

Untersuchung von Zyklasen als neuartige Biokatalysatoren für die Heterozyklensynthese

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

an der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften

der Universität Bayreuth

vorgelegt von

Tim Hollmann

aus *Nordenham*

Bayreuth, 2022

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von (01/2016) bis (01/2021) in Bayreuth am Lehrstuhl Organische Chemie (Lebensmittelchemie) unter Betreuung von Herrn Professor Dr. Frank Hahn angefertigt.

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.).

Teile dieser Dissertation wurden in folgenden Publikationen veröffentlicht:

K. H. Sung, G. Berkhan, T. Hollmann, L. Wagner, W. Blankenfeldt, F. Hahn, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 343–347, 343–347, 10.1002/anie.201707774.

T. Hollmann, G. Berkhan, L. Wagner, K. H. Sung, S. Kolb, H. Geise, F. Hahn, *ACS Catal.* **2020**, *10*, 4973–4982, 10.1021/acscatal.9b05071.

Dissertation eingereicht am: 21.01.2021

Zulassung durch die Promotionskommission: 27.01.2021

Wissenschaftliches Kolloquium: 29.07.2021

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Matthias Breuning

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. Frank Hahn (Gutachter)

Prof. Dr. Rainer Schobert (Gutachter)

Prof. Dr. Clemens Steegborn (Vorsitz)

Prof. Dr. Birgit Weber

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis.....	III
Danksagung.....	VI
Einleitung.....	1
Heterozyklen in biologisch aktiven Verbindungen.....	3
Chemische Synthesemethoden von <i>O</i> -Heterozyklen	3
Enzymatischer Aufbau von <i>O</i> -Heterozyklen.....	7
Einsetzbarkeit von Enzymen in der organischen Synthesechemie.....	10
Polyketide.....	14
Polyketidsynthasen (PKS).....	15
Dehydratasen.....	18
Biosynthese der Ambruticine	21
Intramolekulare <i>oxa</i> -MICHAEL-Addition.....	22
(-)- <i>Centrolobin</i>	24
Zielsetzung.....	29
Ergebnisdiskussion.....	31
Struktur-Aktivitäts-Beziehungen von AmbDH3	31
Enzymologische Charakterisierung von AmbDH3.....	37
Aufbau der Substratbibliothek.....	40
Zyklisierungen und Bestimmung der absoluten Produktkonfiguration	50
Untersuchungen zur Skalierung der Enzymreaktion.....	76
Kinetische Racematspaltung	77
Totalsynthese (-)- <i>Centrolobin</i>	82
Zusammenfassung.....	98
Abstract	101

Inhaltsverzeichnis

Experimenteller Teil	104
Allgemeine Methoden	104
Allgemeine Arbeitsvorschriften	108
Synthese der Substratsurrogate	112
Synthese von (-)- <i>Centrolobin</i>	176
Spektrenanhang	186
Literaturverzeichnis	290

Abkürzungsverzeichnis

<i>abs.</i>	Absolutiert
Ac	Acetyl
ACP	Acylcarrierprotein
Alk	Alkyl
All	Allyl
<i>Amb</i>	Gene der Ambruticinbiosynthese
Amb	Proteine der Ambruticinbiosynthese
Äquiv.	Äquivalente
Ar	Aryl
AT	Acyltransferase
Bn	Benzyl
Br	Breit
CoA	Coenzym A
COSY	<i>correlation spectroscopy</i>
D	Dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DEPT	<i>distortionless enhancement by polarization enhancement</i>
DH	Dehydratase
DHP	Dihydropyran
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin

Abkürzungsverzeichnis

DMMP	Dimethylmethylphosphonat
<i>dr</i>	<i>diastereomeric ratio</i>
<i>ee</i>	<i>enantiomeric excess</i>
ER	Enoylreduktase
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
EtOAc	Essigsäureethylester
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)- ethansulfonsäure
His	Histidin
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HMQC	<i>heteronuclear multiple quantum coherence</i>
HOG	<i>high-osmolarity glycerol</i>
HPLC	<i>high pressure liquid chromatography</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
HWE	HORNER-WADSWORTH-EMMONS
ⁱ Pr	<i>iso</i> -Propyl
IUPAC	<i>International union of pure and applied chemistry</i>
kat.	Katalytisch
KR	Ketoreduktase
KS	Ketosynthase
m	Multipllett
<i>m</i>	<i>Meta</i>
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
Me	Methyl
min	Minute

Abkürzungsverzeichnis

<i>n</i> Bu	<i>n</i> -Butyl
(<i>R</i>)-NMBG	(<i>R</i>)- <i>N</i> -Methylbenzoguanidin
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
NOE	<i>nuclear overhauser effect</i>
<i>O</i>	<i>Ortho</i>
<i>P</i>	<i>Para</i>
Pent	Pentyl
Ph	Phenyl
PKS	Polyketidsynthase
PPTS	Pyridinium- <i>para</i> -toluolsulfonat
Q	Quartett
<i>R_f</i>	<i>ratio to front</i>
RP	<i>reversed phase</i>
RT	Raumtemperatur
S	Singulett
SNAC	<i>N</i> -Acetylcysteamidyl
T	Triplett
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TE	Thioesterase
Tf	Trifluormethylsulfonyl
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyran
TMS	Trimethylsilyl
Ts	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
verd.	Verdünnt
WT	Wildtyp

Danksagung

Zu Beginn möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Frank Hahn für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, sowie das Überlassen des überaus spannenden Forschungsthemas und die gewährten Freiheiten bedanken.

Den weiteren Mitgliedern des Prüfungskomitees Herrn Prof. Dr. Rainer Schobert, Herrn Prof. Dr. Clemens Steegborn und Frau Prof. Dr. Birgit Weber danke ich sehr für die Übernahme des Zweitgutachtens, des Vorsitzes und das angenehme Kolloquium.

Ein ganz besonderer Dank geht an Herrn Dr. Frederick Lindner und Frau Corinna Sommermann, mit denen ich über lange Zeit das Labor teilen durfte. Sie hatten einen großen Anteil an der stets sehr guten Stimmung während der Arbeitszeit. Die immerwährende Diskussionsbereitschaft hat mir zudem oft weitergeholfen und somit bedeutend zu diversen Lösungsfindung beigetragen.

Ein herzlicher Dank geht an Herrn Marius Schröder und Frau Lisa Wagner für die stete Hilfsbereitschaft bezüglich biochemischer Problemstellungen.

Frau Dr. Stefanie Rühlicke, Frau Theresa Roß, Herrn Florian Guth und Frau Sophie Altenschöpfer danke ich recht herzlich für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Bei allen aktuellen, sowie ehemaligen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Hahn bedanke ich mich für die unterhaltsamen Mittagspausen, Grillabende und anderen gemeinschaftlichen Aktivitäten.

Ich bedanke mich bei der Herrn Prof. Dr. Matthias Breuning für die Möglichkeit chirale HPLC-Messungen durchzuführen und seiner Arbeitsgruppe für die Geräteunterweisung.

Frau Dr. Ulrike Lacher aus der zentralen Analytik sei an dieser Stelle für die Durchführung der HRMS Messungen und Einweisung in die Bedienung des NMR-Spektrometers gedankt. Bei Frau Kerstin Hannemann bedanke ich mich für die Durchführung der 1D-NOE-Experimente.

Herrn Stefan Vogel und Herrn Robert Krause danke ich für die häufigen Spieleabende und den allgemeinen Ausgleich nach Feierabend.

Ein Zusätzlicher Dank geht an Frau Irmtraud Herold und Frau Silvia Kastner im Sekretariat, die den reibungslosen Tagesablauf bedeutend mitgestaltet haben.

Einleitung

Über Jahrmillionen ist es der Natur gelungen sich im Zuge der Evolution an immer neue Gefahren und Gegebenheiten anzupassen. Zum Schutz gegenüber Fressfeinden oder bei sich verändernden klimatischen Bedingungen, entwickelte die Pilz- und Pflanzenwelt spezifische Strategien, um sich den jeweiligen Umständen zur Wehr zu setzen. Ein probates Mittel hierfür ist die Produktion sekundärer Metabolite, welche entweder die eigene Überlebensfähigkeit direkt begünstigen oder eine äußere Gefahrenquelle im Wachstum beeinträchtigen, möglicherweise sogar abtötet. Solche teils hochkomplexen chemischen Verbindungen, bspw. *Cephalosporin C* (**1**)^[1], zeigen häufig vielversprechende Wirksamkeiten gegenüber unterschiedlichen Erregern.

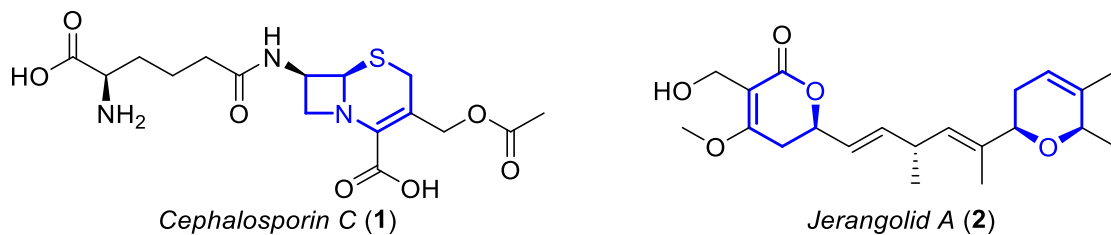


Abbildung 1: Beispiele für Naturstoffe verschiedenen Ursprungs und unterschiedlicher Wirksamkeit (*Cephalosporin C* (**1**), *Acremonium*^[2], antibiotisch^[1]; *Jerangolid A* (**2**), *Sorangium cellulosum*^[3], antimykotisch^[3]). Die pharmakophoren Heterozyklen sind **blau** hervorgehoben.

Cephalosporin C (**1**) ist ein aus der Familie *Acrenium* stammendes und leicht antibiotisch wirkendes β -Lactam, welches strukturelle Ähnlichkeit mit den Penicillinen aufweist. Wenngleich mit keiner sonderlich hohen Aktivität in Verbindung gebracht, bildet der Grundkörper dieser Verbindung die Basis einer darauf aufbauenden, umfangreichen Wirkstoffklasse. Cephalosporine sind Derivate des ursprünglich isolierten *Cephalosporin C* (**1**) und haben im Prozess der Entwicklung unglaubliche Verbesserungen im Einsatzgebiet und der Aktivität erfahren.^[1]

Einleitung

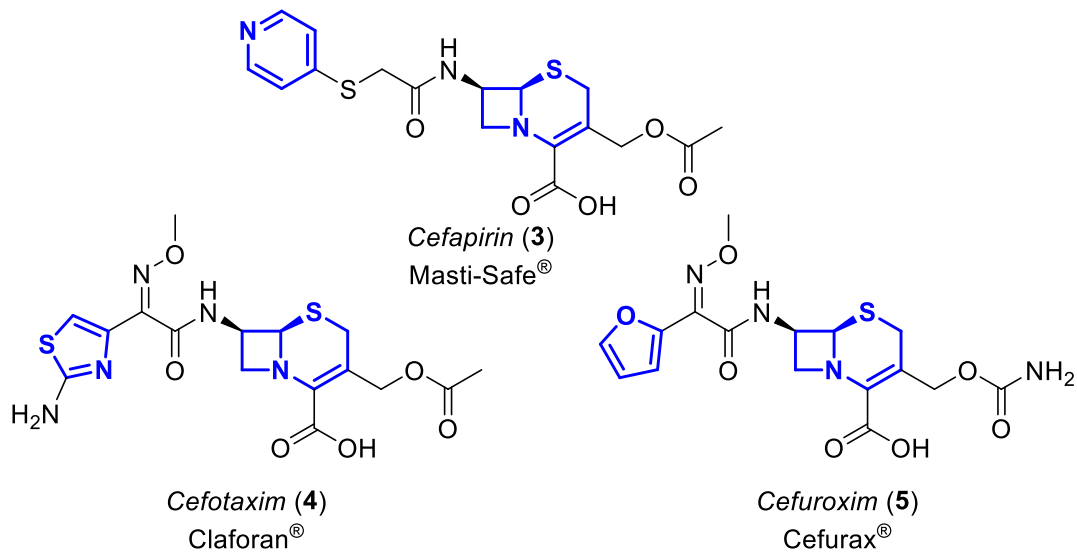


Abbildung 2: Überblick verschiedener Cephalosporinderivate unterschiedlicher Generationen und ihr jeweiliger eingetragener Handelsname. Die pharmakologisch einflussreichen Heterozyklen sind **blau** hervorgehoben.

Während es die Verbindung **1** aufgrund der geringen Aktivität nicht zur Verwendung als Medikament geschafft hat, gibt es mit den in Abbildung 2 dargestellten Strukturen, eine Vielzahl von kommerziell erhältlichen Derivaten. Diese Verbindungen zeigen ausgezeichnete Aktivitäten gegenüber grampositiven (Cefapirin: $\sim 0.3 \mu\text{g/mL}$ (*Staphylococcus aureus*); Cefuroxim: $0.8 \mu\text{g/mL}$ (*S. aureus*), sowie –negativen (Cefotaxim: $\sim 0.07 \mu\text{g/mL}$ (*Escherichia coli*))^[4] Krankheitserregern.

Auch die Klasse der Jerangolide (Abbildung 1) zeigte bereits kurz nach der Entdeckung bedeutende Aktivitäten gegenüber einer Vielzahl von Pilzen (*Jerangolid A* (**2**), unter anderem: *Trichosporon terrestre*, MIC = $0.13 \mu\text{g/mL}$; *Hansenula anomala*, MIC = $0.07 \mu\text{g/mL}$)^[3]. Wenngleich diese eine potenziell vielversprechende Leitstruktur darstellen, ist der totalsynthetische Zugang zu dieser Substanzklasse nur mit großem Aufwand zu erreichen. Der Einsatz chemoenzymatischer Synthesestufen könnte die Herstellung möglicherweise soweit vereinfachen, dass potenziell hochwirksame Medikamente daraus abgeleitet werden können. Ein besonders imposantes Beispiel hierfür stellt die industrielle Produktion des Antibiotikums Erythromycin (**6**) dar. Während WOODWARD *et al.* in der 1981 veröffentlichte Totalsynthese mit 50 linearen Syntheseschritten Kleinstmengen Erythromycin (**6**) mit einer finalen Gesamtausbeute von 0.0064% ^[5–7] erhielten, ist es heute möglich dieses durch Fermentation im großen Maßstab bereits innerhalb weniger Tage darzustellen.^[8]

Einleitung

Ein herausstechendes Merkmal der bereits gezeigten, sowie vieler weiterer Naturstoffe ist das Vorhandensein eines oder mehrerer heteroatomhaltiger Ringsysteme (siehe farbliche Markierung in Abbildung 1 und Abbildung 2). Durch die Polarität der Kohlenstoff-Heteroatombindung oder die Elektronendichte am Heteroatom selbst, ist dieses häufig dazu in der Lage über attraktive Wechselwirkungen als Ligand an Proteine zu koordinieren.^[9]

Durch Koordination bestimmter Botenstoffe und der dafür benötigten positiven Interaktion, kommt es beispielsweise in einem Sieben-Transmembranrezeptor zur Konformationsänderung und in Folge dessen zur Signalweiterleitung ins Innere der Zelle, die weitere induzierte Effekte zur Folge haben kann.^[10]

Heterozyklen in biologisch aktiven Verbindungen Chemische Synthesemethoden von *O*-Heterozyklen

Im Laufe des 19. und 20. Jahrhunderts wurden immer neue chemische Methoden entwickelt, um sauerstoffhaltigen Heterozyklen selektiv aufzubauen.

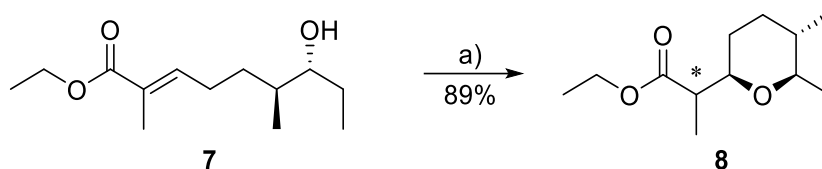


Abbildung 3: Zyklisierung *via* oxa-MICHAEL-Addition aus der Totalsynthese von *Jerangolid E* nach HAHN *et al.*. Bedingungen: a) KO^tBu, CH₂Cl₂, 0 °C, 4 h.^[11]

Eine einfache Variante ist die unselektive Zyklisierung (Abbildung 3) unter Zuhilfenahme von KO^tBu als sterisch anspruchsvolle Base, wie sie von HAHN *et al.* in der Totalsynthese von *Jerangolid E* Verwendung fand. Hierbei wurde ausgenutzt, dass es sich in der gezeigten Struktur 6 um ein MICHAEL-System handelt und sich im 1,7-Abstand ein potenzieller Reaktionspartner befindet. Im protonierten Zustand zu schwach, kann das nach der Deprotonierung vorliegende Alkoholat-Anion intramolekular an der Doppelbindung angreifen und so den Ringschluss durchführen. Zur Verminderung möglicher 1,3-Abstoßungen im entstandenen Ring (8), sind alle Substituenten, auch der am neu aufgebauten Stereozentrum äquatorial ausgerichtet. Die Konfiguration der 2-Me-Gruppe kann bei dieser Syntheseroute

Einleitung

nicht kontrolliert werden, was jedoch keinen Nachteil für die Jerangolidsynthese darstellte, da dieses in den Folgeschritten zu einem Prochiralitätszentrum umgewandelt wurde.^[11]

Allgemein lässt sich der Ringschluss hinsichtlich der *cis/trans*-Selektivität mit Hilfe der verwendeten Aktivierung (sauer, basisch oder metallkatalysiert), sowie kinetisch und thermodynamisch kontrollieren. Eine zusätzliche Möglichkeit bietet die Konfiguration der Doppelbindung und die Dargeichungsform des MICHAEL-Akzeptors.^[12–17]

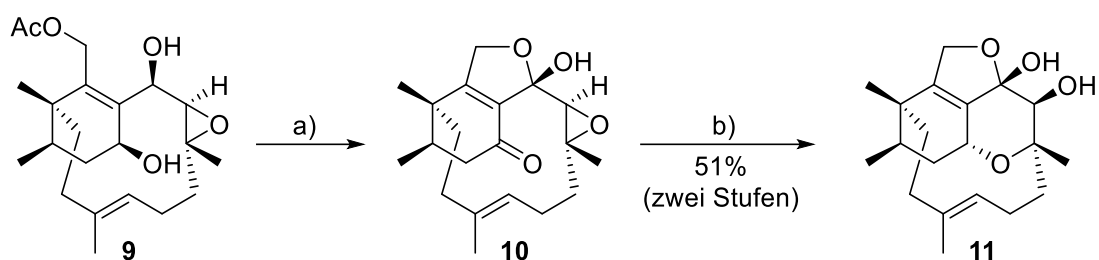


Abbildung 4: Zyklisierung *via* Epoxidöffnung aus der Totalsynthese von *Phomactin A* nach SARPONG *et al.*. Bedingungen: **a)** DMP, NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, 5 h, dann NaOMe, MeOH, 0 °C, 30 min; **b)** Red-Al, CH₂Cl₂, -78 °C, 1 h.^[18]

Eine weitere Aufbaumöglichkeit bietet die von SARPONG *et al.* vorgestellte Epoxidöffnung (Abbildung 4). Dieser Schritt in der Totalsynthese von *Phomactin A* zeigt zudem den Einfluss räumlicher Nähe auf die Durchführbarkeit bestimmter Reaktionen. In der Verbindung 9 steht die zentrale Hydroxygruppe axial und kann das ebenfalls pseudoaxiale Epoxid nicht angreifen, da dies von der Rückseite geschehen müsste. Erst nach einer Kaskade aus Oxidation und anschließender Reduktion, bei der die Hydroxygruppe die bevorzugte äquatoriale Konformation einnimmt, kann der nukleophile Angriff am dreigliedrigen Ring stattfinden und der Tetrahydropyranring (THP-Ring) in 11 stereoselektiv geschlossen werden.^[18]

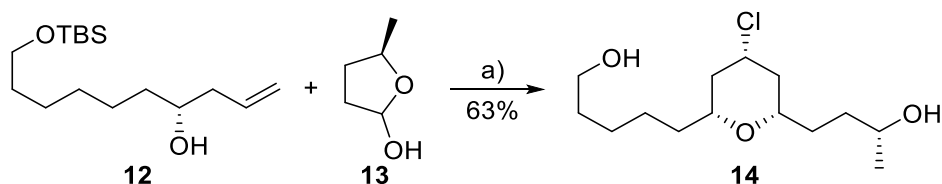


Abbildung 5: Zyklisierung *via* PRINS-Reaktion aus der Totalsynthese von (+)-*Spirolaxin Methyl ether* nach NASINI *et al.*. Bedingungen: **a)** TiCl₄, -70 °C, 4 h, dann -20 °C, 1 h.^[19]

Einleitung

Nachdem H. J. PRINS^[20] im Jahre 1919 die intermolekulare Kondensation von Aldehyden und Alkenen unter dem Einfluss einer Säure gezeigt hatte, gewann diese Reaktion mit der Zeit immer mehr an Bedeutung. Gerade die intramolekulare Variante, bekannt unter der Bezeichnung PRINS-Zyklisierung, ist ein häufig verwendetes Werkzeug zur Erzeugung von Sauerstoffheterozyklen.^[21] Abbildung 5 zeigt einen Ausschnitt aus der Totalsynthese des Methylethers von (+)-*Spirolaxin*. NASINI *et al.* führten die Reaktion am Lactol **13** durch und konnten so den chlorierten THP-Ring **14** erhalten. Die LEWIS-Säure TiCl_4 aktiviert den im Gleichgewicht mit dem Lactol **13** stehenden Aldehyd und ermöglicht so den Angriff der Doppelbindung von **12**. Der Ringschluss erfolgt anschließend durch die fortbestehende Aktivierung des gebildeten Alkoholats und den nucleophilen Angriff des ebenfalls koordinierten Alkohols. Die vorhandene positive Ladung im THP-Ring wird durch ein Chloridanion neutralisiert.^[19]

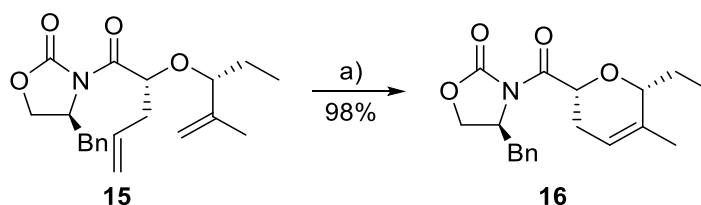


Abbildung 6: Zyklisierung *via* Ringschlussmetathese aus der Totalsynthese von *Ambruticin S* nach LEE *et al.*. Bedingungen: a) GRUBBS I, $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, CH_2Cl_2 , Reflux, 3 h.^[22]

Zum Aufbau cyclischer Strukturmodelle eignet sich im Allgemeinen häufig die Ringschlussmetathese. In Abbildung 6 ist beispielhaft ein Ausschnitt aus der Totalsynthese von *Ambruticin S* nach LEE *et al.* gezeigt. Vom Dien **15** ausgehend wurde hierbei unter Zuhilfenahme des rutheniumbasierten GRUBBS I-Katalysators durch Freisetzung von Ethen der Ring zum Dihydropyran (DHP) **16** geschlossen. Zunächst koordiniert der Katalysator an der einfach substituierten Doppelbindung und tauscht dabei seinen Styrolliganden aus. Nach Anlagerung des disubstituierten Alkens kommt es zunächst zu Bildung eines viergliedrigen Rings. Bei der darauf folgenden Ringöffnung wird das Ringschlussprodukt freigesetzt und der Katalysator regeneriert.^[22]

Einleitung

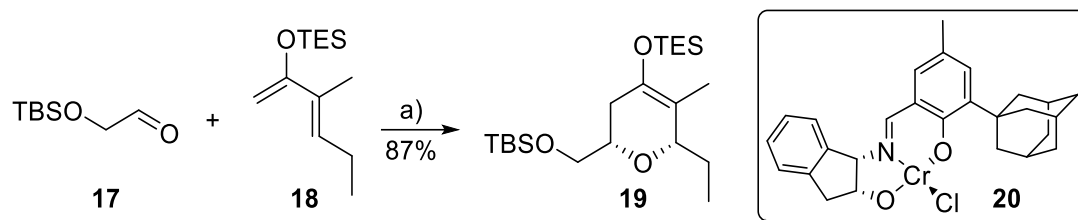


Abbildung 7: Zyklisierung *via* asymmetrischer DIELS-ALDER-Reaktion aus der Totalsynthese von *Ambruticin S* (**28**) nach JACOBSEN *et al.*. Bedingungen: a) **20**, RT, 40 h.^[23]

In einer anderen Syntheseroute zum bereits angesprochenen *Ambruticin S* wurde der Weg über eine asymmetrische Hetero-DIELS-ALDER-Reaktion gewählt. JACOBSEN *et al.* verwendeten dabei den Aldehyd **17** und das gezeigte Dien **18** (Abbildung 7). Die Stereoselektivität wurde bei der durchgeführten Umsetzung durch einen chiralen Chromkatalysator induziert. Der Aldehyd **17** wird zunächst vom Chrom (III)-Zentrum koordiniert und bildet eine Wasserstoffbrücke zum fünfring-gebundenen Sauerstoffliganden aus. Aufgrund des sterisch anspruchsvollen Adamantylsubstituenten am tetrasubstituierten Aromaten ist es für das Dien energetisch günstiger sich mit der ebenfalls großen OTES-Gruppe von diesem abzuwenden. Im letzten Schritt findet der Ringschluss statt und das DHP **19** entsteht.^[23]

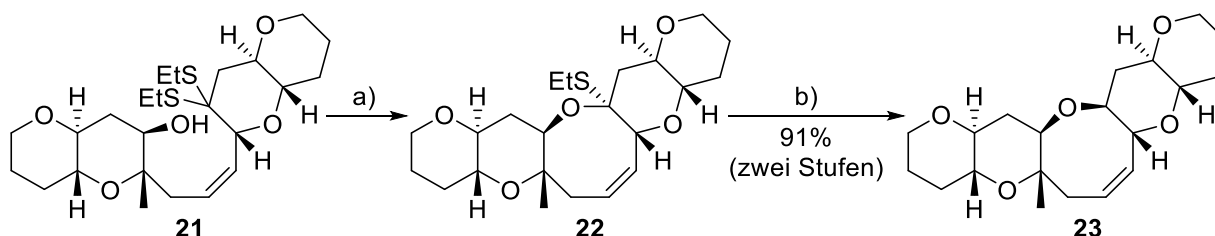


Abbildung 8: Zyklisierung *via* *S*-Elektrophil aus der Totalsynthese eines Fragments von *Brevetoxin* nach NICOLAOU *et al.*. Bedingungen: a) NCS-AgNO₃, SiO₂, 2,6-Lutidin, MeCN, RT, 30 min; b) *m*CPBA, CH₂Cl₂, 0 °C, dann Et₃SiH·BF₃, 0 °C, 2 h.^[24]

Aus den Untersuchungen zur Synthese von Polyethern, durchgeführt von NICOLAOU *et al.*, stammt eine weitere Methodik, die zudem einen Zugang zu größeren Ringsystemen erlaubt (Abbildung 8). Im Rahmen des Aufbaus von *Brevetoxin* sollte der dargestellte achtgliedrige Ring über eine *S*-Elektrophil-Zwischenstufe aufgebaut werden. Hierfür wird zunächst im dem Dithioacetal **21** unter Ausbildung einer *S*-C-Doppelbindung ein Schwefelsubstituent eliminiert. Das ethylaktivierte Thioketon kann dann vom erzeugten Alkoholatanion intramolekular

Einleitung

angegriffen und so der Ringschluss zu **22** vollzogen werden. Durch anschließende Oxidation des *S*-Substituenten und anschließender Reduktion wird die Verbindung entschwefelt und es entsteht das Tetrahydrooxocin **23**.^[24]

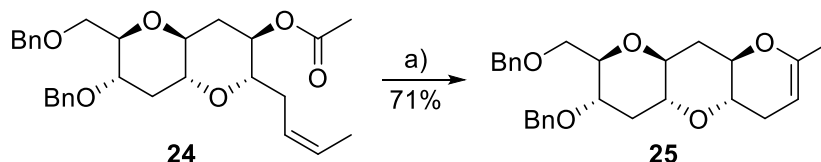


Abbildung 9: Zyklisierung *via Ti*-vermittelter Olefinmetathese aus der Totalsynthese eines Fragments von *Maitotoxin* nach NICOLAOU *et al.*. Bedingungen: a) TEBBE-Reagenz, THF, RT, 25 min, dann Reflux, 5 h.^[25,26]

Eine weitere von NICOLAOU *et al.* entwickelte Methode zum Aufbau von Polyethern ist in Abbildung 9 gezeigt. Es handelt sich dabei um eine *Ti*-vermittelte Olefinmetathese, welche in der Totalsynthese von Brevetoxin und Maitotoxin eingesetzt werden sollte. Im ersten Schritt findet dabei die Olefinierung der Estercarbonylgruppe in **24** *via* TEBBE-Reagenz statt. Die vorliegende Titanspezies bleibt anschließend an der 1,1-disubstituierten Doppelbindung koordiniert und die (*Z*)-Doppelbindung wird angelagert. Danach kommt es analog zur Olefinmetathese nach GRUBBS zur Ausbildung eines viergliedrigen Rings und der darauffolgenden Ringöffnung zum finalen Produkt **25**.^[25,26]

Enzymatischer Aufbau von *O*-Heterozyklen

Einige vergleichbare Konzepte zum Aufbau sauerstoffhaltiger Ringe wurden bereits von der Natur im Laufe der Evolution entwickelt. Während die Reaktionen in organisch-chemischen Syntheserouten durch den speziellen Aufbau der Ausgangsverbindungen oder die geschickte Zugabe von Hilfsstoffen geschehen, werden diese im natürlichen Umfeld durch das Einwirken katalytisch aktiver Proteine, sogenannter Enzyme oder enzymatischer Domänen, ermöglicht. Die dabei dargestellten Heterozyklen sind in einer Vielzahl unterschiedlicher Naturstoffklassen vorhanden und tragen maßgeblich zu deren biologische Aktivität bei.^[27–29] Sie wirken sich zudem positiv auf die für die Koordination in der aktiven Tasche des Zielproteins unabdingbare strukturelle Rigidität aus.^[30]

Einleitung

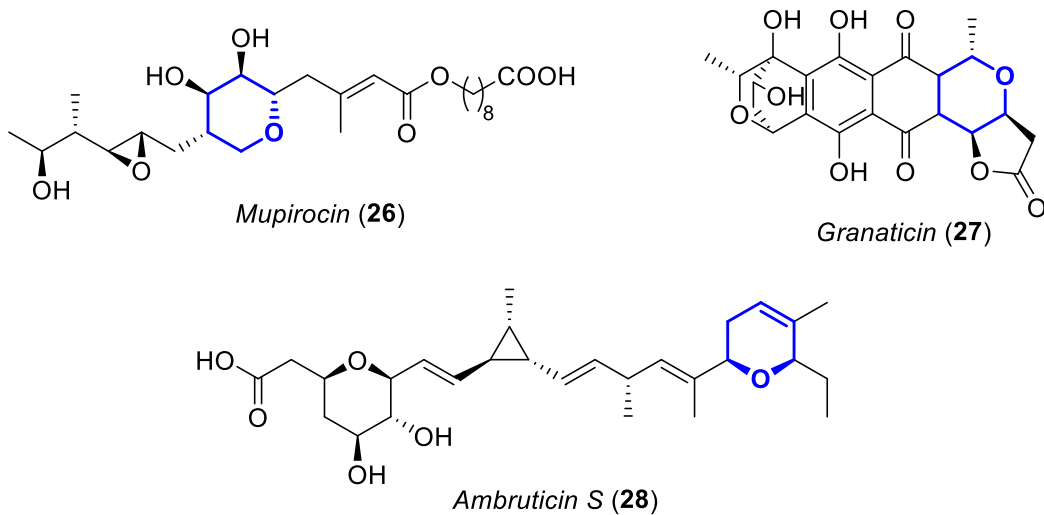


Abbildung 10: Übersicht einiger polyketidischer Naturstoffe mit *O*-Heterozyklen (**blau**).^[31]

In Abbildung 10 ist eine Auswahl polyketidischer Naturstoffe dargestellt. Die enzymatische Bildung des jeweiligen farblich hervorgehoben *O*-Heterozyklen wird nachfolgend beschrieben.

Mupirocin (26) ist das Produkt einer hochkomplexen PKS Typ I und besitzt eine Vielzahl unterschiedlicher funktioneller Gruppen. Neben den Alkoholen, der Carbonsäure und dem α,β -ungesättigten Ester befinden sich zusätzlich zwei *O*-Heterozyklen im Molekül, deren biochemischer Aufbau indirekt miteinander in Verbindung steht.^[32,33]

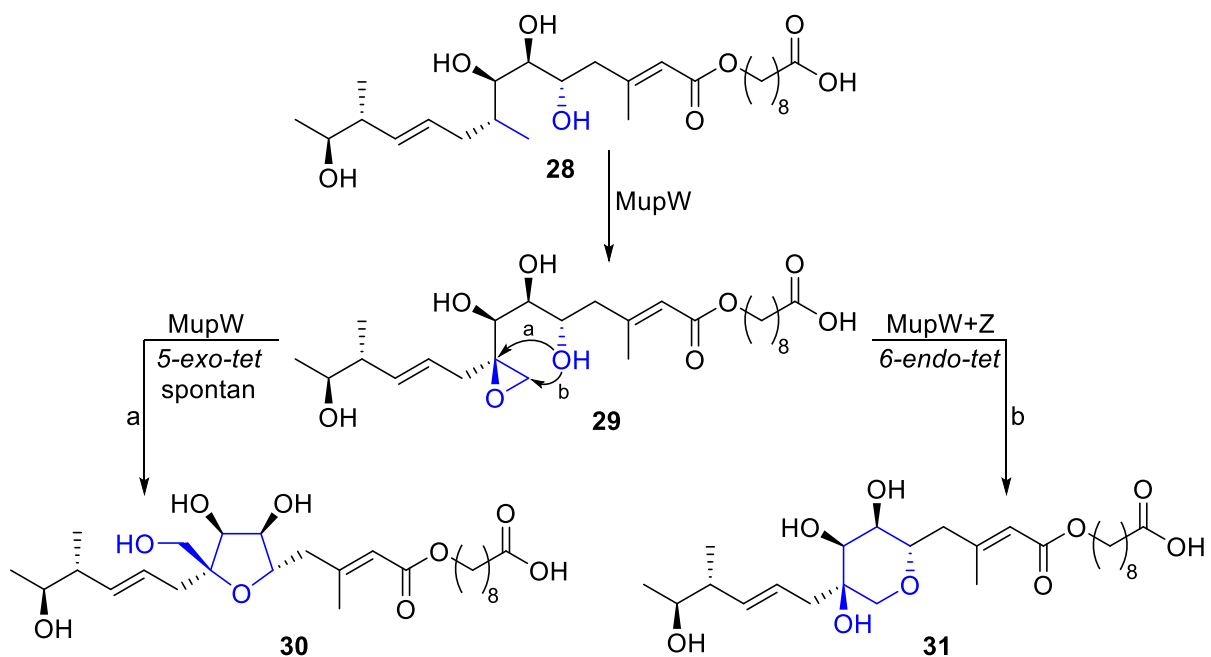


Abbildung 11: Aufbau des THP-Rings unter Einfluss zweier Enzyme aus der *Mupirocin*-Biosynthese und die kritische Rolle von MupZ.^[34]

Einleitung

Beide Ringe basieren ursprünglich auf Epoxiden. Das in Mupirocin vorhandene Epoxid entsteht durch die Epoxidierung des in Abbildung 11 gezeigten Alkens an entsprechender Stelle und bleibt zudem im finalen Naturstoff erhalten. Der blau hervorgehobene THP-Ring hingegen entsteht nach dem in Abbildung 11 abgebildeten Mechanismus. Hervorzuheben ist hierbei, dass es theoretisch zu unterschiedlichen Ringschlüssen kommen kann. In Abwesenheit von MupZ ist das Hauptprodukt, aufgrund einer spontanen, nach BALDWIN kinetisch begünstigten *5-exo-tet*-Zyklisierung, der dargestellte THF-Ring **30**. Liegt MupZ vor, so findet in der aktiven Tasche eine Fixierung der Struktur über Wasserstoffbrücken statt, sodass der nach BALDWIN kinetisch benachteiligte *6-endo-tet*-Ringschluss geschehen kann. Das hierbei entstehende Zwischenprodukt **31** wird durch weitere *tailoring*-Enzyme schlussendlich zum Mupirocin (**29**) prozessiert.^[34]

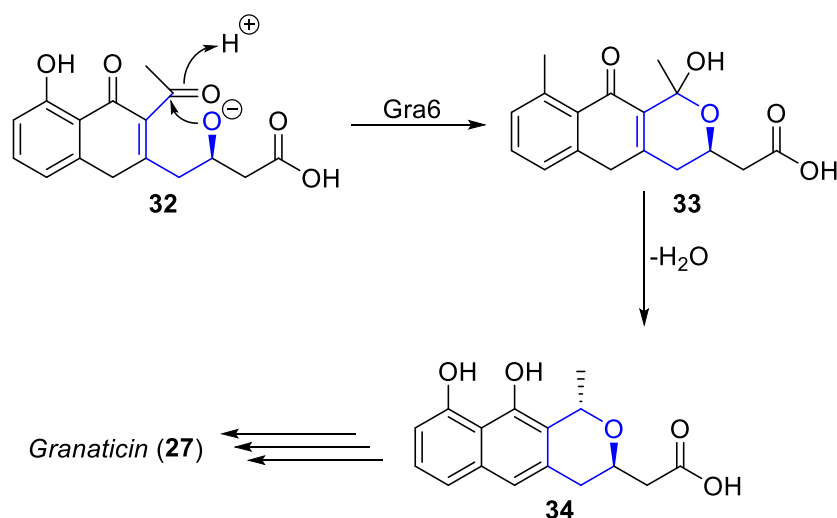


Abbildung 12: Biochemischer Aufbau des östlichen THP-Rings in *Granaticin* (**27**).^[35]

Eine weitere Möglichkeit des Ringschlusses wird am Beispiel von Granaticin (**27**) (Abbildung 12) vorgestellt. Hierbei handelt es sich um ein antibiotisch wirkendes PKS Typ II-Produkt, das unter anderem von *Streptomyces olivaceus* gebildet wird. In diesem Fall ist kein zu öffnendes Epoxid die Triebkraft der Reaktion, sondern die Bildung des Halbacetals **33**, welches im darauffolgenden Schritt dehydratisiert wird und durch Tautomerie unter Aromatisierung das System **34** als Zwischenprodukt ergibt. Durch weitere *post*-PKS-Modifikationen entsteht das finale Granaticin.^[35,36]

Einleitung

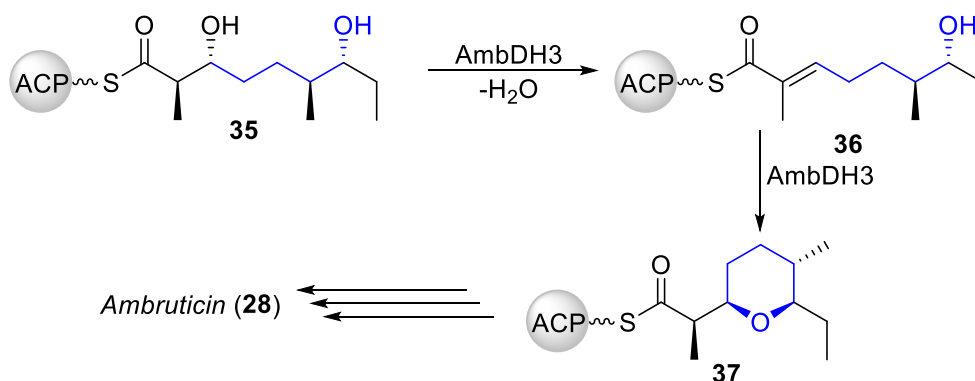


Abbildung 13: Bildung des östlichen THP-Rings in der Biosynthese von *Ambruticin S* (**28**).^[37,38]

Die Biosynthese des antimykotisch^[39] wirkenden PKS Typ-I-Produkts *Ambruticin S* (**28**) zeichnet sich durch mehrere multifunktionale enzymatische Domänen aus. Für den Aufbau des dargestellten THP-Rings des Ostfragments ist die bifunktionale Domäne AmbDH3 verantwortlich. Während der Biosynthese liegt das Diol **35** als Zwischenprodukt vor. Dieses wird im ersten Schritt zum Alken **36** dehydratisiert und im Anschluss daran durch Umlagerung des Rückgrates zum THP-Ring **37** zyklisiert. Da es sich im Vergleich zu den anderen Beispielen nicht um einen post-PKS-Prozess, sondern um Umwandlungen innerhalb einer PKS Typ-I handelt, sind die Substrate **35** und **36** sowie das Produkt **37** durchgehend an einem Acyl-Carrier-Protein (ACP) gebunden.^[37,38,40]

Einsetzbarkeit von Enzymen in der organischen Synthesechemie

Naturstoffe sind begehrte Leitstrukturen zur Entwicklung neuartiger pharmakologisch wirksamer Verbindungen und deren totalsynthetischer Zugang ist eines der wichtigsten Felder der organischen Synthesechemie. Für den Aufbau solcher teils hoch komplexer Verbindungen wurden mit der Zeit diverse Methoden entwickelt, die selektiv jene Position im Molekül adressieren, welche umgewandelt werden soll.^[41–43]

Eine immer häufiger aufkommende Alternative zur klassischen organisch-synthetischen Herangehensweise stellen enzymkatalysierte Reaktionen dar. Diese biokatalytisch wirkenden Polypeptide sind auf den Gebieten der Chemo- und vor allem Stereoselektivität häufig nicht

Einleitung

mit synthetisch erschaffenen Katalysatoren zu übertreffen. Zudem sind solche häufig schwermetallbasierten Katalysatoren zumeist sehr empfindlich gegenüber Sauerstoff, Feuchtigkeit oder Temperatur.^[44] Ein weiterer Aspekt, der gegen den Einsatz gerade toxikologisch bedenklicher Metallkatalysatoren spricht, ist eine angestrebte Verwendung der finalen Substanz als Wirkstoff. Da sich in Medikamenten keine ungewollten Metallrückstände befinden dürfen, müssen diese vorher aufwändig entfernt werden.^[45]

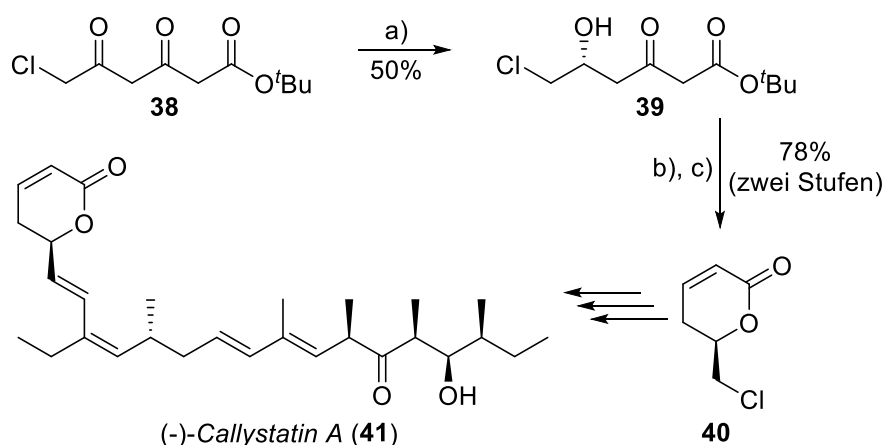


Abbildung 14: Ausschnitt aus der chemoenzymatischen Totalsynthese von (-)-Callystatin A (41) nach ENDERS *et al.*. Bedingungen: **a)** Bäckerhefe, Amberlite XAD-7, H₂O, RT, 24 h, 94% *ee*; **b)** NaBH₄, EtOH, 0 °C, 30 min; **c)** *p*TSOH, Toluol, 120 °C, 2 h.^[46,47]

Im hier gezeigten Beispiel (Abbildung 14) ist die stereo- und regioselektive Reduktion eines der beiden vorliegenden Ketone in **38** dargestellt. Dabei können unter klassischen reduktiven Bedingungen die beiden Ketone nur schwer voneinander unterschieden werden. Durch die Verwendung chiraler Katalysatoren (H₂+Rh(BINAP)₂, CBS-Reduktion) lässt sich zwar die Seite beeinflussen, von der die Reduktion stattfindet, jedoch ändert dies nichts daran, dass aller Voraussicht nach nicht regioselektiv reduziert wird.^[48,49]

Bäckerhefe enthält eine Alkoholdehydrogenase (ADH), welche je nach pH-Bereich entweder aus Alkoholen Aldehyde/Ketone generiert oder die umgekehrte Reaktion enzymatisch katalysiert. Durch ihre speziell geformte aktive Tasche und die Koordinierung des Substrats kann das Reduktionsäquivalent Nicotinamadeninucleotid (NADH) den hydridischen Angriff nur von einer Seite des Ketons an der 2-Position in **38** durchführen, wohingegen das an der 4-Position befindliche Keton durch den zu großen Abstand zum aktiven Zentrum unberührt bleibt.^[46,47]

Einleitung

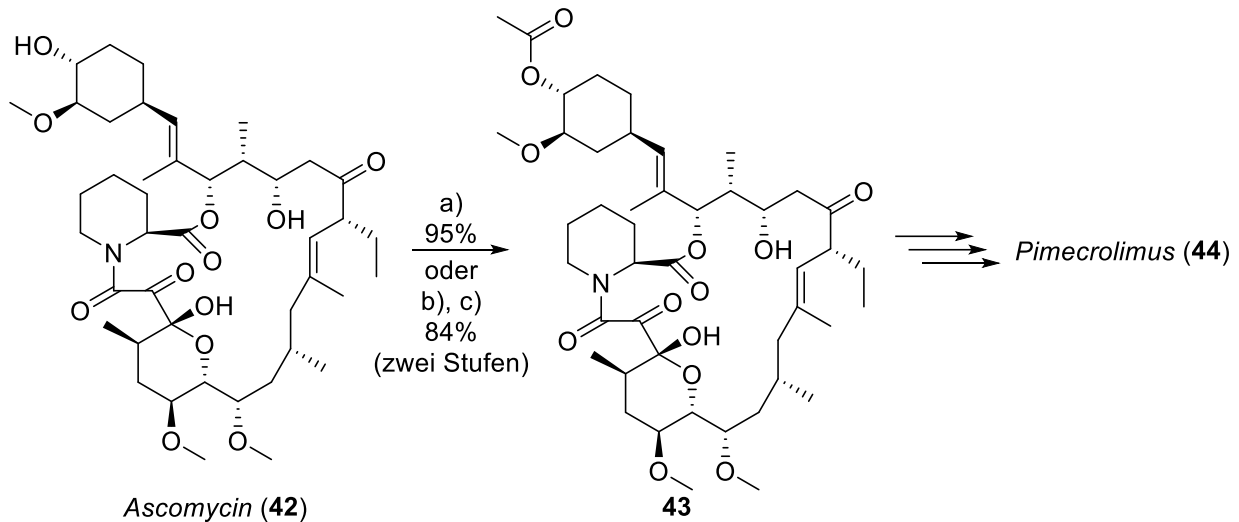


Abbildung 15: Chemoselektive Acetylierung von *Ascomycin* (**42**) aus der chemoenzymatischen Totalsynthese von *Pimecrolimus* (**44**) nach GRISENTI *et al.*. Bedingungen: **a)** CAL B, Vinylacetat, Toluol, RT, 80 h; **b)** Ac₂O, DMAP, Pyridin, 0 °C, 90 min; **c)** CAL B, *n*Octanol, MTBE.^[50]

Ein weiteres gutes Beispiel für Enzym-induzierte Chemoselektivität sind Lipasen. Je nach Reaktionsbedingungen ist diese Klasse an Biokatalysatoren in der Lage, Nucleophile entweder zu acylieren oder zu deacylieren. Das oben dargestellte Beispiel (Abbildung 15) zeigt beide Möglichkeiten, um aus *Ascomycin* (**42**) das Immunsuppressivum *Pimecrolimus* (**44**) (Elidel®) herzustellen. Die erste besteht darin die selektive Acylierungsfähigkeit von *Candida Antarctica Lipase B* (CAL B) auszunutzen. Hierbei wird Vinylacetat als Acetyldonor verwendet und die angestrebte Acetylierung findet ausschließlich an der exponierten Hydroxygruppe statt. Die alternative, zweistufige Sequenz verläuft über den umgekehrten Weg. Es werden zunächst chemisch mit Ac₂O die beiden sekundären Hydroxygruppen acetyliert und anschließend die Hydroxygruppe im Makrozyklus mittels CAL B wieder entfernt. Diese Variabilität in der Reihenfolge verwendeter Acetylierungsmethoden zeigt somit, dass das in der Seitenkette befindliche sekundäre Alkohol schnell von CAL B acetyliert werden kann und auch in acetylierter Form bestehen bleibt. Der im Makrolacton **43** vorhandene sekundäre Alkohol hingegen scheint von der Rückreaktion stark bevorzugt zu werden. Selbst bei schon vorhandener Acetylierung, wird dort primär die Esterspaltung katalysiert. Hervorzuheben ist bei der selektiven Acetylierung mit CAL B die Toleranz gegenüber organischen Lösemitteln. Die Reaktion wurde nicht, wie für ein aus der Natur stammendes Enzym zu vermuten wäre, in einem wässrigen Puffer, sondern in Toluol durchgeführt.^[50]

Einleitung

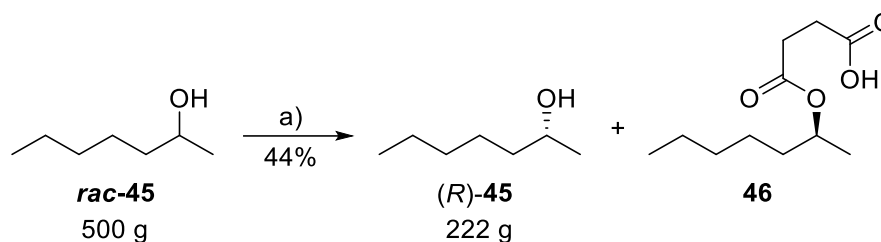


Abbildung 16: Kinetische Racematspaltung von 2-Heptanol (*rac*-45) unter der Verwendung von CAL B. Bedingungen: a) CAL B, Bernsteinsäureanhydrid, 35 °C, 48 h, 99.4% *ee*.^[51]

Lipasen zeigen neben der Chemo- zusätzlich eine stark ausgeprägte Stereoselektivität. Diese Eigenschaft kann sich für die Spaltung racemischer Eduktgemische zu Nutze gemacht werden. In Abbildung 16 ist die kinetische Racematspaltung von 2-Heptanol (*rac*-45) zu sehen. Das Prinzip ähnelt dem vorherigen Beispiel. Durch die unterschiedliche Geschwindigkeit der Hin- und Rückreaktion, reichert sich mit der Zeit ein Stereoisomer an. In diesem Fall ist die Acylierung des (*S*)-Alkohols deutlich schneller als die des (*R*)-Alkohols (*R*-45, bei dem die Deacylierung vorrangig stattfindet. Daraus resultiert, dass sich der acylierte (*S*)-Alkohol 46 bevorzugt bildet und der (*R*)-Alkohol (*R*-45 zurückbleibt. Dieser kann anschließend aus dem Gemisch abgetrennt und so das optisch reine Produkt erhalten werden.^[51] Einen Nachteil hat eine solche kinetische Racematspaltung jedoch. Ihre Ausbeute ist per Definition auf maximal 50% limitiert, da eines der vorliegenden Stereoisomere vom Enzym stark bevorzugt umgesetzt wird. Abhilfe verschafft eine nachgeschaltete oder simultan stattfindende Racemisierung des Eduktes.

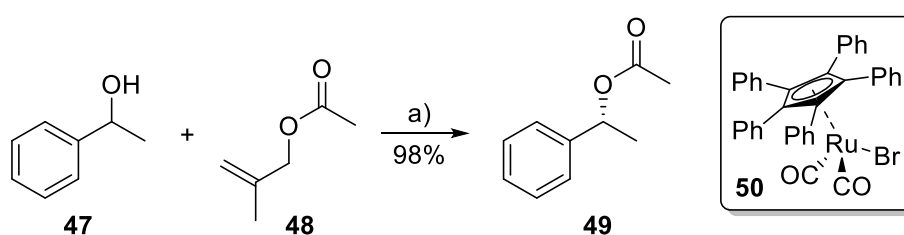


Abbildung 17: Dynamisch kinetische Racematspaltung von 1-Phenylethanol 47 nach BÄCKVALL *et al.*. Bedingungen: a) 50, CAL B, KO^tBu, Na₂CO₃, Toluol, RT, 3 h, >99% *ee*.^[52]

In Abbildung 17 ist eine solche dynamisch kinetische Racematspaltung beispielhaft dargestellt. Die Arbeitsgruppe um BÄCKVALL strebte hierbei die Anreicherung der enantiomerenreinen Verbindung 49 über einen chemoenzymatischen Ansatz an. (*R*)-1-Phenylethanol wird von der

bereits erwähnten Lipase CAL B deutlich schneller verestert als das (*S*)-Enantiomer. Das vorliegende Alkoholgemisch **47** wird vom rutheniumbasierten Transferhydrierkatalysator **50** durchgehend zum Keton oxidiert und danach unspezifisch wieder zum Alkohol **47** reduziert. Dadurch wird der umzusetzende (*R*)-Alkohol stetig nachgeliefert und verestert, bis kein Alkohol **47** mehr vorhanden ist.^[52]

Nicht nur die hervorragenden Selektivitäten sind ein hervorstechendes Merkmal vieler enzymkatalysierter Reaktionen, auch die häufige Verwendung von Wasser, bzw. wässrigen Puffern als Reaktionsmedium ist nicht von der Hand zu weisen. Dies bedeutet für einen potentiellen industriellen Einsatz die Vermeidung großer Mengen brennbarer und/oder gesundheitsschädlicher organischer Lösemittelabfälle, die andernfalls kostenintensiv entsorgt werden müssten. Für unpolare Substrate, bei denen die begrenzte Löslichkeit in Wasser ein Problem darstellen würde, können bestimmte Enzyme auch in organischen Lösemitteln oder wässrig-organische Lösemittelgemischen eingesetzt werden.^[44]

Polyketide

Polyketide bilden eine der umfangreichsten Naturstoffklassen und beinhalten Verbindungen mit höchst unterschiedlichen biologischen Aktivitäten.

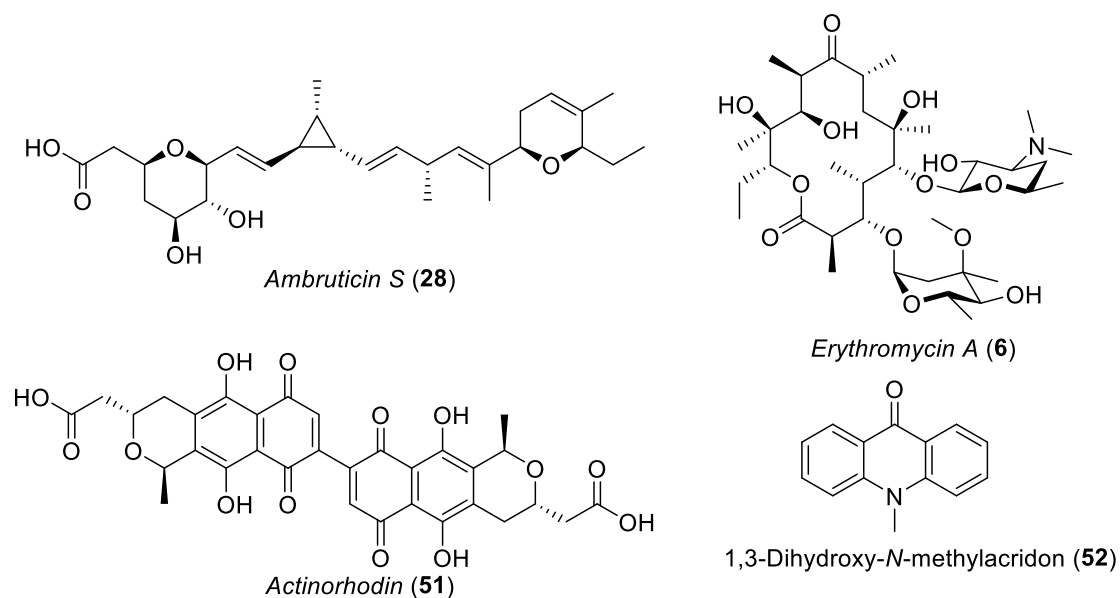


Abbildung 18: Beispiele für die Naturstoffklasse der Polyketide.^[31,53]

In Abbildung 18 sind einige beispielhaft ausgewählte Vertreter der Polyketide dargestellt. Auf den ersten Blick ist bereits klar ersichtlich, dass es sich bei den Substanzen um teils sehr komplexe Moleküle handelt, deren Verbindung untereinander möglicherweise nicht sofort ins Auge springt. Die hohe Dichte an Sauerstofffunktionalitäten lässt jedoch bereits eine mögliche Verwandtschaft vermuten.

Polyketidsynthesen (PKS)

Die Vertreter der Substanzklasse der Polyketide werden von Polyketidsynthesen (PKS) biosynthetisiert und bestehen im Wesentlichen aus der Aneinanderreihung unterschiedlich prozessierter C₂-Einheiten. Diese PKS können in drei Typen unterteilt werden.^[54–56]

Typ I

Alle Polyketidsynthesen sind allgemein gleich aufgebaut. Bei Typ I PKS handelt es sich um Multienzymkomplexe, die in sich aus verschiedenen Modulen und enzymatischen Domänen aufgebaut sind. Diese Domänen werden der Reihe nach, wie ein Fließband einzeln durchlaufen und am Ende wird das Produkt abgespalten. Ein Modul muss wenigstens aus drei Domänen bestehen. Durch das Zusammenspiel aus Acyltransferase (AT) und Ketosynthese (KS) wird das Acyl-Carrier-Protein-(ACP)-gebundene Substrat durch eine decarboxylative CLAISEN-Kondensation um eine gegebenenfalls substituierte C₂-Einheit verlängert und es entsteht ein β-Ketothioester. Dieser kann im Anschluss entweder weiter verlängert oder in der reduktiven Schleife weiter prozessiert werden. Diese Kaskade aus Reduktionsschritten beginnt zunächst mit der Reaktion vom Keton zum Alkohol. Nach dem Wirken der Ketoreduktase (KR) findet die Abspaltung von Wasser, katalysiert durch eine Dehydratase (DH), unter Bildung einer Doppelbindung statt. Im letzten Schritt wird diese von einer Enoylreduktase (ER) zur gesättigten Kette umgewandelt. Diese reduktive Schleife kann je nach zu durchlaufendem Modul entweder vollständig oder nur teilweise vorhanden sein, worauf sich die strukturelle Diversität zurückführen lässt. Nach vollständigem Aufbau des Rückgrats wird die Polyketidkette von einer Thioesterase (TE) von der ACP abgespalten. Dieses PKS-Produkt wird im Anschluss durch *post*-PKS-Prozesse (bspw. Cyclase, Methyltransferase, Glycosylase) weiter modifiziert, bis der fertige und wirksame Naturstoff vorliegt.^[57]

Einleitung

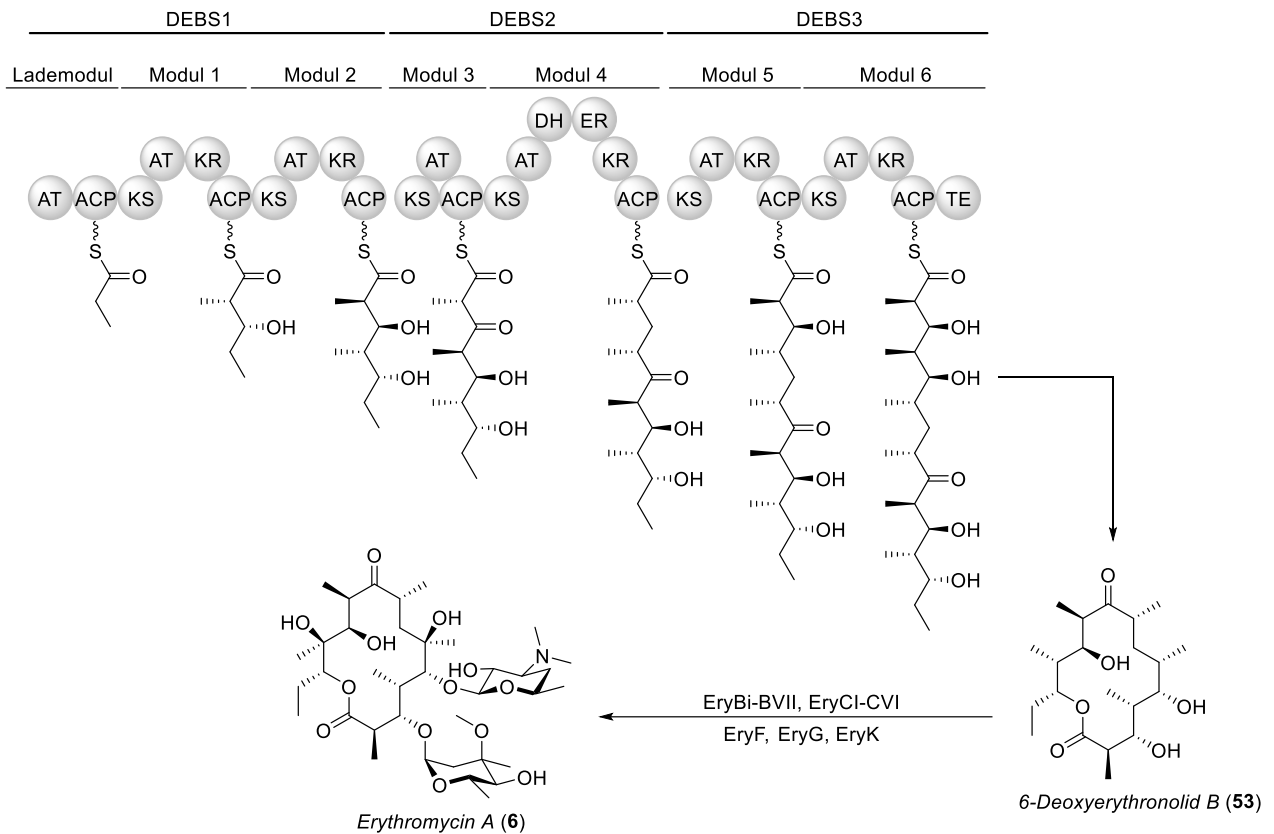


Abbildung 19: Biosynthese des Antibiotikums *Erythromycin A* (6).^[58]

Beispielhaft für einen Polyketid Naturstoff aus einer Typ I PKS ist in Abbildung 19 die Biosynthese von *Erythromycin A* (6) dargestellt. Bei diesem Wirkstoff handelt es sich um ein Makrolid-Antibiotikum, welches Aktivität gegenüber einiger grampositiver Bakterien, beispielsweise Staphylokokken und Streptokokken, zeigt.^[59,60] Im Lademodul findet zunächst die Beladung der ACP mit Propionylrest statt. Dieser wird anschließend in den Modulen 1 und 2 jeweils mit Methylmalonyl-Einheiten um insgesamt vier C-Atome verlängert. Die reduktive Schleife besteht hierbei lediglich aus zwei unterschiedlichen KR-Domänen, wodurch es zur Ausbildung der Alkohole mit verschiedener stereochemischer Ausrichtung kommt. Das Enzym DEBS2 beinhaltet zwei Module deren Umfang das gesamte Reduktionsspektrum einer PKS umfassen. Modul 3 katalysiert dabei keinen Reduktionsschritt und die neu gebildete Funktionalität bleibt als Keton im Produkt enthalten. Das darauffolgende Modul 4 führt die komplette Reduktion bis hin zur gesättigten Kette durch. Die Module 5 und 6 verlängern das Rückgrat erneut um zwei Methylmalonyleinheiten und reduzieren die entstehenden Ketone jeweils zum korrespondierenden Alkohol, bevor die final agierende TE die Polyketidkette unter Zyklisierung zum Zwischenprodukt *6-Deoxyerythronolide B* (53) von der ACP abspaltert.

Einleitung

Mehrere *tailoring*-Enzyme führen danach letzte Modifikationen an der Kernstruktur durch und *Erythromycin A* (**6**) wird freigesetzt. Neben der Glycosylierung mit stark prozessierten Zuckerbausteinen, katalysiert durch EryBVII und EryCVI, sind die beiden Hydroxylierungen an C6 und C12 von besonderer Bedeutung. Diese nicht aktivierten Positionen werden von EryF und EryK oxidativ adressiert.^[58]

Typ II

Im Vergleich zu Typ I PKS, ist der Typ II einfacher aufgebaut. Anstatt der beschriebenen modularen Prozessierung der PKS Typ 1, geschieht der Aufbau des Rückgrats iterativ und beinhalten häufig nur den Verlängerungsschritt. Das zu verarbeitende Substrat ist auch hier an ein ACP gebunden.^[61]

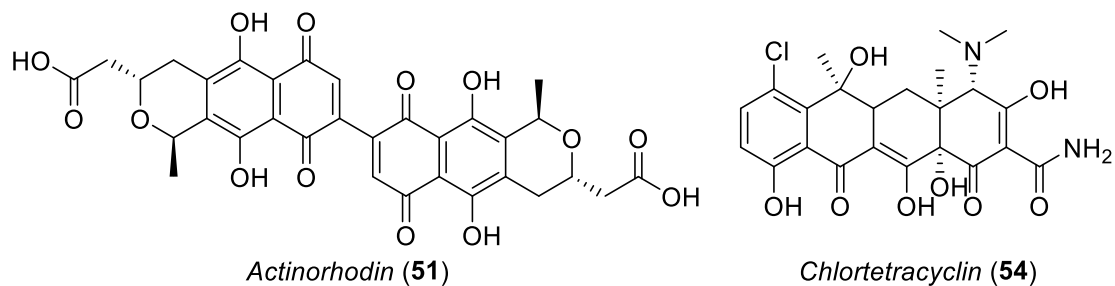


Abbildung 20: Beispiele für Polyketide des Typs II.^[62,63]

Beispielhafte Typ II-Produkte sind in Abbildung 20 dargestellt. Ein Strukturmotiv ist eindeutig zu erkennen, welches in den allermeisten PKS-Naturstoffen des Typs I vergeblich gesucht wird, sind aromatische Ringe. Grund dafür ist, dass diese PKSs aufgrund der fehlenden reduktiven Schritte Oligoketone produzieren, welche anschließend zu (Poly-)Aromaten kondensiert werden.

Typ III

Polyketidsynthesen des Typs III lassen sich vor allem in Pflanzen finden und sind am ehesten mit dem Typ II vergleichbar.

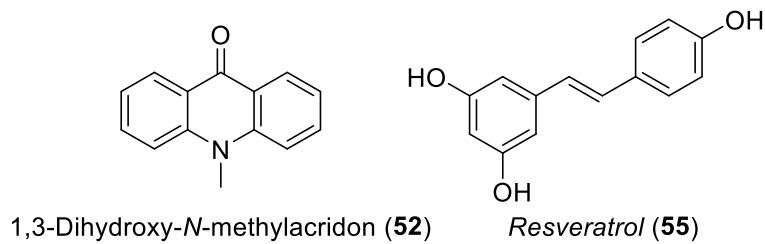


Abbildung 21: Beispiele für Polyketide des Typs III.^[64,65]

Ähnlich wie dort werden minimalistische, jedoch als Homodimer aufgebaute Module iterativ durchlaufen und die Produkte anschließend zu kleinen aromatischen Systemen kondensiert (Abbildung 21). Den größten Unterschied bildet die Art, wie der Verlängerungsbaustein zur Rückgratverlängerung angereicht wird. Im Gegensatz zu den Typen I und II, bei denen beispielsweise Coenzym A (CoA)-aktivierte Malonylbausteine zunächst auf eine ACP geladen werden müssen, verwendet der Typ III CoA-gebundene Einheiten direkt für die Rückgratverlängerung.^[61]

Dehydratasen

Ein wichtiger Teil der reduktiven Schleife von Typ I-PKS sind die Dehydratasen. Wie der Name bereits vermuten lässt, sind sie für die Entfernung von Wasser zuständig und erzeugen dabei eine ungesättigte Struktur.

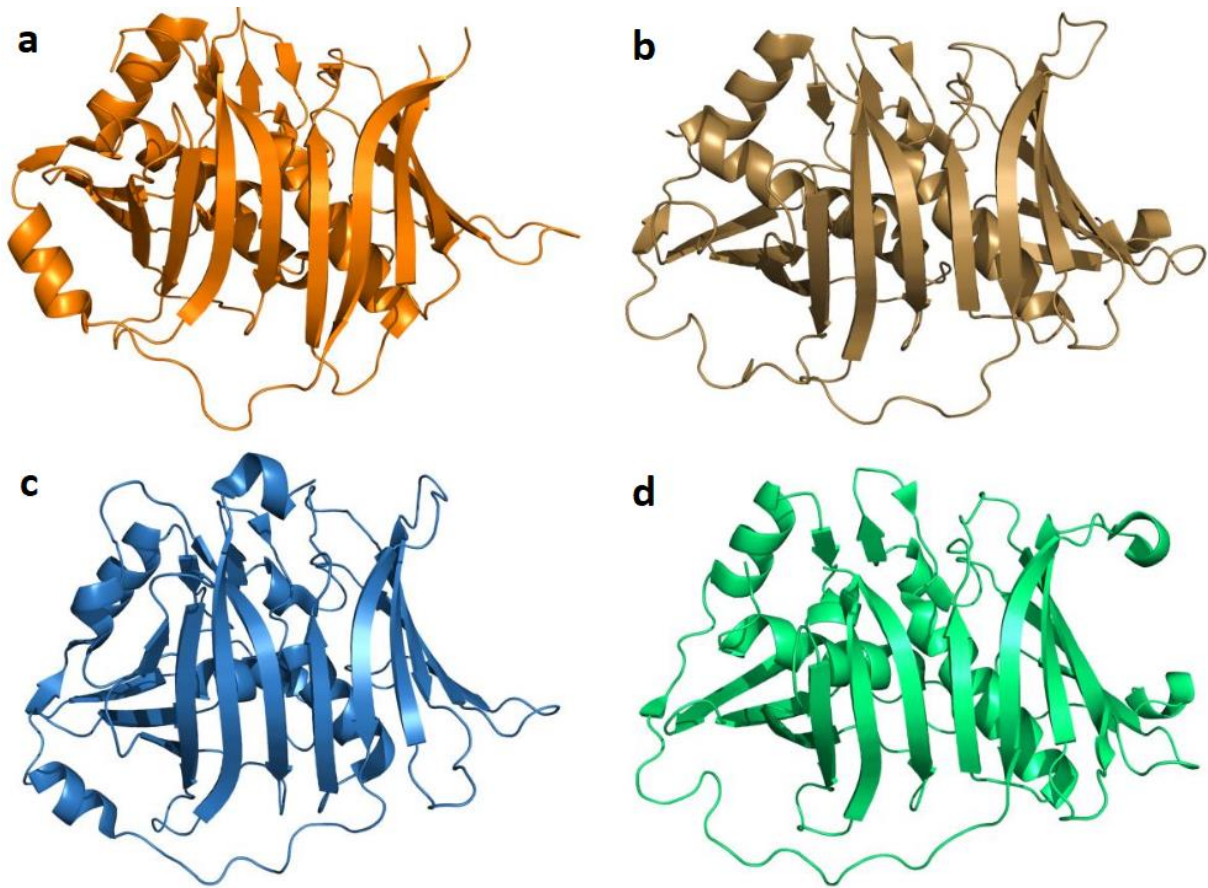


Abbildung 22: Bändermodelle verschiedener Dehydratasen a) CurFDH^[66] (orange), b) RifDH10^[67] (braun), c) CurHDH^[66] (blau), d) EryDH4^[68] (grün).

Wie in Abbildung 22 zu sehen ist, zeichnet sich die Klasse der Dehydratasen durch ihre typische Proteinfaltung aus, bei der zwei α -Helices in ein Konstrukt aus parallelen β -Faltblättern eingebettet sind. Aufgrund dieses an ein Brötchen erinnernde Aussehen wird die Tertiärstruktur als Doppelhotdog-Faltung bezeichnet. Ein Blick in das aktive Zentrum dieser Dehydratasen zeigt die an der Umsetzung beteiligten Aminosäuren.^[66–68]

Einleitung

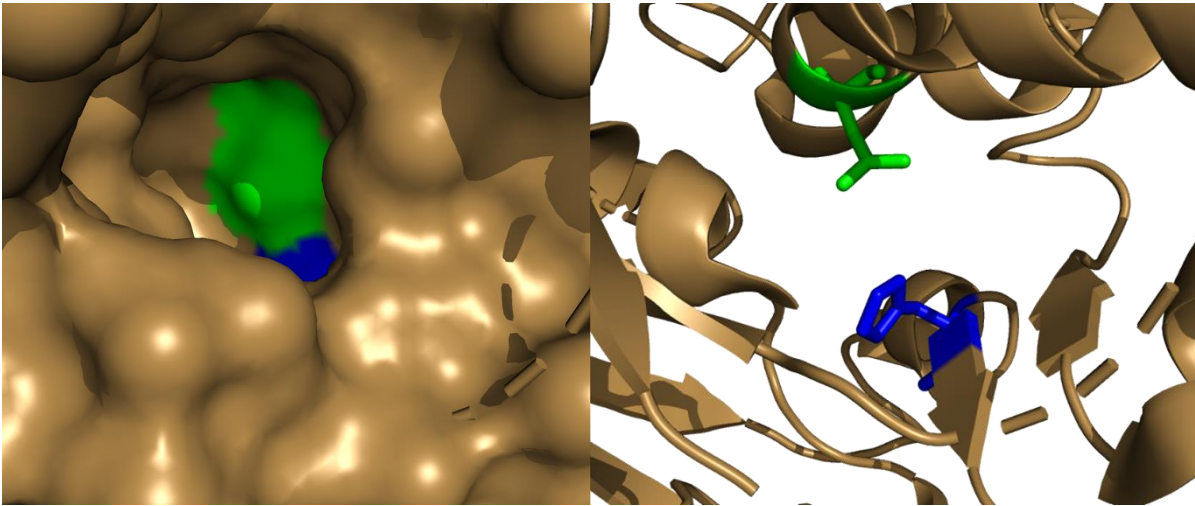


Abbildung 23: Blick in die aktive Tasche von RifDH10^[67] (Oberfläche und Zugangstunnel (links), katalytische Diade (rechts); Asparaginsäure: grün, Histidin: blau).

Charakteristisch für die aktive Tasche von DH-Domänen ist die große Anzahl unpolarer Aminosäurereste (Abbildung 23). Die einzige Ausnahme bildet die an der Reaktion beteiligte, katalytische Diade, die aus polaren Aminosäuren aufgebaut ist. Diese besteht aus je einer konserviert vorliegenden Aspartat-, sowie Histidinseitenkette.^[67]

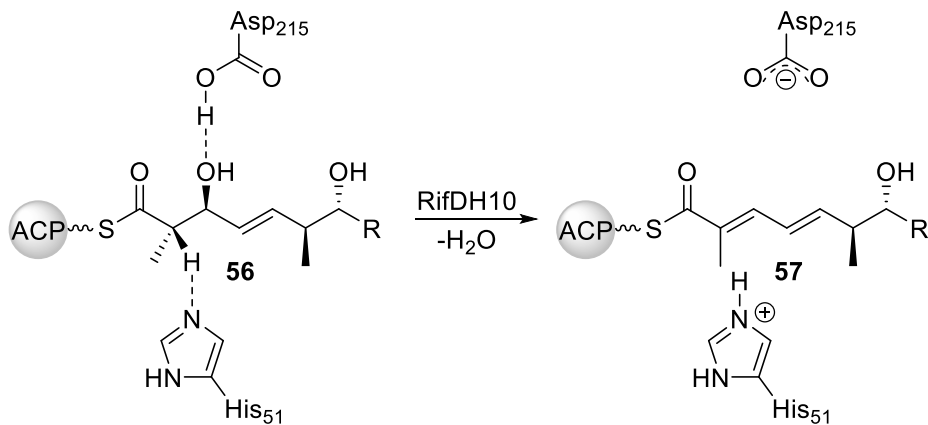


Abbildung 24: Allgemeiner Reaktionsmechanismus einer Dehydratase am Beispiel der RifDH10.^[67]

Der Mechanismus der Dehydratisierung ist in Abbildung 24 am Beispiel der RifDH10 dargestellt. Das von der ACP angereicherte Substrat **56** kommt in der aktiven Tasche so zu liegen, dass Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden. Die Carboxylgruppe der Asparaginsäure an Position 215 führt dabei zunächst die saure Aktivierung der β -Hydroxygruppe durch.

Einleitung

Zeitgleich koordiniert das Histidin mit seiner basischen Seitenkette an das α -Proton. Durch Abstraktion dieses Protons wird ein Wassermolekül unter Bildung des Olefins **57** aus der Verbindung eliminiert.^[67]

Biosynthese der Ambruticine

Im Allgemeinen liegt die aktive Tasche von Dehydratasen sehr konserviert vor, es gibt keine großen Unterschiede in der Verteilung und Art der vorhandenen Aminosäuren. Eine kürzlich von BERKHAN^[37] entdeckte Dehydratase aus der Biosynthese des antimykotisch wirkenden Ambruticins^[39,69] zeigte ein ungewöhnliches Verhalten und wurde deshalb einer tiefergehenden Untersuchung unterzogen.

