

**Stereoselektive Synthese von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  
 $\delta$ -Laktonen an der festen Phase  
und  
Protein-Modifikation durch Palladium-Katalyse**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
vom Fachbereich Chemie  
der Universität Dortmund  
angenommene

**DISSERTATION**

von

Diplom-Chemiker

**Torben Leßmann**

aus Hamburg

**1. Gutachter: Prof. Dr. H. Waldmann**

**2. Gutachter: Prof. Dr. N. Krause**

**Tag der mündlichen Prüfung: 26. Januar 2007**



---

Die vorliegende Arbeit wurde unter Betreuung von Prof. Dr. Herbert Waldmann am Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie und an der Universität Dortmund in der Zeit von Dezember 2002 bis Dezember 2006 angefertigt.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Allgemeiner Teil</b> .....	<b>1</b>
1.1	<i>Einleitung</i> .....	1
1.2	<i>Naturstoff-abgeleitete Bibliotheken</i> .....	2
1.2.1.1	Diversifizierungsstrategien für naturstoffabgeleitete Bibliotheken.....	5
1.3	<i><math>\alpha,\beta</math>-Ungesättigte <math>\delta</math>-Laktone – Wirkungen und Synthesen</i> .....	6
1.3.1	Fostriecin.....	7
1.3.2	Leptomycin B.....	9
1.3.3	Pironetin.....	10
1.3.4	Goniothalamine.....	12
1.4	<i>Asymmetrische Synthese an der festen Phase</i> .....	13
1.4.1.1	Aldol-Reaktionen.....	15
1.4.1.2	Allylierungen.....	15
1.4.1.3	Cycloadditionen.....	16
1.5	<i>Chemische Modifizierung von Peptiden und Proteinen</i> .....	18
1.5.1	Ligationsmethoden.....	19
1.5.2	Übergangsmetall-vermittelte Reaktionen an Peptiden und Proteinen 20	
1.5.2.1	Modifizierung natürlicher Aminosäuren.....	20
1.5.2.2	1,3-Cycloadditionen.....	21
1.5.2.3	Kreuzkupplungsreaktionen an Peptiden.....	21
<b>2</b>	<b>Ziel der Arbeit</b> .....	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>Spezieller Teil</b> .....	<b>27</b>
3.1	<i>Synthese von <math>\alpha,\beta</math>-ungesättigten <math>\delta</math>-Laktonen an der festen Phase</i> .....	27
3.1.1	Übersicht.....	27
3.1.2	Route I: Enantioselektive Allylierung an der festen Phase mit anschließender Ringschlussmetathese.....	28
3.1.2.1	Retrosynthese und Synthesepfad.....	28
3.1.2.2	Vorarbeiten: Enantioselektive Allylierung an fester Phase.....	29

3.1.2.3	Wahl des Linkers für die Synthese an der feste Phase.....	32
3.1.2.4	Synthese immobilisierter Aldehyde .....	33
3.1.2.5	Enantioselektive Allylierung .....	34
3.1.2.6	Variation der Abspaltungsbedingungen .....	36
3.1.2.7	Entwicklung der Ringschlussmetathese.....	36
3.1.2.8	Bestimmung des Enantiomerenüberschusses in Lakton 93....	40
3.1.2.9	Mehrfache Allylierung, Schutzgruppen .....	41
3.1.2.10	Acetat als Schutzgruppe .....	44
3.1.2.11	Höhere Homologe.....	45
3.1.2.12	Asymmetrische Allylierung und RCM in der Synthese von Naturstoffen .....	47
3.1.2.13	Euscapholid .....	48
3.1.2.14	Synthese einer Cryptocarya Diacetat-Bibliothek.....	49
3.1.2.15	Synthese des <i>Ravensara</i> -Laktons .....	53
3.1.2.15.1	Synthese der Edukte <b>(S)</b> -137 und <b>(R)</b> -137.....	53
3.1.2.15.2	Durchführung der Synthese .....	57
3.1.2.16	Biologische Evaluierung.....	61
3.1.2.16.1	Phosphatase-Assays .....	61
3.1.2.16.2	Tubulin-Polymerisation .....	62
3.1.2.17	Diskussion.....	62
3.1.3	Route II: Hetero-Diels-Alder Reaktionen an der festen Phase .....	65
3.1.3.1	Einleitung .....	65
3.1.3.2	Untersuchung der hetero-Diels-Alder-Reaktion .....	68
3.1.3.2.1	Synthese der immobilisierten Diene .....	68
3.1.3.3	Versuche mit Titan-BINOL-Katalysatoren .....	69
3.1.3.3.1	Variation des Lösungsmittels .....	71
3.1.3.4	Variation des Katalysators .....	72
3.1.3.4.1	Hydrierung des Liganden.....	72
3.1.3.4.2	Kupfer-basierte Katalysatoren .....	73
3.1.3.5	Variation des Aldehyds .....	76
3.1.3.6	Weitere Schritte .....	77
3.1.3.7	Versuche von Aldol-Reaktionen am immobilisierten Aldehyd 166.....	79
3.1.3.8	Diskussion.....	81

3.2	<i>Sonogashira-Kupplungen an Peptiden und Proteinen</i> .....	83
3.2.1	Einleitung.....	83
3.2.2	Sonogashira-Reaktionen an Peptiden.....	86
3.2.2.1	Synthese und Anwendung von Modellpeptiden.....	86
3.2.2.2	Synthese von Desthiobiotin-markierten Acetylenen.....	88
3.2.2.3	Sonogashira-Reaktionen an Peptiden in wässriger Lösung ...	90
3.2.2.3.1	Testreaktionen am Peptid 192.....	90
3.2.2.3.2	Kupplung am Peptid 188.....	92
3.2.3	Sonogashira-Reaktionen an Proteinen.....	93
3.2.3.1	Versuche an einem modifizierten Rab-Protein.....	93
3.2.3.2	Versuche am <sup>181</sup> N-Ras-Protein.....	98
3.2.3.2.1	Ligation eines Desthiobiotin-markierten MIC-Peptids an N-Ras	98
3.2.3.2.2	Sonogashira-Reaktionen am <sup>1-181</sup> N-Ras-Protein.....	101
3.2.3.2.3	Untersuchungen mittels LA-ICP-MS.....	105
3.2.4	Diskussion.....	108
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>111</b>
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil</b> .....	<b>119</b>
5.1	<i>Allgemeines, Messgeräte, Hilfsmittel</i> .....	119
5.2	<i>Methoden zur Beladungsbestimmung an der Festphase</i> .....	123
5.3	<i>Versuche zu Kapitel 3.1.2</i> .....	125
5.4	<i>Versuche zu Kapitel 3.1.3</i> .....	166
5.5	<i>Versuche zu Kapitel 3.2</i> .....	179
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>193</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>201</b>





## Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolut (wasser- und sauerstofffrei)
Äq.	Äquivalent
ber.	berechnet
BINOL	2,2'-Binaphthyldiol
CSA	Kampfersulfonsäure
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCM	Dichlormethan
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyanohydrochinon
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	<i>N, N</i> -Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazin
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl-)carbodiimid
EDT	Ethandithiol
EE	Ethylacetat
ee	<i>enantiomeric excess</i> , Enantiomerenüberschuss
ESI	electron spray ionization
FAB	fast atom bombardment
Fmoc	9-Fluorenylmethyloxycarbonyl
FT-IR	Fourier-Transformation Infrarotspektroskopie
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie mit gekoppelter Massendetektion
gCOSY	gradient enhanced Correlation Spectroscopy
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
gHMBC	gradient enhanced Heteronuclear Multiple Bond Correlation
gHSQC	gradient enhanced Heteronuclear Single Quantum Correlation

---

h	Stunde
HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HOSu	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
HPLC	high performance liquid chromatography
HR-MS	high resolution mass spectrometry
IBX	<i>O</i> -Iodoxybenzoic acid
ICP-MS	laser ablation inductively coupled mass spectrometry
Ipc <sub>2</sub> BAlI	Diisopinocampheylallylboran
KG	Kieselgel
LC	liquid phase chromatography
MALDI-TOF	matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MIC	Maleinimidocaproyl
min	Minute
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NHC	<i>N</i> -heterocyclic carbene
PE	Petrolether
PPTS	Pyridyl- <i>para</i> -toluylsulfonat
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
Schmp.	Schmelzpunkt
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat Polyacrylamidgelelektrophorese
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBS	<i>tert.</i> -Butyldimethylsilyl
TES	Triethylsilan
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TPAP	Tetrapropylammoniumperruthenat
TPPTS	Triphenylphosphintrisulfonsäure
t <sub>R</sub>	Retentionszeit

# 1 Allgemeiner Teil

## 1.1 Einleitung

Wurde die Organische Chemie durch die Synthese des „biologischen“ Moleküls Harnstoff begründet, und hat sie durch Strukturaufklärung und Synthese physiologisch aktiver Moleküle wie Vitaminen oder Hormonen erheblich zum grundlegenden Verständnis biologischer Prozesse beigetragen, so wurde ihr Gewicht in der Erforschung dieser Prozesse in den letzten Dekaden deutlich geringer. Die Untersuchung biologischer Phänomene – Replikation, Selbstorganisation, Metabolismus, Transport, Signaltransduktion – wurde vor allem mit molekularbiologischen und genetischen Methoden vorangetrieben. Mit dem methodologischen Auseinanderdriften von Chemie und Biologie schwand der Einfluss der Synthesechemie in den Biowissenschaften.

An dieser Grenze zwischen Chemie und Biologie hat sich in der letzten Dekade die Chemische Biologie etabliert, deren breites Themenspektrum sich in einige Hauptgebiete unterteilen lässt:

- Modifikationen an Proteinen (und anderen natürlichen Makromolekülen), die nicht oder nur schwer durch molekularbiologische Techniken zugänglich sind.
- Auffinden, Synthese und Untersuchen von Liganden für Proteine, um Aufschlüsse über die Funktion des Proteins im physiologischen Kontext zu erhalten. So lässt sich z.B. die vollständige Inhibition eines Enzyms durch einen Liganden vergleichen mit dem genetischen „knockout“ des Gens, welches das Enzym kodiert. Dieses Gebiet wurde zum Konzept der „Chemischen Genetik“ weiterentwickelt. Die Erforschung von Protein-Ligand-Interaktionen ist aber weitaus umfangreicher.
- Synthese und Untersuchung von Peptiden mit intrinsischer biologischer Aktivität oder als Protein-Fragmente. Synthetische Peptide können einerseits Proteinabschnitte nachahmen und folglich die Komplexität des untersuchten Systems reduzieren. Ein zweiter Vorteil ist die Möglichkeit, unnatürliche Funktionalitäten (z.B.  $\beta$ -Aminosäuresequenzen, Fluorophore,

Spin-Label) einzuführen, um zusätzliche Parameter zur Analyse zu erhalten.

- Synthese artifizierender Makrosysteme, z.B. funktionalisierter Polymere, zur Untersuchung multivalenter Interaktionen.

All diesen Gebieten liegt die chemische Synthese zugrunde, welche die gewünschten Sonden zur Untersuchung physiologischer Prozesse zugänglich macht. Damit nimmt die Chemie – speziell die Organische Chemie – in der Chemischen Biologie eine zentrale Rolle ein, und die Anpassung der klassischen Synthese an die Bedürfnisse der Chemischen Biologie ist eine Herausforderung für den Chemiker.

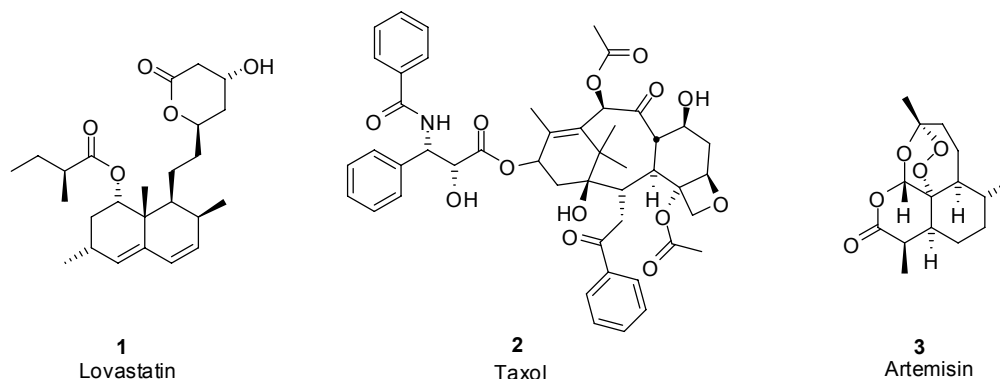
In dieser Arbeit werden zwei Aspekte dieser Herausforderung vorgestellt: Die Entwicklung von Methoden zur Synthese Naturstoff-abgeleiteter Verbindungen und die Einführung nicht-natürlicher Funktionalitäten in Proteinen.

### 1.2 Naturstoff-abgeleitete Bibliotheken

Natürliche Quellen haben eine lange Tradition in der Gewinnung pharmakologisch aktiver Substanzen. Diese Tradition lässt sich bis heute in den Strukturen der bekannten Arzneimittel ablesen: knapp die Hälfte der auf dem Markt erhältlichen Medikamente sind Naturstoffe oder von ihnen abgeleitete Substanzen.<sup>[1]</sup>

Drei Beispiele für Naturstoffe, die in ihrer isolierten Form potente Arzneimittel darstellen, sind in Abb. 1 dargestellt:

- Lovastatin **1** ist ein natürlicher Inhibitor des Enzyms 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reduktase, einem entscheidenden Enzym im Mevalonat-Weg, der zur Biosynthese von Cholesterin notwendig ist.
- Taxol **2** verhindert die Depolymerisation von Mikrotubuli und wird in der Krebsmedizin eingesetzt.
- Artemisin **3** ist ein Naturstoff, der gegen *falciparum malaria*, einen Malaria-Erreger, eingesetzt wird.



**Abb. 1:** Naturstoffe als Arzneimittel.

Mit dem Aufkommen neuer Techniken zum Hochdurchsatz-Screening großer Verbindungssammlungen gerieten Naturstoffe als Quelle pharmazeutischer Substanzen in den Hintergrund. Neue Methoden in der kombinatorischen Chemie, die einen größeren Ausstoß an Verbindungen versprachen als die Isolierung von Naturstoffen oder die klassische organische Synthese, gewannen an Relevanz. Damit änderten sich auch strukturelle Charakteristika der Substanzbibliotheken: einfacher synthetischer Zugang und modularer Aufbau ersetzten die Naturstoff-geleitete Synthese.

Jedoch wurden die Hoffnungen, die in die Synthese großer Substanzbibliotheken gesetzt wurden, nicht erfüllt. Trotz zunehmender technologischer Investitionen wurden nicht mehr aktive Verbindungen entdeckt als vorher.<sup>[2]</sup>

Dies führte in den vergangenen Jahren zu einem kritischen Vergleich von Naturstoffen und auf kombinatorischem Weg erhaltenen Substanzen.

In mehreren bioinformatischen Studien wurden Naturstoff-Sammlungen mit kombinatorischen Bibliotheken oder bekannten Arzneimitteln verglichen.<sup>[3]</sup> Danach unterscheiden sich Naturstoffe und kombinatorische Bibliotheken in einigen signifikanten Parametern. Markant ist z.B. die Art und Anzahl von Heteroatomen: Während in Naturstoffen der relative Anteil an Sauerstoff höher ist, haben kombinatorische Bibliotheken einen höheren Anteil an Stickstoff-, Schwefel- und Halogenatomen. Darüber hinaus besitzen Naturstoffe im Mittel weniger frei rotierbare Bindungen als Moleküle aus kombinatorischen Bibliotheken (4.4 gegenüber 6.4), dafür aber mehr stereogene Zentren (6.2 gegenüber 0.4). Diese zwei Parameter erlauben den Schluss, dass die stereochemische Komplexität in Naturstoffen größer ist als in den bekannten kombinatorischen Bibliotheken.

Mit diesen aus statistischen Methoden gewonnenen Erkenntnissen kann der Unterschied zwischen Naturstoffen und synthetischen Molekülen über ihre Herkunft hinaus verdeutlicht und auf eine Struktur-abhängige Basis gestellt werden. Naturstoffe besetzen andere Plätze im (fast unendlich großen) chemischen Strukturraum als Substanzen aus kombinatorischen Bibliotheken.

Damit stellt sich die Frage, ob Naturstoffe und von ihnen abgeleitete Verbindungen *a priori* „bessere“ Verbindungsbibliotheken (also solcher mit erhöhter Aktivität in biologischen Screens) ergäben. Diese Frage wurde von Waldmann et al. mit einer anderen Herangehensweise erörtert:

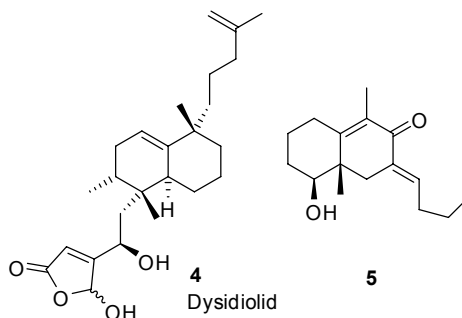
Nach eingehender Analyse sowohl von Proteinen (den Zielen von Wirkstoffen) als auch von Naturstoffen stellten Waldmann et al. die folgenden zwei Thesen an den Anfang der Suche nach neuen Verbindungen mit biologischer Aktivität:

(1) Die Anzahl der in der Natur vorkommenden Protein-Domänen ist begrenzt.<sup>[4]</sup>

Während es auf der Ebene der Primärstruktur (Aminosäure-Sequenz) große Variationen zwischen den verschiedenen Proteinen gibt, sind die durch Faltung ausgebildeten Tertiärstrukturen evolutionär konserviert. Bisher sind etwa 600 Faltungstypen charakterisiert.<sup>[5]</sup> Waldmann et al. postulieren nun, dass die Liganden-erkennenden Kernbereiche in den Domänen ebenfalls konserviert sind. Das bedeutet, dass ein Ligand bzw. eine Ligandenklasse, die an einen solchen konservierten Kernbereich in einer Domäne eines Proteins bindet, auch an die entsprechende Stelle einer Domäne gleicher Faltung eines anderen Proteins bindet. Somit lassen sich durch das Auffinden verwandter Tertiärstrukturen in Proteinen (*Protein Structure Similarity Clustering, PSSC*) Rückschlüsse darauf ziehen, welche Art von Liganden als mögliche Inhibitoren in Frage kommen. Da Naturstoffe für die Interaktion mit mindestens einer Domäne evolutionär selektiert wurden, können sie als prä-validierte Ausgangspunkte in der Suche nach biologisch aktiven Substanzen angesehen werden.

(2) Die Anzahl der in Naturstoffen vorkommenden (zyklischen) Grundgerüste ist begrenzt. Eine statistische Analyse der bekannten Naturstoffe (*structural clustering of natural products, SCONP*) zeigte, dass sich viele der in der Natur vorkommenden Strukturen auf eine begrenzte Zahl von zyklischen Grundgerüsten zurückführen lassen.<sup>[6;7]</sup> Besonders häufig auftretende

Strukturen werden als viel versprechende Ausgangspunkte für die Synthese von Substanzbibliotheken angesehen.



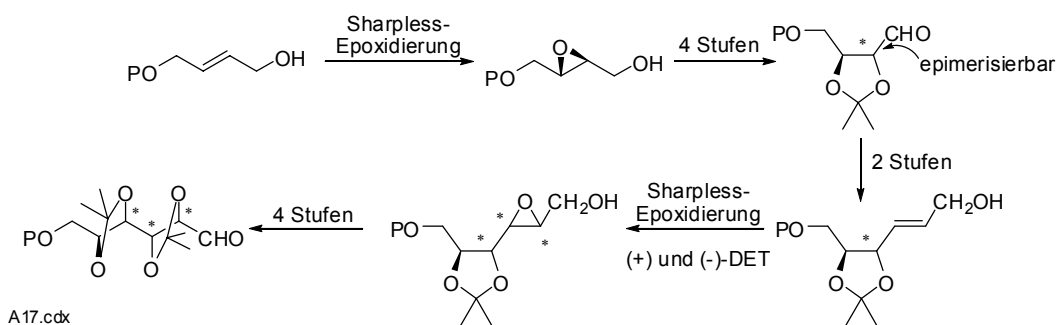
**Abb. 2:** Die vom Naturstoff Dysidiolid **4** abgeleitete Verbindung **5** ist ein Inhibitor des Enzyms 11 $\beta$ HSD1.

Ein Beispiel für die erfolgreiche Anwendung dieser Theorie auf der Suche nach neuen Verbindungen mit biologischer Aktivität wurde aus der Arbeitsgruppe Waldmann berichtet. Ausgehend vom Naturstoff Dysidiolid **4** (Abb. 2), einem bekannten Phosphatase-Inhibitor, wurde eine Bibliothek auf der Basis eines Dehydro-Decalin-Gerüsts synthetisiert. Die Verbindung **5** aus dieser Bibliothek erwies sich als Inhibitor des Enzyms 11 $\beta$ HSD1 mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0.31  $\mu$ M.<sup>[6]</sup>

### 1.2.1.1 Diversifizierungsstrategien für naturstoffabgeleitete Bibliotheken

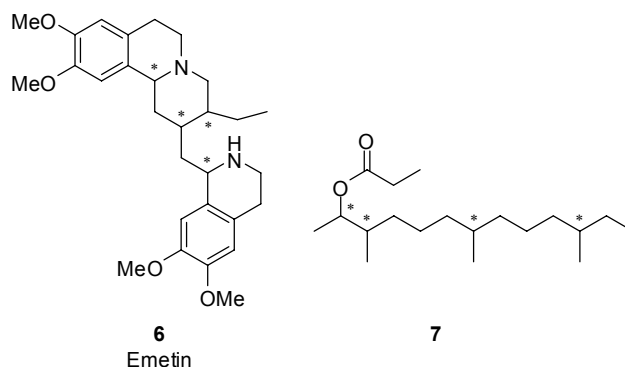
In der Kombinatorischen Chemie wird durch Variation von Edukten eine möglichst große Anzahl an Produkten angestrebt. In vielen Fällen geschieht dies durch Austausch von Substituenten an einem unveränderten Grundgerüst.<sup>[8]</sup>

Eine zweite, viel seltener zu findende Herangehensweise beruht auf der systematischen Variation aller in einer Verbindung enthaltenen Stereozentren. Ein frühes Beispiel für die Synthese einer solchen stereochemisch diversen Bibliothek berichteten Sharpless et al.<sup>[9]</sup> (Abb. 3): Dabei wurden asymmetrische Epoxidierungen eingesetzt, um alle diastereomeren L-Hexosen zu synthetisieren.



**Abb. 3:** Syntheschema nach Sharpless et al. zur stereoselektiven Synthese aller Hexosen.

Tietze et al. nutzen verschiedene Enantiomere der von Noyori entwickelten Transferhydrierungskatalysatoren, um alle Diastereomere des Naturstoffes Emetin **6** zu synthetisieren (Abb. 4).<sup>[10]</sup>



**Abb. 4:** Grundstrukturen der Naturstoffe, die Ausgangspunkt für die Synthese von Stereoisomer-Bibliotheken waren.

Schließlich gelang es Curran et al., alle Diastereomere des Wespenpheromons **7** (Abb. 4) zu synthetisieren.<sup>[11]</sup> Dabei wurden diastereomere Edukte vor der Parallelsynthese mit unterschiedlich fluorierten Schutzgruppen versehen, die später durch chromatographische Aufreinigung getrennt werden konnten. Dieselbe Technik wurde auch in der Synthese aller Diastereomere des Naturstoffes Passifloricin eingesetzt.<sup>[12]</sup>

### 1.3 $\alpha,\beta$ -Ungesättigte $\delta$ -Laktone – Wirkungen und Synthesen

In der vorliegenden Arbeit wurden Moleküle untersucht, die ein in Naturstoffen häufig zu findendes Strukturelement tragen, dabei handelt es sich um eine  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Lakton-Einheit.

Die Naturstoffe, die eine  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Lakton-Einheit tragen, bilden eine kleine Gruppe mit teilweise bekannten und interessanten biologischen



Wirkungsprofilen. Das „Dictionary of Natural Products“ enthält 213 Einträge, die das  $\alpha$ -Pyrone-Gerüst als Strukturelement enthalten.<sup>[13]</sup> Von diesen Verbindungen besitzen 65 eine dokumentierte biologische Aktivität.

Die charakteristische Laktoneinheit kann als Michael-Akzeptor fungieren, der von nukleophilen Seitenketten von Aminosäuren (z.B. von Cystein) angegriffen werden kann. Aus diesem Grund wird für viele Verbindungen dieses Typs die biologische Aktivität auf eine kovalente Wechselwirkung mit dem Zielmolekül zurückgeführt. Die Selektivität der Verbindungen für bestimmte Proteine – in einer Zelle gibt es viele freie Nucleophile, die eine konjugierte Addition eingehen können – könnte durch die Struktur der Seitenkette bestimmt sein. Hier werden in der Tat große Variationen gefunden.

Einige Beispiele für biologisch aktive Moleküle dieser Klasse sind in Abb. 5 gezeigt. Anhand dieser Beispiele soll exemplarisch die Vielfalt und die Relevanz der biologischen Aktivitäten dieser Verbindungen diskutiert werden.

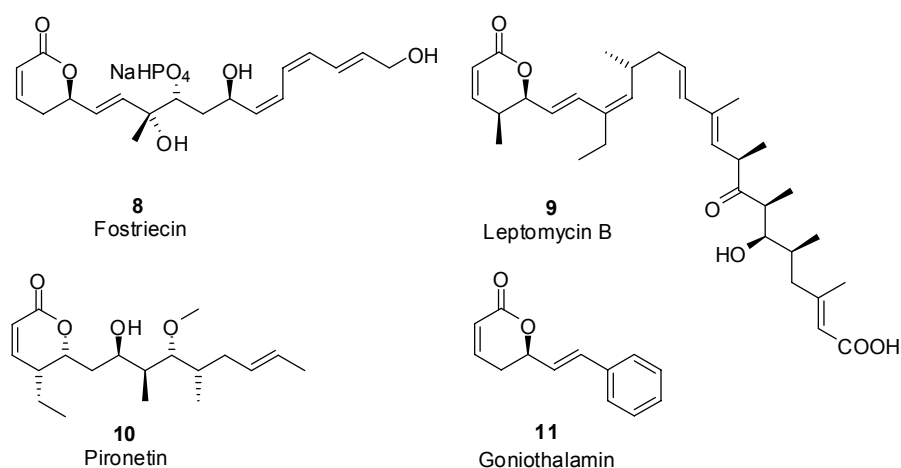


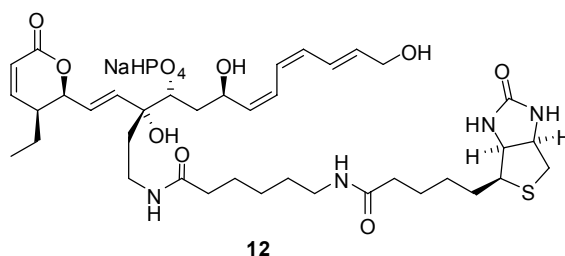
Abb. 5: Naturstoffe mit  $\alpha,\beta$ -ungesättigter  $\delta$ -Lakton-Einheit.

### 1.3.1 Fostriecin

Eine der am besten untersuchten Verbindungen dieser Klasse ist Fostriecin **8**, das aus *Streptomyces pulveraceus* isoliert wurde.<sup>[14]</sup> Die relative und absolute Konfiguration wurde durch Boger et al. bestimmt und durch eine Totalsynthese bestätigt.<sup>[15]</sup>

Fostriecin inhibiert Topoisomerase II und ist darüber hinaus ein hochselektiver Inhibitor der Serin/Threonin-Phosphatase PP2A.<sup>[16]</sup> Diese Eigenschaften ließen

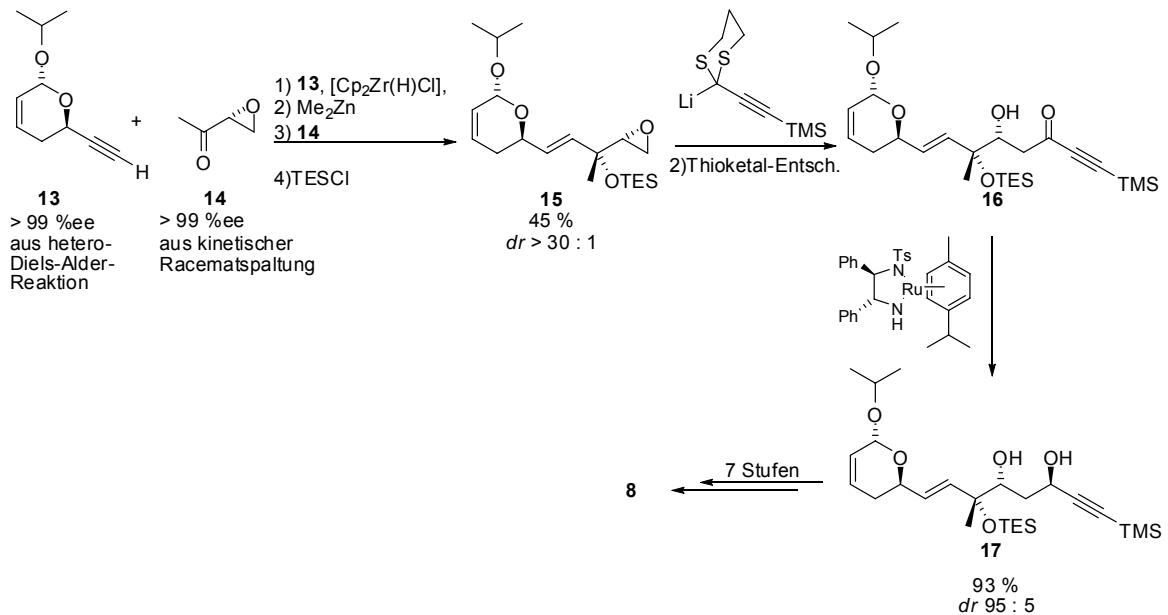
den Naturstoff in den Fokus der medizinischen Forschung rücken. In einer klinischen Studie stellte sich aber heraus, dass Fostriecin nur eine sehr kurze Halbwertszeit im Plasma hat (< 2 h) und vermutlich schnell dephosphoryliert wird.<sup>[17]</sup> Angesichts dieser Rückschläge wurde die Anwendung des Naturstoffes in der Klinik ausgeschlossen. In weiteren Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Fostriecin wurde die PP2A-Inhibition eingehend untersucht, indem verschiedene Derivate des Naturstoffes synthetisiert wurden.<sup>[18;19]</sup> Die Entfernung des Phosphats aus dem Molekül führte zu einer 1000fach schwächeren Aktivität, was für eine Substrat-Nachahmung durch Fostriecin spricht.<sup>[18]</sup> Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das gesättigte Lakton eine zehnfach geringere Aktivität gegenüber PP2A aufweist. Dies lässt auf eine Beteiligung des Laktons als Michael-Akzeptor schließen. Ein strukturell sehr ähnliches Molekül, Phoslactomycin **12** (Abb. 6), konnte mit einem Biotin Anker versehen werden. Mittels Affinitätschromatographie konnte PP2A als zelluläres Zielmolekül bestimmt werden. Cystein269 von PP2A ging eine kovalente Bindung mit dem Naturstoff ein, was den angenommenen Mechanismus der Inhibition stützt.<sup>[20]</sup>



**Abb. 6:** Struktur eines biotinylierten Phoslactomycin-Derivats für die Affinitätschromatographie.

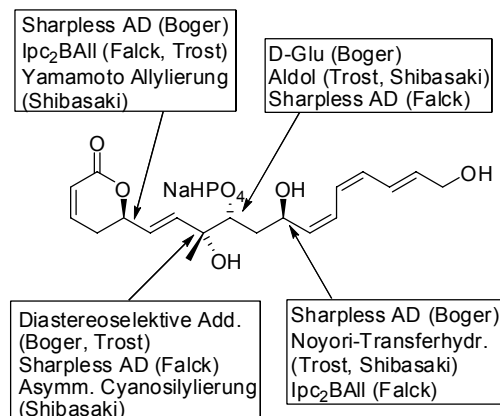
Die biologische Aktivität dieser Verbindung machten Fostriecin zum Ziel mehrerer Totalsyntheseprojekte. Kurz nach der von Boger veröffentlichten Synthese berichteten Jacobsen et al. von einer hochkonvergenten Synthese dieses Naturstoffes (Schema 1).<sup>[21]</sup> Die Bausteine **13** und **14** wurden jeweils durch enantioselektive Katalyse in über 99 %ee erhalten und in einer Chelatkontrollierten Vinylmetallat-Addition miteinander gekuppelt. Das terminale Epoxid in **15** wurde mit einem alkyliertem Dithian geöffnet, welches ins Keton **16** überführt wurde. Durch eine hochselektive Noyori-Transferhydrierung konnte das Zwischenprodukt **17** erhalten werden, in dem alle stereogenen Zentren des Zielmoleküls in der gewünschten Konfiguration vorlagen. Nach Transformation

des Alkins in ein Vinylidiod, Stille-Kupplung mit dem geeigneten Stannan und einigen Schutzgruppenoperationen wurde Fostriecin **8** in 17 Stufen erhalten.



**Schema 1:** Totalsynthese von Fostriecin nach Jacobsen et al.

Mehrere andere Gruppen berichteten ebenfalls eine Totalsynthese von Fostriecin, darunter Falck et al.,<sup>[22]</sup> Trost et al.<sup>[23]</sup> und Shibasaki et al.<sup>[19]</sup> Die jeweiligen Schlüsselschritte zum Aufbau der Stereozentren sind in Abb. 7 gezeigt.



**Abb. 7:** Aufbau der Stereozentren von Fostriecin in verschiedenen Totalsynthesen.

### 1.3.2 Leptomycin B

Für Leptomycin B **9** (auch „Elactocin“), isoliert aus einem *Streptomyces*-Stamm, konnte ebenfalls ein zelluläres Zielmolekül identifiziert werden.<sup>[24]</sup> Dabei handelt es sich um das Protein Crm1 (*chromosome maintenance region 1*), auch

Exportin 1 genannt. Exportin 1 erkennt ein Kern-Export-Signal (*nuclear export signal, NLS*) an Proteinen und sorgt für deren Transport aus dem Zellkern ins Cytoplasma. Über diesen Transportweg gelangt auch teilprozessierte mRNA des HIV-Virus ins Cytoplasma, so dass eine Inhibition des Exports die Replikation des Virus verhindern könnte. Darüber hinaus akkumulieren mit Leptomycin B versetzte Zellen das Tumorsuppressor Protein p53 im Zellkern, eines der wichtigsten Abwehrproteine gegen Krebs. Leptomycin B geriet von daher ins Blickfeld der medizinischen Forschung. Es stellte sich heraus, dass Crm1 über ein Cystein-Thiol eine kovalente Bindung mit Leptomycin B eingehen kann. Wird das Cystein529 in Crm1 gegen ein Serin ausgetauscht oder das ungesättigte Laktone in **9** hydriert, wird die Wechselwirkung geschwächt. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass die kovalente Bindung zwischen Leptomycin B und Exportin 1 auch *in vivo* stattfindet. Die Inhibition von zellulären Transportprozessen wäre ein neuer Ansatz für pharmazeutische Wirkstoffe.

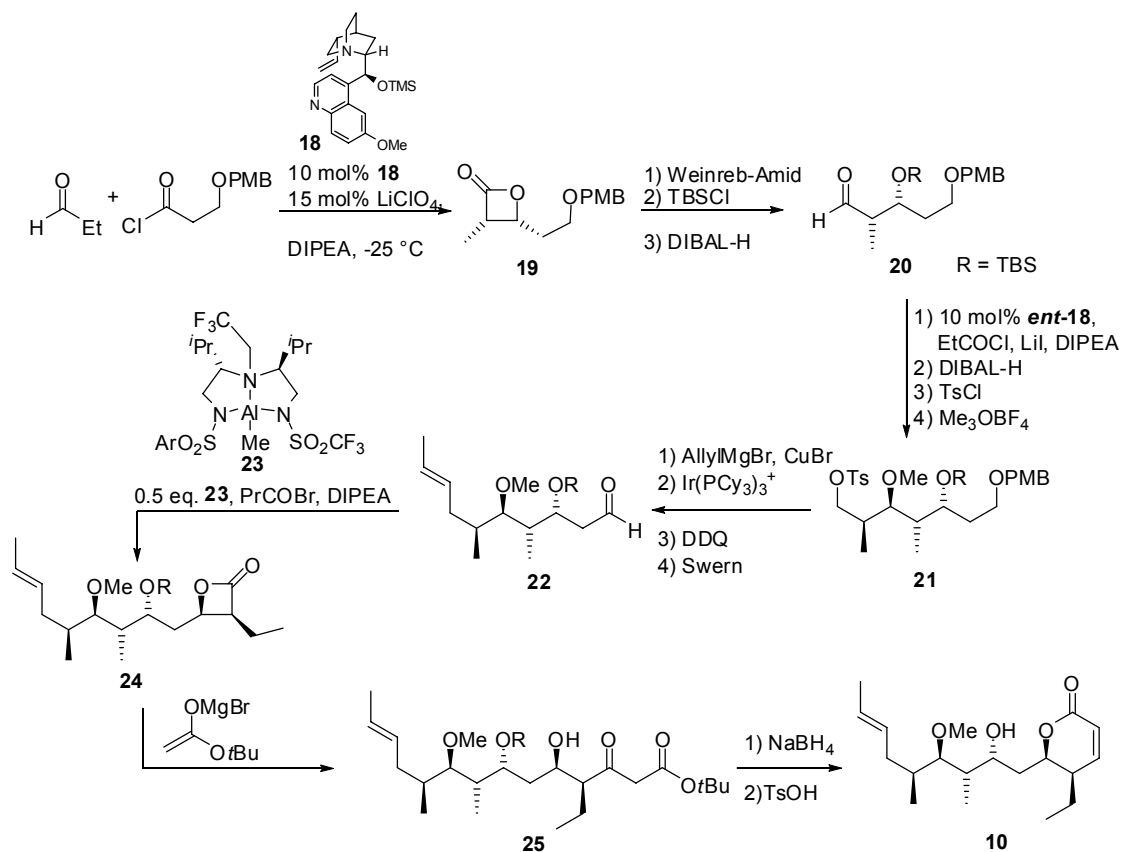
Der Naturstoff selbst erwies sich allerdings als ungeeignet: In Versuchen der Klinischen Phase I stellte sich heraus, dass die Toxizität des Moleküls zu groß für eine medizinische Anwendung ist.<sup>[25]</sup>

### 1.3.3 Pironetin

Pironetin **10** wurde aus einem *Streptomyces*-Stamm isoliert<sup>[26]</sup> und zeigte immunosuppressive Wirkung. Die Struktur konnte durch die erste Totalsynthese durch Kawada et al.<sup>[27]</sup> bestätigt werden, der weitere Synthesen folgten.<sup>[28;29]</sup> Wegen zu starker Cytotoxizität wurde von einer klinischen Entwicklung jedoch abgesehen. Pironetin ist ein potenter Inhibitor des Zellzyklus und führt zum Arrest in der M-Phase.<sup>[30]</sup> Darüber hinaus besitzt es anti-Tumor-Wirkung durch die Induktion von Apoptose mittels Inhibition der Polymerisation von Tubulin,<sup>[31]</sup> einem Mechanismus, der auch bei Colchicin gefunden wird.

Um den Wirkungsmechanismus von Pironetin genauer zu studieren, setzten Osada et al. ein biotinyliertes Pironetin-Derivat ein, um das zelluläre Zielmolekül des Naturstoffes durch Affinitätschromatographie zu identifizieren.<sup>[32]</sup> Es wurde herausgefunden, dass Pironetin an die  $\alpha$ -Untereinheit von Tubulin bindet und damit die Polymerisation inhibiert. Auch in diesem Fall wird der Naturstoff durch eine Michael-Addition kovalent an sein Zielmolekül gebunden, hier über die

Aminogruppe in der Seitenkette von Lys352, die sich dicht an der Kontaktfläche der beiden Tubulin-Untereinheiten befindet. Damit ist Pironetin der einzige bekannte Effektor des Cytoskeletts, der an der  $\alpha$ -Tubulin-Einheit ansetzt. Verbindungen, deren biologische Aktivität auf eine Modifikation des Cytoskeletts zurückzuführen ist, werden z. Zt. in der Krebstherapie untersucht bzw. eingesetzt.

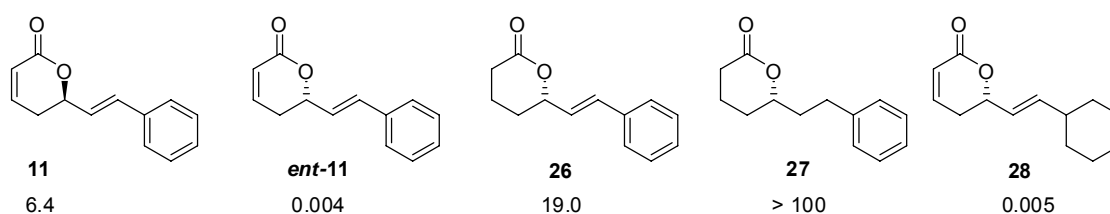


**Schema 2:** Totalsynthese von Pironetin nach Nelson et al.

Eine hoch diastereoselektive Synthese von Pironetin wurde kürzlich von Nelson et al. berichtet.<sup>[29]</sup> Dabei wurden die zahlreichen 1,3-Funktionalitäten durch formale Keten-Addition an Aldehyde erhalten. Der Alkaloid-Katalysator **18** (Schema 2) sorgte in der Cycloaddition zu **19** für einen Enantiomerenüberschuss von mehr als 98 %. Nach Regenerierung der Aldehyd-Funktion schloss sich eine zweite Cycloaddition an, die diesmal vom enantiomeren Katalysator *ent*-**18** mit 95 % de dirigiert wurde. Eine dritte Addition dieses Typs fand am Aldehyd **22** statt, hierbei wurde ein chiraler Aluminium-Katalysator eingesetzt. Öffnung des  $\beta$ -Laktons und zwei weitere Stufen führten schließlich zum Endprodukt.

### 1.3.4 Goniotalamin

Während die bisher vorgestellten Naturstoffe durch eine stark funktionalisierte Seitenkette charakterisiert sind, die die Synthese dieser bioaktiven Verbindungen erschweren, gibt es unter den Naturstoffen mit  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen auch kleinere Moleküle, die eine ausgewiesene biologische Aktivität besitzen. Ein Beispiel hierfür ist das Goniotalamin **11**, das aus verschiedenen Bäumen der Gattung *Goniotalamus* isoliert wurde.<sup>[33]</sup> Neben der in Abb. 8 gezeigten Form liegt es auch noch in höher oxygenierten Derivaten vor. Die Stammverbindung **11** hat eine cytotoxische Wirkung, insbesondere auf Krebszellen. In jüngster Zeit untersuchten Pilli et al. die Struktur-Wirkungs-Beziehungen für **11** und einiger Derivate (Abb. 8).<sup>[34;35]</sup>



**Abb. 8:** Strukturen von Goniotalamin-Derivaten und ihre  $IC_{50}$ -Werte in einem Proliferations-Assay der Nierenkrebs-Zell-Linie 786-0.

Goniotalamin zeigte bei der humanen Krebszell-Linie MCF-7 (Brustkrebs) eine Verminderung der Proliferation mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $10.5 \mu\text{M}$ , und in einer Lungenkrebs-Zell-Linie (NCI 460) betrug der  $IC_{50}$ -Wert  $6.4 \mu\text{M}$ . Die biologische Aktivität der enantiomeren Verbindung **ent-11** zeigte ein ganz anderes Profil: So war sie gegenüber einer Nierenkrebs-Zell-Linie (786-0) 1600 mal stärker wachstumsmindernd als **11**. Die Untersuchung verschiedener Derivate ergab, dass das ungesättigte Lakton und auch die olefinische Seitenkette essentiell für eine hohe Aktivität gegen diese Zell-Linie sind. Allgemein zeigt dieses Beispiel auf illustrative Weise, wie sensibel biologische Systeme gegenüber kleinen Variationen in der Funktionalität des potentiellen Wirkstoffes sind.

Die hier vorgestellten Beispiele für  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Laktone mit biologischen Aktivitäten zeigen, dass trotz des reaktiven elektrophilen Michael-Systems Substratspezifität erreicht werden kann. Allerdings könnte die oftmals bei diesen Verbindungen festgestellte hohe Cytotoxizität ein Indikator dafür sein, dass neben dem eigentlichen Zielmolekül noch andere Proteine beeinflusst werden.

Während die chemische Komplexität von biologisch aktiven Molekülen wie Leptomycin B den Versuch einer schnellen Derivatisierung vor große synthetische Schwierigkeiten stellt, zeigt die cytotoxische Aktivität von Verbindungen mit überschaubaren synthetischen Anforderungen wie Goniotalamin, dass eine Bibliothek von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen ein interessantes biologisches Profil aufweisen könnte.

Um eine Bibliothek von Derivaten dieser Verbindungen zu synthetisieren, sollte zum einen die Laktoneinheit konserviert bleiben: sie ist in allen hier vorgestellten Fällen für die spezifische Aktivität verantwortlich. Die Seitenkette dagegen kann variabler gestaltet werden. Neben unterschiedlichen Substituenten böte sich auch die Variation der Konfiguration an den Stereozentren der Seitenkette an. Dafür wären Reaktionen mit hoher Steroselektivität geeignet, die sich jedoch auch unter den speziellen Bedingungen der organischen Synthese an der festen Phase bewähren müssen. Beispiele solcher Reaktionen werden im folgenden Abschnitt vorgestellt.

## 1.4 Asymmetrische Synthese an der festen Phase

Die Synthese von Verbindungsbibliotheken hat in den letzten Jahren sowohl in der Industrie als auch im akademischen Bereich an Gewicht gewonnen. Der schnelle Fortschritt auf dem Gebiet des Hochdurchsatz-Screenings erlaubt die parallele Untersuchung von mehreren tausend Substanzen in kurzer Zeit, so dass die Nachfrage nach neuen Verbindungen weiter steigt.

Um diese Nachfrage zu befriedigen, bietet sich die kombinatorische Synthese an der festen Phase an.

Die Vorteile der Synthese an einem polymeren Träger liegen vor allem in der schnellen Aufarbeitung einer Reaktion: Nach durchgeführter Transformation wird überschüssiges Reagenz durch Filtration entfernt, eine chromatographische Aufreinigung von Syntheseintermediaten entfällt. Erst am Ende der Sequenz, nachdem das Endprodukt vom polymeren Träger abgespalten wurde, wird chromatographisch gereinigt.

Ein weiterer Vorteil ist, dass die Reagenzien in Lösung im Überschuss eingesetzt werden können, damit das Reaktionsgleichgewicht zugunsten der Produkte verschoben und vollständiger Umsatz erreicht wird.

Diese Charakteristika haben die organische Synthese an der festen Phase vor allem in der kombinatorischen Chemie zu einer gängigen Methode gemacht, da in der parallelen Synthese vieler Verbindungen die Aufreinigung von Zwischenprodukten zu einem erheblichen Mehraufwand führen würde.

Auffällig ist aber, dass enantioselektive Methoden, also Transformationen, bei denen achirale Edukte unter Zuhilfenahme eines chiralen Auxiliars oder Katalysators zu nicht-racemischen Produkten umgesetzt werden, im Repertoire der Reaktionen an der festen Phase unterrepräsentiert sind. Wie in Kapitel 1.2 diskutiert wurde, haben auf kombinatorischem Weg hergestellte Verbindungen im Allgemeinen wenig stereogene Zentren, so dass die Notwendigkeit einer asymmetrischen Reaktionsführung nicht besteht. Außerdem können Verbindungen als Racemate bzw. Diastereomeregemische eingesetzt werden, aus denen das aktive Isomer erst später bestimmt wird.

Enthalten Verbindungen aus kombinatorischen Bibliotheken Stereozentren, so wurden diese in den meisten Fällen durch Einsatz nicht-racemischer Edukte aus natürlichen Quellen wie Zuckern oder Aminosäuren erhalten.

Eine Schwierigkeit der asymmetrischen Synthese an immobilisierten Substraten besteht darin, dass es unmöglich ist, Isomeregemische in Zwischenstufen abzutrennen. Es eignen sich also nur solche enantioselektiven Transformationen für den Einsatz an immobilisierten Substraten, die eine hohe asymmetrische Induktion versprechen.

Da Naturstoffe in der Regel eine größere stereochemische Komplexität besitzen als die Verbindungen kombinatorischer Bibliotheken, ist die Synthese Naturstoff-abgeleiteter Substanzbibliotheken an der festen Phase stark auf die Entwicklung effizienter asymmetrischer Reaktionsführungen angewiesen.

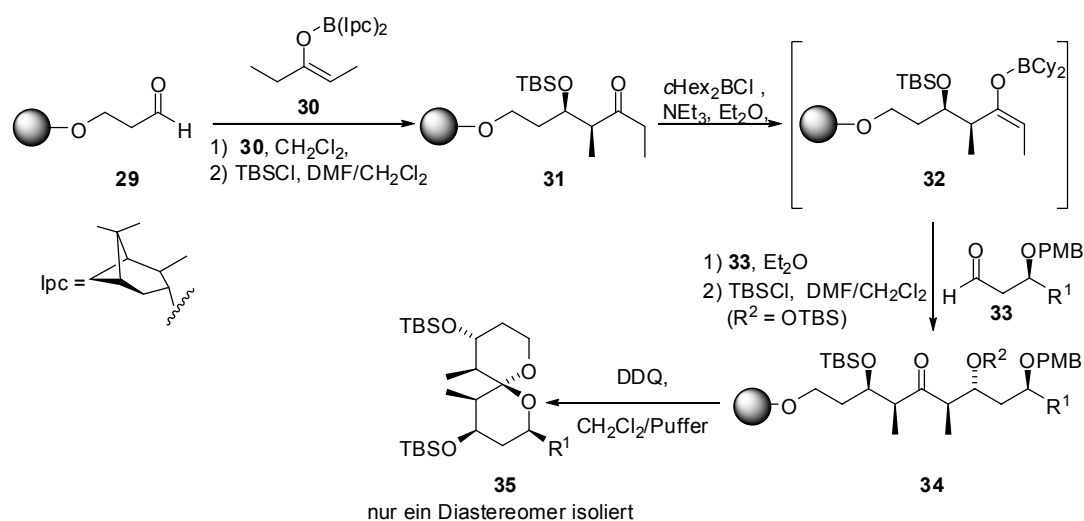
Im Folgenden werden ausgewählte Beispiele solcher Reaktionen kurz diskutiert.<sup>[36]</sup>



### 1.4.1.1 Aldol-Reaktionen

Da die Aldol-Reaktion einen Zugang zu verschiedenen Isomeren von 1,3-Diolen liefert, die ein häufig wiederkehrendes Motiv in Naturstoffen darstellen, wurden in den letzten Jahrzehnten zahlreiche enantioselektive Varianten für die Aldol-Reaktion entwickelt.

Ein Beispiel für die enantioselektive Synthese an der festen Phase wurde von Waldmann et al. berichtet (Schema 3).<sup>[37]</sup> Der Einsatz einer enantioselektiven *syn*-Aldol-Reaktion an einem immobilisierten Aldehyd **29** war der Ausgangspunkt für die Synthese einer Bibliothek von Spiro[5.5]ketalen, einem in Naturstoffen häufig gefundenen Strukturmotiv. In den günstigen *matched*-Fällen führte die Diastereoselektion zur Bildung eines einzigen Produktes. Aufbauend auf früheren Studien<sup>[38]</sup> gelang auch Paterson et al. die Synthese eines ähnlichen Spiroketalen.<sup>[39]</sup>



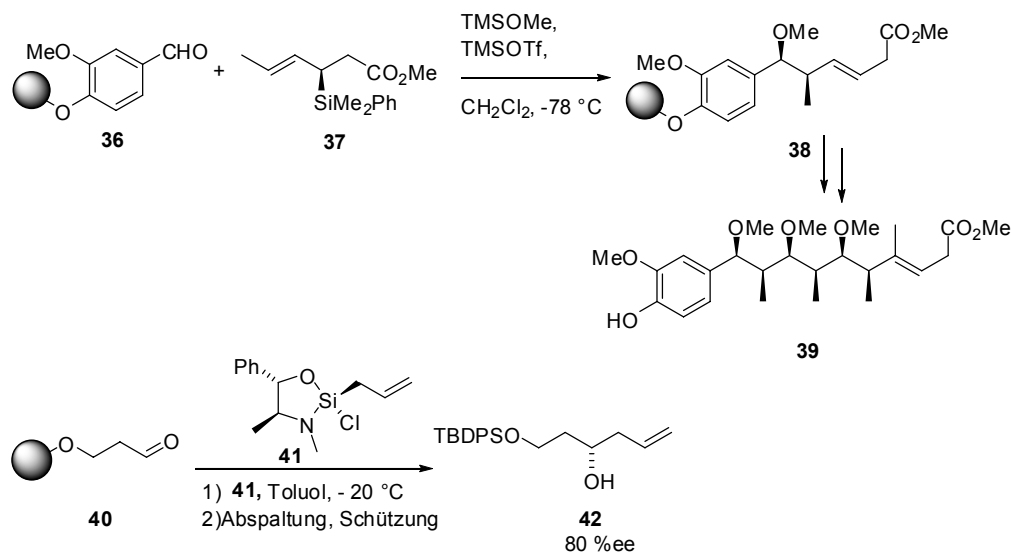
**Schema 3:** Enantioselektive Aldolreaktionen an der festen Phase.

Mit diesen Synthesen konnten lineare, hochfunktionalisierte Moleküle stereoselektiv aufgebaut werden, wodurch naturstoffähnliche Gerüste auch mittels kombinatorischer Methoden zugänglich wurden.

### 1.4.1.2 Allylierungen

Asymmetrische und enantioselektive Allylierungen und Crotylierungen eignen sich ebenfalls zum Aufbau von Stereozentren an der festen Phase. Panek et al. führten die erfolgreiche asymmetrische Crotylierung der immobilisierten Aldehyds **36** mit dem chiralen Silan **37** durch (Schema 4).<sup>[40]</sup> Dabei wurde ein

Selektivität von 30 : 1 zugunsten des *syn*-Produktes **38** erreicht. Zwei weitere Reaktionen dieses Typs konnten angewendet werden, um das Produkt **39** nach insgesamt 9 Stufen am polymeren Träger in 37 % Ausbeute zu erhalten.

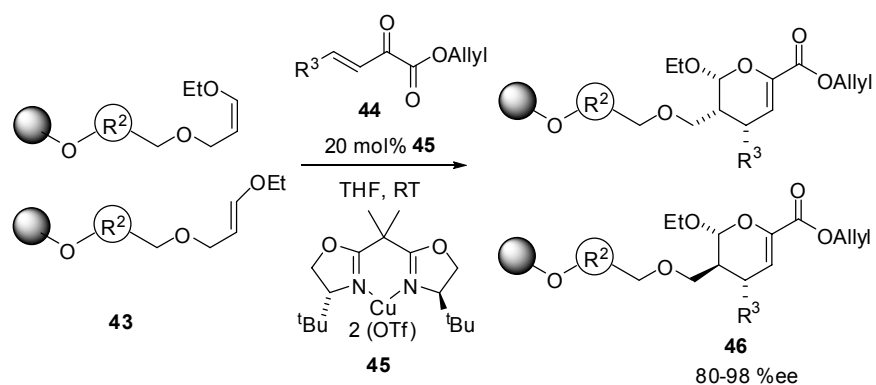


**Schema 4:** Enantioselektive Allylierungen an der festen Phase nach Panek (oben) und Tan (unten).

Kürzlich berichteten Tan et al.<sup>[41]</sup> die enantioselektive Allylierung des immobilisierten Aldehyds **40** (Schema 4) mit dem chiralen Allyl-2-silaoxazolidin **41**<sup>[42]</sup> mit einem Enantiomerenüberschuss von 80 %. Dieser Wert stand im Einklang mit Ergebnissen, die in Lösung erzielt wurden.

### 1.4.1.3 Cycloadditionen

Cycloadditionen gehören zu den wichtigsten Reaktionen in der organischen Chemie, da mit ihrer Hilfe mehrere Bindungen unter Kontrolle der Regio-, Diastereo- und Enantioselektivität gebildet werden. Auch in Studien zur Synthese von Substanzbibliotheken an der festen Phase wurden diese Reaktionen eingesetzt. So berichteten Schreiber et al. von einer enantioselektiven hetero-Diels-Alder-Reaktion mit inversem Elektronenbedarf, die mit Hilfe des Kupfer-Katalysators **45** (Schema 5) durchgeführt wurde.<sup>[43]</sup>



**Schema 5:** Enantioselective Cycloadditionen an der festen Phase.

Nach einigen weiteren Diversifizierungsschritten wurde eine Substanzbibliothek mit über 4000 Mitgliedern erhalten. Bemerkenswerterweise wurden in dieser Arbeit beide Enantiomere des chiralen Liganden eingesetzt, so dass auch die jeweiligen Enantiomerenpaare der Verbindungen in der Bibliothek vorhanden waren und separat untersucht werden konnten.

## 1.5 Chemische Modifizierung von Peptiden und Proteinen

Neben der Entwicklung neuer Synthesestrategien an der festen Phase für Naturstoff-abgeleitete Verbindungsbibliotheken werden im zweiten Teil dieser Arbeit Ansätze zur chemischen Modifikation von Peptiden und Proteinen vorgestellt.

Mit der Entwicklung rekombinanter Techniken hat die Molekularbiologie ein effizientes Werkzeug zur Untersuchung biologischer Abläufe gewonnen. Die Veränderung der für ein Protein kodierenden DNA führt zur Bildung eines gegenüber dem Wildtyp veränderten Transkriptionsproduktes, welches in der Translation zum veränderten Protein abgelesen wird. Auf diese Weise lassen sich Proteine in einzelnen Aminosäuren oder ganzen Sequenzabschnitten manipulieren. Darüber hinaus ist es möglich, DNA aus einem Organismus in einem fremden Wirt zu exprimieren, um so z.B. die Isolierung von Proteinen zu vereinfachen.

Den unbestreitbaren Stärken des Standard-Repertoires rekombinanter Techniken stehen aber auch einige Nachteile gegenüber. So bleibt die Variationsmöglichkeit innerhalb des Proteins auf die natürlichen Aminosäuren begrenzt. Rekombinante Techniken erlauben z.B. nicht den Einbau kleiner Fluoreszenzmarker in ein Protein. Zudem lassen sich nicht alle Proteine in allen Fremdwirten vollständig exprimieren. So fehlt z.B. dem Bakterium *E.coli* die Enzym-Maschinerie für posttranslationale Lipidierungen.

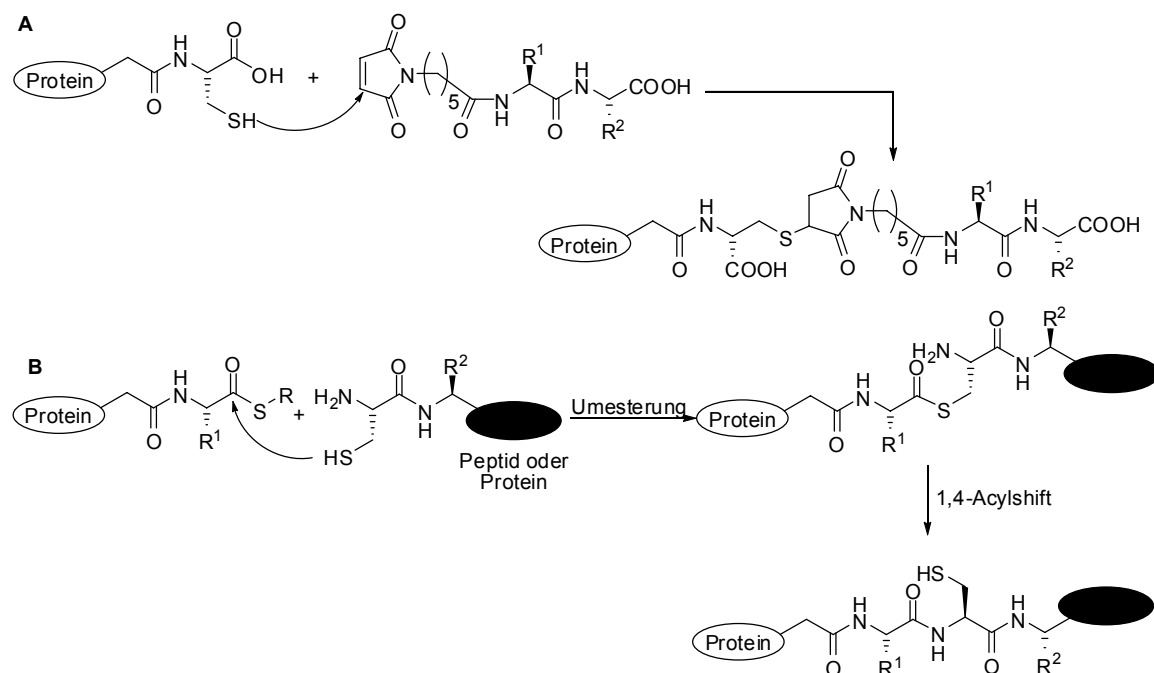
Ein Teilgebiet der chemischen Biologie beschäftigt sich von daher mit nicht-rekombinanten Lösungen der Probleme. Drei Auswege wurden entwickelt:

- 1) Die Entwicklung von *in vitro* und *in vivo* Translationssystemen, die die Einführung nicht-natürlicher Aminosäuren erlauben.<sup>[44]</sup>
- 2) Die Entwicklung von Synthesemethoden, die die Ligation eines chemisch synthetisierten Peptids an ein rekombinant erhaltenes Protein(fragment) ermöglichen. Hier sind exemplarisch die MIC-Ligation<sup>[45]</sup> und die *expressed protein ligation*<sup>[46]</sup> zu nennen.
- 3) Die direkte chemische Modifikation von natürlichen oder unnatürlichen Aminosäuren am Protein.

### 1.5.1 Ligationsmethoden

Bei der *MIC-Ligation* (*maleinimidocaproyic acid*) wird ein Peptid synthetisiert und am N-Terminus mit Maleinimidocaprylsäure acyliert (Abb. 9 **A**). Das Maleinimid fungiert als Michael-Akzeptor für Cystein-Thiole des Proteins. Das entstehender Michael-Addukt erwies sich als stabil genug, um nach Mikroinjektion der semi-synthetischen Proteine zelluläre Studien durchzuführen.<sup>[45]</sup> Ein Nachteil dieser Methode ist die mangelnde Selektivität: Das MIC-markierte Peptid kann an jedem Cystein an der Oberfläche gekuppelt werden.

Die *expressed protein ligation* (EPL) kuppelt einen C-terminalen Thioester und ein N-terminales Cystein zu einer nativen Peptidbindung (Abb. 9 **B**). Dabei findet zunächst ein (energetisch neutraler) Thioester-Transfer statt, bevor ein S→N-Acylshift die thermodynamisch günstigere Peptidbindung erzeugt. Diese Ligationmethode ist chemoselektiv und erfordert keine Schutzgruppen. Mit ihr ist die vollständige chemische Synthese von Proteinen möglich.<sup>[45]</sup>



**Abb. 9:** Ligationsmöglichkeiten an Proteinen. **A** MIC-Ligation; **B** expressed chemical ligation.

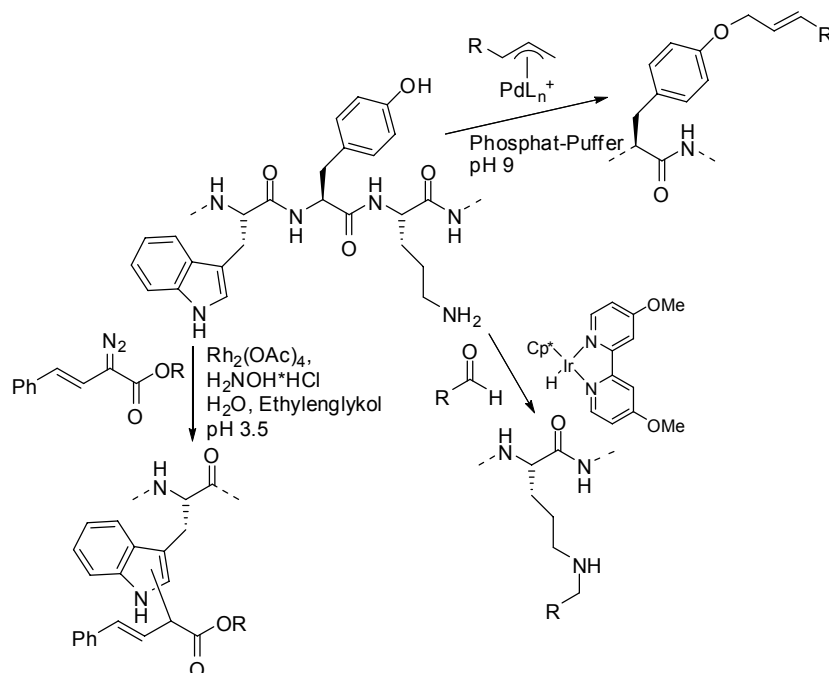
Mit beiden Methoden ist es möglich, vielfältig modifizierte Peptide mit einem Protein zu koppeln.

## 1.5.2 Übergangsmetall-vermittelte Reaktionen an Peptiden und Proteinen

Der große Erfolg der Übergangsmetall-Katalyse in der organischen Synthese einerseits und die Möglichkeit, nicht-natürliche Aminosäuren in Proteine einzubauen andererseits führten zu Überlegungen, ob es möglich ist, Katalyse an Peptiden und Proteinen durchzuführen.

### 1.5.2.1 Modifizierung natürlicher Aminosäuren

Francis et al. gelang es, mittels Übergangsmetallkatalyse verschiedene aminosäurespezifischen Reaktionen an Proteinen durchzuführen (Abb. 10).<sup>[47]</sup> Dabei wurden verschiedene Katalysatoren eingesetzt. Rhodium-katalysierte Carben-Insertion fand selektiv an Tryptophan statt.<sup>[48]</sup> Ein Palladium-Allyl-Komplex wurde in basischem Medium von Tyrosin abgefangen.<sup>[49]</sup> Schließlich gelang die reduktive Aminierung der  $\epsilon$ -Aminogruppen von Lysin mit Hilfe eines Iridium-basierten Katalysators.<sup>[50]</sup>

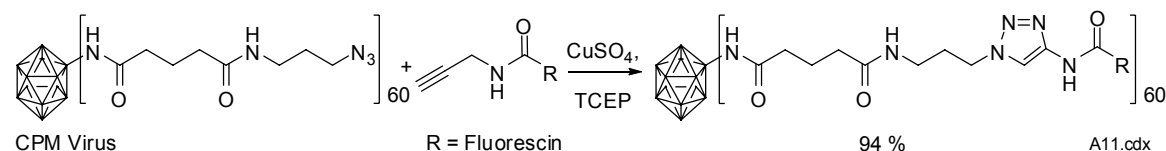


**Abb. 10:** Übergangsmetall-vermittelte Modifikationen an natürlichen Aminosäuren

Alle diese Experimente konnten in wässrigem Medium durchgeführt werden, wenn auch nicht bei physiologischem pH-Wert. Ein weiterer Nachteil ist, dass sich die reagierenden Aminosäuren nicht nach ihrer Position im Protein differenzieren lassen.

### 1.5.2.2 1,3-Cycloadditionen

Die chemoselektive Kupfer-katalysierte 1,3-Cycloaddition von Aziden an Alkine wurde von Fokin et al. an der Oberfläche des Cowpea Mosaic Virus durchgeführt (Abb. 11).<sup>[51]</sup> Der nötige Cu(I)-Katalysator wurde *in situ* durch Reduktion von Kupfersulfat mit Tris(carboxyethyl)phosphin (TCEP) oder Kupferdraht erhalten. Die Reaktion verlief mit hohem Umsatz: alle Oberflächen-Azide wurden funktionalisiert.



**Abb. 11:** 1,3-Cycloadditionen an Proteinen.

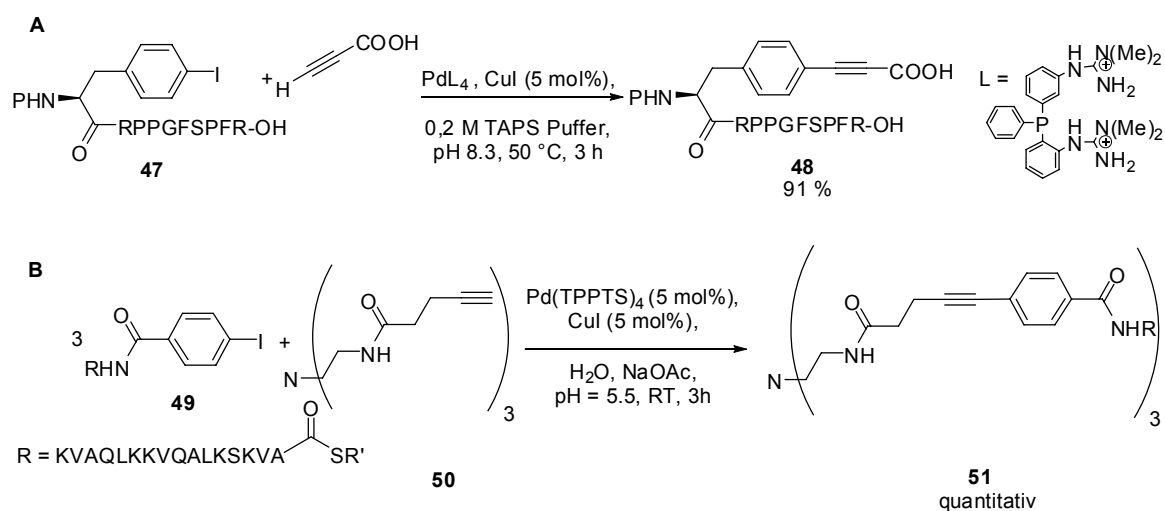
Tirrell et al. konnten diese Reaktion an Proteinen durchführen, die an ihrer Oberfläche ein Azido-Homoalanin präsentieren.<sup>[52]</sup> Da das eingesetzte Alkin mit Biotin markiert war, ließ sich das Cycloaddukt durch Western-Blot nachweisen.

