



Oxidoreduktasen für die Bereitstellung von Schlüsselbausteinen der Natur- und Wirkstoffsynthese

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Roxanne Krug
(geb. Tschersich)
aus Düsseldorf

Düsseldorf, November 2018

aus dem Institut für Bioorganische Chemie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

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

Berichtersteller:

1. Prof. Dr. Jörg Pietruszka

2. Prof. Dr. Thomas J. J. Müller

Tag der mündlichen Prüfung: 15.02.2019

für meinen Mann, Sergej Krug

*Träume dir dein Leben schön und mach aus
diesen Träumen eine Realität.*

[Marie Curie]

Veröffentlichungen

Publikationen während der Doktorarbeit

R. Krug, D. Schröder, J. Gebauer, S. Suljić, N. Fujieda, Y. Morimoto, S. Itoh, J. Pietruszka, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 1789-1796. "Tyrosinases in organic chemistry: a versatile tool towards a α -arylation of β -dicarbonyl compounds".

R. Krug, C. Bisterfeld, J. Pietruszka, Review *Studies in Natural Products Chemistry* **2017**, 55, 145-180. "Cyclopropyl lactone-containing marine oxylipins".

R. Tschersich, N. C. Eichenauer, J. Pietruszka, *J. Nat. Prod.* **2015**, 78, 2782-2790. „Total Synthesis of Solandelactone I“.

N. C. Eichenauer, A. C. Nordschild, M. Bischof, D. Schumacher, M. Mackwitz, R. Tschersich, T. Wilhelm, J. Pietruszka, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 5620–5632. „Total Synthesis of Solandelactones A and B“.

Konferenzbeiträge

16th Tetrahedron Symposium in Berlin (2015); R. Tschersich, N. C. Eichenauer, J. Pietruszka, "Towards the Synthesis and structural Elucidation of Solandelactone I". (Poster)

Biotechnology and Chemistry for Green Growth in Osaka (SeleCa Programm, 03/2016); R. Tschersich, "From classical natural product synthesis to copper-oxidase mediated synthesis of building blocks". (Vortrag)

15th Belgian Organic Synthesis Symposium (BOSS), in Antwerpen (07/2016); R. Tschersich, N. C. Eichenauer, J. Pietruszka, "Total Synthesis of Solandelactone I". (Poster)

Joint Symposium Aachen-Osaka in Aachen (SeleCa Programm, 09/2016); R. Krug, "Laccases & Tyrosinases in Organic Synthesis". (Vortrag)

Biotechnology and Chemistry for Green Growth in Osaka (SeleCa Programm, 03/2017);
R. Krug, "Tyrosinase-mediated arylation". (Vortrag)

13th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations in Budapest (07/2017);
R. Krug, D. Schröder, S. Suljić, N. Fujieda, Y. Morimoto, S. Itoh, J. Pietruszka, "Tyrosinases –
versatile Biocatalysts in Organic Chemistry". (Poster)

Gordon Research Conference on Natural Products & Bioactive compounds (08/2017);
R. Tschersich, N. C. Eichenauer, J. Pietruszka, "Towards the total synthesis of marine
oxylipins". (Poster)

Joint Symposium Aachen-Osaka in Aachen (SeleCa Programm, 09/2017); R. Krug,
D. Schröder, J. Gebauer, S. Suljić, N. Fujieda, Y. Morimoto, S. Itoh, J. Pietruszka, "Application
of tyrosinases in organic synthesis". (Poster)

Biotechnology and Chemistry for Green Growth in Osaka (SeleCa Programm, 03/2018);
R. Krug, "Insights into the divers Applications of Oxidoreductases in Organic Chemistry".
(Vortrag)

135th International Summer Course der BASF (in Ludwigshafen, 08/2018); R. Krug, S. Itoh,
J. Pietruszka, "Enzymes in Organic Synthesis – Versatile Catalysts in Natural Product
Synthesis & Biocatalysis". (Poster & Elevator Pitch)

7th International Conference on Multicomponent Reactions and Related Chemistry (Düsseldorf,
08/2018); R. Krug, D. Schröder, J. Gebauer, S. Suljić, N. Fujieda, Y. Morimoto, S. Itoh,
J. Pietruszka, "Tyrosinases in Organic Synthesis – Mediating the α -arylation of β -dicarbonyl
compounds". (Poster)

Joint Symposium Aachen-Osaka in Aachen (SeleCa Programm, 11/2018); R. Krug, S. Itoh, J. Pietruszka, "Enzymes as Versatile Catalysts in Organic Synthesis". (Poster & Flash Presentation)

Abschlussarbeiten

Die vorliegende Arbeit enthält Ergebnisse aus den entsprechend aufgelisteten Abschlussarbeiten, welche vom Autor betreut und an den entsprechenden Stellen in der vorliegenden Dissertation namentlich gekennzeichnet wurden.

M.Sc. Jan Gebauer (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Masterarbeit), **2017**; „Biochemische Untersuchungen von Tyrosinasen & Laccasen für den kombinierten Einsatz mit Organokatalysatoren“.

B.Sc. Heike Schüßeler (Zuyd University of Applied Sciences, Bachelorarbeit), **2017**; „Comparative study of enzyme mediated arylation reaction by application of tyrosinase and laccase“

B.Sc. Daniel Jungclaus (Hochschule Niederrhein, Bachelorarbeit), **2015**; „Studien zu Laccase-vermittelten Additionsreaktionen: Kombination von Bio- und Organokatalyse in der Synthese“

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit von mir selbstständig und unter Beachtung der Grundsätze zur „guten wissenschaftlichen Praxis“ angefertigt wurde.

Köln, den

Roxanne Krug

INHALTSVERZEICHNIS

1	Abkürzungsverzeichnis	1
2	Kurzfassung	3
3	abstract	4
4	Einleitung	5
5	Aufgabenstellung Naturstoffsynthese	8
6	Kenntnisstand Marine Oxylipine.....	10
6.1	Einleitung: Marine Oxylipine	10
6.2	Biosynthese der Constano- und Solandelactone.....	11
6.3	Fokus: Constano- und Solandelactone	13
6.3.1	Herangehensweisen zu Totalsynthese der Constanolactone A-G	14
6.3.2	Herangehensweisen zur Totalsynthese der Solandelactone A-H	17
7	Eigene Ergebnisse & Diskussion Totalsynthese.....	22
7.1	Allgemeiner Retrosyntheseansatz für das Solandelacton I	22
7.2	Synthesestrategie für das Solandelacton I	23
7.2.1	Synthese des Cyclopropyllactons.....	23
7.2.2	Synthese der enantiomeren Phosphonsäureester	25
7.2.3	Variabilität nach der <i>Horner-Wadsworth-Emmons</i> Reaktion	27
7.2.4	Vergleich der Diastereomere und Identifizierung des Naturstoffes	29
8	Zusammenfassung Naturstoffsynthese.....	34
9	Ausblick: Totalsynthese Constanolacton G.....	36
9.1.1	Untersuchungen zur Synthese der Westhälfte des Constanolactons G	37
9.1.2	Untersuchungen zur Osthälfte des Constanolactons G.....	39
9.1.3	Alternative Herangehensweise zur Synthese des Cyclopropyllactons	49
9.1.4	Alternative Herangehensweise zur Synthese des Phosphonsäureesters	51
10	Aufgabenstellung Biokatalyse	54
11	Kenntnisstand Biokatalyse	56
11.1	Laccasen.....	56
11.1.1	Kurzer Einblick in Funktion, Struktur und Mechanismus	56

11.1.2	Anwendungen der Laccase in der organischen Synthese zur Herstellung von Naturstoffbausteinen	59
11.2	Tyrosinasen	65
11.2.1	Struktur und Mechanismus	65
11.2.2	Biologische Funktion: Melanogenese	69
11.2.3	Exkurs: Anwendungen von Kupfer-Komplexen – strukturelle Imitation von Tyrosinasen.....	72
12	Eigene Ergebnisse & Diskussion Biokatalyse.....	76
12.1	Oxidoreduktase-vermittelte Arylierungsreaktionen	76
12.1.1	Herstellung der Substrate	76
12.1.2	Initiale Untersuchungen zur Laccase-vermittelten Arylierung unter Verwendung von Hydrochinon und Catechol	80
12.1.3	Untersuchungen zum Einfluss von Organokatalysatoren auf die Arylierungssequenz.....	85
12.1.4	Etablierung der Tyrosinase aus <i>A. oryzae</i>	96
12.1.5	Tyrosinase-vermittelte Arylierung	98
12.1.6	Exkurs: Arylierungsprodukte als ‚priming‘-Substrate	104
13	Zusammenfassung & Ausblick Biokatalyse	106
14	Erweiterter Ausblick der Biokatalyse.....	110
14.1	Möglichkeiten der Tyrosinase-vermittelten Reaktion	110
14.2	Möglichkeiten der Laccase-vermittelten Reaktion	112
14.2.1	Arylierung von Indolen	112
14.2.2	Synthese bizyklischer Lactame	113
15	Experimentalteil.....	116
15.1	Chemische Methoden	116
15.2	Biologische Methoden.....	117
15.2.1	Vektoren	117
15.2.2	Stämme	118
15.2.3	Allgemeine Informationen	118
15.2.4	Alkoholdehydrogenase aus <i>Thermoanaerobacter</i> sp. (ADH _T).....	118

15.2.5	Laccase aus <i>Streptomyces sviveus</i> (Ssl1)	119
15.2.6	Tyrosinase aus <i>Aspergillus oryzae</i>	119
15.3	Analytik aus den Projekten der Naturstoffsynthese	123
15.3.1	Projekt: Solandelacton I (1I)	123
15.3.2	Projekt: Constanolacton G (2G).....	149
15.4	Analytik aus den Projekten der Biokatalyse	167
16	Danksagung	195
17	Formelregister	198
18	Anhang	202
18.1	Plasmidkarte	202
18.2	Eigenanteil der publizierten Manuskripte	205
19	Literaturverzeichnis	207

1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADH	Alkoholdehydrogenase	IPTG	Isopropyl- β -D-
AIBN	Azobis(isobutyronitril)		thiogalactopyranosid
<i>A. oryzae</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	KAN	Kanamycin
(aq)	wässrige Lösung (aqueous)	KP _i	Kaliumphosphatpuffer
Äq.	Äquivalent(e)	LB-	<i>lysogenic broth</i> Medium
bs	breites Singulett	Medium	
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>	LDA	Lithiumdiisopropylamid
const.	konstant	LOX	Lipoxygenase
δ	chemische Verschiebung [ppm]	<i>m</i>	Multiplett
<i>d</i>	Dublett	<i>m_c</i>	zentriertes Multiplett
DBED	Di- <i>tert</i> -butylethylendiamin	<i>m</i> CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
DC	Dünnschichtchromatographie	MPLC	medium pressure liquid chromatography
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid	MS	Molekularsieb
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon	MsCl	Methansulfonylchlorid
dest.	destilliert	MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
DET	Diethyltartrat	NaHMDS	Natrium-bis(trimethylsilyl)amid
<i>dia</i>	Diastereomer	n.d.	nicht definiert
DiBAI-H	Diisobutylaluminiumhydrid	NHK	<i>Nozaki-Hiyama-Kishi</i>
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin	NMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid
DMF	Dimethylformamid	PE	Petrolether
DMP	Dimethoxyphenol	PPO	Polyphenoloxidase
DMP	<i>Dess-Martin</i> -Periodinan	PPTS	Pyridinium <i>p</i> -Toluolsulfonsäure
DOPA	Dihydroxyphenylalanin	ps	„polymer supported“/ Polymer unterstützt
DTT	Dithioerythritol	Pyr	Pyridin
DV	Diastereomerenverhältnis	<i>q</i>	Quartett
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>rac</i>	<i>racemisch</i>
ee	Enantiomerenüberschuss	resp.	respektive
<i>ent</i>	Enantiomer	RCM	Ringschlussmetathese
EV	Enantiomerenverhältnis	R _f	Retentionsfaktor
ESI	Elektrospray-Ionisation	rpm	rounds per minute (Umdrehungszahl)
h	Stunde	RT	Raumtemperatur
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid	R _t	Retentionszeit (retention time)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (<i>High-performance liquid chromatography</i>)	<i>s</i>	Singulett
HRMS	hochaufgelöste Massenspektrometrie (<i>High resolution mass spectrometry</i>)	<i>t</i>	Triplett
SDS	Natriumdodecylsulfat	TB-	<i>terrific broth</i> Medium
SG	Schutzgruppe	Medium	

Abkürzungsverzeichnis

TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TBHP	<i>tert</i> -Butylhydroperoxid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TIPS	Triisopropylsilyl
TES	Triethylsilyl
TMS	Trimethylsilyl
TPAP	Tetrapropylammoniumperruthenat
TPS	Triphenylsilyl
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan

2 KURZFASSUNG

Die Erforschung und Synthese von Naturstoffen bzw. Naturstoffbausteinen ist ein fester Bestandteil der heutigen organischen und bioorganischen Chemie. Das Potential dieser Verbindungen liegt nicht nur in ihrer potenziellen Anwendung als neue, alternative Pharmazeutika, sondern auch in der Nutzung als Target für zielorientierte Methodenentwicklungen. Neben der klassischen chemischen Synthese rückt auch die Biokatalyse zunehmend in den Fokus der organischen Synthese. Die beiden Bereiche der Totalsynthese sowie Biokatalyse bilden die Grundlage der vorliegenden Arbeit.

Unter dem Schwerpunkt der Totalsynthese lag der Fokus auf der Synthese des marinen Oxylipins Solandelacton I. Dabei galt es, die bereits in der Masterarbeit angefangene und auf den Arbeiten von *N. C. Eichenauer* aufbauende Totalsynthese des Solandelacton I fertig zu stellen und die bis *dato* unbekannte Konfiguration der zwei benachbarten Hydroxyfunktionalitäten-tragenden Zentren (C-13 und C-14) herauszufinden. Dafür wurden alle vier möglichen Diastereomere des potenziellen Naturstoffes hergestellt und anhand der Vergleiche mit der publizierten Analytik die korrekte Struktur identifiziert. In einer konvergenten Syntheseroute (chemo-enzymatische, achtsstufige Synthese zum achtgliedrigen Lacton und einer fünfstufigen Synthese zu den enantiomeren Phosphonsäureestern) konnten, ausgehend vom *Horner-Wadsworth-Emmons*-Produkt aus Lacton und Phosphonsäureester, in drei finalen Schritten alle vier Diastereomere des Solandelactons I generiert werden. Darunter entsprach die 13*S*,14*S*-Verbindung dem ursprünglichen Naturstoff. Für das verwandte marine Oxylipin Constanolacton G, dessen Struktur zwar bekannt, aber dessen Totalsynthese noch nicht publiziert wurde, sollte analog zum Solandelacton I in ähnlicher Strategie und vergleichbaren Bausteinen eine Synthese untersucht werden.

Unter einem weiteren Gesichtspunkt der Biokatalyse sollte die Anwendung von Kupfer-haltigen Oxidoreduktasen in der organischen Synthese untersucht werden. Aufbauend auf den Arbeiten von *S. Suljić* wurden Laccasen in einer Oxidations-Arylierungs-Sequenz in Kombination mit auf Cinchona-Alkaloiden basierenden Organokatalysatoren getestet. Des Weiteren wurde die Tyrosinase aus *Aspergillus oryzae*, dessen Plasmid aus der Arbeitsgruppe von *Prof. Dr. S. Itoh* der Osaka University stammt, im Arbeitskreis etabliert und ebenfalls auf ihre Anwendbarkeit in der organischen Synthese hin untersucht. Dabei wurde das Substratspektrum auf elf verschiedene Donatoren – darunter zehn β -Dicarbonylverbindungen sowie ein Oxindol – und sechs Akzeptoren – verschieden substituierte Phenole und Catechole – hin untersucht. Insgesamt konnten dreizehn unterschiedliche Arylierungsprodukte in Ausbeuten von 9–77 % hergestellt werden sowie Kenntnisse über die Limitierungen des Substratspektrums und -akzeptanz der Tyrosinase gewonnen werden.

3 ABSTRACT

The research on and synthesis of natural products or building blocks of natural products is one part of the current organic and bioorganic chemistry. They show a great potential not only as possible new and alternative pharmaceuticals, but also as targets for method development. Next to the classical chemical total synthesis, also the biocatalysis moved into focus within the last decades, using enzymes as green and alternative catalysts. Both research areas – the natural product synthesis and biocatalysis – form the basis of the presented doctoral thesis.

The main focus in the field of natural product synthesis layed on the synthesis and structural elucidation of the marine oxylipin Solandelactone I. The initial goal was to finish the total synthesis towards the Solandelactone I based on the preliminary works of my master thesis as well as the work of *N. C. Eichenauer*. Since the configuration of the vicinal hydroxy functionalities bearing stereogenic centers (C-13 and C-14) of the Solandelactone I was not known, all four possible diastereoisomers were generated and the gained analytics were compared to the published ones to define the natural product. In a convergent route, the eight-membered lactone and the enantiomeric phosphonates could be generated in eight and five steps, respectively. Thereby, a chemo-enzymatic reaction has been used to introduce the stereogenic center of the lactone. Based on the *Horner-Wadsworth-Emmons* reaction, which combined the lactone and phosphonate moiety, all four diastereoisomers could be generated in three final steps. Among them, the 13*S*,14*S*-configured one turned out to be the structure of the originally isolated natural product. For the related marine oxylipin, Constanolactone G, the structure is known, but no total synthesis towards this derivative has been published. An analogous route towards this oxylipin was proposed, applying the same strategy and similar building blocks as it has been used in case of the Solandelactone I.

Under the aspect of biocatalysis, oxidoreductases were further investigated concerning their application in organic synthesis. Based on the work of *S. Suljić*, laccases were tested in a oxidation-arylation sequence in combination with organocatalysts derived from cinchona alkaloids. Moreover, the tyrosinase from *Aspergillus oryzae* was established in the institute. The plasmid originated from a cooperation with the working group of *Prof. Dr. S. Itoh* from the Osaka University. Thereby, the substrate scope of the enzyme was investigated, varying eleven donor (among them, ten compounds possessed a β -dicarbonyl functionality and one oxindol) and six acceptor (substituted phenols and catechols) compounds. Overall, thirteen arylation products varying in yield from 9–77 % could be generated and further knowledge concerning the limitations of the substrate spectrum and acceptance could be gained.

4 EINLEITUNG

Naturstoffe & Naturstoffbausteine

Naturstoffe bzw. Naturstoffbausteine als Sekundärmetabolite verschiedenster Organismen zeugen seit jeher von großem Interesse nicht nur im Hinblick auf ihre potenzielle biologische Aktivität, sondern auch angesichts der Aufklärung verschiedenster Biosynthesewege. Als Sekundärmetabolite spielen Naturstoffe *per definitionem* weder im Wachstum noch im Stoffwechsel der Organismen eine Rolle. Stattdessen finden sie in der Natur zur Abwehr von Fressfeinden oder als Hormone ihre Verwendung. Das Interesse aus chemischer Sicht hingegen besteht darin neben der Verwendung dieser Naturstoffe z.B. als Geruchs- und Geschmacksstoffe vor allem ihre Anwendung als potenzielle Pharmazeutika, Antibiotika, Herbizide oder Pestizide zu untersuchen.^[1]

Totalsynthese

Ziel der Totalsynthese ist es einen bestimmten Naturstoff ausgehend von einfach strukturierten Verbindungen aufzubauen. Dabei kann es sich zum einen um eine zielorientierte Totalsynthese handeln, wobei es darauf ankommt, den entsprechenden Naturstoff möglichst effizient und selektiv herzustellen. Zum anderen kann auch die Naturstoffsynthese zur Methodenentwicklung genutzt werden. Aus dem Interesse heraus, Naturstoffe zu identifizieren und charakterisieren, entwickelten sich neue synthetische und spektroskopische Methoden zur Strukturaufklärung. Im Idealfall lassen sich beide Strategien – die der Totalsynthese und Methodenentwicklung – kombinieren. Der Naturstoff muss dabei nicht im klassischen Sinne der Natur entsprechen, sondern kann auch ein Derivat dessen sein. Dieses Derivat kann mitunter eine potenziell höhere oder andersartige biologische Aktivität aufzeigen bzw. strukturell interessant sein.^[1,2]

Die Herausforderung einer Naturstofftotalsynthese ist die strukturell identische Synthese einer zumeist komplexen Verbindung außerhalb ihrer nativen Umgebung und dem Vorkommen und Nutzen von Enzymen. Die einzigartige Komplexität der Naturstoffe und die meist resultierende Instabilität außerhalb ihrer nativen Umgebung, erfordert besondere Strategien und Herangehensweisen in ihrer Synthese. Die stetige Entdeckung neuer Naturstoffe zeigt nicht nur den Bedarf neuer Syntheserouten, sondern zeigt auch die nahezu grenzenlose Variabilität, die dieses Feld so attraktiv und interessant wirken lassen.

Unter dem Bereich der Totalsynthese fallen neben der rein chemischen Variante ebenfalls die Methoden der Partial- und Semisynthese oder Mutasynthese.^[3,4,5] Im Falle der Semisynthese wird von einem Naturstoff ausgehend eine weitere chemische Modifikation ausgeführt. Dies hat seinen Ursprung Mitte des 20. Jh. mit der Entdeckung der ersten Antibiotika. So fand man heraus, dass die katalytische Hydrogenierung des Naturstoffes Chlortetracyclin aus

Streptomyces aureofaciens, das Tetracyclin ergab, welches von *Pfizer* als Breitbandantibiotikum vermarktet wurde (Abbildung 1, links).^[6] Die alternative Variante, die Mutasyntese, generiert Diversität, indem Bausteine dem Organismus hinzugeführt werden, für dessen Biosynthese die Gene *ausgeknockt* wurden. So konnten z.B. im Falle des Rapamycins aus *Streptomyces hygroscopicus*, welches u.a. anti-karzinogene Eigenschaften aufwies, eine Bandbreite an Derivaten generiert werden (Abbildung 1, rechts).^[7]

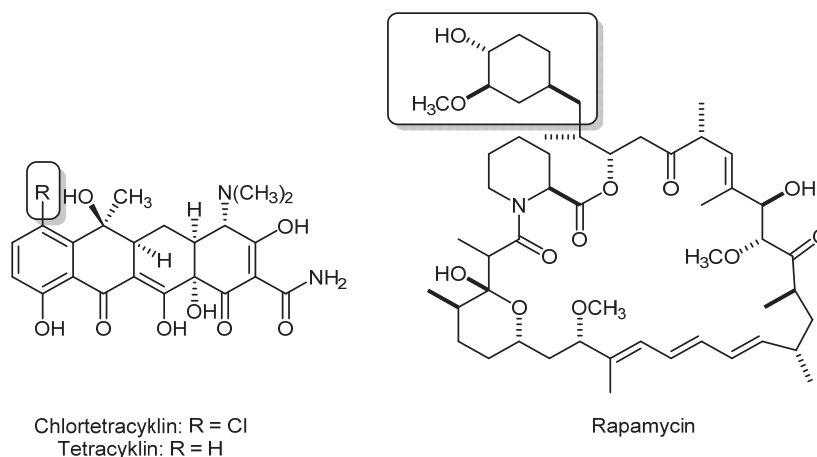


Abbildung 1: Beispiele der Kombination aus Biologie und Chemie: Semisynthese am Beispiel des Tetracyclins (links) und Mutasyntese am Beispiel des Rapamycins (rechts). [die Kästchen in beiden Fällen stellen die Positionen dar, in denen Varianz eingebracht wurde]

Biokatalyse

Eine Anwendung der Biokatalyse beschreibt die Nutzung von Enzymen in der organischen Synthese. Enzyme stellen dabei attraktive Alternativen zu den herkömmlichen chemischen Katalysatoren dar. Wie jeder andere Katalysator beschleunigen sie eine distinkte Reaktion und zeigen dabei häufig eine außerordentlich hohe Chemo-, Stereo- und/oder Regioselektivität auf. Diese Aktivität wird allerdings vor allem in wässriger Umgebung, bei Raumtemperatur und normalem Druck demonstriert. Darüber hinaus zeigen einige Enzyme auch eine hohe Toleranz gegenüber organischen Lösungsmitteln, was sie für die organische Synthese und Anwendung in der Industrie besonders geeignet macht. Ihre makromolekulare Struktur fördert zudem die Eigenschaft, gewisse Nebenreaktionen zu minimieren. Zudem können, im Gegensatz zu einigen Metalkatalysatoren, Biokatalysatoren aus erneuerbaren und kostengünstigen Ressourcen schnell und einfach gewonnen werden.

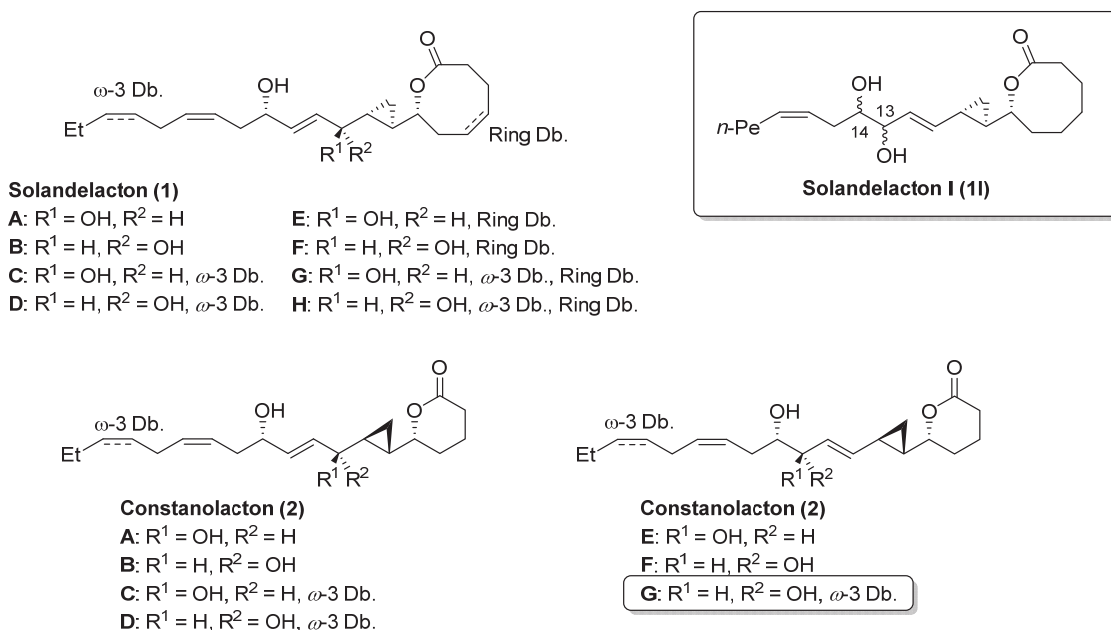
Die Limitierungen der Biokatalyse liegen auf der Hand: Für viele, auch industriell interessante, Reaktionen wurden noch nicht die entsprechenden Enzyme gefunden oder die bereits bestehenden Enzyme zeigen nur eine geringe katalytische Effizienz und akzeptieren nur eine geringe Bandbreite an Substraten. Noch dazu halten sie die zum Teil harschen Bedingungen eines industriellen Prozesses, wie hohe Temperaturen und Drücke, nicht aus und können nicht regeneriert werden. Diese Limitierungen stellen daher gleichzeitig die Herausforderung der

Biokatalyse dar – die Effizienz der enzymkatalysierten Reaktionen zu steigern. Dabei bedient man sich u.a. bereits des *protein engineering* – ein Verfahren, welches dieses Jahr ebenfalls mit dem Nobelpreis an *Frances Arnold*^[8, 9, 10] geehrt wird – wobei die Proteine durch zielgerichtete oder zufällige Mutationen toleranter gegenüber äußeren Faktoren wie Temperatur, pH oder der Akzeptanz von Lösungsmitteln und hohen Substratkonzentrationen gestaltet werden. Auch bestimmte Substrate können dem Protein durch rationales Design zugänglich gemacht werden, indem das aktive Zentrum bzw. die Substratbindestelle speziell an einen bestimmten Reaktionsmechanismus oder Target angepasst wird. Demgegenüber gilt es neue, native Enzyme ebenfalls auf ihre Anwendbarkeit in der organischen Synthese zu testen, Methoden für deren Implementierung zu entwickeln und dabei Grenzen und Limitierungen in ihrer Anwendung zu erforschen.^[11,12]

Beide Herangehensweisen – die Totalsynthese sowie die Biokatalyse – haben ihre Vor- und Nachteile. Interessant wird es, wenn sich beide Bereiche überschneiden.^[13] Diese Kombination aus Biologie und Chemie wird grundsätzlich bereits in den Ansätzen der Semisynthese und Mutasyntese gezeigt. Daher stellen sich hier die Fragen: Wieso also nicht auch einzelne Syntheseschritte der Naturstoffsynthese mit einer enzymkatalysierten Reaktion kombinieren und dadurch in einem frühen Stadium der Synthese hohe Selektivität einbringen? Oder interessante und potenziell wirksame Naturstoffbausteine durch die Anwendung der Biokatalyse und der Methodenentwicklung in diesem Bereich generieren?

5 AUFGABENSTELLUNG NATURSTOFFSYNTHESE

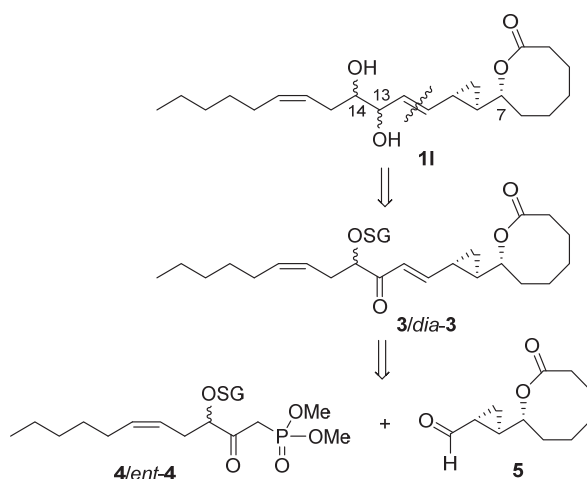
Das Projekt der Naturstoffsynthese beinhaltete die Entwicklung und Untersuchung mariner Oxylipine. Die Totalsynthesen der Naturstoffe Solandelacton A–H (**1A–H**) und Constanolacton A–F (**2A–F**) sind bereits bekannt. Einzig die Totalsynthesen der verbleibenden Naturstoffe Solandelacton I (**1I**) und Constanolacton G (**2G**) sind noch nicht beschrieben worden (Schema 1).



Schema 1: Strukturen der Solandelactone (**1A–I**) und Constanolactone (**2A–G**).

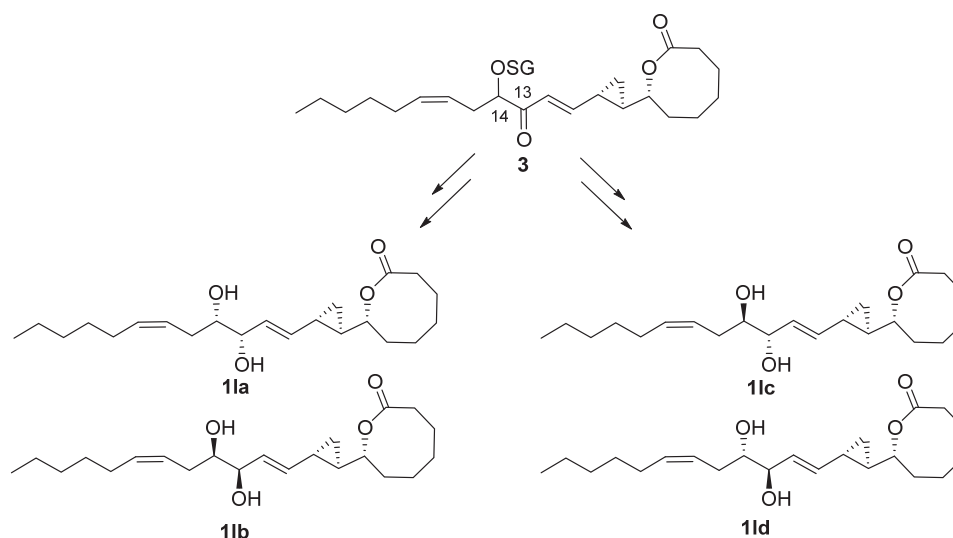
Das Ziel der vorliegenden Arbeit lag in der Totalsynthese des Solandelacton I (**1I**) sowie der Bestimmung der Konfiguration der stereogenen Zentren an C-13 und C-14, welche bis dato noch nicht beschrieben wurden.

In einer retrosynthetischen Betrachtung sollte die Doppelbindung des Solandelactons I (**1I**) in einer *Horner-Wadsworth-Emmons* (HWE) Reaktion aufgebaut werden (Schema 2). Das HWE-Produkt **3/dia-3** selbst wird wiederum in einer konvergenten Synthesestrategie aus einer Westhälfte – den Phosphonsäureestern **4** bzw. *ent-4* – und einer Osthälfte – dem achthgliedrigen Lacton (**5**) – aufgebaut. Die Syntheseroute zum Cyclopropyllacton **5** wurde bereits in der vorangegangenen Masterarbeit beschrieben und in der vorliegenden Arbeit erneut aufgegriffen und Optimierungen hervorgehoben.^[14]



Schema 2: Retrosynthesestrategie für die Totalsynthese des Solandelactons I (**11**)

Ausgehend vom *HWE*-Produkt **3/dia-3** bietet diese Herangehensweise die Möglichkeit zur Generierung aller vier möglichen Diastereomere des Solandelactons I (**11a–d**) (Schema 3). Da die Struktur zwar bekannt und publiziert, aber die Konfiguration des stereogenen Zentrums an C-13 und C-14 noch ungewiss war,^[15] galt es anhand der gewonnenen analytischen Daten (insbesondere: NMR & Drehwerte) aller vier Diastereomere **11a–d** im Vergleich zu den publizierten Daten den ursprünglichen Naturstoff zu identifizieren.



Schema 3: Darstellung der vier möglichen Diastereomere des Solandelacton I (**11a–d**) ausgehend vom *Horner-Wadsworth-Emmons*-Produkt **3** [SG = Schutzgruppe].

Im Ausblick des Kapitels der Naturstoffe werden ebenfalls erste Untersuchungen im Hinblick auf die Synthese des Constanolactons G (**2G**) aufgeführt. Hierbei ist die Struktur sowie die absolute Konfiguration des Naturstoffes bekannt.^[16] Dabei werden erste Versuche gezeigt, die vorangegangene Entwicklung der Totalsynthese des Solandelacton I (**11**) auf das Constanolacton G (**2G**) zu übertragen.

6 KENNTNISSTAND MARINE OXYLIPINE

6.1 Einleitung: Marine Oxylipine

Unter dem Begriff ‚marine Oxylipine‘ versteht man per definitionem oxidierte Naturstoffe marinen Ursprungs, welche ausgehend von Fettsäuren zumindest einen Schritt einer Mono- oder Dioxygenase Oxidation unterlaufen sind. Während zuvor der Begriff ‚Eicosanoid‘ verwendet wurde, der sich allerdings auf Naturstoffe aufbaut aus C-18 und C-20 Fettsäuren beschränkte, musste nach der Entdeckung der Gruppe der Solandelactone (**1A–I**), die einem C-22 Skelett zugrunde liegen, der Begriff erweitert werden.^[17] 1969 wurden die Prostaglandine A (**6A**) und A₂ (**6A₂**) als erste marine Oxylipine isoliert und charakterisiert.^[18] Es folgten weitere strukturell ähnliche Naturstoffe, wobei das Hauptaugenmerk dieser Arbeit vor allem auf den Oxylipinen liegt, welche eine Cyclopropyl-Lacton Einheit enthalten (Abbildung 2).

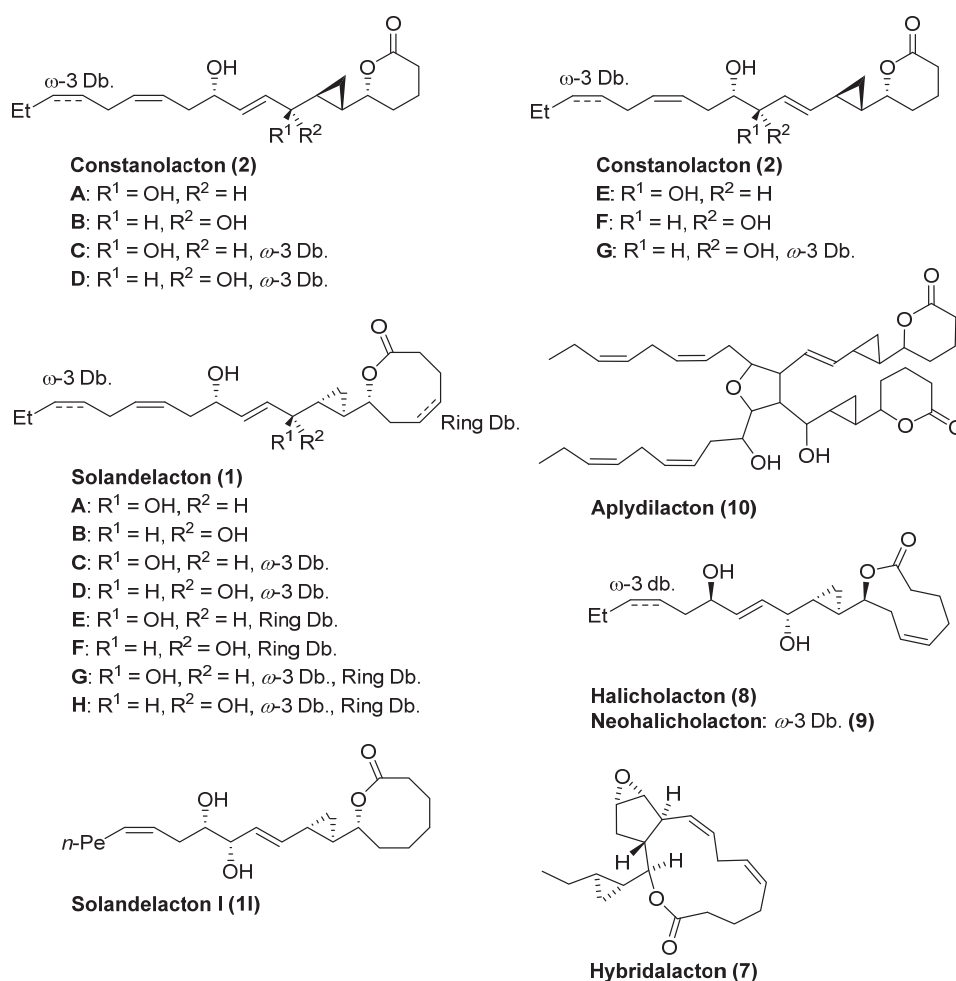


Abbildung 2: Gesamtheit der marinen Oxylipine mit einer Cyclopropyl-Lacton Einheit. [Db. = Doppelbindung]

Das Hybridolacton (**7**), ein 13-gliedriges Lacton, war der erste Cyclopropyl-Lacton-haltige Naturstoff unter diesen Gesichtspunkten, welcher 1981 aus der Rotalge *Laurencia hybrida* isoliert wurde.^[19] Seine interessante und herausfordernde Struktur machte es zum Subjekt erster Partial- und Totalsynthesen.^[20,21,22,23,24] 1989 folgte die Entdeckung und Publikation der Struktur des Halicho (**8**)- und Neohalicholactons (**9**) aus *Halichondria okadai* durch Niwa *et al.*,^[25 , 26 , 27] gefolgt von den Constanolactonen (**2A–G**)^[28] aus der Rotalge *Constantinea simplex* sowie dem Aplydilacton (**10**)^[29] aus dem Mollusken *Aplysia kurodai* ein Jahr später. Letzteres zeigt interessanterweise eine einzigartige dimere Struktur unter den marinen Naturstoffen. Seine monomeren Einheiten ähneln den Constanolactonen A (**2A**) und B (**2B**) und legen die Vermutung nahe, dass der Molluske diese durch Aufnahme der Alge *C. simplex* assimiliert und in das Aplydilacton (**10**) überführt hat.^[17] Zuletzt wurde 1996 die Gruppe der Solandelactone (**1A–I**) aus dem Polypen *Solanderia secunda* isoliert und charakterisiert.^[15]

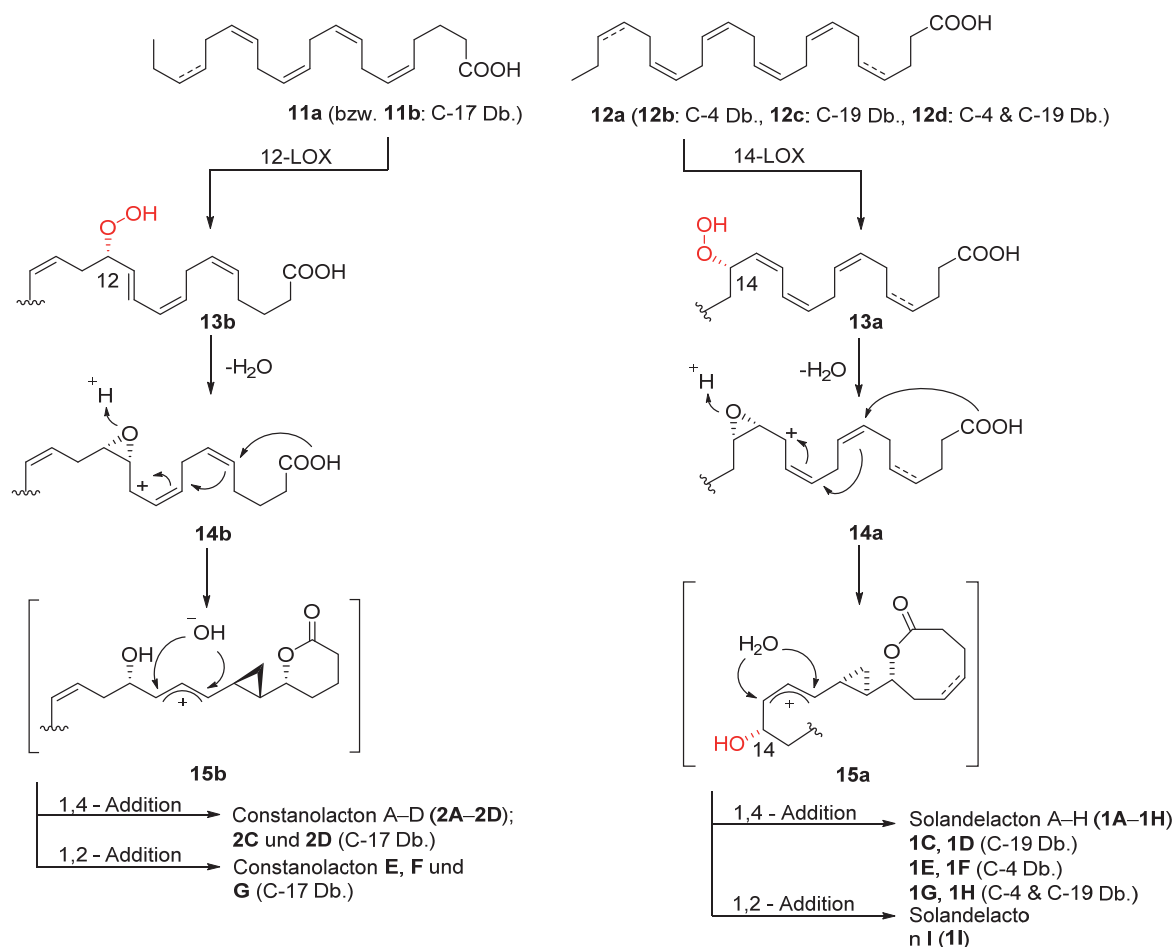
Vorherige Arbeiten von Eichenauer^[30] und Rieche^[31] des Institutes für Bioorganische Chemie nahmen sich bereits der Untersuchung und Totalsynthese der marinen Naturstoffe Halicho (**8**)- und Neohalicholacton (**9**) sowie der Constano (**2**)- und Solandelactone (**1**) an. Der Fokus des folgenden Kenntnisstandes wurde daher, wie auch bei den eigenen Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, auf die sechs- und achthgliedrigen Lactone – im Detail: dem Constanolacton G (**2G**) und Solandelacton I (**1I**) – gelegt.

6.2 Biosynthese der Constano- und Solandelactone

Constano- (**2**) sowie Solandelactone (**1**) basieren auf einem Fettsäuregrundgerüst. Während die Constanolactone (**2**) als sechsgliedriges Lacton aus der Arachidonsäure [(**11a**), für **2A**, **B**, **E** und **F**, (Schema 4)] und die Diastereomere **2c**, **d** und **g** aus der Eicosapentaensäure (**11b** mit einer weiteren Doppelbindung an C-19) aufgebaut werden, so basieren die Solandelactone auf der Docosatetraensäure [(**12a**), Schema 4]. Je nach Solandelacton (**1**) besitzen diese eine zusätzliche Doppelbindung an C-4 (**12b**) und/oder an C-19 (**12c** resp. **12d**).

Die Biosynthese der Oxylipine in Algen dient der Herstellung von Sexuallockstoffen sowie zur Abwehr von Fressfeinden. Eicosanoide werden meist als Antwort auf hormonelle oder immunologische Signale und Umweltreize gebildet. Bei Bedarf werden die dafür benötigten ungesättigten Fettsäuren, welche in den Zellen in Form von Phospholipiden in der Plasmamembran gespeichert sind, durch Phospholipasen freigesetzt. Durch kontrollierte Oxidationen mittels Monooxygenasen, Lipoxygenasen (Dioxygenasen), Cyclooxygenasen oder auch nichtenzymatischen Oxidationen werden die Fettsäuren sofort zu Oxylipinen umgewandelt.^[32] Ein besonderer Fokus sei hierbei auf die Lipoxygenasen (LOX) gelegt, welche im vorliegenden Beispiel der Constano- (**2**) sowie Solandelactone (**1**) den ersten

Schritt der Diversifizierung der Fettsäuren katalysieren. LOX gehören zur Klasse der nicht-Häm- aber Eisen-haltigen Enzyme und übertragen zwei Sauerstoffe auf ihre Zielverbindung, welches ein (Z,Z)-1,4-Pentadien Motiv trägt.^[33]



Schema 4: Vermutete Biosynthese der marinen Oxylipine Constanolacton (**2**) und Solandelacton (**1**).

Der Angriff der 12-LOX erfolgt entsprechend der Bezeichnung an Position 12 der Arachidonsäure (**11a**) im Falle der Biosynthese des Constanolactons (**2**). Zur Synthese der Solandelactone wird hingegen eine 14-LOX benötigt, welche eine mehrfach ungesättigte C-22-Fettsäure **12** als Substrat nutzt. Das Hydroperoxid **13a** (bzw. **13b**) kann, durch die zuvor entstandene Migration der Doppelbindung, im Folgeschritt unter Freisetzung von Wasser ein Epoxid **14a** (bzw. **14b**) ausbilden. Das dabei entstandene Kation ist die Triebkraft für die subsequente, intramolekulare Lactonisierung, sowie für die Ausbildung des Cyclopropanringes. Das resultierende Allylkation **15a** (bzw. **15b**) bietet letztendlich unterschiedliche Angriffsmöglichkeiten des Wassers (in Form eines Hydroxydions) in Bezug auf Regio- und Diastereoselektivität, welche in der Ausbildung der diastereomeren Derivate der Constano (**2A–G**)- bzw. Solandelactone (**1A–I**) enden.

Gründe für die Annahme des oben beschriebenen Biosyntheseweges lieferten die Arbeiten von *Baertschi et al.*^[34] Ursprünglich wurden die gefundenen Bausteine aus den zellfreien Extrakten der Koralle *Plexaura homomalla* als Intermediate des verwandten Prostaglandin-Biosyntheseweges erachtet, wurden allerdings bei der Entdeckung des Lactons **16** auch für die Biosynthese der Oxylipine in Betracht gezogen (Abbildung 3).

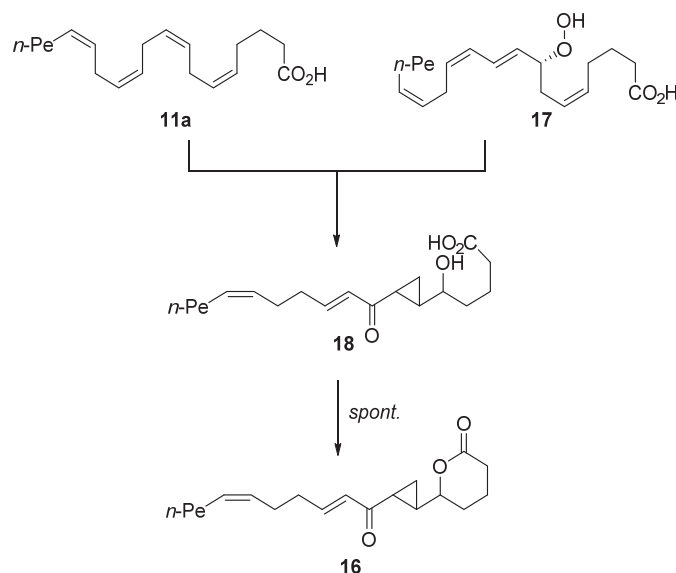


Abbildung 3: Identifizierung und Charakterisierung der Intermediate für die Oxylinbiosynthese.

Bei der Umsetzung der Arachidonsäure (**11a**) oder alternativ dem Oxidationsprodukt **17** mit dem Pulver getrockneter *P. homomalla* konnte das Enon **18** isoliert und charakterisiert werden. Dieses wiederum lactonisiert spontan zur Verbindung **16**. Vergleiche der chemischen Verschiebung der einzelnen Signale zu den bereits publizierten Strukturen von *Gerwick* zeigten deutliche Übereinstimmung mit dem marinen Oxylin Constanolacton (**2**), woraufhin die oben beschriebenen Hypothesen zur Biosynthese formuliert wurden.^[17]

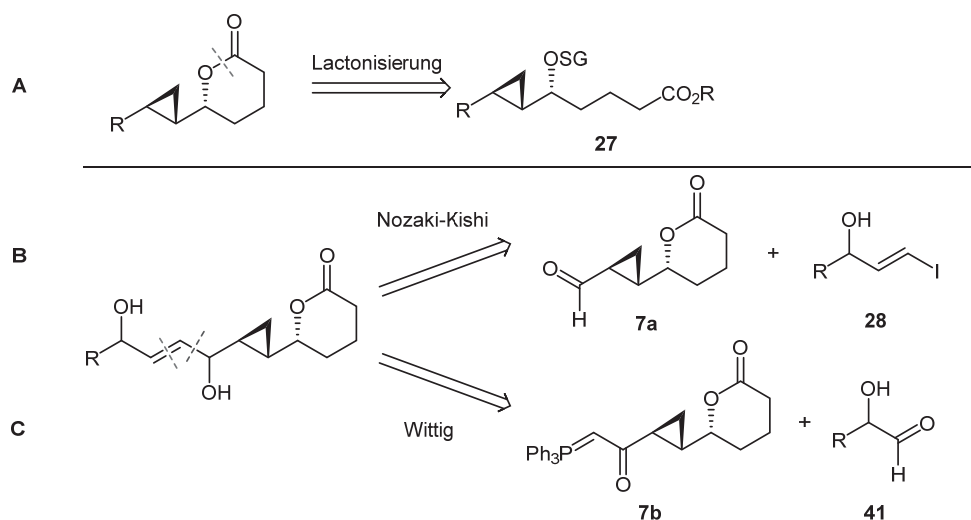
6.3 Fokus: Constano- und Solandelactone

Das Interesse für die beiden Klassen mariner Oxylipine – Constano (**2**)- und Solandelactone (**1**) – beruht zum einen auf ihre bemerkenswerte Struktur. Die diversen Funktionalitäten, sowie die Herausforderung im Aufbau vierer stereogener Zentren sind auffallend und bieten Möglichkeit zur Methodenentwicklung. Zudem kommt die Tatsache, dass für das Constanolacton G (**2G**) bislang keine Totalsynthese publiziert wurde, obwohl dessen Struktur soweit bekannt und charakterisiert ist.^[16] Für das Solandelacton I (**1I**) hingegen ist weder die absolute Konfiguration noch eine vollständige Totalsynthese bekannt gewesen. Auch ihre biologische Aktivität ist ein weiteres Argument für die Untersuchung dieser Naturstoffe. Für das Constanolacton wird vermutet, dass es die 5-LOX inhibiert,^[16,17,35]

während eine inhibitorische Wirkung gegen die Farnesyltransferase für die Solandelactone C (**1C**), D (**1D**) und G (**1G**) bereits gezeigt wurde.^[15]

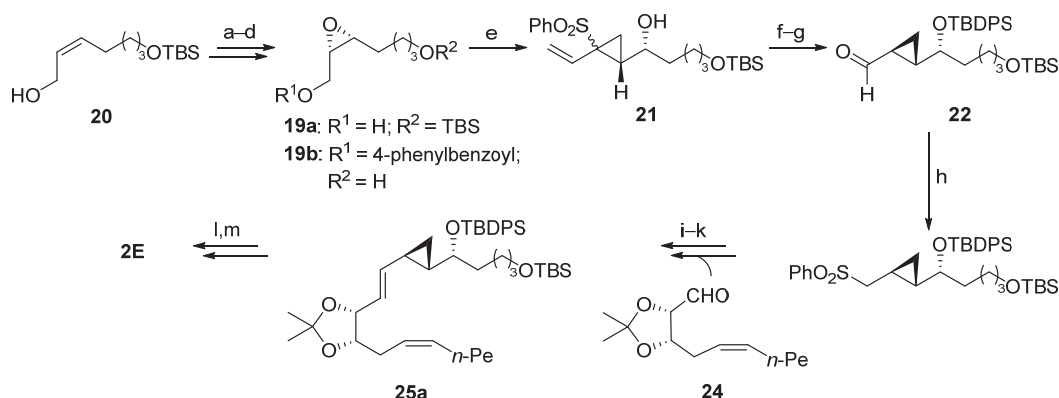
6.3.1 Herangehensweisen zu Totalsynthese der Constanolactone A-G

Seit 1995 wurden verschiedenste Ansätze und Herangehensweisen zu den Synthesen der Constanolactone A–G (**2A–G**) publiziert. Dabei wurden grundlegend zwei Möglichkeiten verwendet, um den Naturstoff aufzubauen: zum einen eine Synthesestrategie mit einer finalisierenden Lactonisierung (Schema 5, A) und zum anderen eine zumeist konvergente Synthesevariante, indem das Lacton als ein Fragment bereits gebildet wurde und in einer Kupplungsreaktion, wie der *Nozaki-Hiyama-Kishi* Reaktion oder einer *Wittig* Reaktion, mit der entsprechenden Westhälfte verbunden wurde (Schema 5, B, C).



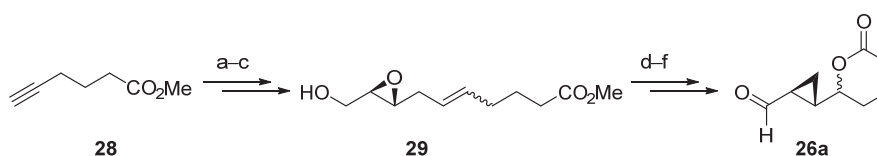
Schema 5: Drei Varianten zum Aufbau der Constanolactone **2**. [SG = Schutzgruppe]

Unter Betrachtung der ersten Synthesevariante A, publizierten 1996 *Miyaoka et al.* eine Möglichkeit zur Synthese des Constanolacton E (**2E**) über 24 Stufen.^[36,37] In einer initialen Epoxidierung nach *Sharpless* konnte das Epoxid **19a** ausgehend von dem Alken **20** in 80 % ee gewonnen werden. Zur Erhöhung der Selektivität verwendete die Arbeitsgruppe eine Derivatisierungsstrategie unter Verwendung von Phenylbenzoesäure, welche ihnen den nahezu enantiomerenreinen Zugang zur Verbindung **19b** ermöglichte. In Gegenwart von Allylphenylsulfon **21** konnte das benötigte Cyclopropan **22** in einem Diastereomerenverhältnis von 89:11 erzeugt werden, welches, ohne Trennung der Diastereomere, über mehrere Schritte zum entsprechenden Sulfon **23** überführt wurde. In den finalen Schritten wurde das Sulfon **23** in einer *Julia* Olefinierung mit dem zweiten Baustein **24** gekoppelt. Das resultierte Olefinierungsprodukt **25a** (67:33 DV) wurde schlussendlich in einer finalen Lactonisierung in das gewünschte Constanolacton (**2E**) überführt.



Schema 6: Totalsynthese des Constanolacton E (**2E**) nach *Miyaoka et al.* [(a) TBHP, L-(+)-DET, $Ti(OiPr)_4$, 4 Å MS, CH_2Cl_2 , $-20^\circ C$, 89 %. (b) i: 4-Phenylbenzoesäure, DCC, DMAP, $ClCH_2CH_2Cl$, RT, 98 %; ii: Bu_4NF , THF, RT; iii: Kristallisierung aus $CHCl_3$ -Hexan, 67 %. (c) i: TBSCl, iPr_2NEt , CH_2ClCH_2Cl , RT, 90 %; ii: K_2CO_3 , MeOH, RT, 98 %. (d) MsCl, DMAP, CH_2Cl_2 , RT, 97 %. (e) Allylphenylsulfon, BuLi, THF, $-78^\circ C$, 83 %. (f) i: TBPSCl, Imidazol, DMF, 96 %, RT; ii: Sml_2 , HMPA, THF, RT, 92 %; iii: O_3 , CH_2Cl_2 -MeOH, $-78^\circ C$, Me $_2$ S, RT, 94 %. (g) K_2CO_3 , MeOH, $55^\circ C$, 92%. (h) i: $NaBH_4$, MeOH, $0^\circ C$, 92%; ii: PhSPh, Bu_3P , Pyr, rt, 99%; iii: *m*CPBA, Na_2HPO_4 , CH_2Cl_2 , rt, 99%. (i) BuLi, THF, $-78^\circ C$, dann **24**, 80 %. (j) Ac_2O , Pyr, DMAP, RT, 70 %. (k) Na-Hg, MeOH-THF, $0^\circ C$, 56 %. (l) i: AcOH- H_2O -THF, RT, 85 %; ii: PDC, 4 Å MS, CH_2Cl_2 , RT; iii: $NaClO_2$, *t*BuOH- H_2O , $0^\circ C$; iv: CH_2N_2 , Et $_2O$, $0^\circ C$, 85 %. (m) i: AcOH- H_2O (80:20), RT, 77 %; ii: Bu_4NF , DMF, $45^\circ C$, dann 1 N HCl, 65 %]

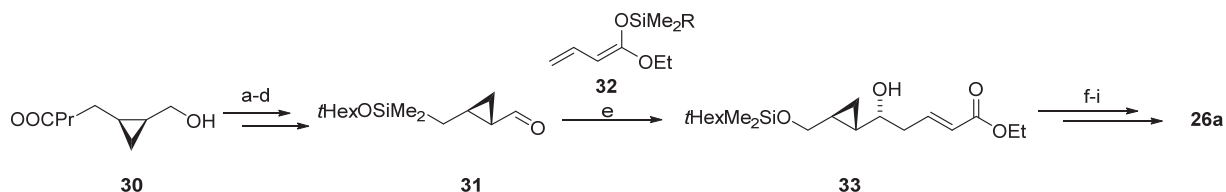
White und *Jensen* publizierten 1995 die erste Totalsynthese der Constanolactone **2A** und **2B** und bedienten sich dabei der Synthesvariante B. Sie stellten die Cyclopropyllactoneinheit als Aldehyd **26a** her (Schema 7), welcher in einer *Nozaki-Hiyama-Kishi* Reaktion mit der entsprechend halogenierten Seitenkette **27a** verknüpft werden sollte (Schema 10).^[38] Ausgehend von einem Alkin **28** konnte in einer sechs-stufigen Synthese das gewünschte Lacton **26a** synthetisiert werden. Die ersten Schritte zum entsprechenden Epoxid **29** beinhalten u.a. eine Hydrostannylierung und eine asymmetrische *Sharpless* Epoxidierung. Die Lactonisierung selbst erfolgte Zinn-katalysiert.



Schema 7: Synthese des Lactonfragmentes **26a** nach *White und Jensen*.^[38] [(a) $n\text{-Bu}_3SnH$, AIBN, $65^\circ C$, 2 h, 89 % (*E/Z* = 80:20). (b) 3,4-Epoxy-1-buten, $PdCl_2(MeCN)_2$, DMF/ H_2O , $23^\circ C$, 0.5 h, 94 %. (c) $Ti(OiPr)_4$, (-)-DET, *t*BuOOH, CH_2Cl_2 , $-70^\circ C$ bis $23^\circ C$, 2 h, 91 %. (d) LiOH, THF/ H_2O , $0^\circ C$, 1 h, 99 %. (e) $SnCl_4$, MeNO $_2$, $0^\circ C$, 1.5 h, 47 %, (DV 60:40). (f) $NaIO_4$, $0^\circ C$, Et $_2O$, H_2O , 15 min, 93 %]

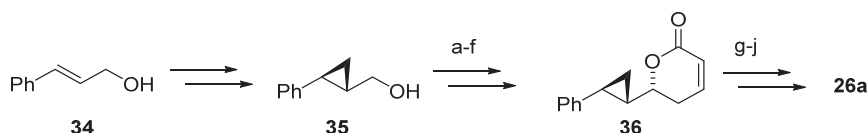
Barloy de Silva et al. zeigten 2000 eine alternative Syntheseroute ausgehend von der optisch reinen cyclopropanhaltigen Verbindung **30**,^[39,40] welche sie mittels einer enzymatischen Desymmetrisierung über drei Stufen hergestellt hatten (Schema 8).^[41] Über vier folgende Syntheseschritte wurde der Alkohol **30** in den entsprechenden Aldehyd **31** umgewandelt und unter Verwendung des Diens **32** in einer *Mukayama*-Aldol Reaktion in das gewünschte Produkt **33**

mit einem Diastereomerenverhältnis von 75:25 überführt. Abschließende Lactonisierung und Oxidation erbrachten den entsprechenden Aldehyd **26a**.



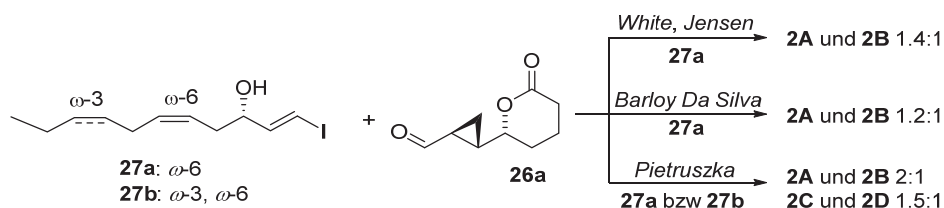
Schema 8: Synthese des Lactonfragmentes **26a** nach *Barloy de Silva et al.*^[39] [(a) $\text{ClSiMe}_2t\text{-Hex}$, NEt_3 , DMAP, CH_2Cl_2 . (b) K_2CO_3 , MeOH. (c) $(\text{COCl})_2$, DMSO, NEt_3 , CH_2Cl_2 . (d) MeONa, MeOH, Rückfluss, 82 % über 4 Stufen. (e) ZnCl_2 , THF, 50 %–55 %. (f) Mg° , MeOH, 87 %. (g) $p\text{-TsOH}$, PhH, 77 %. (h) TBAF, NH_4Cl , THF, 81 %. (i) DMP, CH_2Cl_2 , 82 %]

Auch *Pietruszka* und seine Mitarbeiter kombinierten ihre elf-stufige Synthese mit einer enzymkatalysierten Reaktion (Schema 9). Ausgehend vom kommerziell erhältlichen Zimtalkohol (**3426**) wurde gemäß einem Protokoll nach *Denmark* zunächst das Cyclopropan eingeführt und mittels Lipase-katalysierter kinetischer Resolution die Verbindung **35** angereichert.^[42] Die darauffolgenden Schritte wie Allyladdition und Ringschlussmetathese (RCM) ergaben die oxidierte Form des Lactons **36**. Abschließende Reduktion des Olefins sowie oxidative Degradierung der Phenylfunktionalität ergaben den entsprechenden Aldehyd **26a**.



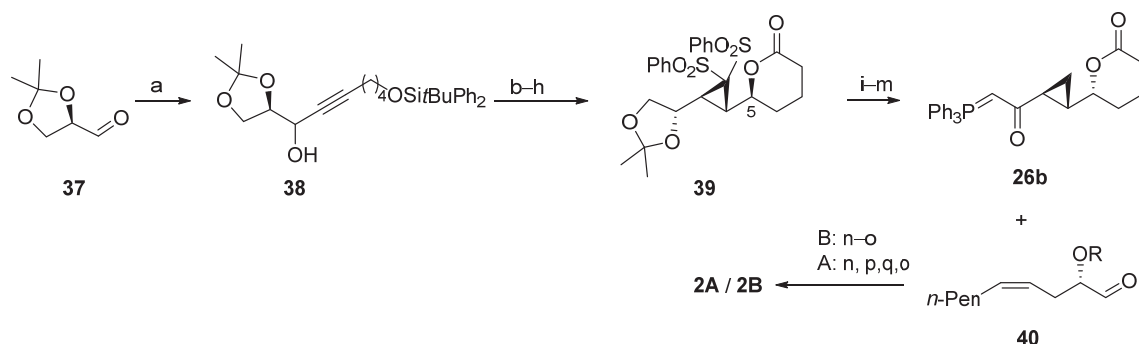
Schema 9: Synthese des Lactonfragmentes **26a** nach *Pietruszka et al.*^[42,43,44] [(a) $n\text{-Pr}_4\text{NRuO}_4$, N -Methylmorpholin N -oxid, 4 Å MS, CH_2Cl_2 , 0 °C bis RT, 90%. (b) Roush Reagenz, Toluol, -78 °C, 94 %, DV 19:81. (c) Dess-Martin Periodinan, 4 Å MS, CH_2Cl_2 , RT, 81 %. (d) *Itsuno-Corey* Reagenz, 2 Äq. Catecholboran, Toluol, -78 °C, quant., DV >98:2. (e) $\text{CH}_2=\text{CHCOCl}$, $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$, DMAP, CH_2Cl_2 , -78 °C, 96 %. (f) 0.1 Äq. Grubbs Katalysator, 0.3 Äq. $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$, CH_2Cl_2 , 40 °C, 97 %. (g) Pd/C, H_2 , EtOAc, -20 bis -10 °C, 89 %. (h) i: O_3 , CH_2Cl_2 , 4 Å MS, 0 °C; ii: Me_2S , CH_2Cl_2 , 4 Å MS, -78 °C bis RT, 70 %. (i) SOCl_2 , -78 °C bis RT. (j) i: $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, Pd/ BaSO_4 , 4 Å MS, H_2 , Toluol, 0 °C; ii: Rückfluss, 65 % über 2 Stufen]

Wie zuvor erwähnt, besteht die Gemeinsamkeit dieser Arbeitsgruppen darin, die finale Kupplung der Fragmente über eine *Nozaki-Hiyama-Kishi* Reaktion zu ermöglichen. Schema 10 zeigt dabei die Kupplung des Lactonfragmentes **26a** mit der entsprechend einfach oder zweifach ungesättigten Westhälfte **27a/b** sowie die in den unterschiedlichen Arbeitsgruppen erhaltenen Verhältnisse der Constanolactone A–D (**2A–D**).



Schema 10: Kupplung beider Fragmente **27a/b** und **26a** in einer *Nozaki-Hiyama-Kishi* Reaktion zur Synthese der Constanolactone A–D (**2A–D**). [Reaktionsbed.: NiCl₂, CrCl₂, DMSO]

Eine weitere und letzte Strategie (Variante C) zur Synthese der Constanolacone A (**2A**) und B (**2B**) wurde 2002 von *Yu et al.* publiziert und zeigte das Lactonfragment **26b** als Phosphor-Ylid für eine (*E*)-selektive *Wittig*-Reaktion.^[45] Ausgehend von dem enantiomerenreinen Aldehyd **37** konnte das gewünschte Ylid **26b** in acht Stufen hergestellt werden (Schema 11). Nach einer initialen Kettenverlängerung zum Produkt **38** folgte u.a. auch eine *Mitsunobu* Reaktion zur Inversion der Konfiguration an C-5 von Verbindung **39** nach **26b**.

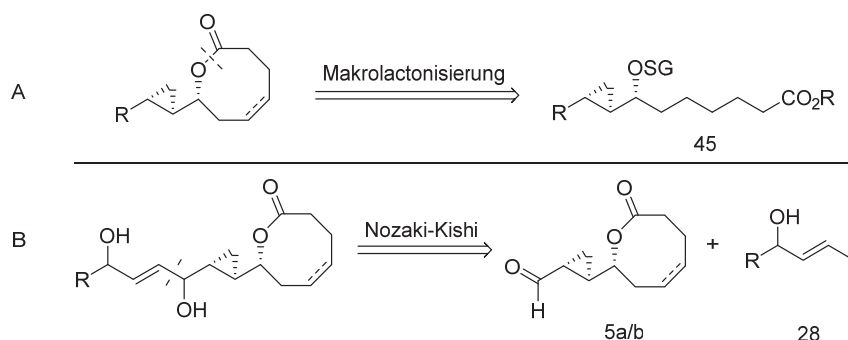


Schema 11: Synthese der Constanolactone A (**2A**) und B (**2B**) nach *Yu et al.* [45, 46] [(a) i: 6-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)hexin, *n*-BuLi, THF, -78 °C, 1 h, ii: **37**, -78 °C, 3 h, dann RT, 2 h, 84 %, DV 45:55 (trennbar). (b) PhCO₂H, PPh₃, DEAD, Benzol, 23 °C, 12 h, 88 %. (c) NaOH, MeOH, 23 °C, 12 h, 92 %. (d) (PhO₂S)₂CH₂, PPh₃, DEAD, C₆H₆, 23 °C, 3 h, 80 %. (e) CrSO₄, DMF/H₂O, 23 °C, 2 h. (f) *n*-Bu₄NF, THF, 23 °C, 18 h. (g) PDC, DMF, 23 °C, 40 h, 40 % über vier Schritte. (h) NaH, I₂, THF, 68 °C, 44 h, 80 %. (i) Mg, kat. HgCl₂, THF/H₂O (67:33), 23 °C, 12 h. (j) PPh₃, DEAD, Benzol, 23 °C, 7 h. (k) CF₃CO₂H, THF/H₂O (80:20), 40 °C, 10 h, 53 % über drei Schritte. (l) TsCl, Py, 4 °C, 36 h. (m) Ph₃P, CH₃CN, 80 °C, 40 h. (n) i: Wittig Salz, *sec*-BuLi (2 Äq.), THF, -78 °C, 1.5 h; ii: (2S)-(4-Methoxybenzyloxy)-(4Z)-decenal, -78 bis -20 °C, 2 h, 29 % über drei Schritte. (o) CrCl₂/LiI, feuchtes EtOAc, 45 °C, 2 h. (p) 4-(O₂N)C₆H₄CO₂H, PPh₃/DEAD, Benzol, 23 °C, 10 h. (q) NaOH, THF/H₂O, 23 °C, 15 h, PhH, 4 Å MS, 80 °C, 5 h, 57 % über drei Stufen]

Die Kupplung des Ylids **26b** mit dem Aldehyd **40** ergab das *Wittig*-Produkt – das Constanolacton B (**2B**). Eine weitere *Mitsunobu*-Reaktion ermöglichte den Zugang zum entsprechenden Constanolacton A (**2A**).

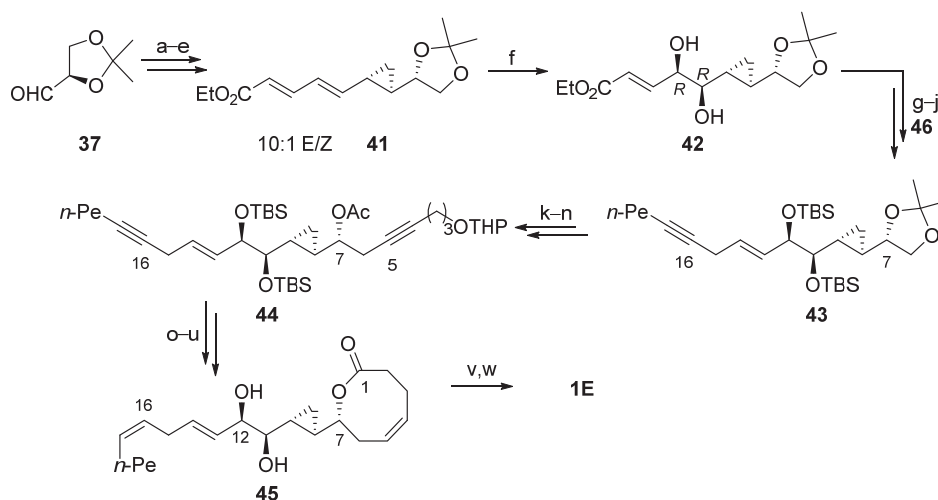
6.3.2 Herangehensweisen zur Totalsynthese der Solandelactone A-H

Auch die seit 2006 publizierten Totalsynthesen der Solandelactone werden im folgenden Abschnitt gemäß ihrer retrosynthetischen Herangehensweise sortiert und vorgestellt. Dabei gibt es, wie bei den Constanolactonen (**2**), die Variante A einer finalen Makrolactonisierung bzw. die konvergente Variante B einer *Nozaki-Hiyama-Kishi* Reaktion (Schema 12).



Schema 12: Zwei Varianten zum Aufbau der Solandelactone (**1**). [SG = Schutzgruppe]

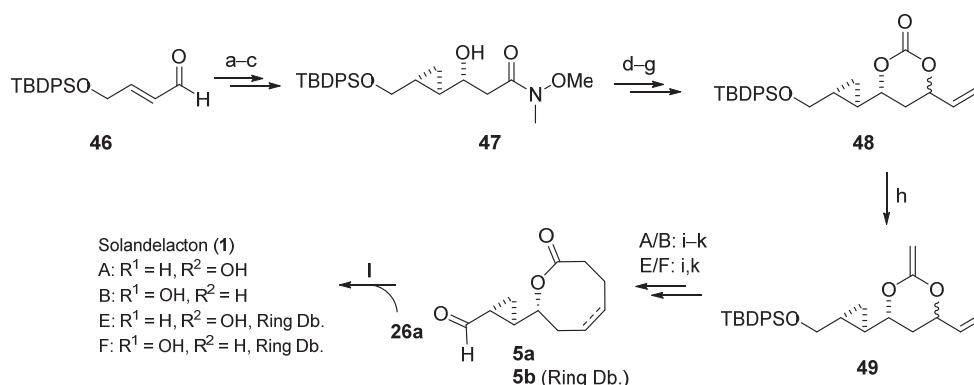
Davoren et al. zeigten 2006 erstmals eine lineare, 23-stufige Synthese zur Herstellung des Solandelacton E [(**1E**), 1 % Ausbeute über die gesamte Synthese] und revidierten damit die von *Seo et al.*^[15] publizierte Konfiguration.^[47,48] Die Synthese startete hierbei ausgehend vom kommerziell erhältlichen D-Glyceraldehydacetoneid (**37**), welches in Olefinierungs- und Cyclopropanierungsschritten in die entsprechende Verbindung **41** überführt wird (Schema 13, a–e). Unter Verwendung des AD-mix β konnte selektiv das 1,2-Diol **42** als einzelnes Diastereomer generiert werden. Zur Verlängerung der Seitenkette wurde das Diol geschützt, sowie der terminale Ester in ein Allylbromid umgewandelt. Anschließend wurde gemäß dem *Fraser-Reid* Protokoll das C-16 bis C-22 sowie C-1 bis C-5 (**43**, resp. **44**, Schema 13) Fragment angehängen und die Dreifachbindungen der Verbindung **44** mittels Lindlar Katalysator komplett reduziert. Nach abschließender Makrolactonisierung konnte die Vorstufe **45** des Naturstoffes **1E** erhalten werden. Aus einer finalen 1,3-Transposition resultierte dann das entsprechende Solandelacton E (**1E**).



Schema 13: Totalsynthese des Solandelacton E (**1E**) nach Davoren *et al.* [47,48] (a) *trans*-(Et₂O)₂P(O)CH₂CHCHCO₂Et, LDA, THF, 0 °C, 89 %. (b) Et₂Zn, CH₂I₂, CH₂Cl₂, 65 °C, 72 %. (c) DiBAI-H, CH₂Cl₂, -78 °C, 88 %. (d) TPAP, NMO, CH₂Cl₂, RT, 98 %. (e) (EtO)₂P(O)CH₂CO₂Et, NaH, THF, 0 °C, 89 %. (f) K₃Fe(CN)₆, K₂CO₃, K₂OsO₂(OH)₄, (DHQD)₂PHAL, CH₃SO₂NH₂, *t*-BuOH/H₂O, RT, 80 %. (g) TBSCl, Imidazol, DMF, RT, 99 %. (h) DiBAI-H, CH₂Cl₂, -78 °C, 95 %. (i) CBr₄, PPh₃, CH₂Cl₂, RT, 96 %. (j) *n*-BuLi, 1-Heptin, CuBr·SMe₂, -78 °C–RT, 95 %. (k) TFA, H₂O, CH₂Cl₂, RT, 82 %. (l) NaH, 1-Tosylimidazol, THF, 0 °C, 100 %. (m) THPO(CH₂)₃CCH, *n*-BuLi, BF₃·OEt₂, THF, -78 °C, 45 %. (n) Ac₂O,

DMAP, Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 92 %. (**o**) *p*-TsOH, *i*-PrOH, RT, 87 %. (**p**) H₂, Lindlar Kat., Chinolin, MeOH, RT, 94 %. (**q**) SO₃·Pyridin, Et₃N, DMSO, RT, CH₂Cl₂, 85 %. (**r**) NaClO₂, NaH₂PO₄, 2-Methyl-2-buten, *t*BuOH, H₂O, RT, 90 %. (**s**) K₂CO₃, MeOH, RT, 95 %. (**t**) 2,4,6-Trichlorobenzoylchlorid, Et₃N, DMAP, PhMe, Δ, 81 %. (**u**) TBAF, THF, RT, 72 %. (**v**) *o*-NO₂PhSeCN, Bu₃P, THF, RT. (**w**) H₂O₂, Pyridin, CH₂Cl₂, RT, 20 % (über zwei Stufen).

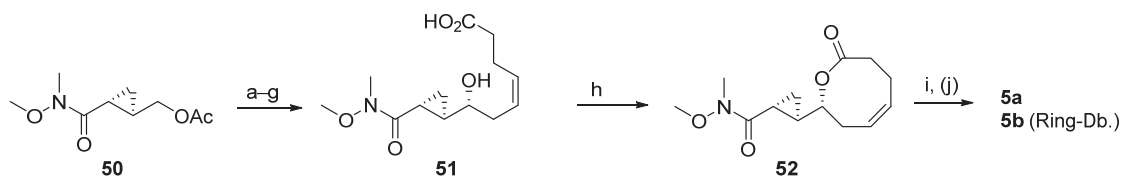
Ein Jahr später folgten *White et al.* mit einer Synthese zu den Solandelactonen A (**1A**) und B (**1B**) sowie E (**1E**) und F (**1F**) unter Verwendung einer Tandem *Petasis-Claisen* Lactonisierung und der Variante B – der *Nozaki-Hiyama-Kishi (NHK)* Reaktion – als Kupplungsreaktion zwischen dem Lactonaldehyd **5a/b** und der halogenierten Seitenkette **27a**.^[49,50] Eine der Schlüsselreaktionen der initialen Syntheseschritte zur Verbindung **5a/b** bildete u.a. die *syn*-Cyclopropanierung ausgehend vom Aldehyd **46** unter Verwendung der *Charette*-Modifikation der *Simmons-Smith* Reaktion (Schema 14, a–c). Weitere Umwandlungen von cyclopropanierten Verbindung **27** zu einem Carbonat-Derivat **48** und abschließende *Petasis*-Methylenierung ergaben das Keten Acetal **49**, welches in einer *Holmes-Claisen*-Umlagerung den gewünschten Achtring **5b** ergaben. Dieser konnte für die Synthese der Solandelactone E (**1E**) bzw. F (**1F**) direkt verwendet werden; die Naturstoffe A (**1A**) und B (**1B**) erforderten zuerst eine weitere Reduktion der Ringdoppelbindung, ehe sie in der *NHK*-Reaktion eingesetzt werden konnten.



Schema 14: Totalsynthese der Solandelactone A (**1A**) und B (**1B**) bzw. E (**1E**) und F (**1F**) nach *White et al.* [(**a**) TiCl₄, *i*Pr₂NEt, (4*S*)-3-Acetyl-4-isopropyl-2-thionothiazolidin, 94 %, (>95:5). (**b**) MeONHMe·HCl, Imidazol, CH₂Cl₂, 71 %. (**c**) Et₂Zn, CH₂I₂, CH₂Cl₂, 97 %. (**d**) TESOTf, Imidazol, CH₂Cl₂, 97 %. (**e**) i: DiBAL-H, Toluol; ii: CH₂=CHMgBr, THF, 85 % (über zwei Stufen). (**f**) AcOH, THF-H₂O, quant. (**g**): (Cl₃CO)₂CO, Et₃N, Py, -78 °C, 98 %. (**h**) Cp₂TiMe₂, Toluol, Δ. (**i**) 100 °C, Toluol, 64 % über zwei Stufen. (**j**) KO₂CN=NCO₂K, AcOH, MeOH, 73 %. (**k**) i: TBAF, THF, 71 %; ii: TPAP, NMO, quant. (**l**) CrCl₂, NiCl₂ (kat.), DMSO, 41% (A:B = 78:22), 68% (E:F = 60:40)]

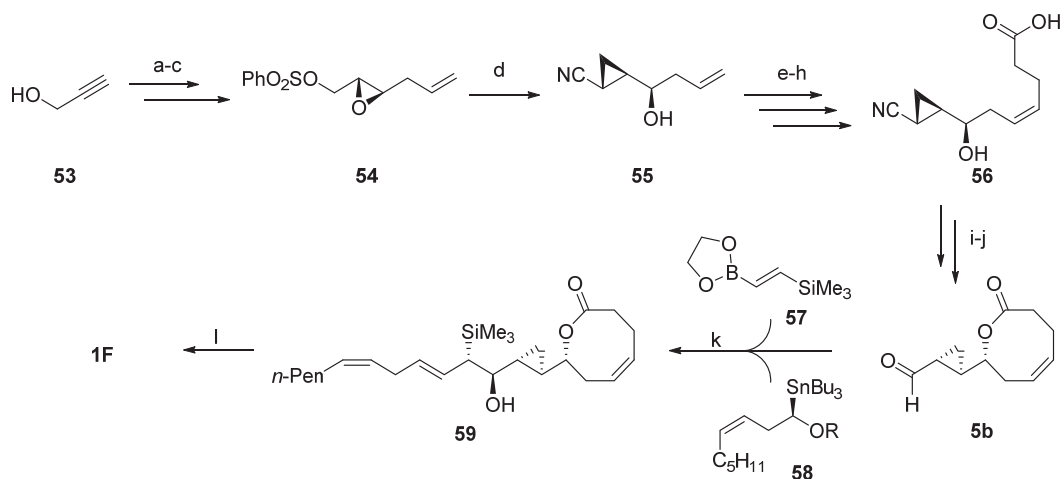
2008 folgten *Pietruszka et al.* mit der Totalsynthese aller Solandelactone A–H (**1A–H**).^[51] Das enantiomerenangereicherte Cyclopropan **28** wurde dabei über eine enzymatisch-kinetische Resolution gewonnen (Schema 15).^[52] U.a. eine *Leighton* Allyladdition sowie eine *Z*-selektive *Wittig* Reaktion führten zur Verbindung **51** welche in einer Makrolactonisierung und Reduktion des Weinrebamides **52** das gewünschte achtgliedrige Lacton **5a/b** ergab. Dieses konnte, wie zuvor beschrieben (s. Schema 10), entweder mit der einfach oder doppelt gesättigten

Seitenkette **26a** bzw. **26b** in einer *NHK* Reaktion kombiniert werden, wodurch die Naturstoffe **1A–1H** adressiert werden konnten.



Schema 15: Synthese des Lactonfragmentes **5a** bzw. **5b** für die Generierung der Solandelactone A-H (**1A–1H**) nach *Pietruszka et al.* [(a) MeOH, K₂CO₃, 96 %. (b) Dess–Martin Periodinan, CH₂Cl₂, RT, 4 h, 91 %. (c) Leighton Reagenz, CH₂Cl₂, -12 °C, 96 h, 95 %, DV 95:5. (d) DHP, PPTS, CH₂Cl₂, RT, 18 h, 96 %. (e) i: O₃, CH₂Cl₂, -78 °C; ii: Me₂S, -78 °C bis RT. (f) Wittig Reagenz, NaHMDS, THF, -78 °C (dann Zugabe des Aldehyds). (g) HCl/AcOH, CH₂Cl₂, RT, 4 h, 89 % über 3 Stufen. (h) i: 2,4,6-Cl₃C₆H₂COCl, Et₃N, THF; ii: DMAP, Toluol, 80 °C, 85 %. (i) DiBAL-H, THF, -78 °C, 1 h, 72 %. (j) H₂, Pd/C, EtOAc, RT, 98 %]

Robinson und *Aggarwal* zeigten 2010 eine Alternative zur *NHK*-Reaktion: eine Lithiierung-Borylierung-Allylierungssequenz (Schema 16).^[53,54,55] Dabei wurde der Lactonaldehyd **5b** ausgehend vom Propargylalkohol (**53**) in zehn Stufen synthetisiert. Nach einer anfänglichen Indium-katalysierten Kupplung mit Allylbromid, gefolgt von einer *Sharpless*-Epoxidierung, konnte das entsprechende Oxiran **54** in hoher Selektivität gewonnen werden. Die *Taber*-Cyclopropanierung ergab anschließend die Verbindung **55**, welche über eine *Wittig*-Reaktion in das Olefin **56** überführt wurde, aus dem der gewünschte Aldehyd **5b** unter *Yamaguchi*-Bedingungen hergestellt werden konnte.



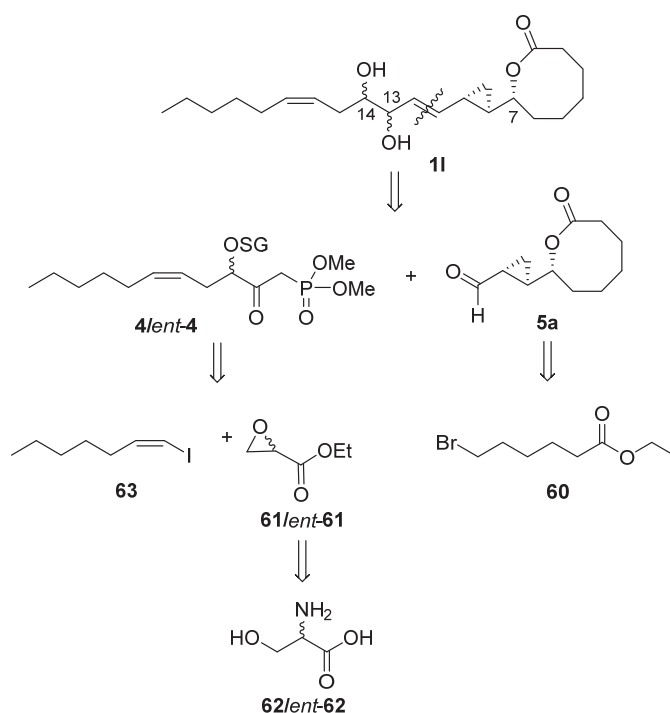
Schema 16: Alternative, drei-Komponenten Kupplungsreaktion unter Verwendung eines Silylvinylbroans **57** und Stannan **58** zur Totalsynthese des Solandelactons F (**1F**). [(a) Allylbromid, In, THF, RT, 77 %. (b) (-)-DET, Ti(O*i*Pr)₄, *t*BuOOH, CH₂Cl₂, -20 °C, 75 %, EV 97:3. (c) PhSO₂Cl, Et₃N, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 90 %. (d) NaHMDS, CH₃CN, THF, -78 °C–0 °C, 91 %, DV 85:15 (trennbar). (e) DHP, PPTS, CH₂Cl₂, RT, 94 %. (f) K₂O₈·2 H₂O, NaIO₄, 2,6-Lutidin, H₂O/Dioxan (1:3), RT. (g) HO₂C(CH₂)₃PPh₃Br, NaHMDS, THF, -78 °C–RT, Z/E >90:10. (h) HCl_(aq), RT, 59 % über drei Stufen. (i) i: 1,3,5-Trichlorobenzoylchlorid, Et₃N, THF, RT; ii: DMAP, Toluol, 90 °C–60 °C, 79 %. (j) *Raney*-Ni, NaH₂PO₂·H₂O, Pyridin/H₂O/AcOH (2:1:1), RT, 87 %. (k) i: *n*-BuLi, Et₂O, 1 h; ii: Boran **57**, -78 °C–RT, 1 h; iii: Aldehyd **5b**, MgBr₂, -20 °C, 24 h, 50 %, DV 92:8. (l) *m*CPBA, NaHCO₃, CH₂Cl₂, AcOH, MeOH, 34 %, DV 80:20]

Unter Verwendung des Borans **57** und des Stannans **58** konnte das Allylsilan **59** gewonnen werden, welches in einer Umlagerungsreaktion zum Solandelacton F (**1F**) führte. Die Anwendung eines anderen ermöglichte ebenfalls den Zugang zum Solandelacton E (**1E**).

7 EIGENE ERGEBNISSE & DISKUSSION TOTALSYNTHESE

7.1 Allgemeiner Retrosyntheseansatz für das Solandelacton I

Die Idee in der Retrosynthese des Naturstoffes lag zum einen darin, die Bausteine möglichst so zu wählen, dass die zur Synthese etablierten Methoden auch für verwandte Oxylipine verwendet werden können. D.h. die Verwendung einfach zugänglicher und kostengünstiger Bausteine, die Möglichkeit zur Varianz bieten. Zudem sollte eine Variabilität in den finalen Schritten der Totalsynthese möglich sein, sowie stereogene Elemente zuvor aus einem chiralen Pool aufgebaut werden können. Auch Enzyme (Oxidoreduktasen) sollten für den Aufbau stereogener Zentren in Betracht gezogen werden. Da dem Solandelacton I (**11**) bislang keine absolute Konfiguration zugeschrieben werden konnte (Konfiguration an Position C-13 und C-14 unbekannt), sollten zudem beide Enantiomere der Westhälfte **4** bzw. *ent*-**4** einfach zugänglich sein, um in einer späten Diversifizierung alle vier Diastereomere generieren zu können.



Schema 17: Retrosynthetische Analyse des Solandelactons I (**11**). [DB = Doppelbindung, SG = Schutzgruppe]

Der erste retrosynthetische Schnitt entlang der Doppelbindung des Solandelacton I (**11**) lieferte in einer Retro-Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) Reaktion das Cyclopropylacton **5a** (Osthälfte) und der Phosphonsäureester **4** (Westhälfte) als Bausteine (Schema 17). Die Osthälfte ihrerseits basierte auf der Synthese ausgehend vom kommerziell erhältlichen Ester **60**. Die Konfiguration des Lactons **5a** ist bekannt und für alle Derivate des

Solandelactons (**1**) identisch und wurde mittels einer frühen enzymatischen Reaktion in die Totalsynthese eingebracht. Auch die Konfiguration des Cyclopropans wurde frühzeitig festgelegt. Die Westhälfte **4/ent-4** wurde je nach gewünschtem Enantiomer ausgehend von dem entsprechenden Oxiran **61**, welches aus dem chiralen Pool des Serins (**62**) hergestellt wird, und einer halogenierten Alkenspezies **63** aufgebaut. Die Oxiranöffnung erfolgt dabei unter Erhalt der Konfiguration.

Kurzzusammenfassung des Kapitels

- In der retrosynthetischen Analyse des Naturstoffes Solandelacton I (**11**) sollten folgende Faktoren gewährleistet sein: ähnliche Bausteine, Möglichkeit der späten Diversifizierung, Verwendung des chiralen Pools sowie einfache Zugänglichkeit zu Enantiomeren.
- Grundlage der Totalsynthese bildete die Westhälfte – das Cyclopropyllactonfragment – und die Osthälfte – der Phosphonsäureester – welche in einer *HWE*-Reaktion kombiniert wurden.

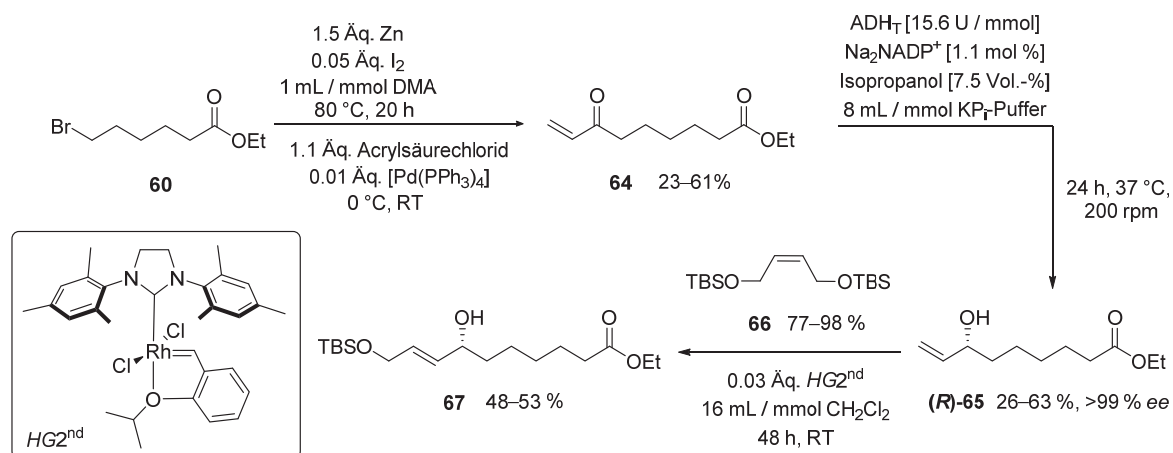
7.2 Synthesestrategie für das Solandelacton I

Wie in Kapitel 7.1 beschrieben galt es im Falle des Solandelacton I (**11**) nicht nur die Totalsynthese fertig zu stellen, sondern durch die Darstellung aller vier Diastereomere die stereogene Information des 1,2-Diolmotivs zu bestimmen, welche bis *dato* noch nicht publiziert wurde. Daher wurde im Folgenden zunächst auf die allgemeine Herangehensweise zur Synthese der Lactoneinheit und des Phosphonsäureesters des Solandelactons I (**11**) eingegangen. Diese basieren auf den Arbeiten von *Eichenauer*^[30] sowie der eigenen Masterarbeit.^[14] Neben den einzelnen Syntheserouten und ihrer Optimierungen werden abschließend die finalen Arbeiten zur Generierung und Charakterisierung aller vier Diastereomere des Solandelactons I (**11a–d**) dargestellt und der ursprüngliche Naturstoff identifiziert.

