

**Darstellung strukturell modifizierter Biline als Chromophore  
des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom**

**Inaugural-Dissertation**

zur

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

vorgelegt von

**Christian Bongards**

aus Dinslaken

Februar 2007



Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Oktober 2003 bis Februar 2007 am Max-Planck-Institut für Bioorganische Chemie in Mülheim an der Ruhr unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Gärtner.

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

Referent: Prof. Dr. Wolfgang Gärtner

Koreferent: Prof. Dr. Manfred Braun

Tag der mündlichen Prüfung: 25. April 2007



Meinen Eltern

und

Sandra

*„Todo en el mundo es extraño y  
es maravilloso para unas pupilas  
bien abiertas.“*

José Ortega y Gasset (1883–1955)

*„In the beginning the Universe was created.  
This has made a lot of people very angry and has been widely regarded as a bad move.“*

Douglas Adams (1952–2001)

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all denen danken, ohne deren teilweise langjährige Unterstützung das Entstehen dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre:

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wolfgang Gärtner für die Überlassung des interessanten Themas und die ausgezeichnete Betreuung unter gleichzeitiger Gewährung größtmöglicher Freiheiten während der Bearbeitung. Zudem danke ich ihm für sein stetes Interesse am Verlauf der Arbeiten, die vielen hilfreichen Diskussionen sowie die Korrektur dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Manfred Braun danke ich vielmals für die freundliche Übernahme des Ko-referats dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Lubitz danke ich dafür, dass er mir die Möglichkeit eingeräumt hat, die vorliegende Arbeit am Max-Planck-Institut für Bioanorganische Chemie in Mülheim an der Ruhr anfertigen zu können.

Herrn Dr. Christoph Breitenstein, Frau Ingeborg Heise, Herrn Dr. Zakir Hussain, Herrn Dr. Yevgen Makhynya und Frau Dipl.-Chem. Anke Mennenga danke ich für ihre stete Hilfsbereitschaft sowie die jederzeit angenehme Arbeitsatmosphäre in Labor 580.

Frau Melanie Denißen und Frau Patricia Malkowski danke ich für die wertvolle Unterstützung der synthetischen Arbeiten im Rahmen ihrer Ausbildung zu Chemielaborantinnen sowie für ihre jederzeit unerschütterliche gute Laune.

Mein Dank gilt Frau Kerstin Sand und Herrn Jörg Bitter für die Messung der NMR-Spektren.

Ferner danke ich Herrn Werner Jopek, Herrn Wulf Schmöller sowie allen Mitarbeitern der Abteilung Massenspektrometrie des Max-Planck-Instituts für Kohlenforschung für die hervorragende Messung und Auswertung der Massenspektren.

Herrn Dr. Thomas Weyhermüller und den Mitarbeitern der Abteilung Röntgenstrukturanalytik danke ich für die Messung und Auswertung der Kristallstrukturen.

Herrn Norbert Dickmann danke ich für die engagierte und ausgezeichnete Messung der MALDI-TOF-Massenspektren, seine Diskussionsbereitschaft im Rahmen der Auswertung der Ergebnisse und seine – vor allem bei der Anfertigung der Fluoreszenzspektren – stete Hilfsbereitschaft.

Frau Dr. Aba Losi danke ich für ihre Unterstützung im Rahmen der Auswertung der angefertigten Fluoreszenzspektren sowie für ihre Bereitschaft zur Diskussion der Ergebnisse.

Frau Manuela Trinoga danke ich für den exzellenten HPLC-Service sowie die wertvollen Diskussionen über die Ergebnisse der Aufreinigungen, welche oftmals zur Optimierung der Reaktionsbedingungen führten. Innerhalb kürzester Zeit entwickelte und etablierte sie geeignete Trennverfahren für eine Vielzahl an Produkten, wodurch sie am Erfolg der chemisch-synthetischen Arbeiten maßgeblichen Anteil hat.

Frau Helene Steffen danke ich für die Bereitstellung des Phytochrom-Apoproteins, ihre Zeit und Geduld, mir grundlegende mikrobiologische Arbeitstechniken zu vermitteln, sowie die vertrauensvolle und jederzeit von Offenheit geprägte Zusammenarbeit.

Herrn M. Sc. Björn Zorn danke ich für die freundliche Überlassung zweier Phycocyanobilin-Proben.

Ich danke Frau Dr. Melissa Koay und ganz besonders Frau Dipl.-Chem. Anke Mennenga für die sorgfältige und kritische Durchsicht der Arbeit sowie ihre Anmerkungen und Korrekturvorschläge.

Ebenso gilt mein Dank allen an dieser Stelle nicht namentlich aufgeführten Mitarbeitern der Arbeitsgruppe sowie beider Mülheimer Max-Planck-Institute, die durch ihre Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Meinen Mitstreitern vom GDCh-Jungchemikerforum Mülheim an der Ruhr, Herrn Dipl.-Chem. Jens Ackerstaff, Herrn Dr. Gereon Altenhoff, Herrn Dr. Peter Hannen, Herrn Dipl.-Chem. Daniel Kahakeaw, Herrn Dr. Andreas Kiefer, Herrn Dipl.-Chem. Sebastian Hoffmann, Herrn Dipl.-Chem. Alexander Korte, Herrn Dr. Bodo Scheiper sowie Herrn Dipl.-Chem. Frank Schulz danke ich für die gute Gemeinschaft und die tolle, institutsübergreifende Zusammenarbeit.

Meinen Eltern danke ich für die Ermöglichung des Studiums sowie ihre Unterstützung, der ich mir immer sicher sein durfte.

Insbesondere danke ich meiner Ehefrau Sandra für ihre unendliche Geduld mit mir und vor allem ihre Liebe.

## Abstract

The herbal photoreceptor system phytochrome (Phy) allows plants to detect the presence, direction, intensity, and spectral quality of light. Thus, they are capable of adapting to changes in environmental conditions. The chromoprotein phytochrome carries the covalently bound chromophore phytochromobilin (P $\Phi$ B), an open-chain tetrapyrrole. One of its methine-bridges undergoes an isomerisation upon absorption of visible light. This photoisomerisation causes a reversible transformation of the protein from its physiologically inactive resting state (P<sub>r</sub>) into its physiologically active form, the P<sub>fr</sub>-state. Photoactivation results in changes in the spectral properties of the phytochrome as well as the initiation of physiological reactions within the native system.

The principal object of the presented work was the systematic synthesis and the spectroscopic characterisation of six novel chromophores of the herbal photoreceptor phytochrome. These chromophores were developed using a convergent synthesis strategy and showed a configuration analogous to the native chromophore phycocyanobilin (PCB). The native aza-group within the D-ring of the chromophores was substituted by oxa-, thia-, and carba-groups. Three of these chromophores were further modified by substituting the naturally occurring C(18) ethyl group with a methyl group. This reduced steric hinderance as well as the modified electronic properties on the D-ring, which is accessible to photoisomerisation, were compared to the native P $\Phi$ B and PCB chromophores.

The influence of these steric changes on the biophysical properties of the phytochrome was determined by assembly of the modified chromophores with the N-terminal 65 kDa fragment of PhyA-apoprotein from *Avena sativa*. Simultaneous spectroscopic investigations were conducted and compared on these constructs and the PhyA-apoprotein assembled with the native chromophore PCB. While all generated holoproteins showed two photochemically interconvertible states, altered steric and polar interactions were observed between the synthesized chromophores and the protein-moiety. A hypsochromic shift of 21–74 nm was detected as well as a 2.5- to 4-fold increase in fluorescence emission.

Using a uniquely defined model system consisting of the chromophore PCB and a peptide of the PhyA-sequence containing 41 amino acids, first basic experiments were conducted to establish ligand-protein interactions between the chromophore PCB and the chromophore-binding domain of PhyA. While the measured absorption spectra established the autocatalytic assembly reaction, photoisomerisation of the complex was not observed due to the limited length of the peptide sequence and the lack of essential amino acids.



## Abkürzungsverzeichnis

$\alpha$ -CHCA	$\alpha$ -Cyano-4-hydroxycimtsäure
A	Absorption
aromat.	aromatisch
asym.	asymmetrisch
BB	$^1\text{H}$ -Breitband-entkoppeltes $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum
Bn	Benzyl
Bph	Bacteriophytochrom
BV	Biliverdin IX $\alpha$ (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-2,7,13,17-tetramethyl-3,18-divinybilin-1,19-(21,24 <i>H</i> )-dion)
CAN	Ammoniumcer-(IV)-nitrat
cDNA	komplementäre Desoxyribonucleinsäure
CI	Chemische Ionisation
CoA	Coenzym A
$\delta$	chemische Verschiebung [ppm]
$\Delta$	Differenz
d	Tag(e)
Da	Dalton
DBU	1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie, Dünnschichtchromatogramm
DHB's	Gemisch aus 2,5-Dihydroxybenzoesäure und 5-Methoxysalicylsäure
DMAP	N,N'-Dimethyl-4-aminopyridin
DMF	N,N'-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTT	1,4-Dithiothreitol
$\epsilon$	molarer Extinktionskoeffizient [ $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EI	Elektronenstoß-Ionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
FT-IR	Fourier-Transform-Infrarot (-Spektroskopie)
<i>g</i>	Erdbeschleunigung
GC	Gaschromatographie
h	Stunde(n)
<i>h</i>	Plancksches Wirkungsquantum [ $6.62608 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$ ]
HATU	2-(7-Aza-1 <i>H</i> -benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylharnstoffhexafluorophosphat
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
$I_{700}$	Intermediat mit einem Absorptionsmaximum bei 700 nm
$I_{bl}$	gebleichtes Intermediat

IF	Interferenzfilter
ip	Deformationsschwingung innerhalb der Molekülebene (in plane)
IR	Infrarot (-Spektroskopie)
J	Kopplungskonstante [Hz]
KF	Kantenfilter
$\lambda$	Wellenlänge [nm]
$\lambda_{\max}$	Wellenlänge des Absorptionsmaximums [nm]
Lit.	Literatur
M	molar [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ]
<i>M</i>	molare Masse [ $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ] oder [Da]
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight
min	Minute(n)
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
mRNA	Messenger-Ribonucleinsäure
$\nu$	Frequenz [Hz]
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl [ $\text{cm}^{-1}$ ]
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat der reduzierten Form
NCS	N-Chlorsuccinimid
neg	negativ
NMP	N-Methylpyrrolidon
NMR	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
NOE	Nuclear Overhauser Effect
oop	Deformationsschwingung aus der Molekülebene heraus (out of plane)
PAL-PEG-PS	5-(4-Aminomethyl-3,5-dimethoxyphenoxy)-valeryl-funktionalisiertes Polyethylenglykol-Polystyrol-Harz
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PCB	Phycocyanobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-18-ethyl-3-ethyliden-2,3-dihydro-2,7,13,17-tetramethylbilin-1,19-(21,24 <i>H</i> )-dion)
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PEB	Phycoerythrobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-3-ethyliden-2,3,15,16-tetrahydro-2,7,13,17-tetramethyl-18-vinylbilin-1,19-(16,21 <i>H</i> )-dion)
P $\Phi$ B	Phytochromobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-3-ethyliden-2,3-dihydro-2,7,13,17-tetramethyl-18-vinylbilin-1,19-(21,24 <i>H</i> )-dion)
$P_{\text{fr}}$	Phytochrom der dunkelrot (far red) absorbierenden Form
$P_{\text{fr max}}$	Wellenlänge des Absorptionsmaximums der dunkelrot absorbierenden Form des Phytochroms [nm]
Phy	Phytochrom
pos	positiv
ppm	parts per million

$P_r$	Phytochrom der hellrot (red) absorbierenden Form
$P_{r\max}$	Wellenlänge des Absorptionsmaximums der hellrot absorbierenden Form des Phytochroms [nm]
PVB	Phycoviolobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-3-ethyliden-2,3-dihydro-2,7,13,17-tetramethyl-18-vinylbilin-1,19-(21,24 <i>H</i> )-dion)
$r_{\text{kov}}$	Kovalenzradius
RP	Reverse Phase
RT	Raumtemperatur
SAR	Special Absorbance Ratio
Sdp.	Siedepunkt [°C]
SDS	Natriumdodecylsulfat
Sina	Sinapinsäure
Smp.	Schmelzpunkt [°C]
SPPS	Solid Phase Peptide Synthesis
subst.	substituiert
sym.	symmetrisch
TBAF	<i>tert</i> -Butylammoniumfluorid
<i>tert</i>	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMG	N,N,N',N'-Tetramethylguanidin
Tol	Tolyl
Ts	Tosyl
Trityl	Triphenylmethyl
unges.	ungesättigt
UV	Ultraviolett (-Spektroskopie)
Vis	Spektroskopie im sichtbaren Wellenlängenbereich
v/v	Volumenverhältnis
Z	Formeleinheiten pro Zelle
z. A.	zur Analyse
z. S.	zur Synthese



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1	Biologie offenkettiger Tetrapyrrole .....	3
1.1.1	<i>Vorkommen und biologische Bedeutung<sup>5</sup></i> .....	3
1.1.2	<i>Biosynthese der Chromophore</i> .....	4
1.2	Das pflanzliche Photorezeptorsystem Phytochrom.....	7
1.2.1	<i>Eigenschaften des Proteins</i> .....	7
1.2.2	<i>Der native Chromophor Phytochromobilin</i> .....	11
1.2.3	<i>Die P<sub>f</sub>/P<sub>fr</sub>-Photokonversion</i> .....	14
<b>2</b>	<b>Ziele der Arbeit.....</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>Synthesekonzept.....</b>	<b>21</b>
3.1	Totalsynthesen und Derivate.....	21
3.2	Vorüberlegungen und Planung.....	26
3.3	Darstellung der Monomeren.....	28
3.3.1	<i>Synthese des A-Rings (18)</i> .....	28
3.3.2	<i>Synthese der Vorstufe des B- und C-Rings (28)</i> .....	30
3.3.3	<i>Synthese des B-Rings (32)</i> .....	31
3.3.4	<i>Synthese des C-Rings (33)</i> .....	32
3.3.5	<i>Synthese der D-Ringe</i> .....	33
3.4	Darstellung der Dimeren.....	36
3.4.1	<i>Synthese des AB-Bausteins (51)</i> .....	36
3.4.2	<i>Synthese der CD-Bausteine</i> .....	36
3.5	Darstellung der Tetrameren.....	38
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion der synthetischen Arbeiten.....</b>	<b>39</b>
4.1	Darstellung der Monomeren.....	39
4.1.1	<i>Synthese des A-Rings (18)</i> .....	39
4.1.2	<i>Synthese der Vorstufe des B- und C-Rings (28)</i> .....	43
4.1.3	<i>Synthese des B-Rings (32)</i> .....	47
4.1.4	<i>Synthese des C-Rings (33)</i> .....	51
4.1.5	<i>Synthese der D-Ringe</i> .....	53

4.2	Darstellung der Dimeren.....	63
4.2.1	Synthese des AB-Bausteins ( <b>51</b> ).....	63
4.2.2	Synthese der formylierten CD-Bausteine ( <b>58</b> )–( <b>63</b> ).....	67
4.3	Darstellung der Tetrameren.....	80
4.3.1	Synthese der PCB-analogen Dimethylester ( <b>67</b> )–( <b>72</b> ).....	80
4.3.2	Synthese der PCB-analogen Chromophore ( <b>6</b> )–( <b>11</b> ) .....	85
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion der biochemischen Arbeiten .....</b>	<b>93</b>
5.1	Darstellung der Chromophor-PhyA-Holoproteine.....	93
5.1.1	Expression des PhyA-Apoproteins .....	93
5.1.2	Assemblierung der PCB-analogen Chromophore ( <b>6</b> )–( <b>11</b> ) und des PhyA-Apoproteins.....	93
5.1.3	Affinitätschromatographische Reinigung der Holoproteine ( <b>74</b> )–( <b>80</b> ).....	95
5.1.4	Gelelektrophorese der Holoproteine ( <b>74</b> )–( <b>80</b> ).....	95
5.1.5	Spektroskopische Untersuchungen der Chromoproteine ( <b>74</b> )–( <b>80</b> ).....	96
5.2	Darstellung eines PCB-Peptid-Komplexes .....	103
5.2.1	Synthese eines Peptids der PhyA-Sequenz ( <b>81</b> ) .....	103
5.2.2	Assemblierung des Peptids ( <b>81</b> ) und PCBs ( <b>2</b> ).....	104
5.2.3	Spektrometrische und spektroskopische Untersuchungen des PCB-Peptid-Komplexes ( <b>82</b> ).....	105
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>107</b>
<b>7</b>	<b>Ausblick .....</b>	<b>111</b>
<b>8</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>113</b>
8.1	Vorbemerkungen.....	113
8.1.1	Geräte, Materialien und Methoden .....	113
8.1.2	Verwendete Lösungsmittel und Reagenzien.....	116
8.2	Synthese des A-Rings .....	119
8.2.1	Darstellung des (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dions ( <b>19</b> ) <sup>116,117</sup> .....	119
8.2.2	Darstellung des (E)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dions ( <b>20a</b> ) <sup>116,117,143</sup> .....	120
8.2.3	Darstellung des (E)-3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dions ( <b>21</b> ) <sup>116,117</sup> .....	123
8.2.4	Darstellung des (E)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimids ( <b>18</b> ) <sup>116,117</sup> .....	125
8.2.5	Darstellung des (E)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimids ( <b>18</b> ) <sup>31,81</sup> .....	126

8.3	Synthese der Vorstufe des B- und C-Rings .....	129
8.3.1	Darstellung des <i>N</i> -Formylglycin- <i>tert</i> -butylesters ( <b>22</b> ) <sup>32,123</sup> .....	129
8.3.2	Darstellung des Isocyanoessigsäure- <i>tert</i> -butylesters ( <b>23</b> ) <sup>31,32</sup> .....	129
8.3.3	Darstellung des 4-Oxobutansäuremethylesters ( <b>25</b> ) <sup>119-121</sup> .....	130
8.3.4	Darstellung des 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylesters ( <b>26</b> ) <sup>32,123</sup> .....	132
8.3.5	Darstellung des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters ( <b>27</b> ) <sup>32,124</sup> .....	133
8.3.6	Darstellung des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-carbonsäure- <i>tert</i> -butylesters ( <b>28</b> ) <sup>32,125</sup> .....	134
8.3.7	Darstellung des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-carbonsäure- <i>tert</i> -butylesters ( <b>28</b> ) <sup>126,127</sup> .....	135
8.4	Synthese des B-Rings.....	138
8.4.1	Darstellung des <i>D</i> -(-)-Weinsäuredibenzylesters ( <b>29</b> ) <sup>31,128</sup> .....	138
8.4.2	Darstellung des Glyoxylsäurebenzylesters ( <b>30</b> ) <sup>31,128</sup> .....	139
8.4.3	Darstellung des 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-( <i>tert</i> -butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylesters ( <b>31</b> ) <sup>31,128</sup> .....	140
8.4.4	Darstellung des Benzyloxycarbonyl-[5- <i>tert</i> -butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanids ( <b>32</b> ) <sup>31,129</sup> ...	142
8.5	Synthese des C-Rings .....	145
8.5.1	Darstellung des 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-carbonsäure- <i>tert</i> -butylesters ( <b>33</b> ) <sup>32,130</sup> .....	145
8.6	Synthese der D-Ring-Derivate .....	147
8.6.1	Darstellung des 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolactons ( <b>34</b> ) <sup>131</sup> .....	147
8.6.2	Darstellung des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5 <i>H</i> )-furanons ( <b>36</b> ) <sup>131</sup> .....	148
8.6.3	Darstellung des 3-Acetoxy-2,3-dimethylbutyrolactons ( <b>35</b> ) <sup>131</sup> .....	149
8.6.4	Darstellung des 3,4-Dimethyl-2-(5 <i>H</i> )-furanons ( <b>37</b> ) <sup>131</sup> .....	150
8.6.5	Darstellung des 4-Methyl-2-(5 <i>H</i> )-thiophenons ( <b>39</b> ) <sup>132</sup> .....	151
8.6.6	Darstellung des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5 <i>H</i> )-thiophenons ( <b>40</b> ) <sup>132,133</sup> .....	153
8.6.7	Darstellung des 3,4-Dimethyl-2-(5 <i>H</i> )-thiophenons ( <b>41</b> ) <sup>132,133</sup> .....	155
8.6.8	Darstellung des 3-Hydroxyoctan-2,5-dions ( <b>42</b> ) <sup>134</sup> .....	156
8.6.9	Darstellung des 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enons ( <b>44</b> ) <sup>135,136</sup> .....	158
8.6.10	Darstellung des 4-Chloro-2-ethyl-3-methyl-cyclopent-2-enons ( <b>46</b> ) <sup>137</sup> .....	159
8.6.11	Darstellung des (3-Ethyl-2-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylesters ( <b>48</b> ) <sup>114,138</sup> .....	160
8.6.12	Darstellung des 3-Hydroxyheptan-2,5-dions ( <b>43</b> ) <sup>134</sup> .....	162
8.6.13	Darstellung des 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enons ( <b>45</b> ) <sup>135,136</sup> .....	163
8.6.14	Darstellung des 4-Chloro-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enons ( <b>47</b> ) <sup>137</sup> .....	164

8.6.15	Darstellung des (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäure-diethylesters ( <b>49</b> ) <sup>114,138</sup> .....	165
8.7	Synthese des AB-Bausteins .....	168
8.7.1	Darstellung des 3-(5-Benzoyloxycarbonyl-9-tert-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrrin-1-(10H)-on-8-yl)-propionsäuremethylesters ( <b>50</b> ) <sup>31,81,128</sup> .....	168
8.7.2	Darstellung der 9-tert-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10H)-on-5-carbonsäure ( <b>51</b> ) <sup>31,82,139,140</sup> .....	169
8.8	Synthese der CD-Bausteine .....	172
8.8.1	Darstellung des 2-Ethyl-9-carbonsäure-tert-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons ( <b>52</b> ) <sup>32,141</sup> .....	172
8.8.2	Darstellung des 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons ( <b>58</b> ) <sup>31,32,83</sup> .....	173
8.8.3	Darstellung des 9-Carbonsäure-tert-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanons ( <b>53</b> ) <sup>32,141</sup> .....	176
8.8.4	Darstellung des 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanons ( <b>59</b> ) <sup>31,32,83</sup> .....	178
8.8.5	Darstellung des 9-Carbonsäure-tert-butylester-2-ethyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenons ( <b>54</b> ) <sup>32,141</sup> .....	181
8.8.6	Darstellung des 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenons ( <b>60</b> ) <sup>31,32,83</sup> .....	183
8.8.7	Darstellung des 9-Carbonsäure-tert-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenons ( <b>55</b> ) <sup>32,141</sup> .....	186
8.8.8	Darstellung des 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenons ( <b>61</b> ) <sup>31,32,83</sup> .....	187
8.8.9	Darstellung des 3-Ethyl-10-carbonsäure-tert-butylester-9-(3-methoxycarbonylethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons ( <b>56</b> ) <sup>138,142</sup> .....	189
8.8.10	Darstellung des 3-Ethyl-10-formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons ( <b>62</b> ) <sup>32,83</sup> .....	191
8.8.11	Darstellung des 10-Carbonsäure-tert-butylester-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons ( <b>57</b> ) <sup>138,142</sup> .....	192
8.8.12	Darstellung des 10-Formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons ( <b>63</b> ) <sup>32,83</sup> .....	194
8.9	Synthese der tetrapyrrolanalogen Verbindungen.....	197
8.9.1	Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB-dimethylesters ( <b>67</b> ) <sup>32,83</sup> .....	197
8.9.2	Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCBs ( <b>6</b> ) <sup>31,32</sup> .....	198
8.9.3	Darstellung des 17,18-Dimethyl-oxa-PCB-dimethylesters ( <b>68</b> ) <sup>32,83</sup> .....	200

8.9.4	Darstellung des 17,18-Dimethyl-oxa-PCBs ( <b>7</b> ) <sup>31,32</sup> .....	202
8.9.5	Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB-dimethylesters ( <b>69</b> ) <sup>32,83</sup> .....	204
8.9.6	Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs ( <b>8</b> ) <sup>31,32</sup> .....	206
8.9.7	Darstellung des 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylesters ( <b>70</b> ) <sup>32,83</sup> .....	209
8.9.8	Darstellung des 17,18-Dimethyl-thia-PCBs ( <b>9</b> ) <sup>31,32</sup> .....	210
8.9.9	Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB-dimethylesters ( <b>71</b> ) <sup>32,83</sup> .....	212
8.9.10	Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCBs ( <b>10</b> ) <sup>31,32</sup> .....	214
8.9.11	Darstellung des 17,18-Dimethyl-carba-PCB-dimethylesters ( <b>72</b> ) <sup>32,83</sup> .....	216
8.9.12	Darstellung des 17,18-Dimethyl-carba-PCBs ( <b>11</b> ) <sup>31,32</sup> .....	217
8.10	Synthese der PhyA-Holoproteine .....	220
8.10.1	Assemblierung der synthetischen Chromophore ( <b>6</b> )–( <b>11</b> ) und des PhyA-Apoproteins <sup>39,159</sup> .....	220
8.10.2	Photokonversion und Differenzspektren .....	220
8.11	Synthese eines PCB-Peptid-Komplexes .....	222
8.11.1	Darstellung eines Peptids der PhyA-Sequenz ( <b>81</b> ).....	222
8.11.2	Assemblierung von PCB ( <b>2</b> ) und einem Peptid der PhyA-Sequenz ( <b>81</b> ).....	223
<b>9</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>225</b>
9.1	Daten zur Kristallstrukturanalyse .....	225
9.1.1	2-Ethyl-9-carbonsäure-tert-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon ( <b>52</b> ).....	225
9.2	Substanzen .....	230
9.3	Abbildungen.....	234
9.4	Tabellen.....	242
<b>10</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>243</b>



## 1 Einleitung

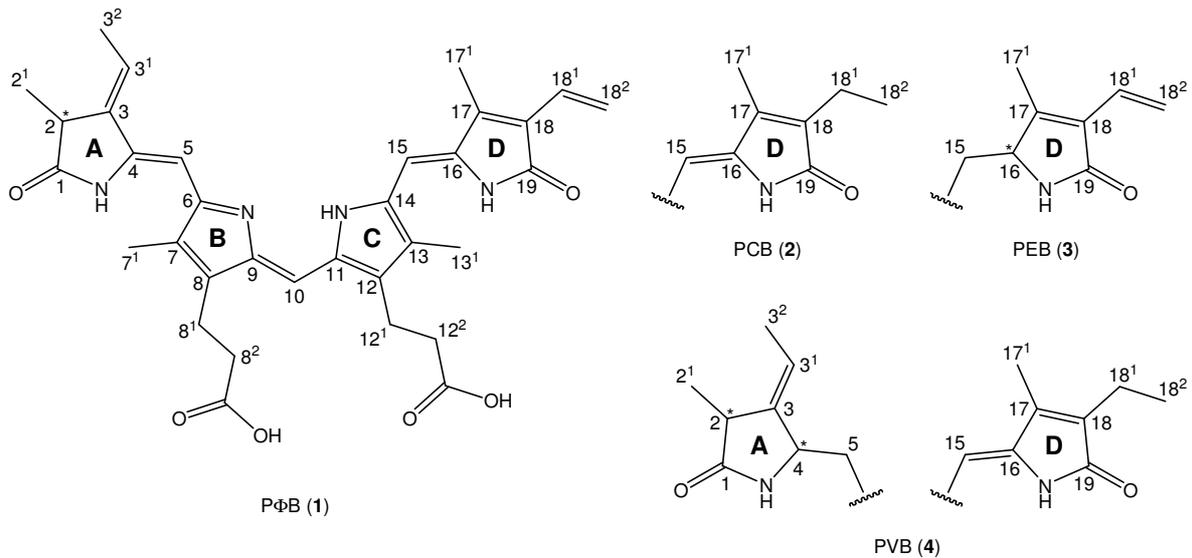
Entwicklung und Verhalten photosynthetischer Organismen werden in vielfältiger Weise durch das Licht beeinflusst, das ihnen als Energiequelle und Informationsmedium dient. Dabei kommt der effizienten Umwandlung von Licht in chemische Energie besondere Bedeutung zu. Aus diesem Grund verfügen standortfeste Pflanzen wie auch photosynthetische Algen und Bakterien neben den Photosystemen zur Energieproduktion über Photorezeptoren, mit deren Hilfe sie die Intensität, Qualität und Richtung des sie umgebenden Lichts bewerten können. Diese Informationen erlauben eine sowohl vom Spektralbereich als auch von der Absorption des jeweiligen Photorezeptors abhängige Steuerung der unter dem Begriff Photomorphogenese zusammengefassten Prozesse. Als Beispiele seien an dieser Stelle die Samenkeimung, das Längenwachstum, das Ergrünen sowie die Blütenbildung genannt (Abb. 1).<sup>1</sup>



**Abb. 1:** Photomorphosen am Beispiel des Hafers, *Avena sativa*, (A) und der Erbse, *Pisum*, (B). Die unter Lichtausschluss zum Keimen gebrachte Pflanze ist jeweils links abgebildet, die durch Lichtinduktion ausdifferenzierte, grünende Pflanze rechts.<sup>2</sup>

Die biochemische Grundlage der Lichtwahrnehmung bilden die Phytochrome, bei denen es sich um Chromoproteine der Molmasse 118–127 kDa handelt.<sup>3,4</sup> Sie bestehen aus einem Polypeptid, welches einen niedermolekularen, lichtabsorbierenden Liganden, den sogenannten Chromophor, kovalent gebunden in einer dafür vorgesehenen Proteintasche trägt.<sup>4</sup> Bei diesen Chromophoren handelt es sich um Tetrapyrrole, die im Gegensatz zu den Chlorophyllmolekülen der photosynthetischen Reaktionszentren in offenkettiger, gestreckter Konformation vorliegen.<sup>5</sup> Durch sie erfolgt die Absorption von Licht definierter Wellenlängenbereiche, die im Chromophor-Protein-Komplex eine entsprechende, spezifische photochemische Reaktion auslöst.

Die Phytochrome aller bislang untersuchten Pflanzen, Farne und Moose sowie einiger Algen enthalten als prosthetische Gruppe das offenkettige Tetrapyrrol Phytochromobilin, PΦB, (1) (Abb. 2).<sup>4</sup> Die photoinduzierte *Z/E*-Isomerisierung seiner terminalen Methinbrücke C-15 initiiert einen Wechsel der Konformation des Proteins zwischen zwei stabilen Zuständen, von denen einer physiologisch inaktiv ist, während der andere physiologische Aktivität zeigt und die Signaltransduktion bewirkt.



**Abb. 2:** Kekulé-Formel des Chromophors Phytochromobilin, PΦB, (1) in der *Z,Z,Z*-Konfiguration und *anti,syn,anti*-Konformation, sowie des Phycocyanobilins, PCB, (2), Phycoerythrobilins, PEB, (3) und Phycoviolobilins, PVB (4).

Mit dem PΦB (1) strukturell eng verwandte tetrapyrrolische Chromophore dienen als Lichtsammelpigmente der Phycobilisomen, bei denen es sich um die außerordentlich wirksamen Antennenkomplexe der Cyanobakterien und Rotalgen handelt.<sup>6</sup> An die Phycobilisomen Phycocyanin und Phycoerythrin sind zwei Chromophore unterschiedlicher Absorptionsmaxima, das blaue Phycocyanobilin, PCB, (2) und das rote Phycoerythrobilin, PEB, (3) (Abb. 2) als prosthetische Gruppen kovalent gebunden.<sup>7,8</sup> Die konformelle Fixierung der Chromophore in der Proteintasche durch zusätzlich auftretende, nichtkovalente Wechselwirkungen verhindert die Photoisomerisierung und dient damit der Anpassung der Phycobiliproteine an ihre Funktion als Lichtsammelpigmente.<sup>9</sup> Sie ermöglichen es den Algen, grünes und gelbes Licht (470–650 nm) zu absorbieren und die Anregungsenergie mit einer Quantenausbeute von bis zu 100 % durch strahlungslose Prozesse an die membrangebundenen Chlorophylle der Reaktionszentren des Photosystems zu übertragen.<sup>6,7,10</sup> Damit nutzen die Algen einen Spektralbereich des Lichts, in dem die Antennenpigmente grüner Pflanzen, Chlorophyll *a* und *b*, nur geringe Absorption zeigen. Auf diese Weise besetzen sie ökologische Nischen – z. B. in tieferen Gewässern und unter dem Schirm grüner Pflanzen –, in denen ausschließlich auf Chlorophyll angewiesene Organismen nicht überleben können.<sup>6,10</sup>

Das Protein Phycoerythrocyanin zeigt im Gegensatz zu den bereits beschriebenen Phycobiliproteinen eine reversible Photochemie, welche durch den kovalent gebundenen, tetrapyrrolischen Chromophor Phycoviolobilin, PVB, (4) (Abb. 2) hervorgerufen wird.<sup>11</sup> Obwohl die Strukturen beider Proteine deutliche Unterschiede zueinander aufweisen, erfolgt dabei wie beim PΦB (1) des Phytochroms die lichtinduzierte *Z/E*-Isomerisierung der terminalen Methinbrücke des PVBs (4). Bislang ist allerdings unbekannt, ob durch die Photoisomerisierung des Phycoerythrocyanins eine ähnliche physiologische Reaktionskette ausgelöst wird wie durch die Photoisomerisierung des Phytochroms. Vermutlich erfüllen die Phycobiliproteine neben ihrer Funktion als Lichtsammelpigmente eine weitere physiologische Aufgabe.

## 1.1 Biologie offenkettiger Tetrapyrrole

### 1.1.1 Vorkommen und biologische Bedeutung<sup>5</sup>

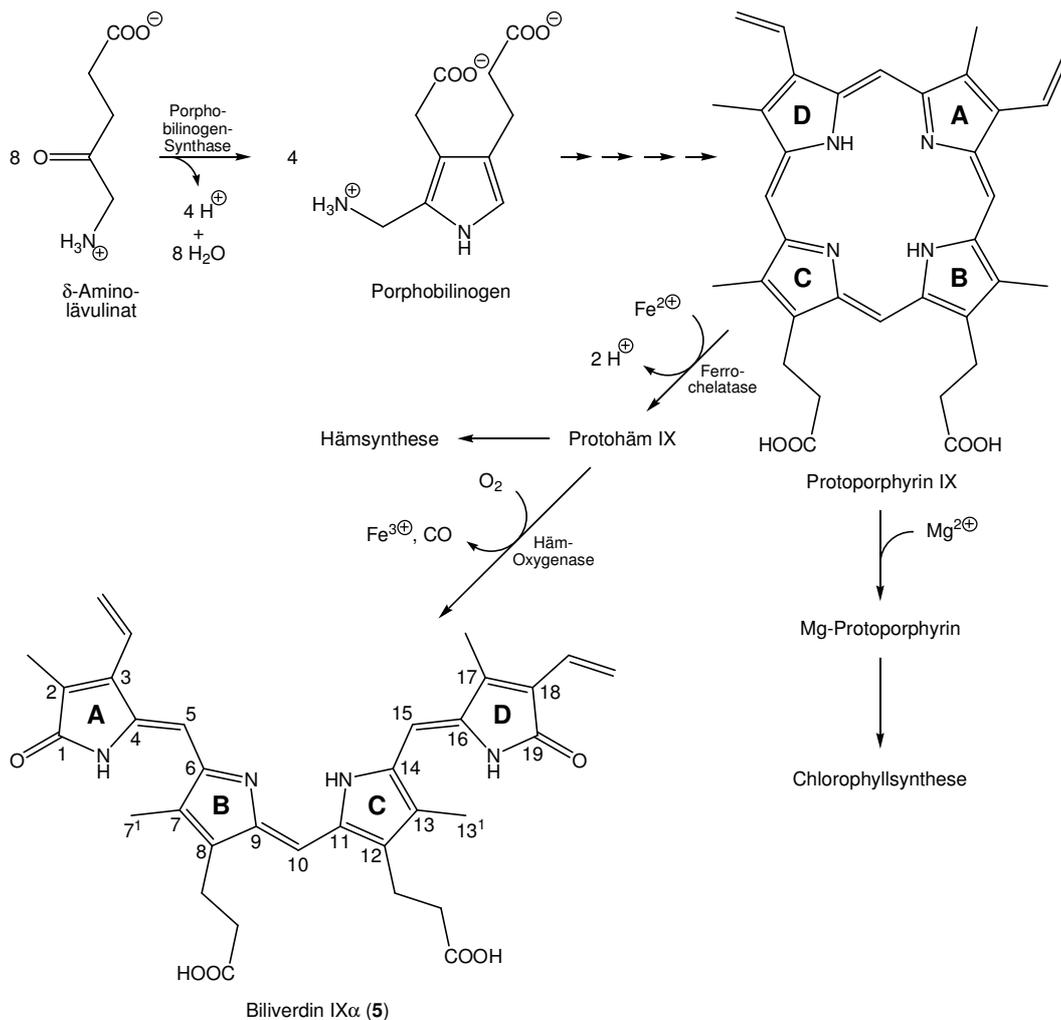
Offenkettige Tetrapyrrole dienen in der Natur cyclischen Tetrapyrrolsystemen, wie z. B. den Porphyrinen, Chlorinen, Bacteriochlorinen und Corrinen, deren Derivate von elementarer biochemischer Bedeutung sind, als biosynthetische Vorstufen. Während zur Gruppe der Porphyrine die Häm-Derivate des tierischen Körpers, Hämoglobin und Myoglobin, die Enzyme Peroxidase, Katalase sowie die Oxygenasen und Cytochrom *c* zählen, gehören die pflanzlichen Chlorophylle der Gruppe der Chlorine, die Bacteriochlorophylle der Gruppe der Bacteriochlorine und das Coenzym B<sub>12</sub> sowie das Cyanocobalamin (Vitamin B<sub>12</sub>) der Gruppe der Corrine an. Diese cyclischen Verbindungen werden oxidativ zu linearen Tetrapyrrolen, v. a. zu Bilinen, katabolisiert. So erfolgt in einer Vielzahl tierischer Organismen, wie z. B. den Vertebraten, durch das Enzym Biliverdin-Reduktase und NADPH die vollständige Reduktion des durch Oxidation des Häms gebildeten Biliverdins IX<sub>α</sub>, BV, (5) zu Bilirubin, das über die Galle ausgeschieden wird. Während sich hierdurch die Wirbeltiere pyrrolischer Abfallprodukte entledigen, dienen die Biline einigen Organismen, wie z. B. Korallen, als Farbstoffe, welche in die Skelettstruktur oder in das Gewebe eingelagert werden.

Im Gegensatz dazu fungiert das katabolisierte BV (5) in Pflanzen als Vorstufe der prosthetischen Gruppen der Chromoproteine, welche photosensorische bzw. energieübertragende Aufgaben erfüllen. Wie bereits erwähnt, dient der ubiquitäre Photorezeptor Phytochrom der Morphogenese der Pflanze, während die Biliproteine Phycocyanin und Phycoerythrin als Lichtsammelkomplexe fungieren.

Durch Demetallierung erfolgt der Abbau des Chlorophylls zu Chlorinen, deren Makrocyclus im Verlauf zweier enzymkatalysierter Reaktionen oxidativ gespalten und reduziert wird.<sup>12</sup> In der Folge unterliegt das gelb gefärbte, fluoreszierende Reaktionsprodukt im Inneren der Vakuolen pflanzlicher Zellen einer säurekatalysierten stereoselektiven Isomerisierung zu einem nichtfluoreszierenden Stoffwechselprodukt tetrapyrrolischer Struktur.

### 1.1.2 Biosynthese der Chromophore

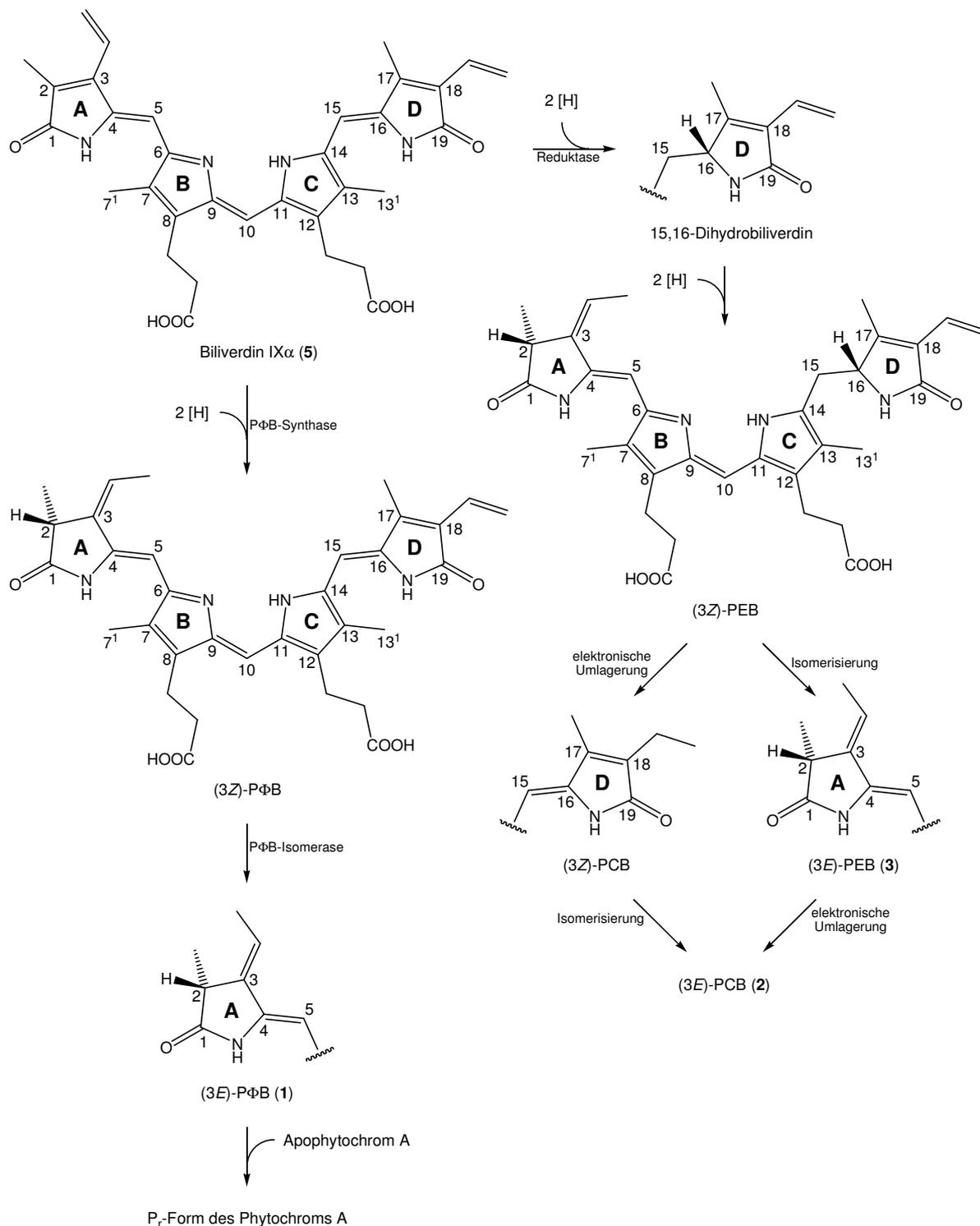
Der erste Schritt der Porphyrinbiosynthese in Säugern besteht in der durch die  $\delta$ -Aminolävulinat-Synthase katalysierten, unter Decarboxylierung verlaufenden Kondensation der Aminosäure Glycin mit Succinyl-CoA zu  $\delta$ -Aminolävulinat,<sup>5,13</sup> während diese Verbindung in den meisten Pflanzen innerhalb mehrerer enzymkatalysierter Reaktionsschritte aus Glutamat gebildet wird.<sup>14</sup>



**Abb. 3:** Biosynthese des Protoporphyrins IX sowie des Biliverdins IXα, BV, (5).<sup>14-16</sup>

Durch die Porphobilinogen-Synthase werden zwei Moleküle des  $\delta$ -Aminolävulinats zu Porphobilinogen kondensiert, bei dem es sich um ein Pyrrolderivat handelt, welches als monomerer Grundbaustein der Tetrapyrrole fungiert (Abb. 3). In einer durch die Porphobilinogen-Desaminase katalysierten Reaktion werden vier Porphobilinogen-Monomere zu einem linearen Tetrapyrrol kondensiert, aus dem innerhalb von drei aufeinander folgenden, enzymatisch verlaufenden Reaktionen das Protoporphyrin IX synthetisiert wird.<sup>13,14</sup> Diese Verbindung dient allen bekannten natürlichen, sowohl offenkettigen als auch cyclischen Tetrapyrrolen als biosynthetische Vorstufe. Innerhalb sich daran an-

schließender Reaktionsschritte erfolgt die vom jeweiligen Organismus abhängige Spezifizierung zu den entsprechenden Zielverbindungen.



**Abb. 4:** Biosynthese des PΦBs (1) und des Phytochroms A (PhyA)<sup>15,17</sup> sowie reduktive Umwandlung des BVs (5) zu den Phycobilinen PCB (2) und PEB (3).<sup>8,18</sup>

Im Verlauf einer durch Ferrochelatase katalysierten Reaktion entsteht unter Einlagerung von Eisen(II) in das Protoporphyrin IX Protohäm IX (Abb. 3). Die anschließende Bildung des BVs (5) durch Häm-Oxygenase ließ sich bislang nur indirekt dadurch nachweisen, dass isolierte Plastiden Protohäm IX, nicht aber die Chlorophyllvorstufe Mg-Protoporphyrin, strikt sauerstoffabhängig in diese Verbindung (5) überführen.<sup>8</sup> In einigen Algenspezies besitzt die Häm-Oxygenase eine wichtige Funktion im Verlauf der PCB-Synthese. Verglichen damit ist die Produktion von BV (5) in höheren Pflanzen insofern von scheinbar untergeordneter Bedeutung, als wesentlich geringere Mengen dieser gemeinsamen Zwischenstufe zur Bildung des PΦBs (1) und Phytochroms benötigt werden. Die dementsprechend geringere Aktivität der Häm-Oxygenase in Plastiden ist vermutlich der Grund für die bislang erfolglose Suche nach diesem Enzym in Pflanzenextrakten.<sup>8</sup>

In Algen führt die enzymatische Reduktion des BVs (5) zur Bildung des 15,16-Dihydrobiliverdins, bei dem es sich um die unmittelbare Vorstufe des PCBs (2) und PEBs (3) handelt (Abb. 4).<sup>15,18</sup> Im Gegensatz dazu katalysiert in höheren Pflanzen die sogenannte PΦB-Synthase sowohl die Reduktion des A-Rings<sup>17</sup> – und damit die Umsetzung des BVs (5) zu 2,3-Dihydrobiliverdin – als auch die Isomerisierung der exocyclischen Doppelbindung zur Ethylidengruppe. Bei dem primär gebildeten Produkt handelt es sich um (3Z)-PΦB, welches durch das Enzym PΦB-Isomerase in die thermodynamisch stabilere, dem natürlichen Chromophor entsprechende Form (3E)-PΦB (1) überführt wird.<sup>8</sup>

Mittels *in vivo* Experimenten lässt sich die Unabhängigkeit der Bildung des PΦBs (1) von der Apophytochrom-Synthese belegen. Hierzu erfolgt in Haferkeimlingen (*Avena sativa*) durch Gabaculin die weitgehende Inhibierung der Darstellung spektroskopisch aktiven Phytochroms, während die Menge an gebildetem Apophytochrom A nahezu unbeeinflusst bleibt.<sup>19</sup> Die anschließende Zugabe von  $\delta$ -Aminolävulinsäure bzw. BV (5) bewirkt eine deutliche Zunahme des spektroskopisch aktiven Phytochroms, während die Menge des Apophytochroms A unverändert bleibt. Des Weiteren verursachen Inkubationsexperimente sowohl mit <sup>14</sup>C-markierter  $\delta$ -Aminolävulinsäure als auch <sup>14</sup>C-markiertem BV (5) ausschließlich eine von der Inkubationszeit abhängige Zunahme der Radioaktivität des 124-kDa-Volllängen-Phytochroms.<sup>19,20</sup> Hierdurch erfolgt der Nachweis, dass es sich bei  $\delta$ -Aminolävulinsäure bzw. BV (5) um biosynthetische Vorstufen des PΦBs (1) handelt, während die Bildung des Apophytochroms A einem davon unabhängigen Mechanismus folgt (Abb. 4).

## 1.2 Das pflanzliche Photorezeptorsystem Phytochrom

### 1.2.1 Eigenschaften des Proteins

Bei dem Protein Phytochrom handelt es sich gegenwärtig um das besterforschte pflanzliche Photorezeptorsystem, welches es Pflanzen ermöglicht, Anwesenheit, Richtung, Intensität sowie die spektrale Qualität des Lichts zu detektieren und sich somit an die gegebenen Umweltbedingungen anzupassen. Dabei besitzt es keine Funktion innerhalb der Photosynthese, sondern fungiert ausschließlich als lichtinduzierter molekularer Schalter, der die unter dem Begriff Photomorphogenese zusammenfassbaren Prozesse steuert.<sup>1</sup> Hierzu zählen u. a. die Auslösung der Samenkeimung sowie des Flächenwachstums der Keimblätter, die Inhibierung des Hypokotylwachstums, die Kontrolle des Längenwachstums sowie der Bildung von Blüten, Früchten und bestimmten Pflanzenhormonen. Weitere essentielle durch Phytochrom gesteuerte Vorgänge sind die Regulation der Chloroplastenbildung und die Biosynthese Chlorophyll-bindender Proteine, nachdem der Keimling die Erdoberfläche durchstoßen hat und zum ersten Mal dem Licht ausgesetzt ist.<sup>2</sup>

Neben ihrem ubiquitären Vorkommen in höheren Pflanzen, wie z. B. Hafer (*Avena sativa*),<sup>21</sup> Reis (*Oryza sativa*), Erbse (*Pisum*),<sup>22,23</sup> Kartoffel (*Solanum tuberosum*)<sup>24</sup> und Tabak (*Nicotiana tabacum*), lassen sich die Phytochrome in verschiedenen Moosen, Farnen und Algen nachweisen.<sup>25-27</sup> Des Weiteren finden sie sich in einer Vielzahl von Cyanobakterien, so z. B. in *Synechocystis*<sup>28</sup> und *Calothrix*,<sup>29</sup> bei denen es sich um die bestuntersuchten Vertreter dieser Art handelt.

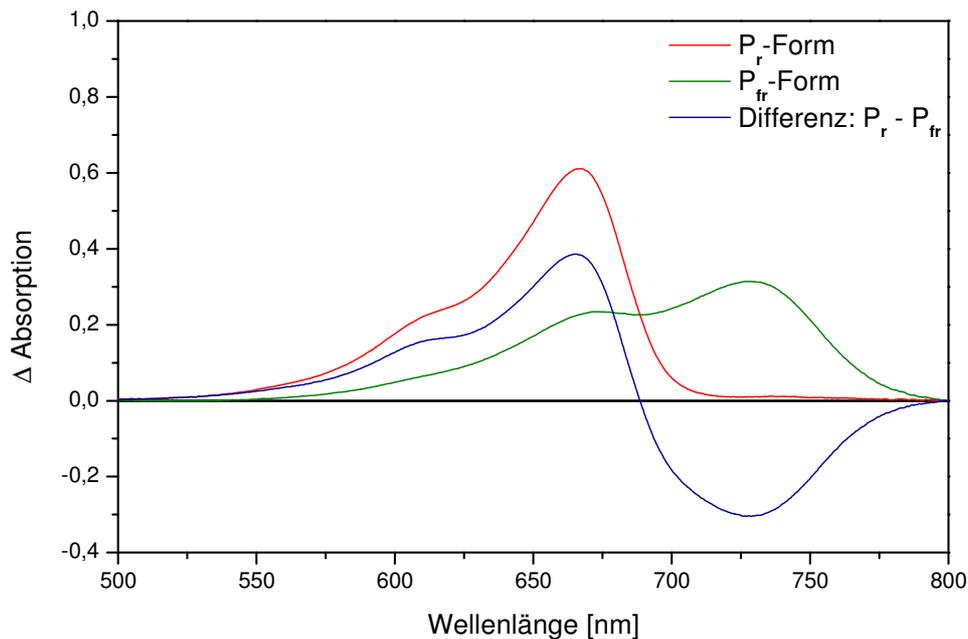
Phytochrom	7 d Dunkelheit	24 h Rotlicht nach 7 d Dunkelheit	7 d Weißlicht
A	85 %	10 %	4 %
B	10 %	43 %	40 %
C	2 %	11 %	13 %
D	1.5 %	19 %	16 %
E	1.5 %	17 %	27 %

**Tab. 1:** Einfluss der Belichtungsbedingungen auf die relative Häufigkeit der in Keimlingen der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) vorliegenden Phytochrome nach Sharrock, Mathews et al.<sup>4</sup>

In einer einzelnen Pflanzenart existieren Phytochrome differierender Proteinsequenzen nebeneinander, die verschiedene physiologische Aufgaben erfüllen. So treten in der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) fünf als PhyA bis PhyE bezeichnete Phytochrome auf,<sup>30</sup> deren Mengenverhältnisse von der spektralen Qualität und Intensität des Lichts sowie der Exhibitionszeit der Pflanze abhängen (Tab. 1). Während in etiolierten (unter Lichtausschluss gekeimten) Pflanzen das PhyA die Hauptmenge des Phytochroms repräsentiert, sind die Phytochrome B–E in deutlich geringeren Anteilen vorhanden. Die Ab-

sorption von Licht bewirkt einen nahezu vollständigen Abbau des PhyA sowie der entsprechenden mRNA, während die verbleibenden lichtstabilen Phytochrome B–E die weitere Entwicklung der grünenden Pflanze steuern.<sup>4</sup> Trotz seines nur 0.04 ppm betragenden Anteils am Frischgewicht der Pflanzen, lässt sich einzig das PhyA in größeren Mengen aus etiolierten Keimlingen isolieren. Aus diesem Grund ist es das bezüglich Struktur, Funktion und Photophysik bestuntersuchte Phytochrom.

Beim Photorezeptor Phytochrom handelt es sich um ein Chromoprotein, dessen kovalent gebundener Chromophor sichtbares Licht absorbiert. Als photochromes System liegt es in zwei thermisch stabilen, photochemisch reversibel ineinander überführbaren Zuständen vor, welche sich durch ihre spektralen Eigenschaften unterscheiden.<sup>1</sup> Der Ruhezustand mit einem Absorptionsmaximum  $\lambda_{\max}$  bei 665 nm wird als  $P_r$ -Form (red absorbing) bezeichnet, während die  $P_{fr}$ -Form (far red absorbing) mit einem Absorptionsmaximum  $\lambda_{\max}$  bei 730 nm die physiologisch aktive Form darstellt, die die Signaltransduktion einleitet (Abb. 5).<sup>31</sup> Da sich die Absorptionsspektren beider Zustände überschneiden, lässt sich das Phytochrom quantitativ in die  $P_r$ -Form, nicht aber in die  $P_{fr}$ -Form überführen.

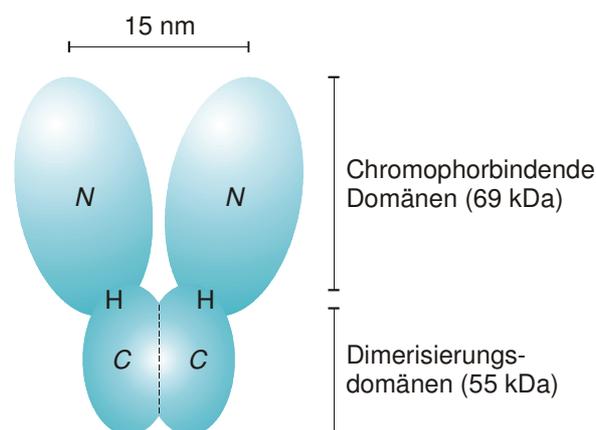


**Abb. 5:** Ausschnitt der Spektren der  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Form von PhyA aus *Avena sativa* sowie des Differenzspektrums beider Zustände.<sup>32</sup>

Grüne Pflanzen sind in der Lage, mittels differenzierter physiologischer Prozesse definiert auf Änderungen der spektralen Zusammensetzung des Lichts, dem sie ausgesetzt sind, zu reagieren, denn diese bewirken charakteristische Verschiebungen des Gleichgewichts zwischen der  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Form des Phytochroms. Sowohl im Tagesverlauf als auch im Verlauf eines Jahres ändert sich der Einstrahlwinkel und damit der Spektralbereich des auf die Erdoberfläche treffenden Sonnenlichts, woraus die circadianen Rhythmen der

Pflanzen resultieren. So liegt bei Tageslicht aufgrund des hohen Anteils hellroter Strahlung die  $P_{fr}$ -Form des Phytochroms im Überschuss vor, während in der Dämmerung ein Überschuss der  $P_r$ -Form die physiologische Aktivität der Pflanzen reduziert. Im Gegensatz dazu bewirkt die durch den Schatten umgebender Pflanzen verursachte Abnahme des hellroten Lichtanteils eine Verschiebung des Gleichgewichts zugunsten der  $P_r$ -Form und damit ein verstärktes Längenwachstum der Pflanze.<sup>33</sup> Des Weiteren fungiert Phytochrom als molekularer Schalter, indem der Ruhezustand  $P_r$  durch Lichtabsorption in die physiologisch aktive  $P_{fr}$ -Form übergeht, welche in der Folge einen biochemischen Prozess auslöst, wie z. B. die Induktion der Chlorophyllsynthese in einem erstmals die Erdoberfläche durchbrechenden Keimling.

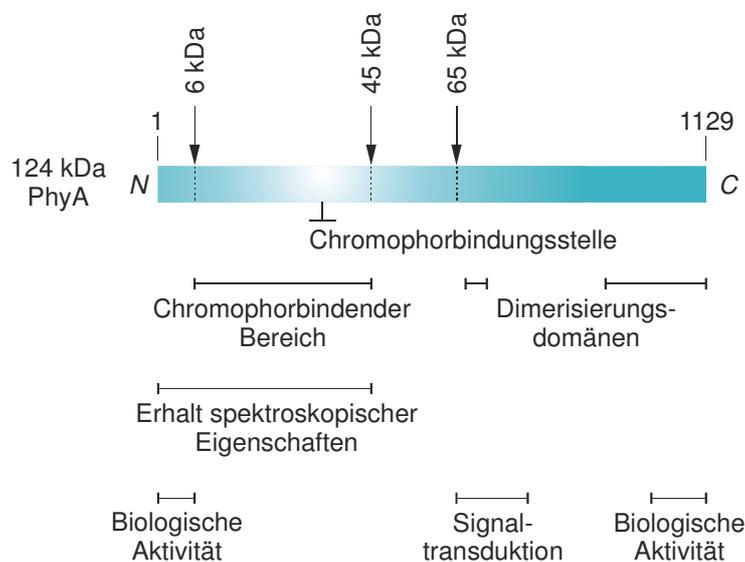
In der Regel beträgt die sowohl vom Phytochromtyp als auch vom Organismus abhängige molare Masse des Photorezeptors 118–127 kDa.<sup>4</sup> Die aus Nucleotid-Sequenzanalysen klonierter cDNA abgeleitete, aus 1129 Aminosäuren bestehende Primärstruktur des PhyA aus *Avena sativa* bestätigt die – durch Isolierung des vollständigen Proteins aus etiolierten Keimlingen bestimmte – Masse von 124 kDa.<sup>21,34</sup>



**Abb. 6:** Schematische Darstellung eines dimerisierten Phytochrom-Moleküls aus *Avena sativa* basierend auf elektronenmikroskopischen Daten nach Jones und Erickson.<sup>35</sup> Die Buchstaben bezeichnen die Lage der N-terminalen (N) und C-terminalen (C) Domäne sowie der Hinge-Region (H).

Bei nativem Phytochrom handelt es sich um ein Homodimer,<sup>36</sup> wobei die sowohl durch elektronenmikroskopische Daten<sup>35</sup> als auch durch Kleinwinkel-Röntgenbeugung<sup>22</sup> nachgewiesene Quartärstruktur des Proteins eine „Y“-ähnliche Form einnimmt (Abb. 6). Jedes Monomer besteht formal aus zwei Domänen. Während die 69 kDa schwere N-terminale Domäne globulärer Gestalt die ungefähr 300 Aminosäuren umfassende Bindungsstelle des Chromophors PΦBs (**1**) einschließt,<sup>4</sup> trägt die 55 kDa schwere C-terminale Domäne gestreckter Form die für die Homodimerisierung und Signaltransduktion notwendigen Aminosäuresequenzen.<sup>37</sup> Beide Domänen sind u. a. an einer als Hinge-Region bezeichneten Stelle des Proteins enzymatisch durch Endopeptidasen spaltbar.

Während die Tertiärstruktur der chromophorbindenden Region des Bakteriums *Deinococcus radiodurans* kristallographisch aufgeklärt ist (Abb. 9),<sup>38</sup> existiert bislang keine Kristallstruktur dieses Sequenzabschnitts von Phytochromen höherer Pflanzen. Ihnen dient der bakterielle Photorezeptor nur eingeschränkt als Modellverbindung, da dieser anstelle des Chromophors PΦB (2) BV (5) enthält. Seine kovalente Bindung zum Protein erfolgt über Cys<sub>24</sub>, dessen Position innerhalb der Sequenz, im Vergleich zum chromophorbindenden Cys<sub>321</sub> des Phytochroms aus *Avena sativa*, deutlich N-terminal verschoben ist. Diese Gründe belegen die noch immer bestehende Notwendigkeit sowie das anhaltende Interesse an der Aufklärung der Röntgenstruktur von Phytochromen höherer Pflanzen.



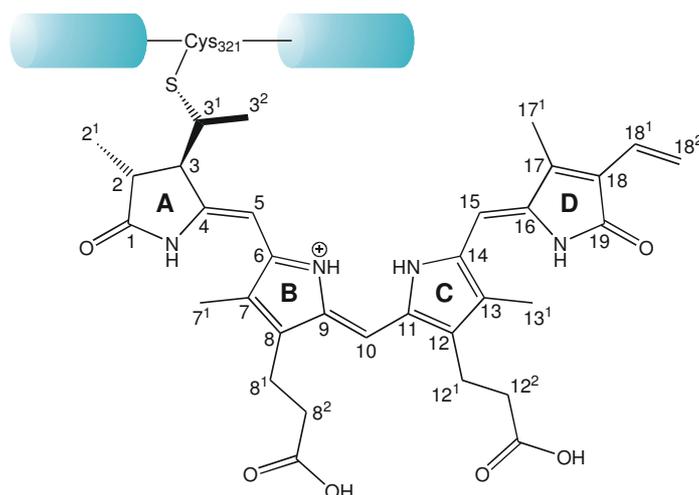
**Abb. 7:** Schematische Darstellung der Domänen des 124-kDa-PhyA aus *Avena sativa*.

Die heterologe Expression von Phytochromen in transgenen Organismen ermöglicht sowohl die Erzeugung von Phytochromfragmenten unterschiedlicher Größe als auch die gezielte Modifikation der Proteinsequenz durch Deletionen bzw. Punktmutationen. Auf diese Weise gebildete Apoproteine binden den Chromophor autokatalytisch *in vitro* ohne weitere Unterstützung durch Lyasen.<sup>39,40</sup> Die so dargestellten, als rekombinante Phytochrome bezeichneten Holoproteine ermöglichen die funktionelle Analyse exakt definierter Domänen des Proteins (Abb. 7). Während die Aminosäuren 69–425 essentielle Bedeutung für die Fähigkeit zur Assemblierung des Chromophors besitzen,<sup>41–43</sup> garantieren die Aminosäuren 13–69 den Erhalt der spektralen Unversehrtheit und der physiologischen Aktivität des Phytochroms.<sup>44</sup> Dieser N-terminale Bereich der Masse 6 kDa unterliegt starken Konformationsänderungen beim Übergang des Proteins von der P<sub>r</sub>- in die P<sub>fr</sub>-Form, welche sich unter anderem in der Änderung des Abstands zwischen Peptid und Chromophor sowie der Sekundärstruktur äußern. Er stabilisiert die P<sub>fr</sub>-Form bei der lichtunabhängigen, durch Deletion der Aminosäuren 7–69 beschleunigten Rückreaktion zur P<sub>r</sub>-Form.<sup>44</sup> Während Deletionsmutanten der Aminosäuren 7–22 und 1113–1129 die bio-

logische Aktivität des Proteins vermindern, beeinträchtigen Mutationen im Bereich der Aminosäuren 623–673 sowie 1049–1129 seine Fähigkeit zur Dimerisierung.<sup>45</sup>

### 1.2.2 Der native Chromophor Phytochromobilin

Bei der prosthetischen Gruppe des Phytochroms handelt es sich um ein offenkettiges, hochsubstituiertes Tetrapyrrolderivat gestreckter Konformation,<sup>46</sup> das PΦB (**1**), welches dem Protein die Absorption von Licht sichtbarer Wellenlänge ermöglicht. Die Ausbildung einer Thioetherbrücke zwischen der Ethylidengruppe des freien Chromophors (**1**) und einem Cysteinrest des Proteins (Cys<sub>321</sub> im Falle des PhyA aus *Avena sativa*) bewirkt die kovalente Bindung beider Komponenten des Chromoproteins Phytochrom (Abb. 8).<sup>5</sup> Dabei vollzieht sich die Bildung des photoaktiven Holo Proteins, wie bereits erwähnt, autokatalytisch<sup>40</sup> durch die aktivierende Wirkung des als Bilin-(C-S)-Lyase fungierenden Apophytochroms<sup>39</sup> und unter Beteiligung von Aminosäuren im Bereich der Verknüpfungsstelle.<sup>3</sup>

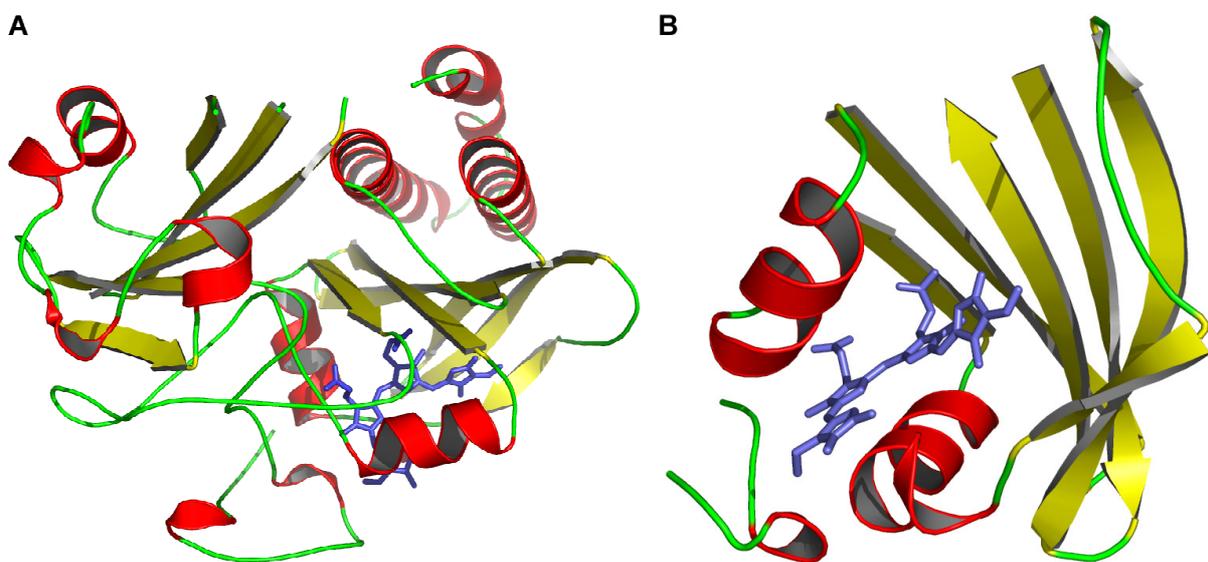


**Abb. 8:** PΦB (**1**) in der P<sub>r</sub>-Form mit Z,Z,Z-Konfiguration und *anti,syn,anti*-Konformation. Über eine Thioether-Brücke erfolgt die Verknüpfung des Chromophors mit dem Protein.

In ihrer proteingebundenen Form verfügen sowohl PΦB (**1**) als auch PCB (**2**) und PEB (**3**) über drei benachbarte chirale Zentren, welche die absolute Konfiguration 2*R*,3*R*,3'*R* aufweisen.<sup>47</sup> Während isolierte Biline bevorzugt eine helicale Struktur einnehmen,<sup>48</sup> liegen die mit dem Phytochrom bzw. den Phycobilisomen assemblierten Chromophore (**1**)–(**3**) in gestreckter Konformation vor. So weisen die drei verbrückenden Methingruppen des PΦBs (**1**) in der physiologisch inaktiven P<sub>r</sub>-Form Z,Z,Z-Konfiguration bezüglich ihrer Doppelbindungen und *anti,syn,anti*-Konformation bezüglich der benachbarten Einfachbindungen auf (Abb. 8).<sup>47,49</sup>

Die Kristallstrukturanalysen des aus den Phycobilisomen der Cyanobakterien *Mastigocladus laminosus* und *Agmenellum quadruplicatum* gewonnenen Protein-Pigment-Komplexes C-Phycocyanin belegen, dass die Chromophore PCB (**2**) und PEB (**3**) ebenfalls in

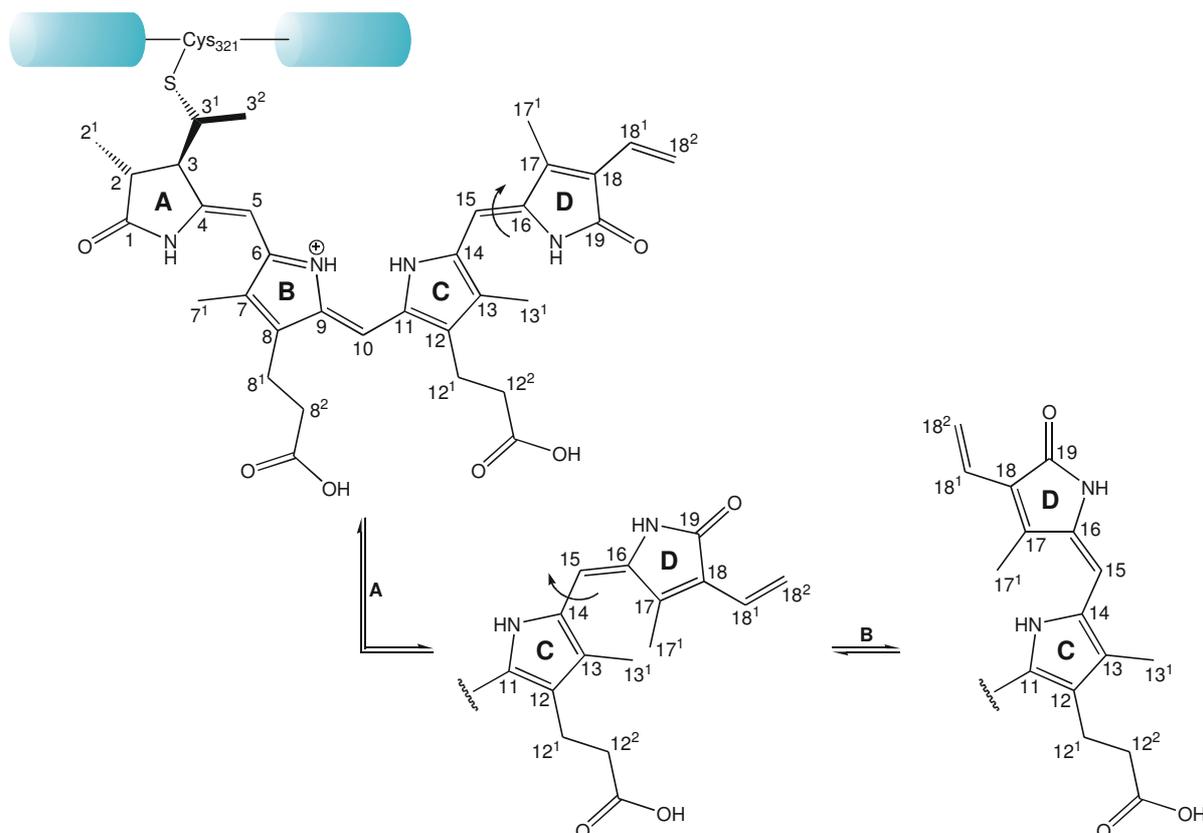
dieser Konfiguration bzw. Konformation vorliegen.<sup>9,50</sup> Ihre Fixierung erfolgt durch zusätzlich auftretende, nichtkovalente Wechselwirkungen mit der Proteinumgebung. Auf diese Weise wird die Photoisomerisierung des D-Rings der Phycobiliproteine unterbunden. Dagegen verdeutlicht die Kristallstruktur der chromophorbindenden Domäne des Phytochroms aus *Deinococcus radiodurans* (Abb. 9) die Fixierung des A-, B- und C-Rings des bezüglich seiner Methinbrücken in *Z,Z,Z*-Konfiguration und *syn,syn,anti*-Konformation vorliegenden Chromophors BV (5) durch umgebende Aminosäuren unter Erhalt der konformellen Flexibilität des D-Rings.<sup>38</sup> Erst hierdurch ist er zur Photoisomerisierung einer speziellen Doppelbindung befähigt, die durch Absorption im roten Spektralbereich initiiert wird.



**Abb. 9:** Während die Kristallstruktur (A) die aus 321 Aminosäuren bestehende chromophorbindende Domäne des Photorezeptors Phytochrom aus *Deinococcus radiodurans* (Protein-Data-Bank-Identifikationsnummer 1ZTU) zeigt, ist im vergrößerten Ausschnitt (B) die Tasche des Proteins abgebildet, welche den kovalent gebundenen Chromophor BV (5) (blau) im  $P_r$ -Zustand enthält.

Bei der mit einer Quantenausbeute von etwa 17 % innerhalb weniger Pikosekunden verlaufenden<sup>2</sup> lichtinduzierten Primärreaktion des in der physiologisch inaktiven  $P_r$ -Form vorliegenden Phytochroms handelt es sich um die *Z/E*-Isomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung des Chromophors PΦB (1) (Abb. 10, Schritt A).<sup>51</sup> Erheblichen sterischen Behinderungen im Inneren des Proteins, welche eine formale Drehung des terminalen Pyrrolrings um 180 ° hervorriefe, weicht das PΦB (1) durch eine simultan erfolgende Konformationsänderung der C(14)-C(15)-Einfachbindung aus (Abb. 10, Schritt B). Gleichzeitig erfolgt eine geringfügige Torsion um die C(9)-C(10)-Einfachbindung der zentralen, den B- und C-Ring miteinander verbindenden Methinbrücke.<sup>52,53</sup> Unter Erhalt der Isomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung bewirken diese Prozesse eine mit geringeren sterischen Konflikten einhergehende Verschiebung des Rings D innerhalb der Proteintasche.<sup>1,2</sup> In deren Folge weist der Chromophor PΦB (1) bezüglich seiner Methinbrücken

$Z,Z,E$ -Konfiguration und *anti,syn,syn*-Konformation auf und induziert auf diese Weise die Isomerisierung des Chromoproteins in die  $P_{fr}$ -Form.



**Abb. 10:** Schematische Darstellung der lichtinduzierten  $Z,Z,Z/Z,Z,E$ -Isomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung (A) und der *anti,syn,anti/anti,syn,syn*-Rotation um die C(14)-C(15)-Einfachbindung (B) des PΦBs (**1**).

Gegenwärtig wird ein zur Konformationsänderung der C(14)-C(15)-Einfachbindung des PΦBs (**1**) alternativ verlaufender Prozess im Bereich der Ringe A und B diskutiert. Ein Vergleich experimentell ermittelter und berechneter Resonanz-Raman-Spektren deutet darauf hin, dass nach der  $Z,Z,Z/Z,Z,E$ -Photoisomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung thermische Relaxationsschritte – einschließlich einer Rotation um die Einfachbindung der den A- mit dem B-Ring verbrückenden Methingruppe – erfolgen.<sup>54</sup> Hierdurch liegt der Chromophor (**1**) in  $Z,Z,E$ -Konfiguration und *syn,syn,anti*-Konformation vor.

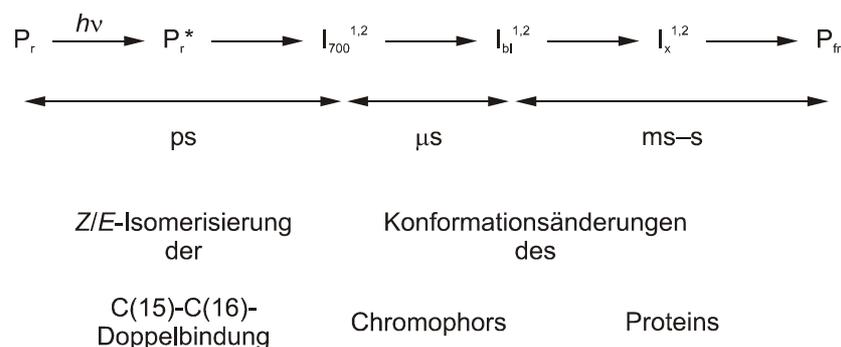
Verursacht wird die mit der Photokonversion des  $P_r$ -Zustands in den  $P_{fr}$ -Zustand einhergehende bathochrome Verschiebung des langwelligeren Absorptionsmaximums des PhyA (Abb. 5) durch ionische Wechselwirkungen zwischen dem kovalent gebundenen Chromophor PΦB (**1**) und der Proteinumgebung. Im Verlauf der Assemblierungsreaktion von PΦB (**1**) und dem Apoprotein erfolgt die thermodynamisch kontrollierte Protonierung des Stickstoffatoms des B-Rings durch einen Asparaginsäurerest der Proteinsequenz ohne Änderung der absoluten Konfiguration des Chromophors.<sup>55</sup> Spektroskopische Untersuchungen deuten darauf hin, dass dieser kationische  $15Z$ - $P_r$ -Zustand während der

Photokonversion im Verlauf dreier Zwischenschritte – zweier Protonentransfers vom Chromophor zum Protein und einem, auf Dipyrrintautomerie beruhenden, intramolekularen Protonentransfer zwischen den Stickstoffatomen des B- und C-Rings – in einen anionischen  $15E\text{-P}_{fr}$ -Zustand übergeht.<sup>56</sup> Dieser verfügt über eine am Sauerstoffatom des Rings A lokalisierte negative Ladung, welche das konjugierte  $\pi$ -System verlängert und dadurch, neben der Donor-Akzeptor-Umkehr beim Übergang des Rings A vom Lactam ( $\text{N}\rightarrow\text{C}=\text{O}$ ) zum Lactim-Anion ( $\text{N}=\text{C}\leftarrow\text{O}^-$ ), die charakteristische Rotverschiebung des langwelligeren Absorptionsmaximums verursacht.

Berechnungen der Struktur des Chromophors  $\text{P}\Phi\text{B}$  (**1**), welche die Wechselwirkungen mit der Proteinumgebung allerdings vernachlässigen, weisen auf eine geringfügig niedrigere Energie des Tautomerens hin, dessen B-Ring in Form eines  $2H$ - und dessen C-Ring in Form eines  $1H$ -Pyrrols vorliegt. Damit stützen sie das Postulat einer im Verlauf der Assemblierung erfolgenden Protonierung des Stickstoffatoms des B-Rings durch einen Säurerest der Proteinsequenz.<sup>57</sup>

### 1.2.3 Die $\text{P}_r/\text{P}_{fr}$ -Photokonversion

Bei der  $Z,E$ -Isomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung des Chromophors  $\text{P}\Phi\text{B}$  (**1**) handelt es sich um den ersten und schnellsten Schritt einer Reihe aufeinander folgender Prozesse, welche das PhyA von der physiologisch inaktiven  $\text{P}_r$ -Form in den photostabilen  $\text{P}_{fr}$ -Zustand überführen (Abb. 11).<sup>58-62</sup> In den der Photoisomerisierung folgenden Schritten findet eine Anpassung des Proteins an die geänderte absolute Konfiguration des Chromophors (**1**) statt, welche im nativen System die Signalkaskade für die physiologischen Reaktionen auslöst.



**Abb. 11:** Schematische Darstellung des  $\text{P}_r/\text{P}_{fr}$ -Übergangs des PhyA anhand eines sequentiellen Modells. Angegeben sind die Zeitintervalle, in denen die Intermediate und die  $\text{P}_{fr}$ -Form entstehen, sowie die dabei auftretenden konformellen Änderungen.<sup>62</sup>

Im Verlauf der primären Photoreaktion erfolgt die Bildung des angeregten Zustands  $\text{P}_r^*$  durch Bestrahlung der  $\text{P}_r$ -Form des PhyA mit hellrotem Licht. Spektroskopische Untersuchungen sowohl des nativen als auch des rekombinatem 124-kDa-PhyA aus *Avena sativa* belegen, dass die weitere Kinetik des  $\text{P}_r/\text{P}_{fr}$ -Übergangs als Summe von sechs Prozessen beschreibbar ist, die über Lebenszeiten zwischen 1  $\mu\text{s}$  und 3 s verfügen.<sup>3</sup> Ob diese

einem parallelen bzw. sequentiellen Mechanismus folgen oder ob Gleichgewichte zwischen einzelnen Intermediaten vorliegen, lässt sich anhand der Kinetik nicht bestimmen.<sup>61-63</sup>

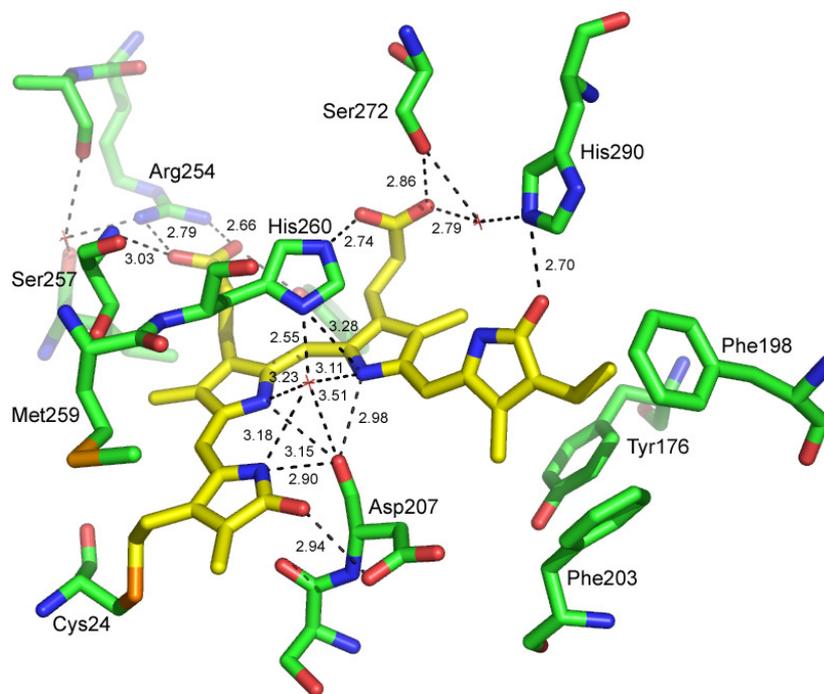
Aus dem angeregten Zustand  $P_r^*$  bildet sich innerhalb von 30 ps das Intermediat  $I_{700}$ ,<sup>3</sup> welches über ein rotverschobenes Absorptionsmaximum der ungefähren Wellenlänge 695 nm verfügt. Im PhyA aus *Avena sativa* besteht es aus den zwei Photoprodukten  $I_{700}^1$  und  $I_{700}^2$ , die ähnliche spektroskopische Eigenschaften, aber unterschiedliche Lebenszeiten besitzen. Innerhalb dieses Zeitintervalls erfolgt die Isomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung des Chromophors PΦB (**1**).

$I_{700}$  geht unter bathochromer Verschiebung des Absorptionsmaximums innerhalb von  $\mu$ s in ein, aufgrund seiner stark verminderten Absorption  $I_{bl}$  (bl = bleached) genanntes, ebenfalls in zwei Photoprodukten vorliegendes Intermediat über.<sup>3</sup> Die Ursache für die Abnahme der Absorption ist bislang nicht vollständig aufgeklärt. Sie resultiert entweder aus dem Verlust der Planarität des PΦBs (**1**) und der damit einhergehenden Verminderung der Konjugation des  $\pi$ -Systems oder aus dem Verlust an Wechselwirkungen zwischen dem Chromophor (**1**) und geladenen Aminosäuren. Vor dem Übergang in den  $P_{fr}$ -Endzustand durchläuft das PhyA innerhalb von ms die zwei Photoprodukte des Intermediats  $I_x$ , welche ein der  $P_{fr}$ -Form ähnliches Absorptionsspektrum aufweisen. Während dieses millisekunden- bis sekundenlangen Zeitintervalls erfolgen konformelle Änderungen sowohl des Proteins als auch des Chromophors.<sup>64</sup>



## 2 Ziele der Arbeit

Zum Verständnis der Funktionsweise des Photorezeptorsystems Phytochrom ist die Aufklärung der nach Initiierung der Photoreaktion ablaufenden Prozesse zwischen Chromophor und Protein notwendig. Lange Zeit galten nur die Primärstruktur des Proteins, die Position und Natur der Chromophorbindungsstelle, die Konstitution des Chromophors sowie die *Z/E*-Isomerisierung seiner C(15)-C(16)-Doppelbindung während der lichtinduzierten Reaktion als gesichert, bis Wagner *et al.* die Tertiärstruktur der chromophorbindenden Domäne des Bacteriophytochroms (Bph) aus *Deinococcus radiodurans* mittels Kristallstrukturanalyse aufklärten (Abb. 12).<sup>38</sup>

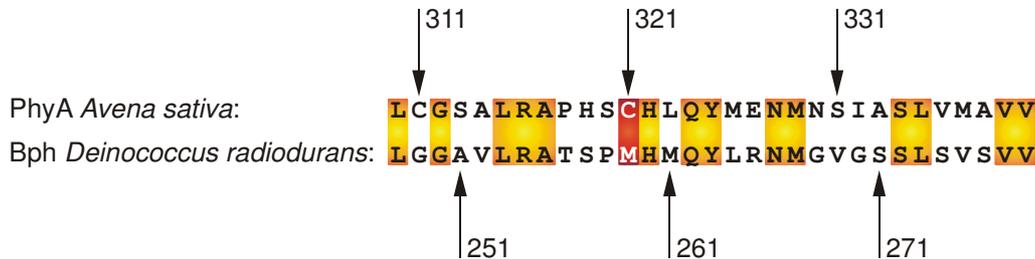


**Abb. 12:** Der Ausschnitt der Kristallstruktur des Photorezeptors Phytochrom aus *Deinococcus radiodurans* (Protein-Data-Bank-Identifikationsnummer 1ZTU) zeigt den Chromophor BV (5) (gelb) im  $P_r$ -Grundzustand und die sich im Abstand von bis zu 6 Å befindenden relevanten Aminosäuren. Angegeben sind die Abstände der Atome in Å, zwischen denen polare bzw. elektrostatische Wechselwirkungen auftreten.

Hieraus resultierten erste Erkenntnisse über die genaue Lage des Chromophors in der Proteintasche und seine Wechselwirkungen mit benachbarten Aminosäuren. Da es sich bei *Deinococcus radiodurans* jedoch um einen prokaryotischen Organismus handelt, der über den Chromophor BV (5) verfügt, sind die Ergebnisse nicht unmittelbar auf den eukaryotischen Organismus *Avena sativa* übertragbar, dessen PhyA den Chromophor PΦB (1) trägt. Die Phytochrome beider Organismen unterscheiden sich in ihrer Sequenz, vor allem aber durch die Position ihrer Chromophorbindungsstelle. Trotzdem dient das Phytochrom aus *Deinococcus radiodurans* als geeignete Modellverbindung für das PhyA aus *Avena sativa*, da eine Substitution der Aminosäure Met<sub>259</sub> durch Cys – der allgemein an-

## Ziele der Arbeit

erkannten Bindungsstelle – eine nur um 3.2 Å von der proteinbindenden Position C(3<sup>1</sup>) des BVs (5) entfernte Chromophorbindungsstelle schufte. Der sie umgebende Sequenzabschnitt weist starke Ähnlichkeiten zu jenem Abschnitt der Sequenz des PhyA aus *Avena sativa* auf, welcher die Chromophorbindungsstelle Cys<sub>321</sub> trägt (Abb. 13).



**Abb. 13:** Vergleich der Sequenzen des PhyA aus *Avena sativa* und des Bphs aus *Deinococcus radiodurans*. Während identische Sequenzabschnitte orange unterlegt sind, ist die Chromophorbindungsstelle des PhyA sowie die durch Substitution des Met<sub>259</sub> gegen Cys potentielle Chromophorbindungsstelle des Bphs rot gefärbt.

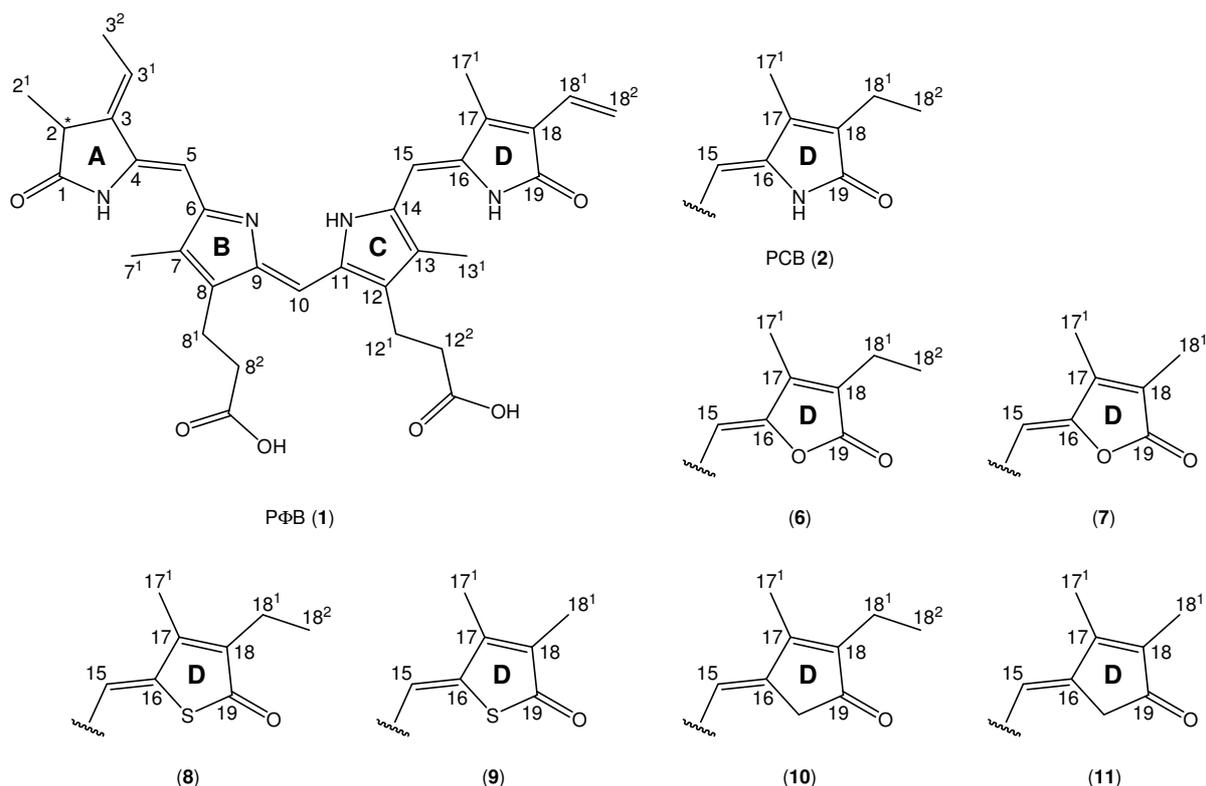
Bislang blieben die während der Photoreaktion ablaufenden Vorgänge weitgehend ungeklärt. Während der Ring A des BV (5) kovalent an einen Cysteinrest des Proteins gebunden ist, bilden sowohl der B- als auch der C-Ring über ihre Propionsäuregruppen elektrostatische Wechselwirkungen zum Protein aus. Des Weiteren erfolgt die – in ähnlicher Weise ebenfalls für die pflanzlichen Phytochrome postulierbare – Fixierung der Stickstoffatome der drei Ringe A, B und C durch das carbonylische Sauerstoffatom des Asp<sub>207</sub> (Abb. 12). Da aus diesen Gründen im Verlauf der Photoreaktion, welche zur Isomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung führt, die größten strukturellen Änderungen am Ring D auftreten, ist vor allem die detaillierte Aufklärung der nichtkovalenten Wechselwirkungen zwischen ihm und der Proteinumgebung von Interesse.

Hierzu wurden in der Arbeitsgruppe Gärtner bereits durch Lindner und Robben systematische Veränderungen am Substitutionsmuster des Rings D der nativen Chromophore PΦB (1) und PCB (2) vorgenommen, mit denen sich ihr sterischer Anspruch gezielt variieren ließ.<sup>31,32,65,66</sup> Die spektralen Eigenschaften der mit dieser homologen Reihe von Chromophoren generierten Phytochrome wiesen aufgrund geänderter Chromophor-Protein-Interaktionen deutlich auf eine Beeinflussung ihres photophysikalischen Verhaltens hin.

Die gewonnenen Ergebnisse ließen weitergehende systematische Arbeiten lohnenswert erscheinen. Da nahezu alle bislang beschriebenen Derivate der nativen Chromophore PΦB (1) und PCB (2) aus der Variation ihrer Substitutionsmuster resultieren, wurde ein zweiter Ansatz gewählt, welcher die gezielte formale Substitution einzelner Heteroatome des Chromophorgerüsts vorsieht. Hierdurch erfolgt sowohl die Modifikation der sterischen als auch der elektronischen Eigenschaften der Chromophore.

Das Primärziel der vorliegenden Arbeit besteht in der systematischen Darstellung sechs neuartiger Chromophore des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom, die über

eine PCB-analoge Struktur verfügen (Abb. 14). Während in drei Chromophoren die native Azafunktion des Rings D formal durch eine Oxa-, Thia- bzw. Carbafunktion ersetzt werden soll, soll in drei weiteren Chromophoren zusätzlich zu diesen Änderungen die Substitution der nativen Ethylgruppe an Position C(18) durch einen Methylrest erfolgen. Damit unterscheiden sich die D-Ringe der generierten Chromophore sowohl durch ihren sterischen Anspruch als auch ihre elektronischen Eigenschaften von den D-Ringen der nativen Chromophore PΦB (1) und PCB (2).



**Abb. 14:** Kekulé-Formeln der nativen Chromophore PΦB (1) und PCB (2) sowie der angestrebten Reihe neuartiger Chromophore (6)–(11).

Des Weiteren sind die zu synthetisierenden Chromophore und das PhyA-Apoprotein aus *Avena sativa* zu assemblieren. Mittels statischer Spektroskopiemethoden soll der Einfluss der sterischen und elektronischen Modifikationen der Chromophorstruktur auf die biophysikalischen Eigenschaften der generierten Phytochrome bestimmt und mit den Eigenschaften des mit dem nativen Chromophor PCB (2) assemblierten PhyA-Apoproteins verglichen werden. Hieraus leitet sich der Versuch ab, die Assemblierung allgemein und modellhaft anhand eines zu synthetisierenden Peptids der PhyA-Sequenz aus *Avena sativa* und des Chromophors PCB (2) durchzuführen sowie das generierte Chromopeptid auf seine Befähigung zur Photoisomerisierung zu untersuchen.

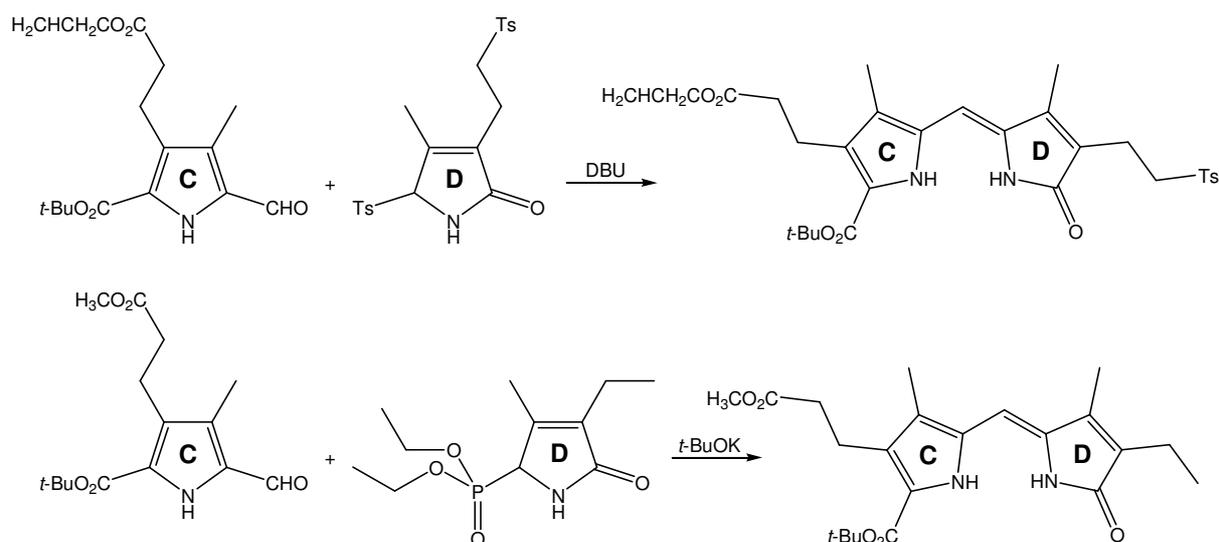
## ■ Ziele der Arbeit

### 3 Synthesekonzept

#### 3.1 Totalsynthesen und Derivate

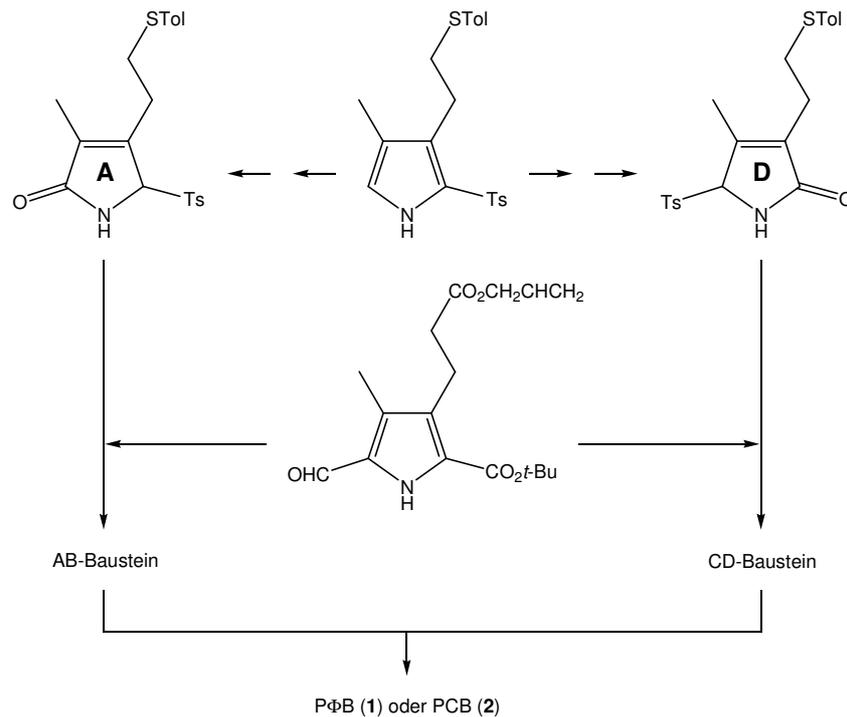
Während der letzten dreißig Jahre befasste sich eine Vielzahl von Arbeitsgruppen mit der Darstellung offenkettiger Tetrapyrrole<sup>67-79</sup> und Porphyrinsysteme. Im Rahmen dieser Arbeiten spezialisierten sich einige Gruppen vor allem auf die Synthese von PΦB (**1**) und PCB (**2**) sowie auf Derivate dieser Moleküle.<sup>65,66,80</sup> Insbesondere die Arbeitsgruppen um Gossauer,<sup>81-87</sup> Inomata und Jacobi entwickelten innovative Konzepte zur Synthese der einzelnen Pyrrolringe und ihren Verknüpfungsreaktionen zu Tetrapyrrolen. Der gegenwärtige Stand ihrer Forschung soll im Folgenden dargestellt werden.

Neben der Synthese von PCB- bzw. PΦB-analogen Tetrapyrrolen, deren Substitutionsmuster von dem der natürlichen Chromophore abweicht,<sup>88-91</sup> beschäftigte sich die Arbeitsgruppe um Inomata vor allem mit Verknüpfungsreaktionen zwischen einzelnen Pyrrolringen (Abb. 15). Diese Reaktionen verlaufen entweder über ein mit einer Tosylgruppe substituiertes Pyrrol-2-on und seine Umsetzung mit einem Aldehyd<sup>92-97</sup> oder im Rahmen eines Horner-Emmons-Mechanismus.<sup>92,98</sup>



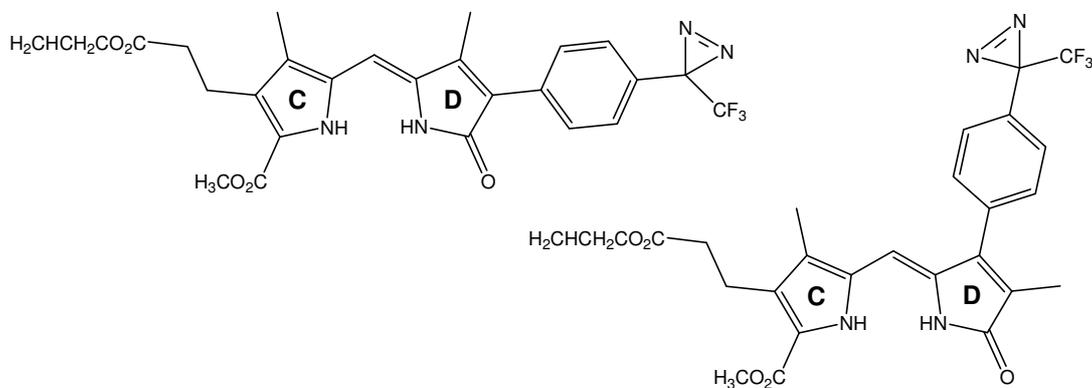
**Abb. 15:** Verknüpfungsreaktionen zwischen C- und D-Ringen nach Inomata *et al.*<sup>93,98</sup>

Zur Minimierung der bei allen Totalsynthesen von Tetrapyrrolen auftretenden großen Anzahl von Syntheseschritten, die zum Teil nur geringe Ausbeuten liefern, wurde eine Synthese von PΦB (**1**) bzw. PCB (**2**) etabliert, die auf identischen Vorstufen für die A- und D-Ringe einerseits sowie für die C- und D-Ringe andererseits basiert (Abb. 16).<sup>93</sup> Neben der Verkürzung des Syntheseweges liegt ein weiterer Vorteil der Methode darin, dass die Kupplungsreaktionen zwischen A- und B-Ring bzw. C- und D-Ring dem gleichen Schema folgen.



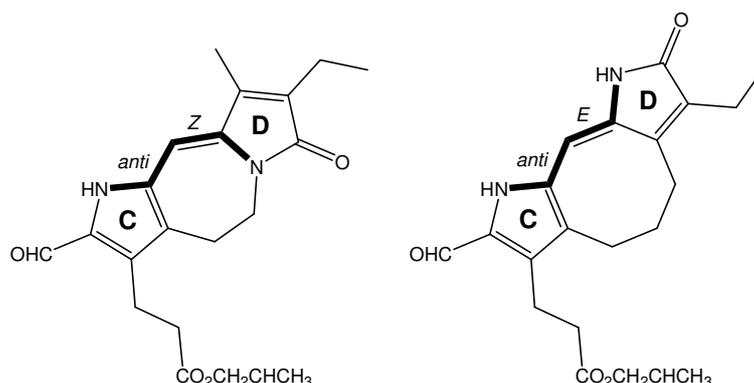
**Abb. 16:** Synthese des PΦBs (1) bzw. des PCBs (2) aus zwei Vorstufen nach Inomata *et al.*<sup>93</sup>

Außerdem synthetisierten Inomata *et al.* CD-Bausteine, die am D-Ring einen photoreaktiven Substituenten tragen (Abb. 17).<sup>96</sup> Die Kupplung mit geeigneten AB-Bausteinen<sup>95</sup> führte zu PCB-analogen Tetrapyrrolen, die photochemisch ein Molekül Stickstoff abspalten.<sup>94</sup> Nach Assemblierung dieser Chromophore mit dem PhyA-Apoprotein sollte das gebildete Holoprotein durch Belichtung in seine  $P_r$ - bzw.  $P_{fr}$ -Form überführt werden. Anschließende Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 360–420 nm löste die photochemische Abspaltung von Stickstoff aus, wodurch ein Carben entstünde, das eine kovalente Bindung zum Protein ausbildete. Hierdurch erfolgte die Fixierung des Chromophors in der jeweiligen Konfiguration, wonach sich die geschaffenen Zustände getrennt und ohne weitere Isomerisierung des Chromophors untersuchen ließen.