Schließlich konnten Schultz et al. zeigen, dass sich mit einem tRNA/tRNA-Synthetase-Paar sowohl Azido- als auch Alkynylaminosäuren in das Enzym Superoxid-Dismutase I ortsspezifisch einbauen lassen.<sup>[53]</sup> Diese Aminosäuren konnten dann in 1,3-Cycloadditionen eingesetzt werden.

### 1.5.2.3 Kreuzkupplungsreaktionen an Peptiden

Palladium-katalysierte Kreuzkupplungsreaktionen gehören zum Standard-Repertoire der organischen Synthese. In den allermeisten Fällen werden diese Reaktionen in organischen Lösungsmitteln durchgeführt, jedoch sind auch Beispiele in wässriger Lösung bekannt.<sup>[54]</sup> Für den Einsatz solcher Reaktionen im wässrigen Medium an Proteinen dürften die Seitenketten der Aminosäuren nicht an der Reaktion beteiligt sein. Der Einsatz von Aminosäuren mit ungeschützten Seitenketten in Peptide ist in nur wenigen Veröffentlichungen über Palladium-vermittelten Kreuzkupplungsreaktionen dokumentiert:

Schmidtchen et al. berichteten 1998 von Sonogashira-Reaktionen an Peptiden in wässriger Lösung.<sup>[55]</sup> Dabei reichten 5 mol% eines wasserlöslichen Palladium-Katalysators aus, um in einem gepufferten Medium bei pH 8.3 Propinsäure an das modifizierte Bradykinin-Peptid **47** zu kuppeln (Schema 6, **A**)

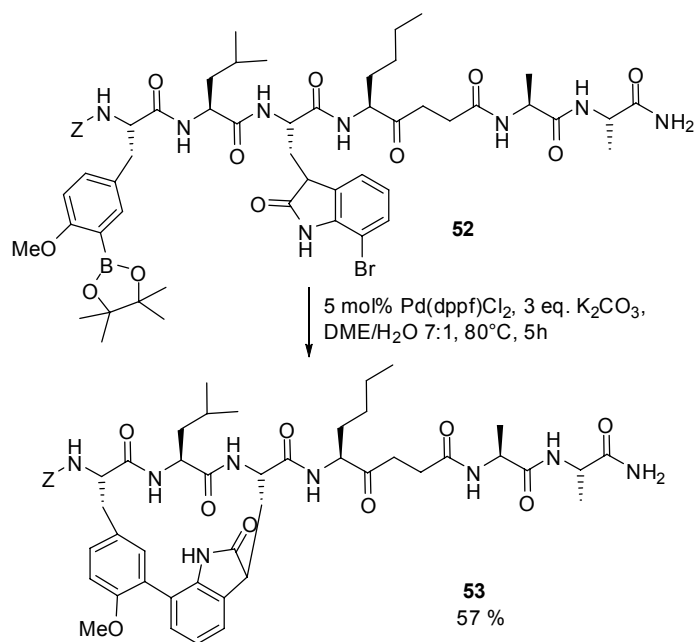


Schema 6: **A** Sonogashira-Reaktion an einem Bradykinin-Derivat. **B** Sonogashira-Reaktion an einem trifunktionellen Amin.

Ghadiri et al. konnten am Amin **50** in einem Schritt alle drei terminalen Alkine an Peptide koppeln, die mit *para*-Iodbenzoesäure aktiviert worden waren (Schema 6, **B**).<sup>[56]</sup> Die Reaktion konnte sowohl unter neutralen als auch unter leicht sauren Bedingungen (pH 5.5) erfolgreich durchgeführt werden und zeigte sich kompatibel mit Thioestern wie in Verbindung **49**. Freie Thiole, Thioether (wie sie in den Seitenketten der Aminosäuren Cystein oder Methionin vorkommen) oder Bipyridine führten jedoch zu verminderten Umsätzen.

Auch die Suzuki-Kupplung konnte an peptidischen Substraten in wässriger Lösung durchgeführt werden (Schema 7). So setzten Moroder et al. die Suzuki-Reaktion intramolekular im Peptid **52** ein, um ein Analogon des Proteasom-Inhibitors TMC95 A zu erhalten.<sup>[57]</sup>





**Schema 7:** Intramolekulare Suzuki-Reaktion an einem peptidischen Substrat.

Zusammengefasst geben diese Arbeiten zu der Hoffnung Anlass, dass sich Übergangsmetall-katalysierte Reaktionen auch an einem vollständigen Protein durchführen lassen.



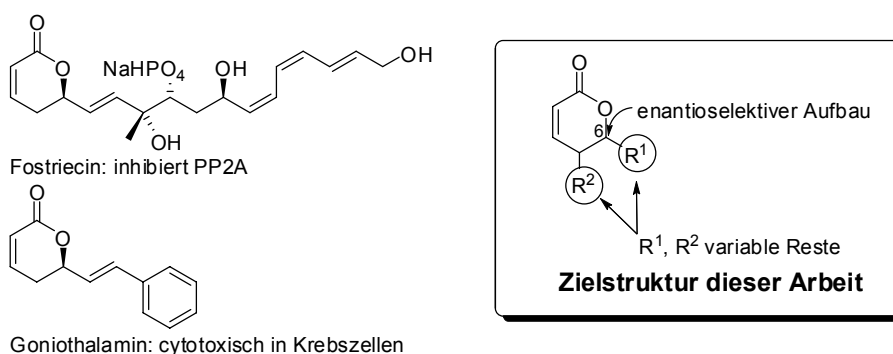
## 2 Ziel der Arbeit

Die Synthese von Naturstoff-abgeleiteten Verbindungs-Bibliotheken ist eine Strategie zur Entdeckung biologisch aktiver Substanzen. Naturstoffe können als prä-validierte Leitstrukturen angesehen werden, weil sie evolutionär auf die Interaktion mit den Liganden-erkennenden Bindungsstellen in Proteindomänen optimiert wurden. Damit sind Naturstoffe Erfolg versprechende Ausgangspunkte für die Synthese von Verbindungsbibliotheken.

$\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Laktone (Abb. 12) stellen eine Gruppe von Naturstoffen mit einem interessanten biologischen Profil dar: Stoffe dieser Klasse sind hochwirksame Inhibitoren der Phosphatase PP2A, sie stören den Aufbau des Mikrotubulin-Gerüsts in der Zelle oder verhindern den Export von Biomolekülen aus dem Zellkern ins Cytoplasma.

Für mehrere Naturstoffe konnte gezeigt werden, dass das ungesättigte Laktone essentiell für die biologische Aktivität ist. Da die Seitenketten dieser Naturstoffe sehr variabel sind, wurde die Grundstruktur dieser Verbindungen als Ausgangspunkt in der Naturstoff-abgeleiteten kombinatorischen Synthese ausgewählt.

In dieser Arbeit sollten Synthesewege entwickelt werden, um  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Laktone auf einem polymeren Träger auf kombinatorische Art zu erhalten. Dabei sollte eine möglichst große Substituentenvariabilität in der Seitenkette erreicht werden.



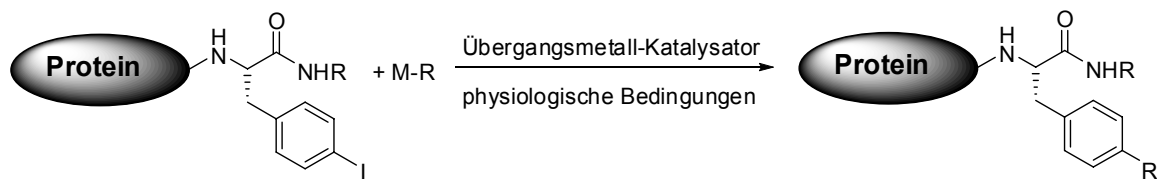
**Abb. 12:** Naturstoffe mit  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen; Zielstruktur dieser Arbeit

Da das zentrale Laktone an Position 6 in der (*R*)- oder (*S*)-Konfiguration vorliegen kann und die Seitenketten der Naturstoffe oft weitere stereogene Zentren besitzen, sollte die Synthese asymmetrisch geführt werden, also zu möglichst

enantiomeren- bzw. diastereomerenreinen Verbindungen führen. Enantio-selektive Reaktionsführungen sind in der Organischen Synthese an der festen Phase –in auffälligem Gegensatz zur Synthese in Lösung – nur in wenigen Fällen dokumentiert.

Die Einführung nicht-natürlicher Funktionalitäten in Proteine – z.B. Fluoreszenzfarbstoffe oder molekulare Anker für die Affinitätschromatographie – bietet vielfältige Möglichkeiten zur Untersuchung von Struktur und Funktion von Proteinen. Mit Hilfe unterschiedlicher Methoden ist es in den letzten Jahren gelungen, unnatürliche Aminosäuren in Proteine einzuführen, die Ausgangspunkt verschiedener nicht-natürlicher chemischer Transformationen sein können.

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob sich Übergangsmetall-katalysierte Reaktionen auch an Proteinen durchführen lassen, wenn diese eine geeignete funktionelle Gruppe tragen (Abb. 13). Typischerweise wäre hier ein halogenierter Aromat eine geeignete Funktionalität.



**Abb. 13:** Übergangsmetallkatalyse an Proteinen

### 3 Spezieller Teil

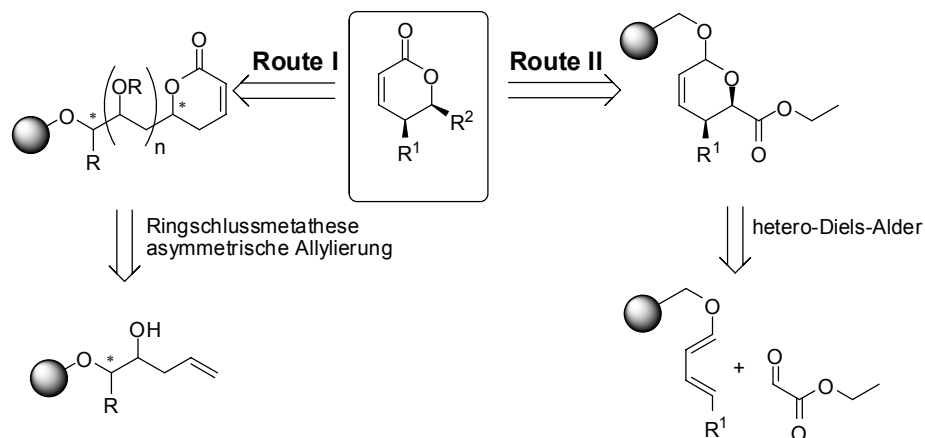
#### 3.1 Synthese von $\alpha,\beta$ -ungesättigten $\delta$ -Laktonen an der festen Phase

##### 3.1.1 Übersicht

Die interessanten biologischen Eigenschaften von Naturstoffen mit  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen als funktioneller Einheit (s. Kap. 1.3) waren der Ausgangspunkt für die Entwicklung von Strategien für die Synthese dieser Verbindungen an der festen Phase.

Dabei sollte die Lakton-Untereinheit unter voller Stereokontrolle, also enantioselektiv synthetisiert werden. Da die  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktone gute Michael-Akzeptor-Eigenschaften aufweisen (hierauf wird u.a. ihre biologische Aktivität zurückgeführt), wurden gezielt solche Wege gesucht, in denen diese reaktive und funktionelle Einheit erst am Ende der Synthesesequenz aufgebaut wurde.

Hierzu wurden zwei Syntheserouten entworfen, die in den folgenden zwei Abschnitten vorgestellt und diskutiert werden (Abb. 14):



**Abb. 14:** Übersicht über die Syntheserouten

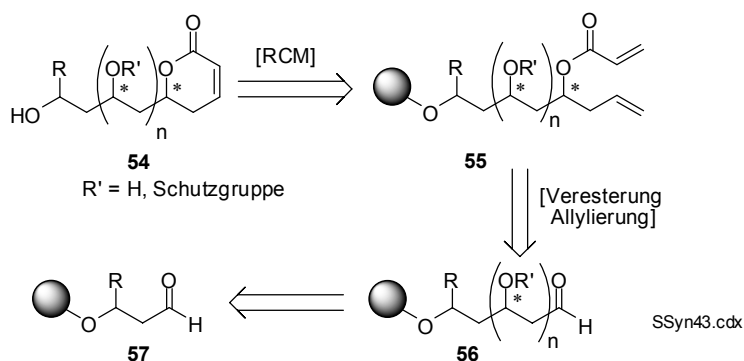
Die *Route I* sieht eine Sequenz von iterativen enantioselektiven Allylierungen an immobilisierten Aldehyden mit abschließender Ringschlussmetathese vor.

*Route II* basiert auf der oxidativen Abspaltung eines immobilisierten Ketals, das durch eine enantioselektive hetero-Diels-Alder-Reaktion gebildet wird.

### 3.1.2 Route I: Enantioselektive Allylierung an der festen Phase mit anschließender Ringschlussmetathese

#### 3.1.2.1 Retrosynthese und Synthesepfad

Der ungesättigte Heterozyklus in der Zielverbindung **54** sollte durch Ringschlussmetathese eines geeigneten immobilisierten Vorläufers erhalten werden (Schema 8).

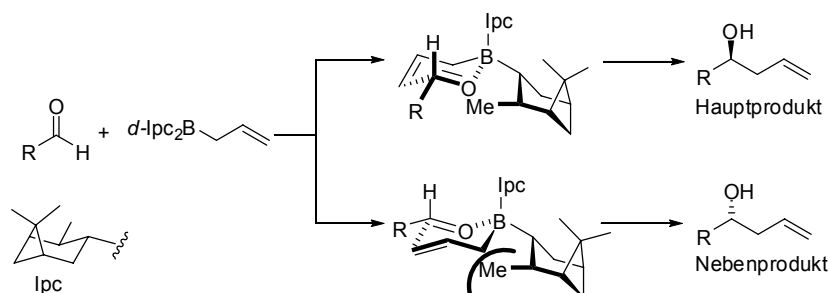


**Schema 8:** Retrosynthese der Zielverbindung **54** nach Route I.

Dies kann ein Acrylsäureester wie **55** mit einem Homoallylalkohol als Alkoholkomponente sein, der wiederum durch enantioselektive Allylierung aus Aldehyd **56** gewonnen werden kann. Aldehyd **56** ist über eine Ozonolyse der terminalen Doppelbindung eines ebenfalls durch enantioselektive Allylierung hergestellten Homoallylalkoholes zugänglich. Letztlich lässt sich die Synthese auf einen immobilisierten Aldehyd **57** als Ausgangsverbindung zurückführen. Auf diese Weise sollte es möglich sein,  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Laktone mit mehrfach oxygenierten Alkylresten als Seitenkette zu erhalten. Gelänge die Einführung der Stereozentren durch asymmetrische Allylierung mit hoher Stereokontrolle, ließen sich Serien von Verbindungen aufbauen, die sich in Anzahl und Konfiguration ihrer Stereozentren unterscheiden. Letzteres wäre besonders interessant, da sich in einem biologischen Assay die verschiedenen Diastereomere einer Verbindung einzeln testen ließen. Solche Diastereomeren-„Bibliotheken“ wurden nur in wenigen Fällen synthetisiert (s. Kap. 1.2.1.1).

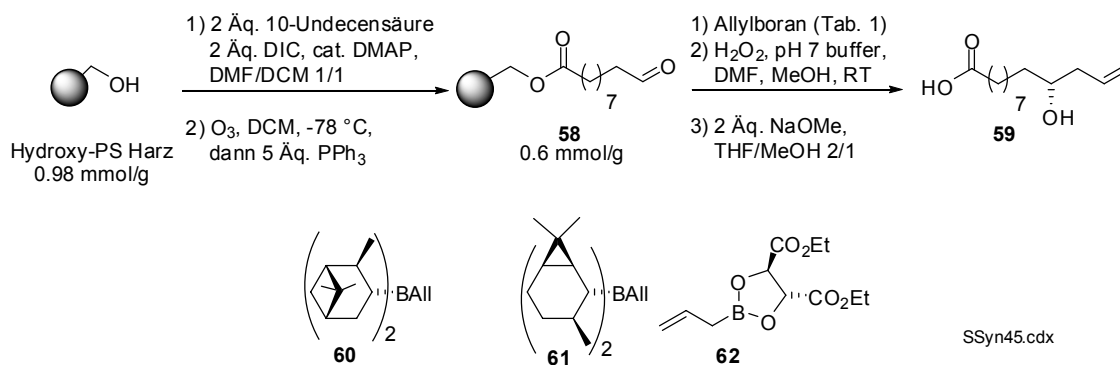
### 3.1.2.2 Vorarbeiten: Enantioselektive Allylierung an fester Phase

Die von Brown entwickelte Verwendung von Terpen-substituierten Allylboranen zur enantioselektiven Allylierung hat sich als effektive und verlässliche Methode in der organischen Synthese etabliert (Abb. 15).<sup>[58]</sup> Die hohen Enantiomerenüberschüsse, die mit dieser Reaktion erzielt werden können, werden mit einem streng geordneten Übergangszustand vom Zimmermann-Traxler-Typ erklärt.<sup>[59]</sup> In diesem sechsgliedrigen cyclischen Übergangszustand ordnet sich der Aldehyd so an, dass der Substituent R eine äquatoriale Position einnimmt. Durch das chirale Auxiliar kann dieser Übergangszustand in zwei diastereomeren, d.h. energetisch nicht entarteten Formen auftreten. Die asymmetrische Induktion resultiert aus der Bevorzugung eines dieser zwei diastereomeren Übergangszustände. Obgleich stöchiometrisch im Reagenz, finden die Brown-Borane bis heute Anwendung in der Synthese komplexer Naturstoffe, da sie – speziell im Fall einer *syn*-gerichteten Addition zum 1,3-Diol – ein hohes Maß an Reagenzkontrolle mitbringen.<sup>[60]</sup>



**Abb. 15:** Mechanismus der asymmetrischen Allylierung nach Brown.

In dieser Arbeit vorausgehenden Studien gelang es Dr. Stefan Sommer und Dr. Victor Mamane, die enantioselektive Allylierung nach Brown auf immobilisierte Aldehyde anzuwenden.<sup>[61]</sup> Eine Übersicht der Arbeiten ist in Tabelle 1 dargestellt. Neben den von Brown entwickelten Terpen-basierten Reagenzien **60** und **61** wurde auch das von Roush entwickelte,<sup>[62]</sup> von Diisopropyltartrat ausgehende Boronat **62** eingesetzt. Mit allen drei Reagenzien konnte das Produkt **59** in 79 % bis 95 % Ausbeute erhalten werden. Das *d*-Diisopinocampheylallylboran **60** (*d*-Ipc<sub>2</sub>BAlI) lieferte hier zwar den niedrigsten Wert, war aber dafür hinsichtlich der asymmetrischen Induktion den anderen Allylboranen überlegen. Mit **60** wurden Enantiomerenüberschüsse von über 90 % erzielt. Deswegen wurden alle weiteren Studien mit den Pinen-abgeleiteten Reagenzien **60** bzw. *ent*-**60** durchgeführt.

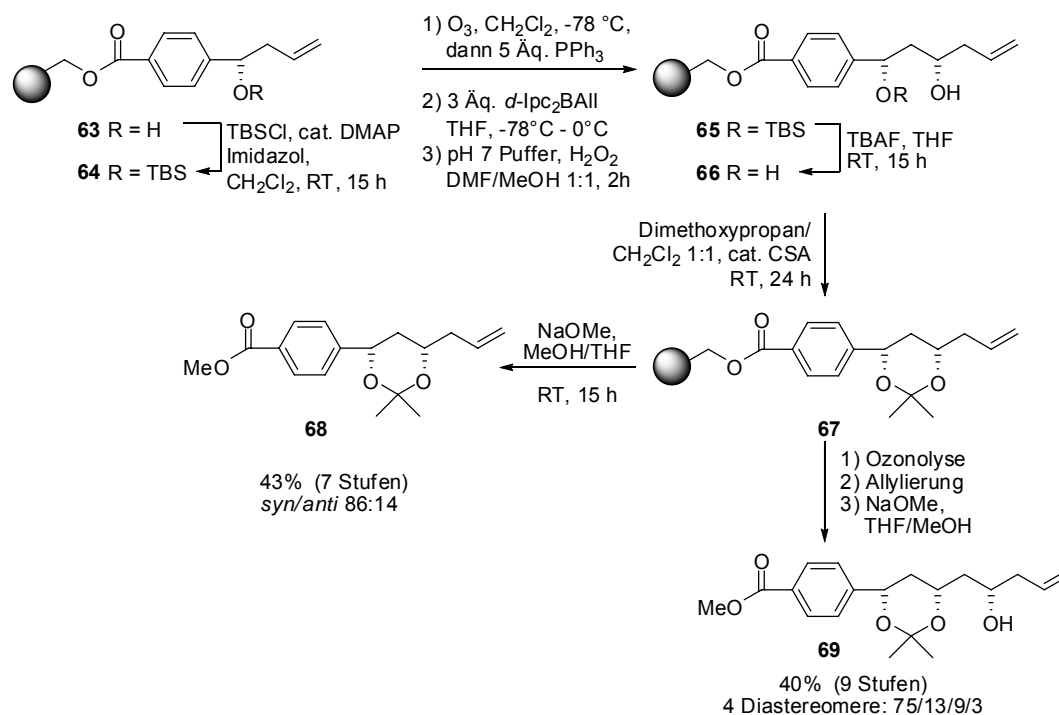


Nr.	Reagenz	Ausbeute <sup>(a)</sup>	Selektivität
1	<b>60</b>	79 %	91 %ee ( <i>R</i> )
2	<b>61</b>	95 %	81 %ee ( <i>S</i> )
3	<b>62</b>	95 %	77 %ee ( <i>R</i> )

**Tabelle 1:** Asymmetrische Allylierung an der festen Phase. <sup>(a)</sup> isolierte Ausbeute

Die weitere Entwicklung des Protokolls zeigte, dass die besten Ergebnisse unter Verwendung des besonders reaktiven (Magnesium-)salzfreien Reagenzes<sup>[58]</sup> erzielt werden können. Um den schlechten Quelleigenschaften von Polystyrol-Harzen in Diethylether, dem bevorzugten Lösungsmittel für diese Reaktion, Rechnung zu tragen, wurde als Lösungsmittel eine Mischung aus THF (beste Quelleigenschaft des Harzes) und Diethylether (höchste Reaktionsgeschwindigkeit des Borans) eingesetzt.<sup>[63]</sup> Unter diesen Bedingungen war bereits eine iterative Anwendung der Allylierung mit hohen Ausbeuten, großer Reinheit der Produkte und hohen Diastereoselektivitäten möglich (Schema 9).





**Schema 9:** Asymmetrische Allylierung am Polystyrol-Harz mit Abspaltung unter basischen Bedingungen.

Als Vorteil der enantioselektiven Allylierung von Aldehyden an der festen Phase stellte sich heraus, dass sowohl das nach der reduktiven Aufarbeitung der Ozonolyse anfallende Triphenylphosphinoxid, als auch das nach der oxidativen Aufarbeitung der asymmetrischen Allylierung entstehende Pinol sehr bequem abgetrennt werden konnten: mehrfaches Waschen des Trägerpolymers ersetzte aufwendige chromatographische Trennungen.

Zusammenfassend wurde in diesen Experimenten gezeigt, dass die Brownschen Allylborane mit Transformationen an immobilisierten Aldehyden kompatibel sind. Auch versprach die Anwendung mehrerer Zyklen von Ozonolyse und Allylierung hohe Selektivität, zumindest für den ausschließlich untersuchten *syn*-Fall.

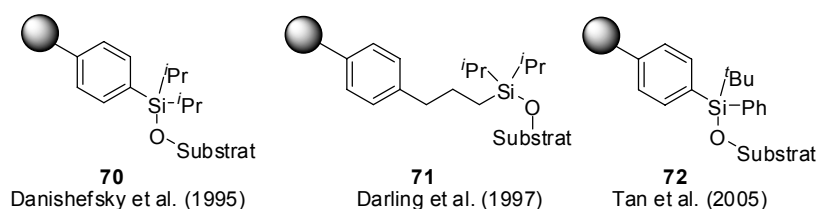
Jedoch konnte die oben gezeigte Strategie nicht für die Synthese der Zielstrukturen angewendet werden.  $\alpha,\beta$ -ungesättigte- $\delta$ -Laktone sind nicht beständig gegenüber den basisch-nukleophilen Abspaltungsbedingungen, wie sie in den hier beschriebenen Experimenten angewendet wurden. Die Synthese von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen musste also an einem anderen Trägerpolymer durchgeführt werden, von welchem die Substrate unter anderen Bedingungen abgelöst werden können.

Zudem lagen zu Beginn dieser Arbeit nur rudimentäre Kenntnisse über die Ringschlussmetathese zu elektronenarmen Olefinen an der festen Phase vor, so dass eine detaillierte Untersuchung notwendig war.

Schließlich musste bei der Synthese ein Augenmerk auf die Selektivität jedes einzelnen Allylierungsschrittes gelegt werden, um nach der finalen Abspaltung vom Harz ein diastereomerenangereichertes Produkt zu erhalten, das von seinen Isomeren getrennt werden konnte.

### 3.1.2.3 Wahl des Linkers für die Synthese an der festen Phase

Für die organische Synthese an der festen Phase muss ein Substrat auf eine Weise an einem polymeren Träger gebunden sein, die (a) gegenüber den beabsichtigten Reaktionsbedingungen inert ist und (b) eine zersetzungsfreie Abspaltung des Produktes ermöglicht. Die Bindung an den polymeren Träger kann dabei verschiedene funktionelle Gruppen des Substrates ausnutzen. Eine Möglichkeit ist die Immobilisierung des Substrates über eine Hydroxylgruppe. Analog zu den vielfältigen Silizium-basierten Schutzgruppen sind eine Reihe von Silyl-Linkern<sup>[64]</sup> bekannt (Abb. 16). Diese sind – ebenso wie ihre Schutzgruppen-Analoga – hinsichtlich ihrer chemischen Stabilität differenziert. Die Phenyl-diisopropylsilyl-Variante **70** zeichnet sich durch ihre chemische Stabilität aus. Der Linker **71**, der durch Hydrosilylierung eines terminalen Alkens hergestellt werden kann, wurde von Schreiber et al. in einer Reihe von Bibliothekssynthesen angewendet<sup>[43;65]</sup> und ist im kommerziell erhältlichen „Macrobead“-System zu finden.<sup>[66]</sup>



**Abb. 16:** Silyl-Linker für die organische Synthese an der festen Phase.

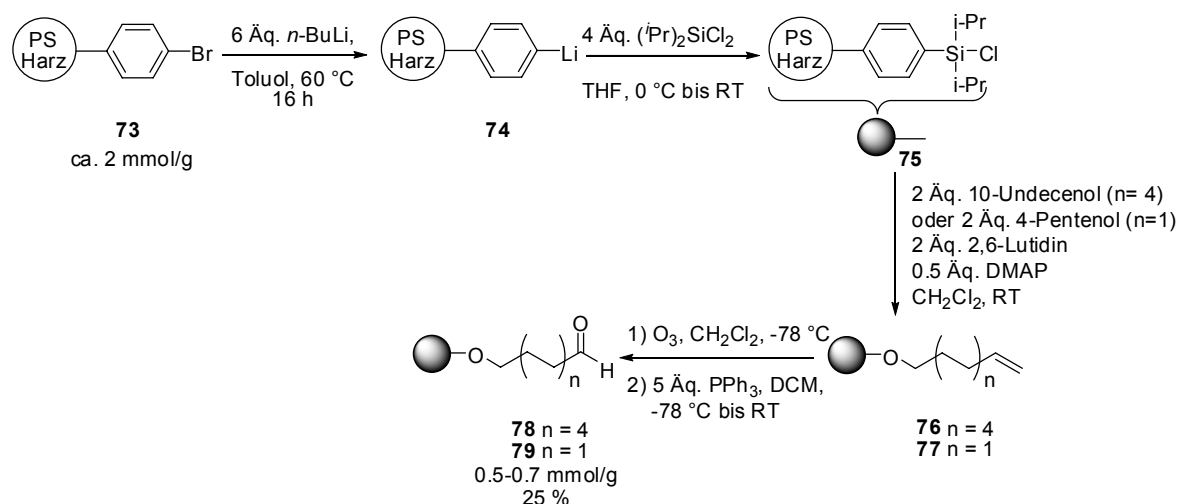
Angesichts der in diesem Projekt geforderten Eigenschaften – Stabilität unter oxidativen Bedingungen und Abspaltung des Substrates unter nicht-basischen Bedingungen – bot sich der Einsatz eines Silyl-Linkers für die Immobilisierung der Substrate am polymeren Träger an. Durch den Einsatz von Silyl-Schutzgruppen für weitere, im Laufe der Synthese gebildete Alkohole wäre es außerdem

möglich, nach der Abspaltung in nur einem chromatographischen Aufarbeitungsschritt zu den (vollständig geschützten) Endprodukten zu kommen.

### 3.1.2.4 Synthese immobilisierter Aldehyde

Um die gewünschte Reaktionssequenz an der festen Phase zu etablieren, wurde zunächst ein Modellsystem entwickelt. Dazu wurde 10-Undecen-1-ol über einen Silyl-Linker an ein Polystyrol-Harz gebunden.

An kommerziellem Brom-PS-Harz **73** wurde durch Einsatz von 6 Äq. *n*-Butyllithium ein Lithium-Halogen austausch durchgeführt (Schema 10).<sup>[64]</sup> Der große Überschuss an Lithium-Reagenz, die lange Reaktionszeit und die hohe Reaktionstemperatur (14 h bei 60 °C) sorgten für einen deutlich sichtbaren Umsatz: Am Ende dieses Schrittes lag ein dunkelrotes bis tiefschwarzes Harz vor, das unter Hitzeentwicklung mit Diisopropyldichlorsilan reagierte. Das auf diese Weise entstandene immobilisierte Silylchlorid **75** ist hydrolyseempfindlich<sup>[67]</sup> und wurde deswegen *in situ* mit 10-Undecenol oder 4-Pentenol umgesetzt. Eine Beladungsbestimmung wurde mit den terminalen Olefinen **76** und **77** nicht durchgeführt. Dies war erst auf der Stufe der Aldehyde **78** und **79** möglich, die durch Ozonolyse erhalten wurden.



**Schema 10:** Synthese von immobilisierten Aldehyden

Die oxidative Spaltung der terminalen Doppelbindung mit Ozon ist eine Reaktion, die an immobilisierten Substraten sehr einfach durchgeführt werden kann. Das Reagenz – Ozon - liegt im Überschuss vor, ist hochreaktiv und kann schnell wieder mit Argon verdrängt werden. Ist das Lösungsmittel mit Ozon gesättigt, was

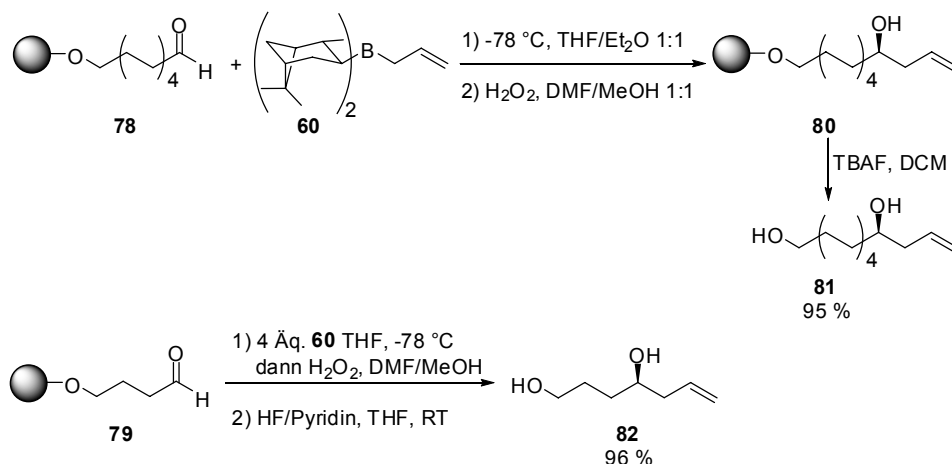
durch das Auftreten einer blauen Farbe angezeigt wird, wird das Substrat innerhalb weniger Minuten vollständig umgesetzt. Für die reduktive Aufarbeitung zum Aldehyd kann Triphenylphosphin in großem Überschuss eingesetzt werden. Überschüssiges Reagenz wird durch mehrfaches Waschen des Harzes vollständig entfernt.

Qualitativ konnten die Aldehyde **78** und **79** durch eine charakteristische Bande im FT-IR-Spektrum bei  $1726\text{ cm}^{-1}$  nachgewiesen werden. Darüber hinaus war es möglich, die Beladung des Harzes mit dem FmPH-Reagenz<sup>[68]</sup> zu quantifizieren, sie betrug 0.5-0.7 mmol/g. Damit betrug die Ausbeute dieser zwei Stufen, bezogen auf die vom Hersteller des Harzes **73** angegebene Bromid-Beladung (ca. 2.6 mmol/g) nur 25 %. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass Wasser-Rückstände die empfindliche lithiierte Spezies protonierten.

Da es sich im Folgenden aber heraus stellte, dass die immobilisierten Produkte in großer Reinheit vom Harz abgespalten werden konnten, wurde die recht niedrige Beladung akzeptiert.

### 3.1.2.5 Enantioselektive Allylierung

Mit dem immobilisierten Aldehyd **78** wurde die enantioselektive Allylierung gemäß dem oben beschriebenen Protokoll durchgeführt (Schema 11). Dazu wurde bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit 6 Äq. des vom (+)- $\alpha$ -Pinen abgeleiteten *d*-Diisopinocampheylallylborans **60** versetzt und über Nacht zur Reaktion gebracht. Die anschließende oxidative Aufarbeitung zum immobilisierten Homoallylalkohol **80** wurde mit wässriger Wasserstoffperoxid-Lösung in einem neutral-gepufferten Medium durchgeführt. Nach Abspaltung des Reaktionsproduktes und kurzer chromatographischer Aufreinigung wurde der Homoallylalkohol in 95 % Ausbeute erhalten.



**Schema 11:** Enantioselektive Allylierung der immobilisierten Aldehyde **78** und **79**.

Analog dazu wurde der Aldehyd **79** mit kürzerer Methylenkette in der enantioselektiven Allylierung umgesetzt (Schema 11). Nach Abspaltung mit Fluorwasserstoff (s. unten) wurde das Diol **82** nach chromatographischer Aufreinigung in 96 % isolierter Ausbeute gewonnen.

Die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von **82** wurde erst auf einer späteren Stufe der Synthese vorgenommen.

Im Verlauf der Arbeit konnten einige Parameter für die erfolgreiche Durchführung der enantioselektiven Allylierung gefunden werden. Wie sich herausstellte, war das Gelingen der Reaktion maßgeblich vom Reagenz **60** abhängig:

- Das Reagenz **60** musste - am besten ausgehend von (+)-Diisopinocampheylmethoxyboran - nach einem Protokoll von Brown „salzfrei“ hergestellt werden, d.h. von den ausfallenden Mg-Salzen extrahiert werden. Brown et al. berichten eine drastisch gesteigerte Reaktivität der Allylborane nach einer solchen Zubereitung, die bei Aldehyden in Lösung selbst bei  $-100 \text{ }^\circ\text{C}$  innerhalb von kürzester Zeit (Sekunden bis Minuten, gegenüber Stunden im Falle salzhaltiger Protokolle) abreagieren.<sup>[58]</sup> Als Erklärung wird für „salzhaltige“ Protokolle die Koordination eines Methoxid-Restes an das Bor-Atom vermutet, welches die Reaktivität des Allylborans herabsetzt.
- Das Reagenz **60** konnte nur über begrenzte Zeit gelagert werden: es war nach der Herstellung ca. eine Woche als Lösung in Diethylether bei  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  stabil.

- Der Umsatz und die Enantioselektivität hingen von der Qualität des Reagenzes **60** ab. Diese wiederum wurde entscheidend durch den Zustand des (gekauften) Diisopinocampheylmethoxyborans bestimmt. Die höchsten Selektivitäten wurden mit Allylboranen erzielt, die aus festem Diisopinocampheylmethoxyboran synthetisiert worden waren.

### 3.1.2.6 Variation der Abspaltungsbedingungen

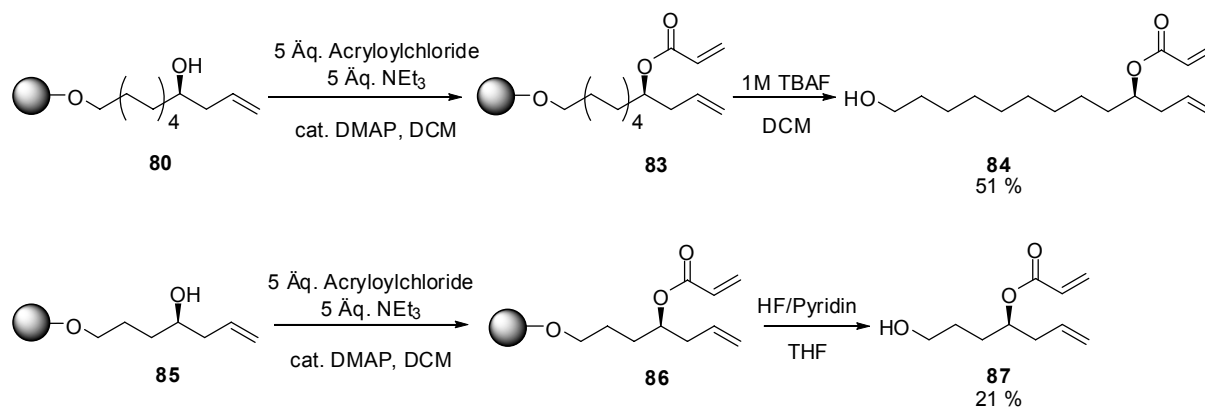
Die Abspaltung der Substrate vom Trägerpolymer wurde zunächst mit 1M TBAF-Lösung in DCM durchgeführt (Schema 11).<sup>[69]</sup> Der bequemen Handhabung dieses Reagenzes standen allerdings Schwierigkeiten bei der Aufarbeitung des Rohproduktes nach Freisetzung vom Trägerpolymer gegenüber: Da das Tetrabutylammonium-Ion als ein gutes Phasentransfer-Reagenz fungiert, war seine Entfernung aus der organischen Phase durch wässrige Extraktion nicht vollständig möglich. Da zur Abspaltung vom polymeren Träger ein Überschuss an TBAF eingesetzt wurde, fiel diese Eigenschaft stark ins Gewicht. Gerade bei Testabspaltungen im analytischen Maßstab war die chromatographische Trennung der Reaktionsprodukte von TBAF problematisch.

Aus diesem Grund wurde ein alternatives Reagenz zur Abspaltung getestet. Die von Schreiber et al.<sup>[65]</sup> beschriebene Verwendung von Pyridin-gepuffertem Fluorwasserstoff erwies sich als guter Ausweg. Hier konnte der Überschuss an Reagenz durch Quenchen mit Trimethylmethoxysilan (TMSOMe) in flüchtiges Trimethylsilylfluorid überführt werden, das am Hochvakuum entfernt wurde. Dabei war es wichtig, einen ausreichend großen Überschuss einzusetzen. Eine zu geringe Menge an Abspaltungsreagenz führte zum Auftreten von Pyridiniumsalzen, welche die Bestimmung der Ausbeute erschwerten. Erfahrungsgemäß traten bei Einsatz von ca. 10 Äq. TMSOMe keine Pyridinium-Salze mehr auf.

### 3.1.2.7 Entwicklung der Ringschlussmetathese

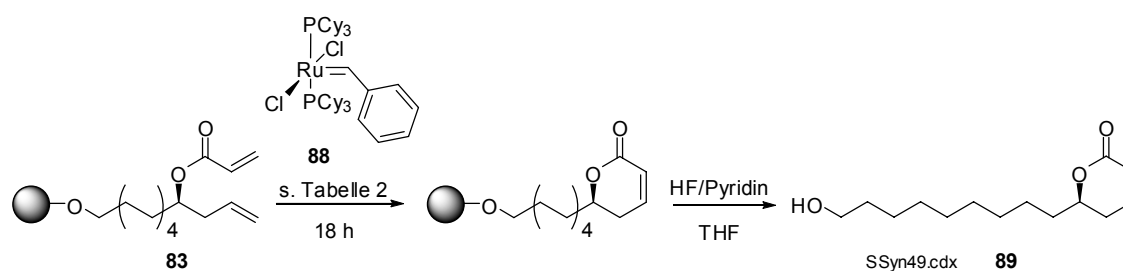
Die Vorläufermoleküle für die Ringschlussmetathese wurden durch Umsetzung der Homoallylalkohole **80** und **85** mit Acrylsäurechlorid synthetisiert (Schema 12). Bei Einsatz von 5 Äq. Acrylsäurechlorid, 5 Äq. Triethylamin und katalytischen

Mengen DMAP konnte im FT-IR-Spektrum das Verschwinden der OH-Bande ( $\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ ) beobachtet werden. Testabspaltungen zu den entsprechenden Acrylsäureestern **84** und **87** belegten außerdem die erfolgte Veresterung.



**Schema 12:** Synthese der Vorläufer zur Ringschlussmetathese.

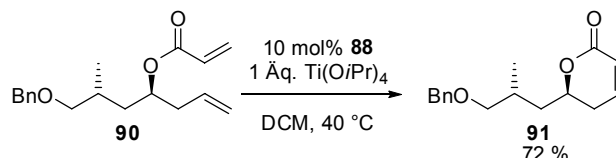
Damit war der Weg zur Untersuchung der Ringschlussmetathese zum ungesättigten  $\delta$ -Lakton (Tabelle 2) frei. Der langkettige Ester **83** wurde mit 30-45 mol% des Grubbs-Katalysators der 1. Generation **88** versetzt (Einträge 1, 2). Trotz langer Reaktionszeit (17-24 h gegenüber 2 h vergleichbarer Substrate in Lösung<sup>[23]</sup>) konnte das gewünschte Produkt **89** nach Abspaltung vom Harz nicht detektiert werden. Auch der Wechsel des Lösungsmittels zu Dichlorethan, um eine Erhöhung der Reaktionstemperatur zu erreichen, brachte keinen Erfolg (Eintrag 4).



Nr.	Katalysator	Lösungsmittel	Ausbeute <sup>(a)</sup>
1	30 mol% <b>88</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 %
2	45 mol% <b>88</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 %
3	45 mol% <b>88</b>	DCE	0 %
5	50 mol% <b>88</b> + 1Äq. Ti(O <sup>i</sup> Pr) <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	7 -9%

**Tabelle 2:** Entwicklung der Ringschlussmetathese am Acrylat **83**. <sup>(a)</sup> isolierte Ausbeute

Im Rahmen einer Synthese des Naturstoffes Laulimalid berichten Ghosh et al. über einen erfolgreichen Ringschluss zum  $\delta$ -Lakton **91** (Schema 13):<sup>[70]</sup> Durch Zugabe von 30 mol% Titan-tetraisopropoxyolat gelang es, die offenkettige Verbindung **90** zu schließen. Nach Fürstner<sup>[71]</sup> ist die Beschleunigung der Ringschlussmetathese dadurch zu erklären, dass die potentielle Koordination des Ruthenium-Katalysators an die Ester-Gruppe durch eine konkurrierende Chelatisierung des Titan(IV)-Ions verhindert wird.

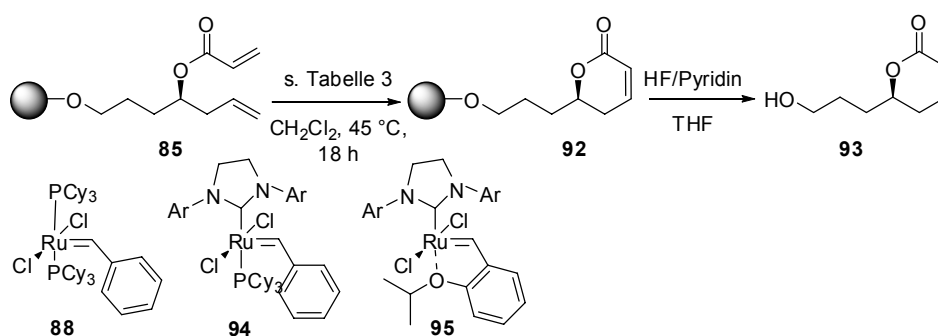


**Schema 13:** Einsatz von  $\text{Ti(OiPr)}_4$  in der RCM<sup>[70]</sup>

Die Zugabe von einem Äquivalent Titan-tetraisopropoxyolat führte auch im Fall des immobilisierten Acrylats **83** zum erfolgreichen Ringschluss (Tabelle 2, Eintrag 5): Das Produkt **89** konnte in 7-9 % Gesamtausbeute erhalten werden. Durch den Einsatz zweier Metalle im letzten Schritt gestaltete sich aber auch die finale Aufreinigung des Produktes **89** schwierig: Wie an der leicht bräunlichen Farbe zu erkennen war, enthielt es nach der Abspaltung noch Spuren des Katalysators. Erst nach mehrfacher chromatographischer Aufreinigung an Kieselgel und durch präparative HPLC konnte das Produkt **89** analysenrein als farbloses Öl isoliert werden.

Der Ester **85** konnte ebenfalls nach dieser Methode cyclisiert werden (Tabelle 3). Auch hier wurde neben der chromatographischen Aufreinigung an Kieselgel eine Trennung des cyclisierten Produktes **93** durch präparative HPLC durchgeführt, um Katalysatorrückstände zu entfernen. Auch die enantiomere Verbindung **ent-93** wurde auf diese Weise erhalten.





Nr.	Katalysator	Ausbeute	Anmerkung
1	50 mol% <b>88</b> + 1 Äq. Ti(O <sup>i</sup> Pr) <sub>4</sub>	9 %	
2	50 mol% <b>88</b> + 1 Äq. Ti(O <sup>i</sup> Pr) <sub>4</sub>	5 %	(S)-Enantiomer <b>ent-93</b>
3	40 mol% <b>95</b>	12 %	

**Tabelle 3:** Ringschlussmetathese des Acrylesters **85**

Im Zuge der rasanten Entwicklung der Ringschlussmetathese von einer industriell genutzten „black box“-Reaktion hin zur präparativen Methode mit definierten Katalysatorsystemen<sup>[72-74]</sup> wurden weitere Ruthenium-Carben-Komplexe entwickelt und kommerziell vermarktet, die dem Grubbs-Katalysator der ersten Generation **88** in ihrer Aktivität an vielen Substraten überlegen sind. Diese Katalysatoren **94** und **95** sind durch ihren gemeinsamen N-heterocyclischen Carben-Liganden (NHC) charakterisiert. Dieser zeichnet sich durch spezielle elektronische Eigenschaften aus: Der Ligand fungiert praktisch ausschließlich als  $\sigma$ -Donor, die  $\pi$ -Rückbindung ist schwächer als bei jedem Phosphin.<sup>[75]</sup> Als Erklärung für die erhöhte Reaktivität dieser Katalysatoren wird eine vereinfachte Dissoziation des zum NHC *trans*-ständigen Liganden<sup>[76]</sup> oder die elektronische und sterische Stabilisierung einer aktiven Carben-Konformation angenommen.<sup>[77]</sup> Der Katalysator **95** bietet außerdem den Vorteil großer Stabilität an Luft.<sup>[78]</sup> Mit dem Katalysator **95** konnte die RCM an der festen Phase auch ohne den Zusatz von Additiven durchgeführt werden (Tabelle 3, Eintrag 3). Nach Abspaltung vom Harz lagen Rohprodukte vor, die in den weiteren Aufarbeitungsschritten leichter zu handhaben waren. Aus diesem Grund wurde der Katalysator **95** im weiteren Verlauf dieser Arbeit gegenüber dem Grubbs-Katalysator der ersten Generation (**88**) bevorzugt eingesetzt. In parallelen Arbeiten, die von Dr. Ana García und

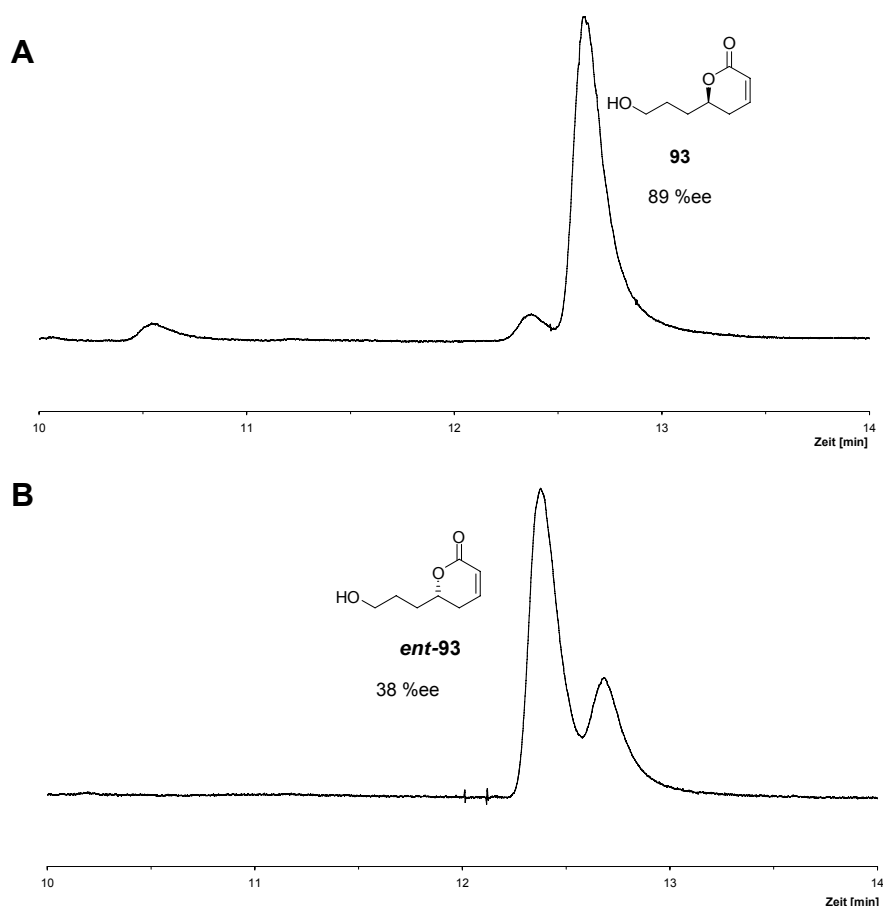
Dr. Jayant D. Umayre verfolgt wurden, bewährte sich auch der Katalysator **94** (s. Kap. 3.1.2.14).

Auffallend war jedoch, dass auch im Falle der aktiveren Katalysatoren **94** und **95** eine hohe Katalysatorladung nötig war. Beim Einsatz von weniger als 40 mol% konnte kein vollständiger Umsatz erzielt werden. Zudem blieb die Abtrennung des Katalysators vom Endprodukt problematisch.

### 3.1.2.8 Bestimmung des Enantiomerenüberschusses in Lakton **93**

Nach vollzogenem Ringschluss gelang es, den Enantiomerenüberschuss der Verbindung **93** zu bestimmen. Die gaschromatographische Analyse der aufgereinigten Verbindung **93** auf einer chiralen Lipodex E Säule (Abb. 17, **A**) zeigte ein Enantiomerenverhältnis von 94.5 : 5.5 (89 %ee). Aufgrund der Annahme, dass die Allylierung an einem immobilisierten Aldehyd den gleichen stereochemischen Verlauf hat wie in Lösung, wurde als absolute Konfiguration des Hauptproduktes die abgebildete (*R*)-Konfiguration angenommen. Diese Annahme wurde später bestätigt (s. Kap. 3.1.2.15.2). Der erreichte Wert von 89 %ee bestätigte die Ergebnisse, die bereits früher an immobilisierten Aldehyden erzielt worden waren.

Die Verwendung von *t*-Ipc<sub>2</sub>BAI führte zur Anreicherung von **ent-93** (Abb. 17, **B**), wenn auch mit geringerer Selektivität (Enantiomerenverhältnis 31 : 69, 38 %ee). Die niedrigere Selektivität ist vermutlich auf eine schlechtere Qualität des bei der Allylierung eingesetzten Borans **ent-60** zurückzuführen.



**Abb. 17:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm der Verbindungen **93** und **ent-93** auf einer chiralen Lipodex E-Säule.

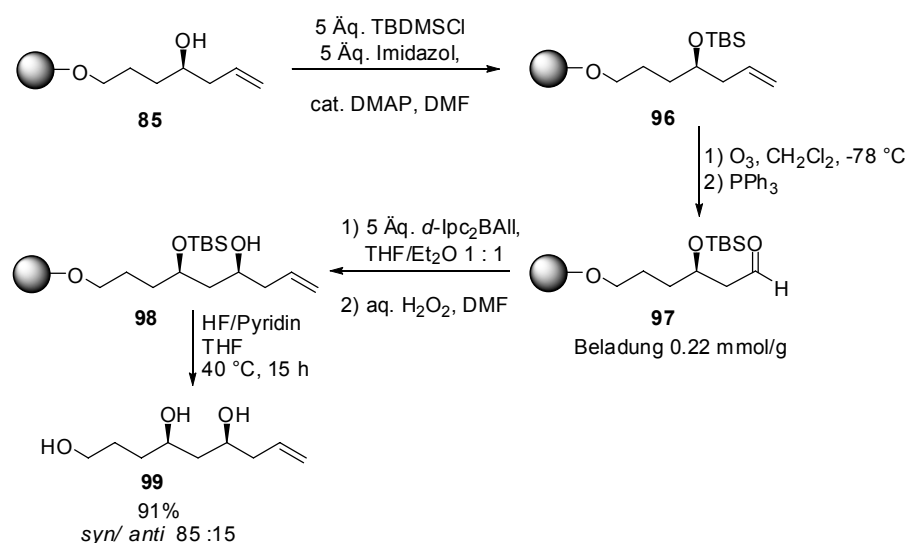
Mit der erfolgreichen Ringschlussmetathese zu den Verbindungen **89**, **93** und **ent-93** waren alle einzelnen Stufen für eine iterative, kombinatorisch-stereodifferenzierende Syntheseführung entwickelt und konnten damit angewendet werden.

### 3.1.2.9 Mehrfache Allylierung, Schutzgruppen

Der Homoallylalkohol **85** (Schema 14) wurde im Weiteren als Ausgangspunkt genutzt, um eine iterative Synthesesequenz zu entwickeln. Vor der Transformation der terminalen Doppelbindung durch Ozonolyse zur Regenerierung einer Aldehyd-Funktionalität wurde die Hydroxygruppe des Homoallylalkohols geschützt. Um wie geplant das Endprodukt der Sequenz gleichzeitig entschützen und vom polymeren Träger abspalten zu können, wurde die *tert.*-Butyldimethylsilylschutzgruppe<sup>[79]</sup> gewählt. Die Schützung mit 5 Äq. TBS-

Chlorid in DMF (Schema 14) konnte am Homoallylkohol **85** durch das Verschwinden der OH-Bande bei  $3600\text{ cm}^{-1}$  im FT-IR-Spektrum verfolgt werden.

Damit konnte ein neuer Zyklus von Ozonolyse, Allylierung und RCM begonnen werden (Schema 14). Die Reaktionssequenz wurde erneut mittels FT-IR-Spektroskopie verfolgt. Nach der Ozonolyse trat die Carbonylbande um  $1729\text{ cm}^{-1}$  wieder auf. Die Bestimmung der Beladung nach der FmPH-Methode<sup>[68]</sup> lieferte ein deutlich geringeres Ergebnis als zuvor: es wurden nur noch  $0.22\text{ mmol/g}$  erreicht.



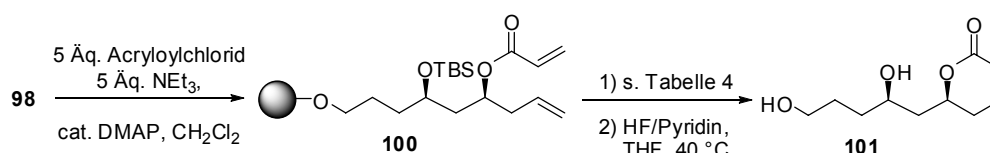
**Schema 14:** Zweifache Allylierung an der festen Phase.

Das Produkt **98** der *syn*-dirigierten Allylierung mit *d*-Ipc<sub>2</sub>BAll konnte in einer Testabspaltung in 91 % Ausbeute (bezogen auf den Aldehyd **97**) nachgewiesen werden. Wie sich dabei herausstellte, reichten die bisher angewendeten Bedingungen für die Abspaltung des Substrates vom Harz nicht aus. Wie die GC-MS-Analyse zeigte, lag nach achtstündiger Reaktionszeit mit Fluorwasserstoff bei Raumtemperatur ein Gemisch aus vollständig entschütztem und TBS-geschütztem Produkt vor. Um die gleichzeitige Entschützung und Abspaltung zum Triol **99** zu erreichen, wurde das Harz über Nacht bei  $40^\circ\text{C}$  mit Fluorwasserstoff behandelt. Unter diesen Bedingungen wurde die TBS-Gruppe vollständig entfernt.

Das Diastereomenverhältnis konnte durch gaschromatographische Analyse des persilylierten TMS-Derivats von **99** bestimmt werden. Im Rohprodukt wurde ein *syn:anti*-Verhältnis von 85 : 15 festgestellt.

Der Homoallylalkohol **98** wurde in der beschriebenen Weise in den Acrylester **100** überführt (s. Tabelle 4).

Bei der nun anstehenden RCM konnte mit dem Grubbs I Katalysator **88** unter Zugabe von Titan-tetraisopropoxylat kein Produkt isoliert werden (Tabelle 4, Eintrag 1, 2). Möglicherweise war durch die bis hierhin achtstufige Synthese nur noch wenig **100** auf dem Harz immobilisiert, so dass die geringen Produktmengen nicht mehr aus dem zähen Rohprodukt isoliert werden konnten. Abhilfe schuf hier die Verwendung von RCM-Katalysatoren der zweiten Generation **94** und **95** (Tabelle 4, Eintrag 3, 4), deren Verwendung das gewünschte Produkt **101** lieferte. Das nach Abspaltung erhaltene Rohprodukt wurde direkt mittels präparativer HPLC aufgereinigt, eine Trennung der Diastereomere konnte jedoch nicht erreicht werden.



Nr.	Katalysator	Lösungsmittel/ Bedingungen	Ausbeute <sup>(a)</sup>	Bemerkung
1	40 mol% <b>88</b> , 1 Äq. Ti(O <sup>i</sup> Pr) <sub>4</sub>	DCM, 22 h	0 %	
2	40 mol% <b>88</b> , 1 Äq. Ti(O <sup>i</sup> Pr) <sub>4</sub>	Toluol, 19 h	0 %	
3	45 mol% <b>94</b>	DCM, 18 h	24 %	Umsatz unvollständig
4	40 mol% <b>95</b>	DCM, 24 h	19 %	Umsatz vollständig

**Tabelle 4:** Synthese des *syn*-Diols **101**. <sup>(a)</sup> isolierte Ausbeute

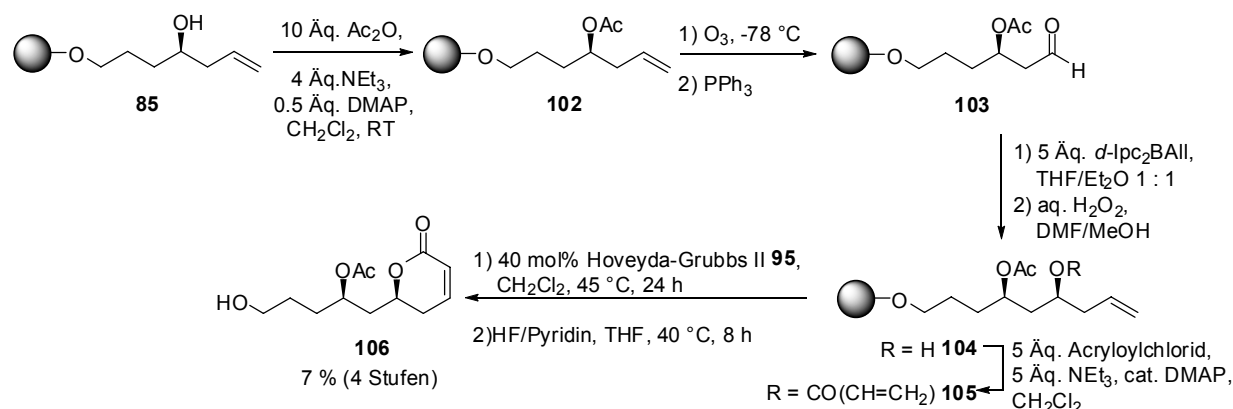
Bei Verwendung des Katalysators **94** konnte nach 18 h unter Rückfluss in der LC-MS-Analyse des Rohproduktes nach Abspaltung immer noch nicht-cyclisierter Acrylester **100** detektiert werden (Eintrag 3). Das gewünschte Produkt **101** konnte aber durch präparative HPLC vom Edukt getrennt werden. Erst nach weiteren 6 h Reaktionszeit war der Umsatz vollständig (Eintrag 4). Beim Einsatz von 40 mol% des Grubbs-Hoveyda-Katalysators **95** lag die isolierte Ausbeute mit 19 % zwar unter dem mit dem Katalysator **94** erreichten Wert, doch zeigten sowohl das

Chromatogramm der präparativen HPLC als auch das  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum der Endverbindung **101** geringere Mengen von Verunreinigungen an.

Mit der erfolgreichen Synthese des Produktes **101** über insgesamt neun Stufen konnte gezeigt werden, dass sich 1,3-Diole und ihre höheren Homologe durch mehrfache Allylierung immobilisierter Substrate herstellen lassen.

### 3.1.2.10 Acetat als Schutzgruppe

Alternativ zur TBS-Schätzung wurde die Überführung des Homoallylalkohols **85** ins Acetat angewendet. In diesem Fall überstand die Schutzgruppe die Abspaltung des Endproduktes vom Harz, so dass eine Endverbindung entstand, die in biologischen Assays eine andere Aktivität aufweisen könnte als die Produkte mit freien Hydroxygruppen. Die Acetylierung von Hydroxygruppen ist eine Modifikation, die in Naturstoffen ebenfalls vorkommt. Ein Vorteil der Verbindungen mit acetylierten Hydroxygruppen ist, dass sie leichter die (unpolare) Zellmembran passieren können, so dass die Bioverfügbarkeit der Verbindung steigt. Durch intrazelluläre Esterasen kann die Acetylgruppe wieder abgespalten und damit die evtl. aktivere Stammverbindung freigesetzt werden.



**Schema 15:** Einsatz von Acetat als Schutzgruppe.

Die Acylierung von **85** mit Acetanhydrid in Dichlormethan (Schema 15) konnte im FT-IR-Spektrum durch das Verschwinden der OH-Bande und gleichzeitiges Auftauchen einer Carbonyl-Bande bei  $1746\text{ cm}^{-1}$  verfolgt werden. Die weitere Umsetzung zum Aldehyd **103** durch Ozonolyse und weiter zum Homoallylalkohol **104** mit  $d\text{-Ipc}_2\text{BALL}$  verlief regulär. Nach der Acylierung mit Acryloylchlorid war jedoch festzustellen, dass sich das Harz mit dem immobilisierten Diester **105**

nicht vollständig trocknen ließ. Weder mehrtägiges Trocknen im Hochvakuum noch mehrfaches azeotropes Destillieren mit Toluol waren erfolgreich.

Dies könnte der Grund dafür sein, dass die anschließende Ringschlussmetathese mit dem Hoveyda-Grubbs II Katalysator **95** und/oder die anschließende Abspaltung nur unvollständig abliefen. Nach Aufreinigung über präparative HPLC konnte das Produkt in geringer Ausbeute (ca. 7 % nach vier Stufen, ausgehend vom Aldehyd **103**) isoliert werden.

Eine weitere Erklärung für die geringe Ausbeute könnte sein, dass die Acetylgruppe den Metathese-Katalysator durch Koordination chelatisierte und damit weiterem Umsatz entzog.

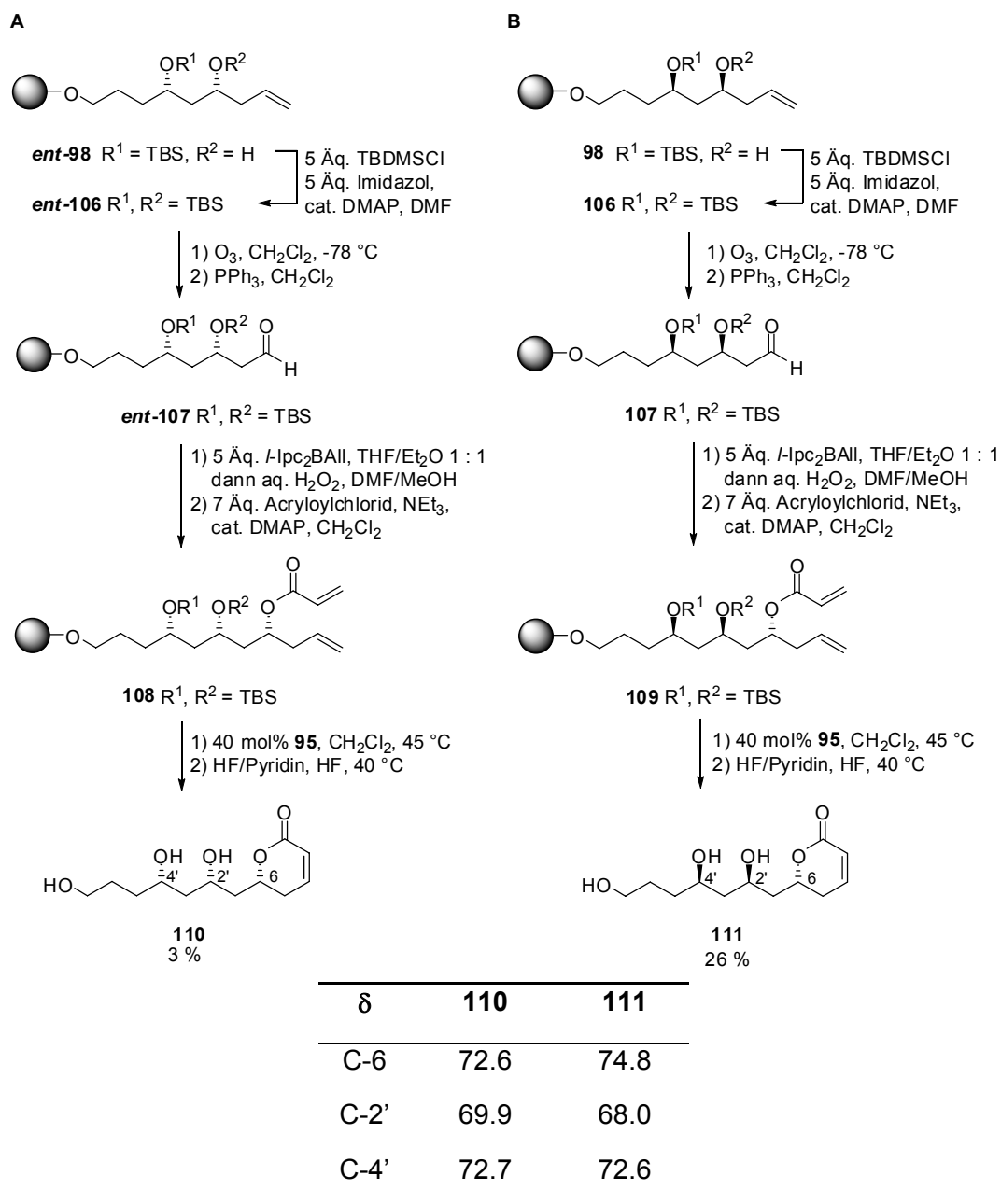
Da letztlich die Ursache für den schlechten Ablauf der Reaktionssequenz am acetylierten Substrat nicht näher bestimmt werden konnte, wurde die Acetylierung von freien Hydroxygruppen, die als Zwischenstufen in der Reaktionsfolge auftraten, in dieser Arbeit nicht weiter verfolgt.

### 3.1.2.11 Höhere Homologe

Mit der asymmetrischen Synthese immobilisierter Triole durch drei aufeinander folgende Ozonolyse- und Allylierungsschritte konnte die Vielseitigkeit der Methode weiter verdeutlicht werden.

Die weitere Synthese ging von den Homoallylalkoholen **98** und **ent-98** (Schema 16) aus. Das Substrat **ent-98** wurde ausgehend von **79** durch doppelte Allylierung mit *H*-Ipc<sub>2</sub>BAll gewonnen.

Die freien Hydroxygruppen in den Homoallylalkoholen **98** und **ent-98** wurden erneut als TBS-Ether geschützt. Anschließend erfolgte eine weitere Ozonolyse zu den immobilisierten Aldehyden **107** und **ent-107**. Die nun folgende Allylierung wurde sowohl *syn*-selektiv (Schema 16, **A**) als auch *anti*-selektiv (**B**) durchgeführt.



**Schema 16:** Dreifache Allylierung an der festen Phase und Vergleich der charakteristischen chemischen Verschiebungen im  $^{13}\text{C}$  NMR-Spektrum.

Auf die Acylierung mit Acryloylchlorid folgte erneut der Ringschluss zum Laktone, für den in diesem Fall ausschließlich der Hoveyda-Katalysator **95** eingesetzt wurde.