7.2.1 Synthese des Cyclopropyllactons

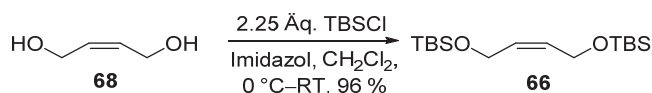
Zur Herstellung der Osthälfte des Solandelacton I (**11**) konnte ausgehend vom kommerziell erhältlichen Ester **60** das gewünschte Cyclopropyllacton **5a** in einer siebenstufigen Synthesesequenz aufgebaut werden. In einer ersten *Negishi*-Kupplung wurde das Halogen **60** in das entsprechende Vinylketon **64** unter Verwendung von Acrylsäurechlorid überführt

(Schema 18). Die darauffolgende Alkoholdehydrogenase (ADH)-katalysierte Reduktion des Ketons **64** führte zur Darstellung des (*R*)-konfigurierten Alkohols (*R*)-**65** mit einer Enantioselektivität >99 % *ee*.



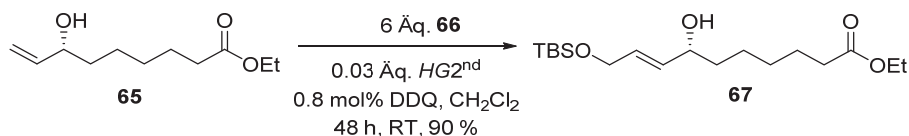
Schema 18: Syntheseschritte zum Metatheseprodukt **67** ausgehend vom Ester **60**. [HG2nd = Hoveyda-Grubbs 2nd Katalysator der zweiten Generation]

Die anschließende Kreuzmetathese erfolgte mit dem TBS-geschützten 1,4-Butendiol **66**, welches im achtfachen Überschuss eingesetzt wurde. Die Produktausbeuten der Verbindung **67** lagen dabei bei ca. 50 %. Das TBS-geschützte Butendiol **66** wurde dabei aus dem kommerziell erhältlichen (*Z*)-Butendiol (**68**) in nahezu quantitativen Ausbeuten hergestellt (Schema 19).



Schema 19: Schützung des (*Z*)-Butendiols (**68**).

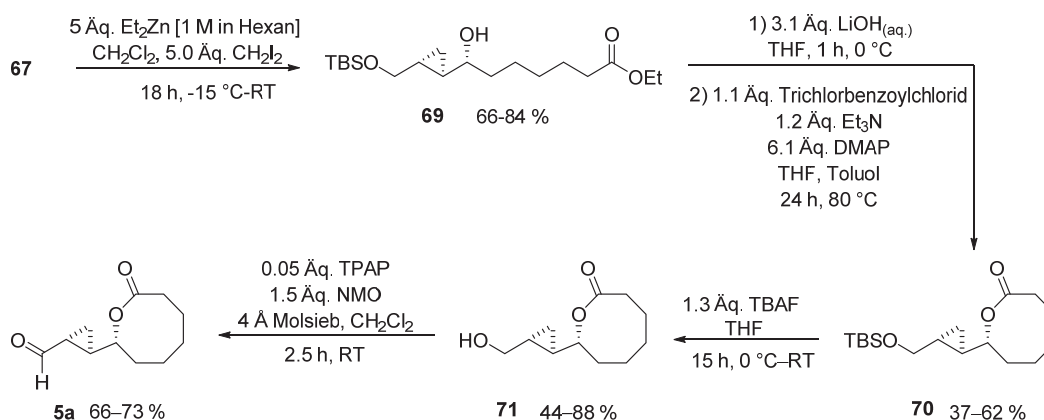
Die Ausbeute der Metathese konnte durch die Zugabe von 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ), in Anlehnung an die Untersuchungen von *Hong et al.*^[64] zur Vermeidung von Isomerisationsnebenprodukten auf 90 % erhöht sowie die Äquivalente des Metathesepartners **66** von acht auf sechs Äquivalente reduziert werden (Schema 20).



Schema 20: Kreuzmetathese unter Verwendung von DDQ. [HG2nd = Hoveyda-Grubbs 2nd Katalysator der zweiten Generation]

In einer folgenden Cyclopropanierung nach *Furukawa* wurde erfolgreich das zur Hydroxyfunktionalität der Verbindung **67** *syn*-ständige Cyclopropan in guten Ausbeuten von

66–84 % generiert (Schema 21). Die anschließende Überführung des Esters **69** in die entsprechende Säure und die gefolgte Makrolactonisierung nach *Yamaguchi* erbrachten das gewünschte achtgliedrige Lacton **70** in moderaten Ausbeuten von 37–62 %.

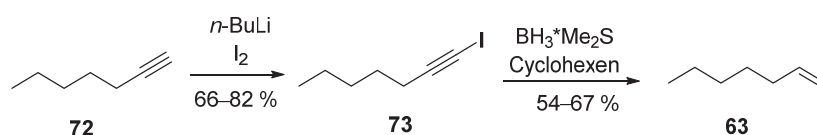


Schema 21: Finale Syntheseschritte zum Cyclopropyllacton **5a** ausgehend vom Metatheseprodukt **67**.

Die abschließende Entschützung des primären Alkohols und die Oxidation des Alkohols **71** nach *Ley* resultierten in den gewünschten Aldehydbaustein **5a**, welcher für die anschließende *HWE*-Reaktion verwendet wurde (s. Kapitel 5 sowie 7.2.3).

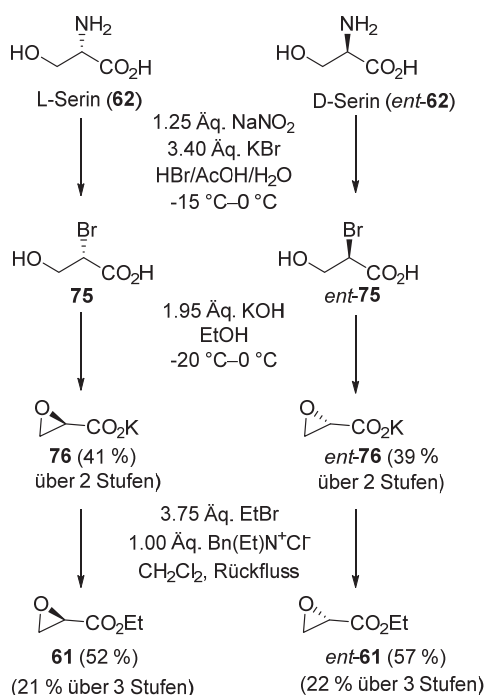
7.2.2 Synthese der enantiomeren Phosphonsäureester

Zur Synthese der enantiomeren Phosphonsäureester **4** und *ent*-**4** konnte eine fünfstufige, konvergente Synthese ausgehend vom kommerziell erhältlichen 1-Heptin (**72**) durchgeführt werden. Zunächst sollte das 1-Iodhepten **63** hergestellt werden (Schema 22). Dafür wurde das Alkin **72** zunächst halogeniert (Verbindung **73**, Schema 22) und anschließend (*Z*)-selektiv reduziert.



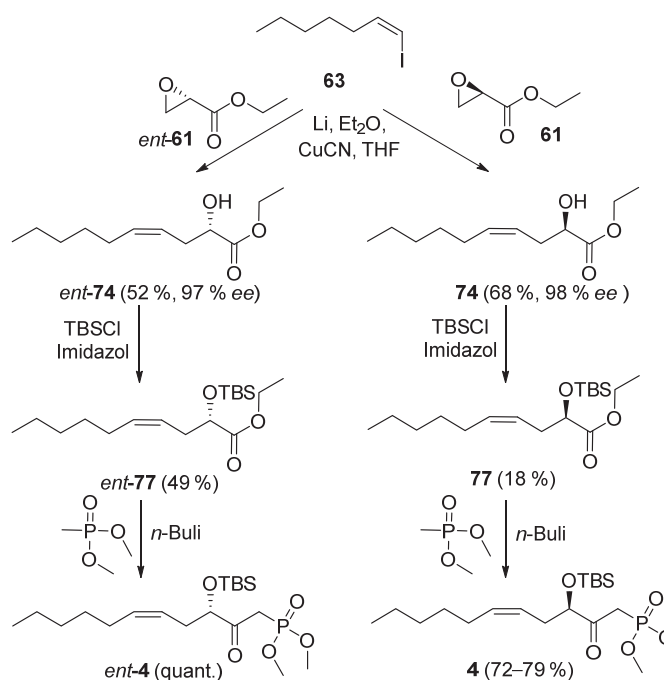
Schema 22: Synthese zur halogenierten Spezies **63**.

Der darauffolgende Syntheseschritt bestand in der Herstellung der Ester **74** und *ent*-**74** mit Hilfe der entsprechenden Oxirane **61/ent-61** (s. Schema 24). Letztere wurden ausgehend von den Aminosäuren D- bzw. L-Serin (**62**) hergestellt. Dabei wurden die Aminosäuren zunächst unter Retention der Konfiguration in die entsprechend bromierten Verbindungen **75** bzw. *ent*-**75** überführt. Unter basischen Bedingungen konnten im Anschluss die Oxirancarboxylate **76/ent-76** erhalten werden. Dabei wurde eine Inversion der Konfiguration am Stereozentrum erzielt (Schema 23).



Schema 23: Synthese der Oxirane **61**/*ent*-**61** ausgehend von D- und L-Serin (**62**/*ent*-**62**).

Eine finale Umsetzung der Substrate **76** bzw. *ent*-**76** mittels Ethylbromid resultierte in den gewünschten Estern **61** und *ent*-**61**, welche nun für die Synthese der Phosphonsäureester **4** und *ent*-**4** zur Verfügung standen (Schema 24). Zunächst wurde die halogenierte Verbindung **63** mit elementarem Lithium umgesetzt. Die durch den I-Li-Austausch hergestellte lithiierte Spezies wurde gemäß einer Vorschrift von *Duhamel* und *Plaquet*^[56] titrimetrisch bestimmt und mittels CuCN in ein *Gilman*-Cuprat überführt, welches das entsprechende Oxiran **61** bzw. *ent*-**61** unter Ausbildung der α -Hydroxyester **74**/*ent*-**74** in hohen Enantioselektivitäten von >97 % ee öffnet.

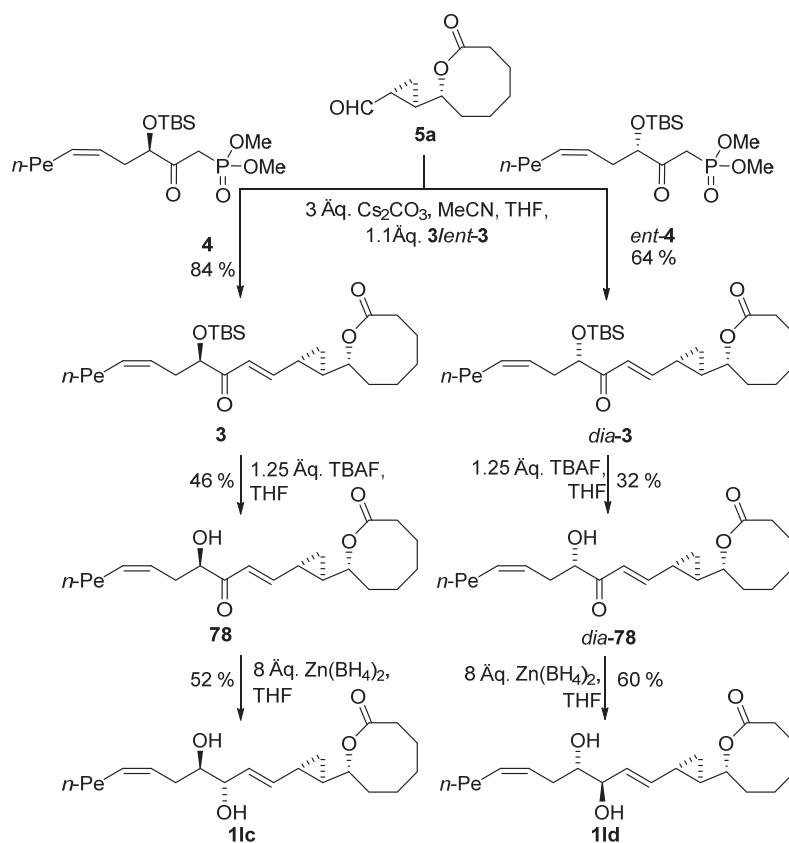


Schema 24: Synthese der enantiomeren Phosphonsäureester **4/ent-4**.

Die α -Hydroxyester **74** bzw. **ent-74** wurden zunächst mittels TBSCl in die entsprechenden Siloxyester **77** und **ent-77** und abschließend in die Phosphonsäureester **4** und **ent-4** überführt.

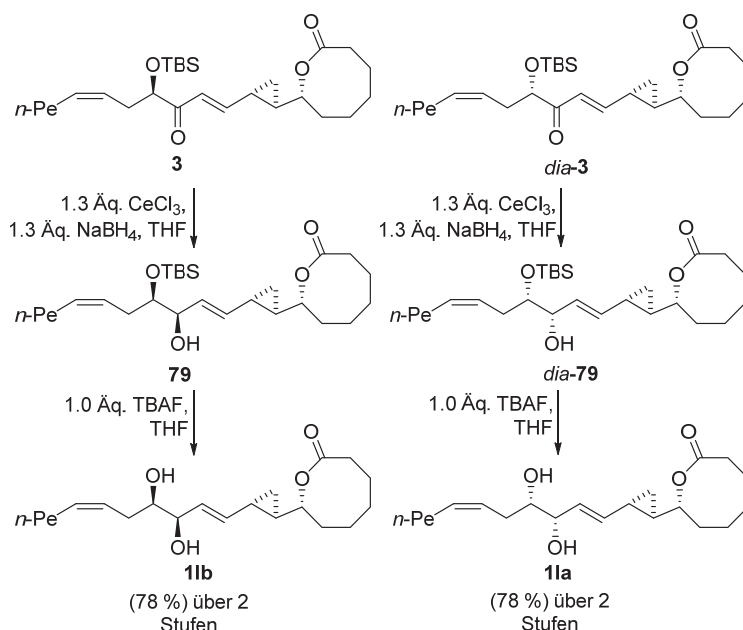
7.2.3 Variabilität nach der *Horner-Wadsworth-Emmons* Reaktion

Beginnend mit dem Lacton **5a** und den enantiomeren Phosponaten **4/ent-4** konnte das *HWE*-Produkt **3/dia-3** in moderaten bis guten Ausbeuten von 64–84 % erhalten werden (Schema 25). Für die Generierung der *anti*-konfigurierten Diastereomere des Solandelacton I (**1lc,d**), mit Augenmerk auf die Konfigurationen an C-13 und C-14, konnte gezeigt werden, dass eine Entschützung des Alkohols an C-14 (Verbindung **78/dia-78**, Schema 25), gefolgt von einer finalen Reduktion der Carbonylfunktionalität an C-13 zielführend war.



Schema 25: Synthesesequenz ausgehend vom HWE-Produkt **3** bzw. *dia-3* zur Herstellung der zwei *anti*-konfigurierten Diastereomeren **1lc** und **1ld**.

Für die Synthese der *syn*-konfigurierten Diastereomere des Solandelacton I (**1la,b**) wurde im Gegenzug zunächst die Schutzgruppe des HWE-Produktes **3/dia-3** beibehalten und die Carbonylfunktion mittels Natriumborhydrid reduziert (Schema 26).



Schema 26: Synthese der *syn*-konfigurierten Diastereomere **1a** und **b** ausgehend vom *HWE*-Produkt **3/dia-3**.

Abschließend erfolgte die Freisetzung der Alkoholfunktionalität der Verbindungen **79** und *dia-79* mit Hilfe von TBAF. Da in den letzten Stufen zum Naturstoff lediglich Umsetzungen im analytischen Maßstab erfolgten, wurde auf eine klassische säulenchromatographische Reinigung verzichtet und die Naturstoffderivate mittels präparativer HPLC isoliert. Dabei konnten die Derivate des Solandelacton I, **1a** und **b**, in 78 % Ausbeute über beide Syntheseschritte erhalten werden.

7.2.4 Vergleich der Diastereomere und Identifizierung des Naturstoffes

Die Adressierung und Charakterisierung aller vier Diastereomere der Verbindung **1l** eröffnete die Möglichkeit eines Vergleichs mit den publizierten analytischen Daten von Seo *et al.*^[15]

Bei genauer Betrachtung aller vier $^1\text{H-NMR}$ Spektren fiel zunächst auf, dass sich die Verschiebungen der *anti*-konfigurierten Produkte **1lc** und **1ld** deutlich von denen der *syn*-konfigurierten Verbindungen **1la** und **1lb** unterschieden (Abbildung 4). Dabei sind vor allem die Verschiebung der Protonensignale 13-H und 12-H zu erwähnen. Während die Signale der Protonen 13-H und 7-H im Falle der Verbindungen **1la** und **1lb** deutlich voneinander getrennt sind, verlagert sich das Signal des 13-H im Falle der *anti*-konfigurierten Diastereomere **1lc** und **1ld** weiter ins Tieffeld. Zudem tauschten die Signale der Protonen 12-H und 17-H ihre Positionen, ein weiteres Merkmal zur Unterscheidung zwischen den *syn*- und *anti*-Diastereomeren.

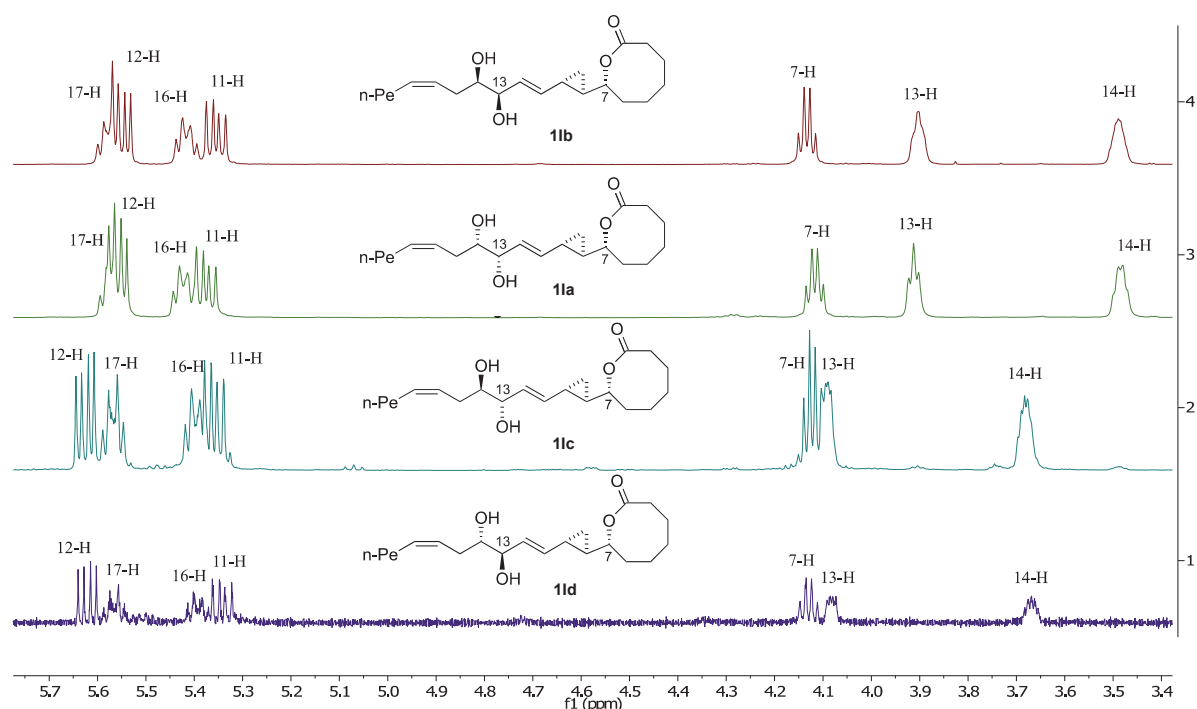


Abbildung 4: Vergleich der ¹H-NMR-Spektren der vier Diastereomere (*syn* und *anti*) des Solandelactons I (**1I**).

Im Vergleich mit den in der Literatur erhobenen Daten konnte anhand der NMR-Ergebnisse die *anti*-konfigurierten Diastereomere **1Ic** und **d** des Naturstoffes aufgrund ihrer Verschiebungen sowohl im Protonen- als auch im Kohlenstoff-NMR ausgeschlossen werden. Nun galt es als nächstes herauszufinden, bei welchem der beiden übrigen *syn*-konfigurierten Diastereomere **1Ia** und **b** es sich um den Naturstoff handelte.

Da die ¹H-NMR Spektren der beiden Verbindungen nahezu identisch sind, wurden die ¹³C-NMR Spektren genauer betrachtet. Abbildung 5 zeigt die Differenzen in den Verschiebungen bestimmter Kohlenstoffsignale im Vergleich zur publizierten Analytik. Dabei wurde ersichtlich, dass keine der beiden Strukturen exakt mit der beschriebenen Verbindung übereinstimmt. Dies könnte vor allem daran liegen, dass der publizierte Naturstoff einer Extraktion aus dem Schwamm *Solanderia secunda* entstammt und somit vermutlich Verunreinigungen enthält, welche die chemische Verschiebung beeinflusste. Obwohl die Verbindung **1Ib** vor allem in der Position C-11 und C-13 deutlich vom Original abweicht, allerdings wäre diese Feststellung nicht aussagekräftig.

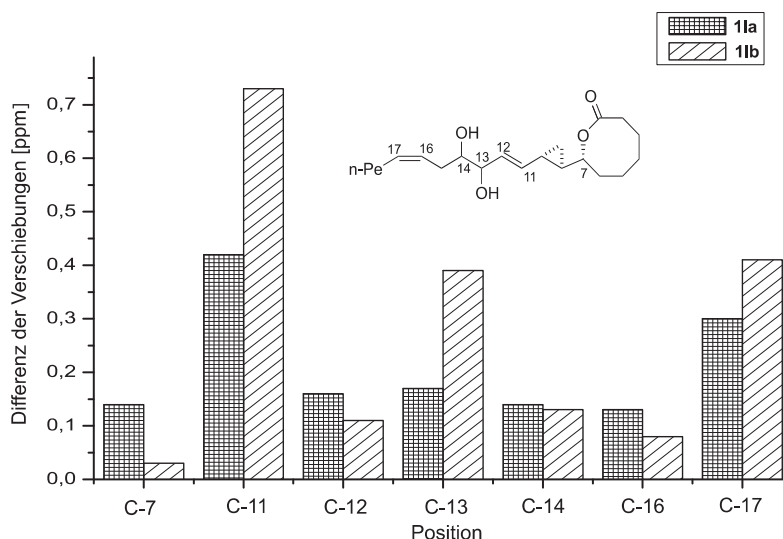


Abbildung 5: Differenz der Verbindungen **1a** und **b** in den Verschiebungen des ¹³C-NMR Spektrums im Vergleich zum publizierten Naturstoff.^[15]

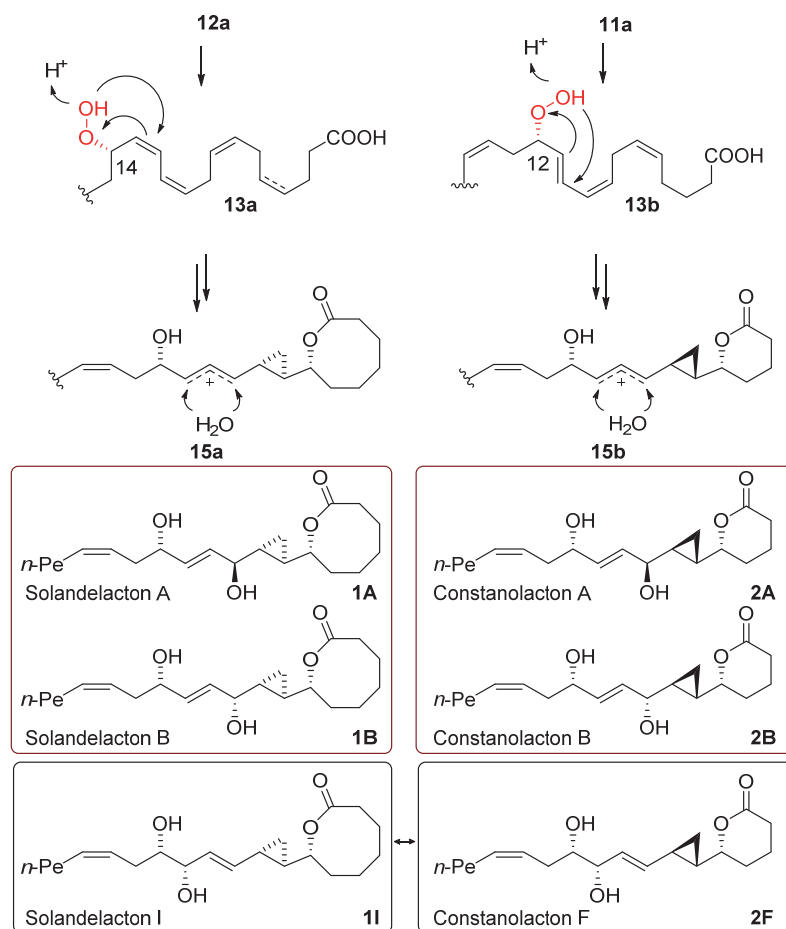
Somit wurden abschließend die spezifischen Drehwerte aller Diastereomere **1a–d** vermessen und ebenfalls mit der Literatur verglichen (Tabelle 1). Die Drehwerte der *anti*-konfigurierten Diastereomere **1lc** und **d** wurden in Chloroform vermessen, spielten aber für den schlussendlichen Vergleich keine Rolle, da die Verbindungen als potentieller Naturstoff bereits durch ihre NMR Spektren ausgeschlossen wurden. Die *syn*-konfigurierten Derivate **1la** und **b** wurden hingegen sowohl in Chloroform als auch in Methanol vermessen. Auch hier zeigte sich, dass die Drehwerte zwar allesamt ein negatives Vorzeichen zeigten, aber nicht identisch mit der Literatur waren. Gemäß *Seo et al.* besitzt der Naturstoff einen Drehwert von -37.0 (*c* = 0.5 in MeOH). Verbindung **1lb** zeigte in Methanol einen deutlich geringeren Drehwert von -13.3 (*c* = 0.33), und in Chloroform einen noch geringeren Wert von -9.3 (*c* = 1.00). Dem gegenüber zeigte Verbindung **1la** in Methanol einen Drehwert von -48.6 (*c* = 0.5 in MeOH) und in Chloroform einen geringeren Drehwert von -30.6 [*c* = 1.00]; s. Tabelle 1].

Tabelle 1: Spezifische Drehwerte der vier Diastereomere des Solandelacton I (**1a–d**).

α_D^{25}	No.	<i>anti</i>		<i>syn</i>		<i>Seo et al.</i>
		1lc	1ld	1lb	1la	
CHCl ₃		-12.2 (<i>c</i> = 0.18)	-20.8 (<i>c</i> = 0.66)	-9.3 (<i>c</i> = 1.00)	-30.6 (<i>c</i> = 1.00)	-
MeOH		-	-	-13.3 (<i>c</i> = 0.33)	-48.6 (<i>c</i> = 0.50)	-37.0 (<i>c</i> = 0.50)

Da sich der Literaturwert des isolierten Naturstoffes mit -37 genau zwischen diesen beiden Messwerten befindet und sich relativ gesehen deutlich von den Drehwerten der Verbindung **1lb** abhob, wurde die Verbindung **1la** auch in Bezug auf die postulierte Biosynthese (Schema 27) als Naturstoff Solandelacton I (**1I**) bestimmt. Die Biosynthesewege der Solandelactone (**1**) sowie der verwandten Constanolactone (**2**) implizieren, dass das erste

stereogene Zentrum durch eine LOX entweder an C-14 (bzw. C-12 im Falle des Constanolactons) eingeführt wird. Die Konfiguration dieses stereogenen Zentrums wird in den verschiedenen Intermediaten der Biosynthese beibehalten. Einzig die unselektive Hydroxylierung des Allylsystems generiert eine finale Diversifizierung der Naturstoffe.



Schema 27: Postulierte Biosynthesen der Solandelactone (**1**) und Constanolactone (**2**) im Vergleich.

Da die Position C-14 demnach durch die LOX vorgeschrieben ist und die *anti*-konfigurierten Diastereomere des Solandelacton I (**1I**) anhand ihrer $^1\text{H-NMR}$ -Spektren ausgeschlossen werden konnten, unterstützt diese postulierte Biosynthese die erhaltenen analytischen Daten. Darüber hinaus ist Interessanterweise in der Reihe der Constanolactone ebenfalls das *anti*-konfigurierte Diastereomer bekannt [Constanolacton E (**2E**)], was die Vermutung nahe legt, dass unter Umständen ebenfalls eine *anti*-konfigurierte Variante des Solandelacton I (**1I**) existiert, aber bis heute noch nicht isoliert wurde.

Bioaktivitätstest

Die Solandelactone **1a** und **b** wurden auf ihre möglichen anti-karzinogenen Eigenschaften an den humanen Glioblastoma astrocytoma Zelllinien (U-87 MG) getestet. Dies geschah in Kooperation mit *Julia Sachs* der Fakultät für Angewandte Naturwissenschaften (TH Köln; Prof.

Dr. N. Teusch). Die dabei erhaltenen IC₅₀-Werte von >100 µM zeigten jedoch, dass die Dosis demnach viel zu hoch ist, um als potentiell Pharmazeutikum zu dienen.

Kurzzusammenfassung des Kapitels 7.2

- Alle vier Diastereomere **1la–d** des Naturstoffes konnten erfolgreich hergestellt und isoliert werden.
- Anhand chemischer Verschiebungen der 13-H und 14-H Signale der NMR-Spektren konnten die *anti*-konfigurierten Diastereomere als Naturstoff ausgeschlossen werden.
- Basierend auf den spezifischen Drehwerten sowie der Biosynthese mariner Oxylipine konnte Diastereomer **1la** als der gesuchte Naturstoff identifiziert werden.

8 ZUSAMMENFASSUNG NATURSTOFFSYNTHESE

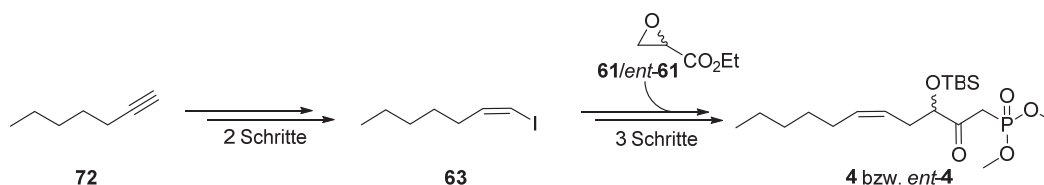
Das Lacton **5a** konnte ausgehend vom kommerziell erhältlichen Ester **60** in sieben Syntheseschritten hergestellt werden. Dabei wurde frühzeitig das stereogene Zentrum, welches das spätere Lacton aufbaut (C-7, Schema 28), in einer enzymkatalysierten Reaktion mit Hilfe einer Alkoholdehydrogenase in hoher Enantioselektivität hergestellt.



Schema 28: Synthese der Osthälfte **5a** des Solandelactons I (**11**) in sieben Schritten ausgehend vom Ester **60**.

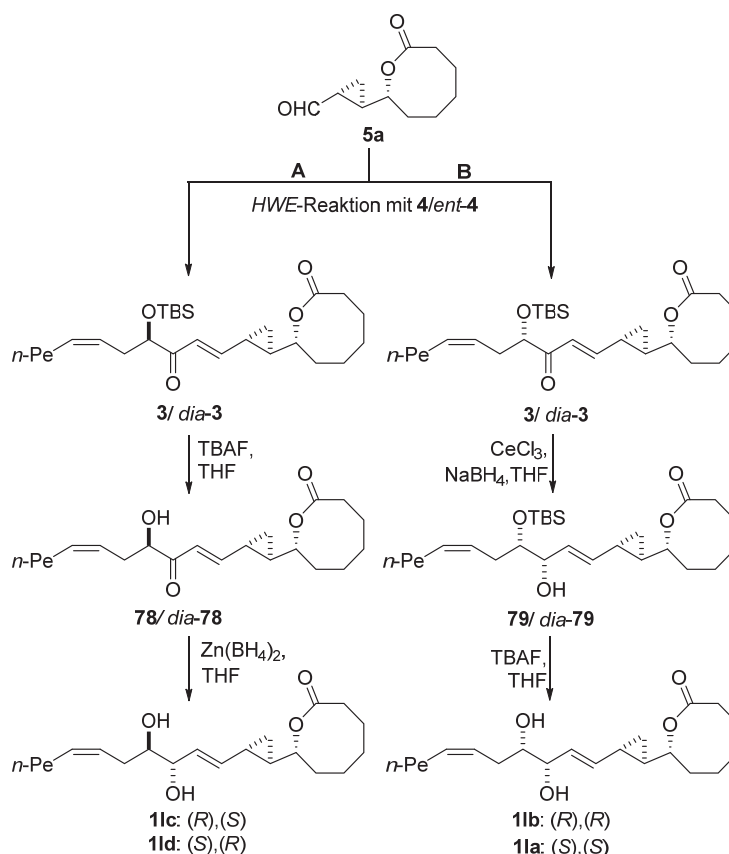
Des Weiteren konnte das zum Lacton *syn*-ständige Cyclopropan in eine Reaktion in Anlehnung an *Furukawa* selektiv eingebaut werden.

Die Synthese der Westhälfte **4/ent-4** erfolgte in fünf Stufen ausgehend vom kommerziell erhältlichen 1-Heptin (**72**). Die beiden enantiomeren Oxirane **61** bzw. *ent-61* wurden dabei ausgehend von den Aminosäuren D und L-Serin (**62**) in drei Schritten hergestellt. Die Oxiranöffnung durch das Iodhepten **63** erfolgte selektiv und unter Erhalt der Konfiguration. In zwei abschließenden Schritten konnten die jeweils enantiomerenreinen Phosphonsäureester **4/ent-4** generiert und für die nachfolgende *HWE*-Reaktion bereitgestellt werden.



Schema 29: Synthese der Westhälfte **4/ent-4** des Solandelactons I (**11**) in fünf Stufen ausgehend vom 1-Heptin (**72**).

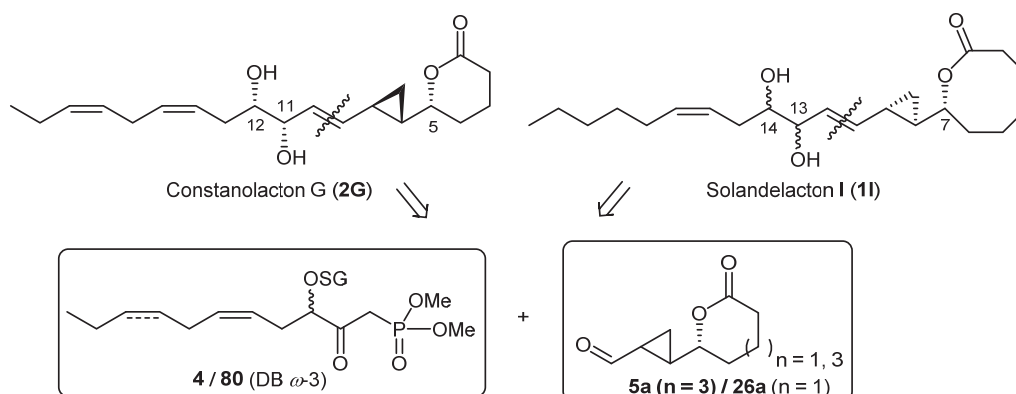
Wurde dabei basierend auf dem *HWE*-Produkt **3/dia-3** zunächst die Schutzgruppe entfernt und anschließend die vizinale Carbonylfunktionalität reduziert, konnten je nach verwendetem Phosphonat die *anti*-konfigurierten Diastereomere **1lc** und **d** generiert werden (Schema 30, A). Zur Generierung der *syn*-konfigurierten Diastereomere **1la** und **b** wurde zuerst die Carbonylfunktionalität reduziert und die Schutzgruppe anschließend entfernt (Schema 30, B).



Schema 30: Herstellung aller vier Diastereomere des Solandelactons I (**11**) ausgehend vom Lacton **5a**. Diese Herangehensweise ermöglichte es alle vier Diastereomere des Solandelactons I (**11a–d**) herzustellen. Anhand der gewonnen NMR-Spektren und den publizierten Daten des Naturstoffes im Vergleich konnten die *anti*-konfigurierten Diastereomere **11c** und **d** aufgrund der unterschiedlichen chemischen Verschiebung als Naturstoff ausgeschlossen werden. Mit Hilfe der Messungen der Drehwerte und basierend auf den Erkenntnissen aus der Biosynthese der marinen Oxylipine konnte Verbindung **11a** unter den *syn*-konfigurierten Diastereomeren als der Naturstoff Solandelacton I (**11**) identifiziert werden. Sowohl die allgemeine Syntheseroute hin zum Naturstoff als auch die Strukturaufklärung des Solandelacton I (**11**) konnten erfolgreich abgeschlossen und jeweils separat publiziert werden.^[63,57]

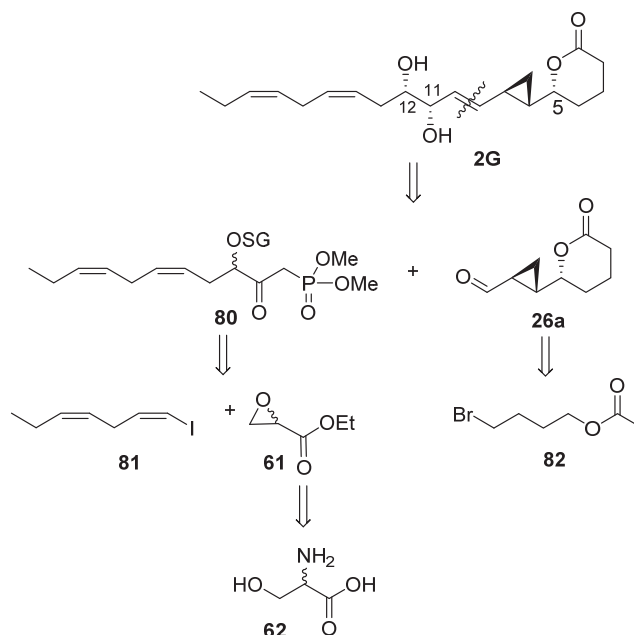
9 AUSBLICK: TOTALSYNTHESE CONSTANOLACTON G

Wie in Kapitel 7.1 bereits für das Solandelacton I beschrieben, galt es im Falle des Constanolacton G (**2G**) ebenfalls erste Versuche hin zur Totalsynthese basierend auf den Vorarbeiten von *Eichenauer* zu erarbeiten.^[30] Dabei sollten die Methoden analog zur Synthese der Solandelactons I (**1I**) so gut es ging übernommen werden (Schema 31).



Schema 31: Retrosynthetische Analyse des Constanolacton G (**2G**) und Solandelacton I (**1I**) im Vergleich.

Somit galt auch für die Synthese des Constanolacton G (**2G**), wie zuvor für das Solandelacton I (**1I**), eine Route zur Herstellung der West- **80** und Osthälfte **26a** zu entwickeln. Das Lactonfragment **26a** und der Phosphonsäureester **80** sollten ebenfalls in einer *HWE*-Reaktion zum C-20 Skelett gekoppelt werden. Der Hauptunterschied zum Solandelacton (**1**) bestand in der Generierung eines zum Lacton *anti*-ständigen Cyclopropans (Schema 31). Hier sollte eine möglichst effiziente und selektive Methode gefunden werden. Auch wenn die Konfiguration des Naturstoffes in diesem Fall bekannt ist, so bietet diese Strategie dennoch die Möglichkeit zur Generierung aller Diastereomere, die im Hinblick auf potentielle biologische Aktivität von Interesse sein könnten.

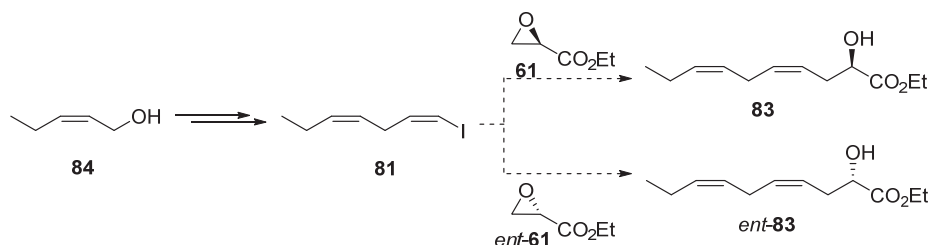


Schema 32: Retrosynthetischer Ansatz für das Constanolacton G (**2G**). [SG = Schutzgruppe]

Die Westhälfte **80** sollte dabei ausgehend von einem Dialken **81** und einem Oxiran **61/ent-61** aufgebaut werden. Die Oxirane würden wie zuvor beschrieben (s. Kapitel 7.2.2) aus dem Serin (**62**) hergestellt werden und die iodierter Spezies **81** könnte die Oxirane **61** bzw. *ent*-**61** selektiv öffnen. Das sechsgliedrige Lacton würde ausgehend von der kommerziell erhältlichen Verbindung **82** generiert werden.

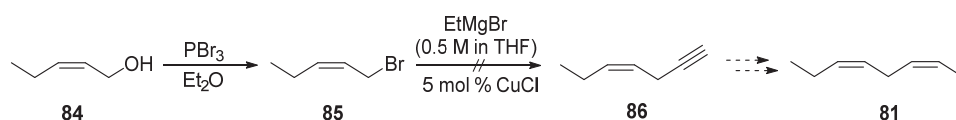
9.1.1 Untersuchungen zur Synthese der Westhälfte des Constanolactons G

Eine erste Idee zur Synthese der Westhälfte **80** des Constanolacton G (**2G**) lag in der Herstellung der halogenierten Spezies **81**, welche in darauffolgenden Schritten zunächst in ein Cuprat überführt werden und die entsprechenden Oxirane **61/ent-61** unter Epoxidöffnung angreifen sollte. Die dabei entstehenden Ester **83** bzw. *ent*-**83** würden abschließend wiederum in die entsprechenden Phosphonate **80/ent-80** umgewandelt werden (Schema 33).



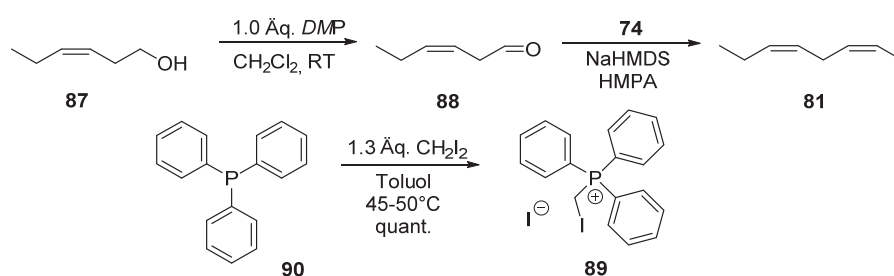
Schema 33: Strategie zur Synthese der beiden enantiomeren Vorläufer **83** und *ent*-**83** der Westhälfte des Constanolacton G (**2G**) ausgehend vom Pentenol (**84**).

In einem ersten Experiment wurde versucht, ausgehend vom (Z)-Pent-2-en-1-ol (**84**), die halogenierte Spezies **81** herzustellen (Schema 34). Dabei sollte zunächst das Pentenol **84** in das entsprechende Bromid **85**, mit Hilfe von Phosphortribromid, umgewandelt werden. Die folgende Addition von Ethynylmagnesiumbromid zum terminalen Alkin **86** konnte jedoch nicht mehr nachvollzogen werden. Wahrscheinlich ist das Alkin **86** ebenso wie dessen Vorgänger **85** zu instabil oder leicht flüchtig.



Schema 34: Syntheseroute ausgehend vom Pentenol **84** zur Herstellung der Verbindung **81**.

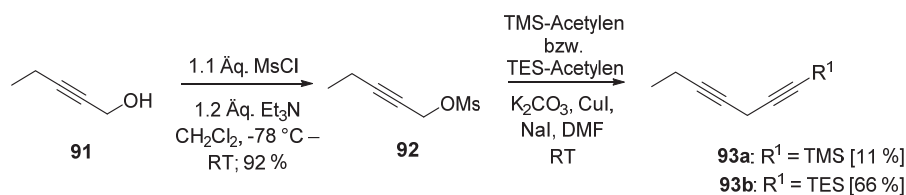
In einem weiteren Versuch wurde ausgehend vom (Z)-Hex-3-en-1-ol (**87**) zunächst eine Oxidation mit Hilfe des *Dess-Martin*-Periodinan (DMP) Reagenzes zum entsprechenden Aldehyd **88** durchgeführt.^[58] Über eine *Wittig* Reaktion wäre im folgenden Schritt die Synthese des Alkeniodids **81** möglich.^[59] Dabei würde die Übertragung der Methyleniodid-Einheit auf den Aldehyd **88** mit Hilfe der Verbindung **89** erfolgen, welche ausgehend von Triphenylphosphin (**90**) hergestellt wurde. Jedoch konnte das gewünschte Halogen **81** nicht isoliert werden.



Schema 35: Synthese der halogenierten Verbindung **81** über eine *Wittig*-Reaktion.

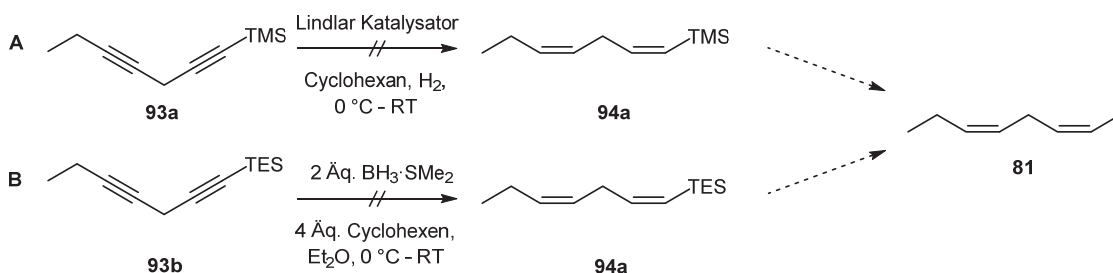
Mit der Hilfe der Arbeit von *Dennis Jansen*¹ aus dem Institut für Bioorganische Chemie wurden alternative Versuche zur Synthese des westlichen Bausteines **81** ausgehend vom 2-Pentanol (**91**) gemacht. In einem ersten Schritt wurde die Alkoholfunktionalität der Verbindung **91** mit Methansulfonsäurechlorid (MsCl) geschützt (Verbindung **92**, Schema 36).^[60] Anschließend konnte das Dialkin **93a** durch die Addition von TMS-Acetylen hergestellt werden.^[61] Da die TMS-geschützte Verbindung instabil war wurden ebenfalls Versuche mit TES-Acetylen gemacht um eine eventuell weniger labile Schutzgruppe zu etablieren, welche die Stabilität des Produktes erhöht.

¹ Die Versuche zur Synthese des Diins **93a** ausgehend vom Pentinol (**91**) wurden von *Dennis Jansen* in einem dreiwöchigen Naturstoffsynthesemodul am Institut für Bioorganische Chemie (IBOC) der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf unter Betreuung der Autorin durchgeführt.



Schema 36: Herstellung des Dialkins **93**.

Während das TMS-geschützte Produkt **93a** nur 11 % Ausbeute ergab, konnte das TES-geschützte Alkin **93b** in 66 % Ausbeute erhalten werden. Durch den Schutzgruppenwechsel konnte eine deutlich bessere Handhabung und Stabilität erzielt werden. Das Produkt **93b** zeigte ursprünglich noch leichte Verunreinigungen. Es konnte keine Zunahme an Verunreinigungen bzw. Degradierung des Produktes *via* NMR über einen Zeitraum von drei Wochen durch Lagerung im Tiefkühlschrank beobachtet werden, was für die Stabilität des Produktes spricht.



Schema 37: Z-selektive Reduktion des Dialkins **93** zur Synthese des halogenierten Dialkens **81**.

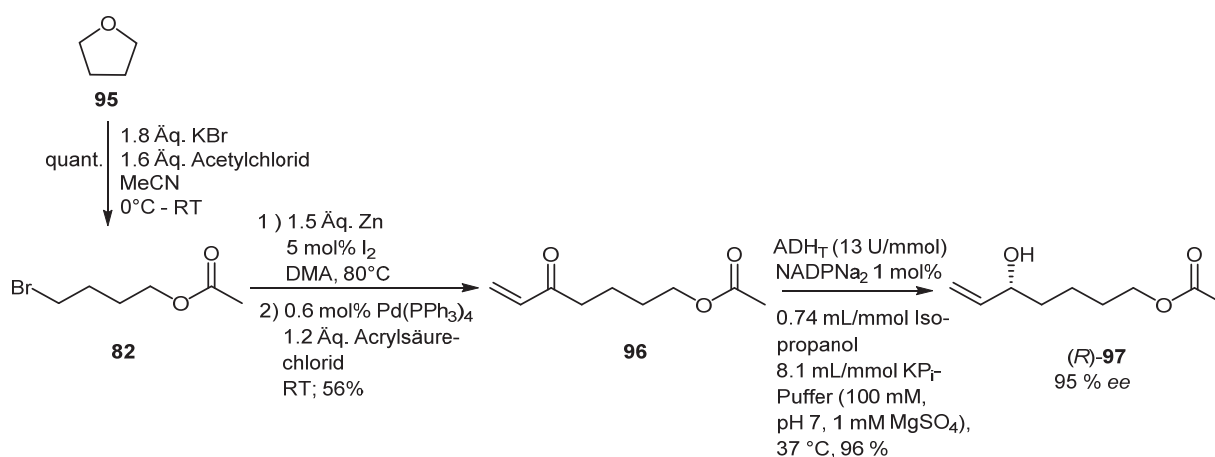
Sowohl das Alkin **93a** als auch das TES-geschützte Alkin **93b** sollten im Anschluss einer *cis*-selektiven Reduktion unterzogen werden. In beiden Fällen – sei es mittels *Lindlar* Katalysator (Schema 37, A)^[62] oder Boran Dimethylsulfidkomplex (Schema 37, B) – konnte allerdings keine gewünschte Dialken-Spezies **94a** bzw. **94b** isoliert werden.

Diesbezüglich bedarf es demnach weitere Untersuchungen bzw. Alternativen zur Generierung stabiler Zwischenprodukte auf dem Weg zur Synthese der Westhälfte **80** des Constanolacton G [(**2G**), s. Kapitel 9.1.4].

9.1.2 Untersuchungen zur Osthälfte des Constanolactons G

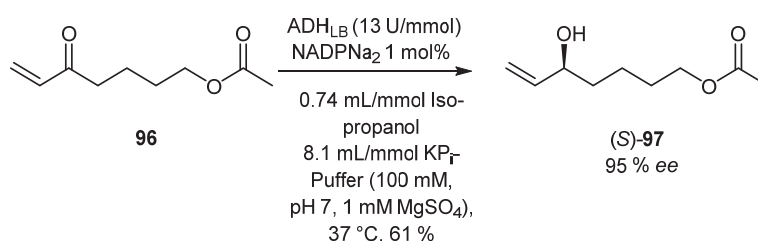
Auch die vorliegenden Ideen zur Synthese der Osthälfte des Constanolactons G (**2G**) orientierten sich an den bereits publizierten Strategien zur Totalsynthese der Solandelactone A (**1A**) & B (**1B**).^[30, 63] Als Startmaterial diente das kommerziell erhältliche 4-Brombutylacetat (**82**), welches sich ebenfalls in einer einfachen Synthese ausgehend vom THF (**95**) nahezu quantitativ herstellen lässt (Schema 38). Die Verwendung des Acetats **82** statt eines Esters wurde vorsorglich gewählt, um eine spontane Lactonisierung auf späterer Stufe der Totalsynthese zu vermeiden. In einer *Negishi*-Kupplung wurde die halogenierte

Verbindung **82** Palladium-katalysiert mit Acrylsäurechlorid umgesetzt, wodurch das Allylketon **96** in moderaten Ausbeuten erhalten werden konnte. Der darauffolgende Schritt beinhaltete die bereits zuvor erwähnte enzymatische Reduktion des Ketons zum gewünschten (*R*)-Alkohol **97**. Die Reaktion verlief unter Verwendung einer Alkoholdehydrogenase aus *Thermoanaerobacter species* (ADH_T), welche in *E. coli* exprimiert wurde und nach Aufschluss eine Aktivität von 6–13 U/mmol zeigte. Hierdurch konnte die Alkoholfunktionalität, welche später einen Teil des Lactons ausbildete, in einer hohen Selektivität von 95 % ee gewonnen werden (Schema 38).



Schema 38: Dreistufige Synthese zum Allylalkohol (*R*)-**97** ausgehend von THF (**95**).

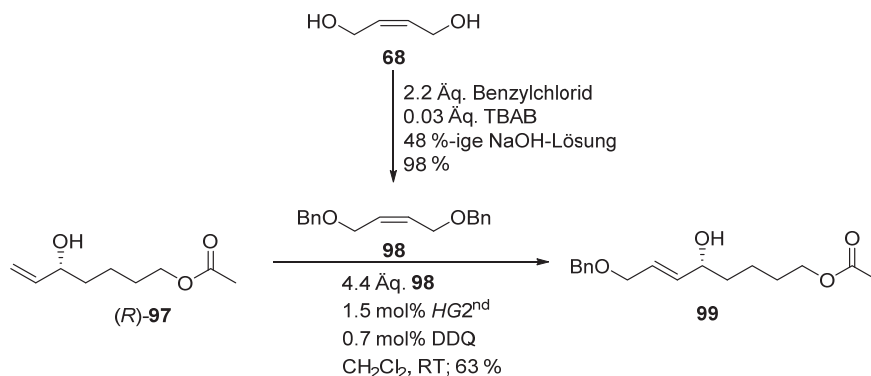
Als Referenz wurde ebenfalls das (*S*)-konfigurierte Enantiomer (*S*)-**97** hergestellt. Dafür wurde die enantiokomplementäre Alkoholdehydrogenase aus *Lactobacillus brevis* verwendet (ADH_{LB}). Auch hier konnte eine Enantioselektivität von 95 % ee beobachtet werden (Schema 39).



Schema 39: Herstellung des Alkohols (*S*)-**97** mit Hilfe der enantiokomplementären ADH_{LB}.

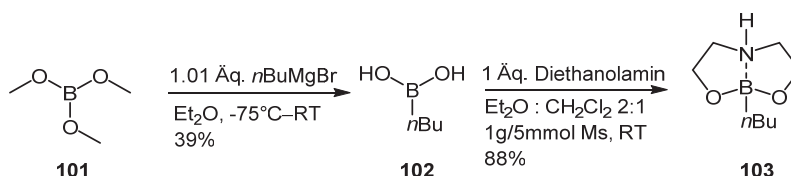
Die Verbindung (*R*)-**97** wurde mit dem Benzyl-geschützten Diol **98**, welches ausgehend vom 1,4-But-2-endiol (**68**) hergestellt wurde, in einer Kreuzmetathese kombiniert. Das gewünschte Metatheseprodukt **99** konnte dabei in 63 % Ausbeute erhalten werden. Dabei wurde zunächst die benzyliche Schutzgruppe gewählt, um auf späterer Stufe der Cyclopropanierung einen sterischen anspruchsvollen Rest einzubringen, der eventuell hilft Selektivität zu induzieren. DDQ wurde in geringen Mengen zur Metathese hinzugefügt, um etwaige Isomerisierungen der

Doppelbindung zu verhindern.^[63,64] Der nächste Versuch galt der Cyclopropanierung der Doppelbindung der Verbindung **99**.



Schema 40: Kreuzmetathese sowie Einführung einer benzylichen Schutzgruppe.
[$HG2^{nd}$ = Hoveyda-Grubbs Katalysator der 2. Generation]

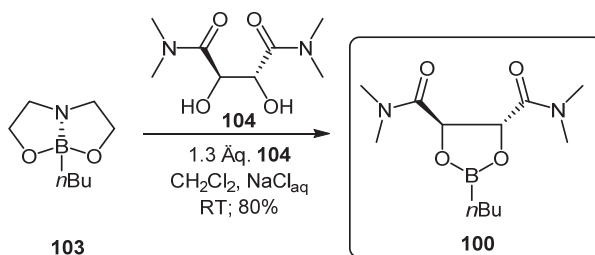
Um diese selektiv *anti*-ständig zur bereits integrierten Hydroxygruppe zu installieren, wurde zunächst die Verwendung des *Charette*-Auxiliars **100** getestet.^[65,66] Dies konnte durch die Arbeiten von *Melanie Ogan*² aus dem Institut für Bioorganische Chemie realisiert werden. Ausgehend von Trimethylborat (**101**) und dem Grignard *n*-Butylmagnesiumbromid, welches zuvor aus *n*-Brombutan hergestellt und dessen Konzentration titrimetrisch bestimmt wurde, konnte in drei Stufen das gewünschte Auxiliar **100** hergestellt werden (Schema 41 u. Schema 42).



Schema 41: Initiale Syntheseschritte des Auxiliars nach *Charette*.

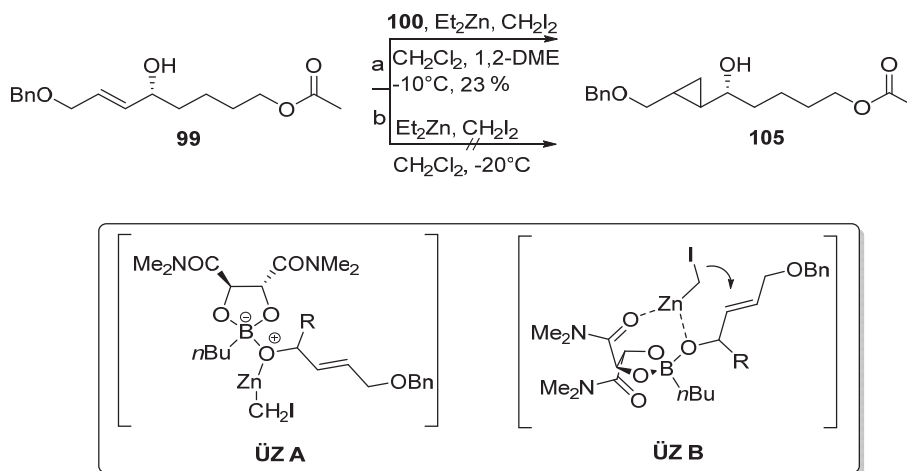
Nachdem im ersten Schritt, mit moderaten Ausbeuten, die Butylboronsäure **102** hergestellt wurde, konnte im darauffolgenden Schritt durch die Zugabe von Diethanolamin der an Luft stabile Bizyklus **103** in einer sehr guten Ausbeute von 88 % gewonnen werden. Mit einem Überschuss an Diamid **104** in einem Zweiphasensystem aus Dichlormethan und wässriger NaCl-Lösung konnte das gewünschte Auxiliar **100** in 80 % Ausbeute erhalten werden (Schema 42).

² Die Experimente unter Verwendung des *Charette*-Auxiliars **100** sowie die Synthese des Auxiliars wurden von *Melanie Ogan* im Rahmen ihres sechswöchigen Naturstoffsynthesepraktikums am Institut für Bioorganische Chemie (IBOC) der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf unter Betreuung der Autorin durchgeführt.



Schema 42: Synthese des Auxiliars nach *Charette*.

Die anschließende Cyclopropanierung wurde einmal in Anlehnung an die Vorschrift von *Charette* und Mitarbeitern (Schema 43, a) und einmal nach *Furukawa* und Mitarbeitern ohne das zuvor hergestellte Auxiliar durchgeführt (Schema 43, b). Gemäß den Modellierungen von *Charette et al.*^[66] wurde vorgeschlagen, dass das Diborolan **100** unter Ausbildung eines „*At*“-Komplexes mit der Zinkspezies reagiert und die Alkoholfunktionalität des Substrates **99** bindet (Schema 43, ÜZ A). Das Zinkreagenz kann dabei gleichzeitig die Carbonylfunktionalität des Amids des Liganden **100** komplexieren und das Methylen in einer relativ stabilen Form übertragen (Schema 43, ÜZ B).



Schema 43: Cyclopropanierung der Verbindung **99** sowie die Darstellung der theoretischen Übergangszustände (ÜZ A und B) der Cyclopropanierung. [a mit Hilfe des *Charette*-Auxiliars **100**;^[66] b nach *Simmons-Smith*; R = (CH₂)₄OCOCH₃]

Unter Betrachtung der Reaktionssequenz mit dem Auxiliar **100** konnte zunächst festgestellt werden, dass die Cyclopropanierung im Allgemeinen stattgefunden hatte (Abbildung 6). Der Vergleich des Protonen-NMR des Metatheseproduktes **99** (Abbildung 6, oben) mit dem der cyclopropanierten Verbindung **105** (Abbildung 6, unten) zeigte deutlich, dass die entsprechenden Signale der Doppelbindung – 6-H und 7-H – verschwanden und dafür im Hochfeld die in diesem Bereich typischen Cyclopropan-Signale (10-H_{a/b}) entstanden.

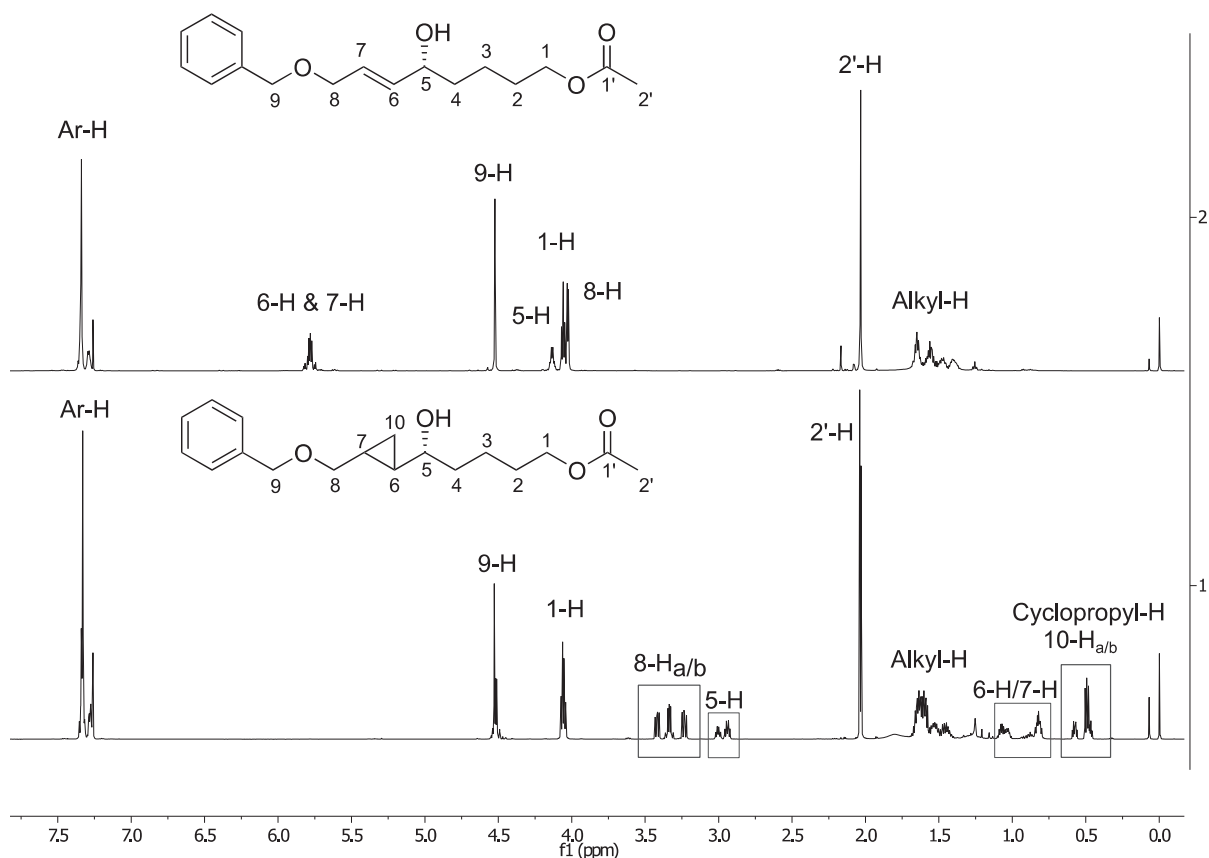


Abbildung 6: Vergleich des Metatheseproduktes **99** (oben) mit dem Produkt **105** (unten) nach der Cyclopropanierung mittels *Charette*-Auxiliar **100**.

Zudem spalteten sich die Protonen an Position 8-H, nach der Cyclopropanierung als diastereotope Protonen leicht Hochfeld verschoben in 8-H_a bzw. 8-H_b auf. Man erkannte jedoch, dass es sich bei dem NMR der Verbindung **105** (Abbildung 6, unten) nicht um ein einzelnes Diastereomer handelte. Sämtliche Signale waren als doppelter Signalsatz in einem Verhältnis von etwa 60:40 vorhanden (s. Integrale Abbildung 7). Die Zuordnung der einzelnen Signale zum entsprechenden Diastereomer fiel vor allem im aliphatischen Bereich sowie der 10-H Signale nicht leicht. Die einzelnen Korrelationen sind in Abbildung 7 farblich hervorgerufen worden. Dabei war ebenfalls auffallend, dass die 8-H Signale des Diastereomers, welches im Unterschuss vorlag, überlappten. Auch die beiden 5-H Signale, welche als Dublett vom Triplett aufspalteten, zeigten in ihren Kopplungskonstanten (8.5 und 6.1 Hz für das Signal bei 2.94 ppm bzw. 7.5 und 5.5 Hz bei 3.00 ppm) nicht ausreichend Divergenz um eine *E*- oder *Z*-Kopplung zu definieren und somit die relative *syn*- bzw. *anti*-Konfiguration des Cyclopropan zur Alkoholfunktionalität festzulegen.

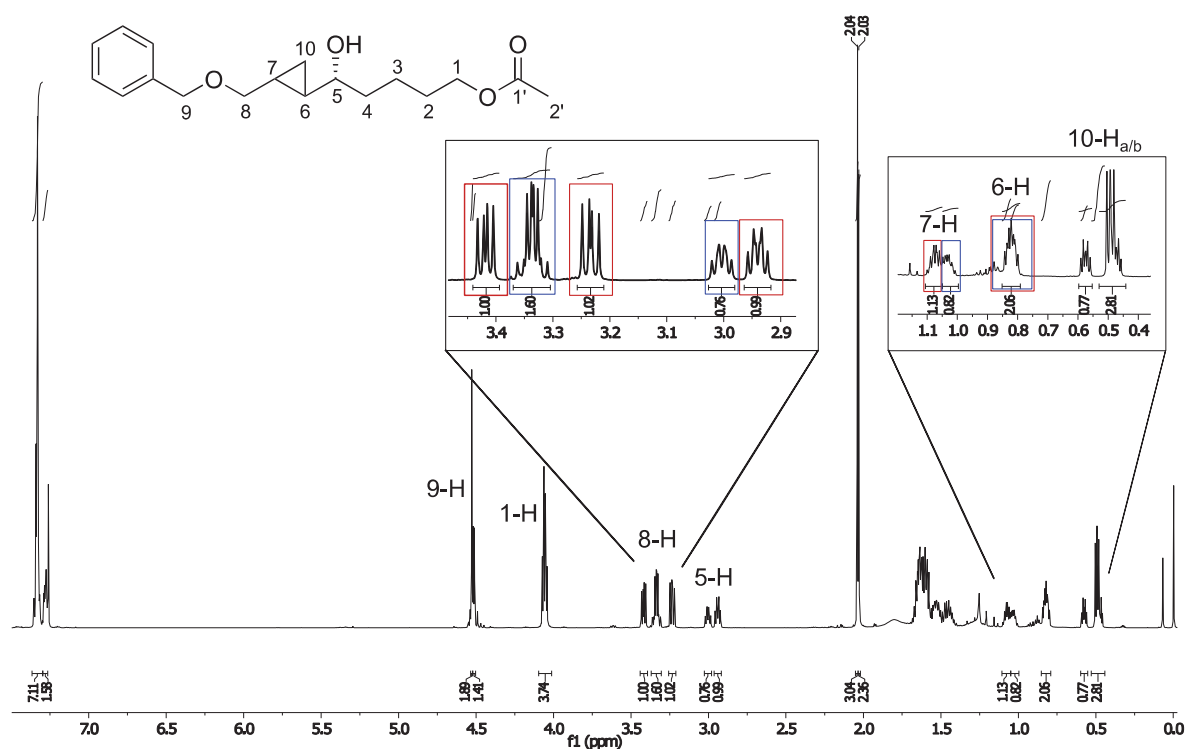
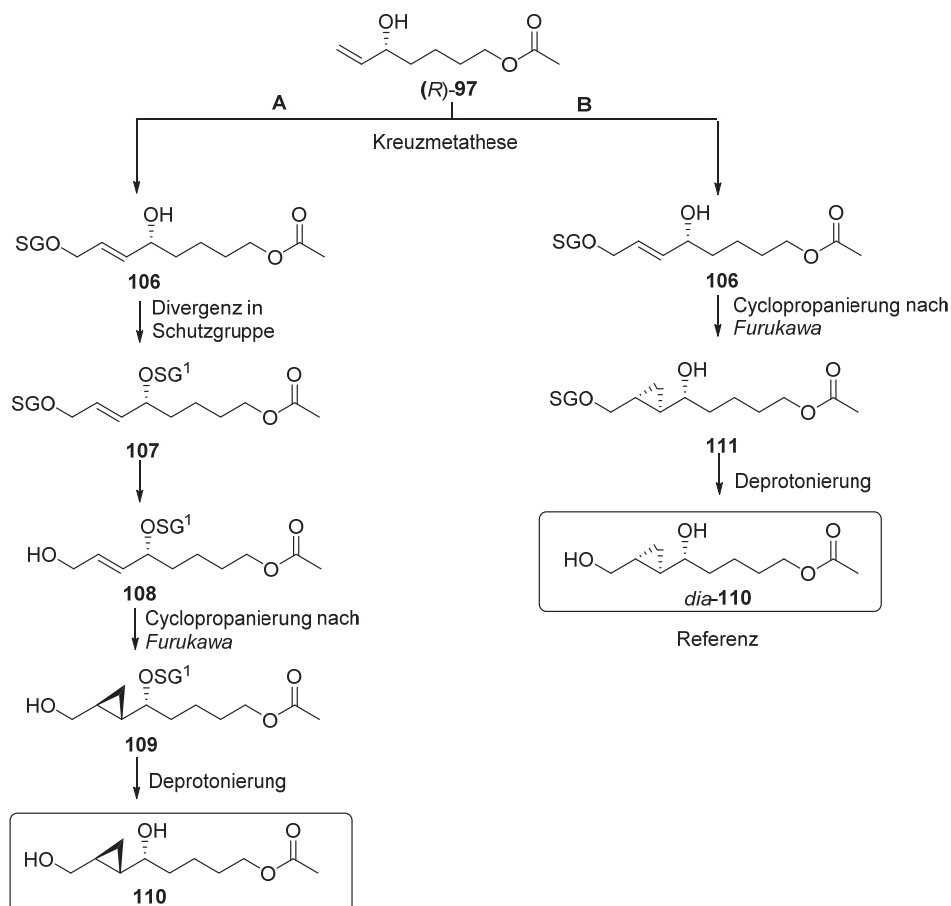


Abbildung 7: Detaillierte Betrachtung des ^1H -NMR-Spektrums der Verbindung **105**.

Daraufhin wurde eine alternative Strategie überlegt, um selektiv das Cyclopropan *anti*-dirigierend in die Verbindung einzubringen. Demnach sollte in der folgenden Syntheseroute das Metatheseprodukt **106** mit zwei unterschiedlichen Silylschutzgruppen generiert werden, um selektiv den primären bzw. sekundären Alkohol entschützen zu können. Die folgenden Arbeiten dazu wurden gemeinsam mit *Julian Greb*³ aus dem Institut für Bioorganische Chemie entwickelt. Zur Synthese des *anti*-cyclopropanierten Bausteines für das Constanolacton G (**2G**) wurde über die Kreuzmetathese mit Hilfe des TBS-geschützten Diols **66** die erste Silylschutzgruppe in Verbindung **106** eingebracht. Eine zweite, sterisch anspruchsvolle Gruppe sollte im Anschluss an die sekundäre Alkoholfunktionalität installiert werden (Schema 44, Verbindung **107**).

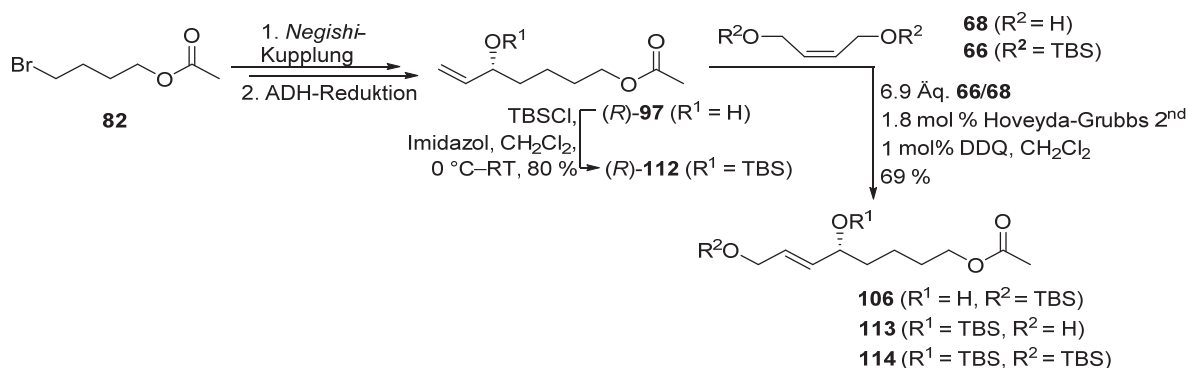
³ Die initialen Syntheseschritte der Osthälfte des Constanolacton G (**2G**) hin zum Metatheseprodukt **106** Verbindung wurden von *Julian Greb* während seines sechswöchigen Naturstoffsynthesepraktikums am Institut für Bioorganische Chemie (IBOC) der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf unter Betreuung der Autorin durchgeführt.



Schema 44: Strategie zur Synthese der cyclopropanierten Verbindung **110**, sowie *dia-110* als diastereomere Referenz.

Durch die Implementierung unterschiedlicher Alkoholschutzgruppen, sollte im darauffolgenden Schritt die primäre Alkoholfunktionalität selektiv geschützt werden können (Schema 44, Verbindung **108**). Durch die freie Hydroxygruppe ist nun eine bessere Koordinierung des Zinkreagenzes möglich, welches in der Cyclopropanierung Anwendung findet. Die sterisch anspruchsvolle Schutzgruppe am sekundären Alkohol sollte die *anti*-Cyclopropanierung begünstigen. Cyclopropan **109** wäre dann die gewünschte Verbindung für die weitere Totalsynthese. Die komplett entschützte Verbindung **110** könnte als Referenz dienen, sollte die Konfiguration mittels NMR nicht genau bestimmbar sein. Zum Vergleich müsste dazu die *syn*-konfigurierte cyclopropanierte Verbindung *dia-110* hergestellt werden. Diese Route würde ohne Schützung des sekundären Alkohols für das Cyclopropan **111** auskommen.

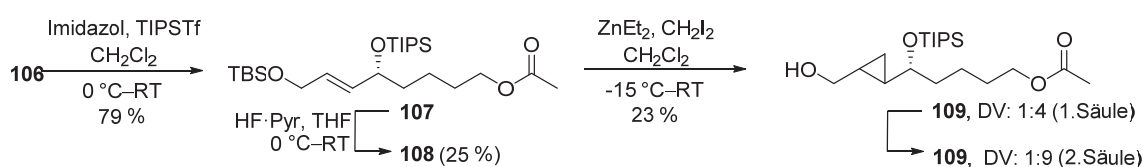
Die Synthese der *anti*-konfigurierten cyclopropanierten Verbindung **109** erfolgte in seinen initialen Schritten wie zuvor beschrieben: die halogenierte Verbindung **82** wurde in einer *Negishi*-Kupplung und anschließender enzymatischer Reduktion in den entsprechenden Alkohol **(R)-97** überführt. Die darauffolgende Metathese fand nun mit dem TBS-geschützten Butendiol **66** statt, welches ebenfalls ausgehend von 1,4-Butendiol (**68**) hergestellt wurde.



Schema 45: Synthese der Metatheseproduktes **106**, **113** bzw. **114**.

Parallellaufende Untersuchungen zur Metathese zeigten zudem, dass sowohl die Reaktion der TBS-geschützten Verbindung **112** mit dem 1,4-Butendiol (**68**) als auch mit dem geschützten Diol **66** zu den entsprechenden Produkten **113** resp. **114** nicht stattfand (Schema 45).

Als nächstes sollte der sekundäre Alkohol der Verbindung **106** ebenfalls geschützt werden. Dabei wurde die TIPS-Schutzgruppe gewählt, um eine weitere zusätzlich sterisch anspruchsvolle Funktionalität einzubauen (Verbindung **107**, Schema 46). Zur anschließenden selektiven Entschützung der TBS-Gruppe am primären Alkohol wurden Bedingungen in HF·Pyridin gewählt, wodurch das gewünschte Produkt **108** in 25 % Ausbeute erhalten wurde (Schema 46). Hier wäre es sicherlich möglich die Ausbeute zu erhöhen, da die Reaktion selbst nach einem Tag noch Startmaterial aufwies. Die Entschützung wurde ebenfalls klassisch mit einem geringen Unterschuss an TBAF ausprobiert; resultierte jedoch sowohl in der Entschützung der TBS- als auch TIPS-Gruppe, weshalb die Reduktion mit HF sich als die geeignetere Variante erwies.



Schema 46: Synthese der cyclopropanierten Verbindung **109** ausgehend vom TBS-geschützten Metatheseprodukt **106**.

Die nun ausschließlich sekundär geschützte Verbindung **108** wurde gemäß den Bedingungen nach *Furukawa* cyclopropaniert. Nach zwei säulenchromatographischen Reinigungen konnte das entsprechend cyclopropanierte Produkt **109** in 23 % und in einem Diastereomerenverhältnis von 1:9 isoliert werden (Schema 46, Abbildung 8). Dabei stellte sich die Bestimmung der Konfiguration des Cyclopropanringes als schwierig heraus. Das Protonensignal an Position C-5 würde gegebenenfalls Aufschluss über die Konfiguration geben, jedoch spaltete dieses nicht, wie erwartet in ein Dublett von Triplet auf, wodurch die

Kopplung zum benachbarten Proton an C-6 nicht erfasst werden konnte (Abbildung 8, 5-H, ~3.4 ppm). Umgekehrt zeigte auch das Protonensignal 6-H nur ein Multiplett.

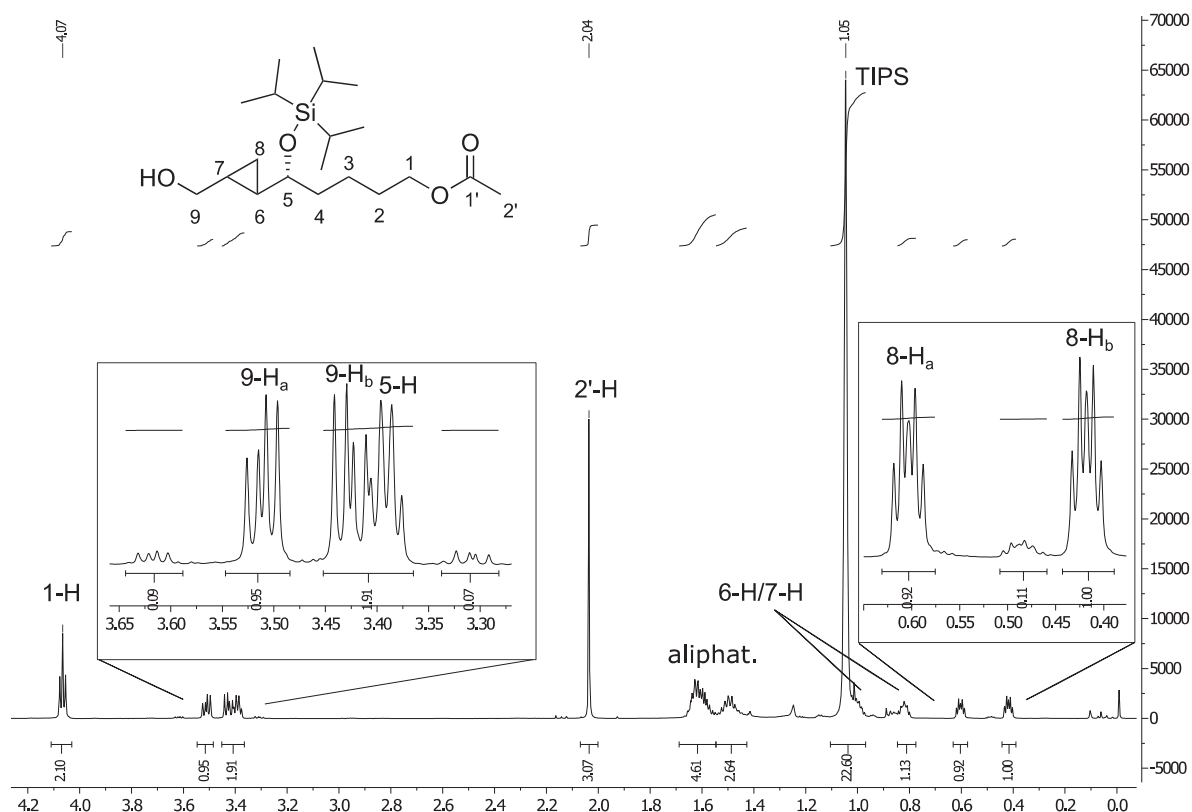
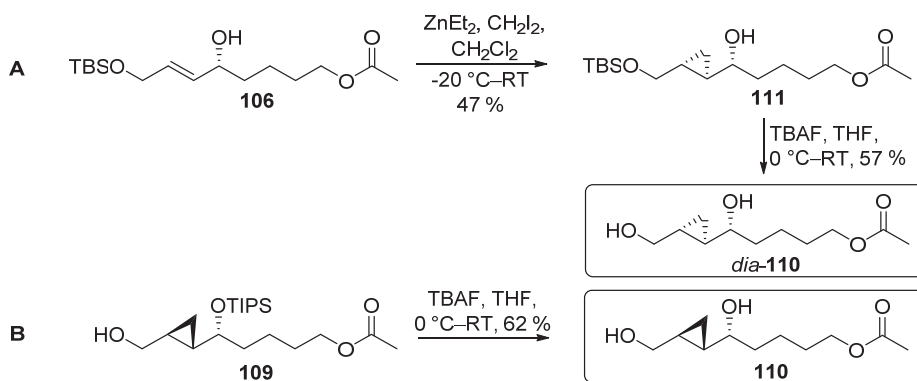


Abbildung 8: NMR der Verbindung **109**. [NMR in CHCl_3 ; DV 1:9]

Um daher sicher zu sein, um welches Diastereomer es sich dabei handelte, wurde ebenfalls die cyclopropanierte Verbindung *dia*-**110** hergestellt (s. Schema 44, B). Ausgehend von dem Metatheseprodukt **106** erfolgte die Cyclopropanierung nach *Furukawa* in 47 % Ausbeute (Schema 47, A). Bei den Varianten der *Simmons-Smith* Cyclopropanierungen war bekannt, dass diese durch benachbarte OH-Funktionalitäten *syn*-gesteuert werden können. Demnach wird im Falle der Verbindung **111** von dem entsprechend *syn*-konfigurierten Produkt ausgegangen. Dieses wurde abschließend mit TBAF entschützt und resultierte in die Verbindung *dia*-**110**. Die Entschützung der für die Synthese des Constanolactons benötigte Verbindung **109** ergab das entsprechende Produkt **110** in 62 % Ausbeute (Schema 47, B).



Schema 47: Finale Syntheseschritte zur den entschützten Verbindungen **110** und *dia*-**110**.

Dabei zeigten die Verbindungen **110** und *dia*-**110** ein identisches ^1H -NMR-Spektrum (Abbildung 9). Gleiches gilt ebenfalls für das ^{13}C -NMR Spektrum. Die Diastereomere sollten sich vor allem aufgrund der *syn*-ständigen Protonen 6-H und 7-H und die daraus resultierenden chemischen Verschiebungen der Signale 5-H bis 9-H unterscheiden. Dies ist im vorliegenden Beispiel nicht der Fall. Bei den zwei zusätzlichen Signalen der Verbindung **110** im aliphatischen Bereich des ^1H -NMR Spektrums (Abbildung 9, unten; 0.64 ppm & 0.95 ppm) handelt es sich um Verunreinigungen. Diese zeigten zwar im 2D-Spektrum eine Kopplung zueinander, allerdings gab es keine Zuordnung zu einem Signal im ^{13}C -NMR. Vermutlich handelte es sich somit in beiden Fällen um die *syn*-ständige cyclopropanierte Verbindung *dia*-**110**. Ein Mischspektrum aus beiden Verbindungen **110** und *dia*-**110** wurde nicht aufgenommen.

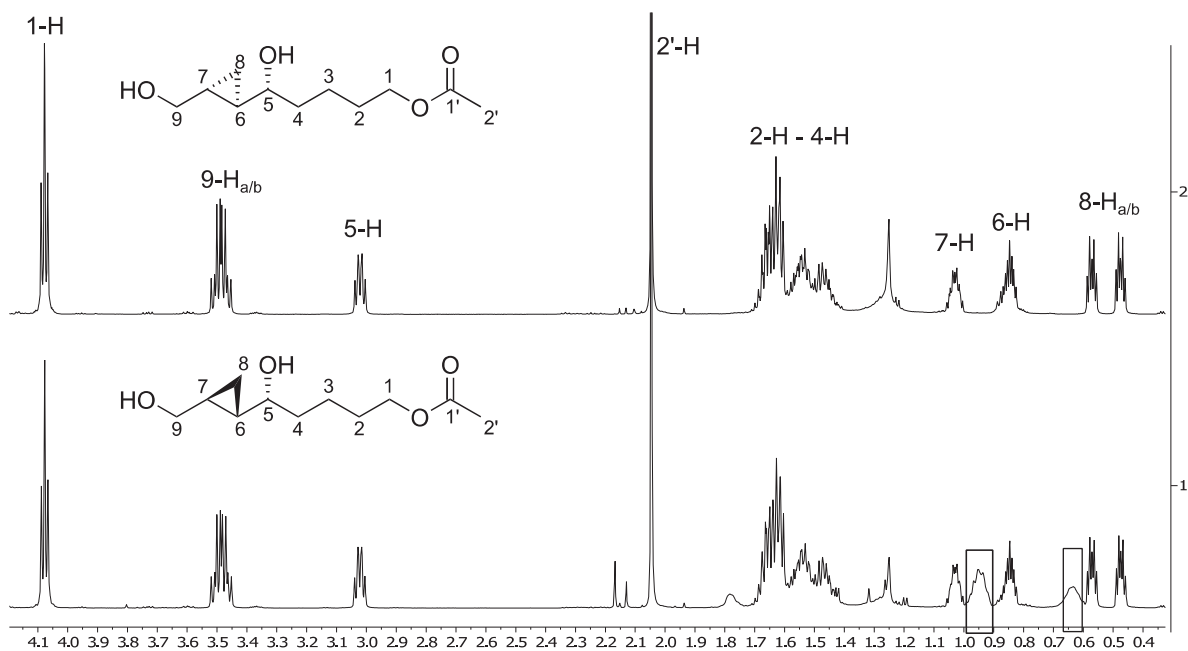


Abbildung 9: ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen **110** (unten) und *dia*-**110** (oben) im Vergleich. [^1H -NMR in CDCl_3 ; Verunreinigungen im Kasten hervorgehoben]

Der sterische Einfluss der TIPS-Gruppe in Verbindung **108** reichte somit offensichtlich nicht aus um eine Cyclopropanierung, koordinierend am primären Alkohol, *anti*-dirigierend durchzuführen.

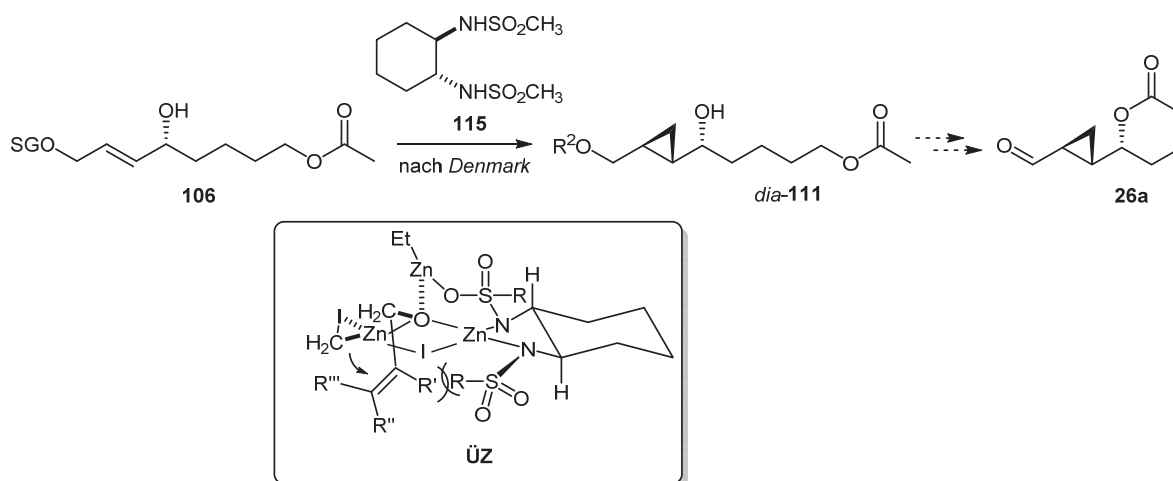
Kurzzusammenfassung

- Verschiedene Syntheserouten hin zur cyclopropanierten Verbindung konnten etabliert, sowie erste analytische Daten der jeweiligen Stufen gewonnen werden.
- Die Verwendung des *Charette* Auxiliars führte zur gewünschten cyclopropanierten Verbindung **105**, allerdings in einem DV 60:40.
- Die Syntheseroute mit Hilfe der sterisch anspruchsvollen TIPS-Gruppe am sekundären Alkohol sowie der Koordinierungsmöglichkeit des Cyclopropanierungsreagenzes am freien primären Alkohol der Verbindung **108** führte zur vermutlich *syn*-konfigurierten cyclopropanierten Verbindung *dia-110*.

9.1.3 Alternative Herangehensweise zur Synthese des Cyclopropyllactons

Unter Betrachtung der Synthese der Osthälfte **26a** des Constanolactons G (**2G**) lag die Schwierigkeit in der Cyclopropanierung des Metatheseproduktes **99**. In Anlehnung an die Methode nach *Charette* konnte nur ein Diastereomerenverhältnis von nahezu 1:1 erreicht werden. Hierbei wurde allerdings noch nicht versucht die beiden Diastereomere säulenchromatographisch (MPLC) voneinander zu trennen. Sollte keine selektivere Methode gefunden werden, wäre dies sicherlich eine Möglichkeit.

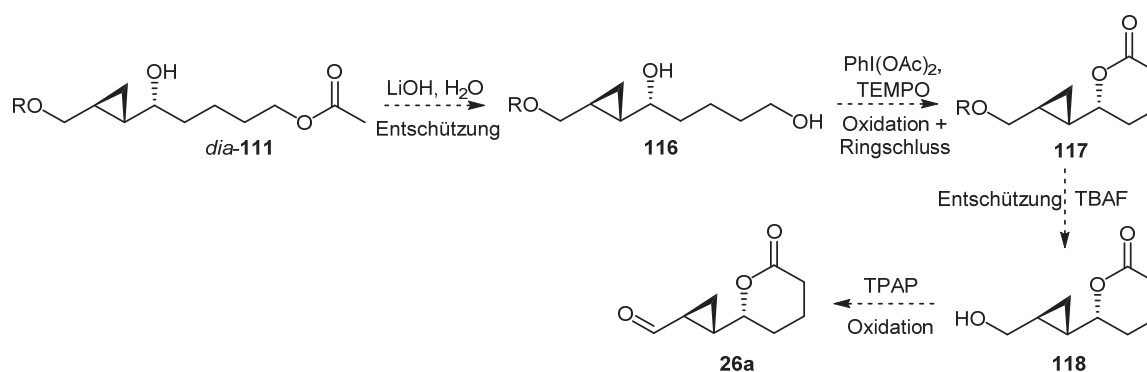
Eine alternative Möglichkeit bietet die Methode von *Denmark* und *O'Connor*,^[67] welche auf den Arbeiten von *Takahashi et al.* basierte.^[68] Hierbei wurden chirale Amine, wie Verbindung **115** verwendet. Diese Sulfamide **115** bildeten perfekte Möglichkeiten zur Komplexierung der Zinkspezies während der Cyclopropanierung (Schema 48, ÜZ). Zwar wurden die Untersuchungen ausschließlich mit primären Alkoholen gemacht, dennoch wäre es vorstellbar, dass auch der sekundäre Alkohol **106**, wie er für die Naturstoffsynthese benötigt wurde, ebenfalls Anwendung findet.



Schema 48: Anti-selektive Cyclopropanierung mit Hilfe der Methode nach *Denmark*.

