

Chemoenzymatische Synthesemethoden
—
**Zugang zur duftenden Welt der Chemie und
darüber hinaus**

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Ceyda Kumru
aus Bergheim

Düsseldorf, Juni 2019

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. Constantin Czekelius

Tag der mündlichen Prüfung: 04.09.2019

Tag der Abgabe im Dekanat der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf: 26.06.2019

Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht.

Publikationen:

C. Kumru, T. Classen, J. Pietruszka, *ChemCatChem* **2018**, *10*, 4917–4926; 'Enantioselective, Catalytic One-Pot Synthesis of γ -Butyrolactone-Based Fragrances'.

Eigenanteil:

Für die oben aufgeführte Publikation wurde von mir das Manuskript erstellt. Dazu wurden alle Verbindungen von mir synthetisiert, gereinigt, analysiert und ausgewertet. Einige Substrate wurden auch im Rahmen des Naturstoffsynthese-Moduls unter meiner Betreuung von *Julia Lackner* und *Lisa Seibt* hergestellt. Die olfaktorische Charakterisierung der γ -Butyrolactone erfolgte durch Dr. *Thomas Classen* und mir. Die Transformationen von *E. coli*-Zellen mit Enreduktase- oder ADH-Vektoren wurden entweder von *Beatrix Paschold* oder mir vorgenommen. Die Isolierung, Reinigung, Aktivitätsbestimmung und Screening der Enzyme wurde von mir durchgeführt. Die Methoden zur gaschromatographischen Trennung der Referenzverbindungen wurden durch *Birgit Henßen* oder Dr. *Dalia Bulut* etabliert. Die Referenzverbindungen hierzu wurden von mir bereitgestellt.

Konferenzbeiträge:

C. Kumru, T. Classen, and J. Pietruszka, August **2018**, 'Stereoselective one-pot enzyme cascade towards γ -butyrolactone fragrances', Biocat2018 – 9th International Congress on Biocatalysis, Hamburg, Deutschland (Poster und Kurzvortrag).

C. Kumru, T. Classen, and J. Pietruszka, September **2017**, ' γ -Butyrolactones: A Stereoselective Cascade Reaction', 26th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (ISHC), Regensburg, Deutschland (Poster).

C. Kumru, T. Classen, and J. Pietruszka, Juli **2017**, 'Stereoselective Enzyme Cascade towards γ -Butyrolactones', BioTrans 2017 – 13th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations, Budapest, Ungarn (Poster).

C. Kumru, T. Classen, and J. Pietruszka, August **2016**, 'One-Pot Enzyme Cascade towards γ -Butyrolactones', Biocat2016 – 8th International Congress on Biocatalysis, Hamburg, Deutschland (Poster).

C. Kumru, T. Classen, and J. Pietruszka, September **2015**, 'Chemoenzymatic Synthesis of γ -Butyrolactones', Bioflavour 2015 – International Conference on Flavour and Fragrance Biotechnology, Frankfurt am Main, Deutschland (Poster).

Betreute Bachelorarbeiten:

Sergej Balanda, **2016**, 'Charakterisierung einer Enreduktase aus *Thermus scotoductus*', Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Patrick Maag, **2017**, 'Auf dem Weg zu neuen Enzymkaskaden – der Einsatz von Enreduktasen und Laccasen', Fachhochschule Aachen.

Erklärung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist.

Des Weiteren versichere ich, dass ich bisher keine Promotionsversuche unternommen habe und die vorliegende Arbeit bei keiner anderen Institution eingereicht worden ist.

Ceyda Kumru

Meiner Familie

*Bilgi, sınır olmayan bir denizdir.
Bilgi dileyense denizlere dalan bir dalgıçtır.
(Wissen ist ein Meer ohne Grenzen.
Jemand, der nach Wissen sucht, ist ein Taucher im Meer.)
Mevlana*

*Hayatta en hakiki mürşit ilimdir.
İlim ve fennin yaşadığımız her dakikadaki safhalarının
gelişimini anlamak ve ilerlemelerini takip etmek şarttır.
(Der wahre Wegweiser im Leben ist die Wissenschaft.
Es ist unerlässlich, die Entwicklung und den Fortschritt der Wissenschaft
in jeder Minute unseres Lebens zu verfolgen.)
Mustafa Kemal Atatürk*

*İlim ilim bilmektir, ilim kendin bilmektir, sen kendini bilmezsen, bu nice okumaktır.
(Wissenschaft ist Wissen zu wissen, Wissenschaft ist sich selbst zu kennen.
Wenn du dich selbst nicht kennst, wozu dann das Studieren.)
Yunus Emre*

Abkürzungsverzeichnis

4 Å MS	4 Å Molekularsieb	EI	Elektronenstoßionisation
<i>A. bisporus</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	ESI	Elektrosprayionisation
<i>A. oryzae</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	Et	Ethylsubstituent
Ac	Acetyl	EWG	elektronenziehende Gruppe (<i>electron withdrawing group</i>)
acac	Acetylaceton-Ligand	FDH	Formiatdehydrogenase
ADH-HL	Alkoholdehydrogenase aus Pferdeleber (<i>horse liver</i>)	FMN	Flavinmononukleotid
ADH-LB	Alkoholdehydrogenase aus <i>Lactobacillus brevis</i>	<i>G. oxydans</i>	<i>Gluconobacter oxydans</i>
ADH-LK	Alkoholdehydrogenase aus <i>Lactobacillus kefir</i>	G-6-PDH	Glukose-6-phosphatdehydrogenase
ADH-P	primäre Alkoholdehydrogenase	GC	Gaschromatographie
ADH-R	Alkoholdehydrogenase aus <i>Ralstonia species</i>	GDH	Glukosedehydrogenase
ADH-T	Alkoholdehydrogenase aus <i>Thermoanaerobacter species</i>	gef.	gefunden
AIBN	Azobis(<i>iso</i> -butyronitril)	G-Protein	Guanosintriphosphat-bindendes Protein
AKR	Aldo-Keto-Reduktase	Hal	Halogen
Alk	Alkyl	HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation spectroscopy</i>
aq.	wässrig (<i>aqueous</i>)	HMDS	Hexamethyldisilazan
Äq.	Äquivalent(e)	HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie (<i>high resolution mass spectrometry</i>)
Ar	Aromat	HSAB	<i>hard and soft acids and bases</i>
BEMP	2- <i>tert</i> -Butylimino-2-diethylamino- 1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2- diazaphosphorin	HSQC	<i>Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy</i>
ber.	berechnet	HWE	<i>Horner-Wadsworth-Emmons- Reaktion</i>
BINAP	2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'- binaphthyl	ⁱ Pr	<i>Iso</i> -propylsubstituent
BiPy	2,2'-Bipyridin	IPTG	<i>Iso</i> -propyl- β -dithiogalactopyranosid
BuLi	Butyllithium	IR	Infrarotspektroskopie
Bz	Benzylsubstituent	IUBMB	<i>International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i>
CalB	<i>Candida antarctica</i> Lipase B	IUPAC	<i>International Union for Pure and Applied Chemistry</i>
CBS-Reagenz	<i>Corey-Bakshi-Shibata</i> -Reagenz	k _{cat}	Wechselzahl in s ⁻¹
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazol	K _M	<i>Michaelis-Menten</i> -Konstante in mM
c _{end}	Endkonzentration	konz.	konzentriert
Chiraphos	chirales Diphosphanligand	KP _i	Kaliumphosphat-Puffer
CIP	<i>Cahn-Ingold-Prelog</i>	L	Ligand
CoA	Coenzym A	<i>L. kefir</i>	<i>Lactobacillus kefir</i>
COD	1,5-Cyclooctadien	L _{ax}	axialer Ligand
CV	Säulenvolumina (<i>column volume</i>)	LDA	Lithiumdi- <i>iso</i> -propylamid
Cy	Cyclohexyl	M	Molekülpeak
DC	Dünnschichtchromatographie	max.	maximal
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid	MDR	<i>medium-chain Dehydrogenase/Reduktase</i>
<i>de</i>	Diastereomerenüberschuss (<i>diastereomeric excess</i>)	Me	Methylsubstituent
DEAD	Diethylazodicarboxylat	MeCN	Acetonitril
demin.	demineralisiert	MeO-F ₁₂ - BIPHEP	6,6'-Dimethoxybiphenyl-2,2'- diyl]bis[bis-(3,4,5- trifluorphenyl)phosphine]
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer spectroscopy</i>	Mol-%	Molprozent
DFT	Dichtefunktionaltheorem	Molydip	Cer ^{IV} -haltige Lösung von Molybdatophosphorsäure
DIOP	<i>O</i> - <i>iso</i> -propyliden-2,3-dihydroxy-1,4- bis(diphenylphosphino)butan	M _p	Schmelzpunkt in °C (<i>melting point</i>)
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin	MS	Massenspektrometrie
DME	Dimethylether	MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
DMSO	Dimethylsulfoxid	MWCO	<i>molecular weight cut-off</i>
DV	Diastereomerenverhältnis	NAD ⁺ /NADH	Nikotinsäureamid-Adenin- Dinukleotid
EE	Essigsäureethylester		
<i>ee</i>	Enantiomerenüberschuss (<i>enantiomeric excess</i>)		

Abkürzungsverzeichnis

NADP+/ NADPH	Nikotinsäureamid-Adenin- Dinukleotid-Phosphat	t_R	Retentionszeit in min
ⁿ Bu	<i>n</i> -Butyl	TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Ncr _{PL}	Nikotinamid-abhängige 2-Cyclohexen-1-on-Reduktase aus <i>Photorhabdus luminescence</i>	TsER	Chromat-Reduktase aus <i>Thermus scotoeductus</i>
Ncr _{ZM}	Nikotinamid-abhängige 2-Cyclohexen-1-on-Reduktase aus <i>Zymomonas mobilis</i>	U	katalytische Enzymeinheit (<i>units</i>) über Nacht
ⁿ Hept	<i>n</i> -Heptyl	üN.	maximale Geschwindigkeit in U/mL
ⁿ Hex	<i>n</i> -Hexyl	v_{max}	katalytische Effizienz in min ⁻¹
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (<i>nuclear magnetic resonance</i>)	v_{max}/K_M	Volumenprozent
ⁿ Oct	<i>n</i> -Octyl	Vol.-%	Masse pro Volumen (<i>weight per volume</i>)
NOESY	Kern-Overhauser-Effekt- Spektroskopie (<i>nuclear Overhauser effect spectroscopy</i>)	<i>w/v</i>	Oye-Homolog aus <i>Bacillus subtilis</i>
NORPHOS	2,3-Bis(diphenylphosphino)- bicyclo[2.2.1]hept-5-en	YqjM	
ⁿ Pe	<i>n</i> -Pentyl		
ⁿ Pr	<i>n</i> -Propyl		
Opr1 und 3	12-Oxophytodiensäure-Reduktase aus <i>Lycopersicon esculentum</i> (Tomate)		
ox.	oxidiert		
Oye	<i>old yellow enzyme</i> aus <i>Saccharomyces carlsbergensis</i>		
<i>P. ostreatus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>		
PCC	Pyridiniumchlorochromat		
PDB	Proteindatenbank		
PDC	Pyridiniumdichromat		
PE	Petrolether (40–60 °C)		
Ph	Phenylsubstituent		
PhosDH	Phosphitdehydrogenase		
PHOX	Phosphinooxazolin		
<i>ps</i>	Polymer-gebunden (<i>polymer supported</i>)		
R	Rest		
rcf	relative Zentrifugalkraft (<i>relative centrifugal force</i>)		
red.	reduziert		
R_f	Retentionsfaktor		
rpm	Umdrehung pro Minute (<i>revolutions per minute</i>)		
RT	Raumtemperatur in °C		
<i>S. sviceus</i>	<i>Streptomyces sviceus</i>		
SDR	<i>short-chain</i> Dehydrogenase/Reduktase		
Sel.	Selektivität		
<i>sp.</i>	<i>species</i>		
Ssl1	Laccase aus <i>Streptomyces sviceus</i>		
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid		
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid		
^t Bu	<i>tert</i> -Butylsubstituent		
^t BuPyOX	4-(<i>tert</i> -Butyl)-2-(pyridin-2-yl)-4,5- dihydrooxazol		
Tf	Triflyl		
TFA	Trifluoressigsäure (<i>trifluoroacetic acid</i>)		
THF	Tetrahydrofuran		
TIM	Triosephosphatisomerase		

Inhaltsverzeichnis

1	ZUSAMMENFASSUNG	6
2	EINLEITUNG	15
3	KENNTNISSTAND.....	20
3.1	Aroma- und Duftstoffe	20
3.2	γ-Butyrolactone 1	25
3.2.1	Wichtige Vertreter der γ -Butyrolacton-Aromastoffe	28
3.3	Michael-Addukte 2	37
3.4	Chemie der Alkene	47
3.4.1	<i>Michael</i> -Systeme.....	47
3.4.2	Darstellung von <i>Michael</i> -Verbindungen 111	47
3.4.3	<i>Michael</i> -Addition	53
3.4.4	Redoxreaktionen an Alkenen und Carbonylgruppen.....	55
3.5	Oxidoreduktasen	62
3.5.1	Enreduktasen	62
3.5.2	Alkoholdehydrogenasen	65
3.5.3	Laccasen	69
3.5.4	Cofaktorregenerierung	74
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	78
4.1	Aufgabenstellung und Ziele	78
4.2	Chemoenzymatische Synthese von γ-Butyrolactonen 1	82
4.2.1	Substratsynthese	82
4.2.2	Darstellung von Referenzverbindungen	103
4.2.3	Enzymscreening	106
4.2.4	Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester 7a–i mit Enreduktasen	116
4.2.5	Enzymkaskade zur Darstellung von γ -Butyrolactonen 1	122
4.3	Laccase-katalysierte Arylierungsreaktionen	145
4.3.1	2-Methylchromenon (10a).....	145
4.3.2	Cyclopentenon-Derivate 10b–e	150
4.3.3	γ -Butenolid-Derivat 10f.....	158
4.3.4	Cyclohexenon-Derivate 10g–j	162
5	AUSBLICK	176
5.1	γ-Butyrolactone 1	176
5.2	Michael-Addukte 2	180

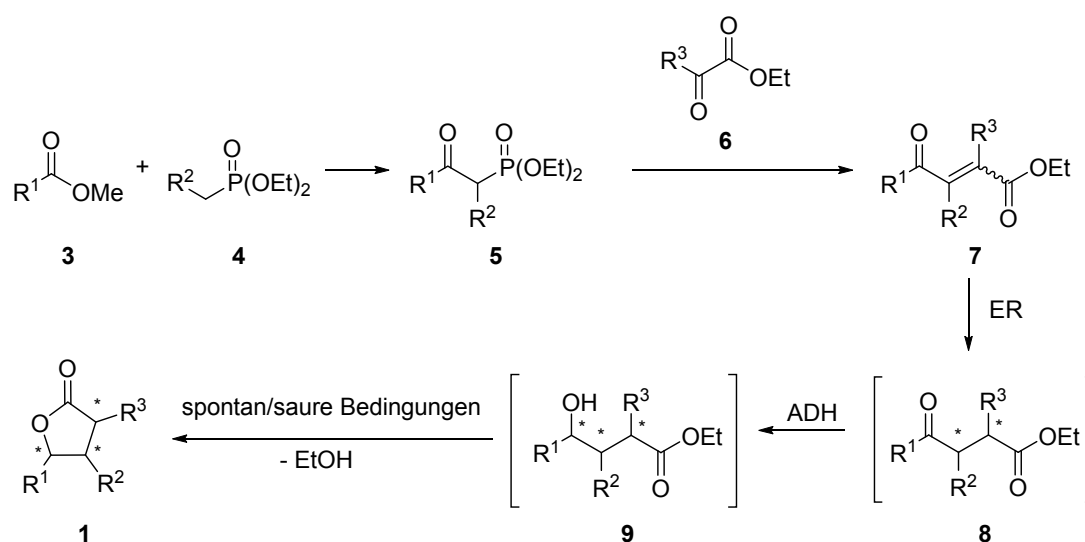
6	EXPERIMENTALTEIL	184
6.1	Materialien und Methoden	184
6.1.1	Geräte und Materialien	184
6.1.2	Allgemeine Versuchsbedingungen	188
6.1.3	Chemikalien	188
6.1.4	Lösungsmittel	188
6.1.5	Chromatographische Trennverfahren	188
6.1.6	Analytik	189
6.1.7	Zusammensetzung der Puffer, Medien und Stammlösungen	190
6.2	Allgemeine chemische und biochemische Vorschriften	191
6.2.1	Titration von <i>n</i> -Butyllithium	191
6.2.2	Herstellung chemisch kompetenter Zellen	192
6.2.3	Isolierung von Plasmid-DNA	192
6.2.4	Transformation chemisch kompetenter Zellen und Kultivierung	192
6.2.5	Zellaufschluss	194
6.2.6	Reinigung der Enreduktasen mittels Affinitätschromatographie	194
6.2.7	Gefriertrocknung von Enzymen	195
6.2.8	Aktivitätsbestimmung von Enzymen	195
6.2.9	Screening von Enzymen	196
6.2.10	Bestimmung der <i>Michaelis-Menten</i> - und Reaktionskinetik	197
6.3	Analytische Daten zur Synthese der γ-Butyrolactone 1	199
6.3.1	Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester (5)	199
6.3.2	Vorschrift zur Synthese des 1-Butyl,1-ethyl-2-acetat-phosphonsäurediethylesters (5m)	210
6.3.3	Vorschrift zur Synthese des Pentylphosphonsäurediethylesters 4d (<i>Michaelis-Arbuzov</i> Reaktion)	211
6.3.4	Vorschrift zur Synthese des 1-Methyl-2-oxoethan-phosphonsäurediethylesters (5j)	212
6.3.5	Vorschrift zur Synthese des 1-(1,3-Dioxolan-2-yl)ethyl-phosphonsäurediethylesters (5k)	213
6.3.6	Allgemeine Vorschrift zur Synthese der α,β -ungesättigten γ -Ketoester (7) (<i>HWE</i> -Reaktion)	214
6.3.7	Vorschriften zur Synthese der Exomethylen-Verbindung (7o)	233
6.3.8	Vorschrift zur Synthese des 2-Oxohexansäureethylesters (6a)	237
6.3.9	Vorschrift zur Synthese der α,β -ungesättigten und gesättigten Alkohole (<i>rac</i>)-187 und (<i>rac</i>)-9 und der Butenolide (<i>rac</i>)-186 nach <i>Luche</i>	238
6.3.10	Synthese von racemischen Referenzverbindungen	249
6.3.11	Enzymatische Reduktion mit Enreduktasen	249
6.3.12	Vorschrift zur Synthese der γ -Butyrolactone 1	259
6.3.13	Vorschrift zur Derivatisierung der γ -Butyrolactone 1h–i	274
6.4	Analytische Daten zu den Arylierungsprodukten	276
6.4.1	Vorschrift zur Synthese des 2-Methyl-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-3-carbonsäuremethylesters (10a)	276
6.4.2	Vorschriften zur Synthese der Me-substituierten Cyclopentenon-Derivate 10b–c	277
6.4.3	Vorschrift zur Synthese der Cyclohexenon-Derivate 10g–j	281
6.4.4	Vorschriften zur Synthese des Butenolid-Derivats 10f	287

6.4.5	Racemische Referenzen	290
6.4.6	Asymmetrische Reduktion mit Enreduktasen.....	296
6.4.7	<i>Michael</i> -Addukte 2.....	300
7	LITERATURVERZEICHNIS	304
8	ANHANG	327
8.1	Vektorkarten	327
8.1.1	NcrZM	327
8.1.2	Opr1	328
8.1.3	TsER.....	329
8.1.4	YqjM-Mutanten.....	330
8.1.5	ADH-R.....	331
8.1.6	Ssl1	332
8.1.7	PhosDH.....	333

1 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Enreduktasen (ER) als Biokatalysatoren für die asymmetrische Reduktion von diversen olefinischen Bindungen eingesetzt. Durch Kombination mit weiteren Oxidoreduktasen wie Alkoholdehydrogenasen (ADH) und Laccasen konnten chirale Bausteine synthetisiert werden. Zum einen konnten auf diesem Weg alkylsubstituierte γ -Butyrolactone **1**, die Aroma- und Duftstoffe darstellen, erhalten und zum anderen chirale *Michael*-Addukte **2** hergestellt werden.

Zur Synthese der γ -Butyrolactone **1** wurde die in Schema 1 dargestellte chemoenzymatische Route angewendet.



1a-e: R¹ = Et-ⁿHex, R² = Me, R³ = H

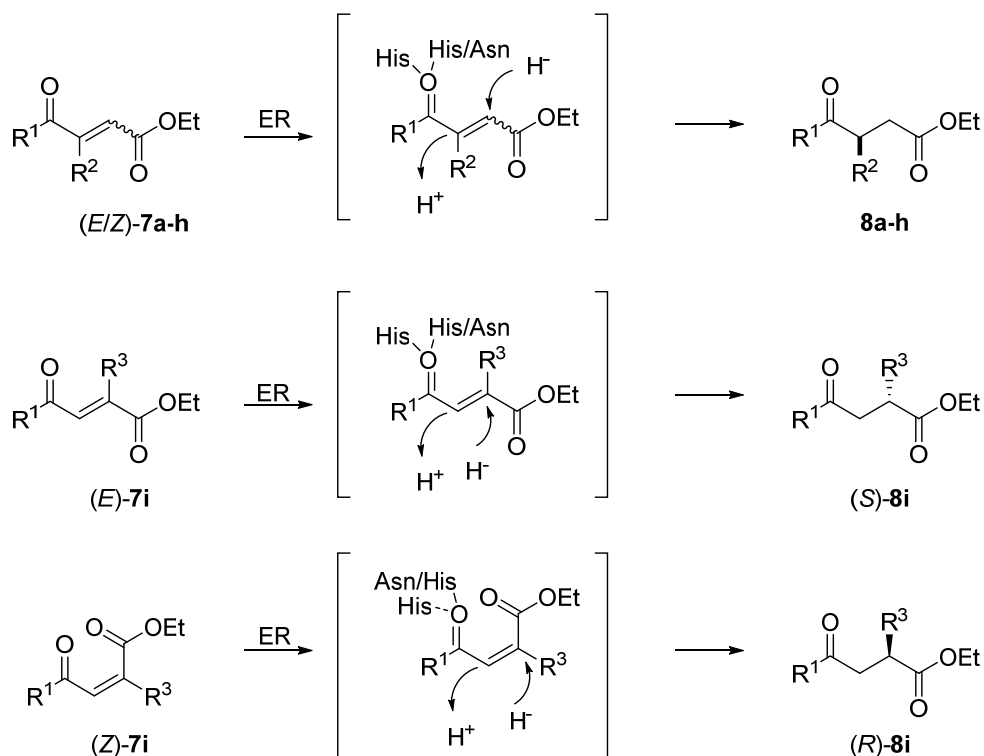
1f-h: R¹ = Me, R² = Me-ⁿBu, R³ = H

1i: R¹ = Me, R² = H, R³ = ⁿBu

Schema 1: Chemoenzymatische Synthese von substituierten γ -Butyrolactonen **1**.

Verschiedene alkylsubstituierte Ester **3** und Phosphonsäurediethylester **4** reagierten hierbei zunächst zu den Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylestern **5** in <29–94 % Ausbeute. Diese Verbindungen **5** wurden mit den Carbonylverbindungen **6** in einer *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion (*HWE*-Reaktion) zur Synthese der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** eingesetzt. Die α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** wurden dabei bevorzugt als (*Z*)-Isomer gebildet und konnten in 25–96 % Ausbeute isoliert werden. Durch den Einsatz verschiedener Reaktionspartner **3**, **4** und **6** konnte über diese Synthesesequenz das Substitutionsmuster variiert werden. Die Substrate **7** wurden anschließend in einer Enzymkaskade aus einer Enreduktase und einer Alkoholdehydrogenase stereoselektiv über die gesättigten γ -Ketoester **8** und den Alkoholen **9** zu den gewünschten γ -Butyrolactonen **1** umgesetzt. Die Reduktion der olefinischen Bindung durch die Enreduktasen verlief dabei in sehr

guter bis quantitativer Enantioselektivität (94–>99 % *ee*), unabhängig von der Länge und Position der Alkylkette. Außerdem wurden sowohl bei den (*E*)-konfigurierten als auch (*Z*)-konfigurierten Substraten **7a–h** mit $R^3 = H$ immer die gleichen Enantiomere gebildet, welches darauf hindeutet, dass die Substrate über die Ketogruppe im aktiven Zentrum der Enreduktase gebunden wird (Schema 2). Sofern $R^3 \neq H$ werden auch je nach Konfiguration des Substrates **7i** unterschiedliche Enantiomere gebildet.



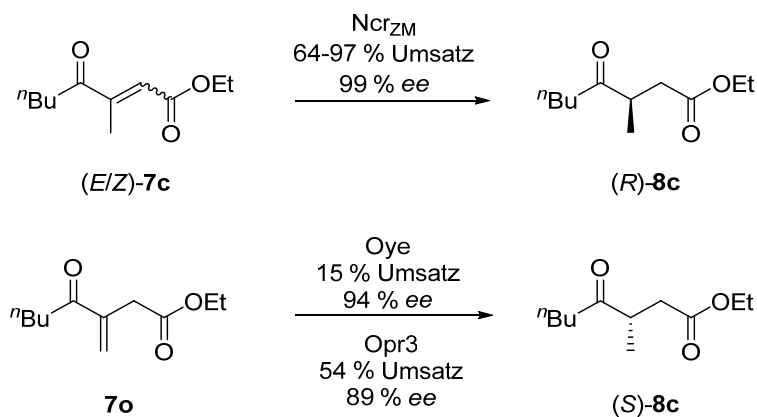
7a–e: $R^1 = \text{Me–}^n\text{Hex}$, $R^2 = \text{Me}$

7f–h: $R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{Me–}^n\text{Bu}$

7i: $R^1 = \text{Me}$, $R^3 = {}^n\text{Bu}$

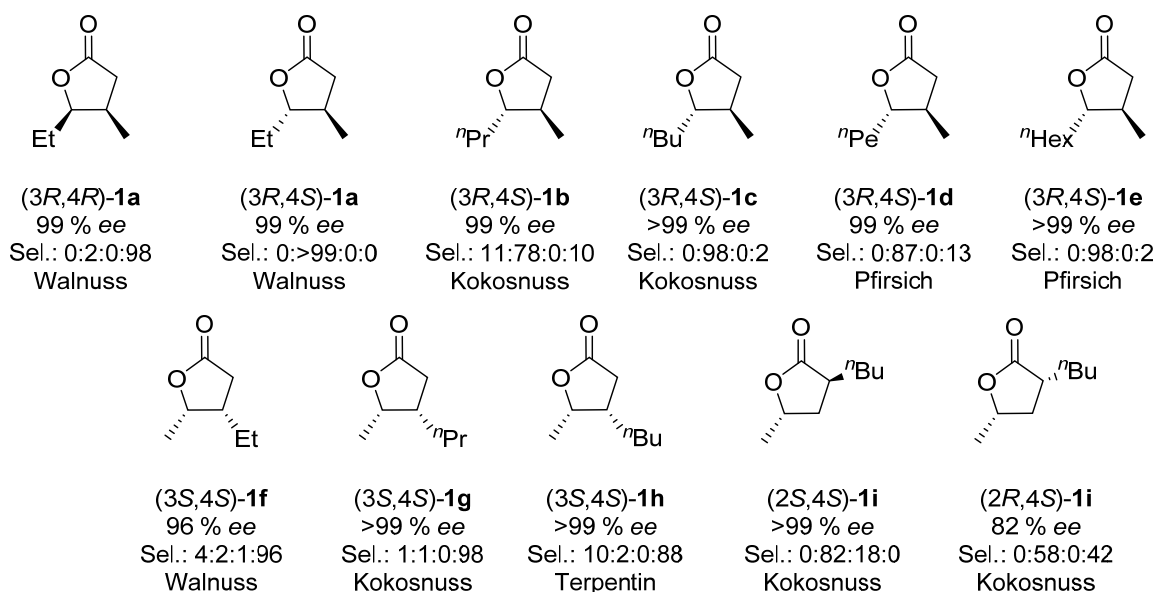
Schema 2: Darstellung der Selektivität der asymmetrischen Reduktion mit Enreduktasen.

Des Weiteren konnte durch eine *exo*-ständige Doppelbindung wie bei Verbindung **7o** die Enantioselektivität zwar umgekehrt werden, jedoch war entweder die Umsatzrate mit 15 % sehr gering oder die Enantioselektivität mit 89 % *ee* nicht so hoch wie bei der Umsetzung der *endo*-ständigen Doppelbindung (Schema 3).

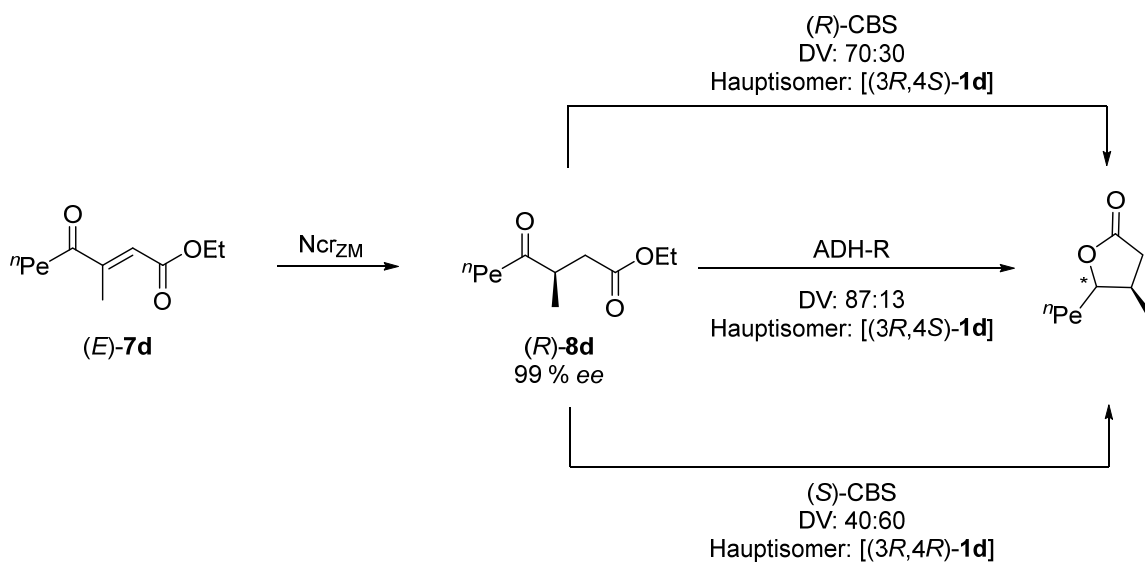


Schema 3: Vergleich der Enreduktase-Screening-Ergebnisse der Verbindungen **7c** mit einer *endo*- und **7o** mit einer *exo*-ständigen Doppelbindung.

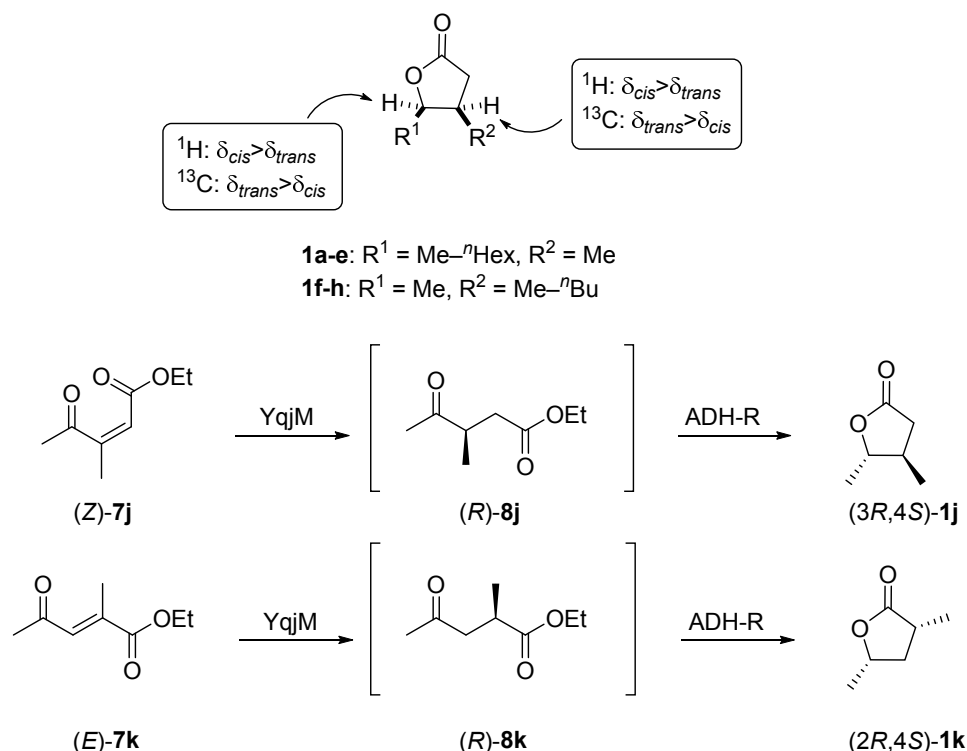
Die Reduktion der Ketogruppe durch Alkoholdehydrogenasen erwies sich aufgrund der Größe der Substituenten als herausfordernd, sodass nur das Substrat **8a** mit einem Et-Substituenten durch die komplementären ADHs, ADH-LB aus *Lactobacillus brevis* und ADH-T aus *Thermoanaerobacter sp.*, reduziert werden konnte. Alle weiteren Substrate **8b-i** mit längeren Alkyl-Substituenten wurden ausschließlich durch ADH-R aus *Ralstonia sp.* reduziert, die bekannt ist, sperrige Substrate umzusetzen. Dennoch konnte gezeigt werden, dass ein *n*-Hex-Substituent die Grenze dieser Enzymkaskade darstellt, da die Umsatzrate trotz Zugabe von sehr großen Mengen an ADH-R (579 U/mmol) nur noch 17 % betrug. Außerdem konnte durch die Einführung der längeren Alkylkette an 3-Position der γ -Butyrolactone **1** gezeigt werden, dass diese Substrate **8f-h** durch die ADH-R umgesetzt werden können, jedoch der Umsatz (37–73 %) mit der Länge der Alkylkette abnimmt. Die Permutation des *n*-Bu-Substituenten an 2-Position führte hingegen zu moderaten Umsätzen (62–63 %). Nichtsdestotrotz konnten durch diese Enzymkaskade elf γ -Butyrolactone **1** stereoselektiv synthetisiert werden, die abhängig von der Kettenlänge und Position unterschiedliche Gerüche – wie z. B. Kokosnuss, Pfirsich oder Walnuss – aufweisen (Abbildung 1).

Abbildung 1: Übersicht aller synthetisierten γ -Butyrolactone **1a-i**.

Als Vergleich wurde eine asymmetrische *Corey-Bakshi-Shibata*-Reduktion (CBS-Reduktion) durchgeführt. Dabei konnten jedoch im Vergleich zur Reduktion mit der ADH-R [DV: 87:13 für (3*R*,4*S*)-**1d**] geringere Diastereomerenverhältnisse von 70:30 [für (3*R*,4*S*)-**1d**] bzw. 40:60 [für (3*R*,4*R*)-**1d**] beobachtet werden (Schema 4).

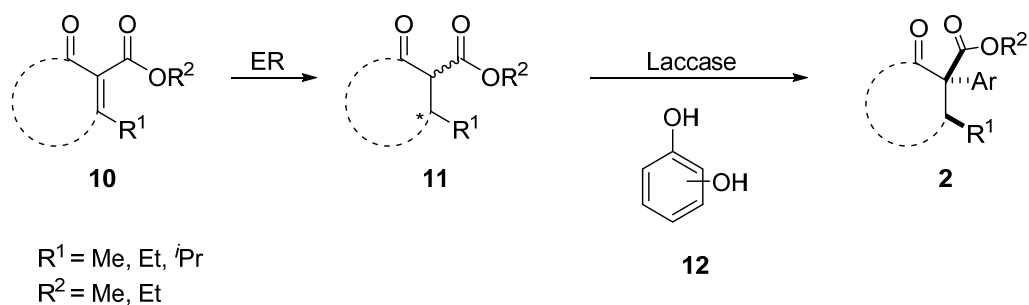
Schema 4: Reaktionsschema zur enzymatischen und chemischen Darstellung des γ -Butyrolactones **1d** im Vergleich.

Die Zuordnung der absoluten Konfigurationen wurde unter Zuhilfenahme der charakteristischen chemischen Verschiebungen im NMR und durch Vergleich der Enantioselektivität der ADH-R im Bezug auf die bekannten Me-substituierten γ -Butyrolactone **1j** und **1k** durchgeführt (Schema 5). Aufgrund der ermittelten (*S*)-Selektivität der ADH-R und der relativen Konfiguration bestimmt durch die NMR-Korrelation konnten die absoluten Konfigurationen der γ -Butyrolactone **1a-h** definiert werden.



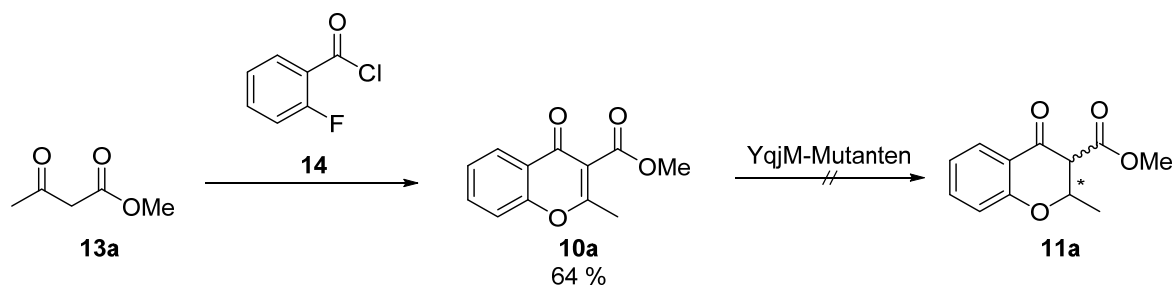
Schema 5: Darstellung der Methoden zur Bestimmung der absoluten Konfiguration der γ -Butyrolactone **1a-h**.

Zur Darstellung von chiralen *Michael*-Addukten **2** wurde versucht verschiedene α,β -ungesättigte cyclische Verbindungen **10** zu synthetisieren, die im Anschluss mit Enreduktasen zu den *Michael*-Donoren **11** reduziert und Laccase-vermittelt mit *Michael*-Akzeptoren **12** aryliert werden sollten (Schema 6).



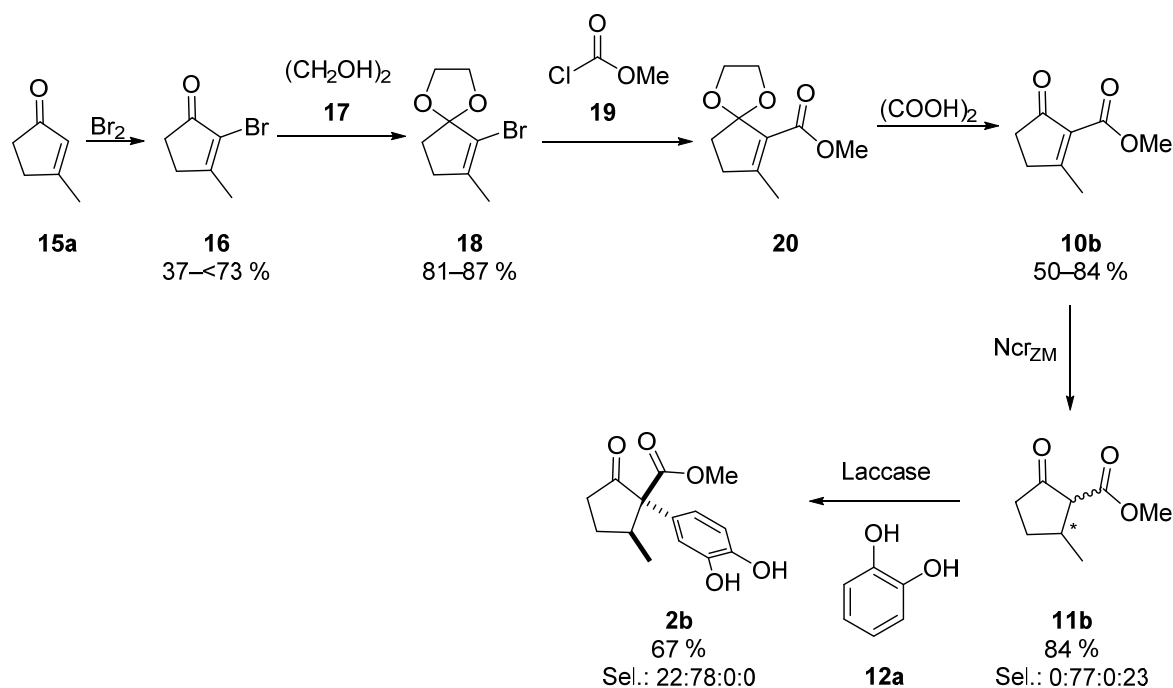
Schema 6: Reaktionsschema zur Darstellung von chiralen *Michael*-Addukten **2**.

Um im Arbeitskreis *Pietruszka* zuvor durchgeführte Synthesen zu ergänzen, wurde das 2-Methylchromenon (**10a**) aus Methylacetoacetat (**13a**) und 2-Fluorbenzoylchlorid (**14**) hergestellt, wessen Reduktion anschließend mit verschiedenen YqjM-Mutanten (Oye-Homolog aus *Bacillus subtilis*), die bekanntermaßen Substrate mit einem β -Substituenten reduzieren können, auf Umsatz und Enantioselektivität untersucht wurde (Schema 7).^[1]



Schema 7: Reaktionsschema zur Darstellung des 2-Methylchromenons (**10a**) mit anschließendem YqjM-Mutanten-Screening.

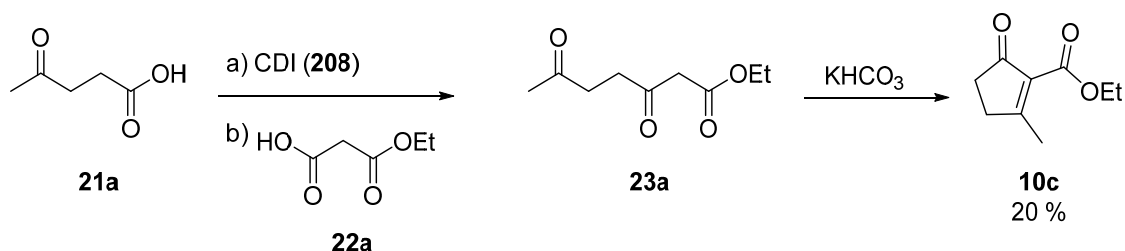
Entsprechend dem zuvor durchgeführten Screening mit Wildtyp-Enreduktasen konnte auch mit den YqjM-Mutanten kein Umsatz beobachtet werden. Daraufhin wurde das Me-substituierte Cyclopentenon-Derivat **10b**, welches das gleiche Motif besitzt aber dennoch kleiner in seiner Struktur ist, herangezogen (Schema 8).



Schema 8: Reaktionsschema zur Synthese des *Michael*-Addukts **2b**.

Beginnend mit 3-Methylcyclopentenon (**15a**) wurde zunächst eine Bromierung an α -Position durchgeführt. Die bromierte Verbindung **16** wurde anschließend mit Ethylenglycol (**17**) geschützt, sodass die Verbindung **18** mit Chlorameisensäuremethylester (**19**) zur Reaktion gebracht werden konnte. Schließlich wurde die Verbindung **20** entschützt und das Cyclopentenon-Derivat **10b** konnte erhalten werden. Diese Verbindung **10b** konnte sogar mit den Wildtyp-Enreduktasen umgesetzt werden, sodass das Produkt **11b** in 84 % Ausbeute mit einer Stereoselektivität von 0:77:0:23 isoliert werden konnte. Eine anschließende Laccase-vermittelte Arylierung mit Catechol (**12a**) lieferte das *Michael*-Addukt **2b** in 67 % Ausbeute mit einer Stereoselektivität von 22:78:0:0. Allerdings hat sich bei der Synthese des Me-substituierten Cyclopentenon-Derivats **10b** herausgestellt, dass eine Skalierung der

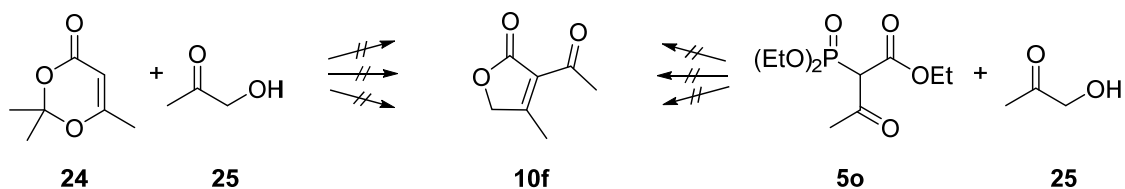
Synthesemethode nicht erfolgreich ist. Außerdem können mit dieser Methode keine weiteren Derivate synthetisiert werden, weshalb eine alternative Methode herangezogen wurde, die zudem in der Synthesesequenz kürzer ist (Schema 9).



Schema 9: Reaktionsschema zur Darstellung des Cyclopentenon-Derivats **10c**.

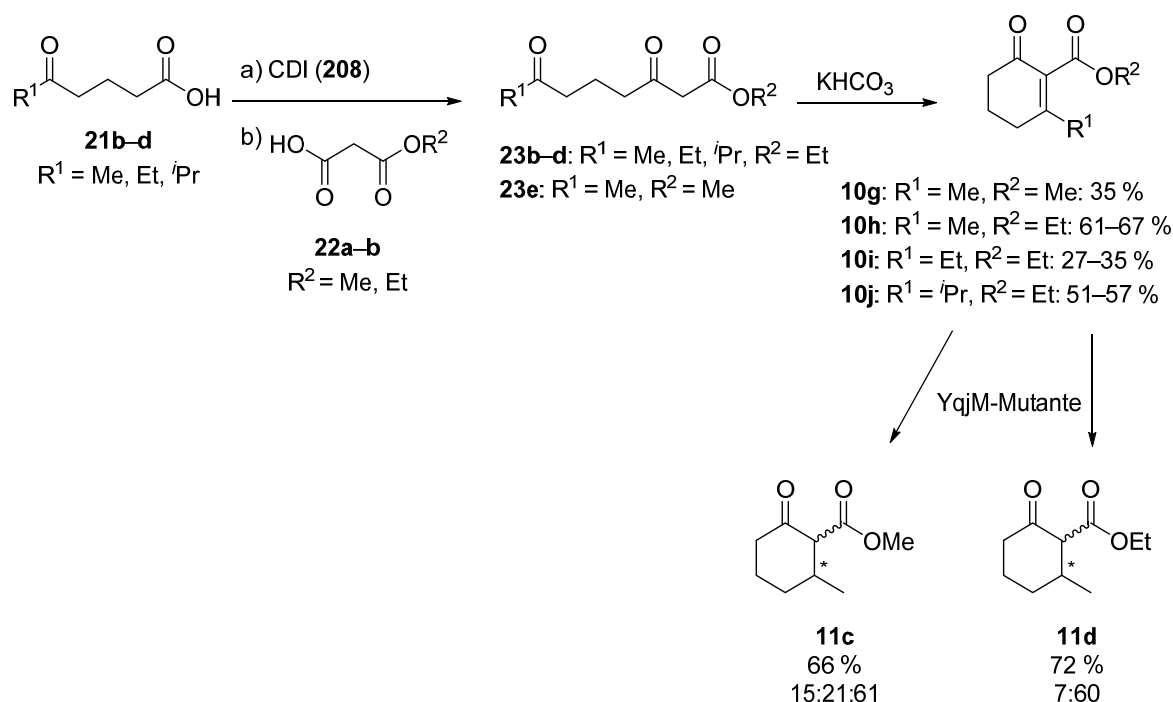
Hierbei wurde Lävulinsäure (**21a**) mit Monoethylmalonsäure (**22a**) zu Verbindung **23a** umgesetzt, welches unter basischen Bedingungen zum Cyclopentenon-Derivat **10c** kondensierte. Das Produkt **10c** konnte einmalig in sehr geringer Ausbeute von 20 % isoliert werden; dieses Ergebnis war schwer reproduzierbar.

Auch zahlreiche Versuche zur Synthese des Butenolid-Derivats **10f** blieben erfolglos, bei dem im Vergleich zum Cyclopentenon-Derivat **10b** die Ester- und Ketofunktionalität vertauscht sind (Schema 10). Zum einen wurde hierbei versucht das Butenolid **10f** durch die Reaktion von Trimethyldioxinon (**24**) mit Hydroxyaceton (**25**) herzustellen. Zum anderen wurde auch eine *HWE*-Reaktion mit dem Phosphonsäurediethylester **5o** durchgeführt.



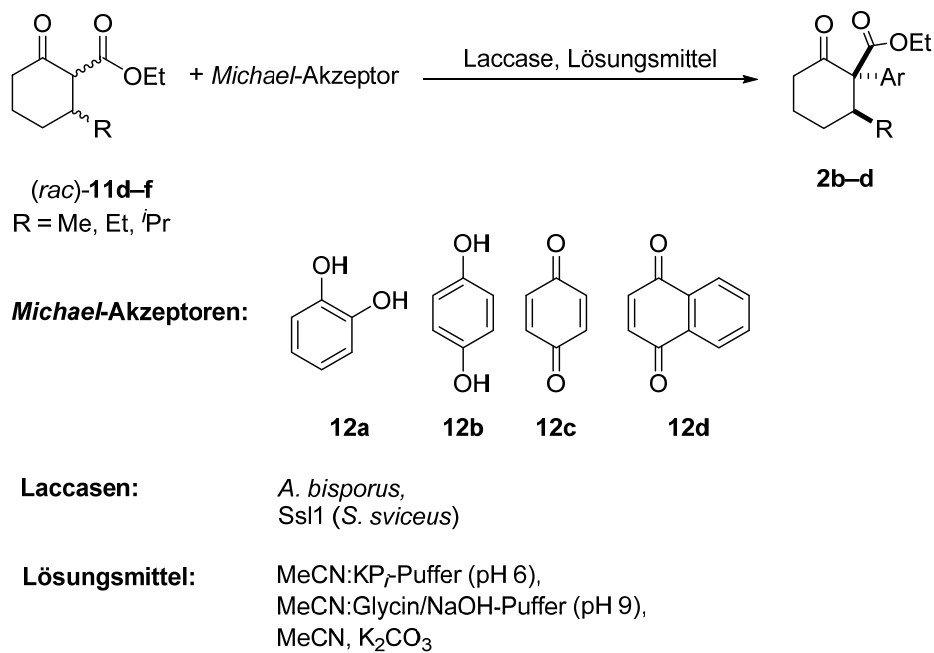
Schema 10: Darstellung möglicher Synthesewege zum α -Acetyl- β -methyl- γ -butenolid (**10f**).

Mit der gleichen Synthesemethode des Cyclopentenon-Derivats **10c** wurden Cyclohexenon-Derivate **10g-j** synthetisiert, die sich als deutlich stabiler herausgestellt haben und somit in 27–67 % Ausbeute isoliert werden konnten (Schema 11).



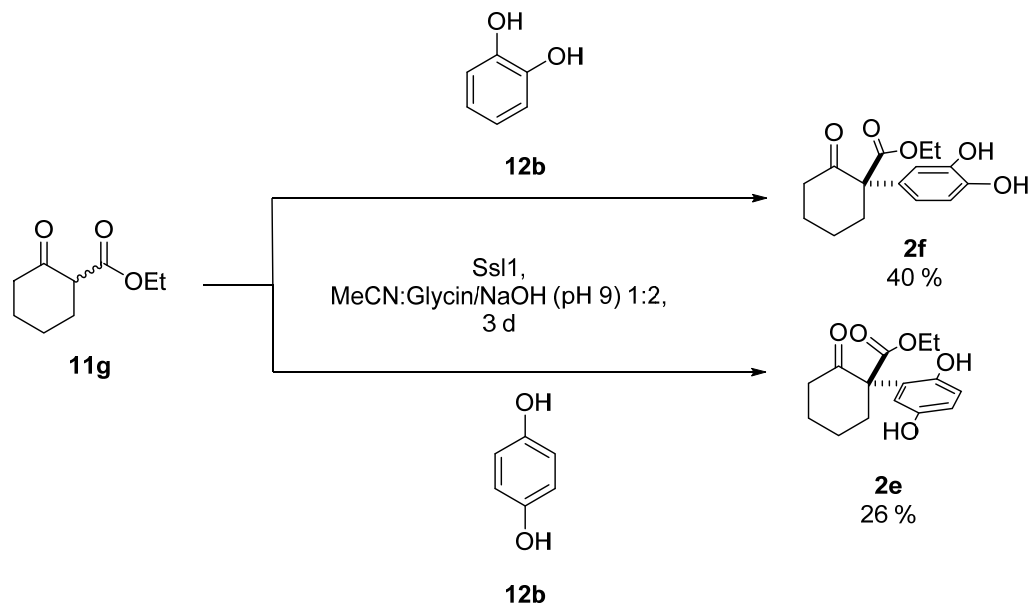
Schema 11: Reaktionsschema zur Darstellung der Cyclohexenon-Derivate **11c** und **11d** mit anschließender Reduktion mit YqjM-Mutanten.

Ein erneutes Screening mit Enreduktasen zeigte, dass auch diese Substrate **10g-j** nicht mit den Wildtyp-Enreduktasen reduziert werden können. Allerdings konnte hierbei ein Umsatz mit den YqjM-Mutanten erzielt werden, sodass die beiden Me-substituierten Cyclohexanon-Derivate **10g** und **10h** in moderaten Ausbeuten von 66–72 % mit einem Produktverhältnis von 15:22:63 und 10:90 isoliert wurden. Die Quantifizierung der Isomere wurde anhand GC/MS-Analytik durchgeführt, wobei keine eindeutige Zuordnung der Signale getroffen werden konnte. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Ringgröße des Substrates eine Herausforderung für die Enreduktasen darstellt. Nichtsdestotrotz wurden mit den unselektiv reduzierten Cyclohexanon-Derivaten (*rac*)-**11d-f** verschiedene Versuche zur Arylierungsreaktion unternommen. Zum einen wurden hierbei die Reaktionsbedingungen und *Michael*-Akzeptoren **12** geändert und zum anderen die Arylierungsreaktion unter An- bzw. Abwesenheit einer Laccase untersucht (Schema 12).



Schema 12: Übersicht der Arylierungsreaktion von Cyclohexanon-Derivaten (*rac*)-**11d-f** und der Reaktionsbedingungen.

Dabei hat sich gezeigt, dass die an 3-Position substituierten Cyclohexanon-Derivate **11d-f** sowohl Laccase-vermittelt als auch chemisch, keine *Michael*-Addition mit den *Michael*-Akzeptoren **12** eingehen. Als Vergleich konnte durch eine erfolgreiche Arylierungsreaktion des unsubstituierten Cyclohexanon-Derivats **11g** mit Catechol (**12a**) und Hydrochinon (**12b**) gezeigt werden, dass die Substituenten an 3-Position ein Hindernis für die *Michael*-Addition darstellen (Schema 13).



Schema 13: Reaktionsschema zur Arylierungsreaktion des unsubstituierten Cyclohexanon-Derivats **11g**.

Somit können die Substrate **10g-j** zwar erfolgreich mit Enreduktasen umgesetzt werden, allerdings ist eine nachfolgende Laccase-vermittelte Arylierungsreaktion nicht möglich.

2 Einleitung

Chiralität ist nicht nur ein wesentlicher Bestandteil der Natur, sie prägt die gesamte Existenz des Lebens. 1956 wiesen *Lee* und *Yang* darauf hin, dass die Parität bei der schwachen Wechselwirkung nicht gegeben sei.^[2] Die schwache Wechselwirkung zählt neben der starken Wechselwirkung, der elektromagnetischen Wechselwirkung und der Gravitation zu den vier Grundkräften der Physik und ist verantwortlich für den β -Zerfall von Atomkernen und somit für die Entstehung von Elementen. Ein Jahr später konnte *Wu* die Paritätsverletzung experimentell nachweisen und zeigte somit, dass Elektronen, die beim β -Zerfall von ^{60}Co entstehen, linkshändig sind. Die Paritätsverletzung hat zur Folge, dass zum einen alle Kerne chiral sind und zum anderen Enantiomere nicht die gleiche Energie besitzen.^[3-9] Dieser Energieunterschied resultiert in einer Anreicherung eines Enantiomers, da ein Isomer mit einem gleich-konfigurierten Isomer effizienter reagiert als mit dem Spiegelbild.^[4, 10] Somit lässt sich festhalten, dass sich die L-Aminosäuren und D-Zucker, damit auch D-Nukleotide, in der Evolution durchgesetzt haben und unter anderem den *chiral pool* bilden. Die Polymerisierung von Aminosäuren zu Proteinen und Nukleotiden zu DNA trägt wesentlich zur Entstehung von diversem Leben bei, das seinerseits fähig ist weitere chirale Moleküle stereospezifisch zu produzieren. Beispielsweise werden Pheromone nicht nur bei Insekten zur Kommunikation auf molekularer Ebene ausgeschüttet. Das Verhältnis der Enantiomere und deren Wirkung kann sich zwischen den Spezies unterscheiden. Während ein Enantiomer des Pheromons biologisch aktiv ist (Verbindungen **26–28**), ist das andere Enantiomer meistens inaktiv oder sogar inhibierend (Verbindungen **29** und **30**, Abbildung 2).^[11-15]

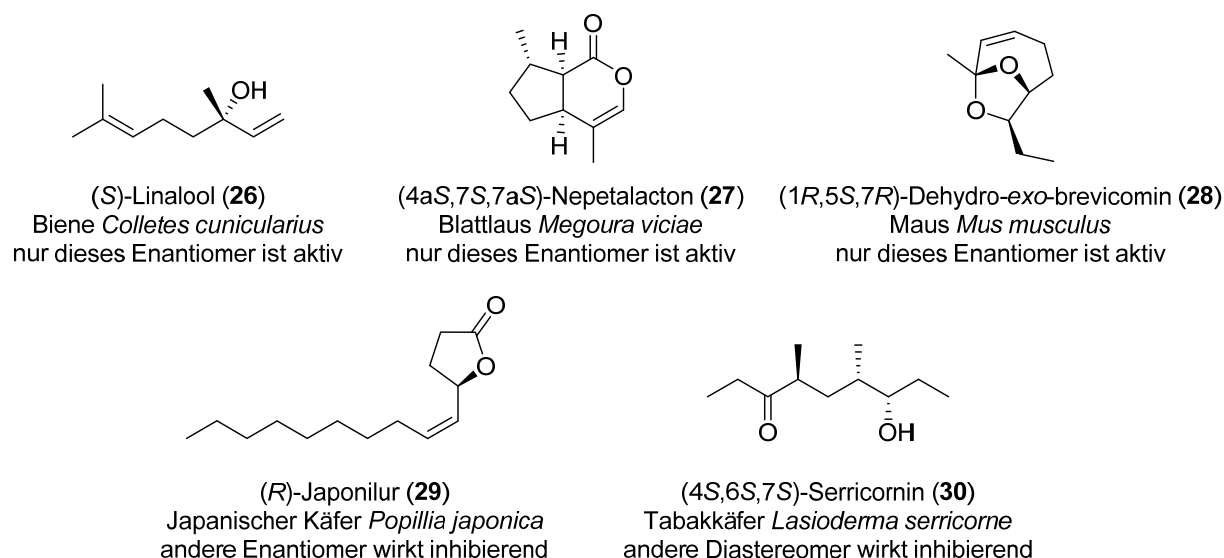


Abbildung 2: Molekülstrukturen einiger Pheromone.^[14]

Die Erkennung des Enantiomers beruht auf unterschiedlicher Wechselwirkung mit den optisch aktiven Proteinen des Lebewesens. Auch Aroma- und Duftstoffe können abhängig von ihrer Konfiguration unterschiedliche Geschmacks- und Geruchseigenschaften aufweisen (Verbindungen **31–34**, Abbildung 3).^[16, 17]

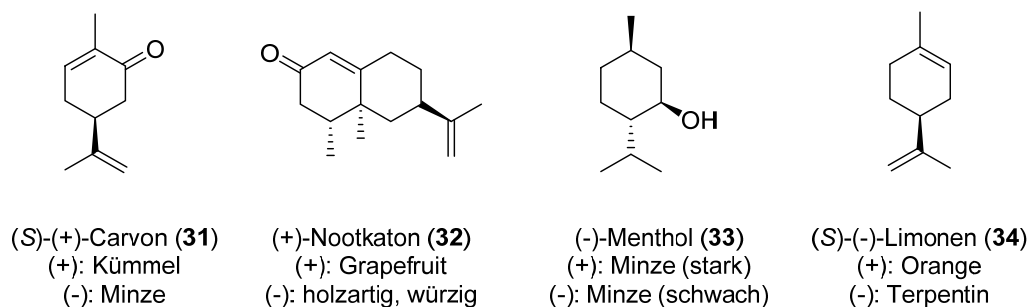


Abbildung 3: Molekülstrukturen einiger Aroma- und Duftstoffe.^[16]

Während z.B. (*S*)-Carvon (**31**) charakteristisch für den Kümmel-Geruch ist, riecht (*R*)-Carvon (**31**) nach Minze. Zusätzlich zu unterschiedlichen Geruchseigenschaften werden auch unterschiedliche biologische Aktivitäten und Toxizitäten der beiden Enantiomere beobachtet: (*S*)-Carvon (**31**) zeigt einen inhibierenden Effekt auf Kartoffel-Keimlinge und ist weniger giftig für Mäuse als (*R*)-Carvon (**31**).^[17] Dementsprechend spielt die Chiralität auch eine wichtige Rolle in der Agrochemie.

Somit kann es vorkommen, dass nur bestimmte Stereoisomere der Fungizide, Insektizide und Herbizide biologisch aktiv sind, wohingegen ihre Spiegelbilder keine dergleiche Wirkung hervorrufen (Verbindungen **35–37**, Abbildung 4).^[18]

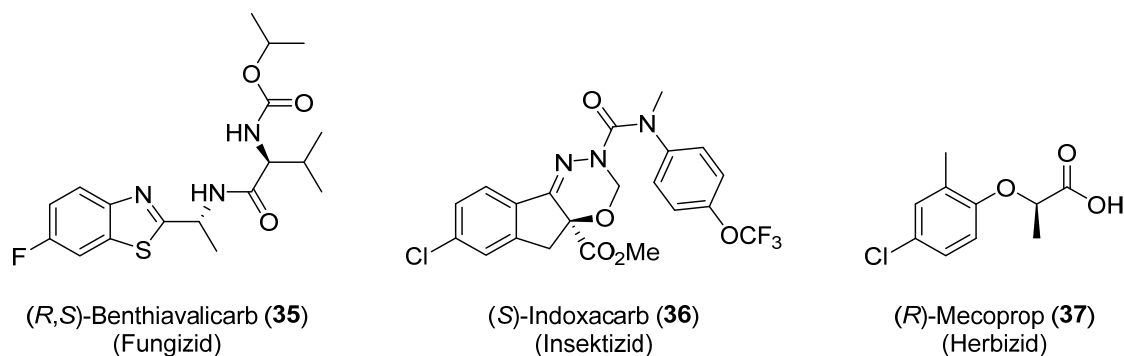
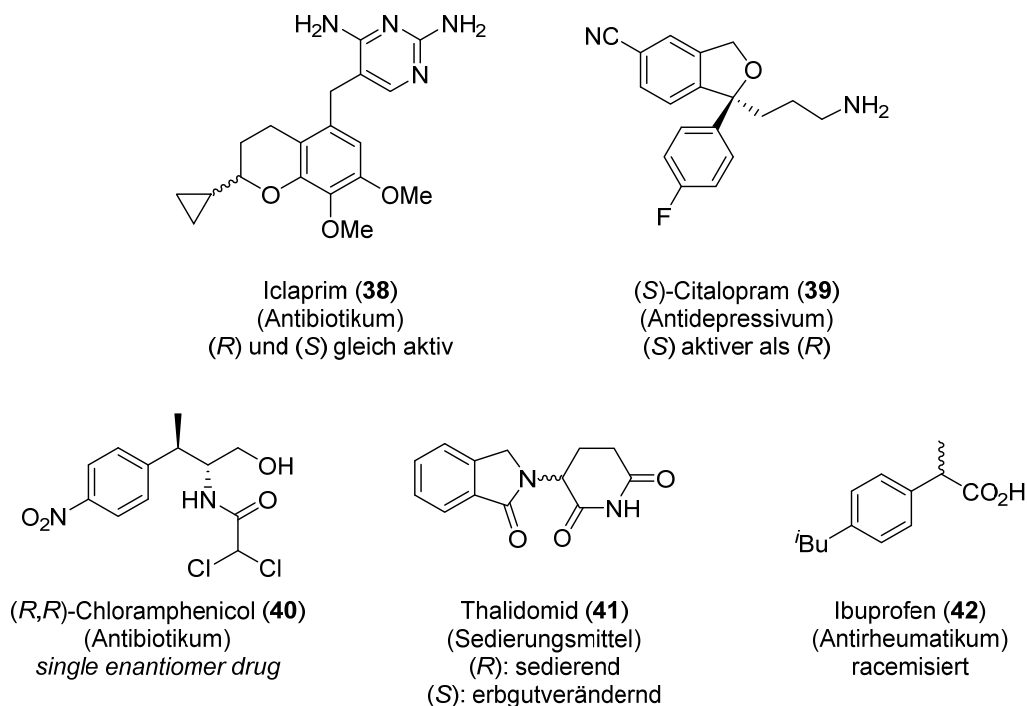
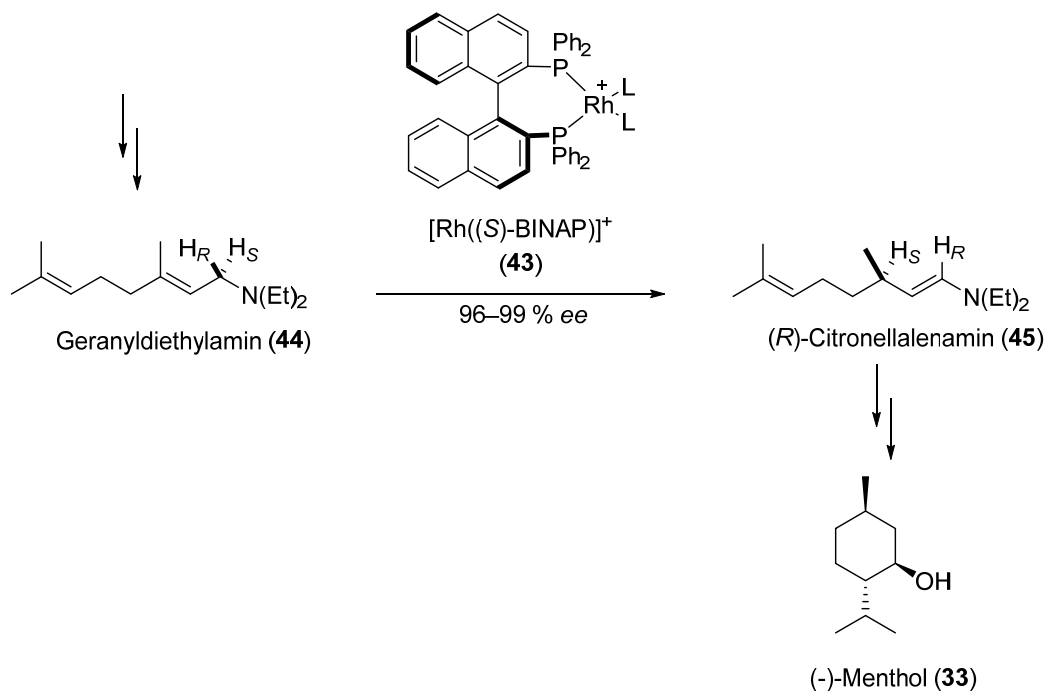


Abbildung 4: Molekülstrukturen einiger Agrochemikalien.^[18]

Obwohl zahlreiche chirale Agrochemikalien Verwendung finden, gibt es in dieser Branche nur wenige Studien, in denen die biologische Aktivität der Stereoisomere näher untersucht wurde. Anders sieht es in der Pharmazie aus, wo deutlich mehr Wert auf die pharmakologische Wirkung der einzelnen Stereoisomere gelegt wird. Demnach werden zwischen Stereoisomeren mit a) gleicher Wirkung (Verbindung **38**), b) mit gleicher Wirkung, aber unterschiedlicher Intensität (Verbindung **39**), c) unterschiedlicher Wirkung (Verbindung **40**), d) den *single enantiomer drugs* (Verbindung **41**), wobei nur ein Enantiomer pharmakologisch aktiv ist (auch Eutomer genannt, wobei das inaktive Enantiomer als Distomer bezeichnet wird), und e) Verbindungen wie Verbindung **42**, wobei eine Racemisierung im Organismus stattfindet, unterschieden (Abbildung 5).^[18-24]


 Abbildung 5: Molekülstrukturen einiger Pharmazeutika.^[18]

Aus diesen Gründen ist es unerlässlich Verbindungen asymmetrisch herzustellen und neue chirale Bausteine zu generieren, die ihrerseits Anwendung finden können. Asymmetrische Verbindungen lassen sich zum einen durch die Verwendung von prochiralen Verbindungen herstellen. Dabei können die Substituenten durch ihren sterischen Anspruch für ein bestimmtes Stereoisomer induzierend wirken. Zum anderen kann die Stereoinformation katalytisch vermittelt werden, wobei zwischen heterogener und homogener Katalyse unterschieden wird. Bei der heterogenen Katalyse bildet das Substrat und der Katalysator ein Zweiphasensystem wie es beispielsweise bei der Übergangsmetallkatalyse der Fall ist. Dagegen befinden sich bei der homogenen Katalyse das Substrat und der Katalysator in einer Phase. Ein Beispiel hierfür stellt die Organokatalyse dar. Darüberhinaus existiert auch die Biokatalyse, die je nach Toleranz des Enzyms und der Löslichkeit des Substrats im wässrigen Medium entweder eine homogene oder eine heterogene Phase bilden kann. Diese drei Katalyse-Möglichkeiten sollen im Folgenden näher erläutert werden. Bei der Übergangsmetallkatalyse wird ein Übergangsmetall über chirale Liganden organischen Ursprungs koordiniert. Eines der bekanntesten Liganden ist der von *Noyori* entwickelte 2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl [BINAP (**43**)].^[25,26] Somit konnte beispielsweise mit Hilfe eines BINAP-Rh-Komplexes eine asymmetrische Isomerisierung des Geranyldiethylamins (**44**) zu (*R*)-Citronellalenamin (**45**) im industriellen Maßstab durchgeführt werden, welches ein Schlüsselschritt bei der Synthese des (-)-Menthols (**33**) darstellt (Schema 14).



Schema 14: Asymmetrische Isomerisierung mit Hilfe eines BINAP-Rh-Komplexes bei der industriellen Synthese von (-)-Menthol (**33**).^[25]

Organokatalysatoren sind dagegen reine organische Moleküle ohne ein Übergangsmetall. Diese Katalysatoren können direkt der Natur entnommen werden oder werden von diesen abgeleitet. Eine der bekanntesten Organokatalysatoren stellt die Aminosäure L-Prolin (**46**) dar, die für asymmetrische Aldolreaktionen eingesetzt wird; abgeleitet von dieser Aminosäure führten beispielsweise *MacMillan* den Imidazolidinon-Katalysator (**47**) und *Jacobsen* die Thioharnstoff-Derivate **48** ein (Abbildung 6).^[27]

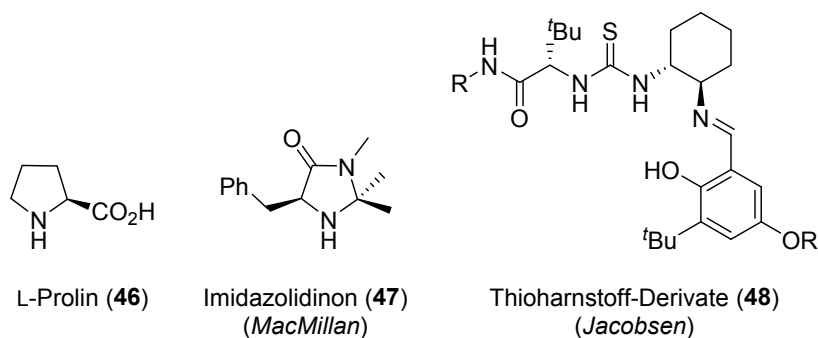
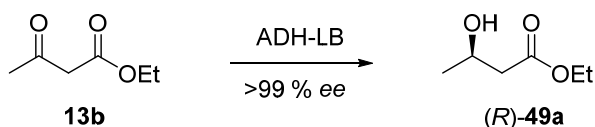


Abbildung 6: Molekülstrukturen einiger Organokatalysatoren.^[27]

In der Biokatalyse können sowohl Lebewesen als auch isolierte Enzyme zur asymmetrischen Synthese verwendet werden. Bei der Ganzzell-Katalyse kann der Metabolismus des Organismus ausgenutzt werden, bei der nicht immer alle Vorgänge bekannt sind. Hingegen können mit isolierten Enzymen definierte Reaktionen selektiv durchgeführt werden. Die durchführbaren Reaktionen sind aufgrund der Vielzahl an Enzymen, die in sechs Enzymklassen eingeteilt werden, sehr divers. Während mit einigen Enzymklassen (wie z.B. Hydrolasen) bevorzugt

Racematspaltung durchgeführt werden, können andere Enzymklassen (wie z.B. Oxidoreduktasen) für asymmetrischen Reaktionen mit prochiralen Verbindungen dienen. Dabei wird die natürliche chirale Umgebung des Enzyms ausgenutzt, die für hohe Stereo-, Chemo- und Regioselektivität der Enzyme verantwortlich ist. So wurde beispielsweise Acetessigester (**13b**) durch ADH-LB selektiv zum β -Hydroxyester (*R*)-**49a** umgesetzt, welcher als chiraler Baustein in der Pharmazie, der Agrochemie und zur Synthese von Aroma- und Duftstoffen verwendet wird (Schema 15).^[28-32]



Schema 15: Stereoselektive Reduktion des Acetessigesters (**13b**) durch ADH-LB.^[28]

Aus den hier zusammenfassend erläuterten Beispielen (Pheromone, Aroma- und Duftstoffe, Agrochemikalien, Pharmazeutika) wird schnell ersichtlich, dass chirale Verbindungen nicht wegzudenken sind und immer mehr an Bedeutung gewinnen.

Um die naturbedingten chiralen Biomoleküle wie z.B. Rezeptoren gezielt adressieren zu können, ist es wichtig definierte chirale Verbindungen zur Hand zu haben. Da jedoch Naturstoffe oftmals aus ökologischen oder ökonomischen Gründen nicht in ausreichenden Mengen isoliert werden können, ist es eine Herausforderung asymmetrische Synthesemethoden zu entwickeln. Im Rahmen dieser Dissertation wird die biokatalytische Synthese sowohl von Aroma- und Duftstoffen als auch weiteren chiralen Bausteinen vorgestellt.

3 Kenntnisstand

3.1 Aroma- und Duftstoffe

Als Duftstoffe werden flüchtige organische Verbindungen bezeichnet, die einen charakteristischen Geruch aufweisen. Bedingt durch die Flüchtigkeit haben diese Verbindungen meist ein Molekulargewicht von <300 g/mol und weisen eine relativ geringe Polarität auf.^[33-36] Aromastoffe haben dagegen einen charakteristischen Geschmack und sind nicht unbedingt flüchtig. Demnach werden Aromastoffe vorwiegend in der Lebensmittelindustrie eingesetzt, während Duftstoffe auch in Konsumgütern enthalten sind.^[35] Darüberhinaus finden Aroma- und Duftstoffe auch Anwendung in der Pharmazie, nicht nur um den Geschmack der Medikamente zu verbessern, sondern auch in Form von Aromatherapien; denn Aroma- und Duftstoffe können unter anderem auch antibakterielle, schmerzlindernde und Blutdruck-regulierende Eigenschaften zeigen.^[35, 37]

Die gustatorische Wahrnehmung der Aromastoffe geschieht vorwiegend über die Geschmacksrezeptoren auf der Zunge. Diese Rezeptoren sind in Geschmacksknospen zusammengefasst und befinden sich in den Geschmackspapillen. Es werden vier Arten von Geschmackspapillen unterschieden: Pilzpapillen (*Papillae fungiformes*), Blätterpapillen (*Papillae foliatae*), Wallpapillen (*Papillae vallatae*) und Fadenpapillen (*Papillae filiformes*). Einen großen Anteil stellen Pilzpapillen dar, die sich im vorderen Zungenbereich befinden. Im hinteren Bereich sind die Wallpapillen in umgedrehter V-Form vorhanden. Die Blätterpapillen sind an den hinteren Seitenrändern zu finden. Die Fadenpapillen, im vorderen Bereich verteilt, sind im Gegensatz zu den anderen Papillen für die Wahrnehmung der Temperatur, Konsistenz und des Schmerzempfindens zuständig. Ebenso gibt es unterschiedliche Rezeptortypen, die zur Wahrnehmung der fünf Geschmacksrichtungen süß, sauer, salzig, bitter und umami dienen. Während süß, bitter und umami über G-Protein-gekoppelte Sieben-Transmembranproteine wahrgenommen werden, werden sauer und salzig über Ionenkanäle detektiert. Allerdings spielt für die ganzheitliche Wahrnehmung auch der Geruch eine große Rolle.^[38-42]

Die olfaktorische Wahrnehmung erfolgt durch Riechzellen im Riechepithel der Nasenhöhle (Abbildung 7).^[36, 43-45]

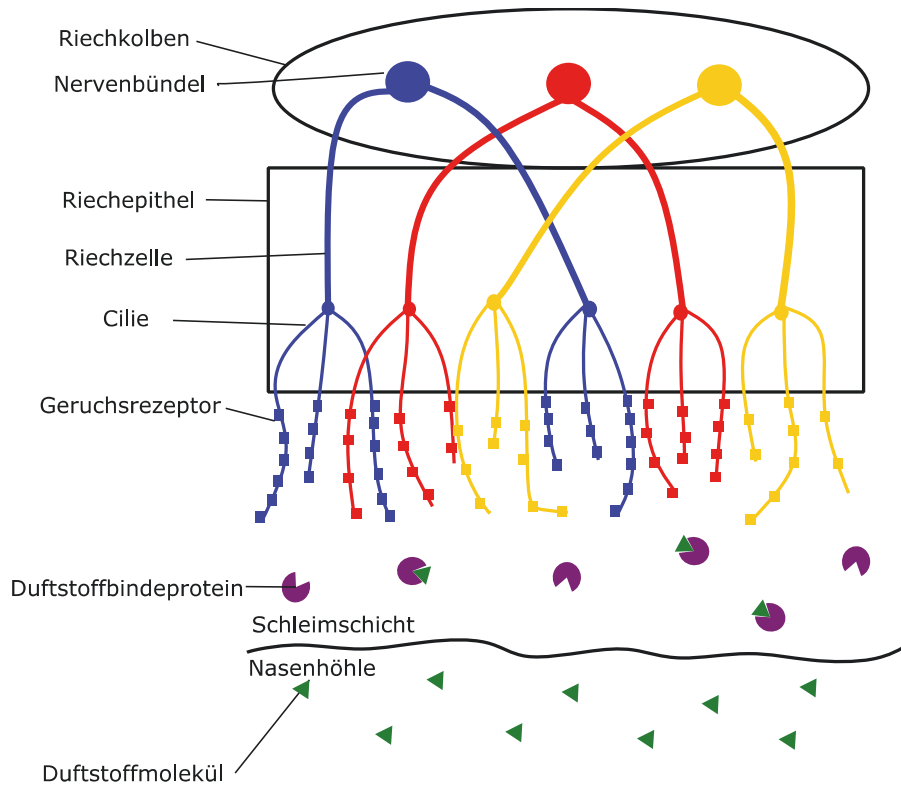
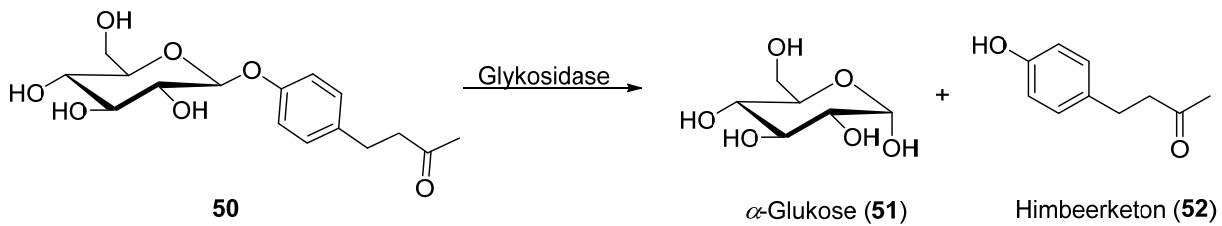


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Geruchswahrnehmung.

Im Riechkolben (*Bulbus olfactorius*), welcher einen kleinen Bereich des vorderen Gehirns darstellt, befinden sich Nervenbündel (*Glomeruli olfactorii*), von denen aus die Riechzellen das Riechepithel erreichen. Die Riechzellen stellen zugleich die Neuronen dar, deren Cilien mit Geruchsrezeptoren in die Schleimschicht herausragen. Dabei ist anzumerken, dass je Nervenbündel eine Riechzelle mit nur einem Rezeptortyp gebildet wird. Die Geruchsrezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Sieben-Transmembranproteine und jeder dieser Rezeptortypen kann mehrere Duftstoffmoleküle mit spezifischer Affinität binden; jedes Duftstoffmolekül kann wiederum von unterschiedlichen Rezeptoren detektiert werden. Diese kombinatorische Aktivierung führt letztendlich zu einem individuellen Detektionsmuster für jeden wahrgenommenen Duftstoff. Allerdings müssen die unpolaren Duftstoffmoleküle zunächst in die wässrige Schleimschicht gelangen, damit sie mit den Rezeptoren interagieren können. Hierzu wird angenommen, dass sogenannte Duftstoffbindepoteine (*olfactory binding proteins*), die in der Schleimschicht vorkommen eine ausschlaggebende Rolle spielen. Die Duftstoffbindepoteine sind kleine wasserlösliche Carrierproteine, die Duftstoffe binden und dadurch die Moleküle durch die Schleimschicht zu den Rezeptoren transportieren. Darüberhinaus konnten in der Schleimschicht Monooxygenasen gefunden werden, die durch die Umsetzung der Duftstoffe dessen Qualität und Quantität ändern und somit zu einer anderen Geruchswahrnehmung führen können.^[36, 45]

Der enzymatische Umsatz von Duftstoffen kann somit auch zum Gebrauch der Parfümerie werden. Um eine gezielte und langanhaltende Freisetzung des Duftstoffs herbeizuführen, werden Vorstufen des Riechstoffs hergestellt, die z. B. erst nach Kontakt mit Bakterien und Enzymen auf der Hautoberfläche aktiviert werden. Somit kann beispielsweise die Vorstufe **50** mit einer Glykosidase zu α -Glukose (**51**) und Himbeerketon (**52**) gespalten werden (Schema 16).^[34, 46, 47]

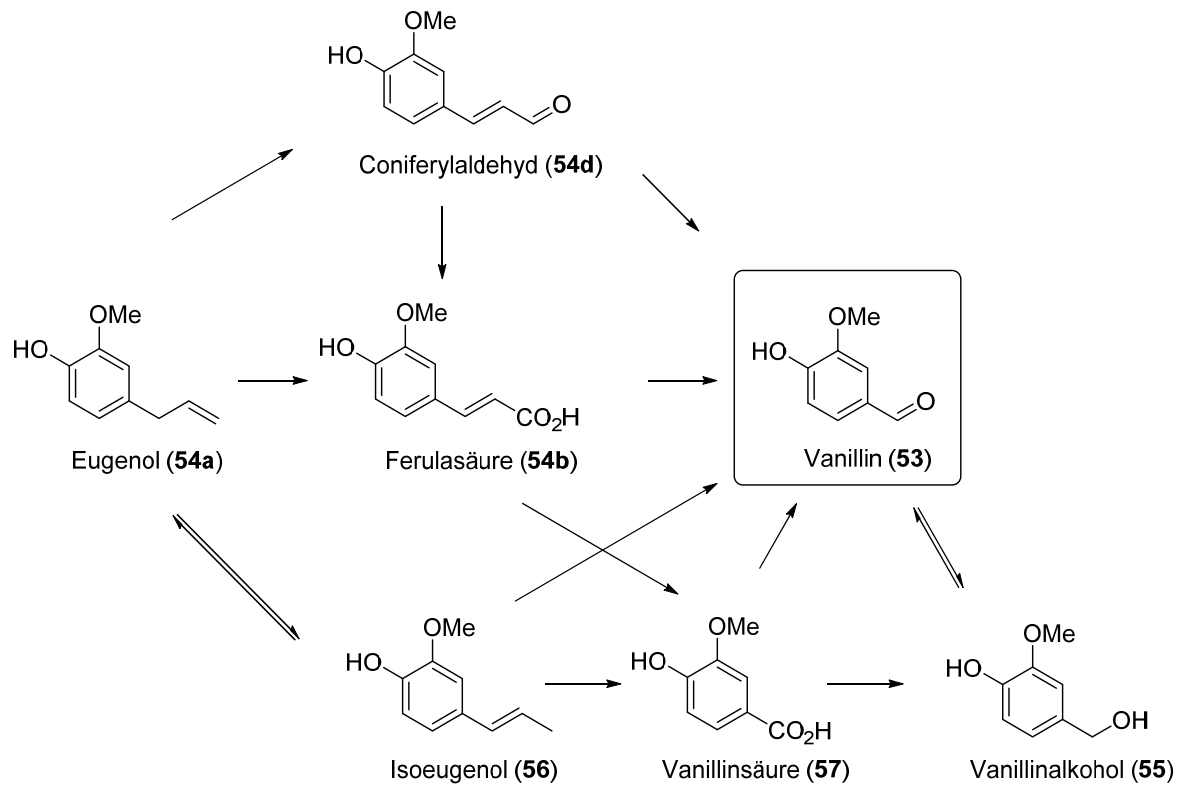


Schema 16: Darstellung der enzymatischen Hydrolyse einer Riechstoffvorstufe.^[46]

Des Weiteren ist hierbei hervorzuheben, dass die Intensität der Geruchswahrnehmung nicht unbedingt mit der Flüchtigkeit des Duftstoffes korreliert. Somit kann es vorkommen, dass einige Duftstoffe weniger flüchtig sind, aber dennoch sehr intensiv wahrgenommen werden. Dementsprechend ist ersichtlich, dass von einigen Aroma- und Duftstoffen größere Mengen benötigt werden als von anderen.^[48]

Die Gewinnung der Aroma- und Duftstoffe erfolgt anhand deren Klassifizierung. Offiziell werden Aroma- und Duftstoffe in natürlich und künstlich unterteilt, es wird aber auch öfters von naturidentischen Verbindungen gesprochen.^[49]

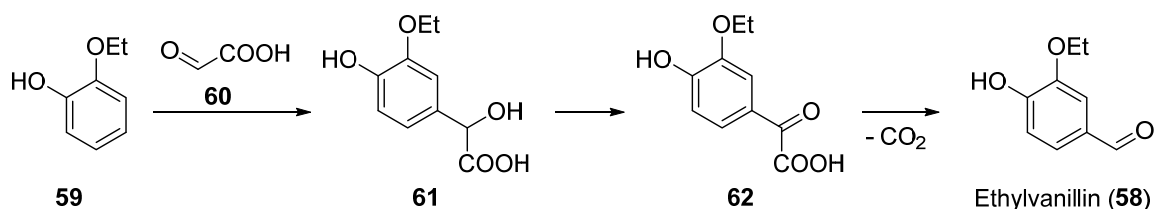
Natürliche Aroma- und Duftstoffe werden durch physikalische Methoden wie z. B. Extraktion oder Destillation aus Pflanzen und Tieren isoliert. Darüberhinaus können Aroma- und Duftstoffe aus biologischen Verfahren wie z. B. Fermentation mit Mikroorganismen als natürlich deklariert werden, wenn die Ausgangsstoffe ebenfalls natürlichen Ursprungs sind.^[48, 50-52] Der Nachteil der physikalischen Methoden ist, dass die Verbindungen in der Natur nur in geringen Mengen vorkommen und dementsprechend viel Rohstoff eingesetzt werden muss, welches zu einer deutlichen Steigerung des Preises der Aroma- und Duftstoffe führt. Vanillin (53) ist mit einem Verbrauch von >18 000 000 kg/Jahr beispielsweise einer der meist verwendeten Aroma- und Duftstoffe. Allerdings kommt es in *Vanilla planifolia* in sehr geringer Konzentration von nur 2 % bezogen auf das Trockengewicht vor, welches den Preis von natürlichem Vanillin (53) auf 1200-→4000 \$/kg (Stand 2011) setzt. Alternativ wird Vanillin (53) durch die Umsetzung von Phenylpropanoiden (54) wie z. B. Eugenol (54a), Ferulasäure (54b) oder Lignin (54c) mit Mikroorganismen hergestellt (Schema 17).^[34, 52-57]



Schema 17: Darstellung der möglichen Synthesewege zum natürlichen Vanillin (53) durch Mikroorganismen.^[34, 52-57]

Eine Umsetzung von Ferulasäure (54b), welche aus Eugenol (54a) oder Coniferylaldehyd (54d) entsteht, mit *Streptomyces sp.* lieferte 13–60 g/L Vanillin (53).^[33] Das Vanillin (53) liegt im Redoxgleichgewicht mit Vanillinalkohol (55) vor, welcher aus Isoeugenol (56) über Vanillinsäure (57) als Zwischenverbindung erhalten werden kann. Der Preis für mikrobielles natürliches Vanillin (53) beträgt somit weniger als 15 \$/kg. Demnach werden <1 % natürliches Vanillin (53) konsumiert; der Großteil wird mikrobiell hergestellt.^[53, 54]

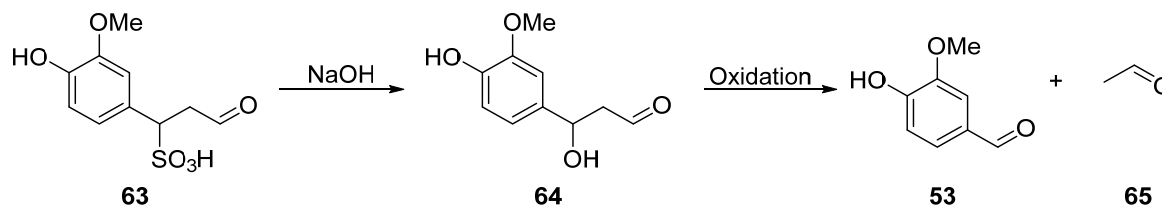
Künstliche Aroma- und Duftstoffe werden synthetisch hergestellt, sind aber nicht in der Natur vorzufinden. Ein Beispiel hierfür ist Ethylvanillin (58), welches beispielsweise aus Guethol (59) und Glyoxylsäure (60) über die Zwischenverbindungen 61 und 62 synthetisiert werden kann und dreieinhalbmal geruchsintensiver ist als Vanillin (53) (Schema 18).^[53, 58]



Schema 18: Reaktionssequenz zur Darstellung von Ethylvanillin (58).^[58]

Naturidentische Aroma- und Duftstoffe werden ebenfalls synthetisch hergestellt, entsprechen jedoch in ihrer Struktur dem Naturstoff. Die Synthese kann dabei rein chemisch sein oder aber auch biokatalytisch, falls die Substrate nicht natürlich sind. 1874 wurde das erste naturidentische Vanillin (53) aus Eugenol (54a) chemisch synthetisiert. Später wurde eine Synthesemethode aus

Ligninabfällen (Ligningehalt: 2.2 ± 0.1 g/50 mL Ligninsulfonsäure-Lauge) entwickelt, wodurch 2.6 g/L Vanillin (**53**) produziert werden konnten (Schema 19). Dabei wurde das Ligninsulfonat (**63**) zunächst unter basischen Bedingungen zu Verbindung **64** umgesetzt, welche durch eine Oxidation das Vanillin (**53**) und Acetaldehyd (**65**) lieferte.^[59, 60]



Schema 19: Reaktionsschema zur Darstellung des naturidentischen Vanillins (**53**) aus Ligninsulfonat (**63**).^[59]

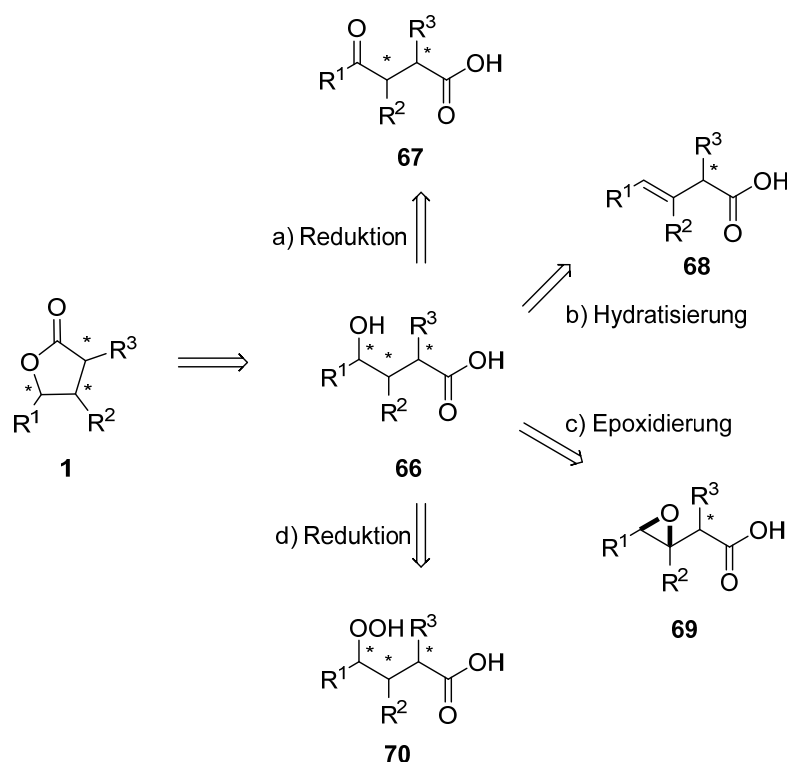
Allerdings wurde aufgrund der Gefahr und hohen Kosten bei der Entsorgung des alkalischen Rückstands diese Vorgehensweise mit der Zeit eingestellt und auf eine Guajacol-basierte Synthesemethode umgestiegen, welches aus Erdöl gewonnen wird.^[59]

Wegen umweltschädlicher Herstellungsprozesse durch beispielsweise Nutzung von Übergangsmetallen und toxischen Chemikalien oder nichterneuerbaren Quellen sind künstliche, aber auch naturidentische Aroma- und Duftstoffe, die sich chemisch nicht von den natürlichen unterscheiden, von der Bevölkerung oft nicht akzeptiert; auch wenn der Preis der entsprechenden Produkte dadurch drastisch gesenkt werden kann. Die stetige Zunahme an gesundheitsbewussten Konsumenten führt zur Bevorzugung von natürlichen Produkten, sodass dadurch auch die Industrie in der Biokatalyse eine Alternative findet.^[35, 51, 61] Denn die Biokatalyse wird insgesamt vom Verbraucher umweltfreundlicher eingestuft und entspricht in vieler Hinsicht den Kriterien der grünen Chemie. Biokatalysatoren entstammen selbst aus der Natur und können erneuerbare Rohstoffe selektiv umsetzen. Die hohe Stereo-, Chemo- und Regioselektivität macht den Einsatz von Schutzgruppen und weiteren Syntheseschritten überflüssig. Die Umsetzungen werden in der Regel katalytisch in wässrigem Medium bei Raumtemperatur und atmosphärischem Druck durchgeführt, sodass der Energieverbrauch geringgehalten wird. Des Weiteren ist die Biokatalyse eine sichere Methode ohne die Gefahr zur Explosion oder Brennbarkeit zu bergen.^[34, 61-63] Zugegeben weist auch die Biokatalyse – wie jede andere Methode – ihre Nachteile auf. Denn meist haben Biokatalysatoren eine eingeschränkte Substratspezifität und Stereoselektivität, die jedoch meist mit Hilfe der Gentechnik verändert werden können. Außerdem sind viele Enzyme auf Cofaktoren angewiesen, wodurch die Atomökonomie abnimmt und die Kosten gesteigert werden. Ebenso ist auch der Produktionsweg mit isolierten Enzymen, die zusätzlich eine geringe Stabilität gegenüber äußeren Umweltfaktoren aufweisen, kostspielig. Dies kann durch den Einsatz von Mikroorganismen umgangen werden, allerdings muss hierbei die Toxizität der Substrate in Betracht gezogen werden. Des Weiteren kann die Löslichkeit der relativ unpolaren Aroma- und Duftstoffe im wässrigen Medium problematisch werden.^[32, 64] Nichtsdestotrotz ist die Biokatalyse eine vielversprechende Alternative um den Bedürfnissen der Konsumenten gerecht zu werden und den Preis der Aroma- und Duftstoffe zu begrenzen. Somit konnte z.B. der Preis von

natürlichem Vanillin (**53**) von bis zu 3500 €/kg auf 600 €/kg gesenkt werden. Trotzdem sollte der Einsatz von natürlichen Aroma- und Duftstoffen abgewogen werden, denn etwa Haushaltsmittel wie z. B. Seifen oder Waschmittel sollten günstig sein, sodass hier eher künstliche Aroma- und Duftstoffe Verwendung finden könnten.^[36] Der globale Marktanteil von Aroma- und Duftstoffen wurde für 2017 auf 26.3 Mrd. \$ geschätzt, wobei 2009 nur <10 % der Verbindungen biotechnologisch hergestellt wurden.^[35, 65] Natürliche Aroma- und Duftstoffe, die direkt aus der Natur isoliert werden, erfahren aufgrund der hohen Preise nur in bestimmten Bereichen ihren Einsatz. Dementsprechend werden heutzutage immer noch überwiegend künstliche Aroma- und Duftstoffe verwendet, sodass noch ein großer Bedarf neuer biokatalytischer Methoden als Alternative besteht.

3.2 γ -Butyrolactone 1

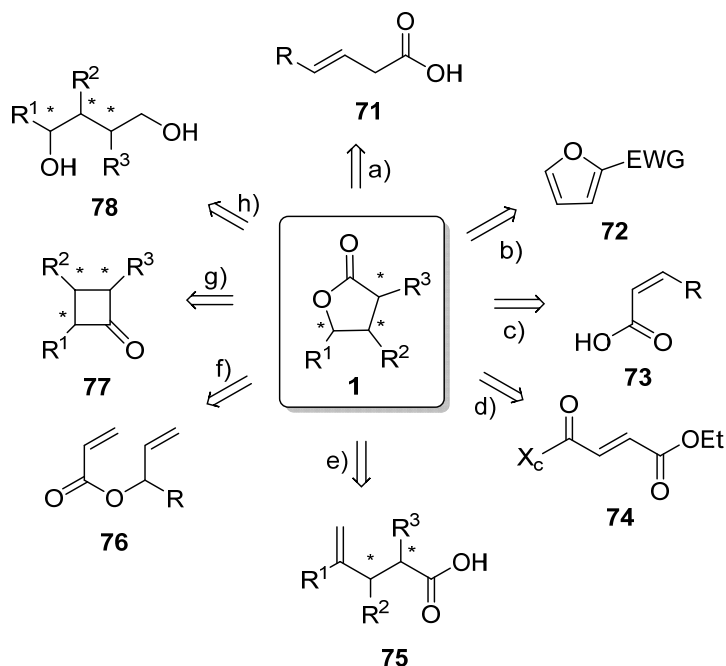
γ -Butyrolactone **1** sind intramolekulare Esterverbindungen, die einen Fünfring bilden. In der Natur werden die Lactone aus den entsprechenden Hydroxycarbonsäuren **66** gebildet, die ihren Ursprung in den Fettsäuren haben (Schema 20).



Schema 20: Reaktionsschema der Biosynthese-Möglichkeiten von γ -Butyrolactonen **1**.

Die Hydroxycarbonsäuren **66** können zum einen durch die Reduktion von Oxosäuren **67** (Syntheseweg a), Hydratisierung von ungesättigten Fettsäuren **68** (Syntheseweg b), Epoxidierung zu Verbindung **69** und anschließender Hydrolyse von ungesättigten Fettsäuren **68** (Syntheseweg c) und zum anderen durch Reduktion von Hydroperoxiden **70** (Syntheseweg d) gewonnen werden.^[35, 66]

Die chemische Darstellung der Lactone **1** kann in vielfältiger Weise geschehen. Die etablierten Synthesemöglichkeiten können, wie in Schema 21 dargestellt, klassifiziert werden.



Schema 21: Mögliche Synthesewege zur Darstellung von γ -Butyrolactonen **1**.

In der Literatur werden des Öfteren die Synthese der γ -Butyrolactone **1** durch Reduktion von γ -Butenoliden berichtet. Eine Möglichkeit γ -Butenolide herzustellen, ist die oxidative Cyclisierung von β,γ -ungesättigten Carbonsäuren **71** mit chiralen Selenium-Katalysatoren (Syntheseweg a).^[67-69] Des Weiteren werden Kupfer-katalysierte Cyclopropanierungen von Furanen **72** gefolgt von einer Ozonolyse durchgeführt (Syntheseweg b).^[67, 69, 70] Ebenso sind auch [4+2]-, [3+2]- und [2+2]-Cycloadditionen mit Dienophilen wie Verbindung **73** möglich (Syntheseweg c).^[70, 71] Durch die Verwendung von chiralen Auxiliaren können Aldolreaktionen an Verbindung **74** durchgeführt werden, wobei die Homoaldolreaktion aufgrund der intramolekularen Kondensation weniger geeignet, aber dennoch in einzelnen Fällen durchgeführt wurde (Syntheseweg d).^[67, 69, 70] Halolactonisierungen ausgehend von Verbindung **75** spielen auch eine große Rolle bei der Synthese von γ -Butyrolactonen **1** (Syntheseweg e).^[68, 69] Außerdem können auch Ringschlussmetathesen mit Verbindung **76** durchgeführt werden, um die entsprechenden γ -Butenolide herzustellen (Syntheseweg f).^[69-71] Auch enzymatische Synthesemethoden zur Darstellung von γ -Butyrolactonen **1** sind bekannt. Hier ist die *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Cyclobutanonen **77** mit Monooxygenasen ein prominentes Beispiel (Syntheseweg g).^[68, 69, 71, 72] Es werden aber auch Ganzzellkatalysen mit der Bäckerhefe durchgeführt, wobei Reduktionen und Oxidationen an Verbindung **78** durch Alkoholdehydrogenasen stattfinden, die ebenfalls zu γ -Butyrolactonen **1** führen (Syntheseweg h).^[73] In der Industrie wird das 1,4-Butandiol (**78**) chemisch durch eine Kupfer-katalysierte Dehydrierung zum unsubstituierten γ -Butyrolacton **1** überführt, welches dann beispielsweise als Lösungsmittel für Polymere in der Industrie Anwendung findet.^[74]

Wie zuvor angedeutet, stehen unter wässrigen Bedingungen die Lactone **1** mit den Hydroxycarbonsäuren **66** im Gleichgewicht, die physiologische Auswirkungen haben können. So entsteht aus der γ -Butyrolacton-Grundstruktur die γ -Hydroxybuttersäure (GHB, „Liquid Ecstasy“), welche aufgrund ihrer sedativen und euphorisierenden Wirkung häufig als Droge missbraucht wird.^[75-77]

Darüberhinaus ist das Strukturmotiv der Butyrolactone **1** in über 17 000 Naturstoffen wiederzufinden.^[78] Dabei können monocyclische Lactone bis zu sechsfach substituiert vorliegen (Verbindung **1n**); es existieren aber auch bi- und tricyclische Lactone (Verbindungen **1o** und **1p**, Abbildung 8).^[70, 71, 79]

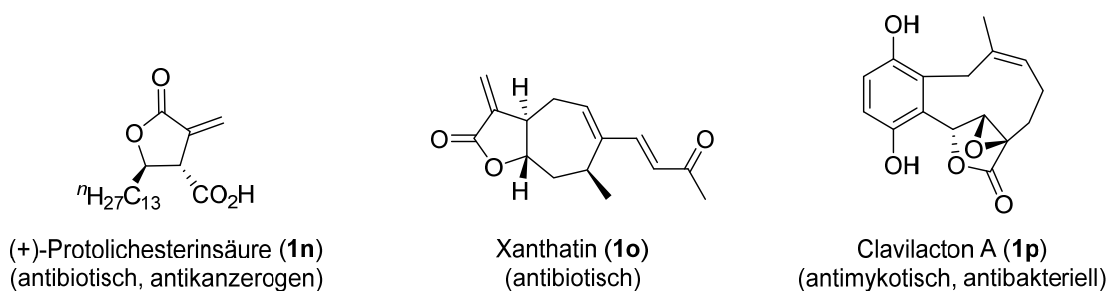
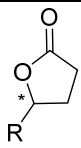


Abbildung 8: Molekülstrukturen einiger biologisch aktiver γ -Butyrolacton-Naturstoffe.^[67, 70, 80, 81]

Die Lactone **1n-p** können verschiedene biologische Aktivitäten aufweisen wie z.B. antibakterielle, antikanzerogene, antivirale, antimykotische und entzündungshemmende Eigenschaften. Dabei ist die Methylengruppe des Öfteren ein entscheidendes Strukturmerkmal, welches *Michael*-Reaktionen mit biologischen Nucleophilen eingehen kann.^[68, 70]

Außerdem sind γ -Butyrolactone **1** in der Natur auch als Aromastoffe in Früchten, Milchprodukten, Fleisch und alkoholischen Getränken zu finden (Tabelle 1).^[82-84]

Tabelle 1: Überblick einiger natürlicher γ -Butyrolacton-Aromastoffe.^[48, 82, 85]

		
Name	R	olfaktorische Eigenschaften
γ -Valerolacton (1q)	Me	herb, Tabak, Kakao
γ -Hexalacton (1r)	Et	Coumarin-artig, Kokosnuss, Tabak
γ -Heptalacton (1s)	ⁿ Pr	Kokosnuss, süß, nussig
γ -Octalacton (1t)	ⁿ Bu	Kokosnuss, cremig
γ -Nonalacton (1u)	ⁿ Pe	Kokosnuss, cremig, Butter-artig
γ -Decalacton (1v)	ⁿ Hex	fruchtig, Pfirsich, Kokosnuss
γ -Undecalacton (1w)	ⁿ Hept	fruchtig, Pfirsich, Aprikose
γ -Dodecalacton (1x)	ⁿ Oct	fruchtig, Pfirsich, fettig

Es kann festgehalten werden, dass mit dem höheren Fettgehalt der Lebensmittel auch die Konzentrationen der γ -Butyrolactone **1** ansteigt, die von 0.001–200 ppm reichen. In der Regel sind dabei aliphatische Lactone vertreten, die häufig als Enantiomergemische vorliegen, wobei

der Anteil der (*R*)-konfigurierten Enantiomere mit der Länge der Alkylkette zunimmt.^[82] Somit spielt die Chiralität der substituierten γ -Butyrolactone **1** auch hier eine entscheidende Rolle. Ausgehend von diesen diversen biologischen Aktivitäten und olfaktorischen bzw. gustatorischen Eigenschaften stellen γ -Butyrolactone **1** interessante Verbindungen für die Pharma- und Lebensmittelindustrie dar.

Im Folgenden sollen einige γ -Butyrolactone **1** als Aromastoffe genauer vorgestellt werden.

3.2.1 Wichtige Vertreter der γ -Butyrolacton-Aromastoffe

3.2.1.1 γ -Decalacton (**1v**)

Einer der wichtigsten Aromastoffe stellt das γ -Decalacton (**1v**) dar, welches in Früchten wie z. B. Pfirsich, Aprikose oder Erdbeere, und Milchprodukten vorkommt (Abbildung 9). Es hat hauptsächlich ein Pfirsich-Aroma und einen cremig-fruchtigen Geschmack in Konzentrationen von <5 mg/L.

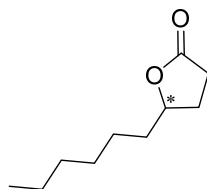
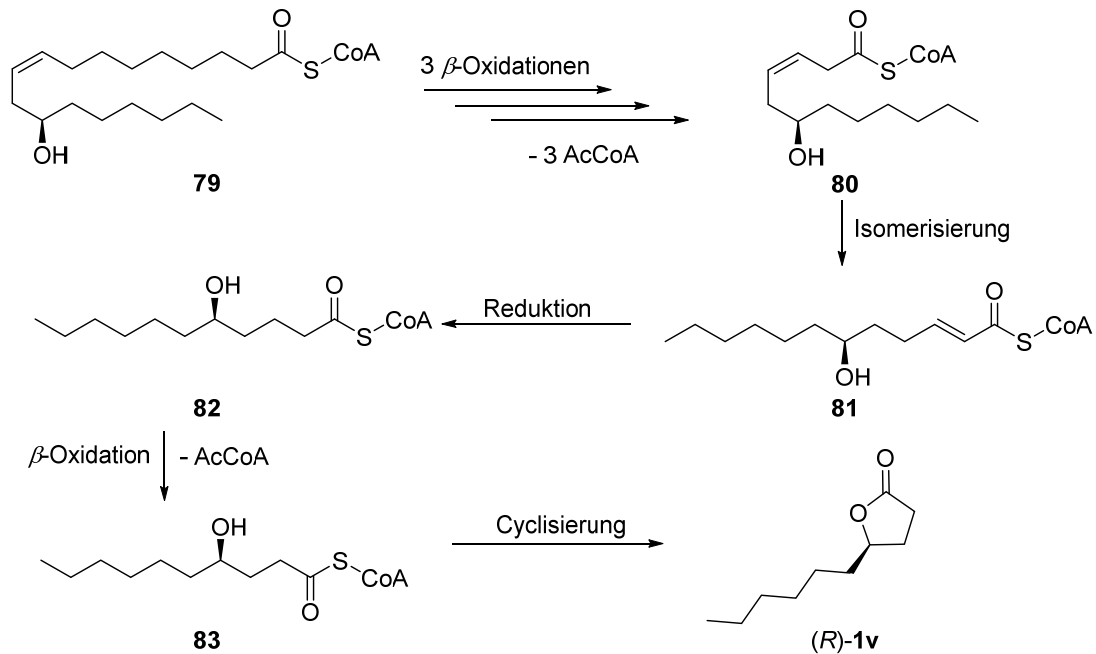


Abbildung 9: Molekülstruktur des γ -Decalactons (**1v**).

Die optische Reinheit und absolute Konfiguration können je nach Quelle voneinander abweichen. So ist beispielsweise in Pfirsich überwiegend das (*R*)-Enantiomer zu finden.^[86] Dagegen berichtet *Margetts*, dass das (*S*)-Enantiomer in Mango vorhanden sein soll.^[52] Die Biosynthese des γ -Decalactons (**1v**) wurde anhand einer Studie mit der Hefe *Sporobolomyces odorus* nachgewiesen. Dabei hat sich herausgestellt, dass Linolsäure und Ölsäure selektiv zu den Hydroxycarbonsäuren **66** oxidiert werden, welche nach einer oxidativen Kettenverkürzung und Cyclisierung das γ -Decalacton (**1v**) liefern.^[87, 88] Da das Marktvolumen des γ -Decalactons (**1v**) mehrere 100 t/Jahr beträgt und Konsumenten natürliche Aromastoffe bevorzugen, wird der hohe Bedarf durch biotechnologische Produktion unter Ausnutzung des Metabolismus der Mikroorganismen gedeckt. In der Industrie hat sich die Hefe *Yarrowia lipolytica* mit der höchsten Produktivität von bis zu 12.5 g/L in 52 h durchgesetzt.^[89, 90] Dabei wird Ricinolsäure, welches als Triglycerid in Ricinusöl vorkommt, als Substrat verwendet. Der Vorteil dabei ist, dass (*R*)-Ricinolsäure die Hydroxygruppe mit der natürlichen Konfiguration wie sie in γ -Decalacton (**1v**) vorzufinden ist, mitbringt. Dadurch werden zusätzliche Kosten, die durch die notwendige Hydroxylierung von Fettsäuren entstehen, vermieden. Alternativ kann auch Ricinusöl als Substrat verwendet werden. Da allerdings das Triglycerid nicht in die Zellen aufgenommen werden kann, muss eine hohe Konzentration an extrazellulären Lipasen zur Hydrolyse gewährleistet werden, was durch eine Überexpression erreicht werden konnte.^[90-92] Die Aufnahme der Ricinolsäure in die Zelle erfolgt bei hohen Konzentrationen durch freie Diffusion.^[93]

In der Zelle wird die Fettsäure zunächst durch eine Acyl-Coenzym A-Synthetase (Acyl-CoA-Synthetase) aktiviert. Das Acyl-CoA **79** wird anschließend in die Peroxisomen, vermutlich über Membrantransporter, aufgenommen und zum γ -Decalacton (**1v**) metabolisiert (Schema 22).^[92]



Schema 22: Reaktionssequenz zur biokatalytischen Darstellung des γ -Decalactons [(R)-**1v**].

Dabei wird durch drei aufeinanderfolgende β -Oxidationen die Kettenlänge des Acyl-CoA **79** verkürzt. Hierzu wird zunächst in α,β -Stellung durch eine Acyl-CoA-Oxidase eine Doppelbindung eingeführt, wobei die β -Position erst durch eine Enoyl-CoA-Hydratase hydratisiert und dann durch eine Hydroxy-Acyl-CoA-Dehydrogenase zum Keton oxidiert wird. Schließlich wird durch eine Thiolase Acetyl-CoA abgespalten und der um eine C2-Einheit verkürzte Acyl-CoA-Rest steht für weitere β -Oxidationen zur Verfügung. Anschließend wird die *cis*-konfigurierte Doppelbindung der Verbindung **80** zu Verbindung **81** isomerisiert und zu Verbindung **82** reduziert, bevor die Kettenlänge erneut durch eine β -Oxidation verkürzt wird, sodass es schließlich zu einer Lactonisierung der Verbindung **83** kommt, wobei das (R)- γ -Decalacton (**1v**) entsteht.^[92] Somit konnte der Preis des natürlichen γ -Decalactons (**1v**), welches in den 80er Jahre >10 000 \$/kg betrug, durch Anwendung mikrobieller Prozesse in den 90er Jahre auf 300 \$/kg gesenkt werden.^[89]

3.2.1.2 Quercuslacton (**1c**)

Als Quercuslacton (**1c**) wird das 3-Methyl-4-octanolid bezeichnet, welches in der Natur als Aromastoff in Eichenhölzern (*Quercus sp.*) zu finden ist und seinen Namen diesen zu verdanken hat. Eichenholz wird unter anderem als Eichenfässer zur Lagerung und Reifung von alkoholischen Getränken wie z. B. Whiskey oder Rum verwendet. Während der Lagerung werden Aromastoffe, wie das Quercuslacton (**1c**), aus dem Eichenholz in das Getränk extrahiert und verleihen diesem ein charakteristisches Aroma. Die natürlichen Quercuslactone (**1c**) haben die Konfiguration (3*S*,4*S*) und (3*S*,4*R*) und weisen ein Kokosnuss- und Sellerie-Aroma auf.^[94, 95] Die Duftnote und Intensität weichen je nach Stereoisomer voneinander ab (Abbildung 10).^[96]

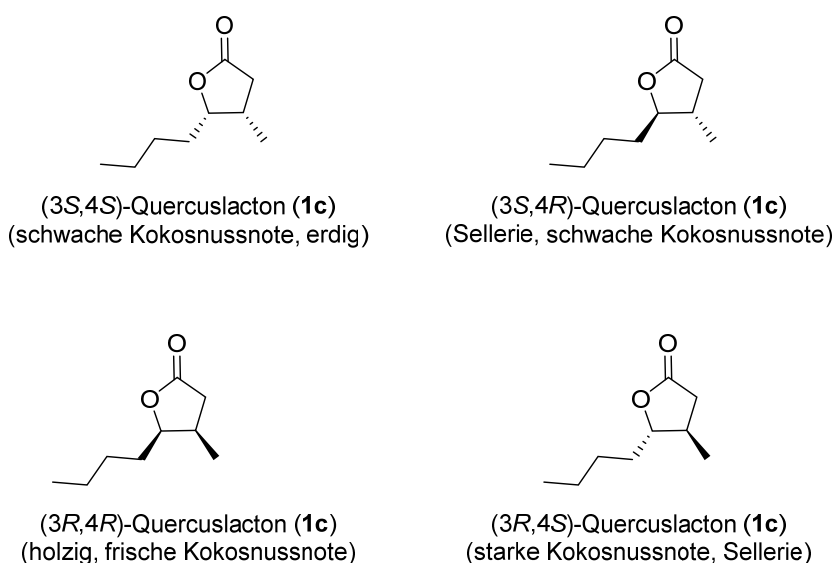
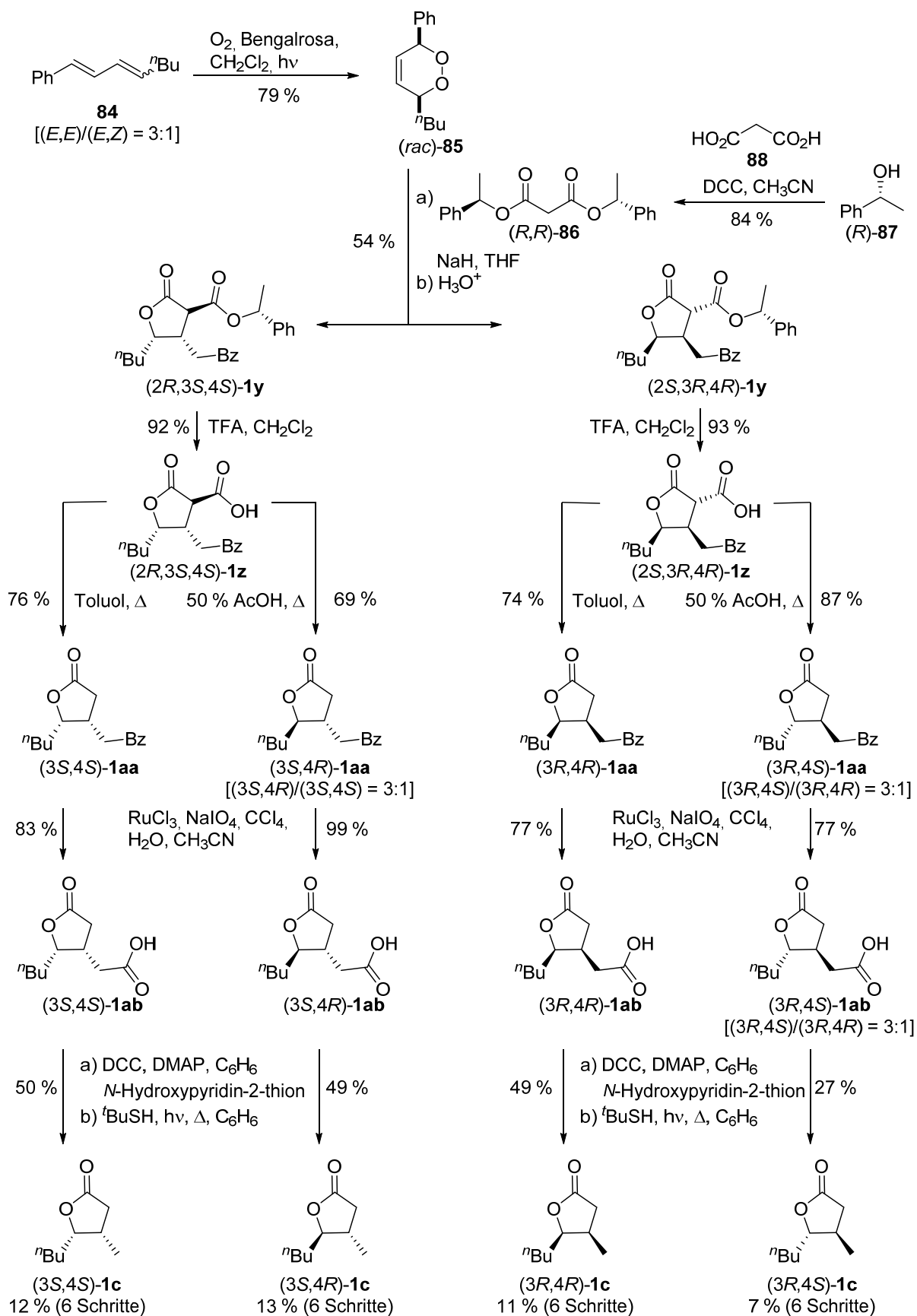


Abbildung 10: Molekülstrukturen aller Stereoisomere des Quercuslactons (**1c**).^[96]

1970 wurde das Quercuslacton (**1c**) zum ersten Mal in Whiskey identifiziert, weshalb es auch des Öfteren als Whiskey-Lacton bezeichnet wird.^[95] Der Gehalt des Quercuslactons (**1c**) in alkoholischen Getränken hängt von vielen Faktoren ab. Ein Faktor ist die Spezies und der geographische Ursprung des Eichenholzes.^[97] Es werden hauptsächlich die beiden französischen Eichen *Quercus robur* und *Quercus petraea* und die amerikanische Eiche *Quercus alba* zur Lagerung von alkoholischen Getränken verwendet.^[98, 99] Es sind aber auch Studien zur spanischen Eiche *Quercus pyrenaica* vorhanden.^[97, 100-102] Diese unterscheiden sich in der Konzentration der Isomere des Quercuslactons (**1c**). Die amerikanische Eiche ist beispielsweise für ihren hohen *cis*-Gehalt bekannt. Somit wird das *cis/trans*-Isomerenverhältnis auch zur Bestimmung der Holzart des Fasses, in dem das alkoholische Getränk gelagert wurde, verwendet. Während die amerikanische Eiche ein Verhältnis von >5:1 aufweist, ist bei der französischen Eiche ein Verhältnis von ca. 2:1 zu finden. Bei den spanischen Eichen hingegen können die Verhältnisse stärker variieren. Darüberhinaus dient Quercuslacton (**1c**) als ein Marker für Getränke, die in Holzfässern gereift werden. Denn es wurde gezeigt, dass z.B. Wein erst nach der Lagerung Quercuslacton (**1c**) beinhaltet, was eine Aussage über die Lagerungsart erlaubt. Die Konzentration des Quercuslactons (**1c**) hängt aber auch von der Verarbeitung des Eichenholzes

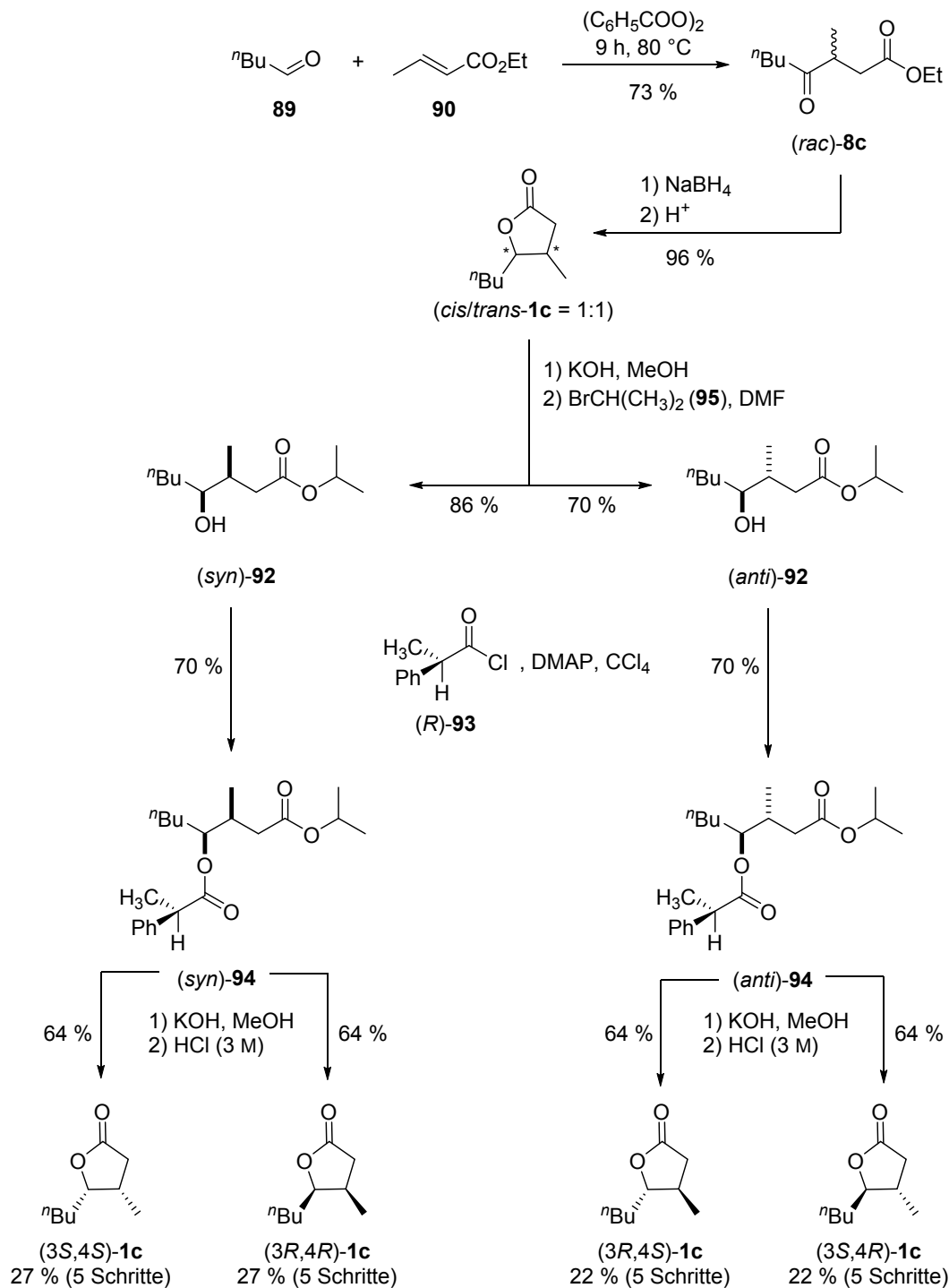
ab. Es konnten dabei vor und nach der Trocknung des Holzes Unterschiede gemessen werden. Aber auch die Art und Dauer der Trocknung sowie die Röstungsintensität spielen eine Rolle.^[97, 98] Darüberhinaus kann auch die Form des Holzes Einfluss auf die Konzentration haben. Nach der Verarbeitung von Ästen und Stöcken konnte im Vergleich zur Verarbeitung von Holzspänen ein höherer *cis*-Gehalt ermittelt werden. Außerdem werden während der Verarbeitung andere Aromastoffe abgebaut, die eventuell für einen bitteren Geschmack verantwortlich sind.^[101, 102] Es sollte aber auch die Stabilität des Quercuslactons (**1c**) im alkoholischen Getränk bzw. dessen Lactonisierung berücksichtigt werden. Denn die Halbwertszeit für die Bildung des *trans*-Quercuslactons (**1c**) ist mit 6.6 h deutlich kürzer als für die Bildung des *cis*-Lactons (**1c**) mit 86.6 h. Dadurch kann es auch nach der Entnahme des Getränkes noch zu einer Intensivierung des Aromas kommen.^[103] Da das Aroma des Quercuslactons (**1c**) von der Konfiguration abhängig ist, sind auch stereoselektive Synthesemethoden notwendig. In der Literatur werden einige Synthesemethoden vorgestellt, wobei entweder das racemische Lacton oder nur bestimmte Stereoisomere dargestellt werden.^[104-110] Im Folgenden werden die Methoden näher ausgeführt, die zu allen vier Stereoisomeren des Quercuslactons (**1c**) führen.

Eine der vorgeschlagenen Synthesemethoden stammt von *Brown et al.* und ist in Schema 23 abgebildet.^[111] Dabei wurde das zuvor aus einer Wittig-Reaktion hergestellte 1-Phenyl-1,3-octadien (**84**) [(*E,E*)/(*E,Z*) = 3:1] in einer [4+2]-Cycloaddition mit molekularem Sauerstoff verwendet. Während der Photolyse mit Bengalrosa als Photosensibilisator isomerisierte die (*E,Z*)-Verbindung zur (*E,E*)-Verbindung und lieferte das racemische Dioxin (*rac*)-**85** in 79 % Ausbeute. Die Reaktion des Dioxins (*rac*)-**85** mit dem chiralen Malonsäurediester **86**, hergestellt aus (*R*)-1-Phenylethanol [(*R*)-**87**] und Malonsäure (**88**), führte zu den zwei diastereomeren Furanonen (*2R,3S,4S*)- und (*2S,3R,4R*)-**1y**, die chromatographisch voneinander getrennt werden konnten. Eine anschließende Verseifung lieferte die Carbonsäuren (*2R,3S,4S*)- und (*2S,3R,4R*)-**1z**, die in zwei unterschiedlichen Methoden decarboxyliert wurden. Zum einen wurden die Diastereomere **1z** in Toluol erhitzt, sodass die (*3S,4S*)- bzw. (*3R,4R*)-Produkte **1aa** entstanden; zum anderen wurden sie in wässriger Essigsäure erhitzt, wobei die (*2R,3S,4S*)- und (*2S,3R,4R*)-Diastereomere **1z** zunächst zur (*2R,3S,4R*)- bzw. (*2S,3R,4S*)-Verbindung **1z** isomerisierten und somit nach der Decarboxylierung das (*3S,4R*)- und (*3R,4S*)-Produkt **1aa** lieferten. Die Isomerisierung geschieht dabei durch einen intramolekularen Angriff der Säurefunktionalität auf das C4-Atom, sodass das Lacton geöffnet und ein neues Lacton mit inversem Stereozentrum an C4 gebildet wird.^[112] Die Benzoylgruppe wurde Ruthenium-katalysiert mit Natriumperiodat zur Carbonsäure oxidiert. Um die Quercuslactone (**1c**) zu erhalten, wurde zum Schluss die Verbindungen **1ab** unter *Barton*-Bedingungen decarboxyliert. Somit konnten alle Stereoisomere mit 98 % *ee* synthetisiert werden.



Schema 23: Darstellung aller Stereoisomere des Quercuslactons (**1c**) nach Brown *et al.*^[111]

Auch *Günther* und *Mosandl* haben eine Synthesemethode zur Darstellung aller Stereoisomere des Quercuslactons (**1c**) etabliert (Schema 24).^[96]

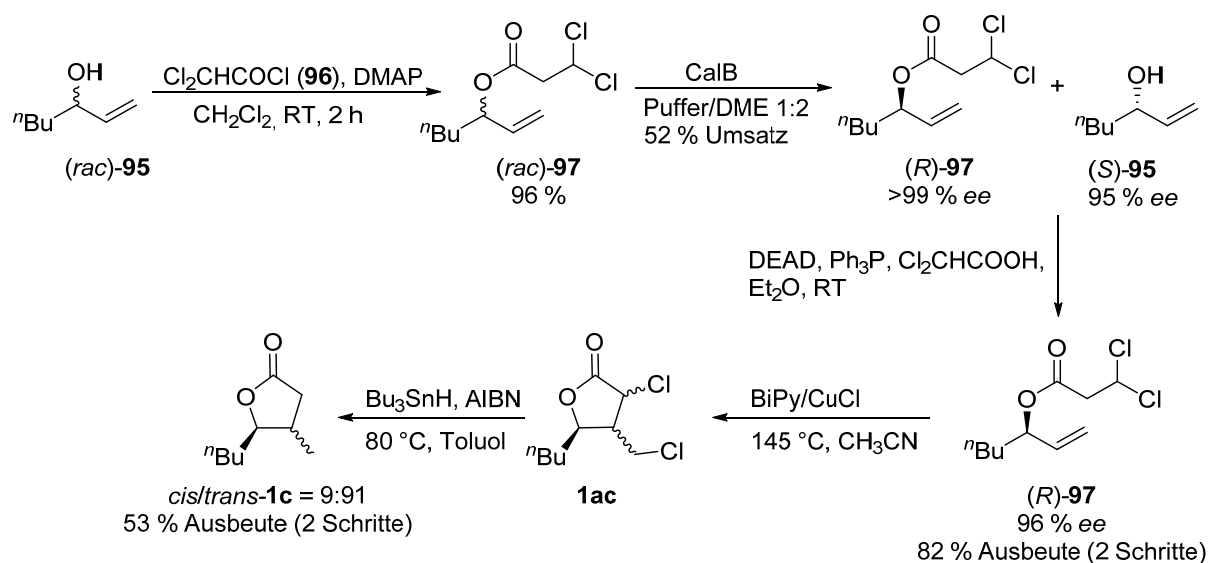


Schema 24: Darstellung aller Stereoisomere des Quercuslactons (**1c**) nach *Günther* und *Mosandl*.^[96]

Hierbei wurde *n*-Pentanal (**89**) an Crotonsäureethylester (**90**) radikalisch addiert. Der resultierende 3-Methyl-4-oxooctansäureethylester [(*rac*)-**8c**] wurde anschließend mit Natriumborhydrid reduziert. Unter sauren Bedingungen konnten somit die racemischen Quercuslactone [(*rac*)-**1c**] isoliert werden. Die Diastereomere wurden chromatographisch getrennt, hydrolysiert und eine Umesterung mit 2-Brompropan (**91**) zum *i*Pr-Ester **92** wurde

durchgeführt. Die Enantiomerenpaare wurden mit (*R*)-Hydratropasäurechlorid (**93**) in die Diastereomerenpaare (*syn*)- und (*anti*)-**94** überführt, sodass diese ebenfalls chromatographisch getrennt werden konnten. Schließlich konnten nach alkalischer Hydrolyse und Relactonisierung unter sauren Bedingungen alle Stereoisomere des Quercuslactons (**1c**) in jeweils 64 % Ausbeute erhalten werden. Die Gesamtausbeuten über alle fünf Schritte betragen hierbei 22–27 %.

