

Totalsynthese und intensive SAR-Studien

von (-)-Englerin A

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

der Fakultät Chemie der Technischen Universität Dortmund

von

Diplom-Chemikerin LEA RADTKE

aus Bochum

2012

Diese Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Mathias Christmann im Fachbereich Chemie der Technischen Universität Dortmund im Zeitraum zwischen Oktober 2009 und August 2012 angefertigt.

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. Mathias Christmann
2. Gutachter: Herr Prof. Dr. Herbert Waldmann

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

1. M. Willot, L. Radtke, D. Könnig, R. Fröhlich, V. H. Gessner, C. Strohmann, M. Christmann, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9269-9272; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9105-9108.
2. L. Radtke, M. Willot, H. Sun, S. Ziegler, S. Sauerland, C. Strohmann, R. Fröhlich, P. Habenberger, H. Waldmann, M. Christmann, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 4084-4088; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3998-4002.
3. M. Christmann, H. Waldmann, L. Radtke, M. Willot, S. Ziegler, H. Sun, EP Patent 2474550 A1, Appl. Nr. 10075763.2 (2012).

Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass die vorliegende Arbeit ohne Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer, als der hier angegebenen Hilfsmitteln angefertigt wurde; die aus den Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt. Es haben bisher keine Promotionsverfahren stattgefunden.

Lea Radtke

Inhalt

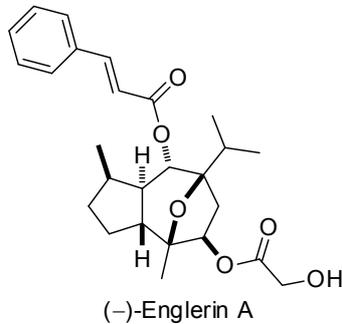
1. Einleitung	1
1.1 Nierenkrebs.....	1
1.2 Englerin A und dessen biologische Aktivität	3
1.3 Biosynthese des Grundgerüsts von Englerin A	5
1.4 Totalsynthesen von Englerin A	6
1.4.1 Totalsynthese nach <i>Christmann et al</i>	6
1.4.2 Totalsynthesen nach <i>Echavarren</i> und <i>Ma</i>	9
1.4.3 Totalsynthese von racemischem Englerin A und formale asymmetrische Synthese nach <i>Nicolaou</i> und <i>Chen</i>	14
1.4.4 Enantioselektive Totalsynthese nach <i>Chain</i>	17
1.5 Synthetische Ansätze und Formalsynthesen.....	19
1.5.1 Synthetischer Ansatz nach <i>Maier et al.</i>	19
1.5.2 Formalsynthese nach <i>Theodorakis</i>	22
1.5.3 Organokatalytischer Syntheseansatz nach <i>Lin</i>	25
1.5.4 Asymmetrische Formalsynthese nach <i>Parker</i>	28
1.5.5 Formalsynthese durch reduktive <i>Heck</i> -Reaktion nach <i>Cook</i>	29
1.6 Derivatisierung von Naturstoffen	32
1.6.1 Derivatisierung von Englerin A.....	34
1.6.1.1 Biologische Untersuchungen von <i>Nicolaou</i> und <i>Chen</i>	34
1.6.1.2 Biologische Untersuchungen von Englerin A und dessen Derivaten nach <i>Chen</i> ...	36
1.6.1.3 Biologische Aktivität von (-)-9-Desoxy-Englerin A nach <i>Maier</i>	39
1.6.1.4 Biologische Aktivität der chlorierten Englerin A-Derivate nach <i>Beutler</i>	40
1.6.1.5 Biologische Aktivität des bicyclischen Englerin A-Derivates nach <i>Theodorakis</i> ..	41
2. Zielsetzung	44
3. Synthetischer Teil.....	46
3.1 Scale up-Prozess und Optimierung der Synthese	46
3.2 Derivatisierung von Englerin A.....	53
3.2.1 Synthese der Derivate	53
3.3. SAR-Studie I.....	60
3.3.1 Biologische Aktivität der Derivate durch Austausch des Zimtsäureesters	60
3.3.2 Biologische Aktivität der Derivate durch Austausch des Glykolsäureesters.....	63

3.3.3 Biologische Aktivität der Derivate mit unterschiedlichen Resten am Guaian-Grundgerüst.....	65
3.4 Schlussfolgerung der Derivatisierung	66
3.5 SAR-Studie II	67
3.5.1 Synthese der Derivate	67
3.5.2 Biologische Aktivität der Derivate	71
3.5.3 Schlussfolgerung der Derivatisierung.....	73
3.6 Synthese der 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazole für die Affinitätschromatographie.....	74
3.6.1 Cu ^I -katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC, Klick-Chemie).....	74
3.6.2 Die Synthese von BODIPY-FL	78
3.6.3 Photoaffinitätsmarkierung	81
3.6.4 Zelluläre Lokalisierungsstudien von Englerin A.....	87
4. Methoden zur Zielprotein-Identifizierung.....	88
5. Zusammenfassung und Ausblick	91
6. Experimenteller Teil.....	94
6.1 Allgemein	94
6.2 Synthese der Verbindungen	95
6.2.1 Übersicht über das Scale up.....	95
6.3 Synthese der Derivate.....	99
6.3.1 Variation des Zimtsäureesters	99
6.3.1.1 Allgemeine Vorschrift für die Synthese des Esters 200	99
6.3.1.2 Allgemeine Vorschrift für die Synthese von Alkohol 201	100
6.3.1.3 Allgemeine Vorschrift für die Synthese von Ester 202	100
6.3.1.4 Allgemeine Vorschrift für die Synthese der Verbindungen 203-223	101
6.3.1.5 Analytik der Derivate 203-223	101
6.3.2 Variation des Glykolsäureesters	115
6.3.2.1 Allgemeine Vorschrift für die Synthese der Verbindungen 233-241, sowie 264-265	115
6.3.2.2 Analytik der Derivate 233-241 und 264-265	116
6.3.3 Analytik der Derivate mit unterschiedlichen Resten R ³ am Guaian-Gerüst	122
6.3.4 Analytik der Derivate mit unterschiedlichen Resten R ¹ und R ²	123
6.4 Synthese und Analytik der 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazole.....	128
7. Anhang	139
7.1 Abkürzungsverzeichnis	139
7.2 INCHI-Key-Verzeichnis	141

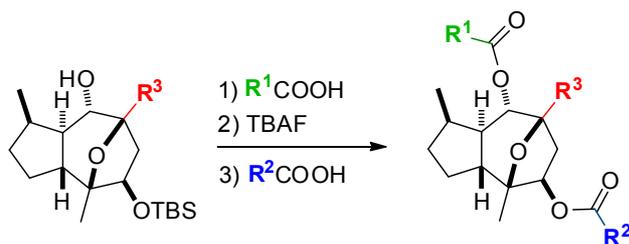
7.3 Biologische Untersuchungen.....	143
7.3.1 Allgemeines	143
7.3.2 Übersicht über die gemessenen IC ₅₀ -Werte mit Standardabweichung.....	144
7.4 Kristallstrukturen.....	153
7.5 NMR-Spektren	156
Lebenslauf	218
Danksagung.....	219
Literaturverzeichnis.....	221

Zusammenfassung

Englerin A ist ein Guaian-Sesquiterpen, welches 2009 von *Beutler et al.* aus der Rinde und den Wurzeln von *Phyllanthus engleri* isoliert wurde. Es ist hoch spezifisch und hoch selektiv gegen Nierenkrebszelllinien mit GI₅₀-Werten von 1-87 nM.



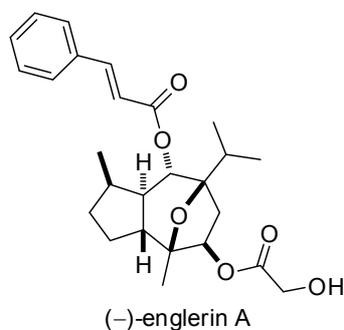
In Anlehnung an die bereits publizierte Totalsynthese von (+)-Englerin A wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Totalsynthese von (-)-Englerin A im Gramm-Maßstab entwickelt. Des Weiteren wurde die Synthese in Bezug auf die Ringschlussmetathese, sowie die Diastereoselektivität der Epoxidierung optimiert. Die entwickelte Synthese ermöglichte den Zugang zu einer Reihe an Derivaten, deren biologische Aktivität in anschließenden umfangreichen SAR-Studien untersucht wurde. Durch eine *Barbier*-Reaktion mit unterschiedlichen Allylbromiden konnten zu Beginn der Synthese verschiedene Reste **R³** am Guaian-Gerüst eingeführt werden. Die Reste **R¹** und **R²** wurden durch *Yamaguchi*-Veresterung mit unterschiedlichen Säuren eingeführt, so dass insgesamt 48 Derivate synthetisiert werden konnten, von denen einige deutlich aktiver als Englerin A sind.



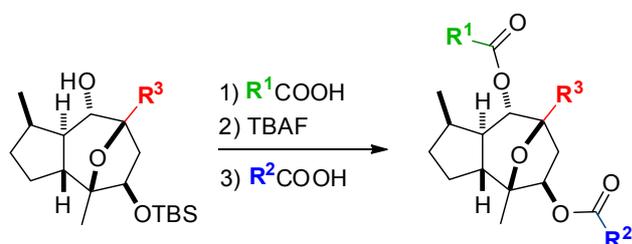
Für die Durchführung einer späteren Affinitätschromatographie wurden 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazole mittels Cu^I-katalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition (Klick-Chemie) synthetisiert.

Summary

Englerin A is a guaianane sesquiterpene which was isolated in 2009 by *Beutler et al.* from the stem and root bark of *Phyllanthus engleri*. It is highly active and selective against renal cancer cell lines with GI_{50} values ranging from 1-87 nM.



According to our previously reported total synthesis of (+)-englerin A, this thesis presents the total synthesis of (-)-englerin A as well as a scaled up synthesis that enabled us to synthesize various analogues. The analogues with different R^3 groups at the guaianane core were synthesized by the introduction of different allylic bromides at the beginning of the synthesis. The analogues with different R^1 and R^2 groups were synthesized by Yamaguchi esterification with different acids. After an extensive SAR-study, among the 48 analogues we identified some which are more active than englerin A.



The synthesis was also optimized regarding the ring closing metathesis (RCM) and the moderate diastereoselectivity of the epoxidation.

For further pull down experiments some 1,4 disubstituted 1,2,3-triazoles were synthesized by copper catalyzed cycloaddition between an alkyne and an azide (CuAAC).

Meinen Eltern

1. Einleitung

1.1 Nierenkrebs

Jedes Jahr erkranken mehr als 17.000 Menschen neu an bösartigen Neubildungen der Niere oder der ableitenden Harnwege.¹ Zwei Drittel davon sind Männer. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei Frauen bei 71 und bei Männern bei 67 Jahren. Die Zahl der Neuerkrankungen steigt jedes Jahr stetig an, was zum Teil daran liegt, dass durch die eingesetzten Ultraschallgeräte der Nierenkrebs frühzeitig erkannt werden kann (Abb 1).



Abb. 1: Resektionsbefund eines bösartigen Nierentumors.²

Allerdings ist er in ca. 3% der Fälle dann bereits metastasiert. Die Mehrzahl der Nierentumore sind sogenannte Nierenzellkarzinome und nur etwa 5% der Tumore sind gutartig (z. B. Onkozytome, Fibrome, Lipome u.a.). Normalerweise wird nur eine Niere vom Krebs befallen, so dass die Patienten keine Probleme mit der Harnausscheidung haben. In seltenen Fällen entwickelt sich auch in der zweiten Niere ein Karzinom, dann sind jedoch meist genetische Veranlagungen für die Entstehung des Nierenkrebes verantwortlich. Die Ursachen, die Nierenkrebs auslösen, sind bisher noch nicht abschließend erforscht. Im Experiment zeigt sich jedoch, dass dieser Tumor durch chemische, physikalische, virale und hormonelle Mechanismen ausgelöst werden kann. Umwelteinflüsse scheinen hierbei ebenfalls eine wichtige Rolle zu spielen. So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass Nierenkarzinome in Ländern der Dritten Welt deutlich seltener als in den Industrieländern vorkommen. Allerdings nehmen sie auch dort seit den letzten Jahren aufgrund der steigenden Umweltverschmutzung stetig zu. Die familiäre Veranlagung ist jedoch bei einigen Betroffenen ebenfalls nicht zu vernachlässigen.³ Rauchen, Fettleibigkeit, steigendes Lebensalter und Alkoholkonsum können neben Medikamentenmissbrauch ebenfalls das Risiko einer Krankheit erhöhen. Um den Krebs zu bekämpfen, können die Operation und Strahlen-, sowie die Immuntherapie angewendet werden, jedoch ist auch hier ein Erfolg nicht immer zu verzeichnen. Die Operation ist oftmals

1. Einleitung

die einzig heilende Therapie des Nierenzellkarzinoms. Im Gegensatz zu anderen Krebsarten zeigt die Chemotherapie bei Nierenkrebs nur einen mäßigen Erfolg und nur bei etwa 25% der Betroffenen kann der Krebs so geheilt werden.^{1, 4} Auch der Einsatz von Kombinationspräparaten aus verschiedenen Wirkstoffen verzeichnet keine besseren Ergebnisse als die Verwendung von Einzelpräparaten. Der geringe Erfolg wird durch das MDR-Gen (Multi-Drug-Resistance-Gen) hervorgerufen, das 80% aller Zellkarzinome produzieren. Dieses Protein macht die Tumorzelle relativ unempfindlich gegenüber vielen Chemotherapeutika. Therapien durch Anwendung der Multi-Tyrosinkinase-Inhibitoren Sorafenib (**1**) und Sunitinib (**2**) oder der mTOR- (mammalian target of rapamycin) Inhibitoren Everolimus (**3**) und Temsirolimus (**4**) verzeichnen zwar Erfolge (Abb. 2), so dass fortgeschrittene Tumore zum Teil zurückgehen und die Überlebenszeit der Betroffenen verlängert wird. Nebenwirkungen wie tumorbedingte Müdigkeit, Hautablösungen, Bluthochdruck und Blutungen sind aber oftmals so stark, dass die Dosis der Medikamente gesenkt oder ganz eingestellt werden muss.¹ Dies macht deutlich, dass die Entdeckung und Entwicklung neuer Nierenkrebs-Inhibitoren von großer Bedeutung ist. Eine aussichtsvolle Quelle hierfür stellt die Natur, insbesondere das Pflanzenreich dar, wie in Kapitel 1.2 beschrieben wird.

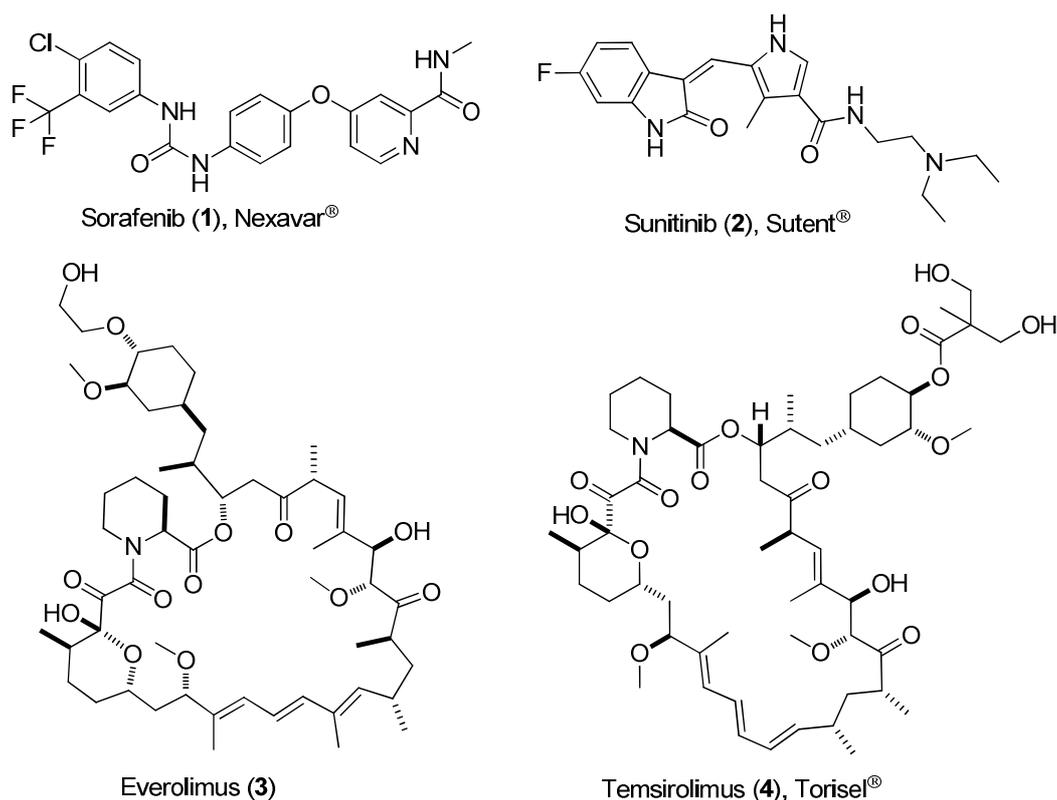


Abb. 2: Strukturen der Multi-Tyrosinkinase-Inhibitoren Sorafenib (1) und Sunitinib (2), sowie der mTOR-Inhibitoren Everolimus (3) und Temsirolimus (4). Sorafenib: erster oraler Multikinase-Inhibitor, verlängerte die Zeit bis zum Fortschreiten der Krankheit; Sunitinib: oraler Multikinase-Inhibitor; in der Zulassungsstudie erreichten 47% der Betroffenen eine zeitlich begrenzte Rückbildung des Nierenzellkarzinoms; Everolimus: Nach vorheriger Behandlung durch die Multikinase-Inhibitoren oder durch Immuntherapie konnte das Fortschreiten der Krankheit deutlich verzögert werden; Temsirolimus: erster mTOR-Inhibitor, wird intravenös verabreicht, wirksam bei Patienten mit hohem Krebsrisiko, was das Überleben und die Zeit zum Wiederauftreten der Krankheit betrifft.¹

1.2 Englerin A und dessen biologische Aktivität

Angetrieben von der Suche nach neuen Wirkstoffen gegen Nierenkrebs führten *Beutler et al.*⁵ eine intensive Studie an 60 Zelllinien (60 cell-panel) verschiedenen Ursprungs (Leukämie, kleinzelliger Lungenkrebs, Tumore des Dickdarm, des zentralen Nervensystems, Melanom, Tumore der Eierstöcke, der Prostata, der Niere und der Brust) mit gesammelten Naturpräparaten des Wolfsmilchgewäches *Phyllanthus engleri* durch. Sie wollten so Naturstoffe identifizieren, die selektiv gegen Nierenkrebs wirken. Tatsächlich fanden sie 34 Naturstoffextrakte, die diese Bedingung erfüllten. In der traditionellen Medizin wurden schon Pflanzenextrakte der Gattung *Phyllanthus* eingesetzt, um etwa Nieren- und

1. Einleitung

Harnblasenstörungen, Diabetes oder Hepatitis B zu heilen,⁶ wobei *Phyllanthus engleri* bisher noch nicht chemisch untersucht wurde. *Beutler et al.*⁵ führten ihre Studie an gesammelten Rinden- und Wurzelproben aus Tansania durch. Anschließend fraktionierender Bio-Assay der Extrakte an einer sensitiven Zelllinie (A498 oder UO31), sowie einer resistenten Zelllinie (SF-295) identifizierte die aktiven Komponenten in den CH₂Cl₂-Extrakten. Sukzessive Reinigung durch Säulenchromatographie und HPLC-Trennung öffnete so den Zugang zu der aktiven Verbindung. Durch spektroskopische Experimente konnten die Struktur, sowie die relative Konfiguration des Naturstoffs aufgeklärt werden. Hierbei handelt es sich um das Guaian-Sesquiterpen Englerin A (**5**) (Abb.3), das eine außergewöhnlich hohe Selektivität und Aktivität gegenüber Nierenkrebszelllinien zeigt. Englerin A verfügt über sieben stereogene Zentren, darunter zwei quartäre. Der siebengliedrige Ring wird durch eine Etherbrücke überspannt und die beiden Hydroxygruppen sind mit Zimtsäure, sowie Glykolsäure verestert.

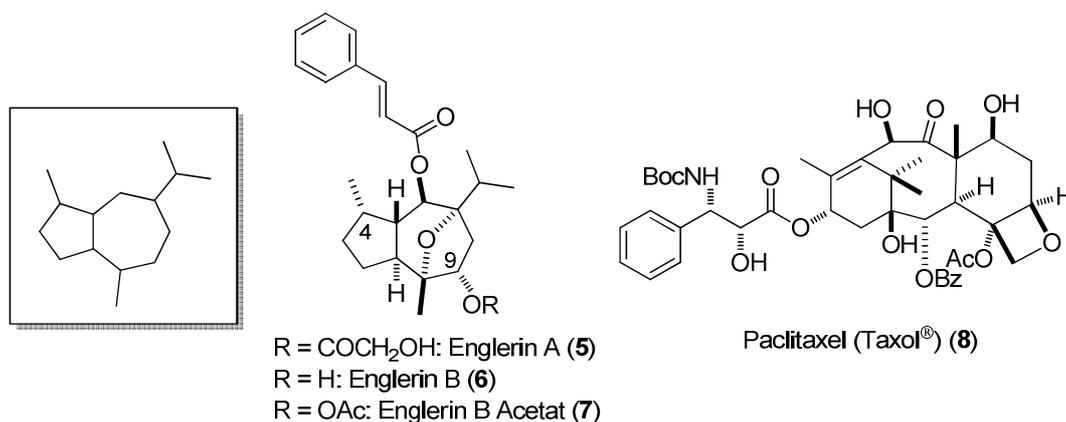


Abb. 3: Das Guaian-Grundgerüst (links), sowie die Strukturen von Englerin A, B und Englerin B Acetat, nach *Beutler et al.*⁵ und Paclitaxel (Taxol[®]).

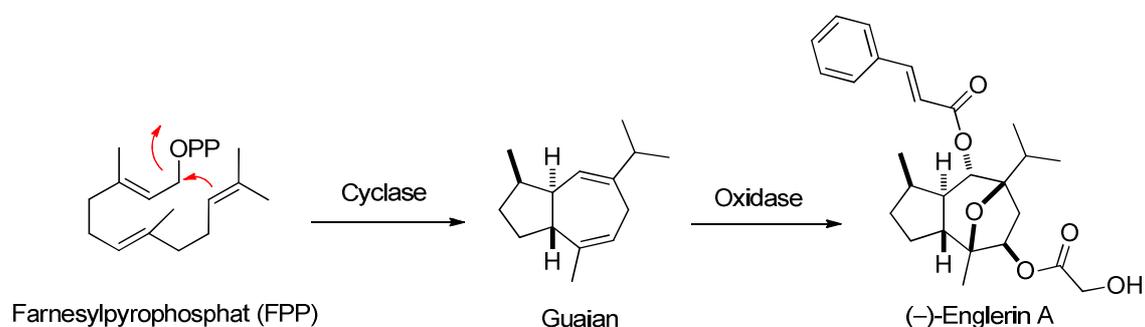
Die GI₅₀-Werte⁷ der getesteten Nierenkrebszelllinien (786-O, A498, ACHN, CAKI-1, RXF-393, SN12C, TK-10, UO-31) liegen zwischen 1-87 nM und Englerin A (**5**) weist bei fünf der acht Zelllinien (786-O, A498, ACHN, RXF-393, UO-31) sogar niedrigere GI₅₀-Werte als Taxol auf, was Englerin A (**5**) somit zu einem biologisch, wie auch strukturell sehr reizvollen Zielmolekül macht. Untersuchungen von *Beutler* an der Position C9 machten deutlich, dass die Glykolsäure an dieser Stelle essentiell für die Aktivität ist. Bleibt der entsprechende Alkohol unverestert, so lässt die Aktivität deutlich nach (Abb.3). Ist er hingegen acetyliert, so steigt die Aktivität um das ca. 400-fache wieder an.⁵

Im September 2009 konnten wir die erste Totalsynthese ausgehend von Nepetalacton erfolgreich abschließen und klärten damit die bisher unbekannt absolute Konfiguration auf, worauf im Folgenden noch näher eingegangen wird.⁸

Innerhalb der letzten drei Jahre wurden neben unserer Synthese fünf Total-⁹ und insgesamt zehn Formalsynthesen,¹⁰ bzw. synthetische Ansätze¹¹ von Englerin A oder dessen Derivaten¹² veröffentlicht, was das große Interesse¹³ an diesem interessanten Naturstoff verdeutlicht. Im Folgenden wird auf die Synthese der einzelnen Arbeitsgruppen eingegangen.

1.3 Biosynthese des Grundgerüsts von Englerin A

Bei der Biosynthese von Sesquiterpenen wird Farnesylpyrophosphat (FPP, Schema 1) mit Hilfe so genannter Cyclasen durch kationische Cyclisierung und Hydridverschiebung in eine Fülle an komplexen polycyclischen Terpenen umgewandelt.¹⁴ So könnte zum Beispiel das Guaian-Grundgerüst von Englerin A entstehen. Nach weiteren Oxidationen und Manipulationen, um funktionelle Gruppen einzuführen, werden hoch funktionalisierte Verbindungen erhalten, die sehr selektiv an Proteine binden können.

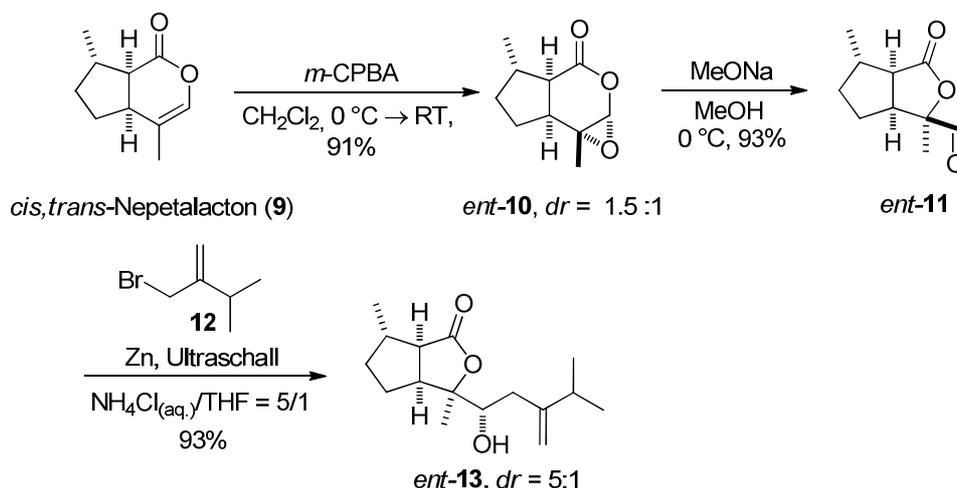


Schema 1: Biosynthese des Grundgerüsts von Englerin A.

1.4 Totalsynthesen von Englerin A

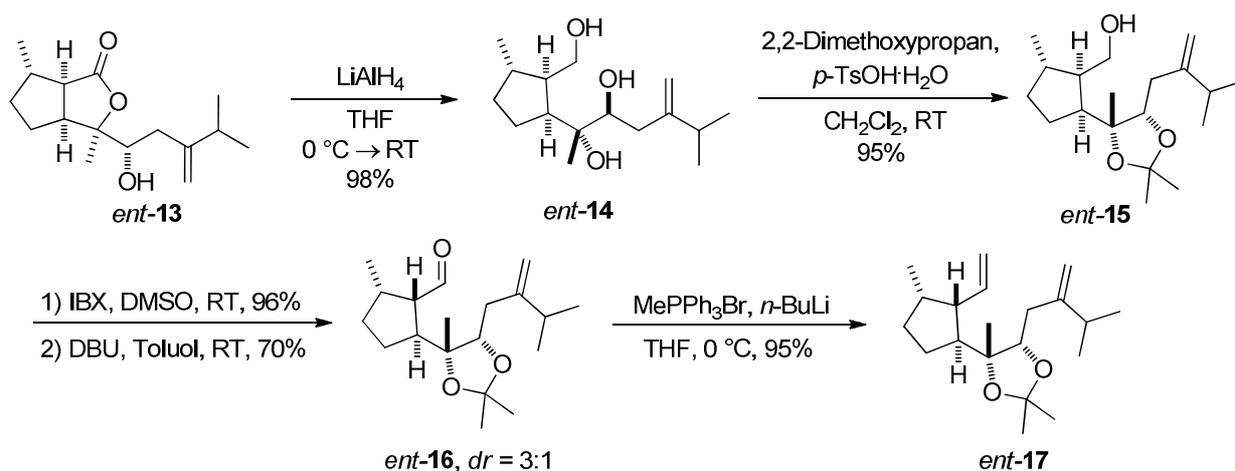
1.4.1 Totalsynthese nach *Christmann et al*^{8b}

Die erste Totalsynthese von Englerin A wurde 2009 von *Christmann et al.* beschrieben.^{8b} Hierbei wurde *cis,trans*-Nepetalacton,^{15,16} ein Inhaltsstoff der Katzenminze (*Nepeta cataria*), der bei Katzen halluzinogene- und sexuelle Erregungszustände hervorruft, mit *m*-CPBA oxidiert¹⁷ und das resultierende Epoxy lacton *ent*-**10** mit NaOMe in Methanol zum Formyllacton *ent*-**11** geöffnet. Dieses wurde anschließend in einer *Barbier*-Reaktion¹⁸ mit 2-(Brommethyl)-3-methylbut-1-en¹⁹ **12** und elementarem Zink zu dem Homoallylalkohol *ent*-**13** in 93% Ausbeute und einem Diastereomerenverhältnis von 5:1 umgesetzt (Schema 2). Die analoge *Grignard*-Reaktion führte zur Homokupplung (Wurtz-Produkt) und das *Grignard*-Reagenz war zudem instabil.



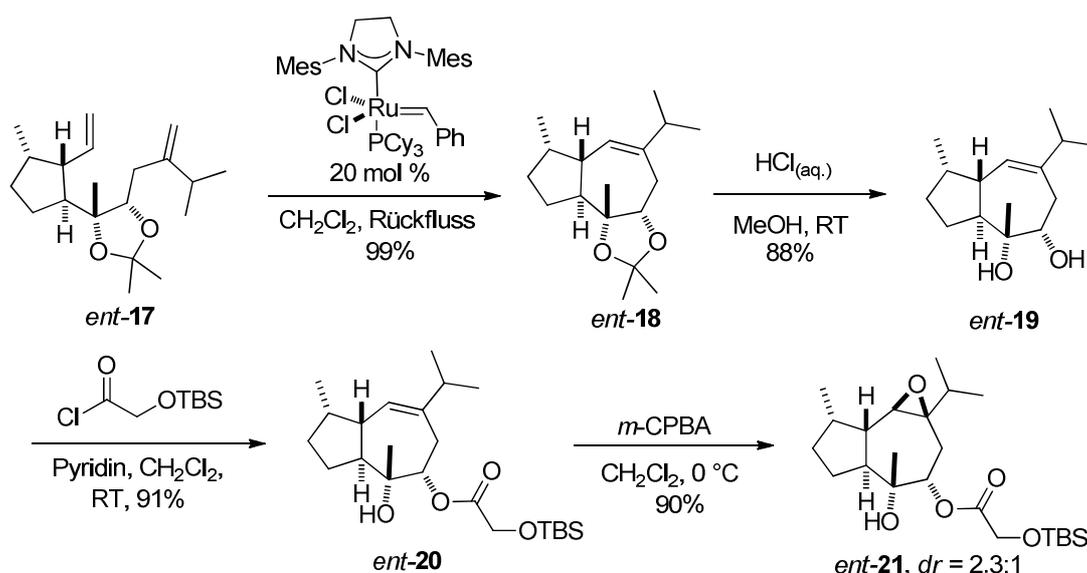
Schema 2: Darstellung des Homoallylalkohols *ent*-**13** durch eine Zn-vermittelte *Barbier*-Reaktion.

Daran anschließend wurde das Lacton *ent*-**13** mit LiAlH_4 in THF zum Triol *ent*-**14** reduziert,²⁰ welches mit 2,2-Dimethoxypropan und katalytischen Mengen an *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat zum entsprechenden Acetal²¹ *ent*-**15** in 95% Ausbeute umgesetzt wurde (Schema 3). Der primäre Alkohol wurde mit IBX²² in DMSO zum Aldehyd oxidiert und die anschließende Epimerisierung des stereogenen Zentrums in α -Position erfolgte durch Umsetzung mit DBU in Toluol bei Raumtemperatur, wodurch der Aldehyd *ent*-**16** mit einer Ausbeute von 70% und einem moderaten Diastereomerenverhältnis von 3:1 erhalten werden konnte.



Schema 3: Epimerisierung des stereogenen Zentrums in α -Position.

Das Dien *ent-17*, welches zuvor durch eine *Wittig*-Reaktion mit Methyltriphenylphosphoniumbromid²³ hergestellt wurde, konnte in einer Ringschlussmetathese²⁴ erfolgreich zu dem Guaian-Grundgerüst umgesetzt werden. Hierbei wurden 20 mol% des *Grubbs*-II-Katalysators²⁵ verwendet und es wurde das Alken *ent-18* mit der formal (*E*)-konfigurierten trisubstituierten Doppelbindung²⁶ in quantitativer Ausbeute erhalten. Nach Spaltung des Acetals mit wässriger Salzsäure²⁷ konnte der erhaltene sekundäre Alkohol *ent-19* selektiv mit [(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]acetylchlorid²⁸ acyliert werden. Das Epoxid *ent-21* wurde durch Oxidation mit *m*-CPBA in 90% Ausbeute und einer Diastereoselektivität von 2.3:1 erhalten (Schema 4).

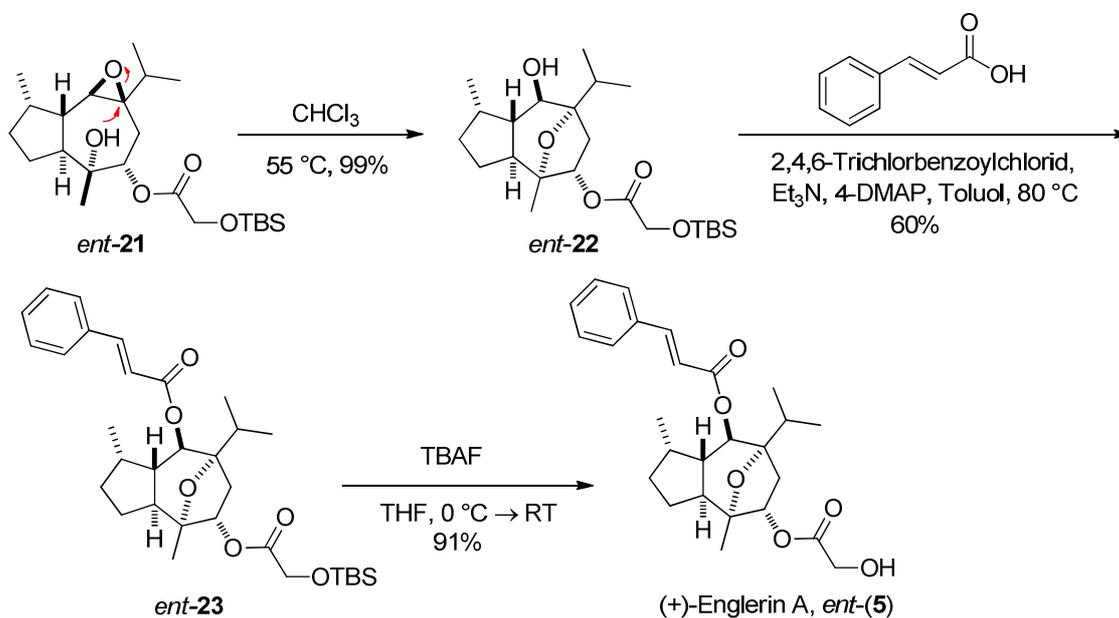


Schema 4: Ringschlussmetathese.

Durch Erhitzen in Chloroform konnte eine transannulare Öffnung²⁹ des Epoxids *ent-21* durch Angriff des tertiären Alkohols induziert werden. Der so erhaltene sekundäre Alkohol *ent-22*

1. Einleitung

wurde mittels *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ mit Zimtsäure in den entsprechenden Ester *ent*-**23** überführt. Abschließend konnte der Naturstoff (+)-Englerin A *ent*-**(5)** durch Spaltung des *tert*-Butyldimethylsilylethers mit TBAF³¹ in 91% Ausbeute erhalten werden (Schema 5).



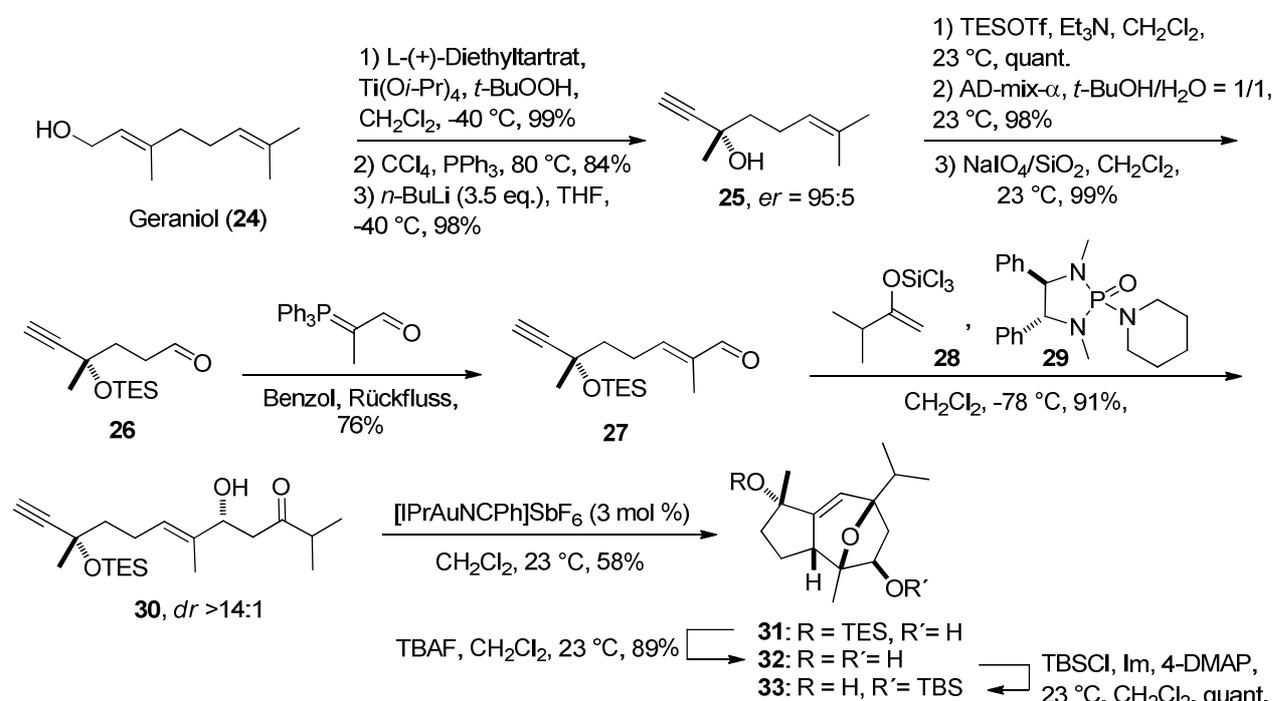
Schema 5: Abschluss der Synthese.

Insgesamt umfasste die Synthese 15 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 11%. Durch den Vergleich der analytischen Daten mit denen der Literatur stellte sich heraus, dass es sich bei der von uns synthetisierten Verbindung um den Naturstoff handelte. Lediglich der Drehwert wies ein umgekehrtes Vorzeichen auf, so dass die bis dahin unbekannte absolute Konfiguration aufgeklärt werden konnte.^{8b}

1.4.2 Totalsynthesen nach *Echavarren*^{9a} und *Ma*^{9b}

Das große Interesse an Englerin A spiegelt sich in der hohen Anzahl an Publikationen wieder.^{8b-13} Die ersten Totalsynthesen des natürlichen Enantiomers (-)-Englerin A (**5**) wurden von *Echavarren*^{9a} und *Ma*^{9b} publiziert, die beide eine Gold-katalysierte Cycloaddition durchführten.

Echavarren et al.^{9a} wählten Geraniol als Startmaterial aus und wandelten es in acht Stufen in die Vorläufer **31-33** für die von ihnen entwickelte Gold(I)-katalysierte [2+2+2]-Alkin/Alken/Carbonyl-Cycloaddition von 1,6-Eninen³² um (Schema 6).

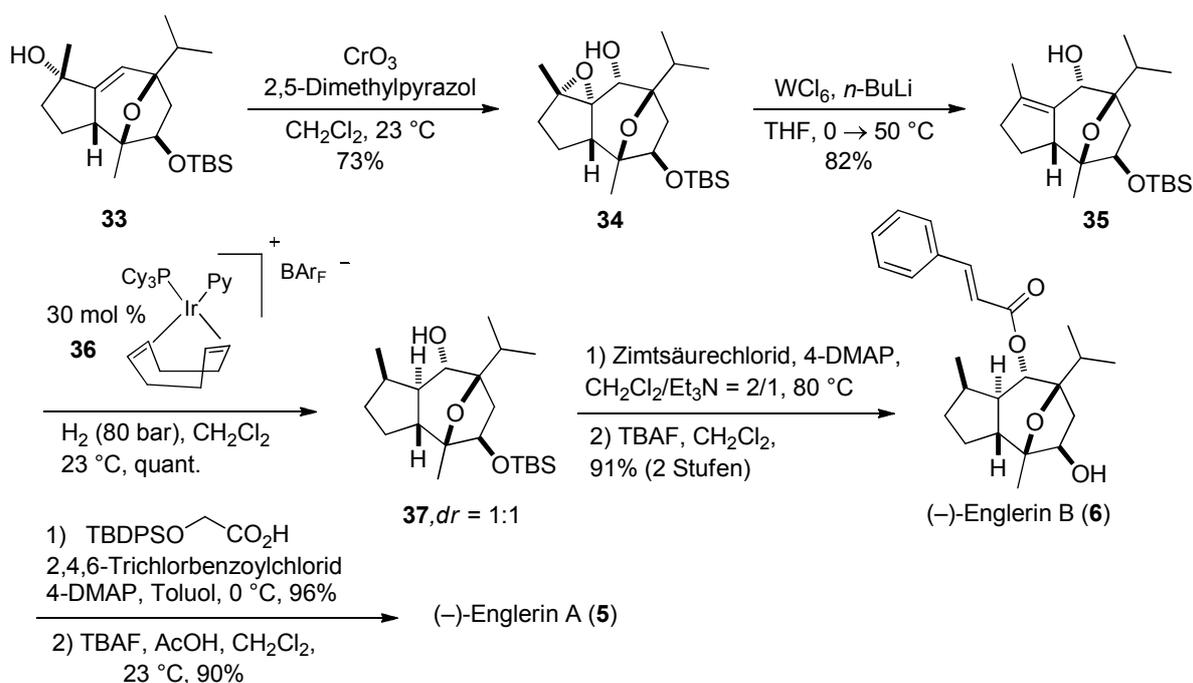


Schema 6: Synthese des Vorläufers für die Cyclisierung.

Zunächst wurde Geraniol mittels *Sharpless* asymmetrischer Epoxidierung³³ zu dem entsprechenden Epoxid (*er* 95:5) umgesetzt. Der primäre Alkohol wurde durch eine *Appel*-Reaktion³⁴ mit CCl₄ und PPh₃ in das Chlorid überführt und eine anschließende doppelte Eliminierung mit *n*-Butyllithium lieferte den Propargylalkohol **25**³⁵ in einer Ausbeute von 98%. Als nächstes wurde der tertiäre Alkohol mit Triethylsilyltriflat quantitativ zu dem geschützten Propargylalkohol umgesetzt. Eine *Sharpless* asymmetrische Dihydroxylierung³⁶ gefolgt von einer oxidativen Spaltung des Diols lieferte den Aldehyd **26** in 97% Ausbeute über 3 Stufen. Die Alkylkette wurde mit Hilfe einer *Wittig*-Reaktion verlängert und es konnte ausschließlich das (*E*)-Produkt **27** in 76% Ausbeute erhalten werden. Die nachfolgende *Denmark*-Aldol-Reaktion des Aldehyds **27** mit dem Trichlorsilylenolether **28** unter

1. Einleitung

Verwendung des chiralen Phosphoramids **29**³⁷ als Katalysator lieferte das β -Hydroxyketon **30**. Durch Veresterung mit der *Mosher*-Säure und anschließender Analyse der resultierenden *Mosher*-Ester konnte gezeigt werden, dass diese Reaktion mit einer Diastereoselektivität von $dr >14:1$ zugunsten des dargestellten Diastereomers verläuft. Für die anschließende Gold-katalysierte Cyclisierung wurde eine erhöhte Reaktivität beobachtet, wenn der Alkohol in β -Position ungeschützt vorlag. Für die Gold-katalysierte [2+2+2]-Cycloaddition wurde der Katalysator [IPrAuNCPH]SbF₆³⁸ aufgrund seiner guten Donatoreigenschaften des Liganden gewählt, da sowohl allylische, als auch propargylische Substituenten toleriert werden und die Cycloaddition somit hoch stereoselektiv verläuft.³⁹ Der Bicyclus **31** konnte als einziges Diastereomer in 58% Ausbeute erhalten werden. Die anschließende Spaltung des Triethylsilyl ethers mit TBAF und eine selektive Schützung des sekundären Alkohols als *tert*-Butyldimethylsilyl ether lieferte den tertiären Alkohol **33** in quantitativer Ausbeute und einem Enantiomerenüberschuss $>99\%$.

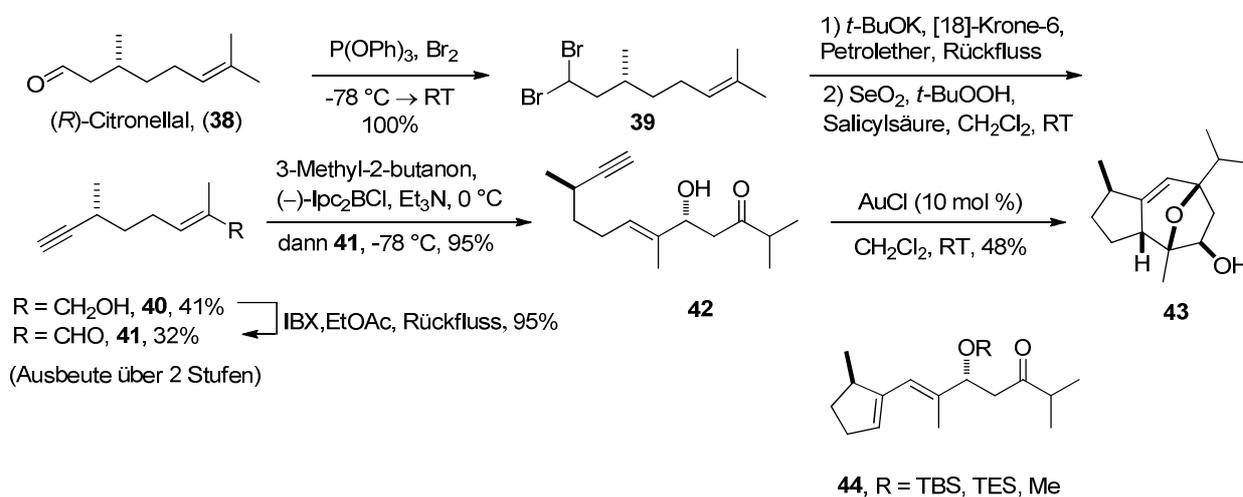


Schema 7: Abschluss der Synthese nach Echavarren.^{9a}

Nach einer oxidativen Umlagerung des Allylalkohols⁴⁰ **33** mit CrO₃ und 2,5-Dimethylpyrazol und anschließender Reduktion des Epoxids **34** mit WCl₆ und *n*-Butyllithium⁴¹ wurde das Olefin **35** in 82% Ausbeute erhalten (Schema 7). Eine katalytische Hydrierung mit dem *Pfaltz* Ir^I-Katalysator⁴² **36** und H₂ (80 bar) lieferte den sekundären Alkohol **37** als ein trennbares 1:1-Gemisch der beiden Diastereomere in quantitativer Ausbeute. Interessanterweise liefert die Hydrierung mit H₂/*Raney*-Nickel lediglich das unerwünschte Diastereomer, dessen Konfiguration durch Röntgenstrukturanalyse bestimmt werden konnte. Abschließend wurde

der sekundäre Alkohol mit Zimtsäurechlorid und 4-DMAP verestert und die folgende Spaltung des *tert*-Butyldimethylsilylethers mit TBAF lieferte Englerin B (**6**) in 91% Ausbeute über zwei Stufen. Die Veresterung des sekundären Alkohols erfolgte nach *Yamaguchi*³⁰ mit *tert*-Butyldiphenylsilyl-geschützter Glykolsäure. Die anschließende Spaltung des Silylethers lieferte Englerin A (**5**) in 18 Stufen und einer Gesamtausbeute von 7%. Die Synthese kann laut *Echavarren* leicht im großen Maßstab durchgeführt werden. Das Intermediat **37** erlaubt die Einführung unterschiedlicher Estergruppen für die Synthese von Derivaten,^{9a} worauf im Folgenden noch näher eingegangen wird.

Ma et al.^{9b} verwendeten (*R*)-Citronellal (**38**) als Startmaterial und wandelten es in fünf Stufen in das Hydroxyketon **42** als Vorläufer für die Gold-katalysierte Cyclisierung um (Schema 8).

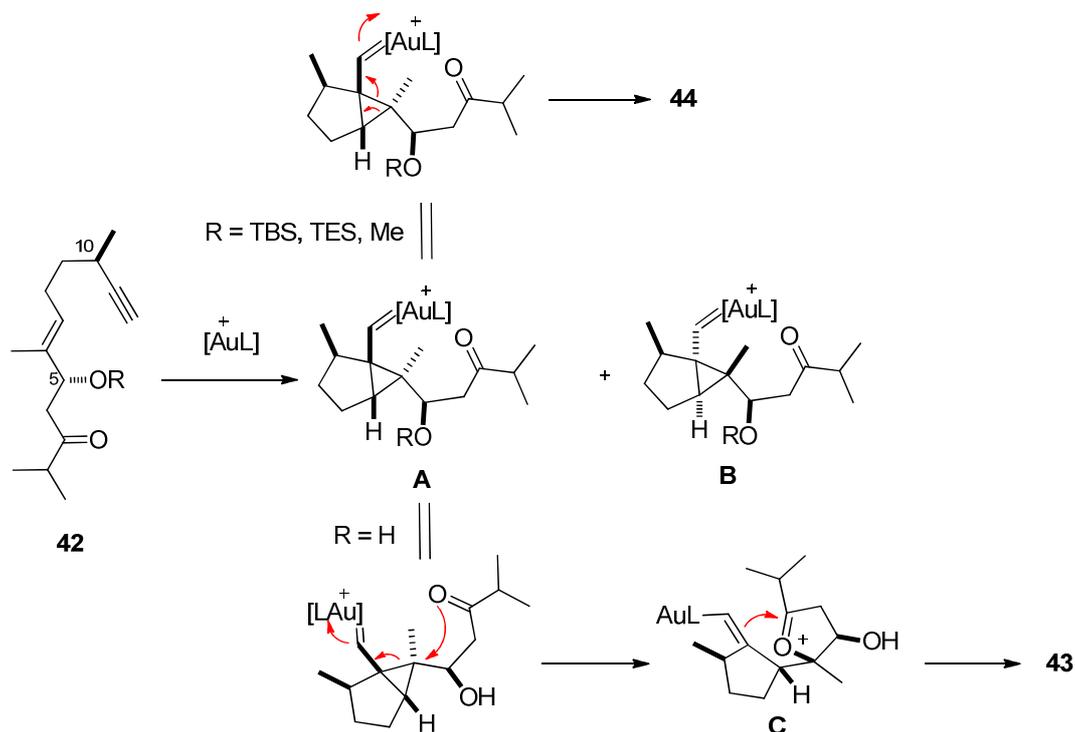


Schema 8: Gold-katalysierte Cyclisierung.^{9b}

In der ersten Stufe wurde das kommerziell erhältliche (*R*)-Citronellal (**38**) mit Triphenylphosphit und Brom⁴³ zum geminalen Dibromid **39** umgesetzt, welches anschließend in einer doppelten Eliminierung mit *t*-BuOK und [18]-Krone-6 zum terminalen Alkin reagierte. Das Olefin wurde im Anschluss mit Selendioxid und *t*-Butylhydroperoxid in einer *Riley*-Oxidation⁴⁴ zu einem Gemisch des entsprechenden Allylalkohols **40** und dem α,β -ungesättigten Aldehyd **41** umgesetzt. Der allylische Alkohol **40** konnte danach mit IBX in Ethylacetat zum Aldehyd **41** weiter oxidiert werden. Die Bor-vermittelte enantioselektive Aldol-Reaktion mit 3-Methyl-2-butanon und (-)-Ipc₂BCl (Chlordiisopinocampheylboran) in Et₃N lieferte Allylalkohol **42** in 95% Ausbeute und einem Diastereomerenverhältnis von 4:1. Da befürchtet wurde, dass der freie Alkohol als Nucleophil mit dem *anti*-Cyclopropyl-Goldcarben-Intermediat in der Cycloaddition reagieren könnte, wurde dieser zunächst als TBS-, TES- oder Methyl ether geschützt. Bei der anschließenden goldkatalysierten

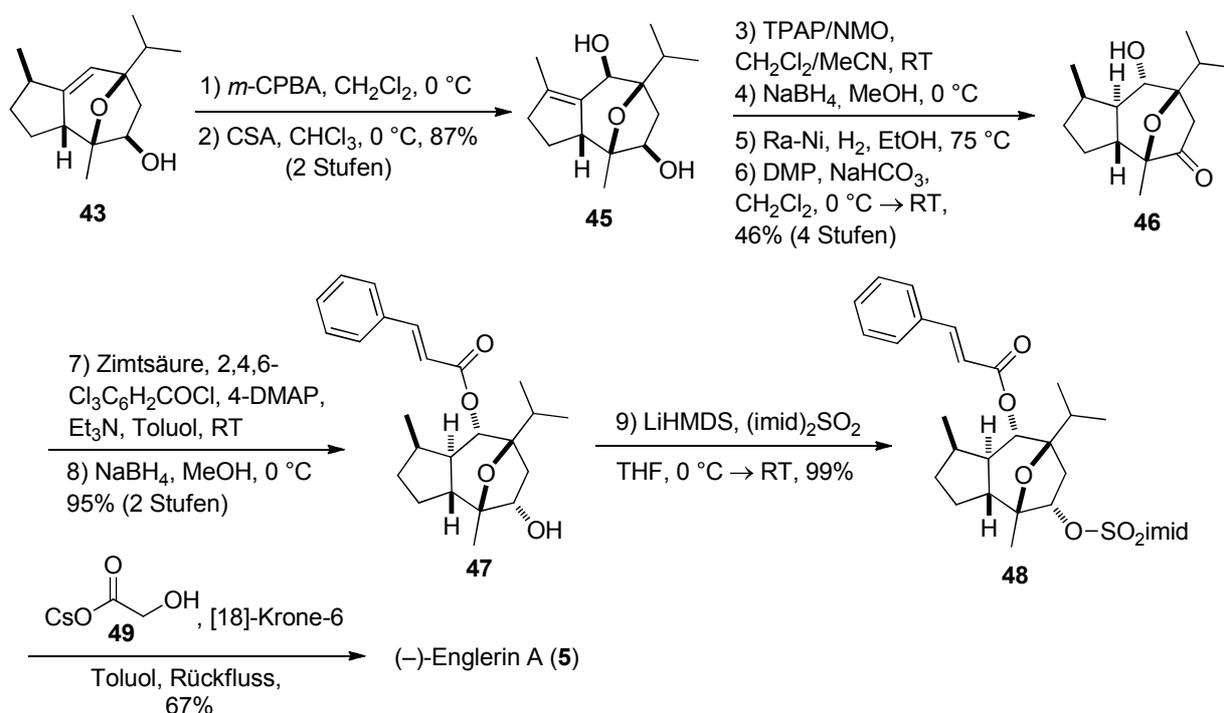
1. Einleitung

Cycloaddition stellte sich jedoch heraus, dass, wie bei den Arbeiten von *Echavarren*,^{9a} der freie Alkohol die besten Ergebnisse lieferte. Einzig bei Umsetzung des β -Hydroxyketons **42** mit 10 mol % AuCl konnte die Bildung des Bicyclus in 48% Ausbeute zusammen mit einigen unidentifizierten Nebenprodukten beobachtet werden. Die Wahl anderer Katalysatoren wie [Au(PPh₃)Cl]/AgSbF₆ führte zu Verlusten bei der Ausbeute (20%). Die Umsetzung der geschützten Cyclisierungsvorläufer lieferte nur den Monocyclus **44**. Im vorgeschlagenen Mechanismus reagiert das Enin **42** mit dem Goldkomplex unter Bildung der beiden *anti*-Cyclopropyl-Goldcarbene **A** und **B**, wobei der Komplex **A** der stabilere sein sollte, da die Methylgruppe am Cyclopentanring *trans* zu der Methylgruppe am Cyclopropanring steht (Schema 9). Daher sollte das Produkt **43** als Hauptprodukt entstehen, wenn der Rest R ein Proton ist. Die Bildung des Monocyclus **44** aus den geschützten β -Hydroxyketonen kann somit über die sterische Hinderung der Schutzgruppen erklärt werden, die den Angriff der Carbonylgruppe an dem Cyclopropanring verhindern, so dass das Intermediat **C** nicht gebildet werden kann. Durch das stereogene Zentrum an C10 sollte die asymmetrische Induktion dieser 5-*exo*-dig Cyclisierung erfolgen.



Schema 9: Möglicher Reaktionsmechanismus für die Bildung des Bicyclus **43** und des Monocyclus **44**.^{9b}

Der sekundäre Alkohol **43** wurde daraufhin diastereoselektiv mit *m*-CPBA epoxidiert und nach Säure-vermittelter Epoxidöffnung wurde das Diol **45** erhalten. Das *trans*-verknüpfte Ringsystem wurde durch eine Oxidations/Reduktionssequenz mit TPAP/NMO⁴⁵ und Umsetzung mit NaBH₄ aufgebaut. Im Gegensatz zu den Arbeiten von *Echavarren*^{9a} konnte die Hydrierung mit *Raney*-Nickel (H₂, 90 atm) durchgeführt werden und es wurde ausschließlich das gewünschte Diastereomer gebildet. Eine selektive *Dess-Martin*-Oxidation⁴⁶ der sterisch weniger gehinderten OH-Gruppe an C9 lieferte den Ketoalkohol **46**, welcher anschließend einer *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ mit Zimtsäure und NaBH₄-Reduktion unterworfen wurde, so dass der Alkohol **47** in 95% Ausbeute über 2 Stufen gebildet wurde.

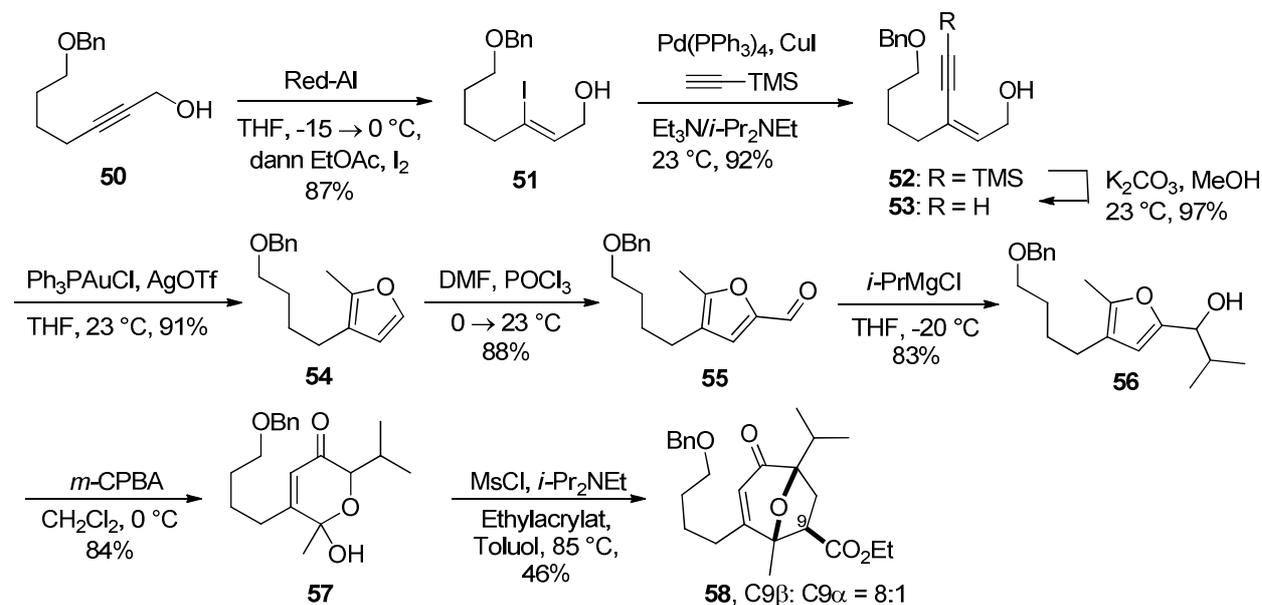


Schema 10: Abschluss der Synthese nach *Ma*.

Die Aktivierung des Alkohols **47** als Imidazolsulfonat ermöglichte die Einführung des Glykolsäureesters **49** in Anwesenheit von [18]-Krone-6 in einer S_N2-Reaktion und Englerin A (**5**) wurde in 67% Ausbeute erhalten. Insgesamt konnte (-)-Englerin A in nur 15 Stufen und einer Gesamtausbeute von 8% ohne die Verwendung von Schutzgruppen aus (*R*)-Citronellal (**38**) synthetisiert werden.

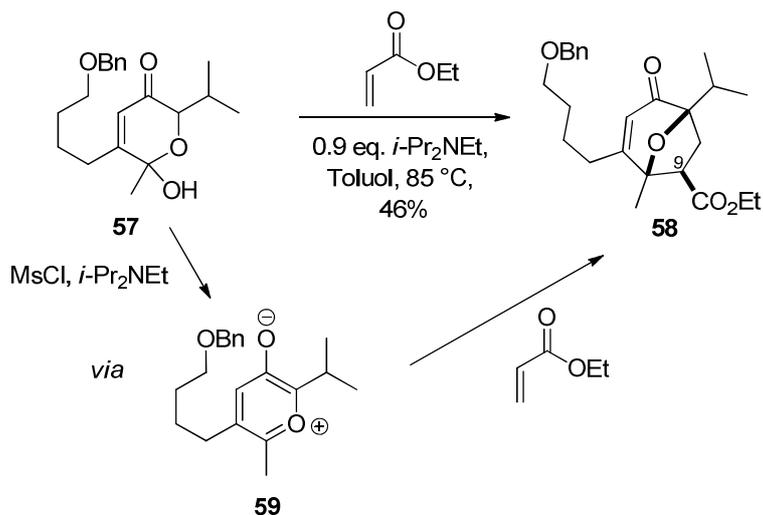
1.4.3 Totalsynthese von racemischem Englerin A und formale asymmetrische Synthese nach Nicolaou und Chen

Nicolaou und Chen^{9c} synthetisierten racemisches Englerin A (\pm)-(5), Englerin B (\pm)-(6), sowie Englerin B Acetat (\pm)-(7). Zusätzlich konnten sie eine asymmetrische Formalsynthese ausgehend von einem optisch aktiven Intermediat abschließen. Für die Synthese der racemischen, sowie der enantiomerenangereicherten Produkte führten sie eine [5+2]-Cycloaddition⁴⁷ ausgehend von dem Propargylalkohol **50** durch (Schema 11). Diesen wandelten sie durch eine regioselektive Iodierung mit Red-Al und I₂ in das Vinyljodid **51** um. Durch eine *Sonogashira*-Kreuzkupplung mit Trimethylsilylacetylen entstand das Enin **52**, welches durch Spaltung der TMS-Gruppe mit K₂CO₃ in Methanol zu dem Enin **53** umgesetzt wurde. Das Furansystem wurde durch eine Gold-katalysierte Cyclisierung⁴⁸ mit Ph₃PAuCl und AgOTf aufgebaut. Der sekundäre Alkohol **56** konnte durch eine *Vilsmeier-Haack* Formylierung mit POCl₃ und DMF und anschließender Addition von *i*-PrMgCl an den Aldehyd **55** synthetisiert werden.



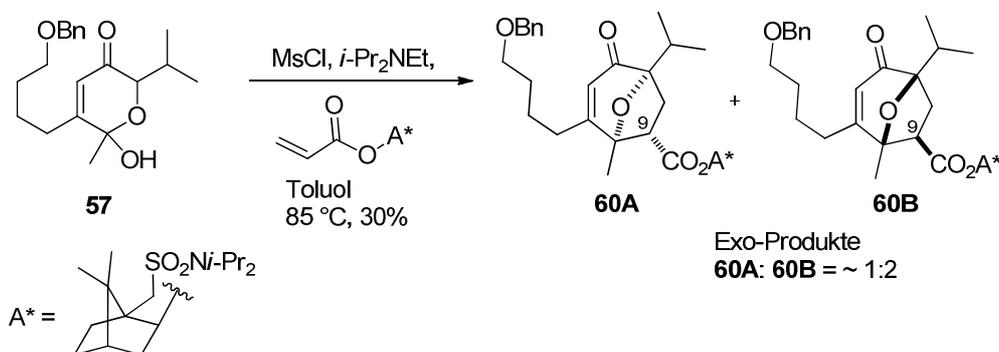
Scheme 11: Synthese des oxabicyclischen Enons **58** nach Nicolaou und Chen.^{9c}

Nach einer *Achmatowicz*-Umlagerung⁴⁹ mit *m*-CPBA wurde das Pyranon **57** synthetisiert, welches nach einer [5+2]-Cycloaddition mit Ethylacrylat⁵⁰ in das oxabicyclische Enon **58** überführt wurde. Mechanistisch entsteht zunächst durch die Reaktion von MsCl und *i*-Pr₂NEt mit dem Lacton die Oxopyrilium-Spezies **59**, welche anschließend mit Ethylacrylat zu dem oxabicyclischen Enon **58** reagiert (Schema 12).



Schema 12: [5+2]-Cycloaddition nach Nicolaou und Chen.^{9c}

Unter optimierten Bedingungen konnte das oxabicyclische Enon **58** in 46% Ausbeute zusammen mit seinem Diastereomer (C9 β :C9 α ~ 8:1) in racemischer Form generiert werden. Eine asymmetrische Synthese des oxabicyclischen Enons **58** konnte erreicht werden, wenn ein chirales Sulfonamidacrylat verwendet wurde (Schema 13).⁵¹ Hierbei ergab sich eine trennbare Mischung der Exoprodukte **60A** und **60B** in einem Verhältnis von ~ 1:2 und nur das gewünschte Enon **60B** wurde weiter umgesetzt.

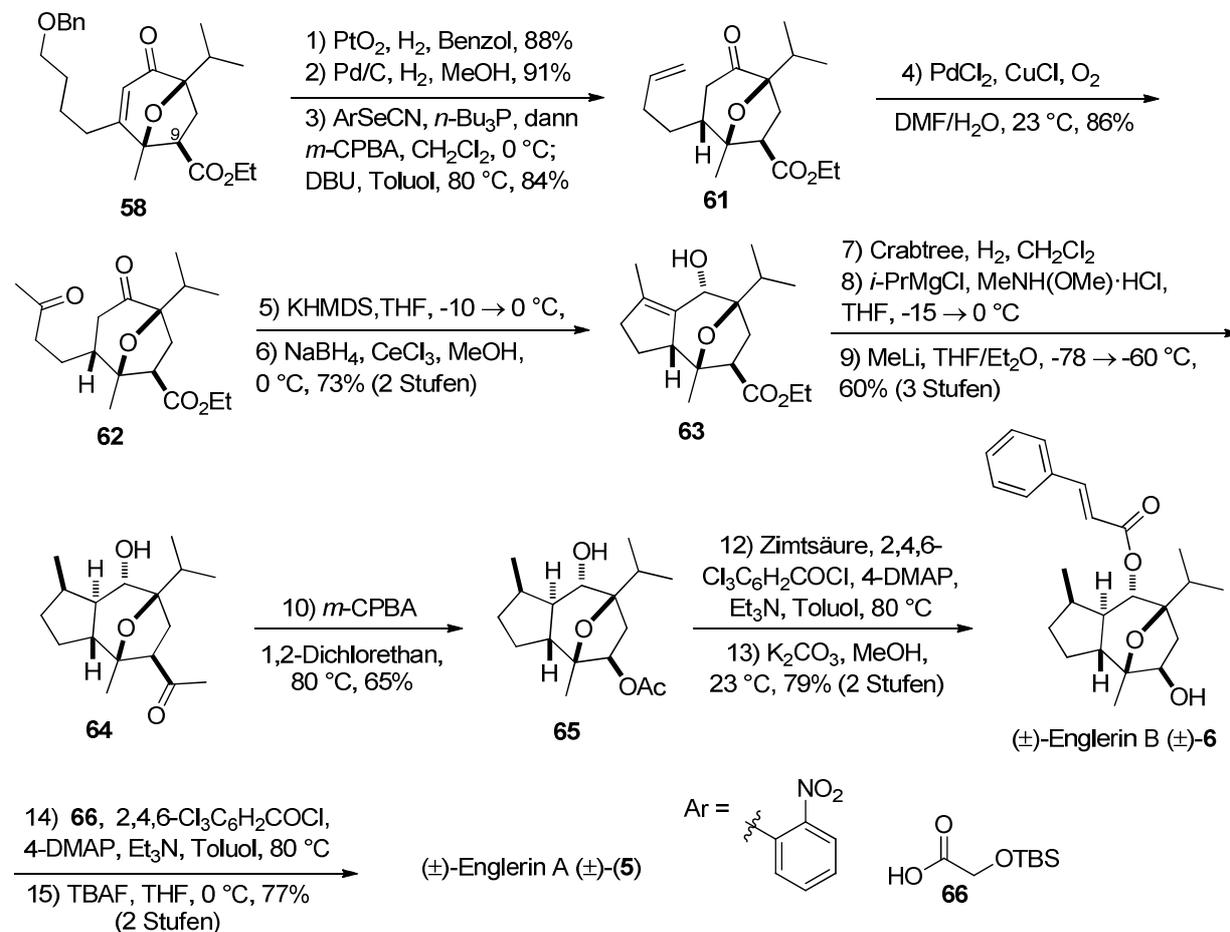


Schema 13: Asymmetrische Synthese der oxabicyclischen Enone **60A** und **60B**.

Das Guaian-Gerüst wurde ausgehend von dem oxabicyclischen Enon **58** in 5 Stufen aufgebaut (Schema 14). Zunächst wurde mit PtO₂/H₂ die Doppelbindung hydriert und anschließend der Benzylether mit Pd/C/H₂ gespalten. Nach Bildung des Selenids durch Reaktion mit 2-Nitrophenylselenocyanat und anschließender Zugabe von *m*-CPBA wurde das Alken **61** erhalten.⁵² Durch eine Wacker-Tsuji-Oxidation⁵³ und Reaktion mit KHMDS erfolgte durch eine intramolekulare Aldol- und Dehydratisierungs-Sequenz der Ringschluß zu dem Guaian-

1. Einleitung

Gerüst. Die anschließende *Luche*-Reduktion⁵⁴ lieferte den Alkohol **63** als einziges Diastereomer in 73% Ausbeute über 2 Stufen.



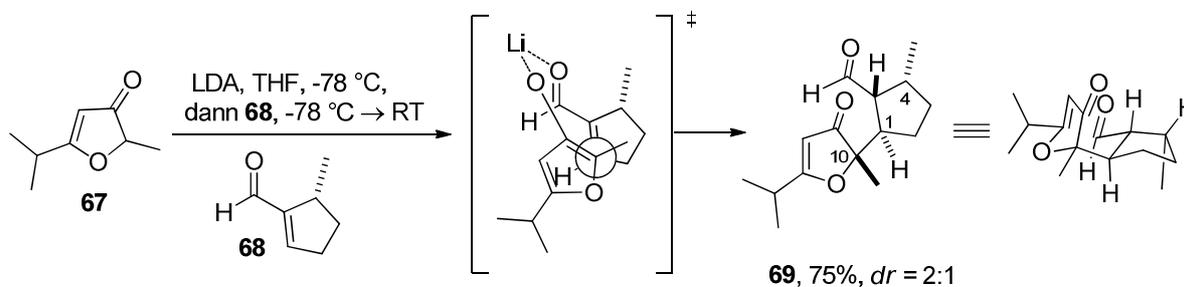
Schema 14: Synthese von racemischem Englerin A.

Das Olefin wurde durch eine Substrat-gelenkte Hydrierung mit dem *Crabtree*-Katalysator⁵⁵ zum Alkan umgesetzt. Die Überführung des Esters in das *Weinreb*-Amid⁵⁶ und die anschließende Reaktion mit Methyllithium bildete das Keton **64** in 60% Ausbeute (über 3 Stufen), welches dann in einer *Baeyer-Villiger*-Oxidation⁵⁷ zum Acetat **65** reagierte. Der sekundäre Alkohol wurde in einer *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ mit Zimtsäure in (±)-Englerin B Acetat überführt und die nachfolgende basische Hydrolyse des Acetats lieferte (±)-Englerin B (±)-**6**. Durch eine anschließende *Yamaguchi*-Veresterung mit der TBS-geschützten Glykolsäure **66** und sukzessive Spaltung des TBS-Ethers mit TBAF konnte (±)-Englerin A (±)-**5** erhalten werden. Insgesamt umfasste die *Nicolaou/Chen*-Synthese 22 Stufen ausgehend von dem Propargylalkohol **50** mit einer Gesamtausbeute von 2%. Des Weiteren wurde (±)-Englerin A mit H_2 an Pd/C hydriert und es konnte das hydrierte Derivat in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Neben der Synthese untersuchten *Nicolaou* und *Chen* auch die biologische Aktivität von Englerin A und den hier hergestellten Intermediaten und

verglichen sie mit denen von Taxol und Doxorubicin als Standard,^{9c} worauf in Kapitel 1.6 noch näher eingegangen wird.

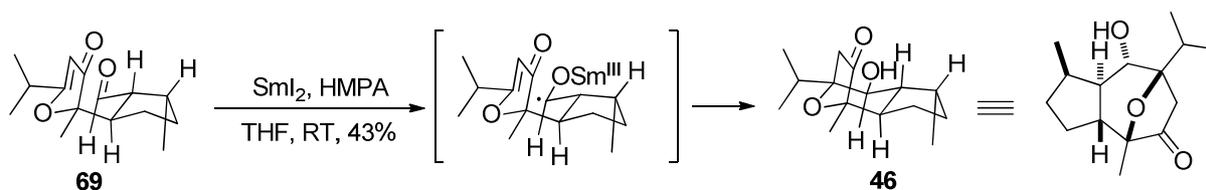
1.4.4 Enantioselektive Totalsynthese nach *Chain*^{9d}

Ungefähr 2 Jahre nach der Isolierung von Englerin A durch *Beutler et al.*⁵ konnte die Gruppe um *Chain* den Naturstoff in nur acht Stufen synthetisieren.^{9d} Da die beiden Estergruppen von Englerin A an C6 und C9 in einer 1,4- bzw. 1,5-Beziehung zueinander stehen, lag die Idee nahe, den Bicyclus über eine *Michael*-Addition des 3-Furanons **67** und des α,β -ungesättigten Aldehyds **68** aufzubauen (Schema 15).



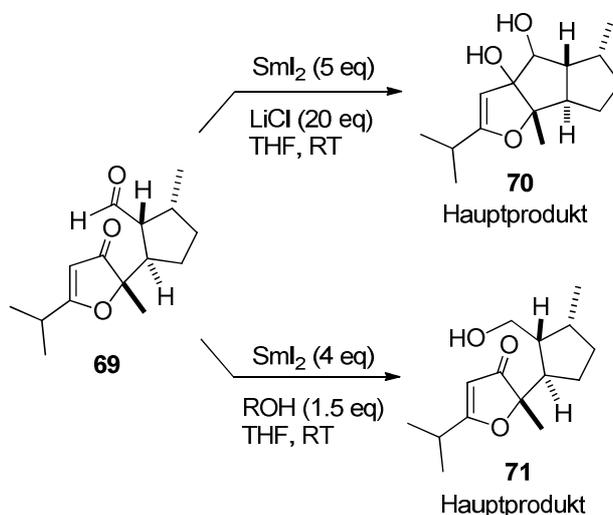
Schema 15: Synthese des Bicyclus von Englerin A nach *Chain et al.*^{9d}

Dafür setzten *Chain et al.* das 3-Furanon **67** mit LDA in THF bei -78 °C um, um *in situ* das Enolat zu erzeugen, welches im nächsten Schritt mit dem α,β -ungesättigten Aldehyd **68** zu dem *Michael*-Addukt **69** reagierte. Anhand des Übergangszustandes wird deutlich, dass die Methylgruppe an C4 des Aldehyds die Stereochemie der Reaktion kontrolliert, so dass nur eines von acht möglichen Diastereomeren bevorzugt gebildet wird ($dr = 2:1$ für das gewünschte Diastereomer **69**: Σ andere, 75% Gesamtausbeute). In nur einer Stufe werden so drei der sieben Stereozentren von Englerin A an C1, C5 und C10 aufgebaut. Jedoch sind die Isomere nicht per Säulenchromatographie trennbar. Die relative Konfiguration an C1, C4 und C5 wurde per NOE-Messung bestimmt. Die Konfiguration an C10 des Hauptdiastereomers konnte bis zur Fertigstellung der Totalsynthese nicht ermittelt werden. Durch Vergleichsdaten konnten *Chain et al.* jedoch sicher sein, dass es sich um diese Konfiguration handelt. Anschließend setzten sie das *Michael*-Addukt **69** mit SmI_2 und HMPA in einer reduktiven Carbonyl-En-Cyclisierung⁵⁸ um und erhielten den Ketoalkohol **46** in 43% Ausbeute, der schon durch die Arbeiten von *Ma et al.*^{9b} bekannt ist (Schema 16). Durch diese Reaktion konnten sie bereits die richtige Konfiguration an C6 aufbauen.



Schema 16: Synthese des Ketoalkohols **46**.

Die Verwendung anderer Ein-Elektronen-Reduktionsmittel wie Titan(III), Vanadium(II) oder Lithium-Naphthalid zeigten keine bessere Reaktivität. Auch der Gebrauch von HMPA erwies sich als essentiell. Additive wie LiCl oder Alkohole lieferten andere Kupplungsprodukte, wie z.B. die Pinakol-artige Carbonylkupplung zu **70** oder die Reduktion des Aldehyds durch Protonenquellen wie Alkohole zum primären Alkohol **71** (Schema 17).



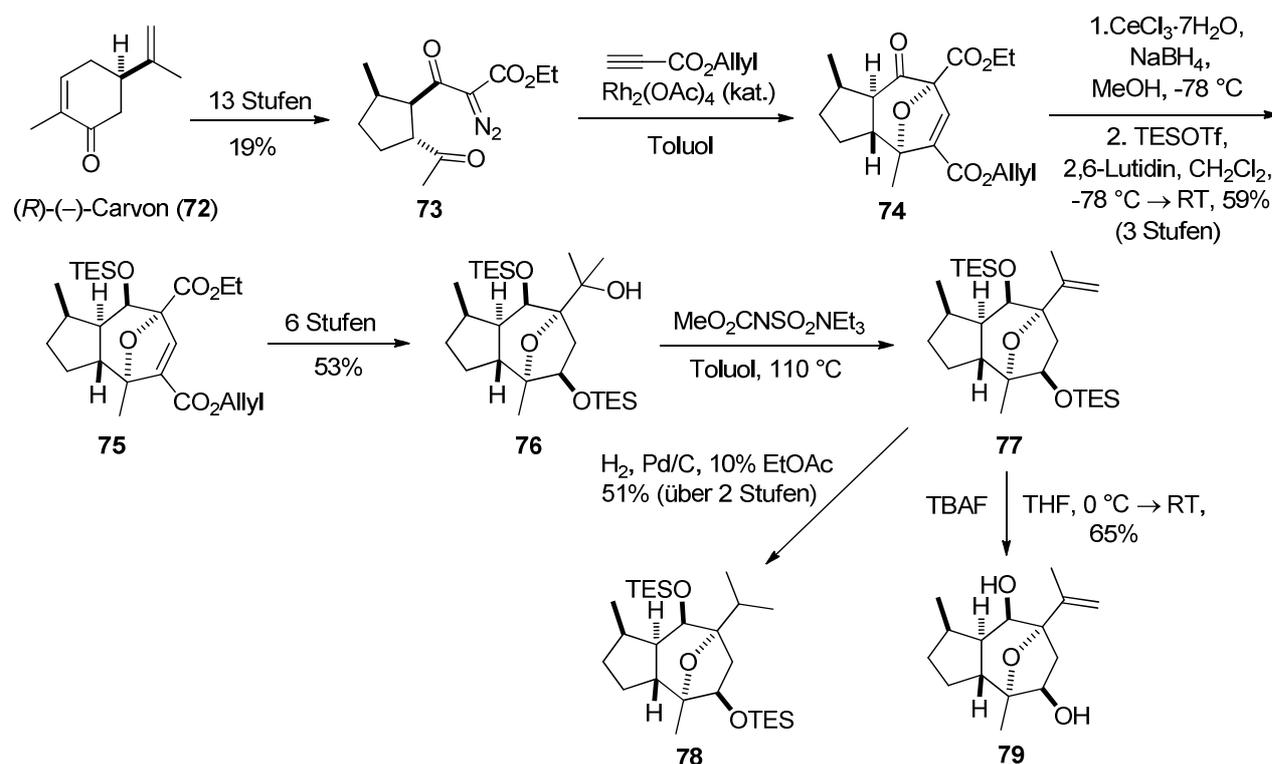
Schema 17: Pinakol-artige Carbonylkupplung und Reduktion des Aldehyds.

Chain et al. schlossen die Synthese ausgehend von dem Ketoalkohol **46** nach den Bedingungen von *Ma* in weiteren vier Stufen und einer Gesamtausbeute von 20% ausgehend von den leicht zugänglichen Startmaterialien 3-Furanon **67** und dem α,β -ungesättigten Aldehyd **68** ab.

1.5 Synthetische Ansätze und Formalsynthesen

1.5.1 Synthetischer Ansatz nach Maier et al.^{11a}

Maier et al.^{11a} bauten das Guaian-Gerüst ausgehend von (*R*)-(-)-Carvon (**72**) auf, welches in 13 Stufen in das Diazoketon **73** umgewandelt wurde (Schema 18).



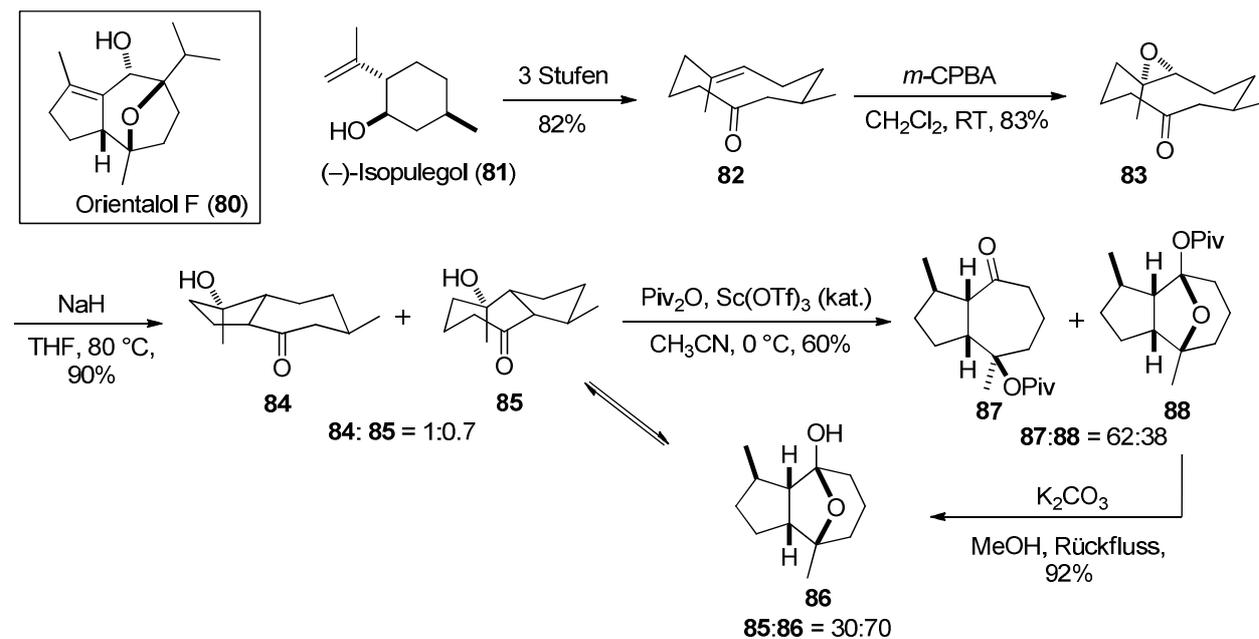
Schema 18: Rhodium-katalysierte Carbonyl-Ylid Bildung.

Anschließend wurde das Diazoketon **73** in einer intramolekularen Carbonyl-Ylid Bildung mit $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ und folgender 1,3-dipolarer Cycloaddition in das Cycloadditionsprodukt **74** als einziges Isomer überführt. Die Verwendung des Allylpropiolates als Dipolarophil ist insofern wichtig, als dass es für spätere Funktionalisierungen dient. Das Cycloadditionsprodukt **74** ist anfällig gegenüber Epimerisierung, die schon bei säulenchromatographischer Reinigung erfolgen kann. Als Produkt wird dann ausschließlich das *cis*-Isomer erhalten. Um dies zu vermeiden wurde das Rohprodukt direkt unter *Luche*-Bedingungen⁵⁴ reduziert und der resultierende sekundäre Alkohol mit Triethylsilyltriflat in den entsprechenden Triethylsilylether **75** in 59% Ausbeute über 3 Stufen überführt. Nach weiteren sechs Stufen wurde der tertiäre Alkohol **76** erhalten, der mit Hilfe des *Burgess*-Reagenzes⁵⁹ desoxygeniert wurde, so dass das Alken **77** erhalten wurde. Durch katalytische Hydrierung mit Pd/C konnte

1. Einleitung

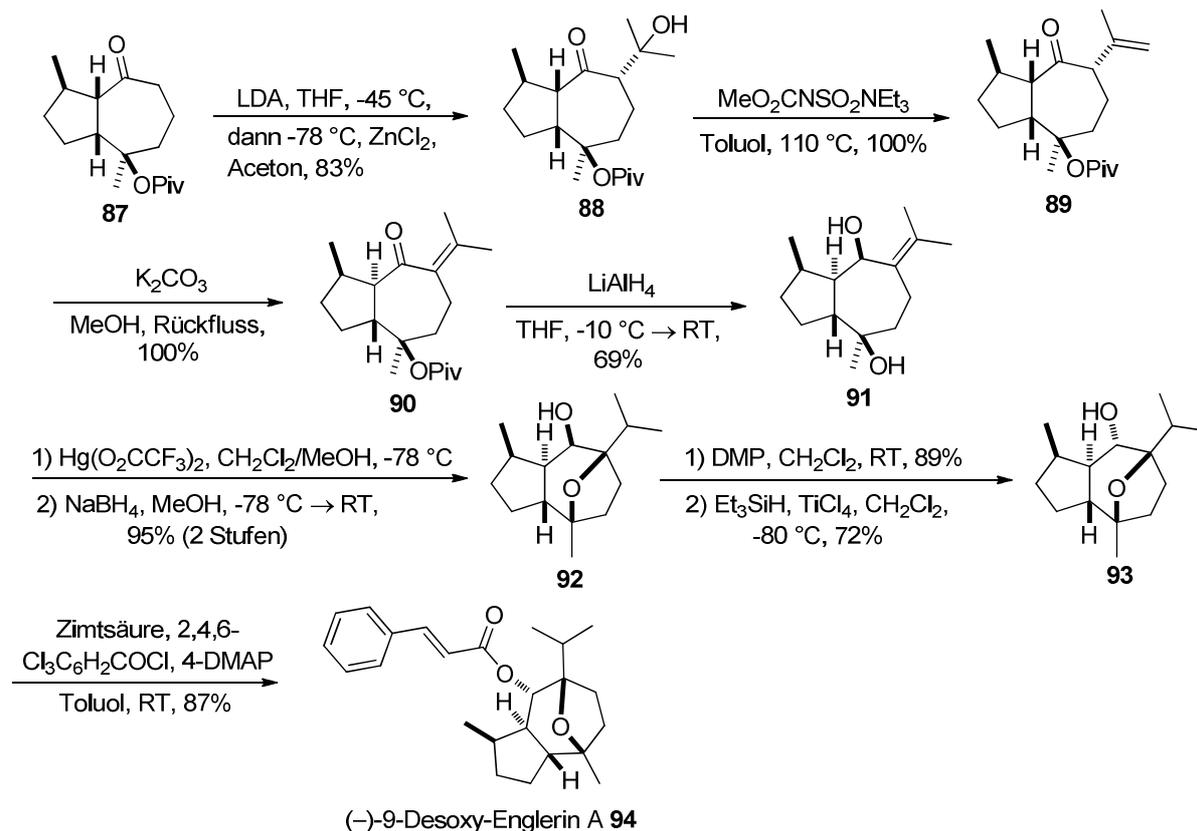
das Guaianolid **78** synthetisiert werden. Die Spaltung der beiden Triethylsilyl-Ether mit TBAF lieferte schließlich das Diol **79** in 65% Ausbeute.

Inspiziert von der Struktur des Naturstoffs Orientalol F (**80**) synthetisierten *Maier et al.*^{12a} das (-)-9-Desoxy-Englerin A Derivat. Die Synthese begann mit (-)-Isopulegol (**81**), das in drei Stufen in das Enon **82** umgewandelt wurde. Die anschließende Epoxidierung mit *m*-CPBA lieferte einzig das Epoxid **83** in 83% Ausbeute (Schema 19).



Schema 19: Generierung des Ketons **87**.

Die Enolatbildung des Ketoepoxids **83** mit NaH lieferte die regioisomeren Alkohole **84** und **85** in einem Verhältnis von 1:0.7. Da der tertiäre Alkohol im Gleichgewicht mit seinem Hemiacetal vorliegt (**85:86** = 30:70), wurde dieser zunächst mit Pivalinsäureanhydrid und Sc(OTf)₃ verestert,⁶⁰ wobei das Keton **87** als das gewünschte Hauptprodukt (**87:88** = 62:38) erhalten wurde. Wurde hingegen eine Silylierung durchgeführt (hier nicht gezeigt), so wurde bevorzugt das Hemiacetal **86** gebildet. Das Hemiacetal **88** kann durch Verseifung mit K₂CO₃ in ein Gemisch aus dem Hemiacetal **86** und dem Hydroxyketon **85** zurückgeführt werden.



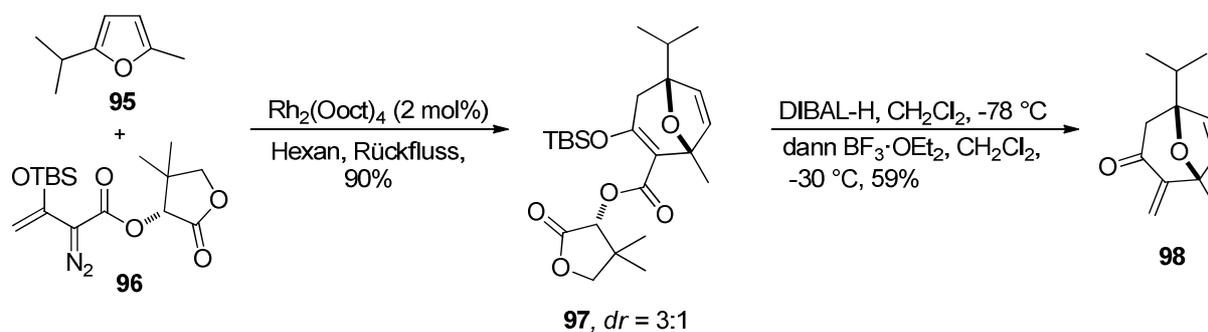
Schema 20: Synthese von (-)-9-Desoxy-Englerin A nach *Maier et al.*^{12a}

Die Aldolreaktion⁶¹ von **87** mit Aceton lieferte das Hydroxyketon **88**, welches anschließend mit dem *Burgess*-Reagenz⁵⁹ zum Alken **89** desoxygeniert wurde (Schema 20). Nach Umsetzung mit K_2CO_3 in MeOH fand eine Migration der Doppelbindung unter gleichzeitiger Epimerisierung des stereogenen Zentrums in α -Position in einem Verhältnis von *cis/trans* = 1/1 statt. Die beiden Epimere konnten per Säulenchromatographie getrennt werden und das ungewünschte Epimer wurde wieder in den Epimerisierungszyclus zurückgeführt. Interessanterweise wurde der Pivalinsäureester unter diesen Bedingungen nicht gespalten, wohingegen der Pivalinketalester **88** in das Hemiacetal umgewandelt wird (Schema 19). Reduktive Spaltung des Pivalinsäureesters führte auch zur Reduktion des Ketons, so dass das Diol **91** in 69% Ausbeute erhalten wurde. Die transannulare Cyclisierung wurde mit $Hg(O_2CCF_3)_2$ durchgeführt, gefolgt von einer direkten Reduktion mit $NaBH_4$ der entstehenden organischen Quecksilberverbindung. Nach einer *Dess-Martin*-Oxidation⁴⁶ und anschließender Reduktion des Ketons mit Et_3SiH und $TiCl_4$ wurde ausschließlich der Alkohol **93** mit der gewünschten Konfiguration gebildet.⁶² Andere Reduktionsmittel wie $LiAlH_4$, $NaBH_4$ oder DIBAL-H lieferten nur den Alkohol **92**. Nach der abschließenden *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ mit Zimtsäure wurde (-)-9-Desoxy-Englerin A **94** in 87% Ausbeute erhalten. Die Gesamtausbeute beträgt 13% über 15 Stufen (längste lineare Sequenz). Neben der

Synthese führten *Maier et al.* auch biologische Studien durch, deren Ergebnisse in Kapitel 1.6 zusammengefasst sind.

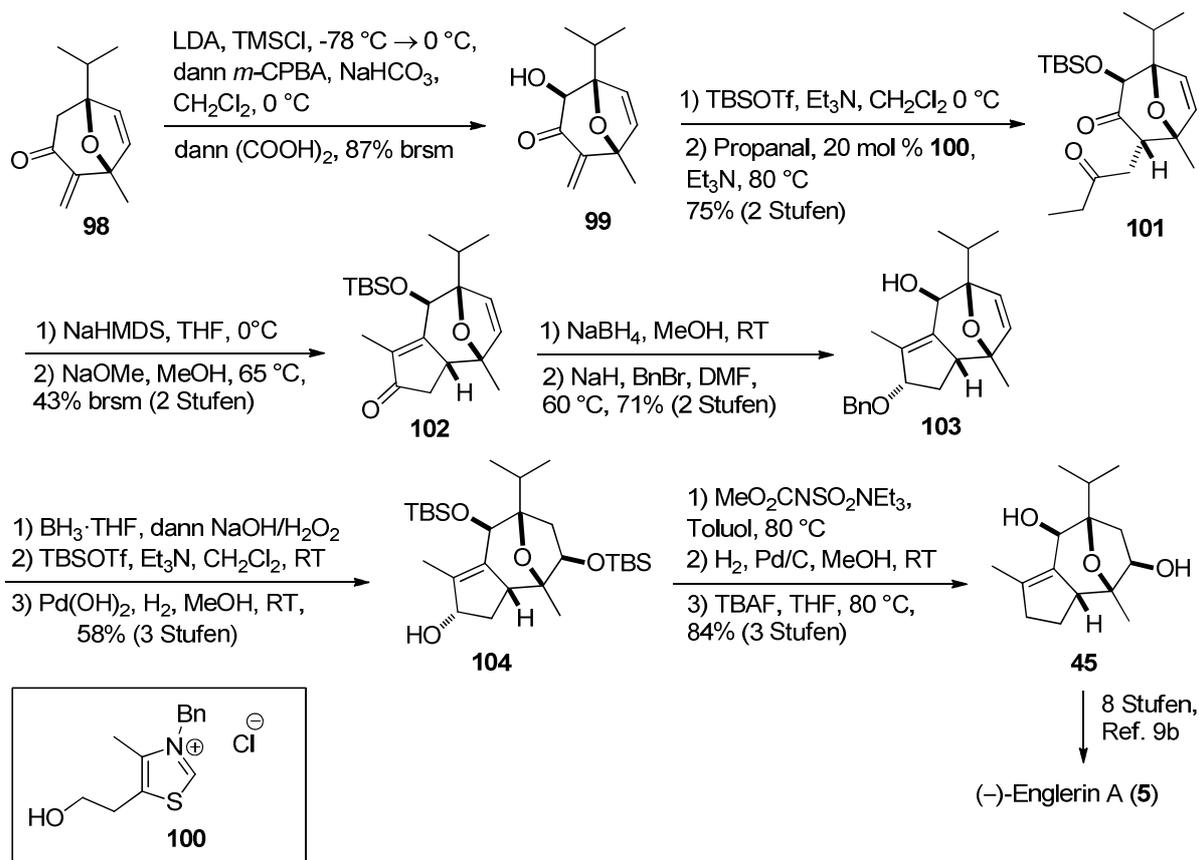
1.5.2 Formalsynthese nach *Theodorakis*^{10a}

Eine enantioselektive Formalsynthese von (-)-Englerin A konnte von *Theodorakis et al.*^{10a} abgeschlossen werden. Sie machten sich eine *Davies* Rhodium-katalysierte [4+3]-Cycloaddition⁶³ zu Nutze, um in nur einer Stufe aus dem Furan **95** und dem chiralen Diazoester **96** das oxatricyclische System **97** aufzubauen (Schema 21). Das Furan **95** ist leicht aus 2-Methylfuran in 3 Stufen zugänglich⁶⁴ und der Diazoester **96** kann ebenfalls in 3 Stufen aus (*R*)-Pantolacton synthetisiert werden.⁶³ Langsame Addition des chiralen Diazoesters **96** zu dem in Hexan refluxierenden Furan **95** unter Rh(II)-Katalyse mit Rhodiumoctanoat lieferte den Tricyclus **97** in 90% Ausbeute und einer moderaten Diastereoselektivität von 3:1, wobei die Diastereomere leicht über eine säulenchromatographische Reinigung getrennt werden können. Die Durchführung der Reaktion bei tieferen Temperaturen oder geringerer Katalysatorbeladung führte hingegen zu signifikant schlechteren Ausbeuten und verbesserte in keinem Fall die Diastereoselektivität. Als nächstes wurde das Auxiliar mit DIBAL-H abgespalten und der instabile β -Hydroxy Enoether gebildet, der *in situ* mit $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ zum Enon **98** umlagerte.⁶⁵



Schema 21: [4+3]-Rhodium-katalysierte Cycloaddition zum Aufbau des Guaian-Gerüsts.

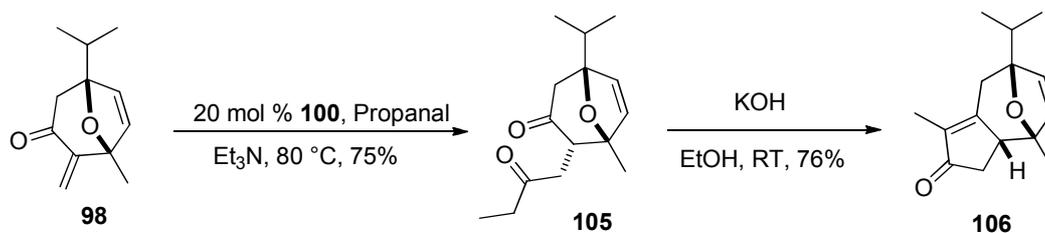
Die folgende *Rubottom*-Oxidation⁶⁶ erfolgte von der weniger gehinderten Seite, so dass ausschließlich das α -Hydroxyenon **99** mit der unerwünschten Konfiguration gebildet wurde. Anschließend wurde der sekundäre Alkohol als TBS-Ether geschützt und in einer *Stetter*-Reaktion mit Propanal in Anwesenheit des Thiazoliumsalzes **100** unter basischen Bedingungen⁶⁷ in das Diketon **101** überführt (Schema 22).



Schema 22: Synthese des Diols **45**.