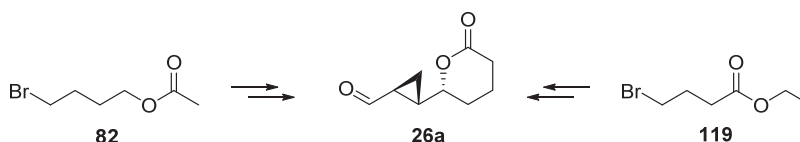
Gemäß der Literatur^[67] zeigten größere Reste für R' (s. Schema 48, ÜZ) eine sterische Hinderung und führten zu schlechten Selektivitäten. Im vorliegenden Fall der Verbindung **106** wäre an dieser Position ein Proton und würde somit die Reaktion begünstigen.

Mit der cyclopropanierten Verbindung *dia-111* in der Hand sollten die Folgeschritte in der Totalsynthese kein Problem darstellen (Schema 49). Das Acetat *dia-111* wird entschützt und der primäre Alkohol der Verbindung **116** kann selektiv durch die Verwendung eines Systems aus [bis(Acetoxy)iod]benzen (BAIB) und TEMPO oxidiert werden, sodass sich daran anschließend das Lacton **117** ausbilden kann.^[69,70] Die anschließende Entschützung des Silyl-ethers **117** sowie die abschließende *Ley*-Oxidation des Alkohols **118** zum gewünschten Aldehyd **26a** sollten gut zugänglich sein.



Schema 49: Finale Syntheseschritte zum Lactonfragment **26a**.

Alternativ zur Route ausgehend vom Acetat **82**, könnte auch der Ester **119** verwendet werden, welcher analog zum Solandelacton I (**11**)-Projekt aufgebaut werden könnte (Schema 50).

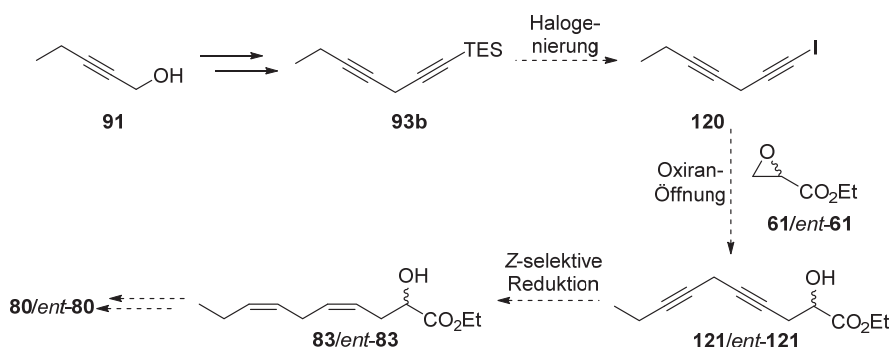


Schema 50: Zwei verschiedene Ansätze ausgehend vom Ester **82** oder **119** zur Synthese der Osthälfte des Constanolactons G (**2G**).

Zwar wurde das Acetat **82** aus Gründen der höheren Stabilität gewählt, allerdings wäre auch Ester **119** für die Synthese prinzipiell denkbar. Da die Struktur des Sechsrings begünstigt ist [im Gegensatz zum achtgliedrigen Lacton des Solandelactons I (**1I**)], sollte dabei darauf geachtet werden, dass es zu keiner frühzeitigen Lactonisierung kommt, welche eventuell im Laufe der Synthese erneut hydrolysiert werden könnte.

9.1.4 Alternative Herangehensweise zur Synthese des Phosphonsäureesters

Die ursprüngliche Variante zur Herstellung der Phosphonsäureester **80/ent-80** scheiterte an der Reduktion des Dialkins **93b**. Eine alternative Möglichkeit bietet die Umwandlung des Alkins **93b** in die halogenierte Verbindung **120** (Schema 51). Diese kann gemäß *Trost* und *Machacek*^[71] mit Hilfe von *N*-Iodsuccinimid erfolgen. Diese Verbindung wiederum kann, wie ursprünglich geplant, in das *Gilman*-Cuprat überführt werden, welches die Epoxidöffnung der Oxirane **61** bzw. *ent-61* durchführt.^[72] Durch die Kettenverlängerung sollte eine höhere Stabilität und bessere Handhabung der Verbindung gewährleistet werden.

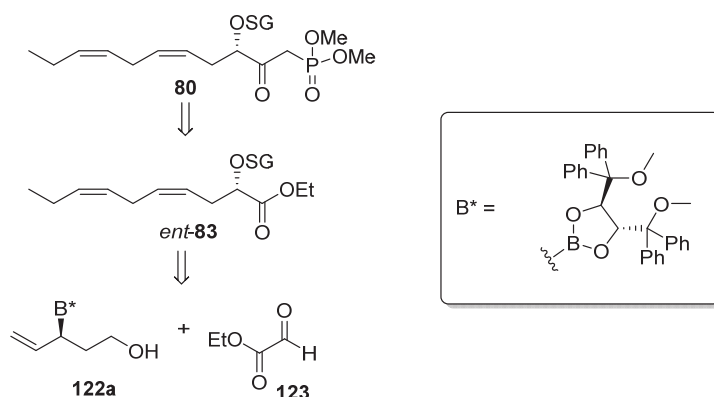


Schema 51: Alternative Synthesestrategie zur Herstellung des Phosphonates **80**.

Eine anschließende Reduktion des Alkins **121** zum Dialken **83** mittels *Lindlar*-Katalyse, sowie die weitere Umsetzung zum Phosphonat **80**, wie sie ebenfalls für die Totalsynthese des Solandelactons I (**1I**) verwendet wurde, sollte kein Problem darstellen. Alternativ wäre ebenfalls denkbar zuerst das Phosphonat zu generieren, ehe die Dreifachbindungen Z-selektiv reduziert würde.

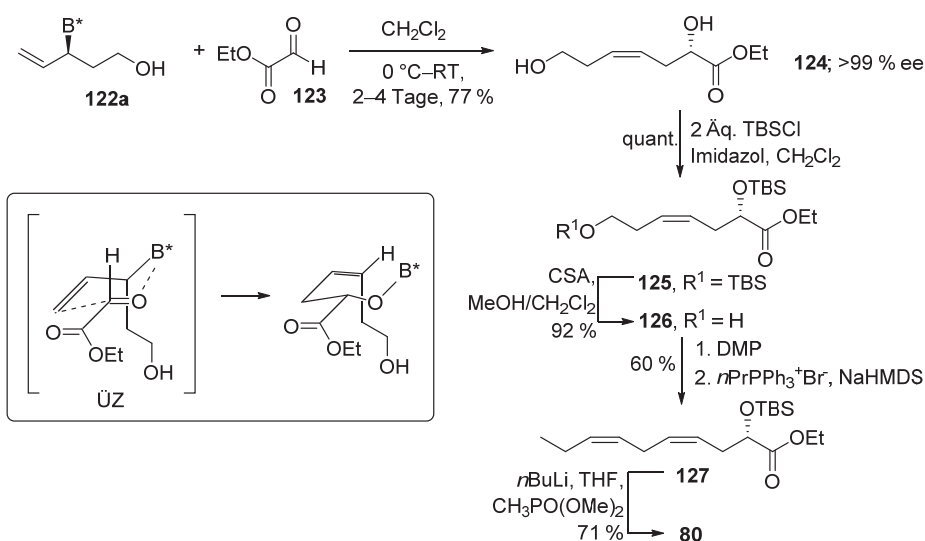
Sollte diese Variante nicht möglich sein, bzw. in nicht ausreichender Ausbeute und Selektivität erreichbar sein, so ist es möglich auf das bekannte System der Allyladdition zurückzugreifen.

N. C. Eichenauer zeigte, dass unter Verwendung des diastereomerenreinen Allylboronsäureesters **122a** und Glyoxalsäureethylester (**123**) der Ester *ent*-**83** als Vorstufe des gewünschten Phosphonsäureesters **80** generiert werden kann (Schema 52).^[30]



Schema 52: Retrosynthetischer Ansatz zum Aufbau von Phosphonsäureestern **80** mittels Allylboronsäureester **122a** gemäß *N. C. Eichenauer*.^[30]

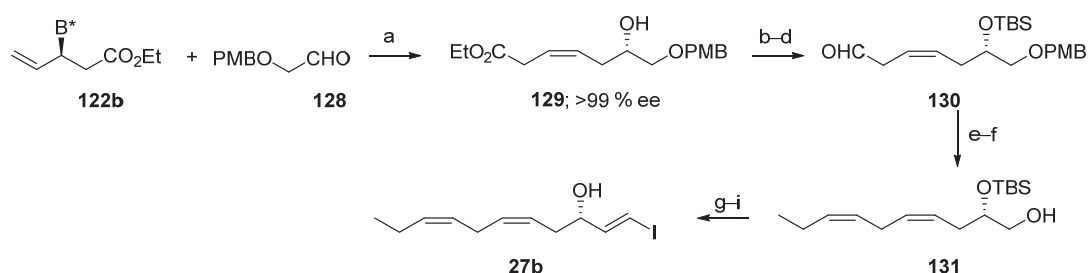
Die Allyladdition des Allylboronsäureesters **122a** mit Glyoxalsäureethylester (**123**) (s. ÜZ, Schema 53) verlief gemäß Literatur in guter Ausbeute und vor allem konnte das Produkt mit hoher Enantioselektivität (>99 %) isoliert werden (Schema 53). In darauffolgenden Schritten wurden zunächst die Hydroxyfunktionalitäten des Additionsproduktes **124** mit TBSCl geschützt (s. Verbindung **125**, Schema 53) und anschließend monodesilyliert unter Verwendung von Camphersulfonsäure (CSA). Die anschließende Oxidation des primären Alkohols **126** mittels DMP lieferte den entsprechenden Aldehyden für die *Wittig*-Reaktion zum Produkt **127**. eine abschließende Umsetzung der Verbindung **127** zum gewünschten Phosphonsäureester **80** erfolgte gemäß der Synthese der Solandelacton I (**11**)-Seitenkette (s. Kapitel 7.2.2).



Schema 53: Alternative Syntheseroute zur Herstellung des Phosphonsäureesters **80** als Westhälfte des Constanolacton G (**2G**).^[30]

Diese Variante lieferte den Phosphonsäureester in 30 % Ausbeute über fünf Stufen.

Die von *Pietruszka et al.* publizierte Methode zur Synthese der Westhälfte der Constanolactone C (**2C**) und D (**2D**) bietet eine vergleichbare Alternative unter Verwendung von Allylboronsäureester **122b**.^[44] Der Unterschied hierin besteht in der Synthese einer halogenierten Verbindung **27b**, welche in einer *Nozaki-Hiyama-Kishi-Reaktion* (NHK) mit dem sechsgliedrigen Lacton **26a** gekoppelt werden kann (s. Kapitel 6.3.1).



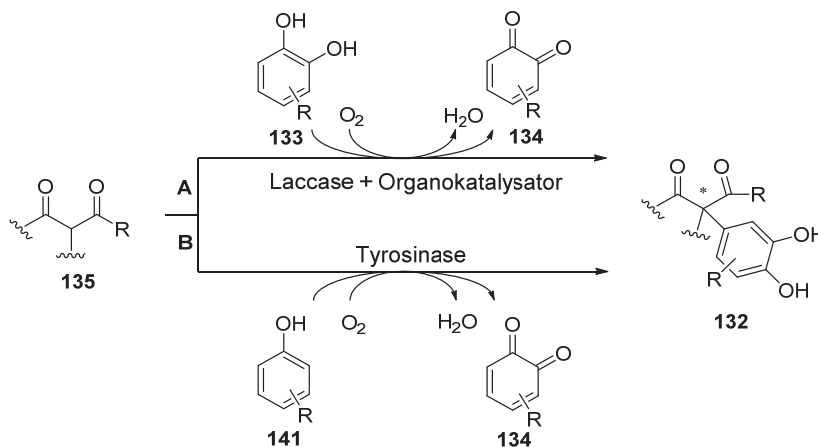
Schema 54: Publierte Synthese der Westhälfte der Constanolactone C (**2C**) und D (**2D**) nach *Pietruszka et al.* [(a) CH₂Cl₂, RT, quant.; (b) TBSCl, Imidazol, CH₂Cl₂, RT, 95 %; (c) LiAlH₄, THF, 0 °C–RT, 98 %; (d) DMP, CH₂Cl₂, RT, 94 %; (e) *n*PrPPh₃Br, NaN(SiMe₃)₂, THF, -100 °C, 68 %; (f) DDQ, CH₂Cl₂, RT, 60 %; (g) SO₃-Pyridin, Et₃N, CH₂Cl₂-DMSO, 0 °C, 88 %; (h) CrCl₂, CHI₃, THF, 0 °C, 59 %; (i) 5 % HF in MeCN-H₂O, RT, 91 %.]

Dafür würde zunächst in einer Allyladdition Allylboronsäureester **122b** mit einem Aldehyden **128** umgesetzt werden. Das Produkt **129** würde daraufhin in einen Aldehyden **130** umgewandelt werden, welcher wie zuvor über eine *Wittig*-Reaktion in das entsprechende Dialken **131** überführt wird. Beide Varianten als alternative Syntheseroute zur Westhälfte **80** bzw. **27b** zeigen hohe Enantioselektivitäten durch die initiale Allyladdition, Erhalt der Selektivität und gute Ausbeuten über die Gesamtheit der Syntheseschritte.

10 AUFGABENSTELLUNG BOKATALYSE

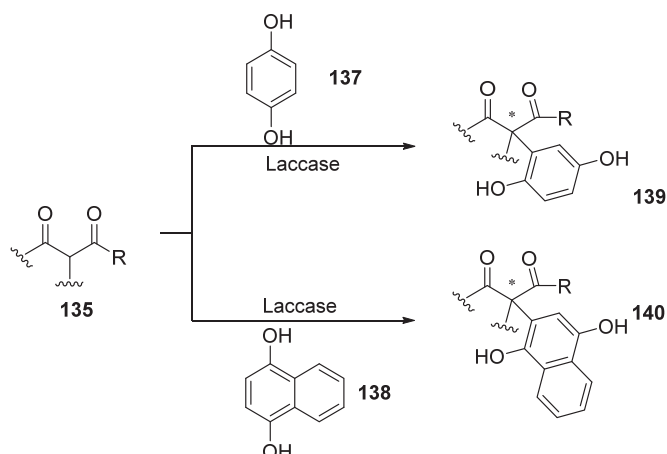
Die Arbeiten aus den Projekten der Biokatalyse basierten z. T. auf vorangegangene Doktorarbeiten und Publikationen von *S. Suljić* und *C. Wang*.^[73,74,75,76, 77] Im Bereich der Laccasen wurden dabei bereits Bedingungen für die Anwendung in der organischen Synthese untersucht und eine Bandbreite von Arylierungsprodukten synthetisiert. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Laccasen in Kombination mit einem Organokatalysator zur Herstellung enantioselektiver Arylierungsprodukte **132** zu verwenden. Dabei wurde vor allem die kommerzielle Laccase aus *Agaricus bisporus* verwendet, aber auch Alternativen, wie die ebenfalls kommerziell erhältliche, acidophile Laccase aus *Trametes versicolor*. Die Laccase *Ssl1* aus *Streptomyces sviveus*, welche ein Optimum bei pH 9 besitzt und vom Arbeitskreis Prof. Dr. V. Urlacher der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf erhalten wurde, sollte ebenfalls unter dem Aspekt der Anwendung in der organischen Synthese hin untersucht werden.

Bei der Verwendung von Catecholen (**133**) unter aeroben Bedingungen ist es der Laccase möglich, diese Substrate zur entsprechenden chinoiden Struktur **134** zu oxidieren. Dieser aktivierte *Michael*-Akzeptor **134** kann eine 1,4-Addition mit verschiedenen Dicarbonylen **135** als *Michael*-Donatoren eingehen und dabei Arylierungsprodukte **132** mit einem stereogenen Zentrum generieren (Schema 55, A).



Schema 55: Laccase- und Tyrosinase-katalysierte Reaktion zur Herstellung von Arylierungsprodukten **132**.

Da die Laccase selbst keine Selektivität induziert, sollte die kombinierte Verwendung von Organokatalysatoren – mit Fokus auf Cinchona-Alkaloid-basierten Organokatalysatoren **136** – untersucht werden. Dabei sollte vor allem der Einfluss von wässrigen und organischen Lösungsmitteln auf die Aktivität des Organokatalysators betrachtet werden. Neben den (substituierten) Catecholen **133**, sollten ebenfalls weitere Substrate wie Hydrochinon **137** oder Dihydroxynaphthalin **138** zur Synthese der entsprechenden Arylierungsprodukte **139** bzw. **140** untersucht werden (Schema 56).



Schema 56: Umsetzungen der Dicarbone **135** mit Hydrochinon **137** oder Dihydroxynaphthalin **138**.

Der zweite Themenschwerpunkt der Biokatalyse lag auf der Anwendung der Tyrosinase aus *Aspergillus oryzae* in der organischen Synthese. Dieses Projekt entstand aus einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von *Prof. Dr. S. Itoh* der Osaka University, welche das Plasmid der Tyrosinase zur Verfügung stellte. Ziel dieses Projektes war es, die bereits publizierten Laccase-vermittelten Arylierungsprodukte ebenfalls mit der Tyrosinase, jedoch ausgehend von phenolischen Substraten **141**, herzustellen (Schema 55, B). Da die Tyrosinase im Gegensatz zur Laccase eine zusätzliche Monophenolaseaktivität aufwies war es möglich, von einfachen (substituierten) phenolischen Substraten **141** zu beginnen und die dreistufige Reaktionssequenz hin zu den gewünschten Arylierungsprodukten **132** zu untersuchen. Der Fokus lag hierbei vor allem auf der Implementierung der Tyrosinase in der organischen Synthese, wobei das Substratspektrum sowie Limitierungen eingehend untersucht werden sollten.

11 KENNTNISSTAND BIOKATALYSE

11.1 Laccasen

Laccasen gehören der Enzymklasse der Oxidoreduktasen an und sind in allen Domänen weit verbreitet. Sie wurden zum ersten Mal 1883 aus dem Lackbaum *Rhus vernicifera* isoliert. Es handelt sich dabei um Glykoproteine, wobei ihr Kohlenhydratanteil dabei meist 10–45 % ihres Molekulargewichtes entspricht.^[78,79] In ihrer Funktion als Oxidationsmittel phenolischer Substrate besitzen sie in Pflanzen die Aufgabe der Ligninherstellung (Polymerisierung)^[80] während sie in Pilzen eher mit dem Abbau von Lignin und in der Morphogenese mit der Ausbildung von Pigmenten sowie Rhizomorphen assoziiert werden.^[79,81,82]

11.1.1 Kurzer Einblick in Funktion, Struktur und Mechanismus

Laccasen zählen zu den Multi-Kupfer-Enzymen. Grundlegend basiert ihre katalysierte Reaktion auf einer vier Elektronen Reduktion von molekularem Sauerstoff zu zwei Molekülen Wasser. Das „aktive Zentrum“ besteht aus vier Kupferatomen, darunter ein Typ I Kupferatom (Abbildung 10), welches für die Substratoxidation zuständig ist. Es ist neben zwei Histidinresten auch mit einem Cystein (Cys) koordiniert, was die für die Laccasen typische blaue Farbe verursacht. Zudem ist dieses Kupferatom in bakteriellen Laccasen über eine axiale Koordinationssphäre mit einem Methionin (Met) verbunden, in pilzlichen Laccasen hingegen mit einem Leucin oder Phenylalanin. Dieses T1-Zentrum ist etwa 12 Å vom T2/T3-Zentrum entfernt, wo die Reduktion von Sauerstoff unter Freisetzung von Wasser stattfindet. Dieses trinukleare Cluster besteht aus zwei T3-Kupferatomen, welche jeweils mit drei Histidinen koordinieren und über ein Hydroxidion verbrückt sind sowie einem 4 Å entfernten T2-Kupferatom, welches von zwei weiteren Histidinen komplexiert wird und ebenfalls ein Hydroxidion gebunden hat.^[79,81,83,84,85]

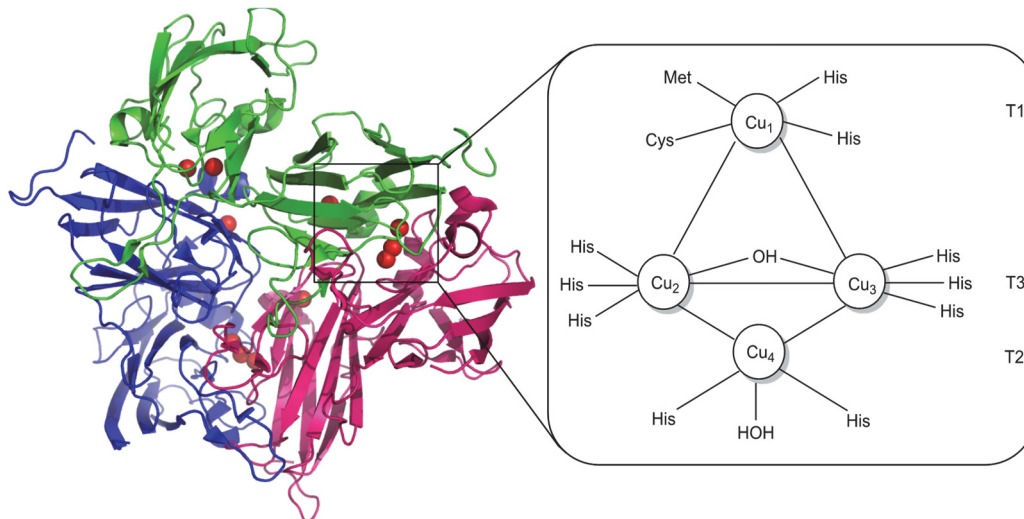


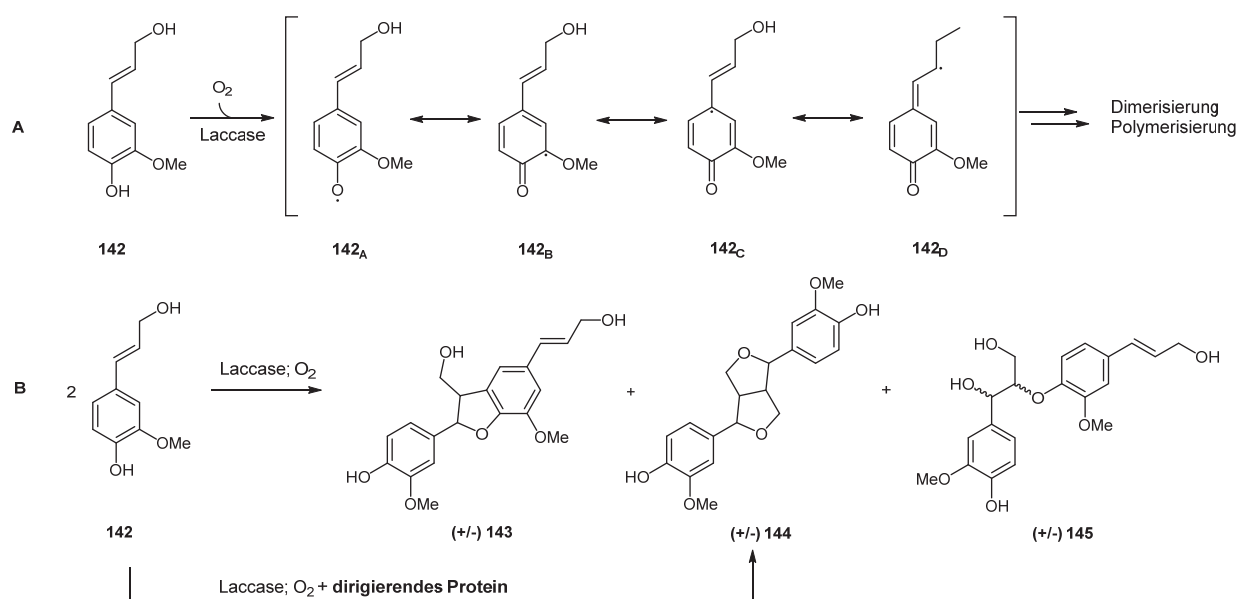
Abbildung 10: Homotrimere Struktur der Laccase aus *Streptomyces sviveus* (Ss/1) und ihr aktives Kupferzentrum.^[86] [Pdb code: 4M3H]

Laccasen der verschiedenen Organismen differenzieren sich vor allem durch unterschiedliche Redoxpotentiale am Typ I-Kupferzentrum (T1Cu). Bei pflanzlichen und bakteriellen Laccasen sind es etwa 0.4 V, während pilzliche Laccasen ein höheres Potential von bis zu 0.8 V aufweisen.^[86,87,88] Dem entsprechend hängt die katalytische Aktivität und die damit einhergehende Umsetzung und Akzeptanz verschiedener Substrate von dem Redoxpotential zwischen Substrat und T1Cu ab. Da pilzliche Laccasen nun ein höheres Potential aufweisen, zeigen diese in der Regel auch eine breitere Substratakzeptanz auf.

Bei der oben abgebildeten Laccase (Abbildung 10) handelt es sich um die Laccase aus *Streptomyces sviveus*, welche in der vorliegenden Arbeit auch Anwendung finden wird. Sie bildet eine homotrimere Struktur aus, wobei das trinukleare Cluster jeweils aus zwei Domänen aufgebaut wird. Somit ist diese Laccase auch erst durch die Oligomerisierung zum Trimer aktiv. Einzig in der dritten Domäne ist ein T2Cu nicht vorhanden, wodurch kein Sauerstoff im trinuklearen Zentrum gebunden werden kann. Stattdessen befindet sich jedoch ein Tyrosin in der Nähe, welches die Vermutung nahelegt, dass dieses für die Reduktion von Sauerstoff ein Elektron liefert.^[86] Der Transfer der Elektronen vom reduzierten Substrat zur Sauerstoffspezies erfolgt dabei ohne Freisetzung von toxischen Peroxiden. Diesbezüglich herrschen zwei Theorien vor: Eine Möglichkeit besteht in dem Transfer der Elektronen über das Aminosäurerückgrat, eine andere beschreibt das Tunneln von Elektronen vom T1 zum trinuklearen Cluster, wie es in den verwandten Azurinen bereits gezeigt werden konnte.^[89] Bei der Laccase aus *Streptomyces sviveus* handelt es sich zudem um eine alkalophile Laccase. Viele bekannte Laccasen zeigen ihr pH-Optimum im leicht aziden Bereich, die aus *S. sviveus* hingegen zeigt ihr Optimum bei pH 9. Zudem ist sie hitzestabil mit einer Halbwertszeit von ~220 min bei 50 °C, und toleriert nicht mit Wasser mischbare Lösungsmittel wie *n*-Hexan oder

Isooctan als Kosolvenz was sie vor allem auch im Hinblick auf eine industrielle Verwendung attraktiv macht.^[90]

Die Aktivität von Laccasen zeigt sich allgemein in der Ausbildung von radikalischen Intermediaten, welche u.a. Kupplungsreaktionen zu Dimeren, Oligo- oder Polymeren eingehen können. Dies sei beispielhaft an dem Monolignol, (*E*)-Coniferylalkohol (**142**), gezeigt (Schema 57, A). Das Phenoxy-Radikal **142_{A-D}** liegt in mehreren mesomeren Grenzstrukturen vor, welche jeweils Dimerisierung, Oligomerisierungen oder Polymerisierungen eingehen können.

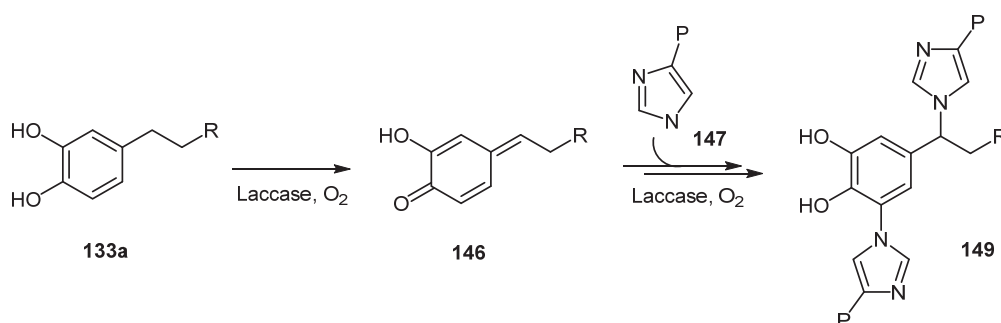


Schema 57: Laccase-katalysierte Oxidation von Coniferylalkohol (**142**). [**A** Oxidation von Coniferylalkohol (**142**) und die mesomeren Grenzstrukturen des gebildeten Phenoxyradikals **142_{A-D}**; **B** Oxidation von Coniferylalkohol (**142**) zu (±)-Dehydrodiconiferylalkohol (**143**), (±)-Pinoresinol (**144**) (Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.) sowie (±)-*erythro*/*threo* Guaiacylglycerol Coniferylalkohol Ether (**145**)]

Schema 57, B zeigt eine typische Reaktion pflanzlicher Laccasen zur Synthese diverser Lignane. Dabei handelt es sich oftmals um dimere Strukturen, welche u.a. als Antioxidantien fungieren. Unspezifische Kupplungen (C-C, C-O, aber auch C-N im Falle von Anilin-basierten Strukturen) nach der Oxidation von Coniferylalkohol ergeben vor allem (±)-Dehydrodiconiferylalkohol (**143**), (±)-Pinoresinol (**144**) sowie (±)-*erythro*/*threo* Guaiacylglycerol Coniferylalkohol Ether (**145**) als Hauptprodukte. Jedoch konnte gezeigt werden, dass in bestimmten Pflanzen nur bestimmte Isomere in distinkten Verhältnissen vorkommen. Die Natur bedient sich dazu dirigierender Proteine, welche selbst nicht katalytisch aktiv sind, jedoch in Kombination mit einer Oxidase, wie der Laccase, einen stereoselektiven, dirigierenden Einfluss auf die Bildung der Produkte ausüben kann. So bildet die Kombination beider Proteine in der Pflanze *Forsythia intermedia* bevorzugt das (+)-Pinoresinol (**144**).^[91,92,93]

Weitere Oxidation dieser Strukturen führen zum Lignin, welches Bestandteil der Zellwandstruktur ist.^[80]

Neben der Dimerisierung der Oxidationsprodukte untereinander, kann es auch zu Reaktionen der reaktiven chinoiden Spezies und Proteinen kommen. So auch im Falle der Sklerotisierung bei Insekten. Initiiert durch eine Laccase- (oder auch Tyrosinase-) vermittelte Oxidation eines Catechols **133a**, kann eine Aminosäure eines kutikulären Proteins mit einer Aminofunktionalität in der Seitenkette nukleophil in einer *Michael*-Addition an der chinoiden Struktur **146** angreifen (Schema 58). Dabei konnten Strukturen mittels NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden, welche als angreifende Aminosäure ¹⁵N-markiertes Histidin (**147**) oder auch Lysin (**148**) nachwiesen.^[94] Durch mehrfache, subsequente Oxidation kann es zu einer quervernetzten Struktur kommen (Verbindung **14929**, Schema 58). Durch die Ausbildung kovalenter Bindungen zwischen Chinon **146** und Protein **147** wird Wasser zunehmend verdrängt. Die Oberfläche wird trockener, hydrophober sowie unlöslicher, was die Kutikula zunehmend stärkt und stabilisiert.^[95, 96]



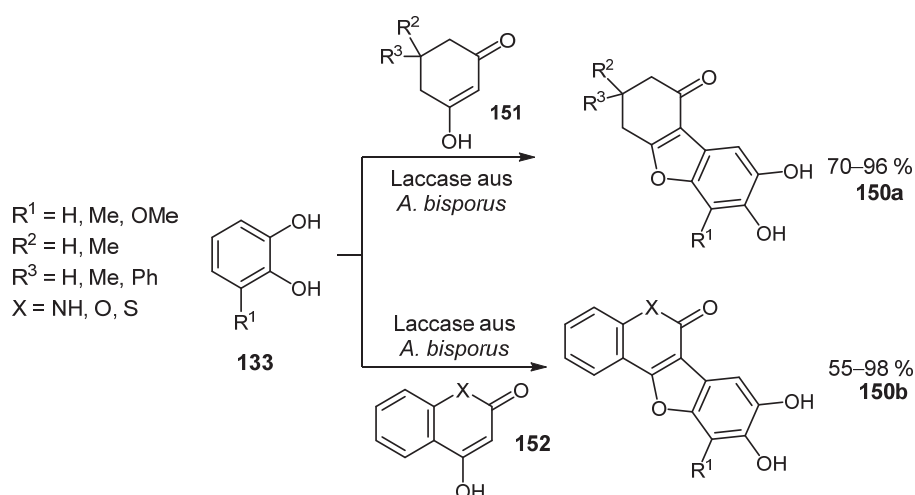
Schema 58: Laccase katalysierte Oxidation gefolgt von Quervernetzungen mit Histidinresten **147** der kutikulären Proteine in Insekten.^[95] [P = kutikulares Protein]

Neben dem Aufbau von polymeren Strukturen, können Laccasen auch die Aufgabe der Degradierung von Polymeren oder die Spaltung von aromatischen Ringsystemen übernehmen.^[81]

11.1.2 Anwendungen der Laccase in der organischen Synthese zur Herstellung von Naturstoffbausteinen

Als alternatives Oxidationsmittel finden Laccasen mittlerweile Anwendung nicht nur in der Textilindustrie zur Degradierung von Farbstoffen für den sogenannten *used-look* von Jeans, der Lebensmittelindustrie zur Entfernung ungewünschter phenolischer Substanzen in Getränken oder für die Bioremediation zur Dekontaminierung von Abwässern, sondern auch in der organischen Synthese zur alternativen Herstellung von Naturstoffbausteinen bzw. Methodenentwicklung.^[97,98,99]

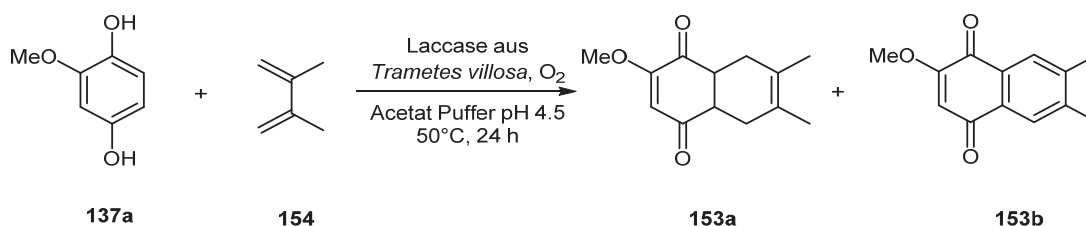
Die Arbeitsgruppe um *Beifuss* zeigte 2007 eine Domino-Reaktion zur Synthese verschiedener Benzofurane **150** mit Hilfe der Laccase aus *Agaricus bisporus* (Schema 59).^[100] Dabei wurde das Catechol **133** durch die Laccase oxidiert und bildete zusammen mit der Verbindung **151** zunächst ein intermediäres, intermolekulares *Michael*-Addukt aus, welches ein weiteres Mal oxidiert wurde, um abschließend in einer intramolekularen Addition das Benzofuran **150a** auszubilden.



Schema 59: Laccase-vermittelte Synthese von Benzofuranen **150a/b** aus dem Arbeitskreis *Beifuss*.^[100,101]

Zwei Jahre später zeigte die Arbeitsgruppe ein erweitertes System dieser Domino-Reaktion unter Verwendung von Heterozyklen **152** wie Coumarine, Thiocoumarine oder Oxindol als Akzeptorverbindung für die 1,4-Addition.^[101]

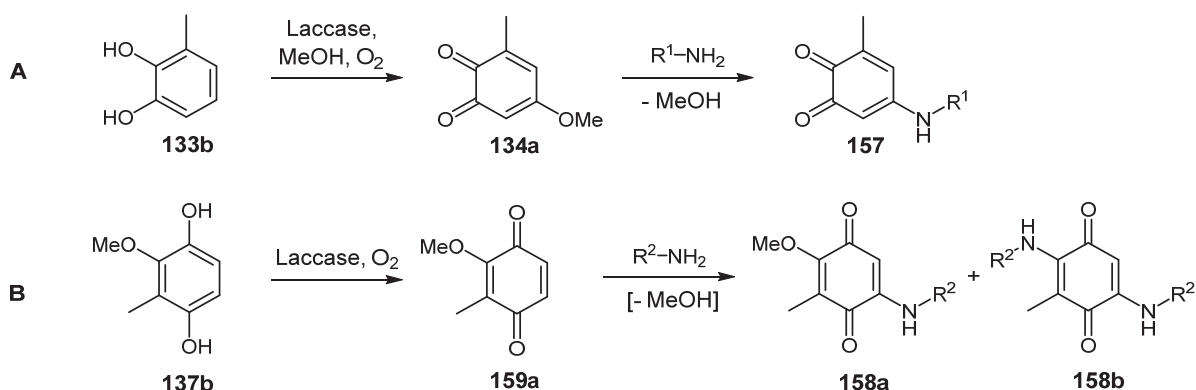
Auch Naphthochinone **153** gelangten in den Fokus der Laccase-vermittelten Synthese, da diese biologische Aktivitäten wie antitumorale oder antimikrobielle Eigenschaften aufwiesen. Ausgehend von substituierten 1-Methoxyhydrochinon (**137a**) und 2,3-Dimethyl-1,3-butadien (**154**) konnten 1,4-Naphthochinone **153a** und **153b** im wässrigen System hergestellt werden (Schema 60).^[102] Das reaktive Chinon wurde dabei *in situ* generiert, welches eine anschließende Diels-Alder Reaktion eingehen konnte. Um eine Dimerisierung, Polymerisation o.ä. des reaktiven Intermediates zu minimieren, wurde dazu das Dien **155** im zehnfachen Überschuss eingesetzt. Die Arbeitsgruppe konnte ebenfalls zeigen, dass neben der Synthese von *o*-Naphthochinonen **155** aus Catecholen **133** auch Modifikationen sowohl am Dihydroxybenzol **137** als auch am Dien **154** möglich sind.^[103]



Schema 60: Laccase-vermittelte Synthese von 1,4-Naphthochinonen (**153**).^[102]

Hier sei angemerkt, dass interessanterweise bereits 1998 die Arbeitsgruppe um *Waldmann* eine Tyrosinase-vermittelte (Funktion und Mechanismus s. Kapitel 11.2.1) Diels-Alder Reaktion in Chloroform ausgehend von substituierten Phenolen zur Synthese von Bicyclo [2,2,2]-oktenonen **156** vorstellte.^[104]

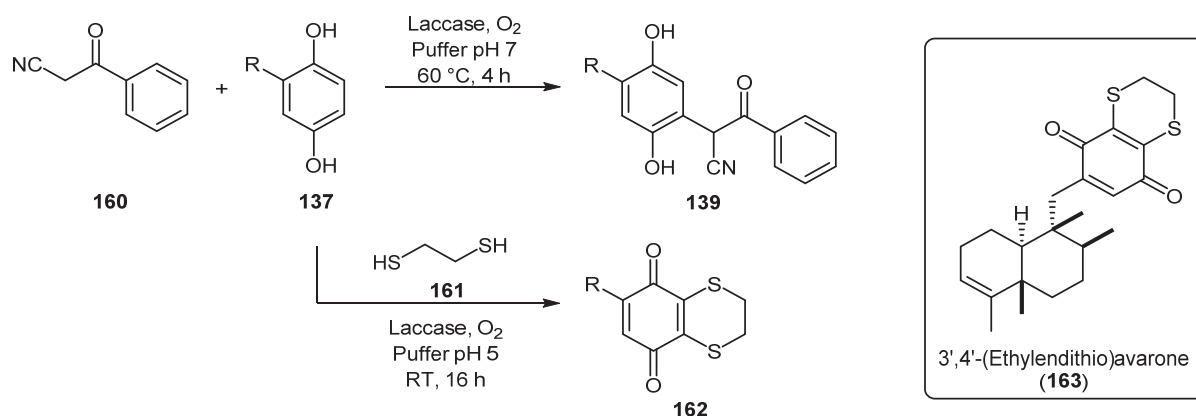
2011 zeigte der Arbeitskreis um *Bornscheuer* erste Hinweise der Bildung von sekundären Aminen in einer Laccase-vermittelten, heteromolekularen Reaktion (Schema 61, A).^[105] Zunächst wurde das Methylcatechol **133b** in MeOH mit Laccasen aus *Trametes versicolor* und *Pycnoporus cinnabarinus* oxidiert und das resultierende Chinon **134a** anschließend mit verschiedenen Aminen umgesetzt. Die Entstehung der entsprechenden Produkte **157** konnte jedoch zunächst nur mittels HPLC und Massenspektrometrie gezeigt werden. Eine Isolierung der Verbindungen war nicht möglich. Erst zwei Jahre später zeigte die gleichnamige Arbeitsgruppe die Synthese von einfachen und zweifachen Additionsprodukten **158a** bzw. **158b** unter Verwendung eines substituierten Hydrochinons **137b** (Schema 61, B).^[106] Hierbei konnten die generierten Produkte **158**, welche aus der Addition von z.B. Geranylamin an das Benzochinon **159a** resultierten, isoliert und mittels NMR identifiziert werden. Dabei zeigte sich, dass das Verhältnis **158a** zu **158b** abhängig von der verwendeten Laccase sowie von dem pH-Wert ist.



Schema 61: Verwendung von primären und sekundären Aminen in einer Laccase-vermittelten Addition nach *Herter et al.*^[105,106]

Die Arbeitsgruppe um *Ragauskas* beschrieb 2015 eine Laccase-vermittelte α -Arylierungssequenz aus Benzoylacetoneitril (**160**) und verschieden substituierten

p-Hydrochinonen (**137**).^[107] Dabei wurde die pilzliche Laccase aus *Trametes villosa* verwendet. Die Reaktion erfolgte in Phosphatpuffer und bei 60 °C was die Löslichkeit von Donor **160** im Puffer verbesserte (Schema 62, oben). Unter diesen Bedingungen konnten die Arylierungsprodukte **139a** in moderaten Ausbeuten erhalten werden. Als Grund für die niedrigere Ausbeute wurde die oxidative Degradation der Nitril-Spezies **160** vermutet. Interessanterweise wurde hierbei keine Zyklisierung zum Benzofuran **150** beobachtet, welche *Nematollahi et al.*^[108] mit seinem System beschrieben hatte.

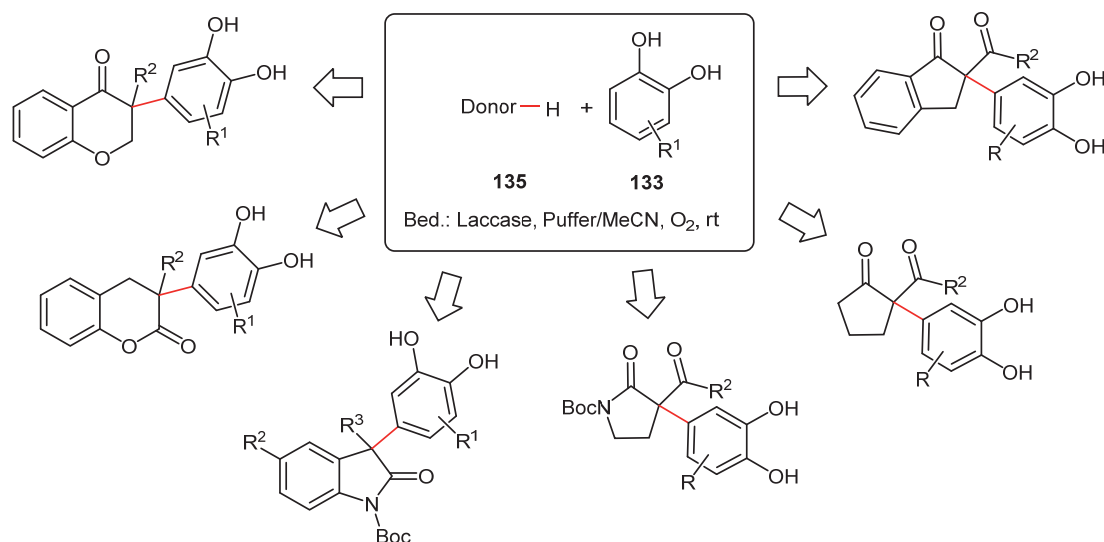


Schema 62: Laccase-vermittelte α -Arylierung von Benzoylacetonitril (**160**) mit verschiedenen, substituierten *p*-Hydrochinonen (**137**).^[107, 109]

Untersuchungen mit elektronenziehenden und -schiebenden Substituenten am Hydrochinon (**137**) konnten zeigen, dass elektronenschiebende Effekte für den Verlauf der Reaktion bevorzugt sind. Elektronenziehende Substituenten am Hydrochinon (**137**) wiederum benötigten eine Erhöhung der Enzymmenge, um das gleiche Ergebnis zu erlangen. Die Gruppe um *Ragauskas* hatte ein Jahr später ebenfalls auf Basis der oben genannten substituierten Hydrochinone (**137**) eine Addition mittels Dithiol **161** veröffentlicht (Schema 62, unten).^[109] Die entstehenden 2,3-Ethylenedithio-1,4-quinone (**162**) stellen dabei u.a. interessante Bausteine für Naturstoffe wie z.B. das 3',4'-(Ethylenedithio)avaron (**163**) dar, welches anti-proliferative Eigenschaften gegenüber Tumorzellen zeigt.

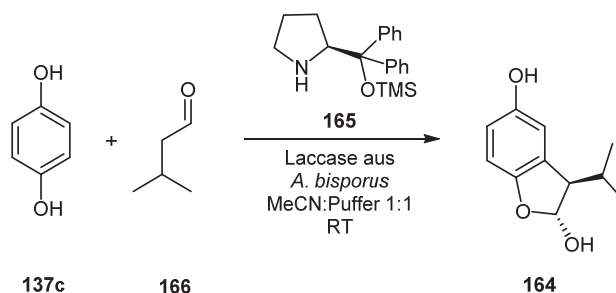
Ebenfalls unter dem Aspekt der Methodenentwicklung, wurden im Folgenden weitere Arylierungsprodukte **132** hergestellt. *Pietruszka* und *Wang* präsentierten 2012 C-C-bindungsknüpfende Reaktionen unter Verwendung verschiedenster Laccasen (Schema 63). Dabei wurden nicht nur acidophile Laccasen wie *T. versicolor* (pH 5), *A. bisporus* (pH 6) verwendet,^[74,76] sondern auch eine alkalophile Laccase aus *Streptomyces sciveus* (Ssl1), welche ihr pH Optimum bei 9 zeigt.^[75,86] Das basische Milieu ist dabei nicht nur für die Laccase von Vorteil, es erhöht ebenfalls die C-H Azidität der nukleophil angreifenden Spezies.

Suljić und *Pietruszka* zeigten wenig später die kombinierte Verwendung eines *Flow*-Systems (H-Cube) zur Reduktion von Coumarin-Derivaten gefolgt von der Laccase-katalysierten Oxidation der Dihydroxybenzole **133**. Durch die spontane 1,4-Addition der Donatoren **135** an die *in-situ* erzeugten Chinone **134** (Schema 63)^[77] konnte eine Bandbreite an Arylierungsprodukten **132** hergestellt werden.



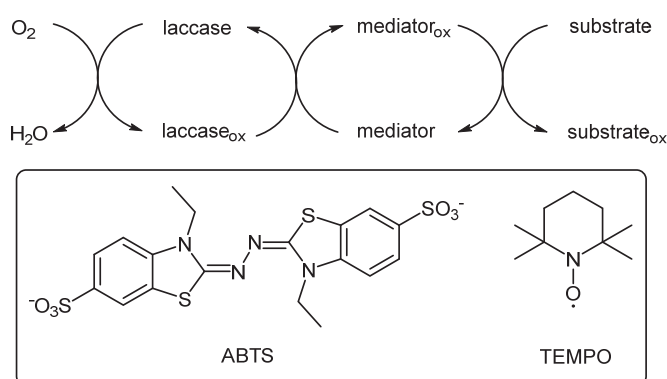
Schema 63: Laccase-vermittelte Arylierungsreaktionen.^[73,74,75,76,77]

Da die Laccase-katalysierten und -vermittelten Reaktionen an sich keine Form von Selektivität induzieren können, lag der Gedanke nahe, diese mit Hilfe der Organokatalyse zu kombinieren. So zeigten *Suljić et al.* eine Möglichkeit zur Synthese von Dihydrobenzofuranen **164** aus einer Laccase-katalysierten Oxidation von *p*-Hydrochinonen (**137c**) kombiniert mit einem Jørgensen-Katalysator **165** sowie mit einem Aldehyden **166** in einem Puffer-Acetonitril Gemisch (Schema 64). Aufgrund der durch den Katalysator vermittelten Iminbildung kam es zu einer Aktivierung der gewünschten Addition-Zyklisierungsreaktion. Durch die kovalente Bindung des Katalysators mit dem Substrat konnte die Reaktion enantioselektiv verlaufen.^[73,110] Variationen der Substituenten sowohl in der Hydrochinon- **137** als auch an der Aldehydkomponente **166** erbrachten diverse Dihydrobenzofurane **164** mit Enantiomerenüberschüssen bis zu 97 %ee.



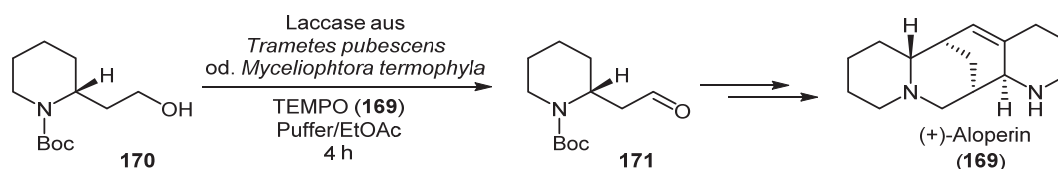
Schema 64: Laccase-vermittelte Synthese von Dihydrobenzofuranen **164** in Kombination mit dem Jørgensen Katalysator **166** zur Induktion von Selektivität.^[110]

Ein letzter Punkt beschreibt die Verwendung von Mediator-Systemen, welche das Substratspektrum für Laccasen erweitern.^[98,111] So können nunmehr nicht nur aromatische, sondern auch aliphatische, primäre Alkohole zu den entsprechenden Aldehyden umgesetzt werden. Ein guter Mediator für die Redoxreaktion muss daher ein gutes Substrat für die entsprechende Laccase sein und nicht inhibitorisch auf die enzymatische Reaktion wirken. Zudem sollten seine reduzierte und oxidierte Form stabil sein. Typische Mediatoren sind z.B. 2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure) [ABTS (**167**)] oder 2,2,6,6,-Tetramethylpiperidoxyl [TEMPO (**168**)] (Schema 65, unten). Der Mediator wird dann von der Laccase oxidiert und dient als Oxidationsmittel für das eigentliche Substrat (Schema 65, oben).



Schema 65: Kombination aus Laccase- und Mediator-vermittelter Reaktion.^[111]

Barilli *et al.* wandten dieses Konzept in ihrer Totalsynthese des Naturstoffes (+)-Aloperin [(**169**), Schema 66] an: Da die klassische Variante über eine Swern-Oxidation in ihrem Falle weder reproduzierbar, noch höher skalierbar war, nutzten sie die Variante des Laccase/TEMPO (**168**) Systems zur Oxidation des primären Alkohols **170** zum entsprechenden Aldehyd **171**, welches in 2–4 h 90 % Ausbeute lieferte.^[112]



Schema 66: Anwendung eines Laccase/TEMPO (**168**) Systems in der Totalsynthese des (+)-Aloperins (**169**).^[112]

Zudem konnte gezeigt werden, dass neben diversen (substituierten) benzyischen Alkoholen sowohl mit ABTS (**167**)^[113] als auch mit TEMPO (**168**) als Mediator, auch sekundäre Benzylalkohole sowie deren Ether in die entsprechenden Ketone respektive Aldehyde bzw. Carbonsäureester umgewandelt werden können.^[114,115]

11.2 Tyrosinasen

Tyrosinasen gehören, neben Enzymen wie das Hämocyanin und die Catecholoxidase, zu den Typ III Kupferproteinen.^[116] Sie besitzen ein dafür typisches binukleares Kupferzentrum, was ihnen ermöglicht, Sauerstoff zu insertieren. Dies hebt ihre native Aktivität hervor – die Hydroxylierung (Phenolaseaktivität) sowie die daran anschließende Oxidation (Catecholaseaktivität) phenolischer Substrate.

Tyrosinasen, auch Polyphenoloxidasen (PPO's) genannt, sind in der Natur in allen Domänen verbreitet. In Säugern spielen sie eine Rolle in der Haut-, Augen- und Haarpigmentierung. Bei Obst und Gemüse sind die Enzyme für die Bräunungsprozesse, bei Insekten für die Aushärtung und Stabilisierung des Exoskelettes^[117] und bei Pilzen für die Sporenbildung verantwortlich.^[118]

11.2.1 Struktur und Mechanismus

In dieser Arbeit wurde mit einer Tyrosinase gearbeitet, welche in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. S. Itoh der Osaka University untersucht und beschrieben wurde. Die Tyrosinase stammt natürlicherweise aus dem Schimmelpilz *Aspergillus oryzae*. Dabei handelt es sich um ein Homodimer mit einem Molekulargewicht von 122 kDa (Abbildung 11, A). Im Allgemeinen besteht dieses aus α -Helices und zwei β -Faltblätter, welche jeweils am C- und N-Terminus gelegen sind. Jedes der Monomere besitzt ein binukleares Kupferzentrum. Die entsprechenden Kupferatome werden dabei von drei Histidinen (His) komplexiert (Abbildung 11, B), welche ein Bestandteil von vier gebündelten Helices der Kupferdomäne sind. Eines der Histidine (His94) ist dabei mit dem ϵ -Kohlenstoff eines Cysteins (Cys92) unter Ausbildung eines Thioethers kovalent verbunden, wobei dessen Funktion noch unklar ist.^[119,120,121]

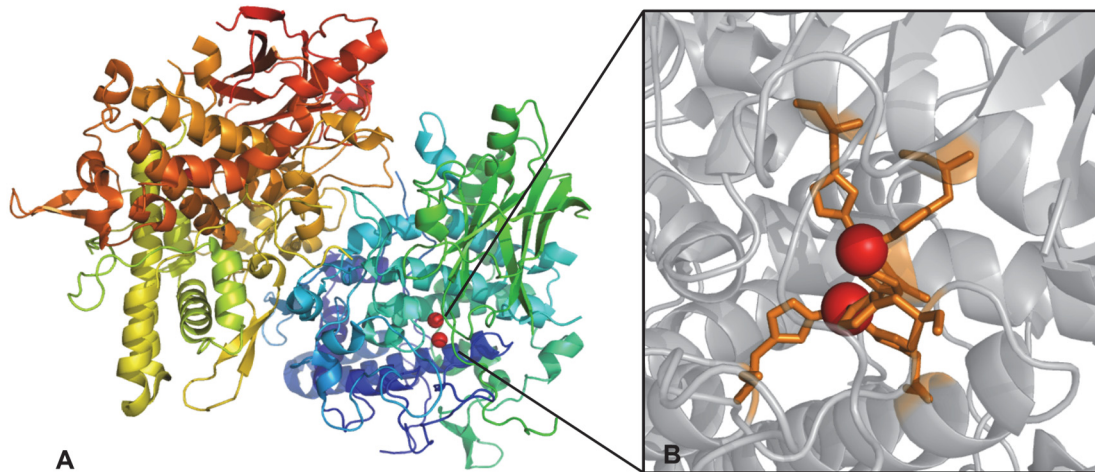
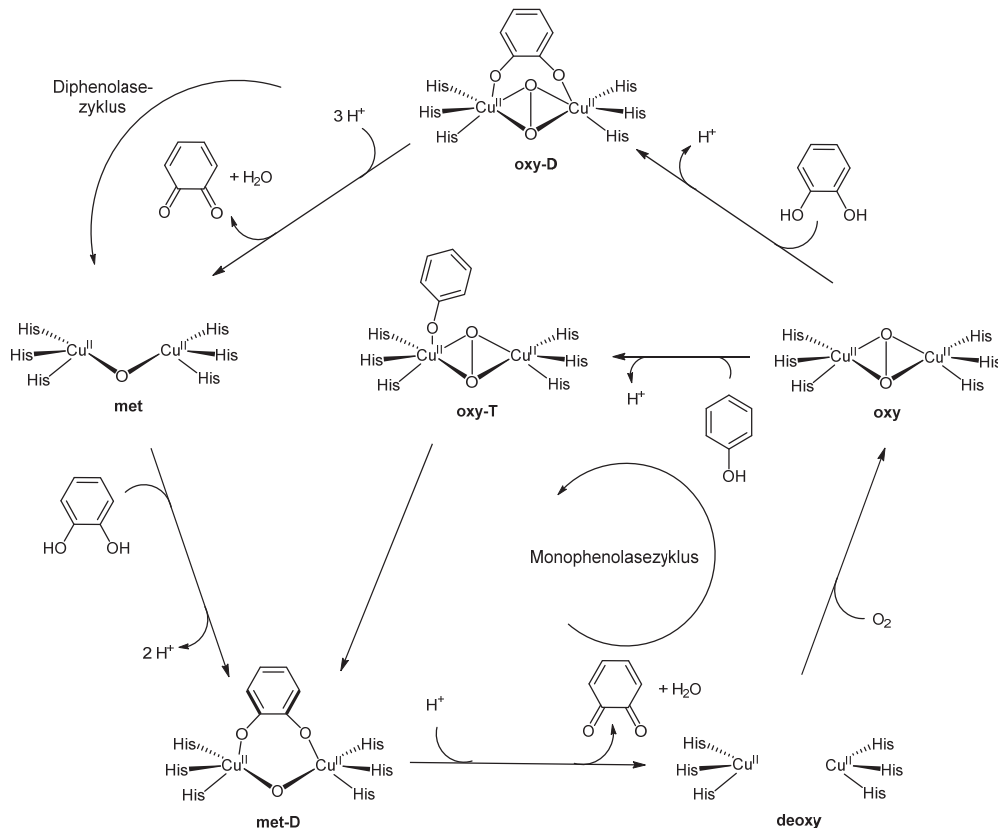


Abbildung 11: Tyrosinase aus *A. oryzae*.^[120] [PDB Code 3W6W] [**A** zeigt die homodimere Struktur der Tyrosinase aus *A. oryzae*; **B** zeigt das aktive Zentrum mit seinen zwei Kupferatomen, koordiniert durch jeweils drei Histidine]

Im vorliegenden Fall der Tyrosinase aus *A. oryzae* konnte gezeigt werden, dass das Holoprotein erst nach einem Trypsinverdau aktiv wurde. *Fujieda et al.* untersuchten 2012 die entstandenen Fragmente nach dem Verdau mithilfe *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight* Massenspektrometrie (MALDI-TOF-MS) und konnten zeigen, dass eine *Loop*-Region, welche die Kupferzentren in der pro-Tyrosinase blockierte, durch den Verdau herausgeschnitten wurde.^[120] Gleiches konnte ein Jahr später unter aciden Bedingungen erreicht werden.^[122] Hierbei wurde die Protyrosinase in einer 0.1 M Glycin-HCl-Lösung aktiviert. Eine SDS-PAGE zeigte keine hydrolytische Spaltung einer Peptidkette, wie es im Falle der durch Trypsin verdauten Variante zuvor der Fall war. Zudem zeigte das CD-Spektrum eine Reduktion α -helikaler Strukturen, was für eine pH-induzierte, konformative Strukturänderung der Tyrosinase sprach. Die Autoren vermuten, dass durch die aciden Bedingungen Aspartate und Glutamate protoniert wurden, was zur Konformationsänderung der terminalen Peptidketten des Enzyms führte. Diese legen wiederum die Kupferzentren für eintretende Substrate frei. *Michaelis-Menten*-Kinetiken zeigten einen höheren K_M -Wert im Falle der durch Säure aktivierten Tyrosinase im Vergleich zur Trypsin-aktivierten.^[122]

Bei der Betrachtung des Monophenolasezyklus der Tyrosinase (Schema 67), wandelt sich die **deoxy**- in eine **oxy**-Form unter Einbau von molekularem Sauerstoff in eine „side-on“ ($\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$) Struktur um. Das eintretende Phenol als Substrat für die Tyrosinase bindet in einer axialen Position an eines der Kupferatome (**oxy-T**). In einer darauffolgenden strukturellen Umlagerung zu einer trigonal-bipyramidalen Form kann die gebundene Peroxospezies die *o*-Position der phenolischen Hydroxyfunktionalität adressieren (**met-D**) und in einem finalen Oxidationsschritt das gewünschte Chinon sowie das als Nebenprodukt entstandene Wasser freilassen und in

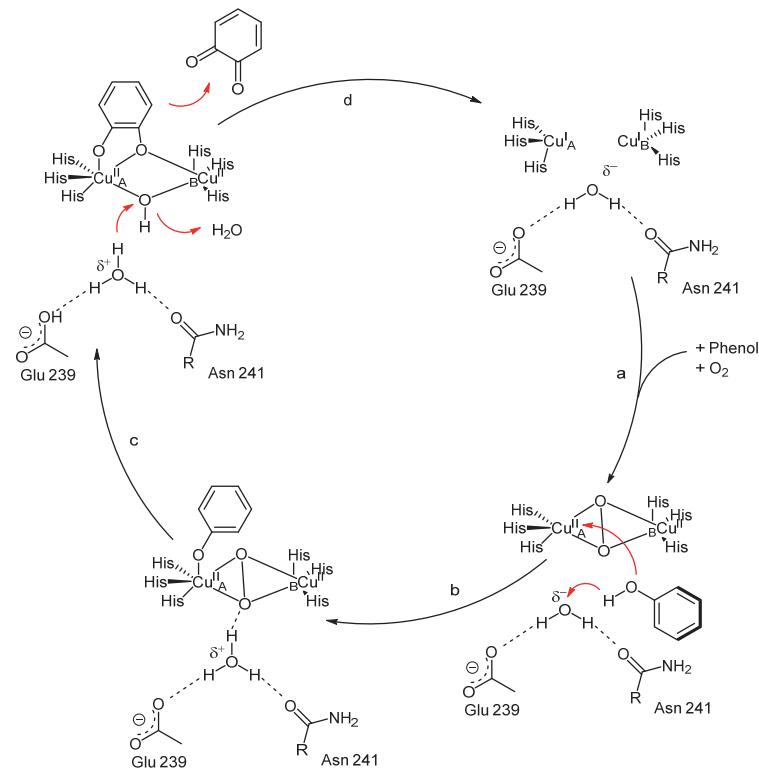
die ursprüngliche **deoxy**-Form übergehen. Durch eine erneute Sauerstoffaufnahme kann die **oxy**-Tyrosinase Form regeneriert werden. [123,124]



Schema 67: Monophenolase- und Diphenolasezyklus der Tyrosinase.^[124]

Die Deprotonierung des eintretenden Substrates wirft dabei Fragen auf. Dazu gibt es verschiedene Erklärungsansätze. Eine Möglichkeit besteht in der Protonierung eines der koordinierenden Histidine, die als Base funktionieren könnten. Jedoch wurde bisher kein Beweis dafür gefunden. Auch die Möglichkeit eines siebten – nicht-koordinierenden – Histidins, welches sich auch im aktiven Zentrum befindet, wurde in Erwägung gezogen. In manchen Tyrosinasen ist dieses jedoch durch ein Leucin ersetzt. Eine letzte Variante bezieht das Vorhandensein eines Glutamates (Glu) in der Nähe des aktiven Zentrums ein.^[125] Daran angelehnt stellten *Goldfeder et al.* und *Kanteev et al.* kürzlich die Hypothese auf, dass die Eigenschaft einer Monophenolaseaktivität im Falle der Tyrosinase aus *Bacillus megaterium* in Zusammenhang mit der Anwesenheit eines konservierten Asparagins (Asn) im aktiven Zentrum steht, welches sie von den Catecholoxidasen unterscheidet.^[126,127] *Solem et al.* lieferten den zur Hypothese unterstützenden Beweis, dass im Falle einer Catecholoxidase, welche 4-Methylcatechol zwar oxidiert, aber keine *o*-Hydroxylierung in Gegenwart von *p*-Tyrosol oder Tyramin zeigt, durch eine Mutation des im aktiven Zentrum liegenden Glycin zu Asparagin (G241N) eine Monophenolaseaktivität initiiert werden kann.^[128] Durch das Vorhandensein von Glu und Asn in direkter Nähe der Kupferzentren kann eine Deprotonierung der eingehenden

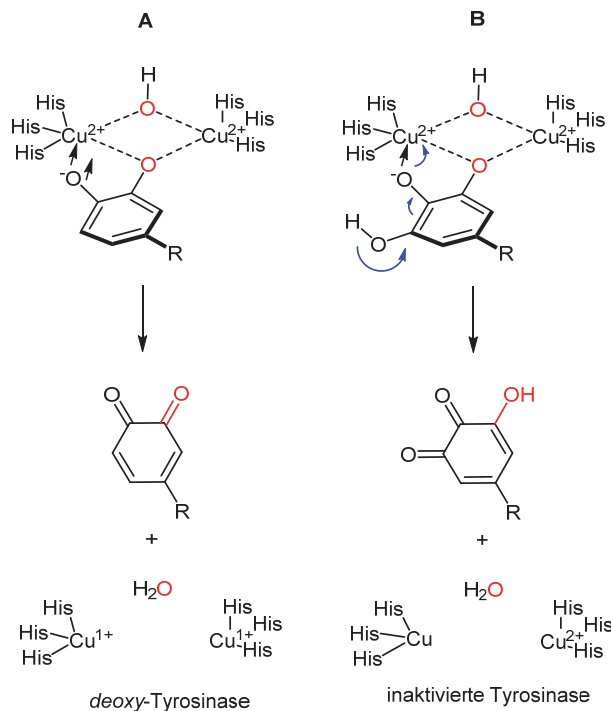
phenolischen Substanz garantiert werden. Dies ermöglicht nun die Bindung an eines der Kupferzentren und die darauffolgende o-Hydroxylierung und Oxidation zur chinoiden Form (Schema 68b, c).



Schema 68: Katalysezyklus der Tyrosinase.^[128] [a Ausgangspunkt ist die konservierte Struktur der Kupferzentren, welche von je drei Histidinen (His) koordiniert werden, sowie die Aminosäuren Glutamat (Glu) und Asparagin (Asn), welche ein Wassermolekül komplexieren. Durch das Eintreten einer phenolischen Spezies wird das Proton übertragen und mittels O₂ eine Peroxidbrücke zwischen den His aufgebaut; b ein Oxoniumion entsteht und das Phenolat ist an die freie Koordinationsstelle von Cu_A gebunden; c elektrophiler Angriff der Peroxospezies auf die o-Position des Phenols, sowie Übertragung eines Protons vom Hydroniumion auf die Hydroxyfunktionalität; d Abspaltung von Wasser sowie Oxidation des Catechols unter Freisetzung des Chinons]

Suizidinaktivierung

Im klassischen Sinne der Phenolaseaktivität der Tyrosinase würde das Phenol an die **oxy**-Form des binuklearen Kupferzentrums angreifen und im Zuge der Hydroxylierung und darauffolgender Oxidation zum o-Chinon die Tyrosinase in ihrer **deoxy**-Form hinterlassen, welche durch erneute Sauerstoffinkorporation in die ursprüngliche **oxy**-Form übergehen würde (Schema 69, A; s. auch Schema 67). Was jedoch, wenn ein Catechol **133** als Monooxygenasesubstrat fungiert? Wenn es – statt wie gewöhnlich in der **met**-Form – in der **oxy**-Form aktiv ist, kann eines der Hydroxyfunktionalitäten in der gebundenen Form deprotonieren und zur reduktiven Eliminierung des Kupfers führen (Schema 69, B). Es bleibt eine irreversible und inaktive Form der Tyrosinase zurück. Dieser Vorgang wird als Reaktionsinaktivierung bzw. Suizidinaktivierung bezeichnet.^[129,130]



Schema 69: Vermuteter Mechanismus der Suizidinaktivierung durch Catechol in Tyrosinasen.^[129]

Land et al. zeigten dies an einer anormalen Sauerstoffstöchiometrie, wenn Catechol durch die Tyrosinase oxidiert wurde. Das Phänomen wurde stärker bei geringen Enzymkonzentrationen beobachtet. Die Reaktionsrate sank ehe Substrat oder Sauerstoff aufgebraucht waren. Auch eine zusätzliche Substratzugabe oder Oxygenierung zeigten keinen Effekt. Erst durch erneute Enzymzugabe konnte die Reaktion wieder gestartet werden. Dies zeigte, dass während der Substratoxidation das Enzym inaktiviert wird.^[131] *Riley* und Mitarbeiter untersuchten zudem die Effekte substituierter Catechole in 3- und 6-Position (z.B. 3,6-Difluorocatechol) und in 4-Position (4-Fluorocatechol) im Hinblick auf die Inaktivierung und konnten zeigen, dass nur im Falle des 4-Fluorocatechols eine Suizidinaktivierung möglich ist, während im 3,6-Difluorocatechol die *o*-Positionen blockiert sind. Genaue Details über den Mechanismus der Inaktivierung sind jedoch nicht geklärt.

11.2.2 Biologische Funktion: Melanogenese

Melanin gehört zu den am weitest verbreiteten Pigmenten. Dabei handelt es sich um Polyphenol-haltige Biopolymere. Eu- und Phäomelanin gehören zu den häufigsten Vertretern dieser Klasse bei Säugern mit ihrer braun/schwarzen bis gelb/braunen Farbe.^[123] Melanin wird in dendritischen Zellen hergestellt, den sogenannten Melanozyten, welche sich vor allem in der Haut, dem Haarfollikel und in den Augen befinden. Melanozyten synthetisieren Melanin in sogenannten Melanosomen, die in ihrer Größe, Anzahl und Häufigkeit variieren können und welche zur Verteilung und Transport an Keratinozyten weitergegeben werden.^[132]

Ausgangspunkt der Melaninbiosynthese bildet das Tyrosin (**172**), welches in den initialen Schritten über eine Tyrosinase-katalysierte Reaktion unter Verwendung von molekularem Sauerstoff in DOPAchinson [DQ, (**173**)] umgewandelt wird. Diese initialen Schritte der Melaninbiosynthese wurden gemäß ihren Entdeckern als *Raper-Mason* Biosyntheseweg benannt und der Einfachheit halber in eine proximale und distale Phase unterteilt (Abbildung 12).^[133,134,135] Dabei wird in der proximalen Phase, wie zuvor beschrieben, der molekulare Sauerstoff verwendet, um eine Hydroxygruppe in o-Position zur bereits vorhandenen Hydroxygruppe des Tyrosins (**172**) zunächst zu addieren und anschließend zur chinoiden Form (**173**) zu oxidieren. Sind keine nukleophilen Thiole wie Cystein (**174**) oder auch Glutathion (**175**) zugegen, findet die Synthese von Eumelanin statt (Abbildung 12; links). Dabei kommt es zunächst zu einem intramolekularen Ringschluss des DOPAchinsons (**173**) zu LeukoDOPAchrom (**176**), wobei das freie Amin nukleophil an die aktive chinoide Spezies angreift. Die darauffolgende Oxidation zu DOPAchrom (**177**) findet unter gleichzeitiger Reduktion des DOPAchinsons (**173**) zur DOPA (**178**) statt. Vom DOPAchrom (**177**) ausgehend kann im nächsten Schritt – der distalen Phase – entweder chemisch decarboxyliert werden, wodurch das 5,6-Dihydroxyindol [DHI, (**179**)] entsteht oder mittels DOPAchrom Tautomerase (Dct) die Bildung von 5,6-Dihydroxyindol-2-carbonsäure (DHICA) (**180**) katalysiert werden. Beide Intermediate können in finalen Schritten, entweder Tyrosinase- oder DHICA Oxidase-vermittelt und unter Verwendung von Sauerstoff, zu Eumelanin verarbeitet werden.

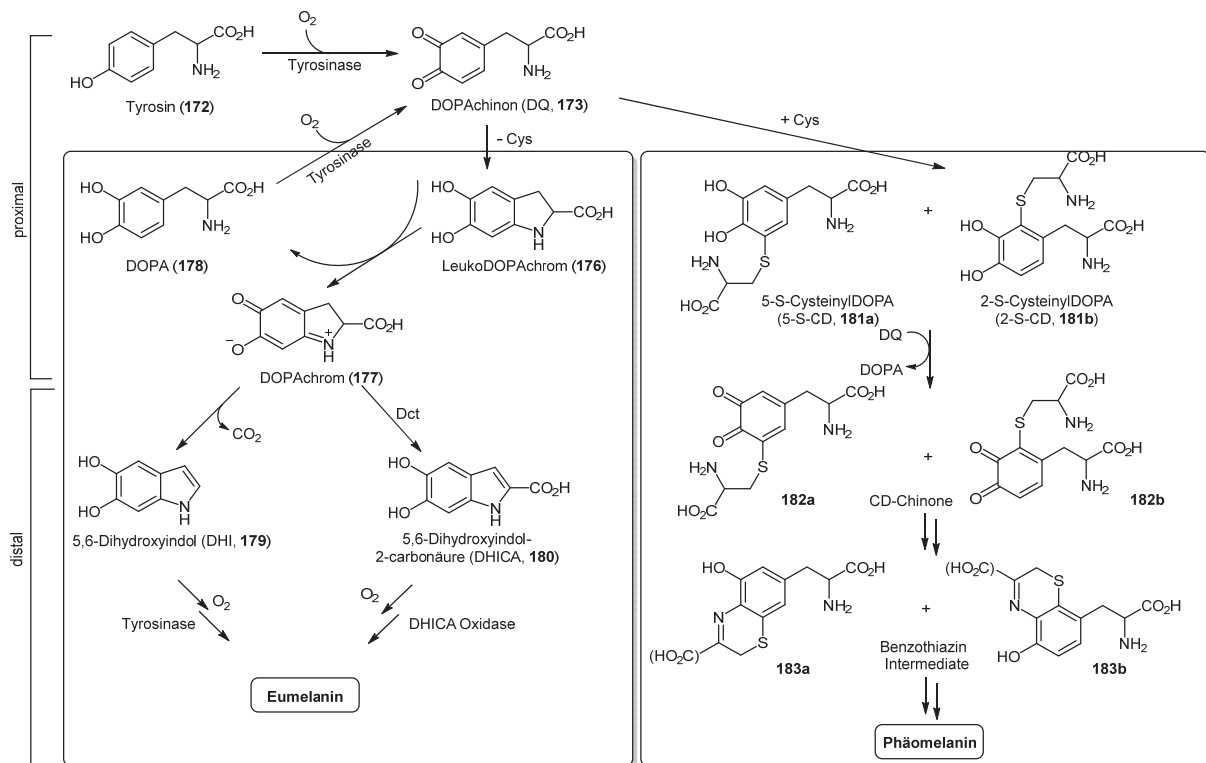


Abbildung 12: Biosynthese des Eu- und Phäomelanins.^[136] [Cys = Cystein, Dct = DOPAchrom Tautomerase]

Ist im Gegenzug eine Thiol Spezies präsent, so kann diese als Nuklophil in 2- oder 5-Position des DOPAchinons (173) addieren (Abbildung 12; rechts). Dabei ist die 5-Position bevorzugt. Es entsteht 5-(S)-CysteinylDOPA (181a). 2-S-CysteinylDOPA (181b) im geringeren Maße produziert. Verbindung 181a wird im darauffolgenden Schritt, wie zuvor auch das DOPAchrom (177), unter gleichzeitiger Reduktion eines Äquivalentes DQ (173) zu DOPA (178), zur chinoiden Struktur (182a) oxidiert. Das freie Amin der zuvor addierten Aminosäure Cystein (174) kann nun unter Kondensation von Wasser mit dem Chinon zum Benzothiazin (183) reagieren. Diese Intermediate werden dann in weiteren Oxidations- und Polymerisationsschritten zu Phäomelanin umgewandelt. Dabei ist das Verhältnis von Eu- zu Phäomelanin abhängig von der Tyrosinaseaktivität sowie der Cysteinkonzentration. Vergleiche der Geschwindigkeitskonstanten der Reaktionen von DQ (173) zu CysteinylDOPA (181) sowie der Zyklisierungsreaktion von DQ (173) zeigten, dass die Melanogenese von Phäomelanin so lange bevorzugt gegenüber Eumelanin ist, wie eine Konzentration von CysteinylDOPA (181) > 10 µM zugegen ist.^[136]

Die Zyklisierung des DQ (173) zum LeukoDOPAchrom (176), in der zuvor beschriebenen proximalen Phase der Biosynthese, funktioniert nur, wenn die Aminogruppe des DOPAchinons (173) in nicht-protonierter Form vorliegt, sodass in Gegenwart azider Bedingungen die Nukleophilie reduziert ist. Dies ermöglicht eine alternative Addition von Wasser unter Ausbildung von 3,4,5-Trihydroxyphenylalanin [TOPA (184), Abbildung 13].

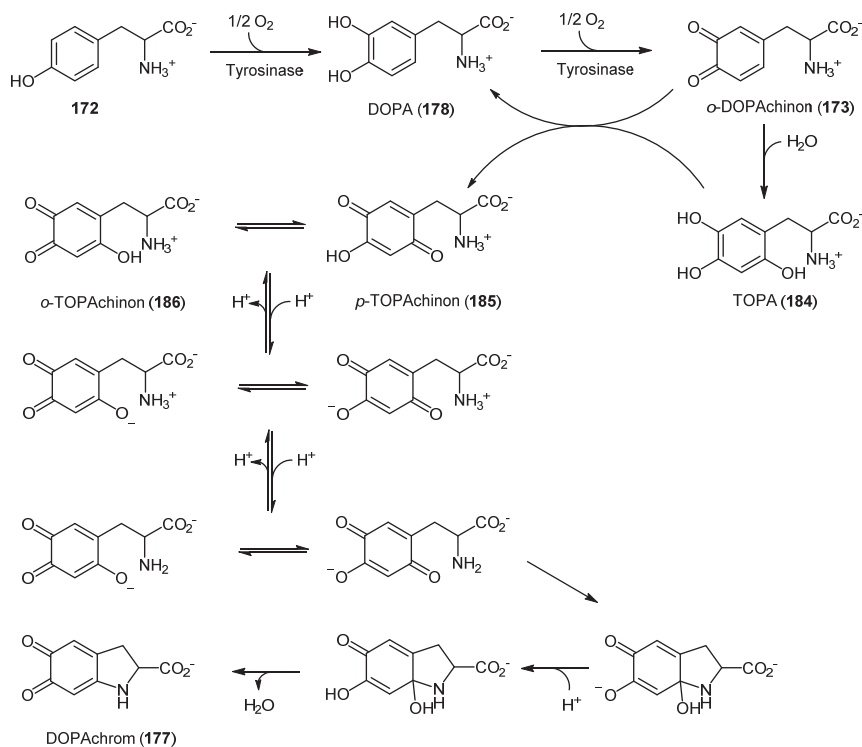


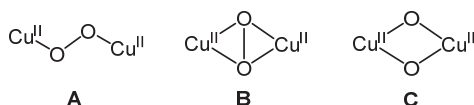
Abbildung 13: Biosynthese von DOPachrom (177) über TOPA (184).^[123]

TOPA (184) selbst kann weiter oxidiert werden zu *p*- (185) bzw. *o*-TOPachinon (186), welche im Gleichgewicht stehen. In weiteren Deprotonierungsschritten wird eine intramolekulare Zyklisierung mit darauffolgender Dehydratisierung ermöglicht, sodass das finale Produkt der proximalen Biosynthese – das DOPachrom (177) – hergestellt werden kann.^[123,137]

11.2.3 Exkurs: Anwendungen von Kupfer-Komplexen – strukturelle Imitation von Tyrosinasen

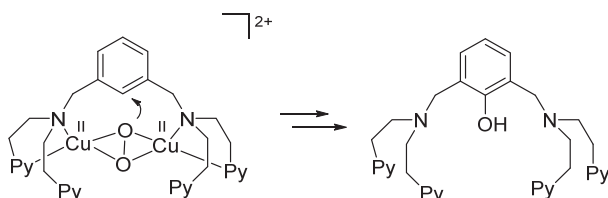
Durch die Herstellung diverser Kupferkomplexe wird versucht, Erkenntnisse aus den Untersuchungen von Metalloenzymen auf kleine chemische Analoga zu übertragen und somit das aktive Zentrum strukturell und auch funktionell nachzuahmen. Diese synthetischen Analoga können Informationen zu Funktionen und Mechanismen von Metalloenzymen liefern und *vice versa*. Ein Vorteil der synthetischen Modelle gegenüber den biologischen Systemen ist, dass diese nicht aktiviert werden müssen. Als einen weiteren Vorteil kann die Substrat- (oder Inhibitor-) orientierung sowie deren Akzeptanz angesehen werden. Durch die Proteinmatrix ist diese bei Tyrosinasen vorgegeben und limitiert. Doch diese räumliche Struktur der Enzyme gegenüber der Metallkomplexe hat auch ihren Vorteil. Sie bietet Schutz und minimiert das Auftreten von Nebenreaktionen/Zerfallsprozessen. Der zuletzt genannte Aspekt erklärt auch die Einführung von Kupfer-kordinierenden Überstrukturen bei der Katalyse durch synthetische Kupferkomplexe.^[125,138] Neben dem Tyrosinase-ähnlichen Koordinationsmodell (Schema 70, B) wurden noch zwei weitere Modi zur Oxygenierung entdeckt:

Eine *trans* μ -1,2-Peroxo- (Schema 70, A) und eine bis- μ -oxo Geometrie (Schema 70, C). Alle drei Strukturen konnten bei Hydroxylierungen aromatischer und aliphatischer Substrate identifiziert werden.



Schema 70: Verschiedene Koordinationsmodi der Sauerstoff-Kupfer Zentren. [A *trans* μ -1,2-Peroxo-Geometrie $\text{Cu}^{\text{II}}_2 (\mu\text{-}\eta^1\text{:}\eta^1\text{-O}_2)$, B $\text{Cu}^{\text{II}}_2 (\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-O}_2)$, C bis- μ -oxo Geometrie $\text{Cu}^{\text{II}}_2 (\mu\text{-O}_2)$]

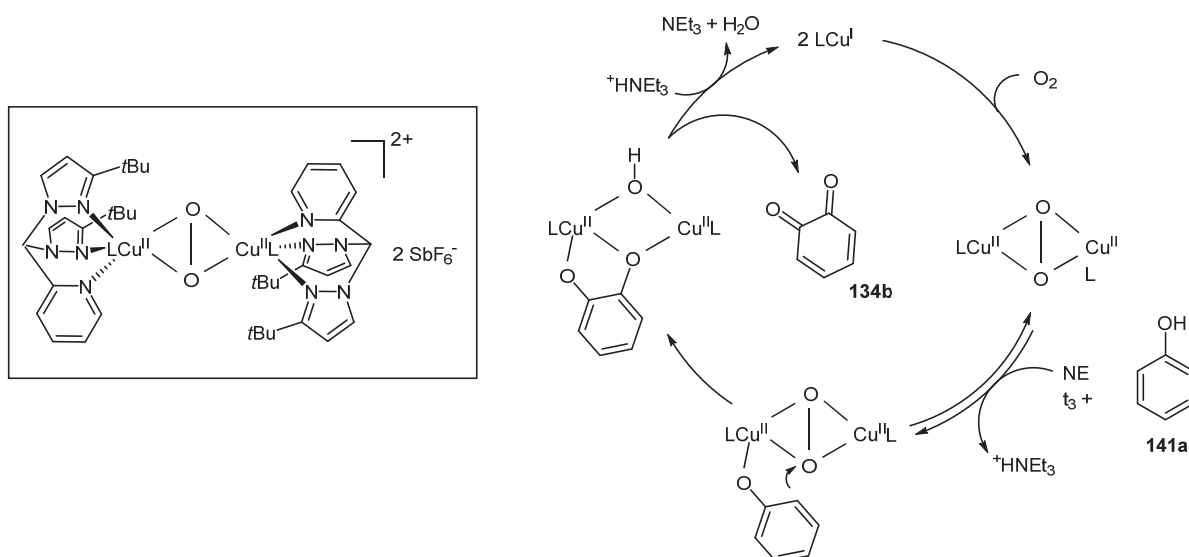
Eine der ersten Hydroxylierungen dieser Systeme war die Hydroxylierung am eigenen Ligandengerüst der Kupferkomplexe. *Karlin et al.* fanden heraus, dass ausgehend von einer *side-on* verbrückten Peroxospezies der aromatische Teil des Ligandensystems hydroxyliert wurde (Schema 71).^[139] Auch *Itoh et al.* konnten später nachweisen, dass ihr Ligandensystem in benzylicher Position ausgehend von einer bis- μ -oxo Spezies hydroxyliert wurde.^[140]



Schema 71: Hydroxylierung des überbrückenden Aromaten des Ligandensystems nach *Karlin et al.*^[139]

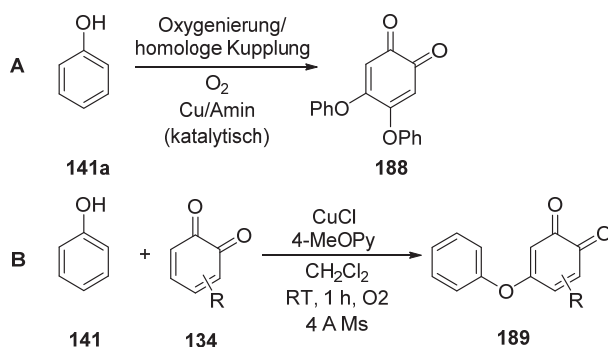
Erste Erfolge in Bezug auf die selektive Hydroxylierung eines externen aromatischen Substrates konnten von *Casalla et al.* basierend auf einen Polybenzimidazol-Liganden gezeigt werden.^[141] Dabei konnte unter bestimmten Bedingungen 4-Hydroxybenzoesäure (**187**) in *o*-Position hydroxyliert werden. Durch die Variation der Ligandenart sowie ihrer Größe und weiteren Parametern wie Lösungsmittel, Temperatur und einer zusätzlichen Base konnten einige Systeme untersucht werden.

Die Arbeitsgruppe um *Herres-Pawlis* zeigte, dass unter Verwendung stöchiometrischer Mengen Oxidationsmittel (*side-on* Peroxokomplex, Schema 72, links) zu Substrat (**141a**) sowie einer Base (hier Et_3N , Schema 72, rechts) bei -78°C eine nahezu vollständige Hydroxylierung zur Diphenolspezies sowie eine darauffolgende katalytisches Oxidation zum Chinon (**134b**) bei Raumtemperatur erzielt werden konnte. Der Ausschluss einer Base resultierte in nicht umgesetztes Phenol (**141a**). Nach der initiativen Deprotonierung des Phenols (**141a**) durch das Triethylamin stellt vermutlich die entstandene Säure das Proton im Umkehrschluss für die Hydroxydprotonierung wieder zur Verfügung, sodass Wasser entstehen kann und sich der Zyklus schließt.^[138]



Schema 72: Mechanismus der Phenoloxidation durch einen *side-on*-Peroxido-Kupferkomplex (links) in Gegenwart einer Base.^[138]

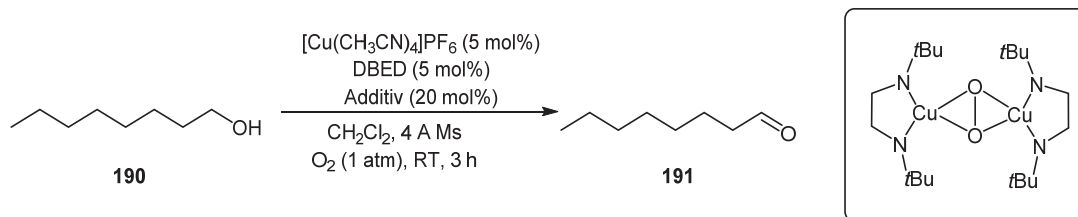
Gemäß diesem Mechanismus wurden weitere Substrate und Liganden untersucht. Hauptprodukt ist dabei häufig das homolog gekoppelte Produkt **188** unter Ausbildung einer C-O Bindung (Schema 73, A). Unter bestimmten Bedingungen ist es jedoch auch möglich, Arylether (**189**) aus unterschiedlichen Phenolen (**141**) und Chinonen (**134**) aufzubauen, was eine breitere Diversifizierung ermöglicht (Schema 73, B).^[142,143] Neben *Huang* beschreiben auch *Esguerra et al.* die Verwendung von einfachen Kupferspezies zur C-C-Kupplung. Sie zeigen dabei, dass es sich bei dem Ligandensystem nicht zwangsläufig um ein komplexes und anspruchsvolles System handeln muss. Di-*tert*-butylethyldiamin (DBED) fungiert sowohl als Ligand als auch als Base und minimiert damit den sonst üblichen Überschuss an Et₃N.^[144,145]



Schema 73: Homologe Kupplung unter Ausbildung einer Etherfunktionalität sowie die Möglichkeit zur Varianz.^[142]

Ebenfalls das Peroxo-Zentrum der Tyrosinase nachbildend, benutzten *Xu et al.* einen stabilen und häufig verwendeten Komplex basierend auf [Cu(CH₃CN)₄]PF₆ als Kupferspezies sowie DBED als Liganden. Diesen nutzten sie, um primäre Alkohole **190** zu Aldehyden **191** zu oxidieren – eine alternative Methode zu dem bekannten System unter Verwendung von TEMPO (**168**).^[146] Dabei konnten sie durch Optimierungen aus 1-Octanol (**190**) – unter

Verwendung von Basen als Additiven (u.a. DMAP) – 1-Octanal (**191**) in 92 % Ausbeute generieren (Schema 74).



Schema 74: Oxidation von 1-Octanol (**190**) zu 1-Octanal (**191**) mittels eines $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ /DBED Systems (rechts).

Neben der Anwendung dieser Methode bei linearen Alkoholen, welche u.a. auch Alken-, Halogen-, Aryl- sowie geschützte Alkohol- und Aminfunktionalitäten tolerierte, konnten auch sekundäre Alkohole zu den entsprechenden Ketonen umgesetzt werden.

12 EIGENE ERGEBNISSE & DISKUSSION BIOKATALYSE

12.1 Oxidoreduktase-vermittelte Arylierungsreaktionen

Im Hinblick auf die in Kapitel 11 beschriebenen Eigenschaften von Oxidoreduktasen, phenolische Substrate zu oxidieren (im Falle von Laccasen) bzw. zuvor zu hydroxylieren (wie für Tyrosinasen beschrieben), können aktivierte Chinone (**134**) *in situ* hergestellt werden, welche in ihrer Eigenschaft als *Michael*-Akzeptor eine 1,4-Addition mit diversen Donatoren **135** eingehen können (Abbildung 14).

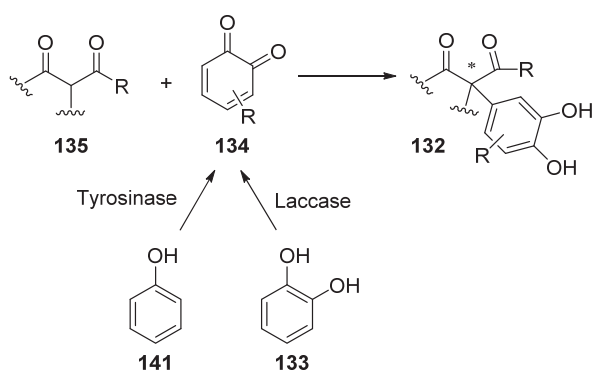


Abbildung 14: Allgemeines Beispiel einer Oxidoreduktase-vermittelten Arylierung.

Ausgehend von Phenolen **141** konnte mit Hilfe der Tyrosinase aus *A. oryzae* eine dreistufige Synthese vermittelt werden, welche nicht nur eine Hydroxylierung von Phenolen **141** und dessen Oxidation zu den gewünschten Chinonen **134** beinhaltete, sondern in einem darauffolgenden Schritt eine C-C-Knüpfung zu den entsprechenden Arylierungsprodukten **132** vollführte und somit ein Stereozentrum aufbaute. Alle drei Stufen (bzw. zwei Stufen im Falle der Laccase-katalysierten Reaktion) erfolgten in einer Ein-Topf-Synthese unter milden Bedingungen.

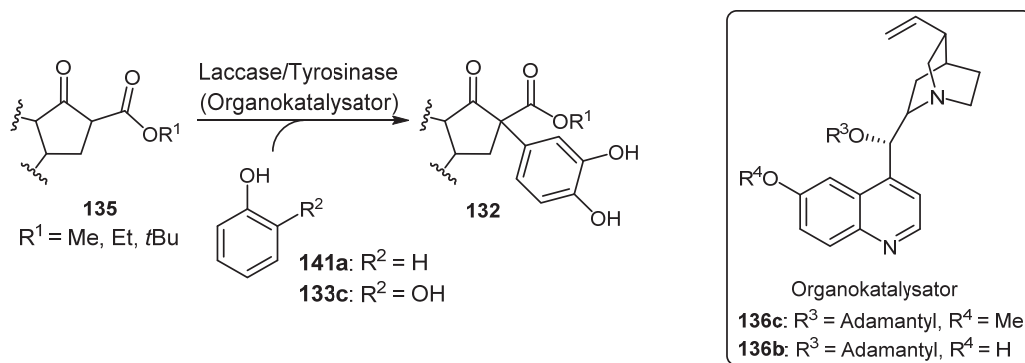
12.1.1 Herstellung der Substrate

Die für die Arylierungsreaktionen benötigten C-H aziden Verbindungen, welche in den folgenden Kapiteln sowohl für die Laccase- als auch Tyrosinase-vermittelten Reaktionen verwendet wurden, sind zum Teil kommerziell erhältlich. Andere wiederum mussten in ein bis drei Syntheseschritten hergestellt werden. Der folgende Abschnitt gibt einen kurzen Überblick über diese Synthesesequenzen.

Herstellung der β-Dicarbonyle & Cinchona-Alkaloide als Organokatalysatoren

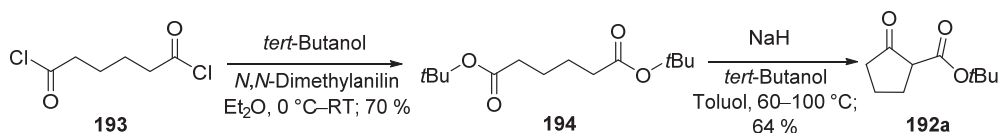
Die β-Dicarbonyle wurden entweder in einer Tyrosinase-vermittelten Reaktion mit Phenolen (**141**) oder in einer Laccase-vermittelten Reaktion mit Catechol (**133c**) zu den gewünschten Arylierungsprodukten umgesetzt (Schema 75). In den Versuchen zur

enantioselektiven Synthese der Arylierungsprodukte wurden dabei zusätzlich verschiedene auf Cinchona-Alkaloid basierende Organokatalysatoren **136** verwendet.