Mit zunehmender Komplexität der Verbindungen wurde auch die Aufarbeitung der Rohprodukte schwieriger. Das all-*syn*-Produkt **110** konnte trotzdem in hoher Isomerenreinheit gewonnen werden; das  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum enthielt nur noch Spuren anderer Diastereomere. Die isolierte Ausbeute nach präparativer HPLC war mit 3 % allerdings sehr niedrig. Weitere Diastereomere konnten auch im



Chromatogramm der HPLC-Aufreinigung nicht detektiert werden, was für eine gute *syn*-Selektivität der asymmetrischen Allylierung an der festen Phase spricht. Hingegen konnte das *syn-anti*-Isomer **111** auch nach präparativer HPLC nur als Gemisch der bis zu acht möglichen Diastereomeren isoliert werden, in der das gewünschte Produkt zu ca. 70 % vorlag. Zwar war die Ausbeute (ausgehend von Aldehyd **107**) hier höher, doch konnte auch in einem weiteren sorgfältigen chromatographischen Schritt an Kieselgel keine weitere Anreicherung eines Isomers erreicht werden.

Eine eindeutige Unterscheidung der Produkte **110** und **111** konnte aufgrund der  $^{13}\text{C}$ NMR-Spektren getroffen werden. Die jeweiligen Resonanzen der Kohlenstoffatome 6, 2' und 4' sind in Schema 16 dargestellt.

Mit der Synthese dieser beiden Substrate, die aus 4-Pentenol nach 12 Stufen an der festen Phase erhalten wurden, konnte gezeigt werden, dass über diese Syntheseroute die Zielstrukturen enantio- und diastereoselektiv gewonnen werden können. Dabei erwies sich außerdem die gewählte Anbindung der Edukte über einen Silyl-Linker an die feste Phase als stabil genug, auch mehrstufige Sequenzen zu überstehen.

### 3.1.2.12 Asymmetrische Allylierung und RCM in der Synthese von Naturstoffen

Die erfolgreiche Etablierung der asymmetrischen Allylierung mit anschließender Ringschlussmetathese ist bis hierher an immobilisierten Substraten gezeigt worden, die in ihren Eigenschaften für die organische Synthese an fester Phase geeignet schienen, so dass lineare, unverzweigte Alkohole als Ausgangsmaterialien verwendet wurden. Nachfolgend sollte die entwickelte Sequenz in der Synthese von Naturstoffen und ihrer Derivate auf die Probe gestellt werden. Aus den bekannten Naturstoffen mit  $\alpha,\beta$ -ungesättigter- $\delta$ -Lakton-Einheit wurden solche ausgewählt, die mit den Möglichkeiten der eingesetzten Reaktionen kompatibel waren. Dies waren Euscapholid **112**,<sup>[80]</sup> Cryptocarya Diacetat **113**<sup>[81]</sup> und das Lakton **114**,<sup>[82]</sup> das aus *Ravensara Anisata* isoliert wurde (Abb. 18).

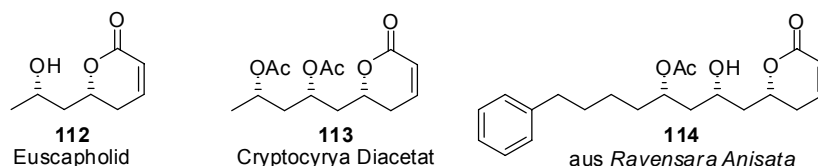
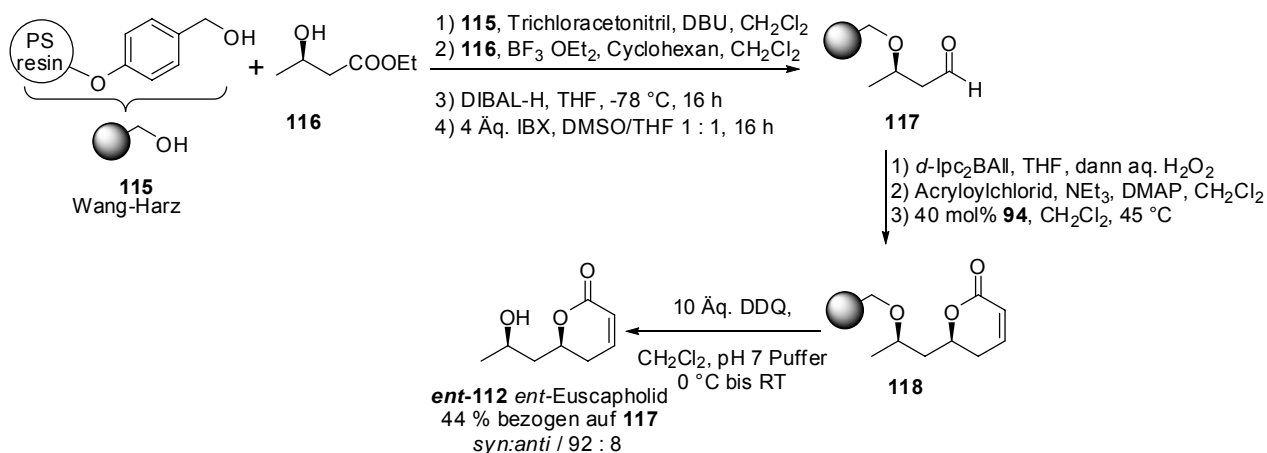


Abb. 18: Naturstoffe als Zielverbindungen.

### 3.1.2.13 Euscapholid

Euscapholid **112** ist ein Naturstoff mit einer  $\alpha,\beta$ -ungesättigten- $\delta$ -Lakton-Einheit, der aus *Euscaphis japonica* isoliert wurde.<sup>[80]</sup> Sein Enantiomer ist darüber hinaus ein Fragment des Naturstoffes Tarchonanthuslakton.<sup>[83-88]</sup> In einem dieser Arbeit angeschlossenen Projekt gelang Dr. Jayant D. Umayre die Synthese von *ent*-Euscapholide **ent-112** an der festen Phase (Schema 17).

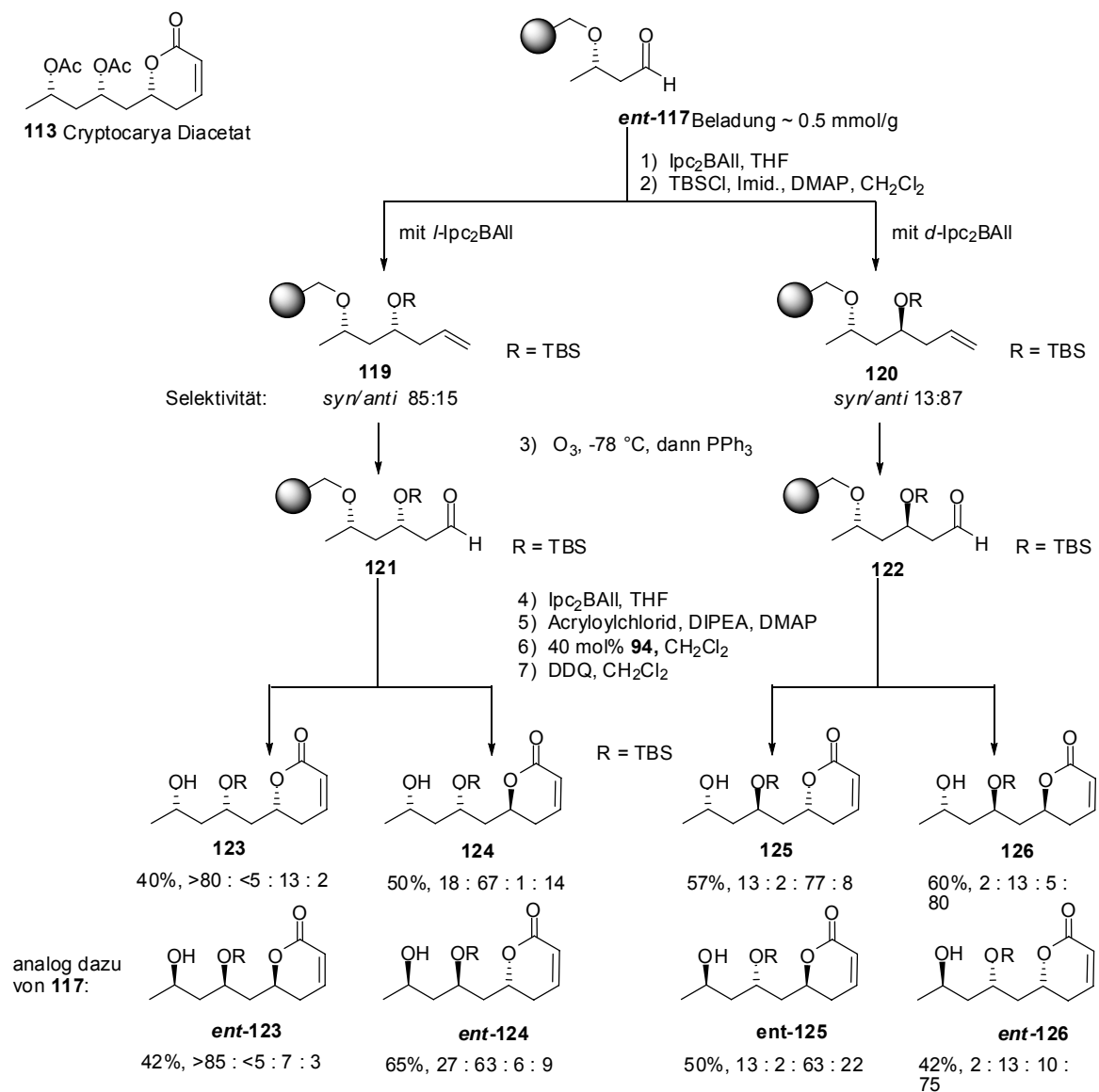


Schema 17: Synthese von *Ent*-Euscapholid an Wang-Harz.

Dazu wurde kommerzielles (*R*)-Ethyl-3-hydroxybutyrat **116** an Wang-Harz **115** gekuppelt, welches zuvor mit Trichloracetonitril aktiviert worden war. Der immobilisierte Ester wurde mit DIBAL-H zum primären Alkohol reduziert und mit IBX zum Aldehyd **117** oxidiert. Die Aldehyd-Beladung betrug 0.4-0.5 mmol/g.<sup>[68]</sup> Asymmetrische Allylierung mit *d*-Ipc<sub>2</sub>BAlI, Veresterung mit Acryloylchlorid und anschließende Ringschlussmetathese mit dem Grubbs II Katalysator **94** lieferten das Produkt **ent-112**, das nach Abspaltung vom Harz mit DDQ in 44 % Ausbeute und einem *syn/anti*-Verhältnis von 92 : 8 isoliert wurde.

### 3.1.2.14 Synthese einer *Cryptocarya* Diacetat-Bibliothek

Der Naturstoff *Cryptocarya* Diacetat **113** (Abb. 18) wurde aus der Rinde des Baumes *Cryptocarya latifolia* isoliert<sup>[81]</sup> und enthält neben dem  $\alpha,\beta$ -ungesättigten- $\delta$ -Lakton eine Pentyl-Kette mit zwei Acetoxygruppen, die jeweils in *syn*-Konfiguration vorliegen. Diese Verbindung wurde als Ausgangspunkt gewählt, um eine stereochemisch diversifizierte Substanzbibliothek aufzubauen, d.h. alle Diastereomere des Naturstoffgerüsts zu synthetisieren. Diese Arbeit wurde von Dr. Ana B. García und Dr. Jayant D. Umayre im Rahmen ihres Postdoc-Aufenthaltes am Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie durchgeführt. Erneut nahm die Synthese ihren Ausgangspunkt in dem immobilisierten Aldehyd **117** (Schema 18), der außerdem auch in seiner enantiomeren Form **ent-117** eingesetzt wurde. Die Allylierung der Aldehyde mit jeweils beiden Enantiomeren von  $\text{Ipc}_2\text{BALL}$  lieferte die Homoallylalkohole **119** und **120** und ihre Enantiomeren. Nach Testabspaltungen konnten durch Integration über die Signale der Methylgruppen im  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum Diastereomerenverhältnisse von 90 : 10 im *syn*-Fall oder 87 : 13 im *anti*-Fall nachgewiesen werden. Auf die Schützung der Verbindungen als TBS-Ether folgte eine Ozonolyse der terminalen Doppelbindung, und die auf diese Weise generierten Aldehyde **121** und **122** wurden erneut mit beiden Enantiomeren von Browns Boran umgesetzt. Die so erhaltenen immobilisierten Triole wurden mit Acryloylchlorid verestert und mit dem Grubbs II Katalysator **94** in die  $\alpha,\beta$ -ungesättigten- $\delta$ -Laktone überführt.



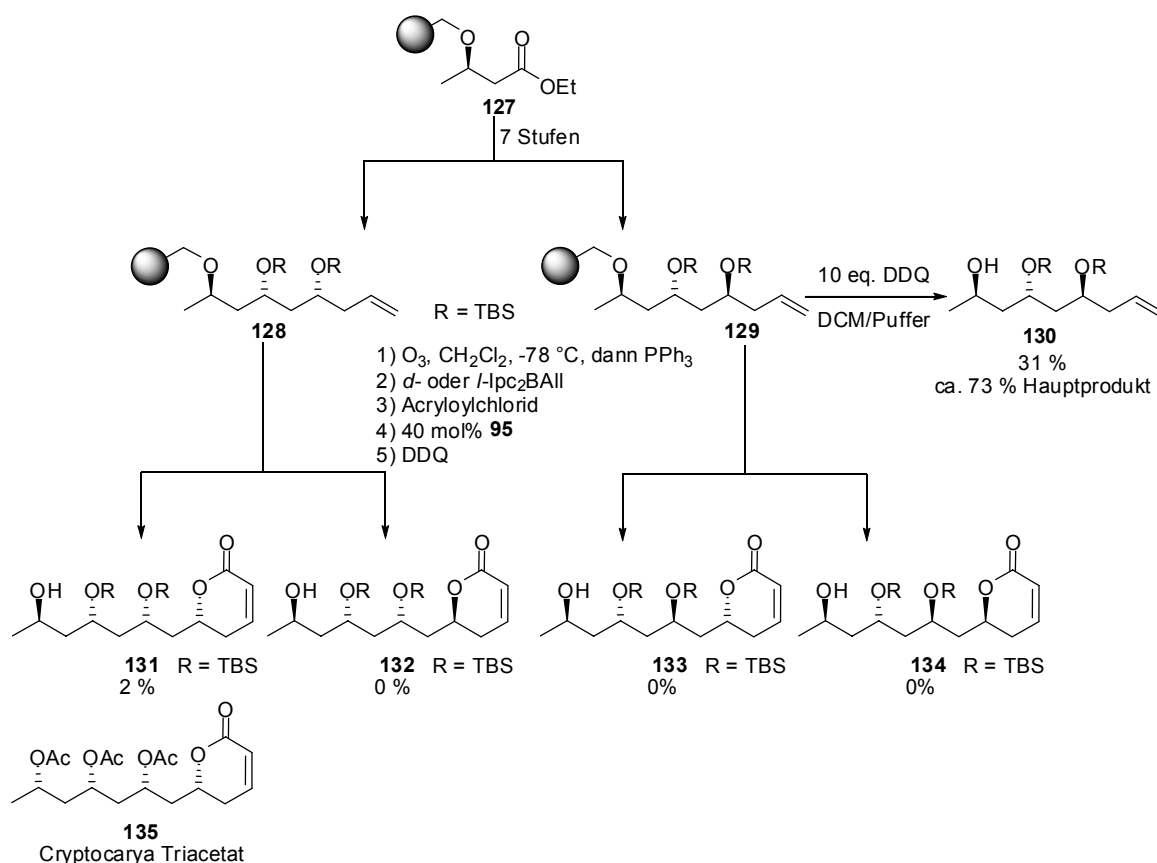
**Schema 18:** Synthese aller diastereomeren Gerüste von Cryptocarya Diacetat **113** an Wang-Harz.

Damit waren alle möglichen diastereomeren Konfigurationen des Grundgerüsts synthetisiert. Durch Variation der Abspaltungsbedingungen konnten unterschiedliche Endprodukte erhalten werden.

Die Abspaltung mit DDQ in einem gepufferten System lieferte ausschließlich die TBS-geschützten Verbindungen **123-126** und ihre Enantiomere in 40-60 % isolierter Ausbeute. Für die Bestimmung der Diastereomerenverhältnisse konnte über die Signale der Methylgruppen im  $^1H$  NMR-Spektrum integriert werden, das Ergebnis ist in Schema 18 dargestellt. Es zeigte sich, dass das gewünschte Isomer in allen Fällen das Hauptprodukt war.

Wurde zur Abspaltung Trifluoressigsäure (TFA) eingesetzt, konnte neben der TBS-geschützten Verbindung auch das jeweilige freie Diol erhalten werden. Dieses konnte durch Acetylierung und chromatographische Aufreinigung in das reine Diastereomer des Naturstoffes **113** überführt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte diese Synthese sogar noch weitergeführt werden (Schema 19): Ausgehend vom immobilisierten Ester **127** wurden zunächst analog zum in Schema 17 dargestellten Syntheseweg die dreifach oxygenierten und vollständig geschützten Nonene **128** und **129** am Wang-Harz aufgebaut. Die korrekte Bildung der gewünschten Reaktionsprodukte konnte in Testabspaltungen belegt werden; so wurde das bis-silylierte Triol **130** durch Abspaltung mit DDQ in 31 % Ausbeute erhalten. Das  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum zeigte, dass **130** als Gemisch mit einem zweiten Diastereomer im Verhältnis 73 : 27 vorlag. Danach wurde der Zyklus von Ozonolyse und Allylierung nochmals durchlaufen, wobei jeder neu entstandene Aldehyd mit beiden Enantiomeren des Brown-Borans umgesetzt wurde. Die auf diese Weise erhaltenen vier neuen diastereomeren Homoallylalkohole wurden mit Acryloylchlorid verestert und mit dem Metathese-Katalysator **95** umgesetzt. Nach Abspaltung der Substanzen vom Wang-Harz mit DDQ ließ sich jedoch nur noch eines der Produkte (**131**) isolieren. Es wurde nach einem einzigen chromatographischen Schritt als einzelnes Diastereomer in insgesamt 2 % Ausbeute nach 14 Stufen an der festen Phase gewonnen. Dieses Molekül ist ein modifiziertes Diastereomer von Cryptocarya Triacetat **135**.<sup>[81]</sup>



**Schema 19:** Synthese eines Gerüst-Diastereomeren von *Cryptocarya* Triacetat durch dreifache asymmetrische Allylierung an Wang-Harz.

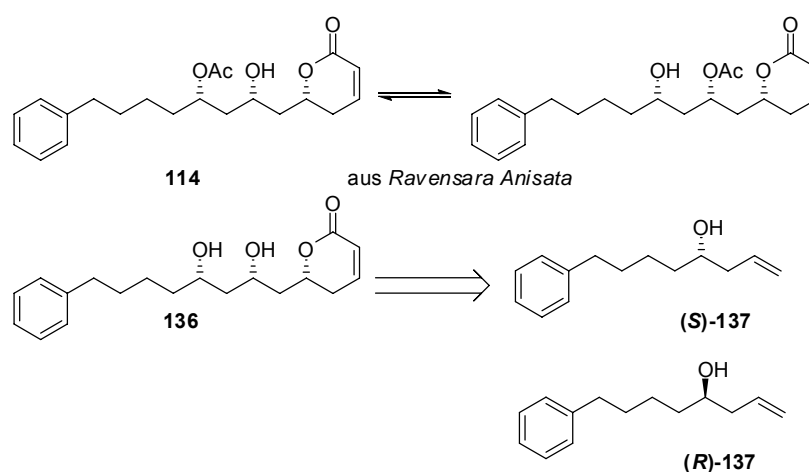
In den anderen Fällen ließen sich keine signifikanten Mengen des jeweiligen Diastereomers von **131** im <sup>1</sup>H NMR-Spektrum der Reaktionslösung nach Abspaltung detektieren. Die geringe Ausbeute kann mit der Labilität des Wang-Linkers gegenüber den oxidativen Bedingungen der Ozonolyse erklärt werden. Im Gegensatz zu den sonst in dieser Arbeit verwendeten Silyl-Linkern, die bei -78 °C mehrere Minuten lang auch in einer mit Ozon gesättigten Lösung stabil sind, stellte sich für den Wang-Linker heraus, dass hohe Ausbeuten nur nach möglichst kurzer Kontaktzeit des Harzes (ca. 1 min) mit Ozon zu erzielen waren. Angesichts der mehrfachen Ozonolysen, die für die Synthese von **131** nötig waren, gewann dieser Effekt an Relevanz.

Zusammenfassend konnte mit diesen Arbeiten gezeigt werden, dass bis zu drei Allylierungen von immobilisierten Aldehyden möglich sind und die Methode zum Aufbau stereochemisch diverser Kohlenstoffgerüste geeignet ist.

### 3.1.2.15 Synthese des *Ravensara*-Laktons

Das Laktone **114** (Abb. 18) wurde 1999 aus der Rinde des Baumes *Ravensara Anisata* isoliert und zeigte eine schwach fungizide Aktivität gegen *C. cucumerinum* (MIC ~100 µg/ml).<sup>[82;89]</sup> Die zunächst angenommene absolute Konfiguration wurde später korrigiert, und im Laufe einer Synthese dieser Verbindung durch Ramana et al. konnte gezeigt werden, dass die Acetylgruppe durch intramolekulare Umlagerung beide Hydroxylgruppen besetzen kann.<sup>[90]</sup>

Für die angestrebte Synthese dieser Verbindung bzw. der deacetylierten Form **136** an der festen Phase nach dem in dieser Arbeit entwickelten Allylierungs-/Metatheseprotokoll wurde der Homoallylalkohol (**S**)-**137** (Schema 20) in möglichst enantiomerenreiner Form benötigt. Auch das Enantiomer (**R**)-**137** wäre im Hinblick auf eine stereodiversifizierende Synthese wünschenswert.



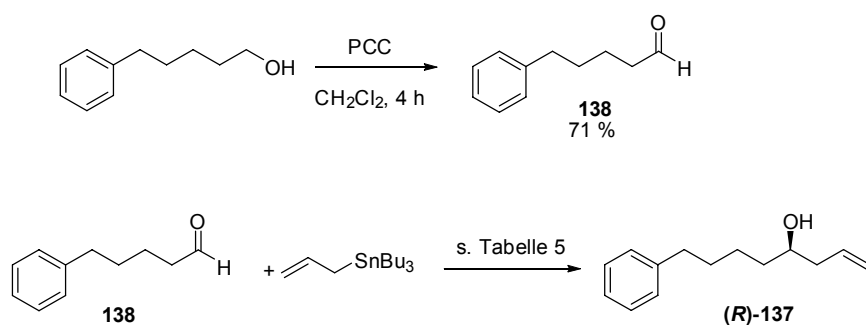
**Schema 20:** Retrosynthetische Skizze zum Naturstoff **114**.

#### 3.1.2.15.1 Synthese der Edukte (**S**)-**137** und (**R**)-**137**

Der enantiomerenangereicherte Baustein (**S**)-**137** sollte durch enantioselective Allylierung des Aldehyds **138** (s. Tabelle 5) in Lösung hergestellt werden. Hier bot sich die Keck-Allylierung an, bei der ein chiraler Titan-BINOL-Komplex den Aldehyd vor dem Angriff eines Allylstannans aktiviert.<sup>[91]</sup>

Der Aldehyd **138** wurde durch PCC-Oxidation von 5-Phenylpentanol in 71 % Ausbeute gewonnen (Tabelle 5).

Die Ergebnisse der daran anschließenden Versuche zur Keck-Allylierung sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

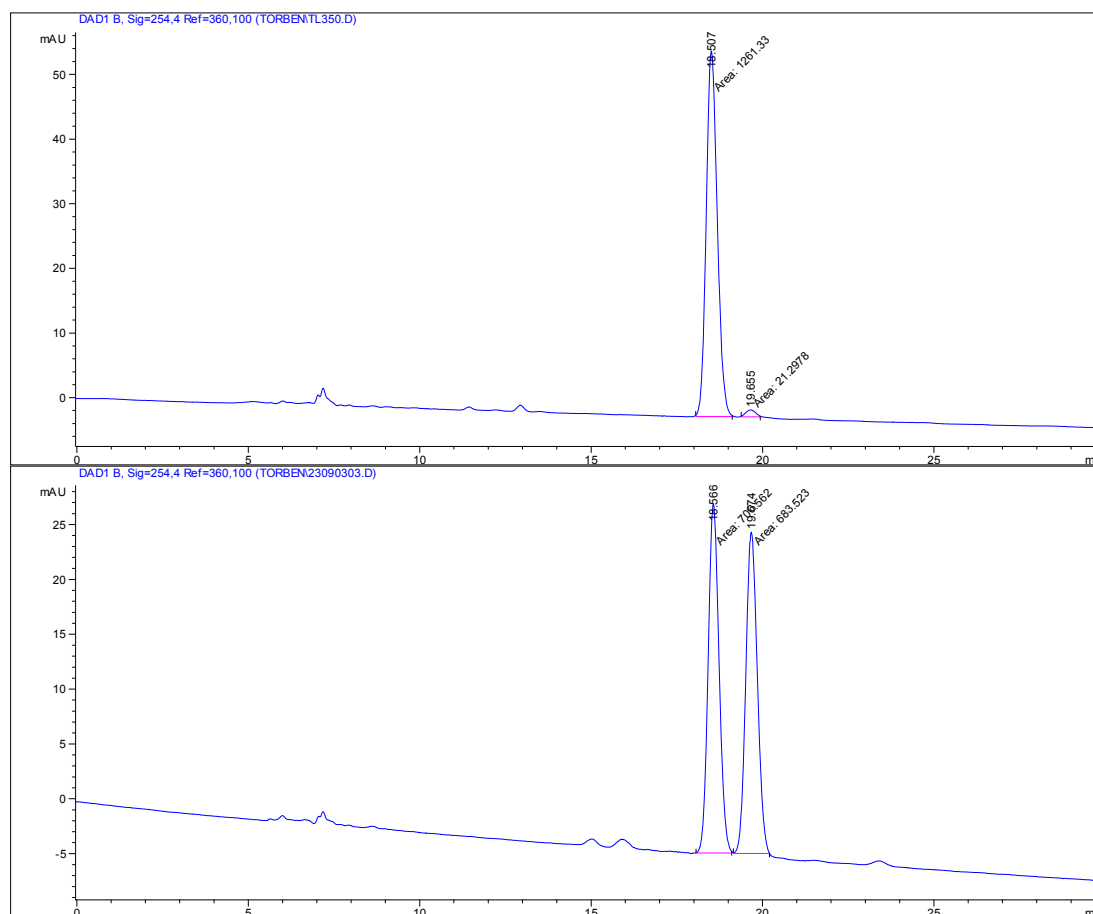


Nr.	Katalysator	Lösungsmittel, Bedingungen	Ausbeute <sup>(a)</sup>	Enantiomeren- überschuss in <b>(R)-137</b> <sup>(b)</sup>
1	10 mol% Ti(O <sup><i>i</i></sup> Pr) <sub>4</sub> , 20 mol% (S)-BINOL	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 23 °C, 5 h	49 %	89 %ee
2	10 mol% Ti(O <sup><i>i</i></sup> Pr) <sub>4</sub> , 20 mol% (S)-BINOL	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 6 h	54 %	94 %ee
3	20 mol% Ti(O <sup><i>i</i></sup> Pr) <sub>4</sub> , 40 mol% (S)-BINOL	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C, 5 h	64 %	95 %ee
4	10 mol% Ti(O <sup><i>i</i></sup> Pr) <sub>4</sub> , 20 mol% (S)-BINOL	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -20 °C, 20 h	53 %	96 %ee
5	5 mol% Ti(O <sup><i>i</i></sup> Pr) <sub>4</sub> , 10 mol% (S)-BINOL	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -25 °C, 46 h	15 %	91 %ee
6	1.25 mol% Ti(O <sup><i>i</i></sup> Pr) <sub>4</sub> , 2.5 mol% (S)-BINOL	Toluol, MS 4 Å, -15 °C, 70 h	48 %	80 %ee <sup>(c)</sup>
7	5 mol% Ti(O <sup><i>i</i></sup> Pr) <sub>4</sub> , 10 mol% (S)-BINOL	Toluol, MS 4 Å, -15 °C, 38 h	67 %	96 %ee

**Tabelle 5:** Keck-Allylierung des Aldehyds **138**. <sup>(a)</sup> isolierte Ausbeute, <sup>(b)</sup> bestimmt durch HPLC auf einer AD-Säule, <sup>(c)</sup> bestimmt durch Überführung in den Mosher-Ester.

Die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses in **137** gelang durch HPLC auf einer chiralen Daicel Chirapak AD-Säule (Abb. 19). Die als Kontrolle benötigte Verbindung **rac-137** wurde aus dem Aldehyd **138** mit Allylmagnesiumchlorid in 91 % Ausbeute synthetisiert.

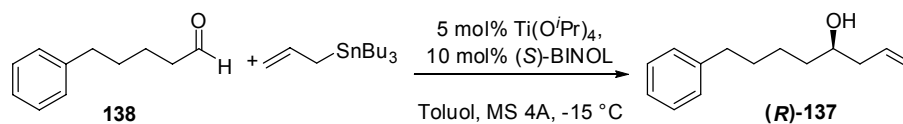




**Abb. 19:** Bestimmung des Enantiomerenüberschusses in **137**. Oben: (*R*)-**137**, unten *rac*-**137**. Chiralpak AD-Säule, Cyclohexan/Isopropanol 97 : 3, Flussrate 0.5 ml/min.

Die Anwendung der von Keck et al. beschriebenen Bedingungen (10 mol% Titantetraisopropoxylat, 20 mol% BINOL) lieferten zwar hohe Enantiomerenüberschüsse von >90 % (Eintrag 1, 2, 4), aber nur geringe Ausbeuten um 50 %. Kurosu et al. veröffentlichten eine Variation der Reaktionsbedingungen, die mit 5 mol% Titantetraisopropoxylat und 10 mol% BINOL in Toluol in Anwesenheit von Molekularsieben (4 Å bei hohen Enantiomerenüberschüssen (> 95 % für aliphatische Aldehyde) Ausbeuten von mehr als 80 % erreichten.<sup>[92]</sup> Zwar konnte die gute asymmetrische Induktion im Rahmen dieser Arbeit reproduziert werden, jedoch blieben die isolierten Ausbeuten weiterhin niedrig (Einträge 6, 7).

Als schwerwiegender erwies sich aber die Beobachtung, dass sich ee-Werte von bis zu 96 %, die unter analytischen Bedingungen (< 2 mmol von Aldehyd **138**) erreicht wurden, in größeren Ansätzen nicht reproduzieren ließen (Tab. 6, 1 vs. 3).



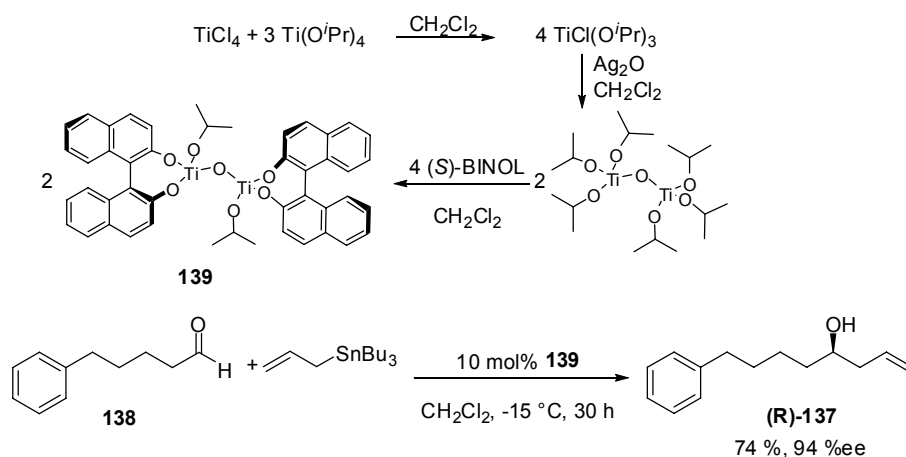
Nr.	Ansatzgröße	Zeit	Ausbeute <sup>(a)</sup>	Enantiomeren- überschuss in (R)-137 <sup>(b)</sup>
1	2 mmol	38 h	67 %	96 %
2	10 mmol	38 h	51 %	91 %
3	27 mmol	64 h	40 %	50 %

**Tabelle 6:** Keck-Allylierung des Aldehyds **138**. <sup>(a)</sup> isolierte Ausbeute, <sup>(b)</sup> bestimmt durch HPLC auf einer AD-Säule.

Während der z.T. langen Reaktionszeiten wurde eine Aufhellung der Reaktionslösung von dunkelrot nach gelb beobachtet, was für eine Zersetzung des BINOL-Katalysators spricht. Damit übereinstimmend war die Beobachtung, dass die Reaktion in den meisten Fällen nicht vollständig ablief und sich der Umsatz nach einer gewissen Zeit nicht mehr veränderte.

Das Produkt der Allylierung war auch nach chromatographischer Aufreinigung des Reaktionsproduktes an Kieselgel noch gelblich, was auf einen Restgehalt an Katalysator schließen lässt.

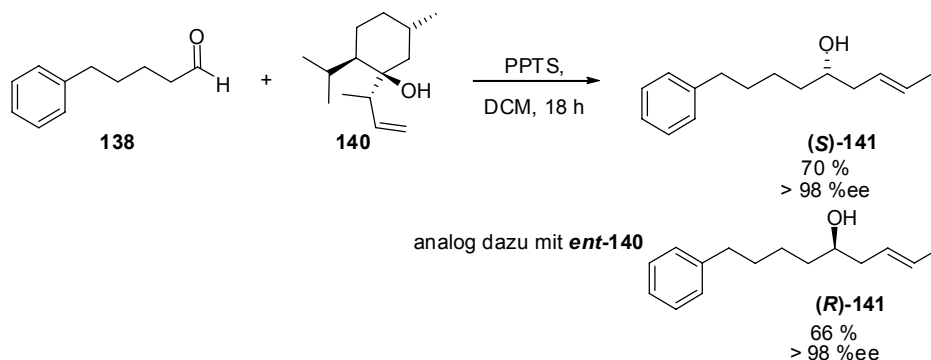
Mit dem von Maruoka et al. entwickelten binuklearen Katalysator **139** (Schema 21),<sup>[93;94]</sup> der *in situ* hergestellt wurde, konnten schließlich bei einer Substratmenge von 10 mmol 94 %ee erzielt werden.



**Schema 21:** Maruoka-Keck-Allylierung des Aldehyds **138**.

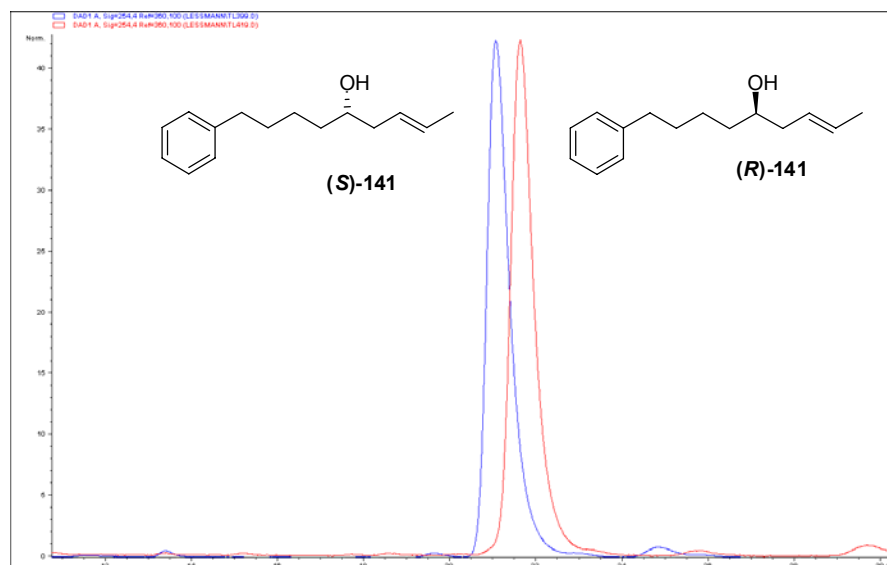
Mit der von Nokami et al. entwickelten Transfercrotylierung<sup>[95]</sup> konnte ein noch effektiverer und selektiverer Weg zu den gewünschten Zielverbindungen gefunden werden. Bei dieser Methode wird ein vom Menthol abgeleitetes chirales

Auxiliar **140** eingesetzt, das einen Crotylrest über einen cyclischen Übergangszustand auf einen Aldehyd überträgt. Der Einsatz des Aldehyds **138** in dieser Reaktion ergab den Alkohol **141** in 70 % Ausbeute nach chromatographischer Aufreinigung (Schema 22).



**Schema 22:** Nokami-Transfercrotylierung des Aldehyds **138**.

Unter Verwendung der beiden Enantiomere des Auxiliars **141** (erhalten aus (+)- bzw. (-)-Menthon) konnten die Verbindungen **(S)-141** und **(R)-141** in sehr hoher Enantiomerenreinheit (>98 %ee, s. Abb. 20) erhalten werden. Die Produkte wurden auch im Multigramm-Maßstab ohne Verlust chiraler Information erhalten.

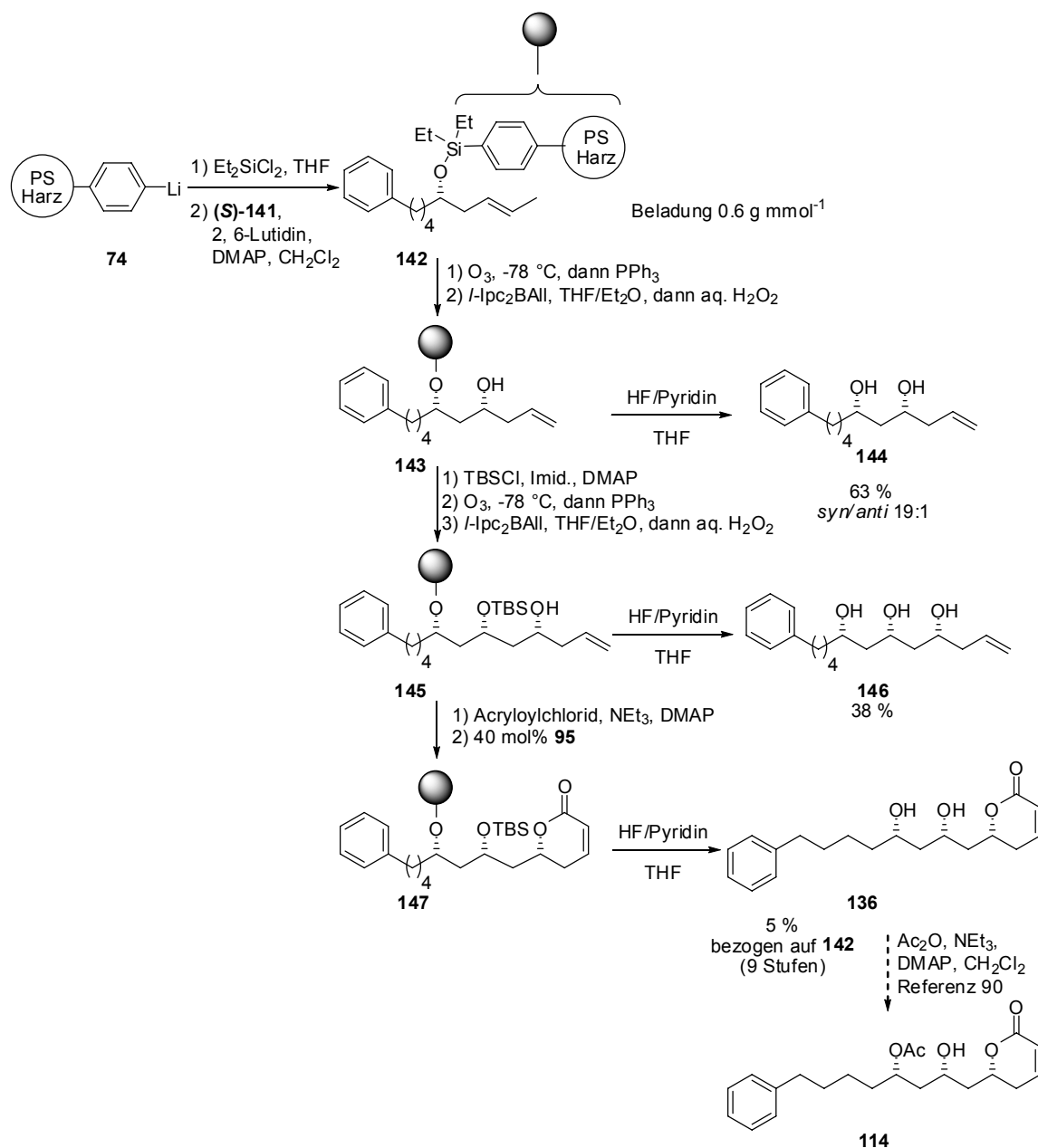


**Abb. 20:** Bestimmung des Enantiomerenüberschusses der enantiomeren Alkohole **(S)-141** und **(R)-141** auf einer Chiralpak AD-Säule. Cyclohexan/Isopropanol 98 : 2, Flussrate 0.5 ml/min.

### 3.1.2.15.2 Durchführung der Synthese

Mit der Verfügbarkeit beider Enantiomere des Crotylalkohols **141** konnte die Synthese der Verbindung **136** und ihrer Stereoisomere an der festen Phase durchgeführt werden (Schema 23). Lithiiertes Brom-Polystyrol-Harz **74** wurde mit

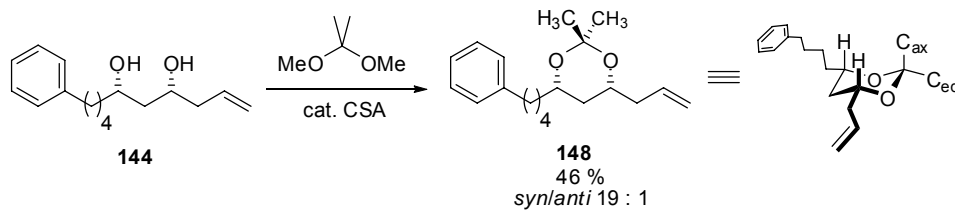
Diethyldichlorsilan versetzt, um dem sterischen Anspruch des sekundären Alkohols (**S**)-**141** zu begegnen. Wie die Massebilanz nach Abspaltung mit HF/Pyridin und ein HPLC-Assay des abgespaltenen Rohproduktes übereinstimmend zeigten, ließ sich (**S**)-**141** mit 0.7 mmol/g auf das Harz laden. Die Ozonolyse der Doppelbindung lieferte einen Aldehyd, der mit dem *syn*-dirigierenden Reagenz *I*-Ipc<sub>2</sub>BAlI umgesetzt wurde.



**Schema 23:** Synthese des Diols **136** durch zweifache asymmetrische Allylierung an der festen Phase.

Eine Testabspaltung nach dieser Stufe zeigte, dass die Allylierung hoch diastereoselektiv abgelaufen war. Nach Überführung des Diols ins Acetonid mit 2,2-Dimethoxypropan konnte im GC-MS ein Diastereomerenverhältnis von 19 : 1

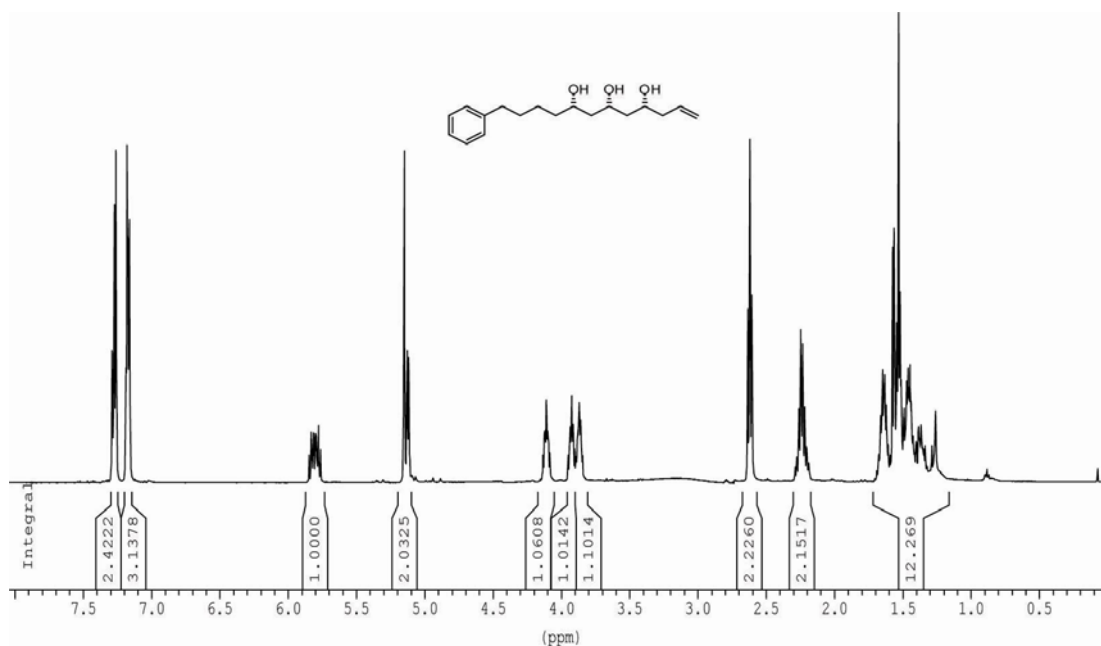
festgestellt werden. Die relative *syn*-Konfiguration des Abspaltungsproduktes **144** konnte durch die Auswertung des 125 MHz  $^{13}\text{C}$  NMR-Spektrums bestätigt werden. Wie in Schema 24 zu sehen ist, liegen die chemischen Verschiebungen der beiden Kohlenstoff-Atome des Acetonids genau im Bereich, der von Rychnowsky et al. als charakteristisch für ein *syn*-Diol beschrieben wird.<sup>[96]</sup>



$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ), 125 MHz	erwartet <sup>[96]</sup>	gefunden
$\text{C}_{\text{ax}}$	$19.66 \pm 0.35$	19.81
$\text{C}_{\text{eq}}$	$30.00 \pm 0.30$	30.26
$\Delta(\delta\text{C})$	$10.34 \pm 0.30$	10.45

**Schema 24:** Überführung des Diols **144** ins Acetonid und Vergleich mit Literaturwerten.

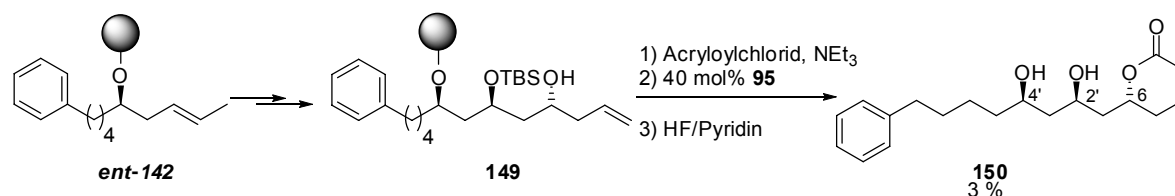
Nach Schützung der Hydroxylgruppe als TBS-Ether wurde durch Ozonolyse erneut ein Aldehyd generiert. Dieser wurde durch Reaktion mit *H*-Ipc<sub>2</sub>BAII in den immobilisierten Homoallylalkohol **145** transformiert, der ebenfalls zu Testzwecken abgespalten wurde. Auch nach der zweiten Allylierung wurde ein hoch diastereomerenangereichertes Produkt erhalten, wie durch einen sauberen Signalsatz im  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum angezeigt wurde. (Abb. 21).



**Abb. 21:**  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum des Triols **146**.

Durch Veresterung von **145** mit Acryloylchlorid wurde die Vorstufe zur RCM erhalten. Der Ringschluss fand unter Verwendung von 40 mol% des Hoveyda-Grubbs II Katalysators **95** statt. Die Abspaltung vom polymeren Träger mit Fluorwasserstoff lieferte das vollständig entschützte Produkt **136**, welches nach neun Stufen an der festen Phase in einer Gesamtausbeute von 5 % isoliert werden konnte. Aus dem Diol **136** lässt sich in einer weiteren Stufe der Naturstoff **114** synthetisieren (Schema 23).<sup>[90]</sup> Die <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR Spektren von **114** stimmten mit den Literaturdaten von Ramana überein.<sup>[90]</sup> Ein Vergleich der Drehwerte zeigte weitgehende Übereinstimmung auf: das synthetisierte Produkt **136** hatte einen Drehwert von  $[\alpha]_D^{20} = +48.4^\circ$  (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) auf, während Ramana et al.  $[\alpha]_D^{25} = +62.1^\circ$  (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) berichteten.

Um zu zeigen, dass diese Differenz nicht von einer abweichenden Konfiguration herrührt, konnte zum Vergleich die Verbindung **150** hinzugezogen werden, deren Synthese analog zu **136** verlief, jedoch ausgehend vom enantiomeren Homocrotylalkohol (**R**)-**141** ausging (Schema 25). Die Stereozentren wurden einmal *syn*-dirigierend mit *d*-Ipc<sub>2</sub>BALL und einmal *anti*-dirigierend mit *l*-Ipc<sub>2</sub>BALL aufgebaut.



$\delta$ ( <sup>13</sup> C)	C-6	C-2'	C-4'
<b>136</b> (Lit.-Werte) <sup>[90]</sup>	76.2	69.5	72.7
<b>136</b>	76.3	69.8	72.9
<b>150</b>	74.7	68.1	73.0

**Schema 25:** Synthese des Naturstoff-Derivats **150** und Vergleich der charakteristischen <sup>13</sup>C-Verschiebungen der Verbindungen **136** und **150** mit Literaturwerten.

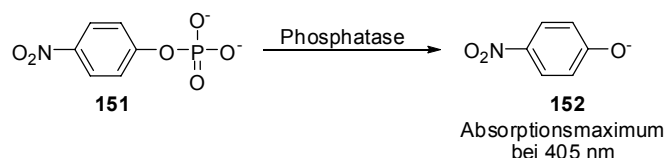
Veresterung mit Acryloylchlorid, Ringschlussmetathese und Abspaltung mit Fluorwasserstoff lieferten das Produkt **150** in insgesamt 3 % Ausbeute. Im <sup>13</sup>C NMR-Spektrum des Produktes **150** zeigten die Kohlenstoff-Atome 6, 2' und 4' Resonanzen, die eine Abweichung  $\Delta > 1.5$  ppm zu den in der Literatur für das *all-syn*-Produkt berichteten Werten aufweisen. Hingegen stimmen die Werte für das

mit zwei *syn*-dirigierenden Allylierungen hergestellte Produkt **136** gut überein, die Differenz beträgt  $\Delta < 0.3$  ppm.

### 3.1.2.16 Biologische Evaluierung

#### 3.1.2.16.1 Phosphatase-Assays

In der medizinischen Wirkstoffsuche lag ein Schwerpunkt in den letzten Jahren auf der Suche nach Kinase-Inhibitoren. Die physiologischen Komplemente der Kinasen, die Phosphatasen, rücken hingegen erst in jüngster Zeit in den Fokus der medizinischen Forschung.<sup>[97]</sup> Die Naturstoffe Fostriecin **8** und Cytostatin<sup>[98;99]</sup> beziehen ihre biologische Aktivität aus der selektiven Inhibition der Phosphatase PP2A.<sup>[16;19;100]</sup> Da das  $\alpha,\beta$ -ungesättigte- $\delta$ -Lakton im Falle von Fostriecin und Cytostatin für die Inhibition unerlässlich ist, weil es vermutlich als Michael-Akzeptor eines Cysteins im aktiven Zentrum der Phosphatase fungiert, lag es nahe, die in dieser Arbeit synthetisierten  $\alpha,\beta$ -ungesättigte- $\delta$ -Laktone ebenfalls auf die Inhibition von Phosphatasen zu testen. Diese Arbeiten wurden von H. Rimpel am Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie durchgeführt. Alle Naturstoffabgeleiteten Verbindungen wurden in einem *in vitro*-Assay auf Inhibition der Serin/Threonin-Phosphatase PP1, den Tyrosin-spezifischen Phosphatasen PtP1B, MPtPA, MPtPB und PtP-SHP2 sowie den dual-spezifischen Phosphatasen Cdc25a und VHR getestet. Dabei wurde die Hydrolyse von *para*-Nitrophenylphosphat, durch Messung der Absorption des freigesetzten Phenolat-Anions verfolgt (Schema 26).



**Schema 26:** Prinzip der Phosphatase-Assays zur Untersuchung der synthetisierten Substanzen.

In einem Screen konnte in keinem Fall ausreichende Inhibition gefunden werden, die die Bestimmung eines  $IC_{50}$ -Wertes aussichtsreich erscheinen ließ.

### 3.1.2.16.2 *Tubulin-Polymerisation*

In einem zweiten Assay zur Untersuchung der biologischen Aktivität wurden die Verbindungen in einem Phänotyp-Assay eingesetzt, der Veränderungen des Cytoskeletts detektiert. Angesichts der bekannten Interaktion von Pironetin **10** mit  $\alpha$ -Tubulin (s. Kap. 1.3.3) könnte es hier zu interessanten Ergebnissen kommen. Diese Untersuchungen wurden in der Gruppe von Dr. Thomas Mayer am Max-Planck-Institut für Biochemie in Garching durchgeführt. Ergebnisse lagen bei Drucklegung dieser Arbeit noch nicht vor.

### 3.1.2.17 **Diskussion**

Die in diesem Abschnitt vorgestellte Syntheseroute führte zuverlässig zu Verbindungen, welche die gewünschte  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Laktoneinheit trugen. Es konnte gezeigt werden, dass sich die gewünschten Zielstrukturen an der festen Phase mit hoher Stereoselektivität synthetisieren lassen. Dabei konnten unter Einsatz der Brown-Allylborane an achiralen, immobilisierten Aldehyden Enantiomerenverhältnisse von bis zu 95.5 : 4.5 erzielt werden. Wurde eine iterative Reaktionsführung gewählt, wurden Diastereoselektivitäten von bis zu 19 : 1 im Fall von *syn*-1,3-Diolen erreicht. Damit konnte gezeigt werden, dass die asymmetrische Allylierung mit chiralen Allylboranen zum Aufbau von einem oder mehreren stereogenen Zentren an immobilisierten Substraten geeignet ist. Durch Variation der enantiomeren Allylborane lassen sich in einer iterativen, kombinatorischen Sequenz aus einer gemeinsamen Vorstufe schnell stereochemisch differenzierte Verbindungsbibliotheken aufbauen, die die Produkte des Polyacetatwegs (bzw. unter Hinzunahme der analogen enantioselektiven Crotylierung auch des Polypropionatwegs) der Biosynthese nachahmen. Dies wird in dieser Arbeit exemplarisch an der Synthese  $\alpha,\beta$ -ungesättigter  $\delta$ -Laktone demonstriert, die ein häufig zu findendes Motiv in Naturstoffen darstellen.

Der in dieser Arbeit hauptsächlich eingesetzte Silyl-Linker bietet die attraktive Möglichkeit, die Substrat-Abspaltung parallel zur Entschützung aller übrigen Hydroxyfunktionen durchzuführen. Dadurch muss nach Abspaltung nur noch das



Endprodukt aufgereinigt werden. Auf diese Weise konnte die decacetylierte Version eines aus *Ravensara Anisata* gewonnenen Laktons über 9 Stufen mit 5% Ausbeute synthetisiert werden. Dies entspricht einer Ausbeute von 72% pro Stufe.

Der alternative Einsatz des Wang-Linkers erlaubte die Abspaltung der Substrate ohne parallele Entschützung. Die Substrate stünden in diesem Fall weiteren Transformationen zur Verfügung.

Insgesamt konnten mit der vorgestellten Synthesesequenz bis zu 14 Stufen an der festen Phase durchgeführt werden, darunter 3 asymmetrische Allylierungen. Das Endprodukt wurde nach einem einzigen Aufreinigungsschritt an Kieselgel erhalten.

Eine der organischen Synthese an der festen Phase inherente Eigenschaft ist, dass sich Nebenprodukte, die auf dem Syntheseweg entstehen, nicht abtrennen lassen. Dies wirkt sich auf die in dieser Arbeit vorgestellte iterative Sequenz asymmetrischer Allylierungen insofern aus, als dass die als Nebenprodukte entstehenden Diastereomere der Zielverbindungen sich nur auf der letzten Stufe chromatographisch abtrennen lassen, was angesichts der geringen strukturellen Unterschiede problematisch sein kann.

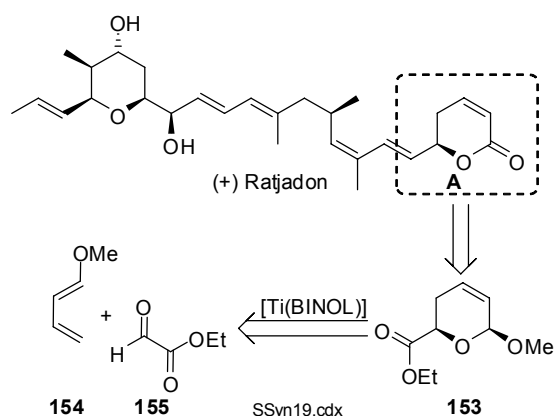
Ein zweiter Nachteil dieser Syntheseroute ist die große Menge an RCM-Katalysator, der für vollständigen Umsatz benötigt wird. Durch Einsatz der reaktiven Metathese-Katalysatoren der zweiten Generation konnte zwar auf die Zugabe von Additiven wie Titan-tetraisopropylat verzichtet werden, jedoch mussten mindestens 40 mol% des Metathese-Katalysators eingesetzt werden. Dies macht die Anwendung der RCM an der festen Phase nicht nur zu einem teuren Schritt (2 g des Grubbs II Kats kosten z.Zt. bei ALDRICH 574 EUR), sondern verschärft zusätzlich die Frage nach der Abtrennung des Katalysators von den Endprodukten. Ruthenium-Verbindungen zeigen ein breites biologisches Profil;<sup>[101]</sup> und bestimmte Ruthenium-Komplexe können die Polymerisation von Tubulin *in vitro* inhibieren, wie Denium et al. zeigten.<sup>[102;103]</sup> Andererseits konnten Meggers et al. vor kurzem zeigen, dass Ruthenium(II)-Sandwich-Komplexe mit labilen Liganden wie Cyclooctaydien ohne toxische Nebenwirkungen in Zellen eingeschleußt werden können.<sup>[104]</sup> Durch z.T. mehrfache chromatographische Aufreinigung konnten die meisten hier vorgestellten Substanzen als farblose Öle

erhalten werden, so dass alle Ruthenium-Rückstände beseitigt wurden. Für die anderen Fälle sollte die biologische Evaluierung unter Berücksichtigung dieses Aspektes durchgeführt werden.

### 3.1.3 Route II: Hetero-Diels-Alder Reaktionen an der festen Phase

#### 3.1.3.1 Einleitung

Alternativ zur im vorigen Abschnitt beschriebenen Allylierungs/RCM-Sequenz können  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Laktone auch über eine zweite Route an der festen Phase hergestellt werden. Diese von Dr. Michele Leuenberger am Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie entwickelte Strategie an der festen Phase beruht auf einer Oxa-Diels-Alder-Reaktion, die von Kalesse et al. in der Total-synthese von (+)-Ratjadon (Abb. 22) eingesetzt wurde.<sup>[105;106]</sup>

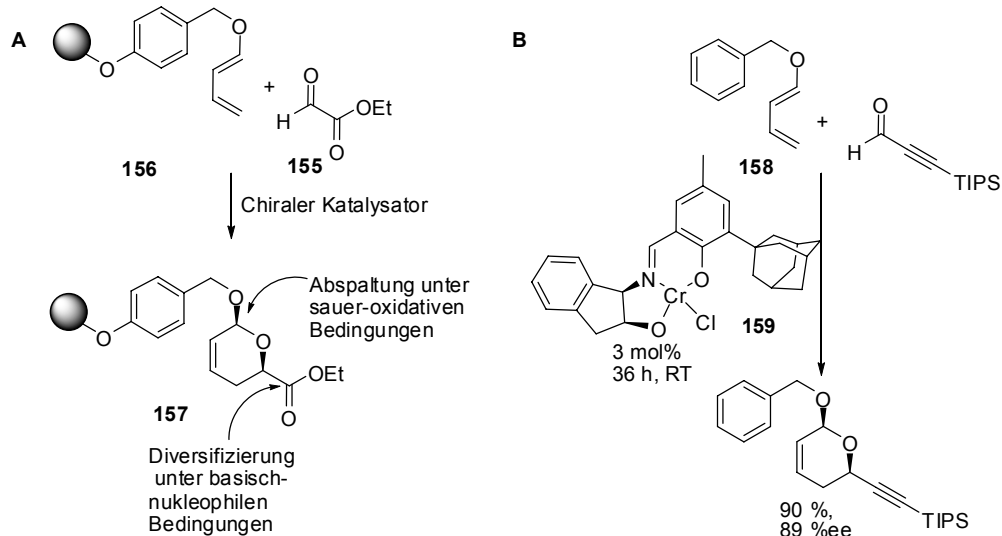


**Abb. 22:** Retrosynthetische Schnitte für (+) Ratjadon nach Kalesse et al.

Das Fragment **A** kann in drei Stufen aus dem 1,3-*cis* substituierten Ketal **153** synthetisiert werden, welches wiederum das Produkt einer *endo*-selektiven [4+2] Cycloaddition von 1-Methoxy-1,3-butadien **154** und Ethylglyoxylat **155** darstellt. Die asymmetrische Induktion wurde von Kalesse et al. durch die Verwendung eines chiralen Titan-Binolol-Komplexes erreicht,<sup>[107]</sup> der von Mikami<sup>[108]</sup> und Keck<sup>[109]</sup> in ähnlichen Cycloadditionen eingesetzt wurde.

Das Interesse an verschiedenen substituierten  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen ließ einen Transfer der hetero-Diels-Alder-Reaktion an die feste Phase attraktiv erscheinen. Der Syntheseplan (Schema 27, **A**) sah vor, die Dienkomponente an einem geeigneten polymeren Träger zu immobilisieren. Unter Verwendung des Wang-Linkers würde ein Dien entstehen, das dem Benzyloxybutadien **158** (Schema 27, **B**) ähnelt, das von Jacobsen et al. in der Synthese von Fostriecin **8** eingesetzt wurde.<sup>[21]</sup> Mit dem von Jacobsen et al. entwickelten und eingesetzten Chrom(II)-Katalysator **159** wurde eine Reihe von Aldehyden in der hetero-Diels-Alder-Reaktion mit sehr hohen Enantiomerenüberschüssen umgesetzt.<sup>[110]</sup>

Das Produkt der hetero-Diels-Alder-Reaktion an der festen Phase ist das Ketal **157**, das zunächst an der Ester-Seitenkette weiter derivatisiert werden kann und anschließend unter sauer-oxidativen Bedingungen vom polymeren Träger abgespalten wird.



**Schema 27:** **A** Allgemeines Syntheschema für eine Bibliothek von Laktone an der festen Phase; **B** Jacobsens Katalysator in der Totalsynthese von Fostriecin

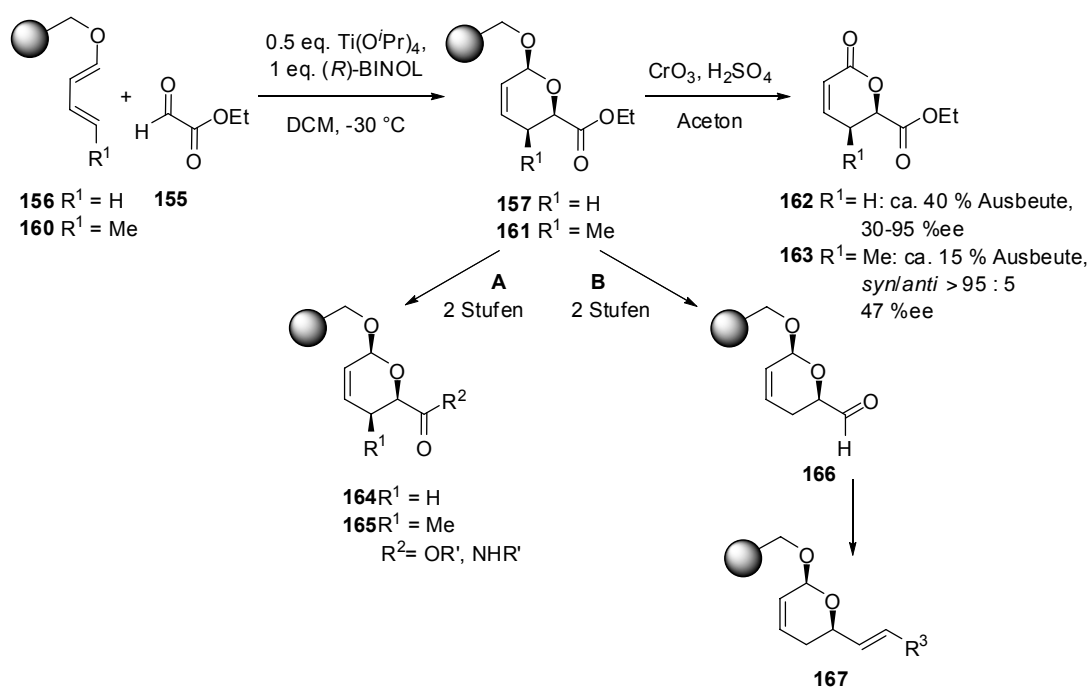
Die von Dr. Michele Leuenberger durchgeführten Versuche zur enantioselektiven Addition des immobilisierten Diens **156** an den Aldehyd **155** zeigten, dass der von Kalesse et al. beschriebene Titan-Binol-Katalysator für die Reaktionen an der festen Phase prinzipiell geeignet ist (Schema 28).

Jedoch mussten die Reaktionsbedingungen für den Einsatz polymergebundener Substrate modifiziert werden, wie häufig der Übertragung einer Reaktion aus der Lösung an die feste Phase: Statt 12 mol% des Katalysators, wie von Kalesse et al. für die Reaktion in Lösung berichtet, mussten 50 mol% Titan-tetraisopropoxyolat und 100 mol% (*R*)-BINOL eingesetzt werden. Ein größerer Überschuss des Dienophils (mindestens 10 Äquivalente) war ebenfalls notwendig. Auch dauerte die Reaktion am immobilisierten Dien länger: statt 2.5 h bei -30 °C in Lösung wurden mindestens fünf Stunden bei -30 °C benötigt, um sowohl akzeptable Umsätze als auch hohe Enantioselektivitäten zu erreichen. Nach diesen Anpassungen lag die Ausbeute nach Abspaltung mit dem Jones-Reagenz bei maximal 40 %. Das Enantiomerenverhältnis im Cycloaddukt konnte bereits direkt nach Abspaltung aus dem Rohprodukt **162** bzw. **163** mittels Gaschromatographie auf einer chiralen Lipodex E-Säule bestimmt werden. Es konnten z.T. Enantiomerenüberschüsse von über 90 % erzielt werden. Durch Oxidation des

Intermediates **153** aus der Ratjadon-Synthese von Kallesse et al. und Vergleich des Drehwertes mit dem von **162** konnte außerdem belegt werden, dass die hetero-Diels-Alder-Reaktion an der festen Phase den gleichen stereochemischen Verlauf nimmt wie in Lösung.

An dieser Stelle der Synthesesequenz wurden folgende Beobachtungen gemacht, die eine weitere Optimierung sinnvoll erscheinen ließen:

- Das Enantiomerenverhältnis im Cycloaddukt **157** war nicht konstant. Die erreichten Enantiomerenüberschüsse schwankten stark.
- Die oben berichteten Enantiomerenüberschüsse von mehr als 90 % konnten nur erreicht werden, wenn eine geringe Menge des polymergebundenen Diens **156** eingesetzt wurde. Bei mehr als 500 mg eingesetzten Harzes ging die Enantioselektivität auf Werte um 40 %ee zurück. Für eine breite Diversifizierung wurde das polymergebundene Cycloaddukt **157** aber im Multigramm-Maßstab benötigt.



**Schema 28:** Synthese einer Bibliothek von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten- $\delta$ -Laktonen an der festen Phase (M. Leuenberger).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass verschiedene Möglichkeiten der Diversifizierung bestehen. Ausgangspunkte hierfür waren die Produkte der Cycloaddition **157** und **161** (Schema 28): Hydrolyse der Ethylester mit Lithiumhydroxid lieferte die immobilisierten Säuren, die in einer nucleophilen Substitution mit

aktivierten Halogeniden Ester ausbilden konnten oder nach PyBOP-Aktivierung mit Aminosäuremethylestern gekoppelt werden konnten (Weg **A**). Zudem konnte durch Reduktion des Ethylesters **157** und Reoxidation mit IBX der Aldehyd **166** erhalten werden (Weg **B**), der mit sieben unterschiedlichen Wittig-Yliden zu den Olefinen **167** umgesetzt wurde.

Insgesamt konnte M. Leuenberger eine Bibliothek von 48 Substanzen synthetisieren. Dabei wurden nach Abspaltung vom polymeren Träger Gesamtausbeuten von 1-16 % für die Ester und Amide **164/165** und < 10 % für die Wittig-Produkte **167** erhalten.