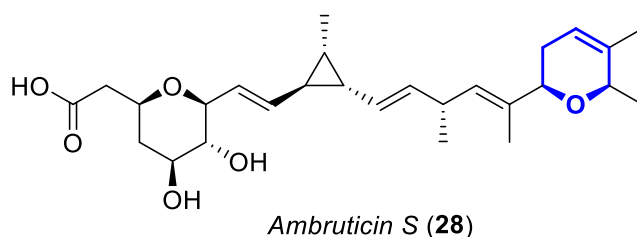


Abbildung 25: Struktur von *Ambruticin S (28)*. In **blau** hervorgehoben ist der biosynthetisch ungewöhnlich geschlossene Dihydropyranring des Ostfragments.^[70]

Im Zusammenhang mit den Studien zur Aufklärung der Biosynthese dieses Naturstoffs erweckte die Bildung des Ringsystems im Ostfragment (Abbildung 25) der Verbindung **28** besondere Aufmerksamkeit. Laut Genclusteranalyse von JULIEN befindet sich keine Cyclase in der PKS, die Zyklisierung musste demnach durch eine andere enzymatische Domäne hervorgerufen werden.^[71]

Einleitung

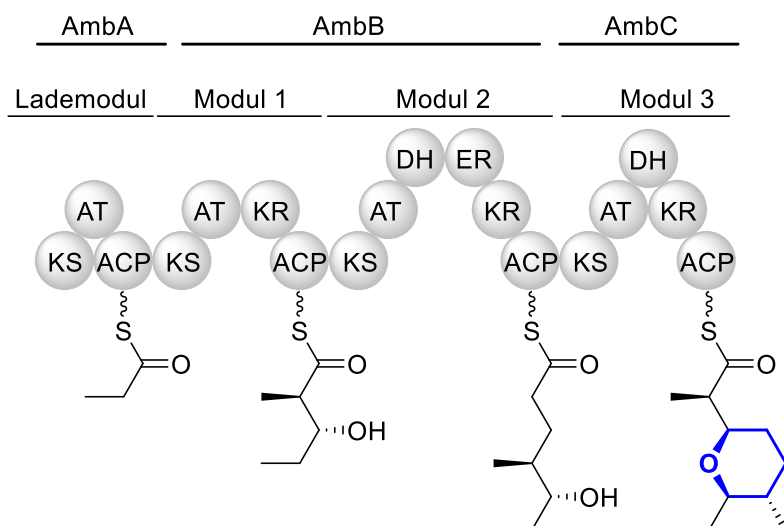


Abbildung 26: Ausschnitt aus der Biosynthese der Ambruticine. In **blau** hervorgehoben ist der von AmbDH3 geschlossene Tetrahydropyranring des Ostfragments.^[37,69]

In Abbildung 26 ist ein Ausschnitt aus der Biosynthese der Ambruticine dargestellt. Wie bereits im Kapitel über Polyketidsynthasen erwähnt, sind mehrere, voneinander unterscheidbare Module vorhanden, die das Rückgrat schrittweise aufbauen und je nach Umfang der reduktiven Schleife ein bestimmtes Substitutionsmuster erzeugen. Die Module 1 und 2 führen jeweils die angezeigten Verlängerungsschritte, sowie Reduktionen durch, wodurch zunächst das Triketid entsteht. Im nachfolgenden Modul 3 hingegen ist mit der Bildung des THP-Rings eine Besonderheit zu erkennen. Der Fokus weiterer Forschungsvorhaben fiel daher auf die Dehydratase in Modul 3, deren Aminosäuresequenz sehr ähnlich zu der von Pyran-Synthasen ist. Bei der Umsetzung verschiedener Vorläufermoleküle konnte gezeigt werden, dass eben diese in der Lage ist, den zunächst als THP vorliegenden Ring zu bilden.^[37]

Intramolekulare *oxa*-MICHAEL-Addition

Eng verwandt mit der Klasse der Dehydratasen sind (Pyran-)Zyklasedomänen, deren Mechanismus auf intramolekularen oxa-MICHAEL-Additionen (IMOMA) basieren.

Einleitung

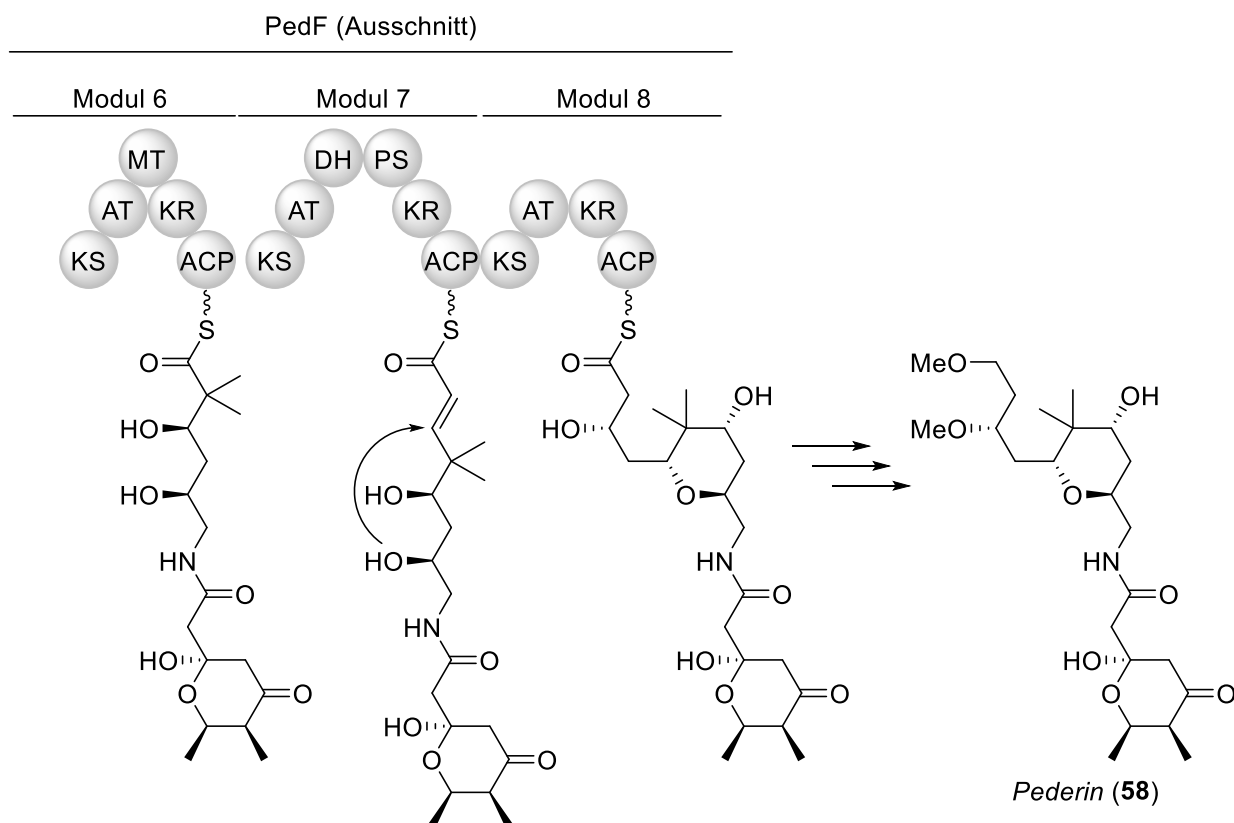


Abbildung 27: Ausschnitt aus der Biosynthese von *Pederin (58)*.^[72]

Solche Domänen besitzen eine hohe Sequenzidentität gegenüber den Dehydratasen und zudem eine sehr ähnlich geformte aktive Tasche, in der die vergleichbare katalytische Diade konserviert vorliegt. Ein Vertreter dieser Zyklasten ist PedPS7 aus der Biosynthese des antiproliferativ wirkenden NRPS/Polyketidnaturstoffs *Pederin (58)* (Abbildung 27). Die Analyse des Genclusters hat gezeigt, dass in Modul 7 zwei unterschiedliche DH-Domänen kodiert sind. Spätere Untersuchungen haben ergeben, dass eine dieser Domänen ausschließlich für die Zyklisierung des Intermediats zum korrespondierenden THP-Ring zuständig ist. Diese Ringschlussreaktion findet mit Hilfe der bereits für DH-Domänen diskutierten katalytischen Diade, bestehend aus Histidin und Asparaginsäure statt. Durch umgekehrte Säure-Base-Katalyse werden der Alkohol in 6-Position und das MICHAEL-System aktiviert, wodurch es zur Reaktion kommt.^[72,73]

Ein weiteres Beispiel für solche IMOMA-katalysierende Domänen stellt die Zyklase SorPS9 aus der Biosynthese des antibiotisch wirksamen Sorangicin dar.^[74] In Modul 9 der PKS findet dabei eine Zyklisierung, analog zu der in Abbildung 27 statt.

Einleitung

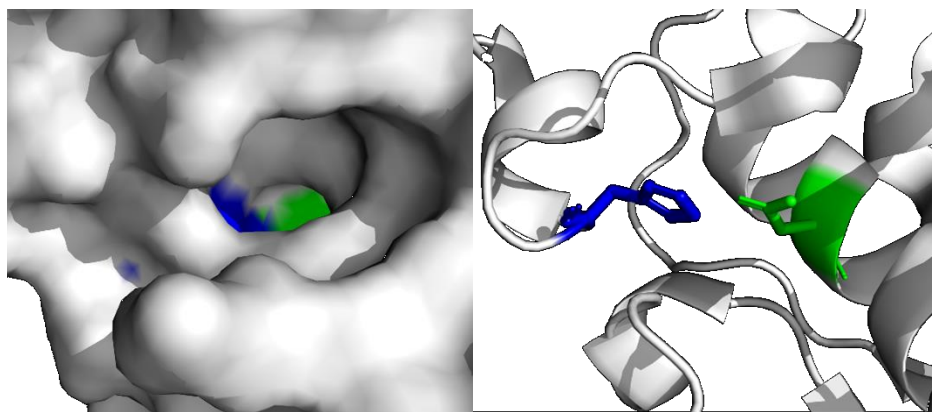


Abbildung 28: Blick in die aktive Tasche von SorPS9 (katalytische Diade in Oberflächen- (links) und Bänderdarstellung (rechts); Asparaginsäure: grün, Histidin: blau).^[75]

Im Jahr 2018 ist es KEATINGE-CLAY *et al.* gelungen, diese Pyransynthase (PS) zu kristallisieren. Im Zuge dessen konnte gezeigt werden, dass diese PS-Domäne vergleichbar zu DH-Domänen ebenfalls in einer Doppel-Hotdog-Faltung vorliegt und sich der gleichen katalytischen Diade bedient (Abbildung 28).^[75]

(-)-*Centrolobin*

Ein bekanntes Beispiel für THP-haltige Naturstoffe ist das in Abbildung 29 dargestellte (-)-*Centrolobin* (**59**).

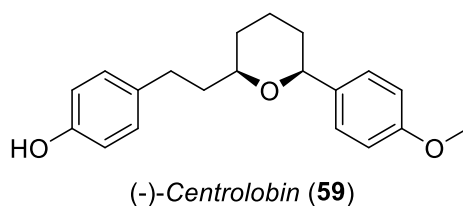


Abbildung 29: Struktur des Diarylheptanoids (-)-*Centrolobin* (**59**).

Das Diarylheptanoid (-)-*Centrolobin* (**59**) wurde von MARINI-BETTÒLO *et al.*^[76] erstmals im Jahr 1964 aus dem Kernholz des in Brasilien vorkommenden *Centrolobium robustum* extrahiert und über 30 Jahre später von PILÓ-VELOSO *et al.*^[77] ebenfalls im Stamm des Regenwaldbaums

Einleitung

Brosimum portabile nachgewiesen. Vertreter dieser Wirkstoffklasse konnten bereits bedeutende Wirksamkeiten gegen die Tropenkrankheit Leishmaniose nachgewiesen werden.^[77,78]

Aufgrund des vergleichsweise einfachen Aufbaus ist (-)-*Centrolobin* (**59**) eine gern gewählte Beispielverbindung zur Anwendung von THP-bildenden Methoden. Aufgrund dessen wurden bereits unterschiedlichste Herangehensweisen publiziert, um dieses Molekül racemisch, sowie in beiden optisch reinen Formen darzustellen.^[79–86]

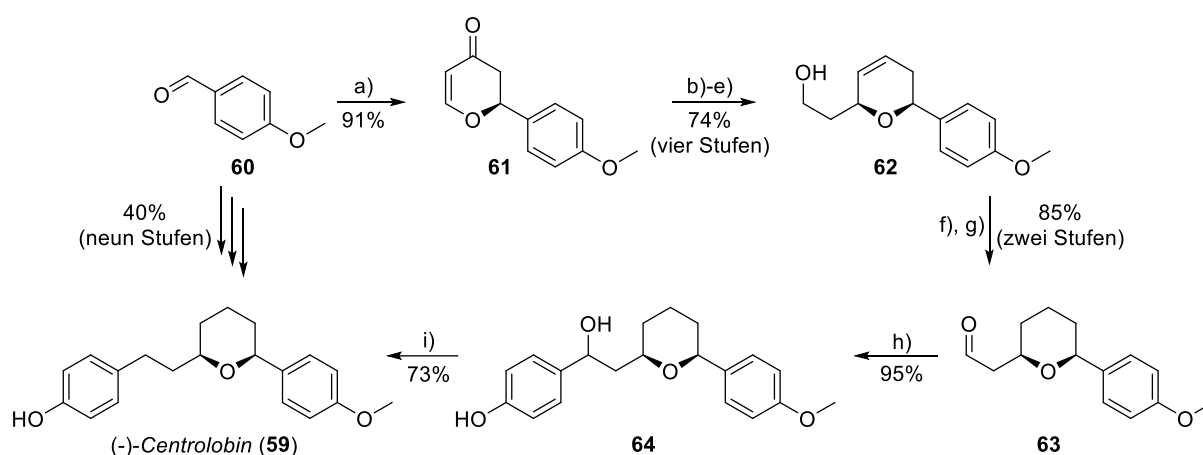


Abbildung 30: Totalsynthese von (-)-*Centrolobin* (**59**) nach CHALADAJ *et al.*. Bedingungen: **a)** DANISHEFSKY-Dien, [Cr], RT, 24 h, 93% *ee*; **b)** CeCl₃·7 H₂O, NaBH₄, MeOH, CH₂Cl₂, -30 °C, 30 min; **c)** TEA, Ac₂O, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 4 h; **d)** LiHMDS, TBSCl, HMPA, THF, -78 °C→70 °C, 2 h; **e)** LiAlH₄, THF, 65 °C, 3 h; **f)** H₂, Pd/C, EtOAc, RT, 2 h; **g)** TEMPO, PhI(OAc)₂, CH₂Cl₂, RT, 12 h; **h)** 4-THPOPhMgBr, THF, RT, 3 h, dann Salzsäure, RT, 90 min; **i)** NaBH₄, TFA, THF, 60 min.^[84]

CHALADAJ *et al.* verfolgten zum Aufbau des linksdrehenden Isomers eine Strategie über insgesamt neun Synthesestufen (Abbildung 30), beginnend mit einem der beiden Schlüsselschritte zur Kontrolle der Stereozentren. Von Anisaldehyd **60** ausgehend wurde eine Cr(Salen)-Komplex katalysierte Hetero-DIELS-ALDER-Cycloaddition am DANISHEFSKY-Dien durchgeführt und anschließend nach saurer Aufarbeitung das Dihydro-4-pyranon **61** erhalten. Nach Reduktion unter LUCHE-Bedingungen und anschließender Acetylierung des entstandenen Alkohols, wurde ein System erhalten, welches nach Fixierung als Silylenolether die Kontrolle des zweiten Stereozentrums ermöglichte. Mit Hilfe einer IRELAND-CLAISEN-Umlagerung und nachfolgender Reduktion des Esters konnte so das *cis*-konfigurierte Dihydropyran **62** dargestellt werden. Eine Pd/C-katalysierte Hydrierung und TEMPO-Oxidation führte danach zu Freisetzung des Aldehyds **63**, welcher in einer Sequenz aus GRIGNARD-Reaktion und anschließender reduktiver Entfernung des sekundären Alkohols **64** erfolgreich zu

Einleitung

(-)-*Centrolobin* (**59**) umgesetzt werden konnte. Die Gesamtausbeute betrug dabei 40% über neun lineare Stufen.^[84]

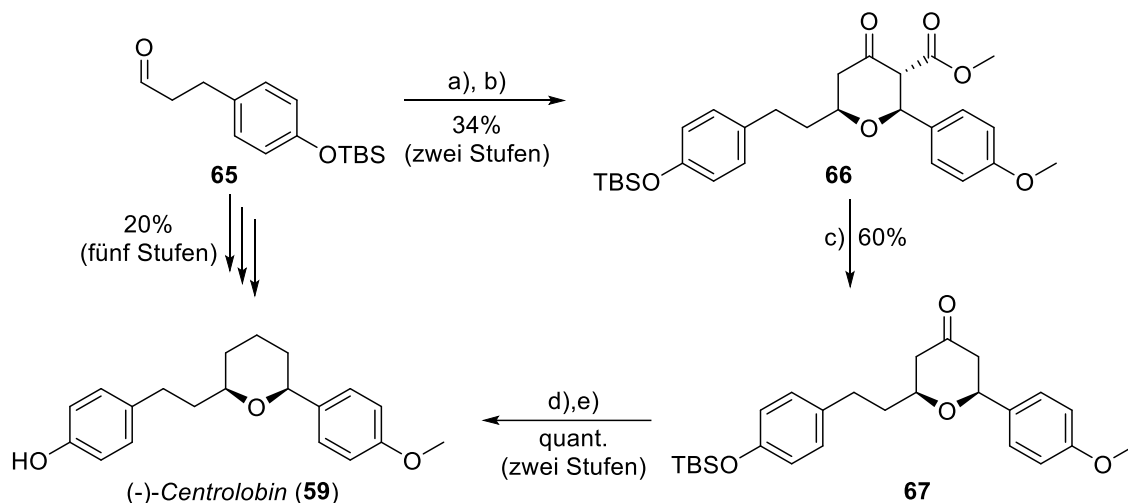


Abbildung 31: Totalsynthese von (-)-*Centrolobin* (**59**) nach CLARKE *et al.* Bedingungen: **a)** CHAN-Dien, $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$, (*R*)-Binol, LiCl , CH_2Cl_2 , RT, 16 h; **b)** $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, Anisaldehyd, CH_2Cl_2 , RT, 18 h; **c)** LiOH , H_2O_2 , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 100 °C; **d)** $(\text{CH}_2\text{SH})_2$, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, Et_2O ; **e)** H_2 , Ra-Ni, Et_2O .^[80,86]

Die Gruppe um CLARKE verfolgte eine deutlich kürzere Synthesestrategie mit lediglich fünf Stufen (Abbildung 31). Gleich im ersten Schritt fand hierbei der Aufbau beider im Produkt auftauchender Stereozentren statt. Durch eine asymmetrischen MAITLAND-JAPP Reaktion des Aldehyds **65** am CHAN Dien wurde selektiv das *cis*-4-Pyranongerüst **66** erhalten. Zur Steuerung der Stereokonfiguration wurde (*R*)-Binol als chiraler Ligand im ersten, $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$ -katalysierten Zwischenschritt verwendet. Der dabei entstandene Ester wurde nachfolgend verseift und decarboxyliert. Das Keton **67** konnte anschließend zum Dithian umgesetzt werden, welches im letzten Schritt hydridisch mit RANEY-Ni quantitativ entschweifelt wurde. Die Gesamtausbeute dieser Synthesesequenz betrug dabei 20% über fünf Stufen.^[80,86]

Einleitung

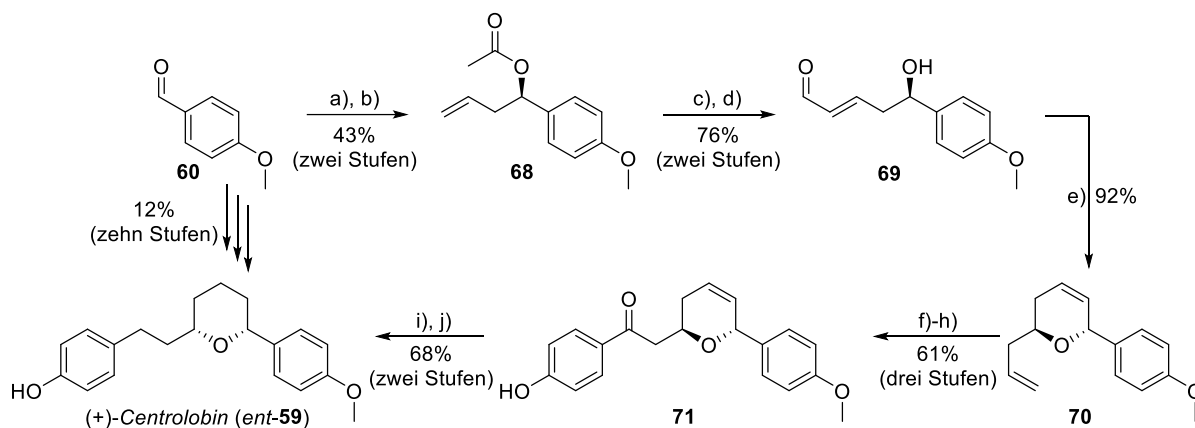


Abbildung 32: Totalsynthese von (+)-Centrolobin (*ent*-59) nach MOHAPATRA *et al.* Bedingungen: **a)** Allylmagnesiumbromid, CuI, THF, -10 °C, 3 h; **b)** PS-C (Amano[®] II), Vinylacetat, MTBE, RT, 4 d; **c)** K₂CO₃, MeOH, RT, 4 h; **d)** Acrolein, HG II, CH₂Cl₂, RT, 12 h; **e)** Allyltrimethylsilan, I₂, THF, RT, 45 min; **f)** 2,6-Lutidin, OsO₄, NaIO₄, Dioxan/H₂O, RT, 3 h; **g)** 4-THPOPhMgBr, THF, -78 °C, 2 h, dann Salzsäure, RT, 2 h; **h)** DMP, CH₂Cl₂, 0 °C, 4 h; **i)** Benzoesäure, CHCl₃, RT, 2 d; **j)** H₂, Pd/C, HCl, EtOH/EtOAc/H₂O, 10 h.^[82]

Mit einer vergleichsweise langen, zehnstufigen Strategie war es MOHAPATRA *et al.* gelungen das rechtsdrehende Isomer von Centrolobin herzustellen (Abbildung 32). Nach einer Allyl-GRIGNARD-Reaktion wurde das entstandene racemische Alkoholgemisch einer kinetischen Racematspaltung mit der Esterase PS-C II unterworfen. Der entstandene optisch reine Ester **68** konnte danach entschützt und das Alken in einer Metathesereaktion mit Acrolein zum Aldehyd **69** umgesetzt werden. Die anschließende Zyklisierungs-Allylierungskaskade stellt den zweiten Schlüsselschritt der Route dar. Zunächst bildet sich durch intramolekularen Ringschluss ein Lactol aus, welches nachfolgend durch elementares Iod aktiviert und mit Allyltrimethylsilan zur Reaktion gebracht wird. Das so entstandene Alken **70** unterläuft eine Dihydroxilierung mit nachgeschalteter Periodatspaltung. Der Aldehyd wird in einer GRIGNARD-Reaktion verlängert, entschützt und mit DMP zum Keton oxidiert. Das *trans*-Dihydropyran **71** konnte durch Behandlung mit Benzoesäure zum *cis*-Isomer epimerisiert und durch finale Reduktion mit Wasserstoff an Pd/C erfolgreich zum anvisierten (+)-Centrolobin (*ent*-59) umgesetzt werden. Die lineare Gesamtausbeute über alle zehn Synthesestufen betrug hier 12%.^[82]

Einleitung

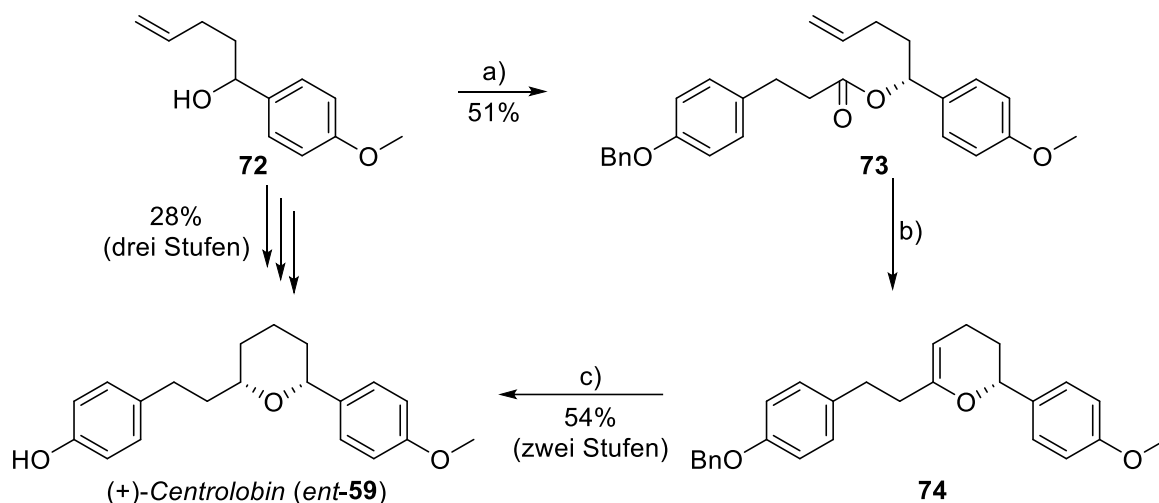


Abbildung 33: Chemoenzymatische Totalsynthese von (+)-*Centrolobin* (*ent*-**59**) nach SHINA *et al.*. Bedingungen: a) Piv₂O, (*R*)-*N*-Methylbenzguanidin ((*R*)-NMBG), Et₂O, RT, 24 h, 90% *ee*; b) TiCl₄, Zn, PbCl₂, CH₃CHBr₂, TMEDA, CH₂Cl₂, 65 °C, 2 h; c) H₂, Pd/C, THF, RT, 48 h.^[81]

In der von SHINA *et al.* vorgestellten, deutlich kürzer gestalteten Synthese wurde (+)-*Centrolobin* (*ent*-**59**) in lediglich drei Stufen zugänglich gemacht (Abbildung 33). Im ersten Schritt wird unter der Verwendung des Katalysators (*R*)-*N*-Methylbenzguanidin ((*R*)-NMBG) stereoselektiv die Umsetzung zum Ester **73** durchgeführt. Dieses esterhaltige Alken wird dann einer TEBBE-artigen Olefinierung mit anschließender titanvermittelter Ringschlussmetathese unterzogen was das Dihydropyran **74** erzeugte. Durch Hydrierung an Pd/C wurde sowohl die Benzylgruppe, als auch das Keton entfernt und (+)-*Centrolobin* (*ent*-**59**) in einer Gesamtausbeute von 28% über drei Stufen erhalten.^[81]

Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit war zunächst die Vervollständigung der biochemischen Charakterisierung der enzymatischen Domäne AmbDH3. Im Zuge dessen sollten in einem Kooperationsprojekt strukturelle Untersuchungen sowie Studien zur Auswirkung von Punktmutationen auf die Zyklisierungsaktivität durchgeführt werden. Zusätzlich sollten kinetische Parameter aufgenommen und die Zyklisierung zeitaufgelöst verfolgt werden.

Anschließend sollten die synthetisch relevanten Eigenschaften von AmbDH3 untersucht werden. Hierfür sollten zunächst die von BERKHAN begonnenen Studien deutlich erweitert werden. Die Skalierbarkeit der Reaktion sollte untersucht werden, um die Nutzbarkeit für die präparative Synthese chiraler Heterozyklen bewerten zu können.

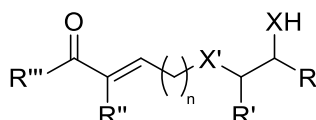


Abbildung 34: Allgemeine Struktur der anvisierten Substratbibliothek (R = H, Alk, Ar; R' = H, Alk; R'' = H, Alk; R''' = Alk, Thiolat; X = O, N; X' = CH₂, O).

Zusätzlich zur Skalierbarkeit der Reaktion ist die tiefgehende Kenntnis der Substrattoleranz von größter Bedeutung. Hierfür wurde die Planung und Durchführung diverser Synthesestrategien zum Aufbau einer umfangreichen Substratbibliothek angestrebt (Abbildung 34). Die angestrebten Substratsurrogate sollten sich dabei in den Positionen C2, C6 und C7 durch Alkylketten verschiedener Länge und sterisch anspruchsvolleren Aromaten unterscheiden um einen breiten Bereich unterschiedlicher Substitutionsmuster abzudecken. Zudem sollten durch Variation des Nucleophils an C7 sowie der Art des Rückgrates weitere Heterozyklen zugänglich gemacht werden. Ebenfalls sollte die Einsetzbarkeit unterschiedlicher Carbonylfunktionen beleuchtet werden. Zusätzlich zur Umsetzbarkeit dieser Vorläuferverbindungen sollte auch die Substratabhängigkeit der Stereoselektivität untersucht werden.

Zielsetzung

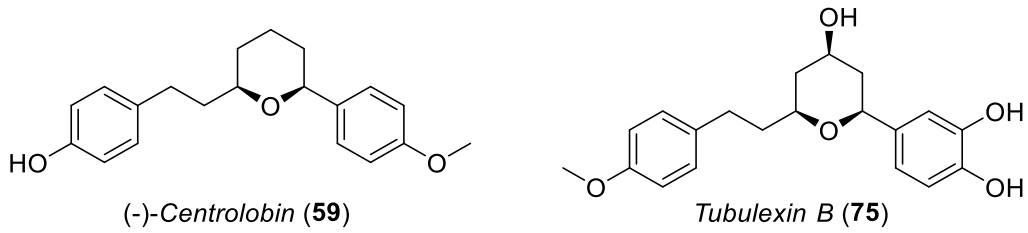


Abbildung 35: Potenzielle Zielverbindungen für einen möglichen Einsatz von AmbDH3 in einer chemoenzymatischen Totalsynthese.

Sollten die Ergebnisse dieser Studie vielversprechend ausfallen, soll AmbDH3 in weiterführende Syntheseprojekte eingebunden werden. Denkbar wäre dabei der Einsatz in kinetischen Racematspaltungen oder der chemoenzymatischen Totalsynthese eines Naturstoffs. Dafür stellen die Diarylheptanoide *(-)-Centrolobin (59)* und *Tubulexin B (75)* potenziell geeignete Zielverbindungen dar (Abbildung 35).

Ergebnisdiskussion

Struktur-Aktivitäts-Beziehungen von AmbDH3

Im Rahmen eines Kooperationsprojekts mit BLANKENFELD, SUNG und WAGNER wurden zunächst Untersuchungen zur strukturellen Ursache der doppelten Aktivität von AmbDH3 angestellt.

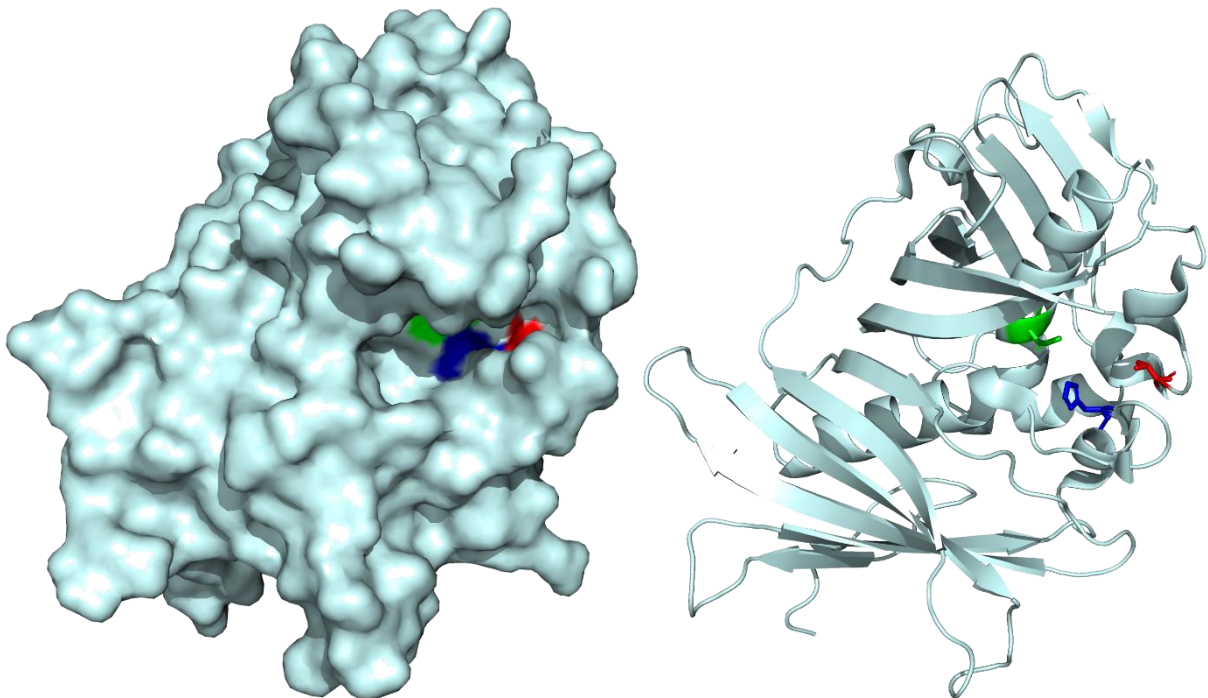


Abbildung 36: Räumliche Struktur der bifunktionellen enzymatischen Domäne AmbDH3 (Oberfläche und Zugangstunnel (links), Bänderdarstellung (rechts); Asparaginsäure: grün, Histidin: blau, Valin: rot).^[38]

Dier erfolgreiche Kristallisation von AmbDH3 erlaubte einen tiefgehenden Einblick in die allgemeine Proteinstruktur und die aktive Tasche (Abbildung 36). Dabei fiel auf, dass sich neben der für Dehydratasen üblichen katalytischen Diade, bestehend aus H51 und D215, eine Mutation in der aktiven Tasche befindet. An Position 173 befindet sich häufig eine sterisch anspruchsvolle, polare Aminosäure (meist Tryptophan oder Histidin), wohingegen in AmbDH3 ein sterisch wenig anspruchsvolles, unpolares Valin vorliegt. Hierdurch wird das Volumen der aktiven Tasche erhöht und die Hydrophilie herabgesetzt. Desweiteren ist aufgefallen, dass die aktive Tasche zusätzlich durch eine abgewinkelte α -Helix vergrößert wird.

Ergebnisdiskussion

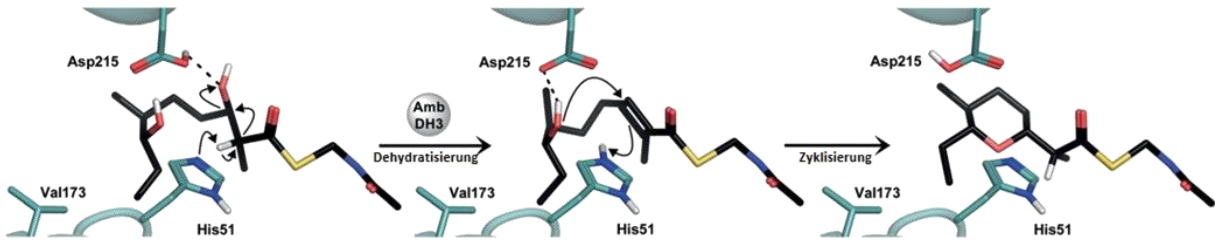


Abbildung 37: Modellierung des Mechanismus der Dehydratisierung von **76** nach **77** mit anschließender Zyklisierung zu **78** in der aktiven Tasche von AmbDH3 WT.^[38]

Die Dehydratisierung des Diols **76** findet Säure-Base-katalysiert an den Aminosäureseitenketten von Asparaginsäure (Asp215) und Histidin (His51) statt. Der daraus entstehende α,β -ungesättigte Thioester **77** ist aufgrund der gezeigten Rückgradorientierung in der Lage den Ringschluss zum Tetrahydropyran **78** durchzuführen (Abbildung 37).

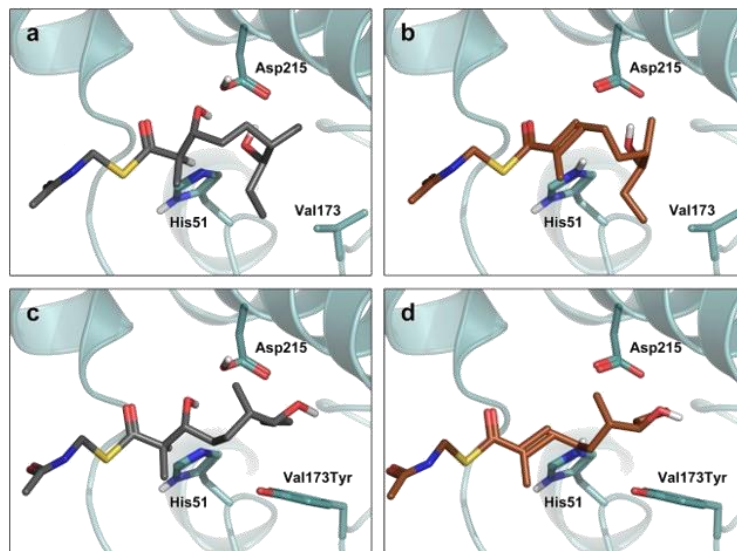


Abbildung 38: Vergleich der modellierten Substratsurrogate **76** und **77** in die aktive Tasche von AmbDH3 (a, b) sowie AmbDH3 V173Y (c, d).^[38]

Die Abbildung 38 ist die Relevanz der Aminosäureseitenkette an Position 173 zu sehen. Das Rückgrat der modellierten Substratsurrogate **76** (a) und **77** (b) liegt in der aktiven Tasche von AmbDH3 WT gekrümmt vor, was durch die resultierende Nähe zwischen 7-OH und C3 die Möglichkeit zur Zyklisierung bietet. Die Modellierung der Substrate **76** (c) und **77** (d) in die aktive Tasche der Punktmutante AmbDH3 V173Y zeigt hingegen ein anderes Bild. Hier ist das

Ergebnisdiskussion

Rückgrat jeweils deutlich linearer orientiert und der resultierende große Abstand zwischen 7-OH und C3 verhindert eine Zyklisierung.

Zur weiterführenden Untersuchung der Zyklastase AmbDH3 wurden die Substratsurrogate **76** und **77** stereoselektiv hergestellt.

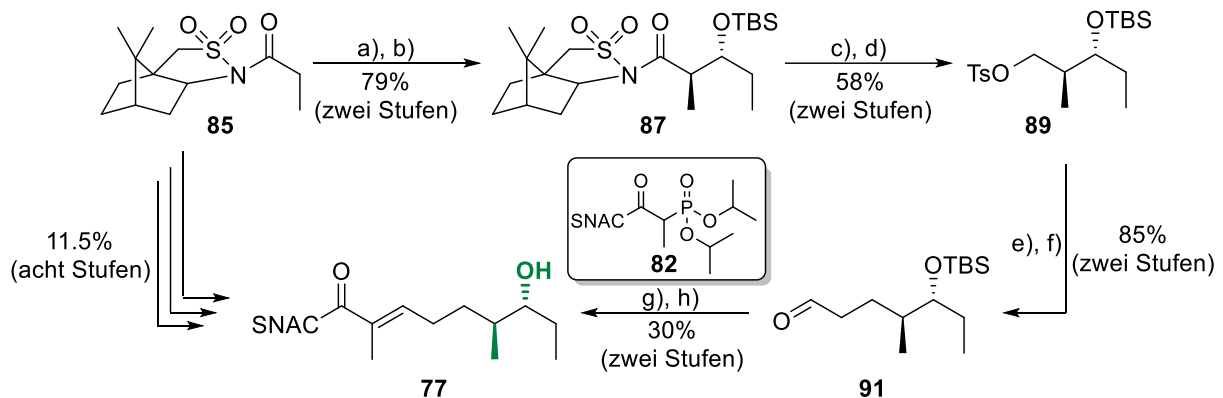


Abbildung 39: Synthese des Substratsurrogats **77**. Bedingungen: **a)** TMSOTf, DIPEA, CH₂Cl₂, RT, ü.N., dann TiCl₄, Propanal, CH₂Cl₂, -78 °C, 1 h; **b)** TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, -78 °C → RT, ü.N.; **c)** LiBH₄, Et₂O/MeOH, 0 °C → RT, ü.N.; **d)** TsCl, Pyridin, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 72 h; **e)** Allylmagnesiumbromid, Et₂O, Reflux, 3 h; **f)** O₃, CH₂Cl₂, -78 °C, dann PPh₃, RT, ü.N.; **g)** **82**, DBU, THF, 0 °C → RT, 48 h; **h)** PPTS, MeOH, 50 °C, ü.N..

Zur Darstellung von **77**, konnte eine in der Forschungsgruppe etablierte achtstufige Syntheseroute verwendet werden (Abbildung 39).^[37] Zunächst wurde dabei das für die spätere Umsetzung mit AmbDH3 unverzichtbare Strukturmotiv (Abbildung 39, grün markiert) durch eine *anti*-selektive MUKAIYAMA-Aldolreaktion unter Verwendung des propionierten OPPOLZER-Auxiliars **85** erfolgreich aufgebaut. Nach Schützung des entstandenen (*R*)-konfigurierten Alkohols **86**, konnte der Silylether **87** mit einer Ausbeute von 79% über zwei Stufen erhalten werden. Das Auxiliar wurde reaktiv abgespalten und der primäre Alkohol **88** freigesetzt. Die Überführung des Alkohols in eine gute Fluchtgruppe erfolgte *via* Tosylierung in einer Ausbeute von 58% über zwei Stufen. In einer Reaktionssequenz aus nukleophiler Substitution des Tosylats **89** mittels Allylmagnesiumbromid und daran anschließender reaktiv aufgearbeiteter Ozonolyse war es möglich den Aldehyd **91** in sehr guter Ausbeute von 85% über zwei Stufen darzustellen. Der Einbau des α,β -ungesättigten Thioesterfragments geschah danach durch eine HWE-Olefinierung, gefolgt von der mild-sauren Abspaltung der TBS-Schutzgruppe mit einer Ausbeute von 30% über zwei Stufen. Das Substratsurrogat **77** wurde so mit einer Gesamtausbeute von 11.5% über acht lineare Stufen erhalten.

Ergebnisdiskussion

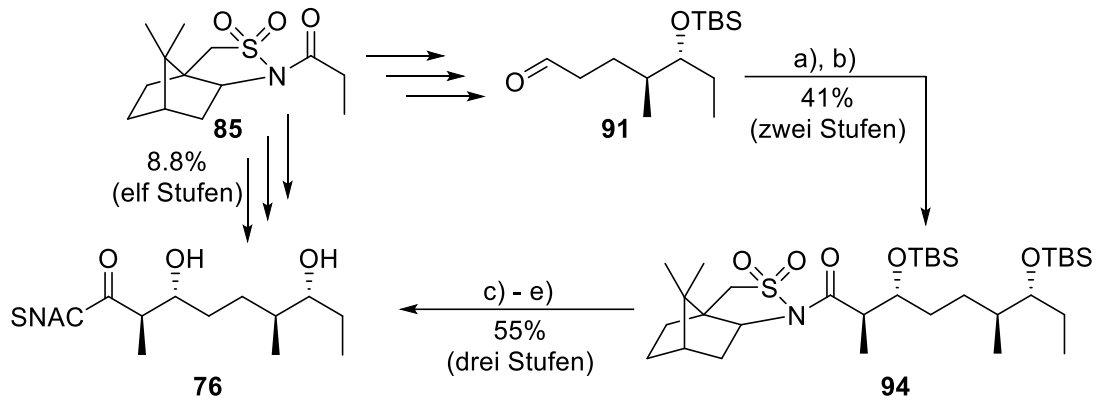


Abbildung 40: Synthese des Substratsurrogats **76**. Bedingungen: a) **85**, TMSOTf, DIPEA, CH₂Cl₂, RT, ü.N., dann **91**, TiCl₄, -78 °C → 0 °C, 1 h; b) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, -78 °C → RT, ü.N.; c) LiOH, H₂O₂, THF/H₂O, 0 °C → RT, ü.N.; d) HSNAC, EDC·HCl, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, ü.N.; e) PPTS, MeOH, 50 °C, 48 h.

Die Synthese des Diols **76** wurde analog zu BERKHAN ausgehend vom bereits gezeigten Aldehyd **91** durchgeführt.^[37] Von dieser Zwischenstufe ausgehend wurde abweichend zur Darstellung des Alkens eine weitere *anti*-selektive MUKAIYAMA-Aldolreaktion mit dem OPPOLZER-Auxiliar durchgeführt. Nach erfolgreicher TBS-Schützung wurde die TBS-geschützte Verbindung **94** in 41% Ausbeute über beide Stufen erhalten. Das Auxiliar wurde danach LiOOH zur Carbonsäure umgesetzt. Diese wurde anschließend in einer Sequenz aus STEGLICH-Veresterung mit HSNAC und finaler Entschützung weiterreagiert und das Diol **76** wurde in 55% Ausbeute über drei und daraus resultierend 8.8% Ausbeute über elf Stufen erhalten.

Eine Mutationsstudie bezüglich der Position 173 hat die Wichtigkeit des Vorhandenseins einer sterisch wenig anspruchsvollen, unpolaren Aminosäureseitenkette bestätigt. Im Rahmen dieser Studie wurden unterschiedliche Punktmutanten (V173A, V173L, V173Y und V173H) hergestellt und jeweils mit dem Substratsurrogat **77** inkubiert. Zusätzlich wurde die Dehydratisierungsaktivität durch die Inkubation mit dem Diol **76** überprüft. Dabei stellte sich heraus, dass die Zyklisierungsaktivität der Alanin- sowie Leucinmutante vergleichbar zum Wildtyp ist und nur kleine Anteile des Startmaterials im Reaktionsgemisch zurückblieb. Sowohl Alanin als auch das sterisch anspruchsvollere Leucin bieten demnach genügend Platz in der aktiven Tasche um die Zyklisierung zu erlauben. Im Gegensatz dazu kam die Zyklisierungsaktivität bei der Tyrosin- und Histidinmutante beinahe vollständig zum Erliegen. Die sterisch anspruchsvollen, polaren Seitenketten dieser beiden Aminosäuren haben dazu geführt, dass die aktive Tasche soweit verkleinert wurde, dass das Substrat eine eher lineare

Ergebnisdiskussion

Orientierung (vgl. Abbildung 38, d) eingenommen hat und die Möglichkeit der Zyklisierung damit stark eingeschränkt wurde. Die Dehydrataseaktivität blieb hingegen in allen untersuchten Punktmutanten erhalten. Eine detaillierte Aufstellung der aufgenommenen UPLC-MS-Chromatogramme ist der Literatur zu entnehmen.^[38]

In einer anschließenden sequenzbasierten Suche wurde AmbDH3 mit anderen DH-Domänen bezüglich ebenfalls an dieser, bisher nicht beachteten Position vorliegenden Mutation verglichen. Eine solche Mutation könnte auf eine versteckte Zyklaseaktivität hindeuten, die aufgrund des zur Zyklisierung unfähigen biosynthetische Vorläufer bislang unerkannt geblieben ist.

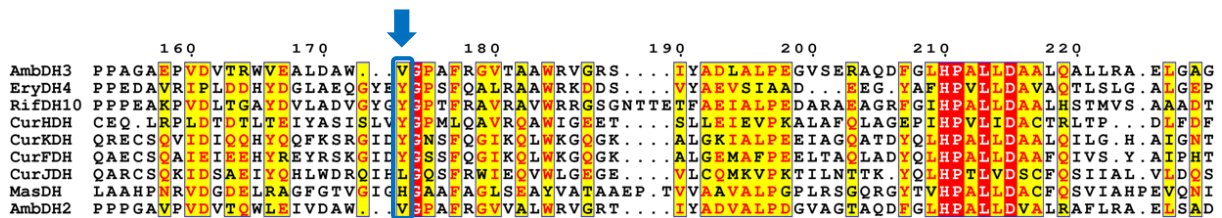


Abbildung 41: Ausschnitt aus dem Sequenzvergleich verschiedener Dehydratasen, unterschiedlicher Biosynthesewege. Die in AmbDH3 mutierte Position 174 ist **blau** hervorgehoben.^[38]

In Abbildung 41 ist zu erkennen, dass in fast allen der untersuchten Dehydratasen an Position 174 eine sterisch anspruchsvolle, eher polare Aminosäure (Tryptophan/Histidin) befindet. CurJDH (Leucin) und AmbDH2 (Valin), in der Amb-PKS ein Modul vor AmbDH3 befindlich, zeigen Mutation zu einer hydrophoben, flexiblen Einheit.

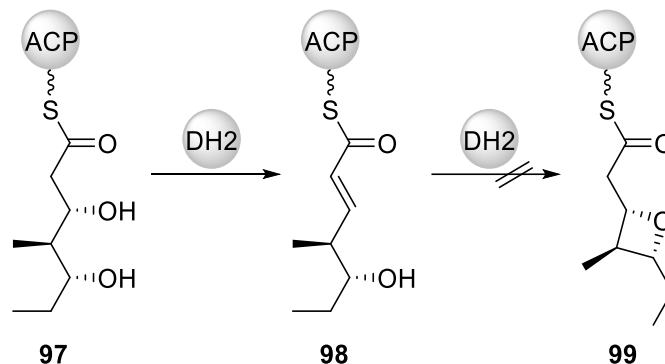


Abbildung 42: Theoretisch von AmbDH2 katalysierbare Zyklisierung.

Ergebnisdiskussion

Dass AmbDH2 in der Natur keine Zyklisierung durchführt, liegt an der Beschaffenheit des im betreffenden Modul prozessierten biosynthetischen Vorläufers **97**. Dieses ist als Triketid nicht in der Lage, in den dargestellten Heterozyklus **99** überführt zu werden (Abbildung 42). Um dennoch eine mögliche doppelte Funktionalität ausfindig zu machen, wurden Enzymaktivitätsassays durchgeführt. Neben dem bereits vorgestellten Enthioat **77**, wurde ebenfalls, um zusätzlich die Dehydrataseaktivität zu zeigen, das Diol **76** einzeln in die Enzymreaktion eingesetzt.

Beide Substrate wurden mit analog zu AmbDH3 heterolog exprimiertem AmbDH2 nach Reinigung für 16 h inkubiert und die Experimente *via* UPLC-MS analysiert.

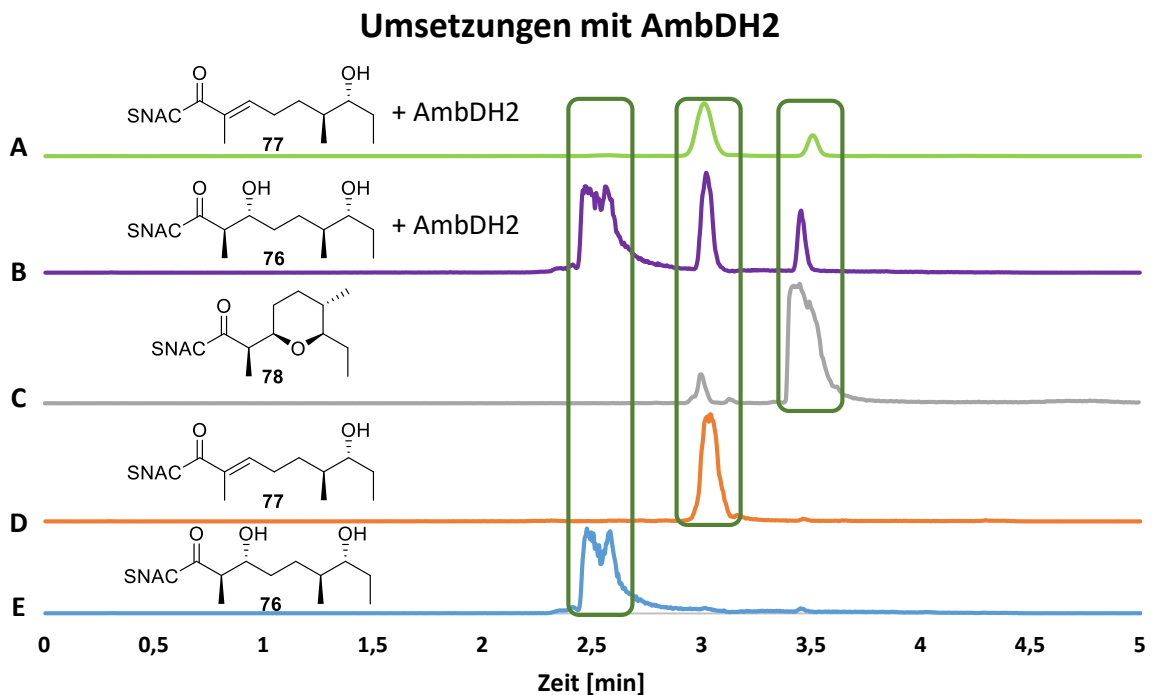


Abbildung 43: UPLC-MS Chromatogramme der Reaktionsgemische nach Inkubation mit AmbDH2 (A: Umsetzung des Enthioats **77**; B: Umsetzung des Diols **76**), sowie relevanter Referenzverbindungen (C: THP **78** $m/z = 324 [M+Na]^+$, D: Enthioat **77** $m/z = 324 [M+Na]^+$, E: Diol **76** $m/z = 342 [M+Na]^+$).

In Abbildung 43 sind die UPLC-Chromatogramme der Inkubationen der Substratsurrogate **76** und **77** mit AmbDH2, sowie relevanter Referenzverbindungen zusammenfassend dargestellt. Hierbei sind eindeutige Trends zu erkennen. In beiden Umsetzungen sind ein (A: Reaktion mit Alken **77**), respektive zwei (B: Reaktion mit Diol **76**) neue Signale zu erkennen. Diese deuten in Übereinstimmung mit den angegebenen Referenzen auf stattgefundenere Reaktionen in beiden untersuchten Fällen hin. Sowohl die Zyklisierung als auch die Kaskade aus Dehydratisierung

und anschließender Zyklisierung wurden von AmbDH2 durchgeführt. Ein Vergleich zwischen diesen Reaktionen mit denen von AmbDH3 zeigen deutlich unterschiedliche Umsätze. AmbDH3 setzte die Substrate beinahe vollständig um^[37], wohingegen AmbDH2 nur eine begrenzte Reaktivität aufwies. Ein Blick in die Biosynthese der Ambruticine (Abbildung 13) gibt jedoch einen Hinweis darauf, warum die Substratsurrogate **76** und **77** nicht so gut akzeptiert werden, wie in den analogen Experimenten mit AmbDH3. Aufgrund der früheren Position des Moduls 2 ist die Dehydratisierung ausgelegt auf ein α -unverzweigtes Triketid. Dieses ist kürzer sterisch weniger anspruchsvoll als die α -verzweigten Tetraketide **76** und **77**, weshalb auch aktive Tasche und Zugangstunnel kleiner ausgefallen sein könnten. Daraus ließe sich ableiten, dass es auch bei den kinetischen Parametern (Affinität und Wechselzahl) signifikante Unterschiede geben könnte, die die Umsetzbarkeit der Tetraketide negativ beeinflusst.

Enzymologische Charakterisierung von AmbDH3

Die Bestimmung kinetischer Parameter und zeitaufgelöster Reaktionsprofile sind wichtig für die Bewertung der katalytischen Effizienz eines Enzyms. Analog zur Arbeit von FIERs *et al.*^[87] wurde eine *steady-state* Kinetik, basierend auf UPLC-MS-Messungen aufgenommen. Im Gegensatz zu anderen Ansätzen der Kinetikuntersuchung^[88,89], konnten hierbei alle wichtigen Daten aus jeweils lediglich zwei Werten abgeleitet werden, ohne die Aufnahme vieler Datenpunkte über einen längeren Zeitraum hinweg. Die angewandte Variante ist möglich, da in einem vorangeschalteten Versuch die linear ablaufende Umsetzung von **77** zum zyklisierten Produkt **78** UV-spektroskopisch gezeigt werden konnte (Abbildung 213). Die einzelnen Experimente wurden im Kleinstmaßstab mit Substratkonzentrationen zwischen 0.1 mM und 2.25 mM im Triplikat durchgeführt. Hierfür wurde die jeweilige Menge des Substratsurrogats **77** in DMSO (finale Konzentration 4%) vorgelegt. Der verwendete Anteil DMSO stellte einen Kompromiss zwischen verbesserter Substratlöslichkeit bei ungestörter Enzymaktivität dar. Durch Zugabe der Proteinlösung wurde die enzymatische Reaktion begonnen und nach achtminütiger Inkubation durch Verdünnung mit MeCN beendet. Die daraus resultierenden Gemische aus **77** und **78** wurden *via* UPLC-MS analysiert und die beobachteten Signale in den aufgenommenen Chromatogrammen auf Basis der Integrale miteinander verglichen. Zur Umrechnung der Integrale in Stoffmengen und davon abgeleiteten Konzentrationen unter

Ergebnisdiskussion

Einbezug unterschiedlicher Ionisierbarkeit der verschiedenen Komponenten, wurde jeweils eine Kalibriergerade für das Substratsurrogat **77**, sowie das Produkt **78** erstellt. Dafür wurden zunächst die entsprechenden Stofflösungen mit definierter Konzentration hergestellt und anschließend mit unterschiedlichen Injektionsvolumina aufgetragen. Die daraus resultierende Kalibriergerade (Abbildung 214) konnte direkt für die Umrechnung der Integrale herangezogen werden.

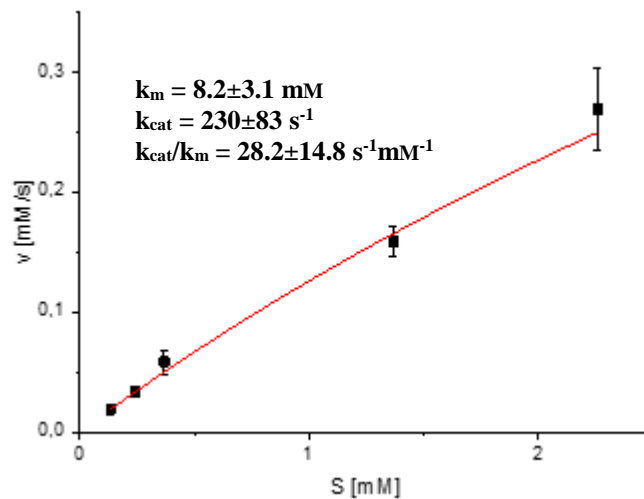


Abbildung 44: Ableitung der kinetischen Daten aus der Umsetzung von **77** mit AmbDH3 bei verschiedenen Substratkonzentrationen.

Die aufgenommenen Daten sind mit Fehlerbalken (bezogen auf die Reaktionsgeschwindigkeit v) in Abbildung 44 zusammengefasst. Zur Berechnung der Substrataffinität (k_m), der Wechselzahl (k_{cat}), sowie der katalytischen Effizienz (k_{cat}/k_m) wurden die aufgenommenen Daten (Abbildung 215 - Abbildung 218) *via* nichtlinearer Regression analysiert.

Der Wert k_m von AmbDH3 beträgt 8.2 ± 3.1 mM (Muramidase: $0.32 \times 10^{-3} \text{mM}^{[90]}$), was einer vergleichsweise geringen Affinität zum Substrat entspricht. Auch k_{cat} ist mit $230 \pm 83 \text{ s}^{-1}$ (Carbonanhydrase: $k_{cat} = 9.4 \pm 2.4 \times 10^5 \text{ s}^{-1[91]}$) gering und ein Indikator für eine langsam ablaufende Reaktion. Die daraus resultierende katalytische Effizienz liegt mit $28.2 \pm 14.8 \text{ s}^{-1} \text{mM}^{-1}$ (Carboanhydrase: $k_{cat}/k_m = 7.6 \pm 0.3 \times 10^7 \text{ s}^{-1} \text{mM}^{-1[91]}$) somit folgerichtig am unteren Ende der Skala. Da es sich bei AmbDH3 jedoch um eine enzymatische Domäne aus dem Multienzymkomplex einer PKS-Typ 1 handelt, sind diese niedrig erscheinenden kinetischen Parameter nicht ungewöhnlich (PikDH2: $k_m = 5.7 \pm 1.4$ mM, $k_{cat} = 0.021 \pm 0.0032 \text{ s}^{-1}$, $k_{cat}/k_m = \text{PikDH2: } 0.0037 \pm 0.0014 \text{ s}^{-1} \text{mM}^{-1[92]}$, CurKDH: $k_m = 12.0 \pm 4.7$ mM, $k_{cat} = 72 \pm 21 \text{ s}^{-1}$,

Ergebnisdiskussion

$k_{\text{cat}}/k_m = 6.00 \pm 1.41 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ ^[93]) und können für den Einsatz in einer chemoenzymatischen Synthese sogar von Vorteil sein. Durch die isolierte Position innerhalb des Multienzymkomplexes war es evolutionär beispielsweise nicht notwendig, die Affinität zum Substrat zu optimieren, da dieses ACP-gebunden herangereicht wird und somit die Gefahr der Umsetzung einer nicht vorgesehenen Verbindung äußerst gering ist. Im synthetischen Kontext führt das dazu, dass auch unnatürliche Substrate gebunden und umgesetzt werden können. Weitere Beispiele für ähnliche Daten PKS integrierter, enzymatischer Domänen wurden bereits publiziert.^[87,94–96]

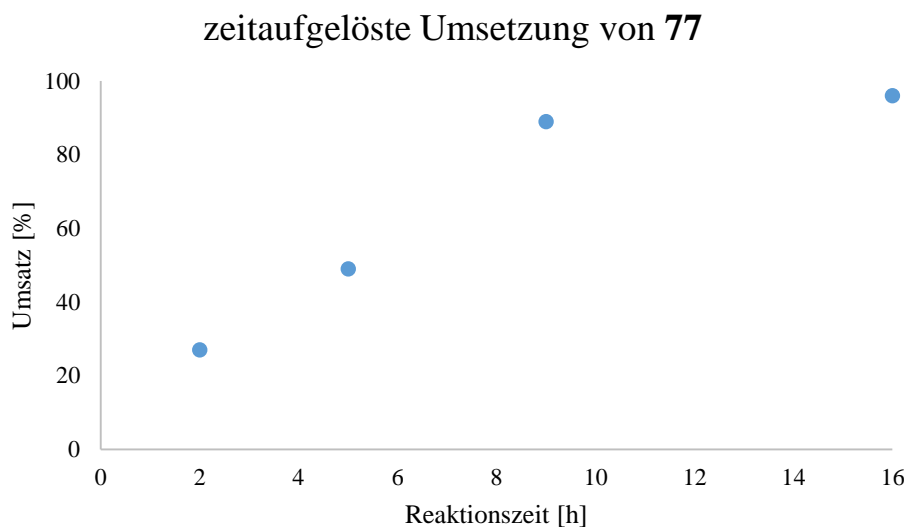


Abbildung 45: Zeitaufgelöstes Experiment zur Umsetzung von **77** mit AmbDH3.

Basierend auf diesen kinetischen Daten zur Affinität und Umsatzrate von AmbDH3 wurde die Untersuchung der effektiven Reaktionszeit bis zu hohen Substratumsätzen angestrebt. Zur Überprüfung wurden vier bis auf die Laufzeit identische Experimente durchgeführt (Abbildung 45). Es wurden jeweils 10 mg des Substratsurrogats **77** parallel mit AmbDH3 inkubiert und die entsprechenden Experimente bei Erreichen der angegebenen Reaktionszeit abgebrochen. Zu erkennen ist ein relativ geradliniger Anstieg der Umsatzzahlen (¹H-NMR-Spektren siehe Abbildung 221 -Abbildung 224), bis diese sich dem theoretischen Maximum annähern und die Kurve deutlich abflacht. Besonders hervorzuheben ist, dass der beobachtete Umsatz zwar nach 16 h sein Maximum (96%) erreicht hatte, sich die Reaktion jedoch bereits nach knapp der Hälfte der Zeit diesem sehr stark angenähert hatte (9 h, 89%). Es lässt sich demnach ableiten, dass die

Ergebnisdiskussion

Umsetzung potenzieller, gut akzeptierter Substratsurrogate bereits innerhalb 9 h beendet werden kann und es nicht zwingend notwendig ist, die Inkubation über Nacht durchzuführen. Dieses Aktivitätsprofil kann durchaus als Vorteil angesehen werden. In dynamischen kinetischen Racematspaltung ist es günstig, wenn die stereodifferenzierende Reaktion erkennbar langsamer als der epimerisierende Hintergrundprozess abläuft, da sich hierdurch prinzipiell höhere Stereoisomerenüberschüsse erzielen lassen. Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurden die in dieser Arbeit durchgeführten Zyklisierungen zur Untersuchung der Substratspezifität sowie der Skalierbarkeit unter den zeitlich nicht optimierten Bedingungen (16 h) durchgeführt.

Aufbau der Substratbibliothek

Für die eingehende Untersuchung der Substrattoleranz der Zykase AmbDH3 wurden verschiedene Substratsurrogate in Mengen von 20.0 mg – 1.25 g benötigt.

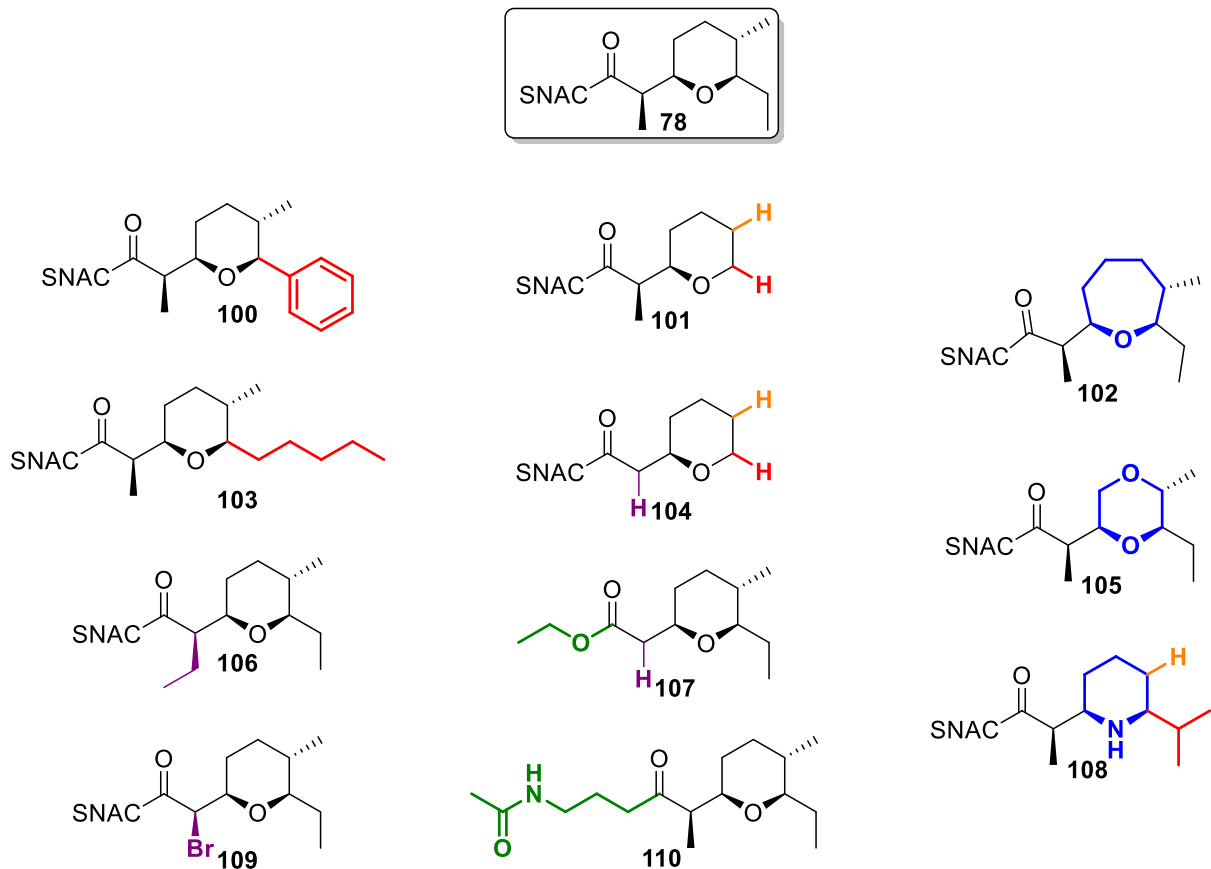


Abbildung 46: Übersicht der anvisierten Zyklisierungsprodukte **100-110**. In **Farbe** hervorgehoben sind die jeweiligen Unterschiede zur Verbindung **78**.

Ergebnisdiskussion

Neben dem in der Forschungsgruppe^[37,97] bereits untersuchten Substratsurrogat **77** wurden weitere Surrogate zur Studie der Substratspezifität dargestellt. In Abbildung 46 sind die jeweiligen Teile der Struktur farblich hervorgehoben, welche sich vom Produkt **78** unterscheiden.

Da Enzyme häufig dazu tendieren nur spezifische Substitutionsmuster umzusetzen, wurde eine Auswahl repräsentativer Substituenten getroffen, die einen großen Bereich funktioneller Gruppen abdecken sollte. Die Substituenten an den Positionen C2, C6 und C7 sollten dabei in ihrem sterischen Anspruch variiert werden um die Auswirkung auf Umsatz und Stereoselektivität zu beleuchten. Zudem sollte durch den Einbau des Phenylsubstituenten der Einfluss potenzieller π - π -Wechselwirkungen untersucht werden. Die unterschiedlichen Carbonylfunktionen, sowie der Bromidsubstituent könnten außerdem für Folgereaktionen von großem Interesse sein. Die Veränderung des Rückgrates, sowie des Nucleophils sollte eine größere Auswahl herstellbarer Heterozyklen ermöglichen.

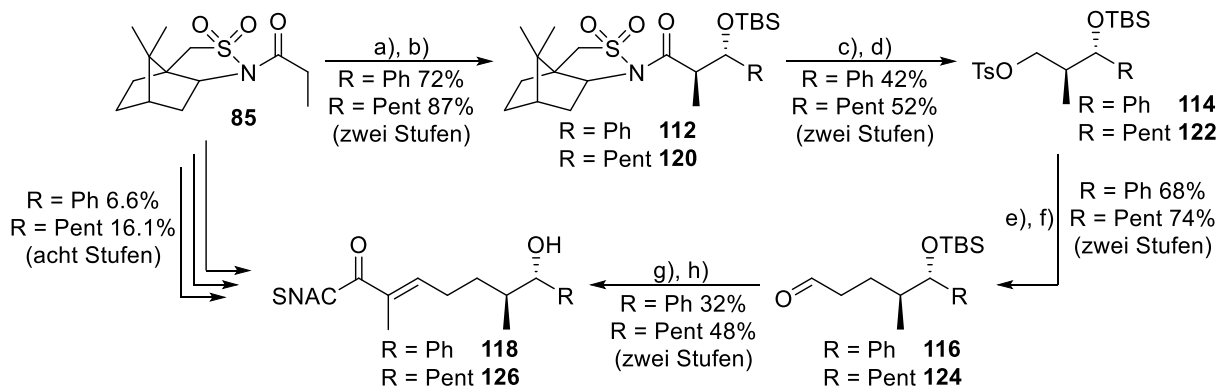


Abbildung 47: Synthese der Substratsurrogate **118** und **126**. Bedingungen: **a)** TMSOTf, DIPEA, CH₂Cl₂, RT, ü.N., dann TiCl₄, Benzaldehyd oder Hexanal, CH₂Cl₂, -78 °C, 1 h; **b)** TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, -78 °C → RT, ü.N.; **c)** LiBH₄, Et₂O/MeOH, 0 °C → RT, ü.N.; **d)** TsCl, Pyridin, DMAP, CH₂Cl₂, RT, 72 h; **e)** Allylmagnesiumbromid, Et₂O, Reflux, 3 h; **f)** O₃, CH₂Cl₂, -78 °C, dann PPh₃, RT, ü.N.; **g)** **82**, DBU, THF, 0 °C → RT, 48 h; **h)** PPTS, MeOH, 50 °C, ü.N..

Die Darstellung von **118** erfolgte in analoger Synthesesequenz, wie sie bereits für das Substratsurrogat **77** beschrieben wurde (Abbildung 47). Die Gesamtausbeute lag hierbei mit 6.6% über acht Stufen, um ungefähr 5% unterhalb der Ausbeute von **77**. Das Substratsurrogat **118** zeigte in seiner Herstellung sowohl während der Tosylierung, als auch der Entschützung im Vergleich zu **77** deutlich niedrigere Ausbeuten. Ein Grund für die schlechter ablaufende Tosylierung könnte sein, dass der aromatische Ring des Tosylchlorids möglicherweise mit dem

Ergebnisdiskussion

Phenyl-Substituenten interagiert und somit zwischenzeitig nicht für die Reaktion mit dem primären Alkohol zur Verfügung steht. Bei der abschließenden sauren Entschützungsreaktion könnte es durch die elektronisch aktivierte benzyllischen Position zur teilweisen, säurekatalysierten Dehydratisierung und dem damit verbundenen Verlust der wichtigen Alkoholfunktion gekommen sein.

Die Darstellung von **126** erfolgte in analoger Synthesesequenz, wie diese bereits für die Substratsurrogate **77** und **118** beschrieben wurde (Abbildung 39 und Abbildung 47). Die Gesamtausbeute lag dabei mit 16.1%, über acht Stufen um ungefähr 5% oberhalb der Ausbeute von **77**.

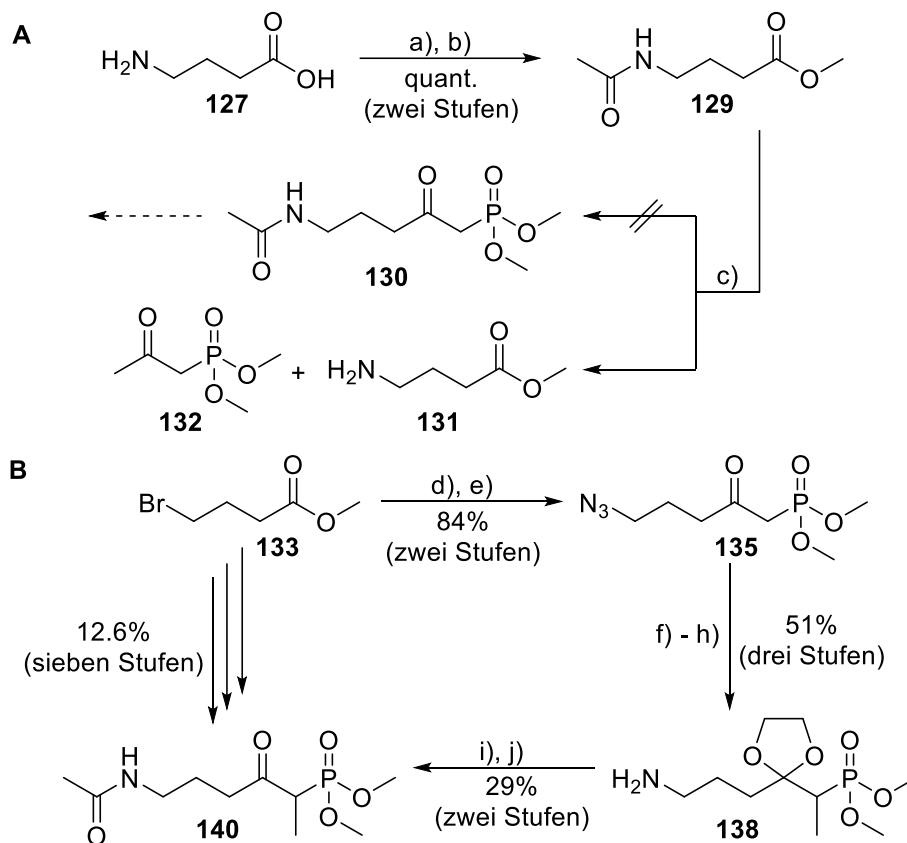


Abbildung 48: Synthese des Phosphonats **140**. Bedingungen: **A:** **a)** Thionylchlorid, MeOH, 0 °C → RT, ü.N.; **b)** K₂CO₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 30 min, dann AcCl, 0 °C, 3 h; **c)** DMMP, ^tBuLi, Toluol, -78 °C, 30 min, dann **129**, -78 °C, 1 h; **B:** **d)** NaN₃, DMSO, 50 °C, 5 h; **e)** DMMP, ^tBuLi, THF, -78 °C, 30 min, dann **134**, -78 °C; **f)** MeI, K₂CO₃, Aceton, 0 °C → RT, 66 h; **g)** Ethylenglykol, *p*TSA, Toluol, Reflux, 12 h; **h)** PPh₃, THF, 0 °C, 2 h, dann H₂O, RT, 20 h; **i)** AcCl, Pyridin, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h; **j)** 1M HCl, RT, 24 h.

Die zunächst geplante vierstufige Syntheseroute zum Phosphonat **140** startete mit der Bildung des Mylesters aus γ -Aminobuttersäure (**127**) und der anschließenden Amidierung des Amins (Abbildung 48). Die Umsetzungen zur Verbindung **129** verliefen mit quantitativer Ausbeute.

Ergebnisdiskussion

Beim Versuch der Überführung des Methylesters **129** in das Keton **130** mithilfe von Lithiumdimethylmethylphosphonat konnte lediglich ein Gemisch aus dem Amin **131** und dem Phosphonat **132** erhalten werden.

Die Synthesestrategie wurde daraufhin umgestellt, um diese unerwünschte Transacylierung zu vermeiden. Ausgehend von 4-Brombuttersäuremethylester (**133**) wurde Bromid mit einem Azidsubstituenten in quantitativer Ausbeute substituiert. Nach erfolgreicher Präparation des Phosphonats **135** analog zur bereits beschriebenen Methodik (Ausbeute 84%), konnte die α -Position mit einer Ausbeute von 61% einfach methyliert und die Verbindung **136** erhalten werden. Das vorliegende Keton wurde als nächstes in Form eines 1,3-Dioxolans in sehr guter Ausbeute von 89% geschützt. Der folgende Abbau des Azids zum Amin nach STAUDINGER wurde ebenfalls mit einer sehr guten Ausbeute von 94% realisiert. Das Amin **138** wurde anschließend mit AcCl und Pyridin zum korrespondierenden Amid umgesetzt. Nach finaler saurer Entschützung wurde das Phosphonat **140** erfolgreich in einer Gesamtausbeute von 12.6% über sieben Stufen erhalten.