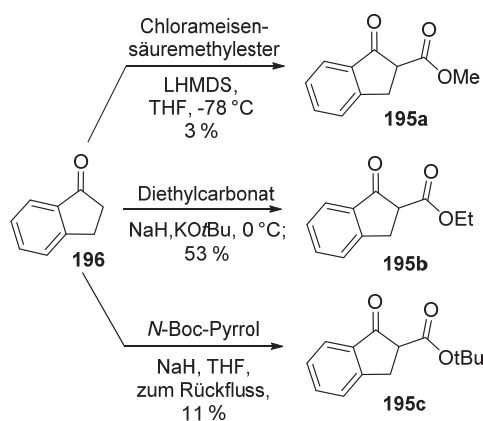
Schema 75: Allgemeines Reaktionsschema zur Synthese von Arylierungsprodukten basierend auf β -Dicarbonyl **135**.

Aus der Reihe der Dicarbonyl **135** wurden zunächst die Cyclopentanonester **192** betrachtet. Darunter wurde der *tert*-Butylester **192a** ausgehend von Adipinsäuredichlorid (**193**) in zwei Stufen hergestellt (Schema 76). Eine einfache Umesterung mittels Säure und *tert*-Butanol funktionierte dabei nicht. Nach der Veresterung des Adipinsäuredichlorids (**193**) zur entsprechend mit einer *tert*-Butyl Gruppe versehenen Verbindung **194**, erfolgte der durch Base induzierte intramolekulare Ringschluss zum gewünschten Cyclopentanonester **192a** in 64 % Ausbeute.^[147]



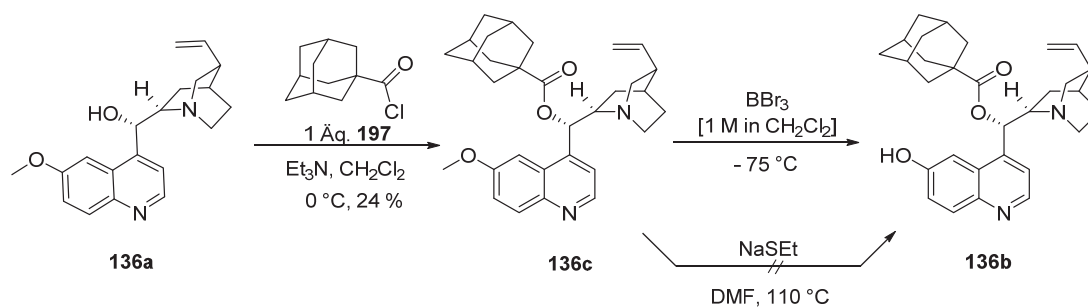
Schema 76: Synthese des Cyclopentanon-*tert*-butylesters **192a**.

Auch die verschiedenen Indanonester **195a–c** aus der Gruppe der Dicarbonyl **135** galt es aus dem Indanon (**196**) selbst herzustellen. Für die Verbindung **195a** wurde das Indanon (**196**) mit Chlorameisensäuremethylester umgesetzt, was jedoch nur im kleinen Maßstab möglich und kaum reproduzierbar war (Schema 77). Unter Verwendung von Diethylcarbonat und den Basen NaH und KO*t*Bu konnte der gewünschte Ethylester **195b** in 53 % Ausbeute erhalten werden. Im Falle des *tert*-Butylesters **195c** wurde die Boc-Gruppe mittels des kommerziell erhältlichen Boc-Pyrrols übertragen.^[148]



Schema 77: Syntheserouten zu den verschiedenen Indanonestern **195a–c**.

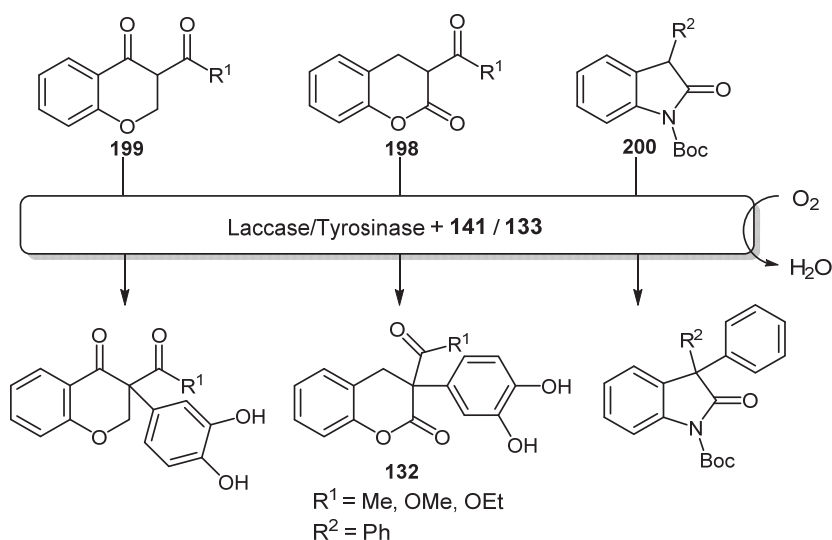
Für die selektiven Arylierungsreaktionen galt es einen sterisch anspruchsvollen Katalysator, basierend auf Chinidin (**136a**), herzustellen. Gemäß *Bogle et al.*^[149] zeigte das Adamantyl-Derivat **136b** eine gute Selektivität und wurde dementsprechend gemäß der Vorschrift nach *Großeheilmann et al.* hergestellt (Schema 78).^[150]



Schema 78: Synthese des Organokatalysators **136b** ausgehend von Chinidin (**136a**).

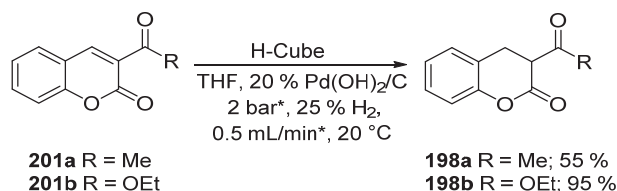
Dazu wurde zunächst das Chinidin (**136a**) mit dem Adamantylsäurechlorid (**197**) zu dem veresterten Produkt **136c** umgesetzt und in einem zweiten Schritt mittels Bortribromid demethyliert. Da die letztere Entschützung nur im geringen Maße funktionierte, wurde ebenfalls die Methode mittels Natriumthioethanolat nach *Zhu et al.* angewandt, allerdings ohne Erfolg. Schlussendlich konnten geringe Mengen des gewünschten Katalysators **136b** über den ersten Syntheseweg gewonnen werden.

Neben den Cyclopentanon **192**- und Indanonestern **195** wurden ebenfalls Coumarine **198** und Isocoumarine **199** als β -Dicarbonyle **132** sowie ein sterisch anspruchsvolles Oxindol **200** für die Arylierungsreaktion getestet (Schema 79).



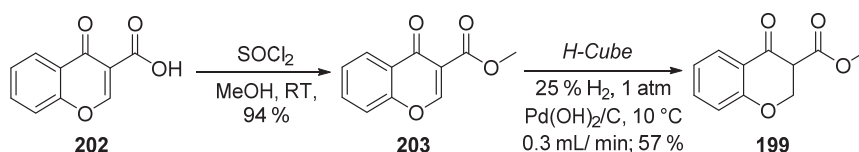
Schema 79: Allgemeines Reaktionsschema zur Synthese von Arylierungsprodukten **132** basierend auf Coumarinen **198** und **199** sowie Oxindol **200**.

Für die Herstellung der reduzierten Coumarine 3-Acetylcoumarin (**198a**) sowie Ethyl-3-coumarinsäure (**198b**) wurde auf die publizierten Methoden zur Reduktion mittels *H-Cube* nach Suljić und Pietruszka zurückgegriffen.^[77] Dabei wurden die Substrate **201a** und **201b** durch Palladium auf Kohle reduziert. Dies geschah im *Flow* in moderaten bis sehr guten Ausbeuten von 55–95 % (Schema 80).



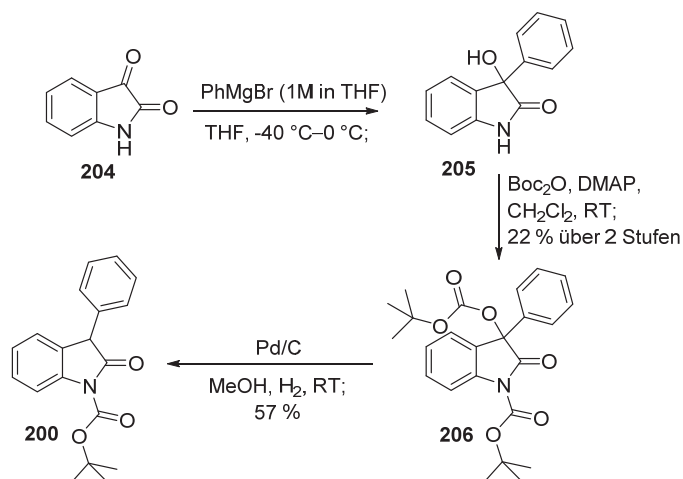
Schema 80: Reduktion der Coumarine **201a** & **201b** mittels *H-Cube*. [* Bedingungen für R = Me, für R = OEt: 7 bar, 0.35 mL/min].

Um das Isocoumarin **199** zu erhalten, musste zunächst jedoch die kommerziell erhältliche Chromon-3-carboxylsäure (**202**) mittels Thionylchlorid verestert werden (Schema 81). Anschließend wurde die veresterte Verbindung **203** ebenfalls mittels *H-Cube* reduziert. Bei diesem Substrat kam es unter anderem vor, dass ebenfalls die Enol-Form der Verbindung **199** reduziert wurde, was eine Verringerung der Ausbeute zur Folge hatte.



Schema 81: Synthese des Isocoumarins **199** ausgehend von der entsprechenden Säure **202**.

Zur Synthese des Oxindols **200** wurde zunächst ausgehend vom Isatin (**204**) eine *Grignard*-Reaktion mittels Phenylmagnesiumbromid durchgeführt. Aufgrund von Trennungs- und Isolationsproblemen während der Chromatographie wurde das Rohprodukt **205** direkt für den zweiten Schritt – die Schützung mittels Boc-Anhydrid – verwendet. Es konnten 22 % des Produktes **206** über die ersten beiden Schritte gewonnen werden (Schema 82).

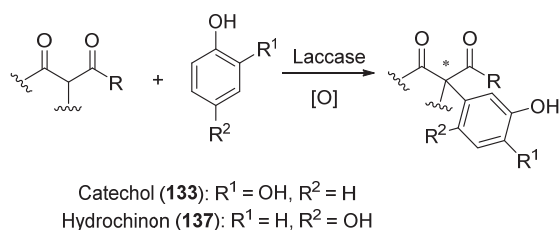


Schema 82: Drei stufige Synthese des Oxindols **200** ausgehend von Isatin (**204**).

Schlussendlich blieb noch die Reduktion der alkoholischen Boc-Schützung, welche in 57 % Ausbeute das gewünschte Produkt **200** lieferte.^[151]

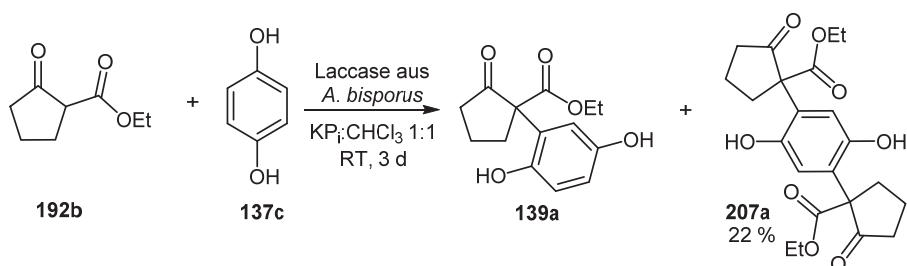
12.1.2 Initiale Untersuchungen zur Laccase-vermittelten Arylierung unter Verwendung von Hydrochinon und Catechol

Zur Synthese von Arylierungsprodukten als strukturell interessante und potentiell bioaktive Naturstoffbausteine, wurde eine Methode zur Laccase-vermittelten 1,4-Addition von Catecholen [(**133**): $\text{R}^1 = \text{OH}$, $\text{R}^2 = \text{H}$, Schema 83] aber auch Hydrochinonen [(**137**): $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{OH}$, Schema 83] entwickelt und auf ihre Bandbreite an Anwendungsmöglichkeiten hin untersucht.^[73,74] Dabei wurden diverse β -Dicarbonyle mit Dihydroxybenzolen **133** bzw. **137** in Gegenwart verschiedener Laccasen umgesetzt. Diese oxidieren die Dihydroxyverbindungen zu den entsprechenden chinoiden Strukturen **134** resp. **159**, welche daraufhin als *Michael*-Akzeptoren eine 1,4-Addition mit C-H aziden Dicarbonylspezies eingehen können. Da Laccase-induzierte Reaktionen nicht enantioselektiv ablaufen, war das Ziel der Untersuchungen, die Reaktion in Gegenwart von sowohl Bio- als auch Organokatalysator **136** durchzuführen. Zur Herstellung racemischer Referenzen, wurden initiale Experimente ohne Organokatalysator durchgeführt.



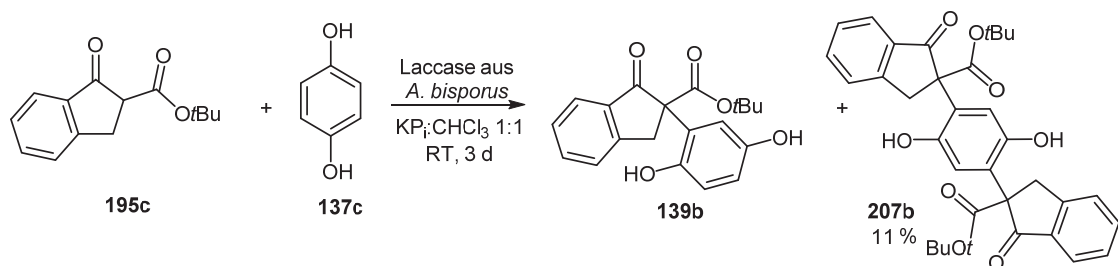
Schema 83: Allgemeines Reaktionsschema der Laccasen-vermittelten Oxidations-Additionssequenz.

Zum einen wurden zunächst Experimente mit dem Hydrochinon (**137c**) in Gegenwart des Cyclopentanonesters **192b** durchgeführt. Dabei konnte festgestellt werden, dass nicht das erwartete einfach arylierte Produkt **139a**, sondern das doppelt arylierte Produkt **207a** bevorzugt entsteht (Schema 84).



Schema 84: Laccase-vermittelte Arylierung, welche sowohl in dem einfach **139a** als auch in dem zweifach arylierten Produkt **207a** resultierte.

Das Vorkommen dieses doppelten Arylierungsproduktes **207a** wurde bereits von Suljić^[73] beschrieben und konnte ebenfalls für das Produkt **207b**, welches durch doppelte Arylierung aus dem Indanonester **195c** entstand, verifiziert werden (Schema 85).



Schema 85: Laccase-vermittelte Arylierung, welche sowohl in dem einfach **139b** als auch in dem zweifach arylierten Produkt **207b** resultierte.

Dies zeigte sich im ^1H -NMR-Spektrum zunächst durch die fehlenden Signale des arylierten Hydrochinons (Abbildung 15, A). Statt der erwarteten drei aromatischen Protonensignale und der potenziell auftretenden OH -Signale des Hydrochinonrestes des Produktes **207b**, zeigte das ^1H -NMR ausschließlich ein Protonensignal. Dieses konnte im HSQC-Spektrum eindeutig einem Kohlenstoffatom zugeordnet werden. Ein weiteres Protonensignal bei etwa 8.1 ppm deutete zudem vermutlich auf das Signal einer Alkoholfunktionalität hin, wobei keine Kopplung zu einem Kohlenstoffatom festgestellt werden konnte. Das ^{13}C -NMR bestätigte zudem die

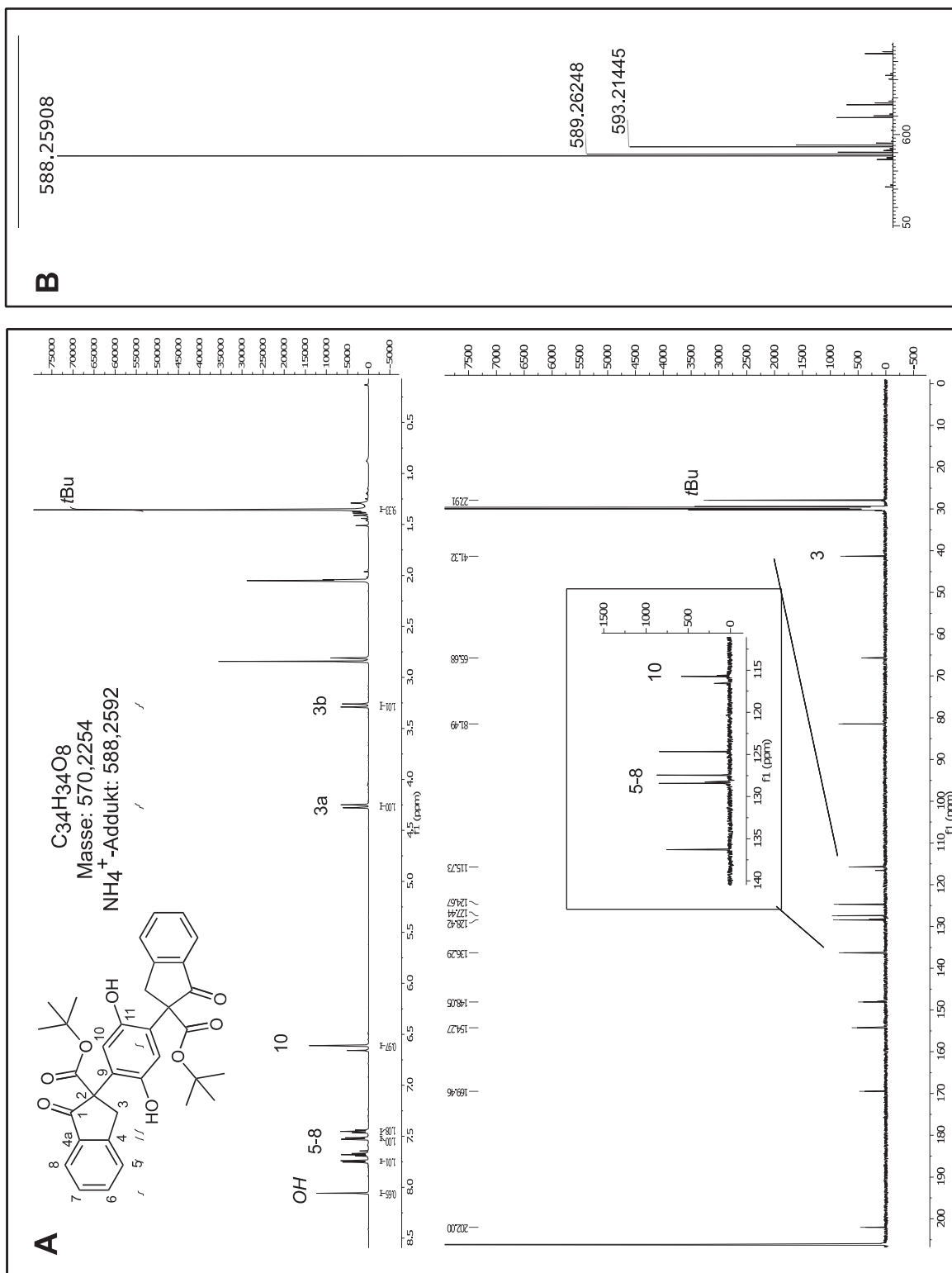


Abbildung 15: 1H -NMR-Spektrum [A] und HRMS-Signale [B] des doppelten Arylierungsproduktes **207b**. [NMR in Aceton: 2.05 ppm resp. 29.8 ppm/206.3 ppm und Spuren von Wasser bei 2.84 ppm]

Annahme eines doppelt arylierten Produktes **207b** durch die insgesamt nur fünf auftretenden Signale einer aromatischen C-H-Kupplung. Korrelationen in den 2D-Spektren zeigten zudem, dass die C-H-Signale (C-5–C-8) im Bereich von 124–136 ppm miteinander koppeln und dem aromatischen Teil des Indanonesters **207b** angehören. Das alleinstehende Signal bei 115 ppm koppelt hingegen mit keinem weiteren Signal und entspricht der Position C-10 des doppelt arylierten Produktes **207b**. Da das Molekül eine C₂-Symmetrie besitzt ist der Signalsatz nicht doppelt zu sehen. Das HRMS-Spektrum beweist zudem das Vorhandensein dieser Verbindung; erkennbar an der Ausbildung eines Ammonium- bzw. Na⁺-Adduktes (Abbildung 15, B). Allerdings ist die Bildung des doppelt arylierten Produktes nur in den beiden oben genannten Beispielen aufgefallen. Verwendete man z.B. den Cyclopentanon-*tert*-butylester **192a** statt des Indanonesters **195c** in einer *Michael*-Addition mit dem Hydrochinon (**137c**), so konnte keine zweifache Arylierung beobachtet werden.

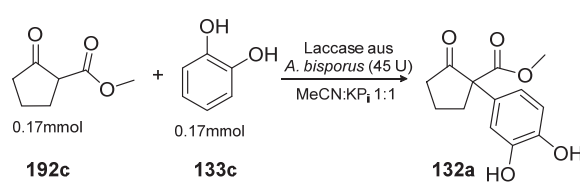
Aufgrund der Tatsache, dass das Hydrochinon (**137c**) zu einer Mischung von einfach und doppelt arylierten Produkten führte, welche zudem schwer säulenchromatographisch trennbar waren, wurde ebenfalls die Oxidation des Catechols (**133c**) in Betracht gezogen und untersucht. Ausgehend vom Cyclopentanonmethylester **192c** (Tabelle 2) sowie dem *tert*-Butyl-Indanonester **195c** (Tabelle 3) wurden erste Experimente unter Variation von Temperatur, Lösungsmittel und Laccase durchgeführt.

Zu Beginn wurde ein äquivalentes Verhältnis von Donor zu Akzeptor für die Oxidations-Arylierungssequenz verwendet (Tabelle 2). Dies war in der Gegenwart des Cyclopentanonmethylesters **192c** für diese Reaktion ausreichend, da hier ein guter Umsatz in kurzer Zeit erzielt werden konnte. Darauf folgende Verwendungen von anderen β -Dicarboxylen führten zur Erhöhung der Menge an *Michael*-Akzeptor (1.2 Äq.) um gute Umsätze zu erreichen.

Im Falle des erwähnten Cyclopentanonmethylesters **192c** konnte unter Verwendung der Laccase aus *A. bisporus* nach drei Tagen das Produkt **132a** in 10 % Ausbeute isoliert werden (Tabelle 2, # 1). Eine Reaktionszeit von drei Tagen wurde gewählt, um den maximalen Reaktionsrahmen, indem die Reaktion üblicherweise in den bereits vorhandenen Publikationen untersucht wurde, aus Gründen der Vergleichbarkeit beizubehalten.^[74–77] Bei diesem Beispiel konnte jedoch eine schnelle Verfärbung zu Beginn der Reaktion beobachtet werden, was für eine zügige Umsetzung der Edukte sprach. Deshalb wurde der gleiche Reaktionsansatz erneut getestet und dessen Umsetzung stündlich mittels DC untersucht. Nach 5 h wurde der vollständige Umsatz des Eduktes **192c** detektiert und nach entsprechender säulenchromatographischer Reinigung das gewünschte Produkt **132a** in 80 % Ausbeute erhalten (Tabelle 2, # 2). Des Weiteren wurde eine Reduktion der Temperatur untersucht, um mutmaßlich auftretende Polymerisationsnebenprodukte zu minimieren. Die Reaktion bei 0 °C zeigte nach 4 h vollständigen Umsatz, jedoch mit einer reduzierten Ausbeute

von 64 % (Tabelle 2, # 3). Nichtsdestotrotz war die Tatsache, dass die Reaktion auch bei reduzierter Temperatur in Gegenwart des Enzymes stattfinden kann, für die weitere Applikation der Reaktion in Kombination mit der Organokatalyse (s. Kapitel 12.1.3) eventuell von Vorteil. Zum Schluss erfolgte die Variation der Enzymmenge, wobei lediglich die Hälfte der vorherigen Menge eingesetzt wurde (Tabelle 2, # 4). Hierbei konnte allerdings keine vollständige Umsetzung des Eduktes **192c** innerhalb von vier Tagen beobachtet werden, weshalb eine weitere Variation der Enzymmenge nicht weiter in Betracht gezogen wurde.

Tabelle 2: Allgemeine Untersuchungen der Verwendung des Esters **192c** in der Arylierungssequenz mit der Laccase aus *A. bisporus*.

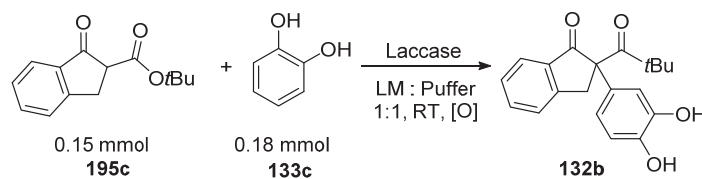


#	Reaktionszeit [h]	Temperatur	Ausbeute [%]
1*	72	RT	10
2	5	RT	80
3	4	0 °C	64
4**	96	RT	n.d.

* Nebenprodukte auf der Basislinie der DC; ** halbe Enzymmenge (23 U); kein vollständiger Umsatz des Esters

Ebenfalls im Hinblick auf die spätere Verwendung in der kombinierten Katalyse aus Laccase und Organokatalysator (s. Kapitel 12.1.3) wurden verschiedene Einflüsse auf die Reaktion des Indanonesters **195c** und Catechol (**133c**) getestet. Unter Verwendung der Laccase aus *A. bisporus* in einem Lösungsmittelgemisch (Verhältnis 1:1) aus Acetonitril und einem KPi-Puffer pH 6, konnte nach zwei Tagen das gewünschte Arylierungsprodukt **132b** in 75 % Ausbeute erhalten werden (Tabelle 3, # 1). Als Negativkontrolle wurde die gleiche Reaktion jedoch ohne Zugabe der Laccase angesetzt. Da nach einem Tag kein Umsatz zum entsprechenden Produkt **132b** erfolgte, konnte eine Hintergrundreaktion des Catechols (**133c**) in diesem Zeitrahmen ausgeschlossen werden (Tabelle 3, # 2). Die Verwendung der Laccase aus *T. versicolor* zeigte einen deutlich schnelleren Umsatz des Substrates, allerdings mit einer Reduktion in der Ausbeute von 75 % auf 52 % (Tabelle 3, # 3).

Tabelle 3: Allgemeine Untersuchungen der Verwendung des Esters **195c** in der Arylierungssequenz mit den Laccasen aus *A. bisporus*. und *T. versicolor*.

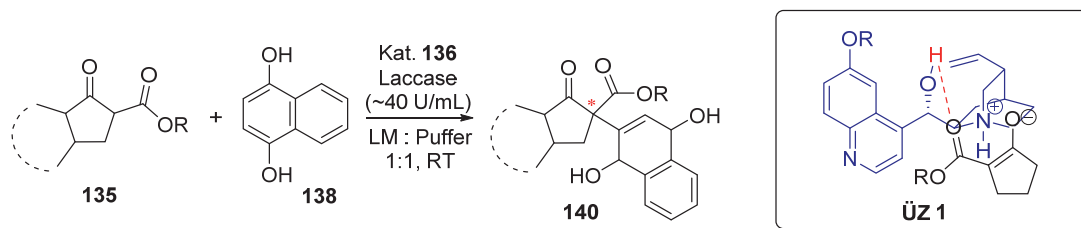


#	Laccase	Lösungsmittel [LM]	Puffer	Reaktionszeit	Ausbeute [%]
1	<i>A. bisporus</i>	MeCN	KP _i , pH 6	2 d	75
2	-	MeCN	KP _i , pH 6	1 d	-
3	<i>T. versicolor</i>	MeCN	KP _i , pH 5	5 h	52
4	<i>T. versicolor</i>	MeCN	-	1 d	-
5	<i>T. versicolor</i>	MTBE	-	1 d	-

Zudem wurde die Stabilität des Enzymes in Gegenwart von reinem Lösungsmittel wie Acetonitril (Tabelle 3, # 4) oder MTBE (Tabelle 3, # 5) getestet. Diese Ansätze zeigten jedoch, dass ohne Anwesenheit einer gewissen Menge an Puffer die gewünschte Reaktion nicht stattfinden konnte.

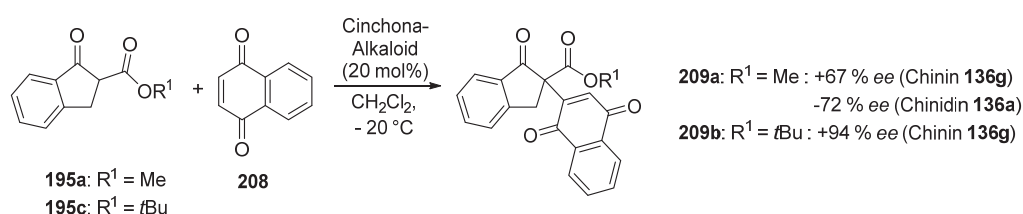
12.1.3 Untersuchungen zum Einfluss von Organokatalysatoren auf die Arylierungssequenz

Wie zuvor in Kapitel 12.1.2 beschrieben, wurde bei der Laccase-vermittelten Oxidations-Additionssequenz ein quartäres Kohlenstoffatom ausgebildet (s. Schema 83). Dies bot die Möglichkeit einer enantioselektiven Synthese der Arylierungsprodukte. Da die Laccase selbst keine Enantioselektivität induziert, könnte allerdings durch die Kombination der Laccase mit einem Organokatalysator eine stereoselektive Lenkung der Reaktion erfolgen. Dabei lag der Fokus vorwiegend auf den Cinchona-Alkaloid-basierten Organokatalysatoren **136**, welche eine Induktion der Enantioselektivität realisieren könnten. Ermöglicht durch die freie Alkoholfunktionalität und der mitunter protonierten Aminfunktionalität der Organokatalysatoren **136** kann die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu den jeweiligen Carbonylfunktionalitäten der verwendeten *Michael*-Donatoren **135** ausgebildet werden (Schema 86, ÜZ 1). Durch die sterische Hinderung einer Seite würde die 1,4-Addition bevorzugt von der entsprechend freien Seite erfolgen.



Schema 86: Enantioselective Arylierung unter Verwendung von Laccasen und Cinchona-Alkaloiden **136**.

In Anlehnung an die Arbeit von *Aleman et al.* galt es, ebenfalls Indanonester **195a/c** mit dem 1,4-Dihydroxynaphthochinon (**208**) in einer Arylierungsreaktion zu den entsprechenden Produkten **209** umzusetzen (Schema 87).^[152]



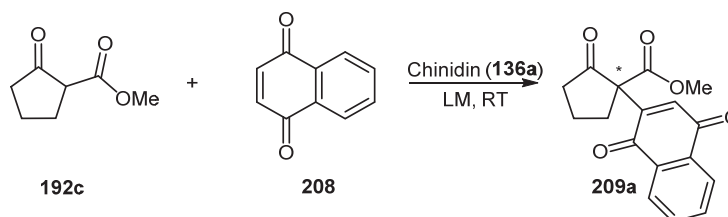
Schema 87: Enantioselective Synthese von arylierten Produkten **209** mittels Cinchona-Alkaloiden **136** nach *Aleman et al.*^[152]

Dabei sollte jedoch entgegen der Publikation nach *Aleman et al.* eine Kombination aus Bio- und Organokatalyse verwendet werden. Statt der Verwendung des 1,4-Naphthochinons **209** (Schema 87), diente in der vorliegenden Arbeit die Laccase aus *Agaricus bisporus* oder *Trametes versicolor* zur Oxidation des 1,4-Dihydroxynaphthalins (**138**) zum entsprechenden Chinon **208**. Das Chinidin (**136a**) als Organokatalysator sollte dabei zur Induktion der Enantioselectivität angewendet werden (Schema 86).

Die Durchführung der Kombination aus Bio- und Organokatalyse erfolgte unter Verwendung von der entsprechenden Laccase *A. bisporus* oder *T. versicolor* (Aktivität 40 U/mL) sowie einem Zweiphasensystem bestehend aus Puffer und Dichlormethan oder Chloroform verwendet (1:1 Verhältnis). Alternativ – und auch für alle Laccase-katalysierten Reaktionen ohne Organokatalysator – wurde Acetonitril als Kosolvenz verwendet (ebenfalls im 1:1 Verhältnis).

Zuvor wurde in Kooperation mit *Steffen Mader* aus dem Institut für Organische Chemie der RWTH Aachen die Umsetzung des Cyclopentanonesters **192c** mit dem Substrat **208** – die kommerziell erhältliche, oxidierte Form des 1,4-Dihydroxynaphthalins (**138**) – in Gegenwart von Chinidin (**136a**) als Organokatalysator im Hinblick auf die Enantioselectivität durch den Einfluss verschiedener Lösungsmittel untersucht. Das Screening zeigte, dass alle getesteten Lösungsmittel zwischen 40–54 % ee für das Produkt **209a** erbrachten (Tabelle 4).

Tabelle 4: Enantioselective Umsetzung des Cyclopentonesters **192c** und 1,4-Naphthochinon (**208**) in Gegenwart des Organokatalysators Chinidin (**136a**).^[153]



#	Lösungsmittel (LM)	Ausbeute [%]	ee [%]
1	MeCN	61	51
2	CHCl ₃	34	44
3	CH ₂ Cl ₂	14	54
4	Toluol	18	52
5	THF	47	40

Welches Enantiomer dabei im Überschuss hergestellt wurde, konnte im Rahmen dieser Arbeit noch nicht geklärt werden. Für die weiteren selektiven Arylierungsreaktionen wurde hauptsächlich das kommerziell erhältliche Chinidin (**136a**) verwendet, aber auch dessen Derivate **136b–f**, welche ausgehend von Chinidin (**136a**) hergestellt wurden (für Verbindung **136b** und **c**: s. Kapitel 12.1.1). Die Katalysatoren **136d–f** wurden freundlicherweise von *Laura Öhler* aus dem Institut für Bioorganische Chemie der Universität Düsseldorf zur Verfügung gestellt

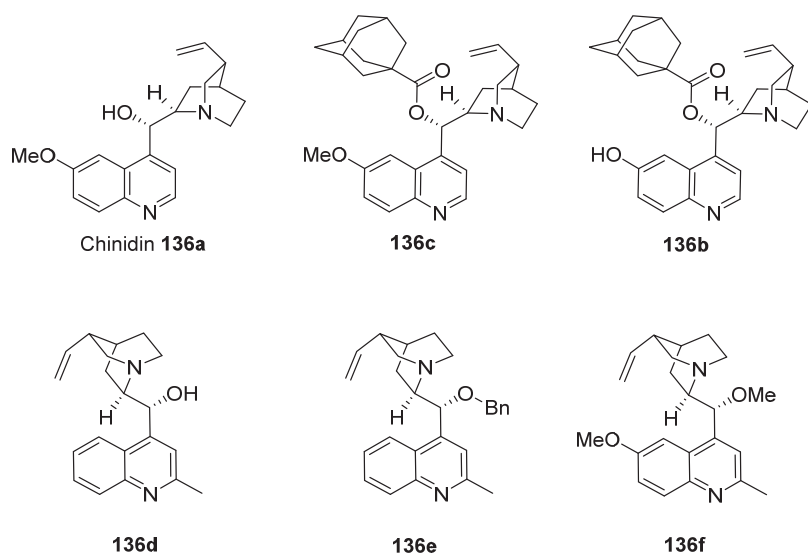


Abbildung 16: Übersicht aller verwendeter Cinchona-Alkaloide (**136a–f**). [Katalysatoren **136d–f** wurden von *Laura Öhler*^[154] synthetisiert]

Ausgehend von der Verbindung **192c** sowie dem 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) wurde die Reaktion zunächst in einem Gemisch aus Acetonitril und KP_i-Puffer in Gegenwart der Laccase

aus *A. bisporus* über drei Tage verfolgt (Tabelle 5, # 1; Abbildung 17, A). Da weder ein Organokatalysator hinzugefügt wurde noch das Enzym eine Enantioselektivität induzieren konnte, diente diese Probe als racemische Referenz. Gleiches galt ebenfalls für die Umsetzung mit **193b** (Tabelle 5, # 7). Durch einen Wechsel in ein Zweiphasensystem mit Chloroform als Lösungsmittel konnte in Gegenwart von Chinidin (**137a**) ein ee von 42 % bei einer gleichbleibenden Ausbeute erzielt werden (Tabelle 5, # 2; Abbildung 17, B).

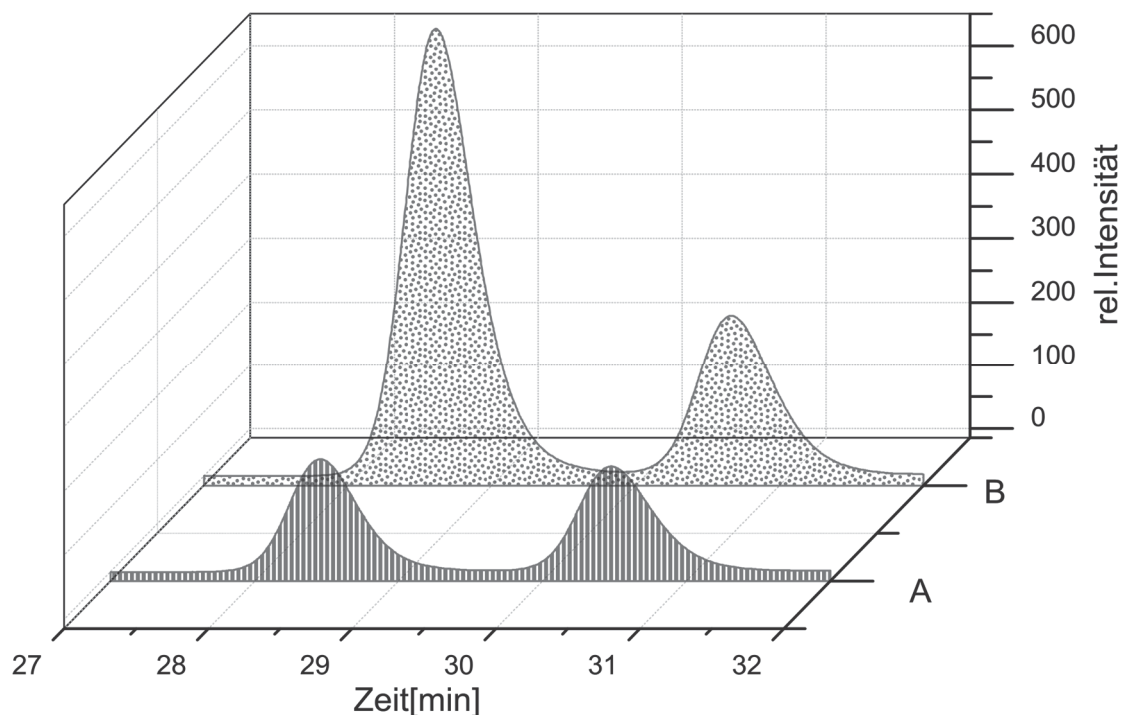
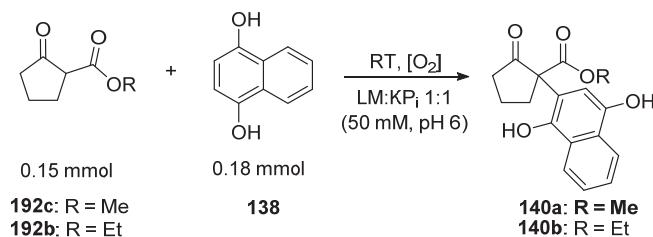


Abbildung 17: Vergleich der HPLC Chromatogramme der Umsetzungen der Laccase aus *A. bisporus* mit und ohne Chinidin (**136a**) im Falle der Arylierung des Cyclopentanonesters **192c** mit dem 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) {[HPLC Chiralpak IA, 90/10 n-Heptan/Isopropanol, 0.5 mL/min, 245 nm] **A** (Tabelle 5, # 1) Enantiomere der Verbindung **140a** als racemisches Gemisch, $R_t = 28.5$ min und 30.5 min; **B** (Tabelle 5, # 2) Enantiomere der Verbindung **140a** in 43 % ee, $R_t = 28.6$ min und 30.7 min}

Wird dies mit den Ergebnissen von *S. Mader* zur chemischen Umsetzung dieser Reaktion (Tabelle 4, # 2) verglichen, so zeigte dieser Versuch, dass die Selektivität des Chinidins (**136a**) nicht durch das Zweiphasensystem beeinträchtigt wurde. Letzteres zeigte zwar eine Reduktion in der Ausbeute, was allerdings in Anbetracht der Tatsache, dass es sich hierbei um eine zweistufige Synthese handelte und zudem noch die Möglichkeit zur Optimierung in Hinblick auf Äquivalente der Edukte sowie verschiedene Laccasen bestünde, vernachlässigbar war. Ein Wechsel des Lösungsmittels zu THF/*t*BuOH erbrachte zwar eine gesteigerte Ausbeute, jedoch wurde ein kompletter Verlust an Selektivität verzeichnet (Tabelle 5, # 4). Die Negativkontrolle in einem Zweiphasensystem ohne Laccase zeigte keine Umsetzung (Tabelle 5, # 3). Sie diente zur Überprüfung einer Autooxidation des Naphthalins **138** innerhalb von drei Tagen.

Tabelle 5: Umsetzung der Cyclopentanonester **192c** und **b** mit 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) in Gegenwart der Laccase aus *A. bisporus* und/oder Organokatalysator **136**.



#	Laccase aus	Lösungsmittel (LM)	Organokatalysator	Ausbeute [%]	ee [%]
für R = Me					
1	<i>A. bisporus</i>	MeCN	-	24	rac
2	<i>A. bisporus</i>	CHCl ₃	Chinidin 136a	21	43
3	-	CHCl ₃	-	-	-
4	<i>A. bisporus</i>	THF/tBuOH	Chinidin 136a	44	rac
für R = Et					
5	<i>A. bisporus</i>	CHCl ₃	Chinidin 136a	21	49
6	-	CHCl ₃	-	-	-
7	<i>A. bisporus</i>	MeCN	-	13	rac
8	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂	136d	n.d.	38*
9	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂	136e	38	17
10	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂	136f	10	15

* umgekehrtes Enantiomerenverhältnis

Eine Verlängerung der Seitenkette des Cyclopentanonesters von Methyl **192c** zu Ethyl **192b** zeigte eine minimale Steigerung in der Selektivität bei einem ee von 49 % in Gegenwart des Zweiphasensystems und mit Chinidin (**136a**) (Tabelle 5, # 5). Neben Chinidin (**136a**) wurden ebenfalls andere vielversprechende Katalysatoren auf Basis der Cinchona-Alkaloide getestet. Dabei fällt vor allem der Ansatz mit dem Organokatalysator **136d** auf, welcher eine umgekehrte Enantiomerenanreicherung von 38 % zeigte (Tabelle 5, # 6, Abbildung 18). Dabei sei erwähnt, dass zwar Enantiomerenüberschüsse mittels HPLC vermessen wurden, jedoch keine Zuordnung der Anreicherung eines distinkten Enantiomers des Arylierungsproduktes **140b** im Rahmen dieser Arbeit vorgenommen wurde.

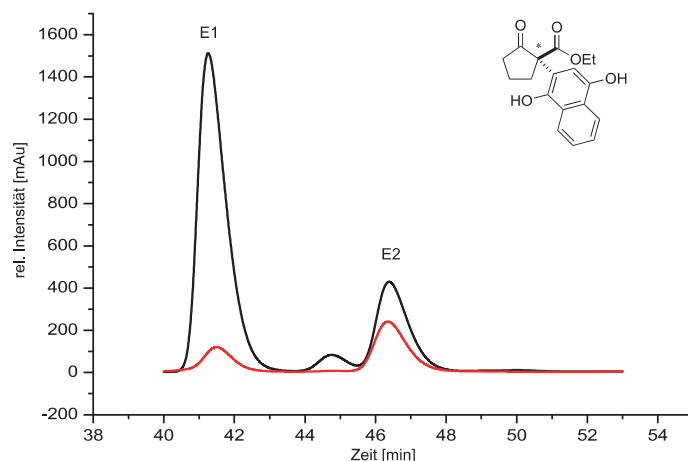
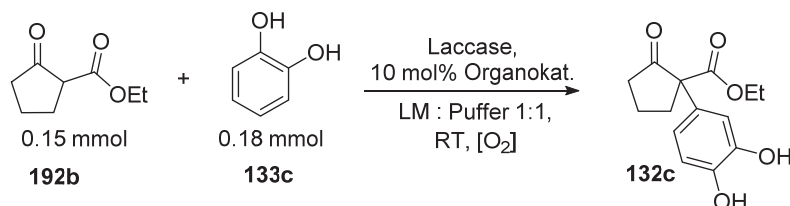


Abbildung 18: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **140b** mit Chinidin [(**136a**), s. Tabelle 5, #5, schwarz] und **136d** [s. Tabelle 5, #8, rot] als Organokatalysator. [E = Enantiomer; HPLC Programm: Chiralpak IC, 80/20 n-Heptan/Isopropanol, 0.5 mL/min, 246 nm; Rt: E1 = 41.5 min, E2 = 46.3 min]

Die beiden Organokatalysatoren **136e** bzw. **136f** mit geschützten Alkoholfunktionalitäten (Bn bzw. Me; Tabelle 5, # 9 bzw. # 10) zeigten die gewohnte Präferenz eines Enantiomers in geringen Selektivitäten von 15–17 % ee. Die Reduktion in der Selektivität unter Verwendung der Katalysatoren **136e–f** lässt sich durch die Schützung (Bn bzw. Me) des sekundären Alkohols erklären. Dadurch ist eine geringere Koordinierung zum Substrat möglich, als im Falle des Chinidins (**136a**). Auch in der betrachteten Reaktion des Cyclopentanonethylesters **193b** mit dem Naphthalin **138** zeigte die Negativkontrolle keine Hintergrundoxidation des Substrates **138** innerhalb von drei Tagen (Tabelle 5, # 6).

In einem nächsten Versuchsblock wurden verschiedene Bedingungen bei der Umsetzung desselben Cyclopentanonesters **192b** mit dem o-Catechol (**133c**) getestet (Tabelle 6). Zunächst wurden Voraussetzungen ohne Zugabe eines Organokatalysators untersucht. Das gewünschte Arylierungsprodukt **132c** konnte hierbei in 50 % Ausbeute gewonnen werden (Tabelle 6, # 1). Es ist ebenfalls theoretisch möglich die Aktivität der Laccase zu steigern, indem das Lösungsmittel mit Sauerstoff angereichert wird, wodurch die Laccase einer höheren Sauerstoffkonzentration zur Reaktion zur Verfügung gestellt wird. Die getestete vorherige Begasung des Lösungsmittelgemisches mit Sauerstoff für 15 min führte allerdings im vorliegenden Beispiel nicht zur Erhöhung der Ausbeute (Tabelle 6, # 2). Eine Kombination von Organokatalyse in Gegenwart der Laccase aus *A. bisporus* in einem Zweiphasensystem aus Puffer und Chloroform resultierte in diesem Fall in einer maximalen Selektivität von 5 % ee und der üblichen Reduktion der Ausbeute auf 15 % (Tabelle 6, # 3). Der Vergleich zur vorher erwähnten Versuchsreihe mit dem 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) lässt vermuten, dass durch die nun kleinere Akzeptorverbindung – Catechol (**133c**) statt 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) – die sterische Hinderung durch das Chinidin (**136a**) nicht mehr ausreicht (Vgl. Tabelle 5, # 4 bzw. Tabelle 6, # 3).

Tabelle 6: Screening verschiedener Umsetzungen des Ethylesters **192b** in einer Arylierungssequenz aus Bio- und Organokatalyse.

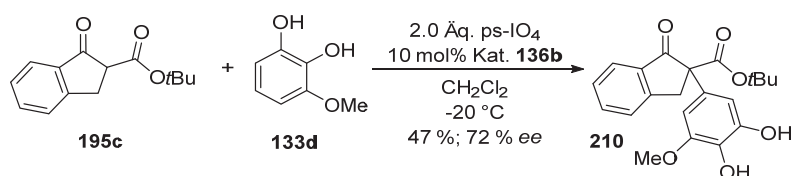


#	Laccase aus	Lösungsmittel (LM)	Puffer	Organokatalysator	Ausbeute [%]	Besonderheiten
1	<i>A. bisporus</i>	MeCN	KP _i , pH 6	-	50	-
2	<i>A. bisporus</i>	MeCN	KP _i , pH 6	-	42	15 min mit O ₂ begast
3	<i>A. bisporus</i>	CHCl ₃	KP _i , pH 6	136a	15	5 % <i>ee</i>
4	<i>T. versicolor</i>	MeCN	KP _i , pH 5	-	52	vollst. Umsatz nach 1 d
5	<i>T. versicolor</i>	MeCN	-	-	-	-
6	-	MeCN	KP _i , pH 5	-	-	-
7	<i>T. versicolor</i>	CH ₂ Cl ₂	-	-	-	-
8		CH ₂ Cl ₂	-	-	-	-
9	<i>T. versicolor</i>	-	H ₂ O	136a	25	15 h, <i>rac</i>
10	<i>T. versicolor</i>	-	H ₂ O	-	-	3 h
11	-	-	H ₂ O	-	-	-
12	<i>T. versicolor</i>	-	konz. NaCl _{aq.}	136a	-	-
13	<i>T. versicolor</i>	-	H ₂ O	136c	53	4 h, <i>rac</i>
14	<i>SsI1</i>	-	NaOH/Gly, pH 9	136a	63	2.5 h, <i>rac</i>

Neben der Laccase aus *A. bisporus* wurde auch die Laccase aus *T. versicolor* für dieses Fallbeispiel getestet. Letztere zeigte vor allem eine deutlich schnellere und vollständige Umsetzung des Substrates **133c** innerhalb nur eines Tages (Tabelle 6, # 4). Die Versuche mit der Laccase aus *A. bisporus* hingegen benötigten drei Tage, wobei jedoch nicht immer vollständiger Umsatz gezeigt werden konnte. Des Weiteren wurde getestet, ob es möglich ist, die Laccase auch ausschließlich in organischem Lösungsmittel (Acetonitril) zu verwenden. In diesem Versuch konnte jedoch keine Umsetzung des Substrates **133c** beobachtet werden (Tabelle 6, # 5). Zudem wurden für diese spezifische Arylierung Experimente zur Untersuchung der Hintergrundreaktionen durchgeführt. Dabei wurde eine Autooxidation des

Catechols (**133c**) in dem Puffer/Lösungsmittelgemisch sowie in reinem Wasser untersucht (Tabelle 6, # 6 resp. 11). Dies konnte jedoch ausgeschlossen werden. Zudem zeigte die Laccase aus *T. versicolor* keine Umsetzung in reinem CH₂Cl₂ (Tabelle 6, # 7). Die Anwendung im Zweiphasensystem aus CH₂Cl₂ und Puffer hingegen sollte erneut genauer untersucht werden, was für die Applikation dieser Laccase für die Kombination aus Bio- und Organokatalyse von Bedeutung wäre. Versuche in einer gesättigten NaCl-Lösung in Anlehnung an die Publikation von *Bae et al.*^[155] zeigten leider keine Umsetzung (Tabelle 6, # 12). Auch die abschließende Verwendung der alkalophilen Laccase aus *Streptomyces svaceus* Ss/1 zeigte zwar eine Umsetzung und Ausbeute des Produktes **132c** in 63 %, allerdings auch hier keine Selektivität in Gegenwart des Chinidins [(**136a**), Tabelle 6, # 14].

Auch die Umsetzung des Indanonesters **195c** mit einem substituierten Methoxycatechol **133d** konnte enantioselektiv auf chemischem Wege verwirklicht werden. So wurde diesbezüglich von *Bogle et al.* eine Methode beschrieben, eine Oxidations-Arylierungssequenz mittels Periodat durchzuführen.^[149] Gemäß der Literatur konnten in Gegenwart des Katalysators **136b** und dem Methoxycatechol **133d** bei -20 °C, 84 % des gewünschten Produktes **210** mit einem ee von 81 % gewonnen werden. Erste Versuche dieses Experiment zu reproduzieren (Schema 88), zeigten ein ähnliches Ergebnis, jedoch mit einer etwas geringeren Ausbeute von 47 % und einer Selektivität von 71 % ee (Abbildung 19 A, A). Dabei wurde das Periodat gemäß der Vorschrift von *Harrison et al.* und das entsprechende Cinchona-Alkaloid **136b** gemäß *Großeheilmann et al.* hergestellt (s. Kapitel 15.3.2).^[150,156]



Schema 88: Enantioselektive, chemische Oxidation mittels Polymer-unterstütztem (ps) Periodat gemäß *Bogle et al.*^[149]

Der gleiche Ansatz wurde ebenfalls mit Hilfe der Laccase aus *A. bisporus* als Oxidationsmittel durchgeführt, welcher ohne Zugabe eines Organokatalysators **136** das gewünschte Produkt als racemisches Gemisch lieferte (Tabelle 7, # 1, Abbildung 19 A, B).

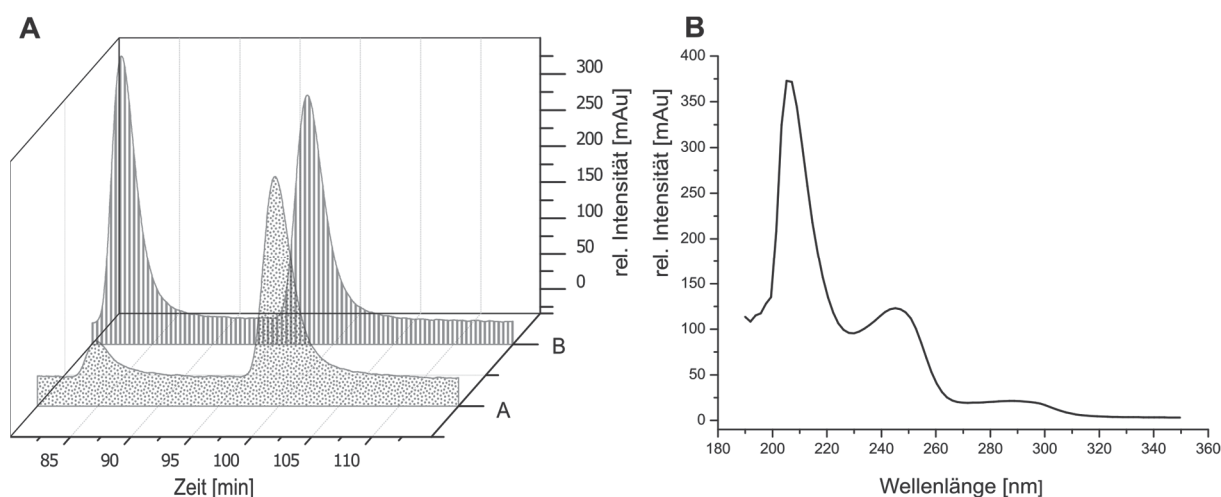


Abbildung 19: HPLC Chromatogramm und Absorptionsspektrum der Verbindung **210**. {[HPLC: Chiralpak IC, 80/20 n-Heptan/Isopropanol, 0.5 mL/min, 205 nm; **A** Enantiomere der Verbindung **210 A** in der chemischen Synthese mittels Periodat (R_t = 84.8 min und 99.7 min) und **B** in enzymatischer Synthese (R_t = 82.4 min und 97.9 min)]; **B** Absorptionsspektrum der Verbindung **210**}]

Wurden die Resultate der enzymatischen (Abbildung 20, oben) mit denen der chemischen Oxidation (Abbildung 20, unten) verglichen, wurde deutlich, dass im letzteren Fall ein doppelter Signalsatz des Arylierungsproduktes **210** im NMR vorhanden war. Dies sprach für die Bildung von Regioisomeren bei der Verwendung von Periodat als Oxidationsmittel. Allerdings ist diese Beobachtung weder in der Literatur beschrieben noch zeigt das HPLC-Chromatogramm dieser Probe einen zusätzlichen Satz an Signalen (Abbildung 19, A). Es konnte trotzdem davon ausgegangen werden, dass die identischen Produkte miteinander verglichen wurden, da neben dem übereinstimmenden NMR- auch das Absorptionsspektrum des Produktes **210** sowohl im Fall der chemischen als auch enzymatischen Oxidation deckungsgleich waren (Abbildung 19 B).

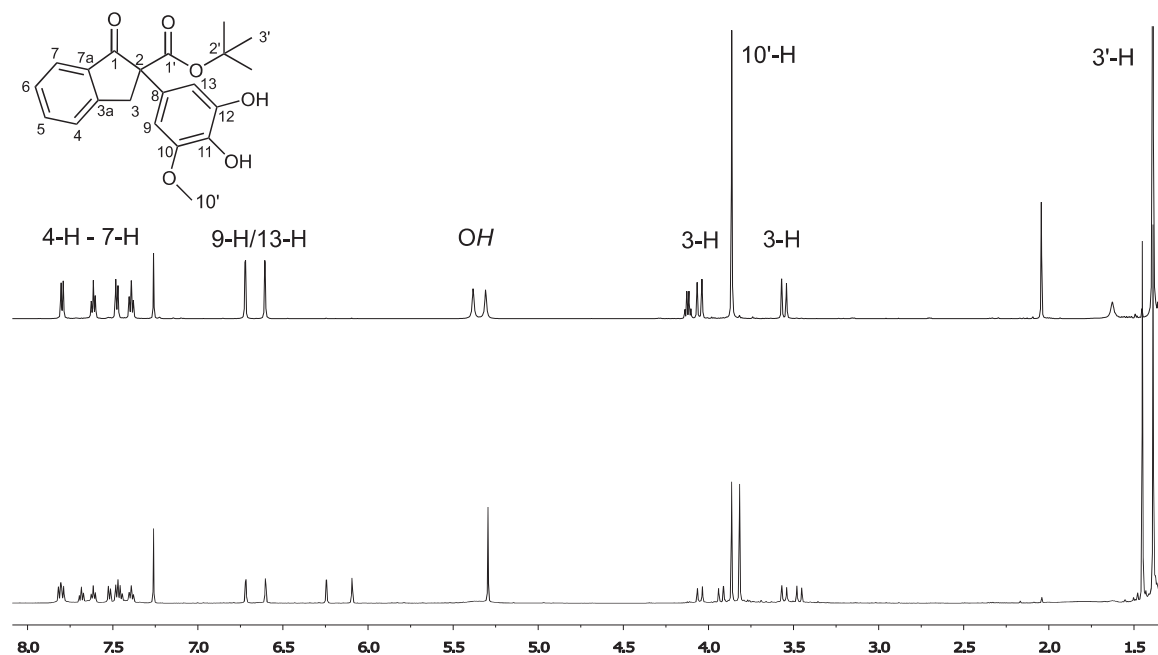
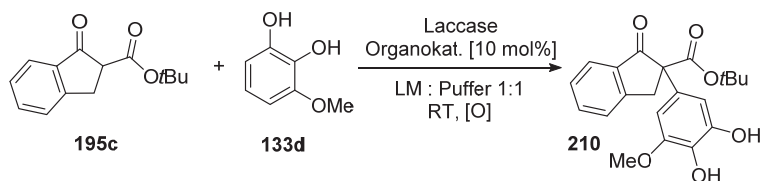


Abbildung 20: Vergleich der ^1H -NMR-Spektren der Laccase-vermittelten Oxidations-Arylierungssequenz zum Produkt **210** (oben) und der chemischen Variante unter Verwendung von Periodat als Oxidationsmittel nach *Bogle et al.* (unten).

Zu dieser Reaktionssequenz erfolgte ebenfalls ein Screening. Die Laccase-vermittelte Oxidations-Additionsreaktion im Acetonitril/Puffer-Gemisch lieferte, ohne Zugabe eines Organokatalysators, eine Ausbeute von 37 % (Tabelle 7, # 1). Für einen ersten Ansatz betrachtet, wäre die Ausbeute zufriedenstellend. Allerdings zeigte das zweite Experiment, dass selbst bei Abwesenheit der Laccase die Oxidation und somit auch die anschließende Addition zum Produkt **210** stattfand (12 % Ausbeute, Tabelle 7, # 2). Dies lässt sich auf die spontane Oxidation des 3-Methoxycatechols (**133d**) zurückführen. Für alle folgenden Reaktionen wurde diese Hintergrundreaktion daher berücksichtigt. Die folgenden Versuche zur Umsetzung in einem Zweiphasensystem und unter Verwendung von Chinidin (**136a**) zeigten allesamt nur 8 % Ausbeute. Während der Standardansatz in Dichlormethan und Puffer in Gegenwart von Chinidin (**136a**) eine Selektivität von 11 % ee zeigte, erhöhte sich diese bei Verdopplung des Verhältnisses an organischem Lösungsmittel zu Puffer (2:1) auf 26 % ee (Tabelle 7, # 3, resp. 4). Wurde dagegen auf das Zweiphasensystem verzichtet und die Reaktion ausschließlich in Dichlormethan angesetzt, so endete die Reaktion mit einer Enantioselektivität von 30 % ee (Tabelle 7, # 5). Diese Ergebnisse zeigen zwar die Abhängigkeit des Chinidins (**136a**) von der entsprechenden Lösungsmittelmenge, bzw. dessen Menge und Verhältnis, jedoch wurde anhand ihrer Ausbeute deutlich, dass es sich dabei nicht um eine Laccase-vermittelte Reaktion handeln kann, sondern stattdessen eher die Hintergrundreaktion beobachtet wurde, da das Catechol **133d** selbst über die Zeit oxidierte.

Tabelle 7: Screening verschiedener Umsetzungen des *tert*-Butylesters **195c** in einer Arylierungssequenz aus Bio- und Organokatalyse.



#	Laccase aus	Lösungsmittel (LM)	Puffer	Organokatalysator	Ausbeute [%]	ee [%]
1	<i>A. bisporus</i>	MeCN	KPi, pH 6	-	37	<i>rac</i>
2	-	MeCN	KPi, pH 6	-	12	-
3	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂	KPi, pH 6	136a	8	11
4	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂ *	KPi, pH 5	136a	8	26
5	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂	-	136a	8	30
6	<i>A. bisporus</i>	MeCN	KPi, pH 5	Jørgensen	90	<i>rac</i>
7	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂	KPi, pH 5	136c	Spuren	<i>rac</i>
8	<i>A. bisporus</i>	CH ₂ Cl ₂	KPi, pH 6	136b	42	42
9	<i>T. versicolor</i>	MeCN	KPi, pH 5	136b	46	<i>rac</i>

* 2 mL (statt den üblichen 1 mL)

Abschließende Experimente mit dem Katalysator **136b**, welcher nach *Bogle et al.* die beste Selektivität aufwies, zeigten im Zweiphasensystem einen ee von 42 % bei einer relativ gesehen gesteigerten Ausbeute von ebenfalls 42 % (Tabelle 7, #8). Ein Lösungsmittelwechsel von Dichlormethan zu Acetonitril, sowie der Verwendung der Laccase aus *T. versicolor* hingegen resultierte zwar in gleicher Ausbeute jedoch als racemisches Gemisch (Tabelle 7, #9). Diese letzten Experimente geben ein gutes Indiz für die mögliche Anwendung des hergestellten Katalysators **136b** in dieser Reaktionssequenz. Allerdings sollten noch weitere Optimierungen unternommen werden, um die Selektivität zu erhöhen. So sollte z.B. die Reaktion in Chloroform, sowie die Verhältnisse von Lösungsmittel zu Puffer genauer untersucht werden.

Neben den oben aufgeführten Untersuchungen wurden auch alternative Organokatalysatoren mit einer Squaramid- oder Harnstoff/Thioharnstoff-Funktionalität untersucht, stets mit dem Gedanken der Ausbildung einer Koordination über Wasserstoffbrückenbindungen mit den Dicarboxylen.^[157,158] Diese zeigten jedoch keine Selektivität und wurden deshalb nicht in den vorliegenden Tabellen berücksichtigt. Eine weitere Überlegung war es Jørgensen-Katalysatoren **165** aufgrund ihrer potentiellen Ausbildung einer Imin-Bindung mit den Dicarboxylen der Arylierungsreaktion zu verwenden. Zwar konnte auch in ihrer Gegenwart keine Selektivität gewonnen werden, jedoch wurde aufgrund des außergewöhnlichen

Anstieges der Ausbeute auf 90 % ein Beispiel tabellarisch aufgeführt (Tabelle 7, # 6), welches allerdings unter Weiterführung des Projektes genauer untersucht und erneut reproduziert werden sollte.

Kurzzusammenfassung des Kapitels

- Unter Verwendung des Hydrochinons (**137c**) in der Arylierungsreaktion kam es in zwei Beispielen zur Ausbildung eines doppelt arylierten Produktes **207a/b**.
- Die Verwendung von 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) zusammen mit den Cyclopentanonestern **192c** und **192b** in Kombination mit dem Organokatalysator Chinidin (**136a**) resultierte in Enantioselektivitäten von bis zu 50 % ee in einem Zweiphasensystem aus Puffer und CHCl₃.
- Die Verwendung von Catechol (**133c**) hingegen erbrachte geringe bis keine Selektivitäten, vermutlich aufgrund seines geringeren sterischen Anspruchs.
- Eine chemische Reproduktion der Arylierungsreaktion nach *Bogle et al.* unter Verwendung eines Indanonesters **195c** und 3-Methoxycatechol (**133d**) gelang; die Übertragung dieser Reaktion auf die etablierte Umsetzung mittels Laccase zeigte jedoch, dass das Substrat **133d** über die Zeit spontan oxidierte, wodurch die daraus resultierten Selektivitäten nicht dem entsprechenden biokatalytischen System zugesprochen werden konnten.

12.1.4 Etablierung der Tyrosinase aus *A. oryzae*

Durch die Kooperation der Universitäten Aachen und Osaka, bekamen wir aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. S. Itoh das Plasmid der Tyrosinase aus dem Pilz *Aspergillus oryzae*. In einer bereits vorangegangenen Kooperation und Dissertation von S. Suljić wurde die Tyrosinase in Anbetracht ihrer Monophenolase- und Diphenolase-Eigenschaft auf ihre Anwendung in der organischen Synthese hin untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Untersuchungen weiter ausgeführt und für verschiedene Substrate getestet und sowohl in Hinblick auf Ausbeute als auch auf die Limitierungen im Substratspektrum hin untersucht.

In Anlehnung an das Protokoll von *Fujieda et al.* wurde *E. coli* mit dem ‚HAT-tag‘ (*Histidine affinity tag*) versehenen *melB* Tyrosinase Plasmid transformiert und in TB-Medium, welches CuSO₄ als Kupferquelle enthält, exprimiert.^[119–122] Die Aufreinigung wurde gekürzt, indem das Protein mittels Ni-NTA-Säule aufgereinigt wurde. Anschließend wurde die Enzymlösung in einen anderen Puffer überführt und aufkonzentriert. Weitere Reinigungsschritte, wie das

Des Weiteren wurden zu Beginn verschiedene Methoden zur Lagerung des gereinigten Enzymes untersucht. Die aufgereinigte Enzymlösung wurde alternativ in einer 50 %-Glycerinlösung im Tiefkühler (Abbildung 23, Dreieck), im Kühlschrank (Abbildung 23, Quadrat) oder als Lyophilisat (Abbildung 23, Kreis) verstaut und nach einem, zwei und vier Tagen erneut entnommen und auf ihre Aktivität hin untersucht. Dabei ist zu erkennen, dass das Lyophilisat die schlechteste Bedingung darstellt, da bereits nach einmaligem Lösen des Lyophilisats bereits sämtliche Aktivität verloren gegangen ist. Die Lagerung des Enzyms als Glycerol-Lösung sowie die Kühlschranklagerung des Enzyms zeigen hingegen erst nach viermaligem Auftauen bzw. viermaliger Verwendung eine Reduktion ihrer Aktivität.

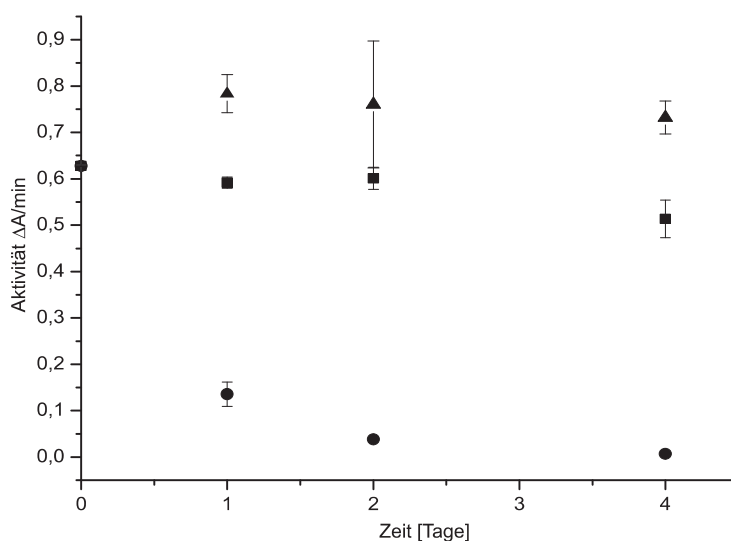
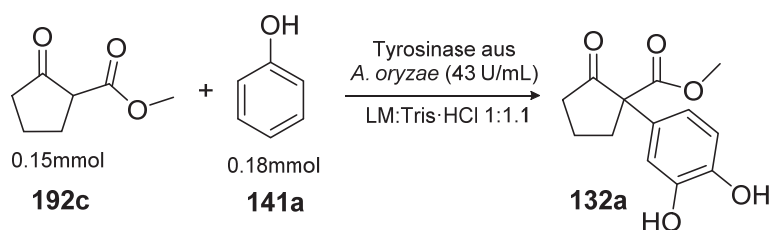


Abbildung 23: Stabilitätstest der Tyrosinase in Anbetracht verschiedener Lagerungsmethoden. [Dreieck: 50 %-Glycerol-Lösung im Tiefkühler; Quadrat: Kühlschranklagerung; Kreis: Lyophilisat]

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde die Enzymlösung dem entsprechend im Tiefkühler gelagert, allerdings in einem 10 %-Glycerin-haltigen Puffer.

12.1.5 Tyrosinase-vermittelte Arylierung

In einem initialen Experiment wurde das gereinigte Enzym, hier mit einer Aktivität von 43 U/mL, in der Reaktion von Cyclopentanonmethylester **192c** und Phenol (**141a**) verwendet (Schema 89). Unter den Bedingungen, die *S. Suljić*^[73] in seinem Projekt etablieren konnte, wurde Chloroform als Lösungsmittel verwendet (Schema 89, # 1). Dieses System lieferte zwar vollständigen Umsatz des Eduktes, allerdings nur 6 % Ausbeute des gewünschten Arylierungsproduktes **132a**. Sichtbare Nebenprodukte – nahe und auf der Basislinie der Dünnschichtchromatographie (DC) – suggerierten die Bildung von Polymeren, was zur Minderung der Ausbeute führten könnte.



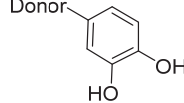
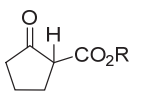
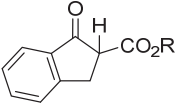
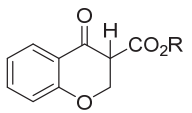
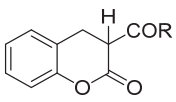
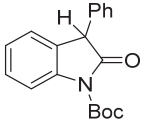
#	Reaktionszeit [h]	Lösungsmittel (LM)	Ausbeute [%]
1	24	CH ₃ Cl	6
2	3.5	MeCN	65

Schema 89: Etablierung der Reaktionsbedingung auf Basis der kommerziell erhältlichen Substrate Phenol (**141a**) und Cyclopentanonmethylester **192c**.

Ein Wechsel des Lösungsmittels zu Acetonitril, wie es bereits zuvor für die Laccasen-vermittelten Reaktionen verwendet wurde, sowie die Reduktion der Reaktionszeit auf maximal 3.5 h resultierte in einer Ausbeute von 65 %. Auch hier konnte ein vollständiger Umsatz erzielt werden. Der ursprünglich äquimolare Ansatz, sowie der Überschuss an *Michael*-Donor **192c** lieferten keine vollständige Umsetzung des Eduktes. Erst der Überschuss (1.2 Äq.) an *Michael*-Akzeptor **141a** resultierte in der gewünschten, vollständigen Umsetzung des Cyclopentanonmethylesters **192c**.

Als nächstes galt es die Bandbreite des Substratspektrums der Tyrosinase und dessen Limitierung zu untersuchen. Die Arbeiten von *Dennis Schröder* aus dem Institut für Bioorganische Chemie halfen dabei maßgebend für dieses Projekt sowie dessen Publikation.^[159] Zunächst wurden verschiedene Donorsubstrate zur Untersuchung des Produktspektrums in Betracht gezogen (Tabelle 8), welche zuvor bereits in einer Laccase-vermittelten Arylierungsreaktion verwendet und publiziert wurden.^[74–76] Diese sind entweder kommerziell erhältlich (Verbindungen **192c** und **b**) oder wurden wie zuvor beschrieben zunächst hergestellt (s. Kapitel 12.1.1).

Tabelle 8: Tyrosinase-vermittelte Arylierung diverser Donorsubstrate und Phenol (**141a**). [^a vollständiger Umsatz innerhalb 3–4 h]

Donor—H 0.15 mmol +  0.18 mmol → Tyrosinase aus <i>A. oryzae</i> (43 U/mL) MeCN : Tris·HCl Puffer (pH 6) 1:1.1 RT, 3 d 		
#	Donorsubstrate	Ausbeuten der Arylierungsprodukte [%]
1	 192c R = Me 192b R = Et 192a R = <i>t</i>Bu	132a R = Me [65 %] ^a 132c R = Et [55 %] 132i R = <i>t</i> Bu [51 %]
2	 195b R = Et 195c R = <i>t</i>Bu	132j R = Et [61 %] 132b R = <i>t</i> Bu [43 %]
3	 199 R = Me	132e R = Me [77 %] ^a
4	 198a R = Me 198b R = OEt	132f R = Me [77 %] ^a 132g R = OEt [70 %]
5	 200	132h [53 %]

Zunächst wurden verschieden Cyclopentanon-Derivate **192a–c** getestet (Tabelle 8; # 1). Dabei zeigte der Methylester **132a** nicht nur die beste Ausbeute mit 65 %, neben dem Ethyl- **132c** (55 %) und *tert*-Butylester **132d** (51 %), sondern zudem auch eine vollständige Umsetzung des Eduktes **192c** innerhalb 3.5 h. Ein Wechsel zu Indanonestern **195b–c** zeigte vergleichbare Ausbeuten (Tabelle 8; # 2). Ähnlich wie bei den Cyclopentanonestern **192** ist auch hier der *tert*-Butylester **195c** am wenigsten reaktiv mit einer Ausbeute des Arylierungsproduktes **132b** von 43 %. Die Arylierungsprodukte **132e–g** aus dem Isocoumarin **199** sowie den Coumarinen **198a** und **198b** resultierten in sehr guten Ausbeuten von 70–77 % (Tabelle 8; Eintrag 3 und 4). Zuletzt wurde ebenfalls ein Oxindol-Derivat **200** getestet, welches zur besseren Reinigung mit einer *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe versehen wurde. Das Arylierungsprodukt aus Oxindol **200** und Phenol (**141a**) resultierte in der Verbindung **132h** in 53 % Ausbeute. In all diesen Synthesen wird ein stereogenes Zentrum aufgebaut. Da die Tyrosinase die C-C-bindungsknüpfende *Michael*-Addition jedoch nur vermittelte, sie aber nicht aktiv katalysierte, war zu vermuten, dass keine Enantioselektivität induziert wird. Dies wurde anhand der Verbindung **132a** mittels HPLC verifiziert (Abbildung 24).

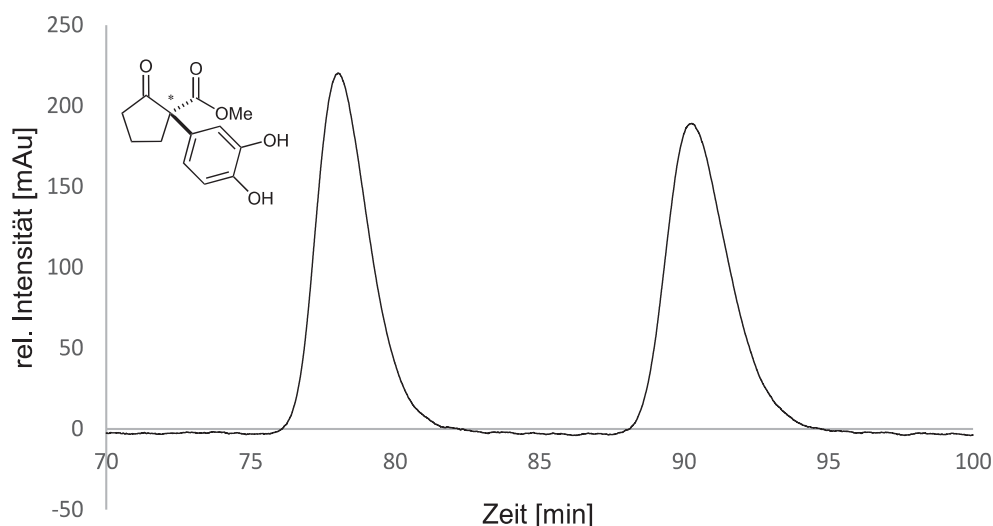
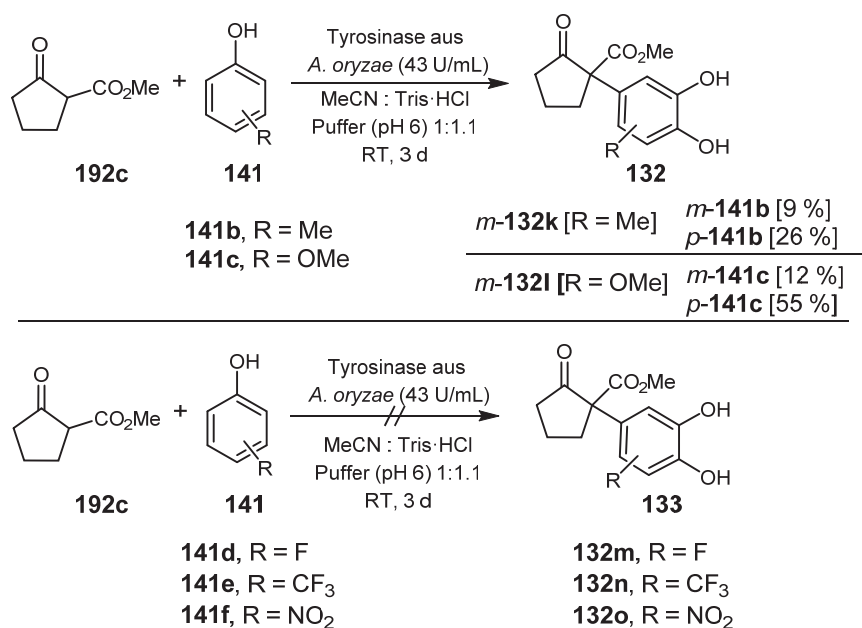


Abbildung 24: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **132a**. [Chiralpak IC (Daicel), 250*4.6 mm, 80/20 n-Heptan/Isopropanol, 0.5 mL/min, 205 nm; Retentionszeiten der beiden Enantiomere: 78.1 min und 90.3 min]

Im nächsten Schritt galt es nun, die Auswirkungen elektronenziehender und -schiebender Substituenten am Phenol **141** auf die Umsetzung mittels Tyrosinase zu untersuchen. Dabei wurden im Falle elektronenschiebender Substituenten sowohl Methyl **141b**- als auch Methoxy **141c**-Gruppen in *o*-, *m*- sowie *p*-Position des Phenols untersucht (Schema 90, oben). Zur Untersuchung elektronenziehender Effekte wurden Phenole mit einer F (**141d**-), CF₃ (**141e**-) und NO₂ (**141f**-)Funktionalität verwendet (Schema 90; unten). Dabei lässt sich allgemein sagen, dass keines der *o*-substituierten Phenole von der Tyrosinase akzeptiert wurde. Dies lag vermutlich an der sterischen Hinderung der *o*-Funktionalität zur Hydroxygruppe des Phenols. Da diese für eine erfolgreiche Umsetzung zum Chinon an das Kupferzentrum der Tyrosinase binden musste, erschien ein Substituent in direkter Nachbarschaft hinderlich zu sein. Die Edukte *m*- sowie *p*-Methyl **141b**- als auch Methoxyphenol **141c** wurden beide zum jeweiligen *m*-Arylierungsprodukt **132k** bzw. **132l** umgesetzt. Dabei zeigte die Methoxyfunktionalität eine höhere Umsatzrate bei Ausbeuten von 12–55 % als die Methylgruppe mit 9–26 %. Die elektronenziehenden Funktionalitäten wirkten dem gegenüber deaktivierend und zeigten nahezu keine Umsetzung zum gewünschten Produkt. Außer dem Fluorphenol **141d**, welches geringe Umsetzung nach drei Tagen zeigte, wobei <2 % Produkt **132m** in nicht reiner Form isoliert werden konnte, zeigten weder die Nitro **141f**- noch die Trifluor **141e**-Funktionalität eine Umsetzung innerhalb des untersuchten Zeitrahmens.



Schema 90: Auswirkung elektronenziehender und -schiebender Substituenten am Phenol (**141**) auf die Umsetzung mittels Tyrosinase.

Nachdem nun die Effekte der verschiedenen Phenole – als Derivat des natürlichen Substrates der Tyrosinase – untersucht wurden, sollte im Folgenden gezeigt werden, dass die Reaktionssequenz ebenfalls ausgehend vom Catechol (**133c**) durchgeführt werden kann. D.h., der Fokus lag ausschließlich auf die Catecholase-Aktivität der Tyrosinase. Dabei galt es ebenfalls heraus zu finden, welche der zwei katalysierten Schritte des Enzyms der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist. Mit Hilfe von *Michaelis-Menten*-Kinetiken, welche in der Masterarbeit von *Jan Gebauer*^[162] aus dem Institut für Bioorganische Chemie angefertigt wurden (Abbildung 25), sowie den empirischen Daten aus der Umsetzung in der Arylierungsreaktion (Schema 91) konnte gezeigt werden, dass wie erwartet die Hydroxylierung des Phenols (Phenolaseaktivität) der limitierende Schritt ist, jedoch die Umsetzung zum Arylierungsprodukt ausgehend vom Phenol (**141a**) oder Catechol (**133c**) keinen Unterschied macht. Die *Michaelis-Menten*-Kinetik zeigte deutlich, dass Phenol (**141a**) in Anbetracht des geringeren K_M -Wertes zwar das präferierte Substrat der Tyrosinase ist, Catechol (**133c**) allerdings weitaus schneller umgesetzt wurde (Abbildung 25, A). Wurden dazu die Ausbeuten der Umsetzungen von Phenol (**141a**) und Catechol (**133c**) (Schema 91; Eintrag 1, resp. 4) in der Arylierungssequenz miteinander verglichen, so zeigten diese kaum einen Unterschied. Unter Betrachtung der Ausbeute von 69 % im Falle der Arylierung des Cyclopentanonethylesters **192b** mit Catechol (**133c**) (Schema 91, Eintrag 5) im Vergleich zur Arylierung ausgehend von Phenol (**141a**) (Tabelle 8, Eintrag 1), machte sich ein Ausbeuteunterschied von 14 % bemerkbar. Dies verdeutlichte ebenfalls, dass die Quantifizierung dieser Reaktion ausschließlich nach der letzten Stufe stattfinden und deshalb keine genauen, sondern nur relative, Aussagen über die Reaktivität getroffen werden konnten,

da die Ausbeute nicht nur von der Substratspezifität der Tyrosinase abhängt, sondern auch von z.B. der C-H-Azidität der jeweiligen β -Dicarbonylspezies.

$$\text{Donor-H } \mathbf{192c/b} \text{ (0.15 mmol)} + \text{Phenol } \mathbf{141a} \text{ oder } \text{o-Catechol } \mathbf{133c} \text{ (0.18 mmol)} \xrightarrow[\text{MeCN: Puffer (pH 6) 1:1.1, RT, 3d}]{\text{Tyrosinase aus } A. \text{ oryzae (43 U/mL)}} \text{Donor-} \text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2 \text{ } \mathbf{132a} \text{ bzw. } \mathbf{c}$$

Eintrag	Donor	Akzeptor	Additive	Puffer	Arylierungsprodukt 183a/c [%]
1	192b	141a	-	Tris*HCl	132c [53 %]
2	192b	141a	5 mol% H ₂ O ₂	Tris*HCl	132c [56 %]
3	192b	141a	-	KP _i	132c [48 %]
4	192c	131c	-	Tris*HCl	132a [57 %]
5	192b	131c	-	Tris*HCl	132c [69 %]
6*	192c	141a	-	Tris*HCl	132a [26 %]

* fünffacher Reaktionsansatz

Schema 91: Vergleich der Arylierung ausgehend von Phenol (**141a**) oder Catechol (**133c**) in Gegenwart von H₂O₂ als Additiv oder unterschiedlichen Puffersystemen. [Tris·HCl Puffer: 10 mM; KP_i: 50 mM]

Des Weiteren wurde der Einfluss des Puffers untersucht. Es ist bekannt, dass Chloridionen die Tyrosinase inhibieren,^[160,161] weshalb die Kinetiken ebenfalls in Gegenwart von KP_i-Puffer aufgenommen wurden (Abbildung 25, B). Dabei ist zu erkennen, dass die Reaktion, vor allem die Oxidation des Catechols (**133c**), schneller vonstattengeht als in Gegenwart des Tris·HCl-Puffers. Werden jedoch erneut die experimentell erhaltenen Ausbeuten in der Synthese der Verbindung **132c** verglichen (Schema 91; Eintrag 1, resp. 3), so lässt sich sagen, dass die Wahl des Puffers keine Auswirkung auf die Produktmenge hat. Auch die Zugabe einer geringen Menge an einem Additiv wie Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel zeigt keine Steigerung der Ausbeute (Schema 91, Eintrag 2).

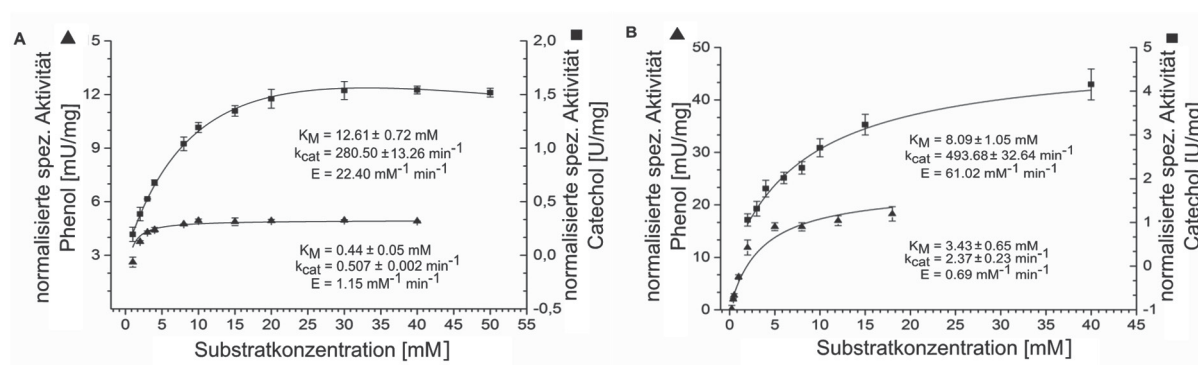
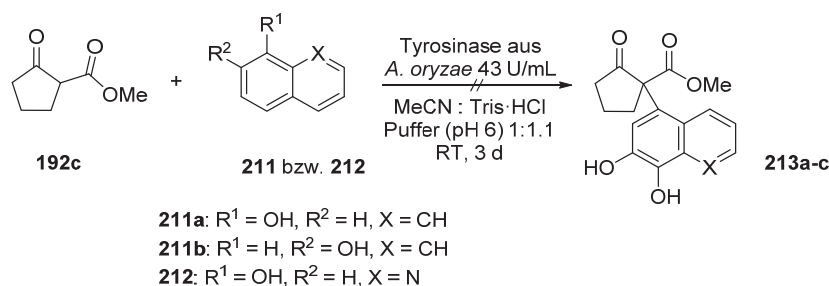


Abbildung 25: Michaelis-Menten-Kinetiken der Umsetzung von Phenol (**141a**) und Catechol (**133c**) durch die Tyrosinase im Vergleich.^[162] [A in Tris·HCl:MeCN 1:1; B in KP_i:MeCN 1:1]

Zudem wurde ebenfalls getestet, ob die Anwendung der Tyrosinase höher skalierbar ist. Dazu wurde unter gleichen Bedingungen der fünffache Reaktionsansatz des Cyclopentanons **192c** mit Phenol (**141a**) getestet (Schema 91, Eintrag 6). Während diese Reaktionspartner unter den gegebenen Bedingungen sonst vollständigen Umsatz innerhalb 3 h zeigten, konnte im größeren Ansatz keine vollständige Umsetzung des Esters **192c** beobachtet werden. So konnten nach drei Tagen nur 26 % des gewünschten Arylierungsproduktes **132a** isoliert werden.



Schema 92: Versuch der Umsetzung von Naphtholen **211a** & **211b** sowie 8-Hydroxychinolin (**212**) mittels Tyrosinase.

Abschließend wurden ebenfalls Naphthol- und Chinolin-Derivate auf ihre Akzeptanz getestet. Dabei wurde versucht sowohl 1-Naphthol (**211a**) bzw. 2-Naphthol (**211b**) als auch 8-Hydroxychinolin (**212**) mittels Tyrosinase unter den gleichen Bedingungen wie zuvor beschrieben umzusetzen (Schema 92). Leider konnte aber in dem Falle keine Umsetzung der Substrate zu den gewünschten Arylierungsprodukten **213** innerhalb von drei Tagen beobachtet werden.

12.1.6 Exkurs: Arylierungsprodukte als ‚priming‘-Substrate

In einem BioSC-Projekt in Kooperation mit der RWTH Aachen, Universität Bonn, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf sowie dem Forschungszentrum Jülich wurden zudem die Arylierungsprodukte **132b**, **132c**, sowie **132j** als ‚priming‘-Substrate getestet. Das Wort ‚priming‘ bedeutet hierbei, dass die in dem Fall untersuchten Pflanzen (*Arabidopsis thaliana*) in ihrem Immunsystem durch die Substrate ‚gestärkt‘ wurden. Ziel des dafür entwickelten Assays zur Identifizierung Immun-aktivierender Substanzen war die effektive Pflanzenschutzung durch nachhaltige Chemikalien, was den Pflanzenschutz ökologisch wertvoll und weniger anfällig gegenüber Pathogenen und anderen Plagen macht. Dabei stellte sich vor allem Verbindung **132a** als besonders gutes ‚priming‘-Substrat heraus. Dies zeigt, dass auch diese relativ kleinen Bausteine, welche in einer simplen Tyrosinase-vermittelten Oxidations-Arylierungs-Reaktion hergestellt wurden, biologisch aktiv sein können.

Kurzzusammenfassung des Kapitels

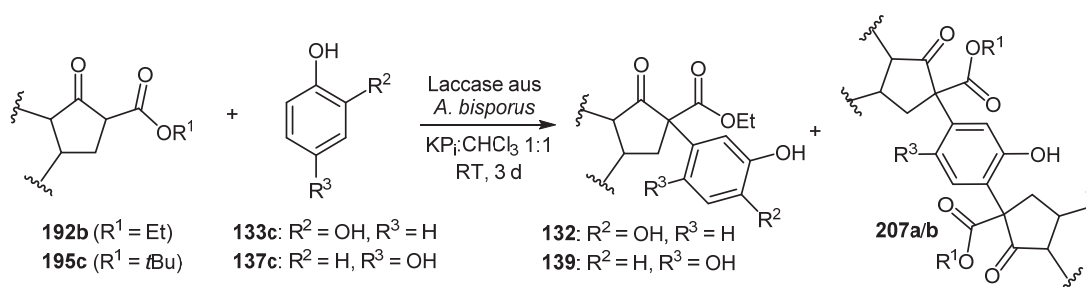
- Elf verschiedene Arylierungsprodukte **132a–132j** konnten mit Hilfe der Tyrosinase aus *A. oryzae* in moderaten bis guten Ausbeuten von 9–77 % hergestellt werden.
- *o*-substituierte Phenole werden nicht akzeptiert.
- Elektronenschiebende Substituenten begünstigen die Produktsynthese.
- *Michaelis-Menten* Kinetiken bestätigten die Monophenolaseaktivität der Tyrosinase als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt.
- Eine Hochskalierung der Arylierungssequenz mittels Tyrosinase zeigte Einbußen sowohl in der Umsatzrate als auch in der finalen Produktausbeute.
- 1- bzw. 2-Naphthol (**211a** bzw. **b**) sowie 8-Hydroxychinolin (**212**) wurden nicht als Substrat akzeptiert.