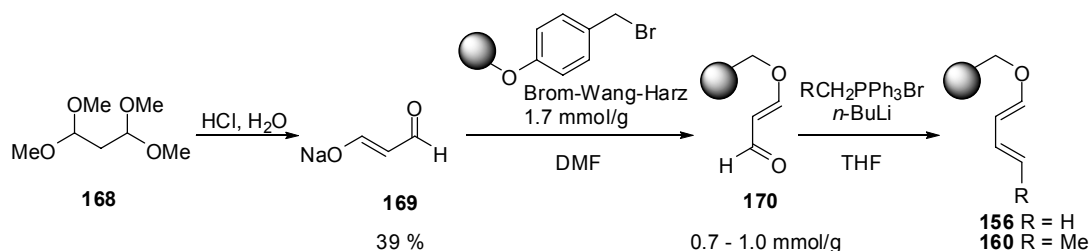
Im Rahmen dieser Arbeit sollte versucht werden, die hetero-Diels-Alder-Reaktion an der festen Phase weiter zu entwickeln. Insbesondere sollte dabei die Reproduzierbarkeit der erreichten Stereoselektivitäten in der hetero-Diels-Alder-Reaktion verbessert werden. Das Ziel war dabei, einen möglichst hohen Enantiomerenüberschuss im Cycloaddukt **157** in Ansatzgrößen >2 mmol zu erreichen.

Außerdem wurde angestrebt, weitere Derivatisierungsmöglichkeiten zu finden, insbesondere solche, in denen neue C-C-Bindungen in der Seitenkette geknüpft werden können.

### 3.1.3.2 Untersuchung der hetero-Diels-Alder-Reaktion

#### 3.1.3.2.1 Synthese der immobilisierten Diene

Die am Trägerharz immobilisierten Diene **156** und **160** konnten in einer kurzen Synthesesequenz erhalten werden (Schema 29). Wässrige Salzsäure öffnete die Ketale in kommerziell erhältlichem 1,1,3,3-Tetramethoxypropan **168**. Der auf diese Weise entstehende Propionaldehyd wurde als Natriumsalz des Enolats **169** gefällt. Dieses wurde durch nukleophile Substitution an Brom-Wang-Harz immobilisiert. Nach zwei Beladungszyklen konnte durch Titration mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin<sup>[111]</sup> eine Beladung von 0.7-1.0 mmol/(g Harz) bestimmt werden, was einer Ausbeute von 40-60 % entspricht. Eine starke Bande des Aldehyds im FT-IR-Spektrum bei 1683 cm<sup>-1</sup> zeigte zudem die erfolgreiche Beladung an.

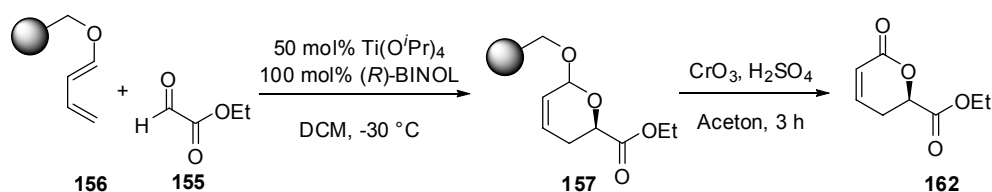


**Schema 29:** Synthese der immobilisierten Diene **156** und **160**.

Durch Einsatz verschiedener Wittig-Salze konnte bereits auf dieser Stufe der Synthese diversifiziert werden. Der Aldehyd **170** wurde in einer Wittig-Reaktion in das unsubstituierte Dien **156** und das 4-Methylsubstituierte Dien **160** überführt. Die Reaktion ließ sich durch das Verschwinden der Aldehyd-Bande im FT-IR-Spektrum verfolgen. Auf die Synthese der Diene **156** und **160** konnte nun die in dieser Arbeit beabsichtigte eingehende Untersuchung der enantioselectiven hetero-Diels-Alder-Reaktion an der festen Phase erfolgen.

### 3.1.3.3 Versuche mit Titan-BINOL-Katalysatoren

Die Untersuchung der hetero-Diels-Alder-Reaktion an der festen Phase begann mit den bereits beschriebenen Bedingungen. Der Ablauf der Reaktion ist in Schema 30 gezeigt. Dabei wurde der Katalysator durch einstündiges Rühren von Titan-tetraisopropoxyolat und (*R*)-BINOL unter Rückfluss *in situ* hergeteilt und dann bei  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  zu dem in DCM gequollenen Dien **156** gegeben. Bei dieser Temperatur wurde das frisch destillierte Ethylglyoxylat **155** über einen Zeitraum von 3 Stunden zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von insgesamt 15-20 Stunden wurde die Reaktion aufgearbeitet. Ein Teil des Harzes wurde für eine Testabspaltung abgenommen und der ee-Wert des Produktes **162** mittels GC auf einer chiralen Lipodex E-Säule bestimmt.



**Schema 30:** Allgemeiner Ablauf der hetero-Diels-Alder-Reaktion.

In einer Reihe von Experimenten konnte zunächst gezeigt werden, wie stark die erzielten Enantiomerenüberschüsse in der Reaktion von Lösungsmittel und Vorbereitung des Katalysators abhingen. Wie in Tabelle 7 zu sehen ist, konnten

mit dem Dien **156** Enantiomerenüberschüsse erzielt werden, die zwischen 29 und 87 % schwankten (Einträge 1 und 3). Da in diesen Versuchen das Dien **156** aus unterschiedlichen Ansätzen stammte, wurden in Einträgen 4 und 5 die zwei Chargen des Diens **156** miteinander verglichen, indem sie unter identischen Bedingungen mit derselben Katalysatorlösung umgesetzt wurden.

Nr.	Bedingungen	Selektivität
1	50 mol% Ti(O <i>i</i> Pr) <sub>4</sub> , 100 mol% ( <i>R</i> )-BINOL	29 %ee
2	50 mol% Ti(O <i>i</i> Pr) <sub>4</sub> , 100 mol% ( <i>R</i> )-BINOL	47 %ee
3	50 mol% Ti(O <i>i</i> Pr) <sub>4</sub> , 100 mol% ( <i>R</i> )-BINOL	87 %ee
4	50 mol% Ti(O <i>i</i> Pr) <sub>4</sub> , 100 mol% ( <i>R</i> )-BINOL	53 %ee
5	50 mol% Ti(O <i>i</i> Pr) <sub>4</sub> , 100 mol% ( <i>R</i> )-BINOL	47 %ee

**Tabelle 7:** Untersuchung der hetero-Diels-Alder-Reaktion (Reaktionsbedingungen: Schema 30) unter Variation des eingesetzten Diens.

Dabei stellte sich heraus, dass die erzielten Stereoselektivitäten zwar leicht schwankten, in diesem Fall um einen Wert von 50 %ee, dass aber innerhalb eines Parallelexperiments reproduzierbare Werte erhalten wurden. Damit war gezeigt, dass die allgemeinen Reaktionsbedingungen, z.B. die Vorbereitung des Katalysators, die Reaktionsführung etc., einen größeren Einfluss auf die Selektivität der Reaktion hatten als das eingesetzte Dien. Um dieser Beobachtung Rechnung zu tragen, wurde bei allen weiteren Optimierungen stets eine Kontrolle durchgeführt, für die das Harz in DCM mit 50 mol% Ti(O*i*Pr)<sub>4</sub> und 100 mol% BINOL umgesetzt wurde. Auf diese Weise sollten die anderen Reaktionsparameter relativ zu den Standardbedingungen variiert wrden.



### 3.1.3.3.1 Variation des Lösungsmittels

Das Ethylglyoxylat **155** ist kommerziell als Lösung in Toluol (ca. 50 %) erhältlich, um vollständige Polymerisation zu vermeiden. Dennoch liegt es teilweise als Polymer vor, weswegen es vor Einsatz in der hetero-Diels-Alder-Reaktion bei 80 °C depolymerisiert und anschließend destillativ vom Toluol getrennt werden muss. Da im Destillationsprodukt über  $^1\text{H}$  NMR-Spektroskopie noch Rückstände von Toluol detektiert werden konnten, sollte der Einfluss von Toluol auf den Umsatz und Enantioselektivität der Cycloaddition untersucht werden. Außerdem wurde angenommen, dass evtl. Wasser aus unzureichend getrockneten Lösungsmitteln den Katalysator partiell hydrolysieren und damit einen (potentiell) racemischen zweiten Reaktionspfad öffnen könnte. Die Einflüsse der verschiedenen Lösungsmittel auf die Selektivität der Reaktion sollten im Folgenden untersucht werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt:

Nr.	Lösungsmittel	Selektivität
1	DCM + Toluol aus Glyoxylat-Lösung	65 %ee
2	DCM/Toluol 1 : 1	48 %ee
3	DCM/H <sub>2</sub> O 10 : 1	24 %ee
4	DCM, Toluol-frei	78 %ee

**Tabelle 8:** Untersuchung des Lösungsmittel-Einflusses auf die hetero-Diels-Alder-Reaktion (Schema 30).

In einer Serie von Experimenten wurde die hetero-Diels-Alder-Reaktion in verschiedenen Lösungsmittelmischungen durchgeführt. In Dichlormethan, welches noch Toluol aus der Glyoxylat-Lösung enthielt (Tab. 8 Eintrag 1), wurde mit 65 % ein höherer Enantiomerenüberschuss erzielt als in einer 1 : 1 Mischung aus Dichlormethan und Toluol (Eintrag 2) und in Dichlormethan, das mit 10 % Wasser versetzt war. (Eintrag 3). Sorgfältige Destillation des Ethylglyoxylats führte zu Toluol-freien Bedingungen, die sich als überlegen erwiesen (78 %ee, Eintrag 4). Es musste also möglichst Toluol- und Wasser-frei gearbeitet werden.

Als weitere Variation des Lösungsmittels wurde Dichlorethan eingesetzt. Wie sich in einem Parallelexperiment herausstellte (Tab. 9), sank der ee-Wert beim Übergang von DCM auf DCE von 75 auf 48 %ee.

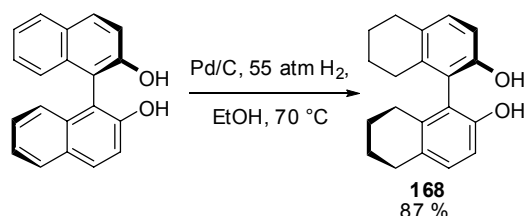
Nr.	Lösungsmittel	Selektivität
1	DCM	75 %ee
2	DCE	48 %ee

**Tabelle 9:** Einfluss von DCE auf die hetero-Diels-Alder-Reaktion (Schema 30).

### 3.1.3.4 Variation des Katalysators

#### 3.1.3.4.1 Hydrierung des Liganden

Im Rahmen einer Untersuchung der hetero-Diels-Alder-Reaktion in Lösung berichteten Jiang et al., dass die Enantioselektivität bei der Cycloaddition des Danishefsky-Diens (1-Methoxy-3-(trimethylsilyloxy)-1,3-butadien) an Benzaldehyd verbessert werden konnte, wenn der partiell hydrierte BINOL-Ligand **168** eingesetzt wurde. Insgesamt konnte ein Anstieg von 87 %ee auf 97 %ee beobachtet werden.<sup>[112]</sup> Es erschien daher interessant, auch die hetero-Diels-Alder-Reaktion an der festen Phase mit diesem Liganden zu testen. Die Hydrierung von (*R*)-BINOL zu (*R*)-H<sub>8</sub>-BINOL **168** wurde nach einem Protokoll von Börner et al.<sup>[113]</sup> durchgeführt (Schema 31). Anstelle der für solche Reaktionen oft eingesetzten Platinoxid-Katalysatoren,<sup>[114]</sup> die wegen der Gefahr der Racemisierung des Substrats nur bei Raumtemperatur und niedrigen H<sub>2</sub>-Drücken eingesetzt werden können, gelang hier die Hydrierung bei 55 atm Wasserstoff in Gegenwart von 7 mol% Palladium auf Aktivkohle in 87 % Ausbeute nach chromatographischer Aufreinigung. Der Drehwert von **168**  $[\alpha]_D = 48.0$  °(c 1.07, CHCl<sub>3</sub>) lag nah am Literaturwert<sup>[114]</sup> von 52.8 °(c 1.1, CHCl<sub>3</sub>).



**Schema 31:** Hydrierung des BINOL-Liganden.

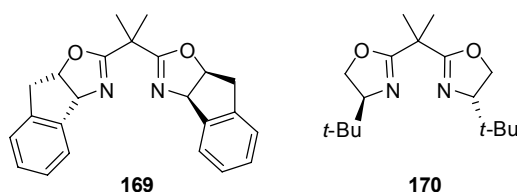
Der Einsatz des Liganden **168** in der Cycloaddition konnte aber keine Verbesserung bringen; im Gegenteil: in einem Parallelexperiment wurden mit (*R*)-BINOL 74 %ee erzielt, mit (*R*)-H<sub>8</sub>-BINOL aber nur 19 %ee (Tab. 10).

Nr.	Katalysator	Selektivität
1	50 mol% Ti(O <sup>i</sup> Pr) <sub>4</sub> , 100 mol% BINOL	74 %ee
2	50 mol% Ti(O <sup>i</sup> Pr) <sub>4</sub> , 100 mol% <b>168</b>	19 %ee

**Tabelle 10:** Vergleich von BINOL-Liganden in der hetero-Diels-Alder-Reaktion (Schema 30).

### 3.1.3.4.2 Kupfer-basierte Katalysatoren

Da Kupfer(II)-Komplexe mit chiralen 2,2-bis-(Oxazolidin-2-yl)-propan-Liganden<sup>[115]</sup> (sog. „Box“-Liganden, Abb. 23) in den asymmetrischen Varianten von Alder-En-Reaktionen<sup>[116]</sup> sowie Diels-Alder Reaktionen<sup>[117]</sup> und hetero-Diels-Alder-Reaktionen mit inversem Elektronenbedarf<sup>[43]</sup> sehr gute Enantioselektivitäten einbrachten, wurden diese Katalysatoren auch im Rahmen dieser Arbeit in Betracht gezogen.



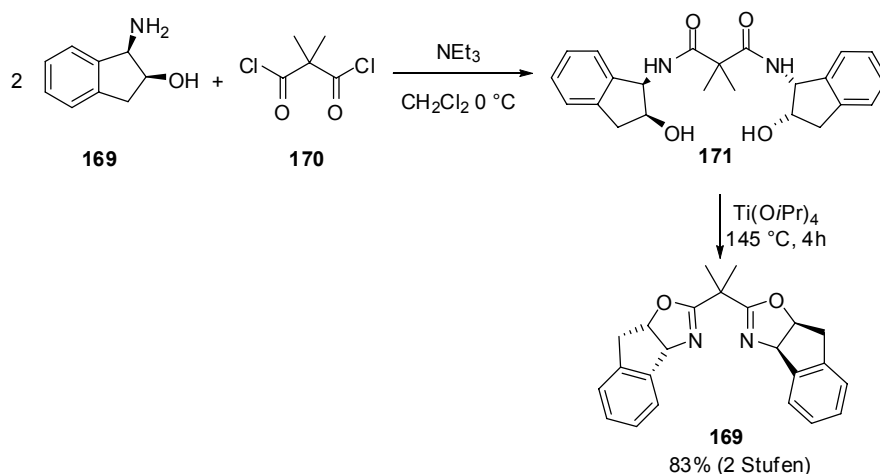
**Abb. 23:** Struktur der „Box“-Liganden.

So erzielten Ghosh et al. in einer Glyoxylat-Diels-Alder-Reaktion mit dem Danishefsky Dien und dem Kupfer(II)-Komplex des Liganden **169** eine Selektivität von 72 %ee.<sup>[118]</sup> In weiteren Studien untersuchten Jørgensen et al. die enantioselektive Glyoxylat-Addition an Cyclohexadien und erreichten hier Enantioselektivitäten von über 97 %ee.<sup>[119]</sup>

Der Aufbau einer Verbindungsbibliothek an der festen Phase durch Schreiber et al.<sup>[43]</sup> sowie verwandte Arbeiten von Kurosu et al.<sup>[120]</sup> zeigten, dass die chiralen Kupferkomplexe prinzipiell mit der organischen Synthese an der festen Phase kompatibel waren.

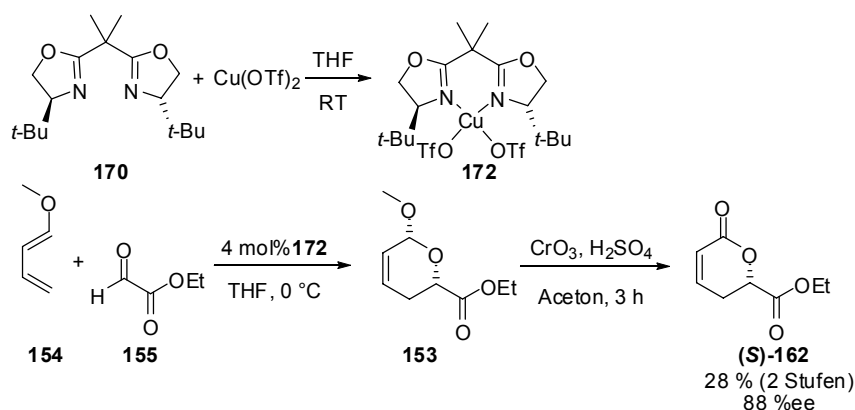
Die zwei chiralen Bis(oxazolin)-Liganden, mit denen Schreiber und Kurosu an der festen Phase hohe ee-Werte erreichen konnten, wurden für diese Arbeit in betracht gezogen: „Indabox“ **169** und „tert.-Bu-Box“ **170**. Während **170** kommerziell erhältlich ist, wurde der „Indabox“-Ligand in zwei Stufen synthetisiert

(Schema 32):<sup>[120]</sup> Zunächst wurde 3-Amino-2-indanol mit Dimethylmalonat gekoppelt, dann erfolgte ohne Isolierung der Zwischenstufe **171** die Kondensation zum heterozyklischen System in siedendem Titantetraisopropoxyat.



**Schema 32:** Synthese des Indabox-Liganden **167**.

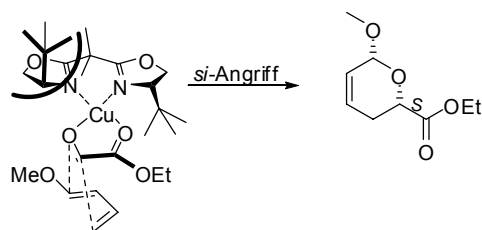
Die prinzipielle Möglichkeit, mit den Cu-Box-Katalysatoren in der Glyoxylat-Diels-Alder-Reaktion asymmetrische Induktionen zu erzielen, konnte in Lösung gezeigt werden (Schema 33). Dazu wurde 1-Methoxybutadien **154** bei 0 °C mit einer Lösung des Katalysators **172** und des Ethylglyoxylats in THF umgesetzt. Nach Oxidation zum Laktone **162** mit dem Jones-Reagenz konnte der Enantiomerenüberschuss bestimmt werden: wie die GC-Analyse zeigte, war das (*S*)-Enantiomer mit 88 %ee gebildet worden. Allerdings war die niedrige Ausbeute von 28 % über zwei Stufen ein Hinweis auf eine nur geringe Aktivität des Katalysators **172** in der Reaktion.



**Schema 33:** Einsatz des *tert.*-butyl-Box-Liganden **168** in der Glyoxylat-Diels-Alder-Reaktion.

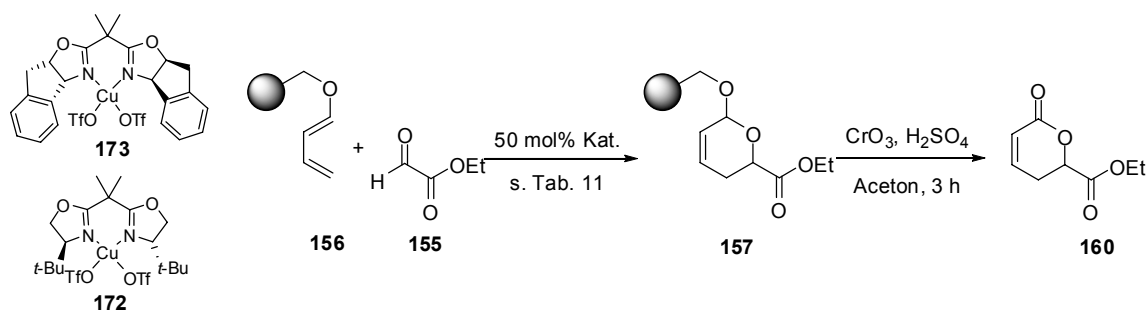
Der stereochemische Ausgang der Reaktion mit dem Katalysator **172** kann mit einem Verlauf über einen Übergangszustand erklärt werden, der in Abb. 24

skizziert ist: Das Glyoxylat bildet einen Chelat-Komplex mit dem Kupfer-Zentrum aus, und durch Abschirmung einer Seite des Aldehyds durch die *tert.*-Butylgruppe ist allein eine Reaktion auf der *si*-Seite möglich.



**Abb. 24:** Modell eines Übergangszustandes zur Erklärung der Stereoselektivität der Glyoxylat-Addition an 1-Methoxybutadien unter Kupfer(II)-Katalyse.

Beim Transfer auf die feste Phase brachte keiner der Kupfer-Katalysatoren in der Reaktion Vorteile gegenüber dem Titan/BINOL-System (Tab. 11).



Nr.	Katalysator	Temp.	Lösungsmittel	Selektivität
1	50 mol% <b>173</b>	-30 °C	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	45 %ee ( <i>R</i> )
2	100 mol% <b>173</b>	-78 °C bis 0 °C	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	60 %ee ( <i>R</i> )
3	40 mol% <b>172</b>	0 °C	THF	85 %ee ( <i>S</i> )

**Tabelle 11:** Einsatz von Cu(II)-Katalysatoren in der Glyoxylat-Diels-Alder-Reaktion.

Bei der Verwendung des Indabox-Liganden **167** (Tabelle 11, Einträge 1, 2) führte der Katalysator sogar in stöchiometrischem Einsatz zu deutlich geringerem Umsatz als zuvor. Die gaschromatographische Analyse des Rohproduktes zeigte an, dass bei Einsatz von 50 mol% **173** das gewünschte (*R*)-Isomer in 45 % Enantiomerenüberschuss vorlag, bei Umsatz in Gegenwart von 100 mol% **173** wurden 60 %ee erreicht.

Mit dem Liganden **168** konnte die Enantioselectivität noch deutlich gesteigert werden. Der Katalysator **172** wurde in THF gebildet und in der Glyoxylat-Diels-Alder-Reaktion an der festen Phase getestet. Bei einer Katalysator-Ladung von 50 mol% in Bezug auf das immobilisierte Dien **156** wurde im Cycloaddukt ein Enantiomerenüberschuss von 87 % detektiert, allerdings mit dem (*S*)-Isomer als

Hauptprodukt (Tab. 11, Eintrag 3). Da der Ligand **168** in beiden enantiomeren Formen kommerziell erhältlich ist, war dies aber unerheblich.

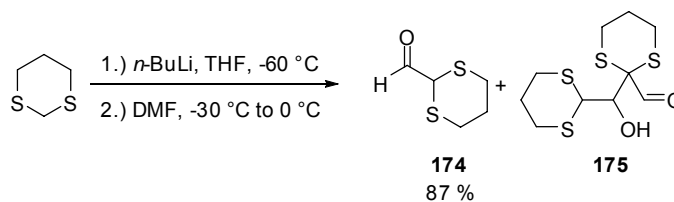
Bei den hier durchgeführten Kupfer-katalysierten Reaktionen blieb der Enantiomerenüberschuss erfreulicherweise beim Übergang von Lösung an das immobilisierte Substrat stabil (wenn auch bei höherer Katalysator-Ladung). Allerdings konnte nach Aufarbeitung und Abspaltung nur so wenig Produkt isoliert werden, dass die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses mittels Gaschromatographie noch möglich war, an eine Aufreinigung aber nicht gelang. Damit bestätigte sich der schon in Lösung beobachtete niedrige Umsatz der Kupfer-katalysierten Reaktion auch am immobilisierten Dien **156**. Für die Anwendung eines Katalysators in der Synthese einer Verbindungsbibliothek war aber ein hoher Umsatz unerlässlich, da sonst deutlich mehr Trägerharz hätte eingesetzt werden müssen.

Damit waren die Kupfer-Katalysatoren mit Box-Liganden dem ursprünglichen Titan-BINOL nicht überlegen. Aus diesen Gründen wurde diese Route nicht weiter verfolgt.

### 3.1.3.5 Variation des Aldehyds

Neben der Variation von Lösungsmittel und Katalysator wurde auch das Dienophil der hetero-Diels-Alder-Reaktion variiert. Der Grund war die aufwendige Gewinnung des Ethylglyoxylats: Es musste von Toluol fraktioniert destilliert werden (Sdp. ca. 130 °C) und außerdem in depolymerisierter Form vorliegen. Die Polymerisation setzte aber nach Abkühlung wieder ein, so dass im Reaktionsverlauf ständig neues Dienophil destilliert werden musste. Als Alternative wurde der Dithian-2-Carbaldehyd **174** in Betracht gezogen, der ebenfalls eine aktivierte Aldehyd-Funktion besitzt<sup>[121]</sup> und nach Cycloaddition und Entfernung des Dithians direkt einen Aldehyd liefern würde, der in C-C-Bindungsknüpfenden Reaktionen eingesetzt werden könnte. Aldehyd **174** wurde nach einer Vorschrift von Meyers<sup>[122]</sup> in 87 % Ausbeute gemeinsam mit dem Dimer **175** erhalten (Schema 34) und in der Titan- oder Kupfer-katalysierten hetero-Diels-Alder-Reaktion eingesetzt. Jedoch konnte weder über IR-Spektroskopie am Harz

noch nach Abspaltung vom Harz über GC-MS oder  $^1\text{H}$  NMR-Spektroskopie ein Umsatz mit dem immobilisierten Dien **156** festgestellt werden.

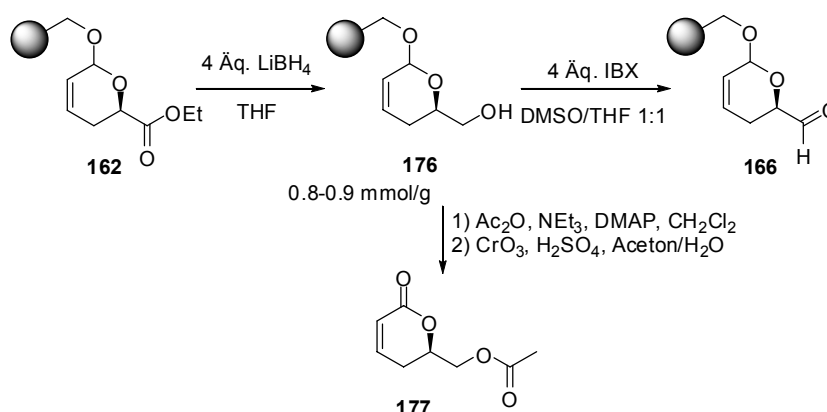


**Schema 34:** Synthese des Aldehyds **174**.

### 3.1.3.6 Weitere Schritte

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Ziel gesetzt, die Syntheseroute zu  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen über hetero-Diels-Alder-Reaktionen weiter auszubauen und den vom Cycloaddukt **162** abgeleiteten Aldehyd **166** (Schema 35) als Ausgangspunkt weiterer Transformationen zu nehmen. Insbesondere schien die Umsetzung in Aldol-Reaktionen attraktiv, da diese zu naturstoffähnlichen Verbindungen führen würden.

Die Reduktion zum Alkohol **176** gelang mit 4 Äq.  $\text{LiBH}_4$  in THF (Schema 35) und konnte nach Acetylierung der Hydroxygruppe und Abspaltung des Produktes **177** vom Harz nachgewiesen werden. Mittels Fmoc-Tests<sup>[123]</sup> wurde die Beladung des Harzes **176** zu 0.8-0.9 mmol/g bestimmt.

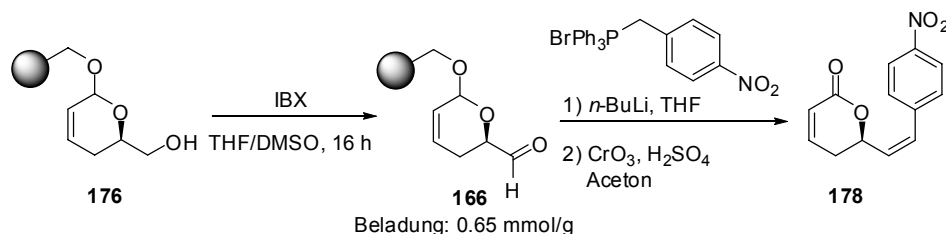


**Schema 35:** Derivatisierungen des Cycloaddukts **162**.

Bei der folgenden Oxidation zum Aldehyd traten weitere Schwierigkeiten auf. Beim Einsatz von IBX als Oxidationsmittel trat zwar im FT-IR-Spektrum eine Carbonyl-Bande bei  $1735\text{ cm}^{-1}$  auf, doch gelang es auch unter Verwendung von bis zu 8 Äq. IBX und Reaktionszeiten von bis zu 60 h nicht, vollständigen Umsatz zu erzielen, da stets noch eine starke OH-Schwingung zu sehen war. Da ein

großer Umsatz und eine hohe Beladung des Aldehyds **166** am Harz für weitere Syntheseschritte unerlässlich waren, wurde diese Oxidation weiter untersucht.

Nach erfolgter IBX-Oxidation zeigte eine Titration mit DNPH eine Aldehyd-Beladung von  $0.65 \text{ mmol g}^{-1}$  an. Auch gelang die Umsetzung mit einem Wittig-Ylid (Schema 36) zu Verbindung **178**.



**Schema 36:** Abfangen des Aldehyds **166** mit einem Wittig-Ylid.

Weitere Oxidationsmittel wurden untersucht. Da der Aldehyd **166** unter den Abspaltungsbedingungen des Jones-Reagenzes nicht stabil war, konnte die Reaktion nur mittels Infrarot-Spektroskopie am Harz verfolgt werden. Dies erschwerte quantitative Aussagen über den Umsatz der Reaktion.

Mit Dess-Martin-Periodinan<sup>[124]</sup> wurde das Auftreten einer Carbonylbande im FT-IR-Spektrum in mit IBX vergleichbarem Umfang beobachtet. Bei Verwendung von TPAP, einem Ruthenium-basierten Katalysator mit *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid als Reoxidans,<sup>[125]</sup> wurde die Carbonyl-Bande ebenfalls detektiert, ohne dass die OH-Schwingung verschwunden war. Hingegen zeigte das IR-Spektrum des Alkohols **176** keine Veränderung, wenn als Oxidationsmittel  $\text{SO}_3 \cdot \text{Pyridin}$ <sup>[126]</sup> oder DMSO/Oxalylchlorid<sup>[127]</sup> eingesetzt wurden.

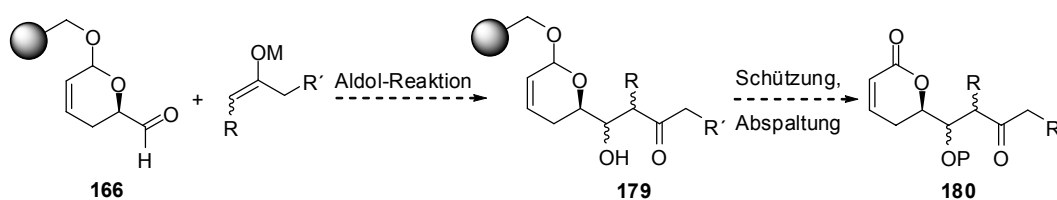
Weitere Experimente wurden durchgeführt, um auszuschließen, dass das Substrat während der langen Reaktionszeit durch Oxidation und Zersetzung des Wang-Linkers vom polymeren Träger abgespalten wurde. Dazu wurden bei Einsatz von IBX nach vier und acht Stunden Reaktionszeit Proben aus dem Überstand mittels GC-MS analysiert. Dabei konnte jedoch kein Abspaltungsprodukt detektiert werden.

Da das IR-Spektrum nach der Reaktion von **176** mit IBX eine Carbonylbande zeigte, wurde für weitere Untersuchungen die –zumindest partielle – Umsetzung zum Aldehyd **166** angenommen. Das Harz wurde in weiteren Reaktionen eingesetzt.



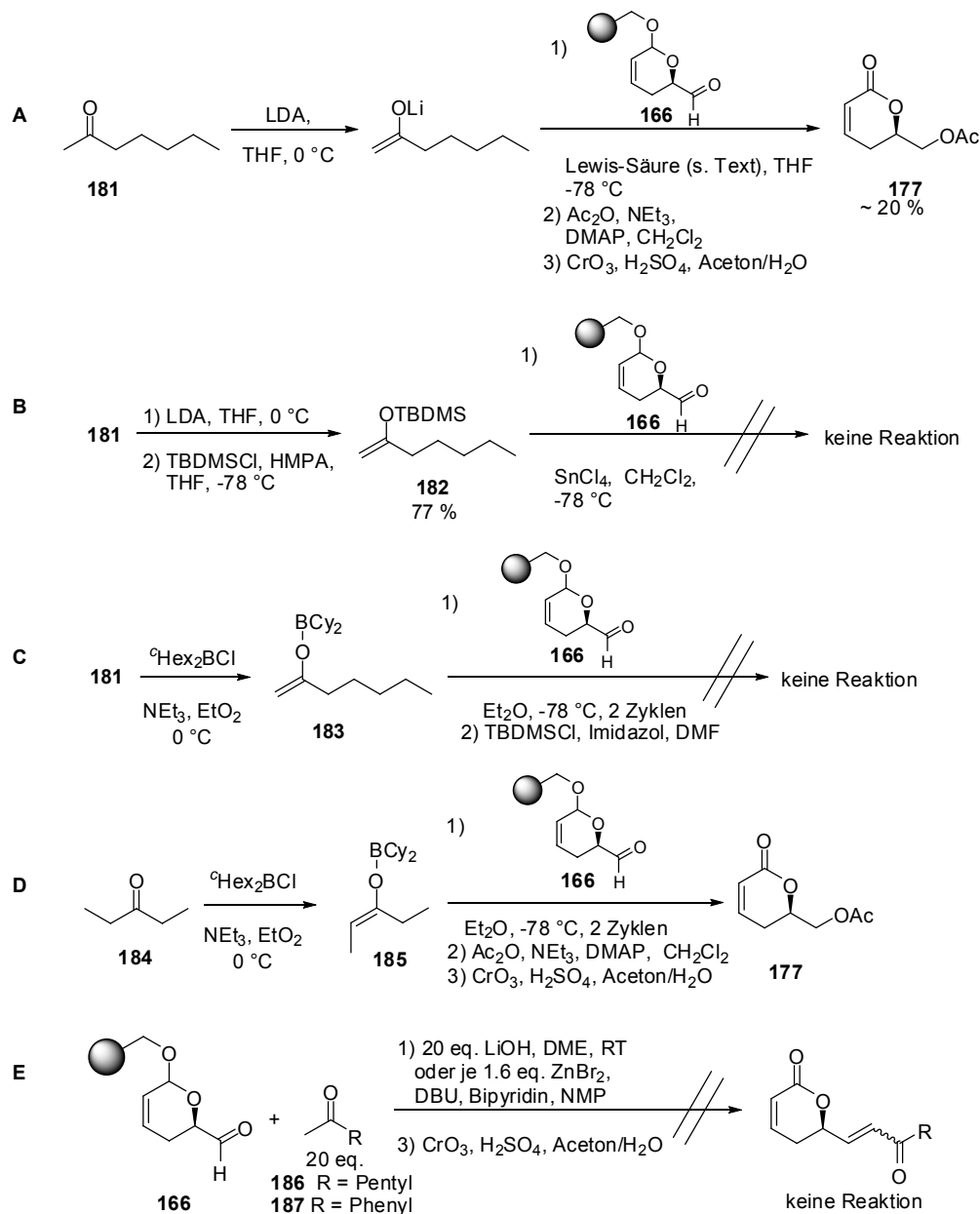
### 3.1.3.7 Versuche von Aldol-Reaktionen am immobilisierten Aldehyd **166**

Um einen Zugang zu neuartig funktionalisierten  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen zu haben, sollte der Aldehyd **166** aus der hetero-Diels-Alder-Sequenz in C-C-bindungsknüpfenden Reaktionen eingesetzt werden. Dabei wurden Aldol-artige Reaktionen als besonders interessant angesehen, da auf diese Weise  $\beta$ -Hydroxycarbonylverbindungen entstehen (Schema 37), die z.B. durch stereospezifische Reduktion weiter in 1,3-Diole transformiert werden können. Um solche Verbindungen zu erhalten, sollte der Aldehyd **166** mit einem Enolat zur  $\beta$ -Hydroxyverbindung **179** reagieren. Für solche Reaktionen sind für immobilisierte Aldehyde nur wenige Beispiele bekannt, und stereoselektive Varianten dieser Reaktionen sind in der organischen Synthese an der festen Phase sehr selten.<sup>[37;39]</sup> Im Falle eines Aldol-Produktes vom Typ **179** musste die oxidationsempfindliche Hydroxylgruppe vor der Abspaltung mit dem Jones-Reagenz geschützt werden, dies sollte als Acetat oder TBS-Ether geschehen.



**Schema 37:** Synthesekonzept für Derivatisierungen des Aldehyds **166** mittels Aldol-Reaktionen.

In den Aldol-Reaktionen am Aldehyd **166** wurde die Enolat-Komponente variiert. neben Lithium- und Bor-Enolaten wurden auch Silylenolether eingesetzt. In Schema 38 sind die Versuche zur Enolat-Addition zusammengefasst:



**Schema 38:** Versuche zur Aldol-Reaktion am Aldehyd **166**.

(A) Das kinetische Lithium-Enolat von 2-Heptanon **181** wurde in Gegenwart von 3 Äq.  $\text{ZnCl}_2$ <sup>[128]</sup> oder 5 Äq.  $\text{BF}_3$ -Etherat mit dem immobilisierten Aldehyd **166** umgesetzt. Anschließende Acetylierung und Abspaltung führten nur zur Isolierung des acetylierten Alkohols **177** in Ausbeuten um 20 %; ein Zeichen für die unvollständige Oxidation zum Aldehyd **166**.

(B) Das Abfangen des Enolats von **181** mit TBS-Chlorid gelang mit 77 % Ausbeute.<sup>[129]</sup> In Anwesenheit der starken Lewis-Säure Zinn(IV)chlorid wurde der Silylenolether **182** zu Aldehyd **166** gegeben,<sup>[129]</sup> jedoch konnte nach Aufarbeitung der Reaktion im IR-Spektrum keine Veränderung festgestellt werden.

(C, D) Die Borenolate **183** und **185** wurden ebenfalls mit dem Aldehyd **166** umgesetzt. Ein Additionsprodukt konnte in beiden Fällen nicht isoliert werden. Stattdessen wurde im Fall von **185** erneut nur das acetylierte Laktone **177** isoliert.

(E) Marzinzik et al. berichteten über eine Aldol-Kondensation an immobilisierten Substraten unter stark basischen Bedingungen.<sup>[130]</sup> Einen ähnlichen Weg beschrieb Sensfuss mit einer Aldol-Kondensation an der festen Phase, die in Gegenwart von Zinkbromid, Bipyridin und DBU durchgeführt wurde.<sup>[131]</sup> Diese Varianten der Aldolkondensation wurden am Harz **166** mit Heptanon **186** und Acetophenon **187** als Enol-Komponente getestet. In keinem Fall konnte das gewünschte Produkt auch nur in Spuren durch <sup>1</sup>H NMR-Spektroskopie oder GC-MS detektiert werden.

Nach diesen Versuchen wurde von weiteren Ansätzen abgesehen, den Aldehyd **166** zu funktionalisieren. Da der freie Aldehyd nicht unter oxidativen Bedingungen abgespalten werden kann, konnte nicht festgestellt werden, welcher Anteil des immobilisierten Alkohols **176** wirklich oxidiert worden war.

Es gelang nicht, die Ursachen für die geringe Reaktivität des Alkohols **176** bzw. des Aldehyds **166** zu bestimmen. Möglicherweise wurde der Aldehyd rasch hydratisiert, so dass er weniger reaktiv gegenüber Nucleophilen war.

### 3.1.3.8 Diskussion

Die hier vorgestellte Syntheseroute, in der  $\alpha,\beta$ -ungesättigte- $\delta$ -Laktone mittels einer hetero-Diels-Alder-Reaktion hergestellt wurden, schien zunächst sehr attraktiv: das enantioselektiv an der festen Phase synthetisierte Cycloaddukt **157** versprach breite Diversifizierungsmöglichkeiten, die eine Anwendung hinsichtlich einer Bibliothekssynthese ermöglichen sollten.

Trotz aller dargestellten Ansätze blieb die Stereoselektivität der Gyloxyldiels-Alder-Reaktion an der festen Phase schwierig zu kontrollieren. Am Ende der hier gezeigten Untersuchungen war es jedoch möglich, einen Enantiomerenüberschuss von 75 % auch bei größeren Mengen eingesetzten Diens **156** (bis zu 3 g Harz) zu erzielen.

Darüber hinaus wurde das Katalysatorsystem von Titan-BINOL auf Kupfer-“Box“-Liganden umgestellt. Besonders der mit zwei *tert.*-Butyl-Gruppen

substituierte Bisoxazolin-Ligand brachte ohne weitere Optimierung Enantiomerenverhältnisse von über 92 : 8. Dieser Wert konnte sowohl in Lösung als auch an fester Phase erzielt werden. Diese Werte lagen im Bereich der in der Literatur dokumentierten Enantiomerenüberschüsse an vergleichbaren Systemen.<sup>[115]</sup> Da die Kupfer-basierten Katalysatoren jedoch zu deutlich geringerem Umsatz führten, wurde ihre Anwendung im Hinblick auf die Bibliothekssynthese nicht weiter verfolgt.

Das primäre Cycloaddukt sollte in zwei Stufen in den Aldehyd **166** umgewandelt werden, um ein Edukt für weitere C-C-Bindungs-knüpfernde Reaktionen zu erhalten. Da die eindeutige Identifizierung des Aldehyds **166** auf dem polymeren Träger jedoch nicht gelang, konnten weitere Pläne zur Synthese von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen mit diversifizierten Seitenketten nicht verwirklicht werden.

## 3.2 Sonogashira-Kupplungen an Peptiden und Proteinen

### 3.2.1 Einleitung

Im zweiten Teil dieser Arbeit werden Versuche zur Übergangsmetallkatalyse mit Peptiden und Proteinen beschrieben. Ziel dieses Projektes war es, Palladium-katalysierte Kreuzkupplungsreaktionen, hier im Speziellen die Sonogashira-Reaktion<sup>[132]</sup>, an Proteinen als Substraten unter möglichst physiologischen Bedingungen durchzuführen. Dafür musste nicht nur der metallorganische Katalysator dem wässrig-neutralen Milieu angepasst werden, sondern auch das jeweilige Substrat mit einer geeigneten Funktionalität ausgestattet werden.

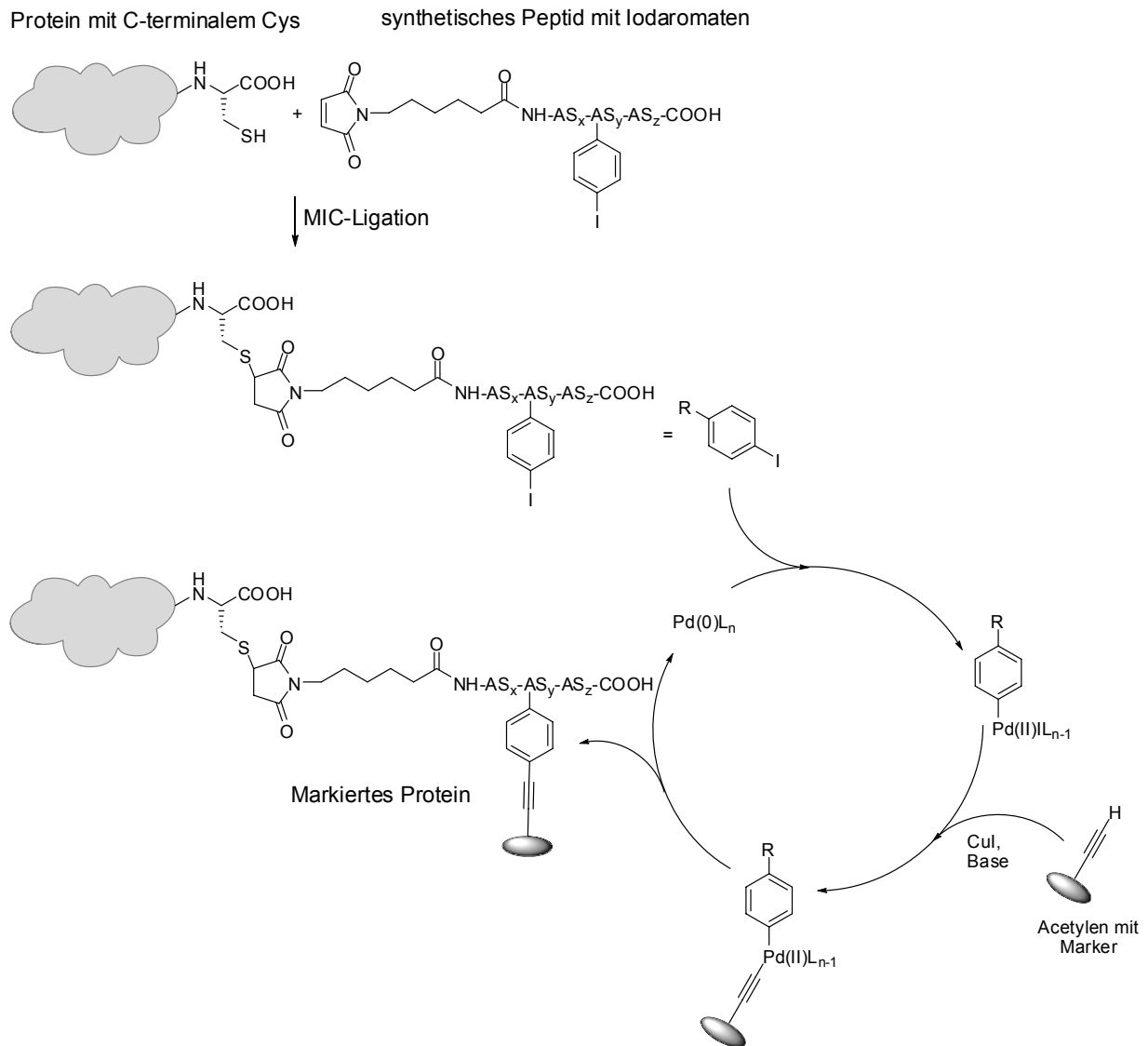
Die Einführung einer funktionellen Gruppe für die Palladium-Chemie in ein Protein würde einen molekularen Anker für eine Reihe von Transformationen schaffen, die zum Spektrum aller natürlichen Modifikationen (z.B. Phosphorylierung, Methylierung, Nitrosylierung) orthogonal ist. An diesem Anker könnte das Protein schnell und variabel mit einer Reihe verschiedener Moleküle gekuppelt werden. So ließen sich an einem Protein in einer Reihe von Parallelreaktionen Fluorophore, Markermoleküle wie Biotin oder weitere unnatürliche Funktionalitäten einführen.

Mit der Entwicklung neuer *in vitro*-Translationssysteme und *in vivo* Methoden<sup>[133]</sup> ist es bereits gelungen, unnatürliche Aminosäuren regiospezifisch in Proteine einzubauen. Von besonderem Interesse für diese Arbeit ist dabei der *in vivo* Einbau von *para*-Iodphenylalanin in Proteine des Bakteriums *E.coli* mit Hilfe einer *para*-Iodphenylalanin-selektiven *tRNA* und einer modifizierten Tyrosin-*tRNA*-Synthetase.<sup>[134]</sup> Iodaromaten sind reaktive Komponenten für Übergangsmetallkatalysierte Reaktionen, so dass eine reale Perspektive für die Katalyse an exprimierten Proteinen besteht.

Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, Peptide mit der gewünschten Funktionalität durch verschiedene Ligationsmethoden an Proteine zu koppeln.

Durch diesen semisynthetischen Ansatz kann die Kreuzkupplung auf der Stufe des vollständigen Proteins getestet werden, ohne dass ein künstliches Expressionssystem verwendet werden muss.

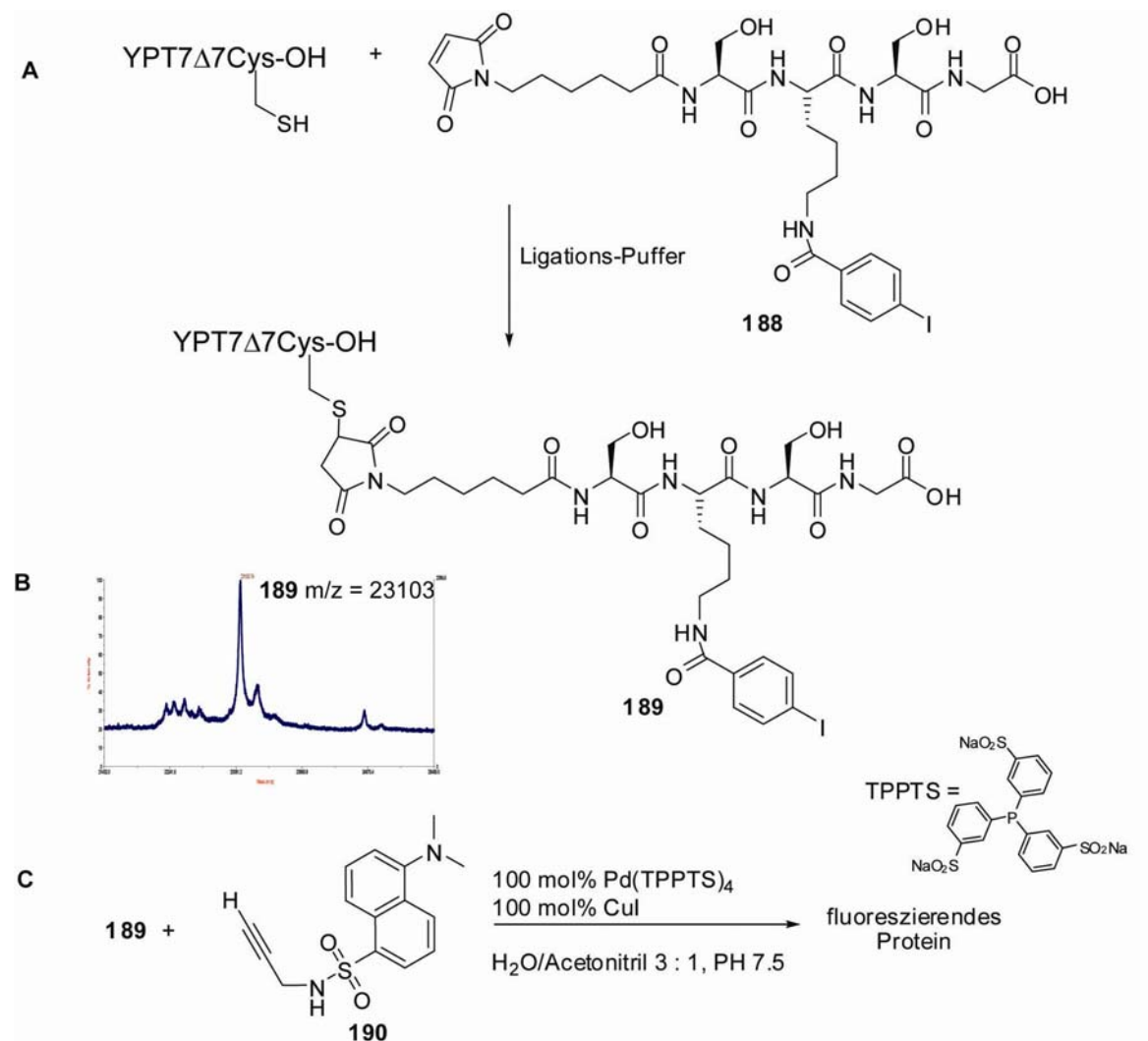
Eine Übersicht über das Synthesekonzept ist in Abb. 25 dargestellt.



**Abb. 25:** Schematischer Reaktionsablauf für die Modifizierung von Proteinen durch Palladium-Katalyse.

Erste Experimente auf diesem Gebiet wurden von Dr. Lucas Brunsveld und Dr. Thomas Durek durchgeführt (Schema 39, **A**). Dazu wurde ein C-terminal um sieben Aminosäuren verkürztes Ypt7-Protein (Ypt7 $\Delta$ 7) mit einem Intein-Konstrukt exprimiert und konnte als MESNA-Thioester isoliert werden. Durch eine *native chemical ligation* wurde das Protein C-terminal um ein Cystein verlängert, so dass ein freies Thiol für eine MIC-Ligation mit dem Peptid **188** erhalten wurde. Ein MALDI-TOF-Spektrum des Proteins **189** ist in Schema 39 **B** gezeigt.

Das auf diese Weise erhaltene Protein **189** wurde mit dem Dansyl-markierten Acetylen **190** umgesetzt (Schema 39, **C**):

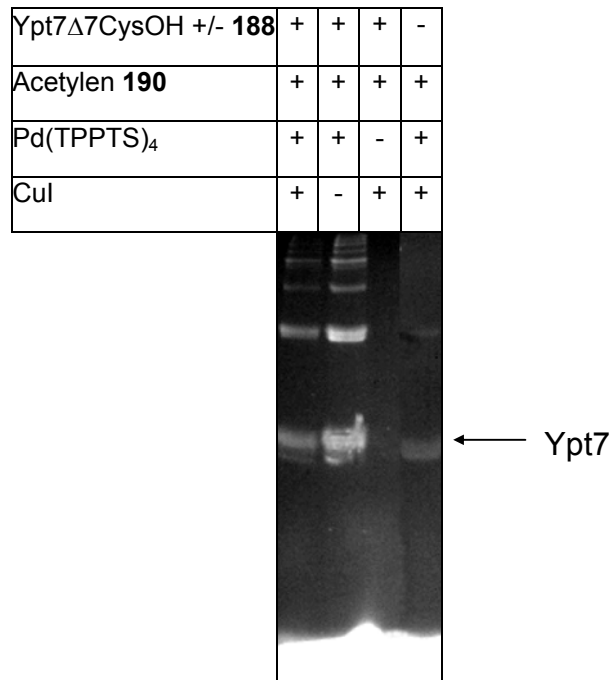


**Schema 39:** Experimente zur Übergangsmetallkatalyse an Proteinen (Brunsveld/Durek)  
**A:** Synthese des „iodierten“ Rab-Proteins **189** durch MIC-Ligation, **B:** MALDI-TOF-Spektrum von **189**, **C:** Sonogashira-Reaktion des Acetylens **190** mit dem Protein **189**.

Die Ergebnisse der Experimente am Protein **189** sind im Folgenden zusammengefasst:

Wurde das Protein in Wasser/Acetonitril 3 : 1 bei pH 7.5 mit 10 Äq. des Acetylens **190** in Gegenwart des Katalysators Pd(TPPTS)<sub>4</sub> und Kupfer(I)iodid umgesetzt, dann wurde im SDS-Page-Gel der Reaktionslösung eine fluoreszierende Bande in Höhe des Ypt7-Proteins beobachtet (Abb. 26).

Darüber hinaus wurden weitere fluoreszierende Banden auf der Höhe größerer Proteine beobachtet, die mit der Bildung von Oligomeren erklärt werden könnten. Die Bildung von Oligomeren konnte durch Einsatz von 10 Äquivalenten des Katalysators Pd(TPPTS)<sub>4</sub> unterdrückt werden.



**Abb. 26:** Sonogashira-Reaktion am Protein Ypt7 $\Delta$ 7Cys-Iod **189** nach **Schema 39** (L. Brunsveld/T. Durek). Fluoreszenzaufnahme des SDS-PAGE-Gels nach der Reaktion. Der Pfeil markiert das monomere Protein **189**.

Eine fluoreszierende Bande trat allerdings auch allein nach Umsatz des nicht-iodierten Proteins mit dem Acetylen **190** in Gegenwart des Katalysators auf (Abb. 26, Spur 4). Nach Gelfiltration und intensivem Waschen mit Chelatbildnern wie Diethyldithiocarbamat und Trithioltriazin nahm die Fluoreszenz hier ab. In diesem Fall könnte sich ein unspezifischer Komplex aus Protein, Palladium und Acetylen gebildet haben.

Über eine Analytik mittels Fluoreszenz-Detektion im SDS-Gel kamen die Experimente nicht hinaus; das Reaktionsprodukt konnte z.B. nicht mittels Massenspektrometrie identifiziert werden.

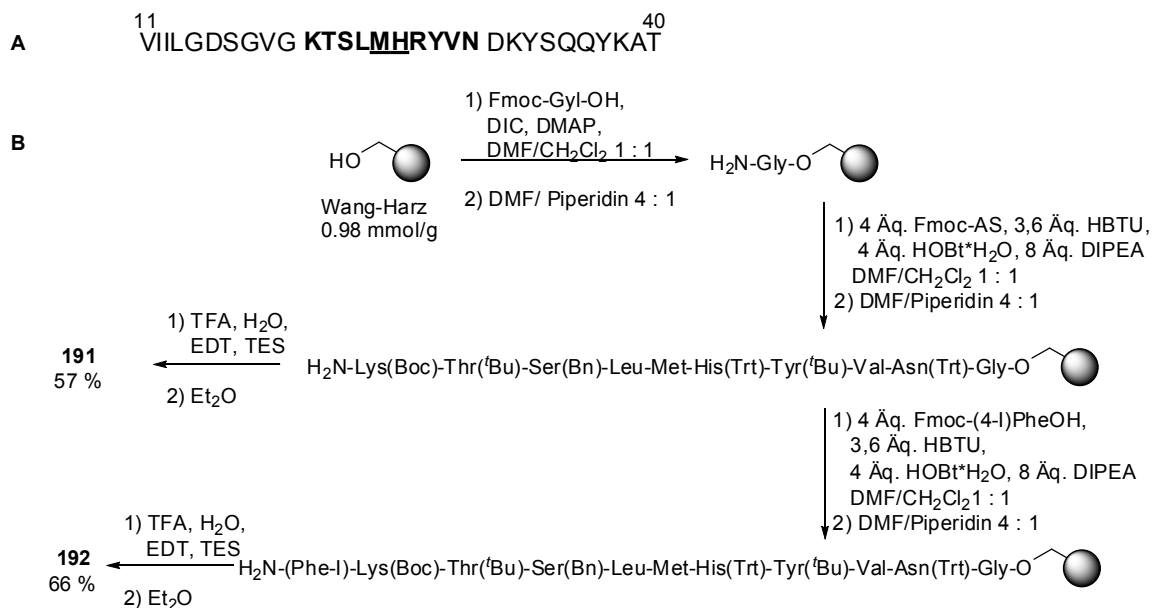
### 3.2.2 Sonogashira-Reaktionen an Peptiden

#### 3.2.2.1 Synthese und Anwendung von Modellpeptiden

Aus den oben skizzierten Vorarbeiten leitete sich die Frage ab, ob Aminosäuren mit Lewis-Basen in der Seitenkette als  $\sigma$ -Donoren den Katalysator chelatisieren können, so dass an einer anderen Stelle als gewünscht am Protein eine Reaktion stattfindet. Dies könnte z.B. zu einer Oligomerisierung führen. Als eine potentielle Stelle im eingesetzten YPT7-Protein kam ein Teil der Aminosäuresequenz in



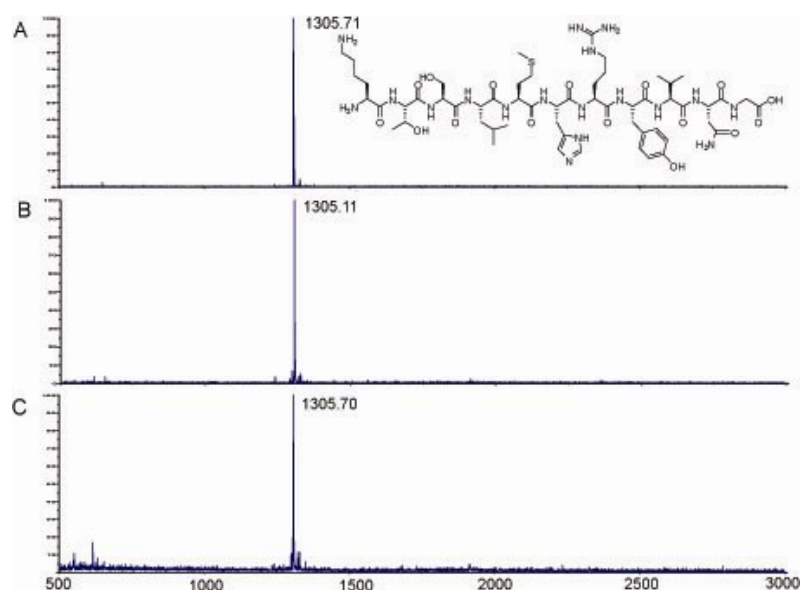
Frage, in der Methionin und Histidin aufeinander folgen (Met25-His26, Schema 40, **A**). Der Einfluss dieses potentiellen Chelatbildners sollte zunächst untersucht werden.



**Schema 40:** **A** Ausschnitt aus der Aminosäuresequenz von Ypt7; **B** Synthese der Peptide **191** und **192**.

Hierzu wurde das Peptid **191** synthetisiert, welches die Aminosäuren 21-30 von Ypt7 enthält (Schema 40, **B**). Darüber hinaus wurde durch Verlängerung mit 4-Iodphenylalanin das Peptid **192** synthetisiert, das für weitere Kreuzkupplungsstudien genutzt werden sollte.

Für die Synthese der Peptide **191** und **192** wurde Glycin mit Diisopropylcarbodiimid aktiviert und in Gegenwart von DMAP auf Wang-Harz geladen. Die weitere Synthese erfolgte gemäß Standard-Methoden der Fmoc-Peptid-Synthese an der festen Phase. Nach TFA-Abspaltung und paralleler Entschützung wurden beide Peptide aus Diethylether präzipitiert und ohne weitere Aufreinigung umgesetzt.



**Abb. 27:** Stabilitätstest von Peptid **191**. Das Peptid wurde mit dem Katalysator Pd(TPPTS)<sub>4</sub> inkubiert und nach (A) 0 h, (B) 24 h, (C) 96 h mittels MALDI-TOF untersucht.

In einem ersten Experiment wurde untersucht, ob die potentiell chelatisierende Methionin-Histidin-Sequenz im Peptid **191** unter den Katalysebedingungen zur Degradierung oder Oligomerisierung führt. Dazu wurde das Peptid **191** mit 100 mol% des Palladium-Katalysators inkubiert. Wie die MALDI-Spektren in Abb. 27 zeigen, war zwischen dem unbehandelten Edukt (A) und dem Peptid nach 24 h (B) bzw. 96 h (C) keine Veränderung festzustellen. Dies zeigte, dass die gegebene Sequenz unter den Reaktionsbedingungen stabil ist, die potentiell chelatisierende Abfolge von Methionin und Histidin in der Sequenz also nicht zu Nebenreaktionen in katalytischen Umsetzungen führen würde.

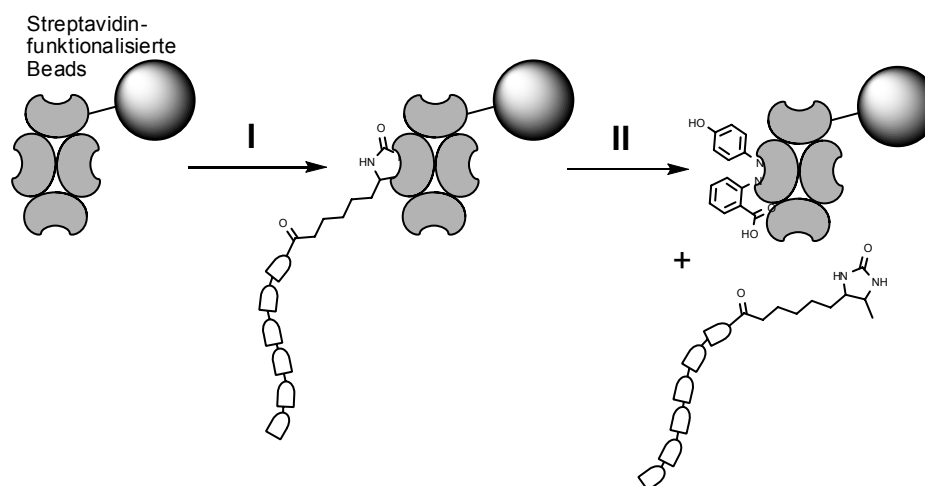
Nun konnte das iodidierte Peptid **192** mit verschiedenen Acetylenen getestet werden, deren Synthese im folgenden Abschnitt beschrieben wird.

### 3.2.2.2 Synthese von Desthiobiotin-markierten Acetylenen

Wie bereits beschrieben, gelang es nicht, das Reaktionsprodukt der Sonogashira-Kupplung des Proteins **189** mit dem Fluoreszenz-markierten Acetylen **190** mittels Massenspektrometrie zu charakterisieren. Abhilfe sollte nun ein anderer Acetylen-Baustein schaffen, der eine Aufreinigung von Sonogashira-Produkten mittels Affinitätschromatographie erlaubte. Dabei wurde auf das gut charakterisierte Biotin/Streptavidin-System zurückgegriffen. Die Bindungskonstante von Biotin an Streptavidin ist mit  $K \approx 10^{13} \text{ M}^{-1}$  eine der stärksten nicht-

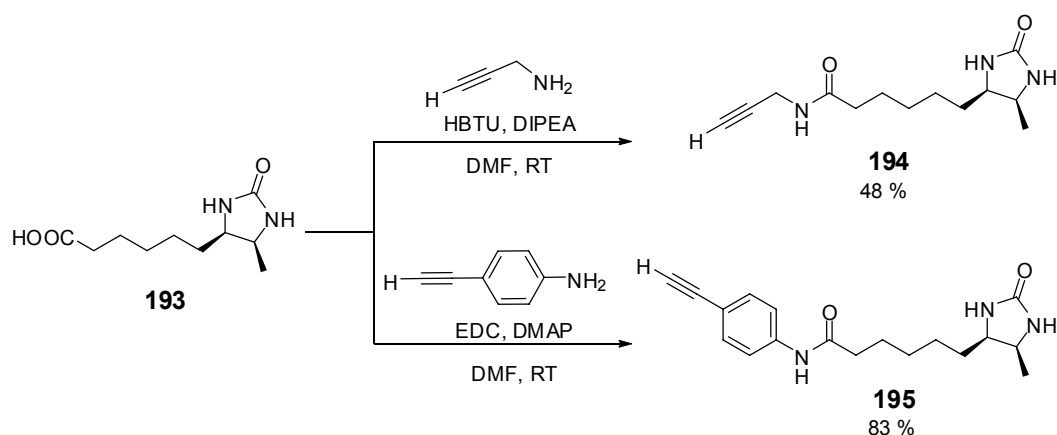
kovalenten Bindungen in der Natur. Da der Biotin-Streptavidin-Komplex nur unter drastischen Bedingungen gelöst werden kann, wodurch die Funktionalität des Proteins beeinträchtigt werden könnte, wurde mit Desthiobiotin ein Affinitätsmarker ausgewählt, dessen Bindungskonstante mit Streptavidin um Größenordnungen unter Biotin liegt.<sup>[135]</sup> Je nach Messmethode wird der Affinitätsunterschied auf 1/20 bis 1/1000 beziffert.

Für die Affinitätschromatographie sollte das Streptactin-System<sup>[136]</sup> eingesetzt werden, das in Abb. 28 skizziert ist. Es besteht aus Agarose-Beads, die mit Streptavidin beladen sind. An diese kann ein mit Desthiobiotin markiertes Substrat reversibel binden. Die Eluierung erfolgt mit einem Überschuss an 2-(4-Hydroxyphenylazo)benzoesäure (HABA), die schwach an die Biotinbindungsstelle im Streptavidin bindet und das Desthiobiotin verdrängt.



**Abb. 28:** Prinzip der Aufreinigung über Streptactin. I Beladung, spezifische Bindung zu Desthiobiotin; II Elution mit HABA

Die Synthese der Acetylene, die für diese Arbeit getestet wurden, ist in **Schema 41** dargestellt. Desthiobiotin **193** wurde mit HBTU aktiviert und mit Propargylamin in 44 % Ausbeute zum Propargylderivat **194** umgesetzt. Die analoge Umsetzung mit Ethinylanilin ergab ein Produkt, das sich nur schwer von Nebenprodukten trennen ließ. Abhilfe schuf die Aktivierung von Desthiobiotin mit EDC in Gegenwart von einem Äquivalent DMAP: auf diese Weise wurde das aromatische Acetylen **195** nach einfacher Säulenchromatographie in 83 % Ausbeute erhalten.



**Schema 41:** Synthese der Desthiobiotin-markierten Acetylene **194** und **195**.

### 3.2.2.3 Sonogashira-Reaktionen an Peptiden in wässriger Lösung

Die im vorigen Abschnitt vorgestellten Acetylene **194** und **195** wurden zunächst in Sonogashira-Reaktionen mit Peptiden getestet, um die Reaktionsbedingungen zu optimieren.