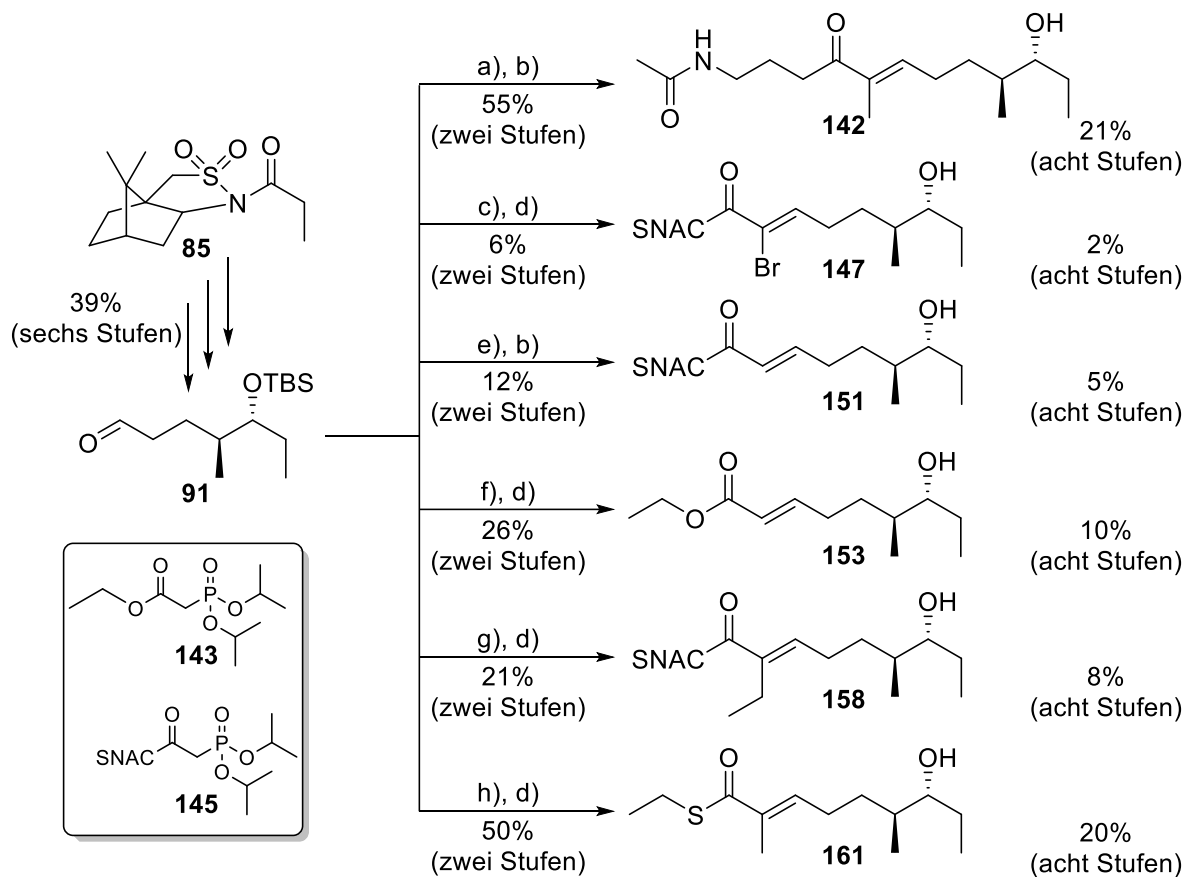


Abbildung 49: Synthese der vom Aldehyd **85** abgeleiteten Substratsurrogate. Bedingungen: **a)** **140**, DBU, THF, 0 °C→RT, 48 h; **b)** HF/Pyridin, THF, RT, 3 h; **c)** **145**, NaH, NBS, THF, 0 °C→RT, 21 h; **d)** PPTS, MeOH, 50 °C, ü.N.; **e)** **147**, THF, 50 °C, 64 h; **f)** **143**, DBU, THF, 0 °C→RT, 48 h; **g)** **156**, DBU, THF, 0 °C→RT, 48 h; **h)** **159**, DBU, THF, 0 °C→RT, 48 h.

Die Substratsurrogate (Abbildung 49) konnten jeweils basierend auf dem Aldehyd **91** aufgebaut werden. Die Reaktionsbedingungen der für die Rückgratverlängerung angewandten HWE-Olefinierung ähneln sich bei den vier betreffenden Beispielen. Ausnahme bildet lediglich die bromierte Spezies. Zur Darstellung wurde in diesem Fall zunächst eine *in situ*-Bromierung des HWE-Reagenzes vorgenommen, dieses wurde danach direkt weiter umgesetzt. Zusätzlich wurde für die Verbindung **151** die WITTIG-Olefinierung, analog zu BERKHAN^[37] herangezogen.

Die Entschützungsbedingungen sind an denen der Syntheseroute in Abbildung 39 angelehnt. Bei Durchführung der Entschützungsreaktion zum Substratsurrogat **142** fiel auf, dass sich bereits im Rohprodukt ausschließlich zyklisiertes Produkt befand. Scheinbar waren die gewählten Bedingungen für das α,β -ungesättigte Keton bereits zu sauer, weshalb nach einer milderen Abspaltungsmethodik für den Silylsubstituenten gesucht wurde. Das Augenmerk fiel dabei auf ein gepuffertes System, bestehend aus HF in Pyridin^[98], bei welchem die Verfolgung der Reaktion *via* DC zunächst die Bildung einer einzigen neuen Verbindung anzeigte, welche anschließend mit der Zeit in eine zweite, unpolarere Komponente weiterreagierte. Nach Anpassung der Reaktionszeit auf drei Stunden konnte ein fast vollständiger Umsatz zum entschützten Substratsurrogat **142** unter nur minimaler Zyklisierung erhalten werden. Zu beachten ist die hohe Elektrophilie des vorliegenden MICHAEL-Akzeptors. Aufgrund dessen musste **142** stets frisch hergestellt werden und besaß selbst bei tiefen Temperaturen nur eine sehr begrenzte Lagerfähigkeit. Bereits nach kurzer Zeit unter diesen Bedingungen waren größere Anteile der spontan zyklisierten Verbindung enthalten.

Ähnliche Beobachtungen wurden für die Bildung von **151** gemacht, wobei die Lagerfähigkeit bedeutend besser war als beim beschriebenen Keton **142**. Die geringe Ausbeute der Entschützung lässt sich hierbei auf den vorzeitigen Abbruch der Reaktion und daraus folgenden unvollständigen Umsatz des Edukts **152** zurückführen, da zu diesem Zeitpunkt bereits die einsetzende Bildung der zyklisierten Spezies detektiert wurde.

Ergebnisdiskussion

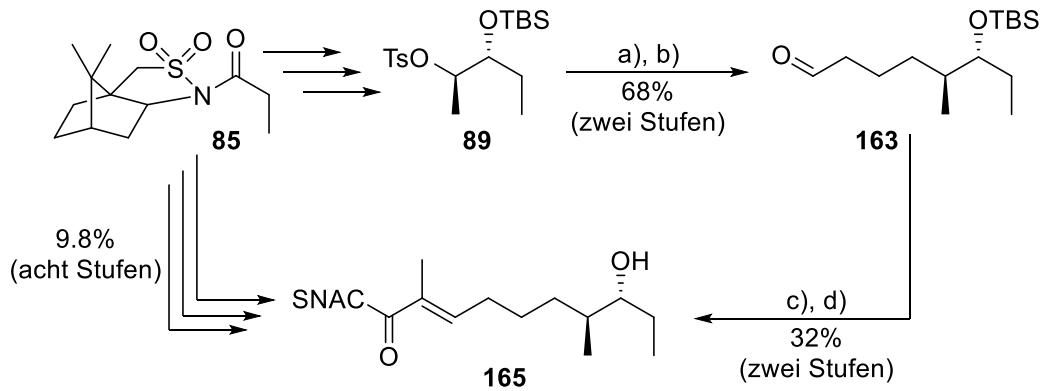


Abbildung 50: Synthese des Oxepanvorläufers **165**. Bedingungen: **a)** 3-Buten-1-ylmagnesiumbromid, Li_2CuCl_4 , Et_2O , Reflux, 3 h; **b)** O_3 , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, dann PPh_3 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, ü.N.; **c)** **82**, DBU, THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 48 h; **d)** PPTS, MeOH, $50\text{ }^\circ\text{C}$, 48 h.

Um neben einfacher Variation des Substitutionsmusters auch die Art des anvisierten Heterozyklus zu verändern, wurde zunächst auf Basis der in Abbildung 39 gezeigten Syntheseroute ein Substrat dargestellt, welches potentiell zum siebengliedrigen Oxepaning zyklisiert werden kann. Dabei wurde die Synthesesequenz bis zur Stufe des Tosylats **89** beibehalten und durch eine Cu(II)-katalysierte Substitutionsreaktion mit 3-Butenyl-1-ylmagnesiumbromid das, um eine CH_2 -Gruppe verlängerte, Rückgrat aufgebaut. Die nachfolgenden Ozonolyse führte zum Aldehyd **163** mit einer Ausbeute von 68% über zwei Stufen. Nach abschließender HWE-Olefinierung (Ausbeute 53%) und finaler Entschützung (Ausbeute 60%) wurde das Substratsurrogat **165** mit einer Gesamtausbeute von 9.8% über acht Stufen erhalten.

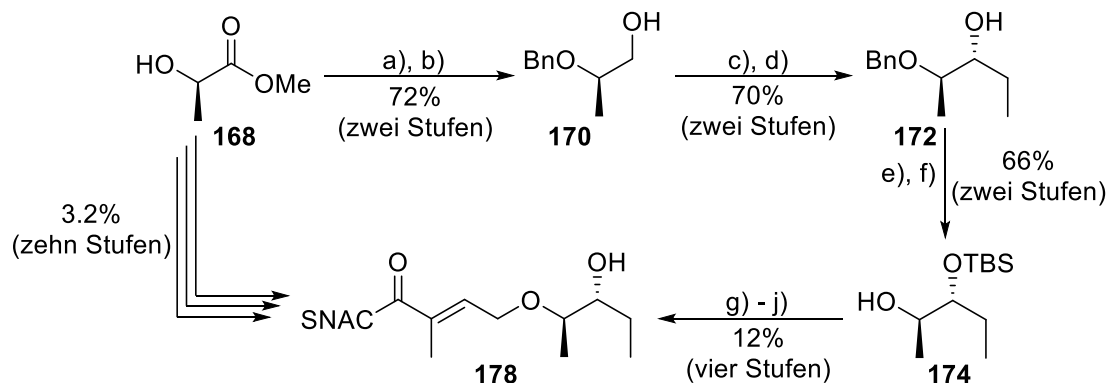


Abbildung 51: Synthese des Substratsurrogats **178**. Bedingungen: **a)** NaH, THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 min, dann BnBr, RT, 23 h; **b)** LiAlH_4 , Et_2O , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 0\text{ }^\circ\text{C}$, 40 min; **c)** DMSO, $(\text{COCl})_2$, CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h, dann DIPEA, $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 30 min; **d)** $\text{MgBr}_2 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, EtMgBr, CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 5 h, 92%, *d.r.* 19:1; **e)** TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 30 min; **f)** H_2 , Pd/C, EtOAc, RT, 4 h; **g)** NaH, THF, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min, dann Allylbromid, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 18 h; **h)** O_3 , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, dann PPh_3 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 6 h; **i)** **167**, CH_2Cl_2 , RT, 24 h; **j)** PPTS, MeOH, $50\text{ }^\circ\text{C}$, ü.N..

Ergebnisdiskussion

Im Rahmen seiner Masterarbeit hat KOLB die Synthese des Dioxans **102** durchgeführt. Der dabei verwendete lineare Vorläufer basierte auf D-Milchsäuremethylester, wodurch der Aufbau eines Stereozentrums eingespart werden konnte. Zunächst wurde der Alkohol mit einer Bn-Schutzgruppe (72%) versehen. Nach der darauffolgenden Reduktion des Esters mit LiAlH_4 wurde der primäre Alkohol **170** in quantitativer Ausbeute erhalten. Die Umsetzung *via* SWERN-Oxidation lieferte den Aldehyd (76%), welcher danach in einer GRIGNARD-Reaktion den sekundären Alkohol **172** lieferte. Dieser wurde anschließend mit einer Silyl-Schutzgruppe versehen. In Folge dessen wurde die Benzyl-Schutzgruppe hydridisch abgespalten und der sekundäre Alkohol **174** erfolgreich mit 66% Ausbeute über zwei Stufen erhalten. Aufgrund der Instabilität einzelner Zwischenstufen wurden die nachfolgenden vier Reaktionen ohne Reinigungsschritte durchgeführt. Durch Allylierung und anschließende Ozonolyse wurde zunächst der Aldehyd gebildet. Dieser konnte danach in einer Kaskade aus HWE-Olefinierung und sauer katalysierte Abspaltung des Silylrests erfolgreich mit einer Ausbeute von 12% über vier Stufen und einer daraus resultierenden Gesamtausbeute von 3.2% über zehn Stufen zum Substratsurrogat **178** umgesetzt werden.

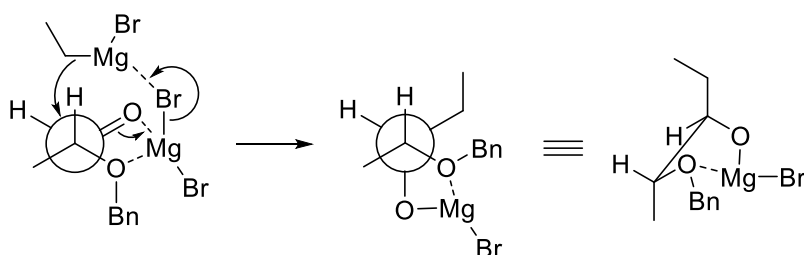


Abbildung 52: GRIGNARD-Reaktion *via* CRAM-Chelat-Übergangszustand.^[99]

Schlüsselschritt dieser Reaktionssequenz ist die diastereoselektive GRIGNARD-Reaktion am Aldehyd **171**. Der Grund für den hohen Grad an Selektivität liegt in der chelatisierten Komplexierung des zusätzlich eingesetzten Magnesiumsalzes (Abbildung 52). Dieses fixiert zunächst die Konformation im CRAM-Chelat-Übergangszustand, wodurch nach Koordination des GRIGNARD-Reagenzes der nukleophile Angriff der Ethylgruppe hauptsächlich von der sterisch weniger anspruchsvollen Seite geschehen kann und sich so das Hauptprodukt **172** bildet.^[99]

Ergebnisdiskussion

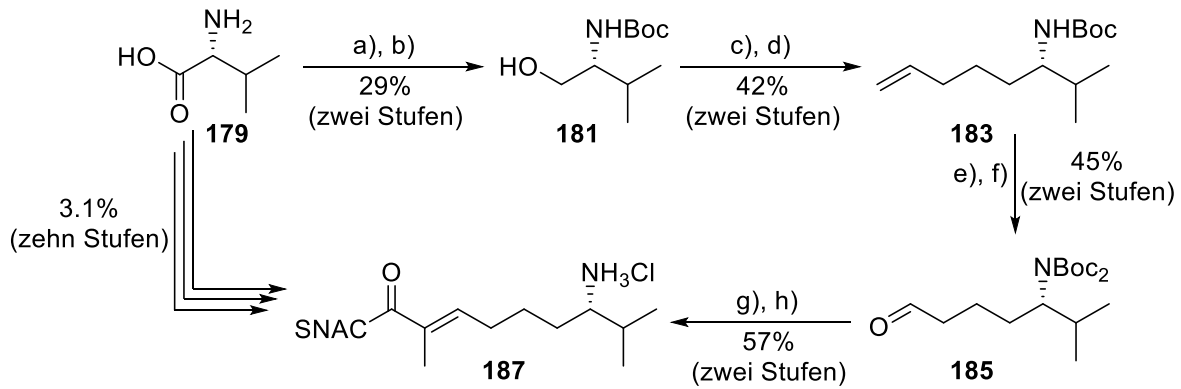


Abbildung 53: Synthese des Substratsurrogats **187**. Bedingungen: **a)** NaBH₄, I₂, THF, Reflux, 4 h, dann MeOH, RT, 30 min, dann KOH, RT, 4 h; **b)** Boc₂O, MeCN, 0 °C → RT, 3 h; **c)** TsCl, KOH, Reflux, 4 h; **d)** 3-Buten-1-ylmagnesiumbromid, CuI, THF, -78 °C → RT, ü.N.; **e)** ⁿBuLi, THF, -78 °C, 30 min, dann Boc₂O, -78 °C → RT, ü.N.; **f)** O₃, CH₂Cl₂, -78 °C, dann PPh₃, -78 °C → RT, ü.N.; **g)** **167**, CH₂Cl₂, RT, 48 h; **h)** HCl (1M in Et₂O, 0 °C → RT, 20 h.

Im Rahmen der Bachelorarbeit von SCHRECK wurde eine Syntheseroute zu dem Substratsurrogat **187** erarbeitet, welches den Vorläufer für das Piperidinderivat **108** darstellt (Abbildung 53). Von D-Valin ausgehend wurde zunächst über eine Reaktionskaskade aus Reduktion und Boc-Schützung der Alkohol **181** mit einer Ausbeute von 29% über zwei Stufen erhalten. Die geringe Ausbeute ist zum Großteil der Reduktion zuzuschreiben, da diese lediglich mit 33% ablief. Möglicherweise kam es bei der Reaktion durch Lichteinfall zu Verlusten oder es wurde bei der durchgeführten destillativen Reinigung keine vollständige Rückgewinnung erzielt. Als nächstes wurde ein Ringschluss durchgeführt. Durch die Tosylierung des Alkohols wurde eine gute Fluchtgruppe generiert, welche unter basischen Bedingungen vom Carbamat unter Bildung eines Azeridins angegriffen werden konnte. Dieses Azeridin wurde anschließend von Homoallylmagnesiumbromid nukleophil geöffnet. Aufgrund des *in situ* generierten NORMANT-Cuprats konnte dabei dirigiert werden, dass der Angriff ausschließlich von der sterisch weniger gehinderten Seite geschieht. Das dabei generierte Alken **183** wurde danach ein zweites Mal mit einer Boc-Schutzgruppe versehen und anschließend einer Ozonolyse unterzogen. Die doppelte Schützung war notwendig, da andernfalls die *N,O*-Acetalbildung mit darauf folgender Dehydratisierung zum Enamin beobachtet werden konnte. Der Aldehyd **185** wurde schließlich in einer WITTIG-Olefinierung mit dem Thioester versehen und war damit bereit für die Entschützensreaktion.

Die Entfernung der Boc-Schutzgruppen stellte zu Beginn eine Herausforderung dar. Die anfänglich gewählten, sauren Entschützensbedingungen (TFA in CH₂Cl₂^[100]) erwiesen sich als zu harsch. Die beiden Schutzgruppen wurden dabei zwar innerhalb von zwei Stunden

Ergebnisdiskussion

vollständig entfernt, jedoch führten die stark saure Umgebung in Kombination mit der Löslichkeit im verwendeten Lösungsmittel zur Instabilität des Ammoniumsalzes und der daraus folgenden vollständigen spontanen Zyklisierung zum Epimerengemisch des Piperidins **108**. Deutlich mildere Methoden (HCl in H₂O^[101] oder NaI in Aceton^[102]) ließen die Boc-Gruppen hingegen unberührt. Erst durch den Einsatz von HCl (1M in *abs.* Et₂O^[103]) führte über Nacht zur völligen Umschüttung des di-Boc-geschützten Amins zum Ammoniumsalz **187** mit einer Ausbeute von 89% und der daraus resultierenden Gesamtausbeute von 3.1% über zehn lineare Stufen. Durch die geringe Löslichkeit des Ammoniumsalzes **187** in Et₂O fiel dieses während der Entschüttung aus der Reaktionslösung aus und zeigte als ungelöster Feststoff eine höhere Stabilität gegenüber der gelösten Variante. Aufgrund der hohen Nukleophilie des freien Amins konnte diese Verbindung lediglich als Hydrochlorid bei tiefen Temperaturen aufbewahrt werden, wobei selbst unter diesen Lagerungsbedingungen aufgrund des vorherrschenden Säure-Base-Gleichgewichts ein großer Teil binnen weniger Wochen spontan zyklisiert war.

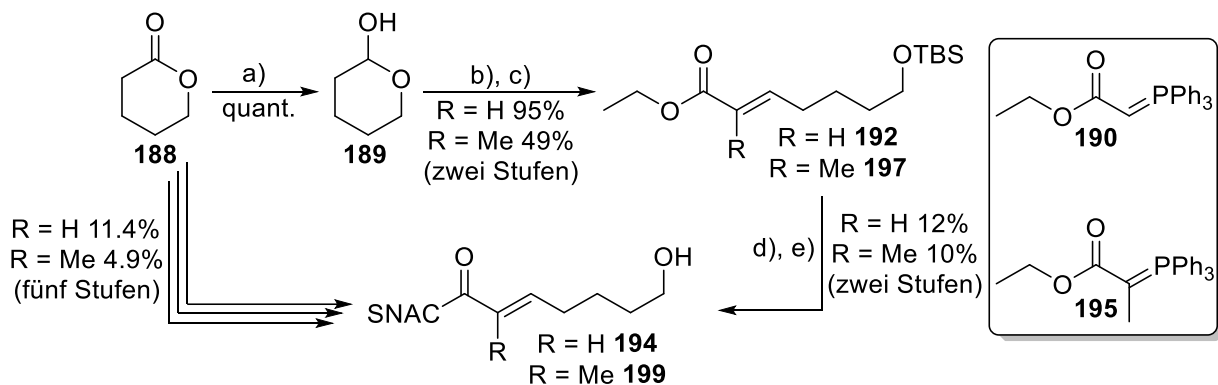


Abbildung 54: Synthese der Substratsurrogate **194** und **199**. Bedingungen: a) DIBAL-H, CH₂Cl₂, 78 °C, 1 h; b) **187** oder **192**, CH₂Cl₂, RT, ü.N.; c) TBSCl, Imidazol, CH₂Cl₂, RT, 1 h; d) LiOH, MeOH/H₂O, 0 °C → RT, ü.N.; e) DIC, HSNAC, DMAP, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, ü.N..

Zur Untersuchung von Substrate ohne Substitution an der 6- und 7-Position wurde die Synthese der beiden primären Alkohole **194** und **199** durchgeführt (Abbildung 54). Zunächst wurde dafür δ -Valerolacton (**188**) mit DIBAL-H mit quantitativer Ausbeute zum Lactol **189** reduziert. Dieses wurde anschließend unter Einsatz der beiden unterschiedlichen, freundlicherweise von LINDNER bereitgestellten WITTIG-Reagenzien **190** und **195** geöffnet und der freiwerdende primäre Alkohol danach einer TBS-Schätzung unterzogen. Hierbei konnten mäßige (Ausbeute 49%, R = Me) bis sehr gute (Ausbeute 95%, R = H) Ausbeuten, jeweils über zwei Stufen erzielt

Ergebnisdiskussion

werden. In einer Reaktionskaskade aus basischer Verseifung und anschließender STEGLICH-Veresterung konnte der Ethylester in beiden Fällen erfolgreich gegen den SNAC-Substituenten ausgetauscht werden. Nach vollständiger Charakterisierung der isolierten Verbindungen stellte sich heraus, dass auf die geplante Entschützung verzichtet werden kann, da diese bereits geschehen war. Vermutlich waren die TBS-Schutzgruppen der primären Alkohole gegenüber der sauren Aufarbeitung zur Isolation der Carbonsäuren im Zuge der durchgeführten Verseifung nicht stabil genug. Dies würde zudem die durchweg schlechten Ausbeuten von 12% (R = H) und 10% (R = Me) plausibel erklären, da sich somit aufgrund der bereits entschützten Alkohole während der STEGLICH-Veresterung zusätzlich zum HSNAC intramolekular ein Konkurrenzreaktand befand. Die beiden Substrate konnten dennoch mit Ausbeuten von 11.4% (**194**, R = H), sowie 4.9% (**199**, R = Me), jeweils über fünf lineare Stufen erhalten werden.

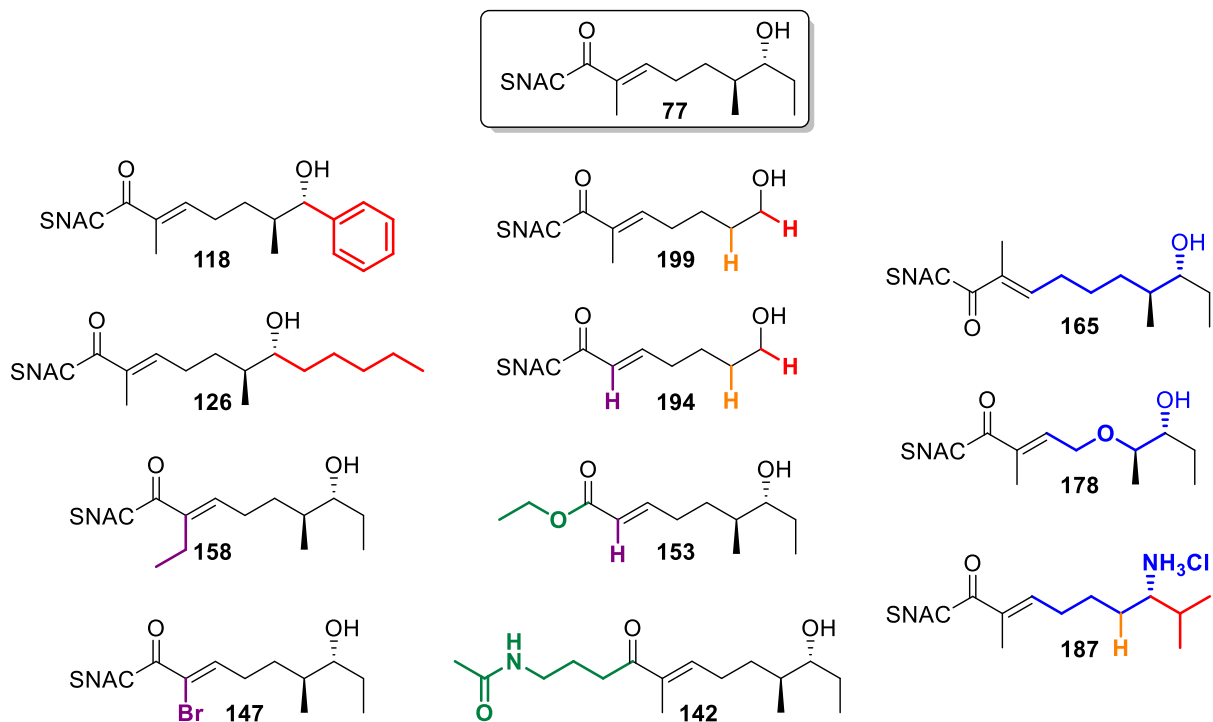


Abbildung 55: Übersicht der aufgebauten Substanzbibliothek bisher ungetesteter Substratsurrogate. In Farbe hervorgehoben sind die jeweiligen Unterschiede zur oben dargestellten Verbindung **77**.

In Abbildung 55 ist eine Übersicht über die erfolgreich hergestellten und zum Umsatz mit AmbDH3 bereitstehenden Substrate dargestellt. Vor Beginn der Experimente mit AmbDH3, musste dieses zunächst in aktiver Form dargestellt werden. Hierfür wurde das Gen *ambDH3* in

Ergebnisdiskussion

transformierten *Escherichia coli* (*E. coli* BL12) exprimiert und das dabei gebildete Protein im Anschluss *via* Ni-Affinitätschromatographie an einer ÄKTA™ start gereinigt.

Zyklisierungen und Bestimmung der absoluten Produktkonfiguration

Für die enzymatische Umsetzung im Kontext der Substrattoleranzstudie wurde frisch gereinigtes AmbDH3 verwendet. Es wurden jeweils 10 mg (Abweichungen siehe Tabelle 1) der entsprechenden Substrate für 16 h bei 37 °C mit der enzymatischen Domäne in wässrigem HEPES-Puffer inkubiert. Zur Analyse der Reaktionen wurden von den Rohprodukten direkt nach Extraktion der enzymatischen Umsetzung ein ¹H-NMR-Spektrum vermessen. Die jeweiligen Zyklisierungsprodukte wurden chromatographisch gereinigt und erneut *via* ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht. Aus den so gewonnenen Daten konnten sowohl Umsatz der Reaktion als auch Identität und Konfiguration der entstandenen Heterozyklen bestimmt werden.

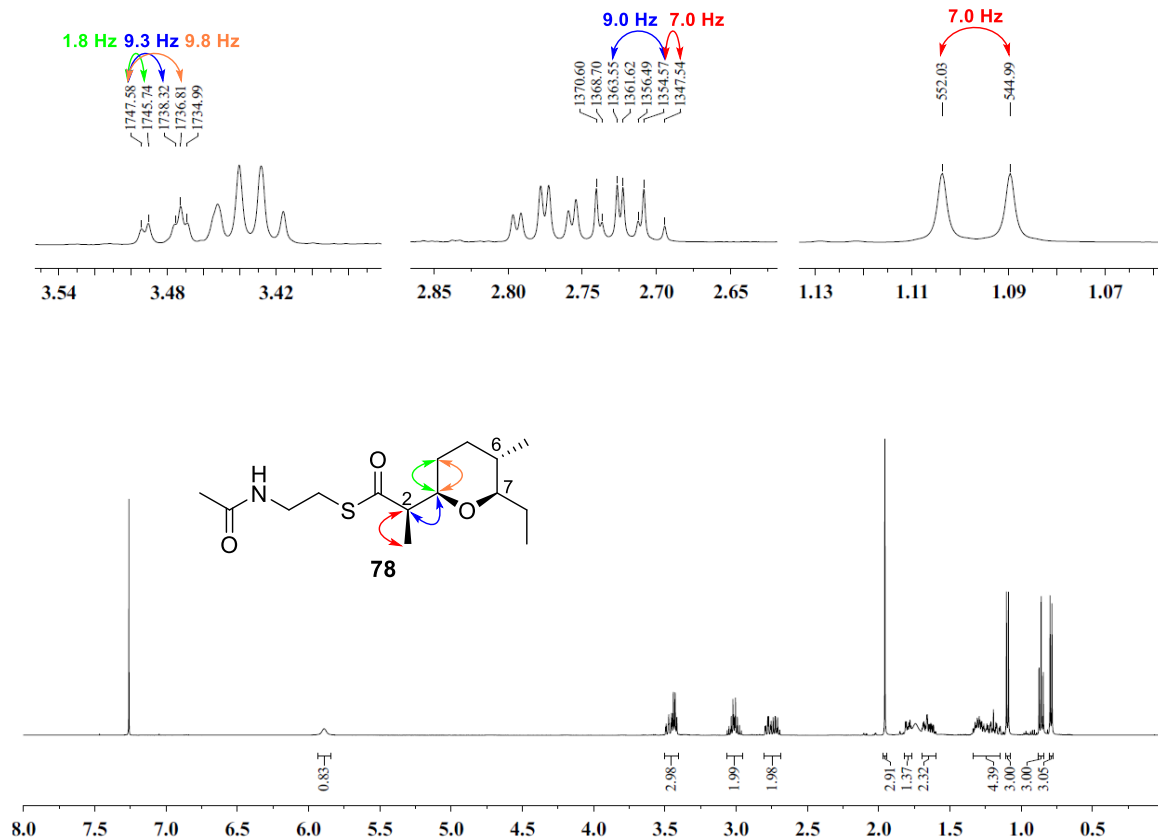


Abbildung 56: Konfigurationsbestimmung von C2 und C3 in **78** *via* Analyse der chemischen Verschiebung und Kopplungskonstanten im ¹H-NMR-Spektrum.

Ergebnisdiskussion

Zur Validierung der Methode für die Konfigurationsbestimmung neu entstandener Heterozyklen, wurde diese für die literaturbekannte Verbindung **78** angewandt und dabei die räumliche Ausrichtung der Substituenten bestätigt. Die absolute Konfiguration dieser Verbindung wurde bereits in einer früheren Veröffentlichung anhand einer Kombination aus $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und Röntgenkristallstrukturanalyse bewiesen.^[37] Die zur Bestimmung verwendeten Signale und Kopplungskonstanten sind in Abbildung 56 dargestellt.

Die chemischen Verschiebungen der relevanten Protonen im gezeigten Beispiel eines 2,6-*cis*-THP-Rings liegen bei 2.72 ppm (2-H), 3.47 ppm (3-H) und 2.77 ppm (7-H), wohingegen die äquivalenten Signale in 2,6-*trans*-THP-Ringen tendenziell ins Tieffeld verschoben sind. Konstitutionell vergleichbare *trans*-THP-Naturstoffe zeigen Verschiebungen von 3-H und 7-H von 3.6-3.7 ppm (Zincophorin)^[104-106], 3.8-4.0 ppm (Nigericin)^[107], beziehungsweise 3.9-4.2 ppm (Salinomycin)^[108]. Die blau hervorgehobene $^3J_{2\text{-H},3\text{-H}}$ -Kopplung (Abbildung 56) beträgt hier ungefähr 9.0 Hz, wohingegen BERKHAN für das C2-Epimer (2*S*,3*R*,6*S*,7*R*)-**78** eine $^3J_{2\text{-H},3\text{-H}}$ -Kopplungskonstante von ungefähr 7.2 Hz^[37] beschrieb. Mit diesen Daten und der aus der Synthese bereits bekannten Konfiguration an C6 und C7 ließ sich die Konfigurationsbestimmung der Produkte der Enzymexperimente durchführen. Um den Grad spontaner, unselektiver Zyklisierung unter den verwendeten Reaktionsbedingungen zu bestimmen, wurden zu jeder Enzymumsetzung enzymfreie Kontrollexperimente durchgeführt.

Die nachfolgenden Bestimmungen der absoluten Konfigurationen der neu aufgebauten Stereozentren wurden analog der hier beschriebenen Methodik durchgeführt.

Ergebnisdiskussion

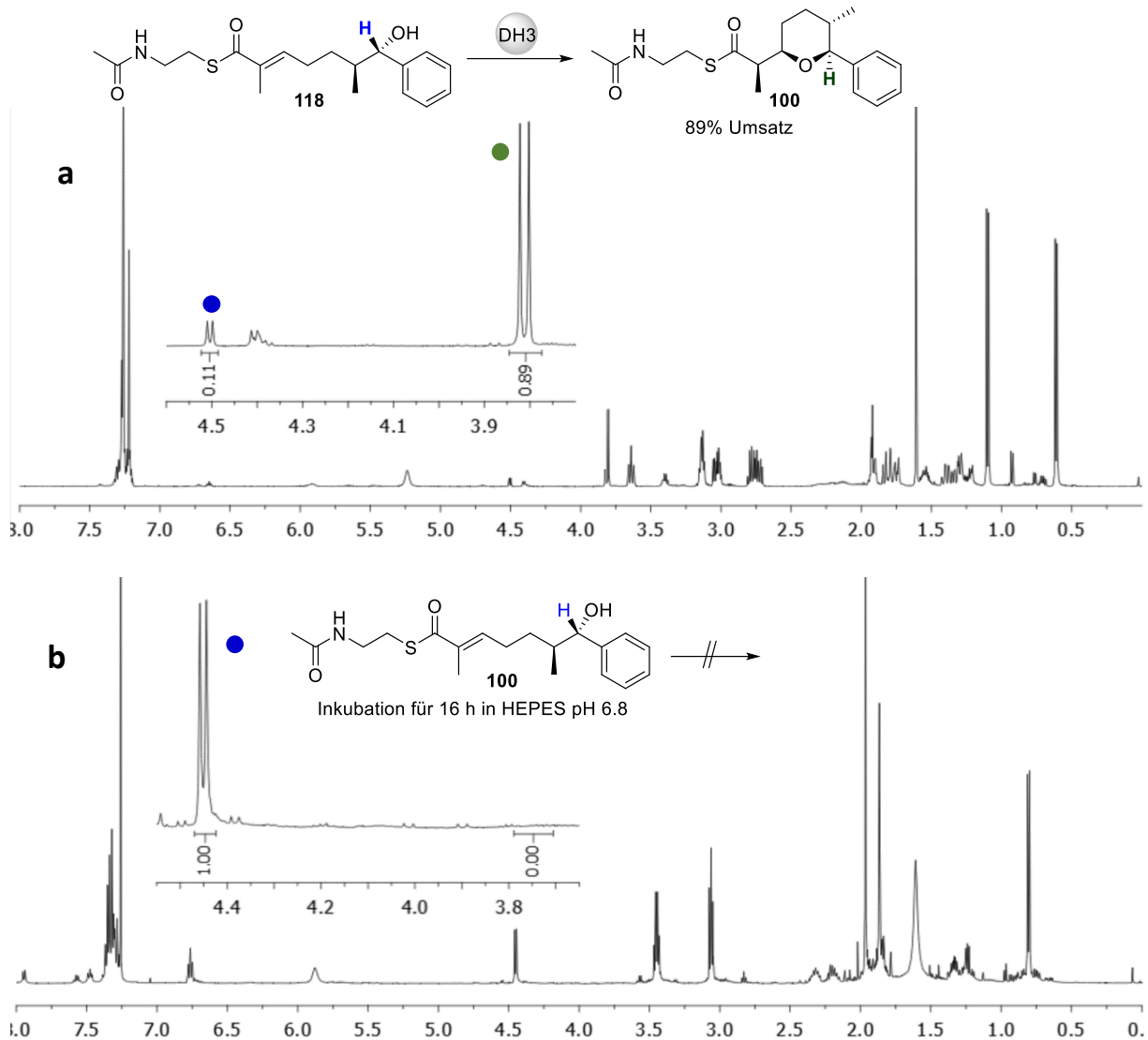


Abbildung 57: a) ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der Umsetzung von **100** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in blau und grün hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

In Abbildung 57 sind sowohl die enzymatische Umsetzung des Substratsurrogats **118** mit AmbDH3 (a), als auch das enzymfreie Kontrollexperiment (b) dargestellt. Durch die Inkubation mit AmbDH3 konnte die Reaktion zum THP-Ring **100** erfolgreich durchgeführt werden. Der erzielte Umsatz betrug dabei 89% und liegt damit nah an dem der Reaktion mit dem Substratsurrogat **77**. Im abgebildeten enzymfreien Kontrollexperiment ist hingegen keine nennenswerte Veränderung zu erkennen, woraus abzuleiten ist, dass die gesamte beobachtete Reaktion von AmbDH3 katalysiert wurde. Das Volumen der aktiven Tasche der enzymatischen Domäne, sowie der Zugangstunnel scheinen also ausreichend groß zu sein, sodass selbst der sterisch deutlich anspruchsvollere 7-Ph-Substituent Platz findet und in sehr gutem Maß

Ergebnisdiskussion

umgesetzt werden kann. Durch die räumliche Nähe der aktiven Tasche zur Oberfläche des Proteins, könnte es auch sein, dass der Substituent aus dem Protein herausschaut. In der Kristallstruktur mit hineinmodellierten Substratsurrogaten (Abbildung 212) ist zu erkennen, dass der Substituent an der 7-Position stets oberhalb von Val173 und His51 in Richtung des Loops (Gly227-Gly235) zum Liegen kommt. Dieser Loop könnte sterisch anspruchsvollen Substituenten prinzipiell ausweichen und zusätzlich den Raum zur Außenseite freimachen.

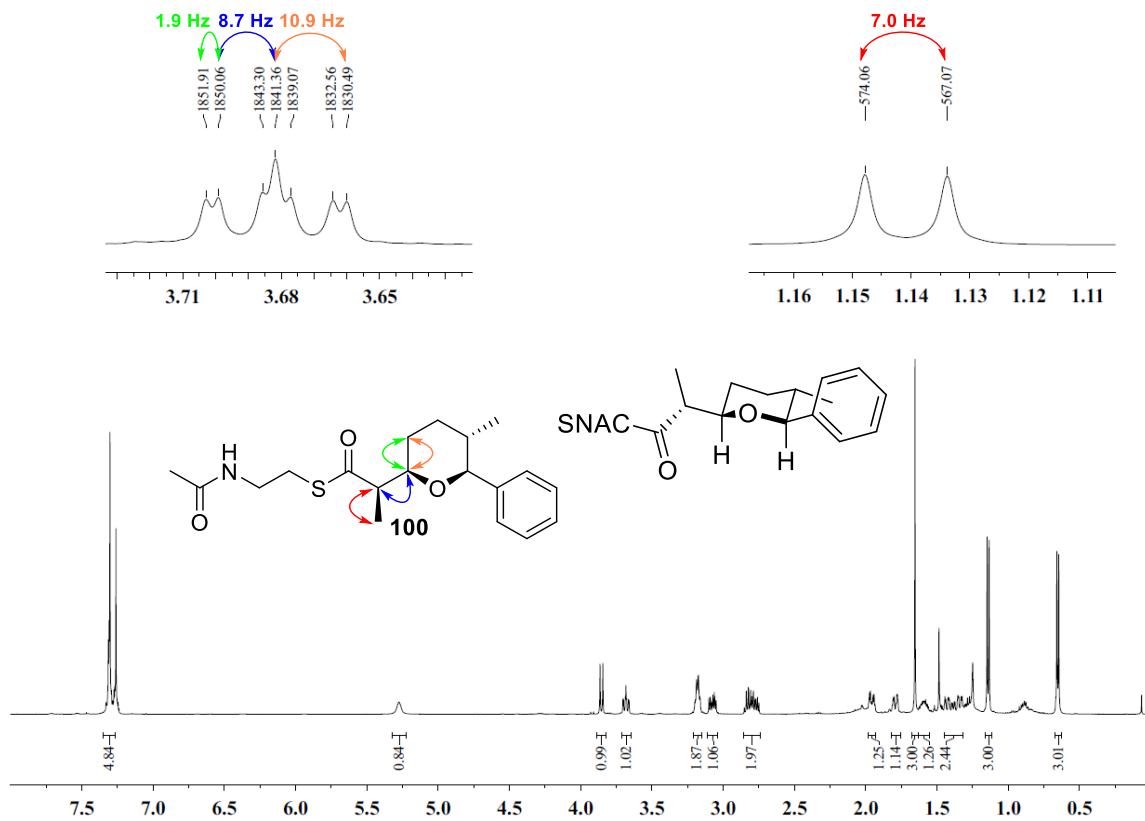


Abbildung 58: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) des gereinigten Produkts **100** mit den farbig hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (ddd, links) und 2-Me (d, rechts) zugeordnet.

In Abbildung 58 sind die essenziellen Protonenverschiebungen, sowie Kopplungskonstanten des Produkts **100** dargestellt. Die Signale von 7-H und 3-H sind deutlich weiter im Tieffeld zu sehen als im Vergleichsspektrum. Dies liegt jedoch nicht an einer anderen Konfiguration der Stereozentren, sondern am Anisotropieeffekt, der vom induzierten Ringstrom des Phenylsubstituenten hervorgerufen wird. Aufgrund der postulierten Ausrichtung (siehe Sessel-Darstellung) befinden sich Protonen der OCHR₂ Gruppen in der Ringebene des Aromaten,

Ergebnisdiskussion

wodurch sie entschirmt werden und somit eine Verschiebung ins Tieffeld erfahren. Im Gegensatz dazu ist die 6-Me-Gruppe orthogonal zur Ringebene lokalisiert, wird dadurch abgeschirmt und erfährt folglich eine Hochfeldverschiebung. Dies ist im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum klar zu erkennen, da sich das Signal dieser Methylgruppe mit 0.65 ppm im deutlich höheren chemischen Verschiebungsbereich befindet als das äquivalente Signal im Vergleichsspektrum mit 0.79 ppm. Die ermittelte Kopplungskonstante $^3J_{2-\text{H},3-\text{H}} = 8.7 \text{ Hz}$ liegt sehr nah an den in der Referenzverbindung **78** gezeigten 9.3 Hz und bestätigt daher die dargestellte absolute Konfiguration des zyklisierten Produkts **100**.

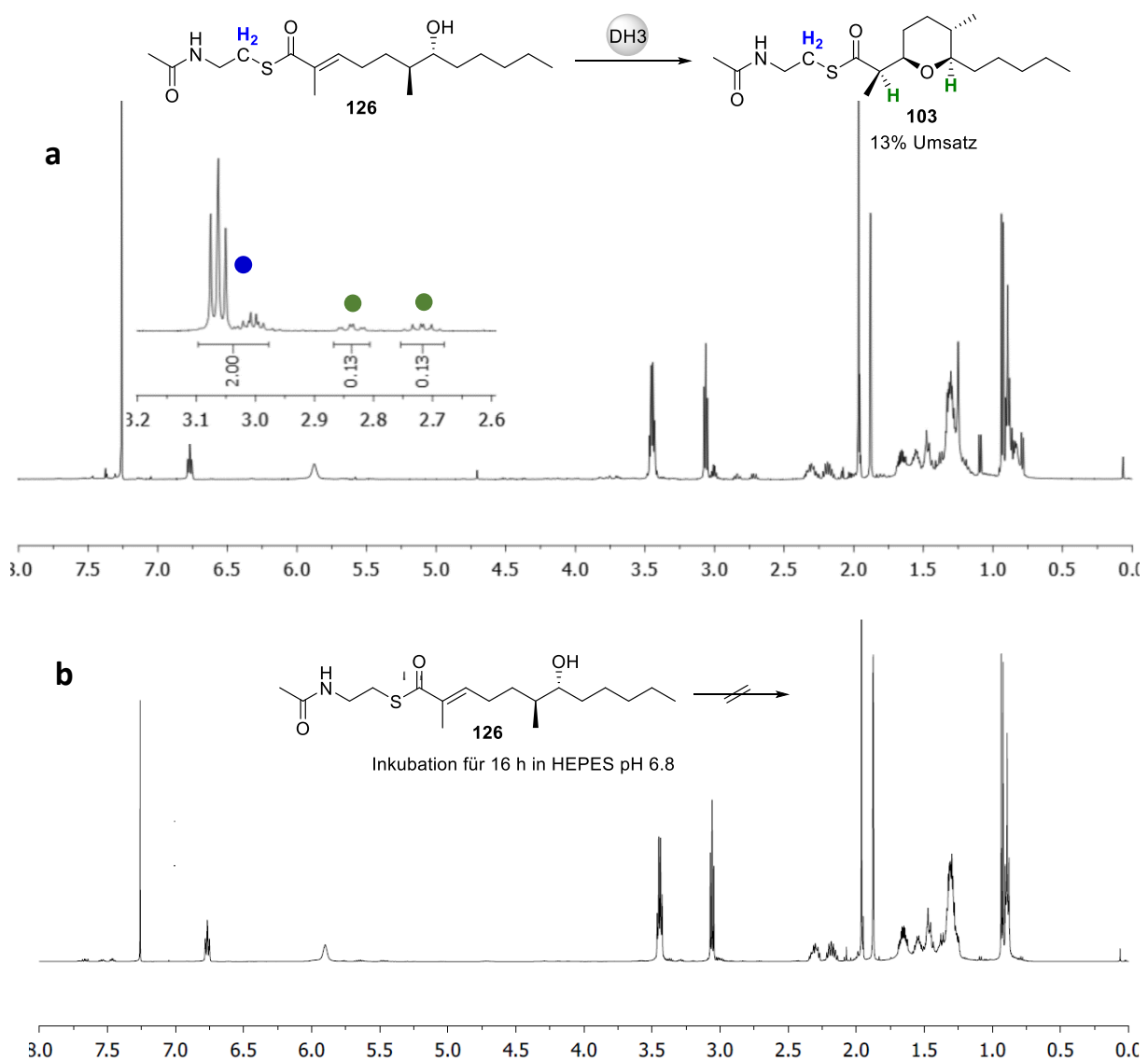


Abbildung 59: a) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz) der Umsetzung von **126** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in blau und grün hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

Ergebnisdiskussion

In der Reaktion mit dem Substratsurrogat **126** zeigte sich ein Umsatz von 13% (Abbildung 59). Dieser liegt deutlich unterhalb dem der Reaktion mit **77** sowie dem bereits beschriebenen Substratsurrogat **118**. Begründet werden kann dieses Verhalten mit der sehr geringen Löslichkeit des Substrats im Reaktionspuffer. Selbst nach längerem Vorlösen bei der Reaktionstemperatur von 37 °C war noch immer ein deutlicher Bodensatz zu erkennen. Aufgrund des permanent vorhandenen Bodensatzes kann es zur frühzeitigen Präzipitation des eingesetzten Proteins gekommen sein, weshalb die effektive Proteinkonzentration verringert worden. Ein weiteres Indiz, dass es sich allgemein um ein Löslichkeitsproblem handelt, ist das durchgeführte Experiment mit substratgesättigtem Puffer ohne Bodensatz. Hierbei wurde *via* UPLC-MS (Abbildung 219) ein ungefährender Umsatz von 49% ermittelt. Im abgebildeten enzymfreien Kontrollexperiment ist hingegen keine nennenswerte Veränderung zu erkennen, woraus abzuleiten ist, dass die gesamte beobachtete Reaktion von AmbDH3 katalysiert wurde. Das Volumen der aktiven Tasche der enzymatischen Domäne, sowie der Zugangstunnel scheinen also ausreichend groß zu sein, dass auch ein längerer, linearer 7-Substituent Platz findet und zumindest teilweise umgesetzt werden kann.

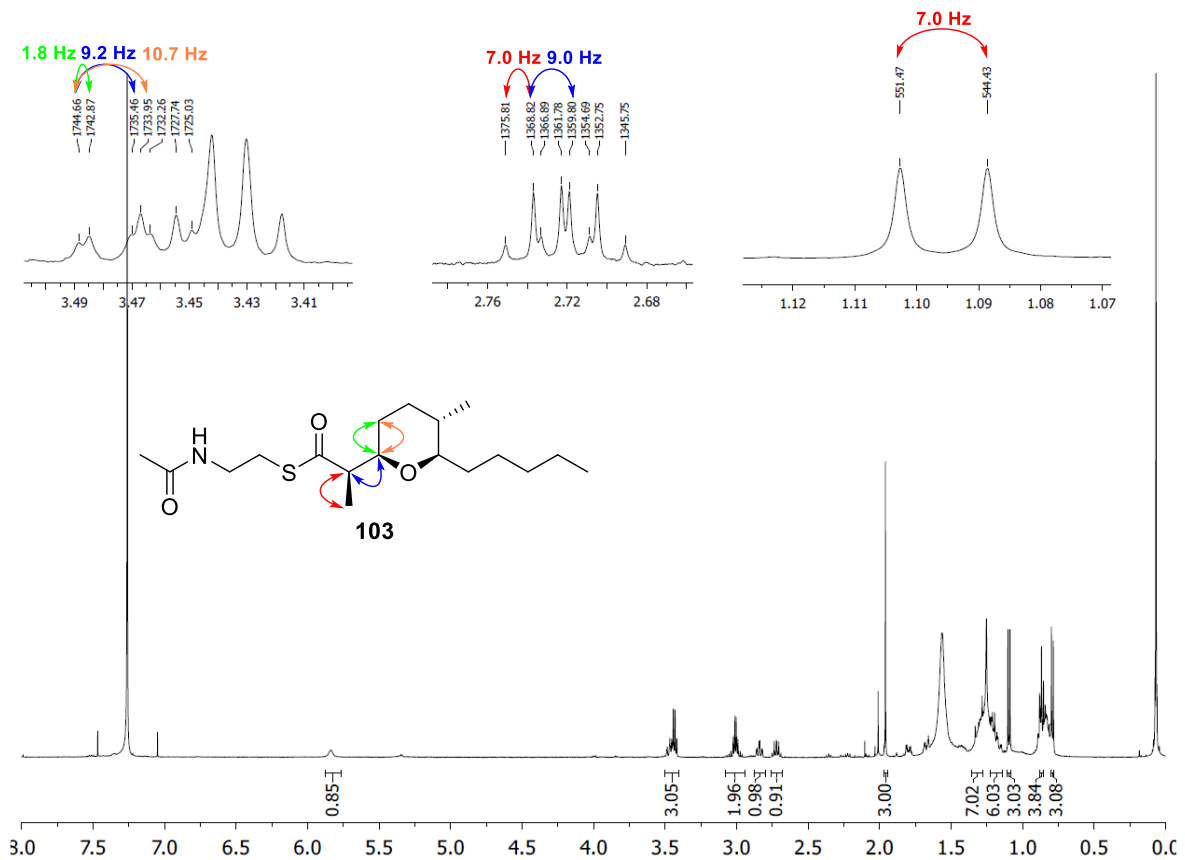


Abbildung 60: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) des gereinigten Produkts **103** mit den farbig hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (ddd, links), 2-H (dq, mitte) und 2-Me (d, rechts) zugeordnet.

Ergebnisdiskussion

In Abbildung 60 sind die essenziellen Protonenverschiebungen, sowie Kopplungskonstanten des Produkts **103** dargestellt. Die aufgenommenen chemischen Verschiebungen der beiden OCHR_2 -Gruppen liegen mit 3.47 ppm (3-H) und 2.84 ppm (7-H) genau im charakteristischen Bereich für einen 2,6-*cis*-THP-Ring. Die ermittelte Kopplungskonstante $^3J_{2\text{-H},3\text{-H}} = 9.1 \text{ Hz}$ liegt sehr nah an den in der Referenzverbindung **78** gezeigten 9.3 Hz und bestätigt daher die dargestellte absolute Konfiguration des zyklisierten Produkts **103**.

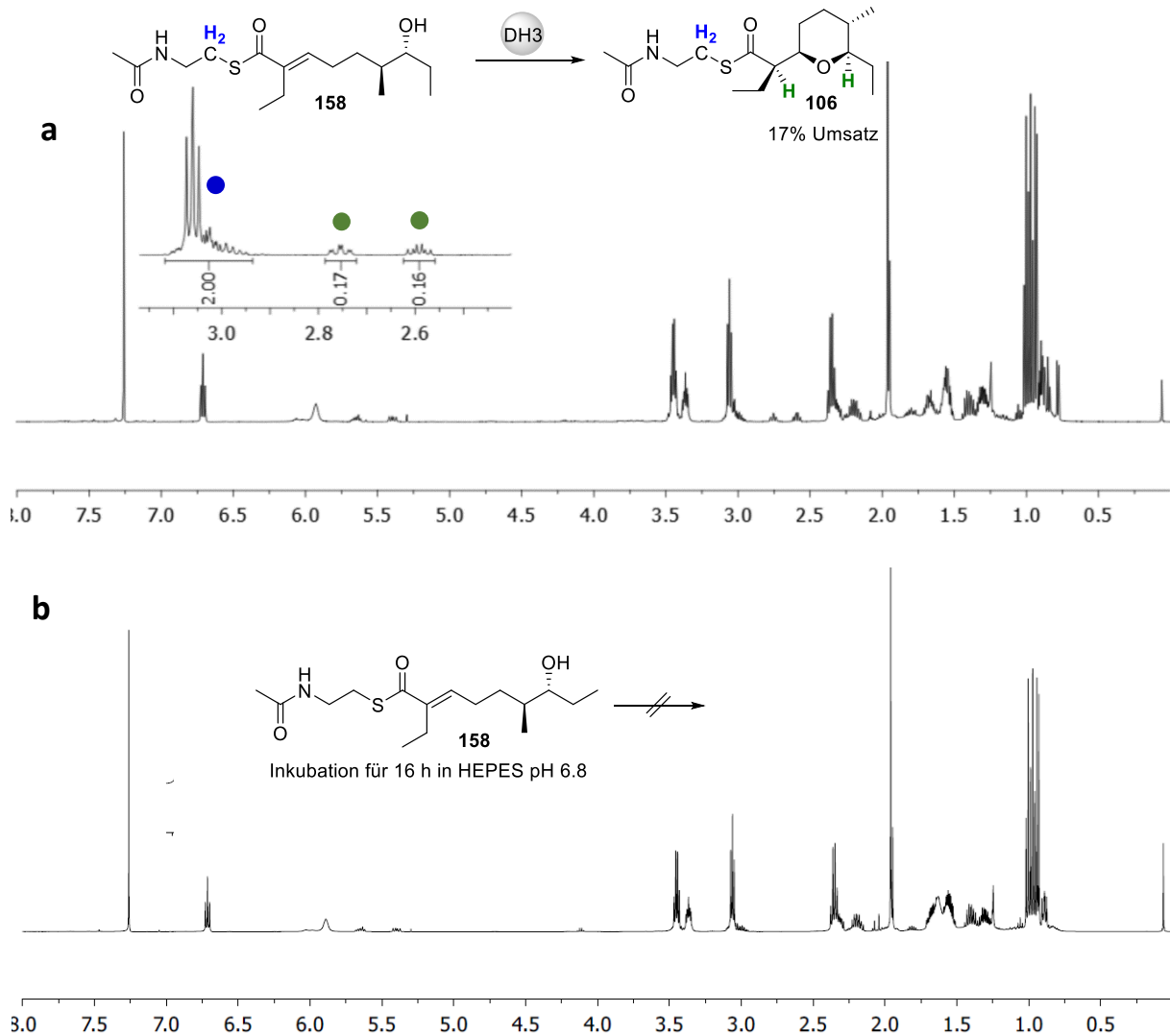


Abbildung 61: a) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der Umsetzung von **158** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in blau und grün hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

In der Reaktion von **158** zeigte sich ein Umsatz von 17% (Abbildung 61). Dieser liegt im Bereich des Umsatzes des Substratsurrogats **126**. Grund für den geringen Wert war analog zur Umsetzung von **126** die geringe Löslichkeit des Substratsurrogats **158** im Reaktionspuffer. Für

Ergebnisdiskussion

dieses Substratsurrogat wurde daher analog zu **126** ein Experiment mit substratgesättigtem Puffer durchgeführt. Hierbei wurde *via* UPLC-MS (Abbildung 220) ein Umsatz von 50% ermittelt. Das Kontrollexperiment zeigte keinen spontanen Umsatz. Die enzymatische Domäne ist demnach auch gegenüber Variationen in der 2-Position tolerant.

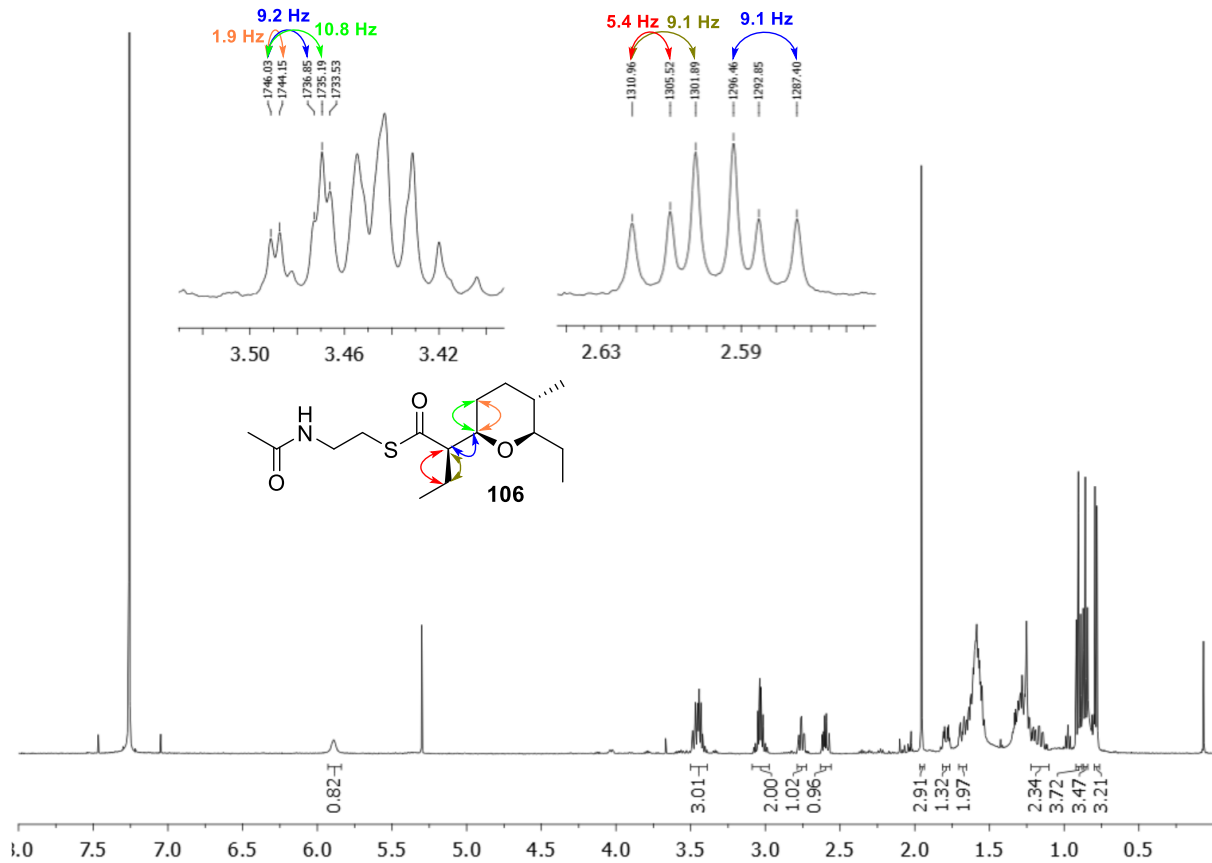


Abbildung 62: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz) des gereinigten Produkts **106** mit den farbig hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (ddd, links) und 2-H (ddd, rechts) zugeordnet.

Die aufgenommenen chemischen Verschiebungen der beiden OCHR_2 -Gruppen liegen mit 3.47 ppm (3-H) und 2.76 ppm (7-H) genau im charakteristischen Bereich für einen 2,6-*cis*-THP-Ring (Abbildung 62). Die ermittelte Kopplungskonstante $^3J_{2\text{-H},3\text{-H}} = 9.2$ Hz liegt sehr nah an den in der Referenzverbindung **78** gezeigten 9.3 Hz und bestätigt daher die dargestellte absolute Konfiguration des zyklisierten Produkts **106**.

Ergebnisdiskussion

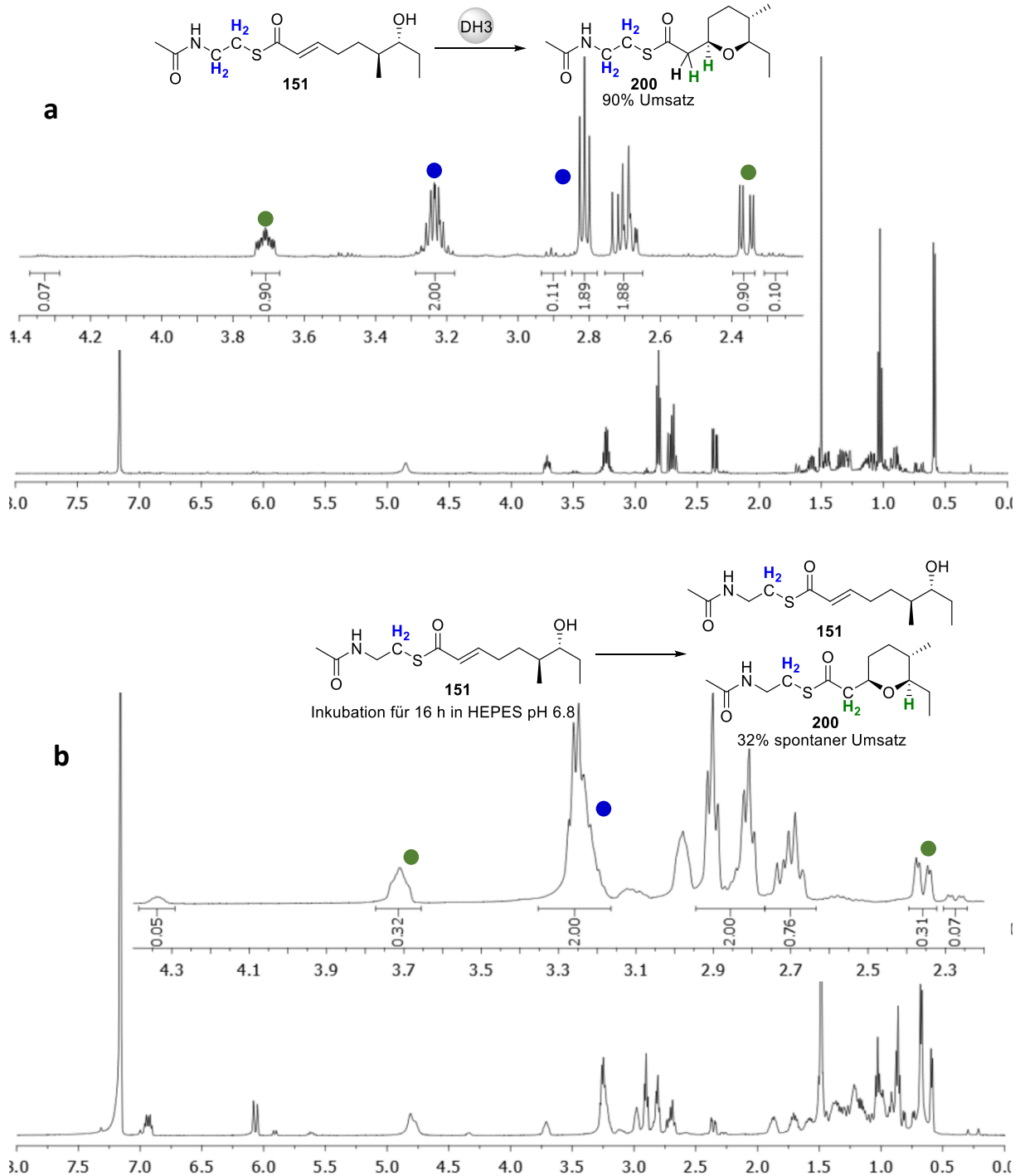


Abbildung 63: a) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der Umsetzung von **151** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in **blau** und **grün** hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

In der Reaktion von **151** zeigte sich ein Umsatz von 90% (Abbildung 63). Dieser liegt im Bereich des Umsatzes des Substratsurrogats **77**. Das enzymfreie Kontrollexperiment ergab jedoch eine spontane Zyklisierung von 32%. Begründet werden kann dies dadurch, dass das

Ergebnisdiskussion

Doppelbindungssystem bei fehlender Methylverzweigung an der 2-Position insgesamt elektronenärmer ist als mit der sonst vorherrschenden Hyperkonjugation, ausgeübt von der Methylgruppe. Aufgrund dessen ist das MICHAEL-System deutlich aktivierter und die Nucleophilie der Hydroxygruppe reicht aus, um den Ringschluss auch ohne vorliegendes AmbDH3 durchzuführen. Zu beobachten ist, dass sich scheinbar ein weiteres zyklisches Stereoisomer gebildet hat. Das Signal bei 4.35 ppm lässt vermuten, dass es sich hierbei um einen bei der spontanen Zyklisierung entstandenen *trans*-THP-Ring handelt. Die beobachtete chemische Verschiebung liegt im Bereich des äquivalenten THP-Protons in Salinomycin.^[108] Vom spontanen Prozess abgesehen konnte gezeigt werden, dass auch das Substratsurrogat **151** von AmbDH3 akzeptiert und in hohem Maße umgesetzt wird.

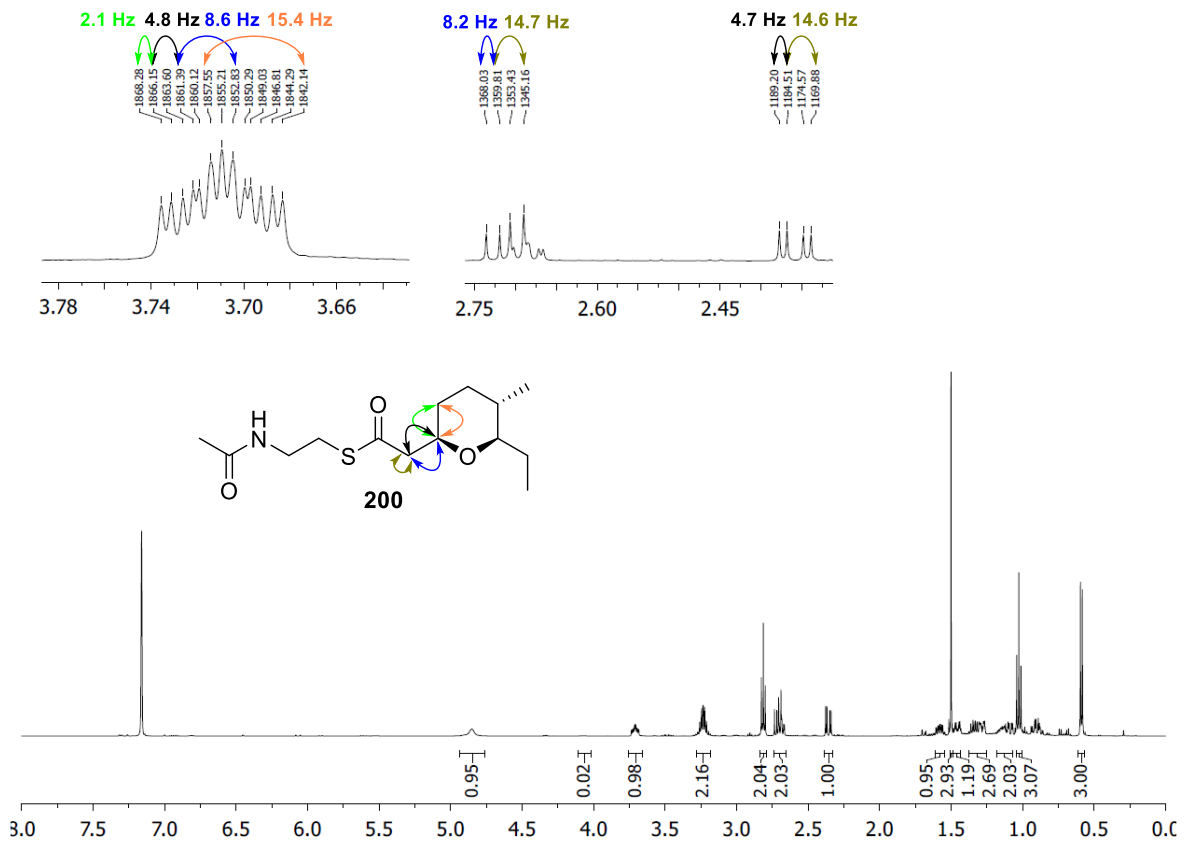


Abbildung 64: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) des gereinigten Produkts **200** mit den farbig hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (dddd, links) und 2-H (2 \times dd, rechts) zugeordnet.

In Abbildung 64 sind die essenziellen Protonenverschiebungen, sowie Kopplungskonstanten des Produkts **200** dargestellt. Die aufgenommenen chemischen Verschiebungen der beiden

Ergebnisdiskussion

OCHR₂-Gruppen liegen mit 3.71 ppm (3-H) und 2.71 ppm (7-H) genau im charakteristischen Bereich für einen 2,6-*cis*-THP-Ring. Die ermittelte Kopplungskonstante $^3J_{2-H,3-H} = 8.6$ Hz liegt nah an den in der Referenzverbindung **78** gezeigten 9.3 Hz und bestätigt daher die dargestellte absolute Konfiguration des zyklisierten Produkts **200**. Der fehlende 2-Substituent scheint demnach keinen negativen Einfluss auf die Koordination des Substrats in der aktiven Tasche und der daraus resultierenden Stereochemie zu haben.

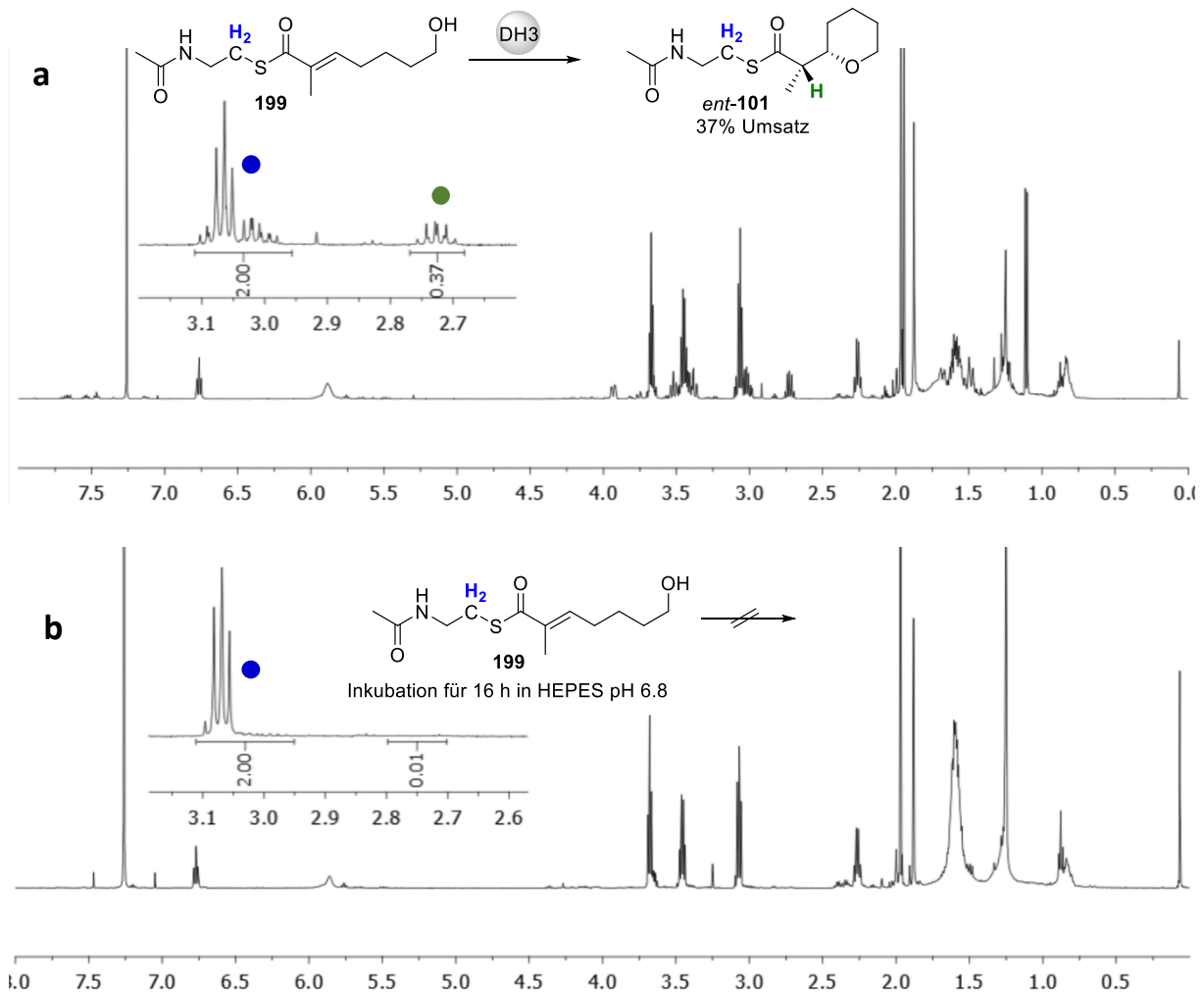


Abbildung 65: a) ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der Umsetzung von **199** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in blau und grün hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

In der Reaktion von **199** zeigte sich ein Umsatz von 37% (Abbildung 65). Dieser liegt damit zwischen den Umsätzen der Substratsurrogate **126** und **118**. Grund hierfür war, dass das Rückgrat des Substrats aufgrund fehlender Verzweigungen, sowie 7-Substitution deutlich beweglicher und somit keine für die Zyklisierung ideale Substratkonformation in der aktiven

Ergebnisdiskussion

Tasche möglich ist. Diese Theorie wird von Modellierungsstudien gestützt, bei denen für dieses Substrat zwar ein ähnlicher Abstand zwischen 7-OH und C3 (3.5 Å vs. 3.6 Å (**77**)) berechnet wurde, die Distanz zwischen D215 und 7-OH (2.9 Å vs. 2.1 Å (**77**)) jedoch signifikant größer ist (Abbildung 212). Zudem ist die Nukleophilie von 7-OH verglichen mit 7-substituierten Substratsurrogaten geringer, da aufgrund der fehlenden Substitution die zusätzliche Hyperkonjugation ausbleibt und die daraus folgende Elektronendichte am Sauerstoff geringer ausfällt. Ein weiterer Grund für den geringeren Umsatz könnte die Lage des Substratsurrogats **199** in der aktiven Tasche sein. Wenngleich der größere Abstand zu D215 eine deutlich geringere Aktivierung der 7-OH-Gruppe mit sich brachte, wurde das Substrat zumindest teilweise umgesetzt.