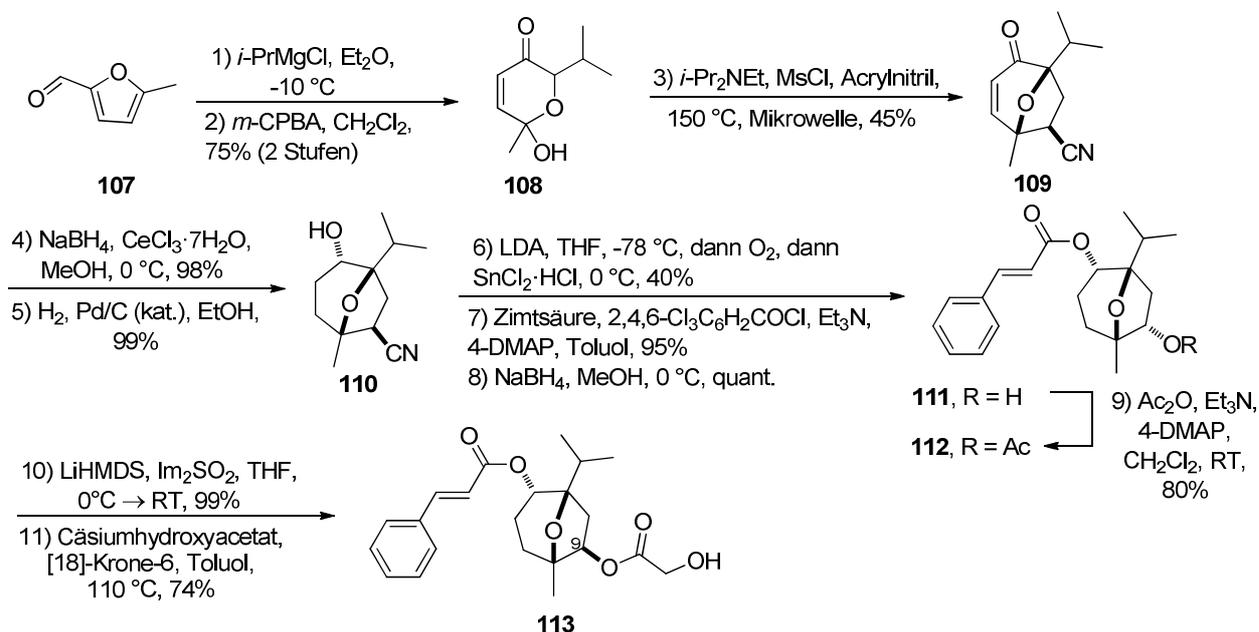
Die folgende intramolekulare Aldolreaktion gestaltete sich schwierig und einzig die Umsetzung mit NaHMDS, gefolgt von Erhitzen in NaOMe/MeOH lieferte das Enon **102** in 43% Ausbeute (brsm über 2 Stufen). Anschließend wurde in 8 Stufen die zweite Hydroxylgruppe durch regio- und stereoselektive Reaktion mit dem Boran·THF Komplex eingeführt. Eine Desoxygenierung mit dem *Burgess*-Reagenz⁵⁹ und einige Schutzgruppenreaktionen lieferten schließlich das Diol **45**, welches in 8 Stufen zu (-)-Englerin A **5** umgesetzt werden kann.^{9b} Basierend auf diesen Ergebnissen untersuchten *Theodorakis et al.* in weiteren Arbeiten^{11d} eine alternative Strategie, um den fünfgliedrigen Ring zu schließen (Schema 23). Dafür verwendeten sie das nicht hydroxylierte Enon **98** und setzten es unter *Stetter*-Bedingungen mit dem Thiazoliumsalz **100** und Propanal um und erhielten das Diketon **105** in 75% Ausbeute. Die anschließende intramolekulare Aldoladdition konnte nun mit KOH unter milden Bedingungen durchgeführt werden und es wurde das Enon **106** in 76% Ausbeute erhalten.

1. Einleitung



Schema 23: Alternative Strategie des Ringschlusses nach *Theodorakis et al.*^{11d}

Im Zuge dieser Arbeiten synthetisierten *Theodorakis et al.* auch ein bicyclisches Englerin A-Derivat und testeten dessen biologische Aktivität,^{11d} auf die in Kapitel 1.6 näher eingegangen wird. Die Synthese des bicyclischen Derivates beginnt in Anlehnung an die Synthese von *Nicolaou*^{9c} mit der *Grignard*-Addition von $i\text{-Pr}_2\text{MgCl}$ an 2-Methyl-5-furfural **107** (Schema 24). Die anschließende Umsetzung mit *m*-CPBA lieferte das Hemiacetal **108** in 75% Ausbeute über 2 Stufen. Die folgende [5+2]-Cycloaddition⁴⁷ mit einem Überschuss Acrylnitril lieferte das bicyclische System **109** in 32% Ausbeute. Durch Erhöhung der Temperatur und Durchführung in der Mikrowelle konnte die Ausbeute auf 45% gesteigert werden. Nach einer *Luche*-Reduktion⁵⁴ und Hydrierung der Doppelbindung wurde der Alkohol **110** generiert.

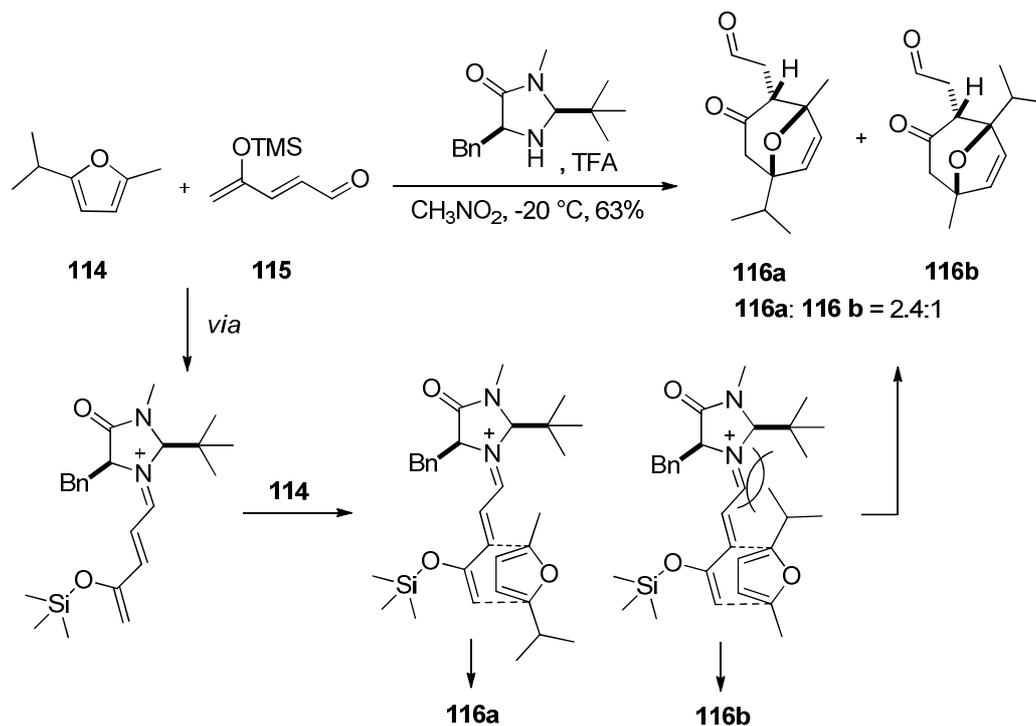


Schema 24: Synthese des bicyclischen Englerin A-Derivates **113**.

Die Oxidative Spaltung des Nitrils mit O_2 und $SnCl_2 \cdot HCl$ zum Keton, gefolgt von einer *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ des sekundären Alkohols mit Zimtsäure und Reduktion des Ketons zum Alkohol lieferte die Verbindung **111**. Die Acylierung mit Essigsäureanhydrid lieferte das Acylierungsprodukt **112**. In Anlehnung an die Arbeiten von *Ma*^{9b} wurde die Synthese durch Umsetzung mit LiHMDS und Im_2SO_2 abgeschlossen. Das korrespondierende Imidazolsulfonat wurde in 99% Ausbeute erhalten und die anschließende nucleophile Substitution mit Cäsiumhydroxyacetat in Anwesenheit von [18]-Krone-6 lieferte das gewünschte bicyclische Englerin A-Derivat **113** in 74% Ausbeute unter Inversion der Konfiguration an C9.

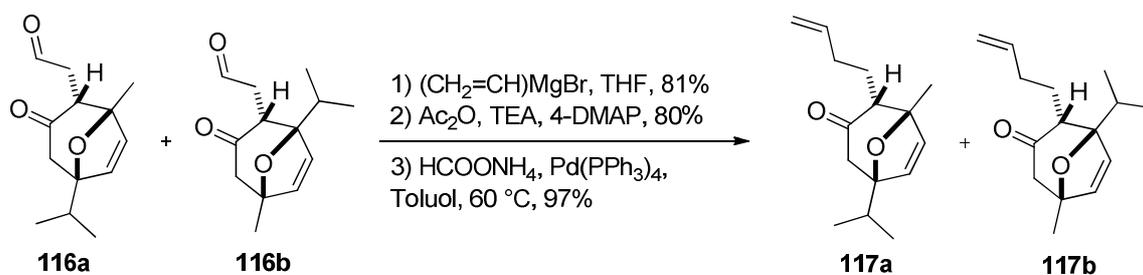
1.5.3 Organokatalytischer Syntheseansatz nach *Lin*

Ein organokatalytischer Syntheseansatz wurde von *Lin et al.*^{11b,c} beschrieben. Im Gegensatz zur Rhodium-katalysierten [4+3]-Cycloaddition, wie sie von *Theodorakis et al.*^{10a} durchgeführt wurde, wurde hier eine organokatalytische *Harmata*-[4+3]-Cycloaddition⁶⁸ mit dem *MacMillan*-Katalysator⁶⁹ realisiert. Dafür wurden das Furan **114** und das Dienal **115** in Nitromethan mit dem *MacMillan*-Katalysator umgesetzt und es konnten die beiden untrennbaren oxabicyclischen Produkte **116a** und **116b** in 63% Ausbeute verbunden mit einem moderaten Enantiomerenüberschuss von 67% *ee* bzw. 82% *ee* erhalten werden (Schema 25).



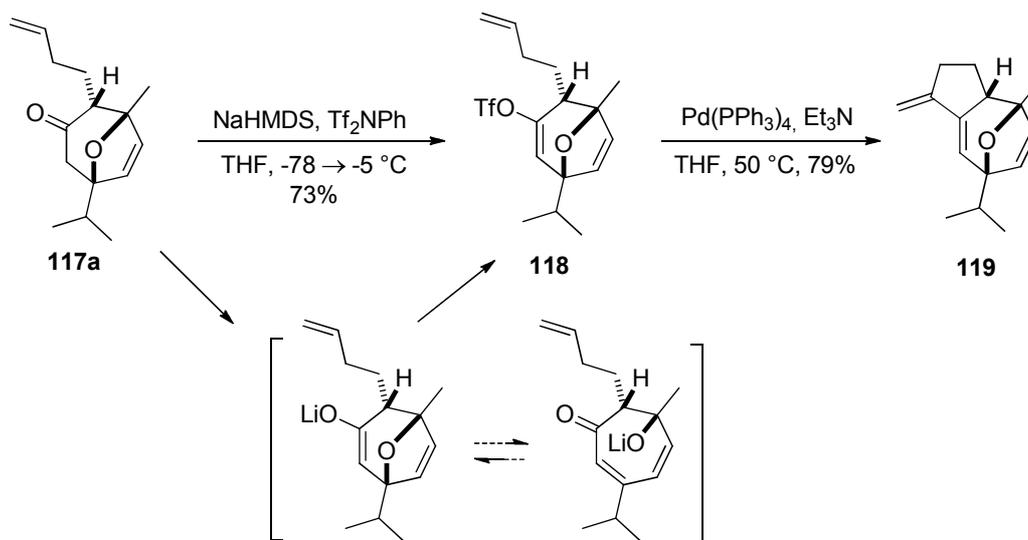
Schema 25: Organokatalytische [4+3]-Cycloaddition nach *Lin*.

Daran anschließend wurde die Seitenkette mit Vinylmagnesiumbromid verlängert (Schema 26), gefolgt von einer Acylierung des allylischen Alkohols, sowie Reaktion mit Ammoniumformiat in Anwesenheit von katalytischen Mengen $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ und die beiden Produkte konnten in 97% Ausbeute erhalten werden.



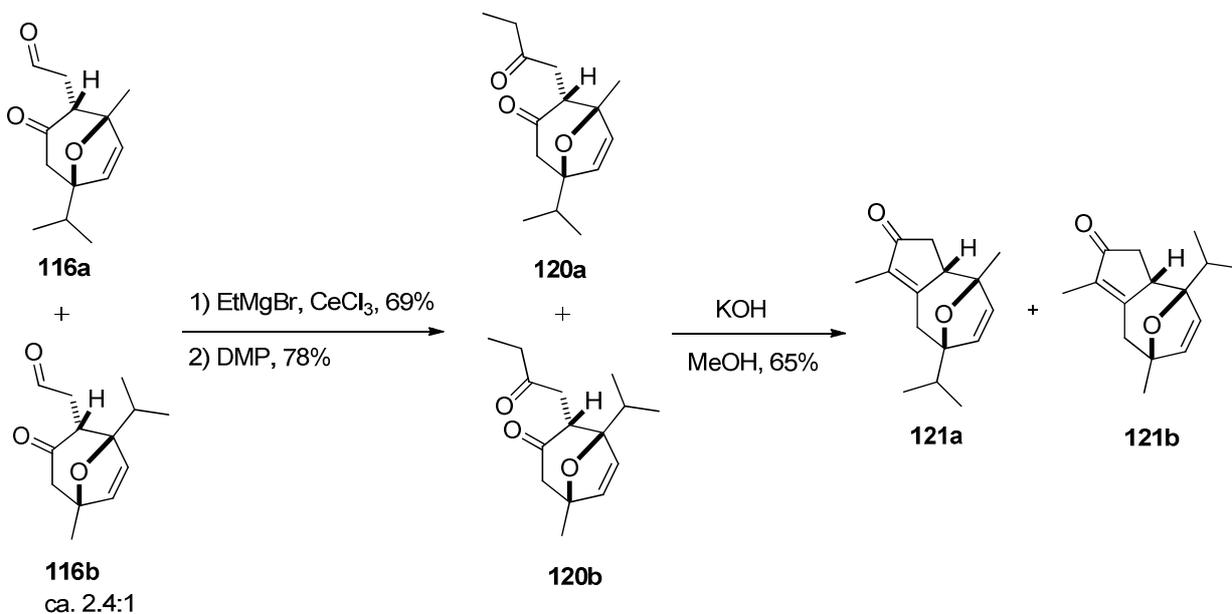
Schema 26: Verlängerung der Seitenkette.

Das Keton **117a** wurde anschließend mit NaHMDS und Tf_2NPh in das Triflat **118** überführt (Schema 27) und nach der anschließenden intramolekularen *Heck*-Reaktion wurde das Trien **119** in 79% Ausbeute erhalten. *Lin et al.* postulieren, dass ausgehend von diesem Intermediat verschiedene Derivate oder Naturstoffe generiert werden können, da sich die Doppelbindungen sowohl elektronisch, als auch in ihrem Substitutionsmuster unterscheiden.^{11b}



Schema 27: Intramolekulare *Heck*-Reaktion.

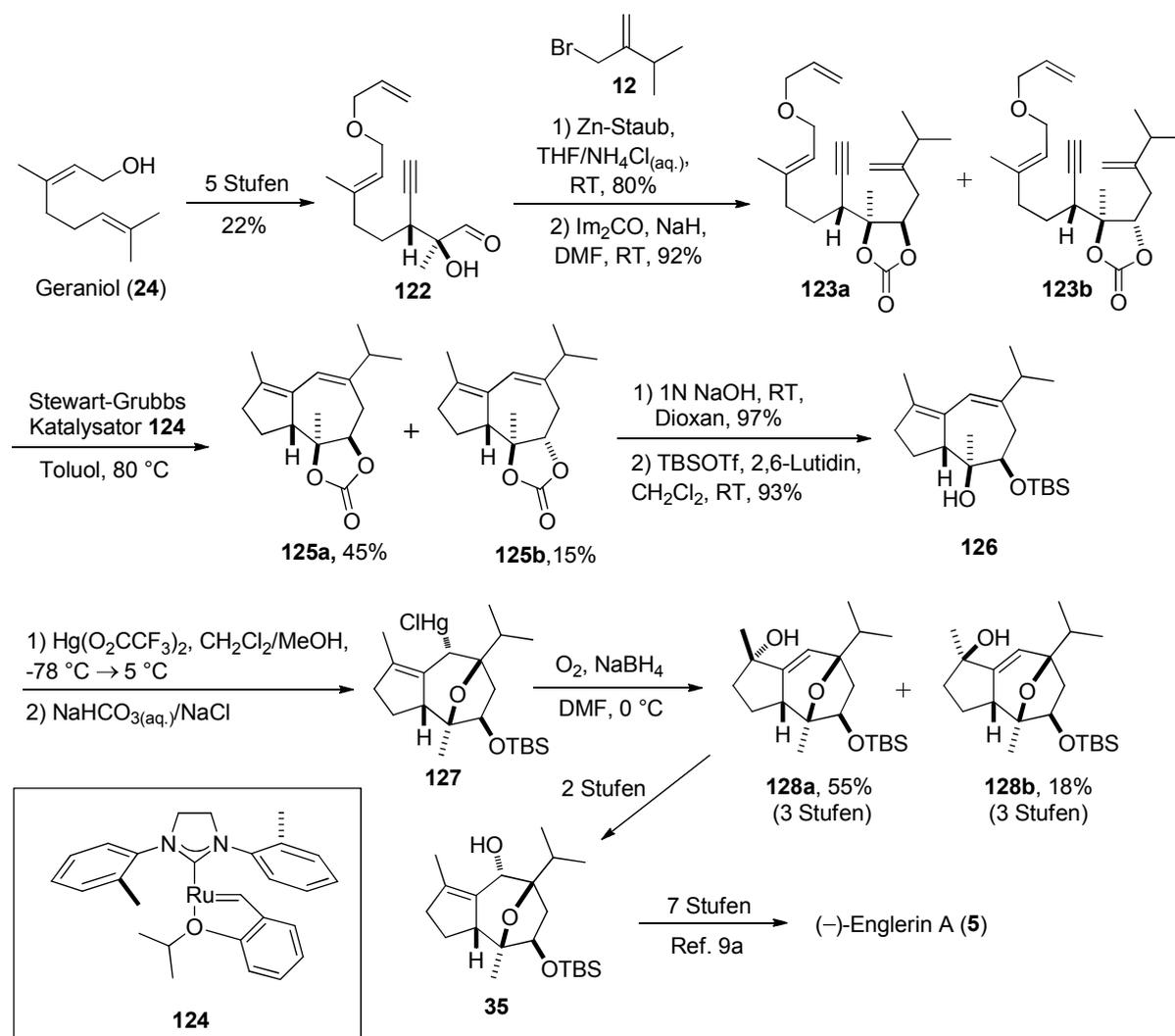
Der Cyclopentanring kann alternativ durch intramolekulare Kondensationsreaktionen aufgebaut werden. Dafür wurde die untrennbare Mischung **116a/116b** (ca. 2.4:1) mit Ethylmagnesiumbromid umgesetzt, gefolgt von einer *Dess-Martin-Oxidation*⁴⁶ und es konnten die beiden Ketone **120a** und **120b** in 78% Ausbeute erhalten werden (Schema 28). Die anschließende intramolekulare Aldolreaktion gelang nur durch Reaktion mit KOH in MeOH und es wurden die beiden α,β -ungesättigten Ketone **121a** und **121b** in 65% Ausbeute erhalten, die an diesem Punkt der Synthese voneinander getrennt werden konnten.



Schema 28: Aufbau des Cyclopentanrings durch intramolekulare Aldolreaktion.

1.5.4 Asymmetrische Formalsynthese nach *Parker*^{10b}

Drei Jahre nach der ersten Totalsynthese von *Christmann et al.*^{8b} veröffentlichten *Parker et al.*^{10b} eine asymmetrische Formalsynthese ausgehend von Geraniol (**24**). Dieses wurde in fünf Stufen in den Aldehyd **122** umgewandelt, der anschließend in einer Zn-vermittelten *Barbier*-Reaktion¹⁸ mit 2-Brommethyl-3-methyl-1-buten^{19,8b} **12** in die Vorläufer der Relais-Ringschlussmetathese (RRCM) überführt wurde (Schema 29).



Schema 29: Asymmetrische Formalsynthese nach *Parker*.^{10b}

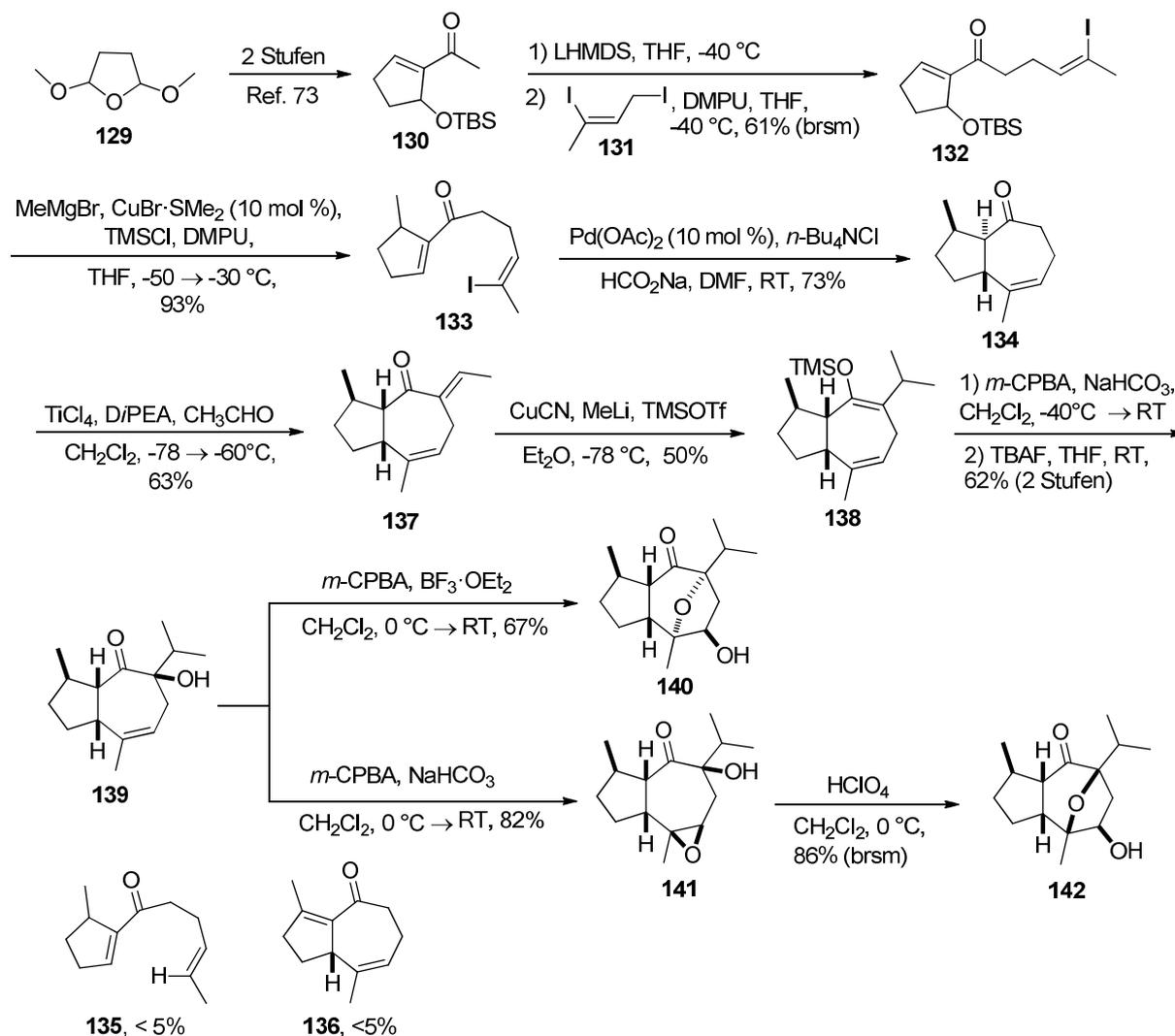
Die Carbonate **123a** und **123b** wurden anschließend mit dem *Stewart-Grubbs* Katalysator⁷⁰ **124** in einer Relais En-In-En-Metathese in die beiden Stereoisomere **125a** und **125b** überführt. Die entstehenden Produkte veranschaulichen recht eindrucksvoll die Selektivität des verwendeten *Stewart-Grubbs* Katalysators. Unter den Reaktionsbedingungen wird lediglich das Guaiadien-Ringsystem gebildet, das Decalinderivat wurde nicht beobachtet. Des Weiteren reagieren beide Stereoisomere in dieser Reaktion, was auch zu Bildung des

rigideren Stereoisomers **125b** führte. Das Hauptmengenstereoisomer **125a** wurde anschließend mit wässriger NaOH zum Diol umgesetzt, welches daraufhin regioselektiv als TBS-Ether geschützt wurde. Die Sauerstoffbrücke über den siebengliedrigen Ring wurde durch Oxymyrcurierung mit $\text{Hg}(\text{O}_2\text{CCF}_3)_2$ und anschließender Addition von wässriger $\text{NaHCO}_3/\text{NaCl}$ -Lösung⁷¹ aufgebaut. Die resultierende Organoquecksilber-Verbindung **127** wurde danach in die tertiären Alkohole **128a** und **128b** durch oxidative Demercurierung⁷² mit O_2 und NaBH_4 überführt. Der Alkohol **128a** kann in zwei Stufen in den bekannten Alkohol **35** überführt werden, der in sieben Stufen zu (–)-Englerin A reagiert.^{9a}

1.5.5 Formalsynthese durch reduktive Heck-Reaktion nach Cook^{10c}

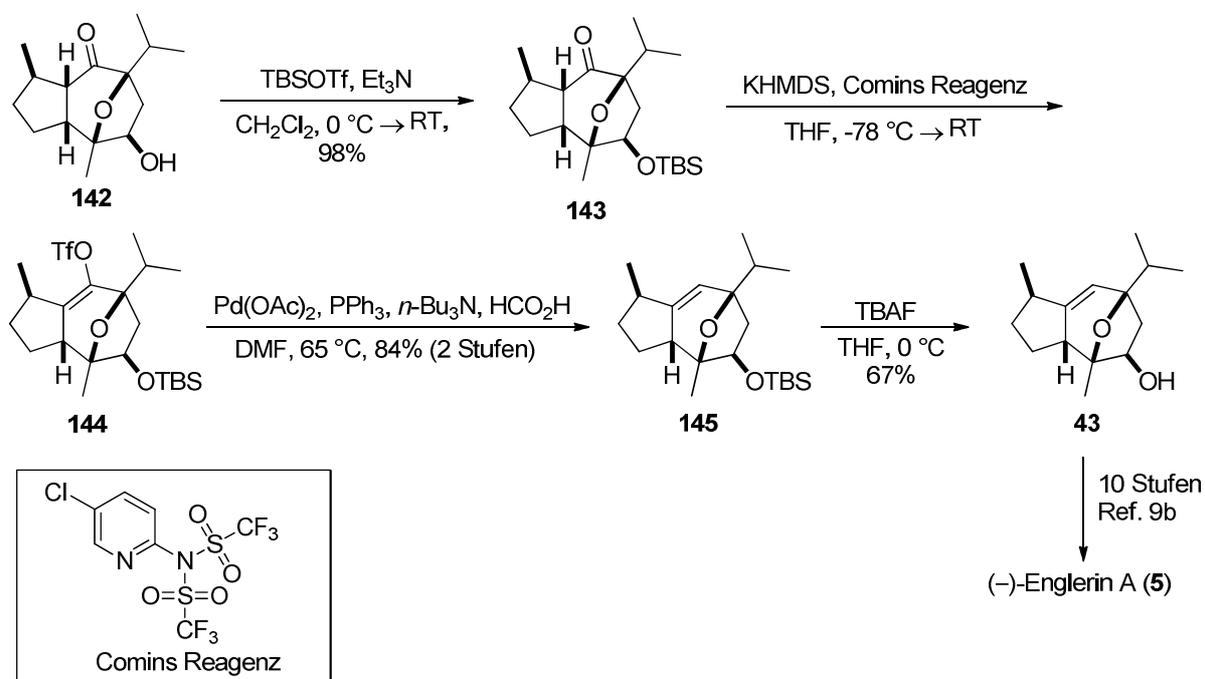
Cook *et al.* führten zum Aufbau des Hydroazulensystems eine reduktive Heck-Reaktion durch.^{10c} Dafür setzten sie 2,5-Dimethoxytetrahydrofuran **129** in einer zweistufigen Synthese in das bekannte α,β -ungesättigte Keton⁷³ **130** um. Eine Enolatbildung mit LiHMDS und eine anschließende Alkylierung mit dem Wichterle-Iodid **131**⁷⁴ in Anwesenheit von DMPU lieferte das Vinyliodid **132** in 61% (brsm) Ausbeute (Schema 30). Eine Kupfer-katalysierte 1,4-Addition des Grignard-Reagenzes an das Enon **132** bildete das $\text{S}_{\text{N}}2'$ -Produkt **133** in 93% Ausbeute.^{73b}

1. Einleitung

Schema 30: Reduktive Heck-Reaktion nach Cook *et al.*

Das gewünschte 5,7-*trans*-Hydroazulenprodukt **134** wurde erfolgreich in einer reduktiven Heck-Reaktion mit Pd(OAc)₂, HCO₂Na und *n*-Bu₄NCl in DMF in 73% Ausbeute synthetisiert. Das Reduktionsprodukt **135** konnte in weniger als 5% Ausbeute beobachtet werden, ebenso wie das „normale“ Heck-Produkt **136**. Daraufhin wurde zunächst die Ethylidengruppe durch Enolisierung mit Diisopropylethylamin und Acetaldehyd in 63% Ausbeute eingeführt.⁷⁵ Unter diesen Bedingungen epimerisierte das *trans*-anellierte Ringsystem zu dem thermodynamisch stabileren *cis*-Ringsystem. Die Umsetzung mit dem Lipshutz-Cuprat,⁷⁶ gefolgt von TMSOTf-Addition lieferte das Dien **138**, welches durch eine Rubottom-Oxidation und TMS-Entschützung mit TBAF in das α -Hydroxyketon **139** überführt wurde, dessen relative Konfiguration durch eine Röntgenkristallstruktur bestätigt wurde. Durch weitere Oxidation des α -Hydroxyketons **139** mit *m*-CPBA (1.1 eq.) und BF₃·OEt₂ (1.0 eq.) wurde die Etherbrücke nach einem bisher unbekanntem Mechanismus über den siebengliedrigen Ring gebildet, die jedoch die falsche Konfiguration in Bezug auf (-)-Englerin A besitzt. Um dies zu vermeiden wurde das α -Hydroxyketon **139** mit *m*-CPBA

(2.0 eq.) und NaHCO₃ epoxidiert und es konnte das Epoxid **141** nach drei Tagen in 82% Ausbeute isoliert werden. Die anschließende säurekatalysierte intramolekulare Epoxidöffnung mit HClO₄ lieferte die gewünschte Etherbrücke über den siebengliedrigen Ring in 86% (brsm) Ausbeute. Allerdings kann das thermodynamisch stabilere *cis*-anellierte Ringsystem nicht zum *trans*-anellierten Ringsystem epimerisiert werden. Um die Formalsynthese abzuschließen wurde der sekundäre Alkohol als TBS-Ether geschützt und das Keton durch Umsetzung mit KHMDS und dem *Comins* Reagenz⁷⁷ in das Enoltriflat **144** überführt (Schema 31). Die folgende palladiumkatalysierte Reduktion lieferte das Alken **145**, welches nach TBS-Entschützung in den bekannten sekundären Alkohol **43**^{9b} überführt wurde, der in weiteren 10 Stufen zu Englerin A (**5**) reagieren kann.



Schema 31: Abschluss der Formalsynthese.

1.6 Derivatisierung von Naturstoffen

Die Natur stellt eine unerschöpfliche Quelle an potentiellen Wirkstoffen dar.⁷⁸ Da die Wirkstoffe aber zum Teil in nur geringen Mengen in der Natur vorhanden sind, öffnet die Naturstoffsynthese einen wichtigen Zugang zu diesen Wirkstoffen. Durch die Totalsynthese können im Gegensatz zu der Isolierung aus dem Pflanzen- oder Tiermaterial teilweise Gramm bis Tonnenmaßstäbe der Naturstoffe gewonnen werden. Einen weiteren Vorteil der Naturstoffsynthese stellt der Zugang zu Strukturderivaten dar, die ohne die Totalsynthese nicht zugänglich wären. Durch so genannte Struktur-Aktivitätsbeziehungen (SAR) wird auf die Beziehung zwischen der chemischen Struktur und der biologischen Aktivität eines Moleküls eingegangen. Die Analyse ebendieser ermöglicht die Bestimmung der funktionellen Gruppen, die für die biologische Aktivität verantwortlich sind. Wurden diese funktionellen Gruppen identifiziert, so können leicht Modifikationen der Wirksamkeit erreicht werden, indem die chemische Struktur des Moleküls geändert wird, wie am Beispiel von Discodermolid **146** gezeigt werden soll (Abb. 4). Discodermolid **146** wurde 1990 von *Gunasekera et al.* aus dem Tiefseeschwamm *Discodermia dissoluta* isoliert.⁷⁹ Die absolute Konfiguration blieb bis zur ersten Totalsynthese von *Schreiber et al.* im Jahr 1993 unbekannt, welche das unnatürliche Enantiomer zugänglich machte.^{80 a,b} Eine weitere Totalsynthese lieferte schließlich den Naturstoff.^{80c} Discodermolid ist wachstumshemmend gegen verschiedene MDR (multiple drug resistance) Krebszelllinien und zeigt ähnliche Aktivität wie Paclitaxel (**8**).

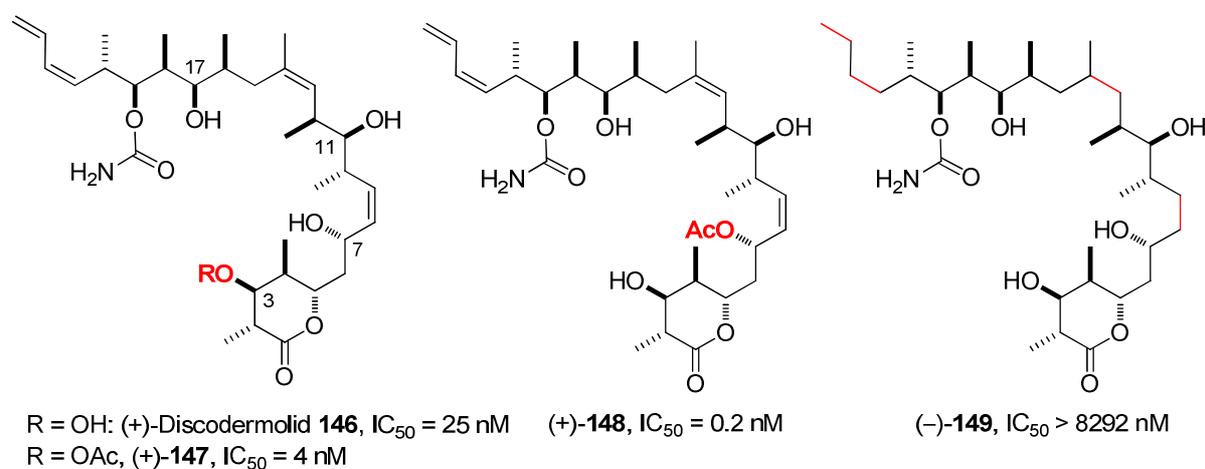


Abb 4: (+)-Discodermolid **146** und einige StrukturanaLOGa nach *Gunasekera et al.*; die IC_{50} -Werte⁸¹ der Zellproliferation wurden in der Krebszelllinie A549 gemessen.

Durch Semisynthese von (+)-Discodermolid **146** erhielten *Gunasekera et al.* Zugang zu mono- bis triacylierten, sowie teilweise bis vollständig gesättigten Derivaten.⁸² Durch die selektive Acylierung an C3, (+)-**147** und C7, (+)-**148** steigt die Aktivität gegenüber dem Naturstoff deutlich an ($IC_{50} = 4$ und 0.2 nM). Durch eine vollständige Hydrierung von (+)-Discodermolid ließ die Aktivität deutlich nach ((-)-**149**, $IC_{50} = 8292$ nM), wohingegen durch eine teilweise Hydrierung (hier nicht gezeigt) die Aktivität weniger abnahm und mit einem IC_{50} -Wert von 30 nM im Bereich der Aktivität des Naturstoffs liegt. Durch solche Untersuchungen wird deutlich, wie wichtig die SAR-Studien in Hinblick auf die Identifizierung von möglichen Therapeutika sind.

Ein großer Teil dieser Arbeit befasst sich mit der Synthese von Englerin A-Derivaten, um auch hier, wie beim Beispiel von Discodermolid, deren biologische Aktivität zu überprüfen und SAR-Studien durchzuführen. Einige Derivate, sowie selbst Englerin A, wurden bereits von *Beutler et al.*⁸³ patentiert (Abb. 5), worauf im Folgenden eingegangen wird.

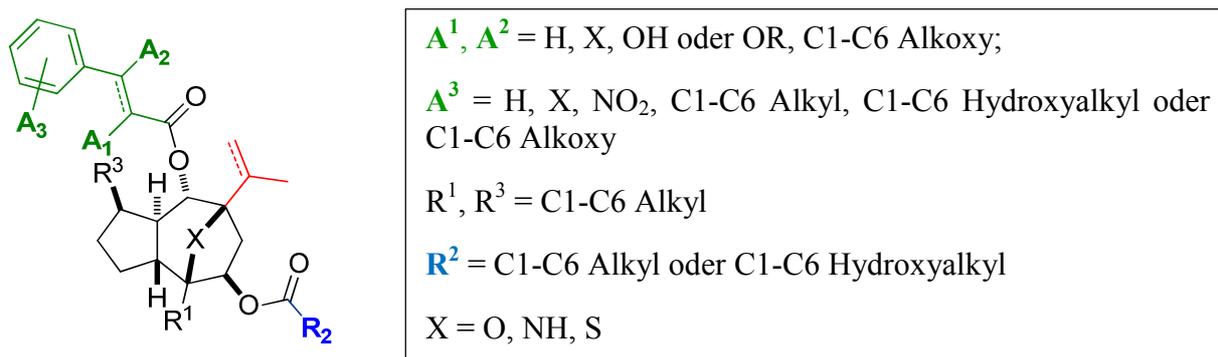
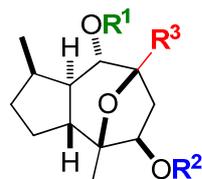


Abb. 5: Derivate, die im Patent von *Beutler*⁸³ eingeschlossen sind.

Die Zimtsäure (grün) könnte die Substituenten **A¹** bis **A²** tragen, wobei es sich um ein Wasserstoffatom, einen Alkohol, ein Halogen X oder ein Alkoxid (OR) handeln könnte. Ebenfalls wäre denkbar, dass die Doppelbindung hydriert wäre. Ferner wäre eine Substitution am Phenylring möglich, so dass **A³** als ein Wasserstoffatom, ein Halogen X oder eine Nitrogruppe vorliegt. Substitutionen durch einen C1-C6 Alkylrest, -Hydroxyalkylrest sowie einen -Alkoxyrest wären des Weiteren vorstellbare Derivate, die im Patent eingeschlossen sind. Die Reste **R¹** und **R³** können C1-C6 Alkylsubstituenten sein und die Etherbrücke X über den siebengliedrigen Ring könnte durch eine NH-Gruppe oder S ausgetauscht sein. Der Isopropylrest (rot) könnte durch einen Isopropylidenrest ausgetauscht sein und der Rest **R²** durch eine C1-C6 Alkyl- oder Hydroxyalkylgruppe. Daher wurden im Zuge dieser Arbeit nur

1. Einleitung

Derivate synthetisiert, die nicht bereits im Patent von *Beutler*⁸³ enthalten sind. Die möglichen Derivate werden an den farbigen Stellen (A^1 - A^3 , Isopropyl, R^2) variiert, wie im Patent von *Beutler* beschrieben (Abb. 5), jedoch muss die Zimtsäure (R^1) nicht zwangsläufig im Molekül enthalten sein und der Isopropylrest (R^3) kann auch Ethyl oder Methyl sein (Abb. 6).⁸⁴



$R^1 = \text{CO-R}^*, -\text{CO-CH=CH-R}^*, -\text{CO-CH=C(CH}_3\text{)-R}^*$

$R^2 = \text{CO-CH}_2\text{-OR}', \text{CO-CH}_2\text{-SR}', \text{CO-CH}_2\text{-NCR}'\text{R}'', \text{CO-CH}_2\text{-O-CO-NH-R}', \text{CO-CH}_2\text{-O-CO-R}', \text{CO-CH}_2\text{-O-CO-N(R}'\text{R}''), \text{CO-CH}_2\text{-O-CO-O-R}', \text{CO-CH}_2\text{-NH-CO-O-R}', \text{CO-(CH}_2\text{)}_n\text{-OR}', \text{CO-(CH}_2\text{)}_n\text{-R}'$,

$R^3 = \text{Me, Et, Pr, } i\text{-Pr, } c\text{-Propyl, } c\text{-Butyl, } c\text{-Pentyl, } c\text{-Hexyl, Ph, Bn,}$

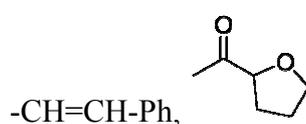


Abb. 6: Patent von *Christmann et al.*⁸⁴ R^* können verschiedene Aromaten oder Heteroaromaten sein; R' und R'' können Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, oder Cyclen sein; n kann 1-5 sein.

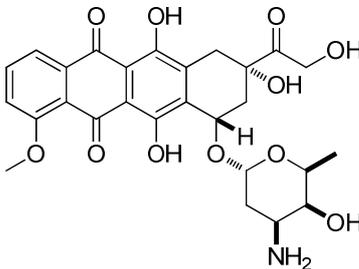
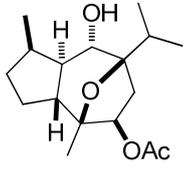
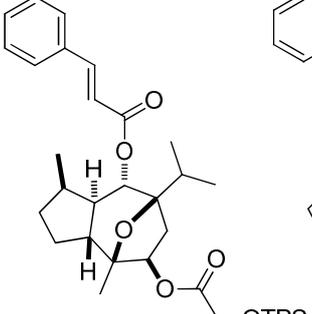
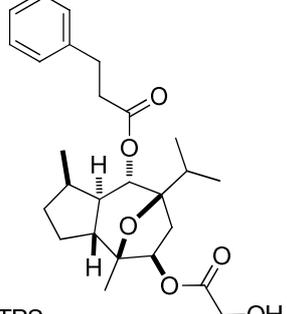
Einzig unsere Totalsynthese ermöglicht den Zugang zu Derivaten mit unterschiedlichen Resten R^3 am Guaian-Gerüst, was mit den hier vorgestellten Synthesen von Englerin A nicht möglich wäre.

1.6.1 Derivatisierung von Englerin A

1.6.1.1 Biologische Untersuchungen von *Nicolaou und Chen*^{9c}

Wie zuvor erwähnt, führten *Nicolaou* und *Chen* biologische Studien von ihren synthetisierten Verbindungen durch.^{9c} Bei dem Vergleich der Cytotoxizität (Tabelle 1) fällt auf, dass (\pm)-Englerin A in den Zelllinien A498 ($GI_{50} = 45 \text{ nM}$) und UO31 ($GI_{50} = 37 \text{ nM}$) die höchsten Aktivitäten zeigt, hingegen bei der Zelllinie ACHN (Eintrag 3), bei der es sich auch um eine Nierenkrebszelllinie handelt, eine 2.5-fach geringere Cytotoxizität aufzeigt. Wie bereits von *Beutler et al.*⁵ festgestellt wurde, zeigt (\pm)-Englerin A in der Zelllinie A498 eine höhere Aktivität als Paclitaxel (**8**), gleiches gilt für den Vergleich mit Doxorubicin (Eintrag 1 und 2).

Tabelle 1: Cytotoxizität der Substrate von *Nicoalou* und *Chen* gegenüber verschiedenen Krebszelllinien.

		Zelllinie, ^[a] GI ₅₀ -Werte ⁷ in µM				
Eintrag	Verbindung	MCF-7	NCI-H460	ACHN	A498	UO31
	 Doxorubicin (150)					
	 (±)- 65					
	 (±)- 23					
	 (±)- 151					
1	Paclitaxel (8)	0.007	0.006	0.076	0.078	0.721
2	Doxorubicin (150)	0.066	0.010	0.072	0.243	0.693
3	(±)-Englerin A (±)-(5)	>10	>10	0.113	0.045	0.037
4	(±)-Englerin B (±)-(6)	>10	>10	>10	>10	>10
5	(±)-Englerin B Acetat (±)-(7)	>10	>10	>10	6.341	9.275
6	(±)- 65	>10	>10	>10	>10	>10
7	(±)- 23	>10	>10	>10	>10	>10
8	(±)- 151	>10	>10	0.745	0.287	0.359

^[a]Humane Krebszelllinien: MCF-7 (Brust), NCI-H460 (Lunge), ACHN, A498, UO31 (Nieren). Die Messungen wurden mit Hilfe des Sulforhodamin B-Assays durchgeführt. Die Zelllinien wurden für 48 h mit unterschiedlichen Konzentrationen der zu testenden Verbindungen inkubiert.

Wie bereits bekannt, zeigt (±)-Englerin B (±)-(**6**) in allen getesteten Zelllinien keine Aktivität (Eintrag 4).⁵ Ist der Alkohol durch eine Acetatgruppe substituiert (Eintrag 5), so ist die Aktivität zwar höher, als bei (±)-Englerin B, jedoch weist es eine 140-fach geringere Aktivität im Gegensatz zu (±)-Englerin A (±)-(**5**) auf. Das Hydroxy-Acetat (±)-**65** weist wie (±)-Englerin B keine Aktivität auf (Eintrag 6), ebenso wie der TBS-Ether (±)-**23** (Eintrag 7).

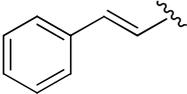
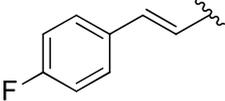
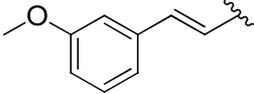
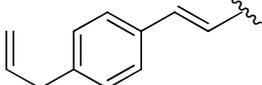
1. Einleitung

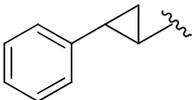
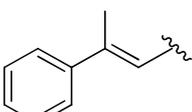
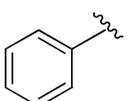
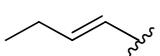
Interessanterweise ist (\pm)-Englerin A nach der Hydrierung der Zimtsäure noch deutlich aktiv in allen drei Nierenkrebszelllinien (Eintrag 8). Diese Ergebnisse machen deutlich, dass Veränderungen an der Doppelbindung durchaus toleriert werden, während die Substitution der Glykolsäure zu drastischen Aktivitätsverlusten führt.

1.6.1.2 Biologische Untersuchungen von Englerin A und dessen Derivaten nach *Chen*^{12b}

In Anlehnung an ihre bereits publizierten Derivate synthetisierten *Chen et al.*^{12b} weitere Analoga und bestimmten deren biologische Aktivität in den Zelllinien UO31, A498 und A549 im Vergleich zu (\pm)-Englerin A (\pm)-(5) und Paclitaxel (8). Die Messungen wurden mit Hilfe eines Sulforhodamin B-Assays durchgeführt. Die gemessenen GI₅₀-Werte der Derivate mit unterschiedlichen Resten **R¹** sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

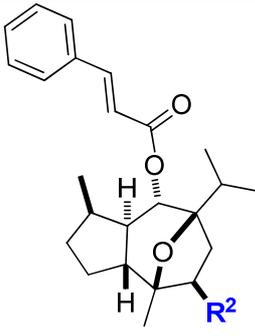
Tabelle 2: Biologische Aktivität der Derivate von *Chen* durch Variation des Restes **R¹**.^{12b}

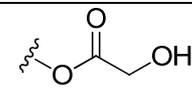
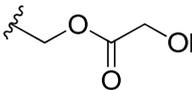
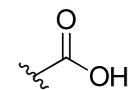
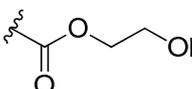
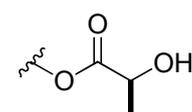
Eintrag	R¹	Zelllinie, ^[a] GI ₅₀ -Werte ⁷ in μ M		
		UO31	A498	A549
1		0.037	0.045	>10
2		0.040	0.032	>10
3		0.071	0.060	>10
4		0.150	0.340	>10

5		0.007	0.049	>10
6		0.014	0.086	>10
7		8.6	>10	>10
8		>10	>10	>10

^[a] Humane Krebszelllinien: UO-31 und A498 (Niere), A549 (Lunge). Die Zellen wurden für 48 h mit der zu testenden Substanzen inkubiert und anschließend die Zellproliferation bestimmt.

Bei der Betrachtung der GI_{50} -Werte fällt auf, dass geringe Veränderungen am aromatischen Ring (Eintrag 2 und 3) durchaus toleriert werden, wohingegen das Allylzimtsäurederivat (Eintrag 4) einen deutlichen Verlust in der biologischen Aktivität aufweist. Das Cyclopropan-, sowie das β -Methylzimtsäurederivat zeigen wiederum deutliche Aktivitäten ($GI_{50} = 49$ und 86 nM, Eintrag 5 und 6) und sind gleichzeitig in der Zelllinie UO31 sehr viel aktiver als (\pm)-Englerin A (Eintrag 1). Der Verlust der Aktivität bei dem Benzyl- und dem aliphatischen Derivat (Eintrag 7 und 8) machen deutlich, dass der Zimtsäureester oder ein großer Rest essentiell für die Aktivität von Englerin A ist. *Chen* untersuchte ebenfalls den Einfluss des Restes **R²** auf die Aktivität. Die gemessenen GI_{50} -Werte sind aus Tabelle 3 ersichtlich.

Tabelle 3: Biologische Aktivität der Derivate von *Chen* durch Variation des Restes R^2 .^{12b}


Eintrag	R^2	Zelllinie, ^[a] GI ₅₀ -Werte ⁷ in μM		
		UO31	A498	A549
1		0.037	0.045	>10
2		>10	>10	>10
3		>10	>10	>10
4		0.035	0.048	>10
5		0.047	0.020	>10

^[a] Humane Krebszelllinien: UO-31 und A498 (Niere), A549 (Lunge). Die Zellen wurden für 48 h mit der zu testenden Substanzen inkubiert und anschließend die Zellproliferation bestimmt.

Interessanterweise zeigte der um eine Methylengruppe verlängerte Rest (Eintrag 2) einen deutlichen Verlust der Aktivität in allen getesteten Zelllinien. Gleiches gilt für die Säure (Eintrag 3). Hingegen zeigt die inverse Glykolsäure (Eintrag 4) eine deutliche Aktivität von 48 nM und das Milchsäurederivat (Eintrag 5) ist sogar fast doppelt so aktiv wie Englerin A (Eintrag 1). Chen bestimmte ebenfalls die Aktivität von Glykolsäure und fand heraus, dass sie in den gemessenen Zelllinien komplett inaktiv ist ($\text{GI}_{50} > 10$). Insgesamt lässt sich feststellen, dass alle aktiven (Eintrag 1, 4, 5) von den hier synthetisierten Derivaten selektiv in den Nierenkrebszelllinien (UO-31 und A498) sind. Allerdings wurden alle Derivate in

racemischer Form synthetisiert und das Cyclopropan- (Tab. 2, Eintrag 5), wie auch das Milchsäurederivat (Tab. 3, Eintrag 5) als Diastereomeregemisch. Daher ist es unklar, ob enantiomeren- und diastereomerenreine Verbindungen eine deutlich bessere biologische Aktivität aufweisen würden.

1.6.1.3 Biologische Aktivität von (-)-9-Desoxy-Englerin A nach Maier^{12a}

Die biologische Aktivität von (-)-9-Desoxy-Englerin A **94** wurde von Maier *et al.*^{12a} zusammen mit dem Keton **152** im Vergleich zu (-)-Englerin A⁸⁵ an verschiedenen Zelllinien mit Hilfe eines 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT)-Assays gemessen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Cytotoxische Aktivität von (-)-9-Desoxy-Englerin A **94** und Keton **152** im Vergleich zu (-)-Englerin A (**5**).

Eintrag	Verbindung	Zelllinie, ^[a] IC ₅₀ -Werte ⁸¹ in μM				
		L-929	A498	KB-3-1	MCF-7	HUVEC
1	(-)-Englerin A (5)	29	0.4	12	18	4.3
2	(-)-9-Desoxy-Englerin A, 94	65	35	41	41	9.8

^[a] Zelllinien: L-929 (Maus-Fibroblasten), A498 (Nierenkrebszelllinie), KB-3-1 (Cervix/Gebärmutterhals-Krebszelllinie, HeLa Zellen), MCF-7 (Brustkrebszellen), HUVEC (primäre Endothelzellen).

Wie bereits aus vorherigen Arbeiten^{5,9c,12b} bekannt, ist die Substitution an der Position C9 essentiell für die Aktivität von (-)-Englerin A. Daher ist es nicht verwunderlich, dass (-)-9-Desoxy-Englerin A (Eintrag 2) nahezu keine Aktivität in den getesteten Zelllinien zeigt. In der Nierenkrebszelllinie A498 zeigt es eine cytotoxische Aktivität von IC₅₀ = 35 μM,

wohingegen (-)-Englerin A (Eintrag 1) ziemlich aktiv ist ($IC_{50} = 0.4 \mu M$). Das Keton **152** ist im Grunde komplett inaktiv ($IC_{50} > 170 \mu M$).

1.6.1.4 Biologische Aktivität der chlorierten Englerin A-Derivate nach *Beutler*^{12c,86}

Beutler et al.^{12c} berichten von chlorierten Englerin A-Derivaten, die möglicherweise während des Isolierungsvorgangs von Englerin A durch Modifizierung mit $CHCl_3$ und generiertem Cl_2 entstanden sind. Diese Hypothese wurde durch die Synthese ebendieser Derivate und dem anschließenden Vergleich der analytischen Daten bestätigt. Dafür reagierte Englerin A mit Cl_2 und nach anschließender Abspaltung von HCl wurden die entsprechenden chlorierten Derivate erhalten. Bei den Verbindungen **154** und **155** handelt es sich um die beiden epimeren 2',3'-Dichlordihydroenglerin A-Derivate. Die absolute Konfiguration an C2' und C3' wurde nicht bestimmt. Die Verbindungen **156-159** sind epimere Chlorhydrine und wurden in der Publikation nicht näher charakterisiert (Tab. 5).

Tabelle 5: Biologische Aktivität der chlorierten Englerin A-Derivate nach *Beutler*^{12c}

Zelllinie, ^{[a],87} GI ₅₀ -Werte ⁷ in μM						
Eintrag	Verbindung	786-0	A498	ACHN	CAKI-1	UO-31
1	Englerin A (5)	1.1	0.011	0.017	16	0.015
2	153	10	0.028	0.041	0.39	0.035
3	154	12	0.140	0.140	0.42	0.390
4	155	12	0.067	0.049	0.16	0.160
5	156	1.7	0.180	0.320	0.46	0.250

6 **157** 11 0.660 1.400 5.00 1.900

^[a] Humane Krebszelllinien: 786-0, A498, UO-31 (Nierenkrebs), ACHN (Nierenadenokarzinomzelllinie), CAKI-1 (Nierenklarzellkarzinomzelllinie). Die Zellen wurden für 48 h mit der zu testenden Substanzen inkubiert und anschließend die Zellproliferation bestimmt.

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich zeigt die monochlorierte Verbindung **153** in allen Zelllinien, bis auf 786-0, deutliche Aktivität. Die Epimere **154** und **155** weisen unterschiedliche Aktivitäten in den getesteten Zelllinien auf (Eintrag 3 und 4). Gleiches gilt für die Epimere **156** und **157** (Eintrag 5 und 6). Die Epimere **158** und **159** zeigen praktisch keine Aktivität, so dass sie hier nicht aufgeführt sind. Insgesamt gesehen zeigt die Verbindung **153** die beste Aktivität und Selektivität und ist nur ca. 2.5-mal weniger aktiv als Englerin A.

1.6.1.5 Biologische Aktivität des bicyclischen Englerin A-Derivates nach *Theodorakis*^{11d}

Die cytotoxische Aktivität des synthetisierten bicyclischen Englerin A-Derivates **113**, sowie des Intermediates **111** wurde an der Nierenkrebszelllinie A498 und der CEM T-Zelllinie (akute lymphoblastische Leukämie, T-ALL) mit Hilfe eines ³H-Thymidin-Einbau-Assay gemessen (Abb. 7).

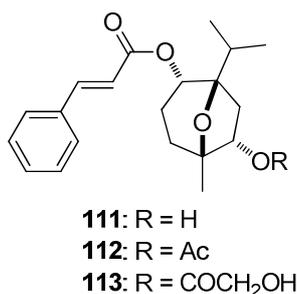


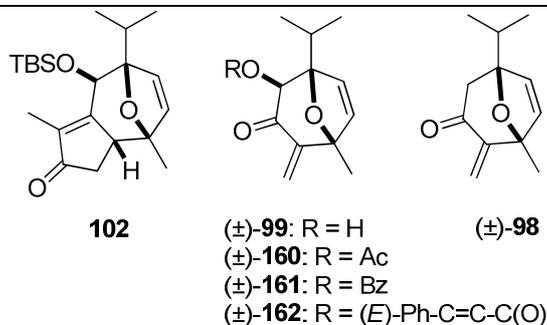
Abb. 7: Struktur der bicyclischen Englerin A-Derivate **111-113**.

Theodorakis et al.^{11d} fanden heraus, dass Englerin A das Wachstum von Nierenkrebszelllinien mit einem GI₅₀-Wert von 45 nM inhibiert, wohingegen die beiden Verbindungen **111** und **113** auch bei erhöhter Konzentration von 100 nM oder höher keinerlei Effekt auf die Inhibierung des Zellwachstums der Nierenkrebszelllinie A498 zeigen. Dies lässt vermuten, dass der Cyclopentanring essentiell für die biologische Aktivität in dieser Zelllinie ist. Als nächstes untersuchten sie die antiproliferative Aktivität in CEM-Zellen, einer Zelllinie, in der

1. Einleitung

Englerin A gewisse Aktivität zeigt ($GI_{50} = 20.4 \mu\text{M}$).⁵ Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6: Inhibierung der Zellproliferation von (-)-Englerin A und der Derivate in T-ALL-Zellen nach *Theodorakis*.



Eintrag	Verbindung	GI_{50} -Werte ⁷ in μM
1	(-)-Englerin A (5)	>20
2	102	>20
3	99	2.4
4	160	nb
5	161	nb
6	162	nb
7	98	3.3
8	(±)- 98	1.8
9	111	>20
10	112	>20
11	113	>20

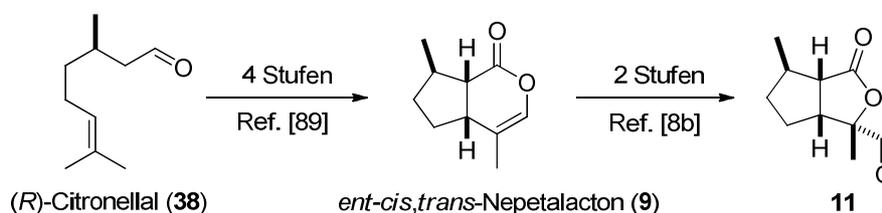
nb = nicht bestimmt. Die Zellen wurden für 48 h mit der zu testenden Substanzen inkubiert und anschließend für 6 h mit ³H-Thymidin versetzt.

Von den getesteten Verbindungen zeigen nur **99**, **98** und (±)-**98** signifikante Cytotoxizitäten (Eintrag 3, 7-8). Möglicherweise beruht dies auf dem exocyclischen Enonrest, der als konjugiertes Elektrophil mit Bio-Nucleophilen interagiert.⁸⁸ Im Gegensatz dazu zeigen Englerin A (**5**) und das Intermediat **102**, die einen zusätzlichen Cyclopentanring besitzen (Eintrag 1-2), keine oder nur geringe Aktivität bis zu einer Konzentration von bis zu 20 μM .

Dies lässt vermuten, dass die bicyclischen Englerin A-Derivate effektiv auf Leukämiezellen zielen und der Verlust der Cytotoxizität auf die steigende strukturelle Komplexität der Verbindung **102** zurückzuführen ist.^{11d}

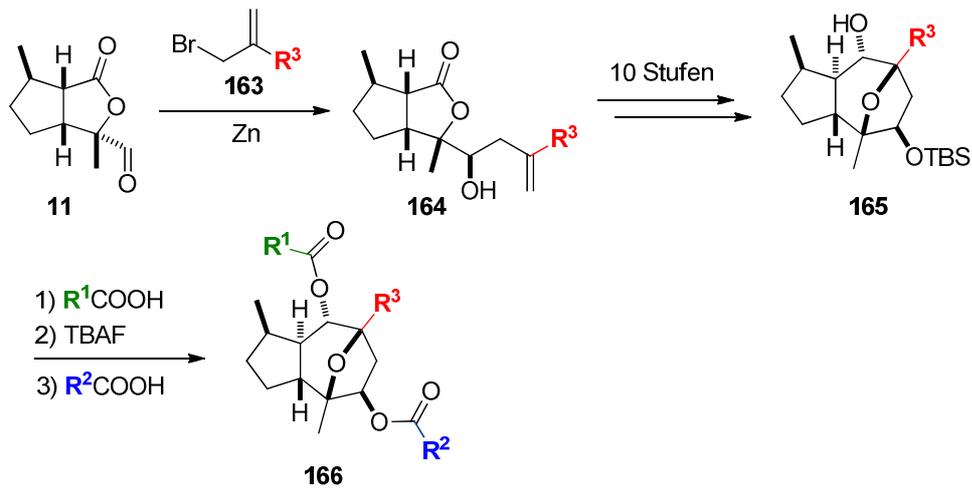
2. Zielsetzung

In Anlehnung an die bereits publizierte Syntheseroute von (+)-Englerin A,^{8b} wie sie in Kapitel 1 beschrieben wurde, sollte im Rahmen dieser Arbeit das natürliche Enantiomer aus (*R*)-Citronellal (**38**) synthetisiert werden. Des Weiteren sollte die Synthese optimiert und im größeren Maßstab durchgeführt werden, um einen einfachen Zugang zu Derivaten zu ermöglichen. Die Derivate sollten anschließend in der Nierenkrebszelllinie A498 getestet und deren IC₅₀-Werte für die Inhibierung der Zellproliferation bestimmt werden. Für die Synthese von (–)-Englerin A (**5**) sollte zunächst *ent-cis,trans*-Nepetalacton *ent*-(**9**) in vier Stufen aus (*R*)-Citronellal (**38**) nach *Schreiber et al.*⁸⁹ als zentrales Intermediat synthetisiert werden (Schema 32).



Schema 32: Synthese von *ent-cis,trans*-Nepetalacton *ent*-(**9**) und des Formylactons **11** aus (*R*)-Citronellal.

Anschließend sollte der Aldehyd **11** in 2 Stufen aus *ent-cis,trans*-Nepetalacton *ent*-(**9**) generiert werden, um ihn später mit unterschiedlichen Allylbromiden in die entsprechenden Homoallylalkohole umzusetzen. An dieser Stelle wäre bereits der Zugang zu Derivaten mit unterschiedlichen Resten **R**³ am Guaian-Gerüst möglich. Sobald das tricyclische System nach 10 Stufen aufgebaut ist, kann auch hier eine Derivatisierung durch die Wahl der zu veresternden Säure (Schema 33; **R**¹COOH) erfolgen. Nach Abspaltung der TBS-Schutzgruppe könnte nun die weitere Derivatisierung durch Veresterung erfolgen (**R**²COOH).^{9e}



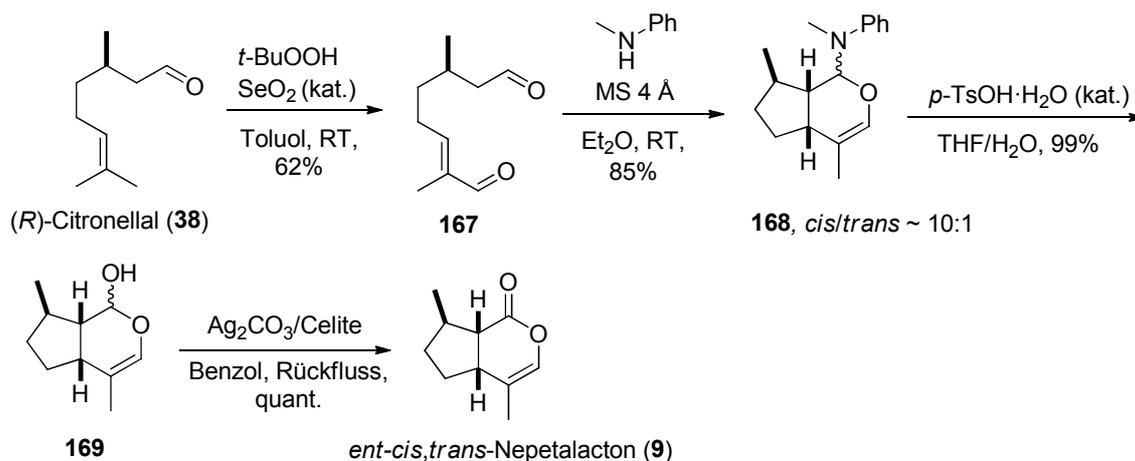
Schema 33: Synthese und Derivatisierung von (-)-Englerin A.

Um Englerin A in einer möglichen Nierenkrebstherapie einsetzen zu können, ist es von großer Wichtigkeit, den genauen Wirkmechanismus aufzuklären. Damit das Protein gefunden werden kann, an das (-)-Englerin A bindet, sollten durch Kupfer-katalysierte Cycloaddition mit Biotin-Azid 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazole synthetisiert werden, die in der folgenden Affinitätschromatographie eingesetzt werden könnten. Um zelluläre Lokalisierungsstudien von Englerin A durchführen zu können, sollten fluoreszierende Derivate synthetisiert werden.

3. Synthetischer Teil

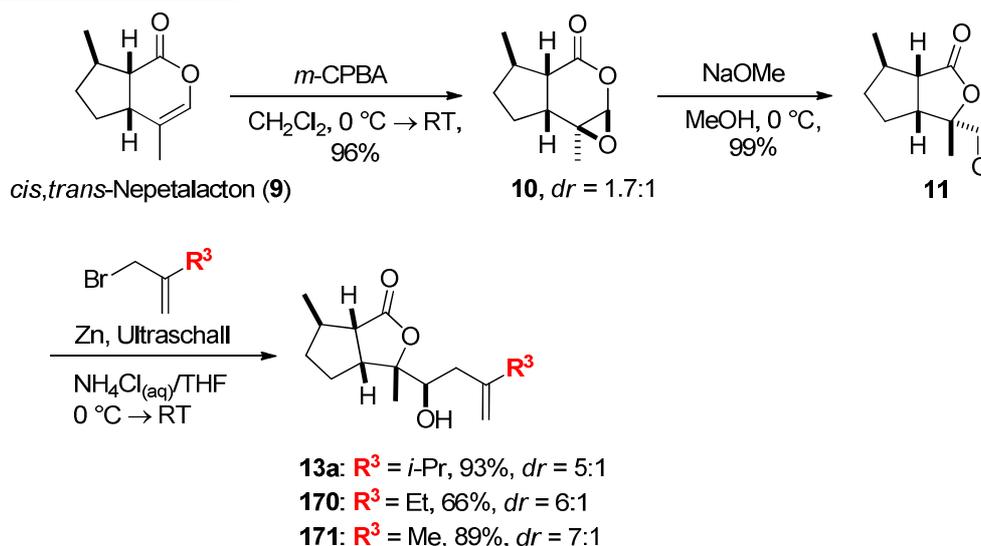
3.1 Scale up-Prozess und Optimierung der Synthese^{90,9e}

Für die Synthese von (-)-Englerin A wurde zunächst *ent-cis,trans*-Nepetalacton *ent*-(**9**) synthetisiert, da es kommerziell nicht erhältlich ist. Dies gelang in nur vier Stufen ausgehend von (*R*)-Citronellal (**38**).^{89,91} Nach einer *Riley*-Oxidation mit Selendioxid (Schema 34) und *t*-Butylhydroperoxid⁴¹ wurde Oxocitronellal **167** erhalten, welches anschließend mit *N*-Methylanilin zum Aminoal **168** umgesetzt wurde. Saure Hydrolyse mit *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat lieferte das Lactol **169** in 85% Ausbeute, welches daraufhin mit dem *Fetizon*-Reagenz⁹² zu *ent-cis,trans*-Nepetalacton *ent*-(**9**) oxidiert wurde.⁹³ Die Reaktionen waren problemlos im 30 g-Maßstab durchführbar, so dass mehr als 80 g Nepetalacton erhalten wurden.



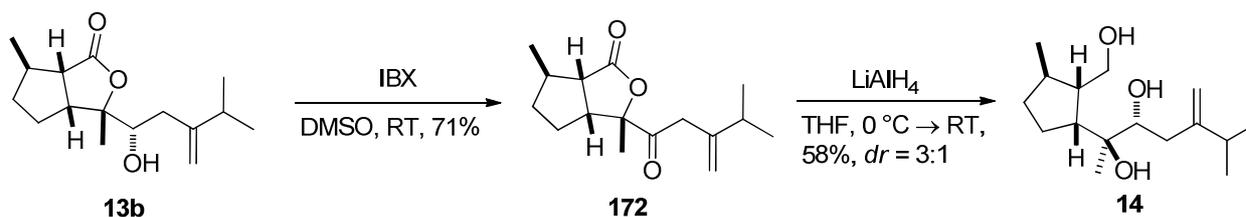
Schema 34: Synthese von *ent-cis,trans*-Nepetalacton *ent*-(**9**).

Dieses wurde anschließend analog zu der bereits publizierten Synthese von (+)-Englerin A^{8b} mit *m*-CPBA zum Epoxid **10**⁹⁴ umgesetzt, welches mit NaOMe in Methanol unter Ringkontraktion zum Aldehyd **11** reagierte (Schema 35). Dieser Aldehyd wurde in der folgenden *Barbier*-Reaktion¹⁸ mit unterschiedlichen Allylbromiden⁹⁵ zu den Homoallylalkoholen **13a**, **170** und **171** umgesetzt, um den Einfluss der *i*-Propylgruppe auf die Aktivität von (-)-Englerin A zu untersuchen. Die Ausbeuten variieren von 66-93% und das Diastereomerenverhältnis ist umso besser, je kleiner der Rest **R**³ des Allylbromids ist (*dr* = 7:1 für Me⁹⁶ im Vergleich zu *dr* = 5:1 für *i*-Pr).



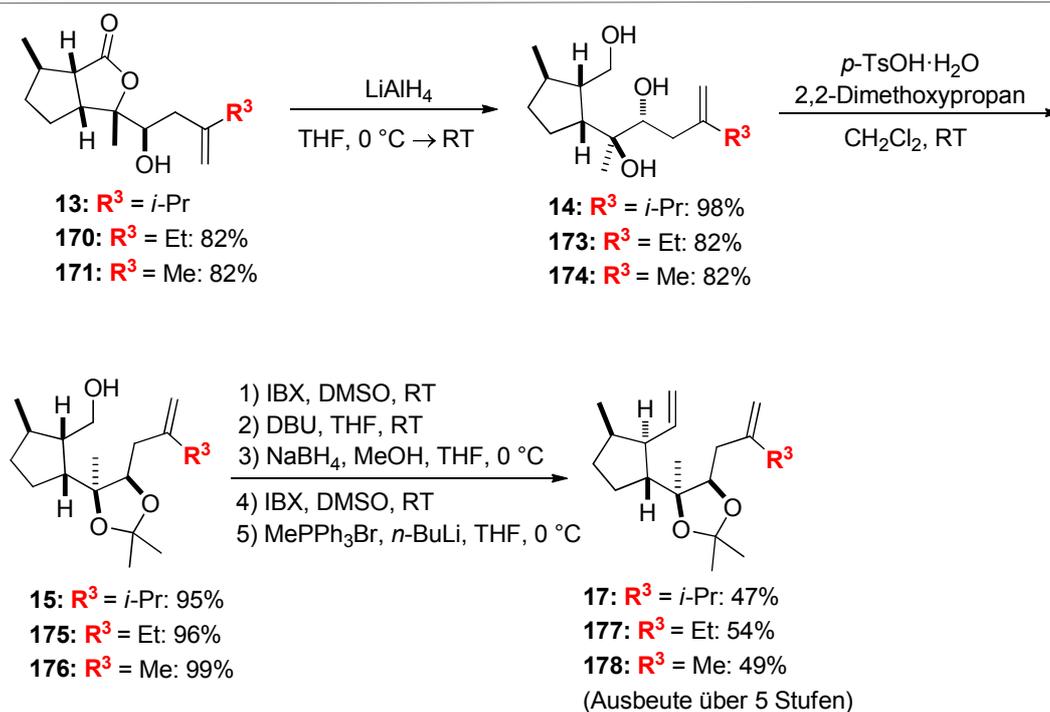
Schema 35. Synthese der Homoallylalkohole **13a**, **170** und **171**.

Das bei der *Barbier*-Reaktion entstehende unerwünschte Diastereomer **13b** konnte durch eine Oxidation mit IBX und anschließender Reduktion des Ketons²⁰ **172** mit LiAlH_4 ins Triol **14** überführt und somit in die Reaktion zurückgeführt werden (Schema 36).



Schema 36: Rückgewinnung des unerwünschten Diastereomers **13b**.

Die Allylalkohole **13a**, **170** und **171** wurden ebenfalls durch Reduktion mit LiAlH_4 in die Triole **14**, **173** und **174** und anschließend durch Reaktion mit 2,2-Dimethoxypropan in die Acetale **15**, **175** und **176** überführt (Schema 37). Aus der folgenden Oxidation mit IBX und der Epimerisierung des stereogenen Zentrums in α -Position mit DBU resultierten zwei Aldehyde, die auf dieser Stufe allerdings nicht voneinander trennbar waren. Daher wurde die Mischung mit NaBH_4 reduziert und die entstehenden Alkohole voneinander getrennt und mit IBX erneut oxidiert. Anschließend konnten die gewünschten Aldehyde in einer *Wittig*-Reaktion mit Methyltriphenylphosphoniumbromid²³ zu den Dienen **17**, **177** und **178** als Vorläufer für die anschließende Ringschlussmetathese umgesetzt werden.²⁴



Schema 37: Synthese der Ringschlussmetathese-Vorläufer.

Die so synthetisierten Diene **17**, **177** und **178** wurden in einer Ringschlussmetathese zu dem Guaiangerüst umgesetzt. Die verwendeten Katalysatoren, sowie die Reaktionsbedingungen sind aus Tabelle 7 ersichtlich.

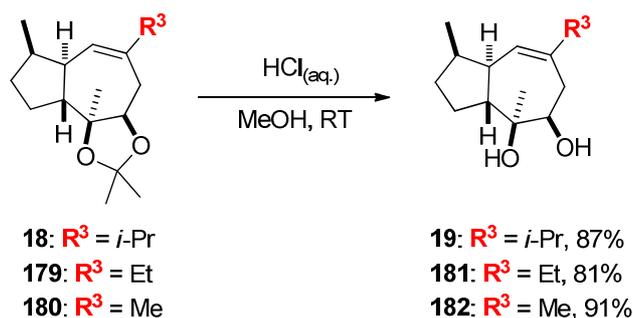
Tabelle 7: Ringschlussmetathese.

Eintrag	R^3	Katalysator [mol%]	t [h]	Ausbeute [%]
1	<i>i</i> -Pr	Hoveyda-Grubbs [20]	24	0
2	<i>i</i> -Pr	Grubbs II [20]	36	99
3	<i>i</i> -Pr	Grubbs II [18]	60	99
4	<i>i</i> -Pr	Grubbs II [15]	60	99
5	<i>i</i> -Pr	Grubbs II [10]	8	46 ^[a]
6	<i>i</i> -Pr	Grubbs II [10]	24	82 ^[a]

7	Et	Grubbs II [15]	60	88
8	Et	Grubbs II [10]	96	82 ^[a]
9	Me	Grubbs II [10]	18	98
10	Me	Grubbs II [5]	23	99

^[a] unvollständiger Umsatz; RCM = Ringschlussmetathese.

Bei der Verwendung des *Hoveyda-Grubbs*-Katalysators⁹⁷ fand keine Reaktion statt (Eintrag 1). Wurden, wie aus vorherigen Arbeiten bekannt,^{8b} 20 mol% des *Grubbs* II-Katalysators²⁵ eingesetzt, so wurde der Ringschluss nach 36 h in quantitativer Ausbeute beobachtet. Durch Optimierungsarbeiten konnte im Fall von $R^3 = i\text{-Pr}$ die Katalysatorbeladung sogar auf 15 mol% ohne Einbußen in der Ausbeute reduziert werden (Eintrag 4). Gleiches gilt für $R^3 = \text{Et}$ (Eintrag 7). Wurde die Katalysatorbeladung jedoch weiter auf 10 mol% reduziert, so konnte nach 8 und 24 h nur ein unvollständiger Umsatz beobachtet werden (Eintrag 5 und 6). Interessanterweise konnte die Katalysatorbeladung weiter verringert werden, je kleiner der Rest R^3 ($i\text{-Pr} > \text{Et} > \text{Me}$) wurde. So konnte die Ringschlussmetathese mit $R^3 = \text{Me}$ mit nur 5 mol% *Grubbs* II-Katalysator durchgeführt werden (Eintrag 10), was nach nur 23 h Reaktionszeit zu einer quantitativen Ausbeute führte. Die Acetale **18**, **179** und **180** wurden danach mit wässriger HCl in MeOH zu den Diolen **19**, **181** und **182** gespalten (Schema 38).



Schema 38: Bildung der Diole **19** und **181-182**.

Da im Laufe der Synthese die moderate Diastereoselektivität der folgenden Epoxidierung mit *m*-CPBA (zuvor $dr = 2.3:1$) verbessert werden sollte, wurde der sekundäre Alkohol zunächst mit unterschiedlichen Schutzgruppen R^2 versehen (Tab. 8).

Tabelle 8: Bedingungen zur Einführung der Schutzgruppe R² am Diol.

Eintrag	Reagenzien	R ³	R ²	Produkt, Ausbeute [%]
1	, Pyridin	<i>i</i> -Pr		20 , 91
2	TBSOTf, 2,6-Lutidin	<i>i</i> -Pr	TBS	183 , 96 ^[a]
3	TrocCl, Pyridin	<i>i</i> -Pr	Troc	184 , 72 (brsm)
4	TBSOTf, 2,6-Lutidin	Et	TBS	185 , 98
5	TBSOTf, 2,6-Lutidin	Me	TBS	186 , Zersetzung
6	, Pyridin	Me		187 , 60

^[a] Als Nebenprodukt wurde das doppelt-TBS-geschützte Produkt erhalten.

Die so hergestellten Produkte konnten dann mit *m*-CPBA epoxidiert werden.⁹⁸ Die Reaktionen wurden zunächst mit den Produkten durchgeführt, bei denen R³ = *i*-Pr ist, die erhaltenen Ausbeuten und Diastereoselektivitäten sind aus Tabelle 9 ersichtlich.

Tabelle 9: Einfluss der Schutzgruppen R¹ und R² auf die Epoxidierung.

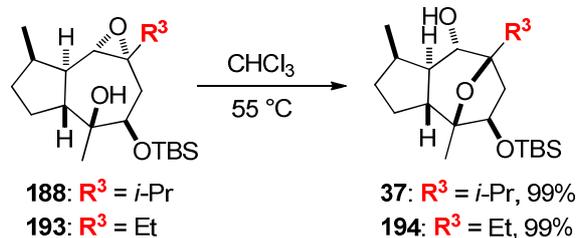
Eintrag	R ¹	R ²	<i>dr</i>	Produkt, Ausbeute [%]
1	H		2.3:1	21 , 90
2	H	TBS	5.4:1	188 , 91

3	TBS	TBS	9:1	189, 99
4		1,2-Acetonid	11:1	190, 78
5	H	Troc	1:20	191, 73
6	H	H	1:3	192, 99

Die Einführung des TBS-geschützten Glykolsäurerestes und eine anschließende Epoxidierung lieferte das gewünschte Epoxid⁹⁹ in 90% Ausbeute verbunden mit einer moderaten Diastereoselektivität von 2.3:1 (Eintrag 1). Wurde hingegen der monogeschützte TBS-Ether verwendet (Eintrag 2), so konnte die Diastereoselektivität auf 5.4:1 gesteigert werden. Gleiches gilt für doppelt-TBS-geschützte Alkohole (Eintrag 3). Hier konnte sogar die Ausbeute auf 99% gesteigert werden, verbunden mit einem *dr* von 9:1. Trotz der hervorragenden Diastereoselektivität für das 1,2-Acetonid (*dr* = 11:1, Eintrag 4) erwies sich die Route über dieses Intermediat leider als nicht praktikabel, da die folgenden Reaktionen zu Problemen führten. Erstaunlicherweise konnte die Diastereoselektivität komplett umgekehrt werden, wenn die Troc-Schutzgruppe am sekundären Alkohol eingeführt wurde (*dr* = 1:20, Eintrag 5). Die Epoxidierung des freien Diols führte schließlich zu einer moderaten Diastereoselektivität zugunsten des unerwünschten Diastereomers (*dr* = 1:3, Eintrag 6). Die Selektivität der Epoxidierung kann dadurch erklärt werden, dass es eine Koordination der *m*-CPBA mit den Carbonylgruppen der Schutzgruppen bei gleichzeitiger Lenkung durch die Methylgruppe des Cyclopentanrings gibt. Im Fall der TBS-geschützten Glykolsäure dirigiert die Methylgruppe am Cyclopentanring die Epoxidierung in die andere Richtung. Da die Carbonylgruppe aber auch mit der *m*-CPBA koordinieren kann und damit den steuernden Einfluss der Methylgruppe am Cyclopentanring herabsetzt, ist die Diastereoselektivität mit 2.3:1 recht moderat. Fehlt hingegen diese Koordination (Eintrag 2), so wird die Diastereoselektivität deutlich besser. Allerdings kann, wie auch im Fall des Diols (Eintrag 6) eine Koordination mit den OH-Gruppen erfolgen, so dass die Diastereoselektivitäten der doppelt-TBS-geschützten Verbindung (Eintrag 3) und des Acetonids (Eintrag 4) am besten sind.

Die weiteren Reaktionen wurden daraufhin mit dem mono-TBS-geschützten Alkohol **188** (Eintrag 2) durchgeführt. Die anschließende transannulare Epoxidöffnung²⁹ des tertiären Alkohols lieferte den Alkohol **37^{9a}** (Schema 39) im Gramm-Maßstab (**R³** = *i*-Pr, 7.8 g), von

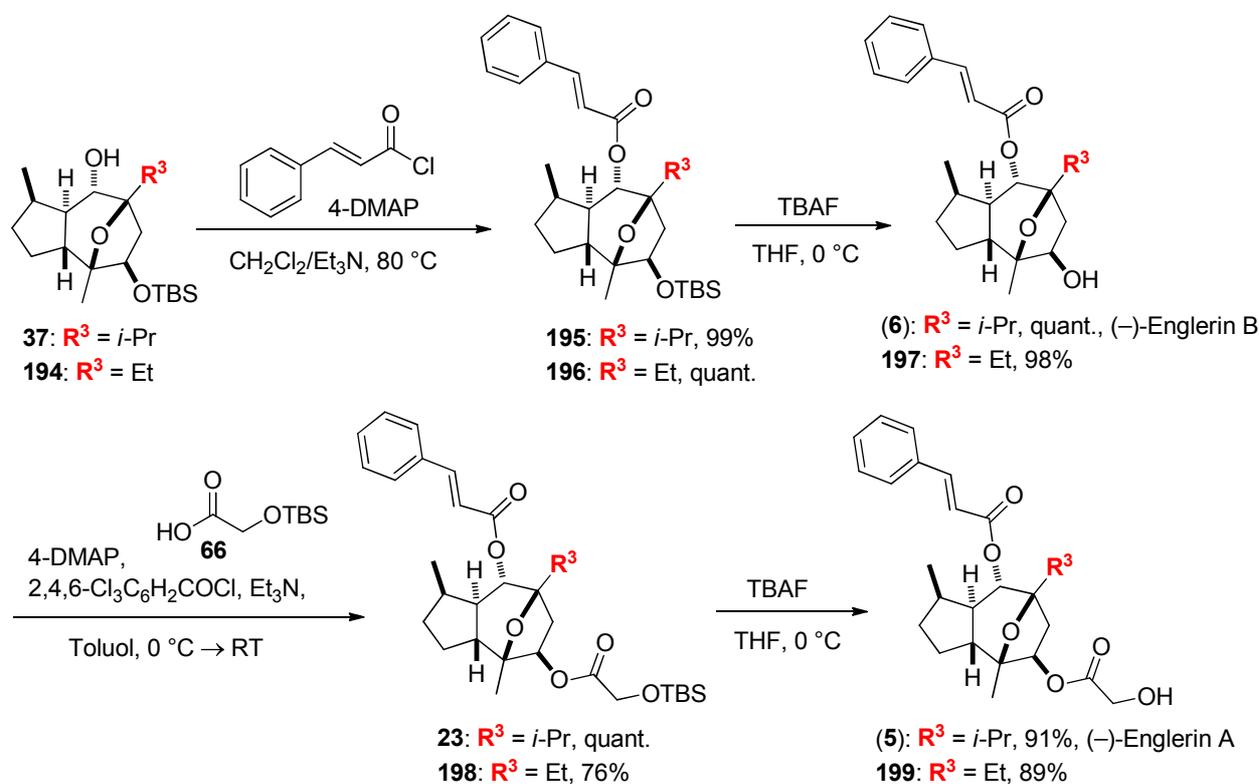
dem ausgehend die weiteren Derivatisierungen erfolgten, worauf im Folgenden noch näher eingegangen wird.



Schema 39: Intramolekulare Epoxidöffnung.

Auch das Ethylderivat **185** wurde unter obigen Bedingungen epoxidiert und das Epoxid **193** direkt den Bedingungen der intramolekularen Epoxidöffnung²⁹ unterworfen, so dass der Alkohol **194** in quantitativer Ausbeute isoliert werden konnte.

Den Abschluss der Synthese bildete die Veresterung mit Zimtsäurechlorid^{9a} gefolgt von anschließender Spaltung der TBS-Ether **195** und **196** mit TBAF (Schema 40). (–)-Englerin B (**6**) und der sekundäre Alkohol **197** konnten mit der TBS-geschützten Glykolsäure **66**^{9c} verestert werden und nach finaler Spaltung der TBS-Ether mit TBAF wurden (–)-Englerin A (**5**) und das Ethylderivat **199** erhalten.



Schema 40: Abschluss der Synthese.¹⁰⁰

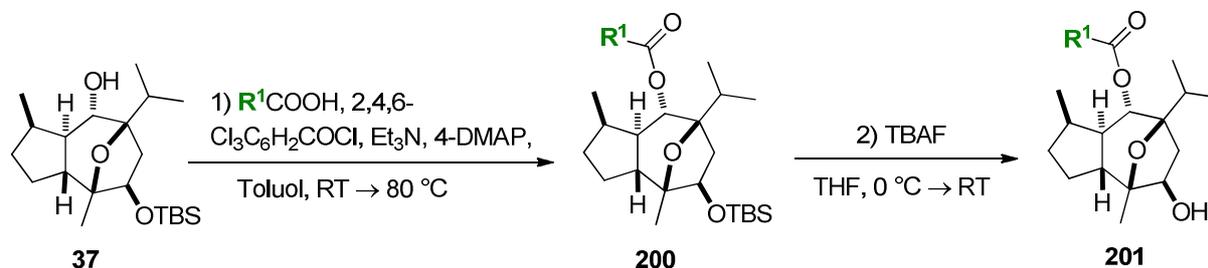
3.2 Derivatisierung von Englerin A^{9e,90}

3.2.1 Synthese der Derivate

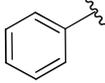
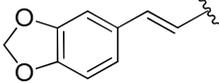
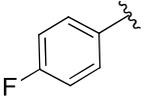
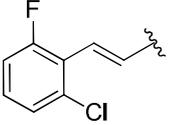
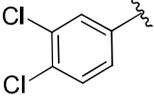
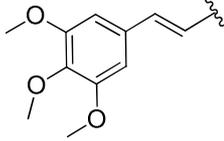
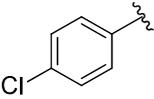
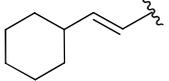
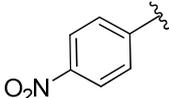
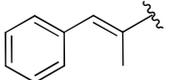
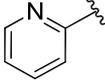
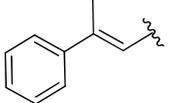
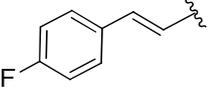
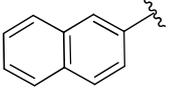
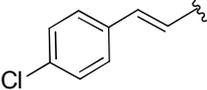
3.2.1.1 Derivate durch Austausch der Zimtsäure

Die Synthese der Derivate erfolgte ausgehend von dem Intermediat **37**, welches im Rahmen des Scale up-Prozesses im Gramm-Maßstab erhalten wurde. Dieses Intermediat, das aus der Synthese von *Echavarren*^{9b} bekannt ist, erlaubt die Einführung unterschiedlicher Estergruppen an beiden Seiten des Moleküls. Dafür wurde zunächst die *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ mit 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid und der Säure **R¹COOH** durchgeführt. Anschließende Spaltung des TBS-Ethers mit TBAF und erneute *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ mit TBS-geschützter Glykolsäure lieferte die Verbindung **202**. Der TBS-Ether wurde daraufhin mit TBAF gespalten und lieferte das Derivat **203**. Die Ausbeuten der einzelnen Stufen und eine Übersicht der eingesetzten Säuren **R¹COOH** sind aus Tabelle 10a und 10b ersichtlich.

Tabelle 10a: Auflistung der Ausbeuten der Stufen 1 und 2 bei der Synthese der Derivate.



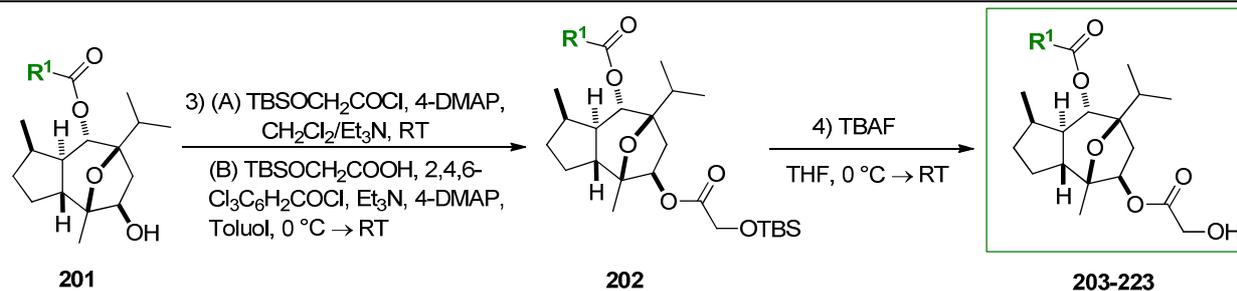
Eintrag	R¹COOH	Ausbeute der Stufen in [%]		Eintrag	R¹COOH	Ausbeute der Stufen in [%]	
		1)	2)			1)	2)
1	Me-	87 ^[a]	85	12		59	78
2		60	83	13		97	90
3		78	96	14		52	99

4		97	86	15		99	99
5		93	98	16		58	99
6		99	93	17		90	99
7		95	94	18		79	99
8		99	82	19		96	89
9		92	85	20		79 ^[b]	95
10		99	90	21		98	91
11		99	91				

^[a] Acetylsalicylsäure wurde als R^1COOH eingesetzt; ^[b] Wurde als Isomerengemisch mit dem Produkt der externen Doppelbindung erhalten, welches in der 2. Stufe re-epimerisierte.

Die Ausbeuten für die einzelnen Stufen liegen im Bereich von 44-99%. Die *Yamaguchi*-Veresterung mit Crotonsäure (Eintrag 2) fällt mit 60% Ausbeute relativ gering aus, ebenso wie mit *p*-Bromzimsäure (59%, Eintrag 12) und *p*-Isopropylzimsäure (52%, Eintrag 14). Die folgende Spaltung des TBS-Ethers mit TBAF verläuft gut, die Ausbeuten liegen zwischen 78 und 99%.

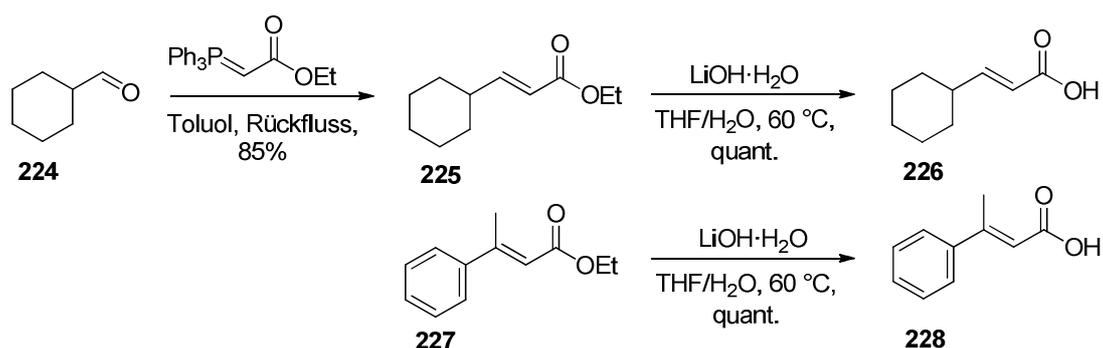
Tabelle 10b: Auflistung der Ausbeuten der Stufen 3 und 4 bei der Synthese der Derivate.



Eintrag	R ¹ COOH	Ausbeute der Stufen in [%], (A) oder (B)		Eintrag	R ¹ COOH	Ausbeute der Stufen in [%]	
		3)	4)			3)	4)
1		90 (A)	73	12		99 (A)	85
2		90 (B)	82	13		45 (B)	74
3		60 (B)	99	14		65 (A)	44
4		65 (A)	85	15		77 (A)	72
5		86 (B)	99	16		89 (B)	95
6		71 (A)	97	17		57 (A)	72
7		96 (B)	77	18		95 (B)	87
8		83 (A)	95	19		74 (B)	89

9		93 (A)	69	20		81 (B)	83
10		69 (B)	87	21		79 (B)	74
11		76 (B)	73				

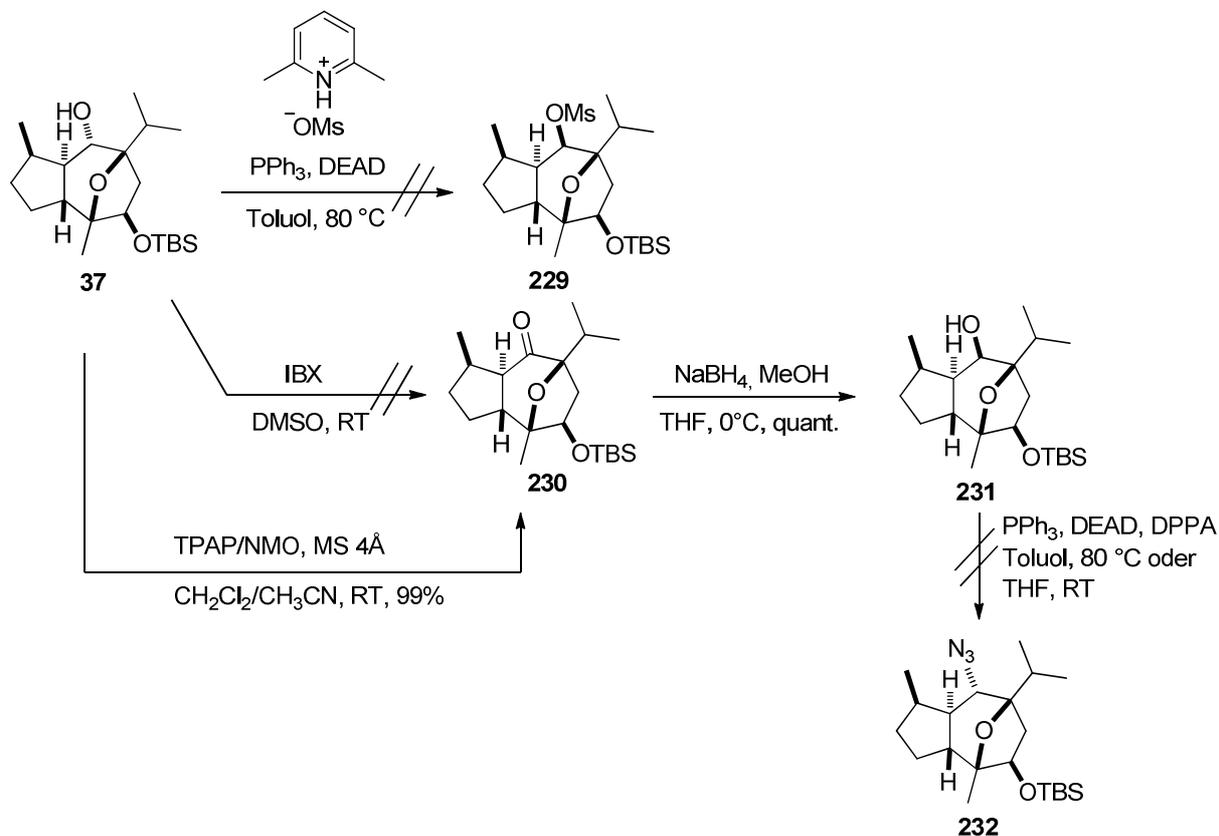
Die zweite *Yamaguchi*-Veresterung (Methode B) und die Veresterung mit dem Säurechlorid (Methode A) verlaufen recht gut. Bei Methode A wird 2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]acetylchlorid verwendet, wohingegen bei Methode B 2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]essigsäure als Glykolsäurequelle zum Einsatz kommt. Bei Methode A variieren die Ausbeuten von 57-99%, wobei 57% (Eintrag 17) eine eher geringe Ausbeute darstellt, was vermutlich auf elektronische Gründe der eingesetzten 3,4,5-Trimethoxyzimtsäure zurück zu führen ist. Bei Methode B variieren die Ausbeuten von 45-96%. Überraschenderweise liegt die Ausbeute der finalen TBS-Spaltung mit TBAF bei der *p*-Isopropylzimtsäure bei nur 44% (Eintrag 14). Die Säuren **R**¹COOH für Eintrag 18 und 20 wurden zuvor, wie aus Schema 41 ersichtlich, synthetisiert.



Schema 41: Synthese von (*E*)-3-Cyclohexylacrylsäure **226** und (*E*)-β-Methylzimtsäure **228**.

Cyclohexancarbaldehyd **224** wurde in einer *Wittig*-Reaktion mit 2-(triphenylphosphoranyliden)essigsäureethylester in 85% Ausbeute zu (*E*)-3-Cyclohexylacrylsäureethylester **225** umgesetzt. Dieser wurde anschließend mit Lithiumhydroxid-Monohydrat¹⁰¹ zur entsprechenden (*E*)-3-Cyclohexylacrylsäure **226** verseift. Analog dazu wurde (*E*)-β-Methylzimtsäureethylester **227** ebenfalls mit Lithiumhydroxid-

Monohydrat¹⁰¹ verseift und es konnte (*E*)- β -Methylzimtsäure **228** in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Um den Einfluss verschiedener Heteroatome (wie z.B. N oder S) auf die Aktivität von Englerin A zu überprüfen, sollte der Alkohol **37** in einer *Mitsunobu*-Reaktion zu den entsprechenden Derivaten umgesetzt werden (Schema 42). Dafür sollte zunächst der Alkohol **37** mesyliert werden, um in einer folgenden Substitutionsreaktion zu dem gewünschten Derivat zu reagieren. Jedoch gelang die Synthese des Mesylates nicht. Auch die Oxidation des sekundären Alkohols mit IBX war aufgrund des sterischen Anspruchs des IBX nicht erfolgreich. Die Oxidation erfolgte jedoch in nahezu quantitativer Ausbeute, wenn der Alkohol **37** mit TPAP/NMO oxidiert wurde. Das Keton **230** konnte anschließend mit NaBH₄ zum sekundären Alkohol mit der inversen Konfiguration **231** umgesetzt werden. Leider gelang dabei nicht die folgende *Mitsunobu*-Reaktion, um die Azid-Gruppe einzuführen.