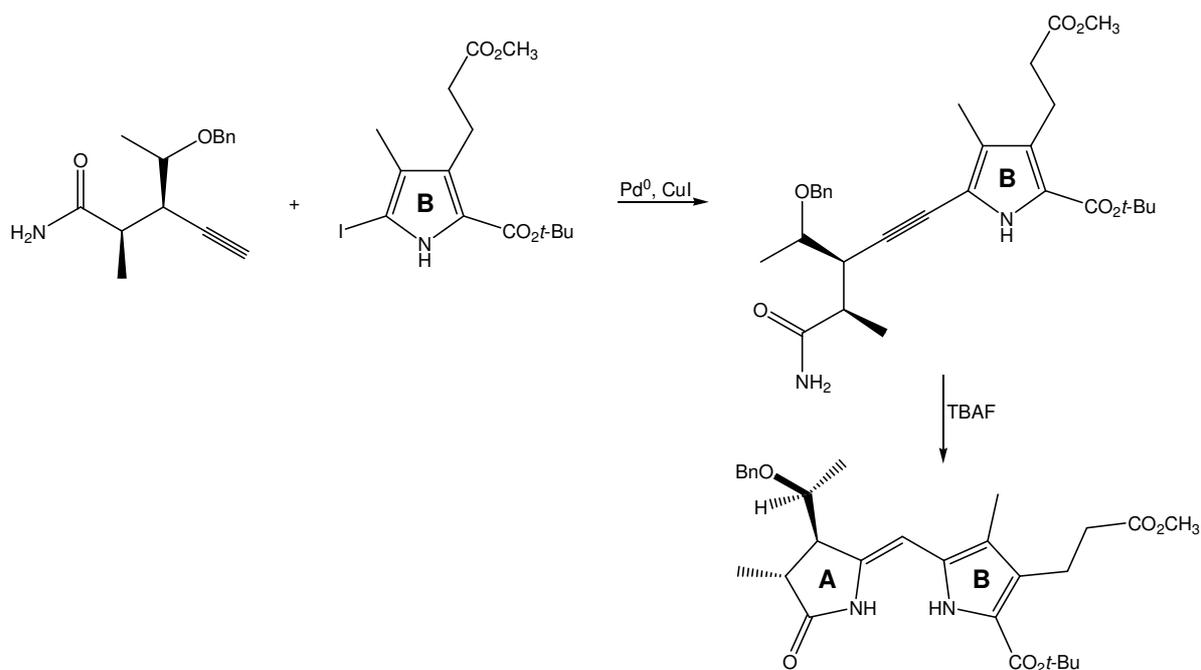
**Abb. 17:** Mit photoreaktiven Gruppen am D-Ring substituierte CD-Bausteine nach Inomata *et al.*<sup>96</sup>

Alternativ dazu wurden Synthesen von Bilinen entwickelt, in denen der C- und D-Ring neben der Methinbrücke durch eine zusätzliche Alkylkette miteinander verbrückt sind (Abb. 18).<sup>99,100</sup> Die damit einhergehende Fixierung des D-Rings verhindert die Photoisomerisierung der mit PhyA-Apoprotein assemblierten Chromophore. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, die generierten Holoproteine entweder in der quantitativ vorliegenden  $P_r$ - oder  $P_{fr}$ -Form zu untersuchen.



**Abb. 18:** CD-Bausteine mit *Z-anti*- (links) sowie *E-anti*-Konfiguration (rechts) nach Inomata *et al.*<sup>99,100</sup>

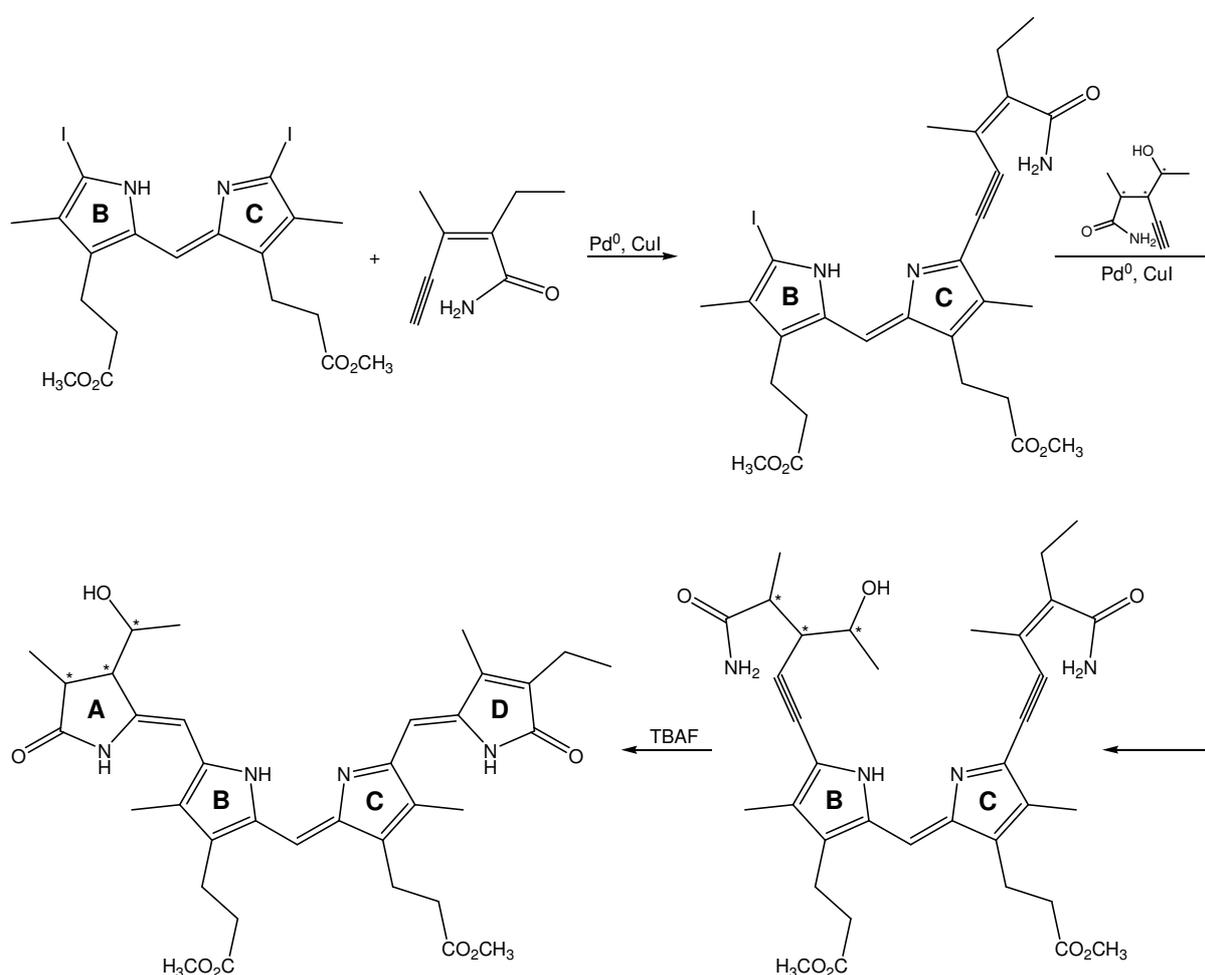
Abweichend von allen bislang angewandten Synthesestrategien, in deren Verlauf vollständig substituierte Pyrrole zu Dipyrrinonen gekuppelt wurden, entwickelte die Arbeitsgruppe um Jacobi neuartige Methoden zum Aufbau der AB- und CD-Hälfte der Tetrapyrrole. Dabei werden entsprechend substituierte *N*-Pyrroloenamide unter 3,5-sigmatroper Verschiebung zu den AB-Bausteinen umgesetzt.<sup>101–103</sup>



**Abb. 19:** Synthese des AB-Bausteins durch Sonogashira-Kupplung und anschließender 5-*exo-dig*-Cyclisierung nach Jacobi *et al.*<sup>103–106</sup>

Alternativ dazu erfolgt die Sonogashira-Kupplung eines Alkinamids an den B-Ring und anschließende TBAF-katalysierte 5-*exo-dig*-Cyclisierung (Abb. 19).<sup>103-106</sup> Dabei handelt es sich um eine Methode, die ebenfalls auf die Synthese des CD-Bausteins anwendbar ist.<sup>103,107-109</sup>

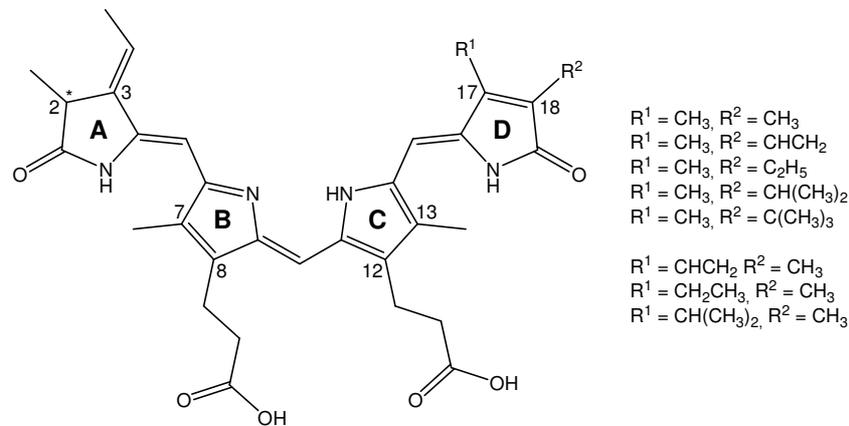
Das identische Substitutionsmuster des B- und C-Rings legte die Entwicklung einer gemeinsamen Vorstufe nahe, die unter geeigneten Bedingungen intermolekular zum BC-Baustein reagiert. An diesen lassen sich, wie bei der Synthese des AB-Bausteins beschrieben, im Rahmen einer Sonogashira-Kupplung offenkettige Alkinamide kuppeln. Unter anschließender TBAF-katalysierter 5-*exo-dig*-Cyclisierung erfolgt dann die Ausbildung des Tetrapyrrols (Abb. 20).<sup>103,110,111</sup>



**Abb. 20:** Synthese von PCB (2) aus einem BC-Baustein und offenkettigen Alkinamiden sowie anschließende 5-*exo-dig*-Cyclisierungen nach Jacobi *et al.*<sup>103,110,111</sup>

Zur systematischen Aufklärung der Wechselwirkungen zwischen dem der Photoisomerisierung zugänglichen D-Ring der Chromophore PΦB (1) bzw. PCB (2) und der Proteinumgebung synthetisierte erstmals die Arbeitsgruppe um Gärtner gezielt Derivate, deren Substitutionsmuster an Ring D variiert.<sup>65,66</sup> Während entweder die Position C(17)

oder C(18) methylsubstituiert vorliegt, wird die benachbarte Position durch eine homologe Reihe an Gruppen mit steigendem sterischen Anspruch substituiert (Abb. 21).

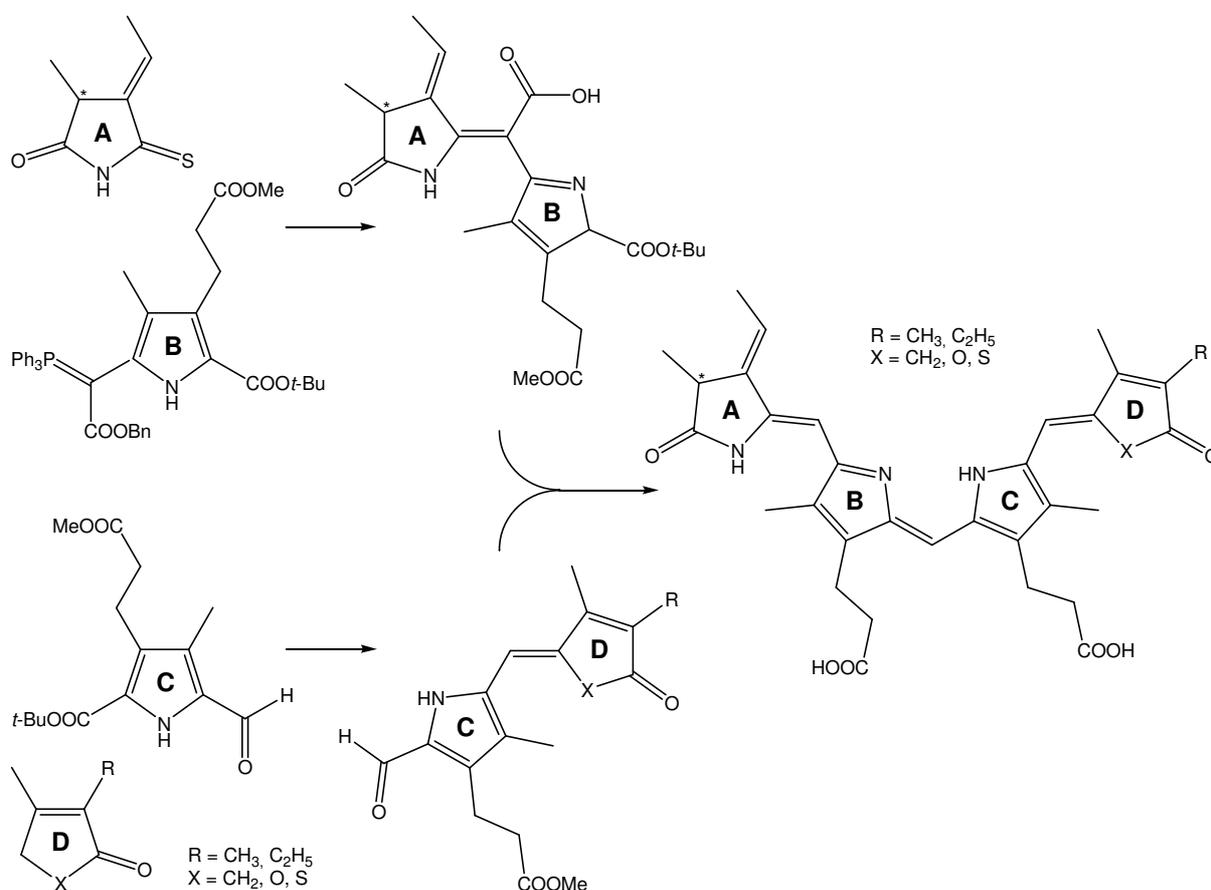


**Abb. 21:** Zwei homologe Reihen PΦB- bzw. PCB-analoger Chromophore nach Gärtner *et al.*<sup>65,66</sup>

Hanzawa *et al.* erweiterten diese homologen Reihen durch Manipulation des Substitutionsmusters aller vier Ringe um 18 weitere Derivate.<sup>112,113</sup> Dabei substituierten sie unter anderem die Propionsäurereste der nativen Chromophore durch Butansäurereste oder vertauschten die Säurereste an Position C(8) und C(12) mit den Methylgruppen an Position C(7) und C(13). Außerdem substituierten sie die Position C(17) und C(18) durch langkettige aliphatische Reste, wie z. B. Propyl-, Pentyl- und Octylgruppen sowie die Methylgruppe an Position C(2) durch Wasserstoff bzw. eine Ethylgruppe.

### 3.2 Vorüberlegungen und Planung

Ziel der Arbeiten ist die Darstellung von sechs Chromophoren PCB-analoger Struktur, die am D-Ring ein unterschiedliches Substitutionsmuster aufweisen. Dazu scheint auf den ersten Blick die synthetische Modifikation des nativen Chromophors PCB (**2**) ein geeignetes Mittel zu sein. Da aber in den zu synthetisierenden Verbindungen die reaktions-träge Ethylgruppe des D-Rings durch eine Methylgruppe substituiert werden und außerdem ein Austausch der Azafunktion des Rings D gegen die Heteroatome Sauerstoff und Schwefel sowie eine Methylengruppe erfolgen soll, ist die Stabilität des restlichen Moleküls unter den dazu erforderlichen Reaktionsbedingungen nicht zu gewährleisten. Aus diesem Grund ergibt sich die Notwendigkeit zur Totalsynthese der Chromophorderivate.



**Abb. 22:** Darstellung offenkettiger Tetrapyrrolderivate basierend auf der konvergenten Synthesestrategie nach Gossauer *et al.*<sup>81,82,86</sup>

Erfahrungen aus zuvor geleisteten Arbeiten<sup>114</sup> legen nahe, das Konzept der durch Gossauer *et al.* etablierten konvergenten Synthesestrategie (Abb. 22) zu verfolgen, welches im Verlauf nahezu aller Synthesen von Modellverbindungen dieser Art angewandt wird.<sup>81,82,86</sup> Hierbei erfolgt die parallele Synthese der vier hochsubstituierten Ringbausteine. Es schließen sich Kondensationsreaktionen zu je zwei Dipyrrromethenonen sowie deren Verknüpfungsreaktion zum entsprechenden Tetrapyrrol an. Da die Photosensitivität

der Oligopyrrole mit steigender Anzahl an Ringen zunimmt, bietet diese Methode den Vorteil, über einen möglichst langen Zeitraum mit weitgehend lichtunempfindlichen Substanzen arbeiten zu können. Außerdem erlaubt die Variation des Substitutionsmusters eines einzelnen Rings auf einfache Art die Änderung der geometrischen Information des gesamten Chromophors.

Die B- und C-Ringe der nativen Chromophore PΦB (**1**) und PCB (**2**) sowie der darzustellenden Derivate (**6**)–(**11**) verfügen, wie bereits erwähnt, über ein identisches Substitutionsmuster. Da sie außerdem in den Zielverbindungen spiegelbildlich zueinander angeordnet sind, erfolgen die Kupplungsreaktionen mit dem A- bzw. den D-Ringen jeweils auf der gleichen Seite des Pyrrols. Aus diesen Gründen bietet sich zur Verkürzung der Syntheseroute der Aufbau einer gemeinsamen Vorstufe (**28**) an, welche sich danach innerhalb weniger Reaktionsschritte zum B- bzw. C-Ring funktionalisieren lassen soll.

Im Gegensatz dazu verbieten die stark voneinander differierenden Substitutionsmuster des A-Rings (**18**) sowie der D-Ringe die Synthese aus einem gemeinsamen Vorläufermolekül, so dass diese vollständig separat synthetisiert werden müssen.

Ähnliches gilt für die Darstellung der jeweils homologen D-Ringe mit Furanon-, Thio-phenon- und Cyclopentenonstruktur. Anstatt sie aus einer gemeinsamen Vorstufe zu synthetisieren und diese anschließend entsprechend zu funktionalisieren, versprechen möglichst kurze, getrennte Synthesewege schnelleren Erfolg. Sie sind jeweils so zu wählen, dass die Möglichkeit besteht, durch Variation nur eines Substrats eine geänderte geometrische Information in das Produkt einbringen zu können.

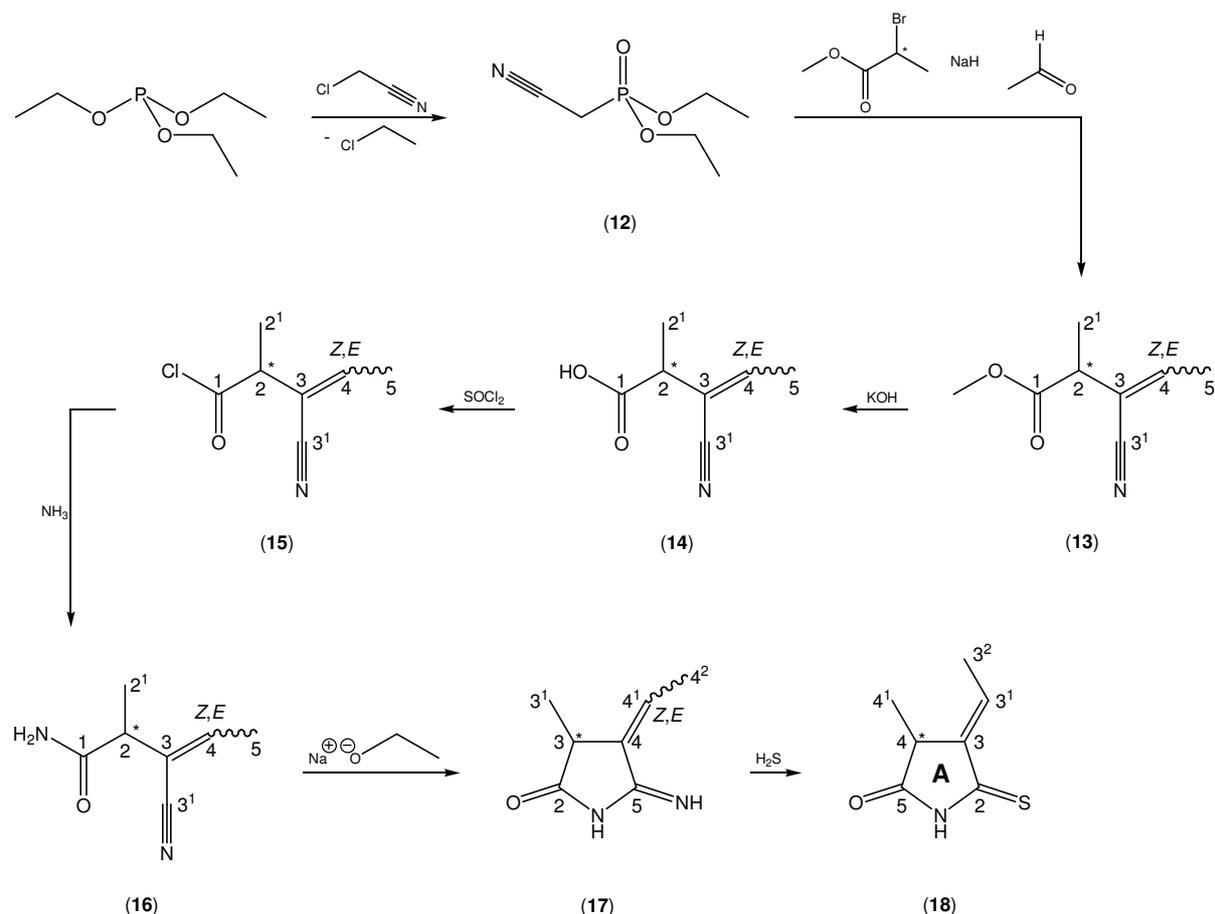
### 3.3 Darstellung der Monomeren

#### 3.3.1 Synthese des A-Rings (18)

Es existieren zwei geeignete Routen zur Synthese des A-Rings, welche miteinander verglichen werden sollen.

##### 3.3.1.1 Chloracetonitril-Route

Im Verlauf der in der Arbeitsgruppe Gärtner<sup>31,115</sup> etablierten Synthese reagiert Triethylphosphit innerhalb einer Michaelis-Arbuzov-Reaktion mit Chloracetonitril zu Diethylcyanomethylphosphonat (**12**). Dieses wird durch Alkylierung mit 2-Brompropionsäuremethylester und anschließender Horner-Emmons-Reaktion mit Acetaldehyd zu (Z,E)-3-Cyano-2-methyl-3-pentencarbonsäuremethylester (**13**) umgesetzt. In diesem Reaktionsschritt werden mit der Methyl- sowie der Ethylidengruppe zwei Substituenten des A-Rings (**18**) eingeführt (Abb. 23).



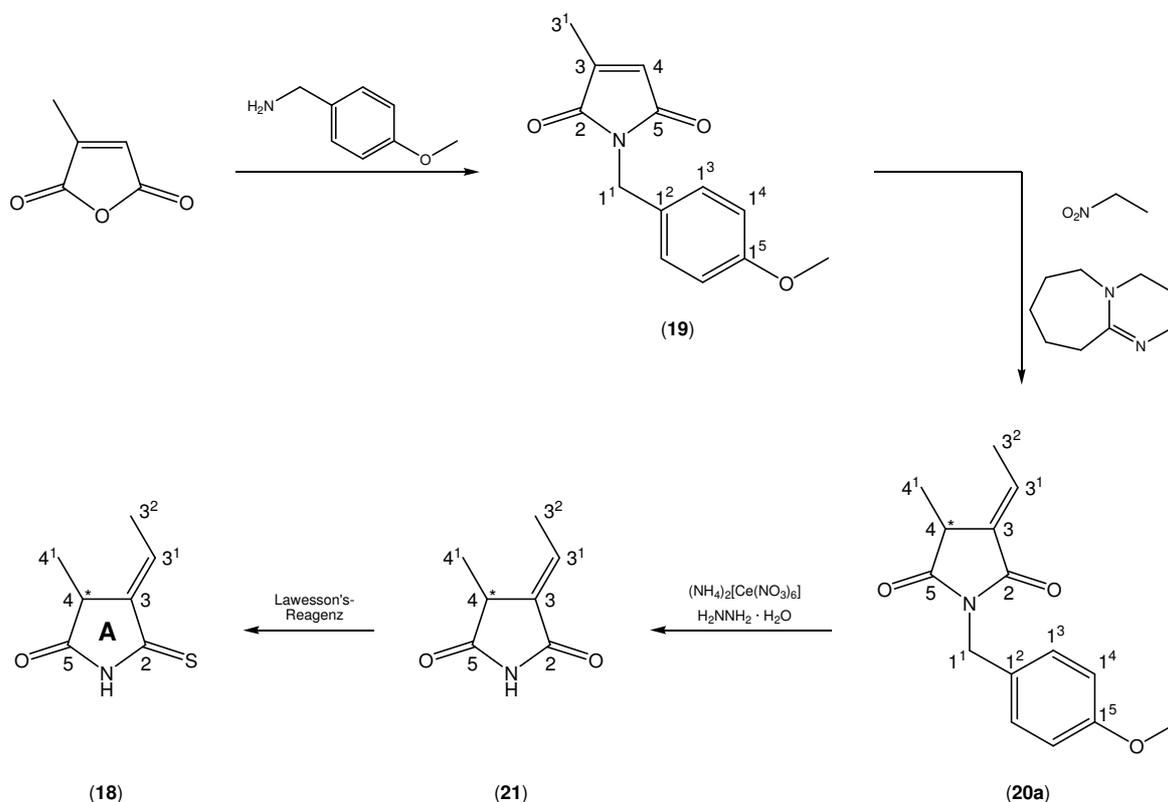
**Abb. 23:** Synthese des A-Rings 3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) nach Gossauer *et al.*<sup>81</sup>

Der Ester (**13**) wird mit wässriger Kaliumhydroxidlösung zur korrespondierenden Säure (**14**) verseift, mit Thionylchlorid zum Säurechlorid (**15**) und anschließend mit flüssigem

Ammoniak zum (*Z,E*)-3-Cyano-2-methyl-3-pentencarbonsäureamid (**16**) umgesetzt. Dieses reagiert unter basischen Bedingungen durch intramolekularen Ringschluss zu (*Z,E*)-4-Ethyliden-5-imino-3-methylpyrrolidin-2-on (**17**) und lässt sich durch eine Reaktion mit Schwefelwasserstoff zu 3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) umsetzen (Abb. 23).<sup>81</sup>

### 3.3.1.2 Citraconsäureanhydrid-Route

Alternativ dazu wird Citraconsäureanhydrid mit 4-Methoxybenzylamin versetzt, wobei sich nach einem Additions-Eliminierungs-Mechanismus 1-(4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**19**) bildet. Dieses wird während einer basenkatalysierten, Michael-artigen Addition von Nitroethan zu einem Isomergemisch aus (*E*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dion (**20a**) und (*Z*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dion (**20b**) umgesetzt. Aufgrund der geforderten (*E*)-Konfiguration der Doppelbindung der Ethylidengruppe wird nur die Substanz (**20a**) durch Ammoniumcer(IV)-nitrat (CAN) oxidiert. Anschließend erfolgt durch Hydrazinhydrat die Freisetzung des 3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dions (**21**), welches aufgrund seines sterischen Anspruchs mit Lawesson-Reagenz regioselektiv zu 3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) monothionyliert wird (Abb. 24).<sup>116,117</sup>



**Abb. 24:** Synthese des A-Rings 3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) nach Inomata *et al.*<sup>116,117</sup>

### 3.3.2 Synthese der Vorstufe des B- und C-Rings (28)

Da der B- und der C-Ring über ein identisches Substitutionsmuster verfügen, lassen sie sich aus einer gemeinsamen Vorstufe (28) synthetisieren. Diese wird aus zwei getrennt voneinander darzustellenden Molekülhälften aufgebaut.

Dabei führt die basenkatalysierte Kondensationsreaktion des Chloressigsäure-*tert*-butylesters mit Formamid zu N-Formylglycin-*tert*-butylester (22), aus dem sich durch Dehydratisierung Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (23) gewinnen lässt (Abb. 25).<sup>32,118</sup>

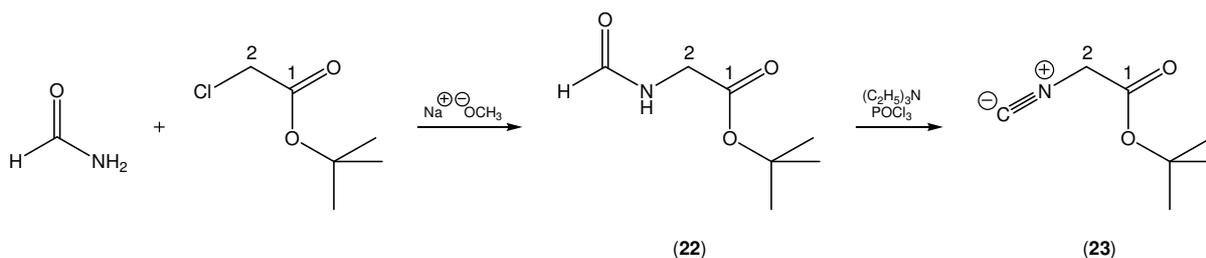


Abb. 25: Synthese des Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (23).<sup>32,118</sup>

Einwirken einer Lösung aus Triethylamin und Methanol auf  $\gamma$ -Butyrolacton führt durch Ringöffnung zu 4-Hydroxybutansäuremethylester (24), welcher in einer Swern-Oxidation durch aktiviertes DMSO zum analogen 4-Oxobutansäuremethylester (25) dehydriert wird.<sup>119-121</sup> Die alternative Oxidation des Alkohols (24) durch Pyridiniumchlorochromat<sup>89,122</sup> (PCC) zum Aldehyd (25) wird aufgrund der dabei einzusetzenden großen Menge der Chrom-(VI)-Verbindung sowie der damit verbundenen gesundheitlichen Risiken verworfen. Kondensation des Aldehyds (25) mit Nitroethan<sup>123</sup> liefert 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylester (26), der in der nachfolgenden Alkoholylse von Essigsäureanhydrid zu 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (27) umgesetzt wird (Abb. 26).<sup>124</sup>

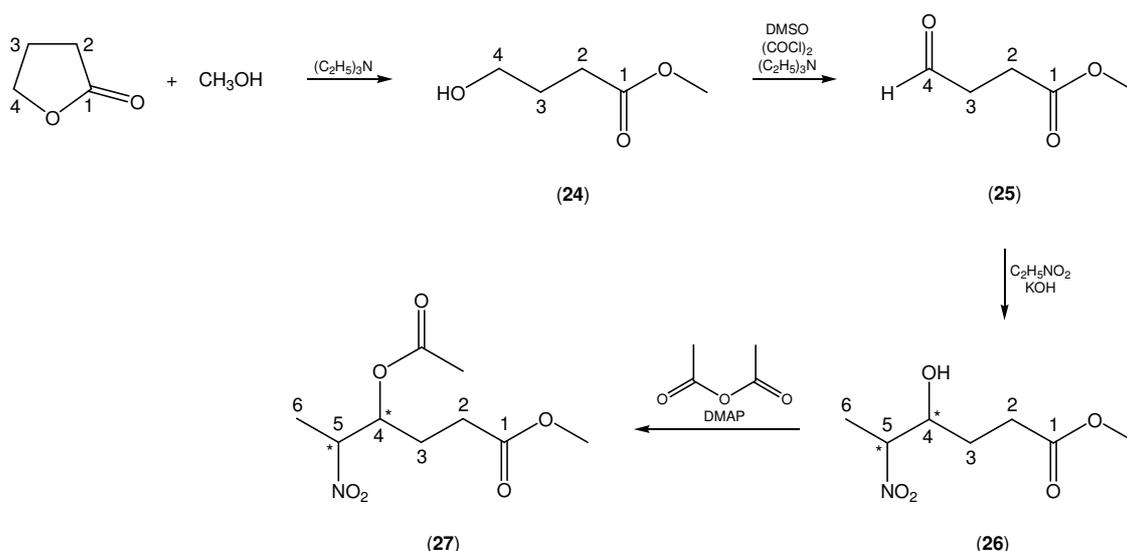
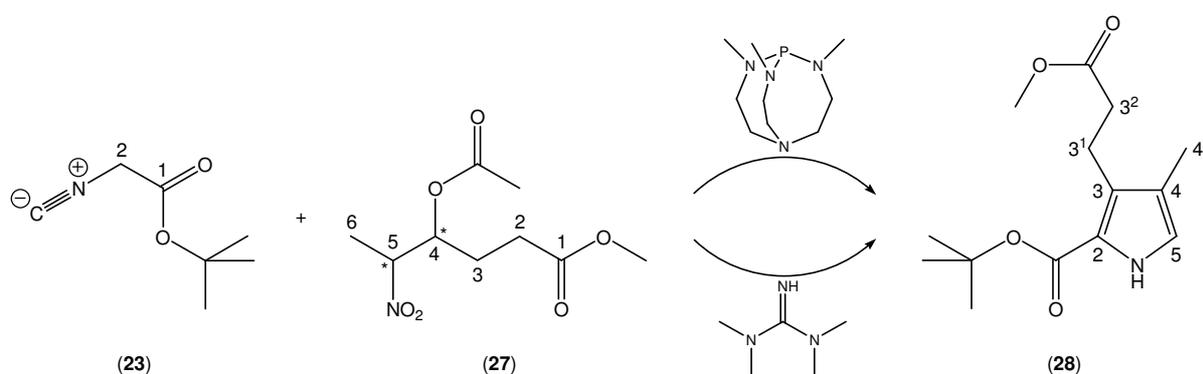


Abb. 26: Synthese des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (27).<sup>119-121,124</sup>

Die Darstellung der Vorstufe des B- und C-Rings (**28**) erfolgt durch nucleophilen Angriff des durch eine starke Base erzeugten Carbanions des Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**23**) an den 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**27**). Abspaltung der Acetoxygruppe von (**27**) und Cyclisierung führt zu 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**28**) (Abb. 27).

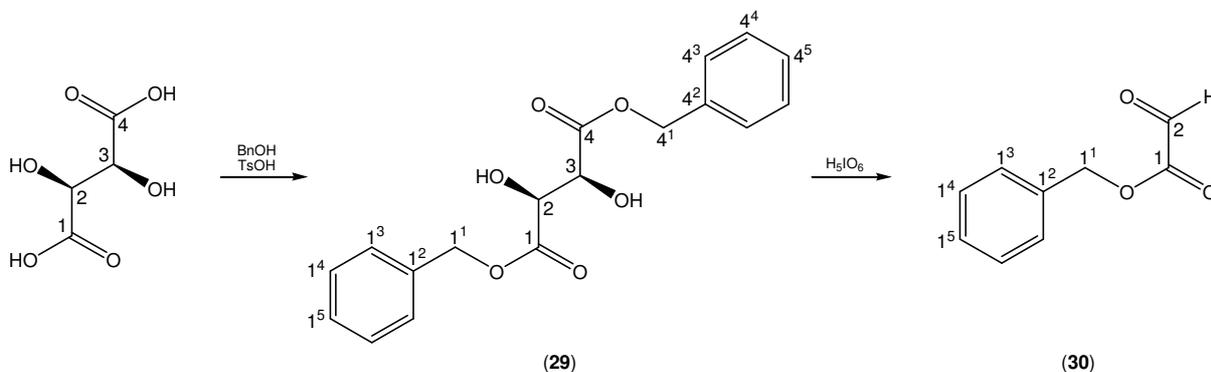
Das Carbanion von (**23**) lässt sich einerseits durch *N,N,N',N'*-Tetramethylguanidin<sup>125</sup> (TMG), andererseits durch die sogenannte Verkade-Superbase 2,8,9-Trimethyl-2,5,8,9-tetraaza-1-phosphabicyclo-[3.3.3]-undecan<sup>126,127</sup> erzeugen. Während für die erste Methode die einfache Handhabung spricht, ist bei der Reaktion nach der zweiten Methode eine höhere Ausbeute zu erwarten.



**Abb. 27:** Synthese der Vorstufe für den B- und C-Ring (**28**) nach Verkade *et al.*<sup>126,127</sup> (oben) sowie Barton *et al.* (unten).<sup>125</sup>

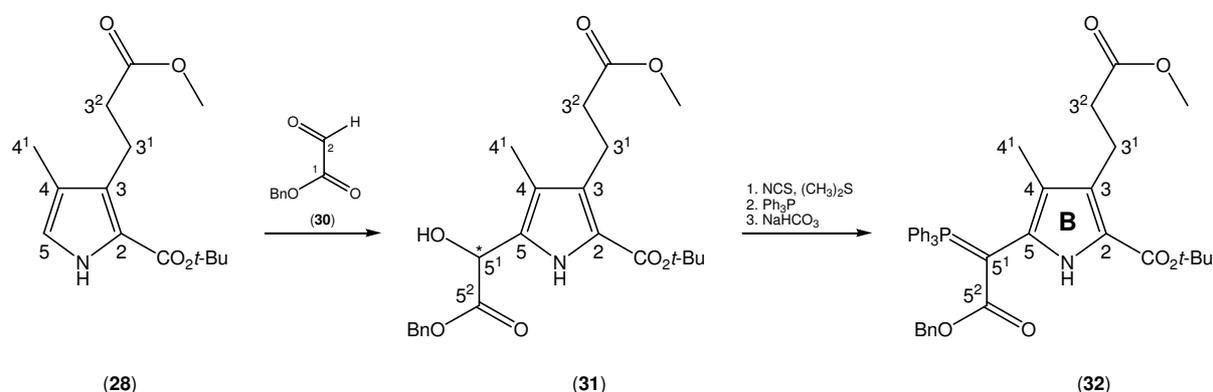
### 3.3.3 Synthese des B-Rings (**32**)

Zur Synthese des B-Rings ist die Derivatisierung der freien  $\alpha$ -Position in (**28**) nötig. Zur Darstellung des dafür erforderlichen Liganden wird durch Alkohololyse von D-(-)-Weinsäure mit Benzylalkohol der D-(-)-Weinsäuredibenzylester (**29**) hergestellt, wobei die Zugabe der starken Säure 4-Toluensulfonsäure-Monohydrat der Reaktionsbeschleunigung dient. Danach lässt sich das 2,3-Diol (**29**) durch Periodsäure selektiv unter Bildung zweier Moleküle des Glyoxylsäurebenzylesters (**30**) spalten (Abb. 28).<sup>128</sup>



**Abb. 28:** Synthese des Glyoxylsäurebenzylesters (**30**).<sup>128</sup>

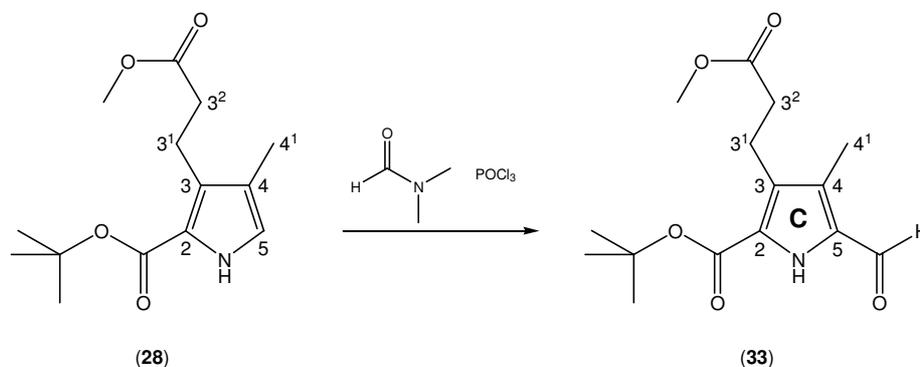
Die schwache Lewis-Säure Glyoxylsäurebenzylester (**30**) und die Vorstufe des B-Rings (**28**) werden durch eine elektrophile aromatische Substitutionsreaktion miteinander verknüpft, wobei die Lewis-Säure Zink(II)-chlorid die elektrophile Aktivität des Aldehyds (**30**) erhöht und somit die Reaktion katalysiert.<sup>128</sup> Die Hydroxygruppe des 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylesters (**31**) lässt sich durch Umsetzung mit einem Komplex aus N-Chlorsuccinimid (NCS) und Dimethylsulfid intermediär chlorieren und mit Triphenylphosphin zum Phosphoniumsalz umsetzen. Durch die darauf folgende Reaktion mit Natriumhydrogencarbonat als Base wird das Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid (**32**) gebildet (Abb. 29).<sup>128,129</sup>



**Abb. 29:** Synthese des B-Rings Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid (**32**).<sup>128,129</sup>

### 3.3.4 Synthese des C-Rings (**33**)

Die Darstellung des als C-Ring dienenden 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**33**) erfolgt im Rahmen einer Vilsmeier-Reaktion durch Formylierung des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**) an seiner freien  $\alpha$ -Position.<sup>130</sup> Als Formylierungsreagenz dient dabei eine Lösung aus DMF und Phosphoroylchlorid (Abb. 30).



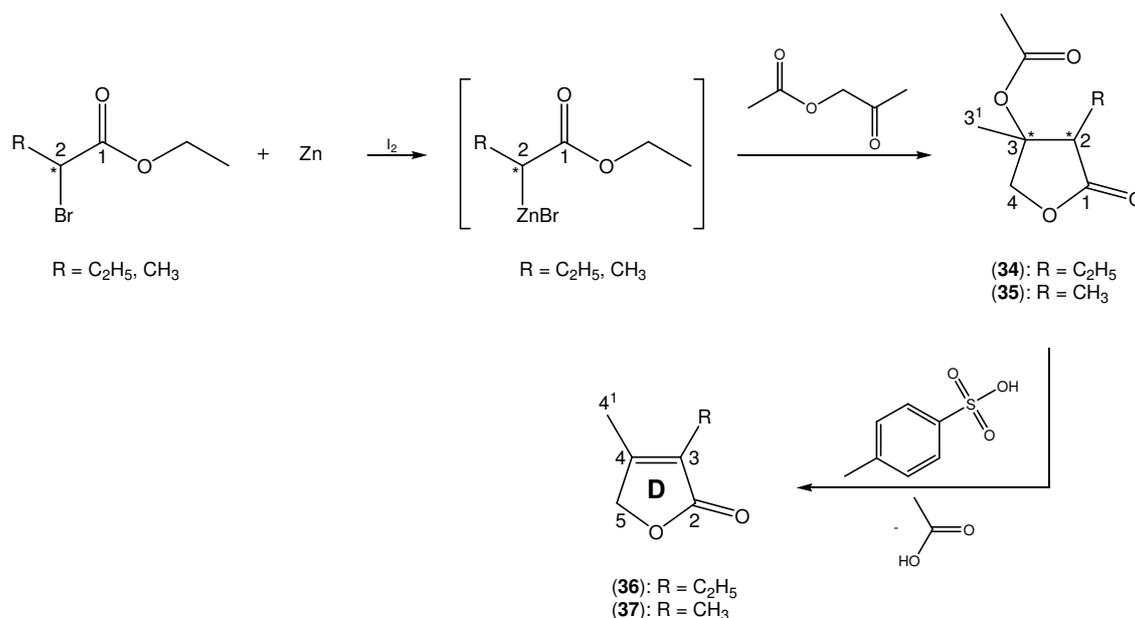
**Abb. 30:** Synthese des C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**).<sup>130</sup>

### 3.3.5 Synthese der D-Ringe

In keiner der bislang durchgeführten Totalsynthesen von Derivaten des PΦBs (**1**) bzw. PCBs (**2**) erfolgte die Modifikation des tetrapyrrolischen Chromophor-Grundgerüsts. Aus diesem Grund wird, der Aufgabenstellung entsprechend, eine Reihe von D-Ringen dargestellt, deren NH-Gruppe durch die Heteroatome Sauerstoff und Schwefel bzw. eine Methylengruppe substituiert ist. Zusätzlich verfügt ein Teil von ihnen über ein, verglichen mit den D-Ringen des PΦBs (**1**) bzw. PCBs (**2**), geändertes Substitutionsmuster.

#### 3.3.5.1 Darstellung der D-Ringe mit Furanonstruktur (**36**) und (**37**)

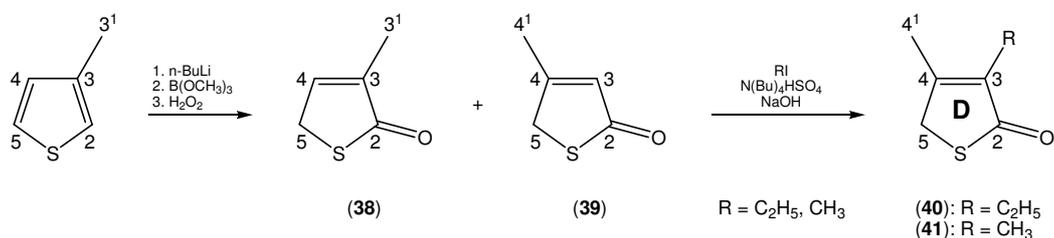
Die Umsetzung des D,L-2-Brombutansäureethylesters sowie des D,L-2-Brompropionsäureethylesters mit Acetylacetat folgt den Bedingungen einer Reformatsky-Reaktion. In ihrem Verlauf bilden die  $\alpha$ -halogenierten Ester mit metallischem und durch Zugabe einer geringen Menge Iods aktiviertem Zink intermediäre Grignard-artige zinkorganische Verbindungen, welche im darauf folgenden Reaktionsschritt selektiv mit der Keton-Carbonylgruppe des Acetylacetats reagieren. Saure Hydrolyse liefert die entsprechenden Alkohole, die nicht direkt zu den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylverbindungen eliminieren, sondern nach einem bislang ungeklärten Mechanismus zu 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolacton (**34**) bzw. 3-Acetoxy-2,3-dimethylbutyrolacton (**35**) reagieren. Aus ihnen lässt sich, parallel zum Mechanismus der sauren Dehydratisierung tertiärer Alkohole, im Rahmen einer E1-Reaktion mittels 4-Toluensulfonsäure-Monohydrat Essigsäure abspalten. Dabei entstehen die D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanon (**36**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanon (**37**) (Abb. 31).<sup>114,131</sup>



**Abb. 31:** Synthese der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanon (**36**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanon (**37**).<sup>114,131</sup>

### 3.3.5.2 Darstellung der D-Ringe mit Thiophenonstruktur (40) und (41)

Bei der Metallierung von 3-Methylthiophen mit *n*-Butyllithium dirigiert das Schwefelatom das Metall in beide möglichen *ortho*-Positionen. Die gebildeten Organolithiumverbindungen verfügen über stark polare Kohlenstoff-Metall-Bindungen, in denen die Kohlenstoffatome negative Partialladungen tragen und damit basisch sowie nucleophil reagieren. Deshalb erfolgt leicht Transmetallierung der lithiumorganischen Verbindungen mit Borsäuretrimethylester zu Boronsäureestern, die sich mit Wasserstoffperoxid zu Borsäureestern und weiter zu einem Gemisch aus 3-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**38**) und 4-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**39**) oxidieren lassen.<sup>132</sup> Durch Alkylierung mit Ethyl- bzw. Methylodid lässt sich das 4-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**39**) in die D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**) bzw. 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon (**41**) überführen (Abb. 32).<sup>132,133</sup>

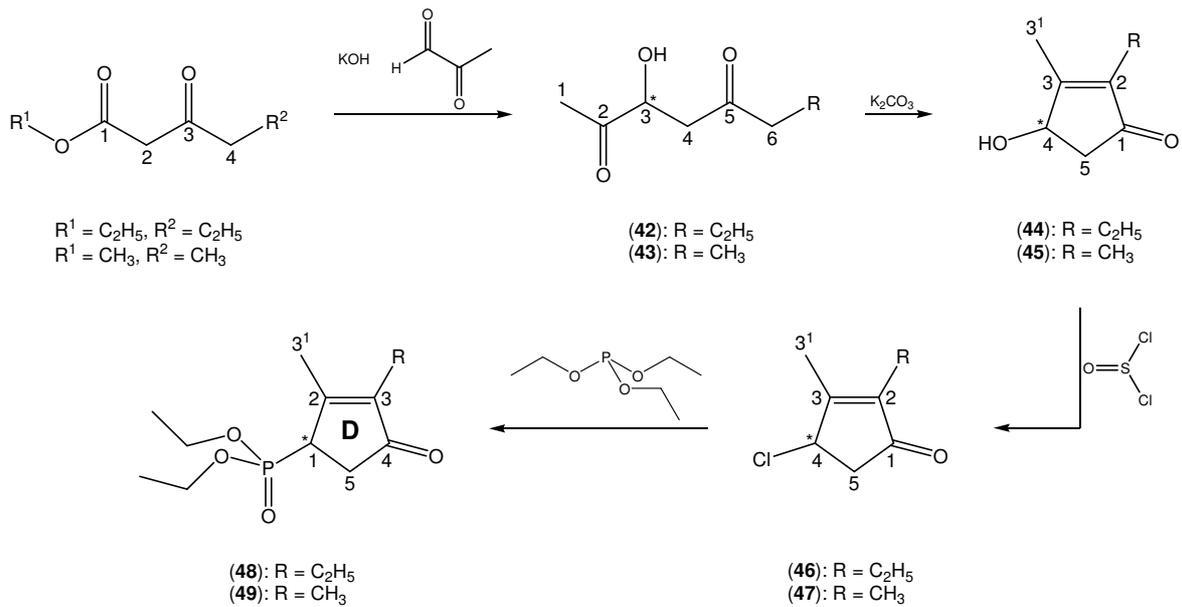


**Abb. 32:** Synthese der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon (**41**).<sup>132,133</sup>

### 3.3.5.3 Darstellung der D-Ringe mit Cyclopentenonstruktur (48) und (49)

In Gegenwart von Kaliumhydroxid lassen sich Butyrylessigsäureethylester bzw. 3-Oxopentansäuremethylester mit der aldehydischen Carbonylgruppe des Methylglyoxals unter Abspaltung von Ameisensäure zu 3-Hydroxyoctan-2,5-dion (**42**) bzw. 3-Hydroxyheptan-2,5-dion (**43**) umsetzen.<sup>134</sup> Diese Verbindungen werden durch basenkatalysierte intramolekulare Aldolkondensation zu den Alkoholen (**44**) bzw. (**45**) cyclisiert,<sup>135,136</sup> welche mit Thionylchlorid in einer inneren nucleophilen Substitutionsreaktion zu den entsprechenden Chloriden (**46**) bzw. (**47**) umgesetzt werden können.<sup>137</sup> Im Verlauf einer Michaelis-Arbuzov-Reaktion reagieren sie mit Triethylphosphit zu den D-Ringen (2-Ethyl-3-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**48**) und (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**49**) (Abb. 33).<sup>114,138</sup>

Dabei ist die Funktionalisierung zu Phosphonaten von grundlegender Notwendigkeit, um die D-Ringe (**48**) und (**49**) durch eine Horner-Emmons-Reaktion gezielt an der Position C(1) und nicht an der vicinalen, stärker aciden Position C(5) mit dem C-Ring (**33**) zu verknüpfen.

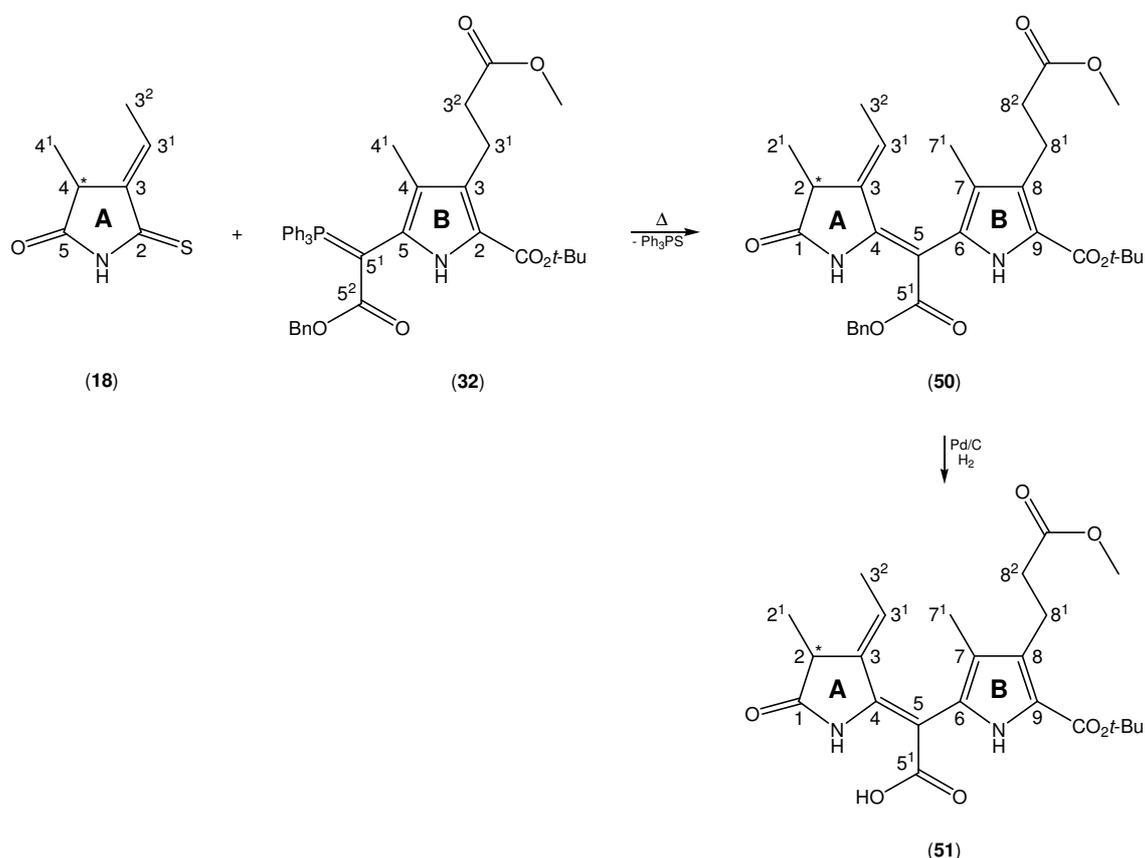


**Abb. 33:** Synthese der D-Ringe (3-Ethyl-2-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**48**) und 2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**49**).<sup>114,134-138</sup>

### 3.4 Darstellung der Dimeren

#### 3.4.1 Synthese des AB-Bausteins (51)

Der nucleophile Angriff der Ylidgruppe des B-Rings (**32**) an die Thiocarbonylgruppe des A-Rings (**18**) folgt dem Mechanismus einer Thio-Wittig-Reaktion unter Eliminierung von Triphenylphosphinsulfid, wobei die Ausbildung der starken Phosphor-Schwefel-Doppelbindung die Reaktion antreibt.<sup>31,81,128</sup> Durch chemoselektive palladiumkatalysierte Hydrogenolyse lässt sich die Benzylester-Funktion des entstandenen Dipyrin-1-(10*H*)-on-Derivats (**50**) in die Carbonsäure-Funktion des AB-Bausteins 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-carbonsäure (**51**) transformieren,<sup>82,139,140</sup> die damit einer späteren Decarboxylierung zugänglich ist (Abb. 34).



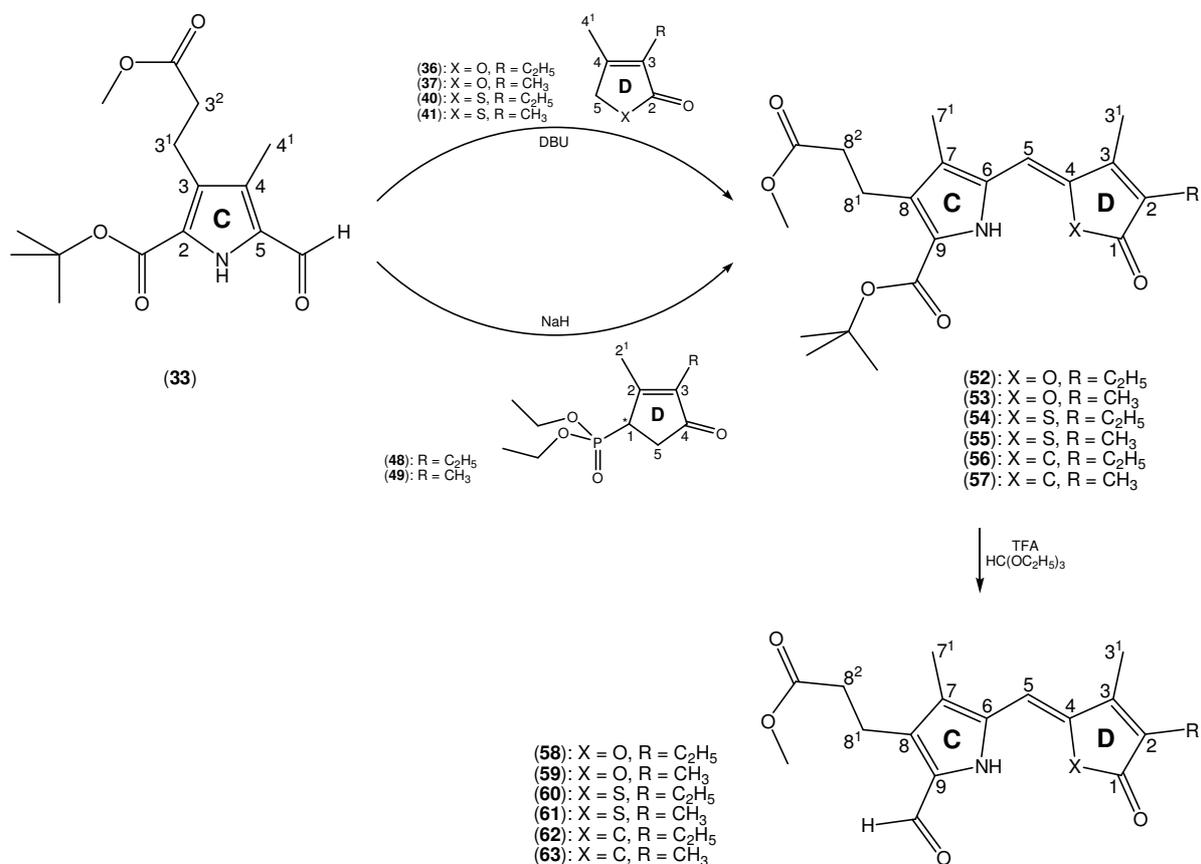
**Abb. 34:** Synthese des AB-Bausteins 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-carbonsäure (**51**).<sup>31,81,82,128,139,140</sup>

#### 3.4.2 Synthese der CD-Bausteine

Die Kupplung des C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) mit den Furanonen (**36**) und (**37**) sowie den Thiophenonen (**40**) und (**41**) zu den entsprechenden Produkten (**52**)–(**55**) folgt dem Mechanismus einer

Knoevenagel-Reaktion, in der DBU als katalysierende Base eingesetzt wird.<sup>32,141</sup> Alternativ dazu wird die Kupplung des C-Rings (**33**) mit den Cyclopentenonen (**48**) und (**49**), ihrem Substitutionsmuster entsprechend, im Rahmen einer Horner-Emmons-Reaktion durchgeführt, bei der Natriumhydrid als Base dient. Hierbei entstehen die zwei Dimeren (**56**) und (**57**).<sup>138,142</sup>

Um die Kupplungsreaktion mit dem AB-Baustein zu ermöglichen, erfolgt danach in beiden Fällen unter sauren Reaktionsbedingungen eine formale elektrophile Substitution der *tert*-Butylestergruppe durch das Acetalkation des Orthoameisensäuretrimethylesters. Im Folgeschritt wird die Formylgruppe der CD-Bausteine (**58**)–(**63**) gebildet (Abb. 35).<sup>32,83</sup>

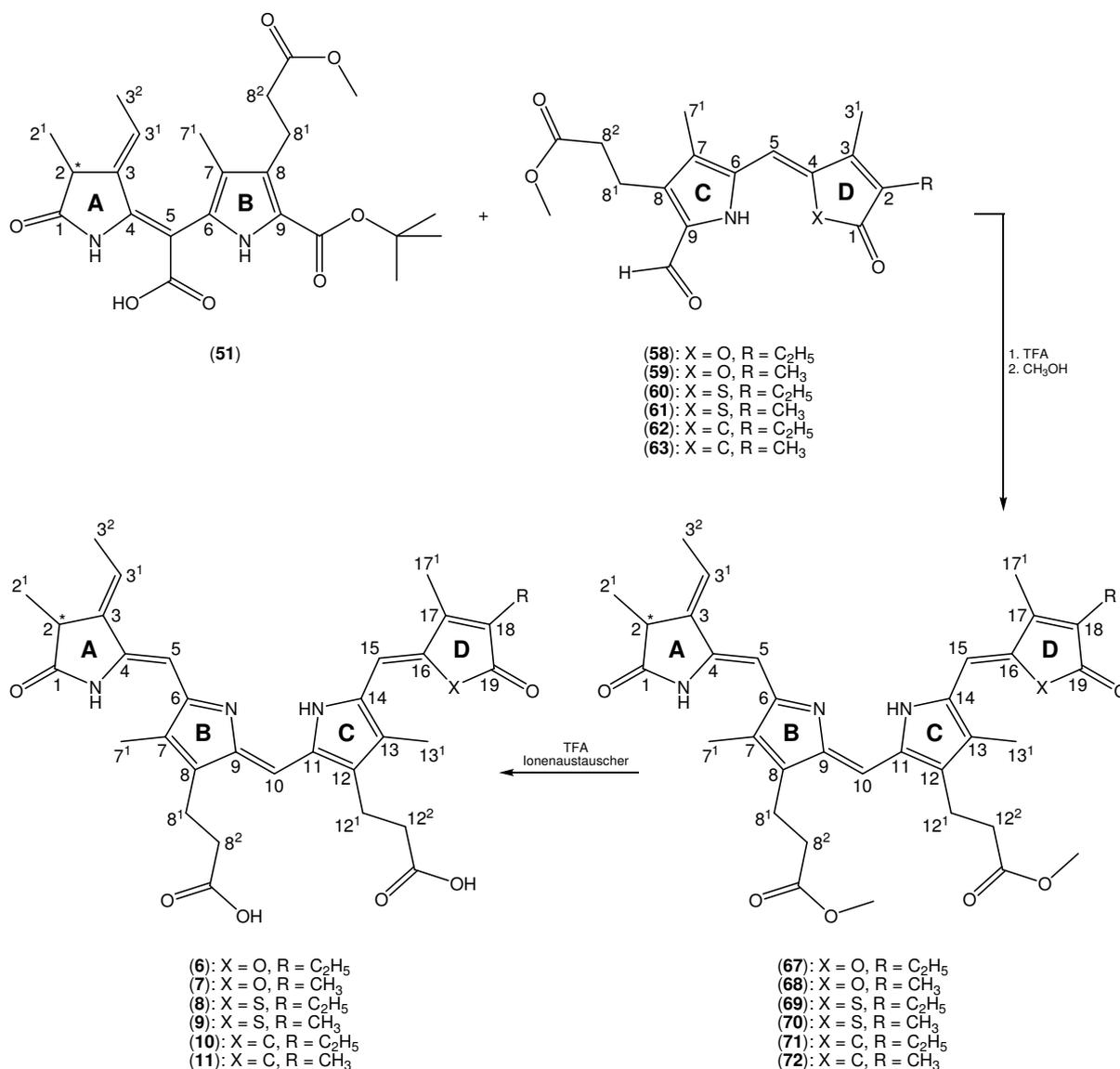


**Abb. 35:** Synthese der CD-Bausteine (**58**)–(**63**) nach dem Mechanismus der Knoevenagel-Reaktion<sup>32,141</sup> sowie dem alternativen Mechanismus der Horner-Emmons-Reaktion<sup>138,142</sup> und anschließender Formylierung.<sup>32,83</sup>

Unter den Bedingungen der Knoevenagel-Reaktion ist eine gezielte Umsetzung des C-Rings (**33**) mit an Position C(1) unsubstituierten Cyclopentenonen nicht möglich, da die Wasserstoffatome an Position C(5) eine höhere Acidität besitzen als die an Position C(1). Es bildete sich bevorzugt das Produkt, in dem die Position C(5) des D-Rings über eine Methinbrücke mit dem C-Ring (**33**) verbunden ist, was zum Verlust der geometrischen Information des Zielmoleküls führte (Abb. 73).

### 3.5 Darstellung der Tetrameren

Die säurekatalysierte Kondensationsreaktion zwischen der *tert*-Butylestergruppe des AB-Bausteins (**51**) und der Formylgruppe der CD-Bausteine (**58**)–(**63**) wird durch die leichte Spaltbarkeit des *tert*-Butylesters in (**51**) unter sauren Bedingungen begünstigt. Gleichzeitig erfolgt die Decarboxylierung der Säurefunktion an Position C(5) des Dipyrrin-1-(10*H*)-on-Derivats (**51**). Nach Zugabe von Methanol bilden sich die tetrapyrrolanalogen Dimeylester (**67**)–(**72**).<sup>32,83</sup> Um eine spätere Assemblierung der Chromophore mit dem Protein zu ermöglichen, werden die Propionsäureester im Rahmen einer durch sauren Ionenaustauscher vermittelten Spaltung in die freien Säurefunktionen der PCB-analogen Derivate (**6**)–(**11**) überführt (Abb. 36).<sup>31,32</sup>



**Abb. 36:** Synthese der Chromophore (**6**)–(**11**) durch säurekatalysierte Kondensation<sup>32,83</sup> und anschließende Spaltung der Methylestergruppen.<sup>31,32</sup>

## 4 Ergebnisse und Diskussion der synthetischen Arbeiten

### 4.1 Darstellung der Monomeren

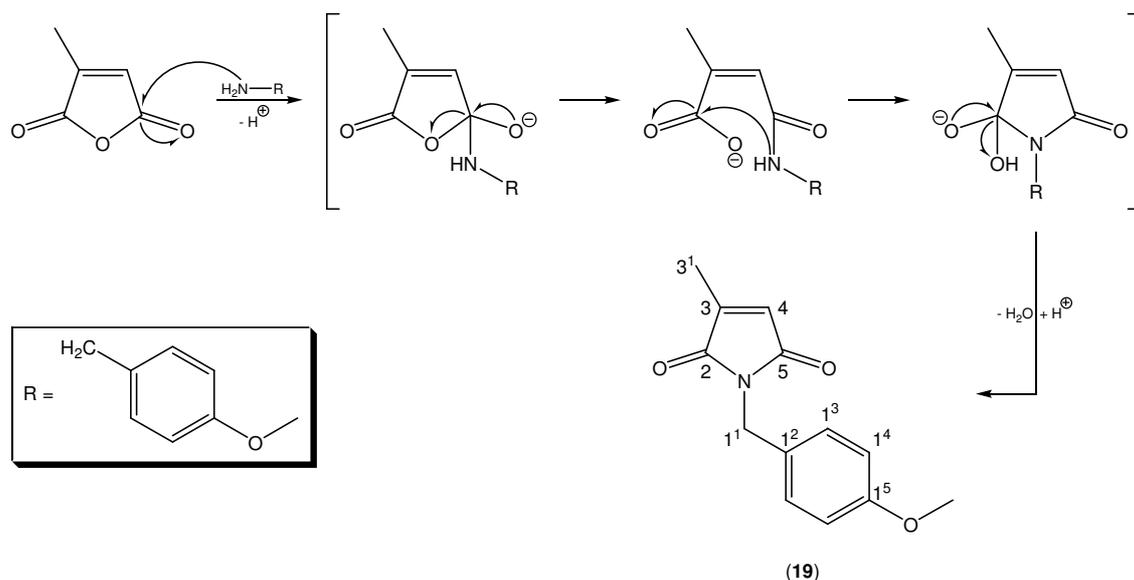
#### 4.1.1 Synthese des A-Rings (18)

##### 4.1.1.1 Chloracetonitril-Route

Da es sich bei der Synthese des A-Rings (**18**) nach Gossauer *et al.*<sup>81</sup> um ein in der Arbeitsgruppe Gärtner etabliertes und hinreichend dokumentiertes<sup>31,115</sup> Verfahren handelt, wird an dieser Stelle nicht vertiefend darauf eingegangen.

##### 4.1.1.2 Citraconsäureanhydrid-Route

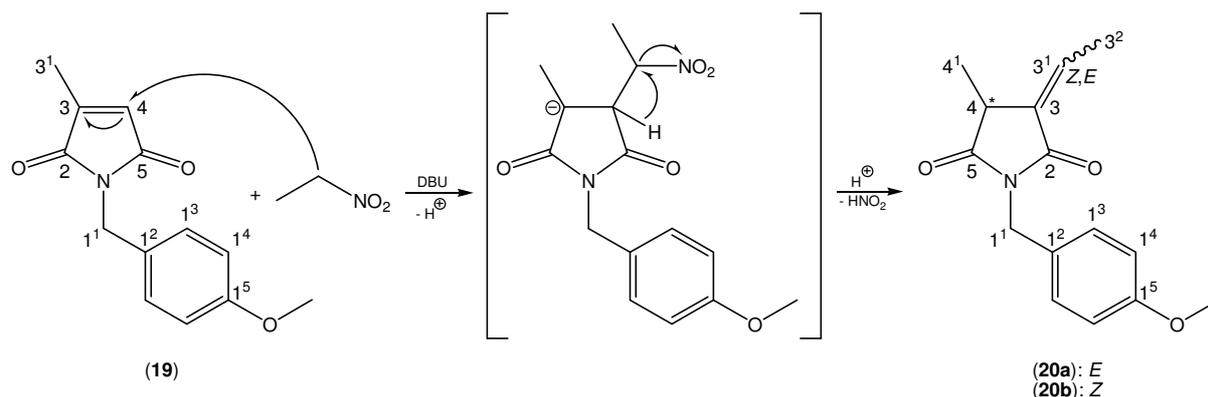
Ausgehend von Citraconsäureanhydrid wird die Pyrrolstruktur des A-Rings im Rahmen eines Additions-Eliminierungs-Mechanismus durch nucleophilen Angriff der primären Aminfunktion von 4-Methoxybenzylamin an eine der beiden äquivalenten Carbonylgruppen des Citraconsäureanhydrids geschaffen (Abb. 37). Dabei entsteht ausschließlich das Reaktionsprodukt 1-(4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**19**).



**Abb. 37:** Synthese des 1-(4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dions (**19**).

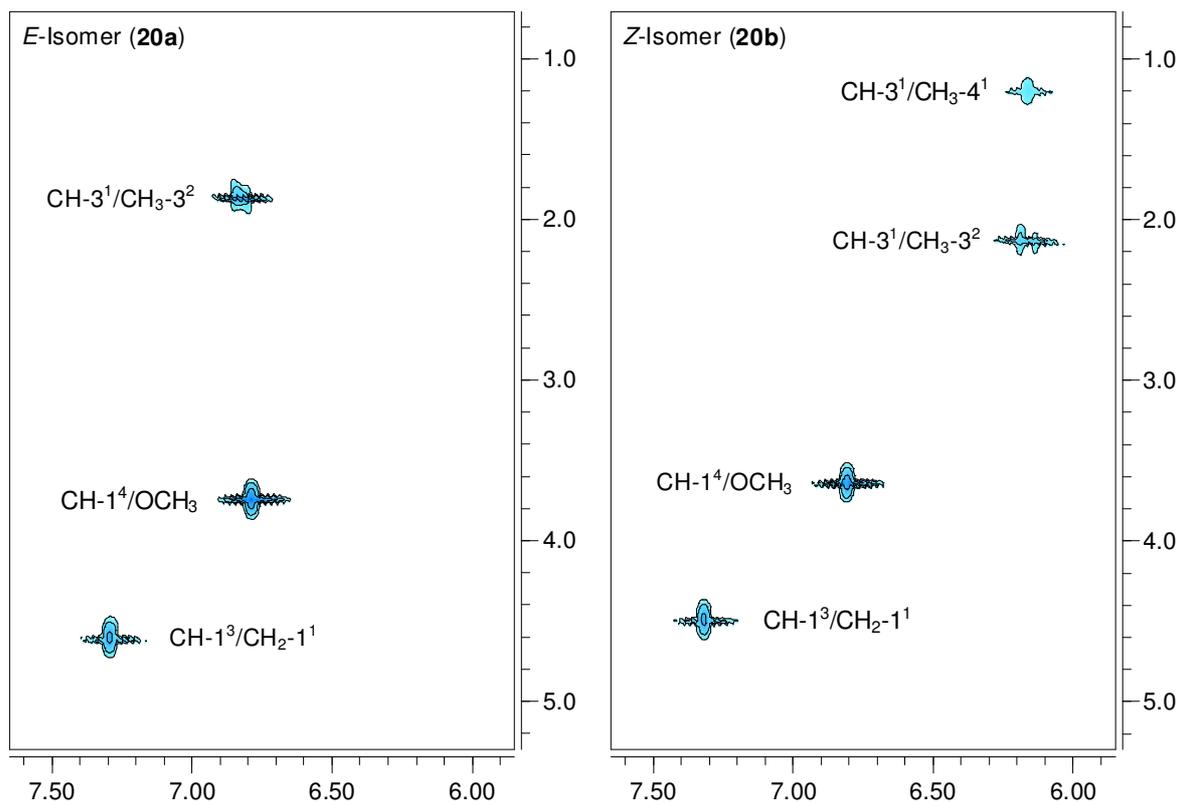
Dieses wird durch eine Michael-Addition mit Nitroethan umgesetzt.<sup>143</sup> Während der Reaktion deprotoniert die Base DBU Nitroethan an der  $\alpha$ -Position, welches anschließend die unsubstituierte Position C(4) der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Verbindung (**19**) nucleophil angreift. Unter Ausbildung der Ethylidengruppe wird salpetrige Säure freigesetzt, wobei sich ein Isomerengemisch aus (*E*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dion (**20a**) und (*Z*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dion (**20b**) bildet (Abb. 38).

## Ergebnisse und Diskussion der synthetischen Arbeiten



**Abb. 38:** Synthese der 3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dione (**20a**) bzw. (**20b**).

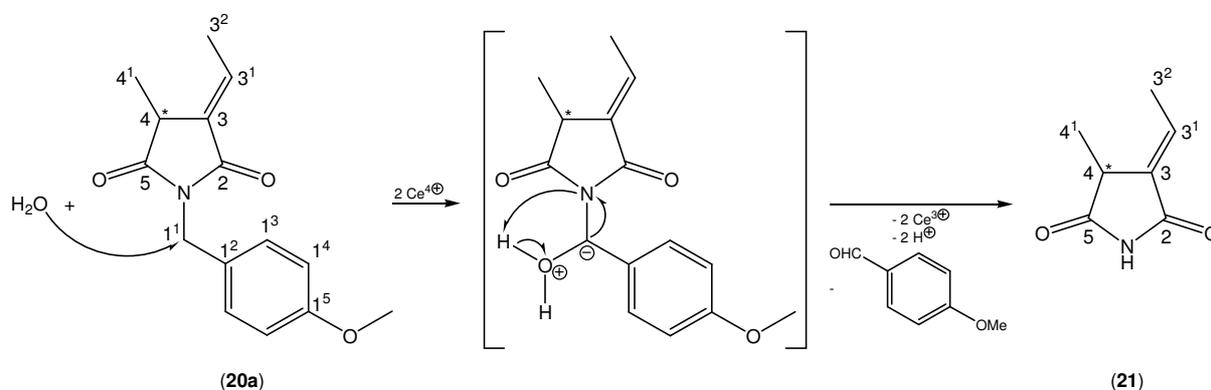
Im NOE-Spektrum des (*Z*)-Isomeren (**20b**) zeigen das Ethylidenproton CH-3<sup>1</sup> und die Methylprotonen CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup> ein durch Through-Space-Kopplung verursachtes Kreuzsignal. Außerdem ist das Signal der Methylprotonen CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>, verglichen mit dem des (*E*)-Isomers (**20a**), um 0.4 ppm tieffeldverschoben. Grund hierfür ist die Entschirmung der Protonen durch das Sauerstoffatom der Carbonylgruppe an Position C(2) (Abb. 39).



**Abb. 39:** Ausschnitte aus den NOE-Spektren der Isomeren des 3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dions (**20a**) bzw. (**20b**).

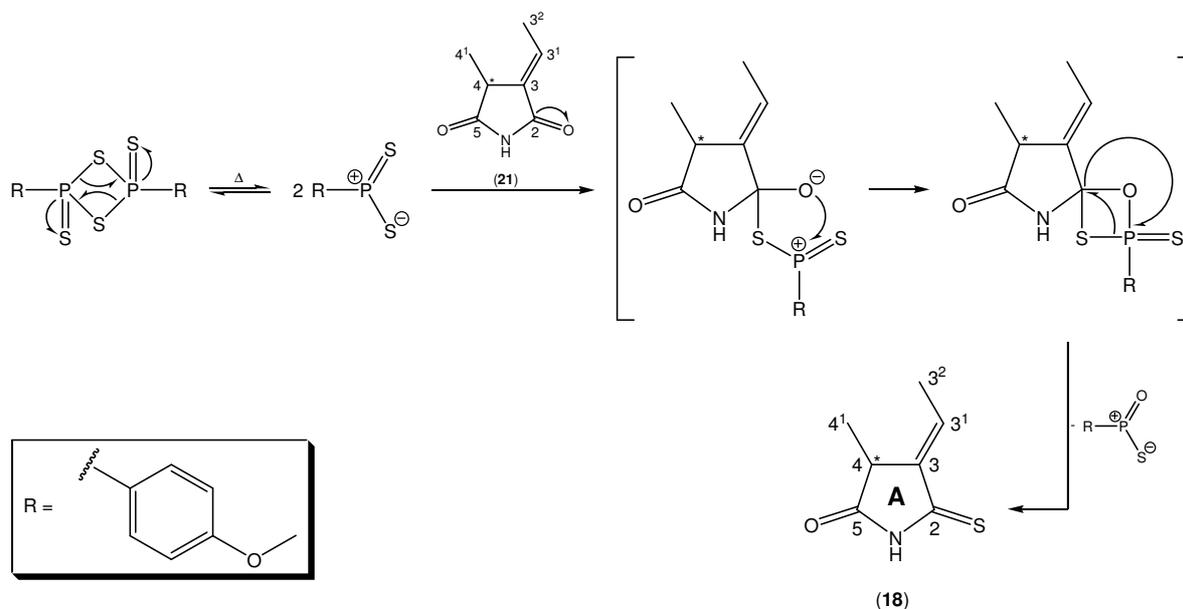
Dahingegen zeigt das NOE-Spektrum des (*E*)-Isomeren (**20a**) einen durch das Ethylidenproton CH-3<sup>1</sup> und die Methylprotonen CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup> verursachten Kreuzpeak, der im Vergleich zum (*Z*)-Isomeren (**20b**) einen Tieffeld-Shift um 0.7 ppm aufweist. Er wird ebenfalls

verursacht durch das Sauerstoffatom der Carbonylgruppe an Position C(2), welches in diesem Fall das Proton der Ethylidengruppe CH-3<sup>1</sup> entschirmt (Abb. 39).



**Abb. 40:** Synthese des 3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dions (**21**).

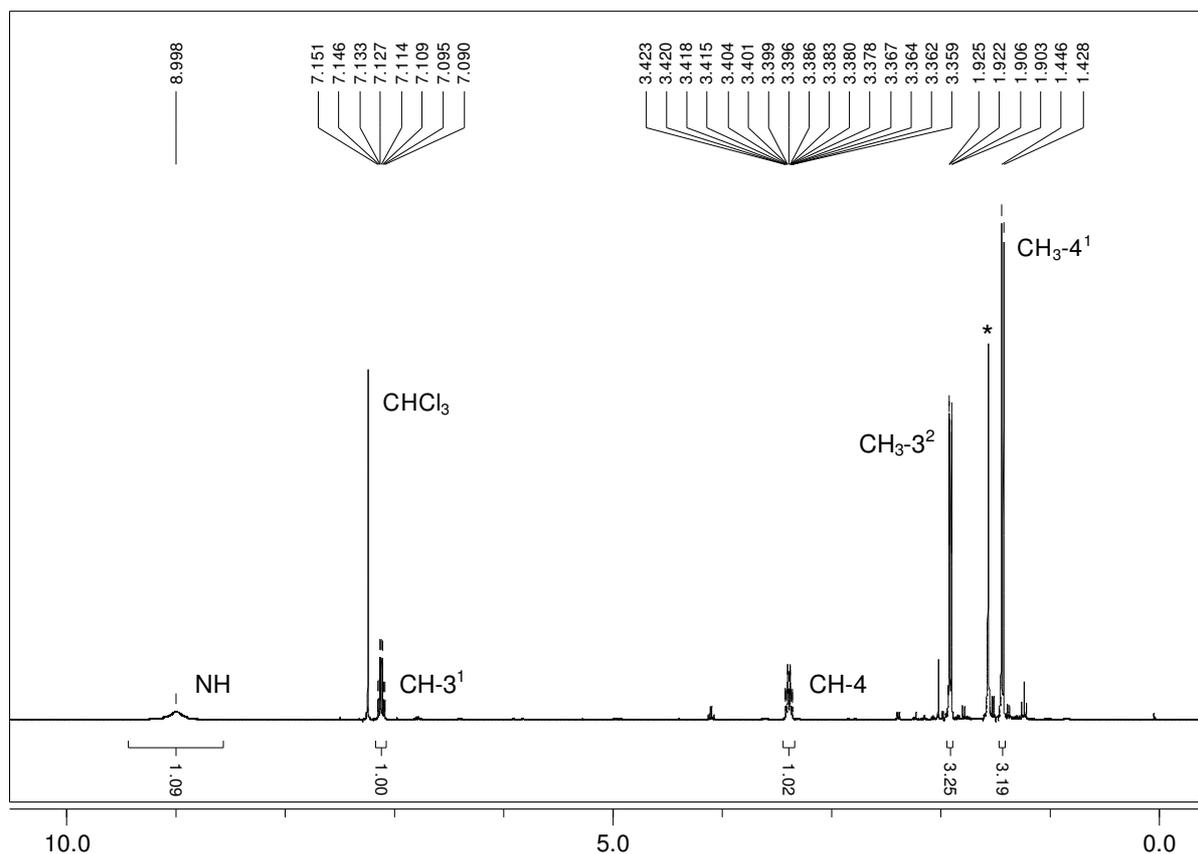
Da ausschließlich das (*E*)-Isomer (**20a**) die für den A-Ring (**18**) der Zielverbindungen geforderten stereochemischen Bedingungen erfüllt und Versuche zur photochemischen Überführung des (*Z*)-Isomeren (**20b**) in das (*E*)-Isomere (**20a**) scheiterten, wird nur die Substanz (**20a**) einer Oxidationsreaktion durch CAN unterworfen. In ihrem Verlauf wird die Methylengruppe des (*E*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dions (**20a**) an Position C(1<sup>1</sup>) unter Freisetzung des Produkts 3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**21**) zum korrespondierenden Alkohol und in der Folge weiter zum 4-Methoxybenzaldehyd oxidiert. Dabei werden Cer-(IV)- zu Cer-(III)-Ionen reduziert (Abb. 40).



**Abb. 41:** Synthese des A-Rings (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**).<sup>138</sup>

Anschließend wird das 3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**21**) regioselektiv mit Lawesson-Reagenz, das eine größere Reaktivität besitzt als Phosphorpentasulfid, an der Position C(2) thionyliert. Verursacht wird die Regioselektivität einerseits durch den im Vergleich zu der Methylgruppe an Position C(4) geringeren sterischen Anspruch der (*E*)-Ethylidengruppe an Position C(3), andererseits erfolgt eine zusätzliche Stabilisierung des Alkoholat-Ions an Position C(2) durch die Konjugation mit der Ethyliden-Doppelbindung.

Der Mechanismus der Umsetzung ist noch nicht endgültig geklärt. Wahrscheinlich findet im Verlauf der Reaktion eine thermische Spaltung des Lawesson-Reagenzes zu einem Sulfid statt, das die Carbonylgruppe des 3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dions (**21**) an Position C(2) nucleophil angreift.<sup>138</sup> Es bildet sich analog zur Wittig-Reaktion ein Betain, das zu einer cyclischen Zwischenstufe weiterreagiert. Aus dieser erfolgt unter Substitution des carbonylischen Sauerstoffatoms durch ein Schwefelatom die Freisetzung des A-Rings (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) (Abb. 41). Als Triebkraft der Reaktion dient die Ausbildung der sehr starken Phosphor-Sauerstoff-Bindung.



**Abb. 42:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des A-Rings (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimids (**18**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Verunreinigungen.

Charakteristisch für das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimids (**18**) (Abb. 42) ist das breite, auf das Vorliegen eines Thiosuccinimids deutende Singulett bei 9.00 ppm. Daneben zeigt das Signal des Ethylidenprotons CH-3<sup>1</sup> aufgrund der

benachbarten Methylgruppe  $\text{CH}_3\text{-}3^2$  und der Kopplung mit dem Proton  $\text{CH-}4$  die zu erwartende Aufspaltung als Dublett vom Quartett.

Mit dem Einführen der Thiocarbonylgruppe besteht die Möglichkeit, den A-Ring (**18**) und den B-Ring (**32**) im Rahmen einer Thio-Wittig-Reaktion regioselektiv miteinander zu verknüpfen. Da die Thiocarbonylgruppe eine größere Reaktivität als die Carbonylgruppe aufweist, findet die Bildung der olefinischen Bindung ausschließlich an ihr statt.

#### 4.1.1.3 Vergleich der angewandten Methoden

Während die relative Gesamtausbeute der Synthese des A-Rings (**18**) nach Gossauer *et al.*<sup>81</sup> nur 1 % beträgt, liefert die Methode nach Inomata *et al.*<sup>116,117</sup> 9 %. Erstere ist der zweiten einerseits aufgrund der um drei Reaktionen längeren Syntheseroute unterlegen, in deren Verlauf hydrolyseempfindliche Zwischenprodukte wie z. B. das Säurechlorid (**15**) entstehen, andererseits dienen die gesundheitsschädlichen Gase Ammoniak und Schwefelwasserstoff als Reaktanden, die einen höheren apparativen Aufwand erfordern.

#### 4.1.2 Synthese der Vorstufe des B- und C-Rings (**28**)

Da das als gemeinsame Vorstufe für den B- und C-Ring dienende Pyrrol (**28**) über ein komplexes Substitutionsmuster verfügt, welches nicht nachträglich in die Ringstruktur eingebracht werden kann, muss es aus zwei Molekülen aufgebaut werden. Dazu bieten sich Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**23**) und 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**27**) an, da sie bereits über geeignete Substituenten verfügen.

##### 4.1.2.1 Darstellung des Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**23**)

Zur Synthese des Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**23**) erfolgt die Überführung des Formamids in sein Natriumsalz mit Natriummethanolat-Lösung. Nach Abdestillieren des überschüssigen Methanols wird es mit Chloressigsäure-*tert*-butylester umgesetzt. Unter Austritt eines Chloridions führt der nucleophile Angriff des Formamid-Anions an die zur Esterfunktion des Chloressigsäure-*tert*-butylesters  $\alpha$ -ständige Methylengruppe zum N-Formylglycin-*tert*-butylester (**22**). Dieser wird unter Einsatz des wasserziehenden Phosphorylchlorids zum Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**23**) dehydratisiert, wobei entstehender Chlorwasserstoff durch zugesetztes Triethylamin gebunden wird (Abb. 43).

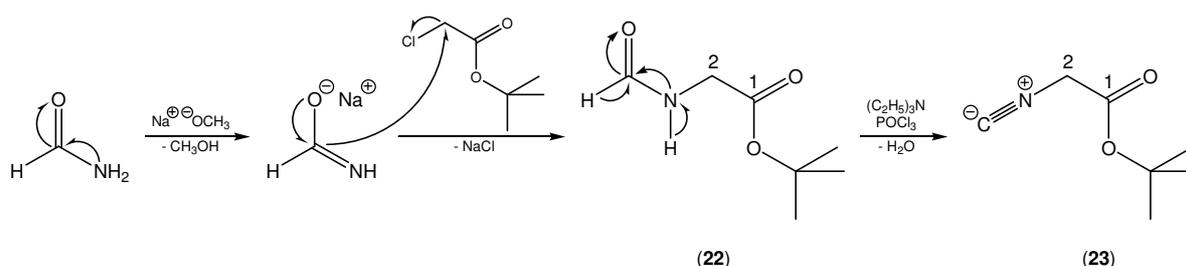


Abb. 43: Synthese des N-Formylglycin-*tert*-butylesters (**22**) und Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**23**).

#### 4.1.2.2 Darstellung des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (27)

Beim ersten Schritt der Synthese des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (27) handelt es sich um eine basenkatalysierte Ringöffnung von  $\gamma$ -Butyrolacton. In ihrem Verlauf deprotoniert Triethylamin Methanol. Anschließend erfolgt ein nucleophiler Angriff des Methanolat-Ions an die Carbonylgruppe des  $\gamma$ -Butyrolactons und die Reaktion des entstandenen Alkoholats zu 4-Hydroxybutansäuremethylester (24) (Abb. 44).

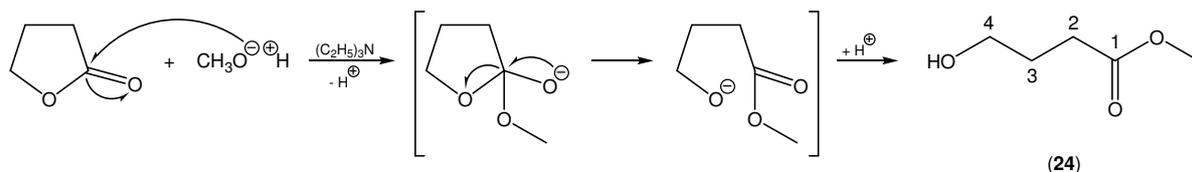


Abb. 44: Synthese des 4-Hydroxybutansäuremethylesters (24).

Die Umsetzung des  $\gamma$ -Butyrolactons zu 4-Hydroxybutansäuremethylester (24) ergibt, wie in der Literatur beschrieben, reproduzierbare Ausbeuten von 80 %.<sup>119</sup> NMR-spektroskopische Untersuchungen des Produkts, aus dem Methanol sowie Triethylamin weitestgehend abdestilliert worden sind und das bei 4 °C mehrere Wochen gelagert wird, zeigen, dass der Anteil an 4-Hydroxybutansäuremethylester (24) zugunsten des Lactonanteils abnimmt. Vermutlich handelt es sich um eine Gleichgewichtsreaktion, in der Spuren von Triethylamin die Rückreaktion zum Lacton ermöglichen.

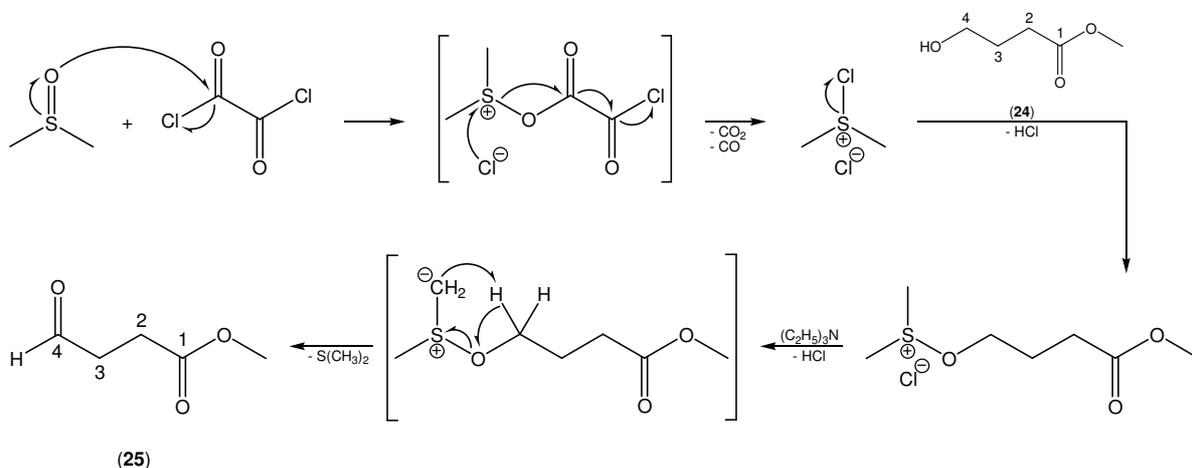
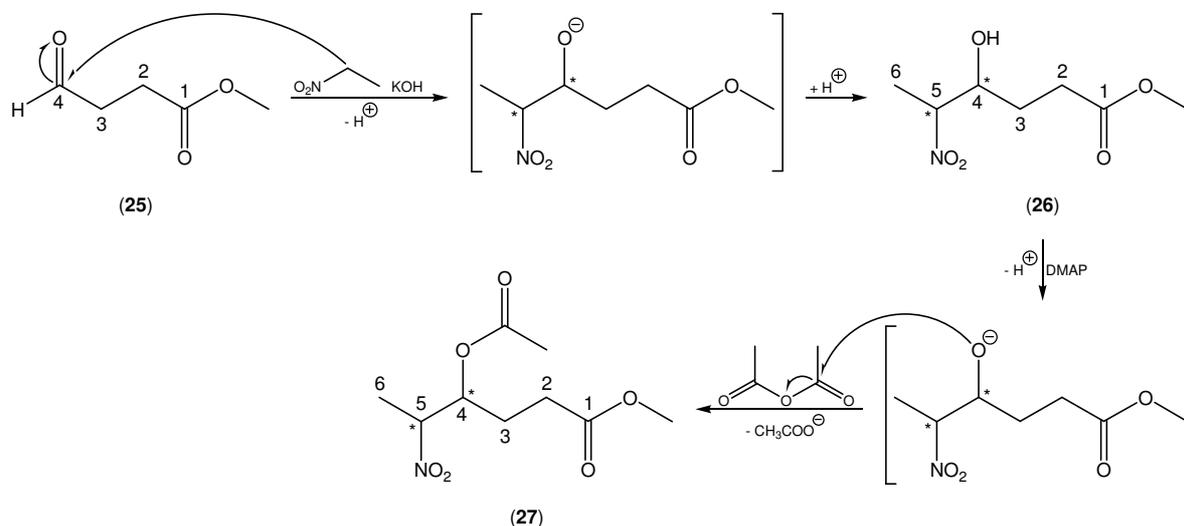


Abb. 45: Synthese des 4-Oxobutansäuremethylesters (25) durch eine Swern-Oxidation.<sup>138,144,145</sup>

Da sich das Produktgemisch weder destillativ noch säulenchromatographisch trennen lässt, wird es ohne weitere Aufarbeitung einer Swern-Oxidation unterworfen, unter deren Bedingungen keine Reaktion des noch vorhandenen  $\gamma$ -Butyrolactons stattfindet. In ihrem Verlauf wird Dimethylsulfoxid intermediär durch Reaktion mit Oxalsäuredichlorid in das korrespondierende Sulfoniumsalz überführt, dessen stark elektrophiles Schwefelatom den Alkohol (24) unter Substitution des alkoholischen Protons angreift. Aus dem gebilde-

ten Sulfoniumsalz entsteht unter Zugabe von Triethylamin ein Alkoxysulfoniumylid,<sup>144,145</sup> das durch Freisetzung von Dimethylsulfid unter den gegebenen Bedingungen den nicht weiter oxidierbare 4-Oxobutansäuremethylester (**25**) bildet (Abb. 45).<sup>138</sup>



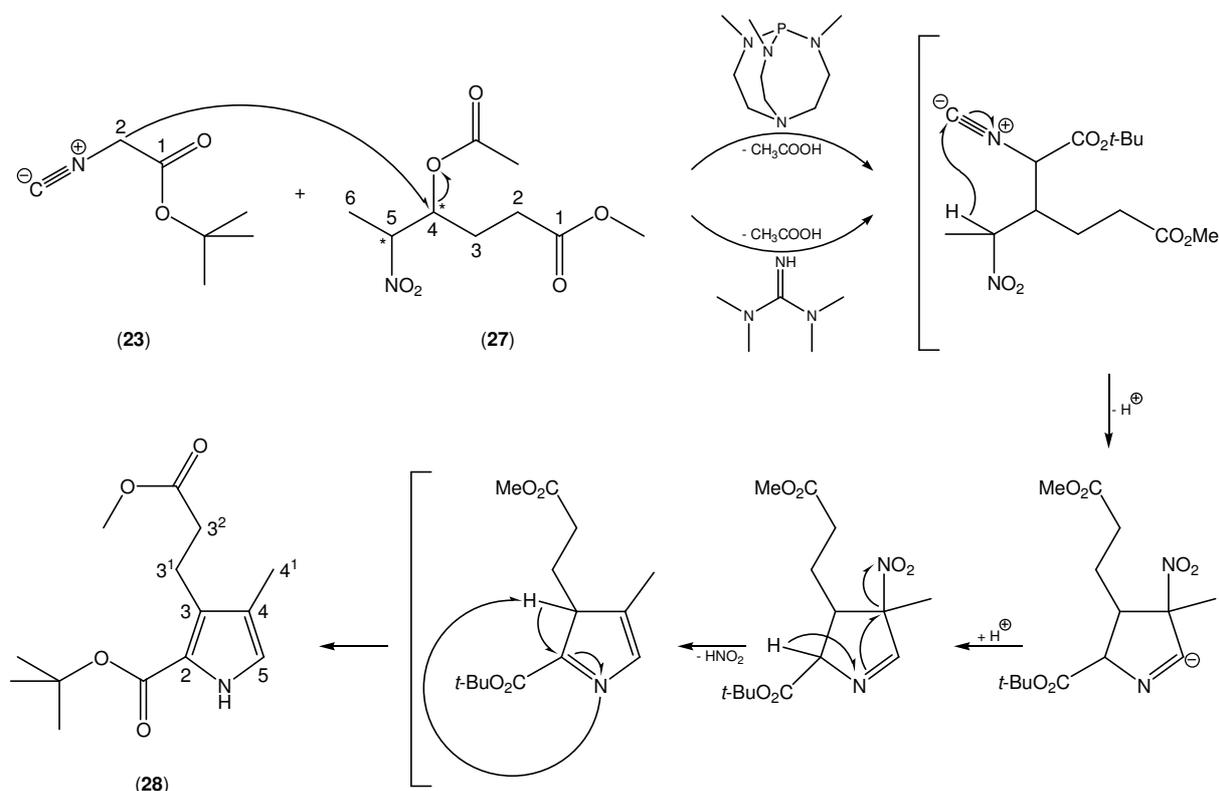
**Abb. 46:** Synthese des 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylesters (**26**) sowie des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (**27**).

Der 4-Oxobutansäuremethylester (**25**) wird in einer basenkatalysierten Kondensationsreaktion mit Nitroethan umgesetzt. In ihrem Verlauf deprotoniert Kaliumhydroxid die zum Nitrosubstituenten  $\alpha$ -ständige Methylengruppe. Das dabei gebildete Carbanion greift den 4-Oxobutansäuremethylester (**25**) nucleophil an dessen aldehydischer Carbonylfunktion an, wodurch der Alkohol 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylester (**26**) gebildet wird. Diese Verbindung wird mit Essigsäureanhydrid verestert. Obwohl Alkohole mit Säureanhydriden schneller reagieren als mit Säuren, dient dabei die Base DMAP der Reaktionsbeschleunigung. Sie deprotoniert den 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylester (**26**) an dessen Alkoholfunktion, wobei sich ein Alkoholat-Ion bildet, das das Essigsäureanhydrid an einer seiner Carbonylfunktionen nucleophil angreift. Unter Freisetzung von Essigsäure bildet sich im Anschluss daran der 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**27**) (Abb. 46).

#### 4.1.2.3 Ringschlussreaktion zum Pyrrol (**28**)

Mit dem Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**23**) und dem 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**27**) liegen die Moleküle vor, aus denen sich die Vorstufe des B- und C-Rings, der 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**28**), darstellen lässt. Zwei Varianten der basenkatalysierten Ringschlussreaktion werden durchgeführt: Im ersten Fall dient TMG,<sup>125</sup> im zweiten Fall die sogenannte Verkade-Superbase<sup>126,127</sup> als Katalysator. Beide Umsetzungen verlaufen in einem Lösemittelgemisch aus THF und 2-Propanol. Dabei wird die zur Carbonylfunktion des Isocyanoessigsäure-

*tert*-butylesters (**23**)  $\alpha$ -ständige Methylengruppe durch die Basen deprotoniert, wodurch unter Abspaltung des Acetatrests der anschließende nucleophile Angriff des Carbens an die Nitroverbindung (**27**) ermöglicht wird. Der Ringschluss zum Pyrrol (**28**) findet unter Abspaltung von salpetriger Säure und gleichzeitiger Ausbildung des aromatischen Systems statt (Abb. 47).

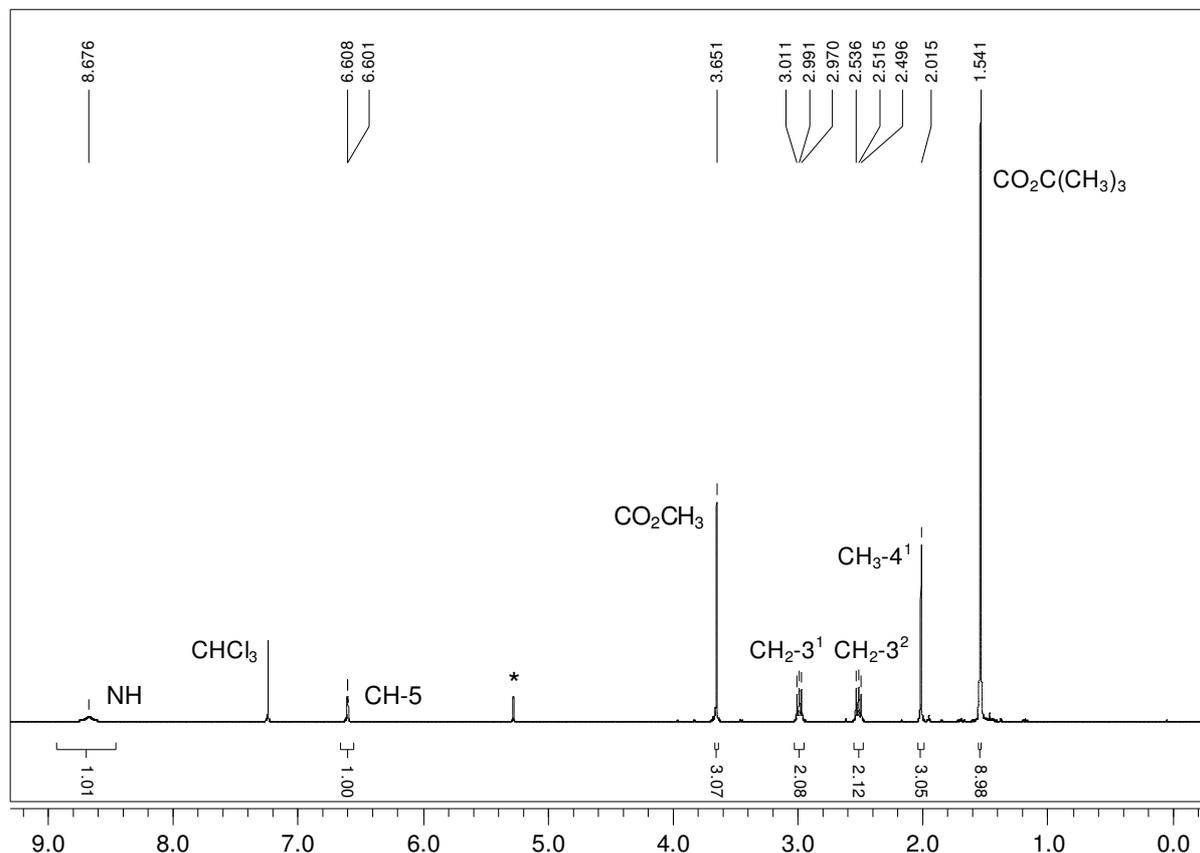


**Abb. 47:** Synthese des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**).

Verläuft die durch TMG katalysierte Ringschlussreaktion mit 34 % Ausbeute bezüglich der äquimolar eingesetzten Edukte (**23**) und (**27**), so lassen sich durch die mittels Verkade-Superbase katalysierten Umsetzung 75 % des Produkts (**28**) gewinnen. Ein weiterer Vorteil der letzteren Methode liegt in der hinreichend hohen Reinheit des Reaktionsgemisches nach Extraktion, so dass auf eine säulenchromatographische Aufreinigung verzichtet werden kann. Als Nachteil erweist sich allerdings die schwierige Handhabung der Verkade-Superbase. Da es sich bei ihr um eine wachsartige und gleichzeitig hydrolyseempfindliche Substanz handelt, ist sie nur unter hohem Aufwand in die Reaktionsapparatur zu überführen.

