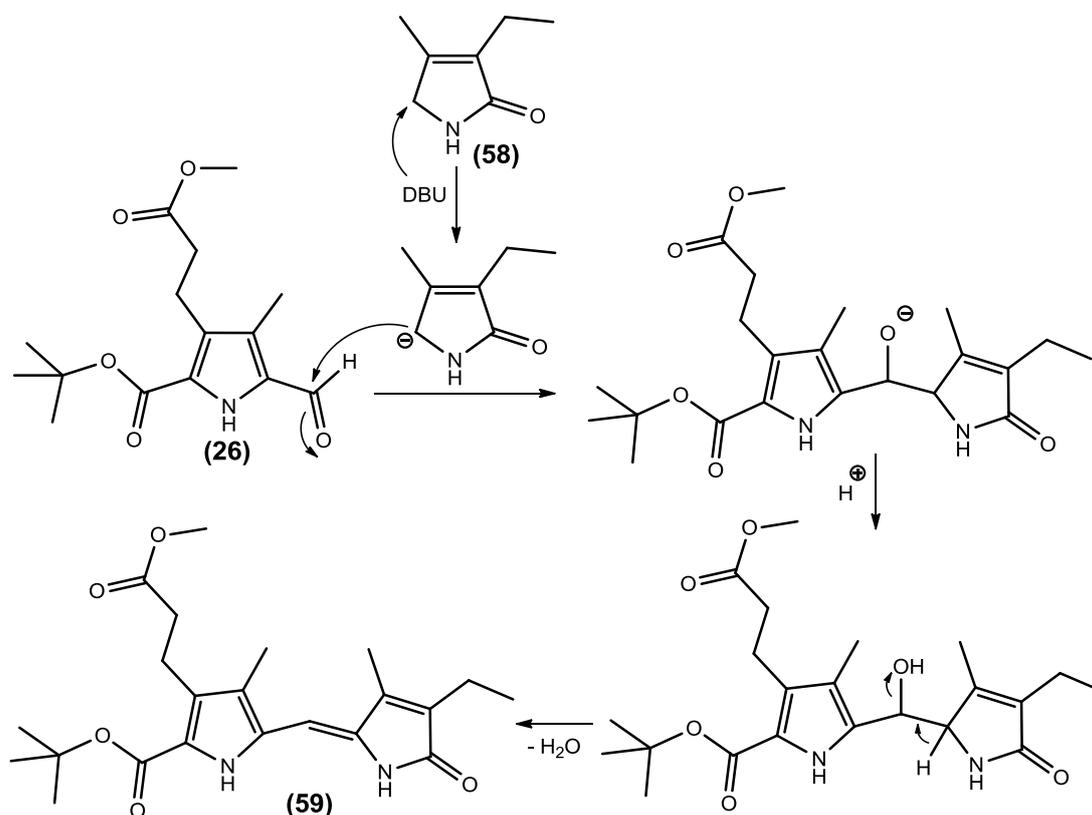


Abb. 54: Mechanismus der Knoevenagel-Reaktion

Die CD-Hälfte (**59**) muss für die Kupplung funktionalisiert werden, wofür die ungeeignete *tert*-Butoxycarbonyl-Gruppe gegen eine Aldehyd-Gruppe ausgetauscht wird (siehe Abb. 55). Säurekatalytisch wird die *tert*-Butyl-Gruppe als Isopropen von der Carboxygruppe am C9 abgespalten. Nachdem sich durch säurekatalytische Methanolabspaltung aus Trimethylorthoformiat ein Carbeniumion gebildet hat, greift

dieses in einer elektrophilen aromatischen Substitution den Pyrrolring am C9 an. Nach Decarboxylierung und Wiederherstellung der Aromatizität des Pyrrolrings wird die CD-Hälfte (**60**) in einer sauren Acetalhydrolyse mit einer Ausbeute von 22 % (Lit. 36 %<sup>[15]</sup>) gewonnen. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der CD-Hälfte (**60**) ist das Singulett des Aldehyds bei 9.96 ppm zu sehen, wogegen das Signal der *tert*-Butyl-Gruppe verschwunden ist (siehe Abb. 105). Als Nebenprodukt der Formylierungsreaktion entsteht aus der formylierten CD-Hälfte (**60**) und dem entschützten Edukt ein tiefblaues Tetrapyrrol (Kondensation zweier „rechter Hälften“: DCCD), welches durch HPLC-Aufreinigung entfernt wird.

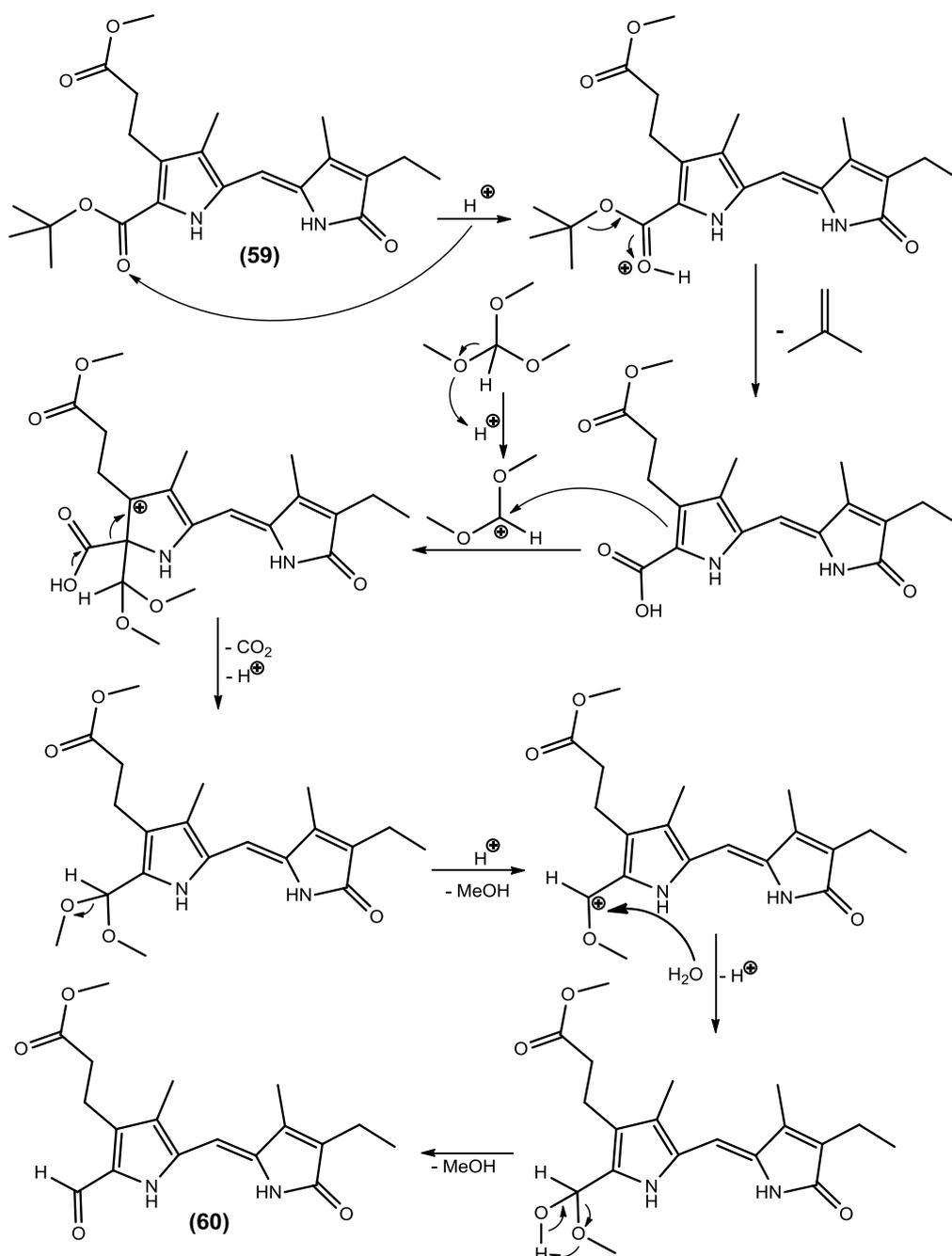


Abb. 55: Mechanismus der Formylierung zur CD-Hälfte (**60**)

#### 4.1.6.1 (5-<sup>13</sup>C)-CD-Hälfte (62)

Die Verknüpfung des <sup>13</sup>C-markierten C-Rings (27) mit dem D-Ring (58) und anschließende Formylierung erfolgt nach dem in Abschnitt 4.1.6 beschriebenen Mechanismus mit einer Ausbeute von 27 %. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der (5-<sup>13</sup>C)-CD-Hälfte (62) (siehe Abb. 107) ist das Singulett der Methinbrücke aufgrund der <sup>13</sup>C-Markierung zum Duplett aufgespalten (<sup>1</sup>J = 158 Hz). Das Aldehydproton befindet sich 9.96 ppm. Das Äquivalent im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum ist ein intensives Signal bei 97.39 ppm.

#### 4.1.6.2 (10-<sup>15</sup>N)-markierte CD-Hälfte (65)

Der (<sup>15</sup>N)-C-Ring wird in der Knoevenagel-Reaktion nach dem in Abschnitt 4.1.6 beschriebenen Mechanismus mit dem D-Ring (58) verknüpft. Aufgrund der Estermodifikation an C9 wird der hier vorliegende Methylester zunächst zur Säure verseift (siehe Abb. 56). In einem Additions-Eliminierungs-Mechanismus greift das Hydroxidion die Carbonylgruppe nucleophil an. Nach Abspaltung des Alkoholations bildet sich dann die Carbonsäure. Als Nebeneffekt wird auch der Propionsäuremethylesterrest am C8 entschützt und so die Disäure (64) erhalten.

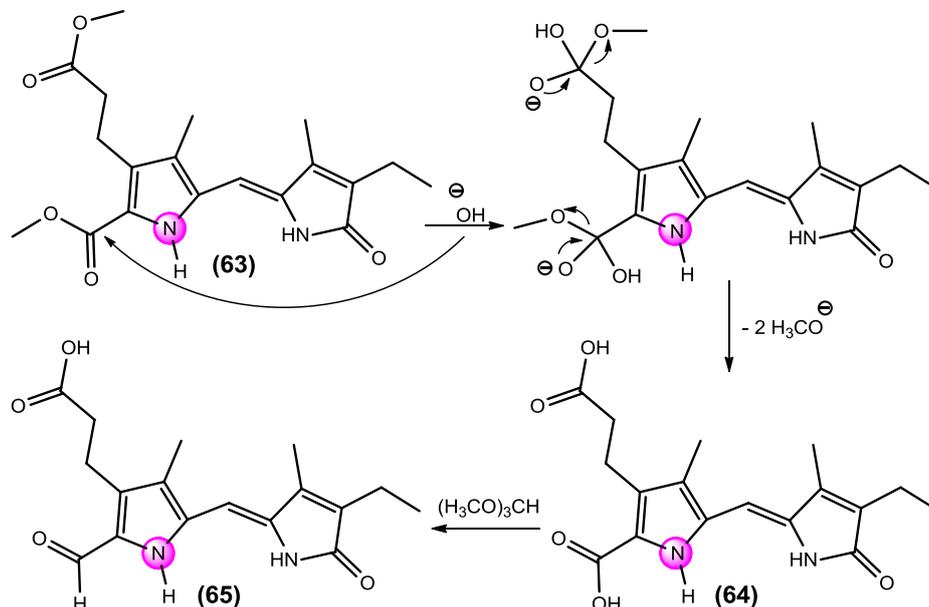


Abb. 56: Mechanismus der basenkatalysierten Entschützung der CD-Hälfte (63)

Die Disäure (64) wird dann nach dem in Abschnitt 4.1.6 beschriebenen Mechanismus formyliert und mit einer Ausbeute von 22 % isoliert. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der CD-Hälfte (65) ist das Protonensignal des <sup>15</sup>N-markierten Pyrrolstickstoffs bei 12.46-12.70 ppm (<sup>1</sup>J = 95.8 Hz), sowie das Signal der Methinbrücke bei 6.10 ppm

( $^3J = 3.3$  Hz) und das Aldehydsignal bei 10.07 ppm ( $^3J = 2.3$  Hz) zum Duplett aufgespalten (siehe Abb. 110).

#### 4.1.6.3 (7H)-CD-Hälfte (67)

Die beiden Reaktionen zur finalen (7H)-CD-Hälfte (**67**) erfolgen nach dem in Abschnitt 4.1.6 beschriebenen Mechanismus. Da die CD-Hälfte (**66**) nach Entschützung eine unsubstituierte Position an C7 besitzt, ist eine Formylierung auch an C7 denkbar. Aufgrund der Resonanzstrukturen ist allerdings die Position C9 bevorzugt (siehe Abb. 52). Zudem ist die Position an C7 durch die benachbarte Propionsäure-Estergruppe und die Methylgruppe des D-Rings sterisch sehr schwer zugänglich. Das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum des Kupplungsprodukts zeigt für das Proton der Methinbrücke (an C5) bei 6.21 ppm, für das aromatische Proton am C7 bei 7.06 ppm und für das Aldehydproton bei 10.04 ppm jeweils ein Singulett (siehe Abb. 57, ganzes Spektrum siehe Abb. 112). Zur vollständigen Charakterisierung werden noch für die drei Signale NOE-Spektren angefertigt: Die Methinbrücke „sieht“ in ihrer Umgebung die Protonensignale von C3<sup>1</sup>, C7 und beider NH-Gruppen. Das aromatische Proton am C7 sieht die Protonensignale von C5, C8<sup>1</sup>, C8<sup>2</sup> und beiden NH-Gruppen. Das Aldehydproton hingegen kann nur die Protonensignale von C8<sup>1</sup>, C8<sup>2</sup> und NH in seiner Nachbarschaft wahrnehmen. Durch die gegenseitig bestätigte Nachbarschaft der Protonen von C5 und C7 und durch das Fehlen des Signals des Aldehydprotons zur Methinbrücke C5 konnte die (7H)-CD-Hälfte (**67**) einwandfrei verifiziert werden. Die (7H)-CD-Hälfte (**67**) wird mit einer Ausbeute von 22 % gewonnen.

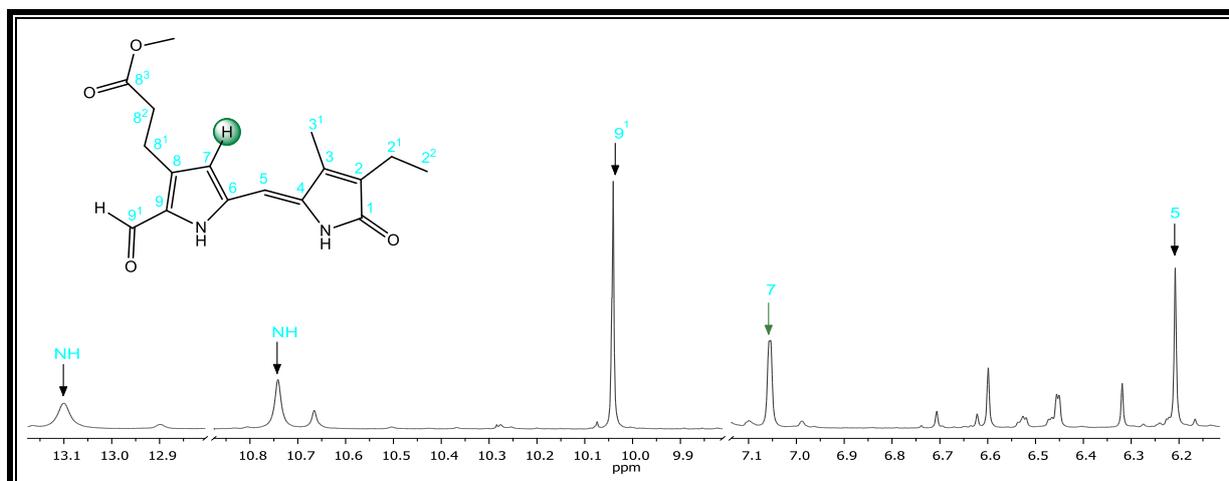


Abb. 57: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (7H)-CD-Hälfte (**67**). Grün markiert ist das Signal der unsubstituierten C7 Position.

#### 4.1.7 Synthese der Tetrapyrrole

Nach der erfolgreichen Synthese der AB-Hälfte (**57**) und der CD-Hälfte (**60**) werden beide Hälften zum Tetrapyrrol verknüpft. Durch Protonierung mit Trifluoressigsäure wird in einer „Ein-Topf“-Reaktion zuerst der *tert*-Butyl-Rest als Isopren abgespalten (siehe Abb. 58). Die nach Decarboxylierung am C5 und C9 als Zwischenprodukt vorliegende entschützte AB-Hälfte wird nicht isoliert, sondern durch Zugabe der CD-Hälfte direkt umgesetzt.

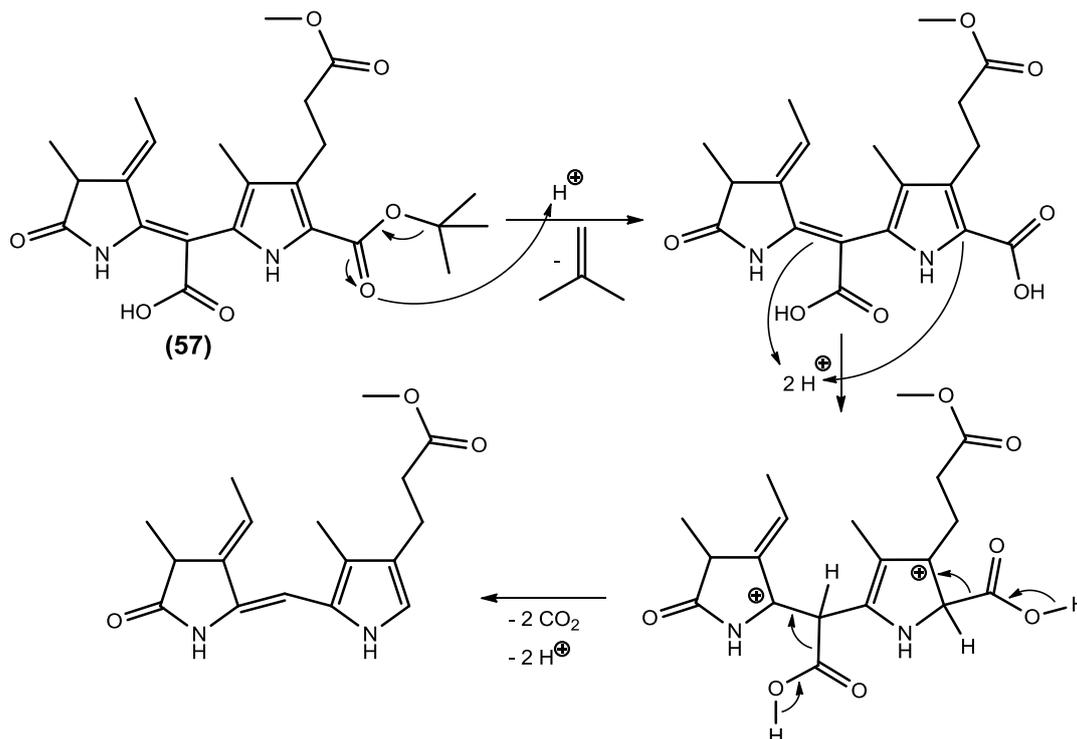


Abb. 58: Mechanismus der säurekatalysierten Entschützung der AB-Hälfte (**57**)

Die Protonierung der Formylgruppe ermöglicht einen nucleophilen Angriff der jetzt unsubstituierten  $\alpha$ -Position des B-Rings. Nach Wiederherstellung der Aromatizität des B-Rings ergibt die Wasserabspaltung an der mittleren Methinbrücke nach Neuorganisation der  $\pi$ -Elektronen das vollständig konjugierte  $\pi$ -Elektronensystem des Tetrapyrrols (siehe Abb. 59). Der Farbumschlag der gelb-grünlichen Reaktionsmischung zum charakteristischen Blau des Tetrapyrrols wird allerdings erst nach Methanolzugabe beobachtet. Die Herabsetzung der Protonenkonzentration der Reaktionsmischung durch Methanolzugabe könnte die Abspaltung des Protons am C9 des B-Rings erleichtern. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Phycocyanobilindimethylesters (**75**) sind, neben dem Signal der beiden Estergruppen bei 3.61 ppm, die drei

Signale der Methinbrücken bei 5.85 ppm (C5), 6.07 ppm (C15) und 7.24 ppm (C10) besonders charakteristisch.

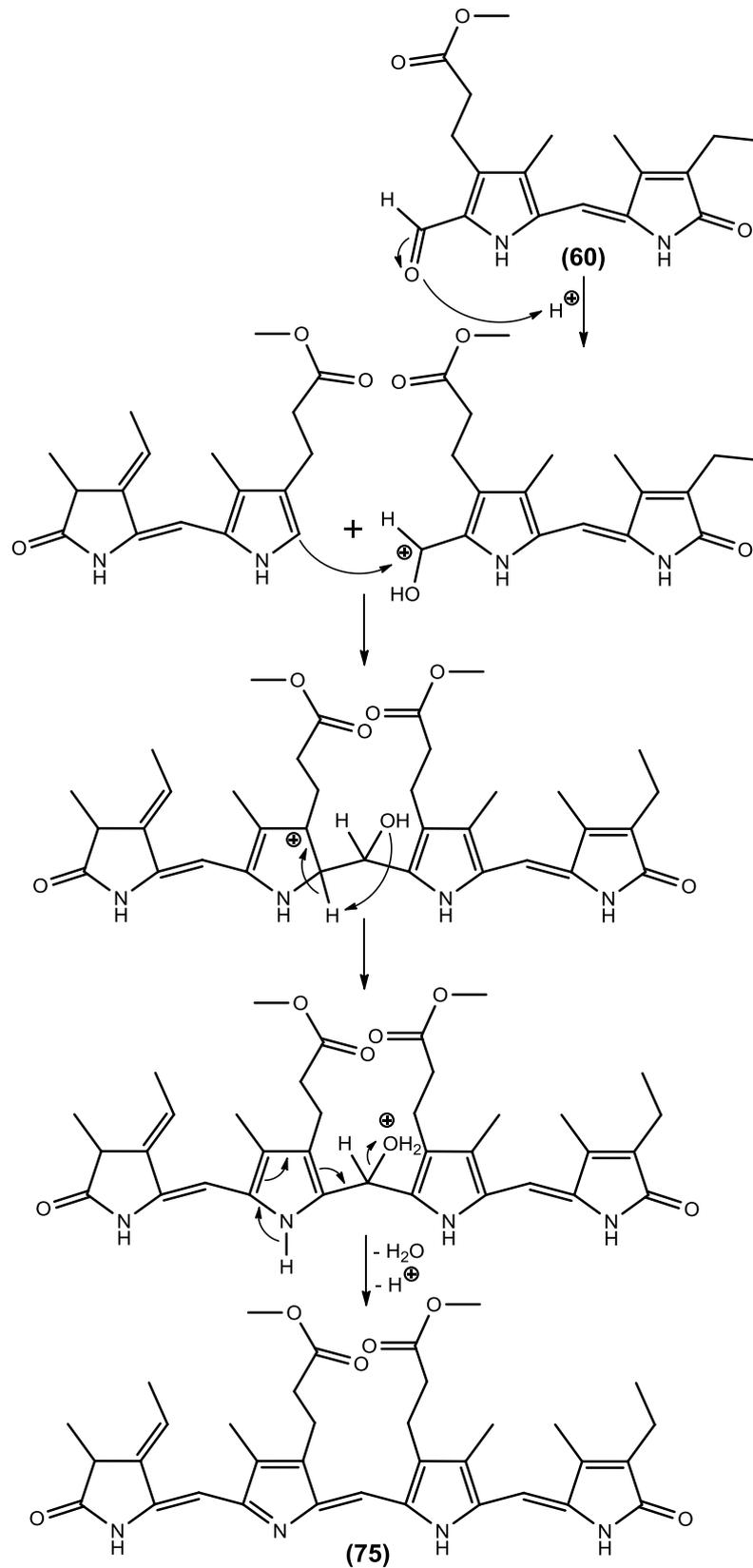


Abb. 59: Mechanismus der säurekatalysierten Kondensation zum Tetrapyrroldimethylester (75)

In der finalen Synthese wird der Phycocyanobilindiester (**75**) durch die Einwirkung eines sauren Ionenaustauschers in einem Lösungsmittelgemisch aus Trifluoressigsäure und Wasser zu freien Disäure, dem Phycocyanobilin (**1**), umgesetzt (siehe Abb. 60). Das Carbonylkohlenstoffatom der Esterfunktion wird nucleophil von der Hydroxygruppe der Trifluoressigsäure angegriffen und gleichzeitig protoniert. Danach greift die Methoxygruppe das Carbonylkohlenstoffatom der Trifluoressigsäure intramolekular an. Die Abspaltung von Trifluoressigsäuremethylester führt zur Freisetzung der Disäure (**1**).

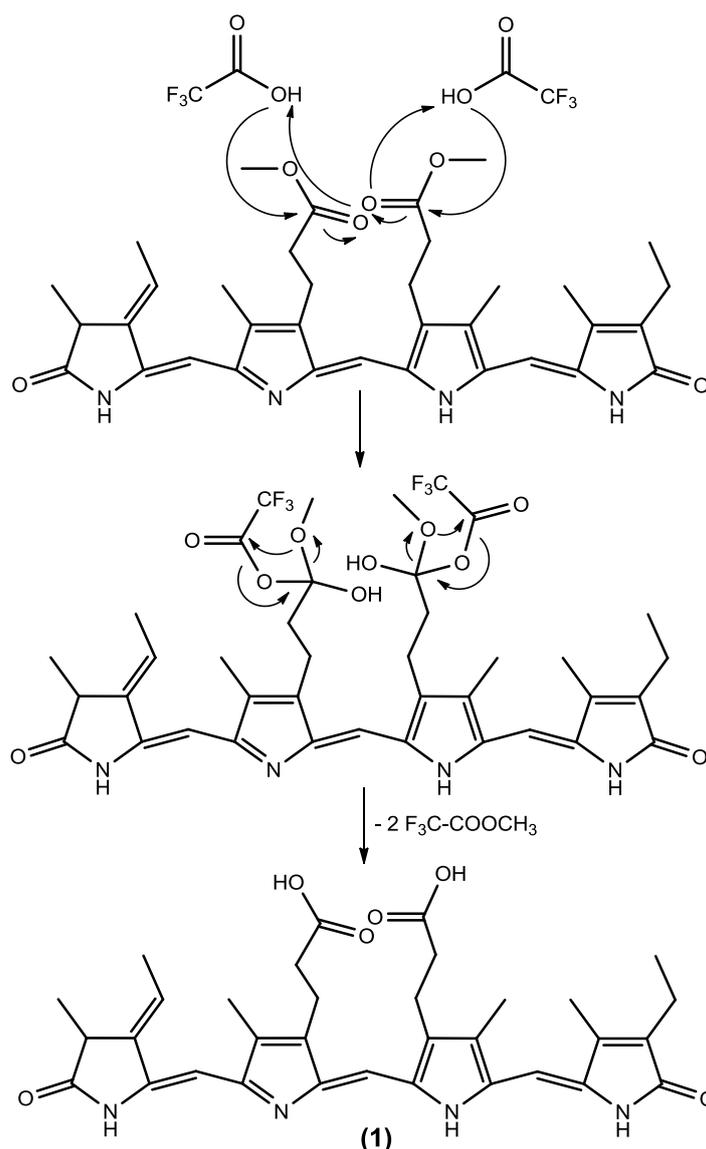


Abb. 60: Mechanismus der Acidolyse

Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Phycocyanobilins (**1**) fehlt das Signal der Estergruppen (bei 3.6 ppm), die drei charakteristischen Signale der Methinbrücken bei 5.85 ppm (C5), 6.07 ppm (C15) und 7.24 ppm (C10) bleiben erhalten (siehe Abb. 61).

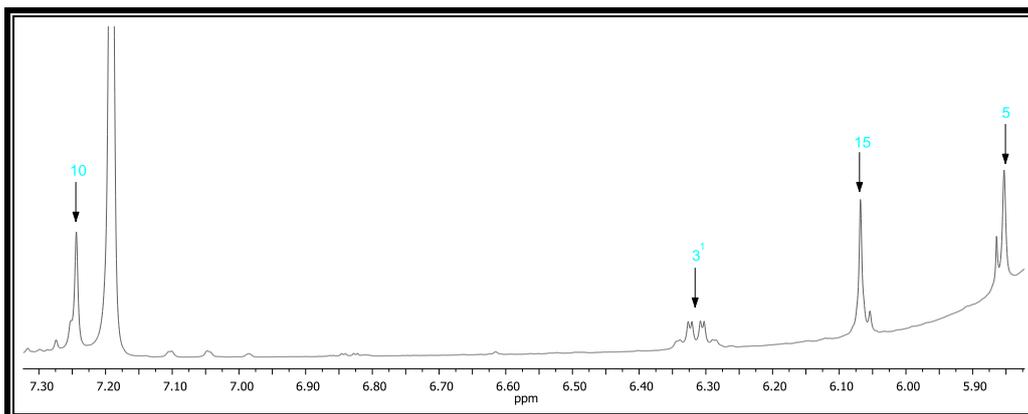


Abb. 61: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Phycocyanobilin (**1**)

#### 4.1.7.1 ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilin (**69**)

Die Verknüpfung der  $^{13}\text{C}$ -markierten CD-Hälfte (**62**) und anschließende Entschützung erfolgt ebenfalls nach dem in Abschnitt 4.1.7 beschriebenen Mechanismus. Das ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilin (**69**) wird mit einer Ausbeute von 23 % isoliert. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zeigt für die Methinbrücken Signale bei 5.86 ppm (C5) und 7.12 ppm (C10). Das signifikante, durch die  $^{13}\text{C}$ -Markierung zum Duplett aufgespaltene, Signal der  $^{13}\text{C}15$  Methinbrücke liegt bei 5.88 und 6.28 ppm ( $^1J = 158 \text{ Hz}$ ). Die Abwesenheit des normalen C15 Signals bei 6.07 ppm beweist die vollständige Isotopenmarkierung des Produkts (siehe Abb. 62, ganzes Spektrum siehe Abb. 114). Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum ist ein intensives Signal bei 96.08 ppm zu sehen.

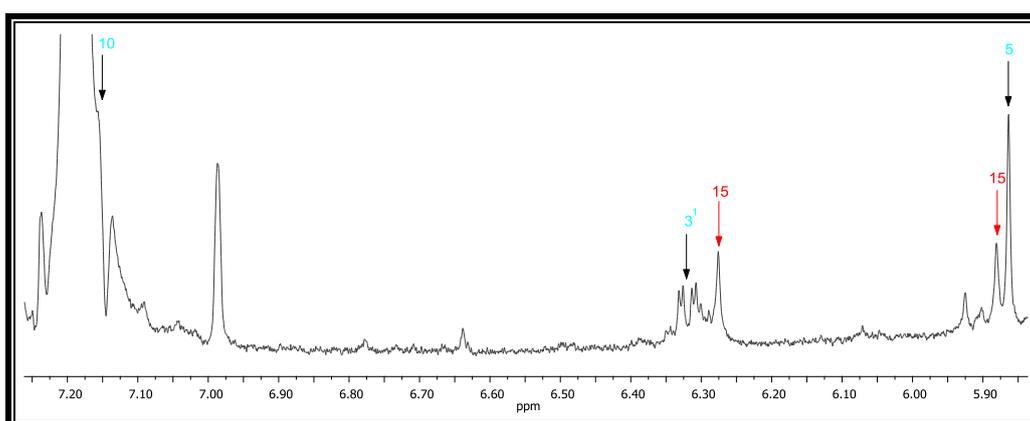


Abb. 62: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilin (**69**). Rot markiert ist das durch die  $^{13}\text{C}$ -Markierung aufgespaltene Signal der Methinbrücke.

#### 4.1.7.2 (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilin (72)

Die <sup>15</sup>N-markierte CD-Hälfte (**65**) wird nach dem in Abschnitt 4.1.7 beschriebenen Mechanismus mit der AB-Hälfte (**57**) zum Tetrapyrrol verknüpft und anschließend entschützt. Da die CD-Hälfte (**65**) als Säure vorliegt, wird als Produkt der Monoester (**71**) erwartet. Jedoch wird der Monoester (**71**) nur als Nebenprodukt und der Diester (**70**) als Hauptprodukt gewonnen. Es ist daher zu vermuten, dass durch die Zugabe des Methanols die freie Säuregruppe zum größeren Teil verestert wird. Das (<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilin (**72**) wird mit einer Ausbeute von 36 % isoliert. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum sieht man aufgrund des schnellen NH-Austausches des C-Rings das Signal des <sup>15</sup>N-markierten Pyrrolstickstoffs leider nicht. Aber durch die <sup>15</sup>N-Markierung sind die beiden Signale der benachbarten Methinbrücken C15 bei 6.08 ppm (<sup>3</sup>J = 3.9 Hz) und C10 bei 7.27 (<sup>3</sup>J = 4.3 Hz) zum Duplett aufgespalten (siehe Abb. 63, ganzes Spektrum siehe Abb. 117), so dass das (<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilin (**72**) einwandfrei verifiziert werden kann.

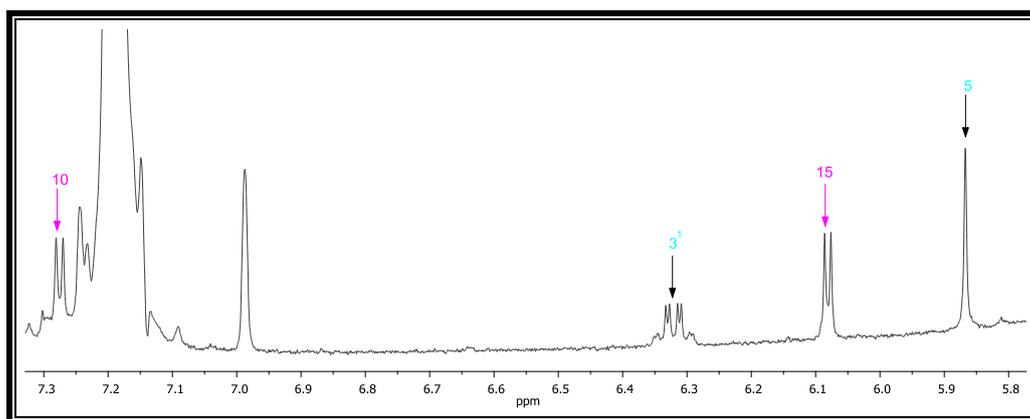


Abb. 63: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilin (**72**). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup>N-Markierung aufgesplattene Signal der beiden benachbarten Methinbrücken.

#### 4.1.7.3 (13H)-Phycocyanobilin (74)

Die Verknüpfung der neuartigen (7H)-CD-Hälfte (**67**) und die anschließende Entschützung erfolgt nach dem in Abschnitt 4.1.7 beschriebenen Mechanismus. Das (13H)-Phycocyanobilin (**74**) wird mit einer Ausbeute von 37 % isoliert. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ergibt die freie C13 Position ein Singulett bei 7.13 ppm (siehe Abb. 64, ganzes Spektrum siehe Abb. 119). Die Signale der drei Methinbrücken liegen bei 6.03 ppm (C5), 6.65 ppm (C15) und 7.15 ppm (C10).

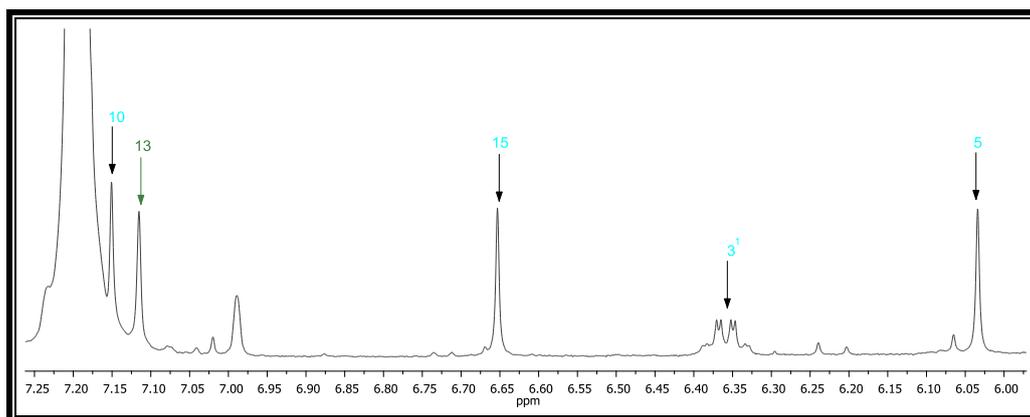


Abb. 64: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (13H)-Phycocyanobilin (**74**). Grün markiert ist das Signal der unsubstituierten C13 Position.

## 4.2 Synthese der Biliverdine

### 4.2.1 Synthese des A-Rings

Zur Einführung von zwei Tosylschutzgruppen wird die Ringsynthese der B/C-Ringvorstufe (**19**) modifiziert (siehe Abb. 65). Ausgehend von Acrolein und Natriumtosylat wird der modifizierte Aldehyd (**50**) dargestellt. Anschließend wird dieser in einer Henry-Reaktion um einen C2-Baustein verlängert und gleichzeitig für den abschließenden Ringschluss aktiviert. Das durch DMAP deprotonierte Nitroethan greift dann die Carbonylfunktion des Aldehyds (**50**) nucleophil an. Durch Zugabe von Essigsäure-anhydrid wird unter Abspaltung von Essigsäure das 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan (**51**) mit einer Ausbeute von 32 % gewonnen. Durch das Einführen der Tosylschutzgruppe ist eine Verringerung der Ausbeute im Vergleich zum 4-Acetoxy-5-nitrohexan-säuremethylester (**16**) (Ausbeute 56 %) zu beobachten. Der folgende Ringschluss verläuft nach dem in Abschnitt 4.1.2.5 beschriebenen Mechanismus mit einer Ausbeute von 22 %. Auch bei der Ringschlussreaktion wird eine geringe Ausbeute erzielt, was vermutlich auf die sterisch anspruchsvollen Tosylgruppen zurückzuführen ist.

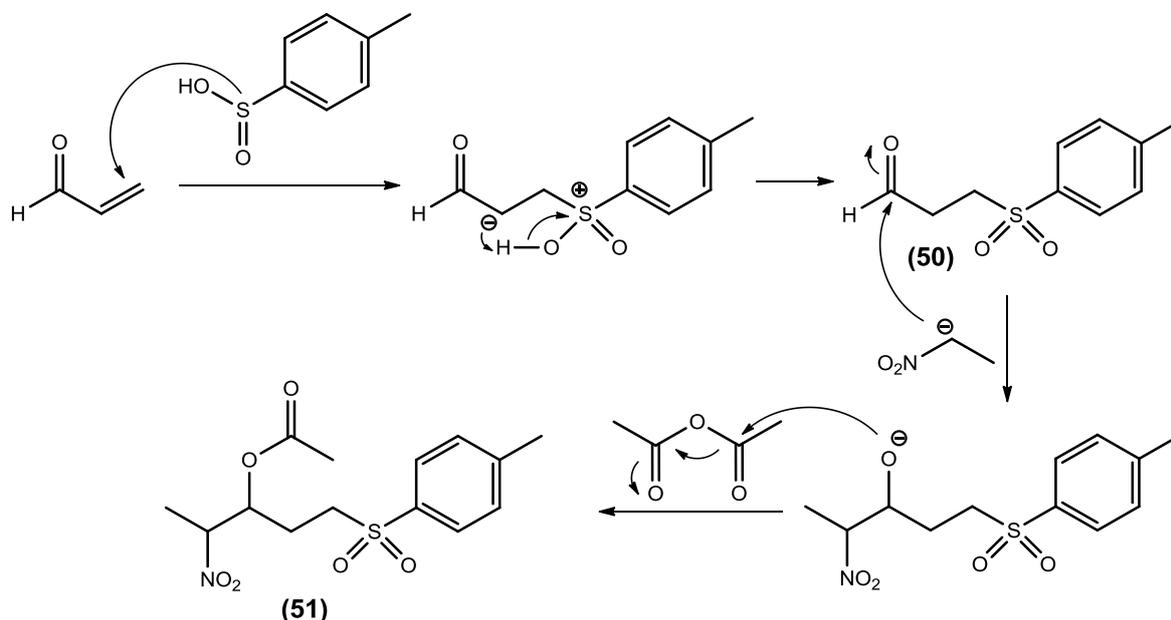


Abb. 65: Synthese des Tosyl-geschützten Bausteins (**51**)

Die modifizierte B/C-Ringvorstufe (**52**) soll in den nächsten beiden Syntheseschritten dem Substitutionsmuster des D-Rings angepasst werden (siehe Abb. 66). Zuerst erfolgt eine von Inomata *et al.* entwickelte Bromierung mit Trimethylphenyl-

ammoniumtribromid. Das partiell positiv geladene äußere Bromatom kann unter Zerfall des Tribromids elektrophil an das Pyrrolringsystem angreifen. Unter Abspaltung von Bromwasserstoff und Wiederherstellung der Aromatizität wird der bromierte Pyrrolring (**53**) mit einer Ausbeute von 81 % erhalten. Die in der Literatur angegebene quantitative Umsetzung konnte nicht erreicht werden. Die folgende regioselektive Hydrolyse beginnt aufgrund des starken induktiven Effektes der Tosylgruppe mit der selektiven Protonierung am C5, gefolgt von dem nucleophilen Angriff eines Wassermoleküls am C2. Unter Abspaltung von Bromwasserstoff wird die Ketofunktion am C2 hergestellt und der geschützte D-Ring (**54**) mit einer Ausbeute von 50 % gewonnen.

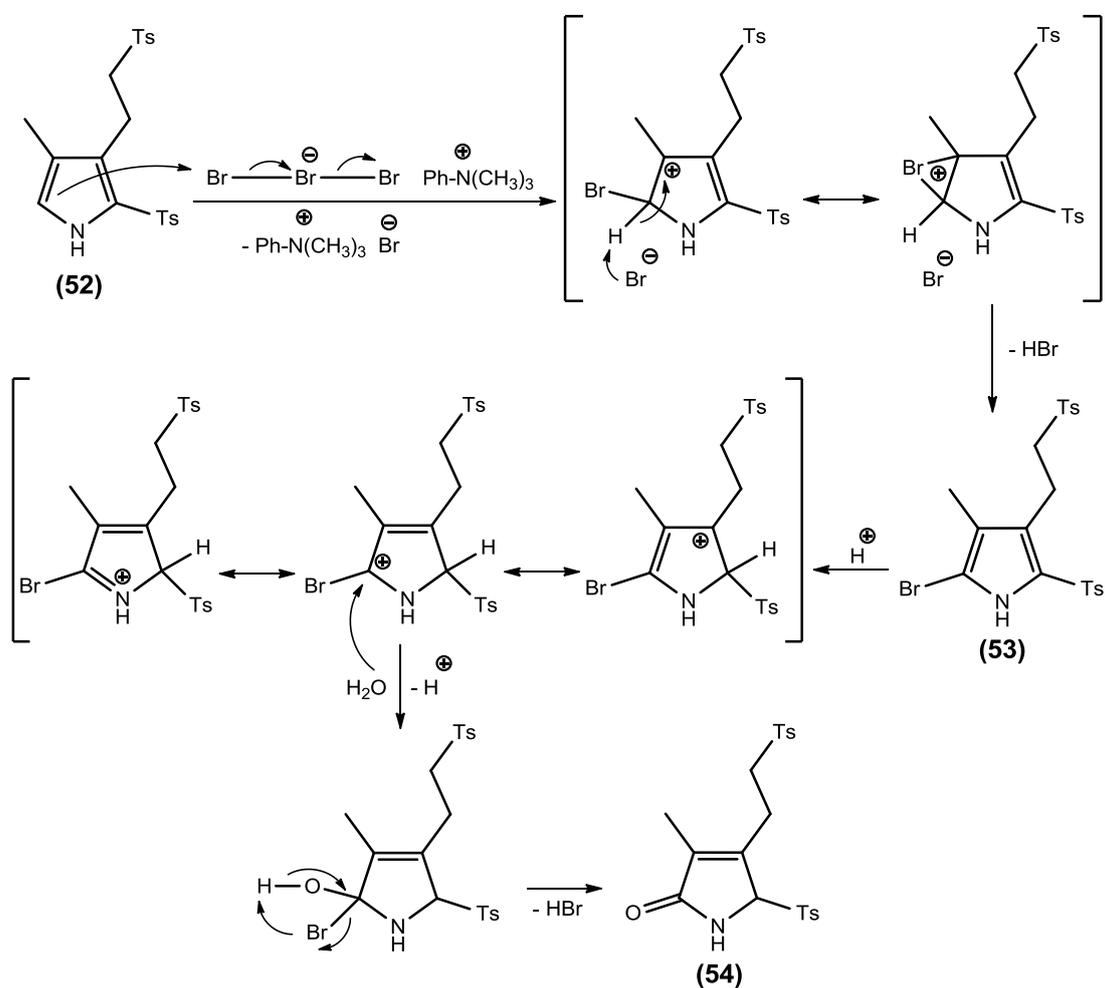


Abb. 66: Mechanismus zur Darstellung des geschützten D-Rings (**54**)

Nach erfolgreicher Synthese des geschützten D-Rings (**54**) muss im letzten Schritt die Tosylgruppe am C3<sup>2</sup> unter Ausbildung der Vinylgruppe und gleichzeitiger Abspaltung der Tosylgruppe am C2 erfolgen. Diverse Versuche nach Jacobi *et al.*<sup>[39]</sup> mit *m*-Chlorperbenzoesäure, sowie nach Inomata *et al.*<sup>[38,48]</sup> mit Kalium-*tert*-butylat

fürten nicht zum gewünschten Ergebnis, so dass diese Syntheseroute nicht weiter verfolgt wird.

## 4.2.2 Synthese des D-Rings

### 4.2.2.1 Variante A

In einer Knoevenagel-Kondensation wird 1,1-Dimethoxyaceton mit 2-Cyanoacetamid verknüpft (siehe Abb. 67). Zuerst wird das 2-Cyanoacetamid deprotoniert, dann greift das entstandene Carbanion das Carbonyl-Kohlenstoffatom des 1,1-Dimethoxyaceton nucleophil an. Nach Wasserabspaltung wird das ungesättigte Produkt **(30)** erhalten. Anschließend wird die Doppelbindung mit Natriumborhydrid reduziert. Die Ausbeute beträgt bei beiden Schritten 81% (Lit. 87 % und 78 % <sup>[49]</sup>).

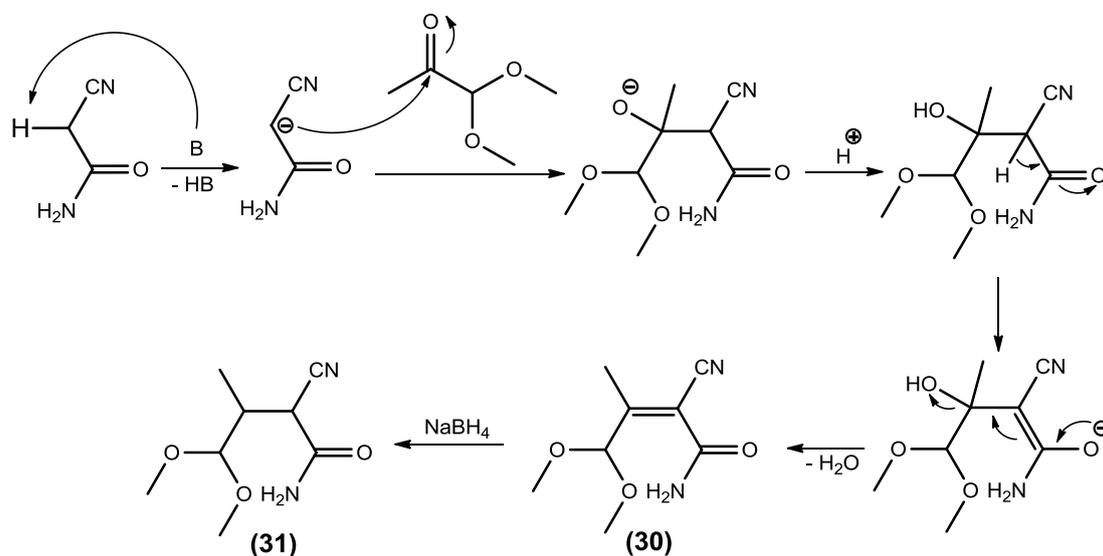


Abb. 67: Mechanismus der Knoevenagel-Kondensation

Die folgende säurekatalysierte Reaktion führt zum Ringschluss (siehe Abb. 68). Durch Protonierung wird eine Methoxygruppe entfernt, so dass das intermediär gebildete Carbeniumion von dem freien Elektronenpaar der Amidfunktion unter Ausbildung einer neuen C-N-Bindung und Entstehen eines Fünfrings angegriffen werden kann. Nach Entfernung der zweiten Methoxygruppe führt eine finale [1,3]-sigmatrope Umlagerung des Protons am C3 zum C5 zur D-Ring-Vorstufe **(32)**. Die Ausbeute dieser Reaktion beläuft sich auf 80 % (Lit. 78 % <sup>[49]</sup>).