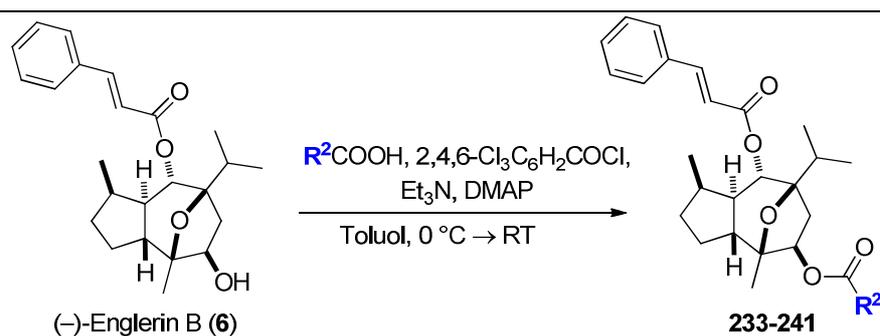


Schema 42: *Mitsunobu*-Reaktion.

3.2.1.2 Derivate durch Austausch der Glykolsäure

Die Synthese der Derivate durch Austausch der Glykolsäure erfolgte in nur einer Stufe ausgehend von (-)-Englerin B (**6**). Nach einer *Yamaguchi*-Veresterung³⁰ mit 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid und der Säure R^2COOH wurden die folgenden Derivate **233-241** erhalten. Die jeweiligen Ausbeuten sind aus Tab. 11 ersichtlich.

Tab. 11: Auflistung der Ausbeuten der Veresterung von (-)-Englerin B (**6**).

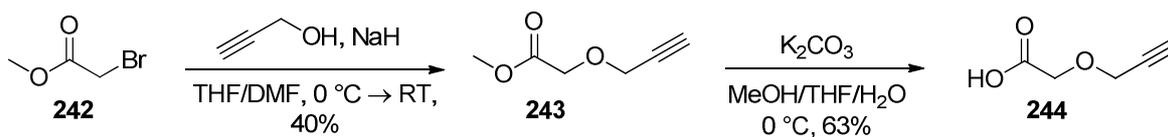


Eintrag	R^2	Ausbeute [%]	Eintrag	R^2	Ausbeute [%]
1		97	6		81
2		99	7		99
3		99	8		99
4		99	9 ^[b]		88 brsm
5 ^[a]		55			

^[a] Das Derivat wurde durch Veresterung von (-)-Englerin A mit 5-Hexinsäure erhalten; ^[b] Die Verbindung wurde durch Boc-Entschützung mit TFA in CH₂Cl₂ aus Eintrag 8 synthetisiert.

Die einzelnen Reaktionen verlaufen durchweg gut. Einzig die Veresterung von (-)-Englerin A mit 5-Hexinsäure bedarf weiterer Optimierung (Eintrag 5).

Für das Alkin (Eintrag 6) wurde zunächst die Säure ausgehend von Bromessigsäuremethylester **242** synthetisiert (Schema 43). Frisch destilliertes Propinol wurde mit NaH deprotoniert, welches anschließend mit Bromessigsäuremethylester reagierte.¹⁰² Der Ester **243** wurde nach säulenchromatographischer Reinigung noch einer Kugelrohrdestillation unterworfen und konnte in 40% Ausbeute erhalten werden. Die anschließende Verseifung¹⁰³ mit K₂CO₃ lieferte 2-(Prop-2-in-1-yloxy)essigsäure **244** in 63% Ausbeute.



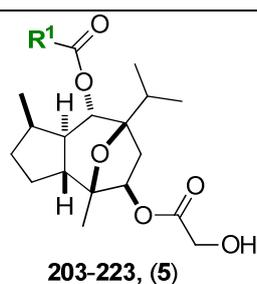
Schema 43: Synthese von 2-(Prop-2-in-1-yloxy)essigsäure **244**.

3.3. SAR-Studie I^{9e}

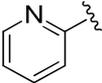
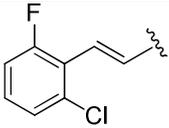
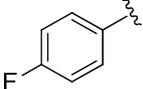
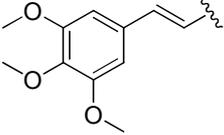
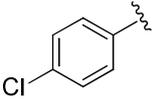
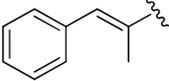
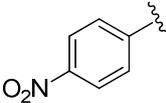
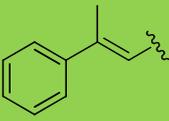
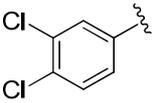
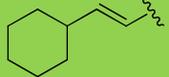
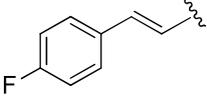
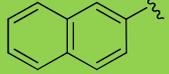
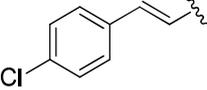
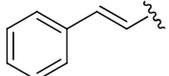
3.3.1 Biologische Aktivität der Derivate durch Austausch des Zimtsäureesters

Wie aus Kapitel 3.2 ersichtlich wurden 21 Derivate durch Austausch des Zimtsäureesters synthetisiert, die anschließend in Zusammenarbeit mit Dr. *Hongyan Sun* vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund bezüglich ihrer Aktivität in der Nierenkrebszelllinie A498 getestet wurden. Der jeweils gemessene IC₅₀-Wert⁸¹ ist aus Tabelle 12 ersichtlich.

Tabelle 12: Inhibierung der Zellproliferation der Derivate durch Austausch des Zimtsäureesters in der Nierenkrebszelllinie A498.



Eintrag	R ¹	IC ₅₀ -Werte ⁸¹ in μM	Eintrag	R ¹	IC ₅₀ -Werte ⁸¹ in μM
1	Me	>10	12		>10
2		>10	13		>10
3		>10	14		>10
4 ^[a]		>10	15		4.88

5		>10	16		0.092
6		>10	17		>10
7		1.48	18		0.88
8		1.84	19 ^[a]		0.026
9		0.28	20		0.025
10 ^[a]		0.72	21		0.024
11		4.59	22		0.045 ^[b]

^[a] Diese Derivate wurden in racemischer Form auch von *Chen* synthetisiert (s. Kapitel 1.6).^{12b} Die A498-Zellen wurden in Vierfachbestimmungen mit unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen für 48 h behandelt. Anschließend wurde die Zellproliferation mit Hilfe des WST-1-Assays (Roche) kolorimetrisch bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus drei unabhängigen durchgeführten Experimenten. ^[b] (+)-Englerin A *ent*-(5) ist inaktiv bis zu 1 μ M.

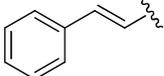
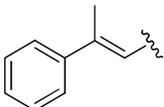
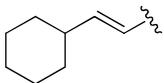
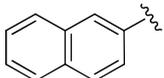
Anhand der Tabelle wird ersichtlich, dass ein kleiner Rest (Eintrag 1-5) wie Methyl oder 2-Pyridyl eine geringe Aktivität von 10 μ M zeigt. Wird der Rest hingegen geringfügig größer, wie es bei *p*-Chlor- oder *p*-Nitrophenyl (Eintrag 7, 8) der Fall ist, so nimmt die Aktivität deutlich zu (IC_{50} = 1.48 und 1.84 μ M). Bei Verwendung von 3,4-Dichlorphenyl liegt sie sogar bei IC_{50} = 0.28 μ M (Eintrag 9). Wird der Rest allerdings noch größer, wie es bei Veresterung mit *p*-Bromzimtsäure oder *p*-Isopropylzimtsäure (Eintrag 12-14) der Fall ist, lässt die Aktivität stark nach und liegt bei IC_{50} = 10 μ M. Die Veresterung mit 3,4-(Methylenedioxy)zimtsäure bewirkt eine bedeutend bessere Aktivität (Eintrag 15), sie liegt

3. Synthetischer Teil

jedoch mit einem IC_{50} -Wert von $4.88 \mu\text{M}$ noch im mikromolaren Bereich. Wird 2-Chlor-6-fluorzimtsäure (Eintrag 16) verwendet, so steigt die Aktivität deutlich an ($IC_{50} = 92 \text{ nM}$). Vermutlich können elektronische Effekte nicht außer Acht gelassen werden. Das elektronegativste Fluoratom (Eintrag 10) ist deutlich aktiver, als die Chlor- oder Bromsubstituierte Zimtsäure. Ein Trend bezüglich mesomerer oder induktiver Effekte ist jedoch nicht festzustellen. Die Veresterung mit (*E*)- β -Methylzimtsäure, (*E*)-3-Cyclohexylacrylsäure und Naphthalinsäure führt zu drei aktiven Derivaten, deren Aktivität im nanomolaren Bereich liegt und die mit IC_{50} -Werten von 24-26 nM sogar fast doppelt so aktiv wie (-)-Englerin A (Eintrag 22) sind.

Um nun zu überprüfen, welches dieser drei Derivate als potentieller Wirkstoff für weitere Derivatisierungen in Frage kommt, wurde ein Zellproliferationsassay in vier verschiedenen Zelllinien durchgeführt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Einfluss der drei aktivsten Derivate auf die Zellvitalität in vier weiteren Zelllinien im Vergleich zu Englerin A. Die Zellvitalität wurde anhand des ATP-Gehalts der Zellen bestimmt.

Eintrag	R^1	Zelllinie, ^[a] IC_{50} -Werte ⁸¹ in μM			
		Caki-1	HEK293	HeLa	MDA-MB-468
1		Inaktiv	$24.8 \mu\text{M}$	$15.9 \mu\text{M}$	$17.7 \mu\text{M}$
2		Inaktiv	$13.9 \mu\text{M}$	$15.2 \mu\text{M}$	$19.4 \mu\text{M}$
3		Inaktiv	$29.2 \mu\text{M}$	$> 30 \mu\text{M}$	$> 30 \mu\text{M}$
4		Inaktiv	$> 30 \mu\text{M}$	$> 30 \mu\text{M}$	$> 30 \mu\text{M}$

^[a]Zelllinien: Caki-1 (Humane Nierenklarzellkarzinom-Zelllinie), HEK-293 (Humane embryonale Nierenzelllinie), HeLa (Humane Zervix-Adenokarzinomzelllinie), (MDA-MB-468) Humane Brustkarzinomzelllinie.

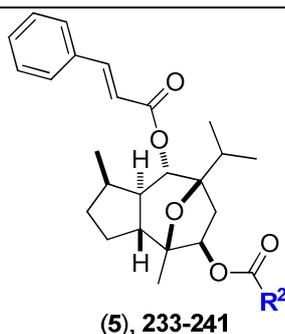
Keines der Derivate erwies sich als besonders aktiv in den getesteten Zelllinien. Das Naphthylderivat (Eintrag 4) zeigt sogar nahezu keine Aktivität in diesen Zelllinien, was es zu einem hoch potenten und selektiven Inhibitor der Zellproliferation für die Nierenkrebszelllinie

A498 macht. Um nun zu eruieren, ob Englerin A und seine aktiven Derivate selektiv auf Nierenkrebszelllinien wirken, ohne normale Zellen anzugreifen, wurde deren Cytotoxizität in normalen Nierenzelllinien unterschiedlichen Ursprungs (MDCK, BSC-1, RC-124) ¹⁰⁴ bestimmt. Dabei stellte sich heraus, dass die getesteten Verbindungen zwischen den normalen Nieren- und den Nierenkrebszelllinien differenzieren und sogar um den Faktor 100 aktiver in den Nierenkrebszelllinien mit einem IC₅₀-Wert > 5 µM sind. Solch eine Selektivität ist äußerst selten unter potentiellen Arzneimitteln und unterstreicht die Bedeutung von Englerin A und dessen Derivaten als Ausgangsverbindungen für die Entwicklung neuer Wirkstoffe für die spezifische Therapie gegen Nierenkrebs. ^{9e}

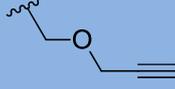
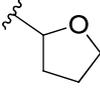
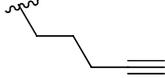
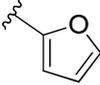
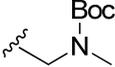
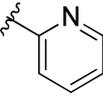
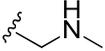
3.3.2 Biologische Aktivität der Derivate durch Austausch des Glykolsäureesters^{9e}

Wie aus Kapitel 3.2 ersichtlich wurden neun Derivate durch Variation des Glykolsäureesters synthetisiert, die anschließend in Zusammenarbeit mit Dr. *Hongyan Sun* vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund bezüglich ihrer Aktivität in der Nierenkrebszelllinie A498 getestet wurden. Der jeweils gemessene IC₅₀-Wert ist aus Tabelle 14 ersichtlich.

Tabelle 14: Inhibierung der Zellproliferation der Derivate durch Austausch des Glykolsäureesters in der Nierenkrebszelllinie A498.



Eintrag	R ²	IC ₅₀ -Werte ⁸¹ in µM	Eintrag	R ²	IC ₅₀ -Werte ⁸¹ in µM
1		0.045	6		0.23

2		0.65	7		1.54
3		5.23	8		4.61
4		>10	9		>10
5		>10	10		5.04

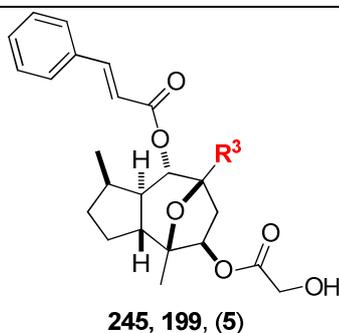
Die A498-Zellen wurden in Vierfachbestimmungen mit unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen für 48 h behandelt. Anschließend wurde die Zellproliferation mit Hilfe des WST-1-Assays (Roche) kolorimetrisch bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus drei unabhängig durchgeführten Experimenten.

Erstaunlicherweise lässt die Aktivität deutlich nach, sobald der freie Alkohol der Glykolsäure gegen den Methylether ausgetauscht wird (Eintrag 2). Im Unterschied zu (-)-Englerin A (Eintrag 1) liegt die Aktivität jetzt schon im mikromolaren Bereich ($IC_{50} = 45 \text{ nM}$ versus $0.65 \mu\text{M}$). Alle weiteren Derivatisierungen führen zu keiner aktiveren Verbindung als Englerin A. Die Vermutung, dass der Sauerstoff essentiell für die Aktivität ist, spiegelt sich nicht in den ermittelten IC_{50} -Werten wider (Eintrag 3-4). Ebenso die Untersuchung, ob andere Heteroatome als Sauerstoff, in diesem Fall Stickstoff, toleriert werden, äußerte sich nicht in zufriedenstellenden Ergebnissen (Eintrag 9 und 10). Für die spätere Verknüpfung mit z. B. Biotin wurden verschiedene Alkine synthetisiert. Das Alkin aus Eintrag 6 zeigt zwar eine deutliche Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von $0.23 \mu\text{M}$, da es sich hier aber um einen Diester handelt, der leicht gespalten werden kann, lag die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um ein Prodrug von Englerin A handelt. Daher wurde als Alternative das Alkin aus Eintrag 7 für die weiteren biologischen Studien verwendet. Abschließend lässt sich sagen, dass die Glykolsäure essentiell für die Aktivität von Englerin A ist. Jedoch können durch Gebrauch der 2-(Prop-2-in-1-yloxy)essigsäure weitere biologische Studien durchgeführt werden, worauf im Folgenden noch näher eingegangen wird.

3.3.3 Biologische Aktivität der Derivate mit unterschiedlichen Resten am Guaian-Grundgerüst^{9e}

Wie aus Kapitel 3.2 ersichtlich konnten schon zu Beginn der Synthese durch die Variation des Allylbromids in der *Barbier*-Reaktion verschiedene Reste **R³** am Guaian-Gerüst eingeführt werden. Die erhaltenen Derivate wurden anschließend in Zusammenarbeit mit Dr. *Hongyan Sun* vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund bezüglich ihrer Aktivität in der Nierenkrebszelllinie A498 getestet. Der jeweils gemessene IC₅₀-Wert ist aus Tabelle 15 ersichtlich.

Tabelle 15: Inhibierung der Zellproliferation der Derivate mit unterschiedlichem Rest **R³** am Guaian-Gerüst in der Nierenkrebszelllinie A498.



Eintrag	R³	IC ₅₀ -Werte ⁸¹ in μM
1	Me	4.640
2	Et	0.950
3	<i>i</i> -Pr	0.045

Die A498-Zellen wurden in Vierfachbestimmungen mit unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen für 48 h behandelt. Anschließend wurde die Zellproliferation mit Hilfe des WST-1-Assays (Roche) kolorimetrisch bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus drei unabhängig durchgeführten Experimenten.

Anhand der gemessenen Ergebnisse wird deutlich, dass ein kleiner Rest (Me, IC₅₀ = 4.64 μM, Eintrag 1) am Guaian-Gerüst schon zu einem 100-fachen Aktivitätsverlust im Vergleich zu Englerin A (IC₅₀ = 0.045 μM, Eintrag 3) führt. Die Aktivität kann durch den Ethylrest (Eintrag 2, IC₅₀ = 0.95 μM) zwar gesteigert werden, jedoch liegt sie noch deutlich im

mikromolaren Bereich. Die erhaltenen Ergebnisse verdeutlichen, dass der *i*-Propylrest am Guaian-Grundgerüst essentiell für die Aktivität von Englerin A ist.^{9e}

3.4 Schlussfolgerung der Derivatisierung

Bei der abschließenden Betrachtung aller synthetisierten Derivate fällt auf, dass die Glykolsäure an der Position C9 essentiell für die Aktivität von Englerin A ist. Wie in Tabelle 14, Eintrag 2 ersichtlich, führte schon ein Methylether an dieser Position zu einer deutlichen Verminderung der Aktivität ($IC_{50} = 0.65 \mu\text{M}$ im Gegensatz zu $0.045 \mu\text{M}$). Des Weiteren ist eine sterisch anspruchsvolle Gruppe (*i*-Pr) am Siebenring wichtig für die Aktivität (Tab. 15, Eintrag 3). Befindet sich an dieser Stelle ein kleinerer Rest in Form einer Methylgruppe, so ist die Aktivität um ein 100-faches geringer, als es bei Englerin A der Fall ist. Unter den 21 Derivaten des Zimtsäureesters konnten drei Analoga identifiziert werden, durch Veresterung mit (*E*)- β -Methylzimtsäure, *c*-Hexylacrylsäure, sowie Naphthalinsäure, (Tab.12, Eintrag 19-21), die ungefähr doppelt so aktiv wie Englerin A ($IC_{50} = 24$ bis 26 nM) sind. Das Naphthylderivat **223** zeigt sogar eine erhöhte Selektivität gegenüber der Nierenkrebszelllinie A498 und ist hoch spezifisch gegen Krebszelllinien im Vergleich zu normalen Zelllinien (Abb.8).

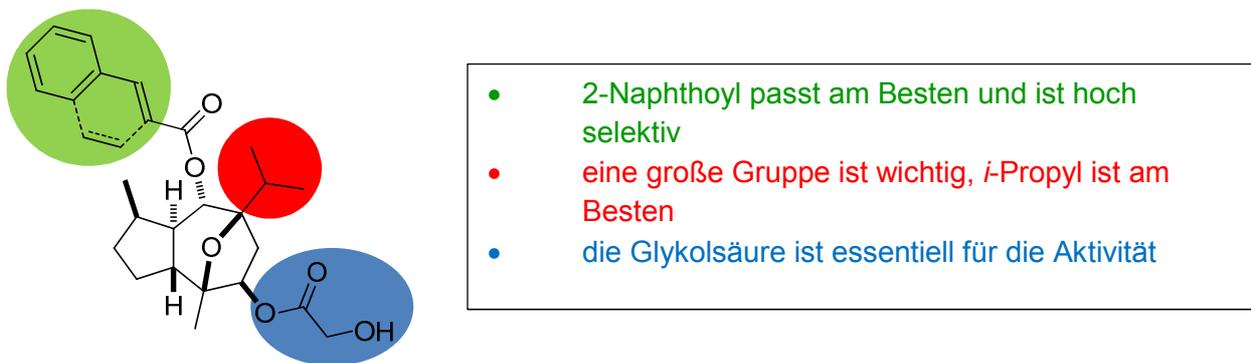


Abb. 8: Struktur-Aktivitäts-Beziehung der Englerin A-Derivate.

Motiviert durch die positiven Ergebnisse der ersten SAR-Studie ergibt sich die Frage, ob eine Kombination der Strukturmerkmale der drei aktivsten Zimtsäurederivate – *c*-Hexylacrylat-, Naphthyl- und (*E*)- β -Methylzimtsäure – zu einer weiteren Erhöhung der Aktivität führen kann (Abb. 9).

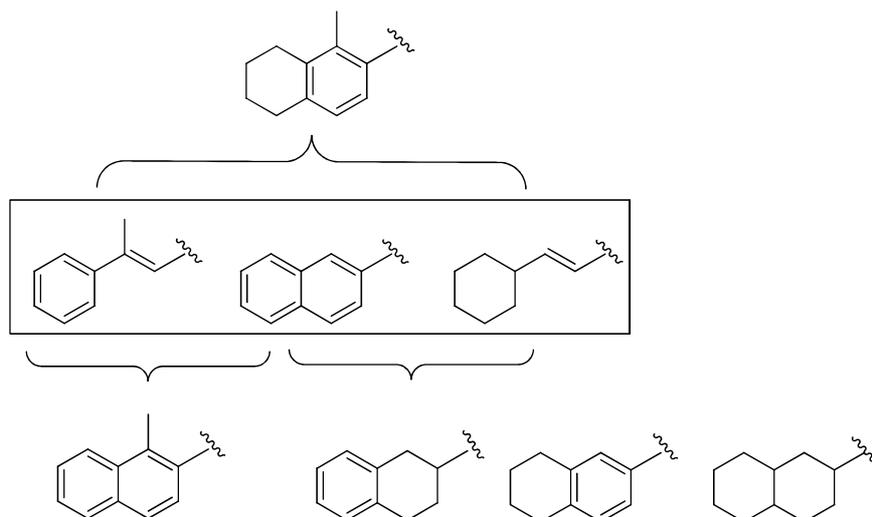


Abb. 9: Kombination der Strukturmerkmale der drei aktivsten Zimtsäurederivate (im Kasten).

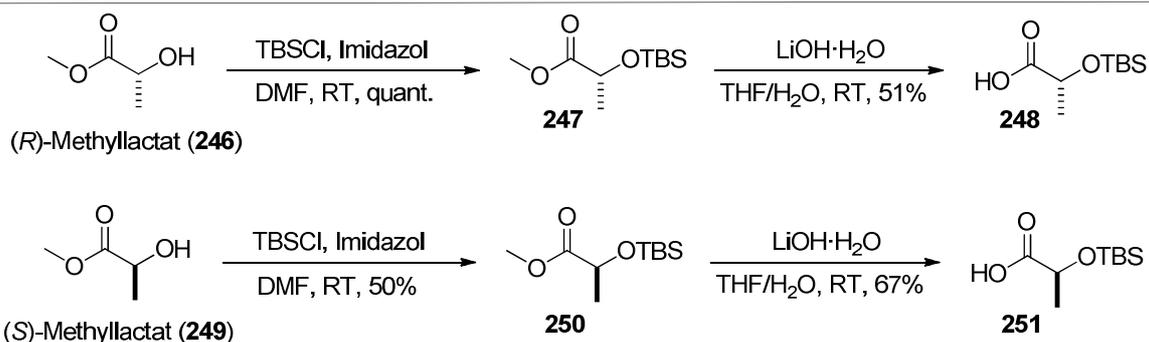
Um dies zu überprüfen wurden zunächst die entsprechenden Säuren synthetisiert (Schema 44). Es sollten ebenfalls Derivate synthetisiert werden, bei denen beide Estergruppen **R¹** und **R²** unterschiedlich im Vergleich zu Englerin A sind. So sollte zum Beispiel die Zimtsäure gegen Naphthyl- und die Glykolsäure gegen ein Alkin oder Milchsäure ausgetauscht werden, um die Aktivität eventuell noch weiter zu steigern.

3.5 SAR-Studie II¹⁰⁵

3.5.1 Synthese der Derivate

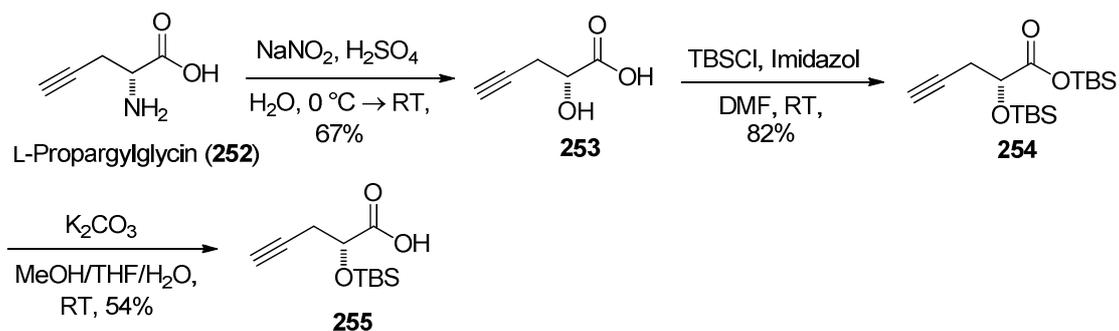
Die vorangegangene SAR-Studie^{9e} machte deutlich, dass das Naphthylderivat **223** die vielversprechendsten Ergebnisse, sowohl was den IC₅₀-Wert, als auch die Selektivität gegenüber Nierenkrebszelllinien betrifft, liefert. Daher sollten im Folgenden Derivate synthetisiert werden, die mit Naphthalinsäure (**R¹COOH**) und mit anderen als den bereits untersuchten Säuren (**R²COOH**) verestert sind. Dafür wurden zunächst die entsprechenden Säuren aus (*R*)- und (*S*)-Methylactat (**246**) und (**249**) hergestellt (Schema 44).

3. Synthetischer Teil



Schema 44: Synthese von (*R*)-2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]propionsäure **248** (oben) und (*S*)-2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]propionsäure **251** (unten).

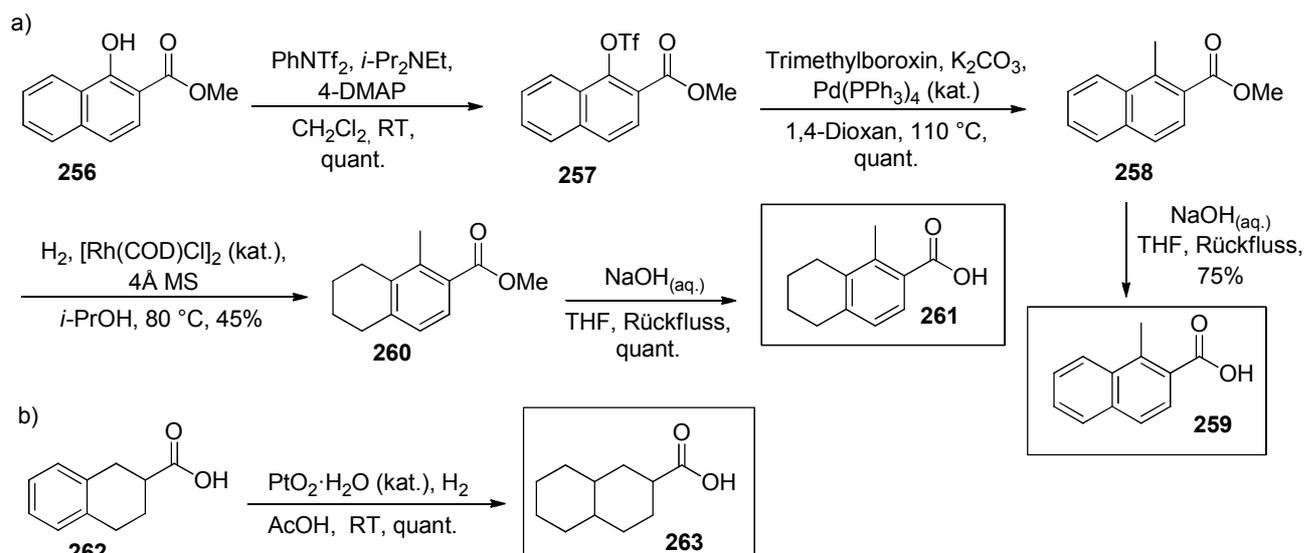
Nach einer TBS-Schätzung der sekundären Alkohole mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid¹⁰⁶ wurden nach folgender Verseifung mit Lithiumhydroxid-Monohydrat¹⁰¹ die entsprechenden Säuren **248** und **251** erhalten. Es wurde ebenfalls die TBS-geschützte Pent-4-insäure **255** in drei Stufen aus L-Propargylglycin (**252**) synthetisiert (Schema 45).



Schema 45: Synthese von (*R*)-2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]pent-4-in-säure **255**.

Dafür wurde zunächst die Aminogruppe von L-Propargylglycin **252** mit Natriumnitrit unter Retention der Stereochemie in die Hydroxyfunktion¹⁰⁷ überführt. Daran anschließend wurden die Säure und der sekundäre Alkohol mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid geschützt.¹⁰⁸ Nach Verseifung¹⁰³ mit Kaliumcarbonat wurde die Säure **255** in 54% Ausbeute erhalten.

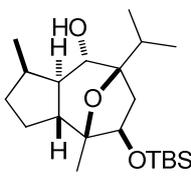
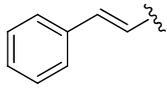
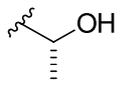
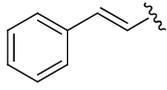
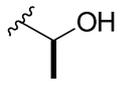
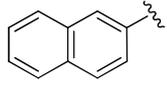
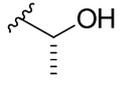
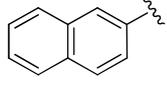
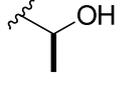
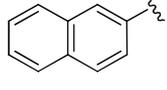
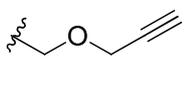
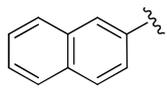
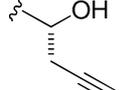
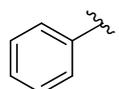
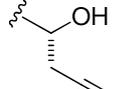
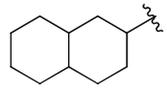
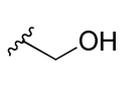
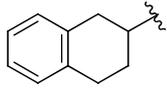
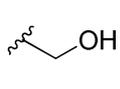
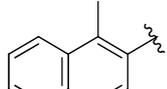
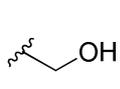
Um nicht nur den Einfluss der Naphthylgruppe auf die Aktivität, sondern auch die bereits angesprochene Kombination der Strukturmerkmale der drei bisher aktivsten Derivate zu untersuchen, wurden die folgenden Säuren, wie aus Schema 46 ersichtlich, synthetisiert.



Schema 46: Synthese der eingesetzten Säuren: a) Synthese der Methyl-2-Naphthalinsäure **259**, sowie der 1-Methyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthalinsäure **261**; b) Synthese von Decahydro-2-naphthalinsäure **263**.

Um die entsprechenden Säure zu synthetisieren wurde zunächst 1-Hydroxy-2-naphthalinsäuremethylester **256** mit 1,1,1-Trifluor-*N*-phenyl-*N*-[(trifluormethyl)sulfonyl]methansulfonamid in das entsprechende Triflat **257** in quantitativer Ausbeute überführt.¹⁰⁹ Die Einführung der Methylgruppe über eine *Suzuki-Miyaura*-Reaktion führte zu dem entsprechenden Methyl-2-naphthalinsäuremethylester **258** in quantitativer Ausbeute.¹⁰⁹ Ausgehend von diesem Produkt konnten nun die beiden Verbindungen **259** und **260** durch Verseifung mit wässriger Natronlauge oder durch katalytische Hydrierung mit Rhodiumcyclooctadienchloridimer und Wasserstoff in einem Reaktor bei einem Druck von 50 atm erhalten werden.^{110, 111} Anschließend wurde der Methylester ebenfalls mit wässriger Natronlauge zur entsprechenden 1-Methyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthalinsäure **261** in quantitativer Ausbeute verseift (Schema 46, Teil a). 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphthalinsäure **262** wurde mit katalytischen Mengen an $\text{PtO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in Eisessig umgesetzt und einer Hydrierung im Reaktor bei 10 bar H_2 für 24 h unterzogen.^{111, 112} Die so synthetisierten Säuren, sowie zwei kommerziell erhältliche (5,6,7,8-Tetrahydro-2-naphthalinsäure und 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphthalinsäure) wurden daraufhin mit dem Intermediat **37** unter *Yamaguchi*-Bedingungen³⁰ verestert und in Analogie zu den vorherigen Synthesen (Kap. 3.2.1) resultierten die folgenden Derivate **264-276**. Die Ausbeuten der einzelnen Synthesestufen sind aus Tabelle 16 ersichtlich.

Tabelle 16: Übersicht über die Ausbeuten der einzelnen Synthesestufen.

		<p>1) R^1COOH, 2,4,6-Cl₃C₆H₂COCl, Et₃N, 4-DMAP, Toluol, RT → 80 °C 2) TBAF, THF, 0 °C</p>				
		<p>3) R^2COOH, 2,4,6-Cl₃C₆H₂COCl Et₃N, 4-DMAP, Toluol, 0 °C → RT 4) TBAF, THF, 0 °C</p>				
				Ausbeuten [%]		
Eintrag	R^1	R^2	1)	2)	3)	4)
						
						264-276
1			99 ^[a]	94	quant.	81
2			99 ^[a]	94	quant.	81
3			quant.	93	54	89
4			quant	93	quant.	81
5			quant.	92	quant.	/
6			quant.	92	46	74
7			70	60	26	52
8			65	Quant.	62 (brsm)	99
9			quant.	52	quant.	49
10			95	quant.	quant.	73

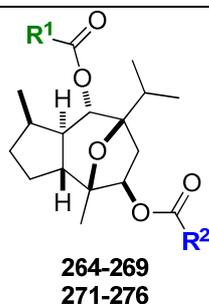
12			quant.	quant.	71	89
11			quant.	quant.	quant.	96
13			quant.	quant.	42	78

^[a]Zimtsäurechlorid, CH₂Cl₂/Et₃N, 4-DMAP, 80 °C.

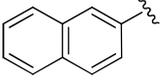
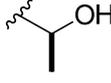
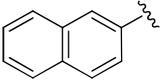
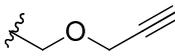
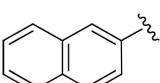
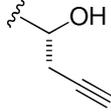
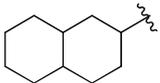
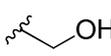
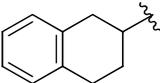
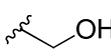
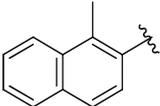
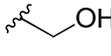
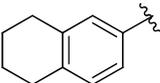
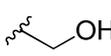
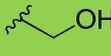
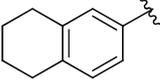
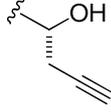
3.5.2 Biologische Aktivität der Derivate

Als nächstes wurde die biologische Aktivität der neuen Derivate in Zusammenarbeit mit Dr. *Hongyan Sun* und *Yasemin Akbulut* vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund in der Nierenkrebszelllinie A498 bestimmt. Die resultierenden Ergebnisse sind aus Tabelle 17 ersichtlich.

Tabelle 17: Inhibierung der Zellproliferation der Derivate mit unterschiedlichen Resten **R¹** und **R²** in der Nierenkrebszelllinie A498.



Eintrag	R¹	R²	IC ₅₀ -Werte ⁸¹ in μM
1 ^[a]			0.3625
2 ^[a]			1.1090
3			0.0617

4			0.4260
5			0.8200
6			2.2450
7			0.0523
8			0.0442
9			0.0148
10			0.0121
11			0.0089
12			1.6146

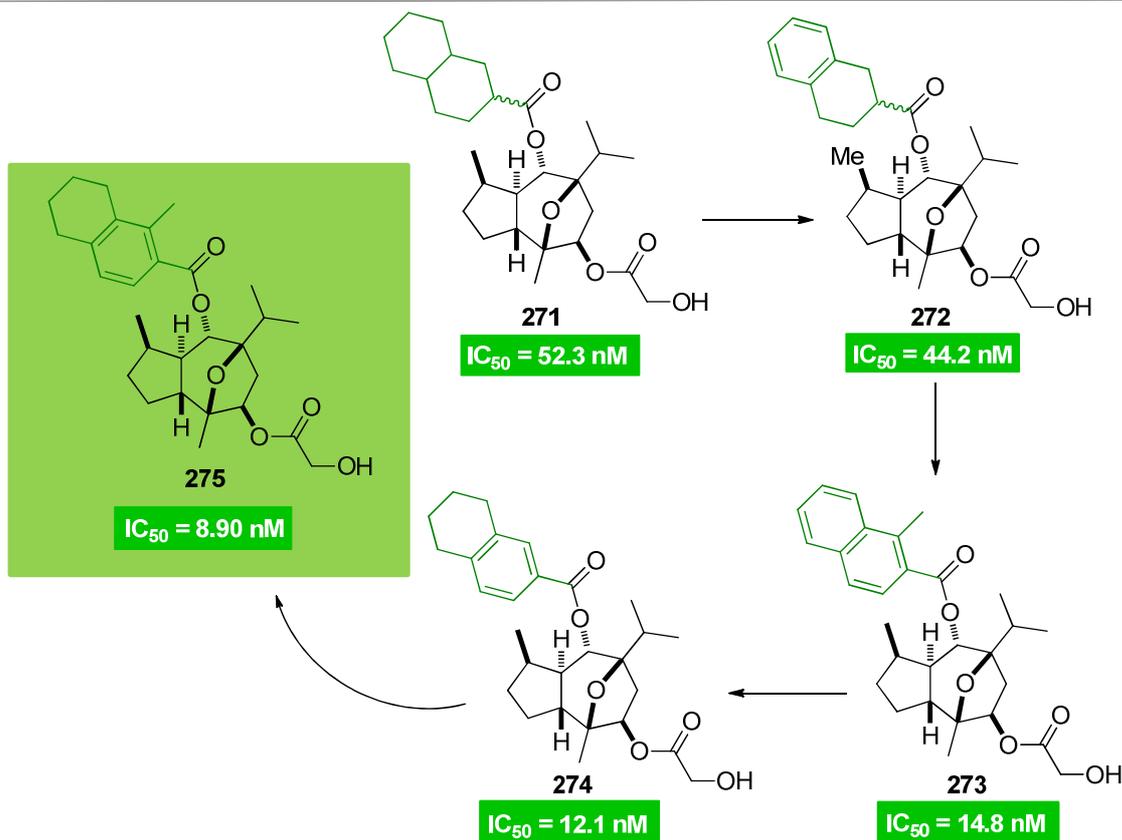
^[a] Die Derivate wurden als Diastereomere auch von *Chen* synthetisiert (s. Kapitel 1.6). ^[2b] Die A498-Zellen wurden in Vierfachbestimmungen mit unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen für 48 h behandelt. Anschließend wurde die Zellproliferation mit Hilfe des WST-1-Assays (Roche) kolorimetrisch bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus drei unabhängig durchgeführten Experimenten.

Bei der Betrachtung der ermittelten IC_{50} -Werte fällt auf, dass die Werte für die Milchsäurederivate (Eintrag 1 und 2) im mikromolaren Bereich liegen, wobei das Derivat mit der (*R*)-Konfiguration dreimal aktiver als das (*S*)-konfigurierte Derivat ist. Wird die Zimtsäure gegen Naphthalinsäure ausgetauscht, so setzt sich dieser Trend weiter fort. Hier ist das (*R*)-konfigurierte Derivat sogar schon siebenmal aktiver als sein Gegenpart, dessen Aktivität im nanomolaren Bereich liegt ($IC_{50} = 61.7$ nM, Eintrag 3). Bei der Einführung des bereits bekannten Alkins (vgl. SAR-Studie 1, Tabelle 14) liegt die Aktivität bei $IC_{50} = 0.820$ μ M (Eintrag 5). Auch bei Verwendung des Alkins, welches aus L-Propargylglycin generiert

wurde (Eintrag 6), liegen die gemessenen IC_{50} -Werte im mikromolaren Bereich. Bei Verwendung der Decahydro-2-naphthalinsäure zeigt das entstehende Derivat eine deutliche Aktivität von $IC_{50} = 52.3$ nM (Eintrag 7). Dies ist im Gegensatz zu Englerin A jedoch ein Verlust der Aktivität von fast 10 nM, wobei das Derivat als ein untrennbares Diastereomergemisch vorliegt und es unklar ist, ob die einzelnen Diastereomere aktiver wären oder nicht. Gleiches gilt für das Derivat, welches mit 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphthalinsäure verestert ist. Die Aktivität von $IC_{50} = 44.2$ nM (Eintrag 8) liegt hier im Bereich von Englerin A ($IC_{50} = 45$ nM). Die Einführung einer Methylgruppe in α -Position am Naphthalingerüst sorgt für eine dreifache Steigerung der Aktivität ($IC_{50} = 14.8$ nM, Eintrag 9). Auch die Veresterung mit 5,6,7,8-Tetrahydro-2-naphthalinsäure äußert sich in einer leichten Verbesserung der Aktivität ($IC_{50} = 12.1$ nM, Eintrag 10). Wird nun noch eine Methylgruppe in α -Position eingeführt, so steigt die Aktivität im Gegensatz zu Englerin A um das fünffache an ($IC_{50} = 8.90$ nM, Eintrag 11). Wird das Alkin, generiert aus L-Propargylglycin, verwendet so liegt die Aktivität wieder deutlich im mikromolaren Bereich (Eintrag 12).

3.5.3 Schlussfolgerung der Derivatisierung

Bei der Synthese der Derivate wurde ersichtlich, dass, wie bereits mehrfach beobachtet, der Austausch der Glykolsäure zu keiner signifikanten Verbesserung der Aktivität führte.^{5,9c,12} Jedoch konnte das Derivat **266** synthetisiert werden, das mit 61 nM trotz Austausch der Glykolsäure eine deutliche Aktivität aufzeigt (Naphthalinsäure und (*R*)-Methylactat). Durch Kombination der Strukturelemente *c*-Hexylacrylat-, Naphthyl- oder (*E*)- β -Methylzimtsäure wurden fünf Derivate **271-275** synthetisiert, von denen jedes deutliche Aktivität im nanomolaren Bereich aufzeigt. Darunter konnte ein Derivat identifiziert werden, welches mit einem $IC_{50} = 8.90$ nM fünfmal aktiver als Englerin A ist und damit das bisher aktivste Englerin A Derivat darstellt (Schema 47).



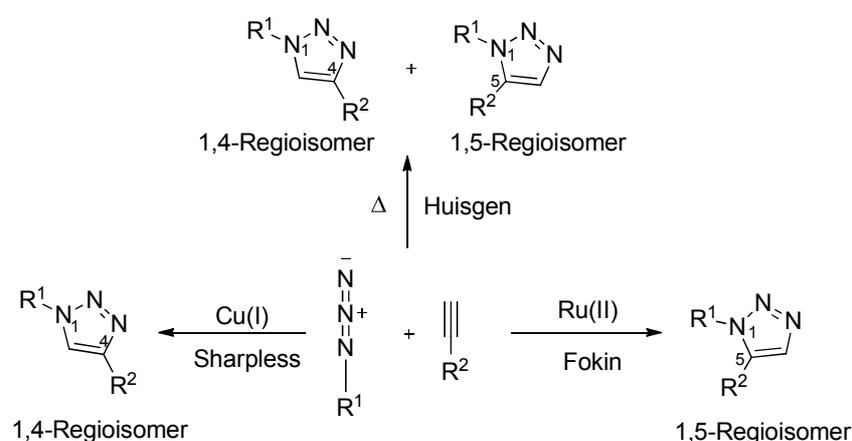
Schema 47: Sukzessive Entwicklung der neuen Englerin A-Derivate.

3.6 Synthese der 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazole für die Affinitätschromatographie

3.6.1 Cu^I -katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC, Klick-Chemie)

Die Reaktion unter dem Begriff der „Klick-Chemie“ wurde 2001 von *Sharpless et al.* eingeführt. Hierbei werden 1,2,3-Triazole durch Heteroatomverknüpfungen (C-X-C) gebildet.¹¹³ Es handelt sich um eine Cu^I -katalysierte Variante der *Huisgen* 1,3-dipolaren Cycloaddition¹¹⁴ von Aziden und Alkinen und wird allgemein als (2+3)-Cycloaddition bezeichnet. Damit es sich bei einer Reaktion um eine „Klick-Reaktion“ handelt, müssen laut *Sharpless* bestimmte Bedingungen erfüllt sein. Zum einen muss die Reaktion modular und breit anwendbar sein und zu sehr hohen Ausbeuten führen. Es dürfen nur nicht-störende Nebenprodukte gebildet werden, die leicht abtrennbar sind. Zum anderen muss die Reaktion stereospezifisch (nicht unbedingt enantioselektiv) und optimaler Weise unter einfachen Bedingungen verlaufen und, wenn möglich, unempfindlich gegenüber Sauerstoff und Wasser

sein. Die verwendeten Ausgangsverbindungen sollten leicht erhältlich und zugänglich sein und nur Lösungsmittel, die einfach zu entfernen sind (z.B. Wasser) und eine einfache Produktisolierung ermöglichen, erfüllen das Kriterium der „Klick-Chemie.“ Zu guter Letzt muss das Produkt ohne Chromatographie gereinigt werden können und das erhaltene Produkt sollte unter physiologischen Bedingungen stabil sein.^{113a} Die kinetische Stabilität der Alkine und Azide ist für deren langsame Cycloaddition verantwortlich, so dass die unkatalysierte *Huisgen* 1,3-dipolare Cycloaddition meist bei erhöhten Temperaturen durchgeführt wird. Die gute Regioselektivität dieser Reaktion ist hoch, wenn elektronenarme, terminale Alkine eingesetzt werden. Bei anderen Alkinen kommt es hingegen zu Produktgemischen von 1,4- und 1,5-Regioisomeren im Verhältnis von ca. 1:1 (Schema 48).¹¹⁵

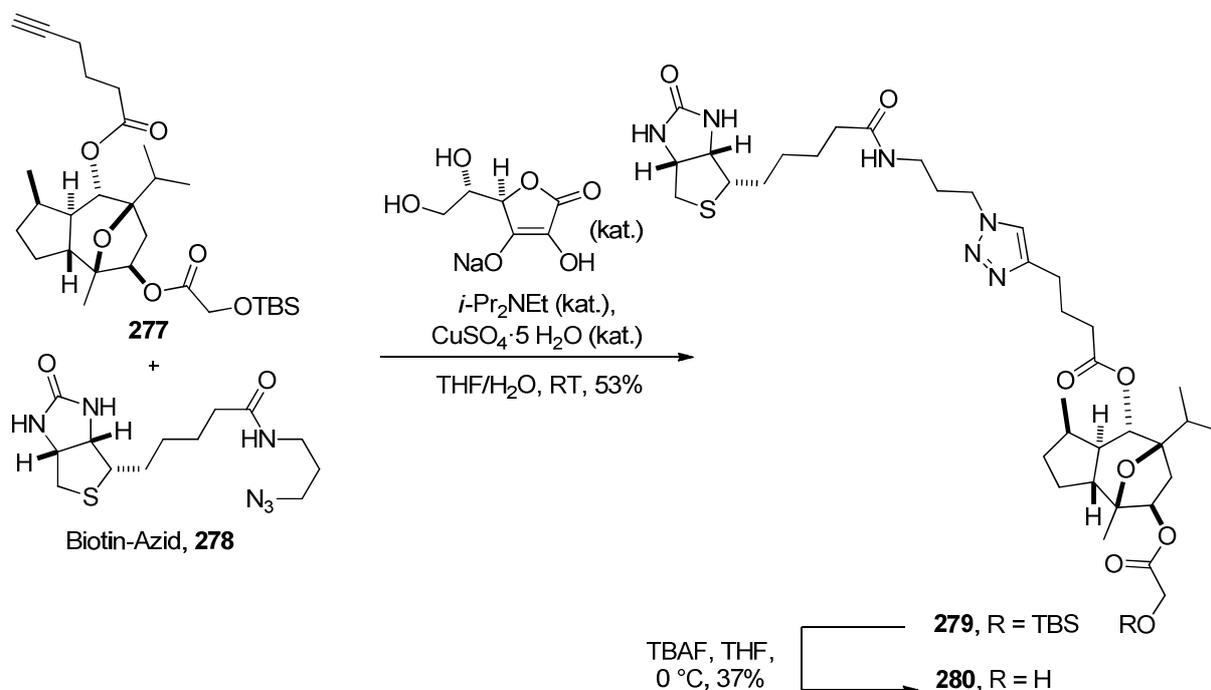


Schema 48: 1,3-dipolare Azid-Alkin-Cycloaddition.¹¹⁶

Bei der Kupfer-katalysierten Reaktion hingegen wird ausschließlich das 1,4-Regioisomer gebildet, gleichzeitig verläuft die Reaktion um bis zu 10^7 -mal schneller, so dass Erhitzen unnötig wird. Bei der Ruthenium-katalysierten Variante, die von *Fokin* entwickelt wurde, wird jedoch einzig das 1,5-Regioisomer gebildet.¹¹⁷ Neben der Kupfer-katalysierten Cycloaddition in Lösung wurde zeitgleich und unabhängig zu den Arbeiten von *Sharpless* eine Kupfer-katalysierte Cycloaddition an der festen Phase von *Meldal et al.*¹¹⁸ beschrieben.

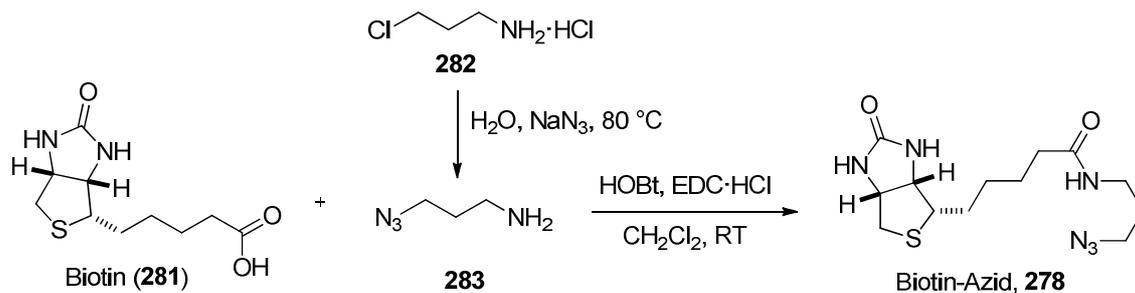
Triazole besitzen interessante biologische Aktivitäten, wie z.B. *anti*-HIV und *anti*-bakterielle Aktivität. Des Weiteren werden sie häufig in der Industrie als Farbstoffe, Agrochemikalien oder Sprengstoffe (z.B. Nitrotriazolon, NTO) eingesetzt.¹¹³ Für die Aufklärung des Wirkmechanismus von Englerin A wurden verschiedene 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazole synthetisiert, die anschließend in einer Affinitätschromatographie (Pull-down-Experiment) eingesetzt wurden. Für die erfolgreiche Durchführung eines solchen Experimentes ist es sinnvoll, eine Kontrollverbindung zu synthetisieren, die im Optimalfall nicht an das

Zielprotein bindet, da sie inaktiv ist. Daher wurde zunächst die Kupfer-katalysierte „Klick-Reaktion“ mit dem TBS-geschützten Derivat **277** durchgeführt und anschließend die TBS-Gruppe der Glykolsäure entschützt (Schema 49). Jedoch war die cytotoxische Aktivität von **280** mit einem IC_{50} -Wert von 2.70 μM etwas zu hoch, als dass es erfolgreich in dem Kontrollexperiment eingesetzt werden konnte.



Schema 49: CuAAC von Biotin-Azid **278** mit dem TBS-geschützten Englerin A Derivat **277**.

Hierbei wurde nach einem Protokoll von *Wyszogrodzka* und *Haag*¹¹⁹ das TBS-geschützte Englerin A Derivat **277** mit Biotin-Azid **278** unter Cu^I-Katalyse verknüpft. Cu^I wird hierbei *in situ* durch Reduktion von CuSO₄ (0.1 eq.) mit Natriumascorbat (0.2 eq.) gebildet. Obwohl laut *Sharpless*^{113a} keine Base nötig ist, wenn die Reaktion in Wasser durchgeführt wird, erwies sie sich in den Studien von *Wyszogrodzka* und *Haag*¹¹⁹ als durchaus sinnvoll, um zum Einen die Reaktionszeit zu verkürzen und zum Anderen die Umsetzung zu vervollständigen. Biotin-Azid ist zwar kommerziell erhältlich, aber sehr teuer.¹²⁰ Es kann aber durch Reaktion von Biotin (**281**) mit 3-Azidopropylamin **283** synthetisiert werden, welches zuvor aus 3-Chlorpropylamin-Hydrochlorid **282** hergestellt wird (Schema 50).¹²¹



Der TBS-Ether des so generierten 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazols **279** (Schema 9) wurde anschließend mit TBAF gespalten und es wurde das gewünschte Produkt **280** in 37% Ausbeute erhalten. Die Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition wurde analog dazu mit drei weiteren Derivaten durchgeführt und es konnten die folgenden Produkte **284**, *ent*-**284** und **285** erhalten werden (Abb. 10).¹²²

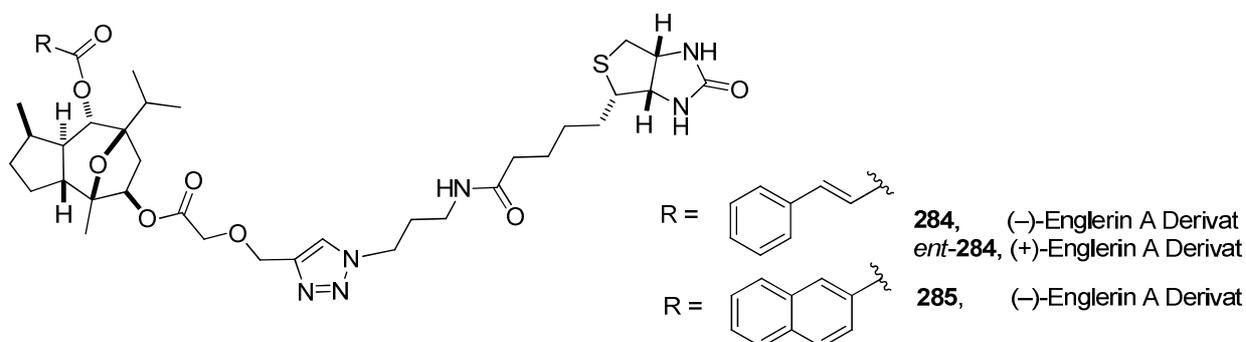
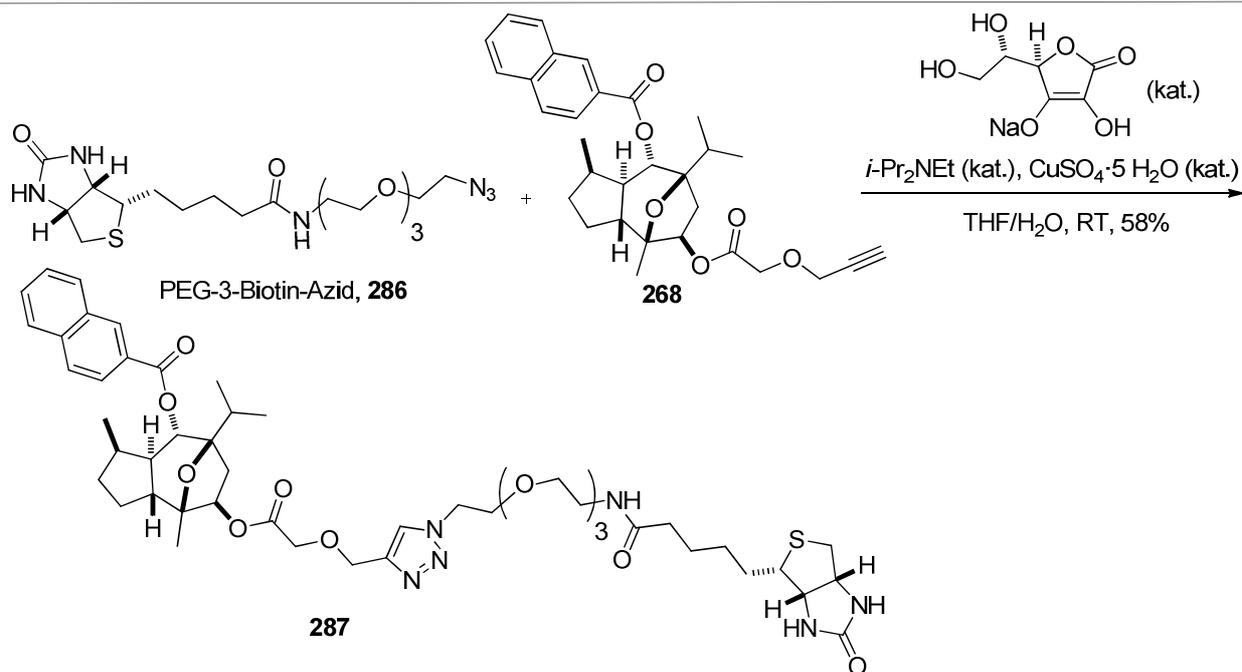


Abb. 10: Generierte Produkte **284**, *ent*-**284** und **285** aus der Kupfer-katalysierten Azid-Alkin Cycloaddition mit Biotin-Azid.

Alternativ zu dem teuren Biotin-Azid **278** konnte auch PEG-3-Biotin-Azid **286** erfolgreich in der Kupfer-katalysierten Azid-Alkin Cycloaddition eingesetzt werden (Schema 51). Das gewünschte Produkt **287** konnte in 58% Ausbeute erhalten werden.



Schema 51: Kupfer-katalysierte „Klick-Reaktion“ mit PEG-3-Biotin-Azid 286.

3.6.2 Die Synthese von BODIPY-FL

Bei BODIPY (Bor-Difluorid-verbrücktes Pyrromethan-Gerüst) handelt es sich um Fluoreszenzfarbstoffe mit einem Pyrromethan als Grundkörper, bei denen das Boratom meist Fluorsubstituenten trägt (Abb. 11).^{123a}

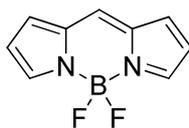


Abb. 11: Pyrromethan-Gerüst der BODIPY-Farbstoffe.

Wegen der Instabilität dieses unsubstituierten Pyrromethangerüsts fand die erste Synthese erst 2009 von *Jung, Peña-Cabrera* und *Bruce*¹²³ statt, obwohl die Farbstoffe des 4,4-Difluoro-4-bora-(3a,4a)-diazas-indacen-Typs schon 1968 von *Treibs* und *Kreuzer*¹²⁴ synthetisiert wurden. Die Fluoreszenzfarbstoffe sind stark UV-absorbierende Farbstoffe, die praktisch stabil gegen die Polarität oder den pH-Wert ihrer Umgebung, sowie gegenüber physiologischen Bedingungen sind.¹²⁵ Des Weiteren sind sie relativ unpolar und der Chromophor ist elektronisch neutral. Ihre Spektren weisen Charakteristika auf, die oft besser sind als die von Fluorescein, Tetramethylrhodamin oder Texas Red. Trotzdem gibt es auch einige Nachteile dieser Fluoreszenzfarbstoffe. Zum einen emittieren viele von ihnen bei

weniger als 600 nm und zum anderen wurden bisher nur wenige wasserlösliche Derivate synthetisiert.¹²³ Jedoch werden diese Farbstoffe oft in der Biochemie und Molekularbiologie eingesetzt, um fluoreszierende Proteinkonjugate, Nucleotide, Enzymsubstrate oder Fettsäuren zu generieren, um nur einige der vielseitigen Einsatzmöglichkeiten zu nennen.¹²⁶ Kleine Modifizierungen in der Struktur der Farbstoffe ermöglichen Änderungen ihrer fluoreszierenden Charakteristika hin zu größeren Wellenlängen (Abb. 12).¹²⁷

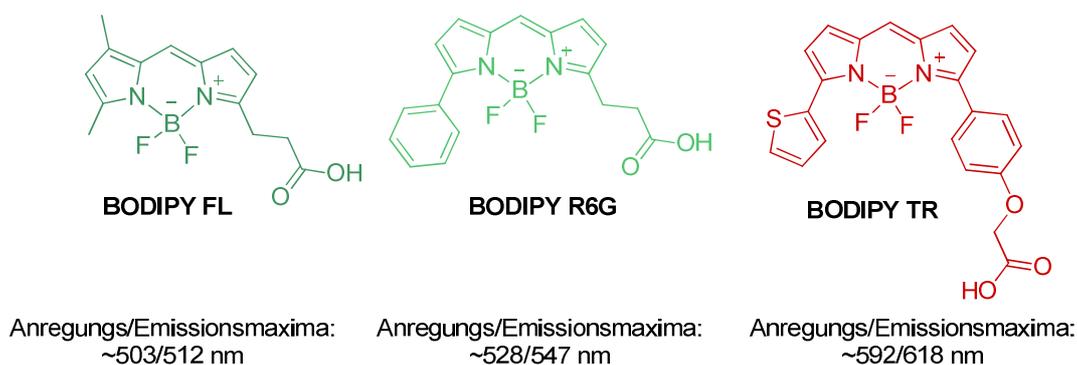
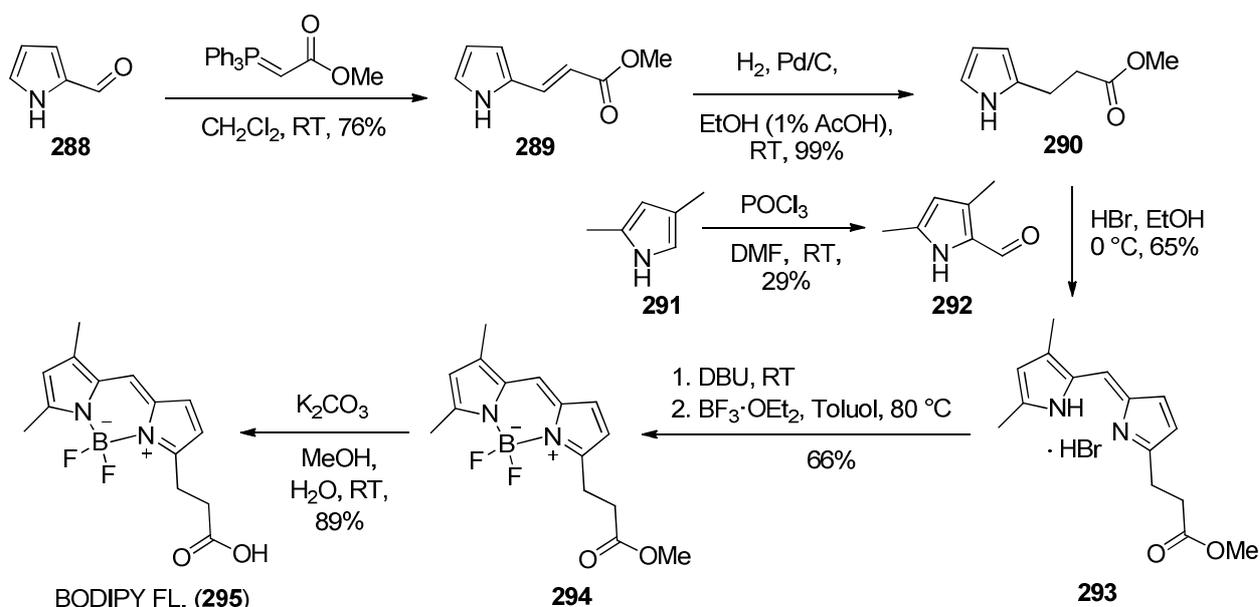


Abb. 12: Die Strukturen und Farben von BODIPY FL, BODIPY R6G und BODIPY TR.

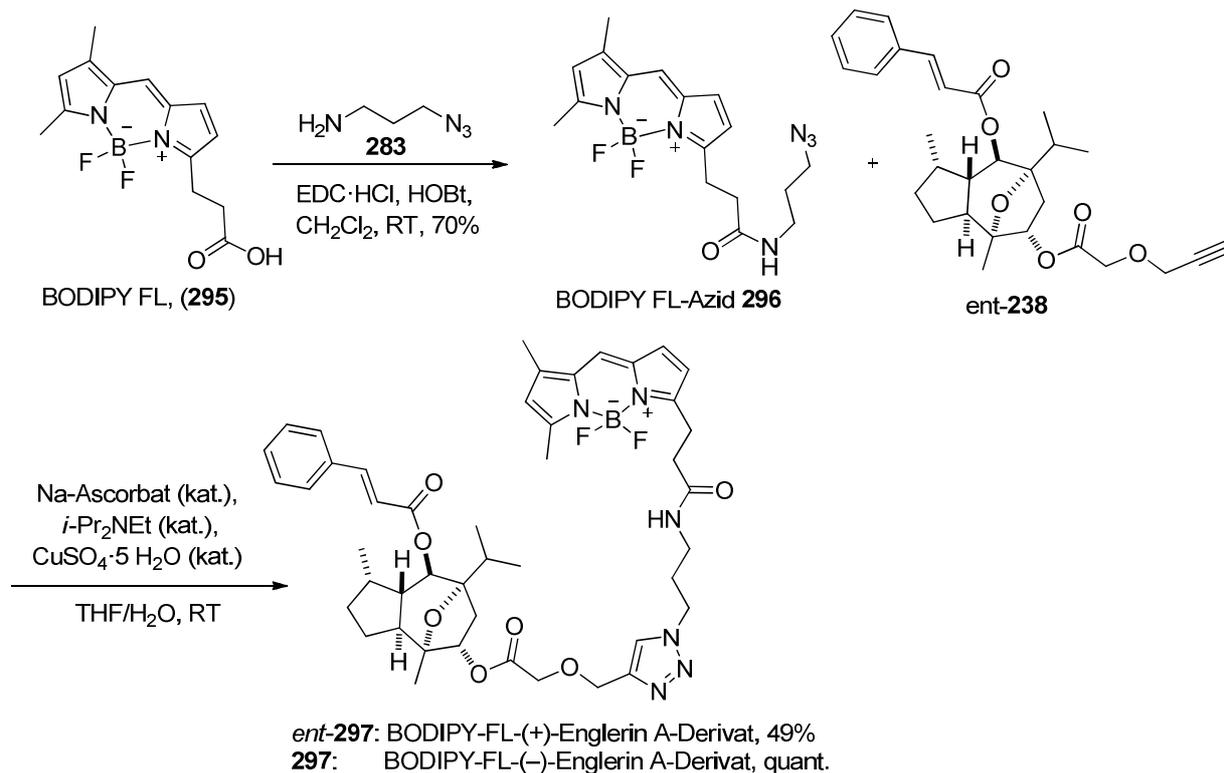
Da die BODIPY-Fluoreszenzfarbstoffe sehr teuer sind und für biochemische Zwecke nur im kleinen Maßstab verkauft werden,¹²⁸ sollte im Rahmen dieser Arbeit die Synthese von BODIPY FL (**295**) in Anlehnung an die Dissertationen von *Völkert* und *Peters*¹²⁹ erfolgen (Schema 52).



Schema 52: Synthese von BODIPY FL (**295**).

3. Synthetischer Teil

Die Synthese begann mit der *Wittig-Reaktion* von 2-Pyrrolcarbaldehyd **288** mit 2-(Triphenylphosphoranyliden)essigsäuremethylester. Der resultierende α,β -ungesättigte Ester **289** wurde anschließend mit H_2 in Gegenwart von Pd/C in den Propionsäureester **290** überführt. Bei zu langer Reaktionszeit wird auch das Furansystem reduziert, daher muss die Reaktion frühzeitig (nach ca. 3h) abgebrochen werden. Für die anschließende Verknüpfung wurde zunächst 2,4-Dimethylfuran **291** in einer Formylierungsreaktion unter *Vilsmeier-Haack*-Bedingungen in den Aldehyd **292** überführt. Die Verknüpfungsreaktion gelang durch Reaktion des synthetisierten Aldehyds **292** mit dem Propionsäureester **290** und HBr in EtOH. Das so generierte Dipyrrromethan-Hydrobromid **293** wurde mit DBU und frischem $BF_3 \cdot OEt_2$ in das stark fluoreszierende BF_2 -verbrückte Intermediat **294** überführt. Hierbei war es wichtig, dass der Kolben in ein auf 80 °C vorgeheiztes Ölbad getaucht wurde, um die Reaktionszeit so kurz wie möglich zu halten (10 Min.). Wegen der Wärmeübertragung ist diese Reaktion daher auch auf kleine Ansatzgrößen beschränkt. Durch Verseifung mit K_2CO_3 wurde schließlich nach dreitägiger Reaktionszeit der Fluoreszenzfarbstoff BODIPY FL (**295**) in 89% Ausbeute erhalten.¹²⁹ Der erhaltene Fluoreszenzfarbstoff BODIPY FL wurde anschließend mit 3-Azido-1-propylamin, EDC·HCl und HOBT versetzt, um anschließend mit dem Alkin *ent*-**238** in einer Kupfer-katalysierten Azid-Alkin Cycloaddition (s. Kap. 4.1) zum entsprechenden BODIPY-(+)-Englerin A-Derivat, *ent*-**297** zu reagieren (Schema 53), welches als Negativkontrolle fungieren sollte. Wurde die Reaktion mit **238** durchgeführt, so wurde das BODIPY-(-)-Englerin A-Derivat **297** in quantitativer Ausbeute erhalten.



Schema 53: Synthese der BODIPY-FL-(+)-Englerin A und BODIPY-FL(-)-Englerin A-Derivate.

3.6.3 Photoaffinitätsmarkierung¹³⁰

Um die biologische Wirkungsweise von (-)-Englerin A verstehen zu können und das Zielprotein (Target) zu identifizieren, an das Englerin A bindet, wurde eine Photoaffinitätsmarkierung (photoaffinity label) eines Englerin A-Derivates durchgeführt. Hierbei wird eine photoaktive Gruppe (z.B. Azid, Diazoverbindung, Benzophenon, Diazoniumsalz oder Diazirin) am Naturstoff angebracht. Durch die Bestrahlung (UV-Licht) unter milden Bedingungen, bezüglich Temperatur und pH-Wert, wird die photoaktive Gruppe aktiviert und ein Carben (möglich wären auch Nitren oder ein Radikal) gebildet.¹³⁰ Dieses kann dann eine kovalente, irreversible Bindung mit dem sich umgebenden Zielprotein ausbilden (Abb 13)¹³¹ und ist gleichzeitig in der Lage, sogar in CH-Bindungen zu insertieren. Durch folgende Detektion (SDS-PAGE, Immunpräzipitation, Biotin-Streptavidin-Affinitätsreinigung und Massenspektrometrie) kann so das Zielprotein identifiziert werden.¹³²

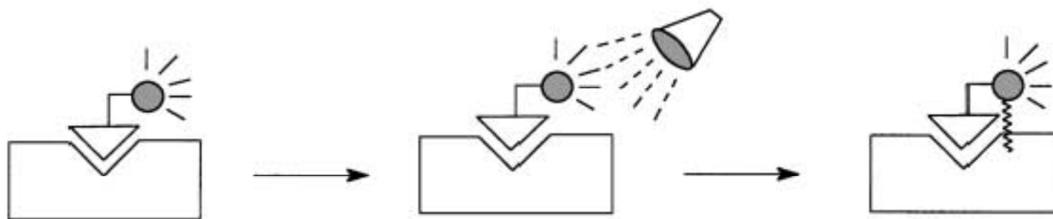


Abb. 13: Prinzip der Photoaffinitätsmarkierung zur Zielproteinidentifizierung.¹³¹

Die Photoaffinitätsmarkierung ist eine immer häufiger angewendete Methode in der chemischen Biologie was sich auch in der Anzahl der Publikationen in den letzten Jahren widerspiegelt.¹³³ Die 3-Aryl-3-*H*-Diazirine (**298**) wurden erstmals 1975 von *Smith* und *Knowles*¹³⁴ für die Photoaffinitätsmarkierung eingeführt. 1980 berichten *Brunner et al.*¹³⁵ von der Synthese von 3-Trifluormethyl-3-phenyldiazirin (**301**) (Abb. 14).

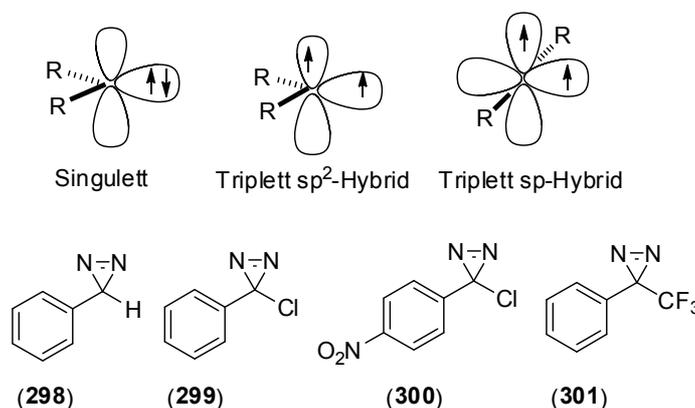
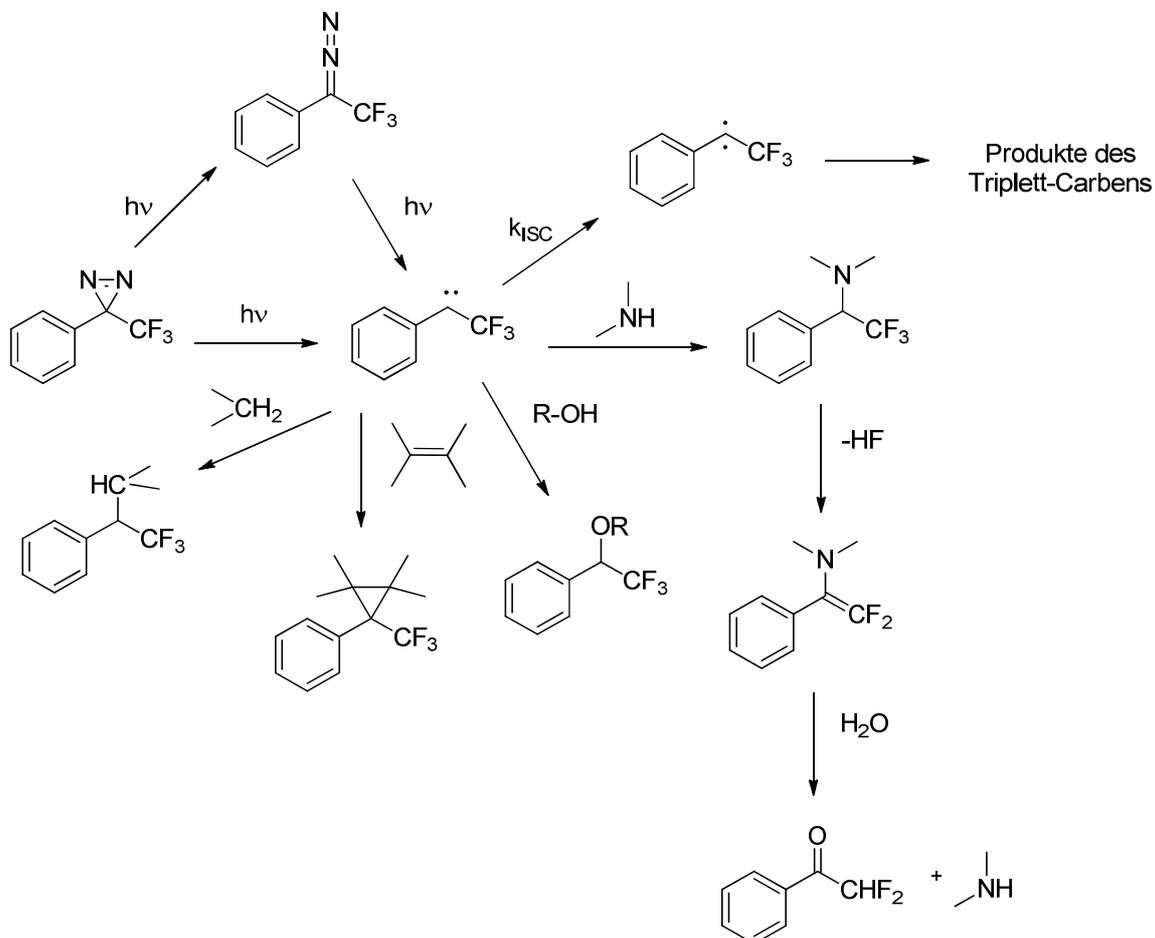


Abb. 14: Die elektronischen Zustände der Carbene, sowie die Aryldiazirine (**298**)-(301).^{133b}

Dieses wird ausgehend von 2,2,2-Trifluoracetophenon in einer Gesamtausbeute von 60% erhalten und photolysiert schnell bei Bestrahlung einer Wellenlänge von 350 nm zu 65% zu dem entsprechenden Carben und zu 35% zu der Diazoverbindung (Schema 54). Letztere kann allerdings durch weitere Photolyse bei entsprechender Wellenlänge in das Carben umgewandelt werden. Bei der Bestrahlung bilden die Diazirine stabile Carbene, die zwei nicht-bindende Orbitale mit zwei Möglichkeiten der Elektronenteilung aufweisen: den Singulett-Zustand, bei dem die Elektronen spin-gepaart sind und den Triplett Zustand, bei denen der Spin der Elektronen parallel ist. Der Singulettzustand wird dabei durch Substituenten stabilisiert, die dem leeren p-Orbital Elektronen zur Verfügung stellen. Aliphatische Diazirine isomerisieren nach Photolyse zu den Diazomethanverbindungen und bilden den Singulettzustand. Beispiele für den Singulettzustand sind z. B. Phenyldiazirin

(298) und Phenylchlorodiazirin (299). *p*-Nitrophenylchlorodiazirin (300) und 3-Trifluormethyl-3-phenyldiazirin (301) liegen als Triplett-Carbene im Grundzustand vor (Abb.14).^{133b}



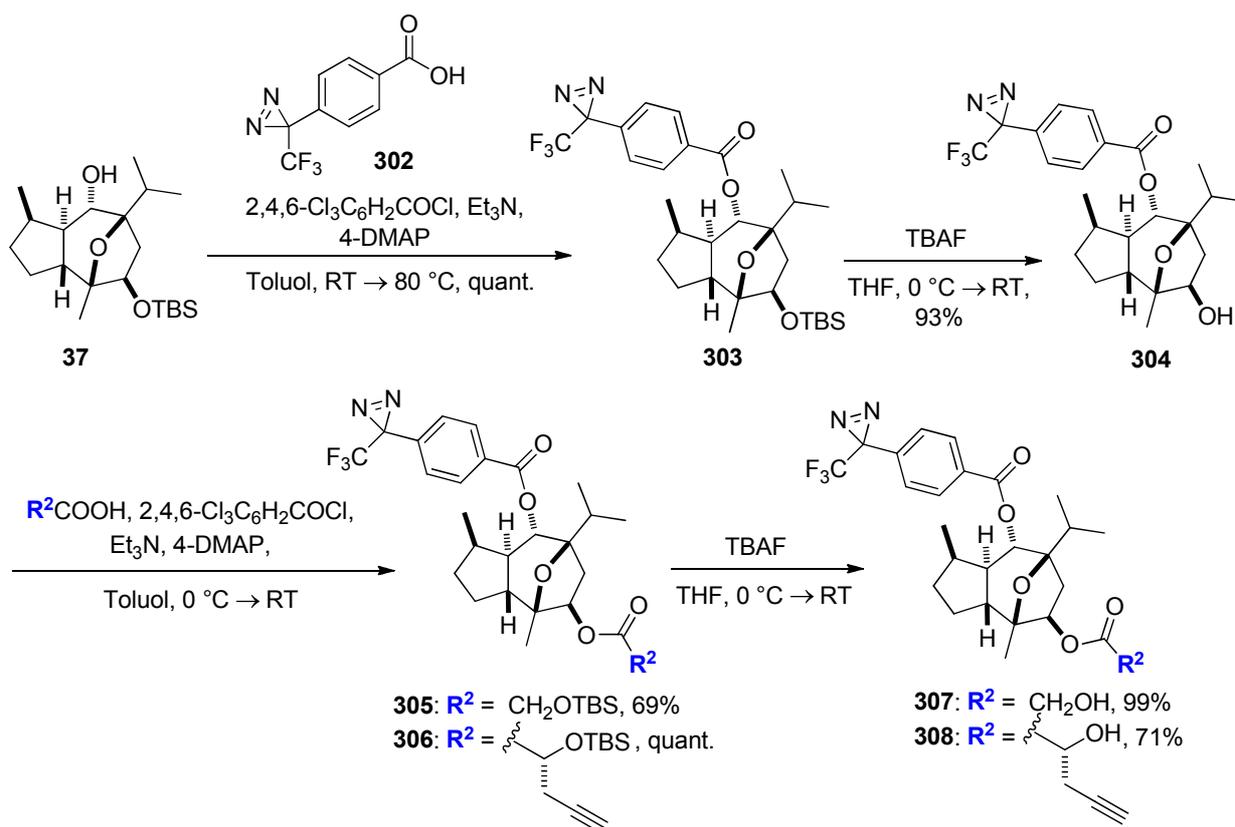
Schema 54: Photolyse von 3-Trifluormethyl-3-phenyldiazirin; Es ist die Bildung des Diazoisomers gezeigt, sowie der Singulett- und Triplett-Carbene. Das Singulett-Carben reagiert mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen, die in Biomolekülen vorkommen; k_{ISC} (Intersystem Crossing) steht für den Übergang des Singulett-zum Triplett-Carben.¹³²

Interessanterweise wurde durch Einführung der CF_3 -Gruppen keine interne Umlagerung beobachtet. 3-Trifluormethyl-3-phenyldiazirin (301) eignet sich besonders als Photoaffinitätsmarker und wird immer häufiger eingesetzt,^{133c} da es thermisch stabil ist, im Dunklen für mehrere Tage gelagert werden kann, sogar für 30 Min auf 75 °C erhitzt werden kann und dann keine oder nur leichte Veränderungen in seiner Struktur zeigt. Das ist besonders wünschenswert, da für die erfolgreiche Durchführung einer Photoaffinitätsmarkierung die photosensitive Probe einige Voraussetzungen erfüllen muss. Zum Einen muss sie vor der Bestrahlung im Dunklen stabil sein, jedoch muss sie auch anfällig für bestimmte Wellenlängen (~350 nm) sein, die die Proteine nicht schädigen. Die

3. Synthetischer Teil

hoch reaktiven Intermediate neigen zu Selbststabilisierung durch intramolekulare Umlagerung, was zu weiteren reaktiven Produkten führen kann, die nucleophile Gruppen in Proteinen oder anderen Biomolekülen attackieren können. Nebenprodukte, die während der Reaktion gebildet werden, müssen chemisch inert sein. Für die Identifizierung des angehängten Zielproteins muss das Photophor eine leicht detektierbare Gruppe wie eine radioaktive Markierung, Biotin, magnetisierbare Mikropartikel oder eine Fluoreszenzmarkierung besitzen.¹³⁶

Als nächstes wurde das photoaktive Derivat synthetisiert. Dafür wurde 4-(3-(Trifluormethyl)-3*H*-diazirin-3-yl)benzoesäure **302**¹³⁷ mit dem sekundären Alkohol **37** unter *Yamaguchi*-Bedingungen verestert und unter bekannten Bedingungen^{9e} in vier Stufen in das entsprechende photoaktive Derivat **307** überführt. Damit es anschließend mit Biotin-Azid **278** in einer Kupfer-katalysierten Cycloaddition verknüpft werden kann, wurde es ebenfalls mit der TBS-geschützten Pent-4-insäure **255** als **R²** verestert (Schema 55).

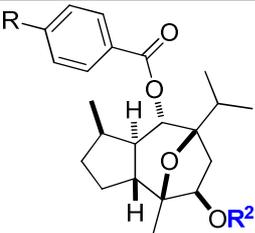


Schema 55: Synthese der photoaktiven Derivate **306** und **307**.

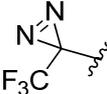
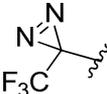
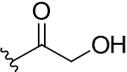
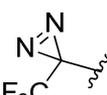
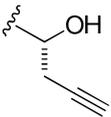
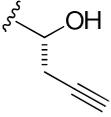
Die cytotoxische Aktivität der so synthetisierten Derivate wurde ebenfalls im Rahmen der SAR-Studie in Zusammenarbeit mit *Yasemin Akbulut* vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund an der Nierenkrebszelllinie A498 vermessen. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 18 wiedergegeben. Dabei ist ersichtlich, dass die

photosensitive Probe mit der substituierten Glykolsäure **307** durchaus gute Aktivität (Eintrag 2, $IC_{50} = 0.033 \mu\text{M}$) aufweist, wohingegen der Rest (*S*)-2-Hydroxypent-4-ensäure deutliche Aktivitätsverluste zu verzeichnen hat (Eintrag 3). Die Probe ist jedoch aktiv genug, um sie in der Identifizierung der Zielproteine einzusetzen. Wie bereits aus vorherigen Arbeiten bekannt, ist es nicht verwunderlich, dass der freie Alkohol (Eintrag 2) an C9 inaktiv ist.⁵

Tabelle 18: Inhibierung der Zellproliferation der synthetisierten Derivate in der Nierenkrebszelllinie A498.



304, 307, 308, 270

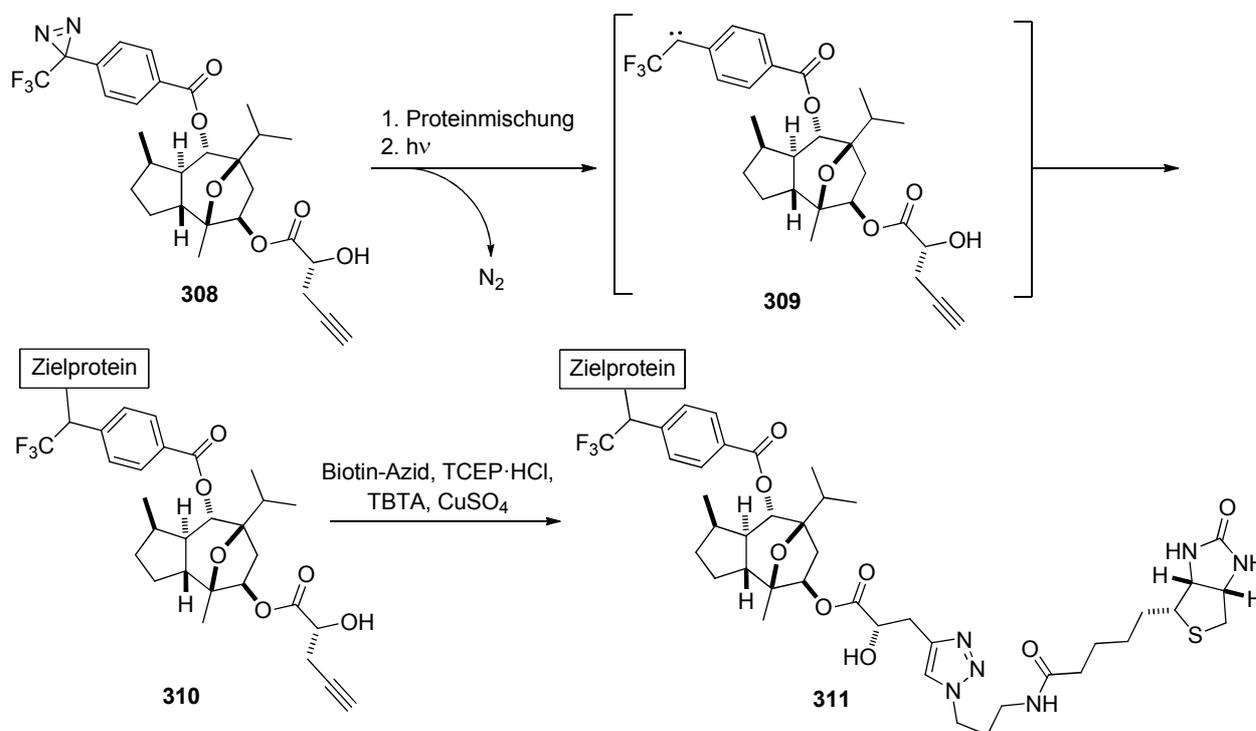
Eintrag	R	R^2	IC_{50} -Werte ⁸¹ in μM
1		H	>10
2			0.033
3			1.642
4	H		4.530

Die A498-Zellen wurden in Vierfachbestimmungen mit unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen für 48 h behandelt. Anschließend wurde die Zellproliferation mit Hilfe des WST-1-Assays (Roche) kolorimetrisch bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus drei unabhängig durchgeführten Experimenten.

Bei der Photoaffinitätsmarkierung ist eine photostabile Verbindung als Negativkontrolle essentiell für die Durchführung. Nur so kann der Hintergrund der spezifischen Photo-Vernetzung der Probe untersucht werden. Die Markierung des vermeintlichen Zielproteins ist dabei nicht nur abhängig vom Vorhandensein der photosensiblen Gruppe, sondern auch von

3. Synthetischer Teil

der UV-Bestrahlung. Wenn also eine Markierung beobachtet wird, ohne dass die photosensible Gruppe im Molekül vorhanden ist oder ohne UV-Bestrahlung, so indiziert dies eine Markierung des Hintergrunds durch eine Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition („Klick-Reaktion“). Des Weiteren ist es wichtig, die Spezifität der Photo-Vernetzung zu untersuchen. Dafür wurde das Derivat **270** synthetisiert, das vergleichbar mit der Verbindung **308** ist, jedoch keine photosensitive Gruppe trägt (für die Ausbeuten der einzelnen Stufen s. Tabelle 16, Eintrag 7).¹³⁸ Sein IC_{50} -Wert liegt mit $4.53 \mu\text{M}$ im akzeptablen Bereich (Eintrag 4). Die Proben wurden daran anschließend von *Yasemin Akbulut* vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund in einer Cu^I -katalysierten Azid-Alkin Cycloaddition mit Biotin-Azid **278** verknüpft, nachdem sie zuvor durch UV-Bestrahlung aktiviert und kovalent ans Protein gebunden wurden. Der Reaktionsablauf ist aus Schema 56 ersichtlich.



Schema 56: Photoaktivierung durch UV-Bestrahlung und anschließende Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition *in situ* mit Biotin-Azid.

Die beiden Alkine **308** und **270** (hier nicht gezeigt) wurden dabei nach einem Protokoll von *Waldmann*¹³⁹ mit Biotin-Azid *in situ* in einer Kupfer-katalysierten Azid-Alkin Cycloaddition mit Tris-(2-carboxyethyl)phosphin Hydrochlorid (TCEP) und Tris-[(1-Benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin) (TBTA) unter Cu^I -Katalyse verknüpft. TCEP dient hierbei statt Natriumascorbat als Reduktionsmittel für CuSO_4 , um die aktive Cu^I -Spezies zu generieren. TBTA hingegen schützt Cu^I vor Disproportionierung und Oxidation. Die so erhaltenen Proben wurden als nächstes in der Affinitätschromatographie eingesetzt.

3.6.4 Zelluläre Lokalisierungsstudien von Englerin A¹⁴⁰

Bei den zellulären Lokalisierungsstudien wurde überprüft, wo Englerin A in der Zelle lokalisiert ist. Dafür wurden Experimente mit den BODIPY-Englerin A-Derivaten *ent*-**297** und **297** an lebenden, wie auch an mit Paraformaldehyd fixierten Zellen durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass das (-)-Englerin A-BODIPY-Derivat hauptsächlich im Zytoplasma lokalisiert ist. Das (+)-Englerin A-BODIPY-Derivat, welches als Kontrolle eingesetzt wurde, befand sich in der gleichen Umgebung. Als weitere Kontrolle wurde BODIPY-Azid **296** verwendet, welches keinerlei Färbung zeigte. Allerdings wurde eine ausreichende Fluoreszenzfärbung nur mit hohen Konzentrationen des Farbstoffes (10 μ M) erreicht (Abb. 15).

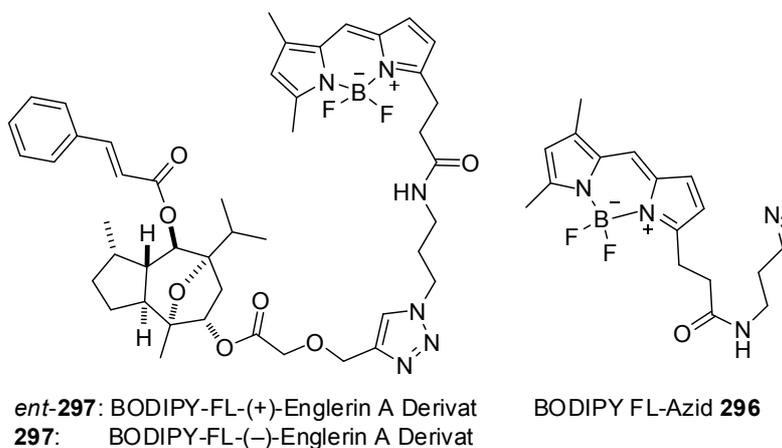
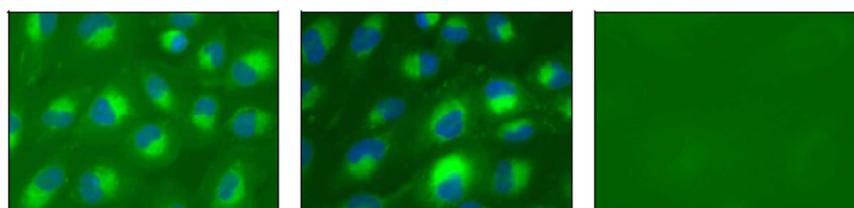


Abb. 15: Fluoreszenzbilder der zellulären Lokalisierung von (-)-Englerin A-BODIPY (links), (+)-Englerin A-BODIPY (mitte) und BODIPY-Azid, sowie deren Strukturen (unten).

4. Methoden zur Zielprotein-Identifizierung

Für die Identifizierung von Zielproteinen können verschiedenste Methoden in Betracht gezogen werden, wie z.B. die Affinitätschromatographie, auf Expressionsklonierung basierende Methoden wie das Phagendisplay und das Hefe-Drei-Hybrid-System, sowie Protein-Microarrays. Klassischerweise wird die Affinitätschromatographie für die Zielprotein-Identifizierung einer Substanz verwendet.¹⁴¹ Dabei wird der Naturstoff mit einem „Linker“ (Abstandshalter) versehen, der an einer festen Phase immobilisiert wird. Als nächstes wird die immobilisierte Substanz mit einem zellulären Proteinextrakt inkubiert und unspezifisch bindende Proteine durch mehrfaches Waschen entfernt, bevor die spezifisch gebundenen Proteine durch Änderungen der Pufferbedingungen gelöst werden. Nach der Größenauftrennung der Proteine in der SDS-Page, einem proteolytischen Verdau, können durch Massenspektrometrie potentielle Zielproteine identifiziert werden (Abb. 16).¹⁴²

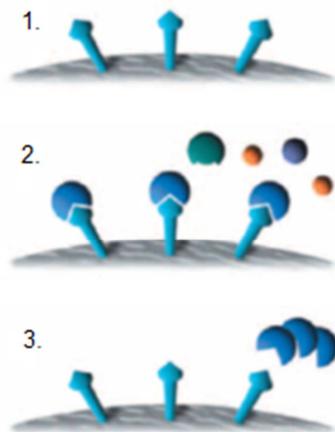


Abb. 16: Das Prinzip der Affinitätschromatographie. 1. Die Affinitätsmatrix ist im Bindungspuffer äquilibriert; 2. Die Probe wird an die Matrix gebunden, anschließend erfolgt die Inkubation mit einem Proteinextrakt, welcher das Zielprotein enthält. Das Zielprotein bindet spezifisch an den Liganden, ungebundenes Material wird gewaschen; 3. Durch Wechsel der Bedingungen, spezifisch durch kompetitive Liganden oder unspezifisch durch den Wechsel des pH-Wertes, der Polarität oder der Ionenstärke, wird das Zielprotein vom Liganden abgespalten, welches in gereinigter konzentrierter Form erhalten wird.¹⁴³

Bei der Affinitätschromatographie wird zwischen verschiedenen Methoden unterschieden. Neben der Festphasen-Elution, der kompetitiven und der seriellen Methode wurde in diesen Untersuchungen die vergleichende Methode mit einem inaktiven Molekül analoger Struktur durchgeführt, da so unspezifische Bindungen charakterisiert werden können. Als mögliche Zielproteine werden dann nur solche betrachtet, die ausschließlich in der Probe mit der aktiven Substanz enthalten sind.¹⁴⁴

Bei dem „Linker“ kann es sich um Polymethylen- oder Polyethylenglykol (PEG) Einheiten handeln. Die Länge ebendieser ist des Weiteren von großer Wichtigkeit, da ein längerer „Linker“ zu wesentlich höheren Ausbeuten des Zielproteins im Zellysate führt (Abb. 17).^{141b}

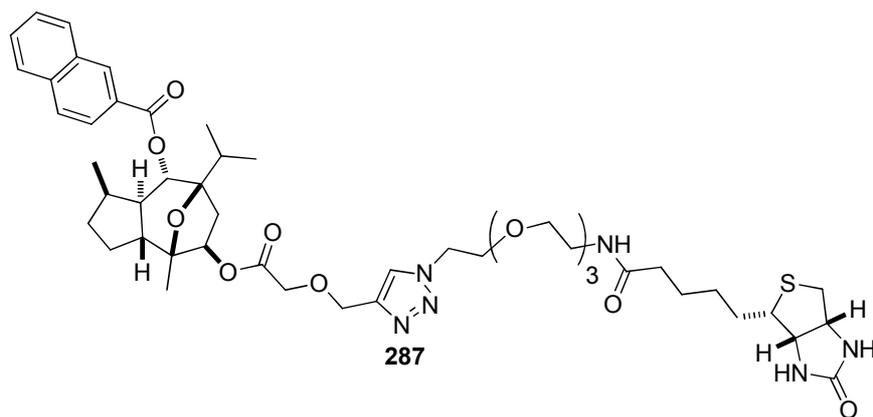


Abb. 17: Englerin A-Derivat **287** mit Biotin und einer PEG-3 Einheit als „Linker“ für die Affinitätschromatographie.

Die Anheftung an die feste Phase kann entweder kovalent durch einen „Linker“ mit freiem Amin und NHS-aktivierter Sepharose¹⁴⁴ oder durch einen Biotin-„Linker“ und anschließende Bindung an eine Avidin-Sepharose^{141b} erfolgen (Abb. 18).

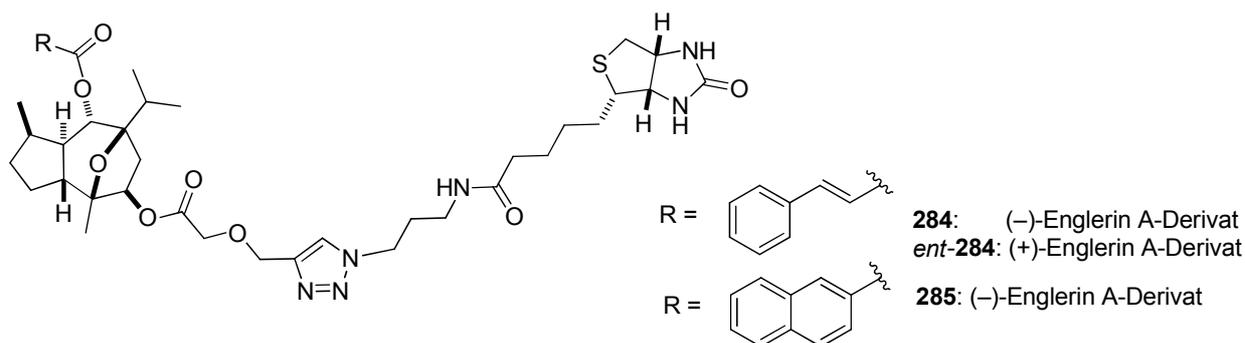


Abb. 18: Englerin A-Derivate **284** und **285** mit Biotin als „Linker“ für die Affinitätschromatographie.