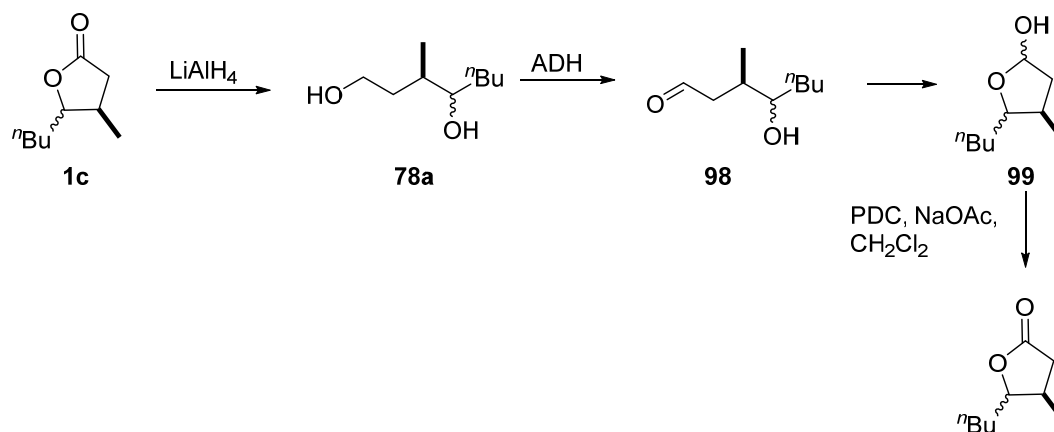
Im Gegensatz zu den chemischen Synthesemethoden sind enzymatische Methoden in der Literatur weniger vertreten. Eine Methode mit isolierten Enzymen wurde von *Felluga et al.* beschrieben (Schema 25).^[109]



Schema 25: Reaktionsschema zur Darstellung des Quercuslactons (**1c**) nach *Felluga et al.*^[109]

Hierzu wurde der racemische, allylische Alkohol (*rac*)-**95** zunächst mit Dichloroacetylchlorid (**96**) zu Verbindung (*rac*)-**97** verestert, um im Anschluss eine kinetische Racematspaltung mit der kommerziellen *Candida antarctica* Lipase B (CalB) durchzuführen, wobei nur das (*S*)-Enantiomer (*S*)-**97** hydrolysiert wurde. Da eine dynamisch kinetische Racematspaltung des Produktgemisches mit Metallkomplexen nicht erfolgreich war, wurde das Gemisch für eine Stereo-inversion des sekundären Alkohols nach *Mitsunobu* verwendet. Dabei konnte das (*S*)-Enantiomer (*S*)-**95** zum (*R*)-Dichloroacetylesther (*R*)-**97** umgesetzt werden. Nach der Racematspaltung wurde als nächstes die radikalische Cyclisierung als ein Schlüsselschritt bei der Synthese des Quercuslactons (**1c**) angewendet. Bei diesem Schritt wird unter Kupfer-Katalyse ein Chloratom des Dichloroacylesters (*R*)-**97** entfernt, sodass ein elektrophiles Radikal entsteht. Dieses Radikal führt schließlich durch eine intramolekulare Reaktion mit der Doppelbindung zur Cyclisierung, wobei diesmal ein nukleophiles Radikal entsteht. Durch den Rücktransfer des Chloratoms wird Verbindung **1ac** hergestellt und der Kupfer-Katalysator regeneriert. Durch eine abschließende Hydrodehalogenierung des Diastereomergemisches wird das Quercuslacton (**1c**) in einem *cis/trans*-Verhältnis von 9:91 gebildet.

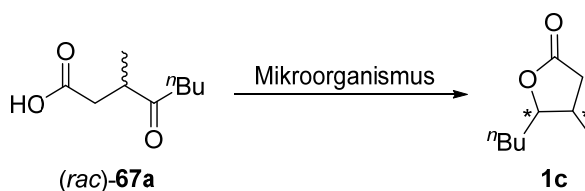
Eine weitere Synthesemethode mit isolierten Enzymen wurde von *Boratyński et al.* berichtet (Schema 26).^[113]



(+)-*cis*-**1c**: 42–55 % Ausbeute, 46–64 % *ee*
 (-)-*trans*-**1c**: 31–60 % Ausbeute, 27–82 % *ee*

Schema 26: Reaktionsschema zur Darstellung des Quercuslactons (**1c**) nach *Boratyński et al.*^[113]

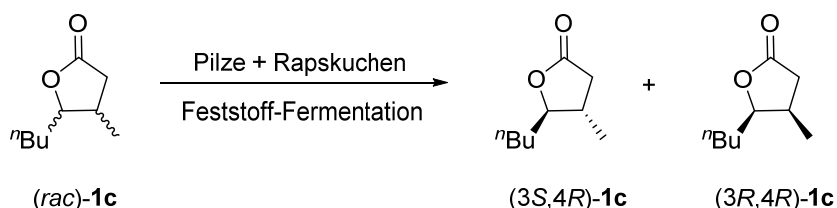
Bei dieser Methode wurde das kommerzielle (\pm)-*cis*- bzw. (\pm)-*trans*-Quercuslacton (**1c**) zum Diol **78a** reduziert. Der primäre Alkohol wurde anschließend durch Alkoholdehydrogenasen selektiv zum Aldehyd **98** oxidiert. Als ADH wurden ADH-HL aus Pferdeleber, rekombinante ADH-HL aus *E. coli* und die kommerzielle primäre ADH (ADH-P II) verwendet. Bei der enzymatischen Umsetzung wird ein Enantiomer bevorzugt, sodass die anschließende Lactonisierung zum Lactol **99** und dessen Oxidation mit Pyridiniumdichromat (PDC) zum (+)-(*3R,4R*)- bzw. (-)-(*3R,4S*)-Quercuslacton (**1c**) in 46–64 % *ee* bzw. 27–82 % *ee* führten. Des Weiteren hat *Boratyński et al.* zwei Biotransformationsmethoden im Ganzellsystem vorgestellt. In einer der Methoden wurden verschiedene Mikroorganismen für die Umsetzung der racemischen 3-Methyl-4-oxocarbonsäure [(*rac*)-**67a**] verwendet (Schema 27).^[113]



Schema 27: Reaktionsschema zur mikrobiellen Umsetzung der racemischen 3-Methyl-4-oxocarbonsäure [(*rac*)-**67a**] nach *Boratyński et al.*^[113]

Bei dieser Umsetzung konnten mit *Chaetomium species* 1 KCH6670, *Didimospheria igniaria* KCH6651, *Laetiporus sulphurens* AM525 und *Saccharomyces cerevisiae* AM464 quantitative Umsätze (>99 %) zum (*3S,4R*)-Quercuslacton (**1c**) mit 99 % *ee* erzielt werden. Mit *Beauveria bassiana* AM27 [(*3S,4S*)-**1c**: 45 % Umsatz, 77 % *ee*; (*3S,4R*)-**1c**: 55 % Umsatz, 99 % *ee*] und *Pycnidium resinae* KCH50 [(*3S,4S*)-**1c**: 48 % Umsatz, 45 % *ee*; (*3S,4R*)-**1c**: 52 % Umsatz, 99 % *ee*] konnten dagegen *cis/trans*-Gemische erhalten werden. Hierbei wurde im Vergleich zur Synthese mit isolierten Enzymen beobachtet, dass die mikrobielle Umsetzung zu den natürlichen (*3S,4S*)- und (*3S,4R*)-Quercuslactonen (**1c**) führt, während mit isolierten Enzymen die unnatürlichen (*3R,4R*)- und (*3R,4S*)-Quercuslactone (**1c**) erhalten werden.

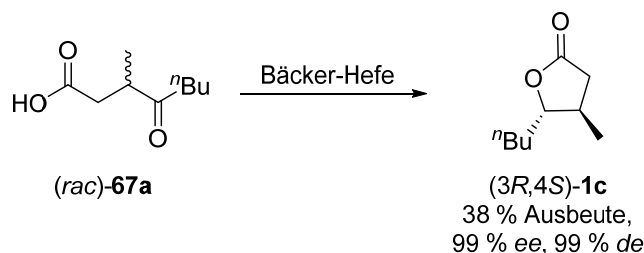
Bei einer anderen kürzlich vorgestellten Methode wurde zur Feststoff-Fermentation von Pilzen mit Rapskuchen racemisches Quercuslacton [(*rac*)-**1c**] zugegeben, wobei eine mikrobielle kinetische Racematspaltung erfolgte (Schema 28).^[114]



Schema 28: Reaktionsschema zum mikrobiellen kinetischen Racematspaltung vom racemischen Quercuslacton [(*rac*)-**1c**] nach *Boratyński et al.*^[114]

Somit konnte nach Optimierung der Reaktionsbedingungen beispielsweise mit *Fusarium oxysporum* AM13 die Enantioselektivität des (*3S,4R*)-Quercuslactons (**1c**) von 56 auf >99 % *ee* und des (*3R,4R*)-Quercuslactons (**1c**) von 60 auf 98 % *ee* verbessert werden. Allerdings wurde dabei keine Aussage über den Umsatz und die Ausbeute der Lactone **1c** getroffen, sodass keine Wertung der Ergebnisse durchgeführt werden kann.

Eine weitere Synthesemethode im Ganzzellsystem wurde von *Brenna et al.* eingeführt, wobei eine kinetische Racematspaltung stattgefunden hat (Schema 29).^[73]

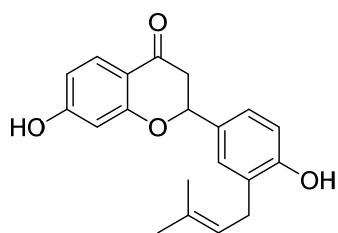


Schema 29: Reaktionsschema zur Darstellung des (*3R,4S*)-Quercuslactons (**1c**) mit Bäcker-Hefe nach *Brenna et al.*^[73]

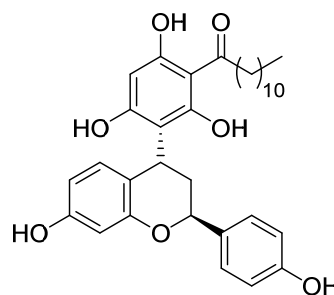
Dabei wurde ebenfalls die racemische 3-Methyl-4-oxocarbonsäure [(*rac*)-**67a**] als Substrat verwendet, welches durch die Bäcker-Hefe zum (*3S,4R*)-Quercuslacton (**1c**) in 38 % Ausbeute überführt wurde. Dabei konnte jeweils ein *ee* und *de* von 99 % erzielt werden. Über den Umsatz und der verantwortlichen ADH wurde auch hierbei nicht berichtet.

3.3 Michael-Addukte 2

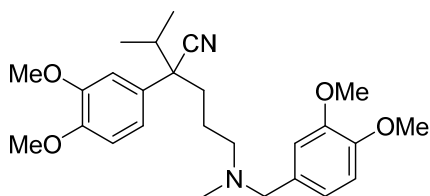
Im Rahmen dieser Arbeit wurden Studien zur Synthese von *Michael*-Addukten **2** durchgeführt, die teilweise auf Chromanone (**100**) basieren und ein quaternäres Stereozentrum enthalten. Sowohl Chromanone (**100**), die das Grundgerüst wie in Abyssinon II (**100a**) und Myristinin A (**100b**) darstellen, als auch Verbindungen wie Verapamil (**101**) und Mastigophoren A (**102**), die kovalent über ein quaternäres Kohlenstoffatom an Aryl-Derivate gebunden sind, stellen wichtige Bausteine zur Synthese von Naturstoffen und Pharmazeutika dar (Abbildung 11). Diese Struktur motive werden daher im Folgenden näher vorgestellt.



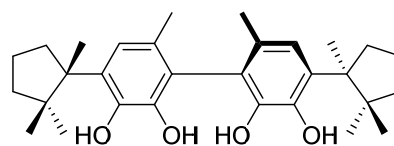
Abyssinon II (**100a**)
(Aromatase-Inhibitor)



Myristinin A (**100b**)
(DNA-Polymerase- β -Inhibitor)



Verapamil (**101**)
(Calcium-Kanal-Inhibitor)



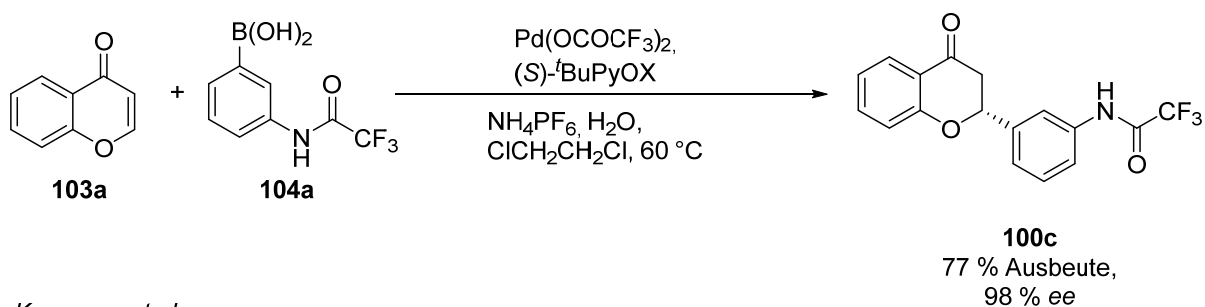
Mastigophoren A (**102**)
(neurotrop)

Abbildung 11: Molekülstrukturen einiger Naturstoffe mit Chromanon- und Arylbausteinen **100–102**.^[115-118]

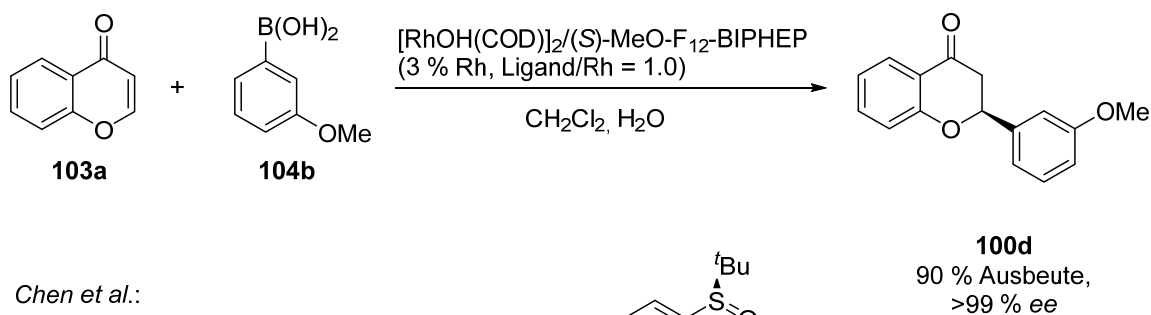
Chromanone (100):

In der Regel werden an 2-Position substituierte Chromanone (**100**) entweder durch eine konjugierte Addition oder durch Reduktion der entsprechenden Chromenone (**103**) hergestellt.^[119] Zur konjugierten Addition werden in der Literatur einige Synthesen vorgestellt. Dabei wird eine intermolekulare 1,4-Addition von Boronsäuren **104** an Chromenon (**103a**) unter Palladium- oder Rhodium-Katalyse durchgeführt. Durch die Wahl von geeigneten chiralen Liganden können die Chromanone (**100**) mit bis zu >99 % *ee* synthetisiert werden (Schema 30).^[120-122]

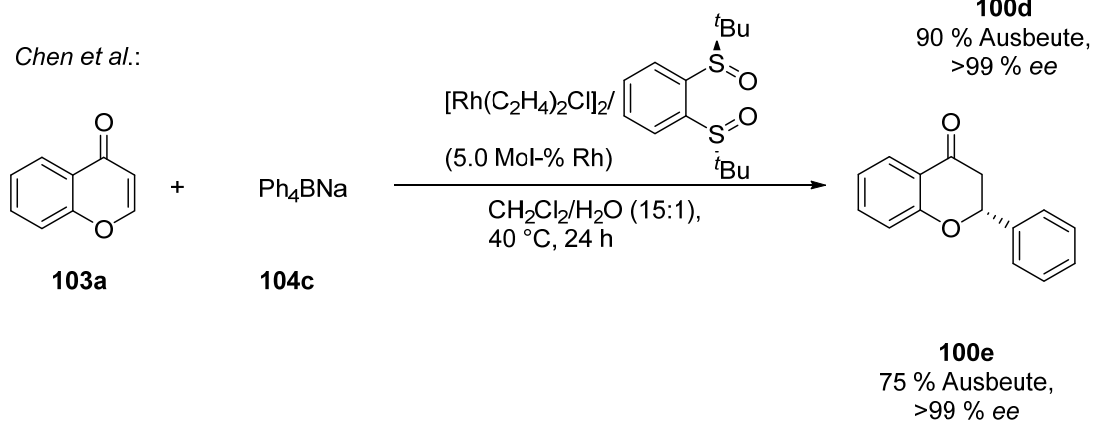
Holder et al.:



Korenaga et al.:

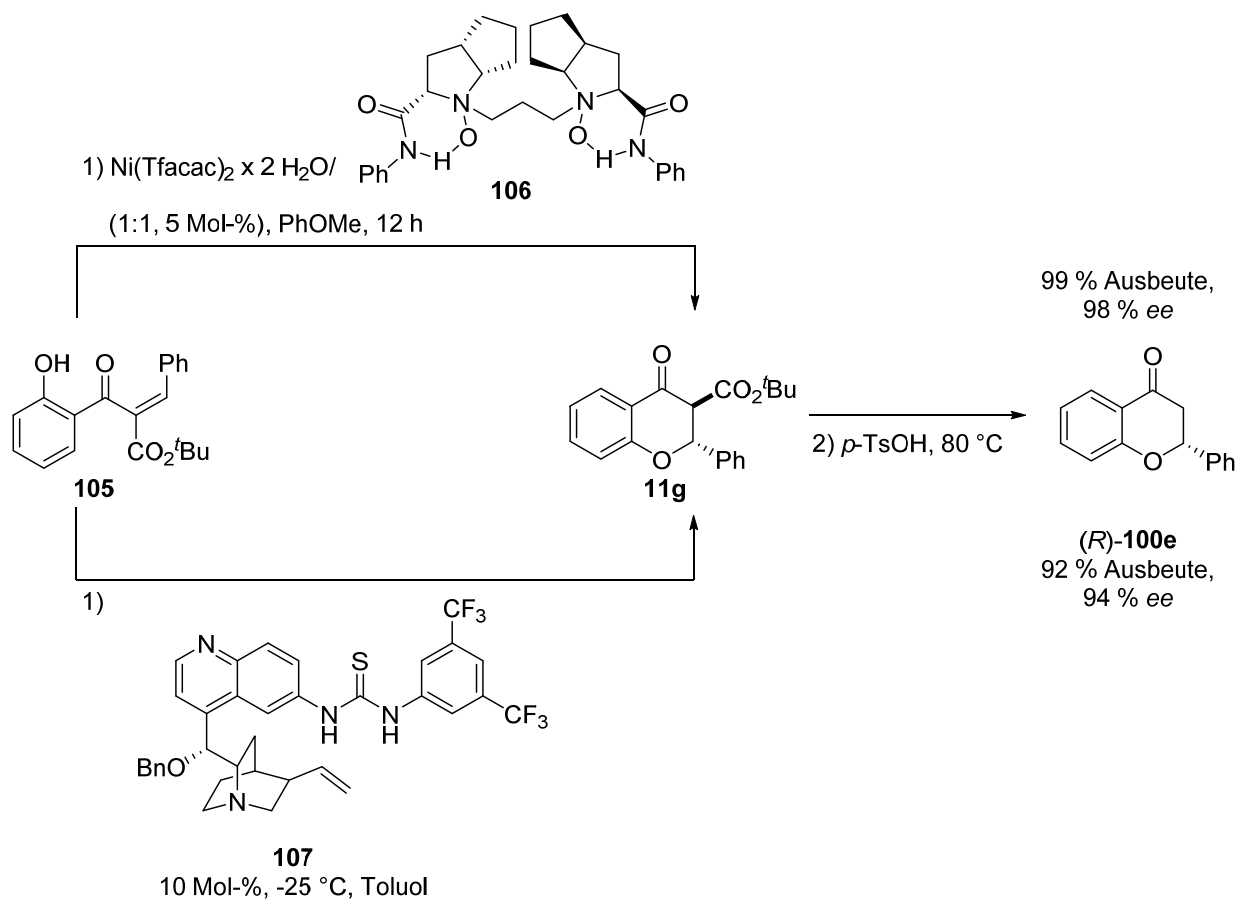


Chen et al.:



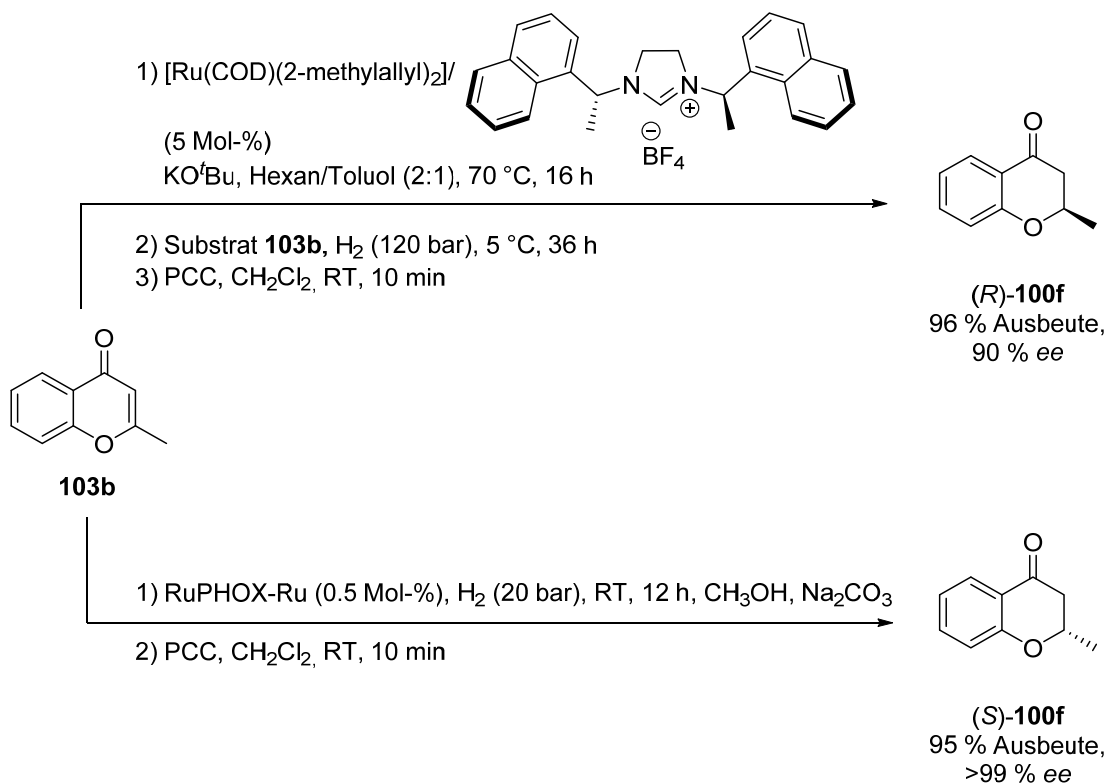
Schema 30: Reaktionsschemen zur Synthese einiger Chromanon-Derivate **100c–e** mittels intermolekularer 1,4-Addition.^[120-122]

Ebenso sind auch intramolekulare 1,4-Additionen möglich. Hierzu werden α -substituierte Chalkone **105** verwendet, die unter Metall- oder Organokatalyse zu den entsprechenden Chromanonen (**100**) reagieren. Während *Wang et al.* durch Nickel(II)-Katalysatoren mit chiralen N,N' -Dioxidliganden **106** Enantioselektivitäten von bis zu 98 % *ee* erreichten, konnten *Biddle et al.* mit chiralen Thioharnstoffkatalysatoren **107** Selektivitäten von bis zu 94 % *ee* erzielen (Schema 31).^[123, 124] Diese Methode hat auch den Vorteil, dass in α -Position eine Esterfunktionalität erhalten bleiben kann, die das Chromanon **11g** als *Michael*-Donor für anschließende Arylierungsreaktionen zugänglich macht.



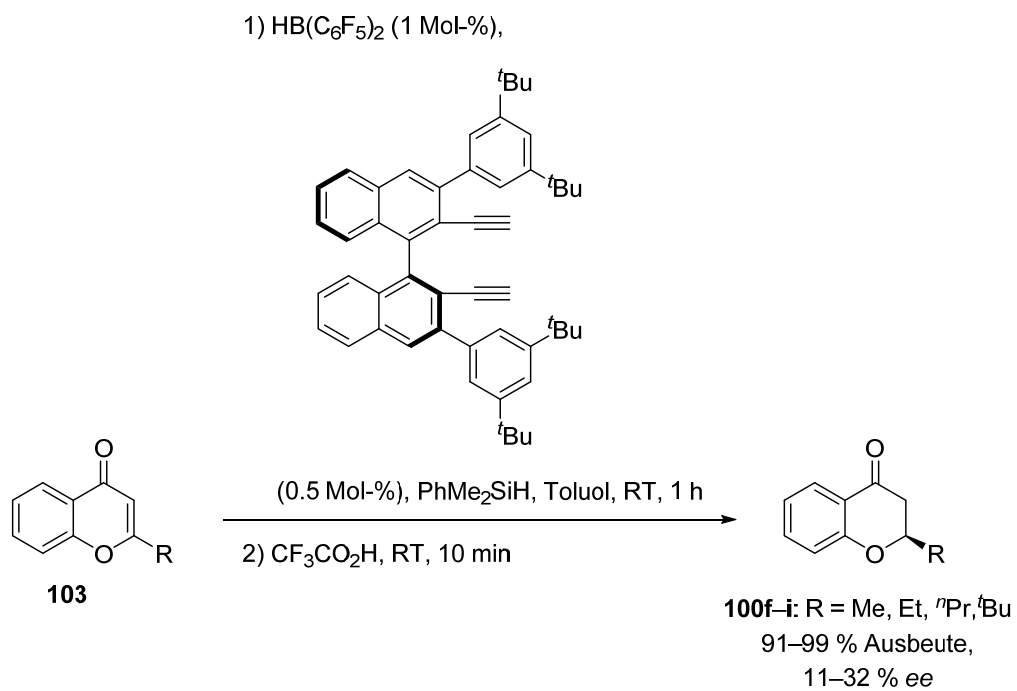
Schema 31: Reaktionsschemata zur Synthese des Chromanon-Derivats **100e** mittels intramolekularer 1,4-Addition.^[123, 124]

Entgegen dieser Synthesemöglichkeiten scheint die selektive Reduktion von Chromenonen **103** schwieriger zu sein. Die asymmetrische Hydrierung geschieht in der Literatur mit Hilfe von Ruthenium-Katalysatoren mit chiralen Liganden (Schema 32).^[125, 126]



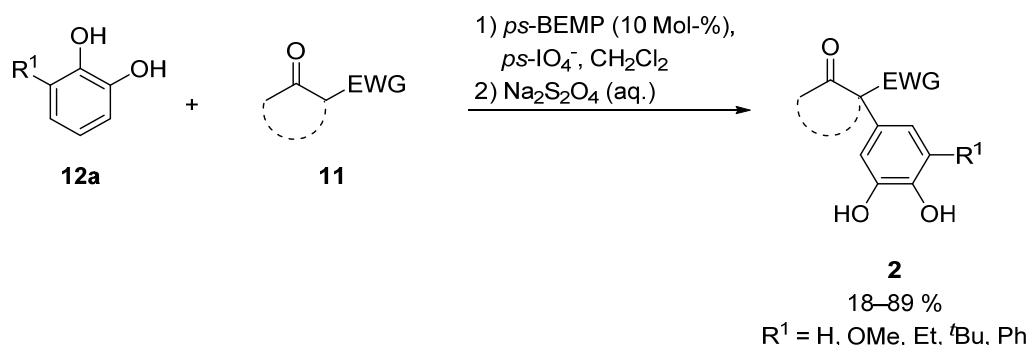
Schema 32: Reaktionsschema zur Synthese des 2-Methylchromanons (**100f**) nach *Zhao et al.* und *Ma et al.*^[125, 126]

Auch wenn hierdurch hohe Enantioselektivitäten von bis zu >99 % *ee* erreicht werden können, kann eine Überreduktion zu den Chromanolen nicht verhindert werden, sodass eine Oxidation der Alkoholfunktionalität, in diesem Fall mit Pyridiniumchlorochromat (PCC), notwendig ist. Dagegen berichten *Ren et al.* die Boran-katalysierte selektive Reduktion der Chromenone **103** in Gegenwart von chiralen Diinliganden, allerdings konnten dabei nur sehr geringe Enantioselektivitäten von 11–32 % *ee* erreicht werden (Schema 33).^[127]

Schema 33: Reaktionsschema zur selektiven Reduktion von Chromenonen (**103**) nach *Ren et al.*^[127]

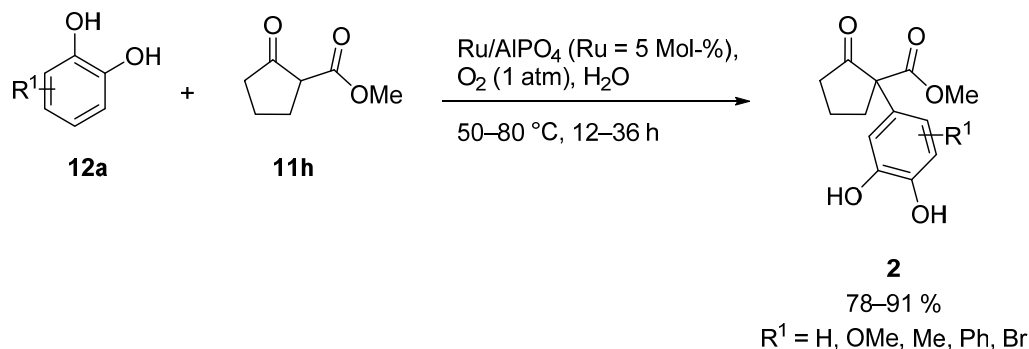
Aryl-Derivate mit quaternären Stereozentren:

α -Arylierte Verbindungen **2** werden durch eine oxidative Kupplung von Catechol-Derivaten **12a** an β -Dicarbonylverbindungen **11** gewonnen. Die Oxidation der Catechol-Derivate **12a** wird von *Bogle et al.* durch Polymer-gebundenes Periodat in stöchiometrischen Mengen durchgeführt (Schema 34).^[128-130] Die Chinone **109** gehen anschließend in Anwesenheit einer ebenfalls Polymer-gebundenen Base eine *Michael*-Addition mit β -Dicarbonylverbindungen **11** ein und das oxidierte Intermediat wird mit Natriumdithionit zu den arylierten *Michael*-Addukten **2** reduziert.



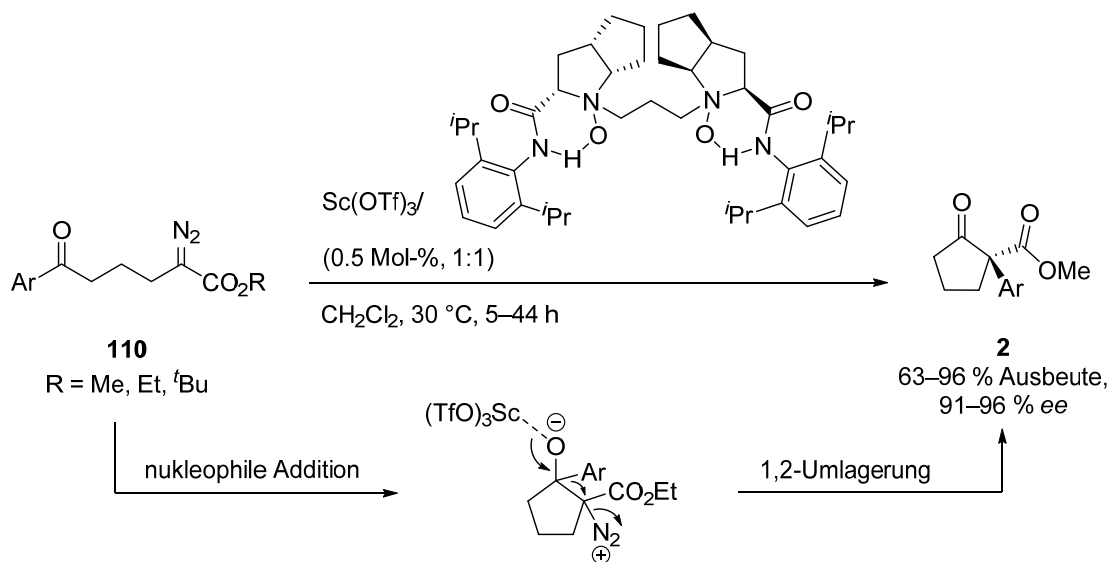
Schema 34: Reaktionsschema zur Synthese einiger *Michael*-Addukte **2** nach *Bogle et al.*^[130]

Im Gegensatz hierzu wurde kürzlich von *Maeno et al.* eine katalytische Variante vorgestellt.^[131] Dabei wird ein Ru/AlPO₄-Katalysator zur Oxidation der Catechol-Derivate **12a** mit molekularem Sauerstoff verwendet (Schema 35). Das Chinon **109** kann anschließend eine *Michael*-Addition mit der β -Dicarbonylverbindung **11h** eingehen.



Schema 35: Reaktionsschema zur Synthese einiger *Michael*-Addukte **2** nach *Maeno et al.*^[131]

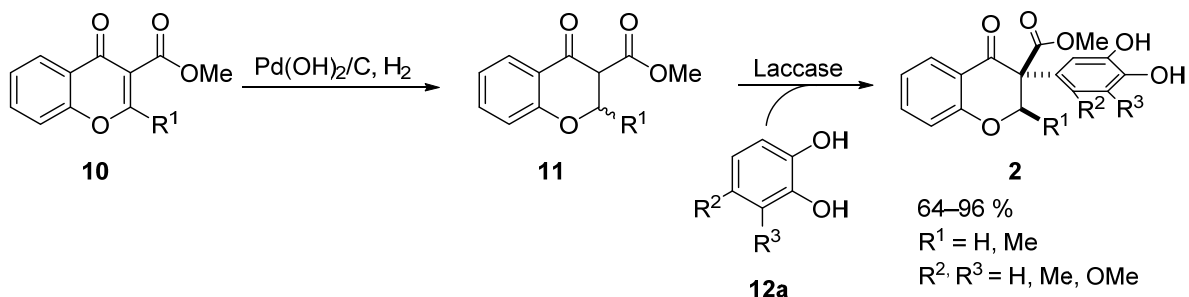
Diese Methoden führen zu einem racemischen Gemisch der *Michael*-Addukte **2**. Eine enantioselektive Synthese von α -arylierten β -Dicarbonylverbindungen **2** konnten *Li et al.* durch eine intramolekulare nukleophile Addition eines Diazosters **110** an eine Ketogruppe mit anschließender 1,2-Umlagerung erreichen (Schema 36).^[132] Die Stereoinformation wurde dabei durch eine *Lewis*-Säure mit chiralem Liganden gewonnen.



Schema 36: Reaktionsschema zur Synthese einiger α -arylierter β -Dicarbonylverbindungen **2** nach *Li et al.*^[132]

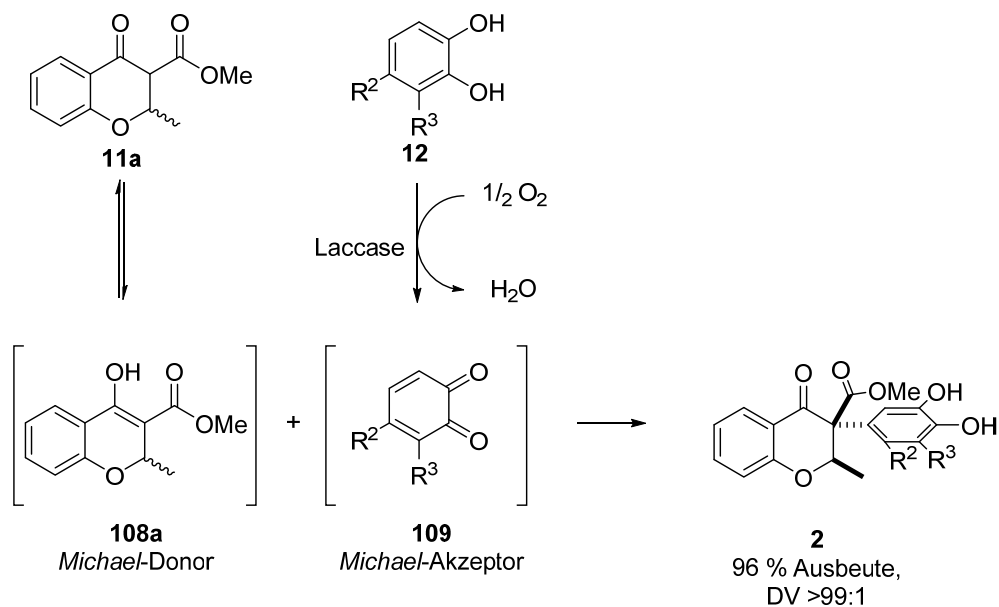
Michael-Addukte 2:

In der Arbeitsgruppe *Pietruszka* wurden die interessanten Verbindungen der Chromanone **10** und der α -arylierten β -Dicarbonylverbindungen **2** kombiniert, sodass α ,(β)-substituierte Chromanon-Derivate **11** mit Catechol-Derivaten **12a** Laccase-vermittelt aryliert wurden (Schema 37).^[1]



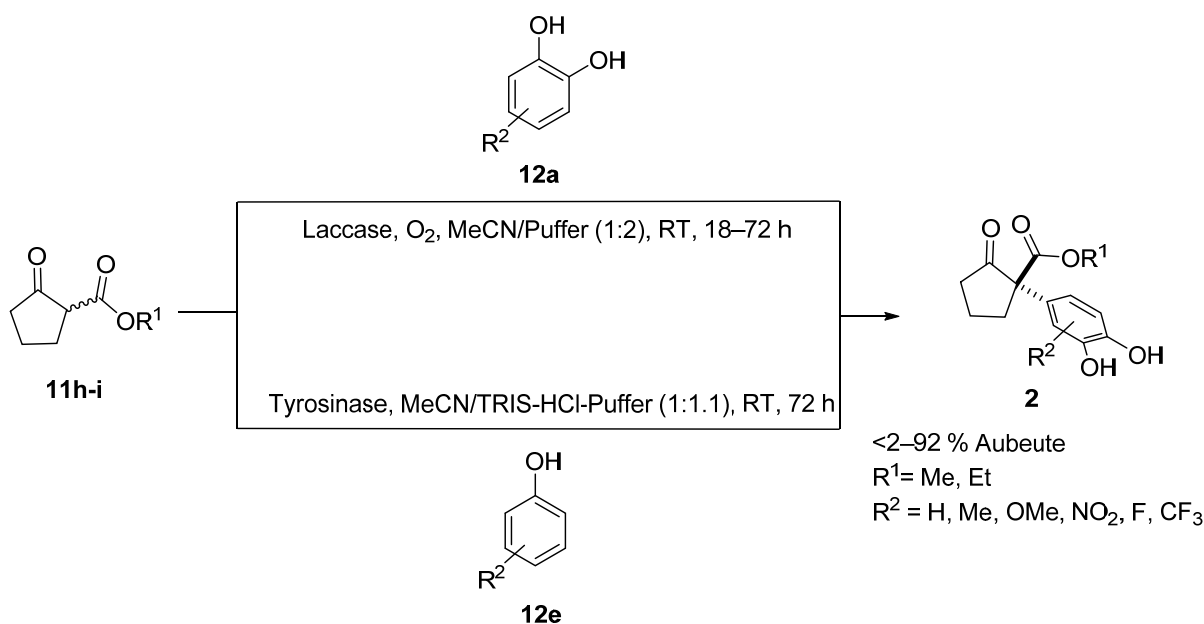
Schema 37: Reaktionsschema zur Laccase-katalysierten Arylierung von Chromanonen **11**.^[1]

Die Chromenone **10a** mit einem Me-Substituenten an β -Position wurden chemisch durch molekularem Wasserstoff unter Palladium-Katalyse reduziert. Das racemische Produkt (*rac*)-**11a** als *Michael*-Donor befindet sich dabei in einer Keto/Enol-Tautomerie und reagiert an der CH-aciden 3-Position mit einem *Michael*-Akzeptor **12**, welches zuvor durch eine Laccase zum Chinon **109** oxidiert wurde (Schema 38).



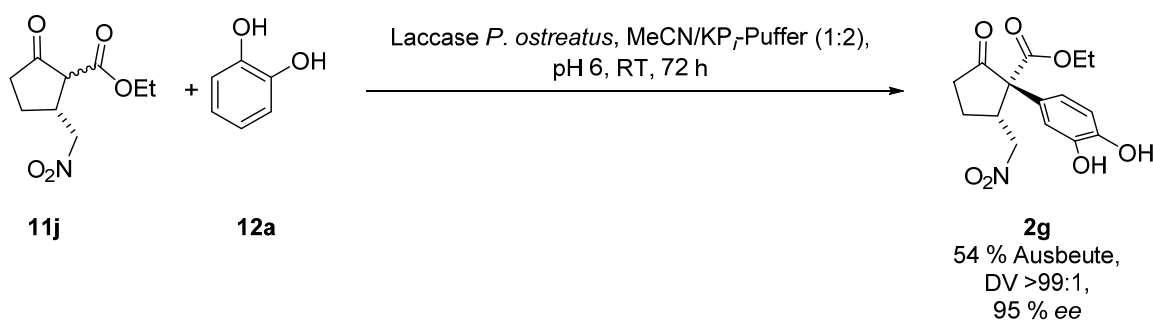
Schema 38: Reaktionsmechanismus zur Laccase-katalysierten Arylierungsreaktion.^[1]

Bei dieser *Michael*-Addition konnte für das Chromanon **11a** eine *trans*-Selektivität (>99:1) beobachtet werden, sodass der Me-Substituent dirigierend für die Selektivität der Arylierungsreaktion ist. Ebenfalls wurden in der Arbeitsgruppe die unsubstituierten β -Ketoester **11h-i** in einer Enzym-katalysierten Arylierungsreaktion eingesetzt.^[1, 133, 134] Neben der herkömmlichen Laccase-vermittelten Reaktion, wurde auch die Tyrosinase aus *Aspergillus oryzae* eingesetzt, wobei die Phenole **12e** zunächst zum Catechol **12a** hydroxyliert und anschließend zum Chinon **109a** oxidiert werden (Schema 39).



Schema 39: Reaktionsschema zur Laccase- bzw. Tyrosinase-katalysierten Arylierung der unsubstituierten β -Ketoester **11h-i**.^[1, 133, 134]

Darüberhinaus wurde nur Verbindung **11j** mit einer Nitroeinheit in enantiomerenangereicherter Form als substituiertes β -Ketoester für die Laccase-katalysierte Arylierungsreaktion mit Catechol **12a** eingesetzt (Schema 40).^[133]



Schema 40: Reaktionsschema zur Laccase-katalysierten Arylierung des Nitro-substituierten β -Ketoesters **11j**.^[133]

Das Substrat **11j** wurde hierbei chemisch durch eine asymmetrische *Michael*-Addition hergestellt. Das *Michael*-Addukt **2g** konnte in moderaten Ausbeuten mit sehr guter Selektivität [Diastereomerenverhältnis (DV) >99:1, 95 % *ee*] isoliert werden.

Im Vergleich zu den chemischen Arylierungsmethoden stellt die Laccase-katalysierte Methode eine milde Variante dar. Denn die Laccase verwendet zur Oxidation phenolischer Verbindungen **12** molekularen Sauerstoff aus der Atmosphäre, sodass hier kein hoher Druck notwendig ist. Je nach Wahl der Laccase kann die Reaktion sogar im basischen Milieu zu Gunsten der *Michael*-Addukte **2** durchgeführt werden. Die Reaktion läuft dabei bei Raumtemperatur (RT) ab und als Nebenprodukt entsteht auch nur Wasser. Außerdem kann durch die hohe Toleranz der Laccasen gegenüber organischen Lösungsmitteln die Löslichkeit der Substrate gewährleistet werden.

3.4 Chemie der Alkene

In dieser Arbeit stellen *Michael*-Verbindungen wichtige Schlüsselbausteine zur Darstellung von Aroma- und Duftstoffen sowie von *Michael*-Addukten **2** dar. Daher werden im Folgenden die Synthesemöglichkeiten und anschließend möglichen Redoxreaktionen dargestellt.

3.4.1 *Michael*-Systeme

Durch elektronenziehende Funktionalitäten aktivierte Alkene werden im Allgemeinen als *Michael*-Systeme bezeichnet. Ein *Michael*-Akzeptor ist beispielsweise eine α,β -ungesättigte Carbonylverbindung **111**, die in Resonanz zum entsprechenden stabilisierten Enolat anion **112** steht (Abbildung 12).

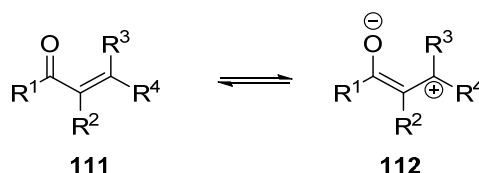


Abbildung 12: Molekülstruktur eines *Michael*-Akzeptors in ihrer Keto- und Enolatform **111**–**112**.

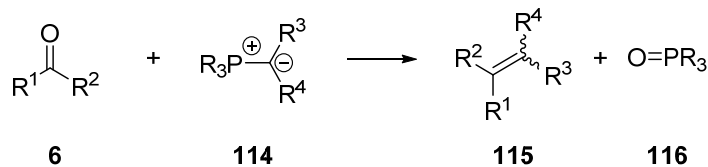
Dadurch ergibt sich z.B. die Möglichkeit einer 1,4-Addition eines Nucleophils (*Michael*-Donor **113**), welches auch als eine *Michael*-Addition bekannt ist. α,β -Ungesättigte Carbonylverbindungen **111** werden aber auch in zahlreichen anderen Reaktionen verwendet, sodass diese wichtige Schlüsselbausteine der organischen Chemie darstellen. Hierbei ist allerdings anzumerken, dass dem *Michael*-Akzeptor **111** und -Donor **113** eine eigene Nummerierung vergeben wurde, um diese nicht mit dem in dieser Arbeit hergestellten *Michael*-Systemen **7** und **10** zu verwechseln.

3.4.2 Darstellung von *Michael*-Verbindungen **111**

Eine der wichtigen Synthesemöglichkeiten zur Darstellung von *Michael*-Verbindungen **111** stellen die *Wittig*- und *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion dar. Diese Reaktionen bringen den Vorteil, dass sie unter relativ milden Reaktionsbedingungen regiospezifisch ablaufen.^[135, 136] Die Phosphor-Ylide **114** und Phosphonsäureester **5** sind einfach herzustellen und tolerant gegenüber anderen funktionellen Gruppen. Darüberhinaus lässt sich die Stereoselektivität der Reaktion in der Regel gut steuern. Im Folgenden werden unterschiedliche Aspekte dieser beiden Namensreaktionen ausführlich diskutiert.

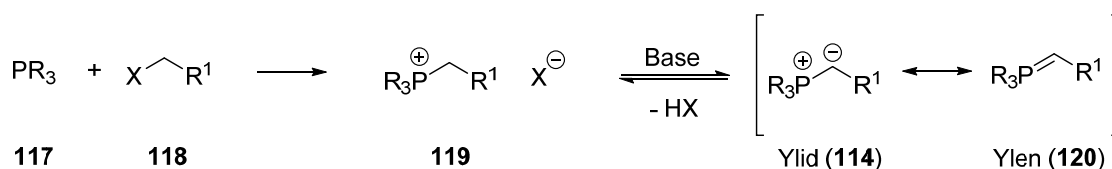
3.4.2.1 Wittig-Reaktion

Bei der *Wittig*-Reaktion reagieren Carbonylverbindungen **6** mit Phosphor-Yliden **114** zu einem Alken **115** und Phosphinoxid **116** (Schema 41).



Schema 41: Allgemeine Reaktionsgleichung einer *Wittig*-Reaktion.

Zur Darstellung der Phosphor-Ylide **114** wird ein tertiäres Phosphan **117** mit einem Halogenalkan **118** zur Reaktion gebracht, wobei ein Phosphoniumsalz **119** entsteht, welches anschließend deprotoniert wird (Schema 42).^[137]

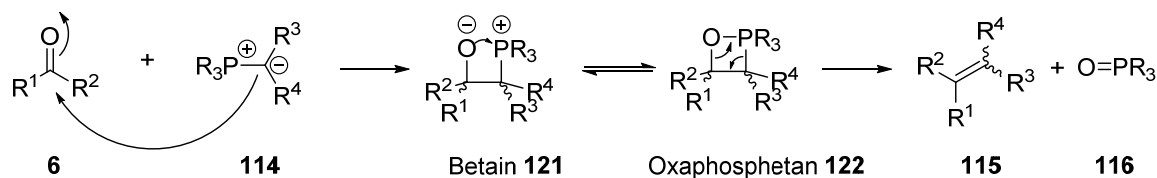


R = Alkyl, Aryl,
R¹ = Alkyl,
X = Halogen

Schema 42: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Phosphor-Yliden **114**.

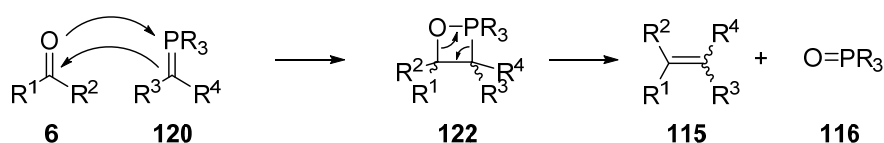
Die Phosphor-Ylide **114** stehen in Resonanz mit den Phosphor-Ylenen **120** und werden in nicht-stabilisierte, semi-stabilisierte und stabilisierte Ylide **114** eingeteilt; die Natur der Ylide **114** hat unter anderem auch einen Einfluss auf die Stereoselektivität der *Wittig*-Reaktion.^[135, 137, 138] Als nicht-stabilisierte Ylide **114** werden diejenigen Verbindungen benannt, die keine Substituenten zur Konjugation der negativen Ladung vorweisen, wie z. B. Alkylgruppen. Mit diesen Yliden **114** werden in der Regel die thermodynamisch weniger stabilen (*Z*)-Alkene [(*Z*)-**115**] gebildet. Die semi-stabilisierten Ylide **114** mit Aryl- oder Allyl-Substituenten weisen eine mäßig starke Konjugation auf. Die Selektivität der *Wittig*-Reaktion kann in diesem Fall nicht vorhergesagt werden. Die stabilisierten Phosphor-Ylide **114** mit elektronenziehenden Substituenten wie z. B. Estern, Nitrilen und Sulfonen, können die negative Ladung am besten stabilisieren und führen zu einer (*E*)-Selektivität.

Zum Mechanismus der *Wittig*-Reaktion werden in der Literatur einige Möglichkeiten vorgeschlagen.^[137] Einer der anerkannten und weit verbreiteten Mechanismen stellt der Betain-Mechanismus dar (Schema 43).



Schema 43: Darstellung des Betain-Mechanismus der *Wittig*-Reaktion.

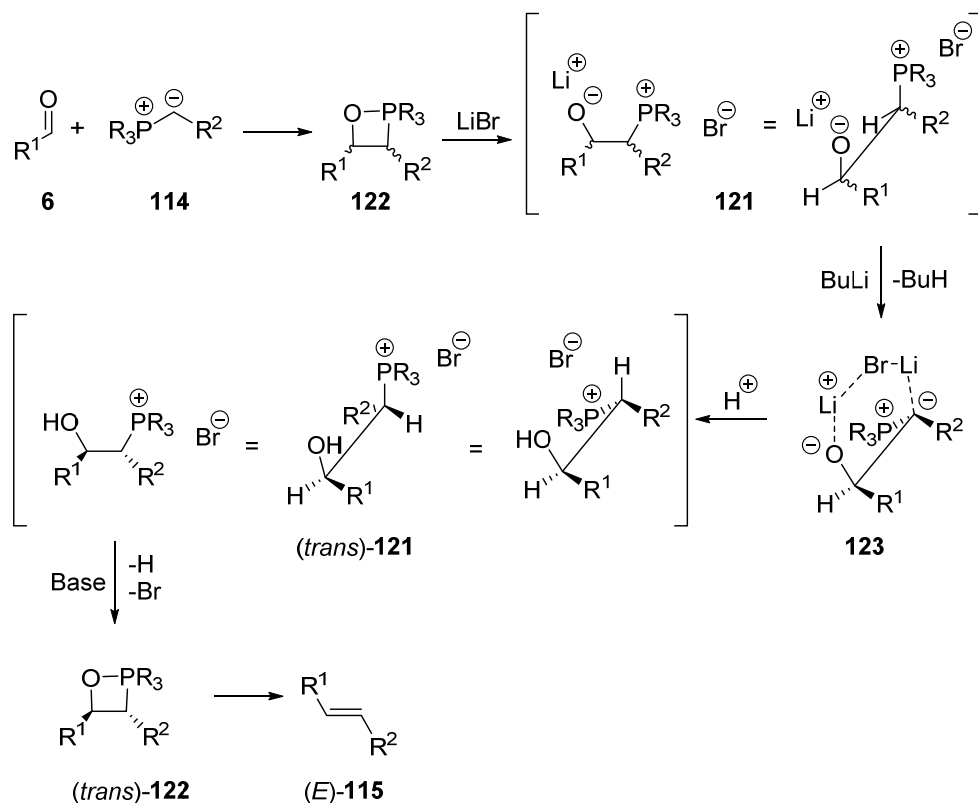
Hierbei greift das Phosphor-Ylid **114** die Carbonylverbindung **6** nukleophil an und bildet somit das Betain **121**. Durch einen Ringschluss entsteht aus dem Betain **121** das Oxaphosphetan **122**, welches irreversibel zum Alken **115** und Phosphinoxid (**116**) zerfällt. Dabei liefert das *cis*-Oxaphosphetan *cis*-**122** das (*Z*)-Alken (*Z*)-**115** und aus das *trans*-Oxaphosphetan *trans*-**122** das entsprechende (*E*)-Alken (*E*)-**115**. Bei diesem Mechanismus ist jedoch die tatsächliche Existenz des Betains **121** umstritten, da keine eindeutigen Nachweisreaktionen vorliegen. Dahingegen wird in der Literatur häufig für die direkte Bildung des Oxaphosphetans **122** argumentiert, welches auch experimentell bei nicht-stabilisierten Phosphor-Yliden **114** nachgewiesen werden konnte.^[139] Außerdem konnte auch für das Oxaphosphetan **122** (7 kcal/mol) eine geringere Aktivierungsenergie berechnet werden als für das Betain **121** (32 kcal/mol), was für die Bildung des Ersteren spricht.^[138] Eine detaillierte Studie zur *Wittig*-Reaktion wurde von *Vedejs* durchgeführt, wobei auf eine irreversible [2+2]-Cycloaddition als Reaktionsmechanismus geschlossen wurde (Schema 44).^[137-144]



Schema 44: Darstellung des [2+2]-Cycloadditions-Mechanismus nach *Vedejs*.^[135]

Die (*E/Z*)-Selektivität der *Wittig*-Reaktion hängt dabei von vielen Faktoren ab. Es wird jedoch festgehalten, dass unter kinetischer Kontrolle bevorzugt *cis*-Oxaphosphetane (*cis*)-**122** und die entsprechenden (*Z*)-Alkene (*Z*)-**115** gebildet werden und unter thermodynamischer Kontrolle die *trans*-Oxaphosphetane (*trans*)-**122** und die resultierenden (*E*)-Alkene (*E*)-**115** überwiegen. Eine Erklärung hierfür ist, dass sich instabile Phosphor-Ylide **114** orthogonal zur Carbonylverbindung **6** mit maximalem Abstand der großen Reste nähern und somit irreversibel die *cis*-Oxaphosphetane (*cis*)-**122** bilden. Unter thermodynamischer Kontrolle ist allerdings die Bildung des Oxaphosphetans **122** reversibel, sodass bevorzugt die *trans*-Oxaphosphetane (*trans*)-**122** mit den großen Resten in *anti*-Stellung gebildet werden.^[145] Zusätzlich zu den zuvor beschriebenen unterschiedlichen Stabilisierungseffekten der Phosphor-Ylide **114** können auch die Substituenten am Phosphor einen Einfluss auf die Selektivität haben. Darüberhinaus spielt auch der sterische und elektronische Anspruch der Carbonylverbindungen **6** eine Rolle. Somit konnte mit Zunahme des sterischen Anspruchs, sowohl am Phosphor-Ylid **114** als auch an der Carbonylverbindung **6**, eine erhöhte (*Z*)-Selektivität beobachtet werden. Dagegen scheint die (*Z*)-Selektivität mit aromatischen oder α,β -ungesättigten Aldehyden abzunehmen.^[137] Ebenso wichtig sind auch Reaktionsbedingungen wie Temperatur, Lösungsmittel und Zusatz von Additiven. In Anwesenheit von Lithiumsalzen wurde eine erhöhte

(*E*)-Selektivität beobachtet, die bislang nicht erklärt werden kann. Es wird vermutet, dass wahrscheinlich die Bildung des LiBr-Betain-Komplexes, welcher zur Carbonylverbindung **6** und zum Phosphoran **114** zurückreagieren und im nächsten Schritt das thermodynamisch bevorzugte *trans*-Oxaphosphetan (*trans*)-**122** bilden kann, an der Selektivitätsverschiebung beteiligt ist.^[135] Es wird auch berichtet, dass *cis*-Oxaphosphetane (*cis*)-**122** schneller eine Retro-Wittig-Reaktion eingehen als *trans*-Oxaphosphetane (*trans*)-**122**, welches die Bildung der (*E*)-Alkene (*E*)-**115** begünstigt.^[137] Dieses Ereignis wird auch gezielt in der *Schlosser*-Variante eingesetzt, um selektiv die (*E*)-Isomere herzustellen (Schema 45).^[146]

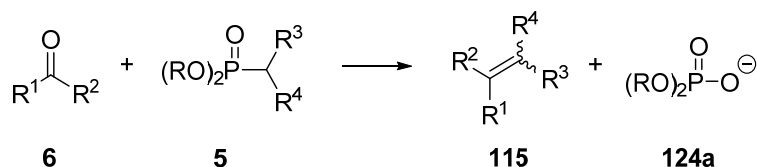


Schema 45: Reaktionsschema der *Schlosser*-Variante der Wittig-Reaktion.

Bei dieser Variante wird durch die Zugabe von Lithiumbromid zum Oxaphosphetan **122** das Betain **121** gebildet. Durch eine anschließende Deprotonierung wird ein Stereozentrum aufgehoben und der LiBr-Betain-Komplex **123** entsteht. Eine Protonierung mit einem sterisch anspruchsvollen Donor liefert bevorzugt das *trans*-Betain (*trans*)-**121**, welches nach Behandlung mit einer Base zum *trans*-Oxaphosphetan (*trans*)-**122** und schließlich zum (*E*)-konfigurierten Alken (*E*)-**115** führt.

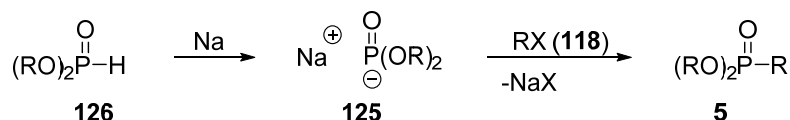
3.4.2.2 Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion

Im Vergleich zur klassischen Wittig-Reaktion werden bei der HWE-Reaktion Phosphonsäureester **5** mit Carbonylverbindungen **6** zur Reaktion gebracht, sodass das Alken **115** und Phosphat **124a** entsteht (Schema 46).



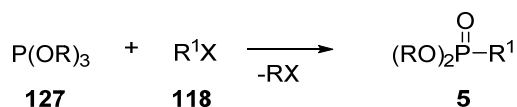
Schema 46: Allgemeines Reaktionsschema zur Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion.

Die Phosphonsäureester **5** können über die Michaelis-Becker- oder Michaelis-Arbuzov-Reaktion gewonnen werden. Bei der Michaelis-Becker-Reaktion wird das Salz **125** des Dialkylphosphits **126** generiert, welches anschließend durch eine Reaktion mit einem Alkylhalogenid **118** den Phosphonsäureester **5** liefert (Schema 47).



Schema 47: Allgemeine Reaktionsgleichung einer Michaelis-Becker-Reaktion.^[147]

Dagegen wird bei der Michaelis-Arbuzov-Reaktion ein Trialkylphosphit **127** eingesetzt, welches das Alkylhalogenid **118** nukleophil angreift. Im nächsten Schritt geht das Phosphit **127** in den Phosphonsäuredialkylester **5** über, indem es ein Alkylrest als Alkylhalogenid **118** freisetzt und eine P=O-Bindung bildet (Schema 48). Dadurch entsteht aus dem trivalenten Phosphor ein pentavalenter Phosphor, welches die Triebkraft der Reaktion bildet.^[148]

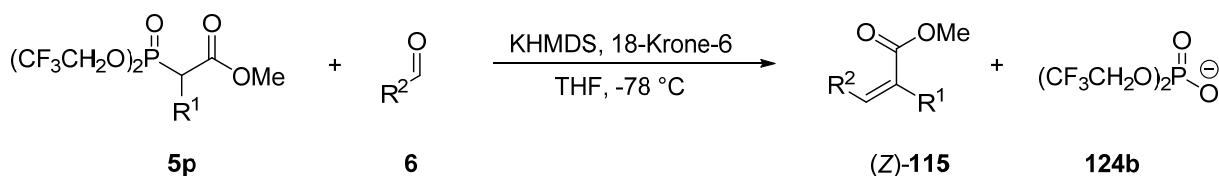


Schema 48: Allgemeine Reaktionsgleichung einer Michaelis-Arbuzov-Reaktion.

Die Phosphonsäureester **5** weisen im Vergleich zu den Phosphor-Yliden **114** einige Vorteile auf.^[147] Zum einen sind die Carbanionen der Phosphonsäureester **5** nukleophiler als die der Phosphonium-Ylide **114**, da die negative Ladung durch die Phosphonsäure weniger gut stabilisiert werden kann als im Phosphoniumsalz. Dies erlaubt die Reaktion mit mehr Carbonylverbindungen **6** unter milderer Bedingungen. Zum anderen wird bei der HWE-Reaktion ein wasserlösliches Phosphat **124a** als Nebenprodukt gebildet, welches durch Extraktion vom Alken **115** getrennt werden kann und somit die Isolierung des Produktes erleichtert.

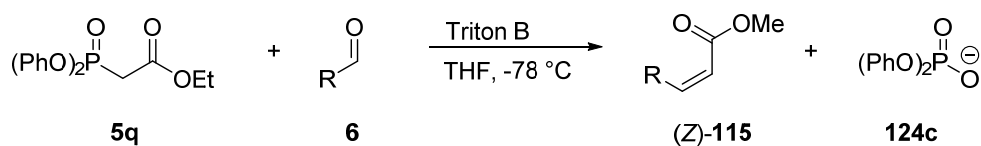
Der Mechanismus der HWE-Reaktion läuft analog zum Mechanismus der Wittig-Reaktion ab, wobei durch eine nukleophile Addition des Phosphonsäureesters **5** an die Carbonylverbindung **6** ein Oxaphosphetan gebildet wird, das schließlich zum Alken **115** und Phosphat **124a** zerfällt. In

der Regel führt die Reaktion zum thermodynamisch stabileren (*E*)-Isomer, jedoch hängt die Selektivität auch hier von den Substraten und den Reaktionsbedingungen ab. *Seyden-Penne* konnte zeigen, dass ein Überschuss an Butyllithium (BuLi) als Base in Tetrahydrofuran (THF) zu einem Li-Phosphonsäureester-Chelat führt, was unter kinetischer Kontrolle die Eliminierung zum (*Z*)-Alken [(*Z*)-**115**] erleichtern würde.^[149] Im Laufe der Zeit wurden auch einige Phosphonsäureester **5** entwickelt, die eine (*Z*)-Selektivität versprechen.^[150] Eine der bekanntesten Varianten stellt die *Still-Gennari*-Reaktion dar (Schema 49).^[151]



Schema 49: Reaktionsgleichung einer *Still-Gennari*-Reaktion.

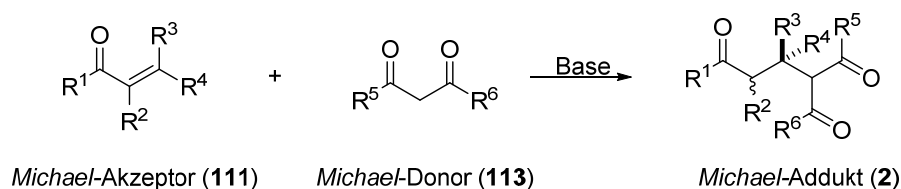
Hierbei werden fluorierte Phosphonsäureester **5p** eingesetzt und in Anwesenheit einer starken Base und Kronenether mit einer Carbonylverbindung **6** zur Reaktion gebracht. Später wurde von *Ando* ein Diphenylphosphonsäureester **5q** vorgestellt, der ebenfalls zu (*Z*)-Alkenen [(*Z*)-**115**] führt (Schema 50).^[152] Bei dieser Variante wird auf den hygroskopischen und relativ teuren Kronenether verzichtet und das günstigere Triton B als Base verwendet.



Schema 50: Reaktionsgleichung zur *HWE*-Reaktion nach *Ando*.^[152]

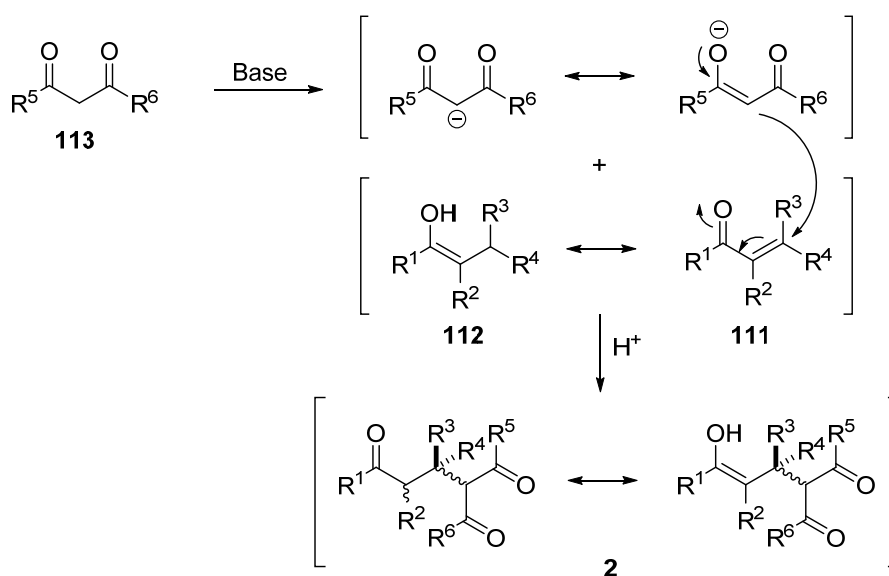
3.4.3 Michael-Addition

Bei einer *Michael*-Addition handelt es sich um eine 1,4-Addition eines Nucleophils (*Michael*-Donor **113**) an eine α,β -ungesättigte Carbonylverbindung (*Michael*-Akzeptor **111**) unter basischen Bedingungen (Schema 51).^[153,154]



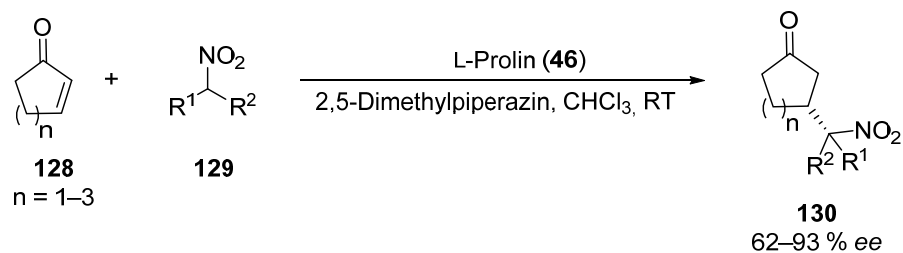
Schema 51: Allgemeine Reaktionsgleichung einer *Michael*-Addition.

Mechanistisch betrachtet wird dabei die azideste α -Position des Donors **113** deprotoniert, sodass dieser nukleophil an das elektrophile C_β -Atom des Akzeptors **111** addieren kann. Durch Keto/Enol-Tautomerie resultiert das *Michael*-Addukt **2**, welches bis zu zwei neue Stereozentren enthalten kann (Schema 52).



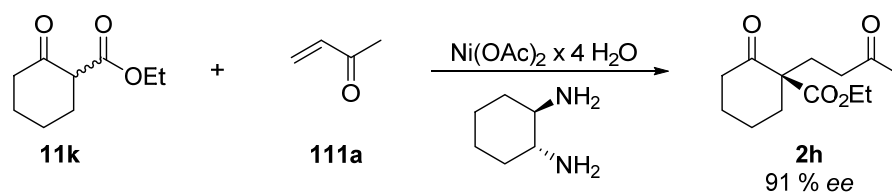
Schema 52: Darstellung des Reaktionsmechanismus einer *Michael*-Addition.

Die Stereoselektivität der *Michael*-Addition kann durch einige Faktoren beeinflusst werden.^[155, 156] Zum einen kann durch die Verwendung von chiralen Donoren **113** und/oder Akzeptoren **111** auf die Konfiguration des Produktes **2** eingewirkt werden, zum anderen kommen aber auch chirale Katalysatoren zum Einsatz, die organischer oder organometallischer Herkunft sein können. *Hanessian* und *Pham* konnten beispielsweise unter L-Prolin-Katalyse verschiedene Nitro-Verbindungen **128** an Cycloalkanone **129** addieren und dabei Enantioselektivitäten von 62–93 % *ee* für die Produkte **130** erreichen (Schema 53).^[157]



Schema 53: Reaktionsschema zur *Michael*-Addition nach *Hanessian* und *Pham*.^[157]

Desweiteren konnte *Christoffers et al.* mit Hilfe eines Metaldiamin-Komplexes als chiralen Katalysator eine *Michael*-Addition mit Methylvinylketon **111a** und einem cyclischen β -Ketoester **11k** durchführen, wobei für das *Michael*-Addukt **2h** sehr gute Enantioselektivitäten von 91 % ee erreicht wurden (Schema 54).^[158]

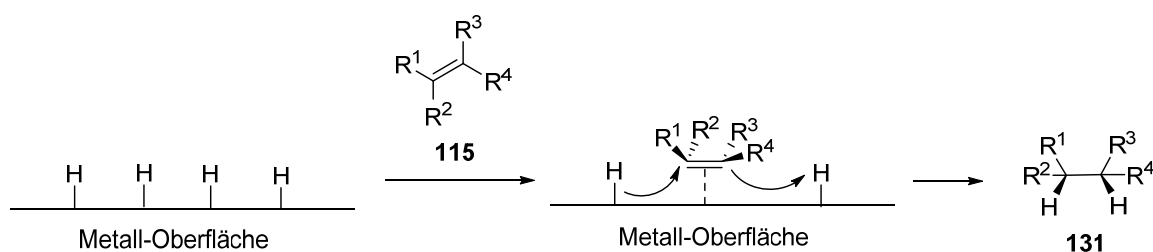


Schema 54: Reaktionsschema der *Michael*-Addition nach *Christoffers et al.*^[158]

3.4.4 Redoxreaktionen an Alkenen und Carbonylgruppen

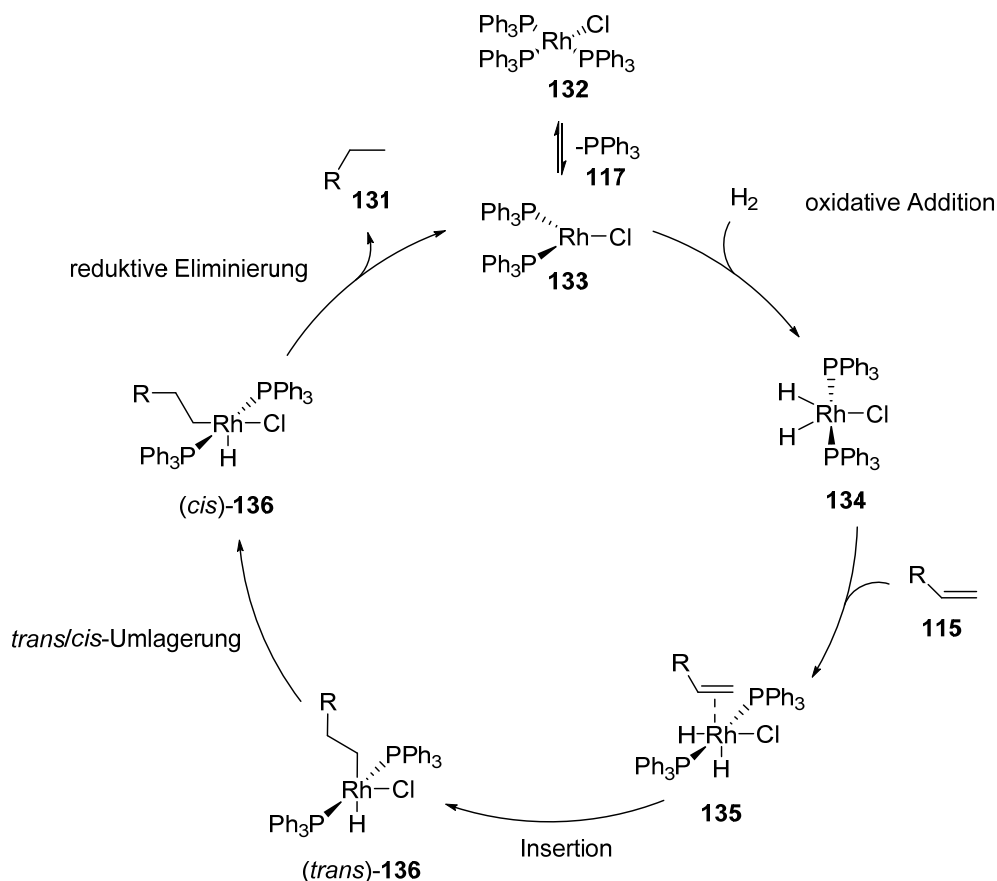
3.4.4.1 Chemische Reduktion von Alkenen (115)

Die Reduktion von Alkenen (**115**) geschieht katalytisch unter Verwendung von Übergangsmetallen wie Pt, Pd, Rh, Ru und Ni.^[159] Dabei wird heterogene und homogene Katalyse unterschieden. Bei der heterogenen Katalyse werden die Metalle als Feststoff, meist auf Kohle adsorbiert, in der Reaktion eingesetzt und bilden somit ein Zweiphasen-System, während bei der homogenen Katalyse die Metalle durch die Koordination von Liganden löslich in organischen Lösungsmitteln sind. Mechanistisch betrachtet findet eine Chemisorption von molekularem Wasserstoff auf der Oberfläche des Metallkatalysators statt. Ebenso wird auch das Alken (**115**) vom Metall adsorbiert, sodass formal ein Wasserstoff-Molekül auf das Alken (**115**) übertragen wird und somit ein Alkan **131** entsteht (Schema 55). Anzumerken ist, dass neben dem polaren Mechanismus auch der homolytische Mechanismus existiert.



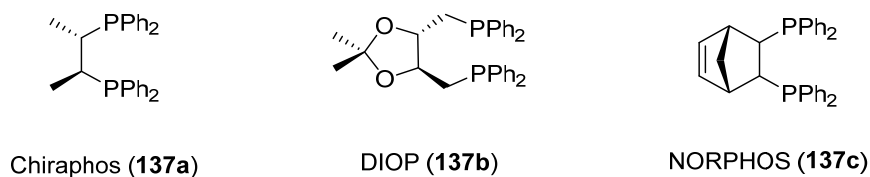
Schema 55: Darstellung des polaren Reaktionsmechanismus einer Alken-Reduktion unter heterogener Katalyse.

Die Addition von Wasserstoff erfolgt dabei in der Regel *syn*-ständig. Die Selektivität hängt zum einen von der Sterik des Alkens **115** ab, sodass eine Adsorption an den Katalysator durch die weniger sterisch gehinderte Seite erfolgt. Zum anderen können aber auch polare funktionelle Gruppen eine Rolle spielen, die auch je nach Polarität des gewählten Lösungsmittels eine bevorzugte Orientierung einnehmen. Auch bei homogener Katalyse wird eine Selektivität beobachtet. Einen der bekanntesten homogenen Katalysatoren stellt der *Wilkinson*-Katalysator [**132**, (Ph₃P)₃RhCl] dar.^[160, 161] Die Reduktion interner Doppelbindungen verläuft mit diesem Katalysator langsamer, sodass bevorzugt terminale Doppelbindungen reduziert werden. Ebenso werden (*Z*)-Alkene (*Z*)-**115** schneller reduziert als (*E*)-Alkene (*E*)-**115**. Außerdem bleiben andere funktionelle Gruppen dabei unberührt. Der Katalysezyklus beginnt hierbei mit einer Abspaltung eines Phosphanliganden **117** gefolgt von einer oxidativen Addition von molekularem Wasserstoff an Verbindung **133** (Schema 56). Die Oxidationsstufe des Rhodiums erhöht sich dadurch von +I auf +III. Nachdem das Alken **115** vom Katalysator **134** koordiniert wurde, sodass das Intermediat **135** entsteht, wird dieses unter Hydrierung insertiert und eine Umlagerung des *trans*-Intermediats (*trans*)-**136** zum *cis*-Intermediat (*cis*)-**136** findet statt. Die irreversible, reduktive Eliminierung führt unter Regenerierung des *Wilkinson*-Katalysators (**132**) schließlich zum Alkan **131**.



Schema 56: Reaktionsmechanismus der Alken-Reduktion mit Hilfe des *Wilkinson*-Katalysators (**132**).

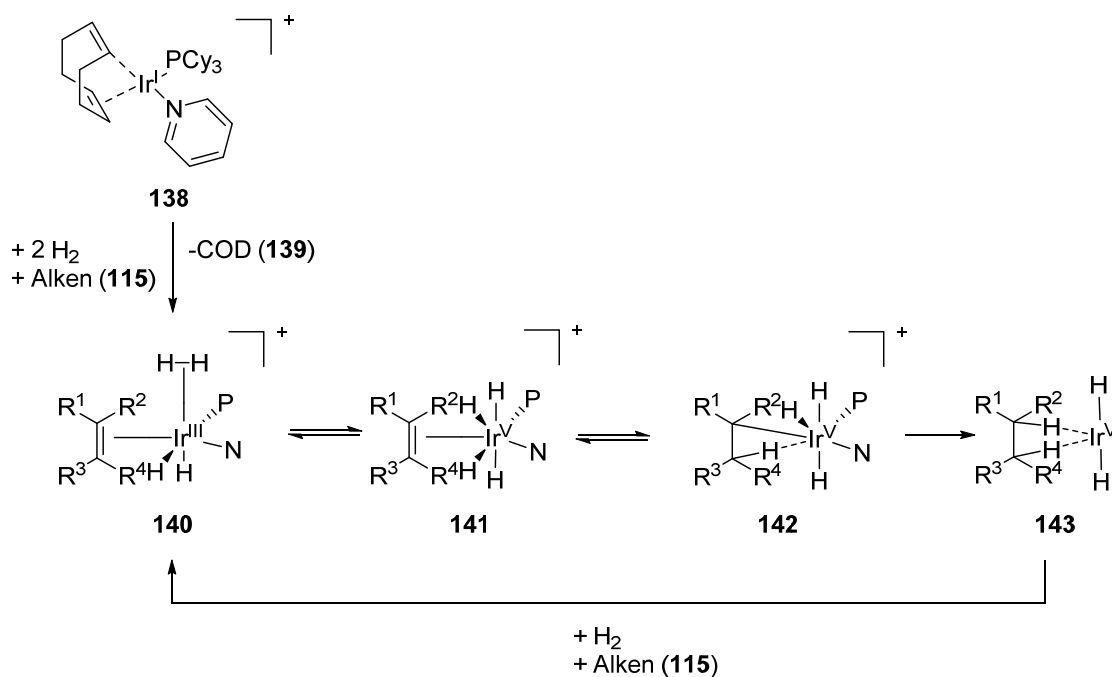
Durch die Verwendung von chiralen Liganden kann hierbei die Stereoselektivität beeinflusst werden. Die meist verwendeten Liganden stellen die optisch aktiven Diphosphan-Liganden **137** dar (Schema 57).



Schema 57: Molekülstrukturen einiger chiraler Diphosphan-Liganden **137a-c**.

Die asymmetrische katalytische Hydrierung ist hier jedoch erfolgreicher, wenn das Substrat **115** eine polare, koordinierende funktionelle Gruppe beinhaltet, die mit dem chiralen Katalysator interagieren; das Substrat **115** ist so stärker an den Katalysator gebunden und die durch den Liganden **137** induzierte Selektivität wird leichter übertragen, dadurch kann auch die Reduktion von internen Doppelbindungen möglich werden.

Einen weiteren Katalysator zur asymmetrischen Hydrierung von Alkenen (**115**) stellt der *Crabtree*-Katalysator (**138**) dar.^[162-164] Hierbei handelt es sich um kationische Iridium-Katalysatoren gewöhnlich mit *N,P*-Liganden; es sind aber auch *N*-Carben-Liganden vorhanden. Im Gegensatz zum *Wilkinson*-Katalysator (**132**) sind mit dem *Crabtree*-Katalysator (**138**) die Reduktion von mehrfach substituierten Alkenen (**115**) möglich, die auch keine koordinierende funktionelle Gruppe beinhalten. Dieser Unterschied lässt sich anhand des Mechanismus erklären, welcher durch Dichtefunktionaltheorem-Rechnungen (DFT) und kinetischen Untersuchungen validiert wurde (Schema 58).^[162, 163]

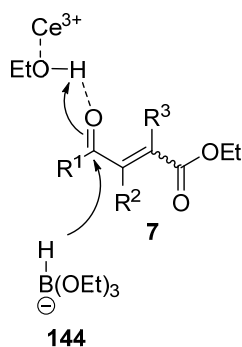


Schema 58: Reaktionsmechanismus einer Alken-Reduktion mit Hilfe des *Crabtree*-Katalysators (**138**).

Nach Freisetzung des 1,5-Cyclooctadien-Liganden (**139**, COD) und der Komplexierung des Alkens (**115**) werden in diesem Fall zwei Wasserstoffmoleküle oxidativ addiert (Intermediat **140**). Hierdurch wird das Iridium sukzessiv oxidiert: von +I (Katalysator **138**) über +III (Intermediat **140**) auf +V (Intermediat **141**). Anschließend wird auch hier formal ein Wasserstoffmolekül auf das Alken (**115**) übertragen und der Katalysezyklus kann erneut beginnen (Intermediate **142** und **143**). Aufgrund der hohen Oxidationsstufe des Ir^V im Vergleich zu Rh^{III} ist der *Crabtree*-Katalysator (**138**) elektrophiler. Dies wird auch durch die durchgängige positive Ladung des Metalls verstärkt. Außerdem ist das siebenfach koordinierte Iridium mit vier kleinen Wasserstoffatomen (Intermediat **141**) sterisch weniger gehindert als das entsprechende Intermediat **135** beim *Wilkinson*-Katalysator (**132**).^[162]

3.4.4.2 Chemische Reduktion von Carbonylgruppen (6)

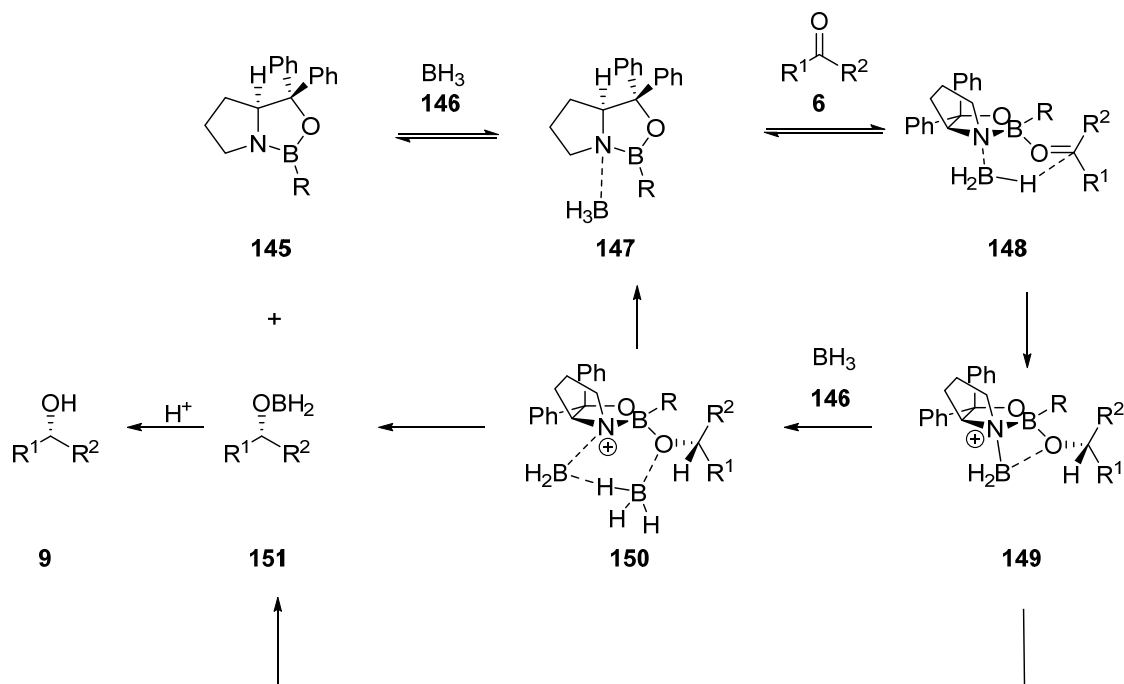
Die chemische Reduktion von Carbonylgruppen **6** geschieht in der Regel durch einen Hydridtransfer. Die gängigen Reduktionsmittel hierfür stellen Natriumborhydrid und Lithiumaluminiumhydrid dar.^[159] Mit Natriumborhydrid als mildere Variante lassen sich Aldehyde und Ketone reduzieren. Dagegen ist Lithiumaluminiumhydrid aufgrund der erhöhten *Lewis*-Azidität ein stärkeres Reduktionsmittel und kann dementsprechend auch zur Reduktion von z.B. Estern und Säuren verwendet werden. Je nach Carbonylverbindung **6** besteht hier allerdings die Gefahr einer Überreduktion. So kann es vorkommen, dass Ester zunächst zur Carbonsäure und anschließend zu Alkoholen reduziert werden. Die selektive Reduktion von *Michael*-Systemen **111** kann ebenso problematisch werden. Denn hierbei besteht zusätzlich zur Carbonylreduktion (1,2-Reduktion) auch die Möglichkeit einer 1,4-Reduktion, sodass α,β -ungesättigte Carbonylverbindungen **7** bzw. **10** zu gesättigten Alkoholen **9** reduziert werden können. Eine Methode, um die Alkenreduktion zu verhindern, stellt die *Luche*-Reduktion dar.^[165] Bei der *Luche*-Reduktion bildet sich aus dem Natriumborhydrid und dem Alkohol als Lösungsmittel das Alkoxyborhydrid (**144**), welches durch die erhöhte Härte entsprechend des HSAB-Prinzips (*hard and soft acids and bases*) das reaktivere Reduktionsmittel darstellt.^[166] Das Cer-Ion fungiert dabei als eine harte *Lewis*-Säure und erhöht durch Koordinierung die Acidität des Lösungsmittels. Außerdem wird durch die Koordinierung des Lösungsmittels an der Carbonylgruppe des Substrats **7** der nukleophile Angriff des Hydrids begünstigt. Durch die Erhöhung der Härte der Carbonylgruppe ist somit eine selektive 1,2-Reduktion in Gegenwart von Doppelbindungen und Estern möglich (Schema 59).



Schema 59: Reaktionsmechanismus der *Luche*-Reduktion.

Die Enantioselektivität der Carbonylreduktion hängt dabei vom sterischen Anspruch sowohl der Carbonylverbindung als auch des Reduktionsmittels ab. Ebenfalls können polare funktionelle Gruppen durch die Koordinierung mit dem Metallion einen dirigierenden Effekt haben. Um gezielt ein Stereoisomer zu erzeugen, können asymmetrische Reduktionsverfahren angewendet werden. Eine Möglichkeit hierzu bietet die CBS-Reduktion. Dabei wird ein Oxazaborolidin-Ligand **145**, welcher von Prolin (**46**) abgeleitet ist, verwendet.^[167-169] Der chirale Ligand **145** koordiniert sowohl das Boran (**146**) als auch das Substrat **6** (Intermediate **147–150**). Durch diese

Aktivierung und die räumliche Nähe der beiden Reaktanden erfolgt die stereoselektive CBS-Reduktion (Schema 60).^[170]

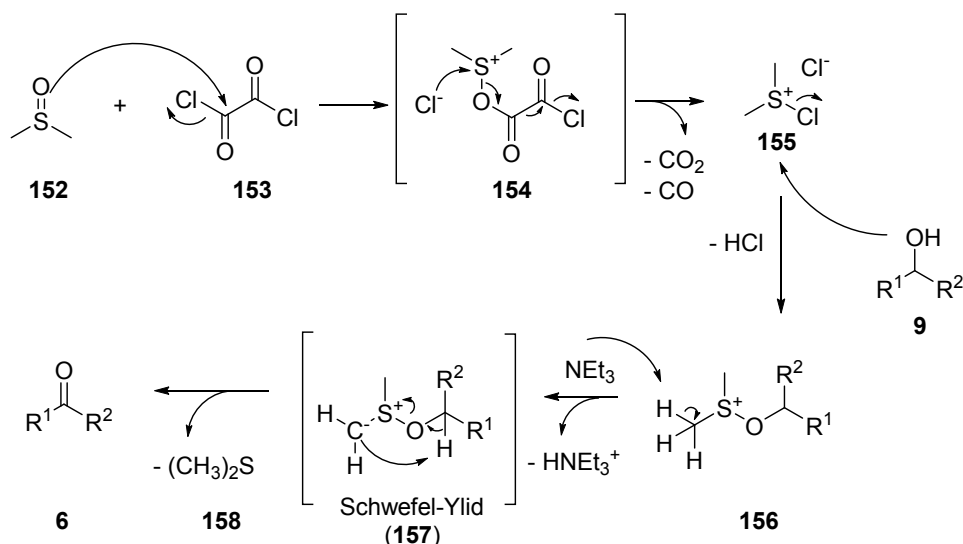


Schema 60: Reaktionsmechanismus einer CBS-Reduktion.

Außerdem wird auch die *Lewis*-Azidität des endocyclischen Boratoms erhöht, sodass dieses im nächsten Schritt dann das Substrat **6** von der sterisch weniger gehinderten Seite des Katalysator-Komplexes koordinieren kann (Intermediat **148**). Eine Hydridübertragung vom Boran (**146**) an die Carbonylverbindung **6** führt letztendlich zur Reduktion des Substrats **6**. Die Freisetzung des Produktes als Borinat (**151**) und Regenerierung des Katalysators **147** kann auf zwei verschiedene Arten und Weisen geschehen: Zum einen kann die Bindung des Substrates **6** an das endocyclische Boratom aufgehoben werden, indem die Bindung an die freie Borverbindung verstärkt wird, zum anderen kann ein weiterer Boran (**146**) durch den Katalysator **149** gebunden werden, sodass das Intermediat **150** dann das reduzierte Substrat **151** verdrängt und den Katalysator-Komplex **147** regeneriert. Das Borinat (**151**) kann anschließend unter sauren Bedingungen zum Alkohol **9** hydrolysiert werden.

3.4.4.3 Chemische Oxidation von Alkoholen **9**

Da in dieser Arbeit Oxidationen von Alkoholen **9** zur Darstellung von Reaktionspartnern durchgeführt wurden, werden an dieser Stelle diese Oxidationsreaktionen näher erläutert. Eine beliebte Methode zur Oxidation von Alkoholen **9** stellt die *Swern*-Oxidation dar. Die Oxidation von primären und sekundären Alkoholen **9** geschieht dabei durch aktiviertes Dimethylsulfoxid (**152**, DMSO). Die Aktivierung wird in der Regel mit Oxalylchlorid (**153**) durchgeführt.^[171, 172] Der Mechanismus der *Swern*-Oxidation ist in Schema 61 dargestellt.



Schema 61: Reaktionsmechanismus der *Swern*-Oxidation.^[171, 172]

Durch die nukleophile Substitution des Chlors durch Dimethylsulfoxid (**152**) entsteht das Intermediat **154**, welches unter Abspaltung von Kohlenstoffdioxid und -monoxid zum Chlordimethylsulfoniumion (**155**) zerfällt. Diese elektrophile Verbindung **155** wird durch den Alkohol **9** angegriffen. Die anschließende Deprotonierung der Methylgruppe der Verbindung **156** führt zu einem Schwefel-Ylid **157** als Intermediat, welches unter Umlagerung das oxidierte Produkt **6** und Dimethylsulfid **158** freisetzt. Ein Vorteil dieser Oxidationsmethode ist, dass eine Überoxidation von primären Alkoholen **9** zu Carbonsäuren nicht stattfindet. Eine mögliche Nebenreaktion, die bei Temperaturerwärmung ablaufen kann, wäre die Bildung des Methylthiomethylethers (**159**).^[172] Dieses Nebenprodukt **159** kommt durch eine unerwünschte Umlagerung des Schwefel-Ylids **157**, der sogenannten *Pummerer*-Umlagerung, zu Stande (Schema 62). Zur Vermeidung dieser Nebenreaktion sollte die Reaktionstemperatur nicht über -60°C steigen.

3.5 Oxidoreduktasen

Die biokatalytischen Umsetzungen dieser Arbeit wurden mit folgenden Oxidoreduktasen (ER, ADH, Laccase) durchgeführt, die an dieser Stelle näher vorgestellt werden. Des Weiteren werden auch die möglichen Cofaktorregenerierungsmethoden erläutert.

3.5.1 Enreduktasen

Enreduktasen kommen weit verbreitet in der Natur vor und sind vor allem in Bakterien, Pilzen und Pflanzen vorhanden. Aber auch in Archaeen und anderen Eukaryoten sind sie vertreten.^[175] Die meisten Vertreter der Enreduktasen gehören zur *old yellow enzyme* (Oye)-Familie. Dabei können die Enzyme als Monomer, Dimer oder Tetramer vorliegen und haben eine Triosephosphatisomerase (TIM)-*barrel* Struktur, bestehend aus acht β -Faltblättern, die durch acht α -Helices umgeben sind (Abbildung 13).^[176-178] Die Verknüpfung der β -Faltblätter mit den α -Helices geschieht durch *loop*-Regionen, die sich bei den Enreduktasen unterscheiden und somit die Form der Substratbindetasche vorgeben.

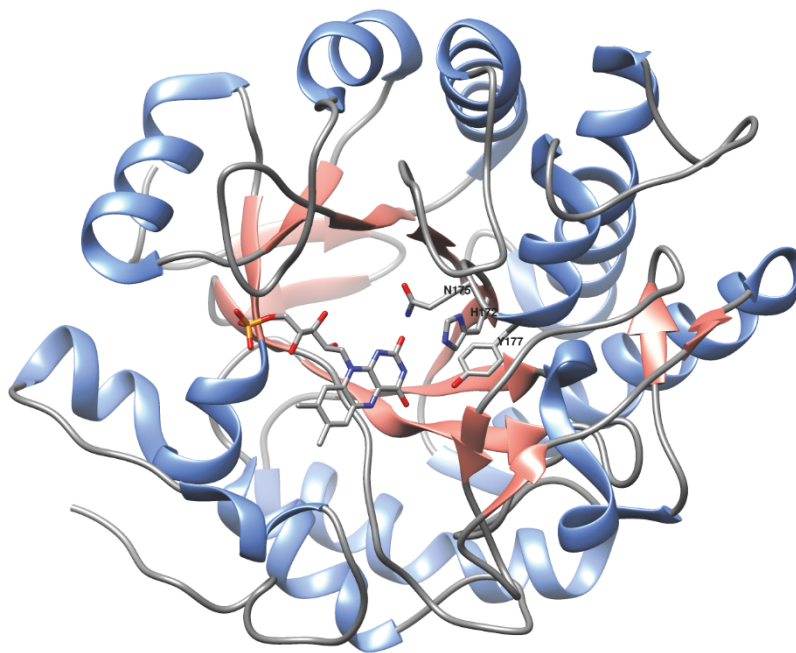
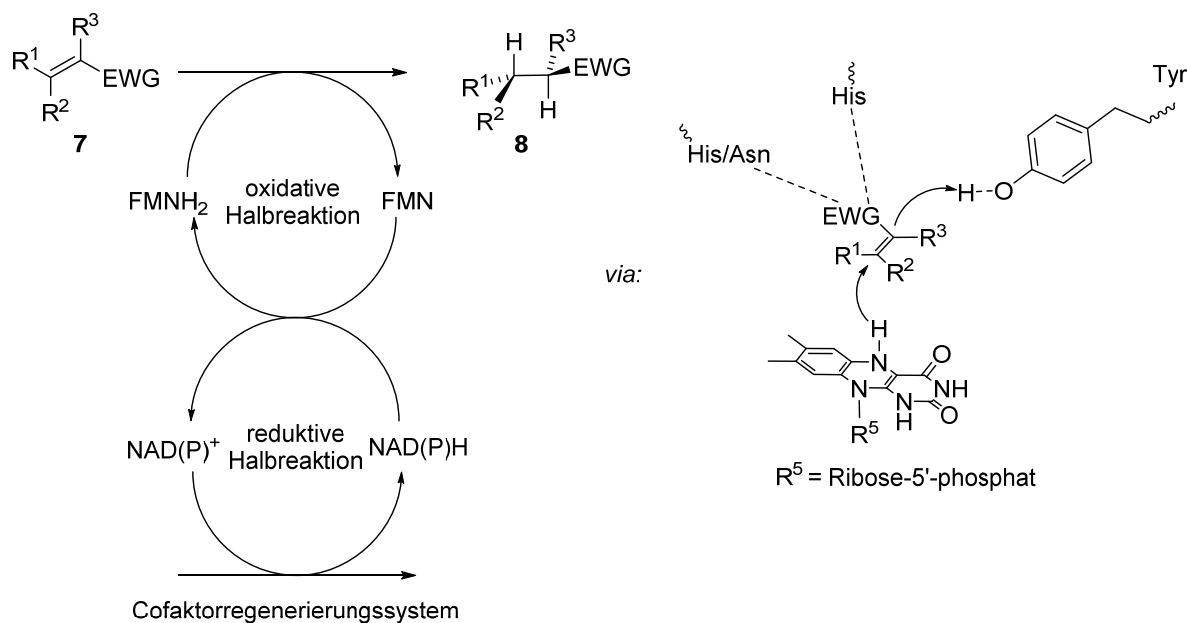


Abbildung 13: Monomerstruktur der Nikotinamid-abhängigen 2-Cyclohexen-1-on-Reduktase aus *Zymomonas mobilis* (Ncr_{ZM}, PDB: 4A3U).

Am C-Terminus des β -*barrel*'s ist ein Flavinmononukleotid (FMN) nicht-kovalent gebunden. Die *si*-Seite des Isoalloxazinringes vom FMN ist dabei zur Ligand-Bindungstasche gewandt, wo sowohl das Substrat als auch der Cofaktor Zugang finden.^[179, 180] Enreduktasen können je nach Enzym Nikotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH) oder Nikotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) als Cofaktor akzeptieren. Das Substratspektrum dieser Enzyme ist recht breit gefächert, wobei aktivierte Doppelbindungen reduziert werden.^[181] Somit werden α,β -ungesättigte Carbonylverbindungen **7** wie Ketone oder Aldehyde am effizientesten **62**

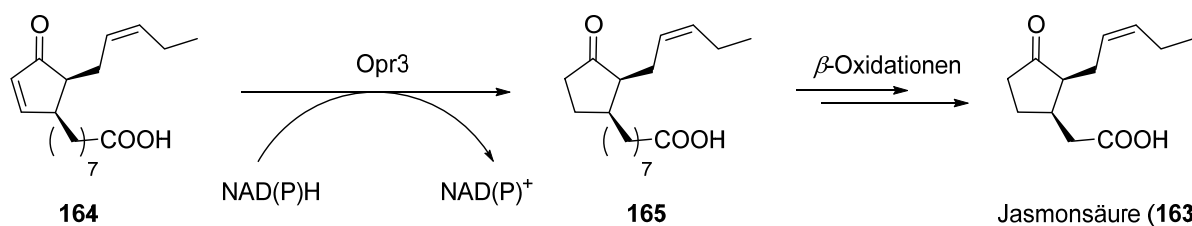
umgesetzt. Carbonsäuren, Ester oder Nitrile sind aufgrund ihrer geringeren Aktivität weniger gut geeignet. Im aktiven Zentrum werden die Substrate **7** durch zwei konservierte Histidine oder ein His/Asn-Paar über Wasserstoffbrückenbindungen mit der elektronenziehenden Gruppe koordiniert (Schema 64).^[176, 182, 183] Somit ist das Substrat **7** mit der C_β-Position über das N-5-Atom des FMN ausgerichtet; eine Orientierung, die wichtig für die katalytische Reaktion ist. Die Reaktion verläuft über ein ping-pong bi-bi-Mechanismus, welche in die reduktive und oxidative Halbreaktion unterteilt wird.



Schema 64: Reaktionsschema und Mechanismus zur Reduktion von aktivierten Alkenen **7** mit Enoreduktasen.

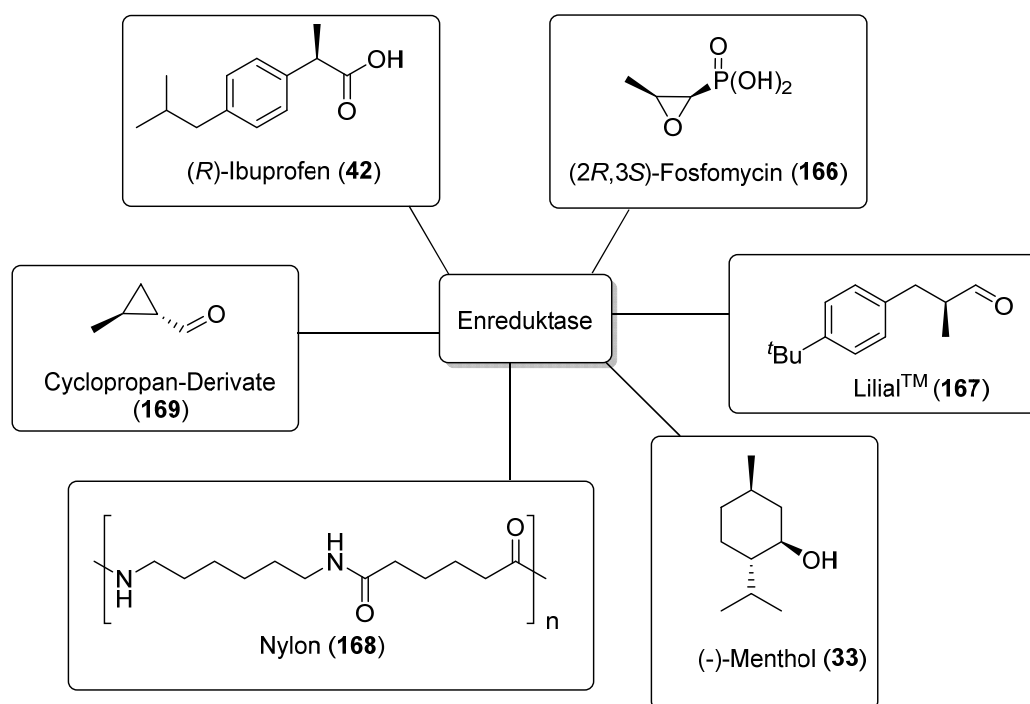
Bei der reduktiven Halbreaktion wird das FMN von NAD(P)H reduziert. Die beiden Moleküle koordinieren dabei nicht nur über eine π - π -Wechselwirkung miteinander, sondern auch die Aminosäuren His und His/Asn tragen zur Bindung bei.^[176, 183, 184] Bei der oxidativen Halbreaktion wird ein Hydrid vom N-5 des reduzierten FMNH₂ auf das C_β-Atom des Substrates **7** übertragen, sodass das C_α-Atom von der gegenüberliegenden Seite ein Proton von einem konservierten Tyrosin aufnehmen kann. Somit geschieht die Reduktion des Substrates **7** *trans*-ständig mit einer absoluten Stereospezifität, sodass bis zu zwei definierte Stereozentren aufgebaut werden können.^[175, 185] Die Enantioselektivität hängt dabei von der Orientierung des Substrates **7** im aktiven Zentrum, sowie von der (*E/Z*)-Konfiguration ab. Weitere Funktionalitäten des Substrates **7** werden jedoch dabei nicht beeinflusst, sodass hier auch von einer sehr guten Regio- und Chemospezifität gesprochen werden kann. Auch wenn der Reaktionsmechanismus sehr gut bekannt ist, konnte die physiologische Rolle vieler Enoreduktasen bisher nicht aufgeklärt werden. Jedoch wird eine Beteiligung gegen den oxidativen Stress vermutet.^[175, 186] Es konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Nitroverbindungen wie Trinitrotoluol durch Enoreduktasen reduziert werden können.^[187] Aber auch erhöhte Mengen an Wasserstoffperoxid führten zur Überexpression von Enoreduktasen.^[186] Dagegen konnte bei der pflanzlichen 12-Oxophytodiensäure-Reduktase 3 aus *Lycopersicon esculentum* (Opr3) die Mitwirkung bei der

Biosynthese von Jasmonsäure (**163**) gefunden werden, wobei das Intermediat 12-Oxophytodiensäure (**164**) zu Verbindung **165** reduziert wird (Schema 65).^[188, 189]



Schema 65: Reaktionsschema zur Reduktion der 12-Oxophytodiensäure (**164**) durch Opr3 bei der Biosynthese der Jasmonsäure (**163**).

Dennoch bieten Enreduktasen sehr gute Möglichkeiten an, um chirale Verbindungen herzustellen (Schema 66).

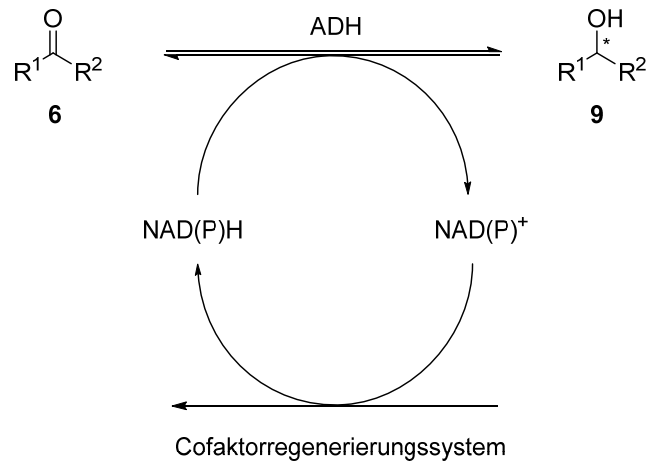


Schema 66: Molekülstrukturen einiger Verbindungen, die Enreduktase-katalysiert hergestellt werden können.

So konnten mit Hilfe von Enreduktasen pharmazeutisch aktive Verbindungen wie z.B. Profen-Derivate **42** und Fosfomycin (**166**) oder verschiedene Duftstoffe wie z.B. Lilial™ (**167**) oder (-)-Menthol (**33**) synthetisiert werden.^[181, 190-197] Darüber hinaus können Enreduktasen Verbindungen als Polymervorstufen für z.B. Nylon (**168**) liefern.^[198, 199] Vor kurzem wurde aber auch über die Bildung von Cyclopropanen **169** berichtet.^[200]

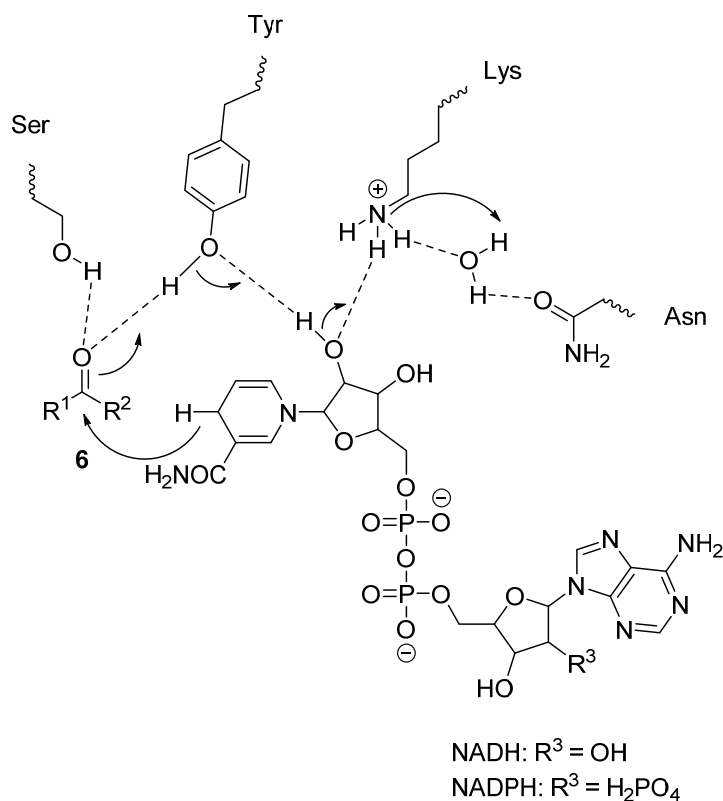
3.5.2 Alkoholdehydrogenasen

Alkoholdehydrogenasen sind in verschiedenen Organismen wie Mikroorganismen, Pflanzen und Säugetieren vertreten und katalysieren im Allgemeinen die Oxidation von primären und sekundären Alkoholen **9** bzw. die Reduktion von Aldehyden und Ketonen **6**, weshalb sie auch des Öfteren als Kettoreduktasen bezeichnet werden (Schema 67).



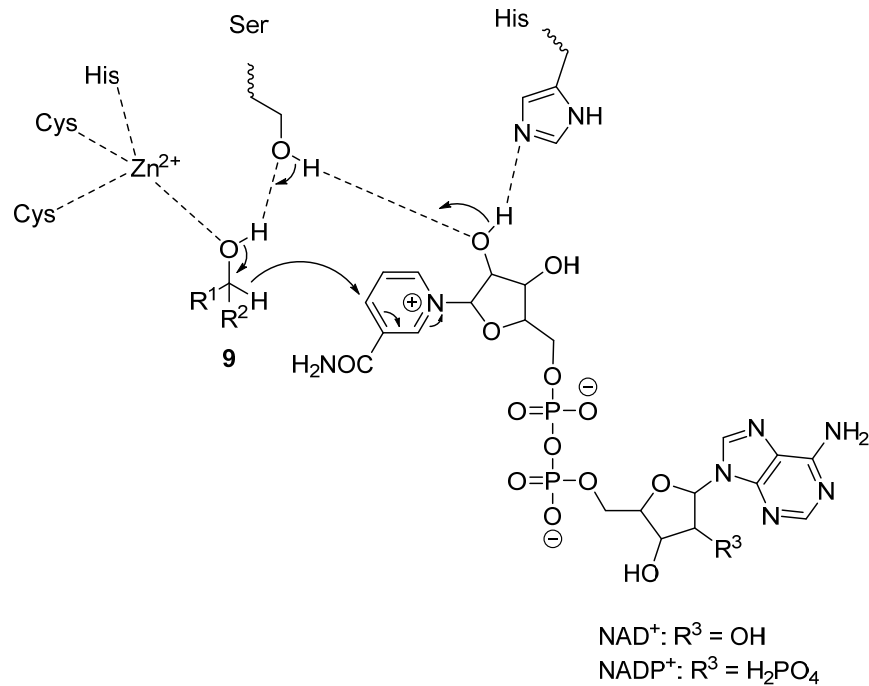
Schema 67: Reaktionsschema zur Redoxreaktion mit ADHs.

Dabei können die Enzyme sowohl NADH- als auch NADPH-abhängig sein. Unabhängig vom Cofaktor werden ADHs in die drei Hauptklassen *short-chain* Dehydrogenase/Reduktase (SDR), *medium-chain* Dehydrogenase/Reduktase (MDR) und Aldokettoreduktase (AKR) unterteilt.^[201, 202] Die ADHs der SDR-Familie bestehen aus ca. 250 Aminosäuren und kommen als Dimer oder Tetramer vor. Strukturell besitzen sie eine *Rossmann*-Falte und eine katalytische Tetrade aus Asn, Ser, Tyr und Lys. Die *Rossmann*-Falte zeichnet sich in der Regel durch sechs parallele β -Faltblätter aus, die über α -Helices miteinander verbunden sind und ist für die Bindung des Cofaktors zuständig (Abbildung 15).^[203, 204] Der Katalysemechanismus ist in Schema 68 gezeigt.^[205-207] Während einer Reduktion wird das Substrat **6** im aktiven Zentrum durch Wasserstoffbrückenbindungen zum Ser stabilisiert. Das NAD(P)H , welches ebenfalls durch Lys und Tyr über Wasserstoffbrückenbindungen gebunden wird, liefert das Hydrid. Das Proton wird dabei durch Tyr geliefert, welches somit als eine katalytische Säure fungiert. Durch die Koordination der Aminosäuren Tyr und Lys mit NAD(P)^+ kommt es letztendlich zu einer Protonen-Übertragung von einem Wassermolekül, welches durch Asn koordiniert wird, erst über Lys auf NAD(P)^+ und dann auf Tyr.



Schema 68: Reaktionsmechanismus einer Carbonyl-Reduktion mit einer ADH der SDR-Familie.

Die ADHs der MDR-Familie sind dagegen mit ca. 350 Aminosäuren etwas größer. Auch sie besitzen eine *Rossmann*-Falte und können als ein Monomer bis Tetramer vorkommen. Dabei bestehen diese ADHs aus einer katalytischen Domäne und einer Coenzym-Binde-Domäne.^[201] Zusätzlich können sie von zweiwertigen Metallionen, meistens Zn^{II} , abhängig sein, wobei das Metallion entweder zur strukturellen Stabilität oder zum Katalysemechanismus beiträgt.^[208, 209] Dabei ist anzumerken, dass das katalytische Metallion eher bei ADHs wiederzufinden ist, die NAD^+ bevorzugen und somit die Oxidation von Alkoholen **9** katalysieren. Das Zn^{II} -Ion, welches im aktiven Zentrum über zwei Cys und ein His gebunden ist, koordiniert an die Alkoholfunktionalität des Substrats **9** (Schema 69).^[206] Die Hydroxygruppe eines Ser oder eines dissoziierten Wassers sorgt für die Deprotonierung des Substrates **9**. Dies führt zu einem Hydridtransfer auf NAD^+ , welches ebenfalls über das Ser und ein His koordiniert wird.



Schema 69: Reaktionsmechanismus einer Alkohol-Oxidation mit einer ADH der MDR-Familie.

Die ADHs der AKR-Familie mit ca. 325 Aminosäuren kommen als Monomere vor und besitzen eine *TIM-barrel*-Struktur anstelle einer *Rossmann-Falte*.^[201] Die katalytische Eigenschaft wird durch Tyr, Lys, Asp und His gewährleistet. Wie beim Mechanismus der SDR dient Tyr als Protonen-Donor. Lys und Asp senken dabei durch Koordinierung den pK_s -Wert des Tyrosins. Dem His wird eine Stabilisierung der strukturellen Anordnung im aktiven Zentrum zugesprochen.^[210] Das Substratspektrum der ADHs ist sehr breit gefächert, wobei sie in der Regel einen großen (R_g) und einen kleinen Substituenten (R_k) in Nachbarschaft zur Carbonylgruppe haben.^[201, 211] Die Enantioselektivität der Reduktion wird nach *Prelog* bestimmt, wobei das aktive Zentrum einer ADH aus einer großen und einer kleinen Tasche besteht und somit die Orientierung des Substrates **6** vorgibt.^[212-214] Demnach führt, unter der Annahme das R_g eine höhere *Cahn-Ingold-Prelog* (CIP)-Priorität besitzt als R_k , ein *re*-facialer Hydrid-Angriff auf das Substrat **6** in der Regel zum (*S*)-Enantiomer [(*S*)-**9**] und ein *si*-facialer Angriff zum (*R*)-Enantiomer [(*R*)-**9**] (Abbildung 14).

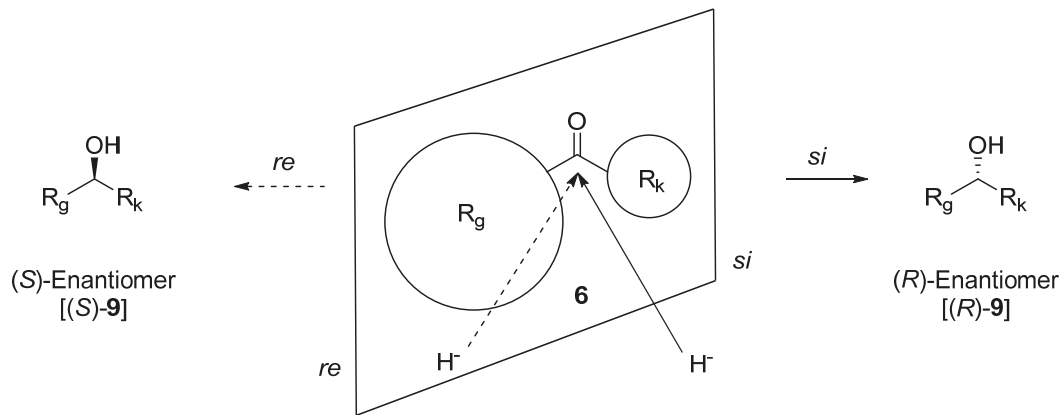


Abbildung 14: Darstellung der Enantioselektivität von ADHs nach *Prelog*. Die *Prelog*-Regel gilt unter der Annahme, dass R_g eine höhere CIP-Priorität besitzt als R_k .

Dennoch ist auch eine Umsetzung von Substraten **6** mit zwei großen Substituenten möglich. Hierzu bietet sich beispielsweise die ADH aus *Ralstonia sp.* an, die als ein Tetramer vorliegt und zur SDR-Familie gezählt wird (Abbildung 15).^[215-220] Hier tragen zweiwertige Metallionen zur strukturellen Stabilität des Enzyms bei. Desweiteren konnte beobachtet werden, dass die ADH-R aufgrund von Interaktionen zwischen Arginin-Seitenketten und Phosphat NADPH als Cofaktor bevorzugt.

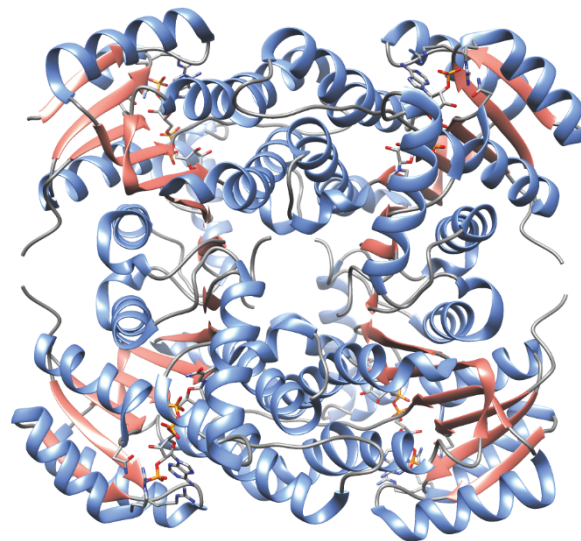
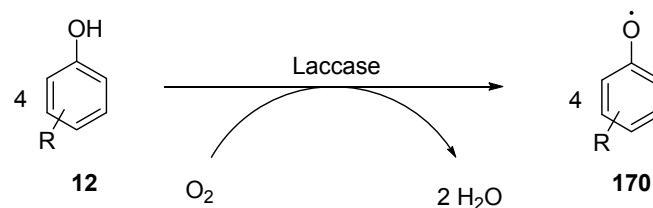


Abbildung 15: Tetramerstruktur von ADH-R (PDB: 4I5E). Die *Rossmann*-Falte ist hierbei in rosa dargestellt.

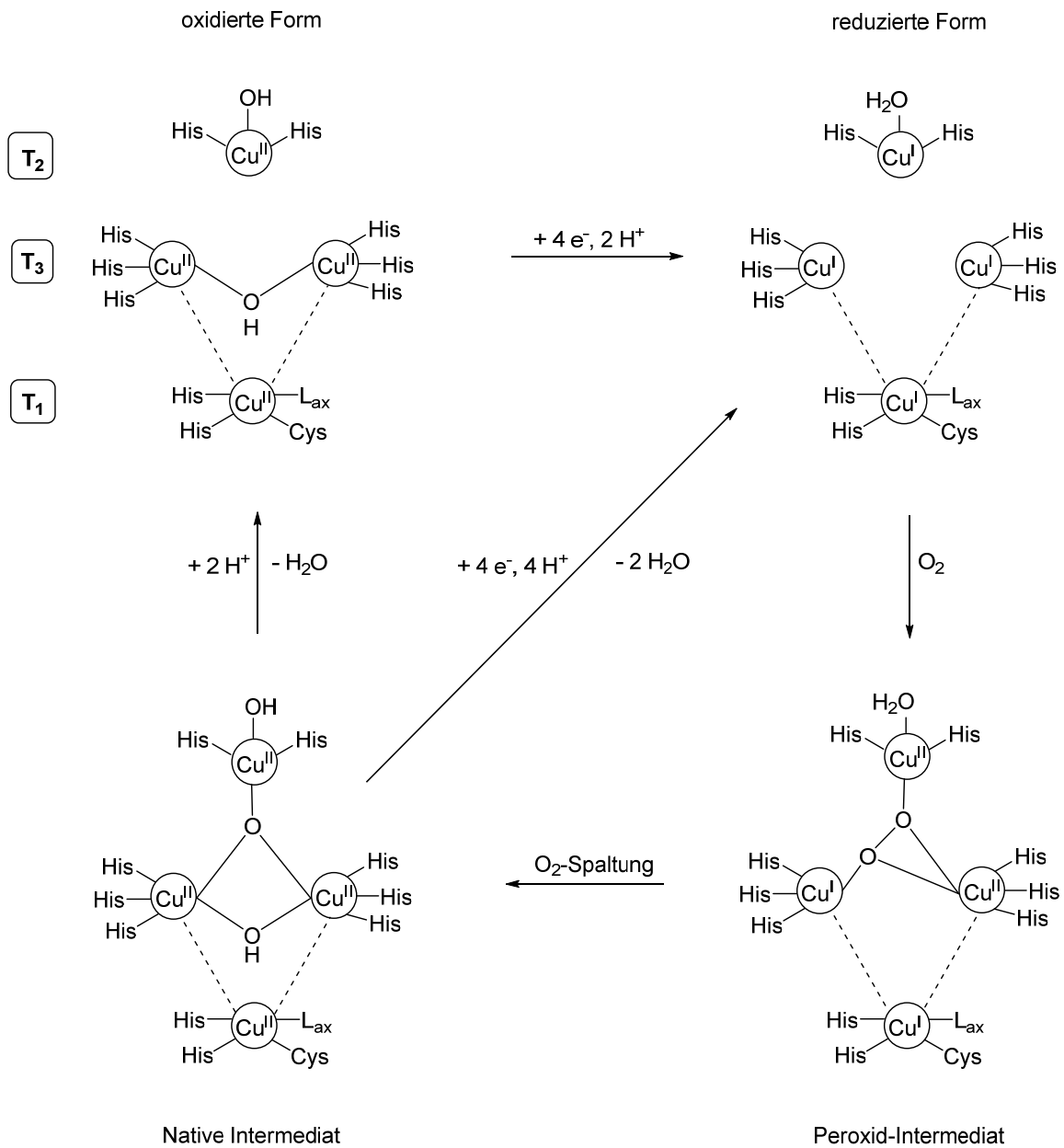
3.5.3 Laccasen

Laccasen zählen zu den Multikupfer-Oxidase und kommen vor allem in Pilzen und Pflanzen vor, sind aber auch in Prokaryoten und Insekten wiederzufinden. Die extrazellulären Enzyme liegen in der Natur meistens als glykosylierte Monomere vor. Die Glykosylierung besteht dabei vor allem aus Mannosen, die über *N*-Acetylglucosamine an Asn gebunden sind, und beträgt meistens 10–25 %, selten >30 %, der Masse des Proteins. Sie dient dabei der Löslichkeit des Enzyms bei der Proteinsekretion, aber auch zur Stabilisierung des Enzyms und Schutz vor Proteolyse.^[221-223] Laccasen katalysieren die Ein-Elektronen-Oxidation von phenolischen Substraten **12** zu Radikalen **170** unter Reduktion von molekularem Sauerstoff zu Wasser (Schema 70).



Schema 70: Allgemeine Reaktionsgleichung einer Oxidation von phenolischen Verbindungen **12** durch eine Laccase.

Die Radikale **170** als Produkte können im Anschluss Polymere bilden. Somit ist die physiologische Rolle der Laccasen die Beteiligung an Polymerisierungs- und Depolymerisierungsreaktionen.^[221, 222] Pflanzliche Laccasen dienen vor allem der Lignin-Biosynthese, während Laccasen aus Pilzen zum Lignin-Abbau beitragen. Somit können Laccasen sowohl an anabolischen als auch an katabolischen Prozessen beteiligt sein. Die Oxidation der Substrate **12** geschieht durch vier Kupferatome im aktiven Zentrum, die dem Enzym eine blaue Farbe verleihen.^[223-225] Die Kupferatome werden in drei Typen unterteilt. Typ 1 besteht aus einem Kupferatom, welches durch zwei His, ein Cys und einem axialen Liganden gebunden ist. An diesem Cu-Atom findet die Oxidation des Substrates **12** statt, wobei die Oxidationsstufe des Cu^{II} auf Cu^I gesenkt wird (Schema 71).

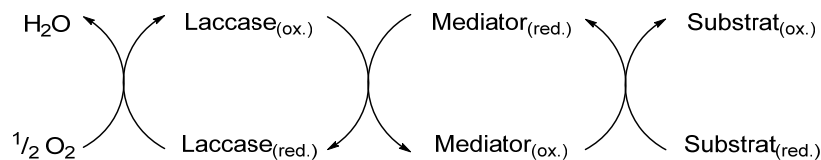


Schema 71: Darstellung des Katalysezyklus einer Laccasereaktion.

Das Redoxpotential der Laccase hängt dabei stark vom axialen Liganden (L_{ax}) ab, welcher bei Laccasen mit niedrigem Redoxpotential (460 mV) Methionin, mit mittlerem Potential (460–710 mV) Leucin und mit hohem Potential (>710 mV) Phenylalanin ist.^[221] Sobald das Substrat **12** oxidiert wurde, werden die Elektronen über ein konserviertes Tripeptid aus His-Cys-His an den trinuklearen Cluster übertragen. Der trinukleare Cluster besteht aus einem Typ 2 Cu-Atom und zwei Typ 3 Cu-Atomen, die über Histidine gebunden sind. Hier werden die Elektronen zur Reduktion von molekularem Sauerstoff zu Wasser verwendet. Dies geschieht in zwei Schritten über ein Peroxid-Intermediat. Als erstes wird der Sauerstoff unter Aufnahme von zwei Elektronen im trinuklearen Cluster gebunden. Im zweiten Schritt werden erneut zwei Elektronen auf Sauerstoff übertragen, sodass die O-O-Bindung gespalten wird. Somit entsteht das komplett oxidierte native Intermediat, welches in Anwesenheit eines Substrates **12** wieder in die

reduzierte Form übergehen kann. Falls jedoch kein Substrat **12** vorhanden ist, wird die Bindung des Typ 2 Cu-Atoms zu den Typ 3 Cu-Atomen unter Abspaltung von Wasser gebrochen und die Laccase nimmt ihre ursprüngliche oxidierte Form wieder an. Die Substrat-Binde-Domäne besteht aus einer hydrophoben und einer hydrophilen Einheit, wobei in der Regel Histidin und weitere saure Aminosäuren wie Asparaginsäure und Glutaminsäure an der Elektronen-Weiterleitung verantwortlich sind.^[221, 225]

Nach diesem Mechanismus können mit Hilfe von Laccasen nicht nur diverse phenolische Verbindungen **12**, sondern auch aromatische und aliphatische Amine oxidiert werden. Falls jedoch die Substrate zu sperrig sind oder ein zu hohes Redoxpotential haben, können chemische Mediatoren herangezogen werden.^[222, 223, 226, 227] Diese Mediatoren sind kleine organische Moleküle, die durch die Laccase oxidiert werden können und wiederum selber als Oxidationsmittel für andere Substrate dienen (Schema 72).



Schema 72: Reaktionsschema zur Laccase-vermittelten Substrat-Oxidation mit Mediatoren.

Mit Hilfe von Mediatoren konnte gezeigt werden, dass Laccase-vermittelt Lignin abgebaut werden kann.^[228] Somit erschließt sich nicht nur die Möglichkeit sterisch anspruchsvolle Verbindungen, sondern auch nicht-phenolische Verbindungen zu oxidieren. Dies lässt vermuten, dass natürliche Mediatoren am Depolymerisierungsprozess beteiligt sind.

Somit bergen Laccasen nicht nur die chemische Eigenschaft unterschiedliche Substrate zu oxidieren und dabei nur Wasser als Nebenprodukt zu produzieren, sondern auch physikalische Eigenschaften, welche die Enzyme synthetisch wertvoll machen. Zum einen können Laccasen auch hohen Reaktionstemperaturen von bis zu 80°C Stand halten, zum anderen sind sie auch tolerant gegenüber vielen organischen Lösungsmitteln, sodass die Löslichkeit der Substrate gewährleistet werden kann.^[226] Des Weiteren gibt es Laccasen mit unterschiedlichen pH-Optima, die je nach Reaktion bzw. Substrat besser geeignet sein können. In der Regel haben Laccasen aus Pilzen ein Optimum im sauren Milieu, während einige bakterielle Laccasen auch im Alkalischen aktiv sind. Ein Beispiel hierfür stellt die bakterielle Laccase Ssl1 aus *Streptomyces sviveus* dar (Abbildung 16).^[229, 230]

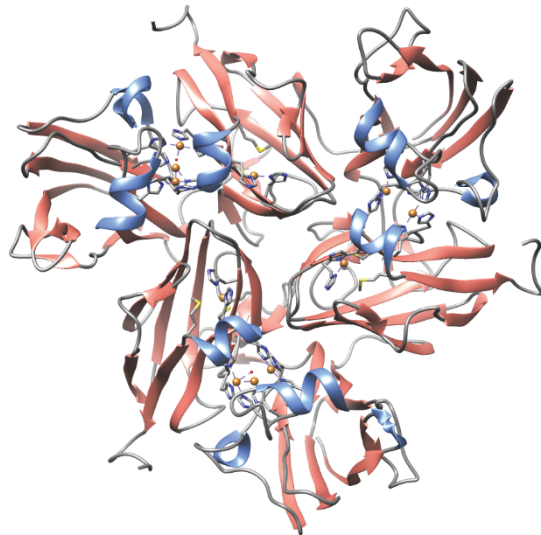


Abbildung 16: Trimerstruktur von Ssl1 (PDB: 4M3H).

Die Substrat-Binde-Domäne dieser Laccase besteht aus Serin und Histidin als hydrophile Einheit und Leucin und Alanin als hydrophobe Einheit. Darüberhinaus besitzt sie ein Methionin als axialen Liganden und hat demnach ein niedriges Redoxpotential von ca. 375 mV.^[230] Allerdings hat sie für das Substrat 2,3-Dimethoxyphenol (**171**) bei pH 9 ihr Optimum; jene Bedingung, die die Oxidation begünstigt. Neben Lösungsmittel-Stabilität zeigt diese Laccase auch Toleranz gegenüber hohen Reaktionstemperaturen. Diese Eigenschaften der Laccasen werden auch in der Industrie geschätzt, sodass Laccasen vielseitig eingesetzt werden (Abbildung 17).

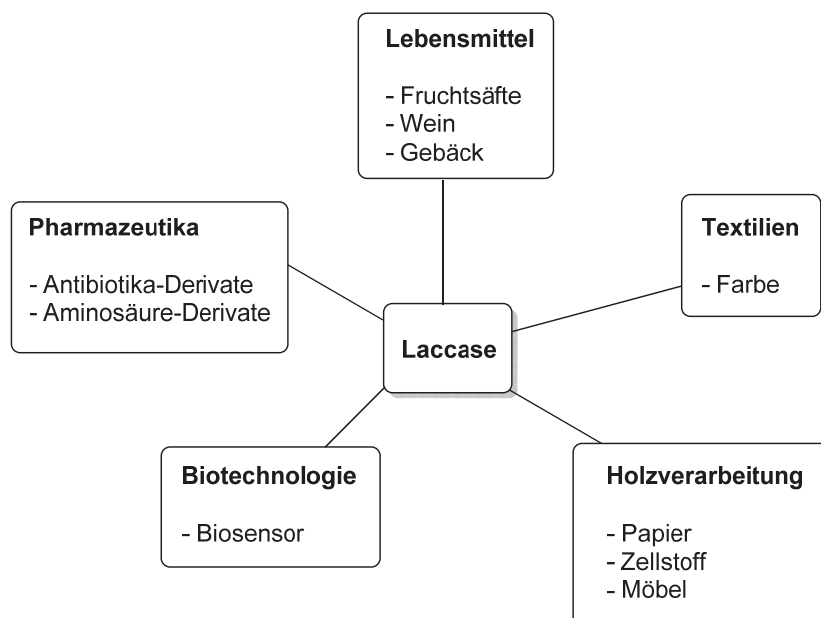
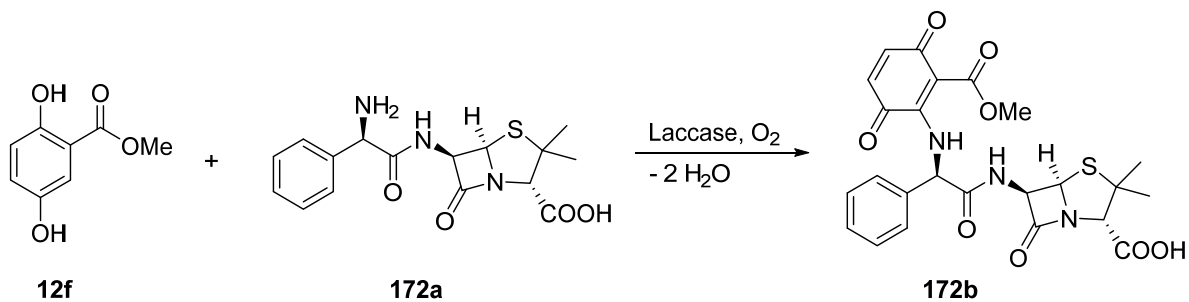


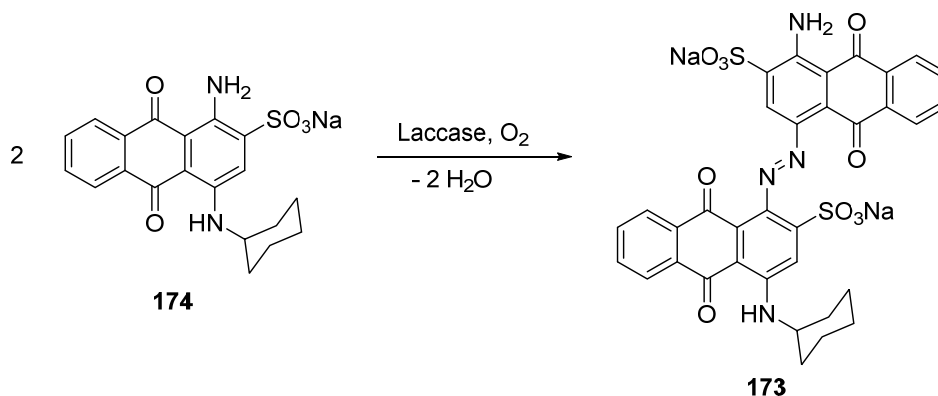
Abbildung 17: Schematische Darstellung einiger industriellen Anwendungsgebiete von Laccasen.