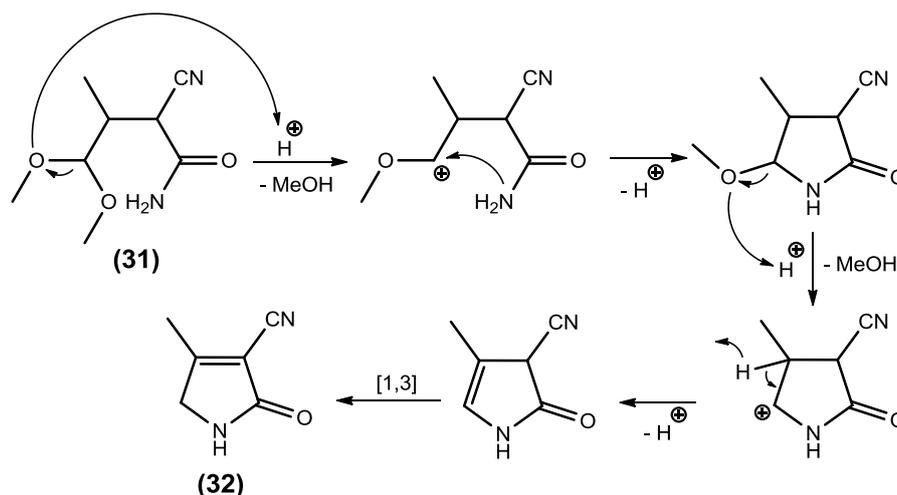


Abb. 68: Säurekatalysierter Pyrrolringschluss

Nach erfolgreicher Synthese des Pyrrolrings (**32**) soll die Nitrilgruppe durch partielle Reduktion mit DiBAL-H zum Aldehyd funktionalisiert werden. Diverse Versuche, in denen die Reaktionsbedingungen (Reaktionsdauer, Temperatur, Molarität, Lösungsmittel) modifiziert wurden, führten zu keinem positiven Ergebnis. Da die Umsetzung eines B/C-Ringstufenderivat (3-Cyano-4-methyl-1H-pyrrol) mit DiBAL-H zum gewünschten Aldehyd in der Arbeitsgruppe von Lugtenburg *et al.* erfolgreich war<sup>[50]</sup>, ist möglicherweise die zur Nitrilgruppe benachbarte Ketogruppe, die eine starke elektronenziehende Wirkung besitzt, der Grund für das nicht Gelingen der Synthese.

#### 4.2.2.2 Variante B

Nach Jacobi *et al.* soll in vier Syntheseschritten der modifizierte D-Ring (**41**) dargestellt werden (siehe Abb. 69)<sup>[39]</sup>. Ausgehend von  $\gamma$ -Butyrolacton wird in einer nucleophilen, ringöffnenden Substitution die 4-(4-Chlorphenylselanyl)butansäure (**35**) mit einer Ausbeute von 54 % synthetisiert. Die Ausbeute der Literatur (79 %<sup>[39]</sup>) konnte nicht erreicht werden. Die Säure (**35**) wird mit Oxalylchlorid zum Säurechlorid aktiviert. Nach Veresterung protoniert der gebildete Chlorwasserstoff die Carbonylgruppe und das Chloridion addiert an das Carbonyl-Kohlenstoffatom. Durch Deprotonierung zerfällt die Zwischenstufe in das Säurechlorid und Kohlenstoffdioxid. Anschließend wird in einer „Ein-Topf“-Reaktion das 1-Amino-2,2-dimethoxypropan (**38**) acyliert und gleichzeitig das Acetal hydrolysiert. Dazu greift das freie Elektronenpaar der Aminogruppe zunächst die Carbonylfunktion des Säurechlorids nucleophil an. Bei der Acetalhydrolyse wird zunächst der Sauerstoff einer Methoxygruppe protoniert. Nach Abspaltung von Methanol kann sich Wasser anlagern.

Durch erneute Protonierung der verbliebenen Methoxygruppe wird ein zweites Methanolmolekül abgespalten und [4-(4-Chlorphenylselanyl)butylamino]-propan-2-on (**39**) erhalten (Mechanismus der Acetalhydrolyse siehe Abb. 43). Die Aminogruppe wird im folgenden Schritt mit einer Boc-Schutzgruppe versehen. Die Ausbeute der beiden Syntheseschritte betragen 85 % und 89 % und entsprechen in etwa den Literaturangaben (80 % und 94 %<sup>[39]</sup>).

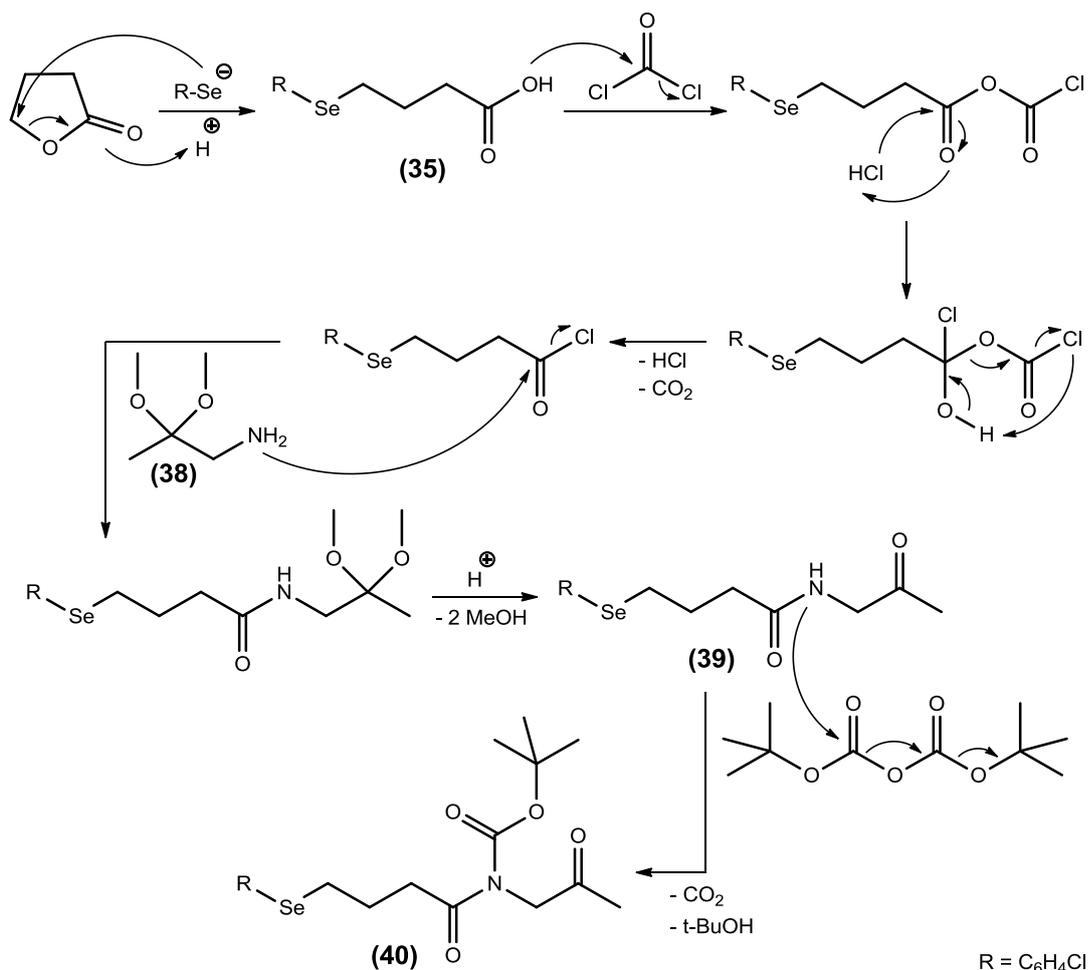


Abb. 69: Mechanismen der Route B

Die abschließende intramolekulare Aldolkondensation führt leider nicht zum modifizierten D-Ring (**41**). Eventuell lässt die sterisch anspruchsvolle Selanyl-schutzgruppe einen Ringschluss nicht zu.

### 4.2.2.3 Variante C

Diese innovative Variante zur gleichzeitigen Darstellung des Biliverdin A-/D-Rings basiert in den ersten zwei Synthesestufen auf dem Synthesekonzept des Phycocyanobilin A-Rings (**7**). Ausgehend von 3,4-Dimethylmaleinsäureanhydrid wird das (4-Methoxybenzyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dion (**45**) nach dem in Abschnitt 4.1.1 beschriebenen Mechanismus mit einer Ausbeute von 83 % erhalten. Im nächsten Schritt wird die Schutzgruppe des Stickstoffs durch Oxidation mit Ammoniumcer(IV)-nitrat entfernt und das 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion (**46**) mit einer Ausbeute von 60 % gewonnen. Die Ausbeuten liegen im Bereich der Werte, die für den A-Ring (**7**) erhalten wurden (90% und 68 %). Es folgt eine photochemische Bromierung von einer der beiden Methylgruppen mit einer Ausbeute von 20 % (siehe Abb. 70). Die Ausbeute des entsprechenden Furanderivats liegt nach Literatur bei 60 %<sup>[51]</sup>.

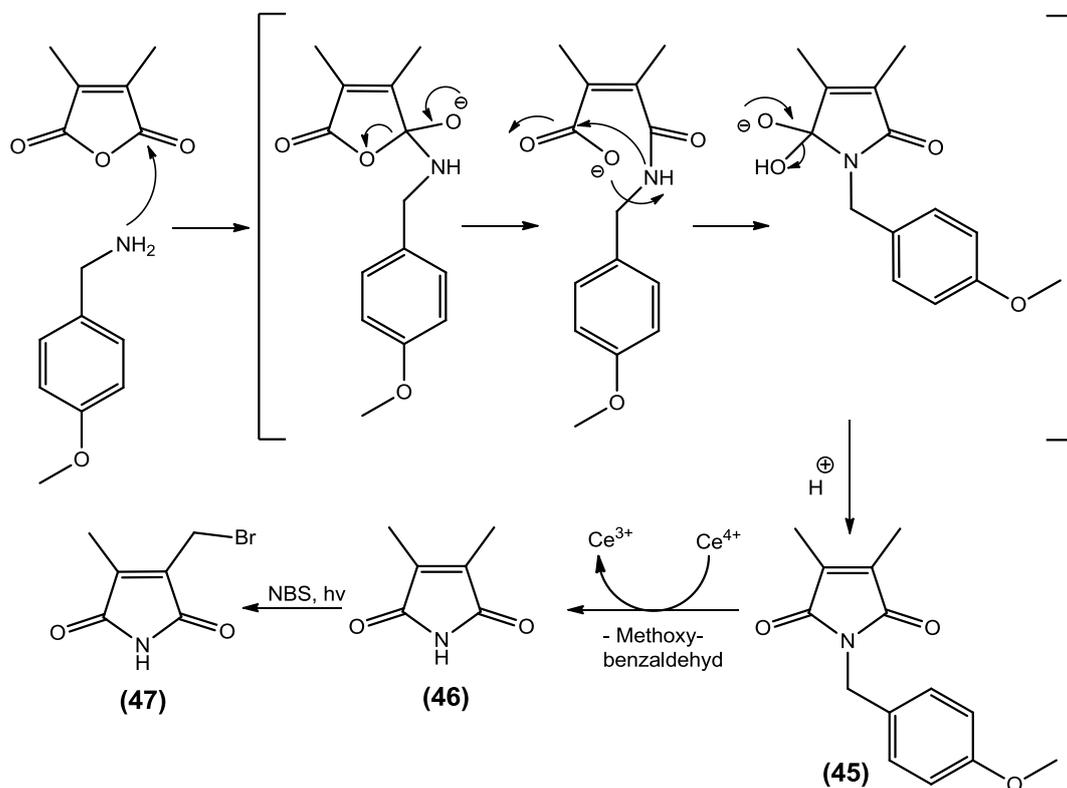


Abb. 70: Synthese der bromierten Vorstufe (**47**)

Nach einer nucleophilen Substitution mit Triphenylphosphin und Deprotonierung mit n-Butyllithium wird das für die folgende Wittig-Reaktion benötigte Ylid dargestellt. Das negativ geladene Kohlenstoffatom des Ylids greift nucleophil an die Carbonylfunktion des Formaldehyds unter Ausbildung eines Betain-Intermediats an. Das durch Weiterreaktion entstandene cyclische Oxaphosphetan zerfällt aufgrund

der Ausbildung der starken Phosphor-Sauerstoff-Bindung in Triphenylphosphinoxid und dem Olefin **(49)** (siehe Abb. 71). Das D-Ring-Derivat **(49)** konnte erfolgreich verifiziert werden, allerdings konnte die Funktionalisierung mit Lawessons-Reagenz zum Biliverdin A-/D-Ring aufgrund der zu geringen Ausbeute nicht durchgeführt werden. Der schwierige Umgang mit dem für die Reaktion benötigten, gasförmigen Formaldehyd könnte der Hauptgrund der zu niedrigen Ausbeute sein. Die Ausbeute konnte auch nach einigen Variationen in der Durchführung nicht verbessert werden, so dass diese vielversprechende Syntheseroute „eingefroren“ wird.

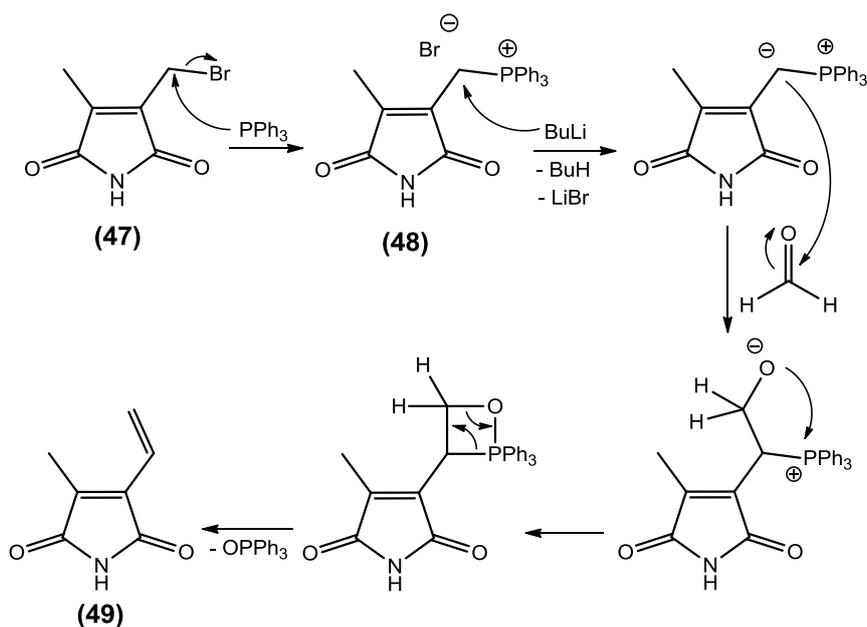


Abb. 71: Synthese der A-/D-Ringvorstufe **(49)**

### 4.3 Assemblierung der Phycocyanobilin-Chromophore in das Protein 1393 GAF 3 des Cyanobakteriums *Synechocystis*

Die Assemblierung der Chromophore in das Protein beruht auf der Ausbildung einer Thioetherbrücke, die das Kohlenstoffatom C3<sup>1</sup> des Chromophors mit dem Schwefelatom einer Cysteinseitenkette des Proteins verknüpft (siehe Abb. 72). Dieses führt zu einem Verlust der Ethylden-Doppelbindung des A-Rings, wodurch eine Verkürzung des konjugierten  $\pi$ -Systems und eine Änderung der absorptionsspektroskopischen Eigenschaften resultieren. Nach Falk<sup>[61]</sup> wird bei der Assemblierungsreaktion zuerst die Methinbrücke C5 protoniert. Die Stabilisierung erfolgt durch das freie Elektronenpaar des Stickstoffatoms, wodurch der A-Ring in eine Acyliminium-Form überführt wird. Es folgt ein nucleophiler Angriff der Thiofunktion eines Cysteins unter Ausbildung der kovalenten Chromophor-Protein-Bindung. Durch Protonierung der Position C3 erlangt der A-Ring wieder seine Acyliminium-Form. Abschließende Deprotonierung am C5 führt zur Wiederherstellung der Doppelbindung<sup>[16,61]</sup>.

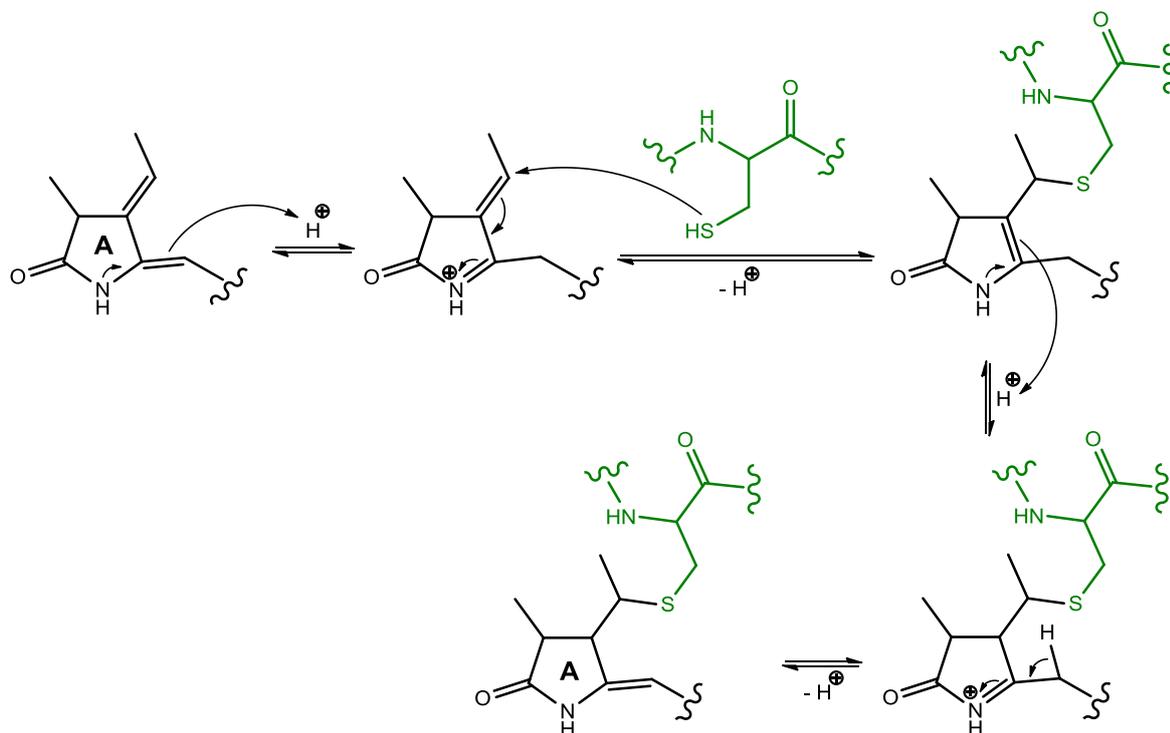


Abb. 72: Mechanismus der Ausbildung einer Thioetherbindung zwischen dem A-Ring des Chromophors und einem Protein Cystein.

Die separate Assemblierung von ( $^{15}\text{C}$ )-Phycocyanobilin (**69**) und ( $^{22}\text{N}$ )-Phycocyanobilin (**72**) in das Protein 1393 GAF 3 des Cyanobakteriums *Synechocystis* konnte erfolgreich durchgeführt werden. Zuerst wird das Protein 1393 GAF 3 ohne Chromophor (schwarz) und der markierte Chromophor (rot) vermessen. Die Chromophore zeigen im ungebundenen Zustand ein für Phycocyanobiline typische Absorptionsspektren mit einem Maximum bei etwa 610 nm. Die erfolgreiche Assemblierung des Chromophors zeigt im Protein-gebundenen Zustand eine Verschiebung des Maximums (blau). In Abb. 73 sind die Absorptionsspektren für das ( $^{15}\text{C}$ )-PCB (**69**) und in Abb. 74 die Absorptionsspektren für das ( $^{22}\text{N}$ )-PCB (**72**) dargestellt.

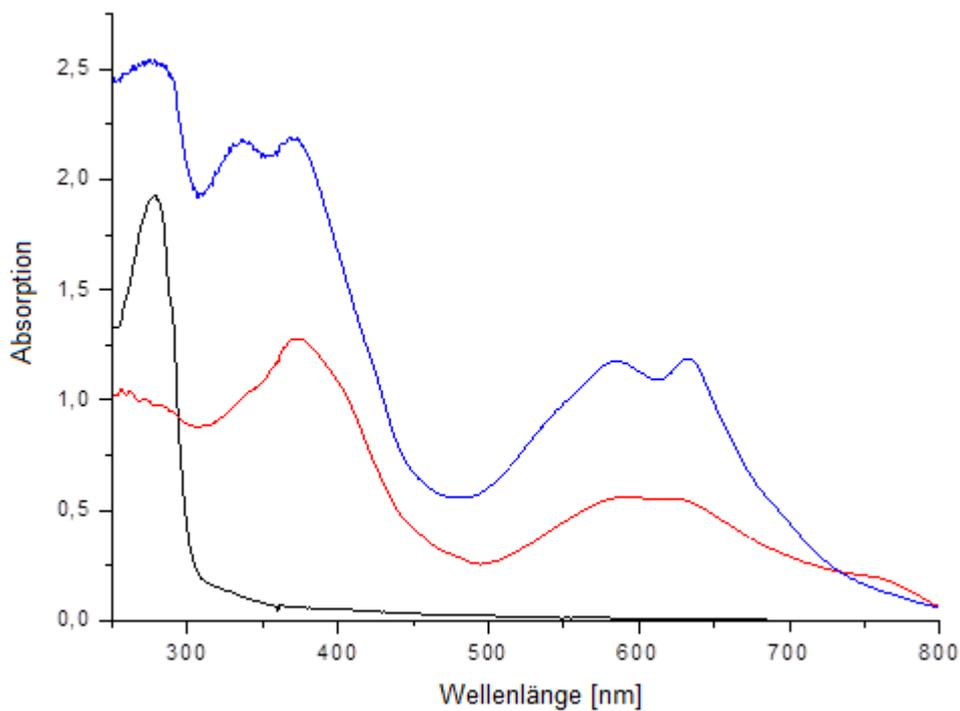


Abb. 73: Absorptionsspektren der Assemblierung: Protein 1393 GAF 3 ohne Chromophor (schwarz), ( $^{15}\text{C}$ )-PCB (**69**) (rot), ins Protein 1393 GAF 3 assemblierter Chromophor nach 24 h (blau).

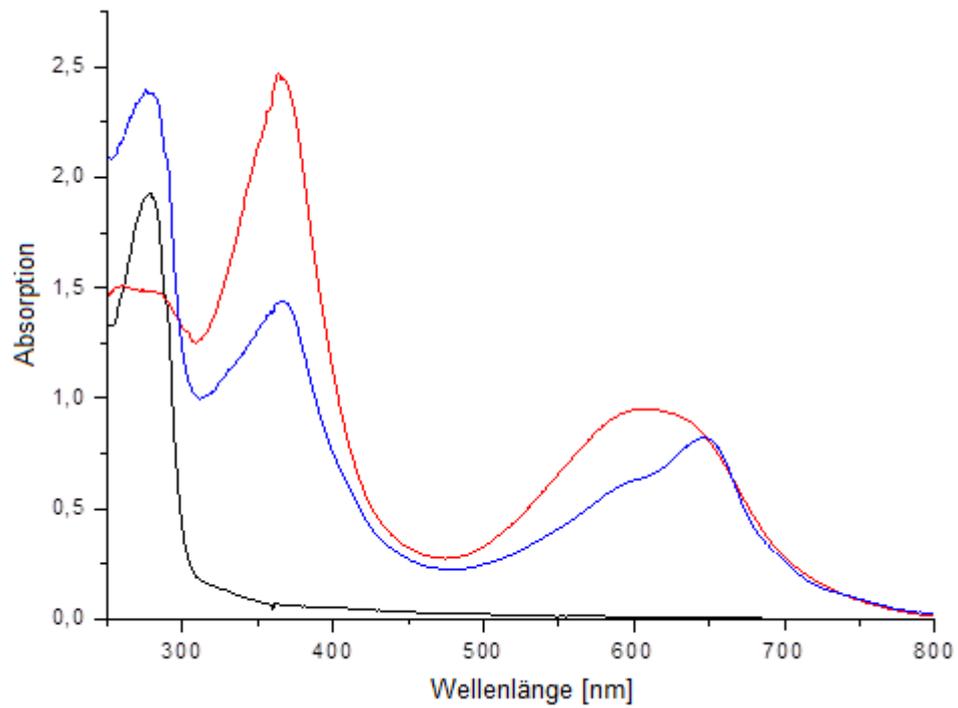


Abb. 74: Absorptionsspektren der Assemblierung: Protein 1393 GAF 3 ohne Chromophor (schwarz), (22-<sup>15</sup>N)-PCB (**72**) (rot), ins Protein 1393 GAF 3 assemblierter Chromophor nach 24 h (blau).

## 5 Ausblick

Nach erfolgreicher Synthese des ( $15\text{-}^{13}\text{C}$ )- und ( $22\text{-}^{15}\text{N}$ )- Phycocyanobilins und deren separater Assemblierung in das Protein 1393 GAF-3 (aus dem Cyanobakterium *Synechocystis*) sollen durch spektroskopische Untersuchungen (FTIR, Raman, Festkörper-NMR) das C15-Brückensignal und das Signal des C-Ring Stickstoffs N22 einwandfrei zugeordnet sowie ihre Wechselwirkungen mit den umgebenden Aminosäuren analysiert werden.

Das ( $13\text{H}$ )-Phycocyanobilin konnte erstmals erfolgreich synthetisiert werden. Der Austausch der relativ großen Methylgruppe gegen ein Wasserstoffatom soll Einblicke in die Funktion des Substituenten am C13 während der Photoisomerisierung im Protein-gebundenen Zustand geben. Die Assemblierung wird demnächst erfolgen, so dass vergleichende Untersuchungen mit dem nativen Chromophor durchgeführt werden können.

Die Synthese der beiden markierten Biliverdine IX $\alpha$  ( $5\text{-}^{13}\text{C}$  und  $15\text{-}^{13}\text{C}$ ) konnte aufgrund der Syntheschwierigkeiten des A-/ D-Rings nicht abgeschlossen werden. Jedoch wurde eine innovative Variante zur gleichzeitigen Darstellung des A-/D-Rings entwickelt. Diese könnte nach Optimierung der Grundstein für eine einfachere Synthese von Biliverdin IX sein.

## 6 Zusammenfassung

Phytochrome sind Rotlicht-Photorezeptoren, die offenkettige Tetrapyrrole (Phycocyanobilin **(1)**, Biliverdin IX $\alpha$  **(2)**, Phytochromobilin) als Chromophore nutzen und als photochemische Steuereinheit in höheren Pflanzen, Bakterien, Cyanobakterien, Moosen und Pilzen fungieren. Sie existieren in zwei thermisch stabilen Zuständen, dem inaktiven Grundzustand P<sub>r</sub> (r = red-absorbing form) und dem physiologisch aktiven Zustand P<sub>fr</sub> (fr = far-red-absorbing form). Die Absorption eines Lichtquants (~660 nm) initiiert die Z/E-Isomerisierung des Chromophors an der Methinbrücke zwischen den Ringen C und D als ersten Schritt der gegenseitigen Konversion zwischen den beiden stabilen Formen. Es liegt eine Vielzahl spektroskopischer Daten zur Phytochrom-Photochemie vor. Allerdings konnten erst kürzlich durch Anwendung von MELODI-HETCOR NMR Spektroskopie für das Phytochrom Cph1 aus dem Cyanobakterium *Synechocystis*, für das eine dreidimensionale Proteinstruktur vorliegt, detaillierte strukturelle Veränderungen des Chromophors und des Proteins beim Übergang von der P<sub>r</sub>-Form in die P<sub>fr</sub>-Form dokumentiert werden. Die sich verändernden Wechselwirkungen in der P<sub>r</sub>- und P<sub>fr</sub>-Form des Chromophors mit den umgebenden Aminosäuren bilden offensichtlich die Grundlage der Signalweitergabe.

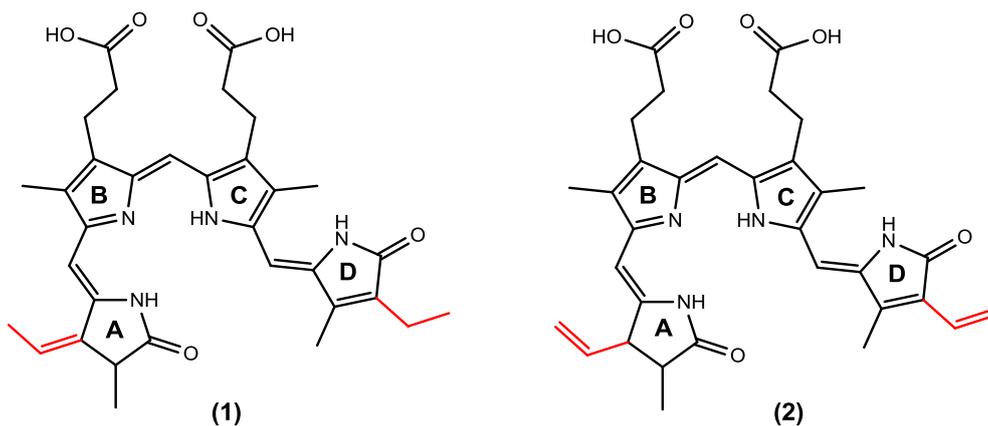


Abb. 75: Chromophore der Phytochrome: Phycocyanobilin **(1)** und Biliverdin IX $\alpha$  **(2)**. Die strukturellen Unterschiede und die Substituenten im A-Ring, die an der Bindung an das Cystein des Proteins beteiligt sind (Ethyliden bzw. Vinyl) sind rot markiert.

In der vorliegenden Arbeit wurden  $^{13}\text{C}$ - und  $^{15}\text{N}$ -markierte sowie strukturell modifizierte Tetrapyrrole für spektroskopischen Untersuchungen (FTIR, Raman, Festkörper-NMR) synthetisiert. Die Darstellung von offenkettigen Tetrapyrrolen und hier im speziellen die gezielte Einführung von Isotopen folgt prinzipiell der konvergenten Synthese nach Gossauer, durch die zunächst die einzelnen Pyrrolringe (A-D), durch Kupplung dann die Dipyrrrolhälften (AB, CD) und durch erneute Kupplung das Tetrapyrrol (ABCD) dargestellt werden. Da Isotopen-markierte Edukte sehr kostenintensiv sind, konnten diese nur in sehr geringen Mengen eingesetzt werden. Entsprechend musste bei vielen Stufen die Syntheseroute modifiziert werden, um sowohl die Anzahl der Synthesestufen zu reduzieren als auch deren Umsatz zu optimieren.

Es wurden zwei markierte Phycocyanobiline ( $15\text{-}^{13}\text{C}$  und  $22\text{-}^{15}\text{N}$ ) erfolgreich dargestellt und separat in das Bilin-bindende Protein 1393 GAF 3 (aus dem Cyanobakterium *Synechocystis*) assembliert. Ziel ist es, das C15-Brückensignal und das Signal des C-Ring Stickstoffs N22 einwandfrei zuzuordnen, sowie ihre Wechselwirkungen mit den umgebenden Aminosäuren zu untersuchen (die Messungen stehen noch aus). Außerdem konnte erstmals das strukturell modifizierte ( $13\text{H}$ )-Phycocyanobilin erfolgreich synthetisiert werden. Der Austausch der relativ großen Methylgruppe gegen ein Wasserstoffatom soll Einblicke in die Funktion des Substituenten am C13 während der Photoisomerisierung im Protein-gebundenen Zustand geben.

Die Synthese von zwei markierten Biliverdinen IX $\alpha$  ( $5\text{-}^{13}\text{C}$  und  $15\text{-}^{13}\text{C}$ ) konnte aufgrund von Syntheseschwierigkeiten bei der Darstellung der A- bzw. D-Ringe nicht abgeschlossen werden. Jedoch wurde eine neue Variante zur Darstellung des D-Rings, die allerdings noch optimiert werden muss, gefunden.

## 7 Summary

Phytochromes are red light sensitive photoreceptors, which use open-chain tetrapyrroles (phycocyanobilin **(1)**, biliverdine IX $\alpha$  **(2)**, phytychromobilin) as chromophores and serve as a photochemical switch in higher plants, bacteria, cyanobacteria, mosses and fungi. They occur in two thermally stable states, the inactive ground state P<sub>r</sub> (r = red-absorbing form) and the physiological active state P<sub>fr</sub> (fr = far-red-absorbing form). The absorption of red light induces the Z/E isomerization of the chromophore as first step of the conversion between the two stable states. Beside other investigations, it was only recently possible by the application of MELODI-HETCOR NMR spectroscopy for the phytochrome Cph1 to detect structural changes between P<sub>r</sub> and P<sub>fr</sub> and to prove the photoisomerization of the C-D-methine-bridge. Changes in interactions between the chromophore and nearby amino acids in the P<sub>r</sub>- and P<sub>fr</sub>-state apparently are the basis for the signal transduction.

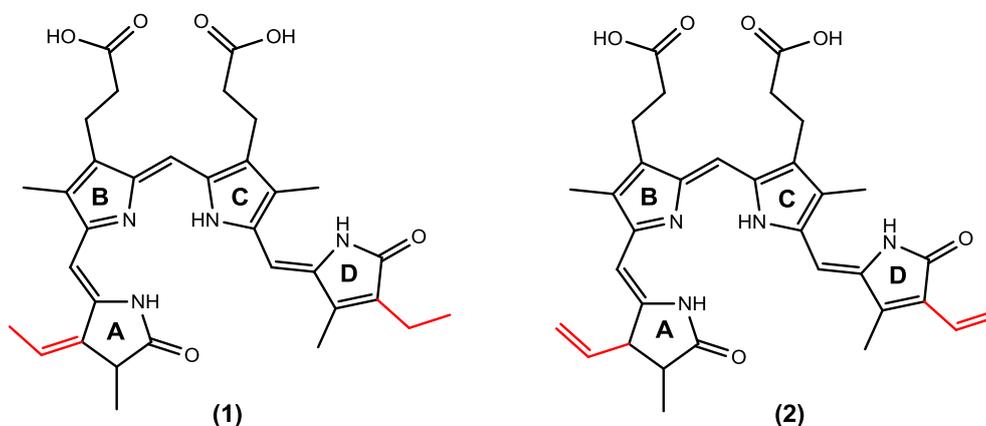


Abb. 76: Chromophores of the phytochromes: phycocyanobilin **(1)** and biliverdin IX $\alpha$  **(2)**. The structural differences and the substituents in ring A that are employed for the covalent linkage to the cysteine are marked in red.

In the present work several <sup>13</sup>C- and <sup>15</sup>N-labeled and structurally modified tetrapyrroles have been synthesized for spectroscopic analysis (FTIR, Raman, solid-state-NMR). The total synthesis of open-chain tetrapyrroles and the site-/position-specific insertion of isotopes follows the classical route by Gossauer, in which each pyrrole ring is synthesized separately (A-D), then coupled to yield the right and left half (AB, CD), and finally both halves being condensed to form the tetrapyrrole

## Summary

---

(ABCD). Due to the high price of several of the isotope-labeled reactants, the synthesis had to be modified in order to reduce the number of synthesis steps and to optimize the yields.

Two labeled phycocyanobilines ( $15\text{-}^{13}\text{C}$  and  $22\text{-}^{15}\text{N}$ ) were successfully synthesized and separately assembled into the protein 1393 GAF 3 (of the cyanobacteria *Synechocystis*). Destination is to locate the C15 methin-bridge signal and also the signal of the nitrogen N22 in the C-ring in the protein-bound state and to analyze the interactions with the nearby amino acids (analysis in progress). Besides isotope-labelling reactions, for first time ever the structural modified (13H)-phycocyanobilin was synthesized. The substitution of the bulky methyl group against a hydrogen atom can provide an insight into the function of the group at C13 in the photoisomerization in protein-bound state.

The synthesis of two labeled biliverdines IX $\alpha$  ( $5\text{-}^{13}\text{C}$  and  $15\text{-}^{13}\text{C}$ ) could not be completed because of difficulties in synthesis of the A-/ D-rings. However a new synthesis route for the D-ring could be discovered (not optimized).

## 8 Experimentalteil

### 8.1 Geräte, Materialien und Methoden

#### 8.1.1 NMR-Spektroskopie

Folgende Geräte der Firma Bruker wurden zur Aufnahme der in dieser Arbeit aufgeführten NMR-Spektren verwendet: DRX 500 (500 MHz für  $^1\text{H}$ -NMR, 126 MHz für  $^{13}\text{C}$ -NMR), DRX 400 (400 MHz für  $^1\text{H}$ -NMR, 101 MHz für  $^{13}\text{C}$ -NMR), ARX 250 (250 MHz für  $^1\text{H}$ -NMR, 63 MHz für  $^{13}\text{C}$ -NMR). Die Datensoftware der Firma Bruker ist „TopSpin 1.3“, für die Auswertung und Bearbeitung der NMR-Spektren wurde „MestReNova“ der Firma Mestrelab Research verwendet. Die Multiplizität der Signale wird durch die Abkürzungen s (Singulett), d (Duplett), t (Triplet), q (Quartett), quin (Quintett) und m (Multipllett) angegeben. Die Peakhöhe wird wegen Abbildungsproblemen des Moleküls in manchen Spektren durch zwei diagonale Linien unterbrochen.

#### 8.1.2 Massenspektroskopie

Die Aufnahme von Elektronenstoß-Methode (EI) wurden auf Spektrometern der Firma Finnigan (MAT 8200, MAT 8400, MAT SSQ 7000) mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV durchgeführt. Die Massenspektren der Elektronenspray-Methode (ESI) wurden entweder mit einem Esquire 3000 Spektrometer der Firma Bruker oder einem Quadrupol Spektrometer der Firma Hewlett Packard aufgenommen. In den Spektren sind die Massenzahlen in  $m/z$  und die relativen Intensitäten der Peaks in % angegeben. Die hochaufgelösten Massenspektren wurden mit einem Finnigan MAT 95 Spektrometer gemessen.

#### 8.1.3 UV/VIS-Spektroskopie

Die UV/VIS-Spektren wurden auf einem Spektrometer der Firma Shimadzu (UV-2401 PC) aufgenommen. Die Datenverarbeitung wurden mit der UVPC-Software 3.9 von Shimadzu durchgeführt. Bei den Küvetten handelte es sich um Quarzglas Küvetten (Suprasil<sup>®</sup>) der Firma Hellma mit einer Schichtdicke von 1 cm. Die verwendeten Lösungsmittel hatten Uvasol<sup>®</sup> Reinheit.

#### **8.1.4 Säulenchromatographie**

Säulenchromatographische Trennungen erfolgten unter Normaldruck mit Kieselgel 60 der Firma Merck. Trennungen per Flash-Chromatographie (MPLC) wurden bei maximal 3.0 bar über RediSep<sup>®</sup>-Kieselgel-Kartuschen der Firma Teledyne Isco auf einem CombiFlash<sup>®</sup> Companion<sup>®</sup> Chromatographiesystem durchgeführt. Analytische oder präparative Dünnschichtchromatogramme wurden entweder auf Kieselgel 60 oder Aluminiumoxid 60 F<sub>254</sub> DC-Aluminiumfolien bzw. -fertigplatten (Schichtdicke 0.2 mm) angefertigt. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ).

#### **8.1.5 HPLC**

Die präparativen HPLC-Trennungen wurden auf einem Chromatographiesystem bestehend aus zwei gekoppelten Gradientenpumpen des Typs 305 und 306 der Firma Gilson, einem Detektor SPD-10AV der Firma Shimadzu sowie einem Fraktionssammler des Typs 206 der Firma Gilson durchgeführt. Analytische Mengen wurden auf einem Chromatographiesystem der Firma Shimadzu bestehend aus einem Controller des Typs SCL-10A VP, zwei gekoppelten Gradientenpumpen des Typs LC-10AV VP und einem Detektor des Typs SPD-M10 VP durchgeführt. Für beide Systeme wurden Säulen des Typs Cromasil RP-C18 ODS-5-100 (RP-C18, Korngröße 5  $\mu\text{m}$ ) und Nucleosil 7-100 (Silica, Korngröße 7  $\mu\text{m}$ ) verwendet. Für die präparative Trennung wurden Säulen der Größe 250 · 21 mm und für die analytische Trennung Säulen der Größe 125 · 4.6 mm eingesetzt.

## 8.2 Lösungsmittel und Reagentien

Acetonitril	Acros, z.A.
Acrylsäuremethylester	Merck, z.S.
Ameisensäure	Merck, z.A.
Ammoniumcer-(IV)-nitrat	Merck, z.A.
Azo-bis-isobutyronitril (AIBN)	Acros, z.A.
Benzol	Roth, z.A.
Benzylalkohol	Merck, z.A.
Bilirubin	Alfa Aesar, 97 %
Bis(4-chlorphenyl)-diselenid	Sigma-Aldrich, z.S.
N-Bromsuccinimid	Merck, z.S.
n-Butyllithium	Acros, z.A.
$\gamma$ -Butyrolacton	Fluka, z.A.
Cäsiumcarbonat	Sigma-Aldrich, z.S.
Chloressigsäure- <i>tert</i> -butylester	Acros, z.A.
Chloroform	Merck, z.A.
Chloroform-d1	Deutero GmbH, 99.9 %
N-Chlorsuccinimid	Sigma-Aldrich, z.S.
Chrom(VI)oxid	Sigma-Aldrich, z.A.
Citraconsäureanhydrid	Acros, z.A.
2-Cyanoacetamid	Merck, z.S.
1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-en (DBU)	Acros, z.A.
Dichlor-5,6-dicyan-para-benzochinon (DDQ)	Sigma-Aldrich, z.A.
1,1-Dimethoxyaceton	Acros, z.A.
4-Dimethylaminopyridin (DMAP)	Acros, z.A.
N,N-Dimethylformamid	Merck, z.S.
3,4-Dimethylmaleinsäureanhydrid	Acros, z.A.
Dimethylsulfid	Merck, z.S.
Dimethylsulfoxid	Merck, z.S.
Dimethylsulfoxid-d6	Deutero GmbH, 99.9 %
1,4-Dioxan	Merck, z.A.
Essigsäure	Merck, z.A.
Essigsäureanhydrid	Merck, z.A.
Formamid	Merck, z.A.
Glycin	Serra, z.A.

## Experimentalteil

---

Hydrazinhydrat	Sigma-Aldrich, z.A.
Ionenaustauscher	Sigma-Aldrich, z.A.
Isocyanotoylmethan	Acros, z.A.
Isooctan	Merck, z.A.
Isopropanol	Merck, z.A.
Kaliumcarbonat	Merck, z.A.
Kaliumhydrogenphosphat	Merck, z.A.
Kaliumhydroxid	Merck, reinst
Kaliumphosphat	Merck, z.A.
Kupferbromid	Sigma-Aldrich, z.A.
Lawesson-Reagenz	Sigma-Aldrich, z.A.
4-Methoxybenzylamin	Acros, z.A.
Natrium	Merck, Stangen
Natriumborhydrid	Acros, z.A.
Natriumcarbonat	Merck, z.A.
Natriumchlorid	Merck, z.A.
Natriumdisulfid	Merck, z.A.
Natriumformiat	Fluka, z.A.
Natriumhydrogencarbonat	Acros, z.A.
Natriumsulfat	Merck, reinst, wasserfrei
Natriumthiosulfat	Acros, z.A.
Natriumtosylat	Acros, z.A.
Nitroethan	Acros, z.A.
Nitromethan	Merck, z.S.
Oxalylchlorid	Fluka, z.A.
Palladium 10 % auf Aktivkohle	Merck, z.A.
Paraformaldehyd	Merck, z.S.
4-Pentin-1-ol	Acros, z.A.
Perjodsäure	Acros, z.A.
Phosphorylchlorid	Merck, z.S.
2-Propanol	Merck, z.A.
Pyridin	Merck, z.A.
Pyridin-d5	Deutero GmbH, 99.9 %
Pyrokohlensäure-di- <i>tert</i> -butylester	Sigma-Aldrich, z.A.
Salzsäure	Merck, z.A.
Schwefelsäure	Merck, z.A.

## Experimentalteil

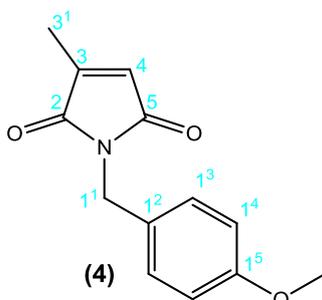
---

N,N,N',N'-Tetramethylguanidin (TMG)	Acros, z.A.
Thionylchlorid	Fluka, z.A.
Toluol	Merck, z.A.
Toluolsulfonsäure Monohydrat	Sigma-Aldrich, z.A.
Triethylamin	Merck, z.S.
Trifluoressigsäure	Sigma-Aldrich, z.A.
Trifluortoluol	Sigma-Aldrich, z.A.
Trimethylorthoformiat	Merck, z.S.
Trimethylphenylammoniumtribromid	Acros, z.A.
Triphenylphosphin	Sigma-Aldrich, z.A.
(2S)-(3S)-(-)-Weinsäure	Merck, z.S.
Zinkchlorid	Acros, z.A.

## 8.3 Synthese der Phycocyanobilinderivate

### 8.3.1 Synthese des A-Rings (7)

#### 8.3.1.1 Darstellung von (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (4) <sup>[15,16,41]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 18.0 ml (196 mmol) Citraconsäureanhydrid in 600 ml Toluol vorgelegt und unter Eiskühlung ( $\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) mit 26.0 ml (179 mmol) 4-Methoxybenzylamin versetzt. Die Reaktionsmischung wird 19 h am Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der gelbliche Rückstand wird in 100 ml Ethylacetat aufgenommen und fünfmal mit je 100 ml destilliertem Wasser und anschließend zweimal mit je 100 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird dann über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 37.40 g (161.7 mmol; 90 %) des gelblich, kristallinen Produkts ( $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ ;  $M = 231.25\text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.03 (d, 3H,  $^4J = 1.8\text{ Hz}$ , H-3<sup>1</sup>), 3.75 (s, 3H, OMe), 4.56 (s, 2H, H-1<sup>1</sup>), 6.27 (d, 1H,  $^4J = 1.8\text{ Hz}$ , H-4), 6.80 (m, 2H, H-1<sup>4</sup>), 7.26 (m, 2H, H-1<sup>3</sup>).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 10.89 (C-3<sup>1</sup>), 40.94 (C-1<sup>1</sup>), 55.21 (OMe), 113.94 (C-1<sup>4</sup>), 127.35 (C-4), 128.73 (C-1<sup>3</sup>), 129.90 (C-1<sup>2</sup>), 145.70 (C-3), 159.16 (C-1<sup>5</sup>), 170.50 (C-2), 171.51 (C-5).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 231 (100,  $[\text{M}]^+$ ), 203 (6), 188 (32), 174 (5), 160 (5), 134 (21), 121 (20), 108 (42), 77 (11).