Jedoch weist auch diese Methode einige Nachteile auf. Obwohl die Zielproteine hier in ihrer dreidimensionalen Struktur erhalten bleiben, dürfen Modifikationen des Moleküls nicht zu dessen Inaktivierung führen. Des Weiteren spielt die Bindungsaffinität eine entscheidende Rolle. Hohe Affinitäten werden gegenüber geringeren bevorzugt. Falls jedoch mehrere Zielproteine vorliegen, ist eine hohe Proteinkonzentration von Nachteil, da die Bindung von Proteinen in geringen Konzentrationen verhindert wird.¹⁴⁵ Die hier beschriebene Methode ermöglicht es, potenzielle Zielproteine zu identifizieren. Diese müssen jedoch anschließend in weiteren Analysen validiert werden, um zwischen positiven und falsch-positiven Zielproteinen unterscheiden zu können. Neben der Affinitätschromatographie bietet die Methode der komparativen Chromatographie mit isotoopenmarkierten Aminosäuren (SILAC, Stable Isotope Labelling of Amino Acids in Cell Culture) den Vorteil, spezifisch bindende von unspezifisch bindenden Proteinen zu unterscheiden. Hierbei werden die Zellen mit ¹³C- und ¹⁵N-markierten Lysin und Arginin, die in den Proteinen integriert sind, kultiviert.¹⁴⁶

4. Methoden zur Zielprotein-Identifizierung

Das Experiment setzt sich aus zwei Teilen zusammen, von denen jeder Teil zwei Experimente beinhaltet. Im ersten Teil wird eine Affinitätschromatographie der aktiven Verbindung mit schwerem isotopenmarkierten Zelllysate durchgeführt. Für das Kontrolllexperiment wird die Affinitätschromatographie mit der inaktiven Verbindung mit leichtem isotopenmarkierten Zelllysate durchgeführt (Abb. 19). Im zweiten Teil wird die Affinitätschromatographie der aktiven Verbindung mit leichtem isotopenmarkierten Zelllysate durchgeführt. Das Kontrolllexperiment mit der inaktiven Verbindung wird nun mit schwerem isotopenmarkierten Zelllysate durchgeführt.¹⁴⁷

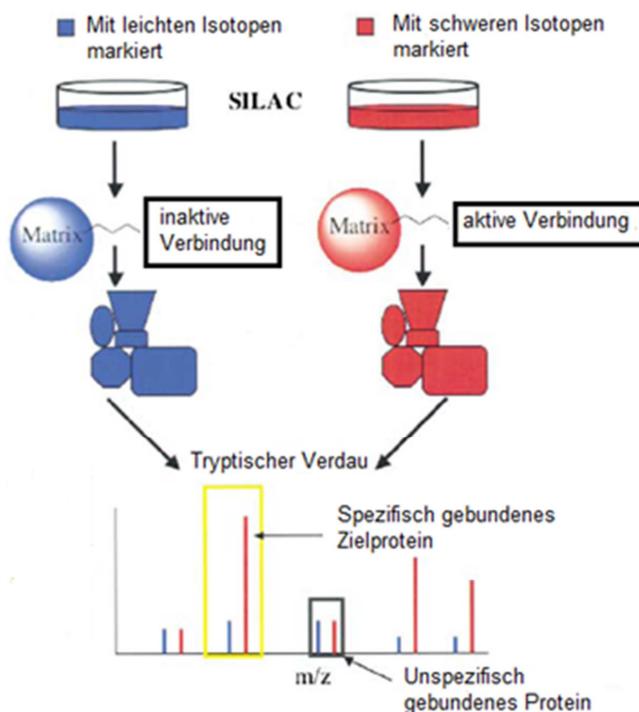
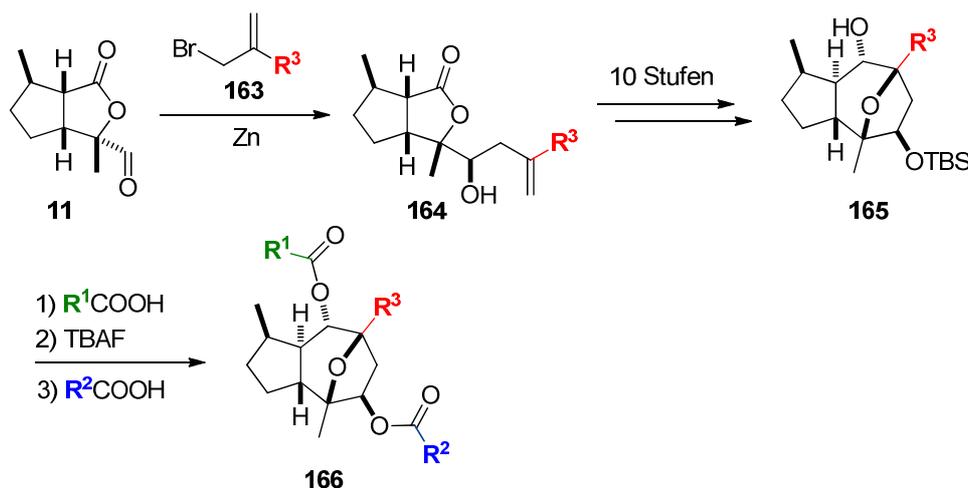


Abb.19: Affinitätschromatographie mit auf SILAC basierender quantitativer MS-Analyse. Die Zellen werden in parallelen Ansätzen entweder im Medium mit leichten Isotopen oder mit schweren Isotopen markierten Aminosäuren inkubiert. Nach Isolierung der Proteine und Bindung der zu testenden Substanz werden die gebundenen Proteine wieder gelöst. Es folgt eine Trennung über eine SDS-PAGE mit anschließendem proteolytischem Verdau. Über eine massenspektrometrische Analyse können spezifische von unspezifisch gebundenen Proteinen unterschieden werden; anhand der Peakintensitäten und Verhältnisse mittels Sequenzvergleich mit Proteindatenbanken können mögliche Zielproteine identifiziert werden.¹⁴⁸

5. Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurde die Totalsynthese von (-)-Englerin A im Gramm-Maßstab durchgeführt, was den Zugang zu einer Vielzahl an Derivaten ermöglichte.^{9e} Des Weiteren konnte die Synthese bezüglich der Ringschlussmetathese und der Diastereoselektivität der Epoxidierung optimiert werden. Im Fall des Restes $R^3 = i\text{-Pr}$ konnte die Katalysatorbeladung des Grubbs II-Katalysators in der Ringschlussmetathese auf 15 mol % reduziert werden, im Fall von $R^3 = \text{Me}$ sogar auf 5 mol %. Die anfangs moderate Diastereoselektivität der Epoxidierung von 2.3:1 konnte auf 5.4:1 gesteigert werden. Schon zu Beginn der Synthese konnten durch die Wahl unterschiedlicher Allylbromide zwei Derivate mit unterschiedlichen Resten ($R^3 = \text{Me}, \text{Et}$) am Guaian-Gerüst generiert werden (Schema 58), die jedoch geringere IC_{50} -Werte als Englerin A in der Nierenkrebszelllinie A498 aufweisen.



Schema 58: Derivatisierung von Englerin A.

Durch *Yamaguchi*-Veresterungen des Intermediates **165** konnten leicht Derivate im 5-100 mg Maßstab synthetisiert werden, deren biologische Aktivität anschließend in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund (Arbeitsgruppe *Waldmann*) gemessen wurde. In einer ersten umfangreichen SAR-Studie konnten so unter den Derivaten mit unterschiedlichen Resten R^1 drei Derivate identifiziert werden, die mit IC_{50} -Werten von 24-26 nM fast doppelt so aktiv wie Englerin A sind. Durch die Kombination der Strukturmerkmale dieser drei aktivsten Derivate –*c*-Hexylacrylat-, Naphthyl- und (*E*)- β -Methylzimtsäure– konnten in einer zweiten umfangreichen SAR-Studie fünf weitere Derivate identifiziert werden, die deutlich aktiver als Englerin A und sogar noch aktiver, als die bisher

5. Zusammenfassung und Ausblick

aktivsten Derivate sind. Mit einem IC_{50} -Wert von 8.90 nM konnte unter den insgesamt 48 Derivaten eines identifiziert werden, welches fünfmal aktiver als Englerin A ist und damit das bisher aktivste Englerin A-Derivat darstellt. Des Weiteren wurden verschiedene Säuren R^1COOH und R^2COOH durch *Yamaguchi*-Veresterung eingeführt, wodurch die Bedeutung der Glykolsäure für die biologische Aktivität in Übereinstimmung mit anderen biologischen Studien^{9c,12} bestätigt werden konnte. Allerdings konnte ein Derivat synthetisiert werden, das mit der (*R*)-konfigurierten Milchsäure als R^2COOH verestert ist und eine deutliche Aktivität von $IC_{50} = 61.7$ nM aufzeigt.

Außerdem wurden Alkine für die Verknüpfung mit biologischen Proben wie Biotin synthetisiert. Die Proliferationsassays wurden in Zusammenarbeit mit *Dr. Hongyan Sun* und *Yasemin Akbulut* durchgeführt, um die Aktivität von Englerin A und dessen Derivaten zu bestimmen. Die ermittelten Ergebnisse machen deutlich, dass die Isopropylgruppe essentiell für die biologische Aktivität von Englerin A ist.^{9e} Gleiches gilt für den Cyclopentanring^{11d} (Abb. 20).

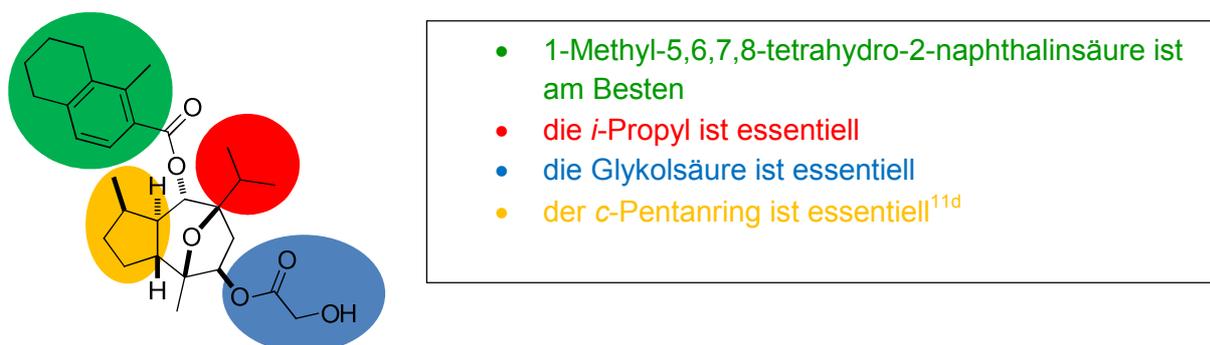


Abb. 20: Schlussfolgerung der SAR-Studien.

Durch Cu^I -katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) konnten 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazole synthetisiert werden, die in der folgenden Affinitätschromatographie in Zusammenarbeit mit *Dr. Hongyan Sun* und *Yasemin Akbulut* eingesetzt wurden. Dafür wurde auch ein photolabiles Derivat mit einer Trifluormethyldiazirin-Gruppe generiert, das durch Photoaktivierung kovalent an das Zielprotein binden soll. Um beobachten zu können, wo Englerin A in der Zelle lokalisiert ist, wurden Englerin A-Derivate synthetisiert, die mit dem zuvor generierten Fluoreszenzfarbstoff BODIPY-FL in einer Cu^I -katalysierten Azid-Alkin-Cycloaddition verknüpft wurden. Diese Derivate wurden in einem zellulären Lokalisierungsassay eingesetzt, in dem deutlich wurde, dass sich die (–)-Englerin A und (+)-Englerin A-BODIPY-Derivate in einer ähnlichen Umgebung in der Zelle aufhalten.

Die Generierung weiterer Derivate durch Austausch der *i*-Propylgruppe gegen z.B. einen *t*-Butylrest könnte zu womöglich noch aktiveren führen. Ebenfalls könnte die angesprochene Synthese von Derivaten mit unterschiedlichen Heteroatomen wie Stickstoff oder Schwefel weiter untersucht werden. Des Weiteren könnten durch Veresterung mit den unten aufgeführten Säuren Heteroatome am Naphthyl-Ring eingeführt werden (Abb. 21).

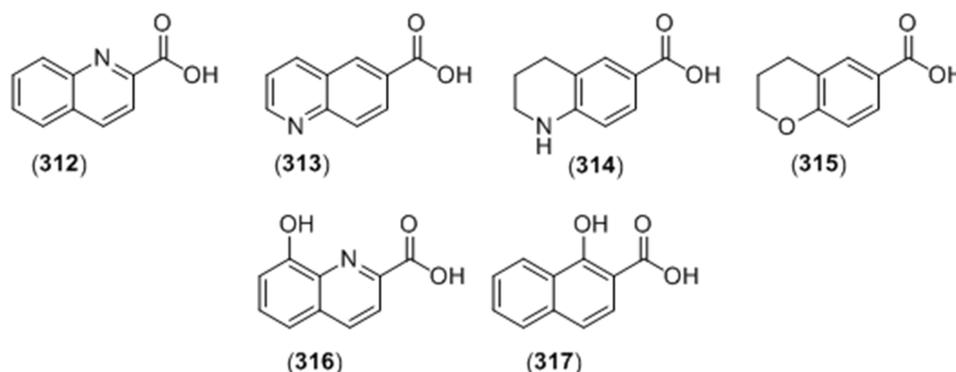


Abb. 21: Weitere Säuren für die Generierung neuer Derivate. (312): Chinaldinsäure; (313): Chinolin-6-carbonsäure; (314): 1,2,3,4-Tetrahydro-6-chinolincarbonsäure; (315): 6-Chromancarbonsäure; (316): 8-Hydroxychinolin-2-carbonsäure; (317): 1-Hydroxy-2-naphthalinsäure.

Da aus den SAR-Studien bekannt ist, dass das Naphthyl-Derivat sehr selektiv gegen Nierenkrebszelllinien mit einem IC_{50} -Wert von 24 nM wirkt könnte nun untersucht werden, welchen Einfluß die Stickstoff-Atome der Säuren (318) und (319) auf die biologische Aktivität der Derivate haben. Ferner ist bekannt, dass die Veresterung mit der Säure 5,6,7,8-Tetrahydro-2-naphthalinsäure zu einem sehr aktiven Derivat ($IC_{50} = 12.1$ nM) führte, so dass nun der Einfluss von Heteroatomen, wie Stickstoff (Säure (320)) oder Sauerstoff (Säure (321)) untersucht werden könnte. Des Weiteren wären Derivate mit Hydroxylgruppen am Naphthyl-Ring denkbar, da so das Derivat eventuell über Wasserstoffbrückenbindungen an das Zielprotein binden könnte. In weiteren biologischen Studien in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe *Waldmann* vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund soll in Zukunft das Zielprotein, an das Englerin A bindet, gefunden werden.

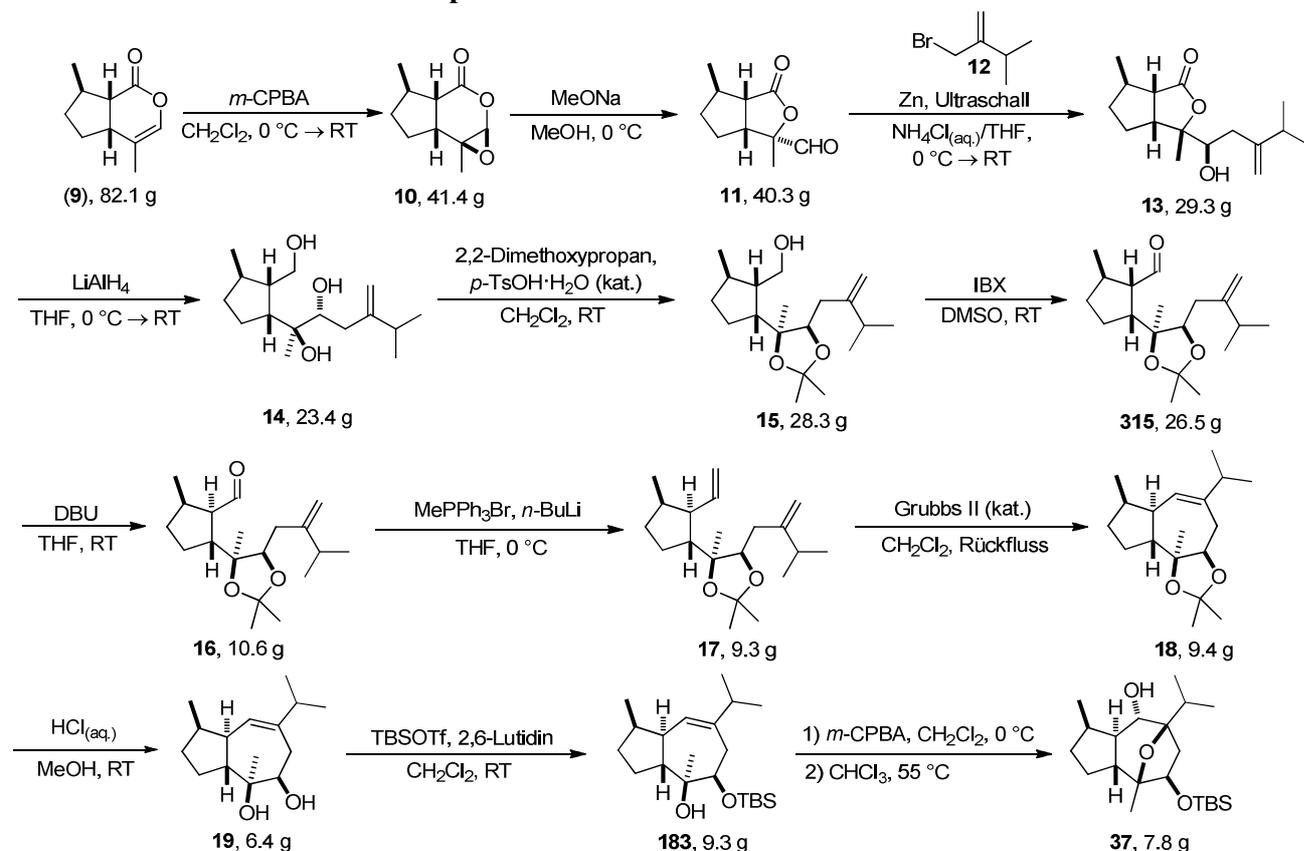
6. Experimenteller Teil

6.1 Allgemein

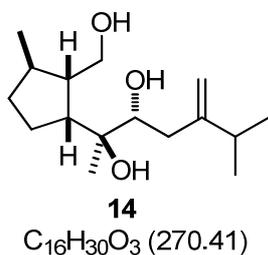
Lösungsmittel mit HPLC-Qualität wurden von Fisher Scientific oder VWR (Prolabo) bezogen. Trockene Lösungsmittel (Et_2O , CH_2Cl_2 , Toluol, DMF oder THF) wurden zuvor über ein Lösungsmittel Reinigungssystem gereinigt (M-BRAUN Glovebox Technology SPS-800). Für die Säulenchromatographie wurden Lösungsmittel technischer Qualität verwendet, die zuvor durch Destillation am Rotationsverdampfer gereinigt wurden. Wenn nicht anders erwähnt, wurden die Chemikalien nach Literaturangaben synthetisiert oder von Sigma Aldrich, Acros, ABCR oder AlfaAesar bezogen. Dünnschichtchromatographie (SiO_2) wurde an Merck Dünnschichtchromatographie Kieselgel Platten 60 F254 durchgeführt. Säulenchromatographie wurde an Merck Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm) mit einem Doppelluftgebläse durchgeführt. Drehwerte wurden an einem Perkin Elmer Polarimeter 341 bei 589 nm gemessen und werden wie folgt angegeben: $[\alpha]_D$ (Konzentration). NMR Spektren wurden an den folgenden Spektrometern gemessen: Bruker DRX300 (300 MHz), DRX400 (400 MHz), DRX500 (500 MHz) oder DRX600 (600 MHz) und wurden auf den jeweiligen Lösungsmittelpeak bezogen [CHCl_3 : δ 7.27 ppm (^1H -NMR) und 77.16 ppm (^{13}C -NMR), CD_3OD : δ 3.31 ppm (^1H -NMR) und 49.00 ppm (^{13}C -NMR)]. Die chemischen Verschiebungen werden in parts per million (ppm) wie folgt angegeben: chemische Verschiebung, Multiplizität (s = singulett, d = dublett, t = triplett, q = quartett, quin = quintett, sext = sextett, sept = septett, m = multipllett, br = broad), Kopplungskonstante, Integration. Infrarotspektren wurden an einem Nicolet Impact 400D Spektrometer auf Kaliumbromid Matrizen (Scheiben oder Film) gemessen. Niedrig aufgelöste Massenspektren wurden am Thermo TSQ Massenspektrometer, Hewlett Packard 6890 Serie/Massen selektiver Detektor aufgenommen. Hoch aufgelöste Massenspektren wurden an einem LTQ Orbitrap Massen Spektrometer, welches an ein Accela HPLC-System (HPLC-Säule: Hypersyl GOLD, 50 mm x 1 mm, 1.9 μm) gekoppelt ist, aufgenommen. Alle Instrumente sind von Thermo Electron.

6.2 Synthese der Verbindungen

6.2.1 Übersicht über das Scale up^{9e}



6.2.2 (2*S*,3*R*)-2-((1*R*,2*S*,3*R*)-2-(Hydroxymethyl)-3-methylcyclopentyl)-6-methyl-5-methylenheptan-2,3-diol **14**

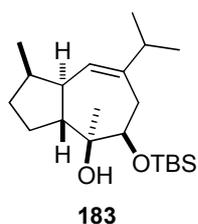


(3*S*,3*aR*,6*R*,6*aS*)-3-((*R*)-1-Hydroxy-4-methyl-3-methylenpentyl)-3,6-dimethylhexahydro-1*H*-cyclopenta[*c*]furan-1-on **13b** (253.4 mg, 951 μmol, 1.0 eq.) wurde in trockenem DMSO (4.8 mL) gelöst und unter Argon mit IBX (1.07 g, 3.81 mmol, 4.0 eq.) versetzt. Nach 21 h bei RT wurde die Reaktion durch Zugabe von H₂O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit MTBE (2x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, *c*-Hexane/EtOAc = 20/1) wurde (3*S*,3*aR*,6*R*,6*aS*)-3,6-Dimethyl-3-(4-methyl-3-methylenpentanoyl)hexahydro-1*H*-cyclopenta[*c*]furan-1-on **172** (179.0 mg, 677 μmol, 71%) als gelber Feststoff erhalten. [α]_D²⁰ = -56.6° (*c* = 1.00, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.02 (s, 1H), 4.79 (s, 1H), 3.48 (d,

$J = 17.3$ Hz, 1H), 3.26 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 2.87 (m, 1H), 2.75 (dd, $J = 8.50, 4.00$ Hz, 1H), 2.41 (m, 1H), 2.26 (sept, $J = 7.00$ Hz, 1H), 1.89 (m, 2H), 1.50 (s, 3H), 1.27-1.18 (m, 2H), 1.16 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 1.02 (d, $J = 6.80$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 209.0, 178.9, 147.4, 112.5, 90.5, 52.5, 49.7, 45.4, 38.4, 35.4, 33.8, 29.3, 26.4, 21.5 (2C), 21.2. IR (KBr Film) $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2961, 2871, 1778, 1720. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Na}$ 287.1618, gefunden 287.1617; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{O}_3$ 265.1798, gefunden 265.1799.

Zu einer Lösung von (3*S*,3*aR*,6*R*,6*aS*)-3,6-Dimethyl-3-(4-methyl-3-methylenpentanoyl)hexahydro-1*H*-cyclopenta[*c*]furan-1-on **172** (43.0 mg, 163 μmol , 1 eq.) in trockenem THF (4.1 mL) wurde bei 0 °C unter Argon LiAlH_4 (15.4 mg, 407 μmol , 2.5 eq.) hinzugefügt. Nach 14 h rühren bei RT wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. wässr. NH_4Cl -Lösung beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , *c*-Hexane/EtOAc = 5/1 \rightarrow 1/1) wurde (2*S*,3*R*)-2-((1*R*,2*S*,3*R*)-2-(Hydroxymethyl)-3-methylcyclopentyl)-6-methyl-5-methylenheptan-2,3-diol **14** (25.7 mg, 95.0 μmol , 58%) als weißer Feststoff erhalten. Für die analytischen Daten siehe [Ref 8].

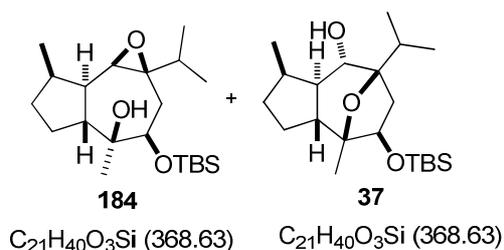
6.2.3 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,8*aS*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyl-1,2,3,3*a*,4,5,6,8*a*-octahydroazulen-4-ol **183**^{9e}



Zu einer Lösung von (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,8*aS*)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyl-1,2,3,3*a*,4,5,6,8*a*-octahydroazulen-4,5-diol **19** (1.56 g, 6.54 mmol, 1.0 eq.) in trockenem CH_2Cl_2 (33 mL) wurden unter Argon frisch destilliertes 2,6-Lutidin (1.83 mL, 15.7 mmol, 2.4 eq.), sowie *tert*- $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_2\text{Si}$ (352.63) Butyldimethylsilyltrifluormethansulfonat (1.80 mL, 7.85 mmol, 1.2 eq.) hinzugegeben. Nach 3 h rühren bei RT wurde die Reaktion durch Zugabe von H_2O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (2x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , *c*-Hexane/EtOAc = 50/1 \rightarrow 20/1) wurde (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,8*aS*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyl-1,2,3,3*a*,4,5,6,8*a*-octahydroazulen-4-ol **183** (2.21 g, 6.27 mmol, 96%) als farbloses Öl erhalten. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +7.1^\circ$ ($c = 1.26$, CHCl_3). ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.38 (m, 1H), 3.54

(dd, $J = 10.5, 1.50$ Hz, 1H), 2.91 (brs, 1H), 2.68 (dddd, $J = 16.8, 10.5, 3.00, 2.50$ Hz, 1H), 2.26–2.09 (m, 4H), 1.84 (m, 1H), 1.75 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 1.71 (m, 1H), 1.59 (m, 1H), 1.35 (m, 1H), 1.11 (s, 3H), 0.98 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.91 (s, 9H), 0.78 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.11 (s, 3H), 0.08 (s, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 144.0, 124.8, 77.4, 74.9, 46.3, 43.7, 38.1, 37.6, 33.4, 33.3, 26.0 (3C), 24.2, 22.1, 21.6, 20.3, 18.1, 15.3, -3.7, -4.7. IR (KBr Film) $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 3551, 2957. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_2\text{SiNa}$ 375.2690, gefunden 375.2690; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{O}_2\text{Si}$ 353.2870, found 353.2871.

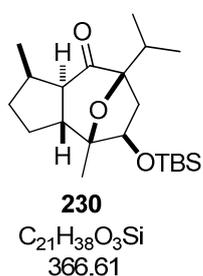
6.2.4 (1*aR*,3*R*,4*S*,4*aR*,7*R*,7*aR*,7*bR*)-3-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-1*a*-*iso*-propyl-4,7-dimethyldecahydroazuleno[4,5-*b*]oxiren-4-ol **184** und (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-ol **37**^{9e}



Zu einer Lösung aus (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,8*aS*)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyl-1,2,3,3*a*,4,5,6,8*a*-octahydroazulen-4-ol **183** (866.0 mg, 2.46 mmol, 1.0 eq.) in CH_2Cl_2 (12 mL) wurde bei 0 °C unter Argon *m*-CPBA (70%, 726.5 mg, 2.95 mmol, 1.2 eq.) hinzugegeben. Nach 1.5 h rühren bei 0 °C wurde die Reaktion durch Zugabe von wässr. KOH-Lösung (10 wt%, 12 mL) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde in CHCl_3 (12 mL) gelöst und auf 55 °C erhitzt. Nach 24 h Rühren bei 55 °C wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , *c*-Hexane/EtOAc = 20/1 → 10/1) wurden (1*aR*,3*R*,4*S*,4*aR*,7*R*,7*aR*,7*bR*)-3-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-1*a*-*iso*-propyl-4,7-dimethyldecahydroazuleno[4,5-*b*]oxiren-4-ol **184** (131.3 mg, 356 μmol , 15%) als farbloses Öl und (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-ol **37** (761.2 mg, 2.06 mmol, 84%) als weißer Feststoff erhalten. **184**: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +54.4^\circ$ ($c = 1.19$, CHCl_3). ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.42 (dd, $J = 11.3, 1.00$ Hz, 1H), 2.82 (s, 1H), 2.79 (s, 1H), 2.21 (m, 1H), 2.16 (dd, $J = 15.6, 11.3$ Hz, 1H), 2.04 (m, 2H), 1.80 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.63 (dd, $J = 15.6, 1.00$ Hz, 1H), 1.56 (sept, $J = 6.30$ Hz, 1H), 1.35 (sept, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.27 (sext, $J = 6.00$ Hz, 1H), 1.04 (s, 3H), 0.98 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.89 (s,

9H), 0.14 (s, 3H), 0.07 (s, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 76.2, 74.6, 62.9, 62.7, 42.2, 40.8, 37.9, 37.8, 34.7, 31.3, 26.1 (3C), 25.1, 20.3, 18.4, 18.3, 17.1, 16.2, -3.2, -4.8. IR (KBr Film) $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 3554, 2957, 2881, 2858. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{O}_3\text{Si}$ 369.2819, gefunden 369.2819. **37**: m.p. 101 °C (Lit.^[8a] 98°C). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -62.6^\circ$ ($c = 1.25$, CHCl_3). Für analytische Daten siehe [9a].

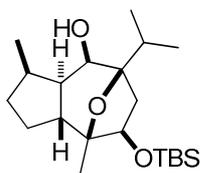
6.2.5 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*aR*)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyloctahydro-4,7-epoxyazulen-8(2*H*)-on **230**



(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-ol **37** (54.5 mg, 148 μmol , 1.0 eq.) wurde in einer Mischung aus trockenem $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ (1.92 mL, 10/1) gelöst und unter Argon mit *N*-Methylmorpholin *N*-Oxid (34.6 mg, 296 μmol , 2.0 eq.), MS 4Å (103 mg) und Tetra-*n*-propylammoniumper Ruthenat (2.60 mg, 7.40 μmol , 0.05 eq.) versetzt.

Nach 16 h rühren bei RT wurde die Lösung filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , $c\text{-Hex}/\text{EtOAc} = 20/1$) wurde (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*aR*)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyloctahydro-4,7-epoxyazulen-8(2*H*)-on **230** (53.8 mg, 147 μmol , 99%) als farbloses Öl erhalten. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -112^\circ$ ($c = 1.01$, CHCl_3). ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.22 (dd, $J = 7.3, 2.8$ Hz, 1H), 2.42-2.34 (m, 1H), 2.26-2.14 (m, 4H), 1.99-1.92 (m, 1H), 1.86 (dd, $J = 14.2, 2.6$ Hz, 1H), 1.78-1.72 (m, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.23-1.11 (m, 2H), 1.00 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.91 (s, 9H), 0.08 (d, $J = 3.5$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 207.3, 88.5, 86.4, 72.2, 52.1, 51.0 (2C), 30.8, 30.3, 25.7 (3C), 25.5, 19.5 (2C), 18.4, 18.1, 17.4, 16.4, -4.6, -5.0. IR (KBr Film) $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2956, 2932, 2858, 1725. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{NSi}$ 384.2929, gefunden 384.2927; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{O}_3\text{Si}$ 367.2663, gefunden 367.2664.

6.2.6 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*R*,8*aR*)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-ol **231**



231
C₂₁H₄₀O₃Si
368.63

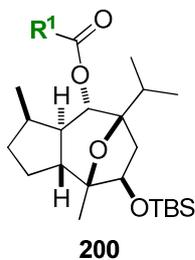
(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*aR*)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyloctahydro-4,7-epoxyazulen-8(2*H*)-on **230** (6.80 mg, 18.5 μmol, 1.0 eq.) wurde in trockenem THF (0.09 mL) gelöst und bei 0 °C mit NaBH₄ (2.10 mg, 55.6 μmol, 3.0 eq.) und MeOH (2.25 μL, 55.6 μmol, 3.0 eq.) versetzt. Nach 18 h rühren bei RT wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. wässr. NH₄Cl-Lösung beendet und die Phasen getrennt. Die wässrige

Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert, die organischen Phasen vereint, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, *c*-Hex/EtOAc = 50/1 → 10/1) wurde (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*R*,8*aR*)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-ol **231** (6.90 mg, 18.7 μmol, quant.) als weißer Feststoff erhalten. $[\alpha]_D^{20} = -20.9^\circ$ (*c* = 1.16, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.10 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 2.94-2.86 (m, 1H), 2.23 (dd, *J* = 12.4, 8.2 Hz, 1H), 2.16-2.04 (m, 3H), 1.82-1.74 (m, 2H), 1.72 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 1.69 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 1.29-1.26 (m, 6H), 1.14 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.98 (dd, *J* = 6.9, 5.1 Hz, 6H), 0.88 (s, 9H), 0.02 (s, 6H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 87.9, 86.7, 71.6, 69.8, 43.6, 42.9, 40.5, 33.8, 32.3, 28.1, 25.7 (3C), 24.5, 20.0, 19.5, 18.1, 17.9, 16.0, -4.6, -5.0. IR (KBr Film) $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 3474, 2954, 2931, 2859, 1467. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für C₂₁H₄₁O₃Si 369.2820, gefunden 369.2830.

6.3 Synthese der Derivate^{9e}

6.3.1 Variation des Zimtsäureesters

6.3.1.1 Allgemeine Vorschrift für die Synthese des Esters **200**³⁰

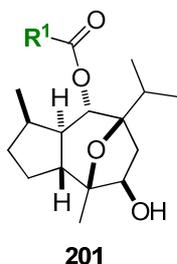


Zu einer Lösung der Säure (**R**¹COOH, 2.0 eq.) in trockenem Toluol (0.1 M) wurden unter Argon nacheinander Et₃N (4.0 eq.) und 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid (2.2 eq.) hinzugegeben und bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Anschließend wurden der Alkohol **37** (1.0 eq.) und DMAP (2.6 eq.) hinzugefügt und die Lösung für 3 bis 23 h auf 80 °C erhitzt. Die

Reaktion wurde durch Zugabe von ges. wässr. NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das

Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , *c*-Hexane/EtOAc = 50/1 → 20/1) wurde Ester **200** erhalten.

6.3.1.2 Allgemeine Vorschrift für die Synthese von Alkohol **201**³¹

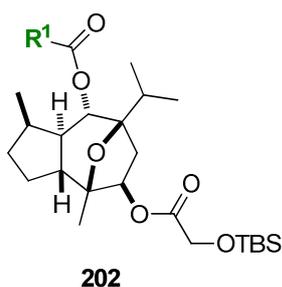


Zu einer Lösung des TBS-Ethers **200** (1.0 eq.) in trockenem THF (0.02 M) wurde unter Argon bei 0 °C TBAF (1 M in THF, 2.0 eq.) hinzugegeben und die Lösung anschließend für 2 bis 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. wässr. NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x) extrahiert.

Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , *c*-Hexane/EtOAc = 5/1 → 2/1) wurde Alkohol **201** erhalten.

6.3.1.3 Allgemeine Vorschrift für die Synthese von Ester **202**^{9a}

Methode A



Zu einer Lösung der Verbindung **201** (1.0 eq.) in einer Mischung aus trockenem $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_3\text{N}$ (2/1, 0.155 M) wurden nacheinander DMAP (3.0 eq.) und 2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-acetylchlorid (4.0 eq.) unter Argon hinzugegeben und für 5 bis 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 ,

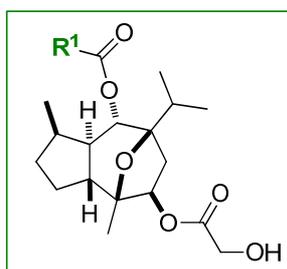
c-Hexane/EtOAc = 10/1 → 5/1) wurde der Ester **202** erhalten.

Methode B

Zu einer Lösung der Verbindung **201** (1.0 eq.) in trockenem Toluol (0.026 M) wurden bei 0 °C nacheinander 2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]essigsäure (2.0 eq.), DMAP (2.6 eq.), 2,4,6-Trichlorobenzoylchlorid (2.2 eq.) und Et_3N (4.0 eq.) unter Argon hinzugegeben. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. wässr. NaHCO_3 -

Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, *c*-Hexane/EtOAc = 10/1 → 2/1) wurde der Ester **202** erhalten.

6.3.1.4 Allgemeine Vorschrift für die Synthese der Verbindungen 203-223³¹



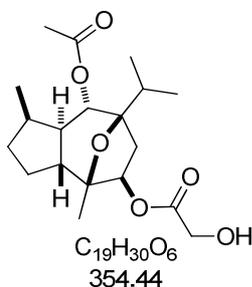
203-223

Zu einer Lösung des Esters **202** in trockenem THF (0.02 M) wurde bei 0 °C unter Argon TBAF (1 M in THF, 2 eq.) hinzugegeben. Nach 2 bis 24 h rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. wässr. NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung

gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck eingeeengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, *c*-Hexane/EtOAc = 5/1 → 2/1) wurden die Verbindungen **203-223** erhalten.

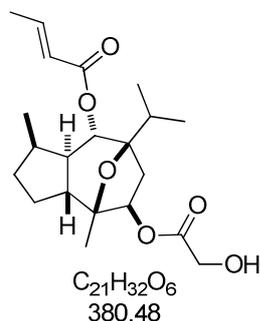
6.3.1.5 Analytik der Derivate 203-223^{9e, 149}

6.3.1.5.1 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-8-Acetoxy-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl-2-hydroxyacetat **203**



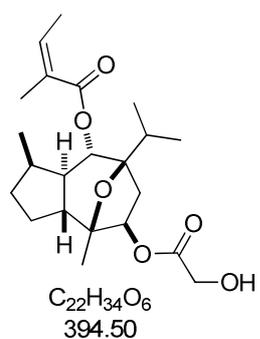
m = 5.40 mg (15.2 μmol, 73%), farbloses Öl. [α]_D²⁰ = -16.9° (*c* = 0.54, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.18 (dd, *J* = 7.90, 2.90 Hz, 1H), 4.99 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 4.18 (d, *J* = 5.02 Hz, 2H), 2.58 (dd, *J* = 14.6, 8.00 Hz, 1H), 2.35 (t, *J* = 5.40 Hz, 1H), 2.13-2.08 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.96-1.91 (m, 1H), 1.86-1.81 (m, 1H), 1.77-1.68 (m, 3H), 1.58 (brs, 2H), 1.49-1.44 (m, 1H), 1.18 (s, 3H), 1.00 (d, *J* = 6.80 Hz, 3H), 0.94 (d, *J* = 7.00 Hz, 3H), 0.90 (d, *J* = 7.30 Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173.0, 169.6, 85.3, 84.5, 76.4, 71.0, 60.6, 47.4, 46.8, 39.7, 32.9, 31.2, 30.9, 24.5, 21.3, 18.9, 18.1, 17.4, 16.8. IR (KBr Film) (cm⁻¹) $\tilde{\nu}$ 3453, 2958, 2929, 1737. HPLC-ESI-HRMS ([M+H]⁺) berechnet für C₁₉H₃₁O₆ 355.2115, gefunden 355.2116.

6.3.1.5.2 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-but-2-enoat 204



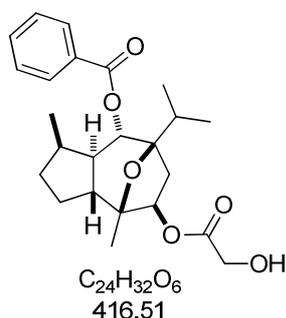
$m = 6.90 \text{ mg}$ (18.1 μmol , 82%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -33.9^\circ$ ($c = 0.56$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.95 (dq, $J = 15.4, 6.90 \text{ Hz}$, 1H), 5.80 (dq, $J = 15.4, 1.70 \text{ Hz}$, 1H), 5.19 (dd, $J = 7.90, 3.00 \text{ Hz}$, 1H), 5.05 (d, $J = 10.2 \text{ Hz}$, 1H), 4.18 (s, 2H), 2.61 (dd, $J = 14.4, 7.90 \text{ Hz}$, 1H), 2.35 (brs, 1H), 2.09 (sept, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.88 (dd, $J = 6.90, 1.70 \text{ Hz}$, 3H), 1.85 (m, 1H), 1.76 (dd, $J = 14.4, 3.00 \text{ Hz}$, 1H), 1.72 (m, 2H), 1.48 (m, 1H), 1.25 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 0.99 (d, $J = 6.90 \text{ Hz}$, 3H), 0.93 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H), 0.91 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 165.2, 145.3, 122.8, 85.6, 84.6, 76.6, 70.8, 60.8, 47.6, 47.1, 40.0, 33.1, 31.3, 31.1, 24.7, 19.1, 18.3, 18.1, 17.6, 17.0. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3464, 2959, 1720. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{Na}$ 403.2091, gefunden 403.2091; ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{N}$ 398.2537, gefunden 398.2538; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{O}_6$ 381.2272, gefunden 381.2272.

6.3.1.5.3 (*Z*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-methylbut-2-enoat 205



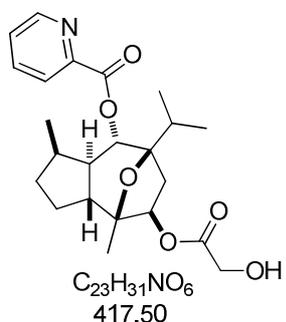
$m = 5.30 \text{ mg}$ (13.4 μmol , 99%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -31.6^\circ$ ($c = 0.41$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.81 (qd, $J = 6.90, 1.50 \text{ Hz}$, 1H), 5.19 (dd, $J = 7.70, 3.10 \text{ Hz}$, 1H), 5.07 (d, $J = 9.90 \text{ Hz}$, 1H), 4.18 (d, $J = 3.40 \text{ Hz}$, 1H), 3.64 (s, 1H), 2.63 (dd, $J = 14.5, 8.00 \text{ Hz}$, 1H), 2.33 (m, 1H), 2.09 (sext, $J = 6.50 \text{ Hz}$, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.84 (sept, $J = 6.90 \text{ Hz}$, 1H), 1.81 (m, 3H), 1.79 (dd, $J = 6.90, 1.50 \text{ Hz}$, 3H), 1.79-1.68 (m, 3H), 1.50 (m, 1H), 1.24 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 0.99 (d, $J = 6.50 \text{ Hz}$, 3H), 0.93 (d, $J = 6.90 \text{ Hz}$, 3H), 0.91 (d, $J = 6.90 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 166.6, 137.7, 128.7, 85.7, 84.6, 76.7, 70.9, 60.8, 47.5, 47.2, 40.1, 33.1, 31.3, 31.1, 24.7, 19.1, 18.3, 17.5, 17.1, 14.6, 12.3. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3470, 2957, 1744, 1709. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_6$ 395.2428, gefunden 395.2428.

6.3.1.5.4 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-benzoessäureester 206



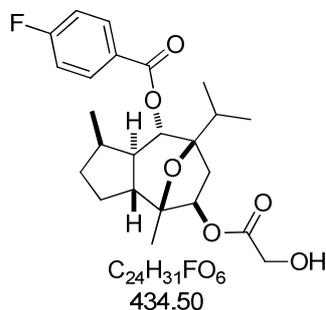
$m = 5.40 \text{ mg}$ ($13.0 \text{ } \mu\text{mol}$, 85%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -44.6^\circ$ ($c = 0.38$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.01 (ddd, $J = 7.30$, 1.80, 1.50 Hz, 2H), 7.57 (tdd, $J = 7.30$, 1.80, 1.50 Hz, 1H), 7.45 (tt, $J = 7.30$, 1.50 Hz, 2H), 5.26 (d, $J = 9.90$ Hz, 1H), 5.24 (dd, $J = 7.70$, 2.90 Hz, 1H), 4.21 (d, $J = 5.50$ Hz, 2H), 2.78 (dd, $J = 14.6$, 7.70 Hz, 1H), 2.36 (t, $J = 5.50$ Hz, 1H), 2.13 (sext, $J = 7.00$ Hz, 1H), 1.97–1.72 (m, 5H), 1.63 (m, 1H), 1.26 (m, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 165.2, 133.2, 130.3, 129.8 (2C), 128.6 (2C), 85.7, 84.7, 76.7, 71.7, 60.8, 47.7, 47.2, 40.2, 33.1, 31.4, 31.1, 24.8, 19.1, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3468, 2958, 2874, 1720. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{24}H_{33}O_6$ 417.2272, gefunden 417.2271.

6.3.1.5.5 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-Dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-picolinsäureester 207



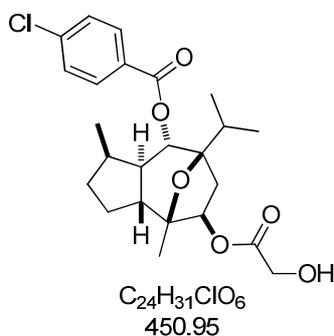
$m = 24.4 \text{ mg}$ ($58.4 \text{ } \mu\text{mol}$, 69%), gelbes Öl. $[\alpha]_D^{20} = -36.9^\circ$ ($c = 0.91$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.78-8.77 (m, 1H), 8.05 (d, $J = 7.80$ Hz, 1H), 7.83 (td, $J = 7.80$, 1.80 Hz, 1H), 7.47 (ddd, $J = 7.50$, 4.80, 1.30 Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.24 (dd, $J = 7.90$, 2.90 Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.81 (dd, $J = 14.6$, 8.00 Hz, 1H), 2.53 (brs, 1H), 2.18-2.10 (m, 1H), 1.95-1.89 (m, 2H), 1.87-1.78 (m, 3H), 1.76-1.65 (m, 2H), 1.27-1.26 (m, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 2.80$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 2.80$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 163.6, 150.1, 147.9, 137.0, 126.9, 125.1, 85.5, 84.6, 76.4, 72.5, 60.6, 47.5, 46.8, 39.9, 32.8, 31.1, 30.9, 24.6, 18.9, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3461, 2959, 2876, 1739. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $C_{23}H_{31}O_6\text{NNa}$ 440.2044, gefunden 440.2038.

6.3.1.5.6 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-fluorbenzoesäureester 208



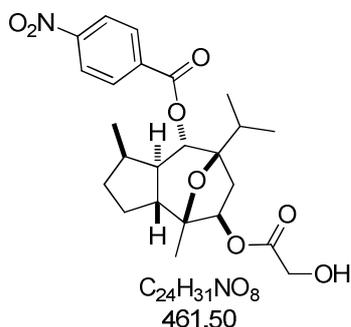
$m = 8.70$ mg (20.0 μ mol, 99%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -36.0^\circ$ ($c = 0.67$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02 (ddd, $J = 8.80, 5.30, 2.00$ Hz, 2H), 7.12 (ddd, $J = 8.80, 8.50, 1.80$ Hz, 2H), 5.24 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.23 (dd, $J = 7.50, 3.30$ Hz, 1H), 4.21 (s, 2H), 2.74 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.36 (brs, 1H), 2.12 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 2.00-1.71 (m, 5H), 1.60 (m, 1H), 1.26 (m, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 173.2, 164.7, 164.2, 132.3 (d, $J = 8.70$ Hz, 2C), 126.4 (d, $J = 3.90$ Hz), 115.8 (d, $J = 21.4$ Hz, 2C), 85.6, 84.7, 76.6, 71.8, 60.8, 47.6, 47.1, 40.3, 33.2, 31.3, 31.1, 24.7, 19.1, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3471, 2960, 2876, 1722. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{24}H_{32}O_6F$ 435.2177, gefunden 435.2176.

6.3.1.5.7 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-chlorbenzoesäureester 209



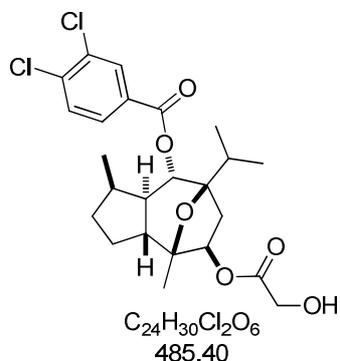
$m = 12.3$ mg (27.3 μ mol, 97%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -35.0^\circ$ ($c = 1.23$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.93 (d, $J = 8.50$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 8.50$ Hz, 2H), 5.26-5.22 (m, 2H), 4.20 (d, $J = 4.00$ Hz, 2H), 2.74 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.38 (t, $J = 4.80$ Hz, 1H), 2.12 (quin, $J = 7.30$ Hz, 1H), 1.96-1.71 (m, 5H), 1.65-1.57 (m, 2H), 1.27-1.24 (m, 1H), 1.22 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.96-0.91 (m, 6H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 173.1, 164.2, 139.6, 131.0 (2C), 128.8 (2C), 128.5, 85.5, 84.6, 76.4, 71.8, 60.6, 47.5, 46.9, 40.1, 33.1, 31.1, 30.9, 24.6, 19.0, 18.3, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3471, 2960, 2876, 1722. HPLC-ESI HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{24}H_{32}O_6^{37}Cl$ 453.1852, gefunden 453.1851; berechnet für $C_{24}H_{32}O_6Cl$ 451.1882, gefunden 451.1880.

6.3.1.5.8 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-nitrobenzoesäureester 210



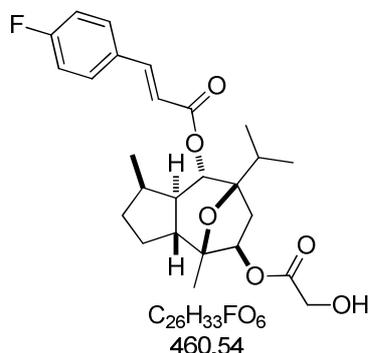
$m = 8.20$ mg (17.8 μ mol, 95%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -26.7^\circ$ ($c = 0.82$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.30 (d, $J = 8.80$ Hz, 2H), 8.17 (d, $J = 8.80$ Hz, 2H), 5.29 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.24 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 4.21 (s, 2H), 2.75 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.38 (brs, 1H), 2.14-2.09 (m, 1H), 1.98-1.91 (m, 1H), 1.89-1.84 (m, 2H), 1.82-1.73 (m, 2H), 1.68-1.61 (m, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 173.1, 163.2, 150.6, 135.4, 130.8 (2C), 123.6 (2C), 85.3, 84.6, 76.3, 72.7, 60.6, 47.5, 46.9, 40.1, 33.0, 31.1, 30.9, 24.6, 18.9, 18.3, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3468, 2959, 2875, 1725. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{24}H_{32}O_8N$ 462.2122, gefunden 462.2121.

6.3.1.5.9 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3,4-dichlorobenzoessäureester 211



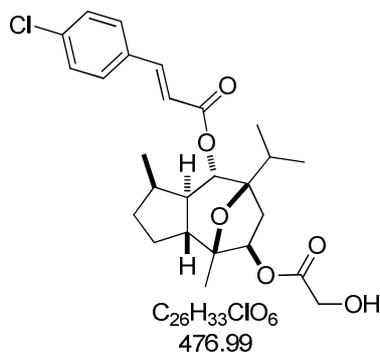
$m = 9.70$ mg (20.0 μ mol, 77%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -40.4^\circ$ ($c = 0.75$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 (d, $J = 1.80$ Hz, 1H), 7.82 (dd, $J = 8.30, 1.80$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 8.30$ Hz, 1H), 5.25 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 5.24 (d, $J = 7.30, 3.00$ Hz, 1H), 4.21 (s, 2H), 2.73 (dd, $J = 14.6, 8.00$ Hz, 1H), 2.35 (dd, $J = 7.80, 7.30$ Hz, 1H), 2.10 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.92-1.71 (m, 4H), 1.63 (m, 1H), 1.26 (m, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 173.3, 163.4, 138.0, 133.2, 131.7, 130.8, 130.0, 128.9, 85.6, 84.7, 76.5, 72.4, 60.8, 47.7, 47.0, 40.3, 33.2, 31.3, 31.0, 24.8, 19.1, 18.4, 17.5, 17.0. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3435, 2958, 2356, 1724. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{24}H_{31}O_6Cl_2$ 485.1492, gefunden 485.1488; ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{24}H_{31}O_6Cl^{37}Cl$ 487.1463, gefunden 487.1458; ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{24}H_{31}O_6^{37}Cl_2$ 489.1433, gefunden 489.1426.

6.3.1.5.10 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(4-fluorphenyl)acrylat 212



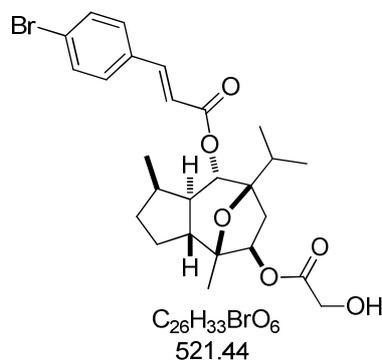
$m = 46.9$ mg ($102 \mu\text{mol}$, 87%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -53.0^\circ$ ($c = 0.94$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 7.51 (dd, $J = 8.70, 5.40$ Hz, 2H), 7.07 (t, $J = 8.50$ Hz, 2H), 6.31 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 5.20 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.19 (s, 2H), 2.66 (dd, $J = 14.7, 7.90$ Hz, 1H), 2.57 (brs, 1H), 2.17-2.07 (m, 1H), 1.98-1.84 (m, 2H), 1.81-1.69 (m, 3H), 1.57-1.50 (m, 1H), 1.28-1.26 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 165.4, 143.9, 130.4 (d, $J = 2.9$ Hz), 130.0 (d, $J = 7.8$ Hz, 2C), 117.6 (d, $J = 2.9$ Hz), 116.0 (d, $J = 21.4$ Hz, 2C), 85.4, 84.5, 76.3, 71.1, 60.6, 60.4, 47.4, 46.9, 39.9, 32.9, 31.1, 30.9, 24.5, 18.9, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3466, 2959, 1746, 1714. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{34}O_6F$ 461.2334, gefunden 461.2330.

6.3.1.5.11 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(4-chlorphenyl)acrylat 213



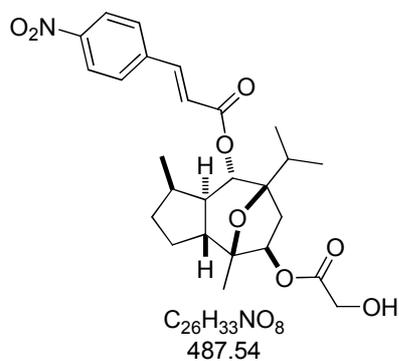
$m = 4.30$ mg ($9.02 \mu\text{mol}$, 73%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -47.6^\circ$ ($c = 0.42$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.61 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.40$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 8.40$ Hz, 2H), 6.36 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.20 (d, $J = 5.30$ Hz, 2H), 2.67 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.35 (t, $J = 5.30$ Hz, 1H), 2.14 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.88 (sept, $J = 7.00$ Hz, 1H), 1.81-1.69 (m, 2H), 1.80 (dd, $J = 14.6, 2.80$ Hz, 1H), 1.55 (m, 1H), 1.26 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 165.5, 143.9, 136.5, 132.9, 129.4 (2C), 129.3 (2C), 118.6, 85.6, 84.7, 76.6, 71.4, 60.8, 47.6, 47.1, 40.1, 33.1, 31.3, 31.1, 24.7, 19.1, 18.4, 17.6, 17.0. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3465, 2959, 2874, 1713. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{34}O_6Cl$ 477.2038, gefunden 477.2035; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{34}O_6^{37}Cl$ 479.2009, gefunden 479.2005.

6.3.1.5.12 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(4-bromophenyl)acrylat 214



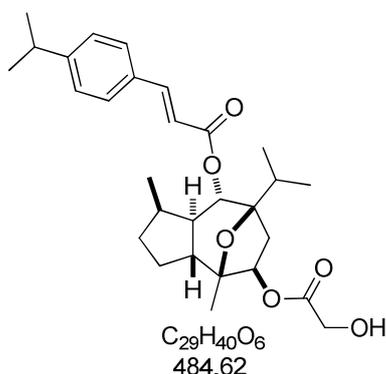
$m = 20.8 \text{ mg}$ ($39.9 \text{ } \mu\text{mol}$, 85%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -44.4^\circ$ ($c = 0.94$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.59 (d, $J = 15.8 \text{ Hz}$, 1H), 7.52 (d, $J = 8.50 \text{ Hz}$, 2H), 7.83 (d, $J = 8.50 \text{ Hz}$, 2H), 6.37 (d, $J = 16.1 \text{ Hz}$, 1H), 5.21 (dd, $J = 7.90, 2.90 \text{ Hz}$, 1H), 5.13 (d, $J = 10.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.19 (s, 2H), 2.66 (dd, $J = 14.6, 8.00 \text{ Hz}$, 1H), 2.42 (brs, 1H), 2.18-2.09 (m, 2H), 1.99-1.84 (m, 3H), 1.82-1.69 (m, 3H), 1.57-1.50 (m, 1H), 1.20 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80 \text{ Hz}$, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H), 0.93 (d, $J = 7.03 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 165.3, 143.8, 133.1, 132.1 (2C), 129.5 (2C), 124.7, 118.6, 85.4, 84.5, 76.4, 71.2, 60.6, 47.4, 46.9, 39.9, 32.9, 31.1, 30.9, 24.6, 18.9, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3450, 2958, 1711. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{34}O_6\text{Br}$ 521.1533, gefunden 521.1528; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{34}O_6^{81}\text{Br}$ 523.1513, gefunden 523.1508.

6.3.1.5.13 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(4-nitrophenyl)acrylat 215



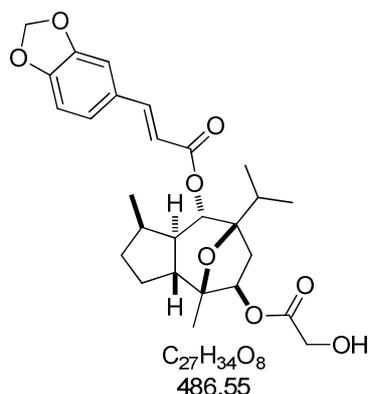
$m = 14.6 \text{ mg}$ ($29.9 \text{ } \mu\text{mol}$, 74%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -47.7^\circ$ ($c = 1.46$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.25 (d, $J = 8.80 \text{ Hz}$, 2H), 7.71-7.64 (m, 3H), 6.51 (d, $J = 16.1 \text{ Hz}$, 1H), 5.21 (dd, $J = 7.80, 2.80 \text{ Hz}$, 1H), 5.15 (d, $J = 10.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.20 (m, 2H), 2.66 (dd, $J = 14.6, 8.00 \text{ Hz}$, 1H), 2.40 (brs, 1H), 2.16-2.09 (m, 1H), 2.00-1.92 (m, 1H), 1.90-1.85 (m, 1H), 1.83-1.70 (m, 3H), 1.66-1.52 (m, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80 \text{ Hz}$, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H), 0.94 (d, $J = 7.30 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 164.7, 148.5, 142.2, 140.3, 128.7 (2C), 124.2 (2C), 122.2, 85.4, 84.5, 76.3, 71.7, 60.6, 47.5, 46.9, 39.9, 32.9, 31.2, 30.9, 24.6, 18.9, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3447, 2963, 1714. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{33}O_8\text{NNa}$ 510.2098, gefunden 510.2087; ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) berechnet für $C_{26}H_{37}O_8\text{N}_2$ 505.2544, gefunden 505.2541; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{34}O_8\text{N}$ 488.2279, gefunden 488.2276.

6.3.1.5.14 (E)-(1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(4-iso-propylphenyl)acrylat 216



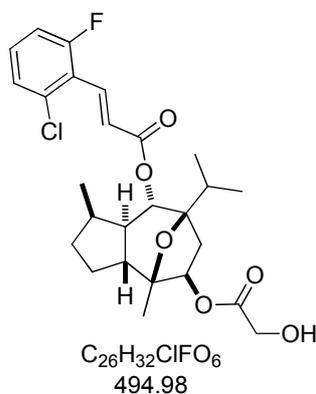
$m = 4.80$ mg ($9.91 \mu\text{mol}$, 44%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -46.4^\circ$ ($c = 0.37$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 7.64 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.30$ Hz, 2H), 7.26-7.22 (m, 3H), 6.34 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.22 (dd, $J = 7.80$, 2.90 Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.19 (brs, 2H), 3.00-2.85 (m, 1H), 2.69 (dd, $J = 14.7$, 7.80 Hz, 1H), 2.36 (brs, 1H), 2.21-2.07 (m, 1H), 1.98-1.82 (m, 3H), 1.78-1.70 (m, 3H), 1.61-1.54 (m, 4H), 1.24-1.21 (m, 6H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 3.40$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 3.40$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 165.8, 151.8, 145.2, 131.9, 129.7, 128.2 (2C), 127.0 (2C), 116.9, 85.5, 84.5, 76.5, 71.0, 60.6, 47.4, 46.9, 39.9, 34.1, 33.1, 31.2, 30.9, 24.6, 23.8, 19.0, 18.2, 17.5, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3388, 2959, 2927, 1713. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{O}_6$ 485.2898, gefunden 485.2892.

6.3.1.5.15 (E)-(1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acrylat 217



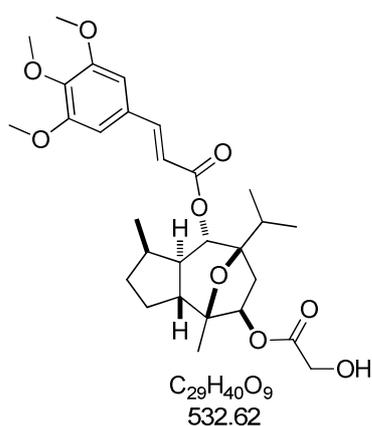
$m = 30.7$ mg ($63.1 \mu\text{mol}$, 72%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -46.3^\circ$ ($c = 1.20$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.03-6.98 (m, 2H), 6.83-6.77 (m, 1H), 6.20 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 6.00-5.99 (m, 2H), 5.21 (dd, $J = 7.90$, 2.90 Hz, 1H), 5.11 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.19-4.17 (m, 2H), 2.66 (dd, $J = 14.6$, 8.00 Hz, 1H), 2.49-2.47 (m, 1H), 2.17-2.09 (m, 1H), 1.98-1.83 (m, 2H), 1.81-1.67 (m, 3H), 1.57-1.49 (m, 1H), 1.27-1.23 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97-0.94 (m, 3H), 0.93 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 165.7, 149.7, 148.3, 144.9, 128.6, 124.6, 115.8, 108.5, 106.4, 101.6, 85.5, 84.5, 76.4, 70.9, 60.6, 47.4, 46.9, 39.9, 33.0, 31.1, 30.9, 24.6, 18.9, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3424, 2959, 1710. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{O}_8$ 487.2326, gefunden 487.2320.

6.3.1.5.16 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(2-chloro-6-fluorophenyl)acrylat 218



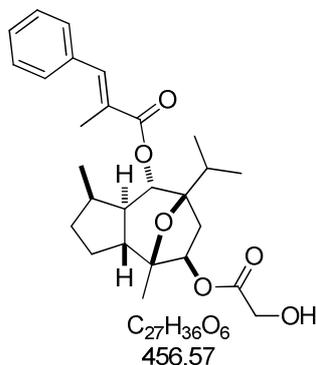
$m = 18.6 \text{ mg}$ ($37.6 \text{ } \mu\text{mol}$, 95%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -56.1^\circ$ ($c = 1.22$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.90 (d, $J = 16.3 \text{ Hz}$, 1H), 7.29-7.25 (m, 2H), 7.08-7.02 (m, 1H), 6.67 (d, $J = 16.6 \text{ Hz}$, 1H), 5.23 (dd, $J = 7.80, 2.80 \text{ Hz}$, 1H), 5.14 (d, $J = 10.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.19 (s, 2H), 2.67 (dd, $J = 14.6, 7.80 \text{ Hz}$, 1H), 2.41 (brs, 1H), 2.16 (sext, $J = 7.10 \text{ Hz}$, 1H), 1.99-1.86 (m, 2H), 1.83-1.70 (m, 3H), 1.60-1.52 (m, 1H), 1.31-1.24 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H), 0.97 (d, $J = 7.30 \text{ Hz}$, 3H), 0.95 (d, $J = 7.30 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 165.4, 136.1 (d, $J = 5.8 \text{ Hz}$), 135.2 (d, $J = 1.9 \text{ Hz}$), 130.9, 130.8, 126.0 (d, $J = 2.9 \text{ Hz}$), 124.9, 124.8, 115.0, 85.4, 84.5, 76.4, 71.4, 60.6, 47.4, 46.9, 39.8, 35.1, 31.1, 30.9, 24.5, 18.9, 18.2, 17.5, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3459, 2960, 1717. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{33}O_6\text{ClF}$ 495.1944, gefunden 495.1939; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{33}O_6^{37}\text{ClF}$ 497.1915, gefunden 497.1910.

6.3.1.5.17 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acrylat 219



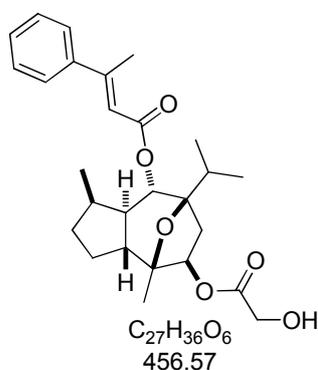
$m = 21.3 \text{ mg}$ ($40.0 \text{ } \mu\text{mol}$, 72%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -42.2^\circ$ ($c = 1.04$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (d, $J = 15.8 \text{ Hz}$, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.28 (d, $J = 15.8 \text{ Hz}$, 1H), 5.19 (dd, $J = 7.80, 2.80 \text{ Hz}$, 1H), 5.13 (d, $J = 10.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.20-4.18 (m, 2H), 3.89-3.87 (m, 9H), 2.70 (dd, $J = 14.6, 7.80 \text{ Hz}$, 1H), 2.42 (brs, 1H), 2.13 (sept, $J = 6.70 \text{ Hz}$, 1H), 1.97-1.85 (m, 2H), 1.81-1.70 (m, 3H), 1.54 (ddd, $J = 13.2, 10.3, 6.40 \text{ Hz}$, 1H), 1.27-1.23 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80 \text{ Hz}$, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H), 0.93 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 165.5, 153.4 (2C), 145.1, 140.1, 129.7, 117.2, 105.2 (2C), 85.5, 84.4, 76.4, 71.0, 61.0, 60.6, 56.1 (2C), 47.4, 46.9, 40.0, 33.0, 31.1, 30.9, 24.6, 19.0, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3458, 2959, 1709. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{40}O_9\text{Na}$ 555.2565, gefunden 555.2556; ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) berechnet für $C_{26}H_{44}O_9\text{N}$ 550.3011, gefunden 550.3006; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{41}O_9$ 533.2745, gefunden 533.2740.

6.3.1.5.18 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-methyl-3-phenylacrylat 220



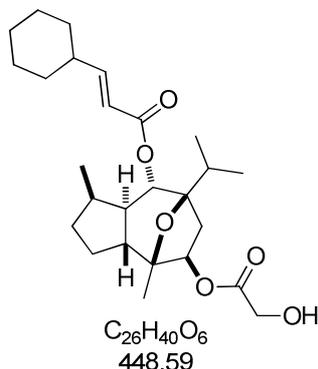
$m = 12.7$ mg (27.8 μmol , 89%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -52.5^\circ$ ($c = 1.17$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.64 (d, $J = 1.30$ Hz, 1H), 7.40-7.30 (m, 4H), 7.33 (sext, $J = 8.70$ Hz, 1H), 5.22 (dd, $J = 7.90, 2.90$ Hz, 1H), 5.15 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.69 (dd, $J = 14.4, 7.90$ Hz, 1H), 2.40 (brs, 1H), 2.16 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J = 1.25$ Hz, 3H), 1.99-1.93 (m, 1H), 1.89 (quint, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.83-1.73 (m, 3H), 1.61-1.55 (m, 1H), 1.31-1.24 (m, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.80$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.80$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 167.1, 139.3, 135.7, 129.7 (2C), 128.4 (2C), 128.2, 85.6, 84.5, 76.5, 71.3, 60.6, 47.4, 47.0, 40.0, 33.0, 31.2, 30.9, 26.9, 24.6, 19.0, 18.2, 17.4, 16.9, 14.2. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3469, 2960, 2875, 1745, 1707. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{27}H_{37}O_6$ 457.2585, gefunden 457.2583.

6.3.1.5.19 (*E*)-(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-phenylbut-2-enoat 221



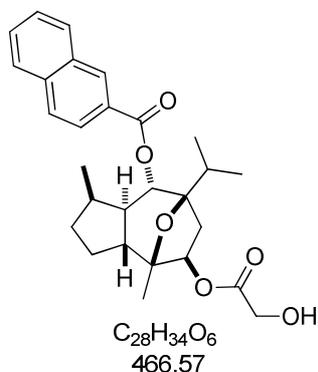
$m = 16.9$ mg (37.0 μmol , 83%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -47.8^\circ$ ($c = 1.69$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.49-7.46 (m, 2H), 7.39-7.36 (m, 3H), 6.07 (d, $J = 1.00$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 7.90, 2.90$ Hz, 1H), 5.10 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.19 (s, 2H), 2.62 (dd, $J = 14.6, 8.00$ Hz, 1H), 2.58 (d, $J = 0.80$ Hz, 3H), 2.42 (brs, 1H), 2.16 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 2.00-1.94 (m, 1H), 1.90 (quin, $J = 7.00$ Hz, 1H), 1.79-1.72 (m, 3H), 1.52 (ddd, $J = 13.1, 10.2, 6.50$ Hz, 1H), 1.27-1.24 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 165.3, 156.1, 142.1, 129.1, 128.5 (2C), 126.3 (2C), 117.0, 85.6, 84.5, 76.4, 70.3, 60.6, 47.4, 47.0, 39.8, 32.9, 31.2, 30.9, 24.6, 19.0, 18.2, 18.1, 17.5, 17.0. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3462, 2959, 2875, 1714, 1625. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{27}H_{37}O_6$ 457.2585, gefunden 457.2582.

6.3.1.5.20 (E)-(1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-3-cyclohexylacrylat 222



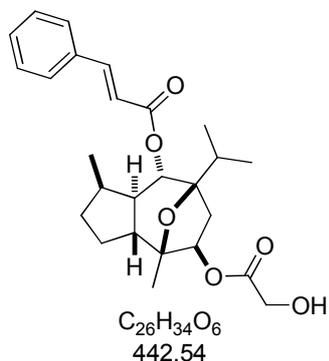
$m = 14.3 \text{ mg}$ ($31.9 \text{ } \mu\text{mol}$, 87%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -31.8^\circ$ ($c = 1.27$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.89 (dd, $J = 15.8, 6.50 \text{ Hz}$, 1H), 5.70 (dd, $J = 15.8, 1.50 \text{ Hz}$, 1H), 5.19 (dd, $J = 7.90, 2.90 \text{ Hz}$, 1H), 5.05 (d, $J = 10.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.18 (s, 2H), 2.62 (dd, $J = 14.6, 7.80 \text{ Hz}$, 1H), 2.38 (brs, 1H), 2.15-2.06 (m, 3H), 1.98-1.90 (m, 1H), 1.88-1.81 (m, 1H), 1.78-1.71 (m, 6H), 1.70-1.60 (m, 3H), 1.53-1.45 (m, 2H), 1.31-1.22 (m, 4H), 1.19 (s, 3H), 0.99 (d, $J = 6.80 \text{ Hz}$, 3H), 0.93 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H), 0.91 (d, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 165.7, 155.0, 118.6, 85.5, 84.4, 76.5, 70.6, 60.6, 47.4, 46.9, 40.4, 39.9, 33.0, 31.6 (2C), 31.1, 30.9, 25.9, 25.7 (2C), 24.5, 18.9, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3438, 2928, 2853, 1724, 1648. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{26}H_{41}O_6$ 449.2898, gefunden 449.2895.

6.3.1.5.21 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat 223



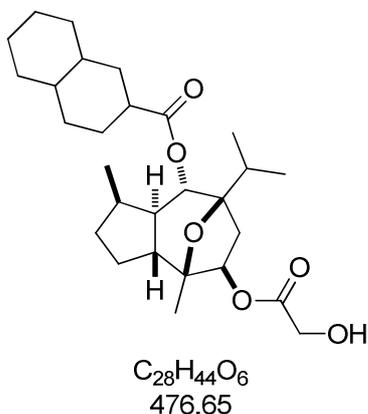
$m = 8.20 \text{ mg}$ ($17.8 \text{ } \mu\text{mol}$, 74%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -28.5^\circ$ ($c = 0.45$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (s, 1H), 8.02 (dd, $J = 8.50, 1.50 \text{ Hz}$, 1H), 7.96 (d, $J = 7.80 \text{ Hz}$, 1H), 7.89 (d, $J = 8.50 \text{ Hz}$, 2H), 7.60 (ddd, $J = 8.00, 7.00, 1.20 \text{ Hz}$, 1H), 7.56 (ddd, $J = 8.30, 6.80, 1.50 \text{ Hz}$, 1H), 5.33 (d, $J = 10.3 \text{ Hz}$, 1H), 5.28 (dd, $J = 7.80, 3.00 \text{ Hz}$, 1H), 4.22 (s, 2H), 2.86 (dd, $J = 14.6, 7.80 \text{ Hz}$, 1H), 2.39 (brs, 1H), 2.16 (sext, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 1H), 1.98-1.89 (m, 1H), 1.94 (sept, $J = 7.00 \text{ Hz}$, 1H), 1.89 (dd, $J = 14.6, 3.00 \text{ Hz}$, 1H), 1.89-1.65 (m, 3H), 1.27 (m, 2H), 1.25 (s, 3H), 1.03 (d, $J = 6.80 \text{ Hz}$, 3H), 0.99 (d, $J = 7.30 \text{ Hz}$, 3H), 0.97 (d, $J = 7.30 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.3, 165.4, 135.7, 132.6, 131.3, 129.5, 128.5, 128.4, 127.9, 127.4, 126.9, 125.4, 85.8, 84.7, 76.7, 71.8, 60.8, 47.7, 47.2, 40.4, 33.3, 31.3, 31.1, 24.8, 19.2, 18.5, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3468, 2962, 2879, 2364, 1750, 1700. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{30}H_{35}O_6$ 467.2428, gefunden 467.2426.

6.3.1.5.22 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester; (-)-Englerin A (5)



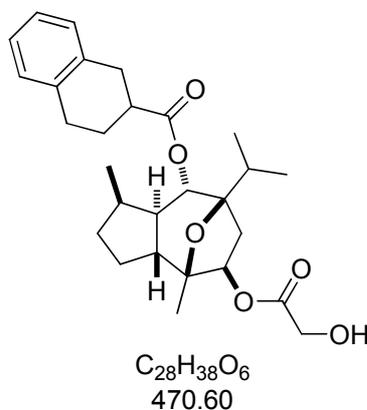
$m = 77.8$ mg (176 μ mol, 89%), amorpher Feststoff. $[\alpha]_D^{20} = -31.4^\circ$ ($c = 1.16$, MeOH). 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 7.69 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.61 (m, 2H), 7.41 (brdd, $J = 3.40, 3.20$ Hz, 3H), 6.51 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.26 (dd, $J = 8.10, 3.20$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.16 (brs, 2H), 2.70 (ddd, $J = 14.7, 8.10, 1.20$ Hz, 1H), 2.13 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.86 (dd, $J = 14.7, 3.20$ Hz, 1H), 1.75 (m, 2H), 1.67 (m, 1H), 1.36–1.22 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.10$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 7.10$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 174.0, 167.3, 146.8, 135.7, 131.6, 130.1 (2C), 129.3 (2C), 118.8, 86.7, 86.0, 76.6, 72.5, 61.1, 48.9, 48.0, 40.7, 34.1, 32.5, 32.0, 25.5, 19.2, 18.6, 17.7, 17.2. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3471, 2961, 1712, 1635. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{26}H_{35}O_6$ 443.2428, gefunden 443.2427.

6.3.1.5.23 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-decahydronaphthalen-2-carboxylat 271



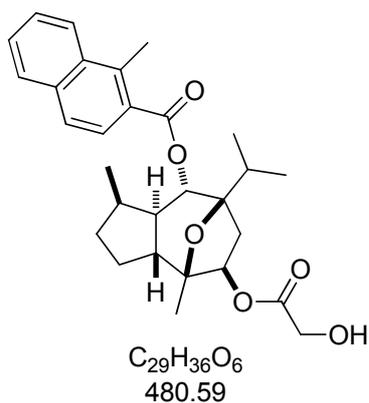
$m = 20.5$ mg (43.0 μ mol, 99%), blass gelbes zähflüssiges Öl. Mischung von Diastereomeren. 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5.19 (dd, $J = 7.50, 2.60$ Hz, 1H), 5.00 (dd, $J = 10.2, 1.90$ Hz, 1H), 4.19 (s, 2H), 2.59 (dd, $J = 14.4, 8.00$ Hz, 1H), 2.28–2.24 (m, 1H), 2.10–2.05 (m, 2H), 1.99–1.93 (m, 1H), 1.85–1.81 (m, 1H), 1.78–1.62 (m, 8H), 1.59–1.52 (m, 6H), 1.48–1.40 (m, 4H), 1.26 (d, $J = 1.26$ Hz, 4H), 1.19 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 6.40$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.10$ Hz, 3H), 0.90 (dd, $J = 6.90, 4.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 174.8, 174.8, 173.1, 173.1, 85.4 (2C), 84.4 (2C), 76.5 (2C), 70.6, 70.6, 60.6 (3C), 47.4, 47.4, 47.0, 47.0, 44.5, 44.4, 39.7, 39.7, 35.5, 35.2 (3C), 32.6, 32.4, 32.1, 32.1, 31.2, 31.2, 31.0, 28.5, 28.0, 26.9, 26.9, 26.8, 26.8, 25.6, 24.6, 24.6, 24.0, 23.4, 20.8, 20.8, 18.9 (3C), 18.1, 18.1, 17.4, 17.3, 16.9 (2C). IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3444, 2924, 2856, 1732. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{28}H_{45}O_6$ 477.3211, gefunden 477.3205.

6.3.1.5.24 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-carboxylat 272



$m = 20.6 \text{ mg}$ (43.8 μmol , 49%), farbloses Öl. Mischung von Diastereomeren. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.13-7.09 (m, 4H), 5.19 (dd, $J = 7.60, 2.40 \text{ Hz}$, 1H), 5.05 (d, $J = 10.2 \text{ Hz}$, 1H), 4.20 (s, 2H), 3.05-2.98 (m, 2H), 2.96-2.91 (m, 1H), 2.87 (td, $J = 10.8, 5.40 \text{ Hz}$, 2H), 2.76-2.69 (m, 1H), 2.41 (brs, 1H), 2.57 (dd, $J = 14.6, 7.90 \text{ Hz}$, 1H), 2.19-2.14 (m, 1H), 2.13-2.08 (m, 1H), 2.03-1.97 (m, 1H), 1.94-1.83 (m, 3H), 1.80-1.76 (m, 1H), 1.75-1.72 (m, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.70 \text{ Hz}$, 2H), 0.98 (dd, $J = 6.90, 3.40 \text{ Hz}$, 3H), 0.94 (d, $J = 7.10 \text{ Hz}$, 1H), 0.92-0.88 (m, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 173.9, 173.8, 173.0, 135.6, 135.5, 134.7, 129.0, 129.0, 128.9, 128.8, 126.0, 126.0, 125.8, 125.8, 85.3, 85.3, 84.5, 84.5, 76.4, 71.1, 71.1, 60.6 (3C), 47.5, 47.4, 46.9, 46.9, 40.3, 40.3, 39.7, 39.7, 32.4, 32.2, 31.9, 31.5, 31.3, 31.2, 31.0, 31.0, 30.1, 28.3, 28.2, 26.9, 26.9, 26.1, 25.6, 24.6, 24.5, 18.9, 18.1, 18.0, 17.3, 17.3, 16.8, 16.8. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3444, 2930, 1732. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $C_{28}H_{39}O_6$ 471.2741, gefunden 471.2732.

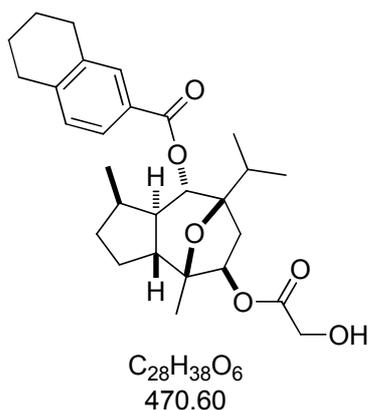
6.3.1.5.25 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-1-methyl-2-naphthoat 273



$m = 10.2 \text{ mg}$ (21.2 μmol , 73%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -27.6^\circ$ ($c = 0.74, \text{CHCl}_3$). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.19 (m, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.72 (s, 2H), 7.58 (m, 2H), 5.34 (d, $J = 9.90 \text{ Hz}$, 1H), 5.25 (dd, $J = 7.70, 2.70 \text{ Hz}$, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.93 (s, 3H), 2.70 (dd, $J = 14.5, 8.00 \text{ Hz}$, 1H), 2.34 (brs, 1H), 2.24 (sext, $J = 7.30 \text{ Hz}$, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.95 (sept, $J = 6.90 \text{ Hz}$, 1H), 1.85 (m, 1H), 1.83 (dd, $J = 14.5, 2.70 \text{ Hz}$, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.67 (m, 2H), 1.30 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.05 (d, $J = 6.90 \text{ Hz}$, 3H), 1.02 (d, $J = 6.90 \text{ Hz}$, 3H), 1.02 (d, $J = 7.30 \text{ Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 167.4, 137.3, 134.7, 133.0, 128.6, 128.1, 127.5, 126.8, 126.3, 125.6, 125.5, 85.7, 84.7, 76.6, 71.9, 60.8, 47.8, 47.2, 40.1, 32.8, 31.6, 31.2, 24.8, 19.1, 18.4, 17.6, 17.2, 16.0. IR (KBr

Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 2927, 1718, 1647. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{O}_6$ 481.2585, gefunden 481.2576.

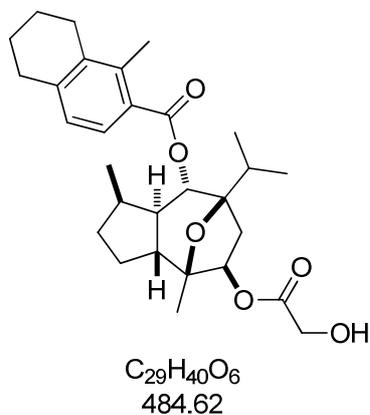
6.3.1.5.26 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-carboxylat 274



$m = 19.7$ mg (41.9 μmol , 89%), farbloses Öl. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -42.8^\circ$ ($c = 0.90$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.71 (s, 1H), 7.69 (dd, $J = 7.80, 1.80$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 7.80$ Hz, 1H), 5.24 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 5.23 (d, $J = 7.50$ Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.80 (m, 4H), 2.77 (dd, $J = 14.8, 8.00$ Hz, 1H), 2.11 (m, 1H), 1.99-1.70 (m, 9H), 1.62 (m, 1H), 1.28-1.19 (m, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,

CDCl_3) δ 173.3, 165.4, 143.2, 137.6, 130.7, 129.4, 127.3, 126.7, 85.8, 84.6, 76.7, 71.3, 60.8, 47.6, 47.1, 40.3, 33.2, 31.3, 31.1, 29.8, 29.4, 24.8, 23.1, 23.0, 19.1, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3469, 2936, 2876, 1715. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_6\text{Na}$ 493.2561, gefunden 493.2549; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{O}_6$ 471.2741, gefunden 471.2733.

6.3.1.5.27 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-1-methyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-carboxylat 275

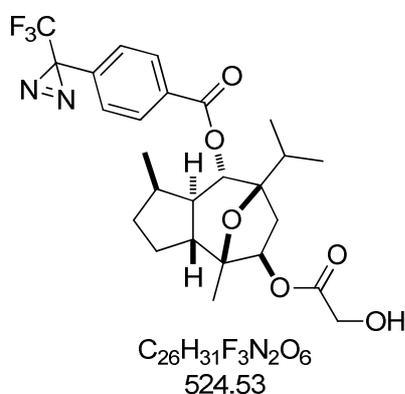


$m = 7.80$ mg (16.1 μmol , 96%), farbloses Öl. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -23.6^\circ$ ($c = 0.61$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (d, $J = 8.10$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J = 8.10, 1.70$ Hz, 1H), 5.24 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 5.23 (dd, $J = 7.70, 2.90$ Hz, 1H), 4.19 (s, 2H), 2.80 (t, $J = 6.20$ Hz, 2H), 2.66 (m, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.34 (brs, 1H), 2.18 (sext, $J = 6.90$ Hz, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.91 (sept, $J = 6.90$ Hz, 1H), 1.88-1.71 (m, 7H), 1.61 (m, 2H), 1.27 (m, 1H), 1.22 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J = 7.10$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.20$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$

(125 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 167.2, 141.5, 138.2, 137.1, 137.0, 126.8, 126.7, 85.8, 84.6, 76.7,

71.3, 60.8, 47.7, 47.2, 32.7, 31.5, 31.2, 30.7, 27.3, 27.1, 24.9, 23.5, 22.5, 19.1, 18.3, 17.5, 17.1, 16.3. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 2925, 1716. HPLC-ESI-HRMS ($[2\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{58}\text{H}_{80}\text{O}_{12}\text{Na}$ 991.5542, gefunden 991.5539; ($[2\text{M}+\text{NH}_4]^+$) berechnet für $\text{C}_{58}\text{H}_{84}\text{O}_{12}\text{N}$ 986.5988, gefunden 986.5981; ($[2\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{58}\text{H}_{81}\text{O}_{12}$ 969.5723, gefunden 969.5722; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{O}_6$ 485.2898, gefunden 485.2891.

6.3.1.5.28 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-(3-(trifluoromethyl)-3*H*-diazirin-3-yl)benzoat 307

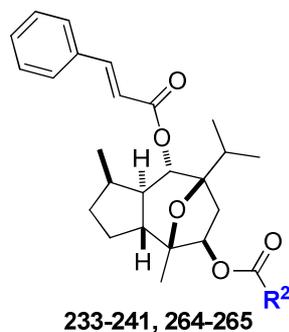


$m = 13.6$ mg (25.9 μmol , 99%), Mischung aus farblosem Öl und weißem Feststoff. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14.6^\circ$ ($c = 1.62$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.03 (d, $J = 8.28$ Hz, 2H), 7.27 (s, 2H), 5.28-5.25 (m, 2H), 4.22 (brs, 2H), 3.66 (brs, 1H), 2.74 (dd, $J = 14.3, 6.50$ Hz, 1H), 2.12-2.10 (m, 1H), 1.96-1.72 (m, 5H), 1.66-1.61 (m, 3H), 1.02-1.00 (m, 3H), 0.94 (t, $J = 7.53$ Hz, 3H), 0.88-0.86 (m, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 172.0, 132.0, 131.1, 130.0 (2C),

126.5, 126.4, 85.4, 84.6, 76.4, 72.0, 60.6, 56.2, 47.5, 46.9, 33.1, 31.1, 30.9, 29.7, 24.6, 22.7, 19.0, 18.3, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3431, 2925, 2854, 1726. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{N}_2\text{F}_3$ 525.2207, gefunden 525.2204.

6.3.2 Variation des Glykolsäureesters

6.3.2.1 Allgemeine Vorschrift für die Synthese der Verbindungen 233-241, sowie 264-265

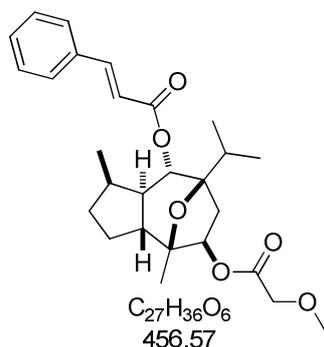


Zu einer Lösung von (-)-Englerin B ent-(**6**) (1.0 eq.) in trockenem Toluol (0.026 M) wurden bei 0 °C und unter Argon nacheinander die Säure (R^2COOH , 2.0 eq.), Et_3N (4.0 eq.), DMAP (2.6 eq.) und 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid (2.2 eq.) hinzugegeben und für 2 bis 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. wässr. NaHCO_3 -Lösung beendet und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (2x) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter

vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, *c*-Hexane/EtOAc = 5/1 → 2/1) wurden Verbindungen **233-241**, sowie **264-265** erhalten.

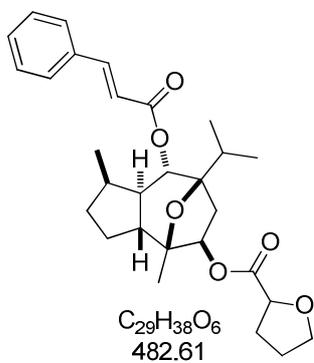
6.3.2.2 Analytik der Derivate 233-241 und 264-265

6.3.2.2.1 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-*Iso*-propyl-5-(2-methoxyacetoxy)-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester **233**



$m = 34.6$ mg (75.8 μ mol, 97%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -51.8^\circ$ ($c = 0.94$, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 6.40, 2.90$ Hz, 2H), 7.39-7.38 (m, 3H), 6.39 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.20 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.67 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.18-2.09 (m, 1H), 1.99-1.86 (m, 2H), 1.81-1.70 (m, 3H), 1.60-1.52 (m, 1H), 1.29-1.25 (m, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.0, 165.6, 145.1, 134.2, 130.3, 128.9 (2C), 128.1 (2C), 117.9, 85.4, 84.5, 75.5, 71.1, 69.7, 59.4, 47.5, 46.9, 40.0, 33.0, 31.1, 30.9, 24.5, 19.0, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm⁻¹) $\tilde{\nu}$ 1710, 1635. HPLC-ESI-HRMS ($[M+Na]^+$) berechnet für C₂₇H₃₆O₆Na 479.2404, gefunden 479.2400; ($[M+H]^+$) berechnet für C₂₇H₃₇O₆ 457.2585, gefunden 457.2581.

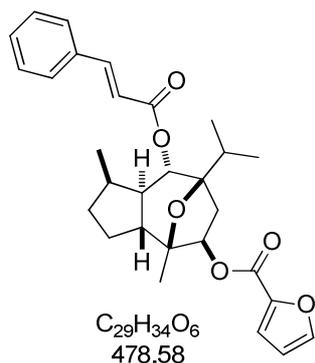
6.3.2.2.2 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-8-(Cinnamoyloxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl-tetrahydrofuran-2-carboxylat **234**



$m = 16.8$ mg (34.8 μ mol, 99%), farbloses Öl. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 2 Diastereomere) δ 7.66 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.39 (m, 3H), 6.39 und 6.38 (2d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.13 (m, 2H), 4.50 und 4.47 (2dd, $J = 4.80$ und 2.20 Hz, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 2.67 (dd, $J = 14.6, 8.10$ Hz, 1H), 2.28 (m, 1H), 2.13 (sext, $J = 6.60$ Hz, 1H), 2.06-1.84 (m, 5H), 1.84-1.66 (m, 3H), 1.57 (m, 1H), 1.26 (m, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.60$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 2 Diastereomere) δ 173.3 und 173.2, 165.7, 145.3 und 145.2, 134.4, 130.5, 129.0 (2C), 128.2 (2C), 118.2, 85.6, 84.7 und 84.7, 77.0 und 76.8, 75.6 und 75.5, 71.3, 69.6 und

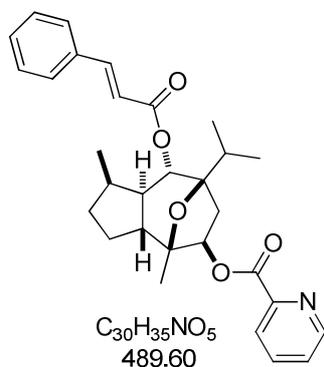
69.5, 47.7, 47.1, 40.2, 33.1 und 33.0, 31.3, 31.1, 30.5 und 30.4, 25.4, 24.7, 19.2, 18.3, 17.6, 17.1. HPLC-ESI-HRMS ($[M+Na]^+$) berechnet für $C_{29}H_{38}O_6Na$ 505.2561, gefunden 505.2552; ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{29}H_{39}O_6$ 483.2741, gefunden 483.2734.

6.3.2.2.3 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-8-(Cinnamoyloxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl-furan-2-carboxylat 235



$m = 14.8$ mg (30.9 μ mol, 99%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -13.8^\circ$ ($c = 1.48$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.67 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.61 (m, 1H), 7.53 (m, 2H), 7.39 (m, 3H), 7.20 (dd, $J = 3.50, 0.80$ Hz, 1H), 6.52 (dd, $J = 3.50, 1.80$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.30 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 2.75 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.16 (sext, $J = 7.00$ Hz, 1H), 2.02-1.87 (m, 3H), 1.78 (m, 2H), 1.62 (m, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.29 (m, 2H), 1.05 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 165.8, 158.5, 146.7, 145.3, 144.7, 134.4, 130.5, 129.0 (2C), 128.3 (2C), 118.2, 118.1, 112.0, 85.7, 84.9, 75.8, 71.4, 47.7, 47.1, 40.4, 33.3, 31.3, 31.1, 24.8, 19.3, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 2956, 1711, 1636. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{29}H_{35}O_6$ 479.2428, gefunden 479.2419.

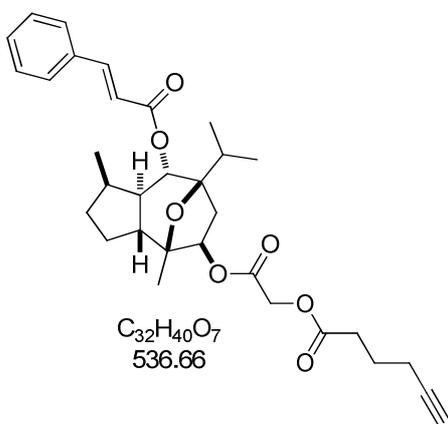
6.3.2.2.4 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-8-(Cinnamoyloxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl-picolinsäureester 236



$m = 39.2$ mg (80.1 μ mol, 99%), weißer Feststoff. $Mp = 162$ $^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = -31.5^\circ$ ($c = 1.11$, $CHCl_3$). 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.80 (d, $J = 3.80$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 7.70$ Hz, 1H), 7.85 (td, $J = 7.70, 1.70$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 6.90, 2.70$ Hz, 2H), 7.49 (dd, $J = 7.10, 5.60$ Hz, 1H), 7.39-7.37 (m, 3H), 6.41 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.41 (dd, $J = 8.00, 3.10$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 2.82 (dd, $J = 14.5, 7.70$ Hz, 1H), 2.17 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 2.01-1.93 (m, 3H), 1.87-1.82 (m, 1H), 1.80-1.74 (m, 1H), 1.69-1.64 (m, 2H), 1.34 (s, 3H), 1.29-1.24 (m, 1H), 1.06 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 165.6, 164.4, 150.2, 148.1,

145.1, 137.0, 134.3, 130.4, 128.9 (2C), 128.1 (2C), 126.9, 124.9, 118.1, 85.6, 84.8, 76.6, 71.3, 47.7, 47.0, 40.3, 33.2, 31.2, 31.0, 24.6, 19.3, 18.3, 17.5, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3446, 2961, 2938, 2907, 1732, 1704, 1635. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_5\text{NNa}$ 512.2407, gefunden 512.2398; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{N}$ 490.2588, gefunden 490.2580. Für die Kristallstruktur siehe CCDC 812083.

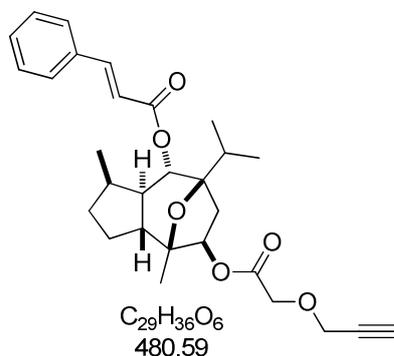
6.3.2.2.5 2-(((1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-8-(Cinnamoyloxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl)oxy)-2-oxoethyl-hex-5-inoat 237



$m = 9.60$ mg (17.9 μmol , 55%), farbloses Öl. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -47.7^\circ$ ($c = 0.64$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.66 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.54-7.51 (m, 2H), 7.40-7.38 (m, 3H), 6.39 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 5.17 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.65 (s, 2H), 2.65 (dd, $J = 14.4, 7.90$ Hz, 1H), 2.59 (t, $J = 7.40$ Hz, 2H), 2.31 (td, $J = 6.90, 2.50$ Hz, 2H), 2.13 (q, $J = 13.8, 6.80$ Hz, 1H), 1.98 (t, $J = 2.60$ Hz, 1H), 1.90 (dt, $J = 14.0, 6.90$ Hz, 2H), 1.82-1.68

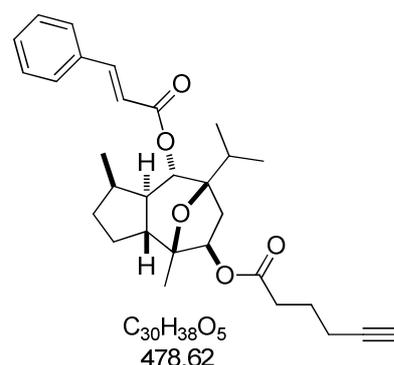
(m, 3H), 1.63-1.49 (m, 3H), 1.27-1.24 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 172.4, 167.6, 165.6, 145.2, 134.2, 130.4, 128.9 (2C), 128.1 (2C), 117.9, 85.5, 84.5, 83.1, 76.3, 71.1, 69.3, 60.7, 47.5, 46.9, 39.8, 32.9, 32.4, 31.2, 30.9, 24.6, 23.5, 19.0, 18.2, 17.8, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3445, 2922, 1746, 1711, 1638. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_7\text{N}$ 554.3143, gefunden 554.3109; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{O}_7$ 537.2847, gefunden 537.2842.

6.3.2.2.6 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-7-Iso-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)acetoxyl)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester 238



$m = 11.2$ mg (23.3 μ mol, 81%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -41.7$ ($c = 0.71$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.66 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.53 (m, 2H), 7.39 (m, 3H), 6.39 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.19 (dd, $J = 8.00, 3.00$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.34 (d, $J = 2.50$ Hz, 2H), 4.24 (s, 2H), 2.67 (dd, $J = 14.6, 8.00$ Hz, 1H), 2.49 (t, $J = 2.30$ Hz, 1H), 2.14 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.89 (sept, $J = 7.00$ Hz, 1H), 1.80–1.68 (m, 2H), 1.79 (dd, $J = 14.6, 3.00$ Hz, 1H), 1.56 (m, 1H), 1.26 (m, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.8, 165.7, 145.3, 134.4, 130.6, 129.0 (2C), 128.3 (2C), 118.1, 85.6, 84.7, 78.6, 75.9, 75.8, 71.3, 66.2, 58.4, 47.6, 47.1, 40.1, 33.2, 31.3, 31.1, 24.7, 19.2, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3465, 3301, 2959, 1751, 1710, 1637. HPLC-ESI-HRMS ($[M+Na]^+$) berechnet für $C_{29}H_{36}O_6Na$ 503.2404, gefunden 503.2399; ($[M+NH_4]^+$) berechnet für $C_{29}H_{40}O_6N$ 498.2850, gefunden 498.2846; ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{29}H_{37}O_6$ 481.2585, gefunden 481.2580.

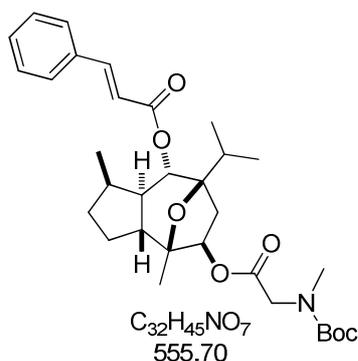
6.3.2.2.7 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-8-(Cinnamoyloxy)-7-iso-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl-hex-5-inoat 239



$m = 37.4$ mg (78.1 μ mol, 99%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -5.40^\circ$ ($c = 1.81$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.65 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 6.40, 2.90$ Hz, 2H), 7.38 (m, 3H), 6.39 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.14–5.09 (m, 2H), 2.65 (dd, $J = 14.4, 7.90$ Hz, 1H), 2.50 (t, $J = 7.40$ Hz, 2H), 2.28 (td, $J = 6.90, 2.50$ Hz, 2H), 2.18–2.08 (m, 1H), 1.98 (t, $J = 2.50$ Hz, 1H), 1.95–1.90 (m, 1H), 1.89–1.83 (m, 3H), 1.78–1.68 (m, 3H), 1.60–1.52 (m, 1H), 1.25–1.24 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 165.6, 145.1, 134.2, 130.3, 128.9 (2C), 128.1 (2C), 118.0, 85.4, 84.5, 83.1, 75.0, 71.2, 69.2, 47.5, 46.9, 40.1, 33.0, 33.0, 31.2, 30.9, 24.6, 23.5, 19.0, 18.2, 17.8, 17.5, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3406, 2958, 1712, 1641. HPLC-ESI-HRMS ($[M+NH_4]^+$) berechnet für

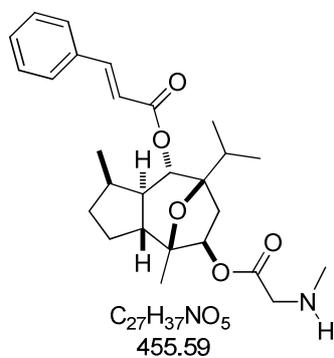
C₃₀H₄₂O₅N 496.3058, gefunden 496.3053; ([M+H]⁺) berechnet für C₃₀H₃₉O₅ 479.2792, gefunden 479.2786.