Da Laccasen sowohl an Ligninaufbau als auch an -abbau beteiligt sind, werden sie auch in der Industrie zur Verarbeitung von Holz eingesetzt. Dabei werden Zellstoffe und Papier gebleicht, aber auch Holzmöbel verwertet.^[225] Ebenso kann in der Lebensmittelindustrie das Lignin in Obst und Gemüse abgebaut werden, sodass klare Fruchtsäfte produziert werden können. Bei der Weinherstellung dienen Laccasen zum Abbau von Polyphenolen, die den Geschmack des Getränks verändern können. Beim Backen wird mit Laccase behandeltes Mehl eingesetzt, das für mehr Volumen und weiche Konsistenz des Gebäcks sorgt.^[231-233] Des Weiteren können Laccasen zur Synthese von Medikamenten oder deren Derivatisierung dienen. Somit konnten beispielsweise verschiedene Penicillin-Derivate **172** und Antibiotika aus der oxidativen Kupplung von Verbindung **12f** und Penicillin **172a** hergestellt werden (Schema 73).^[234, 235]



Schema 73: Reaktionsschema zur Laccase-vermittelten Darstellung eines Penicillin-Derivats **172b**.^[234]

Aber auch die Derivatisierung von natürlichen Aminosäuren stellen nützliche Bausteine für weitere Medikamente dar.^[231, 236, 237] In der Textilbranche werden Laccasen vor allem zur Färbung und Entfärbung verwendet, indem Azofarbstoffe **173** aus Aminen **174** hergestellt oder abgebaut werden (Schema 74).^[231, 238]

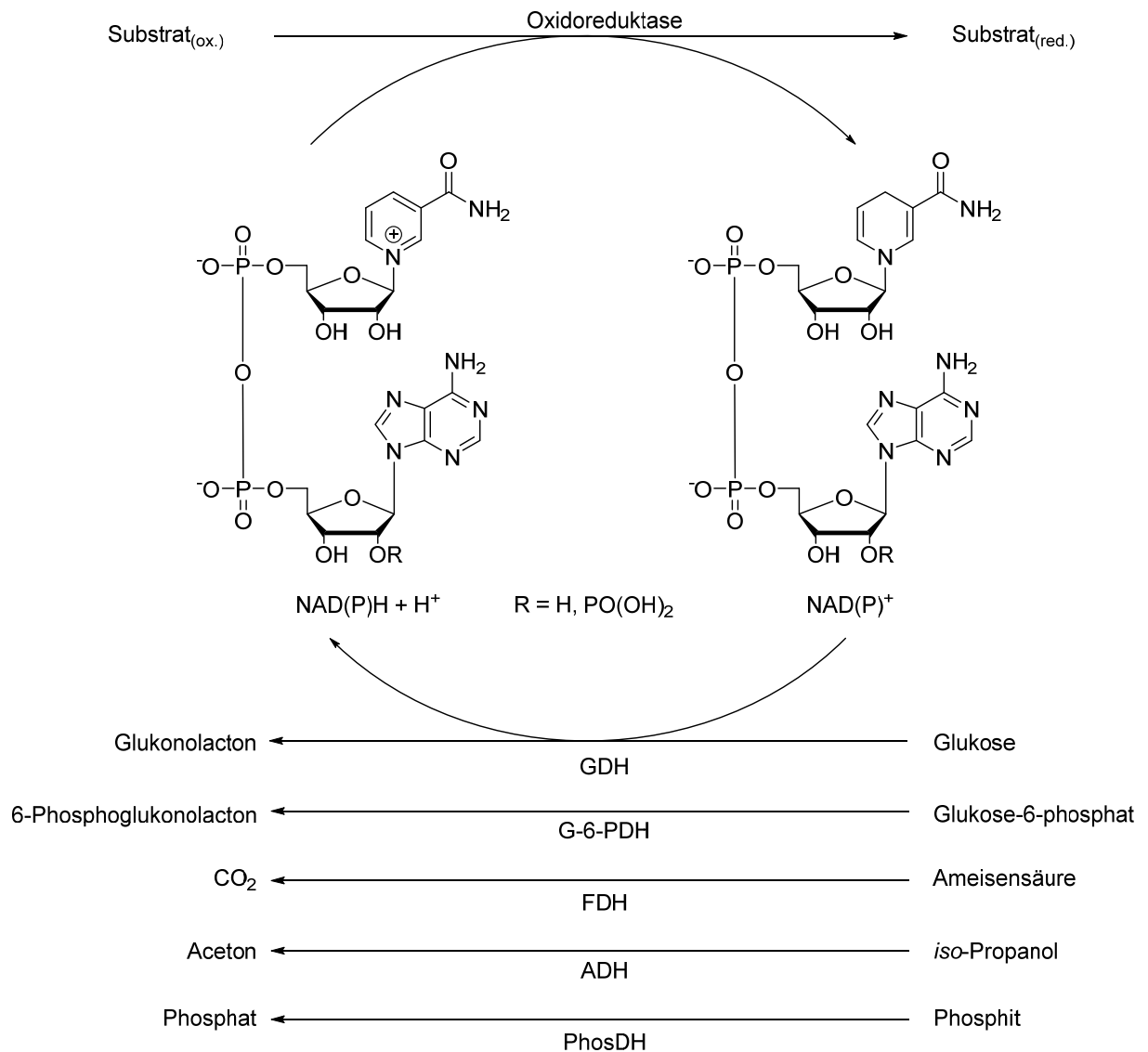


Schema 74: Reaktionsschema zur Laccase-vermittelten Darstellung eines Azofarbstoffs **173**.^[238]

Der Aufbau von Azofarbstoffen **173** wird auch in der Biotechnologie verwendet. Dabei werden immobilisierte Laccasen in Polymermatrizes als Biosensoren für phenolische Substanzen **174** eingesetzt, die zu Azofarbstoffen **173** reagieren.^[231]

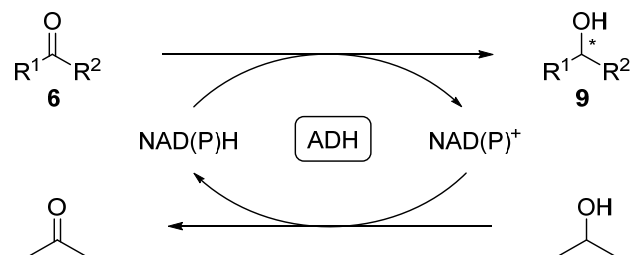
3.5.4 Cofaktorregenerierung

Viele Oxidoreduktasen wie z.B. Enreduktasen und Alkoholdehydrogenasen benötigen Nikotinamid-Cofaktoren als Cosubstrat, um Redoxreaktionen durchzuführen. In Ganzzellsystemen liegen die Konzentrationen substöchiometrisch vor und werden durch den Metabolismus des Wirtsorganismus immer wieder regeneriert. Da jedoch Ganzzellsysteme beispielsweise aufgrund konkurrierender Enzyme nicht für jede Reaktion geeignet sind, werden viele Reaktionen mit isolierten Enzymen durchgeführt. Hierzu müssten die Cofaktoren in stöchiometrischen Mengen zum Reaktionsgemisch hinzugefügt werden, was aufgrund der hohen Kosten in der Regel nicht erwünscht ist. Deswegen müssen die Cofaktoren regeneriert werden, was in unterschiedlicher Weise erfolgen kann. Da das oxidierte NAD(P)^+ günstiger ist als die reduzierte Form, werden bevorzugt die oxidierten Cofaktoren zur Regenerierung eingesetzt. Eine der gängigsten Cofaktorregenerierungsmethoden ist die Enzym-gekoppelte Variante (Schema 75).^[211, 239, 240] Hierbei wird ein weiteres Enzym verwendet, das den Cofaktor durch eine zur Hauptreaktion entgegengesetzte Redoxreaktion regeneriert. Dafür wird für dieses Enzym ein zweites Substrat eingesetzt, sodass das Regenerierungsenzym nicht an der Hauptreaktion beteiligt ist. Für diese Methode stehen einige Enzyme zur Verfügung. Ein beliebtes Enzym stellt die Glukosedehydrogenase (GDH) dar, die Glukose zu 1,5-Glukonolacton oxidiert und dabei NAD(P)^+ zu NAD(P)H reduziert. Im wässrigen Medium zerfällt das 1,5-Glukonolacton irreversibel zu Glukonsäure. Dadurch wird die Hauptreaktion zu Gunsten des Produktes verschoben. Damit ist aber auch eine Verschiebung des pH-Werts in den sauren Bereich verbunden, sodass dieser durch kontinuierliche Zufuhr einer Base ausgeglichen werden muss. Ähnlich hierzu kann auch die Glukose-6-phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) verwendet werden, wobei Glukose-6-phosphat zu 6-Phosphoglukonsäure oxidiert wird. Allerdings ist hierbei anzumerken, dass das Cosubstrat ebenfalls teuer ist. Ein weiteres beliebtes Enzym ist die Formiatdehydrogenase (FDH), die Ameisensäure irreversibel zu Kohlendioxid oxidiert. Das Kohlendioxid liegt bei diesen leicht sauren Bedingungen als Hydrogencarbonat vor und wird aus dem Gleichgewicht gezogen. Eine Gleichgewichtsverschiebung zum Produkt kann auch mit einer ADH-gekoppelten Reaktion erreicht werden. Hierbei wird meistens *iso*-Propanol als Cosubstrat eingesetzt, welches durch die ADH zum flüchtigen Aceton oxidiert wird. Der Zusatz dieser organischen Lösungsmittel kann dabei auch die Löslichkeit des Substrates erhöhen. Dennoch können erhöhte Lösungsmittelmengen das Enzym schädigen, sodass die Enzymstabilität berücksichtigt werden muss. Des Weiteren können auch Phosphitdehydrogenasen (PhosDH) verwendet werden, die Phosphit zu Phosphat oxidieren. Ähnlich wie bei der GDH kann sich auch mit diesem Enzym der pH-Wert verschieben und sollte beobachtet werden.



Schema 75: Reaktionsschema zur Enzym-gekoppelten Cofaktorregenerierung.

Die Cofaktorregenerierung kann aber auch Substrat-gekoppelt durchgeführt werden.^[211, 239-241] Hierbei wird der Reaktion ein Cosubstrat hinzugefügt, das ebenfalls vom Enzym umgesetzt werden kann. Diese Variante wird in der Regel mit ADHs durchgeführt (Schema 76).

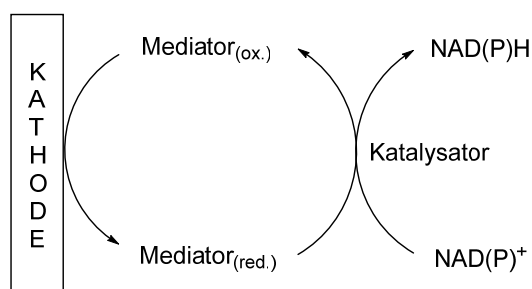


Schema 76: Reaktionsschema zur Substrat-gekoppelten Cofaktorregenerierung mittels einer ADH.

Während das Zielsubstrat **6** durch die ADH reduziert wird, kann das Cosubstrat von der gleichen ADH oxidiert werden und somit zur Cofaktorregenerierung beitragen. Hierbei sollte jedoch das Cosubstrat in ausreichender Menge vorhanden sein, um das Gleichgewicht der Reaktion in die

gewünschte Richtung zu verschieben.^[239] *Iso*-Propanol in erhöhter Konzentration sorgt dafür, dass die ADH diesen bevorzugt oxidiert und dabei NAD(P)H regeneriert wird. Der überschüssige Cofaktor kann wiederum die Reduktion des Substrats **6** antreiben. Das flüchtige Aceton als Nebenprodukt kann aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt werden, sodass eine Rückreaktion verhindert wird. Außerdem kann bei dieser Methode der Cofaktor im aktiven Zentrum des Enzyms gebunden bleiben, sodass die Limitierung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Diffusion nicht gegeben ist.

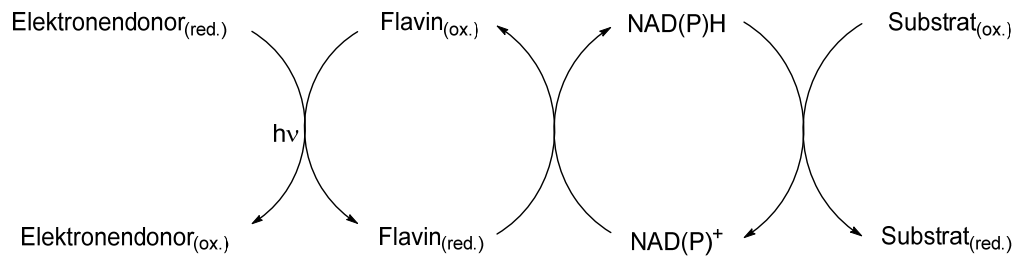
Als Alternative zur enzymatischen Cofaktorregenerierung können chemische Methoden angewendet werden. Hierbei können elektrochemische, Organometall-katalysierte und photochemische Verfahren unterschieden werden. Bei der elektrochemischen Cofaktorregenerierung können die Elektronen von einer Kathode auf NAD(P)⁺ übertragen werden.^[239, 240, 242] Allerdings ist hierbei mit einer geringen Selektivität zu rechnen, sodass inaktive NAD(P)H-Isomere oder Dimere entstehen können. Daher wird hierbei – ähnlich wie bei den Laccasen – Mediatoren eingesetzt. Die elektrochemisch reduzierten Mediatoren können das Cofaktor entweder direkt reduzieren oder vermittelt durch einen Katalysator, welches auch ein Enzym sein kann (Schema 77).



Schema 77: Reaktionsschema zur elektrochemischen Cofaktorregenerierung.

Die Cofaktoren können auch chemisch unter Verwendung von Organometall-Katalysatoren regeneriert werden. Hierfür sind vor allem Ru^{II} und Rh^{III}-Komplexe gut geeignet, die molekularen Wasserstoff reduzieren. Allerdings wird diese Methode aufgrund der Reaktionsbedingungen, der geringen Löslichkeit der Katalysatoren im wässrigen System und möglichen Nebenprodukten nicht bevorzugt.^[240] Im Gegensatz hierzu können Hydrogenasen verwendet werden, die ebenfalls molekularen Wasserstoff oxidieren.^[243] Hierbei stellt jedoch die geringe Stabilität der Hydrogenase gegenüber molekularem Sauerstoff einen Nachteil dar. Dennoch muss auch die Löslichkeit des molekularen Wasserstoffs gewährleistet werden.

Bei Flavin-abhängigen Enzymen wie Enreduktasen können photochemische Regenerierungsmethoden angewendet werden.^[244-246] Dabei werden Elektronendonoren unter Lichteinfluss oxidiert und können somit die Elektronen auf das Flavin übertragen, welches wiederum NAD(P)⁺ reduzieren kann (Schema 78). Die photochemische Methode wurde auch unter Ausnutzung des Photosystems der Cyanobakterien durchgeführt.^[247] Dabei kann im Ganzellsystem Lichtenergie in NAD(P)H umgewandelt werden, welches dann durch rekombinante Oxidoreduktasen zur Reduktion verwendet wird.



Schema 78: Reaktionsschema zur photochemischen Cofaktorregenerierung.

Um Regenerierungsmethoden zu umgehen, werden auch vermehrt synthetische NAD(P)H-Analoga **175** hergestellt (Abbildung 18).^[248-252]

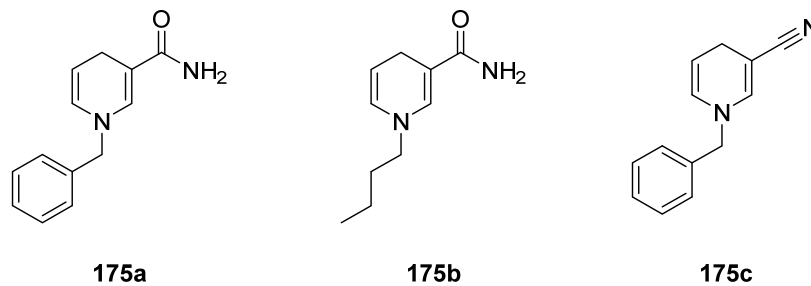


Abbildung 18: Molekülstrukturen einiger synthetischer NAD(P)H-Analoga **175a-c**.^[248, 252]

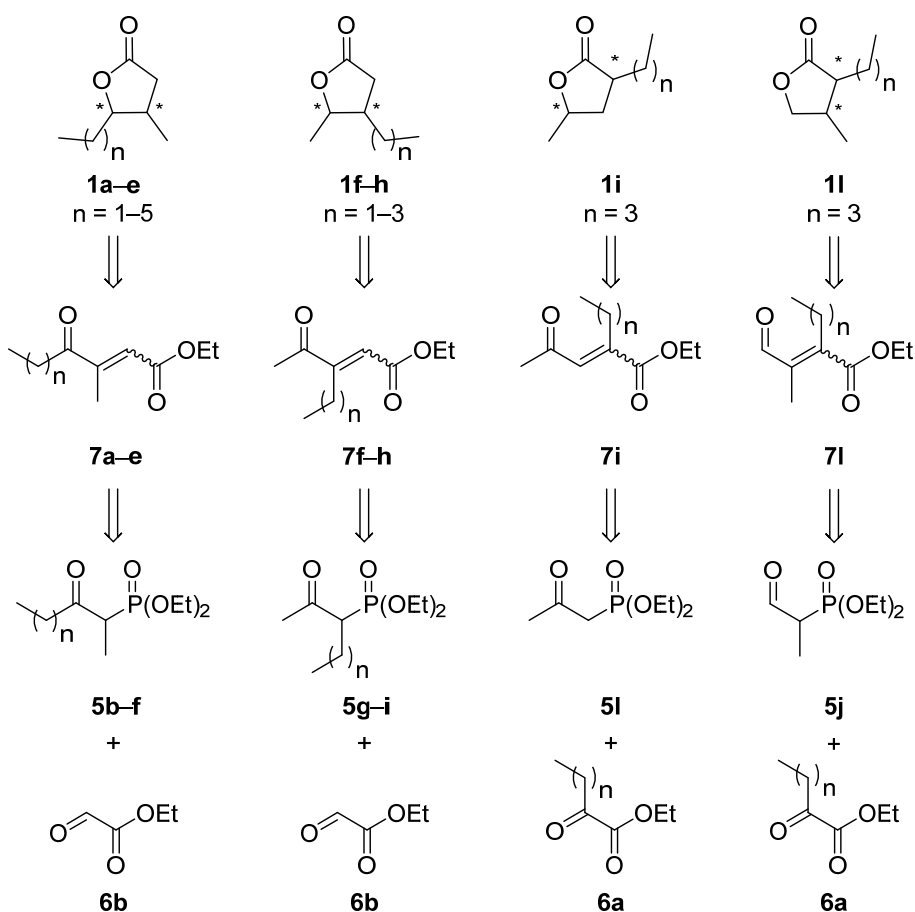
Neben geringen Produktionskosten sollten diese mindestens genauso effizient sein wie die natürlichen Cofaktoren. Letzteres setzt auch voraus, dass die synthetischen Cofaktoren von den Enzymen akzeptiert werden müssen, was nicht immer gegeben ist.^[253] Während beispielsweise Enreduktasen synthetische Cofaktoren akzeptieren, konnte mit Alkoholdehydrogenasen kein Umsatz beobachtet werden. Dennoch kann dieses Phänomen hilfreich sein, denn bisher konnten Reduktionen mit Enreduktasen aufgrund konkurrierender Alkoholdehydrogenasen nur mit gereinigtem Enzym durchgeführt werden. Durch die Verwendung von synthetischem NAD(P)H, welches nur von der Enreduktase akzeptiert wird, können somit auch Reaktionen mit Rohlysat durchgeführt werden und der Reinigungsprozess entfällt.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Aufgabenstellung und Ziele

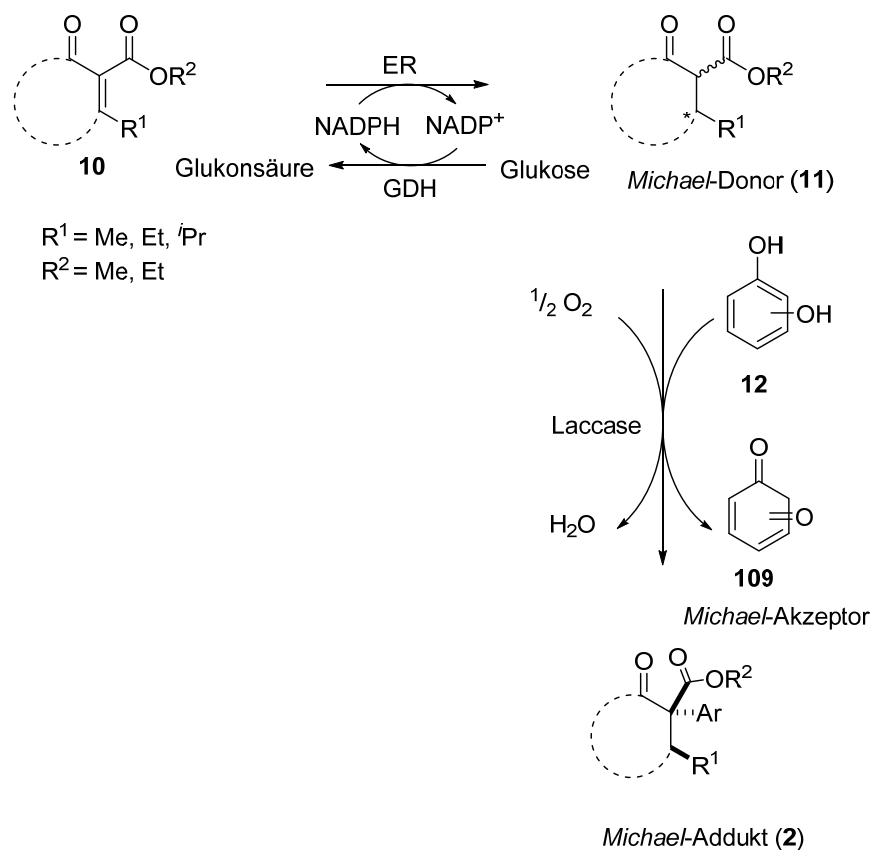
Das Ziel dieser Arbeit war es, stereoselektiv γ -Butyrolactone **1** und *Michael*-Addukte **2** herzustellen. Um dies zu ermöglichen, sollten Enreduktasen mit weiteren Oxidoreduktasen wie Alkoholdehydrogenasen und Laccasen im Eintopf-Verfahren kombiniert werden. In diesem Kapitel werden alle Ergebnisse diesbezüglich dargestellt und diskutiert. Zur besseren Übersicht wird das Kapitel in Teil 1 und Teil 2 unterteilt.

In Teil 1 wird die chemoenzymatische Synthese von verschiedenen Alkyl-substituierten γ -Butyrolactonen **1** als Aroma- und Duftstoffe behandelt (Kapitel 4.2, S. 82 ff.). In Betracht kommen die in Schema 79 gezeigten γ -Butyrolacton-Klassen, die sich in der Kettenlänge sowie in der Position der Alkylkette unterscheiden.



Schema 79: Retrosynthetisches Reaktionsschema zur Darstellung der gewünschten γ -Butyrolactone **1**.

Die präparative Synthese dieser Lactone **1** soll ausgehend von α,β -ungesättigten γ -Ketoestern **7** enzymatisch in einem konsekutiven Eintopf-Verfahren durchgeführt werden (Schema 80).



Schema 81: Reaktionsschema zur enzymatischen Darstellung der *Michael*-Addukte **2**.

Als interessante Substrate bieten sich das 2-Methylchromenon **10a**, Cyclopentenon-Derivate **10b-e**, das Butenolid-Derivat **10f** und Cyclohexenon-Derivate **10g-j** an (Abbildung 19).

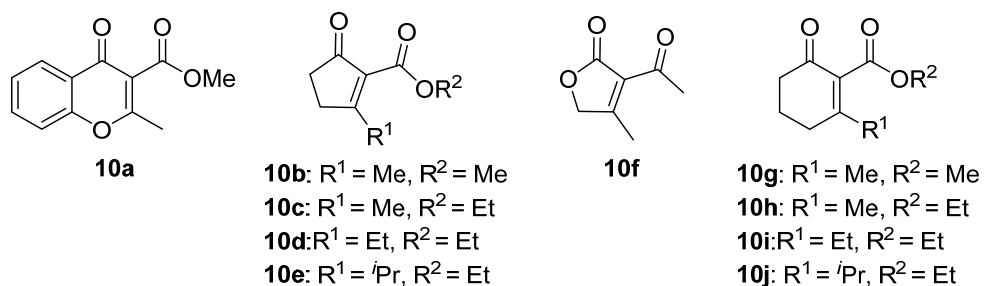


Abbildung 19: Molekülstrukturen einiger interessanter *Michael*-Donoren **10a-j**.

Anhand dieser Substrate kann durch Variierung der Ringgröße, der Größe und Stellung des Esters sowie der Substituenten R^1 die Substratbreite der Enreduktasen studiert werden. Letzteres könnte ebenfalls zur Erhöhung der Selektivität der Arylierungsreaktion beisteuern, welches in dieser Arbeit untersucht werden soll.

Teil 1:

Enreduktasen & Alkoholdehydrogenasen

–

Zugang zu γ -Butyrolacton-Duftstoffen 1

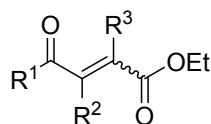
4.2 Chemoenzymatische Synthese von γ -Butyrolactonen 1

γ -Butyrolactone **1** stellen wichtige Vertreter der Aroma- und Duftstoffe dar und werden darüberhinaus als chirale Bausteine für die Synthese weiterer Naturstoffe verwendet (Kapitel 3.2, S. 25 ff.). Im Folgenden wird eine chemoenzymatische Methode zur stereoselektiven Synthese von γ -Butyrolacton-Derivaten **1** vorgestellt.

4.2.1 Substratsynthese

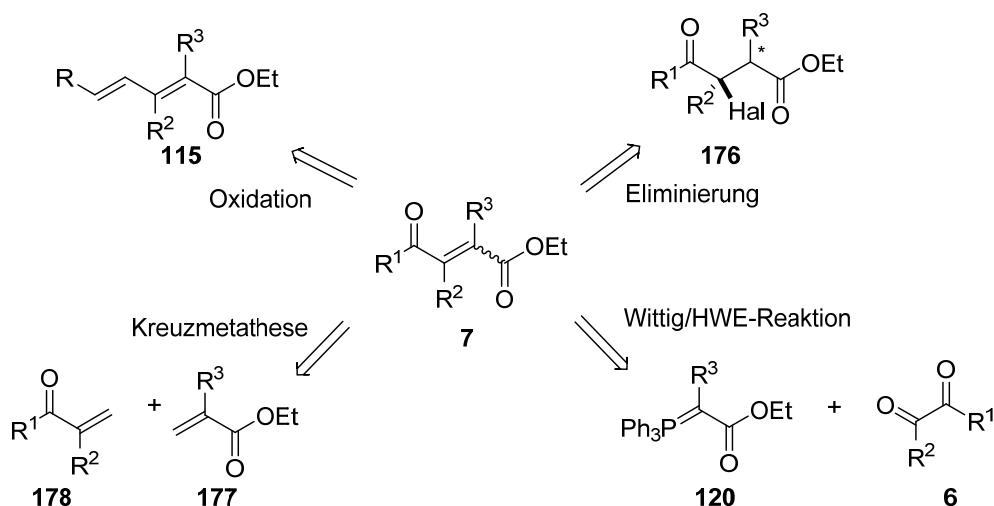
Zur chemoenzymatischen Synthese der γ -Butyrolactone **1** wurden die in Tabelle 2 dargestellten α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** als Substrate benötigt.

Tabelle 2: Übersicht der benötigten α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7**.

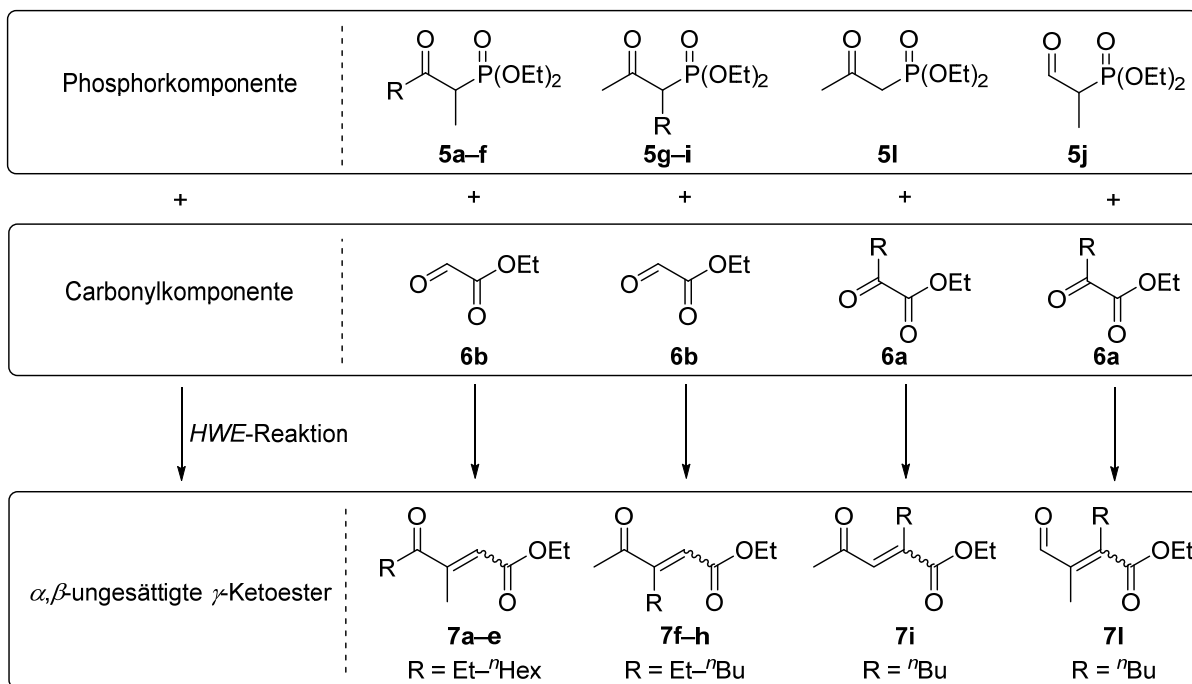


	R ¹	R ²	R ³
7a	Et	Me	H
7b	ⁿ Pr	Me	H
7c	ⁿ Bu	Me	H
7d	ⁿ Pe	Me	H
7e	ⁿ Hex	Me	H
7f	Me	Et	H
7g	Me	ⁿ Pr	H
7h	Me	ⁿ Bu	H
7i	Me	H	ⁿ Bu
7l	H	Me	ⁿ Bu

Die Synthese der α,β -ungesättigten γ -Ketoestern **7** erfolgt in der Literatur in unterschiedlicher Weise (Abbildung 20). Zum einen werden oxidative Verfahren verwendet, wobei Alkene **115** durch eine Hydroperoxidierung zum gewünschten Produkt **7** (in diesem Fall ist R¹ = RCH₂) führen.^[254] Dies ist aber auch über eine Selenoxid-vermittelte Oxidation möglich.^[255] Zum anderen kann auch eine Halogenierung zur Verbindung **176**, gefolgt von einer Eliminierung, durchgeführt werden.^[256] Ebenso wird auch eine Kreuzmetathese-Reaktion aus Acrylsäureestern **177** und Vinylketonen **178** beschrieben.^[257] Die am meisten angewendete Synthesemethode stellt jedoch die *Wittig*- oder *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion dar, die, wie in Kapitel 3.4.2 (S. 47 ff.) dargestellt, eine gute Möglichkeit zur Herstellung von Olefinen sind.^[258-260]

Abbildung 20: Retrosynthetischer Übersicht zur Darstellung von α,β -ungesättigten γ -Ketoestern **7**.^[254-260]

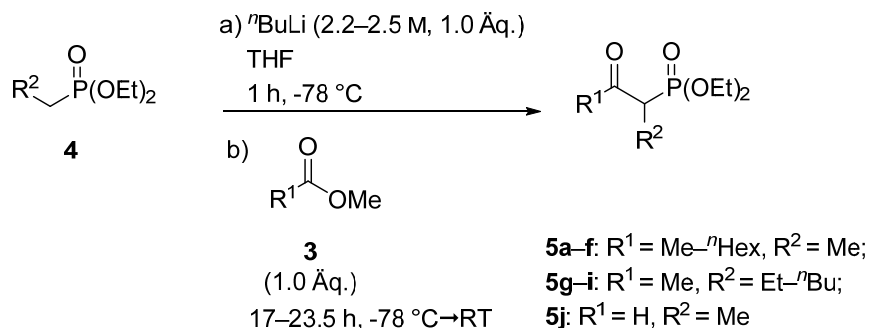
In dieser Arbeit wurde sich auch der *HWE*-Reaktion bedient. Dabei wurden Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5** mit den jeweiligen Carbonylverbindungen **6** zur Reaktion gebracht (Schema 82).

Schema 82: Reaktionsübersicht zur Darstellung der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7**.

Um diese Reaktion durchführen zu können, werden Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5** benötigt, die nicht kommerziell erhältlich sind. Daher mussten diese zunächst hergestellt werden, welches im Folgenden beschrieben wird.

4.2.1.1 Darstellung der Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester 5

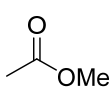
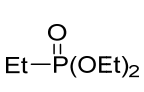
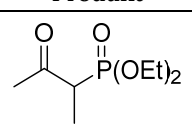
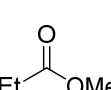
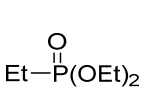
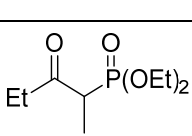
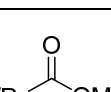
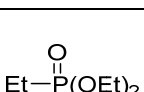
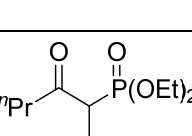
Im Allgemeinen wurde die Synthese der Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5** nach Schema 83 durchgeführt.



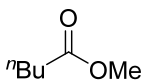
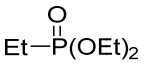
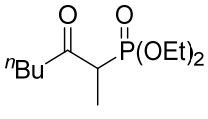
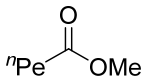
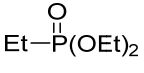
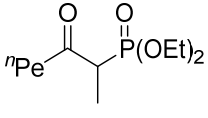
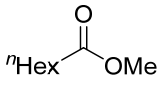
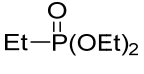
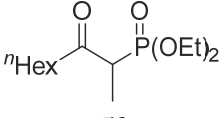
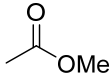
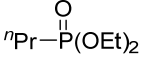
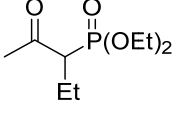
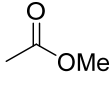
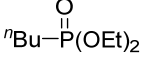
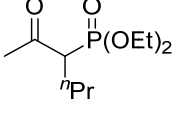
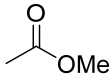
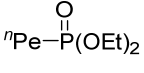
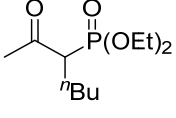
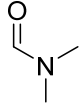
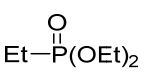
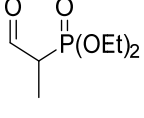
Schema 83: Syntheseweg zu den Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylestern **5a–j**.

Durch Deprotonierung des Phosphonsäurediethylesters **4** in α -Position wird ein nukleophiler Angriff auf die Carbonylverbindung **3** ermöglicht. Die Abspaltung der Methoxygruppe führt letztendlich zu den gewünschten Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylestern **5a–j** in <29–94 % Ausbeuten. Die chromatographische Reinigung der Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5** erwies sich aufgrund ihrer schlechten Detektierbarkeit als schwierig. Ebenso war auch die fraktionierte Destillation aufgrund hoher Siedetemperaturen herausfordernd, sodass die Ausbeuten hier in der Regel moderat ausgefallen sind. Eine Übersicht dieser Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5a–j** ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Übersicht der synthetisierten Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5a–j**.

Eintrag	Edukte		Produkt	Ausbeute [%]
1	 3a 1.2 mL, 15 mmol	 4a 2.4 mL, 15 mmol	 5a 1.1–1.4 g, 5.3–6.7 mmol	35–47 (2 Ansätze)
2	 3b 1.4–2.1 mL, 15–22 mmol	 4a 2.4–3.6 mL, 15–22 mmol	 5b 2.0–2.5 g, 9.0–11 mmol	51–62 (4 Ansätze)
3	 3c 0.84–1.7 mL, 7.3–15 mmol	 4a 1.2–2.4 mL, 7.3–15 mmol	 5c 1.5–2.3 g, 6.3–9.7 mmol	43 ^[a] –68 (5 Ansätze)

Fortsetzung Tabelle 3:

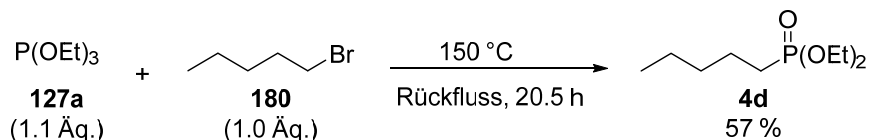
Eintrag	Edukte	Produkt	Ausbeute [%]	
4	 3d 0.98 mL, 7.3 mmol	 4a 1.2 mL, 7.3 mmol	 5d 1.3–1.7 g, 5.2–6.8 mmol	70–94 (6 Ansätze)
5	 3e 2.2 mL, 15 mmol	 4a 2.4 mL, 15 mmol	 5e 2.5–7.0 g, 9.5–27 mmol	61–64 ^[b] (2 Ansätze)
6	 3f 2.5–12.6 mL, 15–73 mmol	 4a 2.4–12.1 mL, 15–73 mmol	 5f 2.3–11.4 g, 8.3–41 mmol	56–57 (4 Ansätze)
7	 3a 1.2 mL, 15 mmol	 4b 2.78 g, 15.0 mmol	 5g 0.95–1.98 g, 4.28–8.91 mmol	28–59 (4 Ansätze)
8	 3a 1.2 mL, 15 mmol	 4c 2.94 g, 15.0 mmol	 5h 1.14–2.55 g, 4.82–10.8 mmol	32–72 (5 Ansätze)
9	 3a 0.99–1.2 mL, 12.4–15 mmol	 4d 2.58–3.12 g, 12.4–15.0 mmol	 5i 1.07–1.74 g, 4.28–6.95 mmol	<29–<56 ^[c] (5 Ansätze)
10	 180 1.1 mL, 15 mmol	 4a 2.4 mL, 15 mmol	 5j 1.1 g, 5.7 mmol	39 (1 Ansatz)

^[a] Kumulative Ausbeute aus zwei parallel durchgeführten Ansätzen, die gemeinsam extrahiert und gereinigt wurden.

^[b] Kumulative Ausbeute aus drei parallel durchgeführten Ansätzen, die gemeinsam extrahiert und gereinigt wurden.

^[c] Gemisch aus Edukt- und Produkt-Phosphonsäurediethylester **4d** und **5i** (1:1–2:1-Verhältnis).

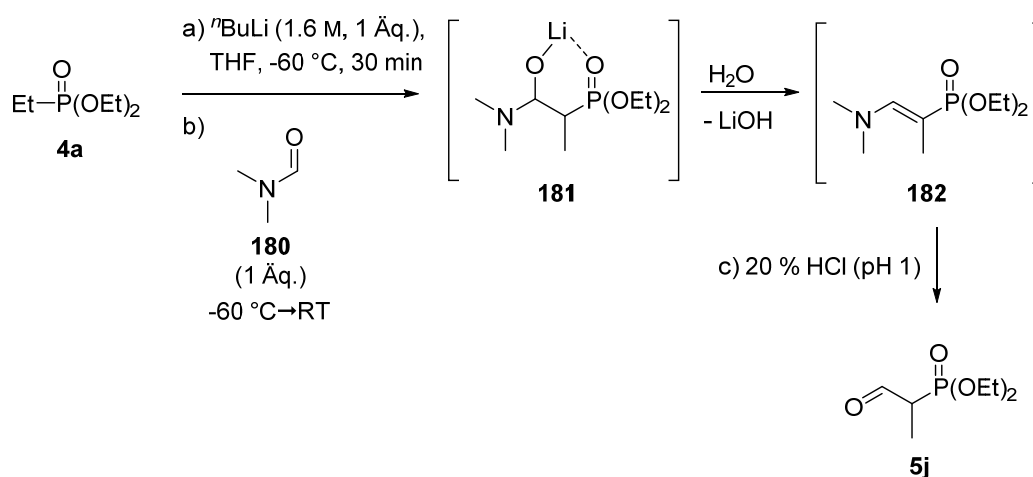
Da der *n*-Pentylphosphonsäurediethylester (**4d**) zur Synthese des Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylesters **5i** ebenfalls nicht kommerziell erhältlich ist, wurde dieser entsprechend der *Michaelis-Arbuzov*-Reaktion aus Triethylphosphit (**127a**) und 1-Brompentan (**179**), wie in Kapitel 3.4.2.2 (S. 51 ff.) beschrieben, hergestellt (Schema 84).



Schema 84: *Michaelis-Arbuzov*-Reaktion zur Synthese des Pentylphosphonsäurediethylesters (**4d**).

So konnte das Produkt **4d** in 57 % Ausbeute isoliert und für die Synthese des Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylesters **5i**, wie oben beschrieben, eingesetzt werden. Allerdings konnte der Pentylphosphonsäurediethylester **4d** vom Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5i** weder chromatographisch noch destillativ getrennt werden (Tabelle 3, Eintrag 9). Dennoch konnte die anschließende *HWE*-Reaktion erfolgreich durchgeführt werden, sodass dies hier kein Störfaktor darstellt.

Die Synthese des Phosphonsäurediethylesters **5j** mit der Aldehyd-Funktionalität wurde zunächst mit Ameisensäuremethylester (**3a**) nach Schema 83 durchgeführt. Allerdings konnte bei dieser Reaktion nur sehr wenig Produkt **5j** isoliert werden, welches zudem auch unrein war (Tabelle 3, Eintrag 10). Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die geringe Stabilität sowohl des Produktes **5j** als auch des Ameisensäuremethylesters **3a** sein. Laut Literaturangaben konnte dieser Phosphonsäurediethylester **5j** mit Dimethylformamid (**180**) hergestellt werden (Schema 85).^[261]

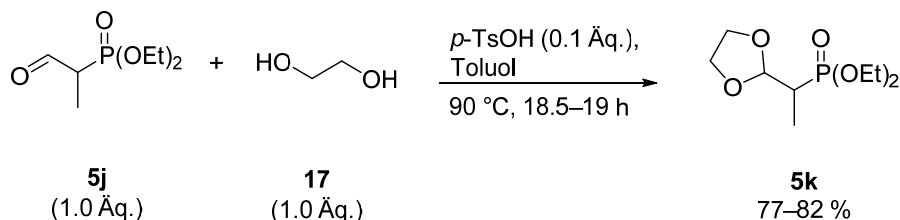


Schema 85: Literatursynthese zu Phosphonsäurediethylester **5j**.^[261]

Diese Reaktion läuft analog zur Reaktion mit Ameisensäuremethylester **3a** ab. Durch Hydrolyse von Verbindung **181** entsteht das Enamin **182** als Zwischenprodukt, welches jedoch stabiler ist und durch Salzsäure zum Aldehyd **5j** hydrolysiert werden kann. Die Synthese gemäß der Literaturvorschrift war ebenfalls mit nur 45 % stark verunreinigter Rohausbeute nicht sehr

erfolgreich. Im weiteren Vorgehen wurde eine basische Extraktion durchgeführt, wobei unter Freisetzung des Amins der Phosphonsäurediethylester **5j** in 39 % Ausbeute isoliert werden konnte.

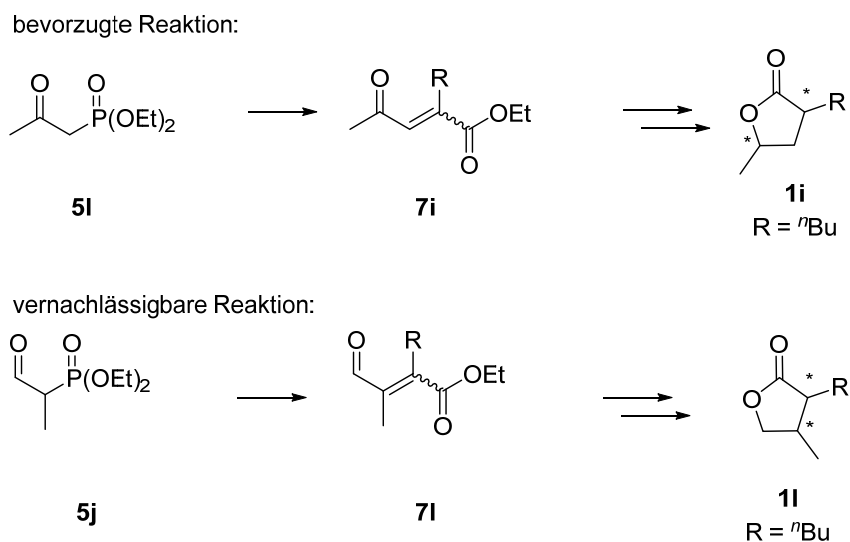
Um bei der *HWE*-Reaktion eine intermolekulare Reaktion des Phosphonsäurediethylesters **5j** mit einem weiteren Aldehyd-Phosphonsäurediethylester **5j** auszuschließen, wurde die Aldehydfunktionalität durch eine Acetal-Schutzgruppe geschützt (Schema 86).



Schema 86: Reaktionsschema zur Einführung einer Acetal-Schutzgruppe.

Jedoch wurde wahrscheinlich durch die basischen Bedingungen bei der *HWE*-Reaktion das cyclische Acetal geöffnet und eine Nebenreaktion fand statt, wobei das Produkt bislang nicht identifiziert werden konnte. Außerdem führte die Deprotonierung mit schwächeren Basen wie Natriumhydrid und Natriumcarbonat ebenso zu demselben Nebenprodukt.

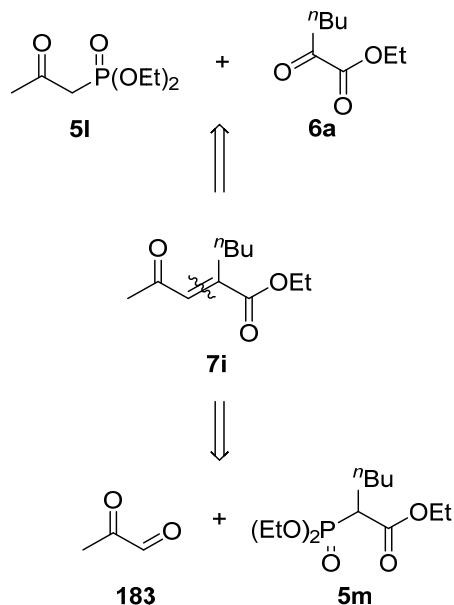
Nichtsdestotrotz wurde für das weitere Vorgehen beschlossen, das Methylketon-Phosphonsäurediethylester **5l** herzustellen, um die Methylgruppe in 4-Position anstelle der 3-Position im Lacton **1i** zu installieren. Somit kann auch mittels ADH eine Stereoinformation erhalten werden, welches bei dem *HWE*-Produkt **7l** aus dem Aldehyd-Phosphonsäurediethylester **5j** verloren geht (Schema 87).



Schema 87: Reaktionsschema zur bevorzugten Reaktion im weiteren Vorgehen.

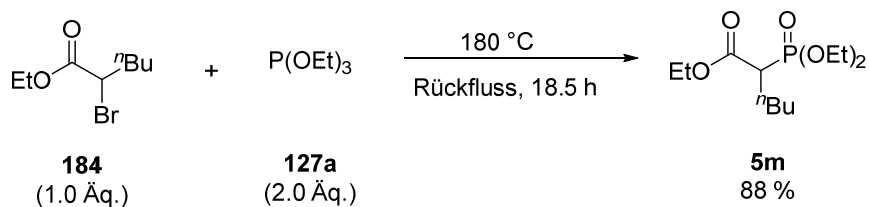
Jedoch war die herkömmliche *HWE*-Synthese, wie in Kapitel 4.2.1.2 (S. 89 ff.) beschrieben, mit dem Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5l** nicht erfolgreich, sodass ein alternativer Syntheseweg für diesen herangezogen werden musste. Ein möglicher Syntheseweg ist die

Carbonyl- und Phosphor-Komponenten zu vertauschen und demnach die Reaktion mit dem Phosphonsäurediethylester **5m** und Methylglyoxal (**183**) durchzuführen (Schema 88).



Schema 88: Mögliche retrosynthetische Zerlegung des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i**.

Somit musste zunächst der Phosphonsäurediethylester **5m** aus Verbindung **184** und Triethylphosphit (**127a**) hergestellt werden (Schema 89).



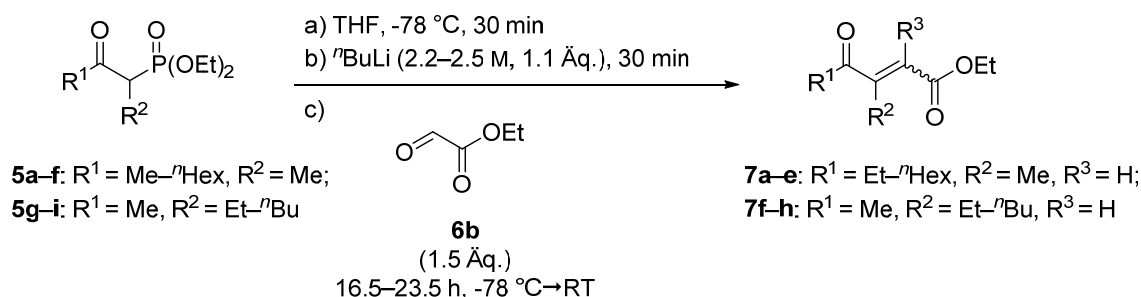
Schema 89: Literatursynthese zum Phosphonsäurediethylester **5m**.^[262]

Bei dieser literaturbekannten Reaktion handelt es sich ebenfalls um eine *Michaelis-Arbuzov-Reaktion*, die zum gewünschten Phosphonsäurediethylester **5m** in 88 % Ausbeute führte.^[262]

Somit konnten alle erforderlichen Phosphonsäurediethylester **5** erfolgreich synthetisiert werden und wurden schließlich einer *HWE-Reaktion* unterzogen.

4.2.1.2 Synthese der α,β -ungesättigten γ -Ketoester 7

Die Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5a-i** wurden, wie im Allgemeinen in Schema 90 dargestellt, in einer *HWE*-Reaktion eingesetzt. Dabei wurden sie mit Glyoxylsäureethylester **6b** zur Reaktion gebracht.



Schema 90: *Horner-Wadsworth-Emmons* Reaktion zur Synthese von α,β -ungesättigten γ -Ketoestern **7a-h**.

Der Mechanismus der *HWE*-Reaktion verläuft analog zur *Wittig*-Reaktion, wie in Kapitel 3.4.2.1 (S. 48 ff.) beschrieben. Somit konnten die α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** in 25–96 % Ausbeute synthetisiert werden. Die Produkte **7** kamen dabei als (*E/Z*)-Gemische vor, wobei sich in weiteren Studien, die nachfolgend erläutert werden, herausgestellt hat, dass die (*Z*)-Isomere überwiegen. Beide Isomere (*E*)- und (*Z*)-**7** lassen sich chromatographisch voneinander trennen, obwohl später gezeigt werden konnte, dass für die Enzymkaskade nicht immer isomerenreine Substrate verwendet werden müssen (s. Kapitel 4.2.3.1, S. 106 ff.). Ebenso lassen sich die beiden Konfigurationsisomere spektroskopisch voneinander unterscheiden. In Abbildung 21 sind beispielhaft die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der beiden Isomere des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7a** dargestellt. Im Allgemeinen sind dabei alle Signale des (*E*)-Isomers (*E*)-**7a** im Vergleich zum (*Z*)-Isomer (*Z*)-**7a** Tieffeld-verschoben. Ein deutlicher Unterschied ist allerdings bei dem olefinischen Wasserstoffkern 2-H und den Methylwasserstoffkernen 1''-H zu erkennen. Während der olefinische Wasserstoffkern 2-H beim (*E*)-Isomer eine chemische Verschiebung von $\delta = 6.55$ ppm aufweist, beträgt die Verschiebung beim (*Z*)-Isomer $\delta = 5.70$ ppm. Die Methylwasserstoffkerne 1''-H zeigen beim (*E*)-Isomer eine chemische Verschiebung von $\delta = 2.23$ ppm und beim (*Z*)-Isomer $\delta = 1.98$ ppm.

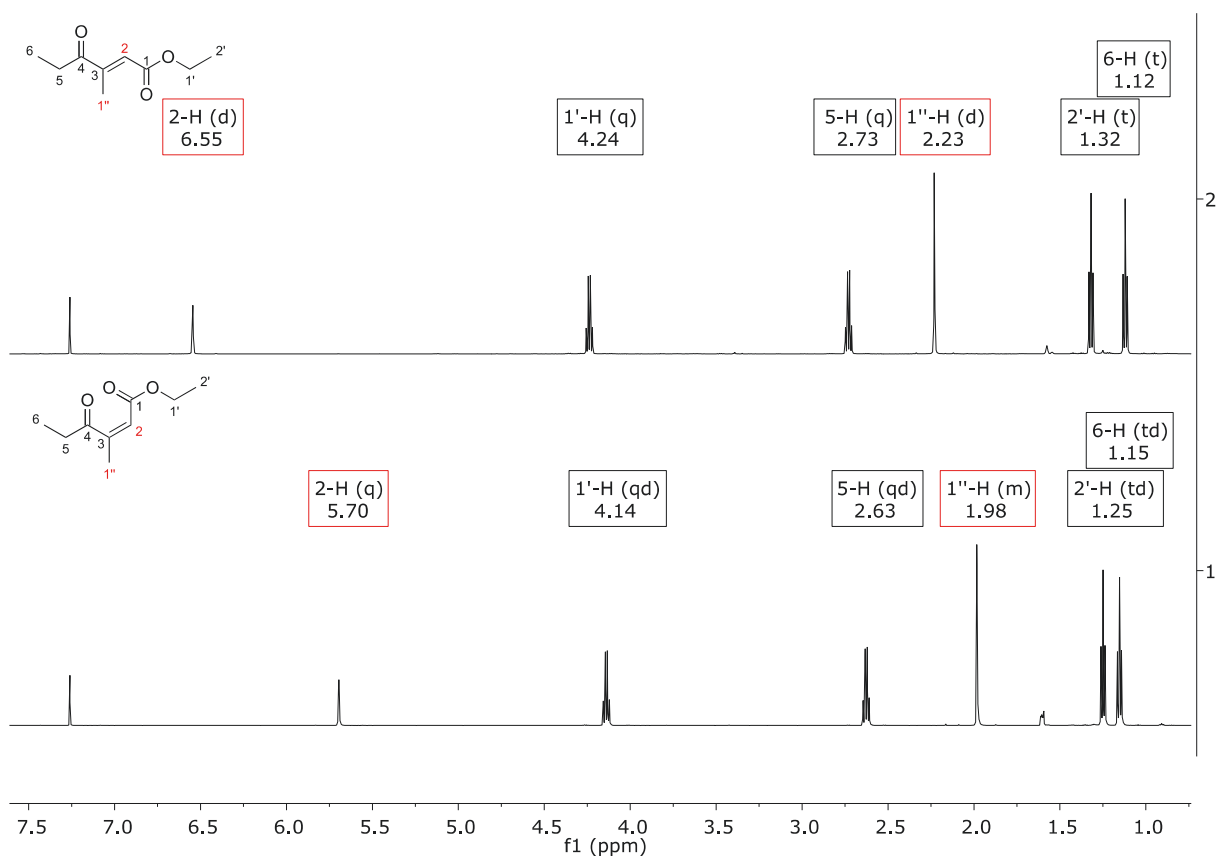


Abbildung 21: ¹H-NMR-Spektren der α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)- und (*Z*)-**7a** im Vergleich (600 MHz, CDCl₃).

Auch im ¹³C-NMR-Spektrum können Unterschiede wahrgenommen werden (Abbildung 22). Der olefinische Kohlenstoffkern C-2 ist beim (*E*)-Isomer (*E*)-**7a** ($\delta = 125.28$ ppm) im Vergleich zum (*Z*)-Isomer (*Z*)-**7a** ($\delta = 117.41$ ppm) Tieffeld-verschoben. Dagegen ist der olefinische Kohlenstoffkern C-3 beim (*Z*)-Isomer (*Z*)-**7a** ($\delta = 157.69$ ppm) Tieffeld-verschoben [(*E*)-**7a**: $\delta = 150.51$ ppm]. Ebenfalls kann auch beim Carbonylkohlenstoffkern C-4 eine Tieffeld-Verschiebung beim (*Z*)-Isomer (*Z*)-**7a** ($\delta = 209.27$ ppm) beobachtet werden [(*E*)-**7a**: $\delta = 202.88$ ppm]. Somit können anhand der chemischen Verschiebungen der ¹H- und ¹³C-Kerne im NMR-Spektrum die beiden (*E*/*Z*)-Isomere voneinander unterschieden werden.

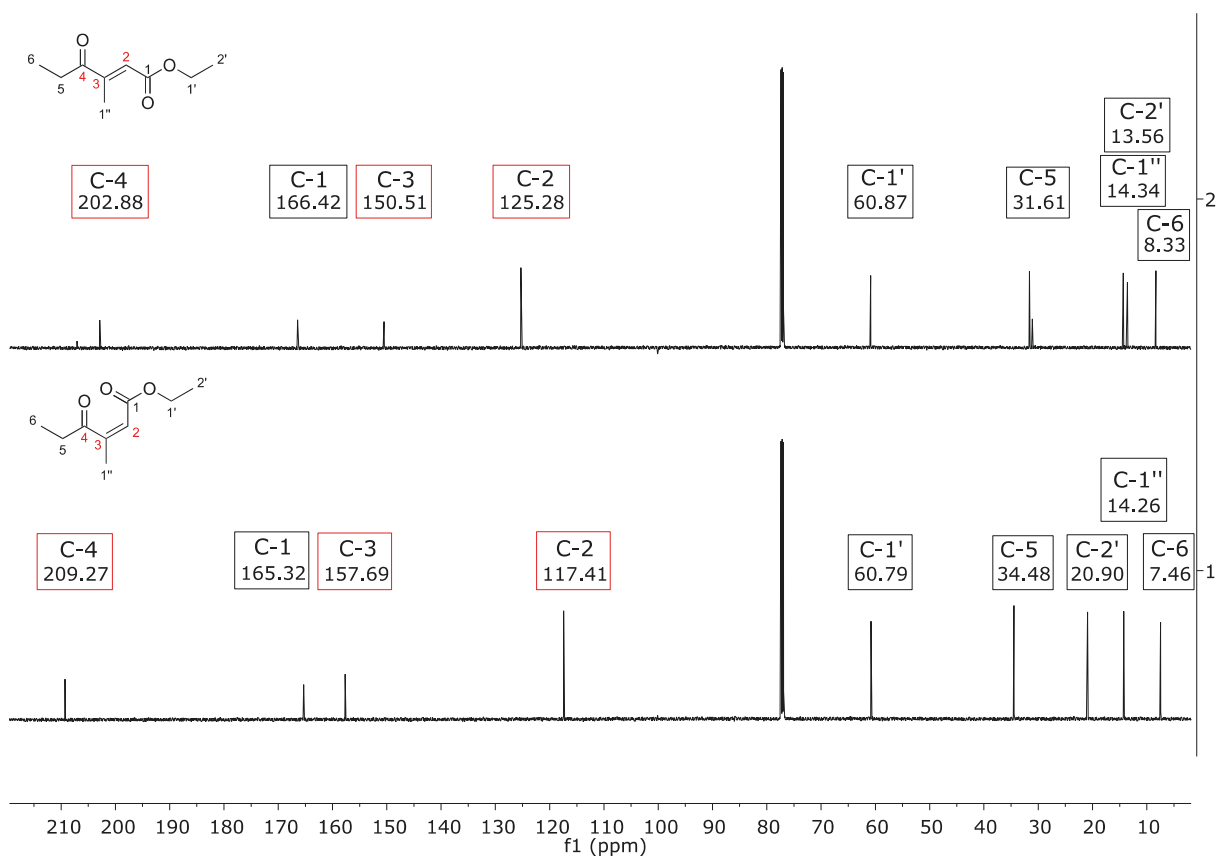


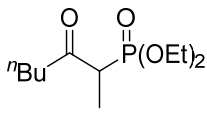
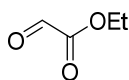
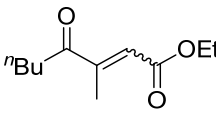
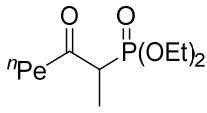
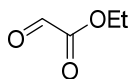
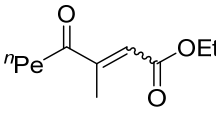
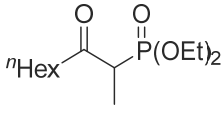
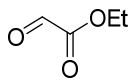
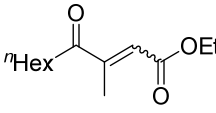
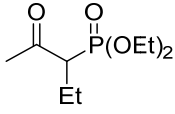
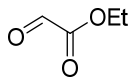
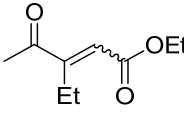
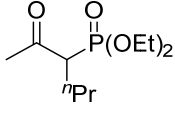
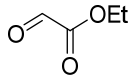
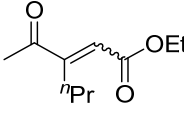
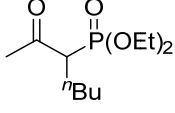
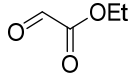
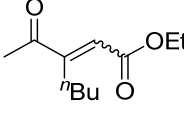
Abbildung 22: ^{13}C -NMR-Spektren der α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)- und (*Z*)-**7a** im Vergleich (151 MHz, CDCl_3).

Eine Übersicht der synthetisierten α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a–h** ist in Tabelle 4 zusammengefasst.

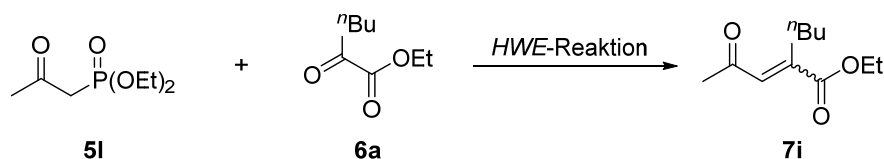
Tabelle 4: Übersicht der synthetisierten α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a–h**.

Eintrag	Edukt	Produkt	Ausbeute [%]	
1	 5b 1.80–2.50 g, 8.10–11.3 mmol	 6b 5–12 mL, 10–14 mmol	 7a 0.97–1.43 g, 5.72–8.40 mmol	71–75 [(<i>E</i>) = 2–6, (<i>Z</i>) = 65–79]
2	 5c 1.48–2.37 g, 6.26–10.0 mmol	 6b 12–19 mL, 8–12 mmol	 7b 0.62–4.06 g, 3.37–22.0 mmol	53–91 [(<i>E</i>) = 4–5, (<i>Z</i>) = 48–81]

Fortsetzung Tabelle 4:

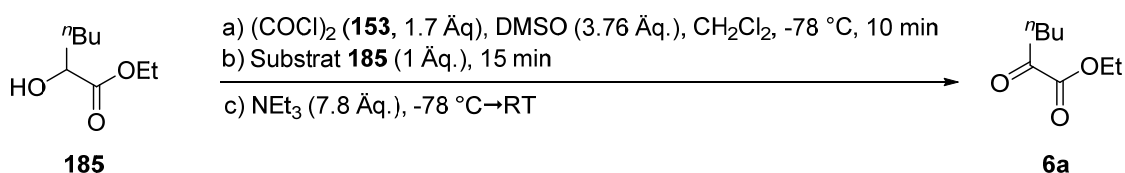
Eintrag	Edukt	Produkt	Ausbeute [%]	
3	 5d 0.40–1.71 g, 1.60–6.84 mmol	 6b 0.49–13 mL, 2.40–8.20 mmol	 7c 0.13–1.71 g, 0.66–8.63 mmol	39–78 [(E) = 12, (Z) = 54]
4	 5e 2.00–2.46 g, 7.57–9.31 mmol	 6b 4.6–6.7 mL, 9.1–11 mmol	 7d 1.77–4.03 g, 8.33–18.98 mmol	84–89 [(E) = 9, (Z) = 75–76]
5	 5f 2.00–3.00 g, 7.19–10.8 mmol	 6b 4–11 mL, 9–13 mmol	 7e 1.74–2.60 g, 7.69–11.5 mmol	80–90 [(E) = 5–9, (Z) = 75–81]
6	 5g 0.10–2.46 g, 0.45–11.1 mmol	 6b 0.46–6.8 mL, 0.54–13.3 mmol	 7f 0.03–1.30 g, 0.15–7.64 mmol	>60–<84 [(E) = 11–<34, (Z) = >41–62]
7	 5h 1.00–2.55 g, 4.23–10.8 mmol	 6b 4.7–12 mL, 5.1–13 mmol	 7g 0.14–0.69 g, 0.73–3.7 mmol	82–96 [(E) = 12–15, (Z) = 66–77]
8	 5i 1.00–2.30 g, 4.00–9.20 mmol	 6b 4.4–10 mL, 4.8–11 mmol	 7h 0.15–0.88 g, 0.79–4.45 mmol	25–84 [(E) = 11, (Z) = 48]

Für die gleichartige *HWE*-Reaktion zur Synthese des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i** wurde zunächst das 2-Oxohexansäureethylester (**6a**) als Carbonyl-Komponente benötigt (Schema 91).



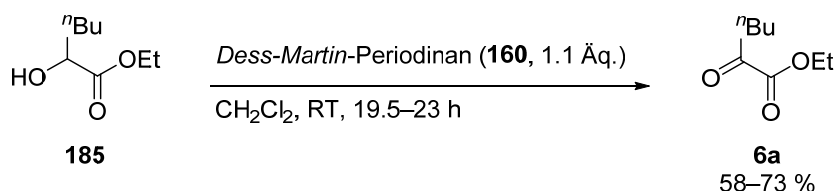
Schema 91: Reaktionsübersicht zur Darstellung des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i**.

Diese Verbindung **6a** wurde durch eine Oxidation des 2-Hydroxyhexansäureethylesters (**185**) hergestellt. In der Literatur ist hierfür eine *Swern*-Oxidation bekannt, die zu quantitativen Ausbeuten führen soll (Schema 92).^[263] Der Mechanismus dieser Reaktion ist in Kapitel 3.4.4.3 (S. 60 ff.) wiederzufinden.



Schema 92: *Swern*-Oxidation zur Synthese von 2-Oxohexansäureethylester (**6a**) nach *Chen et al.*^[263]

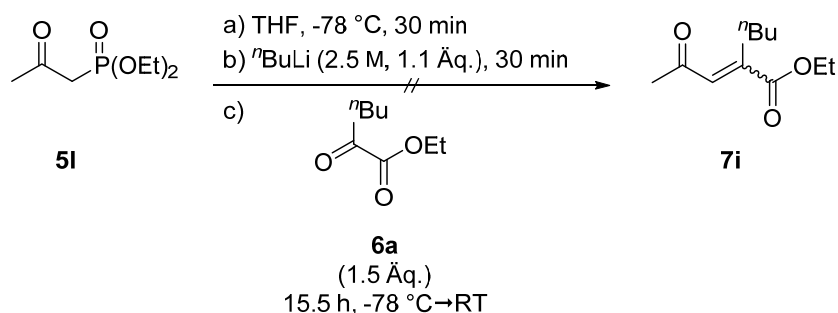
Die Durchführung der *Swern*-Oxidation führte allerdings zu geringen Ausbeuten von 15–48 %. Außerdem erwies sich die chromatographische Reinigung des stark verunreinigten Produktes **6a** als schwierig, sodass entschieden wurde, die alternative *Dess-Martin*-Oxidation durchzuführen (Schema 93). Der Mechanismus hierzu ist ebenfalls in Kapitel 3.4.4.3 (S. 60 ff.) wiederzufinden.



Schema 93: *Dess-Martin*-Oxidation zur Synthese von 2-Oxohexansäureethylester (**6a**).

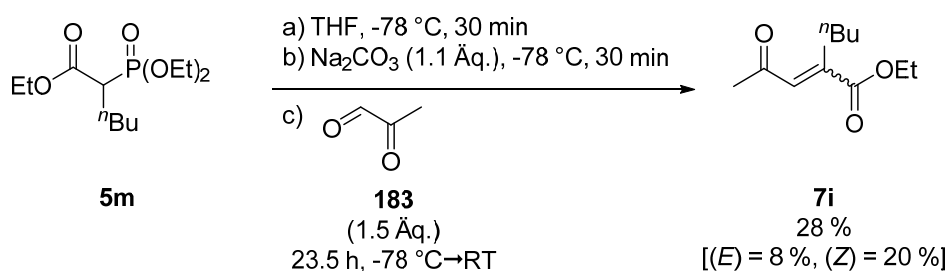
Im Vergleich zur *Swern*-Oxidation führte die *Dess-Martin*-Oxidation zu besseren Ausbeuten von 58–73 % und das Produkt **6a** war deutlich weniger verunreinigt. Außerdem wurde bei dieser Oxidationsmethode mildere Reaktionsbedingungen verwendet und die strenge Geruchsbelastung bei der *Swern*-Oxidation, hervorgerufen durch die Freisetzung des Dimethylsulfids (**158**), konnte dadurch vermieden werden.

Anschließend wurde, wie auch schon zuvor erwähnt (Kapitel 4.2.1.1, S. 84 ff.), mit dem 2-Oxohexansäureethylester (**6a**) und dem Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5l** die *HWE*-Reaktion zur Synthese des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i** durchgeführt (Schema 94).



Schema 94: Reaktionsschema zur Darstellung des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i**.

Allerdings verlief diese Reaktion nicht erfolgreich, sodass das Produkt **7i** nicht isoliert werden konnte. Daher wurde der alternative Syntheseweg wie in Schema 95 dargestellt, durchgeführt.



Schema 95: Reaktionsschema zur Darstellung des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i**.

Bei dieser Methode wurde die Carbonyl- und Phosphor-Komponente der *HWE*-Reaktion vertauscht. Somit konnte der nukleophile Angriff des Phosphonsäurediethylesters **5m** an dem elektrophilsten Zentrum des Methylglyoxals (**183**) gewährleistet werden. Die Reaktion wurde zunächst anlehnend zu den bisherigen Synthesen beginnend bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Als Base konnte in diesem Fall jedoch nicht *n*-Butyllithium verwendet werden, da wässriges Methylglyoxal (**183**) verwendet wurde. Stattdessen kam Natriumcarbonat als Base zum Einsatz und die übrigen Reaktionsbedingungen wurden beibehalten. Unter diesen Bedingungen konnte aber nur eine Ausbeute von 28 % erzielt werden. In der Literatur wurde vergleichend eine *HWE*- und eine *Wittig*-Reaktion mit Methylglyoxal (**183**) durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, dass die *Wittig*-Reaktion generell besser abläuft und mit der *HWE*-Reaktion maximal 18 % Ausbeute erzielt werden konnte.^[264] Dennoch wurde die Reaktion dargestellt in Schema 95 versucht zu optimieren. In Tabelle 5 sind die Reaktionsbedingungen und Versuche zur Optimierung zusammengefasst.

Tabelle 5: Übersicht der Reaktionsbedingungen und Ausbeuten für die Synthese des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i**.

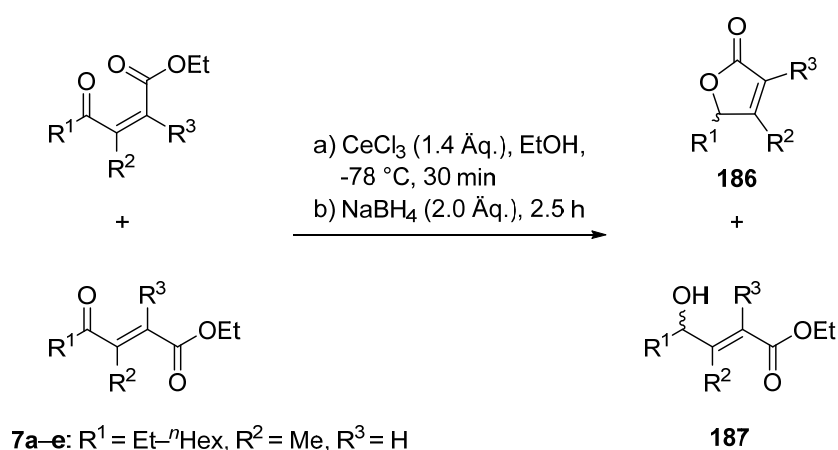
Eintrag	n [mmol]	Lösungsmittel	Base	T [°C]	t _a [h]	t _b [h]	Ausbeute [%]
1	0.58	THF	Na ₂ CO ₃	-78	0.8	19.5	36 [(E) = 12, (Z) = 24]
2	3.57	THF	Na₂CO₃	-78	0.7	20.5	40 [(E) = 12, (Z) = 28]
3	14.84	THF	Na ₂ CO ₃	-78	0.6	22.5	30 [(E) = 9, (Z) = 21]
4	9.27	THF	NEt ₃	-78	0.6	17	2 (E)
5	1.78	THF	NEt ₃	RT	0.5	23.5	-
6	7.27	THF	Na ₂ CO ₃	RT	0.5	23.5	28 [(E) = 8, (Z) = 20]
7	17.64	THF	Na₂CO₃	RT	0.5	17	32 [(E) = 10, (Z) = 22]
8	5.07	THF	Na ₂ CO ₃	RT	1	22	28 [(E) = 8, (Z) = 20]
9	14.52	THF	Na ₂ CO ₃	RT	1.5	19.5	23 [(E) = 7, (Z) = 16]
10	9.63	THF	Na ₂ CO ₃	RT	2	16.5	24 [(E) = 7, (Z) = 17]
11	11.37	THF	Na ₂ CO ₃	RT	3	19	25 [(E) = 8, (Z) = 17]
12	14.78	THF	Na ₂ CO ₃	RT	16	15	8 (E)
13	17.64	THF/H ₂ O (1:1)	Na ₂ CO ₃	RT	0.5	16.5	-
14	9.93	THF	Na ₂ CO ₃	RT	1	24	20 [(E) = 6, (Z) = 14]
15	6.69	THF	Na ₂ CO ₃	RT	1	56.5	22 [(E) = 6, (Z) = 16]
16	6.78	THF	Na ₂ CO ₃	RT	1.5	60	22 [(E) = 6, (Z) = 16]
17	64.22	THF	Na ₂ CO ₃	RT	0.5	55	20 [(E) = 6, (Z) = 14]
18	42.31	THF	Na ₂ CO ₃	RT	0.5	56.5	24 [(E) = 7, (Z) = 17]

t_a = Reaktionszeit nach Zugabe der Base.t_b = Reaktionszeit nach Zugabe des Methylglyoxals (**183**).

Als erstes wurden die Reaktionszeit t_a nach Zugabe der Base zwischen 30 und 50 min und die Reaktionszeit t_b nach Zugabe des Methylglyoxals (**183**) von 19.5–22.5 h variiert. Hierbei konnten Ausbeuten von 30–40 % erreicht werden (Einträge 1–3). Des Weiteren wurde Triethylamin als Base ausprobiert, wobei die Reaktionstemperatur -78 °C betrug (Eintrag 4). In diesem Fall wurde eine sehr schlechte Ausbeute von nur 2 % erhalten, sodass diese Reaktion bei RT wiederholt wurde (Eintrag 5). Die Temperaturerhöhung hatte laut DC-Kontrolle keinen Einfluss auf den Umsatz, sodass auf die Isolierung des minimalen Produktanteils verzichtet wurde. Da die Reaktion mit Triethylamin als Base sehr viel schlechter verlief, wurde wieder auf das Natriumcarbonat zurückgegriffen. Diesmal wurde die Reaktion bei RT durchgeführt und lieferte eine Ausbeute von 28–32 % (Einträge 6–7). Hierbei könnte es sein, dass das wässrige Methylglyoxal (**183**) bei tiefen Temperaturen einfriert und erst nach Erwärmung auf RT auftaut und dann erst zur Reaktion zur Verfügung steht, sodass eine Erniedrigung der Reaktionstemperatur keinen Einfluss auf die Reaktion hat. Da die Ausbeuten und Selektivitäten ähnlich ausfallen, wie bei einer Reaktionstemperatur von -78 °C, wurde die Reaktion im weiteren Verlauf bei RT durchgeführt. Als Nächstes wurde die Reaktionszeit t_a zur Deprotonierung des Phosphonsäurediethylesters **5m** auf 1 h erhöht (Eintrag 8). Hierbei konnte wieder nur 28 % Ausbeute erreicht werden. Auch eine Erhöhung der Reaktionszeit t_a auf bis zu 3 h hatte keinen Einfluss auf die Ausbeuten, die 22–25 % betragen (Einträge 9–11). Die Deprotonierung wurde auch 16 h über Nacht durchgeführt, lieferte jedoch ein bislang nicht-identifizierbares Produkt und das gewünschte Produkt **7i** in einer spärlichen Ausbeute von nur 8 % (Eintrag 12). Dies verdeutlicht, dass die Reaktionszeit t_a nicht beliebig verlängert werden kann. In einem weiteren Versuch wurde die Reaktion auch in

THF/H₂O (1:1) durchgeführt, um die Löslichkeit des Natriumcarbonats zu erhöhen (Eintrag 13). Das Natriumcarbonat hatte sich dabei vollständig gelöst. Es konnte jedoch kein Umsatz nach Zugabe des Methylglyoxals (**183**) beobachtet werden. Daher wurde die Reaktion wie üblich als Suspension durchgeführt. Schließlich wurde die Reaktionszeit t_b nach Zugabe des Methylglyoxals (**183**) auf bis zu 60 h erhöht. Auch eine gleichzeitige Variierung der Deprotonierungszeit t_a zwischen 0.5–1.5 h zeigte keinen Einfluss auf die Reaktion. Die Ausbeuten blieben bei 20–24 % (Einträge 14–18). Zusammengefasst lässt sich sagen, dass die Ausbeuten durch die unterschiedlichen Variierungen der Reaktionsbedingungen nicht erhöht werden konnten. Allerdings kann die Reaktion auch bei RT durchgeführt werden. Die Erhöhung der Reaktionszeit t_b nach Zugabe des Methylglyoxals (**183**) hat im Gegensatz zur Erhöhung der Reaktionszeit t_a zur Deprotonierung keinen negativen Einfluss auf die Reaktion. Die Verwendung eines THF/H₂O-Lösungsmittelgemisches und Triethylamin als Base haben sich als nicht geeignet erwiesen. Aus diesen Gründen wurde die Synthese des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i** in THF mit Natriumcarbonat als Base bei RT durchgeführt.

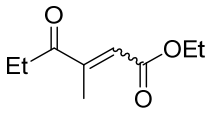
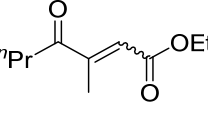
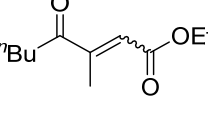
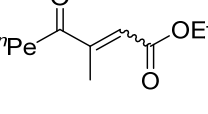
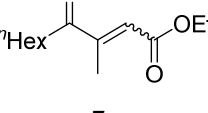
Nach der erfolgreichen Synthese aller α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a–i** wurden Studien zur Identifizierung der (*E/Z*)-Isomerie durchgeführt, da nicht alle dieser Verbindungen literaturbekannt sind. Hierzu wurde die unterschiedliche räumliche Ausrichtung der Isomere in Betracht genommen. Demnach müsste nach einer erfolgreichen Reduktion der Ketofunktionalität das (*Z*)-Isomer [(*Z*)-**7**] aufgrund der räumlichen Nähe zur Esterfunktionalität spontan zum Butenolid **186** lactonisieren und das (*E*)-Isomer [(*E*)-**7**] als offenkettiger Alkohol **187** vorliegen. Um dies zu überprüfen wurden zunächst beide Isomere der Verbindungen **7a–e** nach *Luche* reduziert (Schema 96).^[165] Der Mechanismus hierzu kann in Kapitel 3.4.4.2 (S. 58 ff.) nachgelesen werden.



Schema 96: *Luche*-Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a–e**.

Nach der *Luche*-Reduktion wurden die Produkte **186** und **187** mittels NMR analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: (*E/Z*)-Identifizierung der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a–e** nach *Luche*-Reduktion.

Eintrag	Edukt	Produkt	Konfiguration	
1	 7a	Minderisomer	-	
		Hauptisomer	Butenolid 186a	(<i>Z</i>)
2	 7b	Minderisomer	Alkohol 187b	(<i>E</i>)
		Hauptisomer	Butenolid 186b	(<i>Z</i>)
3	 7c	Minderisomer	Alkohol 187c	(<i>E</i>)
		Hauptisomer	Butenolid 186c	(<i>Z</i>)
4	 7d	Minderisomer	Alkohol 187d	(<i>E</i>)
		Hauptisomer	Butenolid 186d	(<i>Z</i>)
5	 7e	Minderisomer	Alkohol 187e	(<i>E</i>)
		Hauptisomer	Butenolid 186e	(<i>Z</i>)

Das Minderisomer der Et-substituierten Verbindung **7a** konnte nicht erfolgreich reduziert werden, sodass hier keine klare Aussage über die Konfiguration getroffen werden kann. Eine *Luche*-Reduktion des Hauptisomers **7a** führte zum Butenolid **186a** (Eintrag 1). Bei den übrigen Verbindungen **7b–e** konnten durch die Reduktion der Minderisomere immer die Alkohole **187** und bei den Hauptisomeren immer die spontan entstandenen Butenolide **186** identifiziert werden (Einträge 3–5). Aus Analogieschlüssen müsste auch das Minderisomer der Et-substituierten Verbindung **7a** zum Alkohol **187a** führen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Minderisomere (*E*)- und die Hauptisomere (*Z*)-konfiguriert sein müssen.

Um von der räumlichen Kopplung Gebrauch zu machen, wurden zusätzlich NOESY-Spektren aufgenommen (Abbildung 23). Demnach müsste es bei einer (*Z*)-Konfiguration aufgrund der räumlichen Nähe eine Kopplung zwischen den R²- und R³-Protonen geben und bei einer (*E*)-Konfiguration dementsprechend keine Kopplung. Bei einer (*E*)-Konfiguration müsste dagegen eine Kopplung zwischen den R¹- und R³-Protonen geben, die bei den (*Z*)-konfigurierten Verbindungen nicht auftreten, wie es auch in der Literatur gezeigt wird.^[265] Die Kopplung zwischen R¹- und R²-Protonen, die sowohl bei einer (*E*)- als auch bei einer (*Z*)-Konfiguration auftreten können, sind nicht substratspezifisch und werden daher hier vernachlässigt. Die Beobachtungen der NOE-Kopplungen der Verbindungen **7a–i** sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

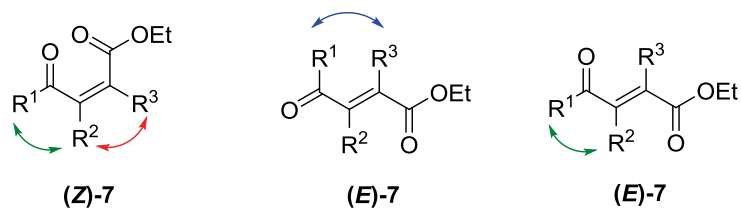
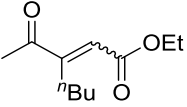
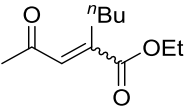


Abbildung 23: NOE-Kopplungen bei den (Z)- und (E)-konfigurierten γ -Ketoestern 7.

Tabelle 7: Übersicht der NOE-Kopplungen bei den α,β -ungesättigten γ -Ketoestern 7a-i.

Eintrag	Verbindung	NOESY		
		R2-R3	R1-R3	
1	 7a	Minderisomer	○	●
		Hauptisomer	●	○
2	 7b	Minderisomer	○	●
		Hauptisomer	●	○
3	 7c	Minderisomer	○	●
		Hauptisomer	○	○
4	 7d	Minderisomer	●	○
		Hauptisomer	●	○
5	 7e	Minderisomer	○	●
		Hauptisomer	●	○
6	 7f	Minderisomer	○	●
		Hauptisomer	●	○
7	 7g	Minderisomer	○	●
		Hauptisomer	●	○

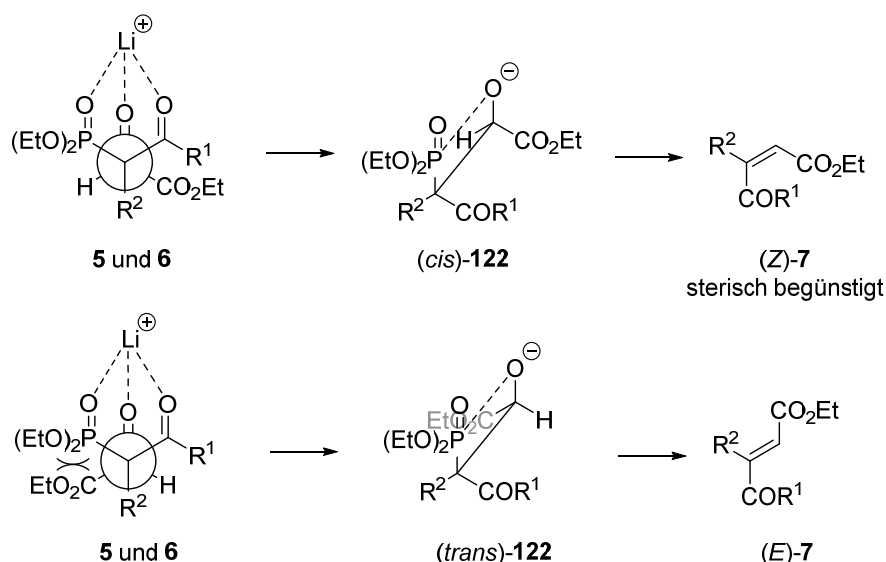
Fortsetzung Tabelle 7:

Eintrag	Verbindung	NOESY		
		R ² -R ³	R ¹ -R ³	
8	 7h	Minderisomer	●	●
	Hauptisomer	●	○	
9	 7i	Minderisomer	○	○
	Hauptisomer	○	○	

- Kopplung vorhanden.
- ◐ schwache Kopplung vorhanden (subjektive Einschätzung der Signalintensität).
- keine Kopplung vorhanden.

Hierbei ist zu beobachten, dass die Minderisomere in der Regel keine oder nur eine schwache (subjektive Wahrnehmung) R²/R³-Kopplung zeigen. Bei den Hauptisomeren dagegen, gibt es immer eine Kopplung zwischen R² und R³. Im Gegensatz hierzu ist bei den Minderisomeren eine Kopplung zwischen R¹ und R³ zu beobachten, die bei den Hauptisomeren nicht oder nur schwach vorhanden sind. Diese Ergebnisse deuten auf eine (*E*)-Konfiguration bei den Minderisomeren und eine (*Z*)-Konfiguration bei den Hauptisomeren hin. Nur Verbindung **7d** weicht von diesem Schema ab, da sowohl beim Minder- als auch beim Hauptisomer eine Kopplung zwischen R² und R³ und eine schwache Kopplung zwischen R¹ und R³ vorhanden sind (Eintrag 4). Nichtsdestotrotz konnte durch eine *Luche*-Reduktion dieser Verbindung **7d** die Konfiguration zugeordnet werden (Tabelle 6, S. 97). Außerdem können bei den Isomeren der Verbindung **7i** die NOE-Kopplungen nicht zur Konfigurationszuordnung herangezogen werden (Eintrag 9). Daher wurden diese beiden Isomere gemäß Schema 96 nach *Luche* reduziert. Aus dem Minderisomer konnte mittels NMR-Analytik der Alkohol **187i** und aus dem Hauptisomer das Butenolid **186i** identifiziert werden.

Sowohl die Ergebnisse der *Luche*-Reduktion als auch die NOE-Kopplungen deuten auf eine (*Z*)-Selektivität der *HWE*-Reaktion. Eine Erklärung hierfür könnte die Sterik der Substrate **5** und **6** sein, die in Anwesenheit von Lithiumionen entstehen (Schema 97).

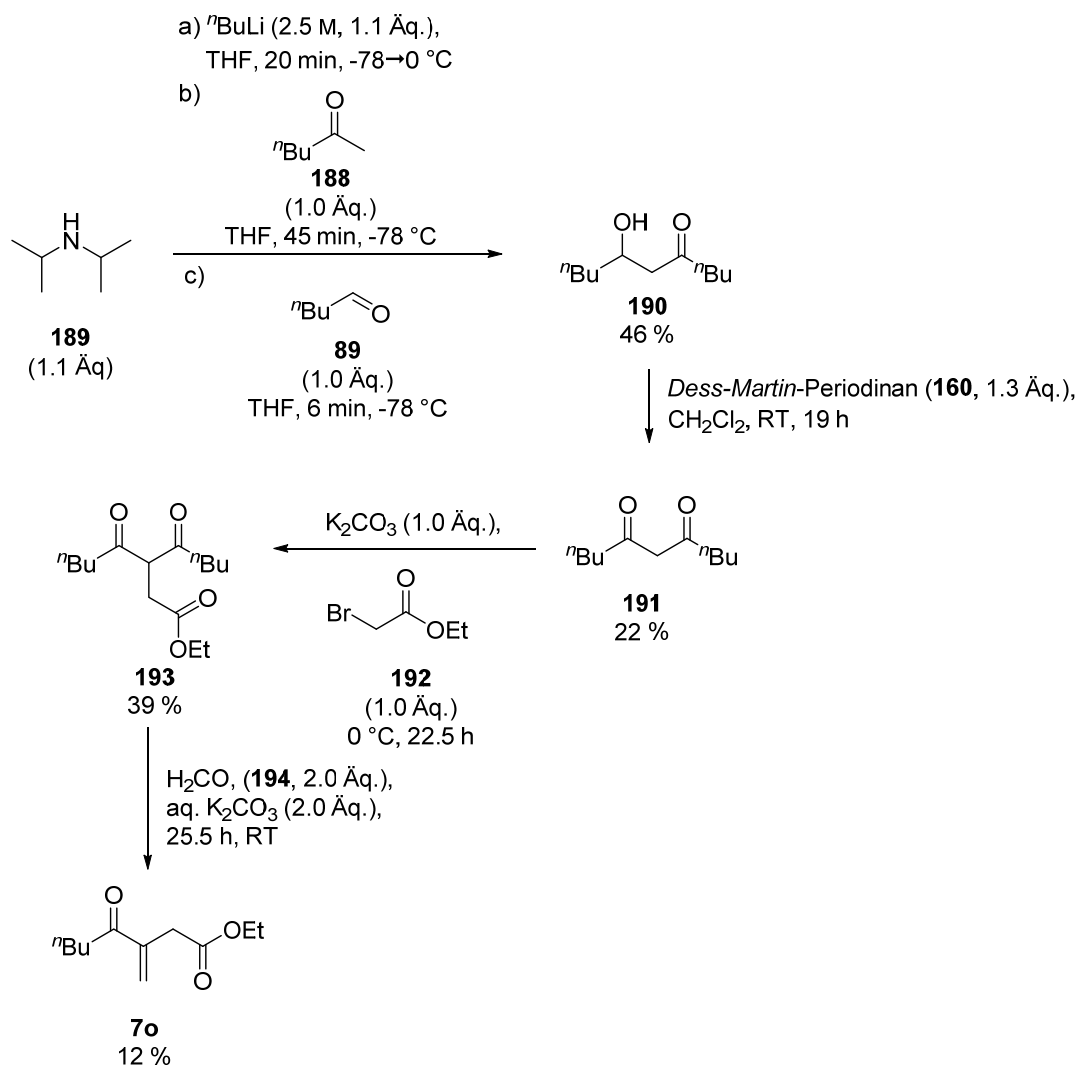


Schema 97: Reaktionsschema zur möglichen Erklärung der (Z)-Selektivität der HWE-Reaktion. Die *Newman*-Projektion soll hierbei die Koordination der Substrate **5** und **6** anzeigen, während die Sägebock-Darstellung die mechanistische Zwischenstufe Übergangszustand verdeutlichen soll.

Denn durch die Koordination der Carbonylgruppen mit dem Lithiumion sollte die Carbonylverbindung **6** *gauche* zum Phosphonsäurediethylester **5** stehen. Aus sterischen Gründen ist es allerdings günstiger, wenn die Esterfunktionalität der Carbonylverbindung **6** *anti* zum Phosphorrest des Phosphonsäurediethylesters **5** angeordnet ist. Dementsprechend wird dann bevorzugt das *cis*-Oxaphosphetan [(*cis*)-**122**] gebildet, welches zum (Z)-Alken [(Z)-**7**] führt. Die Reaktionsbedingung mit *n*BuLi bei -78 °C spricht ebenfalls für die kinetische Kontrolle der HWE-Reaktion, sodass bevorzugt das (Z)-Isomer gebildet wird. Bei der Synthese des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i** spricht die Reaktionsbedingung mit Na_2CO_3 bei RT für eine thermodynamische Kontrolle. Allerdings wurde auch in diesem Fall bevorzugt das (Z)-Isomer (Z)-**7i** gebildet. Dies kann vermutlich dadurch begründet werden, dass die Esterfunktionalität und der *n*Bu-Substituent ähnlich groß sind und deshalb nicht eindeutig differenziert werden kann.

Darstellung der Exomethylen-Verbindung **7o**:

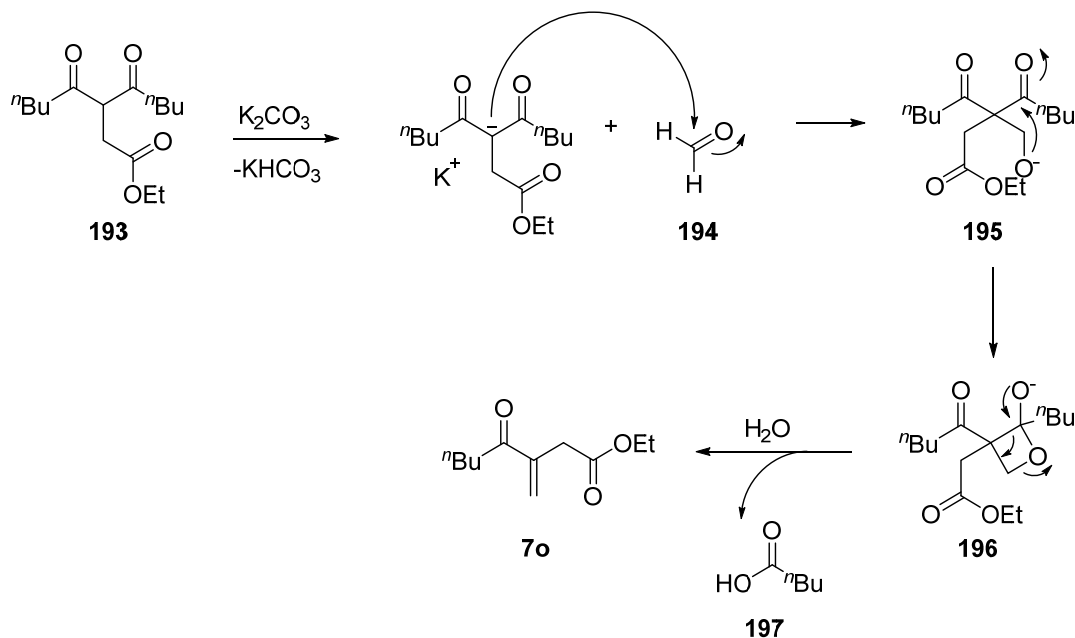
Des Weiteren ist es auch interessant zu sehen, ob die enzymatische Reduktion einer *exo*-ständigen Doppelbindung zum selben Enantiomer führt, wie die Reduktion einer *endo*-ständigen Doppelbindung. Um diese Fragestellung zu untersuchen wurde beispielhaft das Exomethylen-Substrat **7o** durch *Frederike Book* synthetisiert (Schema 98).



Schema 98: Syntheseweg zum Exomethylen-Substrat **7o**.^[266-269]

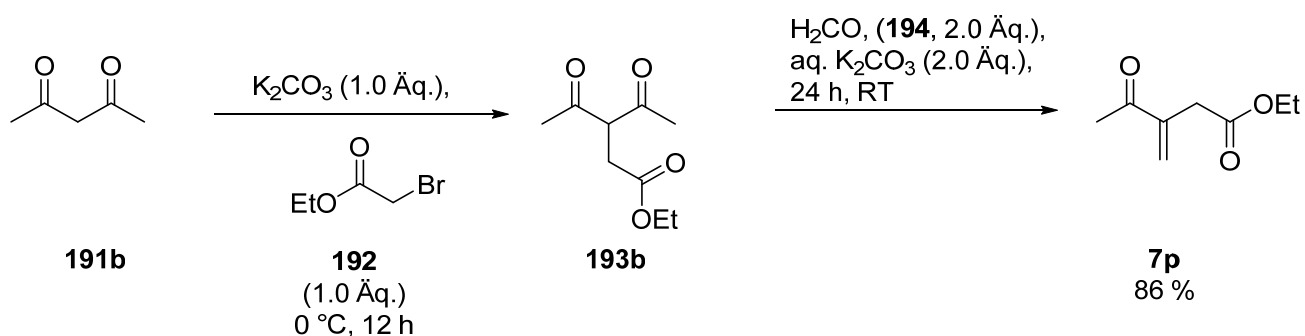
Bei diesem Syntheseweg findet zuerst eine basenkatalysierte Aldolreaktion zwischen 2-Hexanon (**188**) und *n*-Pentanal (**89**) statt. Dafür wird die Base Lithiumdi-*iso*-propylamid (LDA) *in situ* aus Di-*iso*-propylamin (**189**) und $n\text{BuLi}$ gebildet. Nach der Deprotonierung des 2-Hexanons (**188**) greift das gebildete Enolat nukleophil das Aldehyd **89** an. Dabei konnte Verbindung **190** in 46 % Ausbeute isoliert werden. Diese Zwischenverbindung **190** wurde anschließend nach *Dess-Martin* zum Diketon **191** oxidiert und lieferte eine Ausbeute von 22 %. Das Diketon **191** liegt dabei überwiegend in der Enol-Form vor. In der Literatur wurde auch über die Keto-Enol-Tautomerie von alkylsubstituierten β -Diketonen **191** berichtet.^[270] Im weiteren Verlauf dieser Synthese findet eine nukleophile Substitutionsreaktion mit Verbindung **192** zu

Verbindung **193** statt. Im letzten Schritt wird Formaldehyd (**194**) addiert und durch eine Umlagerungsreaktion über die Verbindungen **195** und **196** das Produkt **7o** und *n*-Pentansäure (**197**) freigesetzt (Schema 99).^[269] Somit konnte die Verbindung **7o** in 12 % Ausbeute isoliert werden.



Schema 99: Mechanismus zur Bildung der Exomethylen-Verbindung **7o**.^[269]

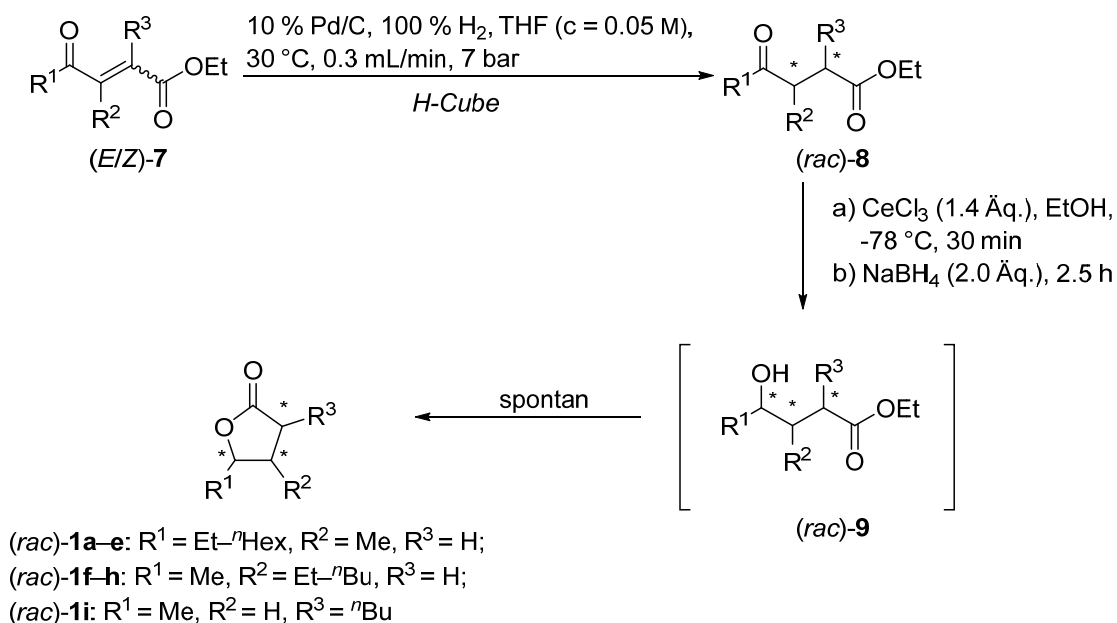
Als Vergleich hierzu kann die in der Literatur zuvor synthetisierte Me-substituierte Exomethylen-Verbindung **7p** genannt werden, die in 86 % Ausbeute isoliert wurde (Schema 100).



Schema 100: Reaktionsschema zur Synthese der Me-substituierten Exomethylen-Verbindung **7p** nach Brenna *et al.*^[266]

4.2.2 Darstellung von Referenzverbindungen

Um über die Stereoselektivität der enzymatischen Reaktionen urteilen zu können, sind racemische Referenzen der gesättigten γ -Ketoester (*rac*)-**8** und γ -Butyrolactone (*rac*)-**1** notwendig. In Schema 101 ist der Syntheseweg zu den racemischen Referenzverbindungen dargestellt.



Schema 101: Reaktionsschema zur Darstellung der racemischen γ -Ketoester (*rac*)-**8** und γ -Butyrolactone (*rac*)-**1**.

Die Synthese der gesättigten γ -Ketoester (*rac*)-**8** als Racemat erfolgte an einem *H-Cube* durch Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** mit molekularem Wasserstoff und Palladium als Katalysator. Der Mechanismus hierzu ist in Kapitel 3.4.4.1 (S. 55 ff.) gezeigt. Die Hydrierung verläuft in der Regel quantitativ ab, sodass die Enantiomere der gesättigten γ -Ketoester **8** gaschromatographisch an einer chiralen stationären Phase getrennt werden konnten. In Abbildung 24 ist beispielhaft ein Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des racemischen γ -Ketoesters (*rac*)-**8a** mit dem des enantiomerenreinen Isomers (*R*)-**8a** gegenübergestellt.

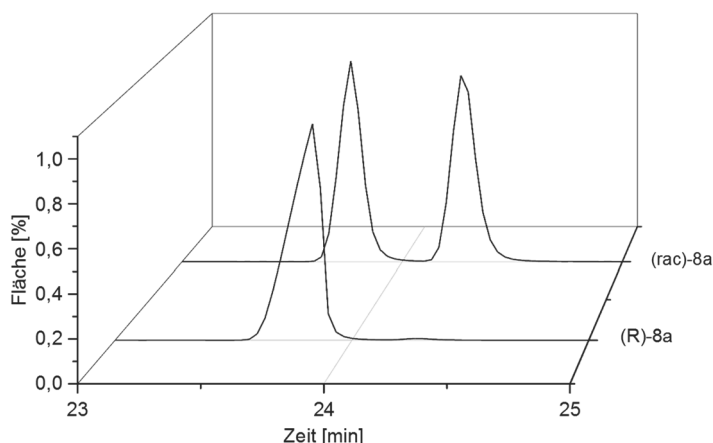


Abbildung 24: Ausschnitt aus dem GC-Spektrum zum γ -Ketoester **8a** [t_R [min] = 23.8 (*R*), 24.2 (*S*), FS Lipodex G, 60°C-5 min, 1°C/min auf 100°C, 10°C/min auf 150°C-1 min].

Die racemischen Gemische der gesättigten γ -Ketoester (*rac*)-**8** wurden wiederum als Substrat für die Synthese der racemischen γ -Butyrolactone (*rac*)-**1** verwendet. Hierbei wurde die Carbonylgruppe, wie zuvor beschrieben, nach *Luche* reduziert.^[165] Die Alkohole (*rac*)-**9** als Zwischenprodukte lactonisierten spontan zu den gewünschten racemischen γ -Butyrolactonen (*rac*)-**1**, die ebenfalls gaschromatographisch an einer chiralen stationären Phase getrennt werden konnten. Abbildung 25 zeigt z.B. ein Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des racemischen Gemischs der Lactone (*rac*)-**1a** mit den isomerenreinen Lactonen (*3R,4R*)- und (*3R,4S*)-**1a**.

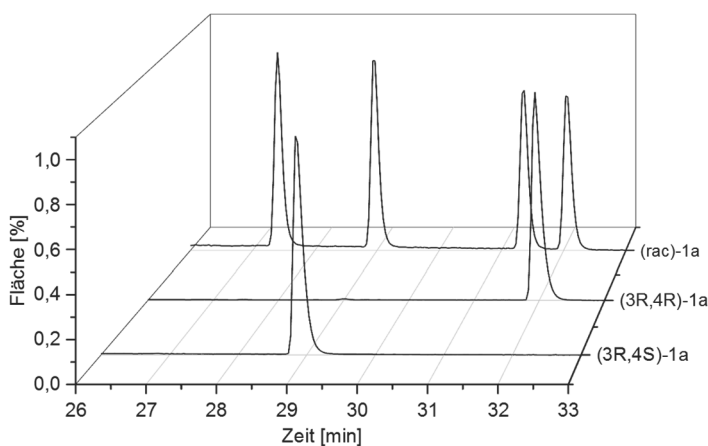


Abbildung 25: Ausschnitt aus dem GC-Spektrum zum γ -Butyrolacton **1a** [t_R [min] = 27.5 (*3S,4R*), 28.8 (*3R,4S*), 31.3 (*3S,4S*), 31.9 (*3R,4R*), FS Lipodex G, 60°C-5 min, 1°C/min auf 100°C, 10°C/min auf 150°C-1 min].

Nur im Falle der Verbindungen (*rac*)-**8f-h** konnten nach der *Luche*-Reduktion die Alkohole (*rac*)-**9f-h** isoliert werden. Es wurde allerdings keine gaschromatographische Trennmethode für diese Zwischenprodukte (*rac*)-**9f-h** etabliert. Die stereochemische Zuordnung der racemischen Referenzverbindungen (*rac*)-**8** und (*rac*)-**1** erfolgte rückwirkend aus den

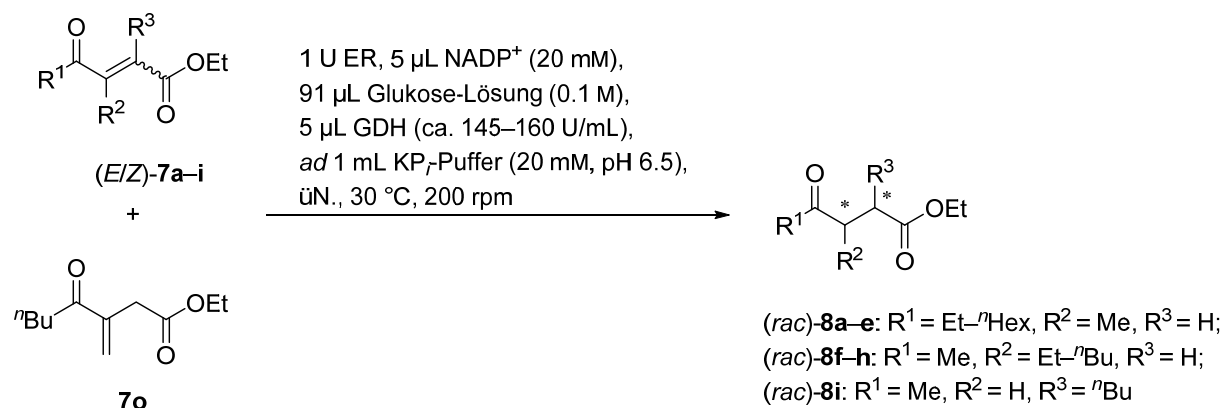
isomerenreinen Verbindungen **1** durch NMR-Korrelation und Vergleich der Enantioselektivität der ADH-R im Bezug auf die bekannten Me-substituierten γ -Butyrolactone **1j** und **1k** (Kapitel 4.2.5.1, S. 130 ff.).

4.2.3 Enzyscreening

4.2.3.1 Enreduktasen

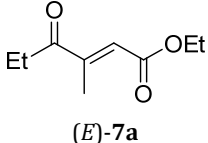
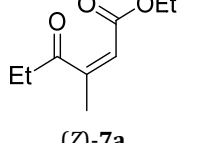
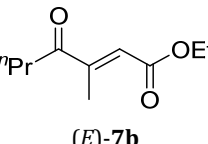
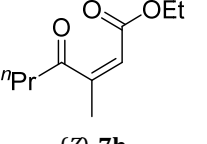
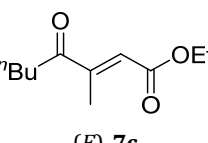
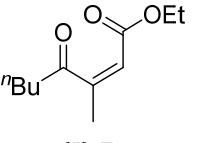
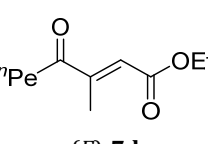
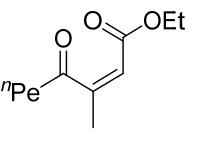
Um die geeignete Enreduktase im Hinblick auf Umsatz und Enantioselektivität zu identifizieren, wurde zunächst ein Screening mit jeweils beiden Isomeren der α,β -ungesättigten γ -Ketoestern **7a-i** durchgeführt. Zusätzlich wurde auch die Exomethylen-Verbindung **7o** als Vergleich zu den (*E*)- und (*Z*)-Isomeren der Verbindung **7c** getestet. Als Enreduktase kamen dabei die Wildtyp Enzyme Ncr_{ZM} aus *Zymomonas mobilis*, Ncr_{PL} aus *Photorhabdus luminescence*, Oye aus *Saccharomyces carlsbergensis*, YqjM aus *Bacillus subtilis*, Opr1 *Lycopersicon esculentum*, Opr3 aus *Lycopersicon esculentum* und TsER aus *Thermus scotoductus* zum Einsatz (Schema 102).^[176, 178, 271-275]

Die Cofaktorregenerierung wurde hierbei mit Hilfe von GDH gewährleistet. Die Screening-Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Die Zuordnung der Konfigurationen wurde rückwirkend durch die Konfigurationen der Lactone **1** getroffen.

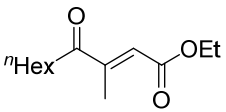
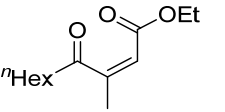
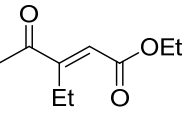
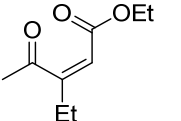
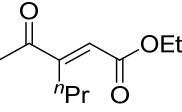
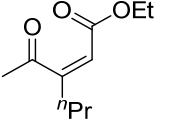
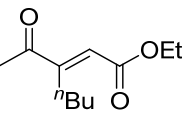
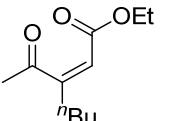
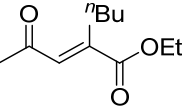
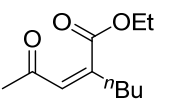


Schema 102: Reaktionsschema für das Enreduktase-Screening mit den α,β -ungesättigten γ -Ketoestern **7a-i** und **7o**.

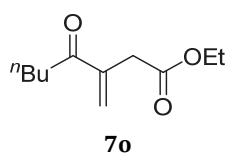
Tabelle 8: Zusammenfassung der Ergebnisse des Enreduktase-Screenings mit den α,β -ungesättigten γ -Ketoestern 7a-i und 7o.

Eintrag	Substrat	ER	Umsatz (%)	ee (%)	Konfiguration	Substrat	ER	Umsatz (%)	ee (%)	Konfiguration
1	 (E)-7a	Ncrz _M	>99	97	(R)	 (Z)-7a	Ncrz _M	86	98	(R)
		Ncr _{PL}	76	87	(R)		Ncr _{PL}	98	90	(R)
		Oye	82	29	(R)		Oye	99	36	(R)
		Yqj _M	48	64	(S)		Yqj _M	97	25	(R)
		Opr1	48	16	(R)		Opr1	93	44	(R)
		Opr3	55	0	-		Opr3	86	11	(S)
		TsER	45	48	(R)		TsER	84	58	(R)
2	 (E)-7b	Ncrz _M	90	98	(R)	 (Z)-7b	Ncrz _M	97	>99	(R)
		Ncr _{PL}	76	82	(R)		Ncr _{PL}	76	87	(R)
		Oye	10	69	(R)		Oye	80	64	(R)
		Yqj _M	29	12	(S)		Yqj _M	18	52	(R)
		Opr1	87	3	(S)		Opr1	82	5	(R)
		Opr3	60	6	(R)		Opr3	23	10	(R)
		TsER	46	56	(R)		TsER	71	50	(R)
3	 (E)-7c	Ncrz _M	97	99	(R)	 (Z)-7c	Ncrz _M	64	99	(R)
		Ncr _{PL}	88	91	(R)		Ncr _{PL}	25	95	(R)
		Oye	58	86	(R)		Oye	22	72	(R)
		Yqj _M	57	48	(R)		Yqj _M	1	79	(R)
		Opr1	90	64	(R)		Opr1	36	13	(R)
		Opr3	76	25	(R)		Opr3	36	16	(R)
		TsER	15	65	(R)		TsER	42	65	(R)
4	 (E)-7d	Ncrz _M	76	>99	(R)	 (Z)-7d	Ncrz _M	29	>99	(R)
		Ncr _{PL}	68	>99	(R)		Ncr _{PL}	51	99	(R)
		Oye	86	86	(R)		Oye	18	90	(R)
		Yqj _M	26	50	(R)		Yqj _M	47	54	(R)
		Opr1	62	50	(R)		Opr1	29	48	(R)
		Opr3	41	49	(R)		Opr3	26	34	(R)
		TsER	3	59	(R)		TsER	52	59	(R)

Fortsetzung von Tabelle 8:

Eintrag	Substrat	ER	Umsatz (%)	ee (%)	Konfiguration	Substrat	ER	Umsatz (%)	ee (%)	Konfiguration
5	 (E)-7e	Ncrz _M	41	>99	(R)	 (Z)-7e	Ncrz _M	41	>99	(R)
		Ncr _{PL}	53	>99	(R)		Ncr _{PL}	30	>99	(R)
		Oye	46	91	(R)		Oye	22	>99	(R)
		Yqj _M	26	59	(R)		Yqj _M	22	54	(R)
		Opr1	38	36	(R)		Opr1	18	26	(R)
		Opr3	11	40	(R)		Opr3	29	52	(R)
		TsER	5	50	(R)		TsER	8	87	(R)
6	 (E)-7f	Ncrz _M	99	>99	(S)	 (Z)-7f	Ncrz _M	71	28	(S)
		Ncr _{PL}	89	98	(S)		Ncr _{PL}	41	91	(S)
		Oye	87	99	(S)		Oye	13	57	(R)
		Yqj _M	80	98	(S)		Yqj _M	21	86	(R)
		Opr1	84	83	(S)		Opr1	57	89	(S)
		Opr3	77	88	(S)		Opr3	1	54	(S)
		TsER	87	94	(S)		TsER	70	73	(R)
7	 (E)-7g	Ncrz _M	99	>99	(S)	 (Z)-7g	Ncrz _M	97	96	(S)
		Ncr _{PL}	80	>99	(S)		Ncr _{PL}	98	99	(S)
		Oye	81	>99	(S)		Oye	32	>99	(S)
		Yqj _M	64	>99	(S)		Yqj _M	7	21	(S)
		Opr1	79	86	(S)		Opr1	67	97	(S)
		Opr3	89	91	(S)		Opr3	11	93	(S)
		TsER	64	>99	(S)		TsER	8	40	(R)
8	 (E)-7h	Ncrz _M	92	>99	(S)	 (Z)-7h	Ncrz _M	87	>99	(S)
		Ncr _{PL}	71	>99	(S)		Ncr _{PL}	62	97	(S)
		Oye	73	>99	(S)		Oye	18	>99	(R)
		Yqj _M	49	>99	(S)		Yqj _M	7	1	(S)
		Opr1	62	92	(S)		Opr1	62	99	(S)
		Opr3	50	93	(S)		Opr3	7	94	(S)
		TsER	9	>99	(S)		TsER	85	48	(R)
9	 (E)-7i	Ncrz _M	82	97	(S)	 (Z)-7i	Ncrz _M	48	77	(R)
		Ncr _{PL}	70	95	(S)		Ncr _{PL}	36	94	(R)
		Oye	60	>99	(S)		Oye	13	89	(S)
		Yqj _M	15	12	(R)		Yqj _M	3	79	(S)
		Opr1	79	96	(S)		Opr1	47	95	(R)
		Opr3	43	88	(S)		Opr3	4	15	(S)
		TsER	9	58	(S)		TsER	7	21	(S)

Fortsetzung von Tabelle 8:

Eintrag	Substrat	ER	Umsatz (%)	ee (%)	Konfiguration
10	 7o	Ncr _{ZM}	24	35	(R)
		Ncr _{PL}	39	31	(R)
		Oye	15	94	(S)
		YqjM	33	43	(R)
		Opr1	46	30	(R)
		Opr3	54	89	(S)
		TsER	50	92	(R)

Hierbei ist zu beobachten, dass beide Isomere der Verbindungen **7a-e** unabhängig von der Kettenlänge durch Ncr_{ZM} in hervorragender Selektivität (97-→99 % ee) umgesetzt werden (Einträge 1-5). Die Umsätze schwanken dabei zwischen 29 und >99 %, wobei teilweise die (Z)-Isomere (Z)-**7a-e** schlechter umgesetzt werden als die (E)-Isomere (E)-**7a-e**. Außerdem wurde bei den Umsetzungen unabhängig von dem eingesetzten Isomer (E/Z)-**7a-e** immer das (R)-Enantiomer (R)-**8a-e** gebildet. Eine Umkehr der Enantioselektivität war nur mit YqjM, Opr1 und Opr3 im Hinblick auf die Substrate **7a** und **7b** vorhanden (Einträge 1-2). Allerdings sind hierbei die Selektivitäten (5-64 % ee) nicht besonders groß, sodass ein präparativer Umsatz nicht in Frage kam. Bei den übrigen Substraten **7c-e** mit längerer Kettenlänge haben auch die Enreduktasen mit beiden Isomeren (E/Z)-**7c-e** das gleiche Enantiomer (R)-**8c-e** gebildet (Einträge 3-5). Außerdem fällt bei der graphischen Darstellung der Umsetzung der Verbindungen **7a-e** auf, dass mit längerer Alkylkette die Umsatzrate sinkt, aber die Enantioselektivität zunimmt (Abbildung 26).

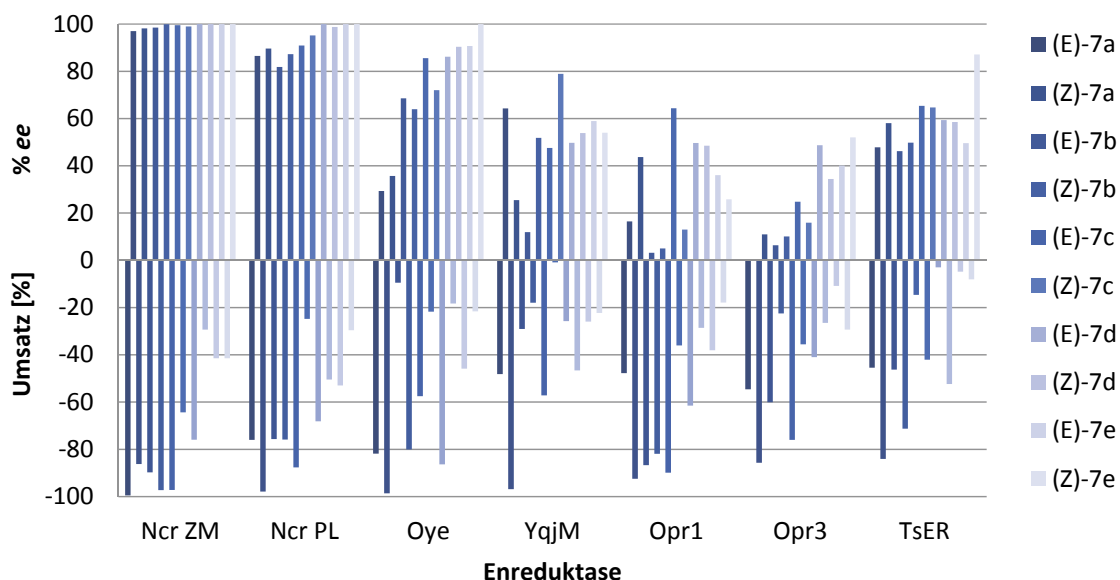


Abbildung 26: Graphische Darstellung der Ergebnisse des Enreduktase-Screenings mit den α,β -ungesättigten γ -Ketoestern **7a-e**.

Daher wurde mit den Substraten (Z)-**7a** und (Z)-**7e** eine Enzymkinetik mit Ncr_{ZM} aufgenommen, da dieses Enzym bei allen Substraten die höchste Enantioselektivität aufwies. (Abbildung 27).

Die kinetischen Daten sind

Tabelle 9 zu entnehmen.

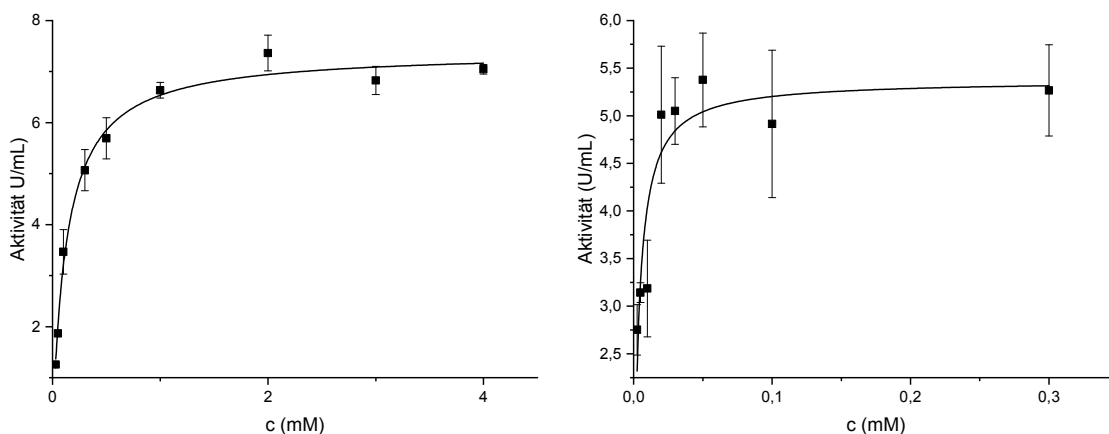
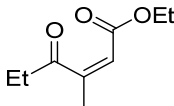
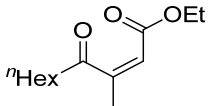


Abbildung 27: Michaelis-Menten-Kinetik vom α,β -ungesättigtem γ -Ketoester (Z)-7a (links) und (Z)-7e (rechts).

Tabelle 9: Kinetischen Parameter der Michaelis-Menten-Kinetik.

	 (Z)-7a	 (Z)-7e
v_{\max} [U/mL]	7.40 ± 0.12	5.37 ± 0.20
K_M [mM]	0.13 ± 0.01	$0.003 \pm 6.88 \cdot 10^{-4}$
v_{\max}/K_M [U/mL·mM]	57	1790
k_{cat} [s^{-1}]	0.24	0.0035

Während die maximale Geschwindigkeit (v_{\max}) für die Verbindung (Z)-7a mit 7.40 U/mL etwas besser ist als für die Verbindung (Z)-7e, ist die Affinität (K_M) des Enzyms Ncr_{ZM} für das ⁿHex-substituierte Substrat (Z)-7e mit 0.003 mM deutlich besser als für das Et-substituierte Substrat (Z)-7a. Die starke Affinität könnte durch die hydrophobe Wechselwirkung des Substrats (Z)-7e mit der hydrophoben Hälfte des FMNs im aktiven Zentrum erklärt werden. Daher werden die Substrate mit längerer Alkylkette auch mit besserer Enantioselektivität umgesetzt. Die geringen Umsatzraten in präparativen Ansätzen kann durch die geringe Wechselzahl (k_{cat}) des Enzyms erklärt werden, die für das ⁿHex-substituierte Substrat (Z)-7e mit 0.0035 s⁻¹ deutlich niedriger ist als für das Et-substituierte Substrat 7a (0.24 s⁻¹).

Im Vergleich zu Verbindung 7c mit der *endo*-ständigen Doppelbindung wurde beispielhaft die Exomethylen-Verbindung 7o auch im Hinblick auf eventuell unterschiedliche Enantioselektivität gescreent. Diese Verbindung 7o wurde im Gegensatz zur Verbindung 7c durch Ncr_{ZM} mit 35 % *ee* und 24 % Umsatz viel weniger selektiv zum (*R*)-Enantiomer (*R*)-8c umgesetzt (Tabelle 8, Eintrag 10). Die Selektivität war mit 94 % *ee* durch Oye am besten, allerdings war der Umsatz mit

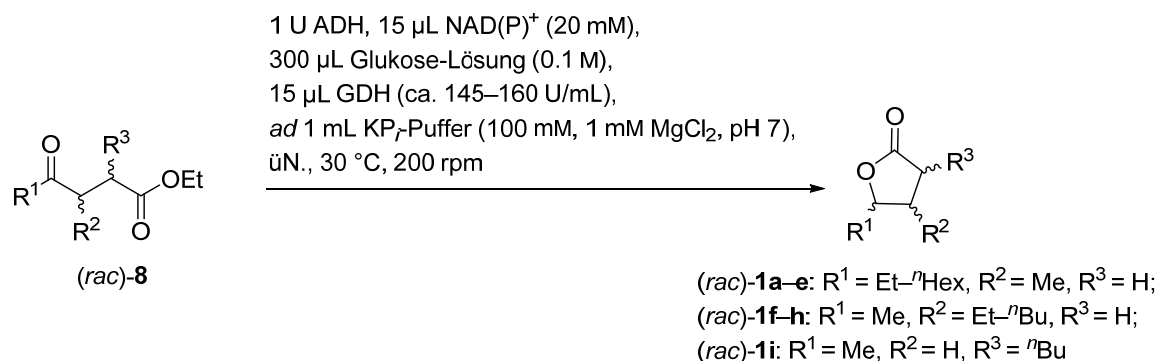
15 % sehr gering. Hierbei hat sich auch im Gegensatz zur Reduktion mit Ncr_{ZM} bevorzugt das (*S*)-Enantiomer (*S*)-**8c** gebildet. Alternativ wäre Opr3 mit etwas geringerer Enantioselektivität von 89 % und 54 % Umsatz besser geeignet. Demnach hat sich herausgestellt, dass die Reduktion der Exomethylen-Verbindung **7o** durch die Enreduktase durchaus zu anderen Selektivitäten führen kann, jedoch die Substratspezifität für diese Verbindung **7o** geringer ist. Daher wurden in weiterführenden Umsetzungen die *endo*-konfigurierte Verbindung **7c** verwendet.

Zusätzlich wurde die Alkylkette von der 4-Position auf die 3- bzw. 2-Position permutiert. Sobald die längere Alkylkette in 3-Position ist, wird bevorzugt das (*S*)-Enantiomer (*S*)-**8f-h** gebildet (Tabelle 8, Einträge 6–8). Die Konfiguration des Substrates **7f-h** hat hierbei ebenfalls keinen Einfluss auf die Enantioselektivität des Enzyms. Ncr_{ZM} erwies sich mit exzellenten Enantioselektivitäten (96–>99 %) und Umsätzen (87–99 %) als die geeignete Enreduktase. Allerdings fällt hierbei Verbindung (*Z*)-**7f** mit 28 % *ee* und 71 % Umsatz aus dem Rahmen. Bei dieser Verbindung (*Z*)-**7f** ist Ncr_{PL} mit 91 % *ee* und 41 % Umsatz den anderen Enreduktasen überlegen, sodass in diesem Fall für den weiteren Verlauf Ncr_{PL} für präparative Umsetzungen verwendet wurde. Im Gegensatz zu den bisherigen Substraten ist die Konfiguration der Verbindung **7i** für die Konfiguration des Produktes **8i** entscheidend (Tabelle 8, Eintrag 9). Das (*E*)-Isomer (*E*)-**7i** wurde mit 97 % *ee* und 87 % Umsatz durch Ncr_{ZM} zum (*S*)-Enantiomer (*S*)-**8i** umgesetzt, während das (*Z*)-Isomer (*Z*)-**7i** am besten durch Opr1 (95 % *ee*, 47 % Umsatz) zum (*R*)-Enantiomer (*R*)-**8i** umgesetzt wurde. Hierbei ist anzumerken, dass beide Enzyme die gleiche Enantioselektivität jeweils gegenüber beiden Substraten (*E*)- und (*Z*)-**7i** aufweisen (Tabelle 8).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bis auf einige Ausnahmefälle Ncr_{ZM} die geeignete Enreduktase für die Umsetzung der Verbindungen **7a-i** im Hinblick auf die Enantioselektivitäten und Umsatzraten ist. Dabei hat die Konfiguration des Substrates **7a-h** keinen Einfluss auf die Konfiguration des Produktes **8a-h**. Eine Ausnahme bildet hier die Verbindung **7i**. Bei dieser Verbindung **7i** bildet sich aus dem (*E*)-Isomer das (*S*)-konfigurierte Produkt (*S*)-**8i** und aus dem (*Z*)-Isomer das (*R*)-konfigurierte Produkt (*R*)-**8i**. Für präparative Umsetzungen wurden daher Ncr_{ZM} für die Verbindungen (*E/Z*)-**7a-e**, **-7g**, **-7h**, (*E*)-**7f**, **-7i**, Ncr_{PL} für Verbindung (*Z*)-**7f** und Opr1 für Verbindung (*Z*)-**7i** verwendet.

4.2.3.2 Alkoholdehydrogenasen

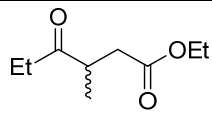
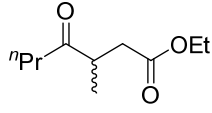
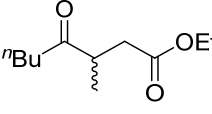
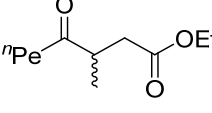
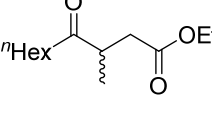
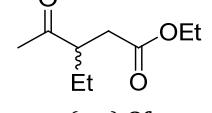
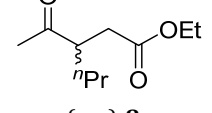
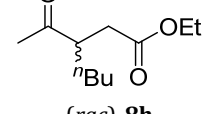
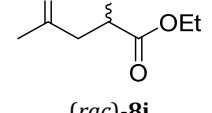
Als Nächstes galt es herauszufinden, welche Alkoholdehydrogenase für die Reduktion der Carbonylgruppe am besten geeignet ist. Dafür wurde ebenfalls ein Screening mit den Wildtyp ADHs ADH-T, ADH-LB, ADH-R und ADH-HL durchgeführt (Schema 103). Als Substrate wurden die racemischen Verbindungen (*rac*)-**8a-i** verwendet.



Schema 103: Reaktionsschema für das ADH-Screening mit den gesättigten γ -Ketoestern (*rac*)-**8a-i**.

Zur Bestimmung des Umsatzes und der Stereoselektivität wurden die spontan gebildeten Lactone (*rac*)-**1a-i** herangezogen. Die offenkettigen Alkohole (*rac*)-**9a-i** konnten nicht zugeordnet werden, da deren racemische Referenzverbindungen in der Regel nicht isoliert werden konnten (Kapitel 4.2.2, S. 103 ff.). Hierbei ist anzumerken, dass die ADHs spezifisch für ein Enantiomer sein können, sodass die Umsätze hier gering ausfallen können. Nichtsdestotrotz wurde hier das Augenmerk auf die generelle Umsetzbarkeit und vor allem auf die Stereoselektivitäten gerichtet. Die Ergebnisse des Screenings sind in Tabelle 10 zusammengefasst. Die Konfigurationen wurden auch hier rückwirkend durch die Studien dargestellt in Kapitel 4.2.5.1 (S. 130 ff.) bestimmt.

Tabelle 10: Zusammenfassung der Ergebnisse des ADH-Screenings mit den gesättigten γ -Ketoestern (*rac*)-**8a-i**.

Eintrag	Substrat	ADH	Umsatz (%)	Selektivität	Konfiguration ^[a]
1	 (<i>rac</i>)- 8a	ADH-R	54	2:0:94:5	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-LB	96	37:1:10:53	(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)
		ADH-T	56	1:0:99:0	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>) ^[b]
		ADH-HL	2	0:0:55:45	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
2	 (<i>rac</i>)- 8b	ADH-R	38	87:12:1:0	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-LB	-	-	-
		ADH-T	-	-	-
		ADH-HL	-	-	-
3	 (<i>rac</i>)- 8c	ADH-R	48	30:64:5:1	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-LB	1	40:60:0:0	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-T	1	0:>99:0:0	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-HL	-	-	-
4	 (<i>rac</i>)- 8d	ADH-R	29	25:71:4:1	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-LB	0.3	37:63:0:0	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-T	-	-	-
		ADH-HL	-	-	-
5	 (<i>rac</i>)- 8e	ADH-R	63	0:69:7:24	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-LB	-	-	-
		ADH-T	-	-	-
		ADH-HL	-	-	-
6	 (<i>rac</i>)- 8f	ADH-R	54	2:64:1:33	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>) ^[c]
		ADH-LB	33	81:8:0:11	-
		ADH-T	20	28:68:0:4	-
		ADH-HL	6	70:21:1:8	-
7	 (<i>rac</i>)- 8g	ADH-R	44	0:>99:0:0	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>) ^[c]
		ADH-LB	10	80:2:4:15	-
		ADH-T	1	5:65:30:0	-
		ADH-HL	1	57:14:20:9	-
8	 (<i>rac</i>)- 8h	ADH-R	50	0:69:7:24	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>) ^[c]
		ADH-LB	4	87:1:11:0	-
		ADH-T	1	0:6:75:19	-
		ADH-HL	1	61:18:2:19	-
9	 (<i>rac</i>)- 8i	ADH-R	58	2:10:2:86	(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-LB	9	50:18:19:13	(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)
		ADH-T	10	16:37:12:35	(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)
		ADH-HL	6	30:27:22:21	(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)

^[a] Bezieht sich auf das Hauptstereoisomer.

^[b] Stimmt nicht mit den Ergebnissen der präparativen Umsetzungen überein. Dabei wurde das zweite Stereoisomer als (3*R*,4*S*)-Konfiguration bestimmt.