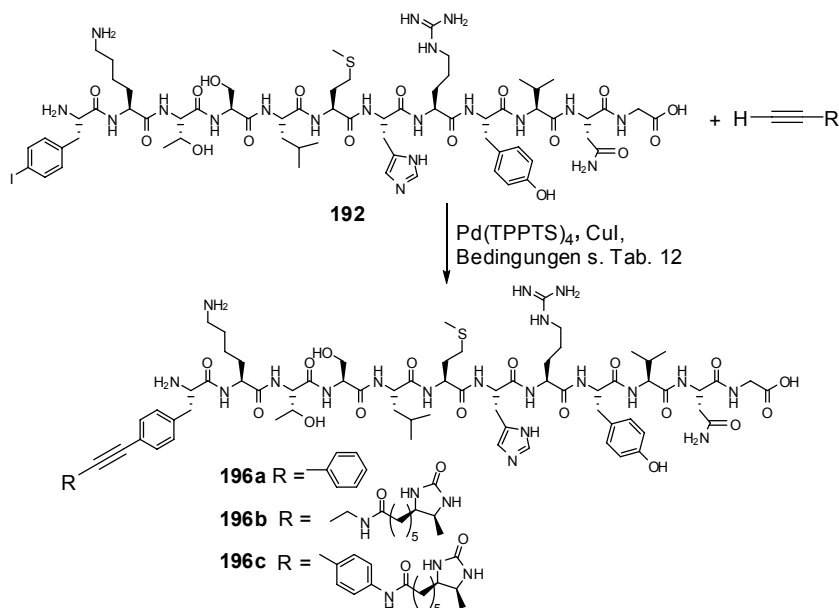
#### 3.2.2.3.1 Testreaktionen am Peptid 192

Das *para*-Iodphenylalanin-haltige Peptid **192** wurde unter verschiedenen Bedingungen mit den Acetylenen **194** und **195** umgesetzt.

Als Palladium-Katalysator fungierte ein Derivat des für Sonogashira-Reaktionen etablierten Tetrakis-(triphenylphosphin)palladiums, welches durch Sulfonierung der Phenylringe des Liganden in Wasser löslich ist ( $\text{Pd}(\text{TPPTS})_4$ ). Als Co-Katalysator wurde Kupfer(I)iodid als Lösung in Acetonitril eingesetzt.

In einer ersten Serie von Experimenten wurde das Peptid **192** in wässriger Lösung mit Phenylacetylen umgesetzt (Tabelle 12). Bei Verwendung eines reinen Wasser/Acetonitril-Gemisches und Triethylamin als Base konnte maximal ein Umsatz von 33 % erreicht werden (Eintrag 1), wenn 20 mol% des Palladiumkatalysators eingesetzt wurden. In neutralen, gepufferten Systemen lagen die Umsätze bei gleicher Katalysatorbelastung höher (Einträge 2, 3): Im Falle des MOPS-Puffers<sup>[56]</sup> konnten 66 % Umsatz erzielt werden, jedoch war hier eine verstärkte Homodimerisierung des Acetylen zu beobachten. Der zuvor bereits an Proteinen eingesetzte Phosphat-Puffer brachte bei 20 mol%

Katalysatorbeladung den höchsten Umsatz und wurde deswegen in den weiteren Versuchen eingesetzt.



Nr.	Acetylen R =	mol% Pd/Cu	Bedingungen	Umsatz <sup>(a)</sup>
1		20/20	H <sub>2</sub> O/MeCN 5:17 Äq. Net <sub>3</sub> , 15 h	33 %
2		20/20	MOPS Puffer 0.2 M, pH 7.5, 15 h	66 %
3		20/20	Phosphat-Puffer 0.2 M, pH 7.5, 15 h	>90 %
4		20/20	Phosphat-Puffer 0.2 M, pH 7.5, 15 h	0 %
5		15/15	Phosphat-Puffer 0.2 M, pH 7.5, 15 h	30 %
6		100/100	Phosphat-Puffer 0.2 M, pH 7.5, 4 d	100 %

**Tabelle 12:** Sonogashira-Reaktion am Peptid **192**. <sup>(a)</sup> bestimmt durch LC-MS

Die Desthiobiotin-verknüpften Acetylene **194** und **195** wurden ebenfalls in einer Sonogashira-Reaktion am Peptid **192** getestet. Dabei konnte mit dem vom Propargylamin abgeleiteten Baustein **194** kein Umsatz festgestellt werden (Tabelle 12, Eintrag 4). Wurde hingegen das Acetylen **195** eingesetzt, konnte bei einer Katalysatorladung von 15 mol% ein Umsatz von ca. 30 % erzielt werden

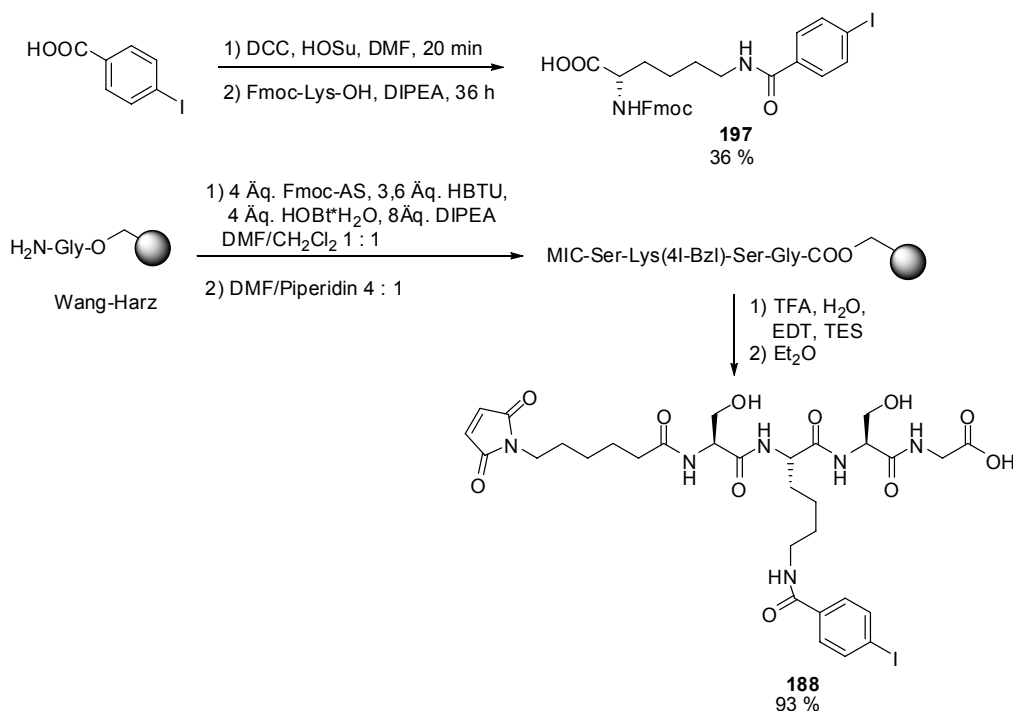
(Eintrag 5). Wenn der Katalysator äquimolar eingesetzt wurde, konnte nach vier Tagen der vollständige Umsatz des Eduktes nachgewiesen werden (Eintrag 6).

Damit konnte gezeigt werden, dass das Acetylen **195** in der Sonogashira-Reaktion in wässriger Lösung prinzipiell angewendet werden kann. Alle Experimente an modifizierten Proteinen wurden deswegen mit dem Acetylen **195** durchgeführt.

### 3.2.2.3.2 Kupplung am Peptid 188

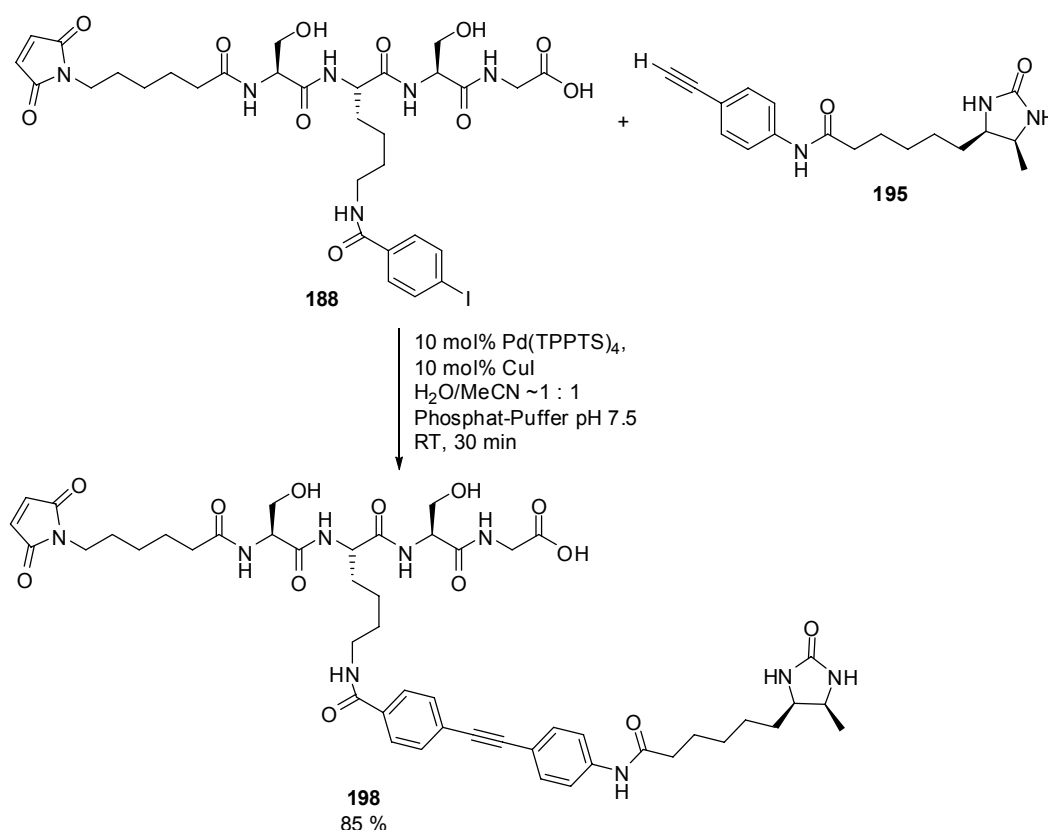
Um zu testen, ob die Detektion und Aufreinigung des mittels Übergangsmetalkatalyse modifizierten Proteins gelingt, sollte die Sonogashira-Reaktion am Peptid-Baustein **188** durchgeführt werden. Dieser sollte anschließend über eine MIC-Ligation an das Protein gekuppelt werden.

Um das Peptid **188** zu erhalten, wurde zunächst Fmoc-Lysin mit *para*-Iodbenzoesäure zum Synthesebaustein **197** umgesetzt (Schema 42). Das Peptid **188** wurde an Wang-Harz mit einer Fmoc-Strategie synthetisiert. Nach Abspaltung der letzten Fmoc-Gruppe wurde der N-Terminus mit Maleinimidocaprinsäure funktionalisiert. Durch Abspaltung vom polymeren Träger und Präzipitation mit Diethylether konnte das Peptid in 93 % Ausbeute erhalten werden.



Schema 42: Synthese des iodierten Peptids **188**.

Die Sonogashira-Reaktion am Peptid **188** konnte in wässriger Lösung durchgeführt werden (Schema 43). Analog zur Sonogashira-Reaktion in organischen Lösungsmitteln wurde zunächst unter stark basischen Bedingungen gearbeitet (10 Äq. Triethylamin als Base). Dies erwies sich als ungünstig und überflüssig: zum einen wurde der MIC-Linker unter diesen Bedingungen hydrolysiert. Zum anderen zeigte es sich, dass die Reaktion bereits in wässrigem Phosphat-Puffer bei pH 7.5 vollständig ablief. Das Kupplungsprodukt **198** konnte nach Aufreinigung durch präparative HPLC in 85 % Ausbeute gewonnen werden.



**Schema 43:** Sonogashira-Reaktion am Peptid **188**

### 3.2.3 Sonogashira-Reaktionen an Proteinen

#### 3.2.3.1 Versuche an einem modifizierten Rab-Protein

Nachdem die Sonogashira-Reaktion an Peptiden in neutral-wässriger Lösung erfolgreich war, wurden nun Proteine als Substrate eingesetzt, die mit dem Peptid **188** ligiert waren.

Das modifizierte Protein **189** (Ypt7Δ7Cys-MIC-iodo) wurde mit dem Acetylen **195** umgesetzt (Schema 44).





Das Chromatogramm zeigte deutlich ein Hauptprodukt mit einer Retentionszeit von 13.4 min. Dekonvolutierung des Massenspektrums dieses Signals ergab die beste Übereinstimmung mit einer  $m/z = 22949-22951$ . Dies korreliert in etwa mit der Masse des Ypt7 $\Delta$ 7Cys-Proteins mit dem ligierten Peptid, jedoch ohne Iod: Die Masse von Ypt7 $\Delta$ 7CysMICiodo **189** beträgt ca. 23100 g/mol (s. MALDI-Spektrum in Schema 39), Wird von der Summe der Massen die Masse eines Iod-Atoms abgezogen, erhält man 22972 g/mol.

Wird das Massenspektrum in der rechten Schulter des Signals bei 13.4 min dekonvolutiert, kann noch ein zweites Produkt detektiert werden. Das dekonvolutierte Massenspektrum zeigt größte Übereinstimmung mit einer molaren Masse von 23264 g/mol. Wird für die Masse des Protein-Edukts 23100 g/mol eingesetzt, dann ergibt sich für das gewünschte Sonogashira-Produkt **199** eine Masse von 23286. Aus dem Chromatogramm lässt sich das Integral über die Produkte nicht bestimmen, jedoch ist das deiodierte Produkt eindeutig als Hauptprodukt zu erkennen.

Die Entstehung des de-iodierten Produktes anstatt des gewünschten Kupplungsprodukt **199** lässt sich durch Protolyse des nach der oxidativen Addition des Palladiums in die C-I-Bindung entstandenen Komplexes plausibel erklären. Allerdings bleibt unverständlich, warum das deiodierte Produkt auch die Aufarbeitung mit der Streptactin-Säule übersteht: Da es eben nicht über einen Desthiobiotin-Anker verfügt, sollte es nicht an die Oberfläche der Säule binden. Zwei Erklärungen sind möglich: (1) entweder halten unspezifische Wechselwirkungen das Protein auf der Säule, oder (2) es bilden sich nicht-kovalente Komplexe zwischen dem Protein **189** und dem Desthiobiotin-Baustein **195** aus, die unter den Bedingungen der Aufarbeitung stabil sind, spätestens im ESI-MS jedoch zerfallen.

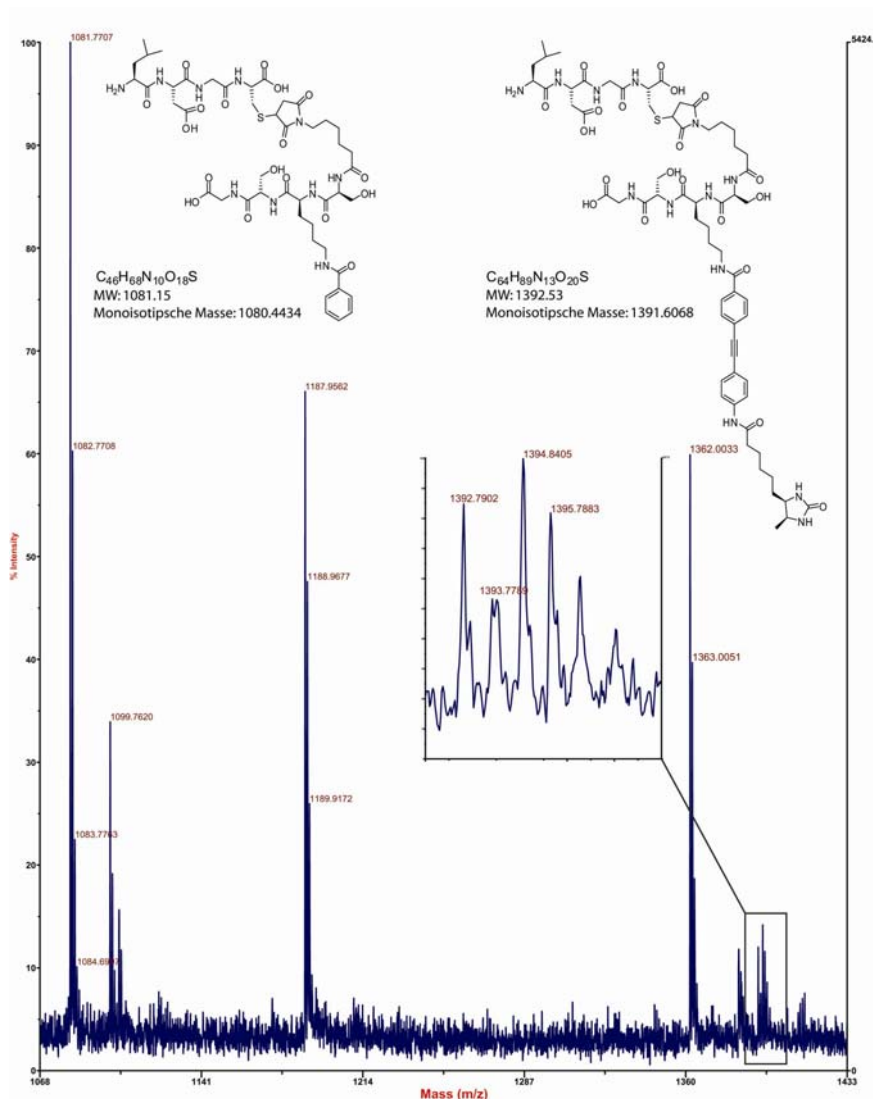
Um genaueren Aufschluss über die Reaktion zu erlangen, wurde ein weiteres Experiment durchgeführt: Nach erfolgter Sonogashira-Reaktion sollte nun ein tryptischer Verdau des Proteins durchgeführt werden, und die resultierenden Peptide über die Streptactinsäule aufgetrennt werden. Damit sollten alle (desthio-)biotinylierten Fragmente identifiziert werden.

Nachdem die Sonogashira-Reaktion wie in Schema 44 durchgeführt wurde, folgte die direkte Inkubation der Reaktionslösung mit Trypsin. Die resultierende

Lösung wurde aufgeteilt: ein Teil wurde zur direkten Analyse aufbewahrt (Fraktion I), ein zweiter mit den Streptactin-Beads inkubiert. Durch die ungebundenen Fragmente und das Eluat ergaben sich zwei neue Fraktionen (Fraktion II und III).

Die Ergebnisse dieses Experiments sind in Abb. 30 und Tabelle 13 dargestellt.

In der unbehandelten Fraktion I konnten ca. 54 % der Aminosäuresequenz des Proteins Ypt7 $\Delta$ Cys-MIC **189** identifiziert werden (Tabelle 13, **A**). Besonders bemerkenswert ist, dass das C-terminale Fragment im MALDI-TOF detektiert werden konnte, und zwar sowohl in der de-iodierten und in der umgesetzten Form (Abb. 30). Das Signal des Sonogashira-Produktes ( $m/z = 1392$ ) ist dabei um ein Vielfaches schwächer, was auf geringen Umsatz hinweist.



**Abb. 30:** Tryptischer Verdau von Ypt7 $\Delta$ /CysMIC189 nach der Sonogashira-Reaktion (Schema 44). A: Identifizierung des de-iodierten und des gekuppelten C-terminalen Fragmentes im MALDI-TOF-Spektrum.

<b>A</b>	Masse berechnet	gefunden	Position	Peptid
	[M+H] <sup>+</sup>			
	2741.2285	2741.8	175-198	SALQQNQADTEAFEDDYND A INIR
	2587.3190		105-127	DEFLVHANVNSPETFPFVIL GNK
	2248.0260	2247.8	81-101	GADCCVLVYDVTNASSFENI K
	1591.7533		57-70	VATMQVWDTAGQER
	1562.7809	1562.9	161-174	NAINVDTAFEEIAR
	1361.7674	1361.8	148-160	SLGDIPLFLTSAK
	1187.6207	1187.9	71-80	FQSLGVAFYR
	1057.6251	1057.8	11-21	VIIIGDSGVGK
	1036.5673	1036.6	39-48	ATIGADFLTK
	862.4152		49-56	EVTVDGDK
	816.3886		33-38	YSQQYK
	791.3781		128-134	IDAEESK
	746.4043		141-147	SAQELAK
	744.3821		22-27	TSLMHR
	638.3144		28-32	YVNDK
	575.3399	575.5	136-140	IVSEK

<b>B</b>	Masse berechnet	gefunden	Position	Peptid
	[M+H] <sup>+</sup>			
	2741.2285	2741.9	175-198	SALQQNQADTEAFEDDYND A INIR
	2587.3190		105-127	DEFLVHANVNSPETFPFVIL GNK
	2248.0260	1123.8 (2+)	81-101	GADCCVLVYDVTNASSFENI K
	1591.7533		57-70	VATMQVWDTAGQER
	1562.7809	1562.7	161-174	NAINVDTAFEEIAR
	1361.7674	1361.8	148-160	SLGDIPLFLTSAK
	1187.6207	594.3 (2+)	71-80	FQSLGVAFYR
	1057.6251	1057.6	11-21	VIIIGDSGVGK
	1036.5673	1036.6	39-48	ATIGADFLTK
	862.4152	862.4	49-56	EVTVDGDK
	816.3886	816.4	33-38	YSQQYK
	791.3781	791.4	128-134	IDAEESK
	746.4043	746.6	141-147	SAQELAK
	744.3821	744.4	22-27	TSLMHR
	638.3144		28-32	YVNDK
	575.3399	575.3	136-140	IVSEK

**Tabelle 13:** Tryptischer Verdau von Ypt7Δ/CysMICido **189** nach der Sonogashira-Reaktion (Schema **44**: Sonogashira-Reaktion am Protein 188.). **A** Identifizierte Peptide vor Streptactin-Aufreinigung; **B** identifizierte ungebundene Peptide.

Nach Inkubation der Peptid-Fragmente mit den Streptactin-Beads wurde zunächst die ungebundene Fraktion II erhalten. Hier wurden mittels LC-MS und MALDI-TOF ebenfalls ca. 65 % der Aminosäuresequenz des Eduktes nachgewiesen (Tabelle 13, **B**). Im MALDI-TOF-Massenspektrum gelang auch

hier die Detektion des deiodierten C-Terminus', während das Produkt der Sonogashira-Reaktion nicht gefunden wurde. Angesichts des schwachen Signals dieses Fragmentes in der Fraktion I ist dadurch aber der Erfolg der Aufreinigung nicht belegt.

Nach Eluierung der Fraktion III von den Beads konnte das gewünschte Sonogashira-Produkt nicht gefunden werden. Weder eine chromatographische Auftrennung noch die Analyse der Reaktionslösung im MALDI-Massenspektrum erlaubten die Identifizierung weiterer Fragmente. Damit konnte die Frage, welche Produkte bei der Reaktion entstanden sind, nicht beantwortet werden.

Da die eindeutige Charakterisierung des Sonogashira-Produktes am Ypt7-Protein **189** weder auf der Ebene des vollständigen Proteins noch auf der Ebene kürzerer Peptidfragmente gelang, wurde der Wechsel zu einem anderen Protein beschlossen. Damit ließe sich untersuchen, ob es im vorliegenden Fall des Ypt7-Proteins spezifische Einflüsse gab, welche die Reaktion inhibieren. Solche Einflüsse könnten z.B. auf reaktive Cysteine, die den Katalysator einfangen, zurückzuführen sein.

### **3.2.3.2 Versuche am <sup>181</sup>N-Ras-Protein**

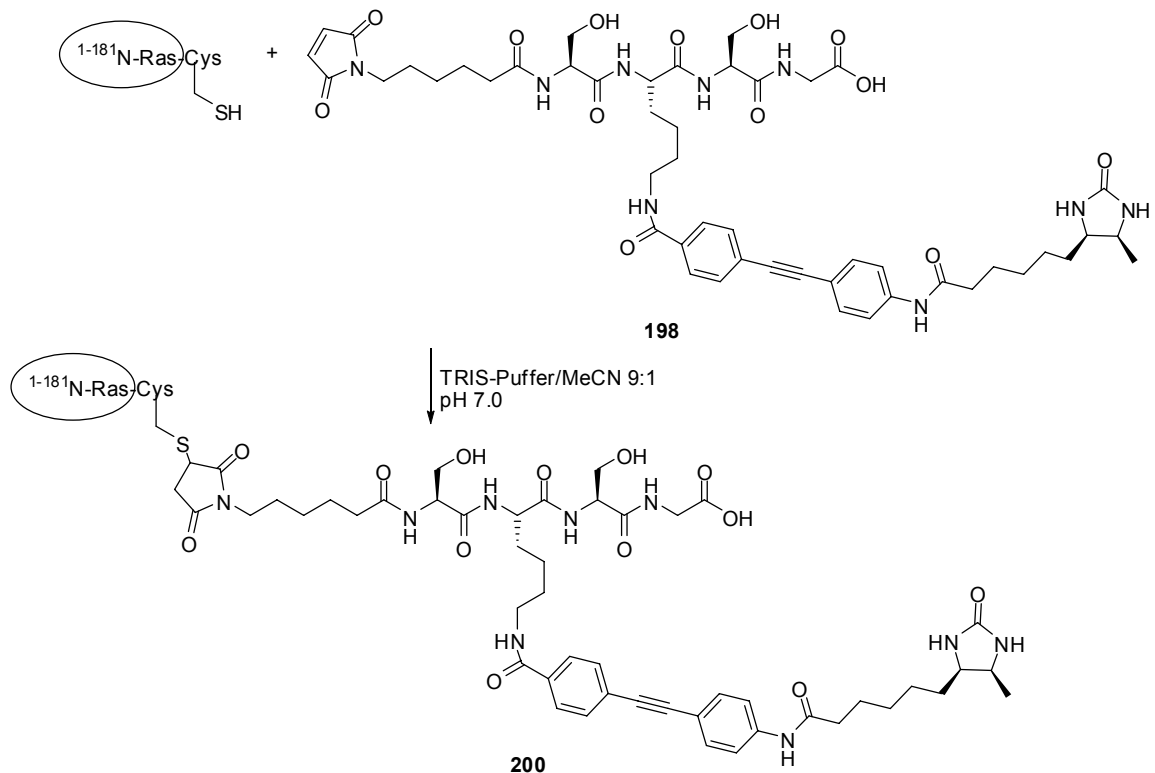
Das Ras-Protein ist eine Membran-gebundene GTPase, der eine Schlüsselstellung in Signaltransduktionsprozessen zukommt.<sup>[137]</sup> Da verschiedene Ras-Isoformen seit Jahren am Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie untersucht werden, sind für die Gewinnung der Proteine durch Expression robuste Protokolle entwickelt worden, so dass das Protein – in diesem Fall eine N-Ras-Variante – in ausreichender Menge zur Verfügung stand.

Die Versuche am Protein wurden durch Christine Nowak aus der Arbeitsgruppe von Jürgen Kuhlmann am MPI Dortmund unterstützt.

#### *3.2.3.2.1 Ligation eines Desthiobiotin-markierten MIC-Peptids an N-Ras*

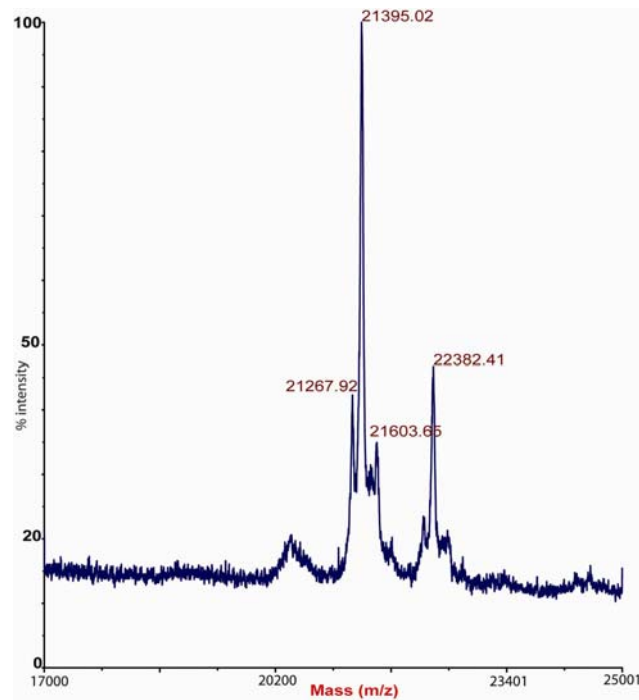
Bevor die Sonogashira-Reaktion am Protein weiter untersucht wurde, sollte gezeigt werden, dass das Streptactin-System für die Aufreinigung des Reaktionsproduktes geeignet ist. Dazu wurde das in Kap. 3.2.2.3.2 beschriebene

Peptid **198** an das  $^{1-181}\text{N-Ras}$ -Protein ligiert, um als Positivkontrolle die Aufreinigung *via* Affinitätschromatographie zu validieren.



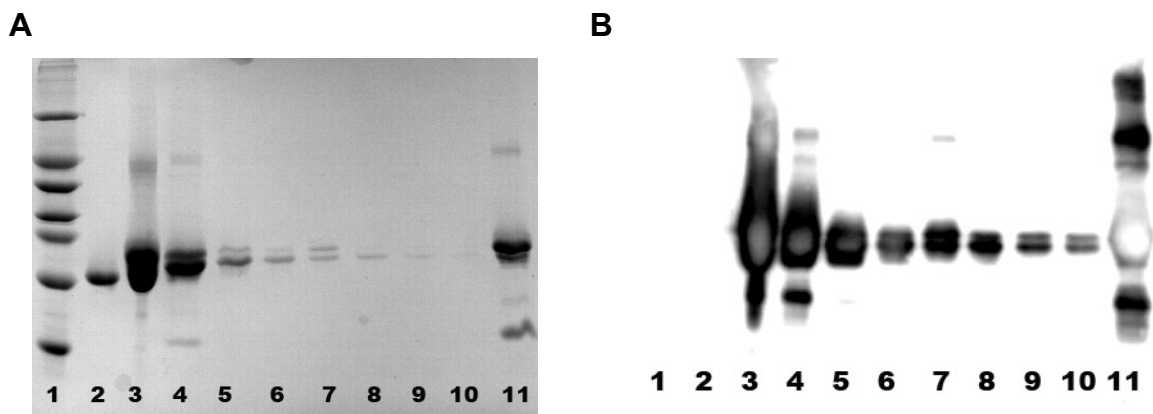
**Schema 45:** Ligation des Peptids **198** an  $^{1-181}\text{N-Ras}$ .

Die Ligation des Peptids **198** an das Protein (Schema 45) konnte mittels MALDI-MAS bestätigt werden (Abb. 31). Neben dem gewünschten Produkt, das einfach markiert war ( $m/z$  ca. 21400) trat ein doppelt markiertes Protein auf ( $m/z$  ca. 22380), welches durch Reaktion eines weiteren Cysteins in der Ras-Sequenz zu erklären ist.



**Abb. 31:** MALDI-TOF-Spektrum des Ligationsproduktes **200**.

Nun wurde die Aufreinigung des Proteins **200** an Streptactin-Beads und die Detektion im SDS-PAGE-Gel mit einem Biotin-Antikörper getestet. Dazu wurde die nach der Ligation erhaltene Proteinlösung auf die Streptactin-Beads geladen und über Nacht inkubiert. Die Beads wurden zunächst mit einem Wasch-Puffer, anschließend mit einem HABA-haltigen Elutionspuffer versetzt. Die einzelnen Fraktionen wurden mittels SDS-PAGE und Westernblot mit einem Biotin-Antikörper analysiert (Abb. 32).



**Abb. 32:** Aufreinigung des Proteins **200** an Streptactin-Beads. **(A)** Coomassie-Färbung des SDS-Gels **(B)** Westernblot mit Biotin-Antikörper; Spur 2  $^{1-181}$ N-Ras, Spur 3 Ligationsansatz, Spur 4 Überstand nach Inkubation mit Beads, Spur 5-7 Behandlung mit Waschpuffer, Spur 8-10 Elution mit HABA, Spur 11 denaturierte Beads.

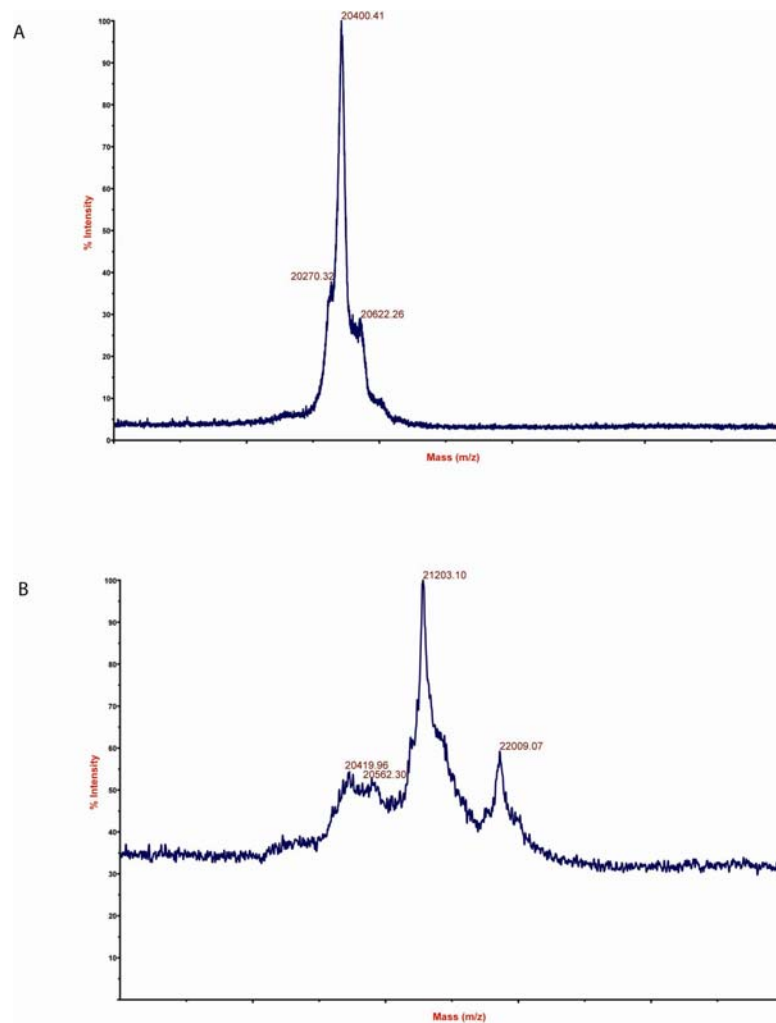
Wie aus Abb. 32 hervorgeht, wurde ein erheblicher Teil des Proteins nicht an die Beads gebunden (Spur 4). Möglicherweise war die Konzentration der Lösung zu

hoch (der Hersteller der Beads, IBU Göttingen, gibt keine Empfehlung zur maximalen Beladung der Beads), oder die Bindung war nur schwach. Schwerwiegender war, dass ein Großteil des gebundenen Proteins **200** bereits durch den Waschpuffer wieder eluiert wurde (Spuren 5-7), was für eine schwache Bindung des Desthiobiotin-Konstruktes spricht. Durch Elution mit HABA (Spuren 8-10) wurde nur wenig Protein von den Beads gelöst. Erhitzen der Beads im SDS-Puffer und Analyse dieser Fraktion zeigte, dass noch erhebliche Mengen des Proteins an den Beads gebunden waren (Spur 10). Im Western-Blot konnte das Desthiobiotin in allen Fraktionen erkannt werden.

Damit war gezeigt, dass die Aufreinigung an Streptactin-Beads prinzipiell möglich ist. Zwar bestand Bedarf an einem ausgearbeitetem Protokoll zur Bindung und Elution, doch war selbst in der letzten Fraktion, die mit dem Elutionspuffer erhalten wurde, noch genug markiertes Protein **200** vorhanden, um ein deutliches Signal im Western-Blot hervorzurufen.

#### 3.2.3.2.2 Sonogashira-Reaktionen am <sup>1-181</sup>N-Ras-Protein

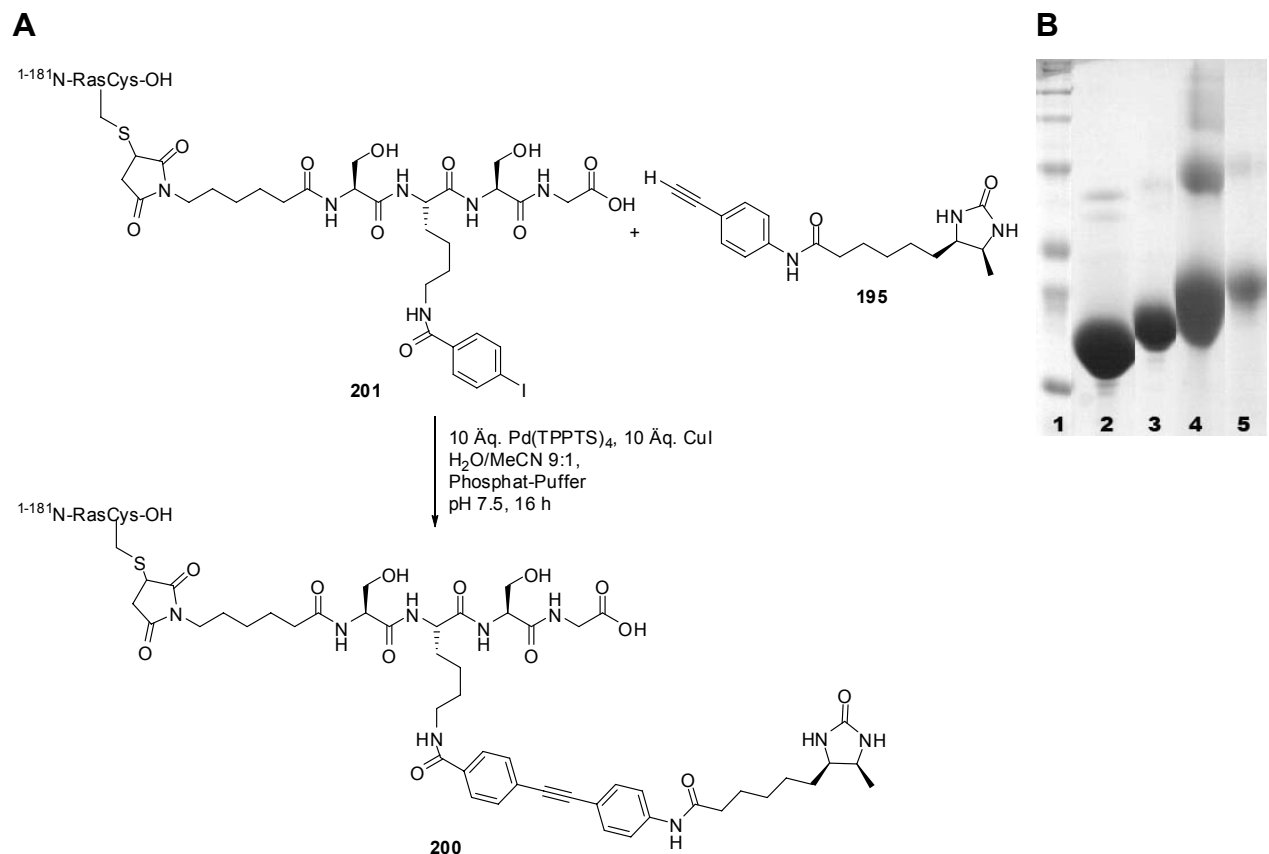
Um die Sonogashira-Reaktion am Protein durchzuführen, wurde das iodierter Peptid **188** analog zu Schema 45 durch MIC-Ligation an das Protein <sup>1-181</sup>N-Ras (Abb. 33, **A**) gebunden. Bei Einsatz von 1.6 Äq. des Peptids **188** war das monofunktionalisierte Protein (bei dem nur das C-terminale Cystein reagiert) das Hauptprodukt (m/z = 21 200, s. MALDI-Spektrum in Abb. 33, **B**).



**Abb. 33:** MALDI-TOF-Analytik der MIC –Ligation des Peptids **188** an  $^{1-181}\text{N}$ -Ras. **A:**  $^{1-181}\text{N}$ -Ras; **B:** ligiertes Protein **201** ( $m/z = 21200$ ).

Dieses funktionalisierte Protein wurde unter Sonogashira-Bedingungen mit dem Alkin **195** umgesetzt (Schema 46) und anschließend mittels SDS-PAGE-Gel und Westernblot untersucht.



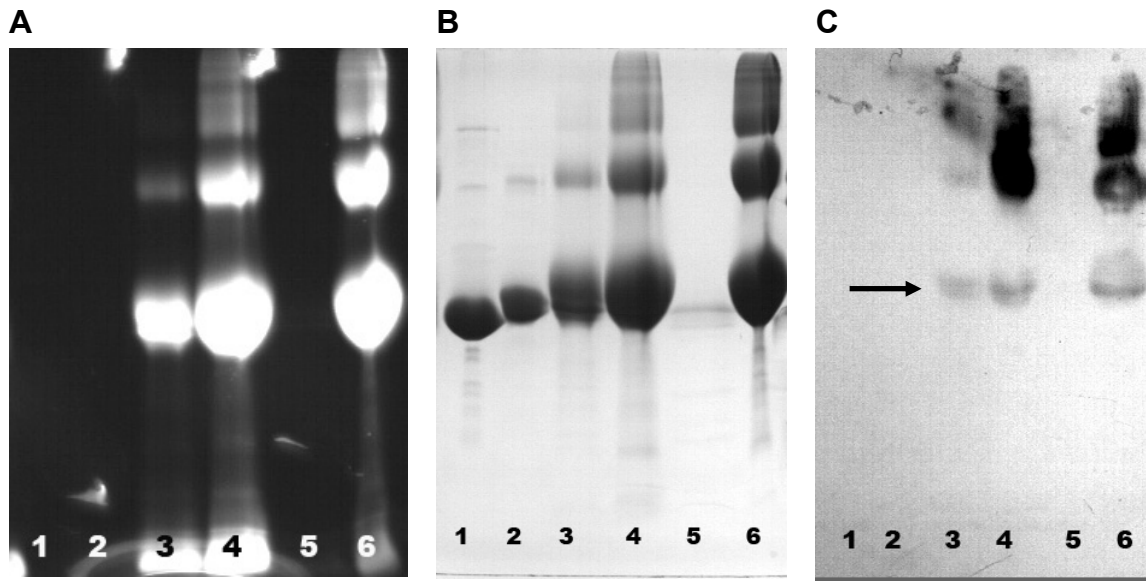


**Schema 46:** **A** Sonogashira-Reaktion des „iodierten“  $^{1-181}\text{N}$ -Ras-Proteins **201**. **B** SDS-Gel der Proteinfraktionen. Spur 1 Marker, Spur 2  $^{1-181}\text{N}$ -Ras1, Spur 3 Ligationsprodukt **200**, Spur 4 Reaktionsprodukt **200** Pellet, Spur 5 Reaktionsprodukt **200** Überstand nach Einengen.

Das SDS-PAGE-Gel zeigt eine Bandenverschiebung zwischen dem unfunktionalisierten Protein und dem Derivat mit dem MIC-ligierten Peptid (Schema 46, **B**, Spuren 2 und 3). Unter den Reaktionsbedingungen fiel ein großer Teil des Proteins aus (Schema 46 **B**, Spur 4), im Überstand war auch nach Einengen nur eine geringe Menge an Protein zu detektieren (Schema 46, **B**, Spur 5). Zwar legt die Analyse des Gels eine weitere Bandenverschiebung nach der Reaktion nahe, was für eine weitere Massenzunahme des Proteins durch eine erfolgte Reaktion spräche. Ein Westernblot mit einem Biotin-sensitiven Antikörper zeigte aber kein Signal.

Eine Wiederholung des Experiments zeigte ein schwach verändertes Ergebnis. Inkubation des iodierten Proteins **201** mit einem bzw. zehn Äquivalenten des Palladium-Katalysators führte vor allem zu schneller Präzipitation des Proteins. Die Analyse der einzelnen Fraktionen ist in Abb. 34 gezeigt: Das Ras-Protein

konnte im abzentrifugierten Pellet beider Ansätze wieder gefunden werden (Abb. 34, Spuren 4,6). Darüber hinaus war es im Überstand der Lösung, in der mehr Katalysator anwesend war, detektierbar (Spur 3).



**Abb. 34:** SDS-Gel nach Sonogashira-Reaktion am N-Ras-Protein: **A** Fluoreszenz-Detektion, **B** Coomassie-Färbung, **C** Western-Blot mit  $\alpha$ -Biotin. Spur 1  $^{1-181}$ N-Ras, Spur 2 Protein **201**, Spur 3, 4 Ansatz mit 10 Äq. Pd-Katalysator, Überstand (3) und Pellet (4), Spur 5, 6 Ansatz mit 1 Äq. Pd-Katalysator, Überstand (5) und Pellet (6). Der Pfeil in **C** zeigt die Lage der N-Ras-Bande an.

Interessanterweise konnte unter UV-Licht eine Fluoreszenz der mit Palladium-Katalysator behandelten Proteine beobachtet werden (Abb. 34, **A**, Spuren 3, 4, 6). Da das Acetylen **195** keinen Fluoreszenzfarbstoff trug, ist diese Beobachtung überraschend und es stellt sich damit die Frage, ob der Katalysator in Verbindung mit dem Protein bereits eine Fluoreszenz hervorrufen kann.

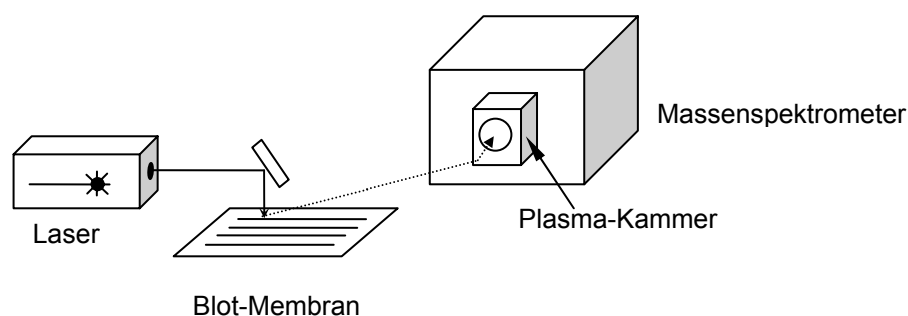
Daran schliesse sich die Frage an, welche Aussagekraft die Experimente haben, die mit Acetylenen durchgeführt wurden, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert waren (s. Kap. 3.2.1).

Im Western-Blot mit einem Antikörper gegen Biotin konnte für die mit Acetylen und Katalysator inkubierten Fraktionen ein Signal auf der Höhe der Ras-Bande detektiert werden. Diese waren aber nur schwach. Oberhalb der erwarteten Bande wurden zusätzliche Proteinbanden vom Biotin-Antikörper markiert. Diese zusätzlichen Banden wiesen eine stärkere Signalintensität auf.

Dies deutet darauf hin, dass sich unter den Reaktionsbedingungen oligomere Verbindungen des Proteins bilden, die ebenfalls von dem Acetylen-Baustein **195** markiert werden.

### 3.2.3.2.3 Untersuchungen mittels LA-ICP-MS

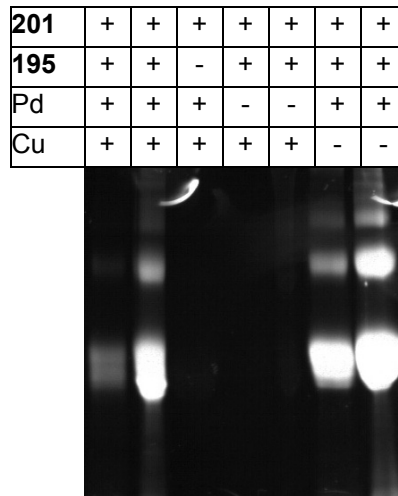
Die Frage nach dem Auftreten eines Aggregates zwischen dem Protein und dem Palladium-Katalysator wurde im folgenden Experiment untersucht. Dabei wurde eine von Dr. N. Jakubowski und I. Feldmann am Institut für Spektrochemie und Angewandte Spektroskopie (ISAS) in Dortmund entwickelte Analysemethode angewendet: *laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry* (LA-ICP-MS).<sup>[138]</sup> In diesem Experiment wird die zu analysierende Substanz durch einen Laserstrahl von einem Träger – in diesem Fall einer Westernblot-Membran – ablatiert und in eine Plasmakammer überführt, aus der alle Isotope der vorkommenden Elemente quantitativ mittels Massenspektrometrie gemessen werden können (Skizze s. Abb. 35). Durch eine Korrelation zwischen dem Zeitpunkt der Ablation und dem zeitlichen Verlauf der Detektion eines Elementions im Massenspektrometer kann der Gehalt eines Isotops entlang einer Bahn der Blot-Membran verfolgt werden. Dieses Verfahren wurde für die Detektion von Palladium in den Reaktionsprodukten der Protein-Sonogashira-Reaktion eingesetzt.



**Abb. 35:** Versuchsaufbau LA-ICP-MS.

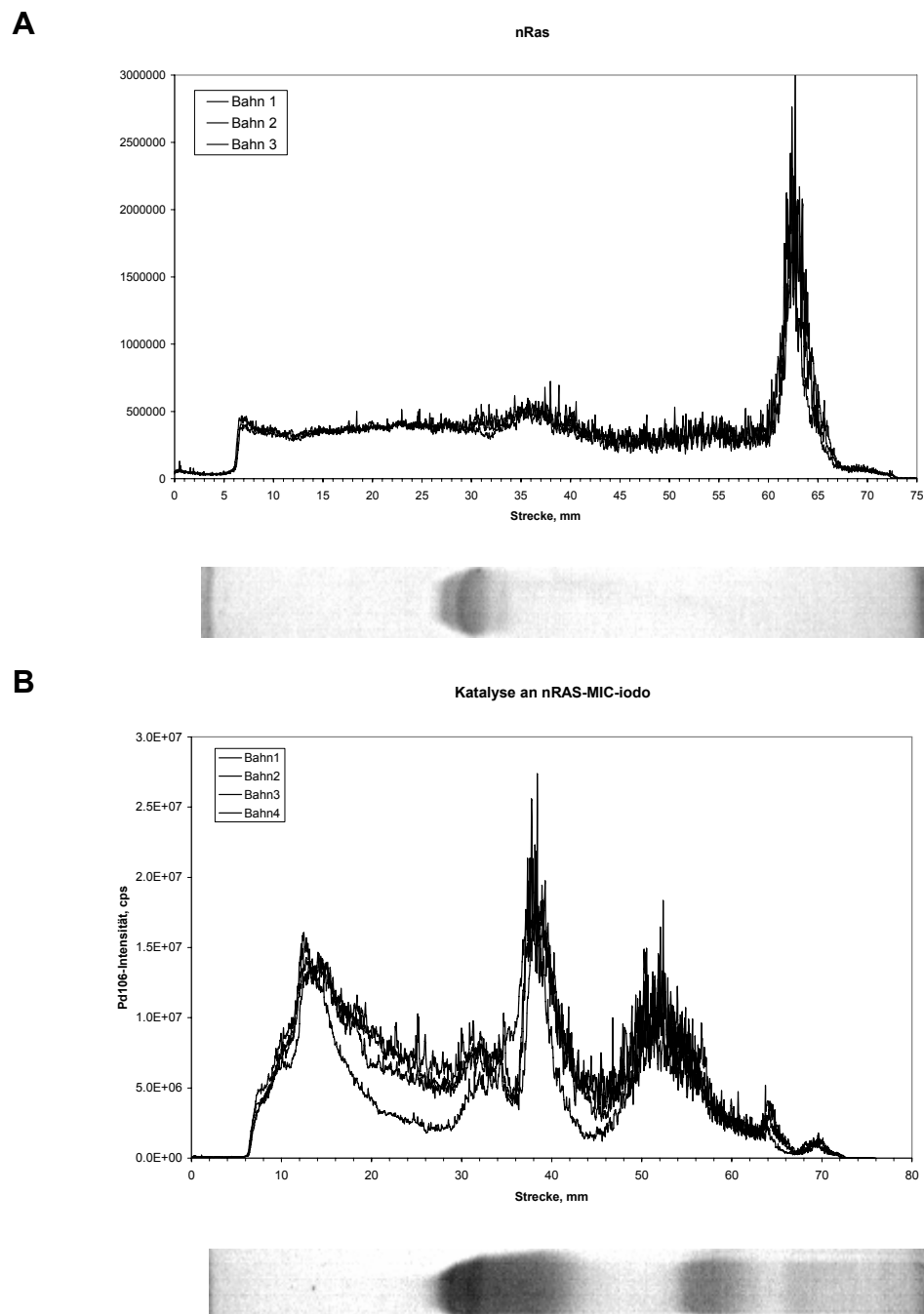
Das iodidierte Ras-Protein **201** wurde in der Sonogashira-Reaktion umgesetzt. Dabei konnte in einem SDS-PAGE-Gel das Auftreten der bereits berichteten Fluoreszenz bestätigt werden (Abb. 36). Bemerkenswerterweise trat das Fluoreszenzsignal dann auf, wenn in der Reaktionsmischung das Protein **201**, das Acetylen **195** und der Palladium-Katalysator anwesend waren. Fehlte eine

dieser Komponenten, blieb die Fluoreszenz aus. Die molekulare Grundlage dieses Signals wurde nicht weiter untersucht.



**Abb. 36:** Fluoreszenz nach Durchführung der Sonogashira-Reaktion am Protein **201** mit dem Alkin **195**.

Die Protein-Bahnen des in Abb. 36 gezeigten SDS-PAGE-Gels wurden auf eine PVDF- Membran geblottet und mittels ICP-MS untersucht. Diese Arbeiten wurden von Dipl.Ing. Ingo Feldmann am ISAS Dortmund durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 37 dargestellt.



**Abb. 37:** Untersuchung des  $^{106}\text{Pd}$ -Gehaltes entlang der Westernblot-Spur mittels ICP-MS. Unter den  $^{106}\text{Pd}$ -Spuren ist jeweils die Proteinbeladung entlang der Membran gezeigt. **A**  $^{1-181}\text{N-Ras}$ , **B** Produktgemisch nach Sonogashira-Reaktion (Messung: I. Feldmann, ISAS Dortmund).

Das als Kontrolle untersuchte Protein  $^{1-181}\text{N-Ras}$  enthält nur wenig Palladium 106 (Abb. 37, **A**). Oberhalb des Grundrauschens ist nur ein sehr schwacher Ausschlag an der Position des Proteins in der Membran zu erkennen (vgl. die angegebene Spur im SDS-Gel). Das stärkste Signal ist am Ende der Bahn an der Membrankante zu sehen.

Im starken Kontrast dazu steht die in Abb. 37, **B** gezeigte Massenspur. Hier liegt die Intensität des  $^{106}\text{Pd}$ -Signals um den Faktor 10 über dem Grundrauschen. Besonders bemerkenswert dabei ist, dass die höchsten Ausschläge in der Massenspur mit den Positionen der Proteinbanden im SDS-Gel korrelieren. Der Ausschlag am Ende der Bahn ist ebenfalls in der gleichen Größenordnung (ca.  $3 \cdot 10^6$ ) vorhanden.

Die Ergebnisse dieser Messungen lassen darauf schließen, dass an dem Protein nach der Reaktion noch eine große Menge Palladium gebunden ist. Prinzipiell wäre es durch Kalibrierung der Proteinmenge möglich, den Gehalt an Palladium (stöchiometrisch) zu quantifizieren. Dies wurde im vorliegenden Experiment nicht durchgeführt.

### 3.2.4 Diskussion

Der hohe Restgehalt an Palladium-Katalysator wirft unmittelbar die Frage nach der Anwendbarkeit der Palladium-Katalysator auf Protein-Substrate auf. Zum einen kann der Katalysator-Komplex durch Interaktion mit Seitenketten des Proteins die native Struktur des Proteins stören und damit die Funktionalität beeinflussen. Darüber hinaus ist im Hinblick auf zelluläre Anwendungen zu befürchten, dass das Palladium über das modifizierte Protein in die Zelle transportiert wird und dort eine eigene ungewünschte Aktivität ausübt.

Um diese möglichen negativen Einflüsse zu minimieren, wären nach der Übergangsmetallkatalyse umfangreiche Aufreinigungsschritte notwendig, die dem Ziel einer schnellen und variablen Derivatisierung von Proteinsubstraten entgegenlaufen.

Von noch größerer Bedeutung ist aber die Tatsache, dass die Sonogashira-Reaktion am Protein in Umsatz und Ausbeute fast unmöglich zu kontrollieren war. Die Aufreinigung über ein modifiziertes Streptavidin/Biotin-System führte nicht zur Isolierung des gewünschten Reaktionsproduktes. Wie gezeigt wurde, lassen sich aber mit Desthiobiotin markierte Proteine durchaus (wenn auch nur mit mäßigem Erfolg) an den eingesetzten Streptactin-Beads aufreinigen. Dies deutet darauf hin, dass die Sonogashira-Reaktion am Protein nicht oder nur in geringem

Umfang stattgefunden hat. Dies könnte auf folgende Ursachen zurückzuführen sein:

a) Das Protein präsentiert an seiner hydrophilen Oberfläche zu viele potentielle Koordinationsstellen, so dass der Katalysator immer wieder eingefangen wird oder dauerhaft gebunden wird.

b) Findet der Katalysator-Komplex seinen Reaktionspartner, in diesem Falle einen Iodaromaten, und findet die oxidative Addition statt, könnte sich die Konformation des Proteins ändern und der reaktive Komplex abgeschirmt werden. In diesem Fall wäre z.B. die Protolyse durch  $H_2O$  begünstigt, die in der Tat durch die Detektion des de-iodierten MIC-Markers nachgewiesen werden konnte.

Die während der hier vorliegenden Untersuchung Übergangsmetall-katalysierter Reaktionen an Protein-Substraten aufgetretenen Schwierigkeiten, vornehmlich hinsichtlich eines kontrollierbaren Reaktionsumsatzes, des Problems der Aufreinigung der Reaktionsprodukte und der Abtrennung der Katalysatorrückstände, führten schließlich zur Einstellung der Experimente.

Zeitgleich zu den hier dargelegten Arbeiten führten Yokoyama et al. eine ähnliche Studie durch, in der ein *para*-Iodphenylalanin durch ein *in vitro* Translationssystem in ein Ras-Protein eingeführt und mittels einer Heck-Reaktion derivatisiert wurde.<sup>[139]</sup> Im Zuge dieser Experimente konnte das gewünschte Reaktionsprodukt, ebenfalls ein biotinyliertes Protein, nachgewiesen werden. Dies geschah durch Detektion mittels LC-MS und durch Western-Blot-Analyse der Reaktionsmischung. Die Autoren kalkulierten den Umsatz der Palladium-katalysierten Heck-Reaktion jedoch auf ca. 2 %. Damit konnte auch in diesem Fall nicht gezeigt werden, dass sich Übergangsmetall-katalysierte Reaktionen für die chemische Modifikation von Proteinen eignen.





## 4 Zusammenfassung

Die Untersuchung biologischer Prozesse mit Hilfe kleiner Moleküle hat sich in den letzten Jahren zu einem eigenständigen Gebiet der Chemischen Biologie entwickelt. Auf der Suche nach Verbindungen mit bisher unbekannter biologischer Aktivität wurden Naturstoff-abgeleitete Verbindungsbibliotheken synthetisiert. Im Gegensatz zu häufig angewendeten Synthesestrategien in der kombinatorischen Chemie, die vornehmlich auf einfachen Zugang und große Substanzzahlen abzielen, enthalten Naturstoff-abgeleitete Bibliotheken eine begrenzte Anzahl von Mitgliedern. Diese werden aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu Naturstoffen als besonders Erfolg versprechend angesehen.

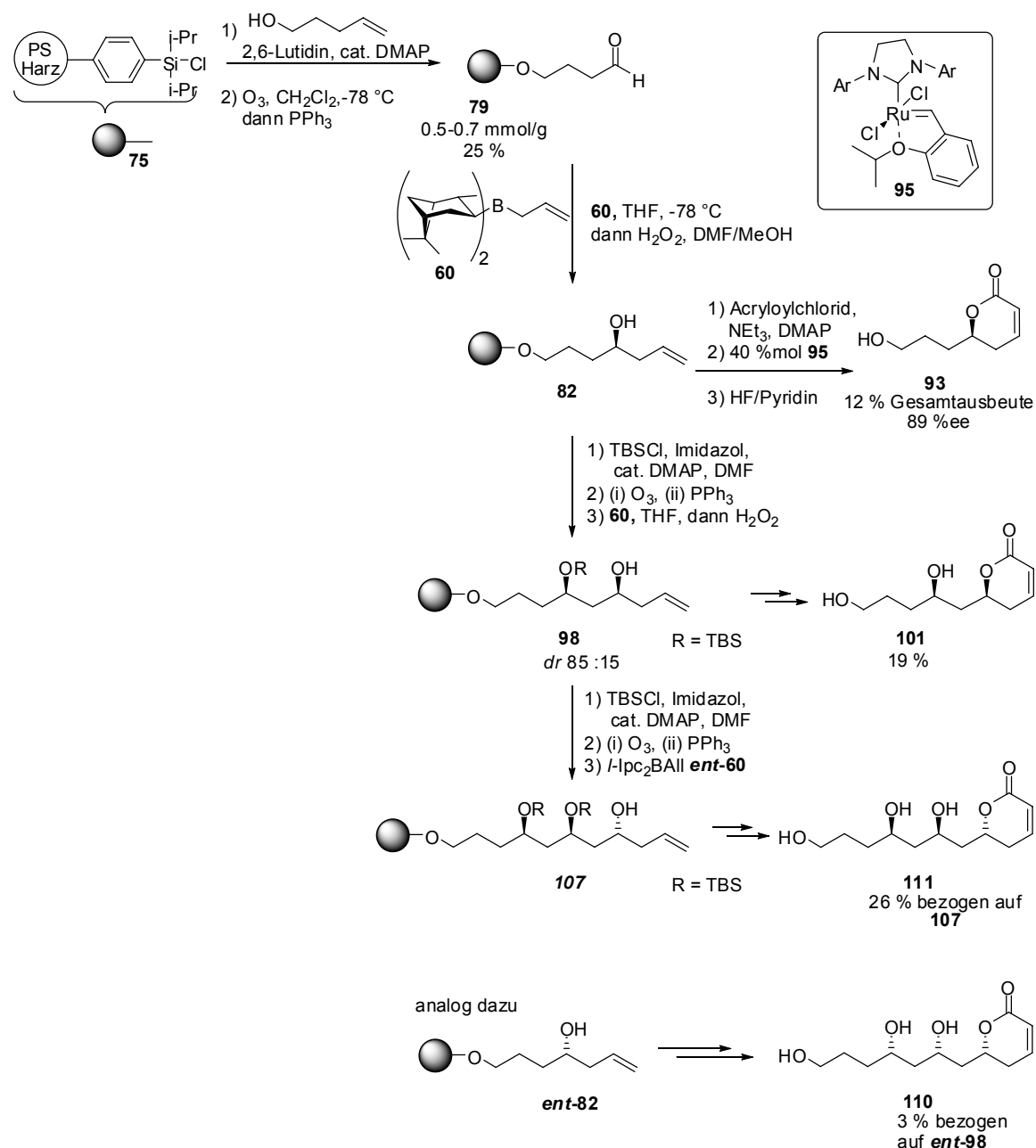
Naturstoffe werden zum Ausgangspunkt der Wirkstoffsuche gemacht, da sie evolutionär selektiert wurden, mit Biomolekülen wie Proteinen Wechselwirkungen einzugehen. Ziel der Naturstoff-abgeleiteten Synthese ist es, die Affinität eines molekularen Gerüsts für den Faltungs-konservierten Liganden-erkennenden Kernbereich einer Proteindomäne zu nutzen, dabei aber durch Variation des Grundgerüsts die Spezifität zu vergrößern oder mögliche Nebenwirkungen (wie z.B. unspezifische Toxizität) zu verringern.

$\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktone bilden eine Gruppe von Naturstoffen mit einem breiten biologischen Aktivitätsprofil. Stoffe dieser Klasse inhibieren z.B. die Phosphatase PP2A oder stören die Tubulin-Polymerisation.

Für mehrere dieser Naturstoffe wurde das ungesättigte Laktone als essentiell für die biologische Aktivität nachgewiesen. Dies führte zu der Überlegung, dass es sich hierbei um einen viel versprechenden Ausgangspunkt für die Synthese einer Verbindungsbibliothek handeln könnte. Da neben sehr komplexen Naturstoffen auch kleinere Moleküle biologische Aktivität aufwiesen, wurde die Synthese solcher Verbindungen gezielt in Erwägung gezogen.

Gegenstand dieser Arbeit war die Entwicklung von Synthesestrategien zur stereoselektiven Synthese von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen an der festen Phase.

Ein erster Zugang zu der Zielstruktur konnte durch eine Sequenz erhalten werden, die auf enantioselektiven Allylierungen und Ringschlussmetathese an der festen Phase beruht. Dabei konnten sowohl das stereogene Zentrum in der C-6 Position des Laktons, als auch weitere sekundäre Hydroxylgruppen in der Seitenkette mit hoher Stereoselektivität generiert werden. Eine Übersicht über die Entwicklung der Sequenz ist in Schema 47 dargestellt.



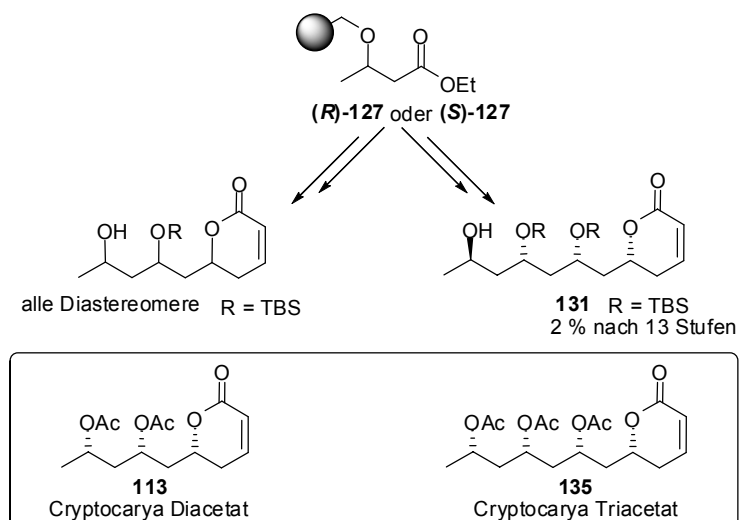
**Schema 47:** Übersicht über die Entwicklung der Synthese-Sequenz zu  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen über enantioselektive Allylierungen und Ringschlussmetathese.

Brom-Polystyrol-Harz wurde nach Metall-Halogen-Austausch mit Diisopropyldichlorsilan funktionalisiert. An dieses polymergebundene Silylchlorid wurde 4-Penten-1-ol gebunden, welches durch Ozonolyse in den immobilisierten Aldehyd **79** umgewandelt wurde. Enantioselektive Allylierung mit dem Brown-Allylboran *d*-Ipc<sub>2</sub>BAll lieferte den immobilisierten Homoallylkohol **82**, der mit Acrylsäurechlorid verestert werden konnte. Die Ringschlussmetathese zum ungesättigten Laktone erfolgte am immobilisierten Substrat mit 40 mol% des Hoveyda-Grubbs II-Katalysators **95**. Alternativ konnte aus dem Homoallylkohol **82** aber auch erneut ein Aldehyd gewonnen werden, der für eine weitere asymmetrische Allylierung zur Verfügung stand. Das *syn*-Diol **98** konnte ebenfalls in ein  $\alpha,\beta$ -ungesättigtes  $\delta$ -Laktone (**101**) umgewandelt werden.

Eine weiterer Zyklus von Ozonolyse und Allylierung, diesmal mit *l*-Ipc<sub>2</sub>BAll, führte nach Ringschlussmetathese zum *syn, anti*-Triol **111**.

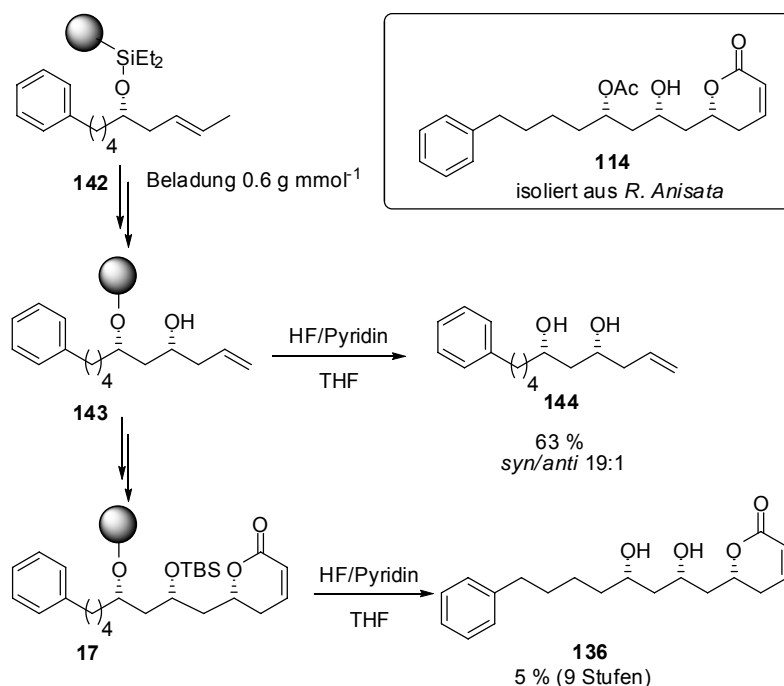
Damit konnte gezeigt werden, dass auf diesem Weg  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\delta$ -Laktone an der festen Phase enantio- und diastereoselektiv zugänglich sind. Die Synthese wurde nachfolgend auf Naturstoffe und ihre Diastereomere angewendet.

Cryptocarya Diacetat **113** und Cryptocarya Triacetat **135** (Schema 48) wurden aus dem afrikanischen Baum *C. Crassifolia* extrahiert. Durch Anwendung der oben skizzierten Synthesesequenz gelang es Dr. A. B. García und Dr. J. D. Umarye, alle Diastereomere der Naturstoffes **113** zu erhalten. Die Sequenz ließ sich sogar noch ausweiten, um zu einem (TBS-geschützten) Diastereomer des Triacetats **135** zu gelangen. Dabei wurde das Endprodukt **131** nach 14 linearen Stufen am polymeren Träger in 2 % Gesamtausbeute erhalten.