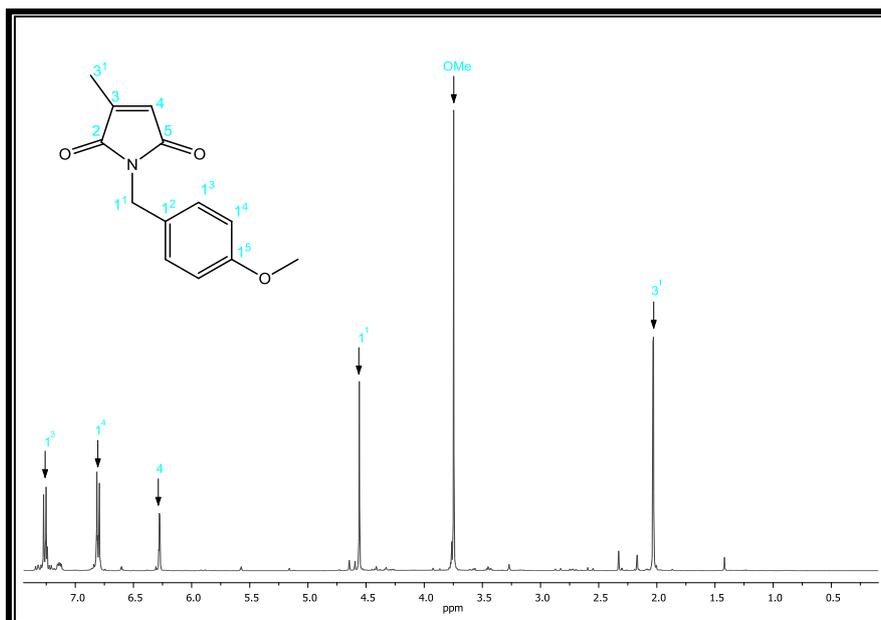
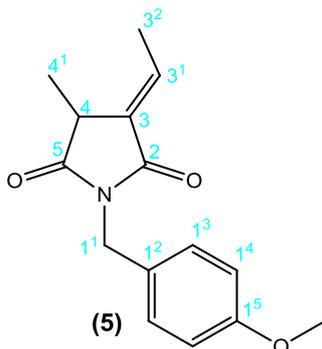


Abb. 77:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**4**)

### 8.3.1.2 Darstellung von (E)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**5**) [15,16,41]



Unter Inertgasatmosphäre werden 12 ml (80 mmol) DBU in 200 ml (2.80 mol) Nitroethan vorgelegt. Die Lösung wird auf 0 °C abgekühlt und 16.4 g (71.0 mmol) (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**4**) werden portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 1 h bei 0 °C gerührt, anschließend wird mit 800 ml Ethylacetat versetzt und viermal mit je 500 ml destilliertem Wasser sowie zweimal mit je 500 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Die Trennung der Enantiomere erfolgt mittels Flashchromatographie mit n-Pentan und Ethylacetat. Nach Entfernen des Lösungsmittels werden 5.7 g (22 mmol; 31 %) des Produkts ( $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ ;  $M = 259.3$  g/mol) als gelbliches Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.35 (d, 3H,  $^3J = 7.4$  Hz, H-4<sup>1</sup>), 1.86 (d, 3H,  $^3J = 7.3$  Hz, H-3<sup>2</sup>), 3.25 (q, 1H,  $^3J = 7.3$  Hz, H-4), 3.73 (s, 3H, OMe), 4.60 (d, 2H,  $^3J = 3.5$  Hz, H-1<sup>1</sup>), 6.79 (d, 2H,  $^3J = 8.2$  Hz, H-1<sup>4</sup>), 6.83 (m, 1H, H-3<sup>1</sup>), 7.29 (d, 2H,  $^3J = 8.4$  Hz, H-1<sup>3</sup>).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 14.63 (C-3<sup>2</sup>), 15.80 (C-4<sup>1</sup>), 37.27 (C-4), 41.42 (C-1<sup>1</sup>), 55.14 (OMe), 113.94 (C-1<sup>4</sup>), 128.37 (C-1<sup>2</sup>), 130.35 (C-1<sup>3</sup>), 131.97 (C-3), 134.04 (C-3<sup>1</sup>), 159.13 (C-1<sup>5</sup>), 169.13 (C-2), 177.77 (C-5).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 259 (100,  $[\text{M}]^+$ ), 230 (8), 216 (25), 202 (10), 134 (15), 121 (80), 68 (17).

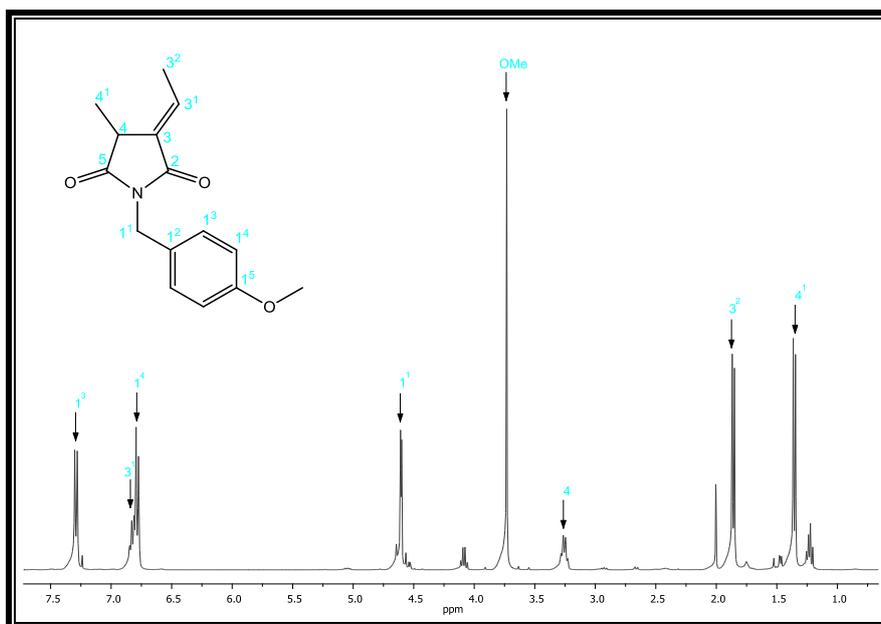
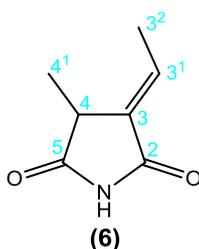


Abb. 78:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (E)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dion (**5**)

8.3.1.3 Darstellung von (E)-3-Ethyliden-4-methylpyrroliden-2,5-dion (6)<sup>[15,16,41]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 3.30 g (12.7 mmol) (E)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dion (**5**) in einem Gemisch aus 130 ml Acetonitril und 46 ml Wasser vorgelegt und 18.0 g (32.9 mmol) Ammoniumcer-(IV)-nitrat zugefügt. Nach 3 h Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung mit 200 ml Ethylacetat extrahiert, sowie anschließend die wässrige Phase danach dreimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 200 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung und dreimal mit je 200 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Methanol gelöst, mit 0.26 ml (0.72 mmol) Hydrazinhydrat versetzt und 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 100 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird dreimal mit je 100 ml destilliertem Wasser gewaschen, danach wird die wässrige Phase noch dreimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dann dreimal mit je 100 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (6:1) aufgereinigt. Die gereinigten Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 1.20 g (8.60 mmol; 68 %) des orangefarbenen Produkts (C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>; M = 139.15 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500MHz):

δ (ppm) = 1.35 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, H-4<sup>1</sup>), 1.83 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-3<sup>2</sup>), 3.27 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, H-4), 6.77 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, H-3<sup>1</sup>), 9.39 (s, NH).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz):

$\delta$  (ppm) = 14.70 (C-3<sup>2</sup>), 15.05 (C-4<sup>1</sup>), 38.43 (C-4), 132.79 (C-3), 135.04 (C-3<sup>1</sup>), 171.13 (C-2), 178.28 (C-5).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 139 (17,  $[\text{M}]^+$ ), 96 (100), 67 (65), 53 (33), 39 (20).

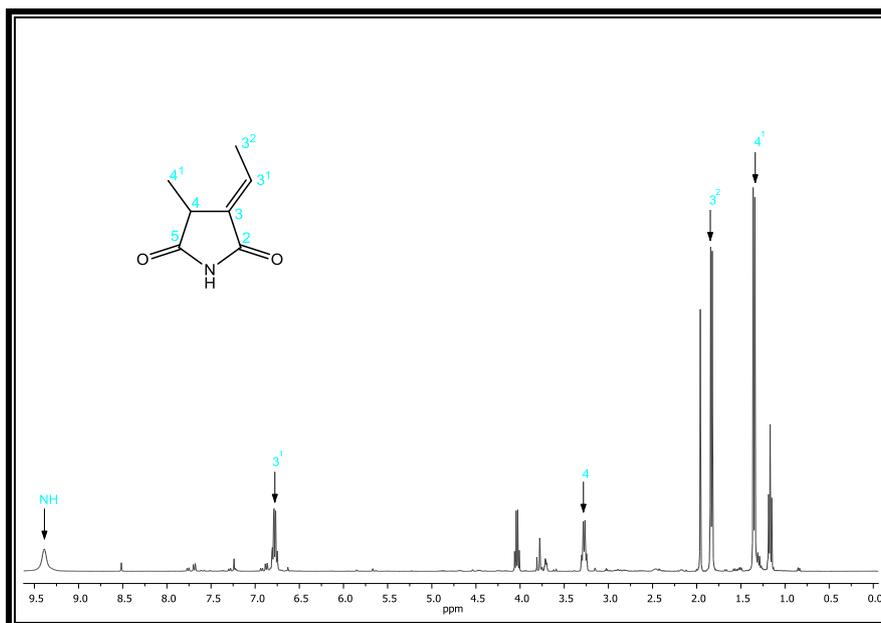
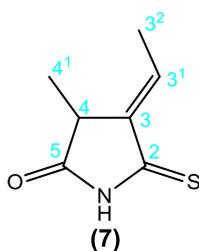


Abb. 79:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (E)-3-Ethyliden-4-methylpyrroliden-2,5-dion (**6**)

#### 8.3.1.4 Darstellung von (E)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**7**) <sup>[15,16,41]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 2.96 g (7.32 mmol) Lawesson-Reagenz in 25 ml 1,4-Dioxan gelöst und zum Sieden erhitzt. 1.2 g (8.6 mmol) (E)-3-Ethyliden-4-methylpyrroliden-2,5-dion (**6**) werden in 10 ml 1,4-Dioxan gelöst und zu der siedenden Lösung zugegeben. Nach 20 Minuten Erhitzen wird die rote Lösung mittels Eisbad abgekühlt. Der feine Niederschlag wird über eine dünne Schicht Celite abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingengt. Das Rohprodukt wird mittels HPLC mit n-Hexan und Ethylacetat (3:1) aufgereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels

werden 253 mg (1.63 mmol; 19 %) des gelb-orangen Produkts (C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NOS; M = 155.22 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):

δ (ppm) = 1.43 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-4<sup>1</sup>), 1.90 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, H-3<sup>2</sup>), 3.34 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, H-4), 6.85 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, H-3<sup>1</sup>), 8.14 (s, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 15.44 (C-3<sup>2</sup>), 15.47 (C-4<sup>1</sup>), 38.37 (C-4), 137.65 (C-3<sup>1</sup>), 139.93 (C-3), 178.37 (C-5), 200.79 (C-2).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 155 (100 [M]<sup>+</sup>), 140 (20), 126 (12), 112 (11), 94 (19), 67 (19), 39 (15).

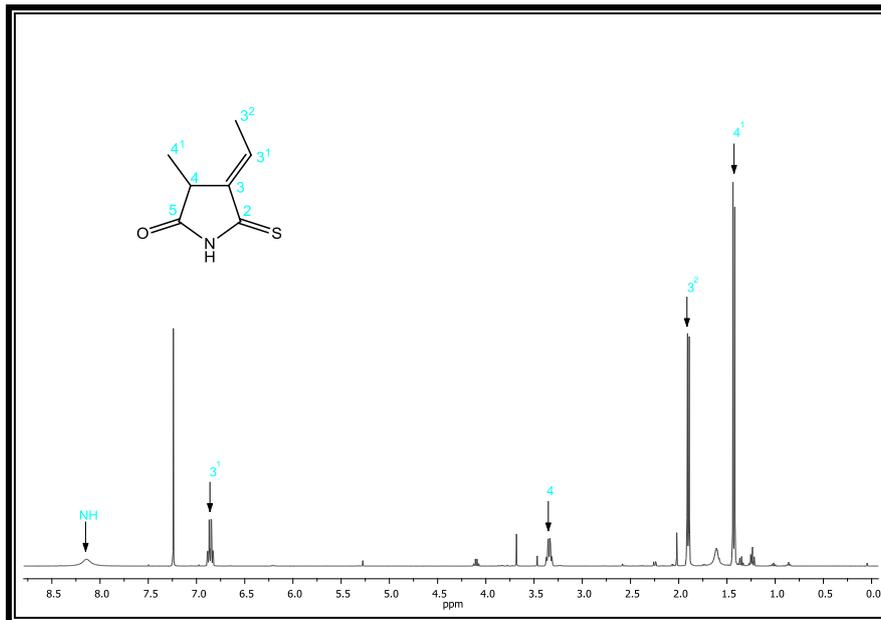
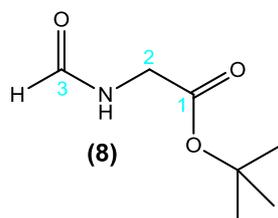


Abb. 80: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von (E)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**7**)

### 8.3.2 Synthese der B/C-Ringvorstufe (19)

#### 8.3.2.1 Darstellung von *N*-Formylglycin-*tert*-butylester (8) <sup>[15,16,42]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 8.90 g (387 mmol) Natrium in 160 ml Methanol gelöst und das entstandene Natriummethanolat langsam mit 115 ml (2.90 mol) Formamid versetzt. Überschüssiges Methanol wird am Rotationsverdampfer entfernt, bevor zur verbleibenden Lösung 50 ml (350 mmol) Chloressigsäure-*tert*-butylester zugegeben werden. Die Lösung wird anschließend 2 h bei 60 °C unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird auf 500 ml Eiswasser gegossen und fünfmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert (67-73 °C,  $2.3 \times 10^{-2}$  mbar) und 35.60 g (223.6 mmol; 64 %) *N*-Formylglycin-*tert*-butylester (8) (C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>; M = 158.18 g/mol) als farblose Flüssigkeit erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz):

δ (ppm) = 1.32 (s, 9H, *tert*-Butyl), 3.81 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, H-2), 6.85 (s, 1H, NH), 8.08 (s, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 63 MHz):

δ (ppm) = 27.52 (*tert*-Butyl), 40.22 (C-2), 81.86 (*tert*-Butyl), 161.28 (C-1), 168.37 (C-3).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 86 (29), 59 (38), 57 (100), 41 (39), 29 (20).

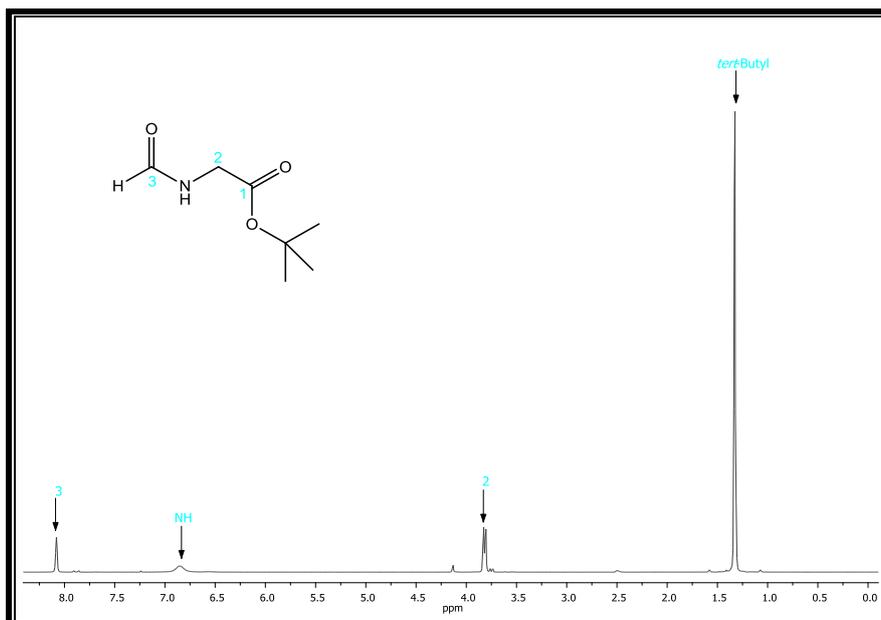
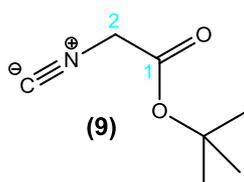


Abb. 81:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von *N*-Formylglycin-*tert*-butylester (**8**)

### 8.3.2.2 Darstellung von Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) <sup>[15,16,42]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre wird eine Lösung aus 24.01 g (150.9 mmol) *N*-Formylglycin-*tert*-butylester (**8**), 59.0 ml (432 mmol) Triethylamin und 310 ml Dichlormethan auf  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt und innerhalb von 2 h mit 16.5 ml (177 mmol) frisch destilliertem Phosphorylchlorid versetzt, so dass die Innentemperatur nicht über  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  steigt. Nachdem die Lösung 2 h bei  $-5$  bis  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt hat, werden 31.4 g (296 mmol) Natriumcarbonat in 150 ml destilliertem Wasser zugegeben und noch weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Es werden weitere 200 ml destilliertes Wasser zugefügt, und die Lösung wird anschließend sechsmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert ( $37\text{--}42\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $7.6 \times 10^{-2}$  mbar), wobei 16.69 g (118.2 mmol; 78 %) Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**) ( $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_2$ ;  $M = 141.17\text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.45 (s, 9H, *tert*-Butyl), 4.07 (s, 2H, H-2).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 63 MHz):

$\delta$  (ppm) = 27.78 (*tert*-Butyl), 44.19 (C-2), 84.01 (*tert*-Butyl), 160.56 (CN), 162.78 (C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 68 (81), 59 (52), 57 (100), 41 (37), 40 (13), 29 (23).

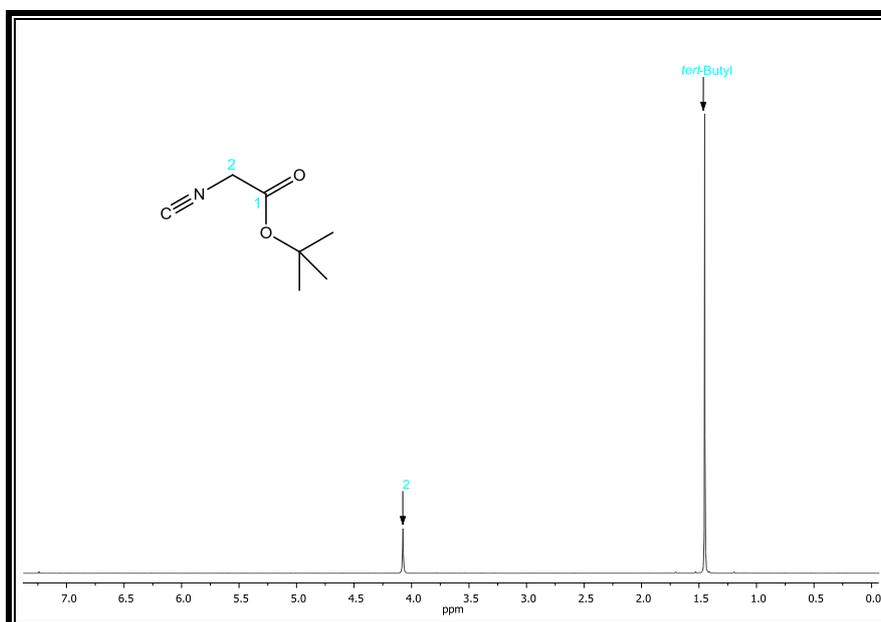
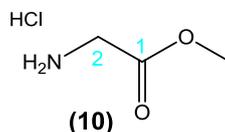


Abb. 82:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**)

### 8.3.2.3 Darstellung von Glycinmethylesterhydrochlorid (**10**)<sup>[15,57]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 5.00 g (66.6 mmol) Glycin in 100 ml Methanol gelöst. Die Lösung wird auf  $-10\text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt und mit 7.80 ml (107 mmol) Thionylchlorid versetzt, so dass die Innentemperatur  $0\text{ }^\circ\text{C}$  nicht übersteigt. Nachdem die Lösung 30 Minuten gerührt hat, wird das Lösungsmittel entfernt und 8.25 g (65.7 mmol; 99 %) des Produkts ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_2\text{Cl}$ ;  $M = 125.55\text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 3.36 (s, 3H, OMe), 3.71 (s, 2H, H-2), 8.54 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 39.88 (C-2), 52.48 (OMe), 167.98 (C-1).

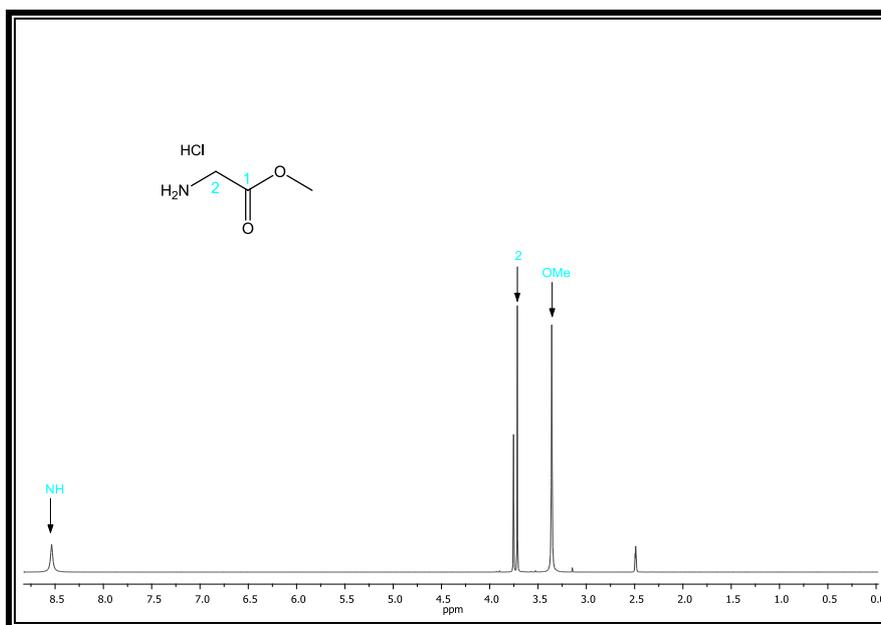
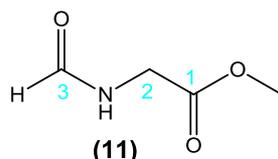


Abb. 83:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Glycinmethylesterhydrochlorid (**10**)

#### 8.3.2.4 Darstellung von N-Formylglycinmethylester (**11**)<sup>[15]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 4.18 g (33.3 mmol) Glycinmethylesterhydrochlorid (**10**) in 2 ml Ameisensäure aufgeschlämmt und mit 2.25 g (33.8 mmol) Natriumformiat in 3 ml Ameisensäure versetzt. Nachdem die Reaktionsmischung 1 h bei Raumtemperatur gerührt hat, werden 10.0 ml (106 mmol) Essigsäureanhydrid zugegeben und 1 h zum Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand in 50 ml Aceton aufgenommen. Das ausgefallene Natriumchlorid wird abfiltriert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 3.61 g (30.8 mmol; 93 %) N-Formylglycinmethylester (**11**) ( $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_3$ ;  $M = 117.10$  g/mol) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 3.59 (s, 3H, OMe), 3.89 (d, 2H,  $^3J = 5.7$  Hz, H-2), 7.22 (s, 1H, NH), 8.07 (s, 1H, H-3).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 39.43 (C-2), 51.87 (OMe), 162.64 (C-3), 169.88 (C-1).

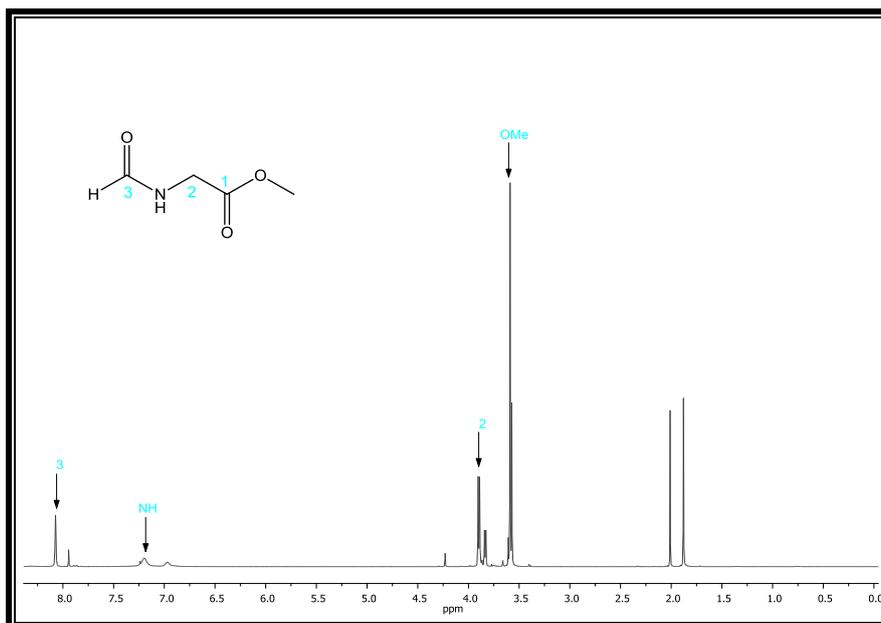
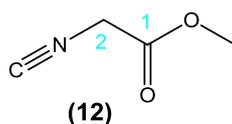


Abb. 84:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von N-Formylglycinmethylester (**11**)

### 8.3.2.5 Darstellung von Isocyanoessigsäuremethylester (**12**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 3.61 g (30.8 mmol) N-Formylglycinmethylester (**11**) in 100 ml Dichlormethan gelöst und mit 8.4 ml (61 mmol) Triethylamin versetzt. Die Lösung wird auf  $-20$  °C abgekühlt und es werden 2.5 ml (27 mmol) Phosphorylchlorid so zugetropft, dass die Innentemperatur  $0$  °C nicht übersteigt. Nachdem die Reaktionsmischung 2 h bei  $-10$  °C gerührt hat, werden 6.00 g (56.6 mmol) Natriumcarbonat (gelöst in 200 ml Wasser) zugegeben und das Gemisch wird weitere 30 Minuten gerührt. Die Lösung wird dreimal mit 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird dreimal mit einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das

Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert (29 °C,  $1.8 \times 10^{-1}$  mbar) und 1.58 g (16.0 mmol; 52 %) Isocyanoessigsäuremethylester (**12**) ( $C_4H_5NO_2$ ; M = 99.09 g/mol) erhalten.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 3.64 (s, 3H, OMe), 4.15 (s, 2H, H-2).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 43.16 (C-2), 53.25 (OMe), 161.36 (CN), 164.32 (C-1).

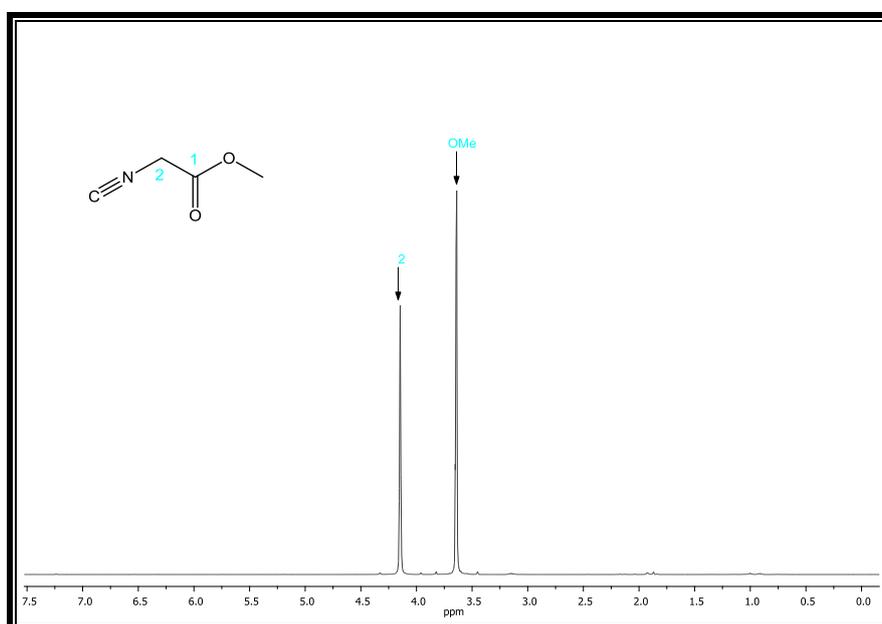
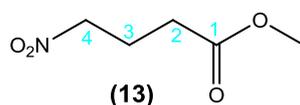


Abb. 85:  $^1H$ -NMR-Spektrum von Isocyanoessigsäuremethylester (**12**)

### 8.3.2.6 Darstellung von 4-Nitrobutansäuremethylester (**13**) <sup>[15,58]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre wird eine Lösung aus 270 ml (5.04 mol) Nitromethan, 150 ml (1.66 mol) Acrylsäuremethylester und 300 ml Diethylether auf -10 °C gekühlt und eine Kaliumhydroxidlösung [45.50 g (810.9 mmol) in 300 ml destilliertem Wasser] langsam hinzugegeben, so dass die Innentemperatur nicht über 0 °C steigt. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Phasentrennung wird die wässrige Phase sechsmal

mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert (68-75 °C,  $1.2 \times 10^{-1}$  mbar). Es werden 80.36 g (0.546 mol; 33 %) des gewünschten Produkts ( $C_5H_9NO_4$ ;  $M = 147.13$  g/mol) als leuchtend gelbe Flüssigkeit erhalten.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.13 (m, 2H, H-3), 2.31 (t, 2H,  $^3J = 7.1$  Hz, H-2), 3.52 (s, 3H, OMe), 4.33 (t, 2H,  $^3J = 6.8$  Hz, H-4).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 21.97 (C-3), 29.80 (C-2), 51.33 (OMe), 73.98 (C-4), 171.99 (C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 116 (21), 100 (7), 88 (8), 69 (9), 59 (100), 55 (8), 42 (23), 41 (34), 29 (14).

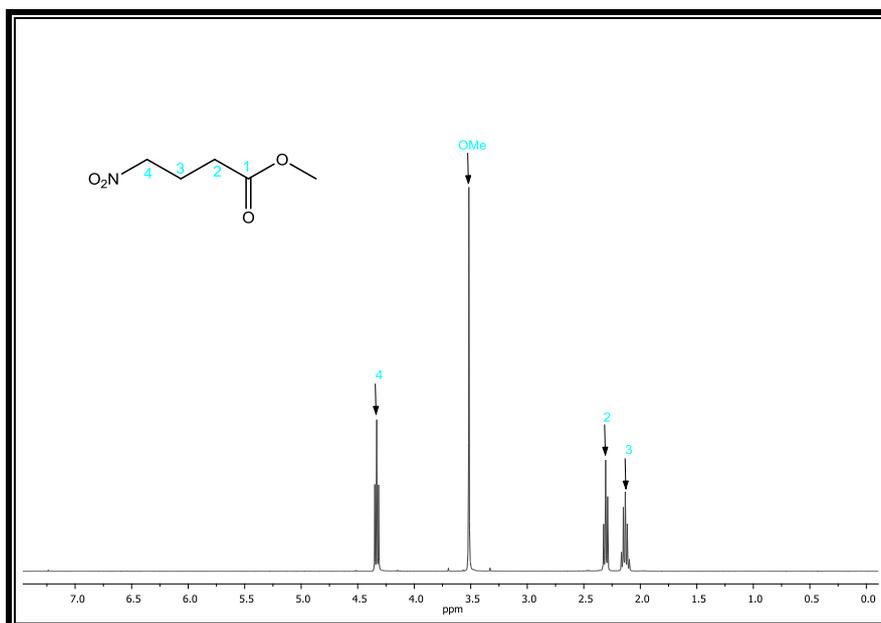
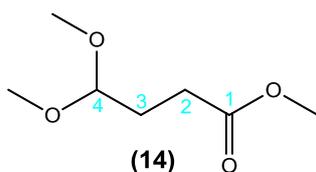


Abb. 86:  $^1H$ -NMR-Spektrum von 4-Nitrobutansäuremethylester (**13**)

8.3.2.7 Darstellung von 4,4-Dimethoxybutansäuremethylester (14) <sup>[15,58]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 15.22 g (661.7 mmol) Natrium in 230 ml Methanol gelöst. Hierzu wird eine Lösung aus 81.50 g (553.9 mmol) 4-Nitrobutansäuremethylester (13) in 250 ml Methanol zügig zugetropft. Anschließend wird die Lösung noch 30 min bei Raumtemperatur gerührt (*Lösung 1*).

In einer zweiten Apparatur werden unter Inertgasatmosphäre 388 ml Methanol auf -50 °C gekühlt und 179 ml (3.22 mol) Schwefelsäure zugetropft. Danach wird die *Lösung 1* so hinzugefügt, dass die Innentemperatur nicht über -30 °C steigt. Nach vollständiger Zugabe lässt man die Lösung langsam über Nacht auf Raumtemperatur erwärmen. Die Reaktionsmischung wird in 1.3 l Eiswasser geschüttet, sechsmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert und mit gesättigter Natriumhydroxidlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat, wird das Lösungsmittel entfernt. Es werden 40.80 g (0.252 mol; 46 %) des Produkts (C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>; M = 162.18 g/mol) als farblose Flüssigkeit erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.82 (td, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-3), 2.28 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2), 3.23 (s, 6H, 2x OMe), 3.59 (s, 3H, OMe), 4.30 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, H-4).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 27.58 (C-2), 28.75 (C-3), 51.21 (OMe), 52.80 (2x OMe), 103.38 (C-4), 173.31 (C-1).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 131 (47), 115 (9), 99 (19), 75 (100), 72 (6), 71 (86), 59 (20), 55 (7), 47 (14), 41 (19), 31 (8), 29 (13), 27 (6).

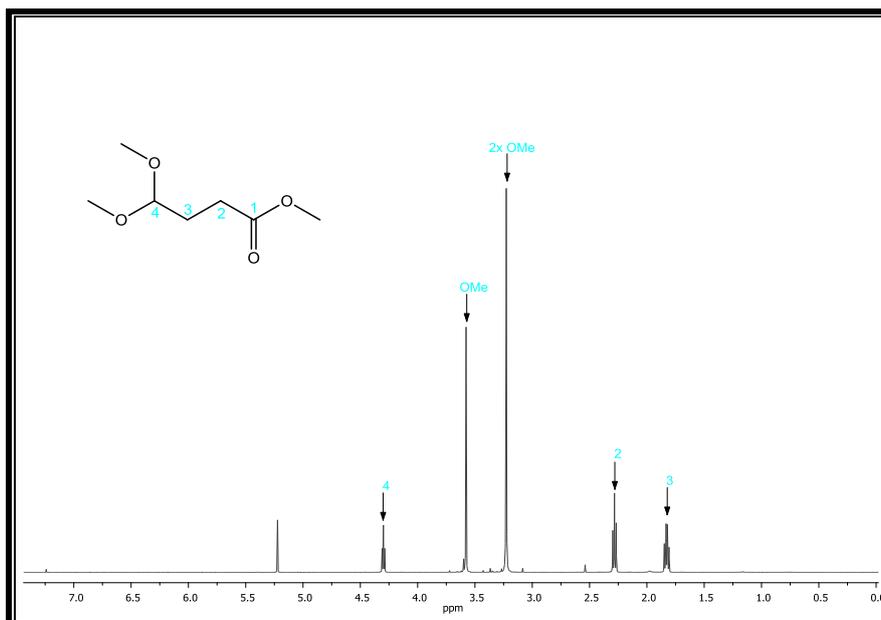
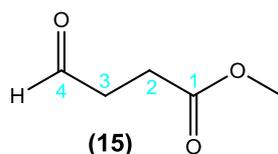


Abb. 87:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4,4-Dimethoxybutansäuremethylester (**14**)

### 8.3.2.8 Darstellung von 4-Oxobutansäuremethylester (**15**) [15,58]



Unter Inertgasatmosphäre werden 40.80 g (0.252 mmol) 4,4-Dimethoxybutansäuremethylester (**14**) in 300 ml Aceton gelöst und unter Eisbadkühlung mit 22 ml Salzsäure in 200 ml destilliertem Wasser versetzt. Nach vollständiger Zugabe wird die Lösung 3 h bei RT gerührt, anschließend wird sie einmal mit 120 ml Dichlormethan und dreimal mit je 120 ml Aceton-Dichlormethan-Gemisch (1:1) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 28.22 g (0.243 mol; 97 %) 4-Oxobutansäuremethylester (**15**) ( $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3$ ;  $M = 116.12 \text{ g/mol}$ ) als farblose Flüssigkeit erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.48 (t, 2H,  $^3J = 6.7 \text{ Hz}$ , H-3), 2.65 (t, 2H,  $^3J = 6.5 \text{ Hz}$ , H-2), 3.54 (s, 3H, OMe), 9.65 (s, 1H, H-4).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 26.01 (C-2), 38.16 (C-3), 51.520 (OMe), 172.43 (C-1), 199.93 (C-4).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 88 (79), 85 (82), 59 (35), 57 (61), 55 (29), 45 (14), 31 (10), 29 (100).

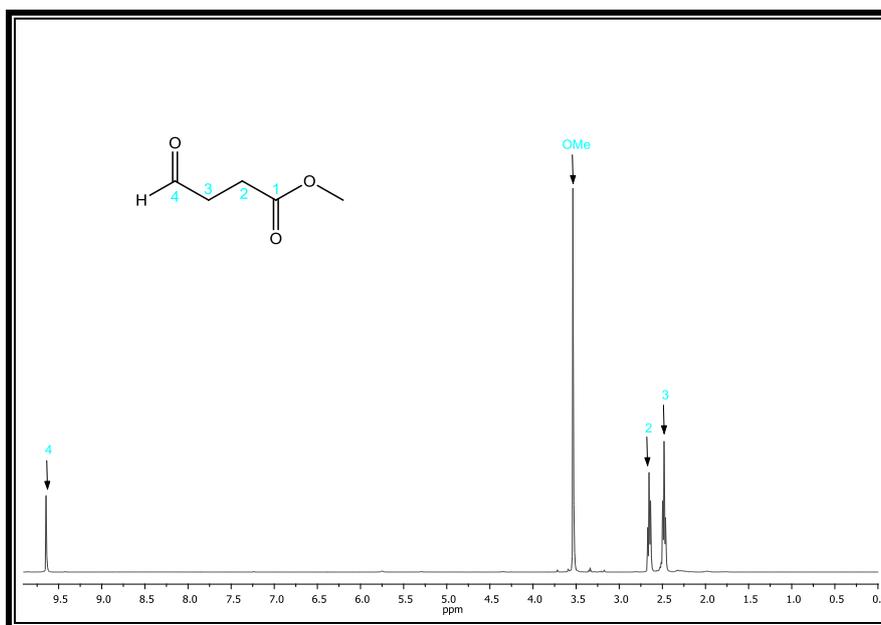
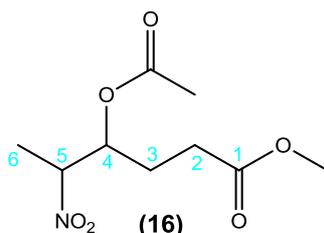


Abb. 88:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Oxobutansäuremethylester (**15**)

### 8.3.2.9 Darstellung von 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**)<sup>[15,42]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 28.22 g (0.243 mol) 4-Oxobutansäuremethylester (**15**) in 150 ml Dichlormethan gelöst und 9.38 g (76.8 mmol) 4-Dimethylaminopyridin zugegeben. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt und 93.66 ml (1.310 mol) Nitroethan hinzugegropft werden. Nachdem die Lösung etwa 48 h bei RT gerührt hat, werden 67.40 ml (723.6 mmol) Essigsäureanhydrid in 100 ml Dichlormethan zugegeben und die Lösung für 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Es werden 60 ml Methanol, gefolgt von Kaliumcarbonatlösung (15 g Kaliumcarbonat gelöst in 200 ml dest. Wasser) zugegeben. Nach Phasentrennung wird die wässrige Phase viermal mit je 100 ml

Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit einem Gemisch aus n-Pentan und Ethylacetat (5:1) aufgereinigt und 31.99 g (137.2 mmol; 56 %) des türkis-farbigen Produkts (C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub>; M = 233.22 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz):

δ (ppm) = 1.33 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, H-6), 1.59-1.75 (m, 2H, H-3), 1.80 (s, 3H, Acetoxy), 2.12-2.20 (m, 2H, H-2), 3.43 (s, 3H, OMe), 4.47-4.58 (m, 1H, H-5), 5.06-5.16 (m, 1H, H-4).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 17.56 (C-6), 20.20 (Acetoxy), 25.38 (C-3), 29.55 (C-2), 51.49 (OMe), 72.23 (C-4), 84.24 (C-5), 169.53 (Acetoxy), 172.06 (C-1).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 160 (5), 145 (7), 113 (20), 85 (16), 57 (6), 55 (8), 43 (100), 41 (7).

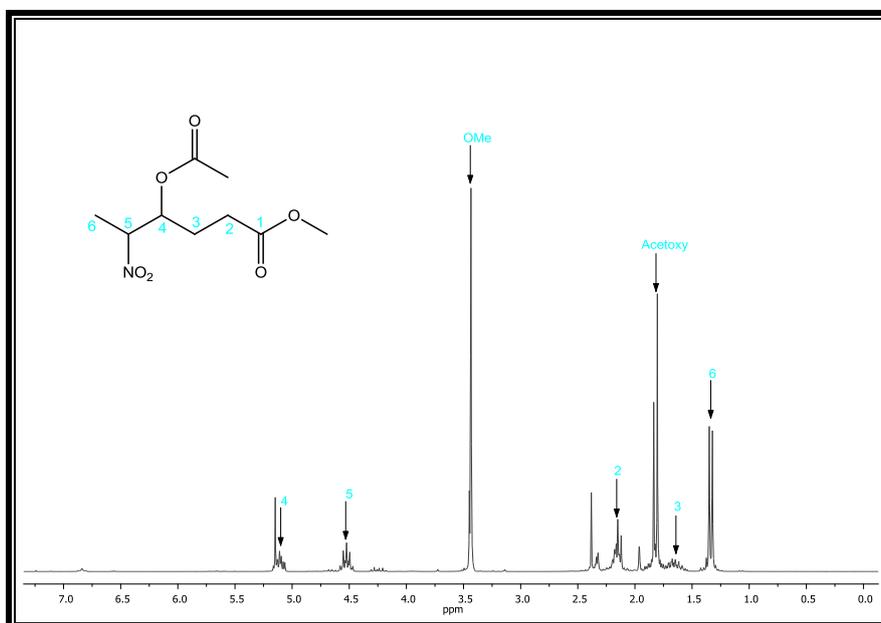
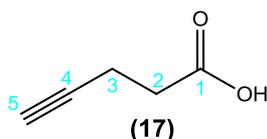


Abb. 89: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**)

### 8.3.2.10 Darstellung von 4-Pentinsäure (17) <sup>[46]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 6.0 g (60 mmol) Chrom(VI)oxid in 72 ml 10 M Schwefelsäure gelöst, die Lösung wird auf 0 °C abgekühlt und es werden 1.90 g (22.6 mmol) 4-Pentin-1-ol in 100 ml Aceton zugetropft. Nachdem die Reaktionsmischung 3 h bei Raumtemperatur gerührt hat, werden 300 ml Diethylether zugefügt. Die organische Phase wird dann zweimal mit je 300 ml Wasser und abschließend einmal mit 300 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 1.27 g (12.9 mmol; 57 %) des Produkts (C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>; M = 98.10 g/mol) als gelbes Öl erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.97 (s, 1H, H-5), 2.47-2.52 (m, 2H, H-3), 2.58-2.62 (m, 2H, H-2).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 14.09 (C-3), 33.03 (C-2), 69.23 (C-5), 82.08 (C-4), 177.12 (C-1).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 97 (49), 81 (5), 70 (100), 69 (35), 55 (35), 53 (72), 45 (11), 42 (36), 39 (35), 27 (51).

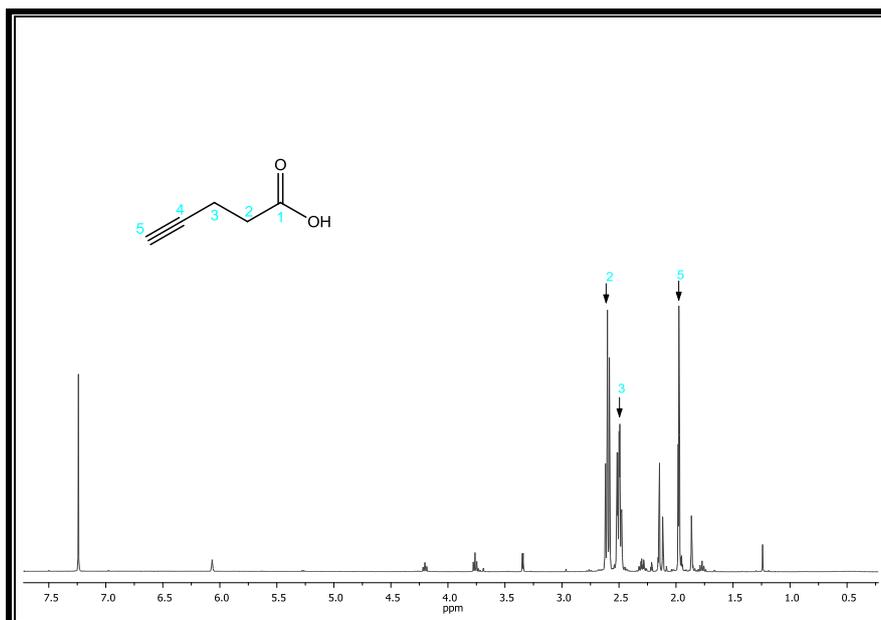
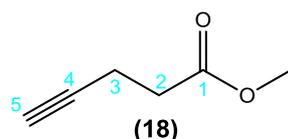


Abb. 90:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Pentinsäure (**17**)

### 8.3.2.11 Darstellung von 4-Pentinsäuremethylester (**18**)<sup>[46]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 1.27 g (12.9 mmol) 4-Pentinsäure (**17**) in 34 ml Methanol gelöst, mit 0.5 ml (9.4 mmol) konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 17 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird in 200 ml Diethylether aufgenommen und nacheinander mit je 200 ml destillierten Wasser und einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 865 mg (7.71 mmol; 63 %) des gelben Produkts ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$ ;  $M = 112.13 \text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.92 (s, 1H, H-5), 2.41-2.45 (m, 2H, H-3), 2.45-2.51 (m, 2H, H-2), 3.64 (s, 3H, OMe).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 14.22 (C-3), 33.04 (C-2), 51.66 (OMe), 68.92 (C-5), 82.33 (C-4), 172.07 (C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 111 (23), 97 (10), 84 (20), 83 (18), 82 (20), 81 (49), 69 (8), 59 (16), 54 (14), 53 (100), 52 (16), 51 (17), 45 (21), 43 (51), 39 (14), 29 (12), 27 (35).

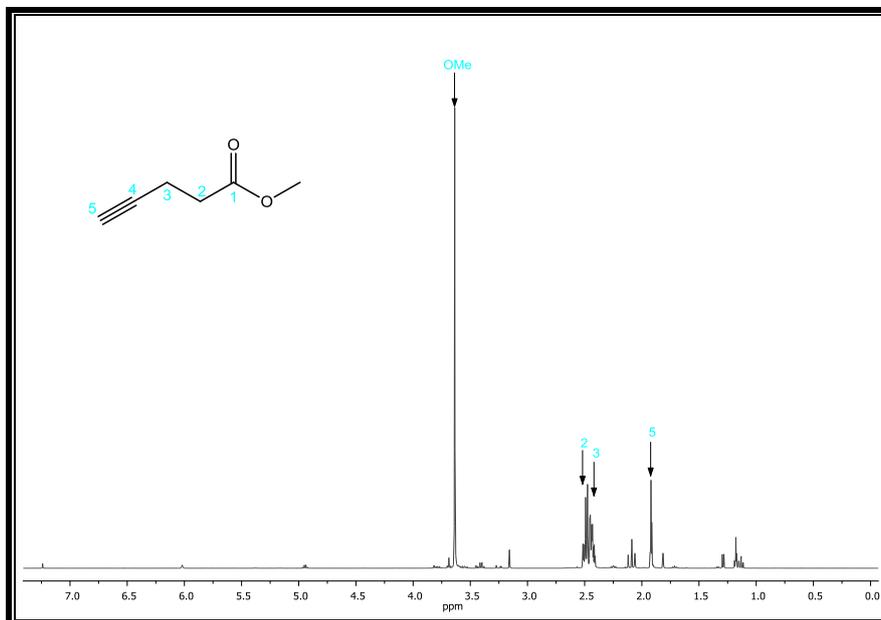
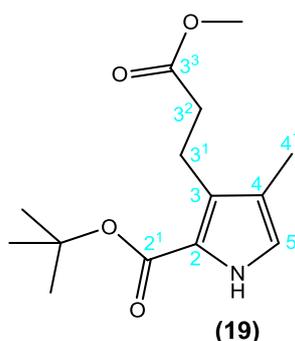


Abb. 91:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Pentinsäuremethylester (**18**)

### 8.3.2.12 Darstellung von 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**19**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 9.74 g (41.8 mmol) 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**) in 70 ml einer Mischung aus 2-Propanol und Tetrahydrofuran (1:1) vorgelegt und sehr langsam mit einer Mischung aus 15.0 ml (119 mmol) N,N,N',N'-Tetramethylguanidin, 6.46 g (64.6 mmol) Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**9**), gelöst in 30 ml einer Mischung aus 2-Propanol und Tetrahydrofuran (1:1), versetzt. Nachdem die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt hat, wird das Lösungsmittel

entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit einem Gemisch aus Dichlormethan und Diethylether (9:1) aufgereinigt und 6.46 g (24.2 mmol; 58 %) des gelblichen Produkts (C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>; M = 267.32 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):

δ (ppm) = 1.51 (s, 9H, *tert*-Butyl), 1.98 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 2.49 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, H-3<sup>2</sup>), 2.95 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, H-3<sup>1</sup>), 3.62 (s, 3H, OMe), 6.57 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, H-5), 8.90 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz):

δ (ppm) = 9.72 (C-4<sup>1</sup>), 20.58 (C-3<sup>1</sup>), 28.38 (*tert*-Butyl), 35.02 (C-3<sup>2</sup>), 51.37 (OMe), 80.72 (*tert*-Butyl), 119.84 (C-5), 120.43 (C-4), 121.18 (C-3), 127.95 (C-2), 161.00 (C-2<sup>1</sup>), 173.69 (C-3<sup>3</sup>).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 267 (23, [M]<sup>+</sup>), 211 (31), 194 (7), 180 (21), 167 (49), 151 (100), 133 (27), 120 (27), 108 (17), 94 (32), 57 (17), 41 (9).