^[c] Stimmt nicht mit den Ergebnissen der präparativen Umsetzungen überein. Dabei wurde das vierte Stereoisomer als (3*S*,4*S*)-Konfiguration bestimmt.

Hierbei lässt sich beobachten, dass alle Verbindungen (*rac*)-**8a-i** durch ADH-R mit sehr guten Stereoselektivitäten umgesetzt werden können. Nur Verbindung (*rac*)-**8a** lässt sich zusätzlich durch ADH-LB und ADH-T stereokomplementär reduzieren (Eintrag 1). ADH-R zeigt dabei die gleiche Stereoselektivität wie ADH-T, sodass mit diesen beiden Enzymen hauptsächlich das (3*R*,4*S*)-konfigurierte Lacton (3*R*,4*S*)-**1a** synthetisiert werden kann. Mit ADH-LB wird dagegen das (3*R*,4*R*)-konfigurierte Lacton (3*R*,4*R*)-**1a** hergestellt. Wenn der Ethylrest auf Position 3 permutiert wird, sinkt die Umsatzrate von 56 bzw. 96 % mit ADH-T und ADH-LB auf 20 bzw. 33 % ab, während ADH-R diese Verbindung mit 54 % gleich gut umsetzen kann (Einträge 1 und 6). Alle weiteren Substrate (*rac*)-**8b-i** sind anscheinend zu groß für ADH-T und -LB und werden nur durch ADH-R umgesetzt. Dabei wird bevorzugt die (*S*)-Konfiguration in Position 4 gebildet, sodass es sich hier um eine *Prelog*-ADH handelt. Mit ADH-HL konnten nur Spuren der Produkte **1a** und **1f-i** beobachtet werden, sodass dieses Enzym gar nicht geeignet ist. Daher wurde entschieden, für die präparativen Umsätze der Verbindung (*rac*)-**8a** die beiden komplementären Enzyme ADH-T und -LB und für alle weiteren Substrate (*rac*)-**8b-i** ADH-R zu verwenden. In Abbildung 28 ist beispielhaft ein Ausschnitt aus dem GC-Chromatogramm des ADH-Screenings mit Substrat (*rac*)-**8a** abgebildet. Das Chromatogramm der isomerenreinen Verbindungen synthetisiert mit ADH-LB und ADH-T kann Abbildung 29 entnommen werden. Hierbei ist anzumerken, dass durch unterschiedliche Zeitpunkte der Messungen die Retentionszeiten aus Abbildung 28 und Abbildung 29 voneinander abweichen.

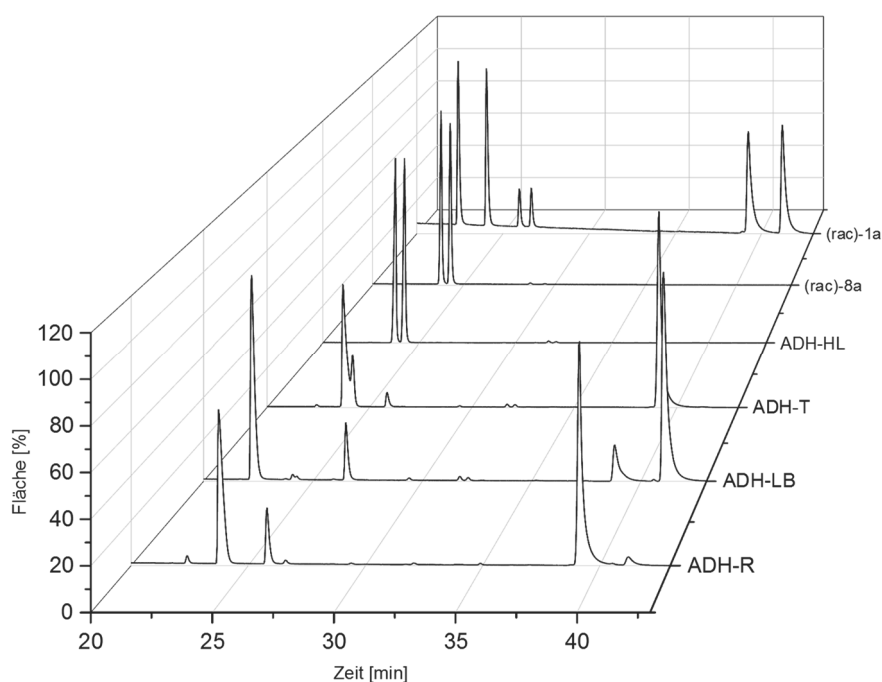


Abbildung 28: Ausschnitt aus dem GC-Spektrum des ADH-Screenings mit Substrat (*rac*)-**8a** [t_R [min] = 22.3 (3*S*,4*R*)-**1a**, 23.8 (*R*)-**8a**, 24.0 (3*R*,4*S*)-**1a**, 24.2 (*S*)-**8a**, 39.2 (3*S*,4*S*)-**1a**, 41.2 (3*R*,4*R*)-**1a**, FS Lipodex G, 60 °C-5 min, 1 °C/min auf 100 °C, 10 °C/min auf 150 °C-1 min].

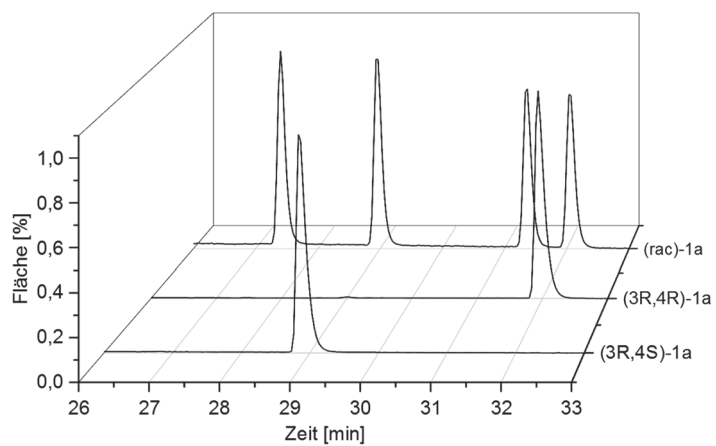
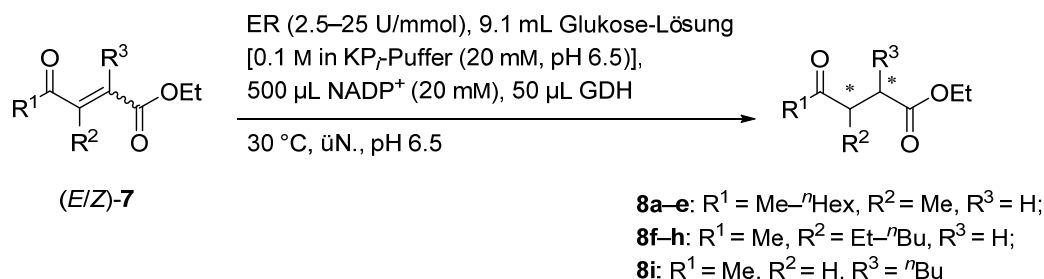


Abbildung 29: Ausschnitt aus dem GC-Spektrum zum γ -Butyrolacton **1a** [t_R [min] = 27.5 (3S,4R), 28.8 (3R,4S), 31.3 (3S,4S), 31.9 (3R,4R), FS Lipodex G, 60°C-5 min, 1°C/min auf 100°C, 10°C/min auf 150°C-1 min].

4.2.4 Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester 7a-i mit Enreduktasen

Zur Isolierung der Zwischenprodukte **8a-i**, die während der Enzymkaskade entstehen, wurden die Verbindungen **7a-i** zunächst nur mit der Enreduktase reduziert (Schema 104).



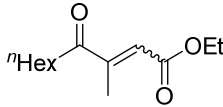
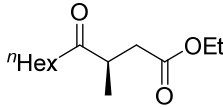
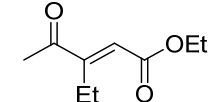
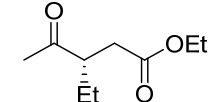
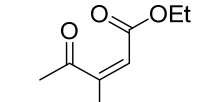
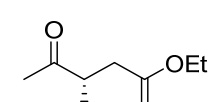
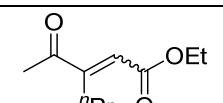
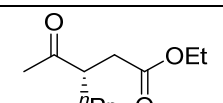
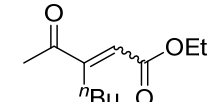
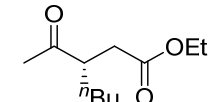
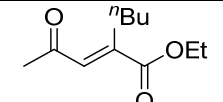
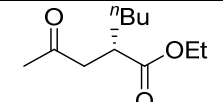
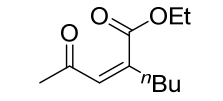
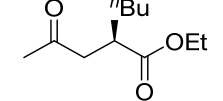
Schema 104: Reaktionsschema zur Darstellung der γ -Ketoester **8a-i** mit Enreduktasen.

In den meisten Fällen wurde die Enreduktase Ncr_{ZM} verwendet. Das (*Z*)-Isomer der Verbindung (*Z*)-**7f** konnte auch mit Ncr_{PL} reduziert werden. Nur für Verbindung (*Z*)-**7i** kam Opr1 zum Einsatz, da diese Enreduktase bei dem Screeningversuch bessere Ergebnisse lieferte (Kapitel 4.2.3.1, S. 106 ff.). Die Selektivitäten und Ausbeuten der semi-präparativen Reduktionen der Verbindungen **7a-i** sind in Tabelle 11 aufgelistet.

Tabelle 11: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a-i** mit Enreduktasen.

Eintrag	Edukt	Produkt	ER	Umsatz (%)	ee (%)	Ausbeute (%)
1			Ncr _{ZM} (2.5 U/mmol)	>99	99	>48
2			Ncr _{ZM} (25 U/mmol)	62	99	>25
3			Ncr _{ZM} (2.5 U/mmol)	82	>99	<78
4			Ncr _{ZM} (2.5 U/mmol)	91	>99	>13

Fortsetzung Tabelle 11:

Eintrag	Edukt	Produkt	ER	Umsatz (%)	ee (%)	Ausbeute (%)
5	 7e	 (R)-8e	Ncr _{ZM} (2.5 U/mmol)	79	>99	>18
6	 (E)-7f	 (S)-8f	Ncr _{ZM} (2.5 U/mmol)	89	>99	<62
7	 (Z)-7f	 (S)-8f	Ncr _{PL} (2.5 U/mmol)	95	96	36
8	 7g	 (S)-8g	Ncr _{ZM} (5 U/mmol)	82	98	<44
9	 7h	 (S)-8h	Ncr _{ZM} (5 U/mmol)	90	>99	<48
10	 (E)-7i	 (S)-8i	Ncr _{ZM} (5 U/mmol)	99	99	<49
11	 (Z)-7i	 (R)-8i	Opr1 (3.1 U/mmol)	96	94	<45

Die Reduktion der olefinischen Doppelbindung der Verbindungen **7a-i** durch Enreduktasen erfolgte in guten bis sehr guten Umsätzen (62–>99 %). Dabei konnten hervorragende Enantioselektivitäten von 94–>99 % erzielt werden. Die nahezu enantiomerenreinen Produkte **8a-i** konnten in >13–<78 % Ausbeuten isoliert werden. Die Ausbeuten waren in diesem Fall weniger relevant, da diese Zwischenverbindungen **8a-i** im Eintopf-Verfahren nicht isoliert werden, aber dennoch wichtig für die Enantiomerenanalytik sind. Daher wurde hierbei viel Wert auf die Reinheit der isolierten Produkte **8a-i** gelegt, sodass durch das Ausschließen von weniger reinen Fraktionen teilweise geringe Ausbeuten erzielt wurden. Nichtsdestotrotz ist hierbei zu beobachten, dass die Verbindungen **7a-e** zum (*R*)-Enantiomer reduziert werden (Einträge 1–5). Sobald jedoch der längere Alkylsubstituent von 4- auf 3-Position verlagert wird, entsteht das (*S*)-Enantiomer (Einträge 6–9). Außerdem kann Verbindung **7f** durch unterschiedliche Affinität der Enreduktasen Ncr_{ZM} und Ncr_{PL} zu den (*E/Z*)-Isomeren entweder durch das eine oder das

andere Enzym reduziert werden (Einträge 6 und 7). Das Produkt **8f** weist in beiden Fällen eine (*S*)-Konfiguration auf, sodass durch unterschiedliche Wahl der Enreduktase die Enantioselektivität nicht gesteuert werden kann, aber dennoch der Umsatz der Reduktion, je nachdem welches Isomer vorliegt. Die Screeningversuche haben gezeigt, dass das (*Z*)-Isomer (*Z*)-**7f** durch Ncr_{ZM} in nur sehr geringer Enantioselektivität von 28 % umgesetzt wird, aber Ncr_{PL} mit 91 % *ee* eine durchaus bessere Selektivität aufweist (Kapitel 4.2.3.1, S. 106 ff., Tabelle 8), was auch durch die semi-präparative Reduktion mit 96 % *ee* bestätigt werden konnte (Tabelle 11, Eintrag 7). Im Gegensatz zu den bisherigen Verbindungen **7a–h** konnte durch Reduktion der beiden Isomere der Verbindung **7i** unterschiedliche Enantiomere gebildet werden (Einträge 10 und 11). Während die Reduktion des (*E*)-Isomers (*E*)-**7i** durch Ncr_{ZM} zum (*S*)-Enantiomer (*S*)-**8i** führt (Eintrag 10), kann durch Reduktion des (*Z*)-Isomers (*Z*)-**7i** durch Opr1 das (*R*)-Enantiomer (*R*)-**8i** erhalten werden (Eintrag 11). Zum Verständnis der Stereoselektivität der Enreduktase wurden die nach dem Mechanismus theoretisch möglichen Orientierungen der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** im aktiven Zentrum betrachtet (Tabelle 12).

Tabelle 12: Mögliche Orientierungen der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** im aktiven Zentrum der Enreduktase.

Eintrag	Reaktion	Konfiguration ^[a]	
		C $_{\alpha}$	C $_{\beta}$
1	<p>(<i>E</i>)-7 → 8</p>	(<i>R</i>)	(<i>S</i>)
2	<p>(<i>Z</i>)-7 → 8</p>	(<i>R</i>)	(<i>R</i>)

Fortsetzung Tabelle 12:

Eintrag	Reaktion	Konfiguration ^[a]	
		C _α	C _β
3	<p>(E)-7</p> <p>8</p>	(S)	(R)
4	<p>(Z)-7</p> <p>8</p>	(S)	(S)
5	<p>(E)-7</p> <p>8</p>	(S)	(R)
6	<p>(Z)-7</p> <p>8</p>	(R)	(R)
7	<p>(E)-7</p> <p>8</p>	(R)	(S)

Fortsetzung Tabelle 12:

Eintrag	Reaktion	Konfiguration ^[a]	
		C _α	C _β
8	<p style="text-align: center;">(Z)-7 8</p>	(S)	(S)

^[a] C_α und C_β im Bezug auf die Ketofunktionalität.

Im aktiven Zentrum der Enreduktase können die Substrate **7** entweder durch die Keto- oder Esterfunktionalität gebunden werden. Zusätzlich kann das Substrat **7** in beiden Fällen um 180 ° gedreht sein. Bei der Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a-e** mit R¹ = Alkyl wird unabhängig von der (*E/Z*)-Konfiguration des Substrats das (*R*)-Enantiomer (*R*)-**8a-e** gebildet. Diese Beobachtung lässt sich durch die Bindung des Substrats **7a-e** durch das Keton erklären, sodass ein Hydridangriff auf das C_β-Atom in 2-Position stattfinden kann (Einträge 1 und 2). Wäre das Substrat **7a-e** über die Esterfunktionalität gebunden, würde abhängig von der (*E/Z*)-Konfiguration entweder das (*S*)- oder das (*R*)-Enantiomer **8a-e** entstehen (Einträge 5–8). Die Bindung des Substrates **7c** im aktiven Zentrum der Enreduktase durch die Ketofunktionalität wurde auch in der Masterarbeit durch Deuterierungsexperimente bewiesen.^[276] Durch ein zusätzliches Dockingexperiment, wobei die maximale Attraktion und minimale Repulsion zwischen Enzym und Substrat **7c** berechnet wurde, konnte der Bindungsmechanismus des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7c** im aktiven Zentrum der Enreduktase Ncr_{ZM}, welches zum (*R*)-konfigurierten Produkt (*R*)-**8c** führt, bekräftigt werden (Abbildung 30).

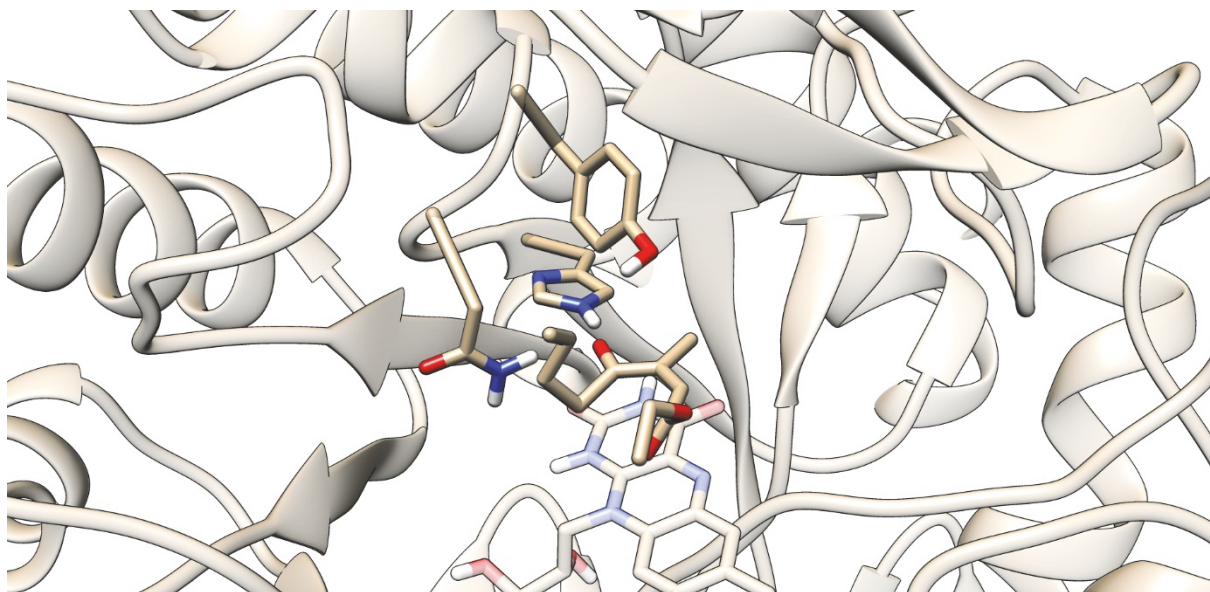
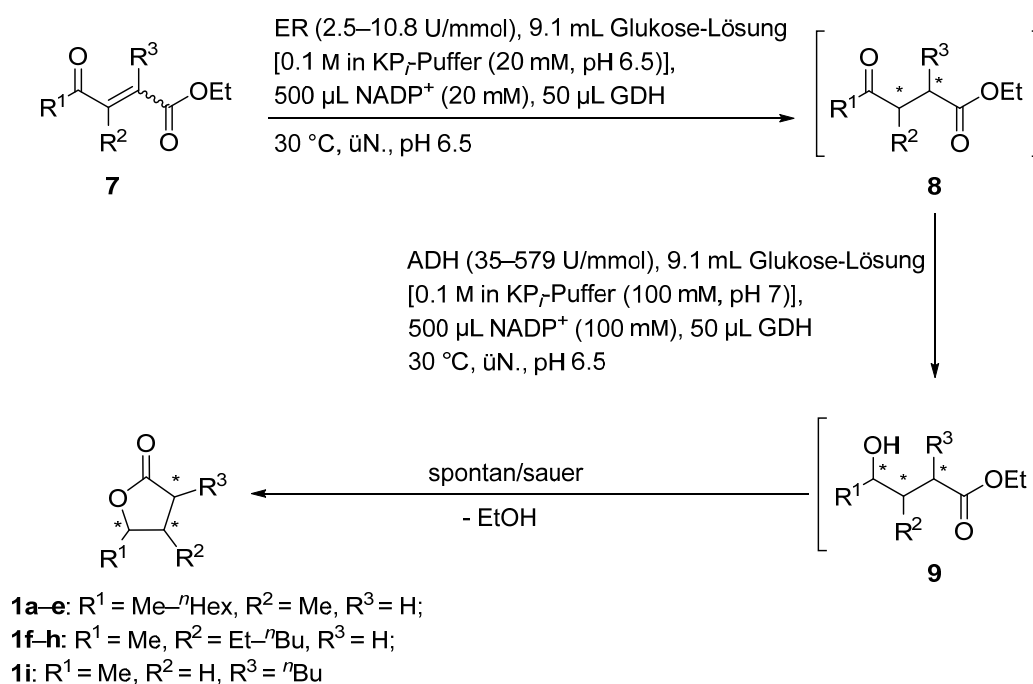


Abbildung 30: Dockingexperiment des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters (*Z*)-**7c** in das aktive Zentrum von Ncr_{2M}.

Bei den Substraten **7f-h** mit $R^2 = \text{Alkyl}$ werden allerdings unabhängig von der (*E/Z*)-Konfiguration die (*S*)-Enantiomere (*S*)-**8f-h** gebildet. Dies verdeutlicht erneut, dass die Substrate **7f-h** über die Ketofunktionalität gebunden sein müssen. Jedoch sollten die Substrate **7f-h** in diesem Fall im aktiven Zentrum der Enreduktase um 180° gedreht vorliegen, damit die Produkte **8f-h** (*S*)-konfiguriert sind (Einträge 3 und 4). Die Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7i** mit $R^3 = \text{Alkyl}$ führen entweder zum (*S*)-konfiguriertem Produkt (*S*)-**8i**, wenn das (*E*)-Isomer (*E*)-**7i** verwendet wurde, oder zum (*R*)-konfigurierten Produkt (*R*)-**8i**, wenn das (*Z*)-Isomer (*Z*)-**7i** verwendet wurde. Auch in diesem Fall können die Substrate **7i** nicht über die Esterfunktionalität gebunden sein, da diese unabhängig von der (*E/Z*)-Konfiguration immer zu dem gleichen Enantiomer **8i** führen würden (Einträge 5–8). Demnach müssen die Substrate **7i** wie in den Einträgen 1 und 2 dargestellt im aktiven Zentrum der Enreduktase orientiert sein, damit die beobachteten Ergebnisse zu Stande kommen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a-i** über das Keton im aktiven Zentrum der Enreduktase gebunden werden. Im Gegensatz zu den Substraten **7a-e** und **7i** mit R^1 bzw. $R^3 = \text{Alkyl}$ liegen die α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7f-h** mit $R^2 = \text{Alkyl}$ im aktiven Zentrum um 180° gedreht vor, sodass im Vergleich zu den Substraten **7a-e** mit $R^1 = \text{Alkyl}$ die komplementären (*S*)-Enantiomere (*S*)-**7f-h** gebildet werden. Dabei hat die (*E/Z*)-Konfiguration der Substrate **7a-h** keinen Einfluss auf die Konfiguration der Produkte **8a-h**. Wie aus den mechanistischen Erklärungen erwartet, können nur die Substrate (*E/Z*)-**7i** mit $R^3 = \text{Alkyl}$ durch Wahl des (*E/Z*)-Isomers entweder zum (*R*)- bzw. (*S*)-Enantiomer **8i** reduziert werden. Die Koordinierung über die inaktivere Esterfunktionalität scheint in diesem Fall dennoch aus sterischen Gründen bevorzugt zu sein.

4.2.5 Enzymkaskade zur Darstellung von γ -Butyrolactonen **1**

Bei einer konsekutiven Eintopf-Synthese wird zunächst das Substrat durch ein Enzym in ein Intermediat umgesetzt, welches im zweiten Schritt durch die Zugabe eines weiteren Enzyms zum Produkt überführt wird. Durch dieses Verfahren wird die Isolierung und Reinigung des Intermediats überflüssig, sodass die Zeit und mögliche Abfälle reduziert werden. Außerdem können dadurch Ausbeuteverluste vermieden werden.^[277, 278] Daher wurde nach der erfolgreichen Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** mit Enreduktasen, die Synthese der γ -Butyrolactone **1** im konsekutiven Eintopf-Verfahren in Angriff genommen (Schema 105).



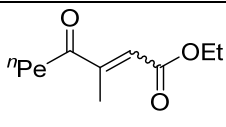
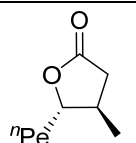
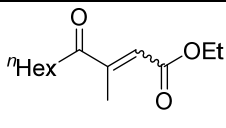
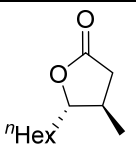
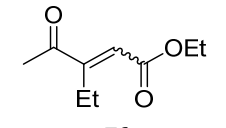
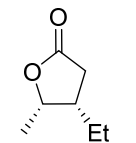
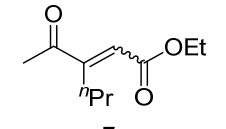
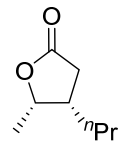
Schema 105: Konsekutive Eintopf-Synthese zu substituierten γ -Butyrolactonen **1**.

Bei diesem Verfahren wurden alle Reaktionen im 1 g Maßstab durchgeführt. In vorangehenden Studien konnte gezeigt werden, dass die Reihenfolge der enzymatischen Reduktionen entscheidend ist.^[279-281] Sobald die ADH die Ketogruppe reduziert, steht das Substrat **187** aufgrund der geringeren Aktivierung der Doppelbindung durch die Alkohol-Funktionalität nicht mehr der ER zur Verfügung. Demnach hat die Reduktion mit der Enreduktase Vorrang und analog zur semi-präparativen Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** kam auch hierbei in der Regel Ncr_{ZM} als Enreduktase zum Einsatz (Kapitel 4.2.4, S. 116 ff.). Nur für die Reduktion der Verbindung **7f** und (*Z*)-**7i** wurde Ncr_{PL} bzw. Opr1 verwendet. Entsprechend der Screeningergebnisse wurde ADH-R für die Reduktion der Ketogruppe verwendet (Kapitel 4.2.3.2, S. 112 ff.). Die Ausnahme bildet hier das Et-substituierte Substrat **8a**, für dessen Umsetzung ADH-LB und ADH-T verwendet wurden. Die Ergebnisse der Enzymkaskade kann Tabelle 13 entnommen werden. Die Zuordnung der absoluten Konfigurationen erfolgte anhand weiterer Studien, die in Kapitel 4.2.5.1 (S. 130 ff.) diskutiert werden.

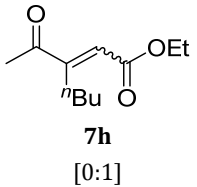
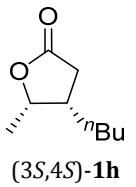
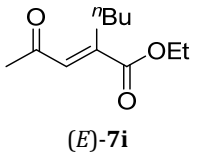
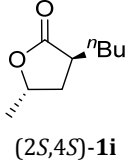
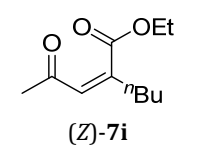
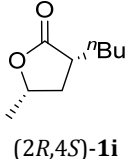
Tabelle 13: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Darstellung der γ -Butyrolactone **1a-i** durch die Enzymkaskade.

Eintrag	Edukt [(<i>E</i>)/(<i>Z</i>)-Verhältnis]	ER	ADH	Produkt	Umsatz (%)	ee (%)	Selektivität	Ausbeute (%)	Geruch
1	 7a [0:1]	Ncrz _M (2.5 U/mmol)	ADH-LB (68 U/mmol)	 (3R,4R)-1a	53	99	0:2:0:98	36	Walnuss
2			ADH-T (38 U/mmol)	 (3R,4S)-1a	80	99	0:>99:0:0	69	Walnuss
3	 7b [1:10]	Ncrz _M (2.5 U/mmol)	ADH-R (276 U/mmol)	 (3R,4S)-1b	51	99	11:78:0:10	46 (3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>) 17 [(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>) + (3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)]	Kokosnuss
4	 7c [1:5]	Ncrz _M (2.5 U/mmol)	ADH-R (139 U/mmol)	 (3R,4S)-1c	78	>99	0:98:0:2	73	Kokosnuss

Fortsetzung Tabelle 13:

Eintrag	Edukt [(E)/(Z)-Verhältnis]	ER	ADH	Produkt	Umsatz (%)	ee (%)	Selektivität	Ausbeute (%)	Geruch
5	 7d [0:1]	Ncr _{ZM} (2.5 U/mmol)	ADH-R (318 U/mmol)	 (3R,4S)-1d	78	99	0:87:0:13	35 (3R,4S) 7 [(3R,4S) + (3R,4R)] 2 (3R,4R)	Pfirsich (3R,4S) Walnuss (3R,4R)
6	 7e [0:1]	Ncr _{ZM} (2.5 U/mmol)	ADH-R (579 U/mmol)	 (3R,4S)-1e	17	>99	0:98:0:2	9	Pfirsich
7	 7f [0:1]	Ncr _{PL} (2.7 U/mmol)	ADH-R (40 U/mmol)	 (3S,4S)-1f	73	96	4:2:1:94	49	Walnuss
8	 7g [0:1]	Ncr _{ZM} (3.4 U/mmol)	ADH-R (70 U/mmol)	 (3S,4S)-1g	43	>99	1:1:0:98	34	Kokosnuss

Fortsetzung Tabelle 13:

Eintrag	Edukt [(E)/(Z)-Verhältnis]	ER	ADH	Produkt	Umsatz (%)	ee (%)	Selektivität	Ausbeute (%)	Geruch
9	 7h [0:1]	Ncrz _M (4.6 U/mmol)	ADH-R (222 U/mmol)	 (3S,4S)-1h	37	>99	10:2:0:88	16	Terpentin
10	 (E)-7i	Ncrz _M (10.8 U/mmol)	ADH-R (217 U/mmol)	 (2S,4S)-1i	63	>99	0:82:18:0	49	Kokosnuss, süß
11	 (Z)-7i	Opr1 (6.9 U/mmol)	ADH-R (35 U/mmol)	 (2R,4S)-1i	62	82	0:58:0:42 ^[a]	26	Kokosnuss, herb

^[a] Nach Reinigung mittels Säulenchromatographie bestimmt.

Während für die Reduktion der olefinischen Bindung durch Enreduktasen eine Aktivität von 2.5–10.8 U/mmol ausreichend war, wurde für die Reduktion der Ketofunktionalität durch Alkoholdehydrogenasen teilweise eine erheblich höhere Aktivität von 35–579 U/mmol benötigt. Dennoch konnten gute bis exzellente Enantioselektivitäten (82–>99 %) und Stereoisomerenverhältnisse (0:58:0:42–0:>99:0:0) erzielt werden. Die Ausbeuten betragen 9–73 %. Die teilweise geringen Ausbeuten sind dadurch zu erklären, dass die Detektion der γ -Butyrolactone **1** nach säulenchromatographischer Reinigung erst im konzentrierten Zustand möglich war. Deswegen wurden die einzelnen Fraktionen zunächst über Nacht im Abzug eingedampft, wobei natürlich auch ein Teil der flüchtigen Lactone **1** verdampft sein könnte. Nach anschließender gaschromatographischer Detektion konnten die γ -Butyrolactone **1a–e** bevorzugt in (3*R*,4*S*)-Konfiguration isoliert werden (Einträge 2–6). ADH-R zeigt dabei die gleiche (*S*)-Selektivität wie ADH-T also einer *Prelog*-ADH. Allerdings ist hierbei anzumerken, dass die genaue Definition der großen bzw. kleinen Reste der Verbindungen **8** wie bei *Prelog* nicht möglich ist. Zusätzlich konnte durch die Reduktion mit der stereokomplementären ADH-LB das *cis*-konfigurierte Lacton (3*R*,4*R*)-**1a** hergestellt werden (Eintrag 1). Bei allen weiteren Substraten **7b–i** konnte ADH-LB nicht angewendet werden, da die Substrate **7b–i** anscheinend aufgrund der langen Alkylkette sterisch zu viel Raum in Anspruch nehmen und nicht als Substrat akzeptiert werden. Die ADH-R ist jedoch dafür bekannt große Substrate umzusetzen, welches auch bei dieser Reaktionssequenz unter Beweis gestellt werden konnte. Eine Verlängerung des Alkylsubstituenten von Et bis ⁿHex wird von den Enreduktasen sehr gut toleriert. Die Umsätze betragen dabei 81–99 %. Erst bei der Umsetzung mit Alkoholdehydrogenasen zu den γ -Butyrolactonen **1** lässt sich die Grenze dieser Synthesesequenz feststellen. Während die Verbindungen **8a–d** mit einem Et- bis ⁿPe-Substituenten relativ gut umgesetzt werden (57–87 %, Einträge 1–5), nimmt die Umsatzrate (17 %) bei Verbindung **8e** mit einem ⁿHex-Substituent drastisch ab (Eintrag 6), sodass die Gesamtumsätze bis auf die letztere Verbindung **8e** mit 53–80 % moderat ausfallen. Der geringe Umsatz der Verbindung **8e** verdeutlicht hierbei, dass ein ⁿHex-Substituent zu groß für ADH-R wird. Außerdem nimmt auch der sterische Anspruch mit der Länge der Alkylkette zu, was im aktiven Zentrum der ADH nicht unbegrenzt toleriert werden kann. Zusätzlich könnte die Löslichkeit der Verbindung **8e** im Reaktionsgemisch problematisch sein. Des Weiteren wurde hierbei der Umsatz in Bezug auf die γ -Butyrolactone **1** betrachtet. Es kann natürlich auch sein, dass keine vollständige spontane Lactonisierung stattgefunden hat, sodass auch anteilig die offenkettige Zwischenverbindung **9** vorliegt, was nicht bei der Berechnung des Umsatzes berücksichtigt wurde. Zur vollständigen Lactonisierung wurden die Reaktionsansätze mit konzentrierter Schwefelsäure von pH 6.5 auf pH 1 eingestellt. Dabei wurde jedoch eine Abnahme des Lactonanteils anhand gaschromatographischer Analyse beobachtet.

Daraufhin wurde die Abhängigkeit der Lactonisierung vom pH-Wert anhand des ⁿHex-substituierten Lactons **1e** untersucht, indem der Ansatz schrittweise sauer gestellt und für 5 min bei dem entsprechenden pH-Wert inkubiert wurde (Abbildung 31). Die Verfolgung der Reaktion erfolgte mittels gaschromatographischer Analyse.

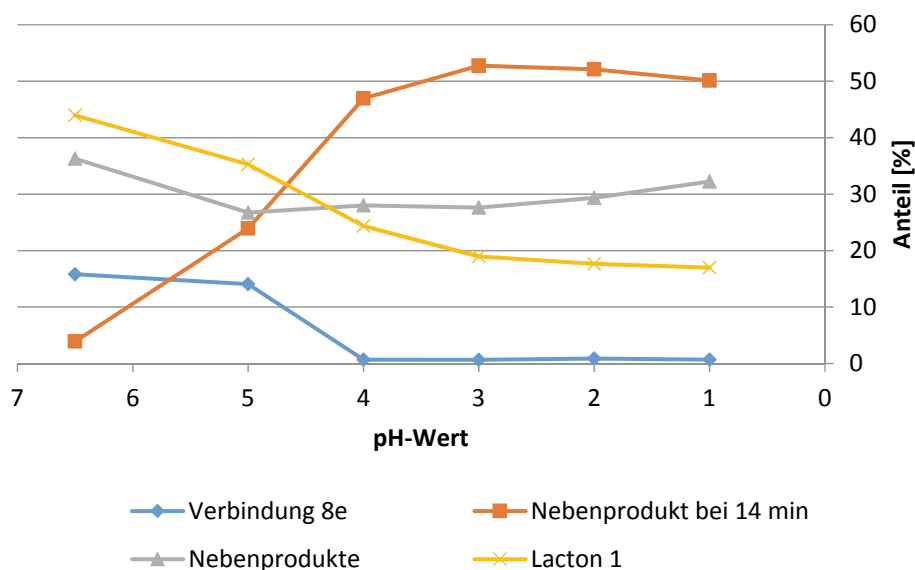


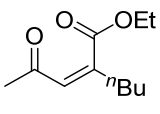
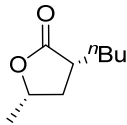
Abbildung 31: pH-Abhängigkeit der Bildung des ⁿHex-substituierten Lactons **1e**.

Hierbei ist zu erkennen, dass mit sinkendem pH-Wert der Anteil des Lactons **1e** und des Edukts **8e** abnimmt. Gleichzeitig steigt der Anteil einer unbekanntes Verbindung bei einer Retentionszeit von 14 min. Bei diesem Produkt könnte es sich wahrscheinlich um das Hydrolyseprodukt des Lactons **1e** handeln. Wichtig ist hierbei, dass schon eine Verringerung des pH-Wertes auf pH 5 zur Abnahme des Lactonanteils führt. Alternativ wurde mit der milderen *p*-Toluolsulfonsäure-Lösung (0.1 M) auf pH 6 eingestellt. Auch in diesem Fall, war eine Abnahme der Lactonmenge zu beobachten. Um die Hydrolyse der γ -Butyrolactone **1** zu verhindern, wurden im weiteren Verlauf die Produkte extrahiert und anschließend in THF oder Diethylether mit ein paar Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Dabei konnte beobachtet werden, dass der Anteil der unbekanntes Verbindung vollständig abnahm, während mehr Lacton **1** gebildet wurde. Somit konnte eine erfolgreiche gezielte Lactonisierung der offenkettigen Alkohol-Zwischenverbindungen **9** durchgeführt werden, wodurch die Ausbeuten gesteigert werden können.

Bei der Permutation des Alkylsubstituenten von 4- auf 3-Position wurden hingegen die *cis*-konfigurierten γ -Butyrolactone (*cis*)-**1f-h** gebildet (Einträge 7–9). Diesmal wurden die α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7f-h** durch die Enreduktasen zum (*S*)-Enantiomer (*S*)-**8f-h** reduziert. Die (*S*)-Konfiguration gebildet durch ADH-R blieb erhalten. Im konsekutiven Eintopf-Verfahren konnten für diese Verbindungen **1f-h** quantitative Enantioselektivitäten und moderate bis sehr gute Stereoisomerenverhältnisse [10 (*trans*) : 2 (*trans*) : 0 (3*R*,4*R*) : 88 (3*S*,4*S*) – 1 (*trans*) : 1 (*trans*) : 0 (3*R*,4*R*) : 98 (3*S*,4*S*)] erhalten werden. Der Gesamtumsatz nahm allerdings mit zunehmender Kettenlänge ab (37–73 %), welches erneut von der Umsatzrate der ADH-R abhängig ist (41–80 %). Mit den Enreduktasen konnten Umsätze von 70–91 % erreicht werden. Dementsprechend betragen die Gesamtausbeuten 16–49 %.

Eine weitere Permutation des n Bu-Substituenten auf die 2-Position führt durch die unterschiedliche Wahl des eingesetzten Isomers **7i** entweder zum *cis*- oder *trans*-konfigurierten Lacton (*2S,4S*)- oder (*2R,4S*)-**1i** (Einträge 10 und 11). Beide Isomere (*E/Z*)-**7i** werden mit 62–63 % gleich gut umgesetzt und die Enantioselektivitäten betragen 82 und >99 %. Bei der sequentiellen Reduktion des (*E*)-Isomers (*E*)-**7i** zum γ -Butyrolacton (*2S,4S*)-**1i** konnte ein gutes Stereoisomerenverhältnis von 0:82:18:0 erhalten werden (Eintrag 10). Die Reduktion des (*Z*)-Isomers (*Z*)-**7i** führte jedoch zunächst zu einem Stereoisomerenverhältnis von 6:46:0:48. Da jedoch bei der gaschromatographischen Analyse eines der Lactonsignale mit dem Eduktsignal (*R*)-**8i** überlappt, wurde das Lacton mittels Säulenchromatographie isoliert und anschließend ein Stereoisomerenverhältnis von 0:58:0:42 bestimmt. Da jedoch die Enreduktase das Substrat (*Z*)-**7i** mit 82 % *ee* zum (*R*)-Enantiomer (*R*)-**8i** reduziert und das Produkt **1i** als (*2S,4S*)/(*2R,4S*)-Gemisch (58:42) vorliegt, muss eine Racemisierung an 2-Position stattgefunden haben. Um eine Epimerisierung während des gezielten Lactonisierungsprozesses auszuschließen, wurde das gereinigte Lacton (*2R,4S*)-**1i** unter diesen Bedingungen inkubiert. Dabei wurde keine Epimerisierung beobachtet, sodass die gezielte Lactonisierung keinen Einfluss auf das Stereoisomerenverhältnis hat. Es wurde auch eine Kinetik der ADH-katalysierten Reaktion mit dem racemischen gesättigten Substrat (*rac*)-**8i** aufgenommen, um eine eventuelle Selektivitätsänderung der ADH-Reduktion mit der Zeit zu beobachten. Allerdings erwies sich die Quantifizierung durch Probenentnahme aufgrund der Flüchtigkeit der Lactone **1i** als schwierig, sodass große Schwankungen ermittelt wurden und demnach kein klares Resultat gezogen werden kann. Eine Möglichkeit, die Quantifizierung dennoch durchführen zu können, wäre die parallele Durchführung mehrerer Ansätze, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten jeweils im Ganzen analysiert werden. Des Weiteren wurde die Synthesesequenz in einem kleineren Maßstab wiederholt, wobei darauf geachtet wurde, dass die Reduktion mit der Enreduktase vollendet wird, bevor der zweite Reduktionsschritt mit der ADH begonnen wurde (Tabelle 14).

Tabelle 14: Ergebnisse der Enzymkaskade zur Synthese des γ -Butyrolactons (*2R,4S*)-**1i**.

Edukt	ER	ADH	Produkt	Umsatz (%)	<i>ee</i> (%)	Selektivität
 (<i>Z</i>)- 7i	Opr1 (20 U/mmol)	ADH-R (35 U/mmol)	 (<i>2R,4S</i>)- 1i	79	88	1:4:1:94

Dabei konnte ein Enantiomerenüberschuss von 88 % und ein Stereoisomerenverhältnis von 1:4:1:94 erreicht werden. Eine Epimerisierung war hierbei nicht zu beobachten. Damit konnte auch gezeigt werden, dass die Synthese des Lactons (*2R,4S*)-**1i** im konsekutiven Eintopf-Verfahren mit sehr guter Selektivität möglich ist.

Die isolierten γ -Butyrolactone **1a-i** weisen auch abhängig von der Kettenlänge unterschiedliche olfaktorische Eigenschaften auf. Während die kurzkettigen Lactone **1a** einen frischen Walnuss-Geruch aufweisen (Tabelle 13, Einträge 1 und 2), verschiebt sich der Geruch mit länger werdender Alkylkette über Kokosnuss bis hin zu Pfirsich (Tabelle 13, Einträge 3–6). Die Position der Alkylkette der Et- und n Pr-substituierten γ -Butyrolactone **1a-b** und **1f-g** führte zu keiner großen Geruchsänderung, sodass diese weiterhin nach Walnuss bzw. Kokosnuss riechen. Allerdings konnte der typische Kokosnuss-Geruch vom Quercuslacton **1c** beim n Bu-substituierten γ -Butyrolacton **1h** nicht wiedergefunden werden. Die Permutation des n Bu-Substituenten auf 3-Position bewirkte einen strengeren, Terpentin-artigen Geruch. Nichtsdestotrotz weisen auch die Lactone **1i** einen Kokosnuss-Geruch auf, auch wenn sie sich in ihrer Intensität und Duftnote in Abhängigkeit von der Konfiguration unterscheiden (Tabelle 13, Einträge 10 und 11).

Asymmetrische chemische Ketonreduktion:

Zum Vergleich zur enzymatischen Carbonylreduktion mittels ADH wurde beispielhaft die CBS-Reduktion des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters (*E*)-**7d** durchgeführt (Abbildung 32).

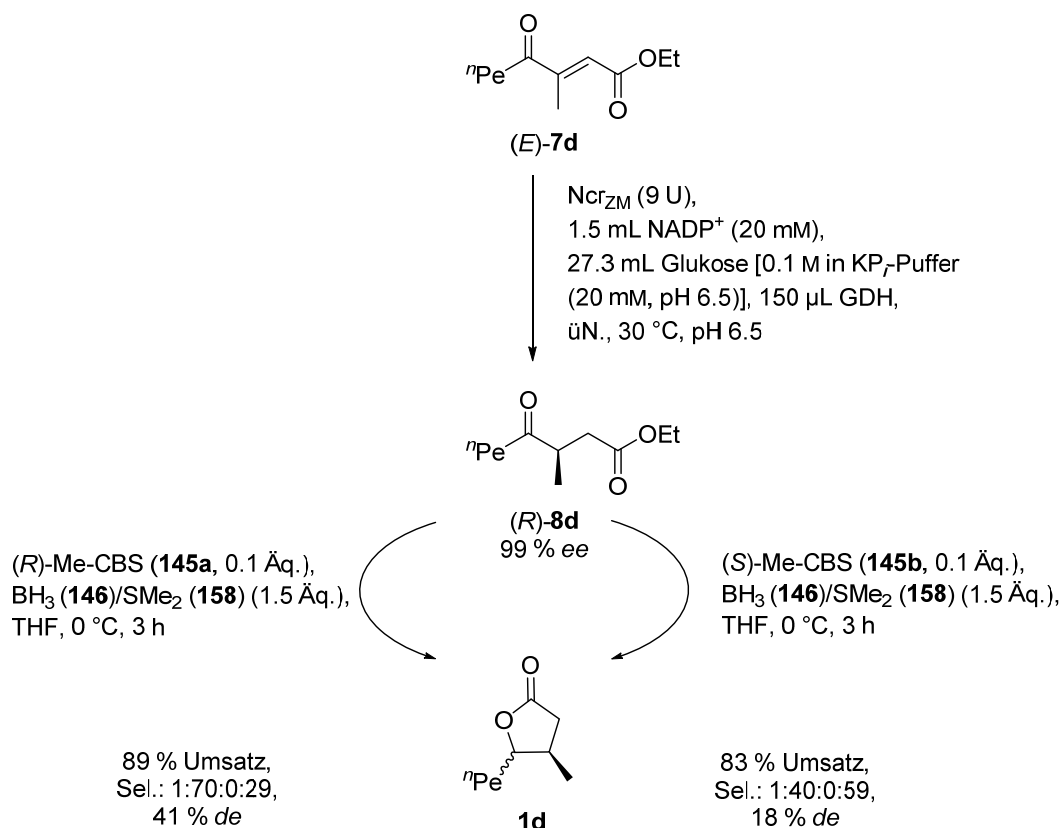


Abbildung 32: Schema zur CBS-Reduktion des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters (*E*)-**7d**.

Hierzu wurde der α,β -ungesättigte γ -Ketoester (*E*)-**7d** zunächst mittels Ncr_{ZM} (99 % *ee*) selektiv zum (*R*)-Enantiomer (*R*)-**8d** umgesetzt und anschließend jeweils mit dem (*R*)- bzw. (*S*)-Me-CBS-Reagenz **145** zum gewünschten γ -Butyrolacton **1d** reduziert. Der Mechanismus der

CBS-Reduktion kann in Kapitel 3.4.4.2 (S. 58 ff.) nachgelesen werden. Bei dieser Reaktion stellte sich heraus, dass die chemische Reduktion der Ketogruppe mit geringer Diastereoselektivität zu den Produkten führt, als die Reduktion mittels ADH-R. Während die Umsätze [(*R*)-Me-CBS **145a** = 89 %, (*S*)-Me-CBS **145b** = 83 %] bei beiden Reagenzien ähnlich waren, konnte mit dem (*R*)-Me-CBS-Reagenz **145a** 41 % *de* und mit dem (*S*)-Me-CBS-Reagenz **145b** nur 18 % *de* erreicht werden. Mit ADH-R kann im Vergleich bis zu 75 % *de* erreicht werden. Dadurch wird noch einmal klar, dass mit der biokatalytischen Synthesemethode die γ -Butyrolactone **1d**, zumindest im Vergleich zur chemischen Reduktion mit Hilfe des chiralen CBS-Katalysators **145**, mit einer höheren Diastereoselektivität synthetisiert werden können.

4.2.5.1 Konfigurationsbestimmung der Lactone **1**

Um die absolute Konfiguration der synthetisierten γ -Butyrolactone **1a-i** zu bestimmen, wurden zunächst die ermittelten analytischen Daten mit Literaturdaten verglichen (Tabelle 15). Zum einen können dabei die spezifischen Drehwerte hilfreich sein, zum anderen können aber auch NMR-Daten als Hilfe dienen. Da jedoch nicht alle Drehwerte der γ -Butyrolactone **1a-i** in der Literatur bekannt gegeben wurden oder teilweise ungenaue Angaben enthalten, konnten die Drehwerte nicht immer als Vergleich herangezogen werden. Außerdem wurde dabei auch öfters Methanol als Lösungsmittel verwendet, was die Frage aufbringt, ob die γ -Butyrolactone **1** unter diesen leicht sauren Bedingungen stabil sind. Deswegen wurde mittels $^1\text{H-NMR-Kinetik}$ auf die Stabilität des Lactons **1** in Methanol geprüft (Abbildung 33). Als Substrat wurde dabei das unsubstituierte γ -Butyrolacton **1ad** verwendet.

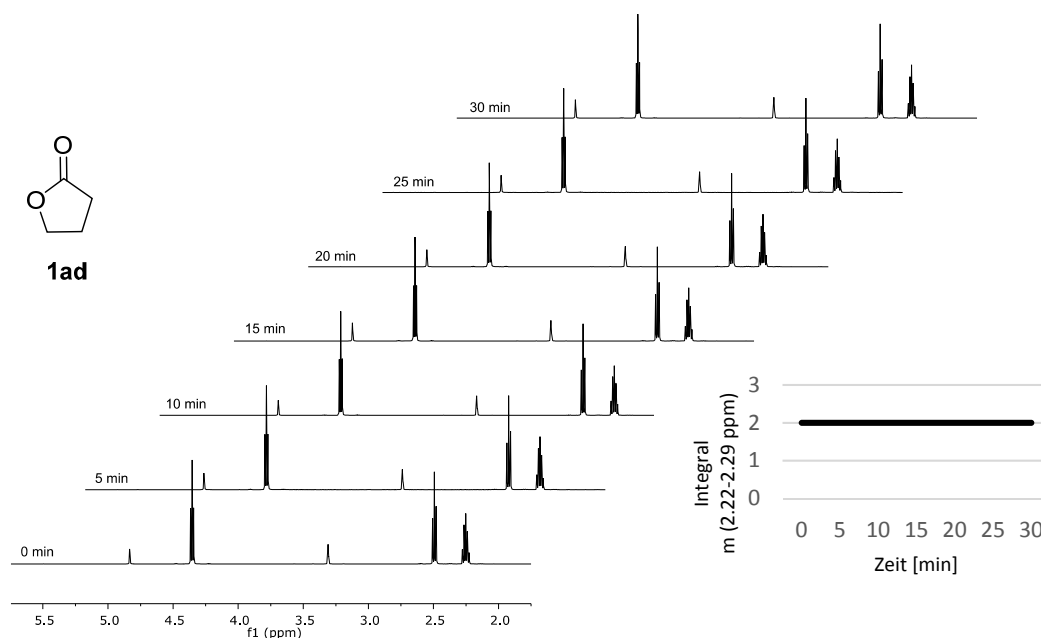
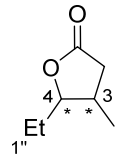
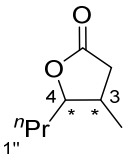
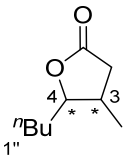


Abbildung 33: $^1\text{H-NMR}$ -Vergleich des unsubstituierten γ -Butyrolactons **1ad** in deuteriertem Methanol.

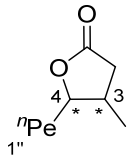
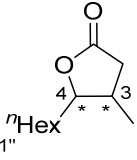
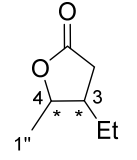
Die NMR-Kinetik wurde zunächst über einen Zeitraum von 30 min gemessen, wobei alle 5 min ein ^1H -Spektrum aufgenommen wurde. Wie in Abbildung 33 zu sehen ist, sind die NMR-Spektren innerhalb von 30 min identisch, sodass davon ausgegangen werden kann, dass das

γ -Butyrolacton **1ad** zumindest über einen Zeitraum von 30 min in Methanol stabil ist. Demnach ist es unbedenklich die Drehwerte der Lactone **1a-i** in Methanol zu messen.

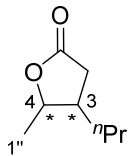
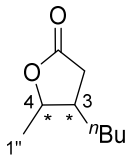
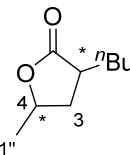
Tabelle 15: Literaturvergleich der analytischen Daten der γ -Butyrolactone **1a-i**.

Eintrag	Verbindung	Literatur	NMR (CDCl ₃) [ppm]				Drehwert	Konfiguration
			3- bzw. 1''-Position ^[b]		4-Position			
			¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C		
1	 (3R,4S)- 1a	<i>Fargeas et al.</i> ^[282]	2.13 m	35.08	3.87 td	88.15	$[\alpha]_D = +66.7$ (Reinsubstanz)	(3S,4R)
		<i>Ferreira et al.</i> ^{[283][a]}	2.40–2.60 m	34.47	3.55–3.64 m	111.74	$[\alpha]_D = -34.4$ (c = 2, CHCl ₃)	(3S,4S)
		<i>Ha und Yim</i> ^{[284][a]}	2.40–2.60 m	32.4	4.23 dt	84.7	$[\alpha]_D = -32.2$ (c = 0.2, CHCl ₃)	(3S,4S)
		<i>Fang et al.</i> ^{[285][a]}	1.85–2.75 m	–	3.80 m	–	–	<i>trans</i>
		<i>Ueno et al.</i> ^[286]	1.44–2.76 m	–	3.90 m	–	–	<i>trans</i>
		eigene Ergebnisse	2.14–2.30 m	35.68	3.96 td	88.77	$[\alpha]^{25}_D = -148$ (c = 1, CHCl ₃)	(3R,4S)
2	 (3R,4S)- 1b	<i>Fang et al.</i> ^{[285][a]}	1.85–2.75 m	–	3.88 m	–	–	<i>trans</i>
		<i>Wang et al.</i> ^{[287][a]}	2.16–2.23 m	36.83	3.99–4.03 m	87.87	–	<i>trans</i>
		eigene Ergebnisse	2.05–2.28 m	36.25	4.01 td	87.35	$[\alpha]^{20}_D = -36.2$ (c = 1, CHCl ₃)	(3R,4S)
3	 (3R,4S)- 1c	<i>Swatschek et al.</i> ^{[288][a]}	2.53–2.61 m	32.9	4.39–4.44 m	83.6	$[\alpha]^{20}_D = -59.2$ (c = 1.18, CHCl ₃)	(3S,4S)
		<i>Takahata et al.</i> ^{[289][a]}	2.13–2.23 m	36.24	4.01 dt	87.64	$[\alpha]^{25}_D = +84.52$ (c = 2.125, CH ₃ OH)	(3S,4R)
		<i>Mao et al.</i> ^{[290][a]}	2.07–2.30 m	36.1	4.00 td	87.4	$[\alpha]^{20}_D = -83.3$ (c = 0.17, CHCl ₃)	(3R,4S)
		<i>Günther und Mosandl</i> ^[96]	2.20 m	34.4	5.05 m	76.7	$[\alpha]^{20}_D = +76$ (c = 1.0–1.6, CH ₃ OH)	(3R,4R)
			2.28 m	34.6	5.03 m	76.8	$[\alpha]^{20}_D = -78$ (c = 1.0–1.6, CH ₃ OH)	(3S,4S)
			2.22 m	34.1	4.92 m	76.9	$[\alpha]^{20}_D = +96$ (c = 1.0–1.6, CH ₃ OH)	(3S,4R)
		eigene Ergebnisse	2.29 m	34.2	4.91 m	76.9	$[\alpha]^{20}_D = -95$ (c = 1.0–1.6, CH ₃ OH)	(3R,4S)
			1.85–2.70 m	–	3.87 m	–	–	<i>trans</i>
			2.61–2.72 m	–	4.00 dt	–	–	<i>trans</i>
eigene Ergebnisse	2.26–2.5 m	36.07	4.01 td	87.46	$[\alpha]^{20}_D = -89$ (c = 1.0, CH ₃ OH)	(3R,4S)		

Fortsetzung Tabelle 15:

Eintrag	Verbindung	Literatur	NMR (CDCl ₃) [ppm]				Drehwert	Konfiguration
			3- bzw. 1''-Position ^[b]		4-Position			
			¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C		
4	 1d	<i>Swatschek et al.</i> ^{[288][a]}	2.67 dd	32.9	4.41 ddd	83.6	$[\alpha]^{20}_D = -64.8$ (c = 1.23, CHCl ₃)	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)
		<i>Ortuño et al.</i> ^[292]	1.94–2.95 m	36.0	4.03 m	87.4	$[\alpha]^{20}_D = +48.3$ (c = 0.79, CHCl ₃)	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)
		<i>Takahata et al.</i> ^{[289][a]}	2.15–2.24 m	36.24	4.01 dt	87.67	$[\alpha]^{25}_D = +82.20$ (c = 0.71, CH ₃ OH)	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)
		<i>Devalankar et al.</i> ^[293]	2.10–1.29 m ^[c]	36.0	4.00 td	87.2	$[\alpha]^{25}_D = +72.3$ (c = 1, CHCl ₃)	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)
		<i>Mao et al.</i> ^{[290][a]}	2.06–2.32 m	36.0	4.00 td	87.4	$[\alpha]^{20}_D = -73.4$ (c = 0.22, CHCl ₃)	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		<i>Brenna et al.</i> ^{[73][a]}	2.18 m	–	4.00 m	–	$[\alpha]^{20}_D = +72$ (c = 2.4, CH ₂ Cl ₂)	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)
		<i>Jefford et al.</i> ^{[294][a]}	2.19 m	36.1	4.02 m	87.4	–	<i>trans</i>
		<i>Hackmann und Schäfer</i> ^[291]	2.16–2.24 m	–	4.00 dt	–	–	<i>trans</i>
		eigene Ergebnisse	2.13–2.28 m	36.22	4.00 td	87.61	$[\alpha]^{20}_D = -96.8$ (c = 1, CHCl ₃)	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
	2.57 dddd	33.17	4.43 ddd	83.85	$[\alpha]^{20}_D = +46$ (c = 1, CHCl ₃)	(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)		
5	 (3<i>R</i>,4<i>S</i>)-1e	<i>Wu et al.</i> ^{[295][a]}	2.60 m	–	4.45 quin	–	$[\alpha]^{25}_D = -56.1$ (c = 3.56, CHCl ₃)	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)
			2.56 m	–	4.42 m	–	$[\alpha]^{12}_D = +56.7$ (c = 2.47, CHCl ₃)	(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)
		<i>Masuzawa et al.</i> ^{[296][a]}	2.55 m	–	4.42 m	–	$[\alpha]^{22}_D = +59.8$ (c = 0.40, CHCl ₃)	(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)
		<i>Pratt und Thomas</i> ^{[297][a]}	1.20–1.70 m	–	4.01 m	–	–	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)
		eigene Ergebnisse	2.13–2.27 m	36.23	4.00 td	87.62	$[\alpha]^{20}_D = -65.6$ (c = 1, CHCl ₃)	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
6	 (3<i>S</i>,4<i>S</i>)-1f	<i>Yamamoto et al.</i> ^[298]	–	–	4.26	–	–	<i>trans</i>
			–	–	4.75	–	–	<i>cis</i>
		eigene Ergebnisse	2.38–2.49 m	40.79	4.71 quin	79.44	$[\alpha]^{20}_D = -10.8$ (c = 1, CHCl ₃)	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)

Fortsetzung Tabelle 15:

Eintrag	Verbindung	Literatur	NMR (CDCl ₃) [ppm]				Drehwert	Konfiguration
			3- bzw. 1''-Position ^[b]		4-Position			
			¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C		
7	 (3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)- 1g	eigene Ergebnisse	2.47–2.60 m	38.84	4.70 quin	79.48	[α] ²⁰ _D = -10.8 (c = 1, CHCl ₃)	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)
8	 (3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)- 1h	<i>Boebel et al.</i> ^[299] [a]	2.00–2.14 m	43.27	4.21 dq	82.16	[α] _D = -44.2 (c = 0.4, CDCl ₃)	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		<i>Yamamoto et al.</i> ^[298]	–	–	4.05	–	–	<i>trans</i>
		<i>Reissig et al.</i> ^[300]	2.08 m	43.1	4.22 qd	82.0	–	<i>trans</i>
		eigene Ergebnisse	–	–	4.71 m	–	–	<i>cis</i>
		eigene Ergebnisse	2.46–2.59 m	39.07	4.70 quin	79.54	[α] ²⁰ _D = +17.9 (c = 1, CHCl ₃)	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)
9	 (3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)- 1i	<i>Fagan und Brandenburg</i> ^[301] [a]	1.38 d	21.18	4.44 m	75.43	–	<i>cis</i>
		<i>Maslak et al.</i> ^[302] [a]	1.37 d	21.0	4.67 ddq	74.9	–	<i>trans</i>
		eigene Ergebnisse	1.42 d	20.7	4.49 ddq	74.8	–	<i>cis</i>
		eigene Ergebnisse	1.37 d	21.40	4.61–4.71 m	75.02	[α] ²⁰ _D = -4.6 (c = 1, CHCl ₃)	(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)
		eigene Ergebnisse	1.41 d	21.15	4.47 dt	75.22	[α] ²⁰ _D = -36.9 (c = 0.73, CHCl ₃)	(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)

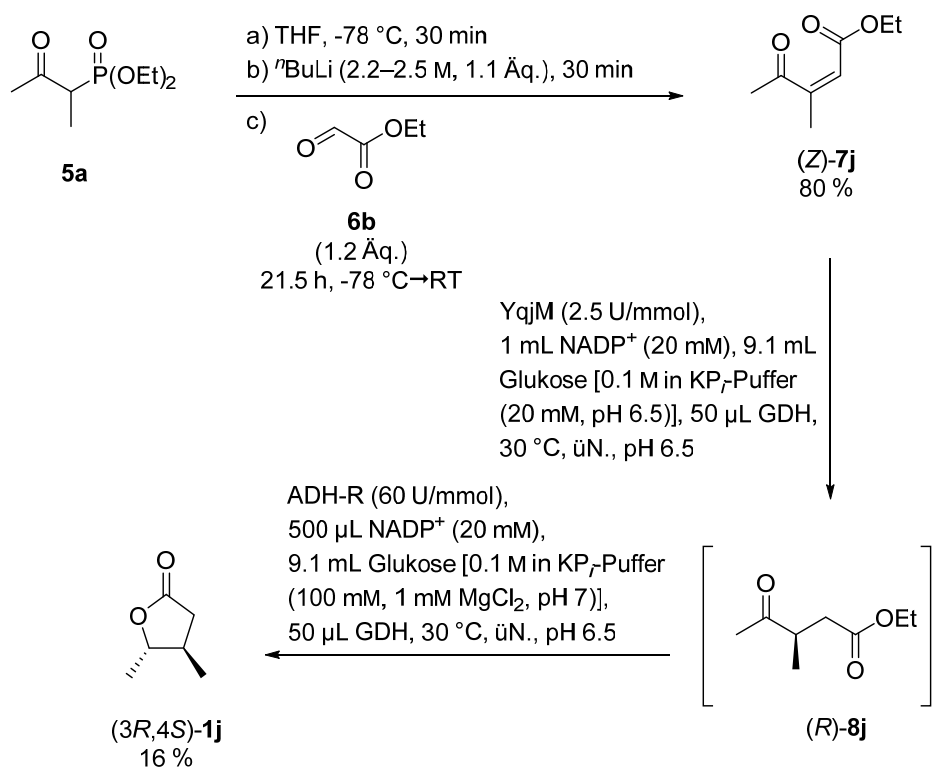
^[a] NMR-Signale wurden in der Literatur nicht zugeordnet.

^[b] Bei Verbindungen **1a–h** werden die chemischen Verschiebungen an 3-Position betrachtet und bei Verbindung **1i** an 1''-Position.

^[c] Es wird davon ausgegangen, dass es sich hier um einen Tippfehler in der Literatur handelt und die tatsächliche Verschiebung 2.10–2.29 ppm lautet.

Beim Vergleich der NMR-Daten wurden die charakteristischen chemischen Verschiebungen an den Stereozentren betrachtet. Für die γ -Butyrolactone **1a-h** konnten die chemischen Verschiebungen der stereogenen Wasserstoffkerne und Kohlenstoffkerne an 3- und 4-Position herangezogen werden (Einträge 1–8). Für das γ -Butyrolacton **1i** war zusätzlich zu den chemischen Verschiebungen an 4-Position die Verschiebung der Kerne an 1''-Position charakteristisch (Eintrag 9). Anhand dessen konnten die relativen Konfigurationen der γ -Butyrolactone **1a-e** und **1i** als *trans* bestimmt werden (Einträge 1–5 und 9). Beim Quercuslacton **1c** konnte zusätzlich durch Vergleich des Drehwertes $\{[\alpha]^{20}_D = -89$ ($c = 1.0$, CH_3OH) $\}$ die absolute Konfiguration als (3*R*,4*S*) annotiert werden, obwohl die absoluten Werte wahrscheinlich durch ungenaue Angabe des Literaturwerts $\{[\alpha]^{20}_D = -95$ ($c = 1.0$ – 1.6 , CH_3OH) $\}$ nicht übereinstimmen, aber dennoch über das Vorzeichen vorausgesagt werden kann (Eintrag 3).^[96] Die (*R*)-Konfiguration in Position 3, hervorgerufen durch die Enreduktase Ncr_{ZM}, wurde auch zuvor durch das Dockingexperiment vorhergesagt und ließ sich hiermit bestätigen (Kapitel 4.2.4, S. 116 ff.). Von Verbindung **1h** ist hauptsächlich die *trans*-Konfiguration literaturbekannt (Eintrag 8). *Reissig et al.* haben zusätzlich die chemische Verschiebung an 4-Position ($^1\text{H} = 4.7$ ppm) vom *cis*-konfiguriertem Lacton (*cis*)-**1h** als Nebenprodukt angegeben, die mit der Verschiebung aus den eigenen Ergebnissen übereinstimmt.^[300] Somit handelt es sich bei Verbindung **1h** um das *cis*-konfigurierte γ -Butyrolacton (*cis*)-**1h**. Da das γ -Butyrolacton **1g** nicht literaturbekannt ist, konnten keine Daten verglichen werden (Eintrag 7).

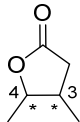
Dennoch kann eine Korrelation zwischen den chemischen Verschiebungen und den Konfigurationen der γ -Butyrolactone **1** erstellt werden. Da aus vorangehenden Arbeiten alle Stereoisomere des Me-substituierten γ -Butyrolactons **1j** mit Hilfe dieser Enzymkaskade synthetisiert und alle absoluten Konfigurationen zugeordnet werden konnten, wurden diese Daten auch für die Korrelation herangezogen.^[279] Damit waren auch die Stereoselektivitäten der Enzyme bekannt. Jedoch wurden diese Lactone **1j** damals mit ADH-LK aus *Lactobacillus kefir* bzw. der kommerziellen ADH evo 1.1.030 synthetisiert, sodass keine Aussage über die Stereoselektivität von ADH-R getroffen werden kann. Deswegen wurde die Synthese des Me-substituierten γ -Butyrolactons **1j** auch mit ADH-R durchgeführt (Schema 106).



Schema 106: *HWE*-Reaktion und anschließende Enzymkaskade zum γ -Butyrolacton **(3R,4S)-1j**.

Zunächst wurde der α,β -ungesättigte γ -Ketoester **7j** nach der in dieser Arbeit verwendeten *HWE*-Reaktion hergestellt. Dabei konnten 80 % vom (*Z*)-Isomer **(Z)-7j** isoliert werden, was erneut die (*Z*)-Selektivität der *HWE*-Reaktion bekräftigt (Kapitel 4.2.1.2, S. 89 ff.). *Korpak* konnte hiergegen diese Verbindung **7j** durch die *Wittig*-Reaktion (*E*)-selektiv synthetisieren.^[279] Anschließend wurde die Verbindung **(Z)-7j** im Eintopf-Verfahren erst mit YqjM und dann mit ADH-R reduziert. Dabei war bekannt, dass die Reduktion mit YqjM zum (*R*)-Enantiomer **(R)-8j** führt. Das isolierte γ -Butyrolacton **1j** wies eine *trans*-Konfiguration auf, sodass die Reduktion mit ADH-R zur (*S*)-Konfiguration an 4-Position führen muss. Demnach zeigt ADH-R in dieser Synthesesequenz die gleiche Selektivität wie ADH-T. Die charakteristischen chemischen Verschiebungen des γ -Butyrolactons **1j** werden in Tabelle 16 aufgelistet. Dabei sind die ^1H -Kerne der *cis*-konfigurierten Lactone (*cis*)-**1j** (4-H: $\delta \approx 4.6$ ppm) im Vergleich zu den *trans*-konfigurierten Lactonen (*trans*)-**1j** (4-H: $\delta \approx 4.1$ ppm) Tieffeld-verschoben. Allerdings ist hierbei anzumerken, dass die Literaturquellen von *Majeti*, *Bergström et al.* und *Troyanskii et al.* bei der Konfigurationszuordnung das Gegenteil aussagen.^[303-305]

Tabelle 16: Literaturvergleich der analytischen Daten des γ -Butyrolactons **1j**.

Verbindung	Literatur	NMR (CDCl ₃) [ppm]				Konfiguration
		3-Position		4-Position		
		¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	
 <p>1j</p>	<i>Sibi et al.</i> ^{[306][a]}	2.55–2.62 m	33.6	4.66 m	79.9	<i>cis</i>
	<i>Hackmann und Schäfer</i> ^[291]	2.62–2.80 m	–	4.14 dq	–	<i>trans</i>
	<i>Byström et al.</i> ^[307]	2.5–2.8 m	–	4.67 dq	–	<i>cis</i>
	<i>Ueno et al.</i> ^[286]	1.80–2.30 m	–	4.01 m	–	<i>trans</i>
	<i>Yamamoto et al.</i> ^[298]	2.50 m	–	4.50 m	–	<i>cis</i>
		–	–	4.05	–	<i>trans</i>
	<i>Berrada et al.</i> ^[308]	–	–	4.55	–	<i>cis</i>
		–	–	4.00 m	83.6	<i>trans</i>
	<i>Kunz et al.</i> ^[309]	–	–	4.54 m	79.7	<i>cis</i>
		2.05–2.30 m	–	4.15 dq	–	<i>trans</i>
	<i>Troyanskii et al.</i> ^[305]	2.55–2.75 m	–	4.68 quin	–	<i>cis</i>
		2.60 m	–	4.60 m	–	<i>trans</i>
	<i>Frauenrath und Philipps</i> ^[310]	2.15 m	–	4.05 m	–	<i>cis</i>
		2.00–2.90 m	38.15	3.98–4.38	83.25	<i>trans</i>
	<i>Fang et al.</i> ^[285]	2.05–2.90 m	33.47	4.50–4.85 m	79.58	<i>cis</i>
		2.12–2.23 m	–	4.10 dq	–	<i>trans</i>
	<i>Majeti</i> ^{[303][a]}	2.50–2.70 m	–	4.63 dq	–	<i>cis</i>
		2.0–3.0 m	–	4.6 m	–	<i>trans</i>
	<i>Bergström et al.</i> ^[304]	2–2.9 m	–	4.15 m	–	<i>cis</i>
		2.55 m	–	4.66 dq	–	<i>trans</i>
	<i>Prokhorevich und Kulinkovich</i> ^{[311][a]}	2.10–2.27 m	–	4.14 dq	–	<i>cis</i>
		–	37.9	–	83.2	<i>trans</i>
<i>Brenna et al.</i> ^{[266][a]}	2.17 m	37.2	4.13 m	83.4	<i>trans</i>	
	2.60 m	33.4	4.65 m	79.6	<i>cis</i>	
<i>Brown et al.</i> ^[312]	–	–	4.67 q	–	<i>cis</i>	
	2.22	–	4.15 dq	–	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)	
<i>Nájera et al.</i> ^[313]	2.0–3.0 m	38.16	4.15 quin	83.37	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)	
<i>Rojo et al.</i> ^[314]	2.0–3.0 m	38.2	4.15 dq	83.4	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)	
	2.5–2.8 m	33.4	4.67 dq	76.9	(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)	
<i>Korpak et al.</i> ^[279-281]	2.12–2.23 m	37.36	4.14 dq	83.46	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)	
	2.10–2.20 m	38.2	4.11 dq	83.4	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)	
	2.59 m	33.39	4.66 quin	79.60	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>) und (3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)	
eigene Ergebnisse	2.10–2.25 m	38.32	4.05–4.18 m	83.58	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)	

^[a]NMR-Signale wurden in der Literatur nicht zugeordnet.

Mit diesem Wissen wurden zunächst die ¹H- und ¹³C-chemischen Verschiebungen der stereogenen Kerne an 3- und 4-Position aller synthetisierten Lactone **1a–h** und **1j** verglichen. Die Daten des jeweiligen fehlenden Enantiomers wurden, falls vorhanden, durch Literaturdaten ergänzt. Für einen besseren Überblick wurde die Abbildung 34 und Abbildung 35 erstellt.

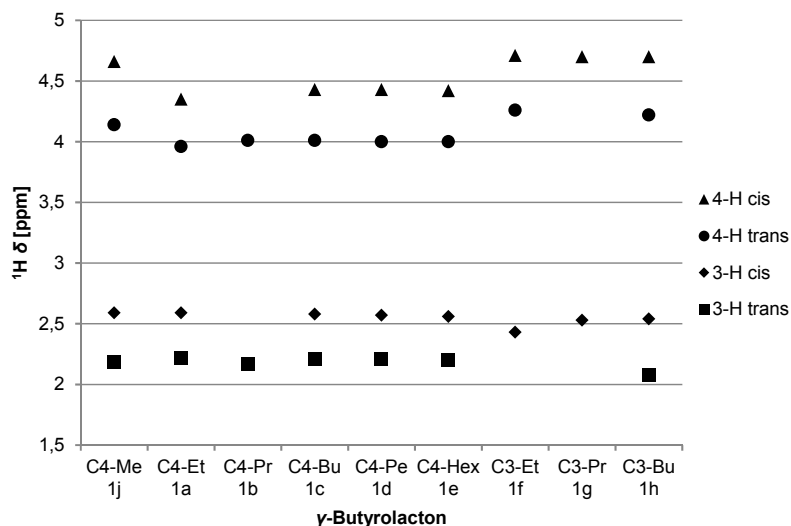


Abbildung 34: ¹H-Verschiebungen der Positionen 3 und 4 aller synthetisierten γ -Butyrolactone **1a-h** und **1j**.

Beim Betrachten der chemischen Verschiebungen der Wasserstoffkerne der *cis*-konfigurierten γ -Butyrolactone (*cis*)-**1** in 3- und 4-Position (3-H: $\delta = \sim 2,5$ ppm, 4-H: $\delta = 4,5$ ppm) im Vergleich zu den Wasserstoffkernen der *trans*-konfigurierten Lactonen (*trans*)-**1** (3-H: $\delta = \sim 2,2$ ppm, 4-H: $\delta = 4,0$ ppm) fällt auf, dass erstere Tieffeld-verschoben sind. Diese Beobachtung ist unabhängig von der Größe des jeweiligen Alkylrestes.

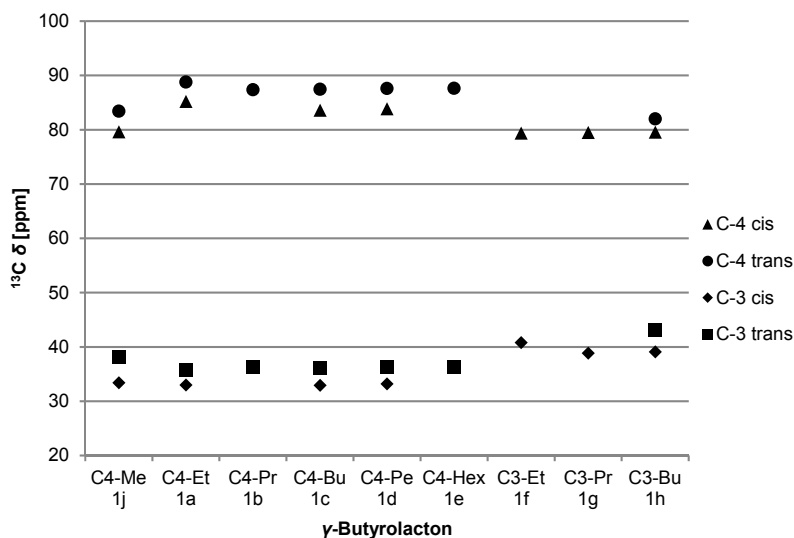


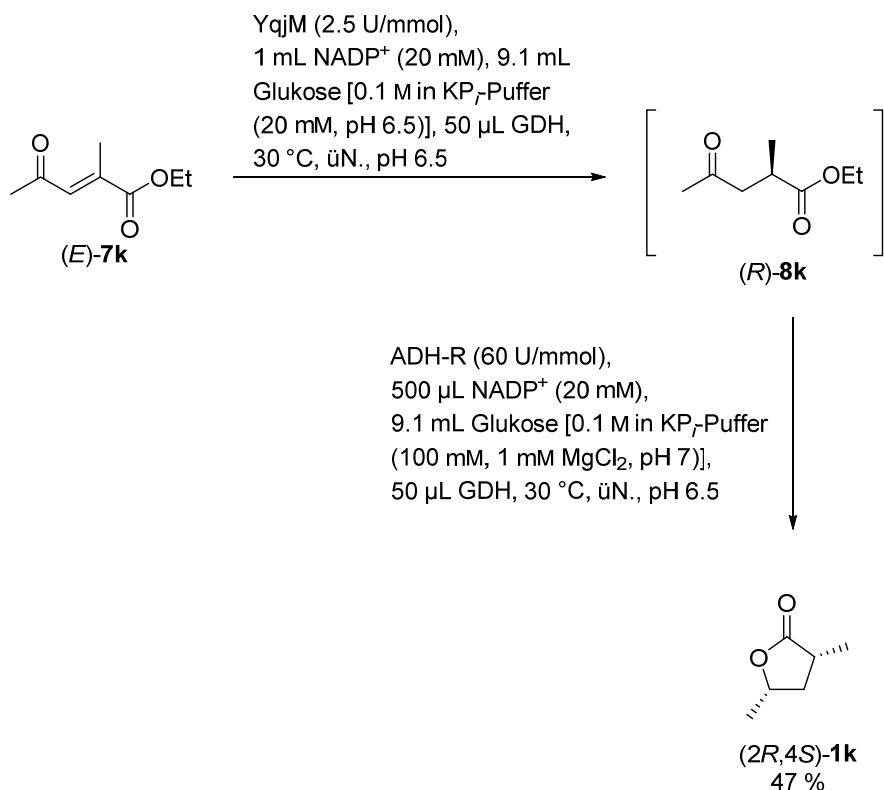
Abbildung 35: ¹³C-Verschiebungen der Positionen 3 und 4 aller synthetisierten γ -Butyrolactone **1a-h** und **1j**.

Bei den Kohlenstoffkernen ist eine umgekehrte Verschiebung zu beobachten. Hierbei sind die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffkerne der *trans*-konfigurierten γ -Butyrolactone (*trans*)-**1** in 3- und 4-Position (C-3: $\delta = \sim 39$ ppm, C-4: $\delta = \sim 89$ ppm) im Vergleich

zu den *cis*-konfigurierten Lactonen (*cis*)-**1** (C-3: $\delta = \sim 32$ ppm, C-4: $\delta = \sim 82$ ppm) Tieffeld-verschoben.

Somit kann durch einen Vergleich der chemischen Verschiebungen zumindest vorausgesagt werden, ob es sich um ein *trans*- oder *cis*-konfiguriertes Lacton **1** handelt.

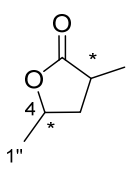
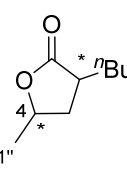
Zur Vollständigkeit wurde auch das zuvor von *Korpak* synthetisierte Lacton **1k**, dessen analytische Daten auch bekannt sind, mit ADH-R hergestellt (Schema 107).



Schema 107: Konsekutive Eintopf-Reaktion zur Synthese des Lactons (*2R,4S*)-**1k**.

Das Substrat (*E*)-**7k** wurde zuvor über eine *Wittig*-Reaktion hergestellt und war somit bereits im Arbeitskreis vorhanden, sodass sofort die Enzymkaskade durchgeführt werden konnte. Die YqjM-Reduktion des (*E*)-Isomers (*E*)-**7k** lieferte dabei das bekannte (*R*)-Enantiomer (*R*)-**8k** und die anschließende Reduktion mit ADH-R führte zum (*2R,4S*)-konfigurierten Produkt (*2R,4S*)-**1k**. Somit blieb die (*S*)-Konfiguration in 4-Position, hervorgerufen durch die Selektivität des ADH-R, erhalten. Die charakteristischen ¹H- und ¹³C-chemischen Verschiebungen der Me- und ⁿBu-substituierten Lactone **1k** und **1i** in 1''- und 4-Position wurden anschließend verglichen (Tabelle 17).

Tabelle 17: Literaturvergleich der analytischen Daten der γ -Butyrolactone **1k** und **1i**.

Eintrag	Verbindung	Literatur	NMR (CDCl ₃) [ppm]				Konfiguration
			1''-Position		4-Position		
			¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	
1	 1k	<i>Troyanskii et al.</i> [305]	1.35 d	–	4.43 m	–	<i>cis</i>
			1.31 d	–	4.63 m	–	<i>trans</i>
		<i>Tannert et al.</i> [315]	1.27–1.32 m	20.8	4.57–4.67 m	74.4	(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)
			1.33–1.37 m	20.7	4.36–4.49 m	74.7	(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)
			1.36 d	20.95	4.40–4.51	74.85	(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)
		<i>Davies et al.</i> [316]			qdd		
			1.27 d	21.08	4.56–4.65	74.50	(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)
					qdd		
2	 1i	<i>Fagan und Brandenburg</i> [301][a]	1.38 d	21.18	4.44 m	75.43	<i>cis</i>
		<i>Maslak et al.</i> [302][a]	1.37 d	21.0	4.67 ddq	74.9	<i>trans</i>
			1.42 d	20.7	4.49 ddq	74.8	<i>cis</i>
			1.37 d	21.40	4.61–4.71 m	75.02	(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)
		eigene Ergebnisse	1.41 d	21.15	4.47 dt	75.22	(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)

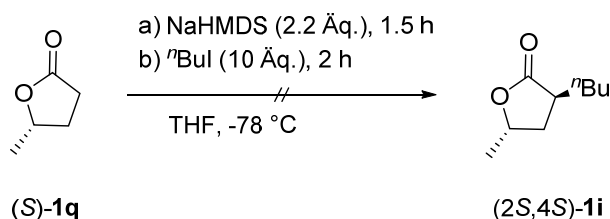
[a] NMR-Signale wurden in der Literatur nicht zugeordnet.

Bei dem 2-Me-substituiertem Lacton **1k** ist eine leichte Tieffeld-Verschiebung der 1''-H-Kerne bei den *cis*-konfigurierten Verbindungen (1''-H: $\delta \approx 1.3$ –1.4 ppm) und des 4-H-Kerns bei den *trans*-konfigurierten Verbindungen (4-H: $\delta \approx 4.5$ ppm) zu beobachten (Eintrag 1). Bei dem 2-*n*Bu-substituiertem Lacton **1i** ist ebenso eine Tieffeld-Verschiebung der 1''-H-Kerne bei den *cis*-konfigurierten Verbindungen (1''-H: $\delta \approx 1.4$ ppm) und des 4-H-Kerns bei den *trans*-konfigurierten Verbindungen (4-H: $\delta \approx 4.6$ ppm) vorhanden (Eintrag 2). Hierbei ist anzumerken, dass die (2*S*,4*S*)- und (2*R*,4*R*)-Lactone **1i** und **1k** die *trans*-konfigurierten Lactone darstellen und die (2*S*,4*R*)- und (2*R*,4*S*)-Lactone **1i** und **1k** dementsprechend *cis*-konfiguriert sind. Die Verschiebungen der ¹³C-Kerne sind bei beiden Verbindungen **1i** und **1k** (C-1'': $\delta \approx 20$ –21 ppm) nahezu identisch und können daher nicht zur Konfigurationsbestimmung herangezogen werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die relativen Konfigurationen der γ -Butyrolactone **1** anhand der charakteristischen chemischen Verschiebungen im NMR vorhergesagt werden können. Nur zwischen den Verbindungen **1i** und **1k** kann keine NMR-Korrelation hergestellt werden. Dennoch ist eine chemische Verschiebung zwischen den *cis*- und *trans*-Konfigurationen des jeweiligen Lactons **1** vorhanden. Außerdem konnte durch die stereoselektive Synthese der bereits bekannten Lactone **1j** und **1k** die (*S*)-Selektivität von ADH-R bestimmt werden. Hierbei ist auch anzumerken, dass nur das gesättigte γ -Ketoester (*R*)-**8c** literaturbekannt ist.[317] Zu allen weiteren Zwischenverbindungen **8** sind keine enantiospezifische Daten verfügbar, sodass die Selektivität der Enreduktasen nicht vorhergesagt werden können. Dennoch lässt sich durch das

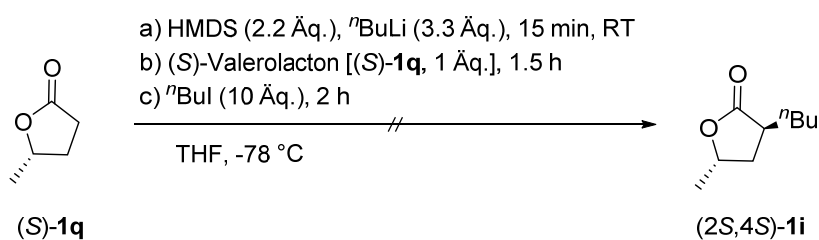
Zusammenführen des Wissens über die relative Konfiguration und der Stereospezifität von ADH-R die Selektivität der Enreduktase und damit auch die absolute Konfiguration der γ -Butyrolactone **1a-i** ableiten.

Eine weitere Option war die stereoselektive Darstellung eines der Stereoisomere des γ -Butyrolactons **1i**. Hierzu wurde die *Fráter-Seebach*-Alkylierung mit (*S*)-Valerolacton **1q** durchgeführt (Schema 108).^[318]



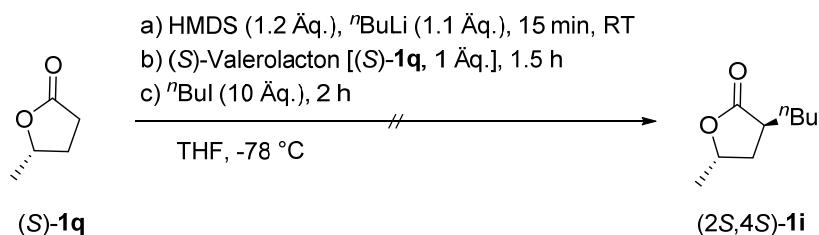
Schema 108: *Fráter-Seebach*-Alkylierung von (*S*)-Valerolacton (*S*)-**1q** zum Lacton (*2S,4S*)-**1i**.^[318]

Die Methode nach *Fráter* und *Seebach* dient ursprünglich zur stereoselektiven α -Alkylierung von chiralen β -Hydroxyestern **49**. Dabei erfolgt die Alkylierung bevorzugt *trans* zur Hydroxygruppe.^[319] Diese Reaktion lässt sich auch auf cyclische Ester übertragen.^[320] Daher war die Idee nach dieser Methode das (*S*)-Valerolacton (*S*)-**1q** in 2-Position zu alkylieren, um somit bevorzugt das (*2R,4S*)- γ -Butyrolacton **1i** herzustellen. Jedoch konnte in diesem Fall durch die *Fráter-Seebach*-Alkylierung kein Produkt **1i** identifiziert werden. Da nicht bekannt war, ob das kommerzielle Natriumhexamethyldisilazan (NaHMDS) noch stabil ist, wurde die Reaktion mit der Bildung von Lithiumhexamethyldisilazan (LiHMDS) *in situ* durchgeführt (Schema 109).



Schema 109: *Fráter-Seebach*-Alkylierung von (*S*)-Valerolacton (*S*)-**1q** zum Lacton (*2S,4S*)-**1i** unter *in situ* Bildung von LiHMDS.

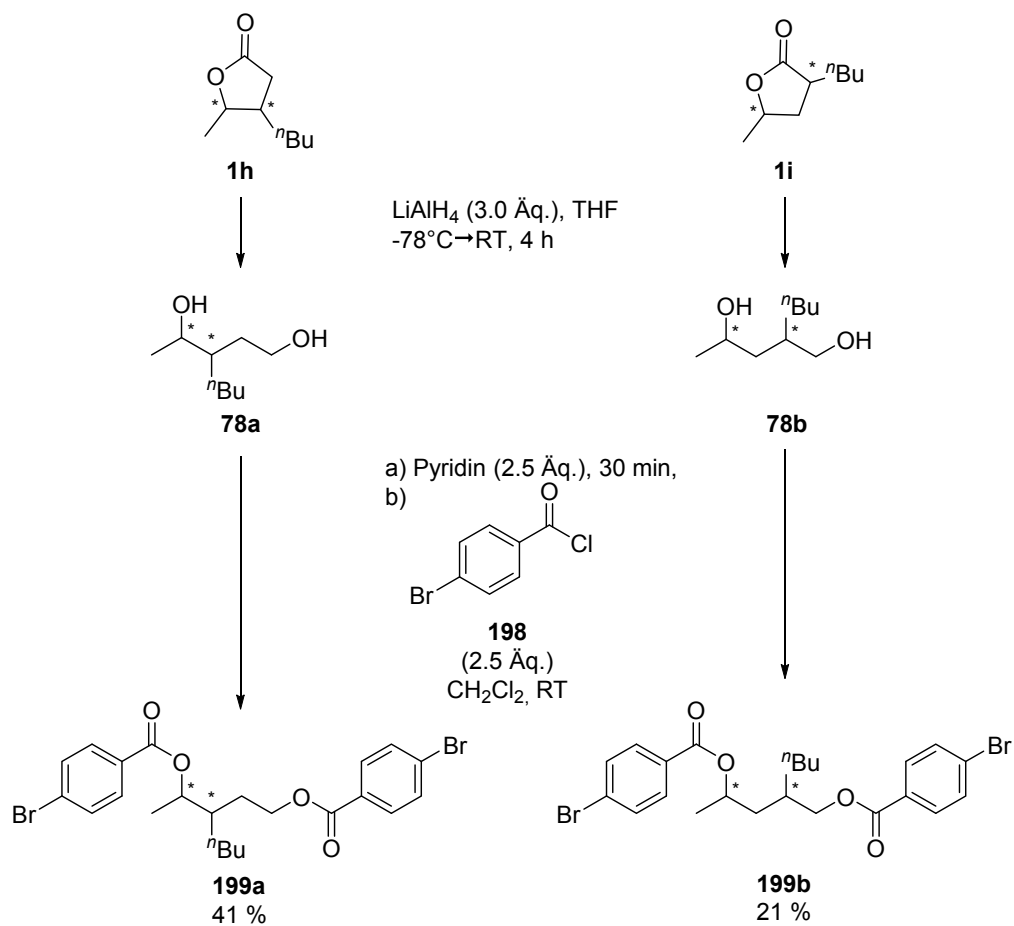
Auch in diesem Fall konnte kein Produkt **1i** isoliert werden. Daraufhin wurde die Reaktion mit HMDS im Überschuss wiederholt, damit eine quantitative Addition des $^n\text{BuLi}$ an HMDS gewährleistet wird (Schema 110).



Schema 110: *Fráter-Seebach*-Alkylierung von (S)-Valerolacton (S)-**1q** zum Lacton (2S,4S)-**1i** mit HMDS im Überschuss.

Doch auch dieser Reaktionsansatz führte nicht zu dem gewünschten Produkt **1i**, sodass die stereoselektive Synthese des γ -Butyrolactons (2S,4S)-**1i** nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte.

Des Weiteren wurde versucht, die Konfiguration der γ -Butyrolactone **1h-i** durch eine Röntgenkristallstruktur nachzuweisen. Dafür wurden die Lactone **1h-i** zunächst vollständig zum Diol **78a-b** reduziert und anschließend mit *p*-Brombenzoylchlorid (**198**) derivatisiert (Schema 111). Hierbei konnten die Produkte **199a-b** als kristalline Feststoffe in 21 bzw. 41 % Ausbeute isoliert werden, jedoch konnten bislang keine Einkristalle gezüchtet werden, sodass keine Aussagen über die Kristallstrukturen getroffen werden können.

Schema 111: Derivatisierung der Lactone **1h**–**i** zur Kristallographie.

Teil 2:

Enreduktasen & Laccasen

–

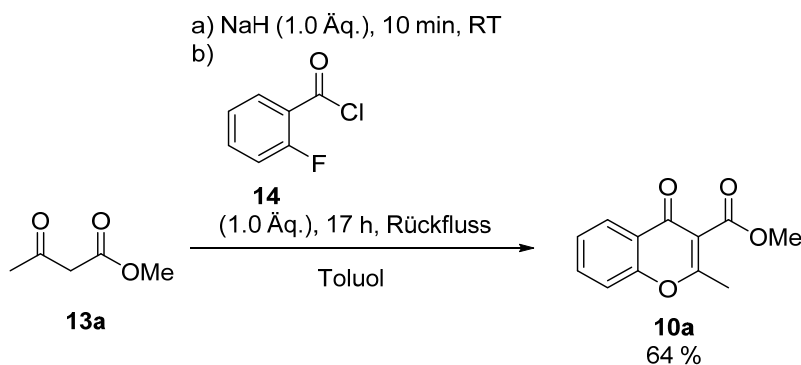
Zugang zu chiralen *Michael*-Addukten 2

4.3 Laccase-katalysierte Arylierungsreaktionen

Aufgrund ihrer vielfältigen biologischen Eigenschaften stellen Chromanone und arylierte β -Dicarbonylverbindungen interessante Verbindungen als chirale Bausteine für die Natur- und Wirkstoffsynthese dar (Kapitel 3.3, S. 37 ff.). Daher werden im Folgenden die chemoenzymatischen Studien zur stereoselektiven Synthese dieser Verbindungen dargestellt.

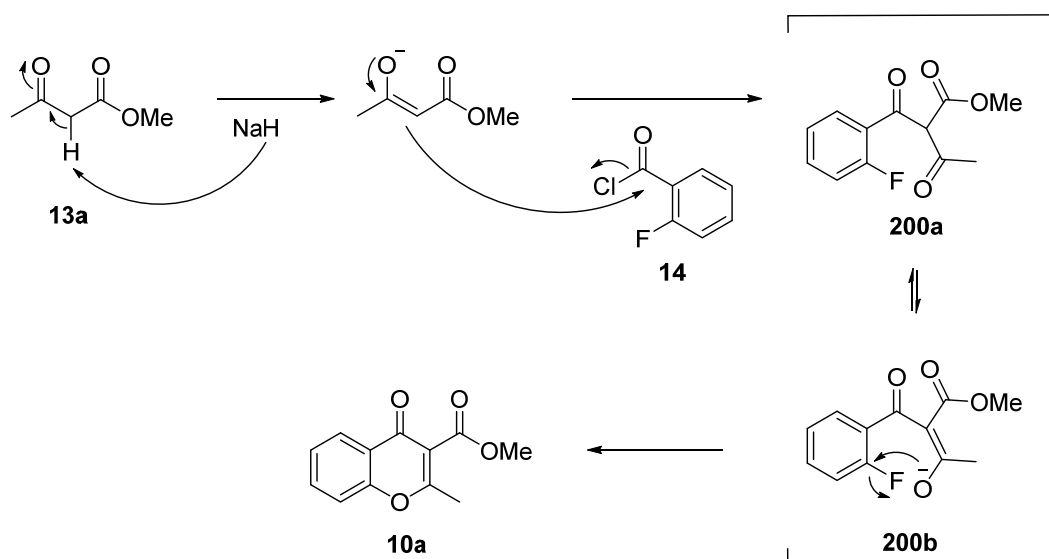
4.3.1 2-Methylchromenon (**10a**)

Wie in Kapitel 3.3 (S. 37 ff.) erwähnt wurde in der Arbeitsgruppe zuvor das 2-Methylchromanon (**11a**) erfolgreich durch eine Laccase-katalysierte Reaktion aryliert.^[1] Allerdings wurde dabei das Chromenon **10a** racemisch durch molekularem Wasserstoff unter Palladium-Katalyse reduziert. Durch die asymmetrische Reduktion des 2-Methylchromenons (**10a**) mit einer Enreduktase könnte zumindest an der 2-Position ein definiertes Stereozentrum aufgebaut werden, sodass die Entstehung eines der *trans*-konfigurierten Arylierungsprodukte **2** bevorzugt ist. Um dies zu untersuchen wurde das 2-Methylchromenon (**10a**) nach bekannter Vorschrift synthetisiert (Schema 112).



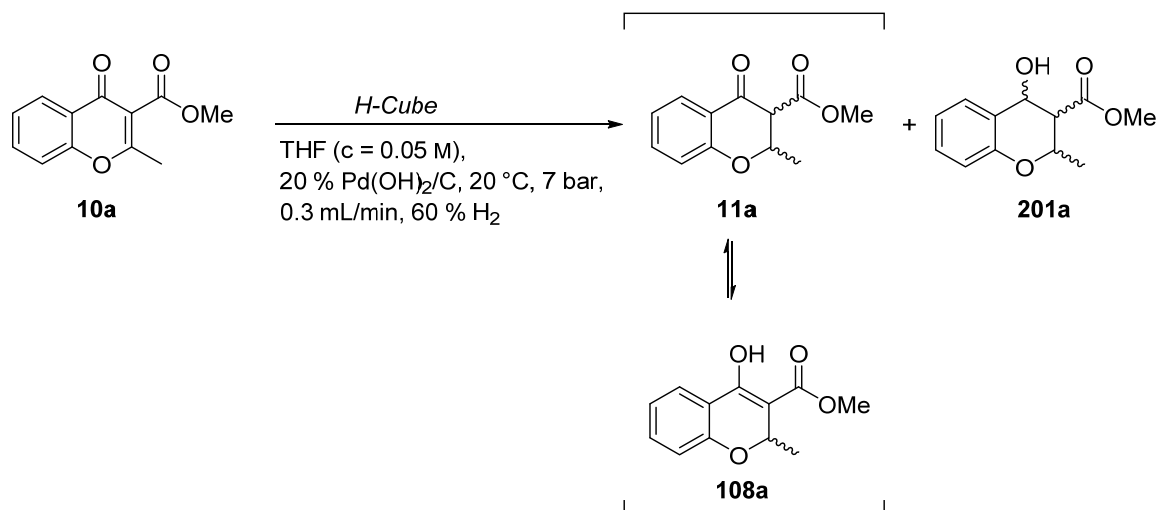
Schema 112: Reaktionssequenz zur Synthese des 2-Methylchromenons (**10a**).

Hierbei greift das Substrat **13a** nach Deprotonierung nukleophil die elektrophile Carbonylgruppe des Aryls **14** an, sodass das Chlorid als Abgangsgruppe substituiert wird. Das Zwischenprodukt **200a-b** als ein Keto/Enol-Tautomer bildet schließlich durch eine intramolekulare nukleophile aromatische Substitution das gewünschte Produkt **10a** in 64 % Ausbeute (Schema 113).



Schema 113: Reaktionsmechanismus zur Darstellung des 2-Methylchromenons (**10a**).

Anschließend wurde die racemische Referenz des 2-Methylchromanons [(*rac*)-**11a**] hergestellt, um die notwendige Enantiomerenanalytik betreiben zu können (Schema 114).



Schema 114: Synthese der racemischen Referenzverbindung des 2-Methylchromenons (**10a**).

Hierzu wurde das Substrat **10a** ebenfalls mit molekularem Wasserstoff unter Palladium-Katalyse reduziert. Während der Reduktion zur racemischen Referenzverbindung konnte zum einen das Keto/Enol-Gemisch [(*rac*)-**11a** und (*rac*)-**108a**] und zum anderen die doppelt reduzierte Verbindung zum Alkohol [(*rac*)-**201a**] isoliert werden. Ein Ausschnitt der charakteristischen Signale aus dem ¹H-NMR-Spektren ist in Abbildung 36 zu sehen.

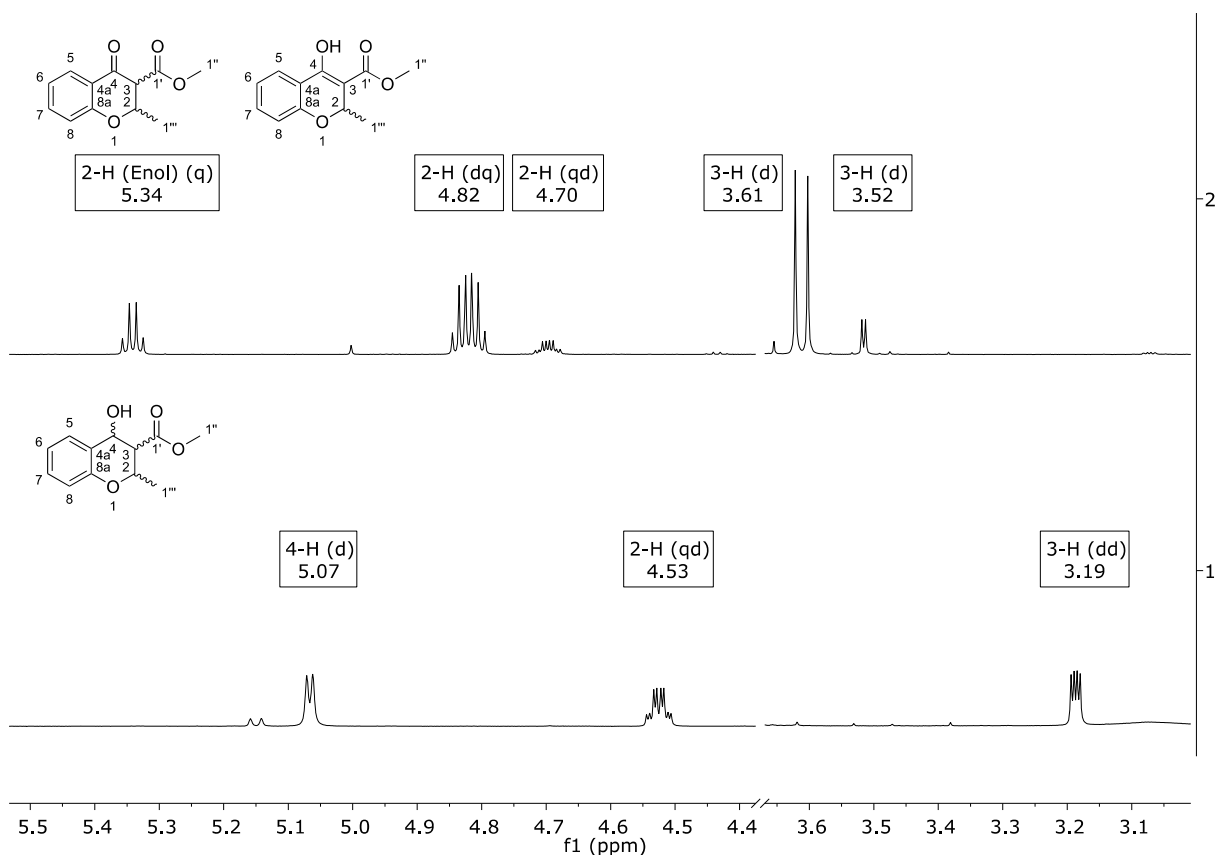
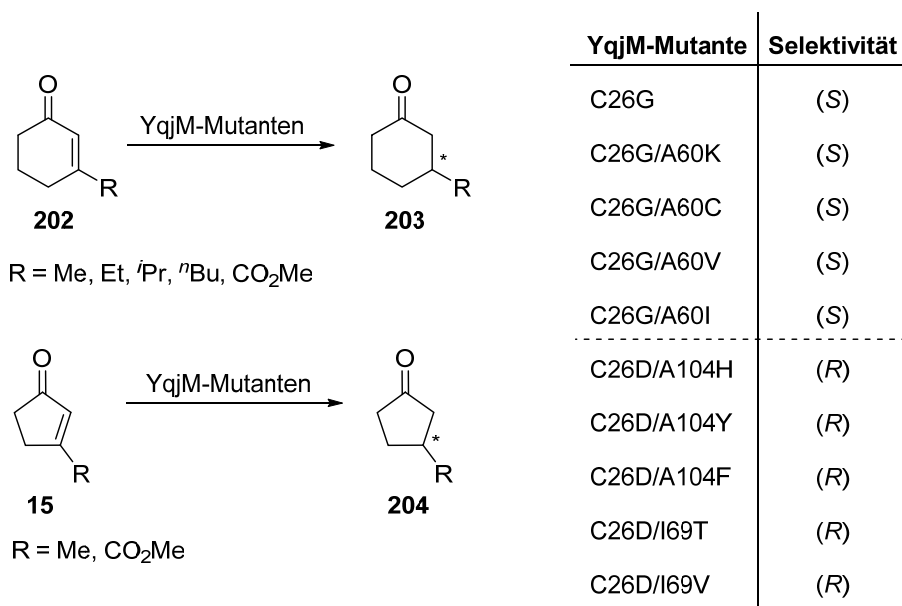


Abbildung 36: Ausschnitt aus dem ¹H-NMR-Spektren des 2-Methylchromanons in ihrer Keto- und Enol-Form [(*rac*)-**11a** und (*rac*)-**108a**] und des 2-Methylchromanols [(*rac*)-**201a**, CDCl₃, 600 MHz].

In dem ¹H-NMR-Spektrum des 2-Methylchromanons (*rac*)-**11a** sind die Signale der Wasserstoffkerne an 2- und 3-Position als Dublett vom Quartett ($\delta = 4.82$ ppm) bzw. als Dublett ($\delta = 3.61$ ppm) zu erkennen. Beide Signale sind mit geringerer Intensität auch weiter Hochfeld-verschoben (2-H: $\delta = 4.70$ ppm, 3-H: $\delta = 3.52$ ppm) zu erkennen, welche durch das entsprechende Diastereomer hervorgerufen werden. Demnach ist ein Diastereomerenverhältnis von 1:6 vorhanden. Zusätzlich zu diesen Signalen ist ein Quartett bei $\delta = 5.34$ ppm zu erkennen, welches dem Wasserstoffkern an 2-Position der Enol-Form (*rac*)-**108a** zuzuordnen ist. Das Keto-Enol-Verhältnis beträgt demnach 3:1. Außerdem konnte auch das doppeltreduzierte 2-Methylchromanol (*rac*)-**201a** isoliert werden, dessen charakteristische Signale dem unteren Ausschnitt entnommen werden können. Hierbei ist das Signal des Wasserstoffkerns an 2-Position im Vergleich zum 2-Methylchromanon (*rac*)-**11a** Hochfeld-verschoben ($\delta = 4.53$ ppm). Das Wasserstoffkern an 3-Position ergibt in diesem Fall ein Dublett vom Dublett und ist mit $\delta = 3.19$ ppm ebenfalls Hochfeld-verschoben. Des Weiteren ist bei $\delta = 5.07$ ppm ein Dublett zu erkennen, welches dem Wasserstoffkern an 4-Position zuzuordnen ist und demnach die Überreduktion des 2-Methylchromanons (*rac*)-**11a** bestätigt.

Nach erfolgreicher Synthese der Referenzverbindungen wurde ein Enreduktase-Screening durchgeführt. Dabei ist aus vorausgehenden Arbeiten bekannt, dass die Wildtyp Enreduktasen das Substrat **10a** nicht akzeptieren. In der Literatur wurde über YqjM-Mutanten berichtet, die ähnliche Substrate **15** und **202** erfolgreich (*S*)- oder (*R*)-selektiv zu Verbindung **203** und **204** umsetzen können (Schema 115).^[321]



Schema 115: Reduktion von Cyclohexenon- und Cyclopentenon-Derivaten **202** und **15** durch YqjM-Mutanten.^[321]

Freundlicherweise wurden uns die Gene dieser Mutanten durch die Arbeitsgruppe von Höbenreich (*née Kille*) bereitgestellt, sodass nach erfolgreicher Genexpression die Mutanten generiert werden konnten. Schließlich wurden die YqjM-Mutanten mit 2-Methylchromenon (**10a**) als Substrat gescreent. Als Positivkontrolle wurde Cyclohexenon als Substrat verwendet (Abbildung 37).

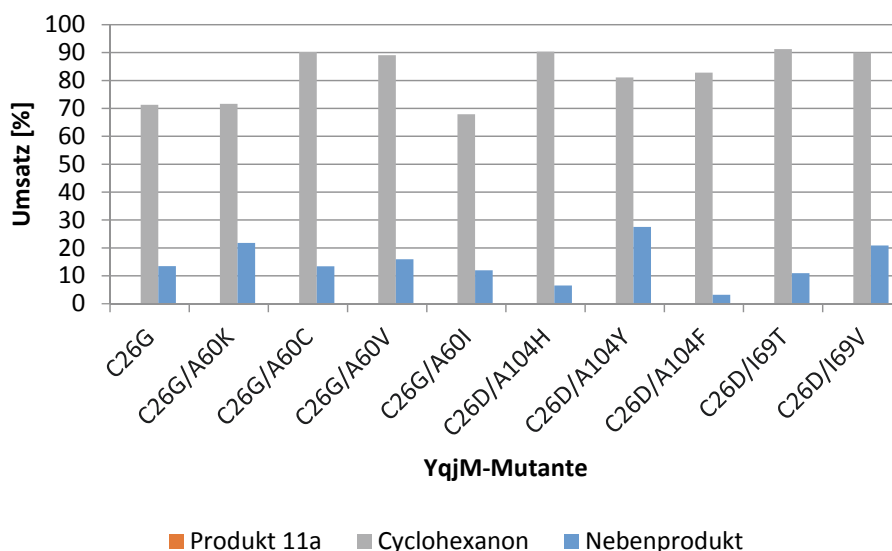
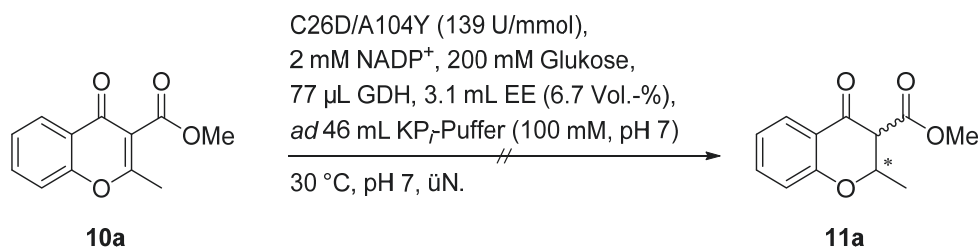


Abbildung 37: YqjM-Mutanten-Screening mit 2-Methylchromenon (**10a**) und Cyclohexanon als Referenz.

Während Cyclohexanon von allen Mutanten sehr gut umgesetzt wurden, konnte mit 2-Methylchromenon (**10a**) keine der hergestellten Referenzverbindungen **11a**, **108a** und **201a** beobachtet werden. Anstatt dessen wurde mit allen Mutanten ein unbekanntes Signal in unterschiedlichem Ausmaß festgestellt. Die YqjM-Doppelmutante C26D/A104Y lieferte den größten Anteil zu dieser unbekanntes Verbindung. Daher wurde eine semi-präparative Umsetzung des 2-Methylchromenons (**10a**) mit dieser Mutante vorgenommen, um die unbekanntes Verbindung zu identifizieren (Schema 116).



Schema 116: Semi-präparative Umsetzung des 2-Methylchromenons (**10a**) mit der YqjM-Doppelmutante C26D/A104Y.

Auch hier konnte entsprechend der Screeningergebnisse kein Umsatz zum gewünschten Produkt **11a** erzielt werden. Die unbekanntes Verbindung wurde auch nur zu 1.5 % gebildet und konnte somit nicht isoliert werden. Daher wurde für das weitere Vorgehen nach alternativen Substraten Ausschau gehalten, die in folgenden Kapiteln weiter erläutert werden.

4.3.2 Cyclopentenon-Derivate **10b–e**

Da offensichtlich sowohl die Wildtyp-Enreduktasen als auch die YqjM-Mutanten das 2-Methylchromenon (**10a**) nicht umsetzen können, wurde versucht das Molekül auf die Grundstruktur zu minimalisieren. Daraus wurden substituierte Cyclopentenon-Derivate **10b–e** abgeleitet (Abbildung 38).

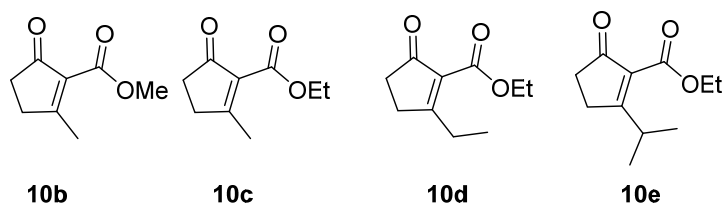
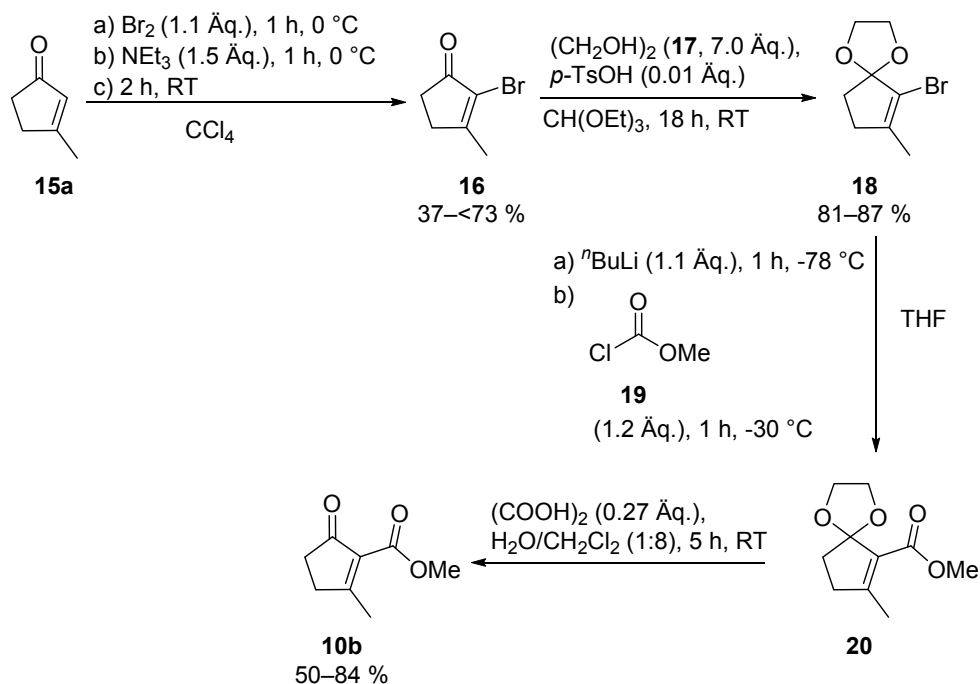


Abbildung 38: Molekülstrukturen der interessanten Cyclopentenon-Derivate **10b–e**.

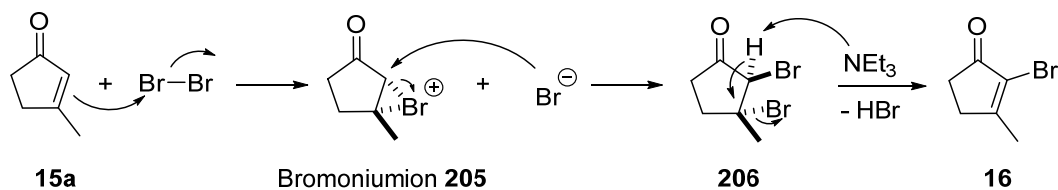
Zuvor wurden in der Arbeitsgruppe in der Regel die unsubstituierten β -Ketoester **11h–i** in einer Enzym-katalysierten Arylierungsreaktion eingesetzt.^[1, 133, 134] Nur Verbindung **11j** mit einer Nitroeinheit wurde bisher als substituiertes β -Ketoester für die Laccase-katalysierte Arylierungsreaktion verwendet.^[133] Das enantiomerenangereicherte Substrat **11j** wurde dabei chemisch durch eine asymmetrische *Michael*-Addition hergestellt (Kapitel 3.3, S. 37 ff.). Um dies durch eine enzymatische Reaktion mit Enreduktasen zu ersetzen und den Effekt des Substituenten auf die Arylierungsreaktion zu untersuchen, wurden Alkyl-substituierte β -Ketoester **10** synthetisiert. Im Hinblick auf die Substituenten sind die Me-, Et- und *i*Pr-Verbindungen von Interesse, um den Einfluss auf die Selektivität der Arylierungsreaktion zu beobachten.

Die Synthese der Verbindung **10b** mit einem Me-Substituenten wurde nach *Smith et al.* durchgeführt (Schema 117).^[322]



Schema 117: Reaktionssequenz zur Synthese des Me-substituierten Cyclopentenon-Derivats **10b**.

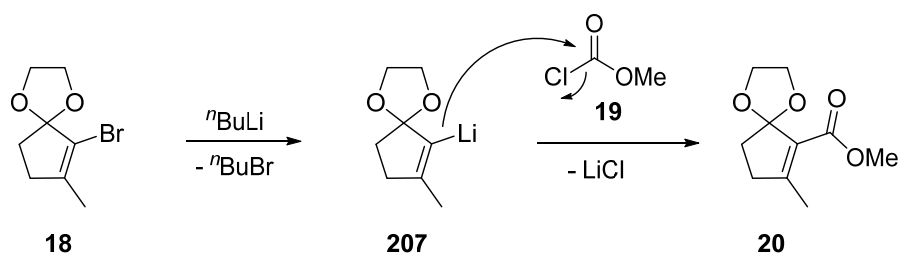
Bei dieser Reaktionssequenz wurde zunächst das 3-Methylcyclopentenon **15a** mit molekularem Brom bromiert. Mechanistisch betrachtet wird das partiell positiv polarisierte Brom an die Doppelbindung des Substrates **15a** addiert, sodass ein Bromoniumion **205** entsteht (Schema 118).^[323-325] Das negativ geladene Bromid kann nun von der sterisch weniger gehinderten Seite an 2-Position nukleophil angreifen. Durch diese formale *trans*-Addition von Brom entsteht zunächst ein di-bromiertes Zwischenprodukt **206**, welches nach Deprotonierung des aciden Wasserstoffatoms an 2-Position zur Eliminierung des Bromids an 3-Position führt.



Schema 118: Reaktionsmechanismus der Bromierung von 3-Methylcyclohexenon (**15a**).

Das bromierte Produkt **16** konnte dabei in Ausbeuten von 37–<73 % isoliert werden. Die Ketogruppe der bromierten Verbindung **16** sollte anschließend durch ein Acetal geschützt werden. In der Literatur wurde die Schützung mit 2.5 Äq. Ethylenglycol (**17**) und 0.2 Mol-% *p*-Toluolsulfonsäure durchgeführt.^[322] Die Schützung nach dieser Vorschrift zeigte allerdings keinen signifikanten Umsatz, sodass die Menge an *p*-Toluolsulfonsäure auf 0.1 Äq. erhöht wurde. Dabei konnten mehrere Verbindungen mittels Dünnschichtchromatographie (DC) beobachtet werden, allerdings handelte es sich bei diesen Verbindungen nicht um das gewünschte Produkt **18**. Auch die Durchführung der Reaktion unter *Dean-Stark*-Bedingungen führte nicht zum Erfolg, wobei anzumerken ist, dass aufgrund des kleinen Reaktionsansatzes keine sichtbare

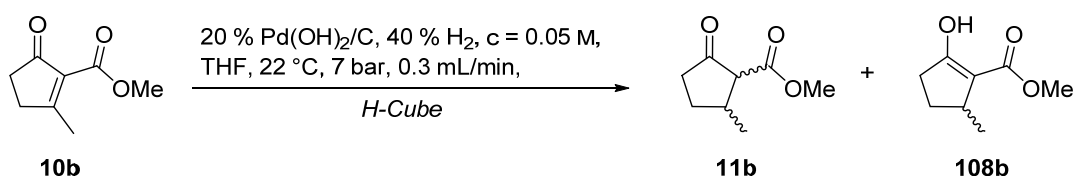
Wasserabscheidung stattgefunden hat. In einer weiteren Literaturquelle wurde die Schützung mit 7.0 Äq. Ethylenglycol (**17**) und 0.01 Äq. *p*-Toluolsulfonsäure durchgeführt.^[326, 327] Nach 18 h Reaktionszeit bei RT konnte das Acetal-geschützte Produkt **18** in 81–87 % Ausbeute gewonnen werden. Das Zwischenprodukt **18** wurde anschließend zur Bildung des Esters **20** mit Chlorameisensäuremethylester (**19**) versetzt. Hierbei wurde zunächst das Bromatom durch das Lithiumatom vom *n*BuLi ersetzt (Schema 119). Durch diesen Metall-Halogen-Austausch findet eine Umpolung der elektrophilen α -Position statt, sodass ein nukleophiler Angriff der Verbindung **207** auf Chlorameisensäuremethylester (**19**) erfolgen kann.



Schema 119: Reaktionsmechanismus der Veresterung von Verbindung **18**.

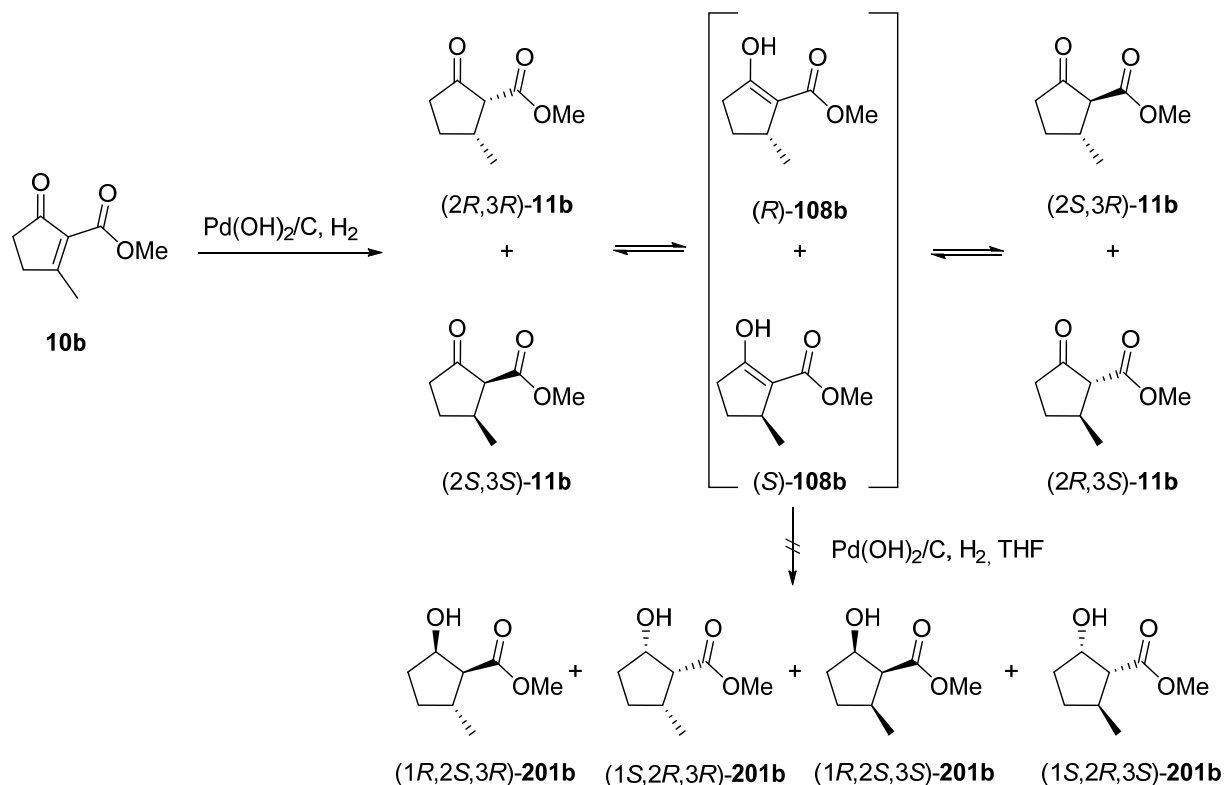
Das dabei entstandene Produkt (**20**) wurde ohne Reinigung unter saurer Bedingung entschützt und lieferte den Me-substituierten β -Ketoester **10b** in 50–84 % Ausbeute.

Um eine Aussage über die Stereoselektivität der enzymatischen Reaktionen treffen zu können, wurde die racemische Referenzverbindung des Me-substituierten Cyclopentenon-Derivats **11b** hergestellt. Hierzu wurde zunächst die Verbindung **10b** mit Hilfe des *H-Cube*'s reduziert (Schema 120).



Schema 120: Reaktionsschema zur Synthese der racemischen Referenzverbindungen **11b** und **108b**.

Nach der Reduktion des Me-substituierten Cyclopentenon-Derivats **10b** konnten gaschromatographisch vier Signale ermittelt werden (Schema 121). Allerdings ist hierbei anzumerken, dass keine Basislinientrennung erreicht werden konnte.

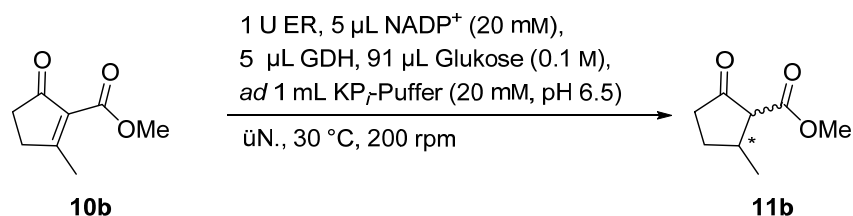


Schema 121: Darstellung der möglichen Produkte **11b**, **108b** und **201b** bei der Herstellung der racemischen Referenzverbindungen.

Theoretisch können durch die Palladium-katalysierte *syn*-Reduktion die beiden *cis*-konfigurierten Produkte (*cis*)-**11b** entstehen. Aufgrund der möglichen Enolisierung, epimerisiert die 2-Position, sodass auch die beiden *trans*-konfigurierten Produkte (*trans*)-**11b** beobachtet werden können. Die Überreduktion des Enols **108b** zum Alkohol **201b** ist in THF als aprotischer Lösungsmittel vermutlich eher unwahrscheinlich, sodass die Überreduktion nicht stattfinden sollte.

Auf eine Arylierung des racemischen Produktes (*rac*)-**11b** wurde in diesem Fall verzichtet, sodass die Arylierung mit dem enantiomerenreinen Produkt **11b** durchgeführt wurde, welches im weiteren Verlauf beschrieben wird.

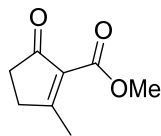
Zur Identifizierung der geeigneten Enreduktase zur selektiven Reduktion der Doppelbindung wurde als nächstes ein Screening durchgeführt (Schema 122).



Schema 122: Enreduktase-Screening mit dem Me-substituierten Cyclopentenon-Derivat **10b**.

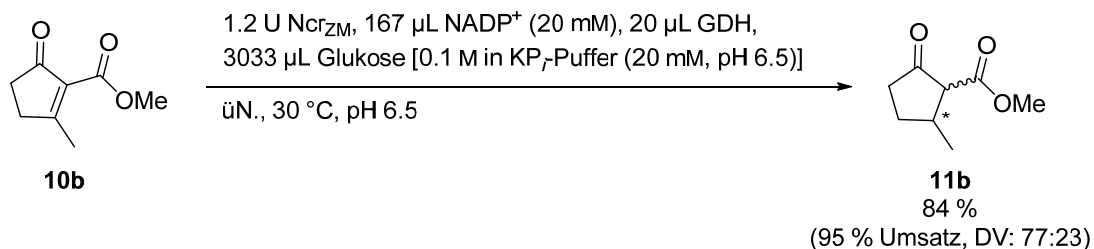
Hierbei wurden sowohl die Wildtyp-Enreduktasen als auch die YqjM-Mutanten herangezogen. Allerdings wurden die Mutanten C26G/A60K und C26G/A60C nicht für das Screening verwendet, da dessen Genexpressionen nicht erfolgreich reproduziert werden konnten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: Zusammenfassung des Enreduktase-Screenings mit dem Me-substituiertem Cyclopentenon-Derivat **10b**.

Eintrag	Substrat	Enzym	Umsatz [%]	ee [%]
1	 <p style="text-align: center;">10b</p>	Ncr _{ZM}	89	>99
2		Ncr _{PL}	52	>99
3		Oye	69	62
4		YqjM	69	97
5		Opr1	22	>99
6		Opr3	72	>99
7		TsER	81	>99
8		C26G	15	47
9		C26G/A60V	41	>99
10		C26G/A60I	20	>99
11		C26D/A104H	44	89
12		C26D/A104Y	58	94
13		C26D/A104F	45	88
14		C26D/169T	50	81
15		C26D/169V	40	60

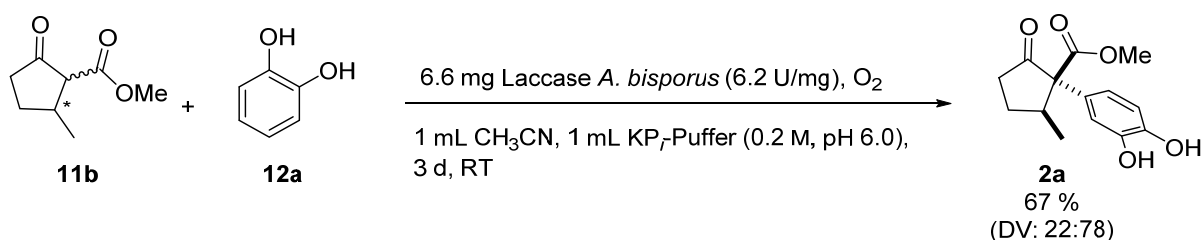
Hierbei zeigte sich, dass die Reduktion des Me-substituierten Cyclopentenon-Derivats **10b** mit Ncr_{ZM} den größten Umsatz (89 %) lieferte (Eintrag 1). Opr1 führte nur zu 22 % Umsatz (Eintrag 5), aber mit allen weiteren Enreduktasen konnten moderate bis gute Umsätze (52–81 %) erzielt werden (Einträge 2–4, 6, 7). Die Enantioselektivitäten fallen in den meisten Fällen quantitativ aus. Nur mit YqjM wurde eine etwas geringere Enantioselektivität (97 % ee) und mit Oye eine moderate Enantioselektivität von 62 % beobachtet (Einträge 3 und 4). Allerdings sind diese Selektivitäten mit Vorsicht zu genießen, da mittels GC mit chiraler stationärer Phase keine Basislinientrennung erreicht werden konnte. Des Weiteren konnten mit den YqjM-Mutanten zwar Umsätze (15–58 %) beobachtet werden, allerdings waren diese im Vergleich zum YqjM-Wildtyp (69 %) und den anderen Wildtyp-Enreduktasen (22–89 %) geringer. Ebenso fielen auch die Enantioselektivitäten mit den Mutanten geringer aus (Einträge 8–15). Demnach sind für die selektive Reduktion des Me-substituierten Cyclopentenon-Derivats **10b** die Wildtyp-Enreduktasen zu bevorzugen.

Im weiteren Vorgehen wurde die Enzymreaktion im präparativen Maßstab durchgeführt. Das Substrat **10b** wurde hierzu durch die Enreduktase Ncr_{ZM} asymmetrisch reduziert (Schema 123).



Schema 123: Reaktionsschema zur Reduktion des Me-substituierten Cyclopentenon-Derivats **10b** mit Hilfe der Enreduktase Ncr_{ZM}.

Hierbei wurde das Produkt **11b** mit 95 % Umsatz und einem Diastereomerenverhältnis von 0:77:0:23 gebildet und konnte mit 84 % Ausbeute isoliert werden. Das isolierte Produkt **11b** wurde für die Arylierung mit Catechol **12a** verwendet, wobei die Oxidation zum Hydrochinon **109a** mit Hilfe der kommerziell erwerblichen Laccase aus *A. bisporus* erfolgte (Schema 124).

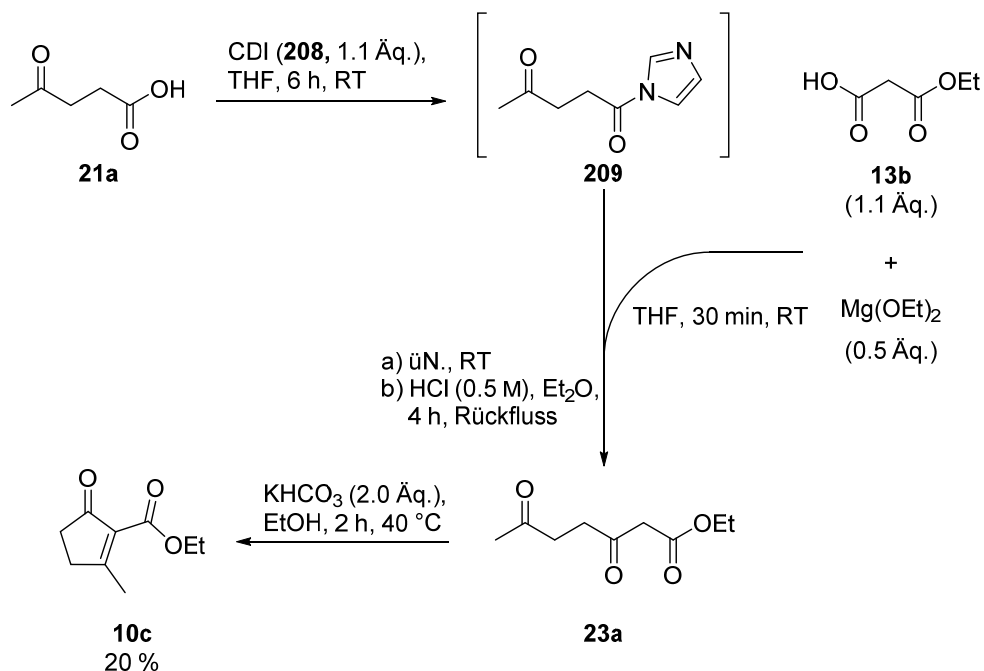


Schema 124: Reaktionsschema zur Laccase-katalysierten Arylierung des Me-substituierten Cyclopentanon-Derivats **11b** mit Catechol **12a**.