**Schema 48:** Synthese von Verbindungen aus der *Cryptocarya*-Gattung.

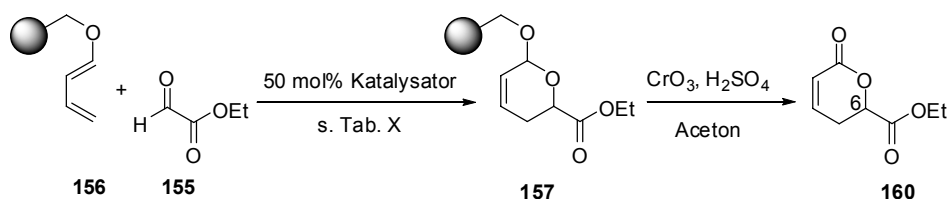
Des Weiteren gelang auf diesem Weg die Synthese des deacetylierten Naturstoffs **114**, der aus *R. Anisata* isoliert wurde (Schema 49). Der dafür benötigte Baustein konnte enantiomerenrein erhalten werden und in neun Stufen, darunter, zwei *syn*-selektiven Allylierungen, in das Endprodukt **136** transformiert werden.



**Schema 49:** Synthese des Gerüsts des Naturstoffes **114**.

Mit diesen Beispielen konnte gezeigt werden, dass die enantioselektiven Allylierungen nach Brown in der Synthese an der festen Phase mit hoher Stereoselektivität ablaufen und für die Synthese von Diastereomer-Bibliotheken eines Grundgerüsts geeignet sind.

Ein zweiter Zugang zu den Zielverbindungen sollte durch eine Übergangsmetall-katalysierte, enantioselektive hetero-Diels-Alder-Reaktion zwischen dem immobilisierten Dien **156** und Ethylglyoxylat **155** erreicht werden. Dafür wurden verschiedene Katalysatoren und Reaktionsbedingungen untersucht (Tabelle 14).



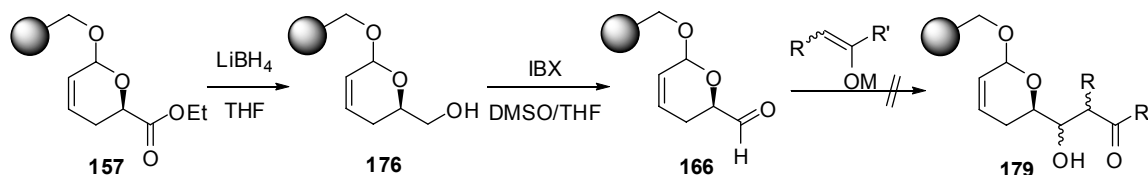
Eintrag	Katalysator	Lösungsmittel	Temperatur	Selektivität (Konfig. an C-6)
1		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-30 °C	87 %ee ( <i>R</i> )
2		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /Toluol 1 : 1	-30 °C	48 %ee ( <i>R</i> )
3		Dichlorethan	-30 °C	48 %ee ( <i>R</i> )
4		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-30 °C	19 %ee ( <i>R</i> )
5		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-30 °C	45 %ee ( <i>R</i> )
6		THF	0 °C	85 %ee ( <i>S</i> )

**Tabelle 14:** Hetero-Diels-Alder Reaktion an der festen Phase

Der für eine ähnliche Reaktion in Lösung bekannte Katalysator aus (*R*)-BINOL und Titantetraisopropylat führte auch bei Einsatz des immobilisierten Diens **156** zu hohen Enantiomerenüberschüssen, besonders in Dichlormethan. Weitere Katalysatoren wurden getestet. Während sich eine teilweise Hydrierung des BINOL-Liganden negativ auf die Enantioselektivität

auswirkte (Eintrag 4), konnten mit dem Kupfer(II)-basierten <sup>t</sup>Bu-Box-Katalysator (Eintrag 6) an der festen Phase Enantiomerenüberschüsse erzielt werden, wie sie auch für vergleichbare Systeme in Lösung berichtet wurden. Allerdings schloss der geringe Umsatz, der mit diesem Katalysator erreicht wurde, eine Anwendung in der Synthese einer Verbindungsbibliothek aus.

Das immobilisierte Cycloaddukt **157** sollte in zwei Stufen in den Aldehyd **166** (Schema 50) transformiert werden, der Ausgangspunkt für weitere Diversifizierungsschritte mit Enolaten sein sollte.



**Schema 50:** Transformationen des Cycloaddukts **157**

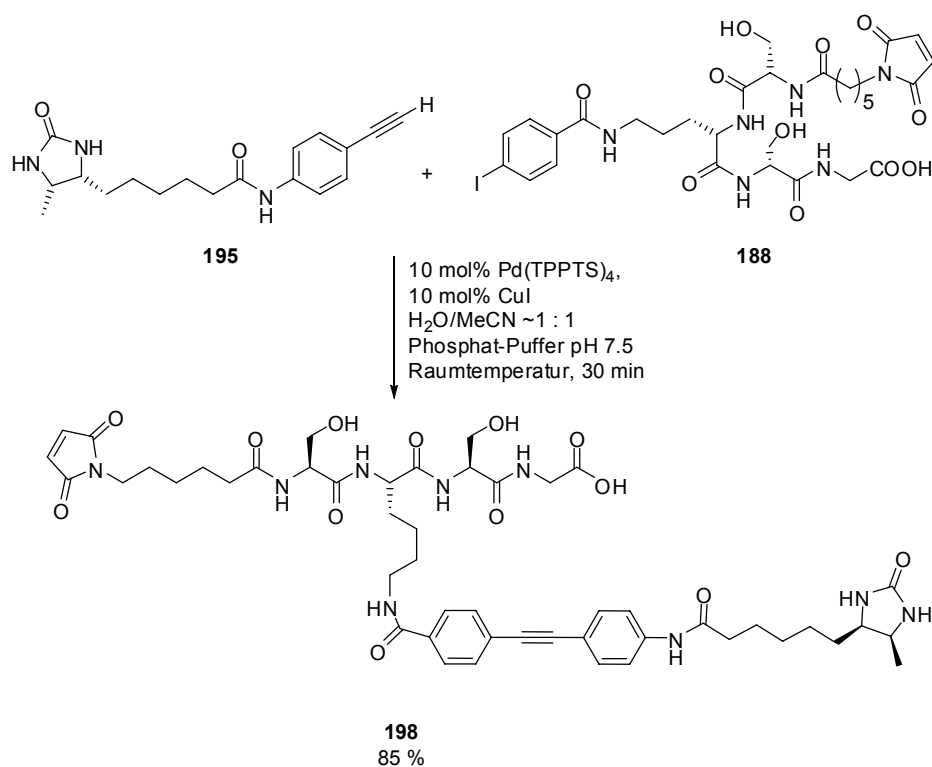
Die Oxidation zum Aldehyds **166** erwies sich jedoch als kritisch. Hier konnte – wenn überhaupt – nur unvollständiger Umsatz erzielt werden. Auch gelang es nicht, das Reaktionsprodukt einer Aldol-Reaktion am Aldehyd (**179**) zu isolieren. Da die C-C-Einfachbindung an dieser Stelle nicht aufgebaut werden konnte, wurde dieser Weg für die Synthese einer Naturstoff-abgeleiteten Bibliothek als wenig aussichtsreich angesehen.

Eine Methode zur Untersuchung von Struktur und Aktivität von Proteinen ist die Einführung nicht-natürlicher Funktionalitäten wie z.B. Fluoreszenzfarbstoffen oder molekularer „Anker“ für die Affinitätschromatographie. Im zweiten Teil dieser Arbeit sollte die Möglichkeit untersucht werden, Palladium-katalysierte Kreuzkupplungsreaktionen zur Einführung solcher nicht-natürlicher Funktionalitäten an entsprechend modifizierte Proteine zu nutzen. Dies wurde anhand der Sonogashira-Reaktion untersucht, in der ein terminales Alkin und eine halogenierte aromatische Verbindung mit einem Palladium-Katalysator in Gegenwart von Cu(I)-Verbindungen gekuppelt werden.

Um ein Reaktionsprodukt zu erhalten, das reversibel an Streptavidin bindet und durch Affinitätschromatographie aufgereinigt werden kann, wurde das Acetylen **195** (Schema 51) aus Desthiobiotin und 4-Ethinylanilin synthetisiert.

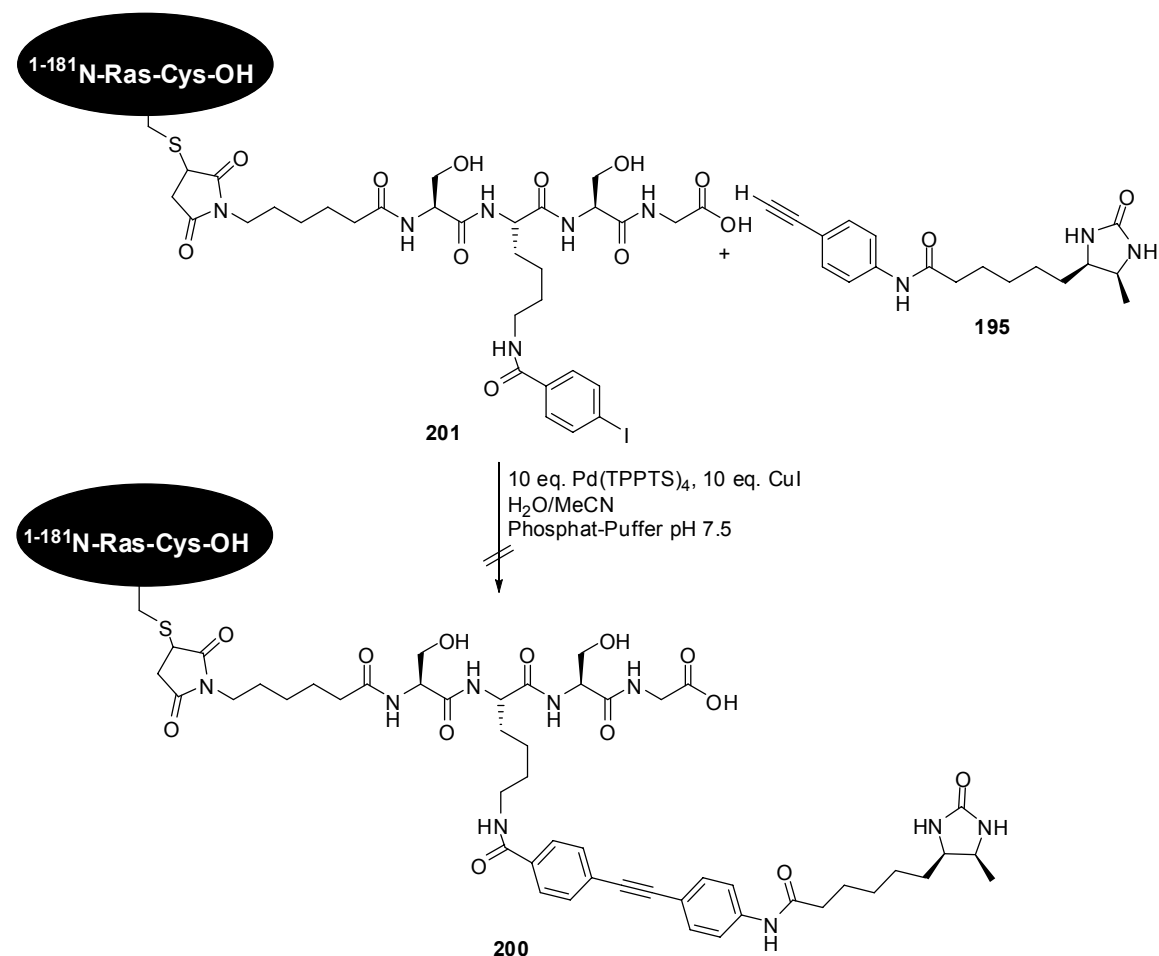
Desthiobiotin bindet um Größenordnungen schwächer an Streptavidin als Biotin.

Nach ersten Experimenten an einem Peptid, in das ein 4-Iodphenylalanin inkorporiert war, wurde die Sonogashira-Reaktion unter physiologischen Bedingungen (pH 7.5) an dem Peptid **188** getestet, welches später durch eine MIC-Ligation an ein Protein gebunden werden sollte. Dabei wurden 10 mol% eines Palladium-Katalysators eingesetzt, der durch Sulfonsäuregruppen am Phosphinliganden wasserlöslich war.



**Schema 51:** Sonogashira-Reaktion an einem Peptid unter physiologischen Bedingungen.

Das Kupplungsprodukt **198** konnte in 85 % Ausbeute isoliert werden. Dieses Ergebnis konnte jedoch am Protein nicht reproduziert werden. Wurde das Peptid **188** über das Maleinimid an ein verkürztes Ypt7-Protein oder das <sup>1-181</sup>N-Ras-Protein ligiert, konnte das Reaktionsprodukt der Sonogashira-Kupplung auch bei Einsatz von 10 Äquivalenten des Palladium-Katalysators nicht detektiert werden (Schema 52).



**Schema 52:** Sonogashira-Kupplung am  $1\text{-}^{181}\text{N-Ras-Protein}$ .

Durch massenspektroskopischen Nachweis konnte gezeigt werden, dass das Protein nach der Reaktion und gelelektrophoretischer Auftrennung noch signifikante Mengen an Palladium enthielt. Es könnte durch chelatisierende funktionelle Gruppe an der Oberfläche des Proteins koordiniert worden sein.

Da sich das Reaktionsprodukt der Sonogashira-Kupplung am Protein nicht nachweisen ließ und die Aufreinigung des Proteins problematisch war, wurde die Perspektive für eine Entwicklung zu einer schnellen und variablen Routinemethode zur Modifikation von Proteinen als kritisch angesehen und die Experimente eingestellt.



## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Allgemeines, Messgeräte, Hilfsmittel

**NMR-Spektren** wurden mit einem Varian Mercury-VX 400 und einem Bruker AVANCE DRX 500 aufgenommen. Die Auswertung erfolgte nach erster Ordnung. Die in ppm angegebenen chemischen Verschiebungen beziehen sich auf das jeweilige Restsignal des nicht deuterierten Lösungsmittels.

<sup>1</sup>H-Signalmultiplizitäten sind wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, br.s = breites Singulett, m = Multiplett.

<sup>13</sup>C-Signalmultiplizitäten sind folgendermaßen abgekürzt: s = Singulett (quartäres C-Atom), d = Dublett (Methingruppe), t = Triplett (Methylengruppe), q = Quartett (Methylgruppe).

**Optische Drehungen** wurden auf einem Schmidt&Hänsch Polartronic HHP Polarimeter ermittelt und sind auf die Wellenlänge der Natrium-D-Linie (589 nm) bezogen. Die Konzentration *c* in g/100 ml und das verwendete Lösungsmittel sind bei den jeweiligen Substanzen angegeben.

**Hochaufgelöste Massenspektren** wurden mit einem Jeol SX102A Spektrometer gemessen. Als Ionisierungsmethode wurde Fast Atom Bombardment (FAB) mit *m*-Nitrobenzylalkohol als Matrix verwendet.

**MALDI-TOF** Massenspektren wurden an einem Voyager DE<sup>TM</sup> Pro Biospectrometry Workstation Spektrometer der Firma PerSeptive Biosystems gemessen, als Matrix wurde 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) eingesetzt.

**Gekoppelte Liquid Chromatography-Massenspektrometrie (LC-MS)** wurde an einem Agilent Series 1100-System der Firma Hewlett Packard mit einer CC 250/4 Nucleosil 120-5 C4 oder einer C18 Gravity-Säule der Firma Macherey-Nagel durchgeführt. Das ESI-Massenspektrometer war ein LCQ Advantage MAX der Firma Finnigan.

Sofern nicht anders angegeben, wurde folgender Gradient auf der C18-Säule verwendet:

C18grav\_split4pos: Laufmittel A: 0.1 % HCOOH in H<sub>2</sub>O; Laufmittel B: 0.1 % HCOOH in Acetonitril; Flussrate 1 ml/min, 1 min 10 % B, dann linearer Anstieg auf 100 B in 9 min, 2 min 100 % B.

**Gekoppelte Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)** wurde mit einem Gaschromatographen 6890 der Fa. Hewlett Packard mit einer Kapillarsäule HP-5MS, 25 m × 0.2 mm; 0.33 µm. der Fa. Agilent, Helium als Trägergas und einem Massendetektor 5973 von der Fa. Hewlett Packard durchgeführt.

Es wurden zwei Temperaturprogramme verwendet:

DB\_50\_S: 50 °C (2 min halten), dann 40 °C/min auf 300 °C (5.75 min halten)

DB\_100\_S: 100 °C (1 min halten), dann 40 °C/min auf 300 °C (5.0 min halten)

**UV-spektroskopische** Messungen wurden an einem Cary 100 der Firma Varian gemessen.

**FT-IR-Spektren** wurden an einem Vector 22-Spektrometer der Firma Bruker aufgenommen. Die Bandenintensitäten sind wie folgt abgekürzt: s = stark, m = mittel, w = schwach, br = breites Signal.

**Schmelzpunkte** wurden an einer Schmelzpunktapparatur 540 der Fa. Büchi gemessen und sind unkorrigiert.

Für die **Dünnschichtchromatographie (DC)** wurden mit Kieselgel 60 F<sub>254</sub> beschichtete Aluminiumplatten der Fa. Merck verwendet. Laufmittel und R<sub>F</sub>-Werte sind bei den jeweiligen Substanzen angegeben.

Zur Detektion wurden UV-Licht ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) und folgende Anfärbereagenzien verwendet:

Reagenz A 2.5 g Molybdätdiphosphorsäure, 1 g Cer(IV)-sulfat und 6 ml konz. Schwefelsäure in 94 ml Wasser

Reagenz B 0.5%ige Lösung von Kaliumpermanganat in Wasser

Für die **präparative Säulenchromatographie** wurden folgende stationäre Phasen verwendet:

Kieselgel der Fa. Acros mit der Korngröße 35–70 µm.

Basisches oder neutrales Aluminiumoxid (Alox) der Fa. Fluka mit der Korngröße 50–150 µm.

Für die **analytische chirale HPLC** wurde ein Agilent Serie 1100-System mit einer Chiralpak AD-H Säule (Daicel Chemical Industries) eingesetzt.

Für die **MS-gekoppelte, präparative HPLC** wurde folgendes System verwendet: Agilent Series 1100/LC/MSD VL (ESI); Vorsäule: VP50/21 Nucleodur C18 Gravity 5 µm, Hauptsäule: VP125/21 Nucleodur C18 Gravity 5 µm, (beide Macherey&Nagel); Detektion: 210 und 254 nm; Flussrate: 25 ml/min; Wasser für HPLC-Trennungen wurde durch ein Milli-Q-System mit Q-Gard 2-Kartuschen der Fa. Millipore gereinigt.

Eluent A: Acetonitril + 0.1 %TFA; Eluent B: Wasser + 0.1 % TFA. Als Lösungsmittel für die Ionisierung wurde Wasser/Acetonitril 1:1 + 0.1 % Ameisensäure verwendet.

Es wurde folgender Gradient verwendet:

TL321\_STD210MM\_MS\_ON.M: 0 min 10 % A → 1 min 10 % A → 12 min 100 % A → 15 min 100 % A.

Zum Einengen der Substanzen nach der präparativen HPLC-Trennung wurde eine alpha 2-4 Lyophyllisierereinheit der Firma Christ verwendet.

Alle **Reaktionen** fanden unter einer Inert-Atmosphäre aus Argon statt. Glasgeräte wurden vor dem Einsatz im Hochvakuum ausgeheizt und nach Abkühlen mit Argon gespült.

Lösungsmittel wurden in wasserfreier Form eingesetzt:

Diethylether, Tetrahydrofuran und Methanol wurden in getrockneter Form über Molsieb von der Firma Fluka bezogen.

Dichlormethan und Acetonitril wurden über Calciumhydrid getrocknet und vor Gebrauch destilliert.

Pentan wurde über basischem Aluminiumoxid vorgetrocknet und von Natrium-Ketyl destilliert.

Die Harze für die Synthese an der festen Phase wurden von den Firmen Novabiochem oder Rapp Polymere bezogen. Alle übrigen Chemikalien wurden von den Firmen SIGMA-ALDRICH, ACROS, Fluka oder ABCR erworben und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

## 5.2 Methoden zur Beladungsbestimmung an der Festphase

### Bestimmung der Beladung von Aldehyden nach der DNPH-Methode<sup>[111]</sup>

Zunächst werden 100 ml Maßlösung aus 100.0 mg (0.51 mmol) 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) in THF hergestellt. Die Absorption  $A_0$  bei 350 nm der zehnfach verdünnten Maßlösung wird in einer 1 mm Quartz-Küvette gemessen.

Eine Suspension von 20 mg immobilisierten Aldehyd mit 10 ml Maßlösung wird mit fünf Tropfen TFA versetzt und 2 h bei RT geschüttelt. Wiederum wird ein Teil der Lösung auf das zehnfache verdünnt und die Absorption  $A_1$  bei 305 nm in einer 1 mm Küvette gemessen.

Die Beladung wird nach folgender Formel bestimmt ( $V = 1000$ ,  $m = 20$  mg,  $c_0 = 504.7$  mmol/l):

$$\frac{c_1}{c_0} = \frac{A_1}{A_0} \Rightarrow c_B = \frac{V \cdot c_0}{m} \cdot \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) = 2.524 \cdot \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right)$$

### Bestimmung der Beladung von Aldehyden nach der FmPH Methode<sup>[68]</sup>

Zu 5 mg des Aldehyd-Harzes in 0.5 ml DMF werden 3 Äq. FmPH·TFA (3.3 mg bei einer Harzbeladung von ca. 0.5 mmol/g), 3 Äq. (2.6 µl DIPEA) und 0.5 ml Trimethoxyorthoformiat gegeben. Es wird 30 min auf 80 °C erwärmt, und nach Filtration mit je 5 x DMF, MeOH und wieder DMF gewaschen. Nach kurzem Trocknen am Hochvakuum (30 min) wird das Harz in 1 ml DMF/Piperidin 1 : 1 aufgenommen. Nach 30 min wird die Lösung in einem 50 ml-Maßkolben gesammelt, das Harz noch 5 x mit DMF/Piperidin 1 : 1 gewaschen. Alle Fraktionen werden in dem Maßkolben aufgefangen und schließlich auf 50 ml aufgefüllt.

In einer 1 cm Quartz-Küvette wird die Absorption der Lösung bei 301 nm gegen das DMF/Piperidin-Gemisch bestimmt. Die Beladung wird nach folgender Formel bestimmt:

$$C_{Aldehyd} = \frac{1000 \cdot A \cdot V}{\varepsilon \cdot m} \text{ [mmol/g]} \text{ mit } \Delta A = \text{Absorption, } V = \text{Volumen in ml}$$

(hier 50 ml),  $\varepsilon = 7800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $m = \text{Masse in mg}$

### **Bestimmung der Beladung von primären Alkoholen mit der Fmoc-Methode<sup>[123]</sup>**

30 mg (ca. 15-30  $\mu\text{mol}$ ) des Harzes werden in 5 ml Dichlormethan mit 55 mg (0.21 mmol) Fmoc-Chlorid und 17 mg (0.22 mmol) Pyridin versetzt und 5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Filtration wird fünfmal mit Dichlormethan gewaschen und im Vakuum getrocknet.

1.50 mg des so erhaltenen Harzes werden in 3 ml DMF/Piperidin 4 : 1 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend werden zweimal je 1.0 ml von der überstehenden Lösung mit weiteren 2 ml DMF/Piperidin 4 : 1 verdünnt. Im UV-Spektrometer wird in einer 1 cm Quartz-Küvette die Absorption  $A$  bei 301 nm gemessen. Die Konzentration des Dibenzofulven-Piperidin-Adduktes ergibt sich zu:

$$c_v = \frac{A \cdot 10^3}{\varepsilon \cdot d}$$

Die Beladung  $c_B$  des Harzes mit Fluorenylgruppe wird mit folgender Formel bestimmt ( $V = 9$  ml,  $\varepsilon = 780$ ,  $m =$  eingewogene Masse):

$$c_B = \frac{c_v \cdot V}{m} = \frac{A \cdot 10^3 \cdot 9}{7800 \cdot m}$$

### 5.3 Versuche zu Kapitel 3.1.2

#### AAV 1: Synthese und Beladung der Silyl-Linker

Bromo-PS-Harz (2.68 mmol/g, 100-200 mesh) wurde 2 x in Toluol gequollen, abfiltriert und über Nacht im Hochvakuum getrocknet. Von dem auf diese Weise vorbereiteten Harz wurden  $n$  mmol-Äquivalente in einen Schlenk-Kolben überführt und in  $5n$  ml Toluol gequollen. Es wurde mit  $3n$  mmol einer 2.5M Lösung von  $n$ -BuLi in Hexan versetzt und bei 60 °C über 3 h langsam gerührt. Dann wurden erneut  $3n$  mmol  $n$ -BuLi zugegeben, und es wurde über Nacht bei 60 °C gerührt. Dabei nahm das Harz eine dunkelrote bis tiefschwarze Farbe an. Unter Argon wurde das Harz in einen Rosenbaum-Reaktor überführt und filtriert. Es wurde mit Toluol und 5 x THF gewaschen und in  $1.5n$  ml THF aufgenommen. Nun wurden 4 Äq. des Silans (Diisopropyldichlorsilan für primäre Alkohole, Diethyldichlorsilan für sekundäre Alkohole) tropfenweise (Hitzeentwicklung!) mit einer Spritze zugegeben. Dabei verschwand die Farbe des Harzes fast vollständig. Nach 2 h Schütteln bei Raumtemperatur wurde erneut filtriert, mit THF (2 x) und DCM (2 x) gewaschen und in DCM aufgenommen. Es wurden  $0.5n$  mmol DMAP,  $2n$  mmol 2,6-Lutidin und  $2n$  mmol des primären Alkohols zugegeben. Dann wurde über Nacht bei Raumtemperatur geschüttelt, filtriert und gewaschen: 3 x DCM, 2 x DMF, 2 x DMF/H<sub>2</sub>O 3 : 1, 2 x DMF, 5 x DCM und 2 x MeOH. Abschließend wurde im Hochvakuum getrocknet.

#### AAV 2: Ozonolyse immobilisierter Alkene zu Aldehyden

In einem Schlenk-Kolben wurden  $n$  g des Harzes in  $20n$  ml DCM gequollen und auf -78 °C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurde durch eine Fritte Ozon eingeleitet, durch öffnen des Schlenkhahnes wurde ein Überdruck vermieden. Nachdem das Lösungsmittel mit Ozon gesättigt war, angezeigt durch einer tiefblaue Farbe, wurde das Einleiten in Abhängigkeit vom verwendeten Linker fortgesetzt: Im Falle des Wang-Linkers wurde weitere 1-4 min, im Falle der Silyl-Linker 8-10 min Ozon eingeleitet. Unmittelbar nach Ende der Reaktionszeit wurde Argon eingeleitet, um überschüssiges Ozon zu verdrängen. Nachdem das Lösungsmittel wieder farblos war, wurden 5 Äq. Triphenylphosphin (bezogen auf die theoretische Beladung des Harzes)

zugegeben. Nun wurde die Suspension langsam (16 h) auf Raumtemperatur gebracht. Das Harz wurde filtriert und mit DCM (5 x) und Methanol (2 x) gewaschen. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

### **AAV 3:** Asymmetrische Allylierung von immobilisierten Aldehyden

Das mit  $n$  mmol Aldehyd beladene Harz wurde getrocknet, indem Rückstände von Wasser 2-3 mal mit Toluol azeotrop destilliert wurden. Anschließend wurde mind. 3 h im Hochvakuum getrocknet. Das Harz wurde in THF gequollen (10 ml/g Harz) und im Kältebad auf  $-78$  °C abgekühlt. Dann wurden 3-6 Äq. eine 1M Lösung des entsprechenden Allylborans in Ether zugegeben, und es wurde mindestens 8 h geschüttelt, wobei das Lösungsmittel Raumtemperatur annahm. Überschüssiges Boran wurde mit MeOH (1 ml/g Harz) gequench, und das Harz wurde filtriert und gewaschen: 2 x pH 7 Puffer, 2 x H<sub>2</sub>O, 4 x THF, 4 x Et<sub>2</sub>O, 4 x DCM, 2 x MeOH. Nach kurzem Trocknen (1 h) im Hochvakuum wurde in DMF gequollen (ca. 6 ml/g Harz), auf 0 °C abgekühlt und mit MeOH (ca. 6 ml/g Harz), pH 7 Puffer (2 ml/g Harz) und 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O (2 ml/g Harz) versetzt. Es wurde 2 h bei 0 °C (Wang-Linker) bzw. Raumtemperatur (Silyl-Linker) geschüttelt, danach filtriert und gewaschen: 2 x H<sub>2</sub>O, 4 x THF, 4 x Et<sub>2</sub>O, 4 x DCM, 2 x MeOH. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

### **AAV 4:** TBDMS-Schützung der immobilisierten Homoallylalkohole

Das mit  $n$  mmol Homoallylalkohol beladene Harz wurde in DMF (7-10 ml/g Harz) gequollen und mit  $5n$  mmol TBDMS-Chlorid,  $5n$  mmol Imidazol und  $0.3n$  mmol DMAP versetzt. Nach 24 h schütteln bei Raumtemperatur wurde das Harz filtriert und gewaschen: 3 x DMF, 2 x H<sub>2</sub>O, 3 x THF, 3 x DCM, 2 MeOH. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

### **AAV 5:** Acylierung der immobilisierten Homoallylalkohole mit Acryloylchlorid

Das mit  $n$  mmol Homoallylalkohol beladene Harz wurde in DCM (8 ml/g Harz) gequollen und auf 0 °C abgekühlt. Sodann wurden  $5n$  mmol Acryloylchlorid,  $5n$  mmol Triethylamin und  $0.3n$  mmol DMAP zugegeben. Es wurde 15 h



geschüttelt, wobei die Reaktionsmischung Raumtemperatur annahm. Anschließend wurde das Harz filtriert und gewaschen: 4 x DCM, 4 x DMF, 4 x DCM, 2 x MeOH. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

**AAV 6:** Ringschlussmetathese zum immobilisierten  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Lakton

In einem Schlenk-Kolben mit Magnetrührstab wurde das mit  $n$  mmol des acylierten Homoallylalkohols beladene Harz in DCM (ca. 12 ml/g Harz) gequollen und ggf. mit  $1n$  mmol  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$  versetzt. Nun wurde eine Lösung von  $0.2n$  mmol des jeweiligen Katalysators in 1-3 ml DCM zugegeben. Im Argonstrom wurde nun ein bei  $101^\circ\text{C}$  gelagerter Rückflusskühler aufgesetzt und die Schliffverbindung sehr gut abgedichtet. Es wurde 3 h unter Rückfluss gerührt. Dann wurden erneut  $0.2n$  mmol des Katalysators in DCM zugegeben, und es wurde weiter unter Rückfluss gerührt, bis die angegebene Reaktionszeit abgelaufen war. Nach Abkühlen wurde das Harz filtriert und gewaschen: 4 x DCM, 4 x DMF, 4 DCM. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

**AAV 7:** Abspaltung vom Silyl-Linker

Da bei Verwendung von HF keine Glasgeräte eingesetzt werden können, wurden die Abspaltungen je nach Reaktionsvolumen in 1.5 ml Eppendorf-Gefäßen oder 15 ml Falcon-Tubes mit Magnetrührstab und aufgesetztem Septum durchgeführt. Diese Reaktionsgefäße wurden mit Argon gespült, um eine Inertatmosphäre zu erreichen.

Das getrocknete Harz wurde in THF (5-10 ml/g Harz) gequollen. Dann wurden Pyridin und HF/Pyridin mittels Spritze zugegeben. Bei der Zugabe von HF war eine sofortige Reaktion, angezeigt durch Hitzeentwicklung und fahle Dämpfe, zu beobachten.

Für die Abspaltung eines Substrates vom Silyl-Linker wurde 6-8 h bei Raumtemperatur geschüttelt (Eppendorf-Gefäße) oder gerührt (Falcon Tubes).

Für die Abspaltung eines Substrates vom Linker und gleichzeitiger Entschützung der Hydroxyfunktionen wurde eine Reaktionsdauer von mindestens 14 h bei 40 °C gewählt.

Nach Ablauf der jeweiligen Reaktionszeit wurde unverbrauchtes HF mit einem großen Überschuss Trimethylsilylmethanol (ca. 5 ml TMSOMe pro ml HF/Pyridin) vernichtet. Dabei war ein Anstieg des pH-Wertes der Lösung auf 5-7 zu beobachten. Die Reaktionslösung wurde durch Kieselgel filtriert, das Kieselgel gründlich mit THF nachgewaschen. Das Filtrat wurde eingeeengt und im Hochvakuum getrocknet.

### **AAV 8:** Abspaltung vom Wang-Harz mit DDQ

In einem Schlenk-Kolben wurde das mit  $n$  mmol beladene Harz in 100n ml DCM gequollen und mit 4n ml Phosphat-Puffer pH 7 versetzt. Bei 0 °C wurden 10n mmol DDQ zugesetzt, und es wurde 16 h gerührt, wobei die Lösung Raumtemperatur annahm. Nach Zugabe von 100n ml NaHCO<sub>3</sub> ges. wurde filtriert, und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde 4 x mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt.

### **AAV 9:** TMS-Derivatisierung von Alkoholen und Polyolen für die GC-Analyse

In einem mit Argon gespülten GC-Probengefäß wurden ca. 0.5 mg des zu untersuchenden Produktes in 0.5 ml *N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamid (BSA) gelöst und 30 min auf 80 °C erhitzt. Die auf diese Weise erhaltene Lösung wurde direkt mittels GC-MS untersucht. Dabei wurde stets die Methode DB\_100\_S verwendet, da bei geringerer Ofentemperatur das Lösungsmittel zu lange Retentionszeiten hatte.

### ***d*-Diisopinocampheylallylboran (*d*-Ipc<sub>2</sub>BAII) (60)**

Zur Synthese des Brown-Reagenzes wurden  $n$  mmol (+)-Diisopinocampheylmethoxyboran in  $n$  ml Diethylether gelöst. Es wurde im Eisbad auf 0 °C abgekühlt, dann wurden langsam 0.9n ml einer 1M Lösung von Allylmagnesiumbromid in Diethylether zugetropft. Nach Entfernen des

Eisbades wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Spätestens zu diesem Zeitpunkt trat ein weißer voluminöser Niederschlag von Magnesiumsalzen auf. Unter Rühren wurde der Ether im Vakuum entfernt, und das Rohprodukt wurde im Hochvakuum getrocknet (2.5 h). Dann wurde in 1.5n ml Pentan aufgeschlämmt. Nachdem sich der Niederschlag wieder gesetzt hatte, wurde der Überstand mit einer Transferkanüle durch eine Fritte in einen zweiten Kolben überführt. Dieser Vorgang wurde 4 x wiederholt, anschließend wurde das Pentan im Vakuum entfernt. Das auf diese Weise erhaltene transparente Öl wurde in Diethylether aufgenommen, so dass eine 1M Lösung entstand.

#### **Immobilisiertes 10-Undecen-1-ol (76)**

Nach AAV 1 wurden 3.38 g (9 mmol) Brom-PS-Harz mit 6.67 g (36 mmol) Diisopropyldichlorsilan und 2.96 g (17.2 mmol) 10-Undecen-1-ol umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3000-2584 (br s), 2101 (m), 1943 (m), 1874 (m), 1807 (m), 1744 (w), 1599 (m).

#### **Immobilisiertes 4-Penten-1-ol (77)**

Nach AAV 1 wurden 3.08 g (8.1 mmol) Brom-PS-Harz mit 4.62 g (25 mmol) Diisopropyldichlorsilan und 1.05 g (12.2 mmol) 4-Penten-1-ol umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3500-3000 (br s), 1944 (m), 1878 (m), 1802 (m), 1739 (w), 1667 (s), 863 (s).

#### **Immobilisiertes 10-Hydroxydecenal (78)**

Nach AAV 2 wurden 2.05 g des immobilisierten Alkens **76** in 40 ml DCM umgesetzt. Nachdem überschüssiges Ozon mit Argon verdrängt wurde, wurde bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit 3.73 g (14.2 mmol) Triphenylphosphin gequenchet.

Nachdem im Hochvakuum alle Lösungsmittelreste entfernt worden waren, wurde ein fast farbloses Harz erhalten, dessen Beladung mittels FmPH-Test zu 0.5-0.8 mmol/g bestimmt wurde.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3524 (br m), 2954 (s), 2719 (m), 1944 (m), 1875 (w), 1804 (w), 1726 (s), 1599 (m), 1457 (m).

#### **Immobilisiertes 4-Hydroxybutanal (79)**

Nach AAV wurden 2.8 g des immobilisierten Alkens **77** in 40 ml DCM umgesetzt. Nachdem überschüssiges Ozon mit Argon verdrängt wurde, wurde bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit 2.98 g (11.4 mmol) Triphenylphosphin gequenchet. Nachdem im Hochvakuum alle Lösungsmittelreste entfernt worden waren, wurde ein fast farbloses Harz erhalten, dessen Beladung mittels FmPH-Test zu 0.5-0.8 mmol/g bestimmt wurde.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3447 (br m), 2948 (s), 2721 (m), 1946 (m), 1877 (w), 1806 (w), 1726 (s), 1597 (m), 1456 (w).

#### **Immobilisiertes (*R*)-12-Tridecen-1,10-diol (80)**

Nach AAV 3 wurden 1.00 g (0.5 mmol) des immobilisierten Aldehyds **78** in 10 ml THF mit 2.5 ml (2.5 mmol) einer 1M Lösung von *d*-Ipc<sub>2</sub>Ball in Et<sub>2</sub>O umgesetzt. Nach oxidativer Aufarbeitung und Entfernung aller Lösungsmittelreste am Hochvakuum wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3465 (br s), 2948 (s), 1943 (s), 1873 (w), 1806 (s), 1719 (m), 1643 (w), 1600 (m), 1461 (w).

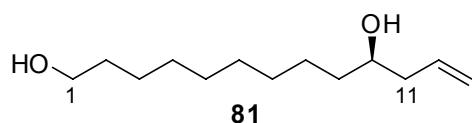
#### **(*R*)-12-Tridecen-1,10-diol (81)**

439 mg (0.31 mmol) des Harzes **80** wurden nach AAV 7 in 2.5 ml THF gequollen und mit 300  $\mu\text{l}$  Pyridin und 400  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin umgesetzt. Es wurde

mit 3 ml TMSOMe gequenchet und am Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt (87 mg) wurde blitzchromatographisch aufgereinigt (KG, 4.7 g, 8 x 1 cm, PE/EE 2 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH). Es wurden 62.3 mg (0.29 mmol, 93 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.13$  in PE/EE 2 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH.

$[\alpha]_D^{20}$ : +4.9 ° ( $c$  1.06,  $\text{CHCl}_3$ ), Enantiomerenverhältnis 94 : 6 (bestimmt aus dem  $^1\text{H}$  NMR Spektrum des Mosher-Esters).



$^1\text{H}$  NMR (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 5.88\text{-}5.78$  (m, 1H, 12-H), 5.16-5.11 (m, 2H, 13-H), 3.67-3.61 (m, 1H, 10-H), 3.63 (t, 2H,  $^3J = 6.6$  Hz, 1-H), 2.34-2.27 (m, 1H, 11- $\text{H}_a$ ), 2.18-2.10 (m, 1H, 11- $\text{H}_b$ ), 1.60-1.30 (m, 16H, 2-H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H).

$^{13}\text{C}$  NMR, DEPT (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 135.2$  (d, C-12), 118.3 (t, C-13), 70.9 (d, C-10), 63.2 (t, C-1), 42.2 (t, C-11), 37.1 (t, C-9), 33.1 (t), 29.9 (t), 29.8 (t), 29.7 (t), 29.6 (t), 26.0 (t), 25.9.

**GC-MS** des TMS-Derivates (DB\_100\_S):  $t_R = 5.22$  min,  $m/z$  (rel. Intens.) 357(1)  $[\text{M}-1]^+$ , 343(3)  $[\text{M}-15]^+$ , 317(85)  $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5]^+$ , 217(13), 157(12), 147(30), 129(28), 95(37), 73(100).

**MS** (FAB)  $m/z$  215.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{O}_2$  215.2011  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 215.2039.

### Immobilisiertes (*R*)-6-Hepten-1,4-diol (85)

Nach AAV 3 wurden 1.04 g (ca. 0.7 mmol) des immobilisierten Aldehyds **79** in 10 ml THF bei  $-78$  °C mit 3.2 ml einer 1M Lösung von *d*-Ipc<sub>2</sub>BAlI in Et<sub>2</sub>O umgesetzt. Nach oxidativer Aufarbeitung und Entfernung aller

Lösungsmittelreste am Hochvakuum wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

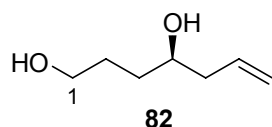
**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3447 (br s), 2952 (s), 1943 (s), 1806 (s), 1716 (m), 1560 (m), 1458 (w).

**(R)-6-Hepten-1,4-diol (82)**

Gemäß AAV 7 wurden 80 mg (0.06 mmol) des immobilisierten Alkohols in 0.9 ml THF mit 50  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin und 50  $\mu\text{l}$  Pyridin umgesetzt. Es wurde mit 100  $\mu\text{l}$  TMSOMe gequencht. Nach Filtration wurde das Rohprodukt auf Celite aufgezogen und blitzchromatographisch gereinigt (KG, 2.0 g, 9 x 1 cm, PE/EE 1 : 2 (v/v) + 0.1 % MeOH). Es wurden 7.5 mg (0.058 mmol, 96 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.11$  in PE/EE 1 : 2 (v/v) + 0.1 % MeOH.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 8.4 ° (c 0.75,  $\text{CHCl}_3$ ),



**$^1\text{H}$  NMR (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.88-5.77 (m, 1H, 6-H), 5.17-5.12 (m, 2H, 7-H), 3.73-3.63 (m, 3H, 1-H, 4-H), 2.36-2.27 (m, 3H, 2 O-H, 5- $\text{H}_a$ ), 2.23-2.17 (m, 1H, 5- $\text{H}_b$ ), 1.74-1.63 (m, 3H, 2-H, 3-H), 1.57-1.46 (m, 1H, 2-H, 3-H).

**$^{13}\text{C}$  NMR, DEPT (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 134.7 (d, C-6), 118.2 (t, C-7), 70.6 (d, C-4), 63.0 (t, C-1), 42.1 (t, C-5), 33.8 (t, C-2 oder C-3), 29.2 (t, C-2 oder C-3).

Die angegebenen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[140]</sup>

**GC-MS** (DB\_50\_S):  $t_R = 4.85$  min, m/z (rel. Intens.) 129(1)  $[\text{M}-\text{H}]^+$ , 89(10)  $[\text{M}-\text{allyl}]^+$ , 71(100), 57(5), 43(62), 41(38).

**Immobilisiertes (*R*)-13-hydroxytridec-1-en-4-yl acrylat (**83**)**

Gemäß AAV 5 wurden 805 mg (0.5 mmol) des immobilisierten Homoallylalkohols **81** in 15 ml DCM mit 333 mg (3.68 mmol) Acryloylchlorid, 319 mg (3.16 mmol) Triethylamin und 19 mg (0.15 mmol) DMAP umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelreste im Hochvakuum wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

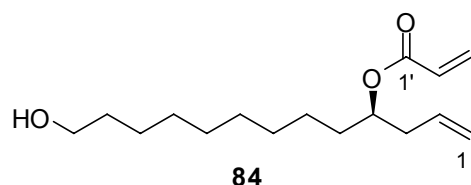
**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3500-3200 (br m), 2949 (s), 1943 (m), 1873 (w), 1806 (w), 1730 (s), 1642 (w), 1600 (m), 1459 (w).

**(*R*)-13-hydroxytridec-1-en-4-yl acrylat (**84**)**

160 mg (0.08 mmol) des Harzes **83** wurden in 2.5 ml einer 1M Lösung von TBAF in DCM 16 h lang geschüttelt. Nach Filtration wurde 6 x mit DCM gewaschen. Die vereinigten Phasen wurden mit NaCl ges. gewaschen und eingengt. Es wurde auf Celite aufgezogen und blitzchromatographisch gereinigt (KG, 2.7 g, 12 x 1 cm, PE/EE 4 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH). Es wurden 11.1 mg (0.04 mmol, 51 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.20$  in PE/EE 4 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 15.91 ° (c 0.23, CHCl<sub>3</sub>),



**<sup>1</sup>H NMR, gCOSY, gHMBC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 6.38 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J = 17.3 Hz, 3'-H<sub>a</sub>), 6.10 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 17.3, 10.4 Hz, 2'-H), 5.80 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, 3'-H<sub>b</sub>), 5.80-5.71 (m, 1H, 2-H), 5.10-5.03 (m, 2H, 1-H), 5.02-4.96 (m, 1H, 4-H), 3.64 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 13-H), 2.37-2.32 (m, 2H, 3-H), 1.61-1.27 (m, 16H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 165.9 (s, C-1'), 133.7 (d, C-2), 130.3 (t, C-3'), 128.9 (d, C-2'), 117.6 (t, C-1), 73.6 (d, C-4), 63.1 (t, C-13), 38.6 (t, C-3), 33.6, 32.8, 29.44, 29.37 (2 x t), 29.3, 25.7, 25.2.

**MS (FAB)** m/z 269.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$

**HR-MS (FAB)** ber. für  $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{O}_3$  269.2117  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 269.2128.

### **Immobilisiertes (*R*)-7-Hydroxyhept-1-en-4-yl acrylat (86)**

Gemäß AAV 5 wurden 950 mg des immobilisierten Homoallylalkohols **85** in 15 ml DCM mit 444 mg (4.91 mmol) Acryloylchlorid, 290 mg (2.87 mmol) Triethylamin und 35 mg (0.29 mmol) DMAP umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3500-3200 (br m), 2954 (s), 1944 (m), 1873 (w), 1806 (m), 1728 (s), 1644 (w), 1600 (m), 1459 (w).

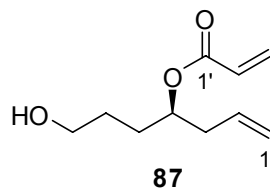
### **Immobilisiertes (*R*)-7-Hydroxyhept-1-en-4-yl acrylat (87)**

Analog zu AAV 7 wurden 425 mg des Harzes **86** in 4 ml THF mit 300  $\mu\text{l}$  Pyridin und 400  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin umgesetzt. Es wurde filtriert, das Harz wurde mit 3 x 2 ml THF gewaschen. Dann wurde mit 5 ml Ethylacetat verdünnt und mit 3 x 5 ml  $\text{NaHCO}_3$  ges. und 2 x 3 ml  $\text{NaCl}$  ges. gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden mit 3 x 5 ml Ethylacetat rückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, eingeengt und blitzchromatographisch gereinigt (Alox neutral Aktivitätsstufe IV, 6 g, 6 x 1 cm, PE/EE 4 : 1 (v/v)). Auf diese Weise konnten 9.2 mg (0.05 mmol, 23 %) **87** als farbloses Öl neben 5.1 mg (0.04 mmol, 21 %) **82** isoliert werden.

$R_f$  = 0.23 in PE/EE 4: 1 /v/v)

$[\alpha]_D^{20}$ : +11.06 ° (c 0.94,  $\text{CHCl}_3$ ),





**$^1\text{H}$  NMR, gCOSY, gHSQC (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 6.39 (dd, 1H,  $^2J$  = 1.5 Hz,  $^3J$  = 17.3 Hz, 3'-H<sub>a</sub>), 6.10 (dd, 1H,  $^3J$  = 17.3, 10.4 Hz, 2'-H), 5.81 (dd, 1H,  $^2J$  = 1.5 Hz,  $^3J$  = 10.4 Hz, 3'-H<sub>b</sub>), 5.81-5.71 (m, 1H, 2-H), 5.11-5.00 (m, 3H, 1-H, 4-H), 3.65 (t, 2H,  $^3J$  = 6.3 Hz, 7-H), 2.39-2.35 (m, 2H, 3-H), 1.73-1.56 (m, 4H, 5-H, 6-H).

**$^{13}\text{C}$  NMR, (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 165.9 (s, C-1'), 133.4 (d, C-2'), 130.6 (t, C-3'), 128.7 (d, C-2), 117.9 (t, C-1).

**GC-MS** (DB\_50\_S):  $t_R$  = 5.81 min,  $m/z$  (rel. Int.): 167(1)  $[\text{M-OH}]^+$ , 143(1)  $[\text{M-C}_3\text{H}_5]^+$ , 94(3), 71(80), 55(100), 41(16), 31(12).

**MS** (FAB): 185.1  $[\text{M+H}]^+$

**HR-MS** (FAB): ber. für  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}_3$  185.1178  $[\text{M+H}]^+$ , gef. 185.1175.

### **(R)-6-(9-Hydroxynonyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (89)**

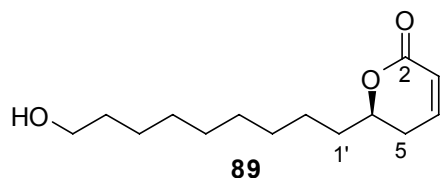
Analog zu AAV 8 wurden 1.12 g (0.5 mmol) des immobilisierten Acrylesters **83** in 12 ml DCM mit 148  $\mu\text{l}$  (142 mg, 0.5 mmol) Titan(IV)tetraisopropoxyolat versetzt, und es wurde mit insgesamt 194 mg (0.24 mmol) Grubbs I Katalysator (2 Portionen in je 4 ml DCM) zum Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein schwarzes Harz erhalten, welches gemäß AAV 7 mit 350  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin versetzt wurde.

Nach Filtration wurde das Rohprodukt eingeeengt und auf Celite aufgezogen. Es wurde blitzchromatographisch gereinigt (KG, 15 g, 13 x 2.5 cm, PE/EE 4 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH auf EE + 0.1 % MeOH), wobei 52.5 mg eines grünen, viskosen Öls erhalten wurden, welches mittels präparativer HPLC aufgetrennt wurde (C18-Säule, linearer Gradient  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$  90 : 10

+ 0.1 % TFA auf H<sub>2</sub>O/MeCN 0 : 100 + 0.1 % TFA in 10 min,  $t_R = 7.6$  min). Auf diese Weise wurden 8.2 mg (0.03 mmol, 7 %) eines grünlichen Öles erhalten.

$R_f = 0.31$  in PE/EE 1 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH

$[\alpha]_D^{20} : -110^\circ$  (c 0.50, CHCl<sub>3</sub>),



**<sup>1</sup>H NMR, (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 6.89-6.85$  (m, 1H, 4-H), 6.01 (ddd, 1H, <sup>3</sup> $J = 9.6, 2.1, 1.5$  Hz, 3-H), 4.45-4.38 (m, 1H, 6-H), 3.64 (t, 2H, <sup>3</sup> $J = 6.6$  Hz, 9'-H), 2.34-2.30 (m, 2H, 5-H), 1.84-1.75 (m, 1H, 1'-H<sub>a</sub>), 1.68-1.49 (m, 5H), 1.43-1.30 (m, 10H).

**<sup>13</sup>C NMR, DEPT (100.70 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 164.5$  (s, C-2), 144.9 (d, C-4), 121.4 (d, C-3), 77.9 (d, C-6), 63.0 (t, C-9'), 34.8 (t, C-5), 32.7 (t, C-1'), 29.4 (2 x t), 29.3 (2 x t), 29.2 (t), 25.6 (t), 24.7 (t).

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 10.43$  min,  $m/z = 241.10$  [M+H]<sup>+</sup>.

**MS** (FAB)  $m/z$  241.2 [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS** (FAB) ber. für C<sub>16</sub>H<sub>29</sub>O<sub>3</sub> 241.1804 [M+H]<sup>+</sup>, gef. 241.1789.

### **(R)-6-(3-Hydroxypropyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (93)**

Gemäß AAV 6 wurden 589 mg (0.5 mmol/g, 0.29 mmol) des immobilisierten Esters **85** in 5 ml DCM mit dem Hoveyda-Grubbs II Katalysator **95** in zwei Portionen von 36.3 mg (0.06 mmol) in 2 ml DCM und 36.8 mg (0.06 mmol) in 2 ml DCM umgesetzt. Nach Entfernung aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein braunes Harz erhalten.

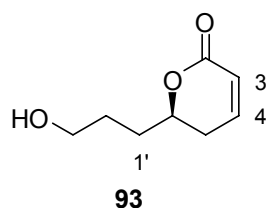
Das Harz wurde nach AAV 7 in 5 ml THF gequollen und mit 300  $\mu$ l Pyridin und 300  $\mu$ l HF/Pyridin umgesetzt. Es wurde mit 300  $\mu$ l TMSOMe gequenchet. Nach Filtration durch Florisil wurde blitzchromatographisch gereinigt (KG,

5.6 g, DCM/MeOH 98 : 2 auf 95 : 5). Dabei wurden 12.5 mg eines grünen Öls erhalten, das mittels präparativer HPLC aufgereinigt wurde (C18-Säule, lin. Gradient 10 % MeCN in H<sub>2</sub>O + 0.1 vol% TFA auf 100 % MeCN + 0.1 vol% TFA in 10 min,  $t_R = 3.6$  min). Auf diese Weise wurden 11.7 mg (12 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.18$  in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5

Reinheit >95 % (<sup>1</sup>H NMR)

$[\alpha]_D^{20}$ : -102 ° (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>); Enantiomerenüberschuss 89% (bestimmt mittels GC).



**<sup>1</sup>H NMR (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 6.91$ -6.86 (m, 1H, 4-H), 6.03 (ddd, 1H,  $^3J = 9.7$  Hz,  $^4J = 2.1$  Hz, 1.5 Hz, 3-H), 4.51-4.44 (m, 1H, 6-H), 3.72-3.69 (m, 2H, 3'-H), 2.38-2.34 (m, 2H, 5-H), 1.91-1.66 (m, 4H, 2'-H, 3'-H).

**<sup>13</sup>C NMR, DEPT (100.71 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 164.4$  (s, C-2), 145.0 (d, C-4), 121.4 (d, C-3), 77.8 (d, C-6), 62.8 (t, C-3'), 31.2, 29.5, 28.0 (3 x t, C-5, C-1', C-3').

**GC** (Lipodex E, 100 °C (1 min), dann 30 °C/min auf 179 °C (1 min), dann 1 °C/min auf 182 °C, dann 0.3 °C auf 185 °C, dann 10 °C/min auf 200 °C (3 min).):

$t_R$  (**R-93**): 12.63 min.

$t_R$  (**S-93**): 12.37 min.

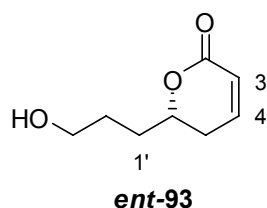
**MS** (FAB)  $m/z$  157.1 [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS** (FAB) ber. für C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub> 157.0865 [M+H]<sup>+</sup>, gef. 157.0880.

**(S)-6-(3-Hydroxypropyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (ent-93)**

Gemäß AAV 6 wurden 1.06 g (0.5 mmol) des immobilisierten Esters **ent-85** in 10 ml DCM mit 113 mg (0.4 mmol)  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$  versetzt. Es wurden 2 Portionen des Grubbs I-Katalysators **84** zugegeben: 84.0 mg (0.102 mmol) in 2 ml DCM und 84.3 mg (0.102 mmol) in 2 ml DCM.

Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein braunes Harz erhalten, welches in 7 ml THF gequollen wurde und gemäß AAV 7 mit 400  $\mu\text{l}$  Pyridin und 400  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin umgesetzt wurde. Es wurde mit 3 ml TMSOMe gequenchet. Das Rohprodukt, ein braunes Öl (200 mg), wurde blitzchromatographisch aufgereinigt (KG, 11.2 g, 8 x 2 cm, DCM/MeOH 98 : 2 auf 95 : 5). Nach weiterer Aufreinigung mit präparativer HPLC (C18-Säule, linearer Gradient 10 % MeCN in  $\text{H}_2\text{O}$  + 0.1 vol% TFA auf 100 % MeCN + 0.1 vol% TFA in 10 min,  $t_R = 3.6$  min) wurden 3.8 mg (0.024 mmol, 5 %) eines farblosen Öls erhalten, dessen NMR-spektroskopische Daten mit denen von **93** identisch waren.



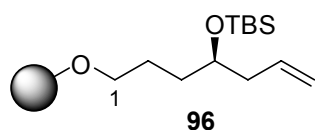
$[\alpha]_D^{20}$ : +47° (c 0.2,  $\text{CHCl}_3$ ); Enantiomerenüberschuss 38% (bestimmt mittels GC).

MS (FAB)  $m/z$  157.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$

HR-MS (FAB) ber. für  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_3$  157.0865  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 157.0893.

**Immobilisiertes (R)-4-(tert.-Butyldimethylsilyl)-6-hepten-1,4-diol (96)**

Nach AAV 4 wurden 1.61 g (0.8 mmol) des Homoallylalkohols **85** in 10 ml DMF mit 855 mg (5.7 mmol) *tert.*-Butyldimethylsilylchlorid; 393 mg (5.8 mmol) Imidazol und 12 mg (0.1 mmol) DMAP umgesetzt. Nachdem am Hochvakuum alle Lösungsmittelreste entfernt worden waren, lag ein leicht gelbliches Harz vor.



**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3453 (w), 2962 (s), 1941 (w), 1804 (w), 1721 (m), 1600 (m), 1467 (w).

#### **Immobilisiertes (*R*)-3-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-6-hydroxy-hexanal (**97**)**

Nach AAV 2 wurden 1.15 g (ca. 0.58 mmol) des Harzes **96** ozonolysiert und mit 808.7 mg (3.10 mmol) Triphenylphosphin reduziert. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein hellgelbes Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3437 (m), 3050-2800 (s), 2722 (m), 1941 (w), 1871 (w), 1804 (m), 1730 (s), 1599 (m), 1466 (w).

#### **Immobilisiertes (*4R,6S*)-4-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)-1,6-dihydroxy-8-nonen (**98**)**

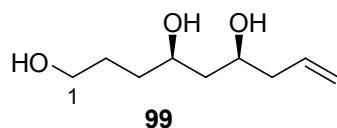
Nach AAV 3 wurden 1.250 g (0.275 mmol) des immobilisierten Aldehyds **97** in 12 ml THF mit 1.6 ml (1.6 mmol) einer 1M Lösung von *d*-Ipc<sub>2</sub>BAI in Diethylether umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein hellgelbes Harz erhalten.

#### **(*4R,6S*)-8-Nonen-1,4,6-triol (**99**)**

Gemäß AAV 7 wurden 319 mg (0.095 mmol) Harz in 3 ml THF mit 150  $\mu\text{l}$  Pyridin und 150  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin umgesetzt. Nach Filtration wurde eingeeengt, und es wurden 66.7 mg eines Rohproduktes erhalten, das blitzchromatographisch aufgereinigt wurde (KG, 4.7 g, 13.5 x 1.5 cm, DCM/MeOH 95 : 5 (v/v) auf DCM/MeOH 85 : 15). Es konnten 15.1 mg (0.086 mmol, 91 %) eines farblosen Öls isoliert werden.

$R_f = 0.17$  in PE/EE 1 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH

Diastereomerenverhältnis *syn:anti* 85 : 15 (bestimmt durch GC-MS des persilylierten Rohprodukts)



**$^1\text{H NMR}$ , (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.85-5.75 (m, 1H, 8-H), 5.14-5.09 (m, 2H, 9-H), 3.94-3.87 (m, 1H, 6-H), 3.71-3.61 (m, 3H, 4-H, 1-H), 2.27-2.20 (m, 2H, 7-H), 1.79-1.49 (m, 6H).

**$^{13}\text{C NMR}$ , DEPT (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 134.2 (s, C-8), 118.2 (d, C-9), 72.5 (d, C-6 oder C-4), 71.9 (d, C-6 oder C-4), 62.8 (t, C-1), 42.5 (t, C-5 oder C-7), 42.3 (t, C-5 oder C-7), 35.8 (t, C-3), 28.9 (t, C-2).

**GC-MS** (DB\_100\_S)  $t_R$  = 4.03 min,  $m/z$  (rel. Int.) 175(1), 133(1), 115(27), 97(18), 89(21), 71(100).

**GC-MS** des TMS-Derivates (DB\_100\_S):  $t_R$  (*syn-99*) = 4.36 min.  
 $t_R$  (*anti-99*) = 4.41 min.

**MS** (FAB)  $m/z$  175.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_3$  175.1334  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 175.1330

**Immobilisiertes (4S,6R)-6-(tert.-Butyldimethylsilyloxy)-9-hydroxy-1-nonen-4-yl acrylat (100)**

Gemäß AAV 5 wurden 709 mg (0.28 mmol) des Harzes **98** in 6 ml DCM mit 333 mg (3.68 mmol) Acryloylchlorid, 218 mg (2.15 mmol) Triethylamin und 9.5 mg (0.08 mmol) DMAP umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum lag ein hellgelbes Harz vor.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3500 (br m), 3100-2850 (br s), 1944 (w), 1875 (w), 1743 (s), 1601 (m), 1462 (m).

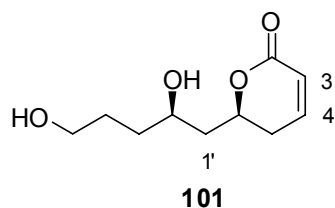
**(S)-5,6-Dihydro-6-((R)-2,5-dihydroxypentyl)pyran-2-on (101)**

Gemäß AAV 6 wurden 580 mg (0.174 mmol) des immobilisierten Acrylesters **98** in 6 ml DCM gequollen und mit zwei Portionen des Katalysators **95** versetzt: 23.3 mg (0.037 mmol) in 1.5 ml DCM und 24.0 mg (0.038 mmol) in 1.5 ml DCM. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände wurde ein braunes Harz erhalten, das im Hochvakuum getrocknet wurde.

Zur Abspaltung wurde nach AAV 7 in 4 ml THF aufgenommen und mit 300  $\mu$ l Pyridin und 300  $\mu$ l HF/Pyridin umgesetzt. Nach 18 h bei 40 °C wurde mit 1.5 ml TMSOMe gequenchet. Die Lösung des Rohproduktes wurde eingeeengt, so dass ein grün-braunes Öl (60 mg) erhalten wurde. Das Rohprodukt wurde in MeCN aufgenommen und mittels präparativer HPLC gereinigt (C18-Säule, 1 min 10 % MeCN in H<sub>2</sub>O + 0.1 % TFA, dann linearer Gradient auf 100 % MeCN + 0.1 % TFA in 11 min, 3 min halten). Auf diese Weise wurden 18.6 mg (0.033 mmol, 19 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.2$  in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Aceton 1:1

$[\alpha]_D^{20}$ : -10.8° (c 0.65, CHCl<sub>3</sub>) Diastereomerenverhältnis 81:19 (bestimmt durch <sup>1</sup>H NMR)



<sup>1</sup>H NMR (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 6.93 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.7, 4.7, 3.7 Hz, 4-H), 6.02 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5, 3.4 Hz, 3-H), 4.80-4.72, 4.71-4.64 (2 x m, 1H), 4.08-4.02, 3.96-3.90 (2 x m, 1H), 3.76-3.62 (m, 2H), 2.44-2.40, 2.39-2.35 (2 x m, 2H), 2.07-1.50 (m, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (100.71 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 164.1 (s, C-2), 145.3 (d, C-4), 121.2 (d, C-3), 76.9 (d, C-6), 68.8 (d, C-2'), 62.8 (d, C-5'), 42.0, 34.8, 29.5, 28.8 (4 x t, C-5, C-1', C-3', C-4').

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 4.10$  min, 4.39 min,  $m/z$  201.0  $[M+H]^+$ .

**MS** (FAB)  $m/z$  201.1  $[M+H]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $C_8H_{13}O_3$  201.1127  $[M+H]^+$ , gef. 201.1173.

#### **Immobilisiertes (*R*)-1-Hydroxy-6-hepten-4-yl acetat (102)**

In einem Schlenk-Kolben wurden 1.07 g (0.5 mmol) **85** in 10 ml DCM gequollen und bei 0 °C mit 31 mg (0.25 mmol) DMAP, 202.4 mg (2 mmol) Triethylamin und 550 mg (5.3 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt. Es wurde über 16 h geschüttelt, wobei die Reaktionsmischung Raumtemperatur annahm. Das Harz wurde abfiltriert und gewaschen: 3 x 10 ml DCM, 2 x 10 ml DMF, 2 x 10 ml DMF/H<sub>2</sub>O 1 : 1, 2 x 10 ml DMF, 3 x 10 ml DCM, 2 x 10 ml MeOH. Nach Trocknen im Hochvakuum wurde ein gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3458 (w), 3050-2800 (s), 1943 (w), 1872 (w), 1804 (w), 1746 (s), 1601 (m), 1494 (w).

#### **Immobilisiertes (*R*)-6-Hydroxy-hexanal-3-yl acetat (103)**

Nach AAV 2 wurden 980 mg (0.45 mmol) des Harzes **102** in 20 ml DCM mit Ozon umgesetzt und mit 607 mg (2.32 mmol) Triphenylphosphin reduziert. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein farbloses Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3444 (w), 3050-2800 (s), 2729 (m), 1943 (w), 1872 (w), 1804 (w), 1750 (s), 1600 (m), 1495 (w).

#### **Immobilisiertes (*4R,6S*)-1, 6-Dihydroxy-8-nonen-4-yl acetat (104)**

Gemäß AAV 3 wurden 892 mg (0.44 mmol) des Harzes **103** in 9 ml THF mit 2 ml einer 1M Lösung von *d*-Ipc<sub>2</sub>BAll umgesetzt. Nach oxidativer Aufarbeitung und Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum lag ein leicht gelbliches Harz vor.



**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3475 (w), 3050-2800 (s), 1942 (w), 1871 (w), 1804 (w), 1740 (s), 1642 (w), 1599 (m), 1464 (w).

#### Testabspaltung

Gemäß AAV 7 wurden 53 mg des Harzes **104** in 1 ml THF mit 100  $\mu$ l Pyridin und 100  $\mu$ l HF/Pyridin umgesetzt und mit 200  $\mu$ l TMSOMe gequenchet. Nach Filtration des Rohproduktes wurde eingeeengt.

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R$  = 7.00 min,  $m/z$  = 216.83 [M+H]<sup>+</sup>.

#### **Immobilisiertes (4S,6R)-6-Acetoxy-9-hydroxy-1-nonen-4-yl acrylat (105)**

Gemäß AAV 5 wurden 757 mg (0.35 mmol) des immobilisierten Homoallylalkohols **104** in 7 ml DCM mit 342 mg (3.78 mmol) Acryloylchlorid, 218 mg (2.15 mmol) Triethylamin und 15 mg (0.12 mmol) DMAP umgesetzt. Das gelbliche Harz, das auf diese Weise erhalten wurde, ließ sich auch durch längeres Trocknen am Hochvakuum und azeotrope Destillation mit Toloul nicht von allen Lösungsmittelrückständen trennen, so dass es stets in feucht-klumpiger Form vorlag.

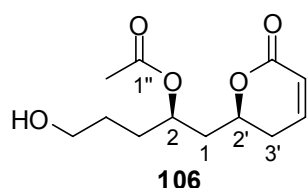
**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3475 (br s), 3050-2800 (s), 1942 (w), 1868 (w), 1749 (br s), 1642 (w), 1599 (w), 1492 (w).

#### **(R)-5-Hydroxy-1-((S)-6-oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-yl)pentan-2-yl acetat (106)**

Nach AAV 6 wurde das Harz **105** (0.2 mmol) in 7 ml DCM mit 27.4 mg und 24.5 mg (0.08 mmol) des Hoveyda-Katalysators **95** in 1 ml und 3 ml DCM umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum lagen 739 mg eines grünlich-braunen Harzes vor. Zur Abspaltung in 7 ml THF wurden 300  $\mu$ l HF/Pyridin und 300  $\mu$ l Pyridin zugegeben. Nach 8.5 h bei 40 °C wurde mit 1 ml TMSOMe gequenchet, durch Kieselgel filtriert und eingeeengt.

Es wurden 91 mg eines viskosen braunen Öls erhalten, welches mittels präparativer HPLC aufgereinigt wurde (C18-Säule, 25 ml/min, 1 min 10 % MeCN + 0.1 % TFA in H<sub>2</sub>O + 0.1 % TFA, linearer Gradient in 11 min auf 100 % MeCN + 0.1 % TFA,  $t_R$  = 5.20-5.68). Auf diese Weise wurden 3.6 mg (0.015 mmol, ca. 7 %) eines grünlichen Öls erhalten werden, in welchem das Produkt mit ca. 80 % Reinheit (bestimmt durch <sup>1</sup>H NMR) vorlag.

$R_f$  = 0.48 in DCM/Aceton 1 : 1 (v/v).



**<sup>1</sup>H NMR, gCOSY, gHSQC, gHMBC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 6.87 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.8, 6.1, 2.4 Hz, 4'-H), 6.02 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.8, 2.6, 0.9 Hz, 5'-H), 5.13-5.07 (m, 1H, 2'-H), 4.54-4.47 (m, 1H, 2-H), 3.66 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 5-H), 2.51-2.41 (m, 1H, 1-H<sub>a</sub>), 2.35-2.26 (m, 1H, 1-H<sub>b</sub>), 2.22-2.14 (m, 1H, 3'-H<sub>a</sub>), 2.07 (s, 3H, 2''-H), 1.92-1.85 (m, 1H, 3'-H<sub>b</sub>), 1.76-1.69 (m, 2H, 4-H), 1.63-1.55 (m, 1H, 3-H).