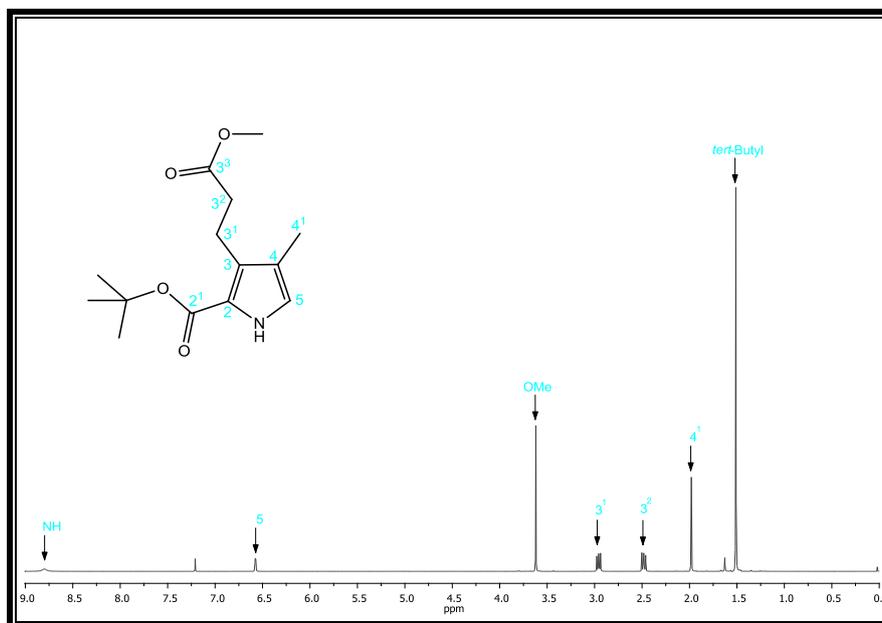
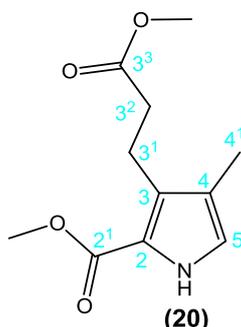


Abb. 92: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**19**)

**8.3.2.13 Darstellung von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (20)** <sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 1.73 g (7.40 mmol) 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**16**) in 20 ml einer Mischung aus 2-Propanol und Tetrahydrofuran (1:1) vorgelegt und sehr langsam mit einer Mischung aus 2.5 ml (20 mmol) N,N,N',N'-Tetramethylguanidin [TMG], 1.00 g (10.1 mmol) Isocyanoessigsäuremethylester (**12**), gelöst in 10 ml einer Mischung aus 2-Propanol und Tetrahydrofuran (1:1), versetzt. Nachdem die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt hat, wird das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit einem Gemisch aus Dichlormethan und Diethylether (9:1) aufgereinigt und 818 mg (3.63 mmol; 49 %) des Produkts (C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>; M = 225.24 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.96 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 2.48 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, H-3<sup>2</sup>), 2.98 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, H-3<sup>1</sup>), 3.59 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 6.59 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, H-5), 9.25 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 9.47 (C-4<sup>1</sup>), 20.25 (C-3<sup>1</sup>), 34.57 (C-3<sup>2</sup>), 50.83 und 51.22 (2x OMe), 118.57 (C-5), 119.78 (C-4), 120.70 (C-3), 129.10 (C-2), 161.46 (C-2<sup>1</sup>), 173.63 (C-3<sup>3</sup>).

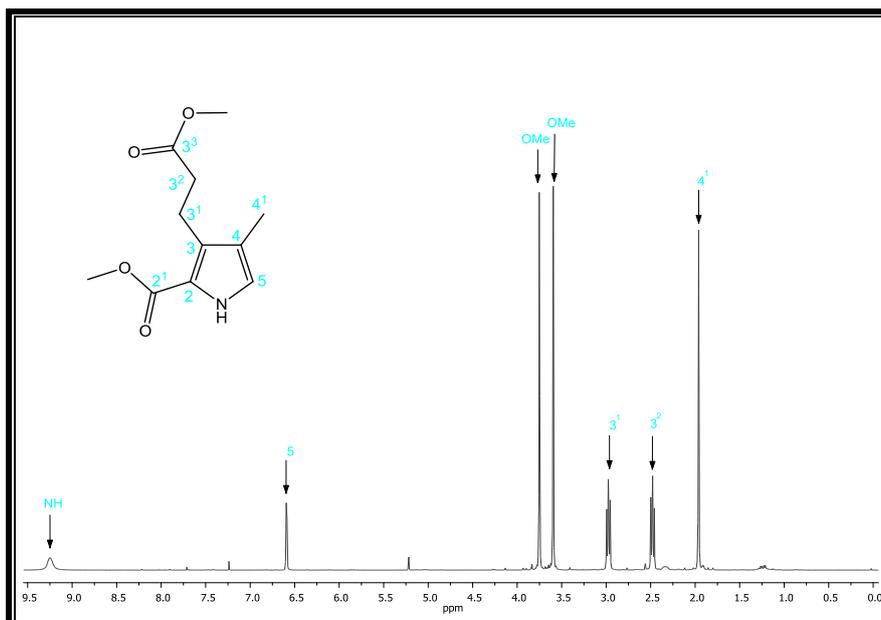
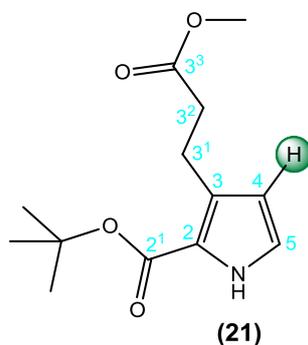


Abb. 93:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (**20**)

#### 8.3.2.14 Darstellung von 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**21**)<sup>[46,47]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 1.535 g (10.67 mmol) Kupferbromid und 3.479 g (10.67 mmol) Cäsiumcarbonat in 30 ml Dimethylformamid gelöst und 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden 998 mg (8.90 mmol) 4-Pentinsäuremethylester (**18**) in 13 ml Dimethylformamid zugegeben und die Mischung auf 120 °C erhitzt. Nach 15 Minuten bei 120 °C werden 2.531 g (17.93 mmol) Isocyanoesigsäure-*tert*-butylester (**9**) zugegeben und die Mischung 3 h bei 120 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Mischung in 300 ml Diethylether aufgenommen und nacheinander zweimal mit jeweils 300 ml destilliertem Wasser, einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung und einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet

und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit n-Pentan und Ethylacetat (5:1) aufgereinigt und 923 mg (3.64 mmol; 41 %) des Produkts (C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>; M = 253.29 g/mol) als gelblicher Feststoff erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.55 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.60 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, H-3<sup>2</sup>), 3.06 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, H-3<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3H, OMe), 6.08 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, H-5), 6.77 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, H-4), 8.88 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 22.71 (C-3<sup>1</sup>), 28.45 (*tert*-Butyl), 35.25 (C-3<sup>2</sup>), 51.45 (OMe), 80.92 (*tert*-Butyl), 111.38 (C-5), 120.89 (C-4), 129.71 (C-2), 132.20 (C-3), 160.23 (C-2<sup>1</sup>), 173.69 (C-3<sup>3</sup>).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 253 (15, [M]), 197 (36), 180 (8), 166 (21), 165 (12), 153 (31), 151 (19), 137 (100), 124 (14), 120 (16), 119 (20), 106 (16), 94 (9), 93 (9), 80 (11), 65 (7), 57 (13), 41 (12), 29 (11).

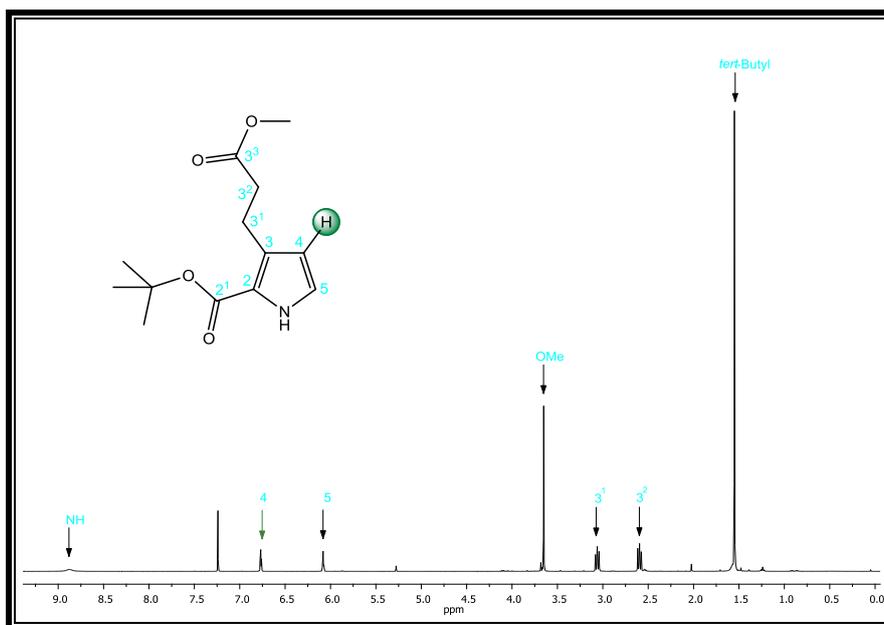
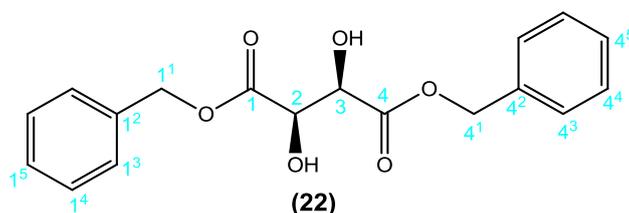


Abb. 94: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**21**) Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7.

### 8.3.3 Synthese des B-Rings (25)

#### 8.3.3.1 Darstellung von D-(-)-Weinsäuredibenzylester (22) <sup>[15,16]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 15.85 g (105.6 mmol) (2S)-(3S)-(-)-Weinsäure und 3.61 g (21.1 mmol) Toluolsulfonsäure-Monohydrat in 75 ml Benzol gelöst, mit 35.0 ml (337 mmol) Benzylalkohol versetzt und zum Rückfluss erhitzt, bis sich kein Wasser mehr abscheidet. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden 50 ml Isooctan zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht auf 4 °C gehalten. Der ausgefallene Feststoff wird in 200 ml Ethylacetat aufgenommen, zweimal mit je 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und danach zweimal mit je 100 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 34.25 g (103.7 mmol; 98 %) eines weißen Feststoffs (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>; M = 330.33 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 4.56 (2 x s, 2H, H-2 und H-3), 5.25 und 5.26 (2 x s, 4H, H-1<sup>1</sup> und H-4<sup>1</sup>), 7.34 (s, 10H, Phenyl).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 68.04 (C-1<sup>1</sup>, C-4<sup>1</sup>), 72.13 (C-2, C-3), 128.56 (C-1<sup>3</sup>, C-4<sup>3</sup>), 128.67 (C-1<sup>4</sup>, C-1<sup>5</sup>, C-4<sup>4</sup>, C-4<sup>5</sup>), 134.84 (C-1<sup>2</sup>, C-4<sup>2</sup>), 171.37 (C-1, C-4).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 330 (0.02, [M]<sup>+</sup>), 239 (3), 166 (3), 107 (21), 91 (100).

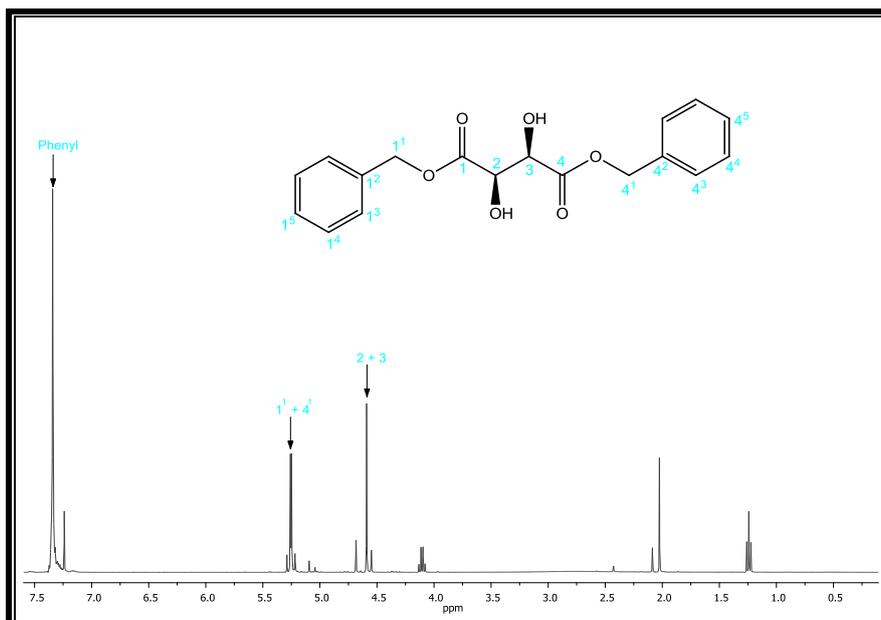
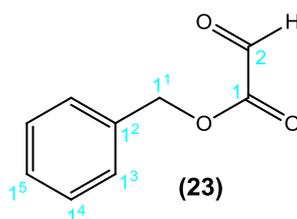


Abb. 95:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von D-(-)-Weinsäuredibenzylester (**22**)

### 8.3.3.2 Darstellung von Glyoxylsäurebenzylester (**23**) <sup>[15,16]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 17.52 g (53.03 mmol) D-(-)-Weinsäuredibenzylester (**22**) in 150 ml Diethylether gelöst und 14.60 g (64.05 mmol) Perjodsäure zugegeben. Nachdem die Reaktionsmischung 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt hat, wird der ausgefallene Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wird mit 50 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 50 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das gelbliche Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert (85-90 °C,  $5.5 \times 10^{-1}$  mbar) und 13.15 g (80.10 mmol; 75 %) Glyoxylsäurebenzylester (**23**) ( $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ ;  $M = 164.16$  g/mol) als farblose, viskose Flüssigkeit erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 5.32 (s, 2H, H-1<sup>1</sup>), 7.25-7.42 (m, 5H, Phenyl), 9.40 (s, 1H, H-2).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 68.29 (C-1<sup>1</sup>), 128.39 (C-1<sup>3</sup>), 128.55 (C-1<sup>5</sup>), 128.62 (C-1<sup>4</sup>), 134.79 (C-1<sup>2</sup>), 169.25 (C-1), 183.46 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 91 (100), 77 (7), 65 (11), 51 (5), 39 (7).

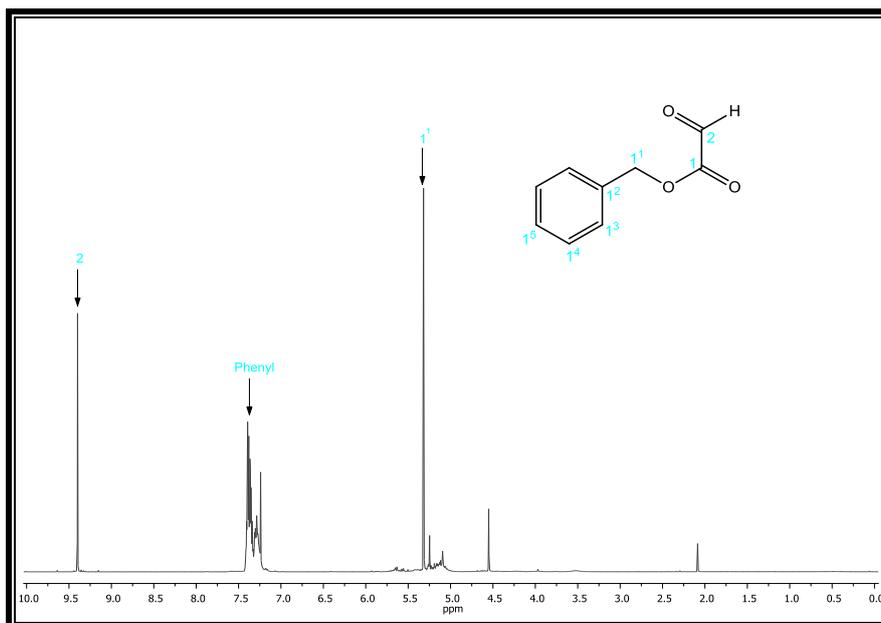
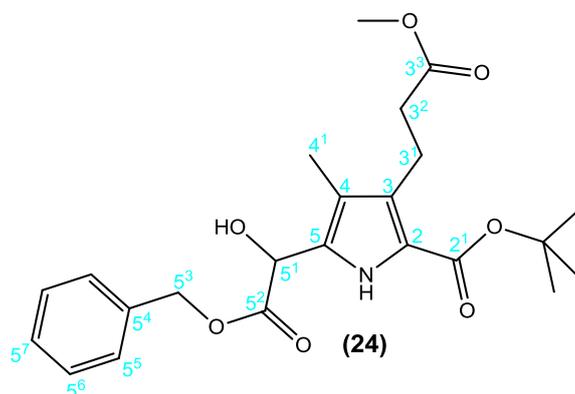


Abb. 96:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Glyoxylsäurebenzylester (**23**)

### 8.3.3.3 Darstellung von 3-(5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl)-propionsäuremethylester (**24**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 2.00 g (7.48 mmol) 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**19**) in 30 ml Dichlormethan vorgelegt und mit 4.00 g (24.4 mmol) Glyoxylsäurebenzylester (**23**) in

10 ml Dichlormethan versetzt. Dann werden 580 mg (4.26 mmol) Zinkchlorid zugegeben und die Lösung wird 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, dann zweimal mit je 100 ml zehnpromzentiger Natriumhydrogensulfidlösung (hergestellt aus  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) und abschließend zweimal mit je 100 ml destillierten Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Diethylether (4:1) gereinigt. Es werden 1.82 g (4.22 mmol; 56 %) des Produkts ( $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_7$ ;  $M = 431.48$  g/mol) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.53 (s, 9H, *tert*-Butyl), 1.87 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 2.46 (t, 2H,  $^3J = 8.0$  Hz, H-3<sup>2</sup>), 2.93 (m, 2H, H-3<sup>1</sup>), 3.63 (s, 3H, OMe), 5.07 (s, 1H, H-2<sup>1</sup>), 5.15 (s, 1H, H-2<sup>3</sup>), 7.23-7.35 (m, 5H, Phenyl), 9.05 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 63 MHz):

$\delta$  (ppm) = 8.48 (C-4<sup>1</sup>), 20.69 (C-3<sup>1</sup>), 28.35 (*tert*-Butyl), 34.93 (C-3<sup>2</sup>), 51.37 (OMe), 67.69 (C-2<sup>1</sup>), 72.07 (C-2<sup>3</sup>), 80.90 (*tert*-Butyl), 117.66 (C-4), 119.93 (C-3), 127.32 (C-5), 127.91 (C-2<sup>5</sup>), 128.54 (C-2<sup>7</sup>), 128.59 (C-2<sup>6</sup>), 128.87 (C-2), 134.83 (C-2<sup>4</sup>), 160.50 (C-5<sup>1</sup>), 170.06 (C-2<sup>2</sup>), 173.56 (C-4<sup>3</sup>).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 431 (38), 375 (15), 344 (13), 316 (8), 296 (20), 240 (82), 222 (18), 208 (100), 180 (38), 166 (61), 162 (9), 148 (17), 91 (65), 65 (7), 57 (9).

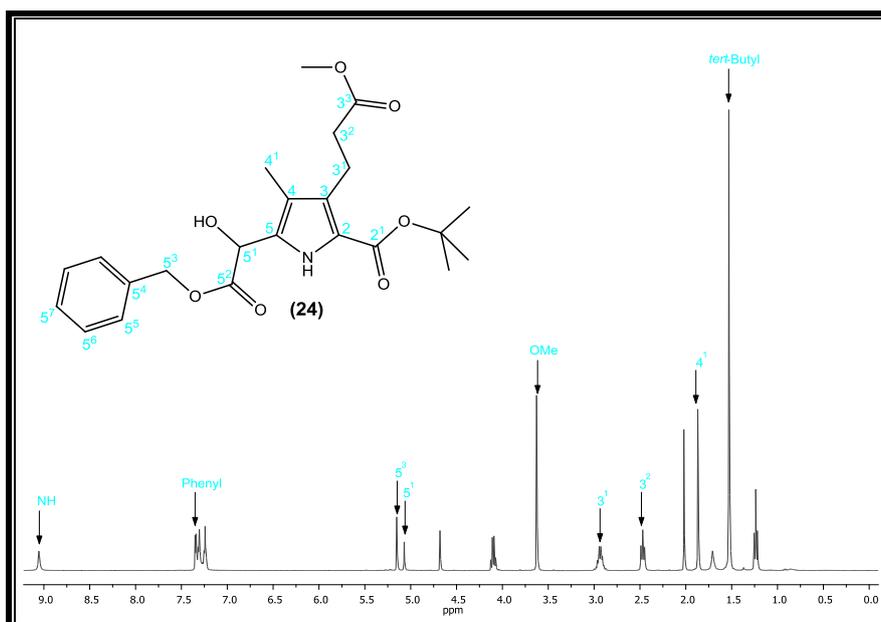
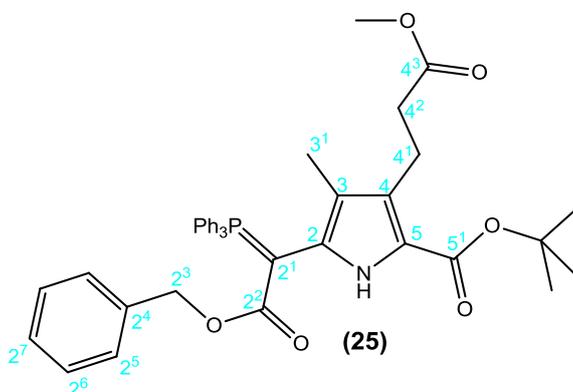


Abb. 97:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3-(5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl)-propionsäuremethylester (**24**)

#### 8.3.3.4 Darstellung von Benzyloxycarbonyl-(5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonylethyl)-3-methylpyrrol-2-yl)-(triphenylphosphonid)-methanid (**25**) <sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 1.37 g (10.2 mmol) N-Chlorsuccinimid in 30 ml Dichlormethan gelöst und 1.33 ml (18.3 mmol) Dimethylsulfid zugefügt. Die Suspension wird mittels Trockeneis-Aceton-Bad auf  $-50\text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt und es werden 1.33 g (3.08 mmol) 3-(5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl)-propionsäuremethylester (**24**) zugetropft. Die Reaktionsmischung wird unter langsamen Erwärmen 5.5 h gerührt, danach mit 5.85 g (22.3 mmol) Triphenylphosphin in 40 ml Dichlormethan versetzt und weitere 21.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird

dann viermal mit je 50 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, danach abwechselnd mit je 50 ml destilliertem Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, bis die wässrige Phase einen pH-Wert von 7 hat. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels HPLC mit n-Hexan und Ethylacetat (3:1) aufgereinigt. Es werden 814 mg (1.21 mmol; 39 %) des Produkts (C<sub>41</sub>H<sub>42</sub>NO<sub>6</sub>P; M = 675.75 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz):

δ (ppm) = 1.47 (s, 9H, *tert*-Butyl), 1.57 (s, 2H, H-3<sup>1</sup>), 2.26 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, H-4<sup>2</sup>), 2.80 (m, 2H, H-4<sup>1</sup>), 3.61 (s, 3H, OMe), 4.80 und 5.06 (s, 2H, H-2<sup>3</sup>), 7.24-7.68 (m, 20H, Phenyl).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 63 MHz):

δ (ppm) = 9.61 (C-3<sup>1</sup>), 21.15 (C-4<sup>1</sup>), 28.45 (*tert*-Butyl), 34.98 (C-4<sup>2</sup>), 51.33 (OMe), 64.15 (C-2<sup>3</sup>), 80.10 (*tert*-Butyl), 117.70 (C-2), 121.83 (C-3), 127.91-135.65 (C-4, C-5, C-2<sup>5</sup>, C-2<sup>6</sup>, C-2<sup>7</sup>), 137.40 (C-2<sup>4</sup>), 139.21 (PPh<sub>3</sub>), 160.85 (C-5<sup>1</sup>), 168.88 (C-2<sup>2</sup>), 171.10 (C-2<sup>1</sup>), 173.56 (C-4<sup>3</sup>).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 675 (41, [M]<sup>+</sup>), 619 (32), 440 (11), 358 (9), 262 (100), 183 (58), 108 (21), 91 (30), 57 (8).

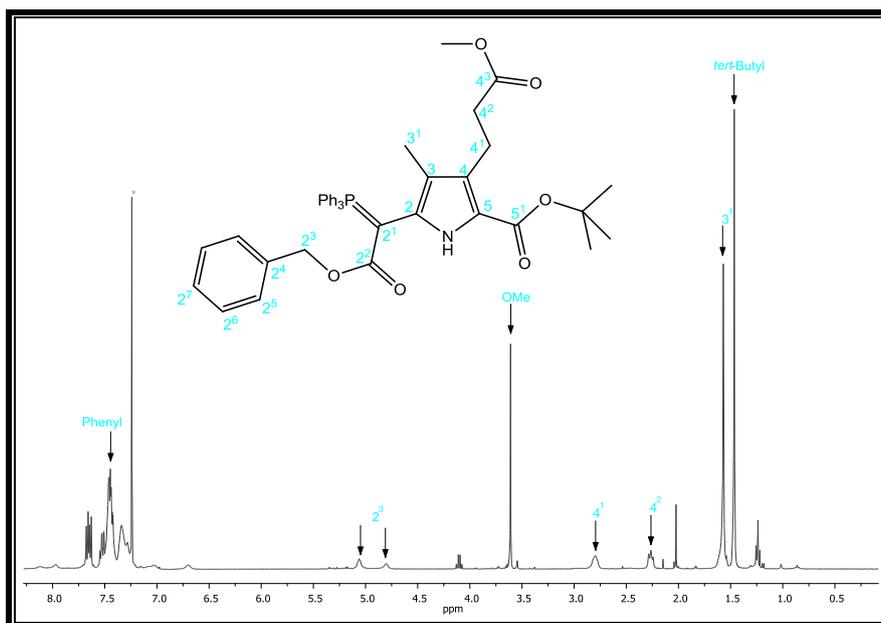
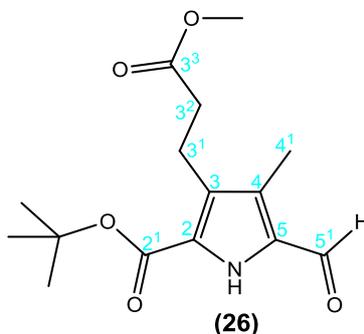


Abb. 98: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Benzyloxycarbonyl-(5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonylethyl)-3-methylpyrrol-2-yl)-(triphenylphosphonid)-methanid (**25**)

### 8.3.4 Synthese des C-Rings (26)

#### 8.3.4.1 Darstellung von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (26) <sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 2.70 ml (35.1 mmol) Dimethylformamid auf 0 °C abgekühlt und langsam mit 0.47 ml (3.33 mmol) Phosphorylchlorid versetzt und anschließend 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. In einer zweiten Apparatur werden unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre 1.00 g (3.74 mmol) 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**19**) in 0.3 ml Dimethylformamid angelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wird die zuvor vorbereitete Lösung aus Dimethylformamid und Phosphorylchlorid zugegeben und die Reaktionsmischung für 15 Minuten auf 65 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden 65 ml einer 10%igen Natriumacetatlösung zugegeben und die Reaktionsmischung wird über Nacht bei 4 °C gehalten. Die gelbe wässrige Phase wird abpipettiert und mit 70 ml Chloroform extrahiert, die zurückbleibende ölige, orange-farbene organische Phase wird in 50 ml Chloroform aufgenommen und dreimal mit je 50 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird an der Hochvakuumpumpe getrocknet. Es ergeben sich 974 mg (3.30 mmol; 88 %) des Produkts (C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>; M = 295.33 g/mol).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.56 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.30 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 2.52 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, H-3<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, H-3<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3H, OMe), 9.39 (s, 1H, NH), 9.74 (s, 1H, H-5<sup>1</sup>).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 8.33 (C-4<sup>1</sup>), 19.88 (C-3<sup>1</sup>), 28.26 (*tert*-Butyl), 34.57 (C-3<sup>2</sup>), 51.54 (OMe), 82.57 (*tert*-Butyl), 125.80 (C-2), 128.30-130.12 (C-3, C-5, C-4), 162.57 (C-2<sup>1</sup>), 173.29 (C-3<sup>3</sup>), 179.00 (C-5<sup>1</sup>).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 295 (10, [M]<sup>+</sup>), 239 (45), 208 (17), 207 (15), 195 (22), 179 (100), 166 (17), 148 (16), 122 (11).

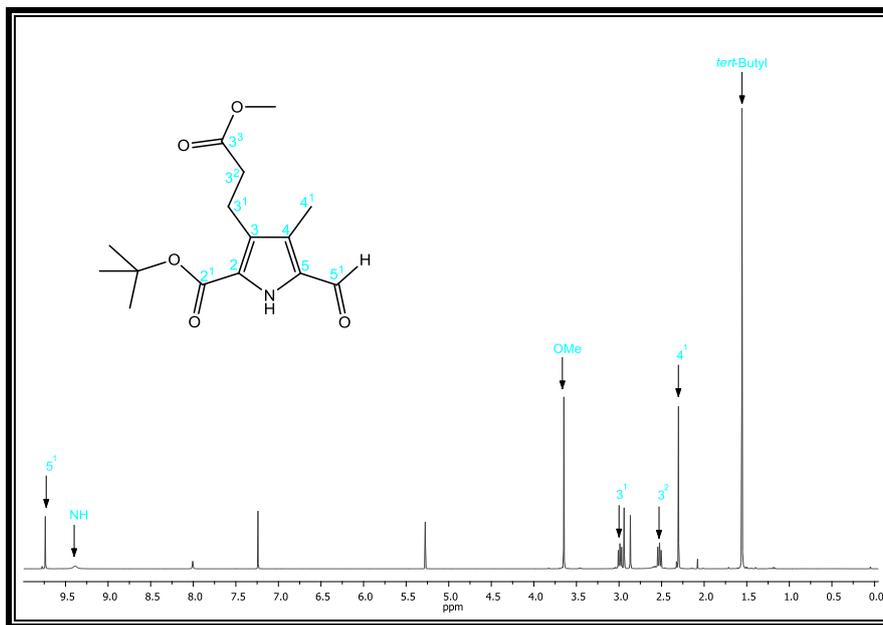
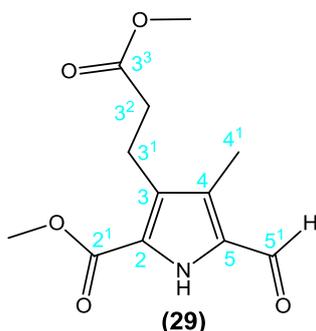


Abb. 99:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**26**)

8.3.4.2 Darstellung von 5-Formyl-3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (**28**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 2.2 ml (28 mmol) Dimethylformamid auf 0 °C abgekühlt: hierzu werden langsam 0.38 ml (2.66 mmol) Phosphorylchlorid zugegeben und anschließend wird die Lösung 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. In einer zweiten Apparatur werden unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre 800 g (3.55 mmol) 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (**20**) in 0.3 ml Dimethylformamid angelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wird die zuvor vorbereitete Lösung aus Dimethylformamid und Phosphorylchlorid zugegeben und die Reaktionsmischung wird für 15 Minuten auf 65 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden 60 ml einer 10%igen Natriumacetatlösung zugegeben und die Reaktionsmischung wird über Nacht bei 4 °C gehalten. Die gelbe wässrige Phase wird abpipettiert und mit 50 ml Chloroform extrahiert, die zurückbleibende ölige, orange-farbene organische Phase wird in 50 ml Chloroform aufgenommen und dreimal mit je 50 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird an der Hochvakuumpumpe getrocknet: es werden 781 mg (3.09 mmol; 87 %) des Produkts (C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>5</sub>; M = 253.25 g/mol).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 2.28 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 2.50 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-3<sup>2</sup>), 2.98 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-3<sup>1</sup>), 3.61 (s, 3H, OMe), 3.85 (s, 3H, OMe), 9.70 (s, 1H, H-5<sup>1</sup>), 10.01 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 8.25 (C-4<sup>1</sup>), 19.61 (C-3<sup>1</sup>), 34.23 (C-3<sup>2</sup>), 51.42 und 51.79 (2x OMe), 129.62 (C-2), 129.66 (3), 130.08 (C-5), 130.21 (C-4), 162.73 (C-2<sup>1</sup>), 173.17 (C-3<sup>3</sup>), 179.38 (C-5<sup>1</sup>).

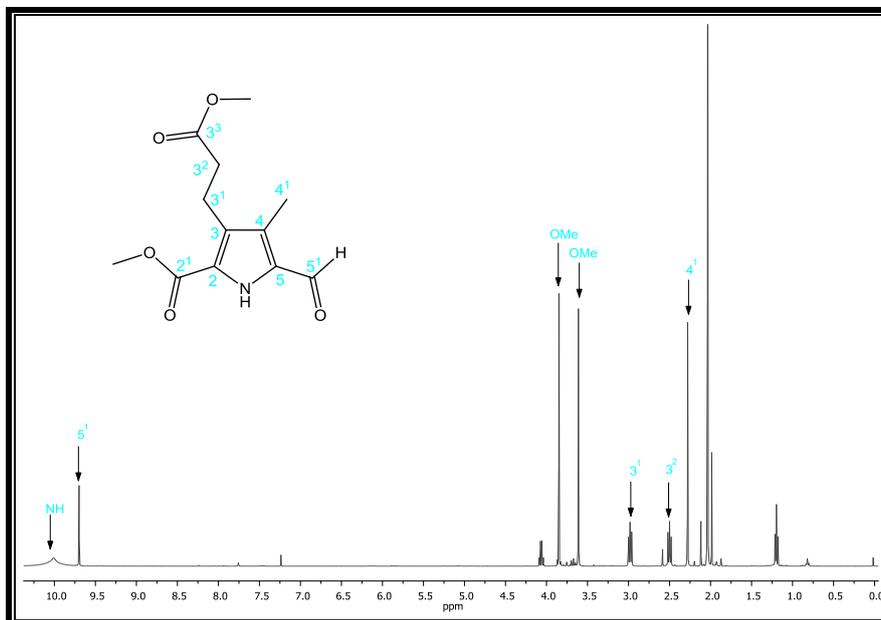
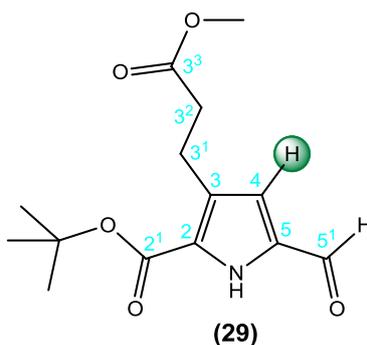


Abb. 100:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 5-Formyl-3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (**28**)

### 8.3.4.3 Darstellung von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**29**) [15,16,46]



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 0.18 ml (1.97 mmol) Phosphorylchlorid in 9 ml Dimethylformamid gelöst, 368 mg (1.45 mmol) 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**21**) in 4 ml Dimethylformamid unter Eiskühlung zugetropft und anschließend wird das Gemisch 2 h bei 65 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionsmischung in 100 ml Dichlormethan aufgenommen und nacheinander zweimal mit je 100 ml

destilliertem Wasser, einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung und einer gesättigten Natriumchlorid-lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird an der Hochvakuumpumpe getrocknet. Es werden 221.4 mg (0.787 mmol; 54 %) eines gelb-braunen Öls (C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>; M = 281.30 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.57 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.61 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-3<sup>2</sup>), 3.07 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-3<sup>1</sup>), 3.66 (s, 3H, OMe), 6.77 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 2.8 Hz, H-4), 9.56 (s, 1H, H-5<sup>1</sup>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 22.27 (C-3<sup>1</sup>), 28.29 (*tert*-Butyl), 34.66 (C-3<sup>2</sup>), 51.59 (OMe), 82.68 (*tert*-Butyl), 120.40 (C-4), 126.05 (C-5), 130.40 (C-2), 132.16 (C-3), 159.80 (C-2<sup>1</sup>), 173.26 (C-3<sup>3</sup>), 180.15 (C-5<sup>1</sup>).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 281 (5, [M]), 225 (29), 194 (12), 179 (10), 165 (100), 148 (10), 134 (14), 121 (8), 108 (7), 65 (8), 57 (22), 41 (14).

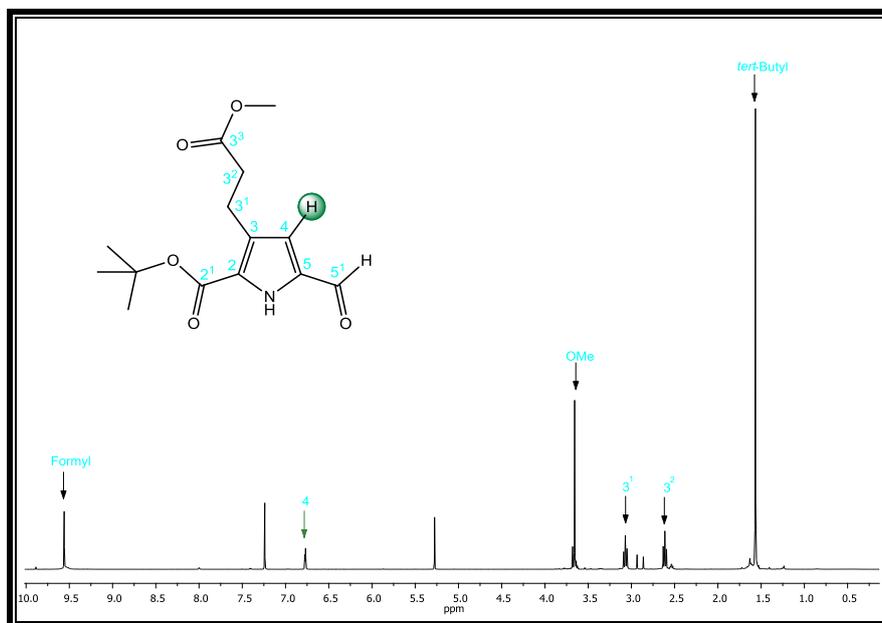
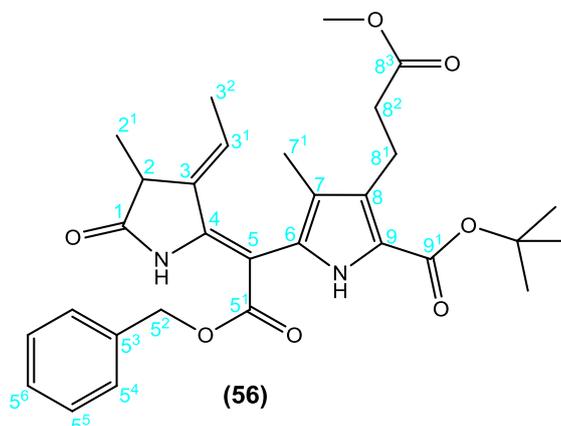


Abb. 101: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**29**). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7.

### 8.3.5 Synthese der AB-Hälfte (57)

#### 8.3.5.1 Darstellung von 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrrolin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propion-säuremethylester (56) <sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 0.350 g (0.518 mmol) Benzyloxycarbonyl-(5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonylethyl)-3-methylpyrrol-2-yl)-(triphenylphosphonid)-methanid (**25**) und 0.100 g (0.520 mmol) (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**7**) in 100 ml Toluol gelöst und 26 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels HPLC mit *n*-Pentan und Ethylacetat (3:1) gereinigt und 70.0 mg (0.13 mmol) des Produkts (C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; M = 536.62 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.33 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, H-2<sup>1</sup>), 1.54 (s, 9H, *tert*-Butyl), 1.65 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, H-3<sup>2</sup>), 1.77 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.51 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, H-8<sup>2</sup>), 3.01 (m, 2H, H-8<sup>1</sup>), 3.09 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, H-2), 3.63 (s, 3H, OMe), 5.13 (m, 3H, H-3<sup>1</sup> und H-5<sup>2</sup>), 7.16-7.27 (m, 4H, H-5<sup>4</sup>, H-5<sup>5</sup>, H-5<sup>6</sup>), 8.66 (s, 1H, NH), 10.74 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 9.10 (C-7<sup>1</sup>), 15.88 (C-3<sup>2</sup>), 16.60 (C-2<sup>1</sup>), 21.01 (C-8<sup>1</sup>), 28.43 (*tert*-Butyl), 35.26 (C-8<sup>2</sup>), 37.89 (C-2), 51.38 (OMe), 66.03 (C-5<sup>2</sup>), 80.90 (*tert*-Butyl), 119.12 (C-3), 119.89 (C-4), 125.52 (C-6), 127.28 (C-7), 127.89 (C-3<sup>1</sup>, C-5<sup>6</sup>), 128.41 (C-5<sup>5</sup>), 132.16

(C-8), 134.58 (C-9), 136.17 (C-5<sup>3</sup>), 153.25 (C-5), 161.10 (C-9<sup>1</sup>), 168.31 (C-5<sup>1</sup>), 173.48 (C-8<sup>3</sup>), 177.81 (C-1).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 536 (80, [M]<sup>+</sup>), 480 (60), 465 (12), 435 (8), 389 (24), 345 (100), 330 (10), 91 (51).

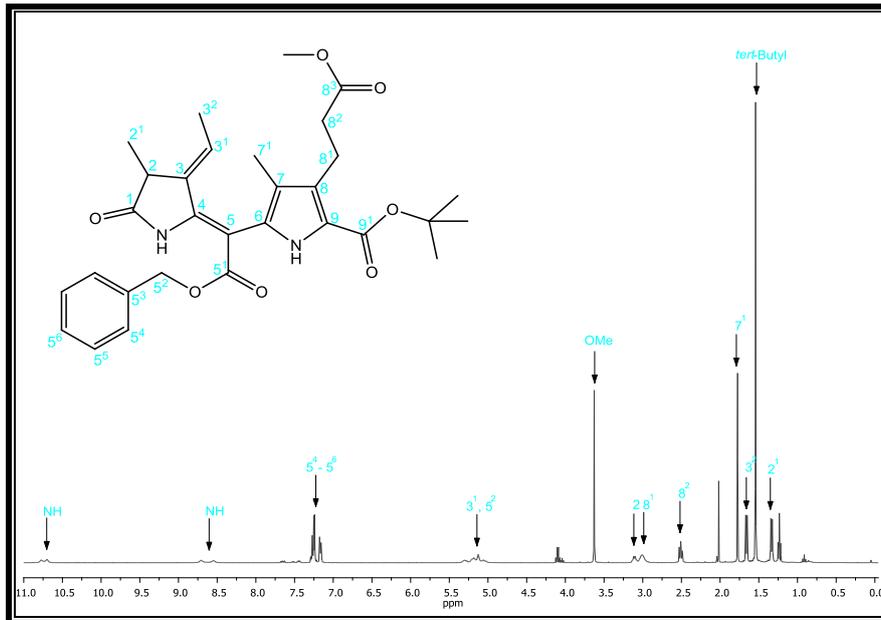
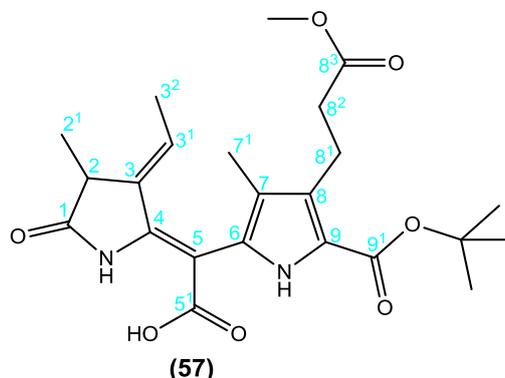


Abb. 102: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäuremethylester (**56**)

**8.3.5.2 Darstellung von 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (57)** <sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 70.0 mg (0.13 mmol) 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethylidenedipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäuremethylester (**56**) in 10 ml Tetrahydrofuran vorgelegt und 80.0 mg Palladium 10 % auf Aktivkohle (8 mg, 0.075 mmol Palladium) zugegeben. Die Apparatur wird mittels Wasserstrahlpumpe evakuiert und danach mit Wasserstoff gespült. Dieser Vorgang wird dreimal wiederholt, beim letzten Mal wird die Apparatur mit Wasserstoff geflutet und anschließend wird die Lösung 3 h gerührt. Die Apparatur wird evakuiert und belüftet, die Aktivkohle abfiltriert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels präparativer Schichtchromatographie über Silicagel mit *n*-Pentan und Ethylacetat (1:2) getrennt. Die Banden werden von der Platte entfernt und mit Pyridin eluiert. Das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt. Es werden 25.00 mg (0.056 mmol; 43 %) des Produkts (C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; M = 446.49 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.34 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>1</sup>), 1.55 (s, 9H, *tert*-Butyl), 1.66 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, H-3<sup>2</sup>), 1.77 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.51 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, H-8<sup>2</sup>), 3.01 (m, 2H, H-8<sup>1</sup>), 3.11 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, H-2), 5.15 (m, 1H, H-3<sup>1</sup>), 8.45 (s, 1H, NH), 10.74 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 9.14 (C-7<sup>1</sup>), 15.70 (C-3<sup>2</sup>), 16.40 (C-2<sup>1</sup>), 21.05 (C-8<sup>1</sup>), 28.43 (*tert*-Butyl), 35.26 (C-8<sup>2</sup>), 37.89 (C-2), 51.30 (OMe), 80.90 (*tert*-Butyl), 119.12 (C-3), 119.89

(C-4), 125.52 (C-6), 133.28 (C-7), 133.89 (C-3<sup>1</sup>), 134.16 (C-8), 134.58 (C-9), 153.25 (C-5), 160.80 (C-9<sup>1</sup>), 168.31 (C-5<sup>1</sup>), 170.60 (C-8<sup>3</sup>), 180.10 (C-1).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 446 (8, [M]<sup>+</sup>), 402 (24), 390 (12), 346 (100), 313 (51), 271 (18), 224 (7).