Die Arylierungsreaktion lieferte das Produkt **2a** in 67 % Ausbeute mit einem Diastereomerenverhältnis von 22:78, ermittelt durch HPLC mit chiraler stationärer Phase. Anhand dieser Selektivität lässt sich erahnen, dass die Enantioselectivität hervorgerufen durch die Reduktion mit Ncr_{ZM} quantitativ ist und die Arylierung vermutlich bevorzugt mit *trans*-Selektivität stattfindet. Um dies zu überprüfen sollte eine Arylierung mit der racemischen Verbindung (*rac*)-**11b** durchgeführt und ebenfalls mittels HPLC analysiert werden.

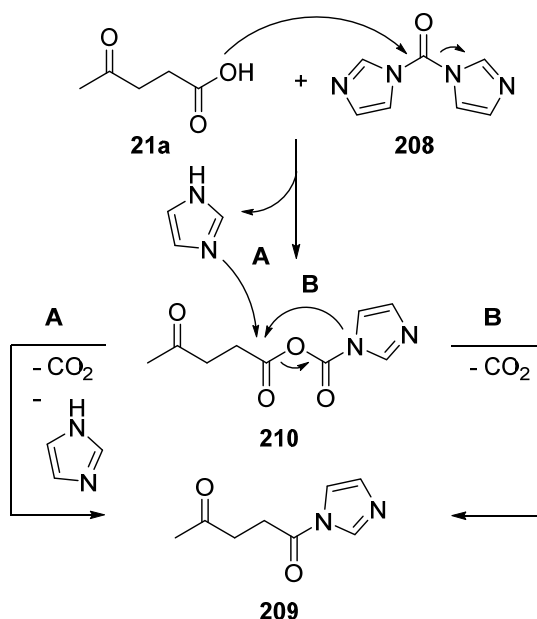
Um den Einfluss des Substituenten an 3-Position weiterhin zu überprüfen, sollten die Et- und *i*Pr-Substituenten eingeführt werden. Allerdings ist dies durch die bisher durchgeführte Synthesemethode nicht ohne Weiteres möglich. Außerdem wurde bei dieser Synthese festgestellt, dass eine Vergrößerung des Reaktionsmaßstabs nicht mehr zum gewünschten Me-substituierten Produkt **10b** führt. Daher musste eine alternative Synthesemethode herangezogen werden. *Liu et al.* berichten, dass der Ethylester dieser Verbindung **10c** in 62 % Ausbeute hergestellt werden kann.^[328] Da es für die enzymatischen Umsetzungen keinen Unterschied macht, welcher

Ester vorhanden ist, wurde im weiteren Verlauf versucht den Ethylester wie in der Literatur beschrieben herzustellen (Schema 125).



Schema 125: Reaktionssequenz zur Synthese des Me-substituierten β -Ketoesters **10c**.

Bei dieser Synthesesequenz wird als erstes die Carbons\u00e4ure-Aktivit\u00e4t der L\u00e4vulins\u00e4ure (**21a**) durch eine Reaktion mit 1,1'-Carbonyldiimidazol (**208**, CDI) aktiviert. Nach dem Mechanismus wird eine Imidazolgruppe des CDI (**208**) durch den nukleophilen Angriff der L\u00e4vulins\u00e4ure (**21a**) ersetzt (Schema 126). Die Bildung des Acylimidazols **209** aus dem Anhydrid **210** ist in der Literatur umstritten. Zum einen wird ein intermolekularer (A) und zum anderen ein intramolekularer Mechanismus (B) vorgeschlagen, wobei im Fall von A das zuvor freigesetzte Imidazol durch einen Angriff auf die Anhydridfunktionalit\u00e4t zur Bildung des Acylimidazols **209** beitr\u00e4gt.^[329, 330]



Schema 126: Reaktionsmechanismus zur Aktivierung der Lävulinsäure (**21a**).

Anschließend erfolgt die Kopplung mit Monohydrogenmalonat (**22a**), wobei das Carbanion des letzteren die Carbonylgruppe des Acylimidazols **209** nukleophil angreift und Imidazol freigesetzt wird. Eine Decarboxylierung führt schließlich zum neuen Zwischenprodukt **23a**, welches unter basischen Bedingungen intramolekular zum gewünschten Produkt **10c** kondensiert. Jedoch ist die Ausbeute mit 20 % sehr gering und das Ergebnis lässt sich nicht reproduzieren, sodass das Produkt **10c** im weiteren Verlauf nicht isoliert werden konnte. In der Literatur wird auch über die Instabilität des 2-Cyclopentenoncarbonsäureethylesters **10k** und dessen Neigung zur Polymerisierung berichtet, was wahrscheinlich auch in diesem Fall die Isolierung des Produktes **10c** erschwert.^[331]

Zusammenfassend lässt sich hier sagen, dass das Substrat **10b** erfolgreich mit einer Enreduktase reduziert werden kann und auch eine Laccase-vermittelte Arylierung durchgeführt werden kann. Allerdings hat sich die Substratsynthese mit den bisherigen Methoden als limitierend erwiesen, da zum einen keine Skalierung erreicht werden konnte und zum anderen die Isolierung der Substrate problematisch waren.

4.3.3 γ -Butenolid-Derivat **10f**

Im Hinblick auf die Aktivierung der Substrate **10** im aktiven Zentrum der Enreduktase, wäre es interessant zu beobachten, ob es zu einem Unterschied führt, wenn die Esterfunktionalität intramolekular als ein Lacton vorhanden ist und die Ketogruppe einen α -Substituenten darstellt (Abbildung 39).

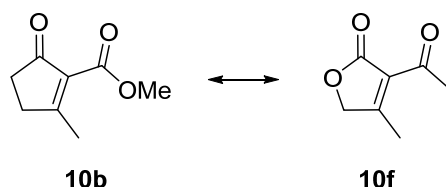
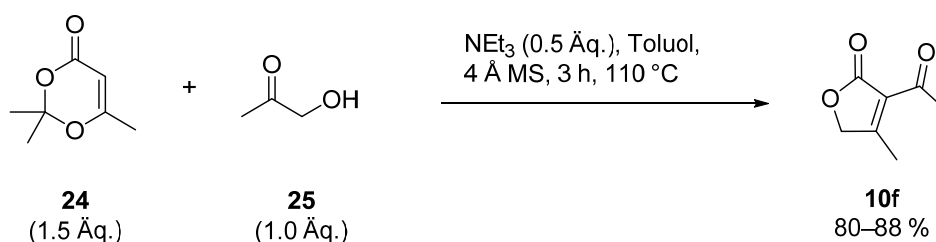


Abbildung 39: Molekülstruktur vom β -Ketoester **10b** und α -Keto- γ -butenolid (**10f**).

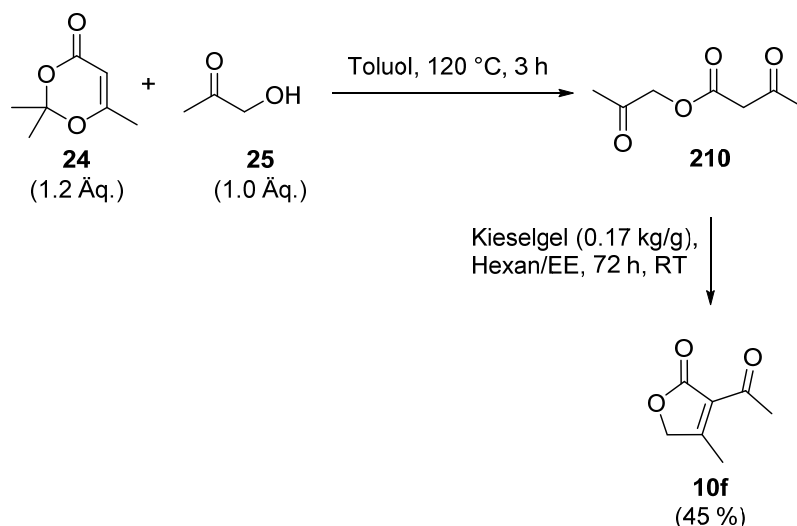
Für die Synthese des α -Keto- β -methyl- γ -butenolids (**10f**) wurde in der Literatur eine Eintopf-Synthesesequenz gefunden (Schema 127).^[332]



Schema 127: Reaktionssequenz zur Synthese des α -Keto- β -methyl- γ -butenolids (**10f**) im Eintopf-Verfahren.^[332]

Demnach reagieren das Trimethyldioxinon (**24**) und Hydroxyaceton (**25**) unter Rückfluss zum gewünschten α -Keto- β -methyl- γ -butenolid (**10f**) in 80–88 % Ausbeute. Mechanistisch greift dabei das Hydroxyaceton (**25**) die Carbonylgruppe des Trimethyldioxinons (**24**) an und Aceton wird freigesetzt. Die Wiederholung dieser Reaktion führte lediglich zu nicht identifizierbaren, stark verunreinigten Nebenprodukten. Eine Erhöhung der Molekularsieb-Menge (MS) und Reinigung des Rohprodukts mit einer gekühlten Säule lieferte auch eine stark verunreinigte Fraktion. Im NMR konnten aber auch Signale vom Produkt (**10f**) gefunden werden. Das Wiederholen dieser Reaktion mit einer destillativen Reinigung führte ebenfalls zur stark verunreinigten Verbindung.

Alternativ wurde in der Literatur dieselbe Reaktion in zwei Schritten durchgeführt (Schema 128).

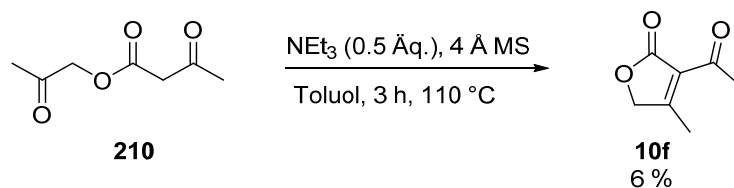


Schema 128: Reaktionssequenz zur Synthese des α -Keto- β -methyl- γ -butenolids (**10f**) in zwei Schritten.^[332]

Hierbei wurde das Trimethyldioxinon (**24**) und Hydroxyacetone (**25**) in Abwesenheit einer Base zur Reaktion gebracht. Das Zwischenprodukt **210** wurde isoliert und anschließend in einer Festphasenreaktion mit Kieselgel (0.17 kg/g) zur Kondensation gebracht, wobei das Produkt **10f** in 45 % Ausbeute gewonnen werden konnte.

Die Synthese des Zwischenprodukts **210** verlief problemlos und es konnte eine Ausbeute von 83 % erzielt werden. Im NMR konnte dabei das Zwischenprodukt **210** und das gewünschte Butenolid **10f** in einem Verhältnis von 4:1 identifiziert werden. Die Synthese des Zwischenprodukts **210** wurde auch mit zuvor destilliertem Hydroxyacetone (**25**) durchgeführt. Das Zwischenprodukt/Butenolid-Verhältnis konnte dabei reproduziert werden. Der zweite Schritt wurde allerdings mit viel weniger Kieselgel (0.03 kg/g) durchgeführt. Dabei wurden wieder stark durch Nebenprodukte verunreinigte Gemische isoliert.

In einem weiteren Ansatz wurde das Zwischenprodukt **210** mit Triethylamin kondensiert (Schema 129).

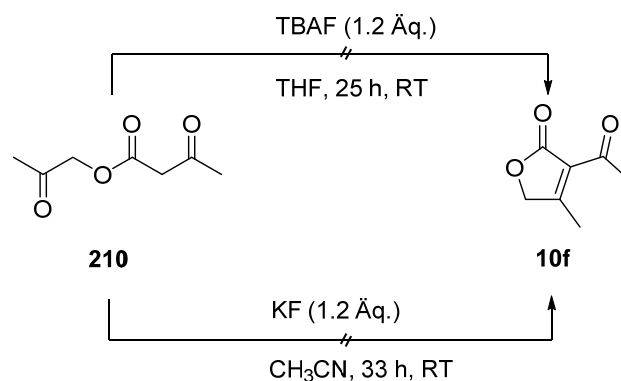


Schema 129: Reaktionssequenz zur Kondensation des Zwischenprodukts **210** mit Triethylamin.

Dabei wurde frisch destilliertes Triethylamin zugegeben und es konnten nur 6 % vom gewünschten α -Keto- β -methyl- γ -butenolid (**10f**) erhalten werden. Jedoch konnte während der chromatographischen Reinigung eine Zersetzung des Produktes **10f** beobachtet werden. Außerdem wurde diese Reaktion auch bei Raumtemperatur durchgeführt, welches jedoch auch erfolglos war. Auch wurde die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes variiert, indem zum einen sauer und zum anderen basisch extrahiert wurde. Beides hatte keinen Einfluss, sodass im NMR des Rohprodukts sehr wenig Butenolid **10f** zu erkennen war.

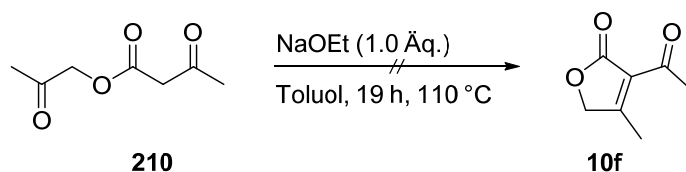
Ebenfalls wurde versucht das Zwischenprodukt **210** in Anwesenheit von Molekularsieb zur Kondensation zum Butenolid **10f** zu verleiten. Allerdings konnte nach einer Woche Reaktionszeit kein Umsatz beobachtet werden.

Des Weiteren wurden in der Literatur zwei Methoden gefunden, mit denen ähnliche Substrate kondensiert wurden. Zum einen wurde Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) eingesetzt und zum anderen Kaliumfluorid.^[333] Beide Methoden wurden auf das Zwischenprodukt **210** angewendet und es konnte in beiden Fällen wieder nur Nebenprodukte isoliert werden (Schema 130).



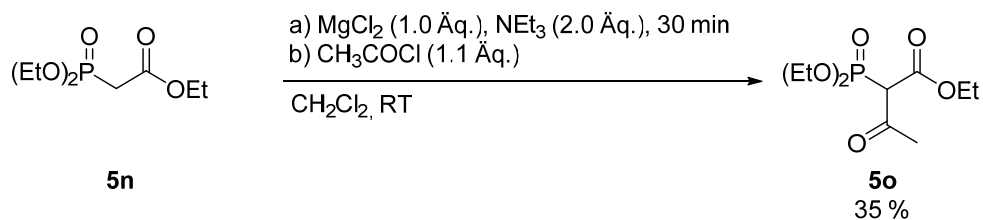
Schema 130: Reaktionssequenz zur Kondensation des Zwischenprodukts **210** mit TBAF und KF.

Schließlich wurde die Kondensation auch mit Natriumethanolat durchgeführt (Schema 131).^[334] Bei dieser Reaktion war im NMR des Rohprodukts auch nur ein Nebenprodukt und keine Anzeichen von dem gewünschten α -Keto- β -methyl- γ -butenolid (**10f**) zu sehen. Allerdings konnte mittels GC/MS ein Signal bei 8.77 min mit der Masse des Butenolids **10f** gefunden werden, welches für eine geringfügige Entstehung des Produktes spricht.



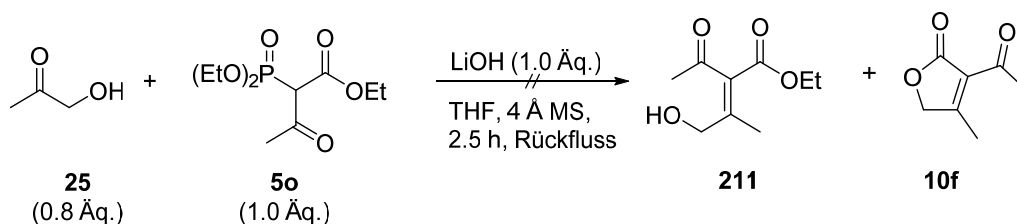
Schema 131: Reaktionssequenz zur Kondensation des Zwischenprodukts **210** mit Natriumethanolat.

Zuletzt wurde eine Literaturstelle gefunden, die mittels einer *HWE*-Reaktion mit ungeschütztem Hydroxyaceton (**25**) ausschließlich Butenolide herstellen konnte.^[335] Demnach wurde die Synthese auf das α -Keto- β -methyl- γ -butenolid (**10f**) übertragen. Dafür wurde zuerst der entsprechende Phosphonsäurediethylester **50** synthetisiert, welches literaturbekannt ist (Schema 132).^[336]



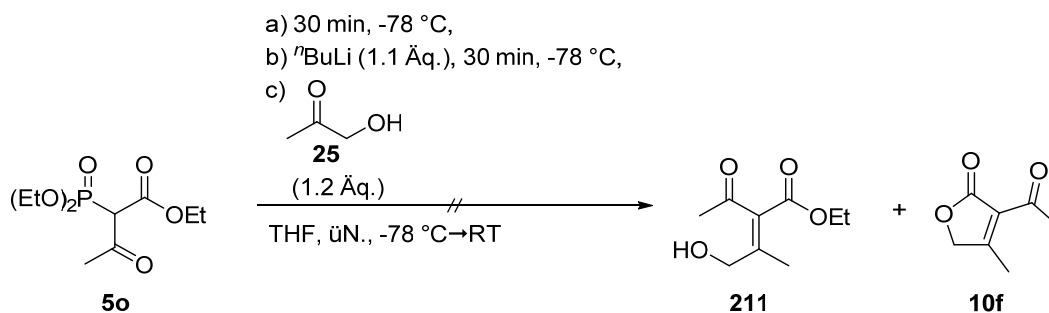
Schema 132: Reaktionssequenz zur Synthese des Phosphonsäurediethylesters **5o**.

Das Phosphonsäurediethylester **5o** konnte dabei in 35 % Ausbeute isoliert werden. Anschließend wurde mit dem Phosphonsäurediethylester **5o** die *HWE*-Reaktion durchgeführt (Schema 133).



Schema 133: Reaktionssequenz der *HWE*-Reaktion zum α -Keto- β -methyl- γ -butenolid (**10f**).

Bei dieser Reaktion konnte neben ein paar Verunreinigungen nur der Phosphonsäurediethylester **5o** zurückgewonnen werden und keine der beiden möglichen Produkte **211** und **10f**. Daher wurde die *HWE*-Reaktion nach der bekannten Vorschrift zur Synthese der γ -Butyrolactone **1** durchgeführt (Schema 134).



Schema 134: Reaktionssequenz der herkömmlichen *HWE*-Reaktion zum α -Keto- β -methyl- γ -butenolid **10f**.

Auch hier war im NMR des Rohprodukts nur der Phosphonsäurediethylester **5o** zu erkennen. Nach all den Versuchen konnte das α -Keto- β -methyl- γ -butenolid (**10f**) nicht synthetisiert werden, sodass kein Vergleich mit dem β -Ketoester **10b** bei der Reduktion mit Enreduktasen gezogen werden kann.

4.3.4 Cyclohexenon-Derivate **10g-j**

Da die Synthese der β -Ketoester **10b-c** aufgrund der Instabilität und daraus resultierender geringer Ausbeute nicht wie gewünscht verliefen, wurde geplant die Substratbibliothek von Fünfringen auf Sechsringe zu expandieren (Abbildung 40).

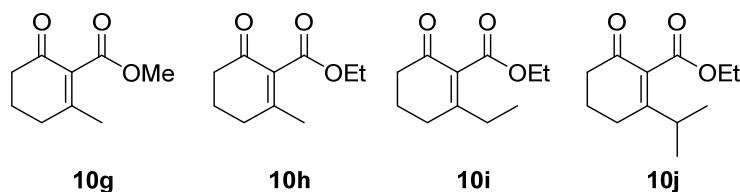
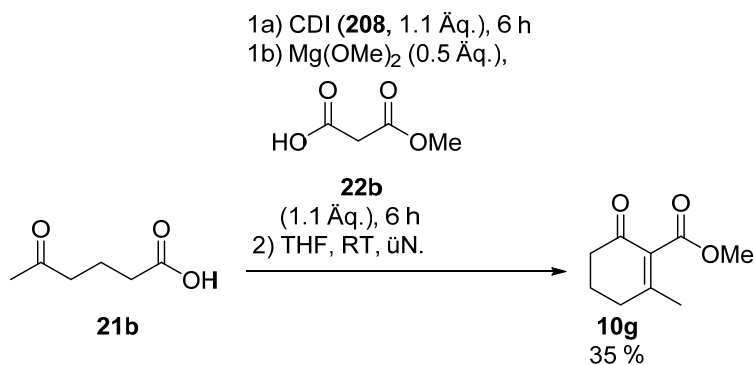


Abbildung 40: Molekülstrukturen der interessanten Cyclohexenon-Derivate **10g-j**.

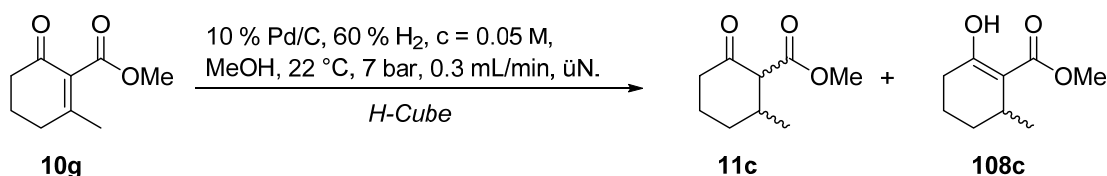
Zunächst wurde der Methyl ester des Me-substituierten Cyclohexenons **10g** wieder nach *Liu et al.* analog zu dem Fünfring-Substrat **10c** durchgeführt (Schema 139).



Schema 135: Reaktionsschema zur Darstellung des Me-substituierten Cyclohexenon-Derivats **10g**.

Hierbei erwies sich das Produkte **10g** als deutlich stabiler und konnte sogar ohne unter sauren Bedingungen zum Rückfluss zu erhitzen in 35 % Ausbeute isoliert werden.

Um ein Enreduktase-Screening durchführen zu können, wurde auch hierbei die racemischen Referenzverbindungen (*rac*)-**11c** und (*rac*)-**108c** hergestellt (Schema 136).

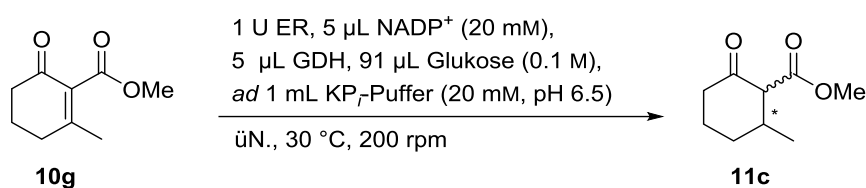


Schema 136: Reaktionsschema zur Darstellung der racemischen Referenzverbindungen (*rac*)-**11c** und (*rac*)-**108c**.

Die racemische Reduktion des Cyclohexenon-Derivats **10g** verlief im Allgemeinen langsamer, sodass die Reduktion über Nacht im Kreislauf durchgeführt wurde. Die racemischen

Verbindungen (*rac*)-**11c** und (*rac*)-**201c** konnten jedoch mittels Gaschromatographie mit chiraler Säule bislang nicht getrennt werden. Deswegen wurde das Enreduktase-Screening mittels GC/MS verfolgt, wobei drei Produktsignale detektiert werden konnten, die anhand ihrer Molekülmassen die beiden Diastereomere **11c** und die Enol-Form **108c** darstellen. Allerdings ist hierbei anzumerken, dass durch diese Methode nur qualitative Aussagen getroffen werden können, da keine Kalibrierung zur Quantifizierung durchgeführt wurde. Daher werden im weiteren Verlauf dieses Kapitels keine absoluten Werte angegeben, sondern die qualitativen Ergebnisse symbolisch dargestellt.

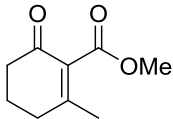
Analog zu dem Cyclopentenon-Derivat **10b** wurden auch bei diesem Screening die Wildtyp-Enreduktasen und die YqjM-Mutanten eingesetzt (Schema 137).



Schema 137: Enreduktase-Screening mit dem Me-substituierten Cyclohexenon-Derivat **10g**.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 zusammengefasst.

Tabelle 19: Zusammenfassung des Enreduktase-Screenings mit dem Me-substituierten Cyclohexenon-Derivat **10g**.

Eintrag	Substrat	ER	Umsatz vom Edukt	Produktdetektion
1		Ncr _{ZM}	○	○
2		Ncr _{PL}	○	○
3		Oye	○	○
4		YqjM	●	●
5		Opr1	●	●
6		Opr3	○	○
7		TsER	●	○
9		C26G	●	●
10		C26G/A60V	●	●
11		C26G/A60I	●	●
12		C26D/A104H	●	●
13		C26D/A104Y	●	●
14		C26D/A104F	●	●
15		C26D/I69T	●	●
16		C26D/I69V	●	●

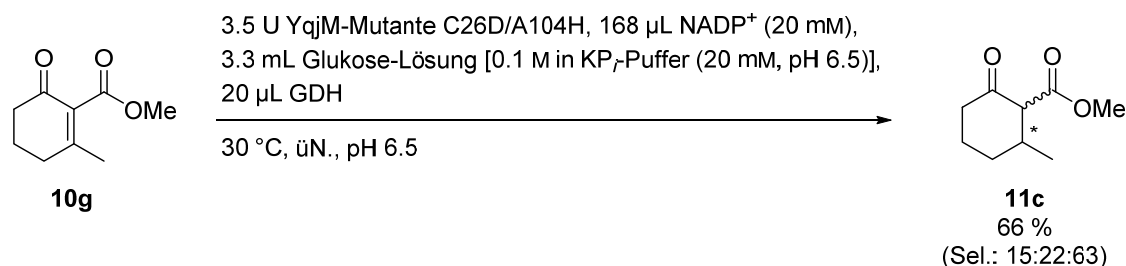
○ kein Umsatz oder Produktbildung

● geringer Umsatz oder Produktbildung

● hoher Umsatz oder Produktbildung

Im Vergleich zu dem Cyclopentenon-Derivat **10b** wird das Cyclohexenon-Derivat **10g** von den Wildtyp-Enreduktasen nicht umgesetzt (Einträge 1–7). Dagegen eignen sich hier die YqjM-Mutanten besser, wobei mit der Doppelmutante C26D/A104H ein quantitativer Umsatz erzielt werden konnte (Eintrag 12). Diese Beobachtung verdeutlicht, dass die Ringgröße des Substrats eine Limitante für die selektive Reduktion mit Enreduktasen darstellt.

Nichtsdestotrotz wurde das Cyclohexenon-Derivat **10g** mit der YqjM-Mutante C26D/A104H semi-präparativ umgesetzt (Schema 138).



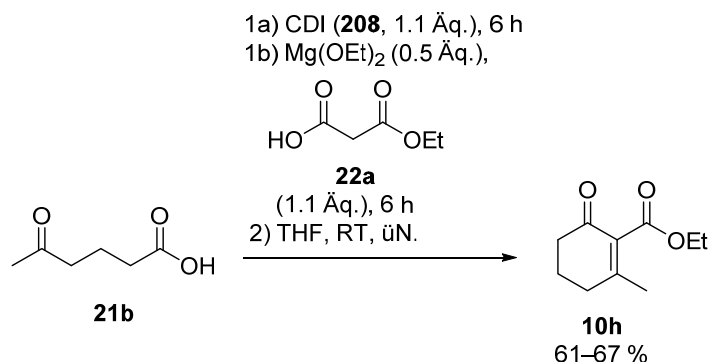
Schema 138: Reaktionsschema zur Reduktion des Cyclohexenon-Derivats **10g** mit Hilfe der YqjM-Mutante C26D/A104H.

Das Cyclohexenon-Derivat **10g** wurde bei dieser Reaktion quantitativ umgesetzt. Das Produkt **11c** wurde dabei in einem relativen Stereoisomerenverhältnis von 15:22:63 gebildet (mittels GC/MS detektiert) und konnte in 66 % Ausbeute isoliert werden. Da im NMR-Spektrum sowohl beide Diastereomere als auch die Enol-Form zu erkennen sind, kann keine genaue Aussage über die Enantioselektivität getroffen werden. Das Diastereomerenverhältnis im NMR beträgt 33:67; jedoch ist dieses Verhältnis lösungsmittelabhängig und kann dementsprechend vom gaschromatographisch detektiertem Verhältnis (gemessen in MTBE) variieren. Um dies zu verdeutlichen, wurden von Verbindung **11c** ¹H-NMR-Spektren in unterschiedlichen Lösungsmitteln aufgenommen und die jeweiligen Diastereomerenverhältnisse bestimmt (Tabelle 20). Dabei ist zu erkennen, dass im polaren Lösungsmittel wie deuteriertem Chloroform das Diastereomerenverhältnis 25:75 beträgt, während in unpolaren Lösungsmitteln wie deuteriertem THF oder Toluol das Verhältnis 20:80 beträgt.

Tabelle 20: Diastereomerenverhältnisse von Verbindung **11c** in Abhängigkeit vom Lösungsmittel (600 MHz).

Eintrag	Substrat	Lösungsmittel	DV
1		THF-d8	20:80
2		CDCl ₃	25:75
3		Toluol-d8	20:80

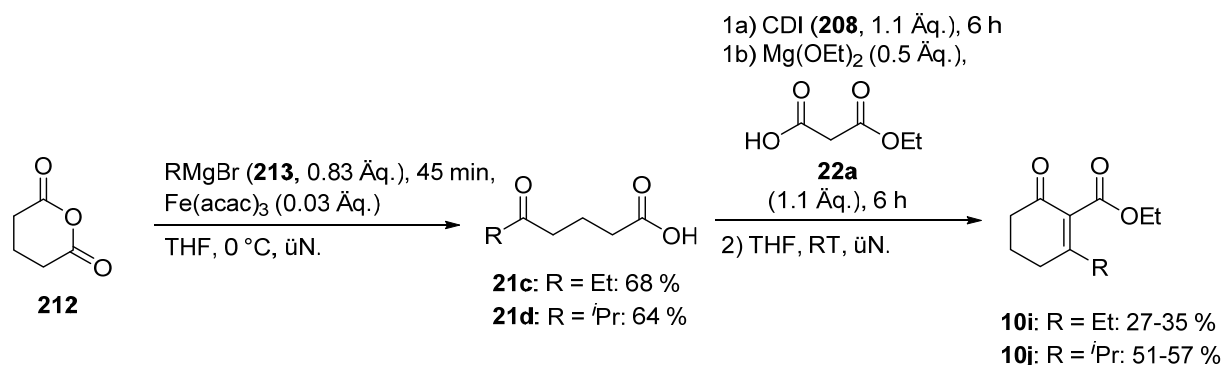
Da aus vorangehenden Arbeiten bekannt ist, dass es für die Arylierungsreaktion keinen Unterschied macht, ob ein Methyl- oder Ethylester im Substrat vorliegt, wurde im weiteren Verlauf aufgrund der Handhabbarkeit und geringerer Toxizität des Magnesiummethoxids der Ethylester der Cyclohexenon-Derivate **10h–j** hergestellt.^[133, 134] Zunächst wurde analog zu Verbindung **10g** der Ethylester des Me-substituierten Cyclohexenon-Derivats **10h** synthetisiert (Schema 139).



Schema 139: Reaktionsschema zur Darstellung des Me-substituierten Cyclohexenon-Derivats **10h**.

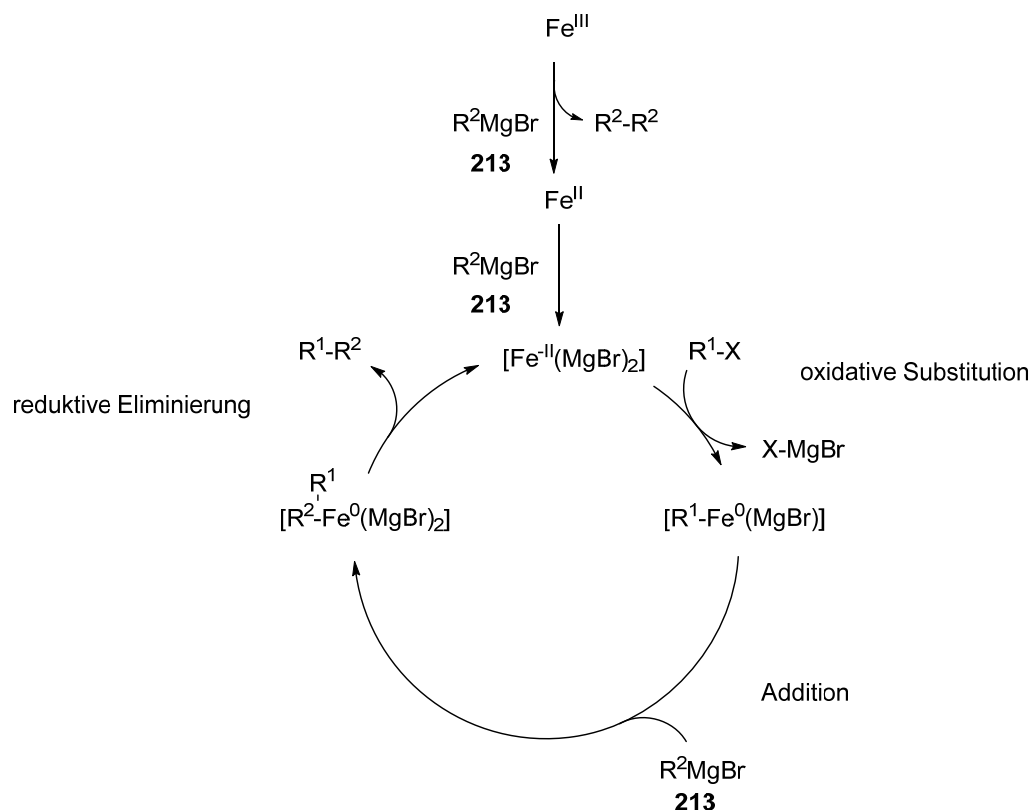
Das Produkt **10h** konnte dabei in 61–67 % Ausbeuten isoliert werden.

Für die Darstellung der Et- und ⁱPr-substituierten Cyclohexenon-Derivate **10i–j** mussten zunächst die entsprechenden δ -Ketosäuren **21c–d** zur Verfügung gestellt werden. Die Synthese dieser Edukte **21c–d** nach *Guijarro et al.* und die anschließende Reaktion zu den Cyclohexenon-Derivaten **10i–j** ist in Schema 140 dargestellt.^[337]



Schema 140: Reaktionsschema zur Synthese der Et- und ⁱPr-substituierten Cyclohexenon-Derivate **10i–j**.

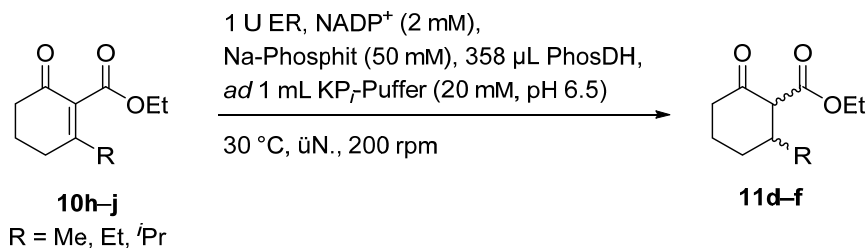
Bei der *Grignard*-Reaktion zur Synthese der δ -Ketosäuren **21c–d** wird Glutarsäureanhydrid (**212**) mit dem entsprechenden Alkylmagnesiumbromid **213** zur Reaktion gebracht. Der Mechanismus der Eisen-katalysierten Kreuzkupplung mit *Grignard*-Reagenzien ist umstritten.^[338, 339] Neben einem radikalischen Mechanismus schlagen *Fürstner et al.* den in Schema 141 dargestellten Mechanismus vor.^[340–343]



Schema 141: Reaktionsschema zur Eisen-katalysierten *Grignard*-Reaktion nach *Fürstner et al.*

Dabei wird Fe^{III} durch das *Grignard*-Reagenz **213** zu Fe^{II} reduziert und bildet anschließend das aktive anorganische *Grignard*-Reagenz.^[344-346] An dieses aktive Reagenz wird das Substrat durch oxidative Substitution gebunden. Eine anschließende Addition des Alkylmagnesiumbromids **213** gefolgt von einer reduktiven Eliminierung der δ -Ketosäure **21** schließt den Reaktionskreislauf ab. Entsprechend dieser *Grignard*-Reaktion konnten die Zwischenprodukte **21c-d** in 64–68 % Ausbeute erhalten und für die Folgereaktion eingesetzt werden. Somit wurden die finalen Produkte **10i-j** in 27–57 % Ausbeuten synthetisiert.

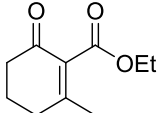
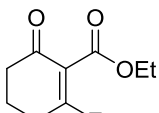
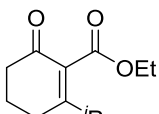
Die racemische Reduktion dieser Cyclohexanon-Derivate **10h-j** wurde ebenfalls analog Schema 136 durchgeführt. Da auch in diesem Fall keine Methode zur Trennung der Stereoisomere mittels Gaschromatographie mit chiraler stationärer Phase etabliert werden konnte, wurde das Enreduktase-Screening ebenfalls mittels GC/MS verfolgt. Im Hinblick auf die Laccase-katalysierte Arylierungsreaktion im Eintopf-Verfahren wurde die PhosDH mit Natriumphosphit als Cosubstrat zur Cofaktor-Regenerierung verwendet (Schema 142). Bei der herkömmlichen Cofaktor-Regenerierung mit GDH, wäre sonst Glukose ebenfalls ein oxidierbares Substrat für die Laccase.



Schema 142: YqjM-Mutanten-Screening mit den Cyclohexenon-Derivaten **10h-j**.

Anhand des Me-substituierten Cyclohexenon-Derivats **10h** wurde zunächst die Umsetzung mit den Wildtyp-Enreduktasen überprüft. Anschließend wurden auch die YqjM-Mutanten gescreent. Bei den Et- und *i*Pr-substituierten Cyclohexenon-Derivaten **10i-j** wurden nur noch die Mutanten eingesetzt, da schon das Me-substituierte Derivat **10h** mit den Wildtyp-Enreduktasen keine guten Umsätze lieferte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 zusammengefasst. Die Produkte **11d-f** bzw. die Enol-Formen **108d-f** werden hier als Signal 1 und 2 angegeben, da keine genaue Zuordnung getroffen werden kann. Bei diesem Screening wird der Ethylester des Me-substituierten Cyclohexenon-Derivats **10h** auch nicht durch die Wildtyp-Enreduktasen umgesetzt. Die Produkte konnte nur in Spuren detektiert werden (Einträge 1–7). Nichtsdestotrotz ist hierbei, und auch mit den Et- und *i*Pr-substituierten Cyclohexenon-Derivaten **10i-j**, mit den YqjM-Mutanten im Gegensatz zu den Wildtyp-Enreduktasen eine Produktbildung zu beobachten (Einträge 8–31). Im Allgemeinen sind die Mutanten C26G, C26G/A60V und C26G/A60I weniger gut geeignet, da mit diesen Enreduktasen die Substrate **10h-j** in unterschiedlichem Ausmaß nicht umgesetzt wurden (Einträge 8–10, 16–18, 24–26). Die übrigen Doppelmutanten können die Substrate **10h-j** sehr gut bis quantitativ umsetzen. Allerdings ist der relative Anteil der gebildeten Produkte **11d-f** moderat bis sehr gering. Stattdessen wurden weitere Signale im Überschuss detektiert, die anhand ihrer Molekülmassen nicht zugeordnet werden konnten.

Tabelle 21: Zusammenfassung des YqjM-Mutanten-Screenings mit den Cyclohexenon-Derivaten **10h-j**.

Eintrag	Substrat	ER	Umsatz vom Edukt	Produktdetektion
1	 10h	Ncr _{ZM}	○	○
2		Ncr _{PL}	○	○
3		Oye	○	○
4		YqjM	○	○
5		Opr1	◐	◐
6		Opr3	○	○
7		TsER	○	○
8		C26G	○	○
9		C26G/A60V ^[a]	●	○
10		C26G/A60I	◐	○
11		C26D/A104H	●	○
12		C26D/A104Y	●	○
13		C26D/A104F	●	◐
14		C26D/I69T	●	◐
15		C26D/I69V	●	◐
16	 10i	C26G	●	◐
17		C26G/A60V ^[a]	●	◐
18		C26G/A60I	●	◐
19		C26D/A104H	●	○
20		C26D/A104Y	●	◐
21		C26D/A104F	●	○
22		C26D/I69T	●	◐
23		C26D/I69V	●	○
24	 10j	C26G	○	○
25		C26G/A60V ^[a]	●	○
26		C26G/A60I	◐	○
27		C26D/A104H	●	●
28		C26D/A104Y	●	●
29		C26D/A104F	●	●
30		C26D/I69T	●	●
31		C26D/I69V	●	○

^[a] Es wurden 0.7 U Enzym eingesetzt, anstatt 1 U.

○ kein Umsatz oder Produktbildung

◐ geringer Umsatz oder Produktbildung

● hoher Umsatz oder Produktbildung

Um über die Entstehung dieser nicht zuordenbaren Signale beurteilen zu können, wurden Kinetik-Messungen durchgeführt. Als geeignete Enreduktase wurde die Doppelmutante C26D/I69T verwendet, da sie in den meisten Fällen den größten Produktanteil aufweist (Einträge 14, 22, 30). Hierzu wurden die Substrate **10h-j** unter den Screening-Bedingungen über einen Zeitraum von 20 h beobachtet. Dabei wurde nur der Zusatz von Enzymen variiert, sodass kein Enzym, nur die PhosDH, nur die YqjM-Mutante C26D/I69T und die YqjM-Mutante C26D/I69T zusammen mit PhosDH zugegeben wurde. Die Ergebnisse der Kinetik-Messungen sind in Abbildung 41 bis Abbildung 44 dargestellt.

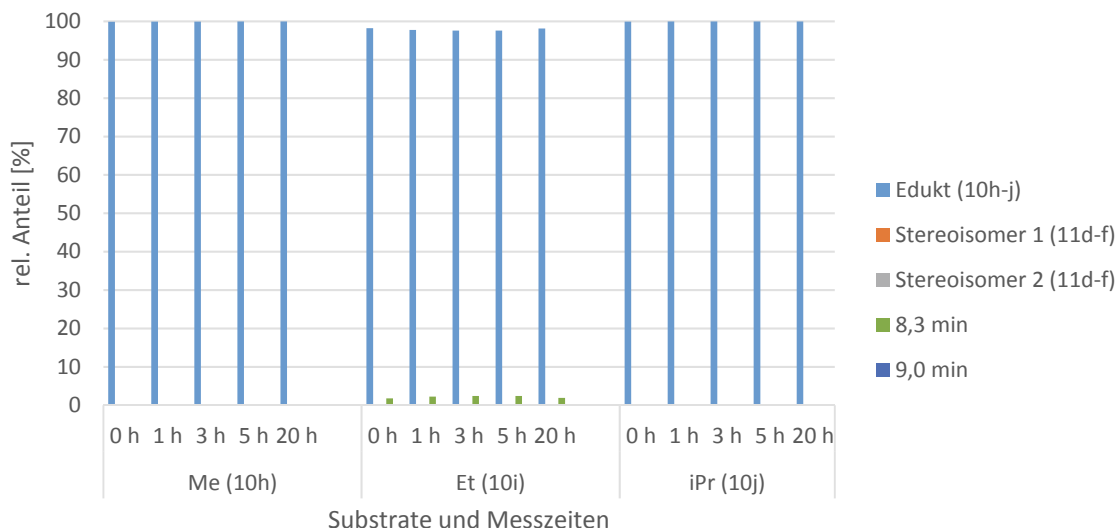


Abbildung 41: Darstellung der Kinetik-Ergebnisse der Cyclohexenon-Derivate **10h-j** ohne Enzymzusatz (8.3 min = Verunreinigung, 9.0 min = Nebenprodukt).

An dieser Abbildung ist zu erkennen, dass alle Substrate **10h-j** unter den Screening-Bedingungen stabil sind, sodass kein Zerfall zu beobachten ist. Lediglich beim Et-substituiertem Cyclohexenon-Derivat **10i** ist ein unbekanntes Signal bei einer Retentionszeit von 8.3 min zu beobachten. Da sich jedoch dessen Menge im Zeitverlauf nicht ändert, könnte es sich hier um eine Verunreinigung handeln.

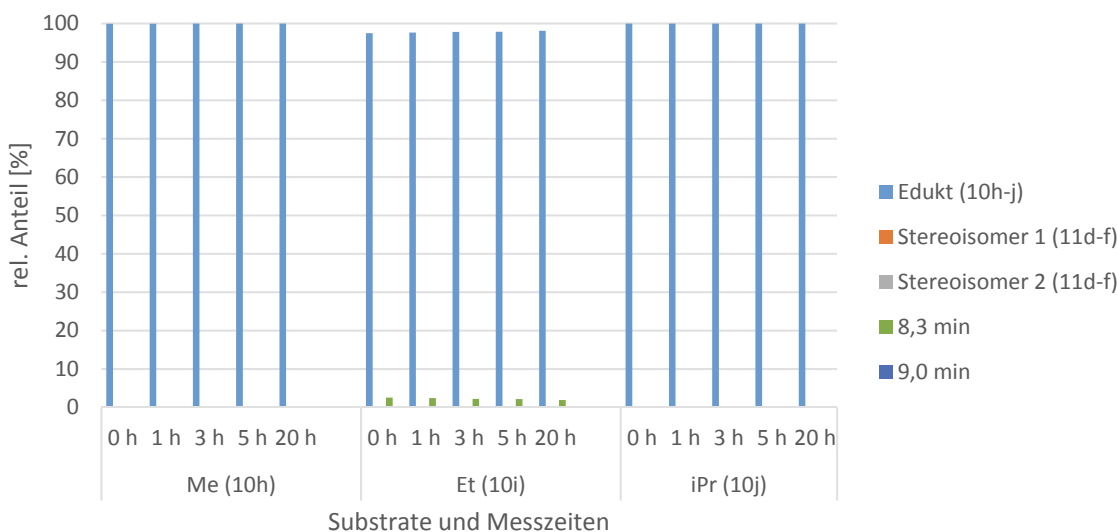


Abbildung 42: Darstellung der Kinetik-Ergebnisse der Cyclohexenon-Derivate **10h-j** mit PhosDH (8.3 min = Verunreinigung, 9.0 min = Nebenprodukt).

Wie in Abbildung 42 zu sehen ist, hat der Zusatz von PhosDH keinen Einfluss auf die Substrate **10h-j**, obwohl die PhosDH als Rohextrakt verwendet wurde und dementsprechend durch andere Enzyme verunreinigt sein kann. Auch hier ist nur bei dem Et-substituierten

Cyclohexenon-Derivat **10i** ein Signal bei 8.3 min wiederzufinden, welches für eine Verunreinigung des Substrats spricht.

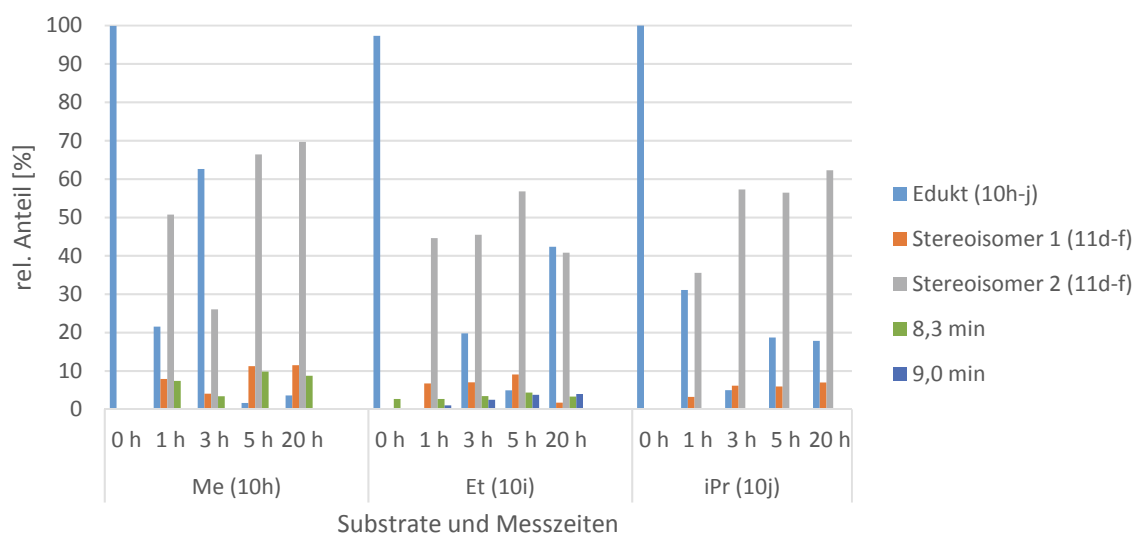


Abbildung 43: Darstellung der Kinetik-Ergebnisse der Cyclohexenon-Derivate **10h-j** mit der YqjM-Mutante C26D/I69T (8.3 min = Verunreinigung, 9.0 min = Nebenprodukt).

Schon durch Zugabe der YqjM-Mutante C26D/I69T ohne Cofaktor-Regenerierung kann eine Umsetzung der Substrate **10h-j** zu den gewünschten Produkten **11d-f** beobachtet werden (Abbildung 43). Die eventuelle Zunahme der Edukte **10h-j** ist hierbei durch die Fehlerbehaftung der Probenentnahme zu erklären. Entsprechend den Screening-Ergebnissen werden auch hier bevorzugt die Stereoisomere 2 gebildet, über dessen Konfiguration keine genauen Angaben getroffen werden können. Des Weiteren werden erneut Signale zu unbekanntem Verbindungen bei 8.0, 8.3 und 9.0 min detektiert, die allerdings nicht wie bei den Screening-Ergebnissen im Überschuss vorliegen. Da die YqjM-Mutante als Rohextrakt verwendet wurde, wurde nur die Enzymlösung extrahiert und mittels GC/MS analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass die Verunreinigung bei 8.0 min aus dem Rohextrakt extrahiert wurde und somit kein Nebenprodukt der Reaktion darstellt.

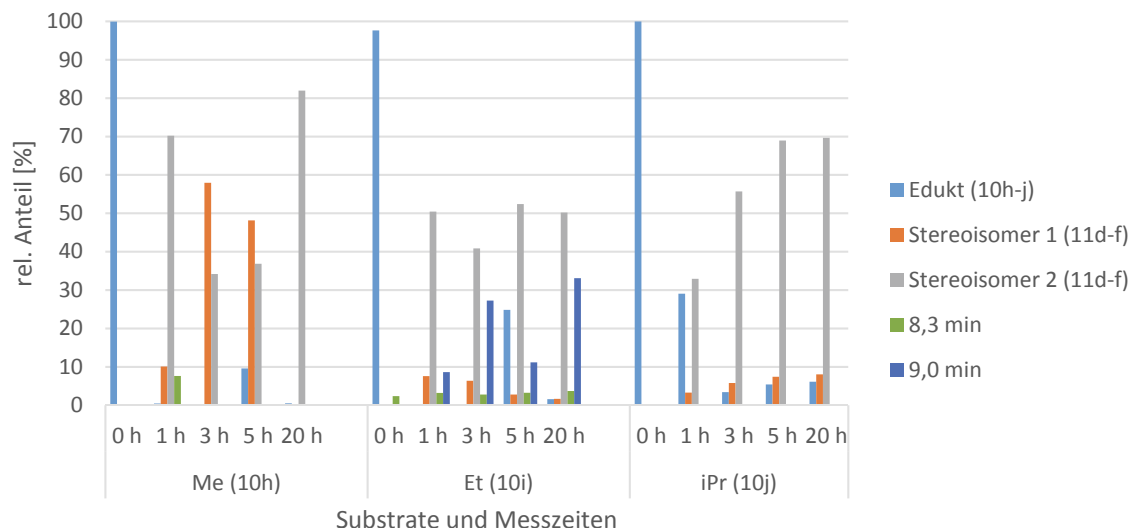
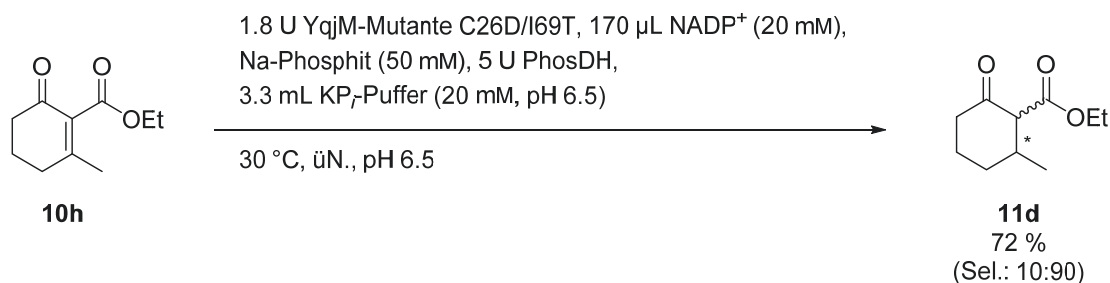


Abbildung 44: Darstellung der Kinetik-Ergebnisse der Cyclohexenon-Derivate **10h–j** mit der YqjM-Mutante C26D/I69T und PhosDH (8.3 min = Verunreinigung, 9.0 min = Nebenprodukt).

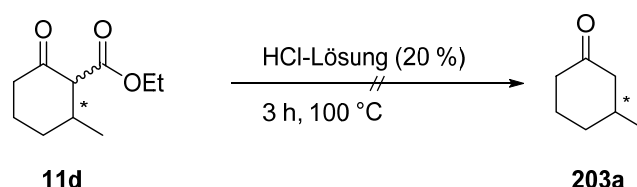
Eine zeitliche Verfolgung der Umsetzung der Cyclohexenon-Derivate **10h–j** mit der YqjM-Mutante C26D/I69T und einer Cofaktor-Regenerierung durch PhosDH zeigt, dass die Substrate **10h–j** innerhalb 20 h nahezu vollständig umgesetzt werden (Abbildung 44). Im Vergleich zur Umsetzung ohne PhosDH konnte der Produktanteil um ca. 10 % erhöht werden (Abbildung 43). Jedoch ist bei dem Et-substituierten Cyclohexenon-Derivat **10i** eine deutliche Zunahme einer unbekanntes Verbindung bei 9.0 min zu beobachten, welches ohne PhosDH geringfügig vorhanden war. Demnach könnte es sich hierbei um ein Nebenprodukt handeln, welches durch die Umsetzung des Substrats **10i** durch unerwünschte Enzyme aus dem Rohextrakt der YqjM-Mutante hervorgerufen wird und dessen katalytische Aktivität durch die Cofaktor-Regenerierung erhöht wird. Dennoch liegen auch in diesem Fall die unbekanntes Verbindungen entgegen der Screening-Ergebnisse nicht im Überschuss vor.

Nichtsdestotrotz wurde das Me-substituierte Cyclohexenon-Derivat **10h** mit der YqjM-Mutante C26D/I69T im semi-präparativen Maßstab reduziert (Schema 143).



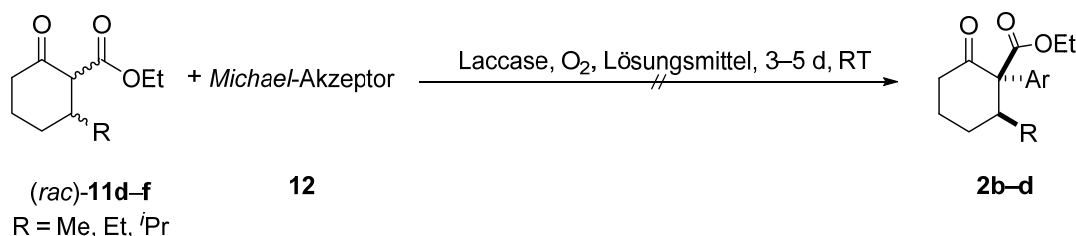
Schema 143: Reaktionsschema zur Reduktion des Me-substituierten Cyclohexenon-Derivats **10h** mit Hilfe der YqjM-Mutante C26D/I69T.

Das Produkt **11d** konnte dabei in 72 % Ausbeute und einer gaschromatographisch detektierten Diastereoselektivität von 10:90 isoliert werden. Auch in diesem Fall sind im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum beide Diastereomere und die Enol-Form zu erkennen, sodass keine genaue Zuordnung getroffen werden kann. Demnach konnte gezeigt werden, dass die Reduktion der Cyclohexanon-Derivate **10h-j** mit den YqjM-Mutanten möglich ist. Auch mit diesem Produkt **11d** wurde ein Versuch zur Decarboxylierung durchgeführt, um es analytisch mit dem (*R*)-3-Methylcyclohexanon [(*R*)-**203a**] vergleichen zu können (Schema 144).



Schema 144: Reaktionsschema zur Decarboxylierung des Cyclohexanon-Derivats **11d**.

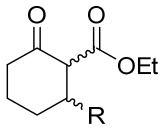
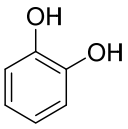
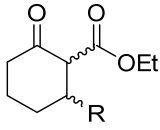
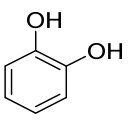
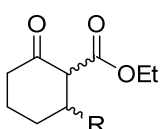
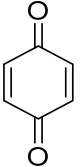
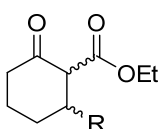
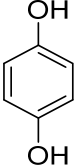
Allerdings konnte auch hierbei keine Decarboxylierung erreicht werden. Außerdem konnte keine Methode zur Trennung des racemischen 3-Methylcyclohexanons [(*rac*)-**203a**] mittels Gaschromatographie mit chiraler stationärer Phase erreicht werden, sodass weitere Versuche hierzu nicht mehr durchgeführt wurden. Somit kann keine Aussage über die Enantioselektivität getroffen werden. Deswegen wurde entschieden die Referenzen für die Arylierungsreaktion herzustellen, mit der Hoffnung diese dann mittels HPLC trennen zu können. Also wurden zunächst Versuche zur Laccase-katalysierten Arylierung der Cyclohexanon-Derivate (*rac*)-**11d-f** durchgeführt (Schema 145).



Schema 145: Allgemeine Reaktionssequenz zur Laccase-katalysierten Arylierung der Cyclohexanon-Derivate (*rac*)-**11d-f**.

Die Reaktionsbedingungen und Ergebnisse sind Tabelle 22 zu entnehmen.

Tabelle 22: Versuche zur Arylierungsreaktion der Cyclohexanon-Derivate (*rac*)-**11d-f**.

Eintrag	<i>Michael</i> -Donor ^[a]	<i>Michael</i> -Akzeptor	Laccase	Lösungsmittel	Zeit	Produkt
1	 (<i>rac</i>)- 11d-f	 12a	<i>A. bisporus</i> (341 U/mmol) ^[b]	MeCN/KP ₇ -Puffer (0.2 M, pH 6, 1:1)	3 d	-
2	 (<i>rac</i>)- 11d-f	 12a	Ssl1 (35.8 U/mmol)	MeCN:Glycin/NaOH- Puffer (50 mM, pH 9, 1:2)	5 d	-
3	 (<i>rac</i>)- 11d-f	 12c	-	MeCN:Glycin/NaOH- Puffer (50 mM, pH 9, 1:2)	3 d	-
4	 (<i>rac</i>)- 11d-f	 12b	Ssl1 (27 U/mmol)	MeCN:Glycin/NaOH- Puffer (50 mM, pH 9, 1:2)	3 d	-

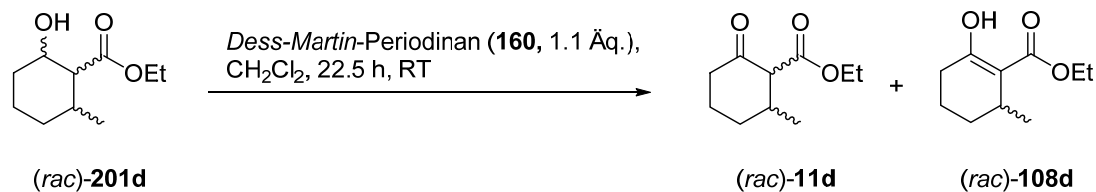
^[a] R = Me, Et, *i*-Pr.

^[b] Die Aktivität ist bezogen auf die kommerzielle Angabe von 6.2 U/mg.

Als erstes wurde die Arylierung der Cyclohexanon-Derivate (*rac*)-**11d-f** mit Catechol (**12a**) durch die kommerziell erhältliche Laccase aus *A. bisporus* durchgeführt (Eintrag 1). Allerdings konnte bei dieser Reaktion kein Umsatz beobachtet werden. Um die Nucleophilie der Substrate (*rac*)-**11d-f** zu erhöhen, wurde die Arylierungsreaktion im basischen Puffer wiederholt, wobei die Laccase Ssl1 aus *S. sviveus* verwendet wurde (Eintrag 2). Auch unter diesen basischen Bedingungen konnte keine Produktbildung beobachtet werden. Die nächste Idee war die Reaktion mit dem oxidierten *Michael*-Akzeptor, dem *o*-Benzochinon, in Abwesenheit einer Laccase durchzuführen. Allerdings ist das korrespondierende *o*-Benzochinon chemisch instabil und kann damit weder kommerziell erworben noch selbst isoliert werden. Deswegen wurde das stabilere und reaktionsträgere *p*-Benzochinon (**12c**) herangezogen (Eintrag 3). Doch die Substrate (*rac*)-**11d-f** gingen auch mit *p*-Benzochinon (**12c**) keine Reaktion ein. Ebenfalls wurde diese Reaktion auch in Anwesenheit der Laccase Ssl1 mit Hydrochinon (**12b**) durchgeführt, aber leider konnte auch hierbei kein Produkt **2b-d** beobachtet werden (Eintrag 4).

Aufgrund langer Reduktionszeit in MeOH als protisches Lösungsmittel zur Herstellung der racemischen Verbindungen (*rac*)-**11d-f** könnte auch eine Überreduktion zu den Alkoholen (*rac*)-**201d-f** stattgefunden haben, die anhand NMR-Analytik nicht eindeutig

identifiziert werden konnten (Schema 120). Deswegen wurde zur Sicherheit eine *Dess-Martin*-Oxidation der racemischen Referenzverbindung des Me-substituierten Cyclohexanon-Derivats (*rac*)-**11d** durchgeführt, um auszuschließen, dass kein überreduziertes Produkt (*rac*)-**201d** vorliegt (Schema 146).



Schema 146: Reaktionssequenz zur *Dess-Martin*-Oxidation der möglichen überreduzierten Referenzverbindung (*rac*)-**201d**.

Nach der Oxidation wurde die racemische Verbindung (*rac*)-**11d** erneut zur Arylierungsreaktion eingesetzt. Die Reaktionsbedingungen und Ergebnisse sind in Tabelle 23 zusammengefasst.

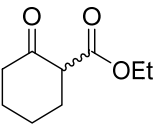
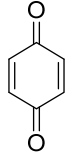
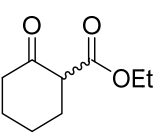
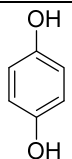
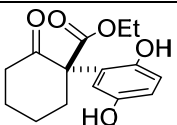
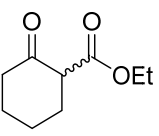
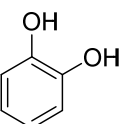
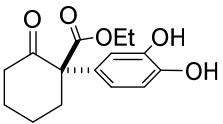
Tabelle 23: Versuche zur Arylierungsreaktion des Me-substituierten Cyclohexanon-Derivats (*rac*)-**11d** nach *Dess-Martin*-Oxidation.

Eintrag	Michael-Donor ^[a]	Michael-Akzeptor	Lösungsmittel	Zeit	Produkt
1	 (<i>rac</i>)- 11d-f	 12c	MeCN:Glycin/NaOH-Puffer (50 mM, pH 9, 1:2)	üN.	-
2	 (<i>rac</i>)- 11d-f	 12c	MeCN, K ₂ CO ₃ (1 Äq.)	5 d	-
3	 (<i>rac</i>)- 11d-f	 12d	MeCN, K ₂ CO ₃ (1 Äq.)	üN.	-

Die wiederholte Arylierung des nun oxidierten Cyclohexanon-Derivats (*rac*)-**11d-f** mit *p*-Benzochinon (**12c**) führte auch diesmal nicht zum Produkt **2b** (Eintrag 1). Daraufhin wurde die Reaktion in Acetonitril als Lösungsmittel und Kaliumcarbonat als Base durchgeführt (Eintrag 2). Doch auch dies führte nicht zum Erfolg. Des Weiteren wurde das noch etwas stabilere Naphtochinon (**12d**) als *Michael*-Akzeptor verwendet (Eintrag 3). Ebenfalls ließ sich auch hier keine Produktentstehung beobachten. Daher wurde nochmal ein Blick auf die Substrate geworfen

und zum Vergleich das unsubstituierte Cyclohexanon-Derivat (*rac*)-**11k** als *Michael*-Donor verwendet (Tabelle 24).

Tabelle 24: Versuche zur Arylierungsreaktion des unsubstituierten Cyclohexanon-Derivats (*rac*)-**11k**.

Eintrag	<i>Michael</i> -Donor ^[a]	<i>Michael</i> -Akzeptor	Laccase	Lösungsmittel	Zeit	Produkt
1	 (rac)-11k	 12c	-	MeCN:Glycin/NaOH-Puffer (50 mM, pH 9, 1:2)	3 d	-
2	 (rac)-11k	 12b	Ssl1 (36 U/mmol)	MeCN:Glycin/NaOH-Puffer (50 mM, pH 9, 1:2)	3 d	 26 % 2e
3	 (rac)-11k	 12a	Ssl1 (36 U/mmol)	MeCN:Glycin/NaOH-Puffer (50 mM, pH 9, 1:2)	3 d	 40 % 2f

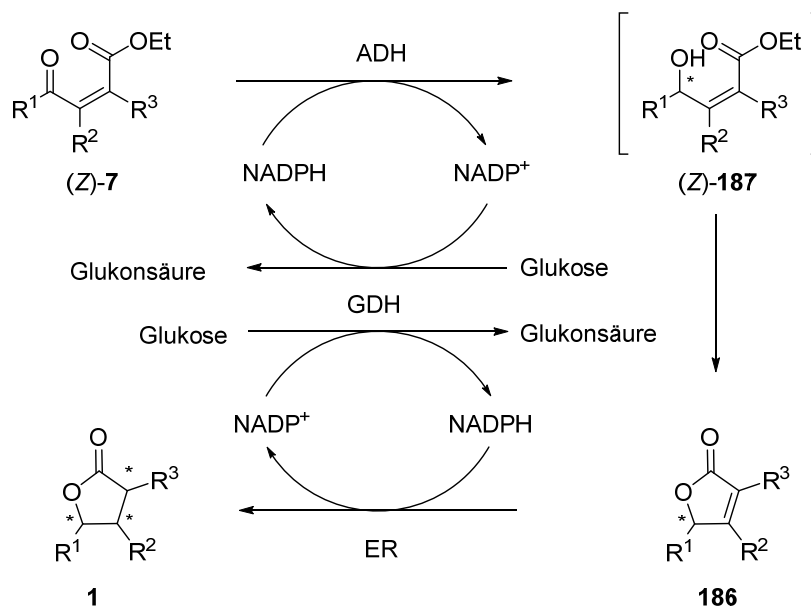
Eine Reaktionskontrolle der Arylierung des Cyclohexanon-Derivats (*rac*)-**11k** mit *p*-Benzochinon (**12c**) deutete auf der DC auf eine leichte Produktbildung, die jedoch nicht isoliert werden konnte (Eintrag 1). Die Reaktion wurde daraufhin auch in Anwesenheit der Laccase Ssl1 wiederholt (Eintrag 2). Diesmal konnte das Produkt **2e** in 26 % Ausbeute isoliert werden. Auch eine Ssl1-katalysierte Arylierung mit Catechol (**12a**) führte zu 40 % Produktausbeute (Eintrag 3). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass prinzipiell die Arylierung der Cyclohexanon-Derivate möglich ist, jedoch ein Substituent an 3-Position dies aus vermutlich sterischen Gründen nicht ermöglicht. Somit wäre eine Enzymkaskade mit den substituierten Cyclohexanon-Derivaten **10g-j** nicht durchführbar.

5 Ausblick

5.1 γ -Butyrolactone **1**

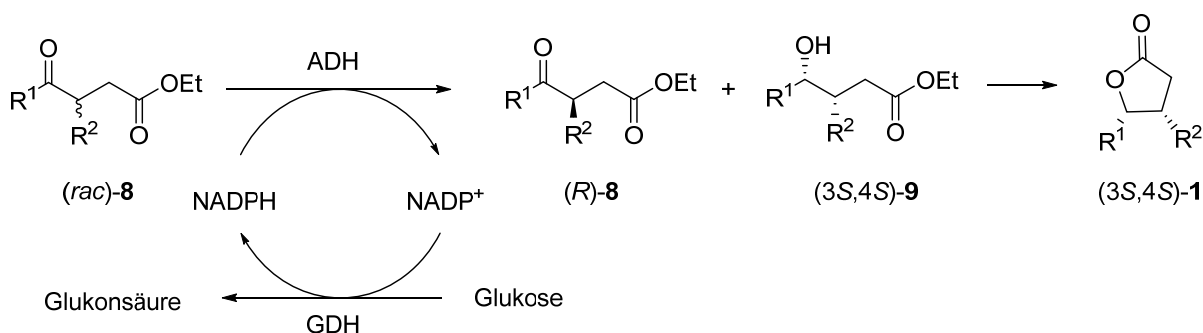
Im Hinblick auf die chemoenzymatische Synthese von γ -Butyrolactonen **1** wurden elf Verbindungen erfolgreich synthetisiert. Allerdings konnten die Lactone **1** dabei in den meisten Fällen nur als ein einzelnes Stereoisomer erhalten werden, da zum einen keine stereokomplementären Enreduktase identifiziert werden konnte und zum anderen die Substrate **8** sterisch zu sperrig für andere stereokomplementäre ADHs waren. Dennoch konnte auf diesem Gebiet die Grenzen der konsekutiven Enzymkaskade durch Variation der Substituentengröße und -position studiert werden, sodass nicht mehr viel Bedarf an weiteren Experimenten besteht. Die absoluten Konfigurationen der erfolgreich synthetisierten γ -Butyrolactone **1a-i** konnten durch NMR-Korrelation und Vergleichsstudien ermittelt werden. Als experimenteller Nachweis könnte hier nochmal die Kristallisation der γ -Butyrolacton Derivate **199a-b** herangezogen werden.

Um den Zugang zu den anderen Stereoisomeren zu ermöglichen, könnten weitere Studien ausprobiert werden. Da die *HWE*-Reaktion zur Synthese der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** sich als (*Z*)-selektiv erwiesen hat, wäre eine Möglichkeit die γ -Butenolide **186** als Substrat für die Enreduktase anzuwenden. Hierzu könnten die (*Z*)-Isomere (*Z*)-**7** zunächst enantioselektiv mit einer ADH reduziert werden, die vermutlich spontan zu den γ -Butenoliden **186** führen würden (Schema 147). Diese könnten dann im weiteren Schritt mittels einer Enreduktase zu den γ -Butyrolactonen **1** reduziert werden, die idealerweise zum Diastereomer der bisherigen Lactone **1a-i** führen könnte. Im Falle der Butenolide **186** mit R¹ als Alkylsubstituent könnte auch die induzierte Diastereoselektivität ausgenutzt werden. Hierzu würde auch eine Reduktion mit Pd/C und molekularem Wasserstoff genügen, sodass die Reduktion von der sterisch weniger gehinderten Seite stattfinden würde und somit die *cis*-konfigurierten γ -Butyrolactone (*cis*)-**1a-e** resultieren können.



Schema 147: Reaktionsschema zur Darstellung weiterer Stereoisomere der γ -Butyrolactone **1**.

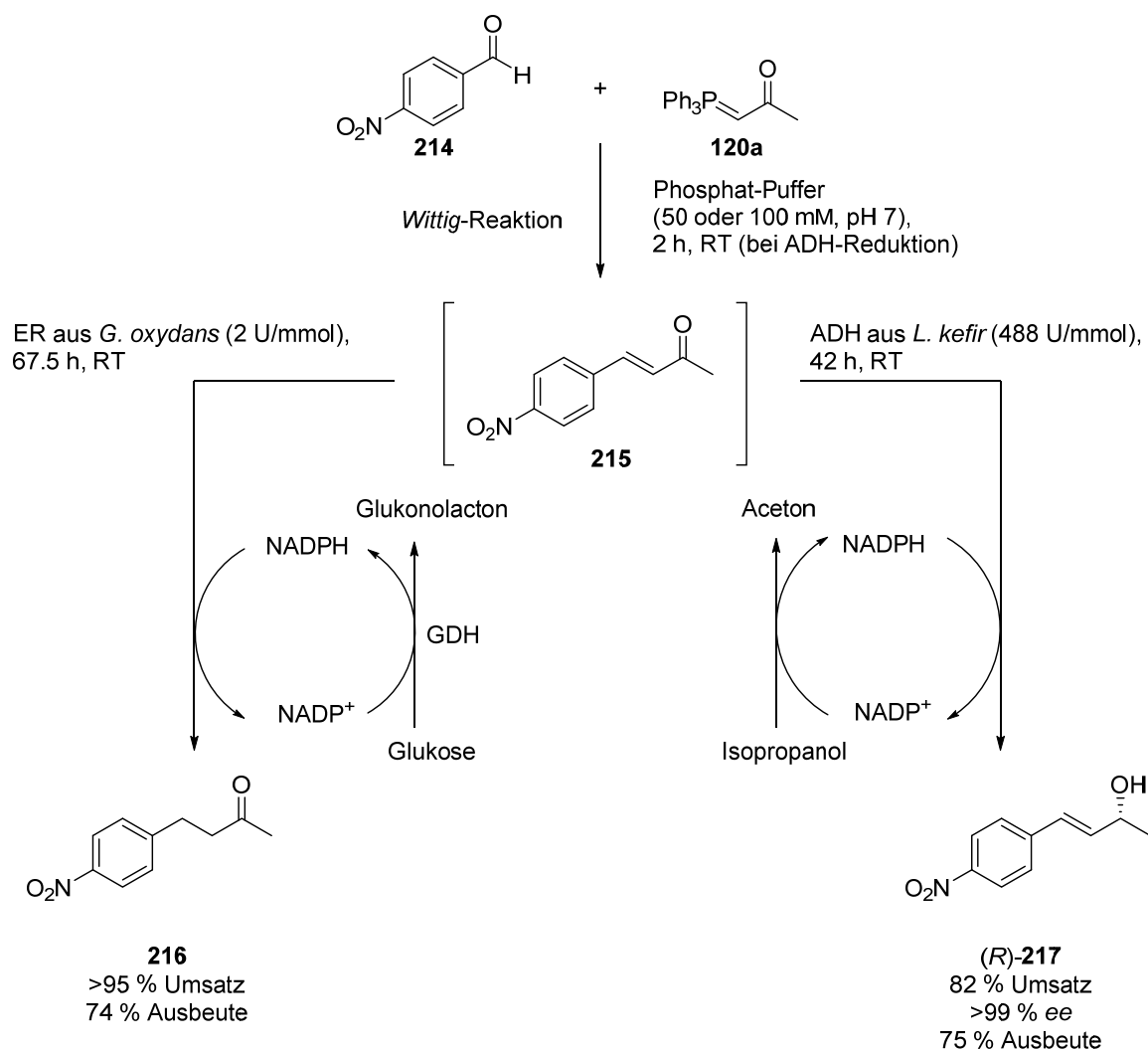
Eine andere Möglichkeit wäre eine kinetische Racematspaltung durchzuführen. Wie auch in Kapitel 4.2.5 (S. 122 ff.) erwähnt, wurde zuvor eine Kinetikmessung durchgeführt. Allerdings konnte dabei keine Quantifizierung erfolgen. Nichtsdestotrotz konnte dabei beobachtet werden, dass ein Enantiomer bevorzugt umgesetzt wurde und die *trans*-Lactone (*trans*)-**1** schneller gebildet wurden. Diese Beobachtung könnte als ein Anhaltspunkt für eine kinetische Racematspaltung mit ADH-R dienen. Hierzu sollte das racemische Substrat (*rac*)-**8** eingesetzt werden, wovon bevorzugt ein Enantiomer durch ADH-R reduziert werden könnte (Schema 148). Da sich die ADH-R bei den bisherigen Synthesen als (*S*)-selektiv erwiesen hat, müsste diese Konfiguration hierbei beibehalten werden. Jedoch kann es sein, dass das (*R*)-Enantiomer (*R*)-**8**, welches bevorzugt durch die Enreduktase gebildet wurde, in diesem Fall langsamer durch ADH-R umgesetzt wird. Dadurch würde es zu einer Anreicherung des (3*S*,4*S*)- γ -Butyrolactons **1** kommen, die durch die chemoenzymatische Methode nicht synthetisiert wurde.



Schema 148: Reaktionsschema zur kinetischen Racematspaltung mittels einer ADH.

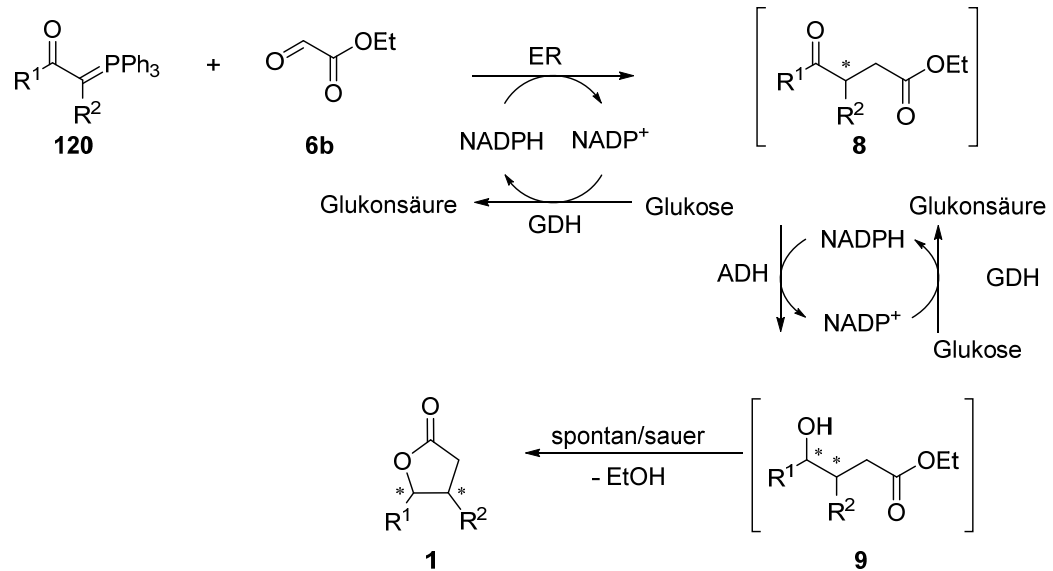
Abgesehen von der Stereoselektivität der Reaktion könnte das chemoenzymatische Verfahren zur Synthese der γ -Butyrolactone **1** insgesamt im Eintopf-Verfahren ausprobiert werden. Denn in der Literatur wird über die *Wittig*- und *HWE*-Reaktion im wässrigen Medium mit Erfolg berichtet.^{[347-}

^{350]} Durch die geringe Löslichkeit der Reaktanten kommt es zu einem hydrophoben Effekt, wodurch unter Erhalt der hohen (*E/Z*)-Selektivität die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht werden konnte. Außerdem konnten Gröger *et al.* unabhängig voneinander zeigen, dass sowohl die Reduktion mit Enreduktasen als auch mit Alkoholdehydrogenasen im Eintopf-Verfahren mit der Wittig-Reaktion ablaufen können (Schema 149).^[351, 352] Dabei wurde *p*-Nitrobenzaldehyd (**214**) mit 1-(Triphenylphosphoranyliden)-2-propanon (**120a**) in einer Wittig-Reaktion zu Verbindung **215** umgesetzt, welches anschließend durch eine Enreduktase oder ADH reduziert wurde. Für die ER-Reduktion können alle Reagenzien und Enzyme von Anfang an im Reaktionsgemisch vorhanden sein, während die ADH-Reduktion in einem sequentiellen Eintopf-Verfahren ablaufen muss, damit keine vorzeitige Reduktion der Verbindungen **120a** und **214** stattfindet.



Schema 149: Reaktionsschema zur Wittig-Reaktion und anschließender ER- und ADH-Reduktion im Eintopf nach Gröger *et al.*^[351, 352] Bei der ADH-Reduktion handelt es sich um eine sequentielle Eintopf-Synthese.

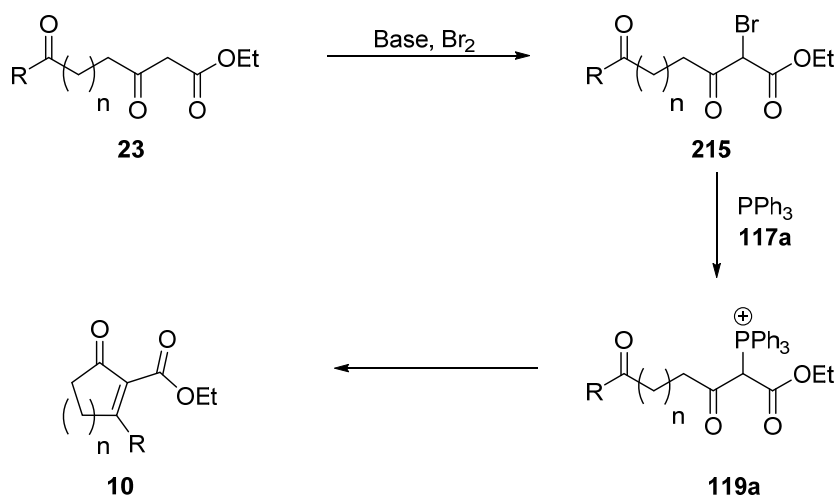
Demnach könnte zur Synthese der γ -Butyrolactone **1** eine wässrige *Wittig*-Reaktion mit der Enreduktase-Reduktion im Eintopf stattfinden und anschließend konsekutiv die ADH-Reduktion gekoppelt werden (Schema 150). Dadurch kann die Isolierung und Reinigung der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** erspart bleiben.



Schema 150: Chemoenzymatische Eintopf-Synthese zur Darstellung von γ -Butyrolactonen **1**.

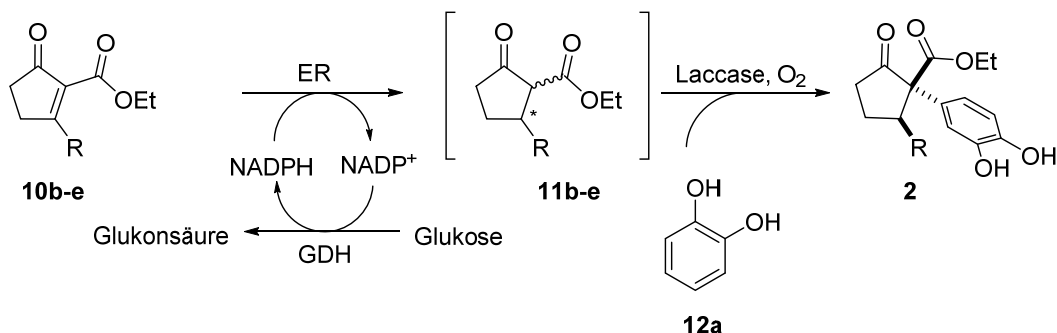
5.2 Michael-Addukte 2

Da die Synthese der *Michael*-Addukte **2** sich in Hinsicht auf die Substratsynthese und das Substratspektrum der Enzyme als schwierig erwiesen hat, könnten hierzu einige Veränderungen vorgenommen werden. Zum einen könnten die Cyclopentenon-Derivate **10b-e** durch eine intramolekulare *Wittig*-Reaktion hergestellt werden, die eventuell zu besseren Ausbeuten führt als die bisherigen Versuche (Schema 151).^[353]



Schema 151: Reaktionsschema zur Darstellung der β -Ketoester **10** mittels intramolekularer *Wittig*-Reaktion.

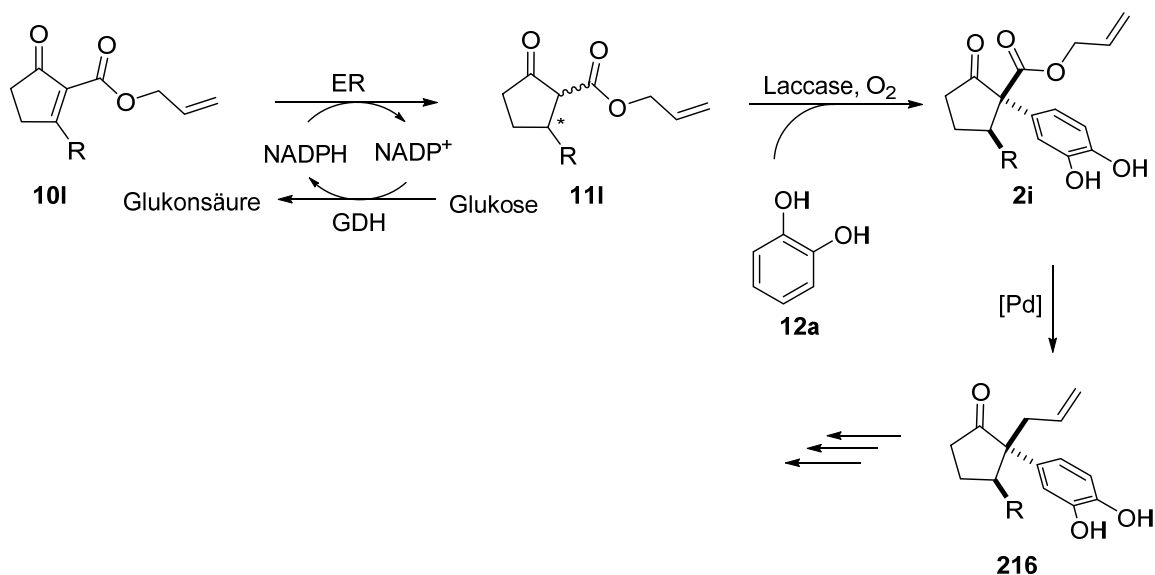
Hierzu müssten die Verbindung **23** erst zu Verbindung **215** bromiert werden, um daraus das Phosponim-Salz **119a** herzustellen. Diese Methode könnte auch für das γ -Butenolid **10f** und die Cyclohexenon-Derivate **10g-j** verwendet werden. Da mit dem Cyclopentenon-Derivat **10b** die enzymatischen Umsetzungen erfolgreich durchgeführt werden konnten, könnte versucht werden die Enzymreaktionen in einer Kaskade durchzuführen (Schema 152).



Schema 152: Enzymkaskade zur Darstellung der *Michael*-Addukte **2** aus Cyclopentenon-Derivaten **10b-e**.

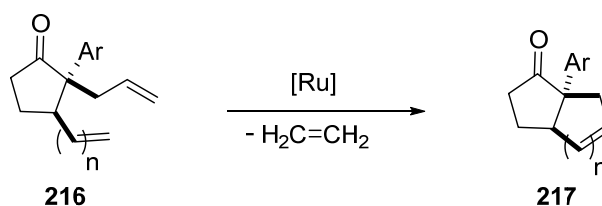
Außerdem könnte die Esterfunktionalität durch weitere funktionelle Gruppen ausgetauscht werden. In Anlehnung an die Bachelorarbeit von *Patrick Maag* könnte ein Allylester wie in Verbindung **10l** eingebracht werden, die nach einer Reduktion mit einer Enreduktase zu

Verbindung **11i** und einer Laccase-vermittelten Arylierung zum *Michael*-Addukt **2i** unter *Tsuji-Trost*-Bedingungen zu Verbindung **216** umgelagert werden könnte und somit zu einer Allylfunktionalität an einem quaternären Kohlenstoffatom führen würde (Schema 153).^[354] Diese Funktionalität würde dann im weiteren Verlauf ein Anhaltspunkt für beispielsweise Übergangsmetall-katalysierte Reaktionen liefern.



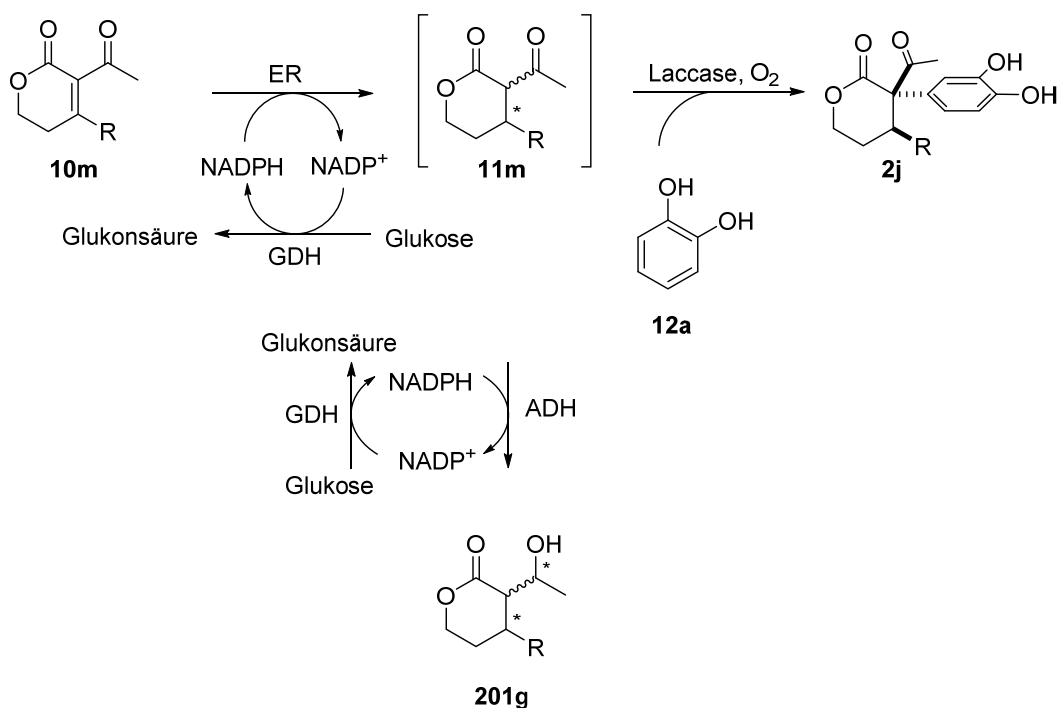
Schema 153: Darstellung eines *Michael*-Addukts **2i** mit anschließender Umlagerung zu Verbindung **216**.

Ebenso könnte auch der Rest R ausgetauscht werden. Eine Allylgruppe in dieser Position würde beispielsweise eine intramolekulare Ringschlussmethatase erlauben, sodass bicyclische Verbindungen **217** hergestellt werden könnten (Schema 154).^[355]



Schema 154: Ringschlussmethatase zur Darstellung von bicyclischen Verbindungen **217**.

Zudem wäre es auch interessant zu sehen, ob eine Laccase-vermittelte Arylierung mit Lacton **11m** stattfinden würde (Schema 155). Wenn dies der Fall sein sollte, könnte bei erfolgreicher Reduktion des Dihydropyranon-Derivats **10m** mit einer Enreduktase die Enzymreaktionen ebenfalls in einer Kaskade durchgeführt werden. Alternativ könnte anstatt der Arylierung zum *Michael*-Addukt **2j** eine ADH-Reduktion zu Verbindung **201g** gekoppelt werden.



Schema 155: Darstellung der möglichen Enzymkaskaden mit Dihydropyranon-Derivaten **10m**.

Falls diese Substrate **10m** nicht vielversprechend sein sollten, müsste auf andere eventuell offenkettige Substrate **10** gegriffen werden, die mehr strukturelle Flexibilität bieten (Abbildung 45).

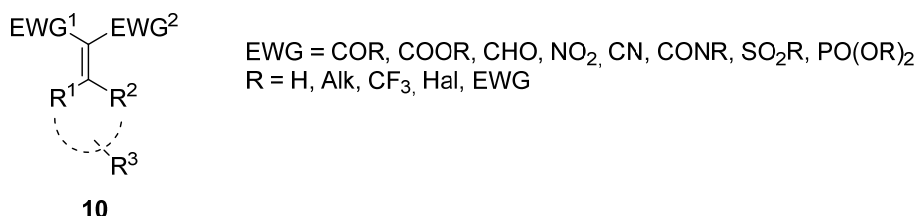
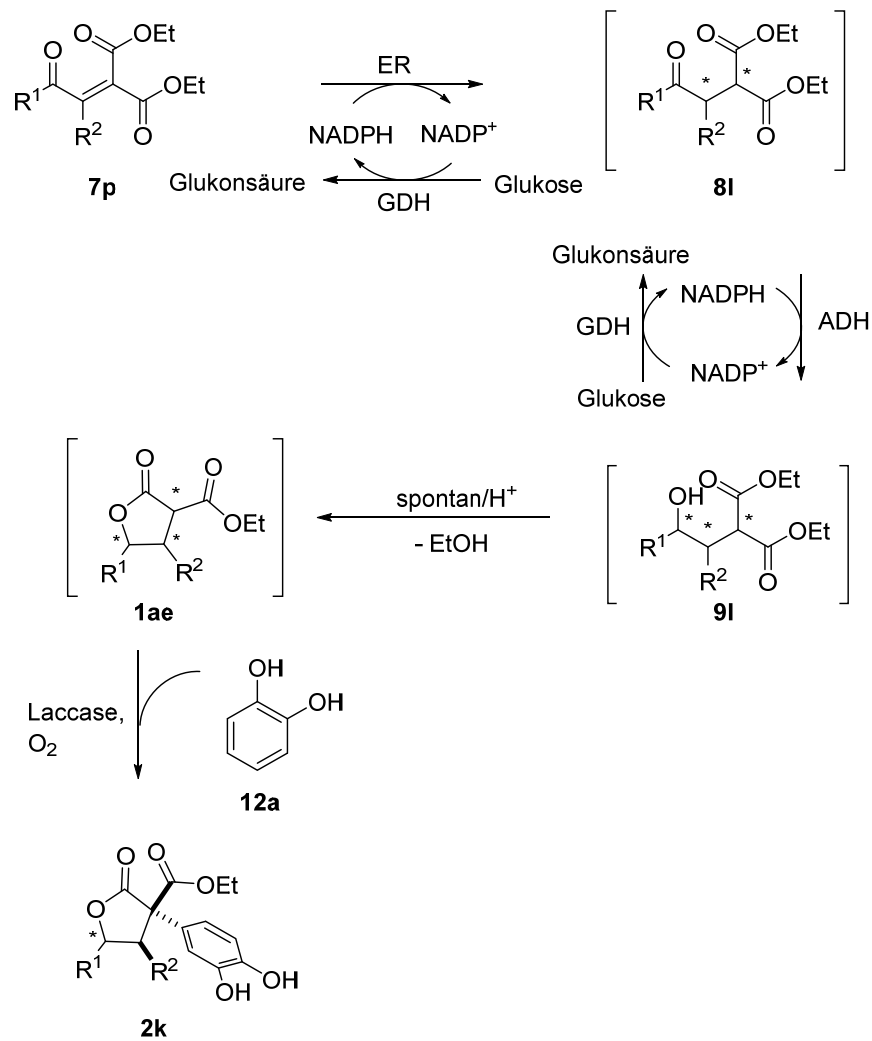


Abbildung 45: Allgemeine Molekülstruktur als *Michael*-Donoren **10**.

Dadurch könnten beispielsweise beide Projekte dieser Arbeit miteinander verbunden werden (Schema 156). Hierzu müssten zunächst die α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7p** mit einer weiteren elektronenziehenden Gruppe, z.B. Ester oder Nitrogruppe, synthetisiert werden. Diese Substrate **7p** können in einer Enzymkaskade zunächst mit einer Enreduktase und dann mit einer ADH reduziert werden, sodass die Lactone **1ae** mit einer Esterfunktionalität entstehen. Diese Verbindung **1ae** könnte dann als ein *Michael*-Donor **11** in einer Laccase-vermittelten *Michael*-Addition dienen, sodass *Michael*-Addukte **2k** mit drei definierten Stereozentren resultieren.



Schema 156: Reaktionsschema zur Darstellung von *Michael*-Addukten **2k** durch eine Enzymkaskade.

6 Experimentalteil

6.1 Materialien und Methoden

6.1.1 Geräte und Materialien

Im Folgenden sind alle verwendeten Geräte und Materialien tabellarisch zusammengefasst:

Tabelle 25: Auflistung aller verwendeten Geräte und Materialien.

Gerät	Hersteller
ÄKTA Purifier	<i>GE Healthcare,</i> München, Deutschland
French Press Cell Disrupter	<i>Thermo Scientific Corp.,</i> MA, USA
Glasgeräte	<i>VWR International GmbH,</i> Darmstadt, Deutschland; <i>NORMAG Labor- und</i> <i>Prozesstechnik,</i> Ilmenau, Deutschland
Gaschromatograph und verwendete chirale stationäre Phasen	
TRACE™ GC	<i>Thermo Fisher Scientific,</i> Waltham, USA
Hydrodex β-TBDAC (Länge/Innendurchmesser/Außendurchmesser = 25 m/0.25 mm/0.40 mm)	<i>Macherey-Nagel,</i> Düren, Deutschland
Lipodex-G (Länge/Innendurchmesser/Außendurchmesser = 25 m/0.25 mm/0.40 mm)	<i>Macherey-Nagel,</i> Düren, Deutschland
Hydrodex-β3P (Länge/Innendurchmesser/Außendurchmesser = 25 m/0.25 mm/0.40 mm)	<i>Macherey-Nagel,</i> Düren, Deutschland
CP-Chirasil-DEX (Länge/Innendurchmesser = 25 m/0.25 mm)	<i>Agilent Technologies,</i> Santa-Clara, USA
Heißluftgebläse HG3002LCD	<i>STEINEL Vertrieb GmbH,</i> Herzbrock-Clarholz, Deutschland
H-Cube Pro mit der Pumpe von Knauer	<i>ThalesNano,</i> Budapest, Ungarn; <i>Knauer Wissenschaftliche Geräte</i> <i>GmbH,</i> Berlin, Deutschland
HPLC und verwendete chirale stationäre Phasen	
HPLC mit Pumpe P580, Probengeber ASI-100 und UV-Detektor (UVD 320 S)	<i>Thermo Fisher Scientific,</i> Waltham, USA
Chiracel OD-H (Daicel), 250/4.6 mm	<i>Daicel,</i> Osaka, Japan

Fortsetzung Tabelle 25:

Gerät	Hersteller
IR PerkinElmer SpectrumOne Spektrometer (atr-IRSpektroskop) PerkinElmer SpectrumTwo Spektrometer	<i>Perkin Elmer,</i> Waltham, USA <i>Perkin Elmer,</i> Waltham, USA
Kryostat EK90	<i>Thermo Fisher Scientific,</i> Waltham, USA
Lösungsmittel-Trocknungsanlage MB-SPS-800	<i>M. Braun Inertgas-Systeme GmbH,</i> Garching, Deutschland
Lyophilisator VaCo 2	<i>Zirbus Technology GmbH,</i> Bad Grund, Deutschland
Laboklav	<i>SHP Steriltechnik AG,</i> Detzel Schloss/Satuelle, Deutschland
Magnetrührer Hei-Standard RCT basic	<i>Heidolph Instruments GmbH & CO.</i> <i>KG,</i> Schwabach, Deutschland <i>IKA®-Werke GmbH & Co. KG,</i> Staufen, Deutschland
MS GC/MS Thermo Elektron MAT 95 HRMS UHR-QTOF maXis 4G HRMS Fourier Transformations-Ionen Cyclotron Resonanz-Massenspektrometrie (FT-ICR-MS) LTQ FT Ultra Trace1310 Gas Chromatograph mit ISQ QD Single Quadruple Mass Spectrometer (Säule: Optima 5MS, 30m * 0,25 mm (ID), 0,25 µm Filmdicke)	<i>Thermo Scientific Corp.,</i> MA, USA <i>Bruker,</i> Massachusetts, USA <i>Thermo Fisher Scientific,</i> Waltham, USA <i>Thermo Scientific Corp.,</i> MA, USA
NMR Bruker Avance/DRX 600-Spektrometer Bruker Avance/DRX 300-Spektrometer	<i>Bruker,</i> Massachusetts, USA <i>Bruker,</i> Massachusetts, USA
Pumpen Membranpumpe Vakuumpumpe RZ6	<i>Baumüller Nürnberg GmbH,</i> Nürnberg, Deutschland <i>Vacuubrand GmbH+CO KG,</i> Wertheim, Deutschland
Polarimeter Perkin Elmer precisely Model 341	<i>Perkin Elmer,</i> Waltham, USA
Pipetten Eppendorf Research Luftpolsterpipetten (0.1-1000 µL) Gilson Pipetman (1000-5000 µL)	<i>Eppendorf AG,</i> Hamburg, Deutschland <i>Gilson,</i> Middleton, WI, USA

Fortsetzung Tabelle 25:

Gerät	Hersteller
P-1 Peristaltikpumpe	<i>Pharmacia</i>
PD-10-Säulen	<i>GE-Healthcare, Little Chalfont, Großbritannien</i>
Photometer	
Kleinvolumenphotometer Nano Drop 2000c	<i>Thermo Scientific Corp., MA, USA</i>
Shimadzu UV-1800 mit CPS-240A Controller	<i>Shimadzu, Duisburg, Deutschland</i>
Rotationsverdampfer	
<i>Büchi</i> Rotavapor R-200 / Vacuum Controller V800 / Heating Bath B-490	<i>Büchi Labortechnik GmbH, Essen, Deutschland</i>
<i>Büchi</i> Rotavapor R-300 / Vacuum Pump V300 / Heating Bath B-300 Base / Interphase I-300	<i>Büchi Labortechnik GmbH, Essen, Deutschland</i>
<i>Büchi</i> Rotavapor R-210 / Vacuum Controller V850 / Vacuum Pump V-700 / Heating Bath B-491	<i>Büchi Labortechnik GmbH, Essen, Deutschland</i>
<i>Büchi</i> Rotavapor RE111 / Heating Bath 461 kombiniert mit der Membranvakuumpumpe <i>Vacuubrand</i> MZ-2C	<i>Büchi Labortechnik GmbH, Essen, Deutschland; Vacuubrand GmbH+CO KG, Wertheim, Deutschland</i>
Schüttler	
Orbitalschüttler Unimax 1010 Inkubator 1000	<i>Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Schwabach, Deutschland</i>
Schüttelblock Eppendorf Thermomixer compact	<i>Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland</i>
Schüttelblock HLC MKR23	<i>HLC BioTech, Bovenden</i>
Schüttelinkubator Infors HT Multitron Standard	<i>Infors HT, Bottmingen, Schweiz</i>
Rotorschüttler BioCote Stuart rotator SB2	<i>BioCote Ltd, Wolverhampton, UK</i>
Schüttelinkubator innova 42	<i>Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland</i>
Sonotroden	
Sonoplus	<i>Bandelin electronic GmbH & Co.KG, Berlin, Deutschland</i>
Sonoplus RC6 plus	<i>Bandelin electronic GmbH & Co.KG, Berlin, Deutschland</i>
Schmelzpunktmessgerät B-540	<i>Büchi Labortechnik GmbH, Essen, Deutschland</i>
Spritzenpumpe	<i>KD Scientific, Holliston, MA, USA</i>
Trockenschrank	<i>Memmert GmbH + CO. KG, Schwabach, Deutschland</i>

Fortsetzung Tabelle 25:

Gerät	Hersteller
<p>Titratoren und pH-Meter</p> <p>Titrimo plus 848</p> <p>Mikroprozessor-pH-Meter mit GAT Ionode IJ44/DIN</p>	<p><i>Deutsche METROHM GmbH & Co. KG,</i> Filderstadt, Deutschland</p> <p><i>Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG,</i> Berlin, Deutschland</p>
<p>UV-Lampe</p>	<p><i>Prinz Verlag GmbH,</i> Passau, Deutschland</p>
<p>Vortex REAX 2000</p>	<p><i>Heidolph Instruments GmbH & Co. KG,</i> Schwabach, Deutschland; <i>IKA®-Werke GmbH & Co. KG,</i> Staufen, Deutschland</p>
<p>Vivaspin 20 (10 und 50 kDa MWCO)</p>	<p><i>Sartorius AG,</i> Göttingen, Deutschland</p>
<p>Waagen</p> <p><i>Sartorius LA1200S, Feinwaage</i></p> <p><i>Sartorius MC1, Laborwaage</i></p> <p><i>A&D HR250AZ, Laborwaage</i></p> <p><i>Sartorius analytic, Laborwaage</i></p>	<p><i>Sartorius AG,</i> Göttingen, Deutschland</p> <p><i>Sartorius AG,</i> Göttingen, Deutschland</p> <p><i>A&D Company, Limited,</i> Tokyo, Japan</p> <p><i>Sartorius AG,</i> Göttingen, Deutschland</p>
<p>Wasservollentsalzer DI2800</p>	<p><i>TKA Wasseraufbereitungssysteme GmbH,</i> Niederelbert, Deutschland</p>
<p>Zentrifugen</p> <p>Minispin</p> <p>Eppendorf Centrifuge 5424</p> <p>Eppendorf Centrifuge 5810R</p> <p>Standkühlzentrifuge Sorvall RC5B</p> <p>Sorvall Refrigerated Superspeed Centrifuge RC5B</p>	<p><i>Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH,</i> Wesseling-Berzdorf, Deutschland</p> <p><i>Eppendorf AG,</i> Hamburg, Deutschland</p> <p><i>Eppendorf AG,</i> Hamburg, Deutschland</p> <p><i>Thermo Scientific Corp.,</i> MA, USA</p> <p><i>Du Pont Instruments,</i> Wilmington, DE, USA</p>

6.1.2 Allgemeine Versuchsbedingungen

Für alle Reaktionen unter Inertgasatmosphäre wurden *Schlenk*-Kolben oder -rohre und Magnetrührstäbe aus dem 110 °C beheiztem Trockenschrank verwendet. Diese wurden zusätzlich dreimal mit Hilfe eines Heißluftgebläses nach dem *Schlenk*-Prinzip ausgeheizt. Die Reaktionen wurden mit Septen- und Kanülentechnik unter Stickstoff-Atmosphäre durchgeführt.

6.1.3 Chemikalien

Die Chemikalien wurden entweder von den Firmen *Alfa Aesar GmbH & Co KG*, *Merck KGaA*, *Sigma-Aldrich Co*, *Carl Roth GmbH + Co KG*, *Fluka*, *AppliChem GmbH*, *Roche*, *Codexis*, *TCI Europe* und *SAFC* geliefert oder waren bereits im Arbeitskreis vorhanden. Die Einwaagen wurden an Labor- oder Feinwaagen gemessen.

6.1.4 Lösungsmittel

Trockenes THF wurde der Lösungsmittel-Trocknungsanlage entnommen. Trockenes Ethanol wurde durch Destillation über CaCl_2 erhalten. Die Lösungsmittel PE (40–60 °C), EE, Aceton, Et_2O , *n*-Pentan und CH_2Cl_2 wurden vor der Anwendung destilliert. Das Eindampfen aller Lösungsmittel wurde destillativ an den Rotationsverdampfern bei einer Badtemperatur von 40 °C und je nach Lösungsmittel variierendem Unterdruck durchgeführt. Demineralisiertes Wasser wurde durch Filtrierung durch einen Wasservollentsalzer erhalten.

6.1.5 Chromatographische Trennverfahren

6.1.5.1 Säulenchromatographie

Die Produkte wurden durch Säulenchromatographie an Kieselgel (40–63 μm , 230–400 *mesh*, *Macherey-Nagel*, Düren, Deutschland) unter zu Hilfenahme einer Handpumpe oder mit Druckluft (max. 0.5 bar) gereinigt. Als Lösungsmittel wurden verschiedene Gemische aus *n*-Pentan/Aceton, *n*-Pentan/ Et_2O , *n*-Pentan/ CH_2Cl_2 oder PE/EE verwendet.

6.1.5.2 Dünnschichtchromatographie

Zur qualitativen Verfolgung der Reaktionsfortschritte und Reinheit der Proben, sowie zur Bestimmung der R_f -Werte wurden Fertigfolien mit Fluoreszenzindikator Polygram® SIL G/UV245 (*Macherey-Nagel*, Düren, Deutschland) verwendet, die in verschiedenen Lösungsmittel-Gemischen entwickelt wurden. Zur Detektion der Spots wurden die Folien in eine Molybdätdiphosphorsäure- oder Anisaldehyd-Lösung eingetaucht, die überschüssige Flüssigkeit abgestreift und die Folien mit einem Heißluftgebläse bei ca. 260 °C entwickelt.

Zusammensetzung der Molybdatophosphorsäure -Lösung:

10 g Cer^{IV}-sulfat, 25 g Molybdatophosphorsäure, 60 mL konz. Schwefelsäure und 940 mL Wasser

Zusammensetzung der Anisaldehyd-Lösung:

0.5 mL Anisaldehyd, 10 mL Eisessig, 85 mL Ethanol und 5 mL konz. Schwefelsäure

6.1.5.3 Gaschromatographie

Die analytische Stereoisomeren-Trennung chiraler Verbindungen erfolgte anhand des Gaschromatographen unter Verwendung der Säulen Hydrodex β -TBDAC, FS Lipodex-G, Hydrodex- β 3P und CP-Chirasil-DEX mit chiralen stationären Phasen. Die Verbindungen wurden in MTBE (GC-grade, 1 mg/mL) gelöst.

6.1.5.4 HPLC

Die analytische Stereoisomeren-Trennung chiraler UV-aktiver Verbindungen erfolgte anhand der HPLC unter Verwendung der Säule OD-H mit chiraler stationärer Phase. Es wurden 10 μ L der Probe (1 μ L Probe in 1 mL Laufmittel gelöst) eingespritzt. Die Flussrate der Probe betrug 0.5 mL/min und es wurde die Absorption unter UV-Licht ($\lambda = 205$ nm) detektiert. Als Laufmittel wurde *n*-Heptan/*iso*-Propanol (80:20) eingesetzt.

6.1.6 Analytik

6.1.6.1 NMR

Die Strukturaufklärung chemischer Verbindungen wurden anhand von NMR-Messungen durchgeführt. Hierzu wurden ¹H-, ¹³C-, 135-DEPT-, COSY-, HMBC- und HSQC-Spektren aufgenommen. CDCl₃ wurde als Lösungsmittel verwendet. Als interner Standard wurde für die ¹H-Spektren das Restprotonensignal von CHCl₃ verwendet ($\delta = 7.26$ ppm). Für die ¹³C-Spektren wurde die Resonanz von CDCl₃ als interner Standard genutzt ($\delta = 77.0$ ppm). In einzelnen Fällen wurde das Lösungsmittel auf Aceton (¹H: $\delta = 2.05$ ppm, ¹³C: $\delta = 206.26$ ppm), CH₂Cl₂ (¹H: $\delta = 5.32$ ppm, ¹³C: $\delta = 54.00$ ppm) variiert. Die Multiplizitäten der Signale werden wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quin = Quintett, sext = Sextett, sept = Septett, m = Multiplett und m_c = zentriertes Multiplett sowie deren Kombinationen. Der Substitutionsgrad der Kohlenstoffatome wurde auf der Grundlage von 135-DEPT-NMR-Spektren bestimmt. Zur Zuordnung der Signale wurden COSY-, HMBC- und HSQC-NMR-Spektren herangezogen. In einzelnen Fällen wurden NOE- und ³¹P-NMR-Spektren aufgenommen. Sofern keine genaue Zuordnung der Signale getroffen werden konnte, wurden die Signale dennoch aufgelistet.

6.1.6.2 IR

Charakteristische Schwingungen wurden anhand von IR-Spektren zugeordnet. Dabei wurde ein FT-IR mit einer ATR-Apparatur verwendet.

6.1.6.3 MS

Das Fragmentierungsmuster chemischer Verbindungen wurde anhand eines GC/MS aufgenommen.

Die Trennbedingungen sind im Folgenden aufgelistet:

Temperaturprogramm:	60 °C-1 min, 15 °C/min auf 185 °C, 120 °C/min auf 280 °C-5 min
Trärgas:	He
Detektion:	MS
Konstanter Druck:	60 kPa
Injektortemperatur:	210 °C
Temperatur der Transferleitung:	180 °C
Temperatur der Ionenquelle:	200 °C

Fragmente, die nicht zugeordnet werden konnten, wurden dennoch aufgelistet. Zur Bestimmung der exakten Molekülmasse unbekannter Verbindungen wurde die HRMS herangezogen.

6.1.6.4 Polarimeter

Drehwerte wurden an einem Polarimeter bei 589 nm (Natrium-D-Linie) in einer auf 25 °C temperierten Messzelle (sofern nicht anders vermerkt) mit einer Schichtdicke von 1 dm bzw. 0.1 dm vermessen.

6.1.7 Zusammensetzung der Puffer, Medien und Stammlösungen

6.1.7.1 Zusammensetzung der KP_i -Puffer

Die KP_i -Puffer setzen sich aus einer Kaliumdihydrogenphosphat- (KH_2PO_4) und Dikaliumhydrogenphosphat-Lösung (K_2HPO_4) mit der jeweils gleichen Konzentration zusammen. Unter Kontrolle mittels eines pH-Meters wurden die Puffer durch das Mischen beider Stammlösungen auf den gewünschten Wert eingestellt.

6.1.7.2 Zusammensetzung des Imidazol- KP_i -Puffers

Imidazol ($c_{\text{end}} = 2 \text{ M}$) wurde in wenig Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung (20 mM, pH 6.5) vorgelegt und mit größerer Menge demin. Wasser verdünnt. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von konz. HCl auf pH 6.5 eingestellt.

6.1.7.3 Zusammensetzung des Glycin/NaOH-Puffers

Es wurde eine 50 mM Glycin- und Natriumhydroxid-Lösung hergestellt. Unter Kontrolle mittels eines pH-Meters wurde der Puffer durch das Mischen beider Stammlösungen auf pH 9 eingestellt.

6.1.7.4 Zusammensetzung des LB-Mediums

10 g Trypton, 5 g Hefeextrakt, 10 g NaCl und *ad* 1 L demin. Wasser.

6.1.7.5 Zusammensetzung des TB-Mediums

12 g Trypton, 24 g Hefeextrakt, 5 mL Glycerol und *ad* 1 L demin. Wasser.

6.1.7.6 Stammlösungen

- Antibiotika:
 - Ampicillin (1000x, 100 mg/mL in demin. Wasser, sterilfiltriert)
 - Kanamycin (1000x, 50 mg/mL in demin. Wasser, sterilfiltriert)
 - Chloramphenicol (1000x, 34 mg/mL in Ethanol, sterilfiltriert)
 - Tetracyclin (1000x, 10 mg/mL in Ethanol/demin. Wasser 1:2, sterilfiltriert)
 - Streptomycin (1000x, 80 mg/mL in demin. Wasser, sterilfiltriert)
- IPTG (1000x, 1 M in demin. Wasser, sterilfiltriert)
- Arabinose (0.02 % w/v, 20 g/50 mL demin. Wasser, sterilfiltriert)

Zur Sterilfiltration wurden die Lösungen in einer Spritze aufgenommen und mit Druck durch einen Sterilfilter aus Cellulose-Acetat mit einer Porengröße von 0.2 μM in sterile *Eppendorf*-Gefäße überführt.

6.2 Allgemeine chemische und biochemische Vorschriften

Die Benennung und Nummerierung chemischer Verbindungen wurde in der Regel nach IUPAC durchgeführt. In einzelnen Fällen wurde zur besseren Vergleichbarkeit der Verbindungen untereinander von dieser Regel abgewichen.

Aminosäuren wurden entsprechend der Richtlinien von IUBMB abgekürzt.

6.2.1 Titration von *n*-Butyllithium

Zunächst wurde eine 1 M Maßlösung aus 2-Butanol in *p*-Xylol hergestellt. Zu 2 mL dieser Maßlösung wurden 20 mg *N*-4-(Phenylbenzyliden)benzylamin unter N_2 -Atmosphäre zugegeben. Anschließend wurde langsam *n*-Butyllithium zugetropft bis ein Farbumschlag von weiß nach blau stattfand. Die Titration wurde dreimal wiederholt und aus dem Mittelwert der zugegebenen Menge an *n*-Butyllithium dessen Konzentration nach folgender Formel bestimmt:

$$c(n\text{-BuLi}) = \frac{c(\text{Maßlösung}) \cdot V(\text{Maßlösung})}{V(n\text{-BuLi})}$$

6.2.2 Herstellung chemisch kompetenter Zellen

Eine Vorkultur aus 5 mL LB-Medium und 50 µL leere chemisch kompetente Zellen [*E. coli* BL21 (DE3) oder DH5α] wurde über Nacht (16 h) bei 37°C inkubiert. LB-Medium (400 mL) wurde mit 2 mL dieser Vorkultur versetzt und ca. 2 h bei 37°C inkubiert, bis eine OD von 0.4–0.6 erreicht wurde. Die Kulturlösung wurde in ein steriles 50 mL-Reaktionsgefäß (konisch, alias Falcontube) überführt und 10 min bei 4°C und 1984 rcf zentrifugiert. Das Zellpellet wurde in 10 mL Magnesiumchlorid-Lösung (100 mM mit 15 % Glycerol, sterilfiltriert) suspendiert und 20–30 min auf Eis inkubiert. Anschließend wurde die Suspension 10 min bei 4°C und 1984 rcf zentrifugiert und das Zellpellet in 2 mL Calciumchlorid-Lösung (100 mM mit 15 % Glycerol, sterilfiltriert) suspendiert. Aus dieser Lösung wurden 50 µL Aliquots in sterilen 1 mL-Reaktionsgefäßen in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Die chemisch kompetenten Zellen wurden bei -80°C gelagert. Zum Testen der Kompetenz wurden die Zellen mit dem pUC19-Vektor als Positivkontrolle und mit demin. Wasser als Negativkontrolle, wie in Kapitel 6.2.4 (S. 192 f.) beschrieben, transformiert. Um die Antibiotikaresistenz zu testen wurden Vorkulturen aus 5 mL LB-Medium, 10 µL chemisch kompetente Zellen und 5 µL des jeweiligen Antibiotikums hergestellt und über Nacht bei 37°C inkubiert. Die Charge wurde verwendet, wenn die kompetenten Zellen sensitiv gegen die Antibiotika gelistet in Kapitel 6.1.7.6 (S. 191) waren.

6.2.3 Isolierung von Plasmid-DNA

Die Isolierung von Plasmid-DNA erfolgte gemäß den Herstellerangaben des *Miniprep-Kits* der Firma *Analytik Jena* (InnuPrep DNA Mini Kit).

6.2.4 Transformation chemisch kompetenter Zellen und Kultivierung

50 µL chemisch kompetente Zellen (*E. coli* BL21 (DE3) oder *E. coli* DH5α) wurden mit 3 µL des Vektors (30–100 ng/µL) versetzt und 30 min auf Eis inkubiert. Anschließend folgte ein Hitzeschock bei 42°C für 90 s. Die Zellen wurden schließlich mit 700 µL LB-Medium ohne Antibiotikum versetzt und zur phänischen Expression 1 h bei 37°C invertiert. Im Anschluss wurden die Zellen 2 min bei 2000 rcf zentrifugiert. Ein Teil des Überstandes wurde dekantiert und die Zellen im restlichen Überstand suspendiert. Mit jeweils 50 µL dieser Suspension wurden eine 5 mL Vorkultur aus LB-Medium angeimpft bzw. auf eine Agarplatte (LB-Agar mit 1 % Agarose) ausplattiert. Anschließend wurde diese über Nacht bei 37°C inkubiert. Beide Nährmedien wurden bei der Herstellung mit einer Ampicillin-Stammlösung ($c = 100 \text{ mg/mL}$) in einem Verhältnis von 1:1000 versetzt. Die Hauptkultur bestand aus 900 mL TB-Medium, 100 mL KP₇-Puffer und 1 mL Ampicillin ($c = 100 \text{ mg/mL}$) und wurde mit der gesamten Vorkultur angeimpft. Schließlich wurde die Hauptkultur bei 25°C und 125 rpm geschüttelt, nach ungefähr

6 h mit 100 µL IPTG (1 M, $c_{\text{end}} = 0.1 \mu\text{M}$) induziert und weiterhin über Nacht geschüttelt. Das Ernten der Zellen erfolgte durch Zentrifugation der Hauptkultur für 10 min bei 6430 rcf und 4 °C.

Modifikationen:

PhosDH aus *Pseudomonas stutzeri*:

Zur Induktion wurde L-Arabinose (0.02 % w/v) verwendet.

Ssl1 aus *Streptomyces sviveus*:

Die Hauptkultur wurde bei 30 °C und 140 rpm über Nacht geschüttelt. Die Induktion erfolgte durch Zugabe von 40 µL IPTG (1 M, $c_{\text{end}} = 0.04 \text{ mM}$) und Kupfer(II)-sulfat (2 mM, 319.2 mg/L). Anschließend wurde die Hauptkultur bei 25 °C über Nacht geschüttelt. Die Zellernte erfolgte durch Zentrifugation der Hauptkultur für 20 min bei 5080 rcf und 4 °C.

Vektoren:

Folgende Vektoren wurden zur Transformation chemisch kompetenter Zellen und zur Genexpression verwendet:

Vektor	Genotyp
pHT::ncrZM	amp, lacI; T7 (6His:TEV:ncr(ZM))
pHT::opr1	amp, lacI; T7 (6His:TEV:opr1)
pHT::OYE_TS	amp, lacI; T7 (6His:TEV:oye)
pET21a+::YqjM_BS_C26G	amp, lacI; T7 (yqjM_C26G)
pET21a+::YqjM_BS_C26G_A60K	amp, lacI; T7 (yqjM_C26G_A60K)
pET21a+::YqjM_BS_C26G_A60C	amp, lacI; T7 (yqjM_C26G_A60C)
pET21a+::YqjM_BS_C26G_A60V	amp, lacI; T7 (yqjM_C26G_A60V)
pET21a+::YqjM_BS_C26G_A60I	amp, lacI; T7 (yqjM_C26G_A60I)
pET21a+::YqjM_BS_C26D_A104H	amp, lacI; T7 (yqjM_C26D_A104H)
pET21a+::YqjM_BS_C26D_A104Y	amp, lacI; T7 (yqjM_C26D_A104Y)
pET21a+::YqjM_BS_C26D_A104F	amp, lacI; T7 (yqjM_C26D_A104F)
pET21a+::YqjM_BS_C26D_I69T	amp, lacI; T7 (yqjM_C26D_I69T)
pET21a+::YqjM_BS_C26D_I69V	amp, lacI; T7 (yqjM_C26D_I69V)
pet22::RADH	amp, lacI; T7 (RADH)
pET22-ssl1	kan; lacI; T7 (ssl1:6His)
pBADhisA::PhosDH	amp, AraC (PhosDH)

Alle weiteren Enzyme, die in dieser Arbeit verwendet wurden, waren bereits im Arbeitskreis *Pietruszka* entweder in isolierter Form als Glycerol-stocks oder Lyophilisat oder überexprimiert in *E. coli* BL21 (DE3) vorhanden.

6.2.5 Zellaufschluss

In einem 50 mL Reaktionsgefäß wurden 5 g Zellen eingewogen und in 25 mL KP_i -Puffer (20 %) suspendiert. Für die Alkoholdehydrogenasen wurde ein KP_i -Puffer (100 mM) mit 1 mM $MgCl_2$ -Zusatz und einem pH-Wert von 7 verwendet, während für die Enreduktasen ein KP_i -Puffer (20 mM) mit einem pH-Wert von 6.5 verwendet wurde. Die Zellen wurden entweder zweimal 5 min unter Kühlung im Eisbad mittels Ultraschall oder dreimal mittels *FrenchPress* aufgeschlossen. Die Zellen wurden 10 min bei 4 °C und 12 000 rpm zentrifugiert. Im weiteren Verlauf wurde der Zellüberstand verwendet. Die Wildtyp-Enreduktasen wurden mittels Affinitätschromatographie (Kapitel 6.2.6, S. 194) gereinigt. Die Alkoholdehydrogenasen wurden als Rohextrakte eingesetzt.

Modifikationen:

ADH-T:

Nach dem Zellaufschluss erfolgte eine Hitzedenaturierung unter Schütteln bei 60 °C für 30 min.

TsER:

Nach dem Zellaufschluss erfolgte eine Hitzedenaturierung bei 70 °C für 1.5 h.

Ssl1:

Die Zellen mit der Laccase Ssl1 wurden durch Gefriertrocknung aufgeschlossen. Das Lyophilisat wurde anschließend pulverisiert und in Glycin/NaOH-Puffer (50 mM, pH 9) gelöst. Zur Reinigung der Laccase wurde eine Hitzedenaturierung bei 65 °C für 20 min durchgeführt und die Suspension anschließend 10 min bei 4 °C und 7938 rcf zentrifugiert.

6.2.6 Reinigung der Enreduktasen mittels Affinitätschromatographie

Zur Isolation der Wildtyp-Enreduktasen mit His-Tag wurde eine 5 mL Ni-NTA-Säule (*Macherey-Nagel*, Düren, Deutschland) 20 min mit dem Zellüberstand [20 % (w/v) in 20 mM KP_i -Puffer, pH 6.5] beladen. Die Isolierung des Enzyms erfolgte an einem ÄKTA-Purifier-Chromatographiesystem. Die Säule wurde dabei zuerst mit 7 Säulenvolumina (CV) KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5), dann mit 7 CV KP_i -Puffer mit Imidazol (30 mM) gewaschen und das Enzym schließlich mit 7 CV KP_i -Puffer mit Imidazol (250 mM) eluiert. Alternativ erfolgte die Elution manuell mit Hilfe einer Peristaltikpumpe. Dazu wurde die Ni-NTA-Säule zunächst mit 35 mL KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5), dann mit 35 mL KP_i -Puffer mit Imidazol (30 mM) gewaschen und das Enzym mit 35 mL KP_i -Puffer mit Imidazol (250 mM) eluiert. Die Elutionsfraktionen wurden vereinigt, mit einer Spatelspitze FMN versetzt und mittels eines Konzentrators durch Zentrifugation bei 5080 rcf und 4 °C konzentriert. Das Entsalzen der Enzymlösung erfolgte mittels PD-10-Säulen (CV = 5 mL, 10 kDa MWCO), welche mit KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5) äquilibriert worden war, gemäß Herstellerangaben.

Modifikationen:TsER:

Nach der Hitzedenaturierung wurden zum zellfreien Überstand eine Spatelspitze FMN und 10 mM Magnesiumchlorid zugegeben. Das Enzym wurde ohne Affinitätschromatographie mittels PD-10-Säulen entsalzt.

6.2.7 Gefriertrocknung von Enzymen

Zur Lyophilisierung von Enzymen wurden die Lösungen in einem *50 mL-Reaktionsgefäß (konisch, alias Falcontube)* in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Anschließend wurde das Reaktionsgefäß mit einer perforierten Aluminiumfolie verschlossen und das gefrorene Wasser in einem Lyophilisator bei vermindertem Druck sublimiert, bis das Enzym als ein flockiges Lyophilisat vorlag.

6.2.8 Aktivitätsbestimmung von Enzymen**6.2.8.1 Enreduktasen**

In einer Quarzküvette wurden 790 μL KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5), 100 μL Cyclohexanon (10 mM), 100 μL NADPH (1.5 mM) und 10 μL Enzymlösung vorgelegt. Der NADPH-Verbrauch wurde dreimal photometrisch bei 340 nm und einer Temperatur von 30°C für 1 min verfolgt (Küvettenfaktor 16.08 $\text{U}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Die durchschnittliche Aktivität des Enzyms wurde durch Mitteln der dreifachen Bestimmung ermittelt. Zur Lagerung der Enreduktasen wurden die Enzymlösungen entweder zu 50 % mit Glycerol versetzt oder als Lyophilisat bei -18°C gelagert.

6.2.8.2 Alkoholdehydrogenasen

In einer Quarzküvette wurden 970 μL Acetophenon [11 mM in KP_i -Puffer (100 mM, pH 7, 1 mM MgCl_2)], 20 μL NADPH (10 mM) und 10 μL Enzymlösung vorgelegt. Der NADPH-Verbrauch wurde dreimal photometrisch bei 340 nm und einer Temperatur von 30°C für 1 min verfolgt (Küvettenfaktor 16.08 $\text{U}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Die durchschnittliche Aktivität des Enzyms wurde durch Mitteln der dreifachen Bestimmung ermittelt. Zur Lagerung der Alkoholdehydrogenasen wurden die Enzymlösungen entweder zu 50 % mit Glycerol versetzt oder als Lyophilisat bei -18°C gelagert.

6.2.8.3 Glukosedehydrogenase

In einer Quarzküvette wurden 970 μL Glukose-Lösung (100 mM), 20 μL NADP^+ (10 mM) und 10 μL Enzymlösung vorgelegt. Die NADPH-Entstehung wurde dreimal photometrisch bei 340 nm und einer Temperatur von 30°C für 1 min verfolgt (Küvettenfaktor 16.08 $\text{U}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Die durchschnittliche Aktivität des Enzyms wurde durch Mitteln der dreifachen Bestimmung ermittelt. Zur Lagerung der GDH wurde die Enzymlösung zu 50 % mit Glycerol versetzt und bei -18°C gelagert.

6.2.8.4 Phosphitdehydrogenase

In einer Quarzküvette wurden 890 μL KP_i -Puffer (50 mM, 4 mM Natriumphosphit, pH 7), 100 μL NADP^+ (15 mM) und 10 μL Enzymlösung vorgelegt. Die NADPH-Entstehung wurde dreimal photometrisch bei 340 nm und einer Temperatur von 30 °C für 1 min verfolgt (Küvettenfaktor 16.08 $\text{U}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Die durchschnittliche Aktivität des Enzyms wurde durch Mitteln der dreifachen Bestimmung ermittelt. Die Phosphitdehydrogenase wurde ohne weiteres im Kühlschrank gelagert.

6.2.8.5 Laccase

In einer Quarzküvette wurden 950 μL Glycin/NaOH-Puffer (50 mM, pH 9), 10 μL 2,6-Dimethoxyphenol (**171**) (50 mM) und 40 μL Enzymlösung vorgelegt. Die Oxidation des 2,6-Dimethoxyphenols (**171**) wurde dreimal photometrisch bei 468 nm und einer Temperatur von 25 °C für 1 min verfolgt (Küvettenfaktor 16.08 $\text{U}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Die durchschnittliche Aktivität des Enzyms wurde durch Mitteln der dreifachen Bestimmung ermittelt. Die Laccase wurde als Lyophilisat bei -18 °C gelagert.

6.2.9 Screening von Enzymen

6.2.9.1 Enreduktasen

Das Screening der Enreduktasen wurde in *deep-well*-Platten durchgeführt. Hierzu wurden jeweils 1.5 μL Substrat **7** oder **10**, 5 μL NADP^+ (20 mM), 91 μL Glukose-Lösung (0.1 M), 5 μL GDH, 1 U Enreduktase und *ad* 1 mL KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5) vereint. Die Platte wurde anschließend über Nacht bei 30 °C und 3 rcf geschüttelt. Schließlich wurden die gesamten Reaktionsgemische jeweils mit 500 μL MTBE (*GC-grade*) extrahiert, die organische Phasen mit MgSO_4 getrocknet und mittels Gaschromatographie mit chiraler stationärer Phase analysiert.

Modifikationen:

2-Methylchromenon (**10a**):

Das Screening der YqjM-Mutanten wurde in 2 mL-*Eppendorf*-Gefäßen oder 15 mL-*Reaktionsgefäß* (*konisch, alias Falcontube*) durchgeführt. Hierzu wurde jeweils eine Stammlösung aus 2-Methylchromenon (**10a**) (6.5 mg, $c_{\text{end}} = 10$ mM) oder Cyclohexenon als Positivkontrolle (2.9 μL , $c_{\text{end}} = 10$ mM), NADP^+ (4.7 mg, $c_{\text{end}} = 2$ mM), Glukose (108 mg, $c_{\text{end}} = 200$ mM) und *ad* 3 mL KP_i -Puffer (100 mM, pH 7) hergestellt. 250 μL der Stammlösung wurde mit 5 μL GDH und 4 U YqjM-Mutante versetzt. Zu den Ansätzen mit 2-Methylchromenon (**10a**) wurden jeweils 200 μL EE als Cosolvenz zugegeben. Zur GC-Analyse wurde das gesamte Reaktionsvolumen oder 1 mL mit EE (*HPLC-grade*) extrahiert.

YqjM-Mutanten-Screening mit den Cyclohexanon-Derivaten 10g-j:

Das Screening der YqjM-Mutanten wurde in 15 mL-Reaktionsgefäß (*konisch, alias Falcontube*) oder in *deep-well*-Platten durchgeführt. Hierzu wurden jeweils 1.5 µL Substrat **10g-j**, 1.6–9.2 mg NADP⁺ ($c_{\text{end}} = 2 \text{ mM}$), 11–63 mg Natriumphosphit ($c_{\text{end}} = 50 \text{ mM}$), 358 µL PhosDH (0.7 U), 1 U YqjM-Mutante (falls nicht anders vermerkt wurde) und *ad* 1 mL KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5) vereint. Die 15 mL-Reaktionsgefäße (*konisch, alias Falcontube*) wurden anschließend über Nacht bei 30 °C und 3 rcf geschüttelt. Schließlich wurden 1 mL Reaktionsvolumen mit 500 µL MTBE (*GC-grade*) extrahiert und mittels Gaschromatographie analysiert.

6.2.9.2 Alkoholdehydrogenasen

Das Screening der Alkoholdehydrogenasen wurde in *deep-well*-Platten durchgeführt. Hierzu wurden jeweils 1.5 µL Substrat (*rac*)-**8**, 15 µL NADP⁺ oder NAD⁺ für ADH-HL (20 mM), 300 µL Glukose-Lösung (0.1 M), 15 µL GDH, 1 U ADH und *ad* 1 mL KP_i-Puffer (100 mM, 1 mM MgCl₂, pH 7) vereint. Die Platte wurde anschließend über Nacht bei 30 °C und 3 rcf geschüttelt. Schließlich wurden die gesamten Reaktionsgemische jeweils mit 500 µL MTBE (*GC-grade*) extrahiert, die organische Phasen mit MgSO₄ getrocknet und mittels Gaschromatographie mit chiraler stationärer Phase analysiert.

6.2.10 Bestimmung der Michaelis-Menten- und Reaktionskinetik

6.2.10.1 Michaelis-Menten-Kinetik der Enreduktase

Zum Erstellen der Konzentrationsreihe vom α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a** wurde eine Stammlösung (25 mM) aus 8.51 mg Substrat **7a** gelöst in 55 µL DMSO und 1945 µL KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5) angesetzt. Ncr_{ZM}-Lyophilisat (40.9 mg) wurde in 1 mL KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5) gelöst. In einer Quarzküvette wurden die Substratlösung, NADPH-Lösung, Enzymlösung und *ad* 1 mL KP_i-Puffer vereint. Der NADPH-Verbrauch wurde dreimal photometrisch bei 340 nm und einer Temperatur von 30 °C jeweils 1 min verfolgt (Küvettenfaktor 16.08 U/mL·min⁻¹). Die durchschnittliche Aktivität des Enzyms wurde durch Mitteln der dreifachen Bestimmung ermittelt. Die genaue Zusammensetzung der Konzentrationsreihe ist Tabelle 26 zu entnehmen.