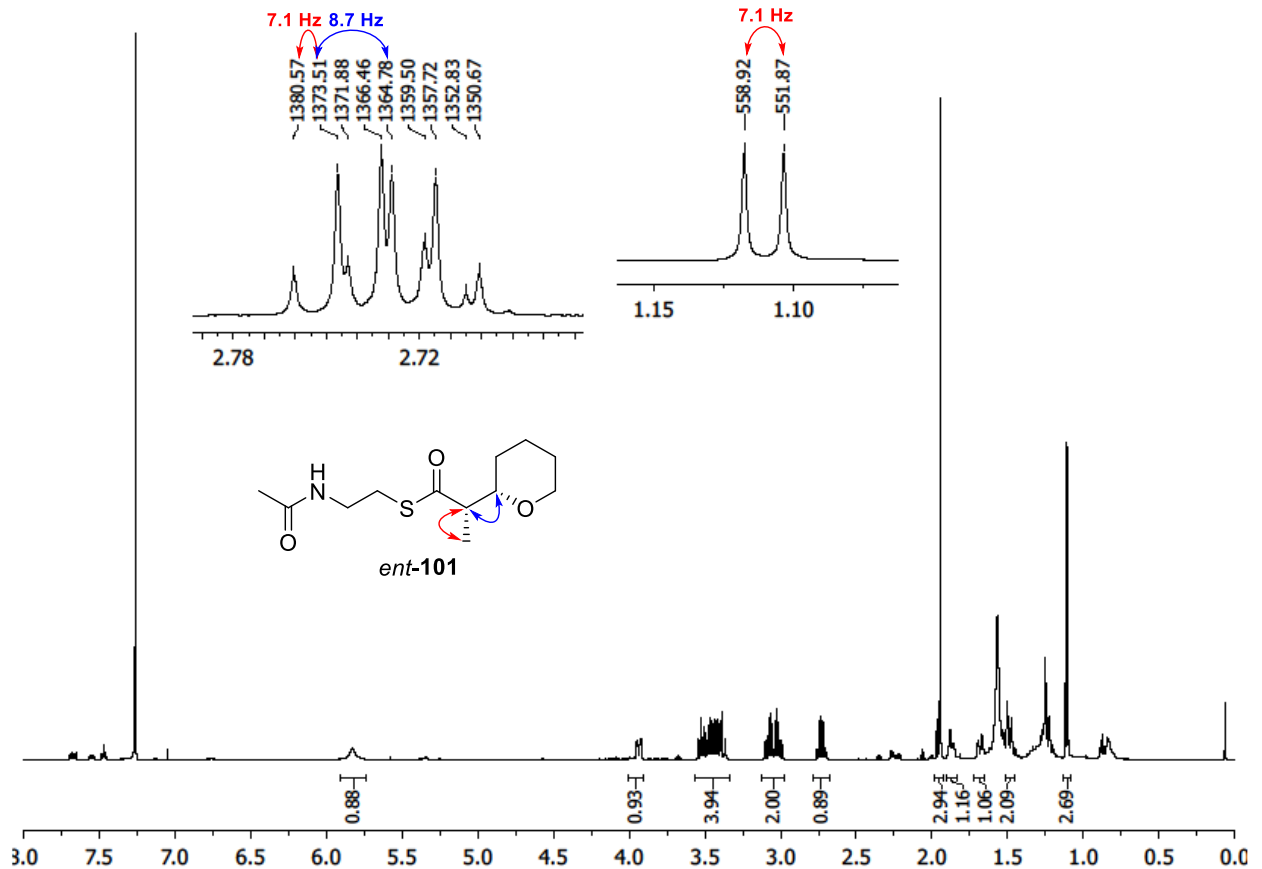


Abbildung 66: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz) des gereinigten Produkts *ent*-**101** mit den farblich hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 2-H (dq, links) und 2-Me (d, rechts) zugeordnet.

Ergebnisdiskussion

In Abbildung 66 sind die essenziellen Protonenverschiebungen, sowie Kopplungskonstanten des Produkts *ent*-**101** dargestellt. Die aufgenommene chemische Verschiebung von 3-H liegt mit 3.71 ppm genau im charakteristischen Bereich für ein axial ausgerichtetes Proton an dieser Position. Die ermittelte Kopplungskonstante ${}^3J_{2-H,3-H} = 8.7$ Hz liegt nah an den in der Referenzverbindung **78** gezeigten 9.3 Hz und bestätigt daher die dargestellte relative Konfiguration des zyklisierten Produkts *ent*-**101**. In der Modellierung (Abbildung 212) ist allerdings ein Unterschied zu allen anderen akzeptierten Substraten zu erkennen. Aufgrund der fehlenden 7-Substitution liegt der MICHAEL-Akzeptor um 90° gedreht in der aktiven Tasche, wodurch laut Berechnung sowohl nukleophiler Angriff, als auch Protonierung der C2-Position vermutlich von der umgekehrten Seite stattfinden. Das entstehende Produkt wäre damit auf 2-Me und 3-O bezogen zwar immernoch *anti*-konfiguriert, jedoch handelt es sich hierbei mit (2*S*,3*S*) sehr wahrscheinlich um das Enantiomer zur ursprünglich erwarteten (2*R*,3*R*)-Konfiguration.

Ergebnisdiskussion

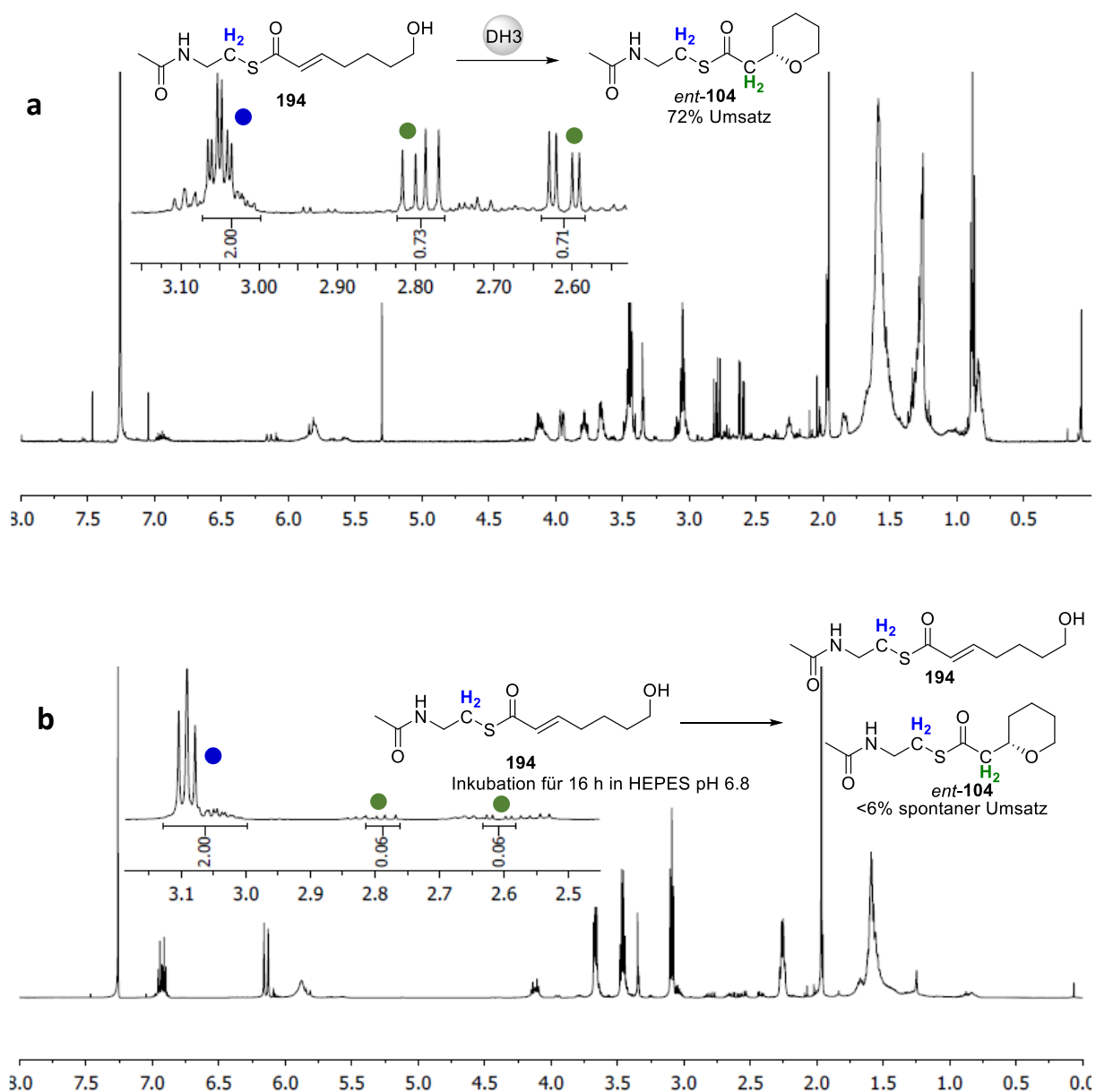


Abbildung 67: a) ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der Umsetzung von **194** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in blau und grün hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

In der Reaktion von **194** zeigte sich ein Umsatz von 73% (Abbildung 67). Das Rückgrat von **194** ist analog zum Substraturrogat **199** aufgrund fehlender Verzweigungen, sowie 7-Substitution deutlich beweglicher und es ist somit scheinbar keine für die Zyklisierung ideale Orientierung in der aktiven Tasche möglich. Im Vergleich zur Umsetzung von **199**, konnte jedoch ein deutlich höherer Umsatz beobachtet werden. Dies liegt daran, dass das MICHAEL-System, wie bereits am Beispiel **151** gezeigt wurde, aufgrund fehlender Hyperkonjugation deutlich reaktiver ist. Im abgebildeten enzymfreien Kontrollexperiment ist entgegen der Literatur^[72] eine geringe

Ergebnisdiskussion

spontane Zyklisierung von <6% zu erkennen. Daraus lässt sich ableiten, dass der größte Teil der beobachteten Reaktion von AmbDH3 katalysiert wurde. Wenngleich die Aktivierung der 7-OH-Gruppe deutlich geringer als bei anderen Substraten ausfällt, wurde das Substrat aufgrund der reaktiveren Doppelbindung dennoch zum Großteil umgesetzt.

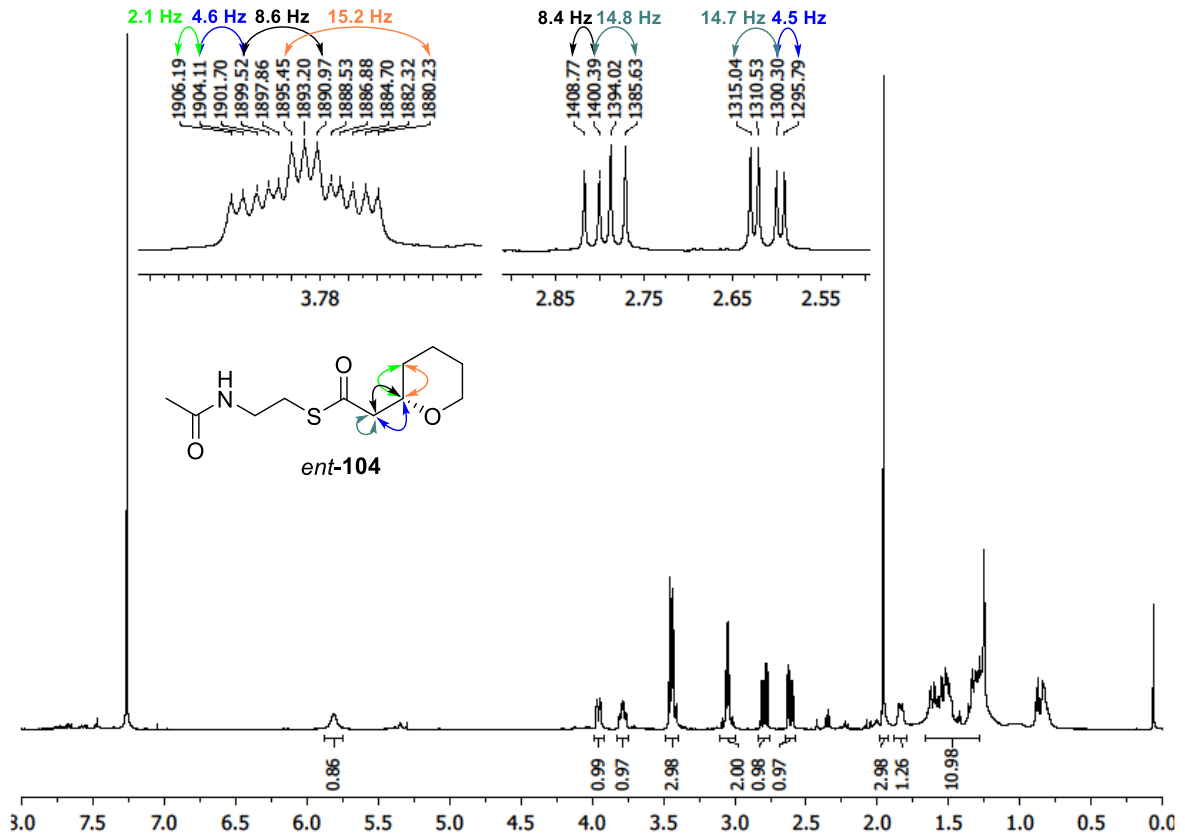


Abbildung 68: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz) des gereinigten Produkts *ent*-**104** mit den farblich hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (dddd, links) und 2-H ($2\times\text{dd}$, rechts) zugeordnet.

In Abbildung 68 sind die essenziellen Protonenverschiebungen, sowie Kopplungskonstanten des Zyklisierungsprodukts *ent*-**104** dargestellt. Die aufgenommene chemische Verschiebung von 3-H liegt mit 3.78 ppm genau im charakteristischen Bereich für ein axial ausgerichtetes Proton an dieser Position. Analog zu **199** könnte es auch hier zur Bildung des (3*S*)- anstelle des (3*R*)-Isomers gekommen sein. Um diese Hypothese zu stützen wurden die Drehwerte von *ent*-**104** ($[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -3.0^\circ$, CH_2Cl_2 , $c = 0.10$) und der Referenzverbindung ($[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -0.45^\circ$, CHCl_3 , $c = 0.52$)^[109] miteinander verglichen. Da beide Drehwerte ein negatives Vorzeichen besitzen, wurde *ent*-**104** als das Hauptprodukt bestätigt. Durch die verwendeten Analysemethoden

Ergebnisdiskussion

konnte die zusätzliche Bildung des Enantiomers nicht ausgeschlossen werden. Um das Enantiomerenverhältnis zu überprüfen, wurde daher die Derivatisierung mit einem chiralen Reagenz zur Bildung von Diastereomeren durchgeführt.

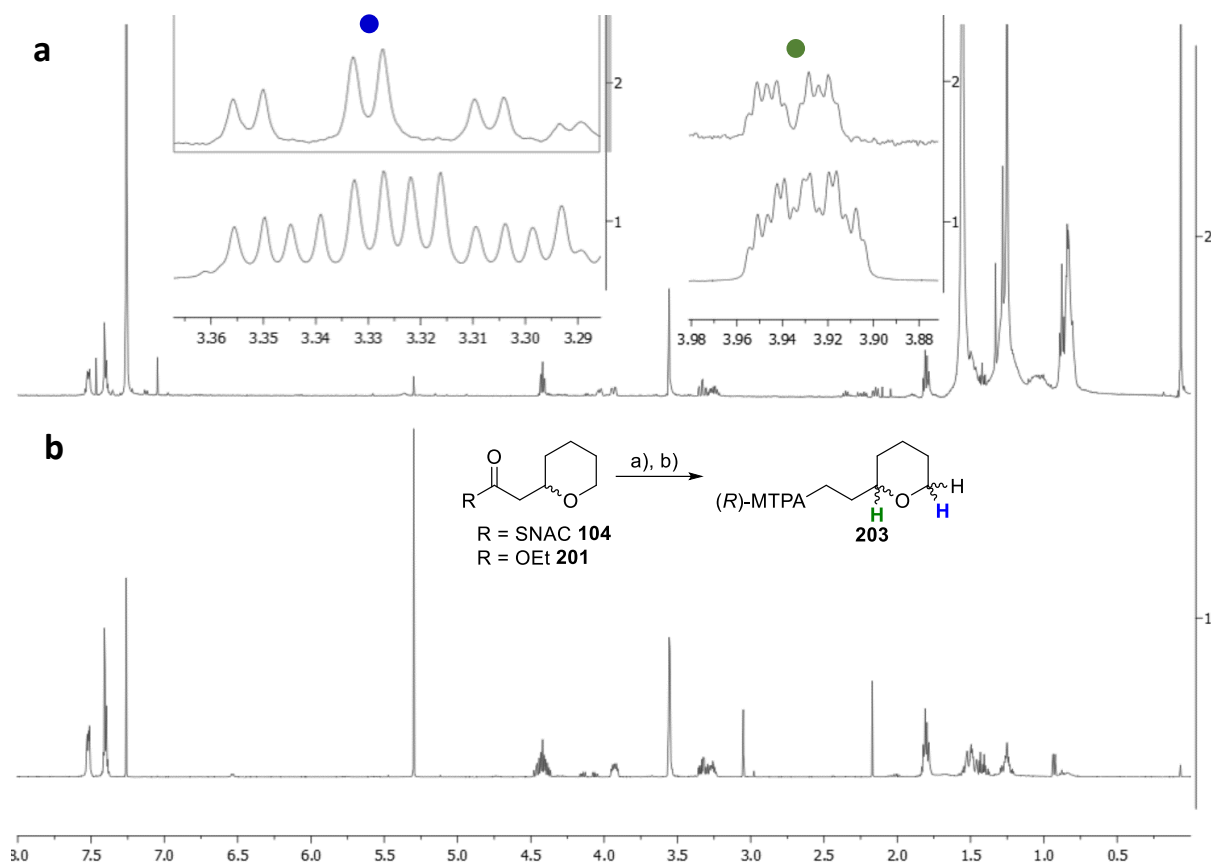


Abbildung 69: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz) der Derivatisierung von **202**, aus dem Rohprodukt der enzymatischen Umsetzung (**a**) und der basisch induzierten Zyklisierung von **191** (**b**). Die eingebetteten Signale wurden 7-H (dt, links) und 3-H (ddt, rechts) zugeordnet. Bedingungen: **a**) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78 °C, **b**) (*S*)-MTPA-Cl, DMAP, CH₂Cl₂.

Für die Darstellung von **203** wurde zunächst eine Reduktion des Thioesters **104** bzw. Esters **201** mit DIBAL-H durchgeführt. Bei der Aufarbeitung, insbesondere beim Entfernen des Lösemittels, war besonders auf die Flüchtigkeit des entstandenen Alkohols zu achten. Ein Druck ≤ 400 mbar bei einer Temperatur von 40 °C hatte den vollständigen Verlust des Produkts zur Folge. Aufgrund der Flüchtigkeit wurde bei dieser Stufe zudem auf eine Reinigung verzichtet. Das erhaltene Rohprodukt wurde danach zum (*R*)-MTPA-Ester **203** umgesetzt und *via* ¹H-NMR analysiert. In Abbildung 69 sind die ¹H-NMR-Spektren der veresterten Verbindungen **203** abgebildet. Das untere Spektrum (**b**) zeigt dabei den racemischen (3*S*;3*R*)-(*R*)-MTPA-Ester als Referenz. Es ist klar zu erkennen, dass sich in der Referenz zwei

Ergebnisdiskussion

Signalsätze befinden, wohingegen das obere Spektrum (a) der veresterten, enzymatisch erzeugten Verbindung **104** lediglich aus einem Signalsatz besteht. Daraus lässt sich ableiten, dass bei der Umsetzung des Substratsurrogats **194** zu **104** nur ein einziges Enantiomer entstanden ist.

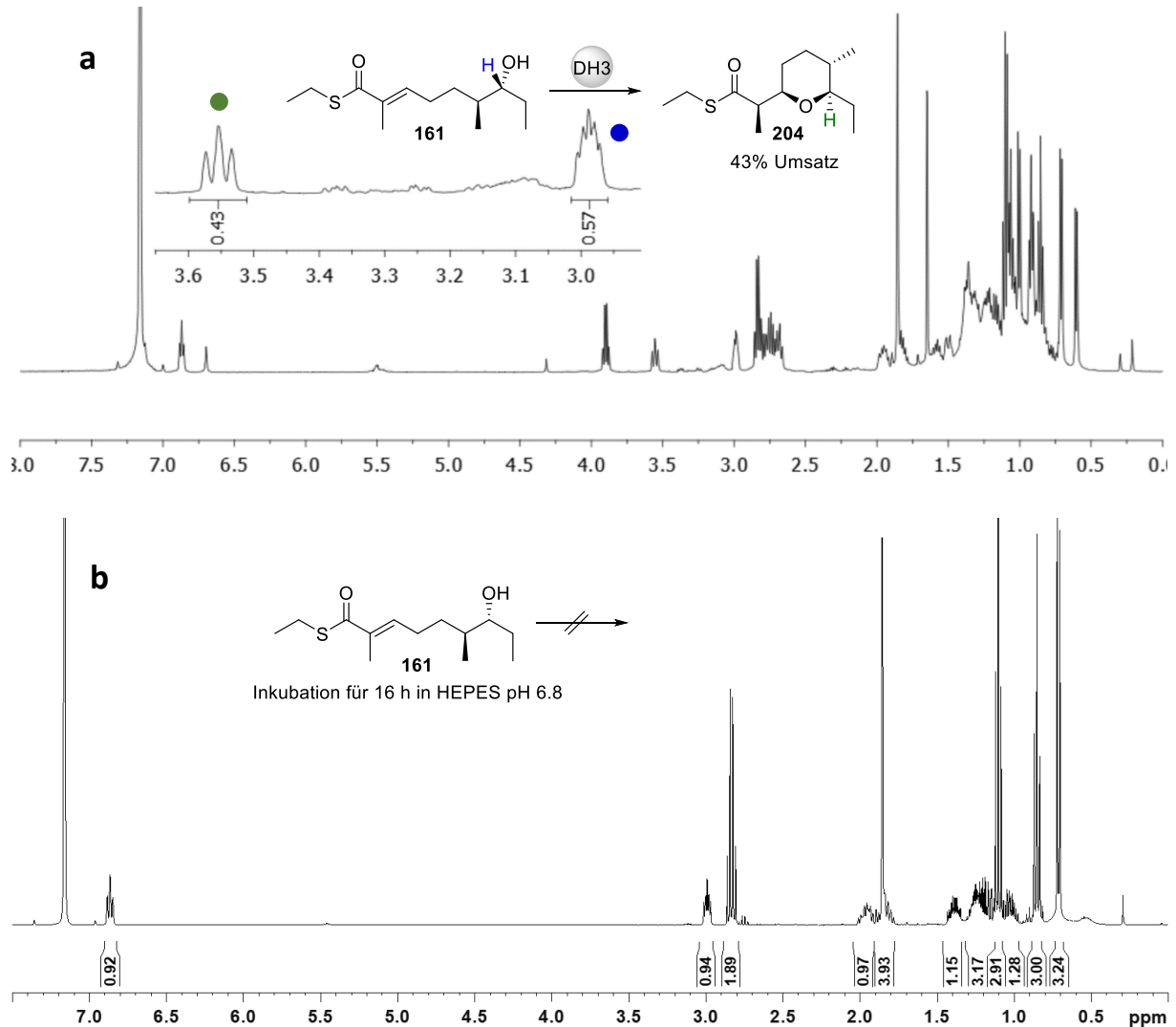


Abbildung 70: a) ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz) der Umsetzung von **161** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in blau und grün hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.^[110]

In der Reaktion von **161** zeigte sich ein Umsatz von 43% (Abbildung 70). Dieser fiel damit geringer aus, als beim Substratsurrogat **77** und liegt im gleichen Bereich, wie bereits zuvor gezeigt werden konnte.^[97] Grund hierfür war analog zu anderen Substraten die mit bloßem Auge sichtbare, geringe Löslichkeit des Substrats im Reaktionspuffer. Hervorzuheben ist

Ergebnisdiskussion

zudem, dass für die Durchführung der Reaktion vom etablierten Protokoll abgewichen werden musste. Das Enzymexperiment der Vorläuferverbindung **161** zeigte bei einer Substratkonzentration von 8 mM keinen Umsatz. Erst nach Reduktion der Substratkonzentration auf 2 mM konnte der beschriebenen Umsatz von 43% erreicht werden. Im abgebildeten enzymfreien Kontrollexperiment ist keine nennenswerte Veränderung zu erkennen, woraus abzuleiten ist, dass die gesamte beobachtete Reaktion von AmbDH3 katalysiert wurde.

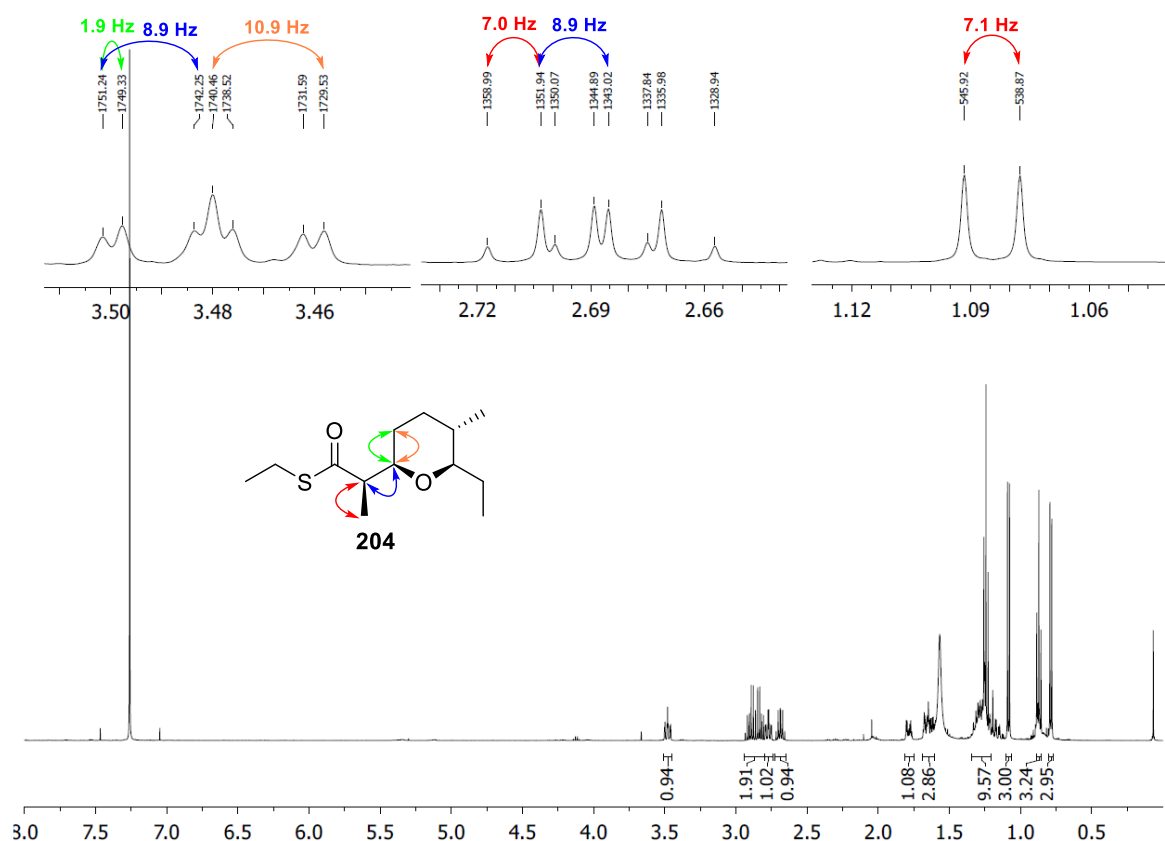


Abbildung 71: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz) des gereinigten Produkts **204** mit den farbig hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (ddd, links), 2-H (dq, mitte) und 2-Me (d, rechts) zugeordnet.

Abbildung 71 zeigt das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Produkts **204**. Die chemische Verschiebung von 3-H liegt mit 3.48 ppm genau im charakteristischen Bereich für einen 2,6-*cis*-THP-Ring. Die ermittelte Kopplungskonstante $^3J_{2\text{-H},3\text{-H}} = 8.9 \text{ Hz}$ liegt sehr nah an den in der Referenzverbindung **78** gezeigten 9.3 Hz und bestätigt daher die dargestellte absolute Konfiguration des zyklisierten Produkts **204**. In diesem Fall wurde abweichend vom für das Substrat verwendete Lösemittel C_6D_6 wieder auf das bisher benutzte CDCl_3 zurückgegriffen.

Ergebnisdiskussion

Die Vergleichbarkeit zwischen Substrat- und Produktspektrum ist damit zwar nicht mehr gegeben, jedoch wurde unter Verwendung von C_6D_6 im chemischen Verschiebungsbereich zwischen 3.0 ppm und 2.5 ppm keine ausreichende Signalauflösung erreicht. Die korrekte Bestimmung der chemischen Verschiebungen, sowie der Kopplungskonstanten war erst nach dem Wechsel auf $CDCl_3$ möglich. Die Abwesenheit des Acetamids und der damit verbundenen fehlenden, potentiellen Koordinationsstelle scheint keinen negativen Einfluss auf die Ausrichtung des Substrats in der aktiven Tasche und der daraus resultierenden Stereochemie zu haben.

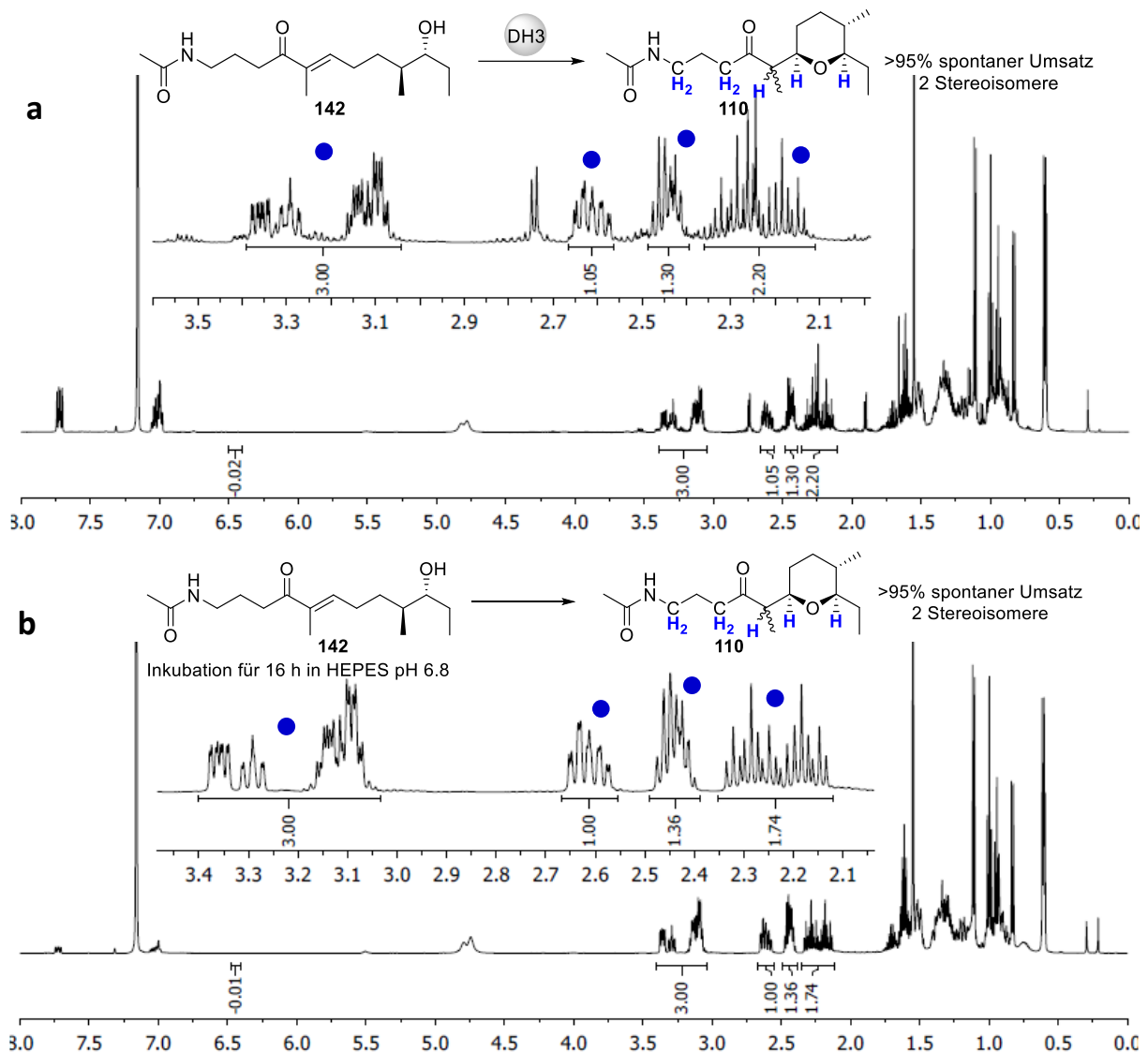


Abbildung 72: a) 1H -NMR-Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der Umsetzung von **142** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in **blau** hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) 1H -NMR-Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

Ergebnisdiskussion

In der Reaktion von **142** zeigte sich ein quantitativer Umsatz (Abbildung 72), jedoch war im enzymfreien Kontrollexperiment eine spontane Zyklisierung mit vergleichbarem Umsatz zu beobachten. Das dabei entstandene Produkt **110** wurde als 2-Me-Epimerengemisch erhalten. Grund hierfür war, dass das Doppelbindungssystem beim Wechsel vom Thioester zum Keton, aufgrund geringerer Hyperkonjugation und damit verbundener Stabilisierung durch Mesomerie elektronenärmer ist, als beim vergleichbaren Thioester **77**. Aufgrund dessen ist das MICHAEL-System aktivierter und die Nukleophilie der Hydroxygruppe reicht aus, um den Ringschluss bereits unter proteinfreien Assaybedingungen durchzuführen. Aufgrund des vollständigen spontan ablaufenden Prozesses im semipräparativen Maßstab ist daher keine Aussage über die Akzeptanz des Substratsurrogats **142** von AmbDH3 treffbar.

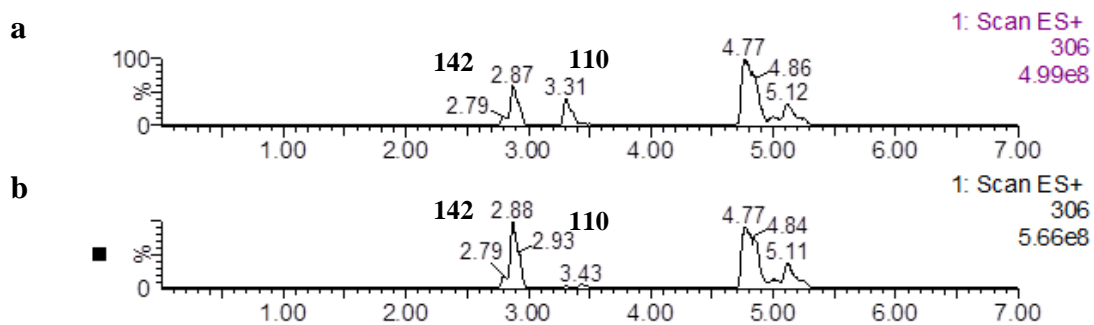


Abbildung 73: UPLC-MS-Analyse der enzymatischen (a), sowie enzymfreien (b) Inkubation von **142** im analytischen Maßstab ($t_R = 2.88$ min Substrat **142**; $t_R = 3.31$ min Produkt **110**; $t_R = 4.7 - 5.3$ min Verunreinigung im Laufmittel).

Die in Abbildung 73 dargestellten UPLC-MS-Chromatogramme zeigen die Analyse der zu Abbildung 72 analogen Experimente mit jeweils 0.1 mg eingesetztem Substratsurrogats **142**. Es ist klar zu erkennen, dass es beim enzymfreien Kontrollexperiment auch nach 16 h Inkubation zu keinerlei spontanem Umsatz gekommen ist. Im Fall des zugesetzten Proteins ist hingegen ein Umsatz von 39% zu erkennen. Da eine intramolekulare Reaktion bei niedrigeren Konzentrationen besser als bei höheren ablaufen sollte, kann es sich dabei nicht um den Grund für dieses Ergebnis handeln. Ein weiterer Unterschied zum vorher durchgeführten Experiment im semipräparativen Maßstab war die Art der Inkubation. Hier wurde aufgrund des geringen Reaktionsvolumens auf EPPENDORF-Reaktionsgefäße (2 mL Volumen) zurückgegriffen und nicht mit einem Magnetrührkern gerührt, sondern lediglich im Thermomixer geschwenkt. Möglicherweise kam es dabei aufgrund der schlechteren Durchmischung zu einem sehr langsamen Übergang des Substrats in die wässrige Phase und einer damit verbundenen

Ergebnisdiskussion

niedrigen effektiven Konzentration im Reaktionsmedium. Das Substrat würde damit hauptsächlich im stabilisierenden festen Bodensatz verweilen und nur die kleine, tatsächlich gelöste Menge wäre von der enzymatischen Umsetzung betroffen. Dadurch käme es zur Anreicherung innerhalb des Reaktionsgemisches und anschließender erneuter Lösung frischen Substrats. Es konnte damit gezeigt werden, dass der im natürlichen Kontext wichtige Thioester im Fall der Umsetzung mit AmbDH3 nicht unbedingt notwendig ist, wodurch die Produktpalette um eine weitere Substanzklasse erweitert werden und erstmals ein Keton umgesetzt werden konnte.

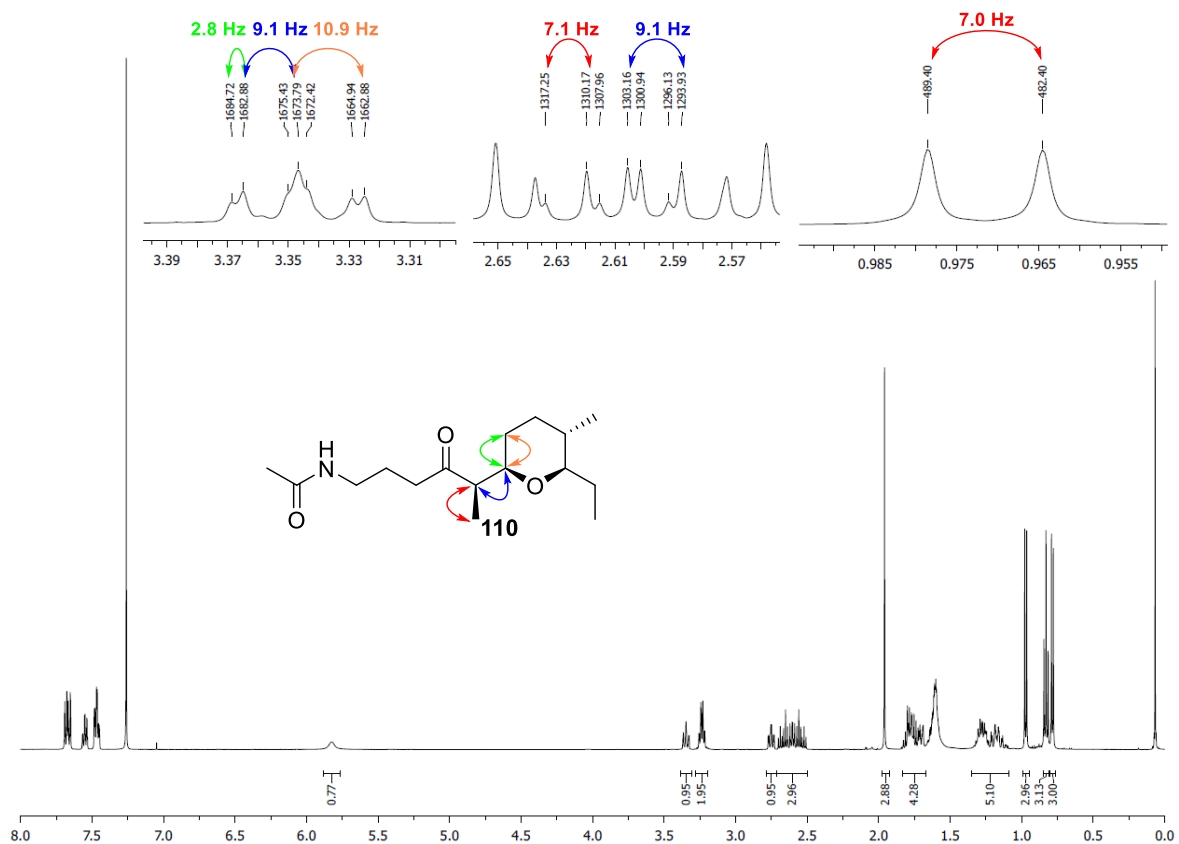


Abbildung 74: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz) des gereinigten Produkts **110** mit den farblich hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (ddd, links), 2-H (dq, mitte) und 2-Me (d, rechts) zugeordnet.

Nach chromatographischer Reinigung des in Abbildung 72 abgebildeten Rohprodukts wurde lediglich ein einziges Diastereomer erhalten. Dies legt den Schluss nahe, dass es während der Prozedur zur Äquilibration gekommen ist. In Abbildung 74 ist das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Produkts **110** dargestellt. Die aufgenommene chemische Verschiebung von 3-H liegt mit

Ergebnisdiskussion

3.35 ppm genau im charakteristischen Bereich für einen 2,6-*cis*-THP-Ring. Die ermittelte Kopplungskonstante ${}^3J_{2-H,3-H} = 9.1$ Hz stimmt fast mit den in der Referenzverbindung **77** ermittelten 9.3 Hz überein und bestätigt daher die dargestellte absolute Konfiguration des zyklisierten Produkts **110**. In diesem Fall wurde abweichend vom für das Substrat verwendete Lösemittel C_6D_6 erneut auf $CDCl_3$ zurückgegriffen. Die Vergleichbarkeit zwischen Substrat- und Produktspektrum ist damit zwar nicht mehr gegeben, jedoch wurde unter Verwendung von C_6D_6 im Verschiebungsbereich zwischen 3.0 ppm und 2.5 ppm keine ausreichende Signalauflösung erreicht. Die korrekte Bestimmung der chemischen Verschiebungen, sowie der Kopplungskonstanten war erst nach dem Wechsel auf $CDCl_3$ möglich.

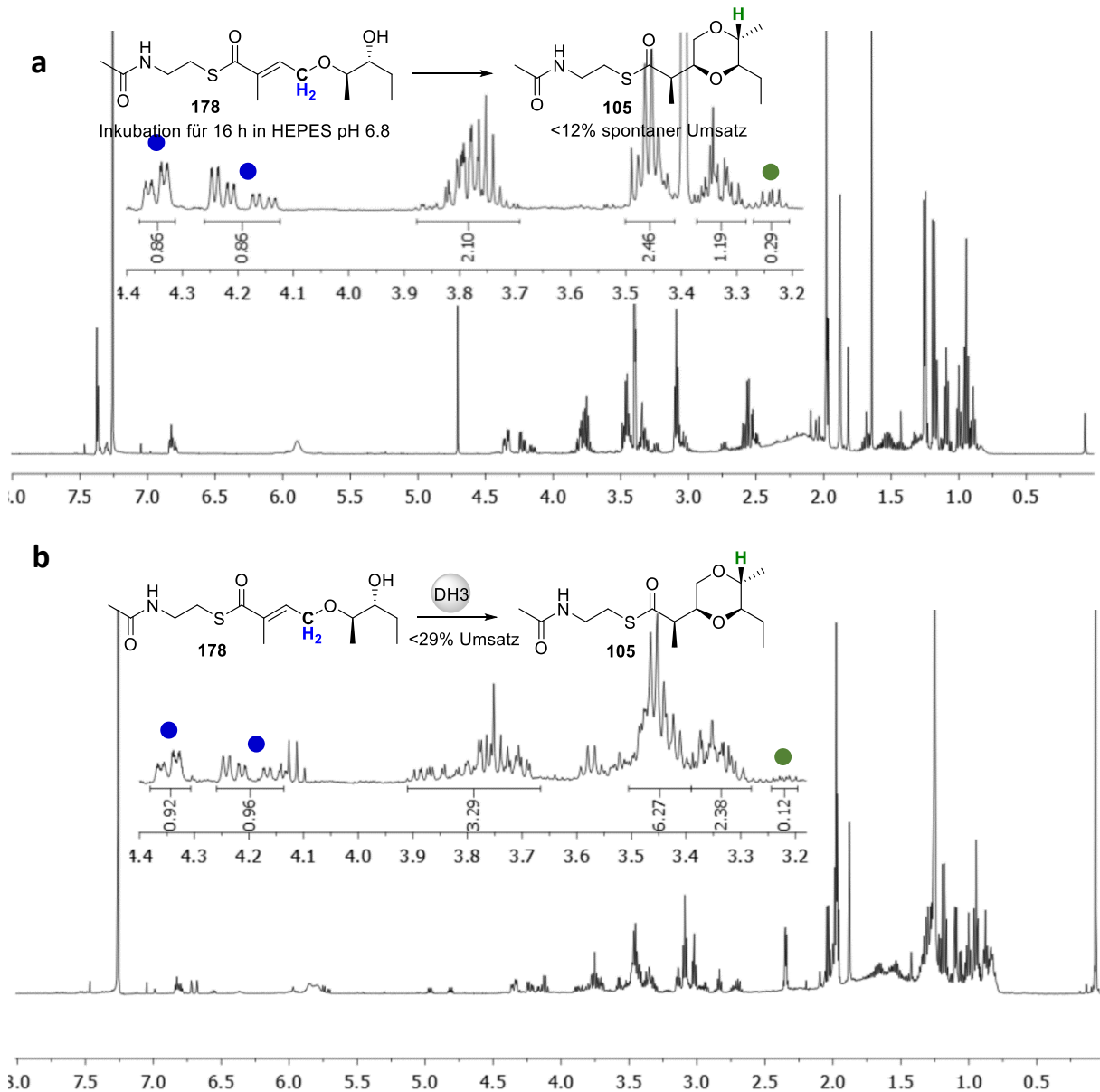


Abbildung 75: a) 1H -NMR-Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der Umsetzung von **178** mit AmbDH3. Der Umsatz wurde anhand der Integrale der in blau und grün hervorgehobenen Protonen ermittelt. b) 1H -NMR-Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der enzymfreien Inkubation unter Assaybedingungen.

Ergebnisdiskussion

In der Reaktion von **178** zeigte sich ein Umsatz von 29% (Abbildung 75). Dieser fiel damit geringer aus, als beim Substratsurrogat **77**. Eine mögliche Begründung hierfür liegt in der Bildung von Nebenprodukten. Im abgebildeten enzymfreien Kontrollexperiment ist ein spontaner Umsatz von maximal 12% zu erkennen, jedoch wird das betrachtete Signal von einer Verunreinigung überlagert, die das Integral künstlich erhöht. Der eigentliche spontane Anteil ist demnach geringer einzuschätzen. Die zusätzliche beobachtete Produktbildung wurde von AmbDH3 katalysiert.

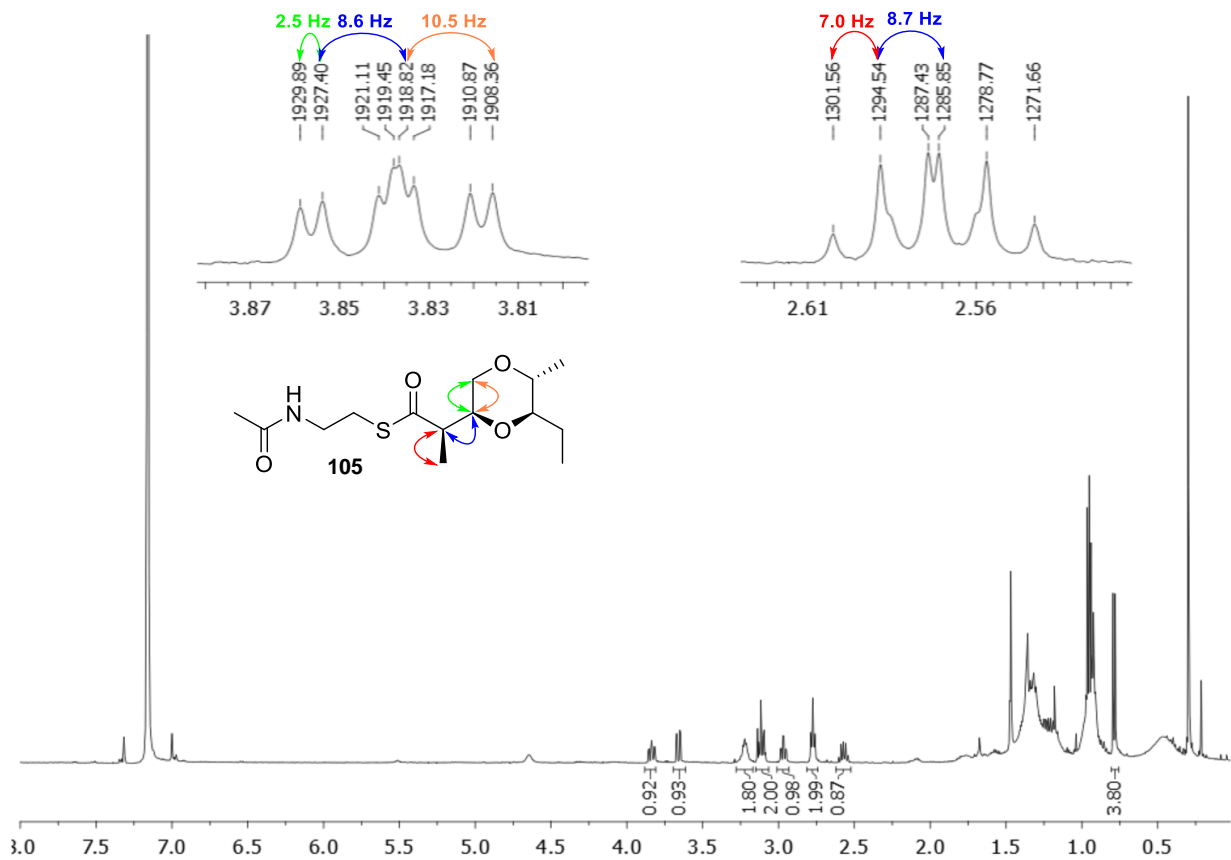


Abbildung 76: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) des gereinigten Produkts **105** mit den farbig hervorgehobenen essenziellen Kopplungskonstanten. Die eingebetteten Signale wurden 3-H (ddd, links) und 2-H (dq, rechts) zugeordnet.

Die aufgenommene chemische Verschiebung von 3-H befindet sich mit 3.84 ppm vergleichsweise weit im Tieffeld. Da dieser Wert nicht eindeutig dem charakteristischen Bereich für *trans*-Dioxan-Ring oder *cis*-Dioxan-Ring zuordenbar ist, wurde auf ein anderes Signal zurückgegriffen. In Abbildung 165 ist das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Dioxans **105** in CDCl_3 abgebildet. Die chemischen Verschiebungen der Protonen an der 4-Position liegen bei

Ergebnisdiskussion

3.83-3.75 und 3.32 ppm. BAGNOLI *et al.* bestimmten für ein ähnlich substituiertes Dioxan ebenfalls die entsprechenden chemischen Verschiebungen der betrachteten Position und kamen dabei auf 3.75 und 3.29 ppm (*cis*-Dioxan), respektive 3.81 und 3.63 ppm (*trans*-Dioxan).^[111] Die ermittelte Kopplungskonstante ${}^3J_{2-H,3-H} = 8.6$ Hz liegt nah an den in Verbindung **77** ermittelten 9.3 Hz und bestätigt damit zusätzlich die *syn*-Konfiguration zwischen der 2- und 3-Position des Dioxans **105**.

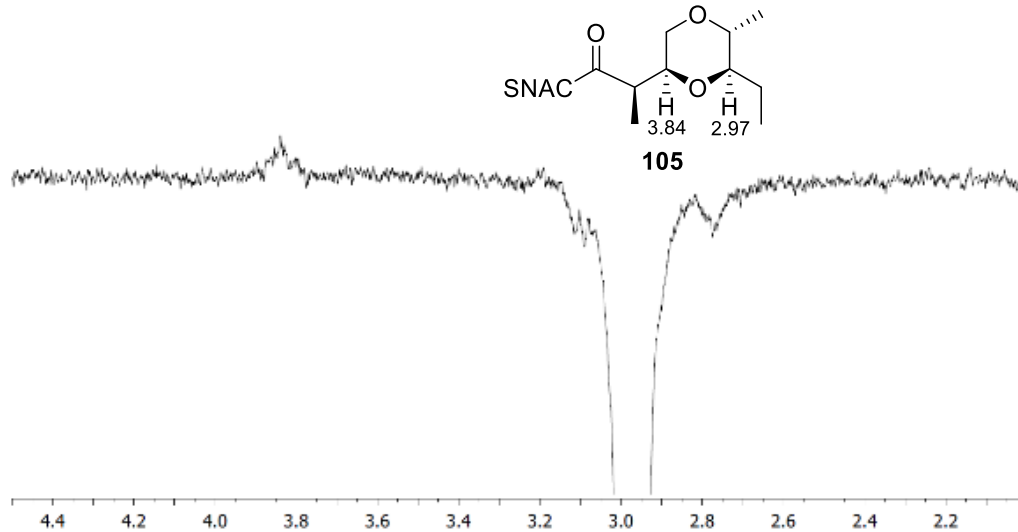
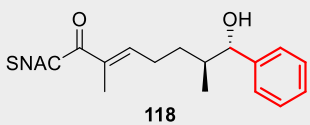
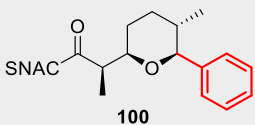
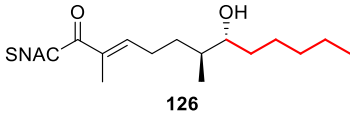
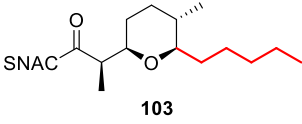
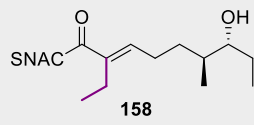
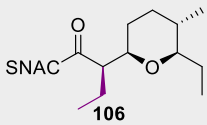
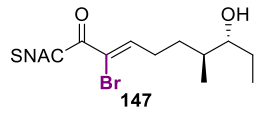
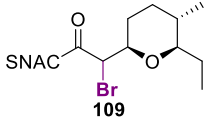
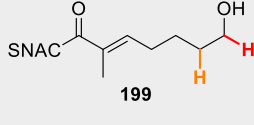
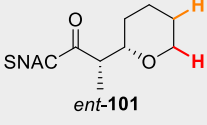
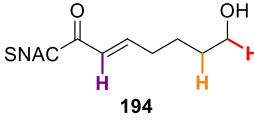
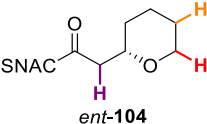
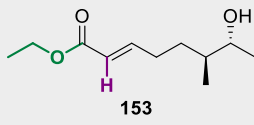
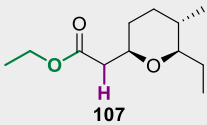
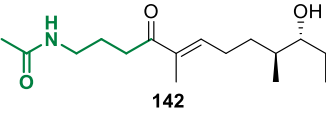
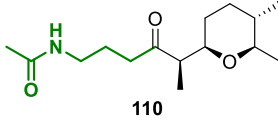
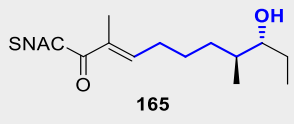
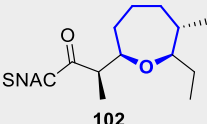
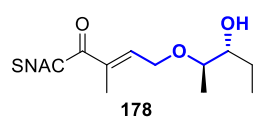
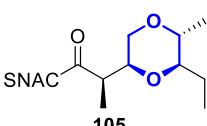
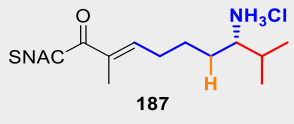
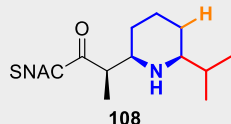


Abbildung 77: 1D-NOE-Korrelationsspektrum (C_6D_6 , 300 MHz) des gereinigten Produkts **105** zur Bestätigung der *cis*-Konfiguration.

Zusätzlich zu den chemischen Verschiebungen wurde die relative Konfiguration des Dioxans **105** anhand eines 1D-NOE-Experiments bestimmt. Mit dieser Methode lassen sich Kerne abbilden, die sich in räumlicher Nähe zueinander befinden. Das kann in der dargestellten Verbindung nur dann geschehen, wenn sich die beiden hervorgehobenen Protonen auf der gleichen Seite des Rings befinden, sie also *cis* zueinanderstehen. In Abbildung 77 ist der relevante Ausschnitt eines solchen 1D-NOE-Spektrums zu sehen. Es wurde dabei auf das 7-H eingestrahlt und das einzige sichtbare Antwortsignal wurde 3-H zugeordnet. Mit der Kombination aus passender Kopplungskonstante, chemischer Verschiebung und der positiven Antwort im 1D-NOE-Experiment wurde die dargestellte Konfiguration des Dioxans **105** bestätigt.

Ergebnisdiskussion

Tabelle 1: Zusammenfassung der Substratumsetzungen mit AmbDH3.

#	Substrat	Produkt	Umsatz ^a [%]	Ausbeute [%]
1	 118	 100	89	52 ^d
2	 126	 103	13	5 ^e
3	 158	 106	17	6 ^e
4	 147	 109	100 (100) ^b	n.b.
5	 199	 <i>ent</i> -101	37	24 ^e
6	 194	 <i>ent</i> -104	72 (<6) ^b	58 ^e
7	 153	 107	0	0
8	 142	 110	>95 (>95) ^b 39 (0) ^c	n.b.
9	 165	 102	0	0
10	 178	 105	<29 (<12) ^b	12 ^d
11	 187	 108	100 (100) ^b	n.b.

a: ¹H-NMR; b: spontane Zyklisierung in Klammern; c: UPLC-MS aufgrund geringerer Substanzmenge; d: nach Säulenchromatographie; e: nach semipräparativer HPLC.

Zusammenfassend sind in Tabelle 1 die aufgebaute Substratbibliothek, nebst anvisiertem Produkt und den im jeweiligen Enzymexperiment beobachteten Umsätzen, sowie Ausbeuten dargestellt. Es ist dabei klar zu erkennen, dass ein breites Spektrum von Verbindungen teilweise, bis nahezu vollständig, zu unterschiedlich substituierten *O*-Heterozyklen umgesetzt werden konnte. Der Umfang betrug dabei einfach, bis hin zu dreifach substituierten Heterozyklen, wobei unterschiedliche Grade von Komplexität und sterischem Anspruch an verschiedenen Positionen der Verbindungen adressiert wurden. Während einige Substrate zu einem hohen Anteil umgesetzt wurden (Einträge 1, 6), ließen sich bei weiteren lediglich geringe (Einträge 2, 3, 5, 8, 10) oder gar keine Produktausbeuten (Einträge 7, 9) beobachten. Zwei Vertreter waren hingegen so reaktiv, dass sie bereits im Puffersystem spontan zyklisierten (Einträge 4, 11).

Die vermeintlich schlechtere Akzeptanz einiger Substrate lässt sich hierbei im Wesentlichen auf die begrenzte Löslichkeit zurückführen, was besonders bei **126** (Eintrag 2) und **158** (Eintrag 3) zu beobachten war. Begünstigt wird diese Theorie dadurch, dass bei Experimenten mit substratgesättigtem Puffer ohne Bodensatz eine deutliche Steigerung der Umsätze erzielt werden konnte. Die fehlende Akzeptanz von **153** (Eintrag 7) ist auf die andere elektronische Situation des MICHAEL-Akzeptors zurückführbar. Dieser ist aufgrund der ausgeprägten Mesomerie im Oxoester, verglichen mit den Thioestern, bzw. dem Keton weniger reaktiv. Die ausgebliebene Zyklisierung von **165** (Eintrag 9) kann mit dem Aufbau der aktiven Tasche von AmbDH3 begründet werden. Wie in der Modellrechnung (Abbildung 212) zu erkennen ist, passt das Substrat zwar in den katalytisch aktiven Bereich hinein, jedoch ist der Abstand zwischen 7-OH und dem Aspartat der katalytischen Diade mit 6.5 Å, verglichen mit den 2.1 Å bei **77** deutlich erhöht. Dadurch bleibt die basische Aktivierung der 7-OH-Gruppe aus und es findet keine Reaktion statt.

Bei den Verbindungen **147** und **187** konnte ein hoher Grad spontane Zyklisierung beobachtet werden. Aufgrund der hohen Nukleophilie des Stickstoffs, beziehungsweise der stärkeren Aktivierung des MICHAEL-Akzeptorsystems, bedingt durch den Bromid-Substituenten, fanden hier die Reaktionen bereits ohne zutun von AmbDH3 statt.

Untersuchungen zur Skalierung der Enzymreaktion

Eine essentielle Eigenschaft technisch anwendbarer Biokatalysatoren ist die Skalierbarkeit derer Umsetzungen in präparative Reaktionsmaßstäbe.

Die von BERKHAN durchgeführte Untersuchung zeigte die Anwendbarkeit von AmbDH3 bis zu 250 mg (0.83 mmol)^[97] und sollte im Rahmen dieser Arbeit auf das vierfache erweitert werden und somit zeigen, dass diese Zyklisierung auch im Grammmaßstab (1.00 g \equiv 3.33 mmol) unter der Verwendung eines einzigen Reaktionsgefäßes durchgeführt werden kann.

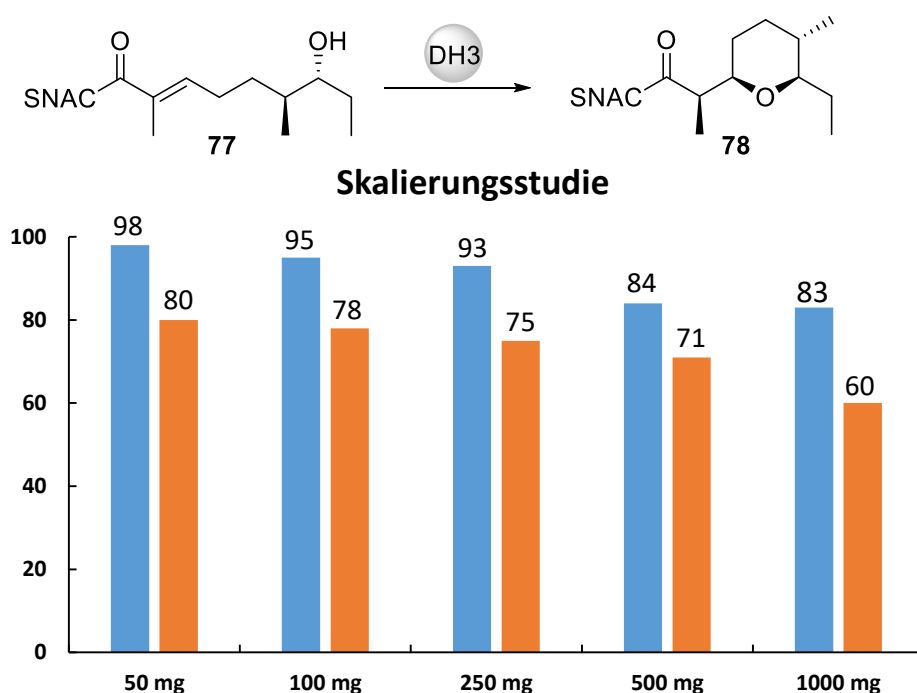


Abbildung 78: Zusammenfassung der Vorarbeiten von BERKHAN (50 – 250 mg)^[97], sowie Ergebnisse der aktuellen Studie (500 – 1000 mg). Alle Experimente wurden im angegebenen Maßstab unter ansonsten gleichen Bedingungen durchgeführt. Die zur Umsetzung verwendeten ¹H-NMR-Spektren sind der Abbildung 210 zu entnehmen. (Umsatz: blau, Ausbeute: orange)

Mit steigender Ansatzgröße nehmen sowohl Umsatz als auch isolierte Ausbeute immer weiter ab (Abbildung 78). Dieser Trend wurde bereits von BERKHAN erkannt und setzte sich in den Ergebnissen dieser Arbeit weiter fort. Bei Erhöhung des Reaktionsvolumens kann es zur Ausbildung von Temperaturgradienten oder *hot* bzw. *cool spots* kommen. Die dabei entstehenden lokalen Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit können zur Verminderung der Produktbildung führen. Durch solchen Temperaturstress können Enzyme zudem infolge von Veränderungen in ihrer Faltung an Aktivität einbüßen. Desweiteren könnte es wegen

Ergebnisdiskussion

schlechterer Durchmischung zur Ausbildung substratabgereicherter Bereiche gekommen sein, in denen ebenfalls eine verringerte Produktbildung zu erwarten ist. Ein weiterer Grund für den geringeren Umsatz ist die stärkere Präzipitation des Proteins bei größer werdender Gesamtmenge. Dadurch kommt es zum einen zu Einschlüssen (*inclusion bodies*) von Substrat, das nicht mehr zur Reaktion mit AmbDH3 zur Verfügung steht. Zum anderen wird die Isolation der Komponenten bei der Extraktion verhindert, was zur Verminderung der Gesamtausbeute des Produkts und Reisolation nicht umgesetzten Substrats führt. Um letzterem Effekt entgegenzuwirken, werden dem Reaktionsgemisch nach Beendigung der 16-stündigen Inkubation CaCl_2 und Proteinase K zugeführt. Dieses baut die *inclusion bodies* ab und setzt dabei Substrat und Produkt wieder frei. Durch einmalige Behandlung mit Proteinase K konnten so 60% isolierte Ausbeute erreicht werden. Die weiterhin vorhandene Trübung des Reaktionsgemischs legt den Schluss nah, dass eine längere Nachbehandlung die Ausbeute durchaus weiter erhöhen könnte. Nichtsdestotrotz ist es erfolgreich gelungen, den Maßstab der Zyklisierung bis auf 1.0 g eingesetzten Substrats zu erhöhen.

Kinetische Racematspaltung

Um die Untersuchungen zur kinetischen Racematspaltung mit AmbDH3 durchführen zu können, wurden zunächst definierte Substratgemische zur Inkubation hergestellt.

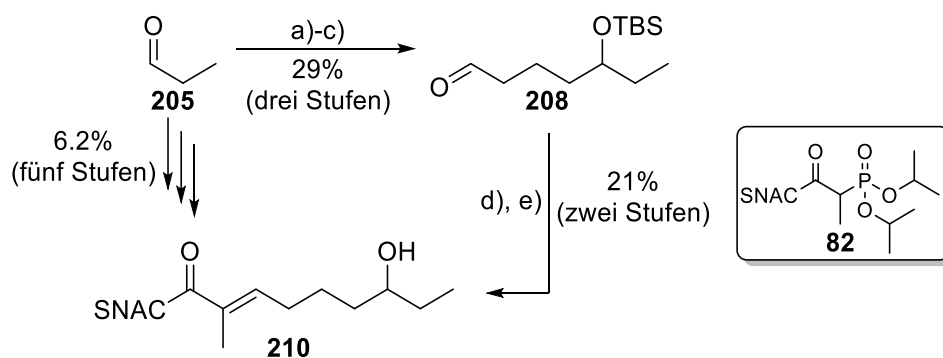


Abbildung 79: Synthese des Vorläufergemischs **210**. Bedingungen: **a)** Pent-4-en-1-ylmagnesiumbromid, Et_2O , $45\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h; **b)** 2,6-Lutidin, TBSOTf, CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, ü. N.; **c)** O_3 , PPh_3 , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 15 min; **d)** **82**, DBU, THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 48 h; **e)** PPTS, MeOH, $50\text{ }^\circ\text{C}$, ü. N.

Ergebnisdiskussion

Zum Aufbau der racemischen Verbindung **210** (Abbildung 79) wurde zunächst mit Pent-4-en-1-ylmagnesiumbromid eine GRIGNARD-Reaktion an Propionaldehyd (**205**) durchgeführt. Der daraus entstandene sekundäre Alkohol **206** wurde ohne vorherige Reinigung mit einer TBS-Schutzgruppe versehen. Das Olefin **207** wurde im Anschluss in einer Ozonolyse mit reduktiver Aufarbeitung via PPh_3 mit einer Ausbeute von 29% über drei Stufen erfolgreich zum Aldehyd **208** umgesetzt. Durch eine HWE-Reaktion mit dem Phosphonat **82** konnte das Alken **209** aufgebaut werden und die abschließende Entschützung mit PPTS setzte das Substrat **210** mit einer Gesamtausbeute von 6.2% über fünf Stufen frei.

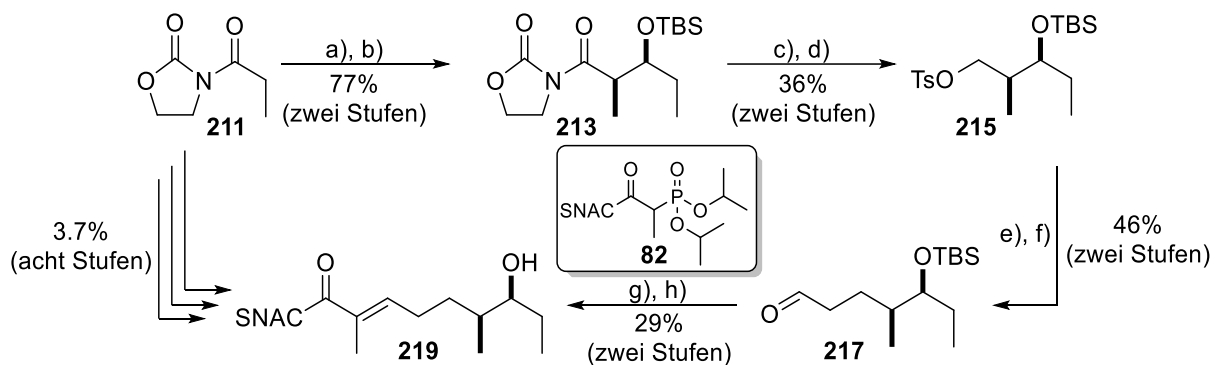


Abbildung 80: Synthese des Substrats **219**. Bedingungen: **a)** $n\text{Bu}_2\text{BOTf}$, DIPEA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min, dann Propionaldehyd, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h; **b)** TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, ü.N.; **c)** LiBH_4 , $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, ü.N.; **d)** TsCl, Pyridin, DMAP, CH_2Cl_2 , RT, 72 h; **e)** Allylmagnesiumbromid, Et_2O , Reflux, 3 h; **f)** O_3 , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, dann PPh_3 , RT, ü.N.; **g)** **82**, DBU, THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 48 h; **h)** PPTS, MeOH, $50\text{ }^\circ\text{C}$, ü.N..

Die Darstellung des racemischen Substratgemischs **219** wurde über eine Reaktionssequenz analog zur bereits diskutierten Synthese zum Aufbau von **77** realisiert (Abbildung 80). Der wesentliche Unterschied der beiden Routen besteht in der Installation der stereochemischen Information an den Positionen 6 und 7.

Ergebnisdiskussion

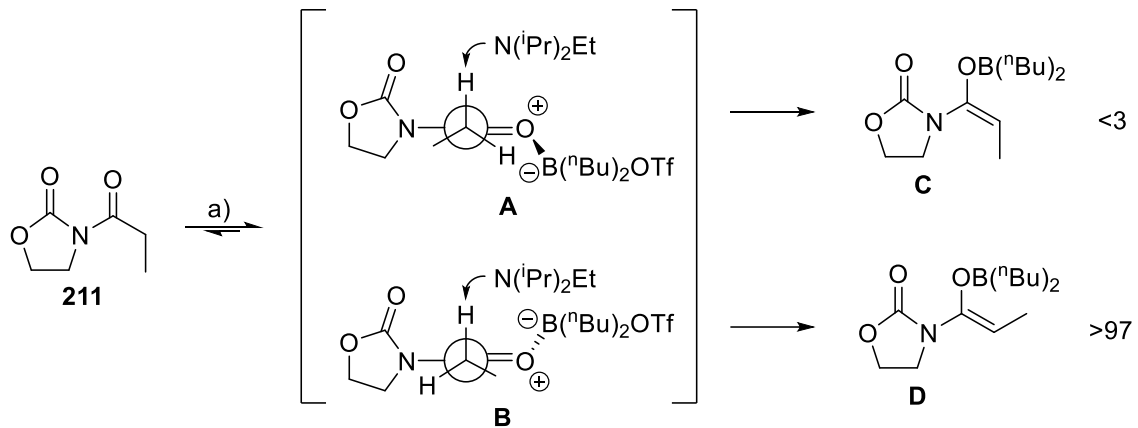


Abbildung 81: Vorzugskonfiguration des gebildeten Borenolats. a) DIPEA, $B(nBu)_2OTf$.^[112,113]

Während in Abbildung 39 eine *anti*-selektive MUKAIYAMA-Aldolreaktion unter Verwendung des OPPOLZER-Auxiliars durchgeführt wurde, begann die Synthese in Abbildung 80 mit einer *syn*-selektiven Aldolreaktion nach EVANS. Dafür wird zunächst ein Borenolat gebildet (Abbildung 81). Es können hierbei die beiden unterschiedlichen Übergangszustände **A** und **B** eingenommen werden. Da die anschließende *anti*-Deprotonierung in **B** zum *Z*-Enolat **D** kinetisch günstiger ist, wenn eine sterisch anspruchsvolle Base verwendet wird, findet diese bevorzugt statt. Zudem weicht die Base hierbei dem Oxazolidinon und den Substituenten des Borans aus.^[112,113]

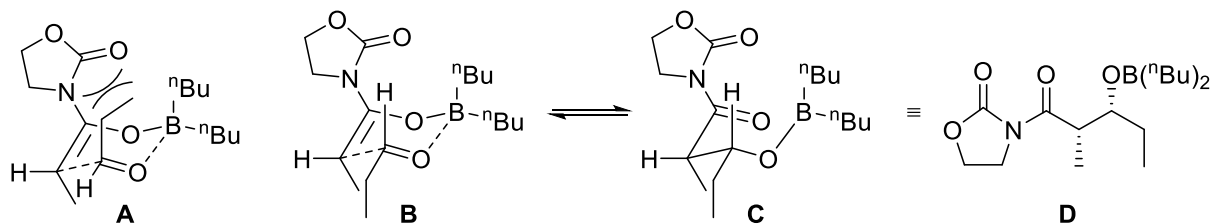


Abbildung 82: Mögliche ZIMMERMANN-TRAXLER-Übergangszustände zur *syn*-Selektivität der EVANS-Aldolreaktion.^[112]

In Abbildung 82 ist der Übergangszustand der EVANS-Aldolreaktion am bevorzugt gebildeten *Z*-Enolat dargestellt. Wegen der 1,3-diaxiale Abstoßung zwischen dem Oxazolidinon und dem axial positionierten Et-Substituenten des Aldehyds in **A** kommt es hauptsächlich zur Ausbildung des Übergangszustands **B** mit dem Et-Substituenten des Aldehyds in äquatorialer Position.^[112] Nach erfolgter Reaktion entsteht im gezeigten Beispiel das *syn*-Aldolprodukt.

Aufgrund des fehlenden Substituenten an der 2-Position im propionierten Oxazolidinon **211** wird beim nukleophilen Angriff keine Molekülseite sterisch bevorzugt, wodurch es zur Ausbildung des Racemats kommt. Nach Durchführung der gezeigten Synthesesequenz (Abbildung 80), wurde das Substratgemisch **219** mit einer Gesamtausbeute von 3.7% über acht Stufen erhalten.

Während das Substratgemisch **210** bereits als Racemat vorlag, mussten im Fall der hergestellten Isomere von **77** zunächst definierte Isomerenverhältnisse eingestellt werden. Die Methode, die dafür verfolgt wurde, basierte auf der Mischung der Verbindungen, bis ein bestimmtes Isomerenverhältnis erreicht wurde. Die Verbindung (*6R,7S*)-**77** wurde freundlicherweise von BERKHAN zur Verfügung gestellt. Es wurden mehrere Gemische mit erkennbar unterschiedlichen Anteilen der vier Stereoisomere hergestellt.

Die aufsummierte Gesamtkonzentration aller Isomere betrug dabei im Fall von **110** 2 mM und bei den **77**-enthaltenen Versuchen jeweils 4 mM. Die aus den entsprechenden Racemat-spaltungen erhaltenen Substanzgemische wurden zunächst *via* chiraler HPLC, sowie ¹H-NMR analysiert, um die entstandenen Produktverhältnisse zu bestimmen und in Relation zu den eingesetzten Substratverhältnissen zu setzen.

Die Untersuchungen *via* chiraler HPLC konnte mit den Verbindungen **77** lediglich qualitativ angewandt werden, da die Überlagerung der Signale zweier Isomere zu beobachten war, weshalb eine Quantifizierung nicht möglich war. Die Aufspaltung der Signale des an C6 nicht verzweigten Substrats **210** waren hingegen vollständig und wurden daher zur Bestimmung des Isomerenverhältnisses verwendet.

Ergebnisdiskussion

Tabelle 2: Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse zur kinetischen Racematspaltung der beiden Substratgemische **210** (R = H) und **77** (R = Me).

Stereoisomere 210 [%]		Umsatz zu 220 [%] ^b	Produktverhältnis ^b	
# ^a	7 <i>R</i>	7 <i>S</i>	$\Sigma[(7R) + (7S)]$	(7 <i>R</i>)/(7 <i>S</i>)
1	50	50	47	>95:<5

Stereoisomere 77 [%]				Umsatz zu 78 [%] ^b	Produktverhältnis ^b		
# ^a	6 <i>S</i> ,7 <i>R</i>	6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>	6 <i>S</i> ,7 <i>S</i>	6 <i>R</i> ,7 <i>S</i>	$\Sigma[(6S,7R) + (6R,7R)]$	(6 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)/(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>)	<i>pr/sr</i> ^c
2	50	0	0	50	41	>95:<5	n.b.
3	13	37	37	13	15	73:27	8.1
4	30	30	30	10	32	90:10	9.1
5	10	30	30	30	12	74:26	8.4
6	26	24	24	26	23	90:10	8.5

a: Die aufsummierten Konzentrationen der jeweils eingesetzten Stereoisomere ergaben eine Gesamtkonzentration von 2 mM (**210**) und 4 mM (**77**). b: Der Umsatz der einzelnen Stereoisomere in der Umsetzung nach **78** wurde *via* chiraler HPLC qualitativ abgeschätzt. Der Gesamtumsatz und die Verhältnisse der zyklischen Stereoisomere von **78** und **220** wurden *via* ¹H-NMR bestimmt. c: n.b.: nicht bestimmt; *pr*: *product ratio*, Produktverhältnis (6*S*,7*R*)-**77**/(6*R*,7*R*)-**77** im Rohprodukt; *sr*: *substrate ratio*, Substratverhältnis (6*S*,7*R*)-**77**/(6*R*,7*R*)-**77** im Startmaterial.

Nach Umsetzung von **210** mit AmbDH3 zeigte sich eine beinahe vollständige Umsetzung des (7*R*)-Isomers unter praktisch ausschließlicher Bildung eines einzigen Stereoisomers (Tabelle 2, Eintrag 1).