6.3.2.2.8 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(2-((*tert*-butoxycarbonyl) (methyl)amino)acetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester 240



$m = 23.5$ mg (42.3 μ mol, 99%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -42.5^\circ$ ($c = 0.99$, CHCl₃). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, Mischung von Rotameren) δ 7.66 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.38 (m, 3H), 6.39 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.13 (m, 2H), 4.01 (m, 2H), 2.95 und 2.93 (2s, 3H), 2.66 (m, 1H), 2.13 (sext, $J = 6.60$ Hz, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.88 (sept, $J = 7.00$ Hz, 1H), 1.78 (dd, $J = 14.3, 2.20$ Hz, 1H), 1.78–1.67 (m, 2H), 1.55 (m, 1H), 1.47 und 1.44 (s, 9H), 1.25 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.60$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, Mischung von Rotameren) δ 169.8, 165.7, 156.1 und 155.8, 145.3 und 145.2, 134.4, 130.5, 129.0 (2C), 128.3 (2C), 118.2, 85.6, 84.6, 80.4 und 80.3, 76.0, 71.5 und 71.4, 51.3 und 50.7, 47.7, 47.1, 40.1, 35.8 und 35.7, 33.1 und 33.0, 31.3, 31.1, 28.5 (3C), 24.7, 19.2, 18.3, 17.6, 17.0. IR (KBr Film) (cm⁻¹) $\tilde{\nu}$ 3060, 2974, 2876, 1748, 1708, 1637. HPLC-ESI-HRMS ([M+Na]⁺) berechnet für C₃₂H₄₅O₇NNa 578.3088, gefunden 578.3083; ([M+H]⁺) berechnet für C₃₂H₄₆O₇N 556.3269, gefunden 556.3265.

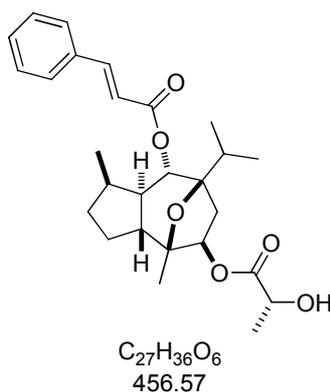
6.3.2.2.9 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-7-*Iso*-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-(methylamino)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester 241



$m = 9.00$ mg (19.8 μ mol, 88% brsm), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -40.5^\circ$ ($c = 0.94$, CHCl₃). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.39 (m, 3H), 6.39 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.18 (dd, $J = 7.30, 2.90$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.44 (d, $J = 2.90$ Hz, 2H), 2.67 (dd, $J = 14.7, 8.10$ Hz, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.14 (sext, $J = 6.60$ Hz, 1H), 2.11 (brs, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.89 (sept, $J = 7.30$ Hz, 1H), 1.80-1.69 (m, 2H), 1.79 (dd, $J = 14.7, 2.90$ Hz, 1H), 1.56 (m, 1H), 1.26 (m, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.60$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.9,

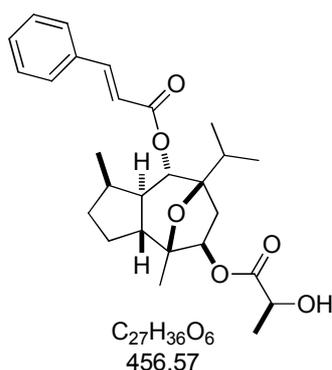
165.7, 145.3, 134.4, 130.5, 129.0 (2C), 128.3 (2C), 118.1, 85.6, 84.6, 75.7, 71.3, 52.6, 47.7, 47.1, 40.2, 36.1, 33.2, 31.3, 31.1, 24.7, 19.2, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm⁻¹) $\tilde{\nu}$ 3463, 2957, 1710, 1636. HPLC-ESI-HRMS ([M+H]⁺) berechnet für C₂₇H₃₈O₅N 456.2745, gefunden 456.2737.

6.3.2.2.10 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(((R)-2-Hydroxypropanoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester 264



m = 13.6 mg (29.8 μ mol, 81%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -42.0^\circ$ (*c* = 0.96, CHCl₃). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 7.53 (m, 2H), 7.39 (m, 3H), 6.39 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 5.18 (dd, *J* = 8.00, 2.70 Hz, 1H), 5.14 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 4.31 (q, *J* = 6.90 Hz, 1H), 2.77 (brs, 1H), 2.68 (dd, *J* = 14.5, 7.60 Hz, 1H), 2.15 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.90 (quint, *J* = 6.90 Hz, 1H), 1.79 (dd, *J* = 14.5, 3.10 Hz, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.56 (m, 1H), 1.46 (d, *J* = 6.90 Hz, 3H), 1.26 (m, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.02 (d, *J* = 6.90 Hz, 3H), 0.97 (d, *J* = 7.30 Hz, 3H), 0.95 (d, *J* = 6.90 Hz, 3H). ¹³C NMR-(125 MHz, CDCl₃) δ 175.6, 165.7, 145.3, 134.4, 130.6, 129.1 (2C), 128.3 (2C), 118.1, 85.7, 84.6, 76.7, 71.3, 67.1, 47.7, 47.1, 40.1, 33.1, 31.3, 31.1, 24.8, 20.6, 19.2, 18.3, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm⁻¹) $\tilde{\nu}$ 3466, 2958, 2876, 1713, 1636. HPLC-ESI-HRMS ([2M+Na]⁺) berechnet für C₅₄H₇₂O₁₂Na 935.4916, gefunden 935.4904; berechnet für ([2M+H]⁺) C₅₄H₇₃O₁₂ 913.5097, gefunden 913.5085; ([M+NH₄]⁺) berechnet für C₂₇H₄₀O₆N 474.2850, gefunden 474.2840; ([M+H]⁺) berechnet für C₂₇H₃₇O₆ 457.2585, gefunden 457.2578.

6.3.2.2.11 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(((S)-2-Hydroxypropanoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester 265

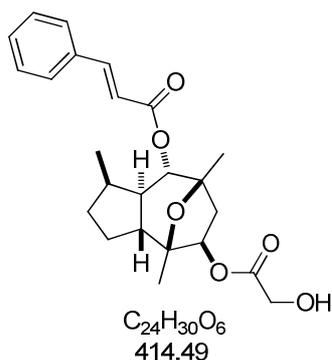


m = 13.6 mg (29.8 μ mol, 81%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -50.7^\circ$ (*c* = 0.83, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.39 (m, 3H), 6.39 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 5.14 (m, 2H), 4.31 (q, *J* = 7.00 Hz, 1H), 2.69 (dd, *J* = 14.6, 7.80 Hz, 1H), 2.15 (sext, *J* = 7.00 Hz, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.89 (quint, *J* = 7.00 Hz, 1H), 1.83-1.69 (m, 3H), 1.55 (m,

1H), 1.45 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 1.26 (m, 2H), 1.22 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 175.6, 165.7, 145.3, 134.4, 130.6, 129.0 (2C), 128.3 (2C), 118.1, 85.6, 84.6, 76.7, 71.2, 66.8, 47.6, 47.1, 40.2, 32.2, 31.3, 31.1, 24.8, 20.5, 19.2, 18.3, 17.5, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3468, 2957, 2936, 2875, 1712. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{54}\text{H}_{72}\text{O}_{12}\text{Na}$ 935.4916, gefunden 935.4905; ($[\text{2M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{54}\text{H}_{73}\text{O}_{12}$ 913.5097, gefunden 913.5090; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{O}_6$ 457.2585, gefunden 457.2579.

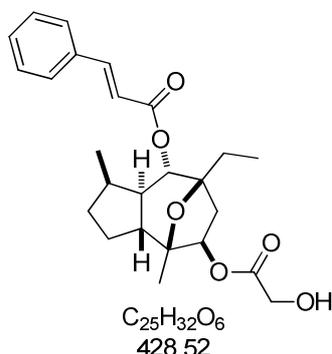
6.3.3 Analytik der Derivate mit unterschiedlichen Resten R^3 am Guaian-Gerüst

6.3.3.1 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-1,4,7-trimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester 245



$m = 14.3$ mg (34.5 μmol , 70%), farbloses Öl. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -41.9^\circ$ ($c = 0.91$, CHCl_3). ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.68 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 6.40, 3.10$ Hz, 2H), 7.40-7.39 (m, 3H), 6.42 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 7.80, 3.30$ Hz, 1H), 4.94 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.76 (dd, $J = 14.3, 7.80$ Hz, 1H), 2.39 (brs, 1H), 2.20 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 2.03-1.94 (m, 1H), 1.85-1.73 (m, 2H), 1.62-1.52 (m, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.30-1.27 (m, 1H), 1.24 (s, 3H), 0.89 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 166.0, 145.3, 134.2, 130.4, 128.9 (2C), 128.1 (2C), 117.7, 84.8, 81.6, 76.6, 73.8, 60.6, 47.9, 46.1, 42.9, 31.0, 30.9, 25.2, 22.3, 18.9, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3446, 2960, 2874, 2251, 1713. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{Na}$ 437.1935, gefunden 437.1932; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{O}_6$ 415.2115, gefunden 415.2114.

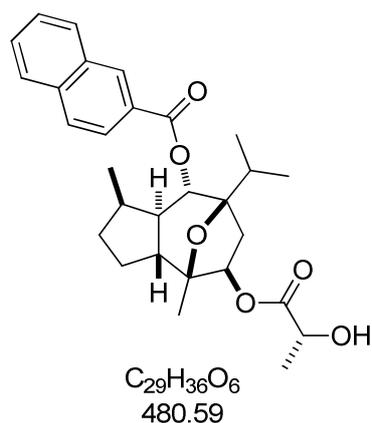
6.3.3.2 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-7-Ethyl-5-(2-hydroxyacetoxy)-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester 199



$m = 15.1$ mg (89%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -33.1^\circ$ ($c = 0.31$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.67 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.53 (m, 2H), 7.39 (m, 3H), 6.41 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.22 (dd, $J = 7.80, 3.00$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.65 (dd, $J = 14.6, 8.00$ Hz, 1H), 2.39 (brs, 1H), 2.18 (sext, $J = 7.00$ Hz, 1H), 1.98 (m, 1H), 1.84-1.64 (m, 4H), 1.59 (m, 2H), 1.26 (m, 2H), 1.23 (s, 3H), 0.97 (t, $J = 7.30$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J = 7.30$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 173.2, 166.0, 145.4, 134.4, 130.6, 129.1 (2C), 128.3 (2C), 117.9, 84.8, 83.9, 76.6, 72.4, 60.8, 47.9, 46.4, 40.6, 31.2, 31.1, 27.5, 25.1, 19.1, 17.2, 7.8. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3444, 2959, 2871, 1747, 1713, 1635. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{25}H_{33}O_6$ 429.2272, gefunden 429.2267.

6.3.4 Analytik der Derivate mit unterschiedlichen Resten R^1 und R^2

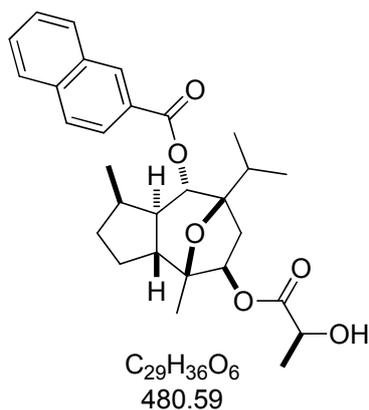
6.3.4.1 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(((*R*)-2-Hydroxypropanoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat 266



$m = 6.40$ mg (13.3 μ mol, 89%), Mischung aus weißem Feststoff und farblosem Öl. $[\alpha]_D^{20} = -45.3^\circ$ ($c = 0.64$, $CHCl_3$). 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 (s, 1H), 8.03 (dd, $J = 8.80, 1.50$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.40$ Hz, 2H), 7.63-7.55 (m, 2H), 5.35 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.25 (dd, $J = 7.80, 2.90$ Hz, 1H), 2.87 (dd, $J = 14.3, 7.80$ Hz, 1H), 2.21-2.14 (m, 2H), 1.96 (dt, $J = 13.9, 6.60$ Hz, 2H), 1.91-1.83 (m, 2H), 1.81-1.75 (m, 2H), 1.71 (ddd, $J = 13.2, 10.1, 6.50$ Hz, 2H), 1.48 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.05 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 1.00 (t, $J = 7.70$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 175.5, 165.2, 135.6, 131.2, 129.3, 128.4, 128.2, 127.8, 127.3, 126.8, 125.2, 85.7, 84.5, 76.6, 71.7, 67.0, 47.6, 47.1, 40.2, 33.0, 31.2, 31.0, 29.7, 24.7, 20.5, 19.1, 18.3, 17.4, 17.0. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3473, 3060, 2959, 2932,

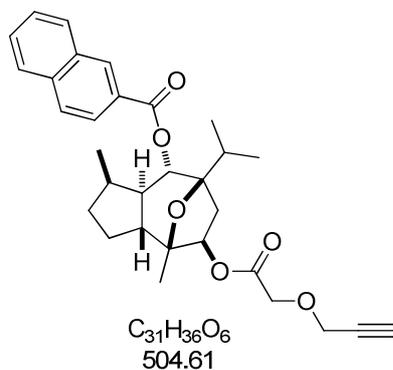
2874, 1718. HPLC-ESI-HRMS ($[2M+Na]^+$) berechnet für $C_{58}H_{72}O_{12}Na$ 983.4916, gefunden 983.4906; ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{29}H_{37}O_6$ 481.2585, gefunden 481.2577.

6.3.4.2 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(((*S*)-2-Hydroxypropanoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat 267



$m = 11.5$ mg (23.9 μ mol, 81%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -52.5^\circ$ ($c = 1.15$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.56 (s, 1H), 8.02 (dd, $J = 8.50, 1.80$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.50$ Hz, 2H), 7.60 (ddd, $J = 8.00, 6.80, 1.20$ Hz, 1H), 7.56 (ddd, $J = 8.00, 6.80, 1.20$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.20 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 4.34 (q, $J = 6.80$ Hz, 1H), 2.88 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.78 (brs, 1H), 2.17 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.84 (dd, $J = 14.8, 2.50$ Hz, 1H), 1.79-1.66 (m, 2H), 1.46 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 1.27 (m, 2H), 1.26 (s, 3H), 1.03 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 175.6, 165.4, 135.7, 132.6, 131.3, 129.5, 128.5, 128.4, 127.9, 127.4, 126.9, 125.4, 85.7, 84.6, 76.7, 71.8, 66.8, 47.7, 47.2, 40.5, 32.8, 31.3, 31.1, 24.8, 20.6, 19.2, 18.4, 17.5, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3471, 2959, 1717. HPLC-ESI-HRMS ($[M+Na]^+$) berechnet für $C_{29}H_{36}O_6Na$ 503.2404, gefunden 503.2393; ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{29}H_{37}O_6$ 481.2585, gefunden 481.2578.

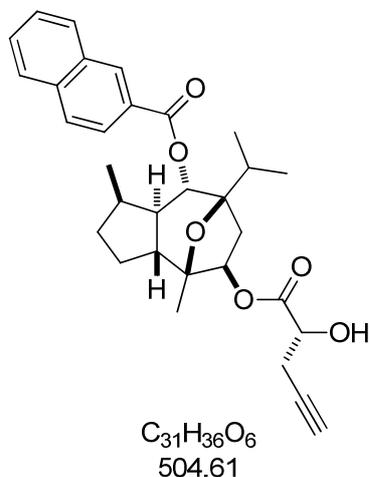
6.3.4.3 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-*Iso*-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat 268



$m = 47.3$ mg (93.7 μ mol, 92%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -39.4^\circ$ ($c = 1.02$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.56 (s, 1H), 8.02 (dd, $J = 8.50, 1.50$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 8.50$ Hz, 2H), 7.60 (ddd, $J = 7.80, 7.00, 1.30$ Hz, 1H), 7.55 (ddd, $J = 8.30, 6.80, 1.00$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.25 (dd, $J = 8.00, 3.00$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J = 2.30$ Hz, 2H), 4.26 (s, 2H), 2.85 (dd, $J = 14.6, 8.00$ Hz, 1H), 2.51 (t, $J = 2.30$ Hz, 1H), 2.15 (sext, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.97-1.89 (m, 1H), 1.94 (sept, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.88 (dd, $J = 14.6, 3.00$ Hz, 1H), 1.86-1.65

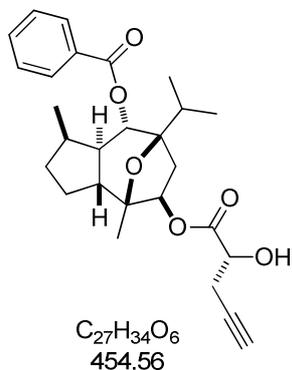
(m, 3H), 1.28 (m, 2H), 1.26 (s, 3H), 1.04 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.8, 165.4, 135.7, 132.6, 131.3, 129.5, 128.5, 128.4, 127.9, 127.4, 126.9, 125.3, 85.7, 84.7, 78.5, 75.9, 75.9, 71.8, 66.1, 58.4, 47.7, 47.1, 40.4, 33.2, 31.3, 31.1, 24.8, 19.2, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3300, 3060, 2960, 2875, 1751, 1716. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{O}_6$ 505.2585, gefunden 505.2577.

6.3.4.4 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(((*R*)-2-Hydroxypent-4-inoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat **269**



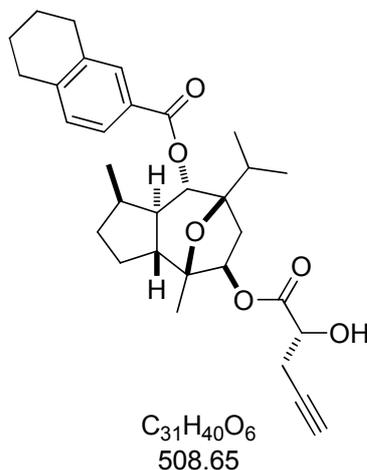
$m = 4.20$ mg (8.32 μmol , 74%), farbloses Öl $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -27.6^\circ$ ($c = 0.42$, CHCl_3). ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (s, 1H), 8.02 (dd, $J = 8.60, 1.70$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.10$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.60$ Hz, 2H), 7.60 (ddd, $J = 8.00, 6.80, 1.20$ Hz, 1H), 7.56 (ddd, $J = 8.00, 6.80, 1.20$ Hz, 1H), 5.34 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 5.24 (dd, $J = 7.90, 3.00$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J = 4.20$ Hz, 1H), 3.07 (brs, 1H), 2.88 (dd, $J = 14.6, 7.90$ Hz, 1H), 2.79 (ddd, $J = 16.8, 4.70, 2.50$ Hz, 1H), 2.71 (ddd, $J = 17.0, 4.90, 2.70$ Hz, 1H), 2.17 (sext, $J = 6.90$ Hz, 1H), 2.08 (t, $J = 2.60$ Hz, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.89 (dd, $J = 14.6, 3.00$ Hz, 1H), 1.83 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.75-1.66 (m, 2H), 1.30 (s, 3H), 1.27 (m, 1H), 1.03 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 1.00 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J = 7.20$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.5, 165.4, 135.7, 132.6, 131.3, 129.5, 128.5, 128.4, 127.9, 127.5, 126.9, 125.4, 85.7, 84.6, 78.6, 73.4, 71.9, 71.6, 69.1, 47.8, 47.2, 40.6, 33.2, 31.4, 31.1, 25.1, 24.8, 19.4, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3471, 3307, 2957, 2926, 1716. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{O}_6$ 505.2585, gefunden 505.2576.

6.3.4.5 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(((R)-2-Hydroxypent-4-inoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-benzoat 270



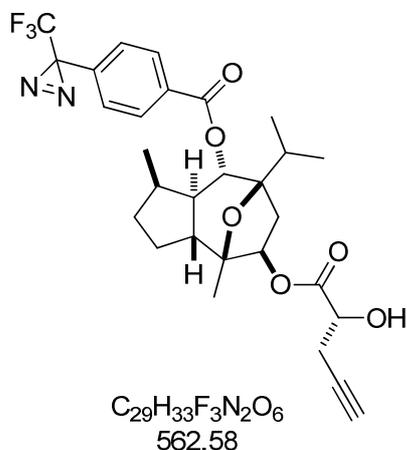
$m = 4.00$ mg (52%). $[\alpha]_D^{20} = -10.6^\circ$ ($c = 0.33$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.03-8.00 (m, 2H), 7.60-7.56 (m, 1H), 7.48-7.44 (m, 2H), 5.27 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 7.7, 2.9$ Hz, 1H), 4.38 (brs, 1H), 3.08 (brs, 1H), 2.83-2.80 (m, 1H), 2.78-2.76 (m, 1H), 2.74-2.72 (m, 1H), 2.73 (dd, $J = 4.8, 2.8$ Hz, 1H), 2.17-2.11 (m, 1H), 2.08 (t, $J = 2.6$ Hz, 1H), 1.97-1.89 (m, 2H), 1.88-1.79 (m, 3H), 1.78-1.72 (m, 2H), 1.29 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.97 (dd, $J = 7.0, 4.8$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 165.0, 133.1, 130.1, 129.7 (2C), 128.4 (2C), 85.6, 84.5, 78.4, 77.2, 71.7, 71.5, 68.9, 47.6, 47.0, 40.3, 32.9, 31.2, 30.9, 24.9, 24.6, 19.2, 18.2, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 2961, 2924, 2854, 1721. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{27}H_{35}O_6$ 455.2428, gefunden 455.2422.

6.3.4.6 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(((R)-2-Hydroxypent-4-inoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalen-2-carboxylat 276



$m = 13.1$ mg (25.8 μ mol, 78%), farbloses Öl. $[\alpha]_D^{20} = -33.5^\circ$ ($c = 0.80$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.71 (s, 1H), 7.70 (dd, $J = 7.50$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 7.50$ Hz, 1H), 5.24 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.20 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 4.37 (td, $J = 4.00, 0.50$ Hz, 1H), 3.08 (brs, 1H), 2.84-2.75 (m, 5H), 2.70 (dq, $J = 16.8, 2.50$ Hz, 1H), 2.15-2.04 (m, 2H), 1.99-1.70 (m, 9H), 1.62 (m, 1H), 1.31-1.20 (m, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 172.9, 165.4, 143.3, 137.6, 130.7, 129.4, 127.3, 126.7, 85.9, 84.6, 78.5, 77.4, 71.8, 71.3, 69.0, 47.7, 47.2, 40.5, 33.1, 31.3, 31.1, 29.8, 29.5, 25.1, 24.8, 23.1, 23.0, 19.4, 18.4, 17.6, 17.1. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 2928, 1716. HPLC-ESI-HRMS ($[M+NH_4]^+$) berechnet für $C_{31}H_{43}O_6N$ 526.3163, gefunden 526.3154; ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{31}H_{41}O_6$ 509.2898, gefunden 509.2889.

**6.3.4.7 (1R,3aR,4S,5R,7R,8S,8aR)-5-(((R)-2-Hydroxypent-4-ynoyl)oxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-(3-(trifluormethyl)-3H-diazirin-3-yl)benzoat
308**

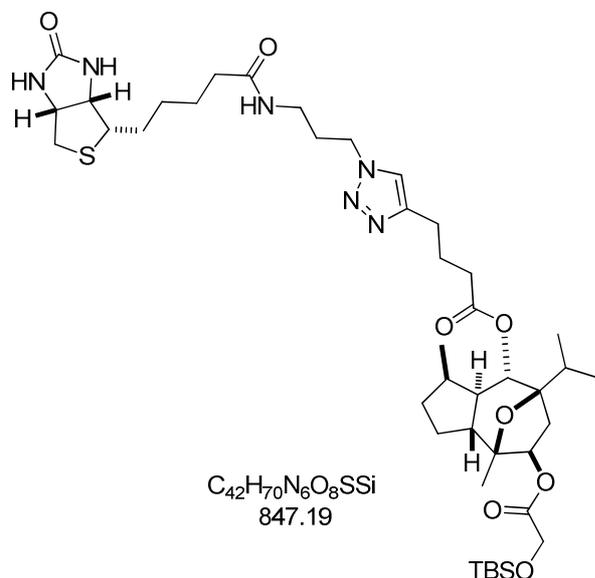


$m = 2.90$ mg (5.16 mmol, 71%), blass gelbes Öl.
 $[\alpha]_D^{20} = -6.48^\circ$ ($c = 0.24$, $CHCl_3$). 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.03 (d, $J = 8.60$ Hz, 1H), 7.28-7.27 (m, 2H), 5.27 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 7.80, 3.10$ Hz, 1H), 4.38 (brs, 1H), 4.25-4.22 (m, 1H), 2.81-2.68 (m, 3H), 2.38-2.30 (m, 3H), 2.14-2.07 (m, 2H), 1.99-1.93 (m, 2H), 1.90-1.82 (m, 3H), 1.80-1.73 (m, 3H), 1.01 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 0.95 (dd, $J = 9.10, 7.20$ Hz, 6H).
 ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 178.7, 172.7, 134.1,

130.0, 130.0 (2C), 129.9, 126.8, 126.4, 85.5, 84.5, 77.2 (2C), 72.0, 71.7, 70.5, 68.9, 47.6, 46.9, 33.0, 31.9, 31.1, 29.7, 29.4, 24.9, 24.5, 22.7, 18.2, 17.4. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 2925, 2854, 1725. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{29}H_{34}O_6N_2F_3$ 563.2364, gefunden 563.2351.

6.4 Synthese und Analytik der 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazole

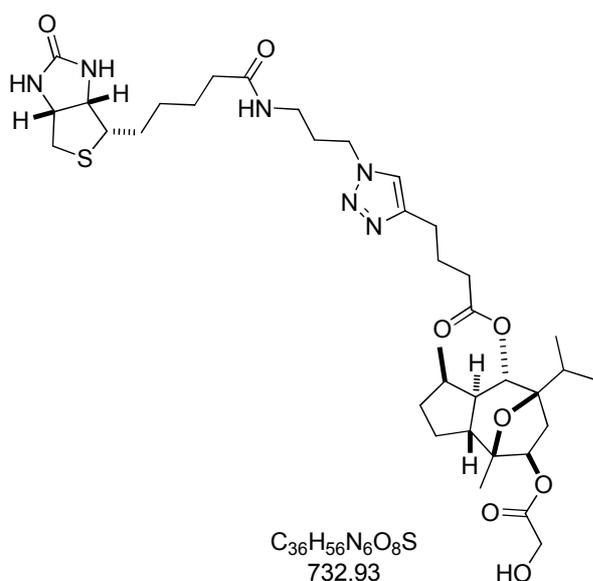
6.4.1 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)acetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-(1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)butanoat **279**



Biotin-Azid **278** (13.8 mg, 42.2 μ mol, 1.1 eq.) und (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)acetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl Hex-5-inoat **277** (20.0 mg, 38.4 μ mol, 1.0 eq.) wurden in einer THF/H₂O-Mischung (1/1, 0.77 mL, 0.05 M) gelöst und unter Argon mit Diisopropylethylamin (1.33 μ L, 7.68 μ mol, 0.2 eq.) versetzt und für 5 Min. bei RT gerührt. Dann wurden nacheinander Kupfersulfat-Pentahydrat (0.96 mg, 3.84 μ mol, 0.1 eq.) und Natriumascorbat (1.52 mg, 7.68 μ mol, 0.2 eq.) hinzugegeben und für 17.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. wässr. EDTA-Lösung beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH = 90/10) wurde (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)acetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-(1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)butanoat **279** (17.4 mg, 20.5 μ mol, 53%) als farbloser Feststoff erhalten. $[\alpha]_D^{20} = +8.52^\circ$ ($c = 0.88$, MeOH). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44 (s, 1H), 6.90-6.88 (m, 1H), 6.85 (s, 1H), 5.88-5.82 (m, 1H), 5.12 (dd, $J = 7.90, 2.90$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.55-4.52 (m, 1H), 4.40 (t, $J = 6.80$ Hz, 2H), 4.34-4.31 (m, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.38-3.29 (m, 2H), 3.28-3.23 (m, 2H), 3.17-3.12 (m, 1H), 2.92 (dd,

$J = 12.8, 4.80$ Hz, 1H), 2.75-2.71 (m, 3H), 2.53 (dd, $J = 14.6, 7.80$ Hz, 1H), 2.42-2.28 (m, 2H), 2.20 (t, $J = 7.40$ Hz, 3H), 2.14-2.04 (m, 3H), 2.02-1.96 (m, 2H), 1.93-1.92 (m, 2H), 1.86-1.78 (m, 2H), 1.76-1.67 (m, 4H), 1.50-1.41 (m, 3H), 1.18 (s, 3H), 0.98 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.94-0.87 (m, 15H), 0.11 (s, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 179.2, 178.6, 177.4, 176.9, 132.3, 118.0, 90.6, 90.0, 80.8, 76.8, 67.2, 65.7, 61.2, 54.8, 53.3, 53.0, 52.2, 46.1, 45.1, 42.5, 41.8, 41.3, 39.4, 38.0, 36.7, 36.4, 35.6, 34.3, 33.6, 33.4, 31.2 (3C), 31.0, 30.4, 30.2, 30.0, 24.4, 23.6, 22.9, 22.3, 0.00. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3297, 2931, 2857, 2097, 1759, 1732, 1702, 1643. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_8\text{N}_6\text{NaSSi}$ 869.4637, gefunden 869.4624; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{42}\text{H}_{71}\text{O}_8\text{N}_6\text{SSi}$ 847.4818, gefunden 847.4818.

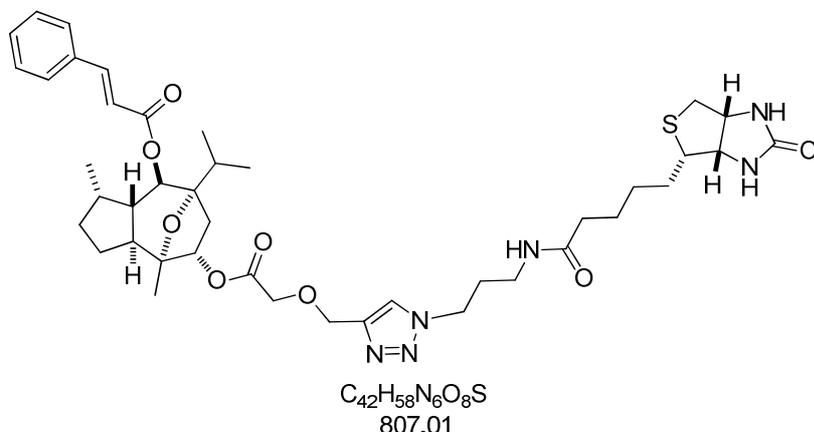
6.4.2 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-(1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)butanoat 280



(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)acetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-(1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)butanoat **279** (16.1 mg, 19.3 μmol , 1.0 eq.) wurde in THF (0.97 mL, 0.02 M) gelöst und bei 0 °C unter Argon mit TBAF (1M in THF, 38.6 μL , 38.6 μmol , 2.0 eq.) versetzt und für 2 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. wässr. NH_4Cl -Lösung beendet und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert, mit ges. wässr. NaCl -Lösung

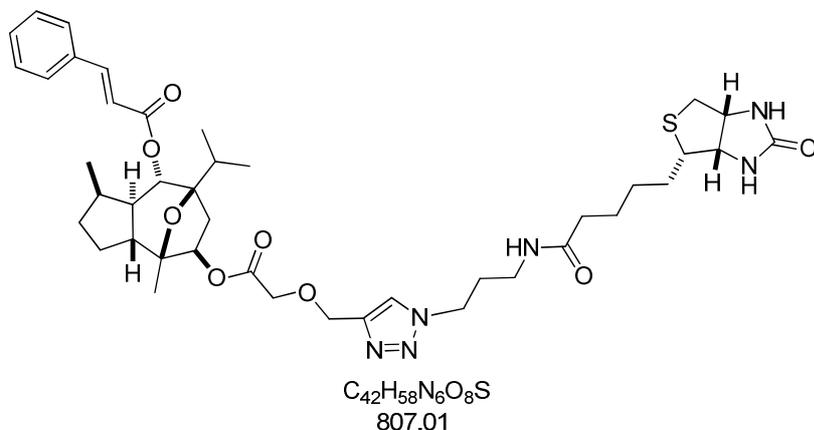
gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow 98/2 \rightarrow \text{MeOH}$) wurde (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-5-(2-Hydroxyacetoxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-4-(1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)butanoat **280** (5.30 mg, 7.23 μmol , 37%), als farbloses Öl bzw. weißer Feststoff erhalten. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8.90^\circ$ ($c = 0.27$, MeOH). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (s, 1H), 6.63-6.56 (m, 2H), 5.14 (dd, $J = 7.80, 2.80$ Hz, 1H), 5.02 (dd, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.77-4.68 (m, 2H), 4.40 (t, $J = 6.50$ Hz, 2H), 4.19 (s, 2H), 3.43 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 3.28-3.23 (m, 2H), 3.11-3.06 (m, 2H), 2.75 (t, $J = 7.60$ Hz, 2H), 2.57 (dd, $J = 14.6, 7.90$ Hz, 1H), 2.42-2.31 (m, 3H), 2.23-2.20 (m, 2H), 2.13-2.07 (m, 3H), 2.03-1.99 (m, 3H), 1.97-1.82 (m, 2H), 1.76-1.71 (m, 4H), 1.71-1.66 (m, 3H), 1.57-1.55 (m, 3H), 1.50-1.45 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 0.99 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.10$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J = 7.10$ Hz, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 178.1, 172.1, 171.8, 170.5, 137.4, 121.5, 85.2, 84.4, 77.2, 76.2, 71.0, 66.4, 60.6, 58.9, 57.4, 47.8, 47.4, 46.8, 39.9, 36.5, 35.4, 33.9, 32.6, 31.2, 30.9, 30.0, 29.7, 29.4, 26.9, 25.2, 24.9, 24.7, 18.9, 18.1, 17.4, 16.9. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 2925, 2854, 1730, 1698, 1648. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{36}\text{H}_{57}\text{O}_8\text{N}_6\text{S}$ 733.3953, gefunden 733.3959.

6.4.3 (1*S*,3*aS*,4*R*,5*S*,7*S*,8*R*,8*aS*)-7-Iso-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-((1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester¹²² *ent*-284



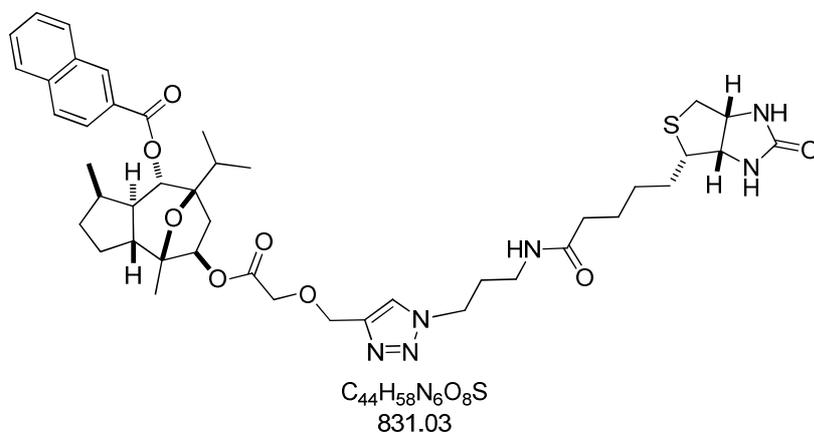
$[\alpha]_D^{20} = +43.5^\circ$ ($c = 1.17$, MeOH). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.63-7.61 (dd, $J = 6.30, 2.80$ Hz, 2H), 7.42-7.40 (m, 3H), 6.52 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.27 (d, $J = 7.80$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.72 (brs, 2H), 4.51-4.45 (m, 3H), 4.30 (dd, $J = 7.80, 4.30$ Hz, 3H), 3.35 (t, $J = 6.70$ Hz, 3H), 3.26-3.22 (m, 3H), 2.93 (dd, $J = 12.8, 4.80$ Hz, 2H), 2.71 (d, $J = 12.5$ Hz, 3H), 2.20 (t, $J = 7.40$ Hz, 3H), 2.14-2.11 (m, 3H), 1.89-1.85 (m, 2H), 1.77-1.74 (m, 3H), 1.69-1.57 (m, 3H), 1.47-1.42 (m, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.95 (dd, $J = 14.4, 7.20$ Hz, 6H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 167.4, 165.9, 164.8, 163.1, 146.9, 142.4, 142.3, 138.6, 135.8, 131.8, 130.2, 129.5, 118.9, 86.9, 86.2, 77.1, 72.6, 63.5, 61.8, 57.2, 57.2, 50.2, 48.2, 41.2, 40.9, 37.8, 37.6, 36.9, 34.2, 32.6, 32.2, 31.2, 30.0, 29.9, 29.6, 27.0, 26.9, 25.7, 19.6, 18.7, 17.9, 17.4. IR (KBr Film) (cm⁻¹) $\tilde{\nu}$ 3290, 2929, 2097, 1696, 1640. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für C₄₂H₅₈O₈N₆S 807.4110, gefunden 807.1951.

6.4.4 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-*Iso*-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-((1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester¹²² 284



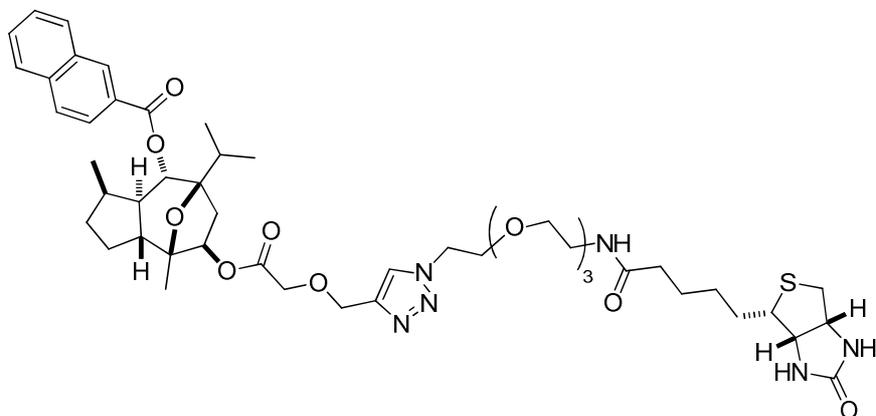
$[\alpha]_D^{20} = +9.30^\circ$ ($c = 0.81$, MeOH). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.08 (brs, 1H), 7.69 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.63-7.61 (m, 2H), 7.42-7.40 (m, 4H), 6.52 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.26 (dd, $J = 7.90, 2.90$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.73 (brs, 1H), 4.51-4.44 (m, 3H), 4.32-4.30 (m, 2H), 4.25 (brs, 1H), 3.37-3.34 (m, 2H), 3.27-3.18 (m, 3H), 2.95-2.90 (m, 2H), 2.73-2.68 (m, 3H), 2.21 (td, $J = 7.30, 1.90$ Hz, 2H), 2.15-2.08 (m, 3H), 1.90-1.85 (m, 2H), 1.77-1.71 (m, 3H), 1.69-1.55 (m, 4H), 1.48-1.40 (m, 4H), 1.20 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 7.00$ Hz, 3H). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 176.4, 176.3, 171.8, 167.5, 146.9, 144.2, 139.2, 135.8, 131.8, 130.2 (2C), 129.5, 118.9, 86.9, 86.1, 77.0, 72.6, 68.3, 61.8, 57.2, 50.2, 48.2, 41.2, 40.1, 37.8, 37.6, 36.9, 36.9, 34.2, 32.6, 32.2, 31.3, 30.0, 29.9, 29.6, 27.0, 26.9, 25.7, 19.5, 18.7, 17.9, 17.4. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3343, 3287, 2927, 2096, 1694, 1640. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{42}H_{58}O_8N_6S$ 807.4110, gefunden 807.1420.

6.4.5 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-*Iso*-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-((1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat¹²² 285



$[\alpha]_D^{20} = +5.60^\circ$ ($c = 1.33$, MeOH). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.60 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.05-8.01 (m, 2H), 7.97-7.93 (m, 2H), 7.65-7.57 (m, 2H), 5.53-5.29 (m, 2H), 4.75 (s, 2H), 4.50-4.44 (m, 2H), 4.31-4.28 (m, 2H), 4.26 (s, 2H), 3.35 (t, $J = 6.70$ Hz, 1H), 3.26-3.16 (m, 2H), 2.94-2.83 (m, 2H), 2.72-2.68 (m, 2H), 2.21 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H), 2.15-2.08 (m, 2H), 2.04-1.96 (m, 2H), 1.94-1.89 (m, 2H), 1.81-1.79 (m, 2H), 1.77-1.74 (m, 2H), 1.72-1.57 (m, 2H), 1.47-1.42 (m, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.03 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (dd, $J = 7.00$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 176.4, 171.8, 167.0, 166.2, 145.5, 137.3, 134.1, 132.3, 130.6, 129.8, 129.7, 129.0, 128.7, 128.2, 126.2, 125.7, 86.9, 86.3, 77.1, 73.2, 68.3, 65.3, 63.5, 61.8, 57.2, 50.2, 48.2, 41.2, 37.8, 37.6, 36.9, 34.4, 32.6, 32.2, 31.3, 29.9, 29.6, 27.0, 26.9, 25.7, 19.6, 18.8, 17.9, 17.4. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3295, 2931, 2097, 1694. HPLC-ESI-HRMS ($[M+H]^+$) berechnet für $C_{44}H_{58}N_6O_8N_6S$ 831.4110, gefunden 831.1494.

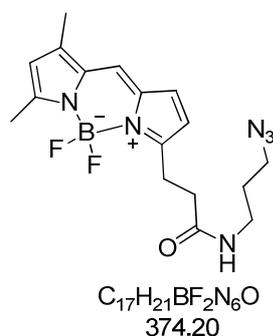
6.4.6 (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-Iso-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-((1-(13-oxo-17-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)-3,6,9-trioxa-12-azaheptadecyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat **287**



PEG3-Biotin-Azid **286** (18.1 mg, 40.7 μmol , 1.0 eq.) und (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-Iso-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat **268** (22.6 mg, 44.8 μmol , 1.1 eq.) wurden in einer THF/H₂O-Mischung (1/1, 0.81 mL, 0.05 M) gelöst und das Lösungsmittel anschließend für 10 Min. entgast. Unter Argon wurde Diisopropylethylamin (1.42 μL , 8.14 μmol , 0.2 eq.) hinzugegeben und für 5 Min. bei RT gerührt, bevor Kupfersulfat-Pentahydrat (1.02 mg, 4.07 μmol , 0.1 eq.) und Natriumascorbat (1.61 mg, 8.14 μmol , 0.2 eq.) hinzugefügt wurden. Die Reaktion wurde nach 27 h rühren bei RT durch Zugabe von H₂O beendet. Die Lösung wurde mit Et₂O gewaschen und mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂ / MeOH = 95/5) wurde (1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-Iso-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-((1-(13-oxo-17-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)-3,6,9-trioxa-12-azaheptadecyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)acetoxy)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-2-naphthoat **287** (22.6 mg, 23.8 μmol , 58%) als eine Mischung aus Öl und weißem Feststoff erhalten. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -0.50^\circ$ ($c = 0.40$, MeOH). ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.60 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.03-8.01 (m, 2H), 7.97-7.93 (m, 2H), 7.65-7.57 (m, 2H), 5.32-5.29 (m, 2H), 4.75 (s, 2H), 4.60 (t, $J = 5.00$ Hz, 2H), 4.46 (dd, $J = 8.00, 4.30$ Hz, 1H), 4.28-4.25 (m, 3H), 3.92-3.89 (m, 2H), 3.63-3.61 (m, 3H), 3.60-3.59 (m, 3H), 3.53 (t, $J = 5.50$ Hz, 2H), 3.37-3.34 (m, 2H), 3.17 (dd, $J = 8.40, 5.10$ Hz, 1H), 2.92-2.83 (m, 2H), 2.68 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 2.20 (t, $J = 7.40$ Hz, 2H), 2.14-2.12 (m, 1H), 2.01-1.95 (m, 3H), 1.92-1.88 (m, 2H), 1.81-1.74 (m, 3H), 1.68-1.58 (m, 5H), 1.45-1.36

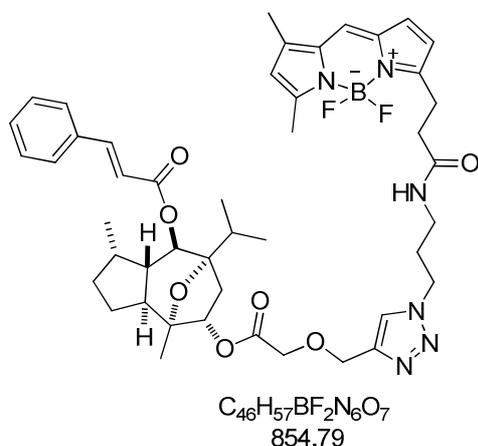
(m, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.03 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.97 (dd, $J = 4.30, 7.00$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 155.4, 155.2, 147.7, 145.3, 137.3, 135.5, 134.1, 132.3, 130.6, 129.9, 129.7, 129.0, 128.7, 128.2, 126.3, 126.2, 86.9, 86.2, 85.0, 77.1, 73.1, 71.7, 71.6, 71.6, 71.4, 70.7, 70.5, 68.3, 65.3, 63.5, 61.7, 57.1, 51.6, 48.2, 41.2, 41.1, 40.5, 36.9, 34.4, 32.6, 32.2, 29.9, 29.6, 27.0, 25.7, 19.6, 18.9, 18.0, 17.5. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3390, 2928, 1691, 1461. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{49}\text{H}_{69}\text{O}_{11}\text{N}_6\text{S}$ 949.4751, gefunden 94.4740.

6.4.7 3-(3-((3-Azidopropyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluoro-7,9-dimethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uid **296**



Zu einer Lösung von BODIPY FL **295** (9.50 mg, 32.5 μmol , 1.0 eq.) und 3-Azidopropanamin (6.50 mg, 65.0 μM , 2.0 eq.) in trockenem CH_2Cl_2 (0.33 mL) wurden unter Argon nacheinander HOBt (13.2 mg, 97.6 μmol , 3.0 eq.) und EDCI·HCl (16.2 mg, 84.6 μmol , 2.6 eq.) hinzugegeben. Nach 16 h rühren bei RT wurde die Reaktion durch Zugabe von H_2O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , c -Hex/EtOAc = 5/1) wurde **296** 3-(3-((3-Azidopropyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluor-7,9-dimethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uid (10.1 mg, 27.0 μmol , 83%) als rotes Öl erhalten. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7.43 (s, 1H), 7.06 (d, $J = 3.80$ Hz, 1H), 6.46 (d, $J = 4.20$ Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 6.07 (brs, 1H), 3.46-3.42 (m, 4H), 3.37 (t, $J = 6.90$ Hz, 2H), 2.83 (t, $J = 7.50$ Hz, 2H), 2.74 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 1.85 (quin., $J = 6.70$ Hz, 2H). ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.8, 160.6, 156.9, 144.2, 135.3, 133.3, 128.2, 123.8, 120.6, 117.5, 49.0, 36.8, 35.9, 28.7, 24.9, 14.9, 11.3. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3459, 3260, 3087, 2931, 2101, 1640, 1610. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_2\text{N}_{12}\text{B}_2\text{F}_4\text{Na}$ 771.3568, gefunden 771.3572; ($[\text{2M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{O}_2\text{N}_{12}\text{B}_2\text{F}_4$ 749.3749, gefunden 749.3763; ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{ON}_6\text{BF}_2\text{Na}$ 397.1730, gefunden 397.1731; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{ON}_6\text{BF}_2$ 375.1911, gefunden 375.1914.

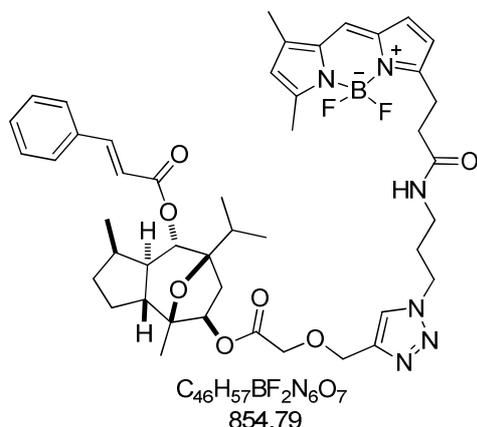
6.4.8 3-(3-((3-(4-((2-(((1*S*,3*aS*,4*R*,5*S*,7*S*,8*R*,8*aS*)-8-(Cinnamoyloxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl)oxy)-2-oxoethoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluoro-7,9-dimethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uid *ent*-297



(1*S*,3*aS*,4*R*,5*S*,7*S*,8*R*,8*aS*)-7-*Iso*-propyl-1,4-dimethyl-5-(2-(prop-2-yn-1-yl)oxy)acetoxyl)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester *ent*-**238** (7.10 mg, 14.8 μ mol, 1.1 eq.) und 3-(3-((3-Azidopropyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluoro-7,9-dimethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uid **296** (5.03 mg, 13.4 μ mol, 1.0 eq.) wurden in einem THF/H₂O-Gemisch (1/1, 0.27 mL, 0.05 M) gelöst und mit *i*-Pr₂NEt (0.47 μ L, 2.69 μ mol, 0.2 eq.) versetzt. Nach 5 Min rühren bei RT wurden nacheinander Kupfersulfat-Pentahydrat (0.34 mg, 1.34 μ mol, 0.1 eq.), sowie Natriumascorbat (0.53 mg, 2.69 μ mol, 0.2 eq.) hinzugegeben. Nach 17 h wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. wässr. EDTA-Lösung beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, CH₂Cl₂ \rightarrow CH₂Cl₂/MeOH = 96/4) wurde 3-(3-((3-(4-((2-(((1*S*,3*aS*,4*R*,5*S*,7*S*,8*R*,8*aS*)-8-(Cinnamoyloxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl)oxy)-2-oxoethoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluoro-7,9-dimethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uid *ent*-**297** (6.20 mg, 7.25 μ mol, 49%) als rot schimmernder Feststoff erhalten. $[\alpha]_D^{20} = +18.9^\circ$ ($c = 0.21$, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.69-7.65 (m, 2H), 7.55-7.53 (m, 2H), 7.41-7.39 (m, 3H), 7.10 (s, 1H), 6.89 (d, $J = 4.50$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 4.00$ Hz, 1H), 6.15 (s, 1H), 6.00 (brs, 1H), 5.21-5.19 (m, 1H), 5.14 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.25-4.21 (m, 4H), 3.30-3.20 (m, 4H), 2.72-2.66 (m, 3H), 2.58 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.19-2.10 (m, 1H), 2.06-2.00 (m, 3H), 1.97-1.87 (m, 3H), 1.83-1.169 (m, 4H),

1.22 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.80$ Hz, 3H), 0.96 (dd, $J = 8.80, 7.30$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 169.9, 165.6, 161.1, 146.9, 145.1, 134.9, 134.3, 130.4, 128.9, 128.9 (3C), 128.2, 128.1 (3C), 123.9, 120.7, 118.0, 117.3, 85.5, 84.5, 75.7, 71.2, 67.4, 64.7, 47.5, 46.9, 39.9, 36.3, 35.8, 33.0, 31.2, 31.0, 30.3, 29.7, 26.8, 24.8, 24.6, 22.7, 21.7, 19.1, 18.2, 17.5, 16.9, 15.0
 IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3428, 2924, 1635, 1539. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{92}\text{H}_{114}\text{O}_{14}\text{N}_{12}\text{B}_2\text{F}_4\text{Na}$ 1731.8592, gefunden 1731.8605; ($[\text{2M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{92}\text{H}_{115}\text{O}_{14}\text{N}_{12}\text{B}_2\text{F}_4$ 1709.8773, gefunden 1709.8796; ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{57}\text{O}_7\text{N}_6\text{BF}_2\text{Na}$ 877.4242, gefunden 877.4226; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{58}\text{O}_7\text{N}_6\text{BF}_2$ 855.4423, gefunden 855.4433.

6.4.9 3-(3-((3-(4-(((1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-8-(Cinnamoyloxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl)oxy)-2-oxoethoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluor-7,9-dimethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uid 297



(1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-7-Isopropyl-1,4-dimethyl-5-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)acetoxyl)decahydro-4,7-epoxyazulen-8-yl-zimtsäureester **238** (6.30 mg, 13.1 μmol , 1.0 eq.) und 3-(3-((3-Azidopropyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluor-7,9-dimethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uid **296** (5.40 mg, 14.4 μmol , 1.1 eq.) wurden in einem THF/ H_2O -Gemisch (1/1, 0.26 mL, 0.05 M) gelöst und mit *i*-Pr₂NEt (0.46 μL , 2.60 μmol , 0.2 eq.) versetzt. Nach 5 Min rühren bei RT wurden nacheinander Kupfersulfat-Pentahydrat (0.30 mg, 1.30 μmol , 0.1 eq.), sowie Natriumascorbat (0.50 mg, 2.60 μmol , 0.2 eq.) hinzugegeben. Nach 16 h wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. wässr. EDTA-Lösung beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das

Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 96/4$) wurde 3-(3-((3-(4-((2-(((1*R*,3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,8*S*,8*aR*)-8-(Cinnamoyloxy)-7-*iso*-propyl-1,4-dimethyldecahydro-4,7-epoxyazulen-5-yl)oxy)-2-oxoethoxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)amino)-3-oxopropyl)-5,5-difluor-7,9-dimethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-oid **297** (11.5 mg, 13.5 μmol , quantitativ) als roter Feststoff erhalten. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -30.0^\circ$ ($c = 0.12$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.67 (d, $J = 15.7$ Hz, 2H), 7.54-7.53 (m, 2H), 7.40-7.39 (m, 3H), 7.10 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.40 (d, $J = 16.1$, 1H), 6.31 (brs, 1H), 6.15 (s, 1H), 6.00 (brs, 1H), 5.20 (d, $J = 6.10$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J = 9.90$ Hz, 1H), 4.77 (brs, 2H), 4.24-4.22 (m, 4H), 3.29 (t, $J = 6.90$ Hz, 2H), 3.24 (brs, 2H), 2.71-2.65 (m, 3H), 2.58 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.15-2.13 (m, 1H), 2.05-2.02 (m, 3H), 1.96-1.87 (m, 3H), 1.82-1.73 (m, 3H), 1.60-1.54 (m, 1H), 1.22 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.90$ Hz, 3H), 0.96 (dd, $J = 11.9, 6.90$ Hz, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 169.9, 165.6, 161.1, 146.9, 145.1, 134.9, 134.3, 130.4, 128.9, 128.9 (3C), 128.2, 128.1 (3C), 123.9, 120.7, 118.0, 117.3, 85.5, 84.5, 75.7, 71.2, 67.4, 64.7, 47.5, 46.9, 39.9, 36.3, 35.8, 33.0, 31.2, 31.0, 30.3, 29.7, 26.8, 24.8, 24.6, 22.7, 21.7, 19.1, 18.2, 17.5, 16.9, 15.0. IR (KBr Film) (cm^{-1}) $\tilde{\nu}$ 3427, 2922, 1635, 1540. HPLC-ESI-HRMS ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{92}\text{H}_{114}\text{O}_{14}\text{N}_{12}\text{B}_2\text{F}_4\text{Na}$ 1731.8592, gefunden 1731.8605; ($[\text{2M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{92}\text{H}_{115}\text{O}_{14}\text{N}_{12}\text{B}_2\text{F}_4$ 1709.8773, gefunden 1709.8796; ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{57}\text{O}_7\text{N}_6\text{BF}_2\text{Na}$ 877.4242, gefunden 877.4226; ($[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{58}\text{O}_7\text{N}_6\text{BF}_2$ 855.4423, gefunden 855.4433.

7. Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

AcOH	Essigsäure	<i>ent</i>	Enantiomer
Ac	Acetyl	Et	Ethyl
aq.	wässrig	EtOH	Ethanol
Bn	Benzyl	ESI	Elektronensprayionisation
boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	eq.	Equivalent(e)
brsm	based on recovered starting material	ges.	gesättigt(e)
BuLi	Butyllithium	GI ₅₀	Growth Inhibition 50
Bz	Benzoyl	h	Stunde(n)
c	Cyclo	HOBt	Hydroxybenzotriazol
Cbz	Carboxybenzyl	HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
COD	Cyclooctadien	Hz	Hertz
CuAAc	Kupfer-katalysierteAzid-Alkin-Cycloaddition	<i>i</i>	<i>iso</i>
CSA	Camphersulfonsäure	IBX	2-Iodoxybenzoesäure
Cy	Cyclohexyl	IPr	1,3-bis-(2,6-Diisopropylphenyl)imidazoliden
d	Tag(e)	IR	Infrarot
DBU	Diazabicycloundecen	<i>J</i>	Kopplungskonstante
DEAD	Diethylazodicarboxylat	kat.	katalytisch
4-DMAP	N,N-4-Dimethylaminopyridin	Ipc	Isopinocampheyl
DMF	N,N-Dimethylformamid	LDA	Lithiumdiisopropylamin
DMP	Dess Martin Periodinan	<i>m</i>	<i>meta</i>
DMSO	Dimethylsulfoxid	LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
DPPA	Diphenylphosphorylazid	Me	Methyl
<i>dr</i>	Diastereomerenverhältnis	<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid	MeOH	Methanol
<i>ee</i>	Enantiomerenüberschuss	Mes	2,4,6-Trimethylphenyl

7. Anhang

Min	Minuten
Ms	Mesyl
MS	Massenspektrometrie
NMO	N-Methylmorpholin-N-oxid
Oct	Octanoat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
<i>p</i>	<i>para</i>
ppm	Parts per million
Ph	Phenyl
quant.	quantitativ
R, R ¹⁻³	organischer Rest
Ra-Ni	Raney-Nickel
RCM	Ringschlussmetathese
Red-Al	Natrium-bis(2-methoxyethoxy) aluminiumhydrid
RT	Raumtemperatur
<i>t</i>	<i>tert</i>
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-
TBTA	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3- triazol-4-yl)methyl]amin
TCEP	Tris(2-carboxyethyl)phosphin
TES	Triethylsilyl
TEA	Triethanolamin
Tf	Triflourmethansulfonyl
TPAP	Tetra- <i>n</i> -propylammonium perruthenat
UV	Ultraviolett
wässr.	Wässrig(e)
z.B	zum Beispiel

7.2 INCHI-Key-Verzeichnis

INCHI-Key	Verbindung
GACOFEKSDCOVMV-RRYXBOBMSA-N	(5)
BAIHJMCCTPKPES-ZIRHEVKLSA-N	14
KBRGFQKJKPMXRS-JEYWKRAYSA-N	37
LXPABRXPBAGFA-ILHHOCCXSA-N	172
GOFQLKSMHBVWGU-NJTNLPLUSA-N	183
AKXTVZDTULKIQU-VSKICQPJSA-N	184
RZAKGFPOCGERK-SSZSFUNHSA-N	199
STUDEMUTXIFPMK-PCOLZWQVSA-N	203
NKUBNQBUMIYILR-LFGGEJMMSA-N	204
QCADLXUZLAXNAK-QDLMAADRSA-N	205
WHXJGZQIMDXJK-VSPYZIKLSA-N	206
OVWOIXSYICRXAR-KXALZNHISA-N	207
UFRYVBJVFISVHO-RDMCEQOVSA-N	208
LEMMUVZPHOXIKQ-KXALZNHISA-N	209
VRYACTBSILIEFQ-KXALZNHISA-N	210
DATPCCWWSRDCX-GCROLHBDSA-N	211
WMNXGUMYTGBTJK-DQTOXQBLSA-N	212
FABFBWLCDDLRSJ-DQTOXQBLSA-N	213
BDCXOJICXNVYGL-DQTOXQBLSA-N	214
XPQZIGDRQGEYDH-DQTOXQBLSA-N	215
UUYVWYIIBLBGNG-QYPLXPFDSA-N	216
MZHGFTWQJACOSA-XADZIQFHSA-N	217
VPXDPRAMEARFEZ-JJMZJFBWSA-N	218
DLYHBMVYAQDRPF-HKXIVVOWSA-N	219
HVDAZMFAWIPITJ-RRYXBOBMSA-N	220
AMIITUBBTGBCMI-VKOQBQFZSA-N	221
CQRDQBFOIZJYOC-YZUQTUOWSA-N	222
PRZJVWUZSRJPGM-GCKDQGDYSA-N	223
JNEOGYSCVZADOU-IMZVKJIDSA-N	230
KBRGFQKJKPMXRS-VSKICQPJSA-N	231
OVLPGFQSZWSOQC-DSVICABZSA-N	233

XDKYCPUQJPCZEZ-KHEZTWKOSA-N	234
BPZISMJDXLASOL-DLZDJEBGSA-N	235
WFEBPUFIYYWPCC-FTIYBFJMSA-N	236
MDRFYLUMYDLCQU-BEHXIQGFSA-N	237
YAULAQSYKKOLGG-FVLRHDGCSA-N	238
NBIRZYPOEUYYLJK-JSUHAWQDSA-N	239
FGMZWXMWOZREOG-XIBOZPRRSA-N	240
DCKANLXOLSTZNY-DSVICABZSA-N	241
BVCJEHIKVQHLPY-UNZQJSLQSA-N	245
SXBNYFIWCPCCIK-UDXXDODNSA-N	264
SXBNYFIWCPCCIK-PCKJKUOASA-N	265
IURIHLCGBKTQGH-LFFFMKDVSA-N	266
IURIHLCGBKTQGH-YZSHQSNYSA-N	267
LRVVAHSWWZSEPG-ZBLFQBOOSA-N	268
OUABNQXKUDAAQV-SLVSLJCTSA-N	269
PHFMCGOJZQSLFE-JVQWCJCFSA-N	270
VTAWHFOQSQATDF-VIJVENLQSA-N	271
PFPHYWRLJPKF-APRVHQOKSA-N	272
ZZLPSMDRLTYAJS-GOMFHWHSSA-N	273
QMQPXXXPPLBIRE-GCKDQGDYSA-N	274
MBWSFGLDZMNGRZ-GOMFHWHSSA-N	275
KGBJSSYCWZHURF-SLVSLJCTSA-N	276
MZCSAVSSNOCQQG-PJSOXVLXSA-N	279
TYGYNGCWCMUEKM-ACPCHPTRSA-N	280
JFIHGNKZKPYCKB-BOADJZQJSA-N	<i>ent-284</i>
JFIHGNKZKPYCKB-HJKRUDIZSA-N	284
VYIMNBGKWXRAOQ-NAZMWSFQSA-N	285
FPLJFMJSFSCSIB-HDXGSROISA-N	287
IHOHTCNDGJLUHG-UHFFFAOYSA-N	296
DDFIMKWCAXMCRQ-LXZWLQQVSA-N	<i>ent-297</i>
DDFIMKWCAXMCRQ-NUWNPZNYSA-N	297
MHJUBGXFPBXSX-KXALZNHISA-N	307
VSIXMPRWTZTQGJ-HPRKKLHCSA-N	308

7.3 Biologische Untersuchungen

7.3.1 Allgemeines

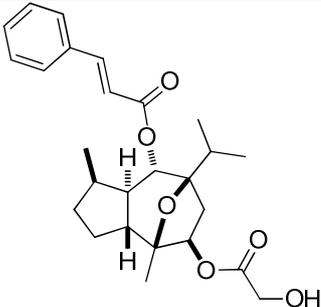
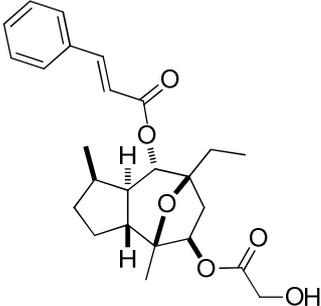
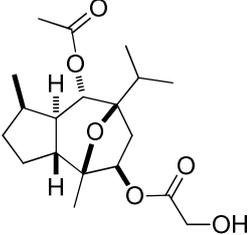
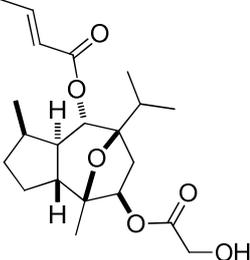
Die A498 Zellen wurden von der deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bezogen. Die RC-124 Zellen wurden von CLS, Deutschland, bezogen. Minimum Essential Medium (MEM), McCoy's 5a und Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) wurden von PAA, Österreich bezogen. Fötale Kälberserum wurde bei Invitrogen, Deutschland, gekauft. Nicht-essentielle Aminosäuren und Natriumpyruvat wurden von Sigma Aldrich, Deutschland, gekauft.

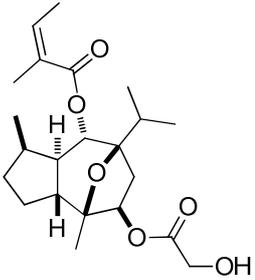
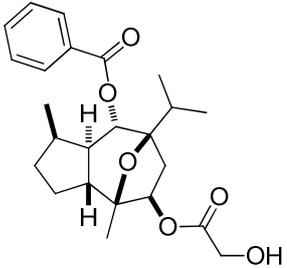
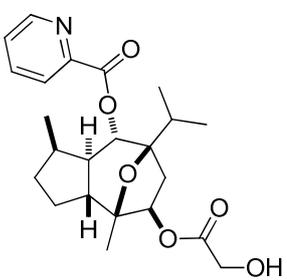
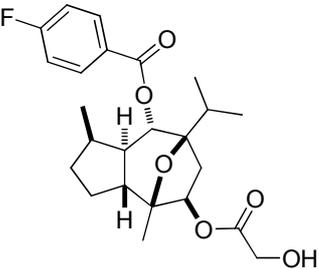
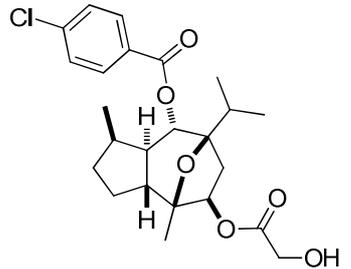
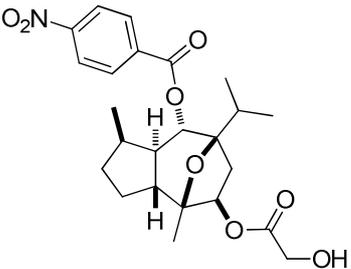
Die menschliche Nierenkarzinomzelllinie A498 wurde in Minimum Essential Medium (MEM, mit Earle's Salzen) kultiviert. Die Zelllinie BSC-1 der afrikanischen grünen Meerkatzen, sowie die menschliche embryonale Nierenzelllinie HEK293 wurden in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) kultiviert. Die menschliche Nierenzelllinie RC-124 wurde in McCoy's 5a Medium kultiviert. Alle Medien wurden durch 10% fötales Kälberserum, Penicillin und Streptomycin ergänzt. Die Zellen wurden bei 37 °C in einer 5%-CO₂ befeuchteten Atmosphäre inkubiert.

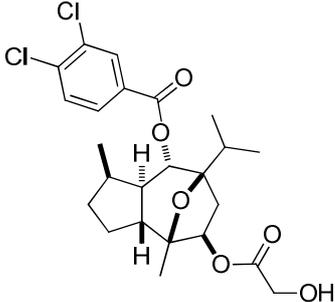
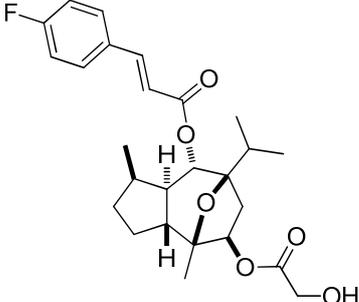
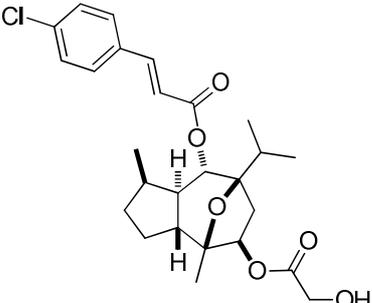
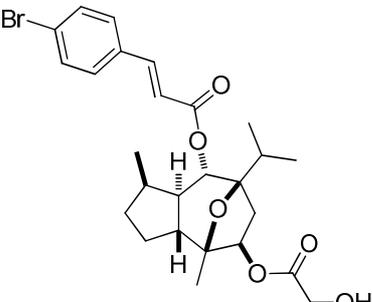
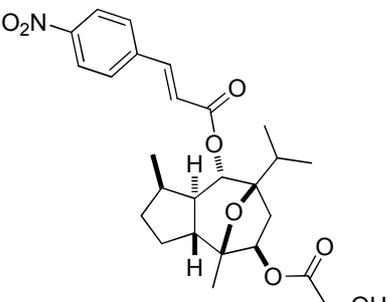
Die Zellproliferation wurde als Funktion der metabolischen Aktivität mittels des WST-1-Reagenzes (Roche, Mannheim) gemessen. 4000 Zellen wurden in vierfacher Bestimmung in die Vertiefungen der 96-Loch Platten gesät und für 24h weiter kultiviert bevor die Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen der einzelnen Verbindungen für 48 h erfolgte. Alle Proben enthielten 0.1% DMSO. Nach der Behandlung wurde das WST-1 Reagenz zu den Zellen gegeben. Die Extinktion wurde mit dem Infinite[®] M200P Plattenlesegerät (Tecan, Österreich) bei 450/690 nm gemessen. Die Vier-Parameter IC₅₀-Gleichung wurde verwendet, um Dosis-Wirkungskurven zu generieren und den IC₅₀-Wert zu bestimmen. Die IC₅₀-Werte der einzelnen Verbindungen wurden mit der Software GraFit 5.0 berechnet.

7.3.2 Übersicht über die gemessenen IC_{50} -Werte mit Standardabweichung

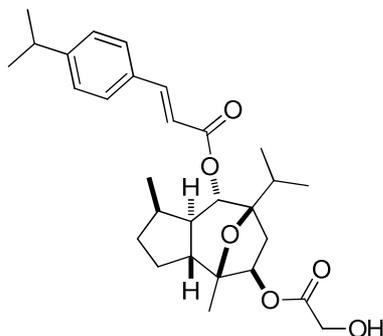
Die dargestellten Werte sind Mittelwerte aus mindestens drei unabhängig voneinander durchgeführten Experimenten \pm Standardabweichung (SD).

Verbindung	Struktur	$IC_{50} \pm SD$ [μ M]
(5)		0.045 ± 0.010
199		0.950 ± 0.270
203		> 10
204		> 10

205		> 10
206		> 10
207		> 10
208		> 10
209		1.480 ± 1.430
210		1.840 ± 0.690

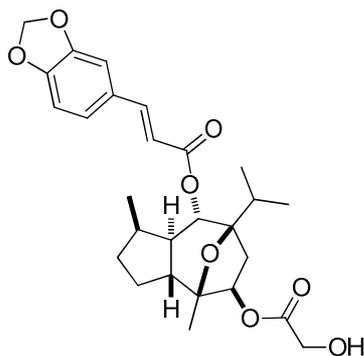
211		0.280 ± 0.010
212		0.715 ± 0.150
213		4.590 ± 6.010
214		> 10
215		> 10

216



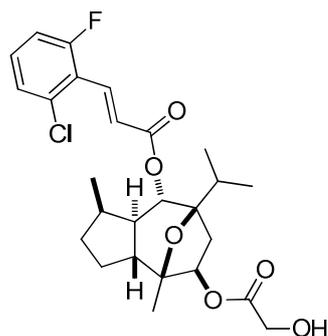
> 10

217



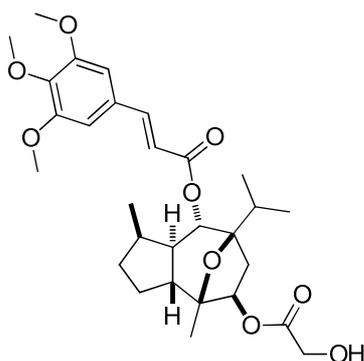
4.870 ± 2.170

218



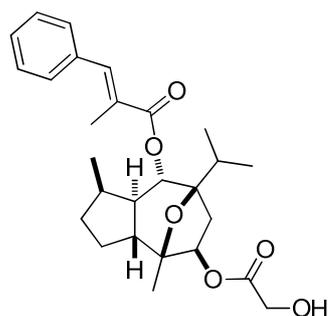
0.092 ± 0.030

219



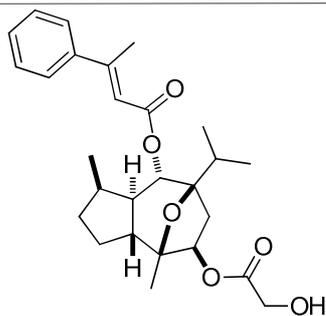
> 10

220



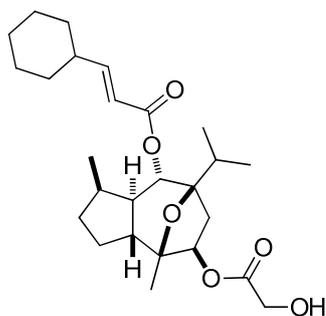
0.880 ± 0.400

221



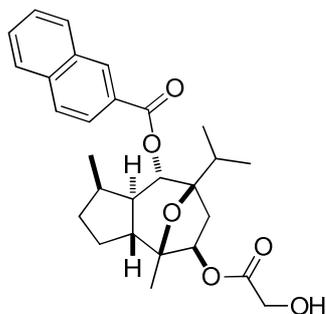
0.026 ± 0.010

222



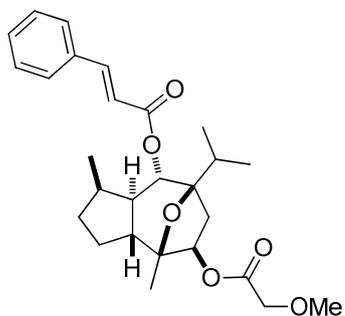
0.025 ± 0.004

223



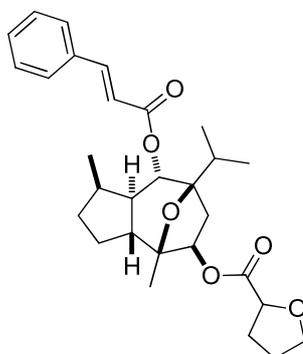
0.024 ± 0.010

233



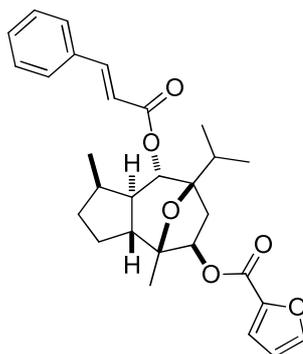
0.650 ± 0.170

234



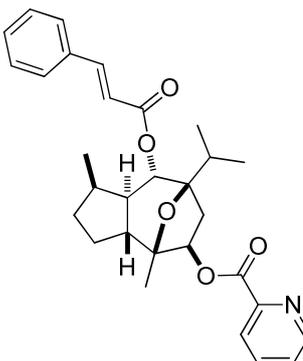
5.225 ± 1.000

235



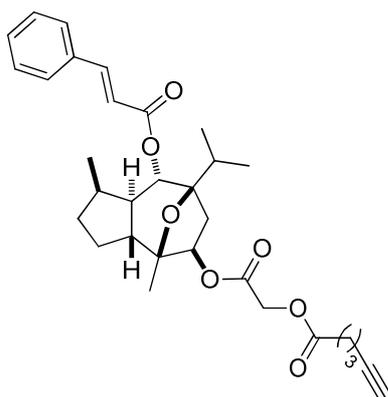
> 10

236



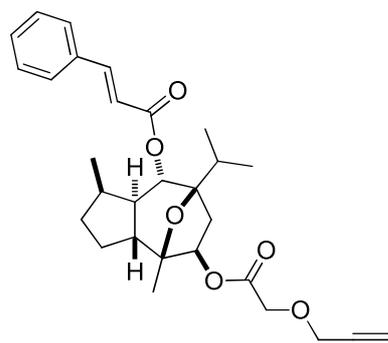
> 10

237



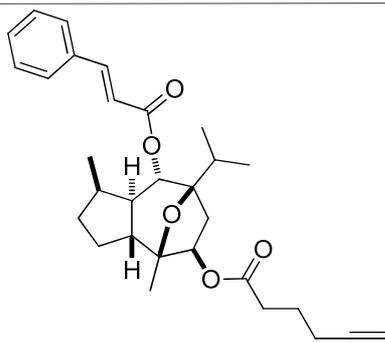
0.225 ± 0.130

238



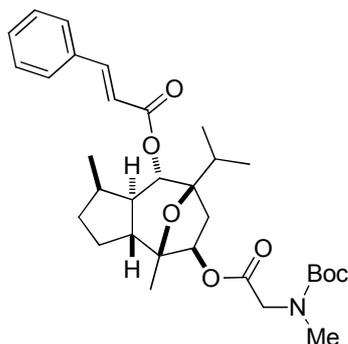
1.540 ± 0.340

239



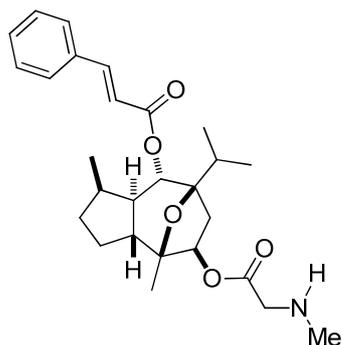
4.610 ± 0.040

240



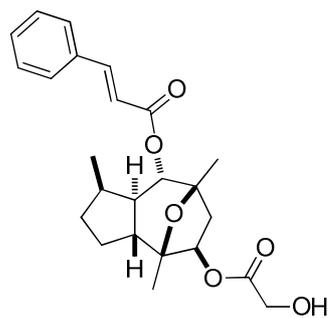
> 10

241



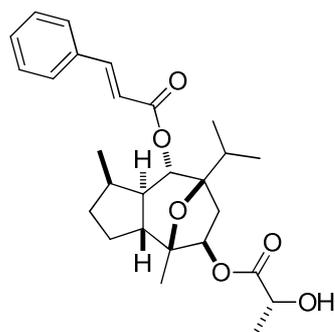
5.035 ± 0.320

245

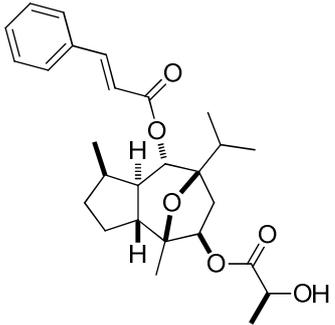
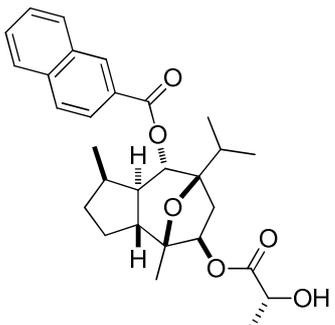
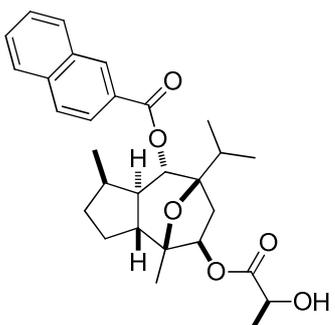
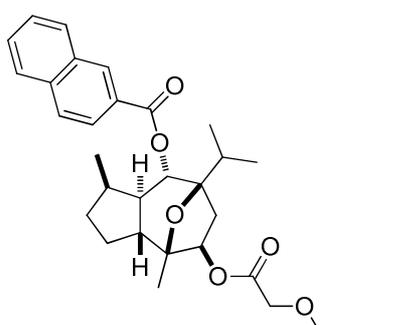
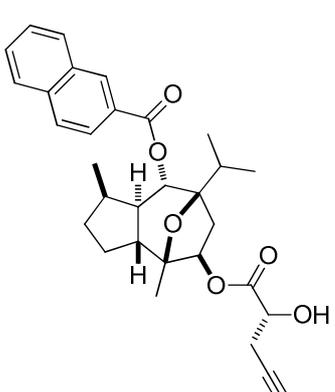


4.640 ± 0.060

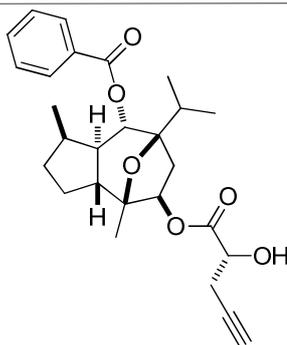
264



0.3625 ± 0.174

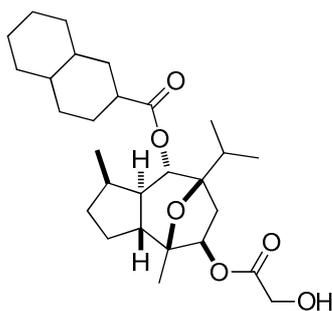
265		1.109 ± 0.511
266		0.0617 ± 0.006
267		0.426 ± 0.061
268		0.820 ± 0.240
269		2.245 ± 1.014

270



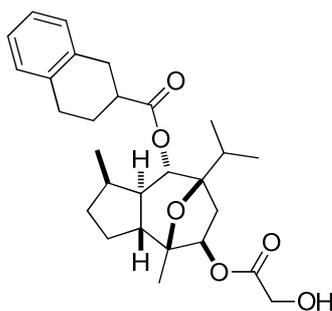
4.530 ± 4.530

271



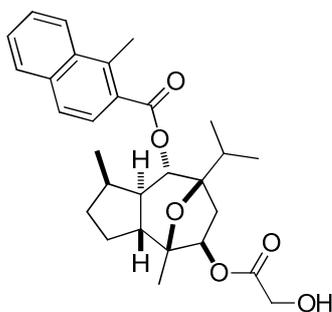
0.0523 ± 0.017

272



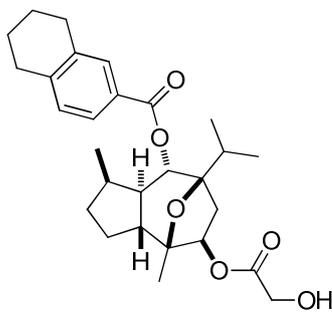
0.0442 ± 0.025

273

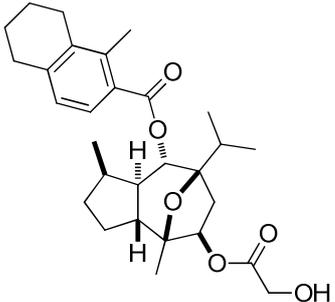
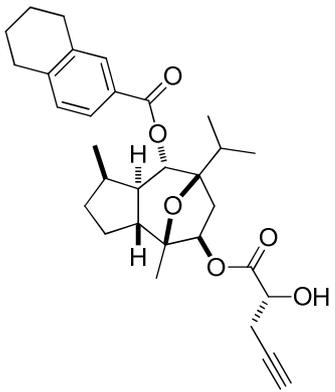
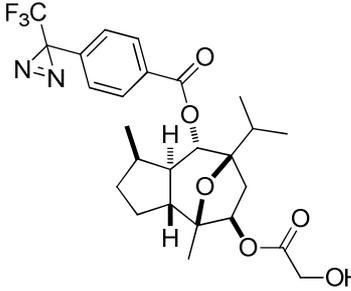
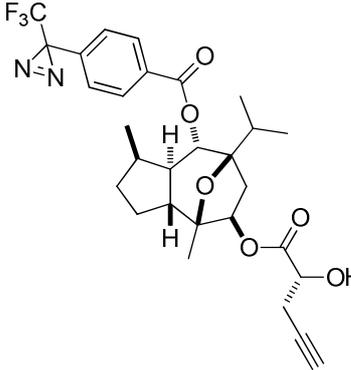


0.0148 ± 0.007

274



0.0121 ± 0.001

275		0.0089 ± 0.007
276		1.6146 ± 1.702
307		0.033 ± 0.007
308		1.642 ± 0.970

7.4 Kristallstrukturen

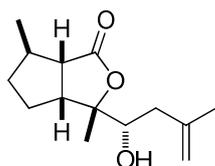
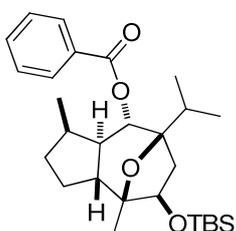
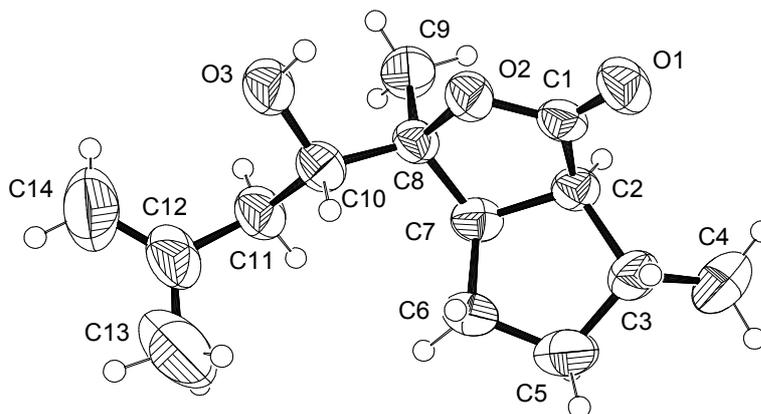
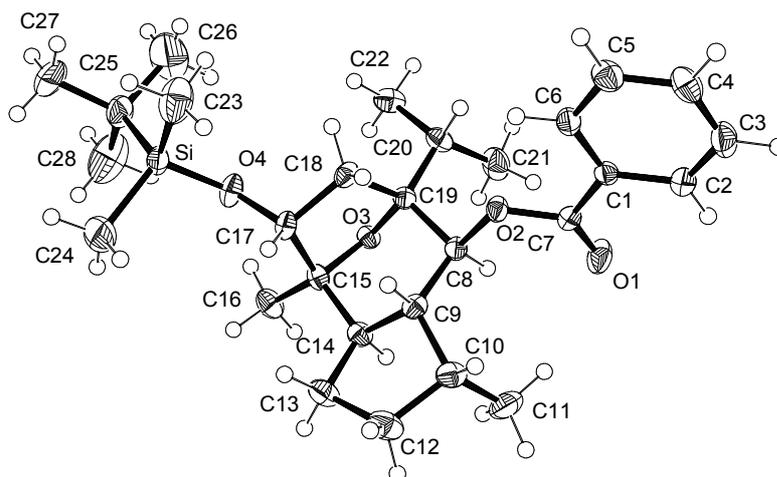
Die folgenden Englerin A-Intermediate konnten als Einzelkristall erhalten werden und es konnte daraufhin eine Röntgenkristallstruktur wie folgt vermessen werden: Diffraktometer: Oxford-CCD: CrysAlis (Oxford, 2008; Datensammlung); CrysAlis RED (Oxford, 2008; Zellbestimmung und -verfeinerung); empirische Absorptionskorrektur. Die Kristalle wurden

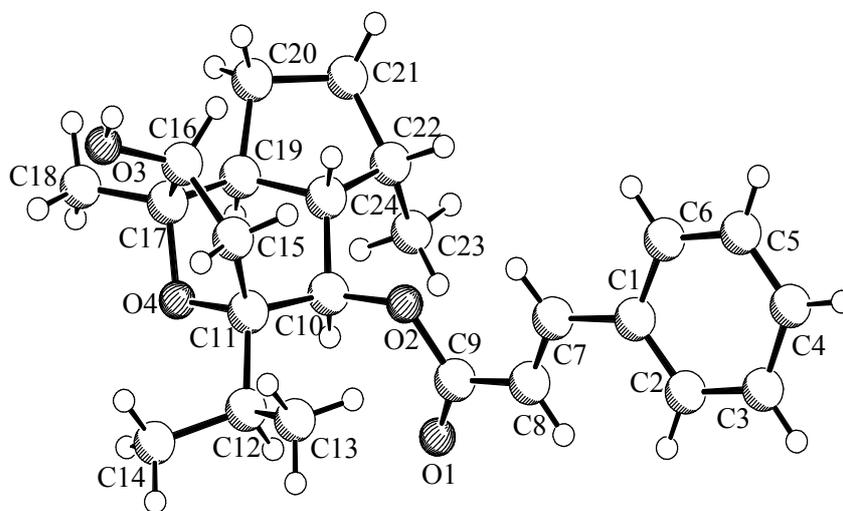
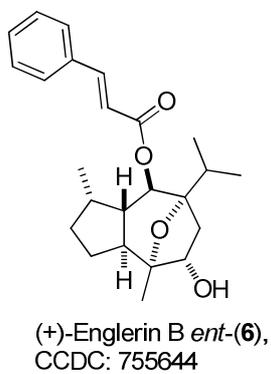
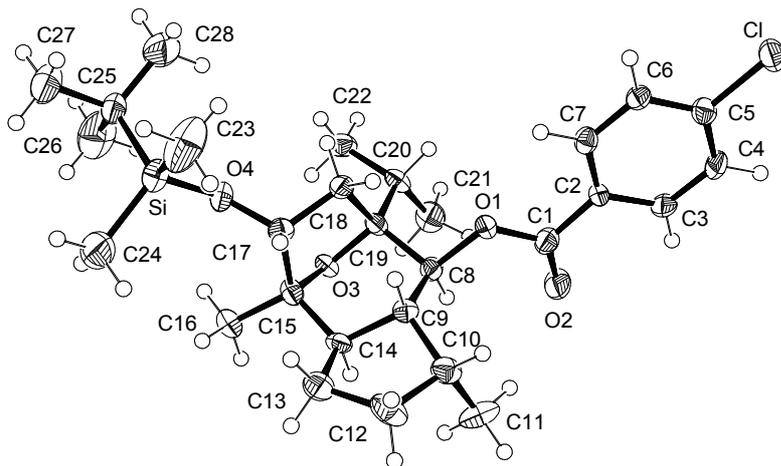
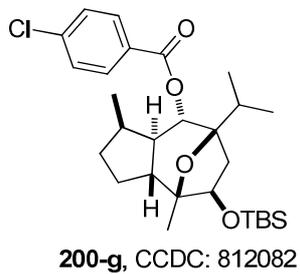
in einem inertem Öl (Perfluoropolyalkylether verschiedener Viskositäten, Firma ABCR) auf einem Glasfaden montiert und der Kristall in den Stickstoff-Kaltgasstrom des Diffraktometers geführt. Die Lösung der Einkristall-Röntgenstrukturanalysen erfolgte mit direkten Methoden, die Strukturverfeinerung mit dem Programm SHELXL97.¹⁵⁰ Alle Nicht-Wasserstoffatome wurden anisotrop verfeinert. U_{eq} ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalisierten Tensors U_{ij} . Für die Wasserstoffatome wurden die Standardwerte des SHELXL-Programms verwendet mit $U_{iso}(H) = -1.2 U_{eq}(C)$ für CH_2 , CH und CH_{arom} und mit $U_{iso}(H) = -1.5 U_{eq}(C)$ für CH_3 . Der Exponent des anisotropen Auslenkungsfaktors hat die Form: $-2\pi^2[h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

Verbindung und CCDC-

Nummer

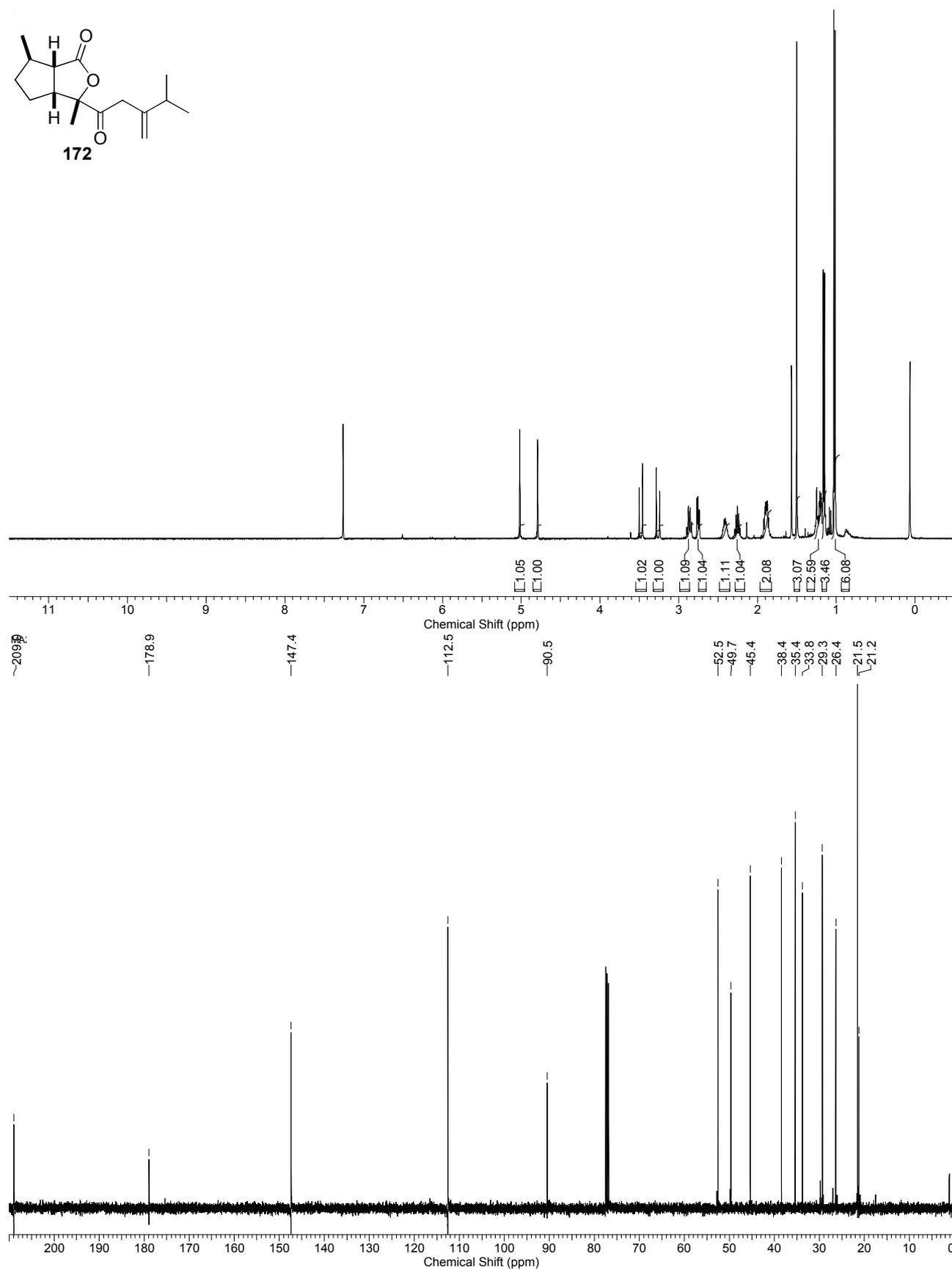
Kristallstruktur

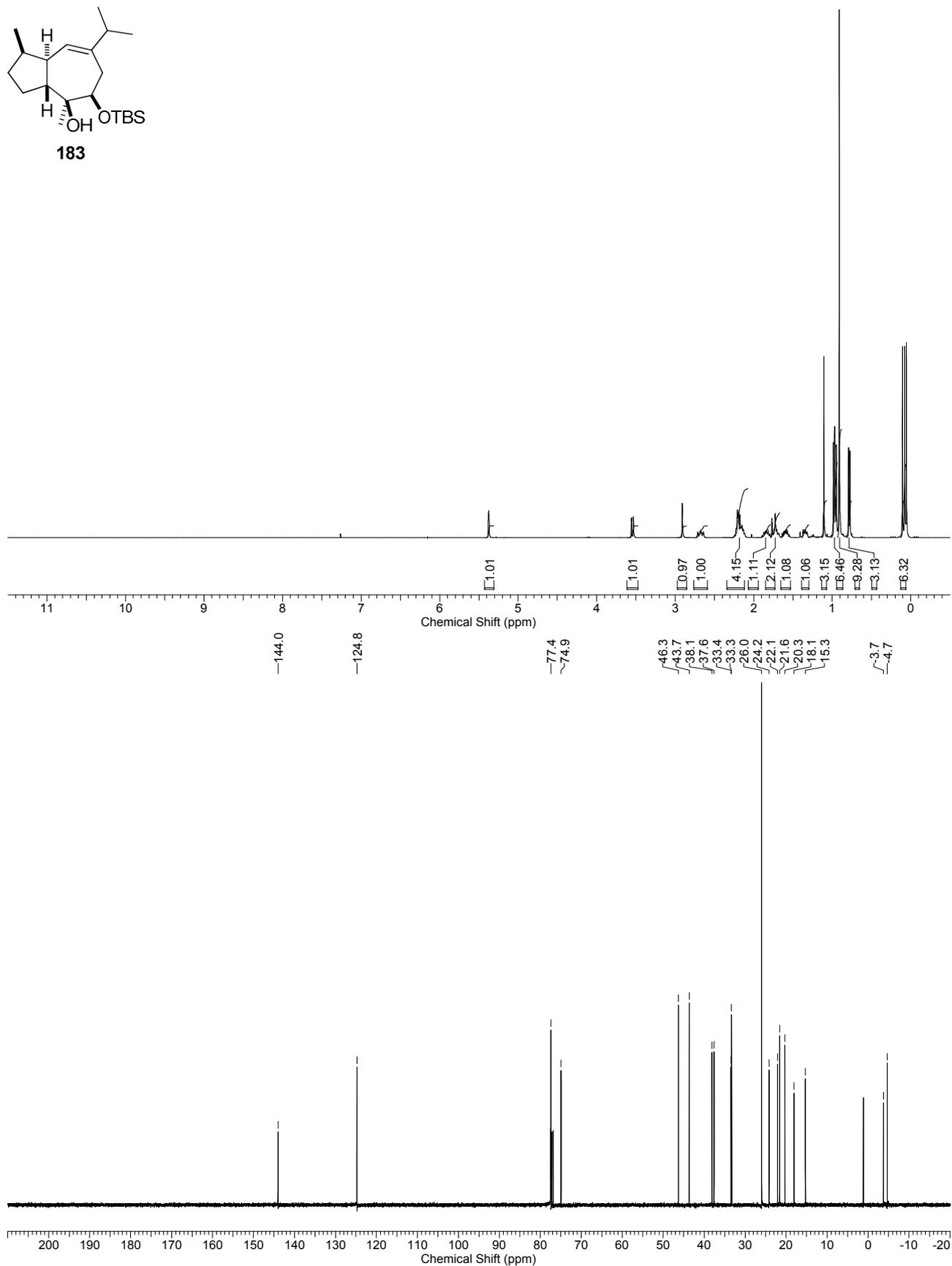
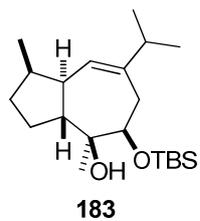
**171-b**, CCDC: 812080**200-d**, CCDC: 812081