13 ZUSAMMENFASSUNG & AUSBLICK BIOKATALYSE

Kombination aus Biokatalyse und Organokatalyse

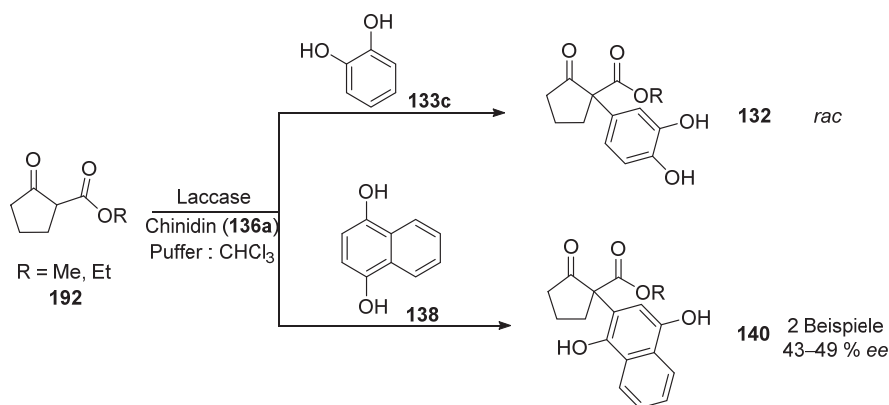
Der erste Themenschwerpunkt des Biokatalyseprojektes befasste sich mit der Laccase-katalysierten Oxidation von Hydrochinon **137c** und Catecholen **133** und die daran anschließende *Michael*-Addition dieser intermediär gebildeten Chinone mit diversen β -Dicarbonylen **135**. Da die Produkte ein stereogenes Zentrum enthalten sollte zudem der Fokus auf die Kombination der Laccase-vermittelten Reaktion mit einem auf Cinchona-Alkaloiden basierenden Organokatalysator **136** gelegt werden. Da die Laccase selbst nicht in der Lage ist Enantioselektivität zu induzieren sollte so die Möglichkeit zur Selektivität gegeben werden.

Bei initialen Experimenten mit Hydrochinon **137c** als Substrat der Laccase konnte in zwei Fällen (unter Verwendung der Donatoren **192b** und **195c**) festgestellt werden, dass in eine doppelte Arylierungsreaktion zu den entsprechenden Produkten **207a** bzw. **b** stattfindet (Schema 93). Die Verwendung von Catecholen **133** ergab hingegen ausschließlich die Bildung einfach arylierter Produkte **132b** bzw. **132c**.



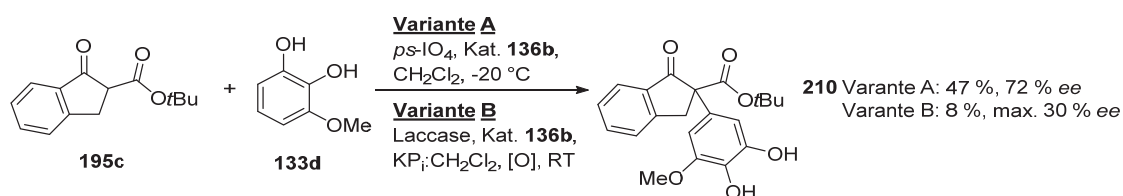
Schema 93: Einfluss der Verwendung von Catecholen **133c** oder Hydrochinonen **137c** auf die Bildung von einfach **132/139** oder doppelt **207** arylierten Produkten bei der Laccase-vermittelten *Michael*-Addition.

Während die Verwendung von Catechol (**133c**) in den darauffolgenden Experimenten zur Kombination der Laccase mit dem Organokatalysator Chinidin **136a** keine enantiomerenangereicherten Arylierungsprodukte **132** aufweisen konnte (Schema 94, oben), zeigte die Verwendung von 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) hingegen in zwei Beispielen Enantioselektivitäten von 43–49 % *ee* auf (Schema 94, unten). Dabei sei anzumerken, dass in initialen Arylierungsreaktionen ohne Enzym und ausschließlich in Gegenwart von organischem Lösungsmittel und Organokatalysator sowie unter Verwendung des kommerziell erhältlichen 1,4-Naphthochinons (**208**) 44 % *ee* in CHCl_3 und eine maximale Enantioselektivität von 54 % *ee* des Arylierungsproduktes **209** in Dichlormethan erhalten werden konnte.



Schema 94: Einfluss des Organokatalysators auf die Umsetzung von Cyclopentanonestern **192a/b** mit Dihydroxynaphthalin **138** bzw. Catechol (**133c**).

Die Verwendung von verschiedenen Derivaten der Cinchona-Alkaloid-basierten Organokatalysatoren **136** zeigten unter der Betrachtung der Reaktion von Indanonestern **195c** und 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) zwar geringere Selektivitäten, welche sich auf ihre Struktur und die damit einhergehende geringere Koordinationsmöglichkeit zurückführen lässt, jedoch konnte hier eine umgekehrte Enantiomerenanreicherung in Gegenwart des Katalysators **136d** beobachtet werden. Auch wenn eine genaue Zuordnung der HPLC-Signale zu dem entsprechenden (*R*)- bzw. (*S*)-Enantiomer der Arylierungsprodukte in der vorliegenden Arbeit noch nicht durchgenommen wurde, so ist die Tatsache, dass die jeweiligen Enantiomere durch die Wahl des Organokatalysators Chinidin (**136a**) bzw. **136d** unterschiedlich angesprochen werden können, von Interesse. Sollte eine Fortführung dieses Projektes in Betracht gezogen werden, wäre sicherlich die Kombination des Indanonesters **195c** und 1,4-Dihydroxynaphthalins (**138**) aufgrund ihres sterischen Anspruches in einer Arylierungsreaktion gemäß *Aleman et al.* interessant zu untersuchen (s. 12.1.3, Schema 87). Dadurch könnten genauere Beziehungen zum Einfluss der Größe der Donatoren auf die Selektivität der Arylierungsreaktion hergestellt werden.



Schema 95: Arylierungsreaktion des Indanonesters **195c** mit 3-Methoxycatechol (**133d**) unter Verwendung eines chemischen Oxidationsmittels gemäß *Bogle et al.* (Variante A) im Vergleich zur enzymatischen Oxidation mittels Laccase (Variante B).

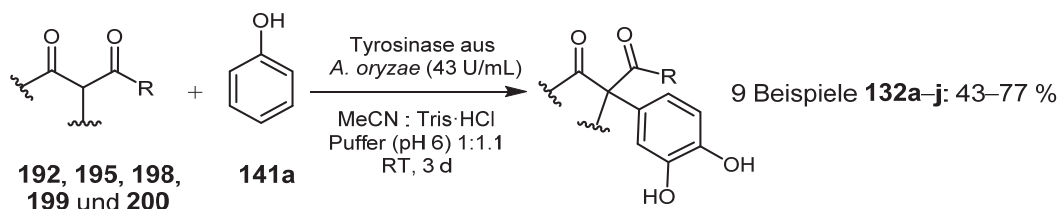
Das publizierte System zur Herstellung des Arylierungsproduktes **210** unter Verwendung von Periodat als Oxidationsmittel nach *Bogle et al.*^[149,163] konnte reproduziert werden (Schema 95). Zwar konnte der derivatisierte Organokatalysator **136b** nicht in gleicher Menge hergestellt werden,^[150] jedoch reichte die Ausbeute um erste Versuche ebenfalls unter

Laccase-katalysierten Bedingungen zu testen. Es zeigte sich hierbei, dass der Organokatalysator zwar Selektivität induziert (bis zu 30 % ee im Zweiphasensystem, s. Schema 95, Variante B) allerdings die Reaktion des 3-Methoxycatechols (**133d**) unter diesen Bedingungen weniger von der Laccase selbst, als durch spontane Oxidation geschah. Auch in diesem Zusammenhang wäre nicht nur eine Optimierung der Synthese des Organokatalysators **136d** wünschenswert, da dieser prinzipiell eine gute Selektivität aufzuweisen scheint, sondern auch eine genauere Untersuchung seiner Anwendbarkeit in Gegenwart der Laccase im Zweiphasensystem. Dazu sollten die alternativen Laccasen ebenfalls untersucht werden. Eventuell ermöglicht die alkalophile Laccase Ss/1 aus *S. sviveus* eine bessere und schnellere Umsetzung des 3-Methoxycatechols (**133d**), sodass die Hintergrundreaktion vernachlässigbar wäre. Unter dem Aspekt der Minimierung der Hintergrundreaktion und Erhöhung der Selektivität könnten auch hier erneut sowohl Lösungsmittel als auch Temperaturvarianten untersucht werden.

Anwendung der Tyrosinase aus *A. oryzae* in der Arylierungsreaktion

Der zweite Themenschwerpunkt aus dem Projekt der Biokatalyse befasste sich mit der Etablierung der Tyrosinase aus *A. oryzae* im Hinblick auf ihre Anwendung in der organischen Synthese. Im Rahmen dieser Etablierung wurde *E. coli* erfolgreich mit dem Plasmid der *me/B* Tyrosinase aus dem Organismus *Aspergillus oryzae* in Anlehnung an das Protokoll der Kooperationspartner transformiert, das Tyrosinase-kodierende Gen exprimiert sowie das Enzym gereinigt.^[119–122]

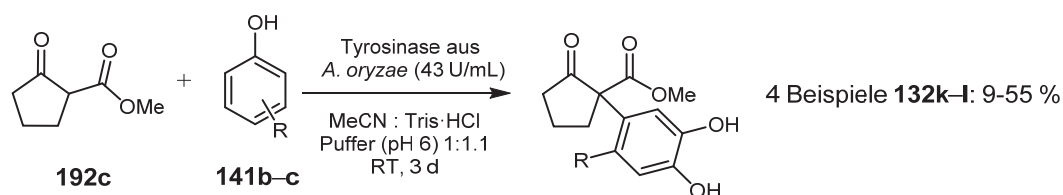
Die geplante Verwendung der Tyrosinase in einer drei-stufigen Eintopf-Synthese zur Synthese von Arylierungsprodukten **132a–j** ausgehend von Phenol (**141a**) und verschiedenen Donorsubstraten **192,195,198,199** und **200** ist gelungen. So konnten in diesem Fall neun Verbindungen synthetisiert werden mit moderaten bis guten Ausbeuten von 43–77 % (Schema 96).



Schema 96: Synthese von neun verschiedenen Arylierungsprodukten **132a–j** unter Verwendung verschiedener β -Dicarbonyle und Oxindol.

Darüber hinaus galt es ebenfalls substituierte Phenole **141b–f** und im Hinblick auf die Bandbreite an Substratazeptanz der Tyrosinase zu untersuchen. Dazu wurde zwischen Phenolen mit Elektronen-ziehenden und -schiebenden Effekten unterschieden. Im Falle der Elektronen-schiebenden Substituenten am Phenol, wie *meta*- und

para-Methyl **141b**- bzw. -Methoxyfunktionalitäten **141c**, konnten jeweils die selektiv *para*-substituierten Arylierungsprodukte **132k–l** in Ausbeuten von 9–55 % isoliert werden (Schema 97).



Schema 97: Synthese vierer Arylierungsprodukte **132k–l** unter Verwendung von Phenolen **141b–c** mit elektronenschiebenden Funktionalitäten.

In Gegenwart von elektronenziehenden Funktionalitäten wie F-, CF₃- oder NO₂-Gruppen am Phenol, konnten keine Umsetzungen zu den entsprechenden Arylierungsprodukten beobachtet werden. Einzig die fluorierten Phenole **141d** zeigten Spuren von Produkt **132m**, welches aber kaum isoliert werden konnte. Zudem konnte bei keinem der *o*-substituierten Phenole eine Umsetzung beobachtet werden, was vermutlich an der für die Hydroxylierung und Oxidation hinderlichen Position des Substituenten lag. Versuche, Verbindungen, wie Naphthole **211** oder Chinolin **212**, mit Hilfe der Tyrosinase umzusetzen, scheiterten ebenfalls.

Abschließende Kinetiken, sowie die entsprechenden experimentellen Umsetzungen der Tyrosinase in Gegenwart von Phenol (**141a**) im Vergleich zu Catechol (**133c**), bestätigten die Annahme, dass die Hydroxylierung – also der erste katalytische Schritt der Tyrosinase – der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist. Zwar wird das Phenol (**141a**), da es dem natürlichen Substrat Tyrosin (**172**) am ähnlichsten ist, eher akzeptiert, jedoch wird das Catechol (**133c**) als Substrat schneller umgesetzt, was sich auch experimentell durch eine Produkterhöhung um 10 % bei der Verwendung von Catechol (**133c**) statt Phenol (**141a**) in der Arylierungssequenz zeigte.

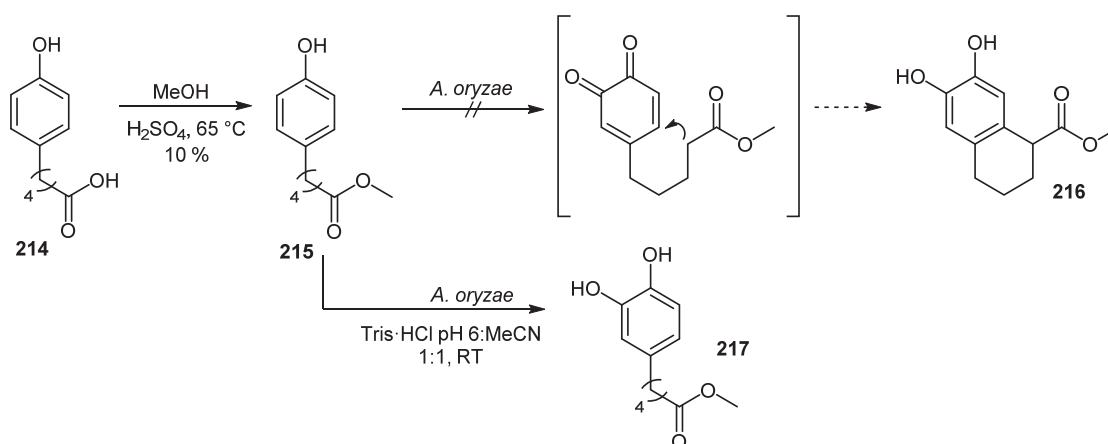
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass erste Anwendungen der Tyrosinase in der organischen Synthese erfolgreich waren und das Enzym auch in Gegenwart eines gemischten Lösungsmittelsystems aus Puffer und organischem Lösungsmittel stabil und funktionsfähig ist. Die gesammelten Ergebnisse konnten publiziert werden^[159] und bilden die Grundlage für weitere Anwendungsmöglichkeiten dieses Enzymes. Im Hinblick auf die im vorherigen Kapitel erwähnten Versuche einer selektiven Arylierungsreaktion, wäre die Kombination der Tyrosinase-vermittelten Reaktion mit einem Organokatalysator ebenfalls denkbar.

14 ERWEITERTER AUSBLICK DER BIOKATALYSE

Im folgenden Kapitel soll es darum gehen, welche Möglichkeiten sich noch ergeben könnten im Hinblick auf Tyrosinase- oder Laccase-vermittelte Reaktionen. Diese Ideen basieren z.T. auf erste Versuche, die nur sporadisch getestet, aber nicht im Detail weiter ausgeführt wurden. Dieses Kapitel wird zwar in Tyrosinase- bzw. Laccase-vermittelte Reaktionen getrennt, da entsprechende initiale Versuche mit den jeweiligen Enzymen gestartet wurden, allerdings besteht meistens die Möglichkeit das jeweils andere Enzym ebenfalls für die Reaktionen zu nutzen.

14.1 Möglichkeiten der Tyrosinase-vermittelten Reaktion

Wie in Kapitel 12.1.5 beschrieben, lassen sich mit Hilfe der Tyrosinase aus *A. oryzae* substituierte phenolische Substanzen – darunter bevorzugt *p*-substituierte – in ein bestimmtes Target umwandeln. Eine neue Möglichkeit bietet ein aliphatischer Rest in *p*-Position des Phenols. Mit einer funktionellen Gruppe, welche in α -Position eine azide Position trägt wäre nach katalysierter Hydroxylierung und Oxidation zum Chinon ein intramolekularer Ringschluss (*Michael*-Addition) möglich (Schema 98). Diese Idee wurde auch bereits von Suljić^[73] beschrieben sowie von Vo *et. al.* unter Verwendung der Imin-Katalyse publiziert.^[164]

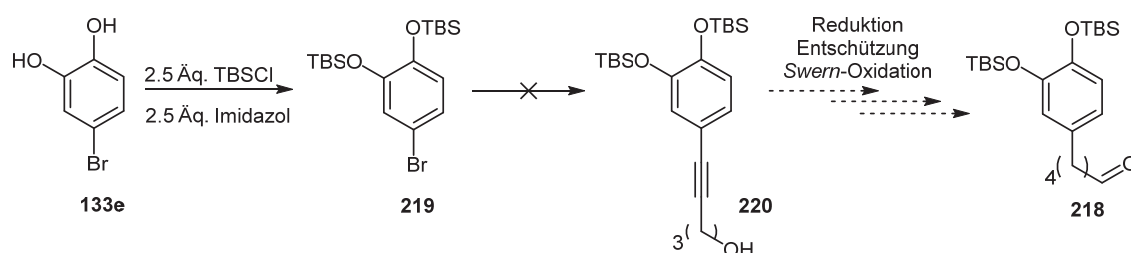


Schema 98: Erste Versuche zur Tyrosinase-vermittelten intramolekularen Zyklisierung.

Ausgehend von der kommerziell erhältlichen Säure **214** wurde zunächst der Ester **215** hergestellt. Die Position α zum Ester **215** war jedoch nicht azide genug, um in einer Tyrosinase-Reaktion zum gewünschten Ringschlussprodukt **216** zu zyklisieren. Stattdessen konnte jedoch das *o*-hydroxylierte Produkt **217** in geringer Menge isoliert werden. Da es sich hierbei nur um einen Test handelte wurden weder Enzymmenge noch dessen Aktivierung genau kalkuliert, weshalb hier die Reaktionsbedingungen und die damit einhergehenden Ausbeuten definitiv noch verbessert werden können. Interessanterweise ist das Produkt **217**

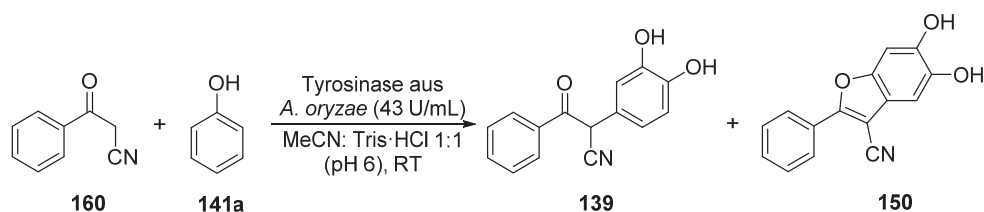
zwar käuflich erwerblich, allerdings vergleichsweise teuer und somit ein interessantes Target für die Tyrosinase-vermittelten Reaktionen.

Statt der Esterfunktionalität sollte basierend auf der Strategie nach *Suljić* ein Aldehyd **218** für diese Reaktion von Vorteil sein. Da die in Schema 99 dargestellte Route auch mit der Laccase möglich ist – dabei jedoch ausgehend vom Catechol – wurde die folgende Synthesesequenz beginnend vom 4-Bromcatechol (**133e**) getestet. Die initialen Versuche zur Synthese des Aldehyds **218** ausgehend vom 4-Bromcatechol (**133e**) scheiterten jedoch an der Umsetzung der TBS-geschützten Verbindung **219** mit Pentinol zur Generierung des *Sonogashira*-Kupplungsproduktes **220**.



Schema 99: Syntheseroute zur Herstellung des Aldehyds **218** ausgehend von 4-Bromcatechol (**133e**). Alternativ könnte die Synthese ausgehend von der entsprechenden iodierten Verbindung versucht werden.

Wie in Kapitel **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** beschrieben, publizierten *Cannatelli et al.* eine Laccase-vermittelte α -Arylierung von Benzoylacetonitril (**160**) mit substituierten Hydrochinonen **137**.^[107] Mit der Tyrosinase wäre hier ebenfalls eine Arylierung ausgehend von (substituierten) Phenolen **141** denkbar. Neben dem einfachen Arylierungsprodukt **139** wäre durch eine weitere Oxidation ebenfalls eine Zyklisierung zum entsprechenden Benzofuran **150** denkbar, so wie bereits von *Nematollahi et al.* beschrieben (Schema 100).^[108]



Schema 100: Tyrosinase-vermittelte Arylierung von Benzoylacetonitril (**160**) und Phenol (**141a**).

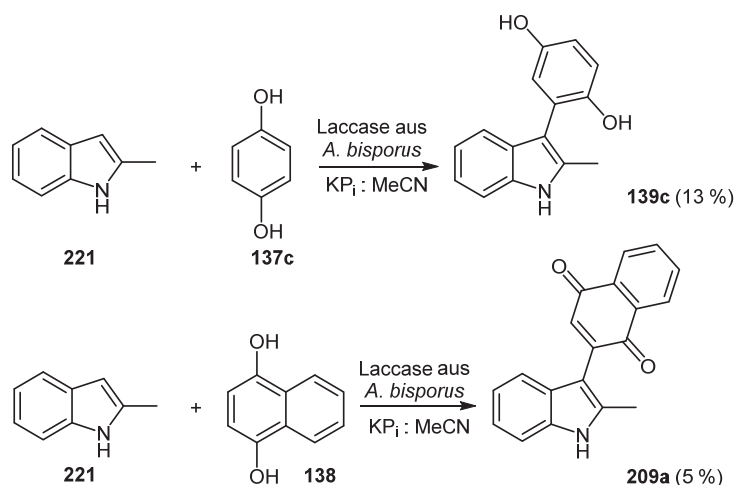
Die Reaktion wurde bereits im kleinen Maßstab ausprobiert und es entstanden diverse Produkte, die allerdings bisher noch nicht identifiziert bzw. nicht in ausreichender Menge isoliert werden konnten. Die Tatsache, dass hierbei ebenfalls Benzofurane generiert werden können, macht die Reaktion so attraktiv. Die Cyanogruppe bietet eine weitere Möglichkeit zur

Diversifizierung. Gleiches gilt für die Tyrosinase-vermittelte Reaktion, bei der durch substituierte Benzylacetonitril-Substrate **160** oder aber durch substituierte Phenole **141a** eine Bandbreite an Verbindungen generieren werden kann. Auch hier besteht die Möglichkeit die Reaktion mittels Laccase umzusetzen, dies jedoch basierend auf Catecholen (**133**) statt Phenolen (**141**).

14.2 Möglichkeiten der Laccase-vermittelten Reaktion

14.2.1 Arylierung von Indolen

In einem Nebenprojekt der Arylierungen mittels Laccasen wurden Indole als potenzielle *Michael*-Donatoren untersucht. Schema 101 zeigt hierbei die Arylierung von 2-Methylindol (**221**) mit Hydrochinon (**137c**) bzw. 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**) unter Verwendung der Laccase aus *A. bisporus*. Obwohl die Reaktion drei Tage lief und auch eine vollständige Umsetzung der jeweiligen Dihydroxyverbindungen beobachtet werden konnte, so wurden nur Ausbeuten von 5–13 % für die entsprechend arylierten Produkte **139c** bzw. **209a** erzielt.

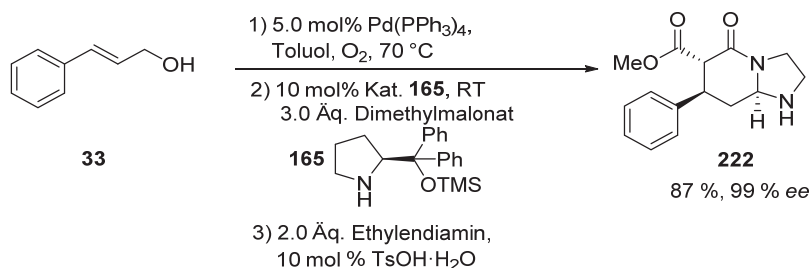


Schema 101: Laccase-vermittelte Arylierungsreaktion von 2-Methylindol (**221**) mit Hydrochinon (**137c**) und 1,4-Dihydroxynaphthalin (**138**).

Das Dünnschichtchromatogramm zeigte eine Vielzahl an Nebenprodukten, die, wenn sie isoliert werden konnten, keiner bestimmten Struktur zugeordnet werden konnten. Das Potential dieser Reaktion ist gegeben, da auch die Indole eine interessante Gruppe für Naturstoffbausteine darstellen, allerdings müssten alternative Reaktionsbedingungen getestet werden. Hierfür könnten alternative Laccasen zum Einsatz kommen oder Parameter wie Lösungsmittel und Temperatur variiert werden.

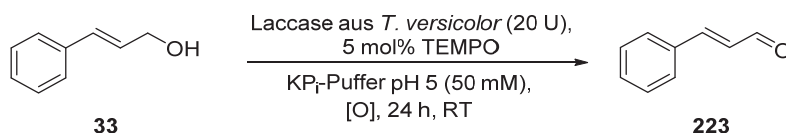
14.2.2 Synthese bizyklischer Lactame

Eine Möglichkeit zur Herstellung interessanter bizyklischer Lactame **222** wurde von *Jiang et al.* gezeigt (Schema 102).^[165] Die Kaskade startet dabei von einem Allylalkohol, hier Zimtalkohol (**33**), welches in einer Palladium-katalysierten Oxidation zum entsprechenden Aldehyd **223** umgesetzt wird. Im folgenden Schritt wird über ein chirales Amin **165** die Addition des Malonsäuredimethylesters (**224**) dirigiert und schlussendlich mittels Ethylendiamin (**225**) zum Lactam **222** cyclisiert.



Schema 102: Synthese bizyklischer Lactame **222** nach *Jiang et al.*^[165]

Interessant am vorliegenden Beispiel ist die alternative Verwendung einer Laccase-TEMPO-katalysierten Oxidation des Zimtalkohols (**33**), statt der zuvor beschriebenen Palladium-katalysierten Variante. Auch hierbei wird molekularer Sauerstoff als Oxidationsmittel verwendet (Schema 103). Alle darauffolgenden Schritte fanden im selben Kolben statt.



Schema 103: Oxidation von Zimtalkohol (**33**) zum entsprechenden Aldehyd **223** unter Verwendung eines Laccase-Mediator-Systems.

Es wurde dabei zunächst das Beispiel des Zimtalkohols (**33**) gewählt, da sowohl Alkohol **33** als auch der entsprechende Aldehyd **223** kommerziell erhältlich und stabil sind (s. Referenz Abbildung 26 A und B). Selbstverständlich spricht der Vorteil der Verwendung der Laccase für eher anspruchsvollere eventuell höher substituierte Allylalkohole. Mittels GC/MS konnte nach 24 h eine vollständige Umsetzung des Alkohols **33** zum Aldehyd **223** nachgewiesen werden (Abbildung 26 C).

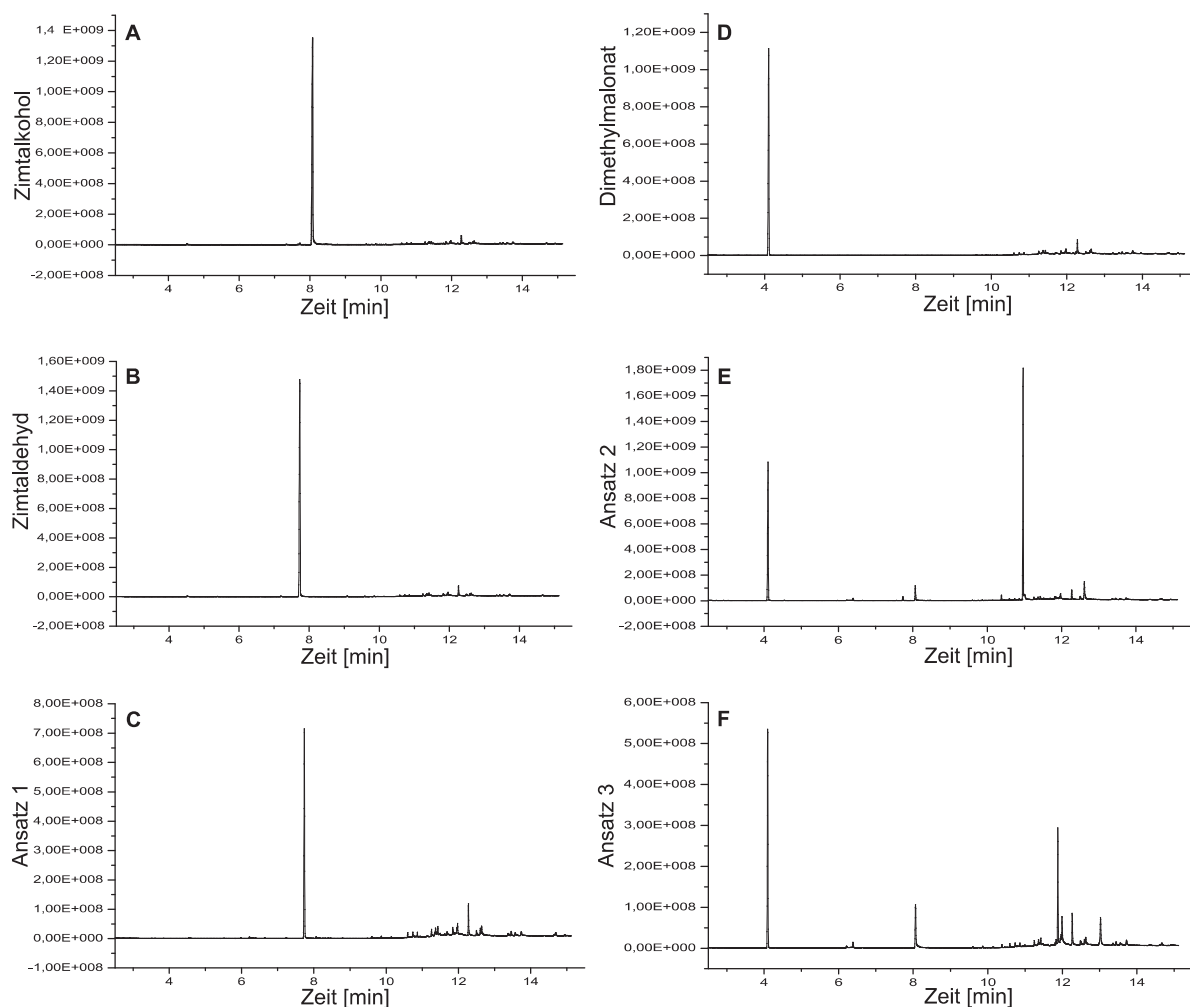
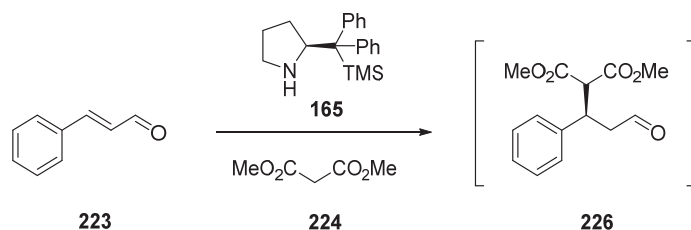


Abbildung 26: GC/MS-Spektren der einzelnen Schritte zur Synthese des Lactams **222**. [A Referenz: Zimtalkohol (**33**); B Referenz: Zimtaldehyd (**223**); C Ansatz 1: Resultat der Laccase/Tempo-vermittelten Umsetzung von Zimtalkohol (**33**); D Referenz: Dimethylmalonat; E Ansatz 2: Resultat der Organokatalysator-vermittelten Umsetzung des Zimtaldehydes (**223**) mit Dimethylmalonat; F Ansatz 3: Resultat der finalen Umsetzung des Intermediates **226** mit Ethylendiamin]

Der nächste Schritt erfolgte über eine Imin-Katalyse und sollte das Additionsprodukt **226** aus dem Aldehyd **223** und dem Malonsäuredimethylester [(**224**), s. Referenz Abbildung 26 D] generieren (Schema 104). Die Überprüfung mittels GC/MS zeigte ebenfalls die vollständige Umsetzung des Aldehyds **223** nach einem Tag, sowie das Signal für das im Überschuss hinzugegebene Malonat **224** (Abbildung 26 E).



Schema 104: Asymmetrische Addition von Malonat **224** an Zimtaldehyd (**223**).

Nach Zugabe des Ethylendiamins (**225**) blieb allerdings die Bildung des gewünschten Produktes **222** aus (Abbildung 26 F). Das ^1H -NMR-Spektrum des Rohproduktes zeigte nicht die gewünschten Signale. Hier gilt es die Intermediate der einzelnen Stufen – vor allem der Stufe nach Zugabe des Malonats **224** bzw Ethylendiamins (**225**) – mittels Massenspektrometrie und Kernresonanzspektroskopie genauer zu untersuchen, um herauszufinden, weshalb es nicht zum gewünschten Produkt **222** kommt. Zudem sollte u.U. das Lösungsmittel variiert werden. Die komplette Reaktionssequenz wurde in Puffer durchgeführt, während in der Publikation EtOH verwendet wurde. Die Umsetzung der Laccase-Reaktion in Ethanol und/oder in einer Mischung aus Ethanol und Puffer, sollte in Betracht gezogen und getestet werden.

15 EXPERIMENTALTEIL

15.1 Chemische Methoden

Chemikalien und Lösungsmittel

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen *Sigma-Aldrich*[®], *Alfa Aesar*[®], *VWR International*[®] sowie *Fisher Scientific* erworben. Die verwendeten Lösungsmittel wurden entweder im wasserfreien Zustand bei den oben genannten Firmen erworben oder - im Falle von Tetrahydrofuran, Toluol, Dichlormethan sowie Diethylether - über eine Lösungsmitteltrocknungsanlage der Firma MBraun Inertgas Systeme GmbH (MB SPS 800) getrocknet.

Chromatographische Reinigung und Identifizierung

Für die Reaktionsansätze, welche sich säulenchromatographisch trennen ließen, wurde entweder Kieselgel der Firma *Macherey-Nagel* (230–400 mesh) oder im Falle der Synthesen von **11a–d** Florisil der Firma *VWR* (60–100 mesh) verwendet. Der Reaktionsverlauf wurde mit Hilfe von DC-Platten der Firma *Macherey-Nagel* POLYGRAM[®] SIL G/UV₂₅₄ untersucht. Die Detektion der Banden erfolgte durch UV-Absorption sowie mit Hilfe von Färbereagenzien wie einer Cer-Molybdat- [12.5 g Phosphormolybdänsäure, 5.0 g Ce(SO₄)₂·4 H₂O, 30 mL konz. H₂SO₄, 470 mL H₂O] oder Kaliumpermanganatlösung. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer der Firma Büchi evaporiert.

Des Weiteren wurden für säulenchromatographische Trennverfahren eine MPLC-Anlage der Firma Biotage (Isolera Four) sowie HPLC-Anlage der Firma Dionex (UltiMate 3006, Column Compartment UHPLC⁺_{focused}) verwendet.

Reaktionsverfolgung mittels GC/MS: Dazu wurde ein Aliquot der Probe entnommen und in ein Probenglas überführt und über ein Zweiphasensystem aus NH₄Cl und EtOAc oder MTBE ausgeschüttelt. Die obere organische Phase wurde entnommen und über Celite in ein GC-*Vial* abfiltriert und mit EtOAc/MTBE verdünnt. Die Messung erfolgte an einem Gerät der Firma Hewlett Packard (HP 6890 Series GC System/ Hewlett Packard 5973 Mass Selective Detector).

NMR: Die zu vermessende Probe wurde in 0.5–0.6 mL eines deuterierten Lösungsmittels (Chloroform-*d*, D₂O, Aceton-*d*₆ oder DMSO-*d*₆; entsprechend an der jeweiligen Auswertung gekennzeichnet) der Firma Carl-Roth GmbH oder Deutero GmbH gelöst und im NMR-Gerät 600 (oder 300) Ultra Shield[™] der Firma Bruker vermessen. Sämtliche Spektren wurden grundsätzlich auf das Lösungsmittelsignal normiert.

Drehwertmessung: Hierbei wurden die Proben in Chloroform (HPLC-grade) gelöst und im Gerät der Firma PerkinElmer (Model 34/Polarimeter) vermessen. Zur Auswahl gab es zwei Küvetten, zum einen eine für 1 mL Probenvolumen (Schichtdicke von 1 dm) und zum anderen für kleinere Volumina von ~550 µL (Schichtdicke von 0.1 dm).

IR-Messung: Hierfür wurde das Spektrometer der Firma PerkinElmer (Spectrum One, FT-IR Spectrometer) bzw. das Spektrometer FT-IR Spectrum Two der Firma Perkin Elmer verwendet.

HPLC: Sämtliche Chromatogramme wurden mittels einer HPLC-Anlage von Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 vermessen. Dazu wurden folgende Säulen verwendet: Chiracel OD-H (Daicel, 250x4.6 mm), Chiralpak IA (Daicel, 250x4.6 mmol) oder Chiralpak IC (Daicel, 250x4.6 mm). Als Lösungsmittel wurde grundsätzlich ein Gemisch aus n-Heptan/Isopropanol verwendet. Entsprechende Säulen bzw. Lösungsmittelverhältnisse sind für die jeweiligen Chromatogramme angegeben. Für die jeweilige Vermessung wurde die Probe entsprechend des Laufprogrammes in n-Heptan/Isopropanol gelöst (1 mg/mL).

15.2 Biologische Methoden

15.2.1 Vektoren

Tabelle 9: Verwendete Vektoren der vorliegenden Arbeit sowie ihre Herkunft.

Name	Genotyp	Herkunft
pETHmelB	T7 promoter 419-435, T7 transcription start 418, His•Tag 327-344, S•Tag 249-293, Multiple cloning sites, (<i>Nco</i> I - <i>Xho</i> I) 158-217, His•Tag 140-157, T7 terminator 26-72, <i>lacI</i> 826-1905, pBR322 origin 3339, KAN 4048-4860, f1 origin, <i>melB</i> , HAT	‘Institute of Biofunctional Chemistry’ (Osaka University, Japan) ^[120]
pET22-ssl1	T7 promoter, T7 transcription start, <i>pelB</i> , Multiple cloning sites, (<i>Nco</i> I - <i>Xho</i> I), His•Tag, T7 terminator, <i>lacI</i> , pBR322 origin, <i>bla</i> , f1 origin, <i>ssl1</i>	Institut für Biochemie II, HHU ^[166]

15.2.2 Stämme

In dieser Arbeit wurden folgende Stämme von *E. coli* zur Expression der Gene und Herstellung der Enzyme verwendet:

Tabelle 10: Verwendete *E. coli*-Stämme dieser Arbeit.

Stamm	Genotyp	Referenz	Verwendung
<i>E. coli</i> BI21 (DE3)	F- ompT gal dcm lon hsdSB(rB-mB-) λ(DE3 [lacI lacUV5- T7p07 ind1 sam7 nin5]) [malB+]K-12(λS)	<i>Studier und Moffatt</i> (1986) ^[167]	Expression der Gene/ Proteinsynthese
<i>E. coli</i> DH5α	F- _80lacZΔM15 Δ(lacZYA-argF) U169 recA1 endA1 hsdR17 (rK-, mK+) phoA supE44 λ-thi-1 gyrA96 relA1	<i>Hanahan</i> (1983) ^[168]	DNA-Gewinnung & Plasmidamplifikation

15.2.3 Allgemeine Informationen

Die verschiedenen Salze wurden von den Firmen *VWR Chemicals*, *AppliChem Panreac ITW Companies* und *Carl ROTH®* erworben. Das Trypsin aus dem Rinderpankreas sowie der Trypsin Inhibitor aus Sojabohnen wurden von *Sigma Aldrich* erstanden.

Expression der jeweiligen Gene sowie die Kultivierung in *E. coli* wurden in 1 L *Fernbach* Kolben, welche entsprechend in einem New Brunswick™ Innova® 42 shaker temperiert und geschüttelt wurden, durchgeführt. Die Zellen konnten anschließend mittels Zentrifugation in einer RC5B Zentrifuge von *Thermo Scientific* geerntet werden. Jegliche weitere Zentrifugation erfolgte mit Hilfe der Zentrifuge der Firma *Eppendorf* 5810. Der Aufschluss erfolgte entweder mittels *Sonoplus* bzw. *Sonoplus RC6 plus* von *Bandelin electronic GmbH & Co.KG*, Berlin oder einer French Press der Firma *Thermo Electron Corporation* (French Press Cell Disrupter). pH-Werte der verschiedenen Puffersysteme wurden mittels Mikroprozessor-pH-Meter von *Knick* adjustiert.

15.2.4 Alkoholdehydrogenase aus *Thermoanaerobacter* sp. (ADH_T)

ADH_T aus *Anaerobacter* sp.; Genbank-Nr.: AEM79349.1

Für den **Zellaufschluss** wurden 39 g tiefgefrorener *E. coli* Zellen in 100 mL KP_i Puffer (pH 7, 100 mM, 1 mM MgSO₄) suspendiert und mit Hilfe der French Press viermal aufgeschlossen (zwischendurch auf Eis gelagert). Anschließend wurde der Aufschluss für 30 min bei 60 °C inkubiert (u.U. Verlängerung der Inkubationszeit um 10 min und Erhöhung der Temperatur um 10 °C, wenn Enreduktase-Aktivität im Nachhinein NMR-spektroskopisch über das

Reduktionsprodukt nachgewiesen wurde). Die Zellreste wurden für 20 min, bei max. rpm und 25 °C abzentrifugiert.

Zur **Aktivitätsmessung** wurde der Verbrauch an NADPH mit Hilfe des Photometers UV-1800 Shimadzu bei einer Wellenlänge von 340 nm verfolgt. Für den Assay wurden 970 µL einer Substrat-KP_i-Puffer-Lösung (6 µL Acetophenon ad 5 mL Puffer) vorgelegt und mit 20 µL NADPH versehen. Nach Zugabe von 10 µL der Enzymlösung wurde die Messung bei 30 °C und 340 nm gestartet. Aus einer Dreifachbestimmung konnte die volumetrische Aktivität bestimmt werden.

15.2.5 Laccase aus *Streptomyces sviveus* (Ss1)

Verwendung des Lyophilisats: 201 mg des gemörserten Ganzzelllyophilisats der Ss1 wurden ad 10 mL mit einem Gly/NaOH Puffer (50 mM, pH 9) versehen und gelöst. Anschließend wurde die Lösung für 20 min bei 65 °C inkubiert um abschließend das Zellpellet bei 4 °C und 10.000 rpm (10 min) abzentrifugiert.

Der **Aktivitätstest** erfolgte bei 25 °C und 468 nm. Dabei wurden 950 µL Puffer (Gly/NaOH, 50 mM, pH 9) vorgelegt und mit 10 µL einer 2,6-Dimethoxyphenollösung (50 mM in H₂O + 3 % DMSO) versehen. Durch die Zugabe von 40 µL der Enzymlösung wird die Umsetzung gestartet.

15.2.6 Tyrosinase aus *Aspergillus oryzae*

Allgemeines

Der Spenderorganismus des verwendeten Plasmids, welches die gewünschte Tyrosinase-kodierende Sequenz enthält, ist *Aspergillus oryzae*. Zugangsnummer des Tyrosinase Gens ist BD165761, DNA Data Bank, Japan, Mishima-shi. Es wurde kein synthetisches Gen verwendet.

Transformation von *E. coli* BL21 mit dem pETH/melB Plasmid wurde wie folgt durchgeführt: 3 µL des Plasmids (Negativkontrolle mit 3 µL sterilem Wasser) wurden auf kompetente Zellen pipettiert und für 30 min auf Eis gelagert. Anschließend erfolgte ein Hitzeschock für 90 Sekunden bei 42 °C. Im nächsten Schritt wurde 1 mL LB Medium zu den Zellen hinzugegeben und bei 37 °C für 1 h inkubiert. Nach der Zentrifugation wurde der Überstand verworfen und das Zellpellet in der verbliebenen Flüssigkeit resuspendiert und auf Kanamycin (KAN)-haltigen Agarplatten ausgestrichen. Diese wurden über Nacht bei 37 °C inkubiert.

Vorkulturen wurden durch das Picken einzelner *E. coli* BL21 pETHmelB Kulturen und Überführung dieser in je 5 mL LB-Medium mit 5 µL KAN angesetzt. Inkubation dieser erfolgte über Nacht bei 37 °C.

Expressionen wurden in 1 L *Fernbach* Kolben durchgeführt. Die am Vorabend angesetzte Vorkultur wurde zu 1 L TB-Medium der Firma Carl ROTH® [Casein 12 g/L, Hefeextrakt 24 g/L, K₂HPO₄ 12.54 g/L und KH₂PO₄ 2.31 g/L, pH~7.2] hinzugegeben und mit 1 mL KAN (50 mg/mL) sowie 1.2 mL (1 M) CuSO₄ versehen. Gemäß Literatur^[120] wurde die Kultur zunächst für 1 h bei 29 °C, gefolgt von 4 h bei 36 °C und abschließend erneut für 1 h bei 29 °C geschüttelt. Induktion erfolgte mittels Zugabe von 100 µL IPTG (10 mg/mL in dH₂O). Die Kultur wurde über Nacht bei 21 °C und 120 rpm (7084 rcf) geschüttelt. Zur Zellernte wurde die Kultur bei 4 °C und 12.000 rpm (7084 rcf) für 20 min zentrifugiert. Anschließend wurden die Pellets in einer 0.85 %-igen NaCl-Lösung resuspendiert, um überschüssiges Kupfersulfat abzuwaschen. Nach erneuter Zentrifugation wurden die Pellets zur weiteren Aufbewahrung bei -20 °C gelagert.

Reinigung. Von den eingefrorenen Zellpellets wurden 5 g in 20 mL Puffer **A** [**A**: 0.3 M NaCl, 10 mM Imidazol; 20 mM Bis-Tris, 10 % Glycerol, pH 7.2] resuspendiert und mittels Sonotrode dreimal à 5 min auf Eis aufgeschlossen (zwischen jedem Aufschluss mind. 1 min auf Eis gelagert). Nach Zentrifugation wurde der Überstand auf die Ni-NTA Säule mittels einer Peristaltikpumpe P-1 von *Pharmacia* für 30 min im Fluss aufgetragen. Die Säule wurde zuvor mit 10 mL des Puffers **A** gewaschen. Nach Beladung der Säule mit dem Überstand des Rohlysats wurde die Säule erneut mit 5-10 mL Puffer **A** gewaschen, um ungebundenes Enzym zu entfernen. In zwei weiteren Schritten wurde das gebundene Enzym mit Elutionspuffer **I** und **II** [**EI**: 0.3 M NaCl, 0.1 M Imidazol, 0.5 mM Tris(2-carboxyethyl)phosphin hydrochlorid (TCEP), 20 mM Bis-Tris, pH 7.2; **EII**: 0.3 M NaCl, 0.5 M Imidazol, 0.5 mM TCEP, 20 mM Bis-Tris, pH 7.2] (jeweils 15 mL) eluiert. Reinigung der NTA-Säule erfolgte zunächst durch das Waschen mit einer 2 M Imidazol Lösung, gefolgt von dH₂O und Lagerung in einer 20 %-igen EtOH Lösung.

SDS-PAGE

Stammlösungen

Trenngelpuffer: 1.5 M Tris·HCl, pH 8.8

Sammelgelpuffer: 0.5 M Tris·HCl, pH 6.8

SDS Stammlösung: 10 % (w/v) Natriumdodecylsulfat

APS Stammlösung: 10 % (w/v) Ammoniumperoxidsulfat

Acrylamid/Bisacrylamid Stammlösung: 30 % Acrylamid/Bisacrylamid (37.5:1, Carl-Roth)

Mischlösungen

Trenngelmischung: 114 mL dH₂O; 102 mL Trenngelpuffer; 4 mL SDS Stammlösung

Sammelgelmischung: 157 mL dH₂O; 67 mL Sammelgelpuffer; 27 mL SDS Stammlösung

Trenngel (12 %, 4 Gele): 7.9 mL Acrylamid/Bisacrylamid; 12 mL Trenngelmischung; 100 µL APS; 100 µL TEMED (Radikalstarter und Katalysator wurden direkt vor dem Gießen der Gele hinzugegeben und gemischt)

Sammelgel (4.5 %, 4 Gele): 1.2 mL Acrylamid/Bisacrylamid; 6.84 mL Sammelgelmischung; 100 µL APS; 100 µL TEMED (Radikalstarter und Katalysator wurden direkt vor dem Gießen der Gele hinzugegeben und gemischt)

5x SDS-Probenpuffer: 10 % (w/v) SDS; 30 % (w/v) Saccharose; 0.1 % (w/v) Bromphenolblau; 0.5 M Tris·HCl, pH 6.8; 50 mM DTT.

Probenvorbereitung. Die Proben wurden je nach Reinigungsstufe unterschiedlich für die SDS-PAGE verdünnt (s. Tabelle 11) und anschließend für 20 min bei 99 °C und 300 rpm inkubiert.

Tabelle 11: Herstellung der SDS-Proben.

	1: Rohlysat	2: Überstand	3: gereinigtes Enzym	4: gereinigtes Enzym
Probe 1–4	10 µL	20 µL	35 µL	35 µL
dH ₂ O	35 µL	25 µL	10 µL	10 µL
Probenpuffer	5 µL			
Total:	50 µL			

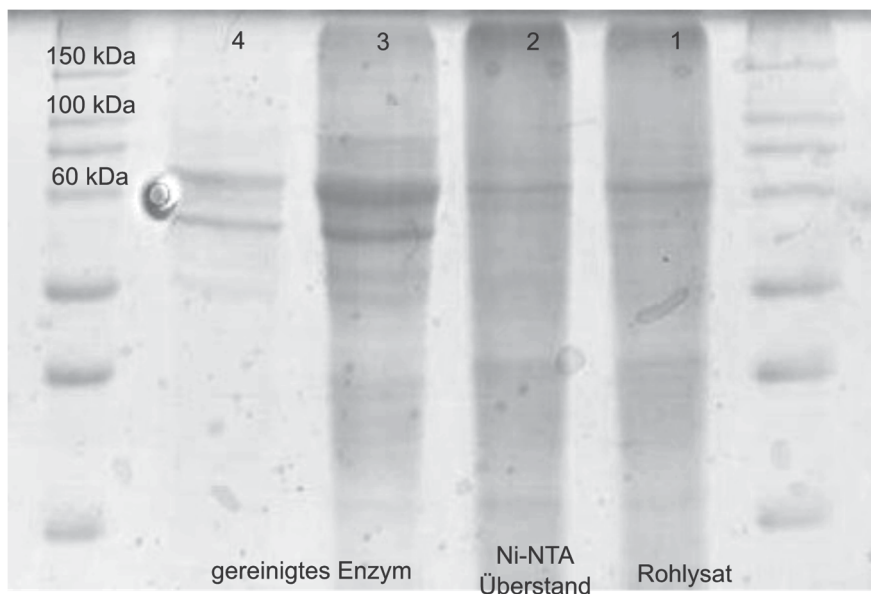


Abbildung 27: Beispiel einer SDS-PAGE über den Verlauf der Reinigung der Tyrosinase-Enzyms. [1: Rohlysat; 2: Überstand, der auf die Ni-NTA aufgetragen wurde; 3: Enzymfraktion (Fraktion 9+10) der Äkta; 4: Enzymfraktion (Fraktion 11) der Äkta]

Für das **Einkonzentrieren** der Proteinlösung wurde die *Vivacell 250* der Firma *Sartorius Stedim* benutzt oder alternativ ein *Vivaspin 20* (10 kDa MWCO). Für das Wechseln der Pufferlösung wurden im Anschluss PD-10 Säulen der Firma *GE-Healthcare* verwendet. Dabei wurde die Proteinlösung in Tris-HCl Puffer umgepuffert [Tris-HCl Puffer: 10 mM Tris-HCl, 10 mM NaCl, 10% Glycerol, pH 6]. Dafür wurden die Säulen nach entsprechendem Waschvorgang mit 2.5 mL Enzymlösung und anschließend mit 3.5 mL Tris-HCl Puffer versehen.

DNA- und Protein **Konzentrationen** wurden am *Nano Drop 2000c* der Firma *Thermo Scientific Corp.*, MA, USA vermessen. Die Bestimmung der Proteinkonzentration erfolgte mittels Bradford Lösung [Zutaten: 100 mg Coomassie blue, 50 mL Ethanol, 100 mL (85 %) Phosphorsäure, ad. 1 L dH₂O]. Zur Kalibrierung wurde eine BSA Standardreihe aufgenommen (Stammlösung: 2 mg/mL *Bovine Serum Albumin*; daraus wird eine Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen angesetzt: 10, 20, 30, 50, 80, 100, 120, 150 µg/mL). Für die entsprechenden Messungen wurden die Enzymlösungen mit dem Bradford Reagenz für 10 min bei RT inkubiert.

Aktivitätsmessungen erfolgten am Photometer *Shimadzu UV-1800* der Firma *Shimadzu*, Duisburg. Zur Aktivierung der Tyrosinase wurde das Trypsin (aus Rinderpankreas) in Citrat Puffer [100 mM, pH 6] in einer Konzentration von 1 mg/mL gelöst. Nach 30-minütiger Inkubation bei RT wurde der Trypsin Inhibitor (aus Sojabohnen; ebenfalls 1 mg/mL in Citrat Puffer) hinzugegeben. Zu einer 1 mM Lösung (992 µL) aus Tyrosin in Citrat Puffer [100 mM,

pH 6] wurden 8 μL der aktivierten Enzymlösung (verfärbte sich leicht orange) hinzugegeben und die Reaktionsrate bei 475 nm gemessen.

Aktivierung der Tyrosinase für die Arylierung erfolgte ebenfalls mittels Trypsin, dieses Mal jedoch in Tris·HCl Puffer [10 mM; pH 6]. Um die Verdünnung während des Aktivierungsprozesses zu minimieren wurden die Additive in 10-fach höherer Konzentration angesetzt, sodass ein zehnfach niedrigeres Volumen bei der Aktivierung von Nöten ist. Beispielfhaft wurden 900 μL der Tyrosinase [43 U/mL; 2.0-3.2 U/mg; Wechselzahl: 204–330 min^{-1} (in Bezug auf ein Molekulargewicht von 102 kDa, nach dem Verdau)] mit 90 μL Trypsin (10-fach konzentriert in Tris·HCl Puffer) versehen und bei RT für 30 min inkubiert. Anschließend wurden weitere 90 μL Trypsin Inhibitor (ebenfalls 10-fach konzentriert) hinzugegeben, was in einem Gesamtvolumen von 1080 μL für die Arylierungsreaktionen resultierte.

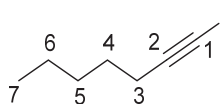
15.3 Analytik aus den Projekten der Naturstoffsynthese

Alle synthetisierten Verbindungen werden im Folgenden sowohl in ihrer Synthese als auch mit ihrer Analytik dargestellt. Die Verbindungen sind gemäß ihrem Vorkommen in der Arbeit nummeriert und das dazugehörige ^1H - sowie ^{13}C -NMR-Spektrum wird im Anhang gezeigt (s. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Dazu befindet sich unter jeder Molekülstruktur die entsprechende Experimentnummer, aus der die Analytik gewonnen wurde.

15.3.1 Projekt: Solandelacton I (1I)

Iodhept-1-in (73).

In Anlehnung an die Vorschrift von *Ravid et al.*^[169] wurde unter inerten Bedingungen 51.1 mL einer 2.5 M *n*-BuLi Lösung in Hexan (125 mmol, 1.00 Äq.) innerhalb von 30 min zu einer Lösung aus 1-Heptin [(72), 16.4 mL, 12.0 g, 125 mmol] in 60 mL Et_2O bei $-50\text{ }^\circ\text{C}$ hinzugegeben. Der Ansatz wurde für weitere 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde das Acetonbad mit Trockeneis auf $-70\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt (wobei die Bildung eines farblosen Feststoffes beobachtet wurde) und eine Lösung von Iod (31.7 g, 125 mmol, 1.00 Äq.) in 170 mL Et_2O tropfenweise innerhalb einer Stunde hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde das Kältebad entfernt, sodass sich der Ansatz langsam auf Raumtemperatur erwärmen konnte. Der Ansatz wurde dreimal mit 150 mL H_2O gewaschen und die organische Phase anschließend über MgSO_4 getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das gewünschte Produkt [(73), 22.4 g, 101 mmol, 81%; ändert die Farbe bei längerer Lagerung in ein leichtes Rot] als farbloses Öl unter Verwendung einer Vakuumdestillation (Sdp. $69\text{--}70\text{ }^\circ\text{C}$; 7 mbar) isoliert werden.

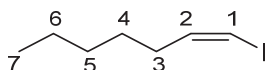


RT_Doc_031

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.74. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{7,6}$ = 7.1 Hz, 3 H, 7-H), 1.28–1.38 (m, 4 H, 5-H, 6-H), 1.51 (m_c, 2 H, 4-H), 2.35 (t, $^3J_{3,4}$ = 7.2 Hz, 2 H, 3-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = -7.6 (C_{quart.}, C-1), 14.1 (CH₃, C-7), 20.9 (CH₂, C-5), 22.3 (CH₂, C-6), 28.3 (CH₂, C-4), 31.1 (CH₂, C-3), 95.0 (C_{quart.}, C-2). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2956, 2927, 2859, 1466, 1428, 1378, 1326, 1107, 729. **GC/MS** *m/z* 222 (79) [M⁺], 207 (2), 165 (94), 127 (53), 95 (100).

(Z)-1-Iodhept-1-en (63)

Unter inerten Bedingungen wurde eine 10 M BH₃*Me₂S (9.30 mL, 93.1 mmol, 1.00 Äq.) in 90 mL Et₂O bei 0 °C im Schlenkgefäß vorgelegt. Frisch destilliertes Cyclohexen (18.8 mL, 186 mmol, 2.00 Äq.) wurden unter Rühren hinzugegeben. Nach 10 min wurde das Eisbad entfernt und der Ansatz für weitere 50 min bei RT gerührt (Bildung eines Niederschlages). Anschließend wurde der Ansatz erneut auf 0 °C gekühlt und 1-Iodheptin [(**73**), 20.6 g, 92.8 mmol, 1.00 Äq.] innerhalb von 10 min hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für weitere 30 min bei dieser Temperatur gerührt ehe das Eisbad entfernt wurde und für eine weitere Stunde bei RT gerührt wurde (Niederschlag löst sich auf). Abschließend wurde die Reaktion erneut auf 0 °C gekühlt und mit 45 mL Eisessig versehen (Zugabe innerhalb von 15 min). Nach weiteren 2 h Rühren wurden 50 mL Et₂O hinzugegeben und der Ansatz viermal mit 40 mL H₂O und über MgSO₄ getrocknet. Nach der Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das gewünschte Alken **63** (61 %, 12.7 g, 56.5 mmol) durch eine Vakuumdestillation (Sdp.: 63–64 °C, 6–7 mbar) gewonnen werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[169]



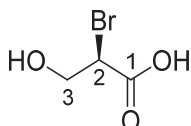
RT_Doc_021

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.86. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{7,6}$ = 7.2 Hz, 3 H, 7-H), 1.28–1.36 (m, 4 H, 5-H, 6-H), 1.43 (m_c, 2 H, 4-H), 2.13 (m_c, 2 H, 3-H), 6.15–6.19 (m, 2 H, 1-H, 2-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = 14.2 (CH₃, C-7), 22.6 (CH₂, C-6), 27.8 (CH₂, C-4), 31.4 (CH₂, C-5), 34.8 (CH₂, C-3), 82.2 (CH, C-1), 141.7 (CH, C-2). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2956,

2926, 2856, 1608, 1458, 1378, 1334, 1296, 1276, 1233, 1174, 1097, 989, 729, 686. **GC/MS** m/z : 224 (86) $[M^+]$, 127 (30), 97 (68).

(R)-(-)-2-Brom-3-hydroxypropansäure (*ent*-75)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Petit* und *Larcheveque*^[170] wurden D-Serin [(*ent*-62); 24.0 g, 228 mmol, 1.00 Äq.] und KBr (92.4 g, 777 mmol, 3.40 Äq.) in einem Dreihalskolben mit Gaseinleitungsrohr und Waschflasche (mit 1 M KOH-Lösung) in 185 mL Wasser gelöst. Bei RT wurden 56.3 mL einer 48 %-igen HBr-Lösung hinzugegeben und der Ansatz wurde dann auf -15 °C gekühlt. Anschließend wurden sieben Portionen NaNO₂ (19.7 g, 286 mmol, 1.25 Äq.; ~2.80 g alle 15 min) zum Reaktionsansatz hinzugegeben, während N₂ vorsichtig durch die Lösung geströmt wurde. Nach vollständiger Zugabe von NaNO₂ wurde die N₂-Zufuhr gestoppt und die Reaktion für weitere 6 h bei 0 °C gerührt. Abschließend wurde die Reaktion für weitere 40 min unter N₂-Zufuhr gerührt, ehe diese sechsmal mit 200 mL Et₂O extrahiert wurde. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde bei 25 °C unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt *ent*-75 wurde ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Syntheseschritt verwendet. Die Ausbeute betrug 35.8 g (93 %, 212 mmol).

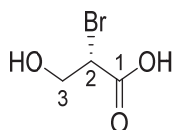


MO_RT_Doc_009

R_f (EtOAc): 0.58. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 4.00 (d, ³J_{3,2} = 6.0 Hz, 2 H, 3-H), 4.52 (t, ³J_{2,3} = 6.0 Hz, 1 H, 2-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = 47.4 (CH, C-2), 63.6 (CH₂, C-3), 173.0 (C_{quart.}, C-1). **GC/MS** m/z 169 (<1) $[M^+]$, 122 (42) $[M^+-COOH]$, 89 (15) $[M^+-Br]$.

(S)-(-)-2-Brom-3-hydroxypropansäure (75)

Verbindung 75 wurde analog zur enantiomeren Verbindung *ent*-75 hergestellt.

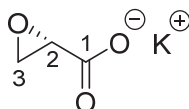


RT_Doc_008

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Verbindung **ent-75** überein.

(S)-(+)-Kaliumoxiran-2-carboxylat (**ent-76**)

Das Rohprodukt **ent-75** (38.0 g, 225 mmol; Et₂O noch vorhanden) wurde in 147 mL frisch destilliertem EtOH gelöst und auf -20 °C gekühlt. Eine Lösung von KOH (<86%, 25.40 g, 554 mmol, 2.46 Äq.) in 159 mL frisch destilliertem EtOH wurde angesetzt und filtriert, ehe sie zu dem Reaktionsansatz mittels Transferkapillare langsam hinzugegeben wurde. Nach 1.5 h wurde der Ansatz auf 0 °C eingestellt und für weitere 17 h bei dieser Temperatur gerührt. Das entstandene Präzipitat wurde abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingeeengt und auf 0 °C gekühlt. Der dabei entstandene Feststoff wurde ebenfalls gesammelt und vereint an der Vakuumlinie getrocknet. Das Produkt (ein Gemisch aus KBr und gewünschtes Oxiran; 35.5 g) wurde in drei Teile geteilt (à 11.8 g) und jeweils in 197 mL frisch destilliertem EtOH sowie 5.3 mL H₂O gelöst und 30 min zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde heiß filtriert. Das Präzipitat, welches sich durch das Abkühlen bildet wurde gesammelt. Abschließend wurde der Filterkuchen aller drei Durchgänge erneut extrahiert, filtriert und unter Vakuum getrocknet. Der entstandene flockige Feststoff konnte in 39 % (11.2 g, 88.5 mmol) Ausbeute über zwei Stufen isoliert werden. Die analytischen Daten stimmen mit den publizierten überein.^[170]



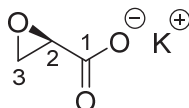
RT_Doc_012

¹H-NMR (D₂O, 600 MHz) δ [ppm] = 2.81 (dd, ²J_{3a,3b} = 5.8 Hz, ³J_{3a,2} = 2.8 Hz, 1 H, 3-H_a), 2.97 (dd, ²J_{3b,3a} = 5.8 Hz, ³J_{3b,2} = 4.9 Hz, 1 H, 3-H_b), 3.39 (dd, ³J_{2,3b} = 4.8 Hz, ³J_{2,3a} = 2.8 Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (D₂O, 151 MHz) δ [ppm] = 46.0 (CH₂, C-3), 49.4 (CH, C-2), 176.8 (C_{quart.}, C-1).

(R)-(+)-Kaliumoxiran-2-carboxylat (**76**)

Das Produkt **76** wurde in Analogie zur Verbindung **ent-76** synthetisiert. Dabei wurden 11.6 g (41 %, 92.0 mmol) Produkt isoliert.

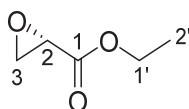


RT_Doc_011

Die analytischen Daten stimmen mit der enantiomeren Verbindung **ent-76** überein.

(S)-Ethyloxiran-2-carbonsäureester (**ent-61**)

Das Kaliumsalz **ent-76** (11.2 g, 88.5 mmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Benzyltriethylammoniumchlorid (20.1 g, 88.5 mmol, 1.00 Äq.) und Bromethan (36.2 g, 24.6 mL, 332 mmol, 3.75 Äq.) in 136 mL CH₂Cl₂ gelöst. Die Apparatur wurde mit einem Rückflusskühler mit Trockenrohr versehen und zunächst für 5 h zum Rückfluss erhitzt, anschließend 17 h bei RT gerührt und abschließend erneut für 6 h zum Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel sowie überschüssiges Bromethan wurden am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand (Feststoff) viermal mit Et₂O extrahiert. Die Lösung wurde über MgSO₄ getrocknet und nach Filtration sowie Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer einer fraktionierten Vakuumdestillation unterzogen (Badtemperatur 50–75 °C). Das Produkt [(**ent-61**), 5.80 g, 50.0 mmol, 57%; 22% über drei Stufen] konnte bei einer Kopftemperatur von 44–47 °C (3.8 mbar) als farblose Flüssigkeit erhalten werden.

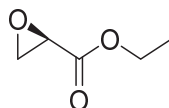


RT_Doc_014

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.42. $[\alpha]_D^{25}$ -28.1 (c 1.22, CHCl₃); **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 1.30 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H), 2.93 (dd, $^2J_{3a,3b} = 6.5$ Hz, $^3J_{3a,2} = 4.2$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.96 (dd, $^2J_{3b,3a} = 6.5$ Hz, $^3J_{3b,2} = 2.4$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.43 (dd, $^3J_{2,3a} = 4.2$ Hz, $^3J_{2,3b} = 2.4$ Hz, 1 H, 2-H), 4.24 (m_c, 2 H, 1'-H); **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = 14.2 (CH₃, C-2'), 46.4 (CH₂, C-3), 47.5 (CH, C-2), 61.8 (CH₂, C-1'), 169.4 (C_{quart.}, C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2987, 1746, 1469, 1411, 1387, 1288, 1251, 1199, 1145, 1096, 1080, 1030, 915, 858, 821, 751, 674. **GC/MS** *m/z* 115 (2), 71 (100).

(R)-Ethyloxiran-2-carbonsäureester (**61**)

Die Verbindung **61** (5.64 g, 48.6 mmol, 52 %; 22 % über drei Schritte) konnte analog zu den zuvor beschriebenen Synthesevorschriften ausgehend von L-Serin (**62**) hergestellt werden.



RT_Doc_013

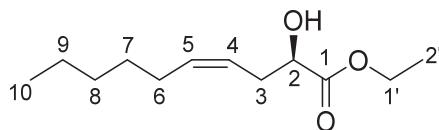
$[\alpha]_D^{25} +28.8$ (c 1.08, CHCl_3). Die übrigen analytischen Daten stimmen mit der enantiomeren Verbindung **ent-61** überein.

(*R,Z*)-2-Hydroxydec-4-ensäureethylester (**74**)

i) Herstellung des Organolithiumreagenzes: Analog zur Vorschrift von *Whitesides*^[171] und Mitarbeitern wurden Lithium-Kügelchen (280 mg, 40.3 mmol, 4.50 Äq.) in 10.6 mL Et_2O vorgelegt und auf $-30\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. (*Z*)-Iodhepten [**63**], 2.00 g, 4.46 mmol, 1.00 Äq.] wurden in 2.60 mL Et_2O gelöst und zu den Lithium-Kügelchen hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 1.5 h kräftig gerührt. Der Umsatz des Iodids wurde mittels GC/MS verfolgt. Dafür wurde ein Aliquot entnommen, welches durch Zugabe einer 0.50 M HCl-Lösung hydrolysiert und mit EtOAc extrahiert wurde. Die Konzentration der erhaltenen Organolithiumspezies wurde titrimetrisch nach einer Vorschrift von *Duhamel* und *Plaquet* bestimmt (0.49 M).^[56] Für die weitere Verwendung des Reagenzes wurde der Rührer gestoppt und gewartet, bis sich Niederschläge absetzen konnten. Die Lösung konnte dann mittels Kanüle entnommen werden.

ii) In einem separaten Schlenk-Gefäß wurde CuCN (245 mg, 2.74 mmol, 1.00 Äq.) für 2 h bei $120\text{ }^\circ\text{C}$ unter Vakuum getrocknet. Gemäß einer Vorschrift von *Lipshutz* und *Barton*^[172] wurde das Cu-Salz anschließend in 3.40 mL THF gelöst und auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Die zuvor hergestellte Lithiumheptenyl-Lösung (0.49 M) in Et_2O (11.2 mL, 5.49 mmol, 2.00 Äq.) wurde daraufhin zur CuCN-Suspension hinzugegeben. Das Acetonbad wurde entfernt und die Reaktion so lange gerührt bis sie RT erreicht hat und sich der Ansatz klärte. Anschließend wurde der Ansatz erneut auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und das Oxiran **61** (355 mg, 3.06 mmol, 1.10 Äq.) in 2.30 mL THF hinzugegeben. Das Kältebad wurde wieder entfernt und die Reaktion bis zum Erreichen der RT weiter gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 20.0 mL gesättigter NH_4Cl -Lösung und 2.00 mL 25 %-iger NH_3 -Lösung hydrolysiert. Die wässrige Phase wurde sechsmal mit Et_2O extrahiert und die vereinten organischen Phasen einmal mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Nachdem die organische Phase über MgSO_4 getrocknet wurde konnte das Lösungsmittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt werden. Das gewünschte Produkt **74** konnte als farbloses Öl nach zweifacher säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 85/15–95/5) in 68 % (400 mg,

1.67 mmol) Ausbeute erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit den publizierten überein.^[30]

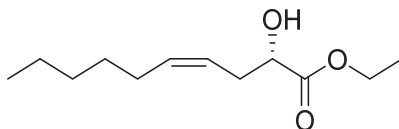


RT_Doc_027/RT_Doc_029

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.35. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{10,9}$ = 7.1 Hz, 3 H, 10-H) (1.30 (t, $^3J_{2',1'}$ = 7.3 Hz, 3 H, 2'-H), 1.24–1.37 (m, 6 H, 7-H, 8-H, 9-H), 2.04 (m_c, 2 H, 6-H), 2.44–2.50 (m, 1 H, 3-H_a), 2.52–2.58 (m, 1 H, 3-H_b), 2.75 (bs, 1 H, OH), 4.24 (m, 1 H, 1'-H), 4.20–4.28 (m, 1 H, 2-H), 5.38 (dtt, $^3J_{4,5}$ = 10.8 Hz, $^3J_{4,3}$ = 7.3 Hz, $^4J_{4,6}$ = 1.6 Hz, 1 H, 4-H), 5.57 (dtt, $^3J_{5,4}$ = 10.8 Hz, $^3J_{5,6}$ = 7.3 Hz, $^4J_{5,3}$ = 1.6 Hz, 1 H, 5-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = 14.2 (CH₃, C-10), 14.4 (CH₃, C-2'), 22.7 (CH₂, C-9), 27.5 (CH₂, C-6), 29.4 (CH₂, C-7), 31.7 (CH₂, C-8), 32.4 (CH₂, C-3), 61.8 (CH₂, C-1'), 70.4 (CH, C-2), 122.8 (CH, C-4), 134.2 (CH, C-5), 174.8 (C_{quart.}, C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3476, 2958, 2928, 2858, 1735, 1466, 1369, 1267, 1206, 1094, 1029, 862, 726. **HRMS** (ESI) berechnet für C₁₂H₂₂O₃Na (M+Na)⁺: 237.1461, gefunden: 237.1458. **HPLC** [Chiralpak IC, 250*10 mm, n-Heptan/Isopropanol 95/5; 0.5 mL/min, 200 nm]: Rt = 17.7 min; 98 % ee.

(S,Z)-2-Hydroxydec-4-ensäureethylester (*ent*-74)

Verbindung *ent*-74 wurde analog zur Synthese der enantiomeren Verbindung 74 hergestellt. Dabei wurde eine 0.52 M (Z)-Hept-1-en-1-yllithium-Lösung (22.0 mL, 11.4 mmol, 2.00 Äq.), 5.72 mmol CuCN (512 mg, 1 Äq.) sowie 6.29 mmol Oxiran *ent*-61 (731 mg, 1.1 Äq.) verwendet. Das farblose Öl konnte in 52 % Ausbeute (701 mg, 3.27 mmol) erhalten werden.

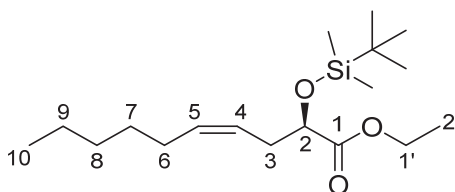


RT_Doc_032

HPLC [Chiralpak IC, 250*10 mm, n-Heptan/Isopropanol 95/5; 0.5 mL/min, 200 nm]: Rt = 18.9 min; 97 % ee. Die übrigen analytischen Daten stimmen mit denen der Verbindung 74 überein.

(*R,Z*)-2-(*tert*-Butyldimethylsiloxy)dec-4-ensäureethylester (77)

Der α -Hydroxyester **74** (2.02 g, 9.41 mmol, 1 Äq.) wurde in 11.2 mL CH_2Cl_2 vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurde unter Rühren Imidazol hinzugegeben (814 mg, 12.0 mmol, 1.27 Äq.). Nachdem sich das Imidazol vollständig gelöst hat wurde portionsweise das TBSCl (1.79 g, 11.9 mmol, 1.27 Äq.) hinzugegeben und für 24 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von Wasser beendet. Nach der Trennung der wässrigen von der organischen Phase wurde die wässrige Phase fünfmal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden abschließend einmal mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt in 18 % (556 mg, 1.69 mmol) Ausbeute isoliert werden.

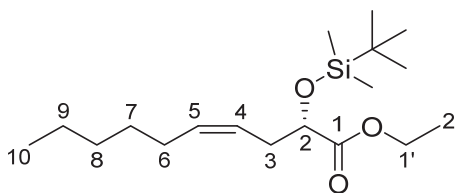


RT_Doc_028

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.81. **¹H-NMR** (CDCl_3 , 600 MHz) δ [ppm] = 0.05 [s, 3 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.08 [s, 3 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.88 (t, $^3J_{10,9} = 7.1$ Hz, 3 H, 10-H), 0.90 [s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 1.27 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.24–1.38 (m, 6 H, 7-H, 8-H u. 9-H), 1.98–2.07 (m, 2 H, 6-H), 2.42–2.50 (m, 2 H, 3-H_a u. 3-H_b), 4.10–4.22 (m, 3 H, 1'-H u. 2-H), 5.37–5.42 (m, 1 H, 4-H), 5.47–5.52 (m, 1 H, 5-H). **¹³C-NMR** (CDCl_3 , 151 MHz) δ [ppm] = -5.1 [CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], -4.8 [CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 14.2 (CH_3 , C-10), 14.4 (CH_3 , C-2'), 18.5 [$\text{C}_{\text{quart.}}$, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 22.7 (CH_2 , C-7, C-8 od. C-9), 25.9 [CH_3 , $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 27.5 (CH_2 , C-6), 29.4 (CH_2 , C-7, C-8 od. C-9), 31.7 (CH_2 , C-7, C-8 od. C-9), 33.4 (CH_2 , C-3), 60.9 (CH_2 , C-1'), 72.6 (CH, C-2), 124.1 (CH, C-4), 133.0 (CH, C-5), 173.5 ($\text{C}_{\text{quart.}}$, C-1).

(*S,Z*)-2-(*tert*-Butyldimethylsiloxy)dec-4-ensäureethylester (*ent*-78)

Die Verbindung *ent*-**78** wurde analog zur Verbindung **78** hergestellt. Dafür wurden 509 mg (2.38 mmol) des α -Hydroxyesters *ent*-**74** in 2.8 mL CH_2Cl_2 , 206 mg (3.03 mmol, 1.27 Äq.) Imidazol sowie 454 mg (3.01 mmol, 1.26 Äq.) TBSCl verwendet. Das Produkt konnte 49 % (383 mg, 1.17 mmol) Ausbeute isoliert werden.

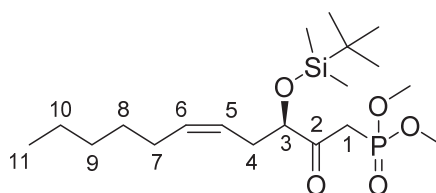


RT_Doc_041_WDH

Die analytischen Daten stimmen mit der enantiomeren Verbindung 78 überein.

(*R,Z*)-Dimethyl {3-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2-oxoundec-5-en-1-yl}phosphonsäure-ester (4)

Zu einer Lösung von Methyltrimethylphosphonsäureester (362 μ L, 3.38 mmol, 2.00 Äq.) bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ in 6.70 mL THF wurde unter Rühren eine 2.5 M Lösung von *n*-BuLi in Hexan (1.35 mL, 3.38 mmol, 2.00 Äq.) zugetropft und für eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde der α -Siloxyester **77** (556 mg, 1.69 mmol, 1.00 Äq.) in 2.9 mL THF langsam hinzugegeben und ebenfalls für eine Stunde bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Danach wurde das Kältebad entfernt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von NH_4Cl beendet und weiter gerührt bis diese RT erreicht hatte. Die abgetrennte wässrige Phase wurde fünfmal mit Et_2O extrahiert und die vereinten organischen Phasen einmal mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Nachdem die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde konnte das gewünschte Produkt **4** säulenchromatographisch (Et_2O als Laufmittel) gereinigt und in 79 % Ausbeute (543 mg, 1.34 mmol) isoliert werden.

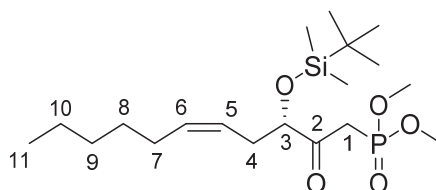


RT_Doc_046

R_f (Et_2O): 0.32. $[\alpha]_D^{20}$ -11.6 (c 1.02; CHCl_3). **$^1\text{H-NMR}$** (CDCl_3 , 600 MHz) δ [ppm] = 0.08 [s, 3 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.08 [s, 3 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.88 (t, $^3J_{11,10} = 7.2$ Hz, 3 H, 11-H), 0.92 [s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 1.23–1.36 (m, 6 H, 8-H, 9-H u. 10-H), 2.00 (m_c , 2 H, 7-H), 2.32–2.37 (m, 1 H, 4- H_a), 2.45–2.50 (m, 1 H, 4- H_b), 3.23 (dd, $^2J_{1a,P} = 21.2$ Hz, $^2J_{1a,1b} = 15.4$ Hz, 1 H, 1- H_a), 3.27 (dd, $^2J_{1b,P} = 20.9$ Hz, $^2J_{1b,1a} = 15.4$ Hz, 1 H, 1- H_a), 3.79 [d, $^3J_{H,P} = 11.3$ Hz, 3 H, (OCH_3) $_a$], 3.79 [d, $^3J_{H,P} = 11.3$ Hz, 3 H, (OCH_3) $_b$], 4.15 (m_c , 1 H, 3-H), 5.31–5.37 (m, 1 H, 5-H), 5.47–5.54 (m, 1 H, 6-H).

(S,Z)-Dimethyl {3-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2-oxoundec-5-en-1-yl}phosphonsäureester (*ent*-4)

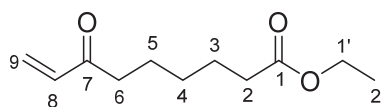
Verbindung *ent*-4 wurde analog zur enantiomeren Verbindung **4** hergestellt. Dazu wurden 283 mg (1.16 mmol) des α -Siloxylesters *ent*-77 in 2.0 mL THF, 249 μ L (2.33 mmol) Methyltrimethylphosphonsäureester in 4.6 mL THF sowie 0.93 mL *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) verwendet. Das Produkt konnte in 98 % Ausbeute erhalten werden (466 mg, 1.10 mmol).



$[\alpha]_D^{20} +12.4$ (c 1.07; CHCl₃). Die übrigen analytischen Daten stimmen mit der enantiomeren Verbindung **4** überein.

7-Oxonon-8-ensäureethylester (64)

Nach einer Vorschrift von *Huo et al.*^[173] wurden in einem 100 mL *Schlenk*-Kolben 2.20 g (33.6 mmol) Zinkpulver vorgelegt und im Wechsel fünfmal ausgeheizt und mit Stickstoff gesättigt. Im Stickstoffgegenstrom und unter Rühren bei RT wurden anschließend 285 mg (1.10 mmol) Iod zugegeben. Daraufhin wurden mit Hilfe einer Spritze 22.4 mL (22.4 mmol) DMA zugeführt, bis die anfängliche gelbliche Farbe in eine graue Suspension überging. Zuletzt wurden 5.00 g (22.4 mmol) des Bromhexylesters **60** zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für 19 h bei 80 °C unter Rühren erhitzt. Die Überprüfung des Reaktionsverlaufes erfolgte mit Hilfe der GC/MS. Bei vollständiger Umsetzung wurde das Reaktionsgemisch langsam auf RT abgekühlt und unter Kühlung im Eisbad wurden zunächst 155 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (0)-Katalysator zugegeben, gefolgt von 2 mL (24.6 mmol) Acrylsäurechlorid. Nach dem Entfernen des Eisbades wurde die Reaktion für weitere 7 h bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde der im Reaktionsgemisch befindliche Katalysator über Celite abfiltriert, die Lösung einmal mit NH₄Cl ausgeschüttelt und die wässrige Phase viermal mit EtOAc extrahiert. Abschließend wurden die gesammelten organischen Phasen erneut mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter reduziertem Druck konnte das Produkt **64** säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EtOAc 90/10) aufgereinigt und in 53 % Ausbeute (2.40 g, 11.9 mmol) in reiner Form als Öl erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur genannten überein.^[30]

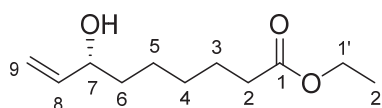


RT_Doc_034

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.42. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 1.25 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.32–1.38 (m, 2 H, 4-H) 1.62–1.67 (m, 4 H, 3-H u. 5-H), 2.29 (t, $^3J_{2,3} = 7.5$ Hz, 2 H, 2-H), 2.59 (t, $^3J_{6,5} = 7.4$ Hz, 2 H, 6--H), 4.12 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.81 (dd, $^3J_{9a,8} = 10.7$ Hz, $^2J_{9a,9b} = 1.0$ Hz, 1 H, 9-H_a), 6.21 (dd, $^3J_{9b,8} = 17.7$ Hz, $^2J_{9b,9a} = 1.0$ Hz, 1 H, 9-H_b), 6.34 (dd, $^3J_{8,9b} = 17.7$ Hz, $^3J_{8,9a} = 10.6$ Hz, 1 H, 8-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.4 (CH₃, C-2'), 23.7 (CH₂, C-3), 24.9 (CH₂, C-5), 28.8 (CH₂, C-4), 34.3 (CH₂, C-2), 29.5 (CH₂, C-6), 60.4 (CH₂, C-1'), 128.1 (CH₂, C-9), 136.7 (CH, C-8), 173.8 (C_{quart.}, C-1), 200.84 (C_{quart.}, C-7). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 2934, 1732, 1701, 1682, 1615, 1463, 1402, 1372, 1183, 1105, 1032, 989, 964, 859. **MS** m/z (%): 198 (1) [M], 129 (24) [M⁺-C₄H₅O], 115 (1) [M⁺-C₅H₇O], 101 (27) [M⁺-C₆H₉O₂], 83 (20) [M⁺-C₆H₁₁O₂], 55 (100) [M⁺-C₈H₁₅O₂].

(R)-7-Hydroxynon-8-enylester (65)

In einem 250 mL Erlenmeyerkolben wurden 60 mL (8 mL/mmol) KP_i-Puffer (100 mM, 1 mM MgSO₄, pH 7.0) vorgelegt. Darin wurden 20 mL Enzymlösung (13.6 U/mmol) gelöst. Anschließend wurden 73.2 mg NADPNa₂ (1.1 mol-%), 4.5 mL Isopropanol (7.5 Vol-%) sowie 1.49 g (7.5 mmol) des Ketons **64** hinzugegeben. Der Erlenmeyerkolben wurde mit Aluminiumfolie bedeckt und für 24 h bei 37 °C und 200 rpm inkubiert. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch in 50 mL Falcons gleichmäßig aufgeteilt und durch Zugabe von 1.5 mL 1 M HCl gestoppt. Das denaturierte Enzym wurde durch Zentrifugation (20 min, 12000 rpm, RT) sowie durch anschließende Filtration des Überstandes über Celite vollständig entfernt. Nach fünfmaliger Extraktion der wässrigen Phase mit MTBE und Waschen der gesammelten organischen Phasen mit einer gesättigten NaCl-Lösung, wurden die gesammelten Fraktionen über MgSO₄ getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EtOAc 80/20). Das Produkt konnte als farbloses Öl in 31 % Ausbeute (0.46 g, 2.3 mmol) gewonnen werden. Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur genannten Angaben überein.^[30]

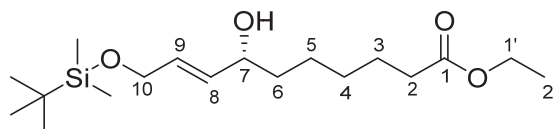


RT_MA_057

R_f (PE/EtOAc 80/20) = 0.33. $[\alpha]_D^{20} = -7.15$ (c 1.01, CHCl_3). **$^1\text{H-NMR}$** (CDCl_3 , 600 MHz): δ [ppm] = 1.25 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.33–1.44 (m, 4 H, 4-H u. 5-H), 1.49–1.55 (m, 2 H, 6-H), 1.61–1.66 (m, 2 H, 3-H), 2.29 (t, $^3J_{2,3} = 7.4$ Hz, 2 H, 2-H), 4.09 (m, 1 H, 7-H), 4.12 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.10 (ddd, $^2J_{9a,9b} = 1.5$ Hz, $^3J_{9a,8} = 10.4$ Hz, $^4J_{9a,7} = 1.4$ Hz, 1 H, 9-H_a), 5.21 (ddd, $^2J_{9b,9a} = 1.5$ Hz, $^3J_{9b,8} = 17.2$ Hz, $^4J_{9b,7} = 1.4$ Hz, 1 H, 9-H_b), 5.86 (ddd, $^3J_{8,9b} = 16.6$ Hz, $^3J_{8,9a} = 10.4$ Hz, $^3J_{8,7} = 6.2$ Hz, 1 H, 8-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.4 (CH_3 , C-2'), 25.0 (CH_2 , C-5), 25.1 (CH_2 , C-3), 29.2 (CH_2 , C-4), 34.4 (CH_2 , C-2), 36.92 (CH_2 , C-6), 60.4 (CH_2 , C-1'), 73.3 (CH, C-7), 114.8 (CH_2 , C-9), 141.4 (CH, C-8), 173.9 ($\text{C}_{\text{quart.}}$, C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}): 3443, 2982, 2935, 2860, 1733, 1464, 1422, 1373, 1181, 1119, 1095, 1030, 991, 920, 754, 667. **MS** m/z (%): 143 (47) [$\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_3\text{O}$], 113 (100) [$\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2$], 101 (77) [$\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}$], 73 (47) [$\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}$]. **HPLC** (Chiralpak IA, 250*4.6 mm, Fa. Daicel; n-Heptan/Isopropanol 75/25; 0.5 ml/min; 225 nm): 19.07 min.

10-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-7-(*R*)-Hydroxydeca-(*E*)-8-en-säureethylester (67)

In einem sekurierten 500 mL *Schlenk*-Kolben wurden 9.98 mmol (2.00 g, 1.00 Äq.) des Alkohols **65**, 60.0 mmol (18.9 g, 6.00 Äq.) des TBS-geschützten Diols **66** sowie 0.75 mol% (17.0 mg, 74.9 μmol) DDQ in 160 mL CH_2Cl_2 vorgelegt und unter Rühren in einem Eisbad gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 93.7 mg (3 mol-%) des *Hoveyda-Grubbs* Katalysators der 2. Generation gestartet. Der Kolben wurde mit Aluminiumfolie abgedeckt. Das Eisbad wurde noch nicht entfernt, sodass das Reaktionsgemisch langsam RT annehmen konnte. Die anfänglich grüne Farbe des Reaktionsgemisches wandelte sich mit der Zeit in ein dunkles Braun. Nach 24 h wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und die Reaktion somit gestoppt. Der Rückstand wurde ohne Aufarbeitung direkt auf die Säule aufgetragen. Das Metatheseprodukt **67** konnte als farbloses Öl in 90 % (3.08 g, 8.95 mmol) Ausbeute erhalten werden. Dabei ist es ebenfalls möglich das TBS-geschützte Diol wieder zurück zu gewinnen. Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur aufgeführten Angaben überein.^[30]



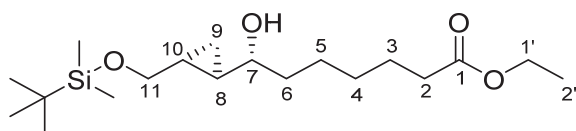
RT_Doc_038

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.18. **$^1\text{H-NMR}$** (CDCl_3 , 600 MHz): δ [ppm] = 0.07 [s, 6 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.91 [s, 9 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$], 1.25 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.31–1.40 (m, 4 H, 4-H u. 5-H), 1.41–1.55

(m, 3 H, 6-H u. OH), 1.63 (m_c, 2 H, 3-H), 2.29 (t, $^3J_{2,3} = 7.5$ Hz, 2 H, 2-H), 4.12 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 3 H, 1'-H), 4.17 (d, $^3J_{10,9} = 3.9$ Hz, 2 H, 10-H), 5.71–5.75 (m, 1 H, 9-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -5.0 [CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 14.4 (CH_3 , C-2'), 18.6 [$\text{C}_{\text{quart.}}$, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 25.0 (CH_2 , C-3 od. C-5), 25.2 (CH_2 , C-3 od. C-5), 26.1 [CH_3 , $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 29.2 (CH_2 , C-4), 34.4 (CH_2 , C-2), 37.1 (CH_2 , C-6), 60.3 (CH_2 , C-1'), 63.3 (CH_2 , C-10), 72.5 (CH, C-7), 130.4 (CH, C-9), 133.0 (CH, C-8), 173.9 ($\text{C}_{\text{quart.}}$, C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}): 3396, 2932, 2858, 1716, 1464, 1373, 1252, 1182, 1097, 1030, 973, 865, 832, 773, 668.

(R)-7-[(1'R,2'R)-2'-(tert-Butyldimethylsilyloxy)methylcyclopropyl]-7-hydroxyheptan-säureethylester (69)

Nach der Methode von *Furukawa* unter Verwendung des Reaktionsansatzes nach *White* und Mitarbeitern wurde zu einer Lösung des Metatheseproduktes **67** (2.1 g, 6.2 mmol) in 61.5 mL CH_2Cl_2 bei -15°C , 30.8 mL Diethylzink in Hexan (1 M, 30.8 mmol) und anschließend 2.5 mL (30.8 mmol) Diiodmethan unter Rühren hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf RT gebracht und anschließend für weitere 10 h bei dieser Temperatur gerührt. Der Reaktionsstopp wurde durch die Zugabe von NH_4Cl eingeleitet. Nach der Extraktion mit CH_2Cl_2 (4x) wurden die gesammelten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und nach Evaporation des Lösungsmittels säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EtOAc 80/20) aufgereinigt. Das Produkt konnte in reiner Form zu 69 % (1.5 g, 4.2 mmol) als farbloses Öl isoliert werden. Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur aufgeführten Angaben überein.^[30]



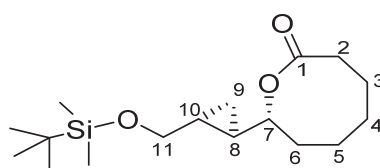
RT_Doc_039/MA_059

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.14. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8.53$ (c 0.22, CHCl_3). **$^1\text{H-NMR}$** (CDCl_3 , 600 MHz): δ [ppm] = 0.04 [s, 6 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.44 (ddd, $^3J_{9a,8} = 4.9$ Hz, $^2J_{9a,9b} = 4.9$ Hz, $^3J_{9a,10} = 8.3$ Hz, 1 H, 9-H_a), 0.48 (ddd, $^3J_{9b,10} = 4.9$ Hz, $^2J_{9b,9a} = 4.9$ Hz, $^3J_{9b,8} = 8.4$ Hz, 1 H, 9-H_b), 0.79–0.82 (m, 1 H, 8-H), 0.89 [s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 0.91–0.93 (m, 1 H, 10-H), 1.25 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.29–1.37 (m, 2 H, 5-H), 1.38–1.50 (m, 2 H, 4-H), 1.54–1.61 (m, 3 H, 6-H u. OH), 1.64 (m_c, 2 H, 3-H), 2.30 (t, $^3J_{2,3} = 7.5$ Hz, 2 H, 2-H), 2.92–2.96 (m, 1 H, 7-H), 3.41 (dd, $^2J_{11a,11b} = 10.7$ Hz, $^3J_{11a,10} = 6.5$ Hz, 1 H, 11-H_a), 3.58 (dd, $^2J_{11b,11a} = 10.7$ Hz, $^3J_{11b,10} = 5.8$ Hz, 1 H, 11-H_b), 4.12 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -5.06 [CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], -5.10 [CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 7.8 (CH_2 , C-9), 14.4 (CH_3 , C-2'), 18.5 [$\text{C}_{\text{quart.}}$, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 19.3 (CH, C-10), 23.8

(CH, C-8), 25.1 (CH₂, C-4), 25.5 (CH₂, C-3), 26.1 [CH₃, SiC(CH₃)₃], 29.4 (CH₂, C-5), 34.5 (CH₂, C-2), 37.2 (CH₂, C-6), 60.3 (CH₂, C-1'), 65.9 (CH₂, C-11), 75.9 (CH, C-7), 174.0 (C_{quart.}, C-1).