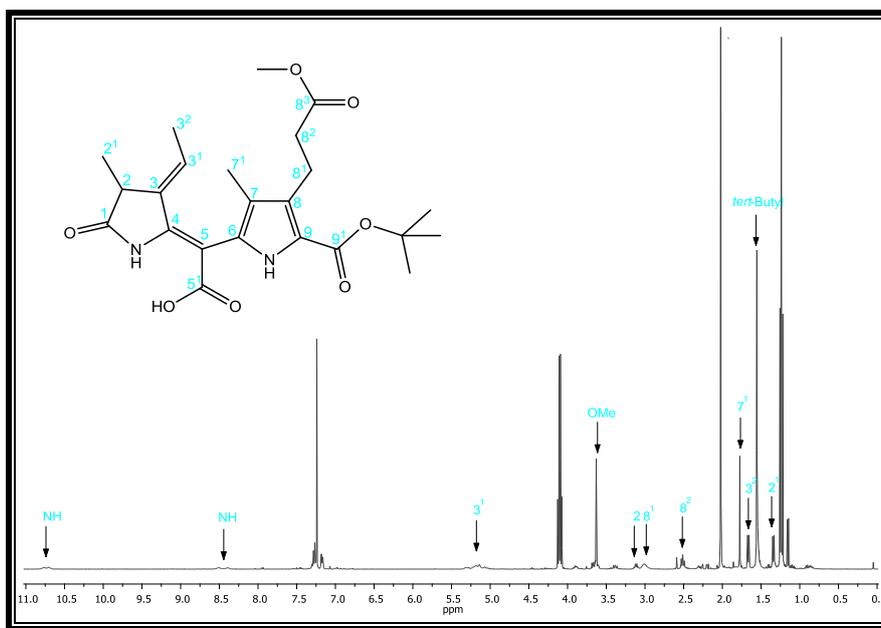
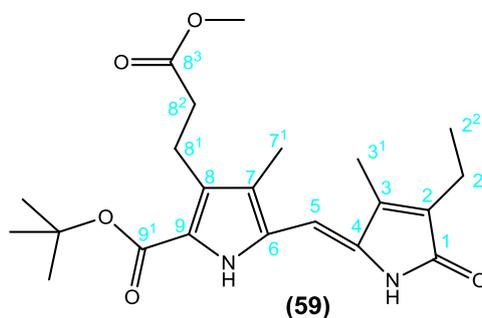


Abb. 103: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethylen-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**57**)

### 8.3.6 Synthese der CD-Hälfte (**60**)

#### 8.3.6.1 Darstellung von 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**59**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 600 mg (2.03 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**26**) und 285 mg (2.28 mmol) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-pyrrol (**58**) in 5 ml

Tetrahydrofuran gelöst und mit 2.02 ml (13.6 mmol) Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-en in 2 ml Tetrahydrofuran versetzt. Zu der Reaktionsmischung werden 2-3 Spatel Molekularsieb (3Å) zugegeben und 19 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abdekantiert und das Molekularsieb fünfmal mit je 50 ml Chloroform gewaschen. Die organische Phase wird dann dreimal mit einer 2 molaren Natriumcarbonatlösung, dreimal mit einer gesättigten Kaliumdihydrogenphosphatlösung und dreimal mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (49:1) aufgereinigt und 190 mg (0.47 mmol; 23 %) des Produkts ( $C_{22}H_{30}N_2O_5$ ;  $M = 402.48$  g/mol) erhalten.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.08 (t, 3H,  $^3J = 7.6$  Hz, H-2<sup>2</sup>), 1.54 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.06 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.09 (s, 3H, H-3<sup>1</sup>), 2.40 (q, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, H-2<sup>1</sup>), 2.51 (t, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz, H-8<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.66 (s, 3H, OMe), 5.91 (s, 1H, H-5), 8.75 (s, 1H, NH), 9.27 (s, 1H, NH).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 9.70 (C-7<sup>1</sup>), 12.80 (C-2<sup>2</sup>), 17.26 (C-2<sup>1</sup>), 20.50 (C-3<sup>1</sup>), 28.38 (*tert*-Butyl), 31.20 (C-8<sup>1</sup>), 34.90 (C-8<sup>2</sup>), 51.50 (OMe), 81.38 (*tert*-Butyl), 95.88 (C-5), 123.15 (C-8), 125.54 (C-2), 126.50 (C-6), 128.60 (C-7), 129.02 (C-9), 145.89 (C-3), 146.90 (C-4), 161.33 (C-9<sup>1</sup>), 170.15 (C-1), 173.70 (C-8<sup>3</sup>).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 403 (15,  $[M]^+$ ), 347 (100), 316 (8), 303 (12), 287 (22), 274 (8), 244 (8), 230 (6), 135 (6).

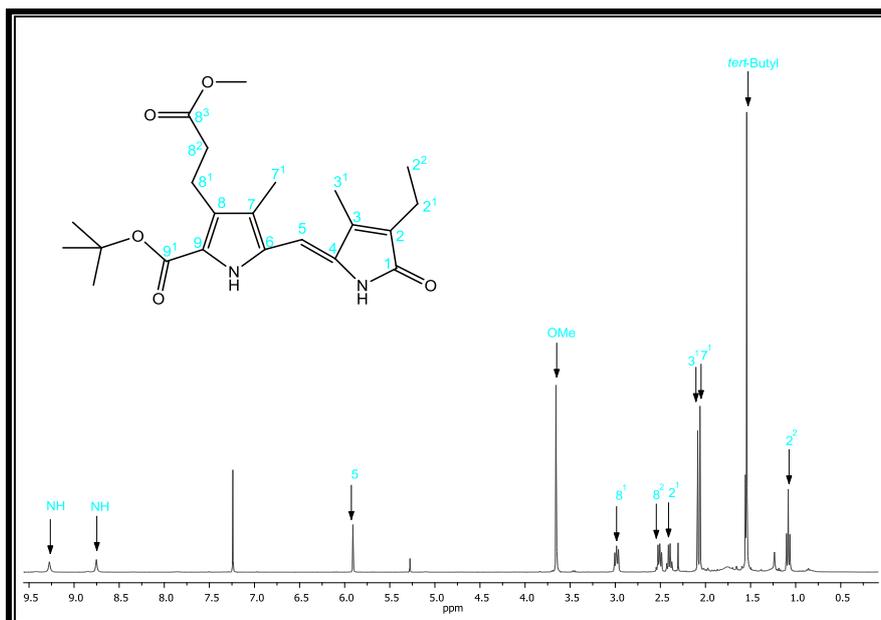
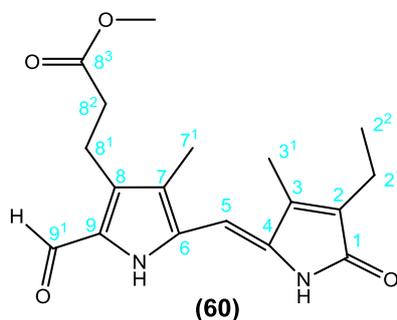


Abb. 104:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**59**)

### 8.3.6.2 Darstellung von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**60**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 15.0 ml (137 mmol) Trimethylorthoformiat in 10 ml Trifluoressigsäure vorgelegt und mit 190 mg (0.47 mmol) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**59**) in 5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Die Lösung wird 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, in 500 ml Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit je 400 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels HPLC mit Dichlormethan und Ethylacetat (3:1) aufgereinigt und es werden 0.035 g (0.106 mmol; 22 %) des Produkts ( $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ ;  $M = 330.38 \text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridin- $d_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.11 (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, H- $2^2$ ), 2.02 (s, 3H, H- $3^1$ ), 2.13 (s, 3H, H- $7^1$ ), 2.39 (q, 2H,  $^3J = 7.4$  Hz, H- $2^1$ ), 2.72 (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, H- $8^2$ ), 3.19 (t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H- $8^1$ ), 3.59 (s, 3H, OMe), 6.10 (s, 1H, H-5), 9.96 (s, 1H, H- $9^1$ ), 11.22 (s, 1H, NH), 12.67 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 8.98 (C- $7^1$ ), 12.61 (C- $2^2$ ), 12.75 (C- $2^1$ ), 17.40 (C- $3^1$ ), 19.15 (C- $8^1$ ), 35.20 (C- $8^2$ ), 51.74 (OMe), 95.05 (C-5), 123.33 (C-8), 129.89 (C-2), 130.60 (C-6), 130.88 (C-7), 132.12 (C-9), 146.60 (C-3), 148.55 (C-4), 170.10 (C-1), 172.82 (C- $8^3$ ), 178.54 (C- $9^1$ ).

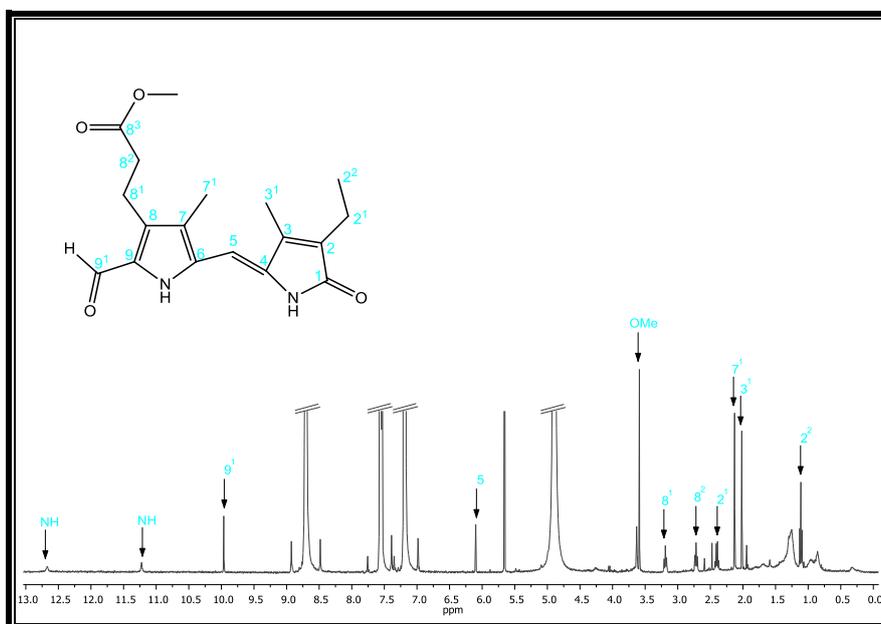
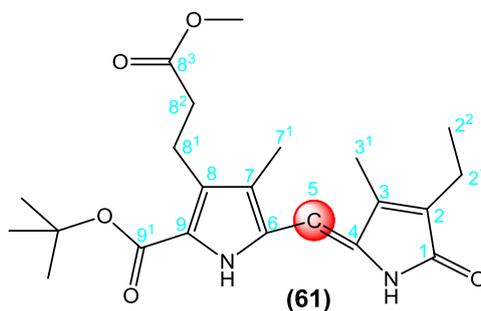


Abb. 105:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycabonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**60**)

**8.3.6.3 Darstellung von (5-<sup>13</sup>C)-2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (61)** <sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 450 mg (1.52 mmol) (5-<sup>13</sup>C)-5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**27**) und 213 mg (1.70 mmol) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-pyrrol (**58**) in 5 ml Tetrahydrofuran gelöst. Die Reaktionsmischung wird mit 1.52 ml (10.2 mmol) Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-en in 2 ml Tetrahydrofuran, 2-3 Spatel Molekularsieb (3Å) versetzt und 19 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abdekantiert und das Molekularsieb fünfmal mit je 50 ml Dichlormethan gewaschen. Die organische Phase wird dann dreimal mit einer zwei molaren Natriumcarbonatlösung, dreimal mit einer gesättigten Kaliumdihydrogenphosphatlösung und dreimal mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (49:1) aufgereinigt. Es werden 205 mg (0.51 mmol; 34 %) des Produkts (C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; M = 402.48 g/mol).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.08 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>2</sup>), 1.54 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.06 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.09 (s, 3H, H-3<sup>1</sup>), 2.40 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>1</sup>), 2.52 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, H-8<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.66 (s, 3H, OMe), 5.72 und 6.12 (2x s, 1H, H-5), 8.82 (s, 1H, NH), 9.28 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 97.39 (<sup>13</sup>C-5).

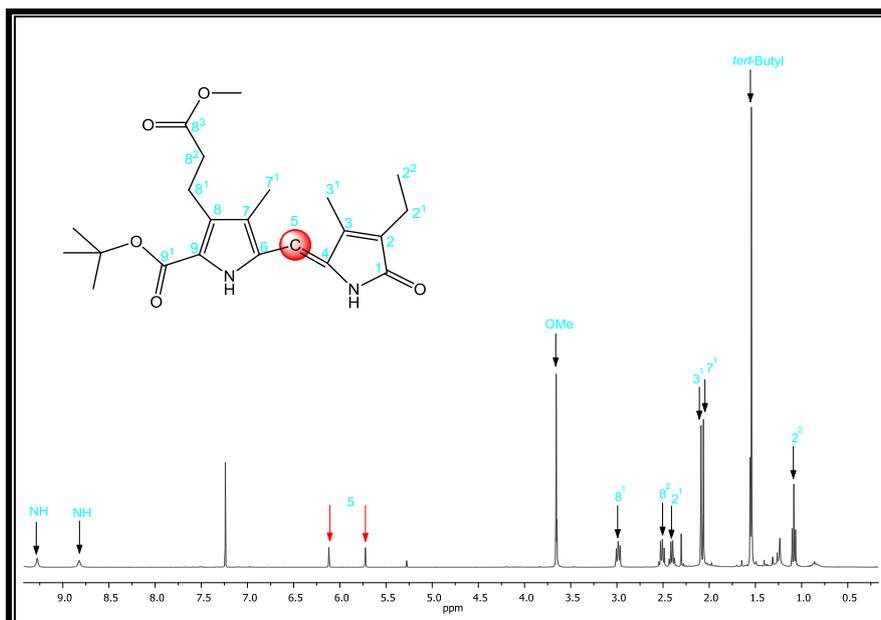
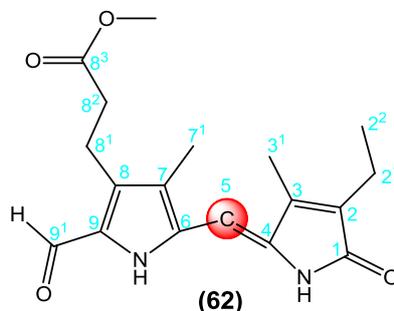


Abb. 106:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (5- $^{13}\text{C}$ )-2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**61**). Rot markiert ist das durch die  $^{13}\text{C}$ -Markierung aufgesplante Signal der Methinbrücke.

#### 8.3.6.4 Darstellung von (5- $^{13}\text{C}$ )-2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**62**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 7.5 ml (69 mmol) Trimethylorthoformiat in 10 ml Trifluoressigsäure vorgelegt und mit 100 mg (0.25 mmol) (5- $^{13}\text{C}$ )-2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**61**) in 5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Die Lösung wird 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, in 400 ml Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit je 400 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (2:1) aufgereinigt.

Es ergeben sich 0.022 g (0.067 mmol; 27 %) des Produkts ( $C_{18}H_{22}N_2O_4$ ;  $M = 330.38$  g/mol).

$^1H$ -NMR (Pyridin- $d_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.12 (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, H- $2^2$ ), 2.02 (s, 3H, H- $3^1$ ), 2.13 (s, 3H, H- $7^1$ ), 2.41 (q, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H- $2^1$ ), 2.72 (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, H- $8^2$ ), 3.19 (t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H- $8^1$ ), 3.59 (s, 3H, OMe), 5.90 und 6.30 (2x s, 1H, H-5), 9.96 (s, 1H, H- $9^1$ ), 11.20 (s, 1H, NH), 12.63 (s, 1H, NH).

$^{13}C$ -NMR (Pyridin- $d_5$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 97.39 ( $^{13}C$ -5).

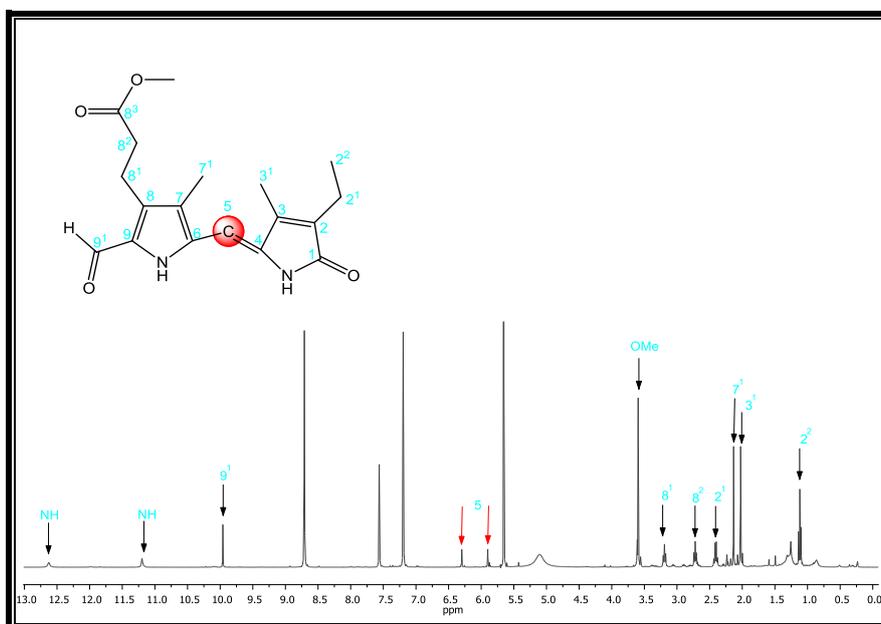
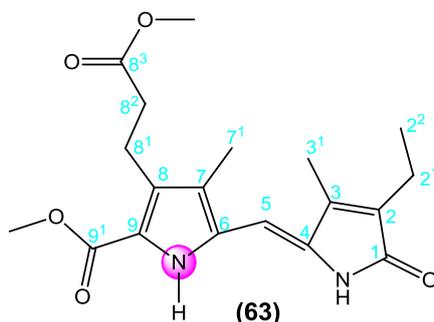


Abb. 107:  $^1H$ -NMR-Spektrum von (5- $^{13}C$ )-2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**62**). Rot markiert ist das durch die  $^{13}C$ -Markierung aufgespaltene Signal der Methinbrücke.

**8.3.6.5 Darstellung von (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäuremethylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1H-pyrrol (63)** <sup>[15,16,42]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 783 mg (3.08 mmol) (<sup>15</sup>N)-5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (**28**) und 401 mg (3.20 mmol) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5H)-pyrrol (**58**) in 5 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 0.9 ml (6.03 mmol) Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-en in 2 ml Tetrahydrofuran versetzt. Zu der Reaktionsmischung werden 2-3 Spatel Molekularsieb (3Å) zugegeben und 19 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abdekantiert und das Molekularsieb fünfmal mit je 50 ml Chloroform gewaschen. Die organische Phase wird dann dreimal mit einer zwei molaren Natriumcarbonatlösung, dreimal mit einer gesättigten Kaliumdihydrogenphosphatlösung und dreimal mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (49:1) aufgereinigt. Es werden 466 mg (1.23 mmol; 42 %) des Produkts (C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; M = 361.40 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.09 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, H-2<sup>2</sup>), 2.07 (s, 3H, H-3<sup>1</sup>), 2.10 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.38 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>1</sup>), 2.53 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, H-8<sup>2</sup>), 3.03 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3H, OMe), 3.83 (s, 3H, OMe), 5.92 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, H-5), 8.40 (s, 1H, NH), 9.01 und 9.25 (2x s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 9.17 (C-7<sup>1</sup>), 13.28 (C-2<sup>2</sup>), 16.84 (C-2<sup>1</sup>), 20.48 (C-3<sup>1</sup>), 31.15 (C-8<sup>1</sup>), 34.55 (C-8<sup>2</sup>), 51.38 und 51.54 (2x OMe), 97.24 (C-5), 121.59 und 121.65 (C-9), 123.25 und

123.40 (C-7), 128.24 und 128.39 (C-6), 130.75 und 130.90 (C-8), 133.82 (C-4), 136.32 (C-2), 141.59 (C-3), 160.97 (C-9<sup>1</sup>), 173.20 (C-1), 173.56 (C-8<sup>3</sup>).

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 361 (76, [M]<sup>+</sup>), 330 (8), 301 (8), 287 (100), 269 (9), 227 (14), 212 (7).

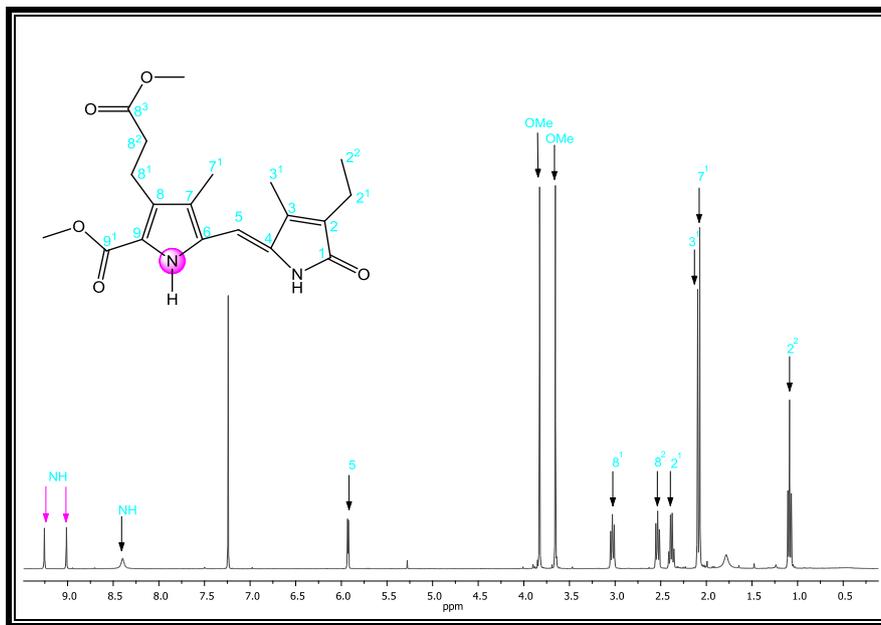
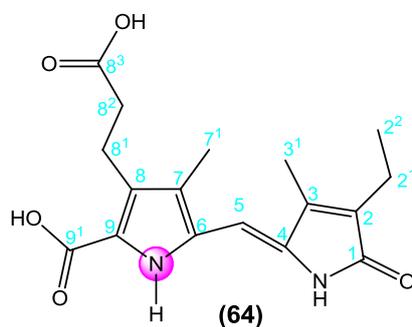


Abb. 108: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäuremethylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**63**). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup>N-Markierung aufgesplante Protonensignal des Stickstoffs.

### 8.3.6.6 Darstellung von (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäure-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**64**)



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 100 mg (0.28 mmol) (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäuremethylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethyl-pyrromethen-1*H*-pyrrol (**63**) in 5 ml Methanol gelöst und mit 0.5 g (8.9 mmol) Kaliumhydroxid in 4 ml destilliertem Wasser versetzt. Die Reaktionsmischung wird

3 h bei 100 °C zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der gelbe Rückstand wird in 50 ml Diethylether aufgenommen und dreimal mit je 50 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 84.0 mg (0.25 mmol; 90 %) (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäure-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**64**) (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; M = 333.35 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (Pyridin-d<sub>5</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.12 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>2</sup>), 2.02 (s, 3H, H-3<sup>1</sup>), 2.27 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.42 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>1</sup>), 3.09 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-8<sup>2</sup>), 3.64 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-8<sup>1</sup>), 6.16 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, H-5), 11.16 (s, 1H, NH), 11.69 und 11.93 (2x s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (Pyridin-d<sub>5</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 9.34 (C-7<sup>1</sup>), 13.54 (C-2<sup>2</sup>), 17.23 (C-2<sup>1</sup>), 21.62 (C-3<sup>1</sup>), 29.91 (C-8<sup>1</sup>), 36.02 (C-8<sup>2</sup>), 97.49 (C-5), 121.65 und 121.69 (C-9), 122.43 und 123.57 (C-7), 128.67 und 128.82 (C-6), 130.68 und 130.72 (C-8), 133.77 (C-4), 138.16 (C-2), 141.06 (C-3), 163.76 (C-9<sup>1</sup>), 173.25 (C-1), 175.88 (C-8<sup>3</sup>).

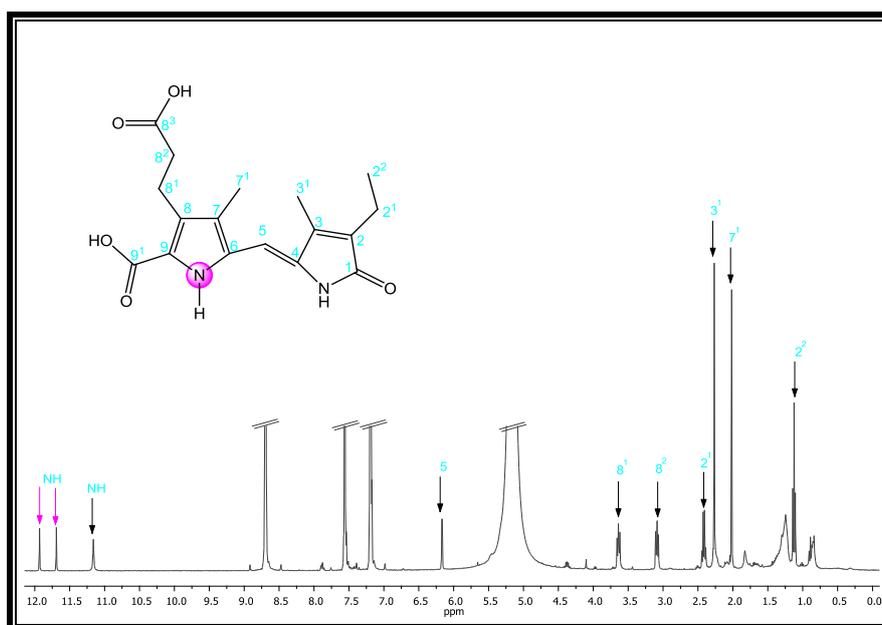
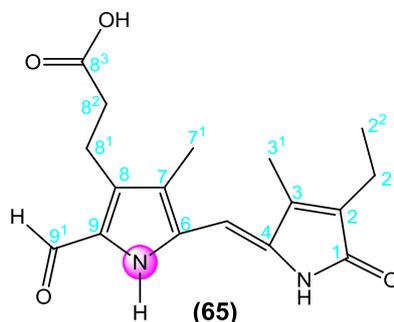


Abb. 109: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäure-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**64**). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup>N-Markierung aufgespaltene Protonensignal des Stickstoffs.

8.3.6.7 Darstellung von (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-formyl-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**65**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 80.0 mg (0.24 mmol) (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäure-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**64**) in 5 ml Trifluoressigsäure vorgelegt. Zu der Lösung werden langsam 8.4 ml (77 mmol) Trimethylorthoformiat in 4 ml Trifluoressigsäure zugetropft. Anschließend wird die Lösung 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, in 100 ml Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit je 100 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels HPLC mit Dichlormethan und Ethylacetat (3:1) aufgereinigt. Es ergeben sich 0.017 g (0.054 mmol; 22 %) des Produkts (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; M = 317.35 g/mol).

<sup>1</sup>H-NMR (Pyridin-d<sub>5</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.12 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>2</sup>), 2.02 (s, 3H, H-3<sup>1</sup>), 2.18 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.40 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>1</sup>), 2.89 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-8<sup>2</sup>), 3.33 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-8<sup>1</sup>), 6.10 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, H-5), 10.07 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, H-9<sup>1</sup>), 11.23 (s, 1H, NH), 12.46 und 12.70 (2x s, 1H, NH).

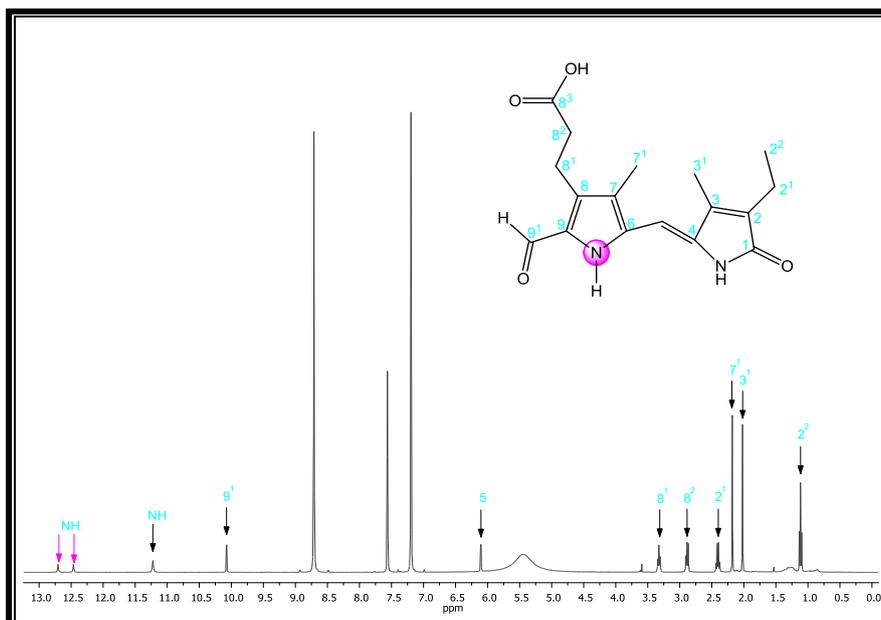
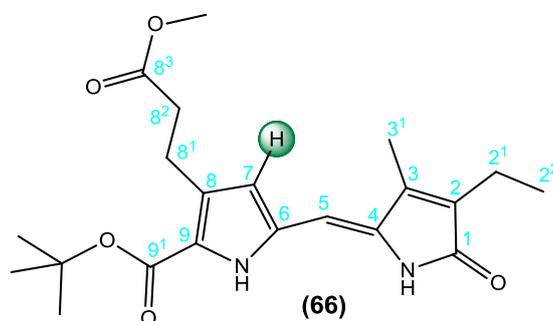


Abb. 110:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von ( $^{15}\text{N}$ )-2-Ethyl-9-formyl-8-propionsäure-3,7-dimethyl-pyrromethen-1*H*-pyrrol (**65**). Pink markiert ist das durch die  $^{15}\text{N}$ -Markierung aufgespaltene Protonensignal des Stickstoffs.

### 8.3.6.8 Darstellung von 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrromethen-1*H*-pyrrol (**66**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 358 mg (1.27 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**29**) und 191 mg (1.53 mmol) 3-Ethyl-4-methyl-3-pyrrolin-2-on in 15 ml Tetrahydrofuran vorgelegt. Es werden 0.47 ml (3.18 mmol) Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-en in 4 ml Tetrahydrofuran und 2-3 Spatel Molekularsieb (3Å) zugegeben und 20 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abdekantiert und das Molekularsieb fünfmal mit je 50 ml Chloroform gewaschen. Die organische Phase wird dann dreimal mit einer zwei molaren Natriumcarbonatlösung, dreimal mit einer gesättigten Kaliumdihydrogenphosphatlösung und dreimal

mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (49:1) aufgereinigt, woraus sich 125 mg (0.32 mmol; 25 %) des Produkts ( $C_{21}H_{28}N_2O_5$ ;  $M = 388.46$  g/mol) ergeben.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.10 (t, 3H,  $^3J = 7.6$  Hz, H-2<sup>2</sup>), 1.56 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.05 (s, 3H, H-3<sup>1</sup>), 2.37 (q, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, H-2<sup>1</sup>), 2.61 (t, 2H,  $^3J = 7.8$  Hz, H-8<sup>2</sup>), 3.04 (t, 2H,  $^3J = 7.8$  Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.66 (s, 3H, OMe), 5.81 (s, 1H, H-5), 6.21 (d, 1H,  $^4J = 2.8$  Hz, H-7), 7.68 (s, 1H, NH), 8.86 (s, 1H, NH).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 13.05 (C-2<sup>2</sup>), 16.59 (C-2<sup>1</sup>), 22.27 (C-3<sup>1</sup>), 28.28 (*tert*-Butyl), 30.32 (C-8<sup>1</sup>), 34.66 (C-8<sup>2</sup>), 51.58 (OMe), 82.67 (*tert*-Butyl), 95.90 (C-5), 120.37 (C-7), 125.50 (C-8), 126.05 (C-2), 130.38 (C-6), 132.17 (C-9), 145.90 (C-3), 146.90 (C-4), 159.81 (C-9<sup>1</sup>), 173.26 (C-1), 175.57 (C-8<sup>3</sup>).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 389 (15  $[M]^+$ ), 347 (100), 316 (9), 303 (13), 287 (22), 274 (8), 244 (8), 230 (7), 135 (6).

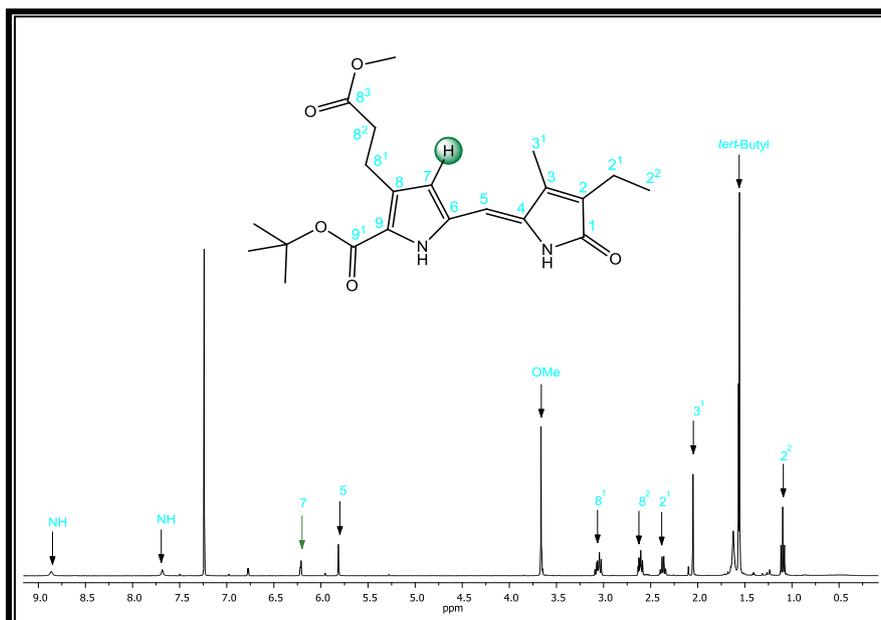
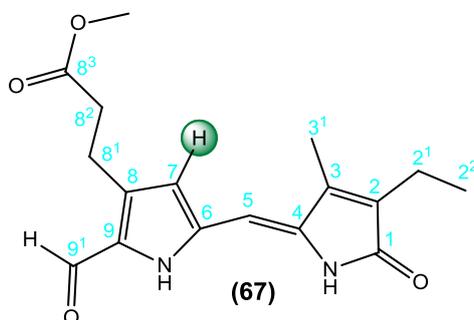


Abb. 111:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrromethen-1*H*-pyrrol (**66**). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7.

### 8.3.6.9 Darstellung von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrromethen-1*H*-pyrrol (**67**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 5.0 ml (46 mmol) Trimethylorthoformiat in 5 ml Trifluoressigsäure vorgelegt und mit 57.0 mg (0.18 mmol) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**66**) in 2.5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Die Lösung wird 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, in 200 ml Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit je 400 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels HPLC mit Dichlormethan und Ethylacetat (3:1) aufgereinigt und es werden 12.5 mg (39.5  $\mu\text{mol}$ ; 22 %) des Produkts ( $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$ ;  $M = 316.35 \text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.01 (t, 3H,  $^3J = 7.6$  Hz, H-2<sup>2</sup>), 1.93 (s, 3H, H-3<sup>1</sup>), 2.41 (m, 2H, H-2<sup>1</sup>), 2.72 (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, H-8<sup>2</sup>), 3.25 (t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.56 (s, 3H, OMe), 6.21 (s, 1H, H-5), 7.05 (s, 1H, H-7), 10.04 (s, 1H, H-9<sup>1</sup>), 10.74 (s, 1H, NH), 13.10 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 9.81 (C-3<sup>1</sup>), 13.03 (C-22), 17.31 (C-2<sup>1</sup>), 23.56 (C-8<sup>1</sup>), 35.69 (C-8<sup>2</sup>), 51.43 (OMe), 97.27 (C-5), 112.33 (C-7), 123.33 (C-8), 129.89 (C-2), 130.60 (C-6), 132.12 (C-9), 146.60 (C-3), 148.55 (C-4), 172.99 (C-1), 173.12 (C-8<sup>3</sup>), 177.71 (C-9<sup>1</sup>).

NOE bei für H-5 bei 6.208 ppm ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.93 (s, H-3<sup>1</sup>), 7.06 (s, H-7), 10.75 (s, NH), 13.11 (s, NH).

NOE bei für H-7 bei 7.06 ppm ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.71 (t, H-8<sup>2</sup>), 3.25 (t, H-8<sup>1</sup>), 6.21 (s, H-5), 10.75 (s, NH), 13.11 (s, NH).

NOE bei 6.208 ppm ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.72 (t, H-8<sup>2</sup>), 3.27 (t, H-8<sup>1</sup>), 13.11 (s, NH).

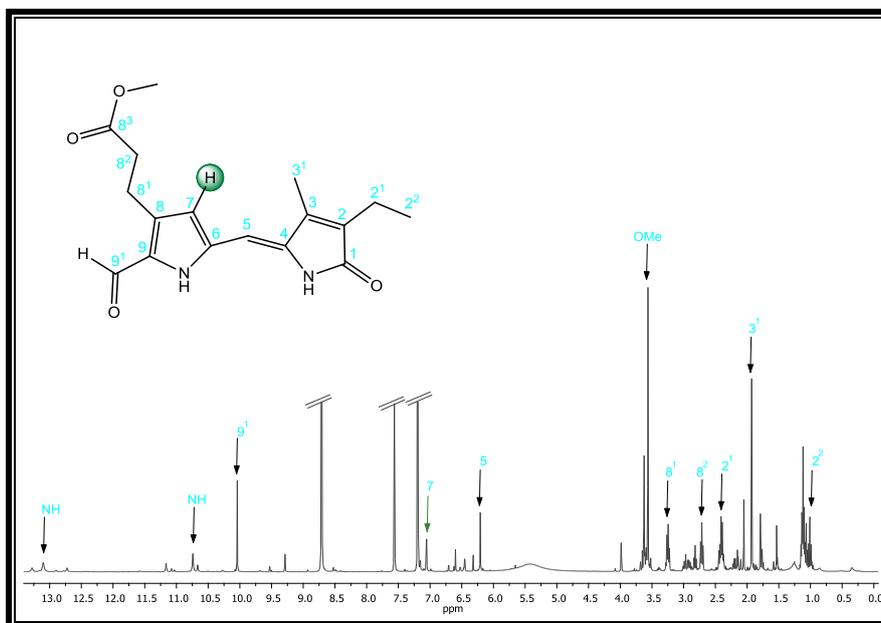
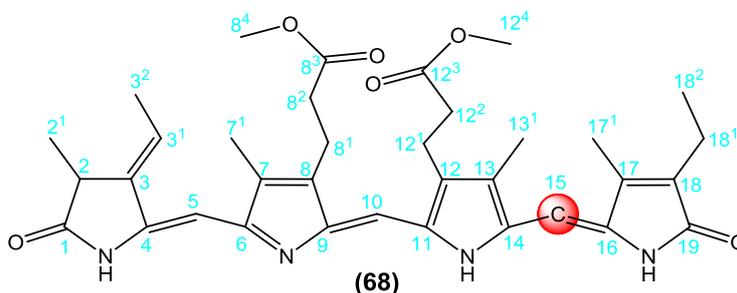


Abb. 112:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**67**). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7.

### 8.3.7 Synthese der Phycocyanobilin-Tetrapyrrole

#### 8.3.7.1 Darstellung von (15-<sup>13</sup>C)-Phycocyanobilindimethylester (68)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 29.70 mg (0.067 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**57**) in 3 ml Trifluoressigsäure gelöst und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem die Lösung auf -10 °C abgekühlt ist, werden 22.00 mg (0.067 mmol) (5-<sup>13</sup>C)-2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**62**) in 3 ml Trifluoressigsäure zugetropft und die Reaktionsmischung wird 8 h bei -10 °C gerührt. Es werden 3 ml Methanol zugefügt und die Reaktionsmischung wird weitere 30 Minuten unter Erwärmen auf Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Argonstrom vertrieben, der Rückstand in 50 ml Dichlormethan aufgenommen, dreimal mit je 200 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels präparativer Schichtchromatographie über Silicagel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (1:1) gereinigt. Die dunkelblaue Bande wird von der Platte entfernt und mit Pyridin eluiert. Nachdem das Silicagel abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt ist, werden 16.6 mg (27.0 μmol; 40 %) des Produkts (C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>; M = 615.73 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (Pyridin-d<sub>5</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.25 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>2</sup>), 1.48 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, H-2<sup>1</sup>), 1.71 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, H-3<sup>2</sup>), 1.94 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.09 (s, 3H, H-13<sup>1</sup>), 2.10 (s, 3H, H-17<sup>1</sup>), 2.49 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-18<sup>1</sup>), 2.68 (m, 4H, H-8<sup>2</sup> + H-12<sup>2</sup>), 2.98 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.06 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, H-12<sup>1</sup>), 3.36 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, H-2), 3.61 (2x s, 6H, 2x OMe), 5.87 (s, 1H, H-5), 5.88 und 6.27 (2x s, 1H, H-15), 6.33 (dq, 1H, J<sub>d</sub> = 2.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.1 Hz, H-3<sup>1</sup>), 7.02 (s, 1H, H-10), 11.10 (s, 1H, NH), 12.59 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -NMR (Pyridin- $d_5$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 96.08 ( $^{13}\text{C}$ -15).

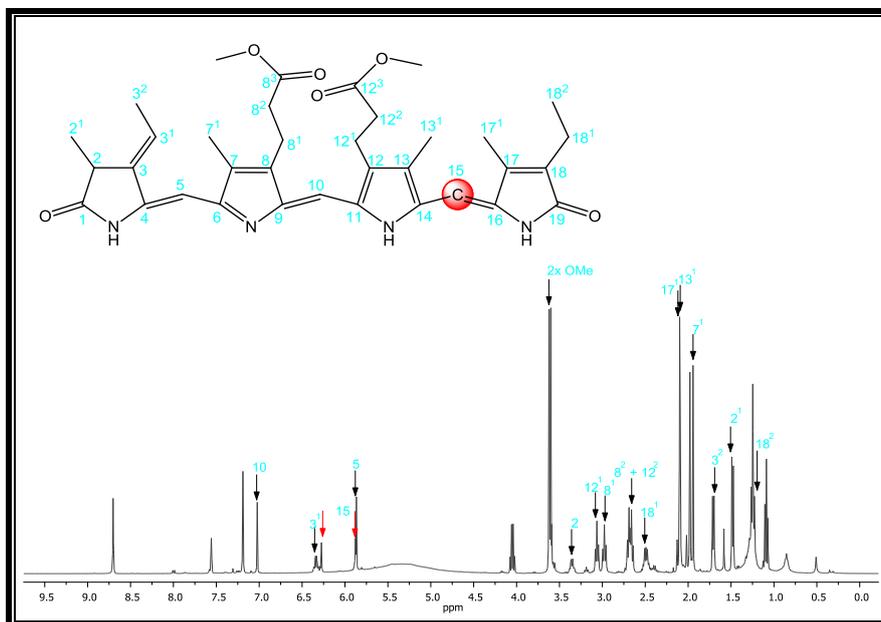
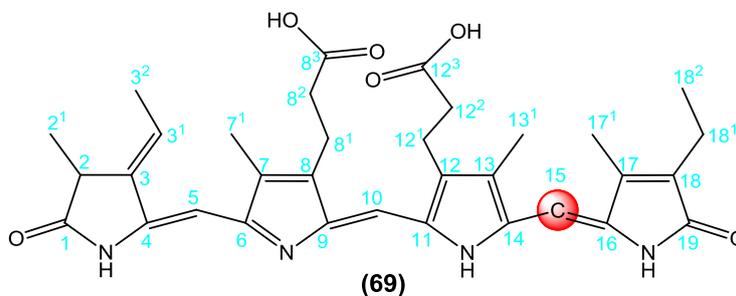


Abb. 113:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilindimethylester (**68**). Rot markiert ist das durch die  $^{13}\text{C}$ -Markierung aufgesplante Signal der Methinbrücke.

### 8.3.7.2 Darstellung von ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilin (**69**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 16.6 mg (27.0  $\mu\text{mol}$ ) ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilindimethylester (**68**) in 30 ml einer Mischung aus Trifluoressigsäure und destilliertem Wasser (1:1) gelöst, mit 13 g saurem Ionenaustauscher versetzt und 40 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ionenaustauscher wird über eine Fritte (Pore 4) abfiltriert und fünfmal abwechselnd mit 50 ml destilliertem Wasser und 50 ml eines Gemisches aus Dichlormethan und Methanol (49:1) gewaschen. Die organische Phase wird mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, bis die wässrige Phase einen pH-Wert von etwa 6 hat. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum

entfernt. Das Rohprodukt wird mittels präparativer Schichtchromatographie über Silicagel (Merck 60) mit einem Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan, Methanol, n-Hexan (10:2:2) gereinigt. Die dunkelblaue Bande wird von der Platte entfernt und mit Pyridin eluiert. Nachdem das Silicagel abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt ist, werden 3.60 mg (6.13  $\mu\text{mol}$ ; 23 %) des Produkts ( $\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_6$ ;  $M = 586.67 \text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridin- $d_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.15 (t, 2H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H-2 $^2$ ), 1.48 (d, 3H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ , H-2 $^1$ ), 1.71 (d, 3H,  $^3J = 7.2 \text{ Hz}$ , H-3 $^2$ ), 2.02 (s, 3H, H-7 $^1$ ), 2.09 (s, 3H, H-13 $^1$ ), 2.14 (s, 3H, H-17 $^1$ ), 2.49 (q, 2H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H-18 $^1$ ), 2.87 (m, 4H, H-8 $^2$  + H-12 $^2$ ), 3.12 (t, 2H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H-8 $^1$ ), 3.20 (t, 2H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ , H-12 $^1$ ), 3.36 (q, 1H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ , H-2), 5.86 (s, 1H, H-5), 5.88 und 6.28 (2x s, 1H, H-15), 6.32 (dq, 1H,  $J_d = 2.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_q = 7.1 \text{ Hz}$ , H-3 $^1$ ), 7.12 (s, 1H, H-10), 11.10 (s, 1H, NH), 12.59 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (Pyridin- $d_5$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 96.08 ( $^{13}\text{C-15}$ ).

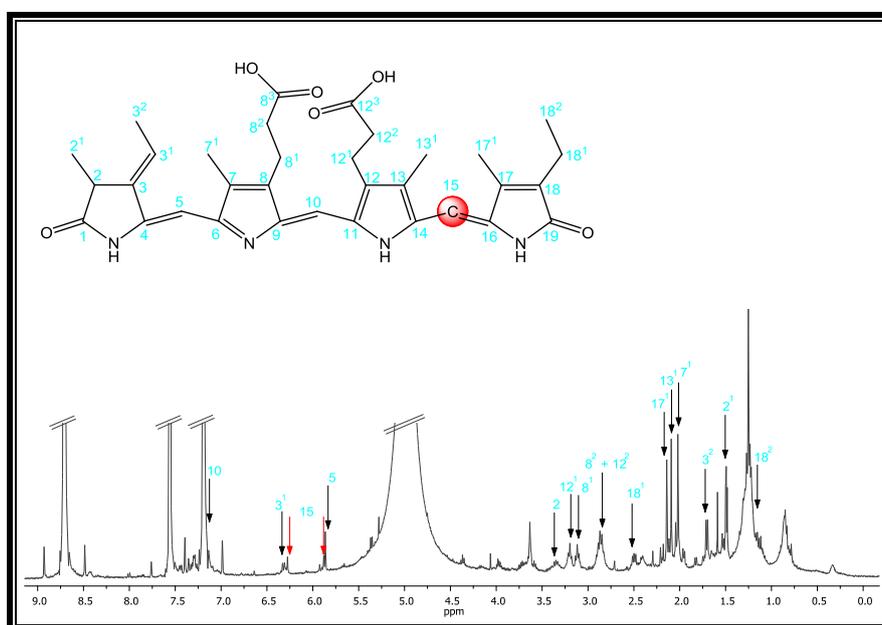
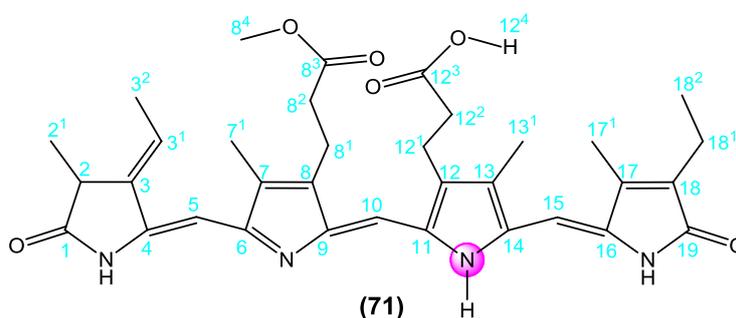
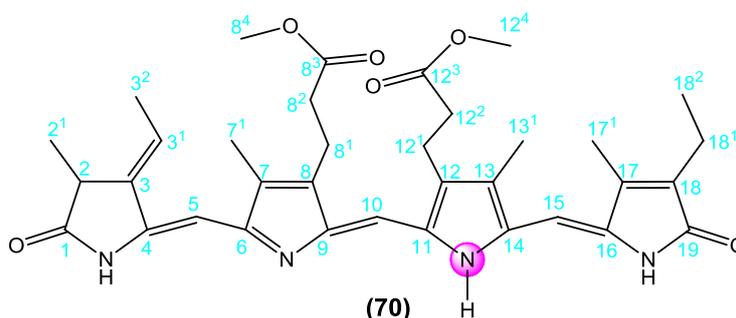


Abb. 114:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-Phycocyanobilin (**69**). Rot markiert ist das durch die  $^{13}\text{C}$ -Markierung aufgesplante Signal der Methinbrücke.