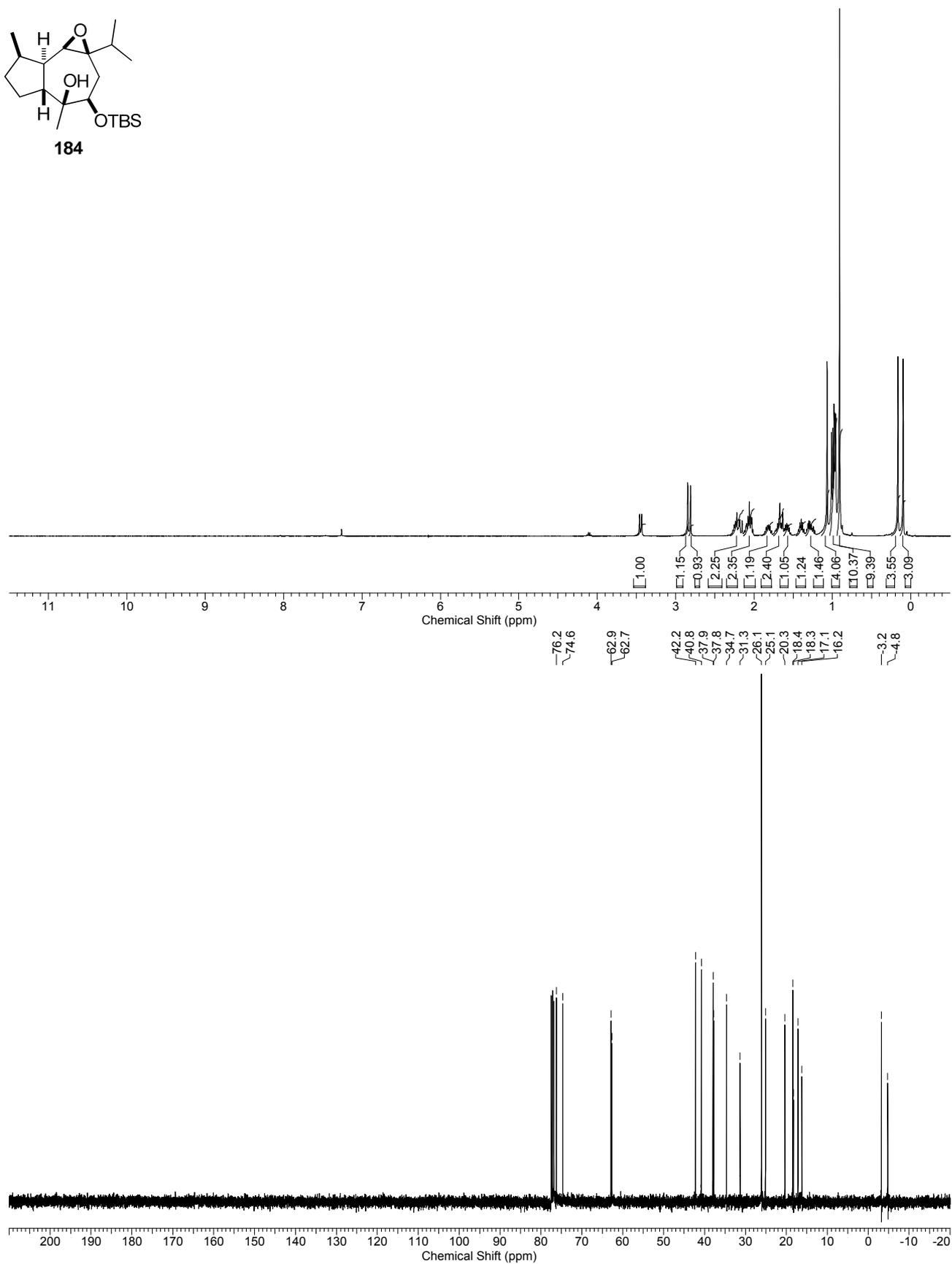
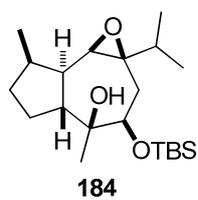


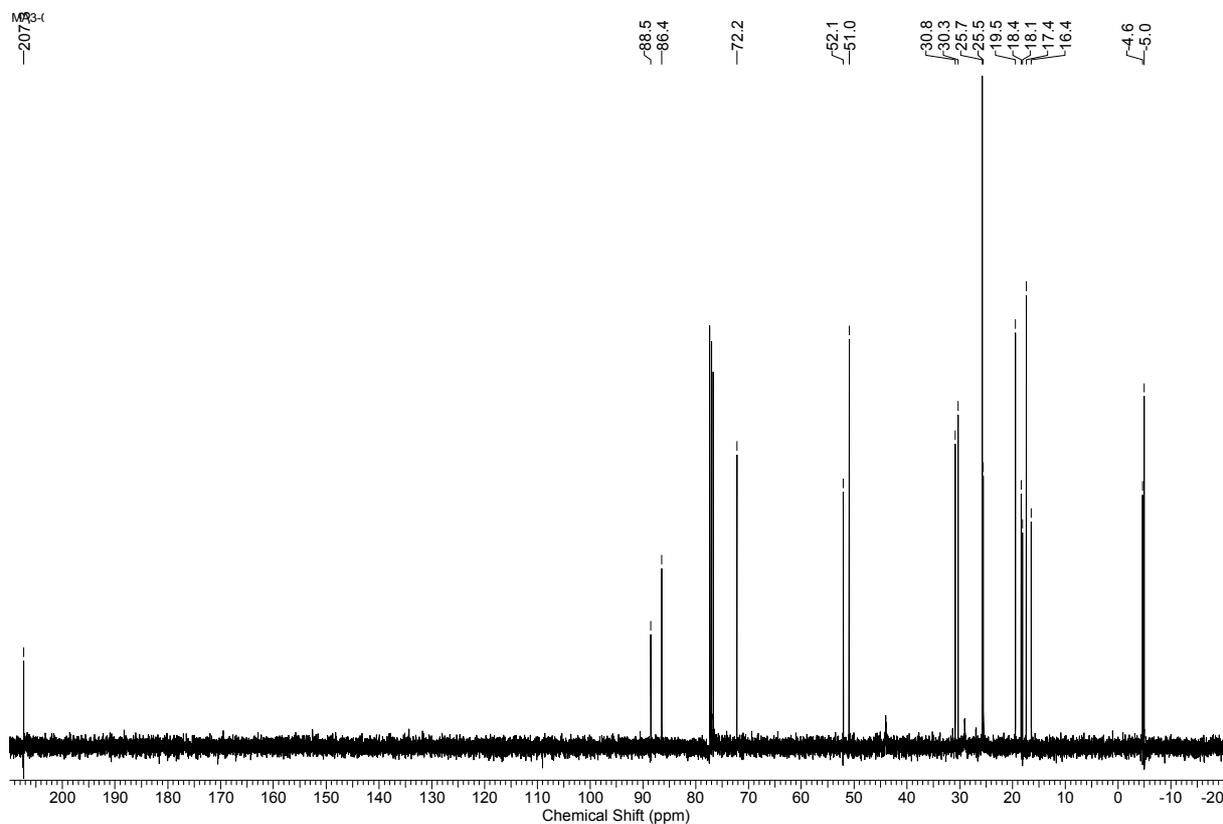
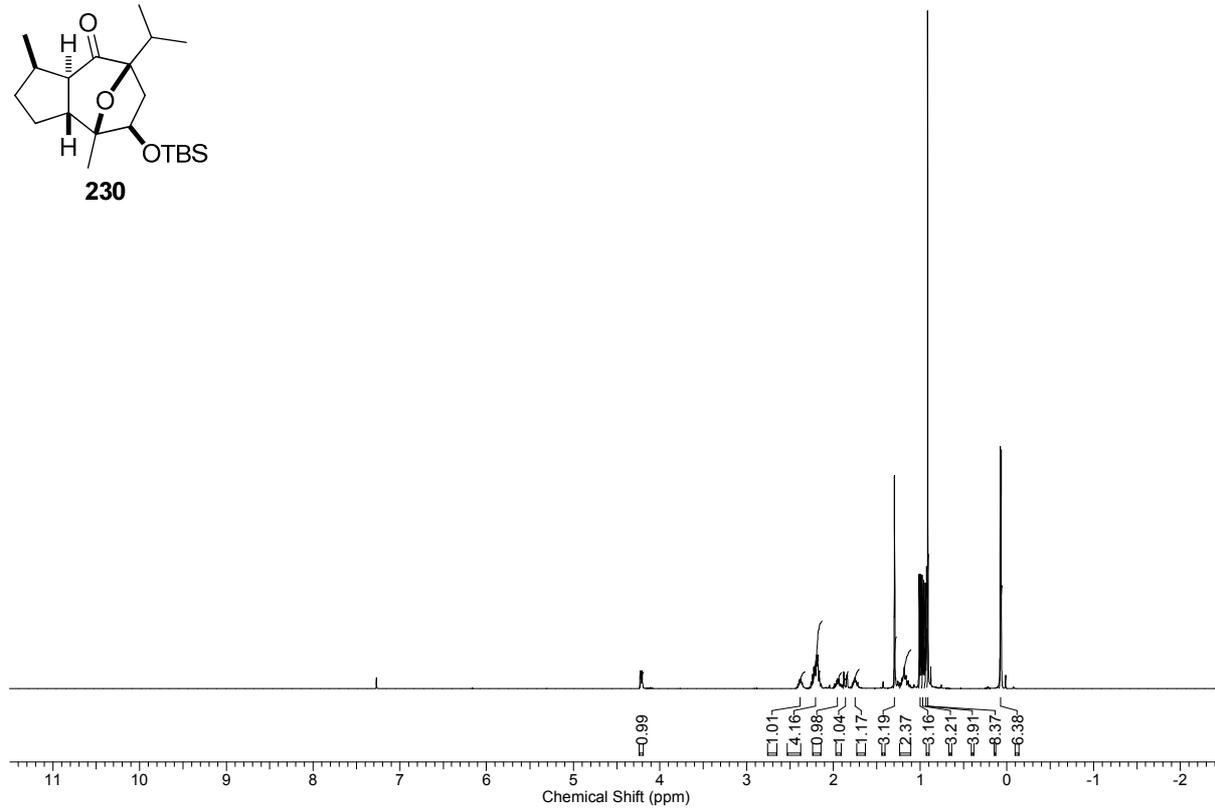
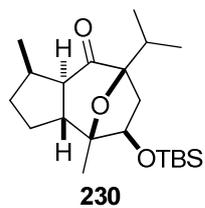
SCHAKAL

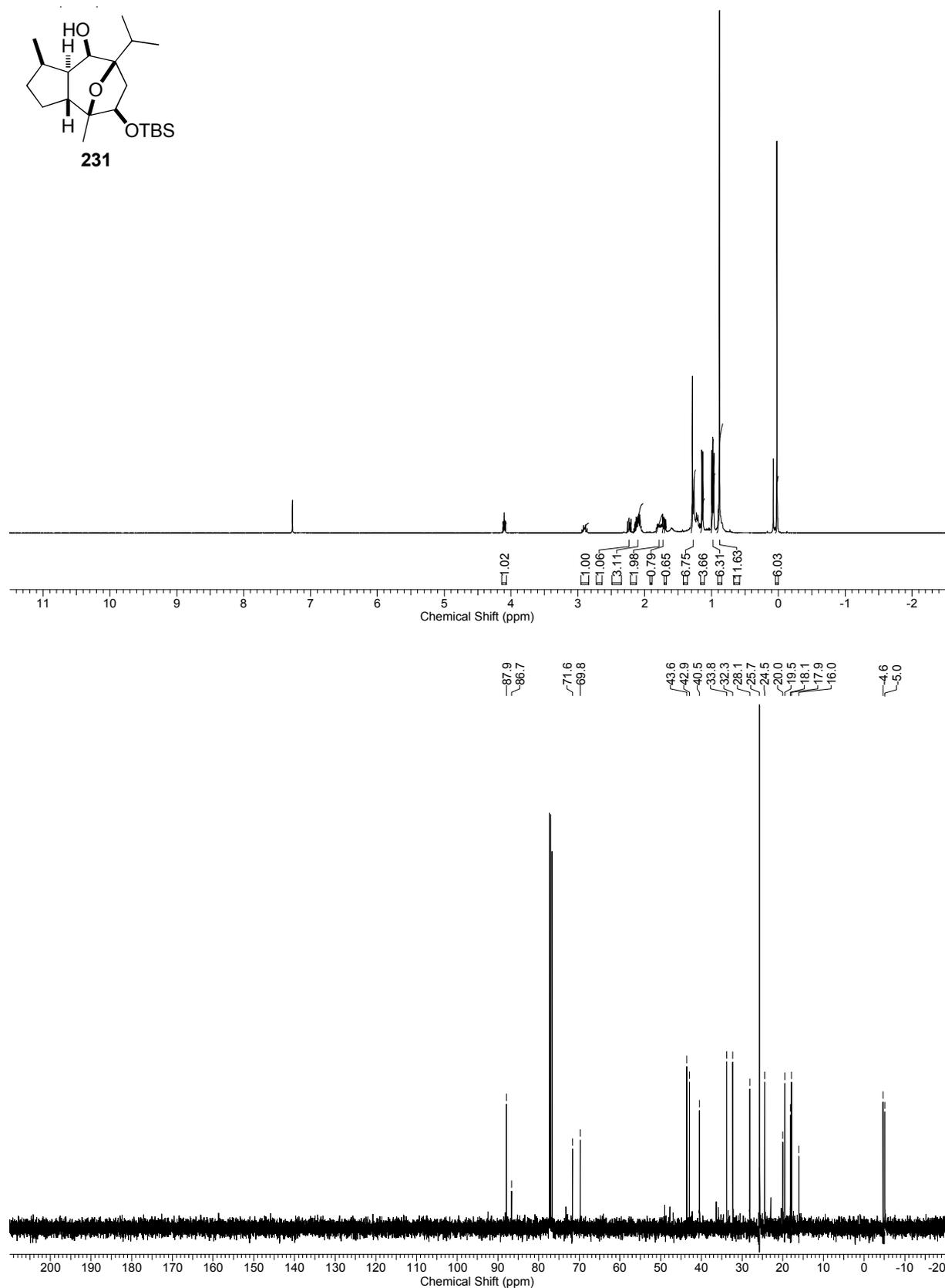
7.5 NMR-Spektren

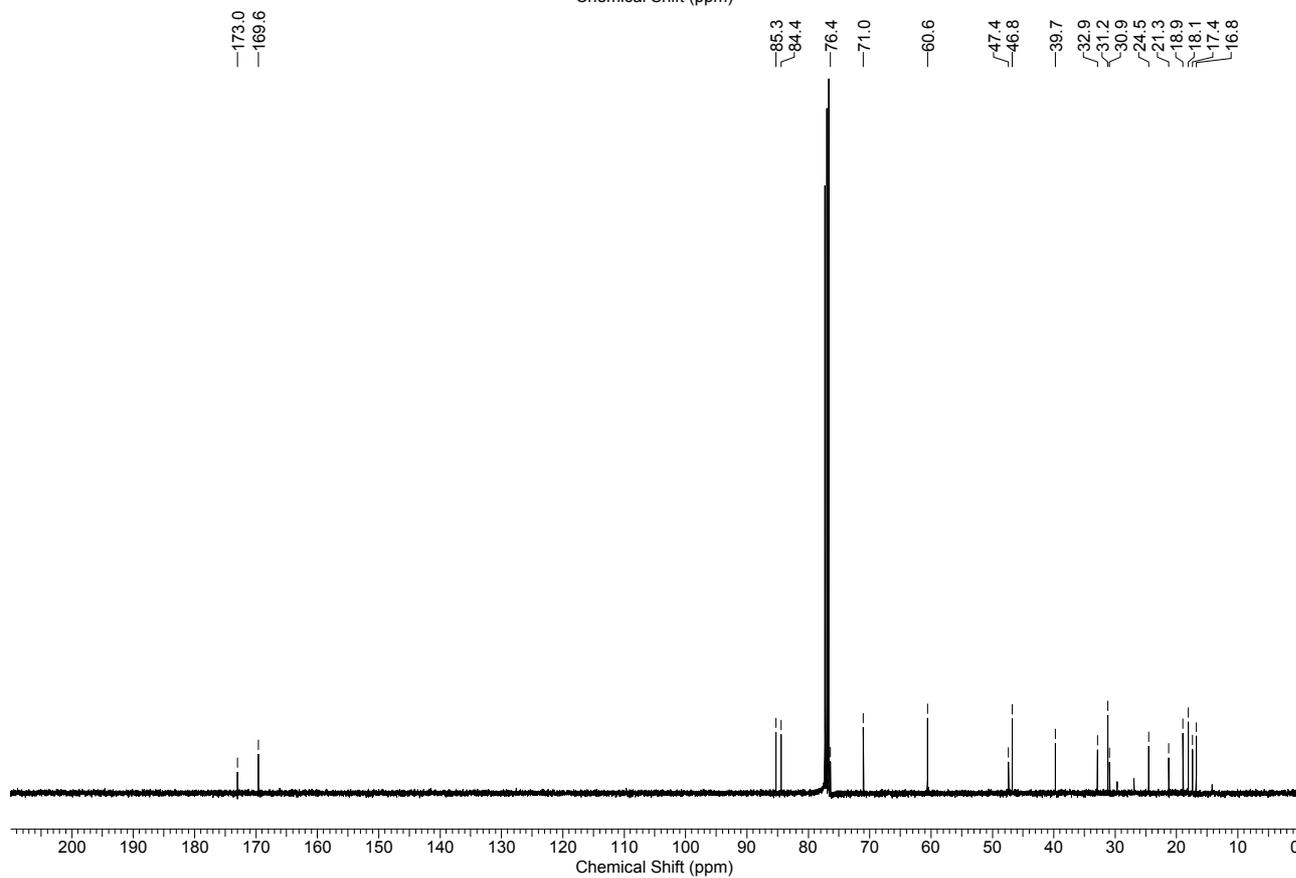
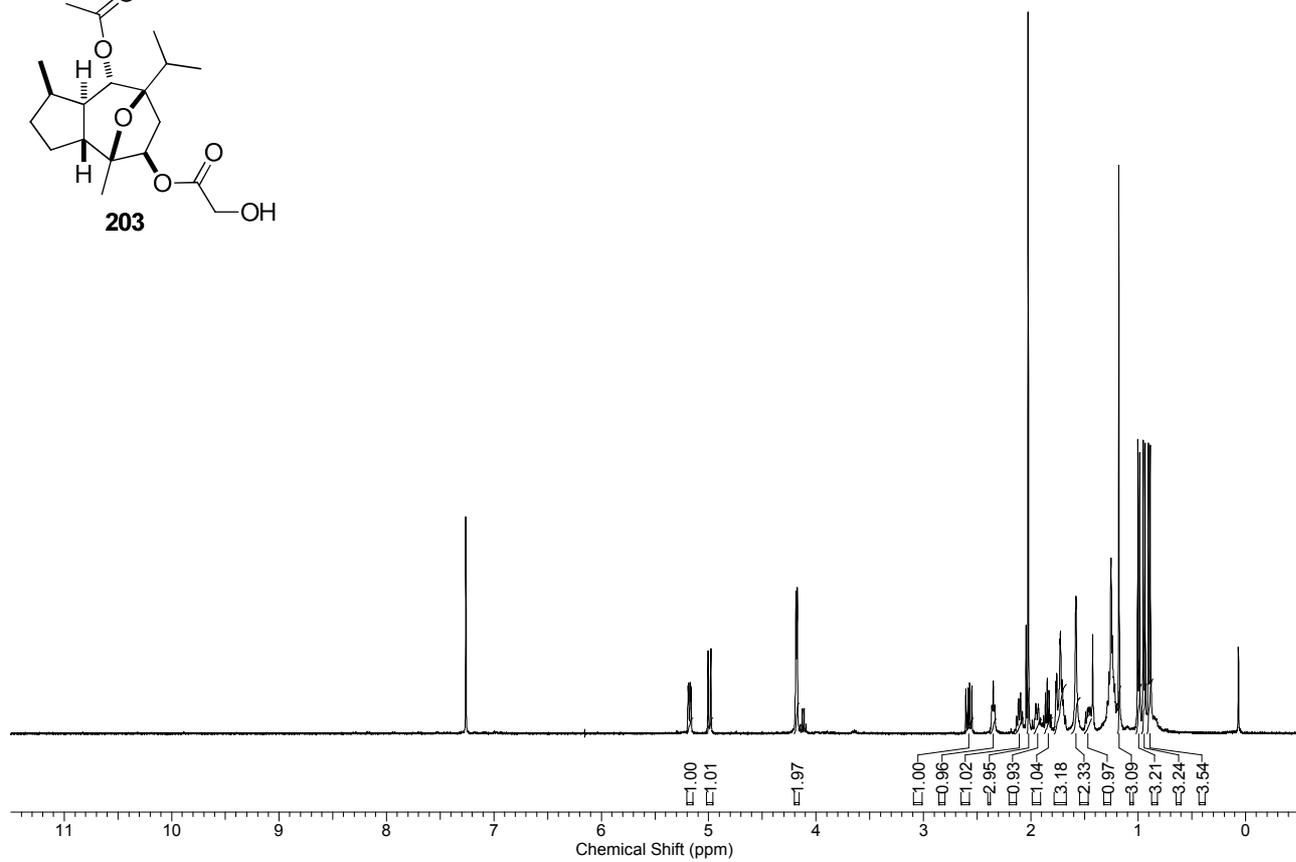
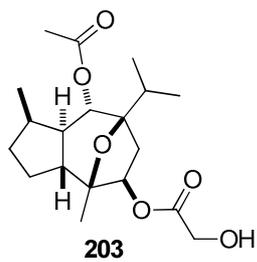


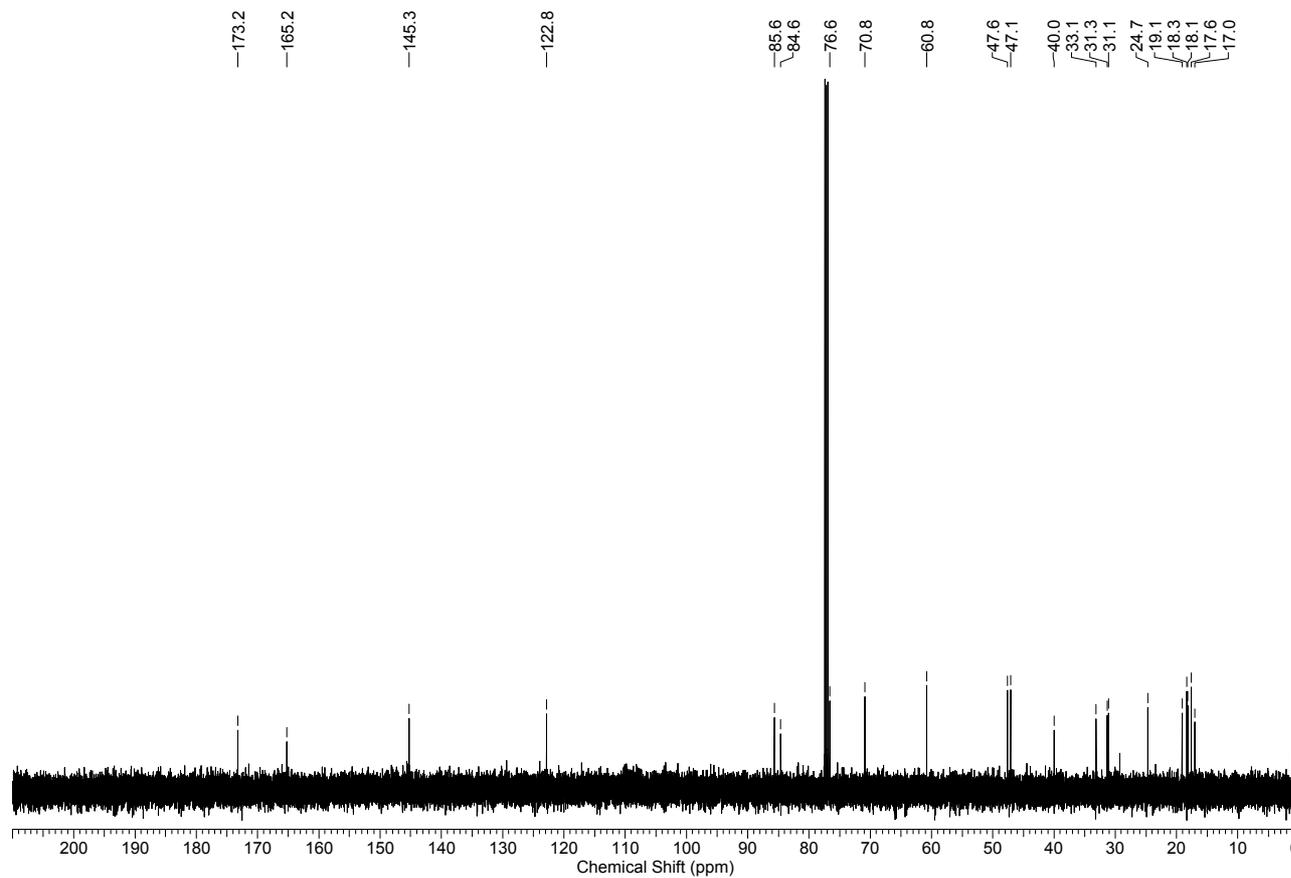
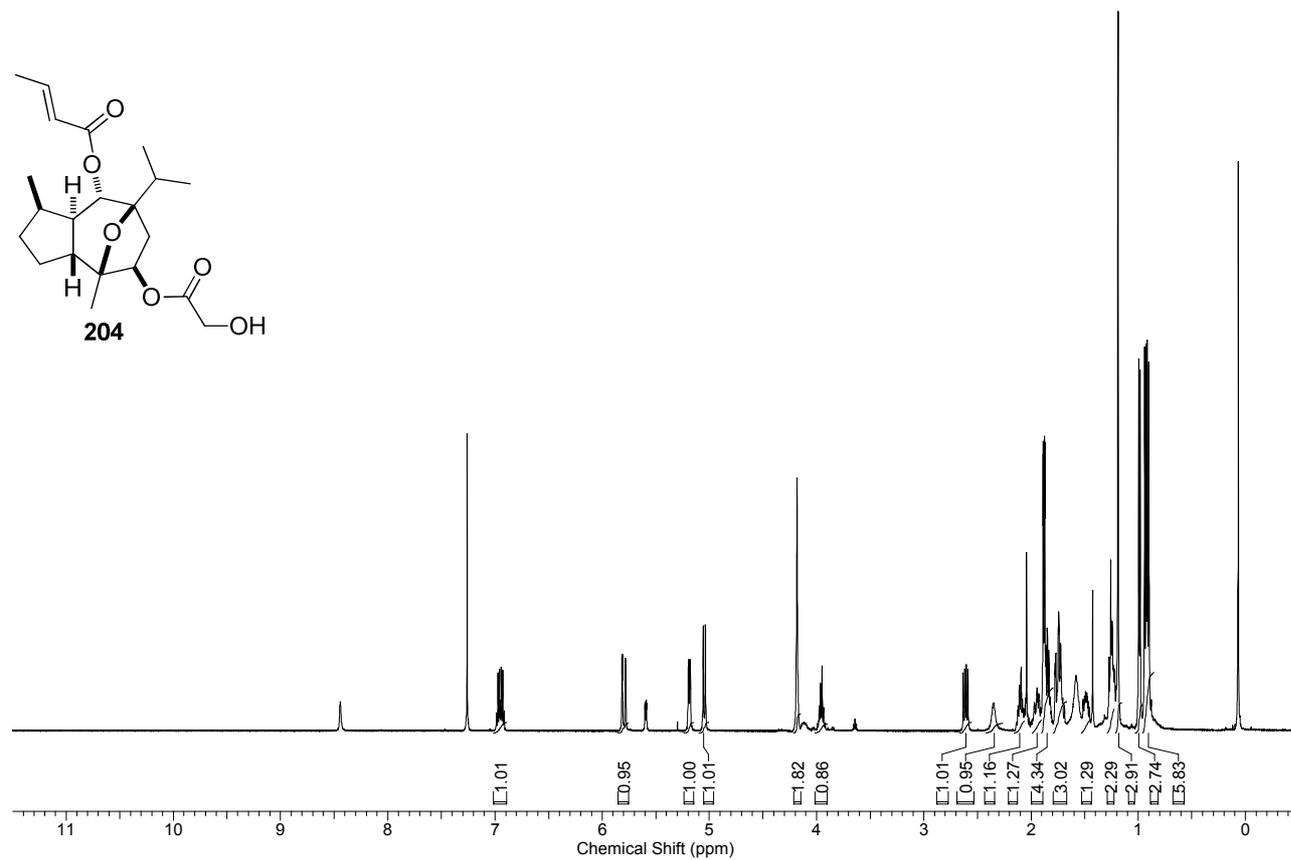
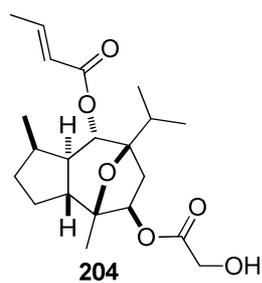


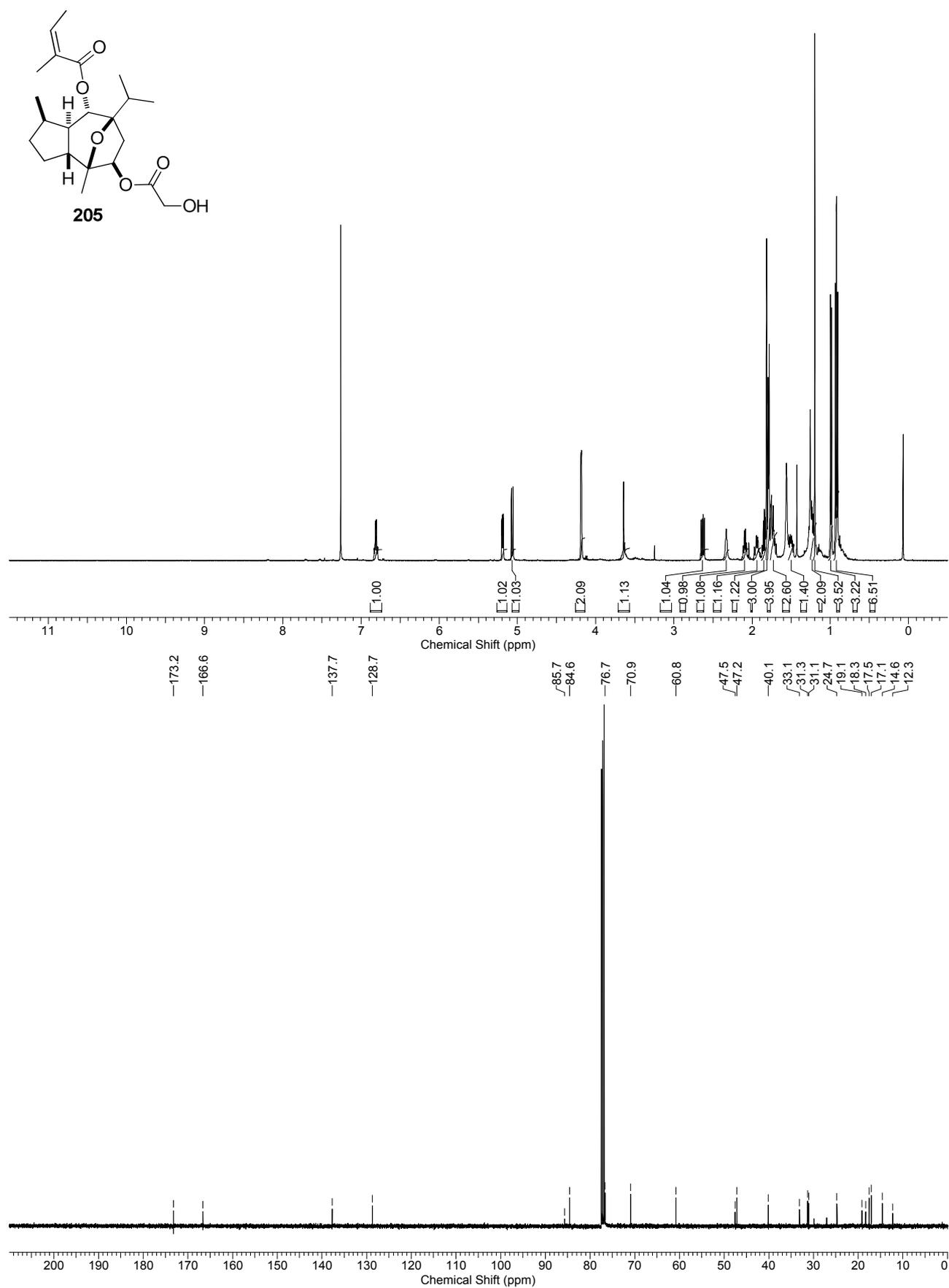


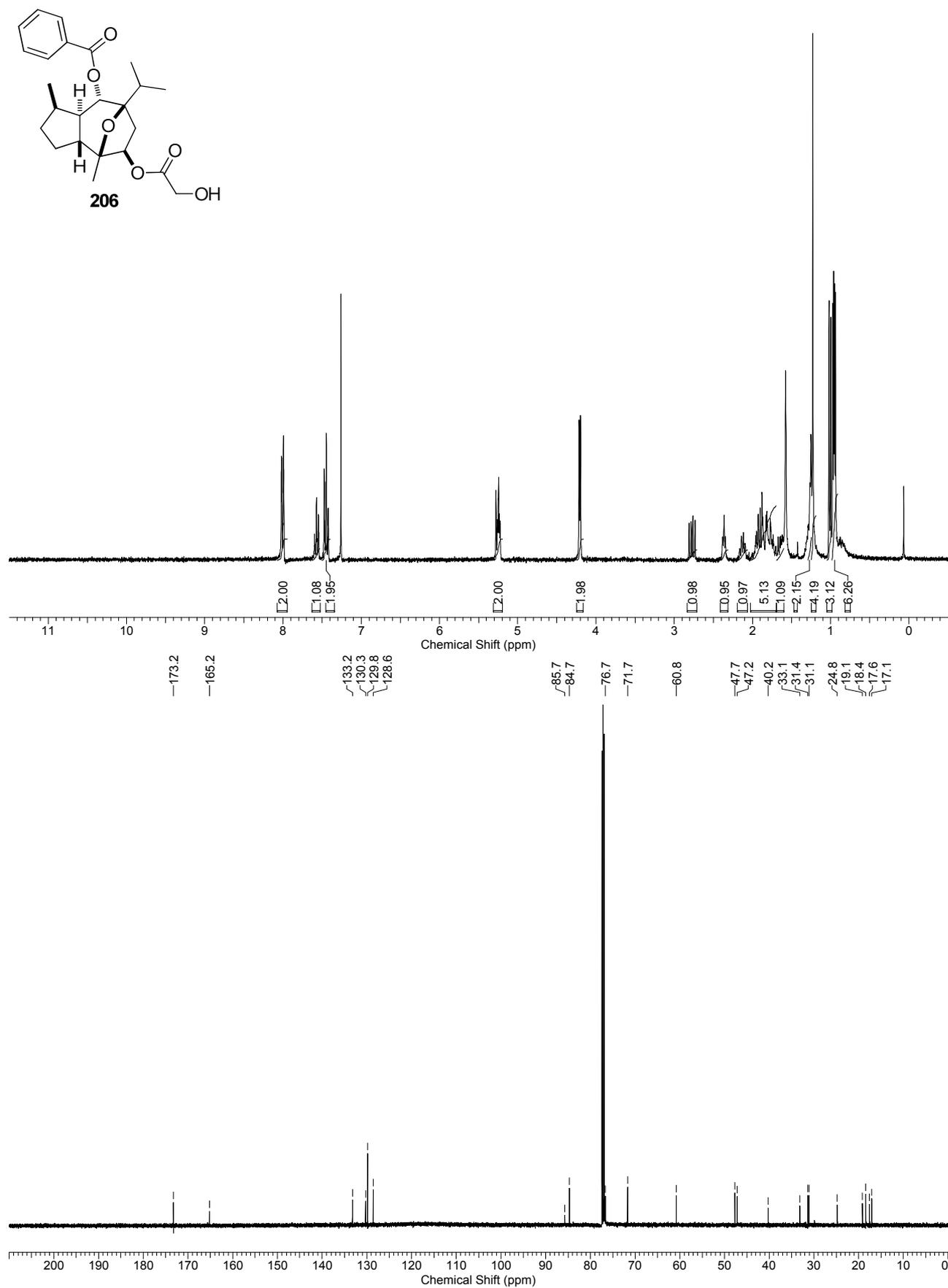


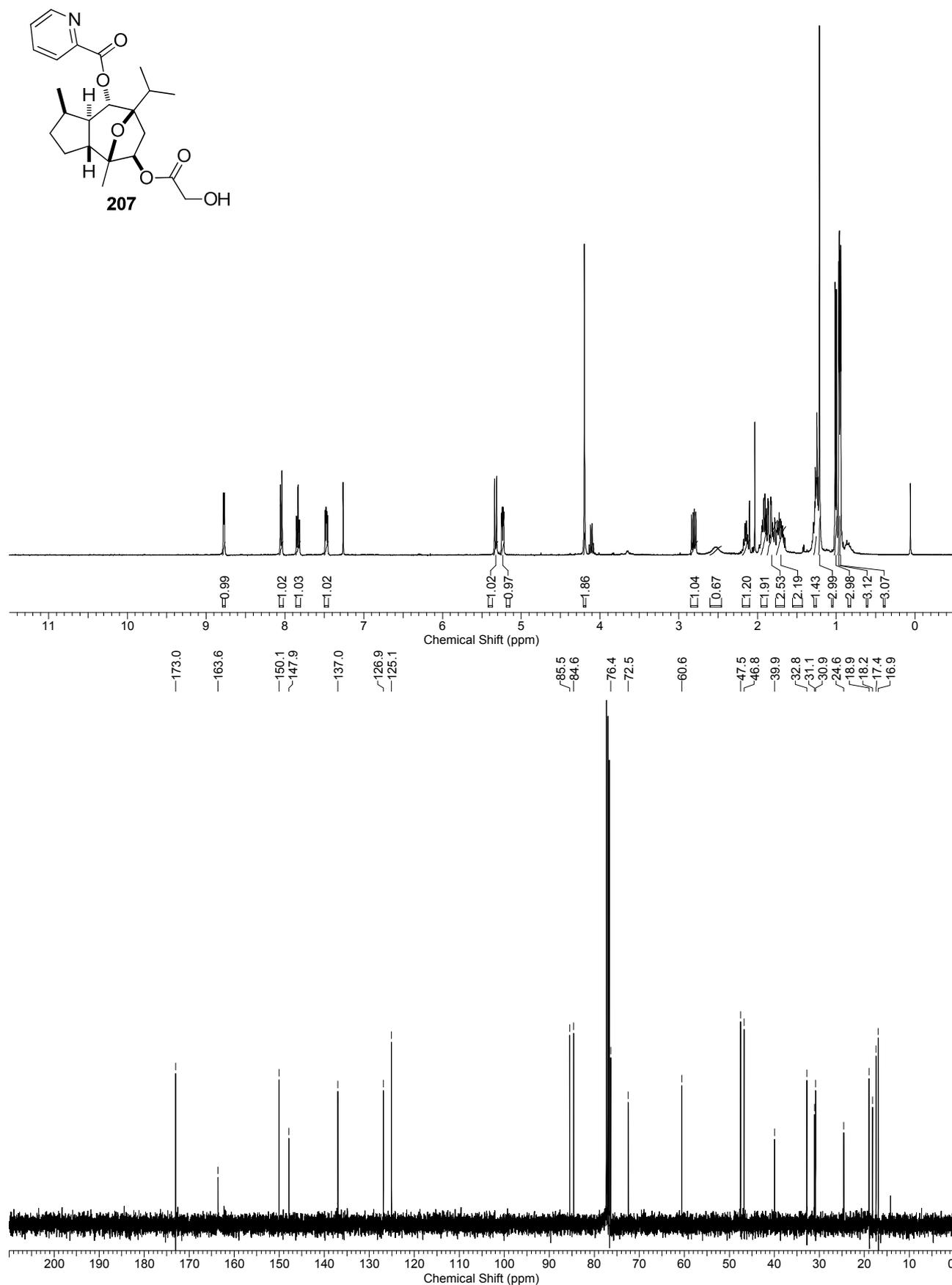


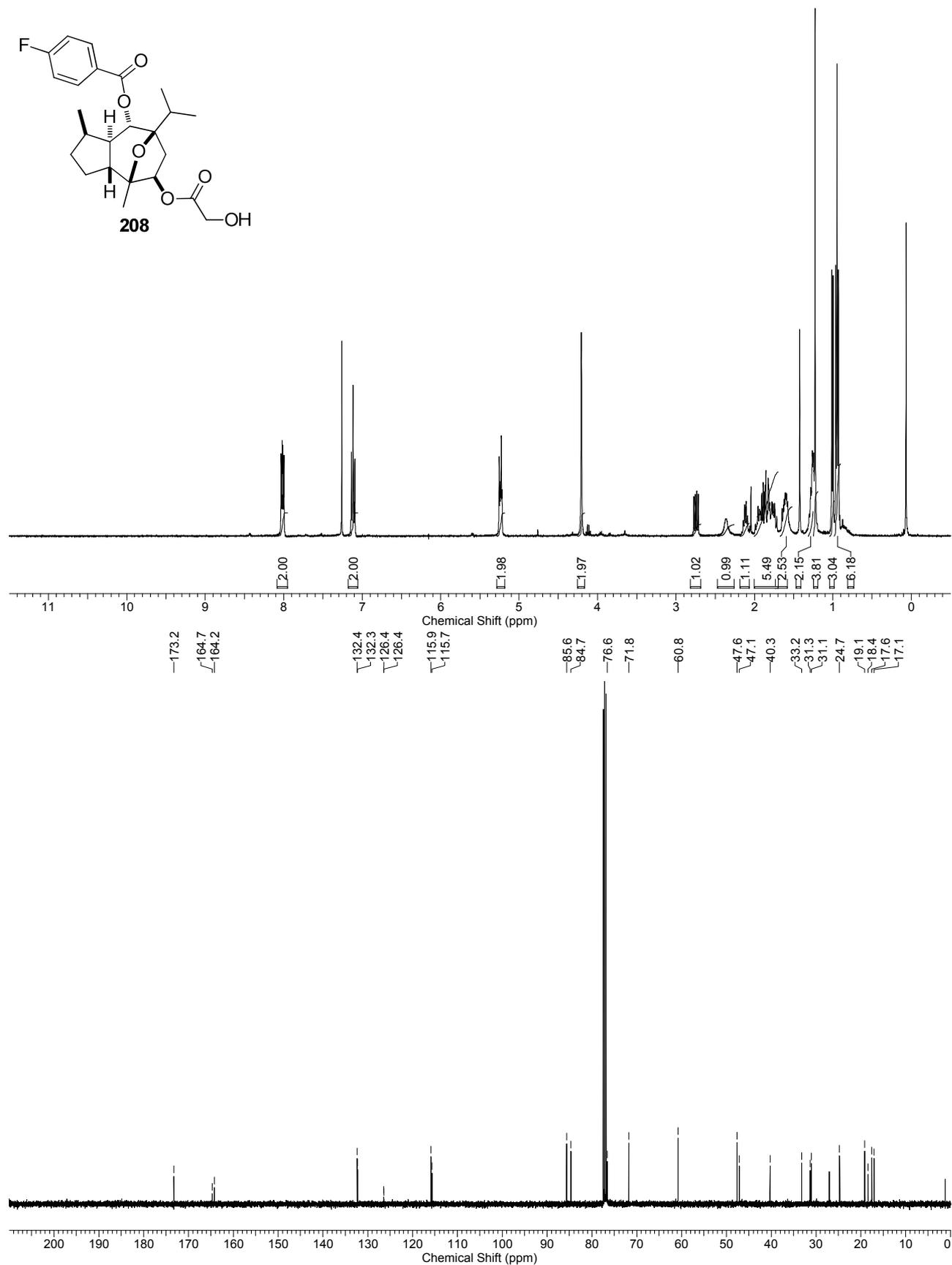


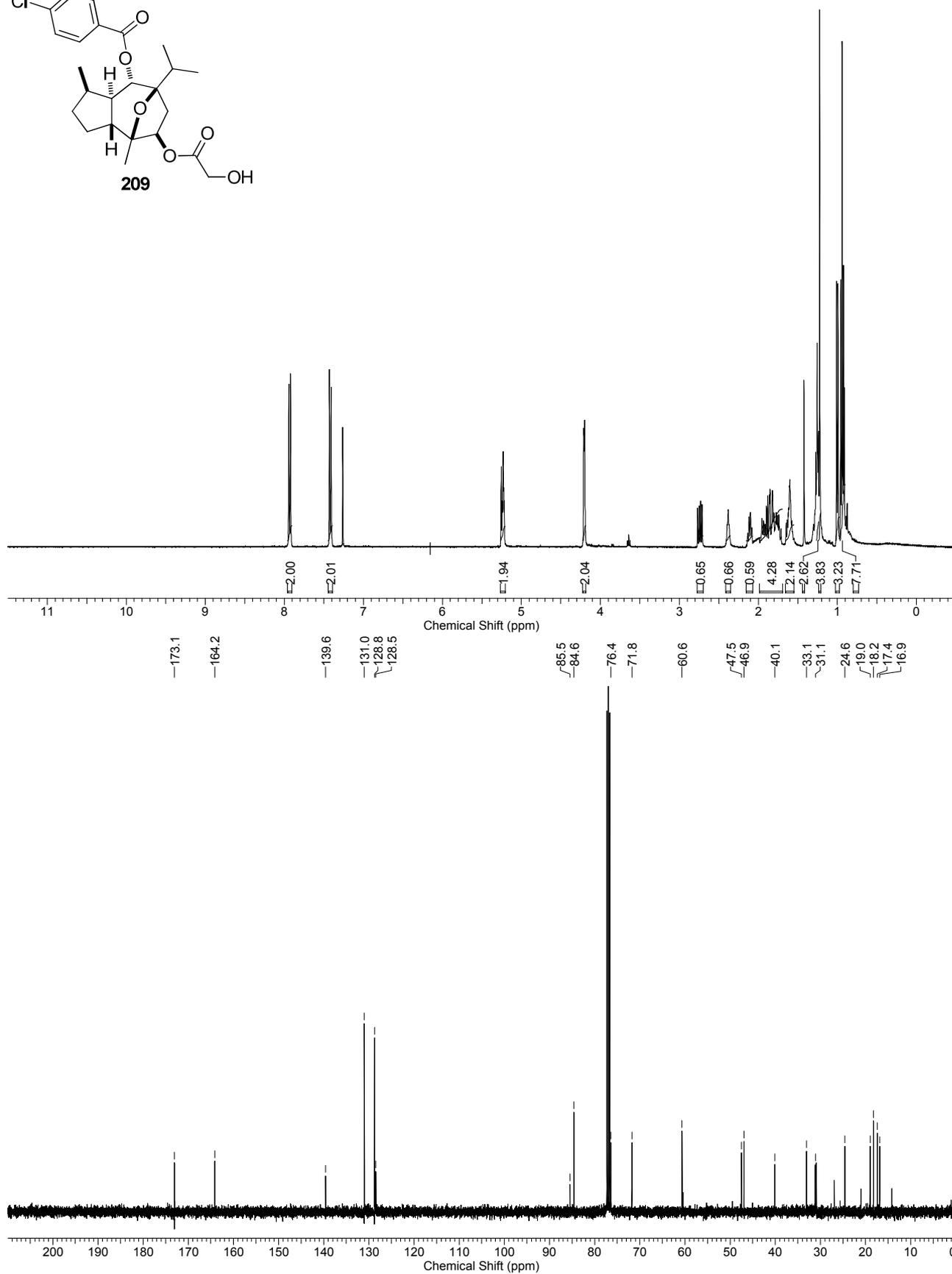
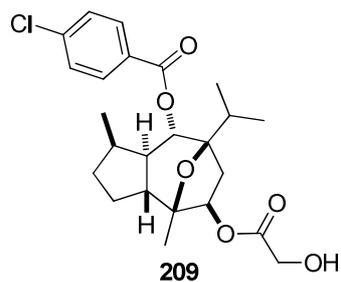


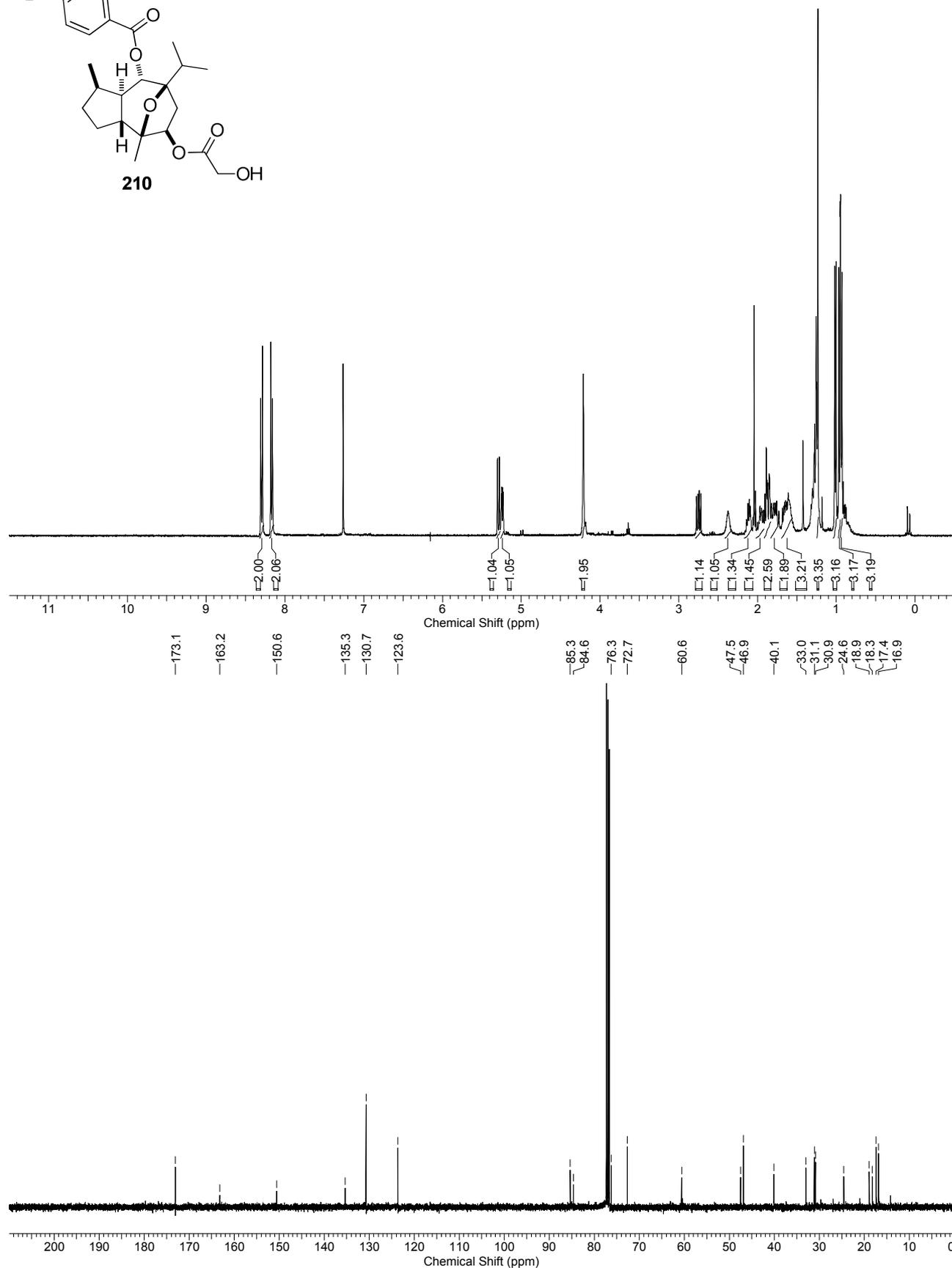
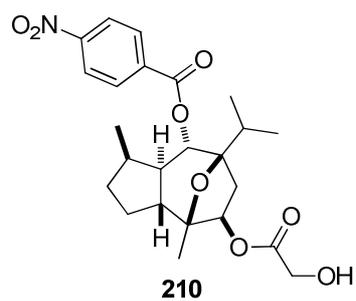


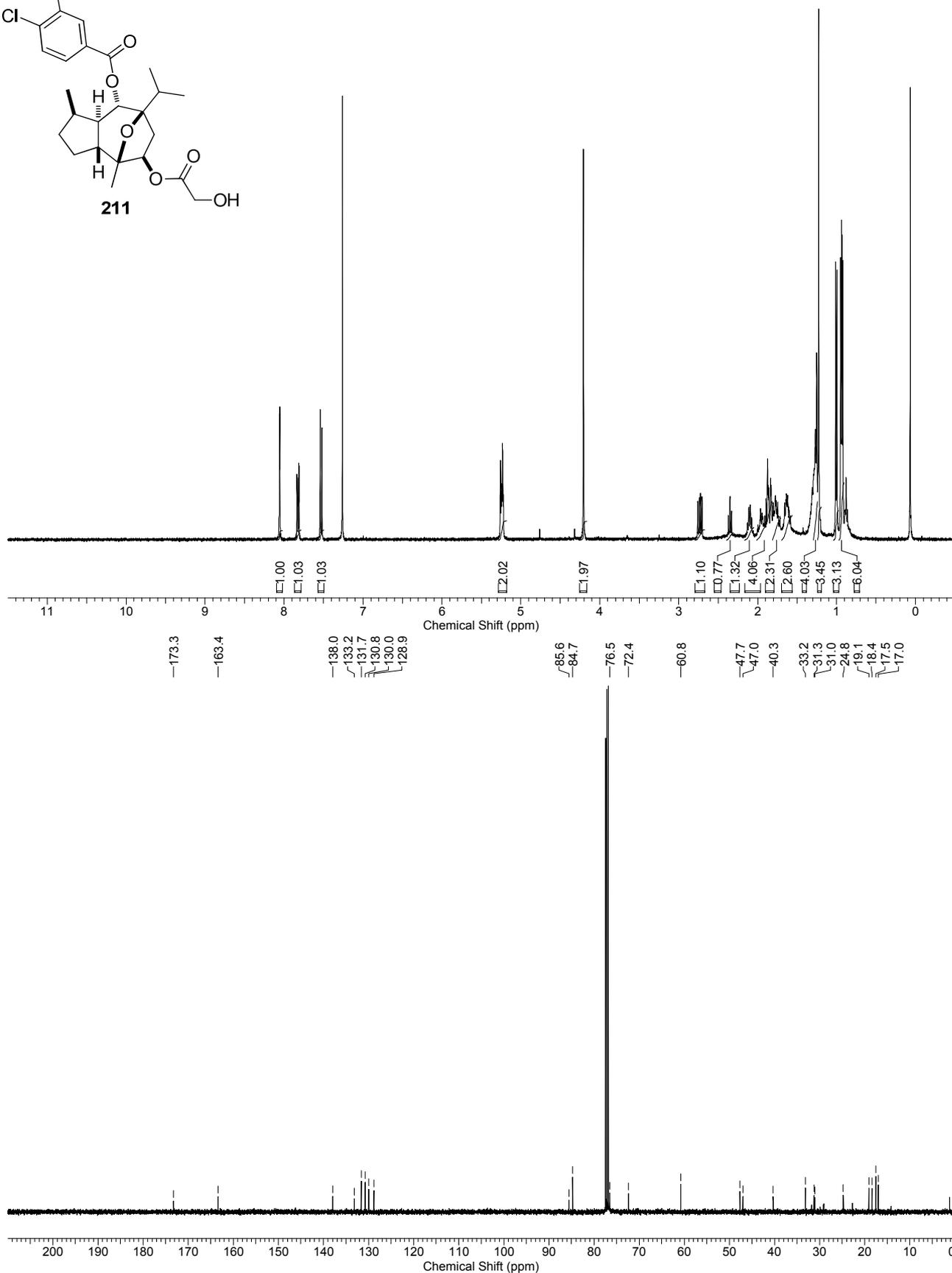
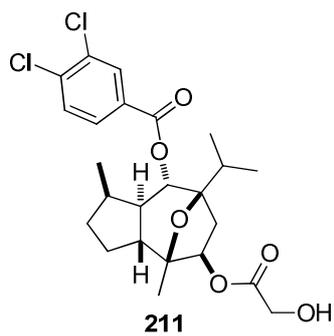


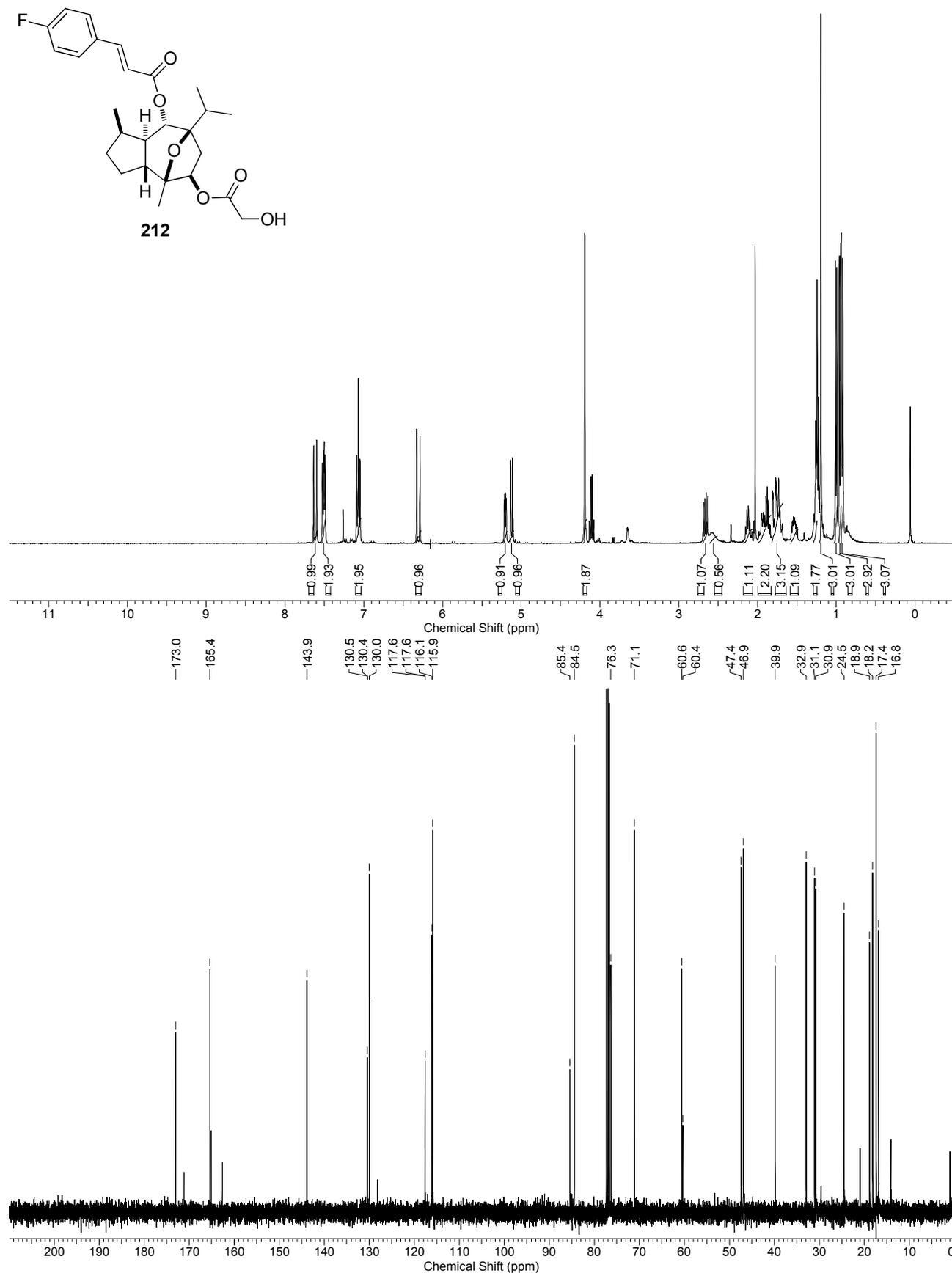


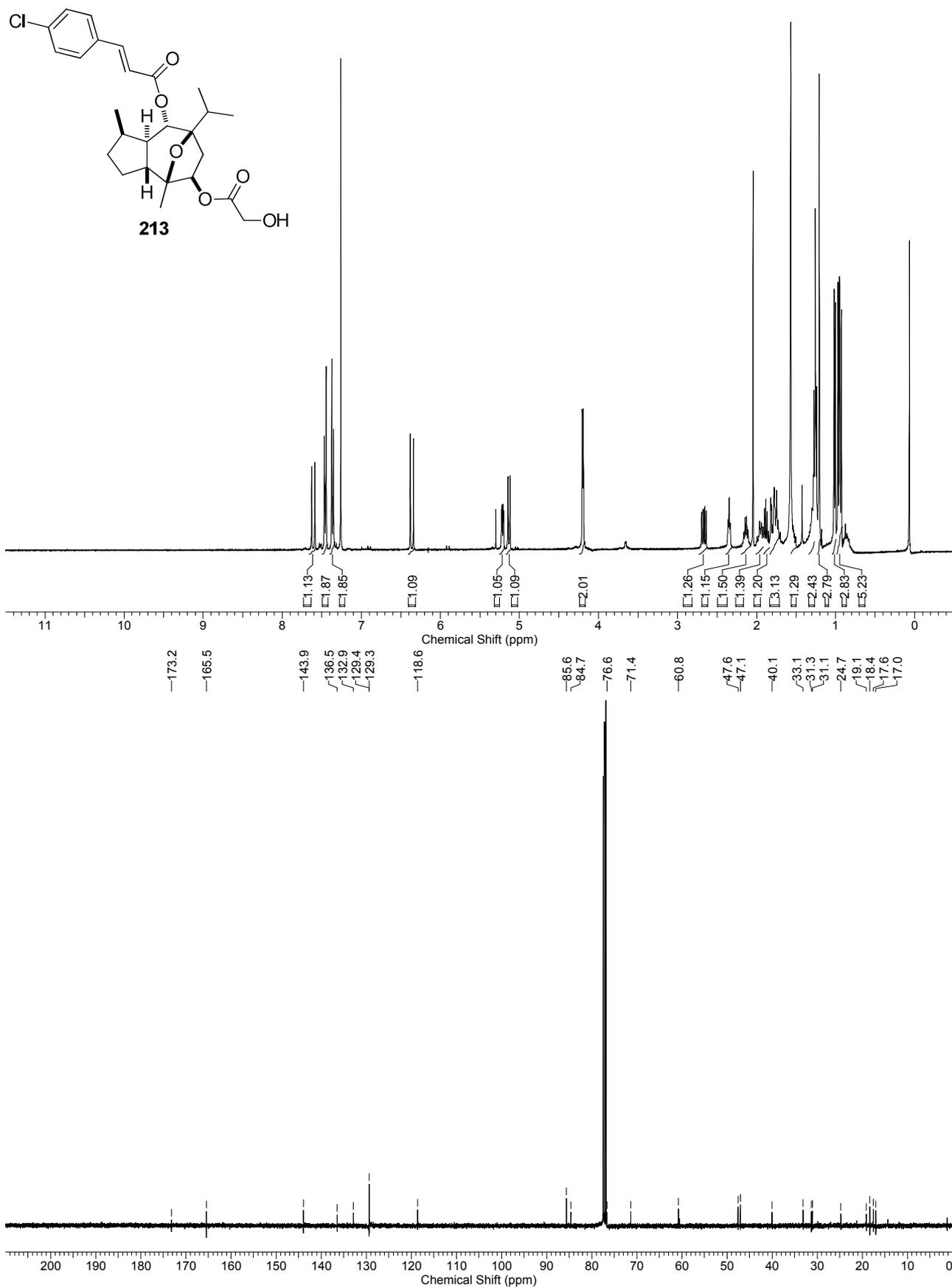


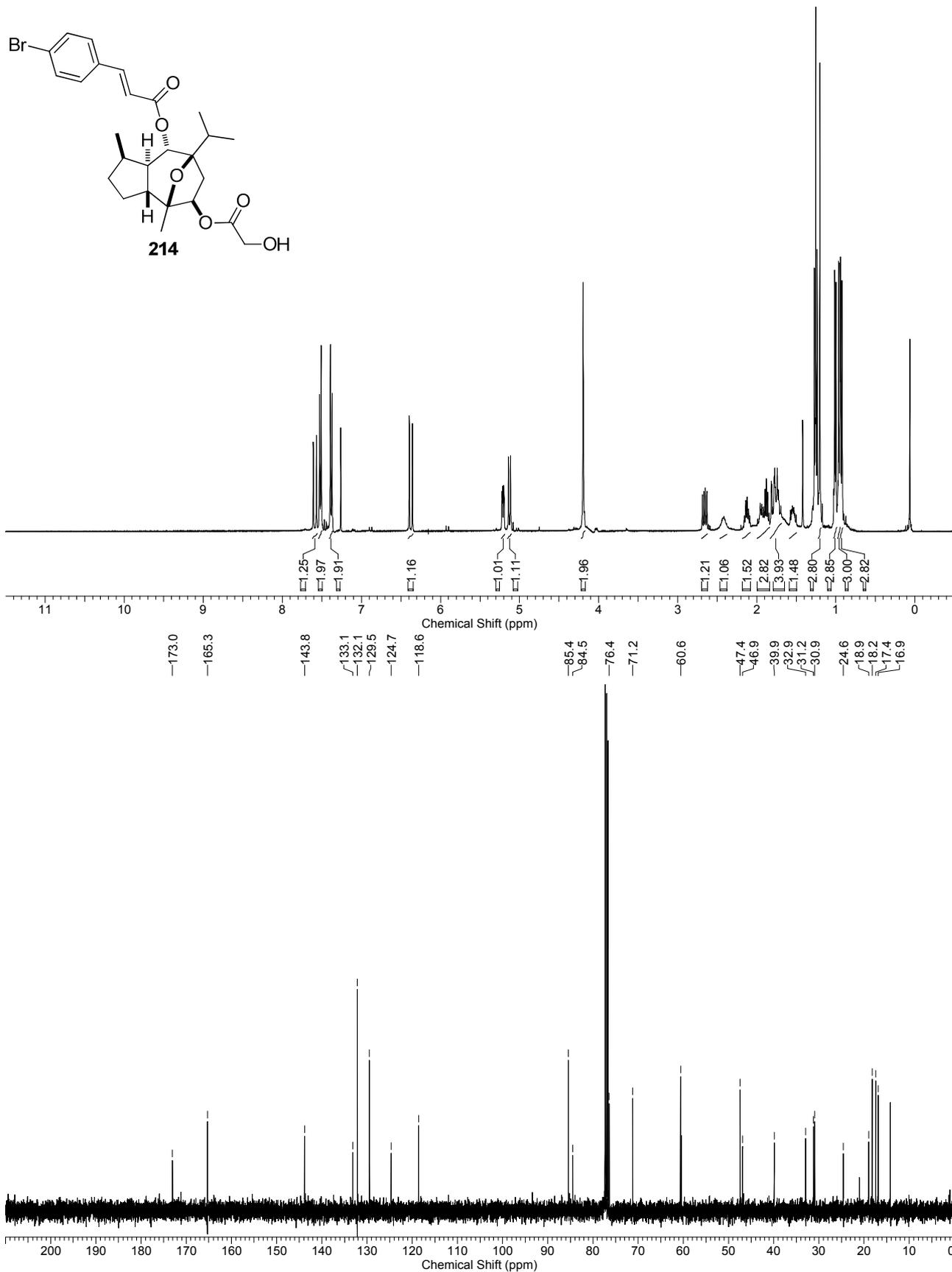


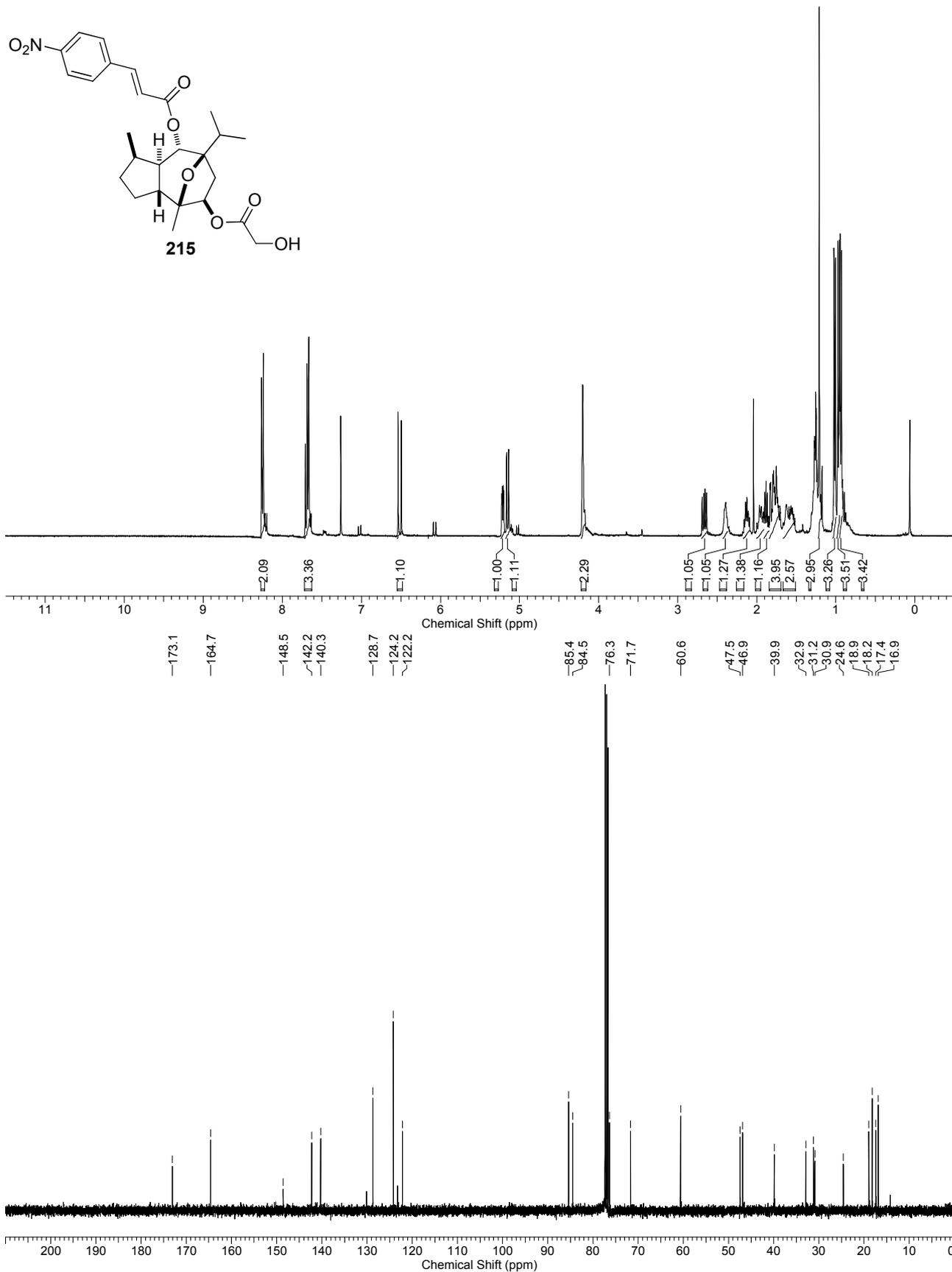


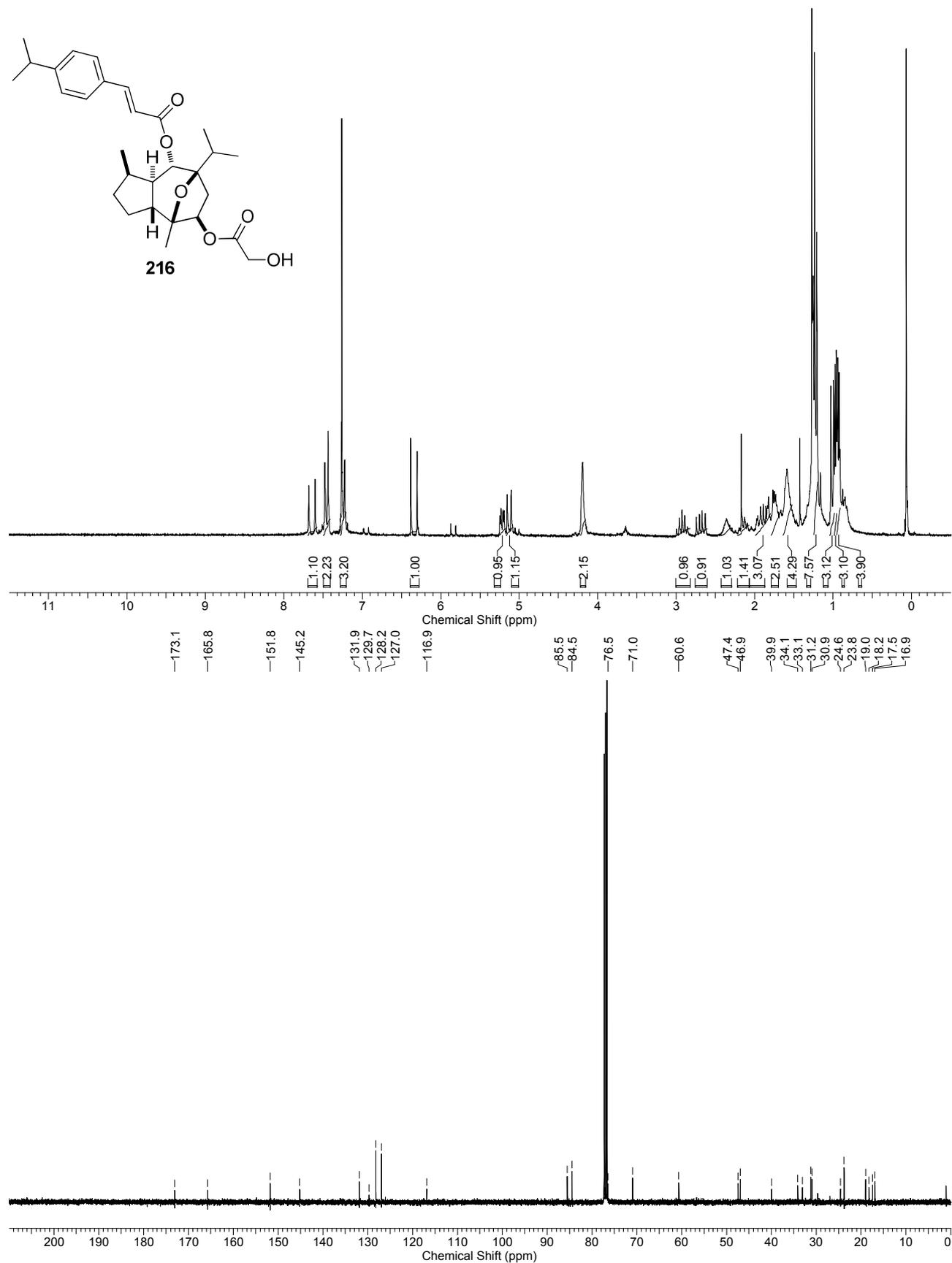


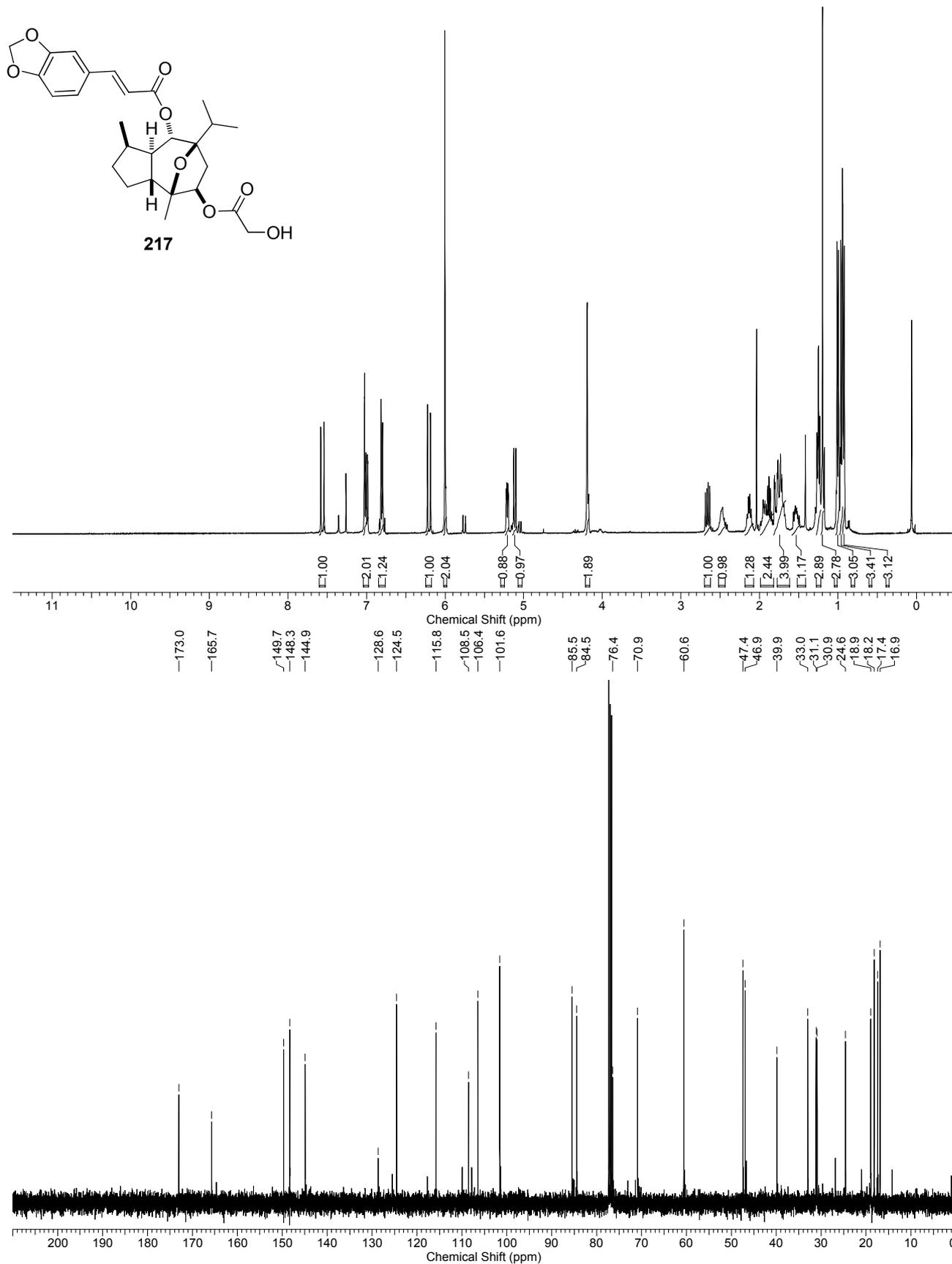


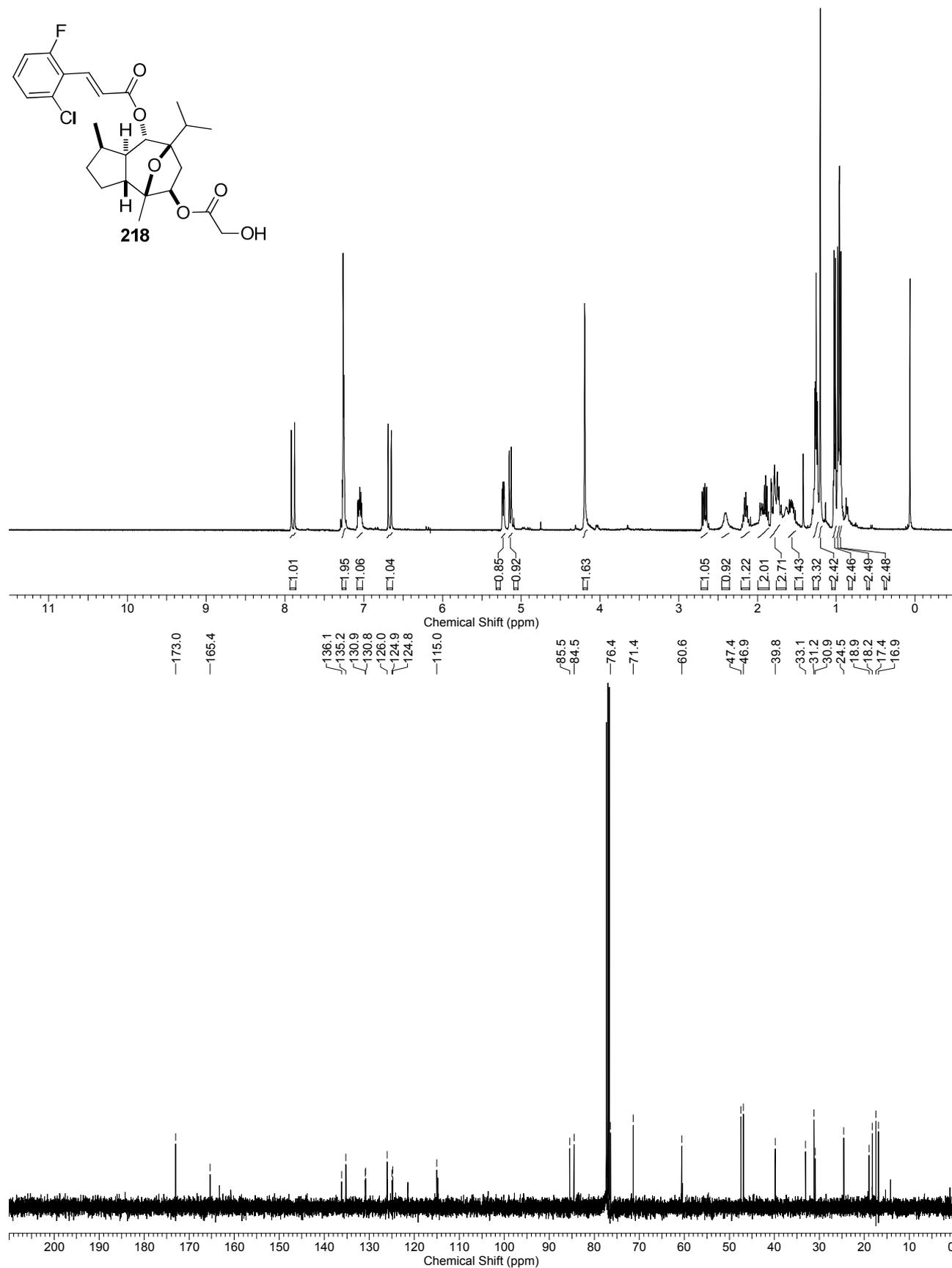


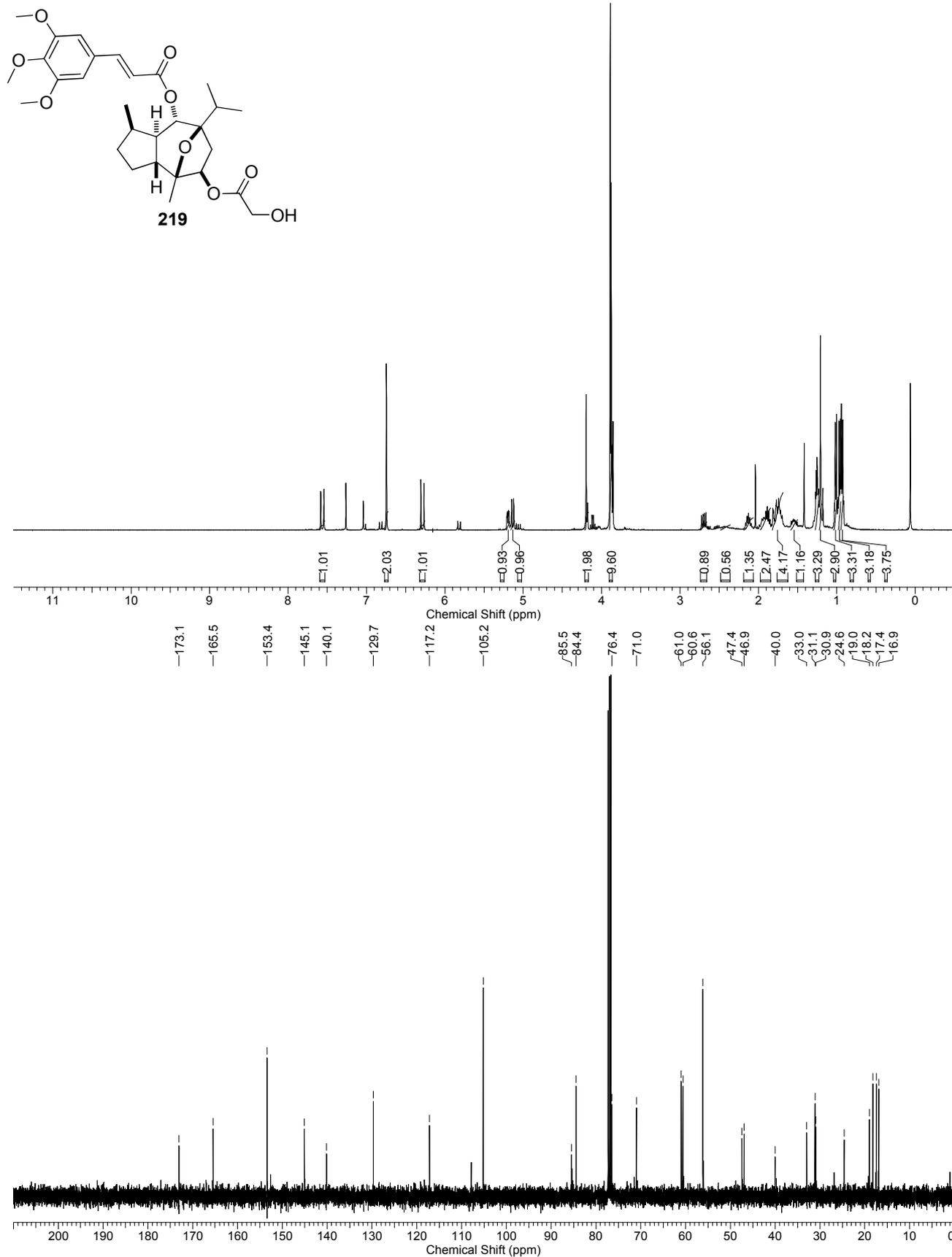


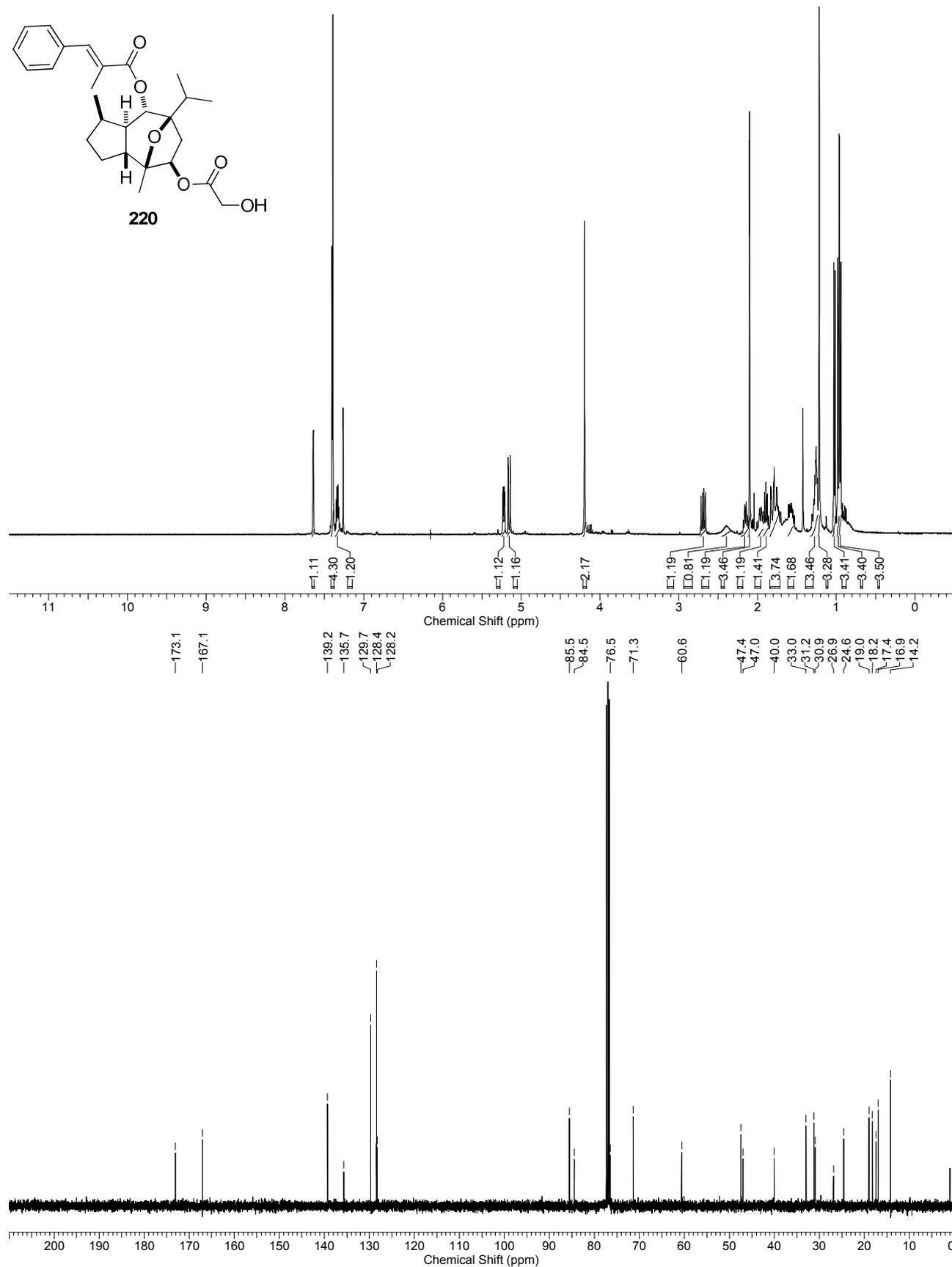


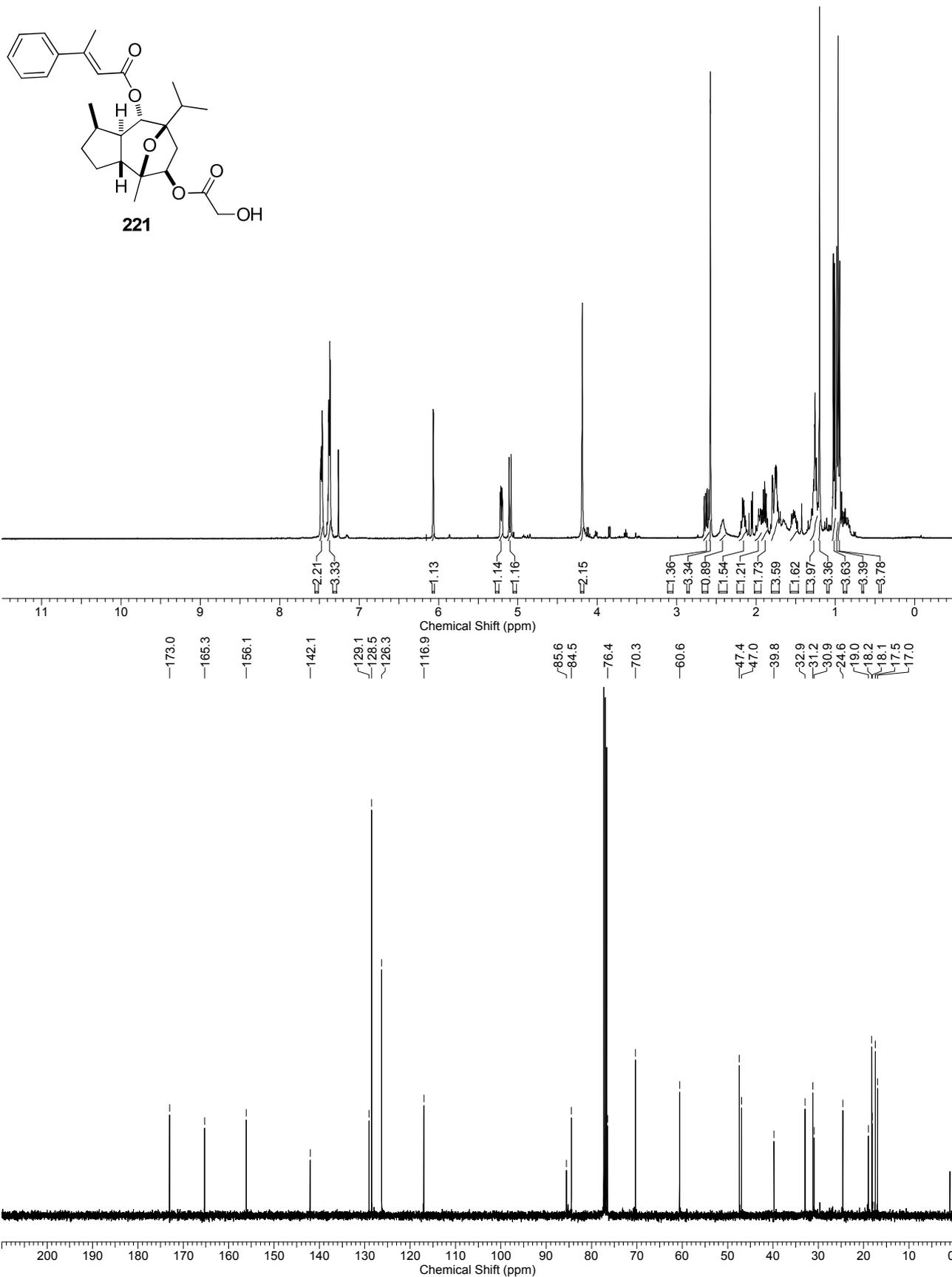


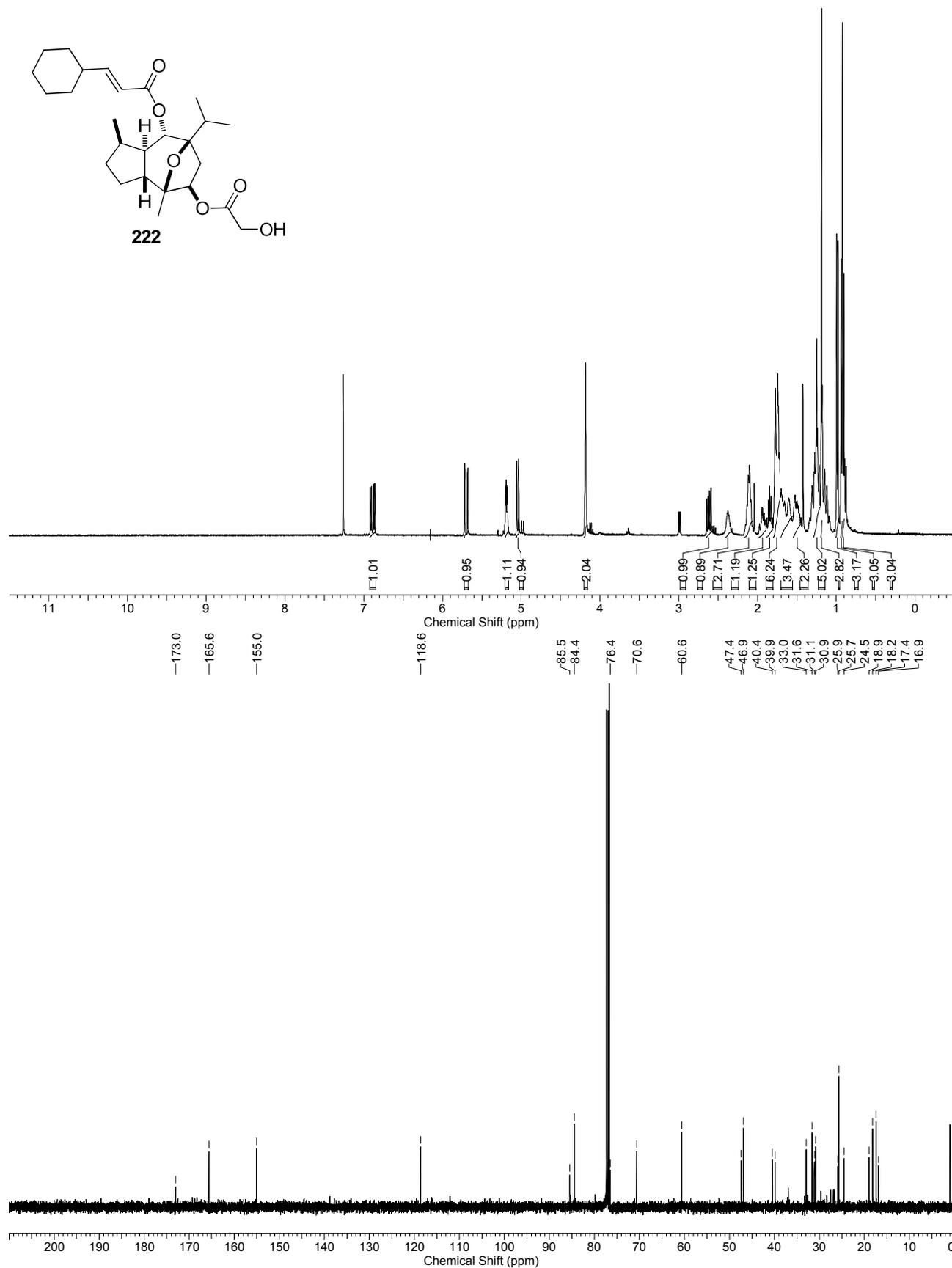


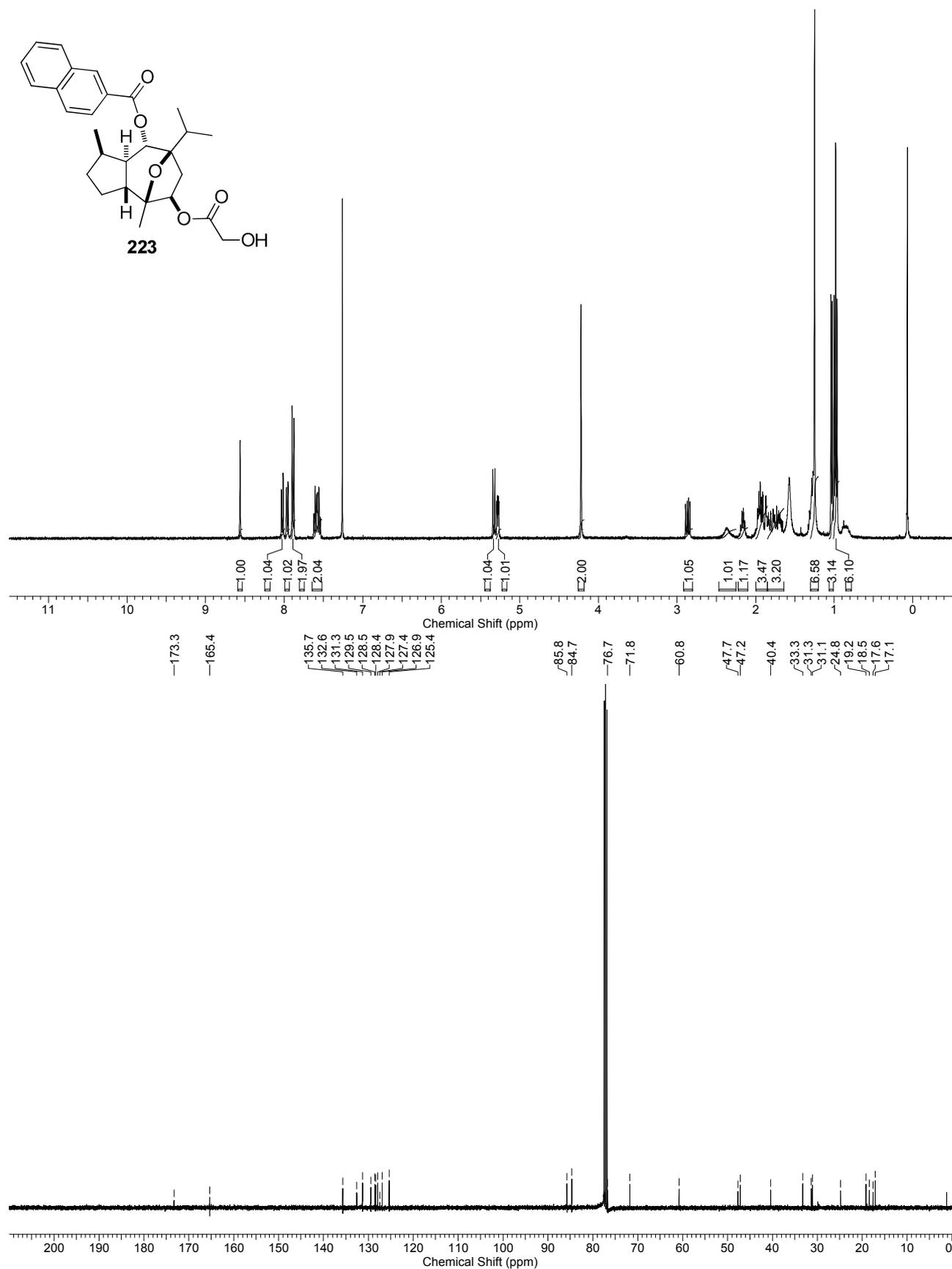


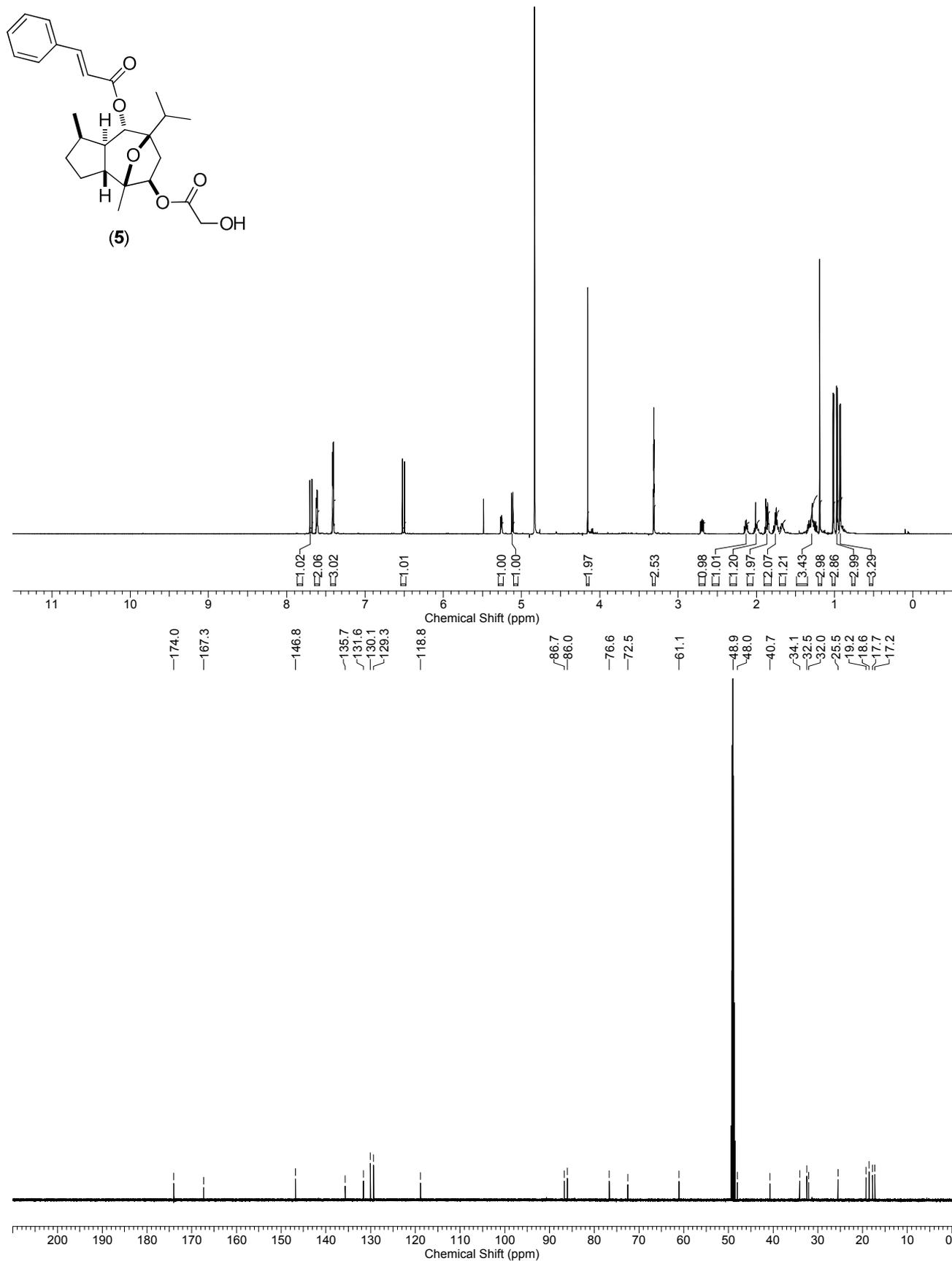


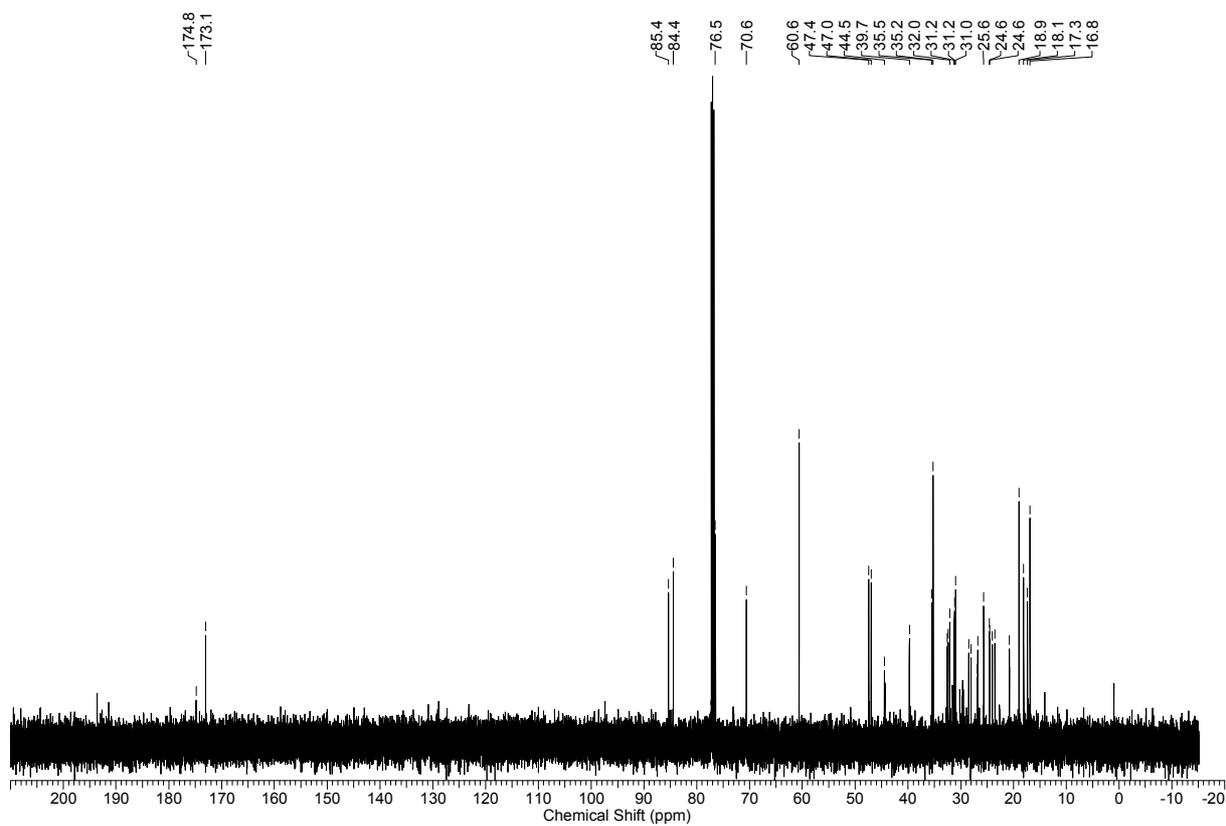
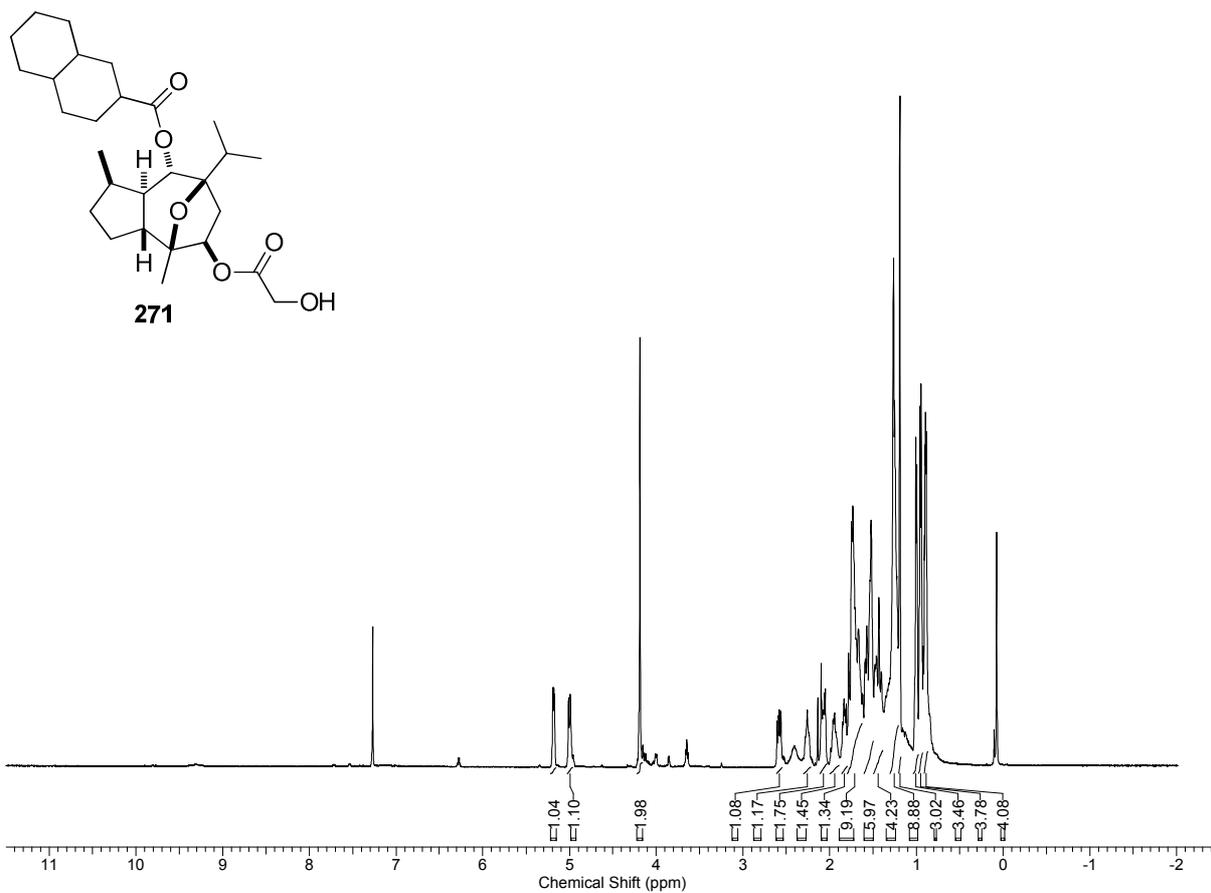