Tabelle 26: Zusammensetzung der Konzentrationsreihe zur Bestimmung der Enzymkinetik mit dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a**.

c_{end} [mM]	0.03	0.05	0.1	0.3	0.5	1	2	3	4
Substrat 7a (25 mM) [µL]	1.2	2	4	12	20	40	80	120	160
Ncr _{ZM} [µL]	10	10	10	10	10	10	10	10	10
NADPH (1.5 mM) [µL]	100	100	100	100	100	100	100	100	100
KP _i -Puffer (20 mM, pH 6.5) [µL]	888.8	888	886	878	870	850	810	770	730

Zum Erstellen der Konzentrationsreihe vom α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7e** wurde eine Stammlösung (5 mM) aus 2.26 mg Substrat **7e** gelöst in 10 µL DMSO und 1990 µL KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5) angesetzt und 1:10 verdünnt. 40.9 mg Ncr_{ZM}-Lyophilisat wurden in 1 mL

KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5) gelöst und anschließend 1:5 verdünnt. In einer Quarzküvette wurden die Substratlösung, NADPH-Lösung, Enzymlösung und *ad* 1 mL KP_i-Puffer vereint. Der NADPH-Verbrauch wurde dreimal photometrisch bei 340 nm und einer Temperatur von 30 °C jeweils 1 min verfolgt (Küvettenfaktor 16.08 U/mL·min⁻¹). Die durchschnittliche Aktivität des Enzyms wurde durch Mitteln der dreifachen Bestimmung ermittelt. Die genaue Zusammensetzung der Konzentrationsreihe ist Tabelle 27 zu entnehmen.

Tabelle 27: Zusammensetzung der Konzentrationsreihe zur Bestimmung der Enzymkinetik mit dem α,β -ungesättigtem γ -Ketoester **7e**.

c _{end} [mM]	0.0025	0.005	0.01	0.015	0.02	0.03	0.05	0.1	0.3
Substrat 7e (0.5 mM) [μ L]	5	10	20	30	40	60	100	200	600
Ncr _{ZM} [μ L]	10	10	10	10	10	10	10	10	10
NADPH (1.5 mM) [μ L]	100	100	100	100	100	100	100	100	100
KP _i -Puffer (20 mM, pH 6.5) [μ L]	885	880	870	860	850	830	790	690	290

6.2.10.2 Reaktionskinetik mit der YqjM-Mutante C26D/I69T

In einem 15 mL-Reaktionsgefäß (*konisch, alias Falcontube*) wurden jeweils 5 μ L des Cyclohexenon-Derivats **10h-j**, 200 μ L NADP⁺ (10 mM, c_{end} = 2 mM), 250 μ L Natriumphosphit (200 mM, c_{end} = 50 mM) und *ad* 1 mL KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5) vereint (Ansatz A). Zu jeweils einem 15 mL-Reaktionsgefäß (*konisch, alias Falcontube*) pro Substrat **10h-j** wurden 358 μ L PhosDH (0.7 U) (Ansatz B), zu jeweils einem weiteren 15 mL-Reaktionsgefäß (*konisch, alias Falcontube*) 2.74 U YqjM-Mutante C26D/I69T (Ansatz C) und zu jeweils einem weiteren 15 mL-Reaktionsgefäß (*konisch, alias Falcontube*) 358 μ L PhosDH (0.7 U) und 2.74 U YqjM-Mutante C26D/I69T (Ansatz D) zugegeben. Die Reaktionsansätze wurden über Nacht bei 30 °C und 3 rcf geschüttelt. Die Reaktionskinetik wurde mittels GC/MS kontrolliert. Hierzu wurden nach 0 min (vor Zugabe der Enzyme), 1 h, 3 h, 5 h und 20 h 50–150 μ L Reaktionslösung mit 200 μ L MTBE (*GC-grade*) extrahiert. Die genaue Zusammensetzung der Reaktionsansätze ist Tabelle 28 zu entnehmen.

Tabelle 28: Zusammensetzung der Reaktionsansätze zur Bestimmung der Reaktionskinetik mit der YqjM-Mutante C26D/I69T.

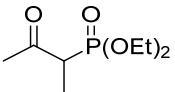
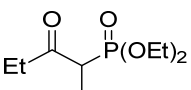
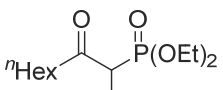
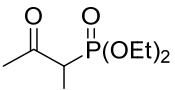
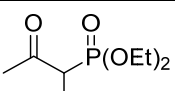
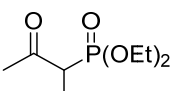
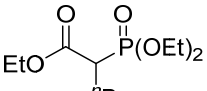
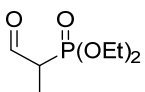
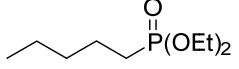
	Ansatz A	Ansatz B	Ansatz C	Ansatz D
Substrat 10h-j [μ L]	5	5	5	5
NADP ⁺ (10 mM) [μ L]	200	200	200	200
Natriumphosphit (200 mM) [μ L]	250	250	250	250
YqjM-Mutante C26D/I69T [mL]	-	-	2.5	2.5
PhosDH [μ L]	-	358	-	358
KP _i -Puffer (20 mM, pH 6.5) [μ L]	545	187	-	-

6.3 Analytische Daten zur Synthese der γ -Butyrolactone 1

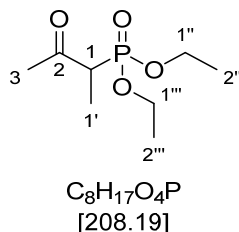
6.3.1 Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester (5)

n-Butyllithium [1.0 Äq., 0.40 mL/mmol Phosphonsäurediethylester **4a-d**, 2.2–2.5 M in Hexan (titriert nach Methode 6.2.1, S. 191)] wurde unter inerten *Schlenk*-Bedingungen in trockenem THF (13.7 Äq., 0.08 mL/mmol Phosphonsäurediethylester **4a-d**) vorgelegt und mit Hilfe eines Trockeneis/Aceton-Bads auf -78 °C gekühlt. Das entsprechende Phosphonsäurediethylester **4a-d** (1.0 Äq.) wurde zugegeben und 1 h bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde der entsprechende Alkylester **3a-f** (1.0 Äq.) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch über Nacht (17–23.5 h) gerührt, währenddessen sich die Temperatur von -78 °C auf RT erwärmte. Das Reaktionsgemisch wurde schließlich dreimal mit gesättigter NH₄Cl-Lösung (ca. 4 mL/mmol Phosphonsäurediethylester **4a-d**) und Et₂O (ca. 7 mL/mmol Phosphonsäurediethylester **4a-d**) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (erst PE/EE oder *n*-Pentan/Aceton 95:5 und dann 100 % EE oder Aceton) gereinigt. Die Produkte lassen sich auf der DC nur im konzentrierten Zustand mit Anisaldehyd-Lösung schwach anfärben. Einige Verbindungen wurden auch mittels Vakuumdestillation gereinigt (Tabelle 29).

Tabelle 29: Siedetemperaturen einiger Phosphonsäurediethylester **5** und **4d**.

Eintrag	Verbindung	Druck [mbar]	Siedetemperatur [°C]
1	 <p>5a</p>	1.6	80-100
2	 <p>5b</p>	0	80-97
3	 <p>5f</p>	0.2-0.3	60-144
4	 <p>5g</p>	0	93
5	 <p>5h</p>	0	98
6	 <p>5i</p>	0	60-103
7	 <p>5m</p>	0	80-127
8	 <p>5j</p>	2-3	95-103
9	 <p>4d</p>	10.6	52-60

6.3.1.1 1-Methyl-2-oxopropan-phosphonsäurediethylester (5a)



Das gewünschte Produkt **5a** (1.4 g, 6.9 mmol, 47 %) wurde aus Ethylphosphonsäurediethylester **4a** (2.4 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) und Methylacetat **3a** (1.2 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[356]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.27.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.32 (td, $^3J_{2'',1''/2''',1'''} = 7.1$ Hz, $^4J_{2'',\text{P}/2''',\text{P}} = 2.7$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.35 (dd, $^3J_{1',1} = 7.1$ Hz, $^3J_{1',\text{P}} = 17.9$ Hz, 3 H, 1'-H), 2.33 (s, 1 H, 3-H), 3.20 (dq, $^2J_{1,\text{P}} = 25.6$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.1$ Hz, 1 H, 1-H), 4.07–4.19 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

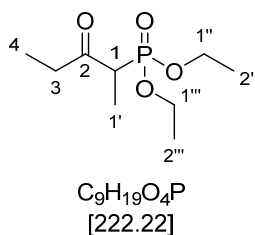
$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 11.03 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 6.4$ Hz, C-1', CH_3), 16.51 (dd, $^3J_{\text{C,P}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{C,P}} = 2.7$ Hz, C-2'', C-2''', CH_3), 30.55 (C-3, CH_3), 47.65 (d, $^1J_{\text{C,P}} = 126.7$ Hz, C-1, CH), 62.75 (dd, $^2J_{\text{C,P}} = 15.8$ Hz, $^2J_{\text{C,P}} = 6.8$ Hz, C-1'', C-1''', CH_2), 204.02 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 3.8$ Hz, C-2, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2985, 2943, 1715 (C=O), 1456, 1393, 1358, 1301, 1247 ($\text{R}_3\text{P}=\text{O}$), 1163, 1097, 1045, 1012 (P-OR), 947, 812, 792, 733, 693.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 209 (11) [(M+H)⁺], 193 (11) [(M-CH₃)⁺], 181 (4) [(C₆H₁₄O₄P)⁺], 166 (100) [(M-C₂H₂O)⁺], 153 (12) [(C₄H₁₀O₄P)⁺], 139 (98) [(C₄H₁₂O₃P)⁺], 127 (14) [(C₃H₁₂O₃P)⁺], 122 (89) [(C₃H₇O₃P)⁺], 111 (98) [(C₄H₁₁O₂P)⁺], 94 (60) [(CH₄O₃P)⁺], 82 (79) [(H₄O₃P)⁺], 72 (34) [(C₄H₈O)⁺], 65 (64) [(H₃O₂P)⁺], 55 (45) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.38.

6.3.1.2 1-Methyl-2-oxobutan-phosphonsäurediethylester (5b)



Das gewünschte Produkt **5b** (2.0 g, 9.0 mmol, 62 %) wurde aus Ethylphosphonsäurediethylester **4a** (2.4 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) und Propionsäuremethylester **3b** (1.4 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[356, 357]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.24.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.06 (t, $^3J_{4,3} = 7.2$ Hz, 3 H, 4-H), 1.32 (td, $^3J_{2'',1''}/^2J_{2''',1'''} = 6.9$ Hz, $^4J_{2'',p}/^2J_{2''',p} = 3.8$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.35 (dd, $^3J_{1',p} = 17.8$ Hz, $^3J_{1',1} = 6.9$ Hz, 3 H, 1'-H), 2.52 (dq, $^2J_{3a,3b} = 18.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.2$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.84 (dq, $^2J_{3a,3b} = 18.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.2$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.22 (dq, $^2J_{1,p} = 25.0$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.1$ Hz, 1 H, 1-H), 4.07–4.16 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

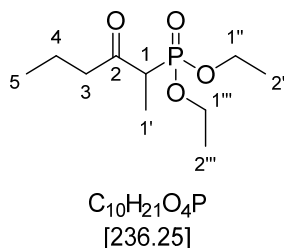
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.86 (C-4, CH₃), 11.21 (d, $^2J_{C,p} = 6.5$ Hz, C-1', CH₃), 16.52 (dd, $^3J_{C,p} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,p} = 2.7$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 36.57 (C-3, CH₂), 46.58 (d, $^1J_{C,p} = 127.1$ Hz, C-1, CH), 62.69 (dd, $^2J_{C,p} = 24.9$ Hz, $^2J_{C,p} = 6.7$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 206.81 (d, $^2J_{C,p} = 3.8$ Hz, C-2, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2981, 2941, 1715 (C=O), 1456, 1392, 1376, 1240 (R₃P=O), 1163, 1120, 1098, 1043, 1017 (P-OR), 952, 816, 698.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 222 (8) [(M)⁺], 193 (26) [(M-C₂H₅)⁺], 166 (100) [(C₆H₁₅O₃P)⁺], 139 (53) [(C₄H₁₂O₃P)⁺], 122 (22) [(C₄H₁₁O₂P)⁺], 109 (57) [(C₂H₆O₃P)⁺], 81 (34) [(H₂O₃P)⁺], 57 (53) [(C₃H₅O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.61.

6.3.1.3 1-Methyl-2-oxopentan-phosphonsäurediethylester (5c)



Das gewünschte Produkt **5c** (2.4 g, 9.9 mmol, 68 %) wurde aus Ethylphosphonsäurediethylester **4a** (2.4 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) und Buttersäuremethylester **3c** (1.7 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein leicht gelbes Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.40.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{5,4} = 7.4$ Hz, 3 H, 5-H), 1.32 (td, $^3J_{2'',1''}/^2J_{1'',1''} = 7.4$ Hz, $^4J_{2'',P}/^2J_{2'',P} = 4.4$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.31–1.38 (dd, $^3J_{1',P} = 18.5$ Hz, $^3J_{1',1} = 7.1$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.62 (sext, $^3J_{4,3/4,5} = 7.3$ Hz, 2 H, 4-H), 2.52 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.6$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.1$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.76 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.6$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.1$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.21 (dq, $^2J_{1,P} = 25.0$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.1$ Hz, 1 H, 1-H), 4.06–4.17 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 10.99 (d, $^2J_{C,P} = 6.5$ Hz, C-1', CH₃), 13.56 (C-5, CH₃), 16.37 (dd, $^3J_{C,P} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 3.1$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 17.00 (C-4, CH₂), 45.02 (C-3, CH₂), 46.61 (d, $^1J_{C,P} = 127.0$ Hz, C-1, CH), 62.52 (dd, $^2J_{C,P} = 23.6$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.8$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 206.11 (d, $^2J_{C,P} = 4.1$ Hz, C-2, C_{quat}).

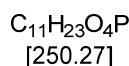
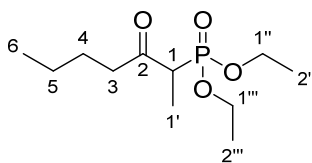
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2980, 2938, 1713 (C=O), 1456, 1392, 1368, 1296, 1249 (R₃P=O), 1164, 1127, 1098, 1049, 1017 (C-O), 956, 896, 871, 840, 790, 700.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 236 (6) [(M)⁺], 221 (3) [(M-CH₃)⁺], 193 (21) [(M-C₃H₇)⁺], 166 (100) [(C₆H₁₅O₃P)⁺], 139 (49) [(C₄H₁₂O₃P)⁺], 122 (18) [(C₄H₁₁O₂P)⁺], 109 (38) [(C₂H₆O₃P)⁺], 91 (14) [(C₂H₄O₂P)⁺], 81 (24) [(H₂O₃P)⁺], 71 (15) [(C₄H₇O)⁺], 55 (10) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.31.

HRMS (ESI): m/z = ber. für C₁₀H₂₂O₄P⁺ [(M+H)⁺]: 237.1250, gef.: 237.1252.

6.3.1.4 1-Methyl-2-oxohexan-phosphonsäurediethylester (5d)



Das gewünschte Produkt **5d** (1.6 g, 6.4 mmol, 87 %) wurde aus Ethylphosphonsäurediethylester **4a** (1.0 mL, 7.3 mmol, 1.0 Äq.) und Valeriansäuremethylester **3d** (1.0 mL, 7.3 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[356, 358]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 95:5) = 0.09.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{6,5} = 7.4$ Hz, 3 H, 6-H), 1.31 (td, $^3J_{2'',1''}/2''',1''' = 7.1$ Hz, $^4J_{2'',p}/2''',p = 4.2$ Hz, 8 H, 6-H, 2''-H, 2'''-H), 1.34 (dd, $^3J_{1',p} = 18.3$ Hz, $^3J_{1',1} = 7.1$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.55 (m, $J = 7.3$ Hz, 2 H, 4-H), 2.53 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.2$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.78 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.4$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.21 (dq, $^2J_{1,p} = 25.0$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.1$ Hz, 1 H, 1-H), 4.03–4.19 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

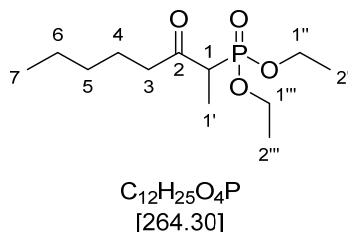
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 11.02 (d, $^2J_{C,P} = 6.4$ Hz, C-1', CH₃), 13.85 (C-6, CH₃), 16.36 (dd, $^3J_{C,P} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 2.9$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 22.16 (C-5, CH₂), 22.66 (C-4, CH₂), 42.89 (C-3, CH₂), 46.60 (d, $^1J_{C,P} = 127.0$ Hz, C-1, CH), 62.51 (dd, $^2J_{C,P} = 24.6$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.7$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 206.24 (d, $^2J_{C,P} = 4.0$ Hz, C-2, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2972, 2960, 2936, 2875, 1714 (C=O), 1456, 1392, 1378, 1368, 1290, 1248 (R₃P=O), 1163, 1128, 1098, 1047, 1019 (P-OR), 955, 832, 791, 699.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 250 (4) [(M)⁺], 221 (16) [(M-C₂H₅)⁺], 193 (22) [(M-C₄H₉)⁺], 166 (100) [(C₆H₁₅O₃P)⁺], 139 (50) [(C₄H₁₂O₃P)⁺], 109 (33) [(C₂H₆O₃P)⁺], 81 (22) [(H₂O₃P)⁺], 57 (18) [(C₄H₉)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.91.

6.3.1.5 1-Methyl-2-oxoheptan-phosphonsäurediethylester (5e)



Das gewünschte Produkt **5e** (2.5 g, 9.3 mmol, 64 %) wurde aus Ethylphosphonsäurediethylester **4a** (2.4 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) und Hexansäuremethylester **3e** (2.2 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[357]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.34.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{7,6} = 7.1$ Hz, 3 H, 7-H), 1.23–1.30 (m, 4 H, 5-H, 6-H), 1.32 (td, $^3J_{2'',1''} = 7.1$ Hz, $^4J_{2'',P/2''',P} = 4.1$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.36 (dd, $^3J_{1',1} = 7.1$ Hz, $^4J_{1',P} = 1.4$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.58 (m, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 4-H), 2.53 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.3$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.77 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.6$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.5$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.21 (dq, $^2J_{1,P} = 25.0$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.2$ Hz, 1 H, 1-H), 4.05–4.18 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

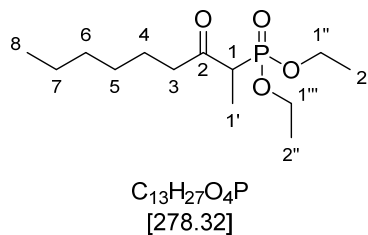
^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 11.17 (d, $^2J_{C,P} = 6.5$ Hz, C-1', CH_3), 14.06 (C-7, CH_3), 16.52 (dd, $^3J_{C,P} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 2.8$ Hz, C-2'', C-2''', CH_3), 22.59 (C-6, CH_2), 23.40 (C-4, CH_2), 31.36 (C-5, CH_2), 43.29 (C-3, CH_2), 46.75 (d, $^1J_{C,P} = 127.0$ Hz, C-1, CH), 62.66 (dd, $^2J_{C,P} = 23.8$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.7$ Hz, C-1'', C-1''', CH_2), 206.41 (d, $^2J_{C,P} = 4.0$ Hz, C-2, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2934, 2874, 1714 (C=O), 1456, 1392, 1376, 1248 ($R_3P=O$), 1163, 1098, 1020 (P-OR), 955, 791, 732, 701.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 265 (3) [(M+H)⁺], 250 (1) [(M- CH_3)⁺], 235 (2) [(M- C_2H_5)⁺], 221 (9) [(M- C_3H_7)⁺], 208 (8) [(M- C_4H_8)⁺], 193 (15) [(M- C_5H_{11})⁺], 166 (100) [($C_6H_{15}O_3P$)⁺], 139 (45) [($C_4H_{12}O_3P$)⁺], 122 (16) [($C_4H_{11}O_2P$)⁺], 109 (53) [($C_2H_6O_3P$)⁺], 99 (9) [($C_6H_{11}O$)⁺], 91 (20) [($C_2H_4O_2P$)⁺], 81 (32) [(H_2O_3P)⁺], 65 (13) [(C_4H_7O)⁺], 56 (23) [(C_4H_8O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.35.

6.3.1.6 1-Methyl-2-oxooctan-phosphonsäurediethylester (5f)



Das gewünschte Produkt **5f** (2.3 g, 8.3 mmol, 57 %) wurde aus Ethylphosphonsäurediethylester **4a** (2.4 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) und Heptansäuremethylester **3f** (2.5 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.36.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.87 (t, $^3J_{8,7} = 6.8$ Hz, 3 H, 8-H), 1.28 (m, 6 H, 5-H, 6-H, 7-H), 1.32 (td, $^3J_{2'',1''/2''',1'''} = 7.1$ Hz, $^4J_{2'',P/2''',P} = 4.1$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.34 (dd, $^3J_{1',P} = 18.3$ Hz, $^3J_{1',1} = 7.1$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.57 (mc, $J = 7.2$ Hz, 2 H, 4-H), 2.53 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.2$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.77 (dt, $^2J_{3a,3b} = 17.6$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.4$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.21 (dq, $^2J_{1,P} = 25.0$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.1$ Hz, 1 H, 1-H), 4.01–4.19 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 11.16 (d, $^2J_{C,P} = 6.5$ Hz, C-1', CH₃), 14.15 (C-8, CH₃), 16.51 (dd, $^3J_{C,P} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 2.9$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 22.62 (C-6/C-7, CH₂), 23.67 (C-4, CH₂), 28.85 (C-5, CH₂), 31.73 (C-6/C-7, CH₂), 43.33 (C-3, CH₂), 46.74 (d, $^1J_{C,P} = 126.9$ Hz, C-1, CH), 62.65 (dd, $^2J_{C,P} = 23.7$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.7$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 206.40 (d, $^2J_{C,P} = 4.0$ Hz, C-2, C_{quat}).

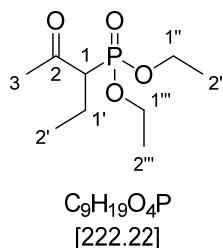
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2932, 2860, 1714 (C=O), 1457, 1392, 1377, 1247 (R₃P=O), 1164, 1098, 1049, 1017 (P-OR), 956, 791, 727.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 278 (2) [(M)⁺], 249 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 233 (2) [(M-C₂H₅O)⁺], 221 (8) [(M-C₄H₉)⁺], 208 (11) [(M-C₅H₁₀)⁺], 193 (13) [(M-C₆H₁₃)⁺], 166 (100) [(C₆H₁₅O₃P)⁺], 139 (45) [(C₄H₁₂O₃P)⁺], 122 (18) [(C₄H₁₁O₂P)⁺], 109 (23) [(C₂H₆O₃P)⁺], 91 (7) [(C₂H₄O₂P)⁺], 81 (14) [(H₂O₃P)⁺], 65 (6) [(H₃O₂P)⁺], 55 (8) [(C₄H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 11.00.

HRMS (ESI): m/z = ber. für C₁₃H₂₈O₄P⁺ [(M+H)⁺]: 279.1720, gef.: 279.1724.

6.3.1.7 1-Ethyl-2-oxopropan-phosphonsäurediethylester (5g)



Das gewünschte Produkt **5g** (2.0 g, 8.9 mmol, 59 %) wurde aus Propylphosphonsäurediethylester **4b** (2.8 g, 15 mmol, 1.0 Äq.) und Methylacetat **3a** (1.2 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[359]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.28.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.92 (t, $^3J_{2',1'} = 7.4$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.32 (td, $^3J_{2'',1''} = 7.1$ Hz, $^4J_{2'',P} = 1.6$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.86 (ddq, $^3J_{1',P} = 14.4$ Hz, $^3J_{1',2'} = 7.4$ Hz, $^3J_{1',1} = 3.7$ Hz, 1 H, 1'-H_a), 1.96–2.09 (m, 1 H, 1'-H_b), 2.31 (s, 3 H, 3-H), 3.05 (ddd, $^2J_{1,P} = 24.1$ Hz, $^3J_{1,1'a} = 10.6$ Hz, $^3J_{1,1'b} = 3.8$ Hz, 1 H, 1-H), 4.12 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

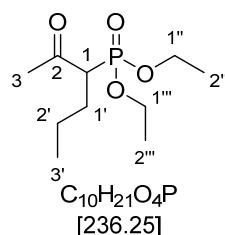
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.24 (d, $^3J_{C,P} = 15.8$ Hz, C-2', CH₃), 16.49 (dd, $^3J_{C,P} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 2.3$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 20.14 (d, $^2J_{C,P} = 5.1$ Hz, C-1', CH₂), 31.31 (C-3, CH₃), 55.56 (d, $^1J_{C,P} = 124.9$ Hz, C-1, CH), 62.66 (dd, $^2J_{C,P} = 16.9$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.8$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 204.02 (d, $^2J_{C,P} = 4.2$ Hz, C-2, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3476, 2979, 1714 (C=O), 1445, 1392, 1359, 1247 (R₃P=O), 1163, 1098, 1019 (C-O), 957, 867, 783.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 222 (<1) [(M)⁺], 207 (3) [(M-CH₃)⁺], 194 (8) [(M-C₂H₄)⁺], 180 (88) [(M-C₂H₂O)⁺], 165 (100) [(C₆H₁₄O₃P)⁺], 152 (19) [(C₅H₁₃O₃P)⁺], 138 (74) [(C₄H₁₁O₃P)⁺], 123 (43) [(C₃H₈O₃P)⁺], 109 (89) [(C₂H₆O₃P)⁺], 91 (18) [(C₂H₄O₂P)⁺], 81 (29) [(H₂O₃P)⁺], 65 (25) [(H₃O₂P)⁺], 55 (8) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.85.

6.3.1.8 1-Propyl-2-oxopropan-phosphonsäurediethylether (5h)



Das gewünschte Produkt **5h** (2.6 g, 11 mmol, 72 %) wurde aus Butylphosphonsäurediethylester **4c** (2.9 g, 15 mmol, 1.0 Äq.) und Methylacetat **3a** (1.2 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.38.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{3',2'} = 7.3$ Hz, 3 H, 3'-H), 1.20–3.10 (m, 2 H, 2'-H), 1.33 (td, $^3J_{2'',1''/2''',1'''} = 7.1$ Hz, $^4J_{2'',P/2''',P} = 2.3$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.75 (m_c, $J = 17.2$ Hz, $J = 13.8$ Hz, $J = 10.2$ Hz, $J = 4.9$ Hz, 1 H, 1'-H_a), 2.01 (dtd, $J = 24.2$ Hz, $J = 9.7$ Hz, $J = 4.9$ Hz, 1 H, 1'-H_b), 2.31 (s, 3 H, 3-H), 3.15 (ddd, $^2J_{1,P} = 24.4$ Hz, $^3J_{1,1'a} = 10.8$ Hz, $^3J_{1,1'b} = 3.6$ Hz, 1 H, 1-H), 4.04–4.20 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

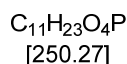
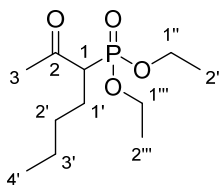
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.91 (C-3', CH₃), 16.50 (dd, $^3J_{C,P} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 2.7$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 21.89 (d, $^3J_{C,P} = 15.3$ Hz, C-2', CH₂), 28.60 (d, $^2J_{C,P} = 5.1$ Hz, C-1', CH₂), 31.24 (C-3, CH₃), 53.68 (d, $^1J_{C,P} = 124.9$ Hz, C-1, CH), 62.70 (dd, $^2J_{C,P} = 14.3$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.8$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 204.02 (d, $^2J_{C,P} = 4.3$ Hz, C-2, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3475, 2963, 2936 2876, 1715 (C=O), 1445, 1393, 1358, 1247 (R₃P=O), 1162, 1097, 1048, 1019 (P-OR), 955, 830, 795, 735.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 237 (1) [(M+H)⁺], 221 (1) [(M-CH₃)⁺], 207 (1) [(M-C₂H₅)⁺], 194 (37) [(M-C₃H₆)⁺], 179 (11) [(C₆H₁₂O₄P)⁺], 165 (100) [(C₆H₁₅O₃P)⁺], 152 (18) [(C₅H₁₃O₃P)⁺], 137 (47) [(C₄H₁₀O₃P)⁺], 123 (8) [(C₃H₈O₃P)⁺], 109 (46) [(C₂H₆O₃P)⁺], 99 (4) [(C₆H₁₁O)⁺], 91 (13) [(CHO₃P)⁺], 81 (13) [(H₃O₃P)⁺], 65 (8) [(H₃O₂P)⁺], 55 (16) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.54.

6.3.1.9 1-Butyl-2-oxopropan-phosphonsäurediethylester (5i)



Das gewünschte Produkt **5i** (1.7 g, 7.0 mmol, 56 %) wurde aus Pentylphosphonsäurediethylester **4d** (2.6 g, 12 mmol, 1.0 Äq.) und Methylacetat **3a** (1.0 mL, 12 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und durch Vakuumdestillation (60–103 °C, 3.3 mbar) als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[360]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.26.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{4',3'} = 7.1$ Hz, 3 H, 4'-H), 1.18–1.30 (m, 4 H, 2'-H, 3'-H), 1.32 (td, $^3J_{2'',1''/2''',1'''} = 7.1$ Hz, $^3J_{2'',P/2''',P} = 2.0$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.73–1.84 (m, 1 H, 1'-H_a), 1.95–2.08 (m, 1 H, 1'-H_b), 2.31 (s, 3 H, 3-H), 3.12 (ddd, $^2J_{1,P} = 24.3$ Hz, $^3J_{1,1'a} = 10.9$ Hz, $^3J_{1,1'b} = 3.6$ Hz, 1 H, 1-H), 4.06–4.16 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.89 (C-4', CH₃), 16.50 (dd, $^3J_{C,P} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 2.2$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 22.55 (C-3', CH₂), 26.30 (d, $^2J_{C,P} = 5.1$ Hz, C-1', CH₂), 30.83 (d, $^3J_{C,P} = 14.8$ Hz, C-2', CH₂), 31.27 (C-3, CH₃), 53.88 (d, $^1J_{C,P} = 124.7$ Hz, C-1, CH), 62.70 (dd, $^2J_{C,P} = 15.4$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.8$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 204.11 (d, $^2J_{C,P} = 4.2$ Hz, C-2, C_{quat}).

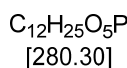
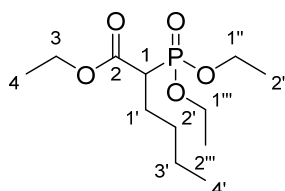
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3484, 2960, 2934, 2874, 1716 (C=O), 1444, 1393, 1358, 1246 (R₃P=O), 1162, 1098, 1047, 1019 (P-OR), 957, 848, 786.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 251 (1) [(M+H)⁺], 235 (1) [(M-CH₄)⁺], 221 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 208 (22) [(M-C₃H₆)⁺], 194 (28) [(C₇H₁₅O₄P)⁺], 179 (23) [(C₇H₁₆O₃P)⁺], 165 (100) [(C₆H₁₄O₃P)⁺], 151 (32) [(C₅H₁₂O₃P)⁺], 137 (31) [(C₄H₁₀O₃P)⁺], 123 (14) [(C₃H₈O₃P)⁺], 109 (47) [(C₂H₆O₃P)⁺], 99 (4) [(C₆H₁₁O)⁺], 91 (14) [(C₂H₄O₂P)⁺], 81 (14) [(H₃O₃P)⁺], 65 (11) [(H₃O₂P)⁺], 56 (16) [(C₄H₈)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.08.

6.3.2 Vorschrift zur Synthese des 1-Butyl,1-ethyl-2-acetat-phosphonsäurediethylesters (5m)

2-Bromhexansäureethylester (**184**, 3.7 mL, 20 mmol, 1.0 Äq.) und Triethylphosphit (**127a**, 7.0 mL, 40 mmol, 2.0 Äq.) wurden 18.5 h zum Rückfluss erhitzt (180 °C). Das gewünschte Produkt **5m** (4.9 g, 18 mmol, 88 %) wurde durch Vakuumdestillation (80–127 °C, 0 mbar) als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[262]



R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.27.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{4',3'} = 6.7$ Hz, 3 H, 4'-H), 1.28 (t, $^3J_{2'',1''/2''',1'''} = 7.1$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 1.33 (m_c, $J = 7.1$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 7 H, 4-H, 2'-H, 3'-H), 1.77–1.89 (m, 1 H, 1'-H_a), 1.92–2.03 (m, 1 H, 1'-H_b), 2.92 (ddd, $J = 22.5$ Hz, $J = 11.2$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1 H, 1-H), 4.08–4.18 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H), 4.18–4.26 (m, 2 H, 3-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.92 (C-4', CH₃), 14.31 (C-4, CH₃), 16.47–16.58 (m, C-2'', C-2''', CH₃), 22.38 (C-3', CH₂), 26.84 (d, $^2J_{C,P} = 4.9$ Hz, C-1', CH₂), 30.70 (d, $^3J_{C,P} = 14.9$ Hz, C-2', CH₂), 46.00 (d, $^1J_{C,P} = 131.1$ Hz, C-1, CH), 61.43 (C-3, CH₂), 62.79 (dd, $^2J_{C,P} = 11.2$ Hz, $^2J_{C,P} = 6.6$ Hz, C-1'', C-1''', CH₂), 169.50 (d, $^2J_{C,P} = 4.7$ Hz, C-2, C_{quat}).

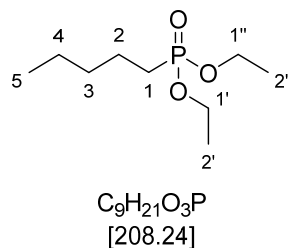
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2961, 2934, 2874, 1733 (COOR), 1445, 1392, 1369, 1331, 1253 (R₃P=O), 1159, 1114, 1098, 1019 (P-OR), 961, 905, 863, 846, 788.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 281 (13) [(M+H)⁺], 265 (2) [(M-CH₃)⁺], 251 (15) [(M-C₂H₅)⁺], 235 (93) [(M-C₂H₅O)⁺], 224 (100) [(M-C₄H₈)⁺], 207 (84) [(M-C₃H₅O₂)⁺], 197 (97) [(C₆H₁₄O₅P)⁺], 179 (60) [(C₆H₁₂O₄P)⁺], 165 (55) [(C₆H₁₄O₃P)⁺], 152 (95) [(C₅H₁₃O₃P)⁺], 138 (71) [(C₄H₁₁O₃P)⁺], 123 (61) [(C₃H₉O₃P)⁺], 109 (79) [(C₂H₅O₃P)⁺], 99 (33) [(C₆H₁₁O)⁺], 91 (48) [(C₂H₄O₂P)⁺], 81 (72) [(H₂O₃P)⁺], 69 (58) [(C₄H₅O)⁺], 55 (61) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.62.

6.3.3 Vorschrift zur Synthese des Pentylphosphonsäurediethylesters **4d** (*Michaelis-Arbuzov* Reaktion)

1-Brompentan (**179**, 1.0 Äq., 1.3 mL, 10 mmol) und Triethylphosphit (**127a**, 1.1 Äq., 1.9 mL, 11 mmol) wurden 20.5 h zum Rückfluss erhitzt (150 °C). Das Rohprodukt wurde zweimal mittels Vakuumdestillation (52–60 °C, 10.6 mbar) gereinigt. Das gewünschte Produkt **4d** (1.2 g, 5.8 mmol, 57 %) wurde dabei als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[361]



R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.32.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{5,4} = 7.1$ Hz, 3 H, 5-H), 1.32 (t, $^3J_{2',1'}/2'',1'' = 7.1$ Hz, 6 H, 2'-H, 2''-H), 1.29–1.39 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.55–1.64 (m, 2 H, 2-H), 1.66–1.77 (m, 2 H, 1-H), 3.99–4.17 (m, 4 H, 1'-H, 1''-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.98 (C-5, CH₃), 16.62 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 6.0$ Hz, C-2', C-2'', CH₃), 22.23 (d, $J_{\text{C,P}} = 5.2$ Hz, C-2/C-3/C-4, CH₂), 22.30 (d, $J_{\text{C,P}} = 5.2$ Hz, C-2/C-3/C-4, CH₂), 25.81 (d, $^1J_{\text{C,P}} = 140.4$ Hz, C-1, CH₂), 32.91 (d, $J_{\text{C,P}} = 16.9$ Hz, C-2/C-3/C-4, CH₂), 61.50 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 6.5$ Hz, C-1', C-1'', CH₂).

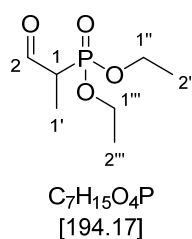
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3474 (OH), 2958, 2933, 2874, 1646, 1446, 1393, 1235 (R₃P=O), 1164, 1098, 1024 (P-OR), 957, 784, 731.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 209 (1) [(M+H)⁺], 193 (3) [(M-CH₂)⁺], 179 (22) [(M-C₂H₅)⁺], 165 (33) [(M-C₃H₇)⁺], 152 (88) [(M-C₄H₈)⁺], 138 (45) [(C₄H₁₁O₃P)⁺], 125 (100) [(C₃H₁₀O₃P)⁺], 111 (38) [(C₂H₈O₃P)⁺], 97 (37) [(CH₆O₃P)⁺], 91 (9) [(C₃H₈OP)⁺], 81 (25) [(H₃O₃P)⁺], 71 (3) [(C₅H₁₁)⁺], 65 (19) [(C₃O₂P)⁺], 55 (6) [(C₄H₈)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.82.

6.3.4 Vorschrift zur Synthese des 1-Methyl-2-oxoethan-phosphonsäurediethylesters (5j)

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde *n*-Butyllithium (5.8 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem THF (16 mL, 0.20 mol, 14 Äq.) vorgelegt und mit Hilfe eines Trockeneis/Aceton-Bads auf -78°C gekühlt. Ethylphosphonsäurediethylester (**4a**, 2.4 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) wurde zugegeben und 1 h bei -78°C gerührt. Anschließend wurde Dimethylformamid (**180**, 1.1 mL, 15 mmol, 1.0 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch 20 h gerührt, wobei sich die Temperatur von -78°C auf RT erwärmte. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit gesättigter Na_2CO_3 -Lösung und CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde entweder destillativ gereinigt ($95\text{--}103^{\circ}\text{C}$, 2–3 mbar, 1.1 g, 5.7 mmol, 39 % Ausbeute) oder ungereinigt zur Schätzung eingesetzt. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[261,362]



R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.16.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.34 (td, $J = 6.9$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 6 H, $2''\text{-H}$, $2'''\text{-H}$), 1.36 (dd, $^3J_{1',\text{P}} = 12.1$ Hz, $^3J_{1',1} = 7.0$ Hz, 3 H, $1'\text{-H}$), 3.08 (dq, $^2J_{1,\text{P}} = 27.7$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.0$ Hz, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, 1 H, 1-H), 4.16 (m, $J = 11.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, $J = 4.0$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 4 H, $1''\text{-H}$, $1'''\text{-H}$), 9.73–9.76 (m, 1 H, 2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.81 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 5.5$ Hz, C- $2''$, C- $2'''$ CH₃), 16.56 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 5.8$ Hz, C- $1'$, CH₃), 47.64 (d, $^1J_{\text{C,P}} = 129.1$ Hz, C-1, CH), 62.82 (dd, $^2J_{\text{C,P}} = 14.2$ Hz, $^2J_{\text{C,P}} = 6.8$ Hz, C- $1''$, C- $1'''$, CH₂), 196.62 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 3.9$ Hz, C-2, CH).

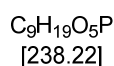
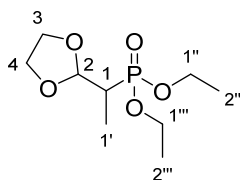
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2984, 2746, 1727 (CHO), 1660 (Enol), 1632, 1445, 1393, 1226, 1182, 1153, 1097, 1017 (P-OR), 959, 863, 787, 740.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 194 (5) [(M)⁺], 177 (<1) [(C₇H₁₄O₃P)⁺], 166 (52) [(M-CO)⁺], 149 (21) [(M-C₂H₅O)⁺], 139 (74) [(C₄H₁₂O₃P)⁺], 122 (31) [(C₃H₇O₃P)⁺], 111 (100) [(C₂H₈O₃P)⁺], 91 (23) [(C₂H₄O₂P)⁺], 82 (57) [(H₄O₃P)⁺], 65 (35) [(H₃O₂P)⁺], 57 (16) [(C₃H₅O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.88.

6.3.5 Vorschrift zur Synthese des 1-(1,3-Dioxolan-2-yl)ethyl-phosphonsäurediethylesters (**5k**)

Der 1-Methyl-2-oxoethan-phosphonsäurediethylester (**5j**, 1.00–3.08 g, 5.15–15.9 mmol, 1.00 Äq.) als Rohprodukt und Ethylenglycol (**17**, 0.29–0.98 mL, 5.15–17.5 mmol, 1.10 Äq.) wurden in Toluol (20–62 mL, 0.2–0.6 mol, 37 Äq.) vorgelegt. *p*-Toluolsulfonsäure (88.7–273 mg, 0.50–1.59 mmol, 0.1 Äq.) wurde zugegeben und das Gemisch 18.5–19 h bei 80–120 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Et₂O extrahiert, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (erst PE/EE 90:10, dann 100 % EE) gereinigt. Das Produkt **5k** (1.01–2.92 g, 4.23–12.3 mmol, 77–82 %) lässt sich auf der DC nur im konzentrierten Zustand mit Anisaldehyd-Lösung schwach anfärben und konnte als ein farbloses Öl isoliert werden.



R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.13.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.20 (dd, $^3J_{1',P} = 17.7$ Hz, $^3J_{1',1} = 7.3$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.32 (t, $^3J_{2'',1''/2''',1'''} = 7.1$ Hz, 6 H, 2''-H, 2'''-H), 2.25 (dq, $^2J_{1,P} = 21.5$ Hz, $^3J_{1,1'} = 7.3$ Hz, $^3J_{1,2} = 3.9$ Hz, 1 H, 1-H), 3.85–3.94 (m, 2 H, 3-H/4-H), 3.95–4.04 (m, 2 H, 3-H/4-H), 4.09–4.21 (m, 4 H, 1''-H, 1'''-H), 5.13 (td, $^3J_{2,1} = 3.9$ Hz, $^4J_{2,3/4} = 1.2$ Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.02 (d, $^2J_{C,P} = 5.4$ Hz, C-1', CH₃), 16.57 (dd, $^1J_{2'',1''/2''',1'''} = 6.0$ Hz, $^3J_{C,P} = 3.4$ Hz, C-2'', C-2''', CH₃), 36.33 (d, $^1J_{C,P} = 139.7$ Hz, C-1, CH), 62.03 (dd, $^2J_{C,P} = 23.5$ Hz, $^1J_{1'',2''/1''',2'''} = 6.5$ Hz, C-1''/C-1''', CH₂), 65.38 (C-3/C-4, CH₂), 65.52 (C-3/C-4, CH₂), 102.83 (d, $^2J_{2,P} = 1.3$ Hz, C-2, CH).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2983, 2895, 1736, 1646, 1458, 1394, 1368, 1251, 1221, 1151, 1099, 1050, 1017 (P-OR), 945, 783, 723.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 237 (<1) [(M-H)⁺], 193 (7) [(M-C₂H₅O)⁺], 179 (1) [(C₆H₁₂O₄P)⁺], 167 (15) [(C₅H₉O₄P)⁺], 139 (8) [(C₃H₈O₄P)⁺], 121 (4) [(C₃H₆O₃P)⁺], 111 (13) [(C₂H₈O₃P)⁺], 100 (22) [(C₅H₈O₂)⁺], 91 (4) [(C₂H₄O₂P)⁺], 81 (9) [(H₃O₃P)⁺], 73 (100) [(C₃H₅O₂)⁺], 65 (7) [(H₃O₂P)⁺].

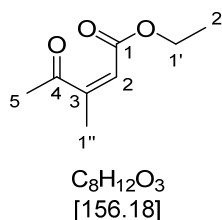
GC/MS: t_R [min] = 10.11.

6.3.6 Allgemeine Vorschrift zur Synthese der α,β -ungesättigten γ -Ketoester (7) (HWE-Reaktion)

Unter inerten *Schlenk*-Bedingungen wurde der entsprechende Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5** (1.0 Äq., 0.22–0.28 g/mmol) in trockenem THF (18 Äq., 0.08 mL/mmol) vorgelegt und 30 min bei -78°C (Trockeneis/Aceton-Bad) gerührt. Dann wurde *n*-Butyllithium [1.1 Äq., 0.42–0.45 mL/mmol, 2.2–2.5 M in Hexan (titriert nach Methode 6.2.1)] zugegeben und nochmals 30 min bei -78°C gerührt. Anschließend wurde Glyoxalsäureethylester (**6b**, 1.2 Äq., 0.51–2.47 mL/mmol, 50 % in Toluol, 8.25–20 Mol-% entsprechend der $^1\text{H-NMR}$ Analyse) zugegeben und 16.5–23.5 h gerührt, währenddessen sich die Temperatur von -78°C auf RT erwärmte.

Die Synthese des α,β -ungesättigten γ -Ketoesters **7i** wurde zunächst wie oben beschrieben aus Phosphonsäurediethylester **5a** und 2-Oxohexansäureethylester (**6a**) durchgeführt. Das letztere Substrat **6a** wurde wie in Kapitel 6.3.8 (S. 237) beschrieben hergestellt. Da jedoch diese Reaktion nicht zum gewünschten Produkt **7i** geführt hat, wurde die Synthese entsprechend modifiziert. Dafür wurde der entsprechende Phosphonsäurediethylester **5m** (1.0 Äq., 0.28 g/mmol) in trockenem THF (18 Äq., 0.08 mL/mmol) vorgelegt und 30 min bei -78°C (Trockeneis/Aceton-Bad) gerührt. Dann wurde Kaliumcarbonat (1.1 Äq.) zugegeben und nochmals 30 min bei -78°C gerührt. Anschließend wurde wässriges Methylglyoxal (**183**, 1.2 Äq., 40 %) zugegeben und 16.5–23.5 h gerührt, währenddessen sich die Temperatur von -78°C auf RT erwärmte. Die Extraktion der Reaktionsgemische beider Methoden wurde dreimal mit gesättigter NH_4Cl -Lösung (ca. 30 mL/mol Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5**) und Et_2O (ca. 50 mL/mol Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5**) durchgeführt. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton, *n*-Pentan/ Et_2O oder PE/EE, 95:5 oder 98:2) gereinigt. Verbindung (*Z*)-**7d** konnte auch mittels Vakuumdestillation (18.6 mbar, 75 – 114°C) isoliert werden. Die Produkte sind auf der DC-Folie UV-aktiv und lassen sich mit Molybdatophosphorsäure-Lösung anfärben.

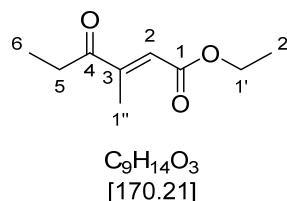
6.3.6.1 (Z)-3-Methyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7j)



Das (Z)-Isomer (Z)-7j (0.37 g, 2.4 mmol, 80 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester 5a (620 mg, 2.98 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester 6b (3.3 mL, 3.6 mmol, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[279]

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.23–1.28 (t, ³J_{2',1'} = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H), 1.98 (d, ³J_{1'',2} = 1.6 Hz, 3 H, 1''-H), 2.35 (s, 3 H, 5-H), 4.15 (q, ³J_{1',2'} = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 5.68 (q, ⁴J_{2,1''} = 1.6 Hz, 1 H, 2-H).

6.3.6.2 (E)-3-Methyl-4-oxohex-2-ensäureethylester (7a)



Das (E)-Isomer (E)-7a (32.6 mg, 0.192 mmol, 2 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester 5b (1.99 g, 8.96 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester 6b (17 mL, 0.17 mol, 13 Mol-%, 1.20 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (n-Pentan/Aceton 80:20) = 0.68.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.12 (t, ³J_{6,5} = 7.2 Hz, 3 H, 6-H), 1.32 (t, ³J_{2',1'} = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H), 2.23 (d, ³J_{1'',2} = 1.5 Hz, 3 H, 1''-H), 2.73 (q, ³J_{5,6} = 7.2 Hz, 2 H, 5-H), 4.24 (q, ³J_{1',2'} = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 6.55 (q, ⁴J_{2,1''} = 1.5 Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.33 (C-6, CH₃), 13.56 (C-1'', CH₃), 14.34 (C-2', CH₃), 31.61 (C-5, CH₂), 60.87 (C-1', CH₂), 125.28 (C-2, CH), 150.51 (C-3, C_{quat}), 166.42 (C-1, C_{quat}), 202.88 (C-4, C_{quat}).

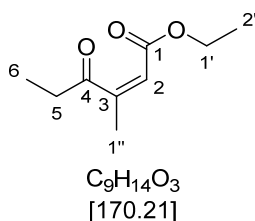
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2983, 2942, 1738, 1723 (C=C-CO-O), 1687 (C=C-C=O), 1638, 1447, 1372, 1333, 1238, 1217, 1181, 1091, 1046, 980, 938, 884, 847, 807.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 170 (5) [(M)⁺], 141 (53) [(M-C₂H₅)⁺], 124 (84) [(C₇H₈O₂)⁺], 113 (23) [(C₆H₉O₂)⁺], 96 (20) [(C₆H₈O)⁺], 85 (43) [(C₅H₉O)⁺], 68 (45) [(C₄H₄O)⁺], 57 (100) [(C₃H₅O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.32.

GC: t_R [min] = 33.5 (FS Lipodex G, 60 °C-5 min, 1 °C/min auf 90 °C, 10 °C/min auf 150 °C-1 min).

6.3.6.3 (Z)-3-Methyl-4-oxohex-2-ensäureethylester (7a)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7a** (1.10 g, 6.46 mmol, 72 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5b** (1.99 g, 8.96 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (17 mL, 0.17 mol, 13 Mol-%, 1.20 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.73.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.15 (t, ³J_{6,5} = 7.2 Hz, 3 H, 6-H), 1.25 (t, ³J_{2',1'} = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H), 1.98 (d, ³J_{1'',2} = 1.5 Hz, 3 H, 1''-H), 2.63 (q, ³J_{5,6} = 7.2 Hz, 2 H, 5-H), 4.14 (q, ³J_{1',2'} = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.70 (d, ⁴J_{2,1''} = 1.5 Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.46 (C-6, CH₃), 14.26 (C-2', CH₃), 20.90 (C-1'', CH₃), 34.48 (C-5, CH₂), 60.79 (C-1', CH₂), 117.41 (C-2, CH), 157.69 (C-3, C_{quat}), 165.32 (C-1, C_{quat}), 209.27 (C-4, C_{quat}).

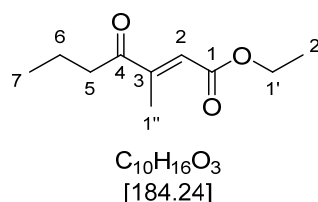
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2983, 2942, 1702 (C=C-CO-O), 1644, 1444, 1410, 1373, 1334, 1269, 1229, 1144, 1094, 1076, 1037, 970, 859, 803, 732.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 170 (<1) [(M)⁺], 155 (<1) [(M-CH₄)⁺], 141 (55) [(M-C₂H₅)⁺], 125 (21) [(C₇H₉O₂)⁺], 113 (100) [(C₆H₉O₂)⁺], 97 (5) [(C₆H₉O)⁺], 85 (15) [(C₅H₉O)⁺], 68 (7) [(C₄H₄O)⁺], 57 (14) [(C₃H₅O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.46.

GC: t_R [min] = 2.2 (Hydrodex β -TBDAC, 150 °C -10 min), 29.4 (FS Lipodex G, 60 °C -5 min, 1 °C/min auf 85 °C, 10 °C/min auf 150 °C-1 min).

6.3.6.4 (*E*)-3-Methyl-4-oxohept-2-ensäureethylester (**7b**)



Das (*E*)-Isomer (*E*)-**7b** (0.19 g, 1.03 mmol, 4 %) wurde kumulativ aus drei Reaktionsansätzen aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5c** [1] 1.48 g, 6.26 mmol, 2) 1.88 g, 7.96 mmol, 3) 2.37 g, 10.0 mmol, 1.00 Äq.] und Glyoxalsäureethylester **6b** [1] 12 mL, 0.12 mol, 2) 15 mL, 0.15 mol, 3) 19 mL, 0.19 mol, 13 Mol-%, 1.20 Äq.] synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[363]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.63.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.94 (t, $^3J_{7,6} = 7.4$ Hz, 3 H, 7-H), 1.32 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.66 (sext, $^3J_{6,7/6,5} = 7.4$ Hz, 2 H, 6-H), 2.22 (d, $^3J_{1'',2} = 1.5$ Hz, 3 H, 1''-H), 2.68 (t, $^3J_{5,6} = 7.2$ Hz, 2 H, 5-H), 4.24 (q, $^3J_{1',2'} = 7.2$ Hz, 2 H, 1'-H), 6.54 (q, $^4J_{2,1''} = 1.5$ Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.52 (C-1'', CH₃), 13.88 (C-7, CH₃), 14.36 (C-2', CH₃), 17.84 (C-6, CH₂), 40.29 (C-5, CH₂), 60.88 (C-1', CH₂), 125.33 (C-2, CH), 150.79 (C-3, C_{quat}), 166.44 (C-1, C_{quat}), 202.52 (C-4, C_{quat}).

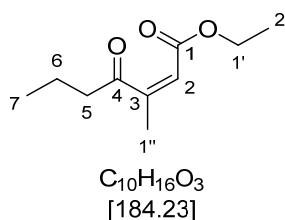
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2965, 2877, 1721 (C=C-CO-O), 1685 (C=C-C=O), 1639, 1447, 1367, 1338, 1273, 1210, 1179, 1111, 1061, 1032, 983, 896, 859, 808, 754.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 184 (5) [(M)⁺], 169 (<1) [(M-CH₃)⁺], 155 (1) [(M-C₂H₅)⁺], 141 (100) [(M-C₃H₇)⁺], 123 (5) [(C₇H₇O₂)⁺], 111 (55) [(C₇H₁₁O)⁺], 96 (33) [(C₆H₈O)⁺], 85 (55) [(C₅H₉O)⁺], 71 (41) [(C₄H₇O)⁺], 55 (9) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.53.

GC: t_R [min] = 36.9 (Hydrodex β -TBDAC, 60 °C-5 min, 2 °C/min auf 130 °C, 10 °C/min auf 150 °C-1 min), 22.75 (Hydrodex β -3P, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 150 °C, 1 °C/min auf 170 °C-5 min).

6.3.6.5 (Z)-3-Methyl-4-oxohept-2-ensäureethylester (7b)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7b** (3.61 g, 198 mmol, 81 %) wurde kumulativ aus drei Reaktionsansätzen aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5c** [1] 1.48 g, 6.26 mmol, 2) 1.88 g, 7.96 mmol, 3) 2.37 g, 10.0 mmol, 1.00 Äq.] und Glyoxalsäureethylester **6b** [1] 12 mL, 0.12 mol, 2) 15 mL, 0.15 mol, 3) 19 mL, 0.19 mol, 13 Mol-%, 1.20 Äq.] synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Außerdem wurden 260 mg (1.40 mmol, 6 %, [(E)/(Z)] = 1:15) als ein Isomereingemisch erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[363]

R_f (n-Pentan/Aceton 80:20) = 0.69.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.96 (t, $^3J_{7,6}$ = 7.5 Hz, 3 H, 7-H), 1.25 (t, $^3J_{2',1'}$ = 7.2 Hz, 3 H, 2'-H), 1.69 (sext, $^3J_{6,7/6,5}$ = 7.4 Hz, 2 H, 6-H), 1.97 (d, $^3J_{1'',2}$ = 1.7 Hz, 3 H, 1''-H), 2.59 (t, $^3J_{5,6}$ = 7.4 Hz, 2 H, 5-H), 4.14 (q, $^3J_{1',2'}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.68 (q, $^4J_{2,1''}$ = 1.5 Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.84 (C-7, CH₃), 14.26 (C-2', CH₃), 16.72 (C-6, CH₂), 20.84 (C-1'', CH₃), 43.17 (C-5, CH₂), 60.77 (C-1', CH₂), 117.35 (C-2, CH), 157.60 (C-3, C_{quat}), 165.28 (C-1, C_{quat}), 208.62 (C-4, C_{quat}).

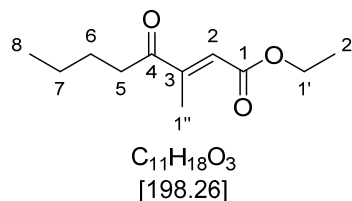
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2965, 2877, 1704 (C=C-CO-O), 1644, 1444, 1373, 1343, 1269, 1231, 1144, 1115, 1096, 1039, 898, 859, 750.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 184 (<1) [(M)⁺], 169 (1) [(M-CH₄)⁺], 156 (<1) [(M-C₂H₄)⁺], 141 (47) [(M-C₃H₇)⁺], 123 (2) [(C₇H₇O₂)⁺], 113 (100) [(C₆H₉O₂)⁺], 97 (7) [(C₆H₉O)⁺], 85 (13) [(C₄H₇O)⁺], 68 (9) [(C₄H₄O)⁺], 55 (4) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.24.

GC: t_R [min] = 32.2 (Hydrodex β -TBDAC, 60°C-5 min, 2°C/min auf 130°C, 10°C/min auf 150°C-1 min).

6.3.6.6 (*E*)-3-Methyl-4-oxooct-2-ensäureethylester (**7c**)



Beide Isomere des gewünschten Produkts (*E/Z*)-**7c** {0.78 g, 3.93 mmol, 78 % [(*E*)/(*Z*) = 1:5]} wurden aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5d** (1.28 g, 5.10 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (15 mL, 0.15 mol, 9 Mol-%, 1.20 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein. Allerdings wurde das (*E*)-Isomer in der Literatur als (*Z*) annotiert.^[364]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 95:5) = 0.49.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{8,7} = 7.4$ Hz, 3 H, 8-H), 1.37–1.28 (m, 5 H, 2'-H, 7-H), 1.55–1.63 (m, 2 H, 6-H), 2.21 (d, $^4J_{1'',2} = 1.5$ Hz, 3 H, 1''-H), 2.68 (t, $^3J_{5,6} = 7.4$ Hz, 2 H, 5-H), 4.23 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 6.52 (q, $^4J_{2,1''} = 1.6$ Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.37 (C-1'', CH₃), 13.82 (C-8, CH₃), 14.17 (C-2', CH₃), 22.29 (C-7, CH₂), 26.31 (C-6, CH₂), 37.92 (C-5, CH₂), 60.69 (C-1', CH₂), 125.11 (C-2, CH), 150.61 (C-3, C_{quat}), 166.25 (C-1, C_{quat}), 202.46 (C-4, C_{quat}).

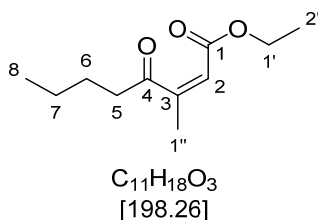
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2960, 2935, 2874, 1722 (C=C-CO-O), 1685 (C=C-C=O), 1639, 1466, 1367, 1336, 1209, 1178, 1114, 1096, 1063, 1033, 877, 801, 734.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 199 (<1) [(M+H)⁺], 156 (5) [(C₈H₁₂O₃)⁺], 141 (60) [(C₇H₉O₃)⁺], 125 (94) [(C₈H₁₃O)⁺], 110 (100) [(C₇H₁₀O)⁺], 85 (66) [(C₅H₉O)⁺], 57 (45) [(C₄H₉)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.37.

GC: t_R [min] = 4.68 (Hydrodex β -TBDAC, 150 °C-10 min), 69.73 (Hydrodex β -TBDAC, 90 °C-60 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

6.3.6.7 (Z)-3-Methyl-4-oxooct-2-ensäureethylester (7c)



R_f (*n*-Pentan/Aceton 95:5) = 0.35.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.92 (t, $^3J_{8,7} = 7.3$ Hz, 3 H, 8-H), 1.25 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.36 (sext, $^3J_{7,8/7,6} = 7.5$ Hz, 2 H, 7-H), 1.65 (quin, $^3J_{6,5/6,7} = 7.5$ Hz, 2 H, 6-H), 1.98 (d, $^4J_{1'',2} = 1.6$ Hz, 3 H, 1''-H), 2.61 (t, $^3J_{5,6} = 7.5$ Hz, 2 H, 5-H), 4.14 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.68 (q, $^4J_{2,1''} = 1.6$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.88 (C-8, CH_3), 14.11 (C-2', CH_3), 20.73 (C-1'', CH_3), 22.28 (C-7, CH_2), 25.21 (C-6, CH_2), 40.88 (C-5, CH_2), 60.61 (C-1', CH_2), 117.17 (C-2, CH), 157.48 (C-3, C_{quat}), 162.12 (C-1, C_{quat}), 208.59 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2960, 2937, 2874, 1706 (C=C-CO-O), 1644, 1444, 1372, 1345, 1265, 1225, 1140, 1117, 1096, 1040, 961, 922, 859, 733.

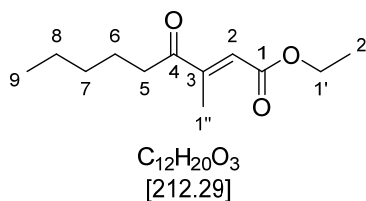
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 198 (<1) [(M)⁺], 183 (3) [(M- CH_4)⁺], 156 (4) [($C_8H_{12}O_3$)⁺], 141 (32) [($C_7H_9O_3$)⁺], 113 (100) [($C_6H_9O_2$)⁺], 85 (15) [(C_5H_9O)⁺], 55 (24) [(C_3H_3O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.64.

GC: t_R [min] = 4.23 (Hydrodex β -TBDAC, 150 °C-10 min), 64.05 (Hydrodex β -TBDAC, 90 °C-60 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für $C_{11}H_{19}O_3^+$ [(M+H)⁺]: 199.1329, gef.: 199.1327.

6.3.6.8 (*E*)-3-Methyl-4-oxonon-2-ensäureethylester (7d)



Das (*E*)-Isomer (*E*)-**7d** (180.5 mg, 0.8503 mmol, 9 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5e** (2.46 g, 9.31 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (6.7 mL, 11 mmol, 17 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.69.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{9,8} = 7.0$ Hz, 3 H, 9-H), 1.25–1.38 (m, 7 H, 2'-H, 7-H, 8-H), 1.63 (m, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 6-H), 2.21–2.24 (d, $^4J_{1'',2} = 1.5$ Hz, 3 H, 1''-H), 2.69 (t, $^3J_{5,6} = 7.4$ Hz, 2 H, 5-H), 4.24 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 6.54 (q, $^4J_{2,1''} = 1.4$ Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.56 (C-1'', CH₃), 14.06 (C-9, CH₃), 14.35 (C-2', CH₃), 22.60 (C-8, CH₂), 24.08 (C-6, CH₂), 31.52 (C-7, CH₂), 38.36 (C-5, CH₂), 60.87 (C-1', CH₂), 125.28 (C-2, CH), 150.80 (C-3, C_{quat}), 166.44 (C-1, C_{quat}), 202.68 (C-4, C_{quat}).

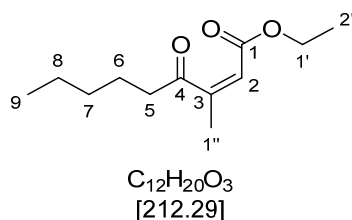
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2934, 2874, 1722 (C=C-CO-O), 1686 (C=C-C=O), 1639, 1466, 1444, 1367, 1338, 1291, 1204, 1178, 1117, 1096, 1062, 1037, 883, 844, 812, 729.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 213 (<1) [(M+H)⁺], 167 (32) [(M-C₂H₅O)⁺], 156 (6) [(C₇H₈O₂)⁺], 139 (98) [(C₆H₉O₂)⁺], 127 (17) [(C₆H₈O)⁺], 110 (100) [(C₅H₉O)⁺], 99 (13) [(C₄H₄O)⁺], 85 (29) [(C₃H₅O)⁺], 71 (13) [(C₅H₁₁)⁺], 55 (11) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.04.

GC: t_R [min] = 77.2 (Hydrodex β -3P, 90°C-60 min, 5°C/min auf 150°C-5 min, 5°C/min auf 180°C-5 min).

6.3.6.9 (Z)-3-Methyl-4-oxonon-2-ensäureethylester (7d)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7d** (1.51 g, 7.10 mmol, 76 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5e** (2.46 g, 9.31 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (6.7 mL, 11 mmol, 17 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. 80.5 mg {0.4 mmol, 4 %, [(E)/(Z) = 1:10]} wurden als ein Isomerengemisch erhalten.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.77.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{9,8}$ = 6.7 Hz, 3 H, 9-H), 1.25 (t, $^3J_{2',1'}$ = 6.7 Hz, 3 H, 2'-H), 1.28–1.37 (m, 4 H, 7-H, 8-H), 1.67 (m, J = 7.5 Hz, 2 H, 6-H), 1.98 (d, $^4J_{1'',2}$ = 1.6 Hz, 3 H, 1''-H), 2.61 (t, $^3J_{5,6}$ = 7.5 Hz, 2 H, 5-H), 4.14 (q, $^3J_{1',2'}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.69 (q, $^4J_{2,1''}$ = 1.5 Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.08 (C-9, CH₃), 14.26 (C-2', CH₃), 20.89 (C-1'', CH₃), 22.64 (C-8, CH₂), 22.97 (C-6, CH₂), 31.48 (C-7, CH₂), 41.29 (C-5, CH₂), 60.77 (C-1', CH₂), 117.33 (C-2, CH), 157.63 (C-3, C_{quat}), 165.28 (C-1, C_{quat}), 208.78 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958, 2934, 2873, 1707 (C=C-CO-O), 1645, 1444, 1373, 1343, 1222, 1140, 1097, 1041, 860, 729.

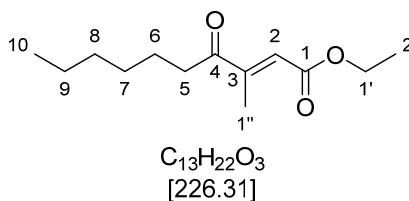
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 212 (<1) [(M)⁺], 167 (13) [(M-C₂H₅O)⁺], 156 (9) [(C₇H₈O₂)⁺], 141 (46) [(C₇H₉O)⁺], 127 (12) [(C₆H₈O)⁺], 113 (100) [(C₆H₉O₂)⁺], 99 (6) [(C₄H₄O)⁺], 85 (12) [(C₃H₅O)⁺], 68 (8) [(C₄H₄O)⁺], 55 (9) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.83.

GC: t_R [min] = 73.8 (Hydrodex β -3P, 90°C-60 min, 5°C/min auf 150°C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für C₁₂H₂₁O₃⁺ [(M+H)⁺]: 213.1485, gef.: 213.1487.

6.3.6.10 (E)-3-Methyl-4-oxodec-2-ensäureethylester (7e)



Das (E)-Isomer (E)-**7e** (181.9 mg, 0.8038 mmol, 9 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5f** (2.36 g, 8.48 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (5.2 mL, 10 mmol, 20 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.71.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{10,9} = 6.9$ Hz, 3 H, 10-H), 1.19–1.43 (m, 9 H, 2'-H, 7-H, 8-H, 9-H), 1.62 (m, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 6-H), 2.23 (d, $^4J_{1'',2} = 1.5$ Hz, 3 H, 1''-H), 2.69 (t, $^3J_{5,6} = 7.4$ Hz, 2 H, 5-H), 4.24 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 6.54 (q, $^4J_{2,1''} = 1.5$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.56 (C-1'', CH_3), 14.16 (C-10, CH_3), 14.35 (C-2', CH_3), 22.64 (C-9, CH_2), 24.35 (C-6, CH_2), 29.06 (C-7, CH_2), 31.73 (C-8, CH_2), 38.40 (C-5, CH_2), 60.87 (C-1', CH_2), 125.28 (C-2, CH), 150.80 (C-3, C_{quat}), 166.44 (C-1, C_{quat}), 202.68 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2931, 2860, 1722 (C=C-CO-O), 1686 (C=C-C=O), 1640, 1465, 1367, 1338, 1275, 1204, 1179, 1117, 1096, 1066, 1037, 871, 811, 726.

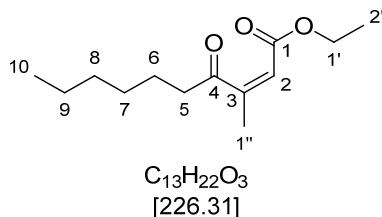
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 227 (<1) [(M+H)⁺], 211 (<1) [(M-CH₄)⁺], 197 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 181 (26) [(C₁₁H₁₇O₂)⁺], 153 (97) [(C₁₀H₁₇O)⁺], 141 (46) [(C₉H₁₇O)⁺], 127 (19) [(C₈H₁₅O)⁺], 110 (100) [(C₇H₁₀O)⁺], 95 (6) [(C₆H₇O)⁺], 85 (28) [(C₆H₁₃)⁺], 69 (12) [(C₄H₅O)⁺], 55 (8) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.51.

GC: t_R [min] = 52.9 (Hydrodex β -3P, 60°C-5 min, 5°C/min auf 130°C-30 min, 10°C/min auf 180°C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für $C_{13}H_{23}O_3^+$ [(M+H)⁺]: 227.1642, gef.: 227.1638.

6.3.6.11 (Z)-3-Methyl-4-oxodec-2-ensäureethylester (7e)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7e** (1.56 g, 6.89 mmol, 81 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5f** (2.36 g, 8.48 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (5.2 mL, 10 mmol, 20 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.68.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{10,9}$ = 6.7 Hz, 3 H, 10-H), 1.25 (t, $^3J_{2',1'}$ = 7.2 Hz, 3 H, 2'-H), 1.26–1.37 (m, 6 H, 7-H, 8-H, 9-H), 1.66 (m, J = 7.5 Hz, 2 H, 6-H), 1.98 (d, $^4J_{1'',2}$ = 1.6 Hz, 3 H, 1''-H), 2.61 (t, $^3J_{5,6}$ = 7.5 Hz, 2 H, 5-H), 4.14 (q, $^3J_{1',2'}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.68 (q, $^4J_{2,1''}$ = 1.6 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 14.27 (C-2', CH_3), 20.90 (C-1'', CH_3), 22.66 (C-7/C-8/C-9, CH_2), 23.26 (C-6, CH_2), 28.99 (C-7/C-8/C-9, CH_2), 31.79 (C-7/C-8/C-9, CH_2), 41.35 (C-5, CH_2), 60.78 (C-1', CH_2), 117.34 (C-2, CH), 157.64 (C-3, C_{quat}), 165.29 (C-1, C_{quat}), 208.81 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2931, 2859, 1707 (C=C-CO-O), 1645, 1444, 1372, 1344, 1233, 1219, 1140, 1097, 1042, 859, 813, 726.

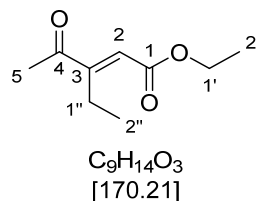
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 226 (<1) [(M)⁺], 211 (1) [(M- CH_4)⁺], 197 (2) [(M- C_2H_5)⁺], 181 (12) [($C_{11}H_{17}O_2$)⁺], 171 (3) [($C_9H_{14}O_3$)⁺], 153 (28) [($C_{10}H_{17}O$)⁺], 141 (54) [(C_7H_9O)⁺], 127 (15) [(C_6H_7O)⁺], 113 (100) [(C_6H_9O)⁺], 95 (4) [(C_5H_3O)⁺], 85 (14) [(C_6H_{13})⁺], 68 (9) [(C_4H_4O)⁺], 55 (11) [(C_3H_3O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.32.

GC: t_R [min] = 49.0 (Hydrodex β -3P, 60°C-5 min, 5°C/min auf 130°C-30 min, 10°C/min auf 150°C-1 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für $C_{13}H_{23}O_3^+$ [(M+H)⁺]: 227.1642, gef.: 227.1640.

6.3.6.12 (E)-3-Ethyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7f)



Das (*E*)-Isomer (*E*)-**7f** (<0.14 g, <0.83 mmol, <22 %, 54 % Reinheit laut NMR) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5g** (849 mg, 3.82 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (3.9 mL, 4.6 mmol, 12 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.86.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.03 (t, $^3J_{2'',1''} = 7.5$ Hz, 3 H, 2''-H), 1.32 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 2.37 (s, 3 H, 5-H), 2.75 (q, $^3J_{1'',2''} = 7.5$ Hz, 2 H, 1''-H), 4.24 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 6.51 (s, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.80 (C-2'', CH₃), 14.32 (C-2', CH₃), 20.29 (C-1'', CH₂), 26.65 (C-5, CH₃), 60.95 (C-1', CH₂), 126.11 (C-2, CH), 156.36 (C-3, C_{quat}), 166.04 (C-1, C_{quat}), 199.90 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2978, 2940, 2879, 1721 (C=C-CO-O), 1684 (C=C-C=O), 1636, 1462, 1383, 1365, 1348, 1284, 1229, 1181, 1121, 1096, 1074, 1050, 1022, 987, 953, 908, 878, 806, 762, 712, 659.

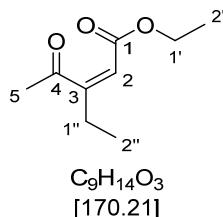
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 170 (<1) [(M)⁺], 155 (2) [(M-CH₄)⁺], 141 (2) [(M-C₂H₅)⁺], 124 (100) [(C₇H₈O₂)⁺], 96 (37) [(C₆H₈O)⁺], 81 (53) [(C₅H₅O)⁺], 71 (5) [(C₃H₃O₂)⁺], 53 (21) [(C₄H₅)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.28.

GC: t_R [min] = 17.5 (Hydrodex β -TBDAC, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für C₉H₁₅O₃⁺ [(M+H)⁺]: 171.1016, gef.: 171.1016.

6.3.6.13 (Z)-3-Ethyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7f)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7f** (0.40 g, 2.4 mmol, 62 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5g** (849 mg, 3.82 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (3.9 mL, 4.6 mmol, 12 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.51.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.12 (t, $^3J_{2'',1''} = 7.4$ Hz, 3 H, 2''-H), 1.27 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H), 2.31 (qd, $^3J_{1'',2''} = 7.3$ Hz, $^4J_{1'',2} = 1.6$ Hz, 2 H, 1''-H), 2.36 (s, 2 H, 5-H), 4.16 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.65 (t, $^4J_{2,1''} = 1.7$ Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 11.36 (C-2'', CH₃), 14.23 (C-2', CH₃), 27.11 (C-1'', CH₂), 29.60 (C-5, CH₃), 60.87 (C-1', CH₂), 115.19 (C-2, CH), 163.06 (C-4, C_{quat}), 165.53 (C-1, C_{quat}), 206.58 (C-3, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2978, 2937, 1709 (C=C-CO-O), 1641, 1463, 1425, 1373, 1352, 1313, 1237, 1161, 1121, 1096, 1078, 1029, 966, 927, 871, 797, 734.

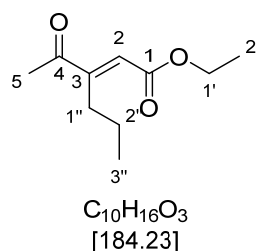
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 170 (5) [(M)⁺], 155 (80) [(M-CH₄)⁺], 141 (6) [(M-C₂H₅)⁺], 127 (100) [(C₇H₁₁O₂)⁺], 99 (42) [(C₅H₇O₂)⁺], 95 (6) [(C₅H₃O₂)⁺], 83 (35) [(C₅H₇O)⁺], 71 (9) [(C₃H₃O₂)⁺], 67 (5) [(C₄H₃O)⁺], 53 (22) [(C₄H₅)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.47.

GC: t_R [min] = 19.1 (Hydrodex β -TBDAC, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für C₉H₁₅O₃⁺ [(M+H)⁺]: 171.1016, gef.: 171.1013.

6.3.6.14 (E)-3-Propyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7g)



Das (E)-Isomer (E)-**7g** (0.13 g, 0.73 mmol, 15 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5h** (1.15 g, 4.84 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (4.9 mL, 5.8 mmol, 12 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (n-Pentan/Aceton 80:20) = 0.75.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.93 (t, $^3J_{3'',2''} = 7.4$ Hz, 3 H, 3''-H), 1.32 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.35–1.46 (m, 2 H, 2''-H), 2.37 (s, 3 H, 5-H), 2.64–2.79 (m, 2 H, 1''-H), 4.24 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 6.52 (s, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 14.33 (C-2', CH_2), 14.35 (C-3'', CH_3), 22.81 (C-2'', CH_2), 26.64 (C-5, CH_3), 28.70 (C-1'', CH_2), 60.92 (C-1', CH_2), 126.39 (C-2, CH), 155.13 (C-3, C_{quat}), 166.10 (C-1, C_{quat}), 200.10 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2964, 2875, 1722 (C=C-CO-O), 1684 (C=C-C=O), 1634, 1464, 1380, 1365, 1304, 1261, 1183, 1125, 1095, 1061, 1035, 955, 884, 742.

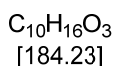
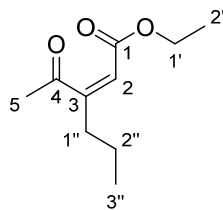
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 184 (4) [(M)⁺], 169 (26) [(M- CH_3)⁺], 155 (17) [(M- C_2H_5)⁺], 141 (100) [(M- C_3H_7)⁺], 123 (4) [($C_7H_7O_2$)⁺], 110 (37) [($C_6H_6O_2$)⁺], 100 (4) [($C_6H_{12}O$)⁺], 95 (47) [(C_6H_7O)⁺], 86 (4) [($C_4H_6O_2$)⁺], 81 (9) [(C_5H_5O)⁺], 73 (4) [($C_3H_5O_2$)⁺], 67 (56) [(C_5H_7)⁺], 55 (17) [(C_4H_7)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.04.

GC: t_R [min] = 139.2 (CP-Chirasil-DEX, 50 °C-60 min, 0.5 °C/min auf 120 °C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für $C_{10}H_{17}O_3^+$ [(M+H)⁺]: 185.1172, gef.: 185.1173.

6.3.6.15 (Z)-3-Propyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7g)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7g** (0.69 g, 3.7 mmol, 77 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5h** (1.15 g, 4.84 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (4.9 mL, 5.8 mmol, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.58.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.96 (t, $^3J_{3'',2''} = 7.3$ Hz, 3 H, 3''-H), 1.27 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.52 (sext, $^3J_{2'',1''/2'',3''} = 7.4$ Hz, 2 H, 2''-H), 2.25 (td, $^3J_{1'',2''} = 7.7$ Hz, $^4J_{1'',2} = 1.5$ Hz, 1 H, 1''-H), 2.35 (s, 3 H, 5-H), 4.16 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.65 (t, $^4J_{2,1''} = 1.5$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.70 (C-3'', CH_3), 14.22 (C-2', CH_2), 20.26 (C-2'', CH_2), 29.67 (C-5, CH_3), 36.15 (C-1'', CH_2), 60.87 (C-1', CH_2), 116.17 (C-2, CH), 161.62 (C-3, C_{quat}), 165.46 (C-1, C_{quat}), 206.42 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2966, 2937, 2877, 1710 (C=C-CO-O), 1640, 1465, 1421, 1355, 1241, 1158, 1121, 1082, 1030, 967, 845, 738, 675.

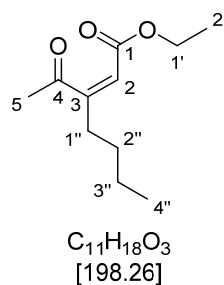
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 184 (8) [(M)⁺], 169 (39) [(M- CH_3)⁺], 155 (26) [(M- C_2H_5)⁺], 141 (100) [(M- C_3H_7)⁺], 123 (8) [($C_7H_7O_2$)⁺], 110 (63) [($C_7H_{10}O$)⁺], 95 (73) [(C_6H_7O)⁺], 81 (14) [(C_5H_5O)⁺], 73 (5) [($C_3H_5O_2$)⁺], 67 (64) [(C_5H_7)⁺], 53 (17) [(C_4H_5)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.26.

GC: t_R [min] = 149.7 (CP-Chirasil-DEX, 50°C-60 min, 0.5°C/min auf 120°C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für $C_{10}H_{17}O_3^+$ [(M+H)⁺]: 185.1172, gef.: 185.1172.

6.3.6.17 (Z)-3-Butyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7h)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7h** (383.1 mg, 1.932 mmol, 48 %) wurde aus Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester **5i** (1.0 g, 4.0 mmol, 1.0 Äq.) und Glyoxalsäureethylester **6b** (4.4 mL, 4.8 mmol, 11 %, 1.2 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. 216.8 mg {1.094 mmol, 27 %, [(E)/(Z)] = 1:10} wurden als ein Isomerengemisch erhalten.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.58.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.3$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.27 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.33–1.42 (m, 2 H, 2''-H/3''-H), 1.42–1.52 (m, 2 H, 2''-H/3''-H), 2.27 (td, $^3J_{1'',2''} = 7.7$ Hz, $^4J_{1'',2} = 1.5$ Hz, 2 H, 1''-H), 2.35 (s, 3 H, 5-H), 4.16 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.65 (t, $^4J_{2,1''} = 1.6$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.87 (C-4'', CH₃), 14.23 (C-2', CH₃), 22.33 (C-2''/C-3'', CH₂), 29.03 (C-2''/C-3'', CH₂), 29.69 (C-5, CH₃), 33.88 (C-1'', CH₂), 60.86 (C-1', CH₂), 116.02 (C-2, CH), 161.88 (C-3, C_{quat}), 165.47 (C-1, C_{quat}), 206.46 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2960, 2935, 2874, 1710 (C=C-CO-O), 1640, 1466, 1421, 1375, 1351, 1324, 1241, 1158, 1120, 1084, 1031, 971, 863, 733, 675.

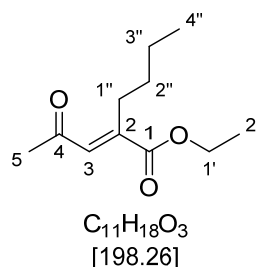
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 198 (2) [(M)⁺], 183 (21) [(M-CH₃)⁺], 169 (16) [(M-C₂H₅)⁺], 155 (89) [(M-C₃H₇)⁺], 137 (7) [(C₈H₉O₂)⁺], 124 (55) [(C₈H₁₂O)⁺], 110 (100) [(C₇H₁₀O)⁺], 99 (41) [(C₆H₁₁O)⁺], 81 (72) [(C₅H₅O)⁺], 67 (48) [(C₅H₇)⁺], 53 (21) [(C₄H₅)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.15.

GC: t_R [min] = 169.0 (CP-Chirasil-DEX, 50°C-60 min, 0.5°C/min auf 120°C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für C₁₁H₁₉O₃⁺ [(M+H)⁺]: 199.1329, gef.: 199.1330.

6.3.6.18 (E)-2-Butyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7i)



Das (*E*)-Isomer (*E*)-**7i** (88.2 mg, 0.445 mmol, 12 %) wurde aus Phosphonsäurediethylester **5m** (1.0 g, 3.6 mmol, 1.0 Äq.) und Methylglyoxal **183** (771 mg, 4.28 mmol, 40 %, 1.20 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.70.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.2$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.33 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.34–1.45 (m, 4 H, 2''-H, 3''-H), 2.30 (s, 3 H, 5-H), 2.66–2.71 (m, 2 H, 3-H), 4.25 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 7.01 (s, 1 H, 1''-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.97 (C-4'', CH₃), 14.29 (C-2', CH₃), 22.92 (C-2''/C-3'', CH₂), 27.68 (C-3, CH₂), 31.51 (C-2''/C-3'', CH₂), 32.24 (C-5, CH₃), 61.61 (C-1', CH₂), 132.14 (C-1'', CH), 145.88 (C-2, C_{quat}), 167.69 (C-1, C_{quat}), 199.30 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2960, 2934, 2874, 1718 (C=C-CO-O), 1694 (C=C-C=O), 1617, 1466, 1357, 1295, 1252, 1211, 1182, 1135, 1061, 1022, 972, 935, 865, 758, 735, 696.

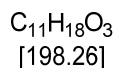
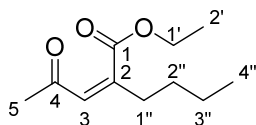
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 199 (2) [(M+H)⁺], 183 (17) [(M-CH₃)⁺], 169 (34) [(M-C₂H₅)⁺], 152 (91) [(M-C₂H₆O)⁺], 137 (46) [(C₈H₉O₂)⁺], 123 (80) [(C₇H₇O₂)⁺], 110 (100) [(C₆H₆O₂)⁺], 95 (58) [(C₅H₃O₂)⁺], 82 (82) [(C₆H₁₀)⁺], 67 (24) [(C₅H₇)⁺], 53 (22) [(C₄H₅)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.72.

GC: t_R [min] = 145.4 (CP-Chirasil-DEX, 50 °C-60 min, 0.5 °C/min auf 120 °C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für $C_{11}H_{19}O_3^+$ [(M+H)⁺]: 199.1329, gef.: 199.1328.

6.3.6.19 (Z)-2-Butyl-4-oxopent-2-ensäureethylester (7i)



Das (Z)-Isomer (Z)-**7i** (201.5 mg, 1.016 mmol, 28 %) wurde aus Phosphonsäurediethylester **5m** (1.0 g, 3.6 mmol, 1.0 Äq.) und Methylglyoxal **183** (771 mg, 4.28 mmol, 40 %, 1.20 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.60.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.92 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.3$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.31 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.37 (sext, $^3J_{3'',2''/4''} = 7.4$ Hz, 2 H, 3''-H), 1.47 (m, $J = 8.7$ Hz, $J = 7.6$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 2 H, 2''-H), 2.23 (s, 3 H, 5-H), 2.32 (td, $^3J_{1'',2''} = 7.7$ Hz, $^4J_{1'',3} = 1.5$ Hz, 2 H, 1''-H), 4.28 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 6.11 (t, $^4J_{3,1''} = 1.5$ Hz, 1 H, 3-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.91 (C-4'', CH₃), 14.07 (C-2', CH₃), 22.28 (C-3'', CH₂), 29.36 (C-2'', CH₂), 30.31 (C-5, CH₃), 34.03 (C-1'', CH₂), 61.47 (C-1', CH₂), 127.93 (C-3, CH), 147.31 (C-2, C_{quat}), 169.33 (C-1, C_{quat}), 197.46 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2960, 2935, 2874, 1728 (C=C-CO-O), 1699 (C=C-C=O), 1621, 1466, 1424, 1377, 1358, 1244, 1176, 1137, 1094, 1020, 966, 940, 862, 777, 733.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 198 (1) [(M)⁺], 183 (92) [(M-CH₃)⁺], 169 (9) [(M-C₂H₅)⁺], 155 (100) [(M-C₂H₃O)⁺], 137 (14) [(C₈H₉O₂)⁺], 123 (36) [(C₇H₇O₂)⁺], 110 (85) [(C₆H₆O₂)⁺], 97 (41) [(C₆H₉O)⁺], 81 (79) [(C₆H₉)⁺], 67 (32) [(C₅H₇)⁺], 55 (27) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.99.

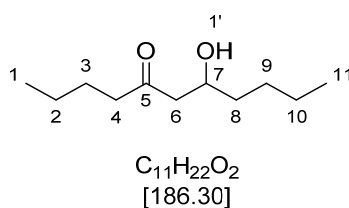
GC: t_R [min] = 163.9 (CP-Chirasil-DEX, 50°C-60 min, 0.5°C/min auf 120°C-5 min).

HRMS (ESI): m/z = ber. für C₁₁H₁₉O₃⁺ [(M+H)⁺]: 199.1329, gef.: 199.1330.

6.3.7 Vorschriften zur Synthese der Exomethylen-Verbindung (70)

6.3.7.1 Vorschrift zur Synthese des 7-Hydroxyundecan-5-ons (190)

In einem sekurierten Dreihalskolben wurde Di-*iso*-propylamin (**189**, 6.3 ml, 44 mmol, 1.1 Äq.) in 50 mL trockenem THF vorgelegt und mit Hilfe eines Trockeneis/Aceton-Bads auf -70°C gekühlt. Über einen Tropftrichter wurde $n\text{BuLi}$ (18 mL, 44 mmol, 2.5 M, 1.1 Äq.) tropfenweise innerhalb von 20 min zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde durch Entfernen des Trockeneis/Aceton-Bads auf 0°C erwärmt. Anschließend wurde erneut auf -70°C gekühlt und 2-Hexanon (**188**, 5.0 mL, 40 mmol, 1.0 Äq.) gelöst in 40 mL trockenem THF wurden innerhalb von 15 min zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei -70°C gerührt. Als Nächstes wurde Pentanal (**89**, 4.3 mL, 40 mmol, 1.0 Äq.) gelöst in 40 mL trockenem THF zugegeben und das Gemisch 6 min bei -70°C gerührt. Zuletzt wurden 250 mL gesättigte NH_4Cl -Lösung zugegeben und 16 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Vakuumdestillation (0.5 mbar, $96\text{--}110^{\circ}\text{C}$) gereinigt. Das gewünschte Produkt **190** (3.41 g, 18.3 mmol, 46 %) wurde als ein Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[267]



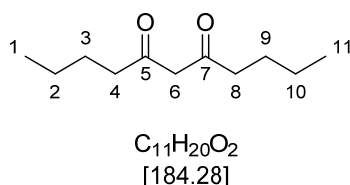
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.84 (t, $^3J_{1,2/11,10} = 7.0$ Hz, 3 H, 1-H/11-H), 0.84 (t, $^3J_{1,2/11,10} = 7.4$ Hz, 3 H, 1-H/11-H), 1.17–1.56 (m, 10 H, 2-H, 3-H, 8-H, 9-H, 10-H), 2.36 (t, $^3J_{4,3} = 7.4$ Hz, 2 H, 4-H), 2.43 (dd, $^2J_{6a,6b} = 17.6$ Hz, $^3J_{6,7} = 9.2$ Hz, 1 H, 6- H_a), 2.53 (dd, $^2J_{6a,6b} = 17.5$ Hz, $^3J_{6,7} = 2.6$ Hz, 1 H, 6- H_b), 3.96 (dddd, $^3J_{7,6} = 9.1$ Hz, $J = 7.4$ Hz, $J = 4.6$ Hz, $^3J_{7,6} = 2.6$ Hz, 1 H, 7-H).

IR (Film): ν [cm^{-1}] = 3426 (OH), 2958, 2932, 2873, 1704 (C=O), 1466, 1408, 1379, 1126, 1029, 901, 730.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 185 (<1) [(M)⁺], 143 (27) [(M-C₈H₁₅O₂)⁺], 129 (58) [(M-C₇H₁₃O₂)⁺], 101 (22) [(M-C₆H₉O)⁺], 85 (52) [(M-C₅H₉O)⁺], 57 (27) [(M-C₃H₇)⁺].

6.3.7.2 Vorschrift zur Synthese des Undecan-5,7-dions (**191**)

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde 7-Hydroxyundecan-5-on (**190**, 3.4 g, 18 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem Dichlormethan (47 mL, 0.73 mol, 40 Äq.) gelöst. Die Reaktion wurde durch Umwickeln des Kolbens mit Alufolie von äußeren Lichteinflüssen geschützt. *Dess-Martin*-Periodinan (**160**, 10.06 g, 23.73 mmol, 1.300 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion 19 h bei RT gerührt. Anschließend wurde zum Reaktionsgemisch Et₂O zugegeben und 15 min gerührt. Danach wurde das Gemisch mit einer Na₂S₂O₃-Lösung (ca. 7 g in 30 mL gesättigter Na₂CO₃-Lösung) versetzt und weitere 15 min gerührt. Die organische Phase wurde mit gesättigter Na₂CO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 90:10 und *n*-Pentan/Et₂O 98:2) und Vakuumdestillation (10 mbar, 90–100 °C) gereinigt. Das gewünschte Produkt **191** (0.75 g, 4.1 mmol, 22 %) konnte als ein gelbes Öl isoliert werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[267, 270] Das Produkt liegt als ein Keto-Enol-Gemisch vor. Aufgrund fehlender weiterer NMR-Analytik können nicht alle Signale der ¹H-Kerne zugeordnet werden.



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, ³J_{1,2/11,10} = 4.7 Hz, 1-H/11-H), 0.92 (t, ³J_{1,2/11,10} = 7.4 Hz, 1-H/11-H), 1.23–1.40 (m, 2-H/3-H/9-H/10-H), 1.51–1.63 (m, 2-H/3-H/9-H/10-H), 2.24–2.30 (m, 4-H, 8-H), 2.39 (ddd, *J* = 10.9 Hz, *J* = 7.8 Hz, *J* = 4.1 Hz), 2.50 (t, *J* = 7.4 Hz), 3.48 (q, *J* = 7.0 Hz), 3.55 (s, 2 H, 6-H), 5.48 (s, 1 H, 6-H)*.

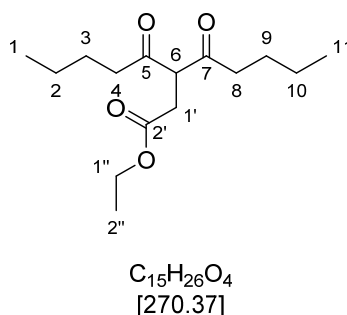
*Signal gehört zur Enol-Form.

IR (Film): ν [cm⁻¹] = 2959, 2933, 2874, 1714, 1606 (C=O), 1457, 1379, 1259, 1200, 1143, 1092, 930, 774.

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 184 (14) [(M)⁺], 156 (37) [(M-C₁₀H₂₀O)⁺], 155 (47) [(M-C₉H₁₄O₂)⁺], 127 (65) [(M-C₇H₁₁O₂)⁺], 99 (60) [(M-C₆H₁₂O)⁺], 85 (60) [(M-C₅H₁₀O)⁺].

6.3.7.3 Vorschrift zur Synthese des 4-Oxo-3-pentanoyloctansäureethylesters (**193**)^[266]

In einem Kolben wurde Undecan-5,7-dion (**191**, 0.75 g, 4.1 mmol, 1.0 Äq.) mit Kaliumcarbonat (0.57 g, 4.1 mmol, 1.0 Äq.) versetzt und mit einem Eisbad gekühlt. Nach 30 min wurde Ethyl-2-bromacetat (**192**, 0.46 mL, 4.1 mmol, 1.0 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 22.5 h gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 98:2) gereinigt. Das Produkt **193** (0.43 g, 1.6 mmol, 39 %) wurde als ein farbloses Öl isoliert.

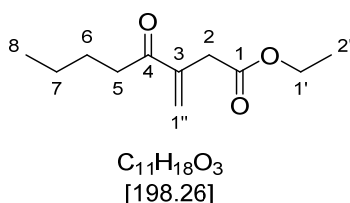


¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.90 (m, $J = 7.3$ Hz, 6 H, 1-H, 11-H), 1.21–1.26 (m, 3 H, 2''-H), 1.29 (m, $J = 7.3$ Hz, 4 H, 2-H, 10-H), 1.55 (m, $J = 7.4$ Hz, 4 H, 3-H, 9-H), 2.52 (t, $^3J_{4,3/8,9} = 7.3$ Hz, 2 H, 4-H/8-H), 2.53 (t, $^3J_{4,3/8,9} = 7.4$ Hz, 2 H, 4-H/8-H), 2.85 (d, $^3J_{1',6} = 7.3$ Hz, 2 H, 1'-H_a), 4.12 (m, $J = 10.1$ Hz, $J = 7.6$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 6-H, 1'-H_b).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.95 (C-1, C-11, CH₃), 14.26 (C-2'', CH₃), 22.28 (C-2, C-10, CH₂), 25.57 (C-3, C-9, CH₂), 32.75 (C-1', CH₂), 42.31 (C-4, C-8, CH₂), 61.23 (C-1'', CH₂), 62.43 (C-6, CH), 117.49 (C-2', C_{quat}), 204.99 (C-5, C-8, C_{quat}).

6.3.7.4 Vorschrift zur Synthese des 3-Methylen-4-oxooctansäureethylesters (**7o**)^[266]

In einem Kolben wurde Verbindung **193** (433 mg, 1.60 mmol, 1.00 Äq.) in Formaldehyd (**194**, 0.32 mL, 3.2 mmol, 37 % in Wasser, 2.0 Äq.) gelöst. Eine Suspension aus K₂CO₃ (445 mg, 3.20 mmol, 2.00 Äq.) und Wasser (0.32 mL) wurde zugegeben und 25.5 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in demin. Wasser überführt und fünfmal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 98:2, *n*-Pentan/Et₂O 99:1 und PE/EE 90:10) gereinigt. Das Produkt **7o** (37.7 mg, 0.190 mmol, 12 %) konnte als ein farbloses Öl isoliert werden.



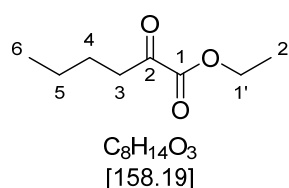
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.92 (t, ³J_{8,7} = 7.3 Hz, 3 H, 8-H), 1.24 (t, ³J_{2',1'} = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H), 1.34 (m_c, J = 7.4 Hz, 2 H, 7-H), 1.61 (m_c, J = 7.5 Hz, 2 H, 6-H), 2.72 (t, ³J_{5,6} = 7.5 Hz, 2 H, 5-H), 3.28 (d, ⁴J_{2,1''} = 4.5 Hz, 2 H, 2-H), 4.13 (q, ³J_{1',2'} = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 5.90 (s, 1 H, 1''-H_a), 6.15 (s, 1 H, 1''-H_b).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.04 (C-8, CH₃), 14.27 (C-2', CH₃), 22.53 (C-7, CH₂), 26.66 (C-6, CH₂), 37.15 (C-5, CH₂), 37.30 (C-2, CH₂), 60.96 (C-1', CH₂), 126.88 (C-1'', CH₂), 142.39 (C-3, C_{quat}), 171.22 (C-1, C_{quat}), 201.12 (C-4, C_{quat}).

GC: t_R [min] = 66.84 (Hydrodex β-TBDAC, 90 °C-60 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

6.3.8 Vorschrift zur Synthese des 2-Oxohexansäureethylesters (6a)

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde 2-Hydroxyhexansäureethylester (**185**, 1.7 mL, 10 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem CH₂Cl₂ (25 mL, 0.40 mol, 40 Äq.) vorgelegt. *Dess-Martin*-Periodinan (**160**, 4.67 g, 11.0 mmol, 1.10 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 19.5–23 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Gemisch filtriert und das Filtrat dreimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 95:5 oder *n*-Pentan/Aceton 98:2) gereinigt. Das Produkt **6a** (0.91–1.15 g, 5.75–7.27 mmol, 58–73 %) wurde als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[263, 365]



R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.62.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.92 (t, $^3J_{6,5} = 7.4$ Hz, 3 H, 6-H), 1.31–1.41 (m, 5 H, 5-H, 2'-H), 1.62 (m, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 4-H), 2.83 (t, $^3J_{3,4} = 7.3$ Hz, 2 H, 3-H), 4.31 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.91 (C-6, CH₃), 14.16 (C-2', CH₃), 22.25 (C-5, CH₂), 25.20 (C-4, CH₂), 39.14 (C-3, CH₂), 62.50 (C-1', CH₂), 161.45 (C-1, C_{quat}), 194.95 (C-2, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2962, 2937, 2876, 1724 (C=O), 1467, 1403, 1370, 1274, 1246, 1145, 1121, 1052, 1016, 857, 731, 680.

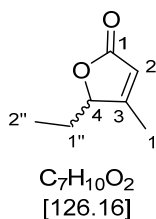
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 158 (12) [(M)⁺], 144 (<1) [(M-CH₃)⁺], 129 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 115 (<1) [(M-C₃H₇)⁺], 85 (100) [(C₉H₉O)⁺], 57 (89) [(C₄H₉)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 6.18.

6.3.9 Vorschrift zur Synthese der α,β -ungesättigten und gesättigten Alkohole (*rac*)-187 und (*rac*)-9 und der Butenolide (*rac*)-186 nach Luche

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde jeweils ein Isomer der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** (15–108 mg, 0.09–0.54 mmol, 1.0 Äq.) oder der racemische γ -Ketoester (*rac*)-**8f-i** (29.3–40.9 mg, 0.156–0.202 mmol, 1.00 Äq.) in trockenem Ethanol (6 mL/mmol Substrat) gelöst. Certrichlorid (32.6–200.7 mg, 0.13–0.81 mmol, 1.50 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei -78°C (Trockeneis/Aceton-Bad) gerührt. Als Nächstes wurde Natriumborhydrid (6.7–41.1 mg, 0.18–1.09 mmol, 2.0 Äq.) zugegeben und weitere 2.5–18 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von HCl-Lösung (2 M) abgebrochen und erst dreimal mit Et_2O und dann dreimal mit demin. Wasser extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde eventuell mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 95:5) gereinigt.

6.3.9.1 5-Ethyl-4-methylfuran-2(5H)-on [(*rac*)-186a]

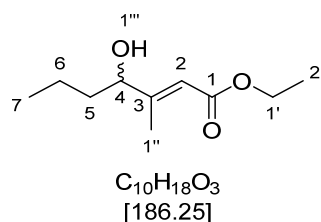


Das Rohprodukt (*rac*)-**186a** (7.7 mg, 0.06 mmol, 52 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7a** (20 mg, 0.12 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[366]

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.95 (t, $^3J_{3',2''} = 7.4$ Hz, 3 H, $2''\text{-H}$), 1.57 (m, $^2J_{1''\text{a},1''\text{b}} = 14.3$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, $1''\text{-H}_\text{a}$), 1.97–2.02 (m, 1 H, $1''\text{-H}_\text{b}$), 2.04 (s, 3 H, $1'\text{-H}$), 4.82 (dd, $^3J_{4,1''\text{a}} = 6.8$ Hz, $^3J_{4,1''\text{b}} = 3.7$ Hz, 1 H, 4-H), 5.81 (s, 1 H, 2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.33 (C- $2''$, CH_3), 13.99 (C- $1'$, CH_3), 24.96 (C- $1''$, CH_2), 85.51 (C-4, CH), 117.38 (C-2, CH), 168.36 (C-3, C_{quat}), 173.52 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.2 (*E*)-4-Hydroxy-3-methylhept-2-ensäureethylester [(*rac*)-187b]

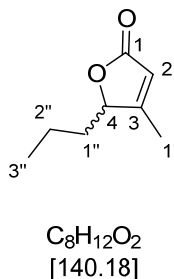


Das Produkt (*rac*)-**187b** (75.4 mg, 0.405 mmol, 75 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)-**7b** (100 mg, 0.543 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.93 (t, $^3J_{7,6} = 7.4$ Hz, 3 H, 7-H), 1.28 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 2 H, 2'-H), 1.30–1.39 (m, 1 H, 6-H_a), 1.39–1.47 (m, 1 H, 6-H_b), 1.47–1.55 (m, 1 H, 5-H_a), 1.55–1.65 (m, 1 H, 5-H_b), 2.11 (d, $^4J_{1'',2} = 1.3$ Hz, 3 H, 1''-H), 4.09 (dt, $^3J_{4,5a} = 8.2$ Hz, $^3J_{4,5b} = 4.3$ Hz, 1 H, 4-H), 4.16 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.91 (t, $^4J_{2,1''} = 1.4$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 14.06 (C-7, CH_3), 14.44 (C-2', CH_3), 14.91 (C-1'', CH_2), 18.85 (C-6, CH_2), 37.31 (C-5, CH_2), 59.90 (C-1', CH_2), 76.56 (C-4, CH), 115.19 (C-2, CH), 160.36 (C-3, C_{quat}), 166.97 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.3 4-Methyl-5-propylfuran-2(5*H*)-on [(*rac*)-186b]

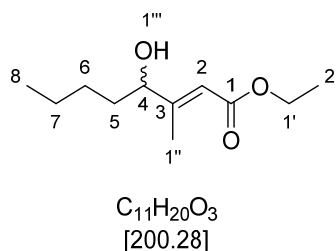


Das Rohprodukt (*rac*)-**186b** (11.6 mg, 0.083 mmol, 76 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7b** (20 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.95 (t, $^3J_{3'',2''} = 7.2$ Hz, 3 H, 3''-H), 1.38–1.53 (m, 3 H, 1''-H_a, 2''-H), 1.81–1.90 (m, 1 H, 1''-H_b), 2.04 (d, $^4J_{1',2} = 1.6$ Hz, 3 H, 1'-H), 4.77–4.88 (m, 1 H, 4-H), 5.78 (t, $^4J_{2,1'} = 1.7$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.90 (C-1', CH_3), 14.00 (C-3'', CH_3), 17.98 (C-2'', CH_2), 34.17 (C-1'', CH_2), 84.60 (C-4, CH), 116.97 (C-2, CH), 168.81 (C-3, C_{quat}), 173.45 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.4 (*E*)-4-Hydroxy-3-methyloct-2-ensäureethylester [(*rac*)-187c]

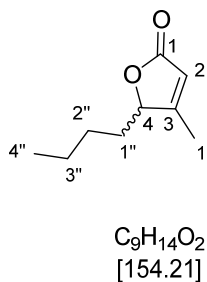


Das Produkt (*rac*)-**187c** (2 mg, 0.01 mmol, 3 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)-**7c** (58 mg, 0.29 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses bis leicht gelbes Öl isoliert.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{8,7} = 6.9$ Hz, 3 H, 8-H), 1.28 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 4 H, 2'-H, 6-H_a), 1.30–1.42 (m, 3 H, 6-H_a, 7-H), 1.49–1.57 (m, 1 H, 5-H_a), 1.57–1.70 (m, 1 H, 5-H_b), 2.11 (d, $^4J_{1'',2} = 1.3$ Hz, 3 H, 1''-H), 4.08 (m_c, $J = 3.4$ Hz, 1 H, 4-H), 4.16 (q, $^3J_{1',2'} = 7.2$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.83–5.95 (m, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.11 (C-8, CH₃), 14.45 (C-2', CH₃), 14.89 (C-1'', CH₃), 22.70 (C-7, CH₂), 27.71 (C-6, CH₂), 34.87 (C-5, CH₂), 59.90 (C-1', CH₂), 76.81 (C-4, CH), 115.24 (C-2, CH), 160.33 (C-3, C_{quat}), 166.97 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.5 5-Butyl-4-methylfuran-2(5*H*)-on [(*rac*)-186c]

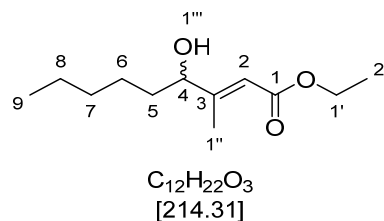


Das Produkt (*rac*)-**186c** (54.6 mg, 0.354 mmol, 66 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7c** (100 mg, 0.504 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[294, 367]

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.1$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.26–1.45 (m, 4 H, 2''-H, 3''-H), 1.45–1.56 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.85–1.95 (m, 1 H, 1''-H_b), 2.05 (d, $^4J_{1',2} = 1.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 4.83 (dd, $^3J_{4,1''_a} = 7.9$ Hz, $^3J_{4,1''_b} = 2.8$ Hz, 1 H, 4-H), 5.79 (m_c, $J = 1.6$ Hz, 1 H, 2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 13.99 (C-1'/C-4'', CH_3), 14.03 (C-1'/C-4'', CH_3), 22.55 (C-2''/C-3'', CH_2), 26.57 (C-2''/C-3'', CH_2), 31.77 (C-1'', CH_2), 84.75 (C-4, CH), 117.07 (C-2, CH), 168.74 (C-3, C_{quat}), 173.47 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.6 (*E*)-4-Hydroxy-3-methylnon-2-ensäureethylester [(*rac*)-187d]

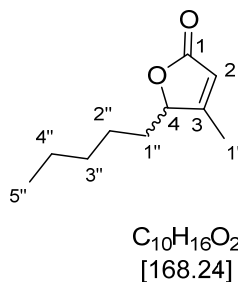


Das Produkt (*rac*)-**187d** (97.5 mg, 0.455 mmol, 97 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)-**7d** (100 mg, 0.471 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{9,8} = 6.7$ Hz, 3 H, 9-H), 1.28 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.26–1.35 (m, 5 H, 6- H_a , 7-H, 8-H), 1.36–1.45 (m, 1 H, 6- H_b), 1.49–1.56 (m, 1 H, 5- H_a), 1.57–1.65 (m, 1 H, 5- H_b), 2.11 (d, $^4J_{1'',2} = 1.5$ Hz, 3 H, 1''-H), 4.08 (m, $^3J_{4,5} = 8.1$ Hz, $J = 4.3$ Hz, 1 H, 4-H), 4.16 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.89–5.95 (m, 1 H, 2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.17 (C-9, CH_3), 14.44 (C-2', CH_3), 14.90 (C-1'', CH_3), 22.69 (C-7/C-8, CH_2), 25.26 (C-6, CH_2), 31.81 (C-7/C-8, CH_2), 35.15 (C-5, CH_2), 59.90 (C-1', CH_2), 76.82 (C-4, CH), 115.21 (C-2, CH), 160.35 (C-3, C_{quat}), 166.98 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.7 4-Methyl-5-pentylfuran-2(5H)-on [(*rac*)-186d]

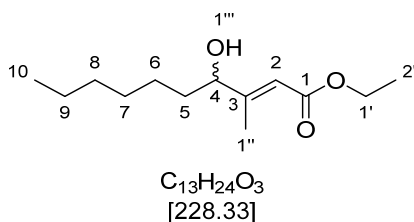


Das Produkt (*rac*)-**186d** (64.5 mg, 0.383 mmol, 82 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7d** (100 mg, 0.471 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[294]

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{5'',4''} = 6.8$ Hz, 3 H, 5''-H), 1.22–1.36 (m, 4 H, 2''-H/3''-H, 4''-H), 1.36–1.45 (m, 2 H, 2''-H/3''-H), 1.49 (m, $J = 14.4$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 1 H, 1''-H), 1.84–1.94 (m, 1 H, 1''-H), 2.04 (d, $^4J_{1',2} = 1.4$ Hz, 3 H, 1'-H), 4.78–4.86 (m, 1 H, 4-H), 5.79 (m, $^4J_{2,1'} = 1.6$ Hz, 1 H, 2-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.03 (C-1'/C-5'', CH₃), 14.10 (C-1'/C-5'', CH₃), 22.58 (C-4'', CH₂), 24.18 (C-2''/C-3'', CH₂), 31.62 (C-2''/C-3'', CH₂), 32.07 (C-1'', CH₂), 84.78 (C-4, CH), 117.05 (C-2, CH), 168.74 (C-3, C_{quat}), 173.47 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.8 (*E*)-4-Hydroxy-3-methyldec-2-ensäureethylester [(*rac*)-187e]

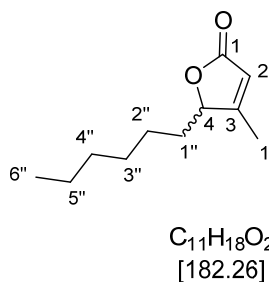


Das Produkt (*rac*)-**187e** (98.1 mg, 0.430 mmol, 97 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)-**7e** (100 mg, 0.442 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{10,9} = 6.8$ Hz, 3 H, 10-H), 1.28 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.24–1.35 (m, 7 H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H), 1.35–1.44 (m, 1 H, 6-H), 1.48–1.56 (m, 1 H, 5-H_a), 1.56–1.68 (m, 1 H, 5-H_b), 2.11 (d, $^4J_{1'',2} = 1.3$ Hz, 3 H, 1''-H), 4.08 (m, $J = 3.3$ Hz, 1 H, 4-H), 4.16 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 5.88–5.93 (m, 1 H, 2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.21 (C-10, CH_3), 14.45 (C-2', CH_3), 14.91 (C-1'', CH_3), 22.74 (C-7/C-8/C-9, CH_2), 25.55 (C-6, CH_2), 29.29 (C-7/C-8/C-9, CH_2), 31.86 (C-7/C-8/C-9, CH_2), 35.20 (C-5, CH_2), 59.90 (C-1', CH_2), 76.83 (C-4, CH), 115.21 (C-2, CH), 160.35 (C-3, C_{quat}), 166.97 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.9 5-Hexyl-4-methylfuran-2(5H)-on [(*rac*)-186e]

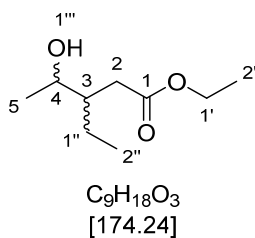


Das Produkt (*rac*)-**186e** (79.8 mg, 0.438 mmol, 99 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7e** (100 mg, 0.442 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[368]

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{6'',5''} = 6.9$ Hz, 3 H, 6''-H), 1.21–1.44 (m, 8 H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.45–1.54 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.83–1.94 (m, 1 H, 1''-H_b), 2.04 (d, $^4J_{1',2} = 1.5$ Hz, 3 H, 1'-H), 4.82 (m_c, $^3J_{4,1''} = 8.1$ Hz, $^4J_{4,2} = 1.5$ Hz, 1 H, 4-H), 5.79 (m_c, $^4J_{2,1'} = 1.6$ Hz, 1 H, 2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.02 (C-1', CH_3), 14.16 (C-6'', CH_3), 22.66 (C-2''/C-3''/C-4''/C-5'', CH_2), 24.45 (C-2''/C-3''/C-4''/C-5'', CH_2), 29.10 (C-2''/C-3''/C-4''/C-5'', CH_2), 31.71 (C-2''/C-3''/C-4''/C-5'', CH_2), 32.10 (C-1'', CH_2), 84.77 (C-4, CH), 117.03 (C-2, CH), 168.75 (C-3, C_{quat}), 173.46 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.10 3-Ethyl-4-hydroxypentansäureethylester [(*rac*)-9f]

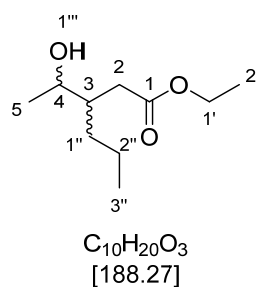


Das Produkt (*rac*)-**9f** (30.4 mg, 0.174 mmol, 18 %) wurde aus dem racemischen γ -Ketoester (*rac*)-**8f** (172 mg, 1.00 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die Diastereomere liegen im 1:1.3-Verhältnis vor.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{2',1'/2'',1''} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H/2''-H), 0.92 (t, $^3J_{2',1'/2'',1''} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H/2''-H), 1.15 (d, $^3J_{5,4} = 6.6$ Hz, 3 H, 5-H_a), 1.22 (d, $^3J_{5,4} = 6.3$ Hz, 3 H, 5-H_b), 1.22–1.43 (m, 5 H, 1''-H/2-H/3-H), 1.48 (ddd, $J = 13.2$ Hz, $J = 7.4$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, 1''-H/2-H/3-H), 1.51–1.58 (m, 2 H, 1''-H/2-H/3-H), 1.60–1.82 (m, 4 H, 1''-H/2-H/3-H), 3.60–3.66 (m, 2 H, 1'-H), 3.71–3.83 (m, 3 H, 1'-H, 4-H), 3.93 (qd, $^3J_{4,5} = 6.4$ Hz, $^3J_{4,3} = 3.0$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 11.63 (C-2'/C-2'', CH₃), 12.34 (C-2'/C-2'', CH₃), 18.61 (C-5, CH₃), 21.50 (C-5, CH₃), 23.64 (C-1''/C-2/C-3, CH₂/CH), 23.92 (C-1''/C-2/C-3, CH₂/CH), 32.15 (C-1''/C-2/C-3, CH₂/CH), 32.26 (C-1''/C-2/C-3, CH₂/CH), 44.99 (C-1''/C-2/C-3, CH₂/CH), 45.05 (C-1''/C-2/C-3, CH₂/CH), 60.79 (C-1', CH₂), 61.86 (C-1', CH₂), 69.92 (C-4, CH), 69.98 (C-4, CH).

Doppelte Signale gehören zum Diastereomer.

6.3.9.11 4-Hydroxy-3-propylpentansäureethylester [(*rac*)-**9g**]


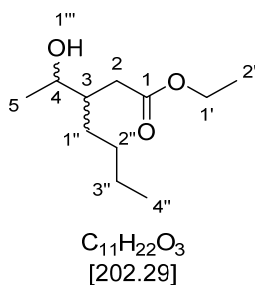
Das Produkt (*rac*)-**9g** (29.3 mg, 0.156 mmol, 16 %) wurde aus dem racemischen γ -Ketoester (*rac*)-**8g** (181 mg, 0.972 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die Diastereomere liegen im 1:2-Verhältnis vor.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{2',1'/3'',2''} = 7.1$ Hz, 6 H, 2'-H, 3''-H), 1.11 (d, $^3J_{5,4} = 6.4$ Hz, 3 H, 5-H), 1.19 (d, $^3J_{5,4} = 6.4$ Hz, 3 H, 5-H), 1.21–1.42 (m, 11 H, 2-H/3-H/1''-H/2''-H), 1.41–1.51 (m, 3 H, 2-H/3-H/1''-H/2''-H), 1.55–1.65 (m, 3 H, 2-H/3-H/1''-H/2''-H), 1.65–1.77 (m, 3 H, 2-H/3-H/1''-H/2''-H), 3.48 (s, 4 H, 1'''-H), 3.58 (m, $J = 9.7$ Hz, $J = 4.5$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 3 H, 1'-H, 4-H), 3.67–3.78 (m, 4 H, 1'-H, 4-H), 3.88 (qd, $^3J_{4,5} = 6.4$ Hz, $^3J_{4,3} = 3.0$ Hz, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.45 (C-2'/C-3'', CH_3), 14.53 (C-2'/C-3'', CH_3), 18.33 (C-5, CH_3), 20.31 (C-2/C-1''/C-2'', CH_2), 20.89 (C-2/C-1''/C-2'', CH_2), 21.38 (C-5, CH_3), 32.45 (C-2/C-1''/C-2'', CH_2), 32.56 (C-2/C-1''/C-2'', CH_2), 33.22 (C-2/C-1''/C-2'', CH_2), 33.51 (C-2/C-1''/C-2'', CH_2), 43.07 (C-3, CH), 43.26 (C-3, CH), 60.42 (C-1', CH_2), 61.61 (C-1', CH_2), 70.01 (C-4, CH).

Doppelte Signale gehören zum Diastereomer.

6.3.9.12 3-Butyl-4-hydroxypentansäureethylester [(*rac*)-9h]

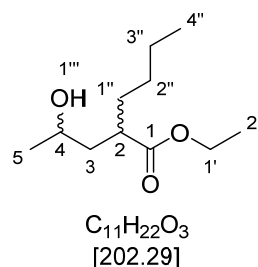


Das Produkt (*rac*)-**9h** (40.9 mg, 0.202 mmol, 22 %) wurde aus dem racemischen γ -Ketoester (*rac*)-**8h** (182 mg, 0.910 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die Diastereomere liegen im 1:3-Verhältnis vor.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.90 (td, $^3J_{2',1'/4'',3''} = 6.9$ Hz, $^3J_{2',1'/3'',2''} = 2.4$ Hz, 6 H, 2'-H, 4''-H), 1.16 (d, $^3J_{5,4} = 6.5$ Hz, 3 H, 5-H), 1.22 (d, $^3J_{5,4} = 6.3$ Hz, 3 H, 5-H), 1.25–1.36 (m, 20 H, 2-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.38–1.50 (m, 6 H, 3-H, 2-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.51–1.59 (m, 1 H, 2-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.59–1.68 (m, 4 H, 3-H, 2-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.69–1.79 (m, 7 H, 2-H/1''-H/2''-H/3''-H), 3.64 (m, $J = 10.9$ Hz, $J = 6.9$ Hz, $J = 4.9$ Hz, 3 H, 1'-H), 3.73–3.81 (m, 6 H, 1'-H, 4-H), 3.92 (qd, $^3J_{4,5} = 6.5$ Hz, $^3J_{4,3} = 3.4$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.18 (C-2'/C-4'', CH₃), 14.20 (C-2'/C-4'', CH₃), 21.44 (C-5, CH₃), 23.10 (C-2/C-1''/C-2''/C-3'', CH₂), 23.17 (C-2/C-1''/C-2''/C-3'', CH₂), 29.44 (C-2/C-1''/C-2''/C-3'', CH₂), 30.05 (C-2/C-1''/C-2''/C-3'', CH₂), 30.66 (C-2/C-1''/C-2''/C-3'', CH₂), 30.89 (C-2/C-1''/C-2''/C-3'', CH₂), 32.49 (C-2/C-1''/C-2''/C-3'', CH₂), 43.44 (C-3, CH), 60.55 (C-1', CH₂), 70.11 (C-4, CH).

Doppelte Signale gehören zum Diastereomer.

6.3.9.13 2-Butyl-4-hydroxypentansäureethylester [(*rac*)-9i]

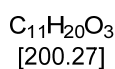
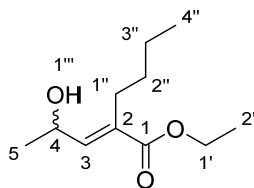
Das Produkt (*rac*)-9i (36.9 mg, 0.182 mmol, 20 %) wurde aus dem racemischen γ -Ketoester (*rac*)-8i (180 mg, 0.900 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die Diastereomere liegen im 1:2-Verhältnis vor.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{2',1''/4'',3''} = 6.5$ Hz, 6 H, 2'-H, 4''-H), 1.11 (d, $^3J_{5,4} = 6.4$ Hz, 3 H, 5-H), 1.19 (d, $^3J_{5,4} = 6.4$ Hz, 3 H, 5-H), 1.22–1.34 (m, 16 H, 3-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.34–1.46 (m, 4 H, 2-H, 3-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.49 (m, $J = 14.7$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, 3-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.56–1.65 (m, 3 H, 2-H, 3-H/1''-H/2''-H/3''-H), 1.66–1.76 (m, 3 H, 3-H/1''-H/2''-H/3''-H), 3.43 (s, 4 H, 1'''-H), 3.57 (m, $J = 9.6$ Hz, $J = 8.0$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 3 H, 1'-H), 3.65–3.79 (m, 5 H, 1'-H, 4-H), 3.88 (qd, $^3J_{4,5} = 6.4$ Hz, $^3J_{4,3} = 3.1$ Hz, 1 H, 4-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 14.16 (C-2'/C-4'', CH_3), 14.18 (C-2'/C-4'', CH_3), 18.31 (C-5, CH_3), 21.39 (C-5, CH_3), 23.08 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 23.16 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 29.40 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 30.04 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 30.65 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 30.91 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 32.48 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 32.56 (C-3/C-1''/C-2''/C-3'', CH_2), 43.32 (C-4, CH), 43.49 (C-4, CH), 60.41 (C-1', CH_2), 61.58 (C-1', CH_2), 70.02 (C-4, CH).

Doppelte Signale gehören zum Diastereomer.

6.3.9.14 (*E*)-4-Hydroxy-2-butylpentan-2-ensäureethylester [(*rac*)-187i]

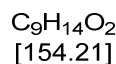
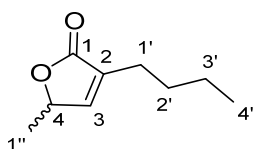


Das Produkt (*rac*)-**187i** (32.7 mg, 0.163 mmol, 65 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)-**7i** (49.9 mg, 0.252 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.0$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.21–1.44 (m, 11 H, 2'-H, 2''-H, 3''-H, 5-H, 1'''-H), 2.28 (t, $^3J_{1'',2''} = 7.4$ Hz, 2 H, 1''-H), 4.17 (m, $J = 7.0$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 2 H, 1'-H), 4.64 (dq, $^3J_{4,3} = 8.7$ Hz, $^3J_{4,5} = 6.4$ Hz, 1 H, 4-H), 6.60 (d, $^3J_{3,4} = 8.8$ Hz, 1 H, 3-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.98 (C-4'', CH₃), 14.30 (C-2', CH₃), 22.80 (C-5, CH₃), 23.22 (C-2''/C-3'', CH₂), 26.95 (C-1'', CH₂), 31.96 (C-2''/C-3'', CH₂), 60.78 (C-1', CH₂), 64.66 (C-4, CH), 132.90 (C-2, C_{quat}), 143.57 (C-3, CH), 167.97 (C-1, C_{quat}).

6.3.9.15 3-Butyl-5-methylfuran-2(5H)-on [(*rac*)-186i]



Das Produkt (*rac*)-**186i** (36.3 mg, 0.235 mmol, 43 %) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7i** (108 mg, 0.545 mmol, 1.00 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[369, 370]

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.93 (t, $^3J_{4',3'} = 7.4$ Hz, 3 H, 4'-H), 1.36 (sext, $^3J_{3',4'} = 7.4$ Hz, 2 H, 3'-H), 1.40 (d, $^3J_{1'',4} = 6.8$ Hz, 3 H, 1''-H), 1.54 (m, $J = 7.4$ Hz, 2 H, 2'-H), 2.27 (t, $^3J_{1',2'} = 7.8$ Hz, 2 H, 1'-H), 4.99 (qd, $^3J_{4,1''} = 6.7$ Hz, $^3J_{4,3} = 1.7$ Hz, 1 H, 4-H), 6.98 (q, $^3J_{3,4} = 1.6$ Hz, 1 H, 3-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.92 (C-4', CH₃), 19.36 (C-1'', CH₃), 22.42 (C-3', CH₂), 25.02 (C-1', CH₂), 29.65 (C-2', CH₂), 77.54 (C-4, CH), 134.44 (C-1, C_{quat}), 149.00 (C-3, C_{quat}), 174.04 (C-1, C_{quat}).

6.3.10 Synthese von racemischen Referenzverbindungen

6.3.10.1 Racemische Referenzen der gesättigten γ -Ketoester (*rac*)-8

Die racemische Reduktion der Doppelbindung der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** mit molekularem Wasserstoff wurde mit Hilfe des *H-Cube Pro* der Firma *ThalesNano* und der Pumpe der Firma *Knauer* durchgeführt. Dazu wurde die Verbindung **7** in Methanol mit einer Endkonzentration von $c = 0.05$ M gelöst. Die Reduktion erfolgte mit Pd/C (10 %) als Katalysator und 100 % H₂ bei 30 °C, 7 bar und einer Flussrate von 0.3 mL/min. Der Umsatz wurde mittels DC kontrolliert. Die Produkte wurden mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 98:2) gereinigt.

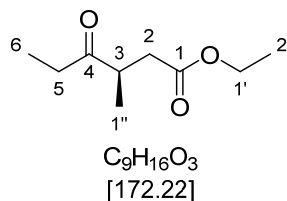
6.3.10.2 Racemische Referenzen der Lactone (*rac*)-1

Zuerst wurde die Doppelbindung der α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7** mittels *H-Cube Pro* gemäß der oben erwähnten Vorschrift reduziert. Dann erfolgte die Reduktion der Ketogruppe nach *Luche et al.* Dazu wurde in einem sekurierten *Schlenk*-Kolben CeCl₃ (1.5 Äq.) in 3 mL trockenem Ethanol gelöst. Der gesättigte γ -Ketoester (*rac*)-**8** (1.0 Äq.) wurde tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei -78 °C (Trockeneis/Aceton-Bad) gerührt. Anschließend wurde NaBH₄ (2.0 Äq.) zugegeben und weitere 3 h gerührt. Die Reaktion wurde mit 5 mL HCl-Lösung (2 M) abgebrochen und das Gemisch mit Et₂O extrahiert. Die organische Phase wurde dann dreimal mit ca. 20 mL demin. Wasser gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produkt (*rac*)-**1** wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 95:5) gereinigt.

6.3.11 Enzymatische Reduktion mit Enreduktasen

In einem Zweihals-Kolben wurde der α,β -ungesättigte γ -Ketoester **7** (150 mg, 0.66–0.88 mmol) mit Glukose-Lösung [9.1 mL, 0.1 M in KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5)], NADP⁺ [500 μ L, 20 mM in KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5)], GDH (50 μ L, ca. 150 U/mL) und Ncr_{ZM} (2.5–25 U/mmol) für Verbindungen **7a-e**, **7g-h** und (*E*)-**7i**, Ncr_{PL} (3.1 U/mmol) für Verbindung (*Z*)-**7f** oder Opr1 (5 U/mmol) für Verbindung (*Z*)-**7i** versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 30 °C gerührt. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 6.5 gehalten. Der Umsatz wurde mit einer GC mit chiraler stationärer Phase kontrolliert. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit ca. 30 mL Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produkt **8** wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 98:2) gereinigt.

6.3.11.1 (R)-3-Methyl-4-oxohexansäureethylester (8a)



Das gewünschte Produkt (*R*)-**8a** (72.7 mg, 0.422 mmol, >48 % Ausbeute, >99 % Umsatz, 99 % *ee*) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a** (0.15 g, 0.88 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[371-373]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.62.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.07 (t, $^3J_{6,5}$ = 7.3 Hz, 3 H, 6-H), 1.13 (d, $^3J_{1'',3}$ = 7.2 Hz, 3 H, 1''-H), 1.24 (t, $^3J_{2',1'}$ = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H), 2.29 (dd, $^2J_{2a,2b}$ = 16.8 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.3 Hz, 1 H, 2-H_a), 2.53 (dq, $^2J_{5a,5b}$ = 17.9 Hz, $^3J_{5,6}$ = 7.3 Hz, 1 H, 5-H_a), 2.59 (dq, $^2J_{5a,5b}$ = 18.0 Hz, $^3J_{5,6}$ = 7.3 Hz, 1 H, 5-H_b), 2.78 (dd, $^2J_{2a,2b}$ = 16.8 Hz, $^3J_{2,3}$ = 8.9 Hz, 1 H, 2-H_b), 3.01 (dq, $^3J_{3,2}$ = 9.0 Hz, $^3J_{3,1''}$ = 7.2 Hz, $^3J_{3,2}$ = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 4.10 (q, $^3J_{1',2'}$ = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.87 (C-6, CH₃), 14.31 (C-2', CH₃), 17.01 (C-1'', CH₃), 34.50 (C-5, CH₂), 37.29 (C-2, CH₂), 41.88 (C-3, CH), 60.66 (C-1', CH₂), 172.51 (C-1, C_{quat}), 213.67 (C-4, C_{quat}).

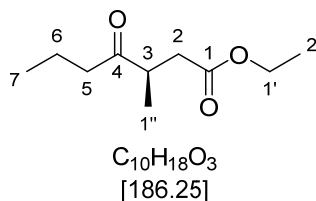
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2979, 2940, 1733 (COOR), 1709 (C=O), 1460, 1411, 1377, 1347, 1272, 1252, 1186, 1095, 1027, 979, 859, 802, 734.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 172 (1) [(M)⁺], 143 (57) [(M-C₂H₅)⁺], 127 (58) [(C₇H₁₁O₂)⁺], 115 (42) [(C₆H₁₁O₂)⁺], 101 (6) [(C₆H₁₃O)⁺], 97 (1) [(C₅H₅O₂)⁺], 87 (17) [(C₄H₇O₂)⁺], 73 (16) [(C₃H₅O₂)⁺], 69 (8) [(C₄H₅O)⁺], 57 (100) [(C₃H₅O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.14.

GC: t_R [min] = 23.8 [(*R*), 99 % *ee*], 24.2 [(*S*)] (FS Lipodex G, 60°C-5 min, 1°C/min auf 100°C, 10°C/min auf 150°C-1 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D$ = +46 (c = 1, CHCl₃, 99 % *ee*).

6.3.11.2 (R)-3-Methyl-4-oxoheptansäureethylester (8b)


Das gewünschte Produkt (*R*)-**8b** (38.5 mg, 0.207 mmol, >25 % Ausbeute, 62 % Umsatz, 99 % *ee*) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7b** (0.15 g, 0.81 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[374]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.67.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.91 (m_c, $^3J_{7,6} = 7.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, 3 H, 7-H), 1.12 (dd, $^3J_{1'',3} = 7.3$ Hz, $J = 0.7$ Hz, 3 H, 1''-H), 1.23 (td, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.61 (sext, $^3J_{6,5/7} = 7.2$ Hz, 2 H, 6-H), 2.27 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 5.3$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.42–2.58 (m, 2 H, 5-H), 2.76 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 8.9$ Hz, 1 H, 2-H_b), 2.99 (dq, $^3J_{3,2} = 9.2$ Hz, $^3J_{3,1''} = 7.3$ Hz, $^3J_{3,2} = 5.8$ Hz, 1 H, 3-H), 4.10 (qd, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 2 H, 1'-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.89 (C-7, CH₃), 14.32 (C-2', CH₃), 16.85 (C-1'', CH₃), 17.17 (C-6, CH₂), 37.15 (C-2, CH₂), 42.14 (C-3, CH), 43.25 (C-5, CH₂), 60.66 (C-1', CH₂), 172.51 (C-1, C_{quat}), 213.09 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2967, 2937, 2878, 1733 (COOR), 1712 (C=O), 1459, 1409, 1376, 1271, 1185, 1120, 1096, 1025, 954, 904, 860, 747.

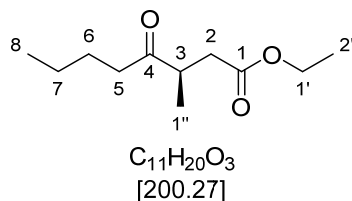
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 186 (4) [(M)⁺], 171 (<1) [(M-CH₄)⁺], 158 (9) [(M-C₂H₄)⁺], 141 (52) [(M-C₂H₅O)⁺], 125 (3) [(C₇H₉O₂)⁺], 115 (36) [(C₆H₁₁O₂)⁺], 101 (4) [(C₅H₉O₂)⁺], 95 (3) [(C₆H₇O)⁺], 87 (13) [(C₄H₇O₂)⁺], 71 (100) [(C₄H₇O)⁺], 55 (7) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.98.

GC: t_R [min] = 30.7 [(*R*), 99 % *ee*], 30.3 [(*S*)] (Hydrodex β -TBDAC, 60°C-5 min, 2°C/min auf 130°C, 10°C/min auf 150°C-1 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = +47$ ($c = 1$, $CHCl_3$, 99 % *ee*).

6.3.11.3 (R)-3-Methyl-4-oxooctansäureethylester (8c)



Das gewünschte Produkt (*R*)-**8c** (<118.3 mg, <0.5907 mmol, <78 % Ausbeute, 82 % Umsatz, >99 % *ee*) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7c** (0.15 g, 0.76 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[317]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 95:5) = 0.29.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{8,7} = 7.4$ Hz, 3 H, 8-H), 1.12 (d, $^3J_{1'',3} = 7.2$ Hz, 3 H, 1''-H), 1.24 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.31 (sext, $^3J_{7,8/7,6} = 7.4$ Hz, 2 H, 7-H), 1.52–1.61 (m, 2 H, 6-H), 2.27 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 5.3$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.47–2.57 (m, 2 H, 5-H), 2.76 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 8.8$ Hz, 1 H, 2-H_b), 3.00 (dq, $^3J_{3,2a} = 8.8$ Hz, $^3J_{3,1''} = 7.2$ Hz, $^3J_{3,2b} = 5.6$ Hz, 1 H, 3-H), 4.10 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.04 (C-8, CH₃), 14.32 (C-2', CH₃), 16.91 (C-1'', CH₃), 22.51 (C-7, CH₂), 25.84 (C-6, CH₂), 37.18 (C-2, CH₂), 41.08 (C-5, CH₂), 42.16 (C-3, CH), 60.66 (C-1', CH₂), 172.51 (C-1, C_{quat}), 213.20 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2961, 2935, 2875, 1733 (COOR), 1712 (C=O), 1460, 1410, 1377, 1344, 1271, 1185, 1123, 1099, 1029, 996, 859, 805, 730.