(R)-8-[(1'R,2'R)-2'-[(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)methyl]cyclopropyl]oxocan-2-on (70)

Gemäß *Hikota et al.*^[174] wurde im ersten Schritt das Edukt **69** (1.69 g, 4.71 mmol) in 124 mL THF gelöst und mittels aufgesetztem Tropftrichter langsam unter Eisbadkühlung mit einer wässrigen LiOH-Lösung (0.2 M, 104 mL) versehen. Die Reaktion rührte nach beendeter Zugabe eine weitere Stunde bei 0 °C. Die Umsetzung zur Säure wurde per DC überprüft (PE/EtOAc 80/20). Nach beendeter Reaktion wurde das Gemisch in einen Dreihalskolben überführt und mit 26 mL dest. Wasser und 173 mL EtOAc versehen, sodass ein Zweiphasensystem entstand. Langsam wurde eine 3 %-ige HCl-Lösung (0.975 M) in die untere wässrige Phase zugetropft, bis sich ein pH-Wert von 4.5 einstellte. Die Überprüfung der pH-Wert-Änderung erfolgte über eine pH-Elektrode in der wässrigen Phase. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc fünfmal extrahiert und die gesammelten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Nach der Evaporation des Lösungsmittels wurde in einem zweiten Schritt das ölarartige Zwischenprodukt unter sekurierten Bedingungen in einem *Schlenk*-Gefäß in 75 mL THF gelöst. Unter Rühren in einem Eisbad wurden anschließend 1.19 g (4.87 mmol) Trichlorbenzoylchlorid und 0.74 mL (5.1 mmol) frisch destilliertes Triethylamin hinzugegeben. Als nächstes wurde ein 3 L-Dreihalskolben mit 2430 ml Toluol gefüllt. Die Anhydrid-Lösung wurde mittels einer Umkehrfritte in einen 1 L-*Schlenk*-Kolben überführt, mit etwas Toluol nachgespült und über eine Transferkapillare auf 1 L mit Toluol aus dem zuvor gefüllten Dreihalskolben aufgefüllt. Zu dem verbliebenden Toluol im Dreihalskolben wurden 3.56 g (29.1 mmol) DMAP hinzugefügt. Nach vollständiger Lösung des DMAPs konnte die verdünnte Anhydrid-Lösung mittels Transferkapillare portionsweise zur verdünnten DMAP-Lösung zurückgeführt werden. Der gesamte Ansatz wurde auf 80 °C erhitzt und für 16 h gerührt. Das Beenden der Reaktion erfolgte durch die Zugabe von NH₄Cl. Die wässrige Phase wurde viermal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und von Lösungsmittel befreit. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung konnte das gewünschte Produkt als farbloses Öl (85 %, 1.25 g, 3.99 mmol) in reiner Form gewonnen werden. Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur aufgeführten Angaben überein.^[30]

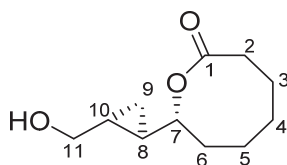


RT_Doc_040/MA_063

R_f (70/30 PE/EE): 0.54. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 0.04 [s, 6 H Si(CH₃)₂], 0.89 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 0.55 (ddd, ³J_{9a,8} = 5.2 Hz, ²J_{9a,9b} = 5.2 Hz, ³J_{9a,10} = 8.2 Hz, 1 H, 9-H_a), 0.60 (ddd, ²J_{9b,9a} = 5.1 Hz, ³J_{9b,10} = 5.1 Hz, ³J_{9b,8} = 8.5 Hz, 1 H, 9-H_b), 0.88 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 0.95–1.02 (m, 2 H, 8-H u. 10-H), 1.47–1.59 (m, 3 H, 4-H_a u. 5-H), 1.68–1.75 (m, 1 H, 4-H_b), 1.80–1.89 (m, 4 H, 3-H u. 6-H), 2.40–2.47 (m, 2 H, 2-H), 3.39 (dd, ²J_{11a,11b} = 10.7 Hz, ³J_{11a,10} = 6.4 Hz, 1 H, 11-H_a), 3.65 (dd, ²J_{11b,11a} = 10.7 Hz, ³J_{11b,10} = 5.3 Hz, 1 H, 11-H_b), 3.96–4.00 (m, 1 H, 7-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -5.1 [CH₃, Si(CH₃)₂], -5.0 [CH₃, Si(CH₃)₂], 8.7 (CH₂, C-9), 18.5 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 19.6 (CH, C-8), 21.3 (CH, C-10), 24.3 (CH₂, C-5), 26.1 [CH₃, Si(CH₃)₃], 26.6 (CH₂, C-4), 29.2 (CH₂, C-3), 32.8 (CH₂, C-2), 37.3 (CH₂, C-6), 65.5 (CH₂, C-11), 82.6 (CH, C-7), 176.8 (C_{quart.}, C-1).

(R)-8-[(1'R,2'R)-2'-(Hydroxymethyl)cyclopropyl]oxocan-2-on (71)

Zu einer Lösung des TBS-geschützten Lactons **70** (534 mg, 1.7 mmol) in 19.9 mL THF wurde unter Kühlung durch ein Eisbad portionsweise 2.1 mmol (674 mg) TBAF·3 H₂O hinzugegeben. Die Reaktion wurde anschließend bei RT weitergerührt. Die Lösung färbte sich gelblich. Nach 3.5 h konnte die Reaktion durch Zugabe einer gesättigten NH₄Cl-Lösung beendet werden. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert und die gesammelten organischen Phasen mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Durch die säulenchromatographische Reinigung (EtOAc) konnte das Produkt **71** in reiner Form mit einer Ausbeute von 44 % (0.8 mmol, 244 mg) isoliert werden. Die analytischen Daten entsprechen den Angaben in der Literatur.^[30]



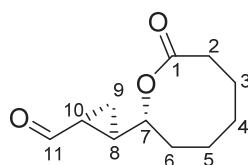
RT_MA_026/RT_MA_067

R_f (EtOAc): 0.38. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 0.56 (ddd, ³J_{9a,8} = 5.2 Hz, ²J_{9a,9b} = 5.2 Hz, ³J_{9a,10} = 8.6 Hz, 1 H, 9-H_a), 0.68 (ddd, ²J_{9b,9a} = 5.2 Hz, ³J_{9b,10} = 5.2 Hz, ³J_{9b,8} = 8.5 Hz, 1 H, 9-H_b), 0.98–1.06 (m, 1 H, 8-H), 1.07–1.12 (m, 1 H, 10-H), 1.50–1.56 (m, 3 H, 4-H_a u. 5-H), 1.60 (bs, 1 H, OH), 1.67–1.73 (m, 1 H, 4-H_b), 1.81–1.89 (m, 4 H, 3-H u. 6-H), 2.40–2.46 (m, 2 H, 2-H), 3.45 (dd, ²J_{11a,11b} = 11.2 Hz, ³J_{11a,10} = 7.1 Hz, 1 H, 11-H_a), 3.55 (dd, ²J_{11b,11a} = 11.2 Hz, ³J_{11b,10} = 6.6 Hz, 1 H, 11-H_b), 4.08 (m_c, 1 H, 7-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.7 (CH₂, C-9), 19.5 (CH, C-8), 21.6 (CH, C-10), 24.3 (CH₂, C-5), 26.6 (CH₂,

C-4), 29.2 (CH₂, C-3), 32.8 (CH₂, C-2), 37.3 (CH₂, C-6), 66.2 (CH₂, C-11), 81.76 (CH, C-7), 176.74 (C_{quart.}, C-1).

(1*R*,2*R*)-2-[(*R*)-8-Oxooxocan-2-yl]cyclopropan-1-carbaldehyd (**5a**)

Unter Verwendung der Bedingungen von *Ley et al.*^[175] wurde der Alkohol **71** (1.04 mmol, 207 mg) zunächst in einem sekurierten *Schlenk*-Rohr in 2.40 mL CH₂Cl₂ vorgelegt und gelöst. Bei RT wurden nacheinander 587 mg gepulvertes Molekularsieb (4 Å), 0.93 mmol (183 mg) NMO und 50.0 µmol (18.4 mg) TPAP hinzugegeben. Nach 18 h wurde das Reaktionsgemisch direkt auf eine Säule aufgetragen (EtOAc). Der Aldehyd **5a** konnte in reiner, kristalliner Form in 84 % Ausbeute (172 mg, 0.87 mmol) isoliert werden. Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur aufgeführten Angaben überein.^[30]



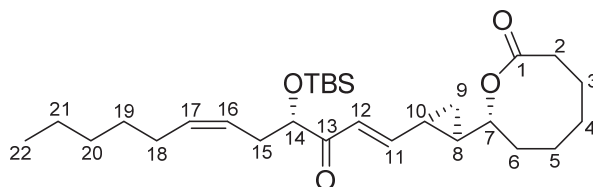
RT_Doc_051

R_f (EtOAc): 0.69. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 1.26 (ddd, ³J_{9a,10} = 8.4 Hz, ³J_{9a,8} = 6.6 Hz, ²J_{9a,9b} = 4.9 Hz, 1 H, 9-H_a), 1.33 (m_c, 1 H, 9-H_b), 1.48–1.61 (m, 3 H, 4-H_a u. 5-H), 1.64–1.72 (m, 1 H, 4-H_b), 1.77–1.84 (m, 3 H, 3-H_a, 6-H_a u. 8-H), 1.85–1.93 (m, 3 H, 3-H_b, 6-H_b, 10-H), 2.44 (m_c, 2 H, 2-H), 4.40 (m, 1 H, 7-H), 9.15 (d, ³J_{11,10} = 4.9 Hz, 1 H, 11-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 12.2 (CH₂, C-9), 24.3 (CH₂, C-5), 25.6 (CH, C-8), 26.7 (CH₂, C-4), 27.4 (CH, C-10), 29.4 (CH₂, C-3), 33.2 (CH₂, C-2), 37.2 (CH₂, C-6), 78.4 (CH, C-7), 176.4 (C_{quart.}, C-1), 200.0 (CH, C-11).

(*R*)-8-((1*R*,2*S*)-2-((*S*,1*E*,6*Z*)-4-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-oxododeca-1,6-dien-1-yl)cyclopropyl)oxocan-2-on (*dia*-3)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Prasad et al.*^[176] wurde unter inerten Bedingungen zunächst das Phosphonat *ent*-**4** (434 mg, 1.05 mmol) mit Cäsiumcarbonat (932 mg, 2.86 mmol) in 1.9 mL Acetonitril für 1 h lang bei RT gerührt. Anschließend wurde das Gemisch auf -15 °C gekühlt und die Lösung des Aldehydes **5a** (187 mg, 0.95 mmol) in 1.9 mL THF tropfenweise hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktion über 4 Tage bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer gesättigten NH₄Cl-Lösung beendet und viermal mit EtOAc ausgeschüttelt. Die organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung

gewaschen, ehe sie über MgSO_4 getrocknet wurden und überschüssiges Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt wurde. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EtOAc 80:20) konnten 37 % (168 mg, 0.35 mmol) des gewünschten *HWE*-Produktes *dia*-**3** in reiner Form isoliert werden. Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur aufgeführten Angaben überein.^[30]



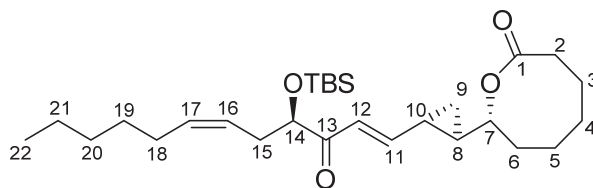
RT_Doc_047

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.41, **R_f** (Et₂O): 0.85; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -64.6 (c 1.12; CHCl₃); **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 0.03 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.05 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.88 (t, $^3J_{22,21}$ = 7.1 Hz, 3 H, 22-H), 0.90 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 0.94 (ddd, $^3J_{9a,10}$ = 8.7 Hz, $^3J_{9a,8}$ = 5.0 Hz, $^2J_{9a,9b}$ = 5.0 Hz, 1 H, 9-H_a), 1.14 (ddd, $^3J_{9b,10}$ = 8.4 Hz, $^3J_{9b,8}$ = 6.0 Hz, $^2J_{9b,9a}$ = 5.0 Hz, 1 H, 9-H_b), 1.21–1.33 (m, 6 H, 21-H, 20-H, 19-H), 1.35–1.38 (m, 1 H, 8-H), 1.48–1.61 (m, 4 H, 4-H, 5-H_a, 10-H), 1.67–1.73 (m, 1 H, 5-H_b), 1.78–1.83 (m, 2 H, 6-H), 1.86–1.89 (m, 2 H, 3-H), 1.96–2.02 (m, 2 H, 18-H), 2.30–2.40 (m, 2 H, 15-H), 2.41–2.47 (m, 2 H, 2-H), 4.09 (dd, $^3J_{14,15a}$ = 7.4 Hz, $^3J_{14,15b}$ = 5.6 Hz, 1 H, 14-H), 4.24 (m_c, 1 H, 7-H), 5.35 (dtt, $^3J_{16,17}$ = 10.8 Hz, $^3J_{16,15}$ = 7.4 Hz, $^4J_{16,18}$ = 1.6 Hz, 1 H, 16-H), 5.48 (dtt, $^3J_{16,17}$ = 10.8 Hz, $^3J_{16,15}$ = 7.4 Hz, $^4J_{16,18}$ = 1.6 Hz, 1 H, 17-H), 6.51 (dd, $^3J_{11,12}$ = 15.5 Hz, $^3J_{11,10}$ = 9.8 Hz, 1 H, 11-H), 6.64 (d, $^3J_{12,11}$ = 15.5 Hz, 1 H, 12-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = -4.7 [CH₃, Si(CH₃)₂], -4.7 [CH₃, Si(CH₃)₂], 14.1 (CH₂, C-9), 14.2 (CH₃, C-22), 18.4 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 20.4 (CH, C-10), 22.7 (CH₂, C-20), 24.4 (CH₂, C-4), 25.9 [CH₃, SiC(CH₃)₃], 26.8 (CH, C-8), 27.0 (CH₂, C-5), 27.5 (CH₂, C-18), 29.4 (CH₂, C-19), 29.4 (CH₂, C-3), 31.7 (CH₂, C-21), 33.1 (CH₂, C-2), 33.4 (CH₂, C-15), 37.3 (CH₂, C-6), 78.5 (CH, C-14), 80.4 (CH, C-7), 122.7 (CH, C-12), 123.9 (CH, C-16), 133.0 (CH, C-17), 151.1 (CH, C-11), 176.7 (C_{quart.}, C-1), 200.7 (C_{quart.}, C-13). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 2928, 2857, 1733, 1691, 1614, 1463, 1327, 1252, 1228, 1136, 1095, 1046, 984, 939, 835, 777. **HRMS** berechnet für: C₂₈H₄₈O₄SiNa [M+Na]⁺: 499.3214; gefunden: 499.3212.

(R)-8-((1R,2S)-2-((R,1E,6Z)-4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-oxododeca-1,6-dien-1-yl)cyclopropyl)oxocan-2-on (3).

Die Synthese der Verbindung **3** erfolgte analog zur Verbindung *dia*-**3**. Hierbei wurden 0.95 mmol (186 mg) des Lactons **5a**, 2.86 mmol (934 mg) CsCO₃ sowie 1.06 mmol (429 mg)

des Phosphonsäureesters **4** verwendet. Das Produkt konnte in 29 % (134 mg, 0.28 mmol) isoliert werden.



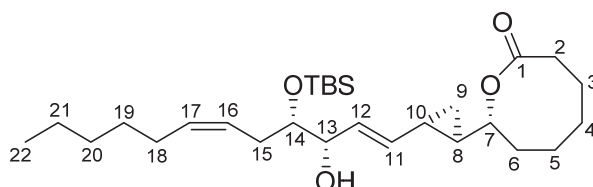
RT_Doc_048

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.41. $[\alpha]_D^{20}$ -37.3 (c 1.01; CHCl₃). **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 0.03 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.05 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.88 (t, ³J_{22,21} = 7.1 Hz, 3 H, 22-H), 0.91 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 0.94 (ddd, ³J_{9a,10} = 8.7 Hz, ³J_{9a,8} = 5.0 Hz, ²J_{9a,9b} = 5.0 Hz, 1 H, 9-H_a), 1.15 (ddd, ³J_{9b,10} = 8.4 Hz, ³J_{9b,8} = 6.0 Hz, ²J_{9b,9a} = 5.0 Hz, 1 H, 9-H_b), 1.21–1.33 (m, 6 H, 21-H, 20-H, 19-H), 1.34–1.37 (m, 1 H, 8-H), 1.48–1.61 (m, 4, 4-H, 5-H_a, 10-H), 1.67–1.73 (m, 1 H, 5-H_b), 1.79–1.84 (m, 2 H, 6-H), 1.85–1.90 (m, 2 H, 3-H), 1.96–2.02 (m, 2 H, 18-H), 2.30–2.40 (m, 2 H, 15-H), 2.41–2.47 (m, 2 H, 2-H), 4.09 (dd, ³J_{14,15a} = 7.4 Hz, ³J_{14,15b} = 5.6 Hz, 1 H, 14-H), 4.27 (m, 1 H, 7-H), 5.35 (dt, ³J_{16,17} = 10.8 Hz, ³J_{16,15} = 7.4 Hz, ⁴J_{16,18} = 1.6 Hz, 1 H, 16-H), 5.48 (dt, ³J_{16,17} = 10.8 Hz, ³J_{16,15} = 7.4 Hz, ⁴J_{16,18} = 1.6 Hz, 1 H, 17-H), 6.51 (dd, ³J_{11,12} = 15.4 Hz, ³J_{11,10} = 9.9 Hz, 1 H, 11-H), 6.65 (d, ³J_{12,11} = 15.5 Hz, 1 H, 12-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = -4.7 [CH₃, Si(CH₃)₂], -4.8 [CH₃, Si(CH₃)₂], 13.9 (CH₂, C-9), 14.2 (CH₂, C-22), 18.4 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 20.4 (CH, C-10), 22.7 (CH₂, C-20), 24.4 (CH₂, C-4), 25.9 [CH₃, Si(CH₃)₃], 26.7 (CH, C-8), 27.0 (CH₂, C-5), 27.5 (CH₂, C-18), 29.4 (CH₂, C-19), 29.4 (CH₂, C-3), 31.7 (CH₂, C-21), 33.1 (CH₂, C-2), 33.4 (CH₂, C-15), 37.4 (CH₂, C-6), 78.6 (CH, C-14), 80.1 (CH, C-7), 122.5 (CH, C-12), 124.0 (CH, C-16), 133.0 (CH, C-17), 151.2 (CH, C-11), 176.6 (C_{quart.}, C-1), 200.8 (C_{quart.}, C-13). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 2928, 2857, 1733, 1690, 1613, 1463, 1328, 1252, 1228, 1183, 1160, 1136, 1094, 1047, 1004, 984, 939, 901, 835, 778, 668. **HRMS** berechnet für C₂₈H₄₈O₄SiNa [M+Na]⁺: 499.3219, gefunden: 499.3212.

(R)-8-((1R,2S)-2-[(1E,3S,4S,6Z)-4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxydodeca-1,6-dien-1-yl]cyclopropyl)oxocan-2-on (dia-79)

In einer Modifikation der Vorschrift nach *Prasad et al.*^[176] wurde Certrichlorid (80.0 μ mol, 18.5 mg) im Stickstoffgegenstrom zu einer Lösung des *HWE*-Produktes *dia-3* (50.0 μ mol, 26.0 mg) in 260 μ L THF gegeben. Die Suspension wurde für 1 h bei RT gerührt ehe es auf -78 °C abgekühlt wurde. Daraufhin erfolgte die Zugabe von 80 μ mol (3.0 mg) NaBH₄ sowie weitere 0.1 mL THF. Anschließend wurde bei -78 °C für 3 h gerührt, ehe die Reaktion durch

Zugabe von 0.2 mL dH₂O gestoppt wurde. Nach der Entfernung des Trockeneis Bades in Aceton rührte das Reaktionsgemisch für eine weitere halbe Stunde bei RT, wobei es mit weiteren 0.2 mL dest. Wasser sowie 0.2 mL THF verdünnt wurde. Anschließend wurde viermal mit Et₂O ausgeschüttelt und die vereinten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Das MgSO₄ wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer (30 °C) von Lösungsmittel befreit. Eine kurze Säule (Florisil, Wasserkühlung der Säule sowie Trockeneiskühlung des Reagenzglasalters; PE/EtOAc 95:5) konnte jedoch die Produktfraktionen nicht ausreichend separieren, weshalb anschließend eine HPLC durchgeführt wurde. Es konnten 1.7 mg (7 %, 4.0 µmol) des leicht verunreinigten Produktes erhalten werden. Für die weiteren Wiederholungen dieses Experimentes wurde auf eine Isolierung des Produktes verzichtet. Das Rohprodukt wurde ohne Reinigung für die darauffolgende Entschützung eingesetzt.

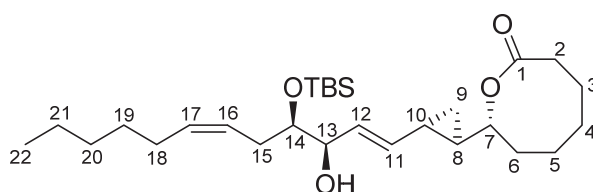


RT_MA_043

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.33; **R_f** (PE/EtOAc 90/10): 0.09. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz) δ [ppm] = 0.07 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.09 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.68 (m_c, 1 H, 9-H_a), 0.82–0.87 (m, 1 H, 9-H_b), 0.89 (t, ³J_{22,21} = 7.22 Hz, 3 H, 22-H), 0.90 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 1.12 (m_c, 1 H, 8-H), 1.24–1.27 (m, 4 H, 20-H, 21-H), 1.28–1.40 (m, 3 H, 19-H, 10-H), 1.53–1.55 (m, 3 H, 4-H_a, 5-H), 1.67–1.74 (m, 1 H, 4-H_b), 1.81–1.84 (m, 2 H, 6-H), 1.85–1.87 (m, 2 H, 3-H), 2.02 (m_c, 2 H, 18-H), 2.17–2.22 (m, 2 H, 15-H), 2.41–2.46 (m, 2 H, 2-H), 3.55 (m_c, 1 H, 14-H), 3.91 (m_c, 1 H, 13-H), 4.07 (m_c, 1 H, 7-H), 5.30 (dd, ³J_{11,10} = 8.5 Hz, ³J_{11,12} = 14.8 Hz, 1 H, 11-H), 5.36–5.40 (m, 1 H, 16-H), 5.45–5.48 (m, 1 H, 17-H), 5.49 (dd, ³J_{12,13} = 6.1 Hz, ³J_{12,11} = 15.2 Hz, 1 H, 12-H); **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = -4.4 [CH₃, Si(CH₃)₂], -4.0 [CH₃, Si(CH₃)₂], 12.3 (CH₂, C-9), 14.2 (CH₂, C-22), 18.3 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 19.5 (CH, C-10), 22.7 (CH₂, C-21), 24.4 (CH₂, C-5), 24.8 (CH, C-8), 26.0 [CH₃, SiC(CH₃)₃], 26.7 (CH₂, C-4), 27.6 (CH₂, C-18), 29.3 (CH₂, C-19), 29.4 (CH₂, C-3), 31.8 (CH₂, C-15), 31.9 (CH₂, C-20), 32.9 (CH₂, C-2), 37.4 (CH₂, C-6), 73.3 (CH, C-13), 75.5 (CH, C-14), 81.8 (CH, C-7), 124.6 (CH, C-16), 129.2 (CH, C-12), 132.7 (CH, C-17), 133.9 (CH, C-11), 176.8 (C_{quart.}, C-1). **HPLC** [Chiralpak IC, 250*10 mm, Fa. Daicel; n-Heptan/Isopropanol 90/10; 2.5 mL/min; 25 bar (const.), 205 nm]: Rt = 18.0 min.

(R)-8-((1R,2S)-2-((1E,3R,4R,6Z)-4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxydodeca-1,6-dien-1-yl)cyclopropyl)oxocan-2-on (79)

Die Synthese des Produktes **79** verlief analog zur Synthese der diastereomeren Verbindung *dia-79*. Dabei wurden 23 mg Certrichlorid (90 μ mol), 30 mg des *HWE*-Produktes **3** (60 μ mol) in 0.3 mL THF verwendet. Reduziert wurde mit 0.1 mmol (3.7 mg) NaBH₄ in weiteren 0.1 mL THF. Eine kurze Säule (Florisil; PE/EtOAc 80:20; Säule sowie Reagenzglashalter gekühlt) konnte jedoch die Produktfraktionen nicht ausreichend separieren. 11 mg der verunreinigten Produktfraktion konnten isoliert werden. Auch hierbei wurde im weiteren Verlauf das Rohprodukt ohne säulenchromatographische Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

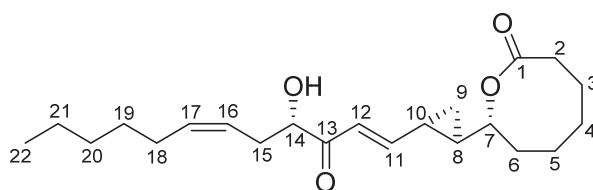


RT_Doc_052A

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.36. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 0.07 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.09 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.68 (m_c, 1 H, 9-H_a), 0.83–0.86 (m, überlagert, 1 H, 9-H_b), 0.88 (t, ³J_{22,21} = 7.2 Hz, 3 H, 22-H), 0.90 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 1.11 (m_c, 1 H, 8-H), 1.24–1.27 (m, überlagert, 4 H, 20-H, 21-H), 1.28–1.40 (m, 3 H, 19-H, 10-H), 1.51–1.56 (m, 3 H, 4-H_a, 5-H), 1.68–1.72 (m, 1 H, 4-H_b), 1.81–1.84 (m, 2 H, 6-H), 1.85–1.87 (m, 2 H, 3-H), 2.01 (m_c, 2 H, 18-H), 2.17–2.21 (m, 2 H, 15-H), 2.41–2.46 (m, 2 H, 2-H), 3.55 (m_c, 1 H, 14-H), 3.89 (m_c, 1 H, 13-H), 4.07 (m_c, 1 H, 7-H), 5.27 (dd, ³J_{11,10} = 8.4 Hz, ³J_{11,12} = 15.3 Hz, 1 H, 11-H), 5.37 (dt, ³J_{16,17} = 10.7 Hz, ³J_{16,15} = 7.4 Hz, ⁴J_{16,14} = 1.6 Hz, 1 H, 16-H), 5.45–5.49 (m, 1 H, 17-H), 5.48 (dd, ³J_{12,13} = 6.4 Hz, ³J_{12,11} = 15.6 Hz, 1 H, 12-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz) δ [ppm] = -4.4 [CH₃, Si(CH₃)₂], -4.0 [CH₃, Si(CH₃)₂], 12.1 (CH₂, C-9), 14.2 (CH₂, C-22), 18.3 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 19.6 (CH, C-10), 22.7 (CH₂, C-21), 24.4 (CH₂, C-5), 24.9 (CH, C-8), 26.0 [CH₃, SiC(CH₃)₃], 26.7 (CH₂, C-4), 27.6 (CH₂, C-18), 29.3 (CH₂, C-19), 29.4 (CH₂, C-3), 31.7 (CH₂, C-15), 31.9 (CH₂, C-20), 32.9 (CH₂, C-2), 37.4 (CH₂, C-6), 73.4 (CH, C-14), 75.5 (CH, C-13), 81.8 (CH, C-7), 124.6 (CH, C-16), 129.2 (CH, C-12), 132.8 (CH, C-17), 134.3 (CH, C-11), 176.7 (C_{quart.}, C-1).

(R)-8-((1R,2S)-2-[(S,1E,6Z)-4-Hydroxy-3-oxododeca-1,6-dien-1-yl]cyclopropyl)oxocan-2-on (*dia*-78)

In einem 10 mL *Schlenk* Gefäß wurden 45 mg des *HWE*-Produktes *dia*-3 (90 µmol, 1.0 Äq.) in 4 mL THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von TBAF·3 H₂O (37 mg, 0.1 mmol, 1.3 Äq.) wurde das Gemisch für 1 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von ges. NH₄Cl Lösung gestoppt und die wässrige Phase wurde dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung mittels Säulenchromatographie (50/50–20/80 n-Pentan/Et₂O, zur besseren Auftragung wurde das Rohprodukt in minimalen Mengen EtOAc gelöst) ergab das gewünschte Produkt *dia*-78 (10 mg, 30 µmol, 32 %) als farbloses Öl.

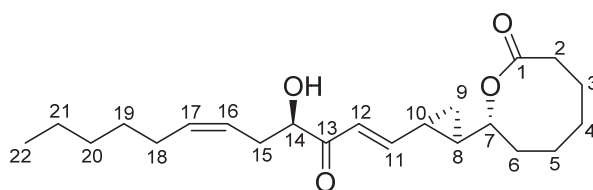


RT_Doc_058A

R_f (Et₂O): 0.56. $[\alpha]_D^{20} = -28.7$ (c 0.54; CHCl₃); **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 0.88 (t, ³J_{22,21} = 7.0 Hz, 3 H, 22-H), 0.96 (ddd, ³J_{9a,10} = 8.9 Hz, ³J_{9a,8} = 5.0 Hz, ²J_{9a,9b} = 5.0 Hz, 1 H, 9-H_a), 1.21 (d, ³J_{9b,10} = 8.3 Hz, 1 H, 9-H_b), 1.23–1.37 (m, 6 H, 21-H, 20-H, 19-H), 1.40 (m_c, 1 H, 8-H), 1.45–1.65 (m, 4 H, 4-H, 5-H_a, 10-H), 1.65–1.75 (m, 1 H, 5-H_b), 1.82 (m, 2 H, 6-H), 1.83–1.94 (m, 2 H, 3-H), 2.02 (d, ³J_{18,17} = 7.3 Hz, 2 H, 18-H), 2.31–2.40 (m, 1 H, 15-H_a), 2.44 (m_c, 2 H, 2-H), 2.53–2.61 (m, 1 H, 15-H_b), 3.52 (d, ³J_{OH,14} = 5.6 Hz, 1 H, OH), 4.28–4.40 (m, 2 H, 7-H, 14-H), 5.35 (dt, ³J_{16,17} = 10.9 Hz, ³J_{16,15} = 7.3 Hz, ⁴J_{16,18} = 1.5 Hz, 1 H, 16-H), 5.54 (dt, ³J_{17,16} = 10.9 Hz, ³J_{17,18} = 7.3 Hz, ⁴J_{17,15} = 1.4 Hz, 1 H, 17-H), 6.33 (d, ³J_{12,11} = 15.4 Hz, 1 H, 12-H), 6.55 (dd, ³J_{11,12} = 15.4 Hz, ³J_{11,10} = 10.1 Hz, 1 H, 12-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz): δ [ppm] = 13.9 (C-9), 14.2 (C-22), 20.3 (C-10), 22.7 (C-19 od. C-20), 24.4 (C-4), 26.8 (C-5), 27.2 (C-8), 27.6 (C-18), 29.4 (C-19 od. C-20), 29.4 (C-3), 31.7 (C-21), 32.4 (C-15), 33.2 (C-2), 37.4 (C-6), 75.1 (C-14), 79.6 (C-7), 122.5 (C-12), 123.1 (C-16), 133.8 (C-17), 152.6 (C-11), 176.6 (C-1), 199.3 (C-13); **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3462, 3013, 2927, 2858, 1723, 1687, 1615, 1456, 1230, 1137, 1035, 985, 946, 935, 901. **HRMS** berechnet für C₂₂H₃₄O₄Na (M+Na)⁺: 385.2349, gefunden: 385.2350.

(R)-8-((1R,2S)-2-[(R,1E,6Z)-4-Hydroxy-3-oxododeca-1,6-dien-1-yl]cyclopropyl)oxocan-2-on (78)

In einem 10 mL *Schlenk* Gefäß wurden 28.0 mg des *HWE*-Produktes **3** (60 µmol, 1.0 Äq.) in 4 mL THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von TBAF·3 H₂O (23 mg, 70.0 µmol, 1.3 Äq.) wurde das Gemisch für 1.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 20 mL ges. NH₄Cl Lösung gestoppt und die wässrige Phase wurde dreimal mit Et₂O (20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung mittels Säulenchromatographie (50/50–20/80 n-Pentan/Et₂O, zur besseren Auftragung wurde das Rohprodukt in minimalen Mengen EtOAc gelöst) ergab das gewünschte Produkt **78** (10 mg, 30 µmol, 46 %) als farbloses Öl.



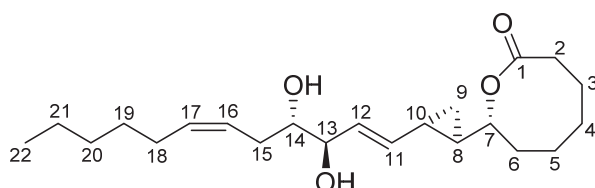
RT_Doc_062_A

R_f (Et₂O): 0.55. $[\alpha]_D^{20} = -55.3$ (*c* = 1.43; CHCl₃). **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 0.88 (t, ³*J*_{22,21} = 7.0 Hz, 3 H, 22-H), 0.97 (ddd, ³*J*_{9a,10} = 8.7 Hz, ³*J*_{9a,8} = 5.0 Hz, ²*J*_{9a,9b} = 5.0 Hz, 1 H, 9-H_a), 1.21 (ddd, ³*J*_{9b,10} = 8.4 Hz, ³*J*_{9b,8} = 6.0 Hz, ²*J*_{9b,9a} = 5.0 Hz, 1 H, 9-H_b), 1.23–1.36 (m, 6 H, 21-H, 20-H, 19-H), 1.40 (m_c, 1 H, 8-H), 1.46–1.66 (m, 4 H, 4-H, 5-H_a, 10-H), 1.66–1.73 (m, 1 H, 5-H_b), 1.79–1.83 (m, 2 H, 6-H), 1.85–1.91 (m, 2 H, 3-H), 2.01 (m_c, 2 H, 18-H), 2.38 (m_c, 1 H, 15-H_a), 2.41–2.48 (m, 2 H, 2-H), 2.56 (m_c, 1 H, 15-H_b), 3.54 (d, ³*J*_{OH,14} = 5.6 Hz, 1 H, OH), 4.32–4.37 (m, 2 H, 7-H, 14-H), 5.35 (dt, ³*J*_{16,17} = 10.9 Hz, ³*J*_{16,15} = 7.4 Hz, ⁴*J*_{16,18} = 1.6 Hz, 1 H, 16-H), 5.54 (dt, ³*J*_{17,16} = 10.9 Hz, ³*J*_{17,18} = 7.3 Hz, ⁴*J*_{17,15} = 1.5 Hz, 1 H, 17-H), 6.34 (d, ³*J*_{12,11} = 15.3 Hz, 1 H, 12-H), 6.56 (dd, ³*J*_{11,12} = 15.3 Hz, ³*J*_{11,10} = 10.1 Hz, 1 H, 11-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz): δ [ppm] = 13.9 (C-9), 14.2 (C-22), 20.4 (C-10), 22.7 (C-19 od. C-20), 24.4 (C-4), 26.8 (C-5), 27.2 (C-8), 27.6 (C-18), 29.4 (C-19 od. C-20), 29.4 (C-3), 31.7 (C-21), 32.3 (C-15), 33.2 (C-2), 37.3 (C-6), 75.3 (C-14), 79.5 (C-7), 122.5 (C-12), 123.1 (C-16), 133.8 (C-17), 152.6 (C-11), 176.6 (C-1), 199.3 (C-13). **HRMS** berechnet für C₂₂H₃₄O₄Na (M+Na)⁺: 385.2349, gefunden: 385.2349.

(R)-8-((1R,2S)-2-[(1E,3R,4S,6Z)-3,4-Dihydroxydodeca-1,6-dien-1-yl]cyclopropyl)oxocan-2-on (1Id)

i) Herstellung der 0.25 M $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ -Lösung in THF: In einem *Schlenk* Gefäß wurden unter Argonatmosphäre 2 mL einer 0.5 M ZnCl_2 Lösung in THF (1.0 mmol) sowie 76 mg NaBH_4 (2.0 mmol) über Nacht und bei RT gerührt. Durch Verdünnung der Lösung mit weiteren 2 mL THF konnte eine 0.25 M $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ -Lösung erhalten werden.

ii) Herstellung der Verbindung **1Id**: In einem separaten Gefäß wurde Verbindung *dia-78* (9.7 mg, 30 μmol , 1.0 Äq.) in 1 mL THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 0.82 mL der zuvor hergestellten $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ -Lösung 0.2 mmol, 8.0 Äq.) wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch für eine weitere Stunde bei RT gerührt. Nach Zugabe einer ges. NH_4Cl -Lösung wurden die Phasen separiert und die wässrige Phase viermal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit einer ges. Lösung NaCl gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das Produkt **1Id** (6.6 mg, 18 μmol , 60 %) säulenchromatographisch (20/80 n-Pentan/ Et_2O) aufgearbeitet und als Spuren eines farblosen Feststoffes isoliert werden.



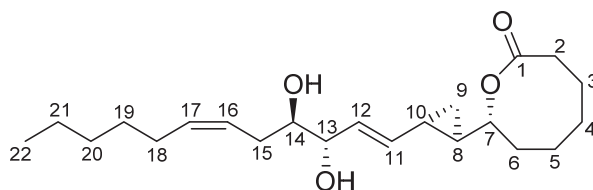
RT_Doc_061_B

R_f (EtOAc): 0.35; $[\alpha]_D^{20} = -20.8$ (c 0.66; CHCl_3). **$^1\text{H-NMR}$** (CDCl_3 , 600 MHz): δ [ppm] = 0.71 (ddd, $^3J_{9a,10} = 8.5$ Hz, $^3J_{9a,8} = 5.1$ Hz, $^2J_{9a,9b} = 5.1$ Hz, 1 H, 9- H_a), 0.88 (t, $^3J_{22,21} = 6.9$ Hz, 3 H, 22-H), 0.89 (m, 1 H, 9- H_b , überlappend), 1.14 (m_c , 1 H, 8-H), 1.22–1.38 (m, 6 H, 19-H, 20-H, 21-H), 1.43 (m_c , 1 H, 10-H), 1.49–1.59 (m, 3 H, 5-H, 4- H_a), 1.70 (m_c , 1 H, 4- H_b), 1.83 (m_c , 2 H, 6-H), 1.85 (m_c , 2 H, 3-H), 2.00–2.06 (m, 2 H, 18-H), 2.14–2.22 (m, 1 H, 15- H_a), 2.23–2.31 (m, 1 H, 15- H_b), 2.40–2.47 (m, 2 H, 2-H), 3.67 (m_c , 1 H, 14-H), 4.08 (m_c , 1 H, 13-H), 4.13 (m_c , 1 H, 7-H), 5.34 (ddd, $^3J_{11,12} = 15.5$ Hz, $^3J_{11,10} = 8.8$ Hz, $^4J_{11,13} = 0.9$ Hz, 1 H, 11-H), 5.39 (dt, $^3J_{16,17} = 10.7$ Hz, $^3J_{16,15} = 7.6$ Hz, 1 H, 16-H), 5.56 (dt, $^3J_{17,16} = 10.7$ Hz, $^3J_{17,18} = 7.3$ Hz, 1 H, 17-H), 5.62 (dd, $^3J_{12,11} = 15.4$ Hz, $^3J_{12,13} = 7.3$ Hz, 1 H, 12-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (CDCl_3 , 151 MHz): δ [ppm] = 12.3 (C-9), 14.2 (C-22), 19.5 (C-10), 22.7 (C-20 od. C-21), 24.3 (C-5), 25.1 (C-8), 26.7 (C-4), 27.6 (C-18), 29.3 (C-3), 29.4 (C-19), 30.2 (C-15), 31.7 (C-20 od. C-21), 32.9 (C-2), 37.3 (C-6), 74.0 (C-14), 75.2 (C-13), 81.4 (C-7), 124.8 (C-16), 126.3 (C-12), 133.9 (C-17), 136.5

(C-11), 176.7 (C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3444, 3008, 2927, 2858, 1737, 1724, 1456, 1366, 1353, 1231, 1218, 1052. **HRMS** berechnet für C₂₂H₃₆O₄Na (M+Na)⁺: 387.2506; gefunden: 387.2506.

(R)-8-((1R,2S)-2-((1E,3S,4R,6Z)-3,4-Dihydroxydodeca-1,6-dien-1-yl)cyclopropyl)oxocan-2-on (1lc)

Verbindung **78** (10 mg, 30 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in 1 mL THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 0.82 mL der zuvor hergestellten 0.25 M Zn(BH₄)₂-Lösung (0.21 mmol, 8.0 Äq.) wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch für eine weitere Stunde bei RT gerührt. Nach Zugabe einer ges. NH₄Cl-Lösung wurden die Phasen separiert und die wässrige Phase viermal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit einer ges. Lösung NaCl gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das Produkt **1lc** (5.2 mg, 14 μ mol, 52 %) säulenchromatographisch (20/80 n-Pentan/Et₂O) aufgearbeitet und als Spuren eines farblosen Feststoffes isoliert werden.



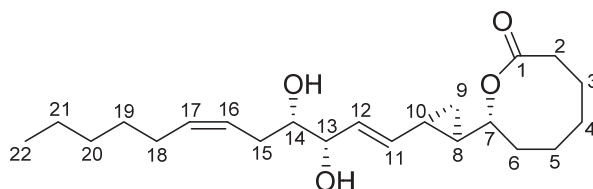
RT_Doc_058_B_46-60

R_f (EtOAc): 0.35; **R_f** (Et₂O): 0.20; **R_f** (PE/EtOAc 50/50): 0.25. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -12.2$ (c 0.18; CHCl₃); **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3433, 3003, 2963, 2927, 2860, 1717, 1464, 1449, 1350, 1328, 1237, 1135, 1052, 1044, 1001, 969. **¹H-NMR** (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 0.71 (ddd, ³J_{9a,10} = 8.5 Hz, ³J_{9a,8} = 5.1 Hz, ²J_{9a,9b} = 5.1 Hz, 1 H; 9-H_a), 0.89 (t, ³J_{22,21} = 7.1 Hz, 3 H, 22-H), 0.90 (m, 1 H, 9-H_b, überlappend), 1.14 (m_c, 1 H, 8-H), 1.21–1.40 (m, 6 H, 19-H, 20-H, 21-H), 1.43 (m_c, 1 H, 10-H), 1.50–1.56 (m, 3 H, 5-H, 4-H_a), 1.70 (m_c, 1 H, 4-H_b), 1.83 (m_c, 2 H, 6-H), 1.87 (m_c, 2 H, 3-H), 2.00–2.07 (m, 2 H, 18-H), 2.17–2.21 (m, 1 H, 15-H_a), 2.23–2.31 (m, 1 H, 15-H_b), 2.41–2.47 (m, 2 H, 2-H), 3.67 (m_c, 1 H, 14-H), 4.08 (m_c, 1 H, 13-H), 4.13 (m_c, 1 H, 7-H), 5.34 (ddd, ³J_{11,12} = 15.5 Hz, ³J_{11,10} = 8.7 Hz, ⁴J_{11,13} = 1.0 Hz, 1 H, 11-H), 5.39 (d, ³J_{16,17} = 10.8 Hz, 1 H, 16-H), 5.57 (dt, ³J_{17,16} = 10.8 Hz, ³J_{17,18} = 7.3 Hz, 1 H, 17-H), 5.62 (ddd, ³J_{12,11} = 15.5 Hz, ³J_{12,13} = 7.3 Hz, ⁴J_{12,10} = 0.6 Hz, 1 H, 12-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz): δ [ppm] = 12.4 (C-9), 14.2 (C-22), 19.5 (C-10), 22.7 (C-20 od. C-21), 24.4 (C-5), 25.1 (C-8), 26.7 (C-4), 27.6 (C-18), 29.3 (C-3), 29.4 (C-19), 30.2 (C-15), 31.7 (C-20 od. C-21), 32.9 (C-2), 37.4 (C-6), 74.0 (C-14),

75.1 (C-13), 81.4 (C-7), 124.8 (C-16), 126.2 (C-12), 133.8 (C-17), 136.4 (C-11), 176.7 (C-1).
HRMS berechnet für C₂₂H₃₆O₄Na (M+Na)⁺: 387.2506, gefunden: 387.2507.

(R)-8-((1R,2S)-2-((1E,3S,4S,6Z)-3,4-Dihydroxydodeca-1,6-dien-1-yl)cyclopropyl)oxocan-2-on (1la)

Das Reaktionsgemisch aus der Synthese der Verbindung *dia-79* (12 mg, theoret. 26 µmol) wurde in 0.25 mL THF gelöst und bei 0 °C mit 8.1 mg TBAF (26 µmol) versetzt. Die Reaktion wurde über 4.5 h gerührt (dabei auf Raumtemperatur erwärmen lassen) und durch Zugabe von destilliertem Wasser gestoppt. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit Et₂O ausgeschüttelt und die vereinten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Evaporation des Lösungsmittels erfolgte am unter reduziertem Druck bei 30 °C. Aus dem Rohgemisch konnte mit Hilfe der präparativen HPLC die Produktfraktion isoliert werden.

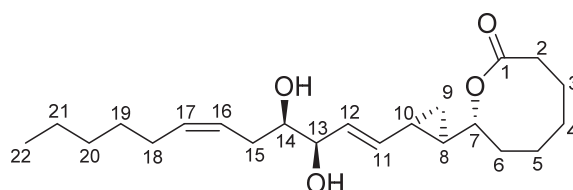


RT_Doc_053_B/RT_Doc_054_B

R_f (Et₂O): 0.46; (PE/EE 80/20): 0.03; **R_f** (EE): 0.68. $[\alpha]_D^{25} = -30.6$ (c 1.00; CHCl₃), $[\alpha]_D^{25} = -48.6$ (c 1.00; MeOH). **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.71 (*m_c*, 1 H, 9-H_a), 0.89 (*t*, ³*J*_{22,21} = 6.6 Hz, 3 H, 22-H), 0.87-0.90 (*m*, 1 H, 9-H_b), 1.14 (*m_c*, 1 H, 8-H), 1.25-1.31 (*m*, 4 H, 21-H u. 20-H), 1.32-1.37 (*m*, 2 H, 19-H), 1.38-1.44 (*m*, 1 H, 10-H), 1.51-1.54 (*m*, 2 H, 5-H), 1.56 (*m*, 1 H, 4-H_a), 1.68-1.72 (*m*, 1 H, 4-H_b), 1.80-1.84 (*m*, 2 H, 6-H), 1.85-1.88 (*m*, 2 H, 3-H), 2.04 (*m_c*, 2 H, 18-H), 2.21-2.30 (*m*, 2 H, 15-H), 2.40-2.47 (*m*, 2 H, 2-H), 3.48 (*m_c*, 1 H, 14-H), 3.91 (*m_c*, 1 H, 13-H), 4.12 (*m_c*, 1 H, 7-H), 5.38 (*dd*, ³*J*_{11,10} = 8.8 Hz, ³*J*_{11,12} = 15.6 Hz, 1 H, 11-H), 5.42 (*m_c*, 1 H, 16-H), 5.56 (*dd*, ³*J*_{12,13} = 7.1 Hz, ³*J*_{12,11} = 15.6 Hz, 1 H, 12-H), 5.57-5.60 (*m*, überlagert, 1 H, 17-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 12.4 (CH₂, C-9), 14.2 (CH₃, C-22), 19.4 (CH, C-10), 22.7 (CH₂, C-21), 24.4 (CH₂, C-5), 25.1 (CH, C-8), 26.7 (CH₂, C-4), 27.6 (CH₂, C-18), 29.3 (CH₂, C-19), 29.4 (CH₂, C-3), 31.3 (CH₂, C-15), 31.7 (CH₂, C-20), 32.9 (CH₂, C-2), 37.3 (CH₂, C-6), 74.4 (CH, C-14), 75.3 (CH, C-13), 81.4 (CH, C-7), 124.5 (CH, C-16), 127.8 (CH, C-12), 133.9 (CH, C-17), 136.1 (CH, C-11), 176.7 (C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3405, 3007, 2925, 2857, 1717, 1453, 1350, 1328, 1235, 1184, 1162, 1138, 1050, 1003, 985, 964, 869, 755, 665. **HRMS**: berechnet für C₂₂H₃₆O₄Na (M+Na)⁺: 387.2506; gefunden: 387.2504. **HPLC** (Chiralpak IC, 250*10 mm, Fa. Daicel; n-Heptan/Isopropanol 80/20; 2.5 mL/min; 205 nm): R_t = 61.2 min.

(R)-8-((1R,2S)-2-((1E,3R,4R,6Z)-3,4-Dihydroxydodeca-1,6-dien-1-yl)cyclopropyl)oxocan-2-on (11b)

Das Reaktionsgemisch aus der Synthese der Verbindung 79 (50.0 mg, 0.10 mmol) wurde in 1.3 mL THF gelöst und bei 0 °C mit 33.4 mg TBAF (110 µmol) versehen. Anschließend wurde das Eisbad entfernt und die Reaktion für 5 h weiter gerührt und durch Zugabe einer gesättigten NH₄Cl-Lösung gestoppt. Die wässrige Phase wurde viermal mit EtOAc ausgeschüttelt und die vereinten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Evaporation des Lösungsmittels erfolgte unter reduzierten Druck bei 30 °C. Aus dem Rohgemisch (gesamter Ansatz in 1 mL n-Heptan/Isopropanol 80/20 gelöst) konnte mit Hilfe der präparativen HPLC (Chiralpak IC, n-Heptan/Isopropanol 80/20, 0.5 mL/min) das gewünschte Produkt **11b** in 14 % Ausbeute (5.00 mg, 13.7 µmol) isoliert werden.



RT_Doc_005/RT_DOC_052_B

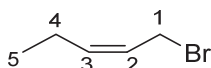
R_f (EtOAc): 0.65. $[\alpha]_D^{25} = -9.3$ (c 1.00; CHCl₃), $[\alpha]_D^{25} = -13.3$ (c 0.33; MeOH); **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.70 (m_c, 1 H, 9-H_a), 0.89 (t, ³J_{22,21} = 7.02 Hz, 3 H, H-22), 0.87–0.90 (m, 1 H, 9-H_b, überlappend), 1.13 (m_c, 1 H, 8-H), 1.25–1.31 (m, 4 H, 21-H, 20-H), 1.32–1.37 (m, 2 H, 19-H), 1.38–1.44 (m, 1 H, 10-H), 1.51–1.54 (m, 2 H, 5-H), 1.56 (m, 1 H, 4-H_a), 1.68–1.72 (m, 1 H, 4-H_b), 1.80–1.84 (m, 2 H, 6-H), 1.85–1.88 (m, 2 H, 3-H), 2.04 (m_c, 2 H, 18-H), 2.21–2.30 (m, 2 H, 15-H), 2.40–2.47 (m, 2 H, 2-H), 3.49 (m_c, 1 H, 14-H), 3.90 (m_c, 1 H, 13-H), 4.14 (m_c, 1 H, 7-H), 5.36 (dd, ³J_{11,10} = 8.7 Hz, ³J_{11,12} = 15.4 Hz, 1 H, 11-H), 5.42 (m_c, 1 H, 16-H), 5.55 (dd, ³J_{12,13} = 7.2 Hz, ³J_{12,11} = 15.3 Hz, 1 H, 12-H), 5.57–5.60 (m, 1 H, überlappend, 17-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz): δ [ppm] = 12.2 (CH₂, C-9), 14.2 (CH₃, C-22), 19.4 (CH, C-10), 22.7 (CH₂, C-21), 24.3 (CH₂, C-5), 25.1 (CH, C-8), 26.7 (CH₂, C-4), 27.5 (CH₂, C-18), 29.3 (CH₂, C-19), 29.4 (CH₂, C-3), 31.3 (CH₂, C-15), 31.7 (CH₂, C-20), 32.9 (CH₂, C-2), 37.3 (CH₂, C-6), 74.4 (CH, C-14), 75.5 (CH, C-13), 81.3 (CH, C-7), 124.5 (CH, C-16), 127.7 (CH, C-12), 134.0 (CH, C-17), 136.4 (CH, C-11), 176.7 (C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3417, 3007, 2926, 2857, 1721, 1456, 1329, 1329, 1236, 1139, 1051, 1000, 963, 897, 867, 713 cm⁻¹. **HRMS** berechnet für C₂₂H₃₆O₄Na (M+Na)⁺: 387.25058, gefunden: 387.25058. **HPLC** [Chiralpak IC, 250*10 mm, Fa. Daicel; n-Heptan/Isopropanol 80/20; 2.5 mL/min; 205 nm]: Rt = 60.6 min.

15.3.2 Projekt: Constanolacton G (2G)

Westhälfte

1-Brompent-2-en (85)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Harper* und *Smith*^[177] wurden einem 500 mL Mehrhalskolben mit angeschlossener Waschflasche (1 M NaOH-Lösung) 12.0 mL Z-Pent-2-enol (119 mmol) in 220 mL Et₂O vorgelegt. Bei 0°C wurde über einen Zeitraum von 20 min 10.0 mL Phosphortribromid (105 mmol, 0.9 Äq.) hinzuge tropft. Nach beendeter Zugabe wurde der Reaktionsansatz für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde der Ansatz erneut gekühlt und mit dH₂O versehen (Rauchentwicklung). Die organische Phase wurde anschließend mit NaHCO₃ und H₂O gewaschen und die wässrige Phase zweimal mit Et₂O extrahiert. Die Ausbeute wurde nicht bestimmt; zudem enthält die Probe noch Et₂O. Das NMR stimmt mit den publizierten Daten überein.^[178]

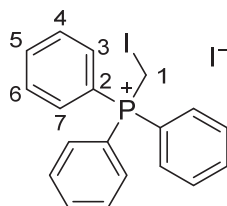


RT_CON_002

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.01 (t, $^3J_{5,4}$ = 7.6 Hz, 3 H, 5-H), 2.15 (m, 2 H, 4-H), 3.99 (d, $^3J_{1,2}$ = 8.4 Hz, 2 H, 1-H), 5.57–5.62 (m, 1 H, 2-H), 5.66–5.71 (m, 1 H, 3-H).

Iodmethyltriphenylphosphonium Iodid (89)

Gemäß *Conway et al.*^[179] wurde zu einer Suspension of Triphenylphosphin (10.0 g, 38.1 mmol) in 10 mL Toluol, 4 mL Methylendiiodid (49.6 mmol, 1.30 Äq.) hinzugegeben. Der Ansatz wurde 17 h bei 47 °C gerührt. Bereits nach 1 h konnte man eine Bildung eines weißen Feststoffes beobachten. Nach beendeter Reaktion wurden die Kristalle (6.80 g, 12.8 mmol; 34 %) abfiltriert, mit Toluol gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Die analytischen Daten stimmten mit den publizierten überein.^[179]

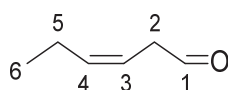


RT_CON_005

Smp.: 227–228 °C. **¹H-NMR** (600 MHz, DMSO): δ [ppm] = 5.02 (d, $^2J_{1,P} = 8.7$ Hz, 2 H, 1-H), 7.77–7.80 (m, 6 H, Ar-H), 7.84–7.87 (m, 6 H, Ar-H), 7.90–7.93 (m, 3 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, DMSO): δ [ppm] = 118.1 ($C_{\text{quart.}}$, C-2) 118.7 ($C_{\text{quart.}}$, C-2), 130.1 (d, $J = 12.7$ Hz, C-Ar), 133.8 (d, $J = 10.4$ Hz, C-Ar), 135.15 (d, $J = 2.9$ Hz, C-Ar). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2918, 2849, 1586, 1480, 1738, 1318, 1109, 997, 783, 743, 721. **HRMS** berechnet für C₁₉H₁₇IP (M⁺) 403.0107; gefunden: 403.0108.

(Z)-Hex-3-en-al (88)

Nach einer Vorschrift von *Wavrin et al.*^[58] wurde in einem sekurierten 100 mL *Schlenk*-Kolben 1.00 g (9.98 mmol) *cis*-3-Hexen-1-ol in 30.7 mL CH₂Cl₂ vorgelegt. Durch die Zugabe von 4.20 g (1.00 Äq., 9.98 mmol) *Dess-Martin* Periodinan wurde die Reaktion bei Raumtemperatur gestartet. Nach beendeter Reaktion wurde der Feststoff über Celite abfiltriert, das Filtrat mit NH₄Cl versehen und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Nach Evaporation des Lösungsmittels wird das Rohprodukt über eine kurze Filtersäule gereinigt. Der entstandene Aldehyd ist instabil und wird sofort in den entsprechenden Folgereaktionen eingesetzt. Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur weitestgehend überein.^[58]



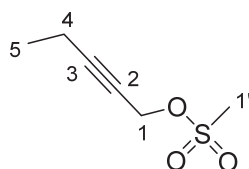
RT_CON_004_WDH

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.96 (t, $^3J_{6,5} = 7.6$ Hz, 3 H, 6-H), 1.9–2.06 (m, 2 H, 5-H, überlappt mit EtOAc Signal), 3.15–3.16 (m, 2 H, 2-H), 5.46–5.50 (m, 1 H, 4-H), 5.65–5.70 (m, 1 H, 3-H), 9.63 (m, 1 H, 1-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.0 (CH₃, C-6), 21.0 (CH₂, C-5), 42.6 (CH₂, C-2), 117.5 (CH, C-3), 137.1 (CH, C-4), 199.8 ($C_{\text{quart.}}$, C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2957, 2926, 2858, 1727, 1644, 1601, 1578, 1463, 1379, 1273, 1123, 1073, 1040, 960, 743, 703, 650.

Pent-2-yn-1-ylmethanesulfonat (92)

Gemäß einer Vorschrift von *Kobayashi et al.*^[60] wurden unter inerten Bedingungen 470 mg (5.59 mmol, 1.00 Äq.) Pent-2-in-1-ol sowie 1 mL Et₃N (7.13 mmol, 1.20 Äq.) in 4.5 mL CH₂Cl₂ vorgelegt. Der Ansatz wurde auf -78 °C gekühlt und eine Lösung von 0.51 mL Methansulfonsäurechlorid (6.53 mmol, 1.20 Äq.) in 0.4 mL CH₂Cl₂ hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde anschließend für 40 min bei RT gerührt, ehe dieser durch Zugabe von

dH₂O gestoppt wurde. Die wässrige Phase wurde viermal mit CH₂Cl₂ extrahiert und anschließend mit NaCl gewaschen. Die gesammelten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels konnte das gewünschte Produkt in nahezu reiner Form als gelbes Öl erhalten werden (92 %, 886 mg, 5.46 mmol). Die analytischen Daten konnten nicht mit der Literatur verglichen werden, da das Produkt zwar hergestellt, aber nicht beschrieben wurde.

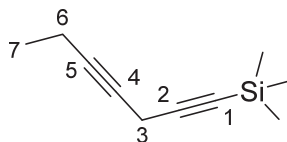


RT_CON_009

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.31. **R_f** (PE/EtOAc 60/40): 0.57. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.16 (t, ³J_{5,4} = 7.5 Hz, 3 H, 5-H), 2.27 (q, ³J_{4,5} = 7.4 Hz, 2 H, 4-H), 3.11 (s, 3 H, 1'-H), 4.84 (s, 2 H, 1-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 12.6 (CH₂, C-4), 13.5 (CH₃, C-5), 39.2 (CH₃, C-1'), 58.7 (CH₂, C-1), 71.8 (C_{quart.}, C-3), 92.4 (C_{quart.}, C-2). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2982, 2942, 2239, 1457, 1416, 1350, 1258, 1171, 1000, 973, 960, 927, 840, 803, 715. **HRMS** berechnet für C₆H₁₀O₃SNa (M+Na) 185.0248; gefunden: 185.0242.

Hepta-1,4-diyn-1-yltrimethylsilan (93a)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Mowat et al.*^[61] wurden zunächst K₂CO₃ (457 mg, 3.31 mmol), CuI (630 mg, 3.31 mmol) und NaI (496 mg, 3.31 mmol) in einem *Schlenk* Kolben ausgeheizt und anschließend mit 54 mL DMF (über 4 Å Molekularsieb getrocknet) versehen. Im nächsten Schritt wurden 154 mg (1.57 mmol) Trimethylsilylacetylen, welches in 1.9 mL DMF gelöst wurde hinzugegeben. Abschließend wurde die zuvor hergestellte Verbindung **92** (800 mg, 4.93 mmol) hinzugegeben und für weitere 22 h bei RT gerührt. Der Ansatz wurde über Celite abfiltriert und mit Et₂O gespült. Die organische Phase wurde zweimal mit dH₂O und fünfmal mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Evaporation des Lösungsmittels erfolgte unter vermindertem Druck. Säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel (PE/Et₂O 20/80) ergab das gewünschte Produkt in 11 % Ausbeute (27.1 mg, 0.16 mmol). Die geringe Ausbeute ist vermutlich auf die volatile und instabile Eigenschaft des Produktes zurückzuführen.

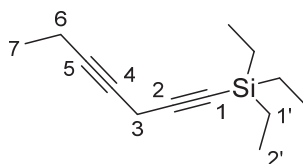


RT_CON_010_3-5

R_f (PE/Et₂O 20/80): 0.84. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.16 [s, 9 H, Si(CH₃)₃], 1.12 (t, $^3J_{7,6}$ = 7.5 Hz, 3 H, 7-H), 2.17 (mc, 2 H, 6-H), 3.19 (t, $^5J_{3,6}$ = 2.2 Hz, 2 H, 3-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.09 [CH₃, Si(CH₃)₃], 11.0 (CH₂, C-3), 12.6 (CH₂, C-6), 14.0 (CH₃, C-7), 72.8 (C_{quart.}), 82.5 (C_{quart.}), 84.8 (C_{quart.}), 100.9 (C_{quart.}). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2962, 2184, 1411, 1321, 1250, 1173, 1145, 1016, 949, 846, 761, 700.

Triethyl(hepta-1,4-diyn-1-yl)silan (93b)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Mowat et al.*^[61] wurden zunächst K₂CO₃ (572 mg, 4.14 mmol), CuI (790 mg, 4.14 mmol) und NaI (622 mg, 4.14 mmol) in einem *Schlenk* Kolben ausgeheizt und anschließend mit 67 mL DMF (über 4 Å Molekularsieb getrocknet) versehen. Im nächsten Schritt wurden 572 mg (4.00 mmol) Triethylsilylacetylen, welches in 4.9 mL DMF gelöst wurde hinzugegeben. Abschließend wurde die zuvor hergestellte Verbindung **92** (1.00 g, 6.16 mmol) tropfenweise hinzugegeben und für weitere 20 h bei RT gerührt. Der Ansatz wurde über Celite abfiltriert und mit Et₂O gespült. Die organische Phase wurde zweimal mit dH₂O und fünfmal mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Evaporation des Lösungsmittels erfolgte unter vermindertem Druck. Säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel (PE/Et₂O 80/20) ergab das gewünschte Produkt in 66 % Ausbeute (840 mg, 4.07 mmol; mit leichten Verunreinigungen).



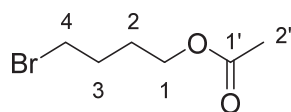
RT_CON-023_7-13

R_f (PE/Et₂O 80/20): 0.84. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.59 (q, $^3J_{1',2'}$ = 7.9 Hz, 6 H, 2'-H), 0.99 (t, $^3J_{2',1'}$ = 7.9 Hz, 9 H, 2'-H), 1.12 (t, $^3J_{7,6}$ = 7.5 Hz, 3 H, 7-H), 2.17 (mc, 2 H, 6-H), 3.19 (t, $^5J_{3,6}$ = 2.4 Hz, 2 H, 3-H).

Osthälfte

Essigsäure-4-brombut-1-ylester (82)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Santra et al.*^[180] wurden in einem sekurierten 500 mL Kolben 24.4 mL THF und 42.2 g KBr (355 mmol) in 300 mL Acetonitril vorgelegt. Nach dem Kühlen des Ansatzes auf 0 °C wurde unter Rühren tropfenweise Acetylchlorid (22.0 mL, 310 mmol) hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde der Ansatz für weitere 36 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde dH₂O hinzugegeben und der Ansatz fünfmal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde das Produkt als farblose Flüssigkeit durch eine kurze Filtersäule (95/5 *n*-Pentan/Et₂O) erhalten.

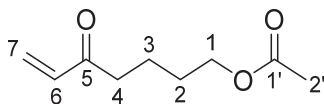


RT_CON_001

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.63. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.76–1.80 (m, 2 H, 2-H), 1.90–1.95 (m, 2 H, 3-H), 2.04 (s, 3 H, 2'-H), 3.42 (t, ³J_{4,3} = 6.7 Hz, 2 H, 4-H), 4.08 (t, ³J_{1,2} = 6.3 Hz, 2 H, 1-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.1 (CH₃, C-2'), 27.4 (CH₂), 29.40 (CH₂), 33.17 (CH₂), 63.56 (CH₂), 171.16 (C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2969, 1736, 1437, 1388, 1366, 1233, 1040, 948, 874, 749. **ESI** *m/z* berechnet für C₆H₁₁O₂Br 195.9942; gefunden 195.0012 [C₆H₁₂O₂Br]; 196.9995 [C₆H₁₂O₂⁸¹Br]. Die analytischen Daten stimmen mit denen aus der Literatur überein.^[180]

Essigsäure-(5-oxohept-6-en-1-yl)-ester (96)

Zinkpulver (10.0 g, 153 mmol) wurde in einem *Schlenk*-Kolben vorgelegt und mit ausgeheizt. Anschließend wurde zunächst Iod zugegeben (1.30 g, 5.10 mmol) und gewartet bis sich der entstandene rote „Nebel“ legt. Dann wurde DMA (103 mL) sowie Essigsäure-4-brombutylester (20.0 g, 102.5 mmol) unter Rühren hinzu zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf 80 °C erhitzt und der Umsatz mittels GC überprüft. Nach vollständiger Umsetzung wurde der Ansatz auf 0 °C gekühlt und zunächst mit dem Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (709 mg, 0.61 mmol) gefolgt von 11.3 g Acrylsäurechlorid (125 mmol) versehen und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz zunächst über Watte und Celite abfiltriert ehe dieser mit NH₄Cl versehen und mit EtOAc extrahiert wurde. Nach Evaporation des Lösungsmittels (bis 100 mbar) und säulenchromatographischer Aufreinigung (PE/EtOAc 80/20) konnte das Produkt in 56 % (9.88 g, 58.0 mmol) Ausbeute isoliert werden.

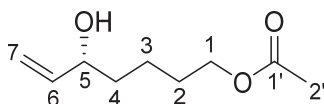


JG_001

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.31. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.62–1.72 (m, 2 H, 2-H u. 3-H), 2.03 (s, 3 H, 2'-H), 2.62 (t, $^3J_{4,3}$ = 7.0 Hz, 2 H, 4-H), 4.06 (t, $^3J_{1,2}$ = 6.2 Hz, 2 H, 1-H), 5.82 (dd, $^3J_{7Z,6}$ = 10.6 Hz, $^2J_{7Z,7E}$ = 1.0 Hz, 1 H, 7-H_Z), 6.21 (dd, $^3J_{7E,6}$ = 17.6 Hz, $^2J_{7E,7Z}$ = 1.0 Hz, 1 H, 7-H_E), 6.34 (dd, $^3J_{6,7E}$ = 17.6 Hz, $^3J_{6,7Z}$ = 10.6 Hz, 1 H, 6-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 20.37 (CH₂, C-2 od. C-3), 21.09 (CH₃, C-2'), 28.20 (CH₂, C-3 od. C-2), 39.01 (CH₂, C-4), 64.19 (CH₂, C-1), 128.23 (CH₂, C-7'), 136.61 (CH, C-6), 171.26 (C-5), 200.35 (C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2956, 1733, 1702, 1682, 1616, 1403, 1367, 1235, 1119, 1038, 969, 742. **HRMS** berechnet für: C₉H₁₄O₃Na [M+Na]: 193.0840; gefunden: 193.0835. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[30]

(R)-Essigsäure-(5-hydroxyhept-6-en-1-yl)-ester [(R)-97]

In einem 500-mL-Erlenmeyerkolben wurden 224 mL (8 mL/mmol) KP_i-Puffer (100 mM, 1 mM MgSO₄, pH 7.0) vorgelegt. Darin wurden 50 mL Enzymlösung (ADH_T, 13.6 U/mmol) gelöst. Anschließend wurden 224 mg NADPNa₂ (0.28 mmol, 1.0 mol%), 16.8 mL Isopropanol (13.3 Vol%) sowie 4.8 g (28.2 mmol) des Ketons **96** hinzugegeben. Der Erlenmeyerkolben wurde mit Aluminiumfolie bedeckt und für 24 h bei 37 °C und 200 rpm inkubiert. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch in 50 ml Falcons gleichmäßig aufgeteilt und durch Zugabe von 2 mL 1 M HCl gestoppt. Das denaturierte Enzym wurde durch Zentrifugation (20 min, 12000 rpm, RT) sowie durch anschließende Filtration des Überstandes über Celite vollständig entfernt. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit MTBE (5x) und Waschen der gesammelten organischen Phasen mit einer ges. Lösung NaCl, wurden die gesammelten Fraktionen über MgSO₄ getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EtOAc 80/20). Das Produkt konnte als farbloses Öl in 96 % Ausbeute (4.66 g, 27.0 mmol) gewonnen werden.

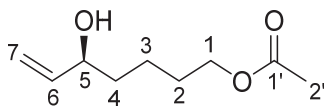


MO_005

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.18. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7.9$ (c 1.09; CHCl₃). **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.34–1.42 (m, 1 H, 3-H), 1.42–1.49 (m, 1 H, 3-H), 1.50–1.59 (m, 2 H, 4-H), 1.60–1.68 (m, 2 H, 2-H), 2.02 (s, 3 H, 2'-H), 4.04 (t, $^3J_{1,2} = 6.7$ Hz, 2 H, 1-H), 4.08 (m_c, 1 H, 5-H), 5.09 (d, $^3J_{7a,6} = 10.3$ Hz, 1 H, 7-H_a), 5.20 (d, $^3J_{7b,6} = 17.4$ Hz, 1 H, 7-H_b), 5.84 (ddd, $^3J_{6,7E} = 16.9$ Hz, $^3J_{6,7Z} = 10.4$ Hz, $^3J_{6,5} = 6.3$ Hz, 1 H, 6-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.1 (CH₃, C-2'), 21.9 (CH₂, C-3), 28.6 (CH₂, C-2), 36.6 (CH₂, C-4), 64.5 (CH₂, C-1), 73.1 (CH, C-5), 114.9 (CH₂, C-7), 141.2 (CH, C-6), 171.36 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3427, 2941, 2867, 1721, 1428, 1390, 1367, 1238, 1137, 1036, 992, 919, 733. **HRMS** berechnet für C₉H₁₆O₃Na [M+Na]: 195.0997; gefunden: 195.0992. **HPLC** (Chiralpak IC, n-Heptan/ Isopropanol 95/5, 0.5 mL/min, 25 °C, 205 nm): Rt.: 45.6 min.

(S)-Essigsäure-(5-hydroxyhept-6-en-1-yl)-ester [(S)-97]

In einem Erlenmeyerkolben wurden 2.3 mL (8 mL/mmol) KP_i-Puffer (100 mM, 1 mM MgSO₄, pH 7.0) vorgelegt. Darin wurden 27.0 μ L Enzymlösung (ADH_{LB}, 1120 U/mL) gelöst. Anschließend wurden 2.8 mg NADPNa₂ (3.5 μ mol, 1.0 mol%), 0.17 mL Isopropanol (13.3 Vol%) sowie 51 mg (0.34 mmol) des Ketons **96** hinzugegeben. Der Erlenmeyerkolben wurde mit Aluminiumfolie bedeckt und für 24 h bei 37 °C und 200 rpm inkubiert. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch in 50 mL Falcons gleichmäßig aufgeteilt und durch Zugabe von 2 mL 1 M HCl gestoppt. Das denaturierte Enzym wurde durch Zentrifugation (20 min, 12000 rpm, RT) sowie durch anschließende Filtration des Überstandes über Celite vollständig entfernt. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit MTBE (5x) und Waschen der gesammelten organischen Phasen mit einer ges. Lösung NaCl, wurden die gesammelten Fraktionen über MgSO₄ getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EtOAc 80/20). Das Produkt konnte als farbloses Öl in 61 % Ausbeute (35.8 g, 208 μ mol) gewonnen werden.



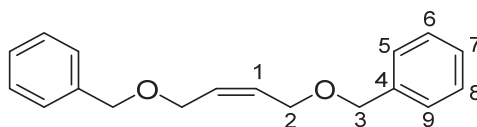
MO_004

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.18. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4.3$ (c 1.01; CHCl₃). **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.34–1.42 (m, 1 H, 3-H), 1.42–1.49 (m, 1 H, 3-H), 1.50–1.59 (m, 2 H, 4-H), 1.60–1.68 (m, 2 H, 2-H), 2.02 (s, 3 H, 2'-H), 4.04 (t, $^3J_{1,2} = 6.7$ Hz, 2 H, 1-H), 4.08 (m_c, 1 H, 5-H), 5.09 (d, $^3J_{7a,6} = 10.3$ Hz, 1 H, 7-H_a), 5.20 (d, $^3J_{7b,6} = 17.4$ Hz, 1 H, 7-H_b), 5.84 (ddd, $^3J_{6,7E} = 16.9$ Hz,

$^3J_{6,7Z} = 10.4$ Hz, $^3J_{6,5} = 6.3$ Hz, 1 H, 6-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 21.1 (CH_3 , C-2'), 21.9 (CH_2 , C-3), 28.6 (CH_2 , C-2), 36.6 (CH_2 , C-4), 64.5 (CH_2 , C-1), 73.1 (CH , C-5), 114.9 (CH_2 , C-7), 141.2 (CH , C-6), 171.36 ($\text{C}_{\text{quart.}}$, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 3426, 2941, 2867, 1721, 1428, 1390, 1367, 1238, 1137, 1036, 992, 921, 754, 667. **HPLC** (Chiralpak IC, n-Heptan/Isopropanol 95/5, 0.5 mL/min, 25 °C, 205 nm): $R_t = 40.4$ min.

(Z)-1,4-Bis(benzyloxy)but-2-en (98)

In Anlehnung an das Patent von *Tsutomu* und *Toshiro*^[181] wurde zu einer 48 %-igen NaOH-Lösung (42.6 g in 89 mL dH_2O) 1.10 g (3.41 mmol) *tetra-n*-Butylammoniumbromid hinzugegeben und auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde zunächst (Z)-1,4-Butendiol (10.0 g, 114 mmol) hinzugegeben, gefolgt von einer langsamen Zugabe von Benzylchlorid (31.6 g, 250 mmol) bei 80 °C. Der Reaktionsansatz wurde noch weitere 2.5 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach Abkühlen des Gemisches wurden 90 mL H_2O zugegeben und die organische Phase getrennt. Zu der organischen Phase wurde im Folgenden eine Lösung von NaCl mit 2 mL konz. H_2SO_4 zugegeben. Im nächsten Schritt wurde die organische Phase zwei Mal mit einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Nach Evaporation des Lösungsmittels und säulenchromatographischer Aufarbeitung (PE/ Et_2O 90/10) konnte das Produkt (98 %, 29.8 g, 111 mmol) als farblose Flüssigkeit in reiner Form erhalten werden.

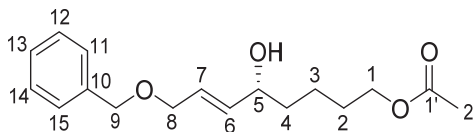


MO_001_nachlauf

R_f (PE/ EtOAc 90/10): 0.16. **$^1\text{H-NMR}$** (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.07 (d, $^3J_{2,1} = 4.3$ Hz, 4 H, 2-H), 4.50 (s, 4 H, 3-H), 5.77–5.82 (m, 2 H, 1-H), 7.28–7.30 (m, 2 H, 7-H), 7.32–7.36 (m, 8 H, 5-H, 6-H, 8-H, 9-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 65.9 (CH_2 , C-2), 72.4 (CH_2 , C-3), 127.8 (CH , C-Ar), 127.9 (CH , C-Ar), 128.6 (CH , C-Ar), 129.7 (CH , C-1), 138.3 (C-4). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 3030, 2857, 1702, 1496, 1454, 1384, 1362, 1330, 1247, 1204, 1070, 1028, 1028, 945, 819, 734, 696. **HRMS** berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) 291.1361; gefunden.: 291.1357; berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) 269.1542; gefunden: 269.1538. Die analytischen Daten stimmen mit den publizierten überein.^[181]

(*R,E*)-Essigsäure-8-(benzyloxy)-5-hydroxyoct-6-en-1-yl ester (99)

In CH₂Cl₂ wurden 4.4 g der Verbindung (*R*)- **97** (26 mmol) sowie 30.0 g der Verbindung **98** (112 mmol) vorgelegt und auf 4 °C gekühlt. Anschließend wurden zunächst 43.1 mg DDQ (0.19 mmol) und 238.0 mg Hoveyda-Grubbs 2nd Generation Katalysator (0.38 mmol) zugegeben. Der Reaktionskolben wurde mit Aluminiumfolie verdeckt und für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz über Celite filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Nach einer säulenchromatographischen Aufarbeitung (PE/EtOAc 93/7) konnte das Produkt in reiner Form in 63 % Ausbeute (4.7 g, 16.1 mmol) erhalten werden.



MO_008.1Fr17-31

R_f (80/20 PE/EtOAc) = 0.06. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.36-1.44 (m, 1 H, Alkyl-H), 1.44-1.50 (m, 1 H, Alkyl-H), 1.51-1.60 (m, 2 H, Alkyl-H), 1.61-1.69 (m, 2 H, Alkyl-H), 2.03 (s, 3 H, 2'-H), 4.03 (d, ³J_{8,7} = 4.7 Hz, 2 H, 8-H), 4.06 (t, ³J_{1,2} = 6.7 Hz, 2 H, 1-H), 4.10-4.17 (m, 1 H, 5-H), 5.43 (s, 2 H, 9-H), 5.74-5.83 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 7.27-7.31 (m, 1 H, H-13), 7.33-7.36 (m, 11-H, 12-H, 14-H, 15-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.14 (CH₃, C-2'), 22.01 (CH₂), 28.66 (CH₂), 36.75 (CH₂), 64.5 (CH₂, C-1), 70.2 (CH₂, C-8), 72.3 (CH, C-5), 72.5 (CH₂, C-9), 127.5 (CH, C-6 od. C-7), 127.81 (CH, C-Ar), 127.90 (CH, C-Ar), 128.55 (CH, C-Ar), 135.9 (CH, C-7 od. C-6), 138.30 (C_{quart.}, C-10), 171.36 (C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3443, 2940, 2860, 1735, 1497, 1455, 1389, 1238, 1113, 1044, 1028, 971, 896, 811, 737, 698. **HRMS** berechnet für C₁₇H₂₅O₄ (M+H): 293.1753, gefunden.: 293.1750; berechnet für (M+Na): 315.1572, gefunden: 315.1570.

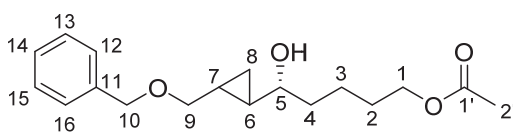
(5*R*)-5-{2-[(Benzyloxy)methyl]cyclopropyl}-5-hydroxypentylacetat (105)

In Anlehnung an die Methode nach *Charette et al.*^[182] wurde zunächst das Cyclopropanierungsreagenz hergestellt (i) und anschließend die eigentliche Cyclopropanierung durchgeführt (ii).

(i) Diethylzink (18 mL, 1 M in Hexan, ~18.6 mmol) wurden in 5 mL CH₂Cl₂ gelöst und auf -15 °C gekühlt. Danach erfolgte die Zugabe von 1.85 mL 1,2-Dimethoxyethan (DME, frisch destilliert). Die anschließende Zugabe von 3 mL Diiodmethan (innerhalb 20 min) erfolgte unter Beobachtung der Temperatur, welche nicht über -10 °C steigen sollte.

(ii) Das Dioxaborolan **100** (202.7 mg, 0.75 mmol, 1.1 Äq.), Metatheseprodukt **99** (200.0 mg, 0.68 mmol, 1 Äq.) und 27.5 mg 4 Å Molekularsieb wurden in 3.4 mL CH₂Cl₂ vorgelegt. Bei einer Temperatur von -15 °C wurden 2.6 mL des in (i) hergestellten Komplexes innerhalb von 20 min hinzugegeben. Auch hier wird darauf geachtet, dass die Temperatur -10 °C nicht überstieg. Nach beendeter Zugabe wurde das Gemisch für weitere 2 h bei dieser Temperatur gerührt.

Die Reaktion wurde durch Zugabe einer gesättigten NH₄Cl-Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde mit Et₂O extrahiert. Nach Evaporation des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das Produkt säulenchromatographisch gereinigt werden und als Diastereomerengemisch in 23 % Ausbeute (24.2 mg) erhalten werden.



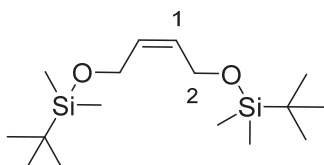
MO_011_2S_15-44/MO_011_13C

R_f (50/50 PE/EtOAc) = 0.38. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.46–0.50 (m, 1 H, 8-H_a), 0.57 (m_c, 1 H, 8-H_b), 0.80–0.85 (m, 1 H, 6-H), 1.05–1.09 (m, 1 H, 7-H), 1.40–1.49 (m, 2 H, 2-H, 3-H od. 4-H), 1.50–1.56 (m, 2 H, 2-H, 3-H od. 4-H), 1.57–1.68 (m, 2 H, 2-H, 3-H od. 4-H), 2.04 (s, 3 H, 2'-H), 2.94 (dt, *J* = 8.5 Hz, *J* = 6.1 Hz, 1 H, 5-H), 3.23 (dd, ³*J*_{9a,9b} = 10.1 Hz, ³*J*_{9a,7} = 7.3 Hz, 1 H, 9-H_a), 3.42 (dd, ³*J*_{9b,9a} = 10.1 Hz, ³*J*_{9b,7} = 7.3 Hz, 1 H, 9-H_b), 4.06 (t, ³*J*_{1,2} = 6.5 Hz, 2 H, 1-H), 4.52 (s, 2 H, 10-H), 7.27–7.30 (m, 1 H, Ar-H), 7.32–7.35 (m, 4 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.3 (CH₂, C-8), 16.6 (CH, C-7), 21.2 (CH₃, C-2'), 22.2 (CH₂, C-2, C-3 od. C-4), 24.5 (CH, C-6), 28.8 (CH₂, C-2, C-3 od. C-4), 36.7 (CH₂, C-2, C-3 od. C-4), 64.6 (CH₂, C-1), 72.7 (CH₂, C-10), 73.6 (CH₂, C-9), 75.5 (CH, C-5), 127.8 (CH, C-Ar), 128.5 (CH, C-Ar), 138.5 (C_{quart.}, C-11), 171.4 (C_{quart.}, C-1').

(Z)-2,2,3,3,10,10,11,11-octamethyl-4,9-dioxa-3,10-disiladodec-6-en (**66**)

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurden 100 mmol (8.83 g) (Z)-1,4-Butendiol in 75 mL CH₂Cl₂ (0.75 mL/mmol) gelöst. Während das Reaktionsgemisch mit Hilfe eines Eisbades gekühlt wurde, wurden im Stickstoffgegenstrom 225 mmol (15.3 g, 2.25 Äq.) Imidazol hinzugegeben und gerührt. War der gesamte Feststoff gelöst, wurde portionsweise 225 mmol (33.4 g, 2.25 Äq.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend für 17 h bei RT weitergerührt. Die entstandene farblose Suspension wurde mit dH₂O, nach Beendigung der Reaktion, verdünnt und gelöst. Die Extraktion erfolgte durch

fünfmaliges Ausschütteln mit CH_2Cl_2 . Die gesammelten organischen Phasen wurden anschließend einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels konnte das gewünschte Produkt säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EtOAc 90/10) aufgereinigt und als farblose, reine Flüssigkeit (30.5 g, 96.2 mmol, 96 %) erhalten werden.

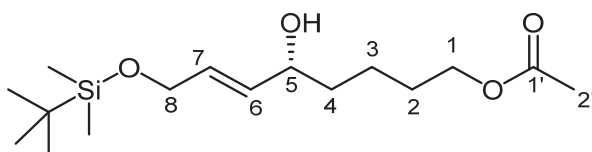


JG_002

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.85. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz): δ [ppm] = 0.07 [s, 12 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.09 [s, 18 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 4.23 [d, $^3J_{1,2} = 3.6$ Hz, 4 H, 1-H], 5.55 [t, $^3J_{2,1} = 3.6$ Hz, 2 H, 2-H]. $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -5.0 [CH_3 , $\text{Si}(\text{CH}_2)_2$], 18.5 [$\text{C}_{\text{quart.}}$, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 26.1 [CH_3 , $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 59.8 (CH, C-1), 130.3 (CH_2 , C-2). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}): 2887, 2955, 2930, 2858, 1472, 1463, 1406, 1390, 1362, 1253, 1078, 1006, 939, 833, 773, 668, 569, 535, 519.

(*R,E*)-8-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-5-hydroxyoct-6-en-1-ylacetat (106)

Der Allylalkohol (*R*)-**97** (163 mg, 0.95 mmol, 1.00 Äq) sowie das TBS-geschützte (*Z*)-2-Buten-1,4-diol [(**66**), 1.81 g, 5.70 mmol, 6.00 Äq] wurden in 15.2 mL CH_2Cl_2 gelöst und in einem *Schlenk*-Gefäß vorgelegt. 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ; 2.66 mg, 0.01 mmol) wurde anschließend hinzugefügt und das Gemisch auf 0 °C gekühlt. Nach weiterer Zugabe des Ruthenium Katalysators *Hoveyda-Grubbs* 2. Generation (29.0 mg, 0.05 mmol, 0.05 Äq) wurde die Reaktion über Nacht bei RT gerührt. Dabei verdunkelte sich der Reaktionsansatz. Der Reaktionsansatz wurde abschließend über Celite abfiltriert, gefolgt von der Zugabe von Wasser. Die wässrige Phase wurde daraufhin mittels CH_2Cl_2 extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt. Das gewünschte Metatheseprodukt konnte in 63 % (190 mg, 0.60 mmol) als leicht gelbliches Öl gewonnen werden.

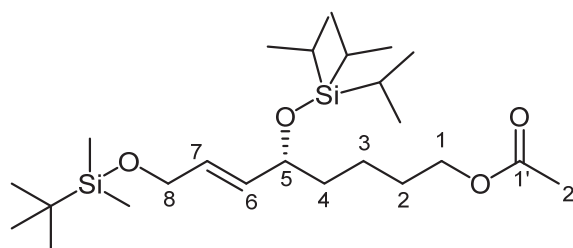


JG_014

R_f (PE/EtOAc 60/40): 0.52; **[α]_D²⁰** −0.9 (c 1.03, CHCl₃); **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.07 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.91 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 1.36–1.60 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.65 (m, 2 H, 2-H), 2.04 (s, 3 H, 2'-H), 4.06 (t, 2 H, ³J_{1,2} = 6.7 Hz, 1-H), 4.13 (m, 1 H, 5-H), 4.18 (d, ³J_{8,7} = 3.9 Hz, 2 H, 8-H), 5.73 (m, 2 H, 6-H, 7-H); **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz): δ [ppm] = −5.0 [CH₃, Si(CH₃)₂], 18.6 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 21.2 (CH₃, C-2'), 22.1 (CH₂, C-3 od. C-4), 26.1 [CH₃, SiC(CH₃)₃], 28.7 (CH₂, C-2), 36.9 (CH₂, C-3 od. C-4), 63.2 (CH₂, C-8), 64.6 (CH₂, C-1), 72.4 (CH, C-5), 130.6 (CH₂, C-6 od. C-7), 132.8 (CH, C-6 od. C-7), 171.4 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{−1}) 3458, 2931, 2858, 1740, 1463, 1364, 1238, 1119, 1048, 970, 834, 775, 668.

(*R,E*)-8-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-5-[(triisopropylsilyl)oxy]oct-6-en-1-yl acetat (107)

Verbindung **106** (2.63 g, 8.30 mmol) wurde in 7.5 mL CH₂Cl₂ gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt ehe 681 mg Imidazol (10.0 mmol, 1.20 Äq) hinzugegeben wurden. TIPSOTf (3.14 g, 10.2 mmol, 1.20 Äq) wurde anschließend portionsweise zugegeben. Die Reaktion wurde über Nacht bei RT gerührt. Durch Zugabe von Wasser wurde die Reaktion gestoppt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc 90/10) aufgereinigt. Das gewünschte Produkt konnte in einer Ausbeute von 79 % (3.09 g, 6.54 mmol) als farbloses Öl erhalten werden.



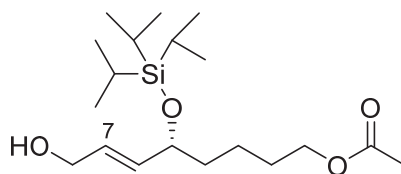
JG_015

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.80; **[α]_D²⁰** +4.5 (c 1.01, CHCl₃); **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.06 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.90 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 1.04 {m, 18 H, Si[C(CH₃)₂]₃}, 1.38 (m, 2 H, 3-H), 1.45–1.66 (m, 4 H, 2-H, 4-H), 2.03 (s, 3 H, C-2'), 4.04 (t, ³J_{1,2} = 6.7 Hz, 2 H, 1-H), 4.16 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 4.23 (m, 1 H, 5-H), 5.64 (m, 2 H, 8-H); **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = −5.1 [CH₃, SiCH(CH₃)₂], 12.2 {CH₃, Si[CH(CH₃)₂]₃}, 12.6 {CH₃, Si[CH(CH₃)₂]₃}, 18.3 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 21.2 (CH₃, C-2'), 21.3 (CH₂, C-3 od. C-4), 26.1 [CH₃, SiCH(CH₃)₃], 28.9 (CH₂, C-2), 38.3 (CH₂, C-3 od. C-4), 63.3 (CH₂, C-8), 64.7 (CH₂, C-1), 73.1 (CH, C-5), 129.3 (CH₂, C-6 od.

C-7), 133.4 (CH, C-6 od. C-7), 171.4 ($C_{\text{quart.}}$, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2943, 2866, 1744, 1463, 1385, 1364, 1237, 1091, 1050, 1013, 970, 882, 835, 775, 678.

(*R,E*)-8-Hydroxy-5-[(triisopropylsilyl)oxy]oct-6-en-1-ylacetat (108**)**

Das Edukt **107** (507 mg, 1.06 mmol) wurde in 13.3 mL THF vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. HF in Pyridin (100 μL , 70 %, 4.00 Äq.) wurden hinzugegeben, das Eisbad entfernt und die Reaktion über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktion wurde mit einer wässrigen Lösung HCO_3 gestoppt und mit EtOAc extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nachdem das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt wurde, konnte das Produkt über eine säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 90/10) in 25 % Ausbeute (95.6 mg, 0.27 mmol) gewonnen werden.



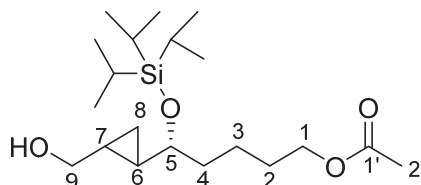
JG_017

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.59; **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.02–1.07 {m, 21 H, $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$ u. $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$ }, 1.32 (bs, 1 H, OH), 1.35–1.42 (m, 2 H, 3-H), 1.51–1.58 (m, 2 H, 4-H), 1.62 (m_c , 2 H, 2-H), 2.04 (s, 3 H, 2'-H), 4.05 (t, $^3J_{1,2} = 6.6$ Hz, 2 H, 1-H), 4.13–4.17 (m, 2 H, 8-H), 4.26 (m_c , 1 H, 5-H), 5.66–5.69 (m, 1 H, 6-H), 5.74–5.78 (m, 1 H, 7-H); **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 12.6 {3 CH, $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$ }, 18.3 ({18 CH, $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$ }, 21.1 (CH_2 , C-3), 21.2 (CH_3 , C-2'), 28.9 (CH_2 , C-2), 38.1 (CH_2 , C-4), 63.3 (CH_2 , C-8), 64.6 (CH_2 , C-1), 72.8 (CH, C-5), 128.9 (CH, C-7), 135.2 (CH, C-6), 171.4 ($C_{\text{quart.}}$, C-1').

(5*R*)-5-[2-(Hydroxymethyl)cyclopropyl]-5-[(triisopropylsilyl)oxy]pentylacetat (109**)**

Eine Lösung aus Verbindung **108** (85.0 mg, 0.24 mmol) in 2.4 mL CH_2Cl_2 wurde mit Hilfe eines Trockeneis Bades in Aceton auf -15 °C gekühlt. Diethylzink (1.2 mL; 1M in Hexan) sowie Diiodmethan (96.0 μL , 1.05 mmol, 4.00 Äq.) wurden mit Hilfe einer Spritze hinzugegeben und für 1 h bei -15 °C gerührt. Anschließend wurde das Kältebad entfernt und die Reaktion für weitere 2 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer gesättigten NH_4Cl -Lösung gestoppt. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit CH_2Cl_2 extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurde die

organische Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das gewünschte Produkt konnte durch zweimalige Reinigung über Kieselgel (erste Säule: PE/EtOAc 70/30, DV 1:4; zweite Säule: PE/EtOAc 90/10, DV 1:9) in 23 % Ausbeute (20.3 mg, 54.5 μmol) gewonnen werden. Analytische Daten gehören zum Überschussdiastereomer.

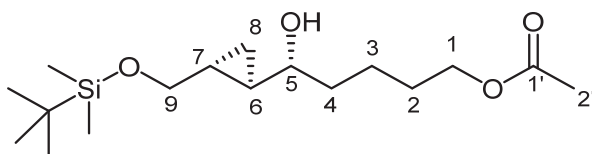


RT_CON_017_10-15

R_f (Et_2O): 0.65; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.42 (m_c , 1 H, 8- H_a), 0.60 (m_c , 1 H, 8- H_b), 0.82 (m_c , 1 H, 6-H), 0.97–1.08 (m , 1 H, 7-H; mit TIPS-Signal überlappend), 1.02–1.08 [m , 21 H, $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$ u. $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$], 1.44–1.54 (m , 2 H, 3-H), 1.56–1.67 (m , 4 H, 2-H u. 4-H), 2.04 (s , 3 H, 2'-H), 3.39 (m_c , 1 H, 5-H), 3.43 (dd , $^2J_{9a,9b} = 11.2$ Hz, $^3J_{9a,7} = 7.4$ Hz, 1 H, 9- H_a), 3.51 (dd , $^2J_{9b,9a} = 11.2$ Hz, $^3J_{9b,7} = 6.6$ Hz, 1 H, 9- H_b), 4.07 (t , $^3J_{1,2} = 6.6$ Hz, 3 H, 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.8 (CH_2 , C-8), 13.0 {3 CH, $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$ }, 18.4 {6 CH_3 , $\text{Si}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_3$ }, 18.7 (CH, C-7), 21.2 (CH_3 , C-2'), 21.5 (CH_2 , C-3), 23.4 (CH, C-6), 29.1 (CH_2 , C-4 od. C-2), 38.3 (CH_2 , C-2 od. C-4), 64.6 (CH_2 , C-1), 66.8 (CH_2 , C-9), 74.4 (CH, C-5), 171.4 (C-1').