8.3.7.3 Darstellung von (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilindimethylester (**70**) und (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilinmethylester (**71**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 30.90 mg (0.069 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethylidipyririn-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**57**) in 3 ml Trifluoressigsäure gelöst und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem die Lösung auf -10 °C abgekühlt ist, werden 25.10 mg (0.069 mmol) (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-formyl-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**65**) in 3 ml Trifluoressigsäure zugetropft und 8 h bei -10 °C gerührt. Es werden 3 ml Methanol zur Reaktionsmischung hinzugefügt und die Lösung wird weitere 30 Minuten unter Erwärmen auf Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Argonstrom vertrieben, der Rückstand in 50 ml Dichlormethan aufgenommen, dreimal mit je 200 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels präparativer Schichtchromatographie über Silicagel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (1:1) gereinigt. Die beiden dunkelblauen Banden werden von der Platte entfernt und mit Pyridin eluiert. Nachdem das Silicagel abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt ist, werden 14.3 mg (23.2 μmol; 33 %) (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilindimethylester (**70**) (C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>; M = 615.73 g/mol) und 7.10 mg (11.8 μmol; 17 %) (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilinmethylester (**71**) (C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>; M = 601.70 g/mol) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  für **(70)** (Pyridin- $d_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.15 (m, 2H, H-2<sup>2</sup>), 1.48 (d, 3H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-2<sup>1</sup>), 1.70 (d, 3H,  $^3J = 6.5$  Hz, H-3<sup>2</sup>), 1.98 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.09 (s, 3H, H-13<sup>1</sup>), 2.10 (s, 3H, H-17<sup>1</sup>), 2.50 (q, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-18<sup>1</sup>), 2.68 (m, 4H, H-8<sup>2</sup> + H-12<sup>2</sup>), 2.98 (t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.06 (t, 2H,  $^3J = 7.4$  Hz, H-12<sup>1</sup>), 3.36 (q, 1H,  $^3J = 7.4$  Hz, H-2), 3.60 (2x s, 6H, 2x OMe), 5.87 (s, 1H, H-5), 6.07 (d, 1H,  $^3J = 3.9$  Hz, H-15), 6.33 (m, 1H, H-3<sup>1</sup>), 7.02 (d, 1H,  $^3J = 4.3$  Hz, H-10), 11.12 (s, 1H, NH).

Massenspektrum (ESI, positive Ionen, in Dichlormethan und Methanol):

Experimentell bestimmte Masse (m/z) = 638 g/mol [M+Na]<sup>+</sup>

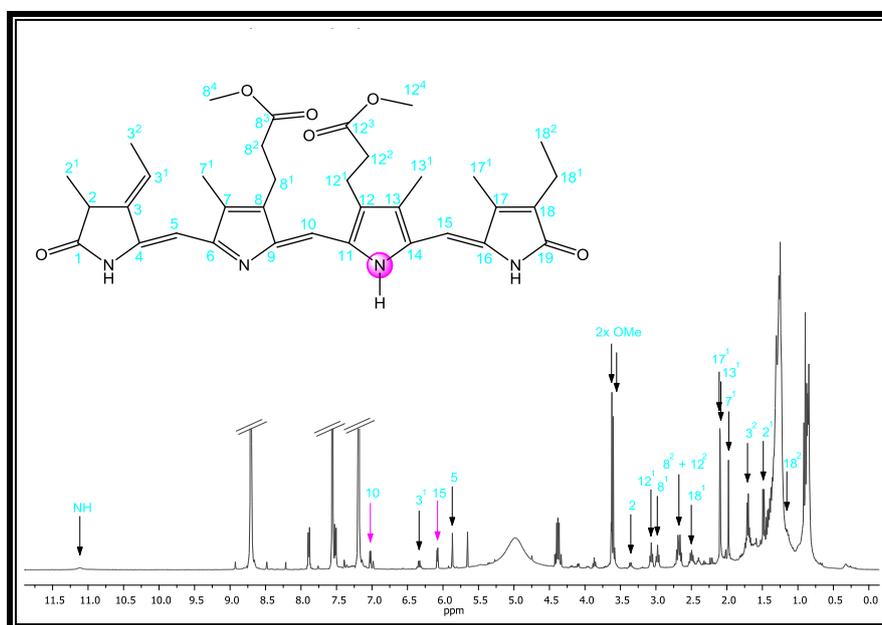


Abb. 115:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (22- $^{15}\text{N}$ )-Phycocyanobilindimethylester **(70)**. Pink markiert ist das durch die  $^{15}\text{N}$ -Markierung aufgesplittene Signal der beiden benachbarten Methinbrücken.

$^1\text{H-NMR}$  für **(71)** (Pyridin- $d_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.15 (t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-2<sup>2</sup>), 1.48 (d, 3H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-2<sup>1</sup>), 1.71 (d, 3H,  $^3J = 6.6$  Hz, H-3<sup>2</sup>), 1.97 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.09 (s, 3H, H-13<sup>1</sup>), 2.15 (s, 3H, H-17<sup>1</sup>), 2.50 (m, 2H, H-18<sup>1</sup>), 2.68 (t, 4H,  $^3J = 7.6$  Hz, H-8<sup>2</sup>), 2.85 (t, 2H,  $^3J = 7.3$  Hz, H-12<sup>2</sup>), 2.97 (t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.19 (t, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz, H-12<sup>1</sup>), 3.35 (m, 1H, H-2), 3.61 (s, 6H, OMe), 5.86 (s, 1H, H-5), 6.08 (d, 1H,  $^3J = 3.8$  Hz, H-15), 6.33 (m, 1H, H-3<sup>1</sup>), 7.15 (d, 1H,  $^3J = 4.3$  Hz, H-10), 11.13 (s, 1H, NH).

Massenspektrum (ESI, positive Ionen, in Dichlormethan und Methanol):

Experimentell bestimmte Masse (m/z) = 624 g/mol [M+Na]<sup>+</sup>

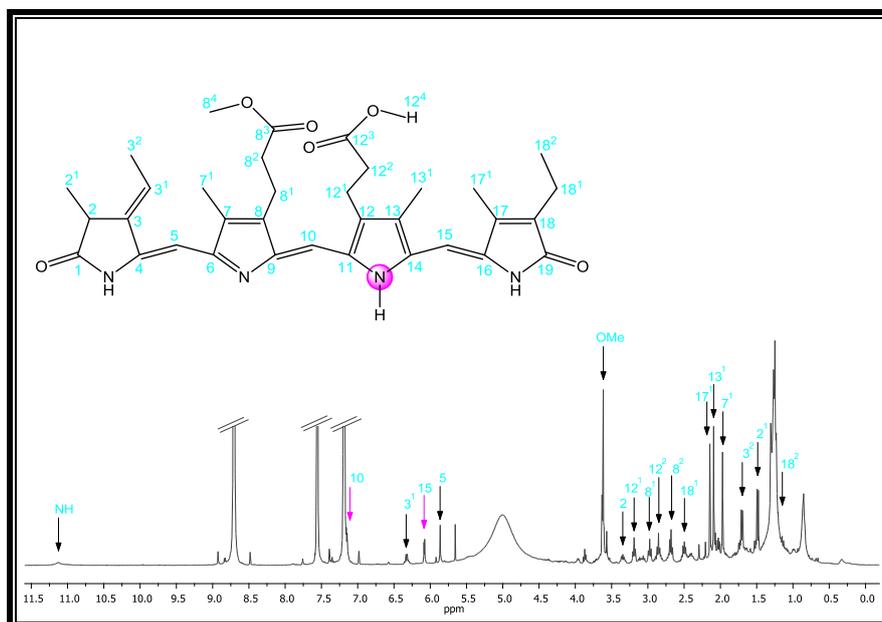
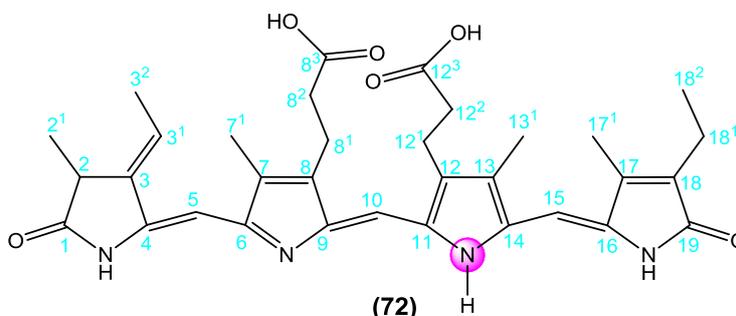


Abb. 116: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilinmethylester (**71**). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup>N-Markierung aufgesplante Signal der beiden benachbarten Methinbrücken.

#### 8.3.7.4 Darstellung von (22-<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilin (**72**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 7.3 mg (11.8 μmol) (<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilindimethylester (**70**) in 15 ml einer Mischung aus Trifluoressigsäure und destilliertem Wasser (1:1) gelöst, mit 22 g saurem Ionenaustauscher versetzt und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ionenaustauscher wird über eine Fritte (Pore 4) abfiltriert und fünfmal abwechselnd mit 50 ml destilliertem Wasser und 50 ml eines Gemisches aus Dichlormethan und Methanol (49:1) gewaschen. Die organische Phase wird mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, bis die wässrige Phase einen pH-Wert von etwa 6 hat. Die organische Phase wird über

Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels präparativer Schichtchromatographie über Silicagel (Merck 60) mit einem Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan, Methanol, n-Hexan (10:2:2) gereinigt. Die dunkelblaue Bande wird von der Platte entfernt und mit Pyridin eluiert. Nachdem das Silicagel abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt ist, werden 2.50 mg (4.25  $\mu\text{mol}$ ; 36 %) des Produkts ( $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6$ ;  $M = 587.68 \text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridin- $d_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.15 (t, 2H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H-2 $^2$ ), 1.49 (d, 3H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H-2 $^1$ ), 1.70 (d, 3H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ , H-3 $^2$ ), 2.03 (s, 3H, H-7 $^1$ ), 2.09 (s, 3H, H-13 $^1$ ), 2.15 (s, 3H, H-17 $^1$ ), 2.51 (q, 2H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ , H-18 $^1$ ), 2.88 (m, 4H, H-8 $^2$  + H-12 $^2$ ), 3.12 (t, 2H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ , H-8 $^1$ ), 3.19 (t, 2H,  $^3J = 7.3 \text{ Hz}$ , H-12 $^1$ ), 3.36 (q, 1H,  $^3J = 7.1 \text{ Hz}$ , H-2), 5.87 (s, 1H, H-5), 6.08 (d, 1H,  $^3J = 3.9 \text{ Hz}$ , H-15), 6.33 (dq, 1H,  $J_d = 2.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_q = 7.1 \text{ Hz}$ , H-3 $^1$ ), 7.27 (d, 1H,  $^3J = 4.3 \text{ Hz}$ , H-10), 11.14 (s, 1H, NH).

Massenspektrum (ESI, positive Ionen, in Dichlormethan und Methanol):

Experimentell bestimmte Masse ( $m/z$ ) = 586.3 g/mol [M-H]

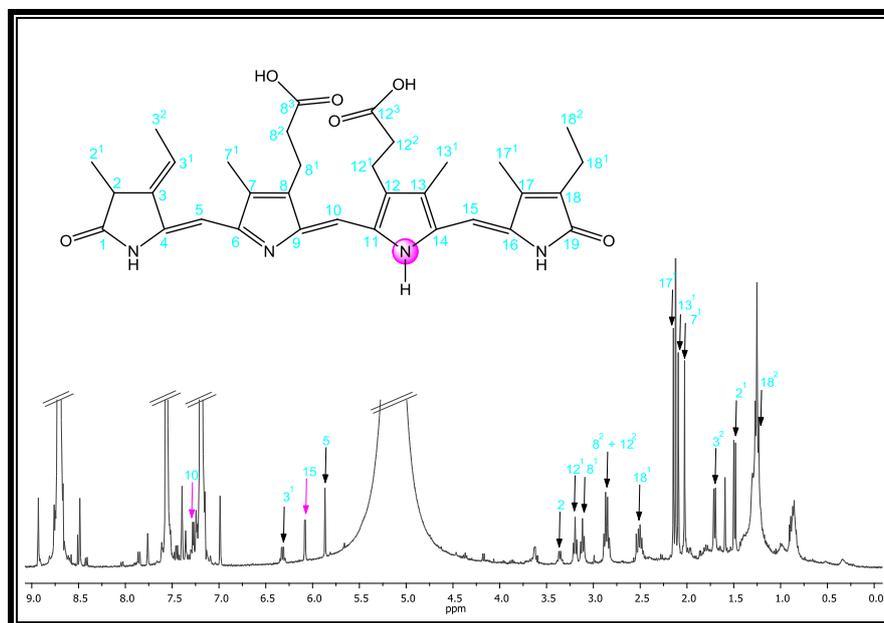
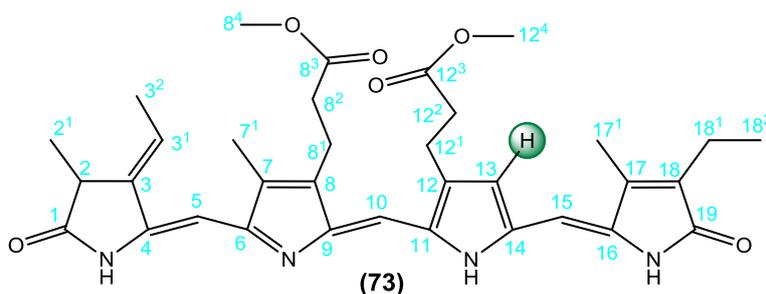


Abb. 117:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von ( $22\text{-}^{15}\text{N}$ )-Phycocyanobilin (**72**). Pink markiert ist das durch die  $^{15}\text{N}$ -Markierung aufgespaltene Signal der beiden benachbarten Methinbrücken.

**8.3.7.5 Darstellung von (13H)-Phycocyanobilindimethylester (73)** <sup>[15,16]</sup>


Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 20.10 mg (0.045 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethylidipyririn-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**57**) in 3 ml Trifluoressigsäure gelöst und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem die Lösung auf -10 °C abgekühlt ist, werden 14.20 mg (0.045 mmol) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyromethen-1*H*-pyrrol (**67**) in 3 ml Trifluoressigsäure zugetropft. Anschließend wird die Lösung weitere 8 h bei -10 °C gerührt. Es werden 3 ml Methanol zur Reaktionsmischung hinzugefügt und weitere 30 Minuten unter Erwärmen auf Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Argonstrom vertrieben, der Rückstand wird in 50 ml Dichlormethan aufgenommen, dreimal mit je 200 ml einer gesättigten Natrium-hydrogencarbonatlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels präparativer Schichtchromatographie über Silicagel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (1:1) gereinigt. Die dunkelblaue Bande wird von der Platte entfernt und mit Pyridin eluiert. Nachdem das Silicagel abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt ist, werden 7.3 mg (12.2 μmol; 27 %) 13*H*-Phycocyanobilindimethylester (**73**) (C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>; M = 600.70 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (Pyridin-*d*<sub>5</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.14 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>2</sup>), 1.41 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-2<sup>1</sup>), 1.72 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, H-3<sup>2</sup>), 2.08 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 2.34 (s, 3H, H-17<sup>1</sup>), 2.43 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-18<sup>1</sup>), 2.69 (m, 4H, H-8<sup>2</sup> + H-12<sup>2</sup>), 3.05 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, H-8<sup>1</sup>), 3.14 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H-12<sup>1</sup>), 3.30 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, H-2), 3.55 und 3.60 (2x s, 6H, 2x OMe), 6.03 (s, 1H, H-5), 6.36 (m, 1H, H-3<sup>1</sup>), 6.65 (s, 1H, H-15), 7.12 (s, 1H, H-13), 7.12 (s, 1H, H-10), 10.65 (s, 1H, NH).

Massenspektrum (ESI, positive Ionen, in Dichlormethan und Methanol):

Experimentell bestimmte Masse ( $m/z$ ) = 623.5 g/mol  $[M+Na]^+$

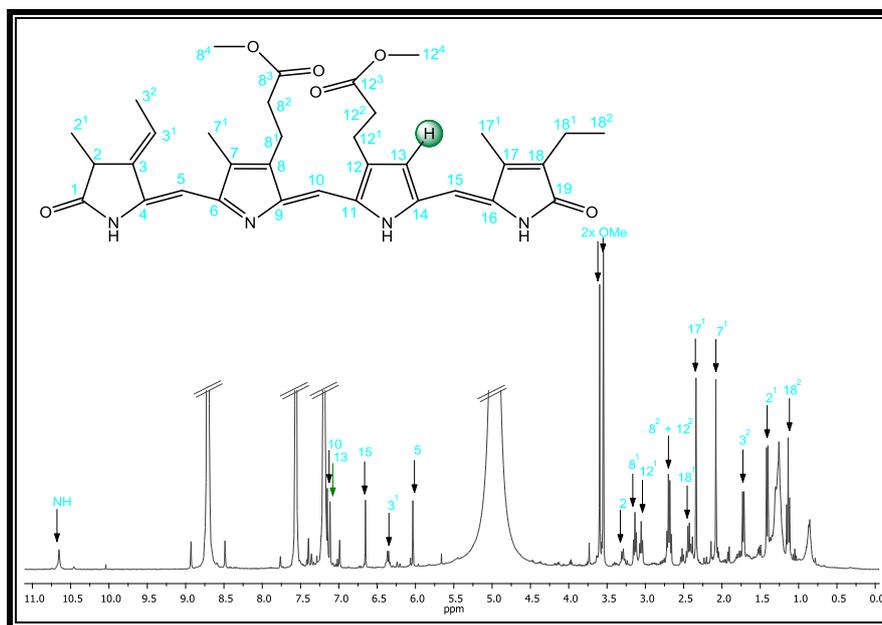
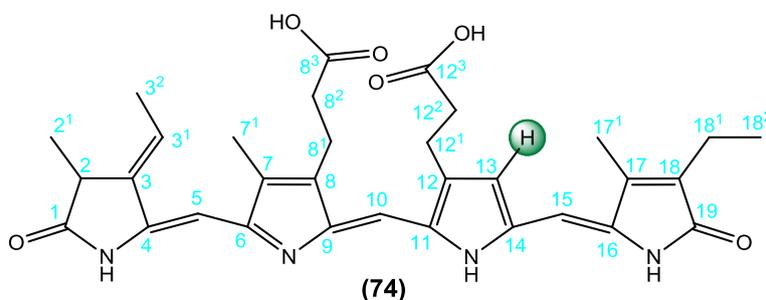


Abb. 118:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (13H)-Phycocyanobilindimethylester (**73**). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7.

### 8.3.7.6 Darstellung von (13H)-Phycocyanobilin (**74**) <sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 7.3 mg (12.2  $\mu\text{mol}$ ) 13H-Phycocyanobilindimethylester (**73**) in 15 ml einer Mischung aus Trifluoressigsäure und destilliertem Wasser (1:1) gelöst, mit 5.5 g saurem Ionenaustauscher versetzt und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ionenaustauscher wird über eine Fritte (Pore 4) abfiltriert und fünfmal abwechselnd mit 50 ml destilliertem Wasser und 50 ml eines Gemisches aus Dichlormethan und Methanol (49:1) gewaschen. Die organische Phase wird mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, bis die wässrige Phase einen pH-Wert von etwa 6 hat. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt mittels präparativer Schichtchromatographie über Silicagel (Merck 60) mit

einem Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan, Methanol, n-Hexan (10:2:2) gereinigt. Die dunkelblaue Bande wird von der Platte entfernt und mit Pyridin eluiert. Nachdem das Silicagel abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt ist, werden 2.6 mg (4.54  $\mu\text{mol}$ ; 37 %) des Produkts ( $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_6$ ;  $M = 572.65 \text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridin- $d_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.14 (t, 2H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H- $2^2$ ), 1.41 (d, 3H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H- $2^1$ ), 1.71 (d, 3H,  $^3J = 7.2 \text{ Hz}$ , H- $3^2$ ), 2.12 (s, 3H, H- $7^1$ ), 2.34 (s, 3H, H- $17^1$ ), 2.43 (m, 2H, H- $18^1$ ), 2.86 (m, 4H, H- $8^2 + \text{H-}12^2$ ), 3.19 (t, 2H,  $^3J = 7.4 \text{ Hz}$ , H- $8^1$ ), 3.27 (t, 2H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ , H- $12^1$ ), 3.39 (m, 1H, H-2), 6.03 (s, 1H, H-5), 6.34 (m, 1H, H- $3^1$ ), 6.65 (s, 1H, H-15), 7.13 (s, 1H, H-13), 7.15 (s, 1H, H-10), 10.66 (s, 1H, NH).

Massenspektrum (ESI, positive Ionen, in Dichlormethan und Methanol):

Experimentell bestimmte Masse ( $m/z$ ) = 571.1 g/mol [M-H]

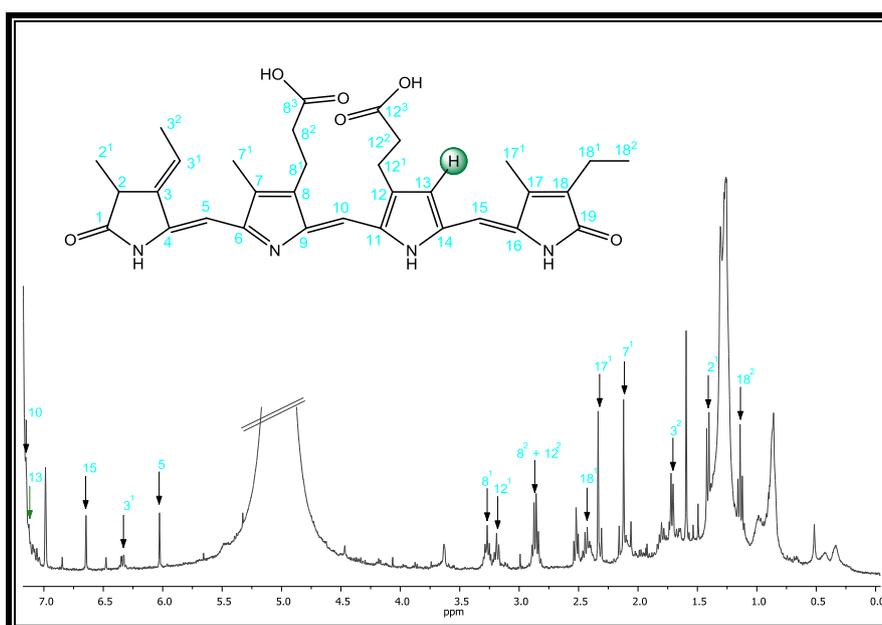
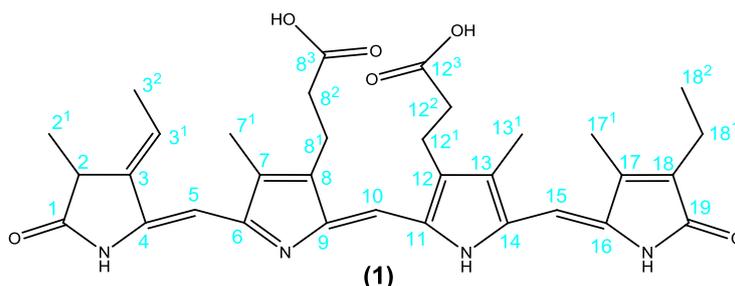


Abb. 119:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (13H)-Phycocyanobilin (**74**). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7.

### 8.3.7.7 Isolierung von Phycocyanobilin (1) aus *Spirulina platensis* <sup>[15]</sup>



200 g gefriergetrocknete Cyanobakterien (*Spirulina platensis*) werden in 900 ml Methanol aufgeschlämmt, 10 Minuten im Ultraschallbad gewaschen und abfiltriert. Dieser Arbeitsschritt wird solange wiederholt, bis das Filtrat nahezu farblos ist. Der Rückstand wird in 1500 ml Methanol aufgenommen, 8.00 g (45.4 mmol) Ascorbinsäure hinzugefügt und unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre 16 h bei 50 °C gerührt. Die Cyanobakterien werden abfiltriert, in 900 ml Methanol aufgeschlämmt, 10 Minuten im Ultraschallbad gewaschen und erneut abfiltriert. Dieser Arbeitsschritt wird solange wiederholt, bis das Filtrat nahezu farblos ist. Die Filtrate werden vereinigt und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in wenig 0.2 M Kaliumphosphatpuffer (pH = 8, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (94:6)) gelöst und säulenchromatographisch über RP-C18-Material (Merck LiChroprep RP-18) mit 0.2 M Kaliumphosphatpuffer und Acetonitril (7:3) aufgereinigt: Das Säulenmaterial wird zunächst mit Isopropanol aufgegeben. Die Säule wird zum Entfernen des Isopropanols mit 1 l destilliertem Wasser gespült und anschließend mit 0.5 M Kaliumphosphatpuffer konditioniert. Erst dann wird das Rohprodukt aufgetragen. Nachdem noch vorhandenes Chlorophyll mit 0.2 M Kaliumphosphatpuffer entfernt wurde, wird mit dem obigen Lösungsmittelgemisch das Phycocyanobilin (1) eluiert. Das Lösungsmittel wird durch Gefriertrocknung über Nacht entfernt. Der Rückstand wird in 200 ml destilliertem Wasser aufgenommen, eine Spatelspitze Kaliumhydrogenphosphat zugegeben und mit Dichlormethan extrahiert (bis die wässrige Phase nahezu farblos ist). Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 337.4 mg (0.575 mmol) Phycocyanobilin (1) (C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>; M = 586.68 g/mol) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridin- $\text{d}_5$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.24 (t, 2H, H- $2^2$ ), 1.47 (d, 3H,  $^3J = 7.5$  Hz, H- $2^1$ ), 1.70 (d, 3H,  $^3J = 7.1$  Hz, H- $3^2$ ), 2.02 (s, 3H, H- $7^1$ ), 2.09 (s, 3H, H- $13^1$ ), 2.13 (s, 3H, H- $17^1$ ), 2.48 (q, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H- $18^1$ ), 2.83 (m, 4H, H- $8^2 + \text{H-}12^2$ ), 3.10 (t, 2H,  $^3J = 7.4$  Hz, H- $8^1$ ), 3.18 (t, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz, H- $12^1$ ), 3.34 (q, 1H,  $^3J = 7.4$  Hz, H-2), 5.85 (s, 1H, H-5), 6.07 (s, 1H, H-15), 6.32 (dq, 1H,  $J_d = 2.0$  Hz,  $^3J_q = 7.1$  Hz, H- $3^1$ ), 7.24 (s, 1H, H-10), 11.10 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (Pyridin- $\text{d}_5$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 9.25 (C- $17^1$ ), 9.58 (C- $13^1$ ), 9.66 (C- $7^1$ ), 13.31 (C- $18^2$ ), 14.73 (C- $2^1$ ), 15.87 (C- $3^2$ ), 17.48 (C- $18^1$ ), 20.39 (C- $8^1$ ), 20.57 (C- $12^1$ ), 36.28 (C- $8^2$ ), 36.42 (C- $12^2$ ), 38.26 (C-2), 87.62 (C-5), 96.10 (C-15), 112.53 (C-10), 122.58 (C- $3^1$ ), 129.93, 130.02, 131.69, 132.37, 133.91, 135.07 (C-4, C-6, C-7, C-9, C-11, C-16, C-17), 136.76 (C-18), 139.08 (C-13), 141.48 (C-8), 142.55 (C-12), 145.95 (C-3), 148.90 (C-14), 174.87 (C-19), 175.29 (C- $8^3$ ), 178.00 (C-1).

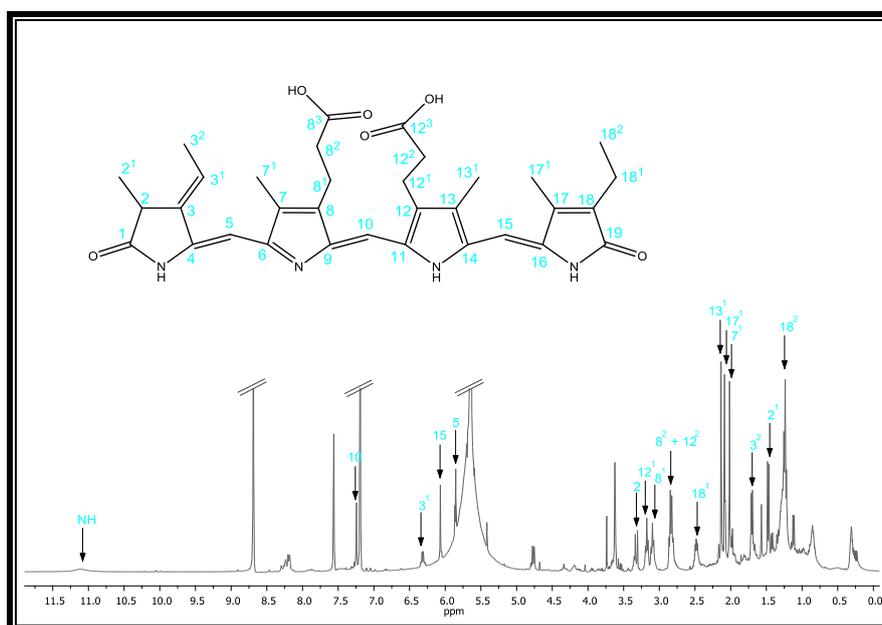


Abb. 120:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Phycocyanobilin (**1**)

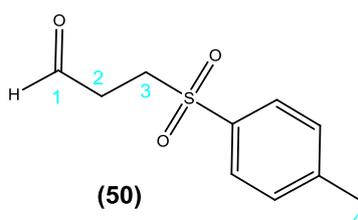
### 8.3.8 Assemblierung der Chromophore

Die experimentelle Durchführung der Assemblierung wurde unabhängig vom eingesetzten Chromophor in jeweils gleicher Weise durchgeführt. Der bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  zwischengelagerte Chromophor wird auf Raumtemperatur erwärmt. Unter Grünlicht werden 2 mg des Chromophors in 100  $\mu\text{l}$  Dimethylsulfoxid (UVASOL<sup>®</sup>) angelöst. Zunächst wird die Absorption des a) Chromophors (2  $\mu\text{l}$ ) mit 400  $\mu\text{l}$  Aufreinigungspuffer und b) 3 mg aufkonzentriertes 1393 GAF 3 Protein mit 400  $\mu\text{l}$  Aufreinigungspuffer vermessen. Nachdem die Eduktspektren vorliegen, kann die Assemblierung starten: Zu 3 mg aufkonzentriertem 1393 GAF 3 Protein in 400  $\mu\text{l}$  Aufreinigungspuffer werden zunächst 7  $\mu\text{l}$  des Chromophors zugegeben. Der Einbau ist sofort im Absorptionsspektrum zu beobachten. Die Probe wird auf Eis gelagert und nach 6 h erneut vermessen (gegebenenfalls wird noch etwas Chromophor hinzugefügt). Nach 24 h unter Eiskühlung wird die Abschlussmessung durchgeführt, bevor die Proben dann für weitere Untersuchungen bereitgestellt werden.

## 8.4 Synthese der Biliverdinderivate

### 8.4.1 Synthese des A-Rings (55)

#### 8.4.1.1 Darstellung von 3-Tolylsulfonylpropanal (50) <sup>[52]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 49.0 g (275 mmol) Natriumtosylat in einer Mischung aus 275 ml destilliertem Wasser und 140 ml Tetrahydrofuran vorgelegt und auf  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Es werden 16.0 ml (280 mmol) Essigsäure und danach 16.5 ml (250 mmol) Acrolein in 70 ml Tetrahydrofuran so zugetropft, dass die Innentemperatur  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  nicht übersteigt. Nachdem die Reaktionsmischung 24 h bei Raumtemperatur gerührt hat, werden 500 ml destilliertes Wasser hinzugefügt und dreimal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird zweimal mit je 100 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung, zweimal mit je 100 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat

getrocknet. Nachdem das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt ist, werden 31.17 g (146.8 mmol; 59 %) des Produkts ( $C_{10}H_{12}O_3S$ ;  $M = 212.27$  g/mol) erhalten.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.32 (s, 3H, H-4), 2.79 (t, 2H,  $^3J = 7.3$  Hz, H-2), 3.28 (t, 2H,  $^3J = 7.3$  Hz, H-3), 7.25 und 7.65 (Phenyl), 9.58 (s, 1H, H-1).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 21.23 (C-4), 36.28 (C-2), 48.88 (C-3), 127.67, 129.74, 135.29, 144.80 (Phenyl), 197.05 (C-1).

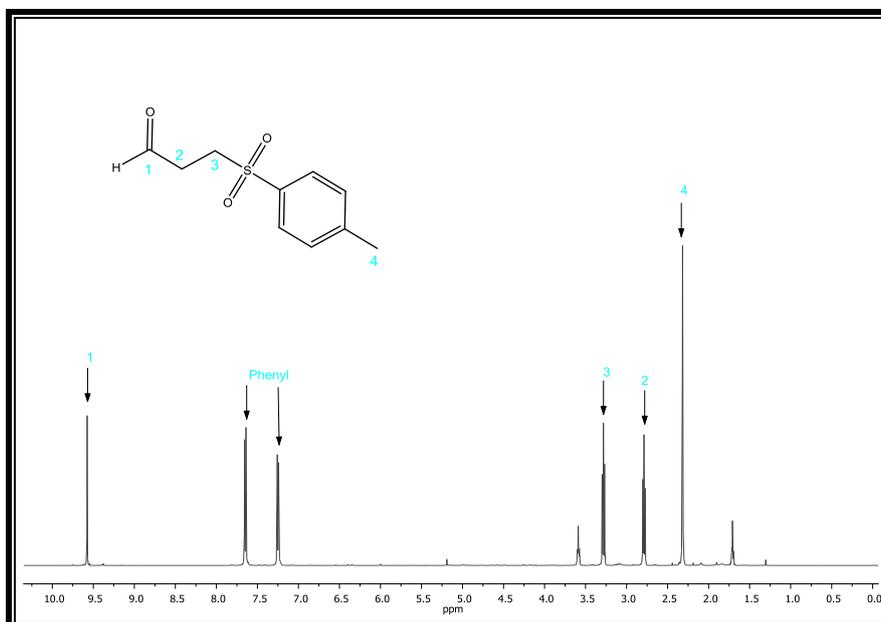
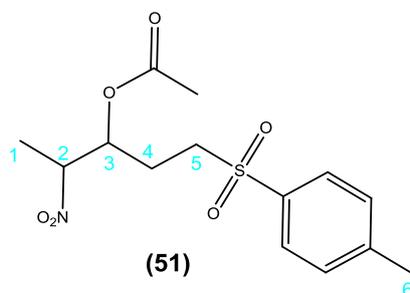


Abb. 121:  $^1H$ -NMR-Spektrum von 3-Tolylsulfonylpropanal (**50**)

#### 8.4.1.2 Darstellung von 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan (**51**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 10.0 g (47.1 mmol) 3-Tolylsulfonylpropanal (**50**) in 40 ml Dichlormethan gelöst und 1.37 g (11.2 mmol) Dimethylaminopyridin

hinzugefügt. Die Mischung wird auf  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 18.0 ml (251 mmol) Nitroethan zugetropft. Nach 48 h Rühren bei Raumtemperatur werden 18.0 ml (190 mmol) Essigsäure-anhydrid zugetropft und es wird weitere 6 h gerührt. Es werden zunächst 150 ml Methanol und dann 150 ml Wasser zugefügt. Die Phasen werden getrennt, die organische Phase wird dreimal mit je 100 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels werden 4.94 g (15.1 mmol; 32 %) des Produkts ( $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_6\text{S}$ ;  $M = 329.37\text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.49 (m, 3H, H-1), 2.01 (s, 3H, Acetoxy), 2.09 (m, 2H, H-5), 2.26 (s, 3H, H-6), 3.07 (m, 2H, H-4), 4.65 (m, 1H, H-2), 5.30 (m, 1H, H-3), 7.33 und 7.73 (2x m, 4H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 15.92 (C-1), 20.49 (Acetoxy), 23.89 (C-4), 24.15 (C-5), 71.43 (C-3), 86.06 (C-2), 169.63 (Acetoxy).

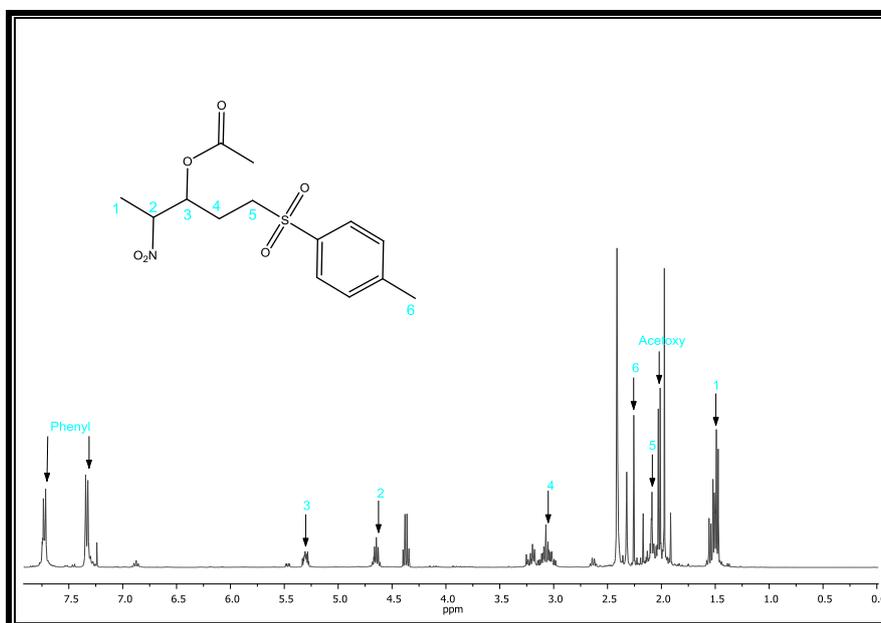
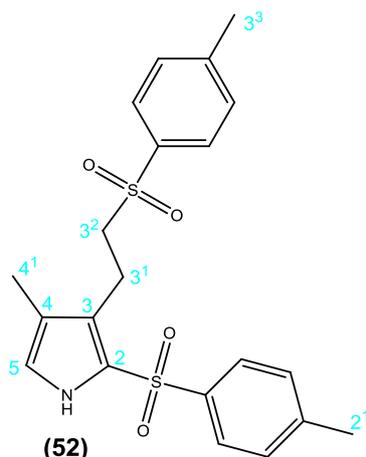


Abb. 122:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan (**51**)

8.4.1.3 Darstellung von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol (**52**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 0.71 g (3.64 mmol) 3-Tolylsulfonylmethylisocyanat und 0.47 g (3.04 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en in 7 ml Acetonitril vorgelegt und auf -10 °C gekühlt. Es werden 1.00 g (3.04 mmol) 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan (**51**) in 5 ml Acetonitril zugetropft und 1 h bei -10 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit 30 ml einer gesättigten Ammoniumchlorid-lösung hydrolysiert. Die Phasen werden getrennt und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Ethylacetat aufgenommen, zweimal mit je 50 ml destilliertem Wasser und zweimal mit je 50 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und 277 mg (0.66 mmol; 22 %) des Produkts (C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>S<sub>2</sub>; M = 417.54 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.83 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 2.31 (s, 3H, H-2<sup>1</sup>), 2.43 (s, 3H, H-3<sup>3</sup>), 2.82 (m, 2H, H-3<sup>2</sup>), 3.12 (m, 2H, H-3<sup>1</sup>), 6.62 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, H-5), 7.13 und 7.36 (2x m, 4H, Phenyl), 7.45 und 7.79 (2x m, 4H, Phenyl), 9.53 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 9.45 (C-4<sup>1</sup>), 17.93 (C-3<sup>1</sup>), 21.60 und 22.47 (C-2<sup>1</sup> und C-3<sup>3</sup>), 29.84 (C-3<sup>2</sup>), 120.55 (C-5), 121.17 (C-4), 122.41 (C-3), 124.17 (C-2), 129.66, 129.90, 129.98, 135.54 (Phenyl).

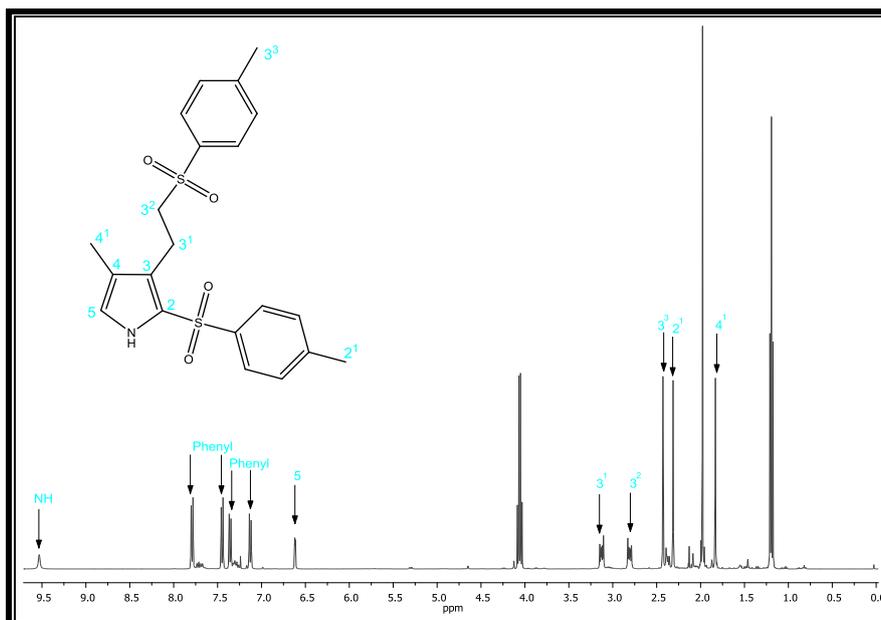
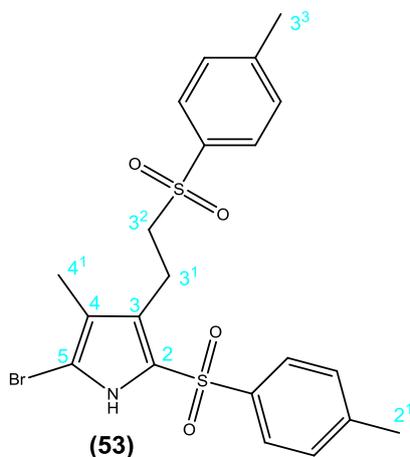


Abb. 123:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol (**52**)

#### 8.4.1.4 Darstellung von 5-Brom-4-methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol (**53**) [38,48]



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 100 mg (0.31 mmol) 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol (**52**) in 20 ml Dichlormethan gelöst und auf  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt. Es werden 234 mg (0.62 mmol)  $\text{PhMe}_3\text{NBr}_3$  zugetropft und 15 Minuten bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Nachdem das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt ist, wird der Rückstand in 50 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird nacheinander je einmal mit je 100 ml destilliertem Wasser, einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung, einer gesättigten Natriumthiosulfatlösung und einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen und über anschließend Natriumsulfat

getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels werden 125 mg (0.25 mmol; 81 %) des Produkts ( $C_{21}H_{22}NO_4S_2Br$ ;  $M = 496.44$  g/mol) erhalten.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.84 (s, 3H H-4<sup>1</sup>), 2.38 (s, 3H, H-2<sup>1</sup>), 2.47 (s, 3H, H-3<sup>3</sup>), 2.85 (m, 2H, H-3<sup>2</sup>), 3.13 (m, 2H, H-3<sup>1</sup>), 7.22 und 7.40 (Phenyl), 7.51 und 7.81 (Phenyl), 9.06 (s, 1H NH).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 9.57 (C-4<sup>1</sup>), 18.60 (C-3<sup>1</sup>), 21.60 und 21.69 (C-2<sup>1</sup> und C-3<sup>3</sup>), 30.51 (C-3<sup>2</sup>), 104.98 (C-5), 120.92 (C-4), 124.49 (C-3), 124.72 (C-2), 128.32, 129.87, 129.99, 130.01 (Phenyl).

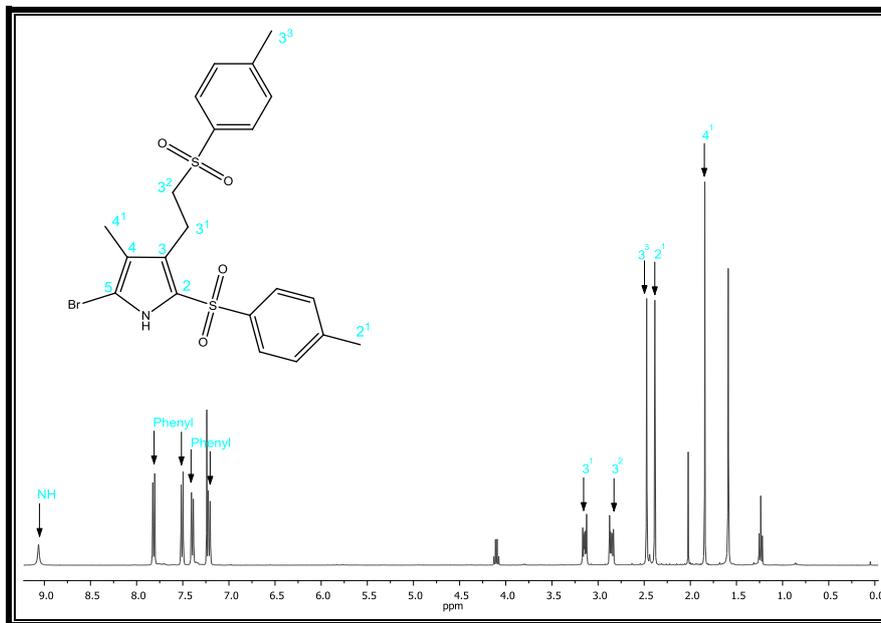
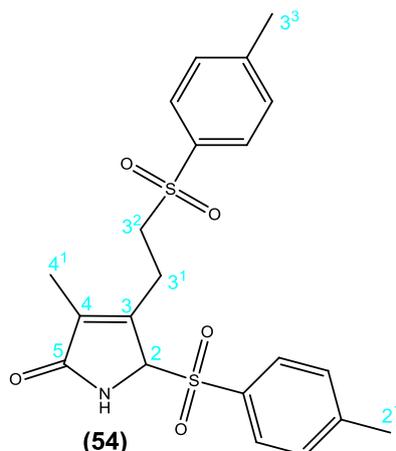


Abb. 124:  $^1H$ -NMR-Spektrum von 5-Brom-4-methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1H-pyrrol (**53**)

### 8.4.1.5 Darstellung von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol-5-on (**54**)

[38,48]



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 127 mg (0.32 mmol) 5-Brom-4-methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol (**53**) in 20 ml Tetrahydrofuran gelöst und 2 ml destilliertes Wasser hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wird 19 h bei 45 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird an der Hochvakuumpumpe entfernt und der Rückstand in 50 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird nacheinander je einmal mit je 100 ml destilliertem Wasser, einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung, einer gesättigten Natriumthiosulfatlösung und einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels werden 54.1 mg (0.16 mmol; 50 %) des Produkts (C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>S<sub>2</sub>; M = 433.54 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.88 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 2.36 (s, 3H, H-2<sup>1</sup>), 2.47 (s, 3H, H-3<sup>3</sup>), 2.84 (m, 2H, H-3<sup>2</sup>), 3.15 (m, 2H, H-3<sup>1</sup>), 6.64 (s, 1H, H-2), 7.17 und 7.39 (s, 4H, Phenyl), 7.48 und 7.82 (s, 4H, Phenyl), 9.24 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 9.60 (C-4<sup>1</sup>), 18.00 (C-3<sup>1</sup>), 21.52 und 21.64 (C-2<sup>1</sup> und C-3<sup>3</sup>), 30.20 (C-3<sup>2</sup>), 98.57 (C-2), 128.32, 129.87, 129.99, 130.01 (Phenyl), 142.32 (C-3), 145.29 (C-4), 172.05 (C-5).