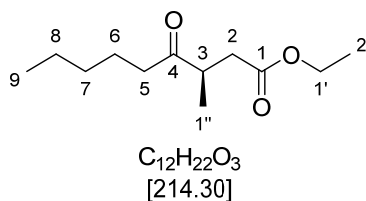
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 200 (<1) [(M)⁺], 171 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 155 (44) [(M-C₂H₅O)⁺], 112 (32) [(C₇H₁₂O)⁺], 85 (91) [(C₅H₉O)⁺], 57 (100) [(C₄H₉)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.82.

GC: t_R [min] = 51.44 [(*R*), >99 % *ee*], 49.3 [(*S*)] (Hydrodex β -TBDAC, 90 °C-60 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{25}_D = +26.57$ (c = 1, MeOH, >99 % *ee*) [Literatur: $[\alpha]^{25}_D = +9.2$ (c = 1, MeOH)].^[317]

6.3.11.4 (R)-3-Methyl-4-oxononansäureethylester (8d)



Das gewünschte Produkt (*R*)-**8d** (19.9 mg, 0.093 mmol, >13 % Ausbeute, 91 % Umsatz, >99 % *ee*) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7d** (0.15 g, 0.71 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.73.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{9,8}$ = 7.2 Hz, 3 H, 9-H), 1.12 (d, $^3J_{1'',3}$ = 7.2 Hz, 3 H, 1''-H), 1.24 (t, $^3J_{2',1'}$ = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H), 1.25–1.37 (m, 4 H, 7-H, 8-H), 1.54–1.63 (m, 2 H, 6-H), 2.27 (dd, $^2J_{2a,2b}$ = 16.7 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.3 Hz, 1 H, 2-H_a), 2.45–2.60 (m, 2 H, 5-H), 2.76 (dd, $^2J_{2a,2b}$ = 16.7 Hz, $^3J_{2,3}$ = 8.8 Hz, 1 H, 2-H_b), 2.99 (dq, $^3J_{3,2a}$ = 8.8 Hz, $^3J_{3,1''}$ = 7.2 Hz, $^3J_{3,2b}$ = 5.3 Hz, 1 H, 3-H), 4.10 (q, $^3J_{1',2'}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.09 (C-9, CH₃), 14.32 (C-2', CH₃), 16.90 (C-1'', CH₃), 22.64 (C-7/C-8, CH₂), 23.41 (C-6, CH₂), 31.58 (C-7/C-8, CH₂), 37.18 (C-2, CH₂), 41.34 (C-5, CH₂), 42.15 (C-3, CH), 60.66 (C-1', CH₂), 172.51 (C-1, C_{quat}), 213.22 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2934, 2875, 1734 (COOR), 1714 (C=O), 1460, 1409, 1376, 1343, 1273, 1183, 1099, 1029, 859, 727.

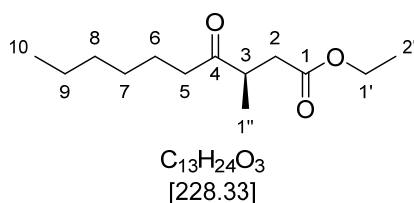
MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 213 (1) [(M-H)⁺], 169 (23) [(M-C₂H₅O)⁺], 158 (32) [(M-C₄H₈)⁺], 143 (18) [(M-C₅H₁₁)⁺], 125 (15) [(C₇H₉O₂)⁺], 112 (48) [(C₆H₈O₂)⁺], 99 (100) [(C₆H₁₁O)⁺], 87 (8) [(C₄H₇O₂)⁺], 71 (67) [(C₅H₁₁)⁺], 55 (24) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: *t_R* [min] = 9.62.

GC: *t_R* [min] = 71.8 [(*R*), >99 % *ee*], 72.1 [(*S*)] (Hydrodex β -TBDAC, 90°C-60 min, 5°C/min auf 150°C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{25}_D$ = +37 (*c* = 1, CHCl₃, >99 % *ee*).

6.3.11.5 (R)-3-Methyl-4-oxodecansäureethylester (8e)



Das gewünschte Produkt (*R*)-**8e** (27 mg, 0.12 mmol, >18 % Ausbeute, 79 % Umsatz, >99 % *ee*) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7e** (0.15 g, 0.66 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.81.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{10,9}$ = 6.8 Hz, 3 H, 10-H), 1.12 (d, $^3J_{1'',3}$ = 7.2 Hz, 3 H, 1''-H), 1.24 (t, $^3J_{2',1'}$ = 7.2 Hz, 3 H, 2'-H), 1.26–1.34 (m, 4 H, 7-H, 8-H, 9-H), 1.54–1.63 (m, 2 H, 6-H), 2.28 (dd, $^2J_{2a,2b}$ = 16.7 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.3 Hz, 1 H, 2-H_a), 2.45–2.58 (m, 2 H, 5-H), 2.76 (dd, $^2J_{2a,2b}$ = 16.7 Hz, $^3J_{2,3}$ = 8.8 Hz, 1 H, 2-H_b), 2.91–3.06 (m, 1 H, 3-H), 4.10 (q, $^3J_{1',2'}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.19 (C-10, CH₃), 14.33 (C-2', CH₃), 16.90 (C-1'', CH₃), 22.66 (C-7/C-8/C-9, CH₂), 23.70 (C-6, CH₂), 29.07 (C-7/C-8/C-9, CH₂), 31.79 (C-7/C-8/C-9, CH₂), 37.19 (C-2, CH₂), 41.39 (C-5, CH₂), 42.15 (C-3, CH), 60.66 (C-1', CH₂), 172.52 (C-1, C_{quat}), 213.23 (C-4, C_{quat}).

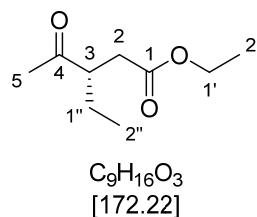
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2930, 2859, 1734 (COOR), 1714 (C=O), 1460, 1410, 1377, 1271, 1185, 1030, 861, 755.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 228 (1) [(M)⁺], 199 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 183 (34) [(M-C₂H₅O)⁺], 171 (1) [(M-C₄H₅)⁺], 158 (55) [(M-C₅H₁₀)⁺], 143 (23) [(M-C₇H₁₁O₃)⁺], 125 (13) [(C₈H₁₃O)⁺], 113 (100) [(C₇H₁₃O)⁺], 95 (8) [(C₆H₇O)⁺], 85 (13) [(C₆H₁₃)⁺], 69 (9) [(C₄H₅O)⁺], 55 (18) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.23.

GC: t_R [min] = 46.2 [(*R*), >99 % *ee*], 47.1 [(*S*)] (Hydrodex β -3P, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 130 °C-30 min, 10 °C/min auf 180 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D$ = -83.9 (c = 0.49, CHCl₃, >99 % *ee*).

6.3.11.6 (S)-3-Ethyl-4-oxopentansäureethylester (8f)


Das gewünschte Produkt (*S*)-**8f** (durch Reduktion von Verbindung (*E*)-**7f** (0.20 g, 1.2 mmol, 1.0 Äq.) mit Ncr_{ZM} : <124.8 mg, 0.7247 mmol, <62 % Ausbeute, 89 % Umsatz, >99 % *ee*; durch Reduktion von Verbindung (*Z*)-**7f** (0.10 g, 0.59 mmol, 1.0 Äq.) mit Ncr_{PL} : 36.3 mg, 0.211 mmol, 36 % Ausbeute, 95 % Umsatz, 96 % *ee*) wurde als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[375]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.76.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{2'',1''} = 7.5$ Hz, 3 H, 2''-H), 1.24 (t, $^3J_{2',1'} = 7.3$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.49 (m, $^2J_{1'',a,1''b} = 14.5$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 1.69 (ddd, $^2J_{1'',a,1''b} = 13.7$ Hz, $J = 7.4$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 2.23 (s, 3 H, 5-H), 2.33 (dd, $^2J_{2a,2b} = 17.0$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.73 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.8$ Hz, $J = 9.8$ Hz, 1 H, 2-H_b), 2.97 (ddd, $J = 10.6$ Hz, $J = 8.5$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1 H, 3-H), 4.10 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 11.39 (C-2'', CH₃), 14.29 (C-2', CH₃), 24.45 (C-1'', CH₂), 29.71 (C-5, CH₃), 34.96 (C-2, CH₂), 49.33 (C-3, CH), 60.73 (C-1', CH₂), 172.68 (C-1, C_{quat}), 211.06 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2970, 2937, 1732 (COOR), 1709 (C=O), 1463, 1412, 1370, 1352, 1331, 1246, 1189, 1162, 1098, 1033, 933, 858, 790.

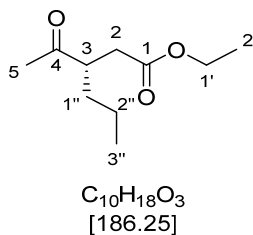
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 172 (<1) [(M)⁺], 157 (4) [(M-CH₄)⁺], 144 (39) [(M-C₂H₄)⁺], 127 (100) [(M-C₂H₅O)⁺], 115 (14) [(C₆H₁₁O₂)⁺], 101 (93) [(C₆H₁₃O)⁺], 88 (31) [(C₄H₈O₂)⁺], 83 (28) [(C₅H₇O)⁺], 73 (49) [(C₃H₅O₂)⁺], 69 (5) [(C₄H₅O)⁺], 59 (13) [(C₃H₃O)⁺], 55 (48) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.12.

GC: t_R [min] = 19.5 [(*S*), 96 % *ee*], 19.7 [(*R*)] (Hydrodex β -TBDAC, 60°C-5 min, 5°C/min auf 150°C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -87$ ($c = 1$, MeOH, 96 % *ee*).

6.3.11.7 (S)-3-Propyl-4-oxopentansäureethylester (8g)



Das gewünschte Produkt (*S*)-**8g** (<88.8 mg, <0.477 mmol, <44 % Ausbeute, 82 % Umsatz, 98 % *ee*) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7g** (0.20 g, 1.2 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.65.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.92 (t, $^3J_{3'',2''} = 7.2$ Hz, 3 H, 3''-H), 1.23 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.27–1.35 (m, 2 H, 2''-H), 1.35–1.43 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.53–1.62 (m, 1 H, 1''-H_b), 2.22 (s, 3 H, 5-H), 2.34 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 4.4$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.72 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 9.9$ Hz, 1 H, 2-H_b), 2.99 (m, $J = 10.7$ Hz, $J = 8.6$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1 H, 3-H), 4.10 (q, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.20 (C-3'', CH₃), 14.29 (C-2', CH₃), 20.31 (C-2'', CH₂), 29.71 (C-5, CH₃), 33.63 (C-1'', CH₂), 35.43 (C-2, CH₂), 47.88 (C-3, CH), 60.72 (C-1', CH₂), 172.65 (C-1, C_{quat}), 211.20 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2962, 2935, 2876, 1733 (COOR), 1712 (C=O), 1467, 1412, 1372, 1351, 1299, 1232, 1186, 1161, 1098, 1031, 864, 722.

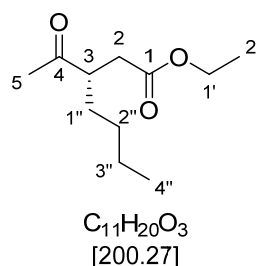
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 186 (<1) [(M)⁺], 171 (2) [(M-CH₄)⁺], 157 (1) [(M-C₂H₄)⁺], 144 (100) [(M-C₃H₆)⁺], 129 (2) [(C₇H₁₃O₂)⁺], 115 (61) [(C₆H₁₁O₂)⁺], 101 (94) [(C₅H₉O₂)⁺], 88 (27) [(C₄H₈O₂)⁺], 73 (64) [(C₃H₅O₂)⁺], 55 (42) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.03.

GC: t_R [min] = 130.4 [(*S*), 98 % *ee*], 131.1 [(*R*)] (CP-Chirasil-DEX, 50 °C-60 min, 0.5 °C/min auf 120 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -63$ ($c = 0.31$, CHCl₃, >99 % *ee*).

6.3.11.8 (S)-3-Butyl-4-oxopentansäureethylester (8h)



Das gewünschte Produkt (S)-**8h** (<97.8 mg, <0.488 mmol, <48 % Ausbeute, 90 % Umsatz, >99 % *ee*) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7h** (0.20 g, 1.0 mmol, 1.0 Äq.) synthetisiert und als ein farbloses Öl isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.72.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.1$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.24 (t, $^3J_{2',1'} = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.21–1.28 (m, 2 H, 3''-H), 1.29–1.35 (m, 2 H, 2''-H), 1.40 (ddt, $^2J_{1''a,1''b} = 13.3$ Hz, $J = 9.1$ Hz, $J = 7.1$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 1.60 (ddt, $^2J_{1''a,1''b} = 13.7$ Hz, $J = 8.5$ Hz, $J = 7.8$ Hz, $J = 6.3$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 2.23 (d, $^4J_{5,3} = 1.2$ Hz, 3 H, 5-H), 2.34 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 4.5$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.73 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 9.8$ Hz, 1 H, 2-H_b), 2.97 (m, $J = 10.7$ Hz, $J = 8.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1 H, 3-H), 4.10 (q, $^3J_{1',2'} = 7.4$ Hz, 2 H, 1'-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 13.98 (C-4'', CH₃), 14.31 (C-2', CH₃), 22.82 (C-2'', CH₂), 29.20 (C-3'', CH₂), 29.72 (C-5, CH₃), 31.18 (C-1'', CH₂), 35.46 (C-2, CH₂), 48.03 (C-3, CH), 60.73 (C-1', CH₂), 172.67 (C-1, C_{quat}), 211.23 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2934, 2863, 1733 (COOR), 1712 (C=O), 1467, 1412, 1372, 1352, 1251, 1184, 1161, 1099, 1026, 963, 860, 787, 730.

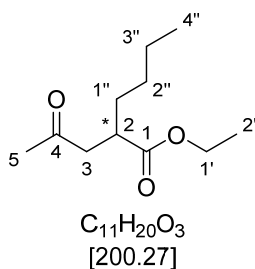
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 201 (<1) [(M+H)⁺], 185 (1) [(M-CH₃)⁺], 171 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 155 (64) [(M-C₂H₅O)⁺], 144 (86) [(M-C₄H₈)⁺], 129 (7) [(C₈H₁₇O)⁺], 115 (76) [(C₇H₁₅O)⁺], 98 (100) [(C₅H₆O₂)⁺], 88 (16) [(C₄H₈O₂)⁺], 83 (38) [(C₆H₁₁)⁺], 73 (42) [(C₃H₅O₂)⁺], 67 (5) [(C₅H₇)⁺], 55 (49) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.91.

GC: t_R [min] = 221.2 [(S), >99 % *ee*], 223.8 [(R)] (CP-Chirasil-DEX, 50°C-60 min, 0.2°C/min auf 105°C-5 min, 10°C/min auf 150°C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -72.9$ ($c = 1$, $CHCl_3$, >99 % *ee*).

6.3.11.9 (R)- und (S)-2-Butyl-4-oxopentansäureethylester (8i)



Die gewünschten Produkte (R)-**8i** (<92.1 mg, <0.460 mmol, <45 % Ausbeute, 96 % Umsatz, 94 % *ee*), synthetisiert aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (Z)-**7i** (0.20 g, 1.0 mmol, 1.0 Äq.), und (S)-**8i** (<96.8 mg, 0.483 mmol, <49 % Ausbeute, 99 % Umsatz, 99 % *ee*), synthetisiert aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (E)-**7i** (0.20 g, 1.0 mmol, 1.0 Äq.), wurden als ein farbloses Öl isoliert.^[376]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.58.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.88 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.0$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.25 (t, $^3J_{2',1'} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.20–1.35 (m, 4 H, 2''-H, 3''-H), 1.48 (m_c, $J = 12.6$ Hz, $J = 8.2$ Hz, $J = 6.5$ Hz, 1 H, 1''-H_a), 1.59 (m_c, $^2J_{1''a,1''b} = 13.8$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 1''-H_b), 2.15 (s, 3 H, 5-H), 2.48 (dd, $^2J_{3a,3b} = 16.9$ Hz, $^3J_{3,2} = 3.8$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.81–2.92 (m, 2 H, 2-H, 3-H_b), 4.13 (m_c, $^3J_{1',2'} = 7.1$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.03 (C-4'', CH₃), 14.36 (C-2', CH₃), 22.65 (C-2''/C-3'', CH₂), 29.29 (C-2''/C-3'', CH₂), 30.21 (C-5, CH₃), 31.79 (C-1'', CH₂), 40.27 (C-2, CH), 45.19 (C-3, CH₂), 60.60 (C-1', CH₂), 175.61 (C-1, C_{quat}), 207.08 (C-4, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2934, 2863, 1717 (C=O), 1466, 1402, 1365, 1223, 1179, 1160, 1043, 1023, 952, 871, 782, 730.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 200 (2) [(M)⁺], 185 (7) [(M-CH₃)⁺], 171 (1) [(M-C₂H₅)⁺], 155 (88) [(M-C₂H₅O)⁺], 143 (100) [(M-C₃H₅O)⁺], 129 (22) [(C₈H₁₇O)⁺], 115 (95) [(C₇H₁₅O)⁺], 109 (37) [(C₇H₉O)⁺], 101 (91) [(C₆H₁₃O)⁺], 83 (67) [(C₆H₁₁)⁺], 73 (84) [(C₃H₅O₂)⁺], 67 (11) [(C₅H₇)⁺], 55 (67) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.76.

GC: t_R [min] = 144.5 [(R), 94 % *ee*], 146.8 [(S), >99 % *ee*] (CP-Chirasil-DEX, 50 °C-60 min, 0.5 °C/min auf 120 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -19.9$ [$c = 1$, CHCl₃, 97 % *ee*, (R)], $+19.0$ [$c = 1$, CHCl₃, >99 % *ee*, (S)].

6.3.12 Vorschrift zur Synthese der γ -Butyrolactone **1**

6.3.12.1 Vorschrift für die Enzymkaskade

In einem Zweihals-Kolben wurde der α,β -ungesättigte γ -Ketoester **7** (1.00 g, 4.42–5.88 mmol) mit Glukose-Lösung [61 mL, 0.1 M in KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5)], $NADP^+$ [3.33 mL, 20 mM in KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5)], GDH (333 μ L, ca. 150 U/mL), Ncr_{ZM} (2.5–10.8 U/mmol) oder Opr1 (6.9 U/mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 30 °C gerührt. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 6.5 gehalten. Der Umsatz wurde mit einer GC mit chiraler stationärer Phase kontrolliert. Dann wurde entweder ADH-LB (68 U/mmol), ADH-T (38 U/mmol) oder ADH-R (35–579 U/mmol) zusammen mit $NADP^+$ [3.33 mL, 20 mM in KP_i -Puffer (100 mM, pH 7)], GDH (333 μ L), Glukose-Lösung [61 mL, 0.1 M in KP_i -Puffer (100 mM, pH 7)] und $MgCl_2$ (6.5 mL, 1 mM, 5 Vol.-%) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 30 °C gerührt. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 6.5 gehalten. Der Umsatz wurde mit einer GC mit chiraler stationärer Phase kontrolliert. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit ca. 200 mL Et_2O extrahiert. Aufgrund der schlechten Phasentrennung wurde die Zwischenphase 3 min bei 11430 rcf zentrifugiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Zur vollständigen Lactonisierung wurde eventuell das Rohprodukt in Et_2O gelöst und mit drei Tropfen konz. HCl versetzt und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Produkt dreimal mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produkt **1** wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 98:2 oder *n*-Pentan/ CH_2Cl_2 60:40) gereinigt. Da die Lactone **1** im konzentrierten Zustand auf der DC mit Molydip anfärbbar sind, wurden die Fraktionen über Nacht im Abzug abgedampft und dann mittels DC, GC/MS und durch olfaktorische Eigenschaften identifiziert.

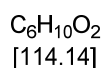
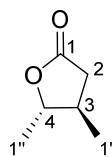
6.3.12.2 Vorschrift für die CBS-Reduktion^[167, 377, 378]

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde entweder das (*S*)- oder (*R*)-Methyl-CBS-oxazaborolidin [(*R/S*)-**145**, 93 μ L bzw. 26 mg, 0.09 mmol, 0.10 Äq.] vorgelegt und das Boran-Dimethylsulfid-Komplex (**146**, **158**, 0.14 mL, 1.4 mmol, 1.5 Äq.) zugegeben. Das Gemisch wurde 30 min bei 0 °C gerührt. Verbindung (*R*)-**8d** (0.20 mg, 0.93 mmol, 1.0 Äq.) gelöst in trockenem THF (2.4 mL, 29 mmol, 32 Äq.) wurde tropfenweise zugegeben und weitere 3 h bei 0 °C gerührt. Die Diastereoselektivität wurde mittels Gaschromatographie mit einer chiralen stationären Phase ermittelt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe einer HCl-Lösung (3 M) gestoppt und dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit demin. Wasser gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Zur vollständigen Lactonisierung wurde das Rohprodukt in 2 mL trockenem THF gelöst und mit drei Tropfen konz. H_2SO_4 versetzt. Nach 1.5 h rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung versetzt und dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 95:5) gereinigt.

6.3.12.3 Fráter-Seebach-Alkylierung^[318]

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde (*S*)-Valerolacton [(*S*)-**1q**, 10 μ L, 0.10 mmol, 1.0 Äq.] in trockenem THF (4.0 mL, 49 mmol) vorgelegt und das Reaktionsgemisch mit Hilfe eines Trockeneis/Aceton-Bads auf -78°C gekühlt. NaHMDS (0.22 mL, 0.22 mmol, 2.2 Äq.) wurde zugegeben und weitere 1.5 h gerührt. Zuletzt wurde *n*-Butyliodid (0.12 mL, 1.0 mmol, 10 Äq.) zugegeben und weitere 2 h gerührt. Alternativ wurde LiHMDS *in situ* gebildet. Dazu wurde HMDS (36 mg, 0.22 mmol, 2.2 Äq. oder 26 μ L, 0.12 mmol, 1.2 Äq.) in trockenem THF (4.0 mL, 49 mmol) vorgelegt und auf -78°C gekühlt. $n\text{BuLi}$ (2.5 M, 0.13 mL, 0.33 mmol, 3.3 Äq. oder 45 μ L, 0.11 mmol, 1.1 Äq.) wurde zugegeben und 15 min gerührt, bevor *n*-Butyliodid (0.12 mL, 1.0 mmol, 10 Äq.) zugegeben wurde. Schließlich wurde das Reaktionsgemisch auf -20°C erwärmt und die Reaktion durch Zugabe von 1 mL HCl-Lösung (2 M) gequencht. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit gesättigter NH_4Cl -Lösung und Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 98:2) gereinigt.

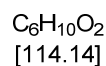
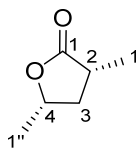
6.3.12.3.1 (3*R*,4*S*)-3-Methyl-4-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on (**1j**)



Das gewünschte Produkt (3*R*,4*S*)-**1j** (11.6 mg, 0.102 mmol, 16 % Ausbeute) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7j** (0.10 g, 0.64 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[279, 312-314]

¹H-NMR (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.13 (d, $^3J_{1',3} = 6.4$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.40 (d, $^3J_{1'',4} = 6.2$ Hz, 3 H, 1''-H), 2.07–2.25 (m, 2 H, 2-H_a, 3-H), 2.67 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.4$ Hz, $^3J_{2,3} = 7.1$ Hz, 1 H, 2-H_b), 4.14 (dq, $^3J_{4,3} = 8.0$ Hz, $^3J_{4,1''} = 6.4$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 16.91 (C-1', CH_3), 19.24 (C-1'', CH_3), 37.40 (C-2, CH), 38.32 (C-3, CH_2), 83.58 (C-4, CH), 176.46 (C-1, C_{quat}).

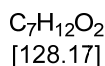
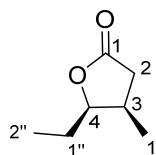
6.3.12.3.2 (2*R*,4*S*)-2-Methyl-4-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on (**1k**)

Das gewünschte Produkt (2*R*,4*S*)-**1k** (33.7 mg, 0.295 mmol, 47 % Ausbeute) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)-**7k** (0.10 g, 0.64 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[279, 316]

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.26 (d, $^3J_{1',2} = 7.0$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.41 (d, $^3J_{1'',4} = 6.1$ Hz, 3 H, 1''-H), 1.48 (ddd, $^2J_{3a,3b} = 12.3$ Hz, $^3J_{3,2} = 12.2$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.4$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.51 (ddd, $^2J_{3a,3b} = 12.5$ Hz, $^3J_{3,2} = 8.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.4$ Hz, 1 H, 3-H_b), 2.68 (ddq, $^3J_{2,3a} = 12.1$ Hz, $^3J_{2,3b} = 8.3$ Hz, $^3J_{2,1'} = 7.0$ Hz, 1 H, 2-H), 4.42–4.52 (m, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 15.27 (C-1', CH₃), 21.07 (C-1'', CH₃), 36.52 (C-2, CH), 39.28 (C-3, CH₂), 75.00 (C-4, CH), 179.65 (C-1, C_{quat}).

6.3.12.3.3 (3*R*,4*R*)-4-Ethyl-3-methyldihydrofuran-1(3*H*)-on (**1a**)



Das gewünschte Produkt (3*R*,4*R*)-**1a** (272.9 mg, 2.129 mmol, 36 % Ausbeute, 57 % Umsatz, 99 % *ee*, Sel.: 0:>99:0:0) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a** (1.0 g, 5.9 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Walnuss-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[283, 284]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.57.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.96–1.06 (m, 6 H, 1'-H, 2''-H), 1.52–1.61 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.69 (ddq, ²J_{1''a,1''b} = 14.5 Hz, ³J_{1'',4} = 8.9 Hz, ³J_{1'',2''} = 7.4 Hz, 1 H, 1''-H_b), 2.19 (dd, ²J_{2a,2b} = 17.0 Hz, ³J_{2,3} = 4.1 Hz, 1 H, 2-H_a), 2.52–2.65 (m, 1 H, 3-H), 2.69 (dd, ²J_{2a,2b} = 17.0 Hz, ³J_{2,3} = 7.9 Hz, 1 H, 2-H_b), 4.35 (dt, ³J_{4,1''} = 8.9 Hz, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 10.44 (C-2'', CH₃), 13.87 (C-1', CH₃), 23.17 (C-1'', CH₂), 32.96 (C-3, CH), 37.71 (C-2, CH₂), 85.21 (C-4, CH), 177.03 (C-1, C_{quat}).

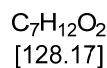
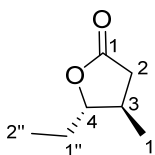
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2970, 2882, 1765 (Lacton), 1461, 1422, 1387, 1339, 1292, 1215, 1174, 1147, 1075, 1026, 975, 958, 930, 883, 862, 775, 701.

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 128 (2) [(M)⁺], 99 (100) [(M-C₂H₅)⁺], 84 (4) [(C₆H₁₂)⁺], 71 (40) [(C₅H₁₁)⁺], 59 (55) [(C₂H₃O₂)⁺].

GC/MS: *t_R* [min] = 6.52.

GC: *t_R* [min] = 31.9 [(3*R*,4*R*), 99 % *ee*, Sel.: 0:>99:0:0] 31.3 (3*S*,4*S*), 27.5 (3*S*,4*R*), 28.8 (3*R*,4*S*) (FS Lipodex G, 60 °C-5 min, 1 °C/min auf 100 °C, 10 °C/min auf 150 °C-1 min).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +75$ (3*R*,4*R*) (*c* = 2, CHCl₃, >99 % *ee*, >99 % *de*) [Literatur: $[\alpha]_{\text{D}} = -34.4$ (3*S*,4*S*) (*c* = 2, CHCl₃)].^[283]

6.3.12.3.4 (3*R*,4*S*)-4-Ethyl-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on (1a)


Das gewünschte Produkt (3*R*,4*S*)-**1a** (515.9 mg, 4.025 mmol, 69 % Ausbeute, 87 % Umsatz, 99 % *ee*, Sel.: 0:2:0:98) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7a** (1.0 g, 5.9 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Walnuss-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[282, 285]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.55.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.03 (t, $^3J_{2'',1''} = 7.4$ Hz, 3 H, 2''-H), 1.14 (d, $^3J_{1',3} = 7.4$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.58–1.68 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.70–1.80 (m, 1 H, 1''-H_b), 2.14–2.30 (m, 2 H, 2-H_a, 3-H), 2.63–2.72 (m, 1 H, 2-H_b), 3.96 (td, $^3J_{4,1''} = 7.5$ Hz, $^3J_{4,3} = 4.2$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 10.12 (C-2'', CH₃), 17.74 (C-1', CH₃), 27.06 (C-1'', CH₂), 35.68 (C-3, CH), 37.31 (C-2, CH₂), 88.77 (C-4, CH), 176.70 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2969, 2936, 2881, 1770 (Lacton), 1460, 1423, 1384, 1360, 1334, 1283, 1266, 1216, 1175, 1156, 1119, 1071, 1034, 972, 926, 859, 844, 776, 756, 661.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 128 (3) [(M)⁺], 99 (100) [(M-C₂H₅)⁺], 84 (5) [(C₆H₁₂)⁺], 71 (39) [(C₅H₁₁)⁺], 59 (40) [(C₂H₃O₂)⁺].

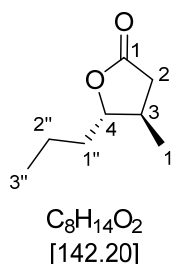
GC/MS: t_R [min] = 6.22.

GC: t_R [min] = 28.8 [(3*R*,4*S*), 99 % *ee*, Sel.: 0:2:0:98], 27.5 (3*S*,4*R*), 31.3 (3*S*,4*S*), 31.9 (3*R*,4*R*) (FS Lipodex G, 60 °C-5 min, 1 °C/min auf 100 °C, 10 °C/min auf 150 °C-1 min).

Drehwert: $[\alpha]_D^{25} = -148$ (3*R*,4*S*) ($c = 1$, CHCl₃, >99 % *ee*, >99 % *de*) [Literatur: $[\alpha]_D = +66.7$ (3*S*,4*R*) (Reinsubstanz)].^[282]

6.3.12.3.5

6.3.12.3.6 (3*R*,4*S*)-3-Methyl-4-propyldihydrofuran-2(3*H*)-on (**1b**)



Das gewünschte Produkt (3*R*,4*S*)-**1b** (483.8 mg, 3.402 mmol, 46 % (3*R*,4*S*) und 17 % (3*R*,4*S* + 3*R*,4*R*) Ausbeute, 63 % Umsatz, >99 % *ee*, Sel.: 0:88:0:12) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7b** (1.0 g, 5.4 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Kokosnuss-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[285, 379, 380]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.42.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.95 (t, $^3J_{3'',2''} = 7.3$ Hz, 3 H, 3''-H), 1.13 (d, $^3J_{1',3} = 6.0$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.44 (m, $J = 13.4$ Hz, $J = 11.6$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 2 H, 2''-H), 1.51–1.72 (m, 2 H, 1''-H), 2.05–2.28 (m, 2 H, 2-H_a, 3-H), 2.56–2.74 (m, 1 H, 2-H_b), 4.01 (td, $J = 7.3$ Hz, $J = 3.9$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.00 (C-3'', CH₃), 17.60 (C-1', CH₃), 19.19 (C-2'', CH₂), 36.25 (C-3, C-1'', CH₂, CH), 37.27 (C-2, CH₂), 87.35 (C-4, CH), 176.74 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2962, 2936, 2876, 1772 (Lacton), 1459, 1424, 1383, 1330, 1309, 1255, 1214, 1173, 1123, 1074, 1018, 977, 934, 889, 862, 821, 747, 662.

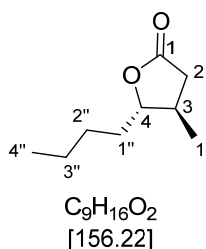
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 142 (1) [(M)⁺], 128 (<1) [(M-CH₂)⁺], 124 (3) [(C₈H₁₂O)⁺], 114 (5) [(C₆H₁₀O₂)⁺], 99 (100) [(M-C₃H₇)⁺], 71 (35) [(C₄H₇O)⁺], 55 (20) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.23.

GC: t_R [min] = 24.8 [(3*R*,4*S*), 99 % *ee*, Sel.: 11:78:0:10], 23.5 (3*S*,4*R*), 25.9 (3*S*,4*S*), 26.2 (3*R*,4*R*) (FS Lipodex G, 60 °C-5 min, 2 °C/min auf 130 °C, 10 °C/min auf 150 °C-1 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -36.2$ (3*R*,4*S*) ($c = 1$, CHCl₃, >99 % *ee*, >99 % *de*).

6.3.12.3.7

6.3.12.3.8 (3*R*,4*S*)-4-Butyl-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on [Quercuslacton (1c)]


Das gewünschte Produkt (3*R*,4*S*)-**1c** (578.4 mg, 3.702 mmol, 73 % Ausbeute, 78 % Umsatz, >99 % *ee*, Sel.: 0:98:2:0) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7c** (1.0 g, 5.0 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Kokosnuss-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[96]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 95:5) = 0.12.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.92 (t, $^3J_{4'',3''} = 7.1$ Hz, 3 H, 4''-H), 1.14 (d, $^3J_{1',3} = 6.3$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.31–1.43 (m, 3 H, 3''-H, 2''-H), 1.47–1.54 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.56–1.64 (m, 1 H, 1''-H_b), 1.64–1.71 (m, 1 H, 2''-H), 2.15–2.26 (m, 2 H, 2-H_a, 3-H), 2.63–2.71 (m, 1 H, 2-H_b), 4.01 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 8.0$ Hz, $J = 3.9$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.89 (C-4'', CH₃), 17.50 (C-1', CH₃), 22.48 (C-2''/C-3'', CH₂), 27.83 (C-2''/C-3'', CH₂), 33.70 (C-1'', CH₂), 36.07 (C-3, CH), 37.13 (C-2, CH₂), 87.46 (C-4, CH), 176.59 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2933, 2874, 1772 (Lacton), 1459, 1424, 1383, 1331, 1284, 1255, 1210, 1170, 1124, 1078, 984, 926, 942, 855, 786, 733, 662.

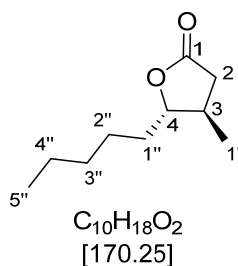
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 157 (4) [(M+H)⁺], 138 (6) [(M-H₂O)⁺], 99 (100) [(M-C₄H₉)⁺], 84 (54) [(C₄H₄O₂)⁺], 69 (15) [(C₅H₉)⁺], 51 (47).

GC/MS: t_R [min] = 7.79.

GC: t_R [min] = 71.5 [(3*R*,4*S*), >99 % *ee*, Sel.: 0:98:2:0], 71.1 (3*S*,4*R*), 73.3 (3*S*,4*S*), 73.6 (3*R*,4*R*) (Hydrodex β -TBDAC, 90 °C-60 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -89.0$ (3*R*,4*S*) ($c = 1$, MeOH, >99 % *ee*, >99 % *de*) [Literatur: $[\alpha]^{20}_D = -95$ (3*R*,4*S*), +96 (3*S*,4*R*) ($c = 1.0$ –1.6, MeOH)].^[96]

6.3.12.3.9 (3*R*,4*S*)- und (3*R*,4*R*)-3-Methyl-4-pentyldihydrofuran-2(3*H*)-on
[Cognaclacton (1d**)]**



Das gewünschte Produkt (3*R*,4*S*)-**1d** (282 mg, 1.66 mmol, 35 % (3*R*,4*S*), 7 % (3*R*,4*S* + 3*R*,4*R*), 2 % (3*R*,4*R*) Ausbeute, 79 % Umsatz, 99 % *ee*, Sel.: 0:87:0:13) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7d** (1.0 g, 4.7 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Pfirsich- (3*R*,4*S*) oder Walnuss-Geruch (3*R*,4*R*) isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[288, 290, 293]

(3*R*,4*S*)-**1d**:

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.57.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.87–0.92 (t, ³*J*_{5'',4''} = 6.9 Hz, 3 H, 5''-H), 1.13 (d, ³*J*_{1',3} = 6.5 Hz, 3 H, 1'-H), 1.26–1.37 (m, 4 H, 3''-H, 4''-H), 1.34–1.45 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.48–1.55 (m, 1 H, 1''-H_b), 1.55–1.63 (m, 1 H, 2''-H_a), 1.63–1.73 (m, 1 H, 2''-H_b), 2.13–2.28 (m, 2 H, 2-H_a, 3-H), 2.60–2.73 (m, 1 H, 2-H_b), 4.00 (ddd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 7.8 Hz, *J* = 3.9 Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.12 (C-5'', CH₃), 17.64 (C-1', CH₃), 22.63 (C-3''/C-4'', CH₂), 25.55 (C-1'', CH₂), 31.71 (C-3''/C-4'', CH₂), 34.13 (C-2'', CH₂), 36.22 (C-3, CH), 37.28 (C-2, CH₂), 87.61 (C-4, CH), 176.73 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2933, 2862, 1772 (Lacton), 1459, 1423, 1382, 1330, 1206, 1169, 1125, 1072, 1002, 937, 861, 815, 756, 728, 662.

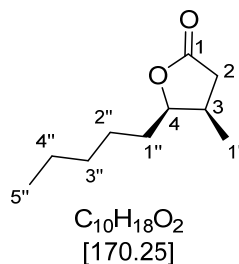
MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 170 (<1) [(M)⁺], 142 (2) [(M-C₂H₄)⁺], 128 (4) [(M-C₃H₆)⁺], 110 (5) [(C₆H₆O₂)⁺], 99 (100) [(C₅H₇O₂)⁺], 83 (12) [(C₄H₃O₂)⁺], 71 (26) [(C₅H₁₁)⁺], 55 (15) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: *t_R* [min] = 9.13.

GC: *t_R* [min] = 7.0 [(3*R*,4*S*), 99 % *ee*, Sel.: 0:87:0:13], 6.6 (3*S*,4*R*), 8.8 (3*S*,4*S*), 9.5 (3*R*,4*R*) (Hydrodex β -TBDAC, 150 °C-10 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = -96.8$ (3*R*,4*S*) ($c = 1$, CHCl_3 , $>99\%$ *ee*, $>99\%$ *de*) [Literatur: $[\alpha]^{25}_{\text{D}} = +72.3$ (3*S*,4*R*) ($c = 1$, CHCl_3), $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = -73.4$ (3*R*,4*S*) ($c = 0.22$, CHCl_3)].^[293]

(3*R*,4*R*)-**1d**:



R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.48.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.90 (t, $^3J_{5'',4''} = 6.9$ Hz, 3 H, 5''-H), 1.01 (d, $^3J_{1',3} = 7.1$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.28–1.42 (m, 5 H, 2''-H_a, 3''-H, 4''-H), 1.44–1.56 (m, 2 H, 1''-H_a, 2''-H_b), 1.60–1.74 (m, 1 H, 1''-H_b), 2.19 (dd, $^2J_{2a,2b} = 17.1$ Hz, $^3J_{2,3} = 4.0$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.57 (m_c, $J = 10.4$ Hz, $J = 8.8$ Hz, $^3J_{3,1'} = 7.0$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1 H, 3-H), 2.69 (dd, $^2J_{2a,2b} = 17.0$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1 H, 2-H_b), 4.43 (ddd, $J = 9.3$ Hz, $J = 5.7$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 13.99 (C-1', CH₃), 14.12 (C-5'', CH₃), 22.64 (C-3''/C-4'', CH₂), 25.73 (C-2'', CH₂), 30.01 (C-1'', CH₂), 31.77 (C-3''/C-4'', CH₂), 33.17 (C-3, CH), 37.71 (C-2, CH₂), 83.85 (C-4, CH), 177.07 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2930, 2861, 1772 (Lacton), 1459, 1422, 1382, 1334, 1290, 1213, 1166, 1077, 1007, 975, 932, 863, 730.

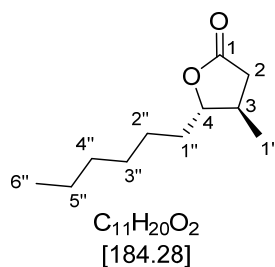
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 169 (<1) [(M-H)⁺], 142 (2) [(M-C₂H₄)⁺], 128 (3) [(M-C₃H₆)⁺], 110 (5) [(C₆H₆O₂)⁺], 99 (100) [(C₅H₇O₂)⁺], 83 (16) [(C₄H₃O₂)⁺], 71 (24) [(C₅H₁₁)⁺], 55 (17) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.43.

GC: t_R [min] = 9.5 [(3*R*,4*R*), $>99\%$ *ee*, Sel.: 0:87:0:13], 6.6 (3*S*,4*R*), 7.0 (3*R*,4*S*), 8.8 (3*S*,4*S*) (Hydrodex β -TBDac, 150 °C-10 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = +46$ (3*R*,4*R*) ($c = 1$, CHCl_3 , $>99\%$ *ee*, $>99\%$ *de*) [Literatur: $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = -64.8$ (3*S*,4*S*) ($c = 1.23$, CHCl_3)].^[288]

6.3.12.3.10 (3*R*,4*S*)-4-Hexyl-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on (**1e**)



Das gewünschte Produkt (3*R*,4*S*)-**1e** (73.6 mg, 0.399 mmol, 9 % Ausbeute, 17 % Umsatz, >99 % *ee*, Sel.: 0:98:0:2) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7e** (1.0 g, 4.4 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Pfirsich-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[295-297]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.55.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{6'',5''} = 6.8$ Hz, 3 H, 6''-H), 1.14 (d, $^3J_{1',3} = 6.3$ Hz, 3 H, 1'-H), 1.24–1.36 (m, 6 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.36–1.43 (m, 1 H, 2''-H_a), 1.47–1.56 (m, 1 H, 1''-H_a), 1.56–1.64 (m, 1 H, 1''-H_b), 1.64–1.71 (m, 1 H, 2''-H_b), 2.13–2.27 (m, 2 H, 2-H_a, 3-H), 2.61–2.72 (m, 1 H, 2-H_b), 4.00 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.7$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.20 (C-6'', CH₃), 17.65 (C-1', CH₃), 22.69 (C-4'', CH₂), 25.84 (C-1'', CH₂), 29.21 (C-3'', CH₂), 31.80 (C-5'', CH₂), 34.19 (C-2'', CH₂), 36.23 (C-3, CH), 37.30 (C-2, CH₂), 87.62 (C-4, CH), 176.74 (C-1, C_{quat}).

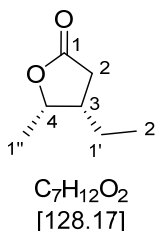
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2930, 2859, 1775 (Lacton), 1459, 1423, 1381, 1331, 1289, 1256, 1209, 1168, 1156, 1126, 1075, 1002, 968, 937, 863, 726, 662.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 185 (<1) [(M+H)⁺], 155 (<1) [(M-C₂H₅)⁺], 142 (14) [(M-C₃H₆)⁺], 124 (8) [(C₇H₈O₂)⁺], 115 (6) [(C₇H₁₅O)⁺], 99 (100) [(M-C₆H₁₃)⁺], 86 (2) [(C₄H₆O₂)⁺], 71 (24) [(C₅H₁₁)⁺], 55 (18) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.91.

GC: t_R [min] = 29.9 [(3*R*,4*S*), >99 % *ee*, Sel.: 0:98:0:2], 29.2 (3*S*,4*R*), 32.9 (3*S*,4*S*), 34.0 (3*R*,4*R*) (Hydrodex β -TBDAC, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 150 °C-15 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -65.6$ (3*R*,4*S*) ($c = 1$, CHCl₃, >99 % *ee*, >99 % *de*) [Literatur: $[\alpha]^{23}_D = -57.6$ (3*S*,4*S*) ($c = 1.06$, CHCl₃)], $[\alpha]^{12}_D = +56.7$ (3*R*,4*R*) ($c = 2.47$, CHCl₃)].^[295]

6.3.12.3.11 (3*S*,4*S*)-3-Ethyl-4-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on (1*f*)


Das Produkt (3*S*,4*S*)-**1f** (0.37 g, 2.9 mmol, 49 % Ausbeute, 73 % Umsatz, 96 % *ee*, Sel.: 4:2:1:94) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7f** (1.0 g, 5.9 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein leicht orangenes Öl mit einem einen Walnuss-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[298]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.42.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.94 (t, $^3J_{2',1'} = 7.4$ Hz, 3 H, 2'-H), 1.27 (d, $^3J_{1'',4} = 6.6$ Hz, 3 H, 1''-H), 1.30–1.42 (m, 1 H, 1'-H_a), 1.47–1.57 (m, 1 H, 1'-H_b), 2.27 (dd, $^2J_{2a,2b} = 17.1$ Hz, $^3J_{2,3} = 8.5$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.38–2.49 (m, 1 H, 3-H), 2.56 (dd, $^2J_{2a,2b} = 17.1$ Hz, $^3J_{2,3} = 8.0$ Hz, 1 H, 2-H_b), 4.71 (dq, $^3J_{4,1''/3} = 6.7$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 12.26 (C-2', CH₃), 15.49 (C-1'', CH₃), 21.78 (C-1', CH₂), 33.71 (C-2, CH₂), 40.79 (C-3, CH), 79.44 (C-4, CH), 176.77 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2966, 2936, 2880, 1769 (Lacton), 1462, 1422, 1387, 1337, 1173, 1064, 1019, 937, 918, 829, 642, 553.

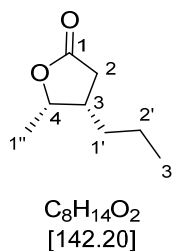
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 128 (3) [(M)⁺], 113 (9) [(M-CH₄)⁺], 84 (13) [(C₄H₄O₂)⁺], 69 (15) [(C₅H₉)⁺], 56 (100) [(C₃H₄O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.61.

GC: t_R [min] = 18.9 [(3*S*,4*S*), 96 % *ee*, Sel.: 4:2:1:94], 17.3, 17.7, 18.7 (3*R*,4*R*) (CP-Chirasil-DEX, 60 °C- 5 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -10.8$ (3*S*,4*S*) ($c = 1$, CHCl₃, 99 % *ee*, 99 % *de*).

6.3.12.3.12 (3*S*,4*S*)-4-Methyl-3-propyldihydrofuran-2(3*H*)-on (**1g**)



Das Produkt (3*S*,4*S*)-**1g** (0.26 g, 1.9 mmol, 34 % Ausbeute, 43 % Umsatz, >99 % *ee*, Sel.: 1:1:0:98) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7g** (1.0 g, 5.4 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Kokosnuss-Geruch isoliert.

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.52.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.94 (t, $^3J_{3',2'} = 7.0$ Hz, 3 H, 3'-H), 1.26 (d, $^3J_{1'',4} = 6.6$ Hz, 3 H, 1''-H), 1.28–1.47 (m, 4 H, 1'-H, 2'-H), 2.21–2.33 (m, 1 H, 2-H_a), 2.47–2.60 (m, 2 H, 2-H_b, 3-H), 4.70 (dq, $^3J_{4,1''/3} = 6.6$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.18 (C-3', CH₃), 15.56 (C-1'', CH₃), 21.05 (C-2', CH₂), 30.96 (C-1', CH₂), 33.90 (C-2, CH₂), 38.84 (C-3, CH), 79.48 (C-4, CH), 176.78 (C-1, C_{quat}).

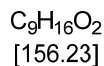
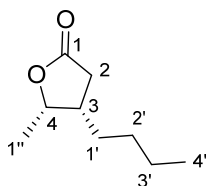
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2934, 2868, 1770 (Lacton), 1459, 1387, 1337, 1172, 1056, 1031, 940, 923, 832, 648, 555.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 142 (<1) [(M)⁺], 127 (11) [(M-CH₃)⁺], 98 (5) [(M-C₃H₈)⁺], 81 (11), 70 (100), 55 (62).

GC/MS: t_R [min] = 8.80.

GC: t_R [min] = 20.9 [(3*S*,4*S*), 99 % *ee*, Sel.: 1:1:0:98], 19.6, 19.9, 20.4 (3*R*,4*R*) (CP-Chirasil-DEX, 60 °C- 5 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = -10.8$ (3*S*,4*S*) ($c = 1$, CHCl₃, 99 % *ee*, 99 % *de*).

6.3.12.3.13 (3*S*,4*S*)-3-Butyl-4-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on (1*h*)


Das gewünschte Produkt (3*S*,4*S*)-**1h** (129.2 mg, 0.8270 mmol, 16 % Ausbeute, 37 % Umsatz, >99 % *ee*, Sel.: 10:2:0:88) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester **7h** (1.0 g, 5.0 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem Terpentinen-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[298-300, 381, 382]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.49.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{4',3'} = 7.0$ Hz, 3 H, 4'-H), 1.19–1.29 (m, 1 H, 1'-H_a), 1.27 (d, $^3J_{1'',4} = 6.6$ Hz, 3 H, 1''-H), 1.29–1.38 (m, 4 H, 2'-H, 3'-H), 1.41–1.51 (m, 1 H, 1'-H_b), 2.27 (dd, $^2J_{2a,2b} = 16.3$ Hz, $^3J_{2,3} = 8.0$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.46–2.59 (m, 2 H, 2-H_b, 3-H), 4.70 (dq, $^3J_{4,1''/3} = 6.6$ Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.08 (C-4', CH₃), 15.57 (C-1'', CH₃), 22.84 (C-2'/3', CH₂), 28.50 (C-1', CH₂), 30.05 (C-2'/3', CH₂), 33.94 (C-2, CH₂), 39.07 (C-3, CH), 79.54 (C-4, CH), 176.90 (C-1, C_{quat}).

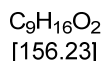
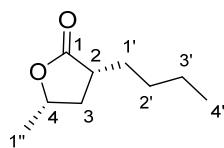
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958, 2931, 2874, 2860, 1772 (Lacton), 1459, 1387, 1336, 1171, 1043, 973, 924, 831, 647, 555.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 156 (1) [(M)⁺], 141 (7) [(M-CH₃)⁺], 128 (1) [(M-C₂H₄)⁺], 112 (5) [(M-C₃H₈)⁺], 99 (1) [(M-C₇H₉)⁺], 95 (13) [(C₇H₁₁)⁺], 84 (100) [(C₄H₄O₂)⁺], 70 (41) [(C₄H₆O)⁺], 56 (80) [(C₄H₈)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.78.

GC: t_R [min] = 22.9 [(3*S*,4*S*), >99 % *ee*, Sel.: 10:2:0:88], 21.6, 21.9, 22.7 (3*R*,4*R*) (CP-Chirasil-DEX, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 150 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D = +17.9$ (3*S*,4*S*) ($c = 1$, CHCl₃, >99 % *ee*, 99 % *de*) [Literatur: $[\alpha]_D = -44.2$ (3*R*,4*S*) ($c = 0.4$, CDCl₃)].^[299]

6.3.12.3.14 (2*R*,4*S*)- und (2*S*,4*S*)-2-Butyl-4-methyldihydrofuran-2(3*H*)-on (1*i*)


Das gewünschte Produkt (2*R*,4*S*)-**1i** (208 mg, 1.33 mmol, 26 % Ausbeute, 62 % Umsatz, 82 % *ee*, Sel.: 0:58:0:42) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*Z*)-**7i** (1.0 g, 5.0 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem süßen Kokosnuss-Geruch isoliert. Das Produkt (2*S*,4*S*)-**1i** (382.3 mg, 2.447 mmol, 49 % Ausbeute, 63 % Umsatz, >99 % *ee*, Sel.: 0:82:18:0) wurde aus dem α,β -ungesättigten γ -Ketoester (*E*)-**7i** (1.0 g, 5.0 mmol, 1.0 Äq.) nach Vorschrift 6.3.12.1 hergestellt und als ein farbloses Öl mit einem herben Kokosnuss-Geruch isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[302, 383]

(2*R*,4*S*)-**1i**:

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.65.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, $^3J_{4',3'}$ = 7.0 Hz, 3 H, 4'-H), 1.37 (d, $^3J_{1'',4}$ = 6.4 Hz, 3 H, 1''-H), 1.29–1.41 (m, 4 H, 2'-H, 3'-H), 1.41–1.51 (m, 1 H, 1'-H_a), 1.78–1.89 (m, 1 H, 1'-H_b), 1.41–2.01 (ddd, $^2J_{3a,3b}$ = 12.8 Hz, $^3J_{3,2}$ = 9.0 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.0 Hz, 1 H, 3-H_a), 2.08 (dt, $^2J_{3a,3b}$ = 12.8 Hz, $^3J_{3,2}$ = 7.4 Hz, 1 H, 3-H_b), 2.62 (dddd, $^3J_{2,3}$ = 9.1 Hz, $^3J_{2,1'}$ = 7.4 Hz, $^4J_{2,4}$ = 5.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.61–4.71 (m, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.00 (C-4', CH₃), 21.40 (C-1'', CH₃), 22.58 (C-2'/3', CH₂), 29.67 (C-2'/3', CH₂), 30.57 (C-1', CH₂), 35.28 (C-3, CH₂), 39.47 (C-2, CH), 75.02 (C-4, CH), 179.48 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958, 2933, 2859, 1764 (Lacton), 1458, 1384, 1343, 1170, 1103, 1034, 959.

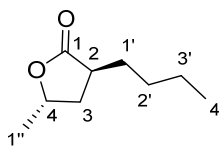
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 156 (<1) [(M)⁺], 141 (7) [(M-CH₃)⁺], 113 (14) [(M-C₃H₇)⁺], 100 (100) [(M-C₄H₈)⁺], 84 (8) [(C₆H₁₂)⁺], 69 (20) [(C₅H₉)⁺], 55 (43) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.22.

GC: t_R [min] = 24.7 [(2*R*,4*S*), 82 % *ee*, Sel.: 0:58:0:42], 23.9 (2*R*,4*R*), 24.2 (2*S*,4*S*), 24.4 (2*S*,4*R*) (Hydrodex β -TBDAC, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 130 °C, 2 °C/min auf 160 °C-5 min).

Drehwert: $[\alpha]^{20}_D$ = -4.6 (2*R*,4*S*) (*c* = 1, CHCl₃, 99 % *ee*, >99 % *de*).

(2*S*,4*S*)-**1i**:



C₉H₁₆O₂
[156.23]

R_f (*n*-Pentan/Aceton 80:20) = 0.69.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.91 (t, 3 H, ³J_{4',3'} = 6.2 Hz, 4'-H), 1.27–1.38 (m, 4 H, 2'-H, 3'-H), 1.38–1.44 (m, 1 H, 1'-H_a), 1.41 (d, ³J_{1'',4} = 6.2 Hz, 3 H, 1''-H), 1.48 (ddd, ²J_{3a,3b} = 12.2 Hz, ³J_{3,2} = 12.0 Hz, ³J_{3,4} = 10.4 Hz, 2 H, 3-H_a), 1.87–1.99 (m, 1 H, 1'-H_b), 2.47 (ddd, ²J_{3a,3b} = 12.3 Hz, ³J_{3,2} = 8.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.4 Hz, 1 H, 3-H_b), 2.59 (dddd, *J* = 13.0 Hz, *J* = 8.8 Hz, *J* = 4.6 Hz, 1 H, 2-H), 4.47 (ddq, ³J_{4,1''} = 10.0 Hz, ³J_{4,3} = 5.8 Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.04 (C-4', CH₃), 21.15 (C-1'', CH₃), 22.61 (C-2'/3', CH₂), 29.69 (C-2'/3', CH₂), 30.17 (C-1', CH₂), 37.18 (C-3, CH₂), 41.64 (C-2, CH), 75.22 (C-4, CH), 179.22 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2931, 2858, 1769 (Lacton), 1457, 1388, 1343, 1279, 1175, 1120, 1069, 952, 700, 628.

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 156 (<1) [(M)⁺], 141 (2) [(M-CH₃)⁺], 113 (13) [(M-C₃H₇)⁺], 100 (100) [(M-C₄H₈)⁺], 69 (16) [(C₅H₉)⁺], 55 (38) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: *t_R* [min] = 9.16.

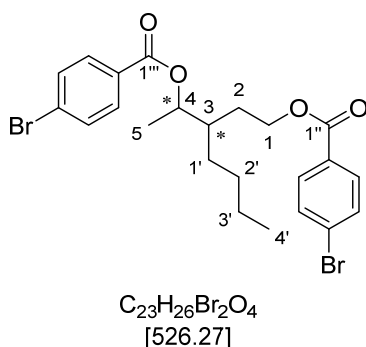
GC: *t_R* [min] = 24.2 [(2*S*,4*S*), >99 % *ee*, Sel.: 0:82:18:0], 23.9 (2*R*,4*R*), 24.7 (2*R*,4*S*), 24.4 (2*S*,4*R*) (Hydrodex β-TBDAC, 60 °C-5 min, 5 °C/min auf 130 °C, 2 °C/min auf 160 °C-5 min).

Drehwert: [α]_D²⁰ = -36.9 (2*S*,4*S*) (*c* = 0.73, CHCl₃, >99 % *ee*, 96 % *de*, 98 % Reinheit).

6.3.13 Vorschrift zur Derivatisierung der γ -Butyrolactone **1h-i**

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde das γ -Butyrolacton **1h-i** (10 mg, 0.06 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem THF (1.0 mL, 12 mmol) gelöst. LiAlH_4 (7.7 mg, 0.2 mmol, 3.0 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 4 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 1 mL K-Na-Tartratlösung gequencht und dreimal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Rohprodukt (**78a**: 12.2 mg, 0.08 mmol; **78b**: 21.3 mg, 0.13 mmol) wurde in einem sekurierten *Schlenk*-Kolben in trockenem CH_2Cl_2 (2.5 bzw. 4 mL) vorgelegt. Pyridin (15 μL , 0.19 mmol bzw. 27 μL 0.33 mmol, 2.5 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde *p*-Brombenzoylchlorid (**198**, 42.6 mg, 0.19 mmol bzw. 74.4 mg, 0.33 mmol, 2.5 Äq.) zugegeben und 1.5 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit gesättigter NH_4Cl -Lösung und CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 80:20) gereinigt.

6.3.13.1 3-Butylpentan-1,4-diyl bis(4-brombenzoesäure) (**199a**):

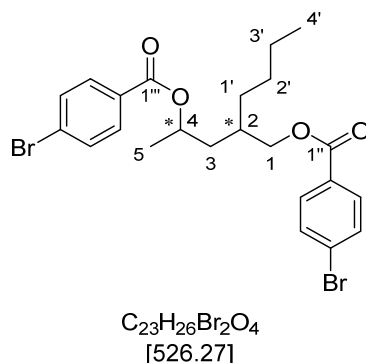


Das gewünschte Produkt **199a** (16.6 mg, 0.032 mmol, 41 %) wurde als ein farbloser Feststoff isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{4',3'} = 6.8$ Hz, 3 H, 4'-H), 1.17 (d, $^3J_{5,4} = 6.4$ Hz, 3 H, 5-H), 1.22–1.46 (m, 9 H, 1'-H, 2'-H, 3'-H), 1.55 (sext, $^3J_{3,4} = 5.9$ Hz, 1 H, 3-H), 1.68 (dddd, $^2J_{2a,2b} = 13.9$ Hz, $^3J_{2,1} = 6.9$ Hz, 1 H, 2-H_a), 1.93 (dddd, $^2J_{2a,2b} = 13.7$ Hz, $^3J_{2,1} = 6.7$ Hz, 1 H, 2-H_b), 3.91 (dq, $^3J_{4,5} = 6.4$ Hz, $^3J_{4,3} = 6.3$ Hz, 1 H, 4-H), 4.38 (mc, $J = 10.9$ Hz, $^3J_{1,2} = 7.0$ Hz, 2 H, 1-H), 7.57 (d, $^3J_{\text{Ar-Ha,Ar-Hb}} = 8.2$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.68 (d, $^3J_{\text{Ar-Ha,Ar-Hb}} = 8.2$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.89 (d, $^3J_{\text{Ar-Ha,Ar-Hb}} = 8.2$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.99 (d, $^3J_{\text{Ar-Ha,Ar-Hb}} = 8.2$ Hz, 2 H, Ar-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.34 (C-4', CH₃), 19.55 (C-5, CH₃), 23.17 (C-1'/C-2'/C-3', CH₂), 28.92 (C-2, CH₂), 29.83 (C-1'/C-2'/C-3', CH₂), 29.86 (C-1'/C-2'/C-3', CH₂), 42.03 (C-3, CH), 64.48 (C-1, CH₂), 69.62 (C-4, CH), 127.71 (C-Ar, C_{quat}), 128.11 (C-Ar, C_{quat}), 129.50 (C-Ar, C_{quat}), 130.34 (C-Ar, C_{quat}), 131.21 (C-Ar, CH), 131.85 (C-Ar, CH), 132.06 (C-Ar, CH), 132.53 (C-Ar, CH), 161.60 (C-1''/C-1''', C_{quat}), 166.08 (C-1''/C-1''', C_{quat}).

6.3.13.2 2-Butylpentan-1,4-diyl bis(4-brombenzoesäure) (199b)



Das gewünschte Produkt **199b** (14.6 mg, 0.028 mmol, 21 %) wurde als ein weißer Feststoff isoliert.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.89 (t, $^3J_{4',3'} = 6.9$ Hz, 3 H, 4'-H), 1.22 (d, $^3J_{5,4} = 6.1$ Hz, 3 H, 5-H), 1.28–1.41 (m, 9 H, 1'-H, 2'-H, 3'-H), 1.48 (ddd, $^2J_{3a,3b} = 13.9$ Hz, $^3J_{3,2} = 8.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 4.6$ Hz, 1 H, 3-H_a), 1.54 (ddd, $^2J_{3a,3b} = 13.9$ Hz, $^3J_{2,3} = 8.7$ Hz, $^3J_{2,1} = 5.0$ Hz, 1 H, 3-H_b), 1.96–2.03 (m, 1 H, 2-H), 3.95–4.03 (m, 1 H, 4-H), 4.29 (m, $^2J_{1a,1b} = 11.0$ Hz, $^3J_{1,2} = 5.2$ Hz, 2 H, 1-H), 7.58 (d, $^3J_{Ar-Ha,Ar-Hb} = 8.3$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.68 (d, $^3J_{Ar-Ha,Ar-Hb} = 8.3$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.88 (d, $^3J_{Ar-Ha,Ar-Hb} = 8.2$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.99 (d, $^3J_{Ar-Ha,Ar-Hb} = 8.3$ Hz, 2 H, Ar-H).

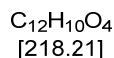
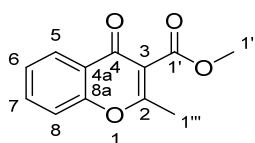
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.14 (C-4', CH₃), 21.17 (C-1'/C-2'/C-3', CH₂), 23.04 (C-1'/C-2'/C-3', CH₂), 24.45 (C-5, CH₃), 32.17 (C-1'/C-2'/C-3', CH₂), 34.52 (C-2, CH), 41.46 (C-3, CH₂), 65.85 (C-4, CH), 67.93 (C-1, CH₂), 127.72 (C-Ar, C_{quat}), 128.18 (C-Ar, C_{quat}), 129.47 (C-Ar, C_{quat}), 130.34 (C-Ar, C_{quat}), 131.18 (C-Ar, CH), 131.92 (C-Ar, CH), 132.07 (C-Ar, CH), 132.54 (C-Ar, CH), 161.61 (C-1''/C-1''', C_{quat}), 166.17 (C-1''/C-1''', C_{quat}).

6.4 Analytische Daten zu den Arylierungsprodukten

6.4.1 Vorschrift zur Synthese des

2-Methyl-4-oxo-4*H*-chromen-3-carbonsäuremethylesters (10a)

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurden 0.27 mL Methylacetoacetat (**13a**, 2.52 mmol, 1.00 Äq.) in 13 mL Toluol (177 mmol, 70.0 Äq.) vorgelegt. Natriumhydrid (101 mg, 2.52 mmol, 1.00 Äq., 60 % in Mineralöl) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurden 0.31 mL 2-Fluorbenzoylchlorid (**14**, 2.52 mmol, 1.00 Äq.) gelöst in 6.3 mL Toluol innerhalb 1 min zugegeben und das Reaktionsgemisch 18 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktion wurde mit 25 mL Wasser gequench und zweimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 80:20) gereinigt. Das Produkt **10a** (0.352 g, 1.61 mmol, 64 %) konnte als ein leicht gelber Feststoff erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[1, 384]



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.53 (s, 3 H, 1'''-H), 3.94 (s, 3 H, 1''-H), 7.39–7.44 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 7.67 (ddd, ³*J*_{7,8} = 8.6 Hz, ³*J*_{7,6} = 7.2 Hz, ⁴*J*_{7,5} = 1.7 Hz, 1 H, 7-H), 8.21 (dd, ³*J*_{5,6} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{5,7} = 1.6 Hz, 1 H, 5-H).

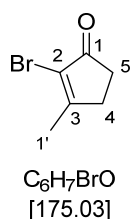
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 19.81 (C-1'', CH₃), 52.81 (C-1''', CH₃), 117.85 (C-8, CH), 117.89 (C-3, C_{quat}), 123.51 (C-4a, C_{quat}), 125.73 (C-6, CH), 126.32 (C-5, CH), 134.16 (C-7, CH), 155.66 (C-8a, C_{quat}), 165.80 (C-2, C_{quat}), 167.47 (C-1', C_{quat}), 174.50 (C-4, C_{quat}).

6.4.2 Vorschriften zur Synthese der Me-substituierten Cyclopentenon-Derivate 10b–c

6.4.2.1 Methode nach Smith^[322]

Vorschrift zur Synthese des 2-Brom-3-methylcyclopent-2-en-1-ons (16):

In einem sekurierten Zweihalskolben wurden 3-Methylcyclopentenon (**15a**, 0.53–3.1 mL, 5.20–30.0 mmol, 1.0 Äq.) in CCl₄ (3.4–20 mL, 0.65 mL/mmol) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Brom (0.3–1.7 mL, 5.7–33.0 mmol, 1.1 Äq.) gelöst in CCl₄ (3.4–18 mL, 0.59 mL/mmol) wurden innerhalb 1 h mittels einer Spritzenpumpe zugetropft. Anschließend wurde Triethylamin (1.1–6.3 mL, 7.8–45.0 mmol, 1.5 Äq.) gelöst in CCl₄ (3.4–13 mL, 0.43 mL/mmol) innerhalb 1 h mittels einer Spritzenpumpe zugetropft und dabei die Temperatur bei 0 °C gehalten. Nach 2–4 h Reaktionszeit bei RT wurde das Reaktionsgemisch filtriert und der Filterkuchen mit CCl₄ gewaschen. Das Filtrat wurde zweimal mit HCl-Lösung (1 M), einmal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung, einmal mit demin. Wasser und einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Produkt **16** wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt (PE/EE 80:20) und gegebenenfalls mehrmals in *n*-Pentan/EE (2:1) gelöst und bei -20 °C auskristallisiert. Somit wurde das Produkt **16** (0.503–<3.81 g, 2.87–<21.8 mmol, 37–<73 %) als ein weißer kristalliner Feststoff erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[326, 327, 385]



R_f (PE/EE 50:50) = 0.45.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.18 (s, 3 H, 1'-H), 2.52–2.57 (m, 2 H, 5-H), 2.63–2.70 (m, 2 H, 4-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 19.14 (C-1', CH₃), 32.40 (C-5, CH₂), 33.45 (C-4, CH₂), 123.37 (C-2, C_{quat}), 173.43 (C-3, C_{quat}), 201.55 (C-1, C_{quat}).

IR (Feststoff), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2912, 1749, 1701 (C=O), 1614, 1427, 1405, 1375, 1266, 1156, 1144, 1033, 939, 892, 808, 660, 588, 516, 461.

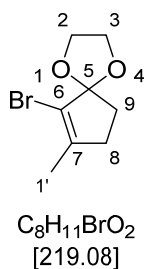
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 176 (58) [(M-H)⁺], 161 (7) [(C₅H₇BrO)⁺], 95 (28) [(C₆H₇O)⁺], 67 (100) [(C₅H₇)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 7.55.

M_p: 54 °C (Literatur: 52–54 °C).^[326, 327]

Vorschrift zur Synthese des 6-Brom-7-methyl-1,4-dioxaspiro[4.4]non-6-ens (18):

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde bromiertes 3-Methylcyclopentenon (**16**, 0.25 g, 1.4 mmol, 1.0 Äq.), Ethylenglycol (**17**, 0.56 mL, 10 mmol, 7.0 Äq.), *p*-Toluolsulfonsäure (2.8 mg, 0.01 mmol, 0.01 Äq.) in *o*-Ameisensäuretriethylester (0.85 mL, 5.0 mmol, 3.5 Äq.) vorgelegt. Das Reaktionsgemisch wird 18 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Lösung mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gequenchet und dreimal mit PE extrahiert. Die organische Phase wird mit gesättigter NaCl-Lösung extrahiert, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 75:25 bzw. 90:10) gereinigt. Das Produkt **18** (0.271 g, 1.24 mmol, 87 %) wurde als ein weißer Feststoff isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[326, 327, 385]



R_f (PE/EE 80:20) = 0.59.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.80 (s, 3 H, 1'-H), 2.12–2.23 (m, 2 H, 8-H/9-H), 2.32–2.39 (m, 2 H, 8-H/9-H), 3.92–4.03 (m, 2 H, 2-H/3-H), 4.12–4.25 (m, 2 H, 2-H/3-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 16.62 (C-1', CH₃), 33.02 (C-8/C-9, CH₂), 34.61 (C-8/C-9, CH₂), 65.90 (C-2, C-3, CH₂), 118.46 (C-5, C_{quat}), 119.15 (C-6/C-7, C_{quat}), 144.53 (C-6/C-7, C_{quat}).

IR (Feststoff), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2978, 2950, 2888, 2850, 1662, 1473, 1440, 1378, 1315, 1286, 1227, 1159, 1128, 1066, 1042, 1009, 988, 950, 918, 886, 754.

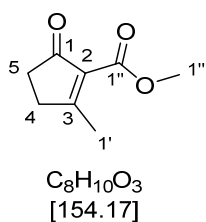
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 218 (15) [(M-H)⁺], 188 (6), 175 (12), 159 (16), 147 (9), 139 (100) [(M-Br)⁺], 124 (4) [(M-CH₃Br)⁺], 119 (3), 111 (15), 95 (32), 79 (23) [Br⁺], 67 (39), 51 (8).

GC/MS: t_R [min] = 8.51.

M_p: 32 °C (Literatur: 32–35 °C).^[326, 385]

Vorschrift zur Synthese des
3-Methyl-1-oxocyclopent-2-en-2-carbonsäuremethylesters (10b):

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde das Acetal-geschützte, bromierte 3-Methylcyclopentenon (**18**, 0.20 g, 0.81 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem THF (3 mL, 3.2 mL/mmol) vorgelegt und auf -78°C (Trockeneis/Aceton-Bad) gekühlt. *n*-Butyllithium (0.4 mL, 1.0 mmol, 1.1 Äq.) wurde zugetropft und 1 h bei -78°C gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf -30°C (Methanol/Wasser (2:3)/Trockeneis-Bad) erwärmt. Chlorameisensäuremethylester (**19**, 8.6 μL , 1.1 mmol, 1.2 Äq.) wurde zugegeben und 1 h gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter NH_4Cl -Lösung gequenchet und mit gesättigter NaCl -Lösung und CH_2Cl_2 extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint, mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Zur Entschützung der Acetal-Schutzgruppe wurde das Rohprodukt (0.185 g, 0.93 mmol, 1.0 Äq.) mit Oxalsäure (23 mg, 0.25 mmol, 0.27 Äq.), demin. Wasser (112 μL , 0.12 mL/mmol) und CH_2Cl_2 (911 μL , 0.98 mL/mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 5.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Gemisch über $\text{MgSO}_4/\text{K}_2\text{CO}_3$ (50:1) filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 80:20) gereinigt. Das Produkt **10b** (0.121 g, 0.78 mmol, 86 %) wurde als ein gelbes Öl erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[386-388]



R_f (PE/EE 50:50) = 0.27.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.40 (s, 3 H, $1'''$ -H), 2.47–2.53 (m, 2 H, 4-H/5-H), 2.64–2.71 (m, 2 H, 4-H/5-H), 3.85 (s, 3 H, $1'$ -H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 19.55 (C- $1'''$, CH_3), 32.92 (C-4/C-5, CH_2), 35.15 (C-4/C-5, CH_2), 51.98 (C- $1'$, CH_3), 132.52 (C-2, C_{quat}), 163.84 (C-3, C_{quat}), 185.62 (C- $1''$, C_{quat}), 203.53 (C-1, C_{quat}).

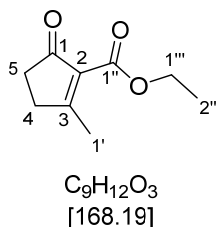
IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2953, 1705 (C=O), 1627, 1435, 1378, 1352, 1337, 1293, 1255, 1227, 1149, 1057, 1019, 997, 794, 601, 471.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 154 (35) [(M) $^+$], 123 (100) [($\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_2$) $^+$], 95 (30) [($\text{C}_6\text{H}_7\text{O}$) $^+$], 67 (60) [($\text{C}_4\text{H}_3\text{O}$) $^+$], 55 (21) [($\text{C}_3\text{H}_3\text{O}$) $^+$].

GC/MS: t_R [min] = 8.50.

6.4.2.2 Vorschrift zur Synthese des 3-Methyl-1-oxocyclopent-2-en-2-carbonsäureethylesters (10c)

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurden 0.21 mL Lävulinsäure (**21a**, 2.0 mmol, 1.0 Äq.) in 9 mL trockenem THF vorgelegt. 368 mg Carbonyldiimidazol (**208**, 2.2 mmol, 1.1 Äq.) wurden zugegeben und das Reaktionsgemisch 6 h bei RT gerührt. In einem weiteren sekurierten *Schlenk*-Kolben wurden 0.27 mL Monoethylmalonsäure (**22a**, 2.2 mmol, 1.1 Äq.) in 1 mL trockenem THF vorgelegt und nach Zugabe von 117 mg Magnesiummethylat (1.00 mmol, 0.500 Äq.) wurde das Gemisch 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde der Inhalt des ersten Kolbens mittels einer Transferkanüle in den zweiten Kolben überführt und über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand wurde in Et₂O (4.5 mL/mmol) aufgenommen, mit HCl-Lösung (0.5 M, 2.3 mL/mmol) versetzt und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Ansatz mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand wurde in 5.5 mL Ethanol gelöst und 0.40 g KHCO₃ (4.0 mmol, 2.0 Äq.) wurden zugegeben und 2 h bei 40 °C gerührt. Das Gemisch wurde mit 5 %-iger Essigsäure neutralisiert und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 60:40) gereinigt. Das Produkt **10c** (67.1 mg, 0.399 mmol, 20 %) wurde als ein gelbes Öl erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[328, 388, 389]



R_f (PE/EE 70:30) = 0.13.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.34 (t, $^3J_{2''',1'''} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'''-H), 2.38 (s, 3 H, 1'-H), 2.45–2.51 (m, 2 H, 5-H), 2.61–2.68 (m, 2 H, 4-H), 4.31 (q, $^3J_{1''',2'''} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'''-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.39 (C-2''', CH₃), 19.44 (C-1', CH₃), 32.80 (C-4, CH₂), 35.13 (C-5, CH₂), 60.94 (C-1''', CH₂), 132.96 (C-2, C_{quat}), 163.42 (C-1'', C_{quat}), 184.31 (C-3, C_{quat}), 203.61 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2982, 1705 (Ester), 1627 (C=O), 1432, 1376, 1341, 1294, 1255, 1224, 1151, 1026, 808, 592.

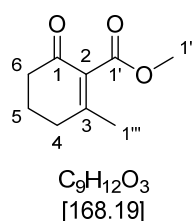
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 169 (12) [(M+H)⁺], 123 (91) [(C₇H₇O₂)⁺], 96 (100) [(C₆H₈O)⁺], 67 (49) [(C₄H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.03.

6.4.3 Vorschrift zur Synthese der Cyclohexenon-Derivate 10g-j

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde entweder 4-Acetylbuttersäure (**21b**, 0.55 mL, 4.5 mmol), 5-Oxoheptansäure (**21c**, 623 mg, 4.32 mmol) oder 6-Methyl-5-oxoheptansäure (**21d**, 707 mg, 4.47 mmol) in trockenem THF (4.5 mL/mmol) vorgelegt. Die Säuren **21c** und **21d** wurden nach Vorschrift 6.4.3.5 hergestellt. Carbonyldiimidazol (**208**, 795–828 mg, 4.75–4.95 mmol, 1.10 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 6 h bei RT gerührt. In einem weiteren sekurierten *Schlenk*-Kolben wurden 0.59–0.61 mL Monoethylmalonsäure (**22a**, 4.75–4.95 mmol, 1.1 Äq.) in 2.5 mL trockenem THF vorgelegt und nach Zugabe von 278–289 mg Magnesiummethoxid (2.38–2.48 mmol, 0.55 Äq.) wurde das Gemisch 30 min bei RT gerührt. Für die Synthese des Me-Esters wurden stattdessen Monohydrogenmalonat (**22b**, 0.54 mL, 4.95 mmol, 1.1 Äq.) und Magnesiummethoxid (3.8 mL, 2.5 mmol, 0.55 Äq.) verwendet. Anschließend wurde der Inhalt des ersten Kolbens mittels einer Transferkanüle in den zweiten Kolben überführt und über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert, einmal mit 0.5 M HCl-Lösung, dreimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung, dreimal mit gesättigter NH₄Cl-Lösung und EE oder Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 85:15 oder 87:13) gereinigt.

6.4.3.1 3-Methyl-1-oxocyclohex-2-en-2-carbonsäuremethylester (10g)



Das Produkt **10g** (265 mg, 1.58 mmol, 35 %) wurde als ein leicht gelbes Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[390]

R_f (PE/EE 50:50) = 0.68.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.99 (s, 3 H, 1''-H), 1.96–2.04 (m, 2 H, 5-H), 2.39 (t, $^3J_{4,5}$ = 6.1 Hz, 2 H, 4-H), 2.41–2.44 (m, 2 H, 6-H), 3.82 (s, 3 H, 1''-H).

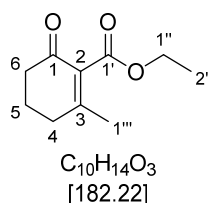
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.78 (C-5, CH₂), 22.39 (C-1''', CH₃), 31.80 (C-4, CH₂), 37.00 (C-6, CH₂), 52.32 (C-1'', CH₂), 133.16 (C-2, C_{quat}), 160.72 (C-3, C_{quat}), 167.43 (C-1', C_{quat}), 195.12 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2952, 1731 (Ester), 1667 (C=O), 1632, 1433, 1379, 1365, 1330, 1305, 1232, 1181, 1138, 1072, 1023, 953, 852, 767, 590, 498.

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 168 (30) [(M)⁺], 137 (48) [(M-CH₃O)⁺], 136 (100) [(M-CH₂O)⁺], 112 (72) [(C₆H₈O₂)⁺], 82 (80) [(C₆H₁₀)⁺], 55 (27) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: *t_R* [min] = 9.09.

6.4.3.2 3-Methyl-1-oxocyclohex-2-en-2-carbonsäureethylester (10h)



Das Produkt **10h** (549 mg, 3.01 mmol, 67 %) wurde als ein weißer Feststoff isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[328]

R_f (PE/EE 50:50) = 0.57.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.32 (t, ³J_{2'',1''} = 7.2 Hz, 3 H, 2''-H), 1.99 (s, 3 H, 1'''-H), 1.99–2.05 (m, 2 H, 5-H), 2.38 (t, ³J_{4,5} = 6.1 Hz, 2 H, 4-H), 2.40–2.45 (m, 2 H, 6-H), 4.30 (q, ³J_{1'',2''} = 7.1 Hz, 2 H, 1''-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.34 (C-2'', CH₃), 21.79 (C-5, CH₂), 22.24 (C-1''', CH₃), 31.74 (C-4, CH₂), 37.01 (C-6, CH₂), 61.36 (C-1'', CH₂), 133.43 (C-2, C_{quat}), 160.10 (C-3, C_{quat}), 167.01 (C-1', C_{quat}), 195.12 (C-1, C_{quat}).

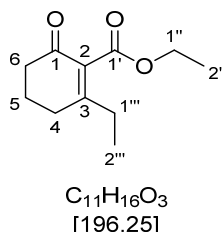
IR (Feststoff), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2990, 2959, 2943, 1723 (Ester), 1663 (C=O), 1634, 1450, 1374, 1330, 1305, 1232, 1182, 1144, 1069, 1023, 931, 876, 776, 583, 556, 497.

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 182 (23) [(M)⁺], 137 (64) [(M-C₂H₅O)⁺], 136 (92) [(M-C₂H₆O)⁺], 99 (100) [(C₆H₁₁O)⁺], 67 (18) [(C₅H₇)⁺], 55 (29) [(C₄H₇)⁺].

GC/MS: *t_R* [min] = 9.59.

M_p: 47 °C (Literatur: 50–52 °C).

6.4.3.3 3-Ethyl-1-oxocyclohex-2-en-2-carbonsäureethylester (10i)



Das Produkt **10i** (299 mg, 1.52 mmol, 35 %) wurde als ein gelbes Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[328]

R_f (PE/EE 50:50) = 0.66.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.14 (td, $^3J_{2''',1'''} = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 3 H, 2'''-H), 1.32 (td, $^3J_{2'',1''} = 7.1$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 3 H, 2''-H), 1.95–2.08 (m, 2 H, 5-H), 2.26 (q, $^3J_{1''',2'''} = 7.6$ Hz, 2 H, 1'''-H), 2.36–2.47 (m, 4 H, 4-H, 6-H), 4.29 (qd, $^3J_{1'',2''} = 7.1$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 2 H, 1''-H).

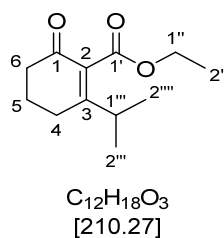
¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 12.31 (C-2''', CH₃), 14.34 (C-2'', CH₃), 22.05 (C-5, CH₂), 29.02 (C-4, CH₂), 29.43 (C-1''', CH₂), 37.17 (C-6, CH₂), 61.31 (C-1'', CH₂), 132.74 (C-2, C_{quat}), 164.84 (C-3, C_{quat}), 167.06 (C-1', C_{quat}), 195.56 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2977, 2936, 2875, 1727 (Ester), 1669 (C=O), 1626, 1459, 1369, 1329, 1304, 1268, 1220, 1179, 1135, 1089, 1056, 1035, 901, 861, 758, 549.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 196 (6) [(M)⁺], 151 (49) [(C₉H₁₁O₂)⁺], 150 (100) [(C₉H₁₀O)⁺], 122 (49) [(C₈H₁₀O)⁺], 113 (26) [(C₇H₁₃O)⁺], 95 (18) [(C₆H₇O)⁺], 54 (22) [(C₃H₂O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 9.96.

6.4.3.4 3-Iso-propyl-1-oxocyclohex-2-en-2-carbonsäureethylester (10j)



Das Produkt **10j** (479 mg, 2.28 mmol, 51 %) wurde als ein orangenes Öl isoliert.

R_f (PE/EE 50:50) = 0.71.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.10 (dd, $^3J_{2''',1'''} = 6.8$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 6 H, 2'''-H, 2''''-H), 1.31 (td, $^3J_{2'',1''} = 7.2$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 3 H, 2''-H), 1.92–2.06 (m, 2 H, 5-H), 2.34 (t, $^3J_{6,5} = 6.0$ Hz, 2 H, 6-H), 2.43 (t, $^3J_{4,5} = 6.7$ Hz, 2 H, 4-H), 2.70 (sept, $^3J_{1''',2'''} / ^3J_{2''',1'''} = 6.8$ Hz, 1 H, 1'''-H), 4.29 (qd, $^3J_{1'',2''} = 7.2$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 2 H, 1''-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.24 (C-2'', CH₃), 18.36 (C-2'''/2''', CH₃), 20.26 (C-2'''/2''', CH₃), 22.26 (C-5, CH₂), 23.92 (C-6, CH₂), 33.87 (C-1''', CH), 37.49 (C-4, CH₂), 61.29 (C-1'', CH₂), 132.10 (C-2, C_{quat}), 167.67 (C-3, C_{quat}), 195.90 (C-1', C_{quat}), 202.61 (C-1, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2969, 2939, 2876, 1729 (Ester), 1670 (C=O), 1621, 1467, 1369, 1302, 1229, 1202, 1058, 1043, 534.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 210 (1) [(M)⁺], 165 (43) [(C₁₀H₁₃O₂)⁺], 164 (100) [(C₁₀H₁₂O₂)⁺], 136 (22) [(C₉H₁₂O)⁺], 121 (25) [(C₇H₅O₂)⁺], 109 (19) [(C₇H₉O)⁺], 55 (18) [(C₃H₃O)⁺].

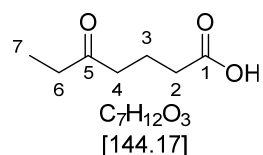
GC/MS: t_R [min] = 10.12.

6.4.3.5 Vorschrift zur Synthese der δ -Ketosäuren **21c** und **21d**

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurden 1.16 g Glutarsäureanhydrid (**212**, 10.0 mmol, 1.00 Äq.) und 109.2 mg Fe(acac)₃ (0.3 mmol, 0.03 Äq.) in trockenem THF vorgelegt. Ethylmagnesiumbromid (**213a**, 2.8 mL, 8.3 mmol, 0.83 Äq., 3 M) oder *Iso*-propylmagnesiumbromid (**213b**, 11 mL, 8.3 mmol, 0.83 Äq., 0.75 M) wurden mit Hilfe einer Spritzenpumpe innerhalb von 45 min zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde mit 2 M HCl-Lösung (4 mL/mmol) versetzt und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde dreimal mit 1 M NaOH-Lösung (1.5 mL/mmol) extrahiert. Die organische Phase wurde verworfen und der pH-Wert der wässrigen Phase wurde mit 2 M HCl-Lösung auf pH 1 eingestellt und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten

organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Die Rohprodukte **21c** und **21d** wurden ohne weitere Reinigung für die Folgereaktion verwendet.

5-Oxoheptansäure (**21c**):



Das Rohprodukt **21c** (0.981 g, 6.80 mmol, 68 %) wurde als ein orangener Feststoff isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[337,391]

R_f (PE/EE 50:50) = 0.47.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.05 (t, $^3J_{7,6} = 7.3$ Hz, 3 H, 7-H), 1.90 (m, $^3J_{3,2/4} = 7.2$ Hz, 2 H, 3-H), 2.37–2.45 (m, 4 H, 2-H, 6-H), 2.50 (t, $^3J_{4,3} = 7.2$ Hz, 2 H, 4-H).

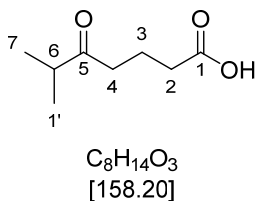
$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.92 (C-7, CH_3), 18.75 (C-3, CH_2), 33.16 (C-2, CH_2), 36.11 (C-6, CH_2), 41.05 (C-4, CH_2), 179.49 (C-1, C_{quat}), 210.94 (C-5, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2942, 1702 (C=O, COOH), 1411, 1200, 1117, 784.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 145 (1) $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 126 (15) $[(\text{M}-\text{H}_2\text{O})^+]$, 115 (51) $[(\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5)^+]$, 105 (15), 87 (67) $[(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2)^+]$, 86 (29) $[(\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O})^+]$, 60 (17) $[(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2)^+]$, 57 (100) $[(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})^+]$, 55 (34) $[(\text{C}_3\text{H}_3\text{O})^+]$.

GC/MS: t_R [min] = 7.46.

6-Methyl-5-oxoheptansäure (21d):



Das Rohprodukt **21d** (1.107 g, 6.997 mmol, 70 %) wurde als ein farbloses Öl isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[337, 392]

R_f (PE/EE 50:50) = 0.69.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.09 (d, $^3J_{1'/7,6} = 7.0$ Hz, 6 H, 1'-H, 7-H), 1.90 (m, $^3J_{3,2/4} = 7.1$ Hz, 2 H, 3-H), 2.38 (t, $^3J_{2,3} = 7.2$ Hz, 2 H, 2-H), 2.54 (t, $^3J_{4,3} = 7.1$ Hz, 2 H, 4-H), 2.59 (m, $^3J_{6,1'/7} = 7.0$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 18.35 (C-1', C-7, CH_3), 18.72 (C-3, CH_2), 33.17 (C-2, CH_2), 39.02 (C-4, CH_2), 41.02 (C-6, CH), 179.39 (C-1, C_{quat}), 214.11 (C-5, C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2971, 2936, 1703 (C=O, COOH), 1410, 1384, 1238, 1155, 1087, 1019, 928, 816.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 158 (1) $[(\text{M})^+]$, 115 (81) $[(\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7)^+]$, 87 (100) $[(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2)^+]$, 71 (25) $[(\text{C}_4\text{H}_7\text{O})^+]$, 55 (18) $[(\text{C}_3\text{H}_3\text{O})^+]$.

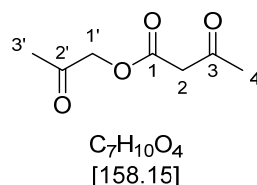
GC/MS: t_R [min] = 7.88.

6.4.4 Vorschriften zur Synthese des Butenolid-Derivats 10f

6.4.4.1 Methode nach Lu et al.^[393]

Vorschrift zur Synthese der 2-Oxopropyl-3-oxobutansäure (210):

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurden Trimethyldioxinon (**24**, 0.56–2.50 mL, 4.1–18 mmol, 1.2–1.5 Äq.) und (destilliertes) Hydroxyaceton (**25**, 0.21–1.03 mL, 2.7–15 mmol, 1.0 Äq.) in 10–100 mL trockenem Toluol vorgelegt. Molekularsieb (0.5 mg–4.8 g, 4 Å) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 3 h bei 120 °C gerührt. Nach Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit ca. 5 mL HCl-Lösung (1 M) versetzt und dreimal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 70:30) gereinigt. Alternativ wurde zur Isolierung des Zwischenprodukts **210** das Lösungsmittel nach Abkühlen am Rotationsverdampfer eingedampft und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie gereinigt (*n*-Pentan/Aceton 3:1). Das Zwischenprodukt **210** (716 mg, 4.53 mmol, 91 %) konnte als ein gelbes Öl erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[332, 393]



R_f (*n*-Pentan/Aceton 3:1) = 0.40.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.18 (s, 3 H, 3'-H), 2.32 (s, 3 H, 4-H), 3.57 (s, 2 H, 2-H), 4.72 (s, 2 H, 1'-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 26.19 (C-3', CH₃), 30.29 (C-4, CH₃), 49.74 (C-2, CH₂), 68.95 (C-1', CH₂), 166.50 (C-1, C_{quat}), 200.23 (C-3, C_{quat}), 200.92 (C-2', C_{quat}).

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3442 (OH), 2927, 1715 (C=O, β -Ketoester), 1619, 1418, 1362, 1314, 1226, 1145, 947, 816, 764, 633, 537.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 158 (4) [(M)⁺], 116 (92) [(C₅H₈O₃)⁺], 100 (24) [(C₄H₄O)⁺], 85 (100) [(C₄H₅O₂)⁺], 74 (15) [(C₃H₆O₂)⁺], 58 (22) [(C₃H₆O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 6.90.

Versuche zur intramolekularen Kondensation der 2-Oxopropyl-3-oxobutansäure (210):Mit Kieselgel:

Das Zwischenprodukt **210** (0.65 g, 4.1 mmol) wurde in PE/EE (5.6:1) gelöst und Kieselgel (ca. 20 g) wurden zugegeben. Das Gemisch wurde 19 h bei RT unter N₂-Atmosphäre gerührt. Die Suspension wurde filtriert, Das Kieselgel mit *n*-Pentan/Aceton (1:1–1:2) gewaschen und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Pentan/Aceton 90:10) gereinigt.

Mit TBAF oder KF:^[333]

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde das Zwischenprodukt **210** (0.10 g, 0.63 mmol) in trockenem THF oder Acetonitril (1.2 ml, 15 mmol) gelöst. TBAF (0.76 mL, 0.76 mmol, 1.2 Äq., 1 M) oder KF (44.5 mg, 0.76 mmol, 1.2 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 25–32 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugaben von HCl-Lösung (1 M) gestoppt und dreimal mit demin. Wasser und EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 60:40) gereinigt.

Mit Triethylamin:

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben mit Molekularsieb (0.45 g, 4 Å) wurde das Zwischenprodukt **210** (200 mg, 1.26 mmol) in trockenem Toluol gelöst. Destilliertes Triethylamin (8.9 µL, 0.6 mmol, 0.5 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 3 h bei 110°C gerührt. Die eine Hälfte des Reaktionsansatzes wurde dreimal mit gesättigter NH₄Cl-Lösung und die andere mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt.

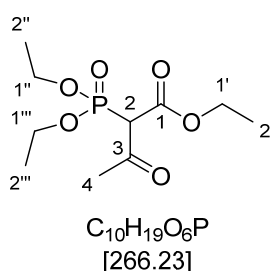
Mit Natriumethanolat:^[334]

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde das Zwischenprodukt **210** (0.10 g, 0.63 mmol) in trockenem Toluol (3–4 mL) vorgelegt. Natriumethanolat (45.3 mg, 0.63 mmol, 1.0 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 19.5 h bei 110°C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktion durch Zugabe von demin. Wasser gestoppt. Die wässrige Phase wurde mit HCl auf pH 1 gestellt und dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt.

6.4.4.2 Methode nach Bonadies et al.^[335]

Vorschrift zur Synthese des 2-(Diethoxyphosphoryl)-3-oxobutansäureethylesters (**5o**):

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde Magnesiumchlorid (291.5 mg, 3.00 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem CH_2Cl_2 (4.5 mL) vorgelegt. Phosphonoessigsäuretriethylester (**5n**, 0.61 mL, 3.00 mmol, 1.0 Äq.) und trockenes Triethylamin (0.84 mL, 6.00 mmol, 2.0 Äq.) wurden zugegeben. Das Gemisch wurde 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde Acetylchlorid (0.24 mL, 3.30 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und die Temperatur durch ein externes Wasserbad bei 20 °C gehalten. Nach 1 h Reaktionszeit wurde das Gemisch mit HCl-Lösung (1 M) gequenchet und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt (PE/EE 70:30). Das Produkt **5o** (0.28 g, 1.05 mmol, 35 %) konnte als ein Öl erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[336]



¹H-NMR (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.23–1.39 (m, 9 H, 2'-H, 2''-H, 2'''-H), 2.44 (d, $^4J_{4,P}$ = 24.2 Hz, 3 H, 4-H), 2.49 (dd, $^2J_{2,P}$ = 35.4 Hz, $^4J_{2,4}$ = 1.2 Hz, 1 H, 2-H), 4.00–4.32 (m, 6 H, 1'-H, 1''-H, 1'''-H), 13.66 (s), 14.75 (s).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.20 (d, $^3J_{C,P}$ = 17.1 Hz, C-2'/C-2''/C-2''', CH_3), 16.30 (d, $^3J_{C,P}$ = 6.9 Hz, C-2'/C-2''/C-2''', CH_3), 16.44 (dd, $^3J_{C,P}$ = 6.5 Hz, 3.4 Hz, C-2'/C-2''/C-2''', CH_3), 23.16 (d, $J_{C,P}$ = 12.4 Hz, C-2/C-4, CH/CH_3), 30.14 (C-2/C-4, CH/CH_3), 61.53–61.86 (m, C-1'/C-1''/C-1''', CH_2), 62.41 (d, $J_{C,P}$ = 4.2 Hz, C-1'/C-1''/C-1''', CH_2), 63.00 (d, $J_{C,P}$ = 5.2 Hz, C-1'/C-1''/C-1''', CH_2), 63.81 (dd, $J_{C,P}$ = 28.3 Hz, 6.6 Hz, C-1'/C-1''/C-1''', CH_2), 88.64 (d, $J_{C,P}$ = 179.0 Hz, C_{quat}), 166.15 (d, $^2J_{C,P}$ = 9.4 Hz, C-1, C_{quat}), 188.30 (d, $^2J_{C,P}$ = 6.0 Hz, C-3, C_{quat}).

³¹P-NMR (121 MHz, CDCl_3): 13.41 (Keto), 17.40, 25.52 (Enol).

Vorschrift für die HWE-Reaktion:

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde der Phosphonsäurediethylester **5o** (280 mg, 1.05 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem THF (11.0 mL, 134 mmol, 128 Äq.) mit Molekularsieb (1.3 g, 4 Å) vorgelegt. Lithiumhydroxid (25.6 mg, 1.05 mmol, 1.00 Äq.) wurde innerhalb von 1 h in zwei Portionen zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 5.5 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Gemisch filtriert und das Filtrat dreimal mit gesättigter NH_4Cl -Lösung und Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE

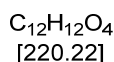
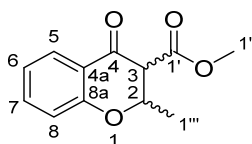
80:20) gereinigt. Alternativ wurde die *HWE*-Reaktion mit Hydroxyaceton (**25**) nach der herkömmlichen Methode, wie in Kapitel 6.3.6 (S. 6.3.6) beschrieben, durchgeführt.

6.4.5 Racemische Referenzen

6.4.5.1 Vorschrift zur Reduktion des 2-Methylchromenons (**10a**)

Die racemische Reduktion des 2-Methylchromenons (**10a**) erfolgte mittels *H-Cube*. Dafür wurde die Verbindung in THF ($c = 0.05 \text{ M}$) gelöst. Die Reduktion erfolgte mit $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20 %) als Katalysator und 60 % H_2 bei 20°C , 7 bar und einer Durchflussgeschwindigkeit von 0.3 mL/min. Der Umsatz wurde mittels DC überprüft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 80:20) gereinigt. Dabei wurde das Produkt **11a/108a** (16.7 mg, 75.9 μmol) als ein Keto/Enol-Tautomer, so wie auch die doppelt reduzierte Verbindung **201a** (17.5 mg, 78.8 μmol) als ein farbloses Öl erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[1, 394, 395]

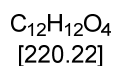
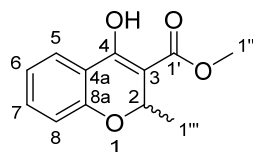
2-Methyl-4-oxochroman-3-carbonsäuremethylester (**11a**):



¹H-NMR (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.52 (d, $^3J_{1''',2} = 6.2 \text{ Hz}$, 3 H, $1'''$ -H), 1.59 (d, $^3J_{1''',2} = 6.6 \text{ Hz}$, 3 H, $1'''$ -H), 3.52 (d, $^3J_{3,2} = 3.4 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 3.61 (d, $^3J_{3,2} = 11.6 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 3.69 (s, 3 H, $1''$ -H), 3.82 (s, 3 H, $1''$ -H), 4.70 (dq, $^3J_{2,1'''} = 6.6 \text{ Hz}$, $^3J_{2,3} = 3.4 \text{ Hz}$, 1 H, 2-H), 4.82 (dq, $^3J_{2,3} = 12.3 \text{ Hz}$, $^3J_{2,1'''} = 6.2 \text{ Hz}$, 1 H, 2-H), 6.94–7.01 (m, 2 H, 8-H), 7.03 (ddd, $^3J_{6,5} = 8.1 \text{ Hz}$, $^3J_{6,7} = 7.3 \text{ Hz}$, $^4J_{6,8} = 1.7 \text{ Hz}$, 2 H, 6-H), 7.50 (ddd, $^3J_{7,8} = 8.6 \text{ Hz}$, $^3J_{7,6} = 7.2 \text{ Hz}$, $^4J_{7,5} = 1.8 \text{ Hz}$, 2 H, 7-H), 7.89 (dd, $^3J_{5,6} = 7.9 \text{ Hz}$, $^3J_{5,7} = 1.7 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 7.92 (dd, $^3J_{5,6} = 7.9 \text{ Hz}$, $^4J_{5,7} = 1.8 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 18.21 (C- $1'''$, CH_3), 19.81 (C- $1'''$, CH_3), 52.58 (C- $1''$, CH_3), 52.68 (C- $1''$, CH_3), 57.25 (C-3, CH), 59.79 (C-3, CH), 75.12 (C-2, CH), 75.56 (C-2, CH), 118.03 (C-8, CH), 119.96 (C-4a, C_{quat}), 121.82 (C-6, CH), 121.83 (C-6, CH)[†], 127.55 (C-5, CH), 127.76 (C-5, CH), 136.46 (C-7, CH), 136.66 (C-7, CH), 161.15 (C-8a, C_{quat}), 168.30 (C- $1'$, C_{quat}), 187.99 (C-4, C_{quat}).

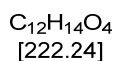
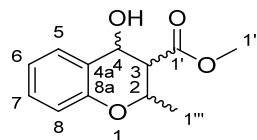
Doppelte Signale gehören zu dem racemischen Diastereomer.

4-Hydroxy-2-methylchromen-3-carbonsäuremethylester (108a):


$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.34 (d, $^3J_{1''',2} = 6.4$ Hz, 3 H, $1'''$ -H), 3.82 (s, 3 H, $1''$ -H), 5.34 (q, $^3J_{2,1'''} = 6.4$ Hz, 1 H, 2-H), 6.85 (dd, $^3J_{8,7} = 8.2$ Hz, $^4J_{8,6} = 1.1$ Hz, 1 H, 8-H), 6.94–7.01 (m, 1 H, 6-H), 7.31 (ddd, $^3J_{7,8} = 8.1$ Hz, $^3J_{7,6} = 7.3$ Hz, $^4J_{7,5} = 1.7$ Hz, 1 H, 7-H), 7.65 (dd, $^3J_{5,6} = 7.7$ Hz, $^4J_{5,7} = 1.7$ Hz, 1 H, 5-H), 11.97 (s, 1 H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 21.07 (C- $1'''$, CH_3), 51.84 (C- $1''$, CH_3), 70.56 (C-2, CH), 96.95 (C-3, C_{quat}), 117.38 (C-8, CH), 117.47 (C-4a, C_{quat}), 121.21 (C-6, CH), 124.53 (C-5, CH), 133.28 (C-7, CH), 155.65 (C-8a, C_{quat})*, 161.56 (C-4, C_{quat})*, 167.06 (C- $1'$, C_{quat})*.

*Signale sind nicht im Spektrum sichtbar.

4-Hydroxy-2-methylchroman-3-carbonsäuremethylester (201a):


Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[396]

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.51 (d, $^3J_{1''',2} = 6.7$ Hz, 3 H, $1'''$ -H), 3.19 (dd, $^3J_{3,4} = 5.6$ Hz, $^3J_{3,2} = 2.8$ Hz, 1 H, 3-H), 3.74 (s, 3 H, $1''$ -H), 4.53 (qd, $^3J_{2,1'''} = 6.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 2.8$ Hz, 1 H, 2-H), 5.07 (d, $^3J_{4,3} = 5.6$ Hz, 1 H, 4-H), 6.79 (dd, $^3J_{8,7} = 8.2$ Hz, $^4J_{8,6} = 1.2$ Hz, 1 H, 8-H), 6.97 (ddd, $^3J_{6,7/5} = 8.7$ Hz, $^3J_{6,7/5} = 7.5$ Hz, $^4J_{6,8} = 1.1$ Hz, 1 H, 6-H), 7.20–7.14 (m, 1 H, 7-H), 7.48 (ddd, $^3J_{5,6} = 7.6$ Hz, $^4J_{5,7} = 2.5$ Hz, $^5J_{5,8} = 1.2$ Hz, 1 H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 18.76 (C- $1'''$, CH_3), 49.00 (C-3), 52.05 (C- $1''$, CH_3), 65.90 (C-4, CH), 71.86 (C-2, CH), 116.51 (C-8, CH), 121.40 (C-6, CH), 124.21 (C-4a, C_{quat}), 128.20 (C-5, CH), 129.24 (C-7, CH), 153.78 (C-8a, C_{quat}), 171.10 (C- $1'$, C_{quat}).

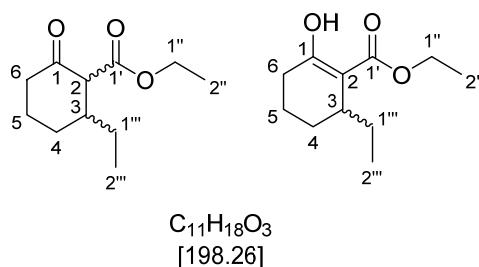
6.4.5.2 Vorschrift zur Reduktion des 3-Methyl-1-oxocyclopent-2-en-2-carbonsäuremethylesters (**10b**)

Die racemische Reduktion des Me-substituierten β -Ketoesters **10b** erfolgte mittels *H-Cube*. Dafür wurde die Verbindung in THF ($c = 0.05$ M) gelöst. Die Reduktion erfolgte mit Pd(OH)₂/C (20 %) als Katalysator und 40 % H₂ bei 22 °C, 7 bar und einer Durchflussgeschwindigkeit von 0.3 mL/min. Der Umsatz wurde mittels DC überprüft.

6.4.5.3 Vorschrift zur Reduktion der Cyclohexenon-Derivate **10g-j**

Die racemische Reduktion der Cyclohexenon-Derivate **10g-j** erfolgte mittels *H-Cube*. Dafür wurden die Verbindungen in THF oder Methanol ($c = 0.05$ M) gelöst. Die Reduktion erfolgte mit Pd/C (10 %) als Katalysator und 60 % H₂ bei 22 °C, 7 bar und einer Durchflussgeschwindigkeit von 0.3 mL/min über Nacht im Kreislauf. Der Umsatz wurde mittels DC überprüft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 95:5 oder 98:2) gereinigt. Dabei wurden die Keto/Enol-Tautomere der Produkte **11c-f/108c-f** als ein farbloses Öl erhalten.

3-Ethyl-1-oxocyclohexan-2-carbonsäureethylester (**11e**) und 3-Ethyl-1-Hydroxycyclohex-2-en-2-carbonsäureethylester (**108e**):



Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[397]

R_f (PE/EE 50:50) = 0.76.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.88 (td, ³J_{2''',1'''} = 7.4 Hz, ⁴J_{2''',3} = 1.0 Hz, 3 H, 2'''-H)*, 0.93 (m, ³J_{2''',1'''} = 7.9 Hz, ⁴J_{2''',3} = 1.0 Hz, 3 H, 2'''-H), 1.23–1.34 (m, 6 H, 2''-H), 1.33–1.42 (m, 1 H, 1'''-H_a), 1.42–1.50 (m, 1 H, 1'''-H_b), 1.55 (m, $J = 13.8$ Hz, $J = 7.5$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 2 H)[†], 1.62 (m, $J = 9.2$ Hz, $J = 4.0$ Hz, 2 H)[†], 1.66–1.78 (m, 1 H, 4-H_a), 1.87 (m, $J = 12.5$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 2 H)[†], 2.97–2.11 (m, 2 H, 4-H_b, 6-H_a), 2.11–2.22 (m, 1 H, 3-H), 2.22–2.32 (m, 2 H, 5-H_a, 6-H_b), 2.32–2.44 (m, 1 H)[†], 2.48 (dt, ³J_{5,4/6} = 14.1 Hz, ³J_{5,4/6} = 4.3 Hz, 1 H, 5-H_b), 2.84 (d, ³J_{2,3} = 6.6 Hz, 1 H, 2-H), 3.11 (d, ³J_{2,3} = 10.9 Hz, 1 H, 2-H), 3.18 (dd, ³J_{3,1'''/4} = 32.4 Hz, ³J_{3,1'''/4} = 1.1 Hz, 1 H, 3-H)*, 3.44–3.49 (m, 1 H)[†], 4.06–4.31 (m, 4 H, 1''-H, 1''-H*), 12.39 (s, 1 H, OH)*.

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 10.93 (C-2''', CH₃), 11.86, 12.55, 14.33 (C-2'', CH₃), 14.38, 17.26, 24.82 (C-4, CH₂), 25.01, 25.49, 26.27, 27.26, 27.63 (C-1''', CH₂), 28.49 (C-6, CH₂), 29.25, 33.41, 39.67, 41.29 (C-5, CH₂), 42.58 (C-3, CH), 44.57, 60.19, 61.02 (C-1'', CH₂), 61.07, 61.10, 63.55 (C-2, CH), 100.13 (C-2, C_{quat})*, 102.97 (C-2, C_{quat})*, 168.87 (C-1', C_{quat}), 170.06 (C-1', C_{quat}), 172.44 (C-1, C_{quat})*, 173.02 (C-1, C_{quat}), 206.57 (C-1, C_{quat}), 207.33 (C-1, C_{quat}).

*Signale gehören zur Enol-Form.

Doppelte Signale gehören zu dem racemischen Diastereomer.

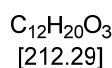
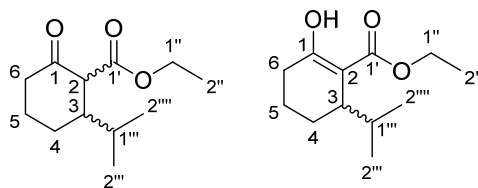
†Signale gehören vermutlich zum Diastereomer und dessen Enol-Form und sind nicht immer eindeutig zuordnenbar.

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2963, 2938, 2875, 1741 (C=O, Ester), 1712 (C=O, Ester), 1643, 1613, 1460, 1370, 1279, 1260, 1217, 1150, 1116, 1037, 836, 532.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 198 (18) [(M)⁺], 169 (40) [(M-C₂H₅O)⁺], 153 (32) [(M-C₂H₅O)⁺], 141 (42) [(C₇H₉O₃)⁺], 130 (26) [(C₇H₁₄O₂)⁺], 123 (96) [(C₇H₇O₂)⁺], 114 (38) [(C₅H₆O₃)⁺], 95 (42) [(C₆H₇O)⁺], 83 (30) [(C₅H₇O)⁺], 67 (44) [(C₅H₇)⁺], 55 (100) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.94, 9.24.

**3-Iso-propyl-1-oxocyclohexan-2-carbonsäureethylester (11d) und
1-Hydroxy-3-iso-propylcyclohex-2-en-2-carbonsäureethylester (108d):**



R_f (PE/EE 50:50) = 0.79.

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 0.84 (d, $^3J_{2'''/2''''}, 1'''' = 6.8$ Hz, 3 H, $2'''$ -H/ $2''''$ -H)*, 0.87 (d, $^3J_{2'''/2''''}, 1'''' = 7.2$ Hz, 3 H, $2'''$ -H/ $2''''$ -H), 0.89 (d, $^3J_{2'''/2''''}, 1'''' = 6.1$ Hz, 3 H, $2'''$ -H/ $2''''$ -H)*, 0.94 (d, $^3J_{2'''/2''''}, 1'''' = 6.5$ Hz, 3 H, $2'''$ -H/ $2''''$ -H)*, 0.96 (d, $^3J_{2'''/2''''}, 1'''' = 6.3$ Hz, 3 H, $2'''$ -H/ $2''''$ -H), 0.97 (d, $^3J_{2'''/2''''}, 1'''' = 6.9$ Hz, 3 H, $2'''$ -H/ $2''''$ -H), 1.22–1.28 (m, 6 H, $2''$ -H)[†], 1.28 (t, $^3J_{2'', 1''} = 7.1$ Hz, 3 H, $2''$ -H), 1.40–1.46 (m, 1 H)[†], 1.36–1.49 (m, 1 H, 4-H), 1.59 (m_c, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.3$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 6 H)[†], 1.61–1.67 (m, 2 H, 5-H, $1'''$ -H), 1.67–1.74 (m, 2 H)[†], 1.76–1.82 (m, 2 H)[†], 1.82–1.89 (m, 2 H)[†], 1.98 (td, $J = 13.8$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H)[†], 2.06 (m_c, $J = 13.7$ Hz, $J = 7.3$ Hz, $^3J_{5,4} = 3.9$ Hz, 1 H, 5-H), 2.16 (dddd, $J = 11.6$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1 H, 3-H), 2.22–2.30 (m, 1 H, 6-H), 2.41–2.47 (m, 4 H)[†], 2.45–2.54 (m, 1 H, 6-H), 2.83 (td, $J = 13.8$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1 H)[†], 3.19 (d, $^3J_{2,3} = 37.5$ Hz, 1 H, 2-H)[†], 3.28 (d, $^3J_{2,3} = 11.5$ Hz, 1 H, 2-H), 3.60 (d, $J = 4.9$ Hz, 1 H)[†], 4.20–4.27 (m, 2 H, $1''$ -H), 12.46 (s, 1 H, OH)*.

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 14.34 (C- $2''$, CH_3), 14.38[†], 16.28 (C- $2'''$ / $2''''$, CH_3), 18.38[†], 19.82[†], 21.08[†], 21.26 (C- $2'''$ / $2''''$, CH_3), 21.31 (C- $2'''$ / $2''''$, CH_3)[†], 21.95[†], 23.36 (C-4, CH_2), 23.91[†], 24.06[†], 24.79 (C-5, CH_2), 27.66[†], 28.90[†], 29.79 (C- $1'''$, CH), 31.02[†], 31.60[†], 37.25[†], 39.22[†], 41.42 (C-6, CH_2), 44.36[†], 46.68 (C-3, CH), 47.42[†], 47.98[†], 49.01[†], 60.03[†], 60.22[†], 60.99 (C- $1''$, CH_2), 62.01 (C-2, CH), 101.21 (C-2, C_{quat})*, 170.12 (C- $1'$, C_{quat}), 171.96 (C- $1'$, C_{quat})[†], 206.95 (C-1, C_{quat}).

*Signale gehören zur Enol-Form.

[†]Signale gehören vermutlich zum Diastereomer und dessen Enol-Form und sind nicht immer eindeutig zuordnenbar.

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2960, 2939, 2873, 1741 (C=O, Ester), 1711 (C=O, Ester), 1640, 1465, 1371, 1327, 1254, 1150, 1118, 1037, 838, 534.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 212 (1) [(M)⁺], 194 (30) [(M-H₂O)⁺], 169 (43) [(M-C₃H₇)⁺], 167 (32) [(M-C₂H₅O)⁺], 143 (17) [(C₈H₁₅O₂)⁺], 141 (74) [(C₈H₁₃O₂)⁺], 130 (38) [(C₇H₁₄O₂)⁺], 123 (100) [(C₇H₇O₂)⁺], 113 (32) [(C₆H₉O₂)⁺], 95 (89) [(C₆H₇O)⁺], 82 (96) [(C₅H₆O)⁺], 67 (57) [(C₅H₇)⁺], 55 (74) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 10.00, 10.26.

6.4.5.4 Vorschrift zur *Dess-Martin-Oxidation* des möglichen überreduzierten Me-substituierten Cyclohexanon-Derivats **201d**

In einem sekurierten *Schlenk*-Kolben wurde das mögliche überreduzierte Me-substituierte Cyclohexanon-Derivat **201d** (14.9 mg, 0.08 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem CH₂Cl₂ (0.2 mL, 3.20 mmol, 40 Äq.) vorgelegt. *Dess-Martin*-Periodinan (**160**, 37.3 mg, 0.09 mmol, 1.1 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 22.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Gemisch dreimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingedampft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 80:20) gereinigt.

6.4.5.5 Vorschrift zur Arylierung der Cyclohexanon-Derivate **10g-j**

Die Cyclohexanon-Derivate **10g-j** (0.03–0.15 mmol) wurden mit dem *Michael*-Akzeptor **12** (0.03–0.18 mmol, 1.2 Äq.) in 1 mL Acetonitril vorgelegt. KPi-Puffer (1 oder 2 mL, 0.2 M, pH 6) oder Glycin/NaOH-Puffer (2 mL, 50 mM, pH 9) wurden zugegeben. Anschließend wurde die Laccase aus *A. bisporus* (341 U/mmol) oder Ssl1 aus *S. sviveus* (27–36 U/mmol) hinzugefügt. Alternativ wurde die Arylierung chemisch mit den bereits oxidierten *Michael*-Akzeptoren **12c-d** (0.07–0.19 mmol, 1.2 Äq.) durchgeführt. Als Lösungsmittel wurde dabei entweder MeCN/Glycin-NaOH-Puffer (1:2, 50 mM, pH 9) oder nur Acetonitril mit K₂CO₃ (1.0 Äq.) verwendet. Die Reaktion erfolgte üN.–5 d bei RT unter aeroben Bedingungen und wurde mittels DC verfolgt. Schließlich wurde das Reaktionsgemisch mit demin. Wasser und EE verdünnt, 2–3 Tropfen HCl-Lösung (1 M) wurden zugegeben und viermal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 70:30) gereinigt.

6.4.6 Asymmetrische Reduktion mit Enreduktasen

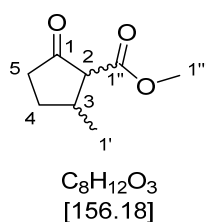
6.4.6.1 Vorschrift zur enzymatischen Reduktion des 2-Methylchromenons (**10a**)

In einem Zweihals-Kolben wurde 2-Methylchromenon (**10a**, 100 mg, 0.46 mmol, $c_{\text{end}} = 10 \text{ mM}$) in KP_i -Puffer (46 mL, 100 mM, pH 7) und 3.1 mL EE als Cosolvenz (6.7 Vol.-%) gelöst. Glukose (1.66 g, $c_{\text{end}} = 200 \text{ mM}$), NADP^+ (72.4 mg, $c_{\text{end}} = 2 \text{ mM}$), GDH (77 μL , ca. 12 U) und die YqjM-Mutante C26D/A104Y (99 U) wurden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 30°C gerührt. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 7 gehalten. Der Umsatz wurde mit einer GC mit chiraler stationärer Phase kontrolliert. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt.

6.4.6.2 Vorschrift zur Synthese des

3-Methyl-1-oxocyclopentan-2-carbonsäuremethylesters (**11b**)

In einem Zweihals-Kolben wurde der Me-substituierte β -Ketoester **10b** (39 mg, 0.32 mmol) mit Glukose-Lösung [3033 μL , 0.1 M in KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5)], NADP^+ [167 μL , 20 mM in KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5)], GDH (20 μL , ca. 3 U) und Ncr_{ZM} (5 U/mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 30°C gerührt. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 6.5 gehalten. Der Umsatz wurde mit einer GC mit chiraler stationärer Phase kontrolliert. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produkt **11b** wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 70:30) gereinigt. Das Produkt **11b** (84 % Ausbeute, 95 % Umsatz, DV = 77:23) wurde als ein leicht gelbes Öl erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[398-400]



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.12 (d, $^3J_{1',3} = 6.6 \text{ Hz}$, 3 H, 1'-H)*, 1.18 (d, $^3J_{1',3} = 6.5 \text{ Hz}$, 3 H, 1'-H), 1.48 (dtd, $^2J_{4a,4b} = 12.7 \text{ Hz}$, $^3J_{4,5} = 11.4 \text{ Hz}$, $^3J_{4,3} = 8.4 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H_a), 2.20 (dddd, $^2J_{4a,4b} = 12.7 \text{ Hz}$, $^3J_{4,5} = 8.5 \text{ Hz}$, $^3J_{4,3} = 6.3 \text{ Hz}$, $^3J_{4,5} = 1.9 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H_b), 2.32 (ddd, $^2J_{5a,5b} = 18.9 \text{ Hz}$, $^3J_{5,4} = 11.6 \text{ Hz}$, $^3J_{5,4} = 8.7 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H_a), 2.43 (dd, $^2J_{5a,5b} = 18.9 \text{ Hz}$, $^3J_{5,4} = 8.4 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H_b), 2.60 (ddq, $^3J_{3,4} = 16.6 \text{ Hz}$, $^3J_{3,2} = 11.6 \text{ Hz}$, $^3J_{3,1'} = 5.8 \text{ Hz}$, $^3J_{3,1'} = 5.3 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 2.78 (d, $^3J_{2,3} = 11.3 \text{ Hz}$, 1 H, 2-H), 3.23 (d, $^3J_{2,3} = 8.4 \text{ Hz}$, 1 H, 2-H)*, 3.70 (s, 3 H, 1'''-H)*, 3.76 (s, 3 H, 1'''-H).

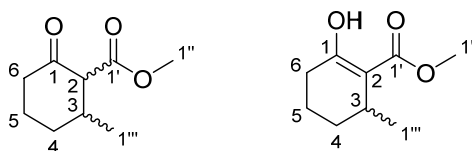
*Signale gehören zu dem Diastereomer.

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 19.43 (C-1', CH_3), 29.49 (C-4, CH_2), 36.51 (C-3, CH), 38.90 (C-5, CH_2), 52.54 (C-1''', CH_3), 63.10 (C-2, CH), 169.73 (C-1'', C_{quat}), 211.96 (C-1, C_{quat}).

GC: t_R [min] = 79.2, 80.3, 104.7, 106.2 (Hydrodex β -TBDAC, 60°C-60 min, 1°C/min auf 110°C, 10°C/min auf 150°C-5 min).

6.4.6.3 Vorschrift zur Synthese des 3-Methyl-1-oxocyclohexan-2-carbonsäuremethylesters (**11c**) und 1-Hydroxy-3-methylcyclohex-2-en-2-carbonsäuremethylesters (**108c**)

In einem Zweihals-Kolben wurde der Me-substituierte β -Ketoester **10c** (50 mg, 0.3 mmol) mit Glukose-Lösung [3033 μL , 0.1 M in KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5)], NADP^+ [167 μL , 20 mM in KP_i -Puffer (20 mM, pH 6.5)], GDH (20 μL , ca. 3 U) und YqjM-Mutante C26D/A104H (11.7 U/mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 30°C gerührt. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 6.5 gehalten. Der Umsatz wurde mittels GC/MS kontrolliert. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Produkt **11c/108c** wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 98:2) gereinigt. Das Produkt **11c/108c** (66 % Ausbeute, >99 % Umsatz, Sel. = 15:22:63) wurde als ein leicht gelbes Öl erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[390, 401, 402]



$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_3$
[170.21]

R_f (PE/EE 50:50) = 0.61.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.02 (d, $^3J_{1''',3} = 6.5$ Hz, 3 H, 1'''-H), 1.05 (d, $^3J_{1''',3} = 7.1$ Hz, 3 H, 1'''-H)*, 1.42 (m_c , $^2J_{4a,4b} = 12.1$ Hz, $J = 3.8$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1 H, 4-H_a), 1.72 (m_c , $J = 13.2$ Hz, $J = 4.0$ Hz, 1 H, 5-H_a), 1.88–1.96 (m, 1 H, 4-H_b), 2.03 (ddt, $J = 13.4$ Hz, $J = 6.9$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1 H, 5-H_b), 2.22–2.32 (m, 2 H, 3-H, 6-H_a), 2.46 (m_c , $J = 14.1$ Hz, $J = 4.7$ Hz, $J = 3.2$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1 H, 6-H_b), 2.64–2.72 (m, 1 H, 3-H)*, 2.76 (m_c , $J = 14.0$ Hz, $J = 11.6$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1 H, 6-H)*, 3.01–3.06 (m, 1 H, 2-H), 3.40 (d, $^3J_{2,3} = 5.2$ Hz, 1 H, 2-H)*, 3.69 (s, 3 H, 1''-H)*, 3.75 (s, 3 H, 1''-H), 12.30 (s, 1 H, OH)*.

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 17.27[†], 18.48[†], 21.03 (C-1''', CH_3)*, 21.15 (C-1''', CH_3), 25.14 (C-5, CH_2), 26.63[†], 28.94[†], 29.37[†], 29.84[†], 32.46 (C-4, CH_2), 36.77 (C-3, CH), 36.95 (C-3, CH)*, 39.56 (C-6, CH_2)*, 41.02 (C-6, CH_2), 51.42 (C-1'', CH_2)*, 52.10 (C-1'', CH_2), 62.36 (C-2, CH)*, 65.15 (C-2, CH), 170.35 (C-1', C_{quat}), 206.19 (C-1, C_{quat}).

*Signale gehören zu dem Diastereomer.

†Signale gehören vermutlich zum Diastereomer und dessen Enol-Form und sind nicht immer eindeutig zuordnenbar.

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2954, 2931, 2872, 1743 (C=O, Ester), 1710 (C=O, Ester), 1652, 1610, 1437, 1355, 1257, 1221, 1154, 1078, 1055, 1028, 944, 831, 736, 529.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 170 (29) [(M)⁺], 155 (22) [(M-CH₃)⁺], 139 (32) [(C₈H₁₁O₂)⁺], 127 (52) [(C₇H₁₁O₂)⁺], 123 (48) [(C₇H₇O₂)⁺], 114 (10) [(C₆H₁₀O₂)⁺], 101 (22) [(C₅H₉O₂)⁺], 100 (54) [(C₅H₈O₂)⁺], 95 (34) [(C₆H₇O)⁺], 83 (32) [(C₅H₇O)⁺], 82 (77) [(C₅H₆O)⁺], 69 (100) [(C₄H₅O)⁺], 55 (94) [(C₄H₇)⁺].

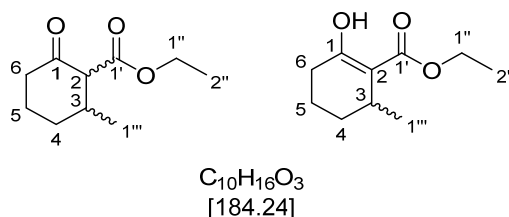
GC/MS: t_R [min] = 7.52, 7.61, 7.81.

6.4.6.4 Vorschrift zur Synthese des

3-Methyl-1-oxocyclohexan-2-carbonsäureethylesters (**11d**) und

1-Hydroxy-3-methylcyclohex-2-en-2-carbonsäureethylesters (**108d**)

In einem Zweihals-Kolben wurde der Me-substituierte β -Ketoester **10d** (50 mg, 0.27 mmol) mit KP_i-Puffer (3.28 mL, 20 mM, pH 6.5), NADP⁺ [170 μ L, 20 mM in KP_i-Puffer (20 mM, pH 6.5)], PhosDH (2.55 mL, 5 U), Natriumphosphit (65 mg, c_{end} = 50 mM) und der YqjM-Mutante C26D/I69T (6.69 U/mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 30 °C gerührt. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 6.5 gehalten. Der Umsatz wurde mit einer GC/MS kontrolliert. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produkt **11d/108d** wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 98:2) gereinigt. Das Produkt **11d/108d** (36.6 mg, 0.2 mmol, 72 %, DV = 10:90) wurde als ein farbloses Öl erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[328, 403]



R_f (PE/EE 50:50) = 0.88.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.04 (d, $^3J_{1''',3}$ = 6.5 Hz, 3 H, 1'''-H), 1.07 (d, $^3J_{1''',3}$ = 6.9 Hz, 3 H, 1'''-H)*, 1.23–1.34 (m, 9 H, 2''-H), 1.42 (dtd, J = 15.1 Hz, J = 12.2 Hz, J = 3.8 Hz, 1 H)†, 1.48–1.55 (m, 1 H)†, 1.63 (dddd, J = 21.8 Hz, J = 13.1 Hz, J = 5.4 Hz, J = 3.4 Hz, 2 H)†, 1.67–1.83 (m, 2 H)†, 1.92 (dt, J = 12.6 Hz, J = 3.7 Hz, 1 H)†, 1.97–2.09 (m, 2 H)†, 2.20–2.34 (m, 4 H)†, 2.47 (dt, J = 14.1 Hz, J = 4.0 Hz, 1 H)†, 2.70 (tt, J = 9.2 Hz, J = 4.6 Hz, 1 H)*, 2.78 (ddd, J = 13.7 Hz, J = 12.2 Hz, J = 6.5 Hz,

1 H)[†], 3.02 (d, $^3J_{2,3} = 11.3$ Hz, 1 H, 2-H), 3.38 (d, $^3J_{2,3} = 5.2$ Hz, 1 H, 2-H)*, 4.08–4.31 (m, 4 H, 1''-H, 1''-H*), 12.39 (s, 1 H, OH)*.

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.36 (C-2'', CH₃), 14.43[†], 17.34[†], 20.98 (C-1''', CH₃)*, 21.17[†], 25.15[†], 26.66 (C-1''', CH₃), 29.42 (C-6, CH₂)*, 29.91[†], 32.48 (C-1''', CH₃), 36.74[†], 41.09[†], 60.23 (C-1'', CH₂), 61.03[†], 62.55 (C-2, CH)*, 65.22 (C-2, CH), 103.27 (C-2, C_{quat})[†], 169.89 (C-1', C_{quat}), 172.47 (C-1, C_{quat})*, 172.98[†], 206.26 (C-1, C_{quat}).

*Signale gehören zu dem Diastereomer.

[†]Signale gehören vermutlich zum Diastereomer und dessen Enol-Form und sind nicht immer eindeutig zuordnenbar.

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2959, 2934, 2870, 1741 (C=O, Ester), 1712 (C=O, Ester), 1642, 1612, 1458, 1370, 1281, 1255, 1219, 1153, 1096, 1076, 1033, 838, 530.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 184 (30) [(M)⁺], 169 (30) [(M-CH₃)⁺], 156 (34) [(M-C₂H₄)⁺], 141 (43) [(C₇H₉O₃)⁺], 139 (48) [(M-C₂H₅O)⁺], 128 (25) [(C₆H₈O₃)⁺], 123 (78) [(C₇H₇O₂)⁺], 115 (17) [(C₅H₇O₃)⁺], 113 (38) [(C₅H₅O₃)⁺], 111 (27) [(M-C₃H₅O₂)⁺], 97 (21) [(C₆H₉O)⁺], 86 (40) [(C₄H₆O₂)⁺], 82 (69) [(C₅H₆O)⁺], 69 (71) [(C₄H₅O)⁺], 55 (100) [(C₃H₃O)⁺].

GC/MS: t_R [min] = 8.16, 8.41.

6.4.6.5 Vorschrift zur Decarboxylierung

6.4.6.5.1 Nach Brunner *et al.*^[404]

Verbindung **11d** (10 mg, 0.05 mmol) wurde in 1 mL HCl-Lösung (20 %) gelöst und 3 h bei 100 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend dreimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeengt.

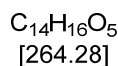
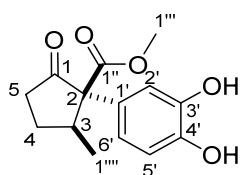
6.4.6.5.2 Nach Barnier *et al.*^[405]

In einem Mikrowellengefäß wurden 2-Cyclohexanoncarbonsäureethylester (**11k**, 10 mg, 0.06 mmol, 1.0 Äq.), TBAB (2 mg, 0.01 mmol, 0.1 Äq.), demin. Wasser (2.3 μ L, 0.13 mmol, 2.0 Äq.) und Lithiumbromid (11.1 mg, 0.13 mmol, 2.0 Äq.) vereint und 20 min bei 45 W gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend mit EE verdünnt, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeengt.

6.4.7 Michael-Addukte 2

6.4.7.1 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-methyl-1-oxocyclopentan-2-carbonsäuremethylester (2a)

Die Verbindung **10b** (39 mg, 0.25 mmol) wurde in einem Zweihalskolben vorgelegt. NADP⁺ (167 μ L, 20 mM, gelöst in 20 mM KP_i-Puffer, pH 6.5), 3033 μ L Glukose-Lösung (0.1 M, gelöst in 20 mM KP_i-Puffer, pH 6.5), 20 μ L GDH (ca. 150 U/mL) und Ncr_{ZM} (2.5 U/mmol) wurden zugegeben. Die Reaktion erfolgte über Nacht bei 30 °C. Der pH-Wert wurde durch Titration mit NaOH (1 M) konstant bei pH 6.5 gehalten. Der Umsatz wurde mit einer GC mit chiraler stationärer Phase kontrolliert. Bei unvollständiger Reaktion wurde erneut Ncr_{ZM}, NADP⁺ und GDH zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde dreimal mit Et₂O und dreimal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Zwischenprodukt **11b** wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 70:30) gereinigt. Somit konnte das Produkt **11b** (33.2 mg, 0.21 mmol, 84 %, DV = 23:77) als ein farbloses Öl erhalten werden. Für die Arylierung wurde das Zwischenprodukt **11b** (22.9 mg, 0.15 mmol) mit Catechol (**12a**, 20 mg, 0.18 mmol, 1.2 Äq.) in 1 mL Acetonitril vorgelegt. 1 mL KP_i-Puffer (0.2 M, pH 6) wurde zugegeben. Anschließend wurden 6.6 mg Laccase aus *A. bisporus* (6.2 U/mg) hinzugefügt. Die Reaktion erfolgte 3 d bei RT unter aeroben Bedingungen und wurde mittels DC verfolgt. Schließlich wurde das Reaktionsgemisch mit demin. Wasser und EE verdünnt, 2–3 Tropfen HCl-Lösung (1 M) wurden zugegeben und viermal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 70:30) gereinigt. Das Produkt **2a** (25.8 mg, 0.10 mmol, 67 %, Sel. = 20:80) konnte als ein leicht gelbes Öl isoliert werden.



R_f (PE/EE 70:30) = 0.13.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.80 (d, $^3J_{1''',3} = 7.0$ Hz, 3 H, 1'''-H)*, 1.21 (d, $^3J_{1''',3} = 6.9$ Hz, 3 H, 1'''-H), 1.53–1.62 (m, 1 H, 4-H_a)*, 1.78–1.86 (m, 1 H, 4-H_a), 2.06–2.11 (m, 1 H, 4-H_b)*, 2.11–2.22 (m, 1 H, 4-H_b), 2.20–2.39 (m, 1 H, 5-H_a), 2.47–2.53 (m, 1 H, 5-H_a)*, 2.56–2.68 (m, 1 H, 5-H_b), 2.82–2.96 (m, 1 H, 3-H), 3.08–3.17 (m, 1 H, 3-H)*, 3.71 (s, 3 H, 1'''-H), 3.73 (s, 3 H, 1'''-H)*, 5.61 (s, 1 H, OH), 5.85 (s, 1 H, OH), 6.52 (dd, $^3J_{5',6'} = 8.4$ Hz, $^4J_{5'/6',2'} = 2.1$ Hz, 2 H, 5'-H, 6'-H)*, 6.70 (d, $^4J_{2',6'} = 2.2$ Hz, 1 H, 2'-H)*, 6.74–6.82 (m, 2 H, 5'-H, 6'-H), 6.94 (d, $^4J_{2',6'} = 2.0$ Hz, 1 H, 2'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 16.43 (C-1''', CH_3)*, 16.56 (C-1''', CH_3), 26.74 (C-4, CH_2)*, 27.93 (C-4, CH_2), 37.88 (C-5, CH_2)*, 38.04 (C-5, CH_2), 40.49 (C-3, CH)*, 40.72 (C-3, CH), 52.46 (C-1''', CH_3), 53.32 (C-1''', CH_3)*, 67.24 (C-2, C_{quat}), 69.61 (C-2, C_{quat})*, 115.16 (C-5'/C-6', CH), 115.20 (C-5'/C-6', CH)*, 115.75 (C-2', CH), 115.83 (C-2', CH)*, 120.22 (C-5'/C-6', CH), 121.23 (C-5'/C-6', CH)*, 128.56 (C-1', C_{quat}), 143.55 (C-3'/C-4', C_{quat}), 143.67 (C-3'/C-4', C_{quat}), 171.06 (C-1'', C_{quat})*, 171.44 (C-1'', C_{quat}), 213.91 (C-1, C_{quat}).