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**) wird vor allem durch das breite Signal des pyrrolischen Wasserstoffs bei 8.7 ppm sowie das Signal des Protons an Position C(5) bei 6.6 ppm charakterisiert. Letzteres wird durch die  $^3\text{J}$ -Kopplung mit dem Pyrrol-Proton zu einem Dublett aufgespalten, dessen Kopplungskonstante 2.8 Hz beträgt. Die entsprechende Aufspaltung

des NH-Signals ist aufgrund seiner starken Verbreiterung nicht erkennbar. Daneben sind die zwei Singulett-Signale der Ester sowie die jeweils zu einem Triplet aufgespaltenen Signale der zueinander benachbarten Methylengruppen der Propionsäureester-Seitenkette zu erkennen (Abb. 48).



**Abb. 48:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Lösemittelrest.

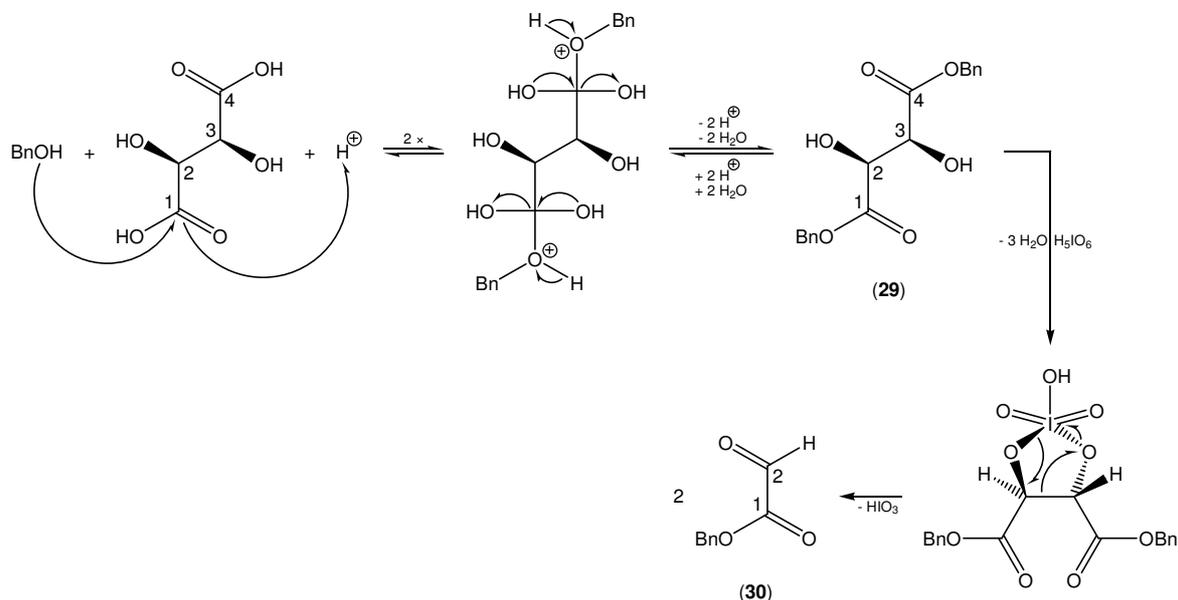
### 4.1.3 Synthese des B-Rings (**32**)

Um den B-Ring (**32**) im Rahmen einer Thio-Wittig-Reaktion mit dem A-Ring (**18**) kuppeln zu können, muss die Vorstufe des B- und C-Rings 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**28**) in ein Ylid überführt werden. Dazu wird (**28**) mit Glyoxylsäurebenzylester (**30**) zu einem Hydroxymethylderivat (**31**) umgesetzt, in das im Folgeschritt die Triphenylphosphingruppe eingeführt wird.

#### 4.1.3.1 Darstellung des Glyoxylsäurebenzylesters (**30**)

Durch direkte Veresterung der D(-)-Weinsäure mit Benzylalkohol lässt sich der D(-)-Weinsäuredibenzylester (**29**) synthetisieren. Da die Säure infolge ihrer geringen Carbonylaktivität nur langsam mit dem Alkohol reagiert, wird die starke Säure 4-Toluensulfonsäure-Monohydrat zugesetzt, welche die Carboxylgruppen der D(-)-Weinsäure protoniert. Dadurch wird die Acidität des Carbonylkohlenstoffs erhöht und so der nucleophile

Angriff des Benzylalkohols beschleunigt. Das Gleichgewicht der Reaktion wird durch einen dreifachen Überschuss des eingesetzten Benzylalkohols und durch das Abdestillieren des entstehenden Wassers auf die Produktseite verschoben (Abb. 49).



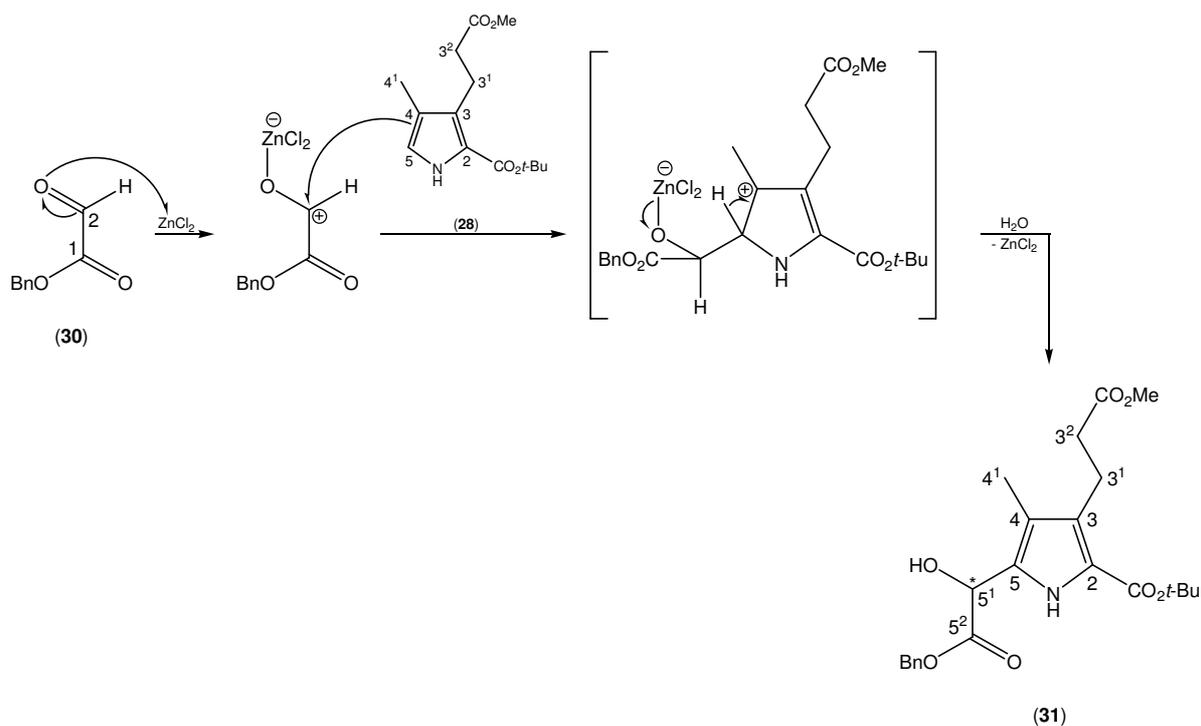
**Abb. 49:** Synthese des Weinsäuredibenzylesters (29) und seine anschließende Spaltung durch Periodsäure zu Glyoxylsäurebenzylester (30).

Durch die Umsetzung des Weinsäuredibenzylesters (29) mit Periodsäure unter den Bedingungen einer Glykolspaltung bildet sich unter Freisetzung von Wasser intermediär ein Fünfring, welcher aus den zwei die Hydroxygruppen tragenden Kohlenstoffatomen, den beiden Hydroxy-Sauerstoffatomen und dem Iodatom besteht. Die Spaltung der Bindung zwischen den vormaligen Hydroxygruppen des Weinsäuredibenzylesters (29) ermöglicht ihre Überführung in Carbonylgruppen. Dabei werden zwei Moleküle Glyoxylsäurebenzylester (30) freigesetzt, gleichzeitig fällt das vom siebenwertigen zum fünfwertigen Zustand reduzierte Iod in Form von Iodsäure aus (Abb. 49).

#### 4.1.3.2 Darstellung des Ylids (32)

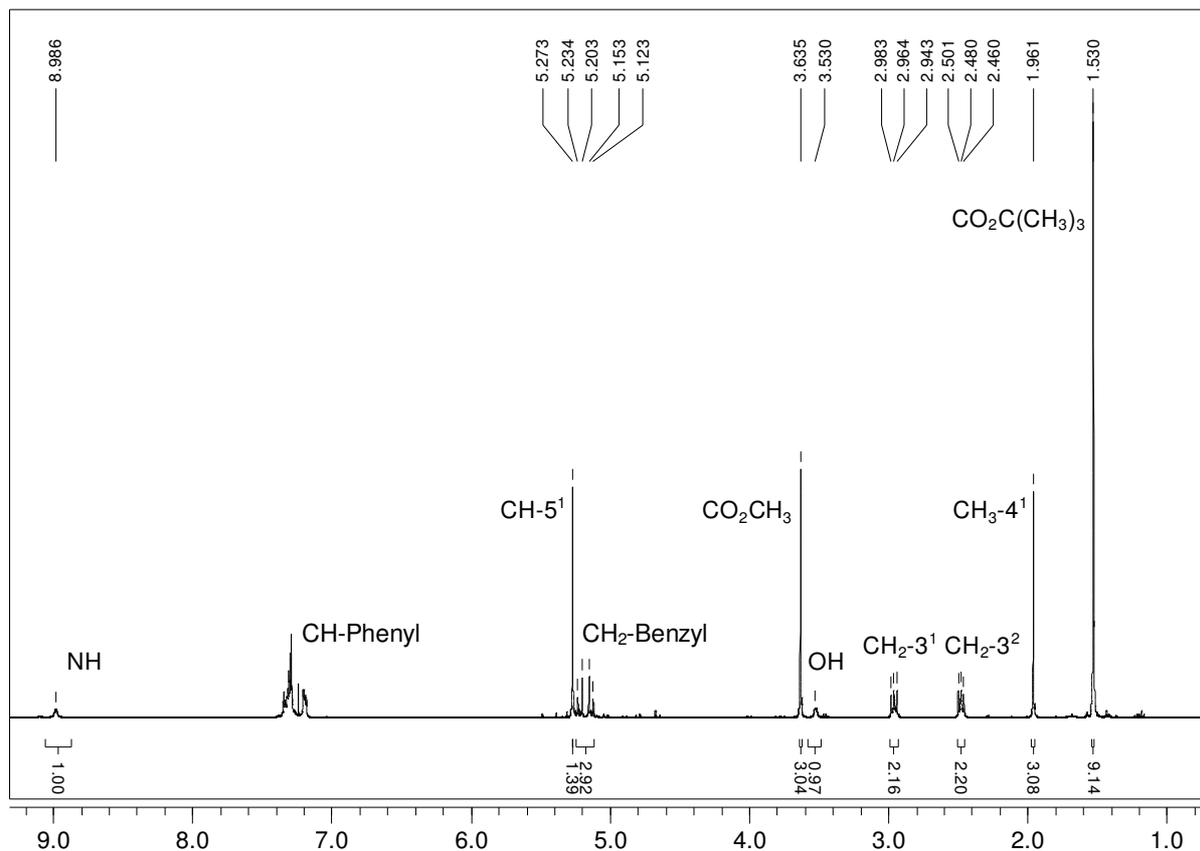
Da im Verlauf der Thio-Wittig-Reaktion, die zur Ausbildung der olefinischen Bindung zwischen A- (18) und B-Ring (32) führt, das Ylid (32) in seiner zwitterionischen Form mit dem partiell negativ geladenen Kohlenstoffatom die Thiocarbonylgruppe des A-Rings (18) angreift (Abb. 63), ist es notwendig, dass ein Substituent dieses Kohlenstoffatoms dessen negative Ladung stabilisiert. Dieser Zweck ließe sich durch den mesomeren Effekt der Carboxylgruppe der Glyoxylsäure erfüllen. Da jedoch das Ylid (32) hydrolyseempfindlich ist, muss die Carboxylgruppe als Benzylester geschützt werden. Die Schutzgruppe bietet den zusätzlichen Vorteil, dass sie sich selektiv unter Erhalt der Methylester- und *tert*-Butylesterfunktion des Dipyrinons (50) durch palladiumkatalysierte Hydrierung wieder entfernen lässt (Abb. 66).

Die Lewis-Säure Zinkchlorid katalysiert die elektrophile aromatische Substitutionsreaktion zwischen der Vorstufe (**28**) des B- und C-Rings und dem Glyoxylsäurebenzylester (**30**), indem sie die elektrophile Aktivität des Aldehyds (**30**) erhöht. Hierdurch wird in der Folge der elektrophile Angriff an die Position C(5) des Pyrrols (**28**) und die Bildung des 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylesters (**31**) ermöglicht (Abb. 50).



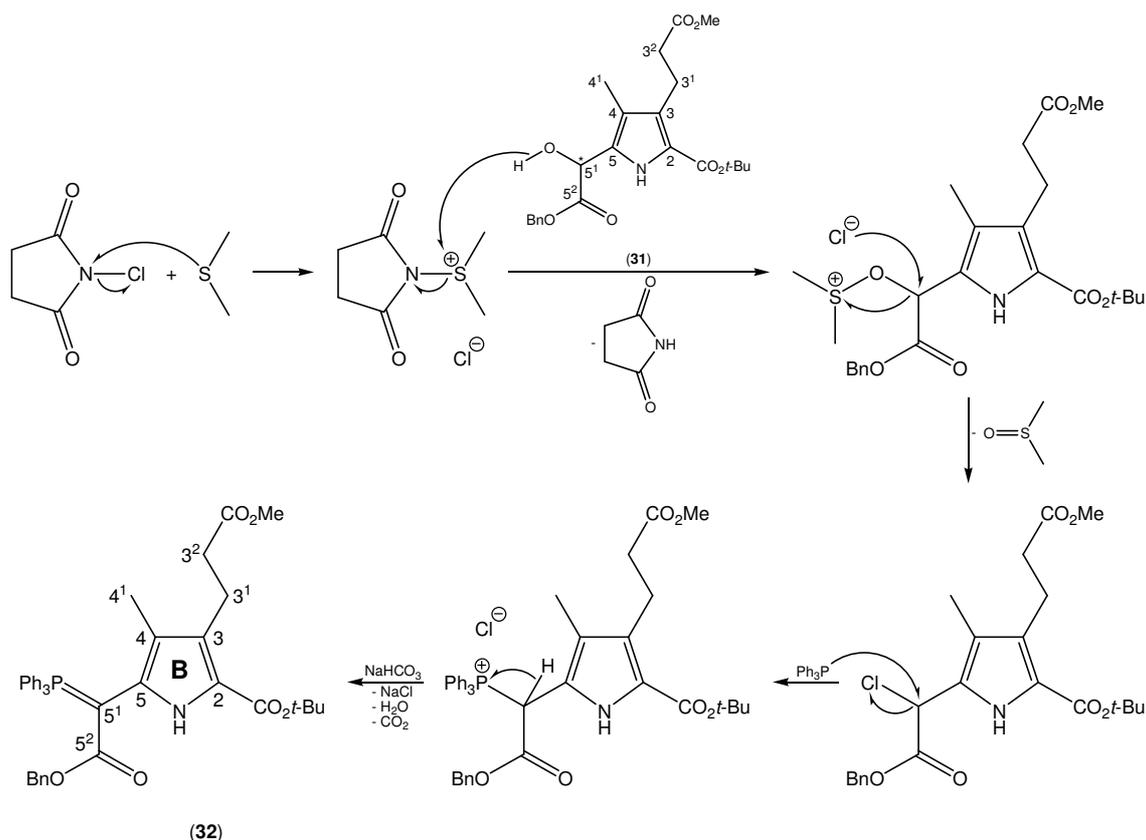
**Abb. 50:** Umsetzung des Glyoxylsäurebenzylesters (**30**) mit der Vorstufe (**28**) des B- und C-Rings zu 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylester (**31**).

Charakteristisch für das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Reaktionsprodukts (**31**) sind die Signale der Wasserstoffatome des Phenylrests. Dabei zeigen die *ortho*-ständigen Protonen zwischen 7.18 und 7.21 ppm und die *meta*- sowie *para*-ständigen Protonen zwischen 7.29 und 7.35 ppm ein Multiplettsignal. Daneben resultieren für die Wasserstoffatome der  $\text{CH}_2$ -Benzylgruppe zwei Dublettsignale bei 5.14 und 5.22 ppm aus dem vorliegenden AB-System. Ein weiterer Nachweis für den erfolgreichen Verlauf der Umsetzung ist sowohl das Signal des Protons an Position C( $5^1$ ) bei 5.3 ppm als auch das breite Signal der geminalen Hydroxygruppe bei 3.5 ppm (Abb. 51).



**Abb. 51:** 400-MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Reaktionsprodukts 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylester (**31**) in  $\text{CDCl}_3$ .

Die Substitution der Hydroxygruppe des Reaktionsprodukts (**31**) gegen eine an Position  $\text{C}(5^1)$  doppelt gebundene Triphenylphosphingruppe vollzieht sich in zwei Schritten (Abb. 52). Im ersten Schritt erfolgt die Bildung eines Komplexes aus Dimethylsulfid und NCS sowie dessen Umsetzung mit (**31**). Dabei greift der Hydroxy-Sauerstoff das positive Schwefelatom des Komplexes an. Unter gleichzeitiger Freisetzung von DMSO folgt ein nucleophiler Angriff des Chlorid-Ions an Position  $\text{C}(5^1)$ . Im zweiten Schritt wird das gebildete Alkylhalogenid im Rahmen einer nucleophilen Substitution mit Triphenylphosphin zum Triphenylphosphoniumsalz umgesetzt, aus dem durch Reaktion mit der Base Natriumhydrogencarbonat der B-Ring Benzylloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl]-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid (**32**) freigesetzt wird.



**Abb. 52:** Synthese des B-Rings Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid (**(32)**).

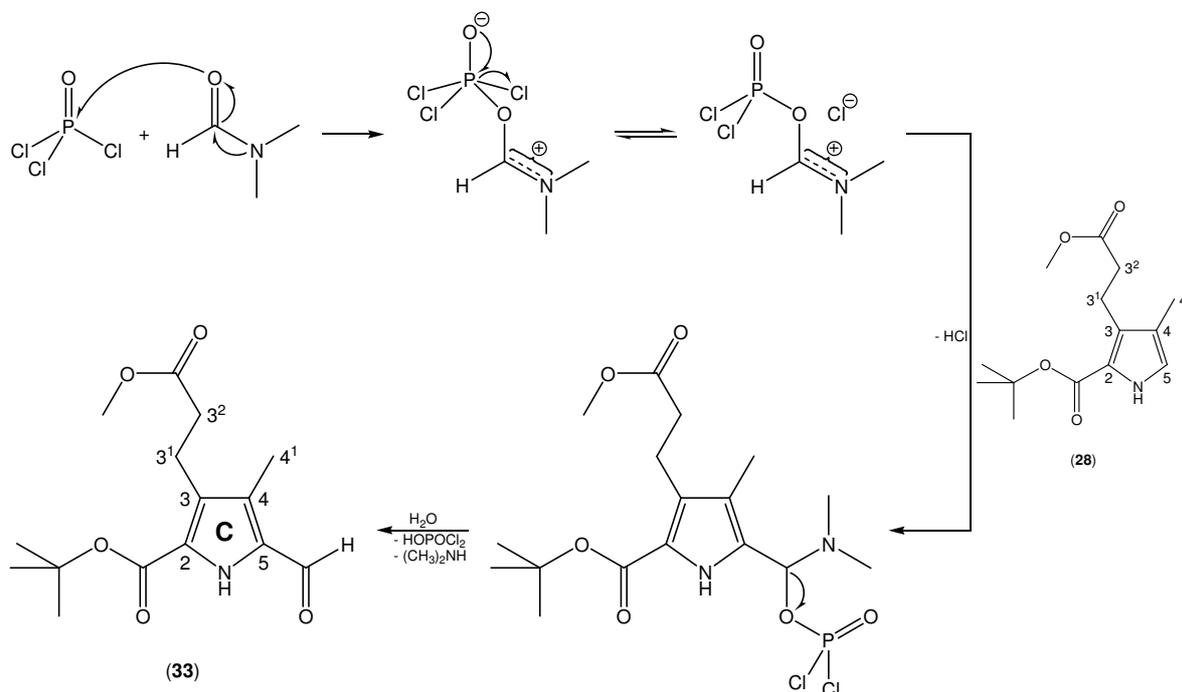
Charakterisiert wird das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Reaktionsprodukts (**(32)**) dadurch, dass, verglichen mit dem Spektrum des Edukts (**(31)**) (Abb. 51), sowohl das Signal des Wasserstoffatoms an Position C(5<sup>1</sup>) als auch das Signal der Hydroxygruppe nicht mehr vorhanden ist und sich gleichzeitig eine deutliche Vergrößerung des Integrals der phenylischen Protonen detektieren lässt.

#### 4.1.4 Synthese des C-Rings (**(33)**)

Zur Ermöglichung der Verknüpfung mit den D-Ring-Derivaten (**(36)**, (**(37)**), (**(40)**), (**(41)**), (**(48)**) und (**(49)**) wird der 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**(28)**) an seiner freien Position C(5) durch eine Formylgruppe substituiert. Ihr Kohlenstoffatom bildet nach der Kupplungsreaktion die beide Ringe miteinander verbindende Methinbrücke. Da es sich bei dem Pyrrol (**(28)**) um ein aromatisches System und somit um einen reaktiven Heteroaromaten handelt, folgt die Funktionalisierung dem Mechanismus der Vilsmeier-Reaktion.<sup>146</sup> In ihrem Verlauf dient eine Lösung aus DMF und Phosphorochloridtrichlorid als Formylierungsreagenz. Dabei reagieren beide Komponenten miteinander zu einem Iminiumsalz, das aufgrund seiner Elektrophilie unter formaler Freisetzung von Chlorwasserstoff eine Substitutionsreaktion mit dem Pyrrol (**(28)**) eingeht. Danach erfolgt die Hydrolyse zum C-Ring 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-

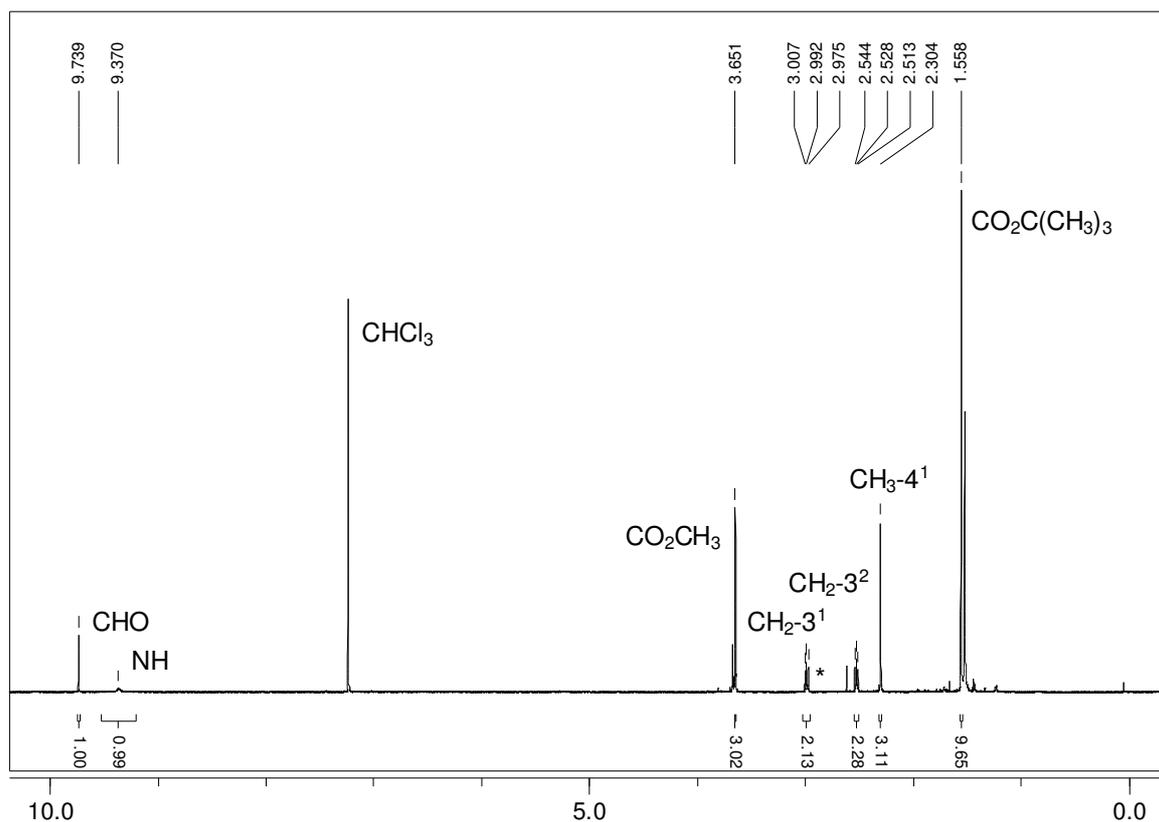
## Ergebnisse und Diskussion der synthetischen Arbeiten

2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) (Abb. 53), dessen Ausbeute bezüglich des Edukts (**28**) 68 % beträgt und sich nicht auf die in der Literatur<sup>130</sup> angegebenen Werte erhöhen lässt.



**Abb. 53:** Synthese des substituierten C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) durch Vilsmeier-Formylierung.

Verglichen mit dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (Abb. 48) der Ausgangsverbindung 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**28**) ist für das Spektrum des C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) einerseits das Singulett-Signal des aldehydischen Protons bei 9.7 ppm sowie andererseits das Fehlen des Dublett-Signals des Protons CH-5 charakteristisch (Abb. 54).



**Abb. 54:** 500-MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) in  $\text{CDCl}_3$ . \*: Verunreinigungen.

#### 4.1.5 Synthese der D-Ringe

Wie bereits erwähnt, besteht ein Ziel der vorliegenden Arbeit in der Aufklärung der Interaktionen zwischen dem photoisomerisierbaren D-Ring des Chromophors und der Proteinumgebung. Durch Synthese einer Bibliothek von Derivaten des im natürlichen Chromophor PCB (**2**) vorhandenen D-Rings lassen sich in der Folge Chromophorderivate sowohl unterschiedlicher geometrischer als auch chemischer Information darstellen.

	C	N	O	S
Elektronenkonfiguration	$[\text{He}]2s^22p^2$	$[\text{He}]2s^22p^3$	$[\text{He}]2s^22p^4$	$[\text{Ne}]3s^23p^4$
$r_{\text{kov}}$ Einfachbindung [pm]	77	70	66	104
$r_{\text{kov}}$ Einfachbindung zu C [pm]	154	147	143	182
Elektronegativität nach Pauling	2.55	3.04	3.44	2.58

**Tab. 2:** Ausgewählte Eigenschaften des Kohlenstoffs, Stickstoffs, Sauerstoffs und Schwefels nach Emsley.<sup>147</sup>

Hierzu erfolgt die formale Substitution der NH-Gruppe des D-Rings der natürlichen Chromophore PΦB (**1**) und PCB (**2**) durch die Heteroatome Sauerstoff und Schwefel sowie durch eine Methylengruppe, wodurch sich aufgrund der unterschiedlichen Bindungs-

längen zu den Kohlenstoffatomen (Tab. 2) die Größe der Ringstruktur ändert. Des Weiteren lässt sich mittels Substitution der NH-Gruppe durch Sauerstoff oder Schwefel die polare Wechselwirkung zwischen Proton und Proteinumgebung gezielt beeinflussen. Um die Bedeutung der Ethylgruppe des PCBs (**2**) an Position C(18) für die Stabilisierung des  $P_{\text{r}}$ - bzw.  $P_{\text{rr}}$ -Zustands zu ermitteln, werden parallel zu den beschriebenen D-Ringen Derivate synthetisiert, in denen die Ethylgruppe durch den sterisch weniger anspruchsvollen Methylrest substituiert ist.

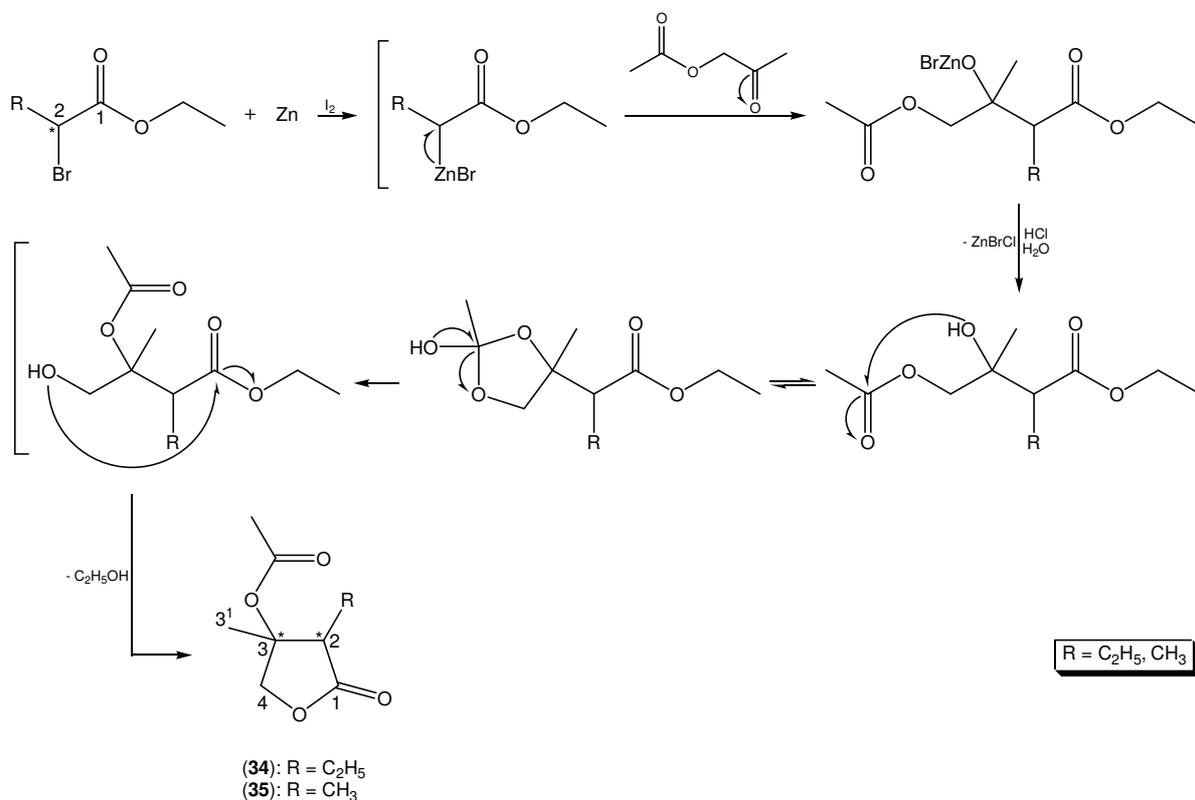
Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht nicht darin, eine gemeinsame Vorstufe zu synthetisieren, aus der sich in der Folge alle drei bzw. sechs Derivate des D-Rings darstellen lassen. Deshalb wird nach drei möglichst kurzen Syntheserouten zur Darstellung der Furanone (**36**) und (**37**), Thiophenone (**40**) und (**41**) sowie Cyclopentenone (**48**) und (**49**) gesucht. In ihrem Verlauf soll durch Variation nur eines Substrats entweder die Ethyl- oder die Methylgruppe an Position C(18) eingebracht werden können.

### 4.1.5.1 Darstellung der D-Ringe mit Furanonstruktur (**36**) und (**37**)

Bei den einfachsten Vertretern der darzustellenden Derivate des D-Rings des natürlichen Chromophors PCB (**2**) handelt es sich um die Moleküle 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanon (**36**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanon (**37**). Da der Kovalenzradius der Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindung um nur 4 pm kleiner ist als der Kovalenzradius der Stickstoff-Kohlenstoff-Bindung (Tab. 2), ist der sterische Anspruch des Ringgerüsts der Furanone (**36**) und (**37**) vergleichbar mit dem Ringgerüst der analogen Pyrrolonverbindungen. Entscheidend ist, dass das Sauerstoffatom nur zwei kovalente Bindungen zu den benachbarten Kohlenstoffatomen ausbilden kann und so über zwei freie Elektronenpaare verfügt, während das Stickstoffatom neben den zwei kovalenten Bindungen zu den benachbarten Kohlenstoffen eine kovalente Bindung zu einem Wasserstoffatom ausbildet. Hierdurch besitzt letzteres eine positive Polarität, mit der es mit der Proteinumgebung in Wechselwirkung tritt. Dahingegen ist das ringständige Sauerstoffatom der Furanone (**36**) und (**37**) ein negativer Ladungsschwerpunkt, wodurch sich die Polarität der Wechselwirkung mit der Proteinumgebung umkehrt, sofern Chromophor und Protein überhaupt noch miteinander wechselwirken.

D,L-2-Brombutansäureethylester und D,L-2-Brompropionsäureethylester werden im Rahmen einer Reformatsky-Reaktion mit Acetylacetat zu  $\beta$ -Hydroxycarbonsäureestern umgesetzt. Dabei bilden sich intermediär durch Reaktion der  $\alpha$ -halogenierten Ester mit metallischem und durch Iodzugabe aktiviertem Zink die Grignard-artigen zinkorganischen Verbindungen. Da sie eine deutlich geringere Reaktivität aufweisen als die analogen Magnesiumverbindungen, reagieren sie nicht mit der reaktionsträgen Ester-carbonylgruppe, sondern selektiv mit der Ketocarboxylgruppe des Acetylacetats. Saure Hydrolyse überführt die zinkorganischen Verbindungen in die analogen Alkohole, die nicht direkt zu den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylverbindungen eliminieren, sondern zu 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolacton (**34**) und 3-Acetoxy-3,3-dimethylbutyrolacton (**35**) reagie-

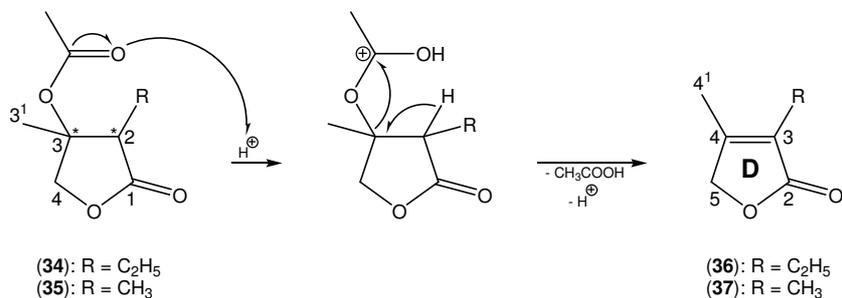
ren. Im Verlauf dieser Umsetzung erfolgt durch einen intramolekularen nucleophilen Angriff des Hydroxy-Sauerstoffatoms an die Acetoxy-Funktion die Ausbildung eines Acetals, das die Struktur eines Fünfrings besitzt und sich aufgrund der sauren Bedingungen unter formalem Austausch der Acetoxy- und Hydroxyfunktion wieder öffnet. Nucleophiler Angriff des Hydroxy-Sauerstoffs an die Carbonylgruppe des Ethylesters führt unter Freisetzung von Ethanol zu den cyclischen Zwischenprodukten (**34**) und (**35**) (Abb. 55). Die alternative Bildung eines Acetals durch Angriff des Hydroxy-Sauerstoffatoms an die Ethylester-Funktion ist aufgrund der intermediären Bildung eines Vierrings energetisch nicht begünstigt.



**Abb. 55:** Synthese der D-Ring-Vorstufen 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolacton (**34**) und 3-Acetoxy-3,3-dimethylbutyrolacton (**35**).

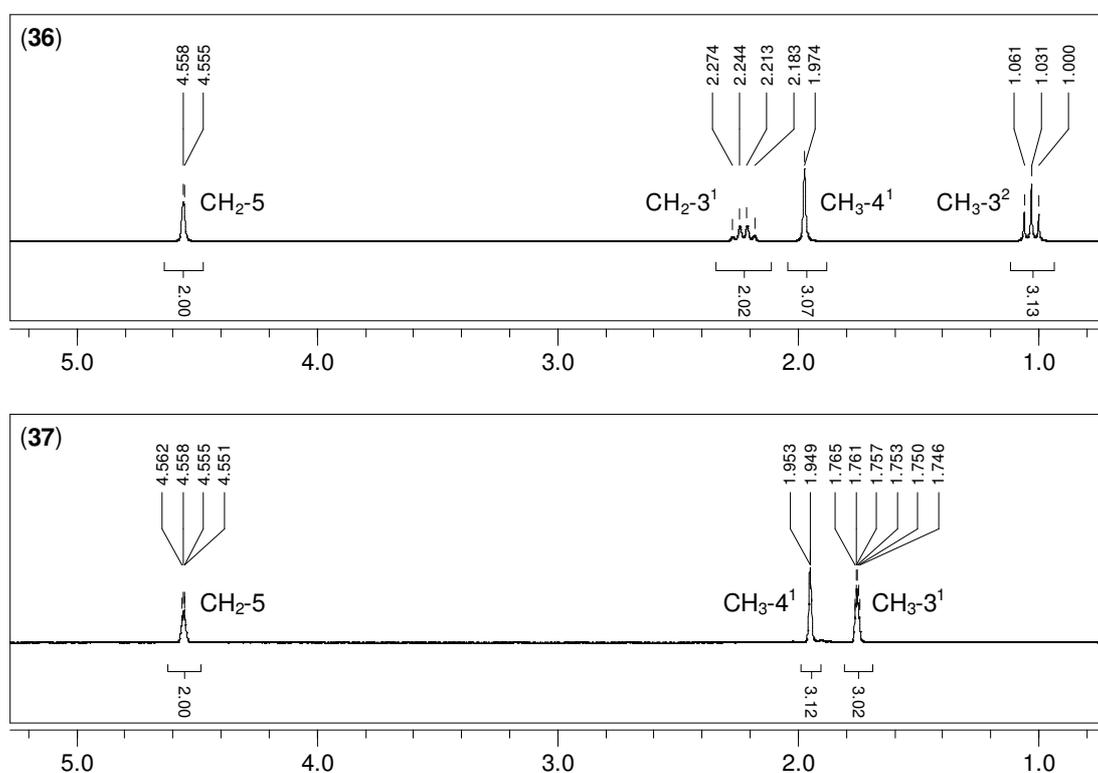
Im Widerspruch zu den Literaturangaben<sup>131</sup> lassen sich die Alkohole 2-Ethyl-3-hydroxy-4-methylbutyrolacton und 3-Hydroxy-3,4-dimethylbutyrolacton nicht als Produkte der Reformatsky-Reaktion isolieren. Vielmehr weisen die aufgenommenen NMR- und IR-Spektren auf das Vorliegen von Diastereoisomerengemischen des 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolactons (**34**) bzw. 3-Acetoxy-3,3-dimethylbutyrolactons (**35**) hin. Ihre Umsetzung zu den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten D-Ringen (**36**) und (**37**) folgt dem Mechanismus einer E1-Reaktion analog der sauren Dehydratisierung tertiärer Alkohole. In ihrem Verlauf wird das carbonylische Sauerstoffatom der Acetoxyfunktion unter Einsatz der starken Säure 4-Toluensulfonsäure-Monohydrat protoniert, danach erfolgt die Ausbildung der olefinischen Bin-

dung unter Freisetzung von Essigsäure (Abb. 56), deren Geruch ein weiterer Hinweis darauf ist, dass es sich bei den Edukten (**34**) und (**35**) nicht um tertiäre Alkohole handelt.



**Abb. 56:** Synthese der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanon (**36**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanon (**37**) durch Eliminierung der Acetoxifunktion.

Aus der durch die Olefinierung verursachten Eliminierung der zwei benachbarten Chiralitätszentren resultieren die übersichtlichen <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Furanone (**36**) und (**37**) (Abb. 57). Sie werden charakterisiert durch das Signal der Methylengruppe an Position C(5) bei 4.6 ppm, dessen Tieffeldverschiebung von der entschirmenden Wirkung der benachbarten Lactonfunktion herrührt. Weiterhin deuten die Tieffeldverschiebungen der Signale der Gruppen CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup> und CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup> in (**36**) sowie der Gruppen CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup> und CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup> in (**37**) auf das Vorhandensein einer Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen C(3) und C(4) hin.

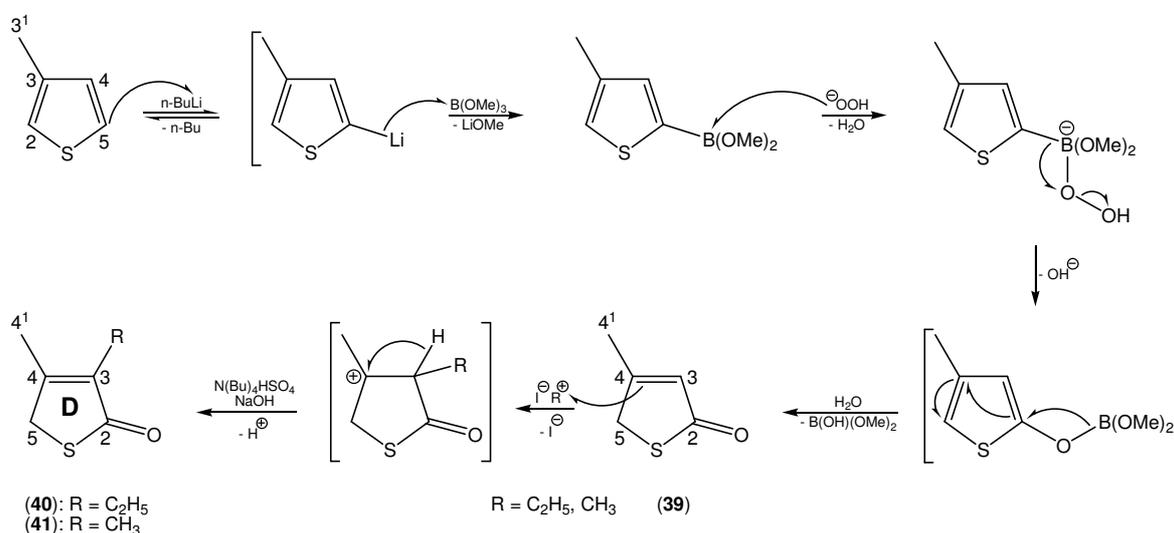


**Abb. 57:** 250-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanons (**36**) (oben) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanons (**37**) (unten) in CDCl<sub>3</sub>.

Aufgrund der größeren Elektronegativität des Sauerstoffs im Vergleich zum Stickstoff (Tab. 2) ist zu erwarten, dass sich die benachbarte Methylengruppe unter den Bedingungen einer Knoevenagel-Reaktion leichter als die der vergleichbaren Azaverbindung deprotonieren und mit dem C-Ring (**33**) kuppeln lässt. Aus diesem Grund besteht keine Notwendigkeit, die Position C(5) der Furanone (**36**) und (**37**) weiter zu funktionalisieren.

#### 4.1.5.2 Darstellung der D-Ringe mit Thiophenonstruktur (**40**) und (**41**)

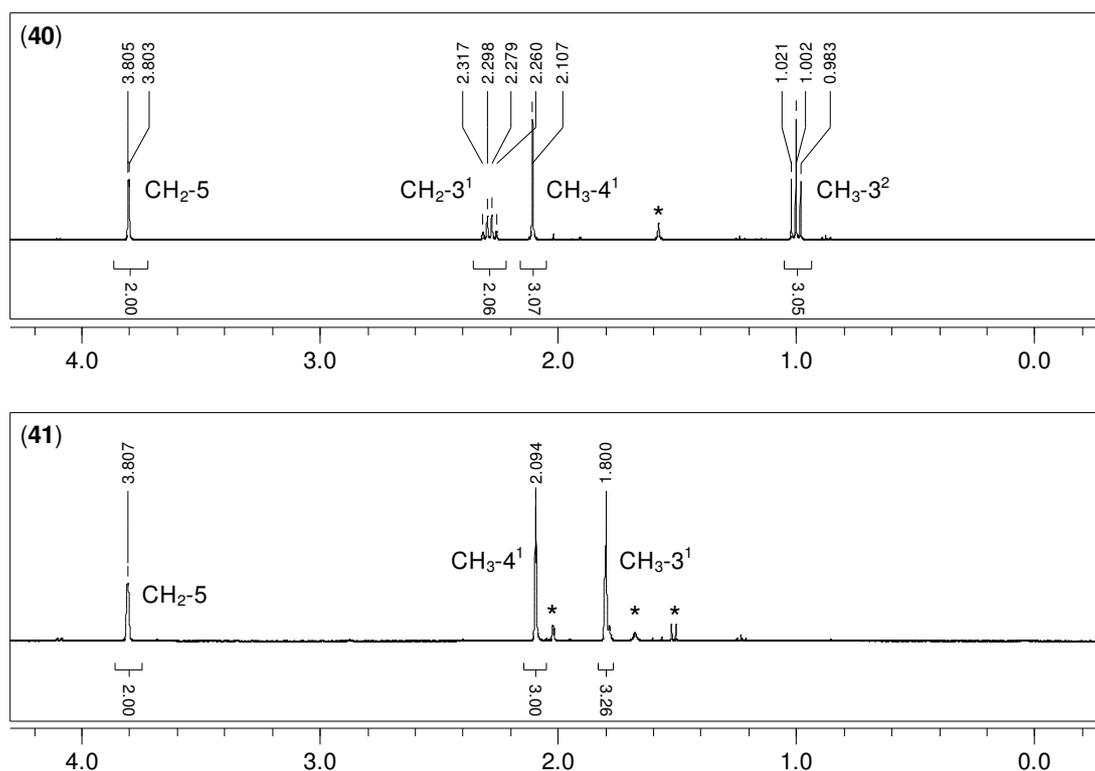
Bei den Molekülen 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon (**41**) handelt es sich um die Schwefelhomologen der Furanone (**36**) und (**37**). Da der Kovalenzradius der Schwefel-Kohlenstoff-Bindung um 39 bzw. 35 pm größer ist als der der Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindung bzw. der im nativen System vorhandenen Stickstoff-Kohlenstoff-Bindung (Tab. 2), wird hierdurch eine Aufweitung des D-Rings bewirkt, die zu einem höheren sterischen Anspruch führt. Ebenso wie das Sauerstoffatom bildet das Schwefelatom nur zwei kovalente Bindungen zu den benachbarten Kohlenstoffatomen aus und verfügt über zwei freie Elektronenpaare. Da es im Gegensatz zum Sauerstoff zusätzlich über ein 3s-Orbital und 3p-Orbitale verfügt, erfolgt eine stärkere Abschirmung seiner Kernladung, woraus seine geringere Elektronegativität resultiert (Tab. 2). Dieser Effekt und das größere Volumen seiner Orbitale tragen dazu bei, dass das Schwefelatom innerhalb der D-Ringe (**40**) und (**41**) keinen ausgeprägten negativen Ladungsschwerpunkt erzeugt.



**Abb. 58:** Darstellung der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon (**41**). Abgebildet sind ausschließlich die Reaktionen, die auf der Lithiierung der Position C(5) des Edukts 3-Methylthiophen beruhen.

Im Verlauf der Reaktion zwischen 3-Methylthiophen und *n*-Butyllithium dirigiert das Schwefelatom das Lithiumatom in die beiden möglichen *ortho*-ständigen Positionen C(2) und C(5). Die dabei gebildeten lithiumorganischen Verbindungen verfügen über stark

polare Kohlenstoff-Metall-Bindungen. Dabei tragen die Kohlenstoffatome eine negative Partialladung, wodurch sie zu starken Basen bzw. starken Nucleophilen werden. Diese Eigenschaft ermöglicht eine leichte Reaktion mit elektrophilen Reagenzien unter Substitution der Lithiumatome. Durch den elektrophilen Angriff der Lewissäure Borsäuretrimeylester an die negativ polarisierten Kohlenstoffatome erfolgt die Transmetallierung der lithiumorganischen Verbindungen zu den Arylboronsäureestern. Der nucleophile Angriff von Peroxid-Anionen sowie die sich daran anschließende 1,2-Wanderung des Thiophen-Rests vom Boratom an das vicinale Sauerstoffatom führt zu den analogen Arylborsäureestern. Aus ihrer Hydrolyse resultiert ein Gemisch der Regioisomeren 3-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**38**) und 4-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**39**), welche in einem Stoffmengenverhältnis von 2:7 entstehen. Grund für die bevorzugte Bildung des Regioisomeren (**39**) ist die sterische Behinderung der Lithiierung durch die Methylgruppe  $\text{CH}_3\text{-}3^1$  des Edukts 3-Methylthiophen. Anschließend erfolgt im Rahmen einer Substitutionsreaktion nach Markownikoff die elektrophile Alkylierung des 4-Methyl-2-(5*H*)-thiophenons (**39**) mit Ethyl- bzw. Methyljodid, wobei die C-Alkylierungsprodukte 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**) bzw. 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon (**41**) gebildet werden. Bei ihnen handelt es sich um Derivate des natürlichen D-Rings (Abb. 58).



**Abb. 59:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenons (**40**) (oben) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenons (**41**) (unten) in  $\text{CDCl}_3$ . \*: Verunreinigungen.

Wie die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Furanone (**36**) und (**37**) (Abb. 57) werden auch die Spektren der Reaktionsprodukte (**40**) und (**41**) (Abb. 59) durch das tieffeldverschobene

Signal der Methylengruppe  $\text{CH}_2\text{-5}$  charakterisiert. Da Schwefel eine geringere Elektronegativität als Sauerstoff besitzt, bewirkt die Thiolactonfunktion der D-Ringe (**40**) und (**41**) eine geringere Entschirmung als die Lactonfunktion. Aus diesem Grund ist das Signal der Methylengruppe an Position C(5) bei 3.8 ppm und nicht, wie bei den Furanonen (**36**) und (**37**), bei 4.6 ppm detektierbar. Die Signale der Gruppen  $\text{CH}_2\text{-3}^1$  und  $\text{CH}_3\text{-4}^1$  in (**40**) sowie der Gruppen  $\text{CH}_3\text{-3}^1$  und  $\text{CH}_3\text{-4}^1$  in (**41**) zeigen eine Tieffeldverschiebung analog den äquivalenten Gruppen der Furanone (**36**) und (**37**), die als Nachweis der Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen C(3) und C(4) dient.

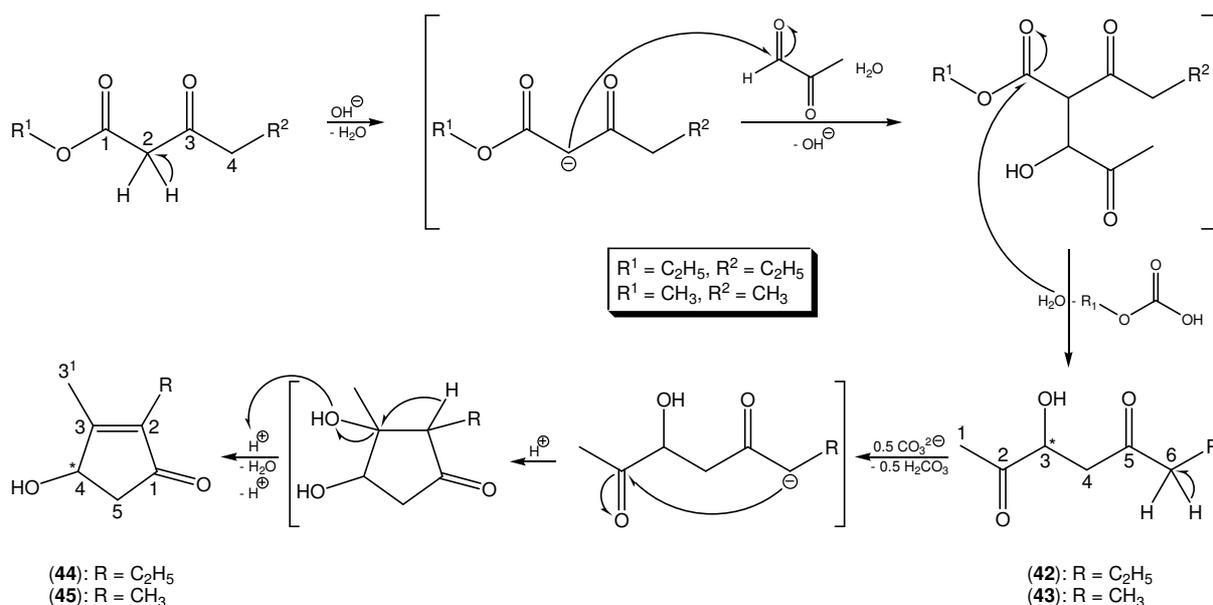
Auch wenn das Schwefelatom nur eine unwesentlich höhere Elektronegativität besitzt als Kohlenstoff (Tab. 2), ist davon auszugehen, dass sich die Reaktionsprodukte (**40**) und (**41**) wie die Furanone (**36**) und (**37**) ohne weitere Aktivierung regioselektiv im Rahmen einer Knoevenagel-Reaktion mit dem C-Ring (**33**) kuppeln lassen. Da das Schwefelatom die zur Carbonylgruppe  $\alpha$ -ständige Position blockiert, besitzen die Protonen der Methylengruppe  $\text{CH}_2\text{-5}$  aufgrund ihrer Nachbarschaft zum Schwefel und ihrer Konjugation mit zwei weiteren  $\pi$ -Elektronenpaaren die größte Acidität.

#### 4.1.5.3 Darstellung der D-Ringe mit Cyclopentenonstruktur (**48**) und (**49**)

In den als Phosphonsäurediethylester vorliegenden Cyclopentenonen (**48**) und (**49**) ist die Azafunktion des nativen D-Rings durch Methylengruppen substituiert. Da der Kovalenzradius der C-C-Einfachbindung um 7 pm größer ist als der Kovalenzradius der C-N-Einfachbindung (Tab. 2), erfolgt eine geringe Aufweitung des D-Rings. Von größerer Bedeutung ist allerdings, dass die Methylengruppe sowohl oberhalb als auch unterhalb der Ringebene über jeweils eine CH-Bindung mit einem Kovalenzradius von 109.3 pm<sup>147</sup> verfügt. Diese vergrößern den sterischen Anspruch der Cyclopentenone (**48**) und (**49**) im Vergleich zum nativen D-Ring. Die Polaritäten der CH-Bindung entsprechen der der NH-Bindung. Dabei bildet das Kohlenstoffatom den negativen Ladungsschwerpunkt, während die Wasserstoffatome positive Partialladungen tragen. Da jedoch die Differenz der Elektronegativitäten nur 0.35 beträgt, ist die Polarität dieser Bindung nicht annähernd so ausgeprägt wie die der NH-Bindung.

Einwirken der Base Kaliumhydroxid auf Butyrylessigsäureethylester bzw. 3-Oxopentansäuremethylester bewirkt die Deprotonierung der zu den beiden Oxofunktionen  $\alpha$ -ständigen Methylengruppe an Position C(2). Die gebildeten sekundären Carbanionen greifen bevorzugt die Aldehydfunktion des zugegebenen Methylglyoxals nucleophil an. Verglichen mit der Ketofunktion besitzt diese aufgrund fehlender Möglichkeit zur Stabilisierung der positiven Partialladung eine höhere Reaktivität. Unter Abspaltung des einfachen Ethyl- bzw. Methylesters der Kohlensäure, die unter den gegebenen basischen Bedingungen nicht zu Kohlendioxid und Ethanol bzw. Methanol decarboxylieren, werden die Moleküle 3-Hydroxyoctan-2,5-dion (**42**) bzw. 3-Hydroxyheptan-2,5-dion (**43**) gebildet (Abb. 60). Diese lassen sich im Rahmen einer basenkatalysierten intramolekularen Aldolkondensation cyclisieren. Dabei abstrahiert die Base Kaliumcarbonat ein acides Proton

der Methylengruppe CH<sub>2</sub>-6, wobei ein sekundäres Carbanion gebildet wird, das im Folgeschritt die Carbonylgruppe an Position C(2) unter Ausbildung der Fünfringe nucleophil angreift. Die mögliche Konkurrenzreaktion der Deprotonierung des Methylrests CH<sub>3</sub>-1 und seine anschließende Reaktion mit der Carbonylgruppe an Position C(5) findet nicht statt, da das dabei intermediär gebildete primäre Carbanion eine geringere Stabilität besäße als ein sekundäres Carbanion.



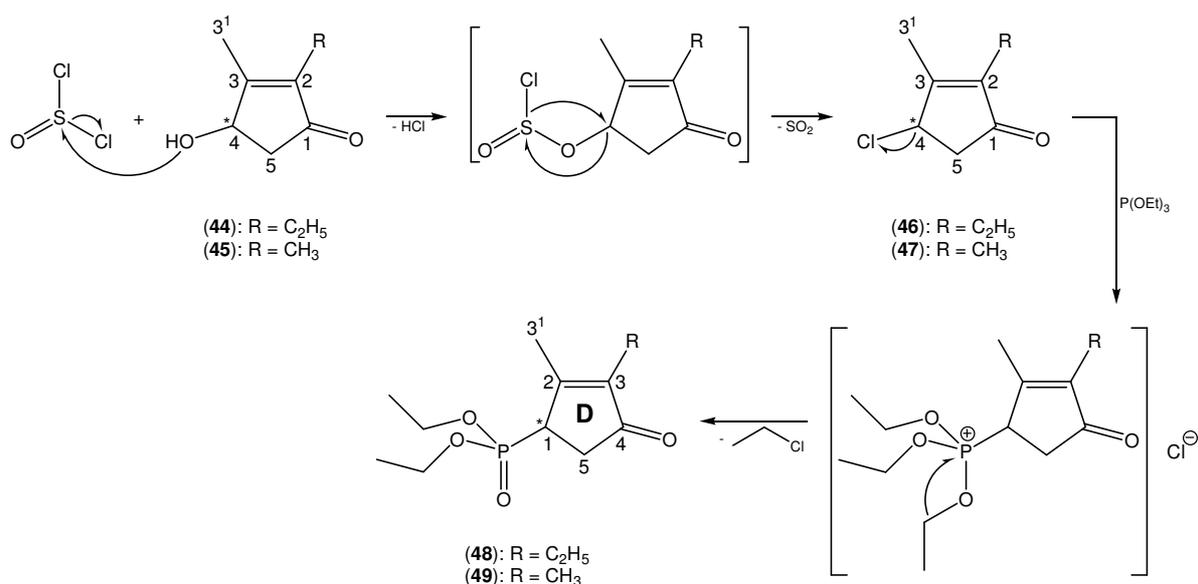
**Abb. 60:** Synthese der cyclischen Verbindungen 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enon (**44**) und 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon (**45**).

Dem Mechanismus einer E1-Reaktion folgend, lassen sich die Fünfringe durch saure Dehydratisierung selektiv zu den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Verbindungen 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enon (**44**) und 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon (**45**) umsetzen. Dabei erfolgt ausschließlich die Protonierung der tertiären Hydroxyfunktion durch Salzsäure. Die anschließende Eliminierung von Wasser führt zur Bildung eines tertiären Carbeniumions. Da dieses eine größere Stabilität besitzt als ein sekundäres Carbeniumion, findet an der sekundären Alkoholfunktion keine Abspaltung von Wasser statt. Die anschließende Ausbildung der olefinischen Bindung erfolgt unter Freisetzung des zum Carbeniumion  $\alpha$ -ständigen Protons (Abb. 60).

Die Alkohole 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enon (**44**) und 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon (**45**) lassen sich durch Thionylchlorid in die analogen Halogenide überführen. Dabei entstehen im ersten Schritt unter Emission von Chlorwasserstoff intermediär die Schwefligsäureester. Intramolekulare nucleophile Substitution der Esterfunktion am elektrophilen Kohlenstoffatom durch ein Chloridion führt unter Entweichen von Schwefeldioxid und Retention der Konfiguration zu den entsprechenden Chloriden (**46**) und (**47**) (Abb. 61). Ein Amin, z. B. Pyridin, das zur Neutralisierung des freigesetzten Chlorwasserstoffs dient, wird nicht eingesetzt. In seiner Gegenwart griffe ein Chloridion

die Schwefligsäureester in einer  $S_N2$ -Reaktion an, wobei (**46**) und (**47**) unter Inversion der Konfiguration entstünden.<sup>138</sup> Da die absolute Konfiguration des Kohlenstoffatoms C(1) in 4-Chloro-2-ethyl-3-methyl-cyclopent-2-enon (**46**) und 4-Chloro-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon (**47**) für die Folgereaktionen unbedeutend ist, sind die stereochemischen Gesichtspunkte vernachlässigbar.

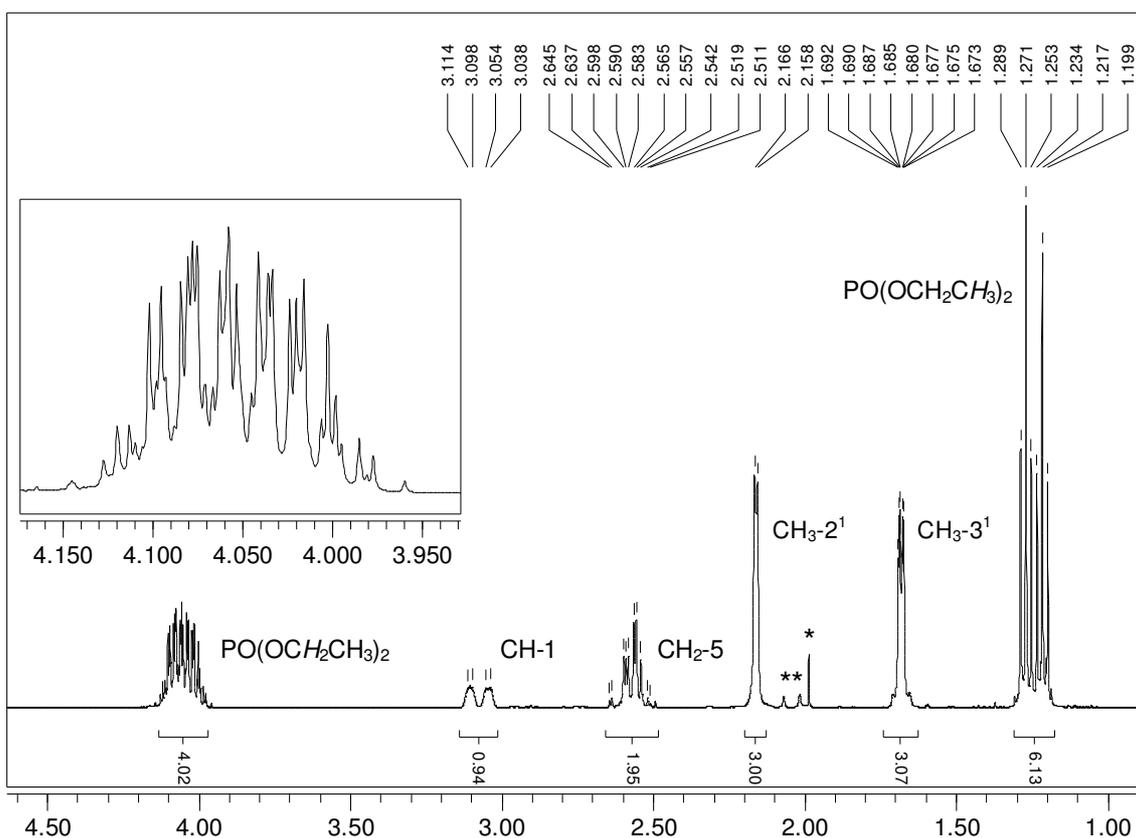
Die Chloride (**46**) und (**47**) lassen sich im Verlauf einer Michaelis-Arbuzov-Reaktion mit Phosphorsäuretriethylester umsetzen. Bei dieser Reaktion, der Alkylierung von Estern dreiwertiger Phosphorsäuren,<sup>146</sup> addieren die Chloride (**46**) und (**47**) elektrophil an das – um das Entstehen eines Produktgemisches zu vermeiden<sup>148</sup> – äquimolar eingesetzte Phosphit unter intermediärer Bildung von Phosphoniumsalzen.<sup>149</sup> Letztere werden thermischer Zersetzung unterworfen,<sup>149,150</sup> wodurch sie unter Abspaltung leicht flüchtigen Chlorethans zu den D-Ringen (2-Ethyl-3-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**48**) sowie (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**49**) reagieren (Abb. 61).



**Abb. 61:** Darstellung der D-Ringe (2-Ethyl-3-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**48**) und (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**49**).

Die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Phosphonate (**48**) und (**49**) werden charakterisiert durch die großen Kopplungskonstanten zwischen dem Phosphoratom und den Protonen benachbarter Kohlenstoffatome. Im Fall des (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylesters (**49**) betragen sie für das Proton an Position C(1) 16.5 Hz und für die Methylenprotonen der Ethoxygruppe 15.7 Hz, womit sie in etwa den Literaturwerten entsprechen.<sup>151</sup> Aufgrund des Chiralitätszentrums an Position C(1) werden die Moleküle (**48**) und (**49**) von keiner Symmetrieebene geschnitten, wodurch die an das Phosphoratom gebundenen Ethoxygruppen nicht äquivalent sind, sondern unterschiedliche chemische Umgebungen besitzen. Aus diesem Grund lassen sich für die Methylreste der Etho-

xygruppen zwei Triplettsignale bei 1.22 und 1.27 ppm und für die Methylenprotonen ein Multiplett zwischen 3.97 und 4.13 ppm detektieren. Ist im 4-Chloro-2-ethyl-3-methylcyclopent-2-enon (**46**) und 4-Chloro-2,3-dimethylcyclopent-2-enon (**47**) das Signal des Wasserstoffatoms an Position C(4) aufgrund geminaler Kopplung mit dem Chloratom bei 4.8 ppm detektierbar, so tritt es in den Phosphonaten (**48**) und (**49**), in dem es sich nomenklaturbedingt an Position C(1) befindet, bei 3.1 ppm auf (Abb. 62).



**Abb. 62:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethyl-esters (**49**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Verunreinigungen. Das Multiplett zwischen 3.97 und 4.13 ppm ist zusätzlich vergrößert wiedergegeben.

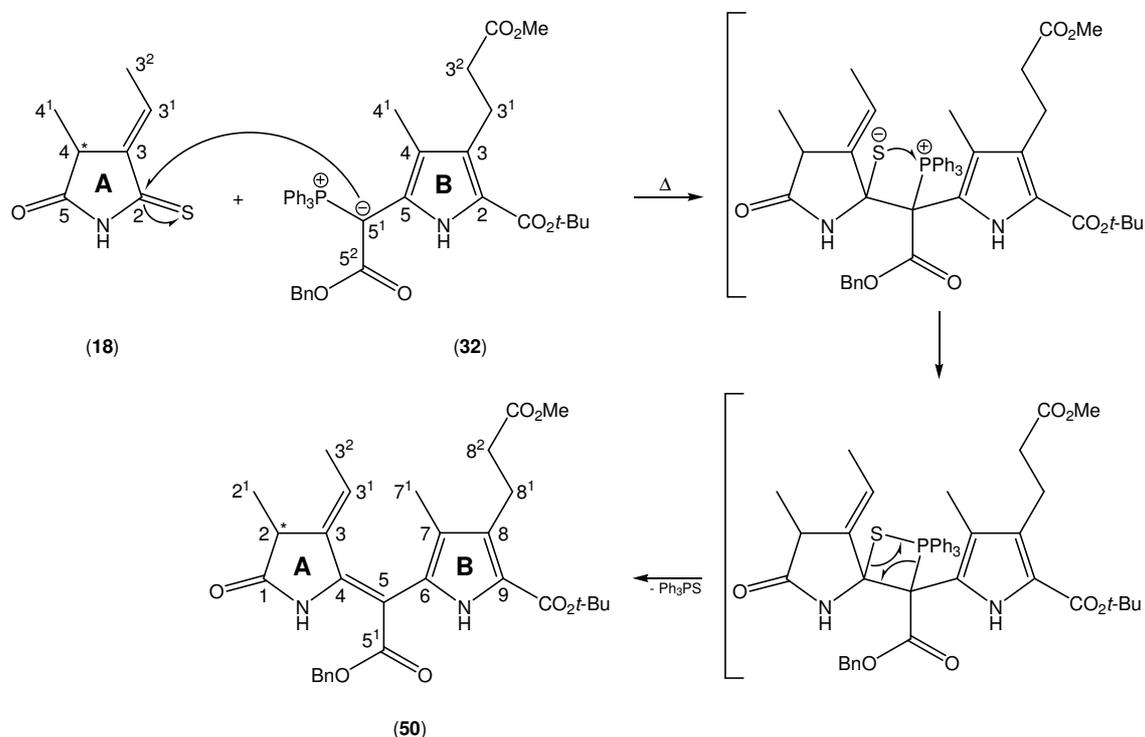
Wie bereits erwähnt, ermöglicht erst die Funktionalisierung der Cyclopentenone zu Phosphonaten die gezielte, regioselektive Kupplung der Position C(1) mit dem C-Ring (**33**) im Rahmen einer Horner-Emmons-Reaktion unter Ausbildung einer olefinischen Bindung.<sup>149</sup>

## 4.2 Darstellung der Dimeren

### 4.2.1 Synthese des AB-Bausteins (51)

#### 4.2.1.1 Darstellung des AB-Benzylesters (50)

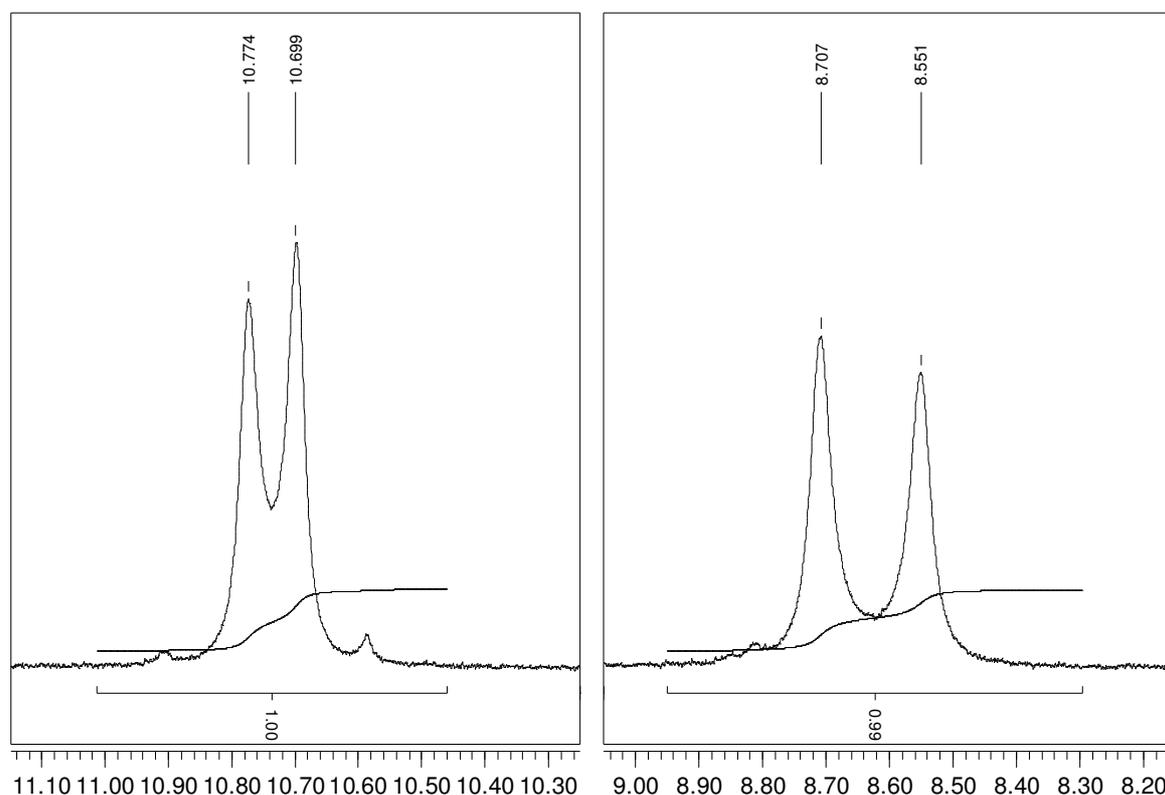
Aufgrund seines Substitutionsmusters lässt sich der A-Ring (**18**) mit dem B-Ring (**32**) nicht wie die D-Ringe (**36**), (**37**), (**40**) und (**41**) mit dem C-Ring (**33**) durch eine Knoevenagel-Reaktion verknüpfen. Da sich im A-Ring (**18**) drei exocyclische Doppelbindungen befinden, besteht aufgrund fehlender Konjugation der  $\pi$ -Elektronenpaare nicht die Möglichkeit, die im Rahmen einer Knoevenagel-Reaktion intermediär auftretende negative Ladung durch Delokalisierung zu stabilisieren. Deshalb wird zur Kupplung der Ringe A (**18**) und B (**32**) auf den alternativen Verknüpfungsmechanismus der Thio-Wittig-Reaktion zurückgegriffen. Der Austausch der Carbonylgruppe an Position C(2) des A-Rings (**18**) gegen eine Thiocarbonylgruppe ermöglicht eine regioselektive Bindungsbildung mit dem B-Ring (**32**). Während das Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe aufgrund seiner Nachbarschaft zum elektronenliefernden Stickstoffatom über eine verminderte Elektrophilie verfügt, bewirkt das Schwefelatom des Thiosuccinimids die erforderliche Reaktivität gegenüber dem Ylid (**32**).<sup>128</sup> Ein unterstützender Effekt dabei ist die Konjugation der Thiocarbonyl-Doppelbindung mit der Ethylden-Gruppe, die eine weitere Absenkung der Aktivierungsenergie bewirkt.



**Abb. 63:** Synthese des Dipyrrinons 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethylden-dipyrrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylester (**50**) durch eine Thio-Wittig-Reaktion.

Die Ausbildung der olefinischen Bindung zwischen dem Ring A (**18**) und dem Ring B (**32**) erfolgt im ersten Schritt durch nucleophilen Angriff des negativ polarisierten Kohlenstoffatoms des Ylids (**32**) an die Thiocarbonylgruppe. Im Anschluss bildet sich ein Betain, welches zur cyclischen Zwischenstufe, einem Thiaphosphetan, weiterreagiert. Letzteres wird unter Freisetzung von Triphenylphosphinsulfid zum 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylester (**50**) umgesetzt (Abb. 63).<sup>146</sup> Dabei ist die hohe Bildungsenthalpie der Phosphor-Schwefel-Doppelbindung die Triebkraft der Reaktion.

Neben Triphenylphosphinsulfid sowie geringen Mengen nicht umgesetzten A- (**18**) und B-Rings (**32**) lässt sich durch säulenchromatographische Aufreinigung des Rohprodukts ausschließlich das Dipyrrinon (**50**) in reproduzierbaren Ausbeuten zwischen 65 und 82 % isolieren. Es findet sich kein Nachweis dafür, dass die Wittig-Reaktion zwischen dem Ylid (**32**) und der Carbonylgruppe des A-Rings (**18**) stattgefunden hat.

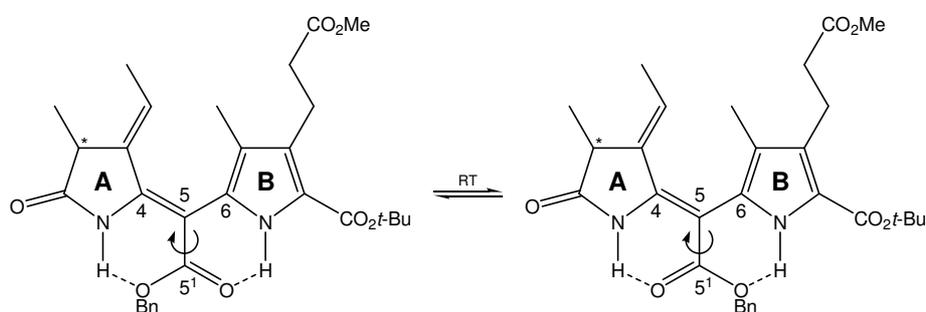


**Abb. 64:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylesters (**50**) in CDCl<sub>3</sub>. Linkerhand sind die Signale des Lactamwasserstoffs, rechterhand die des Pyrrolwasserstoffs abgebildet.

Gekennzeichnet wird das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Reaktionsprodukts (**50**) durch die breiten Signale des Pyrrolwasserstoffs bei 8.6 und 8.7 ppm und des Lactamwasserstoffs bei 10.7 und 10.8 ppm, die annähernd identische Integrale von jeweils 0.5 Protonen besitzen (Abb. 64). Daneben zeigt das Ethylidenproton CH-3<sup>1</sup> bei 5.0 ppm ein Multiplett-

Signal, das vermutlich durch Through-Space-Kopplung zur Methylgruppe  $\text{CH}_3\text{-}7^1$  verursacht wird. Der vicinale Methylrest an Position  $\text{C}(3^2)$  ergibt bei 1.7 ppm ein zum Dublett aufgespaltenes Signal.

Das schon von Lindner<sup>31</sup> beschriebene Aufspaltungsmuster der NH-Signale deutet auf in annähernd äquimolarem Verhältnis vorliegende Rotationsisomere des Dipyrinons (**50**) hin, das bezüglich seiner  $\text{C}(4)\text{-C}(5)$ -Doppelbindung  $Z$ -Konfiguration besitzt. Durch die Rotation der Benzylesterfunktion um die  $\text{C}(5)\text{-C}(5^1)$ -Einfachbindung erfolgt sowohl ein Bruch als auch die Neuknüpfung jeweils zweier Wasserstoffbrücken unterschiedlicher Stärke, welche die Signalaufspaltung verursachen (Abb. 65). Da jedes NH-Proton auf diese Weise in zwei unterschiedlichen chemischen Zuständen vorliegt, resultieren hieraus die vier im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sichtbaren Signale (Abb. 64).

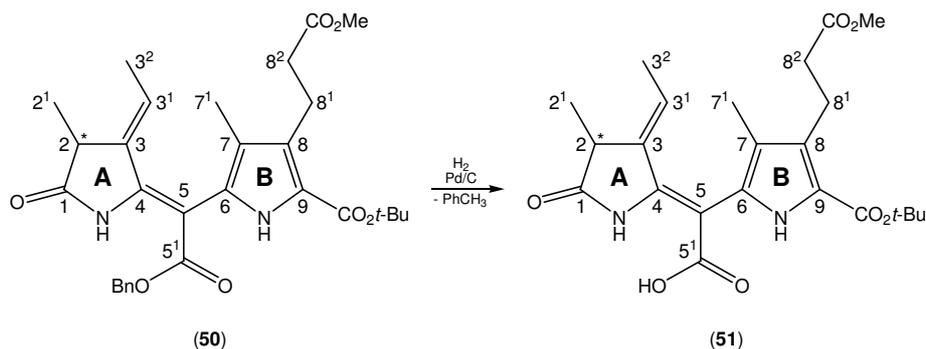


**Abb. 65:** Rotamere des bezüglich der  $\text{C}(4)\text{-C}(5)$ -Doppelbindung in  $Z$ -Konfiguration vorliegenden Dipyrinons (**50**). Die gestrichelten Linien symbolisieren Wasserstoffbrückenbindungen.

Die ebenfalls von Lindner beobachteten, aus der Überlagerung jeweils zweier Dubletts bestehenden Signale der Methylgruppen  $\text{CH}_3\text{-}2^1$  und  $\text{-}3^2$ , welche aus der Torsion der beide Ringe verbrückenden Methingruppe resultieren sollen, lassen sich unter den gegebenen Bedingungen jedoch nicht nachweisen. Daraus folgt, dass die Benzylestergruppe ohne intramolekulare sterische Hinderung um die  $\text{C}(5)\text{-C}(5^1)$ -Einfachbindung rotieren kann.

#### 4.2.1.2 Darstellung der AB-Säure (**51**)

Die den Brückenkohlenstoff  $\text{C}(5)$  des 3-(5-Benzylloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylesters (**50**) schützende Benzylesterfunktion wird in die korrespondierende freie Säure überführt, welche sich in einem folgenden Syntheseschritt durch Decarboxylierung beseitigen lässt. Da im Edukt (**50**) neben dem Benzylester an Position  $\text{C}(8^2)$  ein Methylester und an Position  $\text{C}(9)$  ein *tert*-Butylester vorliegen, wird es einer palladiumkatalysierten Hydrierung bei Normaldruck und Raumtemperatur unterzogen (Abb. 66). Unter diesen Bedingungen lassen sich Benzylester selektiv unter Erhalt anderer Esterfunktionen abspalten. Ebenso erlaubt diese Methode den weitgehenden Schutz der Ethylidendoppelbindung, welche zur späteren Ausbildung der kovalenten Bindung zum Protein notwendig ist.

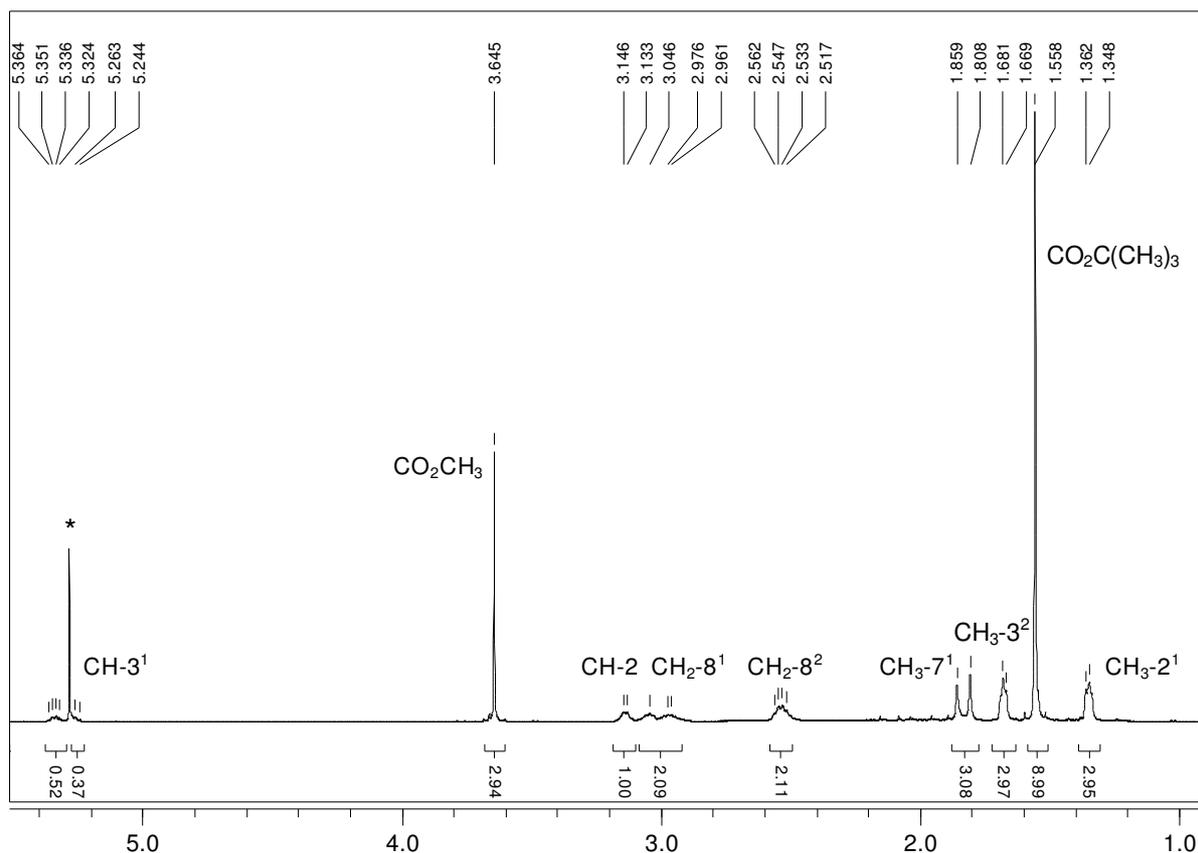


**Abb. 66:** Synthese des AB-Dimers 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) durch hydrogenolytische Spaltung des Benzylesters (**50**).

Die 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) lässt sich in reproduzierbaren Ausbeuten von 71–75 % bezüglich des umgesetzten Benzylesters (**50**) gewinnen. Voraussetzung hierfür ist eine sehr sorgfältige chromatographische Aufreinigung des Edukts (**50**). Häufig bei dieser Umsetzung auftretende Probleme wie z. B. sehr geringe Reaktionsgeschwindigkeiten und Produktausbeuten werden durch die Anwesenheit schon geringer Spuren des A-Rings (**18**) verursacht. Durch seine Thiocarbonylgruppe besitzt er die Eigenschaft, den Hydrierungskatalysator weitgehend zu deaktivieren bzw. vollständig zu vergiften.

Der Verlauf der Hydrierung ist per Dünnschichtchromatographie leicht beobachtbar, da die freie Säuregruppe des Produkts (**51**) dessen Polarität so stark erhöht, dass es sich im Gegensatz zum Edukt (**50**) auf Kieselgel nicht über die Startposition hinaus bewegt. Trotzdem ist darauf zu achten, dass keine Überhydrierung stattfindet, da deren Produkte Signale verursachen, welche sich unter dem Signal des Hauptprodukts (**51**) verbergen. NMR-spektroskopische Untersuchungen eines isolierten und mittels HPLC aufgereinigten Produkts der Überhydrierung deuten darauf hin, dass eine Hydrierung der ungesättigten Kohlenstoffatome C(3<sup>1</sup>) und C(5) unter gleichzeitiger Ausbildung einer Doppelbindung zwischen den Positionen C(3) und C(4) stattfindet.

Wie das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Edukts (**50**) (Abb. 64) zeigt auch das Spektrum des Reaktionsprodukts (**51**) jeweils zwei breite Signale des Pyrrolwasserstoffs und des Lactamwasserstoffs mit nahezu identischen Integralen von jeweils 0.5 Protonen. Die zwei Quartett-Signale bei 5.27 und 5.34 ppm belegen den Erhalt der Ethylidengruppe CH-3<sup>1</sup> und das Vorliegen eines *E,Z*-Isomerengemisches bezüglich der C(3)-C(3<sup>1</sup>)-Doppelbindung. Auffällig ist die Aufspaltung des Signals der Methylengruppe CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup> zu zwei Multipletts bei 3.0 und 3.1 ppm sowie die Verdopplung des Signals des Methylrests CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup> zu zwei Singulett bei 1.8 und 1.9 ppm (Abb. 67). Vermutlich resultieren diese Effekte aus Torsionen der C(5)-C(6)-Einfachbindung sowie des Propionsäurerests und der damit einhergehenden Änderung der chemischen Umgebung dieser Gruppen.

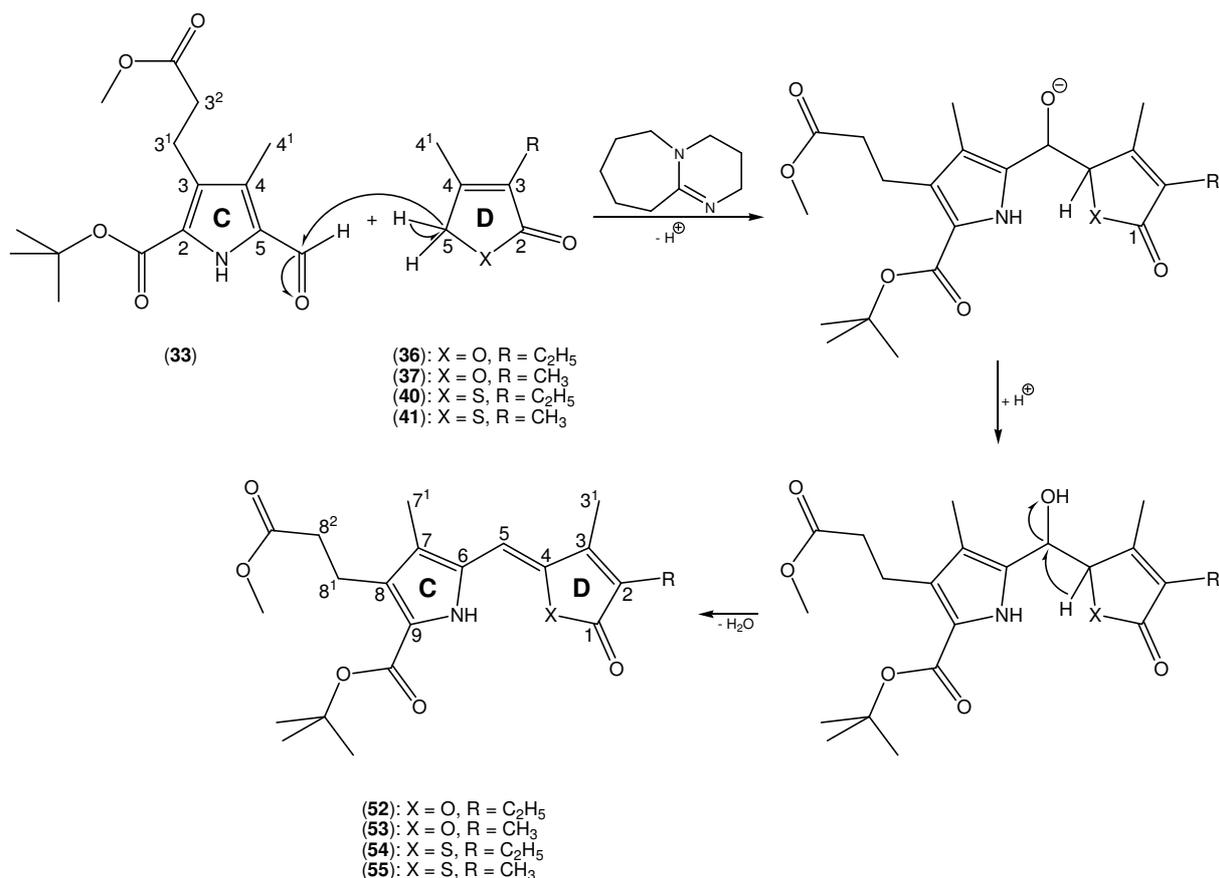


**Abb. 67:** Ausschnitt aus dem 500-MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des AB-Bausteins 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (51) in  $\text{CDCl}_3$ . \*: Reste von Dichlormethan.

## 4.2.2 Synthese der formylierten CD-Bausteine (58)–(63)

### 4.2.2.1 Darstellung der furanon- und thiophenonsubstituierten CD-Bausteine (52)–(55)

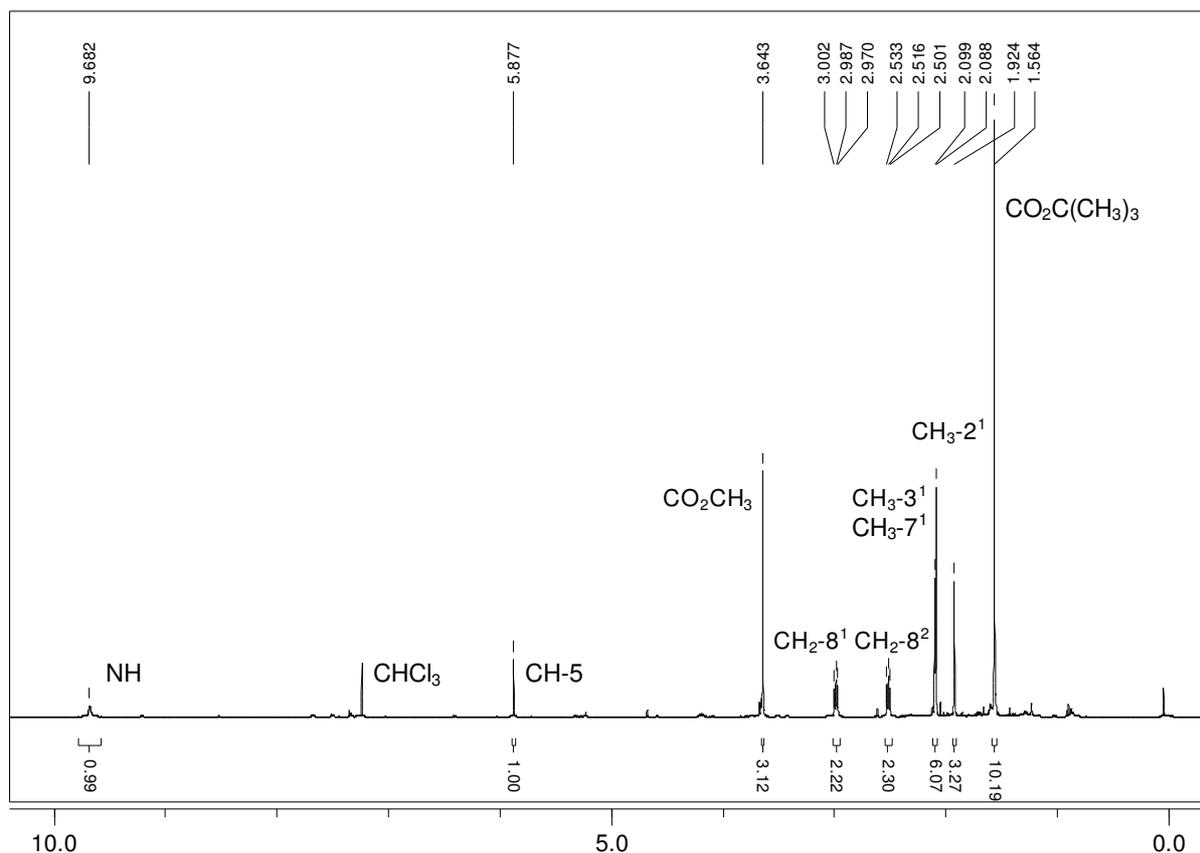
Die Synthese der furanon- und thiophenonsubstituierten CD-Ringe (52)–(55) erfolgt durch eine Knoevenagel-Reaktion, in deren Verlauf die Methylengruppe der D-Ringe (36), (37), (40) und (41) durch die Base DBU deprotoniert wird. Dieser Vorgang wird durch die aktivierende Wirkung der benachbarten Heteroatome Sauerstoff bzw. Schwefel unterstützt. Nach der Deprotonierung wird die verbleibende negative Ladung durch Konjugation mit den Doppelbindungen des D-Rings stabilisiert. Das gebildete Carbanion addiert nucleophil unter Bildung eines aldolartigen Zwischenprodukts an die Formylgruppe des C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (33). Im Anschluss erfolgt unter Eliminierung von Wasser, das durch zugesetztes Molekularsieb abgefangen wird, die Ausbildung der Doppelbindung zwischen dem Ring C (33) und den D-Ringen (36), (37), (40) und (41) (Abb. 68).



**Abb. 68:** Synthese der CD-Bausteine mit Furanon- (52) und (53) sowie Thiophenonstruktur (54) und (55).

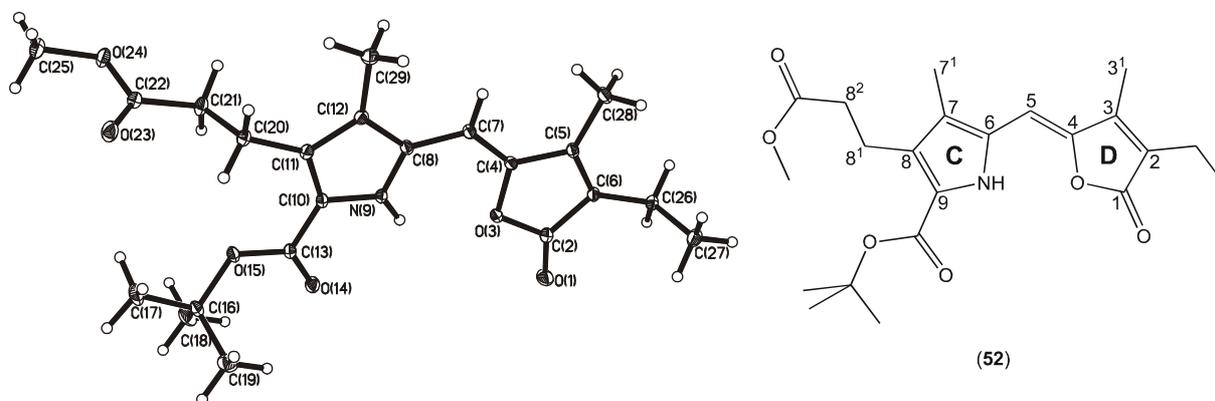
Angetrieben wird die Reaktion durch die Ausbildung eines energetisch begünstigten Systems von sechs konjugierten Doppelbindungen innerhalb der Dimeren (52)–(55). Diese Konjugation ist außerdem die Ursache der intensiven Gelbfärbung der Produkte. Bezogen auf den eingesetzten 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (33) beträgt die relative Ausbeute der CD-Bausteine mit Furanonstruktur (36) und (37) 76–86 %, die der CD-Bausteine mit Thiophenonstruktur (40) und (41) 40–49 %.

Neben der intensiven Gelbfärbung werden die CD-Dimeren (52)–(55) durch ihre <sup>1</sup>H-NMR-Spektren charakterisiert. Das markanteste Signal ist das Singulett des Protons der Methinbrücke an Position C(5), das in den durch die Furanone substituierten Verbindungen (52) und (53) eine Verschiebung von 5.9 ppm, in den durch die Thiophenone substituierten Verbindungen (54) und (55) eine von 6.9 ppm aufweist. Gleichzeitig sind weder die Signale des Formylrests des C-Rings noch der Methylenprotonen der D-Ringe nachweisbar (Abb. 69).



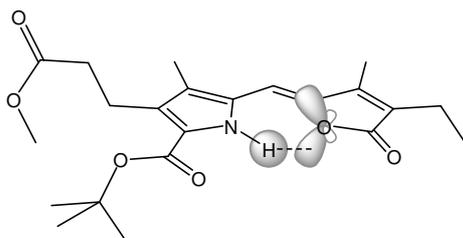
**Abb. 69:** 500-MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des CD-Rings 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon (**53**) in  $\text{CDCl}_3$ .

Die Analyse der Kristallstruktur des 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons (**52**) belegt, dass die C(4)-C(5)-Doppelbindung *Z*-Konfiguration und die C(5)-C(6)-Einfachbindung *syn*-Konformation besitzt (Abb. 70). Zwischen den Bindungen O-C(4)-C(5)-C(6) beträgt der Torsionswinkel  $0.10^\circ$ , zwischen den Bindungen C(5)-C(6)-N-H beträgt er  $-3.39^\circ$ . Während sich der Furanon-Sauerstoff innerhalb der Molekülebene befindet, ist das pyrrolische Wasserstoffatom um  $3.39^\circ$  unterhalb der Molekülebene verschoben.



**Abb. 70:** Ergebnis der Kristallstrukturanalyse und Kekulé-Formel des 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons (**52**).

Die Ursache hierfür ist die Ausbildung einer intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem 1s-Orbital des Wasserstoffatoms und einem  $sp^3$ -Hybridorbital des Furanon-Sauerstoffs, welcher als Protonenakzeptor dient (Abb. 71). Belegt wird die Existenz einer Wasserstoffbrückenbindung dadurch, dass der kristallographisch ermittelte Abstand zwischen dem pyrrolischen Wasserstoffatom und dem Furanon-Sauerstoffatom 2.24 Å beträgt und somit deutlich geringer ist als die Summe der van-der-Waals-Radien von Wasserstoff und Sauerstoff, welche 2.60 Å beträgt.<sup>147</sup>



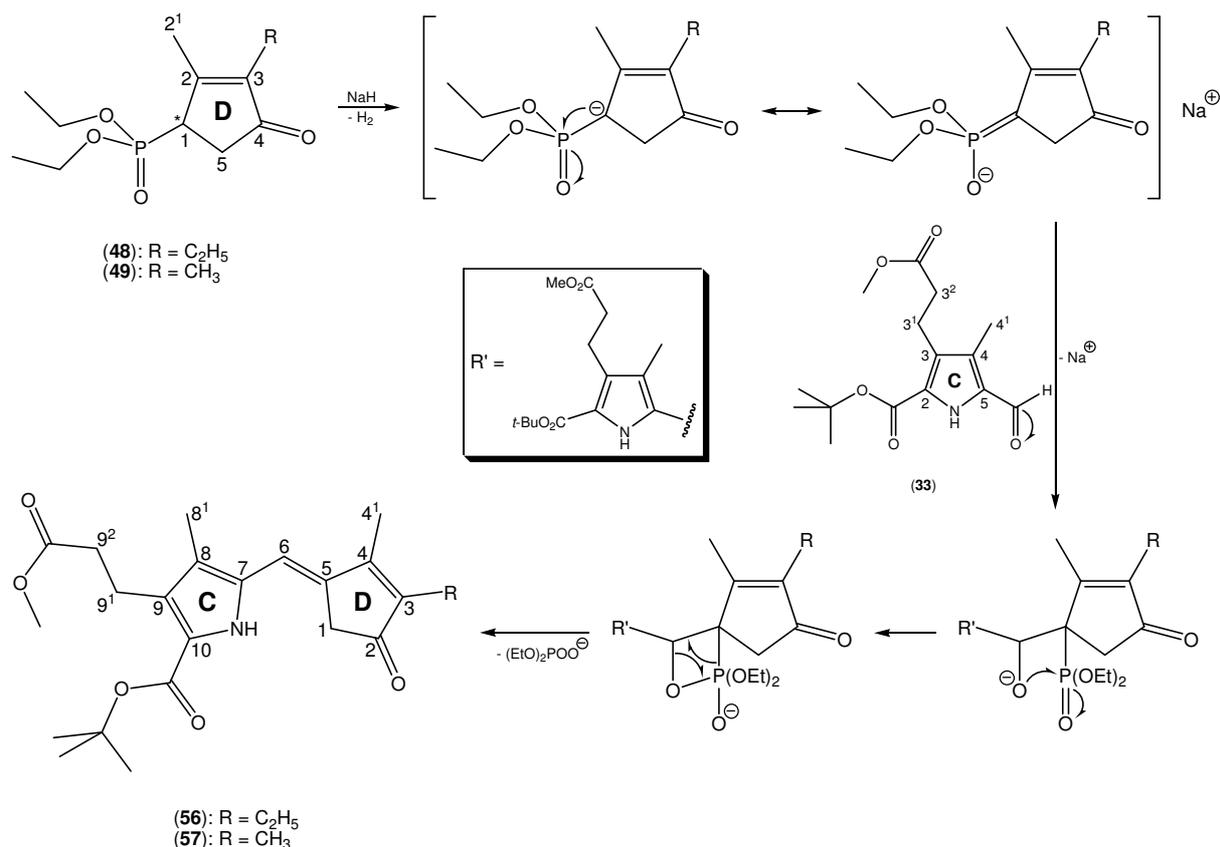
(52)

**Abb. 71:** Intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung (gestrichelte Linie) zwischen dem 1s-Orbital des pyrrolischen Wasserstoffatoms und einem  $sp^3$ -Hybridorbital des Furanon-Sauerstoffs im 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon (52).