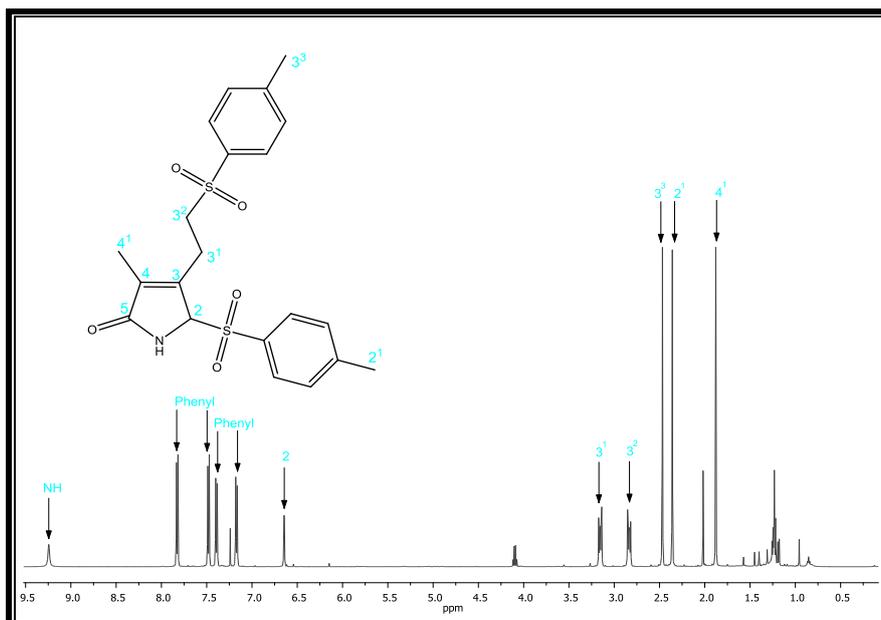
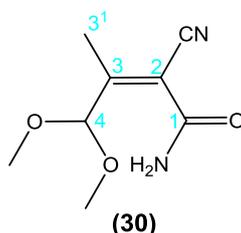


Abb. 125:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol-5-on (**54**)

## 8.4.2 Synthese des D-Rings (**34**)

### 8.4.2.1 Darstellung von *2Z/2E*-2-Cyano-4,4dimethoxy-3-methylbut-2-enamid (**30**) [49]



Unter Inertgasatmosphäre werden 6.20 g (52.0 mmol) 1,1-Dimethoxyaceton, 4.04 g (50.0 mmol) 2-Cyanoacetamid und 1.00 g (13.0 mmol) Ammoniumacetat in 250 ml Toluol gelöst und mit 5 ml Eisessig versetzt. Die Reaktionsmischung wird solange zum Rückfluss erhitzt bis sich kein Wasser mehr abscheidet. Die organische Phase wird mit halbgesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Silicagel (Merck 60) mit einem Lösungsmittelgemisch aus Ethylacetat und n-Hexan (8:2) aufgereinigt. Es werden 7.43 g (40.3 mmol; 81 %) des leicht gelben Produkts ( $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ ;  $M = 184.19$  g/mol) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.17 und 2.23 (2x s, 6H, H-3<sup>1</sup>), 3.40 und 3.42 (2x s, 6H, OMe), 5.06 und 5.82 (2x s, 2H, H-4), 6.47 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 63 MHz):

$\delta$  (ppm) = 14.75 und 17.99 (C-3<sup>1</sup>), 55.98 und 56.11 (2x OMe), 100.36 und 105.34 (C-4), 107.65 und 109.34 (C-2), 115.85 und 116.16 (CN), 162.64 und 163.07 (C-1), 166.07 und 166.81 (C-3).

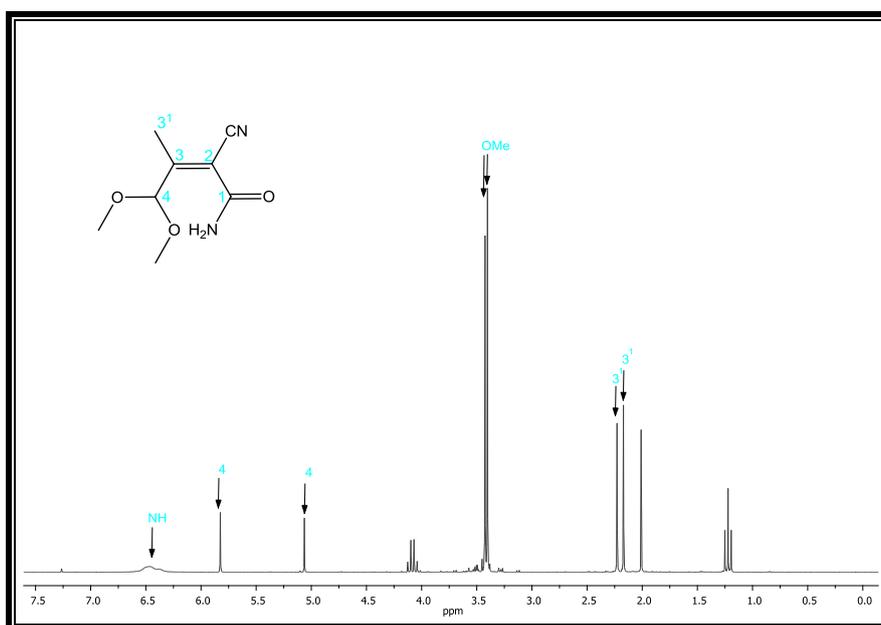
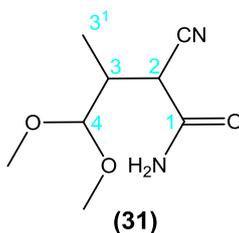


Abb. 126:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 2Z/2E-2-Cyano-4,4dimethoxy-3-methylbut-2-enamid (**30**)

#### 8.4.2.2 Darstellung von 2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbutanamid (**31**)<sup>[49]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 7.43 g (40.3 mmol) 2Z/2E-2-Cyano-4,4dimethoxy-3-methylbut-2-enamid (**30**) in 150 ml Methanol gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es werden portionsweise 1.67 g (44.2 mmol) Natriumborhydrid hinzugegeben und man rührt noch 15 Minuten bei 0 °C. Die Reaktionsmischung wird in 200 ml einer eisgekühlten Mischung aus Dichlormethan und destilliertem Wasser (3:1) geschüttelt

und mit 50 ml einer Salzsäurelösung (5 %) versetzt. Nach Phasentrennung wird die wässrige Phase dreimal mit je 150 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 6.09 g (32.7 mmol; 81 %) des 2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbutanamids (**31**) (C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; M = 186.21 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.02 und 1.06 (2x d, 3H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, H-3<sup>1</sup>), 2.47 (m, 1H, H-3), 3.45 und 3.71 (2x d, 1H, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.9 Hz, H-2), 4.16 und 4.29 (2x d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, H-2), 6.61 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 11.76 und 13.08 (C-3<sup>1</sup>), 36.64 und 37.00 (C-3), 40.13 und 40.63 (C-2), 53.35, 53.65 und 55.11, 55.33 (2x OMe), 105.81 und 105.89 (C-4), 116.81 und 117.20 (CN), 166.72 und 166.91 (C-1).

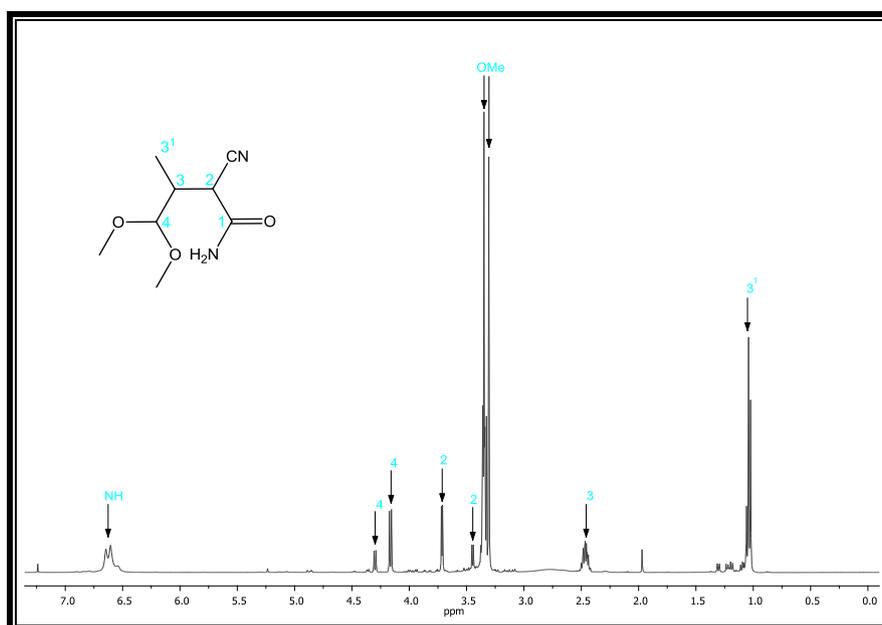
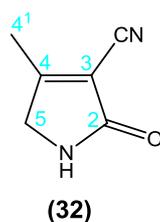


Abb. 127: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbutanamid (**31**)

### 8.3.5.3 Darstellung von 3-Cyano-4-methyl-3-pyrrolin-2-on (32) <sup>[49]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 10.87 g (58.3 mmol) 2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbutanamid (**31**) in 110 ml Essigsäure gelöst, 6 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Es werden 200 ml destilliertes Wasser zugegeben und die Mischung wird dreimal mit je 200 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und man erhält 5.73 g (46.9 mmol; 80 %) eines braunen Feststoffes (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O; M = 122.12 g/mol).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 2.24 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 4.13 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 1.0 Hz, H-5), 8.52 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 15.60 (C-4<sup>1</sup>), 51.07 (C-5), 108.24 (C-3), 112.87 (CN), 167.80 (C-2), 174.21 (C-4).

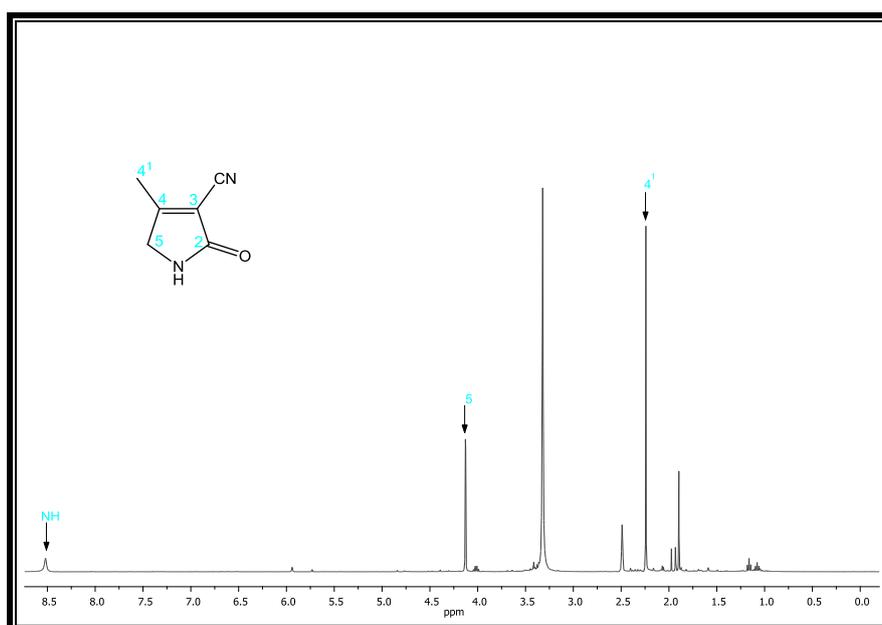
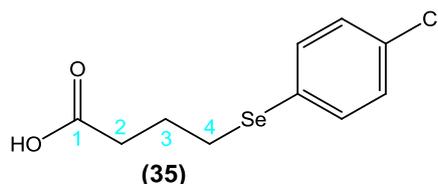


Abb. 128: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 3-Cyano-4-methyl-3-pyrrolin-2-on (**32**)

#### 8.4.2.4 Darstellung von 4-(4-Chlorphenylselanyl)butansäure (35) <sup>[39]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 5.62 g (14.8 mmol) Bis(4-chlorphenyl)-diselenid in 80 ml absolutem Ethanol gelöst, auf -5 °C gekühlt und portionsweise mit 1.40 g (36.9 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Nachdem die Reaktionsmischung 30 Minuten gerührt hat, werden 2.58 g (30.0 mmol)  $\gamma$ -Butyrolacton in 20 ml Tetrahydrofuran zugetropft und über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur werden 100 ml destilliertes Wasser hinzugefügt und die Lösung wird dreimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 1 molarer Salzsäurelösung auf pH 2 eingestellt und nochmals dreimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit einem Lösungsmittelgemisch aus n-Hexan und Ethylacetat (7:3) aufgereinigt. Es werden 4.39 g (15.8 mmol; 54 %) eines leicht rosa-farbenen Feststoffes ( $C_{10}H_{11}O_2ClSe$ ;  $M = 277.61$  g/mol) erhalten.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.98 (quintett, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz, H-3), 2.48 (t, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz, H-4), 2.91 (t, 2H,  $^3J = 7.3$  Hz, H-2), 7.20 und 7.40 (2x m, 4H, Phenyl).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 24.89 (C-3), 27.17 (C-4), 33.43 (C-2), 127.81, 129.27, 133.33, 134.22 (Phenyl), 178.28 (C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 278 (12), 191 (8), 156 (8), 112 (13), 87 (100), 75 (9), 45 (22), 41 (12).

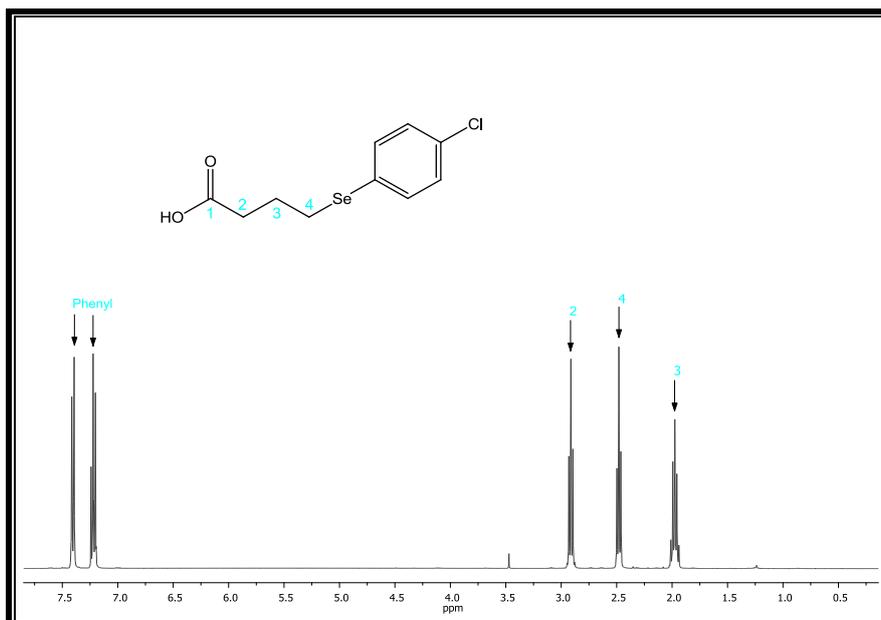
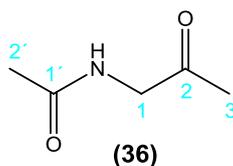


Abb. 129:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-(4-Chlorphenylselanyl)butansäure (**35**)

#### 8.4.2.5 Darstellung von Acetamidoaceton (**36**)<sup>[59]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 10.0 g (133 mmol) Glycin, 64.6 ml (800 mmol) Pyridin und 146 ml (1.55 mol) Essigsäureanhydrid 6 h bei 150 °C zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel an der Hochvakuumpumpe entfernt und der Rückstand anschließend fraktioniert destilliert (115 °C,  $2.2 \times 10^{-1}$  mbar). Es werden 11.43 g, (98.68 mmol; 74 %) des Produkts ( $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$ ;  $M = 115.13$  g/mol) erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.08 (s, 3H, H-2'), 2.20 (s, 3H, H-3), 4.38 (s, 2H, H-1).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 25.22 (C-2'), 26.34 (C-3), 53.35 (C-1), 172.04 (C-1'), 201.56 (C-2).

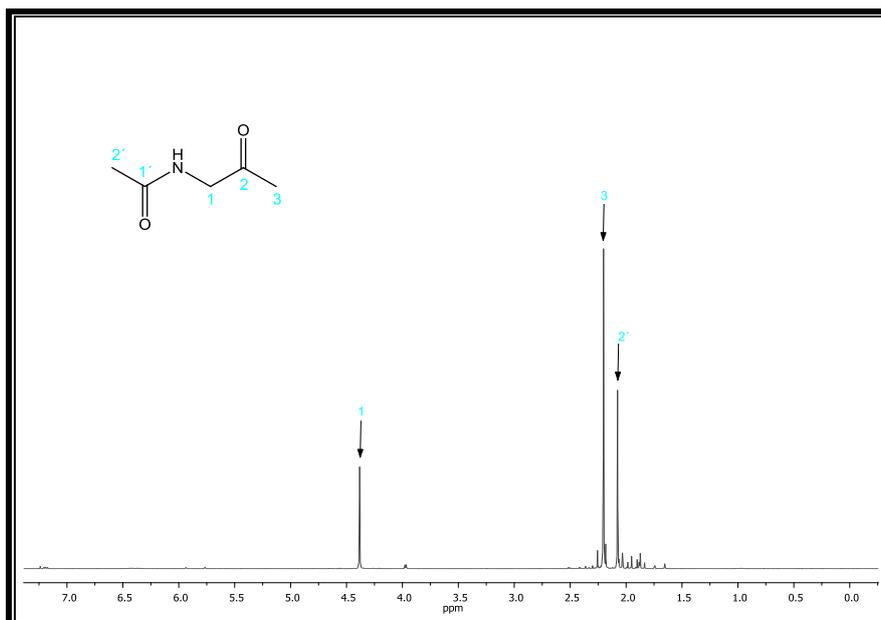
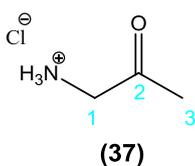


Abb. 130: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Acetamidoaceton (**36**)

#### 8.4.2.6 Darstellung von Aminoaceton-hydrochlorid (**37**)<sup>[59]</sup>



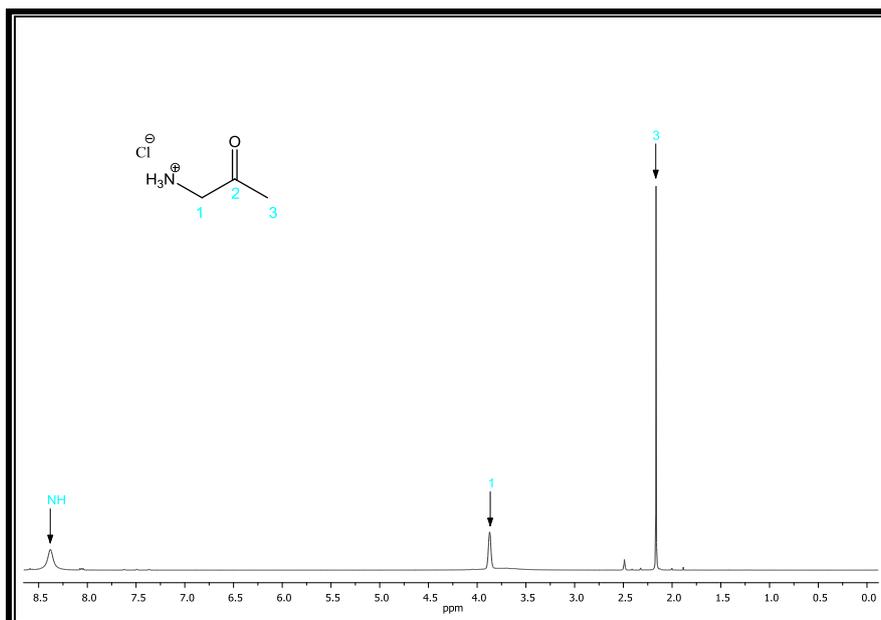
Unter Inertgasatmosphäre werden 11.43 g (98.68 mmol) Acetamidoaceton in 80 ml halbkonzentrierter Salzsäure gelöst und 6 h zum Rückfluss erhitzt. Nachdem die Mischung auf Raumtemperatur abgekühlt ist, wird das Lösungsmittel an der Hochvakuumpumpe entfernt. Es ergeben sich 7.89 g (72.0 mmol; 73 %) des Produkts (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NOCl; M = 109.55 g/mol).

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 400 MHz):

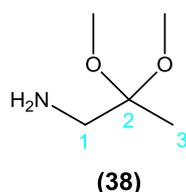
δ (ppm) = 2.16 (s, 3H, H-3), 3.87 (s, 2H, H-1), 8.38 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 100 MHz):

δ (ppm) = 27.31 (C-3), 47.20 (C-1), 201.67 (C-2).


 Abb. 131:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Aminoaceton-hydrochlorid (**37**)

#### 8.4.2.7 Darstellung von 1-Amino-2,2-dimethoxypropan (**38**)<sup>[60]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 17.72 g (161.8 mmol) Aminoaceton-hydrochlorid (**37**) 20.60 g (194.1 mmol) Trimethyl-*ortho*-formiat und 2.78 g (16.2 mmol) *para*-Toluolsulfonsäure in 180 ml Methanol vorgelegt und 24 h bei 90 °C erhitzt. Anschließend wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt, der Rückstand mit 120 ml 3N Natriumhydroxidlösung und 100 ml Diethylether versetzt und über Nacht extrahiert (Kutscher-Stuedel-Aufsatz). Die organische Phase wird über Kaliumcarbonat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wird fraktioniert destilliert (22 °C,  $2.0 \times 10^{-2}$  mbar): Es werden 4.13 g (34.7 mmol; 21 %) des Produkts ( $\text{C}_5\text{H}_{13}\text{NO}_2$ ;  $M = 119.16$  g/mol) erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.03 (s, 3H, H-3), 2.46 (s, 2H, H-1), 2.93 (2x s, 6H, OMe).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 18.93 (C-3), 45.86 (C-1), 47.72 und 47.73 (OMe), 101.11 (C-2).

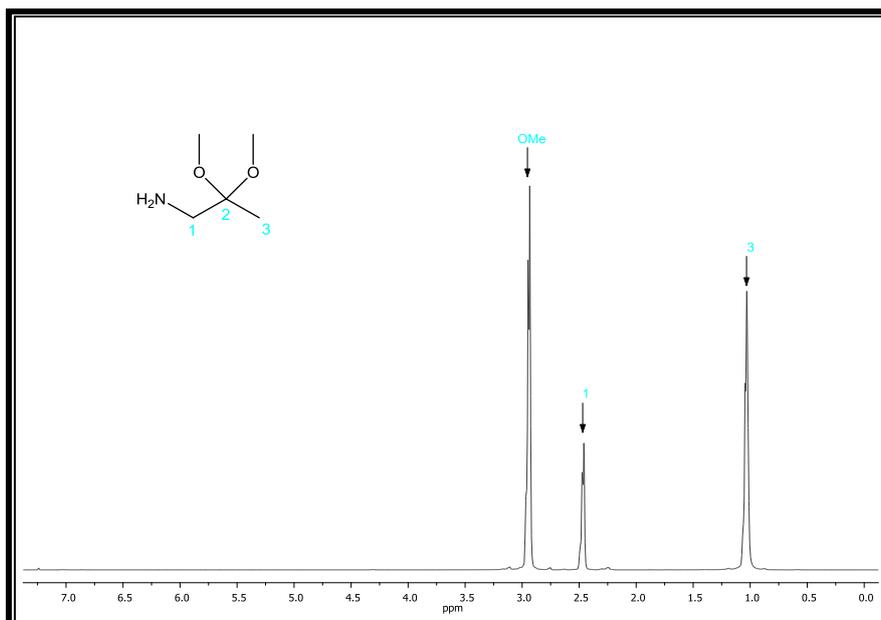
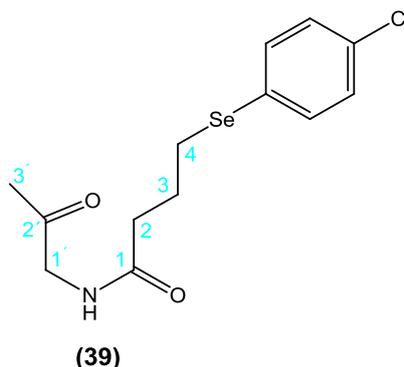


Abb. 132:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 1-Amino-2,2-dimethoxypropan (**38**)

#### 8.4.2.8 Darstellung von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butylamino]propan-2-on (**39**) <sup>[39]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 2.00 g (7.30 mmol) 4-(4-Chlorphenylselanyl)-butansäure (**35**) in 30 ml Dichlormethan gelöst, portionsweise mit 0.66 ml (7.70 mmol) Oxalylchlorid versetzt und 4 h Rühren bei Raumtemperatur gerührt (*Lösung 1*). Unter Argonatmosphäre werden 1.05 g (8.80 mmol) Amino-2,2-dimethoxypropan (**38**) in 30 ml Dichlormethan gelöst und 3.04 ml (21.9 mmol) Triethylamin zugetropft. Nachdem die Reaktionsmischung auf 0 °C abgekühlt ist, wird *Lösung 1* hinzu getropft. Nach vollständiger Zugabe wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und 3.5 h gerührt. Es werden 50 ml Salzsäure (1M) hinzugefügt und 1 h gerührt. Nach Phasentrennung wird die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über

Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Silicagel (Merck 60) mit Ethylacetat und n-Hexan (1:1) aufgereinigt. Es ergeben sich 2.04 g (6.15 mmol; 85 %) des Produkts ( $C_{13}H_{16}NO_2ClSe$ ;  $M = 332.68$  g/mol).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.00 (m, 2H, H-3), 2.18 (s, 3H, H-3'), 2.35 (t, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz, H-4), 2.91 (t, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz, H-2), 4.11 (d, 2H,  $^3J = 4.5$  Hz, H-1'), 6.12 (s, 1H, NH), 7.21 und 7.40 (2x m, 4H, Phenyl).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 25.60 (C-3'), 27.29 (C-3), 27.46 (C-4), 35.47 (C-2), 49.79 (C-1'), 128.02, 129.22, 133.16, 134.09 (Phenyl), 171.98 (C-1), 202.85 (C-2').

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 333 (5), 191 (8), 143 (8), 142 (100), 74 (14), 56 (17), 41 (12), 30 (8).

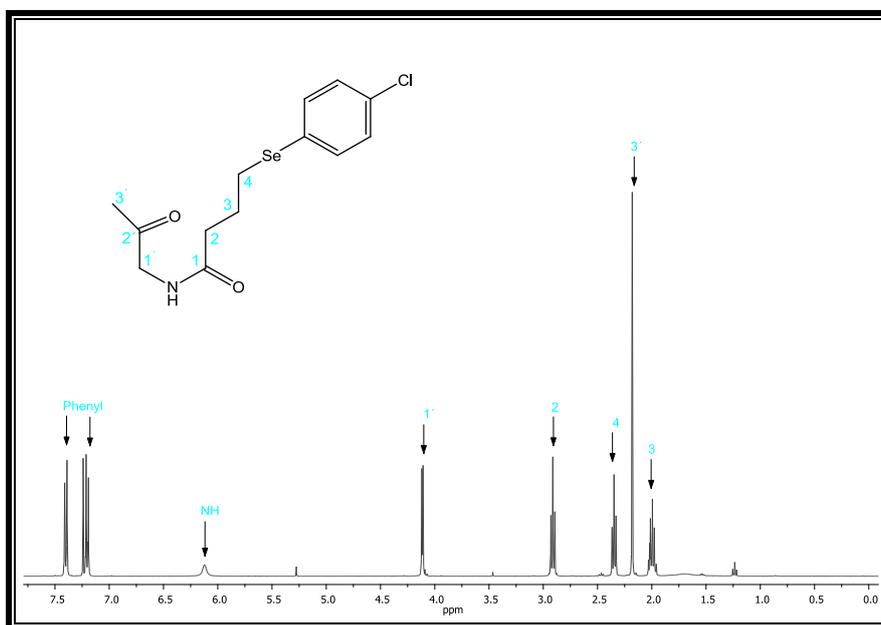
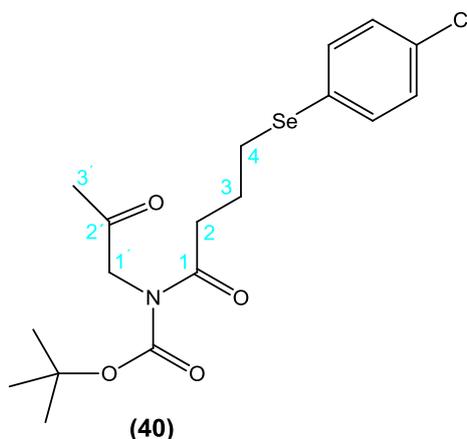


Abb. 133:  $^1H$ -NMR-Spektrum von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butylamino]propan-2-on (**39**)

8.4.2.9 Darstellung von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butyl]-(2-oxopropyl)-  
 carbaminsäure-*tert*-butylester (40) <sup>[39]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 720 mg (2.17 mmol) [4-(4-Chlorphenylselanyl)-butylamino]propan-2-on (**39**) in 30 ml Dichlormethan gelöst und nacheinander mit 0.30 ml (2.17 mmol) Triethylamin, 947 mg (4.34 mmol) Pyrokohlensäuredi-*tert*-butylester und 265 mg (2.17 mmol) Dimethylaminopyridin versetzt. Die Reaktionsmischung wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt wird. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Silicagel (Merck 60) mit Ethylacetat und n-Hexan (2:8) aufgereinigt und 743 mg (1.72 mmol; 79 %) des Produkts (C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub>ClSe; M = 330.33 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ (ppm) = 1.42 (s, 9H, *tert*-Butyl), 1.99 (m, 2H, H-3), 2.89 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, H-4), 3.02 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, H-2), 4.44 (s, 2H, H-1'), 7.16 und 7.37 (2x m, 4H, Phenyl).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):

δ (ppm) = 25.37 (C-3'), 26.64 (C-3), 27.75 (*tert*-Butyl), 31.48 (C-4), 37.53 (C-2), 53.10 (C-1'), 83.60 (*tert*-Butyl), 128.31, 129.05, 132.83, 133.84 (Phenyl), 152.01 (*tert*-Butyl), 174.59 (C-1), 201.43 (C-2').

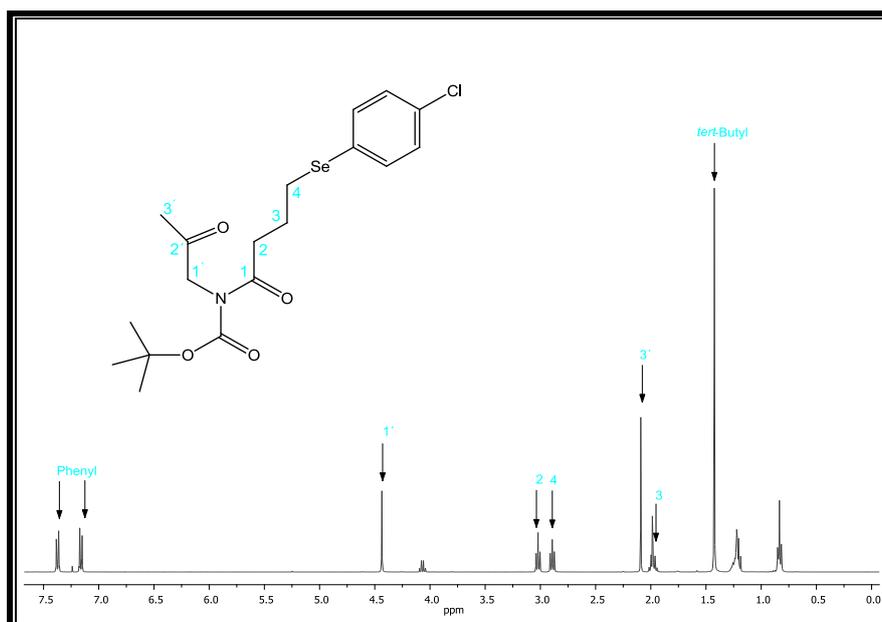
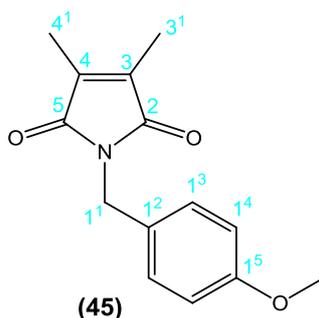


Abb. 134:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butyl]-(2-oxopropyl)-carbaminsäure-*tert*-butylester (**40**)

#### 8.4.2.10 Darstellung von (4-Methoxybenzyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dion (**45**)<sup>[15]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 2.00 g (15.9 mmol) 3,4-Dimethylmaleinsäureanhydrid in 200 ml Toluol vorgelegt und unter Eiskühlung ( $\sim 0\text{ }^\circ\text{C}$ ) mit 2.18 g (15.9 mmol) 4-Methoxybenzylamin versetzt. Die Reaktionsmischung wird 19 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der gelbliche Rückstand wird in 100 ml Ethylacetat aufgenommen und fünfmal mit je 100 ml destilliertem Wasser und anschließend zweimal mit je 100 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird dann über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 3.23 g (13.2 mmol; 83 %) des Produkts ( $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ ;  $M = 245.27\text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.92 (s, 6H, H-3 und H-4), 3.75 (s, 3H, OMe), 4.55 (s, 2H, H-1<sup>1</sup>), 6.80 und 7.27 (Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 8.63 (C-3<sup>1</sup> und C-4<sup>1</sup>), 40.92 (C-1<sup>1</sup>), 55.21 (OMe), 113.92 und 129.89 (Phenyl), 129.00 und 137.21 (C-3 und C-4), 159.11 (C-1<sup>5</sup>), 171.85 (C2 und C-5).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 246 (15), 245 (100), 214 (10), 202 (29), 134 (8), 121 (28), 108 (26).

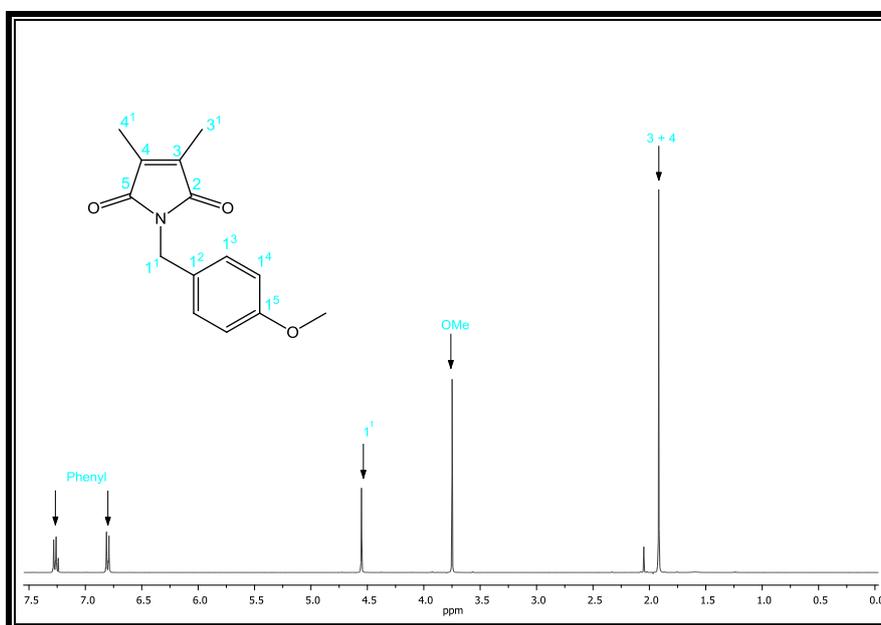
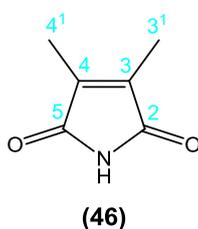


Abb. 135:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (4-Methoxybenzyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dion (**45**)

#### 8.4.2.11 Darstellung von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion (**46**)<sup>[15,16]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden 3.00 g (12.3 mmol) (4-Methoxybenzyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dion (**45**) in einem Gemisch aus 122 ml Acetonitril und 43 ml Wasser vorgelegt und 20.11 g (36.69 mmol) Ammoniumcer-(IV)-nitrat zugefügt. Nach

3 h Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung mit 200 ml Ethylacetat extrahiert, sowie die wässrige Phase danach dreimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 100 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung und dreimal mit je 100 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Methanol gelöst, mit 0.26 ml (0.72 mmol) Hydrazinhydrat versetzt und 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 100 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird dreimal mit je 100 ml destilliertem Wasser gewaschen, danach wird die wässrige Phase noch dreimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dann dreimal mit je 100 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel (Merck 60) mit Dichlormethan und Ethylacetat (4:1) aufgereinigt. Die geeigneten Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 378 mg (3.02 mmol; 25 %) des Produkts ( $C_6H_7NO_2$ ;  $M = 125.13$  g/mol) erhalten.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.94 (s, 6H, H-3<sup>1</sup> und H-4<sup>1</sup>), 7.30 (s, 1H, NH).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 8.63 (C-31 und C-41), 138.36 (C-3 und C-4), 171.81 (C-2 und C-5).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  (%) = 126 (6), 125 (91), 54 (100), 53 (27), 52 (12), 51 (17), 50 (13), 39 (56), 28 (10), 27 (29).

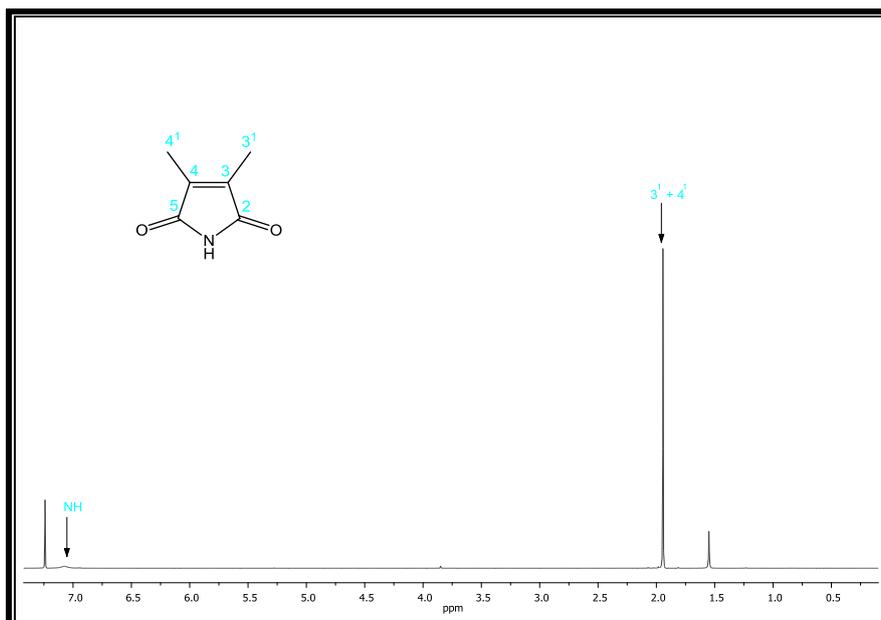
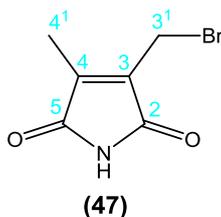


Abb. 136:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion (**46**)

#### 8.4.2.12 Darstellung von 3-(Brommethyl)-4-methylpyrrol-2,5-dion (**47**) <sup>[51]</sup>



Unter Inertgasatmosphäre werden zu 250 mg (1.99 mmol) 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion (**46**) gelöst in 20 ml Trifluortoluol, 462 g (2.60 mmol) N-Bromsuccinimid und 36.0 mg (0.22 mmol) Azo-bis-isobutyronitril zugegeben. Die Reaktionsmischung wird dann 4 h unter Bestrahlung einer 200 W Wolframlampe am Rückfluss erhitzt (110 °C). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das ausgefallene Succinimid abfiltriert. Die organische Phase wird zweimal mit je 50 ml einer Natriumdisulfidlösung (10 %) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels werden 81.9 mg (0.40 mmol; 20 %) 3-(Brommethyl)-4-methylpyrrol-2,5-dion (**47**) ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2\text{NBr}$ ;  $M = 204.02 \text{ g/mol}$ ) erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 2.04 (s, 3H, H-4'), 4.11 (s, 2H, H-3'), 7.97 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 9.02 (C-4<sup>1</sup>), 16.58 (C-3<sup>1</sup>), 136.76 und 141.96 (C-3 und C-4), 169.47 und 170.76 (C-2 und C-5).

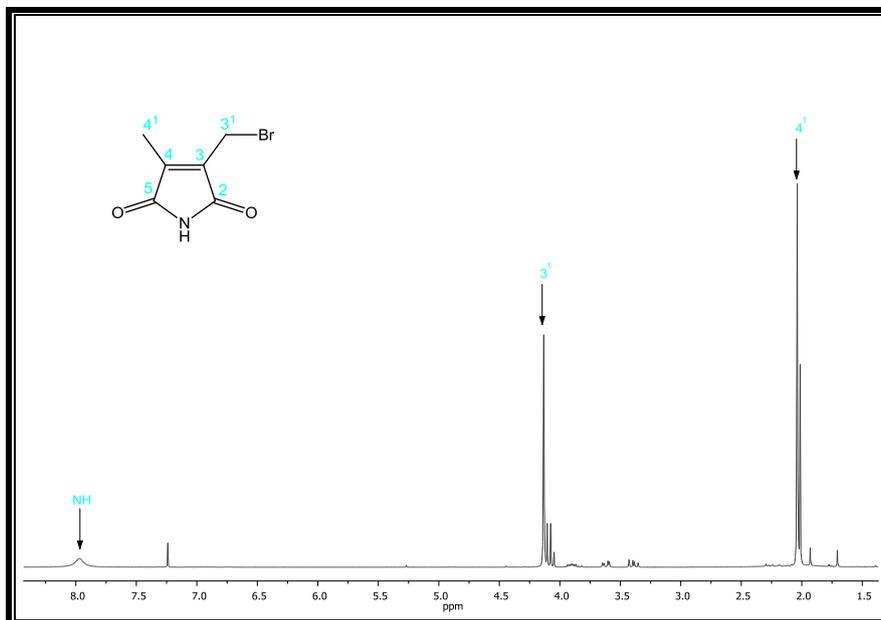
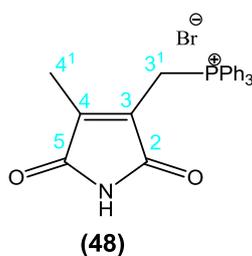


Abb. 137:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 3-(Brommethyl)-4-methylpyrrol-2,5-dion (**47**)

#### 8.4.2.13 Darstellung von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion-3-phosphoniumbromid (**48**)



Unter Inertgasatmosphäre werden 310 mg (1.52 mmol) 3-(Brommethyl)-4-methylpyrrol-2,5-dion (**47**) in 50 ml Diethylether gelöst. Es werden 420 g (1.60 mmol) Triphenylphosphin zugegeben und die Lösung wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit Ethylacetat und n-Pentan (3:1) aufgereinigt. Man erhält 653 mg (1.40 mmol; 92 %) des Produkts ( $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_2\text{BrP}$ ;  $M = 466.31$  g/mol).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.91 (d, 3H,  $^3J = 4.9$  Hz, H-4 $^1$ ), 5.67 (d, 2H,  $^3J = 16.3$  Hz, H-3 $^1$ ), 7.69-7.96 (m, 15H, Phenyl).

Massenspektrum (ESI):

Positive Ionen 387 (Pyrrol), negative Ionen 79 (Bromid), M = 466 g/mol

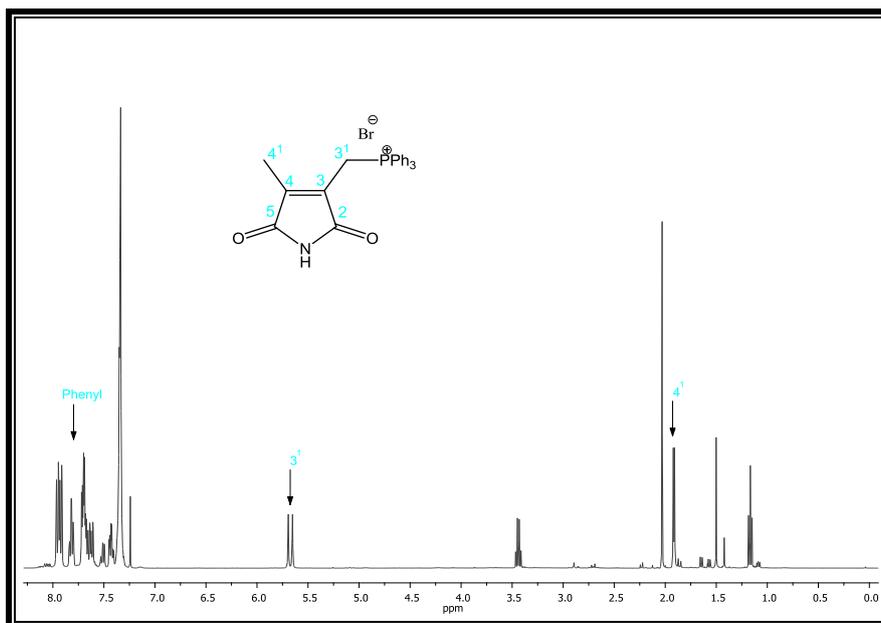
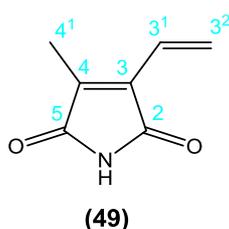


Abb. 138:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion-3-phosphoniumbromid (**48**)

#### 8.4.2.14 Darstellung von 3-Vinyl-4-methylpyrrol-2,5-dion (**49**)<sup>[50]</sup>



Es werden 467 mg (1.00 mmol) 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion-3-phosphoniumbromid (**48**) in 70 ml Diethylether vorgelegt. Innerhalb von 20 Minuten werden 1.3 ml (1.6 mmol) n-Butyllithium (in n-Hexan) zugetropft. Unter Inertgasatmosphäre werden in einem zweiten Kolben, welcher mit dem ersten verbunden ist, 7 g Paraformaldehyd vorgelegt und mit einem Ölbad auf 140 °C erhitzt (das freigesetzte gasförmige Formaldehyd gelangt durch den Argonstrom in den Reaktionskolben). Nach 1.5 h wird das Ölbad entfernt und man rührt noch 2 h bei Raumtemperatur.

Die Reaktionsmischung wird mit 80 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Nach Phasentrennung wird die organische Phase dreimal mit je 50 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Produkt ( $C_7H_7NO_2$ ;  $M = 137.14 \text{ g/mol}$ ) konnte in Spuren nachgewiesen werden.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.92 (s, 3H, H-4<sup>1</sup>), 5.46 (m, 2H, H-3<sup>2</sup>), 6.33 (m, 1H, H-3<sup>1</sup>).

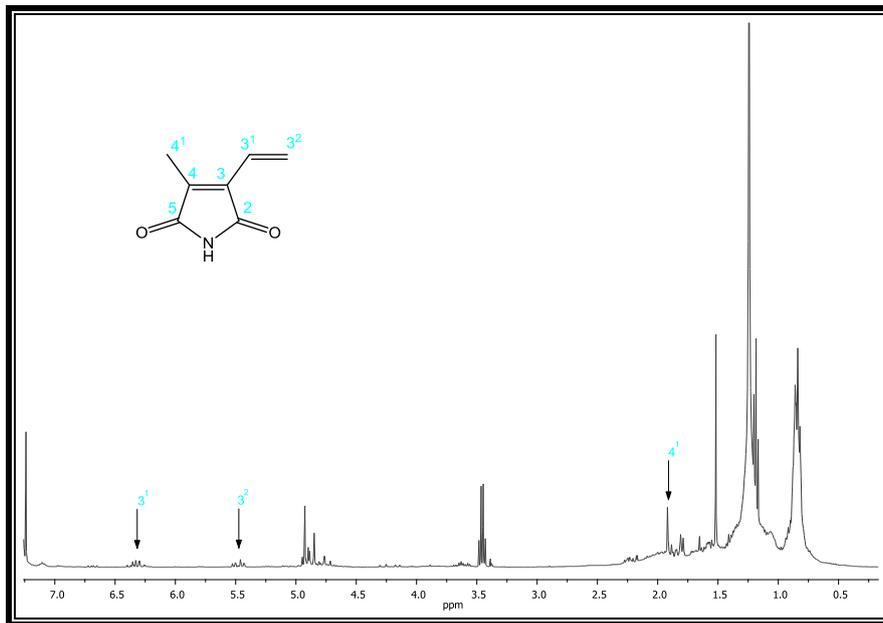
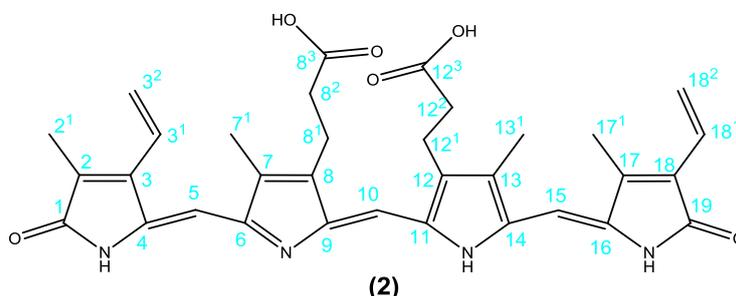


Abb. 139:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3-Vinyl-4-methylpyrrol-2,5-dion (**49**)

### 8.4.3 Synthese der Biliverdin-Tetrapyrrole

#### 8.4.3.1 Darstellung von Biliverdin IX $\alpha$ (2) aus Bilirubin <sup>[15]</sup>



Unter Lichtausschluss und Inertgasatmosphäre werden 163 mg (0.72 mmol) 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-*para*-benzochinon (DDQ) in 250 ml sauerstofffreiem Dimethylsulfoxid gelöst und mit 200 mg (0.34 mmol) Bilirubin gelöst in 250 ml sauerstofffreiem Dimethylsulfoxid versetzt. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung 5 Minuten gerührt, es werden 1500 ml sauerstoffreies Wasser hinzugefügt und man rührt noch weitere 10 Minuten. Der ausgefallene Niederschlag wird über einen Büchnertrichter mit dünner Celliteschicht abfiltriert. Der Filterkuchen wird mit 100 ml 0.1 M Natronlauge aufgeschlämmt und nochmals abfiltriert. Das Filtrat wird mit 0.5 ml Eisessig angesäuert, bevor das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung über Nacht entfernt wird. Der Rückstand wird in Methanol aufgenommen, abfiltriert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über RP-C18 Material (Merck LiChroprep RP-18) mit Ethanol und Aceton (9:1) aufgereinigt und 189.6 mg (0.325 mmol; 96 %) des Produkts (C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>; M = 582.65 g/mol) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (Pyridin-d<sub>5</sub>, 400 MHz):

$\delta$  (ppm) = 1.90 (s, 3H, H-2<sup>1</sup>), 1.92 (s, 3H, H-7<sup>1</sup>), 1.96 (s, 3H, H-17<sup>1</sup>), 2.03 (s, 3H, H-13<sup>1</sup>), 2.78 (m, 4H, H-8<sup>2</sup>, H-12<sup>2</sup>), 3.10 (m, 4H, H-8<sup>1</sup>, H-12<sup>1</sup>), 5.48-5.55 (m, 4H, H-3<sup>2</sup>, H-18<sup>2</sup>), 5.93 (s, 1H, H-5), 6.02 (s, 1H, H-15), 6.59-6.77 (m, 2H, H-3<sup>1</sup>, H-18<sup>1</sup>), 7.19 (s, 1H, H-10).