(R)-5-((1R,2R)-2-(((tert-Butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)cyclopropyl)-5-hydroxypentyl-acetat (111)

Eine Lösung des Metatheseproduktes **106** (25.0 mg, 80.0 μmol) in 0.8 mL CH_2Cl_2 wurde mit Hilfe eines Trockeneis Bades in Aceton auf -15°C gekühlt. Diethylzink (0.3 mL; 1M in Hexan) wurde zunächst bei -20°C hinzugegeben und für 15 min gerührt. Anschließend folgte das Diiodmethan (24.0 μL , 1.05 mmol, 4 Äq.), welches mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette hinzugegeben und für 1 h gerührt wurde. Anschließend wurde das Kältebad entfernt und die Reaktion für weitere 4 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer gesättigten NH_4Cl -Lösung gestoppt. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit CH_2Cl_2 extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit einer gesättigten NaCl -Lösung gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das gewünschte Produkt konnte durch zweimalige Reinigung über Kieselgel (erste Säule: PE/EtOAc 70/30, DV 1:4; zweite Säule: PE/EtOAc 90/10, DV 3:97) in 47 % Ausbeute (12.5 mg, 37.8 μmol) gewonnen werden.

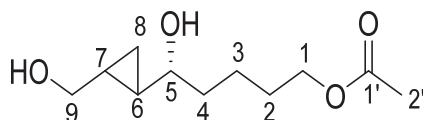


RT_CON_019_100-124

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.12; **R_f** (Et₂O): 0.58. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.04 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.04 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.45 (m_c, 1 H, 8-H_a), 0.49 (m_c, 1 H, 8-H_b), 0.78–0.83 (m, 1 H, 6-H), 0.84–0.95 (m, 1 H, 7-H), 0.89 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 1.44–1.58 (m, 2 H,), 1.59–1.68 (m, 4 H,), 2.04 (s, 3 H, 2'-H), 2.96 (m, 1 H, 5-H), 3.40 (dd, ²J_{9a,9b} = 10.6 Hz, ³J_{9a,7} = 6.5 Hz, 1 H, 9-H_a), 3.59 (dd, ²J_{9b,9a} = 10.7 Hz, ³J_{9b,7} = 5.7 Hz, 1 H, 9-H_b), 4.06 (t, 3J_{1,2} = 6.8 Hz, 2 H, 1-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -5.1 [CH₃, Si(CH₃)₂], -5.1 [CH₃, Si(CH₃)₂], 7.8 (CH₂, C-8), 18.5 [C_{quart.}, SiC(CH₃)₃], 19.3 (CH, C-7), 21.2 (CH₃, C-2'), 22.3 (CH₂, C-3), 23.8 (CH, C-6), 26.1 [3 CH₃, SiC(CH₃)₃], 28.9 (CH₂, C-4 od. C-2), 37.0 (CH₂, C-2 od. C-4), 64.6 (CH₂, C-1), 65.8 (CH₂, C-9), 75.8 (CH, C-5), 171.4 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3442, 2954, 2930, 2858, 1741, 1464, 1389, 1365, 1247, 1170, 1074, 1033, 939, 835, 814, 775, 666.

(5R)-5-Hydroxy-5-[2-(hydroxymethyl)cyclopropyl]pentylacetat (110)

Verbindung **109** (12.0 mg, 40.0 μmol) wurden unter inerten Bedingungen in 0.5 mL THF gelöst und auf 0 °C mit Hilfe eines Eisbades gekühlt. Unter Rühren wurden anschließend 18.9 mg (60 μmol, 1.5 Äq.) TBAF hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 2 h bei RT weitergerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe einer gesättigten NH₄Cl-Lösung gestoppt. Die wässrige Phase wurde viermal mit EtOAc extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Eine Reinigung über eine Kieselgel Säule (100 % Et₂O) ergab das gewünschte Produkt in 57 % Ausbeute (4.9 mg, 23.0 μmol).



RT_CON_020_5-11 bzw. RT_CON_021_108-124

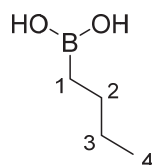
R_f (Et₂O): 0.08; **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.48 (m_c, 1 H, 8-H_a), 0.57 (m_c, 1 H, 8-H_b), 0.85 (m_c, 1 H, 6-H), 1.03 (m, 1 H, 7-H), 1.42–1.59 (m, 2 H, 3-H), 1.59–1.70 (m, 4 H, 2-H u. 4-H), 2.05 (s, 3 H, 2'-H), 3.02 (m_c, 1 H, 5-H), 3.47 (dd, ²J_{9a,9b} = 11.3 Hz, ³J_{9a,7} = 7.0 Hz, 1 H, 9-H_a), 3.51 (dd, ²J_{9b,9a} = 11.2 Hz, ³J_{9b,7} = 6.8 Hz, 1 H, 9-H_b), 4.08 (t, ³J_{1,2} = 6.6 Hz, 3 H, 1-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.9 (CH_2 , C-8), 19.4 (CH , C-7), 21.2 (CH_3 , C-2'), 22.3 (CH_2 , C-3), 24.0 (CH , C-6), 28.8 (CH_2 , C-2 od. C-4), 36.9 (CH_2 , C-4 od. C-2), 64.5 (CH_2 , C-1), 66.3 (CH_2 , C-9), 75.2 (CH , C-5), 171.4 (C-1'). **GC** (Lipodex G) R_t = 32.8 min.

Charette Auxiliar

Butylboronsäure (102)

Gemäß *Charette et al.* wurden in einem *Schlenk*-Kolben 220 mL Et_2O sowie 10 mL (89,2 mmol) Trimethylborat vorgelegt. Die Lösung wurde auf -75°C gekühlt und stark gerührt. Tropfenweise wurden dabei 55.2 mL (87.8 mmol) der zuvor hergestellten Butylmagnesiumbromidlösung hinzugegeben. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Temperatur -65°C nicht übersteigt. Nach beendeter Zugabe wurde der weiße Reaktionsansatz weitere 2 h bei -75°C gerührt. Anschließend wurde das Trockeneis Bad entfernt, sodass der Ansatz Raumtemperatur annehmen konnte. Hydrolyse des Reaktionsansatzes erfolgte durch tropfenweise Zugabe einer 10 %-igen HCl -Lösung. Der entstandene farblose Niederschlag löste sich dabei. Das gebildete Zweiphasensystem wurde für 15 min gerührt ehe es mit Et_2O extrahiert wurde. Das Produkt konnte in kristalliner Form und 39 % Ausbeute (3.53 g, 34.3 mmol) erhalten werden (bei Trocknung an der Vakuumlinie wurde das Produkt über die Zeit flüssig). Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[65]



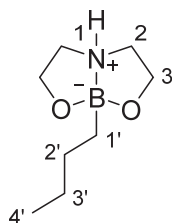
MO_007

^1H -NMR (DMSO , 600 MHz): δ [ppm] = 0.57 (t, $^3J_{1,2}$ = 7.8 Hz, 2 H, 1-H), 0.84 (t, $^3J_{4,3}$ = 7.2 Hz, 3 H, 4-H), 1.20–1.26 (m, 2 H, 3-H), 1.26–1.32 (m, 2 H, 2-H), 7.32 [bs, 2 H, $\text{B}(\text{OH})_2$]. **^{13}C -NMR** (DMSO , 151 MHz): δ [ppm] = 13.9 (CH_3 , C-4), 15.2 (br, CH_2 , C-1), 25.1 (CH_2 , C-3), 26.5 (CH_2 , C-2).

{{(3-)-N,O,O' [3,3'-Iminobis(ethanolato)]}-3-butylboron (103)}

Unter inerten Bedingungen wurden 3.5 g (34 mmol) der zuvor synthetisierten Butylboronsäure (**102**) sowie 3.6 g Diethanolamin (34 mmol) wurden in 100 mL Et_2O und 34 mL CH_2Cl_2 gelöst. Nach Zugabe von 4 Å Molekularsieb (6.8 g) wurde das heterogene Gemisch für 2 h bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde der Feststoff abfiltriert und

mit CH₂Cl₂ gewaschen. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde der Komplex umkristallisiert indem es in 15 mL heißem CH₂Cl₂ gelöst (~60 °C) und nach Zugabe von weiteren 40 mL Et₂O auf 0 °C gekühlt wurde. Die Kristalle (5.1 g, 30 mmol, 88 %) wurden abfiltriert und unter Vakuum getrocknet. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[65]

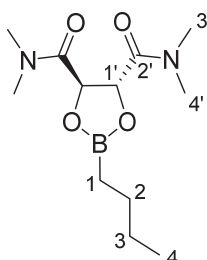


MO_009

¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 0.45 (m_c, 2 H, 1'-H), 0.87 (t, ³J_{4',3'} = 7.4 Hz, 3 H, 4'-H), 1.19–1.27 (m, 2 H, 2'-H), 1.29–1.35 (m, 2 H, 3'-H), 2.79 (bs, 2 H, 2-H od. 3-H), 3.26 (bs, 2 H, 2- od. 3-H), 3.87 (bs, 2 H, 3-H od. 2-H), 3.99 (bs, 2 H, 3-H od. 2-H) 4.69 (bs, 1 H, NH). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz): δ [ppm] = 14.3 (CH₃, C-4'), 26.6 (CH₂, C-1'), 28.5 (CH₂, C-3'), 51.9 (CH₂), 62.9 (CH₂) [ein Signal (bs) fehlend]. **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3087, 2952, 2871, 1455, 1365, 1307, 1247, 1226, 1200, 1226, 1144, 1096, 1061, 1022, 995, 962, 931, 896, 844, 776, 753. **HRMS** berechnet für C₈H₁₉O₂NB (M+H)⁺: 172.1509; gefunden: 172.1504; berechnet für C₈H₁₉O₂NB: 171.1431; gefunden: 172.1540 (C₈H₁₉O₂¹⁰B).

(4R)-trans-3-Butyl-N,N,N',N'-tetramethyl[1,3,3]-dioxaborolan-4,5-dicarboxamid (100)

Unter inerten Bedingungen wurden 3.23 g (19.0 mmol) der zuvor hergestellten Verbindung **103** sowie 5.0 g (24.5 mmol) (*R,R*)-(+)-*N,N,N',N'*-Weinsäurediamid in 95 mL CH₂Cl₂ gelöst. 30 mL NaCl-Lösung wurde hinzugegeben und der Ansatz für 30 min bei RT als Zwei-Phasensystem gerührt. Zur Aufarbeitung wurden die Phasen getrennt und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Nach Evaporation des Lösungsmittels konnte das Produkt als Öl in 80 % Ausbeute (4.1 g, 15.2 mmol) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[65]

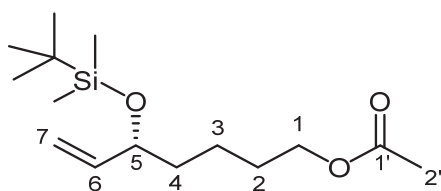


MO_010

¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ [ppm] = 0.85 (t, $^3J_{1,2}$ = 8.6 Hz, 2 H, 1-H), 0.86 (t, $^3J_{4,3}$ = 7.3 Hz, 3 H, 4-H), 1.31 (mc, 2 H, 3-H), 1.36–1.42 (m, 2 H, 2-H), 2.98 [s, 3 H, N(CH₃)₂], 3.20 [s, 3 H, N(CH₃)₂], 5.53 (s, 2 H, 1'-H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 151 MHz): δ [ppm] = 13.9 (CH₃, C-4), 25.3 (CH₂), 25.9 (CH₂), 36.1 (2 CH₃, C-3', C-4'), 37.2 (CH₃, C-3', C-4'), 75.8 (2 CH, C-1'), 168.6 (2 C_{quart.}, C-2'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3407, 2930, 2872, 1644, 1502, 1466, 1402, 1380, 1282, 1244, 1218, 1154, 1059, 1024, 972, 893, 812, 721, 676. **HRMS** berechnet für C₁₂H₂₃O₄N₂B (M) 270.1751; gefunden.: 271.1823 [(C₁₂H₂₃O₄N₂B)+H⁺]; 270.1860 [C₁₂H₂₄O₄N₂¹⁰B].

(R)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]hept-6-en-1-ylacetat (112)

Der Allylalkohol (*R*)-**97** (302 mg, 1.74 mmol) wurde zunächst in 1.3 mL CH₂Cl₂ gelöst. Die Lösung wurde mittels eines Eisbades gekühlt und 155 mg (2.27 mmol, 1.26 Äq.) Imidazol zum Ansatz hinzugegeben. Wenn sich das Imidazol vollständig gelöst hatte, wurde das TBSCl (340 mg, 2.25 mmol, 1.26 Äq.) portionsweise hinzugegeben. Die Reaktion wurde anschließend bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes bei RT weitergerührt. Durch die Zugabe von dH₂O wurde die Reaktion gestoppt. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Das Lösungsmittel wurde anschließend am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt säulenchromatographisch gereinigt. Das gewünschte Produkt konnte in 80 % Ausbeute (401 mg, 1.40 mmol) als leicht gelbliches Öl isoliert werden.



JG_005

R_f (PE/EtOAc 80/20) 0.69. **[α]_D²⁰** -5.9 (*c* 1.10, CHCl₃); **¹H-NMR** (600 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0.03 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.05 [s, 3 H, Si(CH₃)₂], 0.89 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 1.32–1.42 (m, 2 H, 3-H), 1.43–1.53 (m, 2 H, 4-H), 1.62 (mc, 2 H, 2-H), 2.04 (s, 3 H, 2'-H), 4.05 (t, $^3J_{1,2}$ = 6.7 Hz, 2 H, 1-H), 4.09 (mc, 1 H, 5-H), 5.02 (mc, 1 H, 7-H_b), 5.13 (mc, 1 H, 7-H_a), 5.78 (ddd, $^3J_{6,7a}$ = 17.1 Hz, $^3J_{6,7b}$ = 10.4 Hz, $^3J_{6,5}$ = 6.1 Hz, 1 H, 6-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, DMSO): δ [ppm] = -4.7 [CH₃, Si(CH₃)₂], -4.2 [CH₃, Si(CH₃)₂], 18.4 [C_{quart.}, C(CH₃)₃], 21.2 (CH₃, C-2'), 21.7 (CH₂, C-6), 26.0 [3 CH₃, C(CH₃)₃], 28.7 (CH₂, C-2), 37.8 (CH₂, C-4), 64.7 (CH₂, C-1), 73.7 (CH, C-5), 113.9 (CH₂, C-7), 141.8 (CH, C-6), 171.4 (C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2955, 2931, 2858, 1742, 1473, 1463, 1389, 1364, 1237, 1068, 1031, 1006, 992, 921, 834, 774, 679.

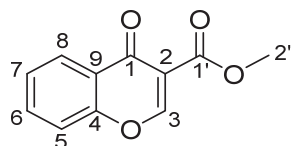
15.4 Analytik aus den Projekten der Biokatalyse

Alle synthetisierten Moleküle werden im Folgenden sowohl in ihrer Synthese als auch mit ihrer Analytik dargestellt. Die Verbindungen sind gemäß ihrem Vorkommen in der Arbeit nummeriert und das dazugehörige ^1H - sowie ^{13}C -NMR wird im Anhang gezeigt (s. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Dazu befindet sich unter jeder Molekülstruktur die entsprechende Experimentnummer, aus der die Analytik gewonnen wurde.

Substratsynthese

4-Oxo-4H-chromen-3-carbonsäuremethylester (203)

Thionylchlorid (3.00 mL, 41.4 mmol) wurde tropfenweise über 15 min und unter ständigem Rühren bei RT zu 15 mL (0.37 mmol) MeOH gegeben. Nach 30 min (Reaktionsansatz leicht gelblich) wurde die Chromon-3-Carbonsäure (300 mg, 1.58 mmol) hinzugegeben und für weitere 20 h gerührt. Die Reaktion wurde mit dH_2O gestoppt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abrotiert. Nach einer kurzen Filtersäule (PE/EtOAc 50/50) konnte das Produkt nach dem Trocknen an der Vakuumlinie als weiß kristalliner Feststoff in 94 % (303 mg, 1.48 mmol) erhalten werden.



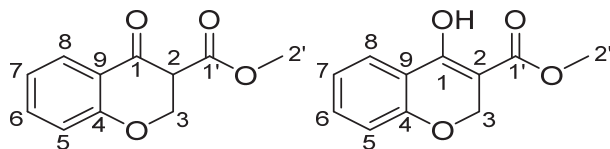
RT_Lac_011_WDH

R_f (PE/EtOAc 80/20) = 0.1. **^1H -NMR** (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.94 (s, 3 H, 2'-H), 7.36-7.52 (m, 2 H, Ar-H), 7.71 (ddd, $J = 8.0$ Hz, $J = 7.1$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.30 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.69 (s, 1 H, 3-H). **^{13}C -NMR** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 52.6 (CH_3 , C-2'), 116.3 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 118.3 (CH, C-Ar), 125.3 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 126.5 (CH, C-Ar), 128.8 (CH, C-Ar), 134.4 (CH, C-Ar), 155.8 (C-2), 162.2 (CH, C-3), 164.2 (C-1'), 173.6 (C-1). **HRMS** berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_4$ (M+H): 205.0501 u. $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_4\text{Na}$ (M+Na): 227.0320, gefunden: 205.04950 (M+H) u. 227.0314 (M+Na). Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[75,183]

4-Oxochroman-3-carbonsäuremethylester (199)

Im nächsten Reduktionsschritt wurden 150 mg (740 μmol) des Substrates **203** in 14.6 mL THF gelöst (50.0 mM). Diese Lösung wurde mittels H-Cube und dem darin eingebauten $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$

Katalysator reduziert (25 % H₂, 10 °C, 1 atm, 0.3 mL/min). Das Lösungsmittel wurde anschließend am Rotationsverdampfer evaporiert und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie aufgearbeitet (PE/EtOAc 80/20). Das gewünschte Produkt konnte in 57 % (85.6 mg, 0.42 mmol) Ausbeute erhalten werden.^[77]



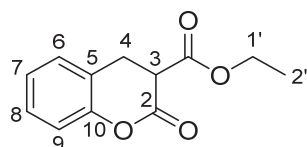
RT_Lac_012

R_f (PE/EtOAc 80/20) = 0.50. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.75 (dd, ³J_{2,3a} = 4.4 Hz, ³J_{2,3b} = 8.9 Hz, 1 H, 2-H), 3.79 (s, 3 H, 2'-H), 4.63 (dd, ³J_{3a,2} = 4.4 Hz, ²J_{3a,3b} = 11.7 Hz, 1 H, 3-H_a) 4.81 (dd, ³J_{3b,2} = 8.3 Hz, ²J_{3b,3a} = 11.6 Hz, 1 H, 3-H_b), 6.98–7.00 (m, 1 H, 5-H od. 8-H), 7.04–7.07 (m, 1 H, 6-H od. 7-H), 7.49–7.52 (m, 1 H, H-7 od. 6-H), 7.92–7.94 (m, 1 H, 5-H od. 8-H).

Enolform als Nebenprodukt: **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.83 (s, 3 H, 2'-H), 4.96 (s, 2 H, 3-H), 6.87 (d, 3J = 8.2 Hz, 1 H, Ar-H), 7.00 (m, 1 H, Ar-H, überlagert), 7.32 (m, 1 H, Ar-H), 7.66 (dd, ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1 H, Ar-H), 11.94 (bs, 1 H, OH). Die analytischen Daten stimmen mit der oben genannten Literatur überein.

2-Oxochromane-3-carbonsäureethylester (201b)

In Anlehnung an die Vorschrift nach *Suljić et al.*^[73,77] wurde der Ethyl-3-coumarinsäureester (150 mg, 0.67 mmol) in 150 mL THF gelöst und mittels H-Cube über 20 % Pd(OH)₂/C reduziert. Dabei wurden folgende Bedingungen eingestellt: 7 bar, 0.35 mL/min. Das gewünschte Produkt konnte nach anschließender säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 90/10) in 95 % Ausbeute (149 mg, 0.68 mmol) isoliert werden.

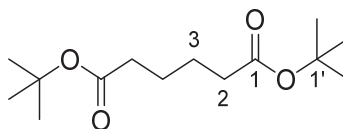


R_f (PE/EtOAc 70/30) = 0.54. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 1.17 (t, ³J_{2',1'} = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H), 3.35 (m, 2 H, 4-H), 3.95 (dd, ³J_{3,4a} = 8.3 Hz, ³J_{3,4b} = 6.3 Hz, 1 H, 3-H), 4.15 (m, 2 H, 1'-H), 7.05 (d, ³J = 8.2 Hz, 1 H, Ar-H), 7.15 (m, 1 H, Ar-H), 7.30–7.33 (m, 2 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 14.3 (CH₃, C-2'), 27.8 (CH₂, C-4), 47.0 (CH, C-3), 62.3 (CH₂,

C-1'), 117.2 (CH, C-Ar), 122.5 (C_{quart.}), 125.4 (CH, C-Ar), 129.3 (CH, C-Ar), 129.4 (CH, C-Ar), 152.6 (C_{quart.}), 165.3 (C_{quart.}), 168.5 (C_{quart.}).

Adipinsäuredi-*tert*-butylester (194)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Bunnage et al.*^[147] wurden unter inerten Bedingungen *tert*-Butanol (794 mg, 10.7 mmol) und *N,N*-Dimethylanilin (1.25 g, 10.3 mmol) in Et₂O bei 0 °C vorgelegt und stark verrührt. Anschließend wurde Adipinsäuredichlorid (600 mg, 3.27 mmol) tropfenweise zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt und für 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von dH₂O beendet und die wässrige Phase zwei Mal mit Et₂O extrahiert. Die organische Phase wurde fünfmal mit einer 1 M HCl-Lösung und anschließend zweimal mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung und einmal mit NaCl gewaschen. Die organische Phase wurde abschließend über MgSO₄ getrocknet. Nach einer kurzen Filtersäule konnte das Produkt in spektroskopisch reiner Form als farbloses Öl erhalten werden (70 %, 590 mg, 2.30 mmol).



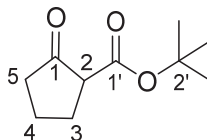
RT_Lac_023

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.64. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.44 (s, 18 H, 1'-H), 1.60 (m_c, 4 H, 2-H), 2.22 (m_c, 4 H, 3-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 24.7 (2 CH₂, C-3), 28.3 [6 CH₃, C(CH₃)₃], 35.4 (2 CH₂, C-2), 80.2 (C-1'), 173.0 (C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2978, 2937, 2877, 1721, 1484, 1460, 1416, 1376, 1367, 1299, 1260, 1143, 1050, 933, 906, 852, 755, 741. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[148]

2-Oxocyclopentan-1-carbonsäure-*tert*-butylester (192a)

In einem *Schlenk*-Kolben wurden 1.5 mL Toluol vorgelegt und nach Zugabe von 31.0 mg NaH (60 % Ölsuspension) auf 60 °C erhitzt. Ein Teil des Di-*tert*-butyladipats (**194**, insg. 200 mg, 770 μmol) in 0.19 mL Toluol wurden zur Suspension zugetropft und für 30 min gerührt. Anschließend wird das restliche Edukt tropfenweise hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde der Reaktionsansatz für drei weitere Stunden auf 100 °C erhitzt. Zum Beenden der Reaktion wurde der Ansatz auf 0 °C abgekühlt und durch Zugabe von je 1 mL MeOH, H₂O und

NH₄Cl gestoppt. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit Toluol extrahiert und die vereinten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch (80/20 PE/EtOAc) und das Produkt konnte in 64% (90 mg; 0.5 mmol) Ausbeute als farbloses Öl isoliert werden.

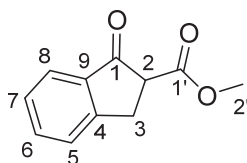


DSC_RT_039

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.50. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.46 [s, 9 H, (CCH₃)₃], 1.79-1.87 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.07-2.13 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.22-2.29 (m, 4 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 3.03 (t, ³J_{2,3} = 8.6 Hz, 1 H, 2-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.1 (CH₂, C-3, C-4 od. C-5), 27.6 (CH₂, C-3, C-4 od. C-5), 28.2 [CH₃, C(CH₃)₃], 38.2 (CH₂, C-3, C-4 od. C-5), 55.88 (CH, C-2), 81.8 (C_{quart.}, C-2'), 168.9 (C_{quart.}, C-1), 213.0 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2976, 1751, 1717, 1368, 1341, 1298, 1255, 1148, 1107, 842. **HRMS** berechnet für C₁₀H₁₆O₃Na (M+Na) 207.0997, gefunden: 207.0991; berechnet für C₁₀H₁₇O₃ (M+H) 185.1178, gefunden: 185.1172. Die analytischen Daten stimmen mit den literaturbekannten Daten überein.^[148]

1-Oxo-2,3-dihydro-1H-inden-2-carbonsäuremethylester (195a)

Zunächst wurde das Lithium-bis(trimethylsilyl)amid (8.0 mL, 8.0 mmol) in 3 mL THF bei -78 °C in einem *Schlenk*-Gefäß vorgelegt. Dazu wurde tropfenweise das Indanon [(**196**); 500 mg, 3.78 mmol] in ebenfalls 3 mL THF, gefolgt von Chlorameisensäuremethylester (0.35 mL, 4.50 mmol) in 3 mL THF gegeben. Es wurde eine weitere Stunde bei dieser Temperatur gerührt, ehe die Reaktion durch Zugabe 1 M HCl gestoppt wurde. Dem Ansatz wurde Zeit gegeben sich auf RT zu erwärmen und die wässrige Phase wurde von der organischen getrennt und mit EtOAc extrahiert. Das Produkt konnte durch zweifache säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 80/20–90/10) in 3 % Ausbeute (24.5 mg, 130 μ mol) isoliert werden.

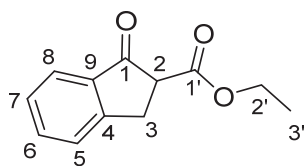


RT_Lac_100

R_f (PE/EtOAc 80/20): 0.53. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.42 (d, $^3J_{3,2} = 2.3$ Hz, 2 H, 3-H), 3.94 (s, 3 H, 2'-H), 6.35 (t, $^3J_{2,3} = 2.4$ Hz, 1 H, 2-H), 7.26 (dd, $^3J = 7.4$ Hz, 1 H, 6-H), 7.32 (dd, $^3J = 7.4$ Hz, 1 H, 7-H), 7.38 (d, $^3J_{8,9} = 7.4$ Hz, 1 H, 8-H), 7.45 (d, $^3J_{5,6} = 7.4$ Hz, 1 H, 5-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 35.0 (CH₂, C-3), 55.6 (CH₃, C-2'), 114.6 (CH, C-2), 118.2 (CH, C-8), 124.3 (CH, C-5), 126.0 (CH, C-6), 126.5 (CH, C-7), 138.6 (C_{quart.}, C-4), 141.9 (C_{quart.}, C-9), 149.4 (C_{quart.}, C-1), 153.3 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3026, 2958, 1766, 1619, 1602, 1578, 1440, 1399, 1367, 1293, 1243, 1229, 1173, 1128, 1092, 1026, 1015, 975, 931, 781, 758, 716. **HRMS** berechnet für C₁₁H₁₀O₃Na (M+Na): 213.0528; gefunden: 213.0522.

1-Oxo-2,3-dihydro-1H-inden-2-carbonsäureethylester (195b)

Gemäß der Vorschrift von *Brown et al.*^[184] wurden Indanon **196** (1.03 g, 7.80 mmol) und Diethylcarbonat (27.6 g, 234 mmol, 30.0 Äq.) zu einer Suspension aus NaH (623 mg, 15.6 mmol, 60 % Ölsuspension, 2.00 Äq.) in Diethylcarbonat (27.6 g, 234 mmol, 30.0 Äq.) hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 5 min zum Rückfluss erhitzt (Bildung eines grünen Feststoffes). Weitere 12.5 mL Diethylcarbonat wurden hinzugeführt und die Suspension für weitere 15 min zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Heizplatte ausgestellt, sodass der Ansatz auf Raumtemperatur abkühlen konnte. Danach wurde der Reaktionsansatz mittels 1 M HCl auf einen pH 1 gebracht und das Gemisch vier Male mit EtOAc extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Nach säulenchromatographischer Aufarbeitung (PE/EtOAc 90/10) konnte das gewünschte Produkt **195b** in 53 % Ausbeute (812 mg, 4.00 mmol) isoliert werden.



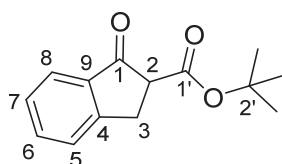
DSC_RT_033/RT_Lac_133

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.52. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.31 (t, $^3J_{3',2'} = 7.1$ Hz, 3 H, 3'-H), 3.38 (dd, $^2J_{3a,3b} = 17.2$ Hz, $^3J_{3a,2} = 8.2$ Hz, 1 H, 3-H_a), 3.56 (dd, $^2J_{3b,3a} = 17.2$ Hz, $^3J_{3b,2} = 4.1$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.71 (dd, $^3J_{2,3a} = 8.3$ Hz, $^3J_{2,3b} = 4.1$ Hz, 1 H, 2-H), 4.25 (q, $^3J_{2',3'} = 7.2$ Hz, 2 H, 2'-H), 7.40 (t, $^3J = 7.7$ Hz, 1 H, 6-H od. 7-H), 7.50 (d, $^3J = 7.7$ Hz, 1 H, 5-H od. 8-H), 7.62 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 1 H, 7-H od. 6-H), 7.78 (d, $^3J = 7.7$ Hz, 1 H, 8-H od. 5-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.4 (CH₃, C-3'), 30.5 (CH₂, C-3), 53.5 (CH, C-2), 61.9 (CH₂, C-2'), 124.8 (CH, C-5 od. C-8), 126.7 (CH, C-8 od. C-5), 127.9 (CH, C-6 od. C-7), 135.4 (C_{quart.}), 135.5 (CH, C-7 od. C-6), 153.8 (C_{quart.}), 169.3 (C_{quart.}, C-1'), 199.7 (C_{quart.}, C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$

(cm⁻¹) 2982, 1737, 1710, 1647, 1609, 1573, 1465, 1413, 1369, 1325, 1298, 1256, 1186, 1207, 1152, 1126, 1092, 1008, 988, 896, 859, 762, 722, 680. **HRMS** berechnet für C₁₂H₁₃O₃ (M+H)⁺: 205.0859, gefunden: 205.0859. Die analytischen Daten stimmen mit den publizierten überein.^[184]

1-Oxo-2,3-dihydro-1H-inden-2-carbonsäure-*tert*-butylester (195c)

Indanon [(**196**); 600 mg, 4.54 mmol] wurde in 4.6 mL THF vorgelegt. Unter Rühren bei Raumtemperatur wurde NaH (60 % Ölsuspension, 218 mg, 9.08 mmol) in 18 mL THF zugegeben. Die Reaktion wurde zum Rückfluss erhitzt, während tropfenweise Pyrrol-1-carbonsäure-*tert*-butylester (1.52 g, 9.08 mmol in 2.20 mL THF) hinzugefügt wurde. Nach beendeter Zugabe wurde der Ansatz für weitere 22 h zum Rückfluss erhitzt. Bei 0 °C und durch Zugabe einer 1 N HCl Lösung wird der Reaktionsansatz beendet. Es wurde dreimal mit Et₂O extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit NaCl gewaschen ehe diese über MgSO₄ getrocknet wurden. Die Aufreinigung des Produktes erfolgte säulenchromatographisch (90/10 *n*-Pentan/Et₂O). Das Produkt konnte in 76 % Ausbeute (794 mg, 3.42 mmol) erhalten werden.



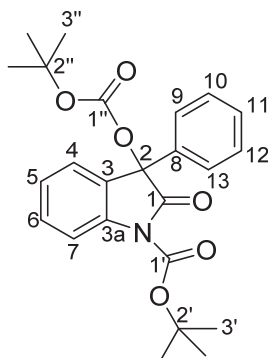
RT_Tyr_066

R_f (80/20 PE/EtOAc): 0.64. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.49 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 3.33 (dd, ²J_{3a,3b} = 17.1 Hz, ³J_{3a,2} = 8.2 Hz, 1 H, 3-H_a), 3.49 (dd, ²J_{3b,3a} = 17.2 Hz, ³J_{3b,2} = 4.3 Hz, 1 H, 3-H_b), 3.62 (dd, ³J_{2,3a} = 8.2 Hz, ³J_{2,3b} = 4.0 Hz, 1 H, 2-H), 7.34 (t, ³J = 7.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.49 (d, ³J = 7.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.60 (t, ³J = 7.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.75 (d, ³J = 7.6 Hz, 1 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.2 [CH₃, C(CH₃)₃], 30.5 (CH₂, C-3), 54.4 (CH, C-2), 82.2 (C_{quart.}, C-2'), 124.7 (CH, C-Ar), 126.6 (CH, C-Ar), 127.8 (CH, C-Ar), 135.3 (CH, C-Ar), 135.6 (C_{quart.}, C-4), 153.80 (C_{quart.}, C-9), 168.45 (C_{quart.}, C-1), 200.13 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2979, 2932, 1711, 1643, 1608, 1574, 1476, 1464, 1368, 1327, 1258, 1226, 1210, 1149, 1092, 1013, 989, 938, 896, 844, 764, 722, 681. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[148]

3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)oxy]-2-oxo-3-phenylindolin-1-carbonsäure-*tert*-butylester (206)

(i) In Anlehnung an die Vorschrift von *Hamashima et al.*^[151] wurden 1.0 g Isatin (6.8 mmol) unter inerten Bedingungen in 30 mL THF vorgelegt. Die Suspension wurde auf -40 °C gekühlt und eine 1 M PhMgBr Lösung in THF (13.6 mL) tropfenweise hinzugegeben. Anschließend wurde das Kühlbad entfernt und die Reaktion bei RT weitergerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Gemisch mit Et₂O verdünnt und unter Eiskühlung mit einer 1 M HCl-Lösung versehen. Die wässrige Phase wurde viermal mit Et₂O extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit Wasser und mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase mit MgSO₄ getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde das Produkt **205** säulenchromatographisch (PE/EtOAc) aufgearbeitet.

(ii) Das Rohprodukt **205** (theoret. 1.50 g, 10.2 mmol) wurde in 100 mL CH₂Cl₂ gelöst. Nach der Zugabe von DMAP (124 mg, 1.00 mmol) und Boc₂O (5.56 g, 25.0 mmol, 2.50 Äq.) wurde die Reaktion für 3 h bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Gemisch mit einer gesättigten Lösung NH₄Cl versehen und mit CH₂Cl₂ verdünnt. Die wässrige Phase wurde viermal mit CH₂Cl₂ extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit einer gesättigten Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt konnte nach säulenchromatographischer Aufarbeitung (PE/EtOAc 90/10) als farblose, kristalline Substanz in 22 % Ausbeute (648 mg, 1.50 mmol, über zwei Schritte) erhalten werden.



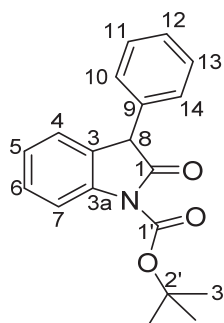
RT_Tyr_040_16–36

R_f (PE/EtOAc 70/30): 0.67. **Smp.**: 135–136 °C. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.38 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 1.61 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 7.24 (dd, ³J = 7.7 Hz, 1 H, Ar-H), 7.29-7.34 (m, 6 H, Ar-H), 7.45 (ddd, J = 8.5 Hz, 7.6 Hz, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 27.7 [CH₃, C(CH₃)₃], 28.2 [CH₃, C(CH₃)₃], 81.8 (C_{quart.}, C-3), 84.1 [C_{quart.}, C(CH₃)₃], 84.7 [C_{quart.}, C(CH₃)₃], 115.6 (C_{quart.}, C-5 od. C-8), 124.2 (C_{quart.}, C-8 od. C-5), 125.1 (C_{quart.}, C-6 od. C-7), 126.9 (CH, C-Ph), 127.5 (CH, C-Ph), 128.7 (CH, C-Ph), 129.3 (CH, C-Ph), 130.5 (CH, C-7 od. C-6), 136.1 (C-Ph), 140.8 (C-4a/b od. C-Ph), 149.3 (C_{quart.}, C-2, C-1')

od. C1"), 151.1 (C_{quart.}, C-2, C-1' od. C-1"), 171.7 (C_{quart.}, C-2, C-1' od. C-1"). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2981, 1799, 1747, 1730, 1611, 1471, 1396, 1371, 1346, 1314, 1284, 1247, 1147, 1113, 1101, 1087, 1036, 1003, 971, 940, 924, 907, 854, 839, 800, 789, 771, 760, 744, 716, 693. **ESI** berechnet für C₂₄H₂₈NO₆ (M+H)⁺ 425.1838; gefunden: 426.1913; berechnet für C₂₄H₃₁N₂O₆ (M+NH₄)⁺: 443.2177, gefunden: 443.2180; berechnet für C₂₄H₂₇NO₆Na (M+Na)⁺: 448.1736, gefunden: 448.1713. Die analytischen Daten stimmen mit der oben aufgeführten Literatur überein.

2-Oxo-3-phenylindolin-1-carbonsäure-*tert*-butylester (200)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Hamashima et al.*^[151] wurde das Substrat **206** (0.15 g, 0.40 mmol) in 7.1 mL MeOH gelöst und mit Pd/C (71 mg, 0.7 mmol) versehen. Das Gemisch wurde für 5 h bei RT und unter H₂-Atmosphäre (Ballon) gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Gemisch über Celite abfiltriert und mit Et₂O gewaschen. Nach Evaporation des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer konnte das gewünschte Produkt im Anschluss einer säulenchromatographischen Reinigung (PE/EtOAc 90/10) in 57 % (62 mg, 0.2 mmol) Ausbeute erhalten werden.



RT_Tyr_068

R_f (PE/EtOAc 70/30): 0.66. **Smp.**: 102–106. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.63 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 4.73 (s, 1 H, 8-H), 7.16–7.17 (m, 2 H, Ar-H), 7.20 (m, 2 H, Ar-H), 7.29–7.38 (m, 4 H, Ar-H), 7.93 (d, ³J = 8.0 Hz, 1 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.2 [CH₃, C(CH₃)₃], 52.7 (CH, C-8), 84.6 [C_{quart.}, C(CH₃)₃], 115.3 (CH, Ar-H), 124.7 (CH, Ar-H), 125.2 (CH, Ar-H), 127.6 (C_{quart.}), 128.0 (CH, Ar-H), 128.8 (3 CH, Ar-H), 129.1 (2 CH, Ar-H), 136.4 (C_{quart.}), 140.6 (C_{quart.}), 149.5 (C_{quart.}), 174.0 (C_{quart.}). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2982, 1768, 1725, 1608, 1479, 1464, 1394, 1370, 1346, 1288, 1252, 1202, 1146, 1089, 1048, 1024, 990, 845, 758, 723, 697, 675. **HRMS** berechnet für C₁₉H₂₀NO₃ (M+H)⁺: 309.1438, gefunden: 309.1438. Die analytischen Daten stimmen mit der oben genannten Literatur überein.

Arylierungsprodukte

Vorschrift A: zur Synthese der Arylierungsprodukte mittels Tyrosinase aus *A. oryzae*

Zunächst wird die Tyrosinase (900 µL, 43.0 U/mL, in 10 mM Tris·HCl Puffer, pH 6.0) mit 90.0 µL einer Trypsin-Lösung (zehn-fach konzentriert, 1.00 mg/mL, in 10 mM Tris·HCl Puffer, pH 6.0 gelöst) versehen und für 30 min bei RT stehend inkubiert. Anschließend werden 90.0 µL einer Trypsin Inhibitor-Lösung (aus Sojabohnen, 1.00 mg/mL, zehn-fach konzentriert, in 10 mM Tris·HCl Puffer, pH 6.0 gelöst) hinzugegeben, um den Trypsinverdau zu stoppen. Die Edukte, Phenole **141** (0.18 mmol, 1.2 Äq.) sowie die entsprechenden β -Dicarbonylverbindungen (0.15 mmol, 1.0 Äq.), werden in 1 mL MeCN gelöst. Zum Start der Reaktion wird unter Rühren das Enzymgemisch hinzugegeben. Um ausreichenden Sauerstoffzufuhr zu gewährleisten wurde mittels Kanüle durch das Septum die O₂-Zufuhr im Kolben gewährleistet. Die Reaktion wird für max. 3 Tage bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wird der Reaktionsansatz mit drei Tropfen 1 M HCl versehen, mit dH₂O und EtOAc verdünnt und die wässrige Phase mehrfach mit EtOAc extrahiert (3–5x). Anschließend wird die organische Phase mit einer gesättigten Lösung NaCl gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das entsprechende Produkt kann nach einer säulenchromatographischen Aufarbeitung (PE/EtOAc) gewonnen werden.

Vorschrift B: entspricht der Vorschrift A, jedoch wurde anstatt eines Tris·HCl Puffers ein 50 mM KP_i Puffer (pH 6) verwendet.

Vorschrift C: zur Synthese der Arylierungsprodukte mittels Laccase

Die Edukte, Dihydroxyverbindungen **133** (0.18 mmol, 1.20 Äq.) sowie die entsprechenden *Michael*-Donatoren (0.15 mmol, 1.00 Äq.), werden in 1 mL des organischen Lösungsmittels gelöst. Im Falle von MeCN wurde ein 10 mL Rundkolben verwendet mit Septum; im Falle von CH₂Cl₂ oder CH₃Cl (Zweiphasensystem) wurde ein Mikrowellengefäß mit entsprechendem Deckel verwendet, um die Evaporation des Lösungsmittels zu minimieren. Zum Start der Reaktion wird zunächst 1.0 mL Puffer (50 mM KP_i Puffer pH 6 im Falle der Verwendung der Laccase aus *A. bisporus*, pH 5 bei Verwendung der Laccase aus *T. versicolor*) und anschließend unter Rühren 43 U des entsprechenden Enzyms hinzugegeben. Um ausreichende Sauerstoffzufuhr zu gewährleisten wurde mittels einer Kanüle durch das Septum/Deckel gestochen und der Ansatz auf einem Magnetrührer stark gerührt. Die Reaktion wird für max. 3 Tage bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wird der Reaktionsansatz mit drei Tropfen 1 M HCl versehen, mit dH₂O und entsprechendem Lösungsmittel verdünnt und die wässrige Phase mehrfach mit dem Lösungsmittel extrahiert (3–5x). Anschließend wird die organische Phase mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet.

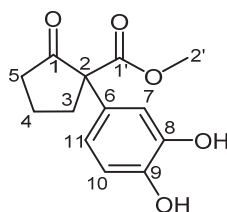
Das entsprechende Produkt kann nach einer säulenchromatographischen Aufarbeitung (PE/EtOAc) gewonnen werden.

Vorschrift D: zur stereoselektiven Synthese der Arylierungsprodukte mittels Laccase und Organokatalysator

Gemäß Vorschrift C, wobei zu den Edukten ebenfalls 15 μmol (10 mol%) des entsprechenden Organokatalysators **136** im Lösungsmittel gelöst wurde.

1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäuremethylester (132a)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 μmol des Cyclopentanonmethylesters **192c** (21.3 mg) und 180 μmol Phenol [(**141a**), 16.9 mg] für die Reaktion angesetzt. Vollständige Umsetzung des Eduktes **192c** konnte bereits nach 3–4 h beobachtet werden. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 70/30) konnte das Produkt als gelbliches Öl in 65 % Ausbeute (24.4 mg, 98.0 μmol) isoliert werden.



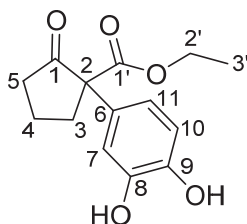
RT_Lac_093

R_f (PE/EtOAc 70/30): 0.08. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.88–1.95 (m, 1 H,), 1.95–2.02 (m, 1 H,), 2.33–2.39 (m, 1 H), 2.44–2.54 (m, 2 H,), 2.78–2.82 (m, 1 H,), 3.71 (s, 3 H, 2'-H), 5.55 (bs, OH), 5.84 (bs, OH), 6.77–6.82 (m, 2 H, 10-H u. 11-H), 6.96 (d, ⁴J_{7,11} = 2.2 Hz, 1 H, 7-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 19.4 (CH₂), 35.0 (CH₂, C-3), 37.9 (CH₂), 53.3 (CH₃, C-2'), 64.6 (C-2), 115.0 (CH, C-7), 115.4 (CH), 119.8 (CH), 127.9 (), 143.8 (C-8 od. C-9), 143.9 (C-8 od. C-9), 142.0 (C-1'), 213.5 (C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3385, 2956, 1721, 1608, 1521, 1435, 1376, 1261, 1166, 1127, 1006, 805, 787, 746. **HRMS** berechnet für C₁₃H₁₄O₅Na (M+Na) 273.0739; gefunden: 273.0733. **HPLC** [Chiralpak IA, 80/20 n-Heptan/2-Propanol, 0.5 mL/min, 225 nm] Rt: 27.9 min u. 37.6 min.

1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäureethylester (132c)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 μmol des Cyclopentanonethylesters **192b** (23.4 mg) und 180 μmol Phenol [(**141a**), 16.9 mg] für die Reaktion angesetzt. Es konnte kein vollständiger Umsatz nach 3 Tagen beobachtet werden. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach

säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 70/30) konnte das Produkt als gelbliches Öl in 55 % Ausbeute (21.7 mg, 82.0 µmol) isoliert werden.

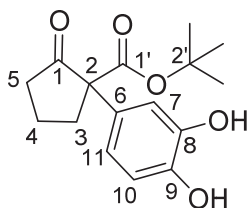


RT_Tyr_028/ RT_Tyr_015

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.16. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.22 (t, ³J_{3',2'} = 7.1 Hz, 3 H, 3'-H), 1.88–1.95 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 1.95–2.00 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.43–2.54 (m, 2 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.76–2.80 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 4.18 (q, ³J_{2',3'} = 7.1 Hz, 2 H, 2'-H), 5.93 (s, 1 H, OH), 6.33 (s, 1 H, OH), 6.74–6.77 (m, 2 H, 10-H, 11-H), 6.94 (d, ⁴J_{7,11} = 2.1 Hz, 1 H, 7-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.1 (CH₃, C-3'), 19.4 (CH₂), 34.9 (CH₂), 37.9 (CH₂), 62.3 (CH₂), 64.6 (C_{quart.}, C-2), 115.0 (CH, C-Ar), 115.4 (CH, C-Ar), 119.7 (CH, C-Ar), 127.8 (C_{quart.}), 143.8 (C_{quart.}), 143.9 (C_{quart.}), 171.7 (C_{quart.}, C-1), 213.7 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3596, 2958, 2922, 2866, 1721, 1607, 1520, 1436, 1367, 1259, 1173, 1125, 1075, 1022, 966, 862, 808, 744. **HRMS** berechnet für C₁₄H₁₆O₅Na (M+Na): 287.0895; gefunden: 287.0889. **HPLC** [Chiralpak IC, 80/20 n-Heptan/2-Propanol, 0.5 mL/min, 205 nm] Rt: 72.1 min u. 85.1 min.

1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäure-*tert*-butylester (132i)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 µmol des Cyclopentanon-*tert*-Butylesters **192a** (27.6 mg) und 180 µmol Phenol [(**141a**), 16.9 mg] für die Reaktion angesetzt. Es konnte kein vollständiger Umsatz nach 3 Tagen beobachtet werden. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 80/20) konnte das Produkt als gelbliches Öl in 51 % Ausbeute (22.2 mg, 76.0 µmol) isoliert werden.

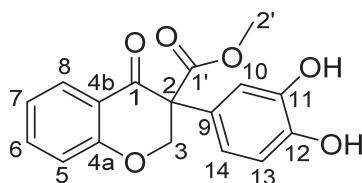


DSC_RT_030/040

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.17. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.42 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 1.90–2.01 (m, 2 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.29–2.35 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.44–2.50 (m, 2 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.75 (m_c, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 5.55 (s, 1 H, OH), 5.80 (s, 1 H, OH), 6.77–5.80 (m, 2 H, Ar-H), 6.96 (s, 1 H, 7-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 19.5 (CH₂, C-3, C-4 od. C-5), 28.0 [CH₃, C(CH₃)₃], 35.0 (CH₂, C-3, C-4 od. C-5), 37.8 (CH₂, C-3, C-4 od. C-5), 65.2 (C_{quart.}, C-2), 82.8 (C_{quart.}, C-2'), 115.1 (CH, C-7), 115.3 (CH, C-10 od. C-11), 120.0 (CH, C-10 od. C-11), 128.6 (C_{quart.}), 143.6 (C_{quart.}), 143.6 (C_{quart.}), 170.6 (C_{quart.}, C-1), 213.3 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3414, 2957, 2927, 2856, 2358, 2339, 1724, 1602, 1457, 1369, 1258, 1151, 1124, 1074, 743. **HRMS** berechnet für C₁₆H₂₀O₅Na (M+Na): 315.1208, gefunden: 315.1203; berechnet für C₁₆H₂₁O₅ (M+H): 293.1389, gefunden: 293.1383. **HPLC** [Chiralpak IC, 80/20 n-Heptan/2-Propanol, 0.5 mL/min, 205 nm] Rt: 34.3 min u. 40.5 min.

3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-4-oxochroman-3-carbonsäuremethylester (132e)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 μ mol des Isocoumarins [(199), 30.9 mg] und 180 μ mol Phenol [(141a), 16.9 mg] für die Reaktion angesetzt. Vollständiger Umsatz nach einem Tag. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 75/25) konnte das Produkt als gelbliches Öl in 77 % Ausbeute (36.2 mg, 115 μ mol) isoliert werden.

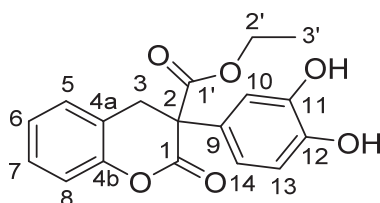


RT_Tyr_026

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.14. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 3.70 (s, 3 H, 2'-H), 5.01 (d, ²J_{3a,3b} = 12.0 Hz, 1 H, 3-H_a), 5.07 (d, ²J_{3b,3a} = 12.0 Hz, 1 H, 3-H_b), 6.70 (dd, ³J_{14,10} = 8.3 Hz, ⁴J_{14,13} = 2.3 Hz, 1 H, 14-H), 6.80 (d, ³J_{13,14} = 8.2 Hz, 1 H, 13-H), 6.84 (d, ⁴J_{10,14} = 2.4 Hz, 1 H, 10-H), 6.96 (dd, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.07–7.09 (m, 1 H, Ar-H), 7.51–7.54 (m, 1 H, Ar-H), 7.90 (dd, J = 7.9 Hz, J = 1.8 Hz, 1 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 53.8 (CH₃, C-2'), 61.9 (C_{quart.}, C-2), 72.0 (CH₂, C-3), 115.3 (CH, C-10), 115.6 (CH, C-13), 118.0 (CH, C-Ar), 120.1 (CH, C-14), 120.2 (C_{quart.}), 122.1 (CH, C-Ar), 124.8 (C_{quart.}), 128.3 (CH, C-Ar), 136.7 (CH, C-Ar), 144.2 (C_{quart.}), 144.4 (C_{quart.}), 161.1 (C_{quart.}), 169.7 (C_{quart.}), 189.7 (C_{quart.}). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] 3406, 2956, 1728, 1689, 1605, 1583, 1522, 1479, 1463, 1436, 1375, 1328, 1235, 1151, 1136, 1039, 1017, 961, 937, 903, 849, 811, 786, 759, 731, 700, 675. Die analytischen Daten stimmen mit den publizierten Daten überein.^[75]

3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxochroman-3-carbonsäureethylester (132g)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 μmol des Coumarins [(**198b**), 33.0 mg] und 180 μmol Phenol [(**141a**), 16.9 mg] für die Reaktion angesetzt. Vollständiger Umsatz des Eduktes **198b** innerhalb der 3 Tage. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 75/25) konnte das Produkt als gelbliches Öl in 71 % Ausbeute (25.0 mg, 107 μmol) isoliert werden.

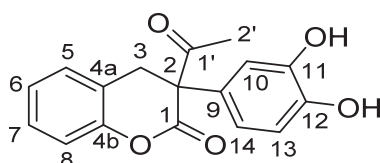


RT_Tyr_025

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.09. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 1.02 (t, $^3J_{3',2'} = 7.1$ Hz, 3 H, 3'-H), 3.72 (m, 2 H, 3-H), 4.07 (q, $^3J_{2',3'} = 7.1$ Hz, 2 H, 2'-H), 6.74 (dd, $^3J_{14,13} = 8.3$ Hz, $^4J_{14,10} = 2.4$ Hz, 1 H, 14-H), 6.80 (d, $^3J_{13,14} = 8.3$ Hz, 1 H, 13-H), 6.90 (d, $^4J_{10,14} = 2.4$ Hz, 1 H, 10-H), 7.01 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.12 (dt, $^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.2$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.26–7.29 (m, 1 H, Ar-H), 7.35 (d, $^3J = 7.4$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.99 (bs, 2 H, OH). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 14.1 (CH₃, C-3'), 34.0 (CH₂, C-3), 58.8 (C_{quart.}), 62.6 (CH₂, C-2'), 115.8 (CH, C-Ar), 116.1 (CH, C-Ar), 116.8 (CH, C-Ar), 119.9 (CH, C-Ar), 123.3 (C_{quart.}), 125.3 (CH, C-Ar), 127.4 (C_{quart.}), 129.3 (CH, C-Ar), 129.5 (CH), 145.7 (C_{quart.}), 145.9 (C_{quart.}), 152.2 (C_{quart.}), 167.0 (C_{quart.}), 170.0 (C_{quart.}). Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[77]

3-Acetyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)chroman-2-on (132f)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 μmol des Coumarins [(**198a**), 28.6 mg] und 180 μmol Phenol [(**141a**), 16.9 mg] für die Reaktion angesetzt. Vollständiger Umsatz des Eduktes **198a** innerhalb von 3 Tagen. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 70/30) konnte das Produkt als farbloser Feststoff in 77 % Ausbeute (34.4 mg, 115 μmol) isoliert werden.

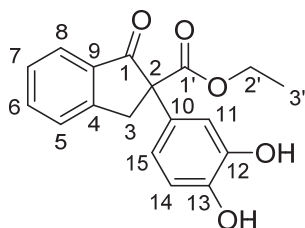


RT_Tyr_029

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.12. **Smp**: 242–243 °C (ab 220 °C langsame Verfärbung). **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 2.03 (s, 3 H, 2'-H), 3.60 (d, *J* = 16.3 Hz, 1 H, 3-H_a), 3.75 (d, *J* = 16.3 Hz, 1 H, 3-H_b), 6.68 (dd, *J* = 8.3 Hz, *J* = 2.4 Hz, 1 H, 14 H), 6.79 (d, *J* = 2.4 Hz, 1 H, 10-H), 6.82 (d, ³*J* = 8.3 Hz, 1 H, 13-H), 6.98 (d, ³*J* = 8.1 Hz, 1 H, 8-H od. 5-H), 7.08 (t, *J* = 7.5 Hz, 1 H, 6-H od. 7-H), 7.24 (t, ³*J* = 7.7 Hz, 1 H, 7-H od. 6-H), 7.33 (d, ³*J* = 7.6 Hz, 1 H, 5-H od. 8-H), 8.00 (bs, OH), 8.13 (bs, OH). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 27.0 (CH₃, C-2'), 32.3 (CH₂, C-3), 63.6 (C_{quart.}, C-2), 115.6 (CH, C-10), 116.5 (CH, C-13), 116.6 (CH, C-8 od. C-5), 119.8 (CH, C-14), 123.1 (C_{quart.}, C-4_a od. C-4_b), 125.4 (CH, C-6 od. C-7), 126.5 (C_{quart.}, C-9), 129.2 (CH, C-7 od. C-6), 129.4 (CH, C-5 od. C-8), 146.2 (C_{quart.}, C-11 od. C-12), 146.3 (C_{quart.}, C-12 od. C-11), 152.1 (C_{quart.}, C-4_a od. C-4_b), 168.0 (C_{quart.}, C-1' od. C-1), 203.7 (C_{quart.}, C-1 od. C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3462, 3211, 1762, 1683, 1607, 1542, 1533, 1488, 1457, 1437, 1360, 1339, 1284, 1256, 1234, 1299, 1182, 1144, 1108, 1084, 1030, 979, 947, 916, 869, 834, 809, 795, 774, 761, 680. **HRMS** berechnet für C₁₇H₁₅O₅⁺ (M+H)⁺: 299.0914; gefunden: 299.0915; berechnet für C₁₇H₁₄O₅Na (M+Na): 321.0739, gefunden: 321.0735.

2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1-oxo-2,3-dihydro-1H-inden-2-carbonsäureethylester (132j)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 mmol des Indanonesters [(**195b**), 30.6 mg) und 180 mmol Phenol [(**141a**), 16.9 mg) für die Reaktion angesetzt. Kein vollständiger Umsatz nach 3 Tagen. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 75/25) konnte das Produkt als gelbliches Öl in 61 % Ausbeute (28.7 mg, 92.0 μmol) isoliert werden.



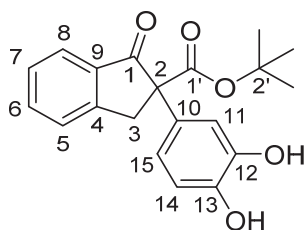
DSC_RT_036

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.10. **Smp.**: 142–143 °C. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 1.15 (t, ³*J*_{3',2'} = 7.1 Hz, 3 H, 3'-H), 3.67 (d, ²*J*_{3a,3b} = 17.4 Hz, 1 H, 3-H_a), 4.07 (d, ²*J*_{3b,3a} = 17.4 Hz, 1 H, 3-H_b), 4.14 (q, ³*J*_{2',3'} = 7.1 Hz, 2 H, 2'-H), 6.76 (s, 2 H, 14-H u. 15-H), 6.97 (s, 1 H, 11-H), 7.47 (t, ³*J* = 7.4 Hz, 1 H, 6-H od. 7-H), 7.62 (d, ³*J* = 7.8 Hz, 1 H, 5-H od. 8-H), 7.70–7.74 (m, 2 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 14.3 (CH₃, C-3'), 41.1 (CH₂, C-3), 62.1 (CH₂, C-2'), 65.3 (C_{quart.}, C-2), 115.8 (CH, C-Ar), 116.1 (CH, C-Ar), 119.8 (CH, C-Ar), 125.1 (CH, Ar),

127.4 (CH, C-Ar), 128.8 (CH, C-Ar), 130.8 (C_{quart.}), 135.9 (C_{quart.}), 136.3 (CH, C-Ar), 145.4 (CH, C-Ar), 145.6 (CH, C-Ar), 153.1 (C_{quart.}), 171.5 (C_{quart.}, C-1'), 200.7 (C_{quart.}, C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3448, 3261, 2984, 1713, 1686, 1604, 1590, 1517, 1469, 1441, 1365, 1328, 1264, 1214, 1190, 1158, 1139, 1118, 1083, 1050, 1027, 1013, 957, 921, 881, 863, 845, 812, 788, 766, 742, 692, 678, 659. **HRMS** berechnet für C₁₈H₁₇O₅⁺ (M+H)⁺: 313.1071, gefunden 313.1073.

2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1-oxo-2,3-dihydro-1H-inden-2-carbonsäure-*tert*-butylester (132b)

Gemäß Vorschrift C wurden 150 mmol des Indanon-*tert*-butylesters [(**195c**), 34.8 mg] und 180 mmol Catechol [(**133c**), 19.8 mg] in MeCN für die Reaktion angesetzt. Als Oxidationsmittel wurde die Laccase aus *A. bisporus* verwendet. Kein vollständiger Umsatz des Eduktes **195c** innerhalb der 3 Tage. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 80/20) konnte das Produkt als Feststoff in 75 % Ausbeute (38.4 mg, 113 μ mol) isoliert werden.

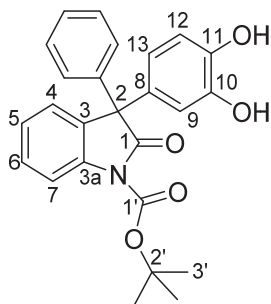


RT_{Lac}_228/ RT_{Tyr}_067

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.14. **Smp**: 127–135 °C. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.38 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 3.57 (d, ²J_{3a,3b} = 17.2 Hz, 1 H, 3-H_a), 4.04 (d, ²J_{3b,3a} = 17.2 Hz, 1 H, 3-H_b), 5.62 (s, OH), 5.95 (s, OH), 5.74–5.79 (m, 2 H, 14-H, 15-H), 7.04 (d, ⁴J_{11,15} = 2.4 Hz, 1 H, 11-H), 7.40 (mc, 1 H, Ar-H), 7.48 (d, ³J = 7.7 Hz, 1 H, Ar-H), 7.63 (mc, 1 H, Ar-H), 7.80 (d, ³J = 7.6 Hz, 1 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 27.9 [3 CH₃, C(CH₃)₃], 40.7 (CH₂, C-3), 65.5 (C_{quart.}, C-2) 82.9 (C_{quart.}, C-2'), 114.9 (CH, C-11), 115.4 (CH, C-14 od.C-15), 119.9 (CH, C-14 od.C-15), 125.2 (CH, C-Ar), 126.3 (CH, C-Ar), 128.0 (CH, C-Ar), 130.9 (C_{quart.}), 135.3 (C_{quart.}), 135.7 (CH, C-Ar), 143.5 (C_{quart.}), 143.7 (C_{quart.}), 152.5 (C_{quart.}), 170.1 (C_{quart.}, C-1), 201.7 (C_{quart.}, C-1'). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3397, 2979, 2923, 1708, 1605, 1521, 1435, 1368, 1252, 1193, 1150, 1017, 930, 839, 790, 743, 582. **HRMS** berechnet für C₂₀H₂₀O₅Na (M+Na): 363.1208, gefunden: 363.1204. **HPLC** (Chiralpak IC, 250*4.6 mm, n-Heptan/2-Propanol 80/20, 0.5 mL/min, 205 nm) Rt: 37.3 min, 47.2 min.

3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-oxo-3-phenylindolin-1-carbonsäure-*tert*-butylester (132h)

Gemäß Vorschrift A wurden 140 μmol des Oxindols [(**200**), 43.4 mg] und 0.18 mmol Phenol [(**141a**), 16.7 mg] für die Reaktion angesetzt. Kein vollständiger Umsatz nach 3 Tagen. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 75/25) konnte das Produkt als Feststoff in 53 % Ausbeute (32.1 mg, 77.0 μmol) isoliert werden.



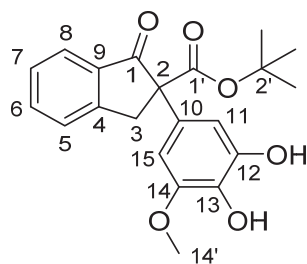
RT_Tyr_091

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.28. **Smp**: 87–88 °C. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 1.61 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 5.50 (bs, OH), 5.75 (bs, OH), 6.55 (dd, ³J_{13,12} = 8.3 Hz, ⁴J_{13,9} = 2.2 Hz, 1 H, 13-H), 6.69 (d, ³J_{12,13} = 8.4 Hz, 1 H, 12-H), 6.76 (d, ⁴J_{9,13} = 2.2 Hz, 1 H, 9-H), 7.13–7.19 (m, 4 H, Ar-H), 7.21–7.32 (m, 4 H, Ar-H), 7.87 (d, ³J = 8.2 Hz, 1 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 28.2 [C(CH₃)₃], 62.5 (C_{quart.}), 85.1 [C_{quart.}, C(CH₃)₃], 115.2 (C-12), 115.4 (CH, C-Ar), 116.2 (C-9), 121.5 (C-13), 124.9 (CH, C-Ar), 126.3 (CH, C-Ar), 127.6 (C-Ar), 128.6 (2 C-Ar), 128.6 (2 CH, C-Ar), 132.1 (CH, C-Ar), 133.8 (CH, C-Ar), 138.9 (CH, C-Ar), 141.9 (CH, C-Ar), 143.6 (CH, C-Ar), 149.4 (C_{quart.}), 177.0 (C_{quart.}). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3393, 2980, 2930, 1781, 1733, 1603, 1517, 1495, 1478, 1464, 1434, 1395, 1370, 1341, 1309, 1284, 1251, 1143, 1115, 1092, 1034, 1001, 947, 909, 856, 837, 813, 753, 729, 696 cm⁻¹. **HRMS**: berechnet für C₂₅H₂₄NO₅⁺ [M+H]⁺: 418.1649, gefunden: 418.1649; berechnet für C₂₅H₂₃NO₅Na [M+Na]⁺: 440.1468, gefunden: 440.1468. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[76]

2-(3,4-Dihydroxy-5-methoxyphenyl)-1-oxo-2,3-dihydro-1H-inden-2-carbonsäure-*tert*-butylester (210)

Neben der biokatalytischen Variante gemäß der Vorschrift D und der Verwendung von Katalysator **136b**, wurde das Substrat ebenfalls chemisch in Anlehnung an die Vorschrift von *Bogle et al.*^[149] hergestellt. Dazu wurde eine Lösung aus 3-Methoxycatechol [(**133d**), 10.5 mg, 75.0 μmol], *tert*-Butylindanonester [(**195c**), 17.4 mg, 75.0 μmol] sowie Katalysator **136b** (3.5 mg, 7.5 μmol) in 0.75 mL CH₂Cl₂ vorgelegt und auf -20 °C gekühlt. Das Gefäß (unter

inerten Bedingungen) wurde mit Aluminiumfolie verdeckt und 109 mg (gemörsert; 1.43 mmol/g, 150 μ mol, 2.00 Äq.) des hergestellten ps-Periodates hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch färbte sich bei der Zugabe des Periodates innerhalb von Sekunden rot/braun. Nach 3.5 h wird die Reaktion durch die Zugabe von $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5(\text{aq})$ gestoppt und die wässrige Phase zweimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer evaporiert und das Rohprodukt auf Kieselgel aufgezogen. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (PE/EtOAc 70/30) konnte das gewünschte Produkt **210** in 47 % Ausbeute (13.0 mg, 35.0 μ mol) isoliert werden.

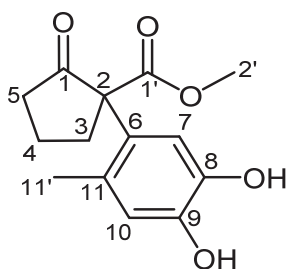


RT_Lac_203

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.18. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.39 [s, 9 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 3.56 (d, $^2J_{3a,3b}$ = 17.2 Hz, 1 H, 3- H_a), 3.86 (s, 3 H, 14'-H), 4.05 (d, $^2J_{3b,3a}$ = 17.1 Hz, 1 H, 3- H_b), 6.60 (d, $^4J_{11,15}$ = 2.1 Hz, 1 H, 11-H od. 15-H), 6.71 (d, $^4J_{15,11}$ = 2.1 Hz, 1 H, 15-H od. 11-H), 7.38–7.40 (m, 1 H, Ar-H), 7.48 (d, 3J = 7.6 Hz, 1 H, 5-H od. 8-H), 7.60–7.63 (m, 1 H, Ar-H), 7.80 (d, 3J = 7.7 Hz, 1 H, 8-H od. 5-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 27.9 [3 CH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 40.6 (CH_2 , C-3), 56.4 (CH_3 , C-14'), 65.6 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 82.5 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 103.3 (CH, C-11 od. C-15), 108.3 (CH, C-11 od. C-15), 125.1 (CH, C-Ar), 126.2 (CH, C-Ar), 127.9 (CH, C-Ar), 130.5 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 132.0 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 135.4 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 135.4 (CH, C-Ar), 143.7 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 146.8 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 152.1 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 169.6 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 200.5 ($\text{C}_{\text{quart.}}$). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 3406, 2980, 2931, 1702, 1606, 1519, 1464, 1368, 1250, 1204, 1148, 1095, 953, 912, 842, 802, 746. **HRMS** berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{Na}$ (M+Na): 393.1314, gefunden: 393.1309. **HPLC** (Chiralpak IC, 250*4.6 mm, n-Heptan/2-Propanol 80/20, 0.5 mL/min, 205 nm) Rt: 80.9 min, 96.3 min. Die analytischen Daten stimmen mit denen in der oben genannten Literatur überein.

1-(4,5-Dihydroxy-2-methylphenyl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäuremethylester (132k)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 μ mol des Cyclopentanonesters **192c** (21.3 mg) und 180 μ mol 4-Methylphenol [(**141b**), 19.5 mg, 18.8 μ L] für die Reaktion angesetzt. Kein vollständiger Umsatz nach 3 Tagen. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 80/20) konnte das Produkt als Feststoff in 33 % Ausbeute (13.0 mg, 49.0 μ mol) isoliert werden.

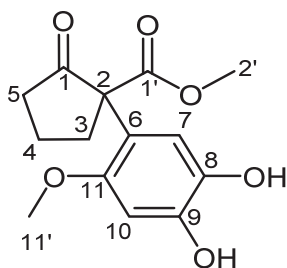


RT_Tyr_041

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.08. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 1.75–1.82 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.02 (s, 3 H, 11'-H), 2.29 (mc, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.38–2.49 (m, 2 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.87 (mc, 2 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 3.65 (s, 3 H, 2'-H), 6.47 (s, 1 H, Ar-H), 6.68 (s, 1 H, Ar-H), 7.71 (bs, 2 H, OH). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 19.7 (CH₃, C-11'), 19.9 (CH₂), 36.5 (CH₂), 39.1 (CH₂), 52.8 (CH₃, C-2'), 66.5 (C_{quart.}), 115.9 (CH, Ar-C), 119.9 (CH, Ar-C), 128.6 (C_{quart.}), 129.6 (C_{quart.}), 143.0 (C_{quart.}), 144.6 (C_{quart.}), 172.5 (C_{quart.}, C-1'), 214.0 (C_{quart.}, C-1). **HRMS** berechnet für C₁₄H₁₆NaO₅ (M+Na): 287.0895, gefunden: 287.0891.

1-(4,5-Dihydroxy-2-methoxyphenyl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäuremethylester (132l)

Gemäß Vorschrift A wurden 150 μ mol des Cyclopentanonesters **192c** (21.3 mg) und 180 μ mol 4-Methoxyphenol [(**141c**), 22.3 mg] für die Reaktion angesetzt. Kein vollständiger Umsatz nach 3 Tagen. Der Reaktionsansatz verfärbte sich. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EtOAc 70/30) konnte das Produkt in 55 % Ausbeute (23.1 mg, 82.0 μ mol) isoliert werden.



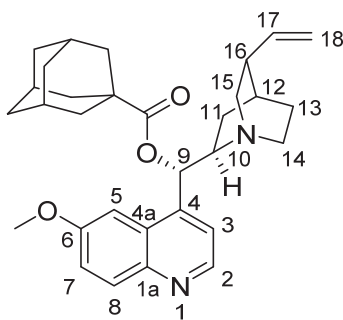
RT_Tyr_077_benzol gewaschen/ DSC_RT_045

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.07. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.84–1.91 (m, 1 H, 3-H od. 4-H od. 5-H), 1.95–2.02 (m, 1 H, 3-H od. 4-H od. 5-H), 2.27 (m, 1 H, 3-H od. 4-H od. 5-H), 2.43–2.50 (m, 2 H, 3-H od. 4-H od. 5-H), 2.88 (mc, 1 H, 3-H od. 4-H od. 5-H), 3.67 (s, 3 H, 11'-H od. 2'-H), 3.74 (s, 3 H, 11'-H od. 2'-H), 6.44 (s, 1 H, Ar-H), 6.49 (s, 1 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 19.9 (CH₂, C-3 od. C-4 od. C-5), 35.6 (CH₂, C-3 od. C-4 od. C-5),

38.7 (CH₂, C-3 od. C-4 od. C-5), 53.1 (CH₃, C-2' od. OCH₃), 56.1 (CH₃, C-2' od. OCH₃), 64.4 (C_{quart.}), 101.3 (C-7 od. C-11), 115.5 (C11 od. C-7), 119.4 (C_{quart.}), 136.4 (C_{quart.}), 144.7 (C_{quart.}), 151.4 (C_{quart.}), 171.5 (C-1 od. C-1'), 215.7 (C-1' od. C-1). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3398, 2955, 1719, 1614, 1574, 1515, 1456, 1429, 1402, 1352, 1306, 1231, 1194, 1171, 1104, 1077, 1036, 1014, 986, 937, 912, 866, 832, 728, 647, 609, 563, 519. **HRMS**: berechnet für C₁₄H₁₅O₆⁻ (M-H)⁺: 279.0874, gefunden: 279.0863; berechnet für C₁₄H₁₇O₆⁺ (M+H)⁺: 281.1020, gefunden: 281.1020.

(S)-(6-Methoxychinolin-4-yl)((1S,2R,4S,5S)-5-vinylquinuclidin-2-yl)methyl (3S,5S,7S)-adamantan-1-carboxylat (136c)

Gemäß *Großheilmann* und *Krag*^[150] wurden Chinidin [(**136a**), 2.50 g, 7.70 mmol] und Adamantylsäurechlorid (1.53 g, 7.70 mmol) in 77 mL CH₂Cl₂ gelöst. Das Gemisch wird mit Hilfe eines Eisbades gekühlt, während 15.4 mL (111 mmol) Triethylamin langsam hinzugegeben wurden. Der Ansatz wurde über Nacht bei RT gerührt. Durch die Zugabe von dH₂O wurde die Reaktion gestoppt. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten Lösung NH₄Cl gewaschen und die wässrigen Phasen einmal mit CH₂Cl₂ extrahiert und über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (EtOAc/MeOH 10/1). Das gewünschte Produkt konnte als Feststoff in 24 % (900 mg, 1.85 mmol) Ausbeute isoliert werden

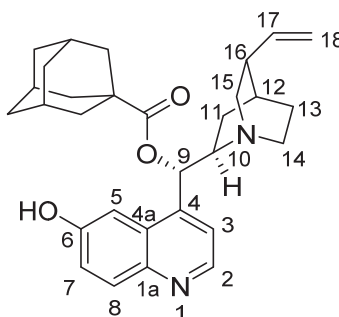


RT_Lac_207_116–127

R_f (70/30 EtOAc/MeOH): 0.50. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.53–1.59 (m, 3 H), 1.68–1.75 (m, 6 H), 1.80–1.84 (m, 2 H), 1.91 (bs, 6 H), 2.02 (bs, 3 H), 2.27 (mc, 1 H), 2.68–2.80 (m, 2 H), 2.92 (mc, 2 H), 3.30 (mc, 1 H), 4.00 (s, 3 H, OCH₃), 5.08–5.11 (m, 2 H, 18-H), 6.04 (mc, 1 H, 17-H), 6.44 (bs, 1 H, 9-H), 7.32 (d, *J* = 4.5 Hz, Ar-H), 7.36 (mc, 1 H, Ar-H), 7.41 (bs, 1 H, Ar-H), 8.00 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H, Ar-H), 8.73 (d, *J* = 4.5 Hz, 1 H, Ar-H). **ESI**: berechnet für C₃₁H₃₉N₂O₃⁺ (M+H)⁺: 487.2955, gefunden: 487.40.

(S)-(6-Hydroxychinolin-4-yl)((1S,2R,4S,5S)-5-vinylquinuclidin-2-yl)methyl (3S,5S,7S)-adamantan-1-carboxylat (136b)

In Anlehnung an die Vorschrift von *Großeheilmann* und *Kragl*^[150] wurde das Rohprodukt 136c in CH₂Cl₂ gelöst und auf -75 °C gekühlt. Dazu wurden 4 Äq. BBr₃-Lösung (1 M in CH₂Cl₂) hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch zunächst eine Stunde bei RT gerührt und anschließend bei 40 °C für eine Stunde zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Ansatz mit Hilfe eines Eisbads auf 0 °C gekühlt und durch die Zugabe einer 40 %-igen NH₄OH-Lösung gestoppt. Wasser und CH₂Cl₂ wurden zur Verdünnung hinzugegeben und die Phasen separiert. Die wässrige Phase wurde mit 1-Butanol extrahiert und die vereinten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc/MeOH 10/1) gereinigt. Etwa 20 mg (42 µmol) des gewünschten Produktes konnte isoliert werden. Eine Ausbeute wurde nicht bestimmt und die Reaktion ließ sich nicht reproduzieren. Die analytischen Daten stimmen in etwa mit der oben genannten Literatur überein. Das Produkt ließ sich nicht ausreichend in Chloroform lösen, wie in Literatur beschrieben, deshalb wurde MeOD verwendet.

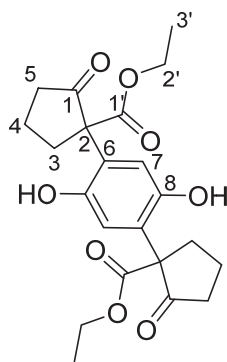


RT_VO331_8-2

¹H-NMR (600 MHz, MeOD): δ [ppm] = 1.57–1.84 (m, 9 H, überlagert), 1.87–1.91 (m, 4 H), 1.96–2.01 (m, 6 H), 2.04–2.10 (m, 4 H), 2.39 (bs, 1 H), 2.63 (m_c, 1 H), 2.75 (m_c, 1 H), 4.08 (m_c, 1 H), 4.98–5.05 (m, 2 H, 18-H), 5.86 (m_c, 1 H), 6.56 (bs, 1 H), 7.38 (dd, J = 9.1 Hz, J = 2.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.44 (s, 2 H, Ar-H), 7.94 (d, J = 9.2 Hz, 1 H, Ar-H), 8.61 (bs, 1 H, Ar-H). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 2906, 2846, 1715, 1618, 1462, 1231, 1075, 911, 852, 822, 725, 673, 636. **HRMS**: berechnet für C₃₀H₃₇N₂O₃ (M+H)⁺: 473.2799, gefunden: 473.2800.

1,1'-(2,5-Dihydroxy-1,4-phenylen)bis(2-oxocyclopentan-1-carbonsäurediethylester) (207a)

In Anlehnung an die Vorschrift D wurden 181 μmol (28.4 mg) des Cyclopentanonethylesters **192b** und 150 μmol Hydrochinon [(**137c**), 16.5 mg] sowie 6.6 mg Laccase verwendet. Die Laccase (*A. bisporus*)-vermittelte Reaktion fand in diesem Falle in einem Lösungsmittelgemisch aus 1 mL Chlorbenzol sowie 1 mL KPi -Puffer pH 6 statt. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung (PE/EtOAc 80/20) konnte das leicht rötliche Produkt in 22 % (13.6 mg, 32.5 μmol) Ausbeute isoliert werden.

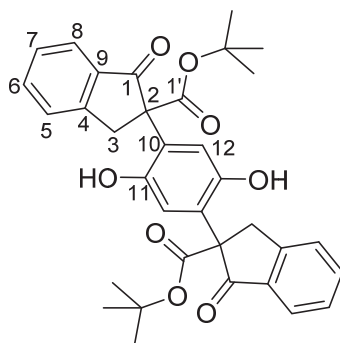


RT_Lac_072

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.32 (t, $^3J_{3',2'} = 7.1$ Hz, 6 H, 3'-H), 1.42–1.51 (m, 2 H), 1.70–1.76 (m, 2 H), 2.01–2.06 (m, 2 H), 2.11–2.14 (m, 2 H), 2.31–2.34 (m, 2 H), 2.48 (m_c , 2 H), 4.26 (q, $^3J_{2',3'} = 7.1$ Hz, 4 H, 2'-H), 6.55 (s, 2 H, 7-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.3 (2 CH_3 , C-3'), 21.9 (2 CH_2), 37.3 (2 CH_2), 40.6 (2 CH_2), 62.1 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 62.2 (2 CH_2 , C-2'), 105.2 (2 CH, C-7), 120.2 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 129.7 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 153.0 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 173.2 (2 $\text{C}_{\text{quart.}}$, C-1'). **HRMS** berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$ (M): 418.1628, gefunden: 418.1622; berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{Na}$ (M+Na): 441.1525, gefunden: 441.1519; berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{K}$ (M+K): 457.1265, gefunden: 457.1259.

2,2'-(2,5-dihydroxy-1,4-phenylen)bis(1-oxo-2,3-dihydro-1H-inden-2-carbonsäure-tert-butylester) (**207b**)

In Anlehnung an die Vorschrift C wurden 170 μmol (40.0 mg) des Indanon-*tert*-butylesters **195c** sowie 191 μmol Hydrochinon [(**137c**), 21.0 mg] verwendet. Für die Reaktion wurde die Laccase aus *A. bisporus* verwendet. Die Reaktion wurde für drei Tage bei RT gerührt. Das Produkt wurde nach einer säulenchromatographischen Reinigung (PE/EtOAc 70/30) in 11 % Ausbeute isoliert (10.4 mg, 18.2 μmol).

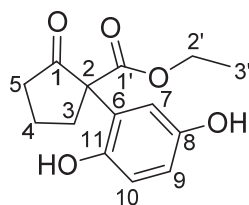


RT_Lac_029_WDH/RT_Lac_065

¹H-NMR (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 1.36 [s, 18 H, C(CH₃)₃], 3.28 (d, $^2J_{3a,3b}$ = 17.6 Hz, 2 H, 3-H_a), 4.26 (d, $^2J_{3b,3a}$ = 17.7 Hz, 2 H, 3-H_b), 6.61 (s, 2 H, 12-H), 7.45 (m_c, 2 H, Ar-H), 7.52 (d, 3J = 7.7 Hz, 2 H, Ar-H), 7.68 (m_c, 2 H, Ar-H), 7.75 (d, 3J = 7.5 Hz, 2 H, Ar-H), 8.06 (s, 2 H, OH). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 27.9 [CH₃, C(CH₃)₃], 41.3 (2 CH₂, C-3) 65.7 (C_{quart.}), 81.5 [C_{quart.}, C(CH₃)₃], 115.6 (C_{quart.}), 115.7 (CH, C-12), 124.7 (CH, C-Ar), 127.4 (CH, C-Ar), 128.4 (CH, C-Ar), 136.3 (CH, C-Ar), 136.3 (C_{quart.}), 148.1 (C_{quart.}), 154.3 (C_{quart.}), 169.5 (C_{quart.}, C-1 od. C-1'), 202.0 (C_{quart.}, C-1 od. C-1'). **HRMS** berechnet für C₃₄H₃₄O₈Na (M+Na): 593.2151, gefunden: 593.2145; berechnet für C₃₄H₃₈O₈N⁺ (M+NH₄)⁺: 588.2592, gefunden: 588.2591.

1-(2,5-Dihydroxyphenyl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäureethylester (139a)

Gemäß Vorschrift C wurden 150 μ mol (23.4 mg) des Ethylesters **193b** sowie 176 μ mol des Hydrochinons [(**137c**), 19.4 mg] eingesetzt und drei Tage bei RT unter Verwendung der Laccase aus *A. bisporus* gerührt. Das Produkt konnte nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel (PE/EtOAc 80/20) in 54 % (21.3 mg, 80.6 μ mol) Ausbeute isoliert werden.



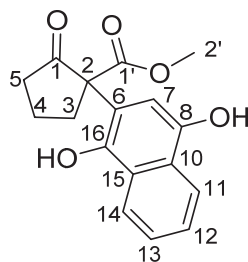
RT_Lac_079

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.19. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.31 (t, $^3J_{2',3'}$ = 7.2 Hz, 3 H, 3'-H), 1.46 (m_c, 1 H), 1.72–1.78 (m, 1 H), 2.02–2.08 (m, 1 H), 2.11–2.15 (m, 1 H), 2.31–2.35 (m, 1 H), 2.51 (m_c, 1 H), 4.26 (m_c, 2 H, 2'-H), 6.63–6.65 (m, 3 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz,

CDCl_3 : δ [ppm] = 14.9 (CH_3 , C-3'), 21.9 (CH_2), 37.2 (CH_2), 40.5 (CH_2), 62.1 (CH_2 , C-2'), 62.4 (C-2), 109.9 (CH, C-Ar), 111.3 (CH, C-Ar), 116.4 (CH, C-Ar), 120.2 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 129.7 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 150.1 ($\text{C}_{\text{quart.}}$), 152.8 ($\text{C}_{\text{quart.}}$, C-1 od. C-1'), 173.0 ($\text{C}_{\text{quart.}}$, C-1 od. C-1').

1-(1,4-Dihydroxynaphthalen-2-yl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäuremethylester (**140a**)

In Anlehnung an Vorschrift D wurden 0.18 mmol (25.6 mg) Cyclopentanonmethylester **192c**, 0.15 mmol 1,4-Dihydroxynaphthalin [(**138**), 24.0 mg], sowie 10 mol% Chinidin [(**136a**), 6.6 mg, 18 μmol] verwendet. Die Reaktion, unter Verwendung der Laccase aus *A. bisporus* und einem 1:1 Verhältnis der Lösungsmittel KPi -Puffer pH 6 und THF/tBuOH (1/3), wurde 3 Tage bei RT gerührt. Das Produkt **140a** konnte in 44 % Ausbeute (19.9 mg, 66 μmol) isoliert werden.



RT_Lac_122

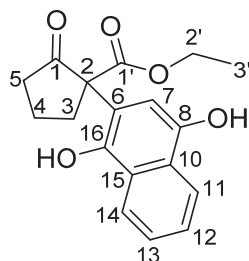
R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.41. $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.99–2.06 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.11–2.19 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.23–2.38 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.53–2.62 (m, 2 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.97 (m_c , 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 3.76 (s, 3 H, 2'-H), 6.74 (s, 1 H, 7-H), 7.73–7.77 (m, 2 H, Ar-H), 8.04–8.08 (m, 2 H, Ar-H). **HPLC** (Chiralpak IA, 250*4.6 mm, 90/10 n-Heptan/Isopropanol, 0.5 ml/min, 245 nm): R_t = 28.5 min u. 30.4 min; *rac*.

1-(1,4-Dihydroxynaphthalen-2-yl)-2-oxocyclopentan-1-carbonsäureethylester (**140b**)

Für die racemische Synthese (RT_Lac_108) wurden gemäß Vorschrift C 0.18 mmol Cyclopentanonethylester **192b** (28.1 mg) sowie 0.15 mmol des 1,4-Dihydroxynaphthalin [(**138**), 24.0 mg] verwendet. Die Reaktion, unter Verwendung der Laccase aus *A. bisporus*, wurde 3 Tage bei RT gerührt. Das Produkt **140b** konnte in 13 % Ausbeute (6.3 mg, 20 μmol) isoliert werden.

Für die selektive Synthese (RT_Lac_107) wurde gemäß Vorschrift D 180 μmol Cyclopentanonethylester **192b** (28.1 mg), 150 μmol des 1,4-Dihydroxynaphthalin [(**138**),

24.0 mg] sowie 10 mol% Chinidin [(**136a**), 6.5 mg, 18 μ mol] verwendet. Die Reaktion, unter Verwendung der Laccase aus *A. bisporus*, wurde 3 Tage bei RT gerührt. Das Produkt **140b** konnte in 19 % Ausbeute (8.7 mg, 27.7 μ mol) isoliert werden.



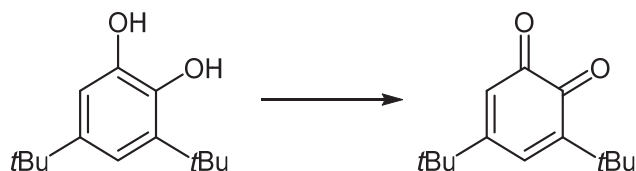
RT_Lac_107_4-10/RT_Lac_108_7-14

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.40. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.24 (t, $^3J_{3,2'} = 7.2$ Hz, 3 H, 3'-H), 2.00–2.10 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.12–2.20 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.24–2.29 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.55–2.59 (m, 2 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 2.95–2.99 (m, 1 H, 3-H, 4-H od. 5-H), 4.23 (m, 2 H, 2'-H), 6.76 (s, 1 H, 7-H), 7.73–7.77 (m, 2 H, Ar-H), 8.05–8.08 (m, 2 H, Ar-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.1 (CH₃, C-3'), 20.1 (CH₂, C-3, C-4, od. C-5), 35.5 (CH₂, C-3, C-4, od. C-5), 38.6 (CH₂, C-3, C-4, od. C-5), 62.56 (CH₂, C-2'), 63.8 (C_{quart.}), 126.4 (CH, C-Ar), 127.1 (CH, C-Ar), 131.9 (C_{quart.}), 132.2 (C_{quart.}), 134.2 (CH, C-Ar), 134.3 (CH, C-Ar), 135.9 (CH, C-7), 148.9 (C_{quart.}), 168.4 (C_{quart.}), 183.7 (C_{quart.}), 184.5 (C_{quart.}), 211.4 (C_{quart.}). **HPLC** [Chiralpak IA, 250*4.6 mm, 99/01 n-Heptan/Isopropanol, 0.5 ml/min, 245 nm]: Rt = 105.7 min & 124.1 min; 49 % ee.

Vorschrift zur Synthese des Periodat-tragenden Amberlits.

In Anlehnung an die Vorschrift nach *Harrison et al.*^[156] wurden 5.01 g Amberlit (Chlorid-Form, IRA 900) in 40 mL Wasser mit 4.01 g Natriumperiodat (18.7 mmol) für 6 h und Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Flüssigkeit abdekantiert und mit einer neuen Lösung aus 4.00 g NaIO₄ in 40 mL Wasser versehen. Nach weiteren 6 h Rühren wird das Amberlit abfiltriert und viermal mit 40 mL Wasser, zwei Male mit 20 mL THF und zwei Male mit 20 mL Et₂O gewaschen. Zur Trocknung wurde das Trägermaterial über Nacht an der Vakuumpumpe (bei 40°C) gehängt.

Bestimmung der Periodatkonzentration:



3,5-Di-*tert*-butyl-brenzcatechin (**133f**)

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.27 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 1.41 [s, 9 H, C(CH₃)₃], 6.77 (s, 1 H, Ar-H), 6.88 (s, 1 H, Ar-H).

3,5-Di-*tert*-butyl-*o*-benzochinon (**134c**)

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.23 [s, 9 H, C(CH₃)₃], zweites Signal des *t*Butyl überlagert, 6.23 (s, 1 H, Ar-H), 6.95 ((s, 1 H, Ar-H).

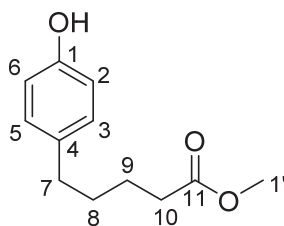
Die Bestimmung der Periodatkonzentration erfolge mittels NMR unter der Verfolgung der Entstehung des stabilen Di-*tert*-butylchinons **134c** (Das Integral der *t*-Butyl-Gruppe wurde zur Berechnung verwendet). Die maximale Periodatbeladung auf Amberlit beträgt 8.38 mmol/g Amberlit (8.00 g Periodat auf 5.00 g Amberlit gegeben; das entspricht 1.60 g Periodat/g Amberlit; MW_(Periodat) = 191 g/mol). Da das Catechol **133f** für die Bestimmung im Überfluss vorhanden sein soll, wird von der Hälfte der maximalen Beladung ausgegangen: d.h. 0.1 mmol Periodat ist gewollt, was 11.9 mg der Kügelchen entspricht.

Für die Oxidationsreaktion wurden 200 μ mol 3,5-Di-*tert*-butyl-brenzcatechin [(**133f**); 44.5 mg] in 2 mL CDCl₃ bei -20 °C unter Rühren mit 11.9 mg gemörsertem Amberlit_{Periodat} versehen. Der Kolben wurde dabei in Aluminiumfolie eingewickelt. Nach 20 min wurde der Reaktionsansatz über Watte abfiltriert und per NMR untersucht. Als internen Standard wurde DMS verwendet. Gemessen an diesem beträgt die Konzentration an Periodat auf dem Amberlit 1.43 mmol/g. Zur Lagerung wurde der Kolben mit dem Amberlit_{Periodat} mit Argon versehen.

Analytik aus den alternativen enzymatisch katalysierten Experimenten

5-(4-Hydroxyphenyl)pentansäuremethylester (**215**)

In Anlehnung an das Patent von *Moinet et al.*^[185] wurden 401 mg 5-(4-Hydroxyphenyl)-pentansäure (2.06 mmol) in 6 mL MeOH gelöst. Unter Rühren werden anschließend 0.4 mL konz. Schwefelsäure hinzugegeben. Das Gemisch wird über Nacht bei 65 °C erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt und das zurückbleibende Öl in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit einer NaHCO₃-Lösung versehen. Die wässrige Phase wurde viermal mit CH₂Cl₂ extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung über Kieselgel (PE/EtOAc 90/10) konnte das gewünschte Produkt in 11 % Ausbeute (47.8 mg, 230 μ mol) isoliert werden.

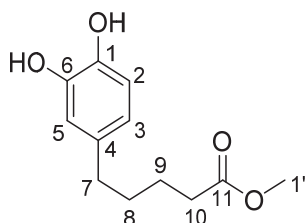


RT_Tyr_036 (WDH)

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.55. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.47–1.68 (m, 4 H, 8-H u. 9-H), 2.33 (t, $^3J_{10,9}$ = 7.4 Hz, 2 H, 10-H), 2.55 (t, $^3J_{7,8}$ = 7.4 Hz, 2 H, 7-H), 3.66 (s, 3 H, 1'-H), 4.77 (s, 1 H, OH), 6.74 (d, 3J = 8.5 Hz, 2 H, 2-H u. 6-H), 7.03 (d, 3J = 7.5 Hz, 2 H, 3-H u. 5-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 24.6 (CH₂, C-9), 31.3 (CH₂, C-8), 34.1 (CH₂, C-10), 34.8 (CH₂, C-7), 51.7 (CH₃, C-1'), 115.3 (2 CH, C-2 u. C-6), 129.6 (2 CH, C-3 u. C-5), 134.5 (C-1), 153.8 (C-4), 174.4 (C-11).