Außerdem verursacht die Wechselwirkung mit dem Furanon-Sauerstoff eine Reduktion der Elektronendichte am Brückenwasserstoff. Diese Entschirmung des Protons ist per  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie beobachtbar. Während das Signal des Pyrrolwasserstoffatoms im Spektrum der Vorstufe des B- und C-Rings (28) bei 8.8 ppm und aufgrund der schwachen Wechselwirkung mit dem aldehydischen Sauerstoffatom im Spektrum des C-Rings (33) bei 9.4 ppm auftritt, erfährt es im Spektrum des CD-Rings (52) eine Tieffeldverschiebung um 0.9 bzw. 0.3 ppm nach 9.7 ppm.

#### 4.2.2.2 Darstellung der cyclopentenonsubstituierten CD-Bausteine (56) und (57)

Zur Verknüpfung der als Phosphonsäureester vorliegenden Cyclopentenone (48) und (49) mit dem Ring C (33) dient eine Horner-Emmons-Reaktion. Im Rahmen dieser Olefinierungsreaktion werden die Phosphonate (48) und (49) an ihrer CH-aciden Position C(1) durch die Base Natriumhydrid deprotoniert. Dabei wird die negative Ladung der unter Wasserstoffentwicklung entstehenden korrespondierenden Carbanionen vom Phosphonsäurerest stabilisiert. Im Anschluss addiert das nucleophile Kohlenstoffatom der Position C(1) an die Aldehydfunktion des 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (33). Zunächst bildet sich ein Betain, das zu einer cyclischen Zwischenstufe, einem Oxaphosphethan, reagiert. Dieses zerfällt unter Ausbildung einer olefinischen Bindung in die intensiv gelb gefärbten cyclopentenonsubstituierten CD-Ringe (56) und (57) sowie in den wasserlöslichen und damit leicht abtrennbaren Phosphorsäurediethylester (Abb 72).<sup>146</sup>

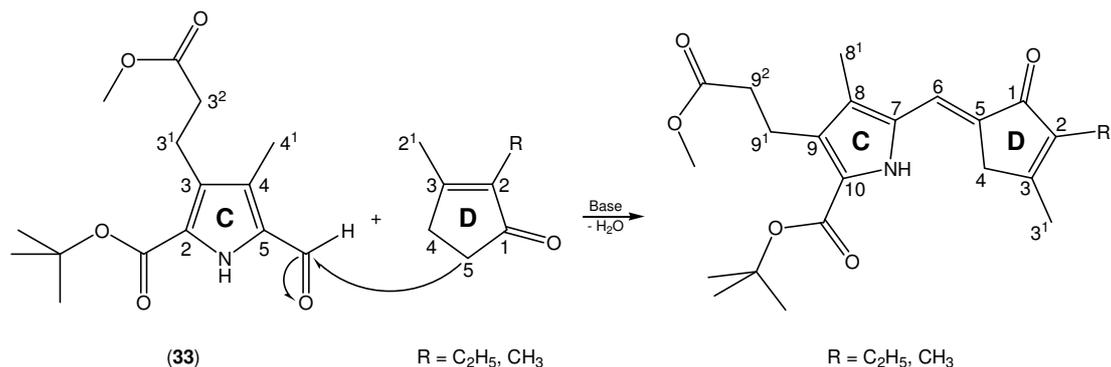


**Abb. 72:** Synthese der CD-Bausteine mit Cyclopentenonstruktur (56) und (57).

Als Triebkraft dieser Reaktion dient einerseits die Ausbildung des aus sechs konjugierten Doppelbindungen bestehenden  $\pi$ -Systems der Reaktionsprodukte (56) und (57) sowie andererseits das Entstehen einer sehr starken Phosphor-Sauerstoff-Doppelbindung. Bezüglich des eingesetzten 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (33) betragen die relativen Ausbeuten der Produkte (56) und (57) dieser Kupplungsreaktion 32–34 %.

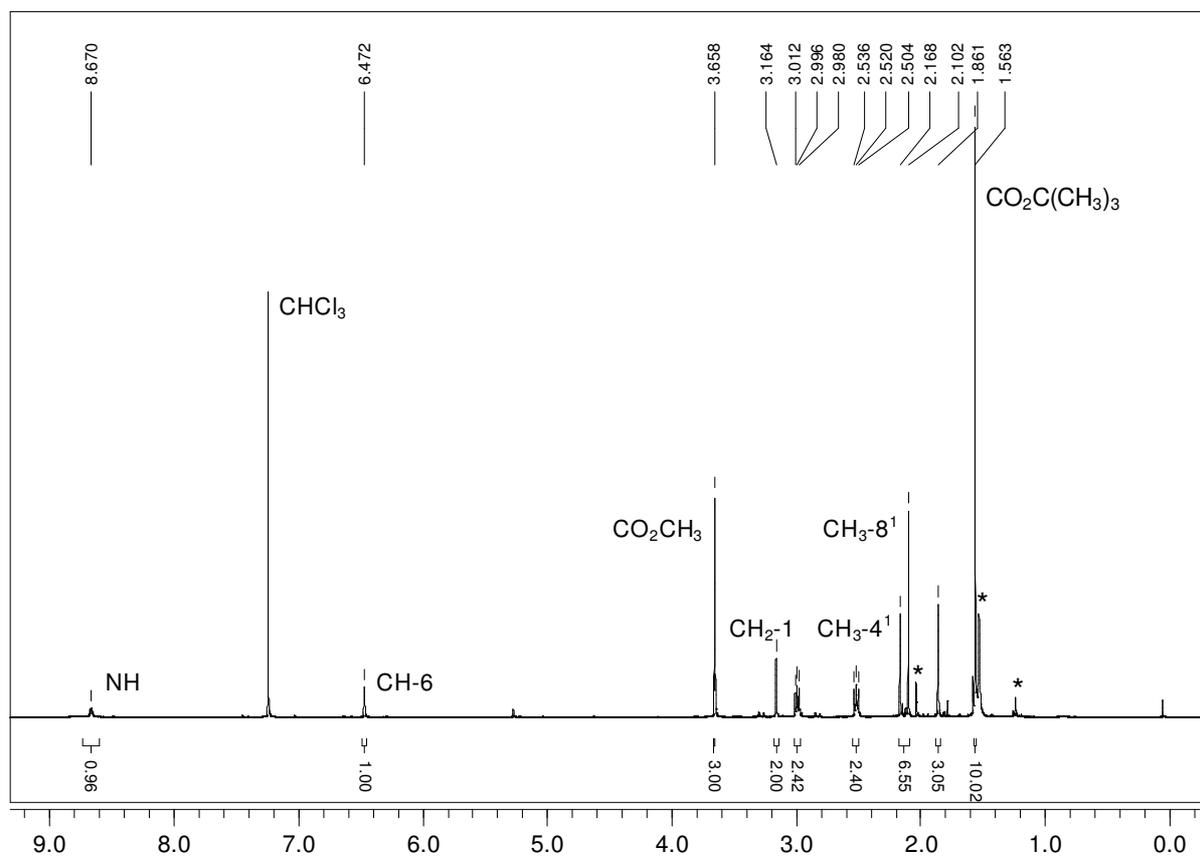
Es ist notwendig, die Cyclopentenone als Phosphonsäureester in die Reaktion einzusetzen, da sie sich unsubstituiert im Rahmen einer Knoevenagel-Reaktion mit dem Ring C (33) nicht gezielt zu den Dimeren (56) und (57) umsetzen ließen. Aufgrund ihrer  $\alpha$ -Ständigkeit zur Carbonylfunktion besitzt die Methylengruppe CH<sub>2</sub>-5 eine höhere CH-Acidität als die Methylengruppe CH<sub>2</sub>-4. Deshalb fände ebenso an Position C(5) die Deprotonierung und Ausbildung einer olefinischen Bindung zum C-Ring (33) statt, wodurch sich ein CD-Dimer bildete, dessen geometrische Information nicht jener der zu synthetisierenden Chromophore entspräche (Abb. 73).

## Ergebnisse und Diskussion der synthetischen Arbeiten



**Abb. 73:** Bevorzugte Knoevenagel-Reaktion zwischen dem Ring C (**33**) und unsubstituierten Cyclopentenonen.

Wie bei den furanon- bzw. cyclopentenonsubstituierten CD-Dimeren (**52**)–(**55**) ist das Singulett-Signal des Protons der Methingruppe an Position C(6) bei 6.5 ppm charakteristisch für das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Cyclopentenonderivate (**56**) und (**57**). Gleichzeitig indizieren im aufgereinigten Produkt die fehlenden Signale des Formylrests des C-Rings (**33**) und des Phosphonsäureesters der D-Ringe (**48**) und (**49**) den erfolgreichen Verlauf der Verknüpfungsreaktion (Abb. 74).



**Abb. 74:** 500-MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 10-Carbonsäure-*tert*-butylester-9-(3-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyromethen-2-cyclopent-3-enon (**57**) in  $\text{CDCl}_3$ . \*: Verunreinigungen.

#### 4.2.2.3 Vergleich der CD-Bausteine (52)–(57)

Ein direkter Vergleich der Reaktionen zeigt die Abhängigkeit der relativen Ausbeuten davon, ob es sich beim eingesetzten Ring D um ein Furanon, Thiophenon, oder Cyclopentenon handelt. Erste Betrachtungen belegen, dass die Knoevenagel-Reaktionen höhere relative Ausbeuten bezüglich des eingesetzten 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**33**) liefern als die Umsetzungen nach dem Horner-Emmons-Mechanismus (Tab. 3).

Substanz	X	R	Ausbeute [%]
(52)	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	86.2
(53)	O	CH <sub>3</sub>	75.6
(54)	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	49.0
(55)	S	CH <sub>3</sub>	40.4
(56)	CH <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	32.0
(57)	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	33.8

**Tab. 3:** Vergleich der Ausbeuten der Kupplungsreaktionen zwischen Ring C (**33**) und den D-Ringen (**36**), (**37**), (**40**), (**41**), (**48**) und (**49**).

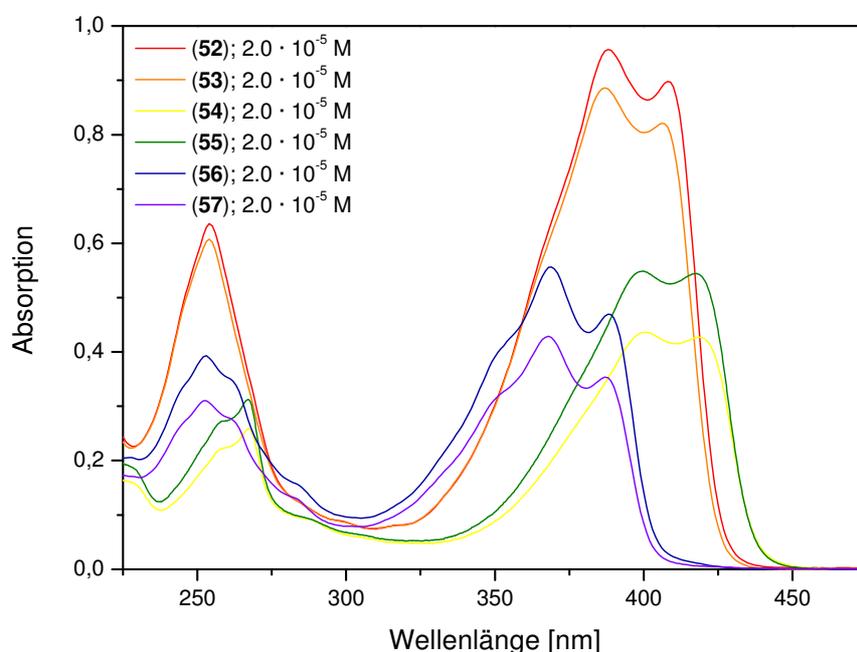
Die geringeren Produktausbeuten der Horner-Emmons-Reaktionen werden verursacht durch ein ungünstiges Substitutionsmuster der Cyclopentenone (**48**) und (**49**). Da  $\alpha$ -ständig zur Position C(1) (Abb. 72) ein die Deprotonierung unterstützender Substituent, wie z. B. eine Phenyl-, Carbonyl- oder Cyangruppe, fehlt, verlaufen die Reaktionen zu den Dimeren (**56**) und (**57**) nur zögerlich.<sup>138</sup> Dieser Effekt lässt sich weder durch einen, bezogen auf den Ring C (**33**), zweifachen Überschuss der Phosphonate (**48**) und (**49**) sowie des Natriumhydrids noch durch Kochen des Ansatzes in THF unter Rückfluss kompensieren. Höheren Reaktionstemperaturen sollten der C-Ring (**33**) und die entstehenden Dimere (**56**) und (**57**) nicht ausgesetzt werden, um ihre Zersetzung zu vermeiden. Schon unter den gegebenen Bedingungen lassen sich nur noch ca. 10 % des eingesetzten 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**33**) zurückgewinnen, obwohl nur 32–34 % zu den Dimeren umgesetzt werden.

Die stark voneinander abweichenden Ausbeuten der Knoevenagel-Reaktionen zwischen dem Ring C (**33**) und den Furanonen (**36**) und (**37**) einerseits sowie den Thiophenonen (**40**) und (**41**) andererseits resultieren aus den unterschiedlichen Elektronegativitäten der Heteroatome. Da die Elektronegativität des Sauerstoffs nach Pauling<sup>152</sup> 3.44 beträgt, die des Schwefels jedoch nur 2.58, ist die Elektronendichte an der  $\alpha$ -ständigen Methylengruppe der Furanone (**36**) und (**37**) geringer als an der der Thiophenone (**40**) und (**41**). Daraus resultiert ihre leichtere Deprotonierbarkeit und die höhere Ausbeute der Reaktion.

Nicht erklärbar ist die während der Knoevenagel-Reaktionen auftretende scheinbare Abhängigkeit der Ausbeute vom Substitutionsmuster der eingesetzten D-Ringe an ihrer

Position C(3). Einerseits liefert die Umsetzung mit dem an Position C(3) durch die sterisch weniger anspruchsvolle Methylgruppe substituierten Furanon bzw. Thiophenon eine geringere Ausbeute als das durch einen Ethylrest substituierte Analogon, andererseits befindet sich die Position C(3) auf der der reaktiven Methylengruppe abgewandten Seite des Moleküls. Vermutlich handelt es sich hierbei um einen statistischen und nicht um einen systematischen Effekt.

Da die Furanone (**52**) und (**53**), die Thiophenone (**54**) und (**55**) sowie die Cyclopentenone (**56**) und (**57**) über ein identisches, sechs konjugierte Doppelbindungen umfassendes  $\pi$ -System verfügen und ein nahezu gleiches Substitutionsmuster besitzen, weisen ihre UV/Vis-Spektren ein ähnliches Absorptionsverhalten auf. Alle Moleküle zeigen sowohl ein kurzwelliges Absorptionsmaximum als auch zwei langwellige Absorptionsmaxima (Abb. 75, Tab. 4).



**Abb. 75:** UV/Vis-Spektren der furanon-, thiophenon- und cyclopentenonsubstituierten CD-Bausteine (**52**)–(**57**) in n-Hexan.

Die mit dem konjugierten  $\pi$ -System verknüpften und im D-Ring vorliegenden Heteroatome Sauerstoff und Schwefel wirken als Auxochrome. Durch ihre Fähigkeit zur Abgabe freier Elektronenpaare bewirken sie eine bathochrome Verschiebung der Absorptionsmaxima.<sup>153</sup> Während das längstwellige Absorptionsmaximum der Furanone (**52**) und (**53**) bei 407–409 nm und das der Thiophenone (**54**) und (**55**) bei 418–419 nm detektierbar ist, beträgt das längstwellige Absorptionsmaximum der Cyclopentenone (**56**) und (**57**) nur 387–388 nm. Unabhängig davon ist in allen UV/Vis-Spektren die Differenz zwischen den zwei langwelligen Absorptionsmaxima nahezu identisch. Sie beträgt im Fall der Furanone (**52**) und (**53**) 20 nm, der Thiophenone (**54**) und (**55**) 18 nm sowie der Cyclopentenone (**56**) und (**57**) 19 nm (Tab. 4).

Substanz	$\lambda_{\max}$ [nm] / $\epsilon$ [l · mol <sup>-1</sup> · cm <sup>-1</sup> ]		
(52)	254 / 32000	389 / 48100	409 / 45200
(53)	254 / 30400	387 / 44400	407 / 41100
(54)	267 / 12900	401 / 21800	419 / 21300
(55)	267 / 16700	400 / 29300	418 / 29100
(56)	253 / 23500	369 / 27800	388 / 19600
(57)	252 / 15500	368 / 21400	387 / 17700

**Tab. 4:** Absorptionsmaxima und molare dekadische Extinktionskoeffizienten der furanon-, thiophenon- und cyclopentenonsubstituierten CD-Bausteine (52)–(57) in n-Hexan.

Aus der Anwendung der erweiterten Woodward-Regeln ergibt sich für die Lage des  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergangs der furanonsubstituierten Dimere (52) und (53), welche durch das längstwellige Absorptionsmaximum beschrieben wird, ein Wert von 418 nm.<sup>154</sup> Er bestätigt in ausreichender Näherung die spektroskopisch ermittelten Werte von 407 bzw. 409 nm, die Abweichung beträgt 2.2 bzw. 2.7 % (Tab. 4). Allerdings ist diese Methode aufgrund der großen Abweichung zwischen dem errechneten (440 nm) und den experimentell gewonnenen (387 bzw. 388 nm) Ergebnissen nicht zur Kontrolle der Lage des  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergangs der cyclopentenonsubstituierten Dimere (56) und (57) geeignet. Des Weiteren verhindern fehlende Berechnungsgrundlagen die Bestimmung der Lage des Absorptionsmaximums der thiophenonsubstituierten Dimere (54) und (55).

#### 4.2.2.4 Formylierung der CD-Bausteine (52)–(57)

Die Kupplungsreaktion zwischen dem C-Ring (33) und den unterschiedlich substituierten D-Ringen (36), (37), (40), (41), (48) und (49) führt zu CD-Bausteinen, in denen das zur NH-Gruppe des C-Rings  $\alpha$ -ständige Kohlenstoffatom einen *tert*-Butylester als Substituenten trägt. Um sie mit dem AB-Baustein (51) zu den entsprechenden Tetrameren umsetzen zu können, muss die Substitution des *tert*-Butylesters durch eine Formylgruppe erfolgen. Da den drei  $\pi$ -Elektronenpaaren des pyrrolischen C-Rings der Dimere (52)–(57) nur fünf Ringatome gegenüberstehen, handelt es sich um  $\pi$ -Elektronenüberschussaromaten, in denen das Heteroatom einen aktivierenden Einfluss ausübt.<sup>138</sup> Die vier Kohlenstoffatome tragen dabei eine partiell negative und das Stickstoffatom eine partiell positive Ladung. Aufgrund der hohen  $\pi$ -Elektronendichte an den zum Stickstoffatom  $\alpha$ -ständigen Kohlenstoffen besteht die Möglichkeit einer elektrophilen aromatischen Substitutionsreaktion.<sup>155</sup>

Durch Einwirken von TFA auf die CD-Bausteine (52)–(57) erfolgt die Hydrolyse der *tert*-Butylestergruppen zur analogen Säurefunktion (Abb. 76). Die anschließende Zugabe von Orthoameisensäuretrimethylester zu den Reaktionsansätzen löst unter Freisetzung von Methanol die Bildung eines Acetalkations aus, welches die CD-Dimere elektrophil angreift. Außerdem bewirken die sauren Reaktionsbedingungen zum einen die Decarboxylierung der Säurereste und somit die Wiederherstellung des aromatischen Systems der

C-Ringe, zum anderen erfolgt hierdurch die Reaktion des Acetals zur Formylfunktion unter Abgabe zweier Moleküle Methanol (Abb. 76).

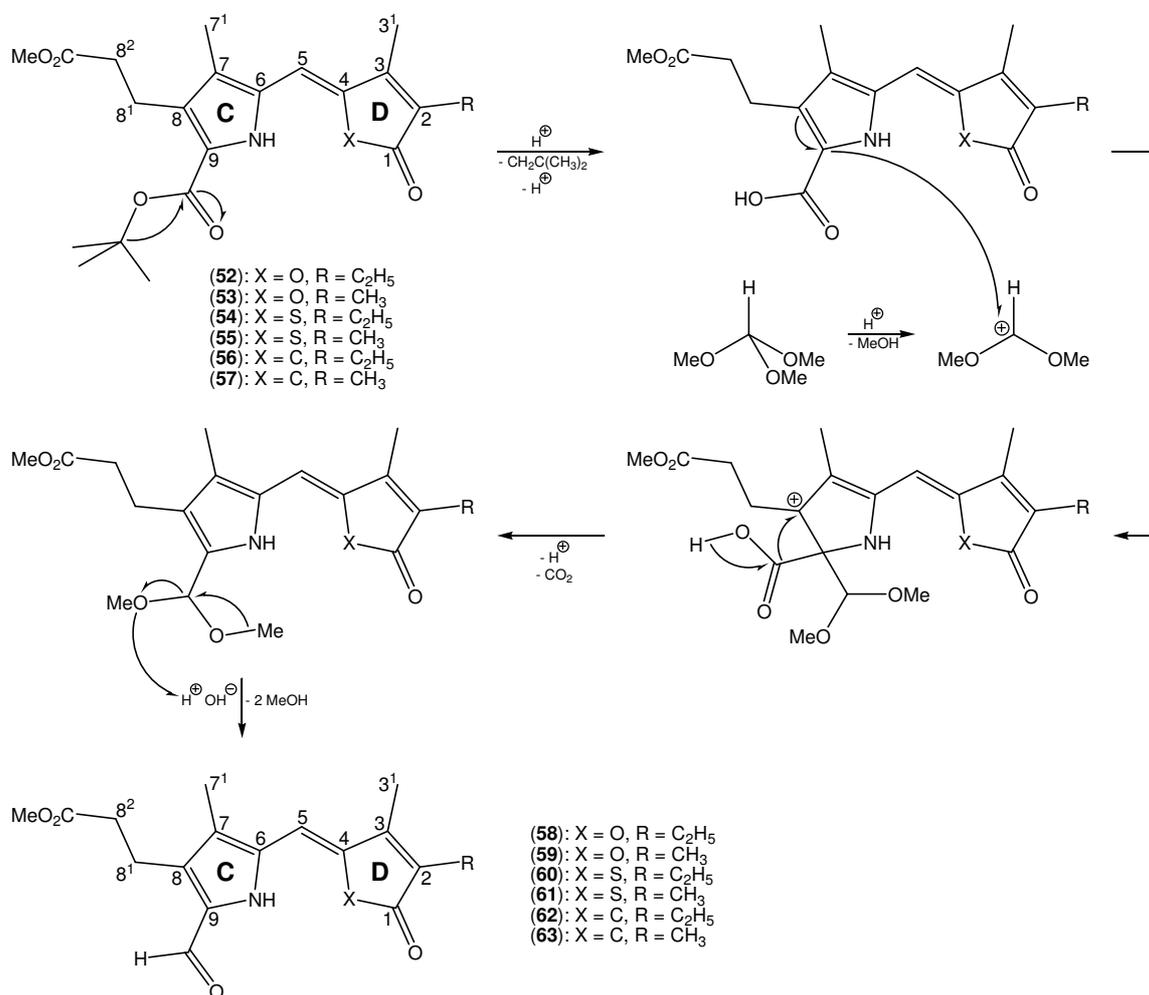


Abb. 76: Substitution der *tert*-Butylgruppe der CD-Ringe durch eine Formylgruppe.

Die Ausbeuten der Reaktion sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Da weder ein Beweis noch eine schlüssige Erklärung für den Einfluss des Heteroatoms sowie des Substitutionsmusters am D-Ring auf die Ausbeute existiert, besteht die Vermutung, dass es sich hierbei um einen statistischen und nicht um einen systematischen Effekt handelt.

Substanz	X	R	Ausbeute [%]
(58)	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	54.3
(59)	O	CH <sub>3</sub>	52.2
(60)	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	34.6
(61)	S	CH <sub>3</sub>	36.1
(62)	CH <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	41.0
(63)	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	33.3

Tab. 5: Vergleich der Ausbeuten der Formylierungsreaktionen der CD-Bausteine (52)–(57).

Anhand der  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren lassen sich die sechs Reaktionsprodukte (58)–(63) zweifelsfrei identifizieren. Sie unterscheiden sich von den Spektren der jeweiligen Edukte (Abb. 69, Abb. 74) einerseits durch das Fehlen des durch die *tert*-Butylesterfunktion verursachten Singulets bei 1.6 ppm, andererseits durch das dafür vorhandene Signal des aldehydischen Protons bei 9.6–9.7 ppm.

#### 4.2.2.5 Nebenprodukte der Formylierungsreaktion

Während der Umsetzung der CD-Bausteine (58)–(60) zu den analogen Aldehyden bilden sich tiefblau gefärbte Nebenprodukte (64)–(66), deren Farbe als deutlicher Hinweis auf ihre tetrapyrrolähnliche Struktur dient. Die Nebenprodukte (64)–(66) entstehen durch Reaktion der Formylgruppe des Produkts mit dem *tert*-Butylrest noch nicht umgesetzten Edukts (Abb. 77). Im Gegensatz zu Literaturangaben<sup>32</sup> lässt sich diese Seitenreaktion, die die Ausbeute an formyliertem Produkt vermindert, durch Kühlung des Reaktionsansatzes mittels eines Eisbads während der Zugabe des Orthoameisensäuretrimylesters sowie anschließender, langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur weitgehend unterbinden. Obwohl aufgrund dieser Maßnahmen bei der Darstellung der CD-Bausteine (61)–(63) keine quantifizierbaren Mengen der entsprechenden Nebenprodukte erhalten werden, ist keine systematische Erhöhung der Produktausbeuten feststellbar (Tab. 3).

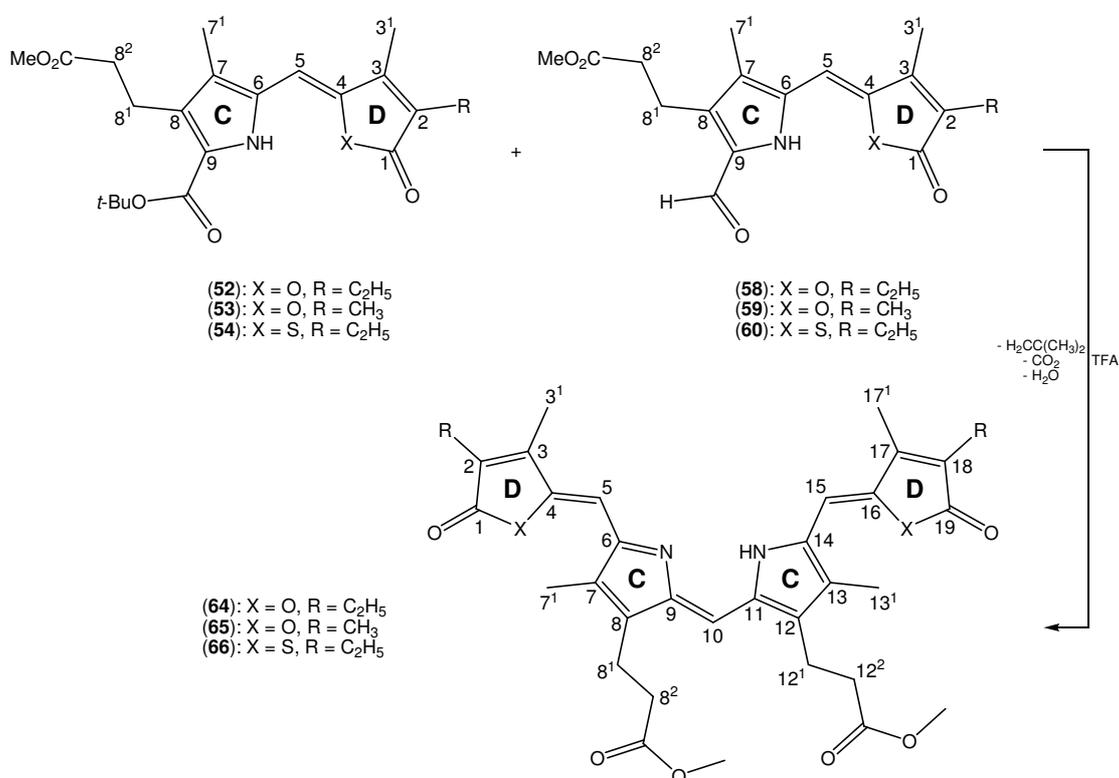


Abb. 77: Bildung der Nebenprodukte (64)–(66) im Rahmen der Formylierung von (58)–(60).

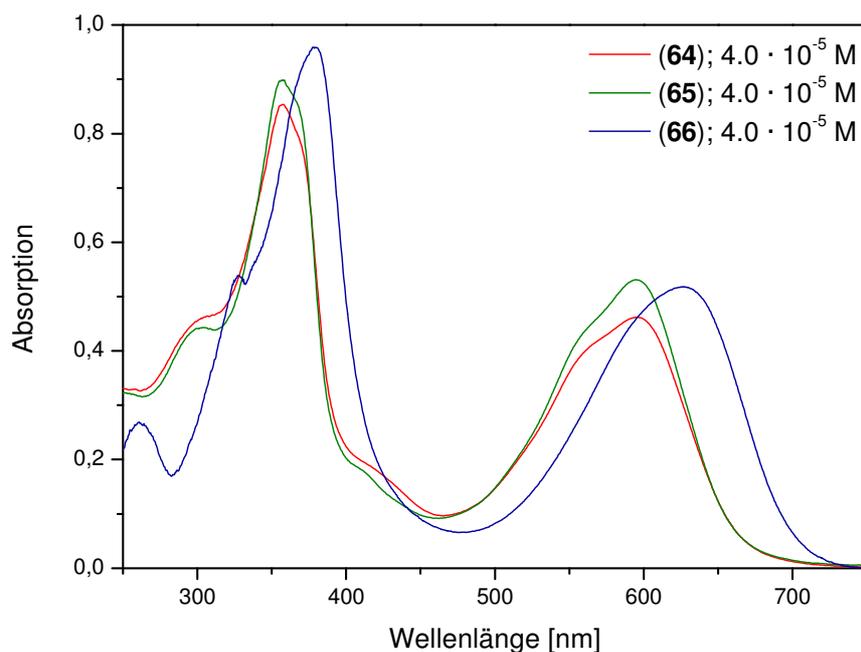
Wie BV (5) besitzen die Nebenprodukte (64)–(66) (Tab. 6) ein aus zehn Elektronenpaaren bestehendes konjugiertes  $\pi$ -System. Da sich jedoch an den Positionen C(2) und

C(18) sowie C(3) und C(17) keine Vinylsubstituenten befinden, fehlt ihnen die Möglichkeit zur Ausbildung einer kovalenten Bindung mit dem PhyA-Apoprotein.

Substanz	X	R	Ausbeute [%]
(64)	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	18.4
(65)	O	CH <sub>3</sub>	15.6
(66)	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	8.0

**Tab. 6:** Vergleich der Ausbeuten der während der Formylierungsreaktionen der CD-Bausteine (58)–(60) entstehenden Nebenprodukte (64)–(66).

Die erhaltenen Substanzmengen reichen für ausführliche spektroskopische sowie spektrometrische Charakterisierungen aus, jedoch nicht für die saure Hydrolyse der Methyl-ester- zu Säurefunktionen. Erst diese Umsetzung ermöglichte die Assemblierung der Chromophore mit dem PhyA-Apoprotein aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen zwischen den Propionsäureresten und der Proteinumgebung, welche die Chromophore positionieren und ihre Konformation konservieren.<sup>156</sup>



**Abb. 78:** UV/Vis-Spektren der während der Formylierungsreaktionen der CD-Bausteine (58)–(60) entstehenden Nebenprodukte (64)–(66) in Diethylether.

Die UV/Vis-Spektren der furanonsubstituierten Nebenprodukte (64) und (65) zeigen ein nahezu identisches Absorptionsverhalten (Abb. 78), welches durch ihre strukturelle Ähnlichkeit hervorgerufen wird. Beide Produkte unterscheiden sich nur darin, dass die Positionen C(2) und C(18) in (64) durch jeweils einen Ethylrest, in (65) durch jeweils einen Methylrest substituiert sind. Dieser Unterschied bewirkt keine Signalverschiebung, da sich weder Anzahl noch Funktionalität der an die konjugierten  $\pi$ -Systeme gebunde-

nen Substituenten ändert. Dahingegen zeigt das UV/Vis-Spektrum des thiophenonsubstituierten, ansonsten aber ein identisches Substitutionsmuster besitzenden, Chromophors (**66**) im Vergleich zu den furanonsubstituierten Verbindungen (**64**) und (**65**) eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums um 32–33 nm (Abb. 78, Tab. 7).

Substanz		$\lambda_{\max}$ [nm] / $\epsilon$ [l · mol <sup>-1</sup> · cm <sup>-1</sup> ]		
( <b>64</b> )	-	307 / 12500	358 / 22900	596 / 12400
( <b>65</b> )	-	304 / 10300	358 / 20900	595 / 12400
( <b>66</b> )	261 / 6700	328 / 13500	378 / 24000	628 / 13000

**Tab. 7:** Absorptionsmaxima und molare dekadische Extinktionskoeffizienten der Nebenprodukte (**64**)–(**66**) in Diethylether.

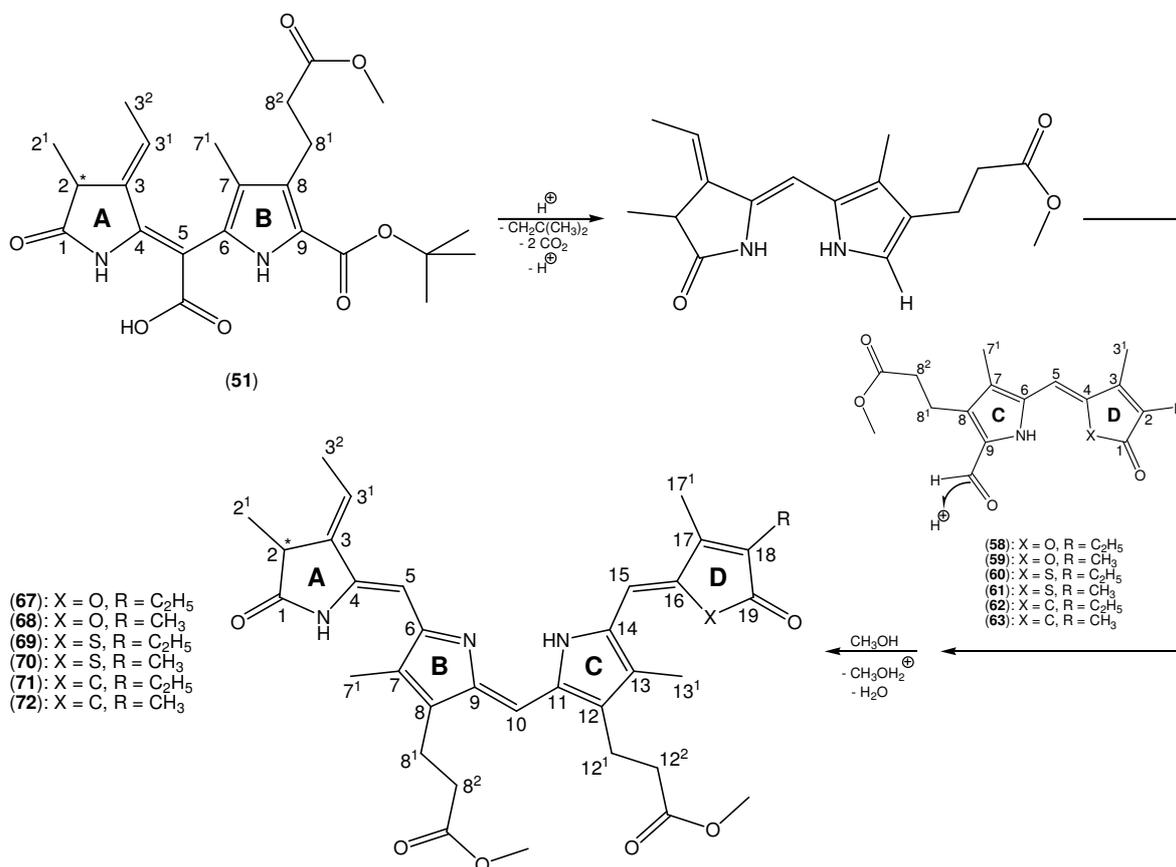
Unter Anwendung der erweiterten Woodward-Regeln besteht die Möglichkeit, die Lage des  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergangs der zehn konjugierte Doppelbindungen enthaltenden, furanonsubstituierten Chromophore (**64**) und (**65**) abzuschätzen. Danach beträgt der Wert des längstwelligen Absorptionsmaximums 590 nm<sup>151,154</sup> und bestätigt die experimentell ermittelten Werte von 595 bzw. 596 nm (Tab. 7). Die Lage des  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergangs der thiophenonsubstituierten Verbindung (**66**) lässt sich aufgrund fehlender Berechnungsgrundlagen nicht bestimmen.

## 4.3 Darstellung der Tetrameren

### 4.3.1 Synthese der PCB-analogen Dimethylester (67)–(72)

#### 4.3.1.1 Kondensation des AB-Dimers (51) mit den CD-Bausteinen (58)–(63)

Die Darstellung der Oxa-PCB-dimethylester (67) und (68), Thia-PCB-dimethylester (69) und (70) sowie der Carba-PCB-dimethylester (71) und (72) erfolgt im Rahmen säurekatalysierter Kondensationsreaktionen des AB-Bausteins 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (51) mit den furanon-, thiophenon- und cyclopentenonsubstituierten CD-Bausteinen (58)–(63). Während die Kupplungsstelle der AB-Hälfte (51) eine *tert*-Butylestergruppe trägt, ist die Kupplungsstelle der CD-Hälften (58)–(63) durch eine Formylgruppe substituiert.



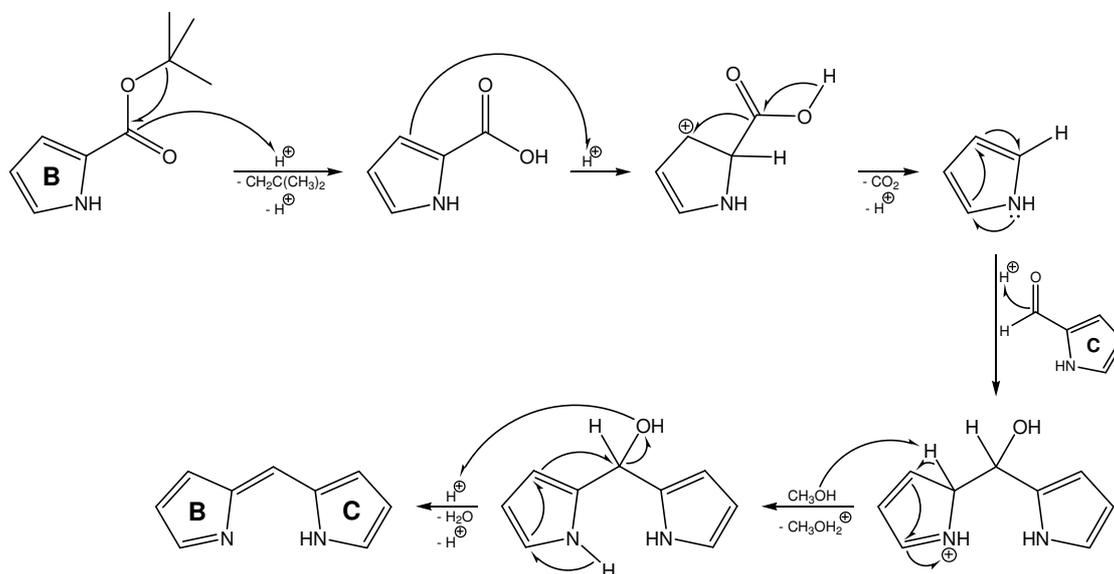
**Abb. 79:** Synthese der Dimethylester (67)–(72) durch Kondensation des AB-Bausteins (51) mit den CD-Bausteinen (58)–(63).

Im ersten Reaktionsschritt erfolgt die durch TFA katalysierte Spaltung der *tert*-Butylestergruppe des AB-Bausteins (51), in deren Verlauf ein acids Proton die Doppelbindung des carbonylischen Sauerstoffs elektrophil angreift. Unter Freisetzung eines tertiären Carbeniumions, das in der Folge zu Isobuten und einem Proton zerfällt, wird der

Ester in die korrespondierende Säure überführt. Diese, wie auch die Säurefunktion an Position C(5), wird im Anschluss unter den gegebenen sauren Bedingungen decarboxyliert. Zu dem auf diese Weise entschützten AB-Baustein (**51**) werden die formylierten CD-Bausteine (**58**)–(**63**) gegeben, deren protonierte Aldehydfunktion im Rahmen einer elektrophilen Substitutionsreaktion die unsubstituiert vorliegende Position C(9) des AB-Bausteins (**51**) angreift, wobei sich ein sekundärer Alkohol bildet. Nach achtstündiger Reaktionszeit bei einer Temperatur von ungefähr  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  erfolgt die Zugabe von Methanol, wodurch sich die vormals dunkelgrüne Lösung tiefblau färbt. Dieser Farbumschlag weist auf die Ausbildung des aus neun Elektronenpaaren bestehenden konjugierten  $\pi$ -Systems der Reaktionsprodukte (**67**)–(**72**) hin (Abb. 79).

Obwohl die Rolle des Methanols im Rahmen dieser Reaktion nicht endgültig geklärt ist, ist seine Addition zur Erzielung nennenswerter Produktausbeuten notwendig.<sup>157</sup> Lindner<sup>31</sup> vermutete, dass die Methanolzugabe der Verringerung der Protonenkonzentration im Reaktionsmedium diene, wodurch die Abspaltung des zur NH-Gruppe  $\alpha$ -ständigen Protons und damit die Wiederherstellung des pyrrolischen Systems des B-Rings ermöglicht werde.

Im Anschluss daran erfolgt durch Protonierung der sekundären Hydroxyfunktion die Eliminierung von Wasser. Unter Deprotonierung einer NH-Gruppe entsteht die den B- mit dem C-Ring verbindende Methinbrücke, welche zur Bildung des konjugierten, sich über das gesamte Molekül erstreckenden  $\pi$ -Systems führt (Abb. 80).



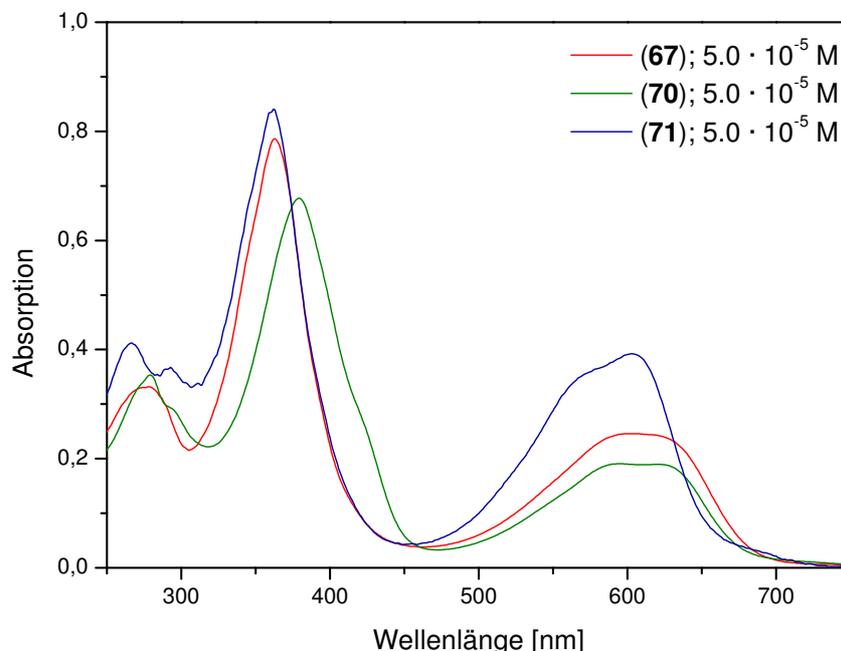
**Abb. 80:** Mechanismus der Umwertung des AB-Bausteins (**51**) mit den CD-Bausteinen (**58**)–(**63**). Übersichtlichkeit halber erfolgt eine vereinfachte Darstellung der an dieser Reaktion beteiligten Pyrrolkomponenten.

Die säulenchromatographische Aufreinigung an Kieselgel unter Verwendung eines Lösemittelgemisches, bestehend aus Dichlormethan und Ethylacetat (2:1, v/v), führt nur zu einer unvollständigen Trennung der Reaktionsprodukte 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB-dime-

thylester (**69**) bzw. 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylester (**70**) von den aldehydischen Edukten (**60**) und (**61**). Aus diesem Grund wird für die Oxa-PCB-dimethylester (**67**) und (**68**) sowie die Carba-PCB-dimethylester (**71**) und (**72**) eine Reinigungsmethode mittels HPLC unter Verwendung einer mit Kieselgel beladenen Chromatographiesäule und eines Lösemittelgemisches aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) etabliert. Im Verlauf dieser Trennoperationen lassen sich Spuren nicht umgesetzter aldehydischer CD-Bausteine detektieren, die jedoch aufgrund der geringen Menge nicht isoliert, sondern verworfen werden. Die Umsetzung zu den PCB-analogen Dimethylestern (**67**)–(**72**) verläuft mit Ausbeuten von 48–71 %, welche die Ausbeuten der Synthese natürlicher Chromophore<sup>81,83</sup> sowie ihrer Derivate<sup>31,32</sup> von 27–46 % teilweise deutlich übertreffen.

#### 4.3.1.2 Spektroskopische Untersuchung der PCB-analogen Dimethylester (**67**)–(**72**)

Charakteristisch für die Derivate des PCB-Dimethylesters (**67**)–(**72**) ist ihre tiefblaue Farbe. UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen zeigen sowohl für die Oxa-PCB-dimethylester (**67**) und (**68**) als auch die Carba-PCB-dimethylester (**71**) und (**72**) Absorptionsmaxima bei 362 nm und 604 nm. Während die kurzwelligen Maxima scharf aufgelöst sind, resultieren die breiten Absorptionsmaxima bei 604 nm aus der Überlagerung zweier nicht getrennt bestimmbarer Teilmaxima. Nur im Fall des 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylesters (**70**) ist eine Auflösung des langwelligen Absorptionsmaximums in zwei Maxima der Wellenlängen 595 und 620 nm beobachtbar (Abb. 81).

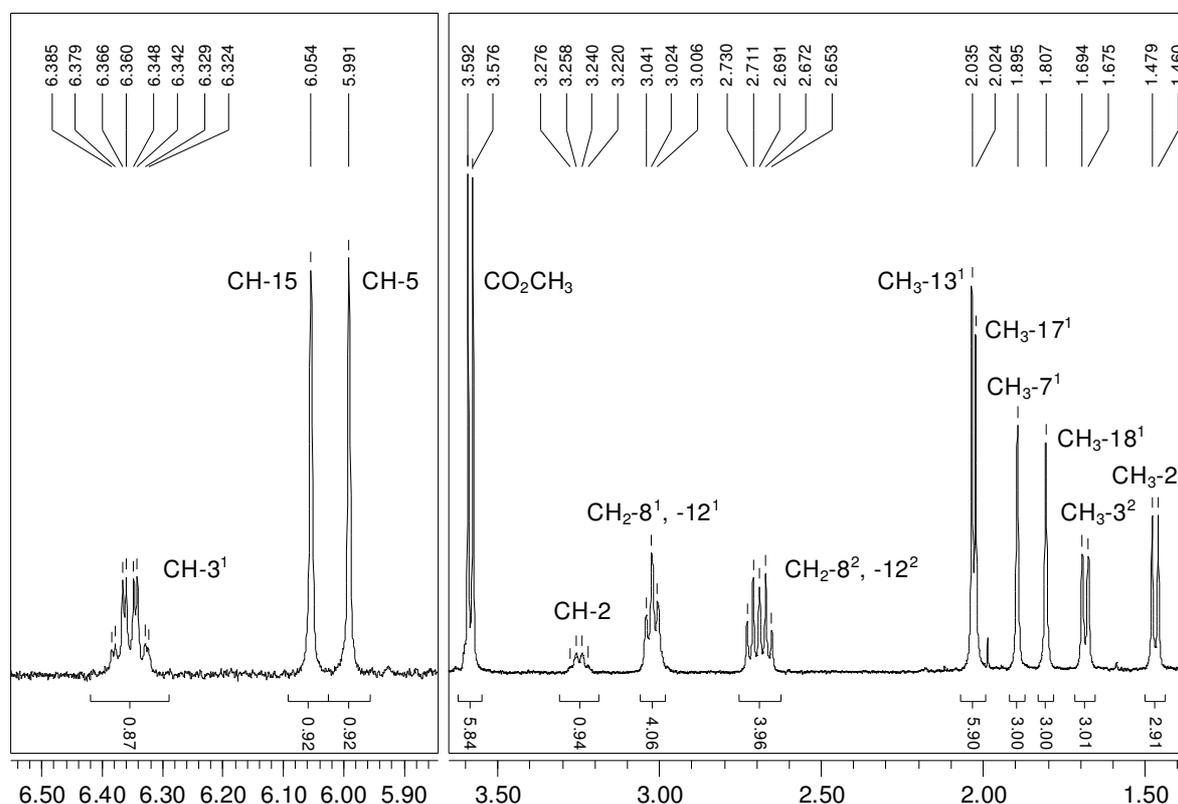


**Abb. 81:** UV/Vis-Spektren des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB-dimethylesters (**67**), 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylesters (**70**) und 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB-dimethylesters (**71**) in Methanol.

Die Derivate des PCB-Dimethylesters besitzen gegenüber Licht und Wärme eine höhere Stabilität als die freien Chromophore (**6**)–(**11**). Sowohl nach mehrstündiger Belich-

tung mit Weißlicht als auch nach 14-tägiger Lagerung bei Raumtemperatur zeigen die UV/Vis-Spektren der Dimethylester (**67**)–(**72**) weder eine bemerkenswerte Verringerung der Absorption noch eine hypsochrome Verschiebung der Absorptionsmaxima.

Charakteristisch für die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Oxa-PCB-dimethylester (**67**) und (**68**), Thia-PCB-dimethylester (**69**) und (**70**) sowie der Carba-PCB-dimethylester (**71**) und (**72**) sind die Singulets der drei Methingruppen CH-5, -10 und -15, welche die vier Ringe miteinander verbinden. Während unter Verwendung von Pyridin- $d_5$  als Lösemittel die Signale der Gruppen CH-5 und -15 der Oxa- und Carbaverbindungen zwischen 6.0 und 6.6 ppm detektiert werden, tritt das Signal der zentralen Methingruppe CH-10 zwischen 6.7 und 7.1 ppm auf (Abb. 82, Abb. 83). In den unter Verwendung von Deuteriochloroform als Lösemittel angefertigten  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Thiaverbindungen lassen sich die Signale der Methingruppen CH-5 und -15 zwischen 5.9 und 6.4 ppm, die Signale der Gruppe CH-10 bei 7.0 ppm detektieren.

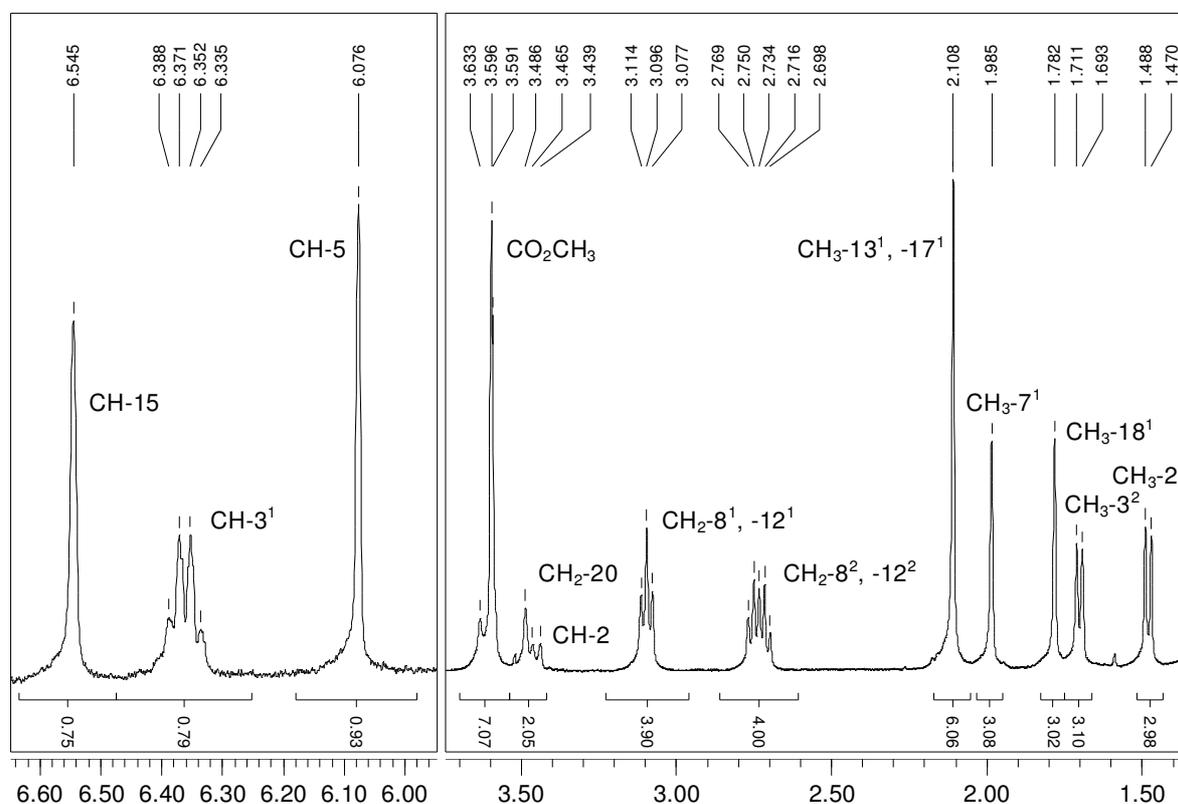


**Abb. 82:** Ausschnitte aus dem 400-MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 17,18-Dimethyl-oxa-PCB-dimethylesters (**68**) in  $\text{Pyridin-d}_5$ . Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt.

Aus der helicalen Konformation, in welcher offenkettige Tetrapyrrole in organischen Lösungsmitteln vorliegen,<sup>48</sup> resultieren Wechselwirkungen zwischen den Atomen des A- und des D-Rings. Hierdurch besteht die Möglichkeit, dass das Heteroatom des Rings D die elektronische Verschiebung sowohl des Protons der Methingruppe CH-15 als auch der Protonen an den Positionen C(2), C(2<sup>1</sup>), C(3<sup>1</sup>), C(3<sup>2</sup>) und C(5) beeinflusst. Dieser Ef-

fekt unterliegt möglicherweise dem zusätzlichen Einfluss durch den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Austausch des Ethyl- gegen einen Methylsubstituenten an Position C(18). Als Folge dieser vielschichtigen und nicht näher aufgeklärten Einflüsse ist keine systematische Verschiebung der Signale erkennbar.

Das Quartett-Signal des Wasserstoffatoms der Methingruppe CH-3<sup>1</sup> bei 6.4 ppm sowie das Dublett-Signal des Methylrests CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup> bei 1.7 ppm weist in den Spektren aller Verbindungen auf das Vorliegen der Ethylidenfunktion an Position C(3) hin (Abb. 82, Abb. 83). Des Weiteren zeigen die Signale der Propionsäureester den erfolgreichen Verlauf der Kupplungsreaktionen an. Die zu beobachtenden Differenzen der chemischen Verschiebungen der Methylengruppen CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup> und -12<sup>1</sup> bzw. CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup> und -12<sup>2</sup> resultieren dabei unter anderem aus der unterschiedlichen Struktur der zentralen Pyrrolringe, von denen einer in der 1*H*-, der andere in der 2*H*-Form vorliegt.



**Abb. 83:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 17,18-Dimethyl-carba-PCB-dimethyl-esters (**72**) in Pyridin-d<sub>5</sub>. Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt.

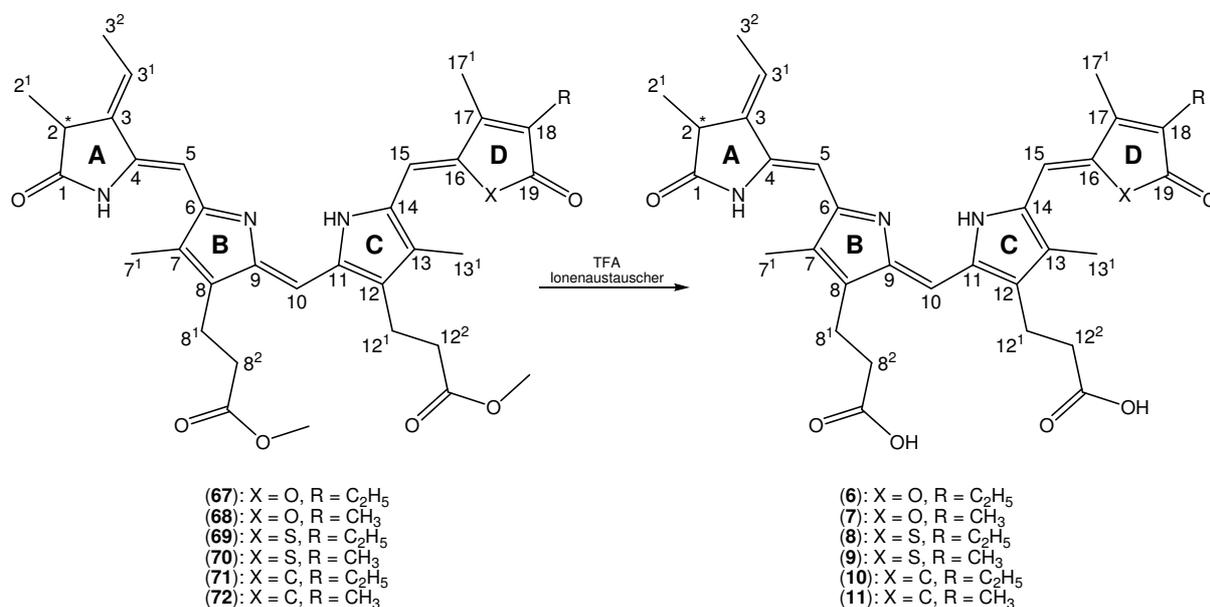
Obwohl die Reaktionen mit zufriedenstellenden relativen Ausbeuten verlaufen, werden je Umsetzung nur 12–17 mg des Produkts erhalten. Unter Berücksichtigung der Folgereaktion, für die relative Ausbeuten von ungefähr 50 % erwartet werden, und die sich daran anschließenden Charakterisierungen sowie Assemblierungsexperimente wird auf die Anfertigung von <sup>13</sup>C-NMR-Spektren verzichtet, da diese eine große Menge des Probenmaterials verbrauchen. Allerdings ermöglicht die Kombination aus <sup>1</sup>H-NMR-, IR- und

UV/Vis-Spektroskopie, Massenspektrometrie nach der Elektronenstoß- und Elektronenspray-Methode sowie hochauflösender Massenspektrometrie eine zuverlässige Charakterisierung der synthetisierten Derivate.

### 4.3.2 Synthese der PCB-analogen Chromophore (6)–(11)

#### 4.3.2.1 Acidolyse der PCB-analogen Dimethylester (67)–(72)

Da im Rahmen von Assemblierungsexperimenten zwischen PhyA-Apoprotein und dem Dimethylester des PCBs (**2**) weder eine kovalente Chromophor-Protein-Bindung ausgebildet wird noch Photoisomerisierung des Proteins stattfindet,<sup>156</sup> müssen die Estergruppen der Oxa-PCB-dimethylester (**67**) und (**68**), Thia-PCB-dimethylester (**69**) und (**70**) sowie der Carba-PCB-dimethylester (**71**) und (**72**) hydrolysiert werden (Abb. 84). Die dabei gebildeten Propionsäurefunktionen dienen vermutlich der Positionierung der Chromophore und dem Erhalt ihrer Konformation durch elektrostatische Wechselwirkungen mit der Proteinumgebung.<sup>156</sup> Diese Funktionen können die Dimethylestergruppen nicht erfüllen, da ihnen die Möglichkeit zur Ausbildung vergleichbarer elektrostatischer Wechselwirkungen fehlt und sie einen größeren sterischen Anspruch besitzen.



**Abb. 84:** Synthese der PCB-analogen Chromophore (**6**)–(**11**) durch Acidolyse der Propionsäuremethylester.

Die Acidolyse der Dimethylester (**67**)–(**72**) wird durch einen sauren Ionenaustauscher katalysiert. Dabei handelt es sich um ein mit Sulfonsäuregruppen beladenes poröses Austauscherharz, das in 50-%iger TFA dispergiert wird. Im ersten Schritt der Umsetzung erfolgt ein nucleophiler Angriff der Hydroxyfunktion von TFA an das carbonylische Kohlenstoffatom des Esters sowie die Protonierung seines Carbonylsauerstoffatoms. Anschlie-

ßender nucleophiler Angriff des Methoxyrests an die Carbonylgruppe der TFA bewirkt unter Bruch der Etherbrücke die Freisetzung von Trifluoressigsäuremethylester und der Säure (Abb. 85).

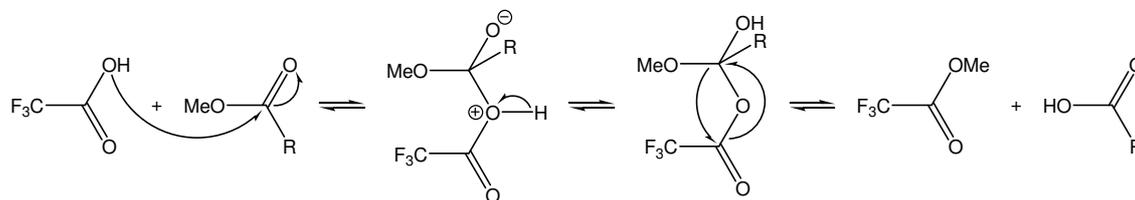
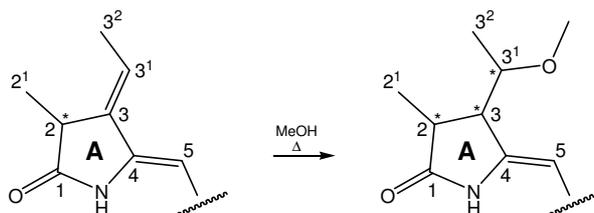


Abb. 85: Mechanismus der Acidolyse eines Methylesters zur analogen Säure.<sup>138</sup>

Der Syntheseverlauf des ersten auf diese Weise im Rahmen der vorliegenden Arbeit dargestellten Chromophors, des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs (**8**), wird per Dünnschichtchromatographie verfolgt. Da die während der Reaktion intermediär gebildeten Monosäuren (**73a**) und (**73b**) sowie der Chromophor (**8**) aufgrund ihrer freien Säuregruppen eine hohe Polarität besitzen, erfolgt die dünnschichtchromatographische Trennung auf RP-C<sub>18</sub>-Material unter Verwendung eines polaren Laufmittels, bestehend aus Acetonitril und Wasser (1:1, v/v). Dabei sind die Monosäuren (**73a**) und (**73b**) daran zu erkennen, dass ihr R<sub>F</sub>-Wert ungefähr ein Drittel des R<sub>F</sub>-Werts der Disäure (**8**) beträgt, während das Edukt (**71**) aufgrund seiner geringen Polarität auf der Startlinie verbleibt. Allerdings ist die Aussagekraft der DC aufgrund der niedrigen Konzentration des Produkts im Reaktionsansatz gering. Nach 28-stündiger Reaktionszeit zeigen die Signale auf den DC keine sichtbare Änderung mehr. Um die vermehrte Entstehung eines violett gefärbten Zersetzungsprodukts<sup>31,32</sup> zu verhindern, erfolgt der Abbruch der Synthese. Die Trennung des Rohprodukts per HPLC zeigt aber, dass nur 44 % des Edukts (**71**) zur Disäure (**8**) umgesetzt worden sind, während 25 % als Regioisomeregemisch der Monosäuren (**73a**) und (**73b**) vorliegen. Infolgedessen wird die Reaktionszeit aller folgenden Acidolysen auf 48 h verlängert, wobei auf eine Kontrolle des Reaktionsverlaufs per Dünnschichtchromatographie aufgrund ihrer unzuverlässigen Aussage verzichtet wird.

Um die freien Säuren trotz ihrer schlechten Löslichkeit der Aufreinigung per HPLC unterziehen zu können, erfolgt eine umfangreiche Suche nach geeigneten Trennparametern, die zur Etablierung einer Methode unter Verwendung einer mit RP-C<sub>18</sub>-Material gefüllten Chromatographiesäule und eines Lösemittelgemisches aus Ammoniumacetat-Puffer (10 mM, pH 7) und Methanol (Gradient 1:1–1:8, v/v) führt. Da während der bei Raumtemperatur ausgeführten Trennung die Produktfraktion auf einem Eisbad gelagert und das Lösemittel im Anschluss bei maximal 30 °C abdestilliert wird, ist die Gefahr der Addition von Methanol an die Ethylidendoppelbindung und die daraus resultierende, irreversible Bildung von 3,3<sup>1</sup>-Dihydro-3<sup>1</sup>-methoxy-Derivaten<sup>31</sup> der Chromophore gering (Abb. 86). Diese Reaktion verläuft erst bei Temperaturen oberhalb 50 °C mit merklichen Ausbeuten.



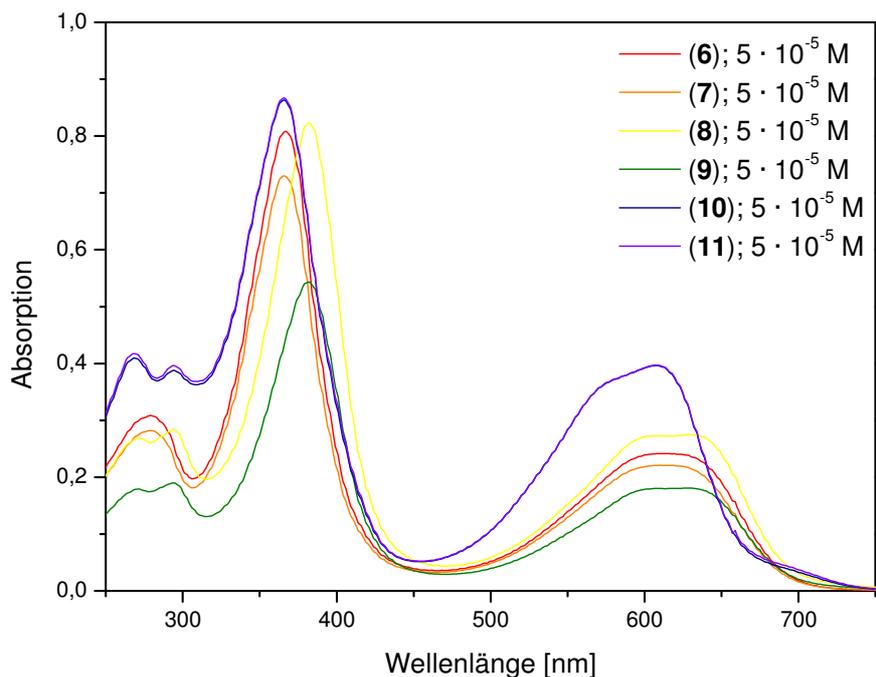
**Abb. 86:** Umsetzung des A-Ring des PCBs (**2**) mit intakter Ethylidenfunktion zum 3,3'-Dihydro-3'-methoxy-Derivat.

Im Rahmen der HPLC-gestützten Aufreinigung der Syntheseansätze von 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB (**6**), 17,18-Dimethyl-oxa-PCB (**7**), 17,18-Dimethyl-thia-PCB (**9**), 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB (**10**) und 17,18-Dimethyl-thia-PCB (**11**), deren Reaktionszeit auf 48 h verlängert wird, lassen sich weder die Monosäuren, noch die Bildung eines Zersetzungsproduktes nachweisen.

#### 4.3.2.2 Spektroskopische Untersuchung der PCB-analogen Chromophore (**6**)–(**11**)

Da die Reaktionen – trotz guter relativer Ausbeuten von 51–92 % – die Chromophore nur in geringen Mengen von 6–13 mg liefern, wird auf die separate Anfertigung von UV/Vis-Spektren zur Bestimmung ihrer molaren Extinktionskoeffizienten verzichtet und stattdessen auf die während der HPLC-Trennungen zur Substanzidentifikation vom UV/Vis-Detektor aufgenommenen Spektren zurückgegriffen.

Während der Umsetzung der PCB-analogen Dimethylester (**67**)–(**72**) zu den entsprechenden Disäuren (**6**)–(**11**) bleibt das farbgebende, ausgedehnte  $\pi$ -System unbeeinflusst, weil dieses weder mit den elektronenaufnehmenden, antiauxochromen Methoxyfunktionen der Methylpropionatreste, noch mit der elektronenabgebenden, auxochromen Carboxylfunktionen der Propionsäurereste konjugiert ist.<sup>153</sup> Trotzdem zeigen die Absorptionsmaxima der Disäuren (**6**)–(**11**) im Vergleich zu den Absorptionsmaxima der Dimethylester (**67**)–(**72**) eine bathochrome Verschiebung, die bei den furanonsubstituierten Derivaten (**6**) und (**7**) 8 nm, bei den thiophenonsubstituierten Derivaten (**8**) und (**9**) 9 nm und bei den cyclopentenonsubstituierten Derivaten (**10**) und (**11**) 3–4 nm beträgt. Dabei handelt es sich vermutlich um einen durch den Wechsel des Lösemittels hervorgerufenen Effekt. Erfolgt die Anfertigung der UV/Vis-Spektren aller Dimethylester (**67**)–(**72**) in Methanol, so werden die Spektren der Oxa- (**6**) und (**7**) bzw. Carba-PCB-Derivate (**10**) und (**11**) in einer Lösung aus Methanol und Wasser (3:1–4:1, v/v) aufgenommen. Die Spektren der Thia-PCB-Derivate (**8**) und (**9**) werden sowohl in einer Lösung aus Wasser und Acetonitril (1:1, v/v) als auch Methanol und Wasser (4:1, v/v) aufgenommen. Ein Vergleich der Absorptionsspektren zeigt, dass dieser Lösemittelwechsel weder eine Änderung der Lage der Absorptionsmaxima noch der Intensität der Absorption bewirkt.



**Abb. 87:** UV/Vis-Spektren der Oxa- (6) und (7), Thia- (8) und (9) sowie Carba-PCB-Derivate (10) und (11) in Methanol/Wasser (3:1–4:1, v/v).

Die Annahme, dass sich die molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten der Dimethylester (67)–(72) nicht bzw. nur unwesentlich von denen der analogen Disäuren (6)–(11) unterscheiden, erlaubt unter Anwendung des Lambert-Beerschen Gesetzes die Bestimmung der Stoffmengenkonzentration der Chromophore aus der Absorption der im Verlauf der HPLC-Trennungen aufgenommenen Spektren. Aus der anschließenden Normierung der Konzentrationen resultieren miteinander vergleichbare UV/Vis-Spektren (Abb. 87).

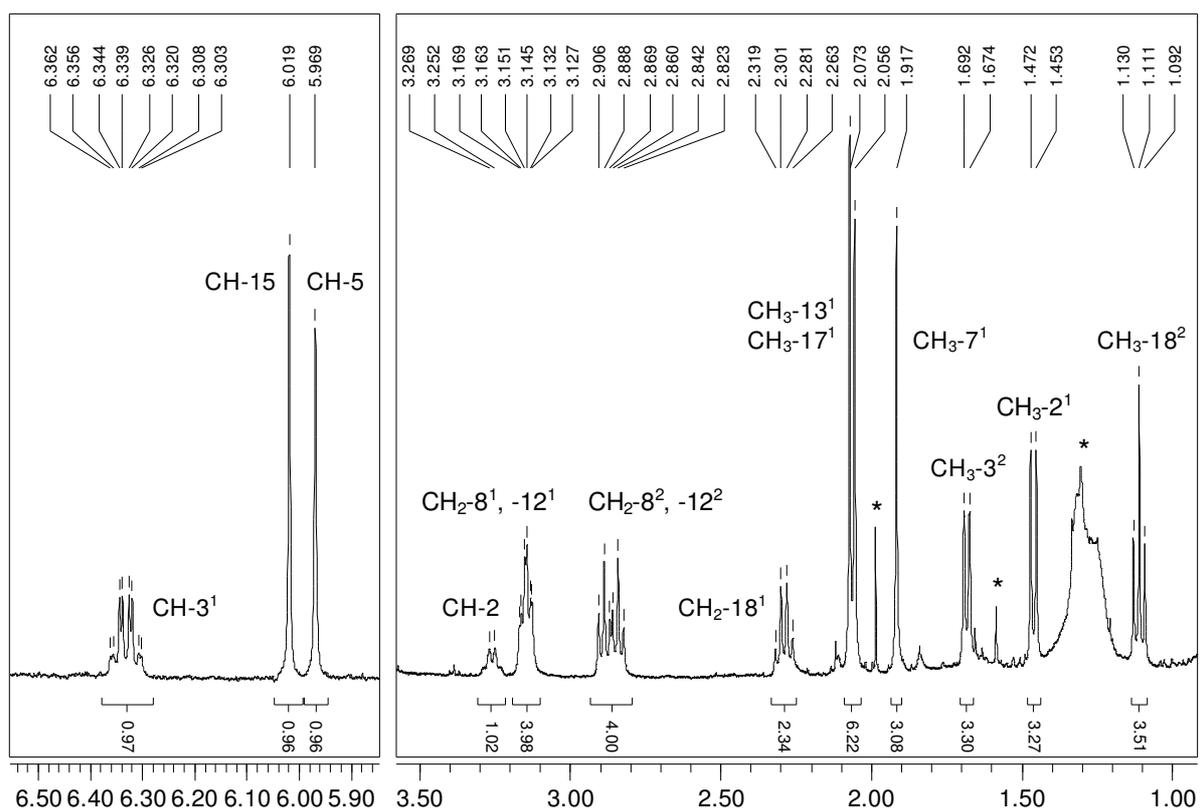
Substanz	X	R	$\lambda_{\max}$ [nm]
(6)	O	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	611 <sup>a</sup>
(7)	O	CH <sub>3</sub>	613 <sup>a</sup>
(8)	S	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	630 <sup>a</sup>
(9)	S	CH <sub>3</sub>	629 <sup>a</sup>
(10)	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	608 <sup>a</sup>
(11)	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	606 <sup>a</sup>
PCB (2)	NH	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	587, 635 <sup>b</sup>
PΦB (1)	NH	CHCH <sub>2</sub>	604, 645 <sup>b</sup>

**Tab. 8:** Langwellige Absorptionsmaxima der synthetischen (6)–(11) sowie der nativen Chromophore PΦB (1) und PCB (2). <sup>a</sup> in Methanol und Wasser (3:1–4:1, v/v), <sup>b</sup> in Methanol.

Verglichen mit den UV/Vis-Spektren der nativen Chromophore des PΦB (1) bzw. PCB (2) zeigen die synthetischen Chromophore (6)–(11) trotz Korrektur der Lösungsmittelfef-

fekte<sup>151,154</sup> eine hypsochrome Verschiebung ihrer langwelligen Absorptionsmaxima. (Abb. 87, Tab. 8) Diese beruht im Fall des PΦBs (**1**) darauf, dass dieses Molekül im Vergleich zu den Chromophoren (**6**)–(**11**) sowie PCB (**2**) ein um eine Doppelbindung verlängertes konjugiertes  $\pi$ -System aufweist. Dahingegen resultiert die im Vergleich zum PCB (**2**) hypsochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsmaxima der Chromophore (**6**)–(**11**) aus der geringeren Überlappung der  $sp^3$ -Hybridorbitale des Sauerstoffs und Schwefels sowie der Methylengruppe mit dem konjugierten  $\pi$ -System.

Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Chromophore (**6**)–(**11**) lassen sich vor allem dadurch charakterisieren, dass ihnen, verglichen mit den Spektren der analogen Dimethylester (**67**)–(**72**), die Singulett-Signale der Methylesterfunktionen bei 3.5–3.6 ppm fehlen. Des Weiteren bestätigen das bei 6.3 ppm auftretende Quartett-Signal des Wasserstoffatoms an Position C(3<sup>1</sup>) sowie das bei 1.5 ppm auftretende Dublett-Signal der Wasserstoffatome an Position C(3<sup>2</sup>) den Erhalt der Ethylenfunktion, welche zur Ausbildung der kovalenten Bindung zwischen Chromophor und Protein im Rahmen der folgenden Assemblierungsreaktion nötig ist (Abb. 88, Abb. 89).

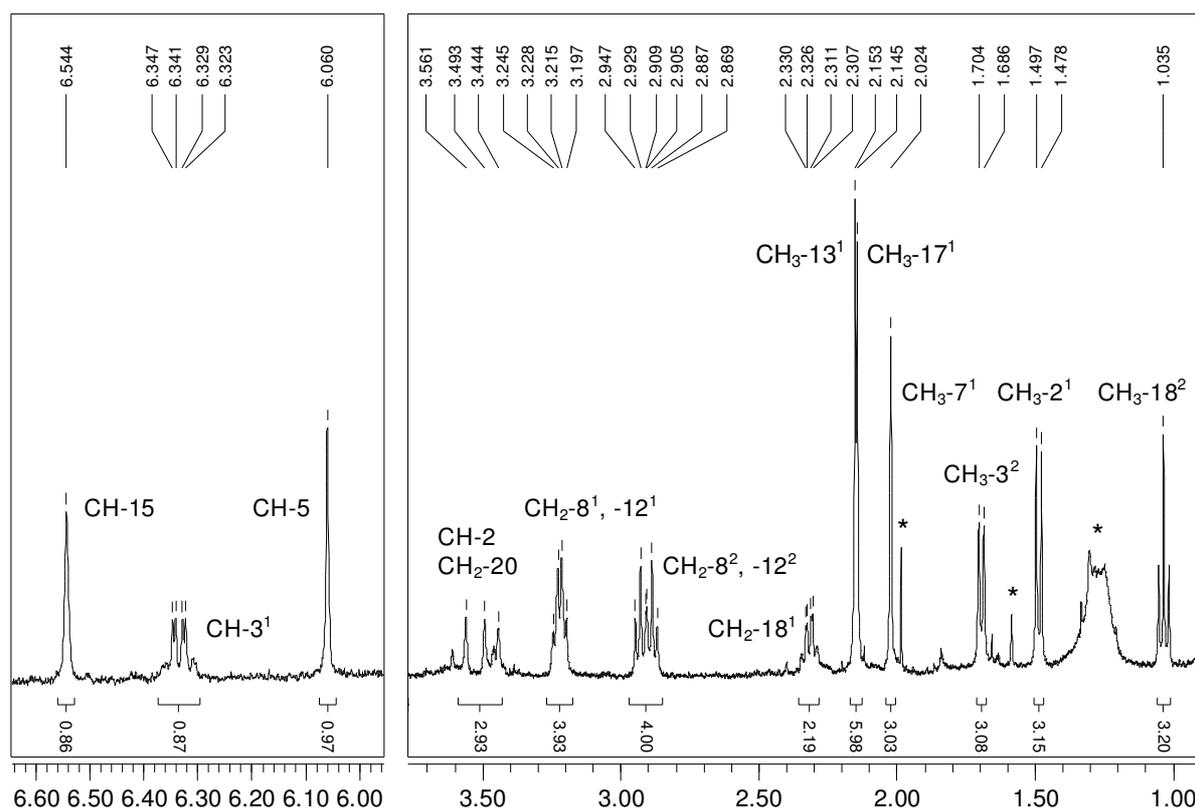


**Abb. 88:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCBs (**6**) in Pyridin-d<sub>5</sub>. \*: Verunreinigungen. Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt.

Die Verschiebungen der Singulett-Signale der Methinprotonen CH-5 und -15 der Oxa- (**6**) und (**7**) sowie der Carba-PCB-Derivate (**10**) und (**11**) entsprechen denen der analogen Dimethylester (Abb. 88, Abb. 89). Allerdings weisen die Signale der Protonen an Po-

sition C(10) einen Tieffeld-Shift von bis zu 0.5 ppm auf. Die Thia-PCB-Derivate (**8**) und (**9**) zeigen für die Methingruppe CH-5 ein Signal bei 5.7 ppm, für die Methingruppe CH-15 ein Signal bei 6.1 ppm und für die Methingruppe CH-10 ein Signal bei 7.2 ppm.

Auffällig sind sowohl die in den Spektren aller Chromophore auftretenden scharfen Singulett-Signale bei 1.6 und 2.0 ppm, die durch keines der verwendeten Lösemittel Methanol, Chloroform oder Dichlormethan verursacht werden, als auch die zwei Multipletts zwischen 1.1 und 1.3 ppm bzw. 0.8 und 0.9 ppm (Abb. 88, Abb. 89). Letztere wurden schon von Cornejo *et al.* im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des aus *Porphyridium cruentum* extrahierten sowie per HPLC über eine mit RP-C<sub>18</sub>-Material gefüllte Chromatographiesäule aufgereinigten 3(*E*)-PΦBs (**1**) beobachtet und als Verunreinigung durch aliphatische Kohlenwasserstoffe beschrieben.<sup>158</sup> Hierbei handelt es sich vermutlich um solvatisiertes Säulenmaterial. Diese Annahme wird durch die Simulation eines Spektrums eines durch eine n-Octadecylgruppe und zwei Methylreste substituierten Siloxans gestützt, welche ein multiplettartiges Signal zwischen 1.29 und 1.33 ppm sowie ein Triplettssignal bei 0.96 ppm zeigt.

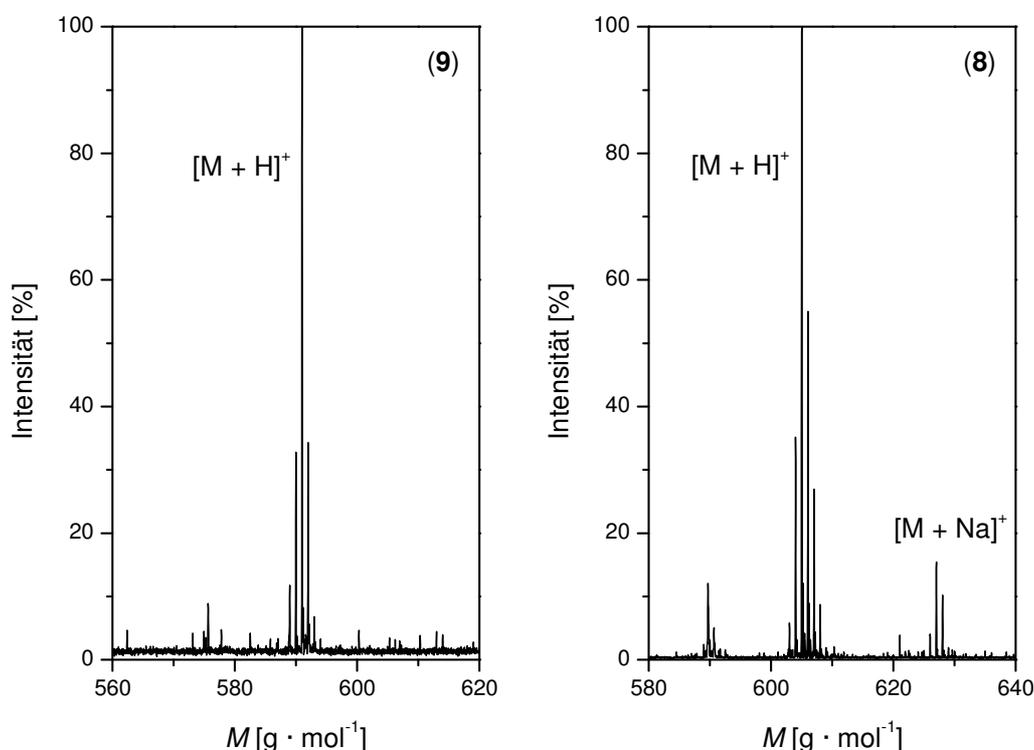


**Abb. 89:** Ausschnitte aus dem 400-MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCBs (**10**) in Pyridin-d<sub>5</sub>. \*: Verunreinigungen. Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt.

Wie schon bei den PCB-analogen Dimethylestern (**67**)–(**72**) wird auch hier auf die Anfertigung von  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren aufgrund des zu erwartenden hohen Substanzbedarfs verzichtet. Neben der hinreichenden Charakterisierung der Produkte per  $^1\text{H-NMR}$ -, IR-

und UV/Vis-Spektroskopie, Massenspektrometrie nach der Elektronenspray-Methode sowie hochauflösender Massenspektrometrie erfolgt zusätzlich die Aufnahme von Massenspektren nach der MALDI-TOF-Methode.

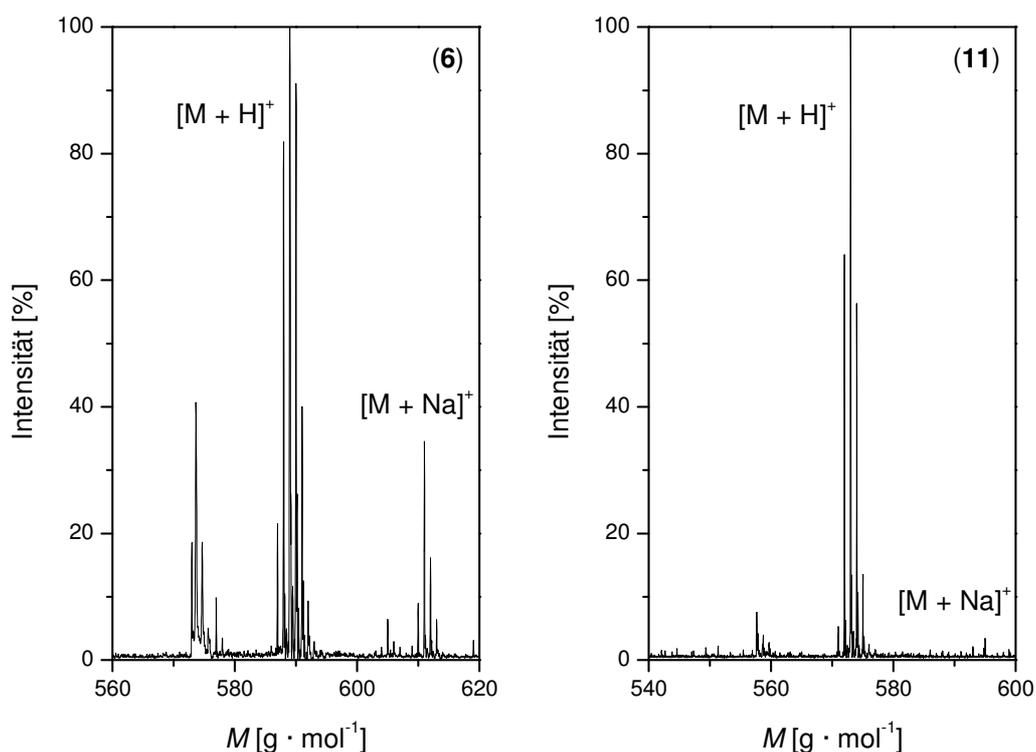
Obwohl die MALDI-TOF-Massenspektrometrie üblicherweise der Bestimmung von Molekulargewichten natürlicher und synthetischer Polymere dient, deren Masse bis zu 120 kDa beträgt, wird sie an dieser Stelle zur Charakterisierung der temperatur- und lichtempfindlichen PCB-Derivate (**6**)–(**11**) eingesetzt, da hierbei eine substanzschonende Methode der Ionisation stattfindet.<sup>154</sup> Nachdem die Chromophore mit dem Matrixmaterial  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxizimtsäure ( $\alpha$ -CHCA) im Stoffmengenverhältnis 1:1000 gemischt worden sind, wird der Matrix mit Laserlicht gepulst Energie zugeführt, von der nur eine geringe Menge, weniger als 10 %, aus thermischer Energie besteht. Ungefähr 30 % der von den Matrixmolekülen aufgenommenen Energie regen diese zur Fluoreszenz-Emission an, die restlichen 70 % dienen der Photoionisation der Matrix. Die dabei aufgenommene Energie wird durch Protonentransfer an die Chromophormoleküle weitergeleitet, welche ionisiert und durch äußere elektrische Felder aus dem Gemisch abgezogen werden. Der Energieaufnahmeprozess und der Vorgang der Ionisierung sowie der Desorption erfolgen somit getrennt. Aufgrund der geringen molaren Masse der  $\alpha$ -CHCA sowie ihrer Fragmentierung im Verlauf der Messung tritt keine Überlagerung der Chromophorsignale durch Matrixsignale auf.



**Abb. 90:** MALDI-TOF-Massenspektren des 17,18-Dimethyl-thia-PCBs (**9**) (links) und des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs (**8**) (rechts). Als Matrix dient  $\alpha$ -CHCA.

Alle MALDI-TOF-MS-Spektren zeigen eine ähnliche, einer Binominalverteilung entsprechende Signalstruktur, welche verursacht wird durch die Abhängigkeit des Vorkommens unterschiedlicher Isotopen von ihrem Markierungsgrad. Dabei entspricht das Signal  $[M + H]^+$  dem sogenannten Average-Peak, welcher die wahrscheinlichste Molekülmasse anzeigt (Abb. 90, Abb. 91). Des Weiteren tritt in jedem Spektrum das Signal  $[M + Na]^+$  auf, da Natriumionen aus Verunreinigungen bzw. aus der Metalloberfläche des Proben-trägers auf die Chromophore transferiert werden. Zusätzlich sind Signale detektierbar, welche die Massen  $[M - 15]^+$  und  $[M - 14]^+$  beschreiben. Sie werden durch die Abspaltung einer Methylgruppe aus dem Chromophor der Masse  $[M]^+$  sowie dem einfach protonierten Chromophor der Masse  $[M + H]^+$  hervorgerufen.<sup>154</sup>

Aufgrund der hohen Verdünnung der Probe durch Matrixmoleküle erfolgt im Verlauf der Messung die Ionisation nur einer geringen Menge der zu untersuchenden Substanz, wodurch die statistische Verteilung ihrer Isotopen nicht gewährleistet ist. Aus diesem Grund repräsentiert das Spektrum nicht die absolute Zusammensetzung der gesamten Probe, sondern nur die des ionisierten Bereichs.



**Abb. 91:** MALDI-TOF-Massenspektren des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCBs (**6**) (links) und des 17,18-Dimethyl-carba-PCBs (**11**) (rechts). Als Matrix dient  $\alpha$ -CHCA.

Neben den angewandten spektroskopischen und spektrometrischen Methoden dient auch die im folgenden Kapitel beschriebene Assemblierung der Chromophore (**6**)–(**11**) mit dem PhyA-Apoprotein als Nachweis ihrer Struktur.

## 5 Ergebnisse und Diskussion der biochemischen Arbeiten

### 5.1 Darstellung der Chromophor-PhyA-Holoproteine

Die Oxa- (6) und (7), Thia- (8) und (9) sowie Carba-Derivate (10) und (11) des PCBs (2), deren Synthese im vorhergehenden Kapitel beschrieben wird, ermöglichen durch Assemblierung mit dem rekombinanten 65-kDa-„Wildtyp“-Fragment des PhyA die Darstellung sechs unterschiedlicher Chromoproteine. Diese werden sowohl zur Aufklärung der Wechselwirkungen zwischen Chromophor und Protein als auch zur Bestimmung des Einflusses des Chromophor-Substitutionsmusters auf ihre spektroskopischen Eigenschaften untersucht.

#### 5.1.1 Expression des PhyA-Apoproteins

Da das N-terminale 65-kDa-Fragment des PhyA aus Hafer (*Avena sativa*) leichter handhabbar sowie in höheren Ausbeuten zu gewinnen ist als das 124-kDa-Volllängen-Phytochrom<sup>43</sup> und zusätzlich über vollständige Photoreversibilität verfügt, bietet es günstige Voraussetzungen für eine biochemische und spektroskopische Untersuchung. Für diese Arbeiten ist ein vollständiges N-terminales Fragment von Bedeutung. Während die Aminosäuren 13–69 des 6-kDa-N-Terminus vor allem für die strukturelle Integrität der P<sub>fr</sub>-Form des Photorezeptors wichtig sind,<sup>44</sup> besitzt die Region zwischen den Aminosäuren 69 und 425 essentielle Bedeutung für die Chromophorbindung.<sup>42,43</sup>

Zur heterologen Expression dieses, die ersten 595 Aminosäuren umfassenden Phytochrom-Fragments wird der Hefestamm *Hansenula polymorpha* eingesetzt.<sup>159</sup> Das C-terminale Ende wurde molekularbiologisch um einen aus sechs Histidinmolekülen bestehenden „His-tag“ erweitert. Dieser besitzt für die spätere affinitätschromatographische Aufreinigung des Proteins Bedeutung.

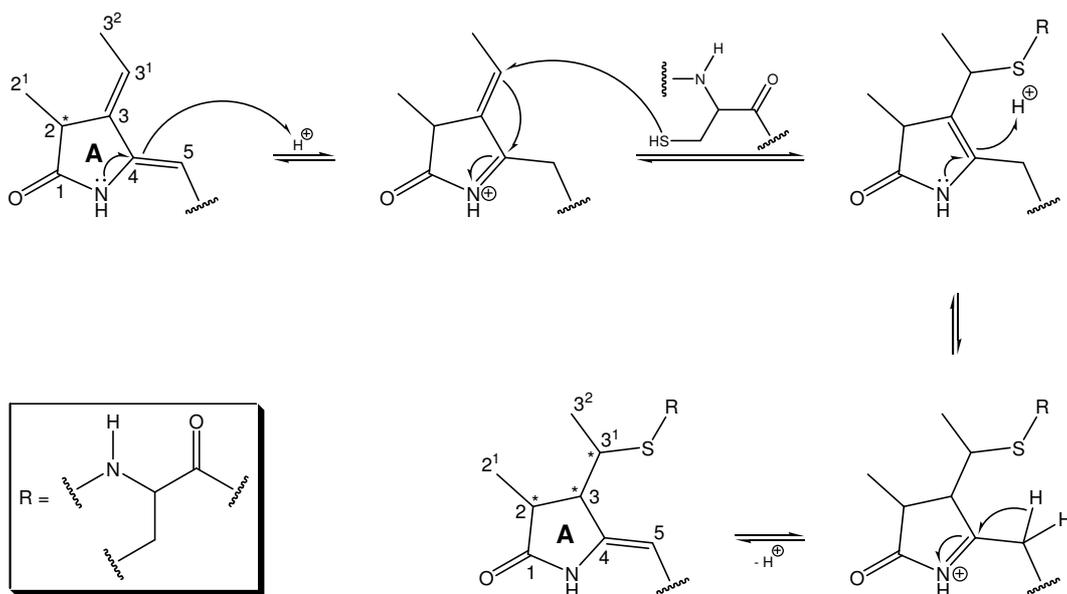
Anzucht der Hefezellen und Proteinexpression erfolgen nach in der Arbeitsgruppe Gärtner etablierten Methoden<sup>159,160</sup> im präparativen Maßstab.<sup>161</sup> Die Zellen werden durch Zentrifugation geerntet und mit Hilfe eines Ultra-Turrax aufgeschlossen. Durch Zentrifugation werden die Zellfragmente von der Proteinlösung abgetrennt. In diesem Rohlysat befinden sich neben Phytochrom noch Fremdproteine.

#### 5.1.2 Assemblierung der PCB-analogen Chromophore (6)–(11) und des PhyA-Apoproteins

Die Zugabe der Chromophore (6)–(11) sowie des PCBs (2) erfolgt *in vitro* zum Rohlysat der aufgeschlossenen Zellen. Dabei verläuft die Bildung der Holophytochrome (74)–(79) autokatalytisch und nicht im Rahmen einer enzymkatalysierten oder durch zusätzliche Cofaktoren unterstützten Reaktion.<sup>39,40</sup>

Die Assemblierung der Chromophore und des Apoproteins beruht auf der Ausbildung einer Thioetherbrücke, welche das Schwefelatom einer Cystein-Seitenkette des Apoproteins mit dem Kohlenstoffatom C(3<sup>1</sup>) des Chromophors verbindet. Modellstudien belegen, dass im Verlauf der Reaktion der Chromophor intermediär als Acyliminiumion vorliegt, welches die Stereochemie des gebildeten Komplexes bestimmt.<sup>162</sup>

Im Rahmen der Assemblierungsreaktion wird, gemäß eines Vorschlags von Falk,<sup>5</sup> die Methingruppe CH-5 der Chromophore protoniert. Die Stabilisierung der daraus resultierenden positiven Partialladung an Position C(4) erfolgt durch das freie Elektronenpaar des Stickstoffatoms, wodurch der Ring A in seine Acyliminium-Form überführt wird. Diese wird an Position C(3<sup>1</sup>) durch die Thiofunktion des Cys<sub>321</sub> im PhyA-Apoprotein unter Ausbildung der kovalenten Chromophor-Protein-Bindung und Emission eines Protons nucleophil angegriffen. Anschließende Protonierung der Position C(3) bewirkt die erneute Überführung des A-Rings in die Acyliminium-Form, die an der Brückenposition C(5) unter Wiederherstellung der C(4)-C(5)-Doppelbindung deprotoniert wird (Abb. 92).



**Abb. 92:** Mechanismus der Ausbildung einer kovalenten Thioetherbindung zwischen dem A-Ring der Chromophore (6)–(11) sowie des PCBs (2) und des Cys<sub>321</sub> des PhyA-Apoproteins nach Falk.<sup>5</sup>

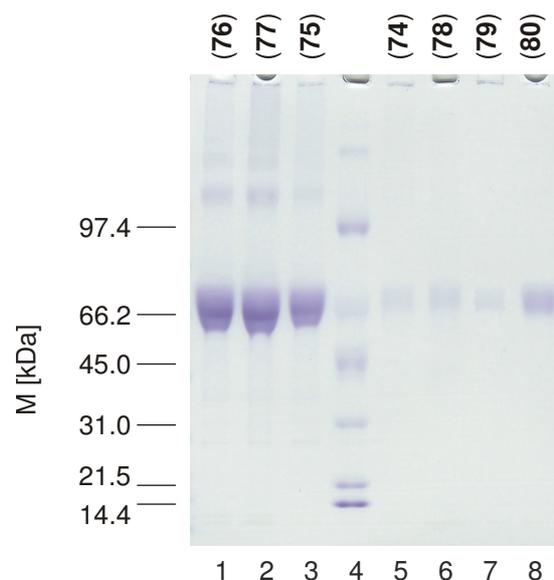
Die Ausbildung der kovalenten Chromophor-Protein-Bindung geht einher mit einem Verlust der Ethylen-Doppelbindung des A-Rings. Hieraus resultiert eine Verkürzung des konjugierten  $\pi$ -Systems, welche eine Änderung der absorptionsspektroskopischen Eigenschaften der Chromophore (6)–(11) sowie des PCBs (2) bewirkt. Zu erwarten ist eine hypsochrome Verschiebung um ungefähr 35 nm,<sup>151,154</sup> doch ist dieser Effekt nicht isoliert betrachtbar, da die Absorption des Chromophors in noch größerem Maße durch Wechselwirkungen mit dem Protein beeinflusst wird.

### 5.1.3 Affinitätschromatographische Reinigung der Holoproteine (74)–(80)

Da die gebildeten Holoproteine (74)–(80) eine größere Stabilität besitzen als das PhyA-Apoprotein, erfolgt erst nach der Assemblierung mit den Chromophoren die affinitätschromatographische Aufreinigung. Diese wird durch den aus sechs Histidinmolekülen bestehenden „His-tag“ ermöglicht. Da die Imidazol-Seitengruppe des Histidins mit den zweifach geladenen Übergangsmetallionen  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Zn}^{2+}$  Chelatkomplexe bildet, bindet sie an entsprechend präpariertem Säulenmaterial. Dieses besteht aus vierzähligen,  $\text{Co}^{2+}$ -Ionen bindenden Chelatliganden, welche auf einem Polymerharz fixiert sind. Nach dem Auftragen der Proteinlösung lassen sich durch Waschen der Säule nichtmodifizierte Fremdproteine bzw. unspezifisch gebundene Proteine abtrennen. Durch Erhöhung der Imidazolkonzentration im Elutionsmittel erfolgt die Verdrängung des Phytochrom-Holoproteins von der stationären Phase und damit die Elution. Das erhaltene, als 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub> bezeichnete<sup>159</sup> Phytochrom wird in einen imidazolfreien und, zum Schutz gegen Oxidation und Proteasen, mit DTT und Pefabloc SC versetzten Puffer umgepuffert. Die durch den gebundenen Chromophor verursachte Blaufärbung der Lösung dient dem erfolgreichen Verlauf der Assemblierung als Indikator.

### 5.1.4 Gelelektrophorese der Holoproteine (74)–(80)

Während die Masse des Apoproteins 65 kDa beträgt, besitzen die synthetisierten Holoproteine (74)–(80) eine Masse von ungefähr 65.6 kDa. Die Massendifferenz beträgt 0.9 % und befindet sich damit innerhalb der Messungenauigkeit massenspektrometrischer Untersuchungen nach der MALDI-TOF-Methode. Deshalb ist anhand dieses Verfahrens eine zweifelsfreie Identifizierung der Holoproteine (74)–(80) nicht möglich.



**Abb. 93:** Gelelektrophorese der Holoproteine (74)–(80) unter Verwendung eines SDS-PAGE-Gels und MOPS SDS-Puffers (1×). Spur 4 zeigt die Signale des Proteinmarkers SDS-PAGE Low Range (Bio-Rad), deren Molekularmassen anhand der Skala beschrieben werden.

Zur Reinheitsbestimmung der Holoproteine (74)–(80) bietet sich die Gelelektrophorese an. Hierbei erweist sich der Protein-Marker SDS-PAGE Low Range der Firma Bio-Rad als geeignete Referenz. Die auf dem SDS-PAGE-Gel sichtbaren Banden der molekularen Masse von 65 kDa belegen die Existenz der Holoproteine (74)–(80) und des PhyA-Apoproteins, während die weniger intensiven Banden im Bereich von 130 kDa (am oberen Rand des Gels) auf die Gegenwart von Dimeren hinweisen. Das Fehlen von 59-kDa-Banden zeigt, dass die im Verlauf der Probenvorbereitung erfolgende thermische Denaturierung der Proteine (74)–(80) keine Abspaltung des 6-kDa-N-Terminus bewirkt (Abb. 93).

### 5.1.5 Spektroskopische Untersuchungen der Chromoproteine (74)–(80)

Die spektroskopischen Untersuchungen erfolgen an Proteinproben, die ein Volumen von 0.65 ml besitzen. Im Verlauf der affinitätschromatographischen Aufreinigung der Holoproteine (74) und (78)–(80) war die Aktivität des eingesetzten Cobalt-Harzes aufgrund einer Verunreinigung deutlich herabgesetzt. Aus diesem Grund beträgt die gewonnene Menge der Chromoproteine (74) und (78)–(80) nur 15–20 % der Menge der Chromoproteine (75)–(77).