Die Übertragung dieses vereinfachten Systems auf das komplexere Substrat **77**, erforderte zur aussagekräftigen Bestimmung der Einsetzbarkeit mehrere, voneinander unterschiedliche Isomerenmischungen (Einträge 2-6). Neben beinahe racemischen Gemischen (Einträge 2, 6) wurden zusätzlich isomerenangereicherte Vierkomponentenmischungen (Einträge 3-5) getestet. Die in Spalte „*pr/sr*“ in Tabelle 2 gezeigten Werte stellen ein Maß für die Selektivität der Reaktion dar. Je höher dieser Wert ist, desto selektiver wurde ein Stereoisomer gebildet. Es ist eindeutig zu erkennen, dass bei jedem eingesetzten Isomerenverhältnis, analog zu den

Ergebnissen der Substratspezifitätsstudie, das Hauptprodukt (6*S*,7*R*)-**78** war und nur relativ geringe Mengen des Stereoisomers (6*R*,7*R*)-**78** erhalten wurde. Das Verhältnis zwischen Produkten und Edukten lag durchgehend im sehr guten Bereich zwischen 8.1 und 9.1, was anzeigt, wieviel besser das hauptsächlich umgesetzte Stereoisomer gegenüber des nebenproduktbildenden Isomers akzeptiert und umgesetzt wurde. Hierbei spielte es keine Rolle, ob das hauptsächlich umgesetzte Stereoisomer (6*S*,7*R*)-**77** äquimolar eingesetzt wurde oder ob es das Überschuss- oder lediglich das Unterschussisomer darstellte. Im Fall der Verbindung *rac-anti*-**77** konnte analog zum Experiment mit der Verbindung **210** eine praktisch vollständige Bevorzugung des (7*R*)-Isomers beobachtet werden (Eintrag 2).

Die gezeigten Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass Substratsurrogate mit (7*S*)-Konfiguration absolut und mit (6*R*,7*R*)-Konfiguration teilweise diskriminiert werden. Gestützt wird dies zusätzlich von den in Abbildung 212 dargestellten Modellierungen. Aufgrund verschiedener Orientierungen der Substratsurrogate kommt es zu signifikanten Unterschieden in den für die katalytische Aktivität wichtigen Distanzen im Substrat sowie zwischen Substrat und Aminosäureseitenketten (Tabelle 6). Bei Verbindung (6*R*,7*R*)-**77** führt der höhere Abstand D215-7-OH (2.6 Å) zur verringerten Aktivierung des Nukleophils im Vergleich zu (6*S*,7*R*)-**77** (2.1 Å). Zusätzlich hierzu ist das Nukleophil deutlich weiter vom Elektrophil entfernt (7-OH-C3: (6*R*,7*R*)-**77** 4.9 Å, (6*S*,7*R*)-**77** 3.6 Å), wodurch die Möglichkeit zur Zyklisierung zusätzlich vermindert wird. Im Kontrast dazu ist das Nukleophil bei (6*S*,7*S*)-**77** zwar wieder etwas näher am Elektrophil (7-OH-C3: 3.9 Å), jedoch verhindert der Abstand D215-7-OH (6.2 Å) die notwendige Aktivierung des Nukleophils und die Zyklisierung bleibt aus.

Die ausführliche Darstellung aller für die Auswertung der Racematspaltungen aufgenommenener UPLC-MS-Chromatogramme und ¹H-NMR-Spektren sind der Literatur zu entnehmen.^[110]

Totalsynthese (-)-*Centrolobin*

Basierend auf der breiten Substrattolleranz von AmbDH3 und der erfolgreich durchgeführten kinetischen Racematspaltungen wurde abschließend die chemoenzymatischen Totalsynthese des Diarylheptanoids (-)-*Centrolobin* (**59**) angestrebt. AmbDH3 sollte dabei den Ringschluss unter zeitgleicher kinetischer Racematspaltung durchführen. Dadurch sollte der zusätzliche Einsatz stereoselektiver organisch-chemischer Syntheseschritte zum Aufbau der Stereozentren umgangen und eine kurze Syntheseroute gewährleistet werden.

Ergebnisdiskussion

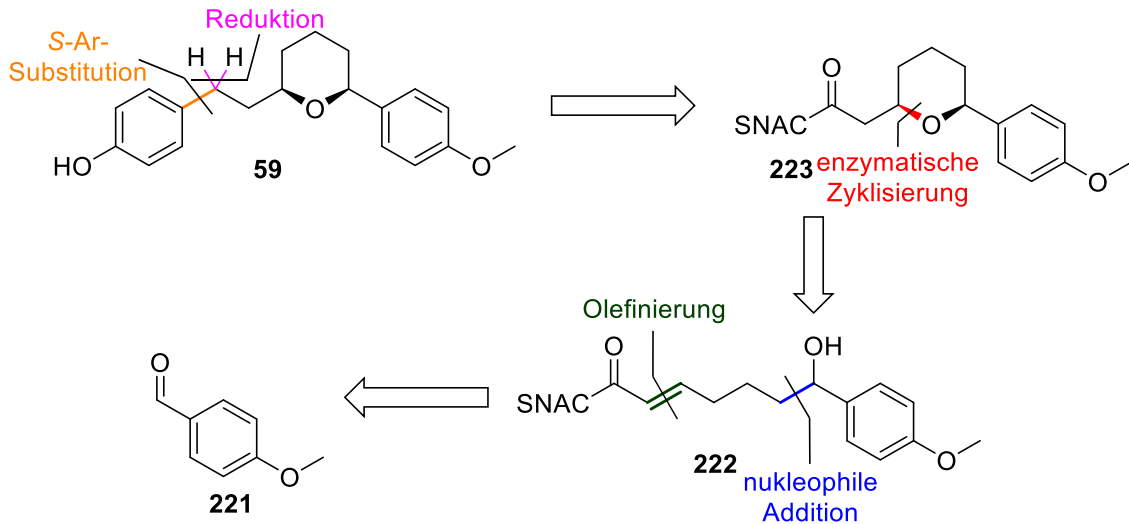


Abbildung 83: Retrosynthetische Planung der chemoenzymatischen Totalsynthese von (-)-Centrolobin (**59**).

(-)-Centrolobin (**59**) sollte nach *S*-Ar-Substitution und reduktiver Deoxygenierung aus **223** dargestellt werden. Die Synthese von **223** sollte durch den Einsatz von AmbDH3 unter kinetischer Racematspaltung stattfinden. Das Rückgrad des Vorläufer **222** sollte durch nukleophile Addition mit anschließender Olefinierung zugänglich gemacht werden (Abbildung 83).

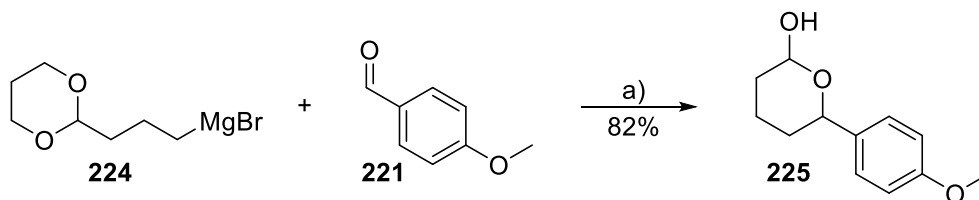


Abbildung 84: Synthese des Lactols **225** via GRIGNARD-Reaktion. Bedingungen: a) THF, 2 h, rt, dann Salzsäure (1.5 M), 3.5 h, dann neutralisieren.

Im ersten Reaktionsschritt wurde kommerziell erhältlicher Anisaldehyd (**221**) in einer Additionsreaktion mit (3-(1,3-Dioxan-2-yl)propyl)magnesiumbromid (**224**) als Nukleophil umgesetzt (Abbildung 84). Dabei entstand zunächst das dioxangeschützten sekundäre Alkoholat. Bei der sauren wässrigen Aufarbeitung dieses Zwischenprodukts wurde die Acetalschutzgruppe abgespalten und das Lactol freigesetzt. Die genaue Einhaltung der Prozedur war hierbei von äußerster Wichtigkeit, da sowohl bei zu langer Laufzeit als auch zu

Ergebnisdiskussion

geringem pH-Wert bei Aufarbeitung und Extraktion teilweise, bis hin zu vollständige Zersetzung beobachtet wurde.

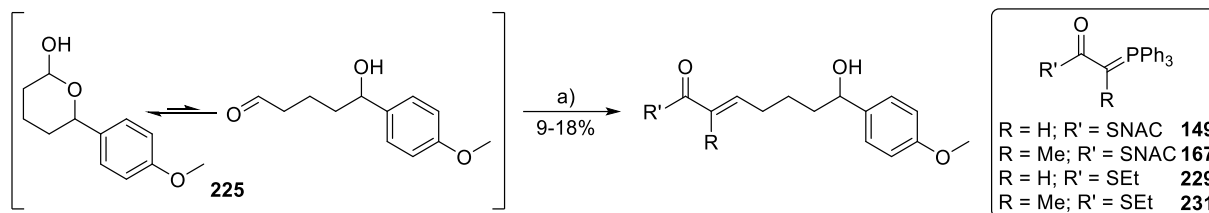


Abbildung 85: Ringöffnung des Lactols **225** via WITTIG-Olefinierung. Bedingungen: a) **149/167/229/231**, Toluol, 100 °C, 24 h; R = H, Me, R' = SEt, SNAC.

Die Öffnung des Lactols *via* WITTIG-Olefinierung gestaltete sich schwieriger, als zunächst erwartet (Abbildung 85). Für analoge Reaktionen mit esterhaltigen Ylenen wurden bereits einige Vorschriften publiziert, welche sich jedoch in den ersten Versuchen als nicht zielführend herausgestellt haben.^[114–116] Sowohl der Einsatz des SNAC-, als auch SEt-haltigen Ylens ergab bei Raumtemperatur in CH₂Cl₂ keine merkliche Umsetzung. Auch die Erhöhung der Temperatur, sowie die Verwendung von THF als koordinierendes Lösemittel brachten keine besseren Ergebnisse. Erst der Wechsel des Lösemittels auf Toluol und der damit einhergehenden Temperaturerhöhung auf 100 °C ergab die gewünschte Reaktivität der eingesetzten Edukte. Grund hierfür kann sein, dass sich das Lactol aufgrund seines sechsgliedrigen Rings stabilisiert und nur ein sehr geringer Anteil in der aldehydischen Form befindet.

Die Entfernung des als Nebenprodukt entstandenen Triphenylphosphinoxids stellte nach erfolgter Reaktion eine weitere Herausforderung dar. Sowohl Flashchromatographie, als auch Fällungsmethoden erzielten keine zufriedenstellende Trennung. Erst die Kombination aus säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel und anschließender, mehrfacher semipräparativer HPLC, unter Verwendung stoffspezifischer Gradientenprogramme ermöglichte die Isolierung der jeweiligen Substrate mit ausgezeichneten *E/Z*-Verhältnissen ($\geq 13.5:1$), wenngleich in geringen Ausbeuten von 3-9%. Möglicherweise kam es durch die nötigen erhöhten Temperaturen zu ungewünschten Zersetzungsreaktionen, für die die deutlich als Mehrkomponentengemisch definierbaren ¹H-NMR-Spektren der jeweiligen Rohprodukte ein Hinweis sein können.

Ergebnisdiskussion

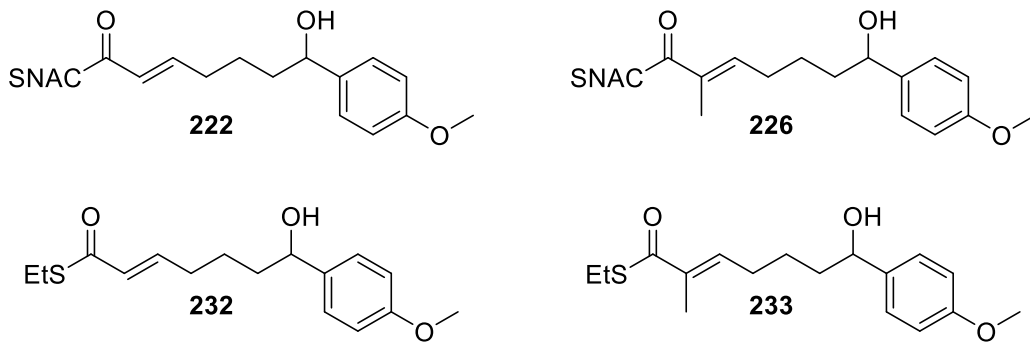


Abbildung 86: Übersicht der dargestellten Substratsurrogate für die Umsetzung mit AmbDH3.

Die aus dieser variabel einsetzbaren Reaktionssequenz erhaltenen racemischen Substratsurrogate sind zusammenfassend in Abbildung 86 dargestellt. Zur Untersuchung verschiedener Derivate, wurden neben dem (-)-Centrolobinvorläufer **222** das 2-Me-Derivat **226**, sowie die jeweiligen SEt-Derivate **232** und **233** dargestellt. Letztere brächten bei erfolgreicher Umsetzung mit AmbDH3 mehrere Vorteile mit sich. Zum einen war die Herstellung, sowie Reinigung deutlich einfacher, da sowohl die WITTIG-Olefinierung mit höherem Umsatz ablief als auch die Retentionszeit stärker vom Koppelprodukt Triphenylphosphinoxid abwich. Zum anderen ging auch der Zugang der jeweiligen SEt-haltigen WITTIG-Reagenzien mit deutlich höherer Ausbeute und einfacherer Reaktionsführung, verglichen mit den SNAC-Analoga, einher.

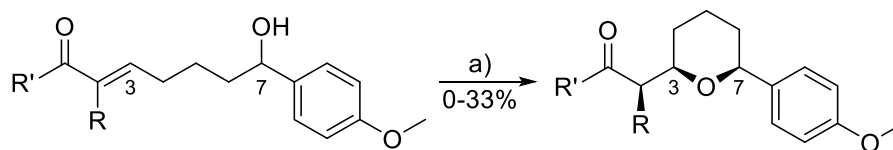


Abbildung 87: Allgemeine Darstellung der AmbDH3-katalysierten O-MICHAEL-Addition. Bedingungen: AmbDH3 (5.0 mg/mL in HEPES-Puffer), 10 mg Substrat (4 mM Endkonzentration), 37 °C, 16 h; R = H, Me; R' = SEt, SNAC.

Die so erhaltenen vier unterschiedlichen Substrate wurden anschließend in der Inkubation mit AmbDH3 eingesetzt (Abbildung 87). Hierbei wurde zunächst das jeweilige Substrat vorgelegt, mit AmbDH3-haltigem HEPES-Puffer versetzt und anschließend bei 37 °C für 16 h inkubiert.

Ergebnisdiskussion

Die Ansatzgröße des ersten Tests betrug dabei 10 mg. Zur Umsatzbestimmung wurden nach dem Assay $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Rohprodukte aufgenommen.

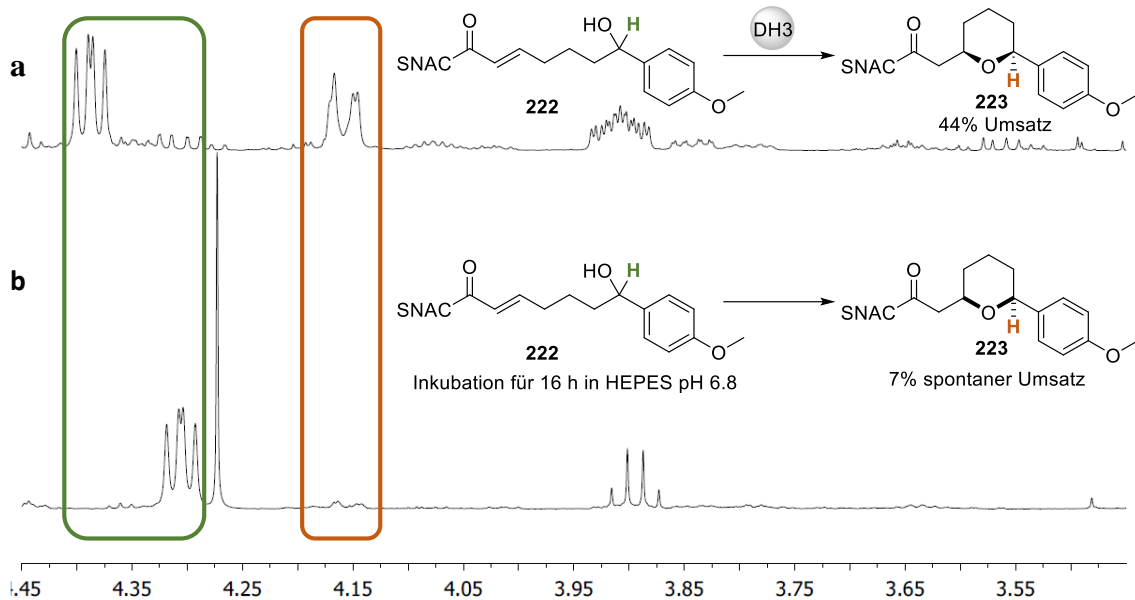


Abbildung 88: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der Umsetzung von **222** (a, oben) mit AmbDH3 und (b, unten) ohne AmbDH3. Hervorgehoben ist der zur Umsatzbestimmung verwendete chemische Verschiebungsbereich. Für das vollständige $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum siehe Abbildung 206.

Der Vergleich der enzymatischen Umsetzung von **222** und der proteinfreien Inkubation (Abbildung 88) zeigt, dass das Substrat erfolgreich in hohem Maße von AmbDH3 akzeptiert wurde. Der Umsatz betrug mit 44%, da es neben der reinen Umsetzung auch eine kinetische Racematspaltung durchgeführt wurde, beinahe das theoretische Maximum von 50%. Die isolierte Ausbeute betrug 33%. Mit 7% ist lediglich ein geringer Anteil unter den gewählten Assaybedingungen spontan zyklisiert. Dies würde bezogen auf die 44% Umsatz und unter Voraussetzung, dass der thioesterhaltige Substituent die energetisch bevorzugte äquatoriale Ausrichtung einnimmt, einem maximalen Isomerenverhältnis von 96.5:3.5 ($3R,7S:3S,7R$) entsprechen. Dieses erfolgreich durchgeführte Experiment machte den Weg frei für die letzten beiden notwendigen Reaktionsschritte hin zum angestrebten (-)-*Centrolobin* (**59**). Bevor diese letzten Stufen in Angriff genommen wurden, lag der Fokus jedoch zunächst auf der Übertragung dieses Ergebnisses hinsichtlich weiterer (-)-*Centrolobin*-derivate, alternativer und tendenziell besser herstellbarer Substrate, sowie Verbesserungsversuche der enzymatischen Umsetzungen.

Ergebnisdiskussion

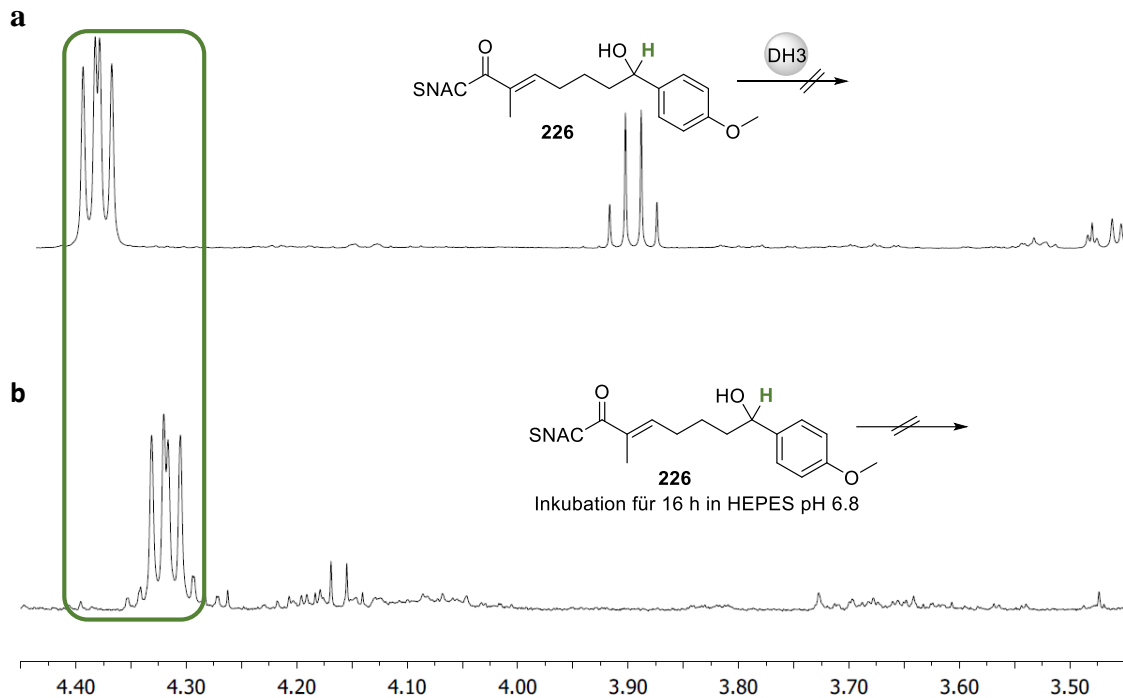


Abbildung 89: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz) der Umsetzung von **226** (A) mit AmbDH3 und (B) ohne AmbDH3. Hervorgehoben ist der zur Umsatzbestimmung verwendete chemische Verschiebungsbereich. Für das vollständige ¹H-NMR-Spektrum siehe Abbildung 207.

Für einen ersten Derivatisierungsversuch wurde die Verbindung **226** mit AmbDH3 inkubiert und parallel ein mögliche sponane Zyklisierung *via* enzymfreiem Kontrollexperiment überprüft. Anhand der in Abbildung 89 dargestellten ¹H-NMR-Spektren ist zu erkennen, dass es weder während der Enzymumsetzung noch bei der Negativkontrolle zur Produktbildung gekommen ist.

Auf den ersten Blick scheinen sich die Verbindung **226** und das von AmbDH3 in ausgezeichnetem Maß umgesetzte Substratsurrogat **118** nur in geringem Maße voneinander zu unterscheiden und doch wird eines umgesetzt und das andere nicht. Grund hierfür könnte sein, dass es sich bei den aromatischen Substituenten um sterisch anspruchsvolle, rigide Strukturen handelt, die sich im Gegensatz zu Alkylketten (siehe Modellierung von **126** in der aktiven Tasche von AmbDH3 in Abbildung 212) nicht frei im Raum umorientieren können. Während der Phenylring des Substrats **118** eine zyklisierbare Ausrichtung des Rückgrats zulässt, könnte der zusätzliche 4-OMe-Substituent in **226** zur Kollision mit einem Aminosäurerest führen, woraufhin sich die Konformation des Substrats in der aktiven Tasche dahingehend ändert, dass eine Zyklisierung nicht mehr möglich ist. Zudem ist auch eine geringere Reaktivität des Doppelbindungssystems aufgrund erhöhter Elektronendichte durch die Methylgruppe denkbar.

Ergebnisdiskussion

Dass **222** trotz des identischen 7-Substituenten dennoch umgesetzt wurde folgt einem Trend, der bereits an anderer Stelle gezeigt werden konnte. Die Ausrichtung des Substrats in der aktiven Tasche hängt nämlich nicht nur vom Substituenten an Position 7 ab, sondern kann zusätzlich signifikant von der 2-Position beeinflusst werden. Wie bereits beschrieben wurde, konnte bei der Inkubation von **194** ein sehr guter Umsatz (72%) bei nur minimaler spontaner Zyklisierung (<6%) beobachtet werden. Die analoge, methylierte Verbindung **199** konnte jedoch lediglich zu 32% umgesetzt werden. Hier führte die Substitution in 2-Position dazu, dass sich das Rückgrat des Substrats umgelagert hat und sich somit die für die erfolgreiche Umsetzung wichtigen Wasserstoffbrücken in ihrer Länge teilweise zum negativen verändert haben. Zusätzlich zur sich unterscheidenden Orientierung in der aktiven Tasche ist die elektronische Situation innerhalb des MICHAEL-Akzeptors zu betrachten. Durch die Methylsubstitution ist die Elektronendichte in der Doppelbindung erhöht und diese damit weniger elektrophil, was zu geringeren Umsätzen führen kann. Ein ähnliches Verhalten könnte im Fall **222** vs. **226** zum vollständigen Einbruch der Aktivität geführt haben.

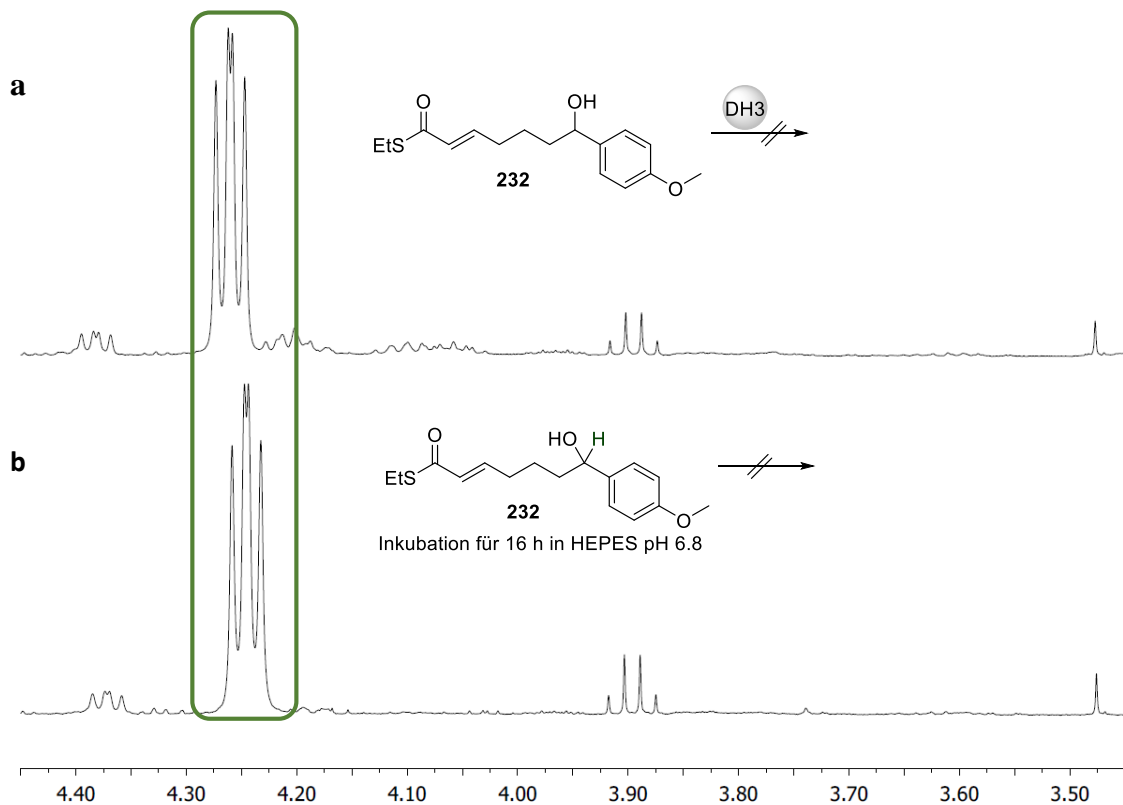


Abbildung 90: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz) der Umsetzung von **232** (a, oben) mit AmbDH3 und (b, unten) ohne AmbDH3. Hervorgehoben ist der zur Umsatzbestimmung verwendete Verschiebungsbereich. Das vollständige ¹H-NMR-Spektrum ist der Abbildung 208 zu entnehmen. Das Signal bei 4.37 ppm wurde dem Z-Isomer zugeordnet.

Ergebnisdiskussion

Die Übertragung auf das dargestellten Substratsurrogat **232** gestaltete sich als schwierig. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Negativexperiments ist zwar zu erkennen, dass das Substratsurrogat zu keinerlei spontaner Zyklisierung neigt, allerdings ist auch nach der enzymatischen Umsetzung keine Veränderung zu sehen, die auf den gezielten Aufbau des THP-Rings hindeutet (Abbildung 90). Die signifikant herabgesetzte Löslichkeit von **232** ist der ausschlaggebende Punkt für die fehlende Zyklisierungsaktivität. Aufgrund des kleinen Et-Substituenten in **161** lässt sich diese Verbindung zu einem geringen Teil in die wässrige Phase überführen, wohingegen der große aromatische Rest bei gleichzeitiger Abwesenheit des löslichkeitsverbessernden SNAC-Thioesters zur extremen Konzentrationsverminderung im wässrigen Puffer geführt hat. Dies war bereits während der Durchführung des Experiments durch die permanente Anwesenheit kleiner Öltröpfchen auf der Oberfläche des Puffers ersichtlich.

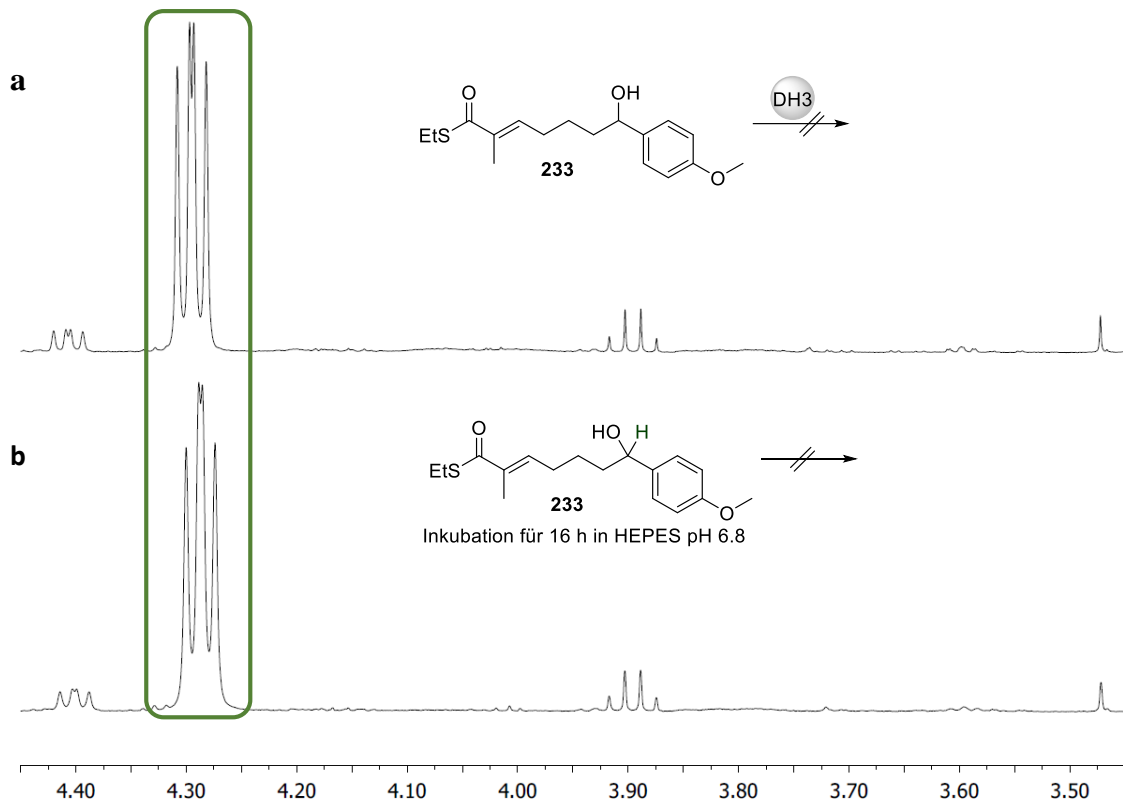


Abbildung 91: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz) der Umsetzung des Substratsurrogats **233** (a, oben) mit AmbDH3 und (b, unten) ohne AmbDH3. Hervorgehoben ist der zur Umsatzbestimmung verwendete Verschiebungsbereich. Das vollständige $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist der Abbildung 209 zu entnehmen. Das Signal bei 4.40 ppm wurde dem Z-Isomer zugeordnet.

Ergebnisdiskussion

Analog zu **232** konnte auch bei **233** kein Umsatz beobachtet werden. Sowohl das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Negativexperiments, als auch der Inkubation mit AmbDH3 zeigten nach Extraktion mit EtOAc lediglich das eingesetzte Substrat (Abbildung 91). Auch in diesem Beispiel spielt die äußerst begrenzte Löslichkeit im verwendeten Puffersystem die ausschlaggebende Rolle für die fehlende Umsetzung zum THP-Ring.

In Anlehnung an die beschriebene Skalierungsstudie wurde der Versuch unternommen, den Umsatz und die daran gekoppelte Ausbeute zu erhöhen. Beim Wechsel der Dargeichungsform der katalytischen Domäne von gereinigtem Protein zum Zellysats sank der Umsatz jedoch signifikant auf 34%. Möglicherweise befand sich im nicht gereinigten Lysat ein geringerer Anteil AmbDH3, was zur Erniedrigung der Katalysatorbeladung geführt haben könnte. Alternativ könnte es auch im erhöhten Grad ausgefallener Proteine beim Einsatz des Zellysats begründet sein. Dies würde zum Einschluss des Substrats führen und dieses somit für den Zugang des Proteins unzugänglich machen.

Die unter identischen Bedingungen durchgeführten Versuche mit den Substratsurrogaten zeigten analog zu den Experimenten mit gereinigtem Protein keine nennenswerten Umsätze.

Zur Installation des zweiten aromatischen Substituenten wurde aufgrund der hohen Verfügbarkeit zunächst auf **78** als Beispielsystem für Testreaktionen zurückgegriffen. Zusätzlich wurde Phenylmagnesiumbromid statt eines Phenolderivats verwendet.

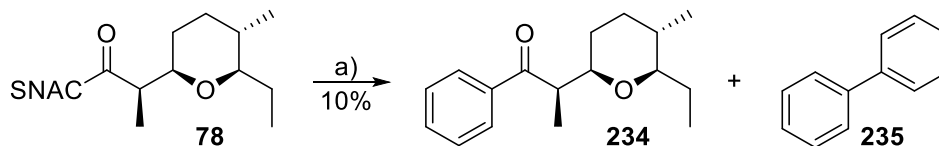


Abbildung 92: Substitution des SNAC- durch einen aromatischen Substituenten. Bedingungen: a) PhMgBr , $\text{Fe}(\text{acac})_3$, THF, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h.

Zunächst wurde eine Reaktion, basierend auf Arbeiten von OPPOLZER *et al.* durchgeführt.^[117] Sie hatten gezeigt, dass sich Substitutionsreaktionen von Magnesiumorganylen an Thioester bei niedrigen Temperaturen unter Fe(III)-Katalyse selektiv auf Stufe des Ketons beenden lassen können. Basierend darauf wurde die in Abbildung 92 dargestellte Synthese untersucht. Die angegebenen Reaktionsbedingungen führten mit 10% Ausbeute unter Reisolierung des nicht

Ergebnisdiskussion

reagierten Edukts zum ersten Erfolg. Während der Reaktion wurde jedoch zusätzlich die Bildung des Homodimers **235** beobachtet.

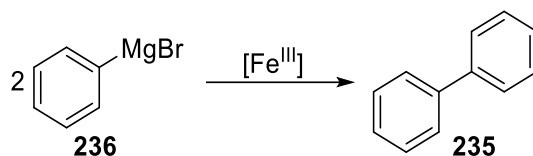


Abbildung 93: Beobachtete Reaktion, die zum rapiden Abbau des eingesetzten Phenylmagnesiumbromids **236** führte.

Dabei führt die Behandlung von Phenylmagnesiumbromid mit $Fe(acac)_3$ binnen kürzester Zeit zur Ausbildung des Biphenyls **235** (Abbildung 93). Diese Homodimerisierung wurde bereits von LEFÈVRE *et al.*^[118] beschrieben. Aufgrund dieser hauptsächlich ablaufenden Reaktion wurde der Ansatz verworfen.

Eine alternative, ebenfalls auf Magnesiumorganyle basierende Synthesemethode für Ketone ist der Weg über ein korrespondierendes Weinrebamid.

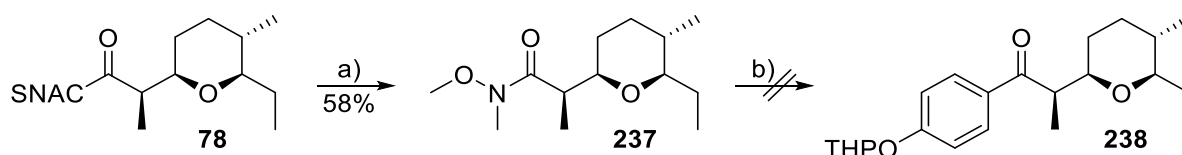


Abbildung 94: Zweite untersuchte Route zum Keton **238**, hier unter Verwendung des Weinrebamids **237** als Zwischenstufe. Bedingungen: a) $(MeO)MeNH_2Cl$, $iPrMgCl$, THF, $-78\text{ }^\circ C$, 1 h, dann $0\text{ }^\circ C$, 5 h; b) $(4-((Tetrahydro-2H\text{-}pyran-2\text{-}yl)oxy)phenyl)magnesiumbromid$, THF, $50\text{ }^\circ C$, 2 h.

Der Aufbau des Weinrebamids **237** verlief ohne Probleme unter Verwendung eines Systems aus $(MeO)MeNH_2Cl$ und $iPrMgCl$ in THF mit einer Ausbeute von 58%. Der zweite Schritt dieser Sequenz stellte sich jedoch als weniger erfolgreich heraus. Der Versuch das Weinrebamid **237** *via* Substitution mit $(4-((Tetrahydro-2H\text{-}pyran-2\text{-}yl)oxy)phenyl)magnesiumbromid$ in das Keton **238** zu überführen führte lediglich zur Reisolierung des Eduktes.

Durch die sterisch anspruchsvollen Substituenten beider Reaktionspartner könnte die Aktivierungsenergie der Reaktion zu hoch gewesen sein, sodass $50\text{ }^\circ C$ nicht ausgereicht haben

Ergebnisdiskussion

könnten. Zudem könnte es zu unerwünschter Komplexierung durch die THP-Ringe gekommen sein. Aufgrunddessen wurde auch diese Reaktionssequenz zum Erhalt des Ketons **238** verworfen.

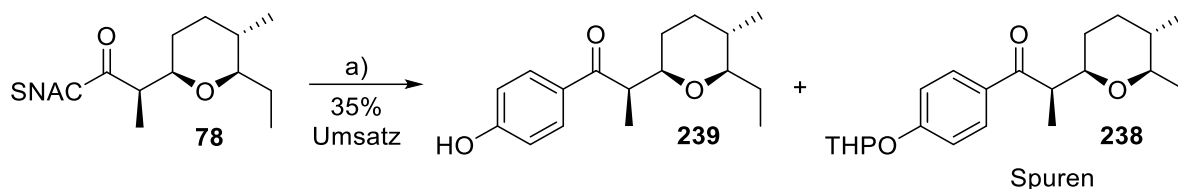


Abbildung 95: Kreuzkupplung nach LIEBSEKIND-SROGL am Testsystem zum Aufbau von **239**. Bedingungen: a) (4-((Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)phenyl)boronsäure (**240**), CuTC, Pd₂dba₃ · CHCl₃, P(*o*-Furyl)₃, THF, 50 °C, 18 h.

Die Lösung der Reaktivitätsproblematik war die LIEBSEKIND-SROGL-Kreuzkupplung. Schwefelhaltige Substituenten komplexieren sehr häufig metallbasierte Komponenten eines Systems aufgrund ihrer Thiophilie und diese verlieren daraufhin stark an Aktivität oder werden gar unbrauchbar gemacht. Der in Abbildung 95 gezeigten Reaktion wird daher ein Kupfersalz zugesetzt, welches als Abfangreagenz für die freiwerdende Schwefelspezies fungiert.

Ergebnisdiskussion

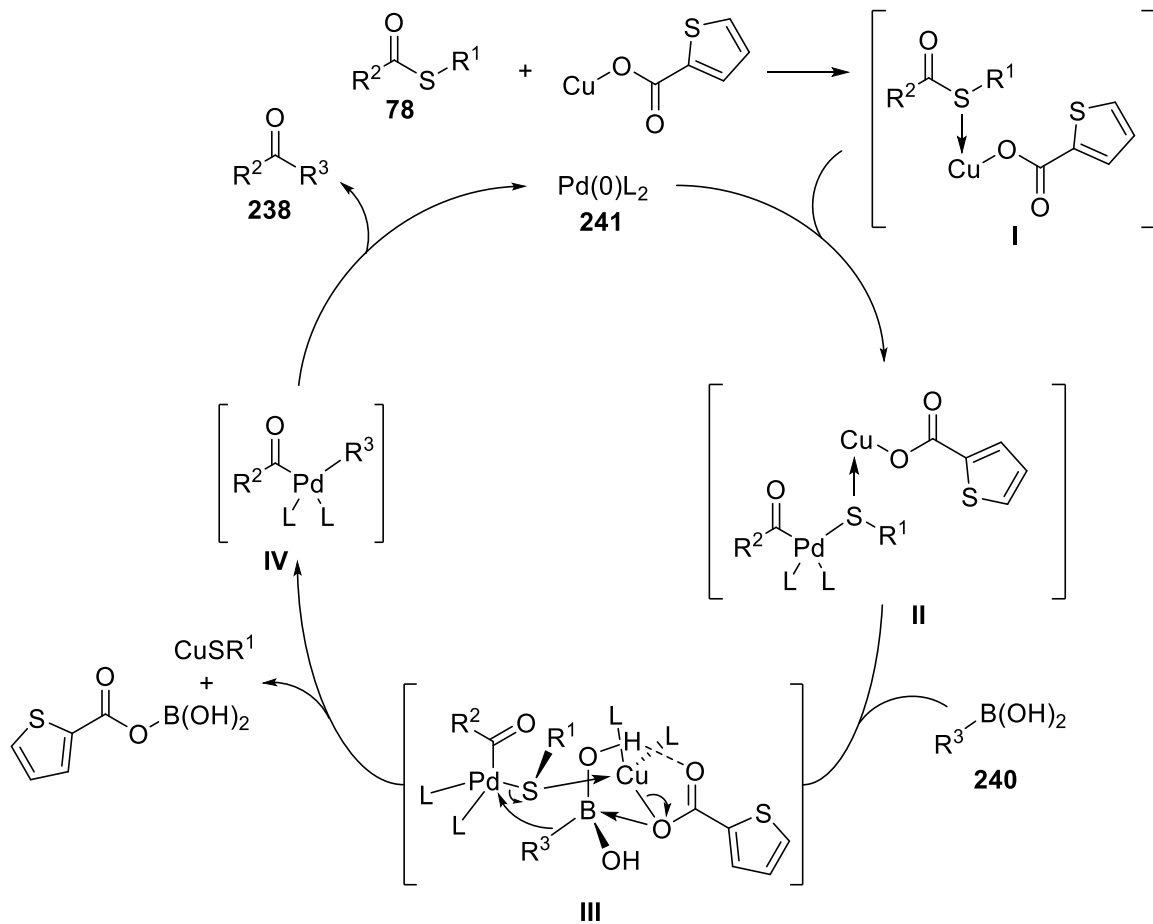


Abbildung 96: Katalysezyklus der Kreuzkupplung nach LIEBESKIND-SROGL (R¹ = (CH₂)₂NHAc, R² = 2-THP, R³ = 4-THPOPh).^[118]

Der Mechanismus dieser Kreuzkupplung ist in Abbildung 96 dargestellt. Der Schwefel des Thioesters **78** koordiniert zunächst an der eingesetzten Cu(I)-Spezies und bildet den Komplex **I** aus. Durch die so induzierte Aktivierung der C-S-Bindung ist es dem Pd(0)-Präkatalysator **241** möglich im Rahmen einer oxidativen Addition in diese Bindung zu insertieren und den intermediären Pd(II)-Komplex **II** auszubilden. Nach zusätzlicher Koordination der eingesetzten Boronsäure **240**, wird der pseudo-sechsgliedrige Übergangszustand **III** eingenommen, welcher schließlich durch konzertierte Elektronenverschiebung zerfällt und es dabei zur Übertragung des ursprünglich B-gebundenen Aromaten auf das Pd(II)-Zentrum, der Ausbildung eines Komplexes aus S-Substituenten und Cu(I)-Kation, sowie der Bindung des Thiophencarboxylatsubstituenten an die Borspezies kommt. Der gebildete Pd(II)-Komplex **IV** reagiert in Folge dessen in einer reduktiven Eliminierung weiter und setzt dabei unter Regeneration des Präkatalysators **241** das Keton **238** frei und der Katalysezyklus beginnt von neuem.^[118]

Ergebnisdiskussion

Der erste darauf basierende Darstellungsversuch am etablierten Testsystem **78** zeigte bereits einen Umsatz von 35%, zudem wurde beobachtet, dass die säurelabile THP-Schutzgruppe, welche über die verwendete Boronsäure in die Reaktion eingebracht wurde und im finalen Produkt nicht auftauchen soll, während der wässrig sauren Aufarbeitung größtenteils abgespalten wurde und nur noch Spuren der THP-geschützten Verbindung **238** identifiziert werden konnten. Erwähnenswert ist zudem, dass lediglich ein Stereoisomer erhalten wurde. Als Indiz dafür dient, dass das nah an der Reaktionsstelle befindliche Stereozentrum im Zuge der durchgeführten Synthese unberührt und auch der THP-Ring konfigurationsstabil blieb.

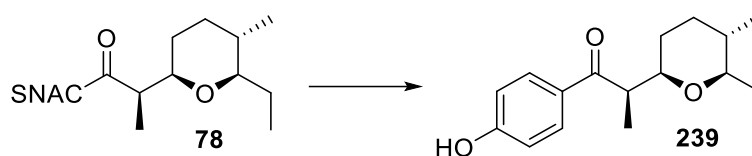


Tabelle 3: Zusammenfassung der Optimierung der Kreuzkupplung nach LIEBESKIND-SROGL.

#	CuTC [Äq.]	Pd ₂ dba ₃ [mol%]	P(<i>o</i> -Furyl) ₃ [mol%]	240 [Äq.]	Laufzeit [h]	HCl [min]	Umsatz [%]	Anmerkung
1	1.5	0.6	4.8	1.1	18	10	35	-
2	1.5	1.5	12	1.1	18	10	35	-
3	2.0	0.6	4.8	1.5	18	10	57	-
4	5.0	0.6	4.8	1.5	14	5	58	unvollständig entschützt
5	7.5	0.6	4.8	1.5	24	25	56	24% 2-Me- Epimer

Vom ersten Erfolg ausgehend wurde an diesem System eine Umsatzoptimierung angestrebt. Das im Zuge der Reaktion freiwerdende HSNAC ist eine potenziell zur Chelatisierung fähige Verbindung. Somit könnte diese durch Koordination am Pd deaktivierend auf das Katalysatorsystem wirken. Um dies zu umgehen, wurde im ersten Schritt die Menge des Präkatalysators von 0.6 auf 1.5mol% und damit die effektive Katalysatorbeladung von 1.2 auf 3.0mol% erhöht. Trotz der Veränderung der eingesetzten Katalysatormenge, konnte mit 35% Umsatz keine Verbesserung der Reaktion beobachtet werden (Tabelle 3, Eintrag 1).

Ergebnisdiskussion

Bei den bis dahin durchgeführten Kreuzkupplungen war stets zu beobachten, dass sich das rote CuTC mit der Zeit außerhalb der grünen Reaktionslösung an der Glaswand abgesetzt hatte. Im zweiten Schritt wurde daher mehr vom schwefelbindenden CuTC (Farbwechsel rot → grün) eingesetzt, um die effektive Oberfläche und somit Verfügbarkeit dieser schlechtlöslichen Komponente zu verbessern. Zeitgleich wurde die Menge der eingesetzten Boronsäure ebenfalls etwas erhöht. Bereits durch die Anpassung von CuTC (1.5 → 2.0 Äquiv.) und Boronsäure (1.1 → 1.5 Äquiv.) konnte nach 24 h Reaktionszeit eine Umsatzsteigerung auf 56% beobachtet werden (Tabelle 3, Eintrag 2).

Aufgrund möglicher Photolabilität der eingesetzten Kupferspezies wurde die Reaktion daraufhin durch Alufolie verdunkelt durchgeführt. Gleichzeitig wurde die Menge auf 5.0 Äquiv erhöht, um die verfügbare Oberfläche weiter zu vergrößern. Wenngleich dieses Experiment bereits nach verkürzter Reaktionszeit von 14 h abgebrochen wurde, konnte ein Umsatz von 58% identifiziert werden. Da zudem die Zeit zur Behandlung mit Salzsäure auf lediglich 5 min verkürzt wurde, konnte im Rohprodukt ein erhöhter Anteil geschützten Produkts nachgewiesen (Tabelle 3, Eintrag 3). Die daraufhin getestete, auf 25 min verlängerte Behandlung mit Salzsäure führte zwar zur vollständigen Entschützung, jedoch zusätzlich zur Epimerisierung der Methylgruppe in 2-Position mit einem finalen Diastereomerenverhältnis von 24:76 (2*S*:2*R*) (Tabelle 3, Eintrag 4). Die weitere Erhöhung der eingesetzten Menge CuTC (Tabelle 3, Eintrag 5) stellte sich als nicht zielführend heraus, weshalb die in Tabelle 3 fett hervorgehobenen Bedingungen als optimal angenommen wurden.

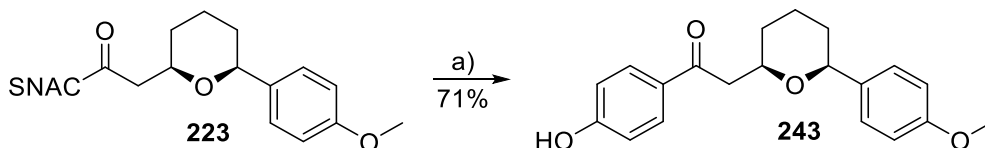


Abbildung 97: Kreuzkupplung nach LIEBSEKIND-SROGL zum Aufbau des (-)-Centrolobinvorläufers **243**. Bedingungen: a) **240**, CuTC, Pd₂dba₃·CHCl₃, P(*o*-Furyl)₃, THF, 50 °C, 24 h.

Unter Verwendung der optimierten Bedingungen wurde die Umsetzung des Zyklisierungsprodukts **223** angestrebt (Abbildung 97). Die Ergebnisse aus der Optimierungsstudie konnten problemlos auf das neue System übertragen werden und es wurde ein beinahe vollständiger Umsatz und 71% isolierte Ausbeute erreicht.

Ergebnisdiskussion

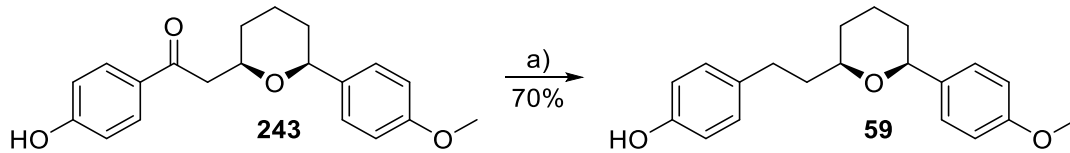


Abbildung 98: Reduktive Deoxygenierung zum finalen Naturstoff (-)-*Centrolobin* (**59**). Bedingungen: a) LiBH_4 , Et_2O , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 90 min, dann Et_3SiH , TFA, 5 min $0 \rightarrow \text{RT}$, 55 min rt .

Die reduktive Entfernung wurde ebenfalls zunächst am Testsystem **239** durchgeführt. Die analog zu AIDHEN *et al.* gewählten Bedingungen erzielten bereits im ersten Durchgang beinahe vollständigen Umsatz, weshalb diese anschließend auf das Centrolobinsystem übernommen wurden (Abbildung 98). Hier konnte der vollständige Umsatz reproduziert und (-)-*Centrolobin* (**59**) mit 70% Ausbeute, vergleichbar mit der Literatur, isoliert werden.^[121]

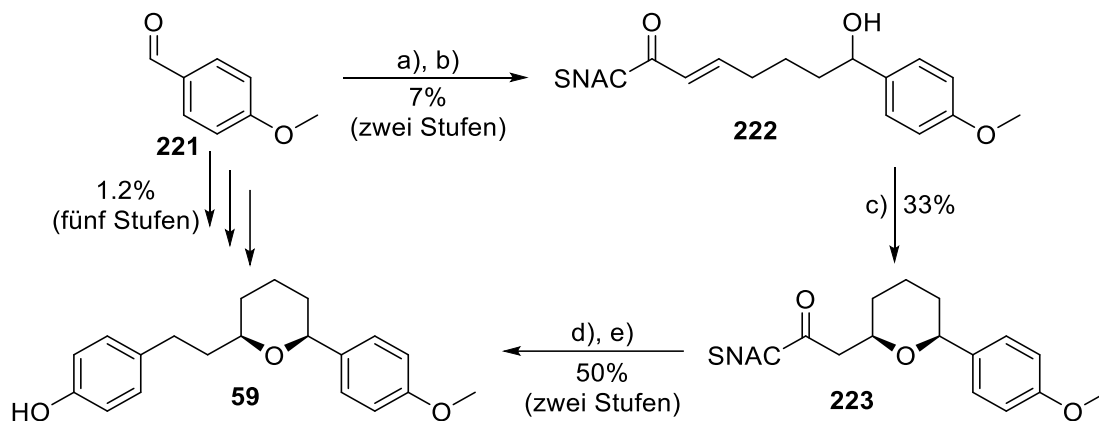


Abbildung 99: Zusammenfassung der Chemoenzymatischen Totalsynthese von (-)-*Centrolobin* (**59**). Bedingungen: a) (3-(1,3-Dioxan-2-yl)propyl)magnesiumbromid, THF, RT , 2 h, dann HCl (1.5M in H_2O), RT , 3.5 h, danach neutralisieren; b) **149**, Toluol, $100\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h; c) AmbDH3 (5.0 mg/mL), HEPES-Puffer, $37\text{ }^\circ\text{C}$, 16 h; d) **240**, CuTC , $\text{Pd}_2\text{dba}_3 \cdot \text{CHCl}_3$, $\text{P}(o\text{-Furyl})_3$, THF, $50\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h, dann HCl (1.5M in H_2O), RT , 10 min; e) LiBH_4 , Et_2O , RT , 90 min, dann Et_3SiH , TFA, RT , 60 min, *e.e.* 78%.

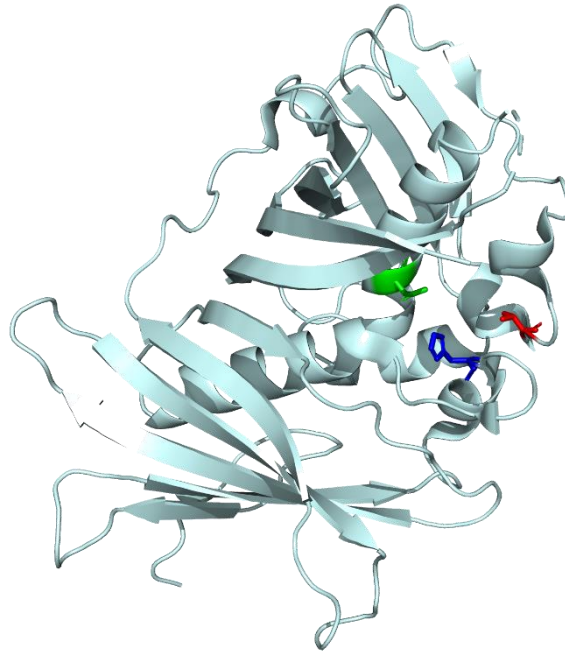
In Abbildung 99 ist die chemoenzymatische Totalsynthese des Diarylheptanoid-Naturstoffs (-)-*Centrolobin* mit der Bildung des THP-Rings mittels AmbDH3 dargestellt. Innerhalb lediglich zweier Stufen konnte der als Substratsurrogat verwendbaren sekundären Alkohol **222** aufgebaut werden. In der anschließenden Umsetzung mit AmbDH3 wurde erneut die Effektivität im Rahmen einer kinetischen Racematspaltung gezeigt. Es konnten hierbei die Ergebnisse der Tabelle 2 erfolgreich auf das neue System übertragen werden. Der erreichte *ee* von 78% zeigt an, dass das (*S*)-Isomer des Vorläufers bevorzugt umgesetzt wurde. Aufgrund

Ergebnisdiskussion

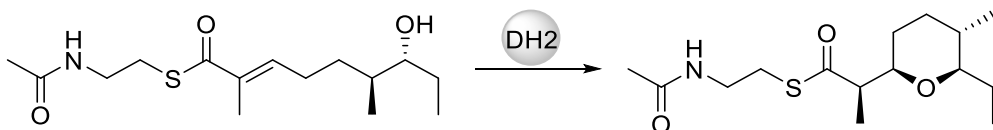
der teilweisen spontanen Zyklisierung wäre hier ein maximaler *ee* von 93% möglich gewesen. Nach Austausch des Schwefelsubstituenten mit dem Phenolderivat und finaler reduktiver Entfernung der Sauerstofffunktionalität konnte (-)-*Centrolobin* (**59**) erfolgreich in einer Gesamtausbeute von 1.2% über fünf Stufen erhalten werden. Aufgrund der Wahl einfach variierbarer Edukte steht zudem der Weg für potenzielle Derivatisierungen vor, sowie nach der Zyklisierung offen.

Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das organisch-synthetische Potenzial der neuartigen Zyklase AmbDH3 umfangreich erforscht und erfolgreich in unterschiedlichen Zusammenhängen nutzbar gemacht.



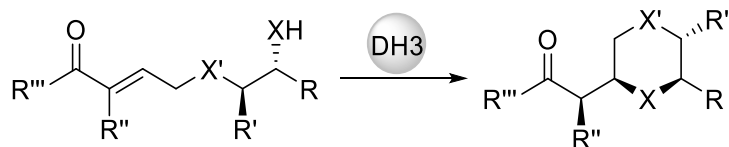
BLANKENFELD *et al.* gelang es die dreidimensionale Struktur durch Einkristallröntgenanalyse aufzuklären, sodass im Rahmen eines Kooperationsprojekts Hinweise auf die strukturelle Ursache der ungewöhnlichen doppelten Aktivität von AmbDH3 gewonnen werden konnten. Eine im Vergleich zu kanonischen DH-Domänen charakteristische Y173V-Mutation in der Nähe des aktiven Zentrums ermöglicht eine Umlagerung des Substratrückgrates nach erfolgter Dehydratisierung, sodass ein Angriff des 7-OH am MICHAEL-System möglich wird.



Im Rahmen einer sequenzbasierten Suche konnten weitere DH-Domänen identifiziert werden, die die gleiche Y-V-Mutation zeigen. Am Beispiel der ebenfalls aus der Ambruticin-PKS stammenden Domäne AmbDH2 konnte durch *in vitro*-biochemische Charakterisierung des

Zusammenfassung

Proteins ebenfalls eine Zyklaseaktivität nachgewiesen werden. Diese Struktur-Aktivitäts-Beziehung ebnet den Weg um durch metagenomische Suche weitere versteckte Zyklenen ausfindig zu machen. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, dass DH-Domänen durch gezielte Punktmutation in Zyklenen für den *in vitro*- oder *in vivo*-Einsatz umgewandelt werden können.



Zur Untersuchung der Substratspezifität wurde eine breit gefächerte Substanzbibliothek stereoselektiv aufgebaut und mit der Zyklase AmbDH3 umgesetzt. Dabei zeigte sich eine breite Substrattoleranz des Enzyms unter Erzeugung enantiomerenreiner Produkte, wobei die Umsätze stark durch strukturelle Eigenschaften der einzelnen Vorläufer beeinflusst wurden. Das Substratsurrogat mit 7-Phenylsubstitution wurde problemlos umgesetzt, wohingegen die Substratsurrogate mit 7-Pentyl- oder 2-Ethylsubstitution geringere Umsätze zeigten. Dies wurde ebenfalls beim Einsatz des Ethylthioesters beobachtet. Diese Ergebnisse lassen sich auf die sehr geringe Wasserlöslichkeit dieser Verbindungen zurückführen.

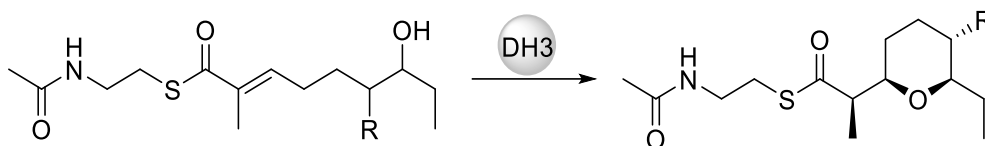
Besonders hervorzuheben sind die 6,7-unsubstituierten Substratsurrogate, bei denen aufgrund der veränderten Orientierung in der aktiven Tasche die Konfiguration der 3-Position im Produkt invertiert vorlag. Bei der Umsetzung zum Dioxan kam es zur teilweisen spontanen Zyklisierung aufgrund der erhöhten Reaktivität des Systems. Zusätzlich fiel ein hoher Grad an Nebenreaktionen auf. Im semipräparativen Maßstab zeigte das Keton zwar vollständige spontane Zyklisierung, jedoch ließ sich diese durch die Verringerung der Ansatzgröße umgehen. Die Substratsurrogate mit 2-Bromidsubstitution oder 7-Aminogruppe zyklisierten ebenfalls vollständig im verwendeten Puffer.

Der Oxoester zeigte mit AmbDH3 keinen Umsatz, was in elektronischen Effekten begründet liegt. Das Substratsurrogat mit verlängertem Rückgrat wurde nicht akzeptiert, da dieses in einer ungünstigen Orientierung in der aktiven Tasche zu liegen kommt. Die in Kooperation erstellten Modellierungen von Substratsurrogaten in die aktive Tasche von AmbDH3 bestätigten zusätzlich die Ergebnisse dieser Studie.

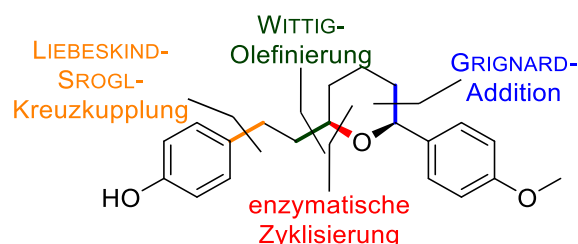
Unter der Verwendung der von BERKHAN optimierten Reaktionsbedingungen war es möglich den Reaktionsmaßstab bis auf eine Stoffmenge von 1.0 g zu erhöhen. Dabei konnte ein Umsatz

Zusammenfassung

von 83% und eine isolierte Ausbeute von 60% des enantiomerenreinen Produktes erhalten werden.



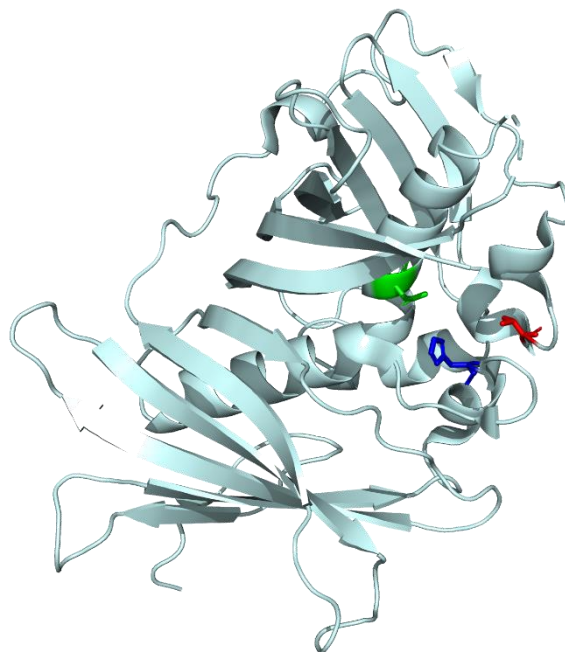
Zusätzlich wurde der Einfluss der Vorläuferkonfiguration an C6 und C7 sowie die daraus abgeleitet potenzielle Einsatzbarkeit in (dynamisch) kinetischen Racematspaltungen beleuchtet. Bei der Umsetzung definierter Stereoisomergemische mit dem Enzym viel auf, dass das (6*S*,7*R*)-Isomer durchgehend fast vollständig zyklisiert wurde, wohingegen nur ein geringer Anteil des (6*R*,7*R*)-Isomers diese Reaktion einging. Die Verbindungen mit (7*S*)-Konfiguration wurden von AmbDH3 nicht umgesetzt. Die deutlichen Reaktivitätsunterschiede der verschiedenen Stereoisomere machten damit den Weg frei für den Einsatz von AmbDH3 in (dynamisch) kinetischen Racematspaltungen.



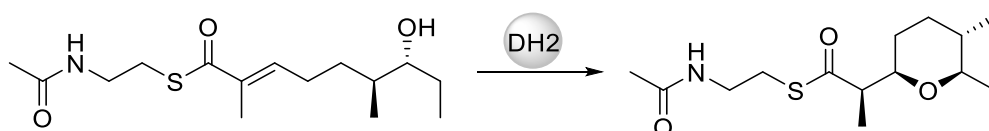
Final wurden die Erkenntnisse aus den Substrat- und Racematspaltungsstudien kombiniert und die chemoenzymatische Totalsynthese eines Diarylheptanoids entwickelt. Dabei gelang es (-)-*Centrolabin* in 1.2% Ausbeute mit einem *e.e.* von 78% über insgesamt fünf lineare Stufen darzustellen. Der Schlüsselschritt war dabei die enzymatische Zyklisierung bei zeitgleicher kinetischer Racematspaltung, bei welcher der THP-Ring mit 40% Umsatz und 33% isolierter Ausbeute im 20 mg-Maßstab aufgebaut wurde. Da AmbDH3 ein breites Spektrum an Substratsurrogaten umsetzt und dabei hochselektiv arbeitet sind die Voraussetzungen gegeben diese Domäne auch in anderen chemoenzymatischen Totalsynthesen einzusetzen.

Abstract

Within this study, the potential of the novel cyclase AmbDH3 regarding its application in different organic-synthetic contexts was successfully elucidated.



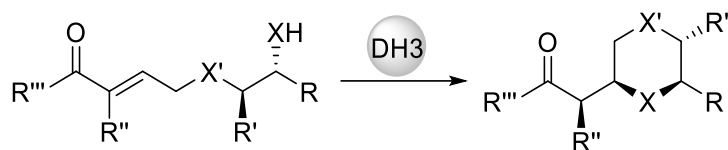
BLANKENFELD *et al.* were able to solve the three-dimensional structure of AmbDH3 *via* X-ray crystal structure. Thereby we were able to further elucidate the unconventional bifunctionality as part of a cooperation. The naturally occurring Y173V mutation compared to canonic DH domains near the active centre allows the backbone rearrangement of the substrate after dehydration so that an attack of the 7-OH at the MICHAEL system is possible.



As consequence of a sequence based search an other DH domain with the same Y-V mutation was identified. AmbDH2, which as well originates from the ambruticin PKS showed a similar *in vitro* cyclisation activity with the shown substrate surrogate. This structure-activity relation paves the way to search for further hidden cyclases. Furthermore it might be possible to

Abstract

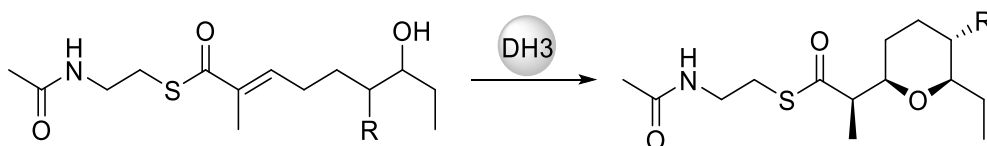
reprogram DH domains *via* specific point mutations to achieve an *in vitro* or *in vivo* cyclisation activity.



To investigate the acceptance of naturally unrelated substrate surrogates a wide array of substances with diverse substitution patterns was established *via* multistep synthesis in an enantio pure way and converted with AmbDH3. The successfully generated heterocyclic compounds showed high enantio purities. However different conversion rates were observed depending on the substitution pattern. Whereas the 7-phenyl substituted compound was converted in an excellent way, the 7-Pent, 2-Et, as well as the SEt thioester containing compounds suffered from low water solubility. The conversions of the 6,7-unsubstituted surrogates have to be highlighted. The corresponding heterocycles showed inverted stereochemistry due to a different orientation in the active site of AmbDH3. Some of the tested surrogates showed a certain degree of spontaneous cyclisation due to higher reactivity.

The oxoester was not converted at all, mainly because of electronic effects. The surrogate with elongated backbone was not converted as well. In this case the reason was the orientation in the active site, leading to a too long distance between C3 and 8-OH. The model studies that were obtained during the cooperation confirms the gained results of this work as well.

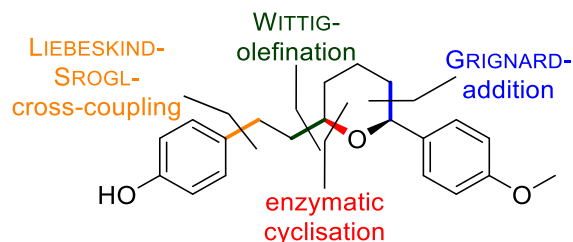
Utilizing the optimised reaction conditions of BERKHAN it was possible to expand the reaction scale up to 1.0 g of starting material, while maintaining high conversion rates and yields of the enantiopure product.



Additionally, the configuration of the starting material at C6 and C7 was investigated to identify the potential versatility of AmbDH3 in (dynamic) kinetic resolutions. After different treatments of well defined isomeric mixtures with AmbDH3 one highly dominant product configuration (6*S*,7*S*) was observed. Beside only minor amounts of a second stereoisomer (6*R*,7*S*) could be

Abstract

detected, whereas the remaining two isomers (*6R,7R/6S,7R*) were not converted at all. This paves the way to use AmbDH3 in (dynamic) kinetic resolutions.



Finally, the results from the substrate investigations, as well as the racemic resolution were combined in the chemoenzymatic total synthesis of the diarylheptanoid (-)-*centrolobine*. Utilizing the AmbDH3 catalyzed THP-formation and the kinetic resolution as key step (20 mg, 40% conversion, 33% isolated yield) the promising drug candidate (-)-*centrolobine* was successfully synthesized in 1.2% yield (78% *ee*) over five linear steps. Because of the broad substrate tolerance, whilst working highly selective, AmbDH3 might be suitable for being applied in further chemoenzymatic total syntheses.

Experimenteller Teil

Allgemeine Methoden

Chemikalien und Lösemittel

Alle kommerziell verfügbaren Chemikalien wurden von SIGMA-ALDRICH, MERCK, ACROS ORGANICS, ALFA AESAR, CARBOLUTION, ABCR oder TCI bezogen und ohne weitere Reinigung direkt verwendet. Lösemittel wurden von VWR CHEMICALS oder FISHER CHEMICALS, in den Reinheitsgraden technisch, *p.A.* oder HPLC *grade* bezogen.

Feuchtigkeits- oder sauerstoffempfindliche Reaktionen wurden in kommerziell erhältlichen wasserfreien Lösemitteln von ACROS ORGANICS oder TCI, gelagert über 3Å Molsieb, unter Schutzgasatmosphäre (N₂ 5.0 oder Ar 5.0) in ausgeheizten Glasgeräten durchgeführt. Auf diese Art durchgeführte Reaktionen sind nachfolgend durch den Zusatz absolutiert (*abs.*) gekennzeichnet.

MILLIPORE Wasser (MPW)

Das zur Herstellung einiger Puffer und Laufmittel verwendete MPW ($G \leq 0.055 \mu\text{S}$, TOC < 2 ppb) wurde einer *B30 Trace* Reinstwasseranlage (Auslassfilter: 0.2 μm) von ADRONA entnommen.

Dünnschichtchromatographie

Analysen *via* Dünnschichtchromatographie wurden auf Polyester-Fertigfolien (Polygram Sil G/UV₂₅₄; Kieselgel 60, Schichtdicke 0.2 mm) von MACHEREY-NAGEL durchgeführt. Die Detektion erfolgte entweder durch Fluoreszenzlöschung bei 254 nm oder durch Anfärben der DC-Karte. Hierfür verwendete Anfärbereagenzien waren I₂ oder verdünnte (verd.) KMnO₄-Lösung (1.50 g KMnO₄, 10.0 g K₂CO₃, 2.5 mL Natronlauge (5% in H₂O), 200 mL H₂O).

Säulenchromatographie

Für säulenchromatographische Reinigungen wurde Kieselgel 60 (Partikelgröße 63-200 μm) von MACHEREY-NAGEL als stationäre Phase verwendet. Zum Packen wurde das Kieselgel zunächst im verwendeten Laufmittelgemisch aufgeschlemmt, in die Säule gefüllt und anschließend unter Druck komprimiert. Die Zusammensetzung der Laufmittelgemische ist in Vol.-% angegeben und der jeweiligen Versuchsvorschrift zu entnehmen.

Kernresonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie)

Strukturanalysen *via* NMR-Spektroskopie erfolgte bei Raumtemperatur (298 K) in NMR-Probenröhrchen mit 5 mm Durchmesser und einer Länge von 178 mm. Für Aufnahme der ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P -NMR-, sowie 2D-Korrelationsspektren wurde ein *Avance III HD 500* von BRUKER verwendet. 1D NOE Differenz-Experimente wurden am *Avance 300* von BRUKER aufgenommen. Die erhaltenen NMR-Spektren wurden in deuterierten Lösemitteln durchgeführt und anhand des Restlösemittelsignals normiert (CDCl_3 , ^1H : 7.26 ppm, ^{13}C : 77.2 ppm; C_6D_6 , ^1H : 7.16 ppm, ^{13}C : 128.1 ppm).^[122] Die Verschiebungen der aufgenommenen ^{31}P -Spektren wurden aufgrund fehlenden Referenzsignals ohne Normierung angegeben. Die chemische Verschiebung wird auf der δ -Skala in *parts per million* [ppm], Kopplungskonstanten (J) werden in [Hz] angegeben. Zur Beschreibung der Signalformen werden folgende Abkürzungen, sowie Kombinationen dieser verwendet: breit (br), Singulett (s), Dublett (d), Triplett (t), Quartett (q), Multiplett (m). Die genaue Zuordnung der Protonen, sowie Kohlenstoffsignale wurde *via* 2D-Korrelationsspektren durchgeführt. Die dafür verwendeten Experimente umfassten HMQC, HMBC und H,H -COSY. Zusätzlich kamen zur näheren Bestimmung der ^{13}C -Signale 135DEPT und JMOD-Experimente zum Einsatz. Zur Beschreibung der ^{13}C -Signale werden folgende Abkürzungen verwendet: primär (p, Methyl), sekundär (s, Methylen), tertiär (t, Methin) und quartär (q). Alle eindeutigen Zuordnungen der Protonen-, sowie Kohlenstoffsignale sind in Fragmentschreibweise angegeben.

(Chiral) High Performance Liquid Chromatography ((chirale)-HPLC)

Zur Reinigung wurde eine semipräparativer HPLC (*600 Controller, 2487 Dual λ Absorbance Detector* (235 nm, 265 nm)) von WATERS, unter der Verwendung einer RP-Säule (Kinetex®, Porengröße 5 μm , C_{18} , Partikelgröße 100Å, 50×30 mm) verwendet. Zur Probenvorbereitung wurde das Rohprodukt zunächst in HPLC-grade MeOH (≤ 1.5 mL) aufgenommen und mittels Spritzenfilter (PTFE, 0.2 μm) von Schwebeteilchen befreit. Die Auftragung auf die Säule wurde durch einen Injektions-Loop (2 mL) realisiert. Die verwendeten Laufmittel (MPW, HPLC-grade MeCN) wurden vor dem Einsatz *via* Ultraschallbehandlung unter vermindertem Druck für mindestens 15 min (MPW: 300 mbar, MeCN: 600 mbar) entgast und danach direkt verwendet. Die Laufmittelzusammensetzung ist in Vol.-% angegeben. Das verwendete Gradientenprogramm entsprach ($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} = 95:5$ {5 min}, Gradient $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} 95:5 \rightarrow 5:95$ {20 min}, $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} = 5:95$ {5 min}, 20 mL/min). Abweichende Gradienten sind der betreffenden Versuchsvorschrift zu entnehmen.

Untersuchungen *via* chiraler HPLC wurden an einer Alliance HPLC (2695 separation module, 2487 λ Absorbance Detector (215 nm)) von WATERS, unter Verwendung einer Normalphasensäule (OJ-H, 4.5×250 mm, CHIRALCEL) durchgeführt. Das verwendete Laufmittelgemisch bestand aus *n*-Hexan:ⁱPropanol (95:5, 0.8 mL/min).

Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (UPLC-MS)

Für Umsatzbestimmungen von Enzymexperimenten im Kleinstmaßstab (<1 mg Substrat), sowie Identifikation isolierter Fraktionen aus der Reinigung *via* HPLC, wurde eine Acquity Ultra Performance LC (RP-Säule: BEH C₁₈, 1.7 μ m, 1×50 mm; Detektion: PDA, SQ) von WATERS verwendet. Die Ionisierung wurde mittels ESI im Positivmodus realisiert. Zur Umrechnung der Integrale in Konzentrationen wurde eine Kalibriergerade für den zu erwartenden Intensitätsbereich erstellt. Die verwendeten Laufmittel wurden in der Qualität UPLC grade (MeOH, A) von HONEYWELL gekauft oder aus der Reinstwasseranlage (MPW, B) entnommen und ohne weitere Behandlung eingesetzt. Es wurde ausschließlich das Gradientenprogramm (MeOH:H₂O = 10:90 → 90:10 {4 min}, MeOH:H₂O = 90:10 {2 min}, 0.5 mL/min) verwendet.

High Resolution Mass spectrometry (HRMS)

Hochaufgelöste massenspektrometrische Untersuchungen wurden an einem *Q Exactive* Massenspektrometer von THERMO SCIENTIFIC mit Direkteinlass durchgeführt. Die Ionisierung wurde mittels ESI im Positivmodus realisiert. Zur Probenvorbereitung wurde aus der Reinsubstanz zunächst mit HPLC grade MeOH oder MeCN eine Stammlösung hergestellt. Diese wurde anschließend auf eine finale Konzentration von 0.1 μ g/mL eingestellt und mittels Spritzenfilter (PTFE, 0.2 μ m) von Schwebeteilchen befreit.

Transformation von E. coli-Zellen

Chemisch kompetente Zellen (*E. coli* BL21(DE3), 50 μ L) von NOVAGENTM werden mit dem Plasmid pET28a_ambDH3 (1 μ L) versetzt und für 10 min bei 0 °C inkubiert. Anschließend wird für 50 s bei 42 °C ein Hitzeschock durchgeführt. Danach wird die Suspension für weitere 5 min bei 0 °C inkubiert. Im Anschluss daran wird dYT-Medium (500 μ L, 16 g/L Trypton, 10 g/L Hefeextrakt, 5 g/L NaCl) hinzugegeben und die Suspension für 1 h bei 37 °C inkubiert. Nach Zentrifugation (30 s, 5000 rpm) wird der Überstand verworfen, der Rückstand auf einer Agarplatte ausplattiert und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Es wird eine einzelne Kolonie gepickt und damit eine Vorkultur (10 mL dYT-Medium, 0.1 mM Kanamycin) inokuliert und

Experimenteller Teil

erneut über Nacht bei 37 °C inkubiert. Aus dieser Vorkultur wird eine Hauptkultur (100 mL dYT-Medium, 0.1 mM Kanamycin) auf $OD_{600} = 0.05$ inokuliert und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Aus 500 µL Hauptkultur und 500 µL Glycerin (50% in MPW) werden Kryokulturen hergestellt und bis zur Verwendung bei -80 °C gelagert.

Genexpression

Zur Genexpression wird zunächst Wachstumsmedium (25 mL dYT-Medium, 0.1 mM Kanamycin) mit einer kleinen Menge der Kryokultur inokuliert und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Aus der Vorkultur werden Hauptkulturen (je 200 mL dYT-Medium, 0.1 mM Kanamycin) auf $OD_{600} = 0.05$ inokuliert und bei 37 °C inkubiert, bis eine $OD_{600} = 0.40-0.80$ erreicht ist. Die Expression wird durch Zugabe von IPTG (finale Konzentration 0.1 mM) induziert und die Inkubation für 22 h bei 15 °C fortgeführt. Die Suspension wird zentrifugiert (15 min, 5000 g, 4 °C) und der Überstand verworfen und das resultierende Zellpellet bis zur Verwendung bei -20 °C gelagert.

Proteingewinnung

Zur Proteingewinnung wird die entsprechende Menge des Zellpellets in HEPES-Puffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH 6.8) suspendiert und bei 0 °C mittels Ultraschall (45% Intensität, 10 min, 30 s Ultraschall, 30 s Pause) mit einer Sonoplus HD3100 (Sonde: MS-73 oder KE-76) von BANDELIN aufgeschlossen. Die Suspension wird zentrifugiert (30 min, 10000 g, 4 °C) und das Zelllysats entweder direkt verwendet oder mit einem Spritzenfilter (CA, 0.45 µm) von Schwebeteilchen befreit und *via* Affinitätschromatographie gereinigt. Die Reinigung wird mit einer ÄKTA start von FISHER SCIENTIFIC an einer Ni-NTA-Säule (Bettvolumen 5 mL) von NOVAGEN durchgeführt. Das System wird zunächst mit Laufpuffer (40 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 10 mM Imidazol, pH 7.5) äquilibriert und die Säule durch Zugabe des Zelllysats zum Laufpuffer beladen. Durch Spülen der Säule mit 75 mL Laufpuffer, werden alle unspezifisch bindenden Proteine eluiert. Das Zielprotein wird mit Elutionspuffer (40 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 500 mM Imidazol, pH 7.5) eluiert und die Fraktion *via* UV-Absorption detektiert. Die Proteinlösung wird mittels Größenausschlusschromatographie an einer PD10-Säule auf HEPES-Puffer umgepuffert und anschließend mittels Konzentrator (MWCO 10000 Da) an der Zentrifuge (5000 g, 4 °C) auf eine Proteinkonzentration von 5.0 mg/mL eingestellt. Zur Konzentrationsbestimmung wurde ein Mikroplattenlesegerät (VarioScanLux) von THERMO SCIENTIFIC verwendet.

Allgemeine Arbeitsvorschriften

Allgemeine Arbeitsvorschrift für OPPOLZER-Aldolreaktionen (AAV A)

Propioniertes OPPOLZER-Auxiliar (1.0 Äquiv.) wird in *abs.* CH₂Cl₂ (0.1 M) vorgelegt und DIPEA (1.5 Äquiv.) und TMSOTf (1.8 Äquiv.) langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf -78 °C gekühlt. In einem zusätzlichen Kolben wird der Aldehyd (1.5 Äquiv.) in *abs.* CH₂Cl₂ vorgelegt und ebenfalls auf -78 °C gekühlt. Nach tropfenweiser Zugabe von TiCl₄ (1 M in CH₂Cl₂, 1.5 Äquiv.) wird die enolathaltige Lösung langsam *via cannula* zur aldehydhaltigen Lösung gegeben. Die Reaktion wird für 1 h bei -78 °C gerührt und im Anschluss durch die Zugabe gesättigter (ges.) NH₄Cl-Lösung beendet. Das Gemisch wird auf 0 °C erwärmt und für eine weitere Stunde gerührt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das erhaltene Aldolprodukt wird ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für TBS-Schützungen sekundärer Alkohole (AAV B)

Das Aldolprodukt (1.0 Äquiv.) wird in *abs.* CH₂Cl₂ (0.1 M) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Nach tropfenweiser Zugabe von 2,6-Lutidin (1.5 Äquiv.) und TBSOTf (1.5 Äquiv.) wird das Reaktionsgemisch für 30 min bei -78 °C gerührt. Die Reaktion wird auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht weitergerührt. Durch Zugabe ges. NH₄Cl-Lösung wird die Reaktion beendet. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für reduktive Abspaltung der Auxiliare (AAV C)

Das geschützte Aldolprodukt wird in Et₂O:MeOH (0.1 M, 20:1) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von LiBH₄ (1.5 Äquiv.) wird das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Durch Zugabe von Salzsäure (1 M) wird die Reaktion beendet und die Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem

Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für Tosylierungen primärer Alkohole (AAV D)

Der primäre Alkohol (1.0 Äquiv.) wird in *abs.* CH₂Cl₂ vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von Pyridin (1.5-2.2 Äquiv.) und Tosylchlorid (1.1-2.0 Äquiv.), wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für 96 h gerührt. Durch Zugabe ges. NaHCO₃-Lösung wird die Reaktion beendet und das Gemisch für 1 h weitergerührt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über Mg₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für GRIGNARD-Reaktionen an Tosylaten (AAV E)

Magnesium (4.8 Äquiv.) und eine katalytische Menge Iod werden in *abs.* Et₂O (1 M, bezüglich Allylbromid) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Allylbromid (4.0 Äquiv.) wird zu der Suspension getropft und das Reaktionsgemisch für 1 h bei 0 °C gerührt. Die Suspension wird mit *abs.* Et₂O (0.1 M, bezüglich Tosylat) verdünnt und das Tosylat (1.0 Äquiv.) zugegeben. Die Reaktion wird für 3 h refluxiert, anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt, durch Zugabe verd. NH₄Cl-Lösung beendet und für 1 h weitergerührt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für Ozonolysen (AAV F)

Das Alken (1.0 Äquiv.) wird in CH₂Cl₂ (0.1 M) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Ozon wird durch das Reaktionsgemisch geleitet, bis eine persistente blaue Färbung zu erkennen ist. Überschüssiges Ozon wird anschließend durch Einleiten von Sauerstoff ausgetrieben. PPh₃ (1.5 Äquiv.) wird zugegeben, die Suspension auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Das Lösemittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für WITTIG-Reaktionen (AAV G)

Das Phosphoniumylid (1.5 Äquiv.) wird in *abs.* Toluol (0.1 M) vorgelegt und das Lactol (1.0 Äquiv.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 24 h bei 100 °C gerührt und danach auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösemittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand zunächst säulenchromatographisch an Kieselgel und anschließend *via* semipräparativer HPLC gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für HORNER-WADSWORTH-EMMONS-Reaktionen (AAV H)

Der Aldehyd (1.0 Äquiv.) wird in *abs.* THF (0.1 M) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe des Phosphonats (1.2 Äquiv.) und DBU (3.0 Äquiv.) wird das Reaktionsgemisch zunächst für 30 min bei 0 °C und dann für 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in EtOAc und ges. NH₄Cl-Lösung aufgenommen. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für Verseifungen (AAV I)

Der Ester (1.0 Äquiv.) wird in MeOH:H₂O (0.1 M, 3:1) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von LiOH (5.0 Äquiv.) wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Das Lösemittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in H₂O aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Et₂O extrahiert, mit Salzsäure (1 M) auf pH 1 angesäuert und erneut mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase der sauren Extraktion wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Die Carbonsäure wird ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für Veresterungen (AAV J)

Die Carbonsäure (1.0 Äquiv.) und der Alkohol oder das Thiol (1.1 Äquiv.) werden in *abs.* CH₂Cl₂ (0.1 M) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von EDC·HCl, DCC oder DIC (1.1 Äquiv.) und DMAP (0.1 Äquiv.) wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Durch Zugabe von Salzsäure (1 M, Verwendung von EDC·HCl) oder ges. NH₄Cl-Lösung wird die Reaktion beendet. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit ges. NaHCO₃- und

ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für Entfernungen von TBS-Gruppen (AAV K)

Der geschützte Ether (1.0 Äquiv.) wird in MeOH (0.1 M) vorgelegt. Nach Zugabe von PPTS (5.0-10.0 Äquiv.) wird das Reaktionsgemisch für 24 h bei 50 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösemittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in verd. NH₄Cl-Lösung und EtOAc aufgenommen. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel oder *via* semipräparativer HPLC gereinigt.

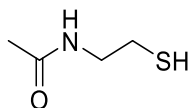
Allgemeine Arbeitsvorschrift für Enzymumsetzungen im Maßstab bis 20 mg (AAV L)

Das Substrat (1.0 Äquiv.) wird vorgelegt. Nach Zugabe von gereinigtem AmbDH3 in HEPES-Puffer (5.0 mg/mL) wird das Reaktionsgemisch für 16 h bei 37 °C gerührt. Durch Zugabe von EtOAc wird die Reaktion beendet. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel oder *via* semipräparativer HPLC gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für Enzymumsetzungen im Maßstab 50-1000 mg (AAV M)

Das Substrat (1.0 Äquiv.) wird in Toluol (1Vol.-%) vorgelegt. Nach Zugabe des AmbDH3-haltigen Zellysats (aus 2.0 g Zellpellet pro 50 mg Substrat) wird das Reaktionsgemisch für 16 h bei 30 °C gerührt. CaCl₂ (finale Konzentration 1 mM) und Proteinase K (4 mg pro 50 mg Substrat) werden hinzugegeben und für 2 h bei 37 °C gerührt. Durch Zugabe von EtOAc wird die Reaktion beendet. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Synthese der Substratsurrogate
***N*-Acetylcysteamin (HSNAC) (79)**

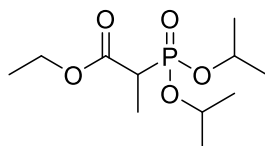


Cysteamin-Hydrochlorid (30.0 g, 264 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in H₂O (300 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. NaOH (84.5 g, 2.11 mol, 8.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und unter Rühren vollständig in der wässrigen Phase gelöst. Ac₂O (74.4 mL, 792 mmol, 3.0 Äquiv.) wurde langsam zugegeben und das Reaktionsgemisch für 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Neutralisation der Lösung mit konz. Salzsäure, wurde die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das HSNAC (28.9 g, 242 mmol, 92%) wurde als farbloses Öl erhalten.

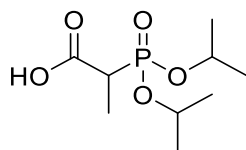
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.92 (brs, 1H, NHCH₂), 2.68 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H, NHCH₂), 2.68 (dt, *J* = 8.5, 6.4 Hz, 2H, CH₂SH), 2.02 (s, 3H, OCCH₃), 1.35 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H, CH₂SH).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[123]

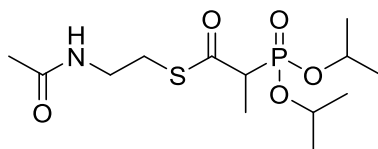
Ethyl 2-(diisopropoxyphosphoryl)propanoat (80)



Ethyl-2-brompropanoat (10.8 mL, 82.2 mmol, 1.0 Äquiv.) und Triisopropylphosphit (20.4 mL, 82.2 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden für 6 h refluxiert. Alle flüchtigen Verbindungen wurden unter vermindertem Druck entfernt und der Ester **80** wurde ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

2-(Diisopropoxyphosphoryl)propionsäure (81)

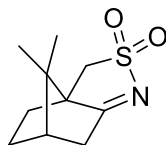
Der Ester **80** (20.9 g, 82.8 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in THF (160 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von NaOH-Lösung (1 M in H₂O, 140 mL) wurde das Reaktionsgemisch für 5 h refluxiert. Anschließend wurde mit Salzsäure (1 M) auf pH 1 angesäuert. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Die Carbonsäure **81** wurde als gelbliches Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

S-(2-Acetamidoethyl)-2-(diisopropoxyphosphoryl)propanthioat (82)

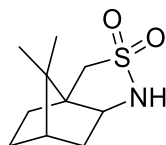
Gemäß AAV **J** wurde aus der Carbonsäure **81** (7.40 g, 31.1 mmol, 1.0 Äquiv.) und HSNAC (3.71 g, 31.1 mmol, 1.0 Äquiv.), DCC (7.06 g, 34.2 mmol, 1.1 Äquiv.) und DMAP (380 mg, 3.11 mmol, 0.1 Äquiv.) das Phosphonat **82** (10.2 g, 30.1 mmol, 37% über drei Stufen) als gelbliches Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.35 (brs, 1H, NHCH₂), 4.76-4.67 (m, 2H, OCH), 3.56-3.48 (m, 1H, 1×NHCH₂), 3.44-3.37 (m, 1H, 1×NHCH₂), 3.29-3.14 (m, 2H, PCH, 1×CH₂S), 3.02-2.96 (m, 1H, 1×CH₂S), 1.96 (s, 3H, OCCCH₃), 1.43 (dd, $J = 17.7, 7.2$ Hz, 3H, PCHCH₃), 1.36-1.31 (m, 12H, OCHCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[37]

(3aR,6S)-8,8-Dimethyl-4,5,6,7-tetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo[c]isothiazol-2,2-dioxid (83)

(R)-(-)-Camphersulfonsäure (175 g, 753 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde vorgelegt und Thionylchlorid (109 mL, 1.51 mol) über 1 h langsam hinzugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde refluxiert, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Das Gemisch wurde unter vermindertem Druck von leicht flüchtigen Komponenten befreit und anschließend mit Toluol (280 mL) codestilliert. Der Rückstand wurde in Dioxan (280 mL) aufgenommen und mit konz. Ammoniak-Lösung (2.8 L) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 h refluxiert und danach auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Suspension wurde filtriert und der Filterkuchen mit kaltem Wasser gewaschen. Das Isothiazoldioxid **83** wurde als farbloser Feststoff erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

(3aR,6S)-8,8-Dimethylhexahydro-3H-3a,6-methanbenzo[c]isothiazol-2,2-dioxid (84)

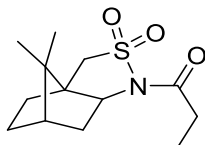
Isothiazoldioxid **83** (161 g, 753 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in MeOH:H₂O (3:1, 1.0 L) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. NaBH₄ (28.5 g, 753 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde portionsweise zugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 0 °C gerührt. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen. Die organische Phase wurde in verd. Schwefelsäure (1 M, 1.0 L) gegeben und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Sultam **84** (137 g, 637 mmol, 85% über zwei Stufen) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.22 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H, CHNH), 3.41 (td, *J* = 7.9, 4.9 Hz, 1H, CHNH), 3.12 (d, *J* = 13.8 Hz, 1H, 1×CH₂S), 3.08 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H, 1×CH₂S), 1.99-1.82 (m, 5H, CH₂CHNH, CH₂CH₂CH, CH₂CHCH₂), 1.47-1.41 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH), 1.33-1.27 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH), 1.12 (s, 3H, CCH₃), 0.92 (s, 3H, CCH₃).

Experimenteller Teil

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[124]

*1-((3aR,6S)-8,8-Dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo[*c*]isothiazol-1(4H)-yl)propan-1-on (85)*

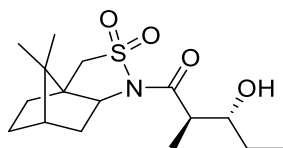


Das Sultam **84** (30.0 g, 139 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Toluol (600 mL) vorgelegt und NaH (60% in Mineralöl, 8.36 g, 209 mmol, 1.5 Äquiv.) portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Propionylchlorid (18.3 mL, 209 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Überführen in ges. NaCl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das propionierte OPPOLZER-Sultam **85** (36.1 g, 133 mmol, 95%) wurde nach Umkristallisation aus Toluol als farbloser, kristalliner Feststoff erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.84 (dd, J = 7.7, 5.0 Hz, 1H, CHN), 3.47 (d, J = 13.8 Hz, 1H, 1×CH₂S), 3.41 (d, J = 13.8 Hz, 1H, 1×CH₂S), 2.78-2.66 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.14-2.08 (m, 1H, 1×CH₂CHN), 2.05 (dd, J = 13.9, 7.8 Hz, 1H, 1×CH₂CHN), 1.92-1.84 (m, 3H, CH₂CH₂CH, CH₂CHCH₂), 1.41-1.30 (m, 2H, CH₂CH₂CH), 1.15-1.12 (m, 6H, CH₂CH₃, CCH₃), 0.95 (s, 3H, CCH₃).

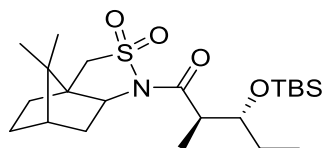
Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[125]

*(2R,3R)-1-((3aR,6S)-8,8-Dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo[*c*]isothiazol-1(4H)-yl)-3-hydroxy-2-methylpentan-1-on (86)*



Gemäß AAV A wurde aus Sultam **85** (10.0 g, 36.8 mmol, 1.0 Äquiv.), DIPEA (9.4 mL, 55.3 mmol, 1.5 Äquiv.), TMSOTf (12.0 mL, 66.3 mmol, 1.8 Äquiv.) und Propionaldehyd (4.0 mL, 55.3 mmol, 1.5 Äquiv.) das Aldolprodukt **86** als gelbes Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

(2R,3R)-3-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-1-((3aR,6S)-8,8-dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo[c]isothiazol-1(4H)-yl)-2-methylpentan-1-on (87)

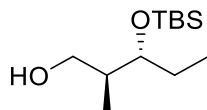


Gemäß AAV **B** wurde aus dem Aldolprodukt **86** (12.1 g, 36.8 mmol, 1.0 Äquiv.), 2,6-Lutidin (6.4 mL, 55.3 mmol, 1.5 Äquiv.) und TBSOTf (13.0 mL, 55.3 mmol, 1.5 Äquiv.) das TBS-geschützte Produkt **87** (13.8 g, 31.0 mmol, 84% über zwei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE:EtOAc / 9:1) als gelblicher Feststoff erhalten.

R_f (PE:EtOAc / 9:1): 0.32; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.04 (ddd, *J* = 7.4, 6.2, 3.0 Hz, 1H, OCHCH), 3.86 (dd, *J* = 7.5, 5.1 Hz, 1H, CHN), 3.47 (d, *J* = 13.8 Hz, 1H, 1×CH₂S), 3.41 (d, *J* = 13.8 Hz, 1H, 1×CH₂S), 2.05-1.96 (m, 2H, CH₂CHN), 1.92-1.83 (m, 3H, CH₂CHCH₂, CH₂CH₂CH), 1.51-1.25 (m, 4H, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH), 1.13 (s, 3H, CCH₃), 1.09 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃), 0.95 (s, 3H, CCH₃), 0.87-0.84 (m, 12H, CH₂CH₃, SiC(CH₃)), 0.07 (s, 3H, SiCH₃), 0.05 (s, 3H, SiCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[37]

(2S,3R)-3-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentan-1-ol (88)

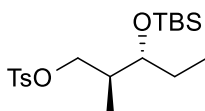


Gemäß AAV **C** wurde aus dem TBS-geschützten Aldolprodukt **87** (13.8 g, 31.0 mmol, 1.0 Äquiv.) und LiBH₄ (1.00 g, 46.5 mmol, 1.5 Äquiv.) der Alkohol **88** (5.67 g, 24.4 mmol, 79%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE:EtOAc / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (PE:EtOAc / 9:1): 0.39; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.78 (dt, *J* = 10.8, 3.9 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 3.63 (dt, *J* = 6.3, 5.1 Hz, 1H, OCHCH), 3.54 (dt, *J* = 11.1, 5.6 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 2.76 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H, HOCH₂), 1.81-1.74 (m, 1H, OCHCH), 1.63-1.57 (m, 2H, CH₂CH₃), 0.99 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, CHCH₃), 0.90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.87 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[37]

(2*S*,3*R*)-3-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylpentyl 4-methylbenzolsulfonat (89)

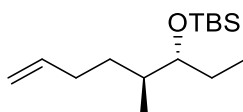


Gemäß AAV **D** wurde aus dem Alkohol **88** (4.73 g, 20.3 mmol, 1.0 Äquiv.), TsCl (4.26 g, 22.4 mmol, 1.1 Äquiv.) und Pyridin (2.5 mL, 30.5 mmol, 1.5 Äquiv.) das Tosylat **89** (3.48 g, 13.5 mmol, 67%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 39:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 39:1): 0.32; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.79-7.77 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}Me), 7.35-7.33 (m, 2H, *o*-CH_{Ar}Me), 4.07 (dd, *J* = 9.4, 5.1 Hz, 1H, 1×OCH₂), 3.85 (dd, *J* = 9.4, 7.3 Hz, 1H, 1×OCH₂), 3.49 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H, OCHCH), 2.45 (s, 3H, CH₃C_{q,Ar}), 1.98-1.90 (m, 1H, OCHCH), 1.47-1.33 (m, 2H, CH₂CH₃), 0.86 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃), 0.82-0.79 (m, 12H, SiC(CH₃)₃, CH₂CH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), -0.04 (s, 3H, SiCH₃).

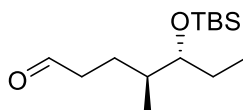
Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[37]

***tert*-Butyldimethyl(((3*R*,4*S*)-4-methyloct-7-en-3-yl)oxy)silan (90)**

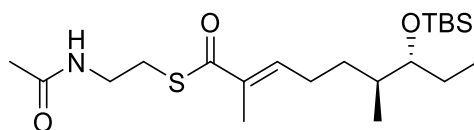


Gemäß AAV **E** wurde aus dem Tosylat **89** (10.5 g, 26.9 mmol, 1.0 Äquiv.) und Allylmagnesiumbromid (1 M in Et₂O, 87 mL, 86.9 mmol, 4.0 Äquiv.) das Alken **90** nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan) als farbloses Öl erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

(4*S*,5*R*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-4-methylheptanal (91)



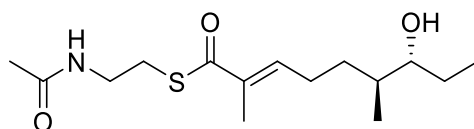
Gemäß AAV **F** wurde aus dem Alken **90** (3.74 g, 14.6 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPh₃ (5.73 g, 21.9 mmol, 1.5 Äquiv.) der Aldehyd **91** nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 19:1) als farbloses Öl erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*E*)-7-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)-2,6-dimethylnon-2-enthioat (92)**

Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **91** (3.77 g, 14.6 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonat **82** (5.93 g, 17.5 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (6.5 mL, 43.7 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **92** (2.05 g, 4.94 mmol, 34% über drei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 1:1): 0.21; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.76 (tq, *J* = 8.6, 1.2 Hz, 1H, *CHCCH*₃), 6.86 (brs, 1H, *NHCH*₂), 3.47-3.41 (m, 3H, *NHCH*₂, *OCHCH*), 3.08-3.05 (m, 2H, *CH*₂*S*), 2.32-2.25 (m, 1H, 1×*CCHCH*₂), 2.19-2.11 (m, 1H, 1×*CCHCH*₂), 1.96 (s, 3H, *OCCH*₃), 1.88 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H, *CHCCH*₃), 1.62-1.50 (m, 2H, 1×*CH*₂*CHCH*₃, *CHCH*₃), 1.44-1.38 (m, 2H, *CH*₂*CH*₃), 1.29-1.22 (m, 1H, 1×*CH*₂*CHCH*₃), 0.89-0.88 (m, 12H, *CHCH*₃, *SiC(CH*₃)₃), 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, *CH*₂*CH*₃), 0.04 (s, 3H, *SiCH*₃), 0.03 (s, 3H, *SiCH*₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[37]

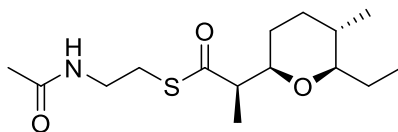
***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*E*)-7-hydroxy-2,6-dimethylnon-2-enthioat (77)**

Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **92** (2.05 g, 4.94 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (18.6 g, 74.0 mmol, 15.0 Äquiv.) das Substrat **77** (1.19 g, 3.95 mmol, 80%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc): 0.16; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.76 (tq, *J* = 7.1, 1.3 Hz, 1H, *CHCCH*₃), 5.96 (brs, 1H, *NHCH*₂), 3.46-3.42 (m, 2H, *NHCH*₂), 3.36 (ddd, *J* = 8.8, 5.4, 3.5 Hz, 1H, *HOCHCH*), 3.07-3.04 (m, 2H, *CH*₂*S*), 2.35-2.27 (m, 1H, 1×*CCHCH*₂), 2.22-2.14 (m, 1H, 1×*CCHCH*₂), 1.96 (s, 3H, *OCCH*₃), 1.87 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H, *CHCCH*₃), 1.71-1.64 (m, 1H, 1×*CH*₂*CHCH*₃), 1.58-1.50 (m, 2H, 1×*CH*₂*CH*₃, *CHCH*₃), 1.44-1.35 (m, 1H, 1×*CH*₂*CH*₃), 1.34-1.24 (m, 1H, 1×*CH*₂*CHCH*₃), 0.97 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, *CH*₂*CH*₃), 0.93 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, *CHCH*₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[37]

S-(2-Acetamidoethyl) (*R*)-2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)propanthioat (**78**)

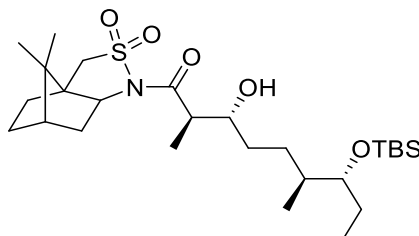


Produkt **78** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **77** mit AmbDH3 nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloser Feststoff erhalten.

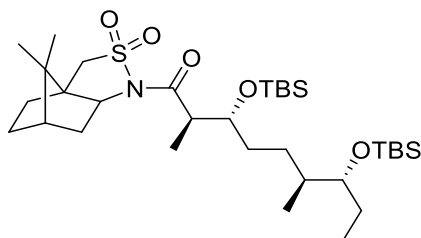
R_f (EtOAc): 0.35; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.89 (brs, 1H, NHCH₂), 3.49-3.42 (m, 3H, OCHCH₂CH₂, NHCH₂), 3.06-2.96 (m, 2H, CH₂S), 2.78 (td, *J* = 9.3, 2.6 Hz, 1H, OCHCH₂CH₂), 2.72 (dq, *J* = 9.0, 7.0 Hz, 1H, CCHCH₃), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.81-1.77 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.69-1.60 (m, 2H, 1×CH₂CH₃, 1×OCHCH₂CH₂), 1.34-1.15 (m, 4H, CH₂CHCH₃, 1×OCHCH₂CH₂, 1×CH₂CHCH₃, 1×CH₂CH₃), 1.10 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CCHCH₃), 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.79 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₂CHCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[37]

(2*R*,3*R*,6*S*,7*R*)-7-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-1-((3*aR*,6*S*)-8,8-dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3*H*-3*a*,6-methanbenzo[*c*]isothiazol-1(4*H*)-yl)-3-hydroxy-2,6-dimethylnonan-1-on (**93**)



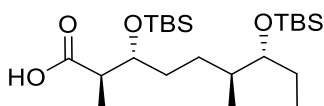
Gemäß AAV **A** wurde aus Sultam **85** (303 mg, 1.12 mmol, 1.0 Äquiv.), DIPEA (0.29 mL, 2.68 mmol, 1.5 Äquiv.), TMSOTf (0.36 mL, 2.01 mmol, 1.8 Äquiv.) und **91** (433 mg, 1.68 mmol, 1.5 Äquiv.) das Aldolprodukt **93** als gelbes Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

(2R,3R,6S,7R)-3,7-bis((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-1-((3aR,6S)-8,8-dimethyl-2,2-dioxido-tetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo[c]isothiazol-1(4H)-yl)-2,6-dimethylnonan-1-on (94)

Gemäß AAV **B** wurde aus dem Aldolprodukt **93** (592 mg, 1.12 mmol, 1.0 Äquiv.), 2,6-Lutidin (0.20 mL, 1.68 mmol, 1.5 Äquiv.) und TBSOTf (0.38 mL, 1.68 mmol, 1.5 Äquiv.) das TBS-geschützte Produkt **94** (262 mg, 0.41 mmol, 37% über zwei Stufen) als farbloser Feststoff erhalten.

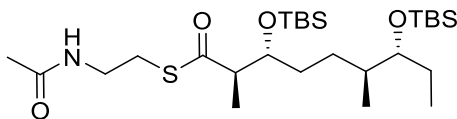
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.12-4.09 (m, 1H, CCHCHOTBS), 3.88 (dd, 1H, *J* = 7.6, 4.9 Hz, CHN), 3.49 (d, 1H, *J* = 14.3 Hz, 1×CH₂S), 3.44-3.39 (m, 2H, 1×CH₂S, CHOTBS), 3.31-3.26 (m, 1H, NCCHCH₃), 2.05 (dd, 1H, *J* = 13.5, 7.8 Hz, 1×CHCH₂CH), 1.53-1.28 (m, 8H, OCHCH₂CH₂, CH₂CHCH₃, CHCHOTBS, CH₂CH₃, CCH₂CH₂), 1.14 (s, 3H, CCH₃), 1.11 (d, 3 H, *J* = 6.4Hz, NCCHCH₃), 0.96 (s, 3H, CCH₃), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.84 (t, 3H, *J* = 7.8 Hz, CH₂CH₃), 0.81 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz, CH₂CHCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.07 (s, 3H, SiCH₃), 0.02 (s, 3H, SiCH₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[38]

(2R,3R,6S,7R)-3,7-Bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2,6-dimethylnonansäure (95)

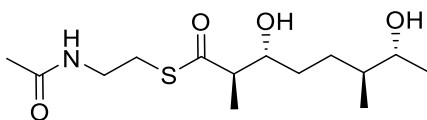
Das Sultam **94** wurde in THF/H₂O (3:1, 3.2 mL) vorgelegt und das Gemisch auf 0 °C gekühlt. LiOH (23 mg, 0.40 mmol, 1.25 Äquiv.) wurde hinzugegeben und anschließend H₂O₂ (30%, 0.18 mL, 2.00 mmol, 5.0 Äquiv.) langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht rühren gelassen. Durch Zugabe ges. Na₂S₂O₃-Lösung und HCl (1 M in H₂O) wurde die Reaktion beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Die Carbonsäure **95** wurde als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

***S*-(2-Acetamidoethyl)-(2*R*,3*R*,6*S*,7*R*)-3,7-Bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2,6-dimethylnonanthioat (96)**



Gemäß AAV **J** wurde aus der Carbonsäure **95** (179 mg, 0.40 mmol, 1.0 Äquiv.) und HSNAC (53 mg, 0.44 mmol, 1.1 Äquiv.), DCC (91 mg, 0.44 mmol, 1.1 Äquiv.) und DMAP (11 mg, 88.0 μ mol, 0.2 Äquiv.) das Produkt **96** als gelbliches Öl erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

***S*-(2-Acetamidoethyl)-(2*R*,3*R*,6*S*,7*R*)-3,7-dihydroxy-2,6-dimethylnonanthioat (76)**

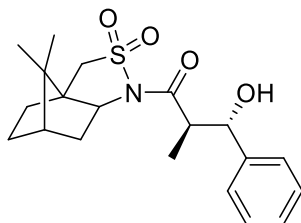


Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **96** (50 mg, 91.0 μ mol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (343 mg, 1.37 mmol, 15.0 Äquiv.) das Substrat **76** (24 mg, 74.0 μ mol, 81%) nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.06 (brs, 1H, NH), 3.71-3.68 (m, 1H, CCHCH), 3.49-3.39 (m, 2H, NHCH₂), 3.33 (ddd, 1H, *J* = 9.1, 6.1, 3.3 Hz, CHCH₂CH₃), 3.10-2.97 (m, 2H, CH₂S), 2.81-2.75 (m, 1H, CCHCH₃), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.72-1.50 (m, 4H, .1 \times CH₂CHCH₃, CHCH₃, CH₂CH₃), 1.43-1.32 (m, 2H, CH₂CH₂), 1.27-1.19 (m, 4H, CH₂CHCH₃, CHCH₃), 0.96 (t, 3H, *J* = 7.4 Hz, CH₂CH₃), 0.89 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, CHCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[38]

(2*R*,3*S*)-1-[(3*aR*,6*S*)-8,8-Dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3*H*-3*a*,6-methanbenzo-*[c]*isothiazol-1(4*H*)-yl]-3-hydroxy-2-methyl-3-phenylpropan-1-on (111)

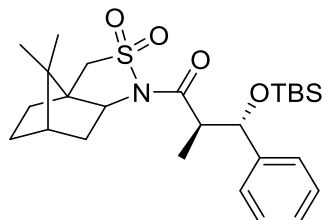


Gemäß AAV **A** wurde aus Sultam **85** (1.00 g, 3.69 mmol, 1.0 Äquiv.), DIPEA (0.96 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.), TMSOTf (1.2 mL, 6.63 mmol, 1.8 Äquiv.) und Benzaldehyd

Experimenteller Teil

(0.56 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.) das Aldolprodukt **111** als gelbes Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

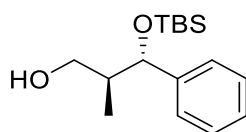
(2R,3S)-3-[(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)-1-[(3aR,6S)-8,8-dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo[*c*]isothiazol-1(4H)-yl]-2-methyl-3-phenyl-propan-1-on (112)



Gemäß AAV **B** wurde aus dem Aldolprodukt **111** (1.39 g, 3.69 mmol, 1.0 Äquiv.), 2,6-Lutidin (0.64 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.) und TBSOTf (1.3 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.) das TBS-geschützte Produkt **112** (1.30 g, 2.65 mmol, 72% über zwei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.33; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -28.8^\circ$; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.33-7.23 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.82 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, OCHCH), 3.91 (dd, $J = 7.8, 5.0$ Hz, 1H, CHN), 3.52 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H, 1×CH₂S), 3.42 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H, 1×CH₂S), 3.40-3.35 (m, 1H, CHCH₃), 2.25-2.20 (m, 1H, 1×CCH₂CH₂), 2.10 (dd, $J = 13.8, 7.9$ Hz, 1H, 1×CCH₂CH₂), 1.95-1.86 (m, 3H, CH₂CHCH₂, 1×NCHCH, 1×CH₂CH₂CH), 1.43-1.33 (m, 2H, 1×CH₂CH₂CH, 1×NCHCH₂), 1.21 (s, 3H, CCH₃), 0.97 (s, 3H, CCH₃), 0.87 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CHCH₃), 0.76 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), -0.08 (s, 3H, OSiCH₃), -0.29 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 174.1 (q, NCO), 142.5 (q, C_{Ar}), 128.2 (t, CH_{Ar}), 127.9 (t, CH_{Ar}), 127.8 (t, CH_{Ar}), 78.6 (t, OCHCH), 65.8 (t, CHN), 53.3 (s, CH₂S), 49.0 (t, CHCH₃), 48.3 (q, C(CH₃)₂), 47.9 (q, CCH₂), 45.0 (t, CH₂CHCH₂), 39.0 (s, CCH₂CH₂), 33.2 (s, NCHCH₂), 26.7 (s, CH₂CH₂CH), 26.0 (p, OSiC(CH₃)₃), 21.5 (p, CCH₃), 20.1 (p, CCH₃), 18.2 (q, OSiC(CH₃)₃), 14.8 (p, CHCH₃), -4.5 (p, OSiCH₃), -4.6 (OSiCH₃); **HRMS** (ESI+) m/z für C₂₆H₄₁NNaO₄SSi [M+Na]⁺: ber. 514.2412, gef. 514.2418.

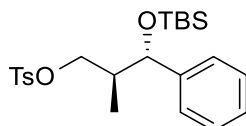
(2*S*,3*S*)-3-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-2-methyl-3-phenylpropan-1-ol (113)



Gemäß AAV C wurde aus dem TBS-geschützten Aldolprodukt **112** (1.07 g, 2.18 mmol, 1.0 Äquiv.) und LiBH₄ (71.0 mg, 3.27 mmol, 1.5 Äquiv.) der Alkohol **113** (400 mg, 1.42 mmol, 65%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (CH₂Cl₂) als farbloses Öl erhalten.

R_f (CH₂Cl₂): 0.22; $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -29.6^\circ$; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.34-7.24 (m, 1H, CH_{Ar}), 4.56 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, OCHCH), 3.68 (ddd, *J* = 10.7, 6.3, 3.4 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 3.60 (ddd, *J* = 10.9, 6.1, 4.6 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 2.96-2.94 (m, 1H, HOCH₂), 1.96-1.89 (m, 1H, CHCH₃), 0.88 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.85 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CHCH₃), 0.04 (s, 3H, OSiCH₃), -0.26 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 143.7 (q, C_{Ar}), 128.2 (t, CH_{Ar}), 127.6 (t, CH_{Ar}), 126.8 (t, CH_{Ar}), 81.3 (t, OCHCH), 66.5 (s, HOCH₂), 43.2 (t, CHCH₃), 25.9 (p, OSiC(CH₃)₃), 18.2 (q, OSiC(CH₃)₃), 14.5 (p, CHCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃), -5.1 (p, OSiCH₃); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₆H₂₆OSi [M-H₂O+H]⁺: ber. 263.1826, gef. 263.1820.

(2*S*,3*S*)-3-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-2-methyl-3-phenylpropyl-4-methyl-benzolsulfonat (114)



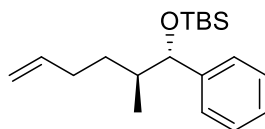
Gemäß AAV D wurde aus dem Alkohol **113** (400 mg, 1.43 mmol, 1.0 Äquiv.), TsCl (326 mg, 1.71 mmol, 1.2 Äquiv.) und Pyridin (0.17 mL, 2.14 mmol, 1.5 Äquiv.) das Tosylat **114** (400 mg, 0.92 mmol, 65%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 19:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 19:1): 0.22; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.78-7.76 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.34-7.32 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.28-7.22 (m, 3H, CH_{Ar}), 7.18-7.16 (m, 2H, CH_{Ar}), 4.42 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, OCHCH), 4.09 (dd, *J* = 9.3, 6.3 Hz, 1H, 1×OCH₂), 4.05 (dd, *J* = 9.3, 4.4 Hz, 1H, 1×OCH₂), 2.45 (s, 3H, CH_{Ar}C_{Ar}CH₃), 2.07-1.99 (m, 1H, CHCH₃), 0.78 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.72 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃), -0.05 (s, 3H, OSiCH₃), -0.32 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 144.8 (q, C_{Ar}), 142.7 (q, C_{Ar}), 133.1 (q, CH_{Ar}), 129.9 (t, CH_{Ar}), 128.2 (t, CH_{Ar}), 128.1 (t, CH_{Ar}), 127.6 (t, CH_{Ar}), 126.9 (t, CH_{Ar}), 76.1 (t, OCHCH),

Experimenteller Teil

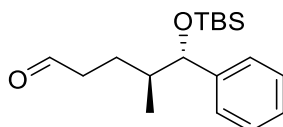
72.5 (s, OCH₂), 41.5 (t, CHCH₃), 25.9 (p, OSiC(CH₃)₃), 21.8 (p, CH_{Ar}C_{Ar}CH₃), 13.5 (p, CHCH₃), -4.5 (p, OSiCH₃), -5.2 (p, OSiCH₃).

tert-Butyldimethyl[*(1S,2S)*-2-methyl-1-phenylhex-5-en-1-yl]oxy]silan (**115**)



Gemäß AAV **E** wurde aus dem Tosylat **114** (230 mg, 529 μ mol, 1.0 Äquiv.) und Allylmagnesiumbromid (aus Allylbromid (0.18 mL, 2.12 mmol, 4.0 Äquiv.) und Magnesium (62.0 mg, 2.54 mmol, 4.8 Äquiv.)) das Alken **115** nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan) als farbloses Öl erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

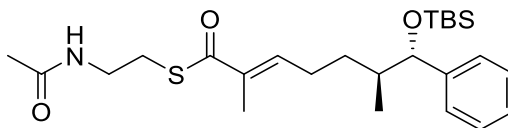
(4S,5S)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-4-methyl-5-phenylpentanal (**116**)



Gemäß AAV **F** wurde aus dem Alken **115** (150 mg, 493 μ mol, 1.0 Äquiv.) und PPh₃ (194 mg, 740 μ mol, 1.5 Äquiv.) der Aldehyd **116** (110 mg, 359 μ mol, 68% über zwei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 19:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 19:1): 0.28; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -52.3^\circ$; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 9.71 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H, HCO), 7.31-7.21 (m, 5H CH_{Ar}), 4.41 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, OCHCH), 2.45 (dddd, $J = 17.0, 9.7, 5.7, 1.8$ Hz, 1H, 1 \times HCOCH₂), 2.32 (dddd, $J = 16.2, 9.4, 6.4, 2.1$ Hz, 1H, 1 \times HCOCH₂), 1.94 (dddd, $J = 13.6, 9.9, 6.4, 3.8$ Hz, 1H, 1 \times CH₂CHCH₃), 1.76-1.68 (m, 1H, CHCH₃), 1.45-1.37 (m, 1H, 1 \times CH₂CHCH₃), 0.88 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.78 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CHCH₃), 0.01 (s, 3H, OSiCH₃), -0.25 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 203.2 (t, HCO), 143.9 (q, C_{Ar}), 128.0 (t, CH_{Ar}), 127.2 (t, CH_{Ar}), 126.9 (t, CH_{Ar}), 79.4 (t, OCHCH), 42.0 (s, HCOCH₂), 41.2 (t, CHCH₃), 26.0 (p, OSiC(CH₃)₃), 24.1 (s, CH₂CHCH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 16.1 (p, CHCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃), -5.0 (p, OSiCH₃).

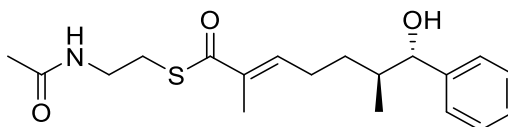
***S*-(2-Acetamidoethyl)(6*S*,7*S*,*E*)-7-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2,6-dimethyl-7-phenylhept-2-enthioat (117)**



Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **116** (110 mg, 359 μmol , 1.0 Äquiv.), Phosphonate **82** (146 mg, 431 μmol , 1.2 Äquiv.) und DBU (0.16 mL, 1.08 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **117** (88.0 mg, 190 μmol , 53%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.46; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.31-7.27 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.25-7.20 (m, 3H, CH_{Ar}), 6.70 (tq, $J = 7.2, 1.1$ Hz, 1H, CHCCH₃), 5.92 (brs, 1H, CH₂NH), 4.42 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, OCHCH), 3.47-3.43 (m, 2H, CH₂NH), 3.07-3.05 (m, 2H, SCH₂), 2.29-2.22 (m, 1H, 1 \times CCHCH₂), 2.13-2.06 (m, 1H, 1 \times CCHCH₂), 1.97 (s, 3H, OCCH₃), 1.84 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H, CHCCH₃), 1.75-1.67 (m, 2H, CHCH₃, 1 \times OCHCHCH₂), 1.24-1.18 (m, 1H, 1 \times OCHCHCH₂), 0.88 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.81 (d, $J = 5.7$ Hz, 3H, CHCH₃), 0.01 (s, 3H, OSiCH₃), -0.25 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.3 (q, SCO), 170.7 (q, OCCH₃), 144.0 (q, C_{Ar}), 142.7 (t, CHCCH₃), 135.7 (q, CHCCH₃), 127.9 (t, CH_{Ar}), 127.1 (t, CH_{Ar}), 126.9 (t, CH_{Ar}), 79.3 (t, OCHCH), 41.5 (t, CHCH₃), 40.2 (s, CH₂NH), 30.4 (s, OCHCHCH₂), 28.4 (s, SCH₂), 26.8 (s, CCHCH₂), 26.0 (p, OSiC(CH₃)₃), 23.3 (p, OCCH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 16.1 (p, CHCH₃), 12.6 (p, CHCCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃), -4.9 (OSiCH₃); **HRMS** (ESI+) m/z für C₂₅H₄₁NNaO₃SSi [M+Na]⁺: ber. 486.2469, gef. 486.2458.

***S*-(2-Acetamidoethyl)(6*S*,7*S*,*E*)-7-hydroxy-2,6-dimethyl-7-phenylhept-2-en-thioat (118)**



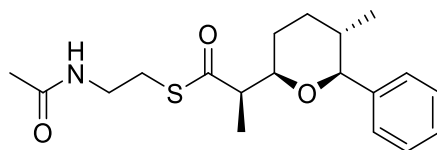
Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **117** (88.0 mg, 190 μmol , 1.0 Äquiv.) und PPTS (382 mg, 1.52 mmol, 8.0 Äquiv.) das Substrat **118** (40.0 mg, 114 μmol , 60%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc): 0.22; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.37-7.27 (m, 5H, CH_{Ar}), 6.76 (tq, $J = 7.3, 1.3$ Hz, 1H, CHCH₃), 5.88 (brs, 1H, CH₂NH), 4.45 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, HOCHCH), 3.47-3.43 (m, 2H, CH₂NH), 3.06 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH₂S), 2.36-2.29 (m, 1H, 1 \times CCHCH₂),

Experimenteller Teil

2.23-2.15 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.96 (s, 3H, CH₃CN), 1.89-1.81 (m, 5H, CHCCH₃, CHCH₃, 1×CH₂CHCH₃), 1.35-1.32 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 0.81 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.2 (q, SCO), 170.4 (q, OCCH₃), 143.5 (q, C_{Ar}), 142.4 (t, CHCCH₃), 135.9 (q, CHCCH₃), 128.5 (t, CH_{Ar}), 127.8 (t, CH_{Ar}), 126.7 (t, CH_{Ar}), 79.0 (t, HOCHCH), 40.0 (s, CH₂NH), 40.0 (t, CHCH₃), 31.1 (s, CH₂CHCH₃), 28.6 (s, CH₂S), 26.6 (s, CCHCH₂), 23.4 (p, OCCH₃), 15.9 (p, CHCH₃), 12.6 (p, CHCCH₃); HRMS (ESI+) *m/z* für C₁₉H₂₇NNaO₃S [M+Na]⁺: ber. 372.1616, gef. 372.1604.

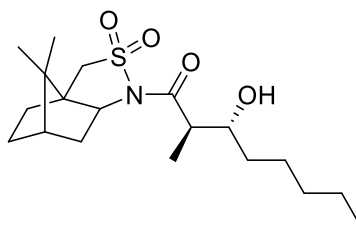
S-(2-Acetamidoethyl) (R)-2-((2R,5S,6S)-5-methyl-6-phenyltetrahydro-2H-pyran-2-yl)propanthioat (110)



Produkt **110** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **118** mit AmbDH3 nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloser Feststoff erhalten.

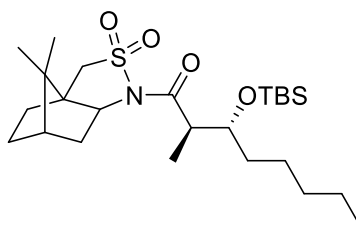
R_f (EtOAc): 0.41; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.33-7.28 (m, 4H, CH_{Ar}), 7.27-7.24 (m, 1H, CH_{Ar}), 5.27 (bs, 1H, CH₂NH), 3.85 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, OCHC), 3.68 (ddd, *J* = 10.5, 8.5, 1.9 Hz, 1H, CCHCHO), 3.22-3.14 (m, 2H, CH₂NH), 3.10-3.05 (m, 1H, 1×CH₂S), 2.85-2.75 (m, 2H, 1×CH₂S, CCHCH₃), 1.98-1.93 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.81-1.77 (m, 1H, 1×CCHCHCH₂), 1.66 (s, 3H, OCCH₃), 1.64-1.56 (m, 1H, CH₂CHCH₃), 1.45-1.32 (m, 2H, 1×CCHCHCH₂, 1×CH₂CHCH₃), 1.14 (d, 7.1 Hz, 3H, CCHCH₃), 0.65 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₂CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 202.7 (q, SCO), 170.5 (q, OCCH₃), 141.5 (q, C_{Ar}), 128.1 (t, CH_{Ar}), 127.8 (t, CH_{Ar}), 127.3 (t, CH_{Ar}), 86.8 (t, CCHCH₃), 79.9 (t, CCHCHO), 54.1 (CCHCH₃), 39.6 (s, CH₂NH), 36.9 (t, CH₂CHCH₃), 32.5 (s, CH₂CHCH₃), 28.9 (s, CCHCHCH₂), 28.5 (s, CH₂S), 22.9 (p, OCCH₃), 17.7 (p, CH₂CHCH₃), 13.4 (p, CCHCH₃); HRMS (ESI+) *m/z* für C₁₉H₂₈NO₃S [M+H]⁺: ber. 350.1784, gef. 350.1773.

(2R,3R)-1-[(3aR,6S)-8,8-Dimethyl-2,2-dioxidotetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo-[c]-isothiazol(4H)-yl]-3-hydroxy-2-methyloctan-1-on (119)



Gemäß AAV **A** wurde aus Sultam **85** (1.00 g, 3.69 mmol, 1.0 Äquiv.), DIPEA (0.96 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.), TMSOTf (1.2 mL, 6.63 mmol, 1.8 Äquiv.) und Hexanal (0.68 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.) das Aldolprodukt **119** als gelbes Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

(2R,3R)-3-[(tert-Butyldimethylsilyl)oxy]-1-[(3aR,6S)-8,8-dimethyl-2,2-dioxido-tetrahydro-3H-3a,6-methanbenzo[c]isothiazol-1(4H)-yl]-2-methyloctan-1-on (120)



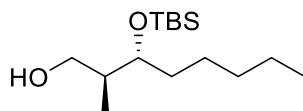
Gemäß AAV **B** wurde aus dem Aldolprodukt **119** (1.37 g, 3.69 mmol, 1.0 Äquiv.), 2,6-Lutidin (0.64 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.) und TBSOTf (1.3 mL, 5.53 mmol, 1.5 Äquiv.) das TBS-geschützte Produkt **120** (1.55 g, 3.19 mmol, 87% über zwei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (CH₂Cl₂) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (CH₂Cl₂): 0.49; $[\alpha]_D^{22} = +17.7^\circ$; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.14-4.10 (m; 1H, CHO), 3.88 (dd, $J = 7.7, 4.9$ Hz, 1H, CHN), 3.48 (d, $J = 13.7$ Hz, 1×CH₂S), 3.42 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H, 1×CH₂S), 3.30 (quin., $J = 6.7$ Hz, CHCH₃), 2.05 (dd, $J = 13.8, 7.7$ Hz, 1×CCH₂CH₂), 2.00-1.85 (m, 4H, 1×CHCH₂CH₂, CH₂CHCH₂, 1×CCH₂CH₂, 1×CHCH₂CH₂), 1.50-1.16 (m, 10H, 1×CHCH₂CH₂, 1×CHCH₂CH, CH₃CH₂, CH₃CH₂CH₂, OCHCH₂, OCH₂CH₂), 1.15 (s, 3H, CCH₃), 1.11 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CHCH₃), 0.96 (s, 3H, CCH₃), 0.88-0.85 (m, 12H, OSiC(CH₃)₃, CH₃CH₂), 0.09 (s, 3H, OSiCH₃), 0.06 (s, 3H, OSiCH₃), **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 174.3 (q, NCO), 72.7 (t, CHO), 65.5 (t, CHN), 53.3 (s, CH₂S), 48.2 (q, CCH₃), 47.9 (q, CCH₂), 46.6 (t, CHCH₃), 44.8 (t, CH₂CHCH₂), 38.7 (s, CCH₂CH₂), 33.0 (s, CHCH₂CH), 32.2 (s, OCHCH₂CH₂), 32.0 (s, CH₃CH₂CH₂), 26.6 (s, CHCH₂CH₂), 26.0 (p, OSiC(CH₃)₃), 24.7 (s, OCHCH₂), 22.7 (s, CH₃CH₂), 21.0 (p, CCH₃), 20.0 (p, CCH₃), 18.2 (q, OSiC(CH₃)₃), 14.2 (p,

Experimenteller Teil

CH₂CH₃), 10.4 (p, CHCH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.9 (p, OSiCH₃), **HRMS** (ESI+) m/z für C₂₅H₄₇NO₄SSi [M+H]⁺: ber. 486.3068, gef. 486.3057.

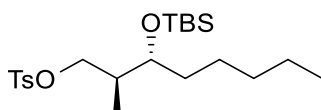
(2*S*,3*R*)-3-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-2-methyloctan-1-ol (**121**)



Gemäß AAV **C** wurde aus dem TBS-geschützten Aldolprodukt **121** (1.55 g, 3.19 mmol, 1.0 Äquiv.) und LiBH₄ (104 mg, 4.79 mmol, 1.5 Äquiv.) der Alkohol **120** (500 mg, 1.82 mmol, 57%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (CH₂Cl₂) als farbloses Öl erhalten.

R_f (CH₂Cl₂): 0.27; [α]_D²² = +16.7°; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.80 (dd, *J* = 10.9, 3.6 Hz, 1H, 1×CH₂OH), 3.68 (dt, *J* = 6.5, 4.9 Hz, 1H, CHOSi), 3.53 (dd, 10.9, 5.1 Hz, 1H, 1×CH₂OH), 2.71 (brs, 1H, CH₂OH), 1.79-1.72 (m, 1H, CHCH₃), 1.59-1.50 (m, 2H, OCHCH₂), 1.34-1.25 (m, 6H, OCH₂CH₂CH₂, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃), 1.00 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, CHCH₃), 0.90-0.87 (m, 12H, OSiC(CH₃)₃, CH₂CH₃), 0.09 (s, 3H, OSiCH₃), 0.08 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 77.8 (t, CHOSi), 65.6 (s, CH₂OH), 37.7 (t, CHCH₃), 35.1 (s, OCHCH₂), 32.2 (s, CH₂CH₂CH₃), 26.0 (p, OSiC(CH₃)₃), 24.6 (s, OCHCH₂CH₂), 22.8 (s, CH₂CH₃), 18.1 (q, OSiC(CH₃)₃), 15.0 (p, CHCH₃), 14.2 (p, CH₂CH₃), -4.1 (p, OSiCH₃), -4.6 (p, OSiCH₃); **HRMS** (ESI+) m/z für C₁₅H₃₄O₂Si [M+H]⁺: ber. 275.2401, gef. 275.2394.

(2*S*,3*R*)-3-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-2-methyloctyl 4-methylbenzolsulfonat (**122**)



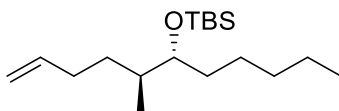
Gemäß AAV **D** wurde aus dem Alkohol **121** (500 mg, 1.82 mmol, 1.0 Äquiv.), TsCl (694 mg, 3.64 mmol, 2.0 Äquiv.) und Pyridin (0.32 mL, 4.01 mmol, 2.2 Äquiv.) das Tosylat **122** (710 mg, 1.66 mmol, 91%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (CH₂Cl₂) als farbloses Öl erhalten.

R_f (CH₂Cl₂): 0.68; [α]_D²³ = -3.2°; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.80-7.77 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.35-7.33 (m, 2H, CH_{Ar}), 4.06 (dd, *J* = 9.5, 5.3 Hz, 1H, 1×CH₂O), 3.85 (dd, *J* = 9.5, 7.4 Hz, 1H, 1×CH₂O), 3.54 (dt, *J* = 5.4, 5.3 Hz, 1H, CHOSi), 2.45 (s, 3H, CH₃CH_{Ar}CH_{Ar}), 1.98-1.90 (m, 1H, CHCH₃), 1.41-1.15 (m, 8H, OCHCH₂, OCHCH₂CH₂, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.86 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃), 0.81 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃),

Experimenteller Teil

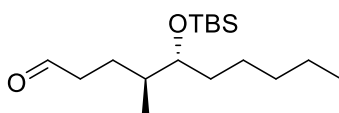
0.00 (s, 3H, OSiCH₃), -0.04 (s, 3H, OSiCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 144.8 (q, C_{Ar}), 133.2 (q, C_{Ar}), 129.9 (t, CH_{Ar}), 128.1 (t, CH_{Ar}), 73.3 (t, CHOSi), 72.8 (s, CH₂OS), 37.5 (t, CHCH₃), 33.7 (s, OCH₂CH₂), 32.1 (s, CH₂CH₂CH₃), 25.9 (p, OSiC(CH₃)₃), 24.3 (s, OCHCH₂CH₂), 22.8 (s, CH₂CH₃), 21.8 (p, CH₃C_{Ar}CH_{Ar}), 18.1 (q, OSiC(CH₃)₃), 14.2 (p, CH₂CH₃), 13.5 (p, CHCH₃), -4.1 (p, OSiCH₃), -4.7 (p, OSiCH₃).

tert-Butyldimethyl[*((5S,6R)*-5-methylundec-1-en-6-yl)oxy]silan (**123**)



Gemäß AAV **E** wurde aus dem Tosylat **122** (700 mg, 1.63 mmol, 1.0 Äquiv.) und Allylmagnesiumbromid (aus Allylbromid (0.56 mL, 6.53 mmol, 4.0 Äquiv.) und Magnesium (190 mg, 7.82 mmol, 4.8 Äquiv.)) das Alken **123** nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan) als farbloses Öl erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

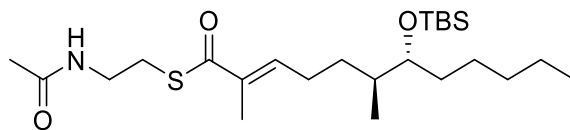
(4S,5R)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-4-methyldecanal (**124**)



Gemäß AAV **F** wurde aus dem Alken **123** (400 mg, 1.34 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPh₃ (527 mg, 2.01 mmol, 1.5 Äquiv.) der Aldehyd **124** (300 mg, 998 μmol, 61% über zwei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 19:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 19:1): 0.16; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 9.77 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H, HCO), 3.52-3.49 (m, 1H, OCHCH), 2.50 (dddd, *J* = 16.9, 9.5, 5.7, 1.7 Hz, 1H, 1×HCOCH₂), 2.38 (dddd, *J* = 17.0, 9.3, 6.6, 2.0 Hz, 1H, 1×HCOCH₂), 1.78-1.71 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.60-1.52 (m, 1H, CHCH₃), 1.43-1.20 (m, 9H, 1×CH₂CHCH₃, OCHCH₂, OCHCH₂CH₂, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃), 0.90-0.86 (m, 15H, OSiC(CH₃)₃, CH₂CH₃, CHCH₃), 0.04 (s, 3H, OSiCH₃), 0.02 (s, 3H, OSiCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 203.1 (p, HCO), 76.0 (t, OCHCH), 42.3 (s, HCOCH₂), 37.7 (t, CHCH₃), 32.8 (s, OCHCH₂), 32.2 (s, CH₂CH₂CH₃), 26.1 (p, OSiC(CH₃)₃), 25.4 (s, OCHCH₂CH₂), 24.4 (s, CH₂CHCH₃), 22.8 (s, CH₂CH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 15.0 (p, CHCH₃), 14.2 (p, CH₂CH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃).

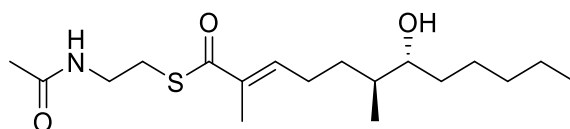
***S*-(2-Acetamidoethyl)(6*S*,7*R*,*E*)-7-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2,6-dimethyl-dodec-2-enthioat (**125**)**



Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **124** (300 mg, 1.00 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonat **82** (407 mg, 1.20 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (0.45 mL, 2.99 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **125** (279 mg, 0.61 mmol, 61%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.17; $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +3.9^\circ$; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.76 (t, 7.2 Hz, 1H, CHCCH₃), 5.92 (brs, 1H, CH₂NH), 3.52-3.49 (m, 1H, OCHCH), 3.47-3.43 (m, 2H, CH₂NH), 3.07 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, CH₂SC), 2.32-2.24 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.97 (s, 3H, OCCH₃), 1.88 (CHCCH₃), 1.61-1.48 (m, 2H, OCHCH, 1×CH₂CHCH₃), 1.39-1.20 (m, 9H, 1×CH₂CHCH₃, OCHCH₂, OCHCH₂CH₂, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃), 0.89-0.87 (m, 15H, OSiC(CH₃)₃, CH₂CH₃, CHCH₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃), 0.02 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.2 (q, SCO), 170.5 (q, OCCH₃), 142.6 (t, CHCCH₃), 135.9 (q, CHCCH₃), 76.1 (t, OCHCH), 40.1 (s, CH₂NH), 38.0 (t, OCHCH), 32.7 (s, OCHCH₂), 32.2 (s, CH₂CH₂CH₃), 31.1 (s, CH₂CHCH₃), 28.5 (s, CH₂SC), 27.0 (s, CCHCH₂), 26.1 (p, OSiC(CH₃)₃), 25.5 (s, OCHCH₂CH₂), 23.4 (p, OCCH₃), 22.8 (s, CH₂CH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 15.0 (p, CHCH₃), 14.2 (p, CH₂CH₃), 12.6 (p, CHCCH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.3 (p, OSiCH₃); **HRMS** (ESI⁺) *m/z* für C₂₄H₄₇NO₃SSi [M+Na]⁺: ber. 480.2938, gef. 480.2932.

***S*-(2-Acetamidoethyl)(6*S*,7*R*,*E*)-7-hydroxy-2,6-dimethyldodec-2-enthioat (**126**)**



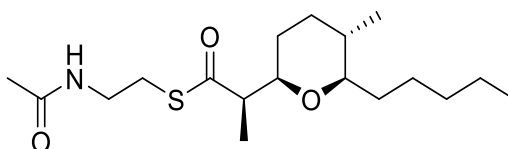
Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **125** (270 mg, 0.59 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (1.19 g, 4.72 mmol, 8.0 Äquiv.) das Substrat **126** (160 mg, 0.47 mmol, 79%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc): 0.56; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +12.8^\circ$; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.77 (tq, *J* = 7.2, 1.3 Hz, 1H, CHCCH₃), 5.87 (brs, 1H, CH₂NH), 3.47-3.43 (m, 3H, OCHCH, CH₂NH), 3.07 (t, *J* = 6.3 Hz, CH₂S), 2.35-2.28 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 2.22-2.14 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.97 (s,

Experimenteller Teil

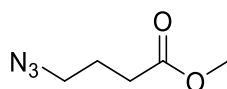
3H, OCCH₃), 1.88 (d, $J = 1.1$ Hz, 3H, CHCCH₃), 1.70-1.63 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.59-1.52 (m, 1H, OCHCH), 1.50-1.44 (m, 2H, 1×OCHCH₂CH₂, 1×OCHCH₂), 1.37-1.25 (m, 7H, 1×CH₂CHCH₃, 1×OCHCH₂CH₂, 1×OCHCH₂, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₃), 0.93 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CHCH₃), 0.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH₂CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 194.2 (q, SCO), 170.4 (q, OCCH₃), 142.3 (t, CHCCH₃), 136.0 (q, CHCCH₃), 76.0 (t, OCHCH), 40.0 (s, CH₂NH), 38.6 (t, OCHCH), 33.8 (s, OCHCH₂), 32.1 (s, CH₂CH₂CH₃), 30.8 (s, CH₂CHCH₃), 28.6 (s, CH₂SC), 26.7 (s, CCHCH₂), 25.9 (s, OCHCH₂CH₂), 23.4 (p, OCCH₃), 22.8 (s, CH₂CH₃), 15.4 (p, CHCH₃), 14.2 (p, CH₂CH₃), 12.6 (p, CHCCH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₁₈H₃₃NO₃S [M+H]⁺: ber. 344.2254, gef. 344.2245.

S-(2-Acetamidoethyl) (*R*)-2-((2*R*,5*S*,6*R*)-5-methyl-6-pentyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)propanthioat (**103**)



Produkt **103** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **126** mit AmbDH3 nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloser Feststoff erhalten.

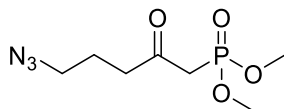
$t_R = 14.3$ min; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.84 (brs, 1H, CH₂NH), 3.49-3.42 (m, 3H, CH₂NH, OCHCHC), 3.05-2.96 (m, 2H, SCH₂), 2.84 (td, $J = 9.4, 2.5$ Hz, 1H, OCHCHCH₂), 2.72 (dq, 9.0, 7.0 Hz, 1H, CCHCH₃), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.82-1.78 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.69-1.66 (m, 1H, 1×OCHCH₂CH₂CH₃), 1.45-1.39 (m, 1H, 1×CH₂,_{Pent.}), 1.33-1.15 (m, 10H, CH₂CHCH₃, 1×OCHCH₂CH₂CH₃, 7×CH₂,_{Pent.}, 1×CH₂CHCH₃), 1.10 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CCHCH₃), 0.87 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.79 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH₂CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 203.6 (q, SCO), 170.3 (q, OCCH₃), 83.6 (t, OCHCHCH₂), 79.6 (t, OCHCHC), 54.4 (t, CCHCH₃), 40.1 (s, CH₂NH), 35.4 (t, CH₂CHCH₃), 33.1 (s, CH₂,_{Pent.}), 32.9 (s, CH₂CHCH₃), 31.9 (s, CH₂,_{Pent.}), 29.2 (s, OCHCH₂CH₂CH₃), 28.6 (s, SCH₂), 25.1 (s, CH₂,_{Pent.}), 23.4 (p, OCCH₃), 22.8 (s, CH₂,_{Pent.}), 17.8 (p, CH₂CHCH₃), 14.3 (p, CH₂CH₃), 14.1 (p, CCHCH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₁₈H₃₃NNaO₃S [M+Na]⁺: ber. 366.2073, gef. 366.2060.

Methyl-4-azidobutanoate (134)

Methyl-4-brombutyrat (**133**) (3.2 mL, 25.0 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in DMSO (42 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von NaN₃ (2.44 g, 37.5 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde das Reaktionsgemisch für 5 h bei 50 °C gerührt. Durch Zugabe von Wasser wurde die Reaktion beendet. Die wässrige Phase wurde mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Azid **134** (3.58 g, 25.0 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.36 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, N₃CH₂), 2.42 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂CO), 1.91 (quin., *J* = 7.0 Hz, 2H, N₃CH₂CH₂).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[126]

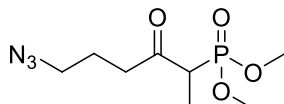
Dimethyl (5-azido-2-oxopentyl)phosphonat (135)

n-Butyllithium (2.5 M in Hexan, 15.0 mL, 37.5 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (65 mL) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Dimethylmethylphosphonat (4.0 mL, 37.5 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch für 30 min bei -78 °C gerührt. In einem weiteren Kolben wurde das Azid **134** (3.58 g, 25.0 mmol, 1.0 Äquiv.) in *abs.* THF (55 mL) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Die phosphonathaltige Lösung wurde *via cannula* zur azidhaltigen Lösung gegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei -78 °C gerührt. Durch Zugabe verd. NH₄-Lösung wurde die Reaktion beendet. Nach Rühren für 10 min bei Raumtemperatur wurde die Mischung unter vermindertem Druck konzentriert. CH₂Cl₂ wurde zugegeben und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde mit ges. NaHCO₃-Lösung und H₂O gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde erneut mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Phosphonat **135** (4.92 g, 20.9 mmol, 84%) wurde als farbloses Öl erhalten.

Experimenteller Teil

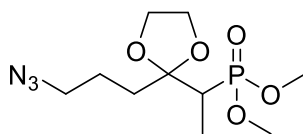
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.80 (d, J = 11.2 Hz, 6H, OCH₃), 3.33 (t, J = 6.7 Hz, 2H, N₃CH₂), 3.11 (d, J = 22.8 Hz, 2H, CCH₂P), 2.74 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂CO), 1.88 (quin., J = 6.8 Hz, 2H, N₃CH₂CH₂); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 200.9 (q, CH₂CO), 53.3 (p, d, J = 6.5 Hz, OCH₃), 50.6 (s, N₃CH₂), 41.7 (s, d, J = 127.9 Hz, CCH₂P), 40.8 (s, d, J = 1.2 Hz, CH₂CO), 22.8 (s, N₃CH₂CH₂); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 22.3; **HRMS** (ESI+) m/z für C₇H₁₄N₃NaO₄P [M+Na]⁺: ber. 258.0614, gef. 258.0608.

Dimethyl (6-azido-3-oxohexan-2-yl)phosphonat (136)



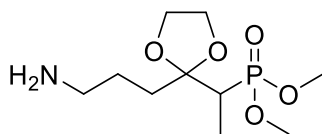
Phosphonat **135** (5.34 g, 22.7 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Aceton (30 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. MeI (1.6 mL, 25.0 mmol, 1.1 Äquiv.) und K₂CO₃ (4.08 g, 29.5 mmol, 1.3 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch zunächst für 1 h bei 0 °C und anschließend für 66 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in verd. NH₄Cl-Lösung aufgenommen. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Produkt **136** (3.45 g, 13.9 mmol, 61%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.41; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.78 (d, J = 11.0 Hz, 3H, OCH₃), 3.77 (d, J = 10.9 Hz, 3H, OCH₃), 3.36-3.20 (m, 3H, N₃CH₂, CHCH₃), 2.92 (dt, J = 18.4, 7.0 Hz, 1H, 1×CH₂CO), 2.60 (dt, J = 18.4, 6.9 Hz, 1H, 1×CH₂CO), 1.91-1.85 (m, 2H, N₃CH₂CH₂), 1.37 (dd, J = 18.0, 7.1 Hz, 3H, CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 205.0 (q, CH₂CO), 53.5 (p, d, J = 6.7 Hz, OCH₃), 53.3 (p, d, J = 6.8 Hz, OCH₃), 50.7 (s, N₃CH₂), 46.4 (t, d, J = 127.3 Hz, CHCH₃), 39.8 (s, CH₂CO), 23.0 (s, N₃H₂CH₂), 11.0 (p, d, J = 6.5 Hz, CHCH₃); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 25.8; **HRMS** (ESI+) m/z für C₈H₁₆N₃NaO₄P [M+Na]⁺: ber. 272.0771, gef. 272.0764.

Dimethyl (1-(2-(3-azidopropyl)-1,3-dioxolan-2-yl)ethyl)phosphonat (137)

Keton **136** (3.45 g, 13.9 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Toluol (400 mL) vorgelegt. Ethylenglykol (21.0 mL, 374 mmol, 27.0 Äquiv.) und *p*-Toluolsulfonsäure (263 mg, 1.39 mmol, 0.1 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch mit aufgesetztem Wasserabscheider für 12 h refluxiert. Durch Zugabe ges. NaHCO₃-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Produkt **137** (3.60 g, 12.3 mmol, 89%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.06-3.97 (m, 4H, OCH₂), 3.76 (d, *J* = 2.5 Hz, 3H, OCH₃), 3.74 (d, *J* = 2.3 Hz, 3H, OCH₃), 3.34-3.24 (m, 2H, N₃CH₂), 2.33 (dq, *J* = 22.1, 7.4 Hz, 1H, CHCH₃), 2.09-2.03 (m, 1H, 1×CH₂C), 1.93-1.87 (m, 1H, 1×CH₂C), 1.77-1.61 (m, 2H, N₃CH₂CH₂), 1.24 (dd, *J* = 17.6, 7.4 Hz, 3H, CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 111.0 (q, OCO), 65.7 (s, OCH₂), 65.4 (s, OCH₂), 52.7 (p, d, *J* = 6.7 Hz, OCH₃), 52.6 (p, d, *J* = 6.6 Hz, OCH₃), 51.6 (s, N₃CH₂), 39.6 (t, d, *J* = 137.9 Hz, CHCH₃), 32.6 (s, CH₂C), 22.8 (s, N₃CH₂CH₂), 10.9 (p, d, *J* = 5.2 Hz, CHCH₃); ³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 31.7; HRMS (ESI+) *m/z* für C₁₀H₂₀N₃NaO₅P [M+Na]⁺: ber. 316.1033, gef. 316.1024.

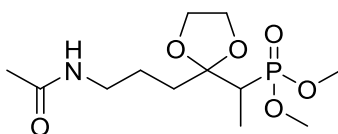
Dimethyl (1-(2-(3-aminopropyl)-1,3-dioxolan-2-yl)ethyl)phosphonat (138)

Azid **137** (1.30 g, 4.43 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (18 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. PPh₃ (1.74 g, 6.65 mmol, 1.5 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 0 °C gerührt. H₂O (0.56 mL, 31.0 mmol, 7.0 Äquiv.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde unter vermindertem Druck konzentriert und der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde lyophilisiert. Das Amin **138** (1.11 g, 4.17 mmol, 94%) wurde als farbloses Öl erhalten.

Experimenteller Teil

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.03-3.96 (m, 4H, 2×OCH₂), 3.74 (d, J = 10.8 Hz, 3H, OCH₃), 3.74 (d, J = 10.7 Hz, 3H, OCH₃), 2.76 (t, J = 7.2 Hz, 2H, H₂NCH₂), 2.39-2.29 (m, 1H, CHCH₃), 2.04-1.98 (m, 1H, 1×OCCH₂), 1.89-1.83 (m, 1H, 1×OCCH₂), 1.67-1.52 (m, 2H, H₂NCH₂CH₂), 1.23 (dd, J = 17.6, 7.4 Hz, 3H, CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 111.2 (q, OCO), 65.7 (s, OCH₂), 65.4 (s, OCH₂), 52.7 (p, d, J = 6.5 Hz, OCH₃), 52.6 (p, d, J = 7.0 Hz, OCH₃), 41.9 (s, H₂NCH₂), 39.6 (t, d, J = 137.6 Hz, CHCH₃), 33.0 (s, d, J = 3.6 Hz, OCCH₂), 26.3 (s, H₂NCH₂CH₂), 10.9 (p, d, J = 5.4 Hz, CHCH₃); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 32.0; **HRMS** (ESI+) m/z für C₁₀H₂₃NO₅P [M+H]⁺: ber. 268.1308, gef. 268.1301.

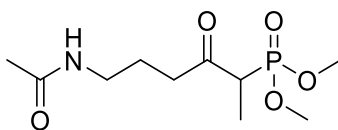
Dimethyl (1-(2-(3-Acetamidopropyl)-1,3-dioxolan-2-yl)ethyl)phosphonat (139)



Amin **138** (0.79 g, 2.94 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ (2.9 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. AcCl (0.63 mL, 8.82 mmol, 3.0 Äquiv.) und Pyridin (0.71 mL, 8.82 mmol, 3.0 Äquiv.) wurden zugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 0 °C gerührt. Durch Zugabe von CH₂Cl₂ und H₂O wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die organische mit H₂O gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Amid **139** (300 mg, 0.97 mmol, 33%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (CH₂Cl₂:MeOH / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH / 9:1): 0.48; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.51 (brs, 1H, CH₂NH), 4.02-3.96 (m, 4H, OCH₂), 3.74 (d, J = 6.2 Hz, 3H, OCH₃), 3.72 (d, J = 6.2 Hz, 3H, OCH₃), 3.31-3.18 (m, 2H, CH₂NH), 2.36 (dq, J = 21.7, 7.6 Hz, 1H, CHCH₃), 2.09-2.03 (m, 1H, 1×CCH₂), 1.99 (s, 3H, OCCH₃), 1.85-1.79 (m, 1H, 1×CCH₂), 1.65-1.57 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.20 (dd, J = 17.4, 7.3 Hz, 3H, CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.9 (q, OCCH₃), 111.0 (q, d, J = 2.2 Hz, CCH), 65.5 (s, OCH₂), 65.4 (s, OCH₂), 52.8 (p, d, J = 6.6 Hz, OCH₃), 52.6 (p, d, J = 6.6 Hz, OCH₃), 39.8 (t, CHCH₃), 39.7 (s, CH₂NH), 33.1 (s, CCH₂), 23.1 (p, OCCH₃), 22.9 (s, CH₂CH₂CH₂), 10.5 (p, d, J = 5.3 Hz, CHCH₃); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 31.7; **HRMS** (ESI+) m/z für C₁₂H₂₅NO₆P [M+H]⁺: ber. 310.1414, gef. 310.1404.

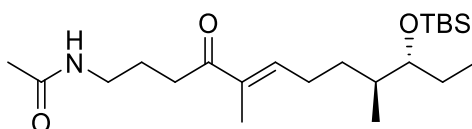
Dimethyl (6-acetamido-3-oxohexan-2-yl)phosphonat (140)



Das Acetal **139** (173 mg, 0.56 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Salzsäure (1 M, 1.1 mL) gelöst und das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von H₂O wurde die Reaktion beendet. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Phosphonat **140** (132 mg, 0.50 mmol, 89%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (CH₂Cl₂:MeOH / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH / 9:1): 0.43; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.56 (brs, 1H, CH₂NH), 3.79 (d, *J* = 11.0 Hz, 3H, OCH₃), 3.76 (d, *J* = 10.9 Hz, 3H, OCH₃), 3.42-3.24 (m, 2H, CHCH₃, 1×CH₂NH), 3.13-3.05 (m, 1H, 1×CH₂NH), 2.99-2.91 (m, 1H, 1×OCCH₂), 2.53 (dt, *J* = 18.6, 5.5 Hz, 1H, 1×OCCH₂), 1.99 (s, 3H, OCCH₃), 1.89-1.75 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.35 (dd, *J* = 18.0, 7.5 Hz, 3H, CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 205.8 (q, OCCH), 171.3 (q, OCCH₃), 53.8 (p, d, *J* = 6.9 Hz, OCH₃), 53.3 (p, d, *J* = 6.8 Hz, OCH₃), 46.6 (t, d, *J* = 127.2 Hz, CHCH₃), 40.3 (s, OCCH₂), 38.5 (s, CH₂NH), 23.0 (s, CH₂CH₂CH₂), 22.9 (p, OCCH₃), 11.0 (p, d, *J* = 6.9 Hz, CHCH₃); **³¹P-NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 25.7; **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₀H₂₁NO₅P [M+H]⁺: ber. 266.1152, gef. 266.1145.

***N*-((9*S*,10*R*,*E*)-10-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-5,9-dimethyl-4-oxododec-5-en-1-yl)acetamid (141)**

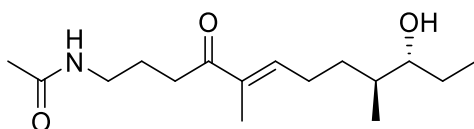


Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **91** (78.0 mg, 0.30 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonat **82** (88.0 mg, 0.33 mmol, 1.1 Äquiv.) und DBU (0.16 mL, 0.91 mmol, 3.0 Äquiv.) das Keton **141** (91.0 mg, 0.23 mmol, 76%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.31; [α]_D²² = +18.0°; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.65-6.62 (m, 1H, CHCCH₃), 6.13 (brs, 1H, CH₂NH), 3.45-3.42 (m, 1H, OCHCH), 3.29-3.25 (m, 2H, CH₂NH), 2.74 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, OCCH₂), 2.34-2.27 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 2.21-2.13 (m, 1H,

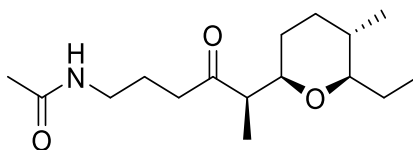
1×CCHCH₂), 2.01 (s, 3H, OCCH₃), 1.87-1.81 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.78 (s, 3H, CHCCH₃), 1.61-1.50 (m, 2H, 1×CH₂CHCH₃, CHCH₃), 1.46-1.39 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.28-1.20 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 0.90-0.88 (m, 12H, OSiC(CH₃)₃, CHCH₃), 0.86 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.04 (s, 3H, OSiCH₃), 0.01 (s, 3H, OSiCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 202.6 (q, OCCH₂), 170.9 (q, OCCH₃), 143.9 (t, CHCCH₃), 137.0 (q, CHCCH₃), 77.4 (t, OCHCH), 39.8 (s, CH₂NH), 37.7 (CHCH₃), 34.9 (s, OCCH₂), 31.2 (s, CH₂CHCH₃), 27.3 (s, CCHCH₂), 26.1 (p, OSiC(CH₃)₃), 25.5 (s, CH₂CH₃), 24.0 (s, CH₂CH₂CH₂), 23.2 (p, OCCH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 15.1 (p, CHCH₃), 11.5 (p, CHCCH₃), 10.2 (p, CH₂CH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃); HRMS (ESI+) *m/z* für C₂₂H₄₄NO₃Si [M+H]⁺: ber. 398.3085, gef. 398.3074.

N-((9*S*,10*R*,*E*)-10-Hydroxy-5,9-dimethyl-4-oxododec-5-en-1-yl)acetamid (**142**)



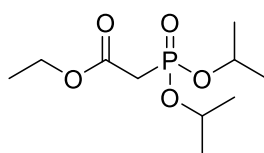
Das TBS-geschützte Keton **141** (8.9 mg, 22.4 μmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (0.22 mL) vorgelegt. HF-Pyridin (70% HF, 30 μL) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur geschwenkt. Durch Zugabe ges. NaHCO₃-Lösung wurde die Reaktion beendet und geschwenkt, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Substrat **142** (4.6 mg, 16.2 μmol, 73%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.19; ¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 6.44-6.40 (m, 1H, CCHCH₂), 4.62 (brs, 1H, CH₂NH), 3.16 (ddd, *J* = 9.0, 5.9, 3.2 Hz, 1H, HOCHCH), 3.03-2.94 (m, 2H, CH₂NH), 2.46-2.31 (m, 2H, CH₂CO), 2.12-1.94 (m, 2H, CCHCH₂), 1.84 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, CH₃CCH), 1.71-1.58 (m, 3H, CH₂CH₂CH₂, 1×CH₂CHCH), 1.48 (s, 3H, OCCH₃), 1.44-1.27 (m, 3H, CH₂CH₃, CHCH₃), 1.23-1.15 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.00 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.82 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 200.6 (q, OCCH₂), 169.4 (q, OCCH₃), 143.0 (t, CCHCH₂), 137.2 (q, CCHCH₂), 76.8 (t, HOCHCH), 39.4 (s, CH₂NH), 38.5 (t, CHCH₃), 34.7 (s, OCCH₂), 31.5 (s, CH₂CHCH₃), 26.7 (s, CH₂CH₃, CCHCH₂), 25.3 (s, CH₂CH₂CH₂), 22.8 (p, OCCH₃), 15.4 (p, CHCH₃), 11.5 (p, CH₃CCH), 10.7 (p, CH₂CH₃); HRMS (ESI+) *m/z* für C₁₆H₃₀NO₃ [M+H]⁺: ber. 284.2220, gef. 284.2211.

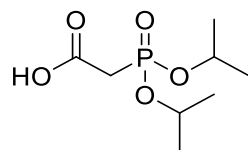
N-((R)-5-((2R,5S,6R)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2H-pyran-2-yl)-4-oxohexyl)acetamid (110)

Produkt **110** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **142** mit AmbDH3 nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

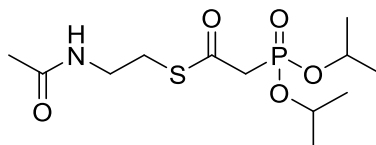
$t_R = 11.0$ min; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.82 (brs, 1H, CH_2NH), 3.35 (ddd, $J = 10.9, 8.9, 1.9$ Hz, 1H, CCHCH), 3.28-3.22 (m, 2H, CH_2NH), 2.75 (td, $J = 9.0, 2.7$ Hz, 1H, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 2.67 (dt, 18.4, 6.7 Hz, 1H, $1 \times \text{OCCH}_2$), 2.60 (dq, $J = 9.2, 7.0$ Hz, 1H, CCHCH_3), 2.54 (dt, 18.3, 6.8 Hz, 1H, $1 \times \text{OCCH}_2$), 1.96 (s, 3H, OCCH_3), 1.84-1.69 (m, 4H, $1 \times \text{CCHCHCH}_2$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, $1 \times \text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 1.66-1.53 (m, 1H, $1 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.33-1.23 (m, 2H, CCHCH_3 , $1 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.22-1.13 (m, 2H, $1 \times \text{CCHCHCH}_2$, $1 \times \text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 0.97 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CCHCH_3), 0.83 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 0.79 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_2CHCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 169.9 (q, OCCH_3), 84.8 (t, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 80.4 (t, CCHCH), 51.7 (t, CCHCH_3), 41.2 (s, OCCH_2), 39.8 (s, CH_2NH), 34.9 (t, CH_2CHCH_3), 32.8 (s, CH_2CHCH_3), 29.8 (s, CCHCHCH_2), 26.0 (s, CH_2CH_3), 23.3 (p, OCCH_3), 22.8 (s, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 17.8 (p, CH_2CHCH_3), 13.1 (p, CCHCH_3), 9.9 (p, CH_2CH_3); **HRMS** (ESI+) m/z für $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{NNaO}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: ber. 306.2040, gef. 306.2026.

Ethyl 2-(diisopropoxyphosphoryl)acetat (143)

Ethyl-2-bromacetat (1.1 mL, 10.0 mmol, 1.0 Äquiv.) und Triisopropylphosphit (2.5 mL, 10.0 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden für 5 h bei 100 °C gerührt. Alle flüchtigen Verbindungen wurden unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

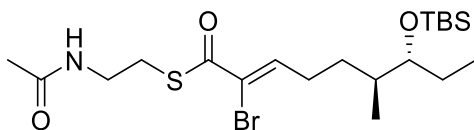
2-(Diisopropoxyphosphoryl)essigsäure (144)

Der Ester **143** (2.52 g, 10.0 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in THF (19 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von NaOH-Lösung (1 M in H₂O, 12 mL) wurde das Reaktionsgemisch für 5 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde mit Salzsäure (1 M) auf pH 1 angesäuert und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Die Carbonsäure **144** wurde ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

S-(2-Acetamidoethyl)-2-(diisopropoxyphosphoryl)acetat (145)

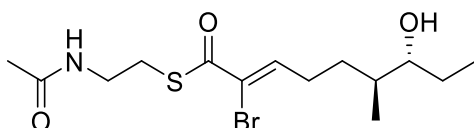
Gemäß AAV **J** wurde aus der Carbonsäure **144** (1.71 g, 7.62 mmol, 1.0 Äquiv.) und HSNAC **79** (909 mg, 7.62 mmol, 1.0 Äquiv.), DIC (1.3 mL, 8.39 mmol, 1.1 Äquiv.) und DMAP (93.0 mg, 0.76 mmol, 0.1 Äquiv.) das Phosphonat **145** (1.14 g, 3.51 mmol, 35% über drei Stufen) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.17 (brs, 1H, NHCH₂), 4.79-4.70 (m, 2H, CHCH₃), 3.48-3.45 (m, 2H, CHCH₂), 3.20 (d, *J* = 21.4 Hz, 2H, CH₂P), 3.10-3.07 (m, 2H, CH₂S), 1.97 (s, 3H, OCCH₃), 1.36 (d, *J* = 4.7 Hz, 6H, CHCH₃), 1.35 (d, *J* = 4.7 Hz, 6H, CHCH₂); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 190.9 (q, d, *J* = 6.7 Hz, OCS), 170.7 (q, OCCH₃), 72.0 (t, d, *J* = 6.6 Hz, OCH), 44.4 (s, d, *J* = 131.9 Hz, CH₂P), 39.2 (s, NHCH₂), 29.6 (s, CH₂S), 24.2 (p, d, *J* = 3.9 Hz, OCHCH₃), 24.0 (p, d, *J* = 5.1 Hz, OCHCH₃), 23.3 (p, OCCH₃); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 16.0; **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₂H₂₅NO₅PS [M+H]⁺: ber. 326.1186, gef. 326.1179.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*Z*)-2-brom-7-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-6-methylnon-2-enthioat (**146**)**

Das Phosphonat **145** (156 mg, 0.58 mmol, 2.7 Äquiv.) und NBS (103 mg, 0.58 mmol, 2.7 Äquiv.) wurden in *abs.* THF (2.0 mL) vorgelegt. NaH (60% in Öl, 46.0 mg, 1.16 mmol, 5.4 Äquiv.) wurde portionsweise hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Aldehyd **91** (55.0 mg, 0.21 mmol, 1.0 Äquiv.), gelöst in *abs.* THF (0.6 mL), wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NH₄Cl-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Thioester **146** (11.0 mg, 22.9 μmol, 11%) wurde nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.46; **[α]_D²²** = -1.40° (c = 0.7 in CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, CHCBr), 5.82 (brs, 1H, CH₂NH), 3.49-3.46 (m, 2H, CH₂NH), 3.45-3.42 (m, 1H, CHOSi), 3.13-3.10 (m, 2H, CH₂S), 2.47-2.39 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 2.36-2.28 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.98 (s, 3H, OCCH₃), 1.65-1.56 (m, 2H, CHCH₃, 1×CH₂CHCH₃), 1.45-1.39 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.35-1.27 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 0.90 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃), 0.89 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.86 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.04 (s, 3H, OSiCH₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 188.2 (q, SCO), 170.4 (q, OCCH₃), 144.5 (t, CHCBr), 123.2 (q, CHCBr), 77.3 (t, CHOSi), 39.5 (s, CH₂NH), 37.5 (t, CHCH₃), 30.4 (s, CCHCH₂), 30.2 (s, CH₂S), 29.9 (s, CH₂CHCH₃), 26.1 (p, OSiC(CH₃)₃), 25.6 (s, CH₂CH₃), 23.4 (p, OCCH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 15.2 (p, CHCH₃), 10.1 (p, CH₂CH₃), -4.1 (OSiCH₃), -4.4 (OSiCH₃); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₂₀H₃₉BrNO₃SSi [M+H]⁺: ber. 480.1598, gef. 480.1601.

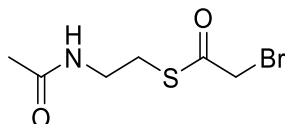
***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*Z*)-2-brom-7-hydroxy-6-methylnon-2-enthioat (**147**)**

Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **146** (5.0 mg, 10.4 μmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (13.0 mg, 52.0 μmol, 5.0 Äquiv.) das Substrat **147** (2.0 mg, 5.45 μmol,

52%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:2) als farbloses Öl erhalten.

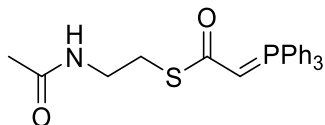
R_f (EtOAc): 0.26; $[\alpha]_D^{22} = -20.0^\circ$ ($c = 0.15$ in CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6): δ [ppm] = 7.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H, CHCBr), 4.53 (brs, 1H, CH_2NH), 3.16 (q, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2NH), 2.98-2.95 (m, 1H, CHOH), 2.83 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2S), 2.18-2.02 (m, 2H, CCHCH_2), 1.43 (s, 3H, OCCH_3), 1.42-1.38 (m, 1H, $1 \times \text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 1.26-1.10 (m, 3H, CHCH_3 , CH_2CH_3), 1.08-1.00 (m, 1H, $1 \times \text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 0.85 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 0.71 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CHCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, C_6D_6): δ [ppm] = 187.7 (q, SCO), 169.0 (q, OCCH_3), 144.2 (t, CHCBr), 123.7 (q, CHCBr), 76.7 (t, CHOH), 39.1 (s, CH_2NH), 38.5 (t, CHCH_3), 30.4 (s, CH_2S), 30.1 (s, CCHCH_2), 29.9 (s, CH_2CHCH_3), 26.8 (s, CH_2CH_3), 22.7 (p, OCCH_3), 15.4 (p, CHCH_3), 10.5 (p, CH_2CH_3); **HRMS** (ESI+) m/z für $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{BrNNaO}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: ber. 388.0552, gef. 388.0552.

***S*-(2-Acetamidoethyl) 2-bromoethanethioate (148)**



Gemäß AAV **J** wurde aus Bromessigsäure (10.0 g, 72.0 mmol, 1.0 Äquiv.), HSNAC **79** (9.44 g, 79.2 mmol, 1.1 Äquiv.), DCC (15.6 g, 75.6 mmol, 1.05 Äquiv.) und DMAP (879 mg, 7.20 mmol, 0.1 Äquiv.) der Bromthioester **148** erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

***S*-(2-Acetamidoethyl) 2-(triphenyl- λ^5 -phosphanyliden)ethanthioat (149)**

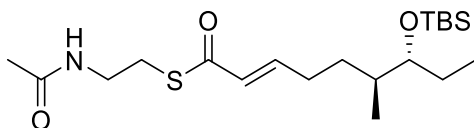


Bromthioester **148** (15.5 g, 64.6 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* Toluol (40 mL) vorgelegt. PPh_3 (16.9 g, 64.6 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bei 80 °C gerührt. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und filtriert. Der Filtrückstand wurde in Wasser aufgenommen und mit NaOH (1 M in H_2O) auf pH 10 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Produkt **149** (12.1 g, 28.8 mmol, 40% über zwei Stufen) wurde als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.65-7.57 (m, 9H, PPh₃), 7.51-7.46 (m, 6H, PPh₃), 3.81 (d, J = 22.1 Hz, 1H, CHP), 3.38-3.35 (m, 2H, NHCH₂), 2.99-2.97 (m, 2H, CH₂S), 1.69 (s, 3H, OCCH₃).

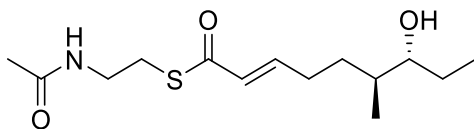
Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[127]

***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*E*)-7-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-6-methylnon-2-enthioat (150)**



Gemäß AAV **G** wurde aus dem Aldehyd **91** (100 mg, 387 μ mol, 1.0 Äquiv.) und Phosphoniumylid **149** (326 mg, 774 μ mol, 2.0 Äquiv.) der Thioester **150** nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als gelbliches Öl in ausreichender Reinheit erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*E*)-7-hydroxy-6-methylnon-2-enthioat (151)**

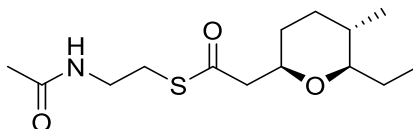


Die TBS-geschützte Verbindung **150** (93.0 mg, 231 μ mol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (2.2 mL) vorgelegt. HF-Pyridin (70% HF, 0.30 mL) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur geschwenkt. Durch Zugabe ges. NaHCO₃-Lösung wurde die Reaktion beendet und geschwenkt, bis keine weitere Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Substrat **151** (14.0 mg, 48.7 μ mol, 12% über zwei Stufen) wurde nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 6.93 (dt, J = 15.5, 6.9 Hz, 1H, OCCHCH), 6.06 (dt, J = 15.5, 1.5 Hz, 1H, OCCHCH), 4.71 (brs, 1H, NHCH₂), 3.27-3.23 (m, 2H, NHCH₂), 2.96 (ddd, J = 8.9, 5.5, 3.6 Hz, 1H, HOCH), 2.91-2.88 (m, 2H, CH₂S), 1.90-1.82 (m, 1H, 1 \times CCHCHCH₂), 1.73-1.65 (m, 1H, 1 \times CCHCHCH₂), 1.47 (s, 3H, OCCH₃), 1.40-1.33 (m, 1H, 1 \times CH₂CHCH₃), 1.24-1.09 (m, 3H, CHCH₃, CH₂CH₃), 1.03-0.94 (m, 1H, 1 \times CH₂CHCH₃), 0.85 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.66 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 189.7 (q, OCS), 169.4 (q, OCCH₃), 146.6 (t, OCCHCH), 128.7 (t, OCCHCH), 76.8

(t, HOCH), 39.8 (s, NHCH₂), 38.3 (t, CHCH₃), 30.4 (s, CH₂CHCH₃), 30.0 (s, CCHCHCH₂), 28.5 (s, SCH₂), 26.8 (s, CH₂CH₃), 22.8 (p, OCCH₃), 15.5 (p, CHCH₃), 10.6 (p, CH₂CH₃).

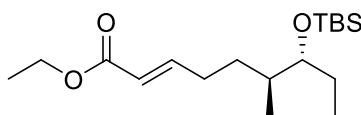
***S*-(2-Acetamidoethyl) 2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)ethanthioat (200)**



Produkt **200** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **151** mit AmbDH3 als farbloser Feststoff erhalten und ohne weitere Reinigung direkt analysiert.

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 4.78 (brs, 1H, CH₂NH), 3.71 (dddd, *J* = 10.8, 8.3, 4.7, 2.2 Hz, 1H, CCH₂CH), 3.25-3.20 (m, 2H, CH₂NH), 2.82-2.79 (m, 2H, CH₂S), 2.73-2.67 (m, 2H, OCHCH, 1×CCH₂CH), 2.36 (dd, *J* = 14.6, 4.7 Hz, 1H, 1×CCH₂CH), 1.62-1.54 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.49 (s, 3H, OCCH₃), 1.48-1.43 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.36-1.26 (m, 2H, 1×CH₂CH₃, 1×OCHCH₂CH₂), 1.19-1.07 (m, 2H, CHCH₃, 1×OCHCH₂CH₂), 1.03 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.94-0.86 (m 1H, 1×CH₂CHCH₃), 0.59 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 197.0 (q, SCO), 168.9 (q, OCCH₃), 84.6 (t, OCHCH), 74.5 (t, CCH₂CH), 51.0 (s, CCH₂CH), 39.7 (s, CH₂NH), 34.6 (t, CHCH₃), 32.9 (s, CH₂CHCH₃), 32.0 (s, OCHCH₂CH₂), 28.8 (s, CH₂S), 26.3 (s, CH₂CH₃), 22.8 (p, OCCH₃), 17.7 (p, CHCH₃), 10.0 (p, CH₂CH₃); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₄H₂₅NNaO₃S [M+Na]⁺: ber. 310.1447, gef. 310.1444.

***Ethyl* (6*S*,7*R*,*E*)-7-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-6-methylnon-2-enoat (152)**



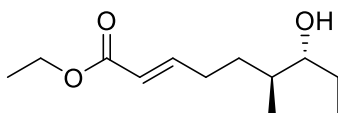
Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **91** (541 mg, 2.09 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonate **143** (634 mg, 1.16 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (0.94 mL, 6.28 mmol, 3.0 Äquiv.) der Ester **152** (269 mg, 0.82 mmol, 39%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 59:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 49:1): 0.30; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.96 (dt, *J* = 15.6, 6.9 Hz, 1H, CCHCH), 5.82 (dt, *J* = 15.6, 1.6 Hz, 1H, CCHCH), 4.18 (q, 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.44-3.41 (m, 1H, OCHCH), 2.32-2.08 (m, 2H, CCHCHCH₂), 1.65-1.50 (m, 2H, 1×CH₂CHCH₃, CHCH₃), 1.46-1.37 (m, 2H, CHCH₂CH₃), 1.30-1.22 (m, 4H, OCH₂CH₃, 1×CH₂CHCH₃), 0.89-0.82 (m, 15H, CHCH₃, CHCH₂CH₃, OSiC(CH₃)₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃),

Experimenteller Teil

0.02 (s, 3H, OSiCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 166.9 (q, CCHCH), 149.7 (t, CCHCH), 121.3 (t, CCHCH), 77.3 (t, OCHCH), 60.3 (s, OCH₂CH₃), 37.4 (t, CHCH₃), 30.6 (s, CH₂CHCH₃), 30.3 (s, CCHCHCH₂), 26.1 (p, OSiC(CH₃)₃), 25.4 (s, CHCH₂CH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 15.0 (p, CHCH₃), 14.4 (p, OCH₂CH₃), 10.2 (p, CHCH₂CH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₁₈H₃₇O₃Si [M+H]⁺: ber. 329.2507, gef. 329.2504.

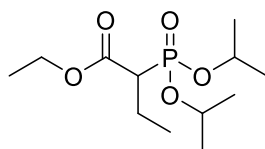
Ethyl (6S,7R,E)-7-hydroxy-6-methylnon-2-enoat (153)



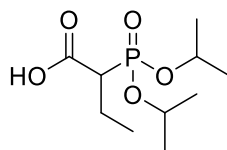
Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Ester **152** (150 mg, 0.46 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (1.73 g, 6.90 mmol, 15.0 Äquiv.) das Substrat **153** (66.0 mg, 0.31 mmol, 67%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.13; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.96 (dt, *J* = 15.6, 6.9 Hz, 1H, CCHCH), 5.82 (dt, *J* = 15.6, 1.4 Hz, 1H, CCHCH), 4.17 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.36-3.33 (m, 1H, HOCHCH), 2.34-2.25 (m, 1H, 1×CCHCHCH₂), 2.18-2.10 (m, 1H, 1×CCHCHCH₂), 1.70-1.63 (m, 1H, 1×CHCH₂CH₃), 1.57-1.48 (2H, CHCH₃, 1×CH₂CHCH₃), 1.42-1.33 (m, 2H, 1×CH₂CHCH₃, HOCH), 1.32-1.23 (m, 4H, OCH₂CH₃, 1×CHCH₂CH₃), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CHCH₂CH₃), 0.90 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 166.9 (q, CCHCH), 149.4 (t, CCHCH), 121.5 (t, CCHCH), 77.4 (t, HOCHCH), 60.3 (s, OCH₂CH₃), 38.0 (t, CHCH₃), 30.3 (s, CHCH₂CH₃), 30.0 (s, CCHCHCH₂), 26.5 (s, CH₂CHCH₃), 15.4 (p, CHCH₃), 14.4 (p, OCH₂CH₃), 10.4 (p, CHCH₂CH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₁₂H₂₃O₃ [M+H]⁺: ber. 215.1641, gef. 215.1642.

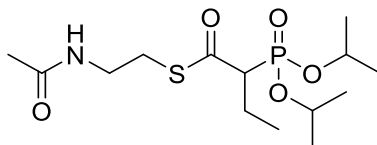
Ethyl-2-(diisopropoxyphosphoryl)butyrate (154)



Ethyl-2-brombutyrat (1.5 mL, 10.3 mmol, 1.0 Äquiv.) und Triisopropylphosphit (2.5 mL, 10.3 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden für 30 h bei 150 °C gerührt. Alle flüchtigen Verbindungen wurden unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

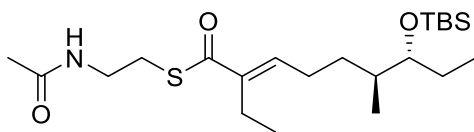
2-(Diisopropoxyphosphoryl)buttersäure (155)

Der Ester **154** (2.87 g, 10.3 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in THF (20.5 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von NaOH-Lösung (1 M in H₂O, 17.0 mL) wurde das Reaktionsgemisch für 5 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde mit Salzsäure (1 M) auf pH 1 angesäuert und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Die Carbonsäure **155** wurde ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

S-(2-Acetamidoethyl)-2-(diisopropoxyphosphoryl)butanthioat (156)

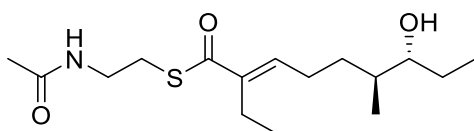
Gemäß AAV **J** wurde aus der Carbonsäure **155** (1.15 g, 4.56 mmol, 1.0 Äquiv.) und HSNAC **79** (597 mg, 5.01 mmol, 1.1 Äquiv.), DCC (1.03 g, 5.01 mmol, 1.1 Äquiv.) und DMAP (56.0 mg, 0.46 mmol, 0.1 Äquiv.) das Phosphonat **156** (1.18 g, 3.34 mmol, 32% über drei Stufen) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.93 (brs, 1H, CH₂NH), 4.74-4.66 (m, 2H, CHCH₃), 3.64-3.58 (m, 1H, 1×CH₂NH), 3.46-3.38 (m, 1H, 1×CH₂NH), 3.26 (ddd, *J* = 14.0, 7.4, 4.8 Hz, 1H, 1×CH₂S), 3.08 (ddd, *J* = 21.7, 6.9, 4.8 Hz, 1H, 1×CHP), 2.97 (ddd, *J* = 13.8, 6.9, 4.8 Hz, 1H, 1×CH₂S), 2.05 (s, 3H, OCCH₃), 2.04-1.98 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.90-1.80 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.35 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H, CHCH₃), 1.33 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H, CHCH₃), 0.97 (td, 3H, 7.4, 0.6 Hz, CH₂CH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 195.8 (q, SCO), 171.7 (q, OCCH₃), 77.3 (t, d, *J* = 7.0 Hz, CHCH₃), 71.7 (t, d, *J* = 7.1 Hz, CHCH₃), 57.4 (t, d, *J* = 130.1 Hz, CHP), 39.5 (s, CH₂NH), 24.3 (p, d, *J* = 3.1 Hz, CHCH₃), 24.2 (p, d, *J* = 4.0 Hz, CHCH₃), 24.1 (p, d, *J* = 4.9 Hz, CHCH₃), 23.9 (p, d, *J* = 5.9 Hz, CHCH₃), 22.7 (p, OCCH₃), 21.7 (s, d, *J* = 5.2 Hz, CH₂CH₃), 12.9 (p, d, *J* = 14.9 Hz, CH₂CH₃); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 19.1; **HRMS** (ESI⁺) *m/z* für C₁₄H₂₈NO₅PS [M+Na]⁺: ber. 376.1318, gef. 376.1308.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*E*)-7-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-ethyl-6-methyl-non-2-enthioat (157)**

Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **91** (250 mg, 0.97 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonat **156** (410 mg, 1.16 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (0.43 mL, 2.90 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **157** (164 mg, 0.38 mmol, 39%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 1:1): 0.22; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] 6.71 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CCHCH₂), 5.86 (brs, 1H, CH₂NH), 3.48-3.41 (m, 3H, CH₂NH, CHOSi), 3.07 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂S), 2.36 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₃CH₂C), 2.32-2.26 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 2.21-2.12 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.67-1.49 (m, 1H, CHCH₃), 1.45-1.38 (m, 2H, CHCH₂CH₃), 1.30-1.20 (m, 2H, CH₂CHCH₃), 1.01 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH₃CH₂C), 0.91-0.86 (m, 15H, OSiC(CH₃)₃, CHCH₂CH₃, CHCH₃), 0.04 (s, 3H, OSiCH₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.0 (q, SCO), 170.3 (q, OCCH₃), 142.3 (q, CCHCH₂), 142.2 (t, CCHCH₂), 77.4 (t, OCHCH₂), 40.1 (s, CH₂NH), 37.5 (t, CHCH₃), 31.3 (s, CH₂CHCH₃), 28.5 (s, CH₂S), 26.7 (s, CCHCH₂), 26.1 (q, OSiC(CH₃)₃), 25.6 (s, CHCH₂CH₃), 23.4 (p, OCCH₃), 20.6 (p, CCH₂CH₃), 18.3 (p, OSiC(CH₃)₃), 15.1 (p, CHCH₃), 13.9 (p, CCH₂CH₃), 10.2 (CHCH₂CH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.3 (p, OSiCH₃); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₂₂H₄₄NO₃SSi [M+H]⁺: ber. 430.2806, gef. 430.2800.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (6*S*,7*R*,*E*)-2-ethyl-7-hydroxy-6-methylnon-2-enthioat (158)**

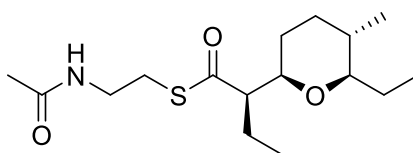
Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **157** (159 mg, 0.37 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (930 mg, 3.70 mmol, 10.0 Äquiv.) das Substrat **158** (62.0 mg, 0.20 mmol, 53%) nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

t_R: 13.9 min; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.71 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CCHCH₂), 6.02 (brs, 1H, CH₂NH), 3.48-3.44 (m, 2H, CH₂NH), 3.37 (ddd, *J* = 8.9, 5.4, 3.5 Hz, 1H, OCHCH₂), 3.07 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂S), 2.36 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, CCH₂CH₃), 2.35-2.29 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 2.24-2.14 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.98 (s, 3H, OCCH₃), 1.72-1.64 (m, 1H,

Experimenteller Teil

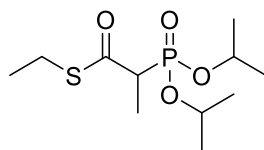
1×CH₂CHCH₃), 1.60-1.51 (m, 2H, CHCH₃, 1×CHCH₂CH₃), 1.45-1.37 (m, 1H, 1×CHCH₂CH₃), 1.36-1.26 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.00 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H, CCH₂CH₃), 0.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CHCH₂CH₃), 0.94 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.1 (q, SCO), 170.9 (q, OCCH₃), 142.3 (q, CCHCH₂), 142.2 (t, CCHCH₂), 77.4 (t, OCHCH), 40.3 (s, CH₂NH), 38.3 (t, CHCH₃), 31.1 (s, CH₂CHCH₃), 28.4 (s, CH₂S), 26.6 (s, CHCH₂CH₃), 26.4 (s, CCHCH₂), 23.2 (p, OCCH₃), 20.6 (s, CCH₂CH₃), 15.5 (p, CHCH₃), 13.9 (p, CCH₂CH₃), 10.4 (p, CHCH₂CH₃); HRMS (ESI+) *m/z* für C₁₆H₂₉NO₃SNa [M+Na]⁺: ber. 338.1760, gef. 338.1756.

S-(2-Acetamidoethyl) (*R*)-2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)butanthioat (**106**)



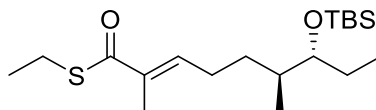
Produkt **106** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **158** mit AmbDH3 nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloser Feststoff erhalten.

t_R = 14.3 min ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.89 (brs, 1H, CH₂NH), 3.49-3.39 (m, 3H, CH₂NH, OCHCH₂), 3.08-2.99 (m, 2H, SCH₂), 2.76 (td, *J* = 9.4, 2.7 Hz, 1H, OCHCHCH₃), 2.60 (td, *J* = 9.1, 5.4 Hz, 1H, OCCH), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.81-1.77 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 1.71-1.53 (m, 4H, CCHCH₂, 1×OCHCH₂CH₃, 1×OCHCH₂CH₂), 1.34-1.11 (m, 4H, CHCH₃, 1×OCHCH₂CH₃, 1×OCHCH₂CH₂, 1×CH₂CHCH₃), 0.90 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CCHCH₂CH₃), 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, OCHCH₂CH₃), 0.79 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 207.1 (q, SCO), 170.2 (q, OCCH₃), 84.9 (t, OCHCHCH₃), 79.0 (t, OCHCH₂), 61.9 (t, OCCH), 40.2 (s, CH₂NH), 35.2 (t, CHCH₃), 32.9 (s, CH₂CHCH₃), 29.7 (s, OCHCH₂CH₂), 28.6 (s, SCH₂), 26.1 (s, OCHCH₂CH₃), 23.4 (p, OCCH₃), 22.0 (s, CCHCH₂), 17.8 (p, CHCH₃), 11.7 (p, CCHCH₂CH₃), 9.9 (p, OCHCH₂CH₃); HRMS (ESI+) *m/z* für C₁₆H₂₉NNaO₃S [M+Na]⁺: ber. 338.1760, gef. 338.1748.

S-Ethyl 2-(diisopropoxyphosphoryl)propanthioat (159)

Gemäß AAV **J** wurde aus der Carbonsäure **81** (2.34 g, 9.81 mmol, 1.0 Äquiv.) und HSNAC **79** (0.54 mL, 9.81 mmol, 1.0 Äquiv.), DCC (2.17 g, 10.8 mmol, 1.1 Äquiv.) und DMAP (120 mg, 0.98 mmol, 0.1 Äquiv.) das Phosphonat **159** (2.55 g, 9.03 mmol, 92%) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.76-4.69 (m, 2H, OCH), 3.18 (dq, J = 21.8, 7.2 Hz, 1H, PCHCH₃), 2.91 (q, J = 7.3 Hz, 2H, CH₂CH₃), 1.45 (dd, J = 17.8, 7.2 Hz, 3H, PCHCH₃), 1.35-1.32 (m, 12H, OCHCH₃), 1.26 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 196.0 (q, d, J = 4.9 Hz, OCS), 71.6 (t, d, J = 6.8 Hz, OCH), 71.5 (t, d, J = 7.0 Hz, OCH), 48.9 (t, d, J = 133.7 Hz, CHP), 24.3 (p, d, J = 3.4 Hz, OCHCH₃), 24.2 (p, d, J = 3.7 Hz, OCHCH₃), 24.0 (s, CH₂CH₃), 14.6 (p, CH₂CH₃), 12.8 (p, d, J = 6.1 Hz, CCHCH₃); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 20.2; **HRMS** (ESI+) m/z für C₁₁H₂₄O₄PS [M+H]⁺: ber. 283.1127, gef. 283.1121.

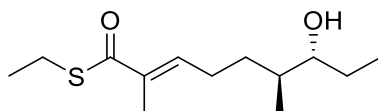
S-Ethyl (6S,7R,E)-7-((tert-butyltrimethylsilyl)oxy)-2,6-dimethylnon-2-enethioat (160)

Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **91** (572 mg, 2.21 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonate **159** (750 mg, 2.66 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (0.99 mL, 6.64 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **160** (492 mg, 1.37 mmol, 62%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 39:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (PE:EtOAc / 39:1): 0.59; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.72 (tq, J = 7.2, 1.2 Hz, 1H, CH₃CCH), 3.43 (td, J = 5.9, 4.4 Hz, 1H, CHOTBS), 2.91 (q, J = 7.4 Hz, 2H, CH₂S), 2.30-2.22 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 2.17-2.10 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.87 (d, J = 1.2 Hz, 3H, CH₃CCH), 1.63-1.49 (m, 2H, 1×CH₂CH₂CH, CH₂CH₂CH), 1.43-1.37 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.28-1.20 (m, 4H, 1×CH₂CH₂CH, SCH₂CH₃), 0.89-0.85 (m, 15H, CH₃CH, CH₂CH₃, OSiC(CH₃)₃), 0.04-0.02 (s, 6H, OSiCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[110]

***S*-Ethyl (6*S*,7*R*,*E*)-7-hydroxy-2,6-dimethylnon-2-enethioate (161)**

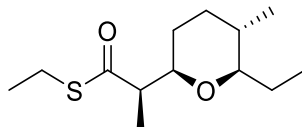


Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **160** (492 mg, 1.37 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (2.76 g, 11.0 mmol, 8.0 Äquiv.) das Substrat **161** (272 mg, 1.11 mmol, 81%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.26; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.72 (tq, *J* = 7.5, 1.4 Hz, 1H, CH₃CCH), 3.37 (ddd, 1H, CHOH), 2.91 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂S), 2.33-2.26 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 2.20-2.12 (m, 1H, 1×CCHCH₂), 1.87 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, CH₃CCH), 1.70-1.63 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH), 1.59-1.52 (m, 1H, CH₂CH₂CH), 1.44-1.35 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.33-1.21 (m, 5H, CH₃CH₂S, 1×CH₂CH₃, 1×CH₂CHCH₃), 0.97 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.93 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH₃CH).

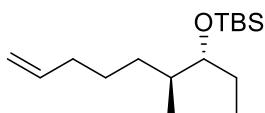
Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[110]

***S*-Ethyl (R)-2-((2*R*,5*S*,6*R*)-6-ethyl-5-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)propanthioat (204)**

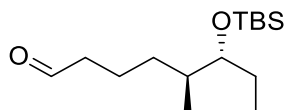


Produkt **204** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **161** mit AmbDH3 nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 39:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.59; **¹H-NMR** (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 3.56 (ddd, *J* = 10.8, 8.5, 2.1 Hz, 1H, CCHCH), 2.84-2.66 (m, 4H, CH₂S, CCHCH₃, OCHCH₂CH₃), 1.62-1.48 (m, 2H, 1×CHCH₂CH₃, 1×CH₂CHCH₃), 1.40-1.31 (m, 2H, 1×CHCH₂CH₃, 1×CCHCHCH₂), 1.20-1.13 (m, 1H, CH₂CHCH₃), 1.10-1.03 (m, 7H, CH₃CH₂S, CHCH₂CH₃, 1×CCHCHCH₂), 1.01 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CCHCH₃), 0.96-0.88 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₃), 0.61 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₂CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 201.7 (q, SCO), 84.9 (t, OCHCH₂CH₃), 79.6 (t, CCHCH), 54.9 (t, CCHCH₃), 35.5 (t, CH₂CHCH₃), 33.3 (s, CH₂CHCH₃), 29.5 (s, CCHCHCH₂), 26.8 (s, CHCH₂CH₃), 23.6 (s, CH₂S), 18.0 (p, CH₂CHCH₃), 15.5 (p, CH₃CH₂S), 14.1 (p, CCHCH₃), 10.4 (p, CHCH₂CH₃); **HRMS** (ESI⁺) *m/z* für C₁₃H₂₅O₂S [M+H]⁺: ber. 245.1570, gef. 245.1564.

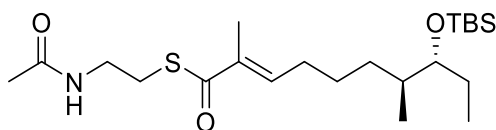
tert-Butyldimethyl(((3*R*,4*S*)-4-methylnon-8-en-3-yl)oxy)silan (**162**)

Mg (43.0 mg, 1.78 mmol, 2.8 Äquiv.) und eine katalytische Menge Iod wurden in *abs.* THF (20 mL) vorgelegt. 4-Brombuten (0.16 mL, 1.62 mmol, 2.5 Äquiv.) wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Überstand wurde abgenommen und zu einer Lösung aus dem Tosylat **89** (250 mg, 0.65 mmol, 1.0 Äquiv.) gegeben und die auf -78 °C gekühlt. Li₂CuCl₄ (0.1 M in THF, 0.13 mL, 12.9 μmol, 0.02 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Durch Überführung der Suspension in kalte, verdünnte NH₄Cl-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan) wurde das Alken **162** in ausreichender Reinheit erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

(5S,6R)-6-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-5-methyloctanal (**163**)

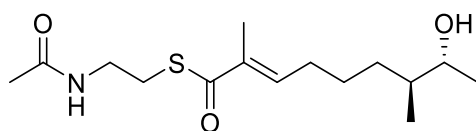
Gemäß AAV **F** wurde aus dem Alken **162** (120 mg, 0.44 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPh₃ (175 mg, 0.67 mmol, 1.5 Äquiv.) der Aldehyd **163** (80.0 mg, 0.29 mmol, 66%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 19:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 19:1): 0.26; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 9.77 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H, HCO), 3.43-3.40 (m, 1H, OCHCH), 2.43-2.39 (m, 2H, HCOCH₂), 1.76-1.68 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.61-1.49 (m, 2H, 1×CH₂CH₂CH₂, CHCH₃), 1.42-1.36 (m, 3H, CH₂CHCH₃, 1×CH₂CH₃), 1.13-1.05 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 0.88 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.86 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, CHCH₃), 0.85 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃), 0.02 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 203.0 (t, HCO), 77.3 (t, OCHCH), 44.4 (s, HCOCH₂), 37.8 (t, CHCH₃), 32.0 (s, CH₂CHCH₃), 26.1 (p, OSiC(CH₃)₃), 25.3 (s, CH₂CH₃), 20.3 (s, CH₂CH₂CH₂), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 14.9 (p, CHCH₃), 10.2 (p, CH₂CH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃).

***S*-(2-Acetamidoethyl)(7*S*,8*R*,*E*)-8-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2,7-dimethyldec-2-enthioat (164)**

Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **163** (80 mg, 0.29 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonate **82** (120 mg, 0.35 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (0.13 mL, 0.88 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **164** (49 mg, 0.11 mmol, 39%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 1:1): 0.24; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -1.4^{\circ}$ ($c = 0.4$ in CH_2Cl_2); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.76 (tq, $J = 7.3, 1.2$ Hz, 1H, CCHCH₂), 6.00 (brs, 1H, CH₂NH), 3.45-3.38 (m, 3H, CH₂NH, OCHCH), 3.05 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH₂S), 2.22-2.14 (m, 2H, CCHCH₂). 1.95 (s, 3H, OCCH₃), 1.86 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, CH₃CCH), 1.59-1.49 (m, 2H, CHCH₃, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.43-1.35 (m, 4H, 1×CH₂CH₂CH₂, CH₂CH₃, 1×CH₂CHCH₃), 1.12-1.05 (1H, 1×CH₂CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 194.1 (q, SCO), 170.4 (q, OCCH₃), 142.3 (t, CCHCH₂), 135.9 (q, CCHCH₂), 77.3 (t, OCHCH), 40.0 (s, CH₂NH), 37.8 (t, CHCH₃), 32.3 (s, CH₂CHCH₃), 29.3 (s, CCHCH₂), 28.5 (s, CH₂S), 26.6 (s, CH₂CH₂CH₂), 26.0 (p, OSiC(CH₃)₃), 25.2 (s, CH₂CH₃), 23.4 (p, OCCH₃), 18.3 (q, OSiC(CH₃)₃), 15.0 (p, CHCH₃), 12.6 (p, CH₃CCH), 10.1 (p, CH₂CH₃), -4.2 (p, OSiCH₃), -4.4 (p, OSiCH₃); **HRMS** (ESI+) m/z für C₂₂H₄₃NNaO₃SSi [M+Na]⁺: ber. 452.2625, gef. 452.2613.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (7*S*,8*R*,*E*)-8-hydroxy-2,7-dimethyldec-2-enthioat (165)**

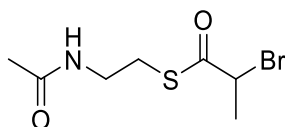
Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **164** (40.0 mg, 93.1 μmol , 1.0 Äquiv.) und PPTS (140 mg, 0.56 mmol, 6.0 Äquiv.) das Substrat **165** (28.0 mg, 88.8 μmol , 95%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc): 0.21; $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +12.0^{\circ}$ ($c = 0.4$ in CH_2Cl_2); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.75 (tq, $J = 7.4, 1.4$ Hz, 1H, CCHCH₂), 6.05 (brs, CH₂NH), 3.44-3.40 (m, 2H, CH₂NH), 3.33 (ddd, $J = 8.7, 5.1, 3.5$ Hz, 1H, HOCHCH), 3.04 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH₂S), 2.25-2.14 (m, 2H, CCHCH₂), 1.95 (s, 3H, OCCH₃), 1.85 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H, CH₃CCH), 1.58-1.47 (m, 4H, CHCH₃,

Experimenteller Teil

$1\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_3$, $1\times\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 1.43-1.30 (m, 2H, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.18-1.11 (m, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 0.88 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CHCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 194.1 (q, SCO), 170.5 (q, OCCH_3), 142.2 (t, CCHCH_2), 135.9 (q, CCHCH_2), 77.4 (t, HOCHCH), 39.9 (s, CH_2NH), 38.4 (t, CHCH_3), 31.7 (s, CH_2CHCH_3), 29.2 (s, CCHCH_2), 28.5 (s, CH_2S), 26.5 (s, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.3 (s, CH_2CH_3), 23.3 (p, OCCH_3), 15.6 (p, CHCH_3), 12.6 (p, CH_3CCH), 10.4 (p, CH_2CH_3); **HRMS** (ESI+) m/z für $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{NNaO}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: ber. 338.1760, gef. 338.1752.

S-(2-Acetamidoethyl)-2-brompropanthioat (**166**)

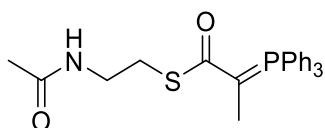


Gemäß AAV **J** wurde aus Brompropionsäure (5.84 g, 38.1 mmol, 1.0 Äquiv.) und HSNAC **79** (5.00 g, 42.0 mmol, 1.1 Äquiv.), DCC (8.26 g, 40.1 mmol, 1.05 Äquiv.) und DMAP (466 mg, 3.81 mmol, 0.1 Äquiv.) der Bromthioester **166** (7.07 g, 27.8 mmol, 73%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.50 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H, CHBr), 2.94 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2S), 1.84 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3CHBr), 1.28 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[128]

S-(2-Acetamidoethyl)-2-(triphenyl- λ^5 -phosphanyliden)propanthioat (**167**)



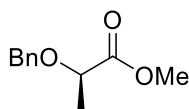
Der Bromthioester **166** (2.00 g, 7.87 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Toluol (20 mL) und H_2O (20 mL) vorgelegt. PPh_3 (4.13 g, 15.74 mmol, 2.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 56 h bei 70 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit NaOH (1 M in H_2O) auf pH 10 eingestellt und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Produkt **167** (1.26 g, 2.94 mmol, 37%) wurde als gelblicher Feststoff erhalten.

Experimenteller Teil

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.69-7.65 (m, 3H, PPh₃), 7.60-7.55 (m, 6H, PPh₃), 7.53-7.45 (m, 6H, PPh₃), 3.36-3.32 (m, 2H, NHCH₂), 3.03-3.00 (m, 2H, CH₂S), 1.68 (d, $J = 15.0$ Hz, 3H, PCCH₃), 1.52 (s, 3H, OCCH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[128]

Methyl (R)-2-(benzyloxy)propanoat (169)

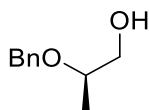


NaH (60% in Öl, 463 mg, 11.6 mmol, 1.2 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (20 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. (R)-Methylactat (**168**) (1.00 g, 9.61 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für 20 min bei Raumtemperatur gerührt. BnBr (1.3 mL, 10.6 mmol, 1.1 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NH₄Cl wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der benzylierte Methylester **169** (1.34 g, 6.91 mmol, 72%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE:EtOAc / 19:1→9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (PE:EtOAc / 4:1): 0.53; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.39-7.27 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.70 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H, 1×OCH₂), 4.46 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H, 1×OCH₂), 4.08 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H, CHCH₃), 3.76 (s, 3H, COCH₃), 1.44 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, CHCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[129]

(R)-2-(Benzyloxy)propan-1-ol (170)



LiAlH₄ (293 mg, 7.72 mmol, 1.2 Äquiv.) wurde in *abs.* Et₂O (28 mL) suspendiert und auf -78 °C gekühlt. Der Methylester **169** (1.25 g, 6.44 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde gelöst in *abs.* Et₂O (6 mL), zugegeben und das Reaktionsgemisch für 40 min bei 0 °C gerührt. Durch Zugabe von H₂O wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über

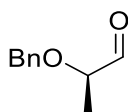
Experimenteller Teil

MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Alkohol **170** (1.07 g, 6.44 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.38-7.27 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.66 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, 1×CHOCH₂), 4.49 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, 1×CHOCH₂), 3.73-3.65 (m, 1H, CHCH₃), 3.62 (dd, *J* = 11.5, 3.4 Hz, 1H, 1×CH₂OH), 3.51 (dd, 1H, *J* = 11.5, 7.1 Hz, 1×CH₂OH), 1.84 (brs, 1H, CH₂OH), 1.18 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H, CHCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[130]

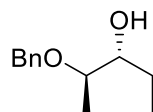
(*R*)-2-(Benzyloxy)propanal (**171**)



(COCl)₂ (2 M in CH₂Cl₂, 1.7 mL, 3.43 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ (2.0 mL) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. DMSO (0.33 mL, 4.57 mmol, 2.0 Äquiv.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für 20 min bei -78 °C gerührt. Der primäre Alkohol **170** (380 mg, 2.29 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für weitere 3 h bei -78 °C gerührt. DIPEA (1.2 mL, 6.86 mmol, 3.0 Äquiv.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NH₄Cl wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Aldehyd **171** (286 mg, 1.75 mmol, 76%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE:Et₂O / 9:1) als gelbliches Öl erhalten.

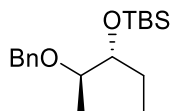
R_f (PE:EtOAc / 4:1): 0.47; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 9.67 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, CHO), 7.40-7.28 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.63 (q, *J* = 11.7 Hz, 2H, CHOCH₂), 3.90 (dq, *J* = 6.9, 1.8 Hz, 1H, CHCH₃), 1.33 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[130]

(2R,3R)-2-(Benzyloxy)pentan-3-ol (172)

Der Aldehyd **171** (300 mg, 1.81 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ (5.0 mL) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. MgBr₂·Et₂O (652 mg, 2.53 mmol, 1.4 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 1 h bei -78 °C gerührt. EtMgBr (3 M in Et₂O, 0.84 mL, 2.53 mmol, 1.4 Äquiv.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für 1 h bei -78 °C gerührt. Durch Zugabe von H₂O und CH₂Cl₂ wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit H₂O und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Alkohol **172** (322 mg, 1.66 mmol, 92%, *d.r.* 19:1) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE:EtOAc / 9:1) als gelbliches Öl erhalten.

R_f (PE:EtOAc / 2:1): 0.57; **[α]_D²²** = -12.3° (c = 1.0 in CHCl₃); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.39-7.27 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.67 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, 1×CHOCH₂), 4.44 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, 1×CHOCH₂), 3.44-3.34 (m, 2H, CH₂OCH, OCHCH₂), 2.20 (brs, 1H, OH), 1.62-1.53 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.47-1.37 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.19 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, CHCH₃), 0.99 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 138.5 (q, C_{Ar}), 128.6 (t, CH_{Ar}), 127.93 (t, CH_{Ar}), 127.89 (t, CH_{Ar}), 78.3 (t, OCHCH₃), 76.4 (t, OCHCH₂), 71.1 (s, CHOCH₂), 25.9 (s, CH₂CH₃), 15.7 (p, CHCH₃), 10.1 (p, CHCH₃); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₂H₁₈NaO₂ [M+Na]⁺: ber. 217.1199, gef. 217.1192.

((2R,3R)-2-(Benzyloxy)pentan-3-yl)oxy(tert-butyl)dimethylsilan (173)

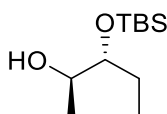
Gemäß AAV **B** wurde aus dem Alkohol **172** (75.0 mg, 0.39 mmol, 1.0 Äquiv.), 2,6-Lutidin (67 µL, 0.58 mmol, 1.5 Äquiv.) und TBSOTf (0.13 mL, 0.58 mmol, 1.5 Äquiv.) das TBS-geschützte Produkt **173** (92.0 mg, 0.30 mmol, 78%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE:EtOAc / 19:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 2:1): 0.88; **[α]_D²²** = +1.6° (c = 1.0 in CHCl₃); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.37-7.27 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.60 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, 1×CHOCH₂), 4.50 (d, *J* = 12.0 Hz,

Experimenteller Teil

1H, 1×CHOCH₂), 3.63-3.59 (m, 1H, OCHCH₂), 3.48 (dq, *J* = 6.4, 4.8 Hz, 1H, OCHCH₃), 1.66-1.60 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.40-1.33 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.12 (d, *J* = 4.0 Hz, 3H, CHCH₃), 0.90 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.87 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃), -0.02 (s, 3H, OSiCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 139.2 (q, C_{Ar}), 128.4 (t, CH_{Ar}), 127.7 (t, CH_{Ar}), 127.5 (t, CH_{Ar}), 77.5 (t, OCHCH₃), 75.4 (t, OCHCH₂), 71.1 (s, CHOCH₂), 26.0 (p, SiC(CH₃)₃), 24.1 (s, CH₂CH₃), 18.2 (q, SiC(CH₃)₃), 14.0 (p, CHCH₃), 10.6 (p, CH₂CH₃), -4.3 (p, SiCH₃), -4.5 (p, SiCH₃); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₈H₃₂O₂Si [M+H]⁺: ber. 309.2244, gef. 309.2233.

(2*R*,3*R*)-3-((*tert*-Butyl-Dimethylsilyl)oxy)pentan-2-ol (**174**)

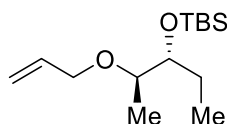


Der Benzylether **173** (295 mg, 0.96 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in EtOAc (2.0 mL) vorgelegt. Pd (10% auf Aktivkohle, 41.0 mg, 0.38 mmol, 0.4 Äquiv.) wurde zugegeben und H₂ durch die Suspension geleitet. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei Raumtemperatur unter H₂-Atmosphäre gerührt. Das Gemisch wurde über Celite® filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Alkohol **174** (176 mg, 0.81 mmol, 84%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE:EtOAc / 4:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (PE:EtOAc / 4:1): 0.66; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.70-3.64 (m, 1H, OCHCH₂), 3.38 (dq, *J* = 6.3, 4.8 Hz, 1H, HOCHCH₃), 2.20 (brs, 1H, OH), 1.67-1.59 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.50-1.43 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.13 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, CHCH₃), 0.91 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.89 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.09 (s, 6H, OSiCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[131]

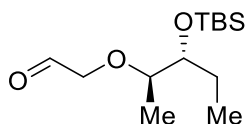
((2*R*,3*R*)-2-(Allyloxy)pentan-3-yl)oxy(tert-butyl)dimethylsilan (**175**)



Der Alkohol **174** (190 mg, 0.87 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (4.5 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. NaH (60% in Öl, 42.0 mg, 1.05 mmol, 1.2 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Suspension für 30 min bei 0 °C gerührt. Allylbromid (0.10 mL, 1.13 mmol, 1.3 Äquiv.)

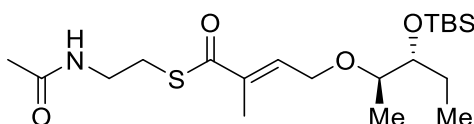
wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NH_4Cl -Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et_2O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Allylether **175** wurde ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

2-(((2R,3R)-3-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)pentan-2-yl)oxy)acetaldehyd (176)



Der Allylether **175** (215 mg, 0.83 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in CH_2Cl_2 (8.3 mL) vorgelegt und auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Ozon wurde in die gerührte Lösung geleitet bis die Blaufärbung bestehen blieb. Überschüssiges Ozon wurde durch das Einleiten von Sauerstoff ausgetrieben, bis die Blaufärbung verschwunden war. SMe_2 (5.0 mL) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit und der erhaltene Aldehyd **176** ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

S-(2-Acetamidoethyl)(E)-4-(((2R,3R)-3-((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)pentan-2-yl)oxy)-2-methylbut-2-enthioat (177)

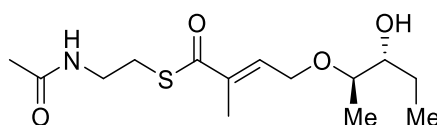


Gemäß AAV **G** wurde aus dem Aldehyd **176** (215 mg, 0.83 mmol, 1.0 Äquiv.) und Phosphoniumylid **167** (431 mg, 0.99 mmol, 1.2 Äquiv.) der Thioester **177** als verunreinigtes Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt. Zur Charakterisierung wurde eine kleine Menge *via* semipräparativer HPLC gereinigt.

t_R : 0.41; $[\alpha]_D^{22} = +3.8^\circ$ ($c = 0.1$ in CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.84 (tq, $J = 5.6, 1.3$ Hz, 1H, CHCCH_3), 5.84 (brs, 1H, CH_2NH), 4.36-4.31 (m, 1H, $1 \times \text{CH}_2\text{O}$), 4.30-4.25 (m, 1H, $1 \times \text{CH}_2\text{O}$), 3.86 (quin. $J = 6.2$ Hz, CHCH_3), 3.45 (q, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2NH), 3.08 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2S), 3.06-3.01 (m, 1H, OCHCH_2), 1.97 (s, 3H, OCCH_3), 1.85 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, CHCCH_3), 1.63-1.58 (m, 1H, $1 \times \text{OCHCH}_2$), 1.43-1.34 (m, 1H, $1 \times \text{OCHCH}_2$), 1.10 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CHCH_3), 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 0.89 (s, 9H, $\text{OSiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.06 (s,

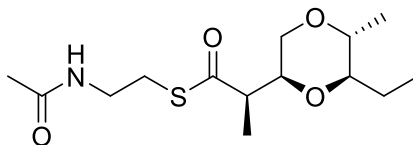
3H, SiCH₃), 0.06 (s, 3H, SiCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 193.9 (q, SCO), 170.4 (q, OCCH₃), 139.0 (t, CH₃CCH), 136.0 (q, CH₃CCH), 85.9 (t, OCHCH₂), 69.9 (t, OCCH₃), 67.7 (s, CHCH₂O), 39.9 (s, CH₂NH), 28.7 (s, CH₂S), 26.0 (p, SiC(CH₃)₃), 23.4 (p, CH₃CO), 22.6 (s, CH₂CH₃), 19.1 (p, CH₃CHCH), 18.2 (q, SiC(CH₃)₃), 13.0 (p, CH₃CCH), 10.6 (p, CH₂CH₃), -4.4 (p, SiCH₃), -4.6 (p, SiCH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₂₀H₃₉NNaO₄SSi [M+Na]⁺: ber. 440.2261, gef. 440.2244.

***S*-(2-Acetamidoethyl)(*E*)-4-(((2*R*,3*R*)-3-hydroxypentan-2-yl)oxy)-2-methylbut-2-enthioat (178)**



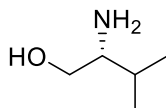
Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **177** (185 mg, 0.44 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (1.67 g, 6.64 mmol, 15.0 Äquiv.) das Substrat **178** (30.0 mg, 98.9 μmol, 12% über vier Stufen) nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloser Feststoff erhalten.

t_R = 9.6 min; [α]_D²² = +7.9° (c = 0.1 in MeOH); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.80 (tq, *J* = 5.7, 1.2 Hz, 1H, CH₃CCH), 5.95 (brs, 1H, CH₂NH), 4.36-4.31 (m, 1H, 1×CH₂O), 4.22-4.14 (m, 1H, 1×CH₂O), 3.44 (q, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂NH), 3.37-3.29 (m, 1H, OCHCH₂), 3.10-3.05 (m, 3H, CH₂S, OCHCH₃), 2.11 (brs, 1H, OH), 1.97 (s, 3H, COCH₃), 1.87 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, CH₃CCH), 1.71-1.38 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.18-1.16 (m, 3H, CHCH₃), 0.99-0.94 (m, 3H, CH₂CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 193.8 (q, SCO), 170.6 (q, OCCH₃), 137.7 (t, CH₃CCH), 136.7 (q, CH₃CCH), 85.7 (t, OCHCH₃), 79.1 (t, OCHCH₂), 67.0 (s, CHCH₂O), 39.9 (s, CH₂NH), 28.7 (s, CH₂S), 25.9 (s, CH₂CH₃), 23.3 (p, CH₃CO), 19.2 (OCHCH₃), 13.1 (p, CH₃CCH), 10.0 (p, CH₂CH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₁₄H₂₅NNaO₄S [M+Na]⁺: ber. 326.1397, gef. 326.1393.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (*R*)-2-((2*S*,5*R*,6*R*)-6-ethyl-5-methyl-1,4-dioxan-2-yl)propanthioat (105)**

Produkt **105** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **178** mit AmbDH3 nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

$t_R = 12.5$ min; $[\alpha]_D^{22} = +3.3^\circ$ ($c = 0.1$ in CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.80 (brs, 1H, CH_2NH), 3.83-3.75 (m, 2H, CCHCH , $1 \times \text{OCHCH}_2\text{O}$), 3.49-3.39 (m, 2H, CH_2NH), 3.32 (t, $J = 10.5$ Hz, 1H, $1 \times \text{OCHCH}_2\text{O}$), 3.27-3.21 (m, 1H, OCHCH_3), 3.10-2.98 (m, 3H, CH_2S , $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 2.77-2.71 (m, 1H, CCHCH_3), 1.96 (s, 3H, OCCH_3), 1.34-1.28 (m, 2H, CH_2CH_3), 1.10 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CCHCH_3), 1.09 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, OCHCH_3), 0.90 (t, $J = 9.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 171.4 (q, OCCH_3), 82.2 (t, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 76.7 (t, OCHCH_2O), 75.5 (t, OCHCH_3), 69.0 (s, OCHCH_2O), 51.0 (t, SCOCHCH_3), 40.0 (s, CH_2NH), 28.7 (s, CH_2S), 24.4 (s, CH_2CH_3), 23.4 (p, OCCH_3), 17.3 (p, OCHCH_3), 13.6 (p, OCCHCH_3), 9.5 (p, CH_2CH_3); **HRMS** (ESI+) m/z für $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{NO}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: ber. 304.1577, gef. 304.1571.

***(R)*-2-Amino-3-methylbutan-1-ol (180)**

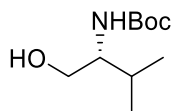
NaBH_4 (404 mg, 10.7 mmol, 2.5 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (12 mL) vorgelegt. D-Valin (**179**) (500 mg, 4.27 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben. Eine Lösung aus Iod (542 mg, 4.27 mmol, 1.0 Äquiv.) in *abs.* THF (3.0 mL) wurde langsam hinzuge tropft und das Reaktionsgemisch für 4 h refluxiert und über Nacht bei 60°C gerührt. Das Gemisch wurde auf Raumtemperatur gekühlt, Methanol (3.0 mL) zugegeben und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde unter vermindertem Druck konzentriert, der Rückstand in KOH-Lösung (20% in H_2O , 9.0 mL) aufgenommen und für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Aminoalkohol **180** (147 mg, 1.43 mmol, 33%) wurde nach Reinigung *via* Kugelrohrdestillation als gelbliches Öl erhalten.

Experimenteller Teil

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.64 (dd, J = 10.3, 3.9 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 3.26 (t, J = 9.7 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 2.56-2.52 (m, 1H, H₂NCH), 1.60-1.51 (m, 1H, CHCH₃), 0.93 (d, J = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃), 0.91 (d, J = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[132]

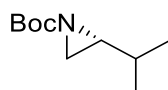
tert-Butyl (*R*)-(1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)carbamate (**181**)



D-Valinol (**180**) (500 mg, 4.85 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Acetonitril (25 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Boc₂O (1.06 g, 4.85 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde portionsweise hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit und das Boc-geschützte Amin **181** (862 mg, 4.42 mmol, 87%) wurde als gelbliches Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 7:3): 0.19; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.62 (brs, 1H, CHNH), 3.70 (dd, J = 11.1, 3.5 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 3.61 (dd, J = 11.1, 6.6 Hz, 1H, 1×HOCH₂), 3.46-3.41 (m, 1H, CHNH), 1.87-1.79 (m, 1H, CHCH₃), 1.45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.95 (d, Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[133]

tert-Butyl (*R*)-2-isopropylaziridin-1-carboxylat (**182**)



Boc-geschütztes D-Valinol (**181**) (436 mg, 4.23 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (25 mL) vorgelegt. KOH-Pulver (954 mg, 17.0 mmol, 4.0 Äquiv.) und *p*-TsCl (969 mg, 5.08 mmol, 1.2 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h refluxiert. KOH-Pulver (954 mg, 17.0 mmol, 4.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und für weitere 2 h refluxiert. Durch Zugabe ges. NaCl-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Aziridin **182** (267 mg, 1.98 mmol, 47%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 19:1) als gelbliches Öl erhalten.

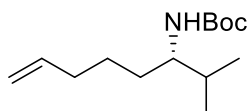
R_f (Hexan:EtOAc / 19:1): 0.27; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.22 (d, J = 6.2 Hz, 1H, 1×NCH₂), 2.13 (ddd, J = 7.2, 6.4, 3.9 Hz, 1H, NCH), 1.94 (d, J = 3.9 Hz, 1H, 1×NCH₂),

Experimenteller Teil

1.45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.43-1.36 (m, 1H, CHCH₃), 1.06 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CHCH₃), 0.96 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[134]

tert-Butyl (*S*)-(2-methyloct-7-en-3-yl)carbamate (**183**)

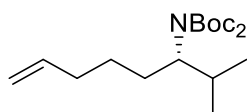


Mg (54.0 mg, 2.20 mmol, 2.4 Äquiv.) und eine katalytische Menge Iod wurden in *abs.* THF (20 mL) vorgelegt. 4-Brombuten (0.20 mL, 2.00 mmol, 2.2 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 70 min refluxiert. Der Überstand wurde abgenommen und auf -78 °C gekühlt. CuI (35.0 mg, 0.20 mmol, 0.2 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Gemisch für 10 min bei -78 °C gerührt. Eine Lösung aus Aziridin **182** (170 mg, 0.92 mmol, 1.0 Äquiv.) in *abs.* THF (4.0 mL) wurde zugetropft, das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Durch Zugabe verd. NH₄Cl-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Alken **183** (200 mg, 0.83 mmol, 90%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:Et₂O / 16:1) als gelbliches Öl erhalten.

R_f (Hexan:Et₂O / 16:1): 0.18; [α]_D²² = -3.60° (c = 1.0 in CH₂Cl₂); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.79 (ddt, *J* = 16.9, 10.2, 6.7 Hz, 1H, CH₂CHCH₂), 5.00 (ddt, *J* = 17.1, 2.0, 1.6 Hz, 1H, 1×CH₂CHCH₂CH₂), 4.96-4.93 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₂CH₂), 4.25 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, CHNH), 3.46-3.40 (m, 1H, CHNH), 2.11-2.00 (m, 2H, CH₂CHCH₂CH₂), 1.73-1.67 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.43-1.36 (m, 2H, CH₂CHCH₂CH₂), 1.26-1.21 (m, 2H, CH₂CHNH), 0.89 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[135]

tert-Butyl (*S*)-(2-methyloct-7-en-3-yl)dicarbamate (**184**)



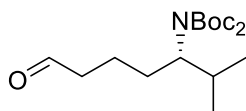
Das Alken **183** (200 mg, 0.83 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* THF (3.0 mL) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. *n*-Butyllithium (2.5 M in Hexan, 0.80 mL, 3.00 mmol, 2.4 Äquiv.) wurde

Experimenteller Teil

zutropft und das Reaktionsgemisch für 30 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Boc_2O (240 mg, 1.10 mmol, 1.3 Äquiv.) wurde portionsweise zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NH_4Cl -Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Alken **184** (167 mg, 0.49 mmol, 59%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 50:1) als gelbliches Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 50:1): 0.23; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.78 (ddt, $J = 16.9, 10.2, 6.7$ Hz, 1H, CH_2CHCH_2), 4.99 (ddt, $J = 17.1, 2.0, 1.6$ Hz, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 4.93 (ddt, $J = 10.2, 2.2, 1.2$ Hz, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 3.69 (ddd, $J = 11.2, 10.4, 4.0$ Hz, 1H, CHN), 2.13-1.98 (m, 3H, CH_2CHCH_2 , CHCH_3), 1.80-1.72 (m, 1H, $1\times\text{NCHCH}_2$), 1.63-1.57 (m, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CHNH}$), 1.48 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.45-1.40 (m, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 1.37-1.30 (m, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 0.92 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CHCH_3), 0.89 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CHCH_3); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 154.0 (q, NCO), 139.0 (t, CH_2CHCH_2), 114.6 (s, $\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 81.8 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 64.3 (t, NCH), 33.7 (s, $\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 31.8 (t, CHCH_3), 30.1 (s, NCHCH_2), 28.2 (p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 25.9 (s, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 21.0 (p, CHCH_3), 20.2 (p, CHCH_3); **HRMS** (ESI+) m/z für $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: ber. 342.2639, gef. 342.2630.

tert-Butyl (*S*)-(2-methyl-7-oxoheptan-3-yl)dicarbamat (**185**)

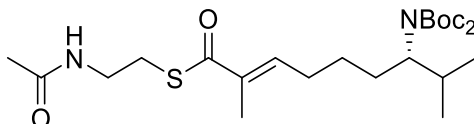


Gemäß AAV **F** wurde aus dem Alken **184** (37.0 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPh_3 (42.0 mg, 0.16 mol, 1.5 Äquiv.) der Aldehyd **185** (28.0 mg, 81.5 μmol , 76%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als gelbliches Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.24; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 9.73 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H, HCO), 3.69 (ddd, $J = 11.2, 10.3, 3.7$ Hz, 1H, CHN), 2.50-2.35 (m, 2H, OCCH_2), 2.11-2.01 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_3$), 1.86-1.78 (m, 1H, $1\times\text{NCHCH}_2$), 1.72-1.53 (m, 3H, $1\times\text{NCHCH}_2$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.47 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CHCH_3), 0.88 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CHCH_3); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 202.7 (t, HCO), 154.0 (q, NCO), 82.0 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$),

63.9 (t, CHN), 43.7 (s, HCOCH₂), 31.7 (t, CHCH₃), 30.1 (s, NCHCH₂), 28.1 (p, C(CH₃)₃), 20.9 (p, CHCH₃), 20.1 (p, CHCH₃), 19.3 (s, CH₂CH₂CH₂).

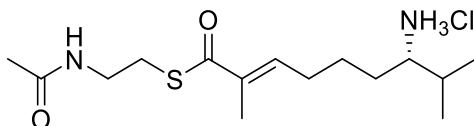
***S*-(2-Acetamidoethyl) (*S,E*)-7-((*di-tert*-butoxycarbonyl)amino)-2,8-dimethylnon-2-enthioate (**186**)**



Gemäß AAV **G** wurde aus dem Aldehyd **185** (27.0 mg, 78.6 µmol, 1.0 Äquiv.) und Phosphoniumylid **167** (37.0 mg, 85.0 µmol, 1.1 Äquiv.) der Thioester **186** (21.0 mg, 41.9 µmol, 64%, *E/Z* 9:1) nach 48 h und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als gelbliches Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 1:1): 0.15; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.47 (tq, *J* = 7.3, 1.2 Hz, 1H, CCHCH₂), 5.94 (brs, CH₂NH), 3.70 (ddd, *J* = 11.1, 10.3, 3.9 Hz, 1H, NCH), 3.46-3.42 (m, 2H, CH₂NH), 3.06 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂S), 2.30-2.14 (m, 2H, CCHCH₂), 2.11-2.03 (m, 1H, CHCH₃), 1.97 (s, 3H, COCH₃), 1.86 (s, 3H, CH₃CCH), 1.84-1.78 (m, 1H, 1×NCHCH₂), 1.65-1.58 (m, 1H, 1×NCHCH₂), 1.48 (s, 18H, C(CH₃)₃), 1.46-1.39 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 0.92 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CHCH₃), 0.89 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CHCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.2 (q, SCO), 170.5 (q, OCCH₃), 154.0 (q, C(CH₃)₃), 142.0 (t, CH₃CCH), 136.1 (q, CH₃CCH), 82.0 (q, C(CH₃)₃), 63.9 (t, NCH), 40.0 (s, CH₂NH), 31.8 (t, CHCH₃), 30.3 (s, CCHCH₂), 28.7 (s, CH₂CH₂CH₂), 28.5 (s, CH₂S), 28.2 (p, C(CH₃)₃), 25.6 (s, NCHCH₂), 23.4 (p, OCCH₃), 21.0 (p, CHCH₃), 20.1 (p, CHCH₃), 12.6 (p, CH₃CCH); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₂₅H₄₅N₂O₆S [M+H]⁺: ber. 501.2993, gef. 501.2981.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (*S,E*)-7-(chlor-λ⁵-azaneyl)-2,8-dimethylnon-2-enthioat (**187**)**



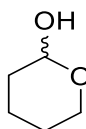
Der TBS-geschützte Thioester **186** (10.0 mg, 20.0 µmol, 1.0 equiv.) wurde in HCl-Lösung (1 M in Et₂O, 0.5 mL) gelöst und das Reaktionsgemisch für 20 h bei 0 °C gerührt. Das Gemisch wurde vom Lösemittel befreit und das Substrat **187** (6.0 mg, 17.8 µmol, 89%) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.47-8.18 (m, 3H, NH₃), 6.78-6.67 (m, 1H, CHCCH₃), 6.25 (brs, 1H, CH₂NH), 3.53-3.38 (m, 2H, CHCH₂), 3.15-3.02 (m, 3H, CH₂S, NH₃CH),

Experimenteller Teil

2.36-2.20 (m, 2H, CCHCH₂), 2.16-2.06 (m, 1H, CHCH₃), 2.05-1.95 (m, 3H, OCCH₃), 1.90-1.85 (3H, CHCCH₃), 1.82-1.63 (m, 4H, NH₃CHCH₂, NH₃CHCH₂CH₂), 1.13-1.02 (m, 6H, CHCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.0 (q, SCO), 140.5 (t, CHCCH₃), 136.8 (q, CHCCH), 57.9 (t, NH₃CH), 40.0 (s, CH₂NH), 30.3 (t, CHCH₃), 29.8 (s, NH₃CHCHCH₂), 28.9 (s, CH₂S), 28.6 (s, CCHCH₂), 24.8 (s, CCHCH₂CH₂), 22.8 (p, OCCH₃), 18.7 (p, CHCH₃), 18.1 (p, CHCH₃), 12.9 (p, CHCCH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₁₅H₂₉N₂O₂S [M-Cl]⁺: ber. 301.1944, gef. 301.1934.

Tetrahydro-2H-pyran-2-ol (189)

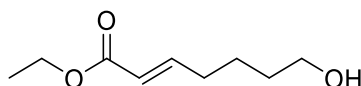


δ-Valerolacton (**188**) (0.95 mL, 9.99 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. DIBAL-H (1 M in CH₂Cl₂, 12.0 mL, 12.0 mmol, 1.2 Äquiv.) wurde tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch für 1 h bei -78 °C gerührt. Durch Zugabe ges. K-Na-Tartrat-Lösung wurde die Reaktion beendet. Nach Erwärmen und Rühren für 1 h bei Raumtemperatur wurden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Lactol **189** (1.02 g, 9.99 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.91-4.89 (m, 1H, HOCHO), 4.03-4.00 (m, 1H, 1×OCH₂), 3.56-3.52 (m, 1H, 1×OCH₂), 2.66 (HOCH), 1.90-1.78 (m, 2H, 1×CHCH₂, 1×CHCH₂CH₂), 1.58-1.46 (m, 4H, 1×CHCH₂, 1×CHCH₂CH₂, OCH₂CH₂).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[136]

Ethyl (E)-7-hydroxyhept-2-enoat (191)



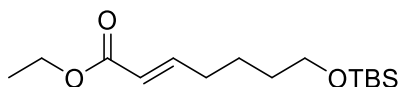
Gemäß AAV **G** wurde aus dem Lactol **189** (200 mg, 1.96 mmol, 1.0 Äquiv.) und Phosphoniumylid **190** (1.02 g, 2.94 mmol, 1.5 Äquiv.) der Hydroxyester **191** erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

R_f (EtOAc): 0.41; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.95 (dt, *J* = 15.6, 6.9 Hz, 1H, CHCHCH₂), 5.82 (dt, *J* = 15.6, 1.6 Hz, 1H, CHCHCH₂), 4.18 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₃CH₂),

3.65 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, HOCH₂), 2.25-2.21 (m, 2H, CHCHCH₂), 1.63-1.51 (m, 4H, CHCH₂CH₂, HOCH₂CH₂), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₃CH₂).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[137]

Ethyl (E)-7-((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)hept-2-enoat (192)

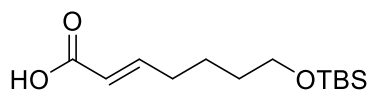


Der Hydroxyester **191** (337 mg, 1.96 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ vorgelegt. TBSCl (354 mg, 2.35 mmol, 1.2 Äquiv.) und Imidazol (200 mg, 2.94 mmol, 1.5 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NaHCO₃-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NH₄Cl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der geschützte Ester **192** (533 mg, 1.86 mmol, 95% über zwei Stufen) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

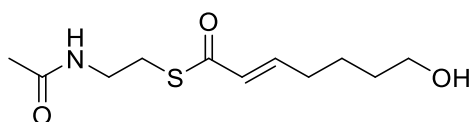
R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.21; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.96 (dt, $J = 15.6$, 6.9 Hz, 1H, CHCHCH₂), 5.81 (dt, $J = 15.6$ Hz, 1.6 Hz, 1H, CHCHCH₂), 4.18 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₃CH₂), 3.61 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, HOCH₂), 2.24-2.19 (m, 2H, CHCHCH₂), 1.56-1.48 (m, 4H, CHCH₂CH₂, HOCH₂CH₂), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₃CH₂), 0.89 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.04 (s, 6H, OSiCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[138]

(E)-7-((tert-Butyl dimethylsilyl)oxy)hept-2-ensäure (193)



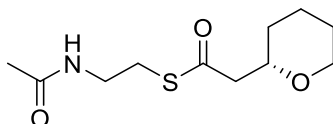
Gemäß AAV I wurde aus dem Ester **192** (533 mg, 1.86 mmol, 1.0 Äquiv.) und LiOH (223 mg, 9.30 mmol, 5.0 Äquiv.) die Carbonsäure **193** erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (*E*)-7-hydroxyhept-2-enthioat (**194**)**

Die Carbonsäure **193** (183 mg, 0.71 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ (3.0 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. HSNAC **79** (93.0 mg, 0.78 mmol, 1.1 Äquiv.), DIC (0.12 mL, 0.74 mmol, 1.05 Äquiv.) und DMAP (9.00 mg, 71.0 μmol, 0.1 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Et₂O aufgenommen, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Substrat **194** (90.0 mg, 0.22 mmol, 12% über zwei Stufen) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc:MeOH / 19:1) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc:MeOH / 19:1): 0.41; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.92 (dt, *J* = 15.5, 6.9 Hz, 1H, CHCHCH₂), 6.14 (dt, *J* = 15.5, 1.5 Hz, 1H, CHCHCH₂), 5.97 (brs, 1H, CH₂NH), 3.66 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, HOCH₂), 3.47-3.43 (m, 2H, CH₂NH), 3.10-3.07 (m, 2H, CH₂S), 2.27-2.22 (m, 2H, CHCHCH₂), 1.96 (s, 3H, CH₃CN), 1.61-1.53 (m, 4H, CHCH₂CH₂, HOCH₂CH₂).

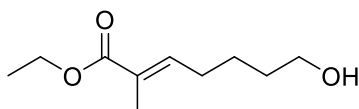
Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[109]

***S*-(2-Acetamidoethyl) (*S*)-2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)ethanthioat (**104**)**

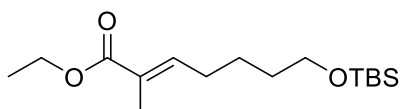
Produkt **104** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **194** mit AmbDH3 nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc:MeOH / 49:1) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc:MeOH / 49:1): 0.26; **[α]_D²¹** = -3.0° (c = 0.1 in CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.81 (brs, 1H, CH₂NH), 3.97-3.94 (m, 1H, 1×OCH₂), 3.79 (dddd, *J* = 15.2, 8.6, 4.6, 2.1 Hz, 1H, OCHCH₂), 3.47-3.40 (m, 3H, NHCH₂, 1×OCH₂), 3.07-3.03 (m, 2H, CH₂S), 2.79 (dd, *J* = 14.8, 8.4 Hz, 1H, 1×OCCH₂), 2.61 (dd, *J* = 14.7, 4.5 Hz, 1H, 1×OCCH₂), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.86-1.82 (m, 1H, 1×CH₂), 1.65-1.28 (m, 5H, CH₂).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[109]

Ethyl (E)-7-hydroxy-2-methylhept-2-enoat (196)

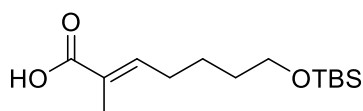
Gemäß AAV **G** wurde aus dem Lactol **189** (200 mg, 1.96 mmol, 1.0 Äquiv.) und Phosphoniumylid **195** (1.06 g, 2.94 mmol, 1.5 Äquiv.) der Hydroxyester **196** erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Ethyl (E)-7-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylhept-2-enoat (197)

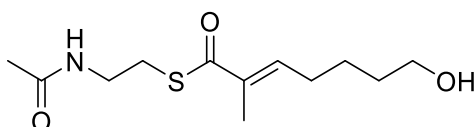
Der Hydroxyester **196** (365 mg, 1.96 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ vorgelegt. TBSCl (354 mg, 2.35 mmol, 1.2 Äquiv.) und Imidazol (200 mg, 2.94 mmol, 1.5 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NaHCO₃-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit ges. NH₄Cl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der geschützte Ester **197** (290 mg, 0.97 mmol, 49% über zwei Stufen) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.38; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.75 (tq, $J = 7.4, 1.3$ Hz, 1H, CHCCH₃), 4.18 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.61 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, SiOCH₂CH₂), 2.21-2.16 (m, 2H, CHCH₂), 1.83 (d, $J = 1.3$ Hz, 3H, CHCCH₃), 1.57-1.46 (m, 4H, SiOCH₂CH₂, CHCH₂CH₂), 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 0.89 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.04 (s, 6H, OSiCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[139]

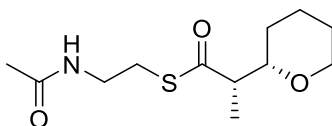
(E)-7-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylhept-2-ensäure (198)

Gemäß AAV I wurde aus dem Ester **197** (290 mg, 0.97 mmol, 1.0 Äquiv.) und LiOH (116 mg, 4.83 mmol, 5.0 Äquiv.) die Carbonsäure **198** erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

S-(2-Acetamidoethyl) (E)-7-hydroxy-2-methylhept-2-enthioat (199)

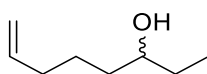
Die Carbonsäure **198** (134 mg, 0.49 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ (2.0 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. HSNAC **79** (64.0 mg, 0.54 mmol, 1.1 Äquiv.), DIC (80 µL, 0.52 mmol, 1.05 Äquiv.) und DMAP (6.00 mg, 49.0 µmol, 0.1 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Et₂O aufgenommen, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Substrat **199** (37.0 mg, 0.10 mmol, 10% über zwei Stufen) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc:MeOH / 19:1) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc:MeOH / 19:1): 0.51; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.75 (tq, *J* = 7.3, 1.4 Hz, 1H, CCHCH₂), 6.00 (brs, 1H, CH₂NH), 3.66 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, HOCH₂), 3.45-3.41 (m, 2H, CH₂NH), 3.06-3.04 (m, 2H, CH₂S), 2.27-2.18 (m, 2H, CCHCH₂), 1.96 (s, 3H, CH₃CN), 1.86 (d, *J* = 1.1 Hz, 3H, CH₃CCH), 1.63-1.50 (m, 4H, CHCH₂CH₂, HOCH₂CH₂); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 194.1 (q, SCO), 170.6 (q, OCCH₃), 141.8 (t, CHCCH₃), 136.2 (q, CHCCH₃), 62.6 (s, HOCH₂), 39.9 (s, CH₂NH), 32.4 (s, CHCH₂CH₂), 28.6 (s, CCHCH₂), 28.5 (s, CH₂S), 24.9 (s, HOCH₂CH₂), 23.4 (p, OCCH₃), 12.6 (p, CHCCH₃); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₂H₂₁NNaO₃S [M+Na]⁺: ber. 282.1134, gef. 282.1133.

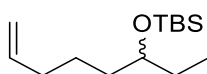
***S*-(2-Acetamidoethyl) (*S*)-2-((*S*)-tetrahydro-2H-pyran-2-yl)propanthioat (101)**

Produkt **101** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **199** mit AmbDH3 nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (EtOAc): 0.35; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.85 (brs, 1H, CH₂NH), 3.95-3.92 (m, 1H, 1×OCH₂CH₂), 3.54-3.36 (m, 4H, CH₂NH, OCHCH, 1×OCH₂CH₂), 3.11-2.98 (m, 2H, SCH₂), 2.73 (dq, *J* = 8.8, 7.1 Hz, 1H, OCCH), 1.94 (s, 3H, OCCH₃), 1.90-1.84 (m, 1H, 1×OCH₂CH₂), 1.71-1.66 (m, 1H, 1×OCHCH₂), 1.55-1.43 (m, 3H, 1×OCH₂CH₂, CHCH₂CH₂), 1.24-1.19 (m, 1H, 1×OCHCH₂); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 203.3 (q, OCS), 170.5 (q, OCCH₃), 79.7 (t, OCH), 68.9 (s, OCH₂), 54.4 (t, OCCH), 39.9 (s, CH₂NH), 28.9 (s, OCHCH₂), 28.5 (s, SCH₂), 25.9 (s, CHCH₂CH₂), 23.4 (p, OCCH₃), 23.3 (s, OCH₂CH₂), 14.0 (p, CHCH₂); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₂H₂₁NNaO₃S [M+Na]⁺: ber. 282.1134, gef. 282.1140.

***Oct-7-en-3-ol* (206)**

Magnesium (486 mg, 20.0 mmol, 8.0 Äquiv.) und eine katalytische Menge Iod wurden in *abs.* THF (10 mL) vorgelegt. 5-Brom-1-penten (1.2 mL, 10.0 mmol, 4.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Überstand wurde abgenommen und bei 0 °C zu einer Lösung aus Propionaldehyd (0.18 mL, 2.50 mmol, 1.0 Äquiv.) in *abs.* THF (10 mL) gegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 0 °C gerührt. Durch Zugabe ges. NH₄Cl-Lösung wurde die Reaktion beendet. Nach Rühren für 1 h bei Raumtemperatur wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der erhaltene sekundäre Alkohol **206** wurde ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

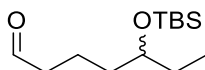
***tert*-Butyldimethyl(*oct-7-en-3-yloxy*)silan (207)**

Der sekundäre Alkohol **206** (625 mg, 4.87 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ (50 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. TBSCl (954 mg, 6.33 mmol, 1.3 Äquiv.), Imidazol (663 mg,

Experimenteller Teil

9.74 mmol, 2.0 Äquiv.) und DMAP (60.0 mg, 0.49 mmol, 0.1 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NH_4Cl -Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der Silylether **207** wurde nach Filtration über Kieselgel (Hexan) in ausreichender Reinheit erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)heptanal (**208**)

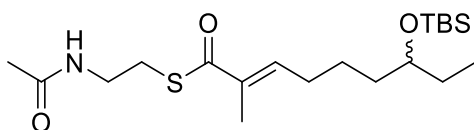


Gemäß AAV **F** wurde aus dem Alken **207** (173 mg, 0.72 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPh_3 (281 mg, 1.07 mmol, 1.5 Äquiv.) der Aldehyd **208** (175 mg, 0.72 mmol, 29% über drei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 97:3) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 47:3): 0.42; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 9.76 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H, CHO), 3.60 (tt, $J = 5.8, 5.6$ Hz, 1H, CHOSi), 2.43 (td, $J = 7.2, 1.8$ Hz, 2H, CHOCH₂), 1.74-1.59 (m, 2H, CHOCH₂CH₂), 1.50-1.41 (m, 4H, CH₂CH₃, CH₂CH₂CHOSi), 0.90-0.84 (m, 12H, CH₂CH₃, OSi(CH₃)₃), 0.05-0.03 (m, 6H, OSiCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[140]

S-(2-Acetamidoethyl) (*E*)-7-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-methylnon-2-en-thioat (**209**)



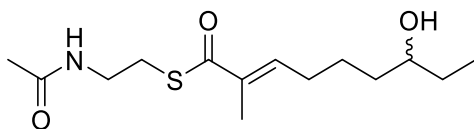
Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **208** (94.0 mg, 0.44 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonat **82** (156 mg, 0.46 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (0.17 mL, 1.14 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **209** (55.0 mg, 0.14 mmol, 36%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 1:1): 0.35; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.77 (tq, $J = 7.3, 1.4$ Hz, 1H, CHCCH₃), 5.89 (brs, 1H, CH₂NH), 3.61-3.57 (m, 1H, CHOSi), 3.47-3.43 (m, 2H, CH₂NH), 3.08-3.05 (m, 2H, CH₂S), 2.23-2.19 (m, 2H, CCHCH₂), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.87 (d,

$J = 1.2$ Hz, 3H, CHCCH_3), 1.57-1.42 (m, 6H, CH_2CH_3 , $\text{CCHCH}_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_3$), 0.88 (s, 9H, $\text{OSiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.86 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 0.05-0.03 (m, 6H, OSiCH_3).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[97]

***S*-(2-Acetamidoethyl) (*E*)-7-hydroxy-2-methylnon-2-enthioat (210)**

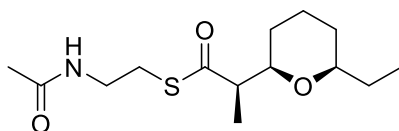


Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **209** (55.0 mg, 0.14 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (207 mg, 0.82 mmol, 6.0 Äquiv.) das Substrat **210** (23.0 mg, 80.0 μmol , 57%) nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

R_t: 6.75 min; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.79-6.76 (m, 1H, CHCCH_3), 5.88 (brs, 1H, CH_2NH), 3.57-3.52 (m, 1H, CHOH), 3.47-3.44 (m, 2H, CH_2NH), 3.08-3.06 (m, 2H, CH_2S), 2.28-2.23 (m, 2H, CCHCH_2), 1.97 (s, 3H, OCCH_3), 1.88 (s, 3H, CHCCH_3), 1.70-1.62 (m, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.55-1.40 (m, 5H, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{CCHCH}_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_3$), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[97]

***S*-(2-Acetamidoethyl) (*R*)-2-((2*R*,6*R*)-6-ethyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)propanthioat (220)**

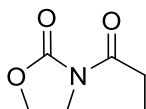


Produkt **220** wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **210** mit AmbDH3 nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc) als farbloses Öl erhalten.

R_f: 0.44 (EtOAc); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.85 (brs, 1H, CH_2NH), 3.52 (ddd, $J = 11.1, 8.9, 2.0$ Hz, 1H, OCHCH), 3.46-3.42 (m, 2H, CH_2NH), 3.17-3.11 (m, 1H, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 3.08-2.96 (m, 2H, SCH_2), 2.73 (dq, $J = 8.8, 7.0$ Hz, CCHCH_3), 1.95 (s, 3H, OCCH_3), 1.89-1.84 (m, 1H, $1\times\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 1.67-1.63 (m, 1H, $1\times\text{CHCHCH}_2$), 1.58-1.53 (m, 1H, $1\times\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 1.52-1.37 (m, 3H, CH_2CH_3 , $1\times\text{CHCH}_2\text{CH}_2$), 1.20-1.12 (m, 2H, $1\times\text{CHCH}_2$, $1\times\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 1.10 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CCHCH_3), 0.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 203.6 (q, SCO), 170.3 (q, OCCH_3), 79.6 (t, OCHCH_2), 79.5 (t, OCHCH), 54.5 (t, CHCH_3), 40.0 (s, CH_2NH), 31.1 (s, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCH}_2$),

29.4 (s, CH₂CH₃), 28.6 (s, CHCHCH₂, SCH₂), 23.6 (s, CHCH₂CH₂), 23.4 (p, OCCH₃), 14.0 (p, CCHCH₃), 10.1 (p, CH₂CH₃); **HRMS** (ESI+) m/z für C₁₄H₂₅NNaO₃S [M+Na]⁺: ber. 310.1453, gef. 310.1448.

3-Propionyloxazolidin-2-on (211)

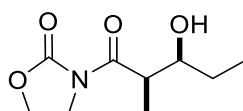


Das Oxazolidinon (1.00 g, 11.5 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Toluol (46 mL) vorgelegt und NaH (60% in Mineralöl, 689 mg, 17.2 mmol, 1.5 Äquiv.) portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Propionylchlorid (1.5 mL, 17.2 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Überführen in ges. NaCl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das propionierte Evansauxiliar **211** (1.64 g, 11.5 mmol, quant.) wurde nach Umkristallisation aus Toluol als farbloser, kristalliner Feststoff erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.43-4.40 (m, 2H, OCH₂), 4.04-4.01 (m, 2H, NCH₂), 2.94 (q, 2H, J = 6.5 Hz, CH₂CH₃), 1.17 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH₂CH₃).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[131]

3-[(2R,3S;2S,3R)-3-Hydroxy-2-methylpentanoyl]oxazolidin-2-on (212)

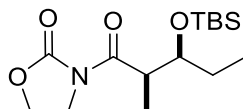


3-Propionyloxazolidin-2-on (**211**) (500 mg, 3.49 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* CH₂Cl₂ (31 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. *n*Bu₂BOTf (1.0 M in CH₂Cl₂, 3.8 mL, 3.84 mmol, 1.1 Äquiv.) und DIPEA (0.85 mL, 4.89 mmol, 1.1 Äquiv.) wurden nacheinander langsam zugetropft und das Reaktionsgemisch für 15 min bei 0 °C gerührt. Die Mischung wurde auf -78 °C gekühlt und Propionaldehyd (0.50 mL, 6.99 mmol, 2.0 Äquiv.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für 2.5 h bei 0 °C gerührt. Durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 7) und MeOH wurde die Reaktion beendet. Eine Lösung aus MeOH:35%-H₂O₂ (2.4:1) wurde langsam hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte

Experimenteller Teil

organische Phase wurde mit ges. NaHCO₃- und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das erhaltene Aldolprodukt **212** wurde ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

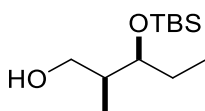
3-((2R,3S;2S,3R)-3-[(tert-Butyldimethylsilyl)oxy]-2-methylpentanoyl)oxazolidin-2-on (213)



Gemäß AAV **B** wurde aus dem Aldolprodukt **212** (703 mg, 3.49 mmol, 1.0 Äquiv.), 2,6-Lutidin (0.61 mL, 5.24 mmol, 1.5 Äquiv.) und TBSOTf (1.2 mL, 5.24 mmol, 1.5 Äquiv.) das TBS-geschützte Produkt **213** (844 mg, 2.68 mmol, 77% über zwei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 4:1) als farbloser Feststoff erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 4:1): 0.30; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.44-4.34 (m, 2H, CH₂N), 4.08-3.93 (m, 3H, CH₂O, CHOSi), 3.86 (dq, *J* = 6.8, 4.7 Hz, 1H, CHCH₃), 1.58-1.51 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.14 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃), 0.90 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.87 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃), -0.02 (s, 3H, OSiCH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 175.8 (q, OCCH), 153.4 (q, OCN), 73.9 (t, OCHCH₂), 62.0 (s, OCH₂), 43.1 (s, CH₂N), 42.1 (t, CHCH₃), 28.3 (s, CH₂CH₃), 25.9 (p, OSiC(CH₃)₃), 18.2 (q, OSiC(CH₃)₃), 11.1 (p, CHCH₃), 9.5 (p, CH₂CH₃), -4.0 (p, OSiCH₃), -4.8 (p, OSiCH₃).

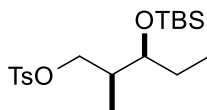
(2S,3S;2R,3R)-3-[(tert-Butyldimethylsilyl)oxy]-2-methylpentan-1-ol (214)



Gemäß AAV **C** wurde aus dem TBS-geschützten Aldolprodukt **213** (840 mg, 2.66 mmol, 1.0 Äquiv.) und LiBH₄ (87.0 mg, 4.00 mmol, 1.5 Äquiv.) der Alkohol **214** (618 mg, 2.66 mmol, quant.) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.38; **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.69-3.61 (m, 2H, CH₂OH), 3.52 (dd, *J* = 10.5, 5.1 Hz, 1H, CHOSi), 2.02-1.93 (m, 1H, CHCH₃), 1.54-1.48 (m, 2H, CH₂CH₃), 0.92-0.89 (m, 12H, CH₂CH₃, OSiC(CH₃)₃), 0.81 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CHCH₃), 0.09 (s, 3H, OSiCH₃), 0.07 (s, 3H, OSiCH₃).

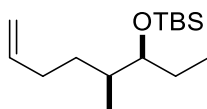
Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[97]

(2S,3S;2R,3R)-3-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-2-methylpentyl-4-methylbenzolsulfonat (215)

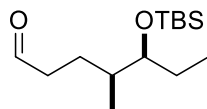
Gemäß AAV **D** wurde aus dem Alkohol **214** (615 mg, 2.65 mmol, 1.0 Äquiv.), TsCl (555 mg, 2.91 mmol, 1.1 Äquiv.) und Pyridin (0.32 mL, 3.97 mmol, 1.5 Äquiv.) und DMAP (32.0 mg, 0.27 mmol, 0.1 Äquiv.) das Tosylat **215** (367 mg, 0.95 mmol, 36%) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 39:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 39:1): 0.12; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.80-7.77 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.35-7.33 (m, 2H, CH_{Ar}), 4.00 (dd, $J = 9.3, 6.3$ Hz, 1H, $1 \times \text{OCH}_2$), 3.84 (dd, $J = 9.3, 7.4$ Hz, 1H, $1 \times \text{OCH}_2$), 3.57 (dt, $J = 6.7, 3.1$ Hz, 1H, CHOSi), 2.45 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C}_{\text{Ar}}$), 1.97-1.87 (m, 1H, CHCH_3), 1.47-1.33 (m, 2H, CH_2CH_3), 0.82 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, CHCH_3), 0.80-0.76 (m, 12H, CH_2CH_3 , $\text{OSiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.00 (s, 3H, OSiCH_3), -0.05 (s, 3H, OSiCH_3).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[97]

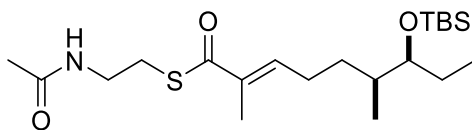
***tert*-Butyldimethyl[[(3S,4S;3R,4R)-4-methyloct-7-en-3-yl]oxy]silan (216)**

Gemäß AAV **E** wurde aus dem Tosylat **215** (367 mg, 0.95 mmol, 1.0 Äquiv.) und Allylmagnesiumbromid (aus Allylbromid (0.33 mL, 3.80 mmol, 4.0 Äquiv.) und Magnesium (111 mg, 4.56 mmol, 4.8 Äquiv.)) das Alken **216** nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan) als farbloses Öl erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

(4S,5S;4R,5R)-5-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]-4-methylheptanal (217)

Gemäß AAV **F** wurde aus dem Alken **216** (197 mg, 0.77 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPh_3 (302 mg, 1.15 mmol, 1.5 Äquiv.) der Aldehyd **217** nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 29:1) als farbloses Öl erhalten und direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

(6*S*,7*S*,*E*;6*R*,7*R*,*E*)-*S*-(2-Acetamidoethyl)-7-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2,6-dimethylnon-2-enthioat (218**)**

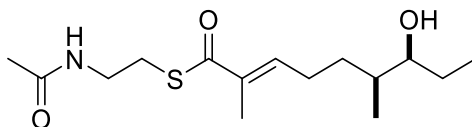


Gemäß AAV **H** wurde aus dem Aldehyd **217** (114 mg, 0.44 mmol, 1.0 Äquiv.), Phosphonate **82** (180 mg, 0.53 mmol, 1.2 Äquiv.) und DBU (0.16 mL, 1.32 mmol, 3.0 Äquiv.) der Thioester **218** (75.0 mg, 0.18 mmol, 19% über drei Stufen) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 1:1): 0.16; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.76 (tq, *J* = 7.4, 1.3 Hz, 1H, CHCCH₃), 5.91 (brs, 1H, CH₂NH), 3.47-3.42 (m, 3H, CH₂NH, CHOSi), 3.06 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂S), 2.30-2.12 (m, 2H, CCHCH₂), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.87 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, CHCCH₃), 1.67-1.51 (m, 2H, CH₂CHCH₃), 1.47-1.35 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.28-1.19 (m, 1H, CHCH₃), 0.88 (s, 9H, OSiC(CH₃)₃), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CHCH₃), 0.84 (t, *J* = 7. Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.03 (s, 3H, OSiCH₃), 0.02 (s, 3H, OSiCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[97]

(6*S*,7*S*,*E*;6*R*,7*R*,*E*)-*S*-(2-Acetamidoethyl)-7-hydroxy-2,6-dimethylnon-2-enthioat (219**)**

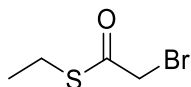


Gemäß AAV **K** wurde aus dem TBS-geschützten Thioester **218** (75.0 mg, 0.18 mmol, 1.0 Äquiv.) und PPTS (362 mg, 1.44 mmol, 8.0 Äquiv.) das Substrat **219** (38.0 mg, 0.13 mmol, 70%) nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

tr: 13.5 min; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.76 (tq, *J* = 7.3, 1.3 Hz, 1H, CHCCH₃), 5.89 (brs, 1H, CH₂NH), 3.47-3.42 (m, 3H, CH₂NH, CHOH), 3.06 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂S), 2.35-2.14 (m, 2H, CCHCH₂), 1.96 (s, 3H, OCCH₃), 1.88 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, CHCCH₃), 1.67-1.25 (m, 5H, CH₂CHCH₃, CH₂CH₃, CHCH₃), 0.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 0.90 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[97]

Synthese von (-)-Centrolobin
S-Ethyl 2-bromethanthioat (227)

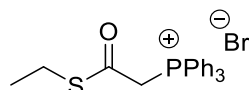


Gemäß AAV **J** wurde aus Bromessigsäure (4.86 g, 35.0 mmol, 1.0 Äquiv.) und Ethylmercaptan (2.39 g, 38.5 mmol, 1.1 Äquiv.), DIC (4.64 g, 36.5 mmol, 1.05 Äquiv.) und DMAP (428 mg, 3.50 mmol, 0.1 Äquiv.) der Bromthioester **227** (4.52 g, 24.9 mmol, 71%) erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.02 (s, 3H, CH₂Br), 2.95 (q, J = 7.4 Hz, 2H, CH₂S), 1.29 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃).

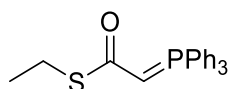
Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[141]

(2-(Ethylthio)-2-oxoethyl)triphenylphosphoniumbromid (228)



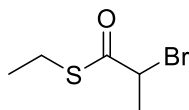
Der Bromthioester **227** (3.73 g, 20.4 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* Toluol (20 mL) vorgelegt. PPh₃ (10.7 g, 40.8 mmol, 2.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 90 min bei 100 °C gerührt. Nach abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Suspension filtriert und der Filterkuchen mit Toluol gewaschen. Der Rückstand wurde unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Produkt **228** (7.89 g, 17.7 mmol, 87%) wurde als farbloses Salz erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.85-7.80 (m, 6H, PPh₃), 7.75-7.71 (m, 3H, PPh₃), 7.64-7.60 (m, 6H, PPh₃), 5.75 (d, J = 13.4 Hz, 2H, CH₂P), 2.72 (q, J = 7.4 Hz, 2H, CH₂CH₃), 1.02 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 190.6 (q, d, J = 6.6 Hz, OCS), 135.1 (t, d, J = 3.1 Hz, PPh₃), 134.1 (t, d, J = 10.8 Hz, PPh₃), 130.2 (t, d, J = 13.2 Hz, PPh₃), 118.0 (q, d, J = 88.6 Hz, PPh₃), 40.6 (s, d, J = 52.6 Hz, CH₂P), 24.6 (s, CH₂CH₃), 14.0 (p, CH₂CH₃); ³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.1.

S-Ethyl 2-(triphenyl- λ^5 -phosphanyliden)ethanthioat (229)

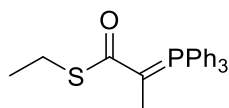
Das Salz **228** (2.00 g, 4.49 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in CH₂Cl₂ (45 mL) vorgelegt. K₂CO₃-Lösung (10Gew.-% in H₂O, 18 mL) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 50 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Ylen **229** (1.63 g, 4.47 mmol, 99%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.64-7.60 (m, 6H, PPh₃), 7.57-7.54 (m, 3H, PPh₃), 7.48-7.44 (m, 6H, PPh₃), 3.67 (brs, 1H, CHP), 2.84 (q, J = 7.3 Hz, 2H, CH₂CH₃), 1.25 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 180.6 (q, d, J = 5.1 Hz, OCS), 133.2 (t, d, J = 10.3 Hz, PPh₃), 132.3 (t, d, J = 2.8 Hz, PPh₃), 129.0 (t, d, J = 12.3 Hz, PPh₃), 126.9 (q, d, J = 91.0 Hz, PPh₃), 23.3 (s, d, J = 1.8 Hz, CH₂CH₃), 16.5 (p, CH₂CH₃); **³¹P NMR** (202 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.5.

S-Ethyl 2-bromopropanthioat (230)

Gemäß AAV **J** wurde aus 2-Brompropionsäure (5.35 g, 35.0 mmol, 1.0 Äquiv.) und Ethylmercaptan (2.39 g, 38.5 mmol, 1.1 Äquiv.), DIC (4.64 g, 36.5 mmol, 1.05 Äquiv.) und DMAP (428 mg, 3.50 mmol, 0.1 Äquiv.) der Bromthioester **230** (3.16 g, 16.0 mmol, 46%) erhalten und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.50 (q, J = 6.9 Hz, 1H, CHCH₃), 2.94 (q, J = 7.4 Hz, 2H, CH₂CH₃), 1.84 (d, J = 6.9 Hz, 3H, CHCH₃), 1.29 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₂CH₃).

S-Ethyl 2-(triphenyl- λ^5 -phosphanyliden)propanthioat (231)

Der Bromthioester **230** (1.89 g, 9.60 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* Toluol (9.6 mL) vorgelegt. PPh₃ (5.03 g, 19.2 mmol, 2.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei 100 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde

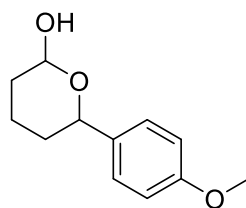
Experimenteller Teil

die organische Phase mit Wasser extrahiert. Die vereinigte wässrige Phase (82 mL) wurde mit CH_2Cl_2 (130 mL) versetzt und K_2CO_3 (9.18 g, 15.1 mmol, finale Konzentration 10Gew.-% in H_2O) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 40 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Ylen **231** (2.48 g, 6.55 mmol, 68% über zwei Stufen) wurde als gelber Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.60-7.52 (m, 9H, PPh_3), 7.48-7.43 (m, 6H, PPh_3), 2.84 (qd, $J = 7.2, 0.6$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 1.67 (d, $J = 15.0$ Hz, 3H, CCH_3), 1.23 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, CH_2CH_3).

Die analytischen Daten entsprechen denen in der Literatur.^[97]

6-(4-Methoxyphenyl)tetrahydro-2H-pyran-2-ol (225)

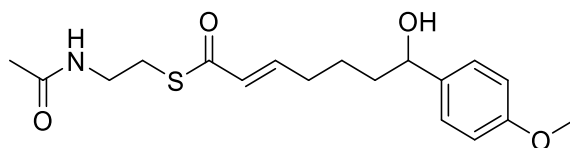


Magnesium (3.53 g, 145 mmol, 2.4 Äquiv.) und eine katalytische Menge Iod wurden in *abs.* THF (290 mL) vorgelegt. Bromacetal **224** (25.3 g, 121 mmol, 2.0 Äquiv.) wurde tropfenweise hinzugegeben und das Gemisch für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Überstand wurde abgenommen, zu Anisaldehyd (8.23 g, 60.5 mmol, 1.0 Äquiv.) in *abs.* THF (290 mL) gegeben und das Reaktionsgemisch wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Salzsäure (1.5 M in H_2O , 400 mL) wurde die Reaktion beendet und für weitere 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde mit NaOH (1.5 M in H_2O) neutralisiert und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Et_2O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Lactol **225** (10.3 g, 49.3 mmol, 82%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 1:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 1:1): 0.63; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.32-7.28 (m, 4H, *m*- $\text{CH}_\text{Ar}\text{OMe}$), 6.89-6.87 (m, 4H, *o*- $\text{CH}_\text{Ar}\text{OMe}$), 5.45 (brs, 1H, OCHOH), 4.97 (dd, $J = 11.5, 2.5$ Hz, OCHOH), 4.91-4.89 (m, 1H, CCHO), 4.45 (dd, $J = 11.2, 2.0$ Hz, 1H, CCHO), 3.80 (s, 6H, OCH_3), 2.09-1.27 (m, 12H, CH_2).

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[79]

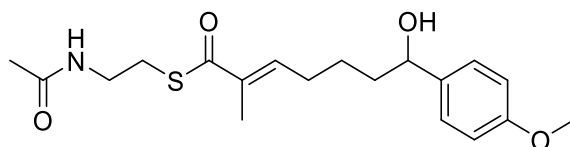
***S*-(2-Acetamidoethyl) (*E*)-7-hydroxy-7-(4-methoxyphenyl)hept-2-enthioat (222)**



Gemäß AAV **G** wurde aus dem Lactol **225** (659 mg, 3.16 mmol, 1.0 Äquiv.) und Ylid **149** (2.00 g, 4.75 mmol, 1.5 Äquiv.) das Substrat **222** (100 mg, 0.28 mmol, 9%, *E*:*Z* =>19:<1) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc), sowie semipräparativer HPLC (H₂O:CH₃CN = 95:5 {5 min}, Gradient H₂O:CH₃CN 95:5 → 75:25 {15 min}, H₂O:CH₃CN 75:25 → 70:30 {30 min}, H₂O:CH₃CN 70:30 → 5:95 {5 min}, H₂O:CH₃CN = 5:95 {5 min}, 20 mL/min) als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.24; **tr**: 21.8 min; **¹H-NMR** (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 7.15-7.12 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}OMe), 6.90-6.80 (m, 3H, *o*-CH_{Ar}OMe, OCCHCH), 5.99 (dt, *J* = 15.5, 1.4 Hz, 1H, OCCHCH), 4.81 (brs, 1H, CH₂NH), 4.32-4.29 (m, 1H, CHOH), 3.34 (s, 3H, OCH₃), 3.25-3.21 (m, 2H, NCH₂), 2.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂S), 1.74-1.70 (m, 2H, CCH₂CH₂), 1.66-1.56 (m, 1H, 1×OHCHCH₂), 1.48-1.43 (m, 4H, 1×OHCHCH₂, OCCH₃), 1.38-1.29 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.23-1.15 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂); **¹³C-NMR** (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 189.6 (q, SCO), 169.0 (q, NCO), 159.6 (q, CH₃OC), 146.0 (t, CHCHCH₂), 137.7 (q, *p*-C_{q,Ar}OMe), 128.9 (t, *o*-CH_{Ar}OMe), 127.3 (t, *m*-CH_{Ar}OMe), 114.1 (t, CHCHCH₂), 73.7 (t, OHCH), 54.9 (p, OCH₃), 39.8 (s, CH₂CH₂CHOH), 39.0 (s, NCH₂), 32.1 (s, CHCHCH₂), 28.5 (s, CH₂S), 24.5 (s, CH₂CH₂CH₂), 22.7 (p, CH₃CO); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₁₈H₂₅NNaO₄S [M+Na]⁺: ber. 374.1397, gef. 374.1393.

***S*-(2-Acetamidoethyl) (*E*)-7-hydroxy-7-(4-methoxyphenyl)-2-methylhept-2-enthioat (226)**

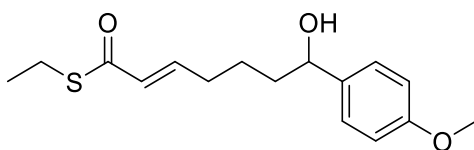


Gemäß AAV **G** wurde aus dem Lactol **225** (382 mg, 1.84 mmol, 1.0 Äquiv.) und Ylid **167** (1.20 g, 2.76 mmol, 1.5 Äquiv.) das Substrat **226** (20.0 mg, 54.7 μmol, 3%, *E*:*Z* =>19:<1) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (EtOAc), sowie semipräparativer HPLC (H₂O:CH₃CN = 95:5 {5 min}, Gradient H₂O:CH₃CN 95:5 → 75:25 {15 min}, H₂O:CH₃CN

75:25 → 70:30 {30 min}, H₂O:CH₃CN 70:30 → 5:95 {5 min}, H₂O:CH₃CN = 5:95 {5 min}, 20 mL/min) als farbloses Öl erhalten.

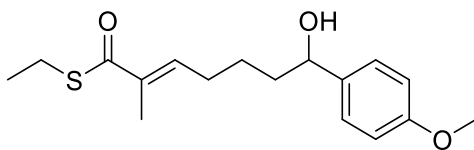
R_f (EtOAc): 0.25; **t_R**: 27.9 min; **¹H-NMR** (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 7.15-7.13 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}OMe), 6.83-6.80 (m, 3H, 2×*o*-CH_{Ar}OMe, 1×CH₃CCH), 4.62 (brs, 1H, CH₂NH), 4.33-4.30 (m, 1H, CHOH), 3.33 (s, 3H, OCH₃), 3.26-3.22 (m, 2H, NCH₂), 2.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂S), 1.86-1.81 (m, 2H, CCHCH₂), 1.77 (s, 3H, CH₃CO), 1.68-1.62 (m, 1H, 1×CH₂COH), 1.55-1.48 (m, 1H, 1×CH₂COH), 1.44 (s, 3H, CH₃CCO), 1.42-1.36 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.30-1.24 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂); **¹³C-NMR** (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 193.3 (q, SCO), 168.9 (q, NCO), 159.6 (q, C_{q,Ar}O), 141.7 (t, OCCCH), 137.7 (q, *p*-C_{q,Ar}OCH₃), 136.5 (q, OCCCH), 127.3 (t, *m*-CH_{Ar}OCH₃), 114.1 (t, *o*-CH_{Ar}OCH₃), 73.8 (t, COH), 54.8 (p, OCH₃), 39.8 (s, NCH₂), 39.2 (s, H₂CCH₂CHOH), 28.73 (s, CCHCH₂), 28.70 (s, CH₂S), 25.0 (s, CH₂CH₂CH₂), 22.7 (p, CH₃CCH), 12.6 (p, CH₃CO); **HRMS** (ESI⁺) *m/z* für C₁₉H₂₇NNaO₄S [M+Na]⁺: ber. 388.1553, gef. 388.1548.

***S*-Ethyl (*E*)-7-hydroxy-7-(4-methoxyphenyl)hept-2-enthioat (232)**



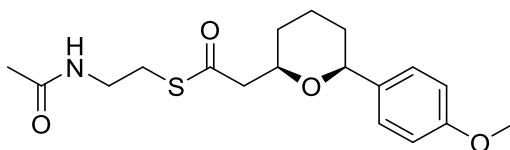
Gemäß AAV **G** wurde aus dem Lactol **225** (618 mg, 2.97 mmol, 1.0 Äquiv.) und Ylid **229** (1.62 g, 4.45 mmol, 1.5 Äquiv.) das Substrat **232** (76.0 mg, 0.26 mmol, 9%, *E:Z* = 13.5:1) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 4:1), sowie semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 4:1): 0.25; **t_R**: 15.6 min; **¹H-NMR** (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 7.12-7.09 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}OMe), 6.87 (dt, *J* = 15.5, 7.0 Hz, 1H, OCCHCH), 6.82-6.79 (m, 2H, *o*-CH_{Ar}OMe), 6.03 (dt, *J* = 15.5, 1.5 Hz, OCCHCH), 4.26-4.23 (m, 1H, CHOH), 3.34 (s, 3H, OCH₃), 2.80 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂S), 1.72-1.67 (m, 2 H, CCHCH₂), 1.59-1.51 (m, 1H, 1×CH₂COH), 1.45-1.37 (m, 1H, 1×CH₂COH), 1.34-1.25 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.18-1.11 (m, 2H, 1×CH₂CH₂CH₂, OH), 1.06 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃CH₂S); **¹³C-NMR** (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 189.0 (q, SCO), 159.6 (q, C_{q,Ar}O), 145.0 (t, OCCHCH), 137.7 (q, *p*-C_{q,Ar}OCH₃), 129.2 (t, OCCHCH), 127.3 (t, *m*-CH_{Ar}OCH₃), 114.0 (t, *o*-CH_{Ar}OCH₃), 73.7 (t, COH), 54.8 (p, OCH₃), 39.0 (s, CH₂CH₂CHOH), 32.0 (s, CHCHCH₂), 24.5 (s, CH₂CH₂CH₂), 23.2 (s, CH₃CH₂), 15.1 (p, CH₃CH₂); **HRMS** (ESI⁺) *m/z* für C₁₆H₂₃O₃S [M+H]⁺: ber. 295.1362, gef. 295.1358.

S-Ethyl (E)-7-hydroxy-7-(4-methoxyphenyl)-2-methylhept-2-enthioat (233)

Gemäß AAV **G** wurde aus dem Lactol **225** (907 mg, 4.36 mmol, 1.0 Äquiv.) und Ylid **231** (2.48 g, 6.54 mmol, 1.5 Äquiv.) das Substrat **233** (83 mg, 0.27 mmol, 6%, *E:Z* = 14.5:1) nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 4:1), sowie semipräparativer HPLC als farbloses Öl erhalten.

R_f (EtOAc): 0.34; **t_R**: 16.9 min; **¹H-NMR** (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 7.14-7.11 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}OMe), 6.87 (dt, *J* = 15.5, 7.0 Hz, 1H, OCCHCH), 6.84-6.79 (m, 3H, 2×*o*-CH_{Ar}OMe, OCCHCH), 4.30-4.27 (m, 1H, CHOH), 3.33 (s, 3H, OCH₃), 2.81 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂S), 1.85-1.79 (m, 5H, CCHCH₂, CH₃CCO), 1.67-1.60 (m, 1H, 1×CH₂COH), 1.53-1.46 (m, 1H, 1×CH₂COH), 1.41-1.33 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.27-1.19 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.14-1.13 (m, 1H, OH), 1.08 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃CH₂S); **¹³C-NMR** (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 192.9 (q, SCO), 159.6 (q, C_{q, Ar}O), 140.5 (t, OCCCH), 137.7 (q, *p*-C_{q, Ar}OCH₃), 136.7 (q, OCCCH), 127.3 (t, *m*-CH_{Ar}OCH₃), 114.1 (t, *o*-CH_{Ar}OCH₃), 73.8 (t, COH), 54.8 (p, OCH₃), 39.2 (s, CH₂CH₂CHOH), 28.6 (s, CCHCH₂), 25.1 (s, CH₂CH₂CH₂), 23.4 (s, CH₃CH₂S), 15.1 (p, CH₃CH₂S), 12.6 (p, CH₃CCH); **HRMS** (ESI⁺) *m/z* für C₁₇H₂₃O₂S [M-H₂O+H]⁺: ber. 291.1413, gef. 291.1404.

S-(2-Acetamidoethyl) 2-((2R,6S)-6-(4-methoxyphenyl)tetrahydro-2H-pyran-2-yl)ethanthioat (223)

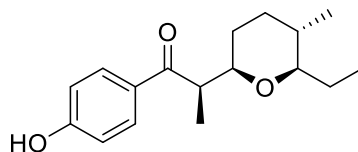
Produkt **223** (6.6 mg, 18.8 μ mol, 33%) wurde durch enzymatische Umsetzung von Substrat **222** (20.0 mg, 56.9 μ mol, 1.0 Äquiv.) mit AmbDH3 nach Reinigung *via* semipräparativer HPLC (H₂O:CH₃CN = 95:5 {5 min}, gradient H₂O:CH₃CN 95:5 \rightarrow 75:25 {5 min}, H₂O:CH₃CN 75:25 \rightarrow 70:30 {30 min}, H₂O:CH₃CN 70:30 \rightarrow 95:5 {5 min}, H₂O:CH₃CN = 5:95 {5 min}, 20 mL/min) als farbloses Öl erhalten.

t_R: 40.6 min; **¹H-NMR** (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 7.27-7.24 (m, 2H, OCHCCH), 6.84-6.81 (m, 2H, OCCH), 4.63 (brs, 1H, NHCH₂), 4.16 (dd, *J* = 10.6, 1.9 Hz, 1H, OCHC), 3.91 (dddd,

Experimenteller Teil

$J = 11.0, 8.1, 4.7, 2.0$ Hz, 1H, OCCH₂CH), 3.30 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (ddd, $J = 12.5, 6.5, 2.1$ Hz, 2H, NHCH₂), 2.82 (dt, $J = 13.2, 6.6$ Hz, 1H, 1×CH₂S), 2.76 (dd, $J = 14.6, 8.2$ Hz, 1H, 1×OCCH₂), 2.74 (dt, $J = 13.5, 6.5$ Hz, 1H, 1×CH₂S), 2.40 (dd, $J = 14.6, 4.7$ Hz, 1H, 1×OCCH₂), 1.56-1.52 (m, 2H, 1×CCHCH₂, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.42 (s, 3H, OCCH₃), 1.38-1.25 (m, 3H, 1×CCH₂CHCH₂, 1×CCHCH₂, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.10-1.02 (m, 1H, 1×CCH₂CHCH₂); ¹³C-NMR (125 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 196.8 (q, OCS), 168.8 (q, OCCH₃), 159.5 (q, C_{q,Ar}OMe), 135.9 (q, *p*-C_{q,Ar}OMe), 127.2 (t, *m*-CH_{Ar}OMe), 114.0 (t, *o*-CH_{Ar}OMe), 79.6 (t, OCHC), 75.1 (t, OCCH₂CH), 54.8 (p, OCH₃), 51.0 (s, OCCH₂), 39.6 (s, NHCH₂), 33.8 (s, CCH₂), 31.0 (s, CCH₂CHCH₂), 28.9 (s, CH₂S), 24.0 (s, CH₂CH₂CH₂), 22.7 (p, OCCH₃); HRMS (ESI+) m/z für C₁₈H₂₅NNaO₄S [M+Na]⁺: ber. 374.1397, gef. 374.1393.

(R)-2-((2R,5S,6R)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1-(4-hydroxyphenyl)propan-1-on (239)

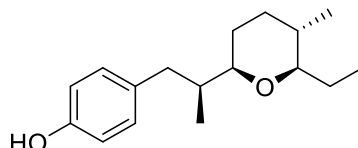


THP-Thioester **78** (15.0 mg, 50.0 μ mol, 1.0 Äquiv.), 4-((Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)phenyl)boronsäure (17.0 mg, 75.0 μ mol, 1.5 Äquiv.), CuTC (48.0 mg, 250 μ mol, 5.0 Äquiv.), Pd₂dba₃·CHCl₃ (0.3 mg, 0.30 μ mol, 0.6mol%) und P(*o*-Furyl)₃ (0.6 mg, 2.40 μ mol, 4.8mol%) wurden in *abs.* THF (600 μ L) gelöst und für 24 h bei 50 °C gerührt. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion durch Zugabe von Salzsäure (1.5 M in H₂O) beendet. Das Gemisch wurde für 10 min gerührt und anschließend mit Et₂O verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Keton **239** (9.5 mg, 34.5 μ mol, 69%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 9:1) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 9:1): 0.07; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.94-7.91 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}OH), 6.89-6.83 (m, 2H, *o*-CH_{Ar}OH), 5.58 (brs, 1H, OH), 3.58-3.48 (m, 2H, OCCHCH₃, OCHCH₂CH₂), 2.74 (td, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 1H, OCHCH₂CH₃), 1.83-1.74 (m, 2H, 1×OCHCH₂CH₂, 1×CH₂CHCH₃), 1.55-1.47 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.36-1.27 (m, 3H, CH₂CHCH₃, 1×OCHCH₂CH₂, 1×CH₂CHCH₃), 1.22-1.10 (m, 1H, 1×CH₂CH₃), 1.08 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH₂CHCH₃), 0.76 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, OCCHCH₃), 0.58 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H,

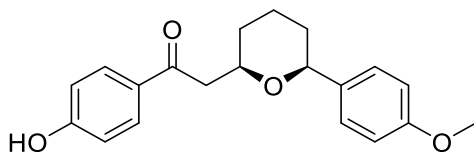
CH_2CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 203.6 (q, OCCHCH_3), 159.7 (q, $\text{HOC}_{\text{q,Ar}}\text{CH}_{\text{Ar}}$), 131.4 (q, $\text{OCC}_{\text{q,Ar}}$), 131.3 (t, $m\text{-CH}_{\text{Ar}}\text{OH}$), 115.1 (t, $o\text{-CH}_{\text{Ar}}\text{OH}$), 84.7 (t, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 80.5 (t, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_2$), 45.8 (t, OCCHCH_3), 35.1 (t, CH_2CHCH_3), 33.0 (s, CH_2CHCH_3), 29.5 (s, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_2$), 26.0 (s, CH_2CH_3), 17.8 (p, OCCHCH_3), 13.6 (p, CH_2CHCH_3), 9.6 (p, CH_2CH_3); **HRMS** (ESI+) m/z für $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: ber. 277.1798, gef. 277.1795.

4-((S)-2-((2R,5S,6R)-6-Ethyl-5-methyltetrahydro-2H-pyran-2-yl)propyl)phenol (242)



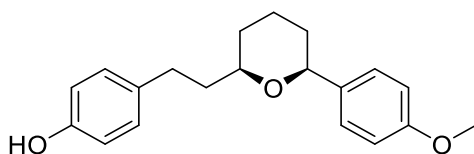
THP-Keton **239** (2.0 mg, 7.24 μmol , 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* Et_2O (70 μL) vorgelegt. LiBH_4 (0.2 mg, 10.9 μmol , 1.5 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Et_3SiH (10 μL , 57.9 μmol , 8.0 Äquiv.) und TFA (9 μL , 123 μmol , 17.0 Äquiv.) wurden tropfenweise hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für weitere 5 min bei 0 °C und weitere 55 min bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NaHCO_3 -Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Et_2O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Keton **242** (1.5 mg, 5.72 μmol , 79%) wurde als farbloses Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.05-7.02 (m, 2H, $m\text{-CH}_{\text{Ar}}\text{OH}$), 6.75-6.72 (m, 2H, $o\text{-CH}_{\text{Ar}}\text{OH}$), 2.97-2.93 (m, 2H, $1\times\text{CH}_2\text{C}_{\text{q,Ar}}$, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_2$), 2.82 (td, $J = 9.3, 2.6$ Hz, 1H, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 2.35 (dd, $J = 13.5, 9.0$ Hz, $1\times\text{CH}_2\text{C}_{\text{q,Ar}}$), 1.81-1.64 (m, 4H, $\text{C}_{\text{q,Ar}}\text{CH}_3\text{CH}$, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 1.44-1.27 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 1.17-1.09 (m, 1H, $1\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 0.81 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 0.75 (d, $J = 6.8$ Hz, $\text{C}_{\text{q,Ar}}\text{CH}_2\text{CHCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 153.5 (q, $\text{HOC}_{\text{q,Ar}}\text{CH}_{\text{Ar}}$), 133.5 (q, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{q,Ar}}$), 130.7 (t, $o\text{-CH}_{\text{Ar}}\text{OH}$), 115.0 (t, $m\text{-CH}_{\text{Ar}}\text{OH}$), 84.8 (t, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_3$), 81.1 (t, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_2$), 40.4 (t, $\text{C}_{\text{q,Ar}}\text{CH}_2\text{CH}$), 38.2 (s, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{q,Ar}}$), 35.4 (t, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 33.3 (s, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 29.3 (s, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 26.4 (s, CH_2CH_3), 17.9 (p, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 15.1 (p, $\text{C}_{\text{q,Ar}}\text{CH}_2\text{CHCH}_3$), 10.4 (p, CH_2CH_3); **HRMS** (ESI+) m/z für $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: ber. 263.2006, gef. 263.2002.

1-(4-Hydroxyphenyl)-2-((2R,6S)-6-(4-methoxyphenyl)tetrahydro-2H-pyran-2-yl)ethan-1-on (243)

THP-Thioester **223** (5.0 mg, 14.2 μmol , 1.0 Äquiv.), 4-((Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)phenylboronsäure (4.8 mg, 21.3 μmol , 1.5 Äquiv.), CuTC (14.0 mg, 71.1 μmol , 5.0 Äquiv.), Pd₂dba₃·CHCl₃ (0.1 mg, 0.086 μmol , 0.6mol%) und P(*o*-Furyl)₃ (0.2 mg, 1.37 μmol , 4.8mol%) wurden in *abs.* THF (250 μL) gelöst und für 24 h bei 50 °C gerührt. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion durch Zugabe von Salzsäure (1.5 M in H₂O) beendet. Das Gemisch wurde für 10 min gerührt und anschließend mit Et₂O verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Keton **243** (3.3 mg, 10.1 μmol , 71%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 7:3) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 4:1): 0.12; **[α]_D²²** = -261.2° (c = 0.2, Et₂O); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.90-7.87 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}OH), 7.24-7.21 (m, 2H, *m*-CH_{Ar}OMe), 6.84-6.79 (m, 4H, *o*-CH_{Ar}OMe, *o*-CH_{Ar}OH), 5.93 (brs, 1H, OH), 4.38 (dd, *J* = 11.3, 1.7 Hz, 1H, OCHC), 4.18-4.13 (m, 1H, OCCH₂CH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.34 (dd, *J* = 15.8, 6.0 Hz, 1H, 1×OCCH₂), 2.96 (dd, *J* = 15.8, 6.4 Hz, 1H, 1×OCCH₂), 1.97-1.92 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.83-1.80 (m, 2H, 1×CH₂CHCCH, 1×CH₂CHCH₂C), 1.77-1.68 (m, 1H, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.58-1.49 (m, 1H, 1×CH₂CHCCH), 1.41-1.33 (m, 1H, 1×CH₂CHCH₂C); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 197.5 (q, OCCCH), 160.2 (q, HOCCH), 158.9 (q, CH₃OCCH), 135.4 (q, *p*-C_{q,Ar}OH), 131.1 (t, *o*-CH_{Ar}OH), 130.7 (q, *p*-C_{q,Ar}OH), 127.3 (t, *o*-CH_{Ar}OMe), 115.4 (t, *o*-CH_{Ar}OH), 113.7 (t, *o*-CH_{Ar}OMe), 79.7 (t, OCHC), 75.3 (t, OCCHCH), 55.4 (p, CH₃O), 45.3 (s, OCCH₂), 33.1 (s, CH₂CHCCH), 31.5 (s, CH₂CHCH₂C), 24.0 (s, CH₂CH₂CH₂); **HRMS** (ESI+) *m/z* für C₂₀H₂₂NaO₄ [M+Na]⁺: ber. 349.1410, gef. 349.1404.

4-(2-((2R,6S)-6-(4-Methoxyphenyl)tetrahydro-2H-pyran-2-yl)ethyl)phenol (59)

THP-Keton **243** (3.0 mg, 9.19 μmol , 1.0 Äquiv.) wurde in *abs.* Et₂O (100 μL) vorgelegt. LiBH₄ (0.3 mg, 13.8 μmol , 1.5 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Et₃SiH (12 μL , 73.5 μmol , 8.0 Äquiv.) und TFA (12 μL , 156 μmol , 17.0 Äquiv.) wurden tropfenweise hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für weitere 60 min bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe ges. NaHCO₃-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. (-)-*Centrolabin* (**59**) (2.0 mg, 6.40 μmol , 70%, *e.e.* 78%) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Hexan:EtOAc / 7:3) als farbloses Öl erhalten.

R_f (Hexan:EtOAc / 7:3): 0.40; $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -78.0^\circ$ ($c = 0.1$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, *m*-CH_{Ar}OMe), 7.06 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, *m*-CH_{Ar}OH), 6.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, *o*-CH_{Ar}OMe), 6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, *o*-CH_{Ar}OH), 4.58 (brs, 1H, OH), 4.29 (dd, $J = 11.2, 2.1$ Hz, 1H, OCHC), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.44 (dddd, $J = 10.7, 8.1, 4.6, 1.9$ Hz, 1H, OCHCH₂CH₂C), 2.75-2.62 (m, 2H, CH₂C), 1.95-1.86 (m, 2H, 1×CH₂CH₂C, 1×CH₂CH₂CH₂), 1.85-1.80 (m, 1H, 1×CH₂CHC), 1.76-1.67 (m, 1H, 1×CH₂CH₂C), 1.66-1.59 (m, 2H, 1×CH₂CH₂CH₂, 1×CH₂CHCH₂CH₂C), 1.54-1.46 (m, 1H, 1×CH₂CHC), 1.37-1.28 (m, 1H, CH₂CHCH₂CH₂C); **¹³C-NMR** (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 158.8 (q, CH₃OC_{q,Ar}), 153.6 (q, HOC_{q,Ar}), 136.0 (q, CH₂CHC_{q,Ar}), 134.9 (q, CH₂C_{q,Ar}), 129.7 (t, *m*-CH_{Ar}OH), 127.2 (t, *m*-CH_{Ar}OMe), 115.2 (t, *o*-CH_{Ar}OH), 113.7 (t, *o*-CH_{Ar}OH), 79.2 (t, CH₂CHC), 77.3 (t, CH₂CHCH₂CH₂C), 55.4 (p, OCH₃), 38.4 (s, CH₂CH₂C), 33.5 (s, CH₂CHC), 31.4 (s, CH₂CHCH₂CH₂C), 30.9 (s, CH₂CH₂C), 24.2 (s, CH₂CH₂CH₂); **HRMS** (ESI+) m/z für C₂₀H₂₅O₃ [M+H]⁺: ber. 313.1798, gef. 313.1799.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein.^[83]

Spektrenanhang

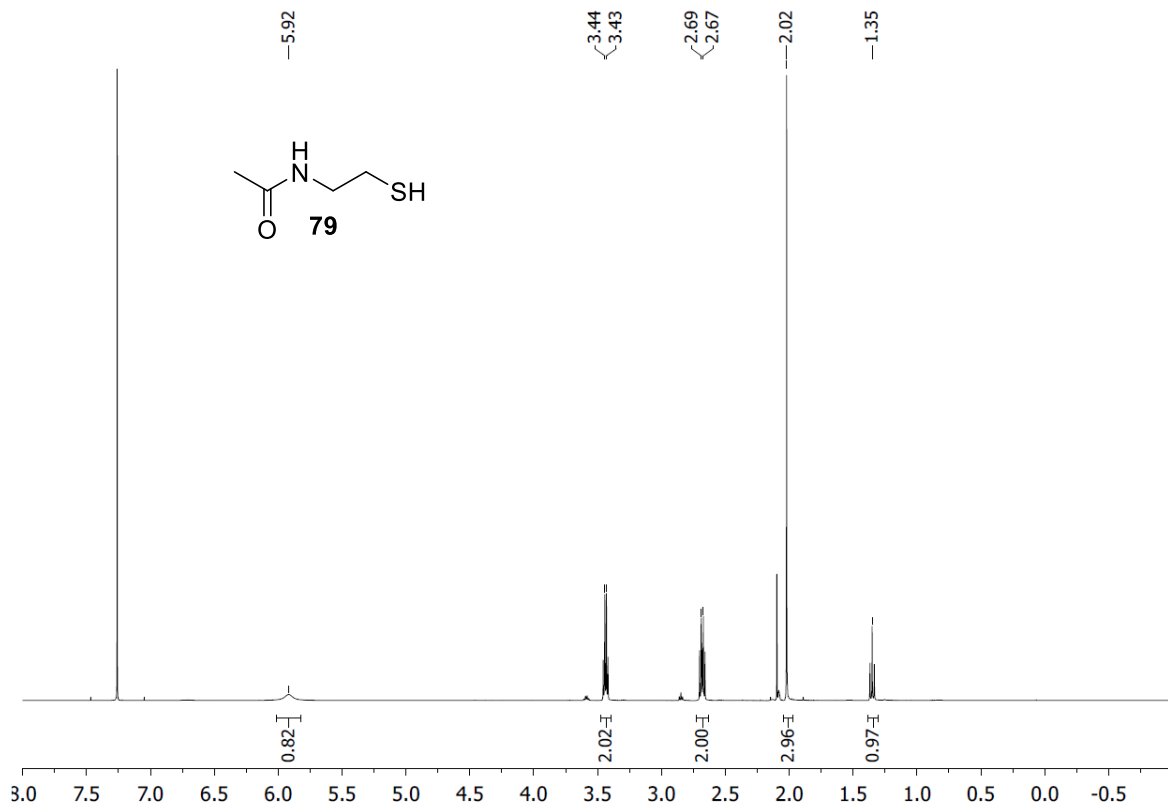


Abbildung 100: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: *N*-Acetylcystamin, Essigsäure).

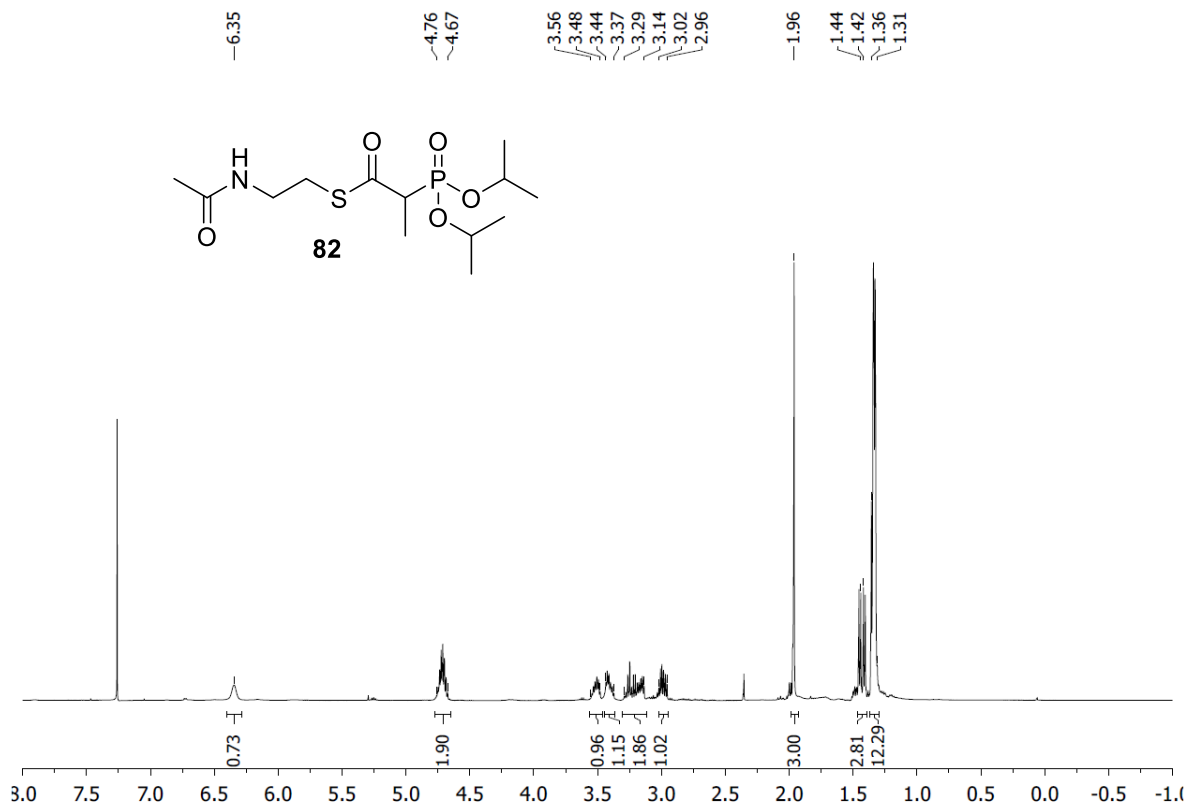


Abbildung 101: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz).

Spektrenanhang

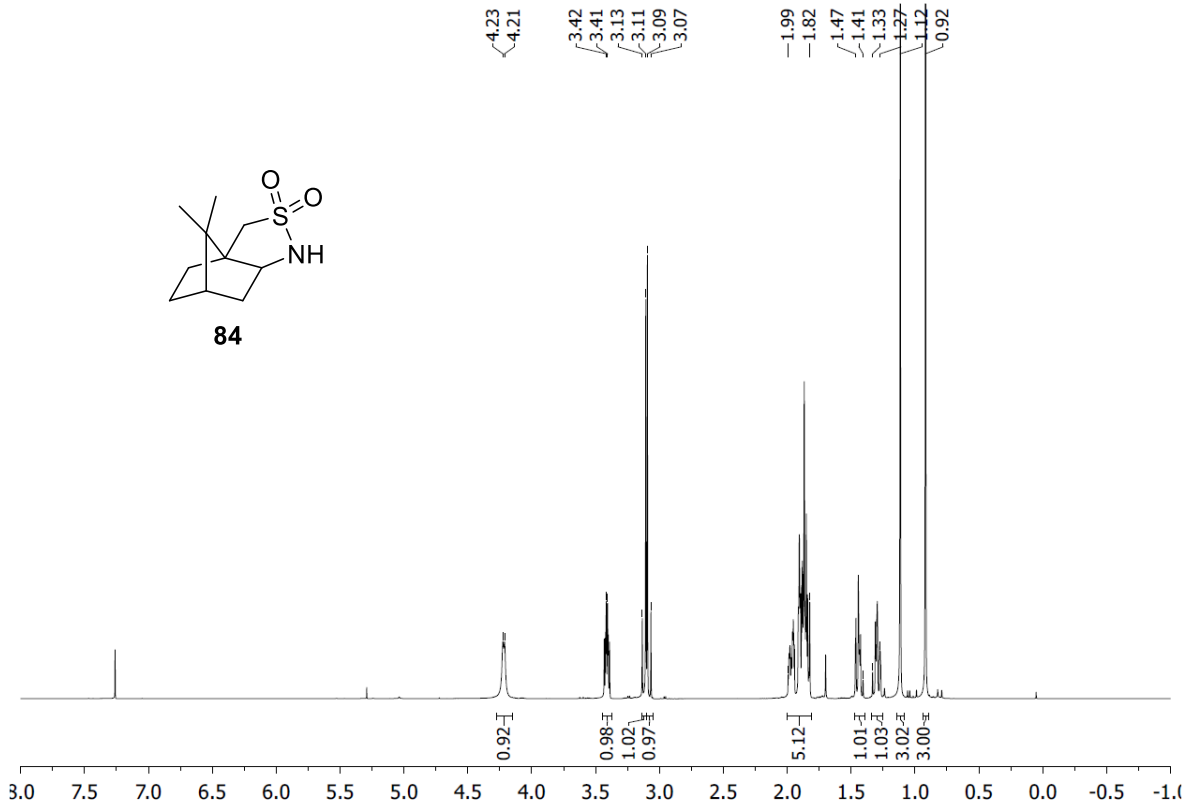


Abbildung 102: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

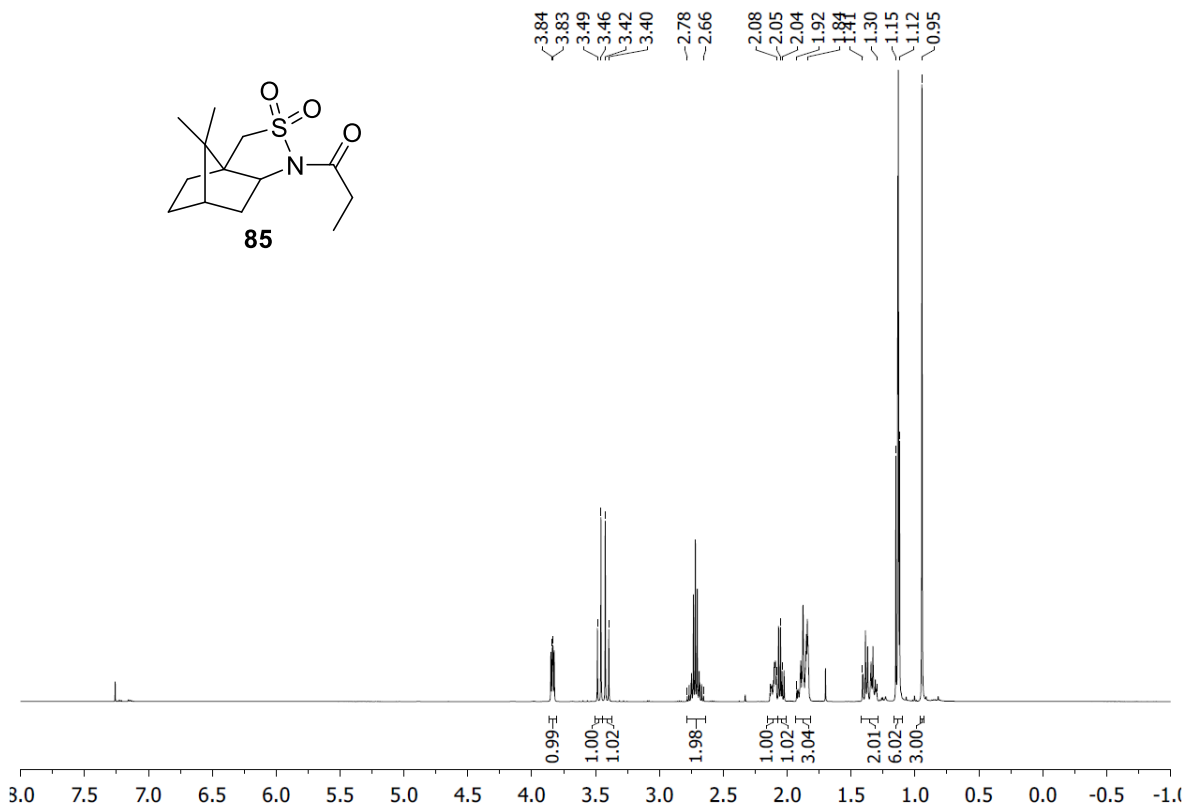


Abbildung 103: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

Spektrenanhang

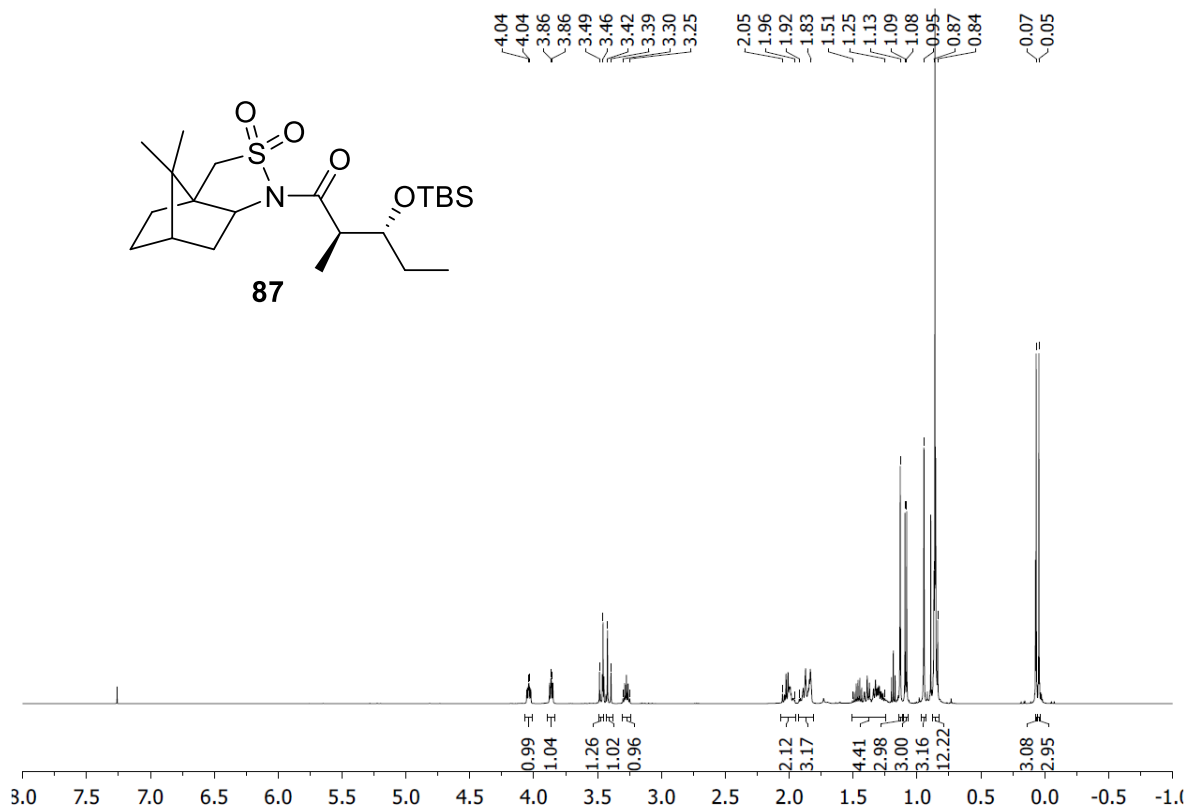


Abbildung 104: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: Et_2O).

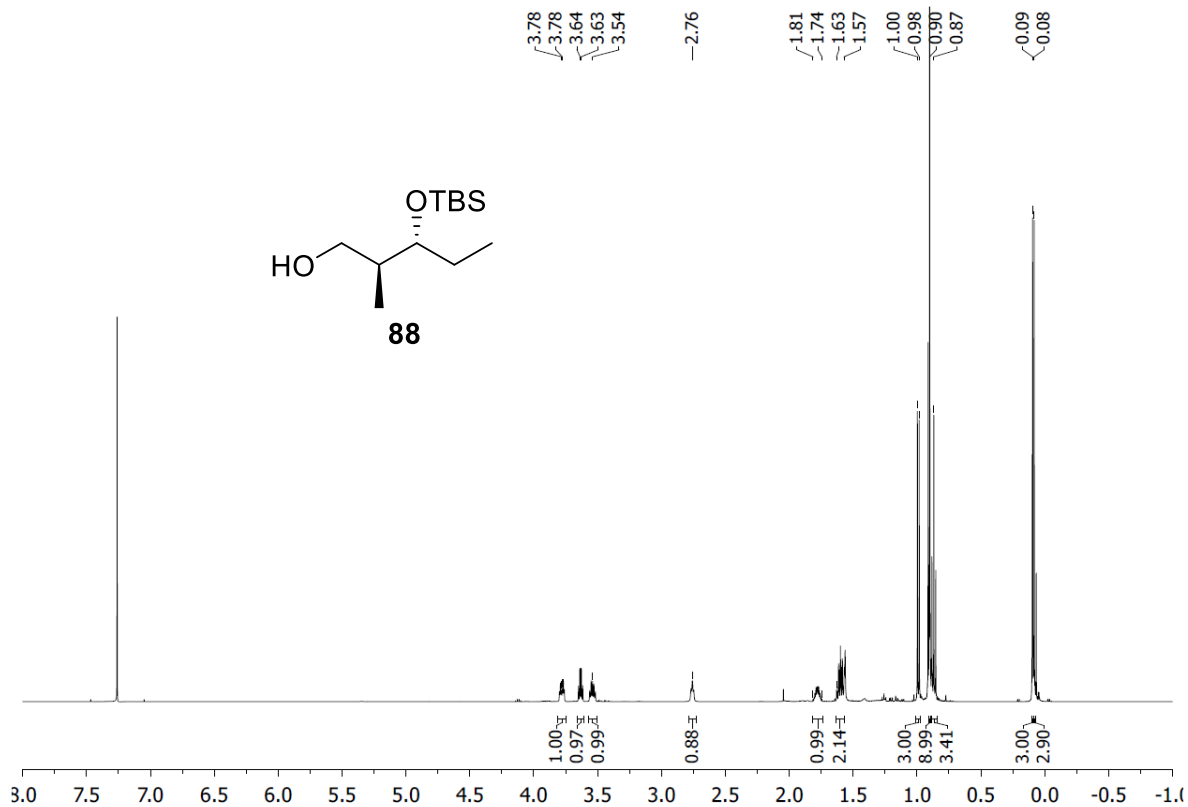


Abbildung 105: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: H_2O).

Spektrenanhang

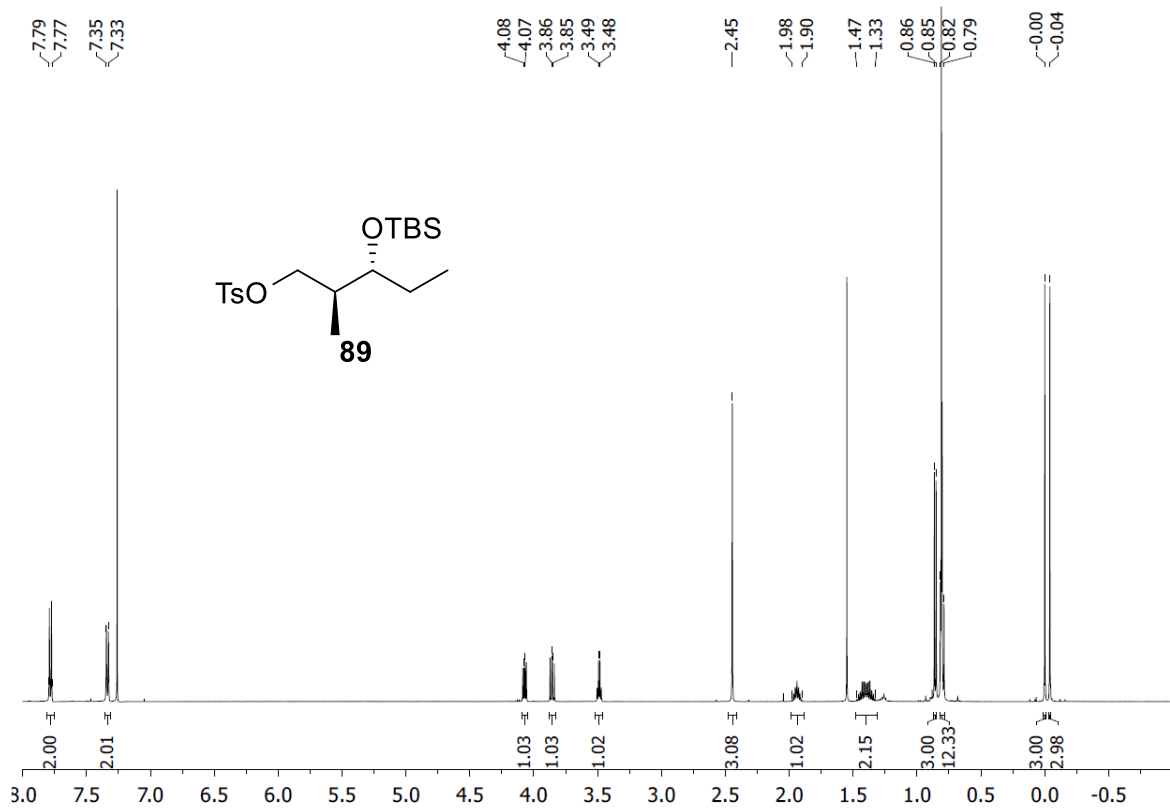


Abbildung 106: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, Aliphaten).