**<sup>13</sup>C NMR (100.70 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 170.8 (s, C1''), 144.8 (d, C-4'), 121.4 (d, C-5'), 75.1 (d, C-5'), 70.3 (d, C-2), 62.3 (t, C-5), 39.4 (t, C-3'), 30.8 (t, C-4), 29.3 (t, C-1), 28.2 (t, C-3), 21.2 (q, C-2'').

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R$  = 7.17 min,  $m/z$  243.0 [M+H]<sup>+</sup>.

**MS** (FAB)  $m/z$  243.1 [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS** (FAB) ber. für C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>O<sub>5</sub> 243.1232 [M+H]<sup>+</sup>, gef. 243.1203.

**Immobilisierten (4R,6S)-4,6-Bis(tert-butyldimethylsilyloxy)non-8-en-1-ol (106)**

Nach AAV 4 wurden 1.36 g (0.68 mmol) des immobilisierten Homoallylalkohols **98** in 6 ml DMF mit 587 mg (3.91 mmol) TBS-Chlorid, 272 mg (3.99 mmol) Imidazol und 75 mg (0.61 mmol) DAMP umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3488 (br w), 3050-2800 (s), 1939 (w), 1802 (m), 1720 (m), 1641 (w), 1601 (m), 1495 (w).

**Immobilisiertes (3R,5R)-3,5-Bis(tert-butyldimethylsilyloxy)-8-hydroxy-octanal (107)**

Nach AAV 2 wurden 1.39 g (0.5 mmol) des Bis-TBS-Ethers **106** in 15 ml DCM bei  $-78$  °C mit Ozon umgesetzt und anschließend mit 937 mg (3.57 mmol) Triphenylphosphin reduziert. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein hellgelbes Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3483 (br s), 3050-2800 (s), 2741 (m), 1941 (w), 1871 (w), 1803 (m), 1730 (s), 1642 (w), 1600 (m), 1454 (w).

**Immobilisiertes (4R,6S,8R)-6,8-Bis-(tert-butyldimethylsilyloxy)-11-hydroxyundec-1-en-4-yl acrylat (109)**

Gemäß AAV 3 wurden 1.25 mg (0.63 mmol) in 12 ml THF mit 4 ml einer 1M Lösung von Hpc<sub>2</sub>BAII in THF umgesetzt. Nach oxidativer Aufarbeitung und Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein leicht gelbes Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3485 (br m), 3050-2800 (s), 1941 (w), 1871 (w), 1804 (m), 1678 (s), 1600 (m), 1493 (w).

Nach AAV 5 wurden 1.045 g (0.5 mmol) des immobilisierten Homoallylalkohols in 8 ml DCM mit 319 mg (3.5 mmol) Acryloylchlorid, 290 mg (2.9 mmol) NEt<sub>3</sub> und 88 mg (0.72 mmol) DMAP umgesetzt. Nach entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein gelb-orangenes Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3600-3050 (br s), 3050-2800 (s), 1941 (w), 1731 (br s), 1600 (m), 1492 (w).

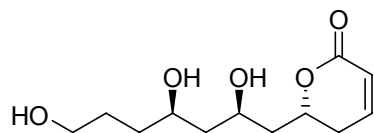
### **(R)-6-((2R,4R)-2,4,7-Trihydroxyheptyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (111)**

Gemäß AAV 6 wurden 822 mg (0.25 mmol) des immobilisierten Acrylsäureesters **109** in 7 ml DCM mit zwei Portionen des Hoveyda-Grubbs II-Katalysators **95** umgesetzt: 30.6 mg (0.05 mmol) in 1 ml DCM und 21.3 mg (0.03 mmol) in 2 ml DCM. Nach Aufarbeitung wurde ein braunes Harz erhalten.

Zur Abspaltung wurden 750 mg des Harzes nach AAV 7 in 7 ml THF mit 400  $\mu$ l Pyridin und 600  $\mu$ l HF/Pyridin umgesetzt. Es wurde mit 2.5 ml TMSOMe gequench, durch Kieselgel filtriert und eingengt. Das Rohprodukt (160 mg) wurde in MeCN/H<sub>2</sub>O 1 : 1 aufgenommen und mittels präparativer HPLC gereinigt. (C18-Säule, Gradient wie für **101**). Auf diese Weise wurden 16.3 mg (0.066 mmol, 26 %) eines transparenten farblosen Öls erhalten, in welchem die Verbindung **111** zu ca. 70 % neben nicht charakterisierten Diastereomeren vorlag.

$R_f = 0.10$  in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Aceton 1:1

$[\alpha]_D^{20} : + 62.5^\circ$  (c 0.16, CHCl<sub>3</sub>)



111

**$^1\text{H NMR}$ , HSQC, HMBC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 6.90 (ddd, 1H,  $^3J$  = 9.6, 5.6, 2.8 Hz, 4-H), 6.02 (br d, 1H,  $^3J$  = 9.9 Hz, 3-H), 4.77-4.72 (m, 1H, 6-H), 4.27-4.21 (m, 1H, 4'-H), 3.96-3.90 (m, 1H, 2'-H), 3.74-3.62 (m, 2H, 7'-H) 2.44-2.32 (m, 2H, 5-H), 2.05-1.51 (m, 8H, 6'-H, 5'-H, 3'-H, 1'-H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (100.71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 168.5 (s, C-2), 145.5 (d, C-4), 121.3 (d, C-3), 74.8 (d, C-6), 72.6 (d, C-4'), 68.0 (d, C-2'), 62.9 (d, C-7'), 43.3 (t, C-3'), 43.0 (t, C-1'), 35.7 (t, C-6'), 29.9 (t, C-5), 28.7 (t, C-5').

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R$  = 2.0 min,  $m/z$  245.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**MS** (FAB)  $m/z$  245.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_5$  245.1389  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef.245.1414.

### Immobilisiertes (4*R*,6*R*,8*S*)-6,8-Bis(tert-butyltrimethylsilyloxy)-11-hydroxyundec-1-en-4-yl acrylat (108)

Nach AAV 3 wurden 704 mg (0.21 mmol) des immobilisierten Bis-TBS-Ethers **ent-107** in 7 ml THF mit 1.5 ml einer 1M Lösung von *l*-Ipc<sub>2</sub>BAl umgesetzt. Nach Entfernung aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3600-3050 (br s), 3050-2800 (s), 1940 (m), 1914 (w), 1869 (w), 1803 (m), 1713 (s), 1600 (m), 1468 (w).

Nach AAV 5 wurden 652 mg (0.2 mmol) des immobilisierten Homoallylalkohols in 10 ml DCM mit 114 mg (1.3 mmol) Acryloylchlorid, 109 mg (1.1 mmol)  $\text{NEt}_3$  und 15.5 mg (0.12 mmol) DMAP umgesetzt. Nach

Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein gelbliches Harz erhalten.

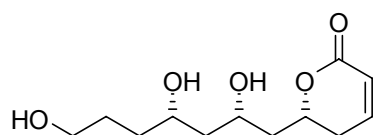
**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3600-3050 (br m), 3050-2800 (s), 1940 (m), 1868 (w), 1732 (br s), 1600 (m), 1471 (w).

**(R)-6-((2S,4S)-2,4,7-Trihydroxyheptyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (110)**

Nach AAV 6 wurden 661 mg (0.198 mmol) des immobilisierten Acrylsäureesters **108** in 7 ml DCM gequollen und mit dem Hoveyda-Grubbs II Katalysator **95** umgesetzt, der als Lösung von 27.0 mg (0.04 mmol) in 1 ml DCM und 20.9 mg (0.03 mmol) in DCM vorlag. Es wurde ein braunes Harz (601 mg) erhalten, das nach AAV 7 in 6 ml THF mit 300  $\mu\text{l}$  Pyridin und 300  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin umgesetzt wurde. Nach Quenchen mit 2 ml TMSOMe und Filtration durch Kieselgel wurde ein grünliches Öl (60 mg) erhalten, welches mittels präparativer HPLC aufgereinigt wurde (C-18 Säule, Gradient wie für **101**,  $t_R = 6.00$  min). Es wurden 1.3 mg (0.005 mmol, 3 %) eines farblosen Öls erhalten, in welchem **110** zu 90 % neben anderen Diastereomeren vorlag.

$R_f = 0.16$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Aceton}$  1:1

$[\alpha]_D^{20}$ : + 62.5 ° (c 0.16,  $\text{CHCl}_3$ )



**110**

**$^1\text{H}$  NMR, HSQC, HMBC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 6.92\text{-}6.88$  (m, 1H, 4-H), 6.03 (ddd, 1H,  $^3J = 9.8$  Hz,  $^4J = 1.8, 1.7$  Hz, 3-H), 4.72-4.66 (m, 1H, 6-H), 4.19-4.14 (m, 1H, 2'-H), 3.97-3.92 (m, 1H, 4'-H), 3.76-3.64 (m, 2H, 7'-H) 2.45-2.41 (m, 2H, 5-H), 2.07-2.01 (m, 1H, 1 x 5'-H), 1.81-1.53 (m, 7H, 1'-H, 3'-H, 1 x 5'-H, 6'-H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (100.71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 163.8$  (s, C-2), 145.5 (d, C-4), 121.2 (d, C-3), 76.2 (d, C-6), 72.7 (d, C-4'), 69.9 (d, C-2'), 62.8 (d, C-7'), 42.8 (t, C-1' oder C-3'), 42.1 (t, C-5'), 35.4 (t, C-1' oder C-3'), 29.4 (t, C-5), 28.7 (t, C-6').

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 3.01$  min,  $m/z$  245.03  $[M+H]^+$ .

**MS** (FAB)  $m/z$  245.2  $[M+H]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $C_{12}H_{21}O_5$  245.1389  $[M+H]^+$ , gef. 245.1401.

### **Immobilisierter Ethyl-(3R)-Hydroxypropionsäureester (127)**

In einem Schlenk-Kolben wurden 6.13 g Wang-Harz (1.2 mmol/g, 7.36 mmol) in 80 ml DCM gequollen und auf 0 °C abgekühlt. Es wurden 6 ml Trichloracetonitril zugegeben, anschließend wurden 572 mg (3.76 mmol) DBU langsam zugetropft. Es wurde 45 min bei 0 °C geschüttelt, dann wurde filtriert und gewaschen: DCM, THF/DMSO 2 : 1, 2 x 100 ml THF, 2 x 50 ml DCM. Es wurde im Hochvakuum getrocknet. Das Harz wurde in je 60 ml Cyclohexan und DCM gequollen. Dann wurde mit 3.17 g (26.8 mmol) Ethyl-(3R)-hydroxypropionat versetzt und 0.36 ml  $BF_3$ -Etherat zugegeben. Nach 20 min Schütteln bei Raumtemperatur wurde filtriert und gewaschen: DCM, THF,  $Et_2O$ , DCM, MeOH. Es wurde am Hochvakuum getrocknet.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3050-2800 (s), 1945 (s), 1876 (s), 1803 (m), 1747 (s), 1607 (m), 1501 (w).

### **Immobilisiertes (R)-3-Hydroxybutyral (117)**

In einem Schlenk-Kolben wurden 3.02 g des immobilisierten Esters **127** in 32 ml THF gequollen und auf -78 °C abgekühlt. Dann wurden 15 ml einer 1 M Lösung von DIBAL-H in Toluol zugegeben. Es wurde 16 h lang geschüttelt, wobei die Reaktionslösung langsam Raumtemperatur annahm. Es wurde filtriert und gewaschen: THF, THF/MeOH 1 : 1, THF/MeOH 1 : 1 + 5 % HOAc, THF/MeOH 1 : 1, THF, DCM, MeOH. Es wurde im Hochvakuum getrocknet. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände wurde ein hellgelbes Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3457 (br s), 3059-2814 (s), 1948 (s), 1877 (s), 1807 (m), 1746 (w), 1600 (m).

In einem Schlenk-Kolben wurden 5.3 g (ca. 5 mmol) in 60 ml THF gequollen. Parallel dazu wurden 4.90 g (17.5 mmol) IBX bei 40 °C in 70 ml DMSO gelöst. Die IBX-Lösung wurde zum Harz gegeben, und es wurde bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach 28 h wurde filtriert und gewaschen: 100 ml DMSO/THF 1 : 1, 100 ml THF/DMSO 3 : 1, 200 ml THF, 170 ml DCM, 80 ml MeOH. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

Dieser Vorgang wurde zweimal durchgeführt.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3443 (br s), 3050-2800 (s), 2726 (m), 1946 (m), 1875 (m), 1804 (w), 1726 (s), 1606 (m), 1500 (w).

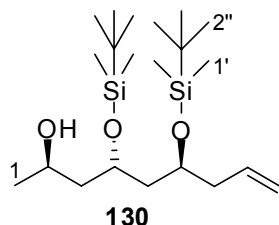
**(2R,4S,6S)-4,6-Bis(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-8-nonen-2-ol (130)**

Gemäß AAV 8 wurden 201 mg (0.08 mmol) des Harzes **129** in 10 ml DCM und 0.5 ml Phosphat-Puffer pH 7 mit 159 mg DDQ umgesetzt. Es wurden 12.7 mg eines farblosen Öls erhalten, welches säulenchromatographisch aufgereinigt wurde (KG, 0.8 g, PE/EE 97 : 3 (v/v)). Es wurden 10.1 mg (0.025 mmol, 31 %) eines farblosen Öls isoliert.

$R_f = 0.33$  in PE/EE ) 9 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH.

$[\alpha]_D^{20}$  : -3.9 ° (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ )

Diastereomerenverhältnis: 73 : 27 ( $^1\text{H}$  NMR)



$^1\text{H}$  NMR, gHSQC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 5.85-5.74 (m, 1H, 8-H), 5.08-5.04 (m, 2H, 9-H), 4.19-4.13 (m, 1H), 4.03-4.02 (m, 1H), 3.76-3.71 (m, 1H), 2.28-



2.16 (m, 2H, 7-H), 1.81-1.65 (m, 3H), 1.56-1.52 (m, 1H), 1.64 (d, 3H,  $^3J = 6.2$  Hz, 1-H), 0.89, 0.88 (2 x s, 18H, 2''-H), 0.12, 0.08, 0.06, 0.04 (4 x s, 12H, 1'-H).

$^{13}\text{C}$  NMR (125.77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 134.5$  (d, C-8), 117.3 (t, C-9), 69.8 (d, C-4 oder C-6), 69.7 (d, C-4 oder C-7), 64.6 (d, C-2), 43.8 (t, C-3 oder C-5), 43.4 (t, C-3 oder C-5), 42.0 (t, C-7), 25.8 (q, C-2''), 23.7 (q, C-1) 18.1, 17.9 (2 x s, C-1''), -4.1, -4.3, -4.4, -4.6 (4 x q, C-1').

MS (FAB)  $m/z$  403.4  $[\text{M}+\text{H}]^+$

HR-MS (FAB) ber. für  $\text{C}_{21}\text{H}_{47}\text{O}_3\text{Si}_2$  403.4036  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 403.3054.

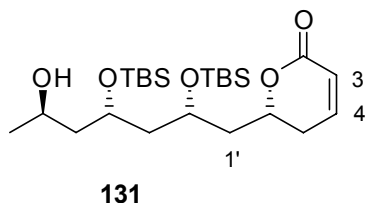
**(R)-6-((2R,4S,6R)-2,4-Bis(tert-butylidimethylsilyloxy)-6-hydroxyheptyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on (131)**

Gemäß AAV 6 wurden 450 mg (0.18 mmol) des aus **128** gewonnenen Acrylsäureesters in 7 ml DCM mit 2 x 22.5 mg (0.036 mmol) des Katalysators **95** in jeweils 1 ml DCM zur Reaktion gebracht. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein braunes Harz erhalten. Zur Abspaltung wurde das Harz (351 mg) nach AAV 8 in 15 ml DCM und 0.5 ml pH 7-Puffer mit 221 mg (0.97 mmol) umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (KG, 0.8 g, PE/EE 4 : 1 + 0.1 % MeOH auf PE/EE 2 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH). Auf diese Weise wurden 1.6 mg (0.0034 mmol, 2 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.08$  in Petrolether / Ethylacetat 4 : 1 + 0.1 % MeOH

$[\alpha]_D^{20} : + 10.5^\circ$  (c 0.19,  $\text{CHCl}_3$ )



$^1\text{H}$  NMR, gHSQC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6.87$  (ddd, 1H,  $^3J = 9.5, 4.9, 3.6$  Hz, 4-H), 6.02 (ddd, 1H,  $^3J = 9.9$  Hz,  $^4J = 1.9, 1.9$  Hz, 3-H) 4.64-4.55 (m, 1H,

6-H), 4.17-4.07 (m, 2H, 2'-H, 4'H), 4.01-3.93 (m, 1H, 6'-H), 2.37-2.32 (m, 2H, 5-H), 2.06 (ddd, 1H,  $^2J = 14.4$ ,  $^3J = 8.3$ , 4.2 Hz), 1.90 (ddd, 1H,  $^2J = 13.6$ ,  $^3J = 7.0$ , 5.3 Hz), 1.81-1.57 (m, 4H), 1.18 (d, 3H, 7'-H), 0.90 (s, 9H, SiCCH<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9H, SiCCH<sub>3</sub>), 0.12 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.65 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (125.77 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 144.4$  (d, C-4), 121.2 (d, C-3), 74.4 (d, C-6), 68.8, 66.0, 64.5 (3 x d, C-2'', C-4'', C-6''), 42.9, 42.8, 42.1 (3 x t, C-1', C-3', C-5'), 30.1 (t, C-5), 25.9 (q, SiCCH<sub>3</sub>), 24.1 (q, C-7'), -4.4 (q, SiCH<sub>3</sub>).

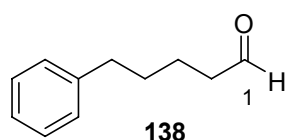
**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 11.55$  min,  $m/z$  473.1 [M+H]<sup>+</sup>.

**MS** (FAB)  $m/z$  473.5 [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS** (FAB) ber. für C<sub>24</sub>H<sub>49</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub> 473.3119 [M+H]<sup>+</sup>, gef.473.3141.

### 5-Pentanal (138)

In einem 1l-Dreihalskolben wurden unter Argon 29.9 g (138.7 mmol) Pyridiniumchlorochromat, 17 g Kieselgel und 21 g zerriebenes Molsieb 4Å miteinander vermengt. Es wurde mit 200 ml DCM versetzt und auf 0 °C abgekühlt. Eine Lösung von 15.6 g (95.0 mmol) 5-Phenylpentanol in 100 ml DCM wurde langsam mittels Tropftrichter zugegeben. Nach 5.5 h war der Umsatz vollständig es wurde mit 300 ml Diethylether versetzt, durch Celite filtriert und eingeeengt. Das schlammige Rohprodukt wurde auf Celite aufgezogen und blitzchromatographisch gereinigt (KG, 250 g, 22 x 6 cm, PE/EE 95 : 5 (v/v) auf PE/EE 9 : 1 (v/v)). Es wurden 11.01 g (67.9 mmol, 71 %) eines leicht gelblichen Öls erhalten.



**<sup>1</sup>H NMR (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 9.76$  (t, 1H,  $^3J = 1.7$  Hz, 1-H), 7.30-7.27 (m, 2H, C<sub>arom.</sub>-H), 7.21-7.17 (m, 3H, C<sub>arom.</sub>-H), 2.66-2.61 (m, 2H, 5-H), 2.47-2.43 (m, 2H, 2-H), 1.70-1.65 (m, 4H).

Die gemessenen Daten stimmen mit Literaturwerten überein.<sup>[141]</sup>

**GC-MS** (DB\_50\_S):  $t_R = 5.75$  min;  $m/z$ (rel. Int.) 162(43)  $[M]^+$ , 144(25), 129(40), 177(51), 105(39), 91(100), 77(21), 65(33).

### **(4R)-8-Phenyl-1-octen-4-ol ((R)-137)**

#### *Methode A*<sup>[142]</sup>

Für einen typischen analytischen Ansatz (0.4 mmol **138**) wurde die in Tabelle 4 angegebene Menge (S)-BINOL in 1 ml DCM gelöst und mit Titan-tetraisopropoxylat versetzt. Nach 1 h rühren bei Raumtemperatur war eine tiefrote Lösung entstanden, zu der der Aldehyd **138** gegeben wurde. Nach Abkühlen auf die beabsichtigte Temperatur wurde das Allyltributylstannan langsam zugegeben, und es wurde über die angegebene Zeit gerührt. Dabei wurde die Farbe der Lösung langsam heller und schlug nach gelb-orange um. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 3 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung beendet, und es wurde auf Raumtemperatur gebracht. Die Phasen wurden getrennt, und die wässrige Phase wurde mit 3 x 2 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt, ein zähes, gelb-rotes Öl, wurde auf Celite aufgezogen und blitzchromatographisch aufgereinigt (KG, 10 g, 21 x 1 cm, PE/EE 95 : 5 (v/v) + 0.1 % MeOH). Auf diese Weise wurde (**R**)-**137** als farbloses bis gelbliches Öl gewonnen werden.

#### *Methode B*<sup>[92]</sup>

Aktiviertes, gemahlene Molsieb 4Å (100-200 mg/ml Lösungsmittel) wurde in einem Schlenk-Kolben erneut im Hochvakuum ausgeheizt. Nach Abkühlen wurde in einer Argon-Atmosphäre (S)-BINOL vorgelegt und in Toluol suspendiert. Nach Zugabe von Titan-tetraisopropoxylat wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt und auf die beabsichtigte Temperatur abgekühlt. Dann wurden der Aldehyd **138** und das Allyltributylstannan zugegeben.

Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde zunächst vom Molsieb abfiltriert, bevor mit 3 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gequenchet wurde. Die weitere Aufarbeitung war analog zu Methode A.

### *Methode C*<sup>[93]</sup>

Zur Synthese des Katalysators **139** wurden 4.2 ml einer 0.12M Lösung von  $\text{TiCl}_4$  (entspricht 94.5 mg, 0.50 mmol) in DCM mit weiteren 6 ml DCM verdünnt und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden 427 mg (1.50 mmol)  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$  zugegeben, und es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 235 mg (1.01 mmol) Silber(I)oxid wurde 4.5 h unter Lichtausschluss gerührt. Anschließend wurde mit 20 ml DCM verdünnt, woraufhin 580 mg (2.03 mmol) (S)-BINOL zugegeben wurden. Es wurde erneut 2 h bei Raumtemperatur gerührt, dann auf -15 °C abgekühlt und mit 1.70 g (10.48 mmol) Aldehyd **138** und 3.99 g (12.02 mmol) Allyltributylstannan versetzt.

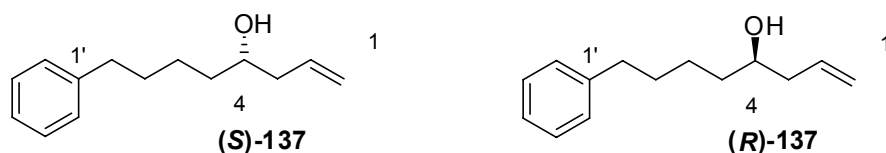
Nach 37 h bei -15 °C wurde mit 10 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gequenchet, und es wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden getrennt, und die wässrige Phase wurde mit 3 x 30 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zunächst von schlammigen Rückständen abfiltriert, dann über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wurde auf Celite aufgezogen und blitzchromatographisch gereinigt (KG, 210 g, 20 x 6 cm, PE/EE 9 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH). Auf diese Weise konnten 1.58 g (7.75 mmol, 74 %) eines gelben Öls gewonnen werden.

### Synthese von **rac-137**

Der Aldehyd **138** (82.0 mg, 0.51 mmol) wurde in 2 ml Diethylether bei 0 °C mit 0.7 ml (0.7 mmol) einer 1M Lösung von Allylmagnesiumbromid in Ether versetzt. Nach 6 h wurde mit 3 ml Ether verdünnt, mit  $\text{H}_2\text{O}$  gequenchet und der entstandene Niederschlag mit 2M HCl aufgelöst. Nach Phasentrennung Extraktion mit Ether wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und auf Celite aufgezogen. Nach blitzchromatographischer Trennung wie oben beschrieben wurden 92.1 mg (0.45 mmol, 90 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.34$  in Petrolether/Ethylacetat 4 : 1 + 0.1% MeOH.

$[\alpha]_D^{20} : + 6.6^\circ$  (c 1.02,  $\text{CHCl}_3$ ) (**R**)-**137** Enantiomerenverhältnis 98 :2 (bestimmt über HPLC).



**$^1\text{H NMR}$ , (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 7.30-7.25 (m, 2H,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 7.19-7.15 (m, 3H,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 5.87-5.77 (m, 1H, 2-H), 5.16-5.10 (m, 2H, 1-H), 3.68-3.62 (m, 1H, 4-H), 6.23 (t, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz, 8-H), 2.30 (dddt, 1H,  $^2J = 13.9$  Hz,  $^3J = 6.5$ , 4.2 Hz,  $^4J = 1.3$  Hz, 3- $\text{H}_a$ ), 2.13 (dddt, 1H,  $^2J = 13.9$  Hz,  $^3J = 7.9$ , 7.9 Hz,  $^4J = 1.02$  Hz, 3- $\text{H}_b$ ), 1.70-1.61 (m, 2H, 5-H oder 6-H oder 7-H), 1.53-1.35 (m, 4H, 5-H, 6-H, 7-H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 142.6 (s, C-1'), 134.8 (d, C-2), 128.4 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 128.3 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 125.6 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 118.1 (t, C-1), 70.5 (d, C-4), 42.0 (t, C-3), 36.6 (t, C-5 oder C-7), 35.9 (t, C-8), 31.5 (t, C-5 oder C-7), 25.3 (t, C-6).

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 9.74$  min,  $m/z$  186.87  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ .

**HPLC** (Chiracel® AD, Hexan/Isopropanol 97 : 3, 0.5 ml/min):

$t_R$  ((**R**)-137) = 18.5 min;

$t_R$  ((**S**)-137) = 19.6 min.

**MS** (FAB)  $m/z$  205.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$

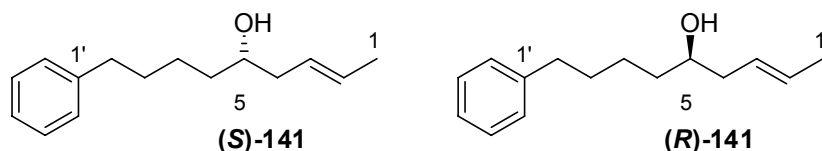
**HR-MS** (FAB) ber. für  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{O}$  205.1592  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 205.1603.

### 5-Hydroxy-9-phenyl-2-nonen ((**S**)-141 und (**R**)-141)

Zur Synthese von (**S**)-141 wurden 1.852 g (11.42 mmol) des Aldehyds **138** in 11 ml DCM gelöst, im Eisbad auf 0 °C abgekühlt und nach Zugabe von 2.757 g (13.11 mmol) des Neomenthol-Reagenzes **140**<sup>[95]</sup> und 217 mg (1.14 mmol) PPTS bei Raumtemperatur gerührt. Nach 20 h zeigte eine DC-Kontrolle vollständigen Umsatz an, und es wurden 450 mg (5.36 mmol) festes  $\text{NaHCO}_3$  zugegeben und 2 h gerührt. Es wurde vom Präzipitat abfiltriert und eingengt und blitzchromatographisch aufgereinigt (KG, 200 g, 16 x 6 cm, von

PE/EE 95 : 5 (v/v) + 0.1 % MeOH auf PE/EE 9 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH). Es wurden 1.748 g (8.01 mmol, 70 %) eines farblosen Öls erhalten.

Analog dazu wurde (**R**)-**141** aus Aldehyd **138** mit dem enantiomeren Auxiliar **ent-140** in 66 % Ausbeute als farbloses Öl erhalten.



$R_f = 0.19$  in Petrolether / Ethylacetat 9 : 1 + 0.1% MeOH.

$[\alpha]_D^{20} : -1.0^\circ$  (c 1.02,  $\text{CHCl}_3$ ) (**S**)-**141**

$[\alpha]_D^{20} : +1.1^\circ$  (c 1.05,  $\text{CHCl}_3$ ) (**R**)-**141**

Enantiomerenverhältnis > 99 : 1 (HPLC)

**$^1\text{H NMR}$ , gHSQC gHMBC (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.30\text{-}7.25$  (m, 2H,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ -H), 7.19-7.38 (m, 3H,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ -H), 5.56 (dtq, 1H,  $^2J = 15.2$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz,  $^4J = 1.2$  Hz, 2-H), 5.43 (dddq, 1H,  $^2J = 15.2$  Hz,  $^3J = 7.8, 6.3$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 3-H), 3.61-3.55 (m, 1H, 5-H), 2.62 (t, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz, 9-H), 2.22 (dddt, 1H,  $^2J = 13.9$  Hz,  $^3J = 6.3, 4.0$  Hz,  $^4J = 1.3$  Hz, 4- $\text{H}_a$ ), 2.05 (dddt, 1H,  $^2J = 14.0$  Hz,  $^3J = 7.8, 7.8$  Hz,  $^4J = 0.9$  Hz, 4- $\text{H}_b$ ), 1.70 (br d, 1H,  $^3J = 6.4$  Hz, 1-H), 1.68-1.35 (m, 6H, 6-H, 7-H, 8-H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (125.77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 142.62$  (s, C-1'), 129.01 (d, C-2), 128.4 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 128.2 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 127.1 (d, C-3), 125.6 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 70.8 (d, C-5), 40.7 (t, C-4), 36.6 (t, C-6 oder C-7 oder C-8), 35.9 (t, C-9), 31.5, 25.4 (2 x t, C-6 oder C-7 oder C-8), 18.1 (q, C-1).

**GC-MS** des TMS-Derivates (DB\_100\_S):  $t_R = 4.78$  min, m/z (rel. Intens.) 275(7)  $[\text{M}-15]^+$ , 235(100), 157(12), 145(100), 117(40), 103(20), 91(70), 73(100).

**HPLC** (Chiracel® AD, Hexan/Isopropanol 98 : 2, 0.5 ml/min):

$$t_R ((R)\text{-141}) = 21.1 \text{ min};$$

$$t_R ((S)\text{-141}) = 21.6 \text{ min}.$$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $C_{15}H_{23}O$  219.1749  $[M+H]^+$ , gef. 219.1739.

### **Immobilisiertes (S)-9-Phenyl-5-hydroxy-2-nonen (142)**

In Analogie zu AAV 1 wurden 1.52 g (4.2 mmol) Brom-PS-Harz mit 1.26 g (8.0 mmol) Diethyldichlorsilan und 667 mg (3.05 mmol) des Homoallylkohols **(S)-141** umgesetzt. In diesem Fall wurde für die Lithiierung des Harzes jedoch eine 10M Lösung von *n*-BuLi verwendet. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3028-2875 (br s), 1942 (m), 1881 (w), 1804 (w), 1745 (w), 1665 (s), 1599 (m).

Die Beladung wurde über einen HPLC-Assay gemessen: Dazu wurden 104 mg des Harzes in 0.8 ml THF mit 50  $\mu\text{l}$  Pyridin und 50  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin abgespalten. Nach einer Reaktionszeit von 6.5 h wurde mit 800  $\mu\text{l}$  TMSOMe gequench, die Lösung durch Kieselgel filtriert und eingeeengt. Es wurden 17.5 mg (0.08 mmol, 28 %) eines farblosen Öls erhalten. Das Rohprodukt wurde in 3.00 ml Hexan aufgenommen und auf einer Chiracel AD-Säule (Hexan/Isopropanol 98 : 2, 0.5 ml/min) mit einer Kalibrierkurve (aufgenommen mit einer Verdünnungsreihe von **(S)-141** mit den Konzentrationen 1.86, 0.93, 0.46, 0.23, 0.12 mg/ml) verglichen. Damit konnte die Beladung des Harzes zu 0.71 mmol/g (25.8 %, bezogen auf die theoretische Beladung des Harzes) bestimmt werden.

### Immobilisiertes (4R, 6S)-10-Phenyl-1-decen-4,6-diol (143)

Gemäß AAV 3 wurden 1.4 g (0.84 mmol) des aus **142** gewonnenen Aldehyds in 15 ml THF mit 4 ml einer 1M Lösung von <sup>1</sup>Ipc<sub>2</sub>Ball umgesetzt. Nach oxidativer Aufarbeitung lag ein gelbliches Harz vor.

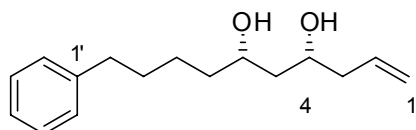
**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3518 (s), 3100-2850 (s), 1946 (m), 1875 (s), 1807 (s), 1733 (m), 1688 (s), 1546 (w), 812 (w).

### (4R, 6S)-10-Phenyl-1-decen-4,6-diol (144)

Gemäß AAV 7 wurden 270 mg (0.16 mmol) des Harzes **143** in 2.5 ml THF mit 200  $\mu$ l Pyridin und 300  $\mu$ l HF/Pyridin umgesetzt. Das Rohprodukt wurde blitzchromatographisch aufgereinigt (KG [Partikelgröße 0.015-0.04 mm], 3.1 g, 9 x 1 cm, PE/EE 4 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH]. Nach Einengen wurden 24.2 mg (0.10 mmol, 63 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f$  = 0.11 in Petrolether / Ethylacetat 4 : 1 + 0.1% MeOH.

$[\alpha]_D^{20}$  : -5.6 ° (c 1.17, CHCl<sub>3</sub>)



**144**

**<sup>1</sup>H NMR, g COSY, gHSQC gHMBC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 7.30-7.26 (m, 2H, C<sub>arom.</sub>-H), 7.19-7.16 (m, 3H, C<sub>arom.</sub>-H), 5.87-5.76 (m, 1H, 2-H), 5.16-5.11 (m, 2H, 1-H), 3.93-3.82 (m, 2H, 4-H, 6-H), 2.63 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 10-H), 2.30-2.18 (m, 2H, 3-H), 1.71-1.60 (m, 2H, 9-H), 1.61 (dt, 1H, <sup>2</sup>J = 14.5 Hz, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, 5-H<sub>syn</sub>), 1.56-1.39 (m, 4H, 7-H, 8-H), 1.48 (dt, 1H, <sup>2</sup>J = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 5-H<sub>anti</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (100.70 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 142.5 (s, C-1), 134.2 (d, C-2), 128.3 (d, C<sub>arom.</sub>), 128.2 (d, C<sub>arom.</sub>), 125.6 (d, C<sub>arom.</sub>), 118.3 (t, C-3), 72.7 (d, C-6), 71.9 (d, C-4), 42.5 (t, C-3), 42.3 (t, C-5), 37.9 (t, C-7), 35.9 (t, C-10), 31.4 (t, C-9), 24.9 (t, C-8).



**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 9.85$  min,  $m/z$  248.99  $[M+H]^+$ .

**GC-MS** (DB\_100\_S) des TMS-Derivats:  $t_R$  (*syn*) = 5.27 min,  $m/z$  (rel. Intens.) 377(1)  $[M-15]^+$ , 281(9), 235(100), 145 (53) 91(30), 73(63).

$t_R$  (*anti*) = 4.60 min,  $m/z$  (rel. Intens.) 377(1)  $[M-15]^+$ , 281(10), 235(90), 145 (100) 91(70), 73(90).

**MS** (FAB)  $m/z$  249.07  $[M+H]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $C_{16}H_{25}O_2$  249.1855  $[M+H]^+$ , gef. 249.1830.

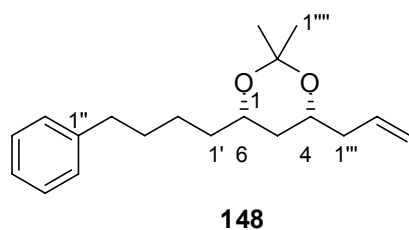
**(4R, 6S)-4-Allyl-2, 2-dimethyl-6-(4-phenylbutyl)-1, 3-dioxan (148)**

In einem Schlenk-Rohr wurden 22.8 mg (0.09 mmol) des Diols **144** und 1.8 mg (0.007 mmol) (+)-CSA in 2 ml Dimethoxypropan gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 3.5 h zeigte eine DC- Kontrolle (PE/EE 4 : 1 (v/v)) vollständigen Umsatz an, und die Reaktionslösung wurde mit 5 ml Ethylacetat verdünnt. Es wurde mit ges.  $NaHCO_3$ -Lösung und ges.  $NaCl$ -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über  $MgSO_4$  getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wurde auf Celite aufgezogen, und es wurde in einer Pasteur-Pipette chromatographisch aufgereinigt (KG, 0.7 g, PE/EE 99 : 1 (v/v) auf 95 : 5). Es wurden 12.0 mg (0.04 mmol, 46 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.27$  in Petrolether / Ethylacetat 95 : 5.

$[\alpha]_D^{20}$ : +4.3 ° ( $c$  1.40,  $CHCl_3$ )

Diastereomerenverhältnis *syn* / *anti* 19 : 1 (bestimmt durch GC-MS).



**$^1\text{H NMR}$ , gHSQC gHMBC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 7.29-7.26 (m, 2H,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ -H), 7.19-7.17 (m, 3H,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ -H), 5.85-5.77 (m, 1H,  $2''$ -H), 5.11-5.04 (m, 2H,  $3'''$ -H), 3.89-3.83 (m, 1H, 4-H), 3.81-3.76 (m, 1H, 6-H), 2.61 (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz,  $4'$ -H), 2.31 (ddd, 1H,  $^2J = 13.9$  Hz,  $^3J = 6.3, 6.3$  Hz,  $1'''$ - $\text{H}_a$ ), 2.15 (ddd, 1H,  $^2J = 13.8$  Hz,  $^3J = 7.0, 6.9$  Hz,  $1'''$ - $\text{H}_b$ ), 1.65-1.52 (m, 4H,  $1'$ -H,  $3'$ -H), 1.49 (ddd, 1H,  $^2J = 12.8$  Hz,  $^3J = 2.4, 2.4$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{eq.}}$ ), 1.43 (s, 3H,  $1''''$ -H), 1.41-1.34 (m, 2H,  $2'$ -H), 1.40 (s, 3H,  $1''''$ -H), 1.12 (ddd, 1H,  $^2J = 12.2$  Hz,  $^3J = 12.0, 12.0$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{ax}}$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (125.77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 142.7 (s, C- $1''$ ), 134.3 (d, C- $2'''$ ), 128.4 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 128.2 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 125.6 (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 117.0 (t, C- $3'''$ ), 98.4 (s, C-2), 68.9 (d, C-6), 68.7 (d, C-4), 40.9 (t, C- $1'''$ ), 36.5 (t, C-5), 36.3 (t, C- $1'$ ), 35.9 (t, C- $4'$ ), 31.5 (t, C- $3'$ ), 30.3 (q, C- $1''''$ ), 24.7 (t, C- $2'$ ), 19.8 (q, C- $1''''$ ).

**GC-MS** (DB\_100\_S):  $t_R$  (*syn*) = 5.48 min,  $m/z$  (rel. Intens.) 288(1)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 273(25), 171(41), 91(100).

$t_R$  (*anti*) = 5.44 min,  $m/z$  (rel. Intens.) 288(1)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 273(29), 171(56), 91(100).

**MS** (FAB)  $m/z$  289.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}_2$  289.2168  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 289.2139.

**(4*R*,6*S*,8*S*)-6-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)-12-phenyldodec-1-ene-4,8-diol (145)**

Gemäß AAV 4 wurden 1.23 g (0.78 mmol) des immobilisierten Homoallylalkohols **143** in 9 ml DMF mit 588 mg (3.92 mmol) TBDMSCl, 264 mg (3.88 mmol) Imidazol und 27 mg (0.2 mmol) DMAP umgesetzt. Nach

Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum lag ein leicht gelbliches Harz vor.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3621 (w), 3100-2850 (s), 1941 (s), 1869 (m), 1802 (m), 1723 (m), 1638 (w), 1599 (s), 1494 (w).

Gemäß AAV 2 wurden 1.33 g (0.78 mmol) des immobilisierten Alkens in 15 ml DCM mit Ozon umgesetzt und anschließend mit 1.04 g (3.97 mmol) Triphenylphosphin reduziert. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum lag ein gelbliches Harz vor.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3620 (m), 3100-2850 (s), 2141 (m), 1941 (s), 1870 (m), 1729 (s), 1635 (w), 1600 (s), 1493 (w).

Gemäß AAV 3 wurden 1.22 g (0.7 mmol) des immobilisierten Aldehyds in 12 ml THF mit 6 ml einer 1M Lösung von  $^t\text{Ipc}_2\text{BAl}$  umgesetzt. Nach oxidativer Aufarbeitung und Trocknung im Hochvakuum wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

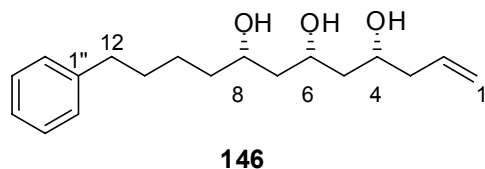
**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3520 (s), 3100-2850 (s), 1942 (s), 1871 (m), 1803 (m), 1719 (m), 1641 (w), 1600 (s), 1495 (w).

#### **(4R,6S,8S)-12-Phenyldodec-1-ene-4,6,8-triol (146)**

Gemäß AAV 7 wurden 211 mg (0.13 mmol) des Harzes **145** in 2 ml THF mit 300  $\mu\text{l}$  Pyridin und 400  $\mu\text{l}$  HF/Pyridin versetzt. Das Rohprodukt (39.8 mg) wurde auf Celite aufgezogen und blitzchromatographisch gereinigt (KG, 3 g, 8 x 1 cm, PE/EE 4 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH auf PE/EE 2 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH). Es wurden 14.0 mg (0.05 mmol, 38 %) eines farblosen Öls erhalten.

$R_f = 0.20$  in Petrolether / Ethylacetat 1 : 1 + 0.1% MeOH.

$[\alpha]_D^{20} : -4.86^\circ$  ( $c$  1.4,  $\text{CHCl}_3$ )



**$^1\text{H NMR}$ , gHSQC gHMBC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.29\text{-}7.26$  (m, 2H,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ -H),  $7.19\text{-}7.17$  (m, 3H,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ -H),  $5.85\text{-}5.76$  (m, 1H, 2-H),  $5.15\text{-}5.11$  (m, 2H, 1-H),  $4.30\text{-}4.13$  (m, 1H, 6-H),  $4.08\text{-}3.95$  (m, 1H, 4-H),  $3.89\text{-}3.84$  (m, 1H, 8-H),  $2.62$  (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, 12-H),  $2.29\text{-}2.19$  (m, 2H, 3-H),  $1.69\text{-}1.32$  (m, 10H, 5-H, 7-H, 9-H, 10-H, 11-H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (125.77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 142.5$  (s, C-1'),  $134.2$  (d, C-2),  $128.4$  (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ),  $128.2$  (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ),  $125.6$  (d,  $\text{C}_{\text{arom.}}$ ),  $118.3$  (t, C-1),  $73.6$  (d, C-6),  $72.7$  (d, C-8),  $71.7$  (d, C-6),  $43.4$  (t, C-5 oder C-7),  $43.0$  (t, C-5 oder C-7),  $42.5$  (t, C-3),  $38.0$  (t, C-9),  $35.9$  (t, C-12),  $31.4$  (t, C-11),  $24.9$  (t, C-10).

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 9.26$  min,  $m/z$  293.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**HR-MS** (FAB) ber. für  $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{O}_3$  293.2117  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 293.2132.

**(R)-6-((2S,4S)-2,4-Dihydroxy-8-phenyloctyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on  
(136)**

Gemäß AAV 5 wurden 1.01 g (0.61 mmol) **145** in 8 ml DCM mit 285 mg (3.15 mmol) Acryloylchlorid, 327 mg (3.23 mmol) Triethylamin und 12 mg (0.11 mmol) DMAP umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein gelbliches Harz erhalten.

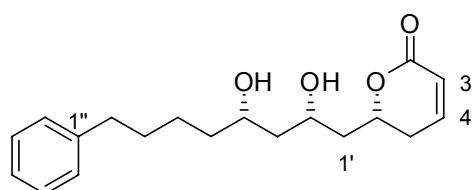
**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] =  $3412\text{-}3131$  (br m),  $3100\text{-}2850$  (s),  $1946$  (s),  $1874$  (m),  $1803$  (m),  $1730$  (s),  $1597$  (s).

Gemäß AAV 6 wurden 906 mg (0.54 mmol) in 12 ml DCM mit 53.3 mg (0.085 mmol) des Katalysators **95** in 3 ml DCM und 24.1 mg (0.038 mmol) in 2 ml DCM umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein braunes Harz (792 mg) erhalten, welches nach AAV 7 in 6 ml THF mit 600  $\mu$ l Pyridin und 800  $\mu$ l HF/Pyridin umgesetzt wurde. Nach Quenchen mit 5 ml TMSOMe, Filtration und Einengen wurden 38 mg eines hochviskosen grün-braunen Öls erhalten, welches säulenchromatographisch aufgereinigt wurde (1. Säule: KG, 2.8 g, 7.5 x 1 cm, PE/EE 4 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH auf EE + 0.1 % MeOH; 2. Säule: KG, 0.55 g, DCM/Aceton 9 : 1 (v/v) auf DCM/Aceton 1 : 1). Auf diese Weise wurden 8.9 mg (0.028 mmol, 5.2 %) eines leicht braunen Öls erhalten.

$R_f = 0.26$  in Ethylacetat + 0.1% MeOH

$[\alpha]_D^{20} : + 48.4^\circ$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ) Lit. (Ramana2005)  $[\alpha]_D^{25} : + 62.1^\circ$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ )

Diastereomerenverhältnis 85 : 9 : 2 : 2



**136**

**$^1\text{H NMR}$ , gHSQC, gHMBC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.29\text{-}7.26$  (m, 2H, 2 x  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 7.18-7.16 (m, 3H, 3 x  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 6.89 (ddd, 1H,  $^3J = 9.4, 4.7, 3.9$  Hz, 4-H), 6.02 (ddd, 1H,  $^3J = 9.6$  Hz,  $^4J = 1.6, 1.6$  Hz, 3-H) 4.70-4.64 (m, 1H, 6-H), 4.15-4.10 (m, 1H, 2'-H), 3.90-3.85 (m, 1H, 4'-H), 2.62 (t, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz, 8'-H), 2.43-2.41 (m, 2H, 5-H), 2.02 (ddd, 1H,  $^2J = 15.0, ^3J = 7.5, 7.5$  Hz, 1'-H<sub>a</sub>), 1.77 (ddd, 1H,  $^2J = 14.4, ^3J = 5.4, 3.9$  Hz, 1'-H<sub>b</sub>), 1.67-1.31 (m, 8H, 3'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (125.77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 164.1$  (s, C-2), 145.3 (d, C-4), 142.4 (s, C-1''), 128.4 (d, C-2''), 128.3 (d, C-4''), 125.7 (d, C-3''), 121.2 (d, C-3), 76.3 (d, C-6), 72.9 (d, C-4''), 69.8 (d, C-2'), 42.8 (t, C-3'), 42.3 (t, C-1'), 38.1 (t, C-5'), 35.8 (t, C-8'), 31.3 (t, C-7'), 29.4 (t, C-5), 24.9 (t, C-6').

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[90]</sup>

**LC-MS:** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 8.52$  min,  $m/z$  319.01  $[M+H]^+$ .

**HPLC:** Säule Nucleodur ISIS C18, Gradient 20 % MeCN + 0.1 % TFA in H<sub>2</sub>O + 0.1 % TFA, 1 min, dann in 18 min auf 95 % MeCN. Detektion bei 212 nm.

$t_R = 9.48$  min.

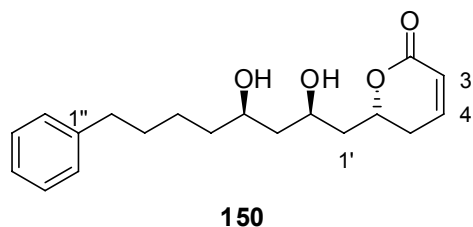
**(R)-6-((2R,4R)-2,4-Dihydroxy-8-phenyloctyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on  
(150)**

Nach AAV 6 wurden 875 mg (0.263 mol) des aus **149** gewonnenen immobilisierten Acrylestere in 7 ml DCM mit 2 x 33.2 mg (0.053 mmol) des Katalysators **95** in 1.5 ml DCM umgesetzt. Nach Entfernen aller Lösungsmittelrückstände wurde ein braunes Harz erhalten, das zur Abspaltung nach AAV 7 in 6 ml THF gequollen und mit 200  $\mu$ l Pyridin und 350  $\mu$ l HF/Pyridin umgesetzt wurde. Nach Quenchen mit 4 ml TMSOMe, Filtration und Einengen wurden 55 mg eines grünlichen Öls erhalten, das säulenchromatographisch aufgereinigt wurde (1. Säule: KG, 3.5 g, 11 x 1 cm, PE/EE 2 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH auf EE + 0.1 % MeOH; 2. Säule: KG, 0.8 g, PE/EE 1 : 1 (v/v) + 0.1 % MeOH auf EE + 0.1 % MeOH). Es wurden 5.3 mg (0.017 mmol, 3 %) eines leicht bräunlichen viskosen Öls erhalten.

$R_f = 0.25$  in Ethylacetat + 0.1% MeOH

$[\alpha]_D^{20} : + 33.9^\circ$  (c 0.59, CHCl<sub>3</sub>)

Diastereomenverhältnis (LC-MS) 79 : 14 : 7



**<sup>1</sup>H NMR, gCOSY, gHSQC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 7.29-7.25$  (m, 2H, 2 x C<sub>arom.</sub>-H), 7.20-7.16 (m, 3H, 3 x C<sub>arom.</sub>-H), 6.89 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.7, 5.4, 3.1 Hz, 4-H), 6.02 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, <sup>4</sup>J = 2.3, 1.2 Hz, 3-H) 4.78-4.71 (m, 1H, 6-H),

4.26-4.20 (m, 1H, 2'-H), 3.92-3.87 (m, 1H, 4'-H), 2.62 (t, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz, 8'-H), 2.38-2.33 (m, 2H, 5-H), 1.86 (ddd, 1H,  $^2J = 14.4$ ,  $^3J = 9.6$ , 2.5 Hz, 1'-H<sub>a</sub>), 1.71 (ddd, 1H,  $^2J = 14.4$ ,  $^3J = 10.1$ , 3.0 Hz, 1'-H<sub>b</sub>), 1.69-1.33 (m, 8H, 3'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (100.71 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 164.4$  (s, C-2), 145.3 (d, C-4), 142.4 (s, C-1''), 128.4, 128.3, 125.7 (3 x d, C-2'', C-3'', C-4''), 121.3 (d, C-3), 74.7 (d, C-6), 73.0 (d, C-4'), 68.1 (d, C-2'), 43.2 (t, C-3'), 43.0 (t, C-1'), 38.2 (t, C-5'), 35.8 (t, C-8'), 31.3 (t, C-7'), 29.9 (t, C-5), 24.9 (t, C-6').

**LC-MS** (ISIS\_C18\_split3pos45):  $t_R = 4.64$  min,  $m/z$  319.01  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**MS** (FAB)  $m/z$  319.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

**HR-MS** (FAB) ber. für  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{O}_4$  319.1909  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gef. 319.1898.

## 5.4 Versuche zu Kapitel 3.1.3

### AAV 10: Synthese der Diene an der festen Phase

In einem Schlenk-Kolben wurde das Phosphonium-Salz (3 Äq.) in THF suspendiert und auf 0 °C abgekühlt. Langsam wurde eine Lösung von *n*-BuLi in Hexan (2.9 Äq.) zugegeben, bis sich eine klare rote Lösung gebildet hatte. In einem zweiten Kolben wurde das Aldehyd-Harz **170** in THF gequollen. Mit einer Transferkanüle wurde die Lösung des Ylids zum Harz gegeben. Es wurde 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Daraufhin wurde das Harz filtriert und gewaschen (50 ml THF/H<sub>2</sub>O 3 : 1, 100 ml THF, 50 ml DMF, 30 ml MeOH und 100 ml DCM). Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

### AAV 11: Hetero-Diels-Alder Reaktion an der festen Phase

In einem Schlenk-Kolben wurden *n* mmol (*R*)-BINOL in 6*n* ml DCM gelöst, mit einer Lösung von 0.5 *n* mmol Titanetraisopropoxylat in 3*n* ml DCM versetzt und 1 h zum Rückfluss erhitzt. Danach wurde das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt (1 h). Das Ethylglyoxylat (50 % in Toluol) wurde 2-3 h bei 80 °C depolymerisiert und anschließend destillativ vom Toluol getrennt (Sdpkt. 50-55 °C, 50 mbar).

Das immobilisierte Dien (*n* mmol) wurde in 12*n* ml DCM gequollen und auf -30 °C abgekühlt, woraufhin der Katalysator, gelöst in 6*n* ml DCM, zugegeben wurde. In mehreren Portionen wurden nun über einen Zeitraum von 3 h insgesamt 10 – 20 Äq. jeweils frisch destilliertes Ethylglyoxylat zugegeben. Danach wurde das Kühlbad entfernt, und die Reaktionsmischung nahm Raumtemperatur an. Nach insgesamt 15 h Reaktionszeit wurde das Harz filtriert und gewaschen: 2 x DCM, 2 x DMF, 2 DMF/H<sub>2</sub>O 1 : 1, 2 x DMF, 1 x MeOH, 2 x DCM. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

### AAV 12: Hydrierung der immobilisierten Ethylester

Der immobilisierte Ester wurde in THF gequollen (ca. 10 ml/g Harz) und auf 0 °C abgekühlt. Es wurden 4 Äq. einer 2M Lösung von LiBH<sub>4</sub> in THF zugegeben und 16 h geschüttelt, wobei die Lösung Raumtemperatur annahm. Das Harz wurde filtriert und gewaschen (für 1 g Harz): 20 ml THF, 60 ml



THF/H<sub>2</sub>O/NH<sub>4</sub>Cl ges. 40 : .30 : 5, 20 ml THF/H<sub>2</sub>O 1 : 1, 20 ml THF, 20 ml DMF, 100 ml DCM, 20 ml MeOH. Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

**AAV 13:** Abspaltung vom Wang-Harz unter gleichzeitiger Oxidation zum Lakton

Zur Abspaltung wurde das Jones-Reagenz verwendet, welches wie folgt hergestellt wurde: 200 mg (2.0 mmol) CrO<sub>3</sub> wurden in 0.5 ml H<sub>2</sub>O gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Nach langsamer Zugabe von 0.168 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konz. wurde das Volumen mit H<sub>2</sub>O auf 1 ml aufgefüllt.

500 mg (ca. 0.15 mmol) des Harzes wurden in 8 ml Aceton suspendiert und mit 10 Äq. Jones Reagenz (750 µl) versetzt. Es wurde 3 h bei Raumtemperatur geschüttelt und anschließend mit ca. 0.5 ml 2-Propoanol versetzt, um überschüssiges Reagenz zu reduzieren. Es wurde mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert und filtriert. Der Rückstand wurde 3 x mit DCM gewaschen. Die Phasen des Filtrats wurden getrennt, und die wässrige Phase wurde 3 x mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeeengt.

#### **Natrium-3-oxoacrolein (169)**

In einem 2-Liter Kolben mit großem Magnetrührstab wurde 1,1,3,3-Tetramethoxypropan (100 g, 0.45 mmol) mit 1N HCl (37.5 ml) und H<sub>2</sub>O (50 ml) versetzt und 1.5 h heftig bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich eine einzige gelbe Phase bildete. Die Lösung wurde im Eisbad abgekühlt und mit 5N NaOH auf pH 10 gebracht; dabei trat eine Rotfärbung auf. Durch langsame Zugabe von Aceton (insgesamt 1l) wurde das Reaktionsprodukt ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Aceton gewaschen und über Nacht im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in 250 ml Methanol unter Rückfluss gelöst. Es wurde mit Aktivkohle versetzt und filtriert. Aus dem Filtrat wurde das Produkt durch Zugabe von Diethylether (800 ml) ausgefällt. Nach erneuter Filtration wurde der Rückstand 24 h bei 100 °C im Hochvakuum getrocknet.

Auf diese Weise konnten 16.5 g (170 mmol, 39 %) eines leicht gelblichen Feststoffes gewonnen werden, der bei 4 °C unter Luftausschluss gelagert wurde.

**Schmp.** 232-235 °C (Zers.)

**<sup>1</sup>H NMR (400.45 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 8.70 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz), 5.35 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz).

**<sup>13</sup>C NMR (100.71 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 193.0 (d), 109.7 (t).

Die angegebenen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[143]</sup>

### **Immobilisiertes 3-Oxoacrolein (170)**

In einem 100 ml Schlenk-Kolben wurde unter Argon Bromo-Wang-Harz (5 g, 8.5 mmol) in 30 ml DMF gequollen. Nach Zugabe von 2.5 Äq. des Aldehyds **169** (1.95 g, 21.3 mmol) wurde 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Daraufhin wurde das Harz filtriert und gewaschen (50 ml DMF, 100 ml DMF/H<sub>2</sub>O 3 : 1, 100 ml DMF, 30 ml MeOH und 30 ml DCM). Es wurde im Hochvakuum getrocknet.

Um eine höhere Beladung zu erzielen, wurde ein zweiter Zyklus dieser Reaktion durchgeführt. Es wurde ein gelbliches Harz erhalten.

Die Beladung des Aldehyds wurde mit der DNPH-Methode bestimmt. Es konnten Beladungen von 1.0 mmol/g (63 %, bezogen auf die theoretische Ladung des Harzes) erzielt werden.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3359 (w), 3147 (s), 2979 (s), 2688 (m), 1980 (m), 1925 (m), 1845 (m), 1783 (s), 1566 (w), 723 (w).

### **Immobilisiertes 1,3-Butadien (156)**

Nach AAV 10 wurden 4.96 g (5.4 mmol) des immobilisierten Aldehyds **170** in 20 ml THF mit 6.42 g (18.0 mmol) Triphenylmethylphosphoniumbromid in 35 ml THF und 7.2 ml einer 2.5M Lösung von *n*-BuLi umgesetzt.

Dabei wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3576 (w), 3147 (s), 2913 (s), 1948 (m), 1880 (m), 1805 (m), 1749 (m), 1648 (s), 1508 (w), 547 (w).

#### **Immobilisiertes 4-Methyl-1,3-butadien (160)**

Nach AAV 10 wurden 1.99 g (2 mmol) des immobilisierten Aldehyds **170** in 14 ml THF mit 2.36 g (6.4 mmol) Ethyltriphenylphosphoniumbromid in 10 ml THF und 2.7 ml einer 2.5M Lösung von *n*-BuLi umgesetzt.

Dabei wurde ein leicht gelbliches Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3439 (w), 3025 (s), 2926 (s), 1944 (m), 1879 (m), 1803 (m), 1713 (m), 1679 (s), 1515 (w), 540 (w).

#### **(R)-Ethyl 6-oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-carboxylat (162)**

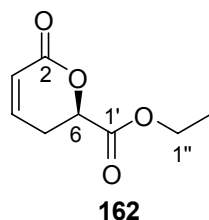
Nach AAV 11 wurden 496 mg (0.57 mmol) des immobilisierten Diens **156** mit 154 mg (0.58 mmol) (*R*)-BINOL, 82.4 mg (0.29 mmol) Titan-tetraisopropoxyolat und 3 ml Ethylglyoxyolat umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Entfernung aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein rotes Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3500 (br s), 3029 (s), 1947 (m), 1880 (m), 1765 (m), 1610 (s), 1501 (w), 854 (m).

Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wurden nach AAV 13 50-100 mg des Harzes umgesetzt. Dabei wurden 3-5 mg (0.018-0.030 mmol, 18-30 %) eines gelb-braunen Öls erhalten. Das Rohprodukt wurde direkt mittels GC analysiert. Eine analysenreine Probe konnte durch säulenchromatographische Aufreinigung (KG, Cyclohexan/Diethylether 4 : 1) gewonnen werden. Dabei wurde **162** als farbloses Öl erhalten.

$R_f = 0.36$  in Cyclohexan/Diethylether 3 : 1 (v/v).

$[\alpha]_D^{20} : -6.3^\circ$  (c 0.08,  $\text{CHCl}_3$ ) (bestimmt für **(S)-162**, 87 %ee).



**$^1\text{H NMR}$  (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 6.81$  (dddd, 1H,  $^3J = 9.9, 4.5, 3.7$  Hz,  $^4J = 0.7$  Hz, 4-H),  $6.07$  (ddd, 1H,  $^3J = 9.9, 2.15, 1.7$  Hz, 3-H),  $5.03$  (t, 1H,  $^3J = 5.5$  Hz, 6-H),  $4.28$  (dq, 1H,  $^2J = 3.6$  Hz,  $^3J = 7.2$  Hz, 1''-H<sub>a</sub>),  $4.26$  (dq, 1H,  $^2J = 3.6$  Hz,  $^3J = 7.1$  Hz, 1''-H<sub>b</sub>),  $2.83$  (dddd, 1H,  $^2J = 18.6$  Hz,  $^3J = 6.0, 3.7, 2.2$  Hz, 5-H<sub>a</sub>),  $2.76$  (dddd, 1H,  $^2J = 18.6$  Hz,  $^3J = 5.5, 4.7, 1.6$  Hz, 5-H<sub>b</sub>),  $1.30$  (t, 3H,  $^3J = 7.1$  Hz, 2''-H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (125.77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 195.2$  (s, C-1'),  $169.0$  (s, C-2),  $142.5$  (d, C-4),  $122.0$  (d, C-3),  $74.3$  (d, C-6),  $62.3$  (t, C-1''),  $26.4$  (t, C-5),  $14.1$  (q, C-2'').

**GC-MS** (DB\_50\_S):  $t_R$  (syn) = 5.91 min, m/z (rel. Intens.) 170(1)  $[\text{M}]^+$ , 141(9), 97(100), 69(34), 41(46).

**GC** (Lipodex E,  $100^\circ\text{C}$  (1 min), dann  $25^\circ\text{C}/\text{min}$  auf  $200^\circ\text{C}$  (7 min)):

$t_R$  (**R-162**): 6.62 min.

$t_R$  (**S-162**): 6.45 min.

### **(2R,3S)-Ethyl 3-methyl-6-oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-carboxylat (163)**

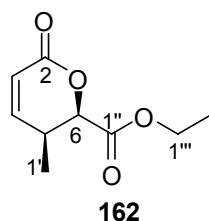
Nach AAV 11 wurden 3.00 g (3.3 mmol) des immobilisierten Diens **160** mit 154 mg (0.58 mmol) (*R*)-BINOL, 82.4 mg (0.29 mmol) Titan-tetraisopropoxyolat und 3 ml Ethylglyoxyolat umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Entfernung aller Lösungsmittelrückstände im Hochvakuum wurde ein rotes Harz erhalten.

Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wurden nach AAV 13 50-100 mg des Harzes umgesetzt. Dabei wurden 1.5-3 mg (0.008-0.016 mmol,

10-20 %) eines gelb-braunen Öls erhalten. Das Rohprodukt wurde direkt mittels GC analysiert.

$R_f = 0.23$  in Cyclohexan/Ethylacetat 7 : 3 (v/v).

$[\alpha]_D^{20} : +88.0^\circ$  (c 0.5,  $\text{CHCl}_3$ ).



**$^1\text{H NMR}$ , gHSQC gHMBC (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 6.87$  (dd, 1H,  $^3J = 9.7$ , 5.4 Hz, 4-H), 6.01 (dd, 1H,  $^3J = 9.7$  Hz,  $^4J = 1.2$  Hz, 3-H), 4.99 (d, 1H,  $^3J = 4.4$  Hz, 6-H), 4.31 (q, 1H,  $^3J = 7.2$  Hz, 1'''-H<sub>a</sub>), 4.30 (q, 1H,  $^3J = 7.1$  Hz, 1'''-H<sub>b</sub>), 2.99-2.92 (m, 1H, 5-H), 1.33 (t, 3H,  $^3J = 7.1$  Hz, 2'''-H), 1.12 (d, 3H,  $^3J = 7.2$  Hz, 1'-H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (125.77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 167.3$  (s, C-2), 149.2 (d, C-4), 120.3 (d, C-3), 77.7 (d, C-6), 61.9 (t, C-1'''), 31.1 (d, C-5), 14.2 (q, C-2'''), 13.1 (q, C-1').

**GC** (Lipodex E, 100 °C (1 min), dann 25 °C/min auf 175 °C (0 min), dann 2.5 °C/min auf 200 °C (5 min)):

$t_R$  (**R,R-162**): 7.34 min.

$t_R$  (**S,S-162**): 7.41 min.

### **(R)-(+)-5,5',6,6',7,7',8,8'-Octahydro-1,1'-bi-2-naphthol (R)-168**

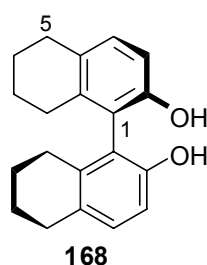
In einem Autoklaven wurden 507 mg (1.77 mmol) (R)-BINOL in 15 ml EtOH gelöst und mit dem Palladium-Katalysator (10% Palladium auf Aktivkohle, 50%  $\text{H}_2\text{O}$ , 264 mg, ca. 13.2 mg Pd, 0.124 mmol) versetzt. Unter 55 atm  $\text{H}_2$  wurde 2 h bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde über Celite abfiltriert, der Rückstand mit DCM gewaschen und eingeeengt. Es wurde blitzchromatographisch aufgereinigt (KG, 28 g, 22 x 2.5 cm, DCM). Auf diese

Weise konnten 453.6 mg (1.54 mmol, 87%) eines weißen Feststoffes gewonnen werden.

$R_f = 0.25$  in DCM

Schmp. 162-163 °C

$[\alpha]_D^{20} : + 48^\circ$  ( $c$  1.07  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.-Wert<sup>[114]</sup>  $[\alpha]_D^{25} : 52.8^\circ$  ( $c$  1.1  $\text{CHCl}_3$ ).



**$^1\text{H NMR}$  (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.07$  (d, 2H,  $^3J = 8.3$  Hz, 4-H), 6.83 (d, 2H,  $^3J = 8.3$  Hz, 3-H), 4.58 (br s, 2H, O-H), 2.75 (t, 4-H,  $^3J = 6.3$  Hz, 5-H, 8-H), 2.29 (dt, 2H,  $^2J = 17.2$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz), 2.16 8 (dt, 2H,  $^2J = 17.2$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz), 1.77-1.64 (m, 4H).

**$^{13}\text{C NMR}$ , DEPT (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 151.4$  (s), 137.1 (s), 131.0 (d), 130.1 (s), 118.8 (s), 113.0 (d), 29.2 (t), 27.1 (t), 23.0 (t), 22.9 (t).

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[113]</sup>

**(3aR,3a'R,8aS,8a'S)-2,2'-(Propan-2,2-diyl)bis(8,8a-dihydro-3aH-indeno[1,2-d]oxazol) (169)**

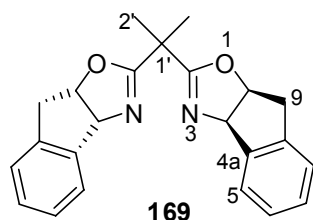
In einem 20 ml Schlenk-Kolben wurden 501.0 mg (3.36 mmol) (1R,2S)-1-Amino-2-indanol in 8 ml DCM gelöst und mit 1.36 g (13.4 mmol) Triethylamin versetzt. Nach Abkühlen auf 0 °C wurde eine Lösung von 280.5 mg (1.66 mmol) Dimethylmalonylchlorid in 1 ml DCM mittels Spritze langsam zugegeben, wobei eine Trübung der Lösung auftrat. Es wurde 2 h bei 0 °C gerührt, dann 2 h bei RT, bis eine DC-Kontrolle [Ethylacetat/Cyclohexan 4 : 1,  $R_f$ (171) = 0.23] vollständigen Umsatz anzeigte. Es wurde mit 5 ml 1M Salzsäure gequench, die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit 3 x 6 ml DCM extrahiert, anschließend wurden die vereinigten

organischen Phasen mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingengt. Es wurde am Hochvakuum getrocknet (14 h) und unter Argon gestellt. Unter Argon wurde ein Wasserabscheider angebaut, und es wurde mit 5 ml (4.8 g, 16.9 mmol) Titan-tetraisopropoxyolat versetzt. Es wurde zunächst 2 h bei 100 °C, dann 4 h bei 140 °C gerührt, wobei die Lösung gelinde siedete. Dann wurde abgekühlt, wobei die Lösung stockte. Es wurden 3.0 g (25 mmol) 3-Dimethylamino-1,2-propandiol zugegeben. Nach 45 min wurden je 6 ml EE und H<sub>2</sub>O zugegeben. Die Phasen wurden getrennt, und es wurde mit 3 x 1 ml EE extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingengt. Es wurden 1.18 g eines festen Schaums erhalten, der blitzchromatographisch aufgereinigt wurde (KG, 24 x 6 cm, EE/Cyclohexan 1 : 1 (v/v) + 0.1 % NEt<sub>3</sub> auf EE, dann auf EE/MeOH 1 : 4). Es konnten 494.3 mg (1.38 mmol, 83 %) eines weißen Feststoffes isoliert werden.

R<sub>f</sub> = 0.21 in Cyclohexan/Ethylacetat 4 : 1 (v/v)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: + 50.8 ° (c 1.54, CHCl<sub>3</sub>)

Schmp. 179-181 °C



**<sup>1</sup>H NMR (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7.51-7.49 (m, 2H, C<sub>arom.</sub>-H), 7.27-7.21 (m, 6H, C<sub>arom.</sub>-H), 5.52 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 4-H), 5.25 (ddd, 2H, <sup>3</sup>J = 7.9, 7.1, 1.9 Hz, 10-H), 3.30 (dd, 2H, <sup>2</sup>J = 17.9 Hz, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 9-H<sub>cis</sub>), 2.95 (dd, 2H, <sup>2</sup>J = 17.9 Hz, <sup>3</sup>J = 1.1 Hz, 9-H<sub>trans</sub>), 1.42 (s, 6H, 2'-H).