#### 5.1.5.1 Absorptionsspektroskopie

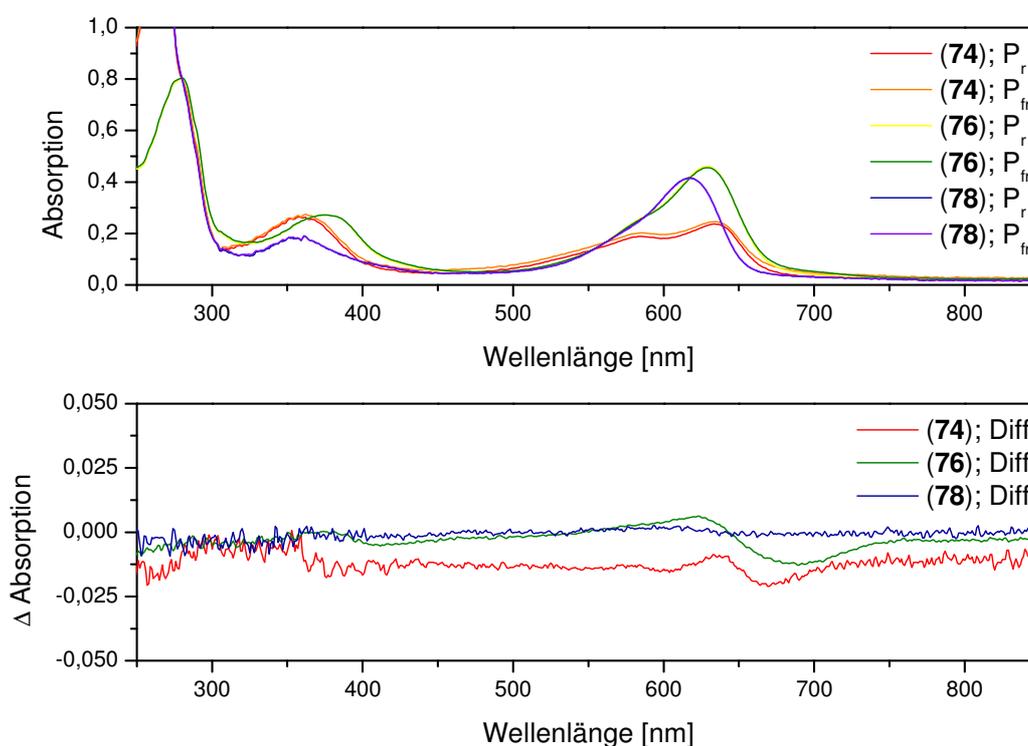
Die differierenden Ausbeuten an Chromoproteinen (74)–(80) verursachen stark voneinander abweichende Proteinkonzentrationen in den Probelösungen. Aus diesem Grund erfolgt zur Gewährung der Vergleichbarkeit der UV/Vis-Spektren die Normierung mittels ihrer 280 nm Bande, welche ausschließlich durch aromatische Seitenketten tragende Aminosäuren hervorgerufen wird.

Chromoprotein	Chromophor	$\lambda_{\max}$ [nm]	$P_{r \max}$ [nm] <sup>c</sup>	$P_{fr \max}$ [nm] <sup>c</sup>
(74)	(6)	611 <sup>a</sup>	634	669
(75)	(7)	613 <sup>a</sup>	635	670
(76)	(8)	630 <sup>a</sup>	629	690
(77)	(9)	629 <sup>a</sup>	633	690
(78)	(10)	608 <sup>a</sup>	629	637
(79)	(11)	606 <sup>a</sup>	626	641
(80)	PCB (2)	587, 635 <sup>b</sup>	651	711
Lit. <sup>32</sup>	17,18-Dimethyl-PCB	587, 630 <sup>b</sup>	655	714
Lit. <sup>31</sup>	PΦB (1)	604, 645 <sup>b</sup>	665	728

**Tab. 9:** Absorptionsmaxima  $\lambda_{\max}$  der freien Chromophore (1), (2) und (6)–(11) sowie der  $P_r$ - bzw.  $P_{fr}$ -Zustände der damit generierten Chromoproteine (74)–(80). <sup>a</sup> in Methanol und Wasser (3:1–4:1, v/v), <sup>b</sup> in Methanol, <sup>c</sup> in Breaking-Puffer III.

Anhand der durch Subtraktion des  $P_{fr}$ -Spektrums vom  $P_r$ -Spektrum gebildeten Differenzspektren der synthetisierten Chromoproteine (74)–(80) (Abb. 94, Abb. 95) lassen

sich die Absorptionsmaxima des  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Zustands ermitteln (Tab. 9). Trotz des Verlusts der Ethylen-Doppelbindung und der damit einhergehenden Verkürzung des konjugierten  $\pi$ -Systems weisen die  $P_r$ - Absorptionsmaxima der Chromoproteine (74) und (75) sowie (78)–(79), verglichen mit den langwelligeren Absorptionsmaxima der Chromophore (6) und (7), (10) und (11) und des PCBs (2), eine bathochrome Verschiebung auf (Abb. 94). Diese beträgt im Fall der Oxa-PCB-analogen Chromophore (6) und (7) 22–23 nm, der Carba-PCB-analogen Chromophore (10) und (11) 20–21 nm und im Fall des PCBs (2) 16 nm. Verursacht wird sie vermutlich sowohl durch die Protonierung der assemblierten Chromophore<sup>55</sup> als auch durch die Änderung der sterischen und polaren Wechselwirkungen zwischen Chromophor und Protein.

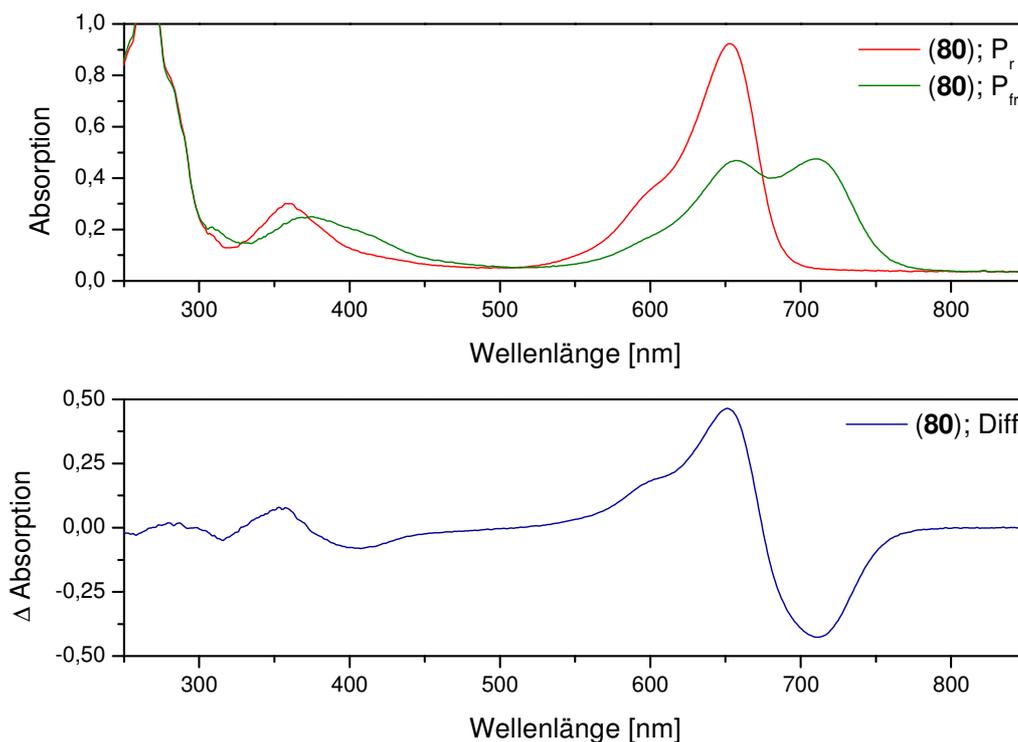


**Abb. 94:** UV/Vis-Spektren der  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Formen sowie die daraus resultierenden Differenzspektren der Chromoproteine (74), (76) und (78) in Breaking-Puffer III.

Verglichen mit den langwelligeren Absorptionsmaxima der Thia-PCB-analogen Chromophore (8) und (9) zeigen die  $P_r$ -Absorptionsmaxima der Chromoproteine (76) und (77) keine eindeutige Verschiebung. Während das  $P_r$ -Absorptionsmaximum des Chromoproteins (76) zum langwelligeren Absorptionsmaximum des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB (8) um 1 nm hypsochrom verschoben ist, zeigt das  $P_r$ -Absorptionsmaximum des Chromoproteins (77) zum langwelligeren Absorptionsmaximum des 17,18-Dimethyl-thia-PCBs (9) einen bathochromen Shift um 4 nm. Möglicherweise neutralisieren sich im Fall der Chromoproteine (76) und (77) weitestgehend die Effekte, welche bathochrome bzw. hypsochrome Verschiebungen verursachen. Die Darstellung von Chromoproteinen, die einen an Position C(18) durch einen Methylrest statt einer Ethylgruppe substituierten Chromo-

phor tragen, bewirkt weder eine systematische Verschiebung der  $P_r$ - noch der  $P_{fr}$ -Absorptionsmaxima (Tab. 9).

Im Vergleich zum mit PCB (2) assemblierten Chromoprotein (80) weisen die  $P_r$ -Absorptionsmaxima der Chromoproteine (74)–(79) eine hypsochrome Verschiebung um 15–25 nm auf. Dahingegen variiert die hypsochrome Verschiebung ihrer  $P_{fr}$ -Absorptionsmaxima deutlich. Sie beträgt im Fall der Proteine (74) und (75) 41–42 nm, der Proteine (76) und (77) 21 nm und im Fall der Proteine (78) und (79) 70–74 nm (Tab. 9).



**Abb. 95:** UV/Vis-Spektren der  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Formen sowie das daraus resultierende Differenzspektrum des mit PCB (2) assemblierten 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub> (80) in Breaking-Puffer III.

Die in den Chromoproteinen (78) und (79) die NH-Funktion des photoisomerisierbaren D-Rings ersetzende Methylengruppe besitzt aufgrund zweier CH-Bindungen einen deutlich höheren sterischen Anspruch als die NH-Gruppe, obwohl die Länge der CH-Bindungen nur um 8.3 pm größer ist als die NH-Bindung, deren Länge 101 pm beträgt.<sup>147</sup> In der  $P_{fr}$ -Form liegt aufgrund sterischer Wechselwirkungen der D-Ring möglicherweise zur Molekülebene tordiert vor, wodurch das konjugierte  $\pi$ -System der Chromophore (78) und (79) zwischen den Ringen C und D unterbrochen wird. Da das Kohlenstoffatom über eine geringere Elektronegativität verfügt als das Stickstoffatom, besitzen die Wasserstoffatome der Methylengruppe eine geringere Acidität als der Wasserstoff der nativen NH-Funktion. Des Weiteren besitzt die Methylengruppe kein freies  $sp^3$ -Hybridorbital, welches, wie im Fall der Stickstofffunktion, Wechselwirkungen mit dem konjugierten  $\pi$ -System des Chromophorgerüsts ermöglicht. Diese Effekte verursachen eine absorptions-

spektroskopisch beobachtbare Änderung der sterischen und polaren Wechselwirkungen zwischen Chromophor und Protein.

Während die Chromophore der Chromoproteine (74) und (75) einen D-Ring mit Furanstruktur tragen, besitzen die Chromophore der Chromoproteine (76) und (77) einen D-Ring mit Thiophenonstruktur. Obwohl der 104 pm betragende Kovalenzradius des Schwefelatoms deutlich größer ist als der 66 pm betragende Kovalenzradius des homologen Sauerstoffatoms, sind die polaren Konflikte mit der Proteinumgebung vermindert, welche sich durch die reduzierte hypsochrome Verschiebungen des  $P_{fr}$ -Absorptionsmaximums nachweisen lassen. Ursache dafür ist die Abschirmung des Atomkerns des Schwefels durch die Orbitale der L-Schale sowie der größere Kernabstand seiner freien  $sp^3$ -Hybridorbitale. Durch ihre daraus resultierende diffuse Gestalt besitzen letztere keinen ausgeprägten negativen Ladungsschwerpunkt und sind somit leichter polarisierbar. Diese Eigenschaft ermöglicht eine verstärkte Wechselwirkung sowohl mit dem  $\pi$ -System des Chromophors als auch mit dem Protein.

Durch das „Special Absorbance Ratio“ (SAR) der Chromoproteine (74)–(80) wird das Verhältnis ihrer Absorption im  $P_r$ -Maximum und der Absorption ihrer 280-nm-Bande beschrieben. Ein Vergleich zeigt, dass das SAR der Chromoproteine, welche einen an Position C(18) durch eine Methylgruppe substituierten Chromophor tragen, 60–77 % des SAR der Chromoproteine entspricht, welche einen äquivalenten, an Position C(18) durch einen Ethylrest substituierten Chromophor besitzen (Tab. 10). Vermutlich beeinflusst dieser Ethylrest auf bislang ungeklärte Weise den Verlauf der Assemblierung von Chromophor und Apoprotein sowie die Stabilität des gebildeten Chromoproteins.

Chromoprotein	Chromophor	SAR	$\Delta A (P_{r \max} - P_{fr \max})$
(74)	(6)	0.30	0.012
(75)	(7)	0.23	0.017
(76)	(8)	0.56	0.018
(77)	(9)	0.37	0.047
(78)	(10)	0.45	0.003
(79)	(11)	0.27	0.007
(80)	PCB (2)	1.15	0.892
Lit. <sup>31</sup>	PΦB (1)	0.80	–

**Tab. 10:** SAR sowie Absorptionsdifferenzen zwischen den  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Maxima der Proteine (74)–(80).

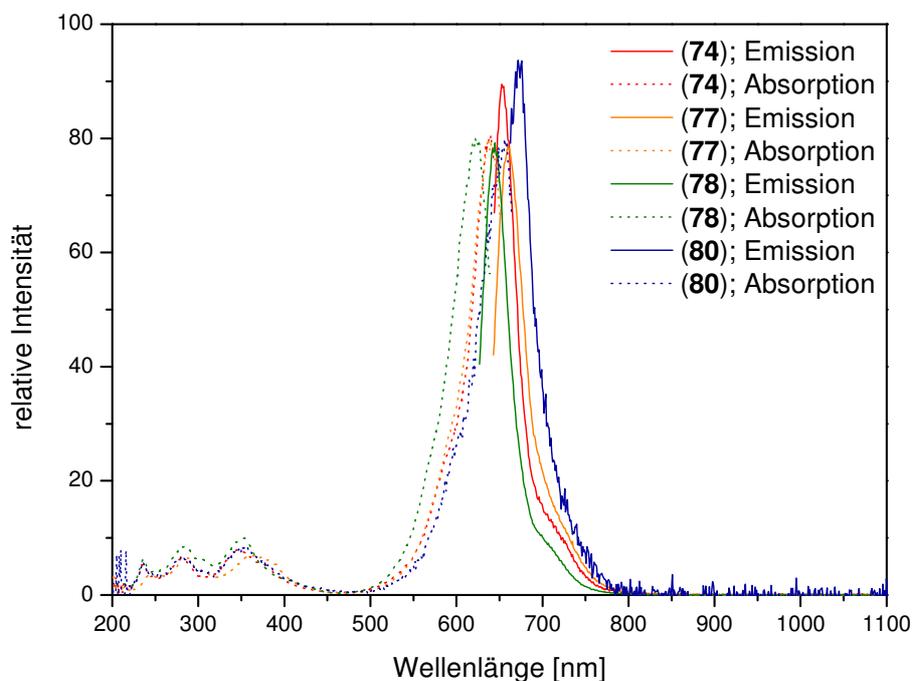
Der Quotient aus der Absorptionsdifferenz zwischen  $P_r$ - sowie  $P_{fr}$ -Maximum und dem SAR des mit PCB (2) assemblierten Chromoproteins (80) ist 6- bis 111 mal größer als jene der Chromoproteine (74)–(79) (Tab. 10). Hervorgerufen wird dieser Effekt durch die um den Faktor 2–8 stärkere Absorption der langwelligen  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Absorptionsmaxima des Chromoproteins (80). Daneben erfolgt weitgehende gegenseitige Auslöschung der  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Absorptionsmaxima der Chromoproteine (74)–(79) durch Überlagerung. Diese

wird dadurch verursacht, dass einerseits die  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Zustände der Proteine (74)–(79) ein nahezu identisches Absorptionsverhalten zeigen und andererseits die  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Absorptionsmaxima nur gering gegeneinander verschoben sind (Tab. 9, Abb. 94). Aufgrund der geringen Verschiebung lassen sich die Chromoproteine (74)–(79) durch Belichtung nicht quantitativ in den  $P_r$ - bzw.  $P_{fr}$ -Zustand überführen. Es liegt vielmehr ein Gleichgewicht vor, das zur gegenseitigen Abschwächung der Intensität beider Absorptionsmaxima führt. Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die  $P_r$ - und die  $P_{fr}$ -Form des Chromoproteins (80) sowohl durch das Muster ihrer Absorptionsspektren als auch durch die Verschiebung des  $P_{fr}$ - gegenüber des  $P_r$ -Maximums um 60 nm (Abb. 95) deutlich. Diese Umstände erlauben die eindeutige Verschiebung des  $P_r/P_{fr}$ -Gleichgewichts in Richtung eines Zustands.

Alle Chromoproteine (74)–(80) wie auch natives Phytochrom zeigen zwischen 350 und 400 nm ein Absorptionsmaximum, welches sich während der Photoisomerisierung und des damit verbundenen Wechsels zwischen der  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Form verschiebt. Diese sogenannte Soret-Bande wird verursacht durch einen zweiten Übergang in der elektronischen Struktur der Chromophore, ist im vorliegenden Fall jedoch unbedeutend.

### 5.1.5.2 Fluoreszenzspektroskopie

Während die Lösungen der Chromoproteine (74) und (78)–(80) direkt vermessen werden können, muss zur Vermeidung von Auslöscheffekten die Konzentration der Proteine (75)–(77) herabgesetzt werden. Hierzu werden 0.1 ml große Aliquote der Lösungen mit 0.4 ml Breaking-Puffer III verdünnt.



**Abb. 96:** Normierte Absorptionsspektren sowie die daraus resultierenden Emissionsspektren der Chromoproteine (74), (77), (78) und (80). Als Lösungsmittel dient Breaking-Puffer III.

Die fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen der Chromoproteine (74)–(79) zeigen eine bathochrome Verschiebung der Emissionsmaxima von 15–26 nm gegenüber den Anregungsmaxima (Abb. 96, Tab. 11). Diese wird verursacht durch die aus der Stokes-Verschiebung resultierenden geringeren Energie der Fluoreszenzübergänge.

Zur Auswertung der Fluoreszenzspektren der Chromoproteine (74)–(79) erfolgt die Normierung der Maxima der Anregungsspektren auf eine gemeinsame Intensität. Daraus resultiert eine proportionale Änderung der Intensität der Emissionsspektren (Abb. 96). Unter der Voraussetzung, dass die Fluoreszenz-Quantenausbeute des mit PCB (2) assemblierten 124-kDa-PhyA jener des mit PCB (2) assemblierten 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub> (80) entspricht,<sup>163</sup> lässt sich unter Anwendung der folgenden Gleichung die Fluoreszenz-Quantenausbeute der P<sub>r</sub>-Form der Chromoproteine (74)–(79) bestimmen:

$$\phi_X = \phi_{\text{PhyA}} \cdot \frac{\int_{E_{\text{max}}}^{1100 \text{ nm}} E_X}{\int_{E_{\text{max}}}^{1100 \text{ nm}} E_{\text{PhyA}}} \cdot \frac{1 - 10^{-A_{\text{PhyA}}}}{1 - 10^{-A_X}}$$

$\phi_X$ : Fluoreszenz-Quantenausbeute der Chromoproteine (74)–(79)

$\phi_{\text{PhyA}}$ : Fluoreszenz-Quantenausbeute des 124-kDa-PhyA nach Brock *et al.*<sup>163</sup>

$E_X$ : Emission der Chromoproteine (74)–(79)

$E_{\text{PhyA}}$ : Emission des Chromoproteins (80)

$E_{\text{max}}$ : Emissionsmaximum der Chromoproteine (74)–(79) [nm]

$A_X$ : Absorption der Chromoproteine (74)–(79) bei  $E_{\text{max}}$

$A_{\text{PhyA}}$ : Absorption des Chromoproteins (80) bei  $E_{\text{max}}$

Die Fluoreszenz-Quantenausbeute  $\phi_X$  gibt den Anteil der Moleküle an, die vom angeregten Singulett-Zustand S<sub>1</sub> durch Fluoreszenz-Emission in den Singulett-Grundzustand S<sub>0</sub> übergehen. Durch sie wird das Verhältnis der emittierten zur Anzahl der absorbierten Photonen beschrieben.

Chromoprotein	Chromophor	$A_{\text{max}}$ [nm]	$E_{\text{max}}$ [nm]	$\phi_X$
(74)	(6)	638	655	$(11.3 \pm 0.8) \cdot 10^{-3}$
(75)	(7)	638	653	$(8.6 \pm 1.0) \cdot 10^{-3}$
(76)	(8)	632	656	$(14.2 \pm 1.6) \cdot 10^{-3}$
(77)	(9)	637	660	$(9.3 \pm 1.1) \cdot 10^{-3}$
(78)	(10)	622	648	$(11.4 \pm 1.2) \cdot 10^{-3}$
(79)	(11)	628	647	$(12.4 \pm 1.4) \cdot 10^{-3}$
(80)	PCB (2)	656	675	$(3.7 \pm 0.4) \cdot 10^{-3}$ (Lit. <sup>163</sup> )

**Tab. 11:** Anregungs- und Emissionsmaxima der Fluoreszenzspektren sowie Fluoreszenz-Quantenausbeuten  $\phi_X$  der Chromoproteine (74)–(80).

Die Chromoproteine (74)–(79) verfügen über Fluoreszenz-Quantenausbeuten, die um den Faktor 2.5–4 größer sind als die des mit dem Chromophor PCB (2) assemblierten Chromoproteins (80) (Tab. 11). Diese resultieren aus der durch sterische bzw. polare Wechselwirkungen mit der Proteinumgebung hervorgerufene Störungen der Photoisomerisierung, wodurch eine Verminderung des Anteils der in Form von Vibration emittierten Energie zugunsten der Fluoreszenz erfolgt.

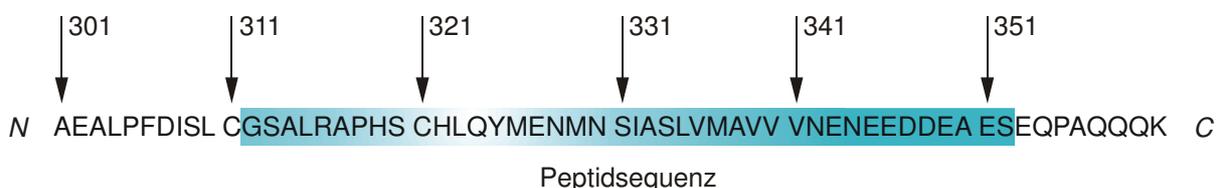
Die Fluoreszenz-Quantenausbeute der Chromoproteine (75) und (77), welche über die an Position C(18) durch eine Methylgruppe substituierten Chromophore (7) bzw. (9) verfügen, ist durchgängig geringer. Sie beträgt 66–73 % des Werts der analogen Chromoproteine (74) und (76), welche die an Position C(18) durch einen Ethylrest substituierten Chromophore (6) bzw. (8) tragen (Tab. 11). Vermutlich führt die Ethylgruppe an Position C(18) zu einer stärkeren Wechselwirkung mit dem Protein, wodurch die Chromophore (6) und (8) über geringere vibratorische Freiheiten verfügen. Im Gegensatz dazu zeigen die mit den cyclopentenonsubstituierten Chromophoren (10) bzw. (11) assemblierten Chromoproteine (78) und (79) eine nahezu identische Fluoreszenz-Quantenausbeute. Diese resultiert möglicherweise aus starken Wechselwirkungen zwischen der Proteinumgebung sowie den Chromophoren (10) und (11), welche sterisch anspruchsvolle, die native NH-Funktion ersetzende Methylengruppen an Position C(20) tragen. Die keine ausgeprägten  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Maxima zeigenden Differenzspektren der Chromoproteine (78) und (79) belegen, dass die Photoisomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung vermutlich aufgrund des sterischen Anspruchs dieser Gruppen erschwert wird (Abb. 94). Da hierdurch vibratorische Freiheitsgrade fehlen, erfolgt die Emission eines größeren Anteils der absorbierten Lichtenergie in Form von Fluoreszenz.

## 5.2 Darstellung eines PCB-Peptid-Komplexes

Mit der Darstellung eines aus dem Chromophor PCB (**2**) und einem Peptid bestehenden Komplexes erfolgt ein erster grundlegender Versuch zur systematischen Aufklärung der Wechselwirkungen zwischen dem Chromophor (**2**) und seiner Proteinumgebung. Als Modellsystem eignet sich hierzu ein Peptid (**81**), welches den über die Chromophorbindungsstelle verfügenden Sequenzabschnitt des nativen Proteins PhyA abbildet. Anhand dieses definierten und übersichtlichen Systems lässt sich ein Nachweis über die autokatalytisch verlaufende Assemblierung des Chromophors und des PhyA-Apoproteins erbringen. Die Beobachtung ihres Verlaufs sowie die Überprüfung des Chromoproteins (**82**) auf Befähigung zur Photoisomerisierung erfolgt mittels absorptionsspektroskopischer Methoden.

### 5.2.1 Synthese eines Peptids der PhyA-Sequenz (**81**)

Per Festphasen-Peptidsynthese erfolgt die Darstellung eines 41 Aminosäuren des PhyA3 aus *Avena sativa* umfassenden Peptids (**81**), das die Aminosäure Cys<sub>321</sub> enthält (Abb. 97). Diese bindet im nativen Protein den Chromophor kovalent über eine Thioetherbrücke (Abb. 92).

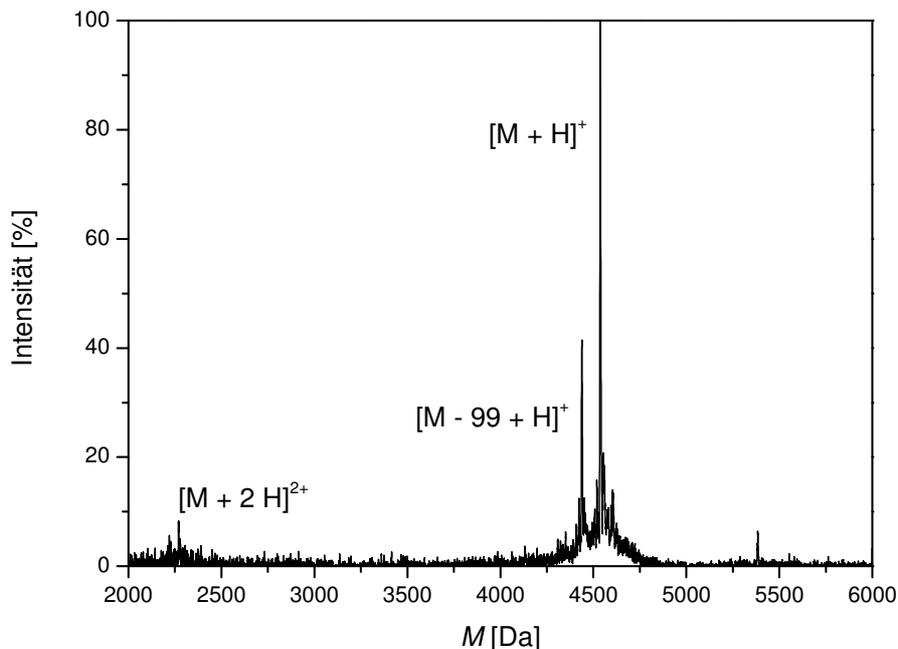


**Abb. 97:** Ausschnitt aus der Sequenz des PhyA3 aus *Avena sativa* sowie die daraus entlehnte 41 Aminosäuren umfassende Peptidsequenz (**81**) (blau hinterlegt).

Der Ausschnitt aus der Sequenz des Proteins wird so gewählt, dass das Peptid (**81**) einerseits möglichst viele Aminosäuren besitzt, andererseits aber eine Konkurrenzsituation zwischen Cys<sub>311</sub> und Cys<sub>321</sub> um den zu assemblierenden Chromophor PCB (**2**) vermieden wird. Dadurch, dass die Peptidsequenz die Aminosäuren 312–352 umfasst, wird Cys<sub>321</sub> als einzige mögliche Bindungsstelle des PCBs (**2**) definiert. Als Folge davon befindet sich Cys<sub>321</sub> nicht an einer zentralen Position des Peptids (**81**), sondern bereits an zehnter Stelle der Sequenz. Des Weiteren umfasst die gewählte Peptidsequenz die Aminosäuren His<sub>319</sub> und His<sub>322</sub>, welche für die Assemblierungsreaktion von essentieller Bedeutung sind.<sup>3</sup>

Nach der Aufreinigung des Peptids (**81**) per HPLC, durch die seine Homogenität gesichert wird, erfolgt die Analyse seiner Identität durch die Anfertigung eines MALDI-TOF-Massenspektrums. Die Identifikation von Fehlsequenzen, Nebenreaktionen und verbliebenen Schutzgruppen erfolgt durch den Vergleich der berechneten mit der experimentell bestimmten Molekülmasse. Die molare Masse des Hauptpeaks  $[M + H]^+$  beträgt

4537 Da und weicht damit nur um 0.07 % von der theoretisch ermittelten Masse des Peptids (**81**) ab, welche 4534 Da beträgt. Das Signal  $[M + 2H]^{2+}$  der molaren Masse 2271 Da wird durch ein doppelt positiv geladenes Peptid (**81**) verursacht. Daneben lässt sich ein Nebenprodukt des Molekulargewichts 4438 Da identifizieren, dessen Signal  $[M - 99 + H]^+$  auf das Fehlen einer der vier Aminosäuren Val<sub>336</sub>, Val<sub>339</sub>, Val<sub>340</sub> bzw. Val<sub>341</sub> hinweist (Abb. 98).



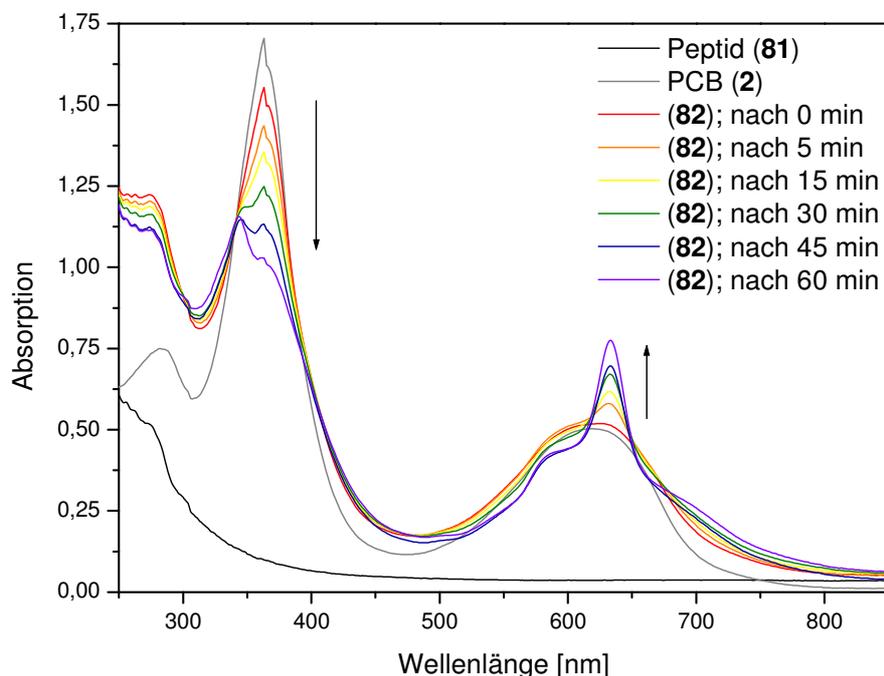
**Abb. 98:** MALDI-TOF-Massenspektrum des 41 Aminosäuren umfassenden Peptids der PhyA-Sequenz (**81**). Als Matrix dient  $\alpha$ -CHCA.

### 5.2.2 Assemblierung des Peptids (**81**) und des PCBs (**2**)

Die Assemblierung erfolgt autokatalytisch durch Zugabe des in DMSO gelösten PCBs (**2**) zu einer Lösung des Peptids (**81**) in Breaking-Puffer I (Abb. 99). Während das Stoffmengenverhältnis der Chromophore (**2**) sowie (**6**)–(**11**) und des PhyA-Apoproteins im Verlauf der Assemblierung ungefähr 10:1 beträgt, liegt während der Assemblierung des PCBs (**2**) und des Peptids (**81**) ein Verhältnis von 2.2:1 vor. Grund für den geringeren Chromophorüberschuss ist der verminderte sterische Anspruch des Peptids (**81**), das dem PCB (**2**) einen leichteren Zugang zur Chromophorbindingstelle Cys<sub>321</sub> erlaubt. Des Weiteren ermöglicht der geringere Überschuss an Chromophor (**2**) eine einfache absorptionspektroskopische Verfolgung des Assemblierungsverlaufs.

Die Stoffmenge des Peptids (**81**) wird über seine Einwaage bestimmt. Dahingegen erfolgt die Bestimmung der Stoffmengenkonzentration des PCBs (**2**) absorptionspektroskopisch unter Zuhilfenahme des molaren Extinktionskoeffizienten seines langwelligen Absorptionsmaximums, welcher  $12500 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  beträgt.<sup>31</sup> Hierzu werden 2  $\mu\text{l}$  der

PCB (2) enthaltenden DMSO-Lösung in 0.6 ml Breaking-Puffer I gelöst. Von dieser Lösung wird ein UV/Vis-Spektrum angefertigt.



**Abb. 99:** UV/Vis-spektroskopische Untersuchung der Assemblierung des PCBs (2) und des Peptids der PhyA-Sequenz (81). Während die Absorption bei 363 nm abnimmt, steigt sie bei 633 nm.

Der Chromophor PCB (2) weist Absorptionsmaxima bei 363 nm und 616 nm auf, deren Intensitäten im Verlauf der einstündigen Assemblierungsreaktion mit dem Peptid (81) abnehmen. Durch die Verringerung der Absorption bei 363 nm wird ein Absorptionsmaximum der Wellenlänge 344 nm sichtbar, welches eine Feinstruktur aufweist. Gleichzeitig ist die Bildung eines Absorptionsmaximums der Wellenlänge 633 nm beobachtbar, das zum langwelligeren Absorptionsmaximum des PCBs (2) eine bathochrome Verschiebung um 17 nm aufweist (Abb. 99). Dieser im Rahmen der Assemblierung des 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub> und PCBs (2) auftretende, von Lamparter *et al.*<sup>164</sup> während der Assemblierung von PCB (2) und dem Phytochrom Cph1 des Cyanobakteriums *Synechocystis* PCC6803 beobachtete Effekt dient als Nachweis für den erfolgreichen Verlauf der Kuppelungsreaktion zum Chromopeptid (82).

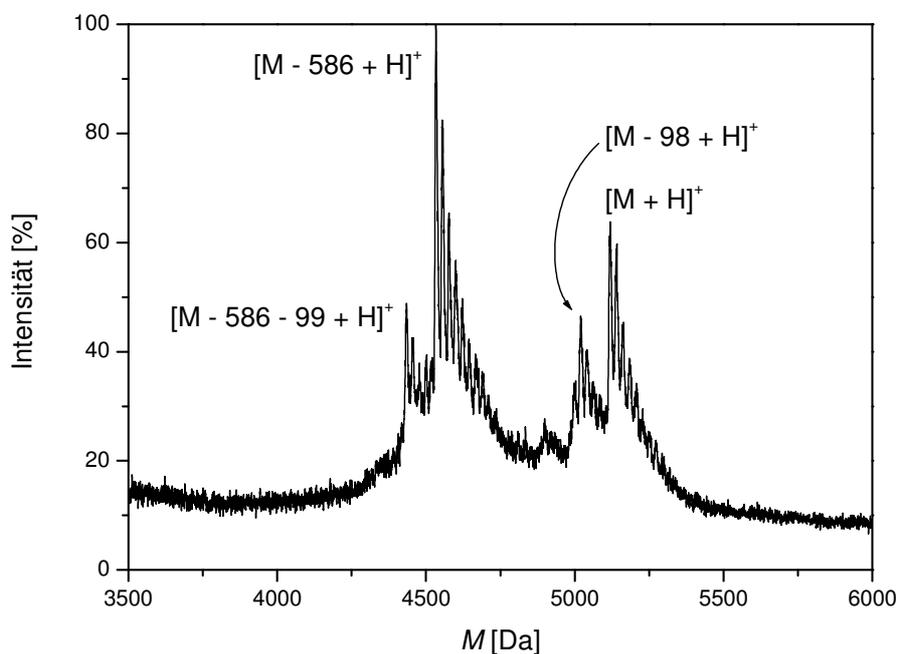
Da unter den Reaktionsbedingungen der Assemblierung keine Nebenreaktionen auftreten, wird die das Chromopeptid (82) sowie überschüssiges PCB (2) enthaltende Probelösung ohne weitere Aufreinigung spektrometrisch sowie spektroskopisch untersucht.

### 5.2.3 Spektrometrische und spektroskopische Untersuchungen des PCB-Peptid-Komplexes (82)

Im Gegensatz zu den Chromoproteinen (74)–(80) ist die Massenbestimmung des Chromopeptids (82) mit Hilfe der MALDI-TOF-Spektrometrie möglich. Die Massendifferenz

zwischen Peptid (**81**) und Chromopeptid (**82**) beträgt 13 % und befindet sich somit deutlich außerhalb der 1-%igen Messgenauigkeit der angewandten Methode.

Das MALDI-TOF-Massenspektrum deutet auf einen unvollständigen Verlauf der Assemblierungsreaktion des PCBs (**2**) und des Peptids (**81**) hin. Neben dem Massenpeak  $[M + H]^+$  des Chromopeptids (**82**) belegt der Peak  $[M - 586 + H]^+$  das Vorliegen des Peptids (**81**) (Abb. 100). Möglicherweise wird dieser Effekt durch eine während der Ionisation bzw. Messung stattfindende Abspaltung des Chromophors (**2**) bewirkt. Ein bereits im MALDI-TOF-Spektrum des freien Peptids (**81**) (Abb. 98) erkennbarer Sequenzfehler verursacht die Signale  $[M - 586 - 99 + H]^+$  und  $[M - 98 + H]^+$ . Sie weisen auf das Fehlen einer der vier Aminosäuren Val<sub>336</sub>, Val<sub>339</sub>, Val<sub>340</sub> bzw. Val<sub>341</sub> hin.

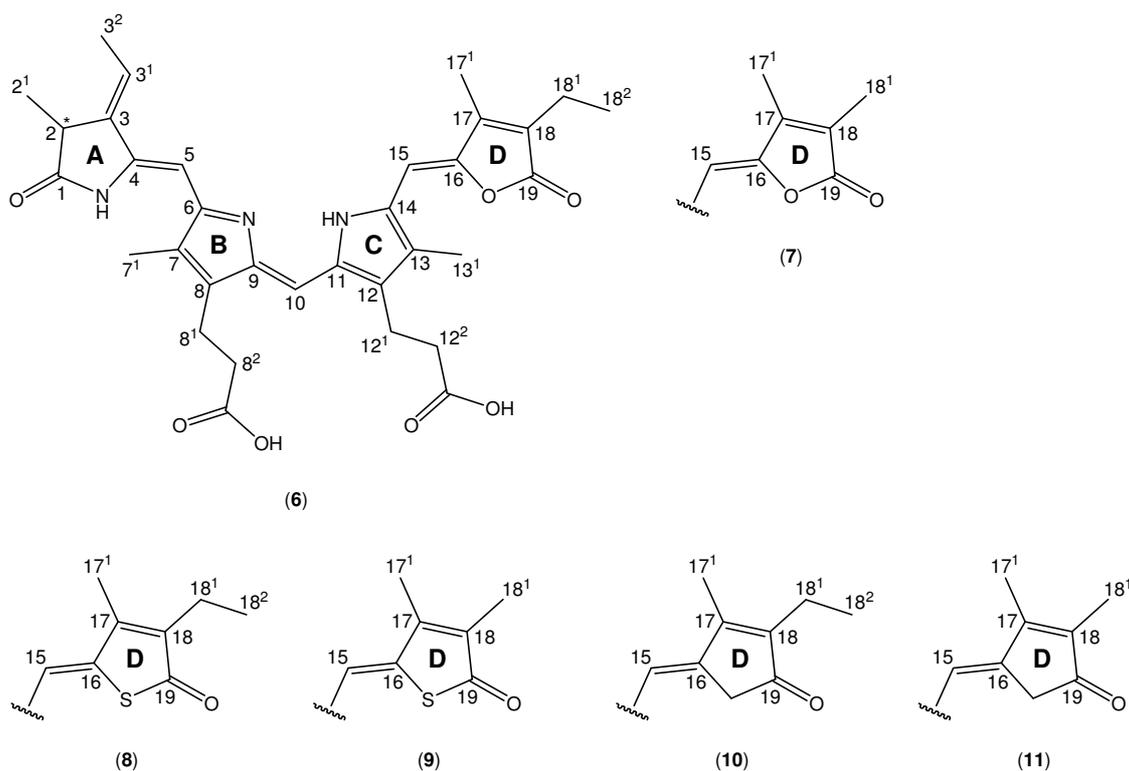


**Abb. 100:** Ausschnitt aus dem MALDI-TOF-Massenspektrum des Chromopeptids der PhyA-Sequenz (**82**). Als Matrix dient DHB's.

Die absorptionspektroskopisch verfolgten Experimente zur Photoisomerisierung des Chromopeptids (**82**) durch Einstrahlen von Licht der Wellenlänge 661 nm bzw. 616 nm, mit denen seine  $P_r$ - bzw.  $P_{fr}$ -Form eingestellt werden soll, zeigen eine partielle Zersetzung der Probe. Diese äußert sich durch die Abnahme der Intensität des Absorptionsmaximums bei 633 nm unter gleichzeitiger Zunahme der Absorption im Bereich der Wellenlängen 400–570 nm.

## 6 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit gelang die Totalsynthese sowie die vollständige spektroskopische und spektrometrische Charakterisierung sechs neuartiger PCB-analoger Verbindungen (6)–(11), welche hinsichtlich ihrer Eigenschaften als Chromophore des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom untersucht wurden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden systematisch mit den Resultaten der parallel dazu durchgeführten Analyse eines mit dem nativen Chromophor PCB (2) assemblierten Proteins verglichen.

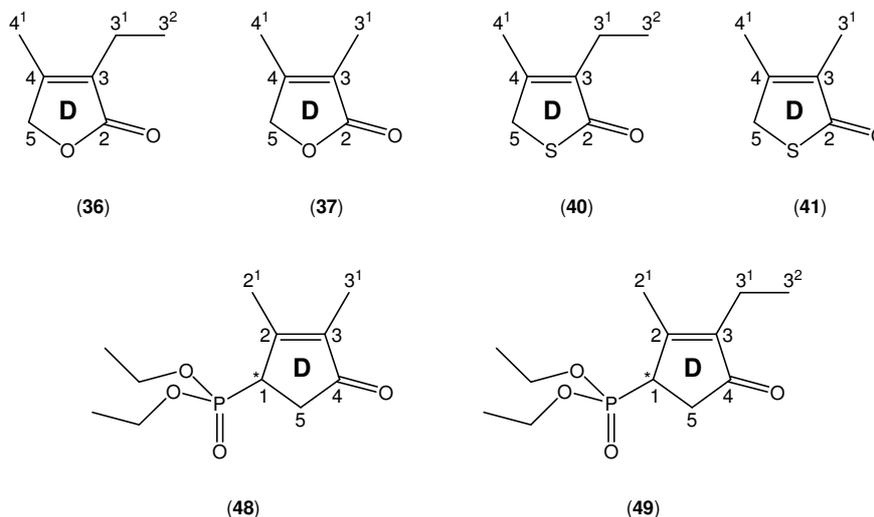


**Abb. 101:** Kekulé-Formeln der synthetisierten Oxa- (6) und (7), Thia- (8) und (9) sowie Carba-Derivate (10) und (11) des PCBs (2).

Die Chromophore (6)–(11) unterscheiden sich vom nativen Chromophor PCB (2) durch den formalen Austausch der NH-Funktion des photoisomerisierbaren D-Rings gegen die Heteroatome Sauerstoff und Schwefel bzw. eine Methylengruppe bei gleichzeitiger Variation ihres Substitutionsmusters an Position C(18). An ihr erfolgte die formale Substitution des nativen Ethylrests durch eine sterisch weniger anspruchsvolle Methylgruppe (Abb. 101).

Als Grundlage zur Darstellung der Chromophore (6)–(11) diente eine konvergente Synthesestrategie. In ihrem Verlauf wurde jeder der vier Ringe separat dargestellt, anschließend erfolgten die Kupplungsreaktionen zu den AB- (51) bzw. CD-Bausteinen (52)–(57) und letztendlich zu den Tetrameren (67)–(72). Die Synthesen des A- (18), B- (32) und C-Rings (33) ließen sich teilweise in Anlehnung an die Literatur durchführen.

Aus diesem Grund lag der Schwerpunkt der synthetischen Arbeiten einerseits auf der Darstellung einer Bibliothek unterschiedlich substituierter und zur Kupplung mit dem C-Ring (**33**) geeignet funktionalisierter D-Ringe (Abb. 102), andererseits auf der Kupplungsreaktion der AB- (**51**) mit den CD-Hälften (**58**)–(**63**) sowie der Umsetzung zu den PCB-analogen Chromophoren (**6**)–(**11**) (Abb. 101).



**Abb. 102:** Kekulé-Formeln der synthetisierten D-Ringe mit Furanon- (**36**) und (**37**), Thiophenon- (**40**) und (**41**) sowie Cyclopentenonstruktur (**48**) und (**49**).

Mit der Analyse der Kristallstruktur des furanonsubstituierten CD-Bausteins (**52**) wurde der Nachweis auf die *Z*-Konfiguration der C(4)-C(5)-Doppelbindung und die *syn*-Konformation der C(5)-C(6)-Einfachbindung erbracht. Außerdem ließ sich die Existenz einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem pyrrolischen Wasserstoffatom des C-Rings und einem der  $sp^3$ -Hybridorbitale des Furanon-Sauerstoffatoms des D-Rings belegen.

Im Verlauf der Formylierung der CD-Bausteine (**52**)–(**57**) entstanden als Nebenprodukte die drei thermisch stabilen sowie lichtunempfindlichen Chromophore (**64**)–(**66**), die aufgrund ihres Substitutionsmusters keine kovalente Bindung zum PhyA-Apoprotein ausbilden können. Da nur geringe Substanzmengen isoliert wurden, erfolgte ausschließlich ihre spektroskopische und spektrometrische Charakterisierung. Auf die Acidolyse der Methylesterfunktionen, die eine Voraussetzung für die Positionierung des Chromophors im PhyA-Apoprotein und den Erhalt seiner Konformation ist, musste verzichtet werden.

Die sechs vollsynthetisch dargestellten Chromophore (**6**)–(**11**) sowie PCB (**2**) wurden mit dem 65 kDa schweren N-terminalen Fragment des PhyA aus Hafer (*Avena sativa*) assembliert und die gebildeten Holoproteine (**74**)–(**80**) per Gelelektrophorese identifiziert. Absorptionsspektroskopische Untersuchungen zeigten sowohl das Vorliegen zweier photochemisch reversibel ineinander überführbaren Zustände als auch den Einfluss der differierenden Substitutionsmuster auf die Chromophor-Protein-Wechselwirkungen.

Im Vergleich zu dem mit PCB (**2**) assemblierten Holoprotein (**80**) weisen die Absorptionsmaxima der P<sub>r</sub>- und P<sub>fr</sub>-Form der Chromoproteine (**74**)–(**79**) eine geringere Intensität und eine deutliche Hypsochromie auf. Diese wird im Fall der Chromoproteine (**78**) und (**79**) durch den erhöhten sterischen Anspruch des D-Rings der Chromophore (**10**) und (**11**) verursacht, der zu einer Unterbrechung des konjugierten  $\pi$ -Systems führt. Des Weiteren verfügt die Methylengruppe, welche die NH-Gruppe des nativen Chromophors PCB (**2**) ersetzt, über kein orthogonal zur Molekülebene stehendes freies Elektronenpaar, das mit dem konjugierten  $\pi$ -System des Chromophorgerüsts in Wechselwirkung treten kann. Dieses fehlt ebenfalls den Heteroatomen im D-Ring der Chromophore (**6**)–(**9**). Sie verfügen über zwei freie sp<sup>3</sup>-Hybridorbitale, die nur gering mit dem konjugierten  $\pi$ -System des Chromophorgerüsts wechselwirken können. Aufgrund der leichteren Polarisierbarkeit der sp<sup>3</sup>-Hybridorbitale des Schwefels sind die polaren Konflikte zwischen der Proteinumgebung und den Chromophoren (**8**) und (**9**) im Vergleich zu den sauerstoffsubstituierten Analoga (**6**) und (**7**) vermindert. Dieser Effekt lässt sich durch die geringere Blauverschiebung der Absorptionsmaxima der Chromoproteine (**76**) und (**77**) nachweisen.

Des Weiteren belegen die UV/Vis-spektroskopischen Untersuchungen, dass die an Position C(18) durch einen Ethylrest substituierten Chromophore (**6**), (**8**) und (**10**), verglichen mit ihren an Position C(18) durch eine Methylgruppe substituierten Analoga (**7**), (**9**) und (**11**), vermehrt mit dem PhyA-Apoprotein assemblieren und stabilere Chromoproteine bilden. Aufgrund der durch die Ethylreste verursachten stärkeren Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren (**6**), (**8**) und (**10**) und dem Protein verfügen diese über eingeschränkte Möglichkeiten zur Abgabe der absorbierten Lichtenergie in Form von Schwingungsenergie und zeigen somit eine stärkere Fluoreszenz.

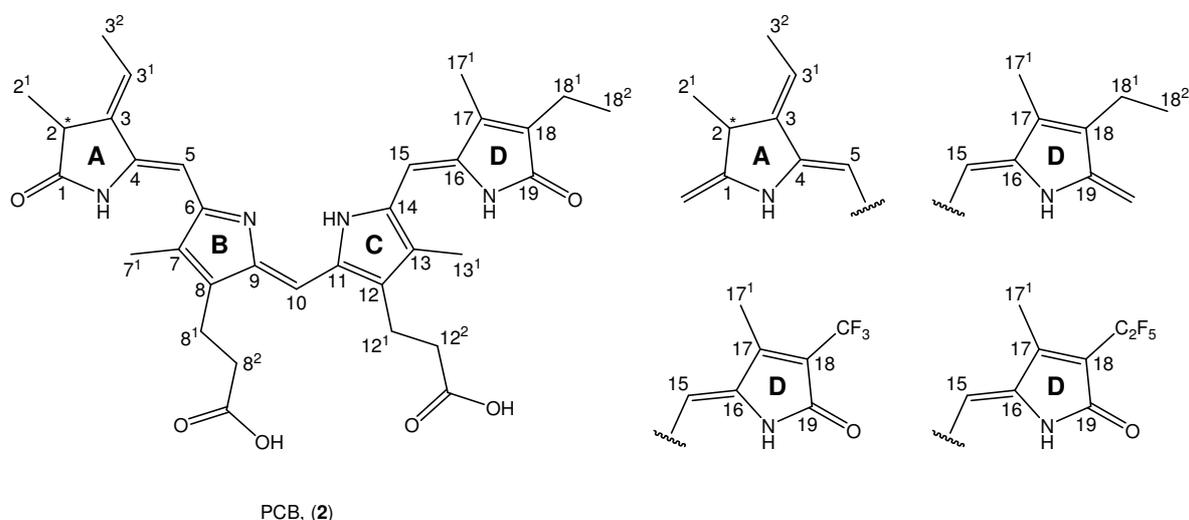
Die im Rahmen fluoreszenzspektroskopischer Untersuchungen ermittelten Quantenausbeuten der Chromoproteine (**74**)–(**79**) sind um den Faktor 2.5–4 größer als jene des mit PCB (**2**) assemblierten Chromoproteins (**80**). Damit belegen sie das Auftreten verstärkter sterischer und polarer Wechselwirkungen zwischen der Proteinumgebung und den Chromophoren (**6**)–(**11**). Letztere verfügen hierdurch über geringere vibratorische Freiheiten als das PCB (**2**) im Chromoprotein (**80**) und somit über eingeschränkte Möglichkeiten zur Freisetzung der absorbierten Lichtenergie, welche sie aus diesem Grund vermehrt in Form von Fluoreszenz emittieren.

Zusätzlich gelang die Synthese sowie die spektrometrische Identifikation eines aus 41 Aminosäuren bestehenden Peptids der PhyA-Sequenz (**81**). Dieses ließ sich unter absorptionsspektroskopischer Verfolgung des Reaktionsverlaufs mit dem nativen Chromophor PCB (**2**) zum Chromopeptid (**82**) umsetzen. Per MALDI-TOF-Massenspektrometrie konnte das Reaktionsprodukt (**82**) zweifelsfrei nachgewiesen werden. Da es über eine hohe Photosensitivität verfügt, führten Belichtungsexperimente nicht zu seiner Photoisomerisierung, sondern bewirkten die per UV/Vis-Spektroskopie beobachtbare Zersetzung.



## 7 Ausblick

Die Untersuchung der Chromophor-Protein-Wechselwirkungen anhand strukturell modifizierter Chromophore erscheint weiterhin verfolgenswert, da die chemische Synthese vielfältige Variationsmöglichkeiten sowohl der Gerüstatome als auch des Substitutionsmusters erlaubt. Damit lassen sich nichtnative Derivate des PCBs (**2**) mit definierten Eigenschaften zur Rekonstitution bereitstellen (Abb. 103). Von besonderem Interesse sind dabei die Derivate, die über eine modifizierte Struktur des photoisomerisierbaren D-Rings verfügen.



**Abb. 103:** Kekulé-Formeln des PCBs (**2**) sowie von Derivaten, welche über neuartige, nichtnative Substitutionsmuster verfügen.

Möglicherweise unterstützt die formale Substitution der carbonylischen Sauerstoffatome des A- und D-Rings durch Methylengruppen die spektroskopische Aufklärung der im Verlauf der Photoisomerisierung des Chromophors auftretenden Konformationsänderungen sowohl der C(5)-C(6)- als auch der C(14)-C(15)-Einfachbindung. Des Weiteren lässt sich vermutlich durch die Synthese von an Position C(18) durch einen Pentafluorethyl- bzw. Trifluormethylrest substituierten Chromophoren – unter Umkehrung der Polarisierung und Vergrößerung des sterischen Anspruchs des Substituenten – die Bedeutung des üblicherweise vorhandenen Ethylrests ermitteln. Sowohl Qualität als auch Intensität der Wechselwirkung mit dem Protein lassen sich gezielt unter Einsatz  $^{19}\text{F}$ -NMR-spektroskopischer Methoden detektieren.

Solange die Aufklärung der Kristallstruktur des pflanzlichen PhyA nicht erfolgt ist, erscheint ebenfalls die systematische Synthese weiterer Peptide auf Basis seiner Aminosäuresequenz sowie ihre Assemblierung mit PCB (**2**) zur Aufklärung der Wechselwirkungen zwischen Chromophor und Protein erfolgversprechend. Einerseits erfolgt durch systematische Verlängerung der Peptidsequenz ein Aufbau der chromophorbindenden Domäne

## ■ Ausblick

des PhyA, andererseits lassen sich exakt definierte und übersichtliche Modellsysteme schaffen, welche chemisch erzeugte Punktmutationen aufweisen. Letztere erlauben eine gezielte Detektion des Einflusses einzelner Aminosäuren auf die Befähigung des Proteins zur Assemblierung anhand der absorptionsspektroskopisch verfolgbaren charakteristischen Ausbildung der phytochromartigen Chromophor-Peptid-Bindung. Zusätzlich erfolgt hierdurch die Bestimmung der Abhängigkeit der Fixierung des Chromophors in der Proteintasche von der Proteinstruktur sowie der Fähigkeit des Komplexes zur Photoisomerisierung.

## 8 Experimenteller Teil

### 8.1 Vorbemerkungen

#### 8.1.1 Geräte, Materialien und Methoden

##### 8.1.1.1 Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Reichert-Heiztischmikroskop gemessen und sind unkorrigiert angegeben.

##### 8.1.1.2 NMR-Spektroskopie

Die Spektren wurden auf folgenden Geräten der Firma Bruker aufgenommen: 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) und ARX 250 (250 MHz für  $^1\text{H}$ -NMR, 63 MHz für  $^{13}\text{C}$ -NMR). Die Angaben über die Multiplizität der Signale werden wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett. Die Datenaufnahme erfolgte mit der Software TopSpin 1.3 der Firma Bruker, die Spektren wurden mit der Software MestReC 4.8.6 der Firma Mestrelab Research ausgewertet.

##### 8.1.1.3 IR-Spektroskopie

Zur Aufnahme der Infrarotspektren diente ein FT-IR Spektrometer der Firma Perkin-Elmer (System 2000). Die Messungen erfolgten an KBr-Presslingen. Datenaufnahme und Konvertierung in ASCII erfolgte mit der Software Spectrum 2.00 der Firma Shimadzu. Angegeben sind die Wellenzahlen der Schwingungen in  $\text{cm}^{-1}$ .

##### 8.1.1.4 UV/Vis-Spektroskopie

Die UV/Vis-Absorptionsspektren wurden mit Shimadzu UV-2401 PC Spektrometern aufgenommen. Verwendet wurden Küvetten der Firma Hellma aus Quarzglas (Suprasil<sup>®</sup>), deren Schichtdicke 1 cm betrug. Die verwendeten Lösemittel waren für die Spektroskopie geeignet (Uvasol<sup>®</sup>). Datenaufnahme und Konvertierung in ASCII erfolgten mit der UVPC-Software 3.9 der Firma Shimadzu. Es sind die Wellenlängen der Absorptionsmaxima in nm und deren molare dekadische Extinktionskoeffizienten ( $\epsilon$ ) in  $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  angegeben.

##### 8.1.1.5 Fluoreszenzspektroskopie

Die Fluoreszenzspektren wurden bei 20 °C mit einem Cary Eclipse Spektrometer der Firma Varian aufgenommen. Verwendet wurden Fluoreszenzküvetten der Firma Hellma aus Quarzglas (Suprasil<sup>®</sup>), deren Schichtdicke 1 cm · 1 cm betrug. Datenaufnahme und

Konvertierung in ASCII erfolgten mit der Cary Eclipse Scan Application V1.0(78) der Firma Varian.

### 8.1.1.6 Massenspektrometrie

Alle Massenspektren der Elektronenstoß-Methode (EI) wurden entweder auf einem MAT 8200, MAT 8400 oder MAT SSQ 7000 Spektrometer der Firma Finnigan mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV gemessen. Massenspektren der Elektronenspray-Methode (ESI) wurden entweder auf einem Esquire 3000 Spektrometer der Firma Bruker oder auf einem Quadrupol Spektrometer der Firma Hewlett Packard gemessen.

Die Massenspektren der Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight-Methode (MALDI-TOF) wurden auf einem Voyager DE-Pro Spektrometer der Firma Applied Biosystems in Verbindung mit einem Hochgeschwindigkeits-Digitalisierer der Firma LeCroy gemessen. Dabei dienten sowohl  $\alpha$ -CHCA als auch Sina und DHB's als Matrices. Die Aufnahme der Spektren erfolgte mit einer Beschleunigungsspannung von 20 kV und einer Verzögerungszeit von 130 ns. Verglichen mit den EI- bzw. ESI-Spektren trat dabei häufig aufgrund mangelnder statistischer Verteilung der Isotopen innerhalb der Proben eine Verschiebung des Hauptpeaks um  $1 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  auf. Diese Abweichung bleibt unkorrigiert.

Für alle Spektren sind die Massenzahlen  $m/z$  und die relativen Intensitäten der Peaks in % angegeben.

Hochauflösende Massenspektren wurden auf einem Finnigan MAT 95 Spektrometer gemessen. Es sind sowohl die theoretischen als auch die experimentell ermittelten Massen angegeben.

### 8.1.1.7 Röntgenstrukturanalytik

Die Röntgenstrukturanalysen erfolgten bei 100 K auf einem Nonius FR 591 Diffraktometer ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ) mit Graphit-Monochromator. Unter Zuhilfenahme der Software Mercury 1.4.1 des Cambridge Crystallographic Data Centre wurde die Auswertung der Kristallstrukturen durchgeführt.

### 8.1.1.8 Säulenchromatographie

Analytische Dünnschichtchromatogramme wurden entweder auf Kieselgel 60 F<sub>254</sub> DC-Aluminiumfolien (Schichtdicke 0.25 mm) oder auf Aluminiumoxid 60 F<sub>254</sub> DC-Fertigplatten der Firma Merck durchgeführt. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) bzw. durch Anfärben mit basischer Kaliumpermanganat-Lösung (3 g  $\text{KMnO}_4$ , 20 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 5 ml 5-%ige NaOH-Lösung, 300 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ).<sup>165</sup>

Säulenchromatographische Reinigungen unter Normaldruck erfolgten, sofern nicht anders angegeben, an Kieselgel 60 (Korngröße 40–63  $\mu\text{m}$ ) der Firma Merck. Trennungen per MPLC erfolgten, sofern nicht anders angegeben, bei maximal 10 bar an Kieselgel 60 (Korngröße 40–63  $\mu\text{m}$ ) der Firma Merck. Zum Einsatz kamen eine Büchi Lösemittelpum-

pe des Typs 688, verschiedene Büchi Glassäulen der Serie C-690 sowie der Fraktions-sammler SuperFrac der Firma Amersham Biosciences. Trennungen per Flash-Chromato-graphie erfolgten, sofern nicht anders angegeben, bei maximal 3.1 bar auf RediSep<sup>®</sup>-Kieselgel-Kartuschen (Korngröße 35–70  $\mu\text{m}$ ) der Firma Teledyne Isco, die in einem Chroma-tographiesystem des Typs CombiFlash<sup>®</sup> Companion<sup>®</sup> des gleichen Herstellers betrieben wurden.

#### 8.1.1.9 Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie

Präparative HPLC-Trennungen erfolgten unter Verwendung eines Chromatographiesys-tems bestehend aus zwei gekoppelten Gradientenpumpen des Typs 305 und 306 der Firma Gilson, eines Detektors SPD-10AV VP der Firma Shimadzu sowie eines Fraktions-sammlers des Typs 206 der Firma Gilson. Analytische Mengen wurden mit einem Chromatographiesystem der Firma Shimadzu getrennt. Dieses bestand aus einem Controller des Typs SCL-10A VP, zwei gekoppelten Gradientenpumpen des Typs LC-10AV VP und einem Detektor des Typs SPD-M10 VP. Für analytische sowie präparative Trennungen wurden Säulen des Typs Nucleosil 7-100 ( $\text{SiO}_2$ , Korngröße 7  $\mu\text{m}$ ) und Kromasil C18 ODS-5-100 (RP-C<sub>18</sub>, Korngröße 5  $\mu\text{m}$ ) verwendet. Die Dimensionen der analytischen Säulen betragen 125 mm · 4.6 mm, die der präparativen Nucleosil-Säule 250 mm · 8 mm und die der präparativen Kromasil-Säule 250 mm · 21 mm.

Die präparative Reinigung der synthetischen Peptide erfolgte mit einem HPLC-Sys-tem 1102 der Firma Gilson unter Verwendung zweier gekoppelter Gradientenpumpen des Typs 331 und 332, eines Detektors des Typs UV/Vis-156 sowie eines Fraktions-sammlers des Typs 215. Verwendet wurde eine Säule der Firma Phenomenex, Typ Ge-mini 5 $\mu$  (250 mm · 21.2 mm, 5  $\mu\text{m}$ ). Alle verwendeten Lösemittel wurden vor Benut-zung entgast und enthielten 0.3 % TFA.

#### 8.1.1.10 Festphasen-Peptidsynthese

Die Synthese der Peptide erfolgte mit einem Syntheseautomaten 348 $\Omega$  der Firma Ad-vanced ChemTech nach der Fmoc/*t*-Bu-Methode. Als feste Phase wurde ein PAL-PEG-PS-Harz verwendet, wodurch der C-Terminus jedes Peptids als Carbonsäureamid vorlag, während die N-terminale Aminogruppe acetyliert wurde. Die eingesetzten Aminosäuren wurden durch folgende Gruppen geschützt. Asp, Glu, Ser und Tyr: *tert*-Butyl; Asn, Cys, Gln und His: Trityl; Arg: Pbf; Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro und Val wurden ohne Schutzgruppe eingesetzt. Alle Reagenzien wurden in NMP gelöst, außer das zum Ent-schützen des N-Terminus verwendete Piperidin, welches in DMF gelöst wurde. Als Kopp-lungsreagenz diente HATU. Die Reagenzien wurden im Stoffmengenverhältnis 1:5:5:10 (Harz/Aminosäure/HATU/Collidin) eingesetzt. Sowohl nach jeder Kopplung als auch nach jeder Schutzgruppenabspaltung wurde das Harz sechsmal mit DMF gewaschen.

Alle eingesetzten Chemikalien besaßen mindestens den Reinheitsgrad „zur Peptidsyn-these“.

### 8.1.1.11 Gelelektrophorese

Gelelektrophoresen wurden auf NuPAGE® Novex Bis-Tris Gelen (Gradient 4–12 %) der Firma Invitrogen in der Gelkammer XCell SureLock™ Mini Cell des gleichen Herstellers durchgeführt. Die Stromstärke betrug 60 mA und wurde von einer Spannungsquelle Vokan 400 der Firma Shandon geliefert. Als Laufpuffer diente MOPS SDS-Puffer (1×).

### 8.1.2 Verwendete Lösungsmittel und Reagenzien

Alle verwendeten Lösungsmittel wurden, soweit sie nicht von z. A. Qualität waren, vor ihrer Verwendung destilliert. Darüber hinaus erforderliche Absolutierungen erfolgten nach in der Literatur angegebenen Standardmethoden.<sup>138,165</sup>

#### 8.1.2.1 Kommerziell erworbene Reagenzien

Acetonitril	≥ 99.5 % (Riedel de Haën)
Acetylacetat	98 % (Fluka)
Aluminiumsulfid	98 %, granuliert, 4 mesh (Aldrich)
Ammoniumcer-(IV)-nitrat (CAN)	z. A., ≥ 99.5 % (Acros)
Ammoniumchlorid	z. A., ≥ 99.8 % (Merck)
Benzylalkohol	z. A., ≥ 99.5 % (Merck)
γ-Butyrolacton	≥ 99 % (Acros)
Borsäuretrimethylester	99 % (Acros)
n-Butyllithium	Lösung in n-Hexan, 1.6 M (Acros)
D,L-2-Brombutansäureethylester	97 % (Acros)
Bromphenolblau, Natriumsalz	reinst (Serva)
D,L-2-Brompropionsäureethylester	99 % (Acros)
Butyrylessigsäureethylester	98 % (Acros)
Chloressigsäure-tert-butylester	99 % (Acros)
Chloroform-d <sub>1</sub>	Deuterierungsgrad > 99.8 % (Merck)
N-Chlorsuccinimid	≥ 98 % (Aldrich)
Citraconsäureanhydrid	98 % (Acros)
Cobalt-Harz	TALON™ (Clontech Laboratories Inc.)
1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-en (DBU)	≥ 99 % (Fluka)
N,N'-Dimethyl-4-aminopyridin (DMAP)	99 % (Aldrich)
N,N'-Dimethylformamid (DMF)	z. S., > 99 % (Merck)
Dimethylsulfid	wasserfrei, ≥ 99 % (Aldrich)
Dimethylsulfoxid (DMSO)	≥ 99.8 % (Merck)
1,4-Dithiothreitol (DTT)	> 99 % (Biomol)
1,4-Dioxan	stabilisiert, z. A., ≥ 99.5 % (Merck)
Eisessig	z. A., 100 % (Merck)
Essigsäureanhydrid	> 98.5 % (Merck)

Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	p. A., ≥ 99 % (Serva)
Ethyljodid	~ 99 % (Fluka)
Formamid	z. S., > 98 % (Merck)
Glycerin	wasserfrei, reinst, ≥ 99.0 % (Merck)
Hydrazinhydrat	~ 51 % (Acros)
Imidazol	reinst, > 99.9 % (Biomol GmbH)
Iod	> 99 % (Aldrich)
Ionenaustauscher	Dowex 50W×8-200 (Aldrich)
Kaliumcarbonat	z. A., ≥ 99.9 % (Merck)
Kaliumdihydrogenphosphat	z. A., ≥ 99.5 % (Merck)
Kaliumhydroxid	reinst, 85.0–100 % (Merck)
Kaliumpermanganat	z. A., ≥ 99 % (Merck)
Kohlendioxid	technisch, 99.8 % (Air Liquide)
Lawesson-Reagenz	97 % (Aldrich)
Magnesiumsulfat-Hydrat	reinst, > 99.0 % (Merck)
Mercaptoethanol	≥ 99.0 % (Sigma)
4-Methoxybenzylamin	98 % (Acros)
Methylglyoxal	in Wasser, 40 % (Acros)
Methyljodid	stabilisiert, 99 % (Acros)
3-Methylthiophen	≥ 98 % (Fluka)
Molekularsieb	Perlform, 2 mm, 3 Å (Merck)
MOPS SDS-Laufpuffer	20× (Invitrogen)
Natrium	99 % (Merck)
Natriumcarbonat	wasserfrei, z. A., ≥ 99.9 % (Merck)
Natriumchlorid	z. A., > 99.5 % (Merck)
Natriumdodecylsulfat (SDS)	~ 99 % (Sigma)
Natriumhydrid	Emulsion in Mineralöl, 55–65 % (Fluka)
Natriumhydrogencarbonat	z. A., ≥ 99.7 % (Merck)
Natriumhydroxid	reinst, ≥ 98.0 % (Merck)
Natriumpyrosulfit	z. A., > 98 % (Merck)
Natriumsulfat	wasserfrei, reinst, ≥ 99.0 % (Merck)
Nitroethan	z. S., > 97 % (Merck)
Orthoameisensäuretrimethylester	z. S., > 98 % (Merck)
Oxalsäuredichlorid	98 % (Acros)
3-Oxopentansäuremethylester	≥ 99 % (Acros)
Palladium/Aktivkohle	z. S., 10 % Pd, wasserfrei (Merck)
Pefabloc SC	> 95 % (Biomol GmbH)
Periodsäure	z. A., > 99.0 % (Fluka)
PhastGel™ Blue R	k. A. (Pharmacia)
Phosphoroxytrichlorid	99 % (Aldrich)

## ■ Experimenteller Teil

Proteinmarker SDS-PAGE Low Range	unstained (Bio-Rad)
Pyridin	z. A., $\geq 99.5$ % (Merck)
Pyridin-d <sub>5</sub>	Deuterierungsgrad $> 99.0$ % (Deutero GmbH)
Salzsäure	z. A., rauchend, 37 % (Merck)
Schwefelsäure	z. A., 95–97 % (Merck)
Schwefelwasserstoff	$\geq 99.0$ % (Messer Griesheim)
Tetrabutylammoniumhydrogensulfat	98 % (Acros)
N,N,N',N'-Tetramethylguanidin (TMG)	z. S., $> 98$ % (Merck)
Thionylchlorid	97 % (Aldrich)
4-Toluensulfonsäure-Monohydrat	98.5 % (Merck)
Triethylamin	z. S., $> 99$ % (Merck)
Triethylphosphit	98 % (Aldrich)
2,8,9-Trimethyl-2,5,8,9-tetraaza- 1-phosphabicyclo-[3.3.3]-undecan	99 % (Aldrich)
Triphenylphosphin	99 % (Aldrich)
Trifluoressigsäure (TFA)	99 % (Acros)
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris)	z. A., $\geq 99.9$ % (Serva)
Wasserstoff 5.0	$> 99.999$ % (Messer Griesheim)
Wasserstoffperoxid (Perhydrol®)	p. A., 35 % (Merck)
D-(-)-Weinsäure	99 % (Aldrich)
Zinkchlorid	z. A., $\geq 98$ % (Merck)
Zinkstaub	z. A., $> 95$ % (Merck)

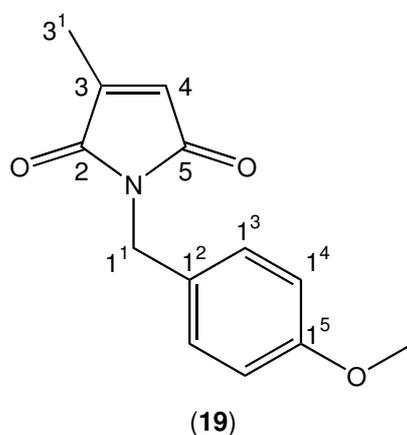
### 8.1.2.2 Puffer

Breaking-Puffer I	50 mM Tris, 300 mM NaCl, 5 % Glycerin, pH 8
Breaking-Puffer II	Breaking-Puffer I, 0.1 % Pefabloc (200mM), 0.05 % Mercaptoethanol
Breaking-Puffer III	Breaking-Puffer I, 0.1 % Pefabloc (200mM)
Lämmli-Puffer	100 mM Tris, pH 6.8, 200 mM DTT, 4 % SDS, 0.2 % Bromphenolblau, 20 % Glycerin
MOPS SDS-Puffer (1x)	MOPS SDS-Laufpuffer (20x) (1 M), Tris (1 M), SDS (69.3 mM), EDTA (20.5 mM), pH 7.7
Fixierlösung	Wasser, Ethanol, Eisessig (5:4:1, v/v)
Coomassie-Stammlösung	1 Tablette PhastGel Blue R, 80 ml Wasser, 120 ml Ethanol
Coomassie-Färbelösung	Coomassie-Stammlösung, Ethanol, Eisessig, Wasser (1:3:1:6, v/v)

## 8.2 Synthese des A-Rings

### 8.2.1 Darstellung des (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dions **(19)**<sup>116,117</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre werden zu einer auf einem Eisbad gekühlten Lösung aus 9.0 ml (98.0 mmol) Citraconsäureanhydrid und 600 ml Toluol 12.8 ml (96.2 mmol) 4-Methoxybenzylamin so zugegeben, dass die Temperatur der Mischung während der Zugabe 15–20 °C beträgt. Anschließend wird sie 13 h unter Rückfluss gekocht. Nach Abdestillieren des Toluols wird das zurückbleibende, hellgelb gefärbte Öl in 100 ml Ethylacetat aufgenommen, fünfmal mit jeweils 100 ml Wasser, zweimal mit jeweils 100 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels ergibt 22.25 g (96.2 mmol, 100 %) (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion **(19)** in Form eines feinkristallinen, schwach gelb gefärbten Feststoffs.



**Smp.** = 72–73 °C (Lit.<sup>117</sup>: Smp. = 76.0–77.0 °C)

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

δ (ppm) = 2.04 (d, 3 H, <sup>4</sup>J = 1.83 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 3.75 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.56 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>-1<sup>1</sup>), 6.28 (q, 1 H, <sup>4</sup>J = 1.78 Hz, CH-4), 6.82 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.67 Hz, CH-1<sup>4</sup>), 7.27 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.63 Hz, CH-1<sup>3</sup>)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 10.94 (C-3<sup>1</sup>), 40.95 (C-1<sup>1</sup>), 55.24 (OCH<sub>3</sub>), 113.97 (C-1<sup>4</sup>), 127.36 (C-4), 128.75 (C-1<sup>3</sup>), 129.90 (C-1<sup>2</sup>), 145.70 (C-3), 159.18 (C-1<sup>5</sup>), 170.53 (C-2), 171.54 (C-5)

**IR-Spektrum (KBr):**

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3454, 3085 (CH-Valenz, unges.), 3007 (CH-Valenz, unges.), 2974 (CH-Valenz), 2942 (CH-Valenz), 2843 (CH-Valenz), 1767 (C=O-Valenz, tert. Amid), 1697 (C=O-Valenz, tert. Amid), 1638 (C=C-Valenz), 1612, 1585, 1511, 1442 (CH-Deformation, asym.), 1398 (CH-Deformation, sym.), 1348 (CN-Valenz, tert. Amid), 1306, 1291 (CH-Deformation, unges.), 1246 (C-O-C-Valenz, asym.), 1181 (CH-Deformation, arom., ip), 1106 (CH-Deformation, arom., ip), 1077, 1029 (C-O-C-Valenz, sym.), 946, 875, 854 (CH-Deformation, *p*-disubst. Aromat, oop), 820 (CH-Deformation, unges.), 732, 703 (CH-Deformation, arom., oop), 604, 579

**Massenspektrum (EI, 55 °C):**

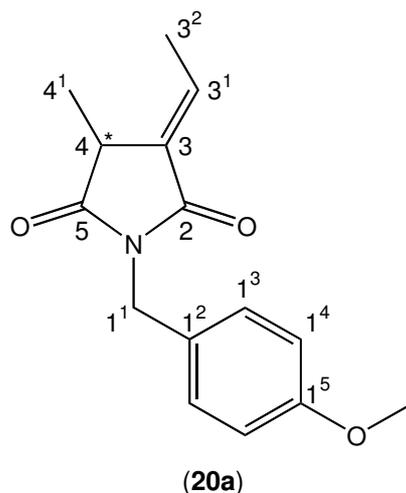
$m/z$  (%) = 231 (100,  $M^+$ ), 213 (2), 203 (5), 188 (35), 174 (4), 160 (5), 134 (18), 121 (20), 108 (40), 91 (7), 77 (11), 68 (5), 51 (4), 39 (12)

**Hochauflösendes Massenspektrum (EI):**

$C_{13}H_{13}NO_3$ : theoretisch 231.089544  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell 231.089392  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.2.2 Darstellung des (*E*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dions (**20a**)<sup>116,117,143</sup>**

Zu einer auf 0 °C gekühlten, aus 110 ml (1.36 mol) Nitroethan und 6.6 ml (42.2 mmol) DBU bestehenden Lösung werden 10.00 g (43.2 mmol) (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion (**19**) gegeben, wobei sich die Mischung auf 2 °C erwärmt. Anschließend wird sie für 1 h bei 0 °C gerührt. Die gelb gefärbte Lösung wird mit 400 ml Ethylacetat versetzt und viermal mit je 200 ml Wasser sowie zweimal mit 200 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Während sich die wässrige Phase gelb färbt, entfärbt sich die organische Phase weitgehend. Sie wird über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 14.09 g des Rohprodukts in Form eines schwach gelb gefärbten, klaren Öls zurück. Dieses wird per MPLC mit einer Mischung aus *n*-Hexan und Ethylacetat (3:1, v/v) gereinigt. Erhalten werden 4.07 g (15.7 mmol, 36.3 %) (*E*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**20a**) in Form eines klaren, schwach gelb gefärbten Öls und 1.02 g (3.9 mmol, 9.1 %) (*Z*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**20b**) in Form nahezu farbloser Kristalle.

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

$\delta$  (ppm) = 1.36 (d, 3 H,  $^3J = 7.49$  Hz, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 1.87 (dd, 3 H,  $^3J_d = 7.33$  Hz,  $J_d = 1.09$  Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 3.26 (q, 1 H,  $^3J = 7.51$  Hz, CH-4), 3.74 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.61 (d, 2 H,  $^3J = 5.40$  Hz, CH<sub>2</sub>-1<sup>1</sup>), 6.79 (d, 2 H,  $^3J = 8.67$  Hz, CH-1<sup>4</sup>), 6.83 (dq,  $^4J_d = 2.09$  Hz,  $^3J_q = 7.34$  Hz, CH-3<sup>1</sup>), 7.30 (d, 2 H,  $^3J = 8.64$  Hz, CH-1<sup>3</sup>)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 14.78 (C-3<sup>2</sup>), 15.64 (C-4<sup>1</sup>), 37.36 (C-4), 41.62 (C-1<sup>1</sup>), 55.24 (OCH<sub>3</sub>), 113.93 (C-1<sup>4</sup>), 128.34 (C-1<sup>2</sup>), 130.19 (C-1<sup>3</sup>), 131.99 (C-3), 134.23 (C-3<sup>1</sup>), 159.19 (C-1<sup>5</sup>), 169.27 (C-2), 177.91 (C-5)

**IR-Spektrum** (KBr):

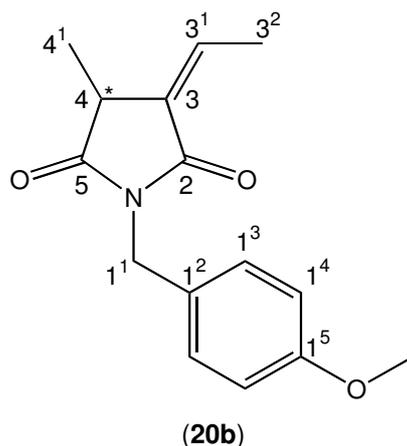
$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3463, 2976 (CH-Valenz), 2939 (CH-Valenz), 2838 (CH-Valenz), 1766 (C=O-Valenz, tert. Amid), 1701 (C=O-Valenz, tert. Amid), 1676, 1613, 1586, 1550, 1515, 1431 (CH-Deformation, asym.), 1397 (CH-Deformation, sym.), 1344 (CN-Valenz, tert. Amid), 1298 (CH-Deformation, unges.), 1249 (C-O-C-Valenz, asym.), 1199, 1178 (CH-Deformation, unges.), 1147, 1113, 1081, 1033 (C-O-C-Valenz, sym.), 983, 949, 917, 849 (CH-Deformation, *p*-disubst. Aromat, oop), 821 (CH-Deformation, *p*-disubst. Aromat, oop), 769, 740, 700, 618, 570, 547, 514, 426

**Massenspektrum** (EI, 70 °C):

$m/z$  (%) = 259 (100, M<sup>+</sup>), 244 (1), 230 (7), 216 (28), 202 (10), 187 (3), 173 (2), 162 (6), 134 (14), 121 (83), 108 (4), 96 (14), 77 (8), 68 (17), 53 (6), 41 (7)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>: theoretisch 259.120844 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 259.120775 g · mol<sup>-1</sup>



**Smp.** = 48 °C (Lit.<sup>117</sup>: Smp. = 45–46 °C)

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

δ (ppm) = 1.31 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.42 Hz, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.25 (dd, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>d</sub> = 7.34 Hz, J<sub>d</sub> = 1.81 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 3.14 (qt, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.45 Hz, J<sub>t</sub> = 1.88 Hz, CH-4), 3.75 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.60 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 3.89 Hz, CH<sub>2</sub>-1<sup>1</sup>), 6.16 (dq, 1 H, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 1.75 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.26 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 6.80 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.69 Hz, CH-1<sup>4</sup>), 7.32 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.69 Hz, CH-1<sup>3</sup>)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 14.79 (C-3<sup>2</sup>), 15.94 (C-4<sup>1</sup>), 39.51 (C-4), 41.28 (C-1<sup>1</sup>), 55.26 (OCH<sub>3</sub>), 113.94 (C-1<sup>4</sup>), 128.44 (C-1<sup>2</sup>), 130.28 (C-1<sup>3</sup>), 130.59 (C-3), 137.79 (C-3<sup>1</sup>), 159.18 (C-1<sup>5</sup>), 169.22 (C-2), 177.49 (C-5)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3452, 2974 (CH-Valenz), 2936 (CH-Valenz), 2875 (CH-Valenz), 2838 (CH-Valenz), 1764 (C=O-Valenz, tert. Amid), 1700 (C=O-Valenz, tert. Amid), 1670, 1613, 1586, 1552, 1514, 1430 (CH-Deformation, asym.), 1396 (CH-Deformation, sym.), 1352 (CN-Valenz, tert. Amid), 1297 (CH-Deformation, ip), 1248 (C-O-C-Valenz, asym.), 1203, 1178 (CH-Deformation, unges.), 1149, 1113, 1097, 1033 (C-O-C-Valenz, sym.), 960, 916, 851 (CH-Deformation, *p*-disubst. Aromat, oop), 821 (CH-Deformation, *p*-disubst. Aromat, oop), 781, 771, 745, 700, 619, 562, 542, 513, 408

**Massenspektrum** (EI, 65 °C):

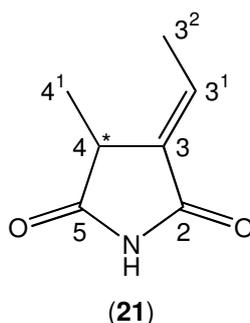
m/z (%) = 259 (100, M<sup>+</sup>), 244 (1), 230 (7), 216 (28), 202 (10), 187 (3), 173 (2), 162 (5), 134 (14), 121 (96), 108 (3), 96 (14), 77 (9), 68 (17), 53 (6), 41 (8)

**Hochauflösendes Massenspektrum (EI):**

$C_{15}H_{17}NO_3$ : theoretisch 259.120844 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 259.120669 g · mol<sup>-1</sup>

**8.2.3 Darstellung des (*E*)-3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dions (21)<sup>116,117</sup>**

Eine Lösung, bestehend aus 4.72 g (18.2 mmol) 3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**20a**) in 183 ml (3.46 mol) Acetonitril und 64 ml (3.55 mol) Wasser, wird mit 25.06 g (45.5 mmol) CAN versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird sie mit 200 ml Ethylacetat extrahiert und die wässrige Phase dreimal mit je 50 ml Ethylacetat gewaschen. Die vereinigten gelb gefärbten organischen Phasen werden viermal mit je 100 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung sowie viermal mit je 100 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und danach über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels wird die klare, gelborange gefärbte Lösung in 55 ml Methanol gelöst, mit 0.36 ml (1.0 mmol) Hydrazinhydrat versetzt und 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abdestillieren des Lösemittels wird die gelb gefärbte, klare Flüssigkeit mit jeweils 200 ml Ethylacetat und Wasser versetzt. Nach der Phasentrennung wird die wässrige Phase zweimal mit je 75 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden viermal mit je 100 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 4.07 g des Rohprodukts in Form eines gelb gefärbten Feststoffs zurück. Dieser wird per MPLC mit einem Gemisch aus Dichlormethan und Ethylacetat (Gradient 19:1–4:1, v/v) gereinigt und anschließend aus Ethylacetat umkristallisiert. Erhalten werden 1.64 g (9.5 mmol, 65.0 %) (*E*)-3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**21**) in Form gelborange gefärbter Kristalle.



**Smp.** = 76 °C (Lit.<sup>117</sup>: Smp. = 100 °C)

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

δ (ppm) = 1.43 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.50 Hz, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 1.90 (dd, 3 H, <sup>5</sup>J<sub>d</sub> = 1.29 Hz, <sup>3</sup>J<sub>d</sub> = 7.34 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 3.35 (ddq, 1 H, <sup>5</sup>J<sub>q</sub> = 1.28 Hz, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 2.13 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.47 Hz, CH-4), 6.86 (dq, 1 H, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 2.21 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.33 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 8.09 (s br, 1 H, NH)

## ■ Experimenteller Teil

### <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 14.75 (C-3<sup>2</sup>), 15.55 (C-4<sup>1</sup>), 38.48 (C-4), 132.75 (C-3), 135.21 (C-3<sup>1</sup>), 169.27 (C-2), 178.11 (C-5)

### IR-Spektrum (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3178 (NH-Valenz), 3046 (CH-Valenz, unges.), 2973 (CH-Valenz), 2940 (CH-Valenz), 2879 (CH-Valenz), 1764 (C=O-Valenz), 1706 (C=O-Valenz), 1666 (C=C-Valenz), 1605, 1542, 1505 (NH-Deformation, Amid), 1460, 1442 (CH-Deformation, asym.), 1379 (CH-Deformation, sym.), 1347 (CH-Deformation), 1257, 1201 (CN-Valenz, Amid), 1148, 1044, 1039, 948, 844 (CH-Deformation, unges.), 776, 736 (NH-Deformation, Amid), 709, 669, 627, 569, 439

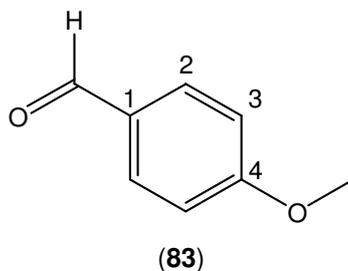
### Massenspektrum (GC-EI):

$m/z$  (%) = 139 (17, M<sup>+</sup>), 124 (1), 110 (1), 96 (100), 67 (72), 65 (5), 53 (28), 39 (19), 27 (12)

### Hochauflösendes Massenspektrum (EI):

C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>: theoretisch 139.063329 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 139.063454 g · mol<sup>-1</sup>

Als Nebenprodukt lassen sich 0.09 g (0.66 mmol, 3.6 %) *p*-Anisaldehyd (**83**) in Form eines klaren, schwach gelb gefärbten, fruchtig riechenden Öls gewinnen.



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

$\delta$  (ppm) = 3.85 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 6.97 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.78 Hz, CH-3), 7.80 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.73 Hz, CH-2), 9.85 (s, 1 H, CHO)

### <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 55.50 (OCH<sub>3</sub>), 114.26 (C-3), 129.92 (C-1), 131.90 (C-2), 164.56 (C-4), 190.71 (CHO)

**IR-Spektrum** (KBr):

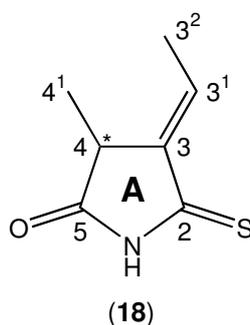
$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3076 (CH-Valenz, aromat.), 2970 (CH-Valenz), 2938 (CH-Valenz), 2841 (CH-Valenz), 2780, 1700 (C=O-Valenz, Arylaldehyd), 1683 (C=O-Valenz, Arylaldehyd), 1600 (C=C-Valenz, *p*-disubst. Aromat), 1577 (*p*-disubst. Aromat.), 1549, 1511 (*p*-disubst. Aromat.), 1459 (CH-Deformation, asym.), 1426, 1398 (CH-Deformation, sym.), 1352, 1315, 1261 (C-O-C-Valenz, asym.), 1216, 1160 (CH-Deformation, aromat., ip), 1108 (CH-Deformation, aromat., ip), 1025 (C-O-C-Valenz, sym.), 834 (CH-Deformation, aromat.), 766, 758, 642, 607, 597, 516

**Massenspektrum** (EI, 105 °C):

$m/z$  (%) = 136 (74), 135 (100, M<sup>+</sup>), 107 (14), 92 (14), 77 (29)

**8.2.4 Darstellung des (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimids (**18**)**<sup>116,117</sup>

Zu einer unter Inertgasatmosphäre bei 150 °C Ölbadtemperatur kochenden Lösung aus 3.98 g (9.6 mmol) Lawesson-Reagenz in 30 ml 1,4-Dioxan wird eine Lösung aus 1.39 g (9.6 mmol) (*E*)-3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dion (**21**) und 9 ml 1,4-Dioxan gegeben. Die sich bildende orange gefärbte, klare Lösung wird 10 min bei 150 °C Ölbadtemperatur gekocht, wobei sie sich dunkelrot färbt, und anschließend auf einem Eisbad abgekühlt. Der dabei ausfallende Niederschlag wird über Celite<sup>®</sup> 500 abfiltriert und das Lösemittel aus dem Filtrat abdestilliert. Zurück bleiben 7.08 g eines dunkelrot gefärbten Öls, bei dem es sich um das Rohprodukt handelt. Diese wird per MPLC mit Dichlormethan und danach mit einer Mischung aus *n*-Hexan und Ethylacetat (3:1, v/v) gereinigt. Erhalten werden 0.59 g (3.8 mmol, 39.6 %) (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) in Form gelb gefärbter Kristalle.



**Smp.** = 106 °C (Lit.<sup>117</sup>: Smp. = 113–114 °C)

## ■ Experimenteller Teil

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

$\delta$  (ppm) = 1.44 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.53 Hz, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 1.91 (dd, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>d</sub> = 7.48 Hz, <sup>5</sup>J<sub>d</sub> = 1.17 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 3.39 (ddq, 1 H, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 1.16 Hz, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 2.03 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.51 Hz, CH-4), 7.12 (dq, 1 H, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 2.07 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.48 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 9.00 (s breit, 1 H, NH)

### <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 15.54, 15.58 (C-3<sup>2</sup>, -4<sup>1</sup>), 38.42 (C-4), 137.71 (C-3<sup>1</sup>), 139.96 (C-3), 179.19 (C-5), 200.45 (C-2)

### IR-Spektrum (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3226 (NH-Valenz), 2963 (CH-Valenz), 2927 (CH-Valenz), 1752 (C=O-Valenz), 1733, 1664 (C=C-Valenz), 1444 (CH-Deformation, asym.), 1380 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1316 (CN-Valenz, Amid), 1263, 1247, 1223, 1188 (C-S-Valenz), 1027, 919, 860, 788, 761, 667, 618, 503, 463, 423

### Massenspektrum (EI, 40 °C):

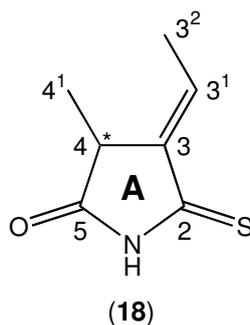
$m/z$  (%) = 155 (100, M<sup>+</sup>), 140 (18), 126 (11), 112 (11), 97 (7), 94 (18), 84 (4), 77 (2), 67 (18), 60 (4), 53 (9), 39 (15), 27 (8)

### Hochauflösendes Massenspektrum (EI):

C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NOS: theoretisch 155.040486 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 155.040302 g · mol<sup>-1</sup>

## 8.2.5 Darstellung des (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimids (**18**)<sup>31,81</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre werden 0.50 g (3.7 mmol) (*Z,E*)-4-Ethyliden-5-imino-3-methylpyrrolidin-2-on (**17**) bei 45 °C in 36 ml (0.45 mol) trockenem Pyridin gelöst. In die auf 80 °C erwärmte, orange gefärbte Lösung wird für 2.5 h über Aluminiumsulfid getrockneter Schwefelwasserstoff eingeleitet. Die braun gefärbte, klare Lösung wird 15 min unter Rückfluss gekocht, bevor sie für weitere 15 min mit einem kräftigen Inertgasstrom gespült wird, um überschüssigen Schwefelwasserstoff auszutreiben. Anschließend wird das Pyridin abdestilliert. Restliche Pyridinspuren werden durch fünfmaliges Aufnehmen des Rückstands in Toluol sowie erneutes Abdestillieren des Lösemittels entfernt. Zurück bleiben 0.77 g des Rohprodukts in Form eines dunkelbraunen Öls. Dieses wird per Flash-Chromatographie gereinigt, wobei Dichlormethan als Laufmittel dient. Erhalten werden 0.33 g (2.1 mmol, 58.3 %) (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) in Form gelb gefärbter Kristalle.



**Smp.** = 108 °C (Lit.<sup>82</sup>: Smp. = 113–115 °C)

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

$\delta$  (ppm) = 1.44 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.58 Hz, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 1.91 (dd, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>d</sub> = 7.47 Hz, <sup>5</sup>J<sub>d</sub> = 1.01 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 3.39 (qq, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.51 Hz, <sup>5</sup>J<sub>q</sub> = 1.00 Hz, CH-4), 7.12 (dq, 1 H, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 2.05 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.48 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 8.92 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 15.55, 15.58 (C-3<sup>2</sup>, -4<sup>1</sup>), 38.42 (C-4), 137.74 (C-3<sup>1</sup>), 139.94 (C-3), 179.07 (C-5), 200.40 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3227 (NH-Valenz), 2965 (CH-Valenz), 1755 (C=O-Valenz), 1732, 1665 (C=C-Valenz), 1445 (CH-Deformation, asym.), 1381 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1316 (CN-Valenz, Amid), 1263, 1223, 1189 (C-S-Valenz), 1098, 1028, 919, 861, 801 (CH-Deformation, unges.), 762, 666, 619, 504, 464

**Massenspektrum** (EI, 35 °C):

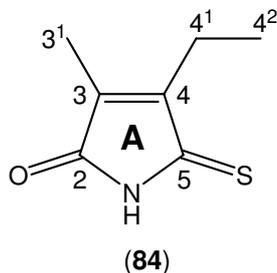
$m/z$  (%) = 155 (100, M<sup>+</sup>), 140 (19), 126 (12), 112 (12), 97 (7), 94 (19), 85 (4), 77 (2), 67 (19), 60 (4), 53 (9), 39 (14), 27 (7)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (CI, i-Butan):

C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>NOS [M - CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>: theoretisch 140.017011 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 140.017360 g · mol<sup>-1</sup>

## ■ Experimenteller Teil

Als Nebenprodukt können 0.02 g (0.1 mmol, 3.0 %) des Tautomeren 4-Ethyl-3-methyl-5-thioxopyrrol-2-on (**84**) in Form eines dunkelroten Feststoffs isoliert werden.



**Smp.** = 54 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.10 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.59 Hz, CH<sub>3</sub>-4<sup>2</sup>), 1.92 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.54 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.57 Hz, CH<sub>2</sub>-4<sup>1</sup>), 8.42 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.65 (C-3<sup>1</sup>), 13.46 (C-4<sup>2</sup>), 18.02 (C-4<sup>1</sup>), 131.07 (C-3), 146.64 (C-4), 174.63 (C-2), 201.74 (C-5)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3202 (NH-Valenz), 2966 (CH-Valenz), 2927 (CH-Valenz), 2870 (CH-Valenz), 1737 (C=O-Valenz), 1638, 1430 (CH-Deformation, asym.), 1384 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1340, 1319 (CN-Valenz), 1262, 1226, 1129, 1107 (C-S-Valenz), 1073, 1057, 1024, 974, 803, 754, 708, 672, 598, 578, 456

**Massenspektrum** (EI, 10 °C):

$m/z$  (%) = 155 (100, M<sup>+</sup>), 140 (14), 126 (15), 122 (5), 112 (9), 95 (12), 85 (3), 79 (2), 67 (33), 60 (4), 53 (11), 39 (17), 27 (9)

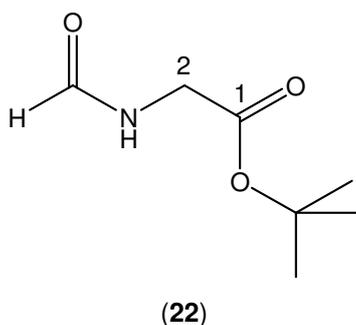
**Hochauflösendes Massenspektrum** (CI, i-Butan):

C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>NOS [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 156.048311 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
156.048632 g · mol<sup>-1</sup>

## 8.3 Synthese der Vorstufe des B- und C-Rings

### 8.3.1 Darstellung des N-Formylglycin-*tert*-butylesters (**22**)<sup>32,123</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre werden zu einer aus 8.9 g (387 mmol) Natrium und 160 ml (3.95 mol) Methanol bestehenden Lösung langsam 115 ml (2.90 mol) Formamid getropft. Anschließend wird überschüssiges Methanol abdestilliert. Zur verbleibenden Lösung werden innerhalb von 3 h 50 ml (350 mmol) Chloressigsäure-*tert*-butylester gegeben. Danach wird die Lösung 2 h bei 60 °C unter Rückfluss gekocht. Sie wird auf 500 ml Eiswasser gegossen und die dabei entstehende Mischung fünfmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, und das Lösungsmittel wird abdestilliert. Zurück bleibt das Rohprodukt in Form einer klaren, gelb gefärbten Lösung, die im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert wird. Daraus werden 30.48 g (191.5 mmol, 54.7 %) N-Formylglycin-*tert*-butylester (**22**) als klare, farblose Flüssigkeit gewonnen.



**Sdp.** <sub>0.023 mbar</sub> = 67–73 °C (Lit.<sup>32</sup>: Sdp. <sub>1.4–1.5 mbar</sub> = 98–103 °C)

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

δ (ppm) = 1.26 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.75 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 5.54 Hz, CH<sub>2</sub>-2), 7.07 (s breit, 1 H, NH), 8.01 (s, 1 H, CHO)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

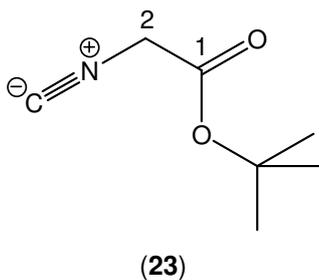
δ (ppm) = 27.51 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 40.17 (C-2), 81.68 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 161.37 (C-1), 168.26 (CHO)

### 8.3.2 Darstellung des Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**23**)<sup>31,32</sup>

Zu einer auf –10 °C gekühlten Lösung aus 24.01 g (150.9 mmol) N-Formylglycin-*tert*-butylester (**22**), 59 ml (423.9 mmol) Triethylamin und 310 ml Dichlormethan werden unter einer Inertgasatmosphäre innerhalb von 2 h 16.5 ml (177.0 mmol) frisch destilliertes POCl<sub>3</sub> in der Weise zugetropft, dass sich die Lösung nicht stärker als –5 °C erwärmt. Die Mischung wird in einem Temperaturintervall von –5 bis 0 °C weitere 2 h gerührt. Anschließend erfolgt die Zugabe einer aus 31.4 g (296.3 mmol) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 150 ml Was-

## ■ Experimenteller Teil

ser bestehenden Lösung. Nach weiteren 30 min Rühren bei Raumtemperatur werden 200 ml Wasser zugegeben und die Mischung sechsmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 100 ml einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels führt zu 21.87 g des braunen Rohprodukts, das im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert wird. Erhalten werden 16.69 g (118.2 mmol, 78.4 %) des Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**23**) in Form einer schwach gelb gefärbten, klaren Flüssigkeit.



**Sdp.**  $_{0.076-0.082 \text{ mbar}} = 37-42 \text{ }^\circ\text{C}$  (Lit.<sup>32</sup>:  $\text{Sdp.}_{3 \text{ mbar}} = 68-70 \text{ }^\circ\text{C}$ )

**<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 1.43 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 4.06 (s, 2 H,  $\text{CH}_2$ -2)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 27.63 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 44.07 (C-2), 83.82 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 160.37 (CN), 162.70 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2984 (CH-Valenz), 2941 (CH-Valenz), 2162 (CN-Valenz), 1755 (C=O-Valenz), 1458, 1424, 1372, 1360 (CH-Valenz,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1299, 1232, 1158, 1003, 942, 839, 748, 583

**Massenspektrum** (GC-EI):

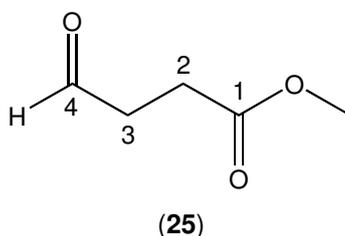
$m/z$  (%) = 126 (6), 68 (84), 59 (59), 58 (6), 57 (100), 56 (11), 41 (46), 40 (13), 39 (10), 31 (3), 29 (24)

### 8.3.3 Darstellung des 4-Oxobutansäuremethylesters (**25**)<sup>119-121</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre werden innerhalb von 1.5 h zu einer aus 2.0 ml (0.03 mol)  $\gamma$ -Butyrolacton und 35 ml (0.86 mol) Methanol bestehenden Lösung 21.9 ml (0.16 mol) Triethylamin gegeben, wobei sich die Mischung auf  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  erwärmt. Diese Lösung wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Abdestillieren des überschüssigen Methanols und Triethylamins liefert 3.22 g einer schwach gelb gefärbten, klaren Lösung. NMR-spektroskopische Untersuchungen zeigen, dass sie zu 80 % aus 4-Hydroxybutansäuremethyl-

ester und zu 20 % aus dem Edukt  $\gamma$ -Butyrolacton besteht. Dieses Produktgemisch wird ohne weitere Aufarbeitung im folgenden Reaktionsschritt eingesetzt.

Unter Inertgas wird eine auf  $-68\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlte Lösung aus 2.1 ml (0.02 mol) Oxalsäuredichlorid und 54 ml Dichlormethan in der Weise mit einer aus 3.4 ml (0.05 mmol) DMSO und 10 ml Dichlormethan bestehenden Lösung versetzt, dass die Temperatur des Gemisches nicht über  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  steigt, und anschließend 15 min gerührt. Sie wird mit einer Lösung aus dem Rohprodukt sowie 22 ml Dichlormethan unter Vermeidung einer Temperaturerhöhung versetzt und weitere 15 min gerührt. Danach werden zu der sich bildenden farblosen Suspension 16.8 ml (0.12 mmol) Triethylamin gegeben, wobei die Temperatur der Lösung nicht über  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  steigt. Bei dieser Temperatur wird sie weitere 5 min gerührt. Nachdem die Suspension langsam auf Raumtemperatur erwärmt worden ist, wird sie mit 110 ml Wasser versetzt. Die wässrige Phase wird von der organischen getrennt und zweimal mit jeweils 110 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden anschließend zweimal mit jeweils 110 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 2.29 g einer gelborange gefärbten, klaren Lösung zurück, bei der es sich um ein Gemisch aus 4-Oxobutansäuremethylester (**25**) und  $\gamma$ -Butyrolacton handelt. Dieses wird per MPLC mit einer Mischung aus n-Pentan und Diethylether (3:2, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Laufmittels werden 0.90 g (7.7 mmol, 29.8 %) des 4-Oxobutansäuremethylesters (**25**) in Form einer farblosen, klaren Lösung erhalten.