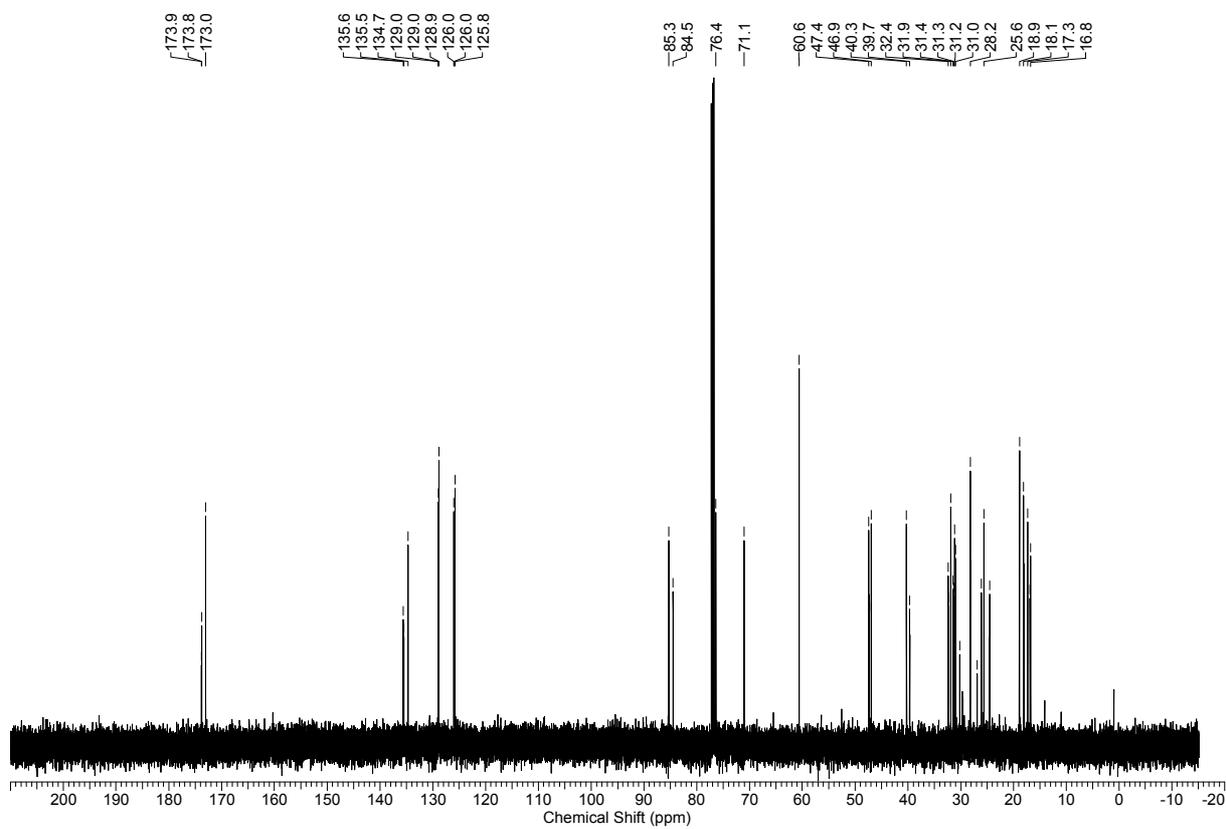
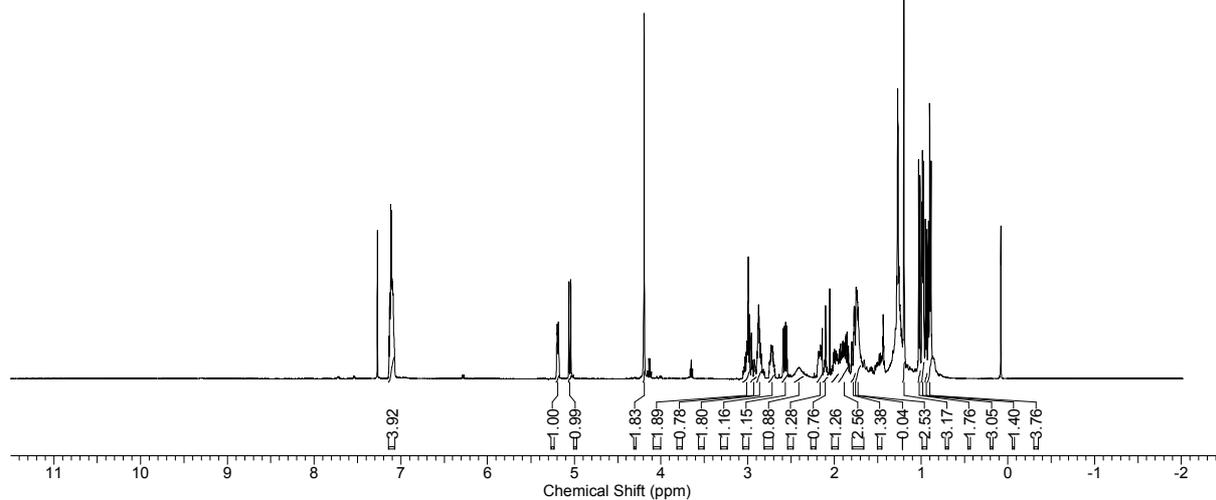
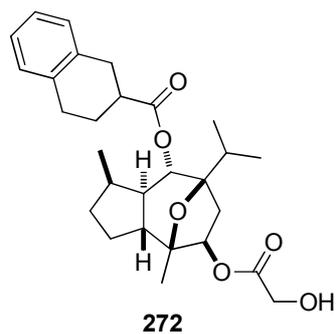


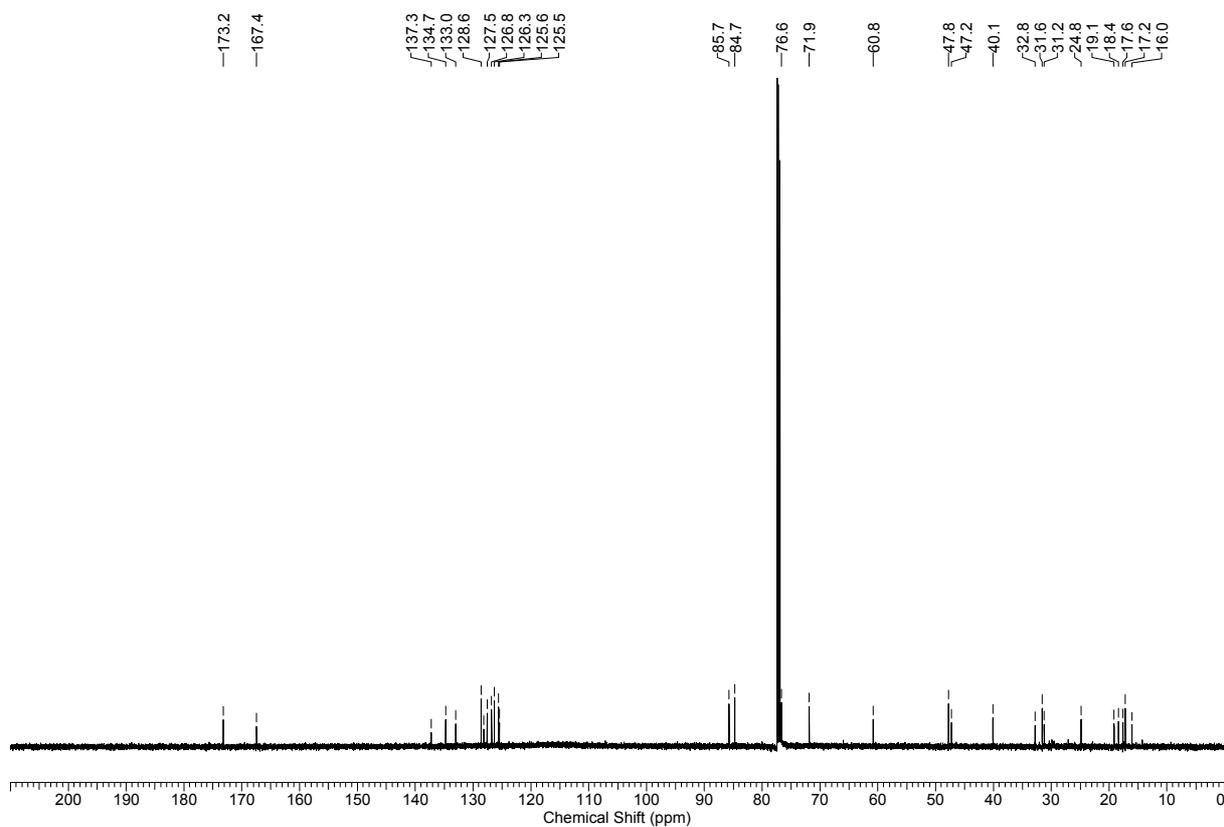
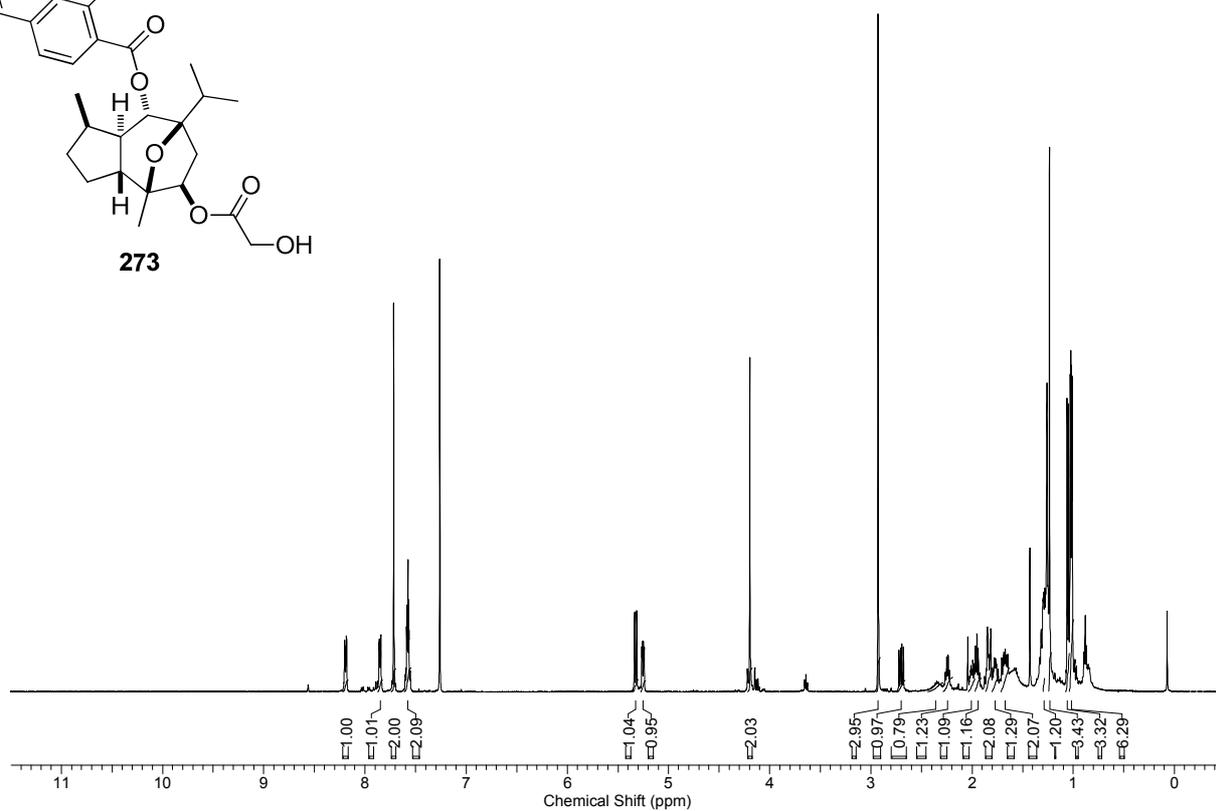
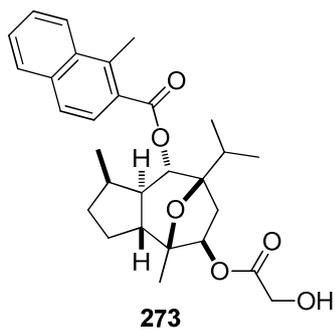


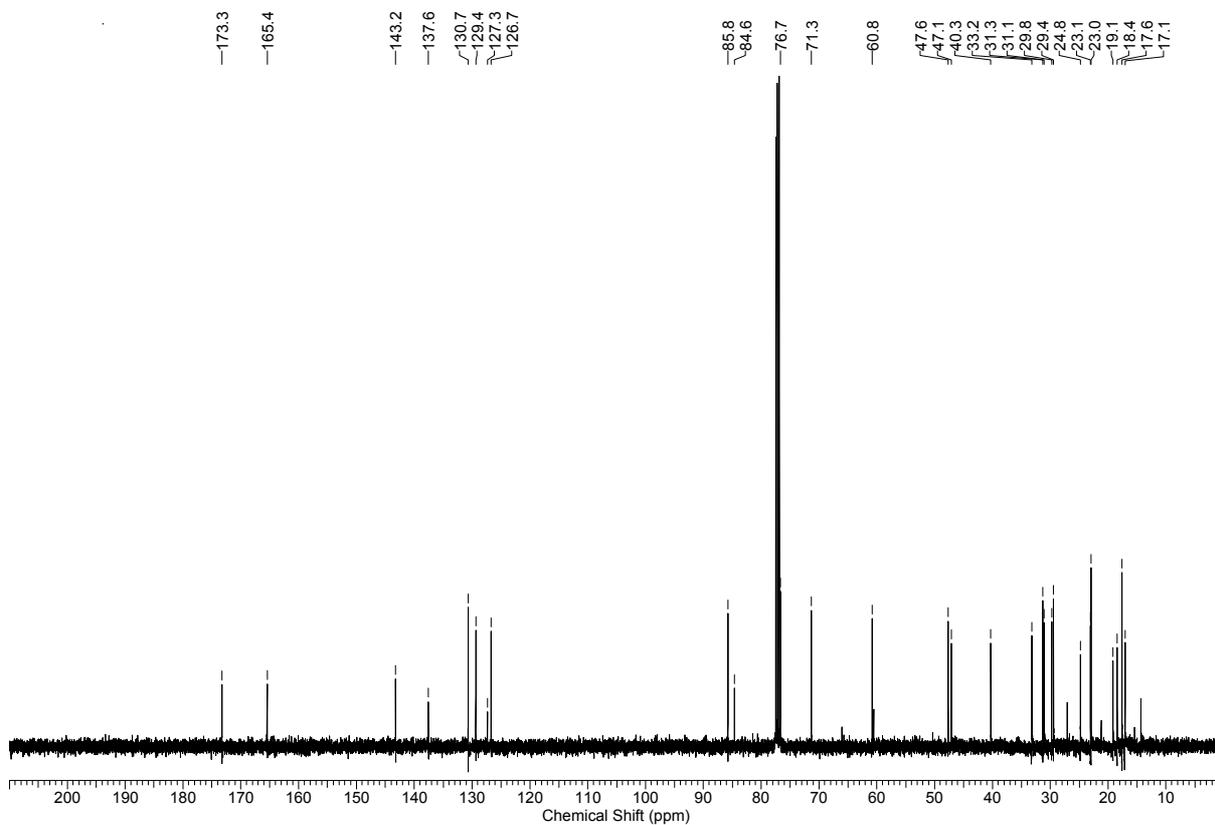
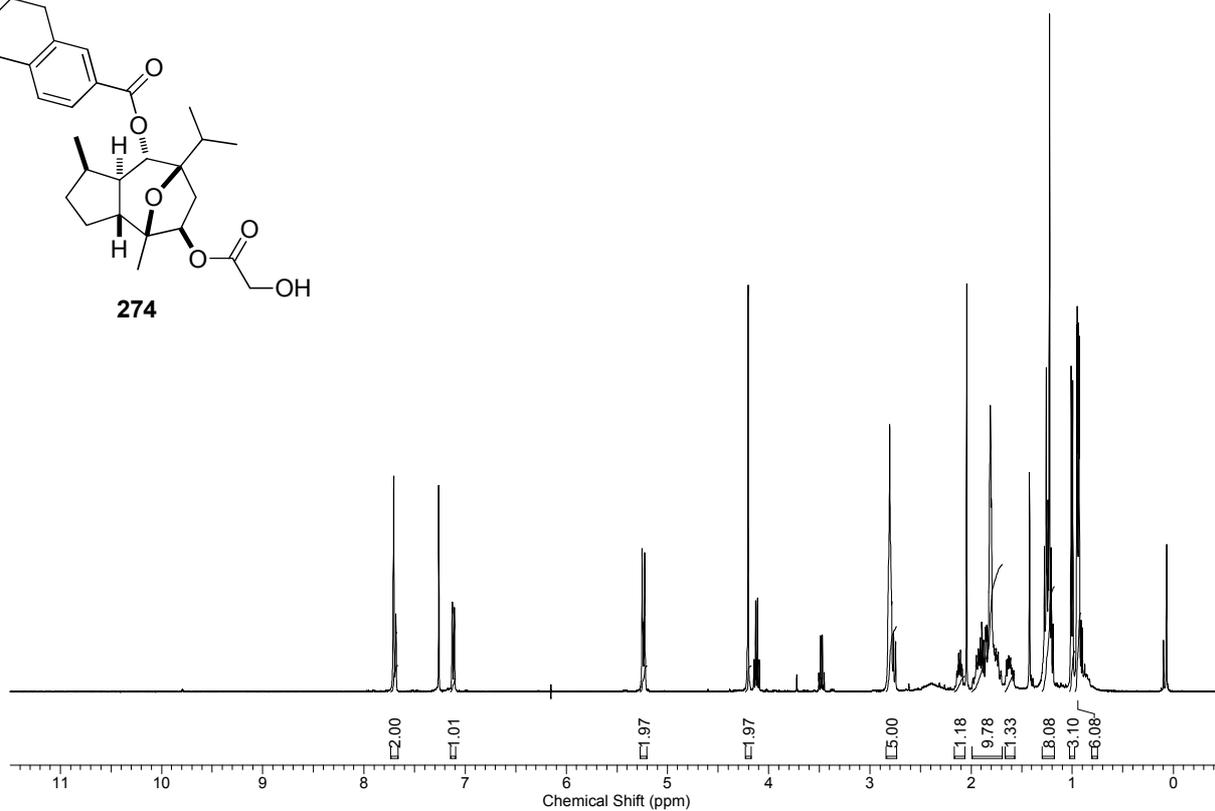
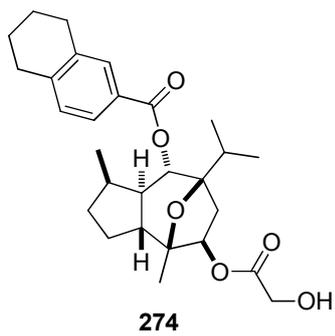


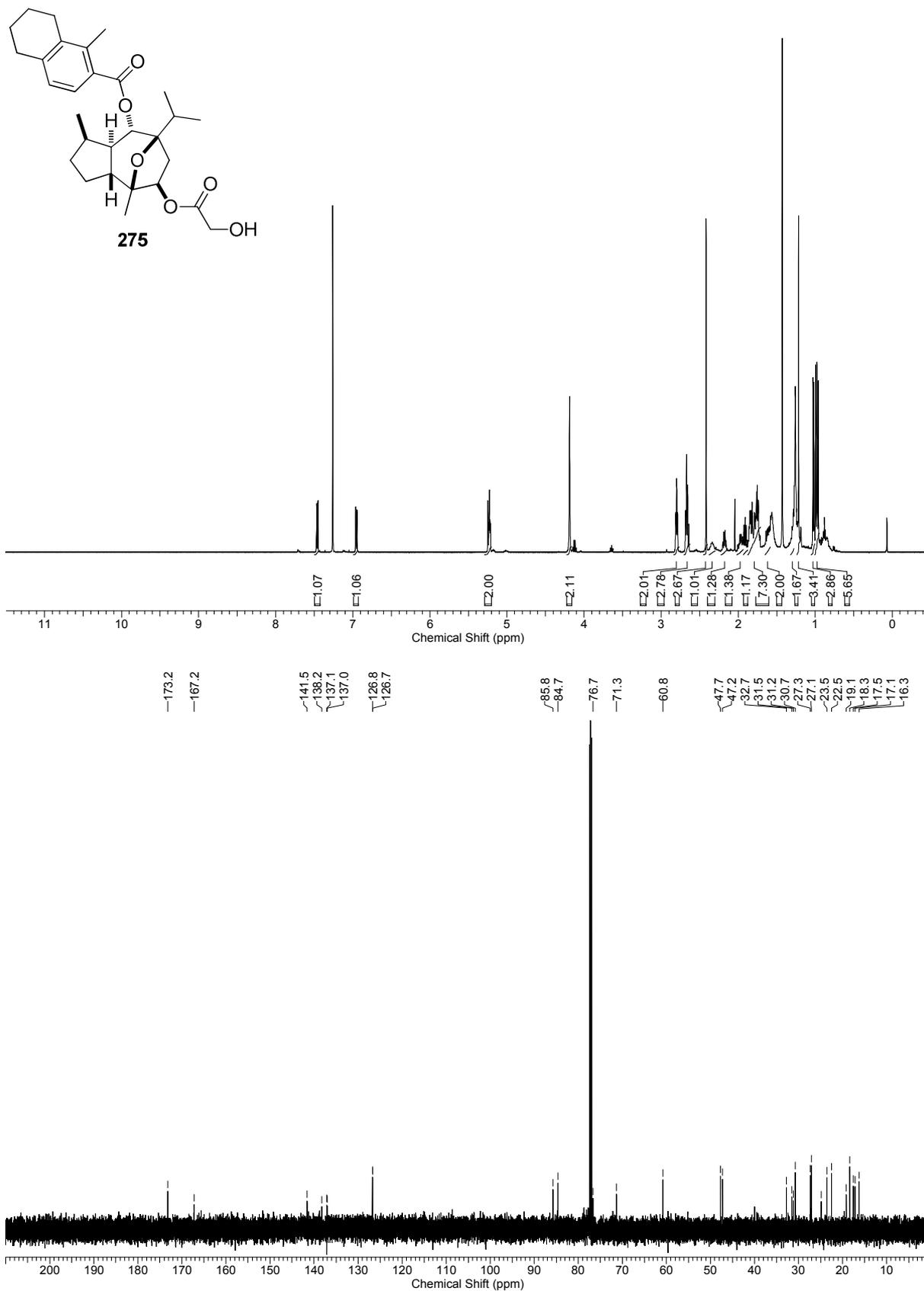


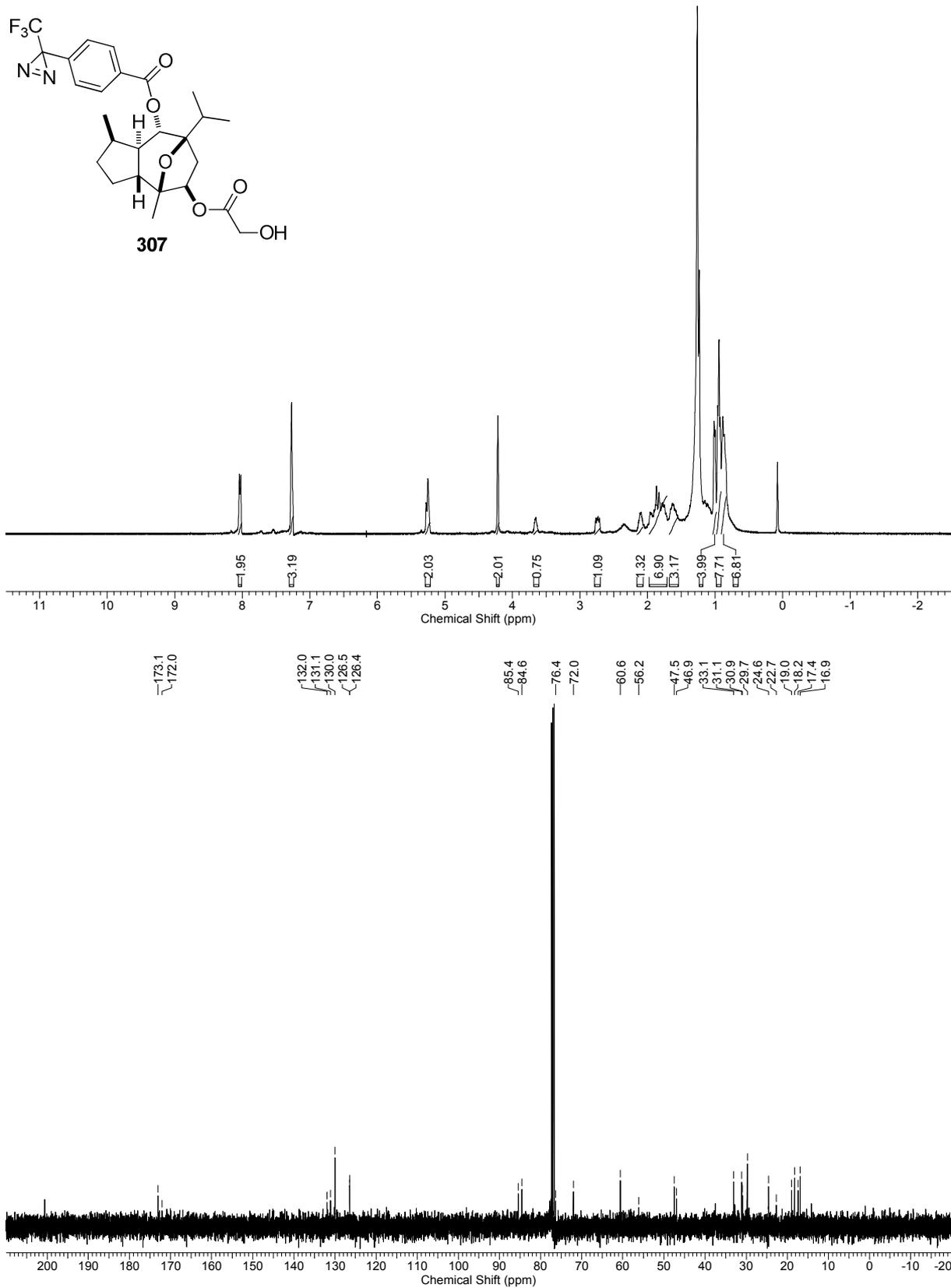


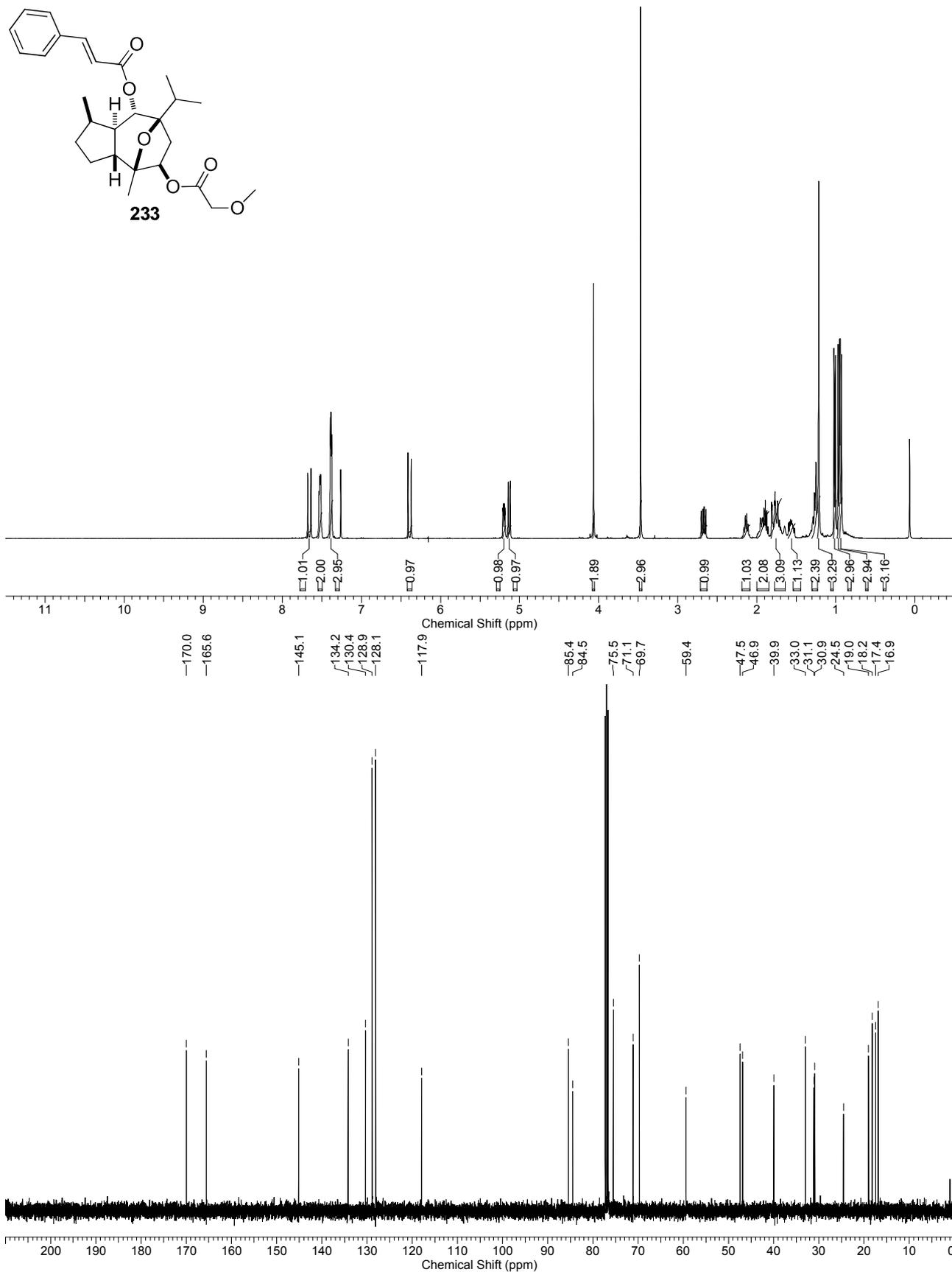


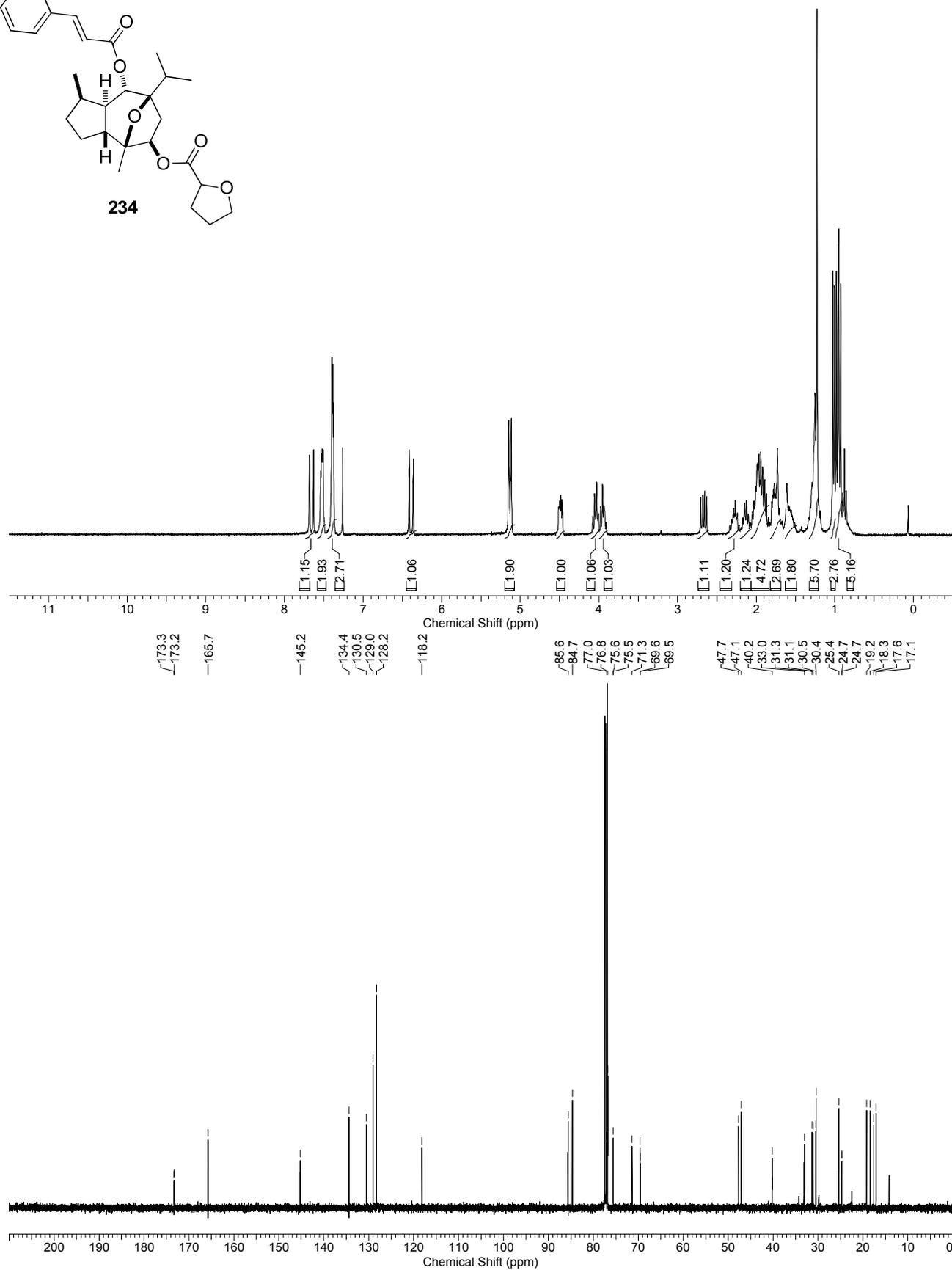
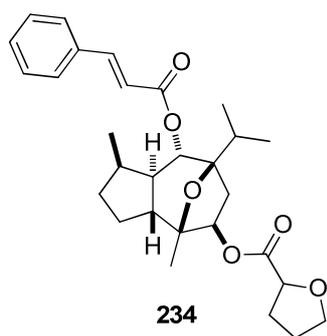


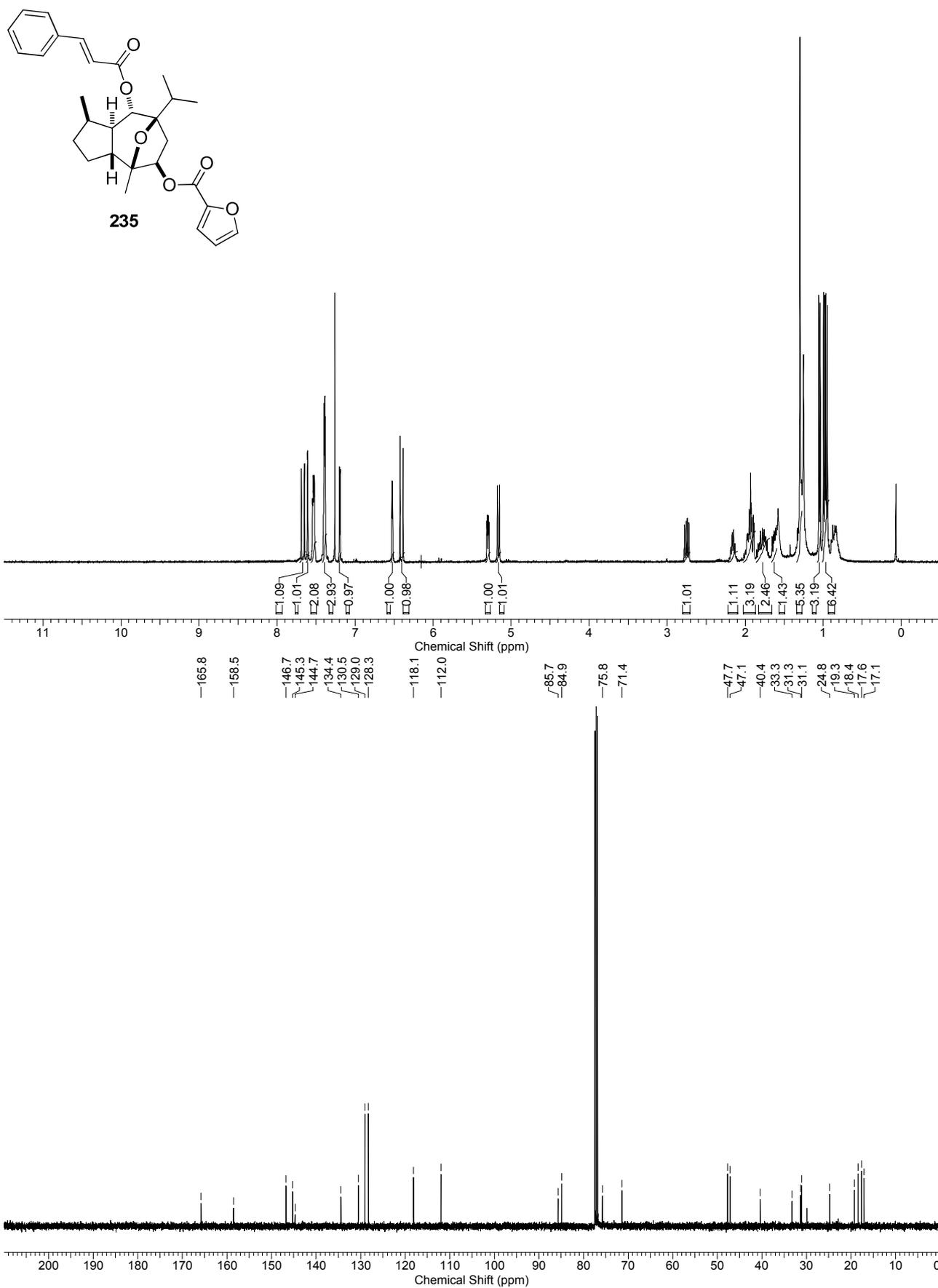


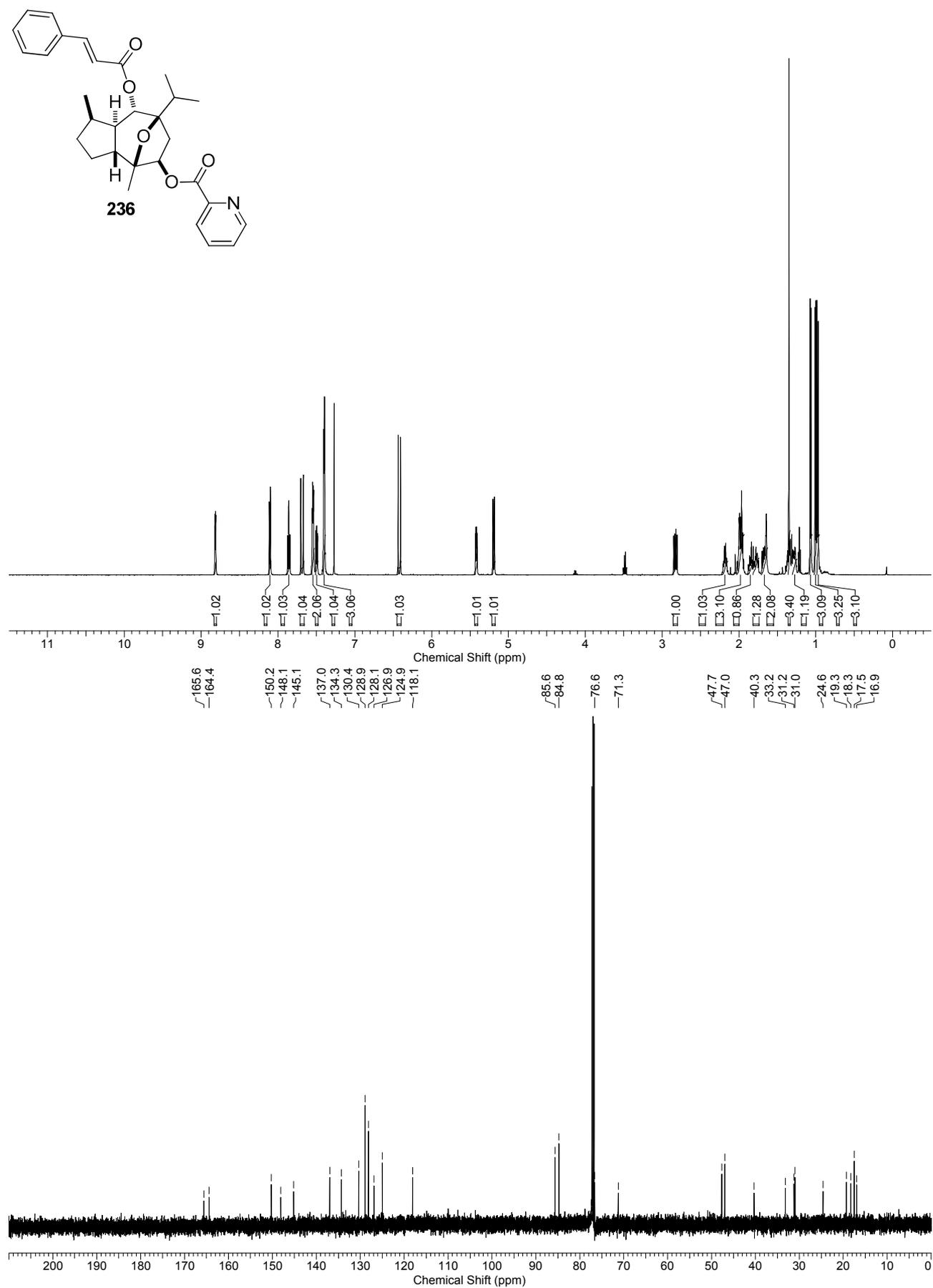


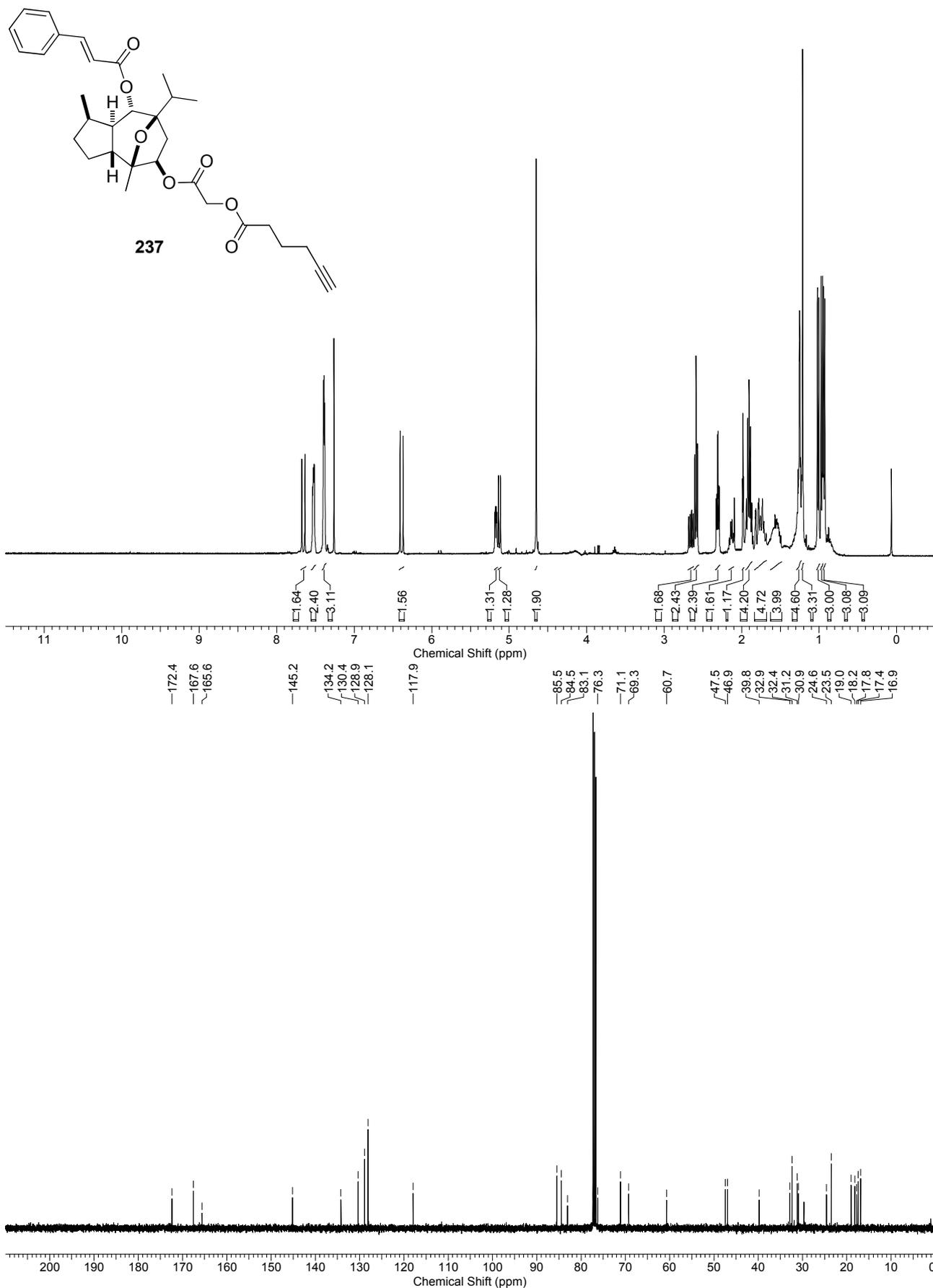


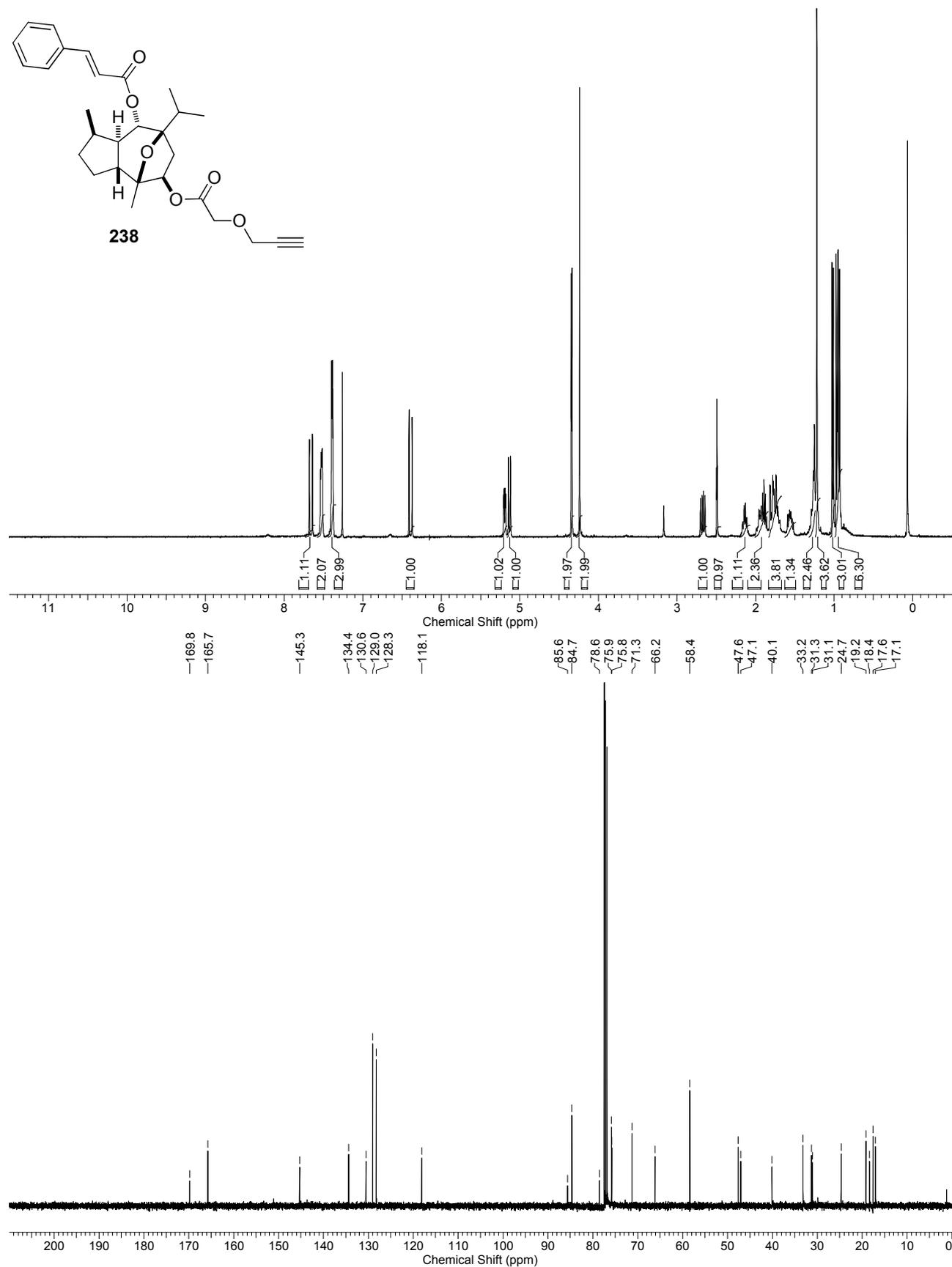


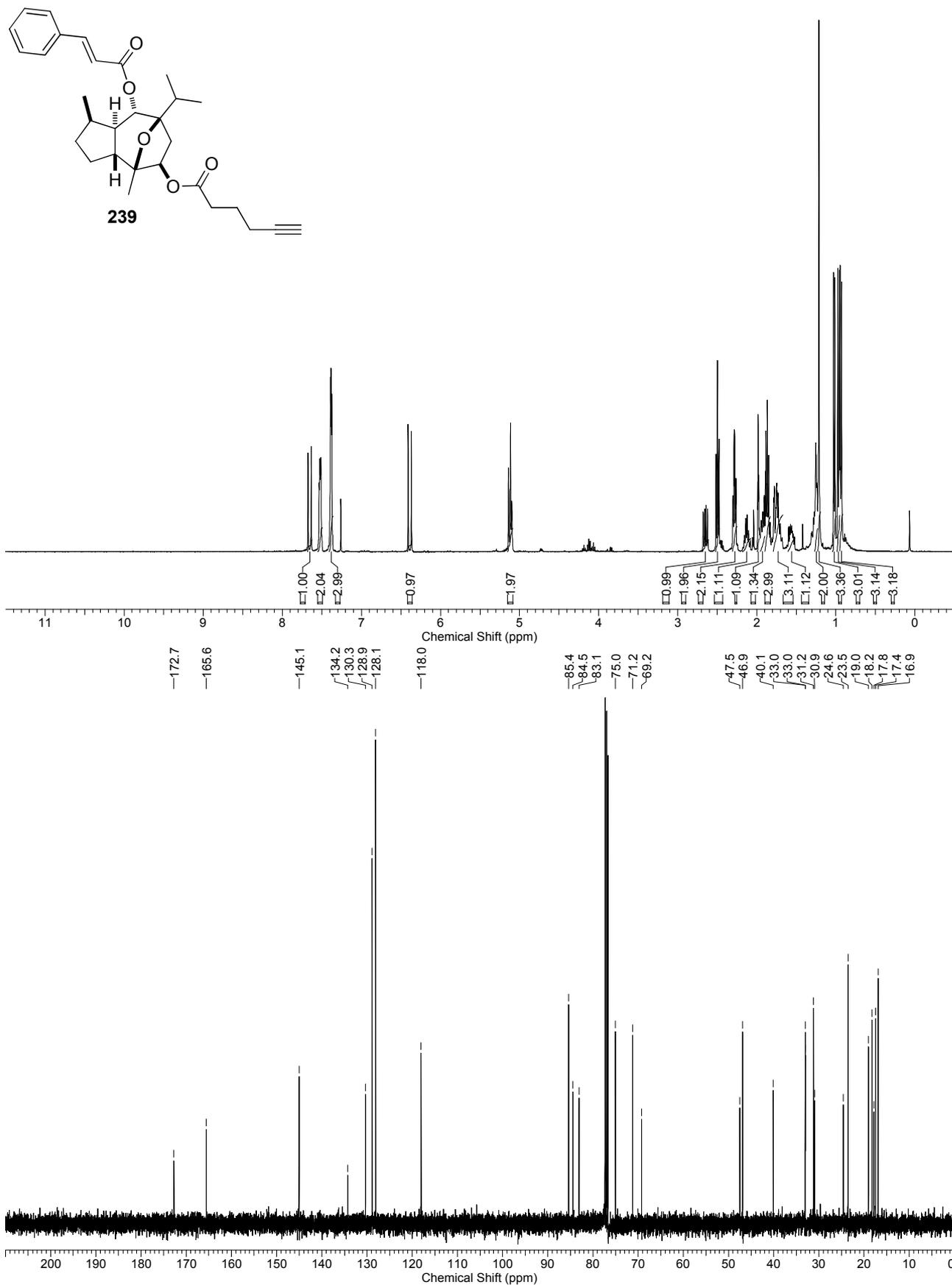


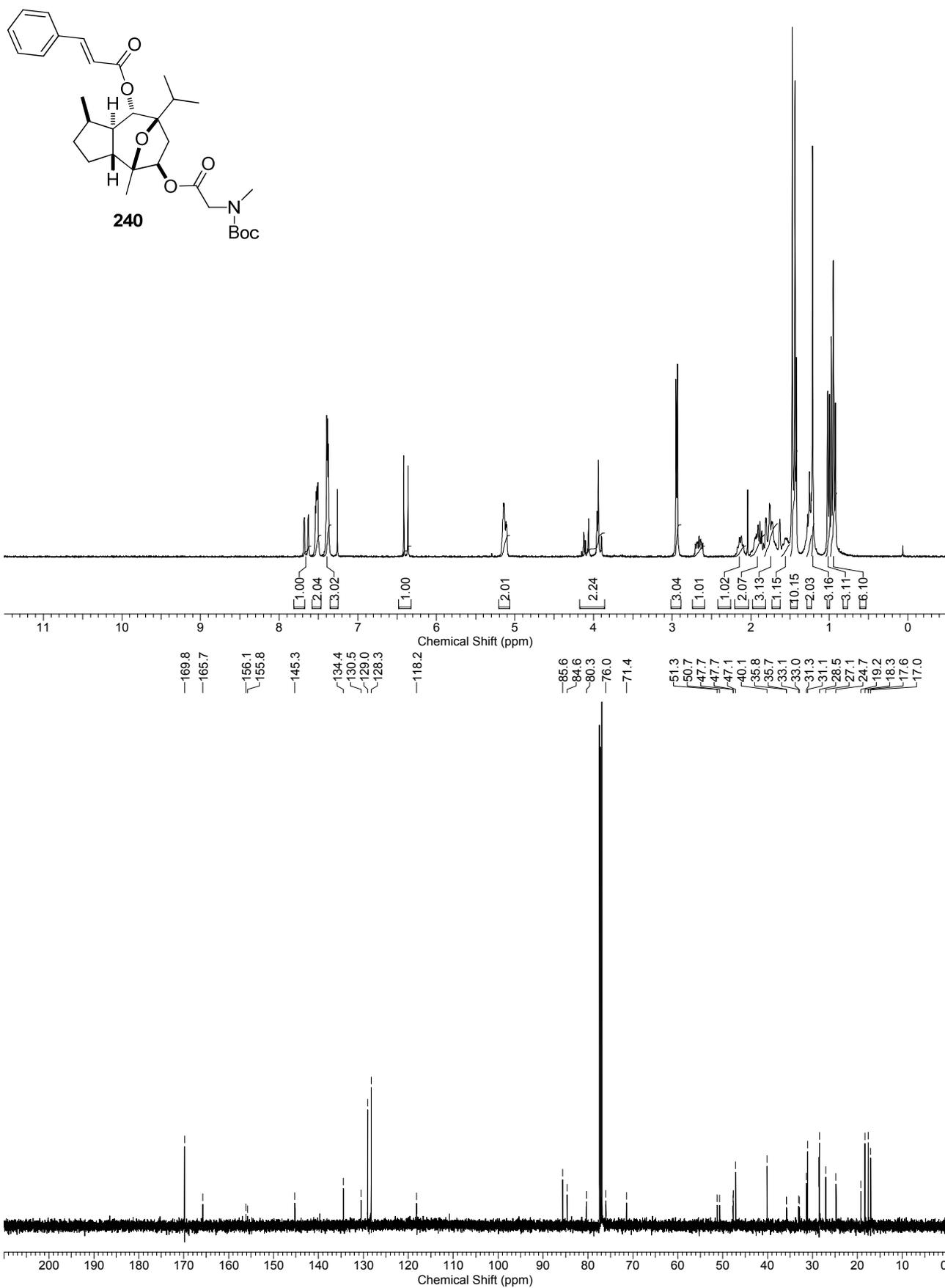


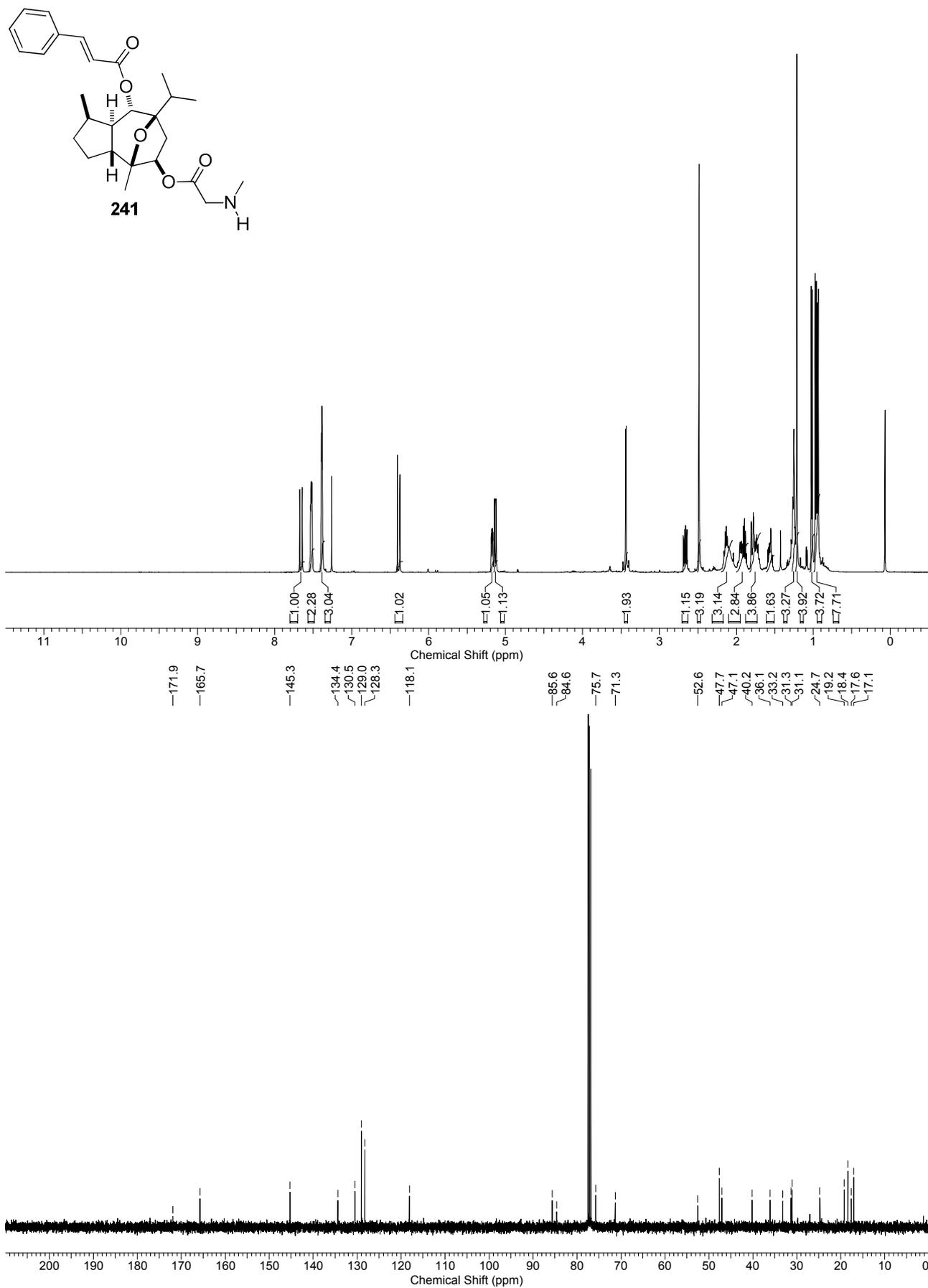


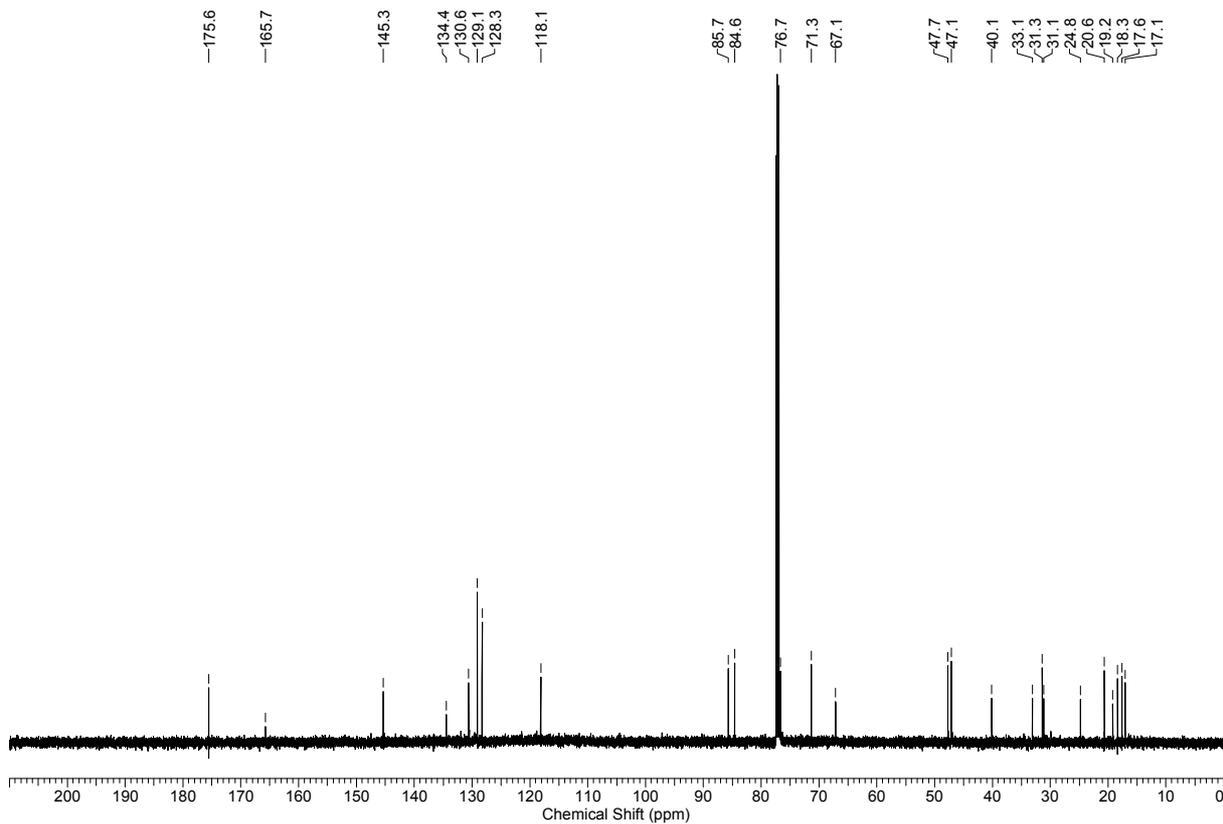
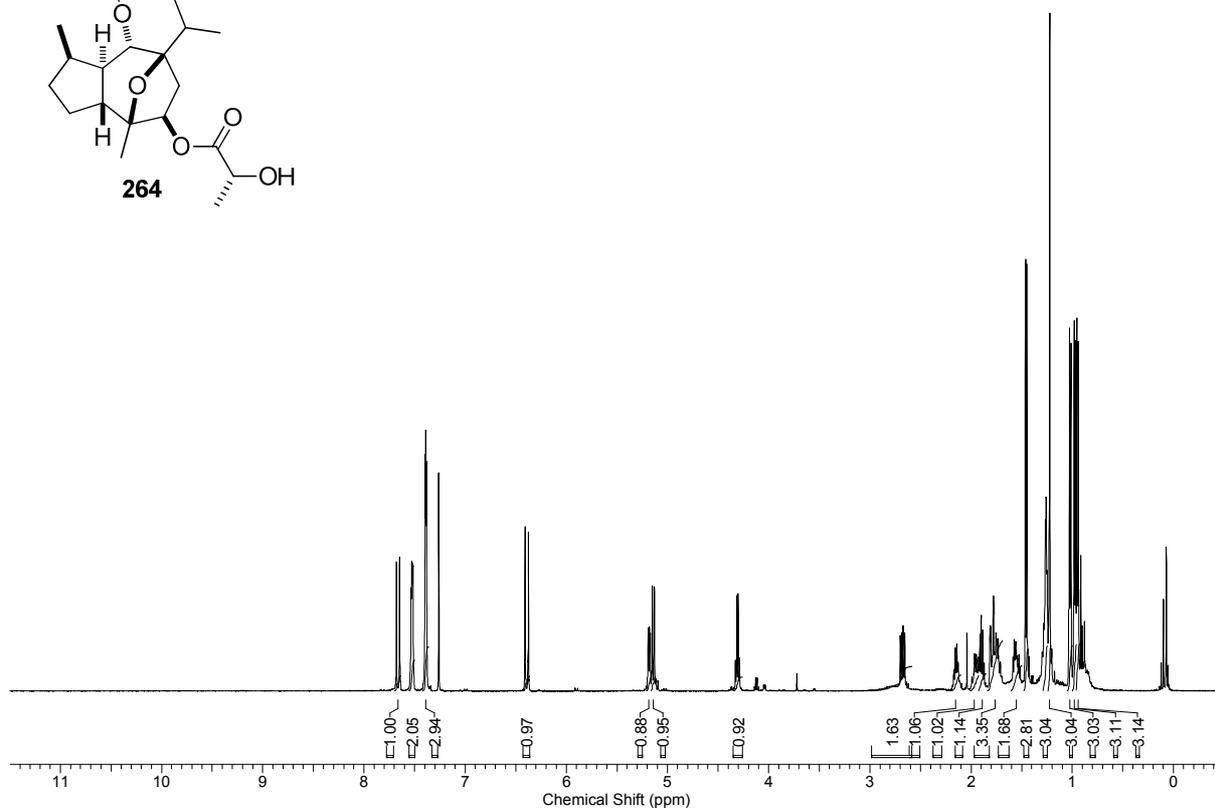
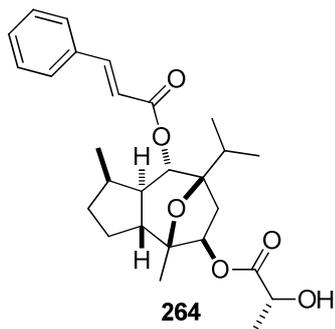


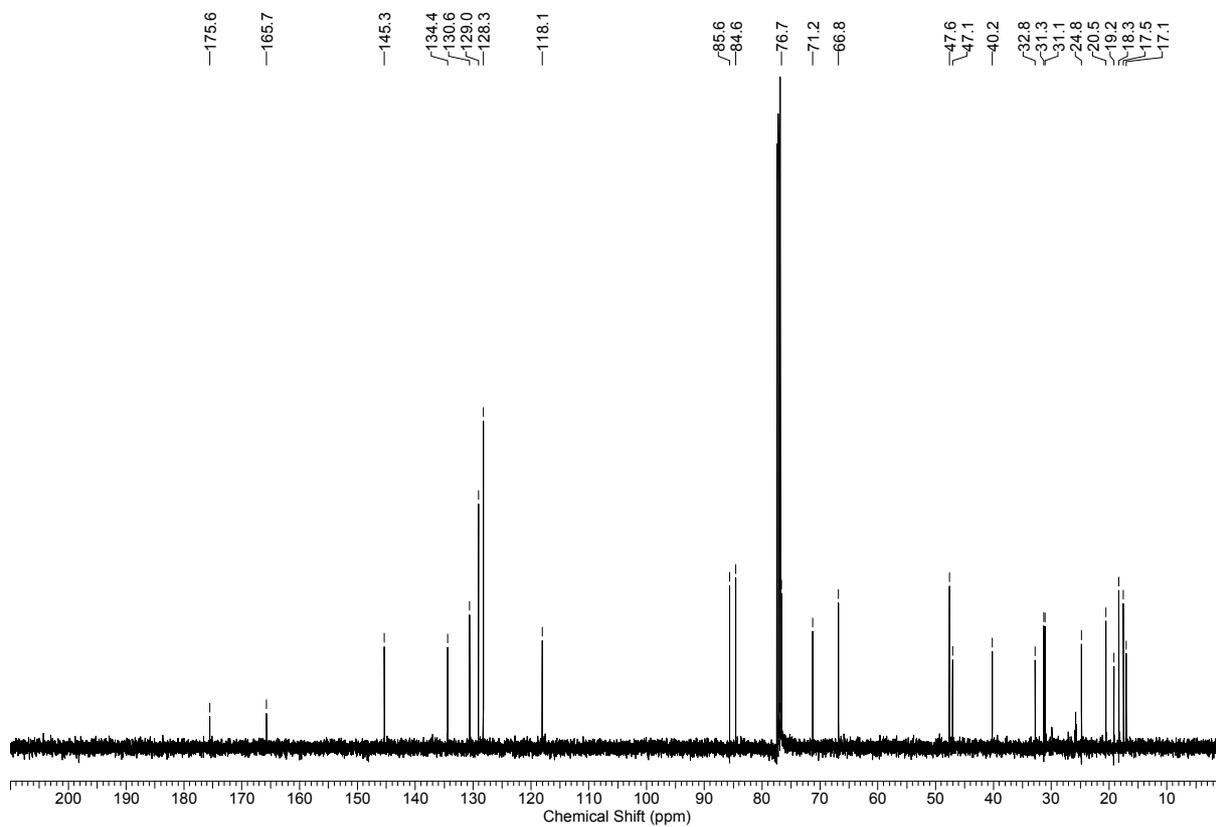
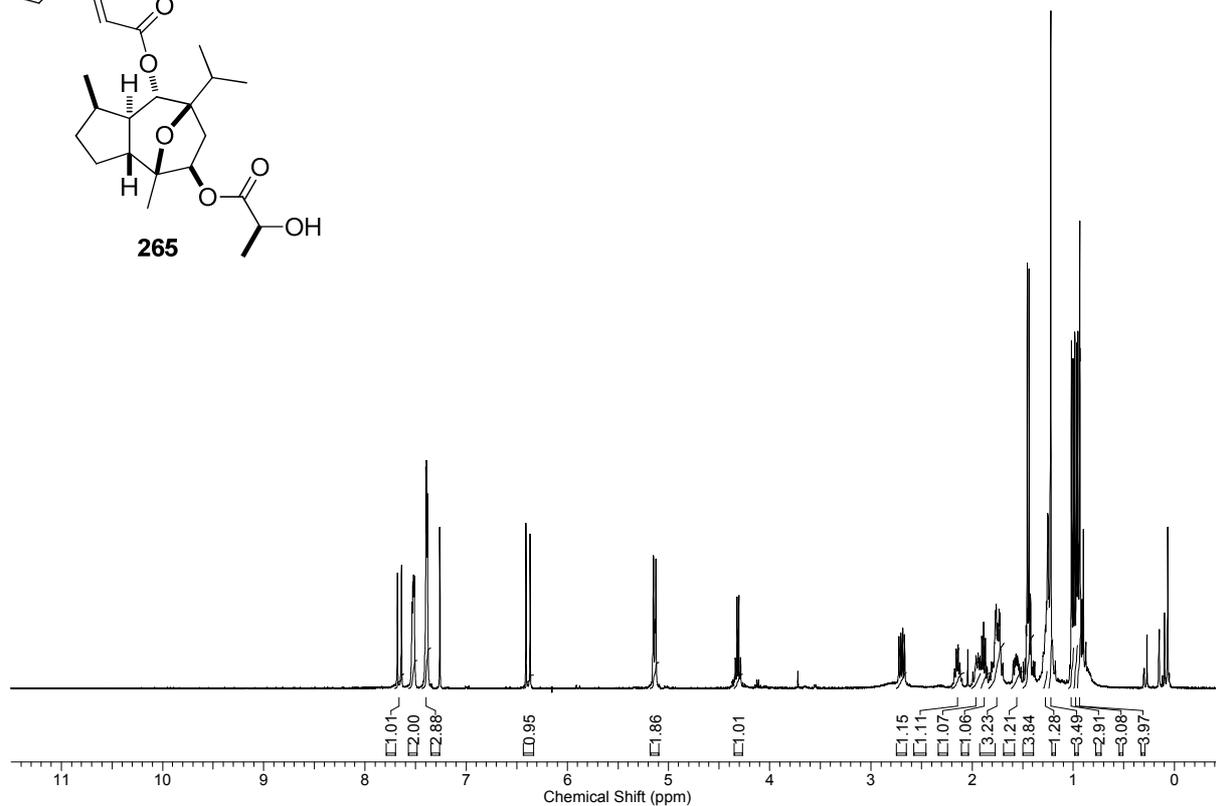
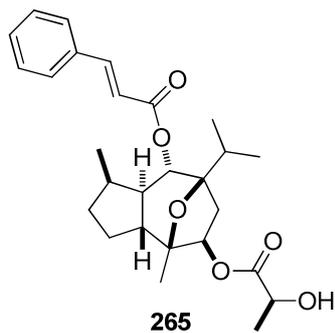


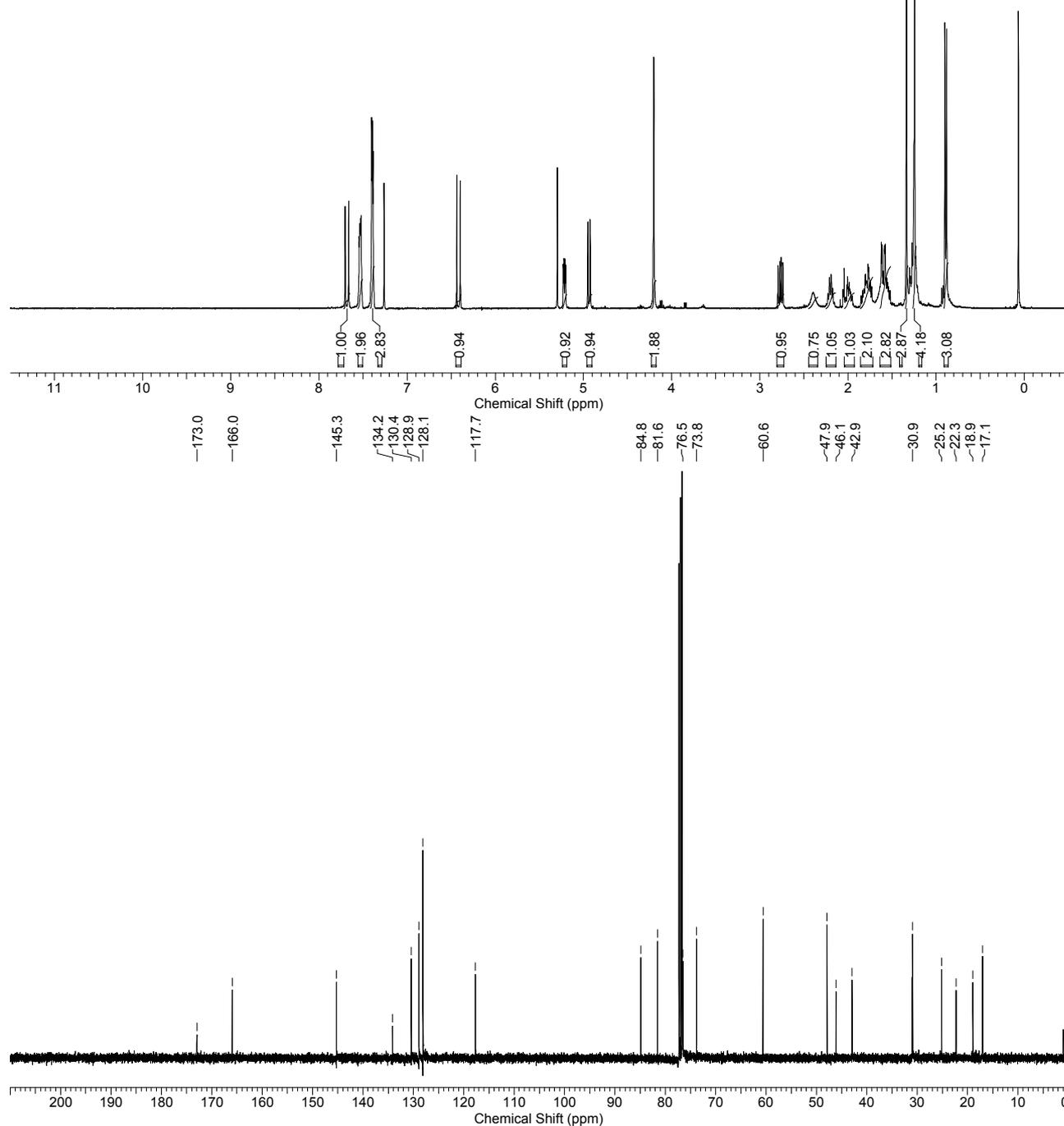
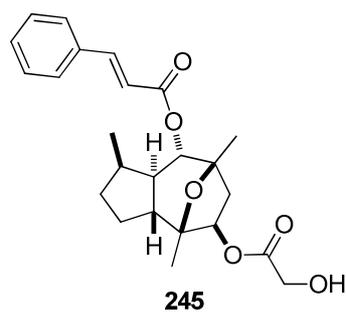


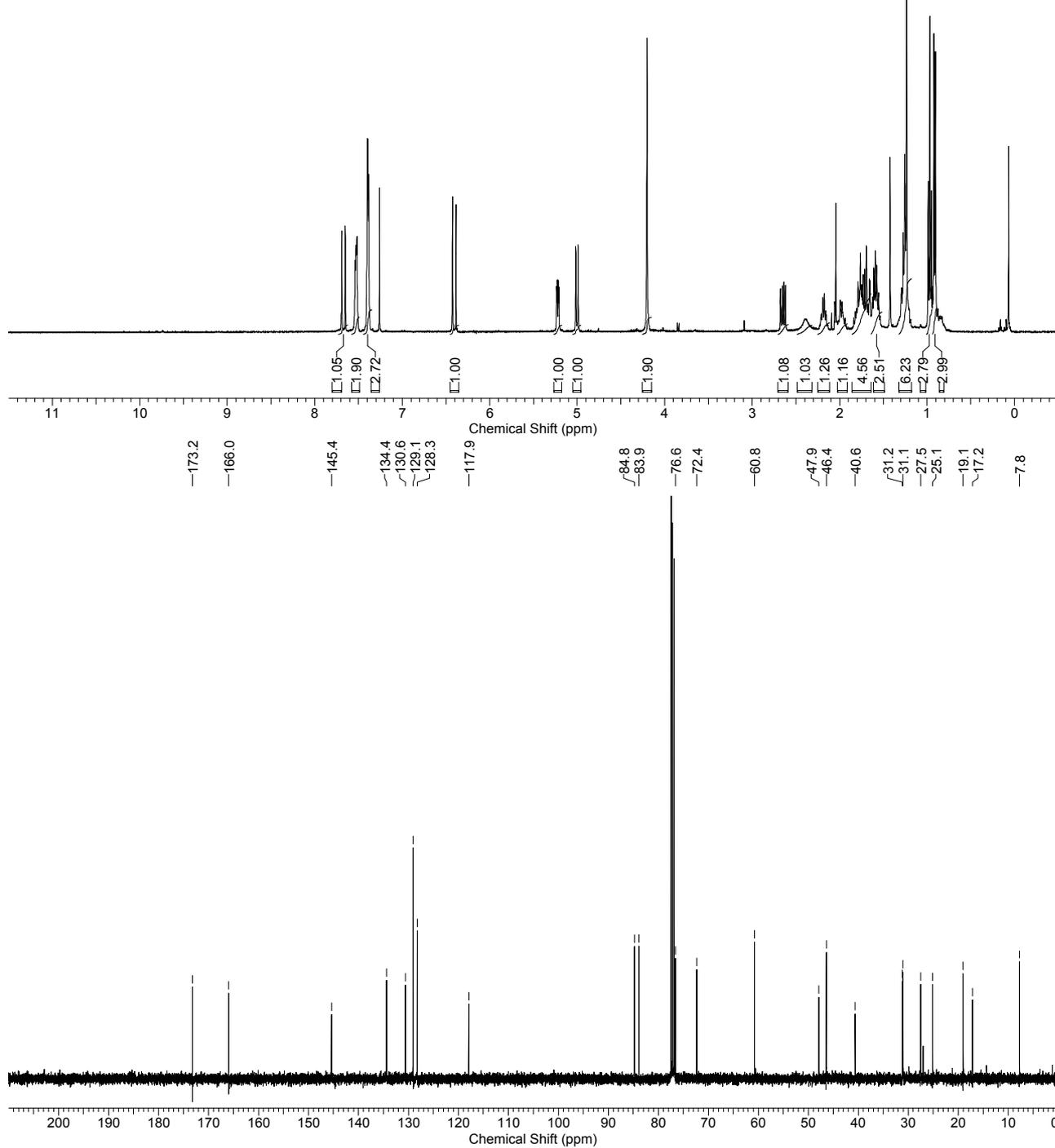
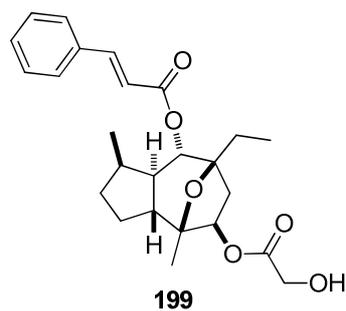


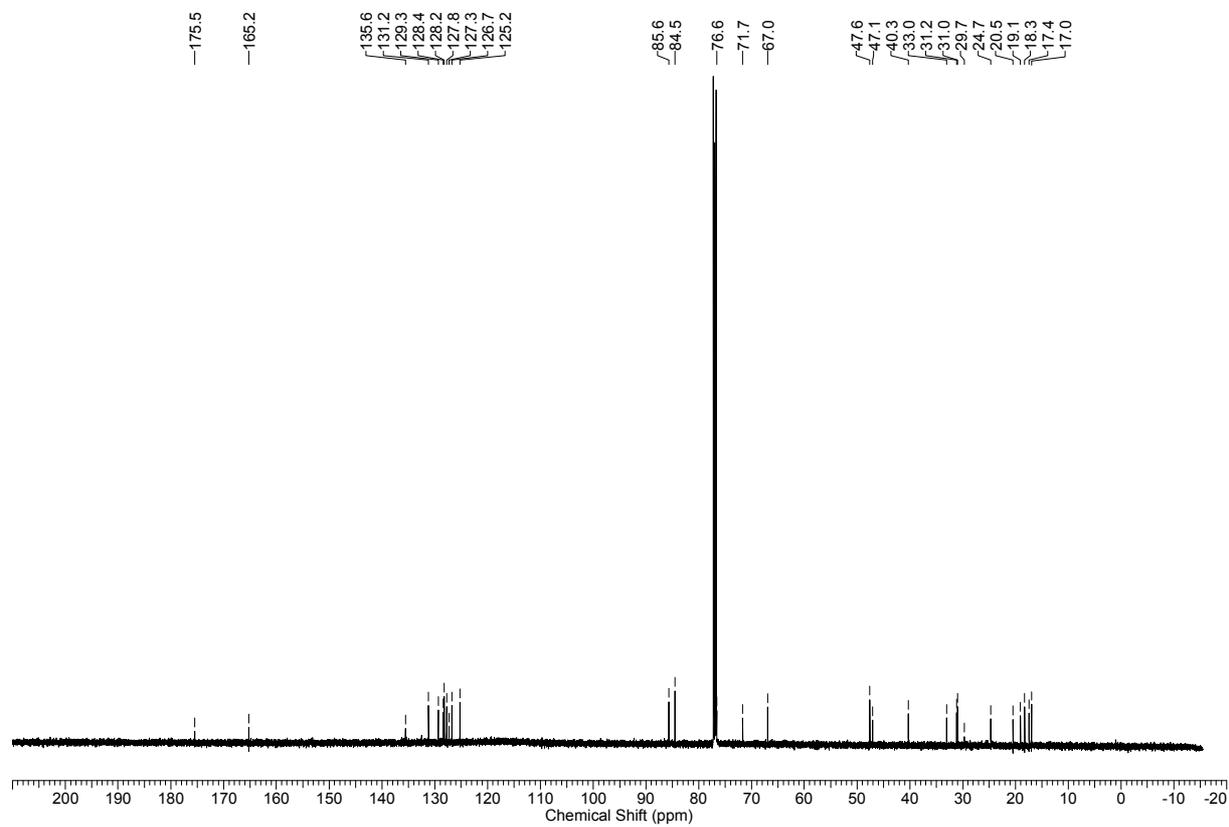
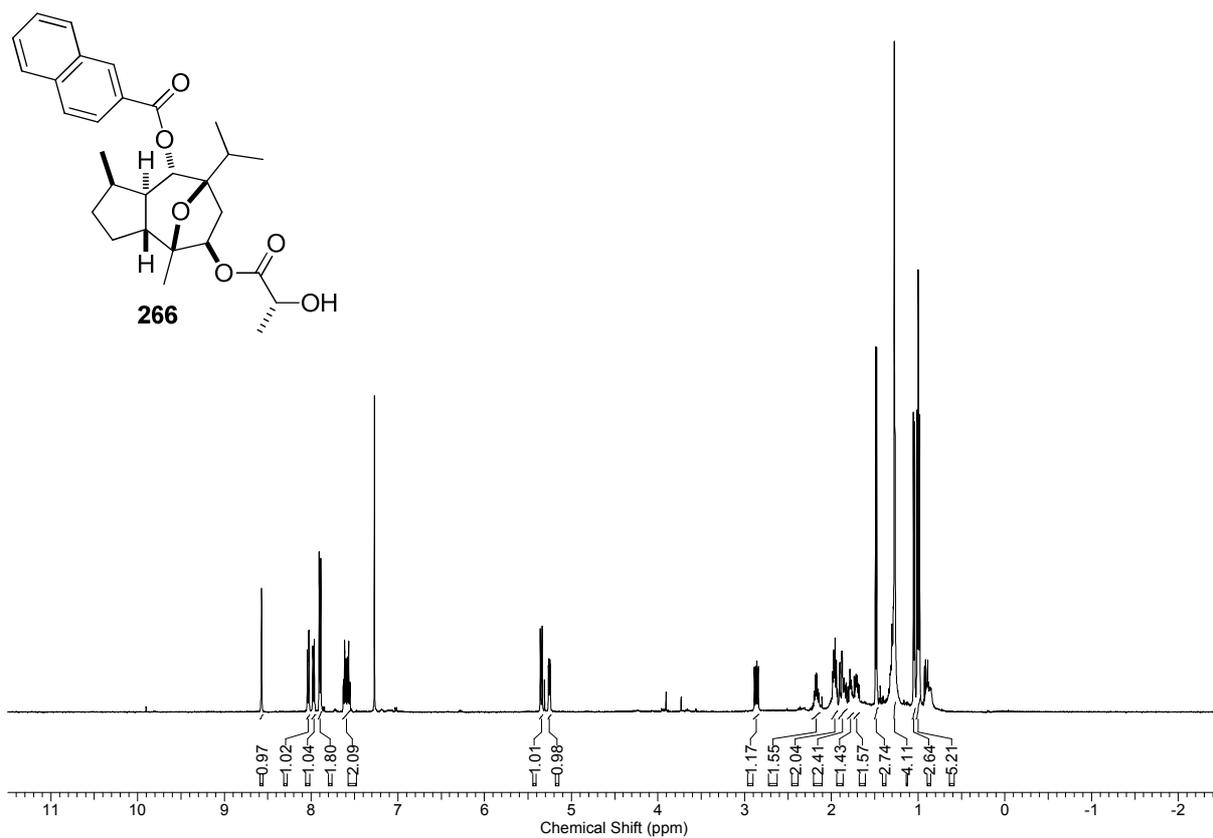