5-(3,4-Dihydroxyphenyl)pentansäuremethylester (217)

Der zuvor synthetisierte Ester **215** (42.5 mg, 200 μ mol) wurde in 1 mL MeCN gelöst und mit der Tyrosinase aus *A. oryzae* gemäß Vorschrift A (s. 15.3.2 – *Arylierungsprodukte*) versetzt und für einen Tag bei RT gerührt. Die säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 70/30) lieferte 1.4 mg (6.2 μ mol, 3 %) des gewünschten Produktes.

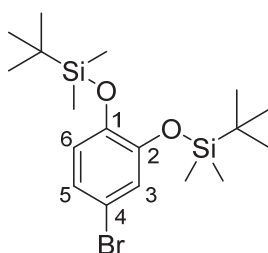


RT_Tyr_039

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.18. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.56–1.687 (m, 4 H, 8-H u. 9-H), 2.32 (t, $^3J_{10,9}$ = 7.2 Hz, 2 H, 10-H), 2.51 (t, $^3J_{7,8}$ = 7.3 Hz, 2 H, 7-H), 3.66 (s, 3 H, 1'-H), 5.10 (s, 1 H, OH), 5.26 (s, 1 H, OH), 6.60 (dd, $^3J_{3,5}$ = 8.1 Hz, $^4J_{3,2}$ = 1.9 Hz, 1 H, 3-H), 6.69 (d, $^4J_{5,3}$ = 1.9 Hz, 1 H, 5-H), 6.76 (d, $^3J_{2,3}$ = 8.0 Hz, 1H, 2-H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 24.6 (CH₂, C-9), 31.1 (CH₂, C-8), 34.1 (CH₂, C-10), 34.9 (CH₂, C-7), 51.7 (CH₃, C-1'), 115.4 (CH, C-2), 115.6 (CH, C-5), 120.9 (CH, C-3), 134.5 (C-1), 141.6 (C_{quart.}), 143.6 (C_{quart.}), 174.4 (C-11).

[(4-Bromo-1,2-phenylene)bis(oxy)]bis(*tert*-butyldimethylsilan) (**219**)

4-Bromocatechol (500 mg, 2.65 mmol) wurden in 2.0 mL CH₂Cl₂ gelöst. Der Ansatz wurde mit Hilfe eines Eisbades gekühlt und Imidazol (451 mg, 6.63 mmol, 2.50 Äq.) unter Rühren hinzugegeben. Das Edukt löste sich dabei komplett nach Zugabe der Base. Nachdem sich das Imidazol ebenfalls gelöst hatte, wurde portionsweise das TBSCl (1.00 g, 6.63 mmol, 2.50 Äq.) hinzugegeben. Da der Reaktionsansatz sehr konzentriert war wurden weitere 1.0 mL CH₂Cl₂ hinzugegeben. Nach drei Tagen wurde der Ansatz durch die Zugabe einer gesättigten NH₄Cl-Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde mehrmals mit CH₂Cl₂ extrahiert und die gesammelten organischen Phasen mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Reinigung und Isolation des Produktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EtOAc 70/30).

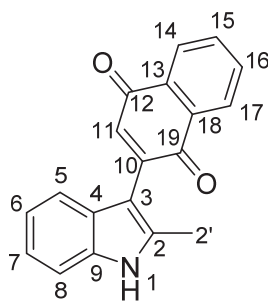


RT_Lac_258

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.97. **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.18 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.20 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.97 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 0.98 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 6.69 (d, ³J = 8.4 Hz, 1 H, Ar-H), 6.90–6.95 (m, 2 H, Ar-H).

2-(2-Methyl-1H-indol-3-yl)naphthalin-1,4-dion (**209**)

In Anlehnung an Vorschrift C wurden 250 µmol (32.6 mg) 2-Methylindol sowie 300 µmol 1,4-Dihydroxynaphthalin [(**138**), 48.0 mg] für die Reaktion eingesetzt. Zur Oxidation wurde die Laccase aus *A. bisporus* verwendet. Die Reaktion rührte über drei Tage bei RT. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung (PE/EtOAc 85/15) konnte das gewünschte Produkt **209** (9.4 mg, 33 µmol) in 13 % Ausbeute isoliert werden.

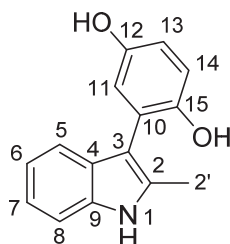


RT_Lac_083_42–70

R_f (70/30 PE/EtOAc): 0.29. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 2.51 (s, 3 H, 2'-H), 7.04 (s, 1 H, 11-H), 7.08 (dd, ³J = 7.7 Hz, 1 H, 7-H od. 6-H), 7.12 (dd, ³J = 7.8 Hz, 1 H, 7-H od. 6-H), 7.39 (d, ³J = 7.8 Hz, 1 H, 8-H od. 5-H), 7.54 (d, ³J = 7.8 Hz, 1 H, 5-H od. 8-H), 7.86–7.90 (m, 2 H, 15-H u. 16-H), 8.08–8.11 (m, 1 H, 17-H od. 14-H), 10.66 (bs, 1 H, NH). **¹³C-NMR** (151 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 13.8 (CH₃, C-2'), 107.7 (C_{quart.}), 111.7 (CH, C-Ar), 120.0 (CH, C-Ar), 121.0 (CH, C-Ar), 122.4 (CH, C-Ar), 126.3 (CH, C-Naph), 127.4 (CH, C-Naph), 128.9 (C_{quart.}), 133.2 (C_{quart.}), 133.9 (C_{quart.}), 134.4 (CH, C-Naph), 134.6 (CH, C-Naph), 135.0 (CH, C-11), 136.9 (C_{quart.}), 138.7 (C_{quart.}), 145.5 (C_{quart.}), 185.1 (C-12 od. C-19), 185.3 (C-12 od. C-19). **FT-IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3274, 3048, 2958, 2926, 2855, 1727, 1667, 1632, 1618, 1591, 1562, 1532, 1491, 1456, 1421, 1388, 1365, 1331, 1312, 1292, 1253, 1218, 1175, 1146, 1120, 1085, 1045, 1035, 1024, 1013, 942, 898, 888, 835, 821, 805, 780, 755, 731, 713, 671, 659. **HRMS** berechnet für C₁₉H₁₄NO₂ (M+H): 288.1025; gefunden: 288.1019. [Naph = C-14, C-15, C-16 u. C-17, Ar = C-5, C-6, C-7 u. C-8].

2-(2-Methyl-1H-indol-3-yl)benzen-1,4-diol (139c)

Gemäß Vorschrift C wurden 250 μmol (32.9 mg) 2-Methylindol sowie 300 μmol Hydrochinon [(**137c**), 33.1 mg] für die Reaktion eingesetzt. Als Oxidationsmittel wurde die Laccase aus *A. bisporus* verwendet. Die Reaktion rührte vier Tage bei RT. Das gewünschte Produkt konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer ersten Ausbeute von 5 % (2.8 mg, 12 μmol) gewonnen werden. Die Probe enthält allerdings noch EtOAc.



RT_Lac_080_6

R_f (PE/EtOAc 70/30): 0.36. **¹H-NMR** (600 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 2.44 (s, 3 H, 2'-H), 6.79 (d, ⁴J_{11,13} = 2.6 Hz, 1 H, 11-H), 6.85 (dd, ³J_{13,14} = 10.1 Hz, ⁴J_{13,11} = 2.5 Hz, 1 H, 13-H), 6.93 (d, ³J_{14,13} = 10.2 Hz, 1 H, 14-H), 7.05 (dd, ³J = 7.1 Hz, 1 H, 6-H od. 7-H), 7.10 (dd, ³J = 7.3 Hz, 1 H, 6-H od. 7-H), 7.36 (d, ³J = 7.9 Hz, 1 H, 8-H od. 5-H), 7.46 (d, ³J = 7.9 Hz, 1 H, 5-H od. 8-H), 10.64 (bs, 1 H, NH). **HRMS**: berechnet für C₁₅H₁₃NO₂ (M-H): 238.0874; gefunden: 238.0862.

16 DANKSAGUNG

Beginnen möchte ich mit einem großen Dankeschön an Herrn *Prof. Dr. J. Pietruszka* für die unglaublich tolle Zeit in seiner Arbeitsgruppe. Dafür, dass ich meinen Projekten frei nachgehen konnte und mich auf diversen Konferenzen weiterbilden durfte. Dafür, dass mir die Möglichkeit gegeben wurde Erfahrungen in Japan zu sammeln und somit eine Kultur, die mich seit Kindheitstagen begeistert, kennenzulernen. Er hat stets ein offenes Ohr für mich gehabt und mir mit Diskussionen und aufmunternden Worten geholfen. Das Institut hat mir viel mehr gegeben, als ich es mir zur damaligen Zeit erhofft hatte.

Bei Herrn *Prof. Dr. T. J. J. Müller* möchte ich mich für die Übernahme des Korreferats bedanken.

Ich möchte mich ebenfalls bei *Prof. Dr. S. Itoh* für die gemeinsame Kooperation bedanken sowie für die Möglichkeit, Einblicke in die Forschung an der Osaka Universität sowie in die japanische Kultur zu gewinnen. Zudem möchte ich mich bei *Y. Morimoto* für die freundliche Unterstützung während meines Aufenthalts bedanken, sowie für sein Engagement mir die Kultur der verschiedenen Ramen-Sorten beizubringen. Zu guter Letzt bedanke ich mich bei dem ganzen Arbeitskreis des Institutes für *„Biofunctional Chemistry“* für die Unterstützung.

Des Weiteren bedanke ich mich bei dem *„SeleCa“* Graduierten Programm der RWTH Aachen für die Finanzierung und die Möglichkeiten an zahlreichen fortbildenden Kursen teilzunehmen sowie Japanisch zu lernen. Ich möchte mich besonders bei *Ann-Katrin Bachon* bedanken für die tolle und lustige Zeit in Japan sowie bei *Steffen Mader* für die gute Kooperation bezüglich des Organokatalysator-Projektes.

Nils C. Eichenauer gilt ein großer Dank für die Einführung in die Welt der Oxylipine. Danke für die zur Verfügung gestellten Daten und Materialien sowie für die Diskussionsbereitschaft und Tipps auch noch während meiner Doktorarbeit. *Sanel Suljić* danke ich für die Einführung in die Laccase-Projekte.

Ich bedanke mich bei meinen Bachelorstudenten *Daniel Jungclaus* und *Heike Schüßeler*, bei meinen Naturstoffstudenten *Melanie Ogan*, *Julian Greb*, *Maximilian Nöth*, *Dennis Jansen* sowie bei meinem Kooperations- und Austauschstudenten *Daiki Fujita* für die Zusammenarbeit. Ein besonderer Dank gilt meinem Teilzeit-Azubi *Dennis Schröder*. Nicht nur für die niveauvolle Unterhaltungen und Erweiterung meines Verständnisses für Musik in unserem Gang, sondern auch für die tatkräftige Zusammenarbeit und erfolgreiche Publikation unseres Projektes. Daran anschließend bedanke ich mich ebenfalls bei *Jan Gebauer* für die tolle Zusammenarbeit während seiner Masterarbeit, was ebenfalls zur erfolgreichen Publikation des Tyrosinase-Projektes beigetragen hat.

Birgit Henßen gilt ein riesiges Dankeschön für Ihre unerschütterliche Hilfsbereitschaft und Gutmütigkeit. Danke, dass Du mir in Sachen HPLC stets mit Rat und Tat zur Seite standest. Mir werden dein offenes Ohr und der Austausch über die alltäglichen Sorgen des Lebens fehlen.

Danke an das Labor 304. Darunter vor allem *Anja Weber*, für die tolle Freundschaft, die sich aus der gemeinsamen Zeit im IBOC gebildet hat und für das starke Vorbild, was sie mir gab. *Bastian Mechsner*, für die gemeinsame Zeit in dem coolsten und chaotischsten Gang im Labor. Ihr seid eine unglaublich tolle, aufgeweckte und angenehme Gruppe. Danke für die unendlichen Stunden, die wir alle gemeinsam im Labor verbracht haben. Ihr wart nicht nur da, wenn alles schief lief und ich Aufmunterung brauchte, sondern habt euch mitgefremt, wenn etwas gut lief oder hattet ein offenes Ohr für Privates.

Ein weiteres Dankeschön geht an *Laura Öhler* für die Unterstützung in Bezug auf die Synthese der Organokatalysatoren sowie *Dennis Worgull*, welcher stets einen guten Ratschlag für die zahlreichen synthetischen Fragen hatte. Danke ebenfalls an *Vera Ophoven* für ihre Unterstützung der Synthese des Kats sowie ihrem Engagement bei uns im Labor Ordnung zu halten.

Als nächstes möchte ich mich bei *Marc R. Hayes* bedanken. Dafür, dass Du seit der ersten Stunde des Studiums an meiner Seite bist, und mit mir so manche 5-bindige Kohlenstoff/Stickstoff-Probleme diskutiert hast (die ich nach wie vor für sehr praktisch halte). Du bist mir nicht nur ein guter Freund und Trauzeuge, sondern eine stete Stütze. Danke für die aufregende Zeit, die wir in Japan hatten und für deine unzähligen Korrekturhilfen von englischen Texten während meiner Doktorzeit.

Ein weiterer Dank gilt *Dr. Andreas S. Klein*. Nicht nur für die im höchsten Maße perfektionistische Korrektur meiner Doktorarbeit, sondern auch für deine schier unendliche Geduld mir diverse Computerprogramme mit Begeisterung nahezubringen. Danke für die gemeinsame Zeit, die wir erlebt haben. Ich hoffe, dass wir die niveaureichen ‚Bachelor‘-Abende als Ausgleich zum stressigen Arbeitsalltag auch in Zukunft genießen können.

Danke an *Hannah Braß*, nicht nur für die Korrektur meiner Doktorarbeit, sondern auch für deine unglaublich liebevolle Art. Auch wenn Du dir oftmals vieles zu sehr zu Herzen nimmst, so macht es Dich zu einem besonders einfühlsamen und liebevollen Menschen. Danke, dass ich, wenn auch nur für kurze Zeit, zu Team Pink gehören durfte.

Ein Weiterer Dank gilt *Dr. Thomas Classen*, welcher mir ein Vorbild für die Lehre war. Besonders nehme ich aus dieser Zeit mit, wie man Seminare und Vorlesungen äußerst unterhaltsam und anschaulich gestalten kann. Vielen Dank dafür.

Danke an die gesamte IBOC-Arbeitsgruppe, die mich von vorne herein herzlich empfangen hat und mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand. Zwar habt Ihr mich manchmal in den Wahnsinn getrieben, aber der gehört in einer Familie nun mal dazu.

Diesen ehemaligen Doktoranden möchte ich ebenfalls danken: *Dr. Carolin Bisterfeld* für die außerordentlich gute, strukturierte und vor allem zuverlässige Zusammenarbeit vor allem in Bezug auf unser Review. *Dr. Claudia Holec* danke ich für ihre tatkräftige Unterstützung in der Korrektur meiner Dissertation und Ihre stets gute Laune und verständnisvolle, aufmunternde Art. Und zu guter Letzt bei *Dr. Claus Bier* für die ebenfalls unerschütterlich gute Laune und die Massagen.

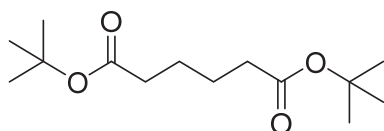
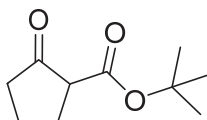
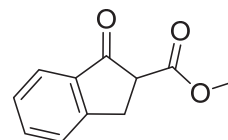
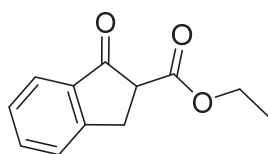
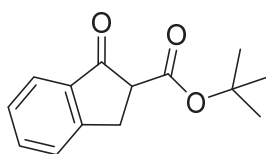
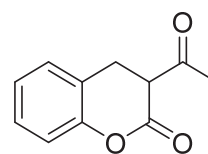
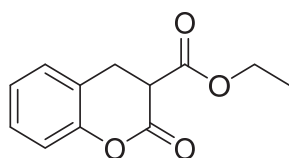
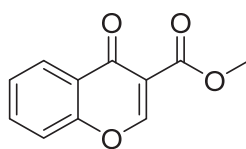
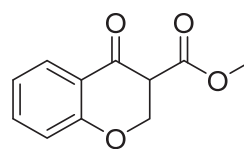
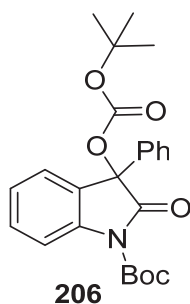
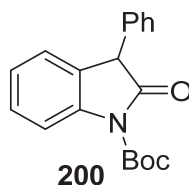
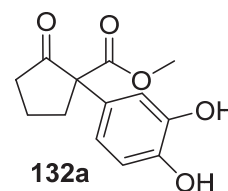
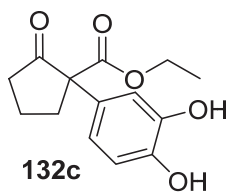
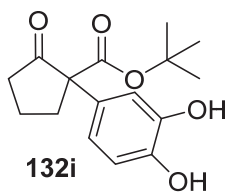
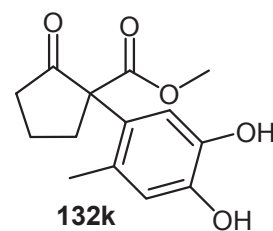
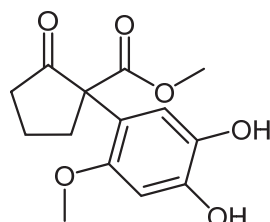
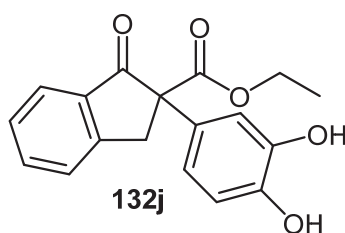
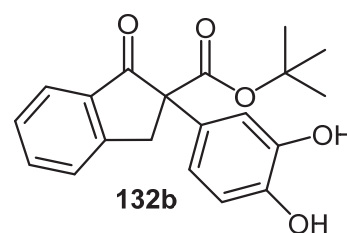
Darüber hinaus möchte ich mich bei meinen Eltern *Klaus Tschersich* und *Annette Simon* sowie meinen Geschwistern *Tamara* und *Felix Tschersich* bedanken, die mich jederzeit unterstützen und stets ein offenes Ohr für mich haben.

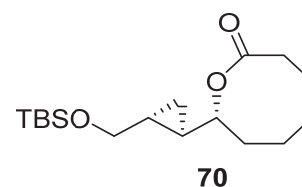
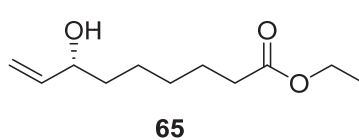
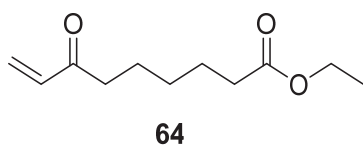
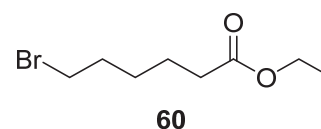
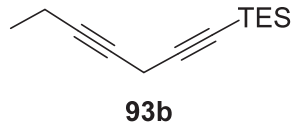
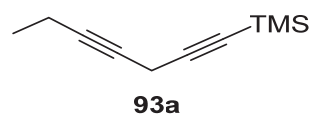
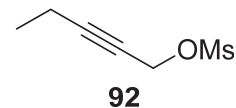
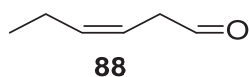
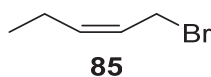
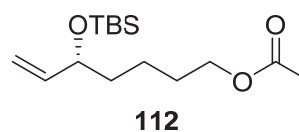
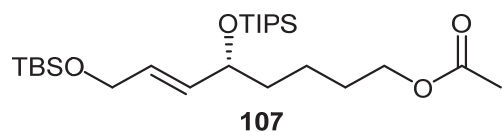
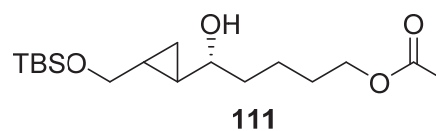
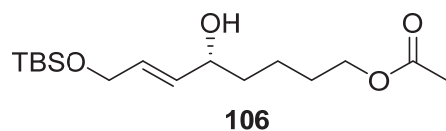
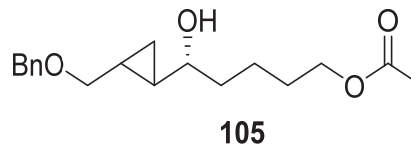
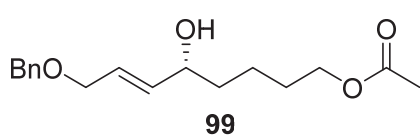
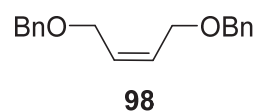
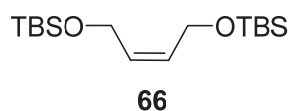
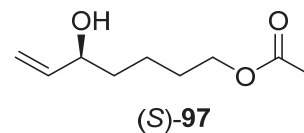
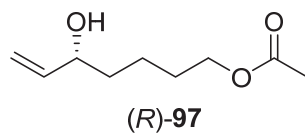
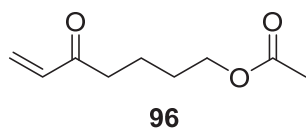
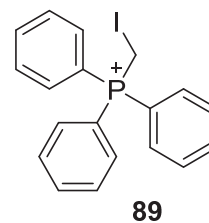
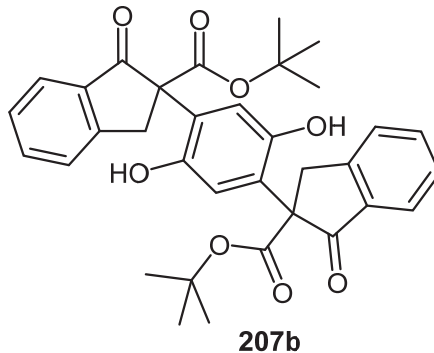
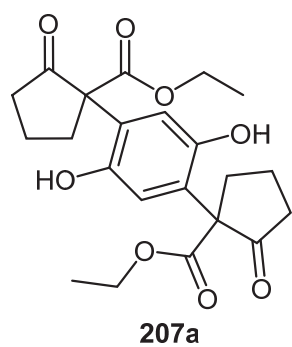
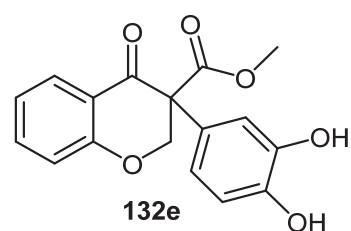
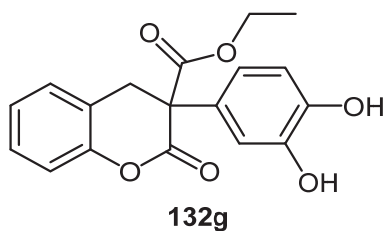
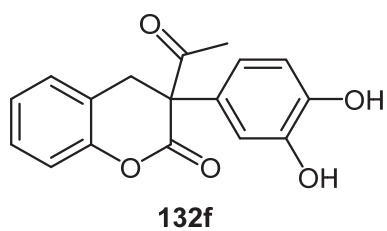
Vielen Dank auch an meine Schulfreundinnen *Anne-Kristina Zippel* und *Alena Ullmann*, die mich seit jeher begleiten und hinter mir stehen.

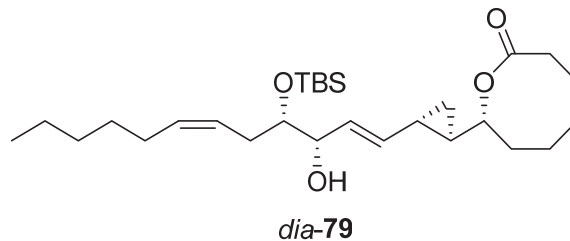
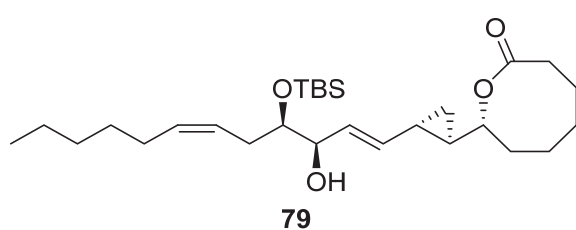
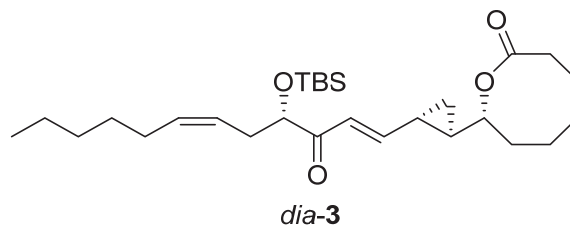
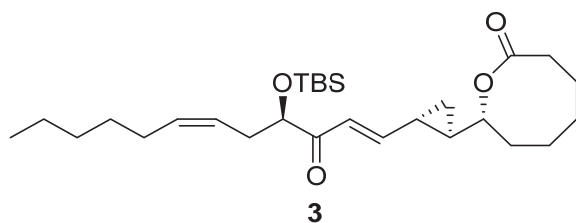
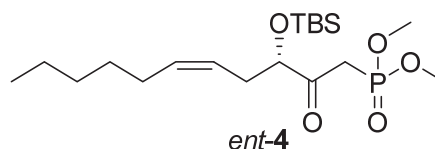
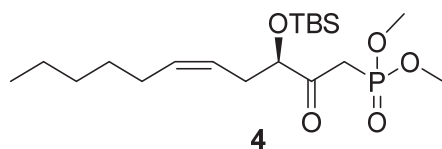
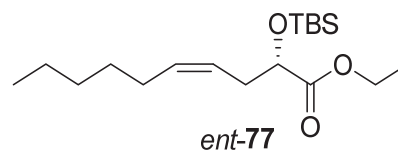
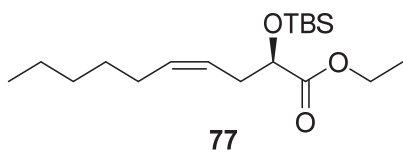
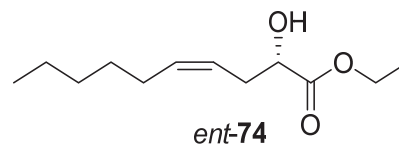
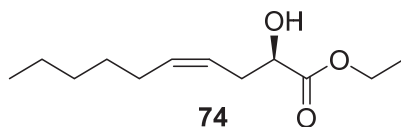
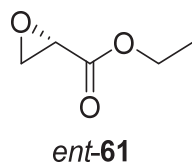
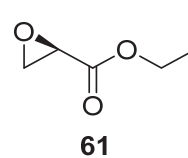
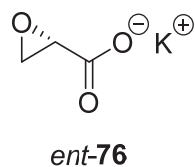
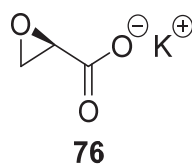
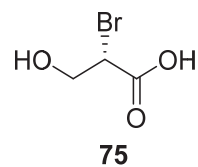
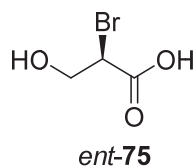
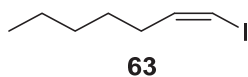
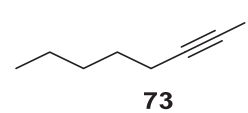
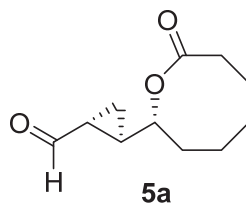
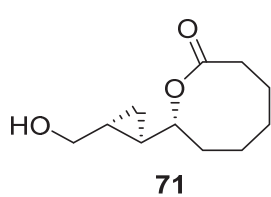
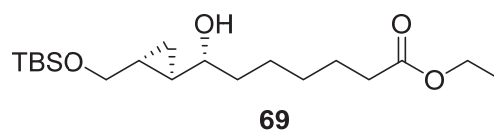
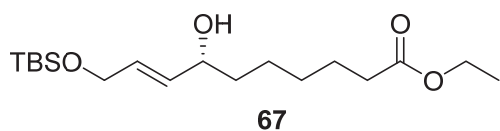
Zu guter Letzt möchte ich mich bei meinem Freund und Ehemann *Sergej Krug* bedanken, welcher jede Freude und jedes Leid mit mir teilt, welcher stets an meiner Seite und immer hinter mir steht. Danke für das Zuhören, Aufmuntern und Anspornen.

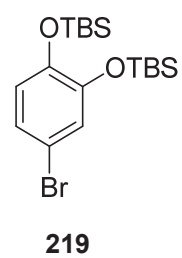
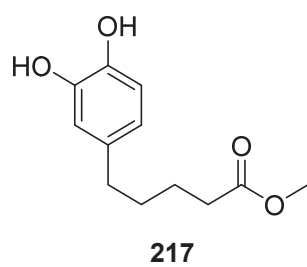
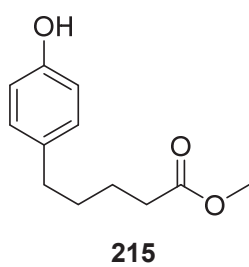
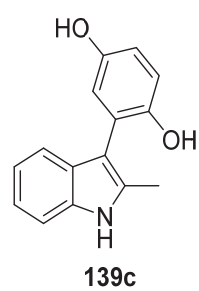
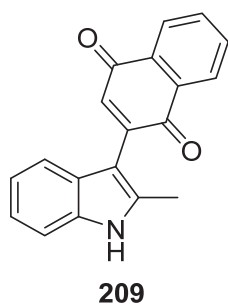
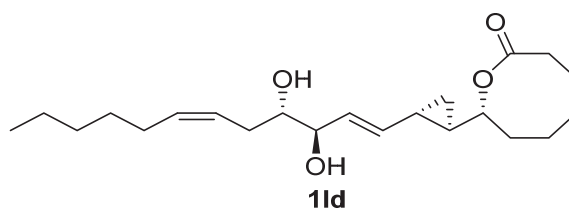
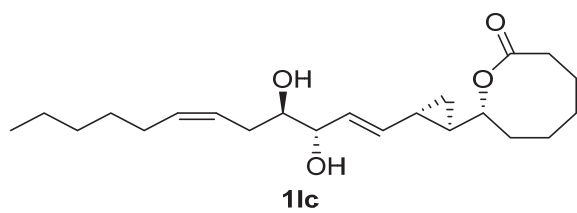
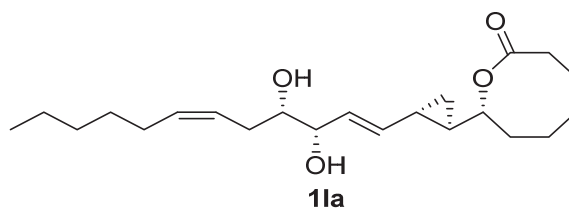
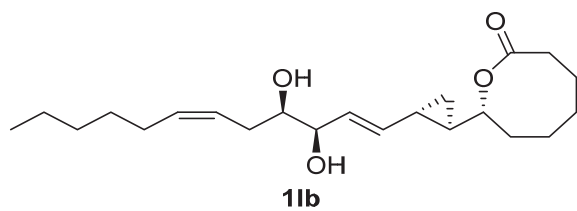
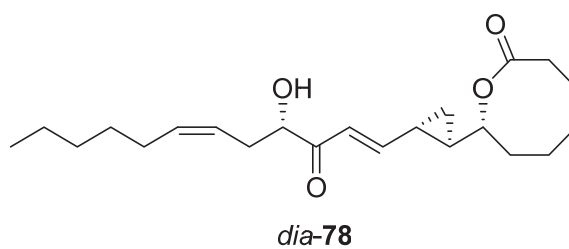
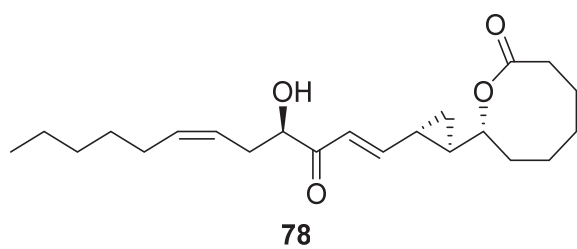
17 FORMELREGISTER

Die im Folgenden dargestellten Moleküle wurden entsprechend ihrer Erscheinung in der vorliegenden Arbeit nummeriert.

**194****192a****195a****195b****195c****198a****198b****203****199****206****200****132a****132c****132i****132k****132l****132j****132b**

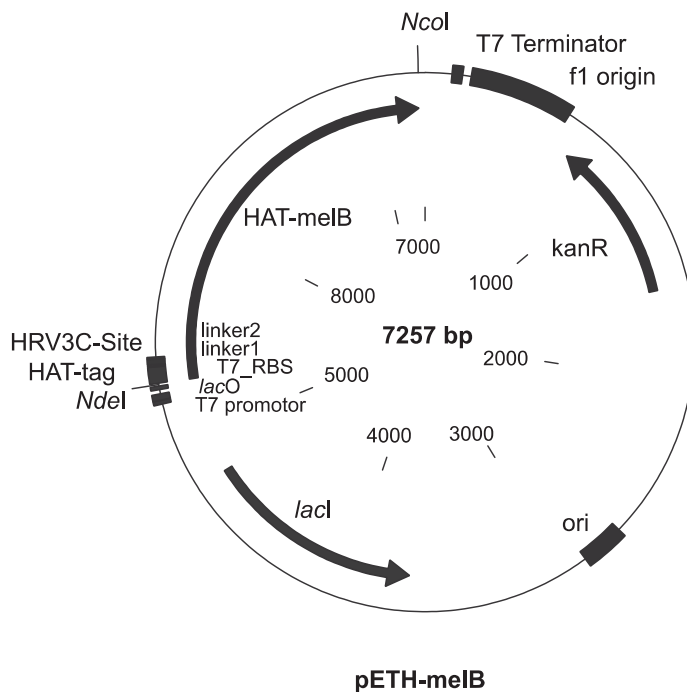






18 ANHANG

18.1 Plasmidkarte



```

                                NdeI
                                ---+---
.... 5221 t ctagaata atttgttta actttaagaa ggagatatac atatgattac gccaaagctt aaggatcatc toatccacaa tgtccacaaa
a gatctttat taaaacaaat tgaaattctt cctctatatg tatactaatac cggttcgaac ttccatagtag agtaggtgtt acaggtgttt
> .....HAT-melB.....
m i t p s l k d h l i h n v h k

5311 g aggagcacg ctcatgccca caacaagagc agcgggtctgg aagtctctgtt tcaggggcccg ggccgtagcc cgtacctcat caccggtatc
c toctcgtgc gactacgggt gttgttctcg togccagacc ttcaagacaa agtcccgccc cgcctatcgg gcatggagta gtggccatag
> .....HAT-melB.....
e e h a h a h n k s s g l e v l f q g p g g s p y l i t g i

5401 c caaaggatc ctaagcacc tcttccatc cgaaaagata ttgatgactg gtatctcgag cagaccagtg cgggaagtaa ccgcattcac
g gtttcttag gattcgtggg agaagggtag gcttttctat aactactgac catagagctc gtctggtcac gcccttcatt ggcttaggtc
> .....HAT-melB.....
p k d p k h p l p i r k d i d d w y l e q t s a g s n r i q

5491 c tcaacttat ttgtggaagc cttgacogtg atccaaaacc gcccttgtaa tgaccagctg togtacttcc gtctggccgg tatccatggc
g agtgagata aacaccttcg gaactggcac taggttttgg cggggaactt actggtcgac agcatgaagg cagaccggcc ataggtacgc
> .....HAT-melB.....
l t l f v e a l t v i q n r p l n d q l s y f r l a g i h g

5581 g ctccctgga cagagtggga cggggtgcct ggtggtcaaa aggactccaa aggaatccg acggggttct cgtgcatata caattacacc
c gagggacct gtctaccct gccccacgga ccaccagttt tctgaggtt tcttttaggc tgccccaaga cgcacgtatt gttaatgtgt
> .....HAT-melB.....
a p w t e w d g v p g g q k d s k g n p t g f c v h n n y t

5671 t ttccgacat ggcacogggg gtatgtgacc ttgtacgagc aagtgtttta tgaagccatg cttgacttca tcaagcaaaa tgtgccacag
a aaggctgta ccgtagccca catacactgg aacatgctcg ttcaactaat acttcgttac gaactgaagt agttcgtttt acacgggtgtc
> .....HAT-melB.....
f p t w h r v y v t l y e q v i y e a m l d f i k q n v p q

5761 a atgggaaag ctgactggga gaatgaagcc aagcaatggc gtctccctta ctgggacttt gcccggttcg cccggcatgg acacgacaat
t tacccttc gactgacct cttacttcgg ttogttacgg cagaggggaat gacctgaaa cgggccaagc gggccgtacc tgtgctgta
> .....HAT-melB.....
n g k a d w e n e a k q w r l p y w d f a r f a r h g h d n

5851 a cccaaggcg atgaacttcg attgcccatt ctggtcacga tgcccatggt caaggtcttc gtgcgggggc aaccaggcaa gcagctaagc
t ggggtccgc tacttgaagc taacgggtaa gaccagtgtc accgtgga gttccaggag cagcgccccc ttggtccgtt cgtcgattcg
> .....HAT-melB.....
t q g d e l r l p i l v t m p m v k v l v p g q p g k q l s

5941 a agcccaatc ccttttacg gtttcaaatg caaacctcca tggggacctt ggaacgcca tacgcgatca cgagtcaaaa gaccgaagaa
t togggttag gggaaatgc caagtttac gtttgggagt accctggaa ccttgccggg atcgcgtagt gtcagtttt ctggcttctt
> .....HAT-melB.....
k p n p l y r f q m q t l m g t l e r p y a i t s q k t e e

```

```

6031 cacggctggt ctttcatct gcggttcgac aaatgccagt ccaccacca gtatggtctt ctggaaaact acaacgccga cgtgtggggc
g tgcgacca gaaagctaga oggcaagctg tttaaggta ggtgggtgtt cataccagaa gaccttttga tgttgcggct gcacaccgc
> .....HAT-melB.....>
h g w s f d l p f d k c q s t t k y g l l e n y n a d v w a

6121 g acggtggcc agaactggct gcgggctaac ctggcattga acgagcatcc ctggtagcag aacctagatg gctgggactc ggttccaacc
c tgcacccgg tcttgaccga cggccgattg gaccgtaact tgcctgtagg gaccatggtc ttggatctac cgaccctgag ccaaggttgg
> .....HAT-melB.....>
d g g q n w l r a n l a l n e h p w y q n l d g w d s v p t

6211 t tacaagata tgacgttcog cctgctgaca actgggagtc ttaactgggg ggaattttcc agcactcggg acgatgacaa gaaagaagaa
a atgttctat actgcaaggc ggacgactgt tgacctccag aattgacccc ccttaaaagg tctgtgagca tgcactgttt ctttctctt
> .....HAT-melB.....>
l q d m t f r l l t t g g l n w g e f s s t r y d d k k e e

6301 a cccagccca agaataatga acaagccctt aagaactgga tgaacttaga agctattcac aacaacgtcc ataactgggt gggaggattc
t gggctgggt tcttattact tgttcgggga ttcttgacct acttgaaact togtataagt ttgttgacag tattgaccca cctcttaag
> .....HAT-melB.....>
t q p k n n e q a p k n w m n l e a i h n n v h n w v g g f

6391 a tgttcagcc gtccaggacg acacgaactg aaactctggg gtgctggcca tatgagcagt gttccagtgg ccgctatga tocgattttc
t acaagtccg caggctcctg tgtgctgaac ttgagagccc cagcagcggg atactcgtca caaggtcacc ggccgcatct aggtctaaag
> .....HAT-melB.....>
m f s r p g r h d l k l w g a g h m s s v p v a a y d p i f

6481 t ggtgcacc attgcaatat cgacaggctc actgcaatct ggcagacogt aaactctggc agctggttta atgacgataa gagcaagta
a ccgacgtgg taactgtata gctgtccogag tgacgttaga cgtctggcca ttgagagccg tcgaccaaact tactgtctatt ctgcttcat
> .....HAT-melB.....>
w l h h c n i d r l t a i w q t v n s g s w f n d d k s k v

6571 t ctaagatg acgacctcgc tccttccac aggtttttgt aaaaaaccag gaaggttggg ttttccaggt ctgacgatgt gaaggttgg
a gattttctat tgctggagcg aggggaaggtg tccaaaacac ttttttggc cttccaacac aaaaagtcca gactgtctaca cttcctaacc
> .....HAT-melB.....>
s k d d d l r p f h r f c e k t r k v v f f r s d d v k d w

6661 c gatccttga attatgatta cgctatcact aaagatgcga gcagaattag gaaagagatt tcgacacctg acgggcaaaag aacaaaagag
g ctaggaaact taactactaat gcgatagtga ttctacogt cgtcttaact cttctcttaa aggtctggaca tgccogtttc ttgttttct
> .....HAT-melB.....>
r s l n y d y a i t k d a s r i r k e i s d l y g q r t k e

6751 g tgtacaagg acttcgggca ggaagactat attctcagca tcoggtacag ccggtatgca ttggggagga agccogttcca gatcaacatc
c acatgttcc tgaagccgct cctctgata taagagtcgt aggcacatgc ggcatacgt aaccctccgt tcggcaaggt ctagtgttag
> .....HAT-melB.....>
v y k d f g e e d y i l s i r y s r y a l g g k p f q i n i

6841 t tcttcgggt acgtggatgg caaggacttc tacgacgcaa gatcgagcaa ttttggggc agtgtcttca acttcagcgg cagccttagg
a agaagccac tgcacctacc gttcctgaag atgctcgggt ctgagctctt aaaaaccccg tcacagaagt tgaagtcgct ctggtgaactc
> .....HAT-melB.....>
f f g d v d g k d f y d a r s q n f v g s v f n f s g s l e

6931 g acagtaact gtgacaagt cgctoagcaa gagcaagagg gtgttttgc tgtgtccag cttccagcca gattggcagt ccactactac
c tgtcattga cactgttca cgcagctgtt ctgcttctcc caaaaaacag acacaggggc gaaggtcggg ctaacogtca ggtgatgatg
> .....HAT-melB.....>
d s n c d k c a q q e q e g v l s v s q l p a r l a v h y y

7021 a aaaagcaga acaaaaggca ggttccaaca ccggttaacg tctgtgtgaa tagtcagggc aaggctgagg cggaggtaaa agtggaaagt
t ttttctct tggttcogct ccaaggttgt ggcgcaatgc agcaccactt atcagtcocg ttccgactcc gcctccattt tcacctcaa
> .....HAT-melB.....>
k k q n k g e v p t p r y v v v n s q g k a e a e v k v e v

7111 g cctgcata agactgaggg tacgttctat gacgtcctg ccgoggtggg cagcgatgac taccgcaggg tggccgatgg aaagcgtgcc
c gggacgtat tctgactccc atgcaagata ctgcgaggac gggcgccacc gtcgctactg atggcgtccc accgctacc tttgcacgg
> .....HAT-melB.....>
a l h k t e g t f y d a p a r g g s d d y r r v a d g k r a

NcoI
+-----
7201 g aagtggagc atgcttatcg cgctgacca tggctgatat cggatccgaa ttogagc
c ttcacgtgc tacgaatagc gggactgggt accgactata gcctaggtctt aagctcg
> .....HAT-melB.....>
e v d d a y r a -

```

Abbildung 28: Plasmidkarte pETH-*meI*B.^[120] [angefertigt von J. Gebauer und M. Holz]

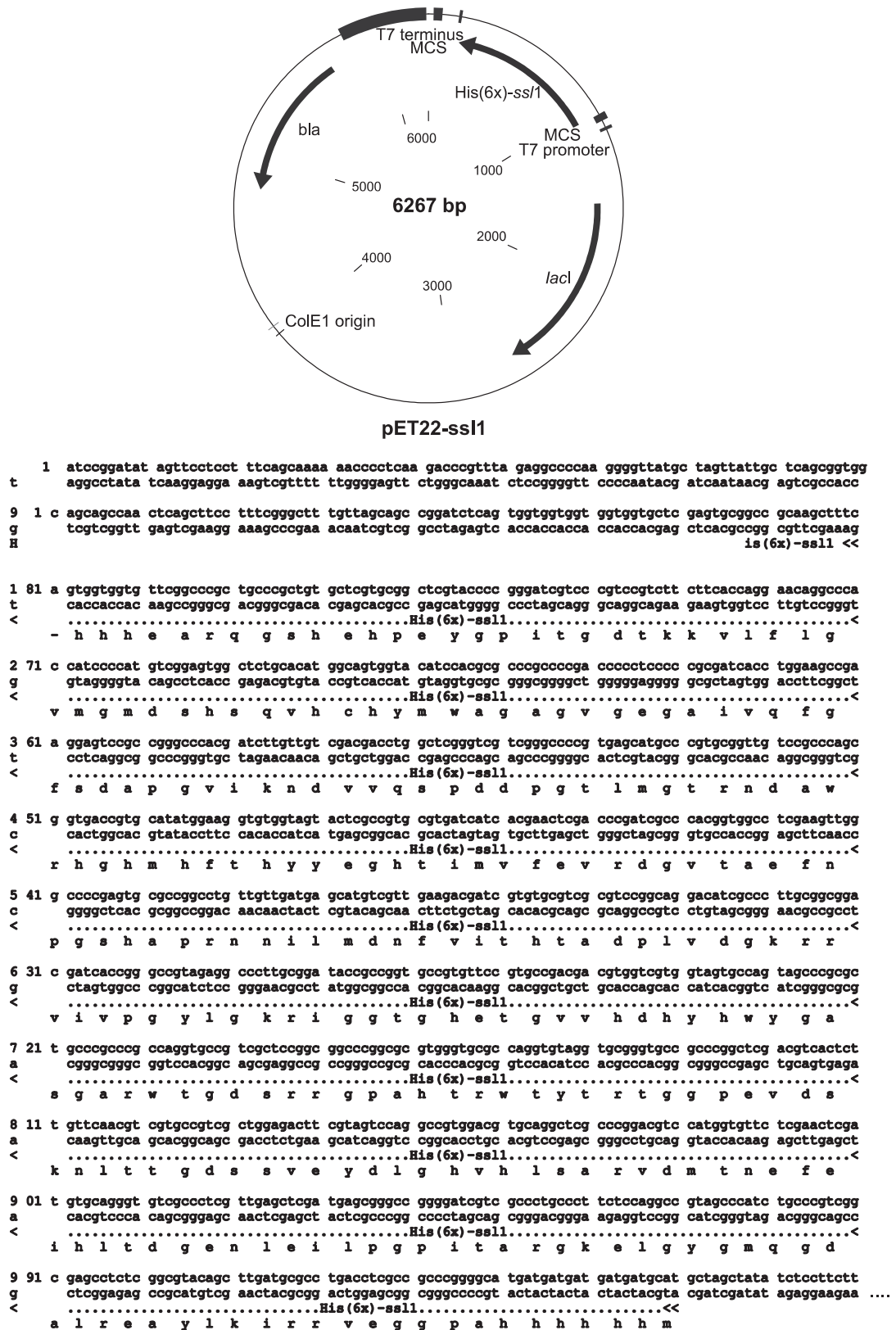


Abbildung 29: Plasmidkarte pETH22-ssI1.^[166]

18.2 Eigenanteil der publizierten Manuskripte

R. Krug, D. Schröder, J. Gebauer, S. Suljić, N. Fujieda, Y. Morimoto, S. Itoh, J. Pietruszka, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 2018, 1789-1796. "Tyrosinases in organic chemistry: a versatile tool towards a α -arylation of β -dicarbonyl compounds"

Die oben aufgeführte Publikation enthält folgende fachliche Eigenanteile: Die Ergebnisse wurden von mir zusammengetragen, graphisch dargestellt und beschrieben. *E. coli*-Bakterien wurden mit dem Tyrosinaseplasmid transformiert und das Enzym exprimiert, isoliert sowie Aktivität bestimmt. Die Tyrosinase wurde vor jeder Arylierungsreaktion mit Hilfe von Trypsin aktiviert. Zunächst wurden verschiedene Donatoren **192**, **195**, **198**, **199** wie **200** für die Arylierungsreaktion mit Phenol (**141a**) getestet. Bei allen Ausbeuten handelte es sich um isolierte Mengen der Arylierungsprodukte **132a–j**. Neben der säulenchromatographischen Reinigung wurde die Analytik (NMR, HPLC, GC/MS, IR) aufgenommen und ausgewertet. Gleiches gilt ebenfalls für die Ansätze mit den verschiedenen *Michael*-Akzeptoren **141b–f** sowie für die Versuche mit Catechol **133c** als Substrat und Zugabe von Additiven wie Wasserstoffperoxid.

R. Krug, C. Bisterfeld, J. Pietruszka, Review *Studies in Natural Products Chemistry* **2017**, 55, 145-180. "Cyclopropyl lactone-containing marine oxylipins".

Die oben aufgeführte Publikation enthält folgende fachliche Eigenanteile: Sowohl *C. Bisterfeld* als auch *R. Krug* haben in gleichen Anteilen das Manuskript verfasst und Abbildungen hergestellt. Folgende Kapitel wurden hauptsächlich von mir recherchiert und beschrieben: Kapitel 2 – Isolation & Biosynthesis, Kapitel 3 – Structural Elucidation & Assignment, Kapitel 4.2 – Syntheses following Strategy A, Kapitel 4.4 – Syntheses towards 2-ene-1,4-diol-containing oxylipins following strategy C, Kapitel 4.5 – Syntheses towards 1-ene-3,4-diol-containing oxylipins following strategy D (Übersichtstabelle wurde gemeinsam erstellt).

R. Tschersich, N. C. Eichenauer, J. Pietruszka, *J. Nat. Prod.* **2015**, 78, 2782-2790. „Total Synthesis of Solandelactone I“.

Die oben aufgeführte Publikation enthält folgende fachliche Eigenanteile: Sämtliche Stufen der Totalsynthese wurden synthetisiert. Die finalen Syntheseschritte ausgehend vom *HWE*-Produkt **3/dia-3** hin zu den *syn*-konfigurierten Diastereomeren **11a** und **11b** des Solandelacton I (**1**) wurden etabliert und entsprechende Analytik aufgenommen und

ausgewertet (NMR, HPLC, IR, Drehwerte). Das Manuskript wurde gemeinsam mit *N. C. Eichenauer* geschrieben und Abbildungen erstellt.

N. C. Eichenauer, A. C. Nordschild, M. Bishop, D. Schumacher, M. Mackwitz, R. Tschersich, T. Wilhelm, J. Pietruszka, *Eur. J. Org. Chem* **2015**, 5620–5632. „Total Synthesis of Solandelactones A and B“.

Die oben aufgeführte Publikation enthält folgende fachliche Eigenanteile: Alle Verbindungen der Syntheseroute zum achtgliedrigen Lacton **5a** ausgehend vom Halogen **60** wurden nach säulenchromatographischer Reinigung bereitgestellt.

19 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. Croteau, T. M. Kutchan, N. G. Lewis, *Biochem. Mol. Biol. Plants* **2000**, *24*, 1250-1319; 'Natural products (secondary metabolites)'.
- [2] K. C. Nicolaou, J. S. Chen, 'Classics in total synthesis III: further targets, strategies, methods', Vol. 3, John Wiley & Sons, **2011**.
- [3] J. Kennedy, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 25-34; 'Mutasyntesis, chemobiosynthesis, and back to semi-synthesis: combining synthetic chemistry and biosynthetic engineering for diversifying natural products'.
- [4] A. Kirschning, F. Taft, T. Knobloch, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3245-3259; 'Total synthesis approaches to natural product derivatives based on the combination of chemical synthesis and metabolic engineering'.
- [5] A. Kirschning, F. Hahn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4012-4022; 'Merging chemical synthesis and biosynthesis: a new chapter in the total synthesis of natural products and natural product libraries'.
- [6] P. M. Wright, I. B. Seiple, A. G. Myers, *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 8984-9014; 'Zur Rolle der chemischen Synthese in der Entwicklung antibakterieller Wirkstoffe'; P. M. Wright, I. B. Seiple, A. G. Myers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 8840-8869.
- [7] K. J. Weissman, *Trends Biotechnol.* **2007**, *25*, 139-142; 'Mutasyntesis—uniting chemistry and genetics for drug discovery'.
- [8] F. H. Arnold, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1993**, *4*, 450-455; 'Protein engineering for unusual environments'.
- [9] F. H. Arnold, *Chem. Eng. Sci.* **1996**, *51*, 5091-5102; 'Directed evolution: creating biocatalysts for the future'.
- [10] F. H. Arnold, *Nature* **2001**, *409*, 253; 'Combinatorial and computational challenges for biocatalyst design'.
- [11] C. P. Badenhorst, U. T. Bornscheuer, *Trends Biochem. Sci.* **2018**, *43*, 180-198; 'Getting Momentum: From Biocatalysis to Advanced Synthetic Biology'.
- [12] U. Bornscheuer, G. Huisman, R. Kazlauskas, S. Lutz, J. Moore, K. Robins, *Nature* **2012**, *485*, 185-194; 'Engineering the third wave of biocatalysis'.
- [13] F. Rudroff, M. D. Mihovilovic, H. Gröger, R. Snajdrova, H. Iding, U. T. Bornscheuer, *Nature Catalysis* **2018**, *1*, 12; 'Opportunities and challenges for combining chemo- and biocatalysis'.
- [14] R. Tschersich, *Masterarbeit* **2014**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; 'Auf dem Wege zur Strukturaufklärung des Solandelacton I'.
- [15] Y. Seo, K. W. Cho, J.-R. Rho, J. Shin, B.-M. Kwon, S.-H. Bok, J.-I. Song, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 10583-10596; 'Solandelactones AI, lactonized cyclopropyl oxylipins isolated from the hydroid *Solanderia secunda*'.
- [16] D. G. Nagle, W. H. Gerwick, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7227-7237; 'Structure and stereochemistry of constanolactones AG, lactonized cyclopropyl oxylipins from the red marine alga *Constantinea simplex*'.
- [17] W. H. Gerwick, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1807-1823; 'Carbocyclic oxylipins of marine origin'.
- [18] A. J. Weinheimer, R. L. Spraggins, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 5185-5188; 'The occurrence of two new prostaglandin derivatives (15-epi-PGA2 and its acetate, methyl ester) in the gorgonian *Plexaura homomalla* chemistry of coelenterates. XV'.
- [19] M. Higgs, L. Mulheirn, *Tetrahedron* **1981**, *37*, 4259-4262; 'Hybridolactone, an unusual fatty acid metabolite from the red alga *Laurencia hybrida* (Rhodophyta, Rhodomelaceae)'.
- [20] E. Corey, T. M. Eckrich, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2415-2418; 'A method for the stereospecific synthesis of chiral cis-2-alkylcyclopropyllithium reagents'.
- [21] E. Corey, B. De, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 2735-2736; 'Total synthesis and stereochemistry of hybridolactone'.
- [22] M. Bernart, W. H. Gerwick, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2015-2018; 'Isolation of 12-(S)-hepe from the red marine alga *murrayella pericladus* and revision of structure of an acyclic icosanoid

from *Laurencia hybrida*. Implications to the biosynthesis of the marine prostanoid hybridalactone'.

[23] V. Hickmann, A. Kondoh, B. Gabor, M. Alcarazo, A. Fürstner, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13471-13480; 'Catalysis-based and protecting-group-free total syntheses of the marine oxylipins hybridalactone and the ecklonialactones A, B, and C'.

[24] K. Ota, N. Sugata, Y. Ohshiro, E. Kawashima, H. Miyaoka, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 13531-13537; 'Total Synthesis of Marine Eicosanoid (-)-Hybridalactone'.

[25] H. Niwa, K. Wakamatsu, K. Yamada, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4543-4546; 'Halicholactone and neohalicholactone, two novel fatty acid metabolites from the marine sponge *halichondria okadai* kadota'.

[26] Synthesen zu Halicho- und Neohalicholactonen: a) H. Kigoshi, H. Niwa, K. Yamada, T. J. Stout, J. Clardy, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2427-2428; 'The three-dimensional structure of neohalicholactone, an unusual fatty acid metabolite from the marine sponge *Halichondria okadai* Kadota'. b) P. J. Proteau, J. V. Rossi, W. H. Gerwick, *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 1717-1719; 'Absolute stereochemistry of neohalicholactone from the brown alga *Laminaria sinclairii*'. c) D. J. Critcher, S. Connolly, M. F. Mahon, M. Wills, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 139-140; 'Synthesis and X-ray crystallographic structure of the right-hand hemisphere of halicholactone and neohalicholactone'. d) D. J. Critcher, S. Connolly, M. Wills, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3763-3766; 'The total asymmetric synthesis of Halicholactone and Neohalicholactone'. e) M. Wills, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 177-185; 'Meldola Lecture. Recent developments in asymmetric synthesis'. f) J. D. White, M. S. Jensen, *Synlett* **1996**, 31-33; 'A Biogenetic Approach to Halicholactones. Anomalous Cyclization of an Epoxytridecadienoic Acid'. g) D. J. Critcher, S. Connolly, M. Wills, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6638-6657; 'Total Synthesis of Halicholactone and Neohalicholactone'. h) D. K. Mohapatra, A. Datta, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 642-646; 'Stereoselective synthesis of a key precursor of halicholactone and neohalicholactone'. i) Y. Takemoto, Y. Baba, G. Saha, S. Nakao, C. Iwata, T. Tanaka, T. Ibuka, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3653-3656; 'Asymmetric total synthesis of halicholactone'. j) Y. Baba, G. Saha, S. Nakao, C. Iwata, T. Tanaka, T. Ibuka, H. Ohishi, Y. Takemoto, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 81-88; 'Asymmetric total synthesis of halicholactone'. k) T. Takahashi, H. Watanabe, T. Kitahara, *Heterocycles* **2002**, *58*, 99-104; 'Total synthesis of (-)-halicholactone'. l) D. K. Mohapatra, K. A. Durugkar, *Arkivoc* **2004**, *1*, 146-155; 'Studies towards the total synthesis of halicholactone and neohalicholactone: a stereoselective synthesis of C1-C13 fragment'. m) M. Bishop, V. Doum, A. C. N. née Rieche, J. Pietruszka, D. Sandkuhl, *Synthesis* **2010**, *2010*, 527-537; 'Total synthesis of halicholactone and neohalicholactone'. n) C. Y. Zhu, X. Y. Cao, B. H. Zhu, C. Deng, X. L. Sun, B. Q. Wang, Q. Shen, Y. Tang, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11465-11468; 'Application of asymmetric ylide cyclopropanation in the total synthesis of halicholactone'.

[27] Review: I. Shiina, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 239-273; 'Total synthesis of natural 8- and 9-membered lactones: recent advancements in medium-sized ring formation'.

[28] D. G. Nagle, W. H. Gerwick, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 2995-2998; 'Isolation and structure of constanolactones A and B, new cyclopropyl hydroxy-eicosanoids from the temperate red alga *Constantinea simplex*'.

[29] M. Ojika, Y. Yoshida, Y. Nakayama, K. Yamada, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4907-4910; 'Aplydilactone, a novel fatty acid metabolite from the marine mollusc *Aplysia kurodai*'.

[30] N. C. Eichenauer, Dissertation **2013**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf university press; 'Entwicklung neuer Allylboronsäureester und ihre Anwendung in der Naturstoffsynthese'.

[31] A. Rieche, Dissertation **2008**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf university press; 'Totalsynthese Mariner Oxylipine mit Cyclopropyllacton-Einheit'.

[32] F. Marks, *Biol. Unserer Zeit* **2000**, *30*, 342-353; 'Der Stoffwechsel der Arachidonsäure'.

[33] J. N. Siedow, *Annu. Rev. Plant Biol.* **1991**, *42*, 145-188; 'Plant lipoxygenase: structure and function'.

- [34] S. W. Baertschi, A. R. Brash, T. M. Harris, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5003-5005; 'Formation of a cyclopropyl eicosanoid via an allene oxide in the coral *Plexaura homomalla*: implications for the biosynthesis of 5, 6-trans-prostaglandin A₂'.
- [35] M. Barbosa, P. Valentão, P. B. Andrade, *Mar. Drugs* **2016**, *14*, 23; 'Biologically active oxylipins from enzymatic and nonenzymatic routes in macroalgae'.
- [36] H. Miyaoka, T. Shigemoto, Y. Yamada, *Heterocycles* **1998**, *1*, 415-428; 'Total synthesis of constanolactone E, a marine eicosanoid from the alga *constantinea simplex*; absolute structure of constanolactone E'.
- [37] H. Miyaoka, T. Shigemoto, Y. Yamada, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7407-7408; 'Synthesis of constanolactone E'.
- [38] J. D. White, M. S. Jensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6224-6233; 'Cyclopropane-containing eicosanoids of marine origin. Biomimetic synthesis of constanolactones A and B from the alga *Constantinea simplex*'.
- [39] C. Barloy-Da Silva, A. Benkouider, P. Pale, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3077-3081; 'Synthetic studies towards oxylipins: total synthesis of Constanolactones A and B'.
- [40] C. Barloy-Da Silva, P. Pale, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 3951-3954; 'A chiron approach to the cyclopropyl lactone oxylipins'.
- [41] D. Grandjean, P. Pale, J. Chuche, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1215-1230; 'Enzymatic hydrolysis of cyclopropanes. Total synthesis of optically pure dictyopterene a and c'.
- [42] J. Pietruszka, T. Wilhelm, A. Witt, *Synlett* **1999**, 1981-1983; 'Kinetic enzymatic resolution of cyclopropane derivatives'.
- [43] J. Pietruszka, T. Wilhelm, *Synlett* **2003**, 1698-1700; 'Total Synthesis of Marine Oxylipins Constanolactone A and B'.
- [44] J. Pietruszka, A. C. Rieche, N. Schöne, *Synlett* **2007**, 2525-2528; 'Synthesis of marine oxylipins constanolactones C and D'.
- [45] J. Yu, J.-Y. Lai, J. Ye, N. Balu, L. M. Reddy, W. Duan, E. R. Fogel, J. H. Capdevila, J. Falck, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3939-3941; 'Chiral cyclopropanes: asymmetric synthesis of constanolactones A and B'.
- [46] G. Solladié, C. Hamdouchi, C. Ziani-Chérif, *Tetrahedron: Asymmetry* **1991**, *2*, 457-469; 'Asymmetric synthesis of the C-1-C-8 fragment of leukotriene B₄ and C-11-C-20 fragments of leukotriene B₄ and 12 (S)-hydroxy-5, 8, 14 (Z), 10 (E) eicosatetraenoic acid'.
- [47] J. E. Davoren, C. Harcken, S. F. Martin, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 391-402; 'Studies toward the Enantioselective Syntheses of Oxylipins: Total Synthesis and Structure Revision of Solandelactone E'.
- [48] J. E. Davoren, S. F. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 510-511; 'Enantioselective synthesis and structure revision of solandelactone E'.
- [49] J. D. White, W. H. Martin, C. Lincoln, J. Yang, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3481-3483; 'Total synthesis of solandelactones E and F, homoeicosanoids from the hydroid *Solanderia secunda*'.
- [50] J. D. White, C. M. Lincoln, J. Yang, W. H. Martin, D. B. Chan, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4139-4150; 'Total Synthesis of Solandelactones A, B, E, and F Exploiting a Tandem Petasis–Claisen Lactonization Strategy'.
- [51] J. Pietruszka, A. Rieche, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 1407-1412; 'Total synthesis of marine oxylipins solandelactones A–H'.
- [52] J. Pietruszka, A. Rieche, T. Wilhelm, A. Witt, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 1273-1286; 'Kinetic enzymatic resolution of cyclopropane derivatives'.
- [53] A. Robinson, V. K. Aggarwal, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6673-6675; 'Asymmetric Total Synthesis of Solandelactone E: Stereocontrolled Synthesis of the 2-ene-1, 4-diol Core through a Lithiation–Borylation–Allylation Sequence'.
- [54] A. Robinson, V. K. Aggarwal, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 1795-1801; 'Stereocontrolled asymmetric synthesis of syn-E-1, 4-diol-2-enes using allyl boronates and its application in the total synthesis of solandelactone F'.
- [55] A. Robinson, C. J. Fletcher, V. K. Aggarwal, *Strategies Tactics Org. Synth.* **2012**, *8*, 1; 'Total Syntheses of Solandelactones E and F'.

- [56] L. Duhamel, J.-C. Plaquevent, *J. Organomet. Chem.* **1993**, *448*, 1-3; '4-Phenylbenzylidene benzylamine: a new and convenient reagent for the titration of solutions of lithium alkyls and metal amides'.
- [57] N. C. Eichenauer, R. Tschersich, J. Pietruszka, *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 2782-2790; 'Total Synthesis of Solandelactone I'.
- [58] L. Wavrin, J. Viala, *Synthesis* **2002**, *2002*, 0326-0330; 'Clean and efficient oxidation of homoallylic and homopropargylic alcohols into β , γ -unsaturated aldehydes by the Dess-Martin periodinane'.
- [59] W.-Y. Siau, Y. Zhang, Y. Zhao, Stereoselective synthesis of Z-alkenes, in *Stereoselective Alkene Synthesis*, Springer, **2012**, pp. 33-58.
- [60] T. Kobayashi, Y. Koga, K. Narasaka, *J. Organomet. Chem.* **2001**, *624*, 73-87; 'The rhodium-catalyzed Pauson-Khand reaction'.
- [61] J. Mowat, J. Senior, B. Kang, R. Britton, *Can. J. Chem.* **2013**, *91*, 235-239; 'Scalable synthesis of the pink gypsy moth *Lymantria mathura* sex pheromone (–)-mathuralure'.
- [62] A. Nakanishi, K. Mori, *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **2005**, *69*, 1007-1013; 'New Synthesis of the (3 Z, 6 Z, 9 S, 10 R)-Isomers of 9, 10-Epoxy-3, 6-henicosadiene and 9, 10-Epoxy-1, 3, 6-henicosatriene, Pheromone Components of the Female Fall Webworm Moth, *Hyphantria cunea*'.
- [63] N. C. Eichenauer, A. Nordschild, M. Bischof, D. Schumacher, M. K. Mackwitz, R. Tschersich, T. Wilhelm, J. Pietruszka, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 5620-5632; 'Total Synthesis of Solandelactones A and B'.
- [64] S. H. Hong, D. P. Sanders, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17160-17161; 'Prevention of undesirable isomerization during olefin metathesis'.
- [65] A. B. Charette, H. Lebel, *Org. Synth.*, Coll. Vol. 10, **2004**, *76*, 613.
- [66] A. B. Charette, H. Juteau, H. Lebel, C. Molinaro, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11943-11952; 'Enantioselective cyclopropanation of allylic alcohols with dioxaborolane ligands: scope and synthetic applications'.
- [67] S. E. Denmark, S. P. O'Connor, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 584-594; 'Catalytic, enantioselective cyclopropanation of allylic alcohols. Substrate generality'.
- [68] H. Takahashi, M. Yoshioka, M. Shibasaki, M. Ohno, N. Imai, S. Kobayashi, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 12013-12026; 'A catalytic enantioselective reaction using a C2-symmetric disulfonamide as a chiral ligand: Simmons-Smith cyclopropanation of allylic alcohols by the Et₂Zn-CH₂I₂-disulfonamide system'.
- [69] V. V. Zhdankin, *ARKIVOC: Online J. Org. Chem.* **2009**; 'Hypervalent iodine (III) reagents in organic synthesis'.
- [70] D. Böse, E. Fernández, J. r. Pietruszka, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3463-3469; 'Stereoselective synthesis of both enantiomers of rugulactone'.
- [71] B. M. Trost, M. R. Machacek, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4887-4891; 'An Efficient One-Pot Enantio- and Diastereoselective Synthesis of Heterocycles'; B. M. Trost, M. R. Machacek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4693-4697.
- [72] T. W. Bell, J. A. Ciaccio, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5153-5162; 'Alkylative epoxide rearrangement. A stereospecific approach to chiral epoxide pheromones'.
- [73] S. Suljić, Dissertation **2016**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; 'Laccasen in der organischen Synthese'.
- [74] J. Pietruszka, C. Wang, *Green Chem.* **2012**, *14*, 2402; 'Laccase-catalysed α -arylation of cyclic β -dicarbonyl compounds'.
- [75] S. Suljić, F. B. Mortzfeld, M. Gunne, V. B. Urlacher, J. Pietruszka, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 1380-1385; 'Enhanced biocatalytic performance of bacterial laccase from *Streptomyces sviveus*: application in the Michael addition sequence towards 3-arylated 4-oxochromanes'.
- [76] J. Pietruszka, C. Wang, *ChemCatChem* **2012**, *4*, 782-785; 'Laccase-catalyzed 3-arylation of 3-substituted oxindoles'.

- [77] S. Suljić, J. Pietruszka, *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 1007-1020; 'Synthesis of 3-Arylated 3, 4-Dihydrocoumarins: Combining Continuous Flow Hydrogenation with Laccase-Catalysed Oxidation'.
- [78] P. Baldrian, *FEMS Microbiology Rev.* **2006**, *30*, 215-242; 'Fungal laccases—occurrence and properties'.
- [79] C. F. Thurston, *Microbiology* **1994**, *140*, 19-26; 'The structure and function of fungal laccases'.
- [80] C. Crestini, L. Jurasek, D. S. Argyropoulos, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5371-5378; 'On the mechanism of the laccase–mediator system in the oxidation of lignin'.
- [81] H. Claus, *Micron* **2004**, *35*, 93-96; 'Laccases: structure, reactions, distribution'.
- [82] A. Leonowicz, N. Cho, J. Luterek, A. Wilkolazka, M. Wojtas-Wasilewska, A. Matuszewska, M. Hofrichter, D. Wesenberg, J. Rogalski, *J. Basic Microbiol.* **2001**, *41*, 185-227; 'Fungal laccase: properties and activity on lignin'.
- [83] S. Witayakran, A. J. Ragauskas, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1187-1209; 'Synthetic applications of laccase in green chemistry'.
- [84] A. Yaropolov, O. Skorobogat'Ko, S. Vartanov, S. Varfolomeyev, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1994**, *49*, 257-280; 'Laccase'.
- [85] M. D. Cannatelli, A. J. Ragauskas, *Chem. Rec.* **2017**, *17*, 122-140; 'Two decades of laccases: Advancing sustainability in the chemical industry'.
- [86] M. Gunne, A. Höppner, P. L. Hagedoorn, V. B. Urlacher, *The FEBS journal* **2014**, *281*, 4307-4318; 'Structural and redox properties of the small laccase Ssl1 from *Streptomyces svaceus*'.
- [87] D. Maté, E. García-Ruiz, S. Camarero, M. Alcalde, *Curr. Genomics* **2011**, *12*, 113-122; 'Directed evolution of fungal laccases'.
- [88] M. A. Tadesse, A. D'Annibale, C. Galli, P. Gentili, F. Sergi, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 868-878; 'An assessment of the relative contributions of redox and steric issues to laccase specificity towards putative substrates'.
- [89] B. R. Craine, A. J. Di Bilio, J. R. Winkler, H. B. Gray, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11623-11631.
- [90] M. Gunne, V. B. Urlacher, *PLoS ONE* **2012**, *7*, e52360; 'Characterization of the alkaline laccase Ssl1 from *Streptomyces svaceus* with unusual properties discovered by genome mining'.
- [91] V. Burlat, M. Kwon, L. B. Davin, N. G. Lewis, *Phytochemistry* **2001**, *57*, 883-897; 'Dirigent proteins and dirigent sites in lignifying tissues'.
- [92] L. B. Davin, N. G. Lewis, *Plant Physiol.* **2000**, *123*, 453-462; 'Dirigent proteins and dirigent sites explain the mystery of specificity of radical precursor coupling in lignan and lignin biosynthesis'.
- [93] S. C. Halls, L. B. Davin, D. M. Kramer, N. G. Lewis, *Biochemistry* **2004**, *43*, 2587-2595; 'Kinetic study of coniferyl alcohol radical binding to the (+)-pinoresinol forming dirigent protein'.
- [94] J. Schaefer, K. J. Kramer, J. R. Garbow, G. S. Jacob, E. O. Stejskal, T. L. Hopkins, R. D. Speirs, *Science* **1987**, *235*, 1200-1204; 'Aromatic cross-links in insect cuticle: detection by solid-state ^{13}C and ^{15}N NMR'.
- [95] K. J. Kramer, M. R. Kanost, T. L. Hopkins, H. Jiang, Y. C. Zhu, R. Xu, J. Kerwin, F. Turecek, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 385-392; 'Oxidative conjugation of catechols with proteins in insect skeletal systems'.
- [96] a) R. J. Suderman, N. T. Dittmer, M. R. Kanost, K. J. Kramer, *Insect Biochem.* **2006**, *36*, 353-365; 'Model reactions for insect cuticle sclerotization: cross-linking of recombinant cuticular proteins upon their laccase-catalyzed oxidative conjugation with catechols'. b) T. L. Hopkins, K. J. Kramer, *Annu. Rev. Entomol.* **1992**, *37*, 273-302. c) Y. Arakane, S. Muthukrishnan, R. W. Beeman, M. R. Kanost, K. J. Kramer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, *102*, 11337-11342; 'Laccase 2 is the phenoloxidase gene required for beetle cuticle tanning'.

- [97] S. R. Couto, J. L. T. Herrera, *Biotechnol. Adv.* **2006**, *24*, 500-513; 'Industrial and biotechnological applications of laccases: a review'.
- [98] S. Riva, *Trends Biotechnol.* **2006**, *24*, 219-226; 'Laccases: blue enzymes for green chemistry'.
- [99] C. Pezzella, L. Guarino, A. Piscitelli, *Cell. Mol. Life Sci.* **2015**, *72*, 923-940; 'How to enjoy laccases'.
- [100] S. Hajdok, H. Leutbecher, G. Greiner, J. Conrad, U. Beifuss, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5073-5076; 'Laccase initiated oxidative domino reactions for the efficient synthesis of 3, 4-dihydro-7, 8-dihydroxy-2H-dibenzofuran-1-ones'.
- [101] S. Hajdok, J. r. Conrad, H. Leutbecher, S. Strobel, T. Schleid, U. Beifuss, *J. Org.Chem.* **2009**, *74*, 7230-7237; 'The laccase-catalyzed domino reaction between catechols and heterocyclic 1, 3-dicarbonyls and the unambiguous structure elucidation of the products by NMR spectroscopy and X-ray crystal structure analysis'.
- [102] S. Witayakran, A. J. Ragauskas, *Green Chem.* **2007**, *9*, 475-480; 'One-pot synthesis of 1, 4-naphthoquinones and related structures with laccase'.
- [103] S. Witayakran, A. Zettili, A. J. Ragauskas, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2983-2987; 'Laccase-generated quinones in naphthoquinone synthesis via Diels–Alder reaction'.
- [104] G. H. Müller, A. Lang, D. R. Seithel, H. Waldmann, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2513-2522; 'An Enzyme-Initiated Hydroxylation–Oxidation Carbo Diels–Alder Domino Reaction'.
- [105] S. Herter, A. Mikolasch, D. Michalik, E. Hammer, F. Schauer, U. Bornscheuer, M. Schmidt, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9311-9321; 'C–N coupling of 3-methylcatechol with primary amines using native and recombinant laccases from *Trametes versicolor* and *Pycnoporus cinnabarinus*'.
- [106] S. Herter, D. Michalik, A. Mikolasch, M. Schmidt, R. Wohlgemuth, U. Bornscheuer, F. Schauer, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2013**, *90*, 91-97; 'Laccase-mediated synthesis of 2-methoxy-3-methyl-5-(alkylamino)-and 3-methyl-2, 5-bis (alkylamino)-[1, 4]-benzoquinones'.
- [107] M. D. Cannatelli, A. J. Ragauskas, *Chem. Eng. Res. Des.* **2015**, *97*, 128-134; 'Laccase-catalyzed α -arylation of benzoylacetone nitrile with substituted hydroquinones'.
- [108] D. Nematollahi, A. R. Atlasi-Pak, R. Esmaili, *Helv. Chim. Acta* **2012**, *95*, 1605-1612; 'Electrochemical Oxidation of Catechols (= Benzene-1, 2-diols) in the Presence of Benzoylacetone nitrile: Synthesis of New Derivatives of 5, 6-Dihydroxybenzofuran'.
- [109] M. D. Cannatelli, A. J. Ragauskas, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2015**, *119*, 85-89; 'Laccase-catalyzed synthesis of 2, 3-ethylenedithio-1, 4-quinones'.
- [110] S. Suljić, J. Pietruszka, D. Worgull, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 1822-1830; 'Asymmetric Bio-and Organocatalytic Cascade Reaction–Laccase and Secondary Amine-Catalyzed α -Arylation of Aldehydes'.
- [111] O. Morozova, G. Shumakovich, S. Shleev, Y. I. Yaropolov, *Appl. Biochem. Microbiol.* **2007**, *43*, 523-535; 'Laccase-mediator systems and their applications: a review'.
- [112] A. Barilli, F. Belinghier, D. Passarella, G. Lesma, S. Riva, A. Silvani, B. Danieli, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 2921-2925; 'Enzyme assisted enantioselective synthesis of the alkaloid (+)-aloperine'.
- [113] A. Potthast, T. Rosenau, C. Chen, J. Gratzl, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1996**, *108*, 5-9; 'A novel method for conversion of benzyl alcohols to benzaldehydes by laccase-catalysed oxidation'.
- [114] A. Barilli, F. Belinghier, D. Passarella, G. Lesma, S. Riva, A. Silvani, B. Danieli, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 2921-2925; 'Enzyme assisted enantioselective synthesis of the alkaloid (+)-aloperine'.
- [115] P. Baiocco, A. M. Barreca, M. Fabbri, C. Galli, P. Gentili, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 191-197; 'Promoting laccase activity towards non-phenolic substrates: a mechanistic investigation with some laccase–mediator systems'.
- [116] H. Decker, R. Dillinger, F. Tucek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1591-1595; 'How does tyrosinase work? Recent insights from model chemistry and structural biology'; H. Decker, R. Dillinger, F. Tucek, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1656-1660.

- [117] K. J. Kramer, M. R. Kanost, T. L. Hopkins, H. Jiang, Y. C. Zhu, R. Xu, J. Kerwin, F. Turecek, *Tetrahedron* **2001**, 57, 385-392; 'Oxidative conjugation of catechols with proteins in insect skeletal systems'.
- [118] P. Agarwal, J. Singh, R. Singh, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2017**, 182, 1-15; 'Molecular cloning and characteristic features of a novel extracellular tyrosinase from *Aspergillus niger* PA2'.
- [119] N. Fujieda, S. Yabuta, T. Ikeda, T. Oyama, N. Muraki, G. Kurisu, S. Itoh, *J. Biol. Chem.* **2013**, 288, 22128-22140; 'Crystal Structures of Copper-depleted and Copper-bound Fungal Pro-tyrosinase: insights into endogenous cysteine-dependent copper incorporation'.
- [120] N. Fujieda, M. Murata, S. Yabuta, T. Ikeda, C. Shimokawa, Y. Nakamura, Y. Hata, S. Itoh, *ChemBioChem* **2012**, 13, 193-201; 'Multifunctions of MelB, a fungal tyrosinase from *Aspergillus oryzae*'.
- [121] N. Fujieda, T. Ikeda, M. Murata, S. Yanagisawa, S. Aono, K. Ohkubo, S. Nagao, T. Ogura, S. Hirota, S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 1180-1183; 'Post-translational His-Cys cross-linkage formation in tyrosinase induced by copper (II)-peroxo species'.
- [122] N. Fujieda, M. Murata, S. Yabuta, T. Ikeda, C. Shimokawa, Y. Nakamura, Y. Hata, S. Itoh, *JBIC, J. Biol. Inorg. Chem.* **2013**, 18, 19-26; 'Activation mechanism of *melB* tyrosinase from *Aspergillus oryzae* by acidic treatment'.
- [123] Á. Sánchez-Ferrer, J. N. Rodríguez-López, F. García-Cánovas, F. García-Carmona, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology* **1995**, 1247, 1-11; 'Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism'.
- [124] E. I. Solomon, P. Chen, M. Metz, S. K. Lee, A. E. Palmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 4570-4590; 'Oxygen binding, activation, and reduction to water by copper proteins'; E. I. Solomon, P. Chen, M. Metz, S.-K. Lee, A. E. Palmer, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 4702-4724.
- [125] M. Rolff, J. Schottenheim, H. Decker, F. Tuczek, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 4077-4098; 'Copper-O 2 reactivity of tyrosinase models towards external monophenolic substrates: molecular mechanism and comparison with the enzyme'.
- [126] M. Goldfeder, M. Kanteev, S. Isaschar-Ovdat, N. Adir, A. Fishman, *Nat. Commun.* **2014**, 5, 4505; 'Determination of tyrosinase substrate-binding modes reveals mechanistic differences between type-3 copper proteins'.
- [127] M. Kanteev, M. Goldfeder, A. Fishman, *Protein Sci.* **2015**, 24, 1360-1369; 'Structure-function correlations in tyrosinases'.
- [128] E. Solem, F. Tuczek, H. Decker, *Angew. Chem.* **2016**, 128, 2934-2938; 'Tyrosinase versus Catecholoxidase: ein Asparagin macht den Unterschied'; E. Solem, F. Tuczek, H. Decker, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 2884-2888.
- [129] C. A. Ramsden, P. A. Riley, *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry* **2010**; 'Mechanistic studies of tyrosinase suicide inactivation'.
- [130] C. A. Ramsden, M. R. Stratford, P. A. Riley, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 3388-3390; 'The influence of catechol structure on the suicide-inactivation of tyrosinase'.
- [131] E. J. Land, C. A. Ramsden, P. A. Riley, *The Tohoku journal of experimental medicine* **2007**, 212, 341-348; 'The mechanism of suicide-inactivation of tyrosinase: a substrate structure investigation'.
- [132] V. J. Hearing, K. Tsukamoto, *The FASEB Journal* **1991**, 5, 2902-2909; 'Enzymatic control of pigmentation in mammals'.
- [133] H. Raper, *Physiol. Rev.* **1928**, 8, 245-282; 'The aerobic oxidases'.
- [134] H. S. Mason, *J. Biol. Chem.* **1948**, 172, 83-99; 'The chemistry of melanin III. Mechanism of the oxidation of dihydroxyphenylalanine by tyrosinase'.
- [135] H. S. Mason, *J. Biol. Chem.* **1949**, 181, 803-812; 'The chemistry of melanin VI. Mechanism of the oxidation of catechol by tyrosinase'.
- [136] S. Ito, *Pigm. Cell Res.* **2003**, 16, 230-236; 'A chemist's view of melanogenesis'.
- [137] A. Taïeb, M. Cario-André, S. Briganti, M. Picardo, *Melanins and Melanosomes: Biosynthesis, Structure, Physiological and Pathological Functions* **2011**; 'Inhibitors and enhancers of melanogenesis'.

- [138] A. Hoffmann, C. Citek, S. Binder, A. Goos, M. Rübhausen, O. Troeppner, I. Ivanović-Burmazović, E. C. Wasinger, T. D. P. Stack, S. Herres-Pawlis, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 5508-5512; 'Katalytische Phenolhydroxylierung mit Sauerstoff: Substratvielfalt jenseits der Proteinmatrix von Tyrosinase'; A. Hoffmann, C. Citek, S. Binder, A. Goos, M. Rübhausen, O. Troeppner, I. Ivanović-Burmazović, E. C. Wasinger, T. D. P. Stack, S. Herres-Pawlis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 5398-5401.
- [139] K. D. Karlin, J. C. Hayes, Y. Gultneh, R. W. Cruse, J. W. McKown, J. P. Hutchinson, J. Zubieta, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 2121-2128; 'Copper-mediated hydroxylation of an arene: model system for the action of copper monooxygenases. Structures of a binuclear copper (I) complex and its oxygenated product'.
- [140] S. Itoh, M. Taki, H. Nakao, P. L. Holland, W. B. Tolman, J. Que, Lawrence, S. Fukuzumi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 398-400; 'Aliphatic Hydroxylation by a Bis (μ -oxo) dicopper (III) Complex'.
- [141] L. Casella, E. Monzani, M. Gullotti, D. Cavagnino, G. Cerina, L. Santagostini, R. Ugo, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7516-7525; 'Functional modeling of tyrosinase. Mechanism of phenol ortho-hydroxylation by dinuclear copper complexes'.
- [142] Z. Huang, J. P. Lumb, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 11543-11547; 'A Catalyst-Controlled Aerobic Coupling of ortho-Quinones and Phenols Applied to the Synthesis of Aryl Ethers'.
- [143] Weitere Literatur: a) Z. Huang, O. Kwon, K. V. N. Esguerra, J.-P. Lumb, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 5871-5885; 'A divergent and selective synthesis of ortho-and para-quinones from phenols'. b) M. Askari, L. Rodriguez-Solano, A. Proppe, B. McAllister, J.-P. Lumb, X. Ottenwaelder, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 12094-12097; 'Catalytic aerobic oxidation of phenols to ortho-quinones with air-stable copper precatalysts'.
- [144] K. V. N. Esguerra, Y. Fall, J. P. Lumb, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5877-5881; 'A biomimetic catalytic aerobic functionalization of phenols'.
- [145] K. V. N. Esguerra, Y. Fall, L. Petitjean, J.-P. Lumb, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 7662-7668; 'Controlling the catalytic aerobic oxidation of phenols'.
- [146] B. Xu, J. P. Lumb, B. A. Arndtsen, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 4282-4285; 'A TEMPO-Free Copper-Catalyzed Aerobic Oxidation of Alcohols'.
- [147] M. E. Bunnage, S. G. Davies, R. M. Parkin, P. M. Roberts, A. D. Smith, J. M. Withey, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3337-3354; 'Kinetic resolution of tert-butyl (RS)-3-alkylcyclopentene-1-carboxylates for the synthesis of homochiral 3-alkyl-cis-pentacin and 3-alkyl-trans-pentacin derivatives'.
- [148] X. Gu, Y. Zhang, Z.-J. Xu, C.-M. Che, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 7870-7873; 'Iron (iii)-salan complexes catalysed highly enantioselective fluorination and hydroxylation of β -keto esters and N-Boc oxindoles'.
- [149] K. M. Bogle, D. J. Hirst, D. J. Dixon, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 6399-6410; 'An oxidative coupling for the synthesis of arylated quaternary stereocentres and its application in the total synthesis of powelline and buphanidrine'.
- [150] J. Großeheilmann, U. Kragl, *ChemSusChem* **2017**; 'Simple and Effective Catalyst Separation by New CO₂-Induced Switchable Organocatalysts'.
- [151] Y. Hamashima, T. Suzuki, H. Takano, Y. Shimura, M. Sodeoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10164-10165; 'Catalytic enantioselective fluorination of oxindoles'.
- [152] J. Aleman, B. Richter, K. A. Jørgensen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5515-5519; 'Organocatalytic Highly Enantioselective α -Arylation of β -Ketoesters'.
- [153] S. Mader, Dissertation **2018**, RWTH Aachen; 'Organokatalysatoren in enantioselektiven Reaktionen'.
- [154] D. Worgull, L. Öhler, J. P. Strache, T. Friedrichs, P. Ullrich, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 6077-6080; 'Enantioselective Synthesis of 2, 3-Dihydrofurans via Ammonium Ylides'.
- [155] H. Y. Bae, C. E. Song, *ACS Catal.* **2015**, *5*, 3613-3619; 'Unprecedented hydrophobic amplification in noncovalent organocatalysis "on Water": Hydrophobic chiral squaramide catalyzed michael addition of malonates to nitroalkenes'.

- [156] C. R. Harrison, P. Hodge, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1982**, 509-511; 'Polymer-supported periodate and iodate as oxidizing agents'.
- [157] L. Yan, G. Huang, H. Wang, F. Xiong, H. Peng, F. Chen, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 2018, 99-103; 'Squaramide-Linked Chloramphenicol Base Hybrid Catalysts for the Asymmetric Michael Addition of 2, 3-Dihydrobenzofuran-2-carboxylates to Nitroolefins'.
- [158] A. Mondal, S. Bhowmick, A. Ghosh, T. Chanda, K. C. Bhowmick, *Tetrahedron: Asymmetry* **2017**, 28, 849-875; 'Advances on asymmetric organocatalytic 1, 4-conjugate addition reactions in aqueous and semi-aqueous media'.
- [159] R. Krug, D. Schröder, J. Gebauer, S. Suljić, Y. Morimoto, N. Fujieda, S. Itoh, J. Pietruszka, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 1789-1796; 'Tyrosinases in Organic Chemistry: A Versatile Tool for the α -Arylation of β -Dicarbonyl Compounds'.
- [160] Y.-D. Park, S.-y. Kim, Y.-J. Lyoo, J.-Y. Lee, J.-M. Yang, *Biochimie* **2005**, 87, 931-937; 'A new type of uncompetitive inhibition of tyrosinase induced by Cl-binding'.
- [161] A. W. Tepper, L. Bubacco, G. W. Canters, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 30436-30444; 'Structural Basis and Mechanism of the Inhibition of the Type-3 Copper Protein Tyrosinase from *Streptomyces antibioticus* by Halide Ions'.
- [162] J. Gebauer, Masterarbeit **2017**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; 'Biochemische Untersuchungen von Tyrosinasen und Laccasen für den kombinierten Einsatz mit Organokatalysatoren'.
- [163] K. M. Bogle, D. J. Hirst, D. J. Dixon, *Org. Lett.* **2007**, 9, 4901-4904; 'An Organocatalytic Oxidative Coupling Strategy for the Direct Synthesis of Arylated Quaternary Stereogenic Centers'.
- [164] N. T. Vo, R. D. Pace, F. O'Har, M. J. Gaunt, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 404-405; 'An enantioselective organocatalytic oxidative dearomatization strategy'.
- [165] Y. Jiang, L. Deiana, R. Alimohammadzadeh, L. Liu, J. Sun, A. Córdova, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 9, 1158-1164; 'Highly Diastereo- and Enantioselective Cascade Synthesis of Bicyclic Lactams in One-Pot'.
- [166] S. Eiben, H. Bartelmäs, V. B. Urlacher, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, 75, 1055-1061; 'Construction of a thermostable cytochrome P450 chimera derived from self-sufficient mesophilic parents'.
- [167] F. W. Studier, B. A. Moffatt, *J. Mol. Biol.* **1986**, 189, 113-130; 'Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes'.
- [168] D. Hanahan, *J. Mol. Biol.* **1983**, 166, 557-580; 'Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids'.
- [169] U. Ravid, R. M. Silverstein, L. R. Smith, *Tetrahedron* **1978**, 34, 1449-1452; 'Synthesis of the enantiomers of 4-substituted γ -lactones with known absolute configuration'.
- [170] Y. Petit, M. Larcheveque, *Org. Synth.* **2003**, 75, 37-37; 'Ethyl Glycidate from (S)-Serine: Ethyl (R)-(+)-2, 3-Epoxypropanoate'.
- [171] G. M. Whitesides, C. P. Casey, J. K. Krieger, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 1379-1389; 'Thermal decomposition of vinylic copper (I) and silver (I) organometallic compounds'.
- [172] B. H. Lipshutz, J. C. Barton, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 4495-4499; 'Acyclic control of stereochemistry via a reiterative (*E* or *Z*)-1-propenyllithium-derived cuprate opening of a chiral epoxide/reepoxidation sequence'.
- [173] S. Huo, *Org. Lett.* **2003**, 5, 423-425; 'Highly efficient, general procedure for the preparation of alkylzinc reagents from unactivated alkyl bromides and chlorides'.
- [174] M. Hikita, H. Tone, K. Horita, O. Yonemitsu, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 7-9; 'Chiral synthesis of polyketide-derived natural products. 27. Stereoselective synthesis of erythronolide A via an extremely efficient macrolactonization by the modified Yamaguchi method'.
- [175] S. V. Ley, J. Norman, W. P. Griffith, S. P. Marsden, *Synthesis* **1994**, 7, 639-666; 'Tetrapropylammonium perruthenate, $\text{Pr}_4\text{N}^+ \text{RuO}_4^-$, TPAP: a catalytic oxidant for organic synthesis'.
- [176] K. R. Prasad, P. Gutala, *Tetrahedron* **2012**, 68, 7489-7493; 'Total synthesis of (+)-phomopsolide B'.

- [177] S. H. Harper, R. J. Smith, *J. Chem. Soc. (Resumed)* **1955**, 1512-1516; 'Stereochemical studies of olefinic compounds. Part IV. The configuration of "leaf alcohol" and a further synthesis of cis-jasmone'.
- [178] W. Oppolzer, M. Guo, K. Baettig, *Helv. Chim. Acta* **1983**, 66, 2140-2144; 'Michael Addition of Lithio- α -(methyldiphenylsilyl) acetate to Cyclopentenone: A direct synthesis of ($\pm$)-methyl jasmonate'.
- [179] J. C. Conway, P. Quayle, A. C. Regan, C. J. Urch, *Tetrahedron* **2005**, 61, 11910-11923; 'Palladium mediated spiroketal synthesis: application to pheromone synthesis'.
- [180] S. Santra, C. Kaittanis, J. M. Perez, *Langmuir* **2009**, 26, 5364-5373; 'Aliphatic hyperbranched polyester: a new building block in the construction of multifunctional nanoparticles and nanocomposites'.
- [181] T. Aoki, T. Konoike, *United States Patent US2003/195363 A1*, **2006**. 'Process for producing arylsulfenyl halide'.
- [182] A. B. Charette, S. Prescott, C. Brochu, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 1081-1083; 'Improved procedure for the synthesis of enantiomerically enriched cyclopropylmethanol derivatives'.
- [183] P.-L. Zhao, J. Li, G.-F. Yang, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 1888-1895; 'Synthesis and insecticidal activity of chromanone and chromone analogues of diacylhydrazines'.
- [184] D. S. Brown, B. A. Marples, P. Smith, L. Walton, *Tetrahedron* **1995**, 51, 3587-3606; 'Epoxidation with dioxiranes derived from 2-fluoro-2-substituted-1-tetralones and 1-indanones'.
- [185] G. Moinet, G. Baverel, R. Nazaret, B. Ferrier, *United States Patent US2014/9150523 B2*, **2015**; 'Piperazine derivatives, methods for preparing same, and uses thereof in the treatment of insulin resistance'.