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

$\delta$  (ppm) = 2.49 (t, 2 H,  $^3J = 6.63$  Hz,  $\text{CH}_2$ -2), 2.67 (t, 2 H,  $^3J = 6.62$  Hz,  $\text{CH}_2$ -3), 3.55 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 9.66 (s, 1 H, CHO)

**$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (101 MHz, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 26.04 (C-2), 38.20 (C-3), 51.53 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 172.42 (C-1), 199.79 (C-4)

**IR-Spektrum** (KBr):

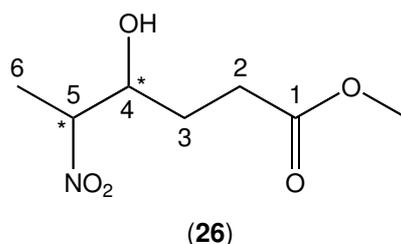
$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2956 (CH-Valenz), 2847 (CH-Valenz), 2736 (CH-Valenz, Aldehyd), 1736 (C=O-Valenz), 1439 (CH-Deformation, asym.), 1368 (CH-Deformation, sym.), 1305, 1209 (C-O-Valenz), 1175, 1077, 1036, 987, 870

**Massenspektrum (GC-El):**

$m/z$  (%) = 88(78), 85 (82), 74 (2), 59 (33), 57 (61), 55 (31), 53 (1), 45 (15), 31 (12), 29 (100)

**8.3.4 Darstellung des 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylesters (26)<sup>32,123</sup>**

Unter einer Inertgasatmosphäre wird eine auf  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlte Lösung aus 15.1 ml (204.9 mmol) Nitroethan und 13.97 g (120.3 mmol) 4-Oxobutansäuremethylester (**25**) mit 12 ml einer Lösung aus KOH in Methanol (1 M) versetzt. Während der Zugabe steigt die Temperatur der Reaktionsmischung nicht über  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  an. Danach wird die Lösung 2.5 h bei einer Temperatur zwischen  $-5$  und  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Anschließend werden 8.0 ml einer Lösung aus konzentrierter Schwefelsäure in Methanol (0.9 M) in der Weise zugetropft, dass die Temperatur der Lösung nicht über  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  steigt. Dabei fällt ein farbloser Niederschlag aus. Die Suspension wird 45 min bei  $-8$  bis  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, danach auf Raumtemperatur erwärmt und das Lösemittel abdestilliert. Danach wird die gelb gefärbte Suspension in 180 ml einer Mischung, bestehend aus Ethylacetat und Wasser (1:1, v/v), aufgenommen. Die Phasen werden voneinander getrennt und die organische Phase jeweils dreimal mit 45 ml Wasser, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung sowie gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und anschließend über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels liefert 16.40 g (85.8 mmol, 71.3 %) eines 3:2-Gemisches beider Diastereomerenpaare des 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylesters (**26**) in Form einer gelb gefärbten, klaren, leicht viskosen Lösung, die ohne weitere Aufreinigung in die Folgereaktion eingesetzt wird.



**<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**

$\delta$  (ppm) = 1.48 (dd, 1.5 H,  $^3J_d = 6.59$  Hz,  $J_d = 1.31$  Hz,  $\text{CH}_3$ -6), 1.49 (dd, 1.5 H,  $^3J_d = 6.51$  Hz,  $J_d = 1.26$  Hz,  $\text{CH}_3$ -6), 1.58–1.71 (m, 1.2 H,  $\text{CH}_2$ -3), 1.80–1.89 (m, 0.8 H,  $\text{CH}_2$ -3), 2.47 (t, 2 H,  $^3J = 7.04$  Hz,  $\text{CH}_2$ -2), 3.11 (s breit, 1 H, OH), 3.62 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.90–3.92 (m, 0.6 H, CH-4), 4.12 (dt, 0.4 H,  $^3J_d = 9.62$  Hz,  $^3J_t = 3.34$  Hz, CH-4), 4.43–4.51 (m, 1 H, CH-5)

**$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (101 MHz, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 16.47 (C-6), 27.63 (C-3), 29.70 (C-2), 50.99 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 71.19 (C-4),  
87.01 (C-5), 173.95 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

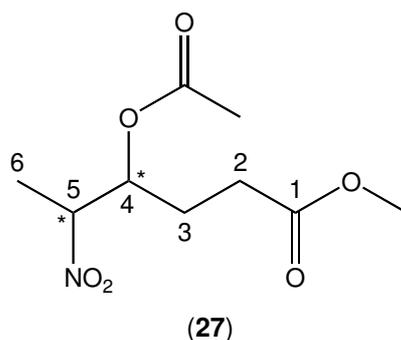
$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3457 (OH-Valenz), 2955 (CH-Valenz), 1735 (C=O-Valenz), 1552 ( $\text{NO}_2$ -Valenz, asym.), 1440, 1393, 1362 ( $\text{NO}_2$ -Valenz, sym.), 1263, 1174, 1037, 942, 872

**Massenspektrum** (EI, 30 °C):

$m/z$  (%) = 160 (2), 144 (2), 130 (3), 129 (2), 117 (33), 113 (77), 112 (31), 111 (2),  
95 (10), 88 (30), 87 (6), 85 (100), 76 (5), 75 (3), 68 (2), 67 (12), 60 (2), 59 (13), 58 (9),  
57 (69), 56 (11), 55 (27), 39 (6), 33 (2), 31 (7), 30 (12), 29 (49), 27 (14), 26 (2)

### 8.3.5 Darstellung des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (**27**)<sup>32,124</sup>

Unter Inertgas und Lichtausschluss wird eine Lösung aus 16.40 g (85.8 mmol) 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylester (**26**) und 0.39 g (3.2 mmol) DMAP in 20 ml Dichlormethan mit einer Lösung aus 14.0 ml (145.9 mmol) Essigsäureanhydrid in 25 ml Dichlormethan versetzt, wobei die Temperatur der Mischung 26 °C nicht überschreitet. Es wird anschließend 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Die sich bildende, grün gefärbte Lösung wird mit 9.2 ml (227 mmol) Methanol versetzt und 1 h gerührt, um überschüssiges Essigsäureanhydrid zu zersetzen. Anschließend wird die Reaktionsmischung in 110 ml einer halbkonzentrierten  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gegeben. Die organische wird von der wässrigen Phase getrennt und letztere dreimal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Anschließend werden die organischen Phasen vereinigt und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Ein Teil des Lösemittels wird abdestilliert und die aufkonzentrierte Lösung über eine kurze Flash-Säule gereinigt. Als Laufmittel dient Dichlormethan. Aus dem Filtrat wird das Lösemittel destillativ entfernt, so dass 14.71 g (63.07 mmol, 73.5 %) des Produkts 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**27**) in Form einer türkis gefärbten, klaren Lösung zurückbleiben. Dabei handelt es sich um ein Gemisch der Diastereomerenpaare im Verhältnis 59:41, das ohne weitere Aufarbeitung in der Folgereaktion umgesetzt wird.



## ■ Experimenteller Teil

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

δ (ppm) = 1.53 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 6.56 Hz, CH<sub>3</sub>-6), 1.77–1.90 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-3), 2.01 (t, 1.9 H, J = 1.00 Hz, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.04 (t, 1.1 H, J = 1.02 Hz, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.34 (t, 2 H, CH<sub>2</sub>-2), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.60–4.71 (m, 1 H, CH-5), 5.25–5.33 (m, 1 H, CH-4)

### **<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 16.28 (C-6), 19.89 (Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 25.67 (C-3), 29.31 (C-2), 51.12 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 73.11 (C-4), 85.18 (C-5), 169.76 (Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 172.62 (C-1)

### **IR-Spektrum** (KBr):

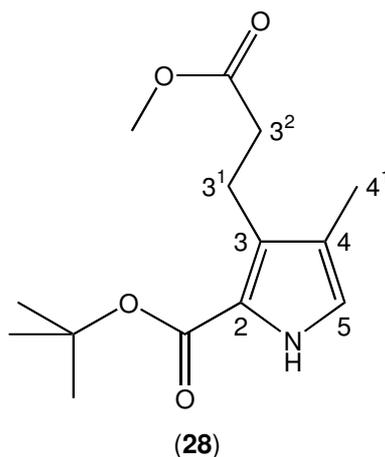
$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2955 (CH-Valenz), 1743 (C=O-Valenz), 1556 (NO<sub>2</sub>-Valenz, asym.), 1439, 1374 (NO<sub>2</sub>-Valenz, sym.), 1229, 1036, 958, 884, 604

### **Massenspektrum** (EI, 25 °C):

m/z (%) = 160 (4), 145 (8), 144 (3), 117 (5), 115 (2), 113 (20), 112 (4), 95 (2), 85 (14), 68 (2), 67 (5), 59 (5), 56 (2), 55 (9), 43 (100), 41 (7), 39 (3), 30 (2)

### **8.3.6 Darstellung des 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (28)**<sup>32,125</sup>

Eine Lösung aus 8.42 g (36.1 mmol) 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester (**27**) in 72.6 ml einer Mischung aus 2-Propanol und THF (1:1, v/v) wird langsam mit einer Lösung versetzt, die aus 13.1 ml (104.18 mmol) TMG und 5.14 g (36.4 mmol) Isocyanatessigsäure-*tert*-butylester (**23**) in 36.3 ml einer Mischung aus Isopropanol und THF (1:1, v/v) besteht. Nachdem der Reaktionsansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt wurde, wird das Lösemittel abdestilliert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch unter Normaldruck gereinigt. Eine Mischung aus Dichlormethan und Diethylether (9:1, v/v) dient dabei als Laufmittel. Abdestillieren des Laufmittels ergibt 3.26 g (12.2 mmol, 33.8 %) eines gelben Öls, bei dem es sich um das Reaktionsprodukt 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**28**) handelt.

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

$\delta$  (ppm) = 1.54 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.01 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.51 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.11 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.11 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.60 (d, 1 H, <sup>3</sup>J = 2.18 Hz, CH-5), 8.84 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 9.75 (C-4<sup>1</sup>), 20.58 (C-3<sup>1</sup>), 28.41 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.02 (C-3<sup>2</sup>), 51.40 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 80.75 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 119.73 (C-5), 119.79 (C-4), 120.49 (C-3), 128.00 (C-2), 160.91 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 174.14 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3317 (NH-Valenz), 2980 (CH-Valenz), 2953 (CH-Valenz), 2935 (CH-Valenz), 2161, 1739 (C=O-Valenz, Ester), 1685, 1551, 1457 (CH<sub>2</sub>-Deformation), 1438 (CH<sub>3</sub>-Deformation, asym.), 1399, 1370, 1278, 1257, 1159, 1139, 1106, 1059, 1004, 946, 838, 789, 748, 603

**Massenspektrum** (EI, 50 °C):

$m/z$  (%) = 267 (22, M<sup>+</sup>), 252 (2), 211 (30), 194 (8), 180 (24), 167 (46), 151 (100), 133 (29), 120 (28), 108 (19), 94 (30), 77 (7), 57 (17), 41 (11)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

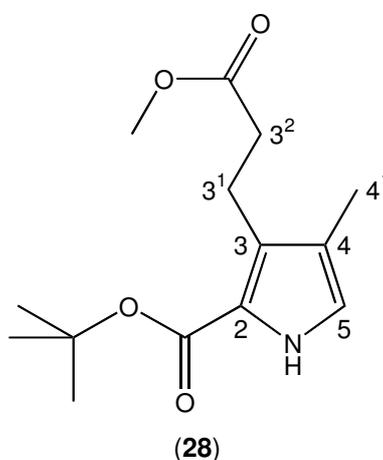
C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>: theoretisch 267.147059 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 267.147339 g · mol<sup>-1</sup>

### 8.3.7 Darstellung des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (28)<sup>126,127</sup>

Unter Inertgas und Lichtausschluss wird eine auf -20 °C gekühlte Lösung aus 373 mg (2.3 mmol) Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester (**23**) und 539 mg (2.3 mmol) 4-Acetoxy-5-

## ■ Experimenteller Teil

nitrohexansäuremethylester (**27**) in 3.3 ml THF und 0.33 ml 2-Propanol tropfenweise mit einer Lösung aus 1.00 g (4.6 mmol) 2,8,9-Trimethyl-2,5,8,9-tetraaza-1-phosphabicyclo-[3.3.3]-undecan und 3.3 ml THF versetzt. Der Tropftrichter wird mit 5 ml THF ausgespült und diese Lösung zum Gemisch gegeben, welches 2 h bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt wird. Dabei bildet sich eine rot gefärbte Lösung, in der ein farbloser Feststoff dispergiert vorliegt. Das Lösemittel wird abdestilliert, der Rückstand in 30 ml Wasser aufgenommen und dreimal mit jeweils 20 ml n-Hexan extrahiert. Danach werden die vereinigten organischen Phasen über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels liefert 464 mg (1.7 mmol, 75.1 %) des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**) in Form eines gelb gefärbten, klaren Öls, welches keiner weiteren Aufreinigung unterworfen werden muss.



### **$^1\text{H-NMR-Spektrum}$** (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 1.55 (s, 9 H,  $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.02 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-}4^1$ ), 2.52 (t, 2 H,  $^3J = 8.11$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-}3^2$ ), 2.99 (t, 2 H,  $^3J = 8.11$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-}3^1$ ), 3.65 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 6.61 (d, 1 H,  $^3J = 2.72$  Hz,  $\text{CH-}5$ ), 8.84 (s breit, 1 H,  $\text{NH}$ )

### **$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$** (126 MHz, BB, DEPT 135, $^1\text{H}/^{13}\text{C-COSY}$ , $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 9.53 ( $\text{C-}4^1$ ), 20.36 ( $\text{C-}3^1$ ), 28.19 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 34.80 ( $\text{C-}3^2$ ), 51.17 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 80.52 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 119.49 ( $\text{C-}5$ ), 119.75 ( $\text{C-}4$ ), 120.28 ( $\text{C-}3$ ), 127.78 ( $\text{C-}2$ ), 160.68 ( $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 173.47 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ )

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3324 (NH-Valenz), 2978 (CH-Valenz), 2953 (CH-Valenz), 2933 (CH-Valenz), 2874 (CH-Valenz), 1739 (C=O-Valenz, Methylester), 1685 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1667, 1573, 1538, 1508, 1455 (CH-Deformation, sym.), 1438 (CH-Deformation, asym.), 1401 (CH-Deformation), 1368 (CH-Deformation, sym.), 1278 (C-O-Valenz), 1164 (C-O-Valenz), 1138, 1105, 1059, 1020, 945, 898, 837 (CH-Deformation, unges., oop), 788, 747, 642, 601

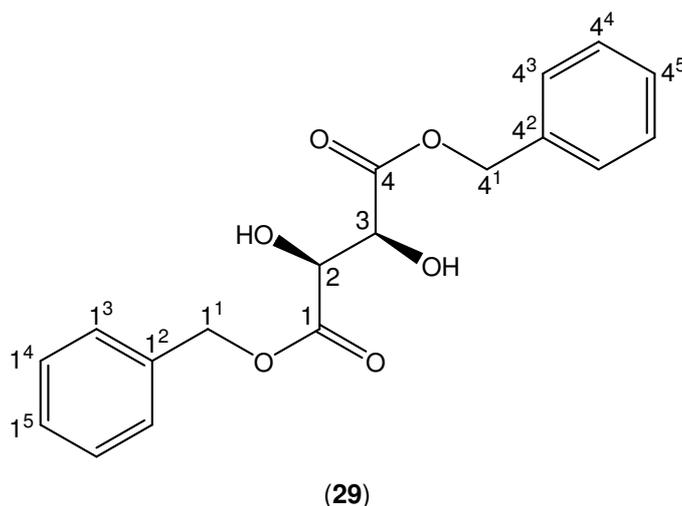
**Massenspektrum** (EI, 50 °C):

m/z (%) = 267 (22, M<sup>+</sup>), 252 (2), 211 (29), 194 (8), 180 (24), 167 (46), 151 (100), 133 (29), 120 (28), 108 (19), 94 (30), 77 (7), 57 (17), 41 (11)

## 8.4 Synthese des B-Rings

### 8.4.1 Darstellung des D-(-)-Weinsäuredibenzylesters (29)<sup>31,128</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre wird eine Lösung aus 15.84 g (105.5 mmol) D-(-)-Weinsäure, 2.00 g (10.5 mmol) 4-Toluensulfonsäure-Monohydrat und 70 ml Benzen mit 30 ml (289.8 mmol) Benzylalkohol versetzt und solange unter Rückfluss gekocht, bis keine Wasserabscheidung mehr stattfindet. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Lösung wird mit 50 ml Isooctan versetzt, wobei ein farbloser Feststoff ausfällt, der abfiltriert und in 250 ml Ethylacetat aufgenommen wird. Die organische Lösung wird zweimal mit jeweils 100 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>- sowie zweimal mit jeweils 100 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Durch Abdestillieren des Lösmittels werden 29.13 g (88.2 mmol, 83.6 %) des D-(-)-Weinsäuredibenzylesters (29) in Form eines farblosen, flockigen Feststoffs erhalten, der ohne weitere Aufreinigung in die Folgereaktion eingesetzt wird.



Smp. = 48 °C (Lit.<sup>128</sup>: Smp. = 50.0–50.5 °C)

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

δ (ppm) = 2.39 (s breit, 2 H, OH), 4.59 (s, 1 H, CH-2, -3), 4.68 (s, 1 H, CH-2, -3), 5.25 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>-1<sup>1</sup>, -4<sup>1</sup>), 5.26 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>-1<sup>1</sup>, -4<sup>1</sup>), 7.31 (s breit, CH-1<sup>3</sup>, -1<sup>4</sup>, -1<sup>5</sup>, -4<sup>3</sup>, -4<sup>4</sup>, -4<sup>5</sup>)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 68.07 (C-1<sup>1</sup>, -4<sup>1</sup>), 72.09 (C-2, -3), 128.39 (C-1<sup>3</sup>, -4<sup>3</sup>), 128.69 (C-1<sup>4</sup>, -1<sup>5</sup>, -4<sup>4</sup>, -4<sup>5</sup>), 134.79 (C-1<sup>2</sup>, -4<sup>2</sup>), 171.36 (C-1, -4)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3464 (OH-Valenz), 3067 (CH-Valenz, unges.), 3033 (CH-Valenz, unges.), 2958 (CH-Valenz), 1746 (C=O-Valenz), 1636, 1498 (C=C-Valenz), 1456 (CH-Deformation, asym.), 1384 (CH-Deformation, sym.), 1274, 1219, 1130, 1092, 736 (C=C-Deformation), 697 (C=C-Deformation)

**Massenspektrum** (EI, 115 °C):

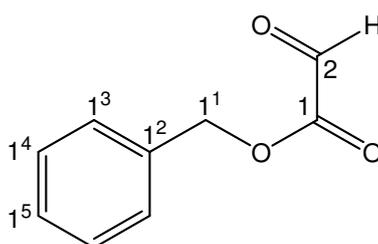
$m/z$  (%) = 239 (3,  $M^+$ ), 211 (2), 180 (5), 107 (23), 92 (11), 91 (100), 65 (5), 60 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{18}H_{18}NaO_6$  [ $M + Na$ ] $^+$ : theoretisch 353.099560  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell 353.099331  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.4.2 Darstellung des Glyoxylsäurebenzylesters (30)**<sup>31,128</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre und Lichtausschluss werden 3.11 g (9.42 mmol) D-(-)-Weinsäuredibenzylester (**29**) in 28 ml Diethylether gelöst, mit 2.24 g (9.73 mmol) Periodsäure versetzt und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die in Form farbloser Kristalle ausfallende Iodsäure wird abfiltriert. Danach wird das Filtrat jeweils einmal mit 20 ml gesättigter NaCl- und  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Diethylethers wird das klare, schwach gelb gefärbte Öl im Ölpumpenvakuum einer Kugelrohrdestillation unterworfen. Es werden 2.74 g (16.68 mmol, 88.6 %) des Glyoxylsäurebenzylesters (**30**) in Form eines klaren, farblosen, hochviskosen Öls erhalten.

**(30)**

**Sdp.**  $_{0.15-0.25 \text{ mbar}}$  = 95–105 °C (Lit.<sup>128</sup>: **Sdp.**  $_{0.13 \text{ mbar}}$  = 90 °C)

 **$^1\text{H-NMR-Spektrum}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 5.32 (s, 2 H,  $\text{CH}_2$ -1<sup>1</sup>), 7.24–7.36 (m, 5 H,  $\text{CH}$ -1<sup>3</sup>, -1<sup>4</sup>, -1<sup>5</sup>), 9.40 (s, 1 H,  $\text{CHO}$ )

 **$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 68.05 (C-1<sup>1</sup>), 128.36 (C-1<sup>3</sup>), 128.55 (C-1<sup>5</sup>), 128.59 (C-1<sup>4</sup>), 134.62 (C-1<sup>2</sup>), 168.84 (C-1), 183.23 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3091 (CH-Valenz, unges.), 3065 (CH-Valenz, unges.), 3034 (CH-Valenz, unges.), 2953 (CH-Valenz), 1748 (C=O-Valenz), 1608 (C=C-Valenz), 1587 (C=C-Valenz), 1498 (C=C-Valenz), 1455 (CH-Deformation, asym.), 1377 (CH-Deformation, sym.), 1216, 1099, 909, 845, 788, 738 (CH-Deformation, monosubst. Aromat, oop), 697 (CH-Deformation, monosubst. Aromat, oop), 580, 501

**Massenspektrum** (EI, 35 °C):

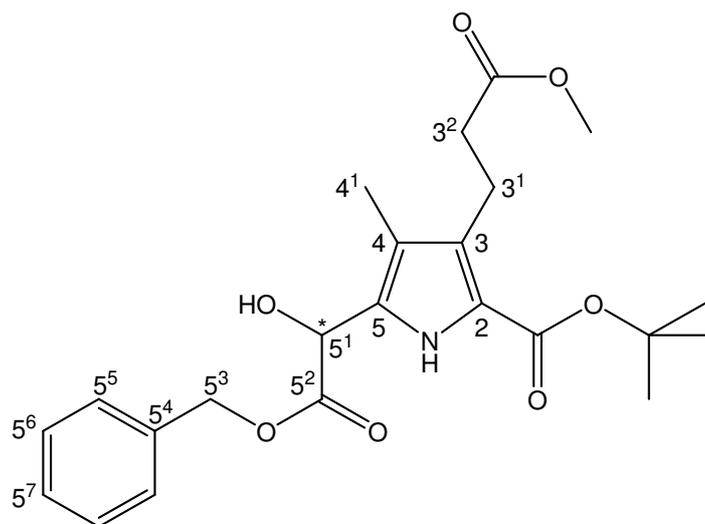
$m/z$  (%) = 164 (3,  $M^+$ ), 107 (3), 91 (100), 77 (7), 65 (11), 51 (6), 39 (6), 29 (4)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ : theoretisch 164.047345  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell 164.047550  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.4.3 Darstellung des 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylesters (31)**<sup>31,128</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre und Lichtausschluss wird bei Raumtemperatur eine Lösung aus 2.23 g (8.35 mmol) 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**28**) in 33 ml Dichlormethan mit einer Lösung, bestehend aus 2.08 g (12.64 mmol) Glyoxylsäurebenzylester (**30**) in 9.3 ml Dichlormethan, versetzt. Nach Zugabe von 71.0 mg (0.51 mmol) Zinkchlorid wird der Reaktionsansatz 6 h gerührt. Anschließend wird die orange gefärbte, klare Lösung einmal mit 30 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, zweimal mit jeweils 25 ml 10-%iger  $\text{NaHSO}_3$ -Lösung (aus  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) sowie zweimal mit jeweils 35 ml Wasser gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 3.94 g eines getrübbten, orange gefärbten Öls erhalten, bei dem es sich um das Rohprodukt von (**31**) handelt. Dieses wird per MPLC mit einer Mischung aus Dichlormethan und Diethylether (9:1, v/v) gereinigt. Dabei werden 1.97 g (4.55 mmol, 54.5 %) 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylester (**31**) in Form eines klaren, gelb gefärbten, viskosen Öls erhalten. Zusätzlich können 0.95 g (3.54 mmol) nicht umgesetzten 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**) als klares, gelb-orange gefärbtes Öl zurückgewonnen werden, so dass die Ausbeute an (**31**) bezüglich des umgesetzten Edukts (**28**) 94.7 % beträgt.



(31)

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

$\delta$  (ppm) = 1.53 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.48 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.11 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>2</sup>), 2.96 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.11 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup>), 3.53 (s breit, 1 H, OH), 3.64 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.14 (d, 1 H, AB-System, J<sub>AB</sub> = 12.26 Hz, CH<sub>A</sub>-5<sup>3</sup>), 5.22 (d, 1 H, AB-System, J<sub>AB</sub> = 12.26 Hz, CH<sub>B</sub>-5<sup>3</sup>), 5.27 (s, 1 H, CH-5<sup>1</sup>), 7.18–7.21 (m, 2 H, CH-5<sup>5</sup>), 7.28–7.30 (m, 1 H, CH-5<sup>7</sup>), 7.31–7.35 (m, 2 H, CH-5<sup>6</sup>), 8.99 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.72 (C-4<sup>1</sup>), 20.57 (C-3<sup>1</sup>), 28.38 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.94 (C-3<sup>2</sup>), 51.42 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 66.10 (C-5<sup>1</sup>), 67.99 (C-5<sup>3</sup>), 81.00 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 118.14 (C-4), 119.19 (C-3), 127.36 (C-5), 127.98 (C-5<sup>5</sup>), 128.56 (C-5<sup>7</sup>), 128.59 (C-5<sup>6</sup>), 128.85 (C-2), 134.76 (C-5<sup>4</sup>), 160.65 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 172.14 (C-5<sup>2</sup>), 173.62 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3451 (OH-Valenz), 3367 (NH-Valenz), 3065 (CH-Valenz, unges.), 3034 (CH-Valenz, unges.), 2976 (CH-Valenz), 2952 (CH-Valenz), 1739 (C=O-Valenz, Methyl ester), 1687 (C=O-Valenz, Benzylester), 1498 (CH-Deformation), 1455 (CH-Deformation, asym.), 1392, 1368 (CH-Deformation, sym.), 1275 (OH-Deformation), 1253, 1213 (C-O-Valenz), 1198 (C-O-Valenz), 1166 (C-O-Valenz), 1140, 1117 (C-O-Valenz), 1073, 963, 905, 848, 780, 745 (CH-Deformation, monosubst. Aromat, oop) 698 (monosubst. Aromat, oop), 581

**Massenspektrum** (EI, 130 °C):

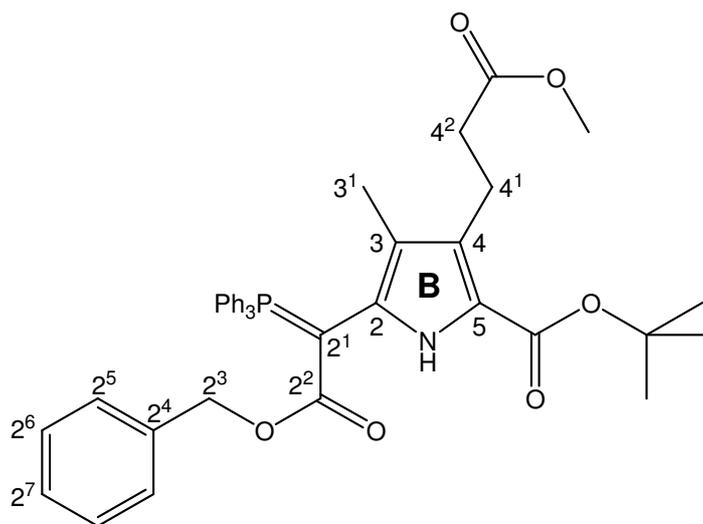
$m/z$  (%) = 431 (33,  $M^+$ ), 375 (11), 344 (14), 316 (9), 296 (18), 240 (88), 222 (18), 208 (100), 194 (3), 166 (75), 148 (23), 122 (6), 91 (96), 57 (17), 41 (9)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{23}H_{29}NNaO_7$  [ $M + Na$ ]<sup>+</sup>: theoretisch 454.183623 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 454.183493 g · mol<sup>-1</sup>

**8.4.4 Darstellung des Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanids (32)**<sup>31,129</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre und Lichtausschluss wird eine Suspension, bestehend aus 0.93 g (6.84 mmol) N-Chlorsuccinimid und 23 ml Dichlormethan, mit 0.8 ml (10.8 mmol) Dimethylsulfid versetzt und auf -3 °C gekühlt. Innerhalb von 20 min wird zu dieser Suspension eine Lösung aus 0.93 g (2.15 mmol) 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylester (**31**) in 19.5 ml Dichlormethan gegeben. Der Ansatz wird 5.5 h bei 0 °C gerührt und anschließend mit einer Lösung, bestehend aus 4.28 g (16.14 mmol) Triphenylphosphin und 33 ml Dichlormethan, versetzt, wobei sich eine gelb gefärbte Lösung bildet, die 21.5 h bei Raumtemperatur gerührt wird. Diese wird viermal mit jeweils 40 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Danach wird die organische Phase solange abwechselnd mit jeweils 50 ml Wasser und 50 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, bis der pH-Wert der Waschphase 7 beträgt, und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels liefert 4.61 g des Rohprodukts in Form eines gelborange gefärbten Feststoffs. Dieser wird per MPLC an neutralem Aluminiumoxid (Aktivität I) mit einer Mischung aus n-Hexan und Ethylacetat (Gradient 6:1–2:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Lösemittels und Entfernen letzter Lösemittelreste im Hochvakuum werden 0.96 g (1.41 mmol, 65.8 %) des Produkts Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid (**32**) in Form eines gelbgrün gefärbten, kristallinen Feststoffs erhalten.



(32)

**Smp.** = 53 °C (Lit.<sup>81</sup>: Smp. = 65 °C)

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

δ (ppm) = 1.47 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.57 (s breit, 2 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 1.61 (s breit, 1 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.27 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.22 Hz, CH<sub>2</sub>-4<sup>2</sup>), 2.79 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-4<sup>1</sup>), 3.61 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.80 (s breit, 0.7 H, CH<sub>2</sub>-2<sup>3</sup>), 5.06 (s breit, 1.3 H, CH<sub>2</sub>-2<sup>3</sup>), 7.28–7.48 (m, 20 H, Phenyl-H), 7.96 (s breit, 0.6 H, NH), 8.11 (s breit, 0.4 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 9.63 (C-3<sup>1</sup>), 21.25 (C-4<sup>1</sup>), 28.45 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.20 (C-4<sup>2</sup>), 51.31 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 64.10 (C-2<sup>3</sup>), 79.86 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 117.78 (C-2), 121.81 (C-3), 126.30–135.25 (C-4, -5, -o, -m, -p), 137.44 (C-2<sup>4</sup>), 139.16 (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>CP), 160.85 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 168.83 (C-2<sup>2</sup>), 171.10 (C-2<sup>1</sup>), 173.82 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3460 (NH-Valenz), 3060 (CH-Valenz, unges.), 2974 (CH-Valenz), 2928 (CH-Valenz), 1735 (C=O-Valenz Methyl ester), 1677 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1616 (C=O-Valenz, Benzylester), 1437 (P-Phenyl-Valenz), 1367 (C-C-Valenz, *tert*-Butyl), 1297, 1241, 1160 (C-O-Valenz, Ester), 1120, 1103, 1061, 1028, 999, 973, 953, 858, 749 (CH-Deformation, monosubst. Aromat, oop), 694 (CH-Deformation, monosubst. Aromat, oop), 586, 546, 522

## ■ Experimenteller Teil

### Massenspektrum (EI, 200 °C):

$m/z$  (%) = 675 (100, M<sup>+</sup>), 644 (3), 619 (85), 574 (5), 494 (5), 440 (25), 394 (3),  
364 (4), 319 (8), 262 (97), 201 (4), 183 (48), 146 (9), 108 (23), 91 (41), 57 (12)

### Hochauflösendes Massenspektrum (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

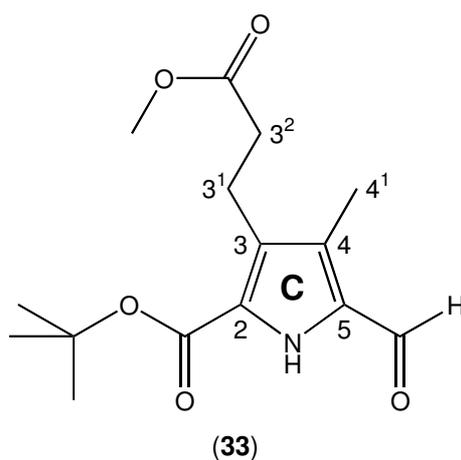
$C_{41}H_{42}NNaO_6P$  [M + Na]<sup>+</sup>: theoretisch 698.264198 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
698.263870 g · mol<sup>-1</sup>

## 8.5 Synthese des C-Rings

### 8.5.1 Darstellung des 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**33**)<sup>32,130</sup>

Unter Inertgas werden 12 ml (156 mmol) auf 0 °C gekühltes DMF langsam mit 1.8 ml (19.3 mmol) frisch destilliertem POCl<sub>3</sub> versetzt. Die Lösung wird auf Raumtemperatur erwärmt und danach weitere 15 min gerührt (Lösung 1).

2.68 g (10.0 mmol) 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**28**) werden in 10.2 ml (132.3 mmol) DMF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu werden langsam 11.8 ml der Lösung 1 gegeben, und die Mischung wird für 15 min auf 65 °C erhitzt. Es erfolgt Zugabe von 205 ml 10-%iger Natriumacetat-Lösung, wobei sich die tiefrote Mischung trübt und eine gelbe Farbe annimmt. Sie wird für 15 min auf 75 °C erhitzt und über Nacht im Kühlschrank bei 5 °C gelagert. Dabei bilden sich ein an der Gefäßwand haftendes Öl oranger Farbe und eine gelb gefärbte wässrige Phase. Diese wird abdekantiert und achtmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Das zurückbleibende orange gefärbte Öl wird in 150 ml Dichlormethan aufgenommen und fünfmal mit je 150 ml Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dreimal mit je 150 ml Dichlormethan reextrahiert. Alle organischen Phasen werden miteinander vereinigt und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Anschließend wird das Lösemittel abdestilliert. Die zurückbleibende, intensiv orange gefärbte Lösung wird säulenchromatographisch bei Normaldruck mit einer Mischung aus n-Hexan und Ethylacetat (1:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 2.03 g (6.9 mmol, 68.4 %) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) in Form hellgelber Kristalle erhalten.



Smp. = 72 °C

## ■ Experimenteller Teil

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

$\delta$  (ppm) = 1.56 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.53 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.86 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.86 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 9.37 (s breit, 1 H, NH), 9.74 (s, 1 H, CHO)

### **<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.09 (C-4<sup>1</sup>), 19.64 (C-3<sup>1</sup>), 28.02 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.33 (C-3<sup>2</sup>), 51.32 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 82.33 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 125.59 (C-2), 128.62 (C-3), 129.38 (C-5), 129.69 (C-4), 159.54 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 173.05 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 178.74 (CHO)

### **IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3310 (NH-Valenz), 2976 (CH-Valenz), 2930 (CH-Valenz), 2813, 1734 (C=O-Valenz, Methylester), 1704, 1658 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1466 (CH<sub>2</sub>-Deformation), 1440 (CH<sub>3</sub>-Deformation, asym.), 1385, 1370, 1297, 1271, 1251, 1163, 1139, 1104, 1051, 1005, 849, 742

### **UV/Vis-Spektrum** (n-Hexan):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 227 nm (14000), 298 nm (18200)

### **Massenspektrum** (EI, 65 °C):

$m/z$  (%) = 295 (11, M<sup>+</sup>), 239 (45), 208 (18), 207 (16), 206 (2), 195 (22), 189 (2), 180 (27), 179 (100), 178 (3), 166 (18), 161 (11), 160 (3), 148 (18), 137 (3), 135 (3), 133 (7), 122 (12), 106 (3), 105 (3), 104 (4), 92 (3), 79 (4), 77 (5), 65 (5), 59 (2), 57 (12), 41 (7), 39 (3), 29 (5)

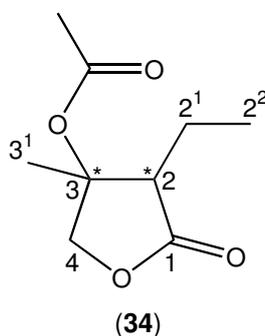
### **Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>: theoretisch 295.141974 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 295.141578 g · mol<sup>-1</sup>

## 8.6 Synthese der D-Ring-Derivate

### 8.6.1 Darstellung des 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolactons (**34**)<sup>131</sup>

Eine aus 27.5 ml (254.6 mmol) Acetonylacetat, 20.0 g (305.9 mmol) Zinkpulver, einer katalytischen Menge Iod und 300 ml Benzen bestehende Suspension wird unter kräftigem Rühren bis zum Siedepunkt erhitzt. Innerhalb 45 min werden 41.4 ml (280.2 mmol) D,L-2-Brombutansäureethylester so zugetropft, dass leichtes Sieden unter Rückfluss gegeben ist. Anschließend wird die Mischung weitere 45 min unter Rückfluss gekocht, im Eisbad abgekühlt und mit 200 ml Eiswasser versetzt. Es erfolgt die Zugabe von 60 ml Salzsäure (6 M). Danach wird die Mischung so lange gerührt, bis sich zwei nahezu klare Phasen gebildet haben, auf deren Grenzfläche sich Reste nicht umgesetzten Zinks befinden. Die Phasen werden voneinander getrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 75 ml Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und mit 100 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösemittel abdestilliert. Zurück bleiben 28.53 g des dunkelrot gefärbten öligen Rohprodukts, dessen fraktionierte Destillation im Ölpumpenvakuum 17.90 g (96.1 mmol, 37.8 %) eines Stereoisomerengemisches des 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolactons (**34**) in Form einer gelb gefärbten, klaren Flüssigkeit liefert.



**Sdp.** <sub>4.4 mbar</sub> = 124–126 °C (Lit.<sup>131</sup>: Sdp. <sub>2.13 mbar</sub> = 98–100 °C)

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

$\delta$  (ppm) = 1.06–1.12 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>), 1.54–1.82 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>), 1.48 (s, 1.1 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 1.64 (s, 1.9 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 1.98 (s, 1.7 H, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.99 (s, 1.3 H, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.21 (t, 1.9 H, <sup>3</sup>J = 6.83 Hz, CH-2), 2.65 (t, 1.1 H, <sup>3</sup>J = 7.20 Hz, CH-2), 4.06 (d, 0.6 H, A'B'-System, J<sub>A'B'</sub> = 10.82 Hz, CH<sub>A</sub>-4), 4.26 (d, 0.4 H, A''B''-System, J<sub>A''B''</sub> = 9.96 Hz, CH<sub>A''</sub>-4), 4.42 (d, 0.4 H, A''B''-System, J<sub>A''B''</sub> = 9.98 Hz, CH<sub>B''</sub>-4), 4.72 (d, 0.6 H, A'B'-System, J<sub>A'B'</sub> = 10.83 Hz, CH<sub>B'</sub>-4)

## ■ Experimenteller Teil

### <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 11.94 (d,  $^1J_{C,H}$  = 59.49 Hz, C-2<sup>2</sup>), 17.58 (d,  $^1J_{C,H}$  = 44.71 Hz, C-2<sup>1</sup>), 18.57 (Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 21.44 (d,  $^1J_{C,H}$  = 15.65 Hz, C-3<sup>1</sup>), 51.02 (d,  $^1J_{C,H}$  = 159.81 Hz, C-2), 73.29 (C-4), 83.49 (d,  $J_{C,H}$  = 6.29 Hz, C-3), 170.06 (d,  $J_{C,H}$  = 4.75 Hz, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 175.98 (d,  $J_{C,H}$  = 129.88 Hz, C-1)

### IR-Spektrum (KBr):

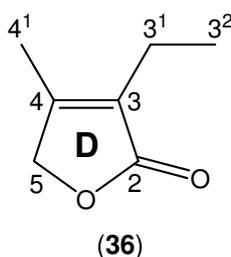
$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2972, 2940 (CH-Valenz), 2881 (CH-Valenz), 1783 (C=O-Valenz), 1740 (C=O-Valenz), 1458 (CH-Deformation), 1371 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1258, 1231, 1149, 1133, 1023, 946

### Massenspektrum (GC-EI):

$m/z$  (%) = 158 (3), 144 (5), 126 (14), 113 (2), 99 (3), 98 (3), 86 (4), 71 (8), 70 (9), 67 (5), 58 (2), 45 (3), 43 (100), 41 (22), 40 (3), 39 (12)

### 8.6.2 Darstellung des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5H)-furanons (36)<sup>131</sup>

7.46 g (51.7 mmol) 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolacton (**34**) und 0.29 g (1.5 mmol) 4-Toluensulfonsäure-Monohydrat werden 19 h unter Rückfluss gekocht. Die entstehende dunkelbraune Mischung wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert. Dabei werden 3.70 g (29.3 mmol, 56.6 %) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5H)-furanon (**36**) als schwach gelb gefärbte, klare Flüssigkeit erhalten.



**Sdp.** <sub>0.010 mbar</sub> = 51–54 °C (Lit.<sup>131</sup>: **Sdp.** <sub>1.47 mbar</sub> = 76–78 °C)

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

$\delta$  (ppm) = 1.03 (t, 3 H,  $^3J$  = 7.57 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>2</sup>), 1.97 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.23 (q, 2 H,  $^3J$  = 7.56 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 4.56 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>-5)

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

$\delta$  (ppm) = 11.99 (C-3<sup>2</sup>), 12.51 (C-3<sup>1</sup>), 16.66 (C-4<sup>1</sup>), 72.32 (C-5), 128.57 (C-3), 155.82 (C-4), 174.88 (C-2)

**IR-Spektrum (KBr):**

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2973 (CH-Valenz), 2936 (CH-Valenz), 2877 (CH-Valenz), 1758 (C=O-Valenz), 1744 (C=O-Valenz), 1679 (C=C-Valenz), 1453 (CH-Deformation, asym.), 1390 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1341, 1190, 1093, 1065, 1035, 948, 773

**Massenspektrum (EI, -15 °C):**

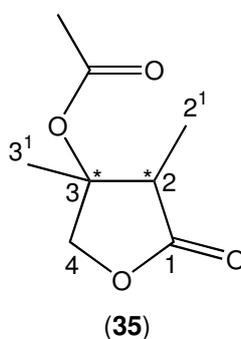
m/z (%) = 126 (60, M<sup>+</sup>), 97 (38), 80 (4), 79 (8), 77 (2), 69 (52), 68 (6), 67 (20), 63 (2), 59 (2), 51 (7), 50 (4), 43 (11), 41 (100), 40 (8), 39 (38), 38 (5), 29 (16)

**Hochauflösendes Massenspektrum (EI):**

C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: theoretisch 126.068080 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 126.068038 g · mol<sup>-1</sup>

**8.6.3 Darstellung des 3-Acetoxy-2,3-dimethylbutyrolactons (35)<sup>131</sup>**

Eine aus 25.0 ml (226.8 mmol) Acetylacetat, 18.8 g (287.6 mmol) Zinkpulver, einer katalytischen Menge Iod und 270 ml Benzen bestehende Suspension wird unter kräftigem Rühren bis zum Siedepunkt erhitzt. Innerhalb 75 min werden 32.8 ml (250.0 mmol) D,L-2-Brompropionsäureethylester so zugetropft, dass leichtes Sieden unter Rückfluss gegeben ist. Anschließend wird die Mischung weitere 60 min unter Rückfluss gekocht, im Eisbad abgekühlt und mit 380 ml Eiswasser versetzt. Es erfolgt die Zugabe von 80 ml Salzsäure (6 M). Danach wird die Mischung so lange gerührt, bis sich zwei nahezu klare Phasen gebildet haben, auf deren Grenzfläche sich Reste nicht umgesetzten Zinks befinden. Die Phasen werden voneinander getrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 120 ml Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und mit 300 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösemittel abdestilliert. Zurück bleiben 17.57 g des rot gefärbten, klaren, öligen Rohprodukts, dessen fraktionierte Destillation im Ölpumpenvakuum 11.27 g (65.5 mmol, 28.9 %) eines Stereoisomerengemisches des 3-Acetoxy-2,3-dimethylbutyrolactons (**35**) in Form eines gelb gefärbten, klaren Öls liefert.



**Sdp.** <sub>0.23 mbar</sub> = 76 °C

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

δ (ppm) = 1.17 (d, 1.4 H, <sup>3</sup>J = 2.99 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.20 (d, 1.6 H, <sup>3</sup>J = 2.77 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.44 (s, 1.4 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 1.61 (s, 1.6 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 1.97 (s, 1.6 H, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.99 (s, 1.4 H, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.40 (q, 0.5 H, J = 7.26 Hz, CH-2), 2.83 (q, 0.5 H, J = 7.42 Hz, CH-2), 4.04 (d, 0.6 H, A'B'-System, J<sub>A'B'</sub> = 10.90 Hz, CH<sub>A'</sub>-4), 4.29 (d, 0.4 H, A''B''-System, J<sub>A''B''</sub> = 10.04 Hz, CH<sub>A''</sub>-4), 4.44 (d, 0.4 H, A''B''-System, J<sub>A''B''</sub> = 10.03 Hz, CH<sub>B''</sub>-4), 4.80 (d, 0.6 H, A'B'-System, J<sub>A'B'</sub> = 10.91 Hz, CH<sub>B'</sub>-4)

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

δ (ppm) = 17.96 (C-2<sup>1</sup>), 20.50 (Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 21.90 (d, <sup>1</sup>J<sub>C,H</sub> = 15.85 Hz, C-3<sup>1</sup>), 45.43 (d, <sup>1</sup>J<sub>C,H</sub> = 91.12 Hz, C-2), 73.35 (d, <sup>1</sup>J<sub>C,H</sub> = 54.19 Hz, C-4), 83.69 (d, J<sub>C,H</sub> = 12.60 Hz, C-3), 170.54 (d, J<sub>C,H</sub> = 3.99 Hz, Acetoxy-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 177.08 (d, J<sub>C,H</sub> = 61.30 Hz, C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

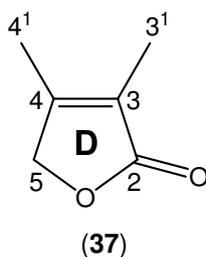
$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2985, 2945 (CH-Valenz), 2909 (CH-Valenz), 1786 (C=O-Valenz), 1741 (C=O-Valenz), 1452 (CH-Deformation, asym.), 1372 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1235, 1149, 1133, 1098, 1032, 1014, 942, 857, 817, 668, 610, 557, 543

**Massenspektrum** (GC-El):

m/z (%) = 130 (17), 114 (2), 112 (30), 99 (8), 84 (7), 83 (9), 72 (8), 68 (3), 67 (2), 56 (17), 55 (9), 45 (2), 43 (100), 39 (6), 27 (10), 26 (2)

**8.6.4 Darstellung des 3,4-Dimethyl-2-(5H)-furanons (37)<sup>131</sup>**

11.27 g (65.5 mmol) 3-Acetoxy-2,3-dimethylbutyrolacton (**35**) und 0.56 g (2.9 mmol) 4-Toluensulfonsäure-Monohydrat werden 18 h unter Rückfluss gekocht. Die entstehende dunkelbraune Mischung wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert. Dabei werden 6.43 g (57.4 mmol, 87.6 %) 3,4-Dimethyl-2-(5H)-furanon (**37**) in Form farbloser Kristalle erhalten.



Smp. = 28 °C

**Sdp.**  $_{0.22 \text{ mbar}} = 71\text{--}72 \text{ }^\circ\text{C}$

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

$\delta$  (ppm) = 1.75–1.76 (m, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-}3^1$ ), 1.94–1.96 (m, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-}4^1$ ), 4.54–4.57 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{-}5$ )

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

$\delta$  (ppm) = 8.68 (C-3<sup>1</sup>), 12.61 (C-4<sup>1</sup>), 72.92 (C-5), 123.56 (C-3), 156.58 (C-4), 175.77 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2955 (CH-Valenz), 2928 (CH-Valenz), 2865 (CH-Valenz), 1752 (C=O-Valenz), 1682 (C=C-Valenz), 1449 (CH-Deformation, asym.), 1385 ( $\text{CH}_3$ -Deformation, sym.), 1351, 1326, 1188, 1081, 1031, 887, 760, 660, 577, 480

**Massenspektrum** (EI,  $-10 \text{ }^\circ\text{C}$ ):

$m/z$  (%) = 112 (80,  $\text{M}^+$ ), 83 (80), 82 (3), 55 (100), 54 (11), 53 (11), 52 (3), 51 (5), 50 (4), 39 (16), 38 (2), 29 (12), 27 (11), 26 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

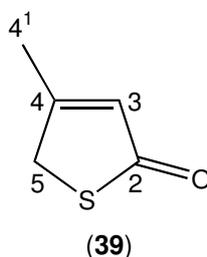
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$ : theoretisch  $112.052430 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  $112.052443 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

### 8.6.5 Darstellung des 4-Methyl-2-(5H)-thiophenons (**39**)<sup>132</sup>

Eine Lösung, bestehend aus 10.0 ml (102.0 mmol) 3-Methylthiophen und 100 ml trockenem Diethylether, werden unter einer Inertgasatmosphäre mit 69.8 ml (111.7 mmol) einer Lösung aus n-Butyllithium in n-Hexan (1.6 M) versetzt. Die dabei entstehende Lösung wird für 30 min unter Rückfluss gekocht und anschließend auf  $-63 \text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt. Sie wird innerhalb von 30 min mit einer Lösung aus 12.8 ml (111.0 mmol) Borsäuretrimethylester in 100 ml trockenem Diethylether versetzt und 4 h bei  $-67 \text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Die orange gefärbte Lösung wird auf Raumtemperatur erwärmt, wobei ein farbloser Niederschlag ausfällt. Innerhalb von 30 min wird die Mischung mit 17.6 ml (204.7 mmol) Wasserstoffperoxid (35 %) versetzt und danach 1 h unter Rückfluss gekocht. Die gelb gefärbte organische Phase wird von der rot gefärbten wässrigen Phase abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Nach Vereinigung der organischen Phasen werden diese über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Anschließend wird das Lösemittel abdestilliert. Zurück bleiben 10.02 g des rot gefärbten, klaren, öligen Rohprodukts, dessen fraktionierte Destillation im Ölpumpenvakuum 9.26 g (81.1 mmol, 79.5 %) eines Regioisomerengemisches aus 4-Methyl-2-(5H)-thiophenon (**39**) und 3-Methyl-2-(5H)-thiophenon (**38**) liefert. Dieses Produktgemisch wird per MPLC mit einer Mischung aus n-Pentan

## ■ Experimenteller Teil

und Ethylacetat (4:1, v/v) gereinigt. Erhalten werden 7.22 g (63.2 mmol, 62.0 %) 4-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**39**) in Form einer schwach gelbbraun gefärbten, klaren Lösung und 2.04 g (17.9 mmol, 17.5 %) 3-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**38**) in Form schwach gelbbraun gefärbter Kristalle.



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

$\delta$  (ppm) = 2.17 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-4'), 3.92–3.93 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-5), 6.05–6.06 (m, 1 H, CH-3)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

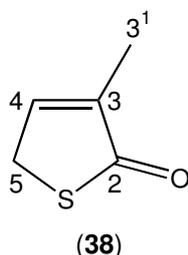
$\delta$  (ppm) = 18.94 (C-4'), 40.90 (C-5), 129.19 (C-3), 167.55 (C-4), 199.73 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3073 (CH-Valenz, unges.), 2982, 2946 (CH-Valenz), 2915 (CH-Valenz), 1678 (C=O-Valenz), 1659 (C=O-Valenz), 1634, 1434 (CH-Deformation, asym.), 1404, 1378 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1310, 1228, 1156, 1098, 1017, 881, 833, 766, 656 (C-S-Valenz), 566, 484, 437

**Massenspektrum** (GC-El):

$m/z$  (%) = 114 (100, M<sup>+</sup>), 86 (26), 85 (34), 82 (2), 71 (26), 69 (17), 58 (4), 53 (24), 51 (5), 50 (6), 47 (2), 46 (11), 45 (23), 41 (12), 40 (8), 39 (28), 38 (7), 37 (4), 27 (10)



**Smp.** = 35 °C (Lit.<sup>[53]</sup>: Smp. = 33 °C)

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

$\delta$  (ppm) = 1.89–1.91 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-3'), 3.90–3.92 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-5), 7.16–7.18 (m, 1 H, CH-4)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 11.78 (C-3<sup>1</sup>), 34.93 (C-5), 141.50 (C-3), 147.04 (C-4), 200.57 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3053 (CH-Valenz, unges.), 2986, 2951 (CH-Valenz), 2919 (CH-Valenz), 2871 (SH-Valenz, asym.), 1794, 1666 (C=O-Valenz), 1638 (C=O-Valenz), 1432 (CH-Deformation, asym.), 1412, 1404, 1370 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1300, 1191, 1041, 1024, 988, 897, 811, 748, 678, 670 (C-S-Valenz), 592, 476, 423

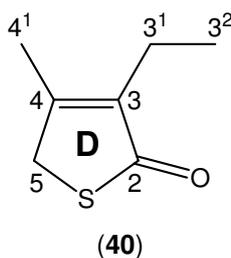
**Massenspektrum** (GC-EI):

m/z (%) = 114 (100, M<sup>+</sup>), 113 (2), 88 (2), 87 (6), 86 (54), 85 (78), 82 (2), 81 (2), 69 (13), 58 (7), 53 (41), 52 (5), 51 (11), 50 (11), 49 (2), 47 (3), 46 (19), 45 (29), 41 (19), 39 (27), 38 (4), 27 (20), 26 (6)

### 8.6.6 Darstellung des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenons (**40**)<sup>132,133</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre wird bei Lichtausschluss eine Lösung, bestehend aus 3.00 g (26.3 mmol) 4-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**39**) und 27.3 ml Chloroform, mit 3.35 ml (41.0 mmol) Ethyliodid versetzt. Zu ihr wird eine Lösung aus 8.97 g (26.4 mmol) Tetrabutylammoniumhydrogensulfat und 2.14 g (53.5 mmol) Natriumhydroxid in 27.3 ml Wasser gegeben, wobei sie sich violett färbt. Die zweiphasige Mischung wird 70 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 25.7 ml Salzsäurelösung (2 M) versetzt. Nach Abtrennen der braun gefärbten, organischen Phase wird die wässrige Phase dreimal mit jeweils 20 ml Chloroform extrahiert. Aus den vereinigten organischen Phasen wird das Lösemittel abdestilliert. Zurück bleibt ein braunes Öl, welches mit 200 ml Diethylether versetzt wird. Das dabei ausfallende, schwarz gefärbte Ammoniumsalz wird abfiltriert und das Filtrat über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 3.85 g eines braun gefärbten Öls erhalten, welches im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert wird. Hierbei werden 2.55 g einer gelb gefärbten, klaren Lösung, bei der es sich um das Rohprodukt handelt, gewonnen. Dieses wird per MPLC mit einer Mischung aus n-Pentan und Ethylacetat (9:1, v/v) gereinigt, wobei 1.21 g (8.5 mmol, 32.5 %) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**) in Form einer orange gefärbten, klaren Lösung erhalten werden.

## ■ Experimenteller Teil



**Sdp.**  $_{0.018-0.024 \text{ mbar}} = 54-57 \text{ }^\circ\text{C}$

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

$\delta$  (ppm) = 1.00 (t, 3 H,  $^3\text{J} = 7.56 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3\text{-}3^2$ ), 2.11 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-}4^1$ ), 2.29 (q, 2 H,  $^3\text{J} = 7.53 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{-}3^1$ ), 3.80 (q, 2 H,  $^4\text{J} = 0.80$ ,  $\text{CH}_2\text{-}5$ )

**$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 12.75 (C- $3^2$ ), 17.28 (C- $3^1$ ), 18.33 (C- $4^1$ ), 38.74 (C-5), 140.75 (C-3), 158.37 (C-4), 200.16 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2970 (CH-Valenz), 2934 (CH-Valenz), 2875 (CH-Valenz), 1675 (C=O-Valenz), 1651 (C=O-Valenz), 1456 ( $\text{CH}_3$ -Deformation, asym.), 1409 ( $\text{SCH}_2$ -Deformation), 1380 ( $\text{CH}_3$ -Deformation, sym.), 1334, 1297, 1222, 1155, 1112, 1023, 916, 847, 761, 707, 658 (C-S-Valenz), 623, 543, 472

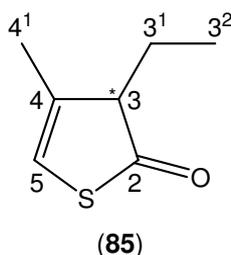
**Massenspektrum** (EI,  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ):

$m/z$  (%) = 142 (100,  $\text{M}^+$ ), 127 (17), 114 (6), 109 (8), 101 (2), 99 (39), 97 (6), 86 (2), 81 (23), 79 (9), 77 (3), 69 (10), 66 (2), 65 (7), 58 (2), 50 (2), 45 (10), 41 (18), 39 (15), 38 (2), 29 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{OS}$ : theoretisch  $142.045238 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  $142.045368 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

Als Nebenprodukt werden 0.13 g (0.9 mmol, 3.5 %) des Tautomeren 3-Ethyl-4-methyl-2-(3*H*)-thiophenon (**85**) in Form einer gelb gefärbten Lösung isoliert.



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

$\delta$  (ppm) = 0.98 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 1.25 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.64–1.75 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup>),  
 2.05–2.15 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup>), 2.09 (dd, 3 H, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 1.25 Hz, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 0.47 Hz, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>),  
 4.24 (dq, 0.5 H, <sup>4</sup>J<sub>d</sub> = 3.58 Hz, <sup>4</sup>J<sub>q</sub> = 0.67 Hz, CH-3), 4.26 (dq, 0.5 H, <sup>3</sup>J<sub>d</sub> = 3.47 Hz,  
<sup>4</sup>J<sub>q</sub> = 0.73 Hz, CH-3), 6.00 (q, 1 H, <sup>4</sup>J = 1.30 Hz, CH-5)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 10.85 (C-3<sup>2</sup>), 17.13 (C-3<sup>1</sup>), 25.71 (C-4<sup>1</sup>), 57.82 (C-3), 129.80 (C-5),  
 170.36 (C-4), 198.79 (C-2)

**Massenspektrum** (GC-EI):

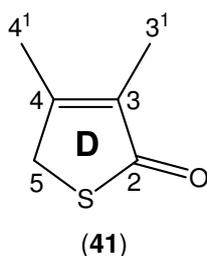
$m/z$  (%) = 142 (100, M<sup>+</sup>), 127 (6), 113 (48), 109 (6), 99 (15), 85 (57), 81 (22), 79 (11),  
 73 (10), 69 (32), 65 (8), 59 (7), 53 (13), 45 (33), 39 (34), 27 (14)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>OS: theoretisch 142.045238 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 142.045472 g · mol<sup>-1</sup>

**8.6.7 Darstellung des 3,4-Dimethyl-2-(5H)-thiophenons (41)**<sup>132,133</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre wird bei Lichtausschluss eine Lösung, bestehend aus 3.00 g (26.3 mmol) 4-Methyl-2-(5H)-thiophenon (**39**) in 27.0 ml Chloroform, mit 3.45 ml (54.9 mmol) Methyljodid versetzt. Zu ihr wird eine Lösung aus 8.93 g (25.8 mmol) Tetrabutylammoniumhydrogensulfat und 2.12 g (52.4 mmol) Natriumhydroxid in 27.0 ml Wasser gegeben, wobei sich der Reaktionsansatz violett färbt. Die zweiphasige Mischung wird 76 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 25.0 ml Salzsäurelösung (2 M) versetzt. Nach Abtrennen der braun gefärbten, organischen Phase wird die wässrige Phase dreimal mit jeweils 20 ml Chloroform extrahiert. Aus den vereinigten organischen Phasen wird das Lösemittel abdestilliert und der verbleibende Rückstand mit 200 ml Diethylether versetzt. Das dabei ausfallende, braun gefärbte Ammoniumsalz wird abfiltriert und das Filtrat über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 2.92 g eines braun gefärbten Öls erhalten, welches im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert wird, wobei 1.72 g einer gelb gefärbten, klaren Lösung, bei der es sich um das Rohprodukt handelt, gewonnen werden. Dieses wird per MPLC mit einer Mischung aus n-Pentan und Ethylacetat (9:1, v/v) gereinigt, wobei 1.14 g (8.9 mmol, 33.7 %) 3,4-Dimethyl-2-(5H)-thiophenon (**41**) in Form schwach gelbbraun gefärbter Kristalle erhalten werden. Zusätzlich werden 0.27 g 4-Methyl-2-(5H)-thiophenon (**39**) als leicht gelbbraun gefärbte Lösung zurückgewonnen, so dass die Ausbeute an 3,4-Dimethyl-2-(5H)-thiophenon (**41**) bezüglich des umgesetzten Edukts (**39**) 37.2 % beträgt.



**Smp.** = 38 °C (Lit.<sup>[32]</sup>: Smp. = 48 °C)

**Sdp.** <sub>0.020-0.026 mbar</sub> = 35–36 °C (Lit.<sup>[53]</sup>: Sdp. <sub>1.33 mbar</sub> = 69–80 °C)

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

δ (ppm) = 1.79–1.81 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-3'), 2.09–2.10 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-4'), 3.80–3.82 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-5)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 10.12 (C-3'), 17.51 (C-4'), 38.78 (C-5), 135.13 (C-3), 158.45 (C-4), 200.47 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2980 (CH-Valenz), 2943 (CH-Valenz), 2923 (CH-Valenz), 2856 (CH-Valenz), 1678 (C=O-Valenz), 1655 (C=O-Valenz), 1437 (CH<sub>3</sub>-Deformation, asym.), 1409 (SCH<sub>2</sub>-Deformation), 1377 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1297, 1231, 992, 936, 827, 766, 677, 632 (C-S-Valenz), 536, 474, 430

**Massenspektrum** (GC-EI):

m/z (%) = 128 (100, M<sup>+</sup>), 113 (3), 99 (25), 85 (56), 83 (7), 71 (3), 67 (34), 65 (9), 59 (12), 55 (16), 45 (15), 41 (14), 39 (25), 29 (3), 27 (13)

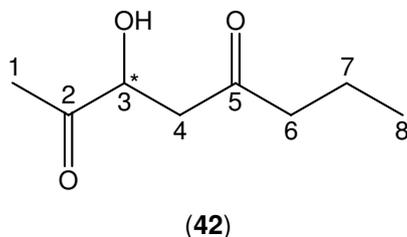
**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>OS: theoretisch 128.029588 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 128.029781 · mol<sup>-1</sup>

### 8.6.8 Darstellung des 3-Hydroxyoctan-2,5-dions (42)<sup>134</sup>

20.0 ml (123.9 mmol) auf 0 °C gekühlten Butyrylessigsäureethylesters werden mit einer ebenfalls gekühlten Lösung aus 8.33 g (137.3 mmol) KOH in 50 ml Wasser versetzt, für 30 min gerührt und 8 d bei 4 °C gelagert. Bei Raumtemperatur wird durch die Lösung für 2 h CO<sub>2</sub> geleitet, anschließend wird sie mit 22.3 ml (136.2 mmol) Methylglyoxal-Lösung (40 % in Wasser) versetzt und 24 h gerührt. Die gelb gefärbte, klare Lösung wird fünfmal mit je 70 ml Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit

170 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 18.04 g eines orange gefärbten, klaren Öls zurück, bei dem es sich um das Rohprodukt der Reaktion handelt, das im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert wird. Es werden 12.05 g (76.2 mmol, 61.5 %) des 3-Hydroxyoctan-2,5-dion (**42**) als hellgelb gefärbtes, klares, leicht viskoses Öl erhalten.



**Sdp.**  $0.038\text{--}0.044\text{ mbar} = 77\text{--}79\text{ }^\circ\text{C}$

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

$\delta$  (ppm) = 0.85 (t, 3 H,  $^3J = 7.42\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3\text{-8}$ ), 1.54 (tq, 2 H,  $^3J_t = 7.26\text{ Hz}$ ,  $^3J_q = 7.35\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{-7}$ ), 2.20 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-1}$ ), 2.39 (t, 2 H,  $^3J = 7.27\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{-6}$ ), 2.76 (dd, 1 H, ABX-System,  $J_{AB} = 17.12\text{ Hz}$ ,  $^3J_{AX} = 6.38\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_A\text{-4}$ ), 2.88 (dd, 1 H, ABX-System,  $J_{AB} = 17.12\text{ Hz}$ ,  $^3J_{BX} = 3.85\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_B\text{-4}$ ), 3.45 (s breit, 1 H, OH), 4.29 (dd, 1 H, ABX-System,  $^3J_{AX} = 6.37\text{ Hz}$ ,  $^3J_{BX} = 3.85\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_X\text{-3}$ )

**$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (101 MHz,  $^1\text{H}/^{13}\text{C-COSY}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 13.47 (C-8), 16.81 (C-7), 25.28 (C-2), 45.19 (C-4), 45.46 (C-6), 73.72 (C-3), 209.30 (C-2, -5)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3458 (OH-Valenz), 2965 (CH-Valenz), 2937 (CH-Valenz), 2878 (CH-Valenz), 1713 (C=O-Valenz, Keton), 1459 (CH-Deformation, asym.), 1407, 1359 (CH-Deformation, sym.), 1248, 1181, 1128, 1106 (C-O-Valenz, Alkohol), 1017, 967, 904, 617, 529

**Massenspektrum** (EI,  $-2\text{ }^\circ\text{C}$ ):

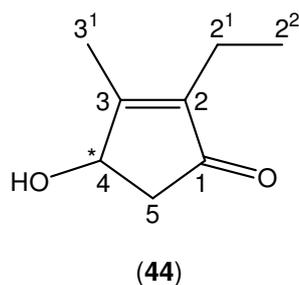
$m/z$  (%) = 158 (1,  $\text{M}^+$ ), 143 (1), 115 (37), 97 (9), 87 (1), 71 (95), 55 (5), 43 (100), 41 (13), 27 (11)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (CI, i-Butan):

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_3$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : theoretisch  $159.102292\text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  $159.102117 \cdot \text{mol}^{-1}$

### 8.6.9 Darstellung des 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enons (**44**)<sup>135,136</sup>

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung aus 12.05 g (76.2 mmol) 3-Hydroxyoctan-2,5-dion (**42**) in 55 ml (1.4 mol) Methanol werden innerhalb von 2 h 332 ml einer 20-%igen K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung auf die Weise zugegeben, dass sich die Mischung auf maximal 5 °C erwärmt. Anschließend wird sie 2 h bei 0 °C und danach 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die dabei entstehende klare, braun gefärbte Lösung wird durch Zugabe von Salzsäure (2 M) neutralisiert, wobei sie sich unter Trübung orange färbt. Die Lösung wird danach viermal mit jeweils 440 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel abdestilliert. Zurück bleiben 9.22 g einer rotbraun gefärbten, klaren Lösung, bei der es sich um das Rohprodukt des 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enons (**44**) handelt. Dieses wird per MPLC gereinigt. Als Laufmittel dient eine Mischung aus Chloroform und Methanol (99:1, v/v). Abdestillieren des Laufmittels ergibt 5.00 g (35.7 mmol, 46.9 %) einer rotbraun gefärbten, klaren Lösung, die dem Reaktionsprodukt 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enon (**44**) entspricht.



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

$\delta$  (ppm) = 0.96 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.60 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>), 2.06 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.16 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.56 Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>), 2.23 (dd, 1 H, ABX-System, <sup>3</sup>J<sub>AX</sub> = 1.76 Hz, J<sub>AB</sub> = 18.35 Hz, CH<sub>A</sub>-5), 2.57 (s breit, 1 H, OH), 2.72 (dd, 1 H, ABX-System, J<sub>AB</sub> = 18.35 Hz, <sup>3</sup>J<sub>BX</sub> = 6.12 Hz, CH<sub>B</sub>-5), 4.67 (d, 1 H, ABX-System, <sup>3</sup>J<sub>BX</sub> = 5.94 Hz, CH<sub>X</sub>-4)

#### <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (126 MHz, BB, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 12.37 (C-2<sup>2</sup>), 13.18 (C-3<sup>1</sup>), 15.94 (C-2<sup>1</sup>), 44.18 (C-5), 71.25 (C-4), 143.22 (C-2), 168.07 (C-3), 205.31 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3411 (OH-Valenz), 2971 (CH-Valenz), 2936 (CH-Valenz), 2876 (CH-Valenz), 1694 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1646 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1463 (CH-Deformation, asym.), 1384 (CH-Deformation, asym.), 1348 (OH-Deformation), 1311, 1262, 1238, 1192, 1148, 1095 (C-O-Valenz), 1048, 1012, 938, 918, 849, 777, 616, 579

**Massenspektrum** (EI, 14 °C):

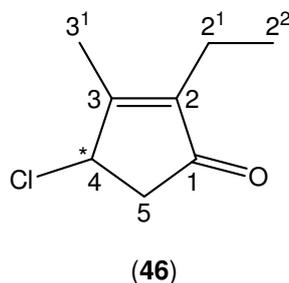
$m/z$  (%) = 140 (100,  $M^+$ ), 125 (50), 111 (59), 107 (6), 97 (70), 95 (19), 93 (7), 83 (17), 79 (41), 77 (18), 67 (38), 55 (54), 53 (33), 43 (90), 41 (75), 39 (47), 29 (20), 27 (30)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

$C_8H_{12}O_2$ : theoretisch 140.083733  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell 140.083832  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.6.10 Darstellung des 4-Chloro-2-ethyl-3-methyl-cyclopent-2-enons (46)**<sup>137</sup>

Unter Inertgas werden 1.98 g (14.1 mmol) auf 0 °C gekühlten 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enons (**44**) langsam mit 2.5 ml (33.2 mmol) Thionylchlorid versetzt. Unter Entweichen von Gas verfärbt sich die Lösung dunkelbraun. Nach beendeter Gasentwicklung wird die Lösung mit weiteren 1.3 ml (17.3 mmol) Thionylchlorid versetzt und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges Thionylchlorid wird im Wasserstrahlvakuum bei 8–27 mbar abdestilliert, danach wird die zurückbleibende Lösung im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert. Erhalten werden 1.18 g (7.5 mmol, 52.9 %) des 4-Chloro-2-ethyl-3-methyl-cyclopent-2-enons (**46**) in Form eines klaren, gelb gefärbten, leicht viskosen Öls.



**Sdp.** <sub>0.76 mbar</sub> = 51 °C

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

δ (ppm) = 0.98 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.60 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>), 2.09 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.21 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.61 Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>), 2.60 (dd, 1 H, ABX-System, J<sub>AB</sub> = 19.05 Hz, <sup>3</sup>J<sub>AX</sub> = 1.65 Hz, CH<sub>A</sub>-5), 2.94 (dd, 1 H, ABX-System, J<sub>AB</sub> = 19.03 Hz, <sup>3</sup>J<sub>BX</sub> = 6.45 Hz, CH<sub>2</sub>-5), 4.81 (dd, 1 H, ABX-System, <sup>3</sup>J<sub>AX</sub> = 1.83 Hz, <sup>3</sup>J<sub>BX</sub> = 6.47 Hz, CH<sub>X</sub>-4)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 12.42 (C-2<sup>2</sup>), 14.24 (C-3<sup>1</sup>), 16.50 (C-2<sup>1</sup>), 45.03 (C-5), 57.85 (C-4), 145.07 (C-2), 165.36 (C-3), 203.46 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2973 (CH-Valenz), 2936 (CH-Valenz), 2877 (CH-Valenz), 1712 (C=O-Valenz), 1647 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1461 (CH-Deformation, asym.), 1386 (CH-Deformation, sym.), 1346 (CH-Deformation), 1249, 1222, 1183, 1086, 1057, 930, 899, 781, 718 (C-Cl-Valenz), 658, 587

**Massenspektrum** (EI, -7 °C):

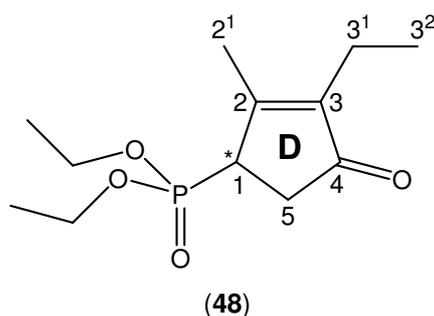
m/z (%) = 158 (52, M<sup>+</sup>), 138 (2), 123 (85), 115 (2), 107 (2), 95 (100), 93 (8), 79 (17), 67 (30), 65 (8), 55 (19), 39 (21), 27 (13)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>ClO: theoretisch 158.049956 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 158.049842 g · mol<sup>-1</sup>

**8.6.11 Darstellung des (3-Ethyl-2-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylesters (48)**<sup>114,138</sup>

Unter Inertgas wird eine Lösung aus 1.18 g (7.5 mmol) 4-Chloro-2-ethyl-3-methyl-cyclopent-2-enon (**46**) und 1.4 ml (7.7 mmol) Triethylphosphit 45 min auf 75–80 °C erwärmt und danach 5 h bei 160 °C unter Rückfluss gekocht. Dabei bildet sich eine orangerot gefärbte, klare Lösung, die im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert wird. Es werden 0.86 g (3.3 mmol) des (3-Ethyl-2-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylesters (**48**) in Form einer gelb gefärbten, klaren Lösung erhalten. Zusätzlich können 0.46 g (2.9 mmol) nicht umgesetzten 4-Chloro-2-ethyl-3-methyl-cyclopent-2-enons (**46**) als klare, hellgelb gefärbte Lösung zurückgewonnen werden, so dass die Ausbeute an (**48**) bezüglich des umgesetzten Edukts (**46**) 72.6 % beträgt.



**Sdp.**  $_{0.76-0.82 \text{ mbar}} = 123-124 \text{ }^{\circ}\text{C}$

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

$\delta$  (ppm) = 0.93 (t, 3 H,  $^3J = 7.57 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3\text{-}3^2$ ), 1.21 (t, 3 H,  $^3J = 7.05 \text{ Hz}$ ,  $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ), 1.26 (t, 3 H,  $^3J = 7.05 \text{ Hz}$ ,  $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ), 2.17 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-}2^1$ ), 2.17 (q, 2 H,  $^3J = 7.48 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{-}3^1$ ), 2.48–2.63 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{-}5$ ), 3.03 (m, 0.5 H,  $\text{CH-}1$ ), 3.09 (m, 0.5 H,  $\text{CH-}1$ ), 3.95–4.14 (m, 4 H,  $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ )

**$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (101 MHz, DEPT 135,  $^1\text{H}/^{13}\text{C-COSY}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 12.54 (d,  $^1J_{\text{C,H}} = 4.25 \text{ Hz}$ ,  $\text{C-}3^2$ ), 16.35 (d,  $^3J = 5.78 \text{ Hz}$ ,  $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ), 16.45 ( $\text{C-}2^1$ ), 16.45 ( $\text{C-}3^1$ ), 36.60 (d,  $^2J_{\text{C,P}} = 3.97 \text{ Hz}$ ,  $\text{C-}5$ ), 41.62 (d,  $^1J_{\text{C,P}} = 144.47 \text{ Hz}$ ,  $\text{C-}1$ ), 62.04 (d,  $^2J_{\text{C,P}} = 6.83 \text{ Hz}$ ,  $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ), 62.54 (d,  $^2J_{\text{C,P}} = 6.99 \text{ Hz}$ ,  $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ), 144.30 (d,  $^1J_{\text{C,H}} = 9.99 \text{ Hz}$ ,  $\text{C-}3$ ), 164.28 (d,  $^2J_{\text{C,P}} = 8.99 \text{ Hz}$ ,  $\text{C-}2$ ), 206.05 (d,  $^1J_{\text{C,H}} = 2.32 \text{ Hz}$ ,  $\text{C-}4$ )

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2978 (CH-Valenz), 2935 (CH-Valenz), 2876 (CH-Valenz), 1702 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1641 (C=C-Valenz), 1445 (CH-Deformation, asym.), 1387 (CH-Deformation, sym.), 1348, 1256 (P=O-Valenz), 1233, 1209, 1164 (C-O-Valenz), 1052, 1024 (P-O-Valenz), 966 (P-O-Valenz), 800 (CH-Deformation), 615, 570, 534, 489

**Massenspektrum** (EI,  $45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ):

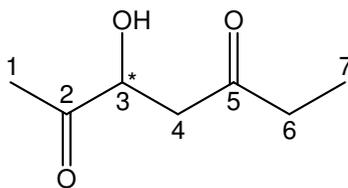
$m/z$  (%) = 260 (99,  $\text{M}^+$ ), 245 (8), 232 (34), 217 (7), 204 (77), 189 (15), 175 (6), 150 (12), 139 (21), 122 (100), 107 (38), 95 (36), 79 (30), 67 (18), 55 (21), 41 (18), 29 (25)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{12}H_{21}O_4NaP [M + Na]^+$ : theoretisch  $283.107312 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  
 $283.106969 \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.6.12 Darstellung des 3-Hydroxyheptan-2,5-dions (43)**<sup>134</sup>

20.0 ml (158.3 mmol) auf 0 °C gekühlten 3-Oxopentansäuremethylesters werden mit einer ebenfalls gekühlten Lösung aus 9.80 g (174.7 mmol) KOH in 63 ml Wasser versetzt, 35 min gerührt und 6 d bei 4 °C gelagert. Bei Raumtemperatur wird durch die Lösung für 2 h  $CO_2$  geleitet. Sie wird mit 28.5 ml (174.1 mmol) Methylglyoxal-Lösung (40 % in Wasser) versetzt, 24 h gerührt und danach 17 h bei 4 °C gelagert. Die orange gefärbte, klare Lösung wird sechsmal mit je 90 ml Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit 230 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 14.14 g eines orange gefärbten, klaren Öls zurück, bei dem es sich um das Rohprodukt der Reaktion handelt, das im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert wird. Es werden 9.25 g (64.2 mmol, 40.6 %) des 3-Hydroxyheptan-2,5-dions (**43**) als farbloses, klares, leicht viskoses Öl erhalten.



(43)

**Sdp.**  $0.05-0.06 \text{ mbar} = 54-56 \text{ °C}$

**<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 1.02 (t, 3 H,  $^3J = 7.29 \text{ Hz}$ ,  $CH_3$ -7), 2.22 (s, 3 H,  $CH_3$ -1), 2.45 (q, 2 H,  $^3J = 7.31 \text{ Hz}$ ,  $CH_2$ -6), 2.78 (dd, 1 H, ABX-System,  $J_{AB} = 17.02 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{AX} = 6.39 \text{ Hz}$ ,  $CH_A$ -4), 2.91 (dd, 1 H, ABX-System,  $J_{AB} = 17.01 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{BX} = 3.82 \text{ Hz}$ ,  $CH_B$ -4), 3.70 (s breit, 1 H, OH), 4.31 (dd, 1 H, ABX-System,  $^3J_{AX} = 6.32 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{BX} = 3.87 \text{ Hz}$ , CH-3)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz,  $^1H/^{13}C$ -COSY,  $CDCl_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 7.45 (C-7), 25.30 (C-1), 36.87 (C-6), 44.88 (C-4), 73.81 (C-3), 209.24 (C-2), 209.72 (C-5)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3450 (OH-Valenz), 2979 (CH-Valenz), 2941 (CH-Valenz), 1714 (C=O-Valenz, Keton), 1460 (CH-Deformation, asym.), 1411, 1359 (CH-Deformation, sym.), 1242, 1183, 1114 (C-O-Valenz, Alkohol), 1003, 967, 616

**Massenspektrum** (GC-El):

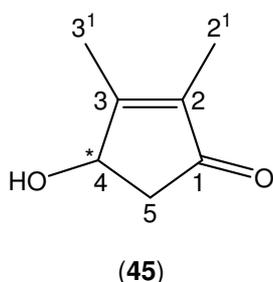
m/z (%) = 126 (1), 108 (1), 101 (20), 83 (7), 79 (1), 73 (9), 69 (7), 57 (100), 55 (10), 43 (45), 29 (20), 27 (4)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (CI, i-Butan):

C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub> [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 145.086470 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
145.086323 · mol<sup>-1</sup>

**8.6.13 Darstellung des 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enons (45)**<sup>135,136</sup>

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung aus 4.02 g (27.9 mmol) 3-Hydroxyheptan-2,5-dion (**43**) in 20 ml (0.49 mol) Methanol werden innerhalb von 1 h 121 ml einer 20-%igen K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung so zugegeben, dass sich die Mischung auf maximal 3 °C erwärmt. Anschließend wird sie 2 h bei 0 °C und danach 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die dabei entstehende klare, gelb gefärbte Lösung wird durch Zugabe von Salzsäure (2 M) neutralisiert, wobei sie sich unter Trübung orange färbt. Anschließend wird die Lösung viermal mit jeweils 110 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel abdestilliert. Als Rückstand werden 2.47 g einer rotbraun gefärbten, klaren Lösung erhalten, bei der es sich um das Rohprodukt des 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enons (**45**) handelt. Dieses wird per MPLC gereinigt. Als Laufmittel dient eine Mischung aus Chloroform und Methanol (99:1, v/v). Abdestillieren des Laufmittels ergibt 1.74 g (13.8 mmol, 49.5 %) des Reaktionsprodukts 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon (**45**) in Form einer rotbraun gefärbten, klaren Flüssigkeit.



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

δ (ppm) = 1.69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.06 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 2.19 (s breit, 1 H, OH), 2.25 (d, 1 H, ABX-System, J<sub>AB</sub> = 18.38 Hz, CH<sub>A</sub>-5), 2.75 (dd, 1 H, ABX-System, J<sub>AB</sub> = 18.38 Hz, <sup>3</sup>J<sub>BX</sub> = 6.09 Hz, CH<sub>B</sub>-5), 4.70 (d, 1 H, ABX-System, <sup>3</sup>J<sub>BX</sub> = 5.50 Hz, CH<sub>X</sub>-4)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 7.67 (C-3<sup>1</sup>), 13.39 (C-2<sup>1</sup>), 44.00 (C-5), 71.40 (C-4), 137.90 (C-2), 168.00 (C-3), 205.41 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3411 (OH-Valenz), 2978 (CH-Valenz), 2923 (CH-Valenz), 1699 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1648 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1437 (CH-Deformation, asym.), 1386 (CH-Deformation, sym.), 1327 (OH-Deformation), 1242, 1195, 1149, 1085 (C-O-Valenz), 1050, 1006, 946, 903, 836, 717, 661, 590, 508

**Massenspektrum** (EI, 15 °C):

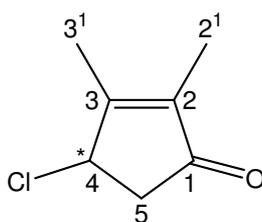
m/z (%) = 126 (94, M<sup>+</sup>), 111 (89), 98 (100), 93 (5), 83 (85), 81 (20), 79 (31), 71 (5), 69 (16), 65 (10), 55 (86), 53 (39), 43 (89), 41 (44), 39 (56), 29 (28), 27 (47)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: theoretisch 126.068082 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 126.068227 · mol<sup>-1</sup>

**8.6.14 Darstellung des 4-Chloro-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enons (47)**<sup>137</sup>

Unter Schutzgas werden 1.75 g (13.9 mmol) auf 0 °C gekühlten 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enons (**45**) langsam mit 2.5 ml (33.2 mmol) Thionylchlorid versetzt. Unter Entweichen von Gas verfärbt sich die Lösung dunkelbraun. Nach beendeter Gasentwicklung wird die Lösung mit weiteren 1.3 ml (17.3 mmol) Thionylchlorid versetzt, 1 h bei 0 °C und anschließend 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges Thionylchlorid wird im Wasserstrahlvakuum bei 8–11 mbar abdestilliert. Danach wird die zurückbleibende Lösung im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert. 0.93 g (6.4 mmol, 46.1 %) des 4-Chloro-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enons (**47**) werden in Form eines klaren, hellgelb gefärbten, leicht viskosen Öls erhalten.



(47)

**Sdp.**  $_{0.11-0.13 \text{ mbar}} = 36-40 \text{ }^\circ\text{C}$

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

$\delta$  (ppm) = 1.71 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-}2^1$ ), 2.07 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-}3^1$ ), 2.60 (dd, 1 H, ABX-System,  $J_{\text{AB}} = 19.06 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{AX}} = 1.74 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_\text{A}\text{-}5$ ), 2.94 (dd, 1 H, ABX-System,  $J_{\text{AB}} = 19.06 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{BX}} = 6.45 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_\text{B}\text{-}5$ ), 4.81 (dd, 1 H, ABX-System,  $^3J_{\text{AX}} = 0.75 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{BX}} = 6.40 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_\text{X}\text{-}4$ )

**$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (101 MHz,  $^1\text{H}/^{13}\text{C-COSY}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 8.20 (C- $3^1$ ), 14.43 (C- $2^1$ ), 44.85 (C-5), 57.77 (C-4), 139.68 (C-2), 165.60 (C-3), 203.68 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2983 (CH-Valenz), 2924 (CH-Valenz), 2860 (CH-Valenz), 1709 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1652 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1439 (CH-Deformation, asym.), 1387 (CH-Deformation, sym.), 1326 (CH-Deformation), 1294, 1254, 1225, 1186, 1107, 1071, 925, 872, 725 (C-Cl-Valenz), 690, 659, 560, 537, 478

**Massenspektrum** (EI,  $-15 \text{ }^\circ\text{C}$ ):

$m/z$  (%) = 144 (46,  $\text{M}^+$ ), 129 (1), 109 (100), 101 (1), 81 (67), 79 (28), 65 (8), 53 (23), 39 (19), 27 (13)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

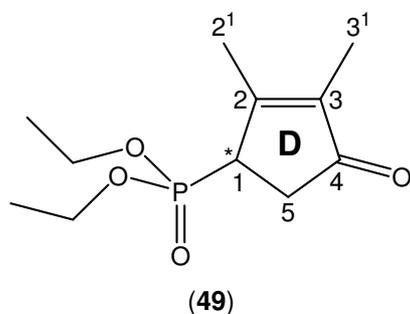
$\text{C}_7\text{H}_9\text{ClO}$ : theoretisch  $144.034192 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  $144.034146 \cdot \text{mol}^{-1}$

### 8.6.15 Darstellung des (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethyl-esters (49)<sup>114,138</sup>

Unter Inertgas wird eine Lösung aus 0.78 g (5.4 mmol) 4-Chloro-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon (47) und 0.95 ml (5.4 mmol) Triethylphosphit für 45 min auf  $75-80 \text{ }^\circ\text{C}$  erwärmt und danach für 5.5 h bei  $160-170 \text{ }^\circ\text{C}$  unter Rückfluss gekocht. Dabei bildet sich eine orangerot gefärbte, klare Lösung, die nach ihrer fraktionierten Destillation zusätzlich per

## ■ Experimenteller Teil

HPLC gereinigt wird. Dabei dient eine Lösung aus n-Hexan und Ethylacetat (1:1, v/v), der 2 % 2-Propanol zugesetzt worden sind, als Laufmittel. Es werden 0.68 g (2.8 mmol, 51.3 %) des (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylesters (**49**) in Form einer gelb gefärbten, klaren Flüssigkeit erhalten.



**Sdp.** <sub>0.032-0.035 mbar</sub> = 86 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.22 (t, 3 H,  $^3J = 7.03$  Hz, PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.27 (t, 3 H,  $^3J = 7.07$  Hz, PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.68 (dq, 3 H,  $J_d = 4.91$  Hz,  $J_q = 0.93$  Hz, CH<sub>3</sub>-3'), 2.16 (d, 3 H,  $J = 3.33$  Hz, CH<sub>3</sub>-2'), 2.50–2.65 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-5), 3.03–3.06 (m, 0.5 H, CH-1), 3.09–3.12 (m, 0.5 H, CH-1), 3.97–4.13 (m, 4 H, PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, DEPT 135, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.29 (d,  $^1J_{C,H} = 1.92$  Hz, C-3'), 16.40 (d,  $^3J_{C,P} = 5.49$  Hz, PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 16.84 (C-2'), 36.44 (d,  $^2J_{C,P} = 3.83$  Hz, C-5), 41.72 (d,  $^1J_{C,P} = 144.99$  Hz, C-1), 62.12 (d,  $^2J_{C,P} = 6.89$  Hz, PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 62.60 (d,  $^2J_{C,P} = 6.98$  Hz, PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 138.84 (d,  $^1J_{C,H} = 9.94$  Hz, C-3), 164.53 (d,  $^1J_{C,H} = 8.79$  Hz, C-2), 206.37 (d,  $^1J_{C,H} = 2.82$  Hz, C-4)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2985 (CH-Valenz), 2931 (CH-Valenz), 1702 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1644 (C=C-Valenz), 1445 (CH-Deformation, asym.), 1388 (CH-Deformation, sym.), 1329, 1258 (P=O-Valenz), 1236, 1210, 1164 (C-O-Valenz), 1027 (P-O-Valenz), 967 (P-O-Valenz), 888, 797 (CH-Deformation), 731, 693, 655, 600, 532, 491

**Massenspektrum** (EI, 50 °C):

$m/z$  (%) = 246 (74, M<sup>+</sup>), 231 (1), 218 (22), 203 (1), 190 (72), 173 (14), 162 (5), 136 (12), 108 (100), 92 (15), 81 (37), 65 (9), 53 (16), 41 (15), 29 (13)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

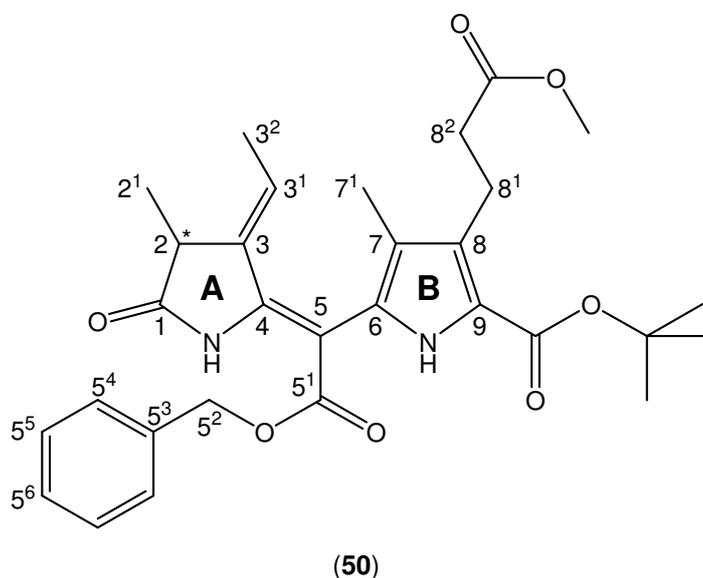
$C_{11}H_{19}NaO_4P [M + Na]^+$ : theoretisch  $269.091319 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell

$269.091189 \cdot \text{mol}^{-1}$

## 8.7 Synthese des AB-Bausteins

### 8.7.1 Darstellung des 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylesters (**50**)<sup>31,81,128</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre und Lichtausschluss werden 138 mg (0.89 mmol) (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (**18**) mit einer Lösung aus 599 mg (0.89 mmol) Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-triphenylphosphonid-methanid (**32**) und 50 ml Toluol versetzt. Die Lösung wird 24 h unter Rückfluss gekocht, wobei sie sich rot färbt. Abdestillieren des Lösemittels liefert 880 mg des Rohprodukts in Form eines dunkelroten Feststoffs. Dieser wird per Flash-Chromatographie mit einer Mischung aus *n*-Pentan und Ethylacetat (Gradient 1:0–3:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Lösemittels und Entfernen letzter Lösemittelreste im Hochvakuum werden 392 mg (0.73 mmol, 82.4 %) des Produkts 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylester (**50**) in Form eines schwach gelb gefärbten Feststoffs erhalten. Daneben lassen sich 42 mg verunreinigten (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimids (**18**) in Form eines orange gefärbten Feststoffs sowie 66 mg stark verunreinigten Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-triphenylphosphonid-methanids (**32**) zurückgewinnen.



Smp. = 126–128 °C (Lit.<sup>82</sup>: Smp. = 137–138 °C)

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

δ (ppm) = 1.34 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.42 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.55 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.66 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.23 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.78 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.51 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.69 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 2.94–3.08 (m breit, 2 H, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.11 (q, 1 H, <sup>3</sup>J = 7.14 Hz, CH-2), 3.63 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.03–5.31 (m, 1 H, CH-3<sup>1</sup>), 5.14 (s breit, 2 H, CH<sub>2</sub>-5<sup>2</sup>), 7.17 (d, 2 H, <sup>3</sup>J = 6.68 Hz, CH-5<sup>4</sup>), 7.23–7.35 (m, 3 H, CH-5<sup>5</sup>, -5<sup>6</sup>), 8.43 (s breit, 0.5 H, Pyrrol-NH), 8.57 (s breit, 0.5 H, Pyrrol-NH), 10.70 (s breit, 0.5 H, Lactam-NH), 10.77 (s breit, 0.5 H, Lactam-NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 9.12 (C-7<sup>1</sup>), 15.86 (C-3<sup>2</sup>), 16.37 (C-2<sup>1</sup>), 21.02 (C-8<sup>1</sup>), 28.46 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.26 (C-8<sup>2</sup>), 37.90 (C-2), 51.39 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 66.06 (C-5<sup>2</sup>), 80.90 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 119.12, 119.89, 125.49, 132.50, 133.63, 134.59 (C-3, -4, -6, -7, -8, -9), 127.31 (C-5<sup>4</sup>), 127.92 (C-3<sup>1</sup>, -5<sup>6</sup>), 128.43 (C-5<sup>5</sup>), 136.17 (C-5<sup>3</sup>), 153.19 (C-5), 160.78 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 168.31 (C-5<sup>1</sup>), 173.48 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 177.80 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3292 (NH-Valenz), 3066 (CH-Valenz, aromatisch), 2975 (CH-Valenz), 2937 (CH-Valenz), 1743 (C=O-Valenz, Methylester), 1673 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1659 (C=O-Valenz, Benzylester), 1599, 1566, 1497, 1456 (CH-Deformation, asym.), 1379 (CH-Deformation, sym.), 1368, 1346 (C-C-Valenz, *tert*-Butyl), 1249, 1233, 1211 (C-O-Valenz, Ester), 1167, 1145, 1126, 1055, 949, 789 (CH-Deformation, arom., oop), 735 (CH-Deformation, arom., oop), 698, 624

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (5:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  = 236 nm, 283 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (EI, 170 °C):

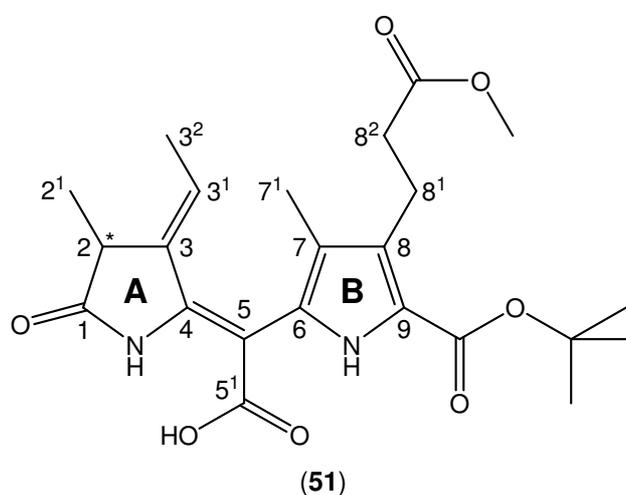
m/z (%) = 536 (82, M<sup>+</sup>), 480 (61), 465 (12), 435 (9), 389 (24), 371 (3), 345 (100), 330 (10), 227 (7), 130 (2), 91 (52), 57 (5)

### 8.7.2 Darstellung der 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (51)<sup>31,82,139,140</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre und Lichtausschluss wird bei Raumtemperatur eine Lösung aus 104 mg (0.19 mmol) 3-(5-Benzylloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylester (**50**) und 12.3 ml THF mit 67.8 mg (0.064 mmol) Palladium (10 %) auf Aktivkohle versetzt, ohne

## ■ Experimenteller Teil

dass sie dabei gerührt wird. Die Apparatur wird jeweils sechsmal bis zum Sieden des Lösemittels evakuiert und mit Wasserstoff gefüllt. Nachdem die Suspension Raumtemperatur erreicht hat, wird sie für 40 min gerührt. Danach wird der Palladium-Aktivkohle-Katalysator über ein doppelagiges Blaubandfilter abgetrennt und mit THF gewaschen. Aus dem klaren, gelb gefärbten Filtrat wird das Lösemittel abdestilliert. Zurück bleiben 139 mg des Rohprodukts in Form eines gelborange gefärbten Feststoffs. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Wasser und Acetonitril (Gradient 49:1–0:1) getrennt. Nach Abdestillieren des Acetonitrils und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung werden 55.3 mg (0.12 mmol) der 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) als hellgelb gefärbter Feststoff erhalten. Da 15.8 mg (0.03 mmol) nicht umgesetzten Edukts (**50**) zurückgewonnen werden, beträgt die Ausbeute bezüglich des umgesetzten Edukts 75.1 %.



**Smp.** = 163–164 °C (Lit.<sup>82</sup>: Smp. = 168–169 °C)

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

$\delta$  (ppm) = 1.34–1.36 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.56 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.68 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 6.27 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.81 (s, 1.5 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 1.86 (s, 1.5 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 1.96 (s breit, 1 H, OH), 2.50–2.56 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 2.92–3.00 (m 1 H, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.03–3.09 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.14 (d, 1 H, <sup>3</sup>J = 6.33 Hz, CH-2), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.27 (q, 0.5 H, <sup>3</sup>J = 6.28 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 5.34 (q, 0.5 H, <sup>3</sup>J = 6.28 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 8.73 (s breit, 0.5 H, Pyrrol-NH), 9.01 (s breit, 0.5 H, Pyrrol-NH), 10.67 (s breit, 0.5 H, Lactam-NH), 10.79 (s breit, 0.5 H, Lactam-NH)

**$^{13}\text{C-NMR-Spektrum}$**  (126 MHz, BB, DEPT 135,  $^1\text{H}/^{13}\text{C-COSY}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 9.13 (C-7<sup>1</sup>), 15.66 (C-3<sup>2</sup>), 16.38 (C-2<sup>1</sup>), 20.90 (C-8<sup>1</sup>), 28.18 ( $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ),  
35.02 (C-8<sup>2</sup>), 37.67 (C-2), 51.21 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 81.00 ( $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 133.23 (C-3<sup>1</sup>),  
119.04, 120.08, 125.28, 133.12, 134.23, 134.26 (C-3, -4, -6, -7, -8, -9), 153.29 (C-5),  
160.92 ( $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 170.66 ( $\text{CO}_2\text{H}$ ), 173.42 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 180.09 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3448 (OH-Valenz), 3314 (NH-Valenz), 2977 (CH-Valenz), 2935 (CH-Va-  
lenz), 1739 (C=O-Valenz Methylester), 1670 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester, Carbon-  
säure), 1605, 1565 (NH-Kombination), 1455 (CH-Deformation, asym.), 1382 (CH-De-  
formation, sym.), 1368, 1337 (CN-Valenz), 1248, 1210 (C-O-Valenz, Ester), 1165,  
1147, 1126, 1051, 987, 948 (OH-Deformation), 844 (CH-Deformation, unges., oop),  
795 (CH-Deformation, unges., oop), 778, 746, 615, 457

**UV/Vis-Spektrum** (Wasser/Acetonitril (49:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  = 235 nm, 283 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (EI, 145 °C):

$m/z$  (%) = 446 (8,  $\text{M}^+$ ), 414 (2), 402 (24), 390 (12), 346 (100), 313 (50), 271 (18),  
224 (7), 134 (2), 73 (2), 57 (5), 41 (5)

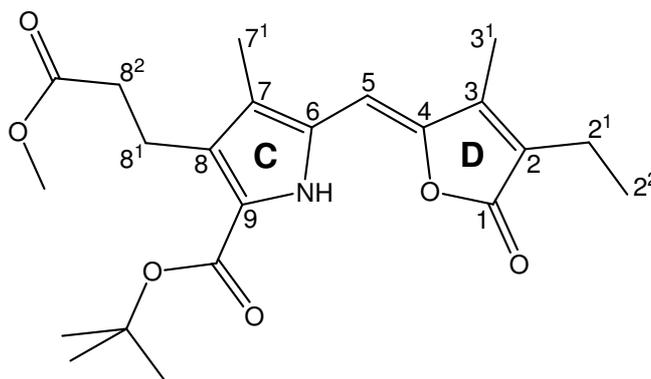
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{NaO}_7$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>: theoretisch 469.193997  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  
469.194523  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

## 8.8 Synthese der CD-Bausteine

### 8.8.1 Darstellung des 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons (**52**)<sup>32,141</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre wird eine Lösung aus 0.31 g (1.1 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**), 0.13 g (1.0 mmol) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanon (**36**), 0.36 ml (2.4 mmol) DBU in 1.4 ml trockenem THF, der Molekularsieb (3 Å) zugesetzt worden ist, 19 h im Dunkeln unter Rückfluss gekocht. Die Lösung wird vom Molekularsieb abdekantiert und dieses mit Chloroform so lange gewaschen, bis sich das Lösungsmittel nicht mehr färbt. Nach Vereinigung der organischen Phasen werden diese dreimal mit je 100 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (2 M), dreimal mit je 100 ml gesättigter KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung sowie dreimal mit je 100 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen und anschließend über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 0.46 g des rotbraunen, festen Rohprodukts zurück. Dieses wird per MPLC mit einer Mischung aus Dichlormethan und Ethylacetat (49:1, v/v) gereinigt. Erhalten werden 0.36 g (0.9 mmol, 86.2 %) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon (**52**) in Form gelber Kristalle.



(**52**)

Smp. = 134 °C

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

δ (ppm) = 1.12 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.61 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>), 1.57 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.09 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.37 (q, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.66 Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>), 2.52 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.87 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.00 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.88 (s, 1 H, CH-5), 9.70 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 9.64 (C-7<sup>1</sup>), 12.77 (C-2<sup>2</sup>), 17.28 (C-2<sup>1</sup>), 20.51 (C-3<sup>1</sup>), 28.36 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>),  
 31.20 (C-8<sup>1</sup>), 34.85 (C-8<sup>2</sup>), 51.47 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 81.35 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 95.90 (C-5),  
 123.15 (C-8), 125.55, 126.45, 128.37, 128.40 (C-2, -6, -7, -9), 146.59, 146.80 (C-3, -4),  
 160.07 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 168.96 (C-1), 173.61 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3448 (NH-Valenz), 3066 (CH-Valenz, unges.), 2978 (CH-Valenz), 2878  
 (CH-Valenz), 1759 (C=O-Valenz, Lacton), 1735 (C=O-Valenz, Methylester), 1680  
 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1622 (C=C-Valenz), 1445 (CH-Deformation, asym.),  
 1394 (CH-Deformation, sym.), 1367, 1298, 1278, 1268, 1256, 1193, 1172, 1161,  
 1138, 1131, 1115, 1097, 1006, 944, 848, 673, 613

**UV/Vis-Spektrum** (n-Hexan):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 254 nm (32000), 389 nm (48100), 409 nm (45200)

**Massenspektrum** (EI, 130 °C):

$m/z$  (%) = 403 (18, M<sup>+</sup>), 347 (100), 316 (7), 303 (10), 287 (20), 286 (2), 274 (9),  
 272 (3), 270 (3), 269 (2), 256 (5), 254 (2), 244 (7), 241 (3), 230 (5), 228 (3), 226 (2),  
 200 (3), 135 (3)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

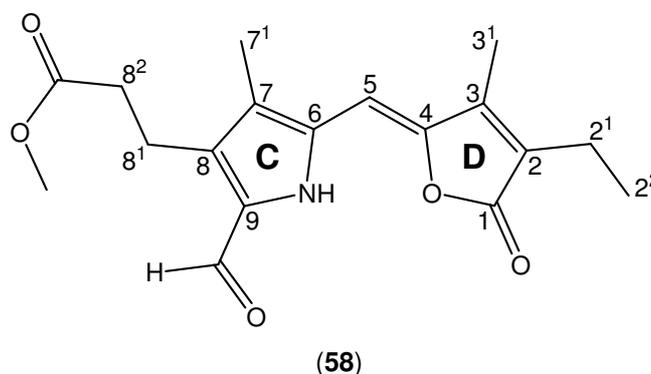
C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>6</sub>: theoretisch 403.199489 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 403.199617 g · mol<sup>-1</sup>

**8.8.2 Darstellung des 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons (58)**<sup>31,32,83</sup>

Bei Lichtausschluss werden unter einer Inertgasatmosphäre 118 mg (0.29 mmol) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon (**52**) in 8.4 ml (108 mmol) TFA gelöst und 3 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 8.4 ml (75 mmol) Orthoameisensäuretrimethylester wird die Lösung weitere 30 min gerührt, anschließend in 450 ml entgastem Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit jeweils 200 ml entgastem Wasser sowie zweimal mit jeweils 200 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleibt das Rohprodukt in Form eines grün gefärbten Feststoffs zurück. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) getrennt. Nach Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung werden 52 mg (0.16 mmol, 54.3 %) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonyl-

## ■ Experimenteller Teil

ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon (**58**) in Form eines gelbgrün gefärbten Feststoffs erhalten.