<sup>13</sup>C-NMR (Pyridin-d<sub>5</sub>, 100 MHz):

$\delta$  (ppm) = 8.83, 8.98, 9.10, 9.35 (C-2<sup>1</sup>, C-7<sup>1</sup>, C-13<sup>1</sup>, C-17<sup>1</sup>), 20.25, 20.45 (C-8<sup>1</sup>, C-12<sup>1</sup>), 36.49 (C-8<sup>2</sup>, C-12<sup>2</sup>), 97.12 (C-5), 97.53 (C-15), 116.15 (C-10), 121.36

## Experimentalteil

(C-18<sup>2</sup>), 121.56 (C-3<sup>2</sup>), 127.43, 127.85, 128.16, 129.55 (C-2, C-7, C-13, C-17), 138.20, 139.12, 139.95, 141.44, 149.12, 151.22 (C-3, C-4, C-6, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-16, C-18), 172.95 (C-1), 173.33 (C-19), 175.64, 175.84 (C-8<sup>3</sup>, C-12<sup>3</sup>).

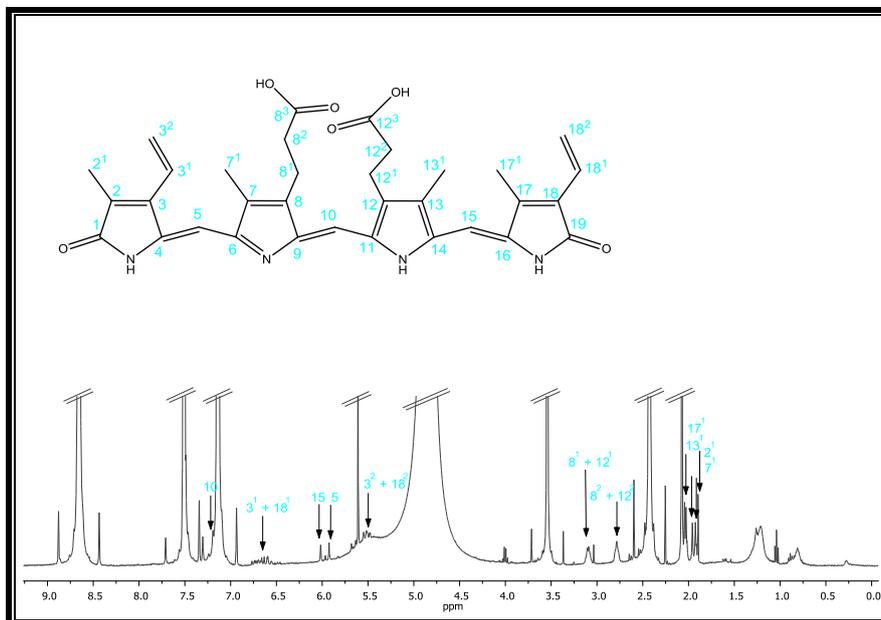


Abb. 140: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Biliverdin IX $\alpha$  (2)



## 9 Anhang

### 9.1 Substanzen

- (1) Phycocyanobilin (PCB)
- (2) Biliverdin IX $\alpha$  (BV)
- (3) Phytochromobilin (P $\Phi$ B)
- (4) (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion
- (5) (E)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dion
- (6) (E)-3-Ethyliden-4-methylpyrroliden-2,5-dion
- (7) (E)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid
- (8) N-Formylglycin-*tert*-butylester
- (9) Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester
- (10) Glycinmethylesterhydrochlorid
- (11) N-Formylglycinmethylester
- (12) Isocyanoessigsäuremethylester
- (13) 4-Nitrobutansäuremethylester
- (14) 4,4-Dimethoxybutansäuremethylester
- (15) 4-Oxobutansäuremethylester
- (16) 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester
- (17) 4-Pentinsäure
- (18) 4-Pentinsäuremethylester
- (19) 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester
- (20) 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäuremethylester
- (21) 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester
- (22) D-(-)-Weinsäuredibenzylester
- (23) Glyoxylsäurebenzylester
- (24) 3-(5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl)-propionsäuremethylester
- (25) Benzyloxycarbonyl-(5-*tert*-butoxybarbonyl-4-(2-methoxycarbonylethyl)-3-methylpyrrol-2-yl)-(triphenylphosphonid)-methanid

- (26) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester
- (27) (5-<sup>13</sup>C)-5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester
- (28) 5-Formyl-3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-methylester
- (29) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester
- (30) 2*Z*/2*E*-2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbut-2-enamid
- (31) 2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbutanamid
- (32) 3-Cyano-4-methyl-3-pyrrolin-2-on
- (33) 3-Formyl-4-methyl-3-pyrrolin-2-on
- (34) 4-Methyl-3-vinyl-3-pyrrolin-2-on
- (35) 4-(4-Chlorphenylselanyl)-butansäure
- (36) Acetamidoacetone
- (37) Aminoacetone hydrochlorid
- (38) 1-Amino-2,2-dimethoxypropan
- (39) [4-(4-Chlorphenylselanyl)butylamino]propan-2-on
- (40) [4-(4-Chlorphenylselanyl)butyl]-(2-oxopropyl)-carbaminsäure-*tert*-butylester
- (41) 3-[2-(4-Chlorphenylselanyl)ethyl]-4-methyl-2-oxo-2,5-dihdropyrrol-1-carbonsäure-*tert*-butylester
- (42) [2-(4-Chlorphenylselanyl)ethyl]-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (43) [2-(4-Chlorphenylselanyl)ethyl]-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (44) 9-Formyl-2-vinyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (45) (4-Methoxybenzyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dion
- (46) 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion
- (47) 3-(Brommethyl)-4-methylpyrrol-2,5-dion
- (48) 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion-3-phosphoniumbromid
- (49) 4-Methyl-3-vinyl-pyrrol-2,5-dion
- (50) 3-Tosylpropanal
- (51) 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan

- (52) 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol
- (53) 5-Brom-4-methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol
- (54) 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1*H*-pyrrol-5-on
- (55) 3-Methyl-4-vinylpyrrol-2-on
- (56) 3-(5-Benzylloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäuremethyl-ester
- (57) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure
- (58) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-pyrrol
- (59) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (60) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (61) (5-<sup>13</sup>C)-2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (62) (5-<sup>13</sup>C)-2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (63) (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäuremethylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (64) (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-carbonsäure-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (65) (<sup>15</sup>N)-2-Ethyl-9-formyl-8-propionsäure-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (66) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (67) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methylpyrromethen-1*H*-pyrrol
- (68) (15-<sup>13</sup>C)-Phycocyanobilindimethylester
- (69) (15-<sup>13</sup>C)-Phycocyanobilin
- (70) (<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilindimethylester
- (71) (<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilinmethylester
- (72) (<sup>15</sup>N)-Phycocyanobilin
- (73) (13H)-Phycocyanobilindimethylester
- (74) (13H)-Phycocyanobilin
- (75) Phycocyanobilindimethylester

## 9.2 Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström
Abb.	Abbildung
BLUF	<u>b</u> lue- <u>l</u> ight <u>u</u> tilizing <u>F</u> AD
BphP	Bakterielle Phytochrome
BV	Biliverdin IX $\alpha$
CAN	<u>A</u> mmonium <u>c</u> er-(IV)- <u>n</u> itrat
CphP	Cyanobakterielle Phytochrome
$\delta$	Chemische Verschiebung
DBU	1,8- <u>D</u> iazab <u>i</u> cyclo-[5.4.0]- <u>u</u> ndec-7-en
dest.	destilliertes
DiBAI-H	<u>D</u> iisob <u>u</u> tyl <u>a</u> luminium <u>h</u> ydrid
DMAP	N,N'- <u>D</u> imethyl-4- <u>a</u> minopyridin
DMF	N,N'- <u>D</u> imethyl <u>f</u> ormamid
DMSO	<u>D</u> imethyl <u>s</u> ul <u>f</u> oxid
EI	<u>E</u> lektronenstoß- <u>i</u> onisation
ESI	<u>E</u> lektronens <u>p</u> ray- <u>i</u> onisation
FAD	<u>F</u> lavin- <u>A</u> denin- <u>D</u> inukleotid
FMN	<u>F</u> lavin- <u>M</u> ono- <u>n</u> ukleotid
Fph	Phytochrome der Pilze
FTIR	<u>F</u> ourier- <u>T</u> ransform <u>I</u> nfrarot-Spektroskopie
$\Phi$	Quantenausbeute
$\Phi_f$	Fluoreszenz Quantenausbeute
GAF	cGMP spezifische Phosphodiesterase
h	Stunde
HKD	<u>H</u> istidin- <u>K</u> inase- <u>D</u> omäne
HPLC	<u>H</u> igh <u>P</u> erformance <u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography
Hz	<u>H</u> ertz
J	Kupplungskonstante
$\lambda$	Wellenlänge
Lit.	Literatur
LOV	<u>L</u> ight- <u>O</u> xygen- <u>V</u> oltage

## Anhang

---

M	molar
MM	<u>M</u> olekular <u>m</u> echanische Kraftfeldmethode
Mhz	<u>M</u> egah <u>h</u> ertz
MPLC	<u>M</u> edium <u>P</u> ressure <u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography
ms	<u>M</u> illisekunde
MTHF	<u>M</u> ethenyl <u>t</u> etra <u>h</u> ydro <u>f</u> olat
nm	Nanometer
NMR	<u>N</u> uclear <u>M</u> agnetic <u>R</u> esonance Spectroscopy
PAS	<u>P</u> ER <u>A</u> RNT <u>S</u> IM: <u>p</u> eriod clock protein, <u>a</u> romatic hydrocarbon <u>r</u> eceptor <u>n</u> uclear <u>t</u> ranslocator, <u>s</u> ingle <u>m</u> inded
PCB	<u>P</u> hyco <u>c</u> yanob <u>i</u> lin
PEB	<u>P</u> hyco <u>e</u> rythro <u>b</u> ilin
P <sub>fr</sub>	“far-red-absorbing form” des Phytochroms
PΦB	Phytochromobilin
PHY	Phytochrom spezifischen Domäne
Phy	Phytochrom
PhyA	Pflanzliches Phytochrom
ppm	<u>p</u> arts <u>p</u> er <u>m</u> illion
P <sub>r</sub>	„red-absorbing form“ des Phytochroms
ps	<u>P</u> ico <u>s</u> ekunden
PYP	<u>P</u> hotoactive <u>Y</u> ellow <u>P</u> rotein
QM	<u>Q</u> uanten <u>m</u> echanisch
RP	<u>R</u> everse <u>P</u> hase
Sdp.	<u>S</u> ied <u>e</u> punkt
Smp.	<u>S</u> ch <u>m</u> elz <u>p</u> unkt
TFA	Trifluoressigsäure
THF	<u>T</u> etra <u>h</u> ydro <u>f</u> uran
TMG	N,N,N',N'- <u>T</u> etra <u>m</u> ethyl <u>g</u> uanidin
UV	<u>U</u> ltraviolett (-Spektroskopie)
vgl.	<u>v</u> er <u>g</u> leiche
Vis	sichtbarer Wellenlängenbereich
z.A.	<u>z</u> ur <u>A</u> nalyse
z.S.	<u>z</u> ur <u>S</u> ynthese

### 9.3 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Schematische Darstellung einer durch Belichtung initiierten Signaltransduktion. Die ersten vier Teilschritte zeigen die durch Belichtung hervorgerufene konformelle Änderung zunächst im Chromophor (blau) und anschließend im Protein (die zwei umgebenden schwarzen Vierecke). Im letzten Schritt ist die Anbindung eines weiteren zellulären Proteins (pink) zu sehen, welches nach Komplexbildung seinerseits eine Änderung erfährt (hier beispielsweise ebenfalls eine konformelle Änderung) <sup>[6]</sup> .....	- 1 -
Abb. 3:	Isomerisierung der 4-Hydroxycimtsäure <sup>[7,13]</sup> .....	- 2 -
Abb. 4:	Isomerisierung von Phytochromobilin <b>(3)</b> <sup>[7,13]</sup> .....	- 3 -
Abb. 5:	Elektronentransfer des FADs <sup>[7,13]</sup> .....	- 3 -
Abb. 6:	Photozyklus der LOVs <sup>[7,13]</sup> .....	- 3 -
Abb. 7:	Elektronentransfer der BLUFs <sup>[7,13]</sup> .....	- 4 -
Abb. 8:	Aufbau der Phytochromregionen (pflanzliche: Phy, bakterielle: BphP, cyano-bakterielle: CphPs, Fungi: Fphs). Die drei wichtigsten Domänen sind farblich hervorgehoben: GAF in grün, PAS in gelb und PHY in rot. Die Chromophorbindungsstelle ist mit C gekennzeichnet. S/T = Serin- oder Threonin reiche Region; HKD = Histidin-Kinase-Domäne; RR = Response-Regulator-Domäne <sup>[15,17]</sup> .....	- 5 -
Abb. 9:	Chromophore der Phytochrome. Die Nummerierung ist in blauen Ziffern angegeben. Die strukturellen Unterschiede, die Bindungsstelle von Position C3 zum Cystein und die Position C18 im D-Ring sind rot markiert. Links: Phycocyanobilin <b>(1)</b> [bei R = Ethyl] bzw. Phytochromobilin <b>(3)</b> [bei R = Vinyl]. Rechts: Biliverdin IX $\alpha$ <b>(2)</b> .....	- 6 -
Abb. 10:	Absorptionsspektrum von Phytochrom mit P $\Phi$ B <b>(3)</b> in der P <sub>r</sub> -Form (rot) und P <sub>fr</sub> -Form.....	- 6 -
Abb. 11:	Proteingebundenes Phycocyanobilin <b>(1)</b> in der ZZZssa (P <sub>r</sub> -Form) und ZZEssa (P <sub>fr</sub> -Form) Konformation. Die Z/E-Isomerisierung ist durch einen gelb-schwarzen Pfeil markiert. Grün eingefärbte Bindungen bestimmen die syn- und anti-Konformation, pink unterlegte Bindungen bestimmen die Z- und E-Konformation <sup>[15]</sup> .....	- 7 -

Abb. 12:	Kristallstruktur von Cph1. In der Mitte befindet sich der gebundene Chromophor, Phycocyanobilin <b>(1)</b> , blau eingefärbt. Die umgebenden Aminosäuren sind entsprechend ihrer Domäne farblich markiert: N-Terminus (grün), PHY (rot) und GAF (ocker). Wassermoleküle sind als schwarze Kugeln, Wasserstoffbrücken-bindungen als schwarze gestrichelte Linien dargestellt <sup>[18]</sup> .....	- 8 -
Abb. 13:	Photozyklus von Cph1. Die photochemisch aktivierten Reaktionen sind durch einen gelben Pfeil markiert <sup>[8,9,15]</sup> .....	- 9 -
Abb. 14:	Cyclische Tetrapyrrole.....	- 11 -
Abb. 15:	Überblick der Tetrapyrrolbiosynthese.....	- 12 -
Abb. 16:	Klassische Tetrapyrrolsynthese nach Gossauer (R = Ethyliden oder Vinyl; R1 = <i>tert</i> -Butylester) <sup>[15,37]</sup> .....	- 13 -
Abb. 17:	Synthese von symmetrisch substituierten Porphyrinen nach Inomata <i>et al.</i> analog der Darstellung der Furan-Derivate.....	- 14 -
Abb. 18:	Synthesekonzept des A-Rings <b>(7)</b> .....	- 16 -
Abb. 19:	Synthesekonzept der B/C-Ringvorstufe <b>(19)</b> .....	- 17 -
Abb. 20:	Synthesekonzept des B-Rings <b>(25)</b> .....	- 18 -
Abb. 21:	Synthesekonzept des C-Rings <b>(26)</b> .....	- 19 -
Abb. 22:	Synthesekonzept der AB-Hälfte <b>(57)</b> .....	- 19 -
Abb. 23:	Synthesekonzept der CD-Hälfte <b>(60)</b> .....	- 20 -
Abb. 24:	Synthese des Phycocyanobilins <b>(1)</b> .....	- 21 -
Abb. 25:	Synthese des <sup>13</sup> C-markierten C-Rings <b>(27)</b> .....	- 22 -
Abb. 26:	Synthese des <sup>15</sup> N-markierte C-Rings <b>(28)</b> .....	- 23 -
Abb. 27:	Synthese der <sup>15</sup> N-markierten CD-Hälfte <b>(65)</b> .....	- 23 -
Abb. 28:	Synthese des modifizierten C-Rings <b>(29)</b> .....	- 24 -
Abb. 29:	Synthese des Biliverdin A-Rings <b>(55)</b> .....	- 25 -
Abb. 30:	Synthese des Biliverdin D-Rings <b>(34)</b> .....	- 26 -
Abb. 31:	Synthese des modifizierten D-Rings <b>(41)</b> .....	- 27 -
Abb. 32:	Synthese der Biliverdin CD-Hälfte <b>(44)</b> .....	- 27 -
Abb. 33:	Synthese des modifizierten A/D-Rings <b>(49)</b> .....	- 28 -
Abb. 34:	Additions-Eliminierungs-Mechanismus.....	- 29 -
Abb. 35:	Mechanismus der Michael-Addition.....	- 30 -
Abb. 36:	Mechanismus der Oxidation.....	- 30 -
Abb. 37:	Mechanismus der Thionylierung der Carbonylfunktion.....	- 31 -
Abb. 38:	Mechanismus der Synthese von N-Formylglycin- <i>tert</i> -butylester <b>(8)</b> .....	- 32 -
Abb. 39:	Mechanismus der Isonitrilsynthese.....	- 33 -
Abb. 40:	Mechanismus der Glycinveresterung.....	- 33 -

Abb. 41:	Mechanismus der Synthese von 4-Nitrobutansäuremethylester <b>(13)</b> .....	- 34 -
Abb. 42:	Mechanismus der abgewandelten Nef-Reaktion .....	- 35 -
Abb. 43:	Mechanismus der Acetalhydrolyse .....	- 36 -
Abb. 44:	Mechanismus der Henry-Reaktion .....	- 36 -
Abb. 45:	Mechanismus der Synthese von 4-Pentinsäuremethylester <b>(18)</b> .....	- 37 -
Abb. 46:	Mechanismus des Ringschluss der B/C-Ringvorstufe <b>(19)</b> .....	- 38 -
Abb. 47:	Mechanismus der Ringschlussreaktion der (4H)-B/C-Ringvorstufe <b>(21)</b> .....	- 39 -
Abb. 48:	Mechanismus der Synthese von Glyoxylsäurebenzylester <b>(23)</b> .....	- 40 -
Abb. 49:	Mechanismus der elektrophilen aromatischen Substitution .....	- 41 -
Abb. 50:	Mechanismus der Synthese des B-Rings <b>(25)</b> .....	- 42 -
Abb. 51:	Mechanismus der Vilsmeier-Formylierungsreaktion .....	- 43 -
Abb. 52:	Resonanzstrukturen für die elektrophile Substitution am C2 und C3 .....	- 44 -
Abb. 53:	Mechanismus der Thio-Wittig-Reaktion.....	- 45 -
Abb. 54:	Mechanismus der Knoevenagel-Reaktion .....	- 46 -
Abb. 55:	Mechanismus der Formylierung zur CD-Hälfte <b>(60)</b> .....	- 47 -
Abb. 56:	Mechanismus der basenkatalysierten Entschützung der CD-Hälfte <b>(63)</b> .....	- 48 -
Abb. 57:	Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (7H)-CD-Hälfte <b>(67)</b> . Grün markiert ist das Signal der unsubstituierten C7 Position. ....	- 49 -
Abb. 58:	Mechanismus der säurekatalysierten Entschützung der AB-Hälfte <b>(57)</b> .....	- 50 -
Abb. 59:	Mechanismus der säurekatalysierten Kondensation zum Tetrapyrrol- dimethylester <b>(75)</b> .....	- 51 -
Abb. 60:	Mechanismus der Acidolyse.....	- 52 -
Abb. 61:	Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von Phycocyanobilin <b>(1)</b> .....	- 53 -
Abb. 62:	Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (15- <sup>13</sup> C)-Phycocyanobilin <b>(69)</b> . Rot markiert ist das durch die <sup>13</sup> C-Markierung aufgespaltene Signal der Methinbrücke. ....	- 53 -
Abb. 63:	Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilin <b>(72)</b> . Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup> N-Markierung aufgespaltene Signal der beiden benachbarten Methinbrücken. ....	- 54 -
Abb. 64:	Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (13H)-Phycocyanobilin <b>(74)</b> . Grün markiert ist das Signal der unsubstituierten C13 Position. ....	- 55 -
Abb. 65:	Synthese des Toysl-geschützten Bausteins <b>(51)</b> .....	- 56 -
Abb. 66:	Mechanismus zur Darstellung des geschützten D-Rings <b>(54)</b> .....	- 57 -
Abb. 67:	Mechanismus der Knoevenagel-Kondensation .....	- 58 -
Abb. 68:	Säurekatalysierter Pyrrolringschluss .....	- 59 -
Abb. 69:	Mechanismen der Route B.....	- 60 -
Abb. 70:	Synthese der bromierten Vorstufe <b>(47)</b> .....	- 61 -

Abb. 71:	Synthese der A-/D-Ringvorstufe ( <b>49</b> ).....	- 62 -
Abb. 72:	Mechanismus der Ausbildung einer Thioetherbindung zwischen dem A-Ring des Chromophors und einem Protein Cystein. ....	- 63 -
Abb. 73:	Absorptionsspektren der Assemblierung: Protein 1393 GAF 3 ohne Chromophor (schwarz), ( $^{15}\text{-}^{13}\text{C}$ )-PCB ( <b>69</b> ) (rot), ins Protein 1393 GAF 3 assemblierter Chromophor nach 24 h (blau). ....	- 64 -
Abb. 74:	Absorptionsspektren der Assemblierung: Protein 1393 GAF 3 ohne Chromophor (schwarz), ( $^{22}\text{-}^{15}\text{N}$ )-PCB ( <b>72</b> ) (rot), ins Protein 1393 GAF 3 assemblierter Chromophor nach 24 h (blau). ....	- 65 -
Abb. 75:	Chromophore der Phytochrome: Phycocyanobilin ( <b>1</b> ) und Biliverdin IX $\alpha$ ( <b>2</b> ). Die strukturellen Unterschiede und die Substituenten im A-Ring, die an der Bindung an das Cystein des Proteins beteiligt sind (Ethyliden bzw. Vinyl) sind rot markiert.....	- 67 -
Abb. 76:	Chromophores of the phytochromes: phycocyanobilin ( <b>1</b> ) and biliverdin IX $\alpha$ ( <b>2</b> ). The structural differences and the substituents in ring A that are employed for the covalent linkage to the cysteine are marked in red.....	- 69 -
Abb. 77:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion ( <b>4</b> ).....	- 77 -
Abb. 78:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (E)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dion ( <b>5</b> ).....	- 78 -
Abb. 79:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (E)-3-Ethyliden-4-methylpyrroliden-2,5-dion ( <b>6</b> ).....	- 80 -
Abb. 80:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (E)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid ( <b>7</b> ).....	- 81 -
Abb. 81:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von N-Formylglycin- <i>tert</i> -butylester ( <b>8</b> ).....	- 83 -
Abb. 82:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Isocyanoessigsäure- <i>tert</i> -butylester ( <b>9</b> ).....	- 84 -
Abb. 83:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Glycinmethylesterhydrochlorid ( <b>10</b> ).....	- 85 -
Abb. 84:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von N-Formylglycinmethylester ( <b>11</b> ).....	- 86 -
Abb. 85:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Isocyanoessigsäuremethylester ( <b>12</b> ).....	- 87 -
Abb. 86:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Nitrobutansäuremethylester ( <b>13</b> ).....	- 88 -
Abb. 87:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4,4-Dimethoxybutansäuremethylester ( <b>14</b> ).....	- 90 -
Abb. 88:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Oxobutansäuremethylester ( <b>15</b> ).....	- 91 -
Abb. 89:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester ( <b>16</b> ).....	- 92 -
Abb. 90:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Pentinsäure ( <b>17</b> ).....	- 94 -
Abb. 91:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Pentinsäuremethylester ( <b>18</b> ).....	- 95 -
Abb. 92:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-carbon- säure- <i>tert</i> -butylester ( <b>19</b> ).....	- 96 -
Abb. 93:	$^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-carbon-säuremethylester ( <b>20</b> ).....	- 98 -

- Abb. 94:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**21**) Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7. .... - 99 -
- Abb. 95:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von D-(-)-Weinsäuredibenzylester (**22**) ..... - 101 -
- Abb. 96:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Glyoxylsäurebenzylester (**23**) ..... - 102 -
- Abb. 97:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3-(5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxy-carbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl)-propionsäuremethylester (**24**) ..... - 104 -
- Abb. 98:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Benzyloxycarbonyl-(5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methylpyrrol-2-yl)-(triphenylphosphonid)-methanid (**25**) ..... - 105 -
- Abb. 99:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**26**) ..... - 107 -
- Abb. 100:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 5-Formyl-3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäuremethylester (**28**) ..... - 109 -
- Abb. 101:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**29**). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7. .... - 110 -
- Abb. 102:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäuremethylester (**56**) ..... - 112 -
- Abb. 103:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**57**) ..... - 114 -
- Abb. 104:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxy-carbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**59**) ..... - 116 -
- Abb. 105:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethyl-pyrromethen-1*H*-pyrrol (**60**) ..... - 117 -
- Abb. 106:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (5- $^{13}\text{C}$ )-2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxy-carbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**61**). Rot markiert ist das durch die  $^{13}\text{C}$ -Markierung aufgespaltene Signal der Methinbrücke. .... - 119 -
- Abb. 107:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (5- $^{13}\text{C}$ )-2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**62**). Rot markiert ist das durch die  $^{13}\text{C}$ -Markierung aufgespaltene Signal der Methinbrücke. .... - 120 -
- Abb. 108:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von ( $^{15}\text{N}$ )-2-Ethyl-9-carbonsäuremethylester-8-(2-methoxy-carbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1*H*-pyrrol (**63**). Pink markiert ist das durch die  $^{15}\text{N}$ -Markierung aufgespaltene Protonensignal des Stickstoffs. .... - 122 -

Abb. 109:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von ( <sup>15</sup> N)-2-Ethyl-9-carbonsäure-8-propionsäure-3,7-dimethyl-pyrromethen-1 <i>H</i> -pyrrol ( <b>64</b> ). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup> N-Markierung aufgespaltene Protonensignal des Stickstoffs. ....	- 123 -
Abb. 110:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von ( <sup>15</sup> N)-2-Ethyl-9-formyl-8-propionsäure-3,7-dimethyl-pyrro-methen-1 <i>H</i> -pyrrol ( <b>65</b> ). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup> N-Markierung aufgespaltene Protonensignal des Stickstoffs.....	- 125 -
Abb. 111:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 2-Ethyl-9-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester-8-(2-methoxy-carbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrromethen-1 <i>H</i> -pyrrol ( <b>66</b> ). Grün markiert ist die un- substituierte Position 7. ....	- 127 -
Abb. 112:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl- pyrromethen-1 <i>H</i> -pyrrol ( <b>67</b> ). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7. ....	- 128 -
Abb. 113:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (15- <sup>13</sup> C)-Phycocyanobilindimethylester ( <b>68</b> ). Rot markiert ist das durch die <sup>13</sup> C-Markierung aufgespaltene Signal der Methinbrücke. ....	- 130 -
Abb. 114:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (15- <sup>13</sup> C)-Phycocyanobilin ( <b>69</b> ). Rot markiert ist das durch die <sup>13</sup> C-Markierung aufgespaltene Signal der Methinbrücke.....	- 131 -
Abb. 115:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilindimethylester ( <b>70</b> ). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup> N-Markierung aufgespaltene Signal der beiden benachbarten Methinbrücken. ....	- 133 -
Abb. 116:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilinmethylester ( <b>71</b> ). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup> N-Markierung aufgespaltene Signal der beiden benachbarten Methinbrücken. ....	- 134 -
Abb. 117:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (22- <sup>15</sup> N)-Phycocyanobilin ( <b>72</b> ). Pink markiert ist das durch die <sup>15</sup> N-Markierung aufgespaltene Signal der beiden benachbarten Methinbrücken. ....	- 135 -
Abb. 118:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (13H)-Phycocyanobilindimethylester ( <b>73</b> ). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7. ....	- 137 -
Abb. 119:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (13H)-Phycocyanobilin ( <b>74</b> ). Grün markiert ist die unsubstituierte Position 7. ....	- 138 -
Abb. 120:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von Phycocyanobilin ( <b>1</b> ).....	- 140 -
Abb. 121:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 3-Tosylpropanal ( <b>50</b> ).....	- 142 -
Abb. 122:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 3-Acetoxy-2-nitro-5-tosylpentan ( <b>51</b> ).....	- 143 -
Abb. 123:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1 <i>H</i> -pyrrol ( <b>52</b> ).....	- 145 -
Abb. 124:	<sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 5-Brom-4-methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1 <i>H</i> -pyrrol ( <b>53</b> ).....	- 146 -

Abb. 125: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 4-Methyl-2-tosyl-3-(2-tosylethyl)-1 <i>H</i> -pyrrol-5-on <b>(54)</b> .....	- 148 -
Abb. 126: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 2 <i>Z</i> /2 <i>E</i> -2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbut-2- enamid <b>(30)</b> .....	- 149 -
Abb. 127: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 2-Cyano-4,4-dimethoxy-3-methylbutanamid <b>(31)</b> ....	- 150 -
Abb. 128: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 3-Cyano-4-methyl-3-pyrrolin-2-on <b>(32)</b> .....	- 151 -
Abb. 129: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 4-(4-Chlorphenylselanyl)butansäure <b>(35)</b> .....	- 153 -
Abb. 130: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von Acetamidoaceton <b>(36)</b> .....	- 154 -
Abb. 131: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von Aminoaceton-hydrochlorid <b>(37)</b> .....	- 155 -
Abb. 132: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 1-Amino-2,2-dimethoxypropan <b>(38)</b> .....	- 156 -
Abb. 133: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butylamino]propan-2-on <b>(39)</b> .....	- 157 -
Abb. 134: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von [4-(4-Chlorphenylselanyl)butyl]-(2-oxopropyl)- carbamin-säure- <i>tert</i> -butylester <b>(40)</b> .....	- 159 -
Abb. 135: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von (4-Methoxybenzyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dion <b>(45)</b> .....	- 160 -
Abb. 136: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion <b>(46)</b> .....	- 162 -
Abb. 137: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 3-(Brommethyl)-4-methylpyrrol-2,5-dion <b>(47)</b> .....	- 163 -
Abb. 138: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 3,4-Dimethylpyrrol-2,5-dion-3-phosphonium- bromid <b>(48)</b> .....	- 164 -
Abb. 139: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 3-Vinyl-4-methylpyrrol-2,5-dion <b>(49)</b> .....	- 165 -
Abb. 140: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von Biliverdin IX $\alpha$ <b>(2)</b> .....	- 167 -

## 9.4 Literaturverzeichnis

- [1] Gärtner, W. Das pflanzliche Photorezeptorsystem Phytochrom. *Biologie in unserer Zeit*, 27 **1997**, 235-244.
- [2] Makhynya, Y.; Hussain, Z.; Bauschlicher, T.; Schwinte, P.; Siebert, F.; Gärtner, W. Synthesis of Selectively <sup>13</sup>C-Labelled Bilin Compounds. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 1287-1293.
- [3] Bongards, C.; Gärtner, W. The Role of the Chromophore in the Biological Photoreceptor Phytochrome: An Approach Using Chemically Synthesized Tetrapyrroles. *Accounts of Chemical Research*, Vol. 43, No. 4, **2010**, 485-495.
- [4] Mroginski, M. A.; Kaminski, S.; von Stetten, D.; Ringsdorf, S.; Gärtner, W.; Essen, L. O.; Hildebrandt, P. Structure of the Chromophore Binding Pocket in the P<sub>r</sub> State of Plant Phytochrome phyA. *J. Phys. Chem. B*, 115, **2011**, 1220-1231.
- [5] Song, C.; Psakis, G.; Lang, C.; Mailliet, J.; Gärtner, W.; Hughes, J.; Matysik, J. Two ground state isoforms and a chromophore D-ring photoflip triggering extensive intramolecular changes in a canonical phytochrome. *PNAS Early Edition*, **2011**, 1-6.
- [6] Gärtner, W. Phytochrome als universeller Schalter, **2003**, 1-11.
- [7] Purcell, E.; Crossan, S. Photoregulation in prokaryotes. *Current Opinion in Microbiology*, 11, **2008**, 168-178.
- [8] Braslavsky, S. E.; Gärtner, W.; Schaffner, K. Phytochrome photoconversion. *Plant, Cell and Environment*, 20, **1997**, 700-706.
- [9] Mroginski, M. A.; Murgida, D. H.; Hildebrandt, P. The Chromophore Structural Changes during the Photocycle of Phytochrome: A Combined Resonance Raman and Quantum Chemical Approach. *Amer. Chem. Soc.* **2006**.
- [10] Devlin, P. F.; Christie, J. M.; Terry, M. J. Many hands make light work. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 58, No. 12, **2007**, 3071-3077.
- [11] Rohmer, T.; Lang, C.; Hughes, J.; Essen, L. O.; Gärtner, W.; Matysik, J. Light-induced chromophore activity and signal transduction in phytochromes observed by <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N magic-angle spinning NMR. *PNAS*, Vol. 105, No. 40, **2008**, 15229-15234.

- [12] Rüdiger, W.; Thümmler, F. Phytochrom, das Sehpigment der Pflanzen. *Angew. Chem.* **103**, **1991**, 1242-1254.
- [13] Moeglich, A.; Yang, X.; Ayers, R. A.; Moffat, K. Structure and Function of Plant Photoreceptors. *Annual Review of Plant Biology*, **61**, **2010**, 21-47.
- [14] Drepper, T.; Circolone, F.; Heck, A.; Krauss, U.; Jaeger, K. E. Bakterien sehen Blau – Neues über LOV-Photorezeptoren. *BIOspektrum*, **2007**, 361-363.
- [15] Ringsdorf, S. Synthese gezielt isotoopenmarkierter und strukturell modifizierter Tetrapyrrole. Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, **2010**.
- [16] Bongards, C. Darstellung strukturell modifizierter Biline als Chromophore des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom. Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, **2007**.
- [17] Montgomery, B. L.; Lagarias, J. C. Phytochrome ancestry: sensors of bilins and light. *TRENDS in Plant Science*, **2002**, 1360-1385.
- [18] Essen, L. O.; Hughes, J. The structure of a complete phytochrome sensory module in the P<sub>r</sub> ground state. *PNAS*, Vol. **105**, No. **38**, **2008**, 14709-14714.
- [19] Butler, W. L.; Norris, K. H.; Siegelman, H. W.; Hendricks, S. B. Detection, Assay and Preliminary Purification of the Pigment Controlling Photoresponsive Development of Plants. *PNAS*, **45**, **1959**, 1703-1708.
- [20] Hershey, H. P.; Barker, R. F.; Idler, K. B.; Lissemore, J. L.; Quail, P. H. Analysis of Cloned cDNA and Genomic Sequences for Phytochrome – Complete Amino-Acid-Sequences for 2 Gene-Products Expressed in Ethiolated Avena. *Nucleic Acid Res.*, **13**, **1985**, 8543-8559.
- [21] Quail, P. H. Phytochromes. *Current Biology*, **20**, **2010**, 504-507.
- [22] Nakasako, M.; Wada, M.; Tokutomi, S.; Yamamoto, K. T.; Sakai, J.; Kataoka, M.; Tokunaga, F.; Furuyama, M. Quaternary Structure of Pea Phytochrome-I Dimer Studied with Small-Angle X-Ray-Scattering and Rotary-Shadowing Electron-Microscopy. *Photochem. Photobiol.*, **52**, **1990**, 3-12.
- [23] Heyer, A.; Gatz, C. Isolation and Characterization of a cDNA-Clone Coding for Potato Type-A Phytochrome. *Plant Mol. Biol.*, **18**, **1992**, 535-544.
- [24] Vierstra, R. D.; Quail, P. H. Proteolysis Alters the Spectral Properties of 124 kDa Phytochrome from Avena. *Planta*, **156**, **1982**, 158-165.

- [25] Hershey, H. P.; Barker, R. F.; Idler, K. B.; Murray, M. G.; Quail, P. H. Nucleotide-Sequence and Characterization of a Gene Encoding the Phytochrome Polypeptide from *Avena*. *Gene*, **61**, **1987**, 339-348.
- [26] Kaneko, T.; Tanaka, A.; Sato, S.; Kotani, H.; Sazuka, T.; Miyajima, N.; Sugiura, M.; Tabata, S. Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. I. Sequence features in the 1 Mb region from map positions 64 % to 92 % of the genome. *Dna Res*, **2**, **1995**, 153-158.
- [27] Davis, S. J.; Vener, A. V.; Vierstra, R. D. Bacteriophytochromes: Phytochrome-like photoreceptors from nonphotosynthetic eubacteria. *Science*, **286**, **1999**, 2517-2520.
- [28] Kehoe, D. M.; Grossman, A. R. Similarity of a chromatic adaption sensor to phytochrome and ethylene receptors. *Science*, **273**, **1996**, 1409-1412.
- [29] Lamparter, T. Evolution of cyanobacterial and plant phytochromes. *FEBS Lett.*, **573**, **2004**, 1-5.
- [30] Blumenstein, A.; Vienken, K.; Tasler, R.; Purschwitz, J.; Veith, D.; Frankenberg-Dinkel, N.; Fischer, R. The *Aspergillus nidulans* phytochrome FphA represses sexual development in red light. *Current Biology*, **15**, **2005**, 1833-1838.
- [31] Rockwell, N. C.; Lagarias, J. C. A Brief History of Phytochromes. *Chemphyschem*, **11**, **2010**, 1172-1180.
- [32] Lamparter, T.; Mittmann, F.; Gärtner, W.; Börner, T.; Hartmann, E.; Hughes, J. Characterization of recombinant phytochrome from the cyanobacterium *Synechocystis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **94**, **1997**, 11792-11797.
- [33] Andel, F.; Lagarias, J. C.; Mathies, R. A. Resonance Raman analysis of chromophore structure in the lumi-R photoproduct of phytochrome. *Biochemistry*, **35**, **1996**, 15997-16008.
- [34] Lagarias, J. C.; Rapoport, H. Chromopeptides from Phytochrome – the Structure and Linkage of the Pr Form of the Phytochrome Chromophore. *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, **1980**, 4821-4828.
- [35] Mizutani, Y.; Tokutomi, S.; Kitagawa, T. Resonance Raman-Spectra of the Intermediates in Phototransformation of Large Phytochrome – Deprotonation of the Chromophore in the Bleached Intermediate. *Biochemistry*, **33**, **1994**, 153-158.

- [36] Yurina, N. P.; Osipenkova, O. V.; Odintsova M. S. Higher Plant Tetrapyrrolo: Their Biosynthesis and Its Regulation, Tetrapyrrol Role in Transmission of Retrograde Signals. *Russian Journal of Plant Physiology*, Vol. 59, No. 1, **2012**, 1-13.
- [37] Weller, J. P.; Gossauer, A. Synthese und Photoisomerisierung des racem. Phytochromobilindimethylesters. *Chem. Ber.* 113, **1980**, 1603-1611.
- [38] Inomata, K. Studies on the Structure and Function of Phytochromes as Photoreceptors Based on Synthetic Organic Chemistry. *Bull. Chem.Soc. Jpn.* Vol 81, No.1, **2008**, 25-59.
- [39] Jacobi, P. A.; DeSimone, R. W.; Ghosh, I.; Guo, J.; Leung, S. H.; Pippin, D. New Synthesis of the C,D-Ring Pyrromethenones of Phytochrome and Phycocyanin. *J. Org. Chem.* 65, **2000**, 8478-8489.
- [40] Jacobi, P. A.; Odeh, I. M. A.; Buddhu, S. C.; Cai, G. L.; Rajeswari, S.; Fry, D.; Zheng, W. J.; DeSimone, R. W.; Guo, J. S. Coutts, L. D.; Hauck, S. I.; Leung, S. H.; Gosh, I.; Pippin, D. Synthetic studies in phytochrome chemistry. *Synlett*, **2005**, 2861-2885.
- [41] Kakiuchi, T.; Kato, H.; Jayasundera, K. P.; Higashi, T.; Watabe, K.; Sawamoto, D.; Kinoshita, H.; Inomata, K. Total synthesis of (+/-)-phycocyanobilin and its derivatives bearing a photoreactive group at D-ring. *Chem. Lett.*, 10, **1998**, 1001-1002.
- [42] Lindner, I. Totalsynthese neuartiger Chromophore des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom und Charakterisierung der biochemischen und spektralen Eigenschaften der damit generierten Chromoproteine. Gerhard-Mercator-Universität-Gesamthochschule Duisburg, **2000**.
- [43] Gossauer, A.; Miehe, D. Syntheses of Bile-Pigments: 3. Total Synthesis of Mesobilirrhodin Dimethyl Esters. *Annalen der Chemie - Justus Liebig*, 3, **1974**, 352-362.
- [44] Robben, U.; Lindner, I.; Gärtner, W. New open-chain tetrapyrroles as chromophores in the plant photoreceptor phytochrome. *J Amer. Chem. Soc.*, 130, **2008**, 11303-11311.
- [45] Bishop, J. E.; Dagam, S. A.; Rapoport, H. Synthesis and Characterization of Monothiosuccinimides. *J. Org. Chem.*, Vol. 54, No. 8, **1989**, 1876-1883.
- [46] Nakayama, K. Organic Synthesis of Novel Tetrapyrrole for Spectroscopic Studies of Phytochromes. *Technical Report No. 3*, **2011**, 1-6.

- [47] Lygin, A. V.; Larionov, O. V.; Korotkov, V. S.; de Meijere, A. Oligosubstituted Pyrroles Directly from Substituted Methyl Isocyanides and Acetylenes. *Chem. Eur. J.*, **15**, **2009**, 227-236.
- [48] Kajigaeshi, S.; Kakinami, T.; Inoue, K.; Kondo, M.; Nakamura, H.; Fujikawa, M.; Okamoto, T. Halogenation Using Quaternary Ammonium Polyhalides. VI. Bromination of Aromatic Amines by Use of Benzyltrimethylammonium Tribromide. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **61**, **1988**, 597-599.
- [49] Dawadi, P. B.; Lugtenburg, J. Efficient Preparation of [2-<sup>13</sup>C]- and [3-<sup>13</sup>C]-3-Cyano-4-methyl-3-pyrrolin-2-one. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 1294-1300.
- [50] Dawadi, P. B.; Lugtenburg, J. Efficient Preparation of [1-<sup>15</sup>N]-3-Cyano-4-Methyl-1H-3-Pyrrole via a New Wittig Based Strategy. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2288-2292.
- [51] Suarez, D.; Laval, G.; Tu, S.; Jiang, D.; Robinson, C. L.; Scott, R.; Golding, B. T. Benzylic Brominations with N-Bromsuccinimide in (Trifluoromethyl)-benzene. *Synthesis*, No. 11, **2009**, 1807-1810.
- [52] Henryon, V.; Ferezou, J. P. Forml Convergent Synthesis of Ivermectin Aglycone – A Synthetic Approach to the C10-C25 Subunit of Avermectins 2b. *Synthesis*, No. 20, **2009**, 3477-3487.
- [53] Obrecht, R.; Herrmann, R.; Ugi, I. Isocyanide Synthesis with Phosphoryl Chloride and Diisopropylamine. *Synthesis*, **1985**.
- [54] Weber, W. P.; Gokel, G. W. An improved procedure for the Hofman Carbylamine: Synthesis of Isonitriles. *Tetrahedron Letters*, No. 17, **1972**, 1637-1640.
- [55] Brown, H. C.; Shoaf, C. J. Selective Reductions. III. Further Studies of the Reaction of Alcohols with Lithium Aluminium Hydride as a Route to the Lithium Alkoxyaluminumhydrides. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 86, **1964**, 1079-1085.
- [56] Brown, H. C.; Gang, C. P. Selective Reductions. IV. The Partial Reduction of Nitriles with lithium Triethoxyaluminumhydride – A Convenient Aldehyde Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 86, **1964**, 1085-1089.
- [57] Schultz, M; Kulis, J.; Murison, J.; Andrews, G. W. Synthesis of dianionic and trianionic chiral, chelating ligands based on amino acids. *Aust. J. Chem.*, **61**, **2008**, 297-302.

- [58] Drinan, M. A.; Lash, T. D. Synthesis of Benzyl and tert-Butyl-3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-Methylpyrrole-2-Carboxylates from Methyl 4-Oxo-butanoate. *J. Heterocycl. Chem.*, **31**, **1994**, 255-257.
- [59] Hepworth, J. D. Aminoacetone Semicarbazone Hydrochloride. *Org. Syn.*, Vol. 5, **1973**, 27.
- [60] Calabretta, R.; Giordano, C.; Gallina, C.; Morea, V.; Consalvi, V.; Scandurra, R. Peptidyl and azapeptidyl methylketones as a substrate analog inhibitors of papain and cathpsin B. *Eur. J. Med. Chem.*, **30**, **1995**, 931-941.
- [61] Falk, H. The chemistry of linear oligopyrroles and bile pigments, *Springer-Verlag*, Wien, **1989**.
- [62] Müller, M. G., Lindner, I., Martin, I., Gärtner, W., Holzwarth, A. R. Femtosecond Kinetics of Photoconversion of the higher plant photoreceptor Phytochrome carrying native and modified chromophores, *Biophysical Journal*, Volume 94, **2008**, 4370-4382.





# Curriculum vitae

## *Persönliche Angaben*

Name: Sebastian Gandor  
Geburtsdatum/ -ort: 24. September 1980 in Düsseldorf  
Nationalität: deutsch  
Familienstand: verheiratet

## *Studium*

2008 - 2013 Promotionsstudium Chemie, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Doktorarbeit am Max-Planck-Institut für Chemische Energiekonversion, Mülheim, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Wolfgang Gärtner „Totalsynthese strukturell modifizierter und Isotopen-markierter offenkettiger Tetrapyrrole“

2002 - 2008 Studium Diplomchemie, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Diplomarbeit am Lehrstuhl für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Arbeitskreis PD Dr. Klaus Schaper „Synthese und Untersuchung von chemisch relevanten Modellverbindungen“

## *Schul-und Berufsausbildung*

1998 - 2001 Lessing Kollegschule, Düsseldorf  
Abitur und Berufsabschluss als Biologisch technischer Assistent

1996 - 1998 Städt. Realschule Benrath, Düsseldorf

1991 - 1996 Städt. Gymnasium Koblenzer Straße, Düsseldorf

## *Zivildienst*

Januar-Oktober 2002 Seniorenresidenz Paulushaus (Pflegerstation)



Die hier vorgelegte Dissertation habe ich eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt. Die Dissertation wurde in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht. Ich habe bisher keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

Düsseldorf, den

---

Sebastian Gandor