**<sup>13</sup>C NMR (100.70 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 169.1 (s, C-2), 141.8 (s, C-4a oder C-8a), 139.7 (s, C-4a oder C-8a), 128.3 (d, C<sub>arom.</sub>), 127.3 (d, C<sub>arom.</sub>), 125.6 (d, C<sub>arom.</sub>), 125.0 (d, C<sub>arom.</sub>), 83.2 (d, C-4 oder C-10), 76.5 (d, C-4 oder C-10), 39.6 (t, C-9), 38.5 (s, C-1'), 23.9 (q, C-2').

Die Werte stimmen mit der Literatur<sup>[144]</sup> überein.

**MALDI-TOF:** m/z = 359.7 [M+H]<sup>+</sup>

**(2R,6S)-Ethyl 6-methoxy-3,6-dihydro-2H-pyran-2-carboxylat (153)**

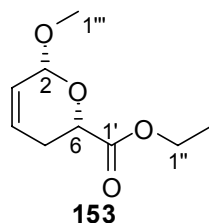
Der Katalysator **172** wurde durch Rühren von 55.2 mg (0.241 mmol) des Ligandens **170** mit 86.4 mg (0.239 mmol) Kupfer(II)triflat in 4.5 ml THF (1 h) und anschließendes Entfernen des Lösungsmittels im Hochvakuum hergestellt.

In einem Schlenk-Kolben wurden 23.2 mg (0.035 mmol) des Katalysators **172** mit 109 mg aktivierten Molsieb 3Å in 2 ml THF suspendiert und 1 h gerührt. Die türkis-grüne Lösung wurde mittels Transferkanüle in einen zweiten 10 ml Schlenk-Kolben überführt. Es wurden weitere 2 ml THF zugegeben und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden 435.8 mg (4.27 mmol) destilliertes Ethylglyoxylat und 76 mg (0.903 mmol) 1-Methoxy-1,3-butadien zugegeben. Nach 3 h wurde die Lösung durch Kieselgel filtriert und mit Cyclohexan/Diethylether filtriert. Es wurden 104.7 mg (62 %) eines farblosen Öls erhalten, das ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt wurde. Analysenreine Substanz konnte nach einer zweiten blitzchromatographischen Aufreinigung (Alox neutral, Brockmann-Stufe IV, 5 g, 8 x 1 cm, PE/Et<sub>2</sub>O 8 : 2 (v/v) + 0.1 % NEt<sub>3</sub>) erhalten werden.

R<sub>f</sub> = 0.23 in PE/EE 4 : 1 (v/v).

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: + 53 ° (c 1.33 CHCl<sub>3</sub>) bestimmt für **ent-153**, Lit.-Wert<sup>[107]</sup> [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +45.0 ° (c 1.0 CHCl<sub>3</sub>).

Diastereomerenverhältnis *syn/anti* 8.7 : 1 (bestimmt durch GC-MS)



**<sup>1</sup>H NMR, gCOSY, gHSQC gHMBC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6.06-6.00 (m, 1H, 4-H), 5.69 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 10.4, 4.0, 2.0 Hz, 3-H), 5.04 (br s, 1H, 2-H), 4.38 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 6.6, 5.2 Hz, 6-H), 4.29-4.17 (m, 2H, 1''-H), 3.51 (s, 3H, 1'''-H),



2.54-2.46 (m, 1H, 5-H<sub>a</sub>), 2.37-2.29 (m, 1H, 5-H<sub>b</sub>), 1.31 (t, 3H,  $^3J = 7.2$  Hz, 2''-H).

**<sup>13</sup>C NMR (125.77 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 171.1$  (s, C-1'), 127.4 (d, C-4), 126.2 (d, C-3), 97.2 (d, C-2), 69.6 (d, C-6), 61.1 (t, C-1''), 55.6 (q, C-1'''), 26.1 (t, C-5), 14.1 (q, C-2'').

Die Daten stimmten mit den Literaturwerten überein.<sup>[107]</sup>

**GC-MS (DB\_50\_S):**  $t_R$  (*syn*) = 5.42 min,  $m/z$  (rel. Intens.) 185(12) [M-H]<sup>+</sup>, 155(23), 140(26), 127(18), 113(100), 97(10), 81(100), 71(63), 55(50).

$t_R$  (*anti*) = 5.34 min,  $m/z$  (rel. Intens.) 185(3) [M-H]<sup>+</sup>, 155(19), 140(10), 127(18), 113(83), 97(7), 81(100), 71(33), 55(33).

#### **(2S,6R)-6-(Hydroxymethyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-ol (176)**

Gemäß AAV 12 wurden 1.14 g (0.57 mmol) des immobilisierten Esters **162** mit 1.2 ml LiBH<sub>4</sub>-Lösung (2M in THF, 2.4 mmol) umgesetzt. Es wurde ein rot-oranges Harz erhalten.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3600-2800 (br s), 1947 (m), 1880 (m), 1803 (m), 1743 (m), 1590 (m), 1457 (w), 860 (w).

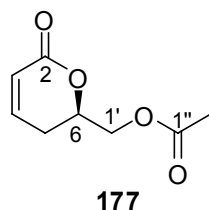
#### **(2R,6S)-6-Hydroxy-3,6-dihydro-2H-pyran-2-carbaldehyde (166)**

1.83 g (0.58 mmol) des immobilisierten Alkohols **176** wurden in 50 ml THF gequollen und mit 50 ml DMSO versetzt. Es wurden 660 mg (2.36 mmol) IBX zugegeben, danach wurde 21 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wurde filtriert und gewaschen: 200 ml THF/DMSO 3 : 1, 100 ml THF/H<sub>2</sub>O 3 : 1, 100 ml THF, 40 ml MeOH, 150 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Nach Trocknen im Hochvakuum wurde erneut in je 30 ml THF und DMSO gequollen, mit 346 mg (1.23 mmol) IBX versetzt und 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Aufarbeitung wie oben beschrieben konnte mit der DNPH-Methode die Beladung des Aldehyds zu  $c_B = 0.65$  mmol g<sup>-1</sup> bestimmt werden.

**FT-IR**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3500-2800 (br s), 1949 (m), 1883 (m), 1803 (w), 1735 (s), 1587 (w), 1510 (w).

**(R)-(6-Oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-yl)methyl acetate (177)**

Gemäß AAV 12 wurden 215 mg des Esters **157** zum Alkohol reduziert. Dann wurde unter Argon in 5 ml DCM gequollen und mit 38  $\mu\text{l}$  (41 mg, 0.40 mmol) Essigsäureanhydrid, 56  $\mu\text{l}$  (41 mg, 0.41 mmol) Triethylamin und 3 mg DMAP versetzt. Es wurde 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt, dann wurde das Harz filtriert und gewaschen: 50 ml DCM, 20 ml DMF, 30 ml DMF/H<sub>2</sub>O 1 : 1, 20 ml DMF, 50 ml DCM, 50 ml Ethylacetat, 30 ml MeOH. Nach 3 h trocknen im Hochvakuum wurde gemäß AAV 13 vom Harz abgespalten.



$R_f = 0.31$  in PE/EE 2 : 1 (v/v).

$[\alpha]_D^{20} : +9.5^\circ$  (c 0.6, CHCl<sub>3</sub>).

Enantiomerenverhältnis (bestimmt über GC): 87.5 : 12.5

**<sup>1</sup>H NMR, gHSQC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 6.90$  (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.8, 2.6, 1.1 Hz, 4-H),  $6.06$  (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.8, 2.6, 1.1 Hz, 3-H),  $4.68$  (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 11.4, 9.7, 4.4 Hz, 6-H),  $4.29$  (dd, 2H, <sup>2</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 1'-H),  $2.48$  (ddt, 1H, <sup>2</sup>J = 18.4 Hz, <sup>3</sup>J = 11.5, 2.7 Hz, 5-H<sub>a</sub>),  $2.39$  (dddd, 1H, <sup>2</sup>J = 18.4 Hz, <sup>3</sup>J = 11.5, 5.7, 4.5, 1.1 Hz, 5-H<sub>b</sub>),  $2.11$  (s, 3H, 2''-H).

**<sup>13</sup>C NMR (100.70 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 170.6$  (s, C-1''), 163 (s, C-2), 144.3 (d, C-4), 121.4 (d, C-3), 75.1 (d, C-6), 64.6 (t, C-1'), 25.8 (t, C-5), 20.7 (q, C-2'').

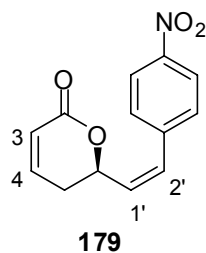
GC (Lipodex E, 100 °C (1 min), dann 25 °C/min auf 175 °C (0 min), dann 2.5 °C/min auf 200 °C (5 min)):

$t_R$  (**R-177**): 6.32 min.

$t_R$  (**S-177**): 6.24 min.

**(*R,E*)-6-(4-Nitrostyryl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-on (179)**

Gemäß AAV 10 wurden 103 mg des Aldehyd-Harzes **186** in 4 ml THF mit 313 mg (0.654 mmol) 4-Nitrobenzylphosphoniumbromid und 0.3 ml (0.75 mmol) einer 2.5M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Abspaltung wurden 3.7 mg eines bräunlichen Öls erhalten, in welchem das Produkt **179** als Mischung mit BINOL vorlag.



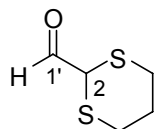
**<sup>1</sup>H NMR, (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 8.23 (d, 2H, <sup>3</sup>*J* = 8.8 Hz, C<sub>arom.</sub>-H), 7.47 (d, 2H, <sup>3</sup>*J* = 8.5 Hz, C<sub>arom.</sub>-H), 6.88 (ddd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 9.8, 5.5, 3.0 Hz, 4-H), 6.81 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 11.8 Hz, 2'-H), 6.03 (br d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 9.9 Hz, 3-H), 6.02 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 11.6, 9.4 Hz, 1'-H), 5.19 (dt, 1H, <sup>3</sup>*J* = 9.9, 9.8, 4.5 Hz, 6-H), 2.59-2.42 (m, 2H, 5-H).

**GC-MS (DB\_100\_S):**  $t_R$  = 6.10 min, *m/z* (rel. Intens.) 245(12) [M]<sup>+</sup>, 217(6) [M-CO]<sup>+</sup>, 152(23), 128(16), 77(30), 68(100).

**1,3-Dithian-2-carbaldehyd (174)**

In einem 250 ml Schlenk-Kolben wurden 5.00 g (41.55 mmol) 1,3-Dithian in 80 ml THF gelöst und auf -60 °C abgekühlt. Dann wurden 20 ml (50 mmol) einer 2.5M Lösung von *n*-BuLi in Hexan mittels Spritze über einen Zeitraum von 30 min zugegeben. Es wurde weitere 90 min bei -60 °C gerührt. Unterdessen wurde in einem zweiten Kolben eine Lösung von 12.15 g (166.2 mmol) DMF in 40 ml THF auf -30 °C abgekühlt, und das lithiierte Dithian wurde mit einer Transferkanüle zugegeben. Die Lösung nahm über Nacht Raumtemperatur an. Der Ansatz wurde auf 100 ml Eiswasser geschüttet. Nach Phasentrennung wurde die organische Phase mit 3 x 80 ml Pentan extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit 35 ml 3M Salzsäure auf

pH = 2 gebracht und 3 h bei RT gerührt. Dabei fiel ein Niederschlag aus. Es wurde mit 5 x 30 ml Diethylether extrahiert und die organischen Phasen wurden mit Wasser und NaCl ges. gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Einengen wurden 5.38 g (36.3 mmol, 87 %) eines gelblichen Öls erhalten, das sich als 1:1-Mischung aus Monomer und Dimer von **174** herausstellte. Vor Anwendung wurde die Verbindung deswegen bei 1-2 mbar destilliert.



**174**

**$^1\text{H NMR}$  (400.45 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 9.44 (d, 1H,  $^3J$  = 1.1 Hz, 1'-H), 2.94 (br s, 1H, 2-H), 2.94 (ddd, 2H,  $^2J$  = 14.6 Hz,  $^3J$  = 12.3, 2.7 Hz, 4- $\text{H}_{\text{ax}}$ , 6- $\text{H}_{\text{ax}}$ ), 2.49 (ddd, 2H,  $^2J$  = 14.5 Hz,  $^3J$  = 4.9, 3.0 Hz, 4- $\text{H}_{\text{eq}}$ , 6- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 2.06-1.98 (m, 1H, 5- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 1.96-1.85 (m, 1H, 5- $\text{H}_{\text{ax}}$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (100.70 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 188.2 (d, C-1'), 47.4 (d, C-2), 25.2 (t, C-4, C-6), 24.7 (t, C-5).

Die gemessenen Daten stimmen mit den Lit.-Daten überein.<sup>[145]</sup>

**GC-MS** (DB\_50\_S):  $t_R$  = 5.33 min;  $m/z$ (rel Int.) 148(11)  $[\text{M}]^+$ , 119(100), 75(9), 45(28).

## 5.5 Versuche zu Kapitel 3.2

### AAV14: Beladung des Wang-Harzes

Das Harz (n g) wurde 20 min in DCM vorgequollen. In 5n ml DMF/DCM 1 : 1 wurden 10 Äq. Fmoc-Glycin (bezogen auf die theoretische Beladung des Harzes) und 0.2 Äq. DMAP gelöst und mit 5 Äq. DIC versetzt. Diese Lösung wurde zum Harz gegeben, und es wurde über Nacht geschüttelt.

### AAV 15: Abspaltung der N-terminalen Fmoc-Schutzgruppe am Harz

Das Harz wurde 5 x mit DCM/DMF 1 : 1 und 2 x mit DMF gespült. Dann wurde 2 x 20 min mit DMF/Piperidin 4 : 1 versetzt. Anschließend wurde zunächst 2 x mit DMF, dann 5 x mit DCM/DMF 1 : 1 gespült.

### AAV 16: Peptidkupplung

Für n g Harz wurden in 5 n ml DMF/DCM 1 : 1 4 Äq. (bezogen auf die Beladung des Harzes) der gewünschten Fmoc-Aminosäure gelöst und mit 3.6 Äq. HBTU und 4 Äq. HOBt·H<sub>2</sub>O versetzt. Unmittelbar vor Zugabe zum Harz wurden 8 Äq. DIPEA zugegeben. Die Reaktionszeit betrug jeweils 1.5

### AAV 17: Abspaltung vom Wang-Harz mit TFA

Zur Abspaltung wurde ein Cocktail aus 1890 µl TFA, 50 µl H<sub>2</sub>O, 50 µl EDT und 20 µl TES („Reagenz K“) hergestellt und zum Harz gegeben. Nach 3 h Reaktionszeit bei Raumtemperatur wurde die TFA-Lösung auf Eppendorf-Gefäße verteilt. Das Peptid wurde durch Zugabe von je 700 µl eiskaltem Diethylether präzipitiert. Nach Zentrifugation wurde der Überstand verworfen und das Pellet mit 500 µl Diethylether gewaschen.

Das Harz wurde erneut 2 mal mit 2 ml TFA gewaschen. Aus den Waschfraktionen wurde erneut mit Diethylether das Produkt gefällt.

### In der Peptidsynthese verwendete Aminosäuren

Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Tyr(*t*Bu)-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ser(Bn)-OH, Fmoc-Ser(*t*Bu)-OH, Fmoc-Thr(*t*Bu)-OH, Fmoc-(4-I-Phr)-OH.

### L-Lysyl-L-threonyl-L-seryl-L-isooleucyl-L-methionyl-L-histidyl-L-arginyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-asparagyl-glycin (191)

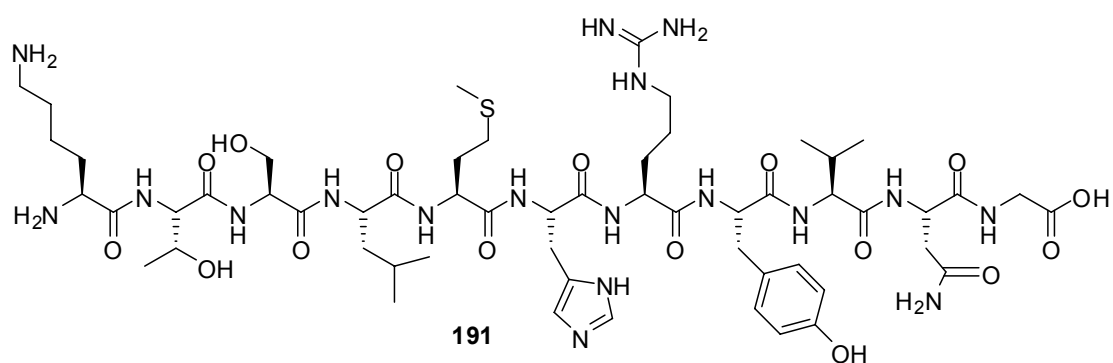
Gemäß der AAV 14-17 wurde das Peptid auf 169.0 mg Wang-Harz (theoretische Beladung: 0.98 mmol/g) synthetisiert. Nach Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe von Lysin wurde das Harz gewaschen (2 x DMF, 2 X DCM, 2 x MeOH) und im Hochvakuum getrocknet.

Von den resultierenden 413.3 mg des Harzes wurden 205.0 mg zur Abspaltung nach AAV 17 eingesetzt.

Es wurden insgesamt 124 mg (0.09 mmol, 57 % bezogen auf die theoretische Beladung des Harzes) eines weißen Feststoffes gewonnen.

$[\alpha]_D^{20}$ : -41.6 ° (c 1.9, H<sub>2</sub>O)

Schmp. 173-175 °C (Zers.)



**<sup>1</sup>H NMR, gCOSY, gHSQC, gHMBC (599.84 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 8.61 (br s, 1H, C<sub>arom.</sub> His), 7.15 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, C<sub>arom.</sub>-H Tyr), 6.83 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, C<sub>arom.</sub>-H Tyr), 4.76-4.70 (m, 1H, C<sub>α</sub>-H Asn), 4.65-4.62 (m, 2H, C<sub>α</sub>-H Arg, C<sub>α</sub>-H), 4.51 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, C<sub>α</sub>-H Ser), 4.44 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, C<sub>α</sub>-H Thr), 4.41 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.6, 5.9 Hz, C<sub>α</sub>-H), 4.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.4, 5.2 Hz, C<sub>α</sub>-H

Leu), 4.29 (dd, 1H,  $^3J = 8.0, 6.4$  Hz, C $_{\alpha}$ -H), 4.20-4.15 (m, 1H, C $_{\beta}$ -H Thr), 4.14 (t, 1H,  $^3J = 6.6$  Hz, C $_{\alpha}$ -H Met), 4.10 (d, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz, C $_{\alpha}$ -H Val), 4.00-3.99 (m, 2H, C $_{\alpha}$ -H Gly), 3.89-3.83 (m, 2H, C $_{\beta}$ -H Ser), 3.19-2.92 (m, 7H, C $_{\beta}$ -H His, C $_{\beta}$ -H Tyr, C $_{\delta}$ -H Arg, C $_{\epsilon}$ -H Lys), 2.87-2.81, 2.75-2.71 (2 x m, 2H, C $_{\beta}$ -H Asn), 2.59-2.54, 2.51-2.46 (2 x m, 2H, C $_{\gamma}$ -H Met), 2.09 (s, 3H, C $_{\delta}$ -H Met), 2.06-1.90 (m, 5H), 1.73-1.47 (m, 11H), 1.24 (d, 3H,  $^3J = 7.5$  Hz, C $_{\gamma}$ -H Thr), 0.94-0.87 (m, 12 H, C $_{\gamma}$ -H Val, C $_{\delta}$ -H Leu).

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 6.01$  min.

**ESI-MS:** ber. für C<sub>56</sub>H<sub>93</sub>N<sub>18</sub>O<sub>16</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 11305.6738  
gef. 1305.70.

MALDI TOF (DHB): m/z 1305.71

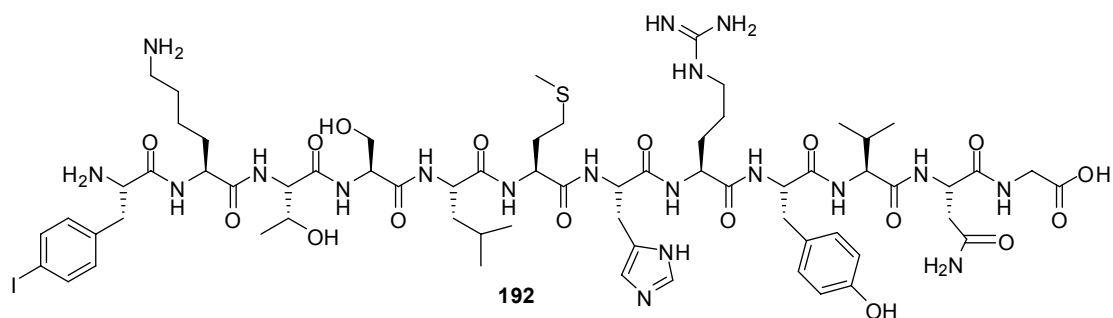
**L-(4-Iodphenylalanyl)-L-lysyl-L-threonyl-L-seryl-L-isoleucyl-L-methionyl-L-histidyl-L-arginyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-asparagyl-glycin (192)**

Das harzgebundene, vollständig geschützte Peptid **191** (206 mg Harz, ca. 0.09 mmol) wurde gemäß AAV 16 mit Fmoc-*para*-Iod-phenylalanin (Fmoc-I-Phe) umgesetzt. Nach Abspaltung der terminalen Fmoc-Gruppe wurde das Harz gewaschen (2 x DMF, 2 X DCM, 2 x MeOH) und im Hochvakuum getrocknet. Nach AAV 17 wurde vom Wang-Harz abgespalten.

Es wurden 91 mg (0.06 mmol, 66%) eines weißen Feststoffes erhalten.

$[\alpha]_D^{20}$ : +30.0 ° (c 1.33, H<sub>2</sub>O)

Schmp. 187-189 °C (Zers.)



**$^1\text{H NMR}$ , gCOSY, gHSQC, gHMBC (599.84 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 8.62 (br s, 1H,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$  His), 7.75 (d, 2H,  $^3J$  = 8.2 Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$  I-Phe), 7.17 (s, 1H,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$  His), 7.15 (d, 2H,  $^3J$  = 8.3 Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$  Tyr), 7.05 (d, 2H,  $^3J$  = 8.2 Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$  I-Phe), 6.83 (d, 2H,  $^3J$  = 8.5 Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$  Tyr), 4.74 (t, 1H,  $^3J$  = 5.4 Hz,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$  Asn), 4.66-4.63 (m, 2H,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$  Tyr,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$ ), 4.48 (t, 1H,  $^3J$  = 5.4 Hz,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$  Ser), 4.44 (dd, 1H,  $^3J$  = 7.9, 6.4 Hz,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$ ), 4.41 (dd, 1H,  $^3J$  = 8.7, 5.8 Hz,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$ ), 4.36 (d, 1H,  $^3J$  = 4.7 Hz,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$  Thr), 4.34-4.31 (m, 1H,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$ ), 4.28 (t, 1H,  $^3J$  = 7.2 Hz,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$  I-Phe), 4.25 (dd, 1H,  $^3J$  = 6.4 5.0 Hz,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}$  Thr), 4.10 (t,  $^3J$  = 7.0 Hz,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$  Val), 4.02-4.01 (m, 2H,  $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$  Gly), 3.92 (dd, 1H,  $^2J$  = 11.5 Hz,  $^3J$  = 5.5 Hz,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}_a$  Ser), 3.86 (dd, 1H,  $^2J$  = 11.5 Hz,  $^3J$  = 5.3 Hz,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}_b$  Ser), 3.31-3.05 (m, 7H,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}$  I-Phe,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}$  His,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}_a$  Tyr,  $\text{C}_{\delta}\text{-H}$  Arg), 2.99 (t, 2H,  $^3J$  = 7.5 Hz,  $\text{C}_{\epsilon}\text{-H}$  Lys), 2.97-2.92 (m, 1H,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}_b$  Tyr), 2.88-2.81, 2.76-2.72 (2 x m, 2H,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}$  Asn), 2.600-2.56, 2.52-2.47 (2 x m, 2H,  $\text{C}_{\gamma}\text{-H}$  Met), 2.10 (s, 3H,  $\text{C}_{\delta}\text{-H}$  Met), 2.05-1.96 (m, 3H,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}$  Val,  $\text{C}_{\beta}\text{-H}$  Met), 1.84-1.33 (m, 15H), 1.28 (d, 3H,  $^3J$  = 6.4 Hz,  $\text{C}_{\gamma}\text{-H}$  Thr), 0.94-0.88 (m, 12H,  $\text{C}_{\gamma}\text{-H}$  Val,  $\text{C}_{\delta}\text{-H}$  Leu).

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R$  = 5.31 min.

**ESI-MS:** ber. für  $\text{C}_{65}\text{H}_{101}\text{N}_{19}\text{O}_{17}\text{SI}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 1578.6388

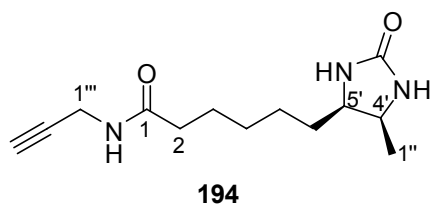
gef. 1578.62.

#### ***d*-Desthiobiotin-propargylamid (194)**

In einem Schlenk-Kolben wurden 97.22 mg (0.45 mmol) *d*-Desthiobiotin in 4.5 ml DMF gelöst und mit 176 mg (1.36 mmol) DIPEA, 345.7 mg (0.91 mmol)



HBTU und 100 mg (1.81 mmol) Propargylamin versetzt. Es wurde 16 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel am Hochvakuum entfernt. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mit 3 x 5 ml ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit DCM rückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt (166 mg) wurde blitzchromatographisch aufgereinigt (KG, 25 x 1 cm, DCM/MeOH 95 : 5 (v/v) + 0.1 % Net<sub>3</sub>), woraufhin ein bräunliches Öl erhalten wurde, das in Ethylacetat umkristallisiert wurde. Es wurden 55.0 mg (0.22 mmol, 48 %) farbloser kristalliner Plättchen gewonnen.



$R_f = 0.08$  in Aceton/Dichlormethan 7 : 3.

Schmp. 109-110 °C

$[\alpha]_D^{20} : +18.6^\circ$  ( $c$  0.73, CHCl<sub>3</sub>)

**<sup>1</sup>H NMR, gCOSY, gHSQC, gHMBC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 6.32$  (br s, 1H, 1-NH), 5.66 (br s, 1H, 1'-H oder 3'-H), 4.79 (br s, 1H, 1'-H oder 3'-H), 4.05 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 5.3$  Hz, 1'''-H<sub>a</sub>), 4.04 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 5.3$  Hz, 1'''-H<sub>b</sub>), 3.84 (dq, <sup>3</sup> $J = 7.0$ , 6.5 Hz, 5'-H), 3.73-3.68 (m, 1H, 4'-H), 2.23-2.16 (m, 2H, 2-H), 1.71-1.64 (m, 2H, 3-H), 1.50-1.25 (m, 6H, 4-H, 5-H, 6-H), 1.12 (d, 3H, <sup>3</sup> $J = 6.5$  Hz, 1''-H).

**<sup>13</sup>C NMR (100.70 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 172.6$  (s, C-1), 163.7 (s, C-2'), 80.0 (s, C-2'''), 71.3 (d, C-3'''), 56.0 (d, C-4'), 51.4 (d, C-5'), 35.6 (t, C-2), 29.4 (d, C-6), 29.0 (t, C-1'''), 28.4 (t, C-4), 25.7 (t, C-5), 25.0 (t, C-3), 15.8 (q, C-1'').

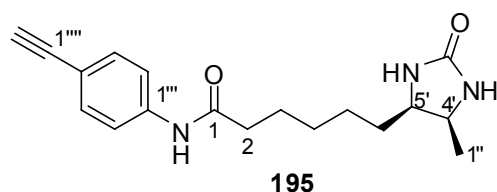
**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 7.01$  min,  $m/z$  252.2 [M+H]<sup>+</sup>.

**MS** (FAB)  $m/z$  252.1 [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS** (FAB) ber. für C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> 252.1712 [M+H]<sup>+</sup>, gef. 252.1734.

***d*-Desthiobiotin-(4-ethinylphenyl)amid (195)**

In einem Schlenk-Kolben wurden 50.8 mg (0.23 mmol) *d*-Desthiobiotin in 3 ml DMF gelöst und mit 54.2 mg (0.28 mmol) EDC-Hydrochlorid und 36.4 mg (0.30 mmol) DMAP versetzt und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Sodann wurden 61.6 mg (0.526 mg) 4-Ethinylanilin zugegeben, und es wurde 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Hochvakuum entfernt, der Rückstand wurde mit 5 ml DCM aufgenommen und mit ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wurde 4 x mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeignet. Das Rohprodukt (133 mg) wurde auf Celite aufgezogen und säulenchromatographisch gereinigt (KG, 10 g, 9 x 2 cm, DCM/ MeOH 95 : 5). Es wurden 61.6 mg (0.197 mmol, 83 %) eines weißen Feststoffes erhalten.



Schmp. 176-177 °C

R<sub>f</sub> = 0.42 in DCM/MeOH 9 : 1.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +4.7 ° (c 1.03, H<sub>2</sub>O/MeCN 1 : 1)

**<sup>1</sup>H NMR, gCOSY, gHSQC, gHMBC (400.45 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7.84 (br s, 1H, 1-NH), 7.53-7.50 (m, 2H, C<sub>arom.</sub>-H), 7.44-7.42 (m, 2H, C<sub>arom.</sub>-H), 3.91 (dq, <sup>3</sup>J = 7.8, 6.5 Hz, 5'-H), 3.78-3.72 (m, 1H, 4'-H), 3.03 (s, 1H, 2''-H), 2.37 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3, 2-H), 1.78-1.71 (m, 2H, 3-H), 1.54-1.26 (m, 6H, 4-H, 5-H, 6-H), 1.14 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, 1''-H).

**<sup>13</sup>C NMR (100.70 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 174.7 (s, C-1), 164.2 (s, C-2'), 138.6 (s, C-1'''), 132.9 (s, C-2''' oder C-3'''), 119.3 (s, C-2''' oder C-3'''), 117.6 (s, C-4'''), 83.4 (s, C-1''''), 56.4 (d, C-4'), 51.8 (d, C-5'), 36.9 (t, C-2), 29.3 (d, C-6), 28.5 (t, C-4), 25.7 (t, C-5), 25.0 (t, C-3), 15.6 (q, C-1'').

**LC-MS** (C18grav\_split4pos): t<sub>R</sub> = 8.39 min, m/z 314.17 [M+H]<sup>+</sup>.

**MS** (FAB) m/z 314.3 [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS** (FAB) ber. für C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> 314.1869 [M+H]<sup>+</sup>, gef. 314.1892.

### Sonogashira-Reaktion am Peptid 192

In einem typischen Experiment wurden 1 mg (0.63 μmol) des Peptids **192** in 300 μl Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Puffer (50-100 mM, pH 7.5) gelöst und mit 1.5 Äq. des jeweiligen Acetylen versetzt. Zu dieser Lösung wurde zunächst die jeweilige Menge einer 1 mM Lösung von Kupfer(I)iodid in MeCN gegeben, woraufhin sich eine klare Lösung bildete. Die Reaktion wurde durch Zugabe der jeweiligen Menge einer 2 mM Lösung von Tetrakis-(triphenylphosphinotrilsulfonsäure)palladium in H<sub>2</sub>O gestartet. Es wurde 16 h unter Argon bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Bestimmung des Umsatzes wurde die Reaktionslösung mit LC-MS untersucht (Säule C18 Nautilus, Gradient H<sub>2</sub>O/MeCN 100 : 0, 2 min, dann auf 100 % MeCN in 25 min).

Die Produkte wurden nicht isoliert, Ausbeuten wurden keine bestimmt.

### Peptid + Phenylacetylen 196a

**LC-MS** (ESI): ber. für C<sub>73</sub>H<sub>106</sub>N<sub>19</sub>O<sub>17</sub>S 1552.773 [M+H]<sup>+</sup>  
gef. 1552.7

**MALDI-TOF**: ber. für C<sub>73</sub>H<sub>106</sub>N<sub>19</sub>O<sub>17</sub>S 1552.773 [M+H]<sup>+</sup>  
gef. 1552.831

### Peptid + Anilinderivat 196c

**LC-MS** (ESI): ber. für C<sub>83</sub>H<sub>123</sub>N<sub>22</sub>O<sub>19</sub>S 1763.905 [M+H]<sup>+</sup>  
gef. 1764.7

**MALDI-TOF**: ber. für C<sub>83</sub>H<sub>123</sub>N<sub>22</sub>O<sub>19</sub>S 1763.905 [M+H]<sup>+</sup>  
gef. 1764.359

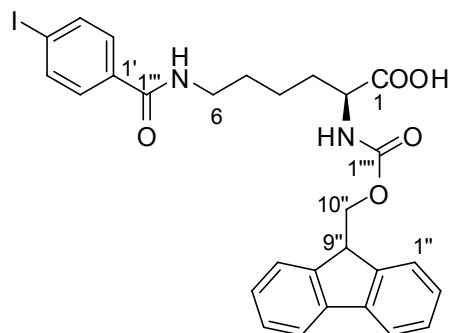
**Fmoc- $\gamma$ -(4-iodbenzoyl)-(L)-lysin 197**

*para*-Iodbenzoesäure (355.1 mg, 1.43 mmol) wurde unter Argon in 7 ml trockenem DMF gelöst und mit HOSu (165.4 mg, 1.44 mmol) und DCC (306.5 mg, 1.49 mmol) versetzt. Nach 20 min zeigte eine Trübung die vollständige Aktivierung der Säure an. Daraufhin wurden (L)-Fmoc-Lysin (350.9 mg, 0.95 mmol) und DIPEA (484  $\mu$ l, 370 mg, 2.9 mmol) zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 36 h wurde das Lösungsmittel am Vakuum entfernt, und das Rohprodukt wurde blitzchromatographisch gereinigt (1. Säule KG, 24 g, 17.5 x 2.5 cm, DCM + 1 % HCOOH auf DCM/MeOH 98 : 2 (v/v)+ 1 % HCOOH, 2. Säule KG, 20 x 2.5 cm, DCM/*tert*-butylalkohol (v/v) 98 : 2 + 1 % HCOOH auf DCM/*tert*-butylalkohol (v/v) 95 : 5 + 1 % HCOOH). Auf diese Weise konnten 205.7 mg (0.34 mmol, 36 %) eines weißen Feststoffes gewonnen werden.

$R_f = 0.33$  in DCM/*tert*-butylalkohol 95 : 5 (v/v).

Schmp. 132-134 °C.

$[\alpha]_D^{20} : +1.1^\circ$  (c 1.5, MeOH).



197

**$^1\text{H NMR}$ , gCOSY (400.45 MHz, MeOD):**  $\delta = 7.78\text{-}7.75$  (m, 4H, Fmoc-H), 7.66-7.62 (m, 2H, 2'-H oder 3'-H), 7.55 (d, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, Fmoc-H), 7.39-7.35 (m, 2H, Fmoc-H), 7.29-7.25 (m, 2H, 2'-H oder 3'-H), 4.50 (d, 2H,  $^3J = 7.0$  Hz, 10''-H), 4.38 (d, 1H,  $^3J = 6.9$  Hz, 9''-H), 4.38-4.32 (m, 1H, 2-H), 3.58-3.54 (m, 2H, 6-H), 2.13-2.04 (m, 1H, 3-H<sub>a</sub>), 1.77-1.69 (m, 1H, 3-H<sub>b</sub>), 1.68-1.43 (m, 4H, 4-H, 5-H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (100.71 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 176.0 (s, C-1), 169.4 (s, C-1'''), 158.7 (s, C-1''''), 142.6 (s, C-4a''), 138.8 (d, C-3'), 135.3 (s, C-1'), 130.0 (d, C-2'), 128.8 (d, C-2''), 128.2 (d, C-4''), 121.0 (d, C-1''), 99.0 (s, C-4'), 68.0 (t, C-10''), 55.2 (d, C-2), 40.8 (t, C-6), 32.5 (t, C-3 oder C-5), 30.0 (t, C-3 oder C-5), 24.4 (t, C-4).

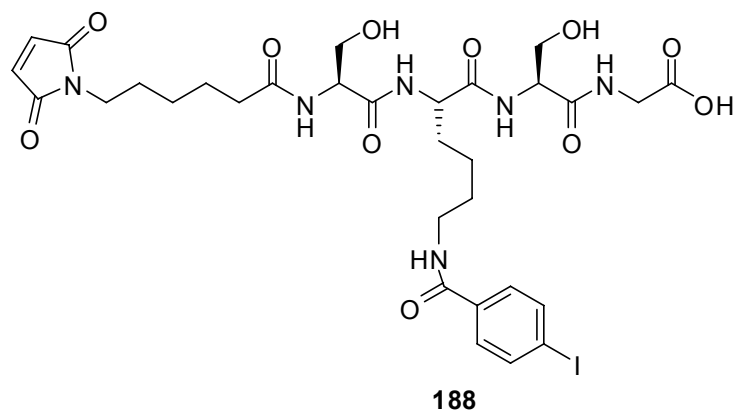
**MS (FAB)** m/z 599.1 [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS (FAB)** ber. für C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>I 599.1043 [M+H]<sup>+</sup>, gef. 599.1100.

**Maleimidocaproyl-L-seryl-N<sup>(6)</sup>-(4-iodbenzoyl)-L-lysyl-L-seryl-glycin (188)**

Das Peptid **188** wurde auf Wang-Harz synthetisiert. Dazu wurden 68.3 mg (0.082 mmol) Wang-Harz (Beladung 1.2 mmol/g) nach AAV 14 mit Fmoc-Gly-OH beladen, und die folgenden Fmoc-Abspaltungen und Peptid-Kupplungen wurden nach AAV 15 und AAV 16 mit den Aminosäuren Fmoc-Ser(O*tert.*-Bu)-OH und **197** durchgeführt. Abweichend vom Standard-Protokoll wurde die Reaktionszeit für 6-Maleimidocaproylsäure auf 3 h verdoppelt. Vor der Abspaltung wurde das Harz mit 2 x DMF, 7 x DCM und 2 x MeOH gewaschen und am Hochvakuum getrocknet. Die Abspaltung vom Harz (136.4 mg) nach AAV 17 wurde mit einer Lösung aus 50  $\mu\text{l}$  H<sub>2</sub>O und 50  $\mu\text{l}$  TES in 1900  $\mu\text{l}$  TFA durchgeführt. Das Peptid wurde mit Diethylether präzipitiert. Auf diese Weise wurden 60.7 mg (0.076 mmol, 93 %) eines weißen Feststoffes gewonnen.

Schmp. 173-175 °C (Zers.)



**$^1\text{H}$  NMR, gCOSY, TOCSY (400.45 MHz,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  = 8.47 (t, 1H,  $^3J$  = 5.5 Hz,  $\text{N}_\epsilon\text{-H}$  Los), 7.99 (d, 1H,  $^3J$  = 7.9 Hz,  $\text{N}_\alpha\text{-H}$  Lys), 7.96 (d, 1H,  $^3J$  = 6.0 Hz, N-H Gly), 7.88 (d, 1H,  $^3J$  = 7.7 Hz, N-H Ser), 7.86 (d, 1H,  $^3J$  = 7.0 Hz, N-H Ser), 7.83 (d, 2H,  $^3J$  = 8.5 Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 7.61 (d, 2H,  $^3J$  = 8.5 Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 6.99 (s, 2H, MIC-H), 4.35-4.24 (m, 3H,  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  Lys, 2 x  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  Ser), 3.75 (d, 2H,  $^3J$  = 5.7 Hz,  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  Gly), 3.59-3.51 (m, 4H,  $\text{C}_\beta\text{-H}$  Ser), 3.37 (t, 2H,  $^3J$  = 7.1 Hz,  $\text{C}_\epsilon\text{-H}$  MIC), 3.23-3.19 (m, 2H,  $\text{C}_\epsilon\text{-H}$  Lys), 2.11 (t,  $^3J$  = 7.4 Hz,  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  MIC), 1.79-1.70 (m, 1H,  $\text{C}_\beta\text{-H}_a$  Lys), 1.61-1.48 (m, 11H,  $\text{C}_\beta\text{-H}_b$  Lys,  $\text{C}_\gamma\text{-H}$  Lys,  $\text{C}_\delta\text{-H}$  Lys  $\text{C}_\beta\text{-H}$  MIC,  $\text{C}_\gamma\text{-H}$  MIC,  $\text{C}_\delta\text{-H}$  MIC).

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R$  = 7.91 min.

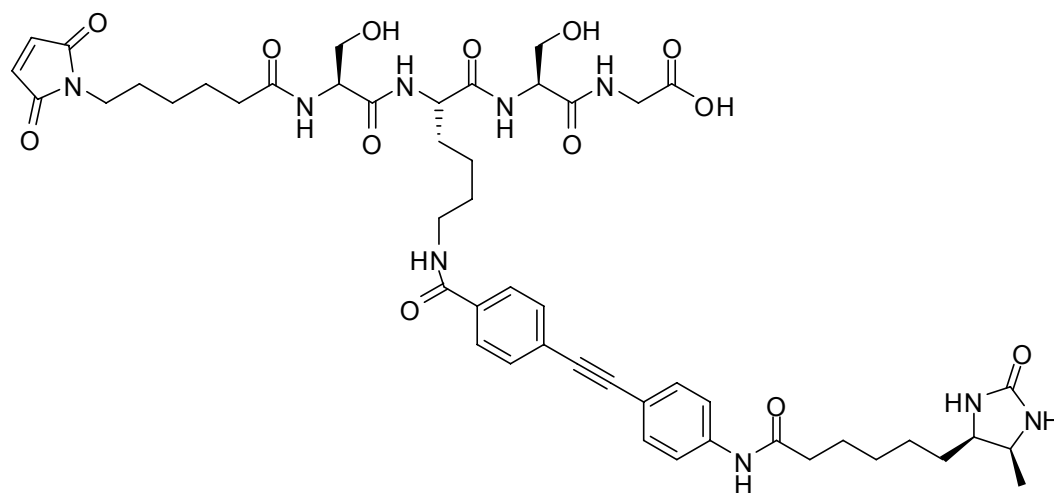
**ESI-MS:** ber. für  $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_{11}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 801.1956.  
gef. 801.04.

**Maleinimidocaproyl-L-seryl- $\text{N}^{(6)}$ -(4-(4-((4-(6-((4R,5S)-5-methyl-2-oxoimidazolidin-4-yl)hexanamido)phenyl)ethinyl)benzamidy)))-L-lysyl-L-seryl-glycin (198)**

In einem 10 ml Schlenk-Rohr wurde das Peptid **188** (8.1 mg, 10  $\mu\text{mol}$ ) vorgelegt und mit einer Lösung von 5 mg (16  $\mu\text{mol}$ , 1.6 Äq.) des Acetylens **195** in  $\text{H}_2\text{O}$  (1 ml) versetzt. Nach Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7.5, 250  $\mu\text{l}$ ),  $\text{CuI}$  (50mM in Acetonitril, 20  $\mu\text{l}$ , 1  $\mu\text{mol}$ ) und  $\text{Pd}(\text{TPPTS})_4$  (10 mM in  $\text{H}_2\text{O}$ ,

100  $\mu\text{l}$ , 1  $\mu\text{mol}$ ) wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt, woraufhin die Lösung eine leichte Trübung annahm.

Zur Aufreinigung des Reaktionsproduktes wurde zunächst mit 700  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt und dann durch eine C18-Kartusche eluiert ( $\text{H}_2\text{O}/\text{Acetonitril}$  55/45). Die so erhaltenen Fraktionen wurden am Vakuum eingengt und über Nacht lyophilisiert. Mittels präparativer HPLC (C18-Säule), konnten 8.5 mg (8.6  $\mu\text{mol}$ , 85 %) des Produktes **198** als gelblicher Film isoliert werden.

**198**

**$^1\text{H}$  NMR, gCOSY, TOCSY (400.45 MHz,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  = 10.07 (s, 1H, N-H), 8.59 (t, 1H,  $^3J = 5.6$  Hz,  $\text{N}_\epsilon\text{-H}$  Lys), 8.05 (d, 1H,  $^3J = 7.9$  Hz,  $\text{N}_\alpha\text{-H}$  Lys), 7.95-7.87 (m, 3H, 3 x N-H), 7.88 (d, 2H,  $^3J = 8.6$  Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 7.73-7.69 (m, 2H, 2 x N-H), 7.62 (d, 2H,  $^3J = 7.6$  Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 7.58 (d, 2H,  $^3J = 8.6$  Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 7.50 (d, 2H,  $^3J = 8.6$  Hz,  $\text{C}_{\text{arom.}}\text{-H}$ ), 6.98 (s, 2H, MIC-H), 4.35 (dd,  $^3J = 13.4$ , 5.8 Hz, 1 x  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  Ser), 4.31-4.22 (m, 1H, 1 x  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  Ser), 4.14 (dd,  $^3J = 5.7$ , 3.2 Hz,  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  Lys), 3.67-3.20 (m, 12H,  $\text{C}_\epsilon\text{-H}$  MIC,  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  Gly,  $\text{C}_\beta\text{-H}$  Ser,  $\text{C}_\epsilon\text{-H}$  Lys, 4'-H, 5'-H), 2.32 (t, 2H,  $^3J = 6.9$  Hz, 2-H), 2.11 (t, 2H,  $^3J = 7.4$  Hz,  $\text{C}_\alpha\text{-H}$  MIC), 1.81-1.72 (m, 1H,  $\text{C}_\beta\text{-H}_a$  Lys), 1.65-1.17 (m, 19H), 0.96 (d, 3H,  $^3J = 6.5$  Hz, 1''-H).

**LC-MS** (C18grav\_split4pos):  $t_R = 7.42$  min.

**ESI-MS:** ber. für  $\text{C}_{49}\text{H}_{64}\text{N}_9\text{O}_{13}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 986.4624.  
gef. 986.4.

### **Ligation von MIC-Peptiden an <sup>1-181</sup>N-Ras**

Die Peptide **188** oder **198** wurden als Lösungen in Wasser/Acetonitril (20-40 mM, max. 10 % Acetonitril) eingesetzt. Das N-Ras-Protein lag als 25-50 mg/ml Lösung in einem Puffer (50 mM TRIS pH 7.0, 0.1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 M NaCl, 2 M GDP) vor. In einem typischen Ansatz wurden 5-10 mg (~0.4 µmol) Protein und 1.5-2 Äq. des jeweiligen Peptids eingesetzt. Bei Auftreten eines Niederschlags wurde dieser mit bis zu 2 vol% Triton X-100 gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde zentrifugiert (1 min 13000 rpm), um ausgefallenes Protein und Peptid zu beseitigen.

Das Rohprodukt der Ligation wurde auf eine Niederdruck-DEAE-Gelfiltrationssäule (FPLC-System) aufgetragen und mit 20 mM TRIS/HCl pH 7.4, 5 mM MgCl<sub>2</sub> in einem linearen Gradienten eluiert. Die so erhaltenen Protein-Fractionen wurden schließlich auf eine Konzentration von 20-40 g/l gebracht.

### **Sonogashira-Reaktion an Ypt7Δ7Cys-iodo oder <sup>1-181</sup>N-Ras-MIC-iodo**

In einem typischen Experiment wurden 0.15-0.2 µmol (ca. 3-4 mg) des jeweiligen Proteins, gelöst in H<sub>2</sub>O (YPT7) oder TRIS-Puffer pH 7.6) mit 20 Äq. des Acetylens **195** (ca. 1.1 mg, 3.5 µmol) versetzt. Zu dieser Lösung wurden 30-90 µl Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Puffer pH 7.5 pipettiert. Anschließend wurden 10 Äq. (ca. 87 µl) einer 10 mM Lösung von Pd(TPPTS)<sub>4</sub> in H<sub>2</sub>O und 10 Äq. (18 µl) einer 50 mM Lösung von Kupfer(I)iodid in MeCN gegeben. Es wurde mit Argon überschichtet und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert.

### **Aufreinigung des Proteins 200 an Streptactin-Beads**

Zur Detektion der Desthiobiotin-markierten Proteine wurden 100 µl der Streptactin-Beads (IBA GmbH, Göttingen) 5 min abzentrifugiert und 3 x in Puffer W (100 mM Tris/HCl pH 7.6, 1 mM EDTA, 2 mM DTT) gewaschen. Das Pellet wurde in 50 µl Puffer resuspendiert und mit 10 µl der Proteinlösung versetzt. Es wurde über Nacht bei 4 C inkubiert. Dann wurde zentrifugiert, und



das Pellet mit 100  $\mu$ l Puffer W aufgenommen. Diese Waschprozedur wurde dreimal durchgeführt.

Zur Elution der gebundenen Anteile wurde das abzentrifugierte Pellet mit Puffer R (Puffer W mit 1 mM 2-(4-Hydroxyphenylazo)benzoesäure) aufgenommen. Dieser Schritt wurde dreimal durchgeführt.

Die auf diese Weise erhaltenen Fraktionen wurden mittels SDS-PAGE und Western-Blot analysiert.



## 6 Literaturverzeichnis

- [1.] D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader, *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 1022-1037.
- [2.] F. E. Koehn, G. T. Carter, *Nature Rev. Drug Discovery* **2005**, 4, 206-220.
- [3.] M. Feher, J. M. Schmidt, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* **2003**, 43, 218-227.
- [4.] R. Breinbauer, I. R. Vetter, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2879-2890.
- [5.] A. G. Murzin, S. E. Brenner, T. Hubbard, C. Chothia, *J. Mol. Biol.* **1995**, 247, 536-540.
- [6.] M. A. Koch, A. Schuffenhauer, M. Scheck, S. Wetzel, M. Casaulta, A. Odermatt, P. Ertl, H. Waldmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, 102, 17272-17277.
- [7.] M. A. Koch, H. Waldmann, *Drug Discovery Today* **2005**, 10, 471-483.
- [8.] R. E. Dolle, B. LeBourdonnec, G. A. Morales, K. J. Moriarty, J. M. Salvino, *J. Comb. Chem* **2006**, 8, 597-635.
- [9.] S. Y. Ko, A. W. M. Lee, S. Masamune, L. A. Reed, K. B. Sharpless, F. J. Walker, *Science* **1983**, 220, 949-951.
- [10.] L. F. Tietze, N. Rackelmann, G. Sekar, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 4254-4257.
- [11.] S. Dandapani, M. Jeske, D. P. Curran, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, 101, 12008-12012.
- [12.] D. P. Curran, G. Moura-Letts, M. Pohlman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 2423-2426.
- [13.] *Dictionary of Natural Products*. Version 15:1. Chapman & Hall / CRC Informa., **2006**.
- [14.] J. B. Tunac, B. D. Graham, W. E. Dobson, *J. Antibiot.* **1983**, 36, 1595-1600.
- [15.] D. L. Boger, S. Ichikawa, W. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 4161-4167.
- [16.] D. S. Lewy, C. M. Gauss, D. R. Soenen, D. L. Boger, *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 2005-2032.

- [17.] R. S. de Jong, N. H. Mulder, D. R. A. Uges, D. T. Sleijfer, F. J. P. Hoppener, H. J. M. Groen, P. H. B. Willemse, W. T. A. van der Graaf, E. G. E. de Vries, *Br. J. Cancer* **1999**, *79*, 882-887.
- [18.] S. B. Buck, C. Hardouin, S. Ichikawa, D. R. Soenen, C. M. Gauss, I. Hwang, M. R. Swingle, K. M. Bonness, R. E. Honkanen, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15694-15695.
- [19.] K. Maki, R. Motoki, K. Fujii, M. Kanai, T. Kobayashi, S. Tamura, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17111-17117.
- [20.] T. Teruya, S. Simizu, N. Kanoh, H. Osada, *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 2463-2468.
- [21.] D. E. Chavez, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3667-3670.
- [22.] Y. K. Reddy, J. R. Falck, *Organic Letters* **2002**, *4*, 969-971.
- [23.] B. M. Trost, M. U. Frederiksen, J. P. N. Papillon, P. E. Harrington, S. Shin, B. T. Shireman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3666-3667.
- [24.] C. Drahl, B. F. Cravatt, E. J. Sorensen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5788-5809.
- [25.] E. S. Newlands, G. J. S. Rustin, M. H. Brampton, *Br. J. Cancer* **1996**, *74*, 648-649.
- [26.] S. Kobayashi, K. Tsuchiya, T. Harada, M. Nishide, T. Kurokawa, T. Nakagawa, N. Shimada, K. Kobayashi, *J. Antibiot. (Tokyo)* **1994**, *47*, 697-702.
- [27.] K. Yasui, Y. Tamura, T. Nakatani, K. Kawada, M. Ohtani, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7567-7574.
- [28.] G. E. Keck, C. E. Knutson, S. A. Wiles, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 707-710.
- [29.] X. Shen, A. S. Wasmuth, J. Zhao, C. Zhu, S. G. Nelson, *J. Am. Chem Soc.* **2006**, *128*, 7438-7439.
- [30.] M. Kondoh, T. Usui, S. Kobayashi, K. Tsuchiya, K. Nishikawa, T. Nishikiori, T. Mayumi, H. Osada, *Cancer Lett.* **1998**, *126*, 29-32.
- [31.] M. Kondoh, T. Usui, T. Nishikiori, T. Mayumi, H. Osada, *Biochem. J.* **1999**, *340 ( Pt 2)*, 411-416.
- [32.] T. Usui, H. Watanabe, H. Nakayama, Y. Tada, N. Kanoh, M. Kondoh, T. Asao, K. Takio, H. Watanabe, K. Nishikawa, T. Kitahara, H. Osada, *Chem Biol.* **2004**, *11*, 799-806.
- [33.] K. Jewers, G. Blunden, S. Wetchapi, J. Dougan, A. H. Manchand, J. B. Davis, A. Kyi, *Phytochemistry* **1972**, *11*, 2025-2030.

- [34.] A. de Fatima, L. K. Kohn, J. E. de Carvalho, R. A. Pilli, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 622-631.
- [35.] A. de Fatima, L. K. Kohn, M. A. Antonio, J. E. de Carvalho, R. A. Pilli, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2927-2933.
- [36.] T. Lessmann, H. Waldmann, *Chem. Commun.* **2006**, 3380-3389.
- [37.] O. Barun, S. Sommer, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3195-3199.
- [38.] I. Paterson, M. Donghi, K. Gerlach, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3315-3319.
- [39.] I. Paterson, D. Gottschling, D. Menche, *Chem. Commun.* **2005**, 3568-3570.
- [40.] J. S. Panek, B. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12022-12023.
- [41.] C. M. DiBlasi, D. E. Macks, D. S. Tan, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1777-1780.
- [42.] J. W. A. Kinnaird, P. Y. Ng, K. Kubota, X. L. Wang, J. L. Leighton, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7920-7921.
- [43.] R. A. Stavenger, S. L. Schreiber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3417-3421.
- [44.] J. M. Xie, P. G. Schultz, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 548-554.
- [45.] B. Bader, K. Kuhn, D. J. Owen, H. Waldmann, A. Wittinghofer, J. Kuhlmann, *Nature* **2000**, *403*, 223-226.
- [46.] T. W. Muir, *Annu. Rev. Biochem.* **2003**, *72*, 249-289.
- [47.] J. M. Antos, M. B. Francis, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 253-262.
- [48.] J. M. Antos, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10256-10257.
- [49.] S. D. Tilley, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1080-1081.
- [50.] J. M. McFarland, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13490-13491.
- [51.] Q. Wang, T. R. Chan, R. Hilgraf, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, M. G. Finn, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3192-3193.
- [52.] A. J. Link, D. A. Tirrell, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11164-11165.
- [53.] A. Deiters, T. A. Cropp, M. Mukherji, J. W. Chin, J. C. Anderson, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11782-11783.

- [54.] N. Pinault, D. W. Bruce, *Coordination Chemistry Reviews* **2003**, 241, 1-25.
- [55.] H. Dibowski, F. P. Schmidtchen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 476-478.
- [56.] D. T. Bong, M. R. Ghadiri, *Org. Lett.* **2001**, 3, 2509-2511.
- [57.] M. Kaiser, C. Siciliano, I. Assfalg-Machleidt, M. Groll, A. G. Milbradt, L. Moroder, *Org. Lett.* **2003**, 5, 3435-3437.
- [58.] U. S. Racherla, H. C. Brown, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 401-404.
- [59.] H. C. Brown, K. S. Bhat, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 5919-5923.
- [60.] S. Bolshakov, J. L. Leighton, *Org. Lett.* **2005**, 7, 3809-3812.
- [61.] S. Sommer, *Dissertation*, Universität Dortmund **2005**.
- [62.] W. R. Roush, A. E. Walts, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 3427-3430.
- [63.] V. Mamane, A.B. García, J. D. Umarye, T. Leßmann, S. Sommer, H. Waldmann, **2006**, zur Publikation eingereicht.
- [64.] M. J. Farrall, J. M. J. Frechet, *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 3877-3882.
- [65.] H. E. Blackwell, P. A. Clemons, S. L. Schreiber, *Org. Lett.* **2001**, 3, 1185-1188.
- [66.] J. A. Tallarico, K. M. Depew, H. E. Pelish, N. J. Westwood, C. W. Lindsley, M. D. Shair, S. L. Schreiber, M. A. Foley, *J. Comb. Chem* **2001**, 3, 312-318.
- [67.] L. A. Thompson, F. L. Moore, Y. C. Moon, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 2066-2067.
- [68.] S. K. Shannon, G. Barany, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 4586-4594.
- [69.] K. A. Savin, J. C. G. Woo, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 4183-4186.
- [70.] A. K. Ghosh, Y. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 11027-11028.
- [71.] A. Furstner, K. Langemann, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 9130-9136.
- [72.] Y. Chauvin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3740-3747.
- [73.] R. H. Grubbs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3760-3765.
- [74.] R. R. Schrock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3748-3759.

- [75.] A. R. Chianese, X. W. Li, M. C. Janzen, J. W. Faller, R. H. Crabtree, *Organometallics* **2003**, *22*, 1663-1667.
- [76.] C. Adlhart, P. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3496-3510.
- [77.] B. F. Straub, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5974-5978.
- [78.] A. H. Hoveyda, D. G. Gillingham, J. J. Van Veldhuizen, O. Kataoka, S. B. Garber, J. S. Kingsbury, J. P. A. Harrity, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 8-23.
- [79.] E. J. Corey, A. Venkates, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6192.
- [80.] Y. Takeda, Y. Okada, T. Masuda, E. Hirata, A. Takushi, H. Otsuka, *Phytochemistry* **1998**, *49*, 2565-2568.
- [81.] S. E. Drewes, M. M. Horn, R. S. Shaw, *Phytochemistry* **1995**, *40*, 321-323.
- [82.] J. O. Andrianaivoravelona, S. Sahpaz, C. Terreaux, K. Hostettmann, H. Stoeckli-Evans, J. Rasolondramanitra, *Phytochemistry* **1999**, *52*, 265-269.
- [83.] S. Baktharaman, S. Selvakumar, V. K. Singh, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7527-7529.
- [84.] D. Enders, D. Steinbusch, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4450-4454.
- [85.] S. D. Garaas, T. J. Hunter, G. A. O'Doherty, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2682-2685.
- [86.] Y. Mori, M. Suzuki, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1990**, 1809-1812.
- [87.] M. V. R. Reddy, A. J. Yucel, P. V. Ramachandran, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2512-2514.
- [88.] G. Solladie, L. Gressot-Kempf, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 2371-2379.
- [89.] G. E. Raelison, C. Terreaux, E. F. Queiroz, F. Zsila, M. Simonyi, S. Antus, A. Randriantsoa, K. Hostettmann, *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 3470-3476.
- [90.] C. V. Ramana, B. Srinivas, V. G. Puranik, M. K. Gurjar, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8216-8219.
- [91.] S. E. Denmark, J. P. Fu, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2763-2793.
- [92.] M. Kurosu, M. T. Lorca, *Synlett* **2005**, 1109-1112.
- [93.] H. Hanawa, D. Uruguchi, S. Konishi, T. Hashimoto, K. Maruoka, *Chem. -Eur. J.* **2003**, *9*, 4405-4413.

- [94.] H. Hanawa, T. Hashimoto, K. Maruoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1708-1709.
- [95.] J. Nokami, K. Nomiyama, S. Matsuda, N. Imai, K. Kataoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1273-1276.
- [96.] S. D. Rychnovsky, B. Rogers, G. Yang, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3511-3515.
- [97.] L. Bialy, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3814-3839.
- [98.] L. Bialy, H. Waldmann, *Chem. -Eur. J.* **2004**, *10*, 2759-2780.
- [99.] L. Bialy, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1748-1751.
- [100.] L. Bialy, H. Waldmann, *Chem. Commun.* **2003**, 1872-1873.
- [101.] C. S. Allardyce, A. Dorcier, C. Scolaro, P. J. Dyson, *Appl. Organomet. Chem.* **2005**, *19*, 1-10.
- [102.] J. Deinum, M. Wallin, P. W. Jensen, *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, *838*, 197-205.
- [103.] J. Deinum, M. Wallin, M. Kanje, C. Lagercrantz, *Biochim. Biophys. Acta* **1981**, *675*, 209-213.
- [104.] C. Streu, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5645-5648.
- [105.] U. Bhatt, M. Christmann, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1885-1893.
- [106.] M. Christmann, U. Bhatt, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4364-+.
- [107.] M. Quitschalle, M. Christmann, U. Bhatt, M. Kalesse, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1263-1265.
- [108.] K. Mikami, Y. Motoyama, M. Terada, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2812-2820.
- [109.] G. E. Keck, X. Y. Li, D. Krishnamurthy, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5998-5999.
- [110.] A. G. Dossetter, T. F. Jamison, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2398-2400.
- [111.] D. Brohm, N. Philippe, S. Metzger, A. Bhargava, O. Muller, F. Lieb, H. Waldmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13171-13178.
- [112.] B. Wang, X. Feng, Y. Huang, H. Liu, X. Cui, Y. Jiang, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2175-2182.



- [113.] A. Korostylev, V. I. Tararov, C. Fischer, A. Monsees, A. Börner, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3220-3221.
- [114.] D. J. Cram, R. C. Helgeson, S. C. Peacock, L. J. Kaplan, L. A. Domeier, P. Moreau, K. Koga, J. M. Mayer, Y. Chao, M. G. Siegel, D. H. Hoffman, G. D. Y. Sogah, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1930-1946.
- [115.] G. Desimoni, G. Faita, K. A. Jorgensen, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3561-3651.
- [116.] D. A. Evans, S. W. Tregay, C. S. Burgey, N. A. Paras, T. Vojkovsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7936-7943.
- [117.] K. A. Jorgensen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3558-3588.
- [118.] A. K. Ghosh, M. Packiarajan, J. Cappiello, K. Krishnan, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 2165-2168.
- [119.] M. Johannsen, K. A. Jorgensen, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7321-7328.
- [120.] M. Kurosu, J. R. Porter, M. A. Foley, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 145-148.
- [121.] R. Ian Storer, D. W. C. MacMillan, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7705-7714.
- [122.] A. I. Meyers, R. C. Strickla, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2579-2583.
- [123.] M. F. Gordeev, G. W. Luehr, H. C. Hui, E. M. Gordon, D. V. Patel, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 15879-15890.
- [124.] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277-7287.
- [125.] S. V. Ley, J. Norman, W. P. Griffith, S. P. Marsden, *Synthesis* **1994**, 639-666.
- [126.] C. X. Chen, L. A. A. Randall, R. B. Miller, A. D. Jones, M. J. Kurth, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 6595-6609.
- [127.] M. A. Marx, A. L. Grillot, C. T. Louer, K. A. Beaver, P. A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6153-6167.
- [128.] K. C. Nicolaou, N. Winssinger, J. Pastor, S. Ninkovic, F. Sarabia, Y. He, D. Vourloumis, Z. Yang, T. Li, P. Giannakakou, E. Hamel, *Nature* **1997**, *387*, 268-272.
- [129.] R. D. Clark, C. H. Heathcock, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 1396-1403.
- [130.] A. L. Marzinzik, E. R. Felder, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 723-727.
- [131.] U. Sensfuss, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2371-2374.
- [132.] K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4467-4470.

- [133.] L. Wang, P. G. Schultz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 34-66.
- [134.] J. M. Xie, L. Wang, N. Wu, A. Brock, G. Spraggon, P. G. Schultz, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 1297-1301.
- [135.] J. D. Hirsch, L. Eslamizar, B. J. Filanoski, N. Malekzadeh, R. P. Haugland, J. M. Beechem, R. P. Haugland, *Anal. Biochem.* **2002**, *308*, 343-357.
- [136.] A. Skerra, T. G. M. Schmidt, *Biomol. Eng.* **1999**, *16*, 79-86.
- [137.] A. Wittinghofer, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4193-4214.
- [138.] M. Wind, I. Feldmann, N. Jakubowski, W. D. Lehmann, *Electrophoresis* **2003**, *24*, 1276-1280.
- [139.] K. Kodama, S. Fukuzawa, H. Nakayama, T. Kigawa, K. Sakamoto, T. Yabuki, N. Matsuda, M. Shirouzu, K. Takio, K. Tachibana, S. Yokoyama, *Chembiochem* **2006**, *7*, 134-139.
- [140.] M. Shimizu, M. Kimura, Y. Tamaru, *Chem. -Eur. J.* **2005**, *11*, 6629-6642.
- [141.] M. Stratakis, R. Nencka, C. Rabalakos, W. Adam, O. Krebs, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8758-8763.
- [142.] G. E. Keck, D. Krishnamurthy, *Organic Syntheses, Vol 75* **1998**, *75*, 12-18.
- [143.] A. Gomezsanchez, I. Maya, I. Hermosin, *Carbohydrate Research* **1990**, *200*, 167-180.
- [144.] I. W. Davies, C. H. Senanayake, R. D. Larsen, T. R. Verhoeven, P. J. Reider, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 813-814.
- [145.] S. S. C. Koch, A. R. Chamberlin, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2725-2737.

## **7 Anhang**

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Herbert Waldmann danke ich herzlich für die interessante Themenstellung, anregende Diskussionen und die Freiheit bei der Durchführung dieser Arbeit, sowie für die Bereitstellung hervorragender Arbeitsbedingungen.

Für die Einarbeitung in die in dieser Arbeit behandelten Themen danke ich Dr. Luc Brunsveld, Dr. Michele Leuenberger und Dr. Victor Mamane. Allen, die zum Erfolg dieser Projekte beigetragen haben, sei ebenfalls gedankt: Anja Watzke, Thomas Durek, Christine Nowak, Dr. Ana B. García, Dr. Jayant D. Umayre.

Ein herzlicher Dank gilt allen Mitarbeitern am Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie und an der Universität Dortmund, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Hervorzuheben sind hier Dr. Petra Janning für Hilfe in allen analytischen Fragestellungen, Sandra Hippler und Christiane Heitbrink für die Aufnahme von Massenspektren sowie Heike Rimpel für die Durchführung der Phosphatase-Assays. Dr. N. Jakubowski und I. Feldmann am ISAS Dortmund sei für die LA-ICP-MS Messungen gedankt.

Allen Mitarbeitern in der Abteilung Chemische Biologie am Max-Planck-Institut Dortmund möchte ich für die freundschaftlich-kollegiale Arbeitsatmosphäre danken. Dies gilt insbesondere für meine Laborkolleginnen Elke Simon, Stefanie Schlummer, Svenja Röttger, Karoline Obstoj, Tanja Knoth und Dr. Ester Vaz Araujo.

Im großen Kommen und Gehen waren mir besonders Matthias Riedrich, Catherine Katzka, Nicola Bisek, Olaf Köhler, Sebastian Koch und Lars Arve wichtige Freunde, denen ich für bleibende Erinnerungen an gemeinsame Unternehmungen in Dortmund dankbar bin.

Für das zügige Korrigieren dieser Arbeit geht ein herzlicher Dank an Matthias Riedrich, Nicola Bisek und Lars Arve.

Ich danke ganz besonders meinen Eltern für die fortwährende Unterstützung während all der Jahre der Promotion und des Studiums.

Schließlich danke ich von ganzem Herzen Verena für ihre unendliche Geduld und liebevolle Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit.

---

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name Torben Leßmann  
Geburtsdatum und -ort 28. April 1976 in Hamburg  
Familienstand ledig

### Schulbildung

08/1982-07/1992 Albert-Schweitzer-Schule, Hamburg  
08/1992-07/1995 Albert-Schweitzer-Gymnasium, Hamburg  
21.06.1995 Abitur

### Zivildienst

08/1995-09/1996 Winterhuder Werkstätten für Behinderte, Hamburg

### Universitätsausbildung

10/1996-09/1998 Grundstudium Chemie, Eberhard Karls Universität  
Tübingen  
10/1998-09/2002 Hauptstudium Chemie, Ruprecht-Karls-Universität  
Heidelberg  
10/1999-03/2000 Erasmus-Semester, Università degli studi di  
Padova, Italien  
12/2001-8/2002 Diplomarbeit im Arbeitskreis von Prof. Dr. G.  
Helmchen: *Versuche zur Synthese neuer chiraler  
Liganden mit Phosphinit- oder Phosphonit-Donor-  
Zentren.*  
19.08.2002 Diplom in Chemie  
12/2002-12/2006 Promotion im Arbeitskreis von Prof. Dr. H.  
Waldmann am Max-Planck-Institut für Molekulare  
Physiologie, Dortmund: *Stereoselektive Synthese  
von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\delta$ -Laktonen an der festen  
Phase und Protein-Modifikationen durch Palladium-  
Katalyse.*

Dortmund, Dezember 2006.

## **Eidstattliche Erklärung**

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe.

Dortmund, 13.12.2006

Torben Leßmann