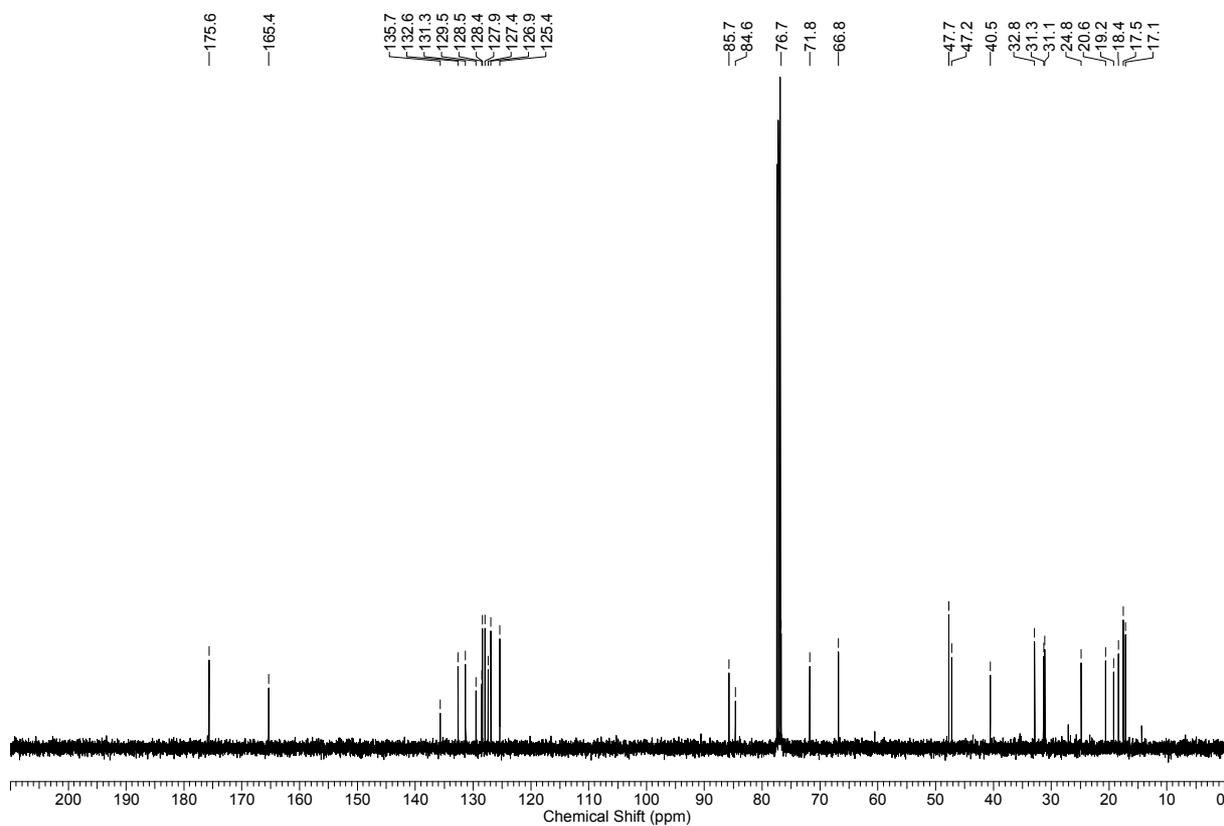
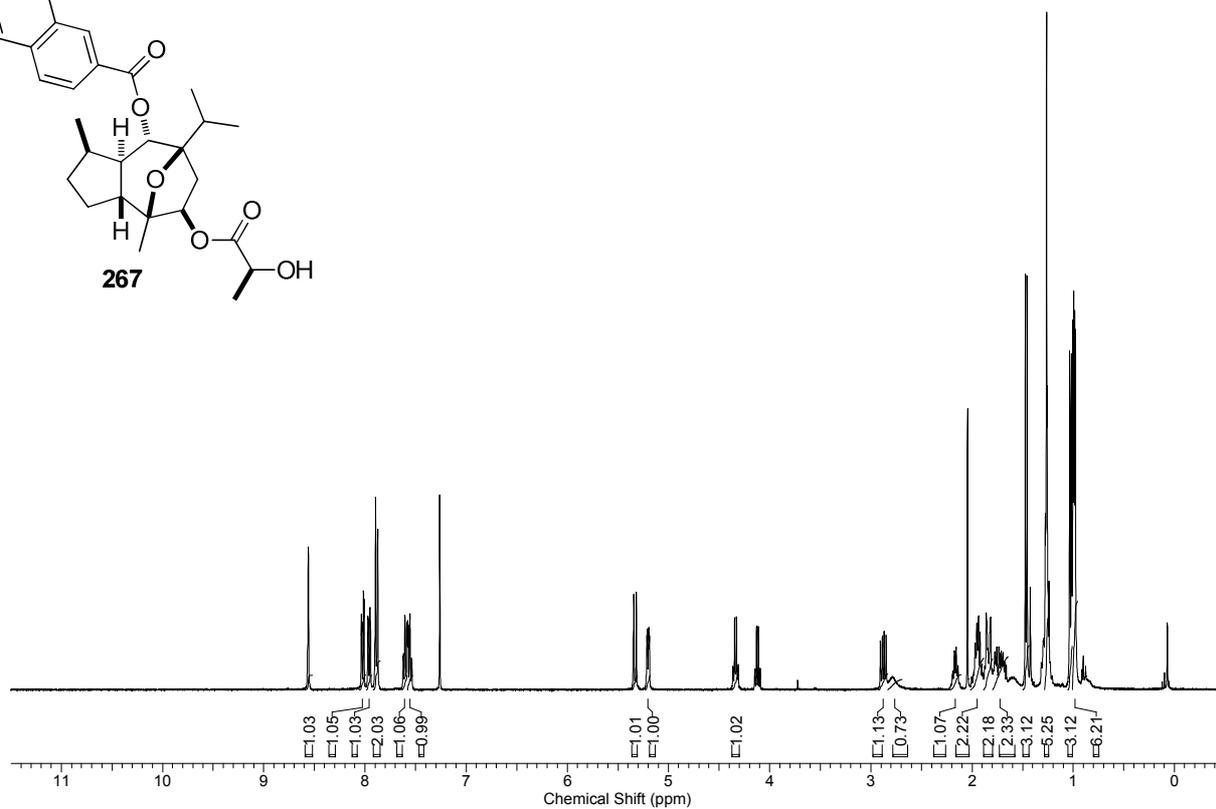
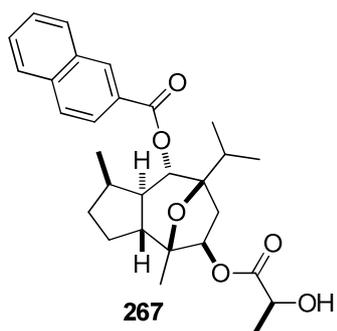


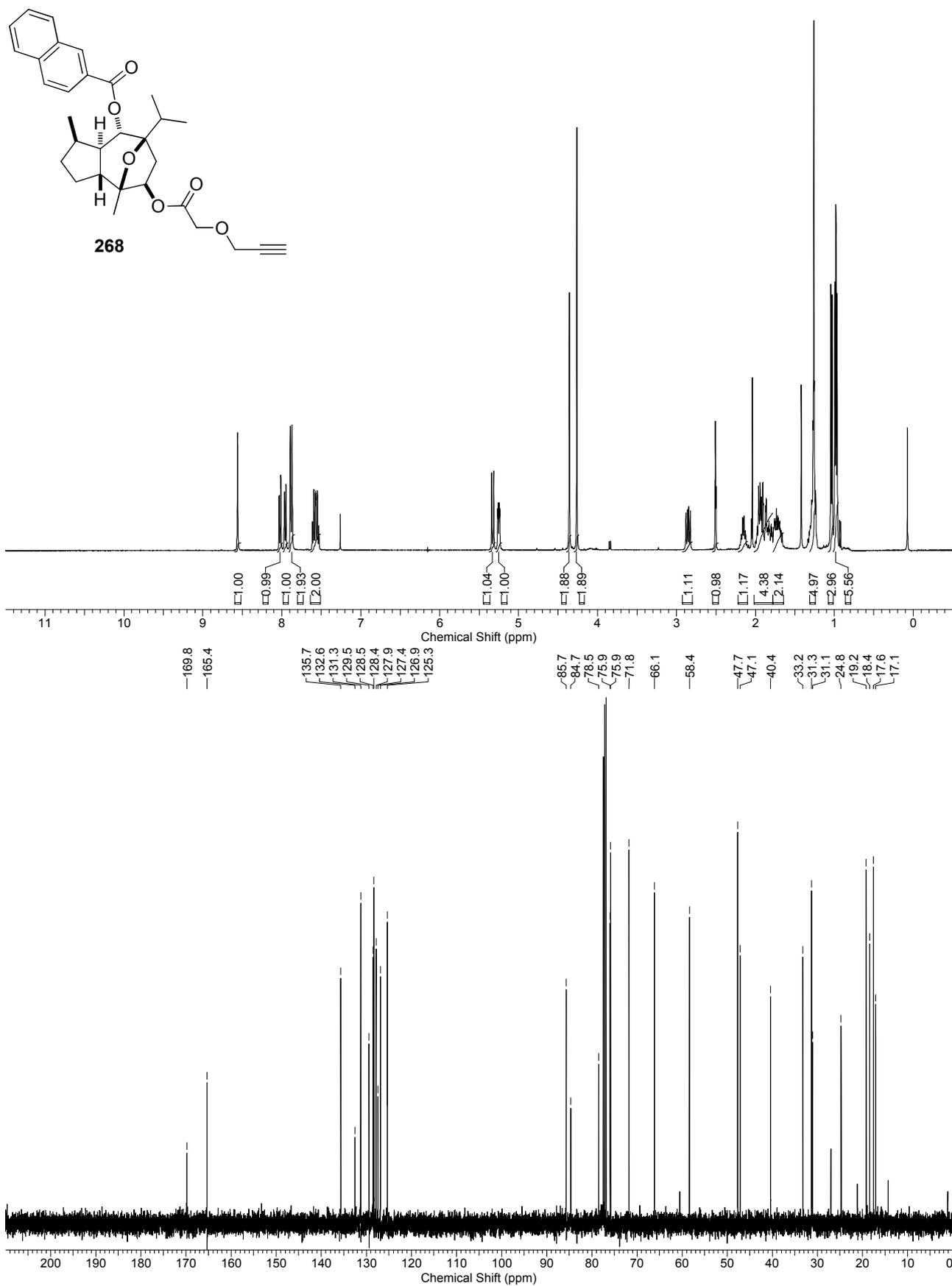


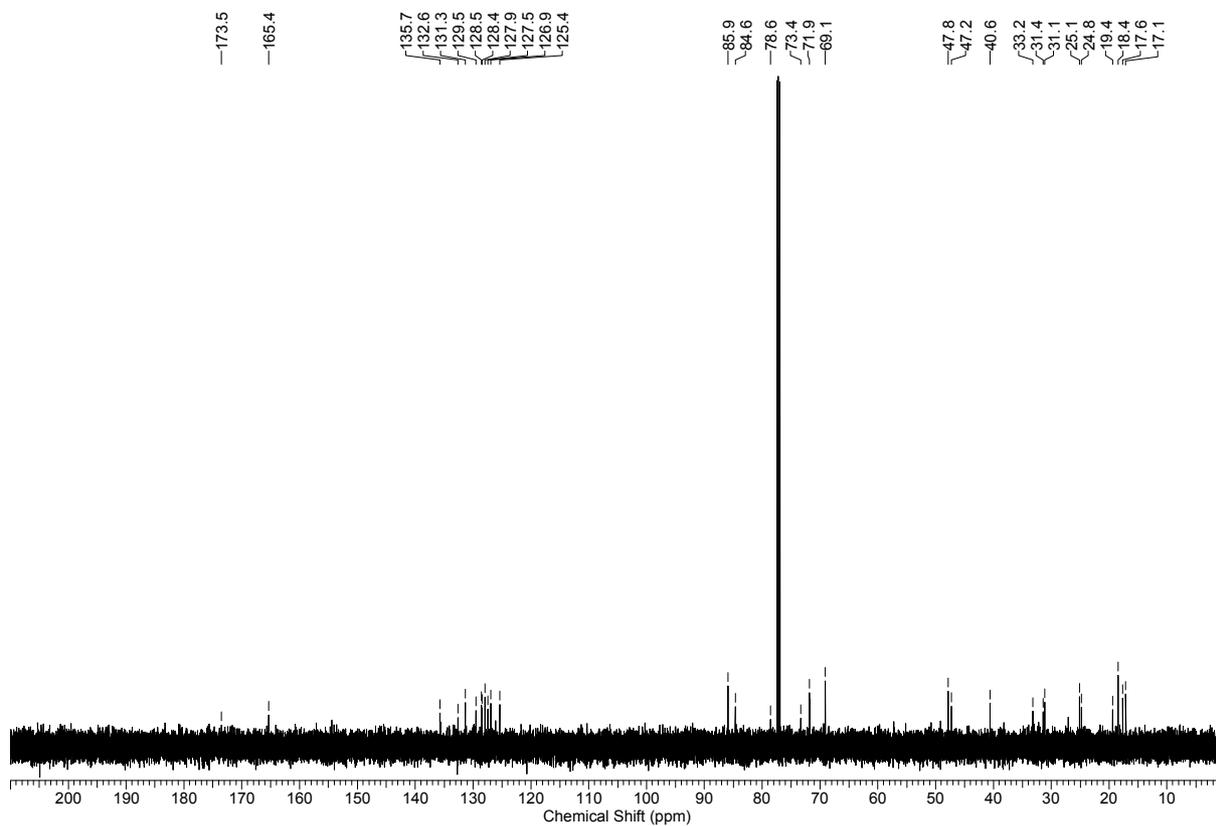
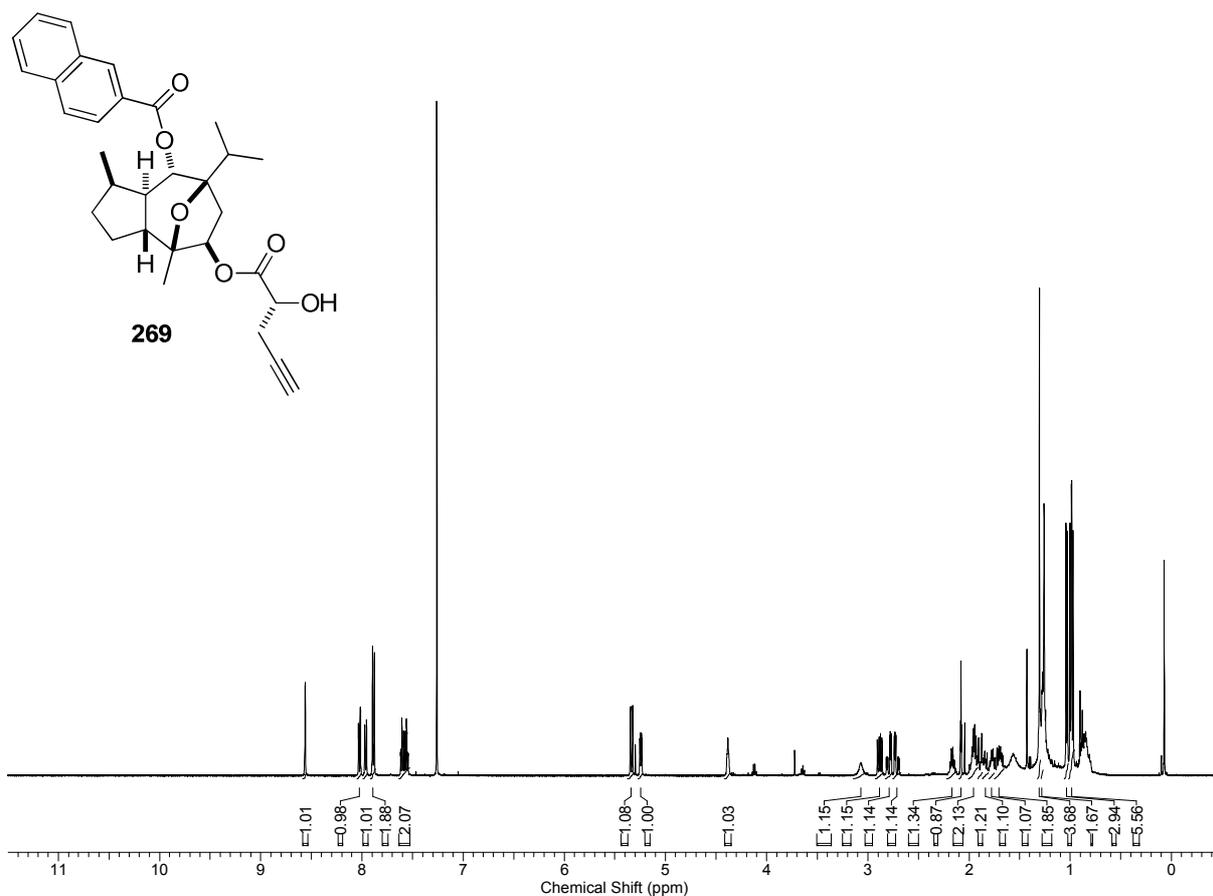


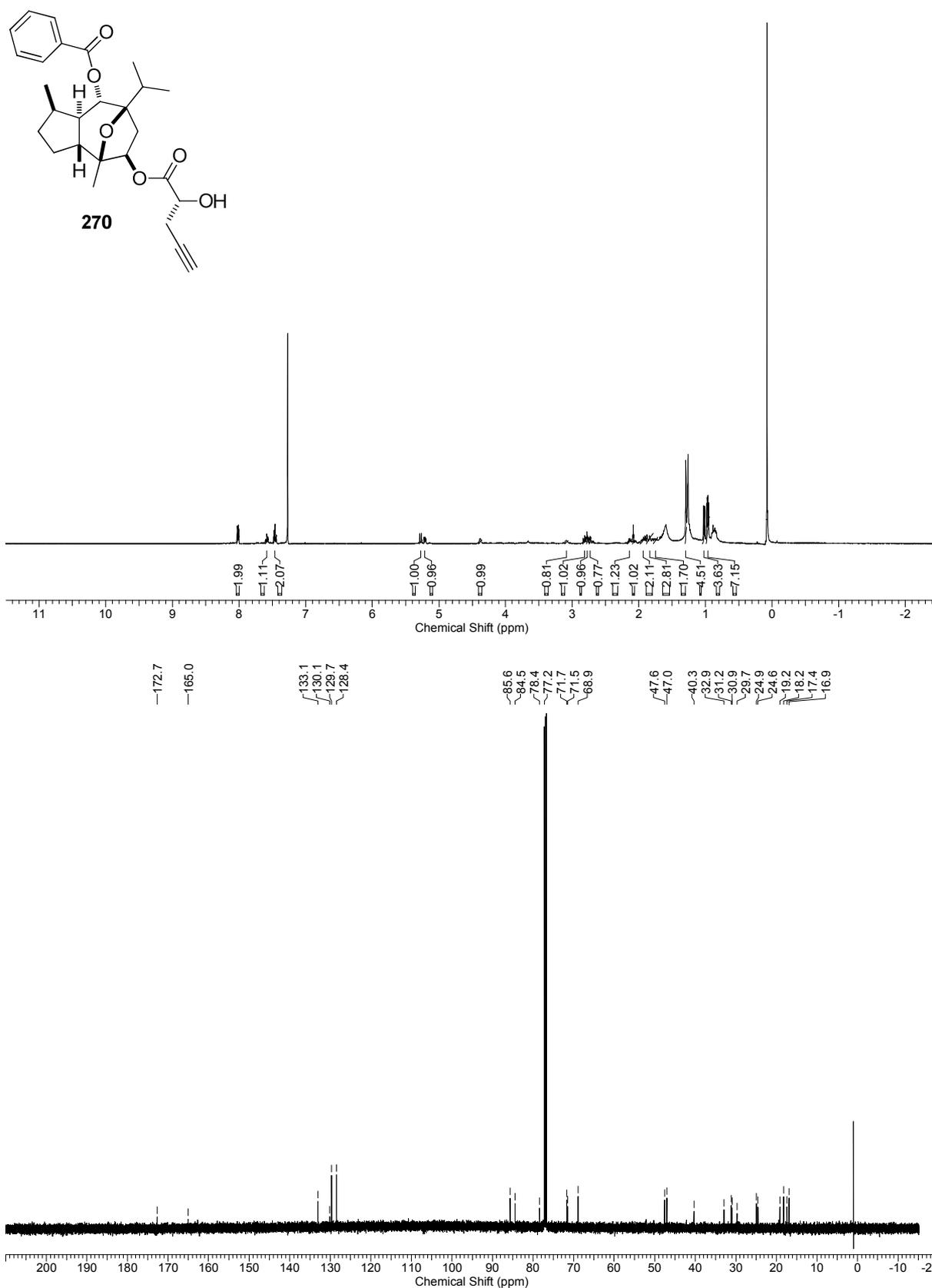


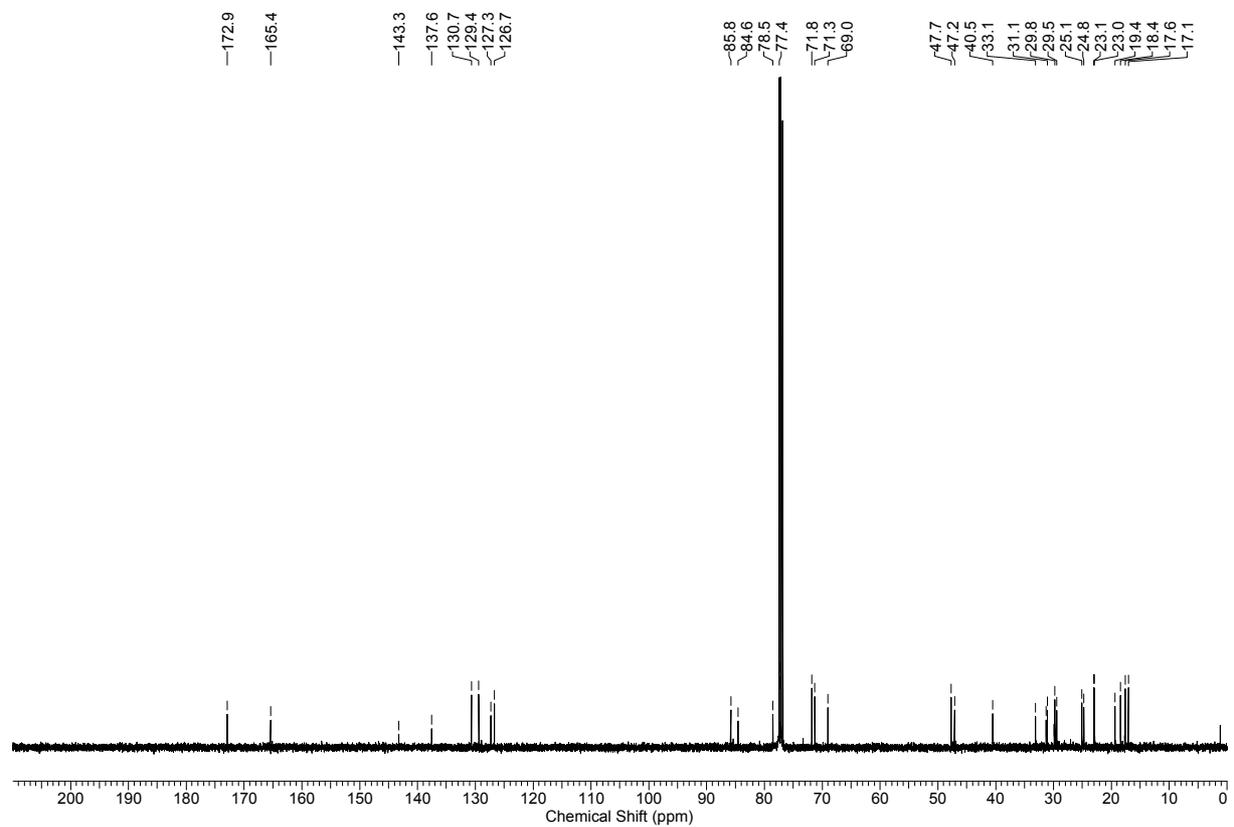
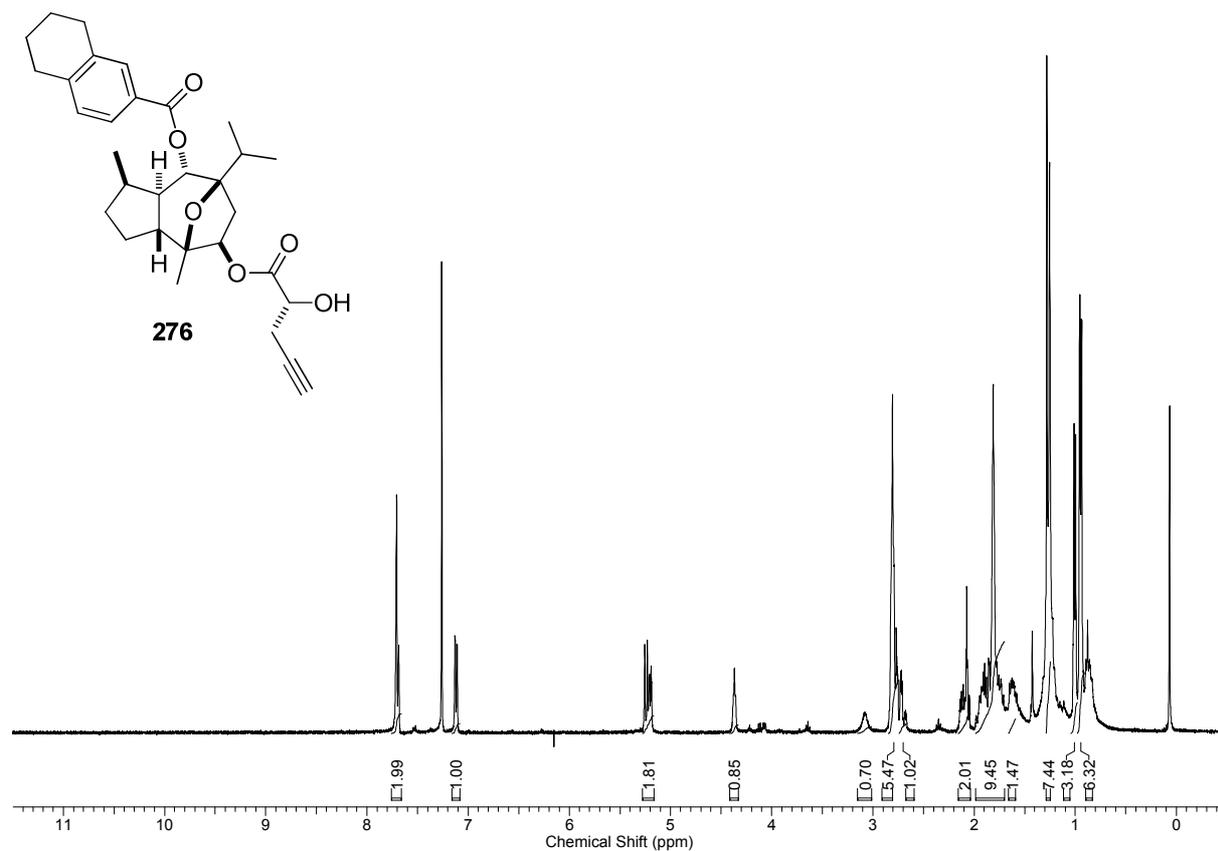


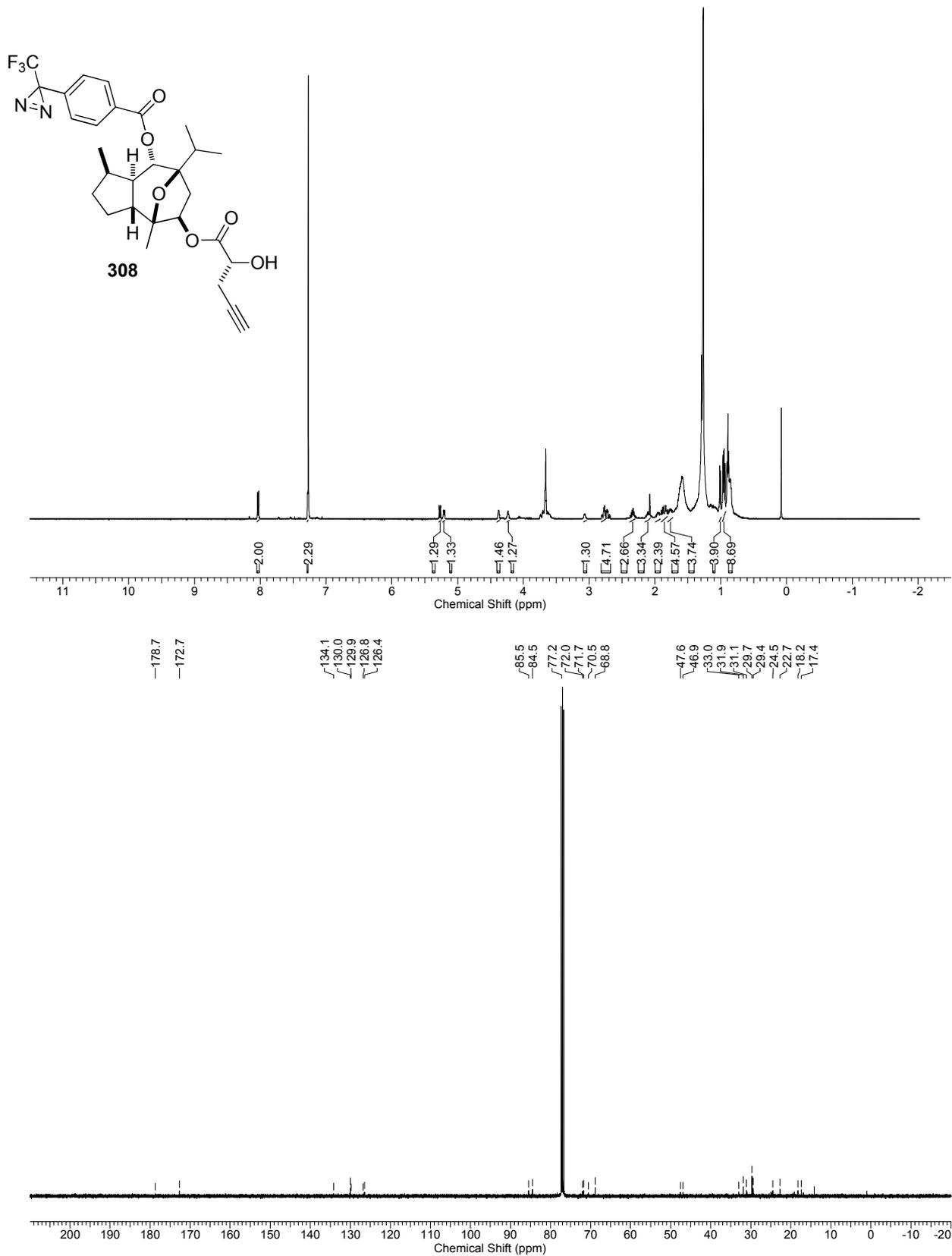


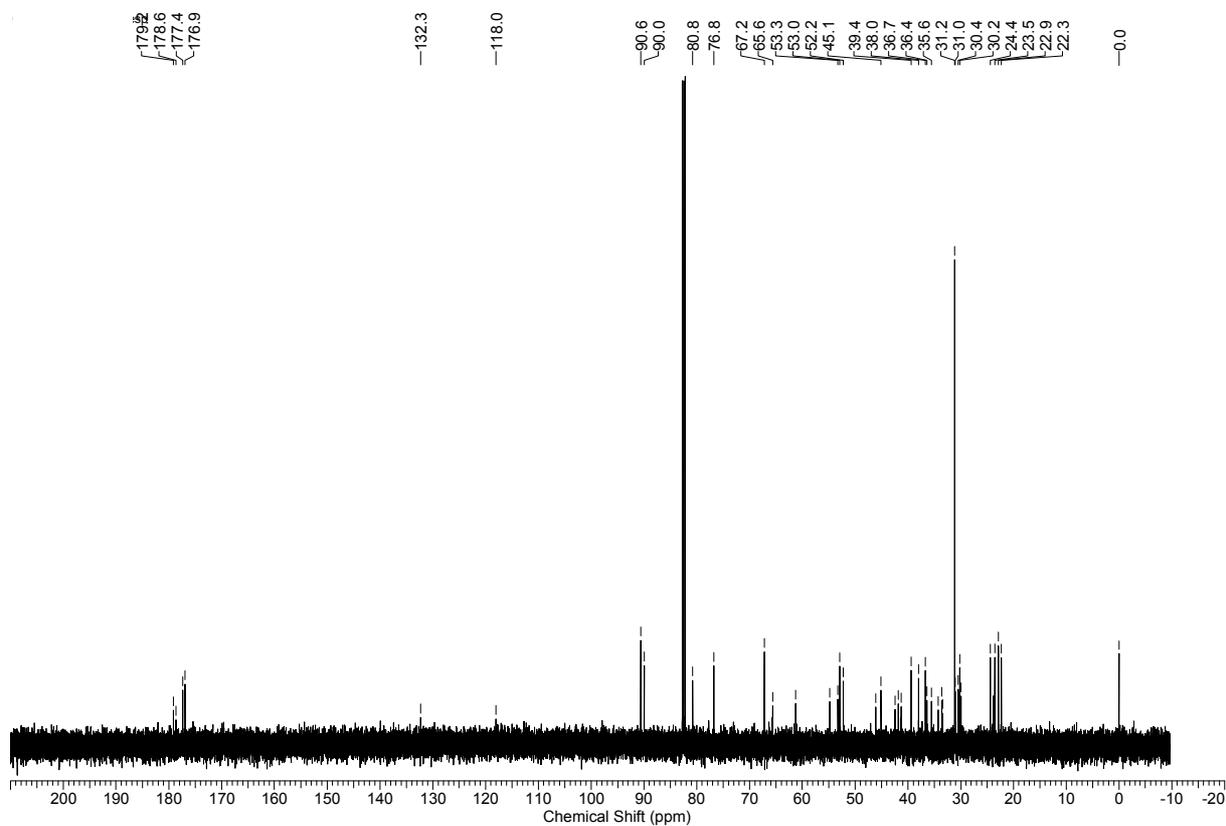
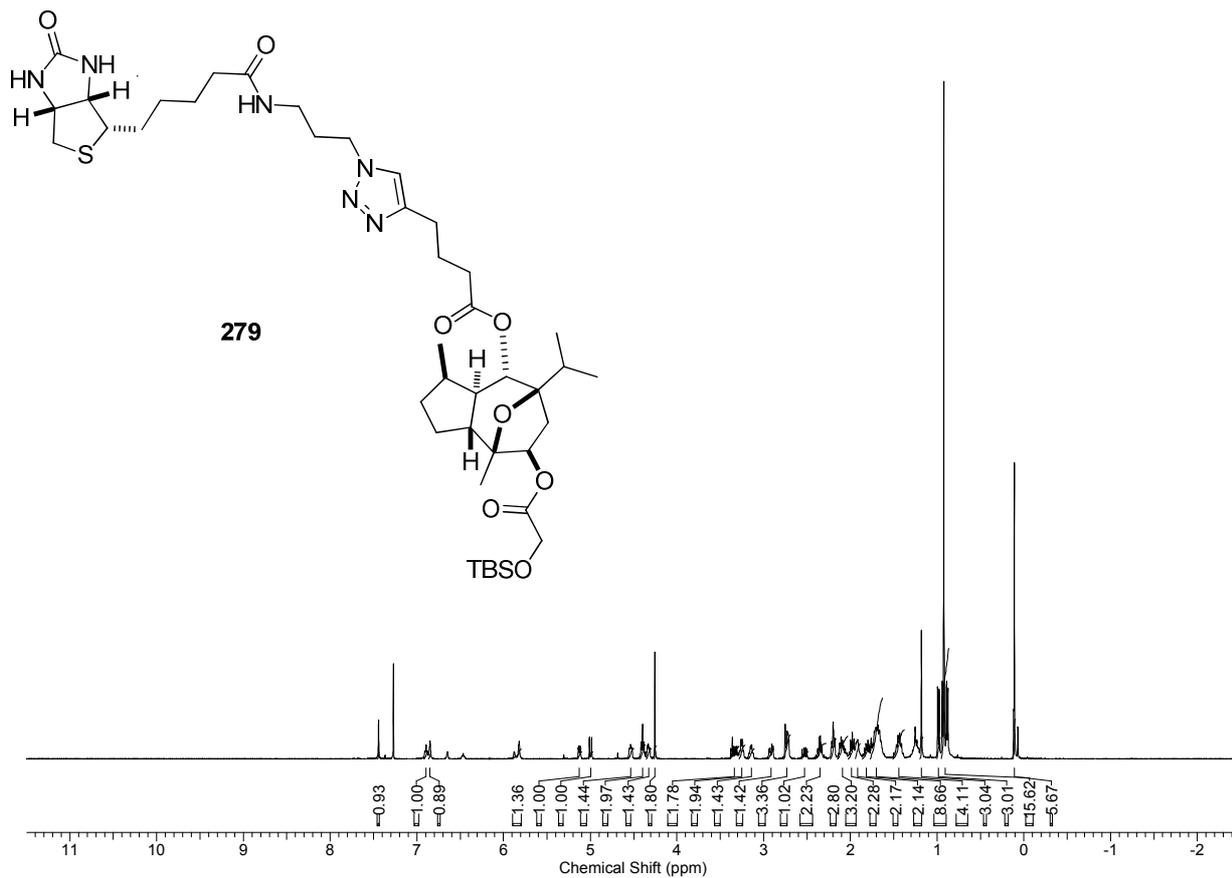


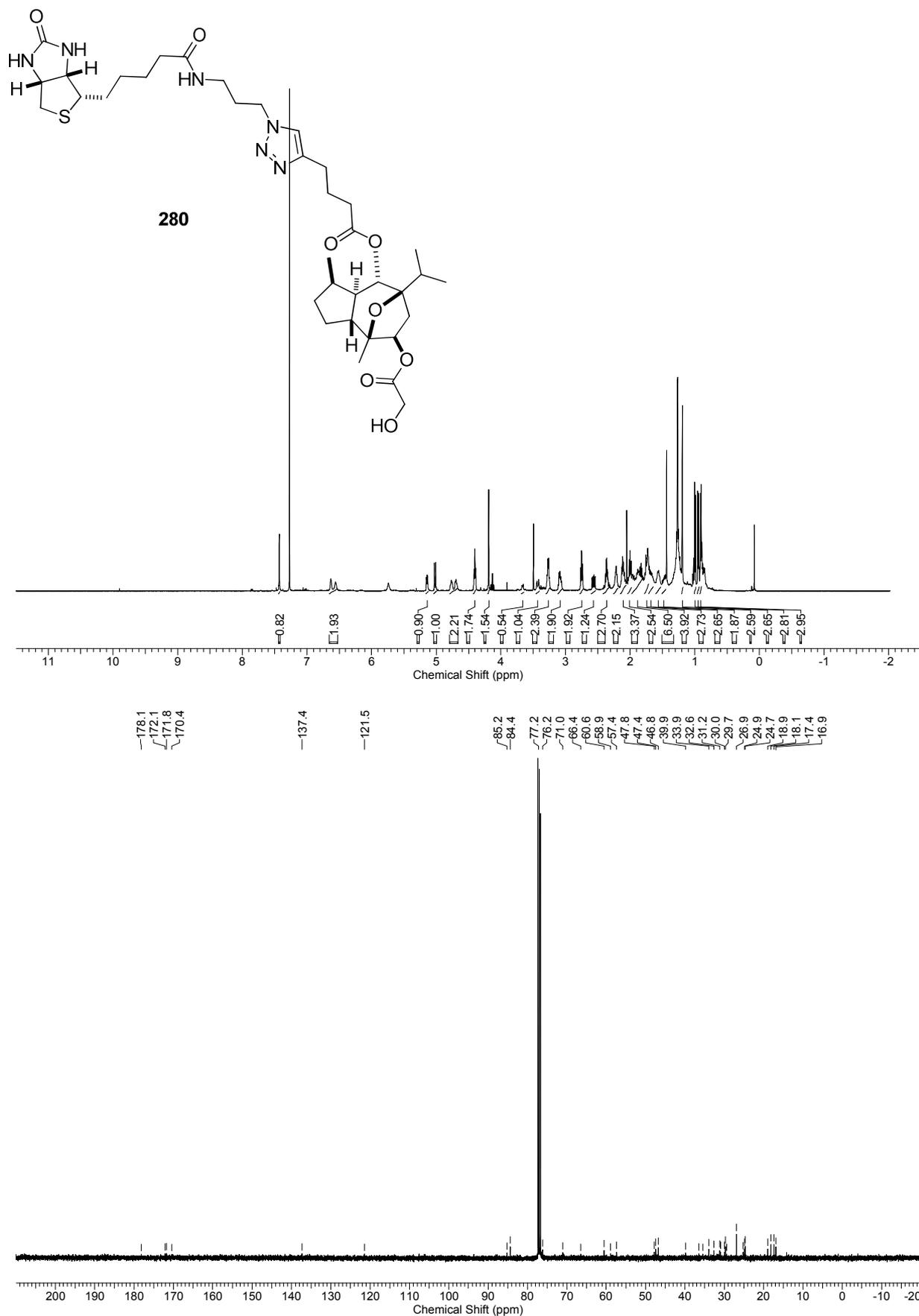


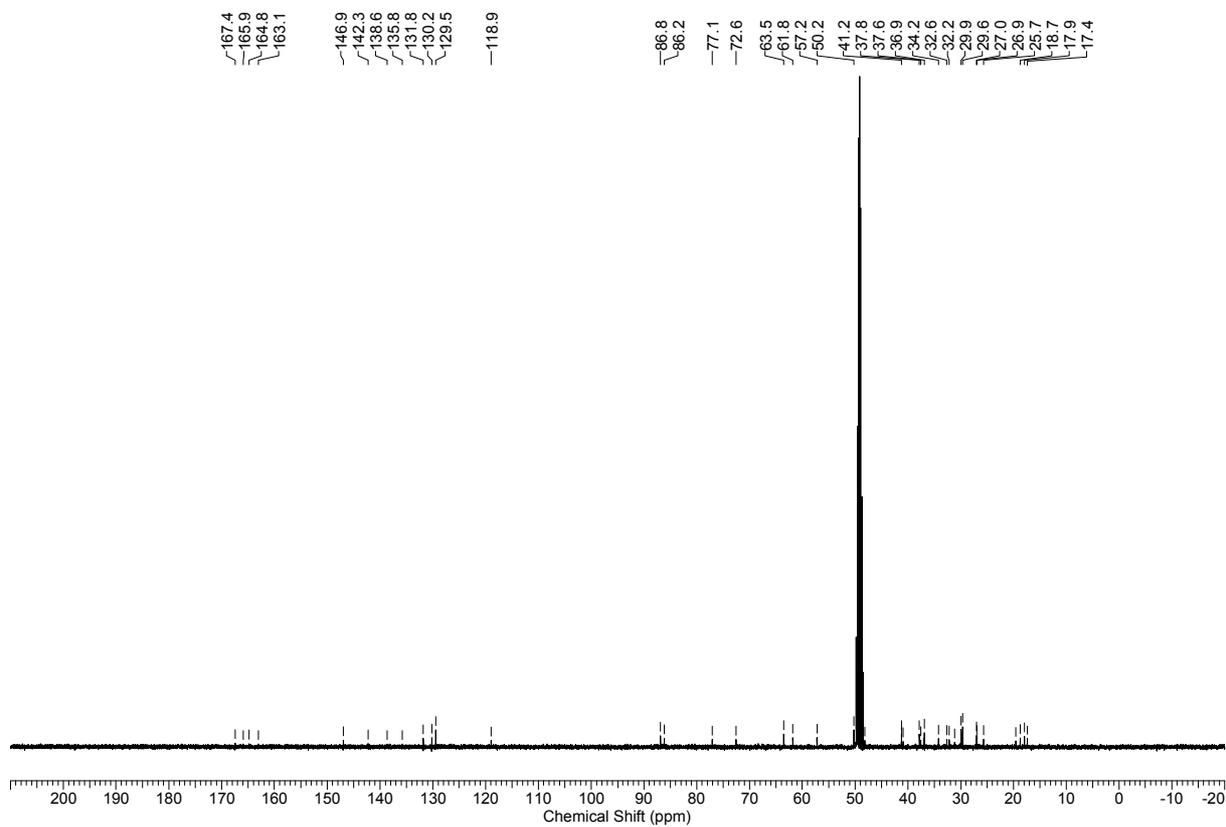
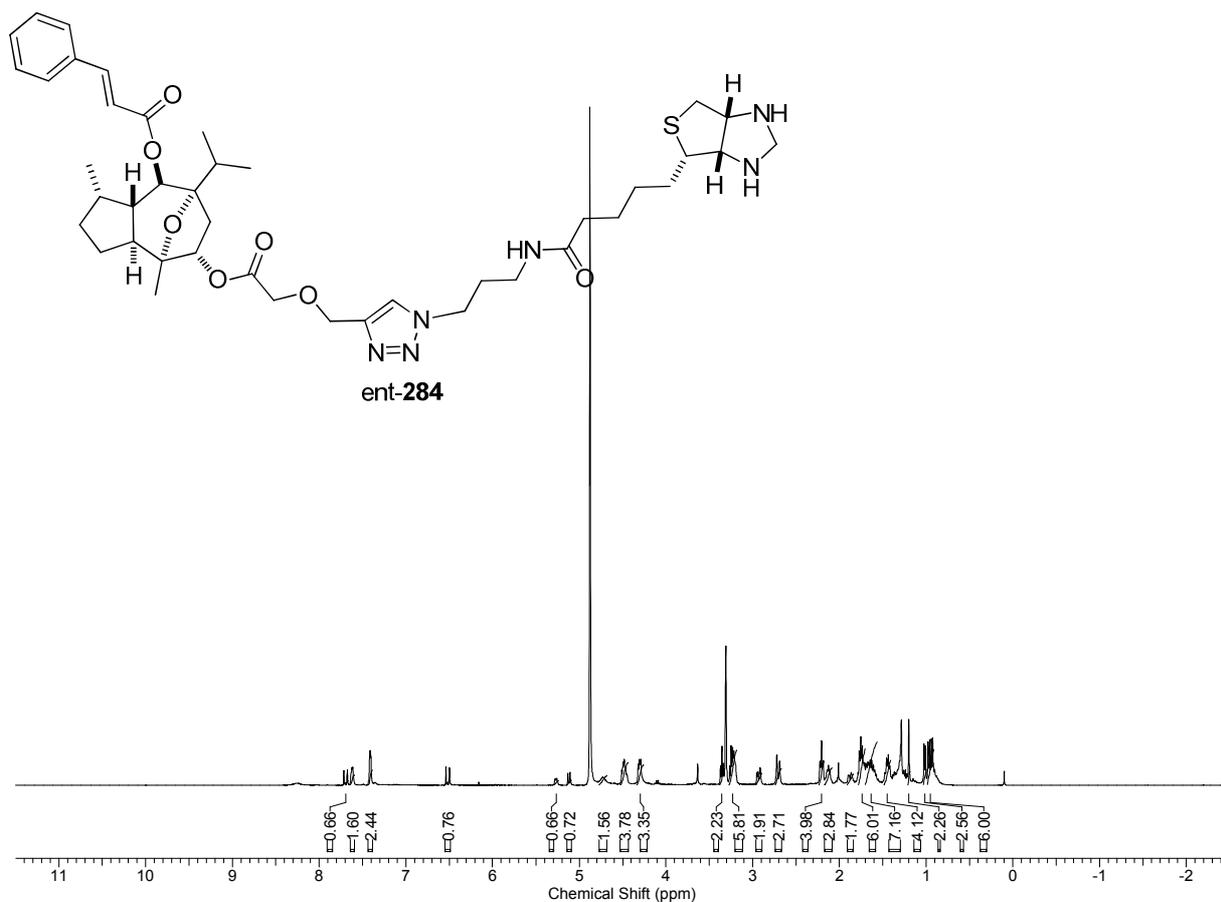


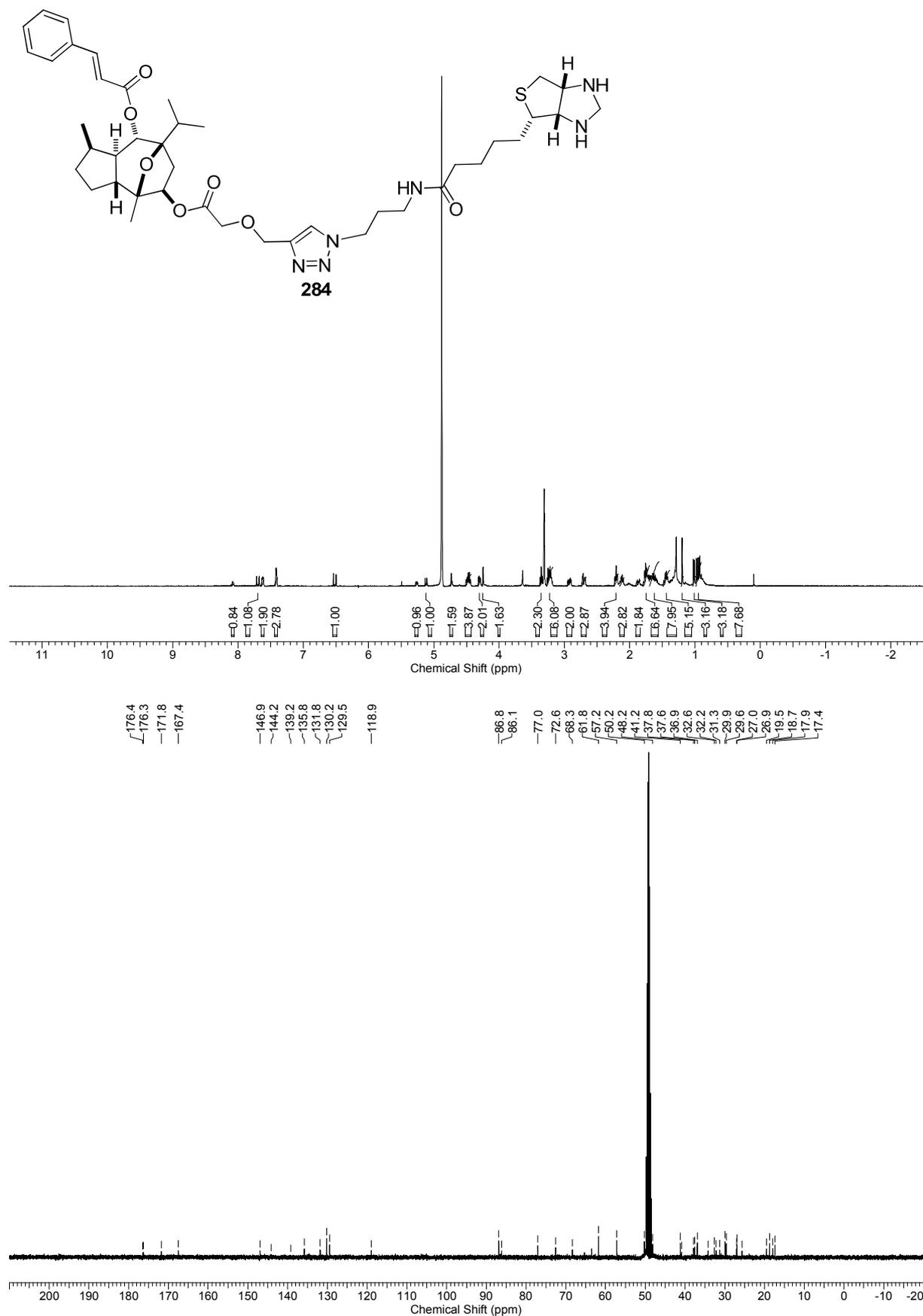


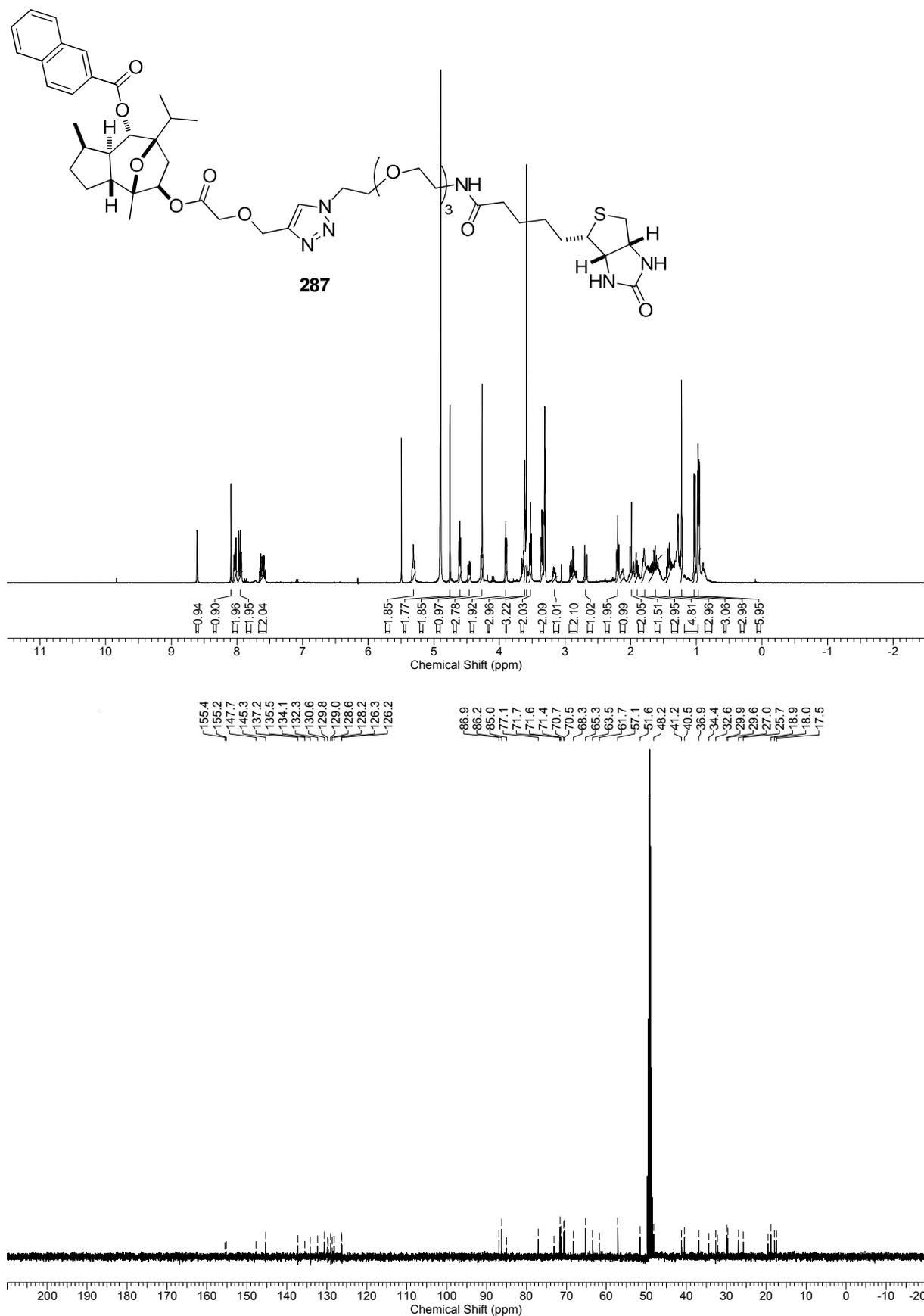


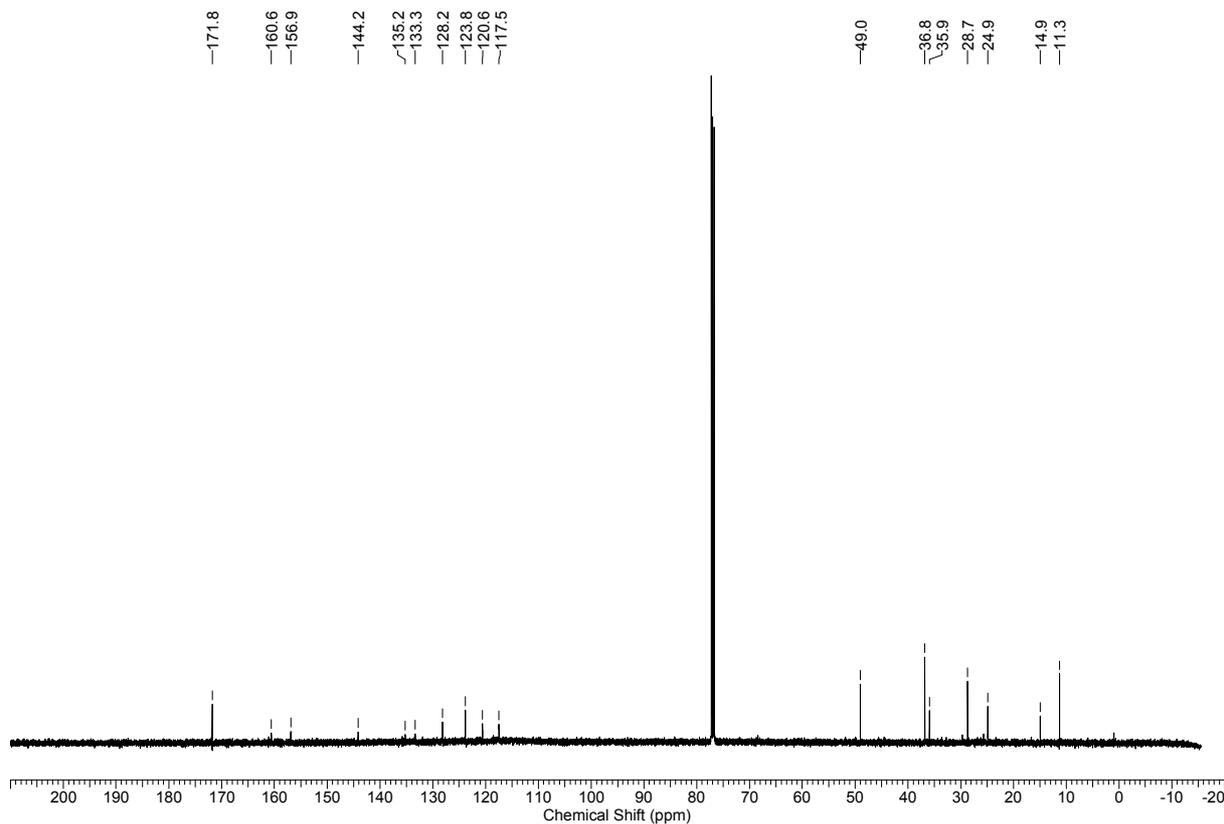
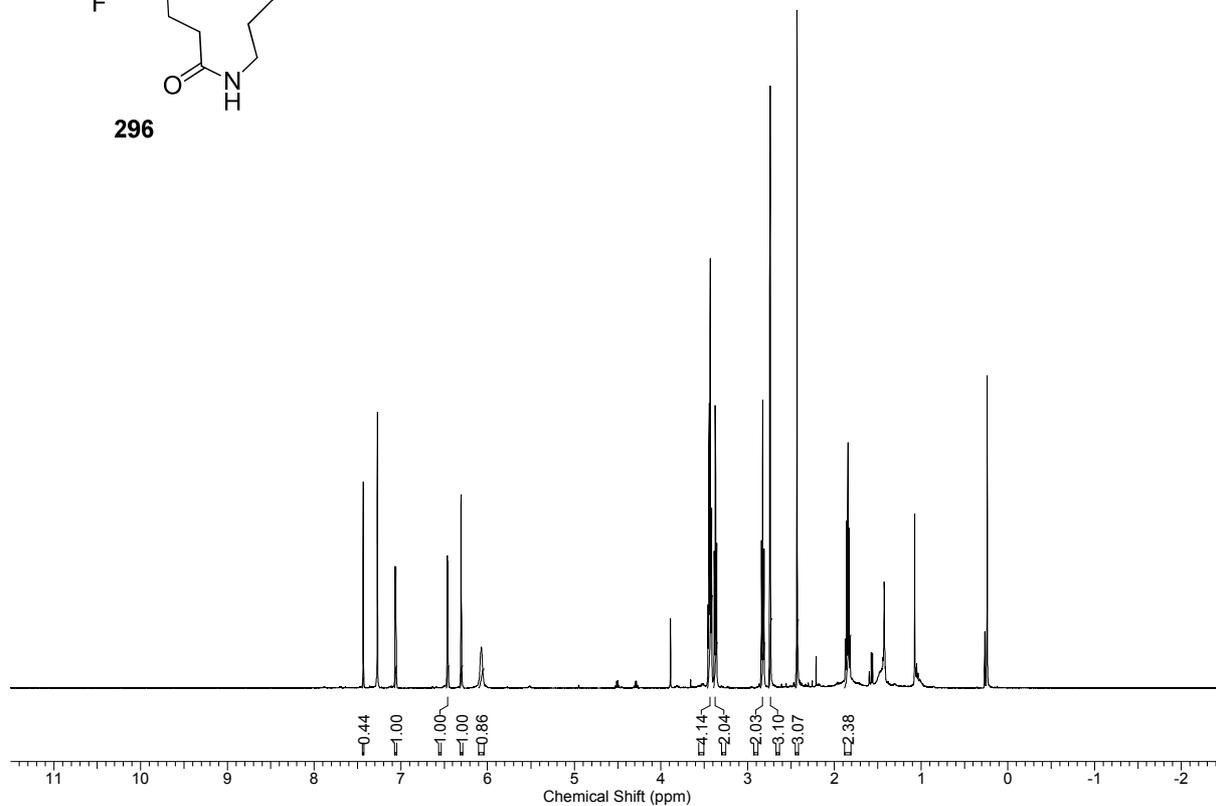
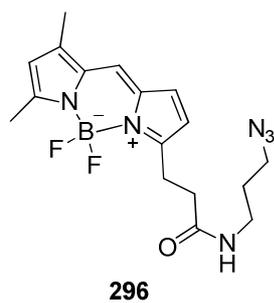


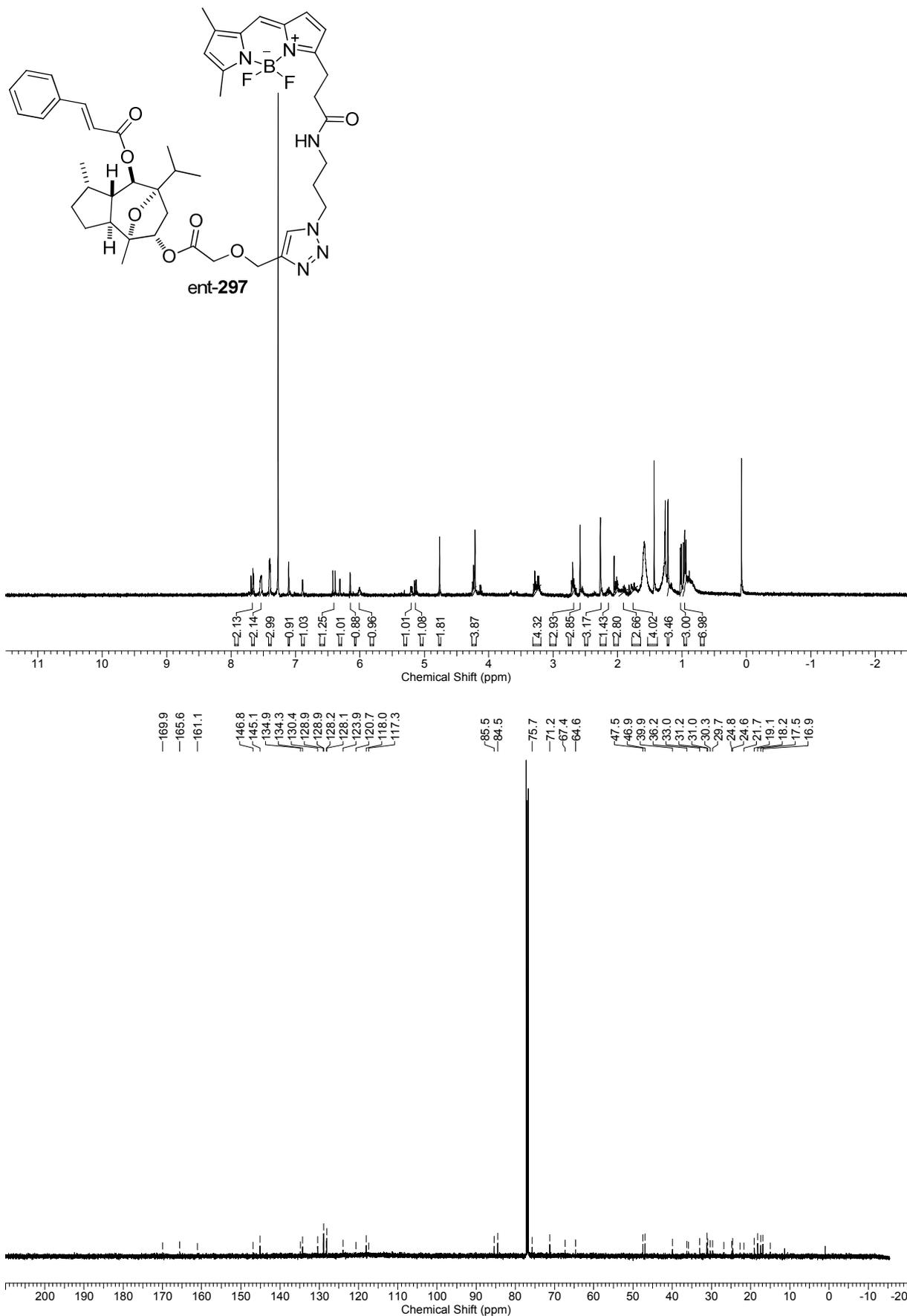


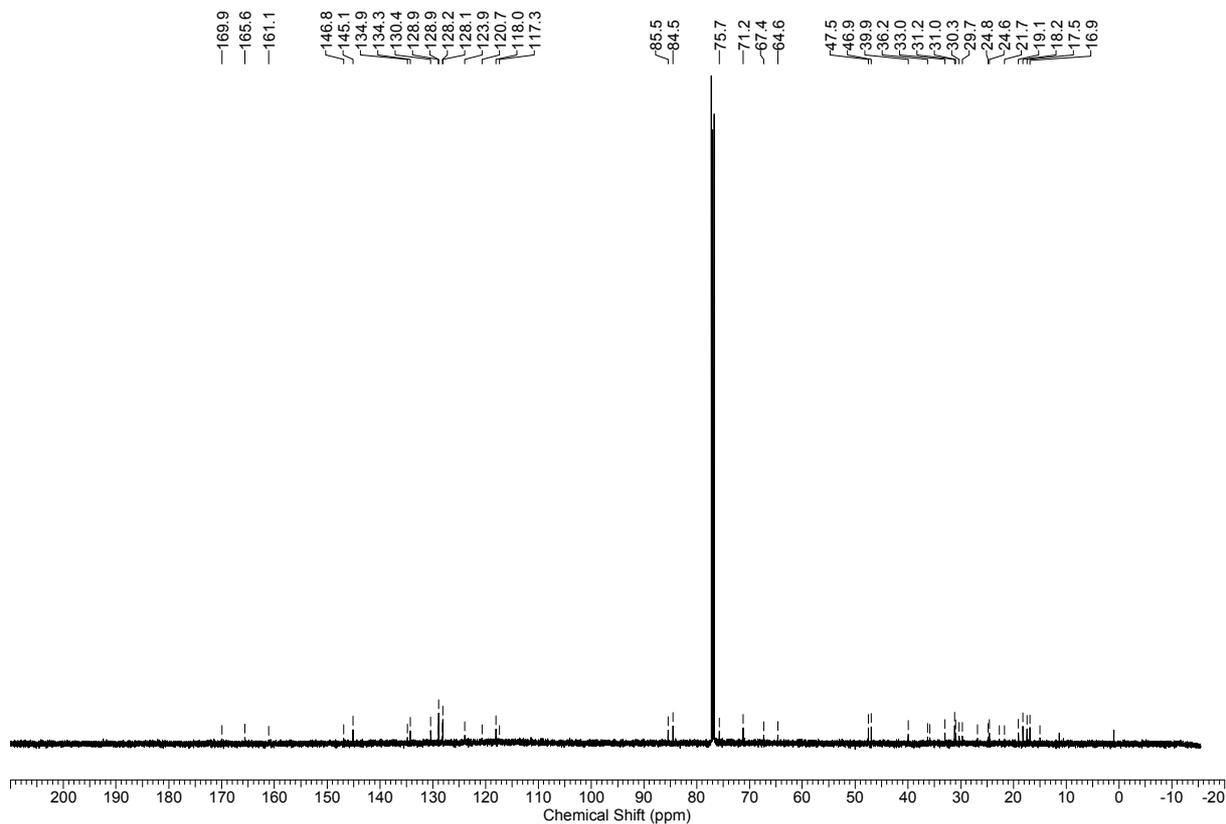
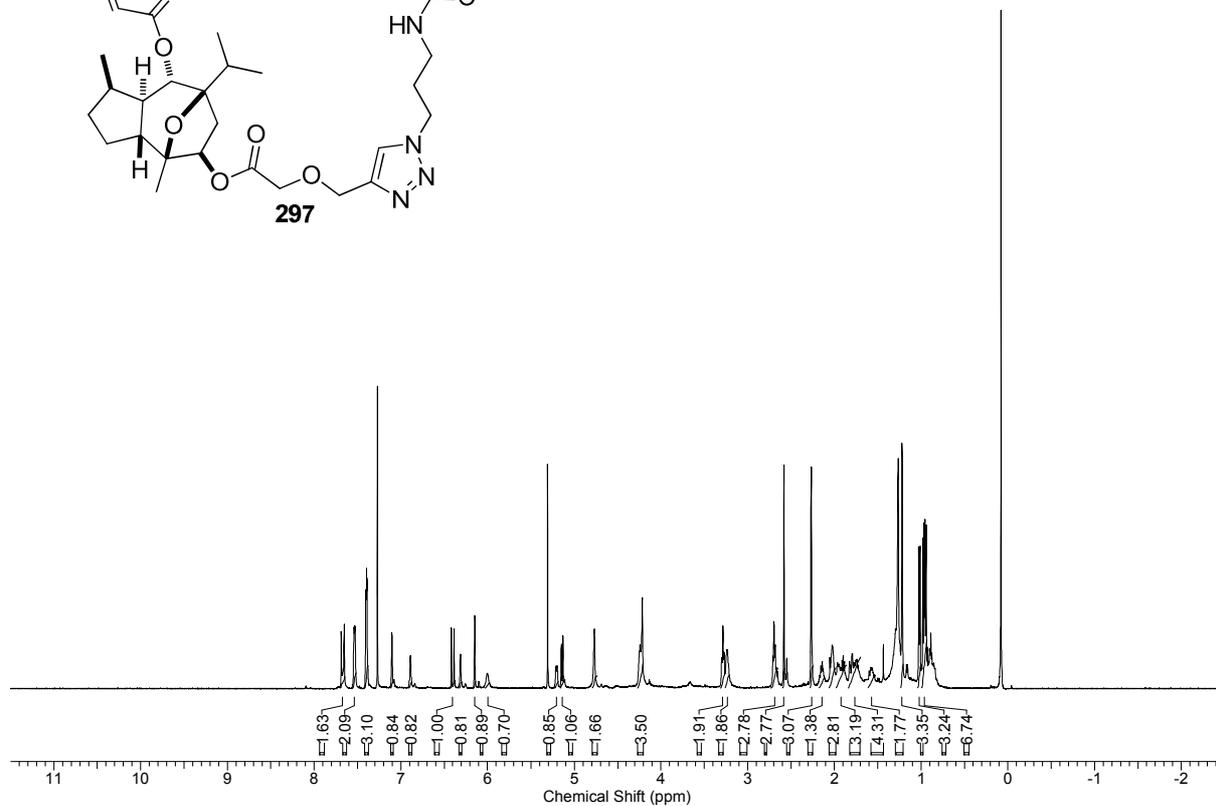
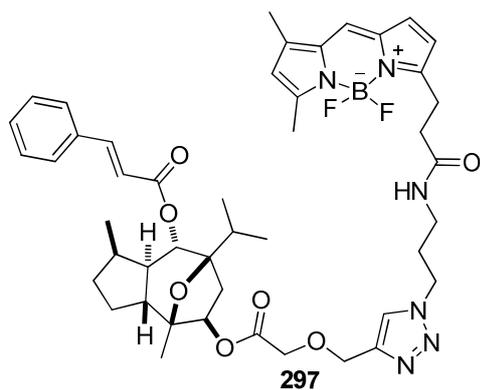












Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name	Lea Radtke
Geburtsdatum und –Ort	27.08.1984, Bochum
Familienstand	ledig

Schulbildung

1990-1994	Grundschule Rüdinghausen, Witten
1994-2004	Städt. Albert-Martmöller-Gymnasium, Witten
06/2004	Allgemeine Hochschulreife

Universitätsausbildung

2004-2009	Studiengang Chemie, Technische Universität Dortmund
09/2009	Diplom in Chemie, Titel der Diplomarbeit: „Totalsynthese und absolute Konfiguration von (+)-Englerin A“ (Prof. Mathias Christmann)
10/2009-08/2012	Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. Mathias Christmann, Titel der Dissertation: „Totalsynthese und intensive SAR-Studien von (-)-Englerin A“

Publikationen und Patent

- M. Willot, L. Radtke, D. Könnig, R. Fröhlich, V. H. Gessner, C. Strohmam, M. Christmann, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9269-9272; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9105-9108.
- L. Radtke, M. Willot, H. Sun, S. Ziegler, S. Sauerland, C. Strohmam, R. Fröhlich, P. Habenberger, H. Waldmann, M. Christmann, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 4084-4088; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3998-4002.
- Philipp Winter, Jörg Swatschek, Matthieu Willot, Lea Radtke, Tobias Olbrisch, Andreas Schäfer, Mathias Christmann, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 12200-12202.
- M. Christmann, H. Waldmann, L. Radtke, M. Willot, S. Ziegler, H. Sun, EP Patent 2474550 A1, Appl. Nr. 10075763.2, (2012).

Danksagung

Zu allererst möchte ich Herrn Prof. Dr. Mathias Christmann für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die hervorragenden Arbeitsbedingungen, sowie das faszinierende Thema und die Betreuung während der letzten Jahre danken.

Herrn Prof. Dr. Herbert Waldmann danke ich für die Übernahme des Koreferates. Dr. Monika Wyszogrodzka danke ich für den Beisitz in der Prüfungskommission.

Ein ganz besonderer Dank gilt Matthieu Willot für die hervorragende Zusammenarbeit in diesem Projekt. Hongyan Sun, Yasemin Akbulut und Slava Ziegler danke ich zudem für die gute „biologische Zusammenarbeit.“ Anna Jurytko danke ich für die tolle tatkräftige Unterstützung im Labor. Meinen Laborkollegen Julian Stiller („Jean-Jules“) und Matthieu Willot („Matthi-ou“) danke ich sehr für die tolle Laborzeit und die gemeinsamen Unternehmungen. Sven Hahn, Karoline Ostrowski, Andrea Ernst und Stephanie Sauerland danke ich darüber hinaus für die lustige Zeit im Labor. Dem gesamten Arbeitskreis Christmann bin ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre sehr dankbar. Meinen Bürokollegen Jörg Swatschek, Daniel Könnig und Philipp Winter danke ich für die amüsante Zeit, die wir hatten (auch Montag morgens ☺ und vor allem am Ende meiner Schreibphase!). Carine Vaxelaire, Maria Eugenia Marqués-López und Raquel P. Herrera, danke ich für unsere schönen Abende, die wir leider viel zu selten miteinander verbracht haben.

Außerdem bedanke ich mich bei den Arbeitskreisen Hiersemann und Krause für die freundliche Leihgabe einiger Chemikalien!

Bei Herrn Prof. Dr. Carsten Strohmann bedanke ich mich für die Messung der Röntgenkristallstrukturen. Bei Herrn Prof. Dr. Roland Fröhlich (Westfälische Wilhelms-Universität Münster) bedanke ich mich für die Bestimmung der absoluten Konfiguration. Andreas Hammer danke ich für die Beschaffung von Glasgeräten und Laborbedarf, sowie für die Chemikalien. Heidi Zimmermann danke ich für's Posterdrucken und Abholen, sowie für etliche organisatorische Angelegenheiten. Silvia Lessing danke ich ebenfalls sehr herzlich für alle organisatorischen Angelegenheiten und die Kaffeegaben, wenn unsere Dose mal wieder leer war, wie auch für die Pflege meiner Büro-Blumen in den letzten Wochen. Katja Weber danke ich für das Regeln etlicher Angelegenheiten. Den beiden Analytik-Expertinnen Andrea Bokelmann und Stephanie Sauerland danke ich für das Messen meiner Drehwerte, IR's und HPLC's/GC's! Bei der NMR-Abteilung um Dr. Wolf Hiller bedanke ich mich für die

Messung meiner Proben. Für die Messung meiner niedrig aufgelösten Massen möchte ich Sylvia Marzian danken, für die Messung der hoch aufgelösten Massen bedanke ich mich bei der Massen-Abteilung um Andreas Brockmeyer, vor allem aber bei Chantale Martin für das schnelle und problemlose Messen der Proben und ihre tollen Leckereien.

Peter Neubert danke ich für sein „Know-how“ bei den Reaktionen im Reaktor der TCA Dortmund. Viola Breker und Hongyan Sun danke ich darüber hinaus für die Synthese und Gabe von Biotin-Azid. Vio, danke für´s Blumen gießen!

Prof. Dr. Paultheo von Zezschwitz danke ich für die Gabe von 4-[3-(Trifluormethyl)-3*H*-diazirin-3-yl]benzoesäure.

Außerdem danke ich meinen Korrekturlesern, namentlich Matthieu Willot, Daniel Könning, Jörg Swatschek, Philipp Winter, Sven Hahn, Viola Breker und Bernd Wagner für die kritische Durchsicht dieses Manuskriptes.

Meiner tollen Familie, insbesondere meinen Eltern, danke ich von ganzem Herzen für die jahrelange Unterstützung während des gesamten Studiums und der Fertigstellung dieser Arbeit, die es mir ermöglichte, mein Studium fokussiert zu verfolgen und zeitnah abzuschließen. Die ständigen Aufmunterungen, Motivierungen und Ratschläge, das Interesse, die Liebe und das Vertrauen, das sie mir entgegengebracht haben, haben mich während dieser Zeit sehr gestärkt. Meinen Schwestern Theda und Esther danke ich dafür, dass sie einfach für mich da waren und es immer sind. Ihr seid die Besten! Matthieu Willot danke ich sehr herzlich ganz besonders für die letzten Wochen in Strasbourg! Merci beaucoup pour tout. Je pouvais bien travailler chez toi et j'ai bien profité d'être avec toi ! Merci pour ton aide, ton réconfort, ton rire et ton amour !

Literaturverzeichnis

- [1] Nierenkrebs, Die blauen Ratgeber, Antworten, Helfen, Perspektiven, Deutsche Krebshilfe e.V., Bonn, 11/2011
- [2] Bildquelle: Stand: 01.06.2012, 11:54 Uhr.
http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/02071999/00004/20G0029_lores.jpg
- [3] Nierenkrebs, Ein Ratgeber für Betroffene, Angehörige und Interessierte, Deutsche Krebshilfe e.V., Bonn, 1/2009.
- [4] K. A. Furge, J. P. MacKeigan B. T. Teh, *Lancet Oncology* **2010**, *11*, 571–578.
- [5] R. Ratnayake, D. Covell, T. T. Ransom, K. R. Gustafson, J. A. Beutler, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 57-60.
- [6] J. B. Calixto, A. R. S. Santos, V. C. Filbo, R. A. Yunes, *Med. Res. Rev.* **1998**, *18*, 225-258.
- [7] GI₅₀: Growth Inhibition 50: Die Konzentration der Substanz, die das Krebswachstum um 50% inhibiert.
- [8] a) L. Radtke, Totalsynthese und absolute Konfiguration von (+)-Englerin A, Diplomarbeit **2009**, Technische Universität Dortmund, Dortmund; b) M. Willot, L. Radtke, D. Könning, R. Fröhlich, V. H. Gessner, C. Strohmann, M. Christmann, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9269-9272; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9105-9108.
- [9] a) K. Molawi, N. Delpont, A. M. Echavarren, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3517-3519; b) Q. Zhou, X. Chen, D. Ma, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3513-3516; c) K. C. Nicolaou, Q. Kang, S. Ng, D. Y.-K. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8219-8222; d) Z. Li, M. Nakashige, W. J. Chain, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 6553-6556; e) L. Radtke, M. Willot, H. Sun, S. Ziegler, S. Sauerland, C. Strohmann, R. Fröhlich, P. Habenberger, H. Waldmann, M. Christmann, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 4084-4088; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3998-4002.
- [10] a) J. Xu, E. J. E. Caro-Diaz, E. A. Theodorakis, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3708-3711; b) J. Lee, K. A. Parker, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2682-2685; c) P. Gao, S. P. Cook, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3340-3343.
- [11] a) V. Navickas, D. B. Ushakov, M. Ströbele, H.-J. Meyer, M. E. Maier *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3418-3421; b) B.-F. Sun, C.-L. Wang, R. Ding, J.-Y. Xu, G.-Q. Lin, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2155-2158; c) C.-L. Wang, S.-G. Chen, R. Ding, Y.-J. Shang, B.-F. Sun, J.-Y. Xu, G.-Q. Lin *Synlett* **2012**, 263-266; d) J. Xu, E. J. E. Caro-Diaz, A. Batova, S. D. E. Sullivan, E. A. Theodorakis, *Chem. Asian J.* **2012**, *7*, 1052-1060.
- [12] a) D. B. Ushakov, V. Navickas, M. Ströbele, C. Maichle-Mössmer, F. Sasse, M. E. Meier, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2090-2093; b) K. P. Chan, D. Y.-K. Chen, *ChemMedChem* **2011**, *6*, 420-423; c) R. K. Akee, T. Ransom, R. Ratnayake, J. B. McMahon, J. A. Beutler, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 459-463.
- [13] a) R. H. Pouwer, J.-A. Richard, C.-C. Tseng, D. Y.-K. Chen, *Chem. Asian J.* **2012**, *7*, 22-35; b) W. J. Chain, *Synlett*, **2011**, 2605-2608.
- [14] M. Willot, M. Christmann, *Nature Chem.* **2010**, *2*, 519-520.
- [15] a) 300 g *cis,trans* Nepetalacton mit einer Reinheit von 80% wurde uns von der Firma Symrise GmbH geschenkt. Das Epimer, *trans,cis*-Nepetalacton wurde aus Amerika im Kilogramm-Maßstab mit einer Reinheit von 45% von der Firma Berje Ltd. (USA) erhalten; b)

-
- Nepetalacton liegt als Gemisch der beiden Epimere *cis,trans*- und *trans,cis*-Nepetalacton vor. Durch ein Patent von Chauhan und Zhang ist es aber durch einen Reaktions-Extraktionszyklus trennbar, s. Ref. 16.
- [16] a) Für eine detaillierte Charakterisierung jeder Isomere von Nepetalacton: I. Liblikas, E. M. Santangelo, J. Sandell, P. Baeckström, M. Svensson, U. Jacobsson, C. R. Unelius, *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 886-890; b) Patent für die Trennung der Epimere: K. R. Chauhan, A. Zhang, US Patent 7375239 B2, (2008).
- [17] R. S. Porto, M. L. A. A. Vasconcellos, E. Ventura, F. Coelho, *Synthesis* **2005**, 2297-2306.
- [18] a) B. M. Trost, J. R. Corte, M. S. Gudiksen, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3945-3947; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3662-3664; b) C. Pétrier, J. Einhorn, J. L. Luche, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1449-1452.
- [19] D. H. R. Barton, T. Shioiri, D. A. Widdowson, *J. Chem. Soc. C* **1971**, 1968-1974.
- [20] J. Mulzer, B. List, J. W. Bats, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5512-5518.
- [21] M. K. Gurjar, U. K. Sahar, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1833-1836.
- [22] C. J. Sinz, S. D. Rychnovsky, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6561-6576.
- [23] T. Cohen, T. Kreethadumrongdat, X. Liu, V. Kulkarni, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3478-3483.
- [24] a) A. Gradillas, J. Pérez-Castells, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6232-6247; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6086-6101; b) C. Hamel, E. V. Prusov, J. Gertsch, W. B. Schweizer, K.-H. Altmann, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 10235-10239; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 10081-10085.
- [25] M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953-957.
- [26] M. E. Krafft, E.-H. Song, R. J. Davoile, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6359-6362.
- [27] M. Hashimoto, T. Kann, K. Nokazi, M. Yanagiya, H. Shirahama, T. Matsumoto, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5088-5107.
- [28] M. Leemhuis, J. H. van Steenis, M. J. van Uxem, C. F. van Nostrum, W. E. Hennink, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 3344-3349.
- [29] M. Yoshikawa, Y. Fukuda, S. Hatakeyama, N. Tanaka, H. Matsuda, J. Yamahara, N. Murakami, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 1194-1196.
- [30] a) J. Inanaga, K. Hirata, H. Saeki, T. Katsuki, M. Yamaguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 1989-1993; b) T. Nagamitsu, D. Takano, T. Fukuda, K. Otaguro, I. Kuwajima, Y. Harigaya, S. Omura, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1865-1867.
- [31] T. Hu, N. Takenaka, J. S. Panek, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12806-12815.
- [32] E. Jiménez-Núñez, C. K. Claverie, C. Nieto-Oberhuber, A. M. Echavarren, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5578-5581; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5452-5455.
- [33] T. Katsuki, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5974-5976.
- [34] R. Appel, *Angew. Chem.* **1975**, *87*, 863-874; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801-811.
- [35] D. K. Mohapatra, C. Pramanik, M. S. Chorghade, M. K. Gurjar, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 5059-5063.

-
- [36] a) K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2126-2135; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2024-2032; b) H. C. Kolb, M. S. VanNieuwenhze, K. B. Sharpless, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483-2547.
- [37] S. E. Denmark, R. A Stavenger, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8837-8847.
- [38] C. H. M. Amijs, V. López-Carrillo, M. Raducan, P. Pérez-Galán, C. Ferrer, A. M. Echavarren, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7721-7730.
- [39] E. J. Núñez, K. Molawi, A. M. Echavarren, *Chem. Commun.* **2009**, 7327-7329.
- [40] a) P. Sundararaman, W. Herz, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 813-819; b) W. G. Salmond, M. A. Barta, J. L. Havens, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2057-2059.
- [41] M. A. Umbreit, K. B. Sharpless, *Org. Synth.* **1981**, *60*, 29-32.
- [42] B. Wüstenberg, A. Pfaltz, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 174-178.
- [43] A. Spaggiari, D. Vaccari, P. Davoli, G. Torre, F. Prati, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2216-2219.
- [44] M. A. Umbreit, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5526-5528.
- [45] S. V. Ley, J. Norman, W. P. Griffith, S. P. Marsden, *Synthesis* **1994**, 639-666.
- [46] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156.
- [47] a) P. A. Wender, J. L. Mascareñas, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6267-6269; b) P. A. Wender, J. L. Mascareñas, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2115-2118; c) D. R. Williams, J. W. Benbow, J. G. McNutt, E. E. Allen, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 833-843; d) K. A. Marshall, A. K. Mapp, C. H. Heathcock, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9135-9145.
- [48] X. Du, F. Song, Y. Lu, H. Chen, Y. Liu, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1839-1845.
- [49] O. Achmatowicz, R. Bielski, *Carbohydr. Res.* **1977**, *55*, 165-176.
- [50] V. Singh, U. M. Krishna, Vikrant, G. K. Trivedi, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3405-3428.
- [51] W. Oppolzer, C. Chaphuis, G. Bernardinelli, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5885-5888.
- [52] P. A. Grieco, S. Gilman, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 1485-1486.
- [53] W. H. Clement, C. M. Selwitz, *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 241-243.
- [54] a) J. L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2226-2227; b) G. A. Molander, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 29-68.
- [55] R. H. Crabtree, M. W. Davies, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2655-2661.
- [56] S. Nahm, S. M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815-3818.
- [57] A. Baeyer, V. Villiger, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1899**, *32*, 3625-3633.
- [58] a) G. A. Molander, C. R. Harris, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 307-338; b) D. J. Edmonds, D. Johnston, D. J. Procter, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3371-3403; c) K. C. Nicolaou, S. P. Ellery, J. S. Chen, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7276-7301; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7140-7165.
- [59] E. M. Burgess, H. R. Penton, E. A. Taylor, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 26-31.
- [60] K. Ishihara, M. Kubota, H. Kurihara, H. Yamamoto, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4560-4567.

-
- [61] H. J. M. Gijzen, J. B. P. A. Wijnberg, G. A. Stork, A. De Groot, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 4409-4416.
- [62] a) M. P. Doyle, C. C. McOsker, N. Ball, C. T. West, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1922-1928; b) D. J. Parks, J. M. Blackwell, W. E. Piers, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 3090-3098; c) G. L. Larson, J. L. Fry, *Org. React.* **2008**, *71*, 1-737.
- [63] H. M. L. Davies, G. Ahmed, M. R. Churchill, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10774-10782.
- [64] P. Weyerstahl, J. Brendel, *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 1015-1016.
- [65] J.-M. Poirier, L. Hennequin, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 4191-4202.
- [66] G. M. Rubottom, M. A. Vazquez, D. R. Pelegrina, *Tetrahedron Lett.* **1974**, *15*, 4319-4322.
- [67] H. Stetter, *Angew. Chem.* **1976**, *88*, 695-704; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1976**, *15*, 639-647.
- [68] M. Harmata, S. K Ghosh, X. S. Wacharasindhu, P. Kirchoefer, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2058-2059.
- [69] T. H. Graham, B. D. Horning, D. W. C. MacMillan, *Org. Synth.* **2011**, *88*, 42-53.
- [70] I. C. Stewart, T. Ung, A. A. Pletnev, J. M. Berlin, R. H. Grubbs, Y. Schrodi, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1589-1592.
- [71] a) C. A. Broka, Y.-T. Lim, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5876-5885; b) S. H. Kang, M. Kim, S. Y. Kang, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6303-6306; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6177-6180.
- [72] C. L. Hill, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 870-876.
- [73] a) M. Graff, A. Aldilaimi, P. Segueineau, M. Rambaud, J. Villieras, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1577-1578; b) C. D. Graf, P. Knochel, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 8801-8814.
- [74] G. Manickam, U. Siddappa, Y. Li, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 5867-5868.
- [75] R. Mahrwald, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1095-1120.
- [76] B. H. Lipshutz, S. H. Dimock, B. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9283-9284.
- [77] D. L. Comins, A. Dehghani, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6299-6302.
- [78] J. Mann, *Nat. Rev. Cancer*, **2002**, *2*, 143-148.
- [79] S. P. Gunasekera, M. Gunasekera, R. E. Longley, G. K. Schulte, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4912-4915; (Korrekturen finden sich unter: *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1346-1346).
- [80] a) J. B. Nerenberg, D. T. Hung, P. K. Somers, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12621-12622; b) D. T. Hung, J. B. Nerenberg, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.* **1994**, *1*, 67-71; c) D. T. Hung, J. B. Nerenberg, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11054-11080.
- [81] IC₅₀: Halb maximale (50%) inhibitorische Konzentration (IC) einer Substanz. Die Konzentration einer Substanz, die für eine 50%ige Inhibierung eines biologischen Prozesses *in vitro* notwendig ist.
- [82] a) S. P. Gunasekera, R. E. Longley, R. A. Isbrucker, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 171-174; b) R. A. Isbrucker, S. P. Gunasekera, R. E. Longley, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2001**, *48*, 29-36; c) S. P. Gunasekera, G. K. Paul, R. E. Longley, R. A. Isbrucker, S. A. Pomponi, *J. Nat. Prod.*

-
- 2002, 65, 1643-1648; d) S. P. Gunasekera, R. E. Longley, R. A. Isbrucker, *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 1830-1837.
- [83] J. A. Beutler, R. Ratnayake, D. Covell, T. R. Johnson, WO2009/088854 A1
- [84] M. Christmann, H. Waldmann, L. Radtke, M. Willot, S. Ziegler, H. Sun, Patent EP 10075763.2, 2012.
- [85] Maier *et al.* bezogen eine Probe von (-)-Englerin A bei AppliChem GmbH, Darmstadt. Eine Probe von 10 mg (-)-Englerin A kostet 644 €.
- [86] In der Publikation von Beutler *et al.* (Ref.12c) wurden die Strukturen von (+)-Englerin A und dessen Derivaten, sowie die GI₅₀-Werte publiziert. Zum jetzigen Zeitpunkt ist jedoch die absolute Konfiguration bekannt, daher ist hier die „korrekte“ Stereochemie gezeigt.
- [87] Der Übersicht halber wird hier nur eine Auswahl der getesteten Zelllinien gezeigt. Die gesamten Ergebnisse sind aus Ref. 12c ersichtlich.
- [88] B. Siedle, A. J. García-Pineros, R. Murillo, J. Schulte-Mönting, V. Castro, P. Rüngeler, C. A. Klaas, F. B. Da Costa, W. Kisiel, I. Merfort, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6042-6054.
- [89] S. L. Schreiber, H. V. Meyers, K. B. Wiberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 8274-8277.
- [90] Ein Großteil dieser Arbeit wurde in enger Zusammenarbeit mit Dr. Matthieu Willot durchgeführt.
- [91] (+)-Citronellal wurde uns mit einem *ee* von 97% von Takasago International Corporation zur Verfügung gestellt.
- [92] Es ist wichtig, dass das Ag₂CO₃/Celite-Gemisch noch aktiv ist. Wenn es über mehrere Wochen oder Monate lagert, kann es seine Aktivität verlieren und die Ausbeuten liegen bei rund 50%, da es sehr lichtsensibel ist.
- [93] K. Sakurai, K. Ikeda, K. Mori, *Agric. Biol. Chem.* **1988**, 52, 2369-2371.
- [94] a) Das unerwünschte Epoxid konnte nicht in den Reaktionszyklus zurückgeführt werden. Reaktionen mit WCl₆ und *n*-BuLi, um das Epoxid zu entfernen und Nepetalacton zu erhalten, scheiterten; b) Intensive Studien der Epoxidierung (Lösungsmittel, Temperatur, Oxidationsmittel) wurden im Zuge meiner Diplomarbeit durchgeführt und finden sich in Ref. 8a, sowie im Forschungspraktikum von Stephanie Sauerland.
- [95] Die Synthese mit dem Me-Rest wurde von Stephanie Sauerland in ihrer Bachelorarbeit an der Technischen Universität Dortmund, **2010**, durchgeführt. Die Synthese mit dem Et-Rest wurde im Zuge eines „RISE-Austauschprogrammes“ von Douglas Deutsch begonnen und von Dr. Matthieu Willot und mir beendet. Beide Synthesen werden hier der Vollständigkeit halber mit aufgeführt.
- [96] Stephanie Sauerland, Bachelorarbeit, Technische Universität Dortmund, **2010**.
- [97] J. S. Kingsburg, J. P. A. Harrity, P. J. Bonitatebus, Jr., A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 791-799.
- [98] Epoxidierungen mit anderen Epoxidationsmitteln wie dem (*S*)-Jacobsen-Katalysator oder dem *Shi*-Katalysator waren weniger erfolgreich, weswegen *m*-CPBA als Oxidationsmittel gewählt wurde.

-
- [99] Der Versuch, das unerwünschte Epoxid durch Reaktion mit *n*-BuLi und WCl₆ zum Alken zu reduzieren, scheiterte.
- [100] Wenn das eingesetzte TBAF sehr basisch ist, muss in der finalen TBS-Entschützung das TBAF mit AcOH gepuffert werden, da sonst die Glykolsäure gespalten und ein Gemisch aus Englerin A und Englerin B gebildet wird. Die Ausbeuten liegen bei rund 89% (für das gepufferte System).
- [101] M. M. Alhamadsheh, N. Palaniappan, S. DasChouduri, K. A Reynolds, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1910-1911.
- [102] T. L. Gilchrist, R. C. Wasson, F. D. King, G. Wootton, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1987**, 2517-2522.
- [103] S. Kobayashi, N. Horibe, Y. Saito, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 9629-9642.
- [104] MDCK: Madin-Darby canine kidney cells (aus Hundeniere); BSC-1: Nierenepithelzellen (aus der grünen Meerkatze); RC-124: Humane Nierenzelllinie.
- [105] Ein Teil der Arbeiten zu diesem Kapitel wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Matthieu Willot durchgeführt.
- [106] D. Kim, J. Lee, P. J. Shim, J. I. Lim, T. Doi, S. Kim, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 772-781.
- [107] J. Müller, S. C. Feifel, T. Schmiederer, R. Zocher, R. D. Süßmuth, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 323-328.
- [108] A. R. Glabe, K. L. Sturgeon, S. B. Ghizzoni, W. K. Musker, J. N. Takahashi, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7212-7216.
- [109] PCT Patent, Pfizer Inc., (GB). M. D. Andrews, A. D. Brown, D. S. Fradet, D. W. Gordon, M. I. Lansdell, M. C. MacKenny WO2004/111003 A1, (2004).
- [110] D.-W. Wang, S.-M Lu, Y.-G Zhou *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1282-1285.
- [111] Die Arbeiten im Druckreaktor wurden in Zusammenarbeit mit Peter Neubert von der Technischen Chemie, TCA Dortmund, am Lehrstuhl von Prof. Behr durchgeführt.
- [112] W. G. Dauben, R. C. Tweit, C. Mannerskantz, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 4420-4426.
- [113] a) H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056-2075; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021; b) V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2708-2711; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- [114] a) R. Huisgen, *Angew. Chem.* **1963**, *75*, 604-637; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-598; b) R. Knorr, L. Möbius, G. Szeimies, R. Huisgen, *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 4014-4021.
- [115] a) V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51-68; b) C. Spiteri, J. E. Moses, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 33-36; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 31-33.
- [116] K. C. Majumdar, K. Ray, *Synthesis* **2011**, 3767-3783.
- [117] a) L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999; b) B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8923-8930.

-
- [118] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [119] M. Wyszogrodzka, R. Haag, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 9202-9214.
- [120] Biotin-Azid wird bei Jena Bioscience GmbH in kleinen Mengen von 1 und 5 mg (170 € bzw. 504 €) verkauft, was für die organische Synthese wenig nützlich ist. Eine Probe von 100 mg kostet 2340 €.
- [121] Biotin-Azid wurde uns von Dr. Hongyan Sun und Dipl. Chem. Viola Breker zur Verfügung gestellt.
- [122] Die Kupfer-katalysierten „Klick Reaktionen“ wurden von Dr. Hongyan Sun am Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund durchgeführt.
- [123] a) A. Schmitt, B. Hinkeldey, M. Wild, G. Jung, *J. Fluoresc.* **2009**, *19*, 755-759; b) I. J. Arroyo, R. Hu, G. Merino, B. Z. Tang, E. Peña-Cabrera, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 517-5722; c) K. Tram, H. Yan, H. A. Jenkins, S. Vassiliev, D. Bruce, *Dyes and Pigments*, **2009**, 392-395.
- [124] A. Treibs, F. H. Kreuzer, *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *718*, 208-223.
- [125] A. Loudet, K. Burgess, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891-4932.
- [126] G. Ulrich, R. Ziessel, A. Harriman, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1202-1219; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1184-1201.
- [127] www.lifetechnologies.com, Molecular Probes® Handbook, Fluorophores and their Amine-reactive Derivatives, Chapter 1, BODIPY Dye Series, Section 1.4, 04.06.2012, 11:45 Uhr
- [128] 5 mg des BODIPY FL Fluoreszenzfarbstoffes kosten 267 € bei der Firma Life Technologies GmbH Corporation, Darmstadt.
- [129] a) M. Völkert, Dissertation, **2003**, Universität Dortmund; C. Peters, Dissertation, **2003**, Universität Dortmund; b) Die Synthese geht auf ein Patent der Firma Molecular Probes zurück, die allerdings auf ein anderes Derivat bezogen ist. R. P. Haugland, H. C. Kang, US-Patent 4774339, 1988, Inc. USA.
- [130] A. Singh, E. R. Thornton, F. H. Westheimer, *J. Biol. Chem.* **1962**, 3006-3008.
- [131] G. Dormán, *Top. Curr. Chem.* **2000**, *211*, 169-225.
- [132] J. Brunner, *Annu. Rev. Biochem.* **1993**, *62*, 483-514.
- [133] a) J. Das, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 4405-4417; b) L. Dubinsky, B. P. Krom, M. M. Meijler, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 554-570; c) A. Blencowe, W. Hayes, *Soft Matter*, **2005**, *1*, 178-205; d) T. Mayer, M. E. Maier, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 4711-4720; Y. Sadakane, Y. Hatanaka, *Analytical Sciences*, **2006**, *22*, 209-218.
- [134] R. A. G. Smith, J. R. Knowles, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1975**, 686-694.
- [135] a) F. M. Richards, J. Brunner, *Ann. NY Acad. Sci* **1980**, *346*, 144-164; b) J. Brunner, H. Senn, F. M. Richards, *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 3313-3318.
- [136] T. Bender, M. Huss, H. Wiczorek, S. Grond, P. von Zezschwitz, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3870-3878.
- [137] Eine Probe von ca. 70 mg wurde uns von P. von Zezschwitz zur Verfügung gestellt.
- [138] A. L. MacKinnon, J. Taunton, *Curr. Protoc. Chem. Biol.* **2009**, *1*, 55-73.
- [139] M. Rusch, T. J. Zimmermann, M. Bürger, F. J. Dekker, K. Görmer, G. Triola, A. Brockmeyer, P. Janning, T. Böttcher, S. A. Sieber, I. R. Vetter,

-
- C. Hedberg, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 10012-10016;
Angew. Chem. Int. Ed. **2011**, *50*, 9838-9842.
- [140] Dieses Experiment wurde von Dr. *Hongyan Sun* am Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund durchgeführt.
- [141] a) S.-I. Sato, A. Murata, T. Shirakawa, M. Uesugi, *Chemistry & Biology*, **2010**, *17*, 616-623; b) S.-I. Sato, Y. Kwon, S. Kamisuki, N. Srivastava, Q. Mao, Y. Kawazoe, M. Uesugi, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 873-880.
- [142] A. Einig, Masterarbeit **2011**, FH Gelsenkirchen.
- [143] Handbooks Amersham Biosciences, Affinity Chromatography, Principles and Methods, **2002**.
- [144] J. R. Snyder, A. Hall, L. Ni-Komatsu, S. M. Khersonsky, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 477-484.
- [145] G. C. Terstappen, C. Schlupen, R. Raggiaschi, G. Gaviraghi, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2007**, *6*, 891-903.
- [146] a) C. J. O'Connor, L. Laraia, D. R. Spring, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4332-4345; b) S.-E. Ong, I. Kratchmarova, M. Mann, *Journal of Proteome Research*, **2003**, *2*, 173-181.
- [147] N. Ibarrola, H. Molina, A. Iwahori, A. Pandey, *The Journal of Biological Chemistry*, **2004**, *279*, 15805-15813.
- [148] L. Burdine, T. Kodadek, *Chemistry & Biology*, **2004**, *11*, 593-597.
- [149] Die Ausbeuten beziehen sich jeweils auf die letzte Stufe.
- [150] G. M. Sheldrick, SHELXL97, *A Program for Crystal Structure Refinement*, Universität Göttingen **1997**.