Smp. = 129 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.13 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.59 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>), 2.11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.13 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.39 (q, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.47 Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>), 2.56 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.63 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 3.03 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.63 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.64 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.89 (s, 1 H, CH-5), 9.69 (s, 1 H, CHO), 9.75 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.75 (C-3<sup>1</sup>), 9.67 (C-7<sup>1</sup>), 12.73 (C-2<sup>2</sup>), 17.36 (C-2<sup>1</sup>), 19.11 (C-8<sup>1</sup>), 35.25 (C-8<sup>2</sup>), 51.75 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 95.07 (C-5), 123.35 (C-8), 129.72, 130.53, 130.68, 132.02 (C-2, -6, -7, -9), 146.54 (C-3), 148.46 (C-4), 169.07 (C-1), 172.78 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 177.47 (CHO)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3439 (NH-Valenz), 3070 (CH-Valenz, unges.), 2965 (CH-Valenz), 2928 (CH-Valenz), 2852 (CH-Valenz), 1759 (C=O-Valenz, Lacton), 1734 (C=O-Valenz, Methyl ester), 1637 (C=O-Valenz, Aldehyd), 1444 (CH-Deformation, asym.), 1384 (CH-Deformation, sym.), 1213, 1164, 1100, 1008, 941, 574, 458

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (5:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  = 266 nm, 394 nm, 409 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

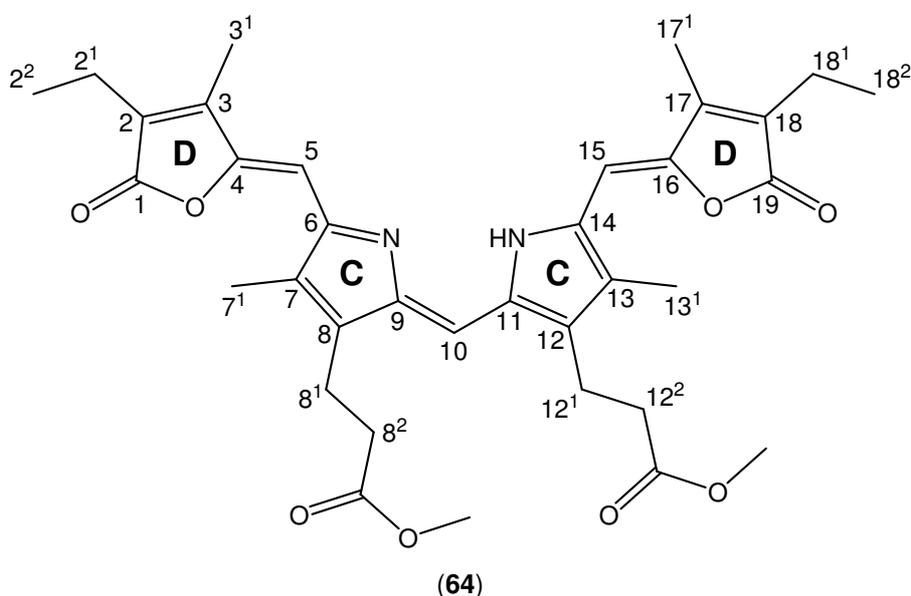
**Massenspektrum** (EI, 135 °C):

$m/z$  (%) = 331 (100,  $M^+$ ), 330 (2), 303 (19), 302 (33), 300 (12), 299 (2), 272 (34),  
 271 (11), 270 (7), 260 (7), 243 (5), 230 (13), 228 (6), 217 (2), 203 (3), 186 (3),  
 176 (3), 162 (3), 158 (2), 146 (2), 136 (2), 134 (3), 119 (2), 118 (4), 117 (2), 107 (2),  
 106 (3), 104 (3), 91 (4), 79 (2), 77 (4), 67 (2), 65 (2), 53 (2), 41 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos., Methanol):

$C_{18}H_{22}NO_5$  [ $M + H$ ]<sup>+</sup>: theoretisch 332.149799 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
 332.14999 g · mol<sup>-1</sup>

Als Nebenprodukt lassen sich 16 mg (0.022 mmol; 18.4 %) des Dimerisierungsprodukts  
**(64)** in Form blaugrün gefärbter, sehr feiner Kristalle isolieren.



**Smp.** = 178 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.11 (t, 6 H, <sup>3</sup>J = 7.57 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>, -18<sup>2</sup>), 2.14 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>, -13<sup>1</sup>), 2.18 (s,  
 6 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 2.35 (q, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.50 Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>, -18<sup>1</sup>), 2.53 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.48 Hz,  
 CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.92 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 6.46 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.64 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.21 (s  
 breit, 2 H, CH-5, -15), 6.83 (s breit, 1 H, CH-10)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 9.53 (C-7<sup>1</sup>, -13<sup>1</sup>), 10.12 (C-3<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 12.41 (C-2<sup>2</sup>, -18<sup>2</sup>), 17.10 (C-2<sup>1</sup>, -18<sup>1</sup>),  
19.63 (C-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 34.90 (C-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 51.45 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 98.71 (C-5, -15), 116.14 (C-10),  
128.04 (C-7, -13), 137.97 (C-9, -11), 140.76 (C-6), 146.98 (C-3, -17), 148.24 (C-4, -16),  
150.21 (C-14), 169.43 (C-1, -19), 172.83 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3448 (NH-Valenz), 2930 (CH-Valenz), 2874 (CH-Valenz), 1757, 1743  
(C=O-Valenz, Methylester), 1640 (C=C-Valenz), 1594 (C=C-Deformation), 1458 (CH<sub>2</sub>-  
Deformation), 1437 (CH<sub>3</sub>-Deformation, asym.), 1385, 1357 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.),  
1260 (C-O-Valenz, asym., Lacton), 1236 (C-O-Valenz, sym., Lacton), 1170 (C-O-Valenz,  
asym., Methylester), 1097 (C-O-Valenz, sym., Methylester), 1057, 1014, 950,  
906, 883 (C-O-C-Valenz, sym., Lacton), 801 (CH-Deformation, unges., oop), 775, 736,  
705, 673, 613

**UV/Vis-Spektrum** (Diethylether):

$\lambda_{\max}$  (ε) = 307 nm (12500), 358 nm (22900), 596 nm (12400)

**Massenspektrum** (EI, 260 °C):

m/z (%) = 616 (100, M<sup>+</sup>), 557 (29), 529 (47), 497 (4), 469 (33), 392 (5), 316 (10),  
242 (8), 180 (3)

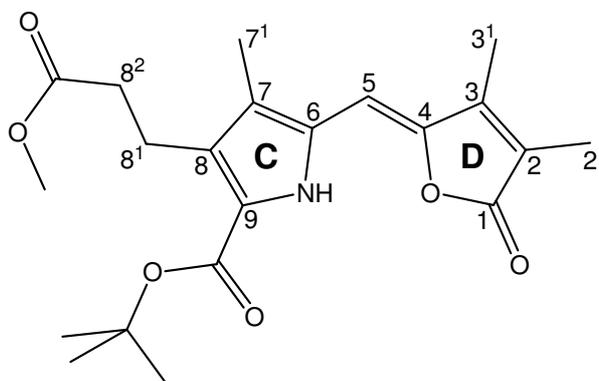
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos., Methanol + Dichlormethan):

C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 617.285743 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
617.286033 g · mol<sup>-1</sup>

### 8.8.3 Darstellung des 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)- 2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanons (53)<sup>32,141</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre wird eine Lösung aus 0.30 g (1.0 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**), 0.11 g (1.0 mmol) 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanon (**37**), 0.35 ml (2.3 mmol) DBU in 1.4 ml trockenem THF, der Molekularsieb (3 Å) zugesetzt worden ist, 19 h im Dunkeln unter Rückfluss gekocht. Die Lösung wird vom Molekularsieb abdekantiert und dieses mit Chloroform so lange gewaschen, bis sich das Lösungsmittel nicht mehr färbt. Nach Vereinigung der organischen Phasen werden diese dreimal mit je 100 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (2 M), dreimal mit je 100 ml gesättigter KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung sowie dreimal mit je 100 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen und anschließend über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestil-

lieren des Lösemittels bleiben 0.49 g des orangebraun gefärbten, festen Rohprodukts zurück. Dieses wird säulenchromatographisch mit einer Mischung aus Dichlormethan und Ethylacetat (49:1, v/v) gereinigt. Erhalten werden 0.30 g (0.8 mmol, 75.6 %) 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon (**53**) in Form gelber Kristalle.

**(53)**

**Smp.** = 151 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.57 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.93 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 2.09 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>),  
2.09 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.52 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.00 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.80 Hz,  
CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.88 (s, 1 H, CH-5), 9.69 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.91 (C-2<sup>1</sup>), 9.87 (C-7<sup>1</sup>), 20.52 (C-3<sup>1</sup>), 28.37 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 29.69 (C-8<sup>1</sup>),  
34.90 (C-8<sup>2</sup>), 51.48 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 81.47 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 95.81 (C-5), 122.89, 123.08,  
126.40, 128.36 (C-2, -6, -7, -9), 123.17 (C-8), 146.86 (C-4), 147.11 (C-3),  
160.11 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 169.03 (C-1), 173.60 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3447 (NH-Valenz), 3067 (CH-Valenz, unges.), 3007 (CH-Valenz, unges.),  
2974 (CH-Valenz), 2953 (CH-Valenz), 2930 (CH-Valenz), 1758 (C=O-Valenz, Lacton),  
1736 (C=O-Valenz, Methylester), 1682 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1653, 1625  
(C=C-Valenz), 1449 (CH-Deformation, asym.), 1367, 1272, 1252, 1192, 1171, 1137,  
1096, 1007, 946, 845, 809, 753, 712, 678, 603, 571

**UV/Vis-Spektrum** (n-Hexan):

$\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) = 254 nm (30400), 387 (44400), 407 nm (41100)

**Massenspektrum** (EI, 130 °C):

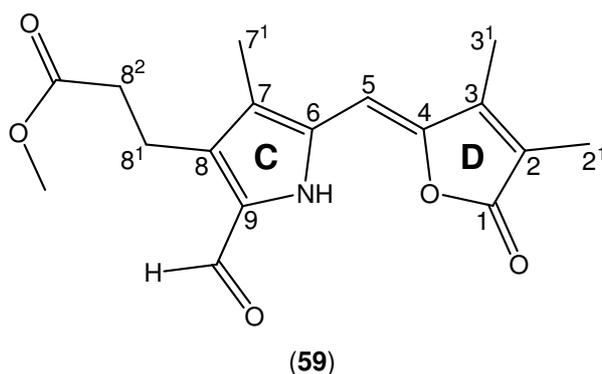
$m/z$  (%) = 389 (19,  $M^+$ ), 333 (100), 302 (9), 289 (11), 288 (11), 273 (24), 272 (2), 260 (11), 258 (2), 256 (4), 255 (4), 242 (7), 230 (9), 227 (5), 216 (7), 214 (3), 186 (4), 144 (2), 128 (4), 57 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

$C_{21}H_{27}NO_6$ : theoretisch 389.183839  $g \cdot mol^{-1}$ , experimentell 389.183447  $g \cdot mol^{-1}$

**8.8.4 Darstellung des 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanons (59)**<sup>31,32,83</sup>

Bei Lichtausschluss werden unter einer Inertgasatmosphäre 112 mg (0.29 mmol) 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon (**53**) in 8.4 ml (108 mmol) TFA gelöst und 3 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 8.4 ml (75.2 mmol) Orthoameisensäuretrimethylester wird die Lösung weitere 30 min gerührt, anschließend in 450 ml entgastem Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit jeweils 200 ml entgastem Wasser sowie zweimal mit jeweils 200 ml gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleibt das Rohprodukt in Form eines grün gefärbten Feststoffs zurück. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) getrennt. Nach Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung werden 48 mg (0.15 mmol, 52.2 %) 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon (**59**) in Form eines gelb gefärbten Feststoffs erhalten.



**Smp.** = 152 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.95 (s, 3 H,  $CH_3$ -2<sup>1</sup>), 2.11 (s, 3 H,  $CH_3$ -7<sup>1</sup>), 2.12 (s, 3 H,  $CH_3$ -3<sup>1</sup>), 2.56 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.62 Hz,  $CH_2$ -8<sup>2</sup>), 3.03 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.62 Hz,  $CH_2$ -8<sup>1</sup>), 3.64 (s, 3 H,  $CO_2CH_3$ ), 5.89 (s, 1 H,  $CH$ -5), 9.69 (s, 1 H,  $CHO$ ), 9.72 (s breit, 1 H,  $NH$ )

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.75 (C-3<sup>1</sup>), 8.97 (C-2<sup>1</sup>), 9.89 (C-7<sup>1</sup>), 19.12 (C-8<sup>1</sup>), 35.26 (C-8<sup>2</sup>),  
51.71 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 94.97 (C-5), 123.34 (C-8), 124.27, 126.79, 130.56, 132.41  
(C-2, -6, -7, -9), 147.06 (C-3), 148.50 (C-4), 169.17 (C-1), 172.78 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),  
177.32 (CHO)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3441 (NH-Valenz), 3064 (CH-Valenz, unges.), 2921 (CH-Valenz), 2854  
(CH-Valenz), 1767 (C=O-Valenz, Lacton), 1730 (C=O-Valenz, Methylester), 1633  
(C=O-Valenz, Aldehyd), 1540, 1439 (CH-Deformation), 1396 (CH-Deformation, sym.),  
1219, 1164, 1094, 1023, 985, 907, 747, 594

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (5:1, v/v)):

$\lambda_{\max}$  = 266 nm, 394 nm, 408 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (EI, 150 °C):

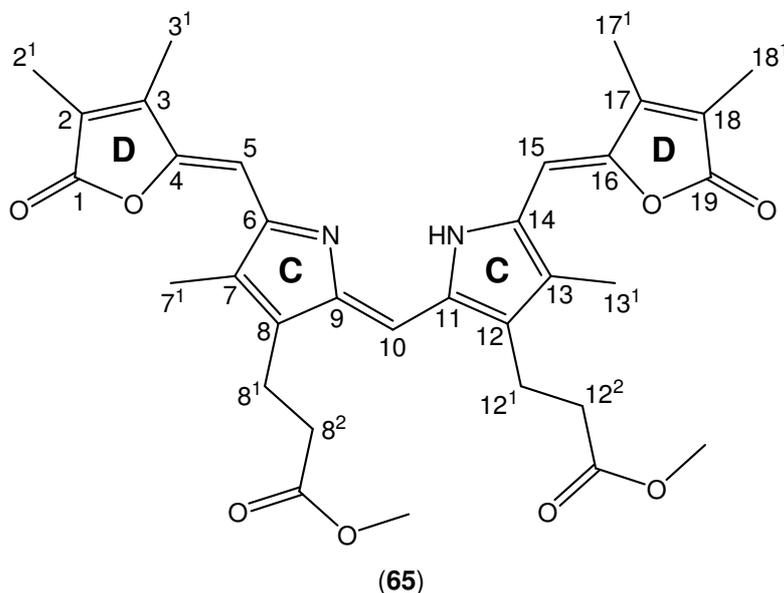
$m/z$  (%) = 317 (100, M<sup>+</sup>), 316 (3), 289 (21), 288 (33), 286 (12), 285 (2), 258 (40),  
257 (14), 256 (10), 246 (10), 244 (21), 230 (18), 229 (9), 228 (5), 216 (21), 215 (5),  
214 (6), 203 (3), 189 (6), 172 (2), 162 (4), 144 (4), 120 (3), 79 (3), 77 (6), 53 (4)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos., Methanol):

C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>5</sub> [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 318.134149 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
318.13427 g · mol<sup>-1</sup>

## ■ Experimenteller Teil

Als Nebenprodukt lassen sich 13 mg (0.022 mmol; 15.6 %) des Dimerisierungsprodukts **(65)** in Form blaugrün gefärbter, sehr feiner Kristalle isolieren.



Smp. = 211 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.88 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>, -18<sup>1</sup>), 2.11 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>, -13<sup>1</sup>), 2.17 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 2.52 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.40 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.89 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.40 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.64 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.15 (s, 2 H, CH-5, -15), 6.75 (s, 1 H, CH-10)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.89 (C-2<sup>1</sup>, -18<sup>1</sup>), 9.99 (C-7<sup>1</sup>, 13<sup>1</sup>), 19.87 (C-3<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 26.40 (C-8<sup>1</sup>), 29.69 (C-12<sup>1</sup>), 32.20 (C-8<sup>2</sup>), 34.33 (C-12<sup>2</sup>), 51.68 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 97.20 (C-15), 99.27 (C-5), 115.94 (C-10), 124.00 (C-7), 125.04 (C-2, -18), 128.15 (C-13), 129.65 (C-6, -14), 135.21 (C-9, -11), 141.67, 150.11 (C-8, -12), 147.62 (C-3, -17), 148.57 (C-4, -16), 169.44 (C-1, -19), 173.16 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3441 (NH-Valenz), 3065 (CH-Valenz, unges.), 2920 (CH-Valenz), 2850 (CH-Valenz), 1744 (C=O-Valenz, Methylester), 1645 (C=C-Valenz), 1596 (C=C-Deformation), 1459 (CH<sub>2</sub>-Deformation), 1437 (CH<sub>3</sub>-Deformation, asym.), 1396, 1350 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1263 (C-O-Valenz, asym., Lacton), 1235 (C-O-Valenz, sym., Lacton), 1171 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1093 (C-O-Valenz, sym., Methylester), 1014, 964, 909, 875 (C-O-C-Valenz, sym., Lacton), 801 (C-H-Deformation, unges., oop), 750, 706, 678

**UV/Vis-Spektrum** (Diethylether):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 304 nm (10300), 358 nm (20900), 595 nm (12400)

**Massenspektrum** (EI, 235 °C):

$m/z$  (%) = 588 (100, M<sup>+</sup>), 587 (5), 573 (5), 557 (16), 556 (19), 529 (36), 514 (2), 501 (46), 482 (3), 469 (5), 465 (2), 441 (44), 428 (33), 405 (2), 383 (2), 359 (3), 357 (2), 332 (3), 331 (4), 319 (5), 294 (4), 289 (2), 287 (2), 274 (3), 262 (2), 257 (3), 241 (4), 240 (3), 228 (4), 227 (5), 221 (3), 220 (2), 57 (2), 43 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos., Methanol):

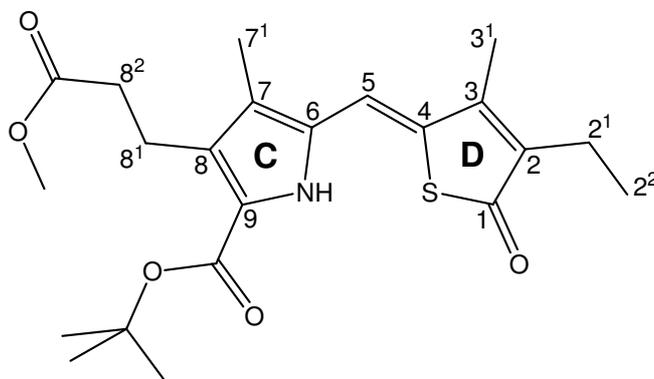
C<sub>33</sub>H<sub>37</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 589.254992 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 589.25477 g · mol<sup>-1</sup>

### 8.8.5 Darstellung des 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-2-ethyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenons (**54**)<sup>32,141</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre wird eine Lösung aus 0.30 g (1.0 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**), 0.15 g (1.1 mmol) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**), 0.35 ml (2.3 mmol) DBU in 1.4 ml trockenem THF, der Molekularsieb (3 Å) zugesetzt worden ist, für 19 h im Dunkeln unter Rückfluss gekocht. Die Lösung wird vom Molekularsieb abdekantiert und das Molekularsieb mit Chloroform so lange gewaschen, bis sich das Lösungsmittel nicht mehr färbt. Nach Vereinigung der organischen Phasen werden diese dreimal mit je 100 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (2 M), dreimal mit je 100 ml gesättigter KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung sowie dreimal mit je 100 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen und anschließend über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 0.58 g des dunkelbraun gefärbten, festen Rohprodukts zurück. Dieses wird säulenchromatographisch mit einer Mischung aus Dichlormethan und Ethylacetat (19:1, v/v) gereinigt. Erhalten werden 0.21 g (0.5 mmol,

## ■ Experimenteller Teil

49.0 %) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenon (**54**) in Form eines gelborange gefärbten Feststoffs.



(**54**)

**Smp.** = 67 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.06 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.58 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>), 1.56 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.12 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.27 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.42 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.60 Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>), 2.52 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.87 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.89 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.64 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.93 (s, 1 H, CH-5), 8.98 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 9.07 (C-7<sup>1</sup>), 12.66 (C-2<sup>1</sup>), 13.11 (C-2<sup>2</sup>), 18.97 (C-3<sup>1</sup>), 20.35 (C-8<sup>1</sup>), 28.33 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.64 (C-8<sup>2</sup>), 51.48 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 81.69 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 114.31 (C-5), 124.28, 125.66, 127.87, 129.07, 131.21 (C-4, -6, -7, -8, -9), 139.59 (C-2), 153.09 (C-3), 159.82 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 173.44 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 192.32 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3429 (NH-Valenz), 2974 (CH-Valenz), 2952 (CH-Valenz), 2934 (CH-Valenz), 2875 (CH-Valenz), 1740 (C=O-Valenz, Methylester), 1675 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1608 (C=C-Valenz), 1583, 1537, 1437 (CH-Deformation, asym.), 1383 (CH-Deformation, sym.), 1368 (CH-Deformation, sym.), 1276 (C-O-Valenz), 1197, 1165 (C-O-Valenz), 1140, 1054, 985, 961, 884 (C-O-C-Valenz, sym.), 847 (C-O-C-Valenz, sym.), 816, 778, 741, 708, 649 (C-S-Valenz), 545, 514, 473

**UV/Vis-Spektrum** (n-Hexan):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 267 nm (12900), 401 nm (21800), 419 nm (21300)

**Massenspektrum** (EI, 120 °C):

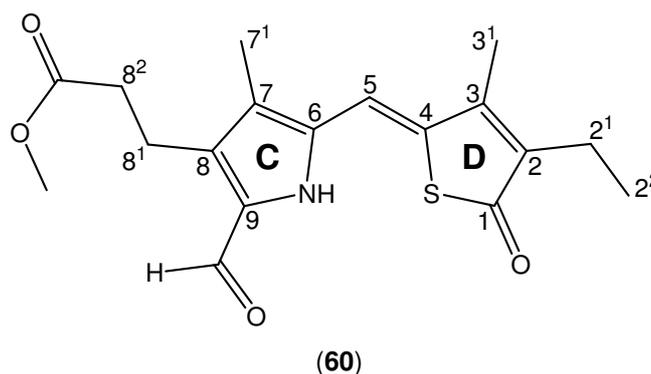
$m/z$  (%) = 419 (26,  $M^+$ ), 363 (100), 317 (13), 303 (24), 290 (6), 244 (3), 216 (2),  
166 (1), 129 (2), 91 (1), 73 (1), 57 (3)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{22}H_{29}NNaO_5S$  [ $M + Na$ ] $^+$ : theoretisch 442.166415 g · mol $^{-1}$ , experimentell  
442.16614 g · mol $^{-1}$

**8.8.6 Darstellung des 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenons (60)**<sup>31,32,83</sup>

Bei Lichtausschluss werden unter einer Inertgasatmosphäre 113 mg (0.27 mmol) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon (**54**) in 8.4 ml (108 mmol) TFA gelöst und 3 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 8.4 ml (75.2 mmol) Orthoameisensäuretrimethylester wird die Lösung weitere 40 min gerührt, anschließend in 450 ml entgastem Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit jeweils 200 ml entgastem Wasser sowie zweimal mit jeweils 200 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 118 mg des Rohprodukts in Form eines blaugrün gefärbten Feststoffs zurück. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) getrennt. Nach Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung werden 32 mg (0.09 mmol, 34.4 %) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenon (**60**) in Form eines gelb gefärbten Feststoffs erhalten.



**Smp.** = 151 °C

## ■ Experimenteller Teil

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

$\delta$  (ppm) = 1.07 (t, 3 H,  $^3J = 7.55$  Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>), 2.14 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.29 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.44 (q, 2 H,  $^3J = 7.52$  Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>), 2.57 (t, 2 H,  $^3J = 7.55$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 3.04 (t, 2 H,  $^3J = 7.55$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.93 (s, 1 H, CH-5), 9.04 (s breit, 1 H, NH), 9.71 (s, 1 H, CHO)

### **<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.96 (C-7<sup>1</sup>), 12.66 (C-2<sup>2</sup>), 13.06 (C-2<sup>1</sup>), 18.96 (C-3<sup>1</sup>), 19.07 (C-8<sup>1</sup>), 35.20 (C-8<sup>2</sup>), 51.75 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 113.39 (C-5), 125.31, 131.61, 131.77, 132.40, 134.28 (C-4, -6, -7, -8, -9), 140.77 (C-2), 152.67 (C-3), 172.58 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 177.65 (CHO), 193.00 (C-1)

### **IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3428 (NH-Valenz), 2972 (CH-Valenz), 2934 (CH-Valenz), 2861 (CH-Valenz), 1742 (C=O-Valenz, Methylester), 1673 (C=O-Valenz), 1643 (C=O-Valenz, Aldehyd), 1608 (C=C-Valenz), 1584, 1439 (CH-Deformation, asym.), 1412, 1385 (CH-Deformation, sym.), 1368 (CH-Deformation, sym.), 1225, 1203, 1167, 1059, 867, 852, 838 (CH-Deformation, unges., oop), 715, 519, 471

### **UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (5:1, v/v)):

$\lambda_{\max}$  = 241 nm, 279 nm, 407 nm, 413 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

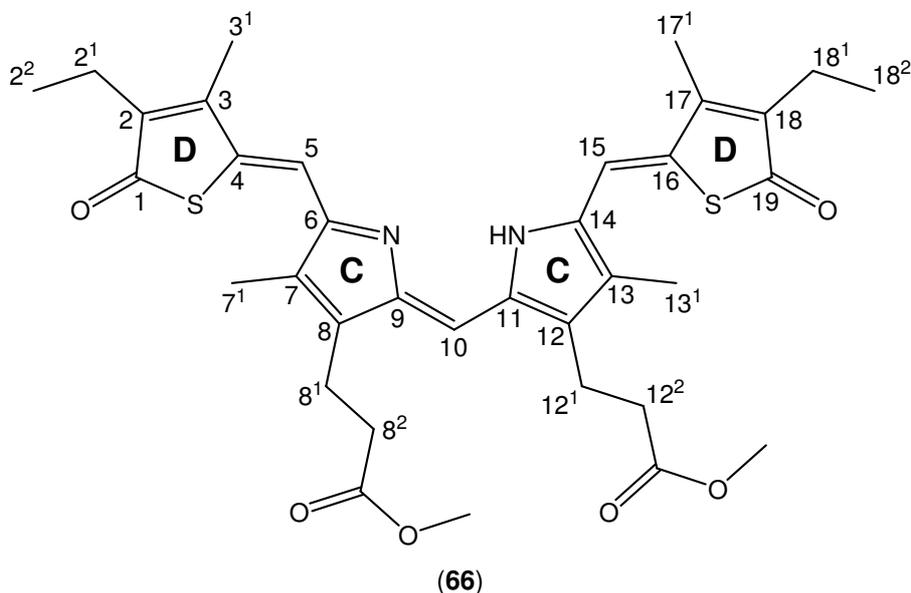
### **Massenspektrum** (EI, 155 °C):

$m/z$  (%) = 347 (100, M<sup>+</sup>), 332 (4), 318 (32), 288 (20), 246 (9), 230 (8), 184 (2), 166 (3), 144 (3), 115 (2), 91 (2), 77 (3), 65 (1), 41 (1)

### **Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos., Methanol + Dichlormethan):

C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NNaO<sub>4</sub>S [M + Na]<sup>+</sup>: theoretisch 370.108349 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 370.108433 g · mol<sup>-1</sup>

Als Nebenprodukt lassen sich 14 mg (0.022 mmol; 8.0 %) des Dimerisierungsprodukts **(66)** in Form eines blaugrün gefärbten Feststoffs isolieren.



Smp. = 209–211 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.04 (t, 6 H, <sup>3</sup>J = 7.54 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>2</sup>, -18<sup>2</sup>), 2.11 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>, 13<sup>1</sup>), 2.32 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 2.39 (q, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.52 Hz, CH<sub>2</sub>-2<sup>1</sup>, -18<sup>1</sup>), 2.55 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.55 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 2.93 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.41 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 6.93 (s breit, 1 H, CH-10), 7.02 (s breit, 2 H, CH-5, -15)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, BB, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 11.18 (C-7<sup>1</sup>, -13<sup>1</sup>), 12.76 (C-3<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 12.94 (C-2<sup>2</sup>, -18<sup>2</sup>), 18.81 (C2<sup>1</sup>, -18<sup>1</sup>), 19.84 (C-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 35.10 (C-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 51.72 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 115.56 (C-5, -15), 117.26 (C-10), 128.53, 128.79, 130.86, 138.21, 139.31 (C-4, -6, -7, -8, -9, -11, -12, -13, -14, -16), 141.88 (C-2, -18), 152.26 (C-3, -17), 173.03 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 195.15 (C-1, -19)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3449 (NH-Valenz), 2965 (CH-Valenz), 2931 (CH-Valenz), 2872 (CH-Valenz), 1736 (C=O-Valenz, Methylester), 1666, 1652, 1609, 1458 (CH<sub>2</sub>-Deformation), 1437 (CH<sub>3</sub>-Deformation, asym.), 1384, 1364 (CH<sub>3</sub>-Deformation, sym.), 1315, 1265, 1197, 1171 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1095 (C-O-Valenz, sym., Methylester), 966, 934, 860

**UV/Vis-Spektrum** (Diethylether):

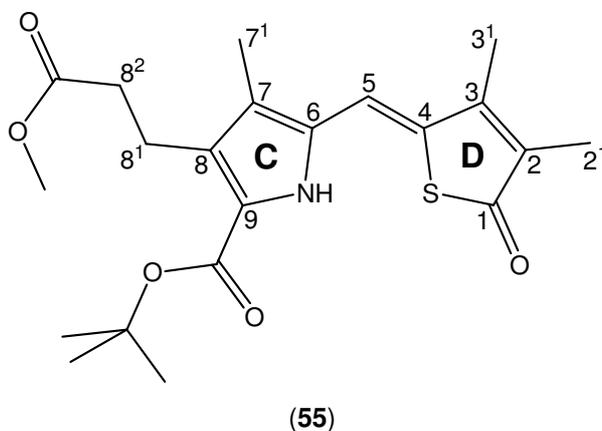
$$\lambda_{\max} (\epsilon) = 261 \text{ nm (6700)}, 328 \text{ nm (13500)}, 378 \text{ nm (24000)}, 628 \text{ nm (13000)}$$

**Massenspektrum** (EI, 250 °C):

$$m/z (\%) = 648 (100, M^+), 561 (16), 501 (13), 408 (4), 349 (5), 271 (4), 199 (5), 139 (1), 97 (1), 55 (1)$$

**8.8.7 Darstellung des 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenons (55)**<sup>32,141</sup>

Unter einer Inertgasatmosphäre wird eine Lösung aus 0.30 g (1.0 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**), 0.13 g (1.0 mmol) 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon (**37**), 0.35 ml (2.3 mmol) DBU in 1.5 ml trockenem THF, der Molekularsieb (3 Å) zugesetzt worden ist, für 19 h im Dunkeln unter Rückfluss gekocht. Die Lösung wird vom Molekularsieb abdekantiert und dieses mit Chloroform so lange gewaschen, bis sich das Lösungsmittel nicht mehr färbt. Nach Vereinigung der organischen Phasen werden diese dreimal mit je 100 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (2 M), dreimal mit je 100 ml gesättigter KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung sowie dreimal mit je 100 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen und anschließend über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 0.62 g des dunkelbraun gefärbten, öligen Rohprodukts zurück. Dieses wird säulenchromatographisch mit einer Mischung aus Dichlormethan und Ethylacetat (19:1, v/v) gereinigt. Erhalten werden 0.14 g (0.3 mmol, 34.0 %) 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon (**55**) in Form eines gelborange gefärbten Feststoffs. Zusätzlich werden 0.05 g 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) als gelborange gefärbtes Öl zurückgewonnen, so dass die Ausbeute an 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon (**55**) bezüglich des umgesetzten Edukts (**33**) 40.4 % beträgt.



**Smp.** = 68 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.57 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 2.13 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>),  
2.27 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.53 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.89 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 3.00 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.91 Hz,  
CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.94 (s, 1 H, CH-5), 8.99 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 9.11 (C-7<sup>1</sup>), 10.89 (C-2<sup>1</sup>), 13.03 (C-3<sup>1</sup>), 20.37 (C-8<sup>1</sup>), 28.37 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>),  
34.67 (C-8<sup>2</sup>), 51.51 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 81.74 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 114.21 (C-5), 124.31, 125.73,  
127.87, 129.11, 131.11 (C-4, -6, -7, -8, -9), 133.98 (C-2), 153.37 (C-3),  
159.84 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 173.48 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 192.60 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3400 (NH-Valenz), 2968 (CH-Valenz), 2952 (CH-Valenz), 2930 (CH-Valenz),  
1737 (C=O-Valenz, Methylester), 1694 (C=O-Valenz), 1678 (C=O-Valenz, tert-  
Butylester), 1610 (C=C-Valenz), 1587, 1537, 1438 (CH-Deformation, asym.), 1384  
(CH-Deformation, sym.), 1367 (CH-Deformation, sym.), 1274 (C-O-Valenz), 1255,  
1162 (C-O-Valenz), 1138, 1056, 1010, 906, 852 (C-O-C-Valenz, sym.), 808, 776, 689,  
541, 490, 473

**UV/Vis-Spektrum** (n-Hexan):

$\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) = 267 nm (16700), 400 nm (29300), 418 nm (29100)

**Massenspektrum** (EI, 125 °C):

m/z (%) = 405 (28, M<sup>+</sup>), 349 (100), 303 (11), 289 (24), 276 (6), 258 (4), 229 (4),  
202 (4), 168 (2), 136 (2), 115 (1), 91 (1), 77 (1), 57 (5), 41 (3)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (EI):

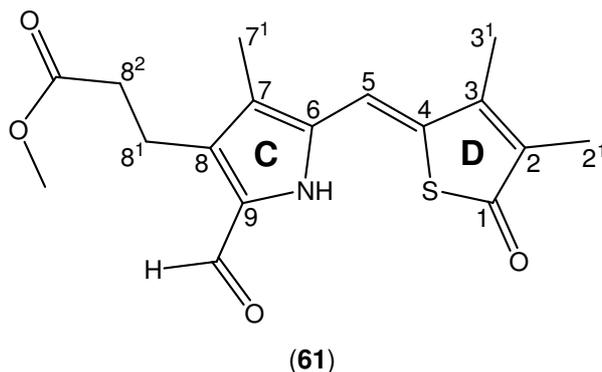
C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub>S: theoretisch 405.160996 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 405.161075 g · mol<sup>-1</sup>

**8.8.8 Darstellung des 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenons (61)**<sup>31,32,83</sup>

Bei Lichtausschluss werden unter einer Inertgasatmosphäre 139 mg (0.34 mmol) 9-Carbonsäure-tert-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon (**55**) in 10.0 ml (129 mmol) TFA gelöst und 3 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 10.0 ml (89.6 mmol) Orthoameisensäuretrimethylester wird die Lösung weitere 30 min gerührt, anschließend in 450 ml entgastem Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit jeweils 200 ml entgastem Wasser sowie zweimal mit jeweils

## ■ Experimenteller Teil

200 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 106 mg des Rohprodukts in Form eines olivgrün gefärbten Feststoffs zurück. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) getrennt. Nach Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung werden 41 mg (0.12 mmol, 36.1 %) 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon (**61**) in Form eines gelb gefärbten Feststoffs erhalten.



**Smp.** = 182 °C

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

δ (ppm) = 1.98 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 2.14 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.28 (d, 3 H, J = 0.80 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.57 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.55 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>), 3.03 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.55 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>), 3.66 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.93 (s, 1 H, CH-5), 9.04 (s breit, 1 H, NH), 9.71 (s, 1 H, CHO)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ (ppm) = 8.99 (C-7<sup>1</sup>), 10.99 (C-2<sup>1</sup>), 13.01 (C-3<sup>1</sup>), 18.97 (C-8<sup>1</sup>), 35.20 (C-8<sup>2</sup>), 51.77 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 113.32 (C-5), 125.36, 131.60, 131.76, 132.45, 134.17 (C-4, -6, -7, -8, -9), 135.20 (C-2), 152.96 (C-3), 172.59 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 177.68 (CHO), 192.11 (C-1)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3426 (NH-Valenz), 2921 (CH-Valenz), 2858 (CH-Valenz), 1727 (C=O-Valenz, Methylester), 1669 (C=O-Valenz), 1632 (C=O-Valenz, Aldehyd), 1609 (C=C-Valenz), 1587, 1438 (CH-Deformation, asym.), 1417, 1386 (CH-Deformation, sym.), 1366 (CH-Deformation, sym.), 1317, 1240, 1220, 1167 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1023, 957, 861, 842 (CH-Deformation, unges., oop), 758, 724, 530, 485

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (5:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  = 240 nm, 279 nm, 407 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (EI, 160 °C):

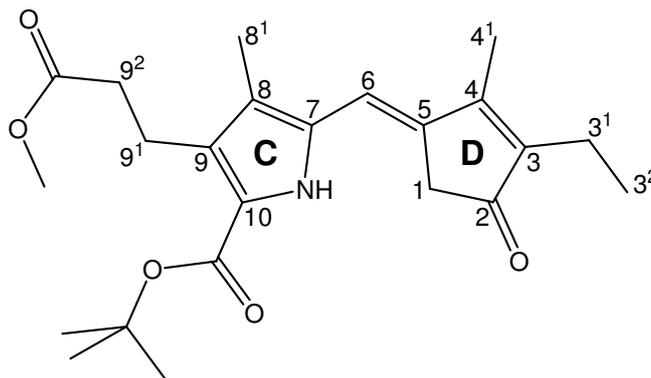
$m/z$  (%) = 333 (100,  $M^+$ ), 304 (24), 274 (21), 260 (10), 246 (10), 216 (4), 202 (5),  
166 (4), 144 (4), 115 (6), 91 (3), 77 (5), 59 (5), 39 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos., Methanol + Dichlormethan):

$C_{17}H_{19}NNaO_4S$  [ $M + Na$ ]<sup>+</sup>: theoretisch 356.092702 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
356.092725 g · mol<sup>-1</sup>

**8.8.9 Darstellung des 3-Ethyl-10-carbonsäure-*tert*-butylester-9-(3-methoxycarbonylethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons (56)**<sup>138,142</sup>

Unter Inertgas werden bei Raumtemperatur 0.10 g (2.5 mmol) einer Natriumhydridemulsion in Mineralöl in 8.0 ml THF suspendiert und mit einer Lösung aus 0.59 g (2.3 mmol) (3-Ethyl-2-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**48**) in 6.0 ml THF versetzt. Die sich braun färbende Suspension wird unter Wasserstoffentwicklung 1 h bei 60–62 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgt die Zugabe einer aus 0.35 g (1.2 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) und 8.0 ml THF bestehenden Lösung. Die Mischung wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich eine dunkelbraun gefärbte, klare Lösung bildet, welche 21 h unter Rückfluss gekocht wird. Danach wird sie mit 2.4 ml gesättigter  $NH_4Cl$ -Lösung versetzt, wobei unter Gelbfärbung der Lösung ein farbloser Feststoff ausfällt. Dieser wird in jeweils 90 ml Ethylacetat und Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird von der organischen Phase abgetrennt und fünfmal mit jeweils 90 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden viermal mit jeweils 90 ml gesättigter  $NaCl$ -Lösung gewaschen und über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 0.67 g eines braun gefärbten, klaren Öls zurück, bei dem es sich um das Rohprodukt handelt. Dieses wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) gereinigt. Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung ergeben 0.14 g (0.34 mmol, 28.6 %) 3-Ethyl-10-carbonsäure-*tert*-butylester-9-(3-methoxycarbonylethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**56**) in Form eines gelborange gefärbten, klaren, viskosen Öls. Außerdem lassen sich 37 mg 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) als hellgelb gefärbtes, klares Öl zurückgewinnen, so dass die Ausbeute an (**56**) bezüglich umgesetzten (**33**) 32.0 % beträgt.



(56)

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

$\delta$  (ppm) = 1.03 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.59 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.56 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.09 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-8<sup>1</sup>), 2.17 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.33 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.65 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup>), 2.51 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.98 Hz, CH<sub>2</sub>-9<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.00 Hz, CH<sub>2</sub>-9<sup>1</sup>), 3.15 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>-1), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.47 (s, 1 H, CH-6), 8.67 (s breit, 1 H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (126 MHz, BB, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.69 (C-8<sup>1</sup>), 11.47 (C-4<sup>1</sup>), 12.75 (C-3<sup>2</sup>), 16.69 (C-3<sup>1</sup>), 20.31 (C-9<sup>1</sup>), 28.15 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.62 (C-9<sup>2</sup>), 38.27 (C-1), 51.25 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 81.19 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 109.81 (C-6), 121.95 (C-10), 122.62 (C-8), 128.46 (C-9), 129.11 (C-7), 133.48 (C-5), 144.10 (C-3), 160.16 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 163.32 (C-4), 173.29 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 202.68 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3471 (NH-Valenz), 2974 (CH-Valenz), 2933 (CH-Valenz), 2875 (CH-Valenz), 1739 (C=O-Valenz, Methylester), 1691 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1619, 1439 (CH-Deformation, asym.), 1394 (CH-Deformation), 1368 (CH-Deformation, sym.), 1275 (C-O-Valenz), 1254, 1166 (C-O-Valenz), 1137, 1098, 1057, 983, 962, 929, 855 (C-O-C-Valenz, sym.), 809, 777, 697, 649

**UV/Vis-Spektrum** (n-Hexan):

$\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) = 253 nm (23500), 369 nm (27800), 388 nm (19600)

**Massenspektrum** (EI, 150 °C):

$m/z$  (%) = 401 (27, M<sup>+</sup>), 379 (2), 359 (5), 345 (100), 285 (24), 242 (5), 182 (3), 115 (1), 91 (1), 77 (1), 57 (4), 41 (2)

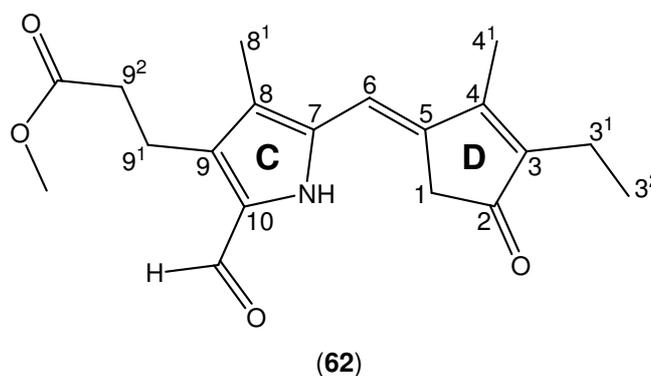
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{23}H_{31}NNaO_5$   $[M + Na]^+$ : theoretisch 424.209440 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell

424.209631 g · mol<sup>-1</sup>

**8.8.10 Darstellung des 3-Ethyl-10-formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons (62)**<sup>32,83</sup>

Bei Lichtausschluss werden unter einer Inertgasatmosphäre 70 mg (0.17 mmol) 3-Ethyl-10-carbonsäure-*tert*-butylester-9-(3-methoxycarbonyl-ethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**56**) in 5.3 ml (68.1 mmol) TFA gelöst und 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird auf einem Eisbad gekühlt, innerhalb von 5 min mit 5.3 ml (47.5 mmol) Orthoameisensäuretrimethylester versetzt, 15 min gerührt, danach auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 30 min gerührt. Anschließend wird die olivgrün gefärbte Lösung in 280 ml Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit jeweils 140 ml Wasser sowie zweimal mit jeweils 140 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels bleiben 74 mg des Rohprodukts in Form eines olivgrün gefärbten Feststoffs zurück. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) aufgereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung werden 24 mg (0.07 mmol, 41.0 %) 3-Ethyl-10-formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**62**) in Form gelb gefärbter, nadelförmiger Kristalle erhalten.



Smp. = 186 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.04 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.59 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 2.11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-8<sup>1</sup>), 2.18 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.34 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.57 Hz, CH<sub>2</sub>-3<sup>1</sup>), 2.56 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.67 Hz, CH<sub>2</sub>-9<sup>2</sup>), 3.03 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.61 Hz, CH<sub>2</sub>-9<sup>1</sup>), 3.20 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>-1), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.47 (s, 1 H, CH-6), 8.87 (s breit, 1 H, NH), 9.63 (s, 1 H, CHO)

## ■ Experimenteller Teil

**$^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum** (101 MHz,  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 8.83 (C-8<sup>1</sup>), 11.69 (C-4<sup>1</sup>), 12.90 (C-3<sup>2</sup>), 17.02 (C-3<sup>1</sup>), 19.03 (C-9<sup>1</sup>),  
35.34 (C-9<sup>2</sup>), 38.62 (C-1), 51.74 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 109.31 (C-6), 123.03 (C-8), 130.20 (C-10),  
133.03 (C-9), 133.67 (C-7), 136.87 (C-5), 145.77 (C-3), 162.76 (C-4),  
172.64 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 177.00 (CHO), 202.42 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3341 (NH-Valenz), 2960 (CH-Valenz), 2934 (CH-Valenz), 2873 (CH-Valenz), 1725 (C=O-Valenz, Methylester), 1677 (C=O-Valenz  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1663 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -,  $\gamma\delta$ -unges. Aldehyd), 1588, 1552, 1479, 1445 (CH-Deformation, asym.), 1395 (CH-Deformation, sym.), 1334, 1305, 1273, 1248, 1192, 1168 (C=O-Valenz, asym., Methylester), 1064, 1004, 939, 886, 798 (CH-Deformation, oop), 768, 690, 648, 623

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (5:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  = 229 nm, 273 nm, 386 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (EI, 150 °C):

$m/z$  (%) = 329 (100,  $\text{M}^+$ ), 314 (5), 300 (30), 270 (20), 256 (8), 242 (9), 226 (12),  
212 (13), 198 (10), 170 (6), 144 (4), 130 (6), 106 (5), 91 (6), 77 (6), 65 (3), 53 (3),  
41 (5)

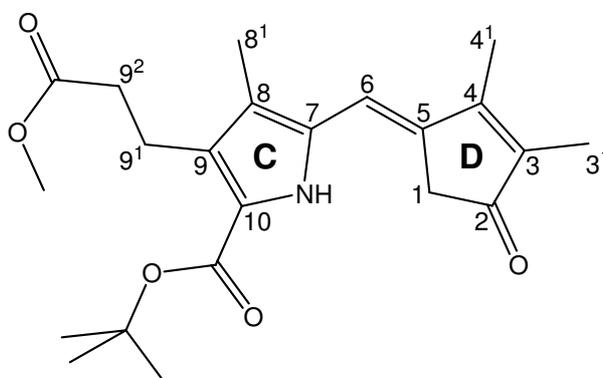
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NNaO}_4$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>: theoretisch 352.151930  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  
352.151556  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

### 8.8.11 Darstellung des 10-Carbonsäure-*tert*-butylester-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons (57)<sup>138,142</sup>

Unter Inertgas und Lichtausschluss werden bei Raumtemperatur 0.07 g (1.7 mmol) einer Natriumhydridemulsion in Mineralöl in 4.9 ml THF suspendiert und mit einer Lösung aus 0.38 g (1.6 mmol) (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**49**) in 3.7 ml THF versetzt. Die sich braun färbende Suspension wird unter Wasserstoffentwicklung 1 h bei 60–70 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgt die Zugabe einer aus 0.24 g (0.8 mmol) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) und 4.8 ml THF bestehenden Lösung. Die Mischung wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich eine dunkelrot gefärbte, klare Lösung bildet, welche 21 h unter Rückfluss gekocht wird. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird sie

mit 1.8 ml gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung versetzt und 30 min gerührt, wobei unter Orange-färbung der Lösung ein farbloser Feststoff ausfällt. Anschließend wird das zweiphasige Gemisch in jeweils 60 ml Ethylacetat und Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird von der organischen Phase abgetrennt und fünfmal mit jeweils 60 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden viermal mit jeweils 60 ml gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleiben 0.56 g eines braun gefärbten, hochviskosen Öls zurück, bei dem es sich um das Rohprodukt handelt. Dieses wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) gereinigt. Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung ergeben 0.11 g (0.28 mmol, 33.8 %) 10-Carbonsäure-*tert*-butylester-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**57**) in Form eines gelborange gefärbten Feststoffs.

**(57)**

**Smp.** = 111 °C

**$^1\text{H-NMR}$ -Spektrum** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 1.56 (s, 9 H,  $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.86 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ -3<sup>1</sup>), 2.09 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ -8<sup>1</sup>), 2.17 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ -4<sup>1</sup>), 2.52 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.99 Hz,  $\text{CH}_2$ -9<sup>2</sup>), 2.99 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 8.01 Hz,  $\text{CH}_2$ -9<sup>1</sup>), 3.16 (s, 2 H,  $\text{CH}_2$ -1), 3.66 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 6.47 (s, 1 H,  $\text{CH}$ -6), 8.67 (s breit, 1 H,  $\text{NH}$ )

**$^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum** (126 MHz, BB,  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 8.52 (C-3<sup>1</sup>), 8.70 (C-8<sup>1</sup>), 11.75 (C-4<sup>1</sup>), 20.30 (C-9<sup>1</sup>), 28.16 ( $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 34.62 (C-9<sup>2</sup>), 38.08 (C-1), 51.24 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 81.19 ( $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 109.64 (C-6), 121.95 (C-10), 122.65 (C-8), 128.46 (C-9), 129.07 (C-7), 133.40 (C-5), 138.54 (C-3), 160.17 ( $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 163.76 (C-4), 173.28 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 202.94 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3473 (NH-Valenz), 2975 (CH-Valenz), 2953 (CH-Valenz), 2929 (CH-Valenz), 1737 (C=O-Valenz, Methylester), 1676 (C=O-Valenz, *tert*-Butylester), 1624, 1595, 1439 (CH-Deformation, asym.), 1393 (CH-Deformation), 1368 (CH-Deformation, sym.), 1331, 12745 (C-O-Valenz), 1256, 1165 (C-O-Valenz), 1138, 1091, 1056, 962, 942, 882, 848 (C-O-C-Valenz, sym.), 808, 777, 655, 545, 470, 452

**UV/Vis-Spektrum** (n-Hexan):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 252 nm (15500), 368 nm (21400), 387 nm (17700)

**Massenspektrum** (EI, 125 °C):

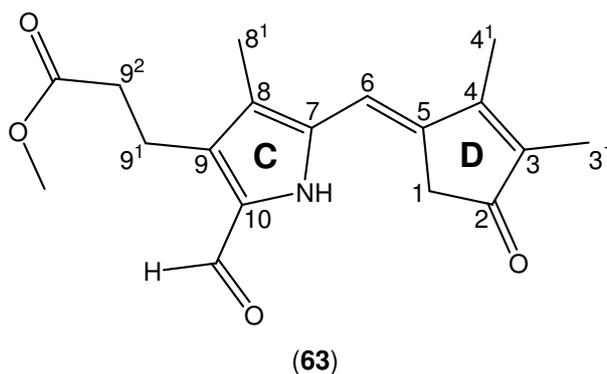
$m/z$  (%) = 387 (25, M<sup>+</sup>), 331 (100), 300 (9), 271 (24), 258 (7), 228 (5), 212 (4), 184 (4), 127 (3), 91 (2), 77 (2), 57 (7), 41 (5)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>NNaO<sub>5</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: theoretisch 410.193795 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 410.193322 g · mol<sup>-1</sup>

**8.8.12 Darstellung des 10-Formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-ons (63)**<sup>32,83</sup>

Bei Lichtausschluss werden unter einer Inertgasatmosphäre 0.11 g (0.28 mmol) 10-Carbonsäure-*tert*-butylester-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**57**) in 9.4 ml (120.8 mmol) TFA gelöst und 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird auf einem Eisbad gekühlt, innerhalb von 5 min mit 9.4 ml (84.2 mmol) Orthoameisensäuretrimethylester versetzt, 15 min gerührt, danach auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 30 min gerührt. Anschließend wird die olivgrün gefärbte Lösung in 500 ml Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit jeweils 250 ml Wasser sowie zweimal mit jeweils 250 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels bleibt das Rohprodukt in Form eines olivgrün gefärbten Feststoffs zurück. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols und Gefriertrocknung der wässrigen Lösung werden 0.03 g (0.09 mmol, 33.3 %) 10-Formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**63**) in Form gelb gefärbter, nadelförmiger Kristalle erhalten.



Smp. = 196 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.87 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-3<sup>1</sup>), 2.11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-8<sup>1</sup>), 2.17 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-4<sup>1</sup>), 2.56 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.60 Hz, CH<sub>2</sub>-9<sup>2</sup>), 3.03 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.59 Hz, CH<sub>2</sub>-9<sup>1</sup>), 3.20 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>-1), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.47 (s, 1 H, CH-6), 8.84 (s breit, 1 H, NH), 9.63 (s, 1 H, CHO)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY, CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  (ppm) = 8.84 (C-8<sup>1</sup>), 8.88 (C-3<sup>1</sup>), 11.96 (C-4<sup>1</sup>), 19.04 (C-9<sup>1</sup>), 35.31 (C-9<sup>2</sup>), 38.46 (C-1), 51.76 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 109.05 (C-6), 122.89 (C-8), 129.75 (C-10), 132.35 (C-9), 133.43 (C-7), 136.35 (C-5), 140.05 (C-3), 162.89 (C-4), 172.14 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 176.27 (CHO), 202.23 (C-2)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3340 (NH-Valenz), 2953 (CH-Valenz), 2917 (CH-Valenz), 2858 (CH-Valenz), 1725 (C=O-Valenz, Methylester), 1682 (C=O-Valenz  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1656 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -,  $\gamma\delta$ -unges. Aldehyd), 1596, 1550, 1479, 1445 (CH-Deformation, asym.), 1395 (CH-Deformation, sym.), 1347, 1306, 1262, 1236, 1192, 1167 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1093, 1065, 1012, 938, 881, 783 (CH-Deformation, oop), 690, 657, 625

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (5:1, v/v)):

$\lambda_{\max}$  = 277 nm, 386 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (EI, 160 °C):

m/z (%) = 315 (100, M<sup>+</sup>), 300 (2), 286 (30), 256 (24), 242 (10), 228 (10), 212 (14), 198 (9), 184 (8), 170 (6), 144 (3), 130 (4), 106 (3), 91 (3), 77 (3), 65 (1), 55 (1), 41 (1)

## ■ Experimenteller Teil

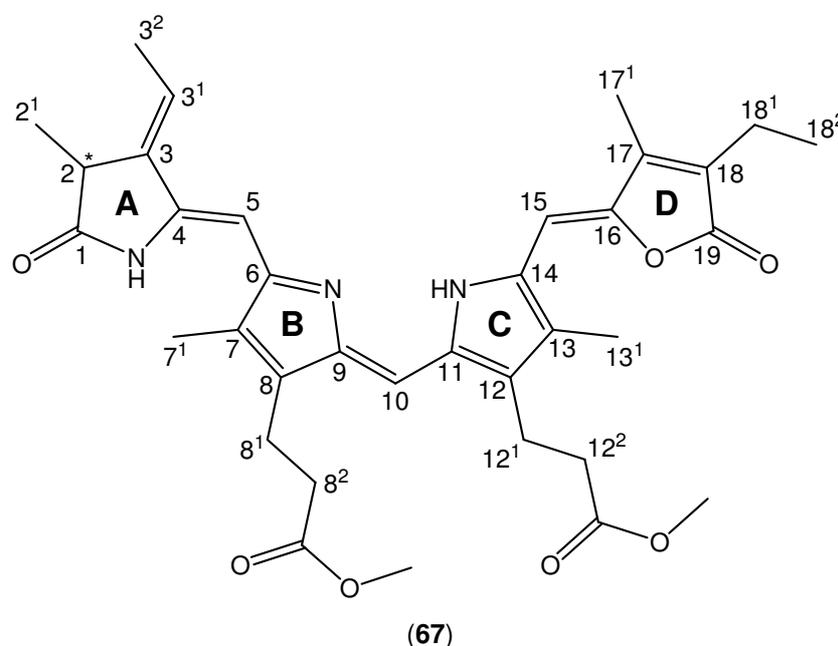
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{18}H_{21}NNaO_4 [M + Na]^+$ : theoretisch  $338.136279 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  
 $338.136020 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

## 8.9 Synthese der tetrapyrrolanalogen Verbindungen

### 8.9.1 Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB-dimethylesters (**67**)<sup>32,83</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 18.4 mg (0.04 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) in 0.9 ml (11.6 mmol) TFA gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung auf  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgekühlt, innerhalb von 5 min mit einer Lösung aus 16.0 mg (0.05 mmol) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon (**58**) und 4.2 ml (54.0 mmol) TFA versetzt und für 8 h bei  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Die dunkelgrün gefärbte Lösung wird mit 1.9 ml (46.9 mmol) Methanol versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie sich tiefblau färbt. Die Lösemittel werden im Inertgasstrom verdampft, der feste Rückstand in 30 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 30 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Abdestillieren des Lösemittels wird das Rohprodukt per HPLC mit einer Lösung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Phase, in der das blau gefärbte Produkt dispergiert vorliegt, dreimal mit je 30 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels ergibt 15.8 mg (0.03 mmol, 62.6 %) des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB-dimethylesters (**67**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs.



Smp. = 189–191  $^{\circ}\text{C}$

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

$\delta$  (ppm) = 1.06 (t, 3 H,  $^3J = 8.61$  Hz, CH<sub>3</sub>-18<sup>2</sup>), 1.41 (d, 3 H,  $^3J = 7.52$  Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.64 (dd, 3 H,  $^3J_d = 7.28$  Hz,  $J_d = 0.76$  Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.87 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 1.97 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 1.99 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.25 (q, 2 H,  $^3J = 7.57$  Hz, CH<sub>2</sub>-18<sup>1</sup>), 2.62 (t, 2 H,  $^3J = 7.42$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.66 (t, 2 H,  $^3J = 7.53$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.96 (t, 2 H,  $^3J = 7.44$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 2.98 (t, 2 H,  $^3J = 7.42$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.22 (q, 1 H,  $^3J = 7.63$  Hz, CH-2), 3.53 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.54 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.94 (s, 1 H, CH-5), 5.99 (s, 1 H, CH-15), 6.31 (dq, 1 H,  $J_d = 1.95$  Hz,  $^3J_q = 6.93$  Hz, CH-3<sup>1</sup>), 7.02 (s, 1 H, CH-10)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2925 (CH-Valenz), 2857 (CH-Valenz), 1737 (C=O-Valenz, Methylester), 1638 (C=O-Valenz, Amid), 1622, 1592, 1457 (CH-Deformation, asym.), 1384 (CH-Deformation, sym.), 1315 (C-N-Valenz), 1230, 1168 (C-O-Valenz), 1129, 1100, 945, 800 (CH-Deformation, oop), 699

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 279 nm (6400), 363 nm (15200), 603 nm (4800)

**Massenspektrum** (EI, 235 °C):

$m/z$  (%) = 615 (50, M<sup>+</sup>), 600 (100), 584 (4), 556 (2), 528 (8), 468 (3), 440 (2), 316 (7), 255 (2), 227 (4), 158 (1)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol):

$m/z$  (%) = 242 (2), 300 (3), 413 (4), 525 (5), 616 (71, [M + H]<sup>+</sup>), 638 (100, [M + Na]<sup>+</sup>), 654 (20, [M + K]<sup>+</sup>), 700 (27)

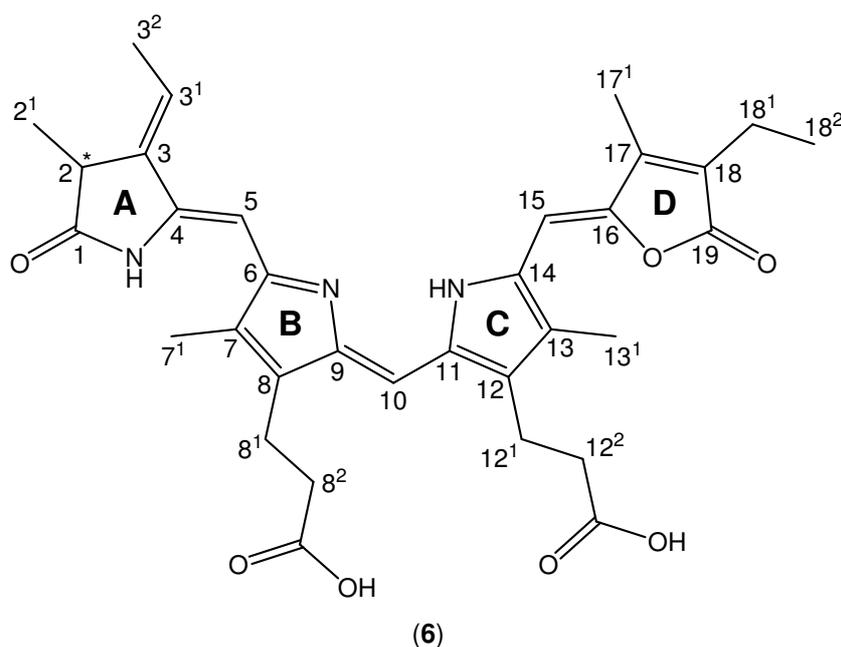
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: theoretisch 638.283672 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 638.283886 g · mol<sup>-1</sup>

**8.9.2 Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCBs (6)**<sup>31,32</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 11.1 mg (0.02 mmol) des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB-dimethylesters (**67**) in 30 ml einer Lösung aus TFA und Wasser (1:1, v/v) gelöst und mit 12.4 g saurem Ionenaustauscher, der zuvor dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde, versetzt. Die blau gefärbte Suspension wird 48 h bei Raumtemperatur gerührt, danach wird der Ionenaustauscher über eine Fritte (Größe

4) abfiltriert und abwechselnd jeweils fünfmal mit 40 ml Wasser und 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) gewaschen. Die wässrige Phase der vereinigten Filtrate wird von der tiefblau gefärbten organischen Phase separiert und viermal mit jeweils 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) extrahiert. Danach werden die vereinigten organischen Phasen solange mit jeweils 50 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, bis der pH-Wert der ablaufenden Waschlösung 6 beträgt. Anschließend wird die organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 17.6 mg des Rohprodukts in Form eines blauschwarz gefärbten Feststoffs erhalten. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Ammoniumacetat-Puffer (10 mM, pH 7) und Methanol (Gradient 1:1–1:8, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Suspension mit jeweils 30 ml Wasser und Chloroform versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird fünfmal mit jeweils 30 ml Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 7.8 mg (0.01 mmol, 73.6 %) des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCBs (6) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



Smp. = 205 °C

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

δ (ppm) = 1.11 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.55 Hz, CH<sub>3</sub>-18<sup>2</sup>), 1.46 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.52 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.68 (dd, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>d</sub> = 7.35 Hz, J<sub>d</sub> = 0.64 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.91 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.06 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 2.07 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.29 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.45 Hz, CH<sub>2</sub>-18<sup>1</sup>), 2.84 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.35 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.89 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.54 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.15 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.32 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.15 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.21 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.26 (dq, 1 H, J<sub>d</sub> = 0.65 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.52 Hz, CH-2), 5.97 (s, 1 H, CH-5), 6.02 (s, 1 H, CH-15), 6.33 (dq, 1 H, J<sub>d</sub> = 2.31 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.33 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 7.30 (s, 1 H, CH-10)

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (3:1, v/v)):

λ<sub>max</sub> (ε) = 279 nm, 367 nm, 611 nm (ε nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

m/z (%) = 441 (28), 491 (100), 553 (22), 588 (59, [M + H]<sup>+</sup>), 589 (20), 590 (5), 610 (37, [M + Na]<sup>+</sup>), 611 (15), 632 (18), 654 (19)

**Massenspektrum** (MALDI-TOF pos, α-CHCA):

m/z (%) = 573 (19, [M - 15]<sup>+</sup>), 574 (41, [M - 14]<sup>+</sup>), 575 (19), 576 (5), 587 (22), 588 (82, M<sup>+</sup>), 589 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 590 (91), 610 (9), 611 (35, [M + Na]<sup>+</sup>), 612 (16), 613 (6), 627 (6, [M + K]<sup>+</sup>)

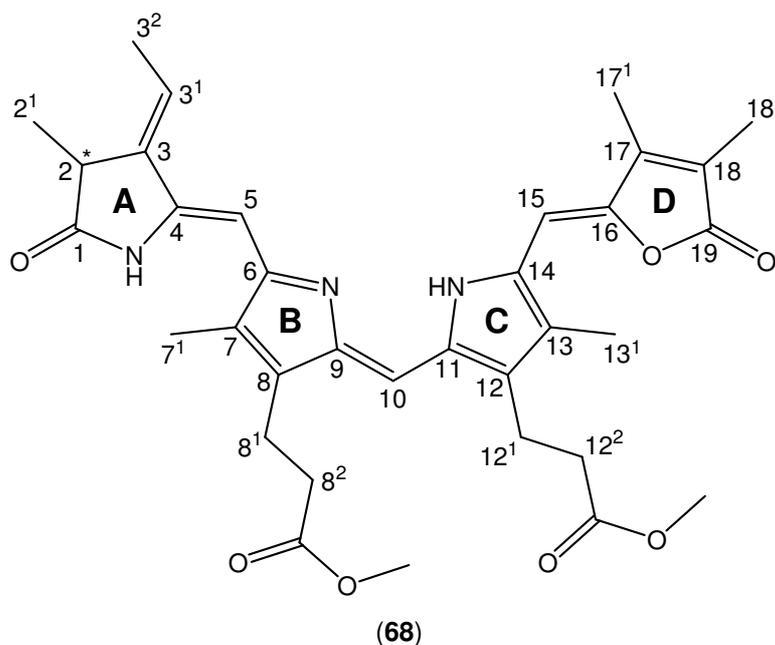
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 588.270429 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 588.271108 g · mol<sup>-1</sup>

### 8.9.3 Darstellung des 17,18-Dimethyl-oxa-PCB-dimethylesters (68)<sup>32,83</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 12.0 mg (0.03 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) in 0.65 ml (8.4 mmol) TFA gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung auf -15 °C abgekühlt, innerhalb von 5 min mit einer Lösung aus 8.9 mg (0.03 mmol) 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon (**59**) und 2.6 ml (33.4 mmol) TFA versetzt und 8 h bei -15 °C gerührt. Die dunkelgrün gefärbte Lösung wird mit 1.1 ml (27.1 mmol) Methanol versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie sich tiefblau färbt. Die Lösemittel werden im Inertgasstrom verdampft, der feste Rückstand in 17 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 15 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Abdestillieren des Lösemittels wird das Rohpro-

dukt per HPLC mit einer Lösung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Phase, in der das blau gefärbte Produkt dispergiert vorliegt, dreimal mit je 30 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 11.5 mg (0.02 mmol, 70.8 %) des 17,18-Dimethyl-oxa-PCB-dimethylesters (**68**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



Smp. = 228 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.47 (d, 3 H,  $^3J = 7.51$  Hz,  $\text{CH}_3$ -2<sup>1</sup>), 1.68 (d, 3 H,  $^3J = 7.28$  Hz,  $\text{CH}_3$ -3<sup>2</sup>), 1.81 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ -18<sup>1</sup>), 1.90 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ -7<sup>1</sup>), 2.02 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ -17<sup>1</sup>), 2.04 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ -13<sup>1</sup>), 2.67 (t, 2 H,  $^3J = 7.53$  Hz,  $\text{CH}_2$ -8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.71 (t, 2 H,  $^3J = 7.72$  Hz,  $\text{CH}_2$ -8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.02 (t, 4 H,  $^3J = 6.84$  Hz,  $\text{CH}_2$ -8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.25 (q, 1 H,  $^3J = 7.34$  Hz,  $\text{CH}$ -2), 3.58 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.59 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 5.99 (s, 1 H,  $\text{CH}$ -5), 6.05 (s, 1 H,  $\text{CH}$ -15), 6.35 (dq, 1 H,  $J_d = 2.26$  Hz,  $^3J_q = 7.21$  Hz,  $\text{CH}$ -3<sup>1</sup>), 7.08 (s, 1 H,  $\text{CH}$ -10)

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum** (101 MHz, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  (ppm) = 9.01 (C-2<sup>1</sup>), 9.89 (C-7<sup>1</sup>), 10.11 (C-17<sup>1</sup>), 10.30 (C-13<sup>1</sup>), 15.62 (C-2<sup>1</sup>), 19.40, 19.57 (C-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 34.73 (C-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 37.20 (C-2), 51.84, 51.86 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 136.50 (C-3), 172.35, 172.80 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 178.05 (C-1)

(Aufgrund des schlechten Signal-Rausch-Verhältnisses ist die eindeutige Zuordnung nicht aller Signale möglich.)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2922 (CH-Valenz), 2855 (CH-Valenz), 1740 (C=O-Valenz, Methylester), 1724, 1643 (C=O-Valenz, Amid), 1622, 1591, 1457 (CH-Deformation, asym.), 1411, 1384 (CH-Deformation, sym.), 1347, 1314 (C-N-Valenz), 1229, 1166 (C-O-Valenz), 1129, 1095, 998, 908, 798 (CH-Deformation, oop), 751, 699

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol):

$\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) = 275 nm (5800), 361 nm (14200), 605 nm (4400)

**Massenspektrum** (EI, 240 °C):

$m/z$  (%) = 601 (49,  $M^+$ ), 586 (100), 570 (4), 514 (9), 482 (2), 454 (3), 289 (15), 216 (12), 158 (1), 106 (1)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol):

$m/z$  (%) = 153 (1), 360 (1), 489 (1), 602 (9,  $[M + H]^+$ ), 624 (100,  $[M + Na]^+$ ), 646 (5), 722 (1)

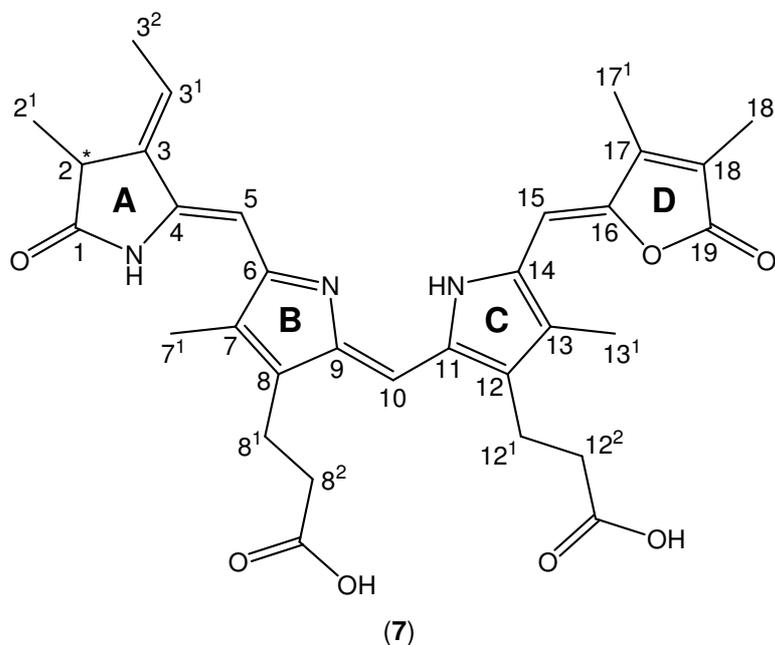
**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{34}H_{40}N_3O_7 [M + H]^+$ : theoretisch 602.286079  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell 602.285919  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.9.4 Darstellung des 17,18-Dimethyl-oxa-PCBs (7)**<sup>31,32</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 19.1 mg (0.03 mmol) des 17,18-Dimethyl-oxa-PCB-dimethylesters (**68**) in 56 ml einer Lösung aus TFA und Wasser (1:1, v/v) gelöst und mit 22.7 g saurem Ionenaustauscher, der zuvor dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde, versetzt. Die blau gefärbte Suspension wird 48 h bei Raumtemperatur gerührt, danach wird der Ionenaustauscher über eine Fritte (Größe 4) abfiltriert und abwechselnd jeweils fünfmal mit 75 ml Wasser und 75 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) gewaschen. Die wässrige Phase der vereinigten Filtrate wird von der tiefblau gefärbten organischen Phase separiert und viermal mit jeweils 75 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) extrahiert. Danach werden die vereinigten organischen Phasen solange mit jeweils 90 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, bis der pH-Wert der ablaufenden Waschlösung 6 beträgt, und anschließend über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 48.4 mg des Rohprodukts in Form eines blauschwarz gefärbten Feststoffs erhalten. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Ammoniumacetat-Puffer (10 mM, pH 7) und Methanol (Gradient 1:1–1:8, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Suspension mit jeweils 30 ml Wasser und Chloroform versetzt und die organi-

sche Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 30 ml Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 13.3 mg (0.02mmol, 70.3 %) des 17,18-Dimethyl-oxa-PCBs (7) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



**Smp.** = 244 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.47 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.21 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.68 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.21 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.81 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-18<sup>1</sup>), 1.89 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.06 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 2.07 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.85 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.28 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.89 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.43 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.15 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 6.87 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.16 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.50 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.24 (q, 1 H, <sup>3</sup>J = 7.74 Hz, CH-2), 5.98 (s, 1 H, CH-5), 6.04 (s, 1 H, CH-15), 6.35 (dq, 1 H, J<sub>d</sub> = 1.82 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 6.88 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 7.32 (s, 1 H, CH-10)

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (3:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) = 279 nm, 366 nm, 613 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol):

m/z (%) = 357 (10), 393 (10), 413 (25), 489 (11), 574 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 575 (37), 576 (10), 577 (5), 596 (73, [M + Na]<sup>+</sup>), 597 (30), 598 (6), 599 (5), 618 (33), 640 (27)

**Massenspektrum** (ESI neg, Methanol):

$m/z$  (%) = 468 (11), 528 (42), 529 (15), 572 (83,  $[M - H]^-$ ), 573 (31), 574 (7), 575 (2), 594 (100), 595 (38), 596 (7), 597 (3), 758 (3), 813 (47), 814 (24)

**Massenspektrum** (MALDI-TOF pos,  $\alpha$ -CHCA):

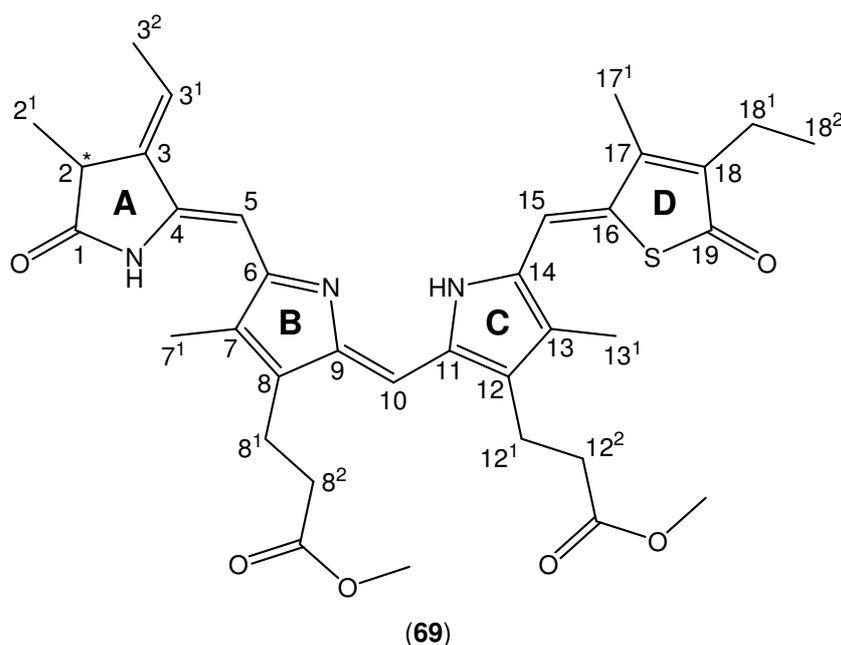
$m/z$  (%) = 523 (11), 524 (5), 551 (12), 552 (6), 559 (4,  $[M - 15]^+$ ), 560 (15,  $[M - 14]^+$ ), 561 (7), 573 (10), 574 (78,  $M^+$ ), 575 (100,  $[M + H]^+$ ), 576 (68), 577 (21), 597 (5,  $[M + Na]^+$ ), 612 (3), 613 (10,  $[M + K]^+$ ) 614 (4)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{32}H_{36}N_3O_7$   $[M + H]^+$ : theoretisch  $574.254778 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  $574.254557 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.9.5 Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB-dimethylesters (69)**<sup>32,83</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 13.8 mg (0.03 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) in 0.62 ml (8.0 mmol) TFA gelöst und 40 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung auf  $-14 \text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt, innerhalb von 5 min mit einer Lösung aus 10.8 mg (0.03 mmol) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenon (**60**) und 3.0 ml (38.6 mmol) TFA versetzt und 8 h bei  $-14 \text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Die dunkelgrün gefärbte Lösung wird mit 1.3 ml (32.1 mmol) Methanol versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie sich tiefblau färbt. Die Lösemittel werden im Inertgasstrom verdampft, der feste Rückstand in 25 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 17 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Abdestillieren des Lösemittels wird das Rohprodukt säulenchromatographisch bei Normaldruck mit einer Mischung aus Dichlormethan und Ethylacetat (2:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 16.5 mg (0.03 mmol, 65.1 %) des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB-dimethylesters (**69**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



Smp. = 143 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.07 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.31 Hz, CH<sub>3</sub>-18<sup>2</sup>), 1.41–1.46 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.69 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 6.48 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.91–1.95 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.14 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.29 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 2.44 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 6.40 Hz, CH<sub>2</sub>-18<sup>1</sup>), 2.57 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.53 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.04 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.55 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.31–3.36 (m, 1 H, CH-2), 3.63 (d, 3 H, J = 2.68 Hz, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.65 (d, 3 H, J = 1.49 Hz, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.87 (s, 1 H, CH-5), 6.43 (s, 1 H, CH-15), 6.51–6.58 (m, 1 H, CH-3<sup>1</sup>), 6.98 (s, 1 H, CH-10)

IR-Spektrum (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3443 (NH-Valenz), 2925 (CH-Valenz), 2855 (CH-Valenz), 1734 (C=O-Valenz, Methylester), 1637 (C=O-Valenz, Amid), 1560, 1507, 1458 (CH-Deformation), 1438 (CH-Deformation, asym.), 1384 (CH-Deformation, sym.), 1339 (CH-Deformation), 1261, 1211 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1168 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1130, 1107, 1038, 984, 854, 805 (CH-Deformation, oop), 774, 527, 498

UV/Vis-Spektrum (Methanol):

$\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) = 279 nm (9800), 379 nm (13100), 629 nm (5500)

Massenspektrum (EI, 250 °C):

m/z (%) = 631 (52, M<sup>+</sup>), 616 (100), 600 (5), 544 (7), 492 (5), 376 (6), 319 (7), 300 (20), 241 (37), 227 (6), 180 (3), 150 (26), 135 (8), 93 (15), 43 (4)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

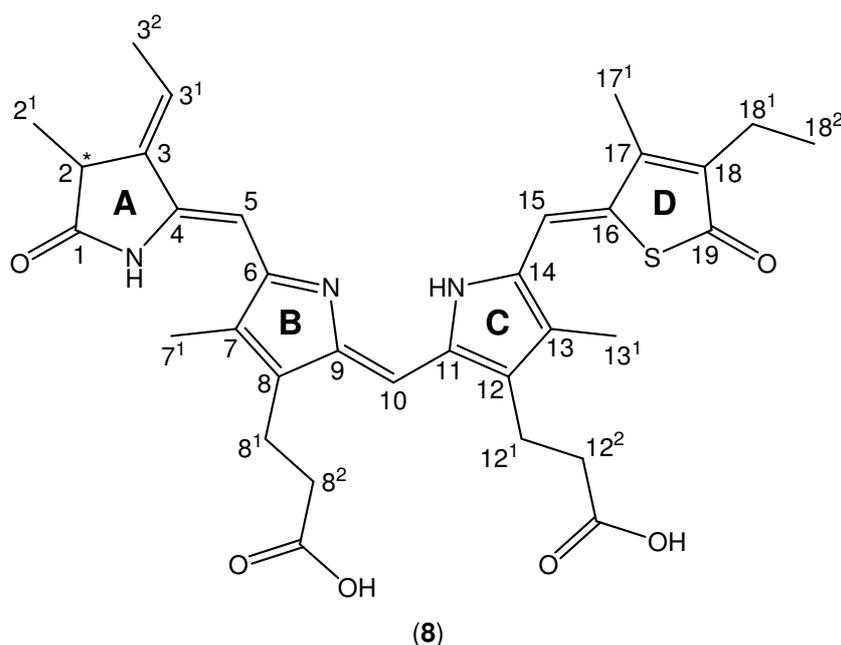
$m/z$  (%) = 370 (16), 632 (61,  $[M + H]^+$ ), 654 (100,  $[M + Na]^+$ ), 1001 (10), 1264 (14,  $[2 M + H]^+$ ), 1286 (27,  $[2 M + Na]^+$ )

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{35}H_{42}N_3O_6S$   $[M + H]^+$ : theoretisch  $632.278887 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  $632.278375 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

### 8.9.6 Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs (**8**)<sup>31,32</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 16.5 mg (0.03 mmol) des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB-dimethylesters (**69**) in 40 ml einer Lösung aus TFA und Wasser (1:1, v/v) gelöst und mit 8.0 g saurem Ionenaustauscher, der zuvor dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde, versetzt. Die blau gefärbte Suspension wird 28 h bei Raumtemperatur gerührt, danach wird der Ionenaustauscher über eine Fritte (Größe 4) abfiltriert und abwechselnd jeweils fünfmal mit 40 ml Wasser und 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) gewaschen. Die wässrige Phase der vereinigten Filtrate wird von der tiefblau gefärbten organischen Phase separiert und zweimal mit jeweils 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) extrahiert. Danach werden die vereinigten organischen Phasen solange mit jeweils 100 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, bis der pH-Wert der ablaufenden Waschlösung 6 beträgt, und anschließend über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 28.4 mg des Rohprodukts in Form eines blauschwarz gefärbten Feststoffs erhalten. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus  $KH_2PO_4$ -Puffer (7 mM, pH 7) und Acetonitril (Gradient 7:3–1:4, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Acetonitrils wird die wässrige Suspension mit jeweils 20 ml Wasser und Dichlormethan versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 20 ml Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 6.9 mg (0.01 mmol, 43.8 %) des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs (**8**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



**Smp.** = 147 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.06–1.10 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>-18<sup>2</sup>), 1.49 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.48 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.69 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.09 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.94 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.14 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 2.15 (d, 3 H, J = 2.27 Hz, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.41 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.47 Hz, CH<sub>2</sub>-18<sup>1</sup>), 2.87 (t, 4 H, <sup>3</sup>J = 7.26 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.18 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.58 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.20 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.52 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.36 (q, 1 H, <sup>3</sup>J = 7.97 Hz, CH-2), 5.67 (s, 1 H, CH-5), 6.05 (s, 1 H, CH-15), 6.35 (q, 1 H, <sup>3</sup>J = 6.85 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 7.24 (s, 1 H, CH-10)

**UV/Vis-Spektrum** (Wasser/Acetonitril (1:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  = 271 nm, 294 nm, 382 nm, 609 nm, 630 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (ESI neg, Methanol):

m/z (%) = 147 (4), 255 (4), 339 (5), 397 (1), 513 (1), 558 (6), 602 (100, [M - H]<sup>-</sup>), 663 (7), 723 (3)

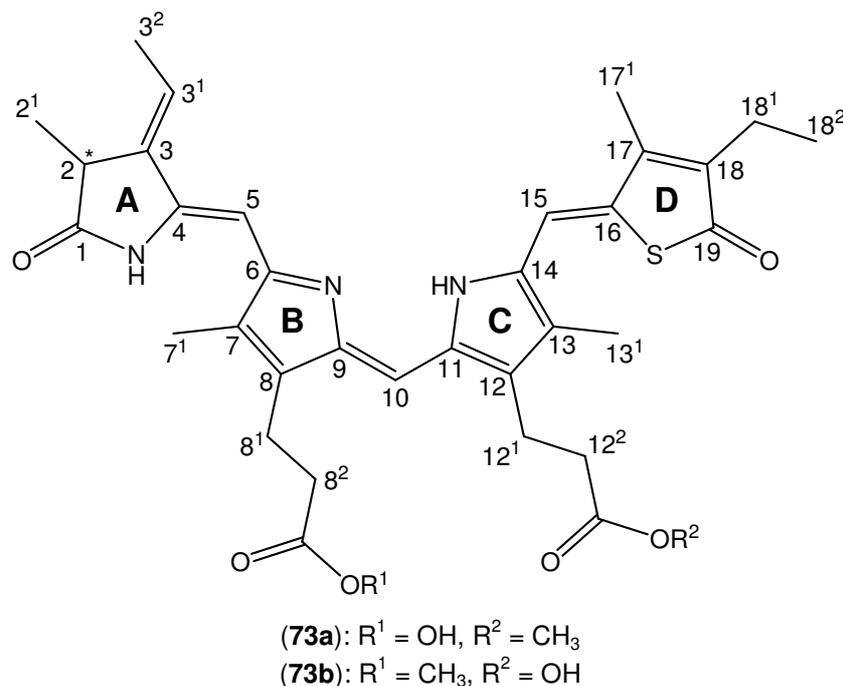
**Massenspektrum** (MALDI-TOF pos,  $\alpha$ -CHCA):

m/z (%) = 589 (2, [M - 15]<sup>+</sup>), 590 (12, [M - 14]<sup>+</sup>), 591 (5), 603 (6), 604 (35, M<sup>+</sup>), 605 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 606 (55), 607 (27), 608 (9), 626 (4), 627 (15, [M + Na]<sup>+</sup>), 628 (10)

### Hochauflösendes Massenspektrum (EI):

$C_{33}H_{38}N_3O_6S$   $[M + H]^+$ : theoretisch 604.247585  $g \cdot mol^{-1}$ , experimentell  
604.247875  $g \cdot mol^{-1}$

Daneben werden 4.1 mg (0.007 mmol, 25.4 %) eines Regioisomerengemisches der während der Reaktion entstehenden Monosäuren (**73a**) und (**73b**) im Stoffmengenverhältnis 1:1 isoliert.



### $^1H$ -NMR-Spektrum (250 MHz, Pyridin- $d_5$ ):

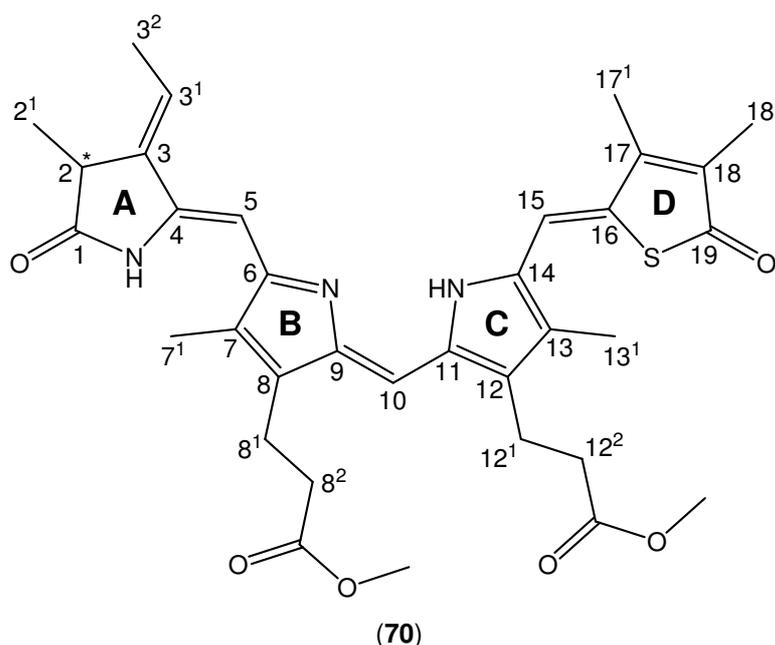
$\delta$  (ppm) = 1.07 (t, 2.4 H,  $^3J = 7.51$  Hz,  $CH_3$ -18<sup>2</sup>), 1.10 (t, 0.6 H,  $^3J = 7.00$  Hz,  $CH_3$ -18<sup>2</sup>), 1.49 (d, 3 H,  $^3J = 7.50$  Hz,  $CH_3$ -2<sup>1</sup>), 1.69 (d, 3 H,  $^3J = 7.47$  Hz,  $CH_3$ -3<sup>2</sup>), 2.09 (d, 3 H,  $J = 1.25$  Hz,  $CH_3$ -7<sup>1</sup>), 2.15 (s, 6 H,  $CH_3$ -13<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 2.40 (q, 2 H,  $^3J = 7.42$  Hz,  $CH_2$ -18<sup>1</sup>), 2.70 (t, 1 H,  $^3J = 7.38$  Hz, Säure- $CH_2$ -8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.74 (t, 1 H,  $^3J = 7.71$  Hz, Säure- $CH_2$ -8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.86 (t, 1 H,  $^3J = 7.32$  Hz, Ester- $CH_2$ -8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.89 (t, 1 H,  $^3J = 6.98$  Hz, Ester- $CH_2$ -8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.05 (t, 1 H,  $^3J = 7.30$  Hz, Säure- $CH_2$ -8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.07 (t, 1 H,  $^3J = 7.00$  Hz, Säure- $CH_2$ -8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.17 (t, 1 H,  $^3J = 6.27$  Hz, Ester- $CH_2$ -8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.20 (t, 1 H,  $^3J = 6.58$  Hz, Ester- $CH_2$ -8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.33 (q, 1 H,  $^3J = 6.99$  Hz, CH-2), 3.57 (d, 3 H,  $J = 0.74$  Hz,  $CO_2CH_3$ ), 5.68 (s, 1 H, CH-5), 6.06 (s, 1 H, CH-15), 6.36 (q, 1 H,  $^3J = 7.72$  Hz, CH-3<sup>1</sup>), 7.27 (s, 1 H, CH-10)

### UV/Vis-Spektrum (Wasser/Acetonitril (1:1, v/v)):

$\lambda_{max} = 271$  nm, 294 nm, 382 nm, 609 nm, 630 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**8.9.7 Darstellung des 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylesters (70)**<sup>32,83</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 18.3 mg (0.04 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) in 0.90 ml (11.6 mmol) TFA gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung auf  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgekühlt, innerhalb von 5 min mit einer Lösung aus 14.5 mg (0.04 mmol) 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon (**61**) und 4.3 ml (55.3 mmol) TFA versetzt und 8 h bei  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Die dunkelgrün gefärbte Lösung wird mit 1.9 ml (46.9 mmol) Methanol versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie sich tiefblau färbt. Die Lösemittel werden im Inertgasstrom verdampft, der feste Rückstand in 30 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 30 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Abdestillieren des Lösemittels wird das Rohprodukt säulenchromatographisch bei Normaldruck mit einer Mischung aus Dichlormethan und Ethylacetat (2:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 13.7 mg (0.02 mmol, 54.1 %) des 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylesters (**70**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



Smp. =  $188\text{ }^{\circ}\text{C}$

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

$\delta$  (ppm) = 1.37 (dd, 3 H,  $J_d = 0.91$ ,  $^3J_d = 6.56$  Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.92 (d, 3 H,  $^3J = 7.71$  Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.94 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.07 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-18<sup>1</sup>), 2.15 (dd, 3 H,  $J_d = 2.66$  Hz,  $J_d = 6.87$  Hz, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.29 (d, 3 H,  $J = 2.32$  Hz, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 2.55 (t, 4 H,  $^3J = 8.25$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.96 (t, 4 H,  $^3J = 7.74$  Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.16–3.23 (m, 1 H, CH-2), 3.64 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.66 (, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.86 (s, 1 H, CH-5), 6.36–6.54 (m, 1 H, CH-3<sup>1</sup>), 5.95 (s, 1 H, CH-15), 6.98 (s, 1 H, CH-10)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3449 (NH-Valenz), 2930 (CH-Valenz), 1734 (C=O-Valenz, Methylester), 1664 (C=O-Valenz, Amid), 1594, 1523, 1458 (CH-Deformation), 1439 (CH-Deformation, asym.), 1384 (CH-Deformation, sym.), 1319 (C-N-Valenz), 1209 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1168 (C-O-Valenz, asym., Methylester), 1122, 1109, 1039, 931, 864, 806 (CH-Deformation, oop), 683, 636

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 279 nm (7000), 380 nm (13300), 595 nm (3600), 620 nm (3600)

**Massenspektrum** (EI, 275 °C):

$m/z$  (%) = 617 (62, M<sup>+</sup>), 602 (100), 530 (6), 470 (3), 307 (14), 268 (2), 227 (3), 202 (3), 132 (3), 77 (2), 57 (2)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 618.263234 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 618.263043 g · mol<sup>-1</sup>

**8.9.8 Darstellung des 17,18-Dimethyl-thia-PCBs (9)**<sup>31,32</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 13.7 mg (0.02 mmol) des 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylesters (**70**) in 44 ml einer Lösung aus TFA und Wasser (1:1, v/v) gelöst und mit 8.0 g saurem Ionenaustauscher, der zuvor dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde, versetzt. Die blau gefärbte Suspension wird 48 h bei Raumtemperatur gerührt, danach wird der Ionenaustauscher über eine Fritte (Größe 4) abfiltriert und abwechselnd jeweils fünfmal mit 40 ml Wasser und 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) gewaschen. Die wässrige Phase der vereinigten Filtrate wird von der tiefblau gefärbten organischen Phase separiert und viermal mit jeweils 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) extrahiert. Danach werden die vereinigten organischen Phasen solange mit jeweils 100 ml gesättigter NaCl-



**UV/Vis-Spektrum** (Wasser/Methanol (4:1, v/v)):

$$\lambda_{\max} = 294 \text{ nm}, 382 \text{ nm}, 629 \text{ nm} (\varepsilon \text{ nicht bestimmt})$$

**Massenspektrum** (ESI neg, Methanol):

$$m/z (\%) = 265 (3), 339 (18), 397 (1), 441 (1), 485 (1), 544 (9), 588 (100, [M - H]^-), \\ 649 (3), 708 (1)$$

**Massenspektrum** (MALDI-TOF pos,  $\alpha$ -CHCA):

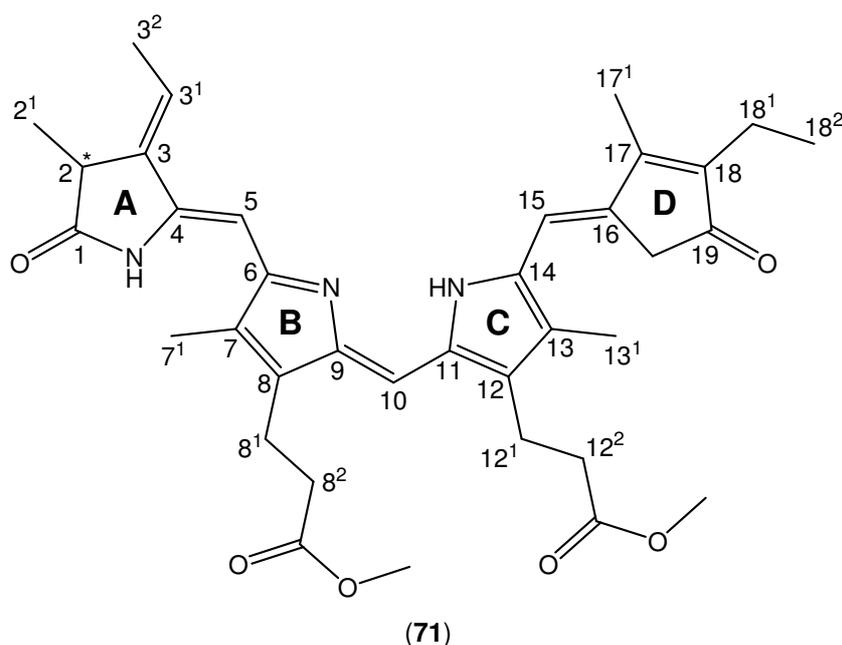
$$m/z (\%) = 575 (5, [M - 15]^+), 576 (9, [M - 14]^+), 578 (5), 589 (12), 590 (33, M^+), \\ 591 (100, [M + H]^+), 592 (34), 593 (7), 613 (4, [M + Na]^+), 614 (4)$$

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$$C_{32}H_{35}N_3NaO_6S [M + Na]^+: \text{theoretisch } 612.213878 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}, \text{ experimentell} \\ 612.213153 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

### 8.9.9 Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB-dimethylesters (**71**)<sup>32,83</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 17.0 mg (0.04 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) in 0.8 ml (10.3 mmol) TFA gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung auf  $-12 \text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt, innerhalb von 5 min mit einer Lösung aus 14.1 mg (0.04 mmol) 3-Ethyl-10-formyl-9-(3-methoxycarbonyl-ethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**62**) und 3.9 ml (50.1 mmol) TFA versetzt und 8 h bei  $-15 \text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Die dunkelgrün gefärbte Lösung wird mit 1.8 ml (44.4 mmol) Methanol versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie sich tiefblau färbt. Die Lösemittel werden im Inertgasstrom verdampft, der feste Rückstand in 30 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 30 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Abdestillieren des Lösemittels werden 35.2 mg des Rohprodukts in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten. Dieser wird per HPLC mit einer Lösung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Phase, in der das blau gefärbte Produkt dispergiert vorliegt, dreimal mit je 30 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels ergibt 15.1 mg (0.03 mmol, 64.7 %) des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB-dimethylesters (**71**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs.



Smp. = 198 °C

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

δ (ppm) = 1.07 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.54 Hz, CH<sub>3</sub>-18<sup>2</sup>), 1.42 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.45 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.93 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.56 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 2.10 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.13 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.21 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 2.35 (q, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.42 Hz, CH<sub>2</sub>-18<sup>1</sup>), 2.56 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.63 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.59 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.55 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.01 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.11 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.04 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.46 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.22 (q, 1 H, <sup>3</sup>J = 8.28 Hz, CH-2), 3.55 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 3.59 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 3.63 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.28 (s, 1 H, CH-15), 5.86 (s, 1 H, CH-5), 6.50 (dq, 1 H, J<sub>d</sub> = 1.86 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 6.64 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 6.67 (s, 1 H, CH-10)

IR-Spektrum (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2974 (CH-Valenz), 2937 (CH-Valenz), 2872 (CH-Valenz), 1733 (C=O-Valenz, Methylester), 1722 (C=O-Valenz, Methylester), 1687 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1622 (C=O-Valenz, Amid), 1594, 1452 (CH-Deformation, asym.), 1439, 1405, 1384 (CH-Deformation, sym.), 1317 (C-N-Valenz), 1282, 1244, 1226, 1210 (C-O-Valenz), 1190, 1168, 1098, 1057, 966, 938, 832 (CH-Deformation), 746, 690

UV/Vis-Spektrum (Methanol):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 267 nm (8600), 291 nm (7700), 361 nm (17200), 604 nm (7900)

**Massenspektrum** (EI, 240 °C):

$m/z$  (%) = 613 (79,  $M^+$ ), 598 (100), 526 (9), 492 (2), 466 (3), 300 (6), 254 (2), 226 (1), 55 (1)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol):

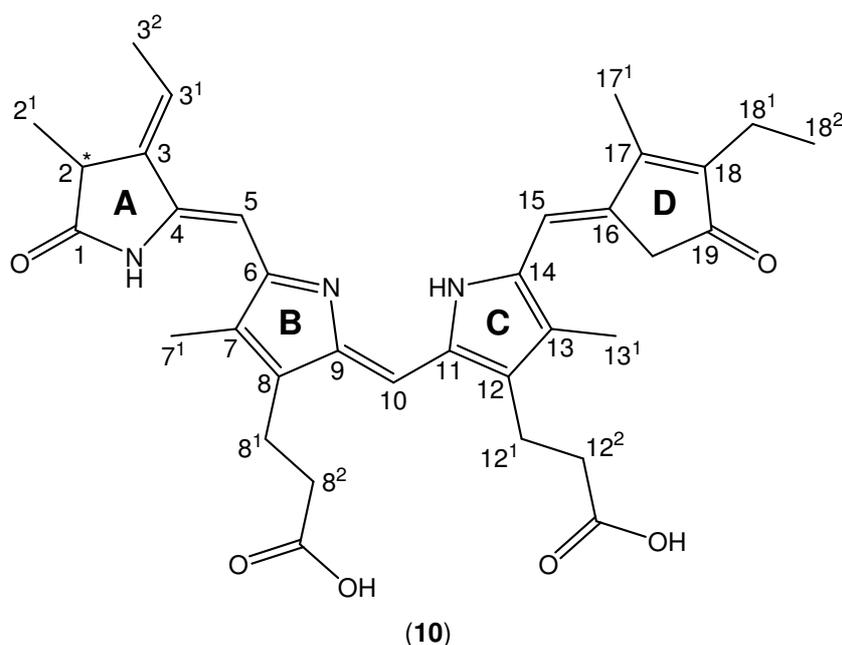
$m/z$  (%) = 304 (2), 367 (2), 457 (2), 529 (2), 614 (20,  $[M + H]^+$ ), 636 (100,  $[M + Na]^+$ ), 652 (15,  $[M + K]^+$ ), 675 (68), 766 (4)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{36}H_{43}N_3NaO_6 [M + Na]^+$ : theoretisch  $636.304403 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  $636.303838 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.9.10 Darstellung des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCBs (10)**<sup>31,32</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 15.1 mg (0.02 mmol) des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB-dimethylesters (**71**) in 68 ml einer Lösung aus TFA und Wasser (1:1, v/v) gelöst und mit 17.0 g saurem Ionenaustauscher, der zuvor dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde, versetzt. Die blau gefärbte Suspension wird 48 h bei Raumtemperatur gerührt, danach wird der Ionenaustauscher über eine Fritte (Größe 4) abfiltriert und abwechselnd jeweils fünfmal mit 40 ml Wasser und 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) gewaschen. Die wässrige Phase der vereinigten Filtrate wird von der tiefblau gefärbten organischen Phase separiert und viermal mit jeweils 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dann solange mit jeweils 50 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, bis der pH-Wert der ablaufenden Waschlösung 6 beträgt, und anschließend über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 20.0 mg des Rohprodukts in Form eines blauschwarz gefärbten Feststoffs erhalten. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Ammoniumacetat-Puffer (10 mM, pH 7) und Methanol (Gradient 1:1–1:8, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Suspension mit jeweils 30 ml Wasser und Chloroform versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird fünfmal mit jeweils 30 ml Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 7.3 mg (0.01 mmol, 50.7 %) des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCBs (**10**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



**Smp.** = Zersetzung bis 335 °C

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

δ (ppm) = 1.04 (t, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.53 Hz, CH<sub>3</sub>-18<sup>2</sup>), 1.49 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.54 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>),  
 1.70 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.20 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 2.02 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.15 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>),  
 2.15 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.32 (dq, 2 H, J<sub>d</sub> = 1.78 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.56 Hz, CH<sub>2</sub>-18<sup>1</sup>), 2.89 (t,  
 2 H, <sup>3</sup>J = 7.32 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.93 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.58 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.21 (t, 2 H,  
<sup>3</sup>J = 6.27 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.23 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 6.35 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.44–3.47 (m, 1 H,  
 CH-2), 3.49 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 3.56 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 6.06 (s, 1 H, CH-5), 6.34 (dq, 1 H,  
 J<sub>d</sub> = 2.22 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.33 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 6.54 (s, 1 H, CH-15), 7.23 (s, 1 H, CH-10)

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (7:2, v/v)):

λ<sub>max</sub> = 268 nm, 294 nm, 366 nm, 608 nm (ε nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

m/z (%) = 586 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 587 (35), 588 (8), 608 (65, [M + Na]<sup>+</sup>), 609 (25),  
 610 (5)

**Massenspektrum** (MALDI-TOF pos, α-CHCA):

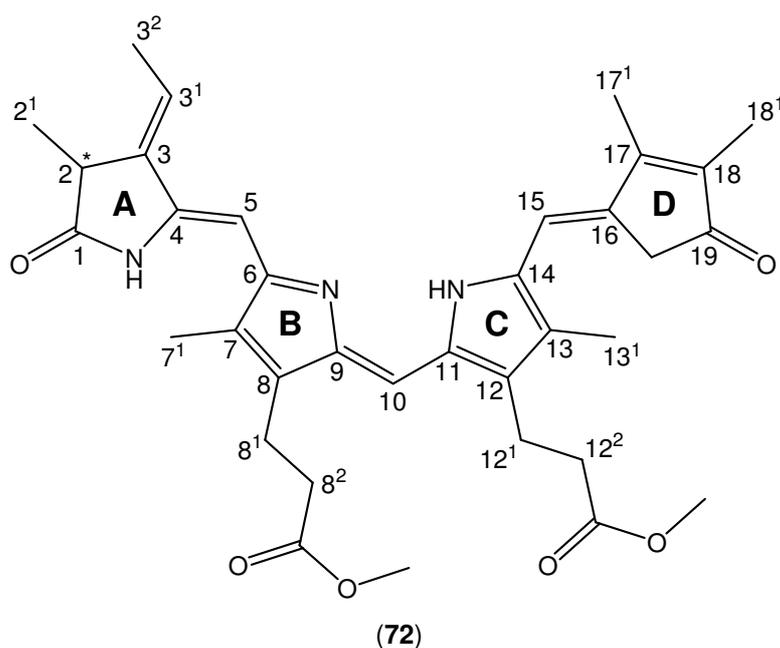
m/z (%) = 571 (4, [M - 15]<sup>+</sup>), 572 (11, [M - 14]<sup>+</sup>), 573 (5), 585 (11), 586 (55, M<sup>+</sup>),  
 587 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 588 (52), 589 (16), 590 (5), 608 (6), 609 (23, [M + Na]<sup>+</sup>), 610 (9),  
 625 (5, [M + K]<sup>+</sup>), 631 (7), 651 (4), 657 (4)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$C_{34}H_{40}N_3O_6$   $[M + H]^+$ : theoretisch  $586.291161 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , experimentell  
 $586.291504 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**8.9.11 Darstellung des 17,18-Dimethyl-carba-PCB-dimethylesters (72)**<sup>32,83</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 18.5 mg (0.04 mmol) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) in 1.0 ml (12.9 mmol) TFA gelöst und 40 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung auf  $-16 \text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt, innerhalb von 5 min mit einer Lösung aus 13.3 mg (0.04 mmol) 10-Formyl-9-(3-methoxycarbonyl)ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on (**63**) und 4.2 ml (54.0 mmol) TFA versetzt und 8 h bei  $-15 \text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Danach wird die grün gefärbte Lösung mit 2.0 ml (49.3 mmol) Methanol versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie sich tiefblau färbt. Die Lösemittel werden im Inertgasstrom verdampft, der feste Rückstand in 30 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 30 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Abdestillieren des Lösemittels werden 26.7 mg des Rohprodukts in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten. Dieser wird per HPLC mit einer Lösung aus Methanol und Wasser (5:1, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Phase, in der das blau gefärbte Produkt dispergiert vorliegt, dreimal mit je 30 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Abdestillieren des Lösemittels ergibt 11.8 mg (0.02 mmol, 48.0 %) des 17,18-Dimethyl-carba-PCB-dimethylesters (**72**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs.



Smp. = 196 °C

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

δ (ppm) = 1.48 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.54 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.70 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.28 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>),  
1.78 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-18<sup>1</sup>), 1.99 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.11 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>, -17<sup>1</sup>), 2.72 (t, 2 H,  
<sup>3</sup>J = 7.13 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.75 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.03 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.10 (t, 4 H,  
<sup>3</sup>J = 7.33 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.44–3.47 (m, 1 H, CH-2), 3.48 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 3.59 (s,  
3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.60 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.63 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 6.08 (s, 1 H, CH-5),  
6.36 (q, 1 H, <sup>3</sup>J = 6.86 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 6.55 (s, 1 H, CH-15), 7.13 (s, 1 H, CH-10)

**IR-Spektrum** (KBr):

$\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 2923 (CH-Valenz), 2855 (CH-Valenz), 1728 (C=O-Valenz, Methylester),  
1687 (C=O-Valenz,  $\alpha\beta$ -unges. Keton), 1621 (C=O-Valenz, Amid), 1589, 1441 (CH-  
Deformation, asym.), 1406, 1384 (CH-Deformation, sym.), 1317 (C-N-Valenz), 1213  
(C-O-Valenz), 1169, 1089, 1056, 1041, 965, 879, 837 (CH-Deformation), 808, 746,  
693, 651, 617, 441

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol):

$\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) = 266 nm (8200), 293 nm (7300), 362 nm (16800), 603 nm (7900)

**Massenspektrum** (EI, 240 °C):

m/z (%) = 601 (13), 600 (36), 599 (92, M<sup>+</sup>), 586 (9), 585 (38), 584 (100), 512 (9),  
452 (5), 300 (19), 214 (6), 180 (3), 105 (6)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

m/z (%) = 600 (22, [M + H]<sup>+</sup>), 601 (8), 621 (3), 622 (100, [M + Na]<sup>+</sup>), 623 (38),  
624 (8), 644 (7), 720 (4), 1199 (21, [2 M + H]<sup>+</sup>), 1200 (15), 1201 (62), 1221 (58,  
[2 M + Na]<sup>+</sup>), 1222 (59), 1223 (18)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

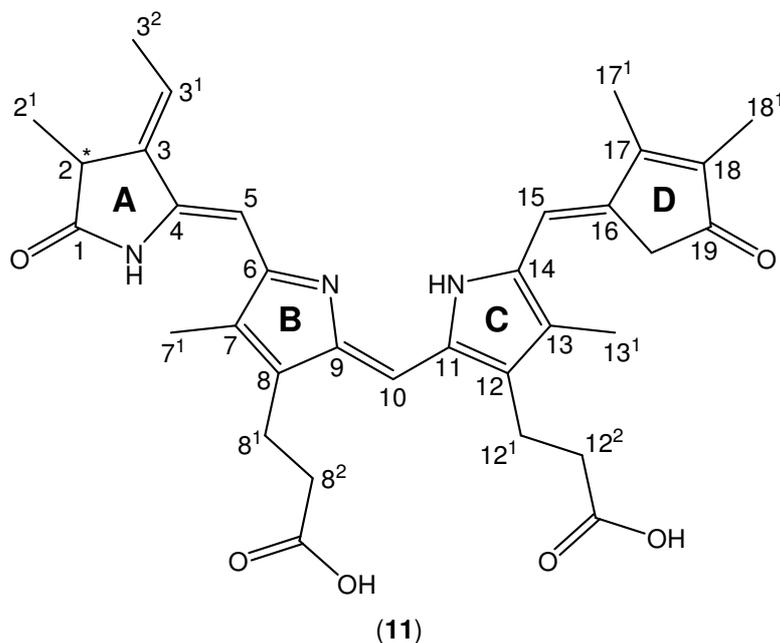
C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: theoretisch 622.288753 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell  
622.288616 g · mol<sup>-1</sup>

### 8.9.12 Darstellung des 17,18-Dimethyl-carba-PCBs (11)<sup>31,32</sup>

Unter Lichtausschluss und einer Inertgasatmosphäre werden 9.8 mg (0.02 mmol) des 17,18-Dimethyl-carba-PCB-dimethylesters (72) in 32.6 ml einer Lösung aus TFA und Wasser (1:1, v/v) gelöst und mit 13.6 g saurem Ionenaustauscher, der zuvor dreimal mit Was-

## ■ Experimenteller Teil

ser gewaschen und getrocknet wurde, versetzt. Die blau gefärbte Suspension wird 48 h bei Raumtemperatur gerührt, danach wird der Ionenaustauscher über eine Fritte (Größe 4) abfiltriert und abwechselnd jeweils fünfmal mit 40 ml Wasser und 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) gewaschen. Die wässrige Phase der vereinigten Filtrate wird von der tiefblau gefärbten organischen Phase separiert und viermal mit jeweils 40 ml einer Lösung aus Chloroform und Methanol (49:1, v/v) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dann solange mit jeweils 50 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, bis der pH-Wert der ablaufenden Waschlösung 6 beträgt, und anschließend über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 35.4 mg des Rohprodukts in Form eines blauschwarz gefärbten Feststoffs erhalten. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Ammoniumacetat-Puffer (10 mM, pH 7) und Methanol (Gradient 1:1–1:8, v/v) gereinigt. Nach Abdestillieren des Methanols wird die wässrige Suspension mit 30 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird viermal mit jeweils 30 ml Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösemittels werden 6.1 mg (0.01 mmol, 65.5 %) des 17,18-Dimethyl-carba-PCBs (**11**) in Form eines tiefblau gefärbten Feststoffs erhalten.



Smp. = 239 °C

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

$\delta$  (ppm) = 1.48 (d, 3 H, <sup>3</sup>J = 7.54 Hz, CH<sub>3</sub>-2<sup>1</sup>), 1.69 (dd, 3 H, J<sub>d</sub> = 0.90 Hz, <sup>3</sup>J<sub>d</sub> = 7.05 Hz, CH<sub>3</sub>-3<sup>2</sup>), 1.78 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-18<sup>1</sup>), 1.99 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-7<sup>1</sup>), 2.14 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-17<sup>1</sup>), 2.15 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-13<sup>1</sup>), 2.89 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.18 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 2.94 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.54 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>2</sup>, -12<sup>2</sup>), 3.22 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 6.98 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.23 (t, 2 H, <sup>3</sup>J = 7.32 Hz, CH<sub>2</sub>-8<sup>1</sup>, -12<sup>1</sup>), 3.44–3.48 (m, 1 H, CH-2), 3.50 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 3.60 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>-20), 6.07 (s, 1 H, CH-5), 6.33 (dq, 1 H, J<sub>d</sub> = 2.50 Hz, <sup>3</sup>J<sub>q</sub> = 7.34 Hz, CH-3<sup>1</sup>), 6.54 (s, 1 H, CH-15), 7.29 (s, 1 H, CH-10)

**UV/Vis-Spektrum** (Methanol/Wasser (4:1, v/v)):

$\lambda_{\text{max}}$  = 268 nm, 294 nm, 365 nm, 606 nm ( $\epsilon$  nicht bestimmt)

**Massenspektrum** (ESI pos, Methanol):

$m/z$  (%) = 242 (5), 572 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 573 (36), 574 (7), 594 (6), 1143 (18, [2 M + H]<sup>+</sup>), 1144 (13), 1145 (5)

**Massenspektrum** (ESI neg, Methanol):

$m/z$  (%) = 284 (4), 339 (2), 570 (100, [M - H]<sup>-</sup>), 571 (22), 572 (7), 573 (1), 592 (1), 606 (1)

**Massenspektrum** (MALDI-TOF pos,  $\alpha$ -CHCA):

$m/z$  (%) = 523 (3), 558 (7, [M - 14]<sup>+</sup>), 559 (4), 571 (5), 572 (64, M<sup>+</sup>), 573 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 574 (56), 575 (14), 595 (3, [M + Na]<sup>+</sup>), 612 (4)

**Hochauflösendes Massenspektrum** (ESI pos, Methanol + Dichlormethan):

$\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_6$  [M + H]<sup>+</sup>: theoretisch 572.275511 g · mol<sup>-1</sup>, experimentell 572.275946 g · mol<sup>-1</sup>

## 8.10 Synthese der PhyA-Holoproteine

### 8.10.1 Assemblierung der synthetischen Chromophore (6)–(11) und des PhyA-Apoproteins<sup>39,159</sup>

Die experimentelle Durchführung der Assemblierung ist unabhängig vom eingesetzten Chromophor. Eine Lösung aus ungefähr 1 mg (1.7  $\mu\text{mol}$ ) der Chromophore (6)–(11) oder des PCBs (2) und 20  $\mu\text{l}$  DMSO wird unter schwachem Grünlicht und Kühlung auf einem Eisbad zu 12 ml einer Lösung aus PhyA-Apoprotein in Breaking-Puffer I (3–5 mM) gegeben und zur Assemblierung für 24 h bei 4 °C gelagert. Danach wird die Lösung mit 12  $\mu\text{l}$  Pefabloc-Lösung (200  $\mu\text{M}$ ) sowie 6  $\mu\text{l}$  Mercaptoethanol versetzt, zu 2 ml eines viermal mit jeweils 10 ml Breaking-Puffer I gewaschenen Cobalt-Harzes gegeben und 45 min bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss geschwenkt. Die Suspension wird auf eine Säule gegeben, das Eluat abgetrennt und der Rückstand mit 10 ml Breaking-Puffer II gewaschen. Das ablaufende Eluat sowie alle im Folgenden anfallenden Eluate werden getrennt voneinander aufgefangen. Der Rückstand wird zweimal mit jeweils 10 ml Breaking-Puffer II, der Imidazol enthält (0.005 M und 0.01 M), und dreimal mit jeweils 3 ml Breaking-Puffer II, der Imidazol enthält (0.05 M, 0.1 M und 0.2 M), gewaschen.

Zur Identifizierung der Protein-enthaltenden Fraktionen werden aus jeder Eluatfraktion 20  $\mu\text{l}$  entnommen, mit 10  $\mu\text{l}$  Lämmli-Puffer versetzt und fünf Minuten auf einem 100 °C heißen Wasserbad denaturiert. Die Proben werden gegen einen geeigneten Proteinmarker elektrophoretisch aufgetrennt. Danach wird das Gel zweimal jeweils 5 min in frischer Fixierlösung, 30 min in Coomassie-Färbelösung und zur Entfärbung viermal in jeweils frischer Fixierlösung geschwenkt.

Die Protein-enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und durch 30-minütige Zentrifugation bei 4 °C und 3850  $\cdot g$  aufkonzentriert (Ultracel 30k, Millipore). Danach wird die Probe durch viermalige Zugabe von jeweils 5 ml Breaking-Puffer III und anschließende Zentrifugation unter den beschriebenen Bedingungen imidazolfrei gewaschen. Zurück bleiben 50  $\mu\text{l}$  einer blau gefärbten Lösung, die in ein Probengefäß überführt wird. Der Konzentrator wird sechsmal mit jeweils 100  $\mu\text{l}$  Breaking-Puffer III gespült, und die Spüllösungen werden zum Konzentrat gegeben. Die auf diese Weise aufgereinigten Holoproteine (74)–(80) werden bei 4 °C unter Lichtausschluss gelagert.

### 8.10.2 Photokonversion und Differenzspektren

Die Lösungen der Holoproteine (74)–(80) werden in Quarzglasküvetten gefüllt und mit Hilfe eines Diaprojektors (100 W, 16 cm Abstand zwischen Probe und Lichtquelle) mit vorgeschaltetem Farbfilter erschöpfend belichtet. Durch zwei- bis vierminütige Bestrahlung erfolgt die Überführung jedes Holoproteins in die  $P_r$ -Form (Tab. 12), wonach per UV/Vis-Spektroskopie sein  $P_r$ -Absorptionsspektrum im Bereich zwischen 200 und 900 nm aufgenommen wird. Anschließend wird die Probe durch zwei- bis vierminütige Bestrahlung

mit Licht kürzerer Wellenlänge in die  $P_{fr}$ -Form überführt (Tab. 12) sowie erneut UV/Vis-spektroskopisch vermessen. Das Differenzspektrum wird gebildet aus der Subtraktion des  $P_{fr}$ -Spektrums vom  $P_r$ -Spektrum.

<b>Holoproteine</b>	<b>X</b>	<b><math>\lambda</math> (<math>P_r</math>)</b>	<b><math>\lambda</math> (<math>P_{fr}</math>)</b>
(74), (75)	O	655 nm, IF	616 nm, IF
(76), (77)	S	715 nm, KF	578 nm, IF
(78), (79)	CH <sub>2</sub>	654 nm, KF	578 nm, IF
(80)	NH	710 nm, KF	655 nm, IF

**Tab. 12:** Wellenlängen der zur Überführung der Holoproteine (74)–(80) in die  $P_r$ - bzw.  $P_{fr}$ -Form verwendeten Farbfilter. IF: Interferenzfilter, KF: Kantenfilter.

## 8.11 Synthese eines PCB-Peptid-Komplexes

### 8.11.1 Darstellung eines Peptids der PhyA-Sequenz (81)

256 mg ( $0.16 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ) des PAL-PEG-PS-Harzes werden zweimal für 30 Minuten mit jeweils 3 ml DMF versetzt. Zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe wird das Harz einmal für 10 Minuten und einmal für 20 Minuten mit jeweils 2.5 ml einer 25-%igen Piperidin-Lösung versetzt. Danach werden alle 41 Kopplungszyklen mit einer Kopplungszeit von jeweils 30 min und die auf jeden Zyklus folgende Abspaltung der Fmoc-Gruppe durchgeführt. Nach der letzten Kopplungsreaktion erfolgt Acetylierung durch zweistündiges Waschen mit 2.5 ml einer 5-%igen Essigsäureanhydrid-Lösung. Anschließend wird das Harz sechsmal mit jeweils 2.5 ml DMF, zweimal mit jeweils 2.5 ml Methanol, einmal mit 2.5 ml einer Lösung aus Essigsäure und Methanol (1:1, v/v), zweimal mit jeweils 2.5 ml Methanol sowie fünfmal mit jeweils 2.5 ml Dichlormethan gewaschen und innerhalb von 2 h im Argonstrom getrocknet. Zur Abspaltung des Peptids wird das Harz einmal 2 h mit 3.5 ml einer Lösung aus TFA, Thioanisol, Ethandiol und Anisol (120:7:4:3, v/v) und nachfolgend noch einmal 1 h mit 3.0 ml der gleichen Lösung versetzt und danach zweimal mit jeweils 1.5 ml und einmal mit 2.0 ml Dichlormethan gewaschen. Nach Vereinigung der Abspalllösungen werden diese im Ölpumpenvakuum eingeengt. Der verbleibende Rückstand wird zur Reduktion oxidierter Aminosäuren in einer Lösung, bestehend aus 1.6 ml Ethandiol, 1.4 ml Trimethylsilylchlorid sowie 100 ml Dichlormethan, aufgenommen und für 20 min gerührt. Nach erneutem Einengen im Ölpumpenvakuum wird der Rückstand sechsmal mit einer Lösung aus Ether und n-Pentan (1:1, v/v) gewaschen, in einer Lösung aus 2 ml Essigsäure und 15 ml Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Erhalten werden 275 mg des Rohprodukts in Form eines beige gefärbten Feststoffs. Dieser wird per HPLC mit einer Mischung aus Acetonitril und Wasser (Gradient 1:4–11:9, v/v) getrennt. Nach Abdestillieren des Acetonitrils und Gefrier Trocknung der wässrigen Lösung werden 4 mg des Peptids (**81**) in Form eines farblosen Feststoffs erhalten.



(81)

**Massenspektrum** (MALDI-TOF pos,  $\alpha$ -CHCA):

$m/z$  (%) = 1076 (5), 1090 (7), 1096 (6), 2220 (5), 2271 (8,  $[M + 2 H]^{2+}$ ), 4309 (5), 4352 (6), 4392 (5), 4409 (7), 4423 (12), 4438 (41), 4451 (12), 4495 (8), 4508 (9), 4519 (15), 4525 (9), 4537 (100,  $[M + H]^+$ ), 4454 (21), 4575 (10), 4581 (10), 4595 (10), 4607 (13)

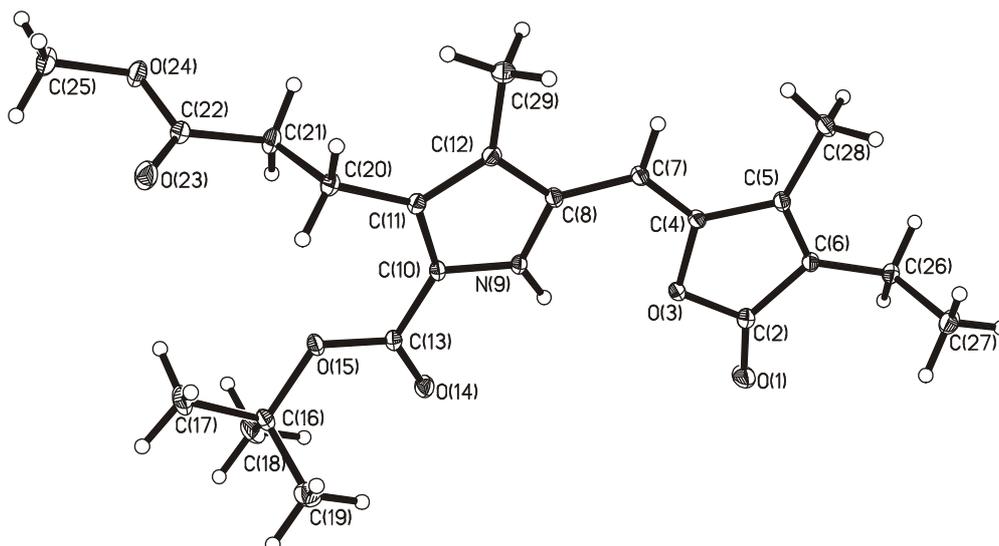




## 9 Anhang

### 9.1 Daten zur Kristallstrukturanalyse

#### 9.1.1 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon (52)



#### Kristallisation

Die Substanz wurde aus einer Lösung von Diethylether bei  $-20\text{ °C}$  auskristallisiert.

#### Kristalldaten

Summenformel	$\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_6$	
Molmasse	$403.46\text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	
Kristallgröße	$0.34 \cdot 0.26 \cdot 0.10\text{ mm}^3$	
Raumgruppe	P-1	
Z	2	
Kristallsystem	triklin	
Gitterkonstanten	$a = 8.4299(3)\text{ Å}$	$\alpha = 74.77(1)\text{ °}$
	$b = 10.0423(3)\text{ Å}$	$\beta = 77.26(1)\text{ °}$
	$c = 13.7683\text{ Å}$	$\gamma = 73.33(1)\text{ °}$
Volumen	$1063.99(7)\text{ Å}^3$	
Dichte	$1.259\text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$	

#### Messbedingungen

Temperatur	100 K
Wellenlänge	$0.71073\text{ Å}$

**Auswertung**

Gemessene Reflexe	14387	
Symmetrieunabhängige Reflexe	6735	
R-Werte	$R_1 = 0.0492$	$wR_2 = 0.1243$

**Atomkoordinaten [ $\cdot 10^4$ ] und Koeffizienten der äquivalenten isotropen Temperaturfaktoren [ $\text{\AA}^2 \cdot 10^3$ ], ohne H-Atome**

Atom	x	y	z	$U_{eq}$
O(1)	5686(1)	11238(1)	703(1)	26(1)
C(2)	6828(2)	10715(1)	115(1)	16(1)
O(3)	7838(1)	9356(1)	426(1)	15(1)
C(4)	9057(1)	9054(1)	-404(1)	13(1)
C(5)	8806(1)	10255(1)	-1258(1)	13(1)
C(6)	7464(1)	11258(1)	-956(1)	14(1)
C(7)	10219(1)	7807(1)	-337(1)	13(1)
C(8)	10391(1)	6654(1)	537(1)	13(1)
N(9)	9435(1)	6696(1)	1476(1)	12(1)
C(10)	9849(1)	5401(1)	2125(1)	12(1)
C(11)	11135(1)	4500(1)	1593(1)	13(1)
C(12)	11484(1)	5301(1)	595(1)	13(1)
C(13)	8874(1)	5220(1)	3148(1)	13(1)
O(14)	7813(1)	6192(1)	3457(1)	17(1)
O(15)	9288(1)	3875(1)	3672(1)	17(1)
C(16)	8215(2)	3356(1)	4624(1)	17(1)
C(17)	9093(2)	1785(1)	4881(1)	30(1)
C(18)	8206(2)	4093(2)	5457(1)	24(1)
C(19)	6468(2)	3548(2)	4398(1)	24(1)
C(20)	11961(1)	2972(1)	1988(1)	14(1)
C(21)	13347(2)	2771(1)	2604(1)	17(1)
C(22)	13970(2)	1223(1)	3087(1)	16(1)
O(23)	13203(1)	323(1)	3247(1)	24(1)
O(24)	15490(1)	954(1)	3356(1)	19(1)
C(25)	16159(2)	-508(1)	3831(1)	24(1)
C(26)	6663(2)	12685(1)	-1532(1)	15(1)
C(27)	5268(2)	12625(1)	-2052(1)	21(1)
C(28)	9899(2)	10310(1)	-2271(1)	18(1)
C(29)	12776(2)	4820(1)	-262(1)	18(1)

Bindungslängen [Å]	
O(1)-C(2)	1.203(2)
C(2)-O(3)	1.3996(14)
C(2)-C(6)	1.468(2)
O(3)-C(4)	1.3930(13)
C(4)-C(7)	1.346(2)
C(4)-C(5)	1.449(2)
C(5)-C(6)	1.352(2)
C(5)-C(28)	1.489(2)
C(6)-C(26)	1.491(2)
C(7)-C(8)	1.435(2)
C(8)-N(9)	1.3683(14)
C(8)-C(12)	1.400(2)
N(9)-C(10)	1.3707(14)
C(10)-C(11)	1.401(2)
C(10)-C(13)	1.461(2)

Bindungslängen [Å]	
C(11)-C(12)	1.414(2)
C(11)-C(20)	1.500(2)
C(12)-C(29)	1.497(2)
C(13)-O(14)	1.2182(14)
C(13)-O(15)	1.3400(13)
O(15)-C(16)	1.4823(14)
C(16)-C(18)	1.517(2)
C(16)-C(19)	1.520(2)
C(16)-C(17)	1.521(2)
C(20)-C(21)	1.528(2)
C(21)-C(22)	1.509(2)
C(22)-O(23)	1.205(2)
C(22)-O(24)	1.3452(14)
O(24)-C(25)	1.443(2)
C(26)-C(27)	1.527(2)

Bindungswinkel [°]	
O(1)-C(2)-O(3)	120.52(11)
O(1)-C(2)-C(6)	131.56(11)
O(3)-C(2)-C(6)	107.91(9)
C(4)-O(3)-C(2)	107.34(9)
C(7)-C(4)-O(3)	121.13(10)
C(7)-C(4)-C(5)	129.97(11)
O(3)-C(4)-C(5)	108.90(9)
C(6)-C(5)-C(4)	108.05(10)
C(6)-C(5)-C(28)	128.35(10)
C(4)-C(5)-C(28)	123.60(10)
C(5)-C(6)-C(2)	107.80(10)
C(5)-C(6)-C(26)	130.16(11)
C(2)-C(6)-C(26)	122.04(10)
C(4)-C(7)-C(8)	127.07(11)
N(9)-C(8)-C(12)	107.73(9)
N(9)-C(8)-C(7)	124.34(10)
C(12)-C(8)-C(7)	127.90(10)
C(8)-N(9)-C(10)	109.71(9)
N(9)-C(10)-C(11)	108.26(10)

Bindungswinkel [°]	
C(10)-C(11)-C(20)	127.19(10)
C(12)-C(11)-C(20)	126.17(10)
C(8)-C(12)-C(11)	107.65(10)
C(8)-C(12)-C(29)	125.05(10)
C(11)-C(12)-C(29)	127.31(10)
O(14)-C(13)-O(15)	125.83(11)
O(14)-C(13)-C(10)	122.66(10)
O(15)-C(13)-C(10)	111.51(9)
C(13)-O(15)-C(16)	121.09(9)
O(15)-C(16)-C(18)	110.85(10)
O(15)-C(16)-C(19)	109.11(10)
C(18)-C(16)-C(19)	112.72(11)
O(15)-C(16)-C(17)	101.98(10)
C(18)-C(16)-C(17)	111.01(11)
C(19)-C(16)-C(17)	110.65(11)
C(11)-C(20)-C(21)	113.95(9)
C(22)-C(21)-C(20)	111.08(10)
O(23)-C(22)-O(24)	122.86(11)
O(23)-C(22)-C(21)	125.13(11)

Bindungswinkel [°]		Bindungswinkel [°]	
N(9)-C(10)-C(13)	117.30(10)	O(24)-C(22)-C(21)	111.99(10)
C(11)-C(10)-C(13)	134.36(10)	C(22)-O(24)-C(25)	114.95(10)
C(10)-C(11)-C(12)	106.63(10)	C(6)-C(26)-C(27)	112.20(10)

**Koeffizienten der anisotropen Temperaturfaktoren [ $\text{\AA}^2 \cdot 10^3$ ]**

Atom	$U_{11}$	$U_{22}$	$U_{33}$	$U_{23}$	$U_{13}$	$U_{12}$
O(1)	23(1)	24(1)	20(1)	-1(1)	5(1)	3(1)
C(2)	15(1)	15(1)	16(1)	0(1)	-3(1)	-2(1)
O(3)	14(1)	15(1)	12(1)	1(1)	0(1)	-1(1)
C(4)	13(1)	15(1)	10(1)	-1(1)	-2(1)	-4(1)
C(5)	14(1)	14(1)	11(1)	0(1)	-3(1)	-5(1)
C(6)	13(1)	14(1)	13(1)	0(1)	-4(1)	-4(1)
C(7)	14(1)	14(1)	11(1)	-1(1)	-2(1)	-4(1)
C(8)	14(1)	13(1)	11(1)	-1(1)	-3(1)	-4(1)
N(9)	13(1)	10(1)	12(1)	-1(1)	-3(1)	-1(1)
C(10)	14(1)	10(1)	12(1)	0(1)	-3(1)	-2(1)
C(11)	13(1)	12(1)	14(1)	-2(1)	-4(1)	-3(1)
C(12)	12(1)	13(1)	13(1)	-3(1)	-3(1)	-2(1)
C(13)	15(1)	12(1)	12(1)	-1(1)	-4(1)	-3(1)
O(14)	19(1)	14(1)	15(1)	-2(1)	-1(1)	0(1)
O(15)	19(1)	12(1)	14(1)	2(1)	0(1)	-1(1)
C(16)	19(1)	15(1)	13(1)	2(1)	-1(1)	-5(1)
C(17)	34(1)	17(1)	26(1)	7(1)	1(1)	-2(1)
C(18)	30(1)	30(1)	14(1)	0(1)	-3(1)	-14(1)
C(19)	23(1)	26(1)	26(1)	-3(1)	-4(1)	-12(1)
C(20)	15(1)	11(1)	16(1)	-2(1)	-5(1)	-2(1)
C(21)	19(1)	11(1)	23(1)	-1(1)	-9(1)	-2(1)
C(22)	15(1)	14(1)	16(1)	-2(1)	-4(1)	-2(1)
O(23)	20(1)	15(1)	35(1)	3(1)	-9(1)	-6(1)
O(24)	17(1)	14(1)	25(1)	0(1)	-9(1)	-2(1)
C(25)	21(1)	17(1)	29(1)	2(1)	-8(1)	0(1)
C(26)	15(1)	14(1)	16(1)	1(1)	-4(1)	-2(1)
C(27)	18(1)	22(1)	22(1)	0(1)	-9(1)	-4(1)
C(28)	20(1)	17(1)	12(1)	0(1)	0(1)	-4(1)
C(29)	17(1)	18(1)	16(1)	-6(1)	0(1)	-2(1)

**Atomkoordinaten [ $\cdot 10^4$ ] und Koeffizienten der äquivalenten isotropen Temperaturfaktoren [ $\text{\AA}^2 \cdot 10^3$ ] der H-Atome**

Atom	x	y	z	$U_{\text{eq}}$
H(7)	11012(1)	7677(1)	-934(1)	16
H(9)	8669(1)	7441(1)	1638(1)	15
H(17A)	9083(2)	1332(1)	4333(1)	45
H(17B)	8507(2)	1325(1)	5522(1)	45
H(17C)	10255(2)	1684(1)	4954(1)	45
H(18A)	9357(2)	3938(2)	5573(1)	36
H(18B)	7533(2)	3703(2)	6087(1)	36
H(18C)	7721(2)	5116(2)	5248(1)	36
H(19A)	6543(2)	3053(2)	3857(1)	36
H(19B)	5961(2)	4563(2)	4175(1)	36
H(19C)	5774(2)	3150(2)	5015(1)	36
H(20A)	12443(1)	2503(1)	1404(1)	17
H(20B)	11097(1)	2491(1)	2423(1)	17
H(21A)	14291(2)	3130(1)	2150(1)	21
H(21B)	12912(2)	3330(1)	3142(1)	21
H(25A)	17262(2)	-607(1)	4001(1)	36
H(25B)	16269(2)	-1122(1)	3360(1)	36
H(25C)	15399(2)	-787(1)	4455(1)	36
H(26A)	7526(2)	13069(1)	-2055(1)	18
H(26B)	6191(2)	13342(1)	-1058(1)	18
H(27A)	4777(2)	13582(1)	-2421(1)	32
H(27B)	4398(2)	12264(1)	-1537(1)	32
H(27C)	5733(2)	11991(1)	-2533(1)	32
H(28A)	10772(2)	9421(1)	-2260(1)	26
H(28B)	10423(2)	11111(1)	-2422(1)	26
H(28C)	9221(2)	10436(1)	-2797(1)	26
H(29A)	13380(2)	3832(1)	-31(1)	26
H(29B)	13569(2)	5429(1)	-480(1)	26
H(29C)	12225(2)	4885(1)	-835(1)	26

## 9.2 Substanzen

- (1) Phytochromobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-3-ethyliden-2,3-dihydro-2,7,13,17-tetramethyl-18-vinylbilin-1,19-(21,24*H*)-dion)
- (2) Phycocyanobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-18-ethyl-3-ethyliden-2,3-dihydro-2,7,13,17-tetramethylbilin-1,19-(21,24*H*)-dion)
- (3) Phycoerythrobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-3-ethyliden-2,3,15,16-tetrahydro-2,7,13,17-tetramethyl-18-vinylbilin-1,19-(16,21*H*)-dion)
- (4) Phycoviolobilin (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-3-ethyliden-2,3-dihydro-2,7,13,17-tetramethyl-18-vinylbilin-1,19-(21,24*H*)-dion)
- (5) Biliverdin IX $\alpha$  (8,12-Bis-(2-carboxyethyl)-2,7,13,17-tetramethyl-3,18-divinylbilin-1,19-(21,24*H*)-dion)
- (6) 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB
- (7) 17,18-Dimethyl-oxa-PCB
- (8) 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB
- (9) 17,18-Dimethyl-thia-PCB
- (10) 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB
- (11) 17,18-Dimethyl-carba-PCB
- (12) Diethylcyanomethylphosphonat
- (13) (*Z,E*)-3-Cyano-2-methyl-3-pentencarbonsäuremethylester
- (14) (*Z,E*)-3-Cyano-2-methyl-3-pentencarbonsäure
- (15) (*Z,E*)-3-Cyano-2-methyl-3-pentencarbonsäurechlorid
- (16) (*Z,E*)-3-Cyano-2-methyl-3-pentencarbonsäureamid
- (17) (*Z,E*)-4-Ethyliden-5-imino-3-methylpyrrolidin-2-on
- (18) (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid
- (19) (4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dion
- (20a) (*E*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dion
- (20b) (*Z*)-3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methylpyrrolidin-2,5-dion
- (21) (*E*)-3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dion
- (22) N-Formylglycin-*tert*-butylester
- (23) Isocyanoessigsäure-*tert*-butylester

- (24) 4-Hydroxybutansäuremethylester
- (25) 4-Oxobutansäuremethylester
- (26) 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylester
- (27) 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylester
- (28) 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester
- (29) D-(-)-Weinsäuredibenzylester
- (30) Glyoxylsäurebenzylester
- (31) 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylester
- (32) Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid
- (33) 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester
- (34) 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolacton
- (35) 3-Acetoxy-2,3-dimethylbutyrolacton
- (36) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanon
- (37) 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanon
- (38) 3-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon
- (39) 4-Methyl-2-(5*H*)-thiophenon
- (40) 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon
- (41) 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon
- (42) 3-Hydroxyoctan-2,5-dion
- (43) 3-Hydroxyheptan-2,5-dion
- (44) 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enon
- (45) 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon
- (46) 4-Chloro-2-ethyl-3-methyl-cyclopent-2-enon
- (47) 4-Chloro-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon
- (48) (3-Ethyl-2-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester
- (49) (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester
- (50) 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethylen-dipyrrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäure-methylester

- (51) 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure
- (52) 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon
- (53) 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon
- (54) 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-2-ethyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenon
- (55) 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon
- (56) 3-Ethyl-10-carbonsäure-*tert*-butylester-9-(3-methoxycarbonylethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on
- (57) 10-Carbonsäure-*tert*-butylester-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on
- (58) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon
- (59) 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon
- (60) 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenon
- (61) 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-thiophenon
- (62) 3-Ethyl-10-formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4,8-dimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on
- (63) 10-Formyl-9-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-en-on
- (64) Dimerisierungsprodukt des 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons (58)
- (65) Dimerisierungsprodukt des 9-Formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanons (59)
- (66) Dimerisierungsprodukt des 2-Ethyl-9-formyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-thiophenons (60)
- (67) 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB-dimethylester
- (68) 17,18-Dimethyl-oxa-PCB-dimethylester

- (69) 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB-dimethylester
- (70) 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylester
- (71) 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB-dimethylester
- (72) 17,18-Dimethyl-carba-PCB-dimethylester
- (73a) Monosäure des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs (**8**)
- (73b) Monosäure des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs (**8**)
- (74) mit 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB (**6**) assembliertes 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub>
- (75) mit 17,18-Dimethyl-oxa-PCB (**7**) assembliertes 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub>
- (76) mit 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCB (**8**) assembliertes 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub>
- (77) mit 17,18-Dimethyl-thia-PCB (**9**) assembliertes 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub>
- (78) mit 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB (**10**) assembliertes 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub>
- (79) mit 17,18-Dimethyl-carba-PCB (**11**) assembliertes 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub>
- (80) mit PCB (**2**) assembliertes 65-kDa-PhyA-(His)<sub>6</sub>
- (81) Peptid der PhyA-Sequenz
- (82) mit PCB (**2**) assembliertes Peptid der PhyA-Sequenz
- (83) *p*-Anisaldehyd
- (84) 4-Ethyl-3-methyl-5-thioxopyrrol-2-on
- (85) 3-Ethyl-4-methyl-2-(3*H*)-thiophenon

### 9.3 Abbildungen

<b>Abb. 1:</b>	Photomorphosen am Beispiel des Hafers, <i>Avena sativa</i> , (A) und der Erbse, <i>Pisum</i> , (B). Die unter Lichtausschluss zum Keimen gebrachte Pflanze ist jeweils links abgebildet, die durch Lichtinduktion ausdifferenzierte, grünende Pflanze rechts. <sup>2</sup> .....	1
<b>Abb. 2:</b>	Kekulé-Formel des Chromophors Phytochromobilin, PΦB, (1) in der Z,Z,Z-Konfiguration und <i>anti,syn,anti</i> -Konformation, sowie des Phycocyanobilins, PCB, (2), Phycoerythrobilins, PEB, (3) und Phycoviolobilins, PVB (4). .....	2
<b>Abb. 3:</b>	Biosynthese des Protoporphyrins IX sowie des Biliverdins IXα, BV, (5). <sup>14-16</sup> .....	4
<b>Abb. 4:</b>	Biosynthese des PΦBs (1) und des Phytochroms A (PhyA) <sup>15,17</sup> sowie reduktive Umwandlung des BVs (5) zu den Phycobilinen PCB (2) und PEB (3). <sup>8,18</sup> .....	5
<b>Abb. 5:</b>	Ausschnitt der Spektren der P <sub>r</sub> - und P <sub>fr</sub> -Form von PhyA aus <i>Avena sativa</i> sowie des Differenzspektrums beider Zustände. <sup>32</sup> .....	8
<b>Abb. 6:</b>	Schematische Darstellung eines dimerisierten Phytochrom-Moleküls aus <i>Avena sativa</i> basierend auf elektronenmikroskopischen Daten nach Jones und Erickson. <sup>35</sup> Die Buchstaben bezeichnen die Lage der N-terminalen (N) und C-terminalen (C) Domäne sowie der Hinge-Region (H).....	9
<b>Abb. 7:</b>	Schematische Darstellung der Domänen des 124-kDa-PhyA aus <i>Avena sativa</i> . .....	10
<b>Abb. 8:</b>	PΦB (1) in der P <sub>r</sub> -Form mit Z,Z,Z-Konfiguration und <i>anti,syn,anti</i> -Konformation. Über eine Thioether-Brücke erfolgt die Verknüpfung des Chromophors mit dem Protein.....	11
<b>Abb. 9:</b>	Während die Kristallstruktur (A) die aus 321 Aminosäuren bestehende chromophorbundene Domäne des Photorezeptors Phytochrom aus <i>Deinococcus radiodurans</i> (Protein-Data-Bank-Identifikationsnummer 1ZTU) zeigt, ist im vergrößerten Ausschnitt (B) die Tasche des Proteins abgebildet, welche den kovalent gebundenen Chromophor BV (5) (blau) im P <sub>r</sub> -Zustand enthält.....	12
<b>Abb. 10:</b>	Schematische Darstellung der lichtinduzierten Z,Z,Z/Z,Z,E-Isomerisierung der C(15)-C(16)-Doppelbindung (A) und der <i>anti,syn,anti/anti,syn,syn</i> -Rotation um die C(14)-C(15)-Einfachbindung (B) des PΦBs (1). .....	13

- Abb. 11:** Schematische Darstellung des  $P_r/P_{fr}$ -Übergangs des PhyA anhand eines sequentiellen Modells. Angegeben sind die Zeitintervalle, in denen die Intermediate und die  $P_{fr}$ -Form entstehen sowie die dabei auftretenden konformellen Änderungen.<sup>62</sup> ..... 14
- Abb. 12:** Der Ausschnitt der Kristallstruktur des Photorezeptors Phytochrom aus *Deinococcus radiodurans* (Protein-Data-Bank-Identifikationsnummer 1ZTU) zeigt den Chromophor BV (5) (gelb) im  $P_r$ -Grundzustand und die sich im Abstand von bis zu 6 Å befindenden relevanten Aminosäuren. Angegeben sind die Abstände der Atome in Å, zwischen denen polare bzw. elektrostatische Wechselwirkungen auftreten..... 17
- Abb. 13:** Vergleich der Sequenzen des PhyA aus *Avena sativa* und des Bphs aus *Deinococcus radiodurans*. Während identische Sequenzabschnitte orange unterlegt sind, ist die Chromophorbindungsstelle des PhyA sowie die durch Substitution des Met<sub>259</sub> gegen Cys potentielle Chromophorbindungsstelle des Bphs rot gefärbt..... 18
- Abb. 14:** Kekulé-Formeln der nativen Chromophore PΦB (1) und PCB (2) sowie der angestrebten Reihe neuartiger Chromophore (6)–(11). ..... 19
- Abb. 15:** Verknüpfungsreaktionen zwischen C- und D-Ringen nach Inomata *et al.*<sup>93,98</sup> ..... 21
- Abb. 16:** Synthese des PΦBs (1) bzw. des PCBs (2) aus zwei Vorstufen nach Inomata *et al.*<sup>93</sup> ..... 22
- Abb. 17:** Mit photoreaktiven Gruppen am D-Ring substituierte CD-Bausteine nach Inomata *et al.*<sup>96</sup> ..... 22
- Abb. 18:** CD-Bausteine mit *Z-anti*- (links) sowie *E-anti*-Konfiguration (rechts) nach Inomata *et al.*<sup>99,100</sup> ..... 23
- Abb. 19:** Synthese des AB-Bausteins durch Sonogashira-Kupplung und anschließender 5-*exo-dig*-Cyclisierung nach Jacobi *et al.*<sup>103–106</sup> ..... 23
- Abb. 20:** Synthese von PCB (2) aus einem BC-Baustein und offenkettigen Alkinamiden sowie anschließende 5-*exo-dig*-Cyclisierungen nach Jacobi *et al.*<sup>103,110,111</sup> ..... 24
- Abb. 21:** Zwei homologe Reihen PΦB- bzw. PCB-analoger Chromophore nach Gärtner *et al.*<sup>65,66</sup> ..... 25
- Abb. 22:** Darstellung offenkettiger Tetrapyrrolderivate basierend auf der konvergenten Synthesestrategie nach Gossauer *et al.*<sup>81,82,86</sup> ..... 26
- Abb. 23:** Synthese des A-Rings 3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid (18) nach Gossauer *et al.*<sup>81</sup> ..... 28

<b>Abb. 24:</b>	Synthese des A-Rings 3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid ( <b>18</b> ) nach Inomata <i>et al.</i> <sup>116,117</sup> .....	29
<b>Abb. 25:</b>	Synthese des Isocyanoessigsäure- <i>tert</i> -butylesters ( <b>23</b> ). <sup>32,118</sup> .....	30
<b>Abb. 26:</b>	Synthese des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters ( <b>27</b> ). <sup>119-121,124</sup> .....	30
<b>Abb. 27:</b>	Synthese der Vorstufe für den B- und C-Ring ( <b>28</b> ) nach Verkade <i>et al.</i> <sup>126,127</sup> (oben) sowie Barton <i>et al.</i> (unten). <sup>125</sup> .....	31
<b>Abb. 28:</b>	Synthese des Glyoxylsäurebenzylesters ( <b>30</b> ). <sup>128</sup> .....	31
<b>Abb. 29:</b>	Synthese des B-Rings Benzyloxycarbonyl-[5- <i>tert</i> -butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid ( <b>32</b> ). <sup>128,129</sup> .....	32
<b>Abb. 30:</b>	Synthese des C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester ( <b>33</b> ). <sup>130</sup> .....	32
<b>Abb. 31:</b>	Synthese der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5 <i>H</i> )-furanon ( <b>36</b> ) und 3,4-Dimethyl-2-(5 <i>H</i> )-furanon ( <b>37</b> ). <sup>114,131</sup> .....	33
<b>Abb. 32:</b>	Synthese der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5 <i>H</i> )-thiophenon ( <b>40</b> ) und 3,4-Dimethyl-2-(5 <i>H</i> )-thiophenon ( <b>41</b> ). <sup>132,133</sup> .....	34
<b>Abb. 33:</b>	Synthese der D-Ringe (3-Ethyl-2-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester ( <b>48</b> ) und 2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester ( <b>49</b> ). <sup>114,134-138</sup> .....	35
<b>Abb. 34:</b>	Synthese des AB-Bausteins 9- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrrin-1-(10 <i>H</i> )-on-8-yl)-carbonsäure ( <b>51</b> ). <sup>31,81,82,128,139,140</sup> .....	36
<b>Abb. 35:</b>	Synthese der CD-Bausteine ( <b>58</b> )–( <b>63</b> ) nach dem Mechanismus der Knoevenagel-Reaktion <sup>32,141</sup> sowie dem alternativen Mechanismus der Horner-Emmons-Reaktion <sup>138,142</sup> und anschließender Formylierung. <sup>32,83</sup> .....	37
<b>Abb. 36:</b>	Synthese der Chromophore ( <b>6</b> )–( <b>11</b> ) durch säurekatalysierte Kondensation <sup>32,83</sup> und anschließende Spaltung der Methylestergruppen. <sup>31,32</sup> .....	38
<b>Abb. 37:</b>	Synthese des 1-(4-Methoxybenzyl)-3-methylpyrrol-2,5-dions ( <b>19</b> ). .....	39
<b>Abb. 38:</b>	Synthese der 3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dione ( <b>20a</b> ) bzw. ( <b>20b</b> ). .....	40
<b>Abb. 39:</b>	Ausschnitte aus den NOE-Spektren der Isomeren des 3-Ethyliden-1-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-pyrrolidin-2,5-dions ( <b>20a</b> ) bzw. ( <b>20b</b> ). .....	40
<b>Abb. 40:</b>	Synthese des 3-Ethyliden-4-methylpyrrolidin-2,5-dions ( <b>21</b> ). .....	41
<b>Abb. 41:</b>	Synthese des A-Rings ( <i>E</i> )-3-Ethyliden-4-methyl-2-thiosuccinimid ( <b>18</b> ). <sup>138</sup> .....	41

- Abb. 42:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des A-Rings (*E*)-3-Ethyliden-4-methyl-2-thio-succinimid (**18**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Verunreinigungen. .... 42
- Abb. 43:** Synthese des N-Formylglycin-*tert*-butylesters (**22**) und Isocyanoessigsäure-*tert*-butylesters (**23**). .... 43
- Abb. 44:** Synthese des 4-Hydroxybutansäuremethylesters (**24**). .... 44
- Abb. 45:** Synthese des 4-Oxobutansäuremethylesters (**25**) durch eine Swern-Oxidation.<sup>138,144,145</sup> ..... 44
- Abb. 46:** Synthese des 4-Hydroxy-5-nitrohexansäuremethylesters (**26**) sowie des 4-Acetoxy-5-nitrohexansäuremethylesters (**27**). .... 45
- Abb. 47:** Synthese des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**). .... 46
- Abb. 48:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 3-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylesters (**28**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Lösemittelrest. .... 47
- Abb. 49:** Synthese des Weinsäuredibenzylesters (**29**) und seine anschließende Spaltung durch Periodsäure zu Glyoxylsäurebenzylester (**30**). .... 48
- Abb. 50:** Umsetzung des Glyoxylsäurebenzylesters (**30**) mit der Vorstufe (**28**) des B- und C-Rings zu 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylester (**31**). .... 49
- Abb. 51:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Reaktionsprodukts 3-[5-((Benzylcarbonyl)-hydroxymethyl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-methylpyrrol-3-yl]-propionsäuremethylester (**31**) in CDCl<sub>3</sub>. .... 50
- Abb. 52:** Synthese des B-Rings Benzyloxycarbonyl-[5-*tert*-butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-pyrrol-2-yl]-(triphenylphosphonid)-methanid (**32**). .... 51
- Abb. 53:** Synthese des substituierten C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) durch Vilsmeier-Formylierung. .... 52
- Abb. 54:** 500-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des C-Rings 5-Formyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-4-methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**33**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Verunreinigungen. .... 53
- Abb. 55:** Synthese der D-Ring-Vorstufen 3-Acetoxy-2-ethyl-3-methylbutyrolacton (**34**) und 3-Acetoxy-3,3-dimethylbutyrolacton (**35**). .... 55
- Abb. 56:** Synthese der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanon (**36**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanon (**37**) durch Eliminierung der Acetoxyfunktion. .... 56

- Abb. 57:** 250-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-furanons (**36**) (oben) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-furanons (**37**) (unten) in CDCl<sub>3</sub>. ..... 56
- Abb. 58:** Darstellung der D-Ringe 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenon (**40**) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenon (**41**). Abgebildet sind ausschließlich die Reaktionen, die auf der Lithiierung der Position C(5) des Edukts 3-Methylthiophen beruhen..... 57
- Abb. 59:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren des 3-Ethyl-4-methyl-2-(5*H*)-thiophenons (**40**) (oben) und 3,4-Dimethyl-2-(5*H*)-thiophenons (**41**) (unten) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Verunreinigungen. .... 58
- Abb. 60:** Synthese der cyclischen Verbindungen 2-Ethyl-4-hydroxy-3-methyl-cyclopent-2-enon (**44**) und 4-Hydroxy-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enon (**45**). ..... 60
- Abb. 61:** Darstellung der D-Ringe (2-Ethyl-3-methylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**48**) und (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylester (**49**). ..... 61
- Abb. 62:** 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des (2,3-Dimethylcyclopent-2-en-4-onyl)-phosphonsäurediethylesters (**49**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Verunreinigungen. Das Multiplett zwischen 3.97 und 4.13 ppm ist zusätzlich vergrößert wiedergegeben. .... 62
- Abb. 63:** Synthese des Dipyrinons 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäuremethylester (**50**) durch eine Thio-Wittig-Reaktion. .... 63
- Abb. 64:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 3-(5-Benzyloxycarbonyl-9-*tert*-butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-dipyrin-1-(10*H*)-on-8-yl)-propionsäuremethylesters (**50**) in CDCl<sub>3</sub>. Linker hand sind die Signale des Lactamwasserstoffs, rechterhand die des Pyrrolwasserstoffs abgebildet..... 64
- Abb. 65:** Rotamere des bezüglich der C(4)-C(5)-Doppelbindung in *Z*-Konfiguration vorliegenden Dipyrinons (**50**). Die gestrichelten Linien symbolisieren Wasserstoffbrückenbindungen..... 65
- Abb. 66:** Synthese des AB-Dimers 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) durch hydrogenolytische Spaltung des Benzylesters (**50**). ..... 66
- Abb. 67:** Ausschnitt aus dem 500-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des AB-Bausteins 9-*tert*-Butoxycarbonyl-2,3-dihydro-2,7-dimethyl-3-ethyliden-8-(2-methoxycarbonyl)-ethyl-dipyrin-1-(10*H*)-on-5-carbonsäure (**51**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Reste von Dichlormethan..... 67

- Abb. 68:** Synthese der CD-Bausteine mit Furanon- (**52**) und (**53**) sowie Thiophenonstruktur (**54**) und (**55**)..... 68
- Abb. 69:** 500-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des CD-Rings 9-Carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-2,3,7-trimethylpyrromethen-1-furanon (**53**) in CDCl<sub>3</sub>..... 69
- Abb. 70:** Ergebnis der Kristallstrukturanalyse und Kekulé-Formel des 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanons (**52**). ..... 69
- Abb. 71:** Intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung (gestrichelte Linie) zwischen dem 1s-Orbital des pyrrolischen Wasserstoffatoms und einem sp<sup>3</sup>-Hybridorbital des Furanon-Sauerstoffs im 2-Ethyl-9-carbonsäure-*tert*-butylester-8-(2-methoxycarbonylethyl)-3,7-dimethylpyrromethen-1-furanon (**52**). ..... 70
- Abb. 72:** Synthese der CD-Bausteine mit Cyclopentenonstruktur (**56**) und (**57**). ..... 71
- Abb. 73:** Bevorzugte Knoevenagel-Reaktion zwischen dem Ring C (**33**) und unsubstituierten Cyclopentenonen.. ..... 72
- Abb. 74:** 500-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 10-Carbonsäure-*tert*-butylester-9-(3-methoxycarbonyl-ethyl)-3,4,8-trimethylpyrromethen-2-cyclopent-3-enon (**57**) in CDCl<sub>3</sub>. \*: Verunreinigungen..... 72
- Abb. 75:** UV/Vis-Spektren der furanon-, thiophenon- und cyclopentenonsubstituierten CD-Bausteine (**52**)–(**57**) in n-Hexan..... 74
- Abb. 76:** Substitution der *tert*-Butylgruppe der CD-Ringe durch eine Formylgruppe..... 76
- Abb. 77:** Bildung der Nebenprodukte (**64**)–(**66**) im Rahmen der Formylierung von (**58**)–(**60**). ..... 77
- Abb. 78:** UV/Vis-Spektren der während der Formylierungsreaktionen der CD-Bausteine (**58**)–(**60**) entstehenden Nebenprodukte (**64**)–(**66**) in Diethylether..... 78
- Abb. 79:** Synthese der Dimethylester (**67**)–(**72**) durch Kondensation des AB-Bausteins (**51**) mit den CD-Bausteinen (**58**)–(**63**). ..... 80
- Abb. 80:** Mechanismus der Umsetzung des AB-Bausteins (**51**) mit den CD-Bausteinen (**58**)–(**63**). Übersichtlichkeitshalber erfolgt eine vereinfachte Darstellung der an der Reaktion beteiligten Pyrrolkomponenten..... 81
- Abb. 81:** UV/Vis-Spektren des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCB-dimethylesters (**67**), 17,18-Dimethyl-thia-PCB-dimethylesters (**70**) und 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCB-dimethylesters (**71**) in Methanol. .... 82

- Abb. 82:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 17,18-Dimethyl-oxa-PCB-dimethylesters (**68**) in Pyridin-d<sub>5</sub>. Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt..... 83
- Abb. 83:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 17,18-Dimethyl-carba-PCB-dimethylesters (**72**) in Pyridin-d<sub>5</sub>. Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt..... 84
- Abb. 84:** Synthese der PCB-analogen Chromophore (**6**)–(**11**) durch Acidolyse der Propionsäuremethylester. .... 85
- Abb. 85:** Mechanismus der Acidolyse eines Methylesters zur analogen Säure.<sup>138</sup> ..... 86
- Abb. 86:** Umsetzung des A-Ring des PCBs (**2**) mit intakter Ethylidenfunktion zum 3,3<sup>1</sup>-Dihydro-3<sup>1</sup>-methoxy-Derivat..... 87
- Abb. 87:** UV/Vis-Spektren der Oxa- (**6**) und (**7**), Thia- (**8**) und (**9**) sowie Carba-PCB-Derivate (**10**) und (**11**) in Methanol/Wasser (3:1–4:1, v/v). .... 88
- Abb. 88:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCBs (**6**) in Pyridin-d<sub>5</sub>. \*: Verunreinigungen. Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt..... 89
- Abb. 89:** Ausschnitte aus dem 400-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des 18-Ethyl-17-methyl-carba-PCBs (**10**) in Pyridin-d<sub>5</sub>. \*: Verunreinigungen. Der links abgebildete Tieffeldbereich ist im Vergleich zum rechts abgebildeten Hochfeldbereich vergrößert dargestellt..... 90
- Abb. 90:** MALDI-TOF-Massenspektren des 17,18-Dimethyl-thia-PCBs (**9**) (links) und des 18-Ethyl-17-methyl-thia-PCBs (**8**) (rechts). Als Matrix dient α-CHCA. .... 91
- Abb. 91:** MALDI-TOF-Massenspektren des 18-Ethyl-17-methyl-oxa-PCBs (**6**) (links) und des 17,18-Dimethyl-carba-PCBs (**11**) (rechts). Als Matrix dient α-CHCA. .... 92
- Abb. 92:** Mechanismus der Ausbildung einer kovalenten Thioetherbindung zwischen dem A-Ring der Chromophore (**6**)–(**11**) sowie des PCBs (**2**) und des Cys<sub>321</sub> des PhyA-Apoproteins nach Falk.<sup>5</sup> ..... 94
- Abb. 93:** Gelelektrophorese der Holoproteine (**74**)–(**80**) unter Verwendung eines SDS-PAGE-Gels und MOPS SDS-Puffers (1×). Spur 4 zeigt die Signale des Proteinmarkers SDS-PAGE Low Range (Bio-Rad), deren Molekularmassen anhand der Skala beschrieben werden..... 95

<b>Abb. 94:</b> UV/Vis-Spektren der P <sub>r</sub> - und P <sub>fr</sub> -Formen sowie die daraus resultierenden Differenzspektren der Chromoproteine (74), (76) und (78) in Breaking-Puffer III.....	97
<b>Abb. 95:</b> UV/Vis-Spektren der P <sub>r</sub> - und P <sub>fr</sub> -Formen sowie das daraus resultierende Differenzspektrum des mit PCB (2) assemblierten 65-kDa-PhyA-(His) <sub>6</sub> (80) in Breaking-Puffer III.....	98
<b>Abb. 96:</b> Normierte Absorptionsspektren sowie die daraus resultierenden Emissionsspektren der Chromoproteine (74), (77), (78) und (80). Als Lösungsmittel dient Breaking-Puffer III.....	100
<b>Abb. 97:</b> Ausschnitt aus der Sequenz des PhyA3 aus <i>Avena sativa</i> sowie die daraus entlehnte 41 Aminosäuren umfassende Peptidsequenz (81) (blau hinterlegt).....	103
<b>Abb. 98:</b> MALDI-TOF-Massenspektrum des 41 Aminosäuren umfassenden Peptids der PhyA-Sequenz (81). Als Matrix dient α-CHCA.....	104
<b>Abb. 99:</b> UV/Vis-spektroskopische Untersuchung der Assemblierung des PCBs (2) und des Peptids der PhyA-Sequenz (81). Während die Absorption bei 363 nm abnimmt, steigt sie bei 633 nm.....	105
<b>Abb. 100:</b> Ausschnitt aus dem MALDI-TOF-Massenspektrum des Chromopeptids der PhyA-Sequenz (82). Als Matrix dient DHB's.....	106
<b>Abb. 101:</b> Kekulé-Formeln der synthetisierten Oxa- (6) und (7), Thia- (8) und (9) sowie Carba-Derivate (10) und (11) des PCBs (2).....	107
<b>Abb. 102:</b> Kekulé-Formeln der synthetisierten D-Ringe mit Furanon- (36) und (37), Thiophenon- (40) und (41) sowie Cyclopentenonstruktur (48) und (49). ....	108
<b>Abb. 103:</b> Kekulé-Formeln des PCBs (2) sowie von Derivaten, welche über neuartige, nichtnative Substitutionsmuster verfügen.....	111

## 9.4 Tabellen

<b>Tab. 1:</b>	Einfluss der Belichtungsbedingungen auf die relative Häufigkeit der in Keimlingen der Ackerschmalwand ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ) vorliegenden Phytochrome nach Sharrock, Mathews <i>et al.</i> <sup>4</sup> .....	7
<b>Tab. 2:</b>	Ausgewählte Eigenschaften des Kohlenstoffs, Stickstoffs, Sauerstoffs und Schwefels nach Emsley. <sup>147</sup> .....	53
<b>Tab. 3:</b>	Vergleich der Ausbeuten der Kupplungsreaktionen zwischen Ring C ( <b>33</b> ) und den D-Ringen ( <b>36</b> ), ( <b>37</b> ), ( <b>40</b> ), ( <b>41</b> ), ( <b>48</b> ) und ( <b>49</b> ). .....	73
<b>Tab. 4:</b>	Absorptionsmaxima und molare dekadische Extinktionskoeffizienten furanon-, thiophenon- und cyclopentenonsubstituierten CD-Bausteine ( <b>52</b> )–( <b>57</b> ) in n-Hexan.....	75
<b>Tab. 5:</b>	Vergleich der Ausbeuten der Formylierungsreaktionen der CD-Bausteine ( <b>52</b> )–( <b>57</b> ). .....	76
<b>Tab. 6:</b>	Vergleich der Ausbeuten der während der Formylierungsreaktionen der CD-Bausteine ( <b>58</b> )–( <b>60</b> ) entstehenden Nebenprodukte ( <b>64</b> )–( <b>66</b> ). .....	78
<b>Tab. 7:</b>	Absorptionsmaxima und molare dekadische Extinktionskoeffizienten der Nebenprodukte ( <b>64</b> )–( <b>66</b> ) in Diethylether.....	79
<b>Tab. 8:</b>	Langwellige Absorptionsmaxima der synthetischen ( <b>6</b> )–( <b>11</b> ) sowie der nativen Chromophore PΦB ( <b>1</b> ) und PCB ( <b>2</b> ). <sup>a</sup> in Methanol und Wasser (3:1–4:1, v/v), <sup>b</sup> in Methanol. ....	88
<b>Tab. 9:</b>	Absorptionsmaxima $\lambda_{\max}$ der freien Chromophore ( <b>1</b> ), ( <b>2</b> ) und ( <b>6</b> )–( <b>11</b> ) sowie der P <sub>r</sub> - bzw. P <sub>fr</sub> -Zustände der damit generierten Chromoproteine ( <b>74</b> )–( <b>80</b> ). <sup>a</sup> in Methanol und Wasser (3:1–4:1, v/v), <sup>b</sup> in Methanol, <sup>c</sup> in Breaking-Puffer III.....	96
<b>Tab. 10:</b>	SAR sowie Absorptionsdifferenzen zwischen den P <sub>r</sub> - und P <sub>fr</sub> -Maxima der Proteine ( <b>74</b> )–( <b>80</b> ). .....	99
<b>Tab. 11:</b>	Anregungs- und Emissionsmaxima der Fluoreszenzspektren sowie Fluoreszenz-Quantenausbeuten $\phi_x$ der Chromoproteine ( <b>74</b> )–( <b>80</b> ). .....	101
<b>Tab. 12:</b>	Wellenlängen der zur Überführung der Holoproteine ( <b>74</b> )–( <b>80</b> ) in die P <sub>r</sub> - bzw. P <sub>fr</sub> -Form verwendeten Farbfilter. IF: Interferenzfilter, KF: Kantenfilter. ....	221

**10 Literatur**

1. Rüdiger, W.; Thümmel, F. Phytochrom, das Sehpigment der Pflanzen. *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1242–1254.
2. Gärtner, W. Das pflanzliche Photorezeptorsystem Phytochrom. *Biol. unserer Zeit* **1997**, *27*, 235–244.
3. Gärtner, W.; Braslavsky, S. E. The phytochromes: Spectroscopy and function. In *Photoreceptors and light signalling*, Batschauer, A., Hrsg.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2003; 136–180.
4. Davis, S. J.; Hennig, L.; Karniol, B.; Kircher, S.; Mathews, S.; Nagy, F.; Schäfer, E.; Sharrock, R. A.; Vierstra, R. D. The phytochrome. In *Photomorphogenesis in plants and bacteria*, 3. Auflage; Schäfer, E., Nagy, F., Hrsg.; Springer: Dordrecht, 2006; 41–170.
5. Falk, H. *The chemistry of linear oligopyrroles and bile pigments*; Springer-Verlag: Wien, 1989.
6. Scheer, H. Biliproteine. *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 230–250.
7. Glazer, A. N. Light harvesting by phycobilisomes. *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1985**, *14*, 47–77.
8. Richter, G. *Biochemie der Pflanzen*; Georg-Thieme-Verlag: Stuttgart, 1996.
9. Schirmer, T.; Bode, W.; Huber, R. Refined three-dimensional structures of two cyanobacterial C-phycoyanins at 2.1 and 2.5 Å resolution – A common principle of phycobilin-protein interaction. *J. Mol. Biol.* **1987**, *196*, 677–695.
10. Schirmer, T.; Huber, R.; Schneider, M.; Bode, W. Crystal structure analysis and refinement at 2.5 Å of hexameric C-phycoyanin from the cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum* – The molecular model and its implications for light-harvesting. *J. Mol. Biol.* **1986**, *188*, 651–676.
11. Zhao, K. H.; Haessner, R.; Cmiel, E.; Scheer, H. Type I reversible photochemistry of phycoerythrocyanin involves Z/E-isomerization of  $\alpha$ -84 phycoviolobilin chromophore. *Biochim. Biophys. Acta* **1995**, *1228*, 235–243.
12. Oberhuber, M.; Berghold, J.; Breuker, K.; Hortensteiner, S.; Kräutler, B. Breakdown of chlorophyll: A nonenzymatic reaction accounts for the formation of the colorless "nonfluorescent" chlorophyll catabolites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 6910–6915.
13. Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Stryer, L. *Biochemie*; 5. Auflage; Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg, 2003.

14. Leeper, F. J. The biosynthesis of porphyrins, chlorophylls, and vitamin B<sub>12</sub>. *Nat. Prod. Rep.* **1989**, 6, 171–203.
15. Terry, M. J.; Wahleithner, J. A.; Lagarias, J. C. Biosynthesis of the plant photo-receptor phytochrome. *Arch. Biochem. Biophys.* **1993**, 306, 1–15.
16. Porra, R. J.; Meisch, H. U. The biosynthesis of chlorophyll. *Trends Biochem. Sci.* **1984**, 9, 99–104.
17. Terry, M. J.; McDowell, M. T.; Lagarias, J. C. (3Z)- and (3E)-phytochromobilin are intermediates in the biosynthesis of the phytochrome chromophore. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 11111–11118.
18. Beale, S. I.; Cornejo, J. Biosynthesis of phycobilins – 15,16-dihydrobiliverdin-IX $\alpha$  is a partially reduced intermediate in the formation of phycobilins from biliverdin-IX $\alpha$ . *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 22341–22345.
19. Elich, T. D.; Lagarias, J. C. Phytochrome chromophore biosynthesis – Both 5-aminolevulinic acid and biliverdin overcome inhibition by gabaculine in etiolated *Avena-sativa* L. seedlings. *Plant Physiol.* **1987**, 84, 304–310.
20. Elich, T. D.; McDonagh, A. F.; Palma, L. A.; Lagarias, J. C. Phytochrome chromophore biosynthesis – Treatment of tetrapyrrole-deficient *Avena* explants with natural and non-natural bilatrienes leads to formation of spectrally active holoproteins. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 183–189.
21. 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 sequence for two gene products expressed in etiolated *Avena*. *Nucl. Acids Res.* **1985**, 13, 8543–8559.
22. Nakasako, M.; Wada, M.; Tokutomi, S.; Yamamoto, K. T.; Sakai, J.; Kataoka, M.; Tokunaga, F.; Furuya, M. Quaternary structure of pea phytochrome I dimer studied with small-angle X-ray scattering and rotary-shadowing electron microscopy. *Photochem. Photobiol.* **1990**, 52, 3–12.
23. Quail, P. H. Phytochrome: A light-activated molecular switch that regulates plant gene expression. *Ann. Rev. Genet.* **1991**, 25, 389–409.
24. Heyer, A.; Gatz, C. Isolation and characterization of a cDNA-clone coding for potato type A phytochrome. *Plant Mol. Biol.* **1992**, 18, 535–544.
25. Hanelt, S.; Braun, B.; Marx, S.; Schneider-Poetsch, H. A. W. Phytochrome evolution: A phylogenetic tree with first complete sequence of phytochrome from a cryptogamic plant (*Selaginella martensii* Spring). *Photochem. Photobiol.* **1992**, 56, 751–758.

26. Wada, M.; Kadota, A. photomorphogenesis in lower green plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* **1989**, *40*, 169–191.
27. Thümmler, F.; Beetz, A.; Rüdiger, W. Phytochrome in lower plants – Detection and partial sequence of a phytochrome gene in the moss *Ceratodon purpureus* using the polymerase chain reaction. *FEBS Lett.* **1990**, *275*, 125–129.
28. Hughes, J.; Lamparter, T.; Mittmann, F.; Hartmann, E.; Gärtner, W.; Wilde, A.; Borner, T. A prokaryotic phytochrome. *Nature* **1997**, *386*, 663.
29. Jorissen, H. J. M. M.; Quest, B.; Remberg, A.; Coursin, T.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K.; de Marsac, N. T.; Gärtner, W. Two independent, light-sensing two-component systems in a filamentous cyanobacterium. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 2662–2671.
30. Sharrock, R. A.; Quail, P. H. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana* – Structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes & Development* **1989**, *3*, 1745–1757.
31. Lindner, I. Totalsynthese neuartiger Chromophore des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom und Charakterisierung der biochemischen und spektralen Eigenschaften der damit generierten Chromoproteine. *Dissertation*, Gerhard-Mercator-Universität – Gesamthochschule Duisburg, Max-Planck-Institut für Strahlenchemie, Mülheim an der Ruhr, 2000.
32. Robben, U. Darstellung neuartiger Tetrapyrrolverbindungen und Charakterisierung ihrer Eigenschaften als Chromophore in rekombinantem *Phytochrom*. *Dissertation*, Gerhard-Mercator-Universität – Gesamthochschule Duisburg, Max-Planck-Institut für Strahlenchemie, Mülheim an der Ruhr, 2000.
33. Kendrick, R. E.; Kronenberg, C. J. P. Phototransformation of phytochrome. *Photochem. Photobiol.* **1977**, *26*, 210–214.
34. Vierstra, R. D.; Quail, P. H. Proteolysis alters the spectral properties of 124 kDalton phytochrome from *Avena*. *Planta* **1982**, *156*, 158–165.
35. Jones, A. M.; Erickson, H. P. Domain structure of phytochrome from *Avena sativa* visualized by electron microscopy. *Photochem. Photobiol.* **1989**, *49*, 479–483.
36. Jones, A. M.; Quail, P. H. Quaternary structure of 124-kilodalton phytochrome from *Avena sativa* L. *Biochemistry* **1986**, *25*, 2987–2995.
37. Quail, P. H.; Boylan, M. T.; Parks, B. M.; Short, T. W.; Xu, Y.; Wagner, D. Phytochromes: Photosensory perception and signal transduction. *Science* **1995**, *268*, 675–680.

38. Wagner, J. R.; Brunzelle, J. S.; Forest, K. T.; Vierstra, R. D. A light-sensing knot revealed by the structure of the chromophore-binding domain of phytochrome. *Nature* **2005**, *438*, 325–331.
39. Elich, T. D.; Lagarias, J. C. Formation of a photoreversible phycocyanobilin-apophytochrome adduct *in vitro*. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 12902–12908.
40. Lagarias, J. C.; Lagarias, D. M. Self-assembly of synthetic phytochrome holo-protein *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 5778–5780.
41. Boylan, M. T.; Quail, P. H. Phytochrome A overexpression inhibits hypocotyl elongation in transgenic *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10806–10810.
42. Cherry, J. R.; Hondred, D.; Walker, J. M.; Vierstra, R. D. Phytochrome requires the 6-kDa N-terminal domain for full biological activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 5039–5043.
43. Hill, C. Expression von DNA-Fragmenten des AP3-Gens von *Avena sativa* L. in *Escherichia coli* und Untersuchung der Photochromie der mit Phycocyanobilin rekonstituierten Proteine. *Dissertation*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Max-Planck-Institut für Strahlenchemie, Mülheim an der Ruhr, 1994.
44. Jordan, E. T.; Cherry, J. R.; Walker, J. M.; Vierstra, R. D. The amino-terminus of phytochrome A contains two distinct functional domains. *Plant J.* **1996**, *9*, 243–257.
45. Edgerton, M. D.; Jones, A. M. Localization of protein-protein interactions between subunits of phytochrome. *Plant Cell* **1992**, *4*, 161–171.
46. Rüdiger, W.; Correll, D. L. Über die Struktur des Phytochrom-Chromophors und seine Protein-Bindung. *Liebigs Ann. Chem.* **1969**, 208–212.
47. Lagarias, J. C.; Rapoport, H. Chromopeptides from phytochrome. The structure and linkage of the P<sub>R</sub> form of the phytochrome chromophore. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4821–4828.
48. Knipp, B.; Müller, M.; Metzler-Nolte, N.; Balaban, T. S.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. NMR verification of helical conformations of phycocyanobilin in organic solvents. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 881–888.
49. Thümmler, F.; Rüdiger, W.; Cmiel, E.; Schneider, S. Chromopeptides from phytochrome and phycocyanin. NMR studies of the P<sub>fr</sub> and P<sub>r</sub> chromophore of phytochrome and *E,Z* isomeric chromophores of phycocyanin. *Z. Naturforsch.* **1983**, *38 c*, 359–368.

50. Duerring, M.; Huber, R.; Bode, W.; Ruemбели, R.; Zuber, H. Refined three-dimensional structure of phycoerythrocyanin from the cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* at 2.7 Å. *J. Mol. Biol.* **1990**, *211*, 633–644.
51. Fodor, S. P. A.; Lagarias, J. C.; Mathies, R. A. Resonance Raman analysis of the P<sub>r</sub> and P<sub>fr</sub> forms of phytochrome. *Biochemistry* **1990**, *29*, 11141–11146.
52. Hildebrandt, P.; Hoffmann, A.; Lindemann, P.; Heibel, G.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K.; Schrader, B. Fourier transform resonance Raman spectroscopy of phytochrome. *Biochemistry* **1992**, *31*, 7957–7962.
53. Matysik, J.; Hildebrandt, P.; Schlamann, W.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. Fourier-transform resonance Raman spectroscopy of intermediates of the phytochrome photocycle. *Biochemistry* **1995**, *34*, 10497–10507.
54. Mroginski, M. A.; Murgida, D. H.; von Stetten, D.; Kneip, C.; Mark, F.; Hildebrandt, P. Determination of the chromophore structures in the photoinduced reaction cycle of phytochrome. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16734–16735.
55. Stanek, M.; Grubmayr, K. Protonated 2,3-dihydrobilindiones – Models for the chromophores of phycocyanin and the red-absorbing form of phytochrome. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1653–1659.
56. Stanek, M.; Grubmayr, K. Deprotonated 2,3-dihydrobilindiones – Models for the chromophore of the far-red-absorbing form of phytochrome. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1660–1666.
57. Kneip, C.; Hildebrandt, P.; Schlamann, W.; Braslavsky, S. E.; Mark, F.; Schaffner, K. Protonation state and structural changes of the tetrapyrrole chromophore during the P<sub>r</sub> ↔ P<sub>fr</sub> phototransformation of phytochrome: A resonance Raman spectroscopic study. *Biochemistry* **1999**, *38*, 15185–15192.
58. Aramendía, P. F.; Ruzsicska, B. P.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. Laser flash photolysis of 124-kilodalton oat phytochrome in H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O solutions: Formation and decay of the I<sub>700</sub> intermediates. *Biochemistry* **1987**, *26*, 1418–1422.
59. Braslavsky, S. E.; Matthews, J. I.; Herbert, H. J.; de Kok, J.; Spruit, C. J. P.; Schaffner, K. Characterization of a microsecond intermediate in the laser flash photolysis of small phytochrome from oat. *Photochem. Photobiol.* **1980**, *31*, 417–420.
60. Inoue, Y.; Rüdiger, W.; Grimm, R.; Furuya, M. The phototransformation pathway of dimeric oat phytochrome from the red-light-absorbing form to the far-red-light-absorbing form at physiological temperature is composed of four intermediates. *Photochem. Photobiol.* **1990**, *52*, 1077–1083.

61. Scurlock, R. D.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. A Phytochrome study using two-laser/two-color flash photolysis:  $I_{700}$  is a mandatory intermediate in the  $P_r \rightleftharpoons P_{fr}$  phototransformation. *Photochem. Photobiol.* **1993**, *57*, 690–695.
62. Scurlock, R. D.; Evans, C. H.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. A phytochrome phototransformation study using two-laser/two-color flash photolysis: Analysis of the decay mechanism of  $I_{700}$ . *Photochem. Photobiol.* **1993**, *58*, 106–115.
63. Zhang, C. F.; Farrens, D. L.; Bjorling, S. C.; Song, P.-S.; Kliger, D. S. Time-resolved absorption studies of native etiolated oat phytochrome. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4569–4580.
64. Nakazawa, M.; Manabe, K. Differential exposure of tryptophan residues in the red and far-red light absorbing forms of phytochrome, as revealed by chemical modification. *Plant Cell Physiol.* **1993**, *34*, 1097–1105.
65. Lindner, I.; Knipp, B.; Braslavsky, S. E.; Gärtner, W.; Schaffner, K. A novel chromophore selectively modifies the spectral properties of one of the two stable states of the plant photoreceptor phytochrome. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1843–1846.
66. Robben, U.; Lindner, I.; Gärtner, W.; Schaffner, K. Analysis of the topology of the chromophore binding pocket of phytochromes by variation of the chromophore substitution pattern. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1048–1050.
67. Crusats, J.; Farrera, J. A.; Ribó, J. M. On the preparation of bilirubins of the natural  $\alpha$  series substituted with a propionic acid residue and a hydroxypropyl group. *Monatsh. Chem.* **1996**, *127*, 85–89.
68. Lehner, H.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. Phytochrome models, I. Isolation, characterization, and solution conformation of biliverdin dimethyl ester and its XIII $\alpha$  isomer. *Liebigs Ann. Chem.* **1978**, 1990–2001.
69. Boiadjev, S. E.; Lightner, D. A. Novel benzoic acid congeners of bilirubin. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7591–7604.
70. Boiadjev, S. E.; Lightner, D. A. Altering the acidity and solution properties of bilirubin. Methoxy and methylthio substituents. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6220–6228.
71. Boiadjev, S. E.; Lightner, D. A. Enantioselection in bilirubin analogs with only one propionic acid group. *Tetrahedron Asymmetry* **1997**, *8*, 3603–3615.
72. Trull, F. R.; Rodriguez, M.; Lightner, D. A. A generalized method for synthesizing unsymmetric from symmetrical bile pigments. *Synth. Comm.* **1993**, *23*, 2771–2783.

73. Lightner, D. A.; Quistad, G. B.; Pak, C. S. Bilatriene-*abc* tetrapyrrole synthesis by acid-catalyzed oxidative coupling of dipyrroles. *Synthesis* **1976**, 335–336.
74. Ghosh, B.; Lightner, D. A.; McDonagh, A. F. Synthesis, conformation, and metabolism of a selenium bilirubin. *Monatsh. Chem.* **2004**, *135*, 1189–1199.
75. Tu, B.; Ghosh, B.; Lightner, D. A. A new class of linear tetrapyrroles: Acetylenic 10,10a-didehydro-10a-homobilirubins. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8950–8963.
76. Brower, J. O.; Lightner, D. A. Fluorophenyl bilirubins: Synthesis and stereochemistry. *Monatsh. Chem.* **2001**, *132*, 1527–1546.
77. Boiadjev, S. E.; Lightner, D. A. A water-soluble synthetic bilirubin with carboxyl groups replaced by sulfonyl moieties. *Monatsh. Chem.* **2001**, *132*, 1201–1212.
78. Tipton, A. K.; Lightner, D. A.; McDonagh, A. F. Synthesis and metabolism of the first thia-bilirubin. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1832–1838.
79. Trull, F. R.; Franklin, W.; Lightner, D. A. Total synthesis of symmetric bile pigments: Mesobilirubin-IV $\alpha$ , mesobilirubin-XIII $\alpha$  and etiobilirubin-IV $\gamma$ . *J. Heterocyclic Chem.* **1987**, *24*, 1573–1579.
80. Falk, H.; Grubmayr, K.; Kapl, G.; Muller, N.; Zrunek, U. Beiträge zur Chemie der Pyrrolpigmente. 48 Mitt.: Phytochrommodellstudien – Diastereomere 2,3-Dihydrobilatriene-*abc*. *Monatsh. Chem.* **1983**, *114*, 753–771.
81. Gossauer, A.; Hinze, R.-P. An improved chemical synthesis of racemic phycocyanobilin dimethyl ester. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 283–285.
82. Gossauer, A.; Hirsch, W. Synthese von Gallenfarbstoffen, IV. Totalsynthese des racemischen Phycocyanobilins (Phycobiliverdins) sowie eines "Homophycobiliverdins". *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 1496–1513.
83. Weller, J. P.; Gossauer, A. Synthese von Gallenfarbstoffen, X. Synthese und Photoisomerisierung des *racem.* Phytochromobilin-dimethylesters. *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 1603–1611.
84. Gossauer, A.; Klahr, E. Synthese von Gallenfarbstoffen, VIII. Totalsynthese des *racem.* Phycoerythrobilin-dimethylesters. *Chem. Ber.* **1979**, *112*, 2243–2255.
85. Gossauer, A.; Weller, J. P. Chemical total synthesis of (+)-(2*R*,16*R*)- and (+)-(2*S*,16*R*)-phycoerythrobilin dimethyl ester. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 5928–5933.
86. Gossauer, A.; Hirsch, W. Synthesen von Gallenfarbstoffen, II. Totalsynthese des Phycocyanobilins. *Tetrahedron Lett.* **1973**, 1451–1454.

87. Gossauer, A.; Miehe, D. Synthese von Gallenfarbstoffen, I. Ein synthetischer Zugang zu 3,4-Dihydro-5(1*H*)-pyrromethenonen. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *27*, 2787–2788.
88. Sawamoto, D.; Nakamura, H.; Kinoshita, H.; Fujinami, S.; Inomata, K. Total synthesis of phycocyanobilin derivatives bearing a modified A-ring towards the structure/function analysis of phytochrome. *Chem. Lett.* **2000**, (12), 1398–1399.
89. Ohta, A.; Sawamoto, D.; Jayasundera, K. P.; Kinoshita, H.; Inomata, K. Efficient synthesis of B- and C-rings components of phycobilin derivatives for structure/function analysis of phytochrome. *Chem. Lett.* **2000**, 492–493.
90. Takeda, S.; Jayasundera, K. P.; Kakiuchi, T.; Kinoshita, H.; Inomata, K. An efficient method for the conversion of 2-bromo-5-tosylpyrroles to the corresponding 5-tosylpyrrolinones as the D-ring of phycocyanobilin derivatives. *Chem. Lett.* **2001**, 590–591.
91. Kinoshita, H.; Hayashi, Y.; Murata, Y.; Inomata, K. Convenient and regioselective syntheses of 3,4-disubstituted  $\Delta^3$ -pyrrolin-2-one derivatives starting from 2-tosyl-3,4-disubstituted pyrroles. *Chem. Lett.* **1993**, 1437–1440.
92. Ngwe, H.; Kinoshita, H.; Inomata, K. Regioselective preparation of diethyl 3,4-disubstituted 1,5-dihydro-5-oxo-2*H*-pyrrol-2-ylphosphonates and their coupling with aldehydes. Application to the synthesis of C/D-rings component of phycocyanobilin. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 3320–3326.
93. Kakiuchi, T.; Kinoshita, H.; Inomata, K. Total synthesis of ( $\pm$ )-phytochromobilin starting from two pyrrole derivatives. *Synlett* **1999**, 901–904.
94. Jayasundera, K. P.; Kinoshita, H.; Inomata, K. An efficient method to construct the A,B-rings component toward total syntheses of phycocyanobilin and its derivative as a photoprobe. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2000**, *73*, 497–505.
95. Jayasundera, K. P.; Kinoshita, H.; Inomata, K. Efficient construction of A,B-rings component for syntheses of phycocyanobilin and its derivative. *Chem. Lett.* **1998**, 1227–1228.
96. Masukawa, T.; Kato, H.; Kakiuchi, T.; Jayasundera, K. P.; Kinoshita, H.; Inomata, K. Controlled synthesis of C/D-ring components of phycobilin derivatives bearing a photoreactive group at D-ring. *Chem. Lett.* **1998**, 455–456.
97. Kinoshita, H.; Ngwe, H.; Kobori, K.; Inomata, K. A new and convenient Wittig-type reaction for the preparation of pyrromethenone derivative. *Chem. Lett.* **1993**, 1441–1442.

98. Ngwe, H.; Nakayama, E.; Higashi, T.; Kinoshita, H.; Inomata, K. A new method for the preparation of A-rings and D-rings of phycocyanobilin using mucochloric acid as a starting material. *Chem. Lett.* **1995**, 713–714.
99. Hammam, M. A. S.; Murata, Y.; Kinoshita, H.; Inomata, K. Synthesis of the sterically fixed biliverdin derivative bearing the *Z-anti* C/D-ring component. *Chem. Lett.* **2004**, 33, 1258–1259.
100. Kinoshita, H.; Hammam, M. A. S.; Inomata, K. Synthesis of biliverdin derivative bearing the sterically fixed *E-anti* C/D-ring component. *Chem. Lett.* **2005**, 34, 800–801.
101. Jacobi, P. A.; Buddhu, S. C.; Fry, D.; Rajeswari, S. Studies on the synthesis of phytochrome and related tetrapyrroles. Dihydropyrromethenones by photochemical rearrangement of *N*-pyrrolo enamides. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 2894–2906.
102. Jacobi, P. A.; Rajeswari, S. Tetrapyrroles, III. Homochiral dihydropyrromethenones from *N*-aminopyrroles and acetylenic acids. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6231–6234.
103. 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.; Ghosh, I.; Pippin, D. Synthetic studies in phytochrome chemistry. *Synlett* **2005**, 2861–2885.
104. Jacobi, P. A.; Rajeswari, S. Tetrapyrroles, IV. A highly efficient synthesis of homochiral dihydropyrromethenones *via* Pd<sup>0</sup> mediated coupling of iodopyrroles and acetylenic amides. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6235–6238.
105. Jacobi, P. A.; Guo, J. S.; Zheng, W. J. An unequivocal synthesis of the ring-A,B dihydropyrromethenone of phytochrome. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 1197–1200.
106. Jacobi, P. A.; Guo, J. S.; Rajeswari, S.; Zheng, W. J. Dihydropyrromethenones by Pd(0)-mediated coupling of iodopyrroles and acetylenic amides. Synthesis of the A,B-ring segment of phytochrome. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 2907–2916.
107. Jacobi, P. A.; Desimone, R. W. Tetrapyrroles, V. Formal syntheses of the ring-C,D pyrromethenones of phytochrome and phycocyanin. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6239–6242.
108. Jacobi, P. A.; Desimone, R. W.; Ghosh, I.; Guo, J. S.; Leung, S. H.; Pippin, D. New syntheses of the C,D-ring pyrromethenones of phytochrome and phycocyanin. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 8478–8489.

109. Jacobi, P. A.; Guo, J. S.; Hauck, S. I.; Leung, S. H. An improved synthesis of the C,D-ring pyrromethenone of phytochrome and phytochromobilin. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6069–6072.
110. Jacobi, P. A.; Coutts, L. D.; Guo, J. S.; Hauck, S. I.; Leung, S. H. New strategies for the synthesis of biologically important tetrapyrroles. The "B,C + D + A" approach to linear tetrapyrroles. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 205–213.
111. Jacobi, P. A.; Guo, J. S. A conceptually new approach to the synthesis of linear tetrapyrroles related to phytochrome. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2717–2720.
112. Hanzawa, H.; Inomata, K.; Kinoshita, H.; Kakiuchi, T.; Jayasundera, K. P.; Sawamoto, D.; Ohta, A.; Uchida, K.; Wada, K.; Furuya, M. *In vitro* assembly of phytochrome B apoprotein with synthetic analogs of the phytochrome chromophore. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 3612–3617.
113. Hanzawa, H.; Shinomura, T.; Inomata, K.; Kakiuchi, T.; Kinoshita, H.; Wada, K.; Furuya, M. Structural requirement of bilin chromophore for the photo-sensory specificity of phytochromes A and B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4725–4729.
114. Bongards, C. Darstellung von Pyrrolbausteinen als Vorstufe für Chromophore. *Diplomarbeit*, Universität Duisburg-Essen, Max-Planck-Institut für Bioanorganische Chemie, Mülheim an der Ruhr, 2003.
115. Lindner, I. Synthese und Charakterisierung von offenkettigen Tetrapyrrol-Derivaten. *Diplomarbeit*, Gerhard-Mercator-Universität – Gesamthochschule Duisburg, Max-Planck-Institut für Strahlenchemie, Mülheim an der Ruhr, 1995.
116. 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.* **1998**, 1001–1002.
117. Inomata, K. Persönliche Mitteilungen, 2004.
118. Ugi, I.; Betz, W.; Fetzer, U.; Offermann, K. Notiz zur Darstellung von Isonitri- len aus monosubstituierten Formamiden durch Wasserabspaltung mittels Phosgen und Trialkylaminen. *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 2814–2816.
119. Corey, E. J.; Albright, J. O.; Barton, A. E.; Hashimoto, S. I. Chemical and enzymic syntheses of 5-HPETE, a key biological precursor of slow-reacting substance of anaphylaxis (SRS), and 5-HETE. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1435–1436.

120. Estieu, K.; Paugam, R.; Ollivier, J.; Salaün, J.; Cordero, F. M.; Goti, A.; Brandi, A. New alkylidenecyclopropane amino acid derivatives for an efficient construction of the 6*H*-pyrrolo[3,4-*b*]pyridine skeleton. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8276–8277.
121. Mancuso, A. J.; Huang, S.-L.; Swern, D. Oxidation of long-chain and related alcohols to carbonyls by dimethyl-sulfoxide "activated" by oxalyl chloride. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480–2482.
122. Gannett, P. M.; Nagel, D. L.; Reilly, P. J.; Lawson, T.; Sharpe, J.; Toth, B. The capsaicinoids – Their separation, synthesis, and mutagenicity. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1064–1071.
123. Kohori, K.; Hashimoto, M.; Kinoshita, H.; Inomata, K. A novel synthesis of C/D-rings component of phytochromobilin dimethyl ester. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 3088–3093.
124. Drinan, M. A.; Lash, T. D. Synthesis of benzyl and *tert*-butyl 3-(2-methoxycarbonyl)ethyl-4-methylpyrrole-2-carboxylates from methyl 4-oxobutanoate. *J. Heterocyclic Chem.* **1994**, *31*, 255–257.
125. Barton, D. H. R.; Kervagoret, J.; Zard, S. Z. A useful synthesis of pyrroles from nitroolefins. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 7587–7598.
126. Tang, J.; Verkade J.G. Nonionic superbases-promoted synthesis of oxazoles and pyrroles: Facile synthesis of porphyrins and  $\alpha$ -C-acyl amino acid esters. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7793–7802.
127. Verkade J.G.; Tang, J. Preparation of pyrrol and oxazole compounds: Formation of porphyrins and C-acyl- $\alpha$ -amino acid esters therefrom. *Patent*, Iowa/USA 5.367.084, 1994.
128. Bishop, J. E.; O'Connell, J. F.; Rapoport, H. The reaction of thioimides with phosphorus ylides. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5079–5091.
129. Corey, E. J.; Kim, C. U.; Takeda, M. A method for selective conversion of allylic and benzylic alcohols to halides under neutral conditions. *Tetrahedron Lett.* **1972**, 4339–4342.
130. Gossauer, A.; Miede, D. Synthesen von Gallenfarbstoffen, III. Totalsynthese des Mesobilirhodin-dimethylesters. *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 352–362.
131. DeGraw, J. I. An improved synthesis of pilocarpine. *Tetrahedron* **1972**, *28*, 967–972.
132. Kiesewetter, R.; Margaretha, P. Photochemistry of 5,5-dimethyl-2(5*H*)-thiophenone. *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 2350–2354.

133. Cederlund, B.; Jespersen, Å.; Hörnfeldt, A.-B. Unsaturated  $\gamma$ -thiolactones, XV. Alkylation of the 2-hydroxythiophene system and the 2-hydroxyfuran system with an ion pair extraction method. *Acta Chem. Scand.* **1971**, *25*, 3656–3662.
134. Matsui, M.; LaForge, F. B.; Green, N.; Schechter, M. S. Furethrin. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 2181–2182.
135. Andersen, S.; Das, N. B.; Jørgensen, R. D.; Kjeldsen, G.; Knudsen, J. S.; Sharma, S. C.; Torssell, K. B. G. Silyl nitronates in organic synthesis. Routes to heterocycles and cyclopentanoids. Synthesis of allethrolone and calythrone. Acylation and cyanhydroxylation of double bonds. An exploratory study. *Acta Chem. Scand.* **1982**, *B 36*, 1–14.
136. Schott, V. Darstellung verschiedener Cyclopentenone: Vorstufen für strukturell veränderte, offenkettige Tetrapyrrole. *Bachelorarbeit*, Universität Duisburg-Essen, 2004.
137. LaForge, F. B.; Haller, H. L. Constituents of pyrethrum flowers. VI. The structure of pyrethrolone. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 1777–1780.
138. Schwetlick, K. *Organikum – Organisch-chemisches Grundpraktikum*; 21. Auflage; Wiley-VCH: Weinheim, 2001.
139. Greene, T. W.; Wuts P.M. Protection for the carboxyl group. In *Protective groups in organic synthesis*, 2. Auflage; Greene, T. W., Wuts, P. M., Hrsg.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1991; 250–252.
140. Hartung, W. H.; Simonoff, R. Hydrogenolysis of benzyl groups attached to oxygen, nitrogen, or sulfur. *Org. React.* **1953**, *7*, 263–326.
141. Montforts, F. P.; Schwartz, U. M. Ein gezielter Aufbau des Chlorinsystems. *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 1228–1253.
142. Bermejo, F. A.; Rico-Ferreira, R.; Bamidele-Sanni, S.; García-Granda, S. Total synthesis of (+)-ampullicin and (+)-isoampullicin: Two fungal metabolites with growth regulatory activity isolated from *Ampulliferina* Sp. 27. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8287–8292.
143. Ballini, R.; Rinaldi, A. Michael addition of nitroalkanes to dimethyl maleate with DBU. A new direct method for the synthesis of polyfunctionalized  $\alpha,\beta$ -unsaturated esters. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9247–9250.
144. Tidwell, T. T. Oxidation of alcohols to carbonyl compounds via alkoxy-sulfonium ylides: The Moffatt, Swern, and related oxidations. *Org. React.* **1990**, *39*, 297–572.
145. Tidwell, T. T. Oxidation of alcohols by activated dimethyl sulfoxide and related reactions: An update. *Synthesis* **1990**, 857–869.

146. Laue, T.; Plagens, A. *Namen- und Schlagwort-Reaktionen der Organischen Chemie*; 3. Auflage; Teubner: Stuttgart, 1998.
147. Emsley, J. *Die Elemente*; de Gruyter: Berlin, 1994.
148. Kosolapoff, G. M. The synthesis of phosphonic and phosphinic acids. *Org. React.* **1951**, 6, 273–338.
149. Appel, R.; Burger, K.; Cadogan, J. I. G.; Gosney, I.; Halstenberg, M.; Mackie, R. K.; Ramage, R.; Rowley, A. G.; Smith, D. J. H.; Walker, B. J.; Zbiral, E. *Organophosphorous reagents in organic synthesis*, Cadogan, J. I., Hrsg.; Academic Press: London, 1979.
150. Arbusow, B. A. Michaelis-Arbusow- und Perkow-Reaktionen. *Pure Appl. Chem.* **1964**, 9, 307–335.
151. Pretsch, E.; Bühlmann, P. *Spektroskopische Daten zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen*; 4. Auflage; Springer-Verlag: Berlin, 2001.
152. *Römpf Online*, 16. Version; Georg-Thieme-Verlag: Stuttgart, 2006
153. Otto, M. *Analytische Chemie*; VCH: Weinheim, 1995.
154. Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*; 6. Auflage; Georg-Thieme-Verlag: Stuttgart, 2002.
155. Walter, W.; Francke, W. *Lehrbuch der Organischen Chemie*; 23. Auflage; S. Hirzel Verlag: Stuttgart, 1998.
156. Bhoo, S. H.; Hirano, T.; Jeong, H. Y.; Lee, J. G.; Furuya, M.; Song, P. S. Phytochrome photochromism probed by site-directed mutations and chromophore esterification. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11717–11718.
157. Klahr, E. Chemische Totalsynthese des racemischen Phycoviolindimethylesters. *Dissertation*, TU Braunschweig, 1976.
158. Cornejo, J.; Beale, S. I.; Terry, M. J.; Lagarias, J. C. Phytochrome assembly – The structure and biological activity of 2(R),3(E)-phytochromobilin derived from phycobiliproteins. *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 14790–14798.
159. Mozley, D.; Remberg, A.; Gärtner, W. Large-scale generation of affinity-purified recombinant phytochrome chromopeptide. *Photochem. Photobiol.* **1997**, 66, 710–715.
160. Gärtner, W.; Hill, C.; Worm, K.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. Influence of expression system on chromophore binding and preservation of spectral properties in recombinant phytochrome A. *Eur. J. Biochem.* **1996**, 236, 978–983.

161. Gellissen, G.; Piontek, M.; Dahlems, U.; Jenzelewski, V.; Gavagan, J. E.; DiCosimo, R.; Anton, D. L.; Janowicz, Z. A. Recombinant *Hansenula polymorpha* as a biocatalyst: Coexpression of the spinach glycolate oxidase (GO) and the *S. cerevisiae* catalase T (CTT1) gene. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1996**, *46*, 46–54.
162. Grubmayr, K.; Wagner, U. G. Zur Chemie der Thioladdition an 2,3-Dihydro-3-ethylidendipyrin-1(10H)-one – Eine Modellstudie zur kovalenten Chromophor-Protein-Bindung in Biliproteinen. *Monatsh. Chem.* **1988**, *119*, 965–983.
163. Brock, H.; Ruzsicska, B. P.; Arai, T.; Schlamann, W.; Holzwarth, A. R.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K. Fluorescence lifetimes and relative quantum yields of 124-kilodalton oat phytochrome in H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O solutions. *Biochemistry* **1987**, *26*, 1412–1417.
164. Lamparter, T.; Esteban, B.; Hughes, J. Phytochrome Cph1 from the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803 – Purification, assembly, and quaternary structure. *Eur. J. Biochem.* **2001**, *268*, 4720–4730.
165. Leonard, J.; Lygo, B.; Procter, G. *Praxis der Organischen Chemie – Ein Handbuch*, Dyker, G., Hrsg.; VCH: Weinheim, 1996.

## Lebenslauf

### Persönliche Angaben

Name: Christian Bongards  
Geburtsdatum/-ort: 08.12.1973 in Dinslaken  
Nationalität: deutsch  
Familienstand: verheiratet, eine Tochter (\* 2006)

### Schul- und Berufsausbildung

09.1980–06.1984 Städtische Gemeinschaftsgrundschule, Duisburg-Walsum  
08.1984–06.1993 Privates Abtei-Gymnasium, Duisburg  
06.1993 Abitur  
09.1993–06.1996 Ausbildung zum Chemielaboranten, Thyssen-Stahl AG, Duisburg

### Studium

10.1997–09.2003 Studium der Chemie, Universität Duisburg-Essen, Duisburg  
10.1999 Vordiplom  
09.2003 Diplom  
Thema der Diplomarbeit:  
„Darstellung von Pyrrolbausteinen als Vorstufe für Chromophore“  
10.2003–04.2007 Dissertation, Max-Planck-Institut für Bioanorganische Chemie,  
Mülheim an der Ruhr  
Thema der Dissertation:  
„Darstellung strukturell modifizierter Biline als Chromophore des  
pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom“

### Berufspraxis

06.1996–08.1996 Thyssen-Stahl AG, Duisburg  
Chemielaborant im Bereich Festkörperanalytik und Röntgenstrukturanalytik

### Zivildienst

09.1996–09.1997 St.-Marien-Hospital, Oberhausen  
Zivildienstleistender in den Bereichen klinische Analytik und Krankenpflege

### **Studienbegleitende Tätigkeiten**

08.1998–03.2003      Fraunhofer Institut für Umwelt-, Sicherheits- und Energietechnik  
UMSICHT, Oberhausen  
Studentische Hilfskraft im Bereich Prozesstechnik

### **Teilnahme an Tagungen und Konferenzen**

06.2000                50. Treffen der Nobelpreisträger, Lindau  
07.2002                52. Treffen der Nobelpreisträger, Lindau  
06.–07.2004            7<sup>th</sup> International Symposium on Biomolecular Chemistry ISBOC 7,  
Sheffield  
04.2005                7. JCF-Frühjahrssymposium, Berlin  
06.2005                2<sup>nd</sup> RSC/GDCh European Postgraduate Industry Study Tour, Köln  
und Manchester  
09.2005                GDCh-Jahrestagung, Düsseldorf  
03.2006                8. JCF-Frühjahrssymposium, Konstanz

### **Preise und Auszeichnungen**

06.2005                1. Preis für die beste Posterpräsentation im Rahmen der 2<sup>nd</sup>  
RSC/GDCh European Postgraduate Industry Study Tour

### **Zusatzqualifikationen**

10.2004–03.2006      Fortbildung zum „Geprüften Projektmanager Wirtschaftschemie  
(GDCh)“, Westfälische Willhelms-Universität, Münster  
Thema der Abschlussarbeit:  
„Analyse der Übernahme von Aventis durch Sanofi-Synthélabo  
und deren Auswirkungen auf die Konkurrenzfähigkeit des Unter-  
nehmens“

### **Engagement**

seit 03.1999            Mitglied der GDCh  
03.2004–11.2006      Sprecher und Kassenwart des GDCh Jungchemikerforums Mül-  
heim an der Ruhr  
10.2004–04.2007      Kommissarischer Doktorandensprecher des Max-Planck-Instituts  
für Bioanorganische Chemie

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.

Mülheim an der Ruhr, 12. Februar 2007

Christian Bongards