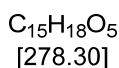
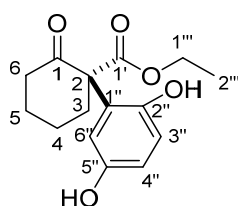
*Signale gehören zu dem Diastereomer.

IR (Film), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3407 (OH), 2958, 1725 (C=O), 1604, 1521, 1433, 1366, 1231, 1121, 1085, 1013, 857, 787, 741.

HPLC: t_R [min] = 21.39, 29.94 (Chiracel OD-H, *n*-Heptan/*iso*-Propanol 80:20, 0.5 mL/min, 205 nm).

6.4.7.2 2-(2,5-Dihydroxyphenyl)-1-oxocyclohexan-2-carbonsäureethylester (2e)

Die Verbindung **11k** (25.1 μ L, 0.15 mmol) wurde mit Hydrochinon (**12b**, 19.8 mg, 0.18 mmol, 1.2 Äq.) in 1 mL Acetonitril vorgelegt. Glycin/NaOH-Puffer (2 mL, 50 mM, pH 9) wurde zugegeben. Anschließend wurden 3 mg Laccase Ssl1 aus *S. sviveus* (36 U/mmol) hinzugefügt. Die Reaktion erfolgte 3 d bei RT unter aeroben Bedingungen und wurde mittels DC verfolgt. Schließlich wurde das Reaktionsgemisch mit demin. Wasser und EE verdünnt, 2–3 Tropfen HCl-Lösung (1 M) wurden zugegeben und viermal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 70:30) gereinigt. Das Produkt **2e** (11 mg, 0.04 mmol, 26 %) konnte als ein orangenes Öl isoliert werden.

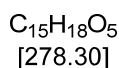
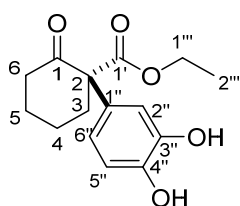


1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 1.29 (t, $^3J_{2''',1'''} = 7.1$ Hz, 3 H, $2'''$ -H), 1.44 (dt, $^2J_{4a,4b} = 14.2$ Hz, $^3J_{4,3} = 7.4$ Hz, $^4J_{4,6} = 3.8$ Hz, 1 H, 4- H_a), 1.54 (ddt, $^2J_{5a,5b} = 13.5$ Hz, $^3/4J_{5,4/6} = 8.7$ Hz, $^3/4J_{5,4/6} = 4.3$ Hz, 1 H, 5- H_a), 1.57–1.82 (m, 4 H, 3- H_a , 4- H_b , 5- H_b), 1.97–2.09 (m, 2 H, 6-H), 2.17 (ddd, $^2J_{3a,3b} = 14.1$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.1$ Hz, $^4J_{3,5} = 3.6$ Hz, 1 H, 3- H_b), 4.15–4.33 (m, 2 H, $1'''$ -H), 4.90 (s, 1 H, OH), 5.04 (s, 1 H, OH), 6.64 (dd, $^3J_{3'',4''} = 8.4$ Hz, $^4/5J_{3''/4'',6''} = 2.7$ Hz, 1 H, $3''/4''$ -H), 6.68–6.74 (m, 1 H, $3''/4''$ -H), 6.87 (d, $^4/5J_{6'',4''/3''} = 2.7$ Hz, 1 H, $6''$ -H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 14.19 (C- $2'''$, CH_3), 21.10 (C-4, CH_2), 22.04 (C-5, CH_2), 33.72 (C-6, CH_2), 34.68 (C-3, CH_2), 57.55 (C-2, C_{quat}), 61.81 (C- $1'''$, CH_2), 109.76 (C-1, C_{quat}), 111.37 (C- $3''/4''$, CH), 112.58 (C- $6''$, CH), 115.52 (C- $3''/4''$, CH), 131.82 (C- $1''$, C_{quat}), 150.32 (C- $2''/5''$, C_{quat}), 150.77 (C- $2''/5''$, C_{quat}), 173.33 (C- $1'$, C_{quat}).

6.4.7.3 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1-oxocyclohexan-2-carbonsäureethylester (2f)

Die Verbindung **11k** (25.1 μ L, 0.15 mmol) wurde mit Catechol (**12a**, 20 mg, 0.18 mmol, 1.2 Äq.) in 1 mL Acetonitril vorgelegt. Glycin/NaOH-Puffer (2 mL, 50 mM, pH 9) wurde zugegeben. Anschließend wurden 3 mg Laccase Ssl1 aus *S. sviceps* (36 U/mmol) hinzugefügt. Die Reaktion erfolgte 3 d bei RT unter aeroben Bedingungen und wurde mittels DC verfolgt. Schließlich wurde das Reaktionsgemisch mit demin. Wasser und EE verdünnt, 2–3 Tropfen HCl-Lösung (1 M) wurden zugegeben und viermal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE 70:30) gereinigt. Das Produkt **2f** (16.9 mg, 0.06 mmol, 40 %) konnte als ein gelbes Öl isoliert werden.



1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 1.24 (t, $^3J_{2''',1'''} = 7.1$ Hz, 3 H, 2'''-H), 1.68–1.77 (m, 1 H, 4-H_a), 1.78–1.87 (m, 2 H, 4-H_b, 5-H_a), 1.96 (tt, $^2J_{5a,5b} = 11.0$ Hz, $^3J_{5,6} = 5.5$ Hz, 1 H, 5-H_b), 2.32 (ddd, $^2J_{3a,3b} = 13.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.0$ Hz, $^3J_{3,5} = 3.2$ Hz, 1 H, 3-H_a), 2.55 (t, $^3J_{6,5} = 6.7$ Hz, 2 H, 6-H), 2.66–2.76 (m, 1 H, 3-H), 4.21 (q, $^3J_{1''',2'''} = 7.2$ Hz, 2 H, 1'''-H), 5.94 (s, 1 H, OH), 6.24 (s, 1 H, OH), 6.61 (dd, $^3J_{6'',5''} = 8.4$ Hz, $^4J_{6'',2''} = 2.2$ Hz, 1 H, 6''-H), 6.69 (d, $^4J_{2'',6''} = 2.2$ Hz, 1 H, 2''-H), 6.76 (d, $^3J_{5'',6''} = 8.4$ Hz, 1 H, 5''-H).

^{13}C -NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 14.12 (C-2''', CH_3), 22.20 (C-4, CH_2), 27.77 (C-5, CH_2), 35.21 (C-3, CH_2), 40.83 (C-6, CH_2), 62.04 (C-1''', CH_2), 66.08 (C-2, C_{quat}), 115.36 (C-2'', C-5', CH), 119.94 (C-6'', CH), 128.73 (C-1'', C_{quat}), 143.77 (C-3''/C-4'', C_{quat}), 143.92 (C-3''/C-4'', C_{quat}), 172.06 (C-1'', C_{quat}), 208.70 (C-1, C_{quat}).

7 Literaturverzeichnis

- [1] 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'.
- [2] T. D. Lee, C. N. Yang, *Phys. Rev.* **1956**, *104*, 254-258; 'Question of Parity Conservation in Weak Interactions'.
- [3] M. Avalos, R. Babiano, P. Cintas, J. L. Jiménez, J. C. Palacios, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 2845-2874; 'From parity to chirality: chemical implications revisited'.
- [4] S. Mason, *New Sci.* **1984**, 10-14; 'The left hand of nature'.
- [5] L. D. Barron, *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *221*, 311-316; 'CP violation and molecular physics'.
- [6] L. D. Barron, in *Molecular Light Scattering and Optical Activity, Vol. 2* (Ed.: L. D. Barron), Cambridge University Press, **2004**, pp. 1-52.
- [7] M. Quack, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4812-4825; 'Wie wichtig ist Paritätsverletzung für die molekulare und biomolekulare Chiralität?'.
- [8] M. Quack, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 588-604; 'Struktur und Dynamik chiraler Moleküle'.
- [9] M. Quack, J. Stohner, C. Riehn, *Nachr. Chem.* **2006**, *54*, 282-291; 'Physikalische Chemie 2005'.
- [10] R. R. Julian, S. Myung, D. E. Clemmer, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 440-444; 'Do Homochiral Aggregates Have an Entropic Advantage?'.
- [11] T. D. Wyatt, *Curr. Biol.* **2017**, *27*, R739-R743; 'Pheromones'.
- [12] J. Meinwald, W. S. Leal, J. Kubanek, *ACS Omega* **2018**, *3*, 4048-4053; 'Molecules as Biotic Messengers'.
- [13] K. Mori, *Proc. Jpn. Acad., Ser. B* **2014**, *90*, 373-388; 'Stereochemical studies on pheromonal communications'.
- [14] K. Mori, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7505-7523; 'Significance of chirality in pheromone science'.
- [15] K. Mori, *Chem. Commun.* **1997**, 1153-1158; 'Pheromones: synthesis and bioactivity'.
- [16] E. Brenna, C. Fuganti, S. Serra, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1-42; 'Enantioselective perception of chiral odorants'.
- [17] R. Zawirska-Wojtasiak, *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* **2006**, *5*, 21-36; 'Chirality and the Nature of Food Authenticity of Aroma'.
- [18] J. R. Cossy, *Compr. Chirality* **2012**, *1*, 1-7; '1.1 Introduction: The Importance of Chirality in Drugs and Agrochemicals'.
- [19] E. Thall, *J. Chem. Educ.* **1996**, *73*, 481-484; 'When Drug Molecules Look in the Mirror'.
- [20] B. S. Sekhon, *J. Mod. Med. Chem.* **2013**, *1*, 10-36; 'Exploiting the Power of Stereochemistry in Drugs: An Overview of Racemic and Enantiopure Drugs'.
- [21] I. Agranat, H. Caner, J. Caldwell, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 753-768; 'Putting Chirality to Work: The Strategy of Chiral Switches'.
- [22] P. Mansfield, D. Henry, A. Tonkin, *Clin. Pharmacokinet.* **2004**, *43*, 287-290; 'Single-Enantiomer Drugs Elegant Science, Disappointing Effects'.
- [23] F. Jamali, R. Mehvar, F. M. Pasutto, *J. Pharm. Sci.* **1989**, *78*, 695-715; 'Enantioselective Aspects of Drug Action and Disposition: Therapeutic Pitfalls'.
- [24] I. Agranat, H. Caner, *Drug Discovery Today* **1999**, *4*, 313-321; 'Intellectual property and chirality of drugs'.

- [25] R. Noyori, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008-2022; 'Asymmetric Catalysis: Science and Opportunities (Nobel Lecture)'.
- [26] S. Gladiali, *C. R. Chim.* **2007**, *10*, 220-231; 'Guidelines and methodologies in asymmetric synthesis and catalysis'.
- [27] A. Berkessel, H. Gröger, *Asymmetric Organocatalysis*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2005**.
- [28] T. Scheper, *White Biotechnology*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2007**.
- [29] R. Wohlgemuth, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2010**, *21*, 713-724; 'Biocatalysis - key to sustainable industrial chemistry'.
- [30] B. Schulze, M. G. Wubbolts, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1999**, *10*, 609-615; 'Biocatalysis for industrial production of fine chemicals'.
- [31] R. Wohlgemuth, *Curr. Opin. Microbiol.* **2010**, *13*, 283-292; 'Asymmetric biocatalysis with microbial enzymes and cells'.
- [32] C. C. C. R. de Carvalho, *Biotechnol. Adv.* **2011**, *29*, 75-83; 'Enzymatic and whole cell catalysis: finding new strategies for old processes'.
- [33] Y. Gounaris, *Flavour Fragr. J.* **2010**, *25*, 367-386; 'Biotechnology for the production of essential oils, flavours and volatile isolates. A review'.
- [34] S. Serra, in *Biocatalysis for Green Chemistry and Chemical Process Development*, 1 ed. (Eds.: J. A. Tao, R. Kazlauskas), John Wiley & Sons, Ltd., **2011**, pp. 223-254.
- [35] W. Schwab, R. Davidovich-Rikanati, E. Lewinsohn, *Plant J.* **2008**, *54*, 712-732; 'Biosynthesis of plant-derived flavor compounds'.
- [36] G. Fráter, J. A. Bajgrowicz, P. Kraft, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 7633-7703; 'Fragrance Chemistry'.
- [37] R. G. Berger, *Biotechnol. Lett.* **2009**, *31*, 1651-1659; 'Biotechnology of flavours - the next generation'.
- [38] B. Lindemann, *Nature* **2001**, *413*, 219-225; 'Receptors and transduction in taste'.
- [39] L. A. Barlow, *Development* **2015**, *142*, 3620-3629; 'Progress and renewal in gustation: new insights into taste bud development'.
- [40] S. A. Gravina, G. L. Yep, M. Khan, *Ann. Saudi Med.* **2013**, *33*, 217-222; 'Human biology of taste'.
- [41] S. A. Simon, I. E. d. Araujo, R. Gutierrez, M. A. L. Nicolelis, *Nat. Rev. Neurosci.* **2006**, *7*, 890-901; 'The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code'.
- [42] P. A. S. Breslin, *Flavour Fragr. J.* **2001**, *16*, 439-456; 'Human gustation and flavour'.
- [43] S. Sankaran, L. R. Khot, S. Panigrahi, *Sens. Actuators, B* **2012**, *171-172*, 1-17; 'Biology and applications of olfactory sensing system: A review'.
- [44] A. Menini, L. Lagostena, A. Boccaccio, *News Physiol. Sci.* **2004**, *19*, 101-104; 'Olfaction: From Odorant Molecules to the Olfactory Cortex'.
- [45] B. Schilling, R. Kaiser, A. Natsch, M. Gautschi, *Chemoecology* **2009**, *20*, 135-147; 'Investigation of odors in the fragrance industry'.
- [46] A. Herrmann, *Chem. Unserer Zeit* **2015**, *49*, 36-47; 'Profragrances - Riechstoffvorstufen'.
- [47] A. Herrmann, in *The Chemistry and Biology of Volatiles* (Ed.: A. Herrmann), John Wiley & Sons Ltd., **2010**, pp. 333-362.
- [48] K. Bauer, D. Garbe, H. Surburg, *Common Fragrance and Flavour Materials: Preparation and Uses*, Fourth ed., Wiley-VCH Verlag GmbH, D-69469 Weinheim (Germany), **2001**.
- [49] 'Regulation (EC) No 1334/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on flavourings and certain food ingredients with flavouring properties for use in and on foods and amending Council Regulation (EEC) No 1601/91, Regulations (EC) No 2232/96 and (EC) No 110/2008 and Directive 2000/13/EC'.

- [50] D. Rowe, in *Practical Analysis of Flavor and Fragrance Materials*, First ed. (Eds.: K. Goodner, R. Rouseff), Blackwell Publishing Ltd., **2011**.
- [51] S. Serra, C. Fuganti, E. Brenna, *Trends Biotechnol.* **2005**, *23*, 193-198; 'Biocatalytic preparation of natural flavours and fragrances'.
- [52] J. Margetts, in *Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances* (Ed.: D. J. Rowe), Blackwell Publishing Ltd., **2005**, pp. 169-197.
- [53] M. Fache, B. Boutevin, S. Caillol, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2016**, *4*, 35-46; 'Vanillin Production from Lignin and Its Use as a Renewable Chemical'.
- [54] *Biotechnology of Natural Products*, Springer, **2018**.
- [55] H. Priefert, J. Rabenhorst, A. Steinbüchel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *56*, 296-314; 'Biotechnological production of vanillin'.
- [56] N. J. Walton, M. J. Mayer, A. Narbad, *Phytochemistry* **2003**, *63*, 505-515; 'Molecules of Interest Vanillin'.
- [57] P. Xu, D. Hua, C. Ma, *Trends Biotechnol.* **2007**, *25*, 571-576; 'Microbial transformation of propenylbenzenes for natural flavour production'.
- [58] K.-G. Fahlbusch, F.-J. Hammerschmidt, J. Panten, W. Pickenhagen, D. Schatkowski, K. Bauer, D. Garbe, H. Surburg, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Vol. 15*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2012**, pp. 73-195.
- [59] M. B. Hocking, *J. Chem. Educ.* **1997**, *74*, 1055-1059; 'Vanillin: Synthetic Flavoring from Spent Sulfite Liquor'.
- [60] G. H. Tomlinson 2nd, H. Hibbert, *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 345-348; 'Studies on Lignin and Related Compounds. XXIV. The Formation of Vanillin from Waste Sulfite Liquor'.
- [61] U. Krings, R. G. Berger, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, *49*, 1-8; 'Biotechnological production of flavours and fragrances'.
- [62] *New Trends in Green Chemistry*, Kluwer Academic Publishers, **2004**.
- [63] P. Anastas, N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301-312; 'Green Chemistry: Principles and Practice'.
- [64] S. Wenda, S. Illner, A. Mell, U. Kragl, *Green Chem.* **2011**, *13*, 3007-3047; 'Industrial biotechnology—the future of green chemistry?'.
- [65] http://www.leffingwell.com/top_10.htm, **11.02.2019**.
- [66] M. Schöttler, W. Boland, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1488-1496; '125. Biosynthesis of Dodecano-4-lactone in Ripening Fruits: Crucial Role of an Epoxide-Hydrolase in Enantioselective Generation of Aroma Components of the Nectarine (*Prunus persica* var. *nucipersica*) and the Strawberry (*Fragaria ananassa*)'.
- [67] R. Bandichhor, B. Nosse, O. Reiser, *Top. Curr. Chem.* **2005**, *243*, 43-72; 'Paraconic Acids – The Natural Products from *Lichen* Symbiont'.
- [68] H. M. R. Hoffmann, J. Rabe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1985**, *24*, 94-110; 'Synthesis and Biological Activity of α -Methylene- γ -butyrolactone'.
- [69] B. Mao, M. Fañanás-Mastral, B. L. Feringa, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 10502-10566; 'Catalytic Asymmetric Synthesis of Butenolides and Butyrolactones'.
- [70] M. Seitz, O. Reiser, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 285-292; 'Synthetic approaches towards structurally diverse γ -butyrolactone natural-product-like compounds'.
- [71] M. Zheng, P. Chen, L. Huang, W. Wu, H. Jiang, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 5756-5759; 'Nucleo-Palladation-Triggering Alkene Functionalization: A Route to γ -Lactones'.
- [72] A. Díaz-Rodríguez, W. Borzęcka, I. Lavandera, V. Gotor, *ACS Catal.* **2014**, *4*, 386-393; 'Stereodivergent Preparation of Valuable γ - or δ -Hydroxy Esters and Lactones through One-Pot Cascade or Tandem Chemoenzymatic Protocols'.
- [73] E. Brenna, C. D. Negri, C. Fuganti, S. Serra, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1871-1879; 'Baker's yeast-mediated approach to (–)-*cis*- and (+)-*trans*-Aerangis lactones'.

- [74] W. Schwarz, J. Schossig, R. Rossbacher, H. Höke, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Vol. 6*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2012**, pp. 457-463.
- [75] F. D. Zepf, M. Holtmann, E. Duketis, J. Maier, D. Radeloff, S. Schirman, A. Wagner, F. Poustka, L. Wöckel, *Z. Kinder-Jugendpsychiatr. Psychother.* **2009**, *37*, 413-420; 'Entzugsdelir nach Missbrauch von GHB-(Gamma-Hydroxybutyrat) und seiner Vorstufen'.
- [76] O. G. Bosch, E. Seifritz, *Brain Res. Bull.* **2016**, *126*, 47-60; 'The behavioural profile of gamma-hydroxybutyrate, gamma-butyrolactone and 1,4-butanediol in humans'.
- [77] R. M. Kamal, M. S. van Noorden, W. Wannet, H. Beurmanjer, B. A. Dijkstra, A. Schellekens, *CNS Drugs* **2017**, *31*, 51-64; 'Pharmacological Treatment in γ -Hydroxybutyrate (GHB) and γ -Butyrolactone (GBL) Dependence: Detoxification and Relapse Prevention'.
- [78] www.chemnetbase.com, **05.12.2018**.
- [79] M. P. Sibi, *Aldrichimica Acta* **1999**, *32*, 93-103; 'Are Two Phenyls Better Than One? Synthesis and Applications of (*R*)-4-Diphenylmethyl-2-oxazolidinone'.
- [80] R. R. Kitson, A. Millemaggi, R. J. Taylor, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9426-9451; 'The Renaissance of α -Methylene- γ -butyrolactones: New Synthetic Approaches'.
- [81] L. Lv, B. Shen, Z. Li, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 4164-4167; 'Total synthesis of (+/-)-clavilactones A, B, and proposed D through iron-catalyzed carbonylation-peroxidation of olefin'.
- [82] T. B. Adams, D. B. Greer, J. Doull, I. C. Munro, P. Newberne, P. S. Portoghese, R. L. Smith, B. M. Wagner, C. S. Weil, L. A. Woods, R. A. Ford, *Food Chem. Toxicol.* **1998**, *36*, 249-278; 'The FEMA GRAS Assessment of Lactones Used as Flavour Ingredients'.
- [83] B. Zierer, P. Schieberle, M. Granvogl, *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64*, 9515-9522; 'Aroma-Active Compounds in Bartlett Pears and Their Changes during the Manufacturing Process of Bartlett Pear Brandy'.
- [84] J. Schütt, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65*, 10534-10541; 'Quantitation of Nine Lactones in Dairy Cream by Stable Isotope Dilution Assays Based on Novel Syntheses of Carbon-13-Labeled γ -Lactones and Deuterium-Labeled δ -Lactones in Combination with Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography with Time-of-Flight Mass Spectrometry'.
- [85] www.thegoodscentscompany.com, **05.12.2018**.
- [86] M. Feuerbach, O. Fröhlich, P. Schreier, *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36*, 1236-1237; 'Chirality Evaluation of 1,4-Decanolide in Peach'.
- [87] H. D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle, *Food Chemistry*, 4 ed., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2009**.
- [88] W. Albrecht, J. Heidlas, M. Schwarz, R. Tressl, in *Flavor Precursors*, American Chemical Society, **1992**, pp. 46-58.
- [89] J. Schrader, M. M. W. Etschmann, D. Sell, J.-M. Hilmer, J. Rabenhorst, *Biotechnol. Lett.* **2004**, *26*, 463-472; 'Applied biocatalysis for the synthesis of natural flavour compounds – current industrial processes and future prospects'.
- [90] C. Romero-Guido, I. Belo, T. M. N. Ta, L. Cao-Hoang, M. Alchihab, N. Gomes, P. Thonart, J. A. Teixeira, J. Destain, Y. Waché, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *89*, 535-547; 'Biochemistry of lactone formation in yeast and fungi and its utilisation for the production of flavour and fragrance compounds'.
- [91] A. Braga, I. Belo, *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *32*, 169; 'Biotechnological production of γ -decalactone, a peach like aroma, by *Yarrowia lipolytica*'.

- [92] Y. Waché, M. Aguedo, J. M. Nicaud, J. M. Belin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, *61*, 393-404; 'Catabolism of hydroxyacids and biotechnological production of lactones by *Yarrowia lipolytica*'.
- [93] S. D. Kohlwein, F. Paltauf, *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, *792*, 310-317; 'Uptake of Fatty Acids by the Yeasts, *Saccharomyces uvarum* and *Saccharomycopsis lipolytica*'.
- [94] C. Günther, A. Mosandl, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1987**, *185*, 1-4; 'Stereoisomere Aromastoffe XV. Chirospezifische Analyse natürlicher Aromastoffe: 3-Methyl-4-octanolid-, Quercus-, Whiskylacton'''.
- [95] E. Masson, R. Baumes, C. L. Guernevé, J.-L. Puech, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4306-4309; 'Identification of a Precursor of β -Methyl- γ -octalactone in the Wood of Sessile Oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.)'.
- [96] C. Günther, A. Mosandl, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 2112-2122; '3-Methyl-4-octanolid - „Quercuslacton, Whiskylacton“ - Struktur und Eigenschaften der Stereoisomeren'.
- [97] B. Fernández De Simón, E. Cadahía, M. Sanz, P. Poveda, S. Perez-Magariño, M. Ortega-Heras, C. González-Huerta, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 9046-9055; 'Volatile Compounds and Sensorial Characterization of Wines from Four Spanish Denominations of Origin, Aged in Spanish Rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) Oak Wood Barrels'.
- [98] M. E. Alañón, L. Castro-Vázquez, M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, *Food Chem.* **2012**, *130*, 875-881; 'Aromatic potential of *Castanea sativa* Mill. compared to *Quercus* species to be used in cooperage'.
- [99] A. Prida, J.-L. Puech, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 8115-8126; 'Influence of Geographical Origin and Botanical Species on the Content of Extractives in American, French, and East European Oak Woods'.
- [100] E. Guchu, M. C. Díaz-Maroto, I. J. Díaz-Maroto, P. Vila-Lameiro, M. S. Pérez-Coello, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3062-3066; 'Influence of the Species and Geographical Location on Volatile Composition of Spanish Oak Wood (*Quercus petraea* Liebl. and *Quercus robur* L.)'.
- [101] B. Fernández de Simón, E. Cadahía, T. Hernández, I. Estrella, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 198-203; 'Evolution of oak-related volatile compounds in a Spanish red wine during 2 years bottled, after aging in barrels made of Spanish, French and American oak wood'.
- [102] B. Fernández de Simon, E. Cadahía, M. del Álamo, I. Nevares, *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660*, 211-220; 'Effect of size, seasoning and toasting in the volatile compounds in toasted oak wood and in a red wine treated with them'.
- [103] Y. Hayasaka, K. L. Wilkinson, G. M. Elsey, M. Raunkjær, M. A. Sefton, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 9195-9201; 'Identification of Natural Oak Lactone Precursors in Extracts of American and French Oak Woods by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry'.
- [104] C. Harcken, R. Brückner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2750-2752; 'Synthesis of Optically Active Butenolides and γ -Lactones by the Sharpless Asymmetric Dihydroxylation of β,γ -unsaturated Carboxylic Esters'.
- [105] M. Ghosh, S. Bose, S. Ghosh, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5424-5426; 'A simple route to the syntheses of both enantiomers of *trans*-oak lactone and (+)-*cis*-oak lactone'.
- [106] A. Chattopadhyay, D. Goswami, B. Dhotare, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 3893-3896; 'Crotylation of (*R*)-2,3-*O*-cyclohexylidenglyceraldehyde: a simple synthesis of (+)-*trans*-oak lactone'.
- [107] A. Srikrishna, S. Nagaraju, G. V. R. Sharma, *Synth. Commun.* **1992**, *22*, 1127-1135; 'Sonochemical Acceleration of Conversion of 2-Alkoxytetrahydrofurans to γ -Butyrolactones Synthesis of (\pm)-Quercus Lactone-A'.

- [108] K. Suzuki, M. Shoji, E. Kobayashi, K. Inomata, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 2789-2792; 'Concise enantiodivergent synthesis of (+)- and (-)-*trans*-quercus lactones'.
- [109] F. Felluga, C. Forzato, F. Ghelfi, P. Nitti, G. Pitacco, U. M. Pagnoni, F. Roncaglia, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 527-536; 'Atom transfer radical cyclization (ATRC) applied to a chemoenzymatic synthesis of Quercus lactones'.
- [110] T. Chevtchouk, J. Ollivier, J. Salaün, *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 1011-1014; 'Optically active cyclobutanones and γ -butyrolactones from asymmetric alkylidenecyclopropanes'.
- [111] R. C. Brown, D. K. Taylor, G. M. Elsey, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 463-466; 'Utilization of a 1,2-Dioxine for the Synthesis of the Four Possible Stereoisomers of Oak Lactone'.
- [112] B. W. Greatrex, M. C. Kimber, D. K. Taylor, G. Fallon, E. R. T. Tiekink, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5307-5314; '1,2-Dioxines as Masked Cis γ -Hydroxy Enones and Their Versatility in the Synthesis of Highly Substituted γ -Lactones'.
- [113] F. Boratyński, M. Smuga, C. Wawrzeńczyk, *Food Chem.* **2013**, *141*, 419-427; 'Lactones 42. Stereoselective enzymatic/microbial synthesis of optically active isomers of whisky lactone'.
- [114] F. Boratyński, E. Szczepańska, A. Grudniewska, B. Skalny, T. Olejniczak, *Molecules* **2018**, *23*, 659-668; 'A Novel Approach for Microbial Synthesis of Enantiomerically Pure Whisky Lactones Based on Solid-State Fermentation'.
- [115] Y. Fukuyama, K. Matsumoto, Y. Tanoi, R. Yokoyama, H. Takahashi, H. Minami, H. Okazaki, Y. Mitsumoto, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7127-7135; 'Total syntheses of neuroprotective mastigophorenes A and B'.
- [116] N. M. Bhatia, P. A. Pathade, H. N. More, P. B. Choudhari, S. D. Jadhav, M. S. Bhatia, *J. Anal. Chem.* **2013**, *68*, 924-930; 'Synthesis and Characterization of Norverapamil and Quantification of Verapamil and Nor-Verapamil in Plasma'.
- [117] D. J. Maloney, J.-Z. Deng, S. R. Starck, Z. Gao, S. M. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4140-4141; '(+)-Myristinin A, a Naturally Occurring DNA Polymerase β Inhibitor and Potent DNA-Damaging Agent'.
- [118] A. Maiti, M. Cuendet, V. L. Croy, D. C. Endringer, J. M. Pezzuto, M. Cushman, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2799-2806; 'Synthesis and Biological Evaluation of (\pm)-Abyssinone II and Its Analogues as Aromatase Inhibitors for Chemoprevention of Breast Cancer'.
- [119] A. E. Nibbs, K. A. Scheidt, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 449-462; 'Asymmetric Methods for the Synthesis of Flavanones, Chromanones, and Azaflavanones'.
- [120] T. Korenaga, K. Hayashi, Y. Akaki, R. Maenishi, T. Sakai, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2022-2025; 'Highly Enantioselective and Efficient Synthesis of Flavanones Including Pinostrobin through the Rhodium-Catalyzed Asymmetric 1,4-Addition'.
- [121] J. C. Holder, A. N. Marziale, M. Gatti, B. Mao, B. M. Stoltz, *Chemistry* **2013**, *19*, 74-77; 'Palladium-catalyzed asymmetric conjugate addition of arylboronic acids to heterocyclic acceptors'.
- [122] J. Chen, J. Chen, F. Lang, X. Zhang, L. Cun, J. Zhu, J. Deng, J. Liao, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 843-846; 'tert-Butanesulfinylphosphines: Simple Chiral Ligands in Rhodium-Catalyzed Asymmetric Addition of Arylboronic Acids to Electron-Deficient Olefins'.
- [123] M. M. Biddle, M. Lin, K. A. Scheidt, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3830-3831; 'Catalytic Enantioselective Synthesis of Flavanones and Chromanones'.
- [124] L. Wang, X. Liu, Z. Dong, X. Fu, X. Feng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8670-8673; 'Asymmetric intramolecular oxa-Michael addition of activated α,β -unsaturated ketones catalyzed by a chiral N,N'-dioxide nickel(II) complex: highly enantioselective synthesis of flavanones'.

- [125] Y. Ma, J. Li, J. Ye, D. Liu, W. Zhang, *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 13571-13574; 'Synthesis of chiral chromanols via a RuPHOX-Ru catalyzed asymmetric hydrogenation of chromones'.
- [126] D. Zhao, B. Beiring, F. Glorius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 8454-8458; 'Ruthenium-NHC-catalyzed asymmetric hydrogenation of flavones and chromones: general access to enantiomerically enriched flavanones, flavanols, chromanones, and chromanols'.
- [127] X. Ren, C. Han, X. Feng, H. Du, *Synlett* **2017**, *28*, 2421-2424; 'A Borane-Catalyzed Metal-Free Hydrosilylation of Chromones and Flavones'.
- [128] 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'.
- [129] K. M. Bogle, D. J. Hirst, D. J. Dixon, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1252-1254; 'Total Synthesis of (\pm)-Powelline and (\pm)-Buphanidrine'.
- [130] 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'.
- [131] Z. Maeno, M. Yamamoto, T. Mitsudome, T. Mizugaki, K. Jitsukawa, *Catal. Sci. Technol.* **2018**, *8*, 5401-5405; 'Oxidative cross-coupling reaction of catechols with active methylene compounds in an aqueous medium using an AlPO₄-supported Ru catalyst'.
- [132] W. Li, F. Tan, X. Hao, G. Wang, Y. Tang, X. Liu, L. Lin, X. Feng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1608-1611; 'Catalytic asymmetric intramolecular homologation of ketones with alpha-diazoesters: synthesis of cyclic alpha-aryl/alkyl beta-ketoesters'.
- [133] J. Pietruszka, C. Wang, *Green Chem.* **2012**, *14*, 2402; 'Laccase-catalysed α -arylation of cyclic β -dicarbonyl compounds'.
- [134] R. Krug, D. Schröder, J. Gebauer, S. Suljić, Y. Morimoto, N. Fujieda, S. Itoh, J. Pietruszka, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *15*, 1789-1796; 'Tyrosinases in Organic Chemistry: A Versatile Tool for the α -Arylation of β -Dicarbonyl Compounds'.
- [135] P. A. Byrne, D. G. Gilheany, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6670-6696; 'The modern interpretation of the Wittig reaction mechanism'.
- [136] *Carotenoids, Vol. 2*, Birkhäuser Verlag, **1996**.
- [137] M. Edmonds, A. Abell, in *Modern Carbonyl Olefination* (Ed.: T. Takeda), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2004**, pp. 1-17.
- [138] B. E. Maryanoff, A. B. Reitz, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 863-927; 'The Wittig Olefination Reaction and Modifications Involving Phosphoryl-Stabilized Carbanions. Stereochemistry, Mechanism, and Selected Synthetic Aspects'.
- [139] E. Vedejs, G. P. Meier, K. A. J. Snoble, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2823-2831; 'Low-Temperature Characterization of the Intermediates in the Wittig Reaction'.
- [140] E. Vedejs, C. F. Marth, R. Ruggeri, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3940-3948; 'Substituent Effects and the Wittig Mechanism: The Case for Stereospecific Oxaphosphetane Decomposition'.
- [141] E. Vedejs, C. F. Marth, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3948-3958; 'Mechanism of the Wittig Reaction: The Role of Substituents at Phosphorus'.
- [142] E. Vedejs, C. F. Marth, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3905-3909; 'Mechanism of Wittig Reaction: Evidence against Betaine Intermediates'.
- [143] E. Vedejs, T. J. Fleck, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5861-5871; 'Kinetic (Not Equilibrium) Factors Are Dominant in Wittig Reactions of Conjugated Ylides'.
- [144] E. Vedejs, C. F. Marth, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *111*, 1520-1522; 'Oxaphosphetane Pseudorotation: Rates and Mechanistic Significance in the Wittig Reaction'.

- [145] J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, *Organic Chemistry*, 2nd ed., Oxford University Press, **2012**.
- [146] M. Schlosser, K. F. Christmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, *5*, 126; 'Trans-Selective Olefin Syntheses'.
- [147] J. Boutagy, R. Thomas, *Chem. Rev.* **1974**, *74*, 87-99; 'Olefin Synthesis with Organic Phosphonate Carbanions'.
- [148] A. K. Bhattacharya, G. Thyagarajan, *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 415-430; 'The Michaelis-Arbuzov Rearrangement'.
- [149] J. Seyden-Penne, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1988**, *2*, 238-242; 'Lithium coordination by Wittig-Horner reagents formed from β carbonyl substituted phosphonates and phosphine oxide: a review'.
- [150] J. Motoyoshiya, *Trends Org. Chem.* **1998**, *7*, 63-73; 'Recent development of Z-selective Horner-Wadsworth-Emmons reaction'.
- [151] W. C. Still, C. Gennari, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4405-4408; 'Direct synthesis of Z-unsaturated esters. A useful modification of the Horner-Emmons olefination.'
- [152] K. Ando, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4105-4108; 'Practical Synthesis of Z-Unsaturated Esters by Using a New Horner-Emmons Reagent, Ethyl Diphenylphosphonoacetate'.
- [153] E. D. Bergmann, D. Ginsburg, R. Pappo, in *Organic Reactions*, John Wiley and Sons, Inc., **2011**, pp. 179-555.
- [154] T. Tokoroyama, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010*, 2009-2016; 'Discovery of the Michael Reaction'.
- [155] S. C. Jha, N. N. Joshi, *ARKIVOC* **2002**, *7*, 167-196; 'Catalytic, enantioselective Michael addition reactions'.
- [156] C. Hui, F. Pu, J. Xu, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 4023-4036; 'Metal-Catalyzed Asymmetric Michael Addition in Natural Product Synthesis'.
- [157] S. Hanessian, V. Pham, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2975-2978; 'Catalytic Asymmetric Conjugate Addition of Nitroalkanes to Cycloalkenones'.
- [158] J. Christoffers, U. Röbler, T. Werner, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 701-705; 'Construction of Quaternary Stereocenters by Nickel-Catalysis of Asymmetric Michael Reactions'.
- [159] S. Carey, *Advanced Organic Chemistry B*, 4 ed., Kluwer Academics/Plenum Publishers, New York, **2001**.
- [160] C. Elschenbroich, *Organometalchemie*, 4 ed., **2003**.
- [161] J. A. Osborn, F. H. Jardine, J. F. Young, G. Wilkinson, *J. Chem. Soc. A* **1966**, 1711-1732; 'The Preparation and Properties of Tris(triphenylphosphine)halogenorhodium(I) and Some Reactions thereof including Catalytic Homogeneous Hydrogenation of Olefins and Acetylenes and their Derivatives'.
- [162] Y. Zhu, K. Burgess, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1623-1636; 'Filling Gaps in Asymmetric Hydrogenation Methods for Acyclic Stereocontrol: Application to Chirons for Polyketide-Derived Natural Products'.
- [163] J. J. Verendel, O. Pàmies, M. Diéguez, P. G. Andersson, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 2130-2169; 'Asymmetric Hydrogenation of Olefins Using Chiral Crabtree-Type Catalysts: Scope and Limitations'.
- [164] D. H. Woodmansee, A. Pfaltz, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 7912-7916; 'Asymmetric hydrogenation of alkenes lacking coordinating groups'.
- [165] J.-L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*; 'Lanthanides in Organic Chemistry. 1. Selective 1,2 Reductions of Conjugated Ketones'.
- [166] A. L. Gemal, J.-L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5454-5459; 'Lanthanoids in Organic Synthesis. 6. The Reduction of α -Enones by Sodium Borohydride in the Presence of Lanthanoid Chlorides: Synthetic and Mechanistic Aspects'.

- [167] E. J. Corey, R. K. Bakshi, S. Shibata, C.-P. Chen, V. K. Singh, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7925-7926; 'A Stable and Easily Prepared Catalyst for the Enantioselective Reduction of Ketones. Applications to Multistep Syntheses'.
- [168] E. J. Corey, S. Shibata, R. K. Bakshi, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2861-2863; 'An Efficient and Catalytically Enantioselective Route to (*S*)-(-)-Phenyloxirane'.
- [169] E. J. Corey, R. K. Bakshi, S. Shibata, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5551-5553; 'Highly Enantioselective Borane Reduction of Ketones Catalyzed by Chiral Oxazaborolidines. Mechanism and Synthetic Implications'.
- [170] E. J. Corey, C. J. Helal, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1986-2012; 'Reduction of Carbonyl Compounds with Chiral Oxazaborolidine Catalysts: A New Paradigm for Enantioselective Catalysis and a Powerful New Synthetic Method'.
- [171] T. T. Tidwell, *Synthesis* **1990**, 857-870; 'Oxidation of Alcohols by Activated Dimethyl Sulfoxide and Related Reactions: An Update'.
- [172] T. T. Tidwell, in *Organic Reactions*, pp. 297-572.
- [173] A. Speicher, V. Bomm, T. Eicher, *J. Prakt. Chem.* **1996**, *338*, 588-590; 'Dess-Martin-Periodinan (DMP)'.
- [174] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156; 'Readily Accessible 12-I-5 Oxidant for the Conversion of Primary and Secondary Alcohols to Aldehydes and Ketones'.
- [175] R. Stuermer, B. Hauer, M. Hall, K. Faber, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2007**, *11*, 203-213; 'Asymmetric bioreduction of activated C=C bonds using enoate reductases from the old yellow enzyme family'; (Current opinion in chemical biology).
- [176] P. A. Karplus, K. M. Fox, V. Massey, *FASEB J.* **1995**, *9*, 1518-1526; 'Flavoprotein Structure and Mechanism 8: Structure-function relations for old yellow enzymes'.
- [177] B. V. Adalbjörnsson, H. S. Toogood, A. Fryszkowska, C. R. Pudney, T. A. Jowitt, D. Leys, N. S. Scrutton, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 197-207; 'Biocatalysis with Thermostable Enzymes: Structure and Properties of a Thermophilic 'ene'-Reductase related to Old Yellow Enzyme'.
- [178] S. Reich, H. W. Hoeffken, B. Rosche, B. M. Nestl, B. Hauer, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 2400-2407; 'Crystal Structure Determination and Mutagenesis Analysis of the Ene Reductase NCR'.
- [179] G. Oberdorfer, G. Steinkellner, C. Stueckler, K. Faber, K. Gruber, *ChemCatChem* **2011**, *3*, 1562-1566; 'Stereopreferences of Old Yellow Enzymes: Structure Correlations and Sequence Patterns in Enoate Reductases'.
- [180] Y. Fu, K. Castiglione, D. Weuster-Botz, in *Industrial Biocatalysis* (Ed.: P. Grunwald), Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., **2015**, pp. 631-661.
- [181] C. K. Winkler, G. Tasnádi, D. Clay, M. Hall, K. Faber, *J. Biotechnol.* **2012**, *162*, 381-389; 'Asymmetric bioreduction of activated alkenes to industrially relevant optically active compounds'.
- [182] A. Müller, B. Hauer, B. Rosche, *Biotechnol. Bioeng.* **2007**, *98*, 22-29; 'Asymmetric Alkene Reduction by Yeast Old Yellow Enzymes and by a Novel *Zymomonas mobilis* Reductase'.
- [183] B. J. Brown, Z. Deng, P. A. Karplus, V. Massey, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 32753-32762; 'On the Active Site of Old Yellow Enzyme'.
- [184] M. Delgado, S. Görlich, J. E. Longbotham, N. S. Scrutton, S. Hay, V. Moliner, I. Tuñón, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 3190-3198; 'Convergence of Theory and Experiment on the Role of Preorganization, Quantum Tunneling, and Enzyme Motions into Flavoenzyme-Catalyzed Hydride Transfer'.
- [185] M. Hall, C. Stueckler, H. Ehammer, E. Pointner, G. Oberdorfer, K. Gruber, B. Hauer, R. Stuermer, W. Kroutil, P. Macheroux, K. Faber, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 411-

- 418; 'Asymmetric Bioreduction of C=C Bonds using Enoate Reductases OPR1, OPR3 and YqjM: Enzyme-Based Stereocontrol'.
- [186] T. B. Fitzpatrick, N. Amrhein, P. Macheroux, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 19891-19897; 'Characterization of YqjM, an Old Yellow Enzyme Homolog from *Bacillus subtilis* Involved in the Oxidative Stress Response'.
- [187] R. E. Williams, D. A. Rathbone, N. S. Scrutton, N. C. Bruce, *Appl. Environ. Microbiol.* **2004**, *70*, 3566-3574; 'Biotransformation of Explosives by the Old Yellow Enzyme Family of Flavoproteins'.
- [188] F. Schaller, C. Biesgen, C. Müssig, T. Altmann, E. W. Weiler, *Planta* **2000**, *210*, 979-984; '12-Oxophytodienoate reductase 3 (OPR3) is the isoenzyme involved in jasmonate biosynthesis'.
- [189] C. Breithaupt, R. Kurzbauer, F. Schaller, A. Stintzi, A. Schaller, R. Huber, P. Macheroux, T. Clausen, *J. Mol. Biol.* **2009**, *392*, 1266-1277; 'Structural Basis of Substrate Specificity of Plant 12-Oxophytodienoate Reductases'.
- [190] Z. Li, Z. Wang, G. Meng, H. Lu, Z. Huang, F. Chen, *Asian J. Org. Chem.* **2018**, *7*, 763-769; 'Identification of an Ene Reductase from Yeast *Kluyveromyces Marxianus* and Application in the Asymmetric Synthesis of (*R*)-Profen Esters'.
- [191] J. Waller, H. S. Toogood, V. Karuppiyah, N. J. W. Rattray, D. J. Mansell, D. Leys, J. M. Gardiner, A. Fryszkowska, S. T. Ahmed, R. Bandichhor, G. P. Reddy, N. S. Scrutton, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 4440-4448; 'Structural insights into the ene-reductase synthesis of profens'.
- [192] B. A. Sandoval, A. J. Meichan, T. K. Hyster, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 11313-11316; 'Enantioselective Hydrogen Atom Transfer: Discovery of Catalytic Promiscuity in Flavin-Dependent 'Ene'-Reductases'.
- [193] I. Janicki, P. Kiełbasiński, N. G. Turrini, K. Faber, M. Hall, *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359*, 4190-4196; 'Asymmetric Bioreduction of β -Activated Vinylphosphonate Derivatives Using Ene-Reductases'.
- [194] J. Pietruszka, M. Schölzel, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 751-756; 'Ene Reductase-Catalysed Synthesis of (*R*)-Profen Derivatives'.
- [195] E. Brenna, F. G. Gatti, A. Manfredi, D. Monti, F. Parmeggiani, *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 262-268; 'Enoate Reductase-Mediated Preparation of Methyl (*S*)-2-Bromobutanoate, a Useful Key Intermediate for the Synthesis of Chiral Active Pharmaceutical Ingredients'.
- [196] E. Rütthlein, T. Classen, L. Dobnikar, M. Schölzel, J. Pietruszka, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 1775-1786; 'Finding the Selectivity Switch - A Rational Approach towards Stereocomplementary Variants of the Ene Reductase YqjM'.
- [197] C. Stueckler, N. J. Mueller, C. K. Winkler, S. M. Glueck, K. Gruber, G. Steinkellner, K. Faber, *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 8472-8476; 'Bioreduction of α -methylcinnamaldehyde derivatives: chemo-enzymatic asymmetric synthesis of LilialTM and HelionalTM'.
- [198] G. A. Ascue Avalos, H. S. Toogood, S. Tait, H. Messiha, N. Scrutton, *ChemBioChem* **2019**, *20*; 'From bugs to bioplastics: Total (+)-dihydrocarvide biosynthesis by engineered *Escherichia coli*'.
- [199] C. Zhang, D. K. Schneiderman, T. Cai, Y.-S. Tai, K. Fox, K. Zhang, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2016**, *4*, 4396-4402; 'Optically Active β -Methyl- δ -Valerolactone: Biosynthesis and Polymerization'.
- [200] K. Heckenbichler, A. K. Schweiger, L. A. Brandner, A. Binter, M. Toplak, P. Macheroux, K. Gruber, R. Breinbauer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 7240-7244; 'Asymmetric Reductive Carbocyclization Using Engineered Ene Reductases'.

- [201] H. Gröger, W. Hummel, R. Metzner, *Compr. Chirality* **2012**, 7, 181-215; '7.10 Reduction: Asymmetric Biocatalytic Reduction of Ketones'.
- [202] W. Hummel, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* **1997**, 58, 145-184; 'New Alcohol Dehydrogenases for the Synthesis of Chiral Compounds'.
- [203] M. G. Rossmann, D. Moras, K. W. Olsen, *Nature* **1974**, 250, 194-199; 'Chemical and biological evolution of a nucleotide-binding protein'.
- [204] I. Hanukoglu, *Biochem. Mol. Biol. Educ.* **2015**, 43, 206-209; 'Proteopedia: Rossmann Fold: A Beta-Alpha-Beta Fold at Dinucleotide Binding Sites'.
- [205] C. Filling, K. D. Berndt, J. Benach, S. Knapp, T. Prozorovski, E. Nordling, R. Ladenstein, H. Jörnvall, U. Oppermann, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 25677-25684; 'Critical Residues for Structure and Catalysis in Short-chain Dehydrogenases/Reductases'.
- [206] R. Ladenstein, J. O. Winberg, J. Benach, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, 65, 3918-3935; 'Medium- and short-chain dehydrogenase/reductase gene and protein families : Structure-function relationships in short-chain alcohol dehydrogenases'.
- [207] N. H. Schlieben, K. Niefind, J. Müller, B. Riebel, W. Hummel, D. Schomburg, *J. Mol. Biol.* **2005**, 349, 801-813; 'Atomic Resolution Structures of R-Specific Alcohol Dehydrogenase from *Lactobacillus brevis* Provide the Structural Bases of its Substrate and Cosubstrate Specificity'.
- [208] D. S. Auld, T. Bergman, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, 65, 3961-3970; 'Medium- and short-chain dehydrogenase/reductase gene and protein families : The role of zinc for alcohol dehydrogenase structure and function'.
- [209] E. G. Brandt, M. Hellgren, T. Brinck, T. Bergman, O. Edholm, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11, 975-983; 'Molecular dynamics study of zinc binding to cysteines in a peptide mimic of the alcohol dehydrogenase structural zinc site'.
- [210] I. Tarle, D. W. Borhani, D. K. Wilson, F. A. Quijcho, J. M. Petrash, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 25687-25693; 'Probing the Active Site of Human Aldose Reductase'.
- [211] S. De Wildeman, N. Sereinig, in *Stereoselective Synthesis 2* (Ed.: G. A. Molander), Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, **2011**, pp. 133-208.
- [212] V. Prelog, *Pure Appl. Chem.* **1964**, 9, 119-130; 'Specification of the Stereospecificity of some Oxido-Reductases By Diamond Lattice Sections'.
- [213] D. Zhu, L. Hua, *Pure Appl. Chem.* **2010**, 82, 117-128; 'How carbonyl reductases control stereoselectivity: Approaching the goal of rational design'.
- [214] N. Itoh, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2014**, 98, 3889-3904; 'Use of the anti-Prelog stereospecific alcohol dehydrogenase from *Leifsonia* and *Pseudomonas* for producing chiral alcohols'.
- [215] H. Man, K. Kędziora, J. Kulig, A. Frank, I. Lavandera, V. Gotor-Fernández, D. Rother, S. Hart, J. P. Turkenburg, G. Grogan, *Top. Catal.* **2013**, 57, 356-365; 'Structures of Alcohol Dehydrogenases from *Ralstonia* and *Sphingobium* spp. Reveal the Molecular Basis for Their Recognition of 'Bulky-Bulky' Ketones'.
- [216] J. Kulig, A. Frese, W. Kroutil, M. Pohl, D. Rother, *Biotechnol. Bioeng.* **2013**, 110, 1838-1848; 'Biochemical Characterization of an Alcohol Dehydrogenase From *Ralstonia* sp.'.
- [217] J. Kulig, R. C. Simon, C. A. Rose, S. M. Husain, M. Häckh, S. Lüdeke, K. Zeitler, W. Kroutil, M. Pohl, D. Rother, *Catal. Sci. Technol.* **2012**, 2, 1580-1589; 'Stereoselective synthesis of bulky 1,2-diols with alcohol dehydrogenases'.
- [218] I. Lavandera, A. Kern, B. Ferreira-Silva, A. Glieder, S. de Wildeman, W. Kroutil, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 6003-6005; 'Stereoselective Bioreduction of Bulky-Bulky Ketones by a Novel ADH from *Ralstonia* sp.'.

- [219] I. Lavandera, G. Oberdorfer, J. Gross, S. de Wildeman, W. Kroutil, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 2539-2543; 'Stereocomplementary Asymmetric Reduction of Bulky–Bulky Ketones by Biocatalytic Hydrogen Transfer'.
- [220] A. Lerchner, A. Jarasch, W. Meining, A. Schiefner, A. Skerra, *Biotechnol. Bioeng.* **2013**, *110*, 2803-2814; 'Crystallographic analysis and structure-guided engineering of NADPH-dependent *Ralstonia* sp. alcohol dehydrogenase toward NADH cosubstrate specificity'.
- [221] A. C. Mot, R. Silaghi-Dumitrescu, *Biochemistry (Moscow)* **2012**, *77*, 1395-1407; 'Laccases: Complex Architectures for One-Electron Oxidations'.
- [222] S. Riva, *Trends Biotechnol.* **2006**, *24*, 219-226; 'Laccases: blue enzymes for green chemistry'.
- [223] S. Witayakran, A. J. Ragauskas, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1187-1209; 'Synthetic Applications of Laccase in Green Chemistry'.
- [224] E. I. Solomon, A. J. Augustine, J. Yoon, *Dalton Trans.* **2008**, 3921-3932; 'O₂ Reduction to H₂O by the multicopper oxidases'.
- [225] M. D. Cannatelli, A. J. Ragauskas, *Chem. Rec.* **2017**, *17*, 122-140; 'Two Decades of Laccases: Advancing Sustainability in the Chemical Industry'.
- [226] S. Roth, A. C. Spiess, *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2015**, *38*, 2285-2313; 'Laccases for biorefinery applications: a critical review on challenges and perspectives'.
- [227] A. I. Cañas, S. Camarero, *Biotechnol. Adv.* **2010**, *28*, 694-705; 'Laccases and their natural mediators: Biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes'.
- [228] L. F. Longe, J. Couvreur, M. Leriche Grandchamp, G. Garnier, F. Allais, K. Saito, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2018**, *6*, 10097-10107; 'Importance of Mediators for Lignin Degradation by Fungal Laccase'.
- [229] M. Gunne, V. B. Urlacher, *PLoS One* **2012**, *7*, e52360; 'Characterization of the Alkaline Laccase Ssl1 from *Streptomyces sviveus* with Unusual Properties Discovered by Genome Mining'.
- [230] M. Gunne, A. Höppner, P. L. Hagedoorn, V. B. Urlacher, *FEBS J.* **2014**, *281*, 4307-4318; 'Structural and redox properties of the small laccase Ssl1 from *Streptomyces sviveus*'.
- [231] T. Kudanga, G. S. Nyanhongo, G. M. Guebitz, S. Burton, *Enzyme Microb. Technol.* **2011**, *48*, 195-208; 'Potential applications of laccase-mediated coupling and grafting reactions: A review'.
- [232] S. H. Toushik, K. T. Lee, J. S. Lee, K. S. Kim, *J. Food Sci.* **2017**, *82*, 585-593; 'Functional Applications of Lignocellulolytic Enzymes in the Fruit and Vegetable Processing Industries'.
- [233] T. Senthivelan, J. Kanagaraj, R. C. Panda, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2016**, *21*, 19-38; 'Recent Trends in Fungal Laccase for Various Industrial Applications: An Eco-Friendly Approach - A Review'.
- [234] A. Mikolasch, T. H. J. Niedermeyer, M. Lalk, S. Witt, S. Seefeldt, E. Hammer, F. Schauer, M. Gesell, S. Hessel, W.-D. Jülich, U. Lindequist, *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *55*, 632-638; 'Novel Penicillins Synthesized by Biotransformation Using Laccase from *Trametes spec.*'.
- [235] I. O. Anyanwutak, R. J. Petroski, J. P. N. Rosazza, *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, *2*, 543-551; 'Oxidative Coupling of Mithramycin and Hydroquinone Catalyzed by Copper Oxidases and Benzoquinone. Implications for the Mechanism of Action of Aureolic Acid Antibiotics'.
- [236] V. Hahn, A. Mikolasch, K. Manda, D. Gördes, K. Thurow, F. Schauer, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2009**, *60*, 76-81; 'Derivatization of amino acids by fungal laccases: Comparison of enzymatic and chemical methods'.

- [237] K. Manda, E. Hammer, A. Mikolasch, D. Gordes, K. Thurow, F. Schauer, *Amino Acids* **2006**, *31*, 409-419; 'Laccase-induced derivatization of unprotected amino acid L-tryptophan by coupling with *p*-hydroquinone 2,5-dihydroxy-N-(2-hydroxyethyl)-benzamide'; (Amino acids).
- [238] J. Polak, A. Jarosz-Wilkolazka, *Process Biochem.* **2012**, *47*, 1295-1307; 'Fungal laccases as green catalysts for dye synthesis'.
- [239] S. Kara, J. H. Schrittwieser, F. Hollmann, in *Synthetic Methods for Biologically Active Molecules: Exploring the Potential of Bioreductions*, 1 ed. (Ed.: E. Brenna), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2014**, pp. 209-238.
- [240] R. Wichmann, D. Vasic-Racki, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* **2005**, *92*, 225-260; 'Cofactor Regeneration at the Lab Scale'.
- [241] K. Tauber, M. Hall, W. Kroutil, W. M. Fabian, K. Faber, S. M. Glueck, *Biotechnol. Bioeng.* **2011**, *108*, 1462-1467; 'A Highly Efficient ADH-Coupled NADH-Recycling System for the Asymmetric Bioreduction of Carbon-Carbon Double Bonds Using Enoate Reductases'.
- [242] V. Uppada, S. Bhaduri, S. B. Noronha, *Curr. Sci.* **2014**, *106*; 'Cofactor regeneration – an important aspect of biocatalysis'.
- [243] L. Lauterbach, O. Lenz, K. A. Vincent, *FEBS J.* **2013**, *280*, 3058-3068; 'H₂-driven cofactor regeneration with NAD(P)⁺-reducing hydrogenases'.
- [244] S. H. Lee, D. S. Choi, S. K. Kuk, C. B. Park, *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 8086-8116; 'Photobiokatalyse: Aktivierung von Redoxenzymen durch direkten oder indirekten Transfer photoinduzierter Elektronen'.
- [245] A. Taglieber, F. Schulz, F. Hollmann, M. Rusek, M. T. Reetz, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 565-572; 'Light-Driven Biocatalytic Oxidation and Reduction Reactions: Scope and Limitations'.
- [246] M. K. Peers, H. S. Toogood, D. J. Heyes, D. Mansell, B. J. Coe, N. S. Scrutton, *Catal. Sci. Technol.* **2016**, *6*, 169-177; 'Light-driven biocatalytic reduction of α,β -unsaturated compounds by ene reductases employing transition metal complexes as photosensitizers'.
- [247] K. Königer, Á. Gómez Baraibar, C. Mügge, C. E. Paul, F. Hollmann, M. M. Nowaczyk, R. Kourist, *Angew. Chem.* **2016**; 'Rekombinante Cyanobakterien für die asymmetrische Reduktion von C=C-Bindungen mithilfe biokatalytischer Wasseroxidation'.
- [248] T. Knaus, C. E. Paul, C. W. Levy, S. de Vries, F. G. Mutti, F. Hollmann, N. S. Scrutton, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 1033-1039; 'Better than Nature: Nicotinamide Biomimetics That Outperform Natural Coenzymes'.
- [249] S. A. Löw, I. M. Löw, M. J. Weissenborn, B. Hauer, *ChemCatChem* **2016**, *8*, 911-915; 'Enhanced Ene-Reductase Activity through Alteration of Artificial Nicotinamide Cofactor Substituents'.
- [250] C. E. Paul, I. W. C. E. Arends, F. Hollmann, *ACS Catal.* **2014**, *4*, 788-797; 'Is Simpler Better? Synthetic Nicotinamide Cofactor Analogues for Redox Chemistry'.
- [251] C. E. Paul, S. Gargiulo, D. J. Opperman, I. Lavandera, V. Gotor-Fernández, V. Gotor, A. Taglieber, I. W. C. E. Arends, F. Hollmann, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 180-183; 'Mimicking Nature: Synthetic Nicotinamide Cofactors for C=C Bioreduction Using Enoate Reductases'.
- [252] Y. Okamoto, V. Köhler, C. E. Paul, F. Hollmann, T. R. Ward, *ACS Catal.* **2016**, *6*, 3553-3557; 'Efficient *In Situ* Regeneration of NADH Mimics by an Artificial Metalloenzyme'.
- [253] C. E. Paul, F. Hollmann, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*, 4773-4778; 'A survey of synthetic nicotinamide cofactors in enzymatic processes'.

- [254] K. Sugamoto, Y.-i. Matsushita, T. Matsui, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 3989-3998; 'Direct hydroperoxygenation of conjugated olefins catalyzed by cobalt(II) porphyrin'.
- [255] I. Jouanin, V. Sreevani, E. Rathahao, F. Guéraud, A. Paris, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2008**, *51*, 87-92; 'Synthesis of the lipid peroxidation product 4-hydroxy-2(E)-nonenal with ^{13}C stable isotope incorporation'.
- [256] C. Barberot, A. Moniot, I. Allart-Simon, L. Malleret, T. Yegorova, M. Laronze-Cochard, A. Bentaher, M. Médebielle, J. P. Bouillon, E. Hénon, J. Sapi, F. Velard, S. Gérard, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *146*, 139-146; 'Synthesis and biological evaluation of pyridazinone derivatives as potential anti-inflammatory agents'.
- [257] F. C. Bargiggia, W. V. Murray, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9636-9639; 'Cross-Metathesis Assisted by Microwave Irradiation'.
- [258] J. H. Cho, K. Y. Jung, Y. Jung, M. H. Kim, H. Ko, C. S. Park, Y. C. Kim, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *70*, 811-830; 'Design and synthesis of potent and selective P2X₃ receptor antagonists derived from PPADS as potential pain modulators'.
- [259] F. Yin, A. Garifullina, F. Tanaka, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 6089-6092; 'Synthesis of pyrrolidine-3-carboxylic acid derivatives via asymmetric Michael addition reactions of carboxylate-substituted enones'.
- [260] N. G. Turrini, R. C. Cioc, D. J. H. van der Niet, E. Ruijter, R. V. A. Orru, M. Hall, K. Faber, *Green Chem.* **2017**, *19*, 511-518; 'Biocatalytic access to nonracemic γ -oxo esters via stereoselective reduction using ene-reductases'.
- [261] E. E. Aboujaoude, N. Collignon, *Synthesis* **1983**, 634-636; 'A Simple Synthesis of Dialkyl 1-Formylalkanephosphonates'.
- [262] F. Bargiggia, O. Piva, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1819-1827; 'Anionic versus photochemical diastereoselective deconjugation of diacetone D-glucose α,β -unsaturated esters'.
- [263] P. Chen, D. Wiesler, J. Chmelík, M. Novotny, *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, *9*, 970-979; 'Substituted 2-Hydroxy-1,2-dihydropyrrol-3-ones: Fluorescent Markers Pertaining to Oxidative Stress and Aging'.
- [264] S. Mawaziny, S. Makky, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* **2000**, *167*, 61-69; 'A Comparison of Wittig and Wittig Horner (Wadsworth Emmons) Reagents in Reactions with Some α -Dicarbonyl Compounds'.
- [265] J. Kang, J. W. Kim, Y. W. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.* **1994**, *15*, 306-310; 'Hydroacylation of Alkynes with Alkylpentacarbonylchromate Anions'.
- [266] E. Brenna, F. G. Gatti, D. Monti, F. Parmeggiani, A. Sacchetti, J. Valoti, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2015**, *114*, 77-85; 'Substrate-engineering approach to the stereoselective chemo-multienzymatic cascade synthesis of *Nicotiana tabacum* lactone'.
- [267] L. M. Grieco, G. A. Halliday, C. P. Junk, S. R. Lustig, W. J. Marshall, V. A. Petrov, *J. Fluorine Chem.* **2011**, *132*, 1198-1206; 'Reactions of 1,1,2,2-tetrafluoroethyl-*N,N*-dimethylamine with linear and cyclic 1,3-diketones'.
- [268] K. Narasaka, F.-C. Pai, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2233-2238; 'Stereoselective reduction of β -hydroxyketones to 1,3-diols Highly selective 1,3-asymmetric induction via boron chelates'.
- [269] T. B. Ayed, H. Amri, *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 3813-3819; 'A Convenient Synthesis of α -Functional Alkyl Vinyl Ketones'.
- [270] H. Koshimura, J. Saito, T. Okubo, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1973**, *46*, 632-634; 'Effects of Substituents on the Keto-Enol Equilibrium of Alkyl-substituted β -Diketones'.
- [271] K. Kitzing, T. B. Fitzpatrick, C. Wilken, J. Sawa, G. P. Bourenkov, P. Macheroux, T. Clausen, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 27904-27913; 'The 1.3 Å crystal structure of the flavoprotein YqjM reveals a novel class of Old Yellow Enzymes'.

- [272] C. Breithaupt, J. Strassner, U. Breitingner, R. Huber, P. Macheroux, A. Schaller, T. Clausen, *Structure* **2001**, *9*, 419-429; 'X-Ray Structure of 12-Oxophytodienoate Reductase 1 Provides Structural Insight into Substrate Binding and Specificity within the Family of OYE'.
- [273] C. Breithaupt, R. Kurzbauer, H. Lilie, A. Schaller, J. Strassner, R. Huber, P. Macheroux, T. Clausen, *PNAS* **2006**, *103*, 14337-14342; 'Crystal structure of 12-oxophytodienoate reductase 3 from tomato: Self-inhibition by dimerization'.
- [274] D. J. Opperman, L. A. Piater, E. van Heerden, *J. Bacteriol.* **2008**, *190*, 3076-3082; 'A novel chromate reductase from *Thermus scotoductus* SA-01 related to old yellow enzyme'; (*Journal of bacteriology*).
- [275] T. Classen, J. Pietruszka, S. M. Schuback, *ChemCatChem* **2013**, *5*, 711-713; 'Revisiting the Enantioselective Sequence Patterns in Enoate Reductases'.
- [276] C. Kumru, Masterarbeit thesis, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **2014**.
- [277] T. Classen, J. Pietruszka, *Bioorg. Med. Chem.* **2017**; 'Complex molecules, clever solutions – Enzymatic approaches towards natural product and active agent syntheses'.
- [278] E. Ricca, B. Brucher, J. H. Schrittwieser, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2239-2262; 'Multi-Enzymatic Cascade Reactions: Overview and Perspectives'.
- [279] M. Korpak, Dissertation thesis, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **2012**.
- [280] M. Korpak, J. Pietruszka, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 1420-1424; 'Chemoenzymatic One-Pot Synthesis of γ -Butyrolactones'.
- [281] T. Classen, M. Korpak, M. Schölzel, J. Pietruszka, *ACS Catal.* **2014**, *4*, 1321-1331; 'Stereoselective Enzyme Cascades: An Efficient Synthesis of Chiral γ -Butyrolactones'.
- [282] V. Fargeas, P. L. Ménez, I. Berque, J. Ardisson, A. Pancrazi, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 6613-6634; 'Studies in Cuprate Rearrangement and Stannylcupration: Application to the Stereo- and Enantiospecific Synthesis of a Stannylidene C10-C15 Fragment of Des-epoxy-rosaramycin'.
- [283] J. T. B. Ferreira, J. A. Marques, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 641-648; 'A Formal and Enantioselective Synthesis of (-)-Serricornin, the Sex Pheromone of the Cigarette Beetle (*Lasioderma serricornis* F.)'.
- [284] H.-J. Ha, Y.-G. Yim, *Synth. Commun.* **2000**, *30*, 581-586; 'Formal Synthesis of (-)-Serricornin'.
- [285] J.-M. Fang, B.-C. Hong, L.-F. Liao, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 855-861; 'Dichotomous Regiochemistry of Aldehyde and Ketone in the Reaction with Dithio-Substituted Crotyllithium'.
- [286] Y. Ueno, O. Moriya, K. Chino, M. Watanabe, M. Okawara, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1986**, 1351-1356; 'General Synthetic Route to γ -Butyrolactones via Stereoselective Radical Cyclization by Organotin Species'.
- [287] S. L. B. Wang, J. Su, W. D. Wulff, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10665-10666; 'C-H Insertions in the Reactions of Fischer Carbene Complexes with Ketene Acetals'.
- [288] J. Swatschek, L. Grothues, J. O. Bauer, C. Strohmam, M. Christmann, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 976-983; 'A Formal, One-Pot β -Chlorination of Primary Alcohols and Its Utilization in the Transformation of Terpene Feedstock and the Synthesis of a C₂-Symmetrical Terminal Bis-Epoxyde'.
- [289] H. Takahata, Y. Uchida, T. Momose, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5628-5633; 'Concise Syntheses of Natural γ -Butyrolactones, (+)-*trans*-Whisky Lactone, (+)-*trans*-Cognac Lactone, (-)-Methylenolactocin, (+)-Nephrosteranic Acid, and (+)-Roccellaric Acid Using Novel Chiral Butenolide Synthons'.
- [290] B. Mao, K. Geurts, M. Fañanas-Mastral, A. W. van Zijl, S. P. Fletcher, A. J. Minnaard, B. L. Feringa, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 948-951; 'Catalytic Enantioselective Synthesis of

- Naturally Occurring Butenolides via *Hetero-Allylic* Alkylation and Ring Closing Metathesis'.
- [291] C. Hackmann, H. J. Schäfer, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 4559-4574; 'New Methods for Reductive Free-Radical Cyclizations of α -Bromoacetals to 2-Alkoxytetrahydrofurans with Activated Chromium(II)-Acetate'.
- [292] R. M. Ortuño, R. Merce, J. Font, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4497-4506; 'Reactions of some D-Ribonolactone Derivatives With Alkyl Cuprates Synthesis of (+)-Eldanolide and (+)-trans-Cognac Lactone'.
- [293] D. A. Devalankar, P. V. Chouthaiwale, A. Sudalai, *Tetrahedron: Asymmetry* **2012**, *23*, 240-244; 'Organocatalytic sequential α -aminooxylation and *cis*-Wittig olefination of aldehydes: synthesis of enantiopure γ -butenolides'.
- [294] C. W. Jefford, A. W. Sledeski, J. Boukouvala, *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 1362-1370; '152. Synthesis of *cis* and *trans* Whisky and Cognac Lactones by the Regiocontrolled Alkylation of 2-(Trimethylsiloxy)furan'.
- [295] Y. Wu, X. Shen, C.-J. Tang, Z.-L. Chen, Q. Hu, W. Shi, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3802-3810; 'Synthesis of Natural Fragrant Molecules *cis*-3-Methyl-4-decanolide and Aerangis Lactone. General Enantioselective Routes to β,γ -*cis*-Disubstituted γ -Lactones and γ,δ -*cis*-Disubstituted δ -Lactones'.
- [296] Y. Masuzawa, S. Tamogami, T. Kitahara, *Nat. Prod. Lett.* **1999**, *13*, 239-246; 'Synthesis of both enantiomers of *cis*-3-methyl-4-decanolide, a key component for the scent of african orchids'.
- [297] A. J. Pratt, E. J. Thomas, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1989**, 1521-1527; 'Stereoselective Thermal Reactions between (*E*)-1-Alkoxyethoxybut-2-enyl-(tributyl)stannanes and Aldehydes'.
- [298] Y. Yamamoto, Y. Chounan, S. Nishii, T. Ibuka, H. Kitahara, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7652-7660; 'Diastereoselectivity of the Conjugate Addition of Organocopper Reagents to γ -Alkoxy α,β -Unsaturated Carbonyl Derivatives. Importance of the Reagent Type and the Double-Bond Geometry'.
- [299] A. T. Boebel, Y. Lu, K. G. Meyer, C. Yao, J. F. Daeuble, K. Bravo-Altamirano, B. M. Nugent, 2016, Macrocyclic Picolinamides as Fungicides, DOW Agrosiences LLC, WO 2016/007529 A1.
- [300] H.-U. Reissig, H. Angert, T. Kunz, A. Janowitz, G. Handke, E. Bruce-Adjei, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6280-6285; 'Ester Groups as Effective Ligands in Chelate-Controlled Additions of Cuprates and Grignard Reagents to Chiral β -Formyl Esters'.
- [301] P. J. Fagan, C. J. Brandenburg, 2006, *cis*-3,5-Disubstituted-dihydro-furan-2-ones and the Preparation and Use Thereof, US, E. I. Dupont de Nemours and Company, US 2006/0030719 A1.
- [302] V. Maslak, R. Matović, R. N. Saičić, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8957-8966; 'Reaction of silyl ketene acetals with epoxides: a new method for the synthesis of γ -butanolides'.
- [303] S. Majeti, *J. Org. Chem.* **1978**, *87*, 2914-2916; ' γ -Butyrolactones from the Irradiation of Unsaturated Esters in Alcohols'.
- [304] G. Bergström, A.-B. Wassgren, O. Anderbrant, J. Fägerhag, H. Edlund, E. Hedenström, H.-E. Högberg, C. Geri, M. A. Auger, M. Varama, B. S. Hansson, J. Löfqvist, *Experientia* **1995**, *51*, 370-380; 'Sex pheromone of the pine sawfly *Diprion pini* (Hymenoptera: Diprionidae): chemical identification, synthesis and biological activity'.
- [305] E. I. Troyanskii, I. V. Svitan'ko, G. I. Nikishin, *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci.* **1985**, *34*, 125-130; 'Stereochemistry of the Oxidative Lactonization of 2- And 3-Methylpentanoic Acids in the Sodium Peroxydisulfate-Metal Chloride System'.

- [306] M. P. Sibi, T. R. Rheault, S. V. Chandramouli, C. P. Jasperse, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2924-2930; 'Acyclic Diastereoselection in Prochiral Radical Addition to Prochiral Olefins'.
- [307] S. Byström, H.-E. Högberg, T. Norin, *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2249-2254; 'Chiral Synthesis of (2*S*,3*S*,7*S*)-3,7-Dimethylpentadecan-2-yl acetate and Propionate, Potential Sex Pheromone Components of the Pine Saw-Fly *Neodiprion sertifer* (Geoff.)'.
- [308] S. Brrrada, S. Desert, P. Metznpjz, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 3575-3586; 'Auto-protonation diastereoselective d'enolates issus de l'addition-1,4 d'enethiolates avec des enones'.
- [309] T. Kunz, A. Janowitz, H.-U. Reißig, *Chem. Ber.* **1989**, *122*, 2165-2175; 'A Chelate-Controlled Route to Disubstituted and Tetrasubstituted γ -Lactones Stereoselectivity in Lewis Acid Promoted Additions to Chiral Methyl β -Formylcarboxylates'.
- [310] H. Frauenrath, T. Philipps, *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 1951-1961; 'Diastereoselektive Synthese von *cis*- oder *trans*-2,3-substituierten Tetrahydrofuranen und 3,4-substituierten 4-Butanoliden'.
- [311] K. N. Prokhorevich, O. G. Kulinkovich, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 2976-2980; 'The synthesis of the insect pheromone (2*S*,3*R*,7*R*)-3,7-dimethyltridec-2-yl acetate from racemic 3,4-dimethyl- γ -butyrolactone by diastereoselective chiral resolution'.
- [312] E. Brown, C. Deroye, J. Touet, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 1605-1614; 'Synthesis of versatile chiral intermediates by enantioselective conjugate addition of alkenyl Grignard reagents to enamides deriving from (*R*)-(-)- or (*S*)-(+)-2-aminobutan-1-ol'.
- [313] C. Nájera, M. Yus, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 289-300; '34. C-Metallierte chirale Alkoxide als d²- und d³-Reagenzien für die Synthese enantiomerenreiner Produkte (EPC-Synthese)'.
- [314] J. Rojo, M. García, J. C. Carretero, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 9787-9800; 'Stereoselective Synthesis of Substituted γ -Butyrolactones from γ -Hydroxy- α,β -unsaturated Phenyl Sulfones'.
- [315] R. Tannert, L.-G. Milroy, B. Ellinger, T.-S. Hu, H.-D. Arndt, H. Waldmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3063-3077; 'Synthesis and Structure-Activity Correlation of Natural-Product Inspired Cyclodepsipeptides Stabilizing F-Actin'.
- [316] S. G. Davies, R. Polywka, P. Warner, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 4847-4856; 'Asymmetric Synthesis of 2,4-Disubstituted Butyrolactones Using the Iron Chiral Auxiliary [(η^5 -C₅H₅)Fe(CO)(PPh₃)]'.
- [317] F. Felluga, V. Gombac, M. Pavan, G. Pitacco, E. Valentin, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 69-76; 'A chemoenzymatic synthesis of optically active aza analogues of Quercus lactones'.
- [318] J. L. Nallasivam, R. A. Fernandes, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 708-716; 'A protecting-group-free synthesis of (+)-nephrosteranic, (+)-protolichesterinic, (+)-nephrosterinic, (+)-phaseolinic, (+)-rocellaric acids and (+)-methylenolactocin'.
- [319] G. Fráter, U. Müller, W. Günther, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1269-1277; 'The Stereoselective α -Alkylation of Chiral β -Hydroxy Esters and some Applications Thereof'.
- [320] G. Fráter, *Helv. Chim. Acta* **1979**, *62*, 641-643; '66 .Thermische Umlagerung von 2-Oxa-bicyclo [3.3.1]-non-7-en-3-on; eine neuartige Lactonumlagerun'.
- [321] D. J. Bougioukou, S. Kille, A. Taglieber, M. T. Reetz, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 3287-3305; 'Directed Evolution of an Enantioselective Enoate-Reductase: Testing the Utility of Iterative Saturation Mutagenesis'.
- [322] A. B. Smith III, S. J. Branca, M. A. Guaciaro, P. M. Wovkulich, A. Korn, *Org. Synth.* **1983**, *61*, 65; '2-Hydroxymethyl-2-Cyclopentenone'.

- [323] R. Herges, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 57-59; 'Neues über die elektrophile Addition von Halogenen an Olefine'.
- [324] I. Roberts, G. E. Kimball, *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59*, 947-948; 'The Halogenation of Ethylenes'.
- [325] M.-F. Ruasse, *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 87-93; 'Bromonium Ions or β -Bromocarocations in Olefin Bromination. A Kinetic Approach to Product Selectivities'.
- [326] Y. C. Won, H. Y. Kwon, B. Y. Lee, Y.-W. Park, *J. Organomet. Chem.* **2003**, *677*, 133-139; 'Fulvene having substituents only on 1-, 4-, and 6-positions: a key intermediate for novel *ansa*-metallocene complexes'.
- [327] A. Richter, C. Hedberg, H. Waldmann, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 6694-6702; 'Enantioselective Synthesis of the C₁₀-C₂₀ Fragment of Fusicoccin A'.
- [328] Y. T. Liu, J. Q. Chen, L. P. Li, X. Y. Shao, J. H. Xie, Q. L. Zhou, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 3231-3234; 'Asymmetric Hydrogenation of Tetrasubstituted Cyclic Enones to Chiral Cycloalkanols with Three Contiguous Stereocenters'.
- [329] H. A. Staab, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1962**, *1*, 351-367; 'New Methods of Preparative Organic Chemistry IV. Syntheses Using Heterocyclic Amides (Azolides)'.
- [330] A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557-6602; 'Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup'.
- [331] J. N. Marx, L. R. Norman, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1602-1606; 'Synthesis of (-)-Acorone and Related Spirocyclic Sesquiterpenes'.
- [332] P. A. Peixoto, A. Boulangé, S. Leleu, X. Franck, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 3316-3327; 'Versatile Synthesis of Acylfuranones by Reaction of Acylketenes with α -Hydroxy Ketones: Application to the One-Step Multicomponent Synthesis of Cadiolide B and Its Analogues'.
- [333] K. Nomura, T. Iida, K. Hori, E. Yoshii, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 488-490; 'Synthesis of γ -Unsubstituted α -Acyl- β -tetronic Acids from Aldehydes'.
- [334] K. Dodo, K. Hayamizu, T. Shimizu, M. Sodeoka, *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 886-898; 'Structure-Activity Relationship Study of 3-Amino-2-indolylactam Derivatives: Development of Inhibitors of Oxidative Stress-Induced Necrosis'.
- [335] F. Bonadies, A. Cardilli, A. Lattanzi, S. Pesci, A. Scettri, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2839-2840; 'An Easy Approach to Butenolides by Horner-Wadsworth-Emmons Olefination of α -Hydroxy Ketones'.
- [336] B. Corbel, I. L'Hostis-Kervella, J.-P. Haelters, *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 2561-2568; 'On a safe and practical method for the preparation of β -keto phosphonates'.
- [337] D. Guijarro, O. Pablo, M. Yus, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 3647-3654; 'Synthesis of γ -, δ -, and ε -lactams by asymmetric transfer hydrogenation of *N*-(*tert*-Butylsulfonyl)iminoesters'.
- [338] J. Legros, B. Figadère, in *Grignard Reagents : Reactivity with Transition Metals* (Ed.: J. Cossy), De Gruyter, **2016**.
- [339] M. Jegelka, B. Plietker, *Top. Organomet. Chem.* **2011**, *33*, 177-213; 'Catalysis by Means of Complex Ferrates'.
- [340] A. Fürstner, R. n. Martin, H. Krause, G. Seidel, R. Goddard, C. W. Lehmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8773-8787; 'Preparation, Structure, and Reactivity of Nonstabilized Organoiron Compounds. Implications for Iron-Catalyzed Cross Coupling Reactions'.
- [341] A. Fürstner, A. Leitner, M. Méndez, H. Krause, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13856-13863; 'Iron-Catalyzed Cross-Coupling Reactions'.

- [342] K. Maruyama, T. Katagiri, *J. Phys. Org. Chem.* **1989**, *2*, 205-213; 'Mechanism of the Grignard Reaction'.
- [343] R. B. Bedford, M. Betham, D. W. Bruce, A. A. Danopoulos, R. M. Frost, M. Hird, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1104-1110; 'Iron-Phosphine, -Phosphite, -Arsine, and -Carbene Catalysts for the Coupling of Primary and Secondary Alkyl Halides with Aryl Grignard Reagents'.
- [344] H. J. Berthold, H. J. Spiegl, *Z. Anorg. Allg. Chemie* **1972**, *391*, 193-324; 'Über die Bildung von Lithiumtetrachloroferrat(II) Li_2FeCl_4 , bei der Umsetzung von Eisen(III)-chlorid mit Lithiummethyl (1:1) in ätherischer Lösung'.
- [345] S. M. Neumann, J. K. Kochi, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 599-606; 'Synthesis of Olefins. Cross Coupling of Alkenyl Halides and Grignard Reagents Catalyzed by Iron Complexes'.
- [346] R. S. Smith, J. K. Kochi, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 502-509; 'Mechanistic Studies of Iron Catalysis in the Cross Coupling of Alkenyl Halides and Grignard Reagents'.
- [347] A. El-Batta, C. Jiang, W. Zhao, R. Anness, A. L. Cooksy, M. Bergdahl, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5244-5259; 'Wittig Reactions in Water Media Employing Stabilized Ylides with Aldehydes. Synthesis of α,β -Unsaturated Esters from Mixing Aldehydes, α -Bromoesters, and Ph_3P in Aqueous NaHCO_3 '.
- [348] Y. Al Jasem, R. El-Esawi, T. Thiemann, *J. Chem. Res.* **2014**, *38*, 453-463; 'Wittig- and Horner-Wadsworth-Emmons-olefination reactions with stabilised and semi-stabilised phosphoranes and phosphonates under non-classical conditions'.
- [349] J. Villieras, M. Rambaud, *Synthesis* **1983**, *4*, 300-303; 'Wittig-Horner Reactions in Heterogeneous Media; 2¹. A Convenient Synthesis of α,β -Unsaturated Esters and Ketones using Weak Bases in Water'.
- [350] J. Dambacher, W. Zhao, A. El-Batta, R. Anness, C. Jiang, M. Bergdahl, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4473-4477; 'Water is an efficient medium for Wittig reactions employing stabilized ylides and aldehydes'.
- [351] M. Krauß, W. Hummel, H. Gröger, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 5175-5179; 'Enantioselective One-Pot Two-Step Synthesis of Hydrophobic Allylic Alcohols in Aqueous Medium through the Combination of a Wittig Reaction and an Enzymatic Ketone Reduction'.
- [352] M. Krauß, T. Winkler, N. Richter, S. Dommer, A. Fingerhut, W. Hummel, H. Gröger, *ChemCatChem* **2011**, *3*, 293-296; 'Combination of C=C Bond Formation by Wittig Reaction and Enzymatic C=C Bond Reduction in a One-Pot Process in Water'.
- [353] J. Das, S. Ghosh, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 7189-7194; 'A new synthesis of flavones and pyranoflavone by *intramolecular photochemical Wittig reaction* in water'.
- [354] P. Maag, Bachelorarbeit thesis, Fachhochschule Aachen **2017**.
- [355] H. Junga, S. Blechert, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 3731-3732; 'A New Approach to Hydroazulenes via Olefin Metathesis'.
- [356] P. Coutrot, A. Ghribi, *Synthesis* **1986**, 661-664; 'A Facile and General, One-pot Synthesis of 2-Oxoalkane Phosphonates from Diethylphosphonocarboxylic Acid Chlorides and Organometallic Reagents'.
- [357] E. E. Aboujaoude, N. Collignon, M.-P. Teulade, P. Savignac, *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* **2006**, *25*, 57-61; 'Preparation quasi quantitative de phosphonates β -carbonyles par l'emploi d'une base relais, le dipal $[(i\text{-C}_3\text{H}_7)_2\text{NLi}]$ '.
- [358] M. Sakakibara, Y. Yamamoto, M. Matsui, *Agric. Biol. Chem.* **1978**, *42*, 1507-1509; 'Synthesis of *dl*-7-Methyldemethylvariotin'.
- [359] S. M. Ruder, V. R. Kulkarni, *Synthesis* **1993**, 945-947; 'Phase Transfer Catalyzed Alkylation of 2-(Diethoxyphosphinyl)cyclohexanone'.

- [360] J. Mo Gil, K. Young Park, J. Hwan Hah, D. Young Oh, *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 3601-3607; 'A New and Facile Synthetic Route to 1-Alkyl-2-Oxopropylphosphonates: 1-Alkylation with Subsequent Ozonolysis of 2-Methyl Allylic Phosphonates'.
- [361] M. R. Douglass, C. L. Stern, T. J. Marks, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10221-10238; 'Intramolecular Hydrophosphination/Cyclization of Phosphinoalkenes and Phosphinoalkynes Catalyzed by Organolanthanides: Scope, Selectivity, and Mechanism'.
- [362] G. A. Olah, L. Ohannesian, M. Arvanagi, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3856-3857; 'Synthetic Methods and Reactions. 119. *N*-Formylmorpholine: A New and Effective Formylating Agent for the Preparation of Aldehydes and Dialkyl (1-Formylalkyl)phosphonates from Grignard or Organolithium Reagents'.
- [363] G. H. Posner, J.-C. Carry, R. D. Crouch, N. Johnson, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6987-6993; 'One-Flask, Consecutive [3,3] and [2,3] Sigmatropic Rearrangements for Conversions of Propargylic Alcohols into Two-Carbon-Extended 4-Oxo-2-alkenoate Esters. Use of a New 1-Chloro-1-ethoxy-2-sulfinylethylene '.
- [364] M. E. Abbasov, B. M. Hudson, D. J. Tantillo, D. Romo, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 4492-4495; 'Acylammonium Salts as Dienophiles in Diels-Alder/Lactonization Organocascades'.
- [365] H. S. Chang, J. C. Woo, K. M. Lee, Y. K. Ko, S.-S. Moon, D.-W. Kim, *Synth. Commun.* **2002**, *32*, 31-35; 'Facile synthesis of α -ketocarbonyl compounds from α -hydroxycarbonyl compounds'.
- [366] P. Hong, T. Mise, H. Yamazaki, *J. Organomet. Chem.* **1991**, *412*, 291-300; 'Rhodium carbonyl-catalyzed carbonylation of unsaturated compounds V. Cross-hydrocarbonylation of 1-alkyne and ethylene by rhodium carbonyl catalyst modified with phosphines'.
- [367] S. Ma, Z. Shi, Z. Yu, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 12137-12148; 'Synthesis of β -Halobutenolides and Their Pd(0)-Catalyzed Cross-Coupling Reactions with Terminal Alkynes and Organozinc Reagents. A General Route to β -Substituted Butenolides and Formal Synthesis of *cis*-Whisky Lacton'.
- [368] T. Morikawa, T. Nishiwaki, Y. Iitaka, Y. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *3*, 971-674; 'Radical Cyclization to Fluorinated Double Bonds: 5-Exo Ring Closure of Bromoacetals Derived from Fluoroallyl Alcohols'.
- [369] C. P. Amonkar, S. G. Tilve, P. S. Parameswaran, *Synthesis* **2005**, *14*, 2341-2344; 'Convenient Synthesis of Volatile *Streptomyces* Lactones'.
- [370] N. N. Gerber, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *6*, 771-774; 'Volatile Lactones From *Streptomyces*'.
- [371] N. W. A. Geraghty, P. McArdle, L. M. A. Mullen, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 3546-3552; 'Cyclopropanespiro- β -lactones derived from 4-[(*Z*)-ethylidene]-3-methyloxetan-2-one: diastereoselective formation and rearrangement reactions'.
- [372] H. Ahlbrecht, H.-M. Kompter, *Synthesis* **1983**, 645-647; '1,4-Dicarbonyl-Verbindungen durch Michael-Addition deprotonierter Aminonitrile an α,β -ungesättigte Carbonyl-Verbindungen'.
- [373] H.-S. Dang, B. P. Roberts, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 67-75; 'Radical-chain addition of aldehydes to alkenes catalysed by thiols'.
- [374] V. Chudasama, R. J. Fitzmaurice, S. Caddick, *Nat. Chem.* **2010**, *2*, 592-596; 'Hydroacylation of α,β -unsaturated esters via aerobic C-H activation'.
- [375] S. O. Lawesson, J. O. Madsen, G. Schroll, J. H. Bowie, R. Grigg, D. H. Williams, *Acta Chem. Scand.* **1966**, *20*, 1129-1138; 'Studies in Mass Spectroscopy. Part XI. Mass Spectra of 1,4-Dicarbonyl Compounds'.

- [376] M. B. Jones, M. J. Blaser, T. Wood, D. Ren, 2008, *B. Anthracis* Prevention and Treatment: Mutant *B. Anthracis* Lacking Luxs Activity and Furanone Inhibition of Growth, AI-2 Quorum Sensing, and Toxin Production, US, New York University, US 7,365,184 B2.
- [377] B. Hasdemir, H. Ç. Onar, A. Yusufoglu, *Tetrahedron: Asymmetry* **2012**, *23*, 1100-1105; 'Asymmetric synthesis of long chain β -hydroxy fatty acid methyl esters as new elastase inhibitors'.
- [378] R. M. Burk, T. S. Gac, 2015, Therapeutic Cyclopentanols, Compositions thereof, and methods for use thereof, US, US2015/0119454 A1.
- [379] S. L. B. Wang, J. Su, W. D. Wulff, K. Hoogsteen, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10665-10666; 'Carbon-hydrogen insertions in the reactions of Fischer carbene complexes with ketene acetals'.
- [380] I. Kawenoki, D. Maurel, J. Kossanyi, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1982**, *11-12*, 385-390; 'Photochemie en solution. XXIV. Mécanisme de l'addition des aldéhydes aux doubles liaisons éthylénique activée par des groupements attracteurs d'électrons'.
- [381] M. Larchevêque, G. Tamagnan, Y. Petit, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 31-33; 'Diastereoselective Synthesis of Enantiomerically Pure *syn*- or *anti*- β -Alkyl γ -Alkoxyesters by Addition of Organometallic Compounds to α -Alkoxy Isopropylidene Alkylidenemalonates'.
- [382] M. P. Sibi, J. W. Dankwardt, V. Snieckus, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 273-275; 'Phase-Transfer-Catalyzed Conversion of Alkynes to Lactones Induced by Manganese Carbonyl Complexes'.
- [383] P. J. Fagan, C. J. Brandenburg, 2005, *cis*-3,5-Dsubstituted-dihydro-furan-2-ones and the Preparation and Use Thereof, E. I. Dupont de Nemours and Company, WO 2005/014565 A2.
- [384] D. G. Batt, 2010, Chromene Modulators of Chemokine Receptor Activity, WO 2010/009069 A1.
- [385] C. G. M. Janssen, L. H. J. G. Simons, E. F. Godefroi, *Synthesis* **1982**, 389-391; '3-Methyl-2-cyclopentenone Derived Synthons'.
- [386] D. H. Hua, S. Venkataraman, R. Chan-Yu-King, J. V. Paukstelis, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4741-4748; 'Enantioselective Total Synthesis of (+)-12,13-Epoxytrichothec-9-ene and Its Antipode'.
- [387] S. Cacchi, G. Fabrizi, L. Moro, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5327-5332; 'Synthesis of 2,5-Disubstituted Furans via Palladium-Catalyzed Annulation of Alkyl 3-Oxo-6-heptynoates'.
- [388] C.-L. Deng, R.-J. Song, S.-M. Guo, Z.-Q. Wang, J.-H. Li, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5111-5114; 'Copper/Silver-Cocatalyzed Conia-Ene Reaction of Linear β -Alkynic β -Ketoesters'.
- [389] J. M. Eagan, M. Hori, J. Wu, K. S. Kanyiva, S. A. Snyder, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 7842-7846; 'Synthesis and Applications of Hajos-Parrish Ketone Isomers'.
- [390] X. Han, X. Wang, T. Pei, R. A. Widenhofer, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 6333-6342; 'Palladium-Catalyzed Intramolecular Hydroalkylation of Alkenyl- β -Keto Esters, α -Aryl Ketones, and Alkyl Ketones in the Presence of Me_3SiCl or HCl '.
- [391] Y. Xu, M. C. Young, G. Dong, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 5716-5719; 'Catalytic Coupling between Unactivated Aliphatic C-H Bonds and Alkynes via a Metal-Hydride Pathway'.
- [392] G. E. Veitch, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7332-7335; 'Tertiary Aminourea-Catalyzed Enantioselective Iodolactonization'.
- [393] H. H. Lu, M. D. Martinez, R. A. Shenvi, *Nat. Chem.* **2015**, *7*, 604-607; 'An eight-step gram-scale synthesis of (-)-jiadifenolide'.

- [394] S. T. Saengchantara, T. W. Wallace, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 3029-3036; 'Conjugate Addition of Cuprate Reagents to Chromones: A Route to 2-substituted Chroman-4-ones'.
- [395] T. W. Wallace, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4299-4302; 'Conjugate Addition to Chromones: Synthesis of Substituted 4-Chromanones'.
- [396] M. Ciolkowski, M. Malecka, R. Modranka, E. Budzisz, *J. Mol. Struct.* **2009**, *937*, 139-145; 'Synthesis, structural and conformational study of chromane derivatives'.
- [397] R. A. Bunce, C. R. Harris, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6981-6985; 'Six-Membered Cyclic β -Keto Esters by Tandem Conjugate Addition-Dieckmann Condensation Reactions'.
- [398] G. Lukas, J. C. N. Ma, J. A. McCloskey, R. E. Wolff, *Tetrahedron* **1964**, *20*, 1789-1801; 'The Constitution of Two New Sesquiterpenic Ketones Furopelargones A and B'.
- [399] P. Weyerstahl, J. Brendel, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 669-678; 'Synthesis and Olfactive Properties of (-) and *rac*-Silphiperfol-5-en-3-ol and of Some Tris-nor Derivatives'.
- [400] K. Sakurai, T. Kitahara, K. Mori, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 161-174; 'Stereocontrolled Synthesis of (-)-Prezizanol, (-)-Prezizaene, their Epimers and (-)-Allokhusiol'.
- [401] C. Kong, T. G. Driver, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 802-805; 'Rh₂(II)-Catalyzed Ester Migration to Afford 3*H*-Indoles from Trisubstituted Styryl Azides'.
- [402] J.-H. Li, Q.-M. Zhu, Y. Liang, D. Yang, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5347-5349; 'Efficient and Reusable PdCl₂(MeCN)₂/CuCl₂/PEG-400 System for Cyclization of Alkenyl β -Keto Esters and Amides'.
- [403] X. Yu, F. Su, C. Liu, H. Yuan, S. Zhao, Z. Zhou, T. Quan, T. Luo, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 6261-6270; 'Enantioselective Total Syntheses of Various Amphilectane and Serrulatane Diterpenoids via Cope Rearrangements'.
- [404] H. Brunner, K. Wutz, M. Doyle, *Monatshefte für Chemie* **1990**, *121*, 755-764; 'Asymmetrische Katalysen, 58. Mitt.: Enantioselektive S-H- und C-H-Insertionen mit optisch aktiven Ru(II)- und Cu(II)-Katalysatoren'.
- [405] J. P. Barnier, A. Loupy, P. Pigeon, M. Ramdanib, P. Jacquault, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 397-398; 'Synthesis of 2-Alkylcyclohexanones Using Solvent-free Conditions and Microwave Technology'.

Danksagung

Nun habe ich meine Dissertation verfasst und möchte mich an dieser Stelle bei einigen bedanken. An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. *Jörg Pietruszka* bedanken. Vielen Dank, dass Du mir die Möglichkeit zur Promotion gegeben hast und ich auch mal die gut riechende Seite der Chemie kennenlernen durfte. Das Schnüffeln an Reagenzgläsern wird mir sicherlich fehlen. Danke auch, dass Du immer eine offene Tür und ein offenes Ohr für uns alle hast und dir die Zeit nimmst, um unsere Probleme zu lösen und uns zu unterstützen.

An zweiter Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr. *Constantin Czekelius* für die Übernahme des Zweitgutachtens bedanken.

Dr. *Thomas Classen*, Dr. *Andreas S. Klein*, *Marvin Mantel* und *Patrick Ullrich* möchte ich für das Korrekturlesen meiner Dissertation bedanken. Danke Tom, dass Du mir deine Hilfe angeboten hast, mir konstruktiven Feedback gegeben hast und ich zu jeder Zeit nach deinem Rat fragen durfte. Danke Andreas für deine zahlreichen Tipps und Tricks, die mir das Verfassen dieser Arbeit erleichtert haben und ich einige mir unbekannte Funktionen lernen konnte.

Auch bei den anderen Institutsmitgliedern möchte ich mich bedanken. Hierbei gilt mein besonderer Dank an *Birgit Henßen*, *Monika Gehsing*, *Vera Ophoven*, *Rainer Goldbaum*, *Beatrix Paschold*, *Erik Kranz*, Dr. *Martina Holz* und Dr. *Sonja Meyer zu Berstenholz*, die viele essentielle Aufgaben im Institut übernehmen. Vielen Dank für Euer Engagement und Hilfe; ohne Euch wäre das Arbeiten nicht möglich.

Als nächstes möchte ich mich bei den Mitgliedern des Labors 304 bedanken. Dr. *Anja Weber* danke ich für die gute Zusammenarbeit in einem Abzug am Anfang der Promotion und für die gute Laborleitung. *Vera Ophoven* danke ich ebenfalls für die gute Zusammenarbeit in einem Abzug und dafür, dass Du ab und zu mir beim Labordienst geholfen hast und ich nach deiner Hilfe fragen konnte, falls mal was im Labor nicht funktionierte. Ich danke auch *Fabian Hogenkamp* für die gute Zusammenarbeit in einem Laborgang und dass ich doch das Licht im Gang anschalten durfte. *Patrick Ullrich* danke ich für die Übernahme der Laborleitung und die netten Unterhaltungen. Bei *Patrick Marx* bedanke ich mich für das Organisieren der Spieleabende und damit der unterhaltsamen und schönen Zeit außerhalb der Arbeit. Bei Dr. *Roxanne Krug*, *Dennis Schröder* und *Bastian Mechsner* bedanke ich mich ebenfalls für die großartige Zeit im Labor.

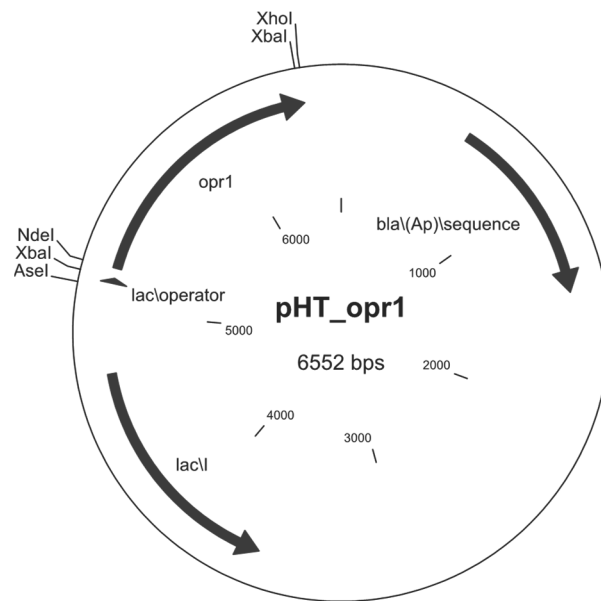
Vielen Dank auch an *Julian Greb*, *Benedikt Baumer*, *Marvin Mantel*, *Laura Öhler*, *Jan Gebauer*, *Hannah Braß*, *Marc Hayes*, *David Dickmann*, *Julia Bramski*, sowie einigen ehemaligen und neuen Mitarbeitern für das gute Miteinander im IBOC und die netten, unterhaltsamen Zeiten in der Küche.

Ebenfalls möchte ich mich auch bei meinen Schülern und Studenten *Sergej Balanda*, *Patrick Maag*, *Lisa Seibt*, *Frederike Book*, *Julia Lackner* und *Yasin Kaul* für die tatkräftige Unterstützung im Labor bedanken.

Zum Schluss möchte ich mich bei meiner Familie *Nefsar*, *Yusuf* und *Sinem Kumru* bedanken, die hinter der Kulisse mich stets unterstützt haben.

Vielen Dank!

8.1.2 Opr1

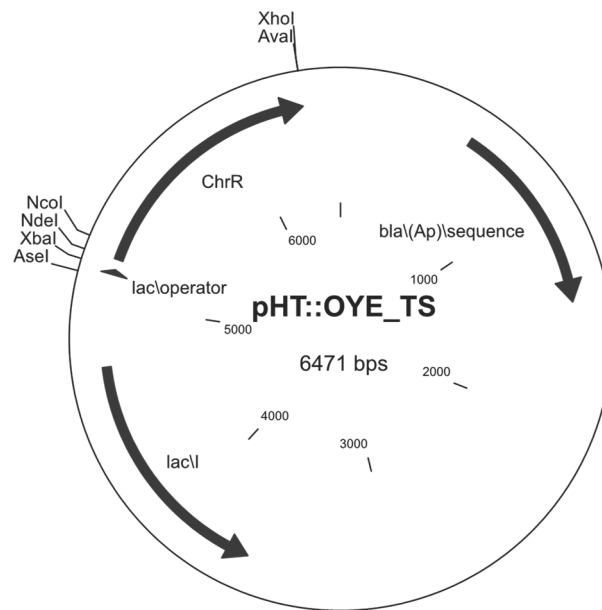


```

5101 ctgatcccg cgaaattaat acgactcact ataggggaat tgtgagcggg taacaattcc
5161 cctctagaaa taattttggt taactttaag aaggagatat acatatgcac caccatcatc
5221 accatgccat gactgaaaat ctgtattttc agggcgccat ggaaaataaa gtcgttgaag
5281 agaaacaagt agacaagatc cctctaata gaaccttgtaa aatgggaaag tttgagttat
5341 gtcacgcgct tgtattggca ccattaacac gccaacgctc ttatgggttat attcctcaac
5401 cacatgctat acttcattac tcacaacgca gtacaaatgg tggccttcta ataggagag
5461 ccacagtaat atctgagact ggcatagggt acaaagatgt acctgggtata tggacaaaag
5521 agcaagtgga ggcttggaag ccaattgtag atgcagttca tgctaaagga ggaatcttct
5581 tttgccaaat ttggcatggt ggctgcggtt ccaacaaaga ttttcagccc aatggagag
5641 atcctatctc ctgcacagac cgcggactaa cacctcaaat tcggtccaat ggcatagata
5701 ttgcacactt tacacgacct cgccgggtga caacagatga aattcctcaa attgttaacg
5761 aatttcgagt tgctgctcgc aacgcaattg aagctggatt tgatgggggt gagatccacg
5821 gagctcatgg ctatctaatt gatcagttta tgaaagatca agttaacgat cgaagtgata
5881 aatatggagg gtcttttagag aatcgttgtc gctttgcact tgaaatagtg gaagcagttg
5941 caaatgagat tggatctgac cgagttggta tacgcatatc ccattttgcg cattataatg
6001 aagcagggga cacgaaccgc actgctttgg gactttacat ggtggaatcg ttgaacaagt
6061 atgatctcgc gtattgcat gtgggttgagc ctgcgatgaa aacagcttgg gaaaaaattg
6121 aatgtactga aagccttgta ccgatgcgca aggcataata aggtactttt atagtagctg
6181 gtggttacga tcgcgaagat ggaaaccgcg ctttgattga agatcgagct gatcttggtg
6241 cgtatggacg tttattcata tctaaccag atttaccaa gcgatttgag ctaaagtctc
6301 ctcttaaaa gtataaccgc gacacatctt atacttctga tccaattggt ggctatactg
6361 attatccatt tctagaaacc atgacatgac tcgagcacca ccaccaccac cactgagatc
6421 cggctgctaa caaagcccga aaggaagctg agttggctgc tgccaccgct gagcaataac
6481 tagcataacc cttgggggcc tctaaacggg tcttgagggg ttttttgctg aaaggaggaa
6541 ctatatccgg at

```

8.1.3 TsER

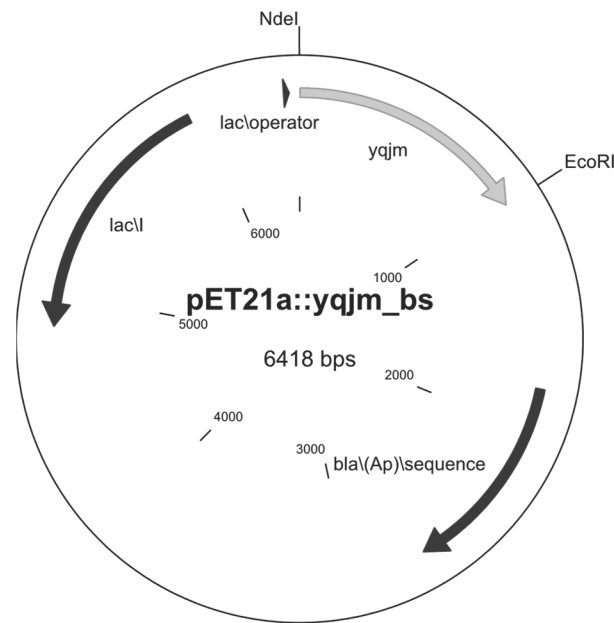


```

5101 ctcgatcccg cgaattaat acgactcact ataggggaat tgtgagcgga taacaattcc
5161 cctctagaaa taattttggt taactttaag aaggagatat acatatgcac caccatcatc
5221 accatgccat gactgaaaat ctgtattttc agggcgccat ggccttgctc ttcaccccc
5281 tggaaactcg cggcctccg ctaaaaaacc gcttgccat gtcacccatg tgccagtact
5341 ccgccacctt ggagggagag gtaaccgact ggcacctcct cactacccc acgcgggccc
5401 ttgggggctt ggggctcatt ctggtggag ccaccgccgt ggaacctttg ggcgtatca
5461 gccctatga cctgggcatc tggctggag atcaccttcc gggcctgaag gagctgccc
5521 ggagaatccg ggaagctgga gcggtgccg gaatccagct ggcccacgcc gggcgcaagg
5581 cggggaccgc caggccctg gaaggggaa agcccctgg ctggcggtg gtggggcaa
5641 gcccattcc ctttgacgag ggctaccgc taccgaacc cctggacgaa gcagggatg
5701 agcgcacctt ccaggcctt gtggaaggag ccagacgtg ccttagggca ggctttcagg
5761 tgategagct ccacatggc catggtacc tccttctc cttcctctcc ccctttcca
5821 accagcgcac cgacgcctac gggggaagc tggaaaacc catgcgctt ccctccagg
5881 tggcccaggc agtgcgggag gtggtgcca gggagcttcc cttttctgtg cgggtctccg
5941 ccacggactg gggggaagga gatggagcc ttgaggacac cctggcctt gcccgaggc
6001 ttaaggagct gggggtggac cttttggact gctcctcgg cggggtggtg ctcagggtg
6061 ggattcccct ggcgcgggc tttcagggt ccttcgccga gcctgtgct aagaggggtg
6121 gcttgccaac gggagccgtg ggctcatca ccccccca gcaggcggaa accctctgc
6181 aggcgggaag cgccgatctg gtgcttctg gccgggttct cctcaggac cctacttcc
6241 ccttacgggc tgccaaggcc ttgggctg cccggaggt accccccag taccaaagg
6301 ggttttagct cgagcaccac caccaccac actgagatcc ggctgctaac aaagcccga
6361 aggaagctga gttggctgct gccaccgct agcaataact agcataacc cttggggcct
6421 ctaaacgggt cttgaggggt tttttgctga aaggaggaac tatatccgga t

```

8.1.4 YqjM-Mutanten



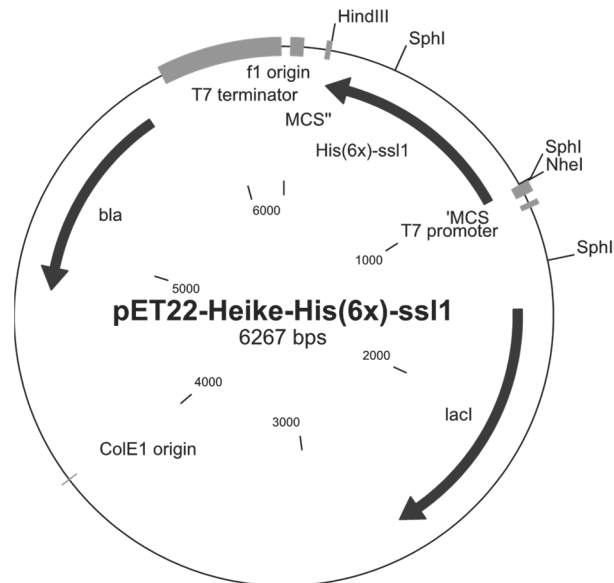
Die mutierten Positionen C26, A60, I69 und A104 wurden fett markiert und unterstrichen.

```

6301 gtagaggatc gagatctcga tcccgcgaaa ttaatacgac tcaactatagg ggaattgtga
6361 gcgataaca attcccctct agaataaatt ttgtttaact ttaagaagga gatataca
  1  tatggccaga aaattattta cacctattac aattaaagat atgacgtaa aaaaccgcat
  61  tgtcatgtcg ccaatgtgca tgtattcttc tcatgaaaag gacggaaaat taacaccggt
121  ccacatggca cattacatat cgcgcgcaat cggccaggtc ggactgatta ttgtagagggc
181  gtcagcggtt aaccctcaag gacgaatcac tgaccaagac ttaggcattt ggagcgcagca
241  gcatattgaa ggctttgcaa aactgactga gcagggtcaaa gaacaagggtt caaaaatcgg
301  cattcagctt gcccatgccc gacgtaaagc tgagcttgaa ggagatatct tcgctccatc
361  ggcgattgcg tttgacgaac aatcagcaac acctgtagaa atgtcagcag aaaagtaaa
421  agaaacggtc caggagtcca agcaagcggc tgcccgcgca aaagaagccg gctttgatgt
481  gattgaaatt catgcggcgc acggatattt aattcatgaa tttttgtctc cgctttccaa
541  ccatcgaaca gatgaatatg gcggctcacc tgaaaaccgc tatcgtttct tgagagagat
601  cattgatgaa gtcaaacaag tatgggacgg tcctttattt gtccgtgtat ctgcttctga
661  ctacactgat aaaggcttag acattgccga tcacatcggg tttgcaaaat ggatgaagga
721  gcaggggtgtt gacttaattg actgcagctc aggcgcctt gttcacgcag acattaacgt
781  attccctggc tatcaggcca gcttcgctga gaaaatccgt gaacaggcgg acatggctac
841  tgggtgccgc ggcatgatta cagacggttc aatggctgaa gaaattctgc aaaacggcgc
901  tgccgacctc atctttatcg gcagagagct tttgcgggat ccattttttg caagaactgc
961  tgcgaaacag ctcaatacag agattccggc cctgttcaa tacgaaagag gctggtaaga
1021 attcgagctc cgtegacaag cttgcggccg cactcgagca ccaccaccac caccactgag
1081 atccggctgc taacaaagcc cgaaaggaag ctgagttggc tgctgccacc gctgagcaat
1141 aactagcata accccttggg gcctctaaac gggctcttgag gggttttttg ctgaaaggag

```


8.1.6 Ssl1

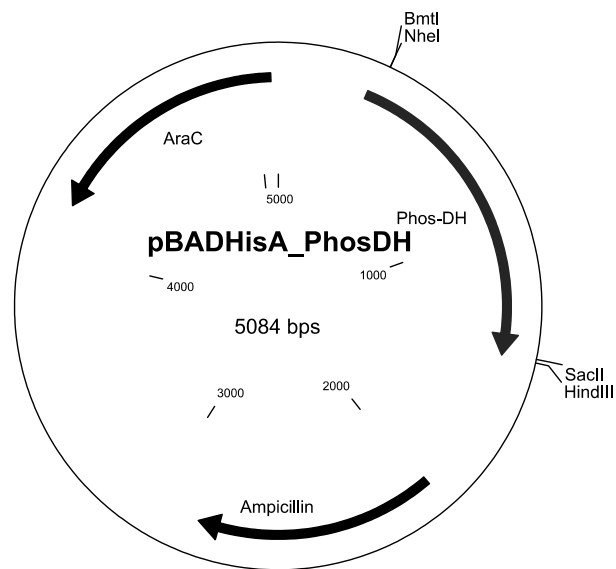


```

121 tgttagcagc cggatctcag tgggtggtgt ggtggtgctc gagtgcggcc gcaagctttc
181 agtgggtggtg ttccggcccgc tgcccgtgtg gctcgtgcgg ctcgtacccc gggatcgtcc
241 cgtccgtctt cttcaccagg aacaggccca ccatcccat gtcggagtggt ctctgcacat
301 ggcagtggtg catccacgcg cccgccccga ccccctccc cgcgatcacc tgggaagccga
361 aggagtccgc cgggcccacg atcttgttgt cgaagacctg gctcgggtcg tcgggccccg
421 tgagcatgcc cgtgcggttg tccgcccagc ggtgaccgtg catatggaag gtgtggtagt
481 actcgcctg cgtgatcatc acgaactcga cccgatcgcc cacggtggcc tcgaagtgtg
541 gccccgagtg cgcggcctg ttgttgatga gcatgtcgtt gaagacgatc gtgtgcgtcg
601 cgtccggcag gacatcgccc ttgcggcgga cgatcaccgg gccgtagagg cccttgcgga
661 taccgcccgt gccgtgttcc gtgccgacga cgtggtcgtg gtagtgccag tagcccgcgc
721 tgcccggccg ccaggtgccc tcgctccggc ggcccggcgc gtgggtgcmc caggtgtagg
781 tgccgggtgcc gcccggtcgc acgtcactct tgttcaacgt cgtgccgtcg ctggagactt
841 cgtagtccag gccgtggacg tgcaggctcg cccggacgtc catggtgttc tcgaactcga
901 tgtgcagggt gtcgccctcg ttgagctcga tgagcgggcc ggggatcgtc gccctgccct
961 tctccaggcc gtagcccatc tgcccgtcgg cgagcctctc ggcgtacagc ttgatgcgcc
1021 tgacctgcc gcccggggca tgatgatgat gatgatgat gctagctata tctccttctt

```

8.1.7 PhosDH

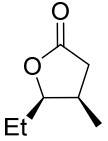
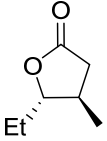
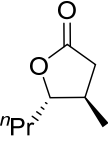
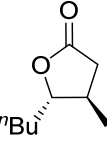
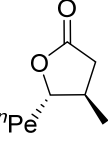
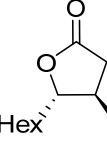
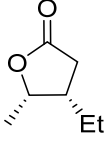
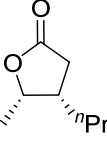
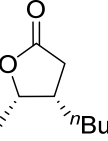
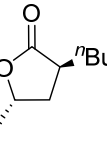
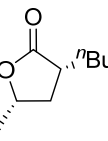
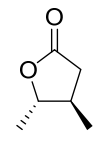
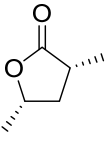
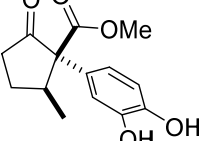
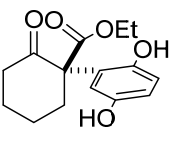
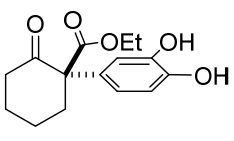
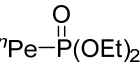
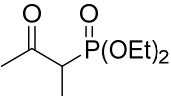
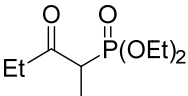
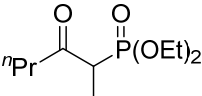


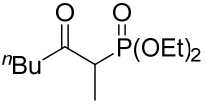
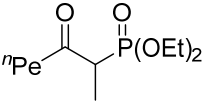
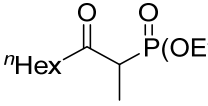
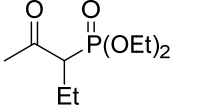
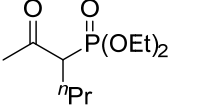
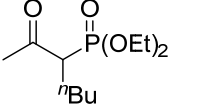
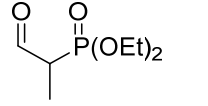
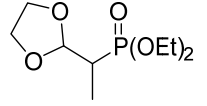
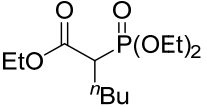
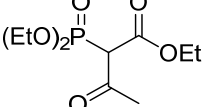
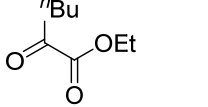
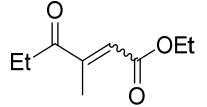
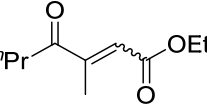
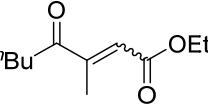
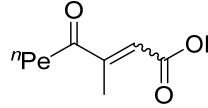
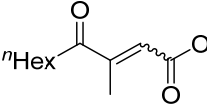
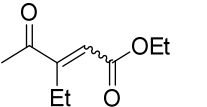
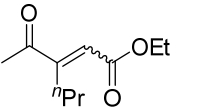
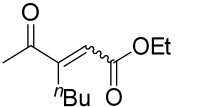
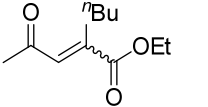
```

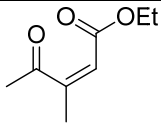
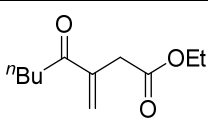
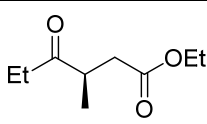
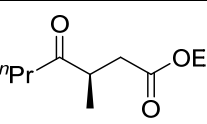
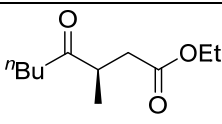
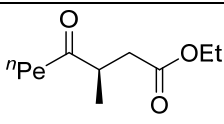
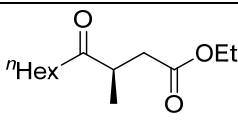
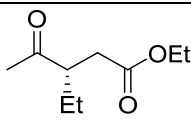
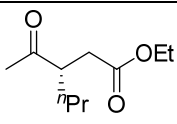
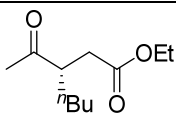
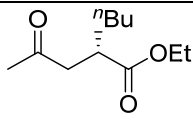
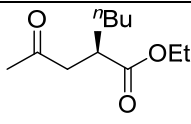
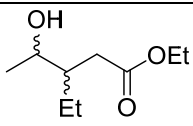
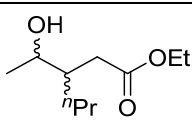
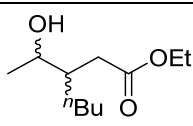
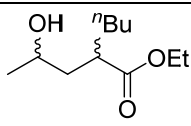
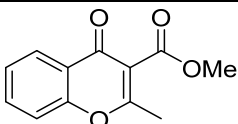
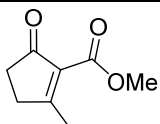
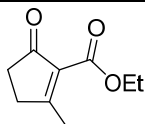
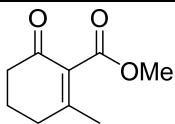
301 taacaggagg aattaaccat ggggggttct catcatcatc atcatcatgg tatggctagc
361 atgactggtg gacagcaaat gggtcgggat ctgtacgacg atgacgataa ggatcgaatg
421 ggatccgagc tcgagatgct gccgaaactc gttataactc accgagtaca cgaagagatc
481 ctgcaactgc tggcgccaca ttgcgagctg ataaccaacc agaccgacag cacgctgacg
541 cgcgaggaaa ttctgcgccg ctgtcgcgat gctcaggcga tgatggcggt catgcccgat
601 cgggtcgaat cagactttct tcaagcctgc cctgagctgc gtgtaatcgg ctgctgctgc
661 aagggcttcg acaatttcga tgtggacgcc tgtactgctc ggggggtctg gctgaccttc
721 gtgcctgatc tgttgacggt cccgactgcc gagctggcga tcggactggc ggtggggctg
781 gggcggcata tcggggcagc agatgcgctt gtccgctctg gcaagttcaa gggctggcaa
841 ccacatttct acggcacggg gctggataac tctacggtcg gcttccttgg catgggagcc
901 atcggactgg ccatggctga tcgcttgagc ggatggggcg cgaccctgca gtaccacgag
961 aggaaggctc tggatacaca aaccgagcaa cggctcggcc tgcgccaggt ggcgtgcagc
1021 gaactcttcg ccagctcaga cttcatcctg ctggcgcttc ccttgaatgc cgataccctg
1081 catctggtca acgcccagct gcttgccctc gtacggccgg gcgctctgct tgtaaaccac
1141 tgtcgtggct cggtagtgga tgaagccgcc gtgctcgcgg cgcttgagcg aggccagctc
1201 ggcgggatag cggcggatgt attcgaaatg gaagactggg ctgcgcgaga ccggccgctg
1261 tgcacatgat ctgctgctgt cgcgcatccg aatacgtgtt tcaactccga catagggctg
1321 gcagtgcgag cgggtgcgct ggagattgaa cgttgtgcag cgcagaacat cctccaggca
1381 ttggcaggat agcgcaccaat caacgctgtg aaccgtctgc ccaaggccaa tcctgcccgcg
1441 gactgaaagc ttggctgttt tggcggatga gagaagattt tcagcctgat acagattaaa

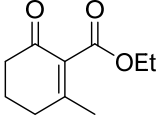
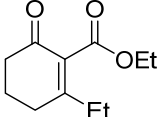
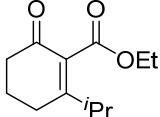
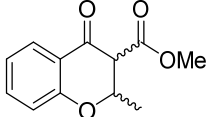
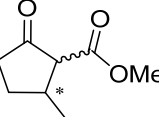
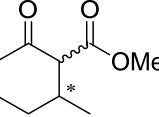
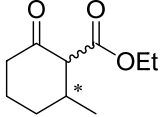
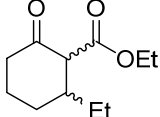
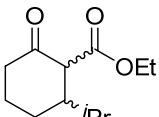
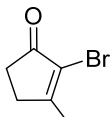
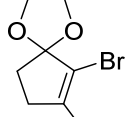
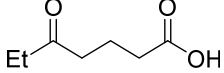
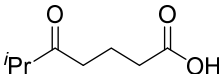
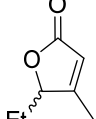
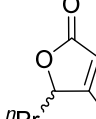
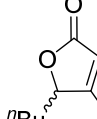
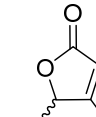
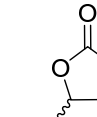
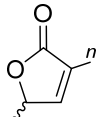
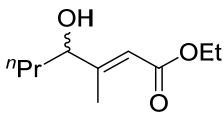
```

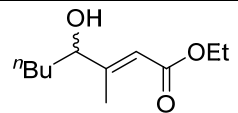
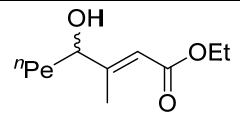
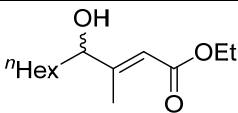
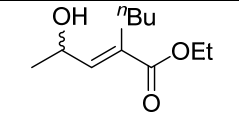
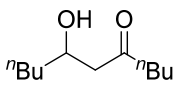
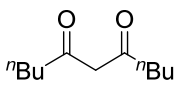
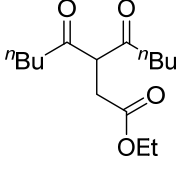
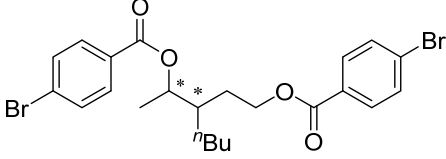
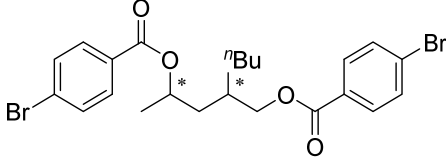
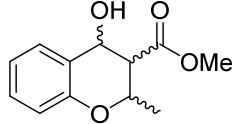
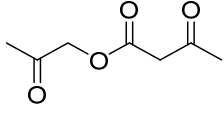
Formelregister

 <p>(3R,4R)-1a C₇H₁₂O₂ [128.17]</p> <p>CK150</p>	 <p>(3R,4S)-1a C₇H₁₂O₂ [128.17]</p> <p>CK149</p>	 <p>(3R,4S)-1b C₈H₁₄O₂ [142.20]</p> <p>CK094 CK094 F3</p>	 <p>(3R,4S)-1c C₉H₁₆O₂ [156.23]</p> <p>CK040 CK040 F1</p>
 <p>(3R,4S)-1d C₁₀H₁₈O₂ [170.25]</p> <p>CK146 CK146 F5_F1 CK146 F5_F3</p>	 <p>(3R,4S)-1e C₁₁H₂₀O₂ [184.28]</p> <p>CK104 CK104 F1_2</p>	 <p>(3S,4S)-1f C₇H₁₂O₂ [128.17]</p> <p>CK305 CK305 F2</p>	 <p>(3S,4S)-1g C₈H₁₄O₂ [142.20]</p> <p>CK301 CK301 F1</p>
 <p>(3S,4S)-1h C₉H₁₆O₂ [156.23]</p> <p>CK241 CK241 F2</p>	 <p>(2S,4S)-1i C₉H₁₆O₂ [156.23]</p> <p>CK316 CK316 F2_F2</p>	 <p>(2R,4S)-1i C₉H₁₆O₂ [156.23]</p> <p>CK278 CK278 F6_F1</p>	 <p>(3R,4S)-1j C₆H₁₀O₂ [114.14]</p> <p>CK309 CK310 F2</p>
 <p>(2R,4S)-1k C₆H₁₀O₂ [114.14]</p> <p>CK310 CK309 F2</p>	 <p>2a C₁₄H₁₆O₅ [264.28]</p> <p>CK_Chrom 043 CK_Chrom 043 F1</p>	 <p>2e C₁₅H₁₈O₅ [278.30]</p> <p>CK_Chrom 100 CK_Chrom 100 F3</p>	 <p>2f C₁₅H₁₈O₅ [278.30]</p> <p>CK_Chrom 099 CK_Chrom 099 F1</p>
 <p>4d C₉H₂₁O₃P [208.24]</p> <p>CK134</p>	 <p>5a C₈H₁₇O₄P [208.19]</p> <p>CK130 CK126</p>	 <p>5b C₉H₁₉O₄P [222.22]</p> <p>CK042 C2-Phosphonat F9</p>	 <p>5c C₁₀H₂₁O₄P [236.25]</p> <p>CK039 CK034 F7</p>

 <p>5d C₁₁H₂₃O₄P [250.27] CK006 Saele 1.1 41-45</p>	 <p>5e C₁₂H₂₅O₄P [264.30] CK046 CK046 F3</p>	 <p>5f C₁₃H₂₇O₄P [278.32] CK051 CK053 F9</p>	 <p>5g C₉H₁₉O₄P [222.22] CK168 CK055 F2</p>
 <p>5h C₁₀H₂₁O₄P [236.25] CK169 CK056 F2</p>	 <p>5i C₁₁H₂₃O₄P [250.27] CK211 Julia MeC4 F1</p>	 <p>5j C₇H₁₅O₄P [194.17] CK114 CK114 F4</p>	 <p>5k C₉H₁₉O₅P [238.22] CK121 CK115</p>
 <p>5m C₁₂H₂₅O₅P [280.30] CK209 CK132 F1</p>	 <p>5o C₁₀H₁₉O₆P [266.23] CK_Chrom 031</p>	 <p>6a C₈H₁₄O₃ [158.20] CK119 CK122</p>	 <p>7a C₉H₁₄O₃ [170.21] CK043 CK043_2 F1 C2 HI</p>
 <p>7b C₁₀H₁₆O₃ [184.24] CK035 C3 MI C3 HWE HI</p>	 <p>7c C₁₁H₁₈O₃ [198.26] CK012 CK8 F1 C4-HWE_2 F1</p>	 <p>7d C₁₂H₂₀O₃ [212.29] CK048 CK050_2 F1 C5-HWE HI</p>	 <p>7e C₁₃H₂₂O₃ [226.31] CK052 CK052 F1 CK054 F2</p>
 <p>7f C₉H₁₄O₃ [170.21] CK186 CK080 F1 CK080 F4</p>	 <p>7g C₁₀H₁₆O₃ [184.24] CK187 CK093 F1 CK093_2 F3</p>	 <p>7h C₁₁H₁₈O₃ [198.26] CK100 CK100 F1 CK100_2 F3</p>	 <p>7i C₁₁H₁₈O₃ [198.26] CK135 CK133 F1 CK133 F2</p>

 <p>7j C₈H₁₂O₃ [156.18] CK307</p>	 <p>7o C₁₁H₁₈O₃ [198.26] FB4 fb4-4-f2</p>	 <p>(R)-8a C₉H₁₆O₃ [172.22] CK085 CK085 F1</p>	 <p>(R)-8b C₁₀H₁₈O₃ [186.25] CK086 CK086 F1</p>
 <p>(R)-8c C₁₁H₂₀O₃ [200.28] CK137 CK156 F2_F1</p>	 <p>(R)-8d C₁₁H₂₂O₃ [214.30] CK103 CK151 F1_F2</p>	 <p>(R)-8e C₁₃H₂₄O₃ [228.33] CK088 CK088_2 F1</p>	 <p>(S)-8f C₉H₁₆O₃ [172.22] CK205 CK205 F1</p>
 <p>(S)-8g C₁₀H₁₈O₃ [186.25] CK175 CK175 F2_3</p>	 <p>(S)-8h C₁₁H₂₀O₃ [200.28] CK165 CK241 F1</p>	 <p>(R)-8i C₁₁H₂₀O₃ [200.28] CK218 CK218 F1</p>	 <p>(S)-8i C₁₁H₂₀O₃ [200.28] CK264 CK264 F2</p>
 <p>9f C₉H₁₈O₃ [174.24] CK198 CK198 F1</p>	 <p>9g C₁₀H₂₀O₃ [188.27] CK199 CK199 F1</p>	 <p>9h C₁₁H₂₂O₃ [202.29] CK210 CK210 F1</p>	 <p>9i C₁₁H₂₂O₃ [202.29] CK200 CK200 F1</p>
 <p>10a C₁₂H₁₀O₄ [218.21] CK_Chrom 004 CK_Chrom 004 F3</p>	 <p>10b C₈H₁₀O₃ [154.17] CK_Chrom 026 CK_Chrom 026 F2</p>	 <p>10c C₉H₁₂O₃ [168.19] CK_Chrom 049 CK_Chrom 049 F2</p>	 <p>10g C₉H₁₂O₃ [168.19] CK_Chrom 106 CK_Chrom 106 F1</p>

 <p>10h C₁₀H₁₄O₃ [182.22] CK_Chrom 076 CK_Chrom 054 F1</p>	 <p>10i C₁₁H₁₆O₃ [196.25] CK_Chrom 073</p>	 <p>10j C₁₂H₁₈O₃ [210.27] CK_Chrom 064 CK_Chrom 074</p>	 <p>11a C₁₂H₁₂O₄ [220.22] CK_Chrom 003 CK_Chrom 003 F1</p>
 <p>11b C₈H₁₂O₃ [156.18] CK_Chrom 042 CK_Chrom 042 F1</p>	 <p>11c C₉H₁₄O₃ [170.21] CK_Chrom 108</p>	 <p>11d C₁₀H₁₆O₃ [184.24] CK_Chrom 101 CK_Chrom 055 F1</p>	 <p>11e C₁₁H₁₈O₃ [198.26] CK_Chrom 080 CK_Chrom 080 F1</p>
 <p>11f C₁₂H₂₀O₃ [212.29] CK_Chrom 078 CK_Chrom 078 F2</p>	 <p>16 C₆H₇BrO [175.03] CK_Chrom 011 umkristallisiert</p>	 <p>18 C₈H₁₁BrO₂ [219.08] CK_Chrom 022 CK_Chrom 022 F1_F1</p>	 <p>21c C₇H₁₂O₃ [144.17] CK_Chrom 058 CK_Chrom 058 roh</p>
 <p>21d C₈H₁₄O₃ [158.20] CK_Chrom 059 CK_Chrom 059 roh</p>	 <p>186a C₇H₁₀O₂ [126.16] CK328</p>	 <p>186b C₈H₁₂O₂ [140.18] CK327</p>	 <p>186c C₉H₁₄O₂ [154.21] CK071 CK071 HI</p>
 <p>186d C₁₀H₁₆O₂ [168.24] CK072 CK072 HI</p>	 <p>186e C₁₁H₁₈O₂ [182.26] CK073 CK073 HI</p>	 <p>186i C₉H₁₄O₂ [154.21] CK154 CK154 F0</p>	 <p>187b C₁₀H₁₈O₃ [186.25] CK070 CK070 MI</p>

 <p>187c C₁₁H₂₀O₃ [200.28] CK071 CK071 MI</p>	 <p>187d C₁₂H₂₂O₃ [214.31] CK072 CK072 MI</p>	 <p>187e C₁₃H₂₄O₃ [228.33] CK073 CK073 MI</p>	 <p>187i C₁₁H₂₀O₃ [200.28] CK153 CK153 F1</p>
 <p>190 C₁₁H₂₂O₂ [186.30] FB1 FB1_2 3</p>	 <p>191 C₁₁H₂₀O₂ [184.28] FB2 FB2 Frkt 22 bis 42</p>	 <p>193 C₁₅H₂₆O₄ [270.37] FB3 CK_FB3 F3</p>	
 <p>199a C₂₃H₂₆Br₂O₄ [526.27] CK291 CK291 F2</p>		 <p>199b C₂₃H₂₆Br₂O₄ [526.27] CK292 CK292 F2</p>	
 <p>201a C₁₂H₁₄O₄ [222.24] CK_Chrom 003 CK_Chrom 003 F2</p>	 <p>210 C₇H₁₀O₄ [158.15] CK_Chrom 024 CK_Chrom 024 F1</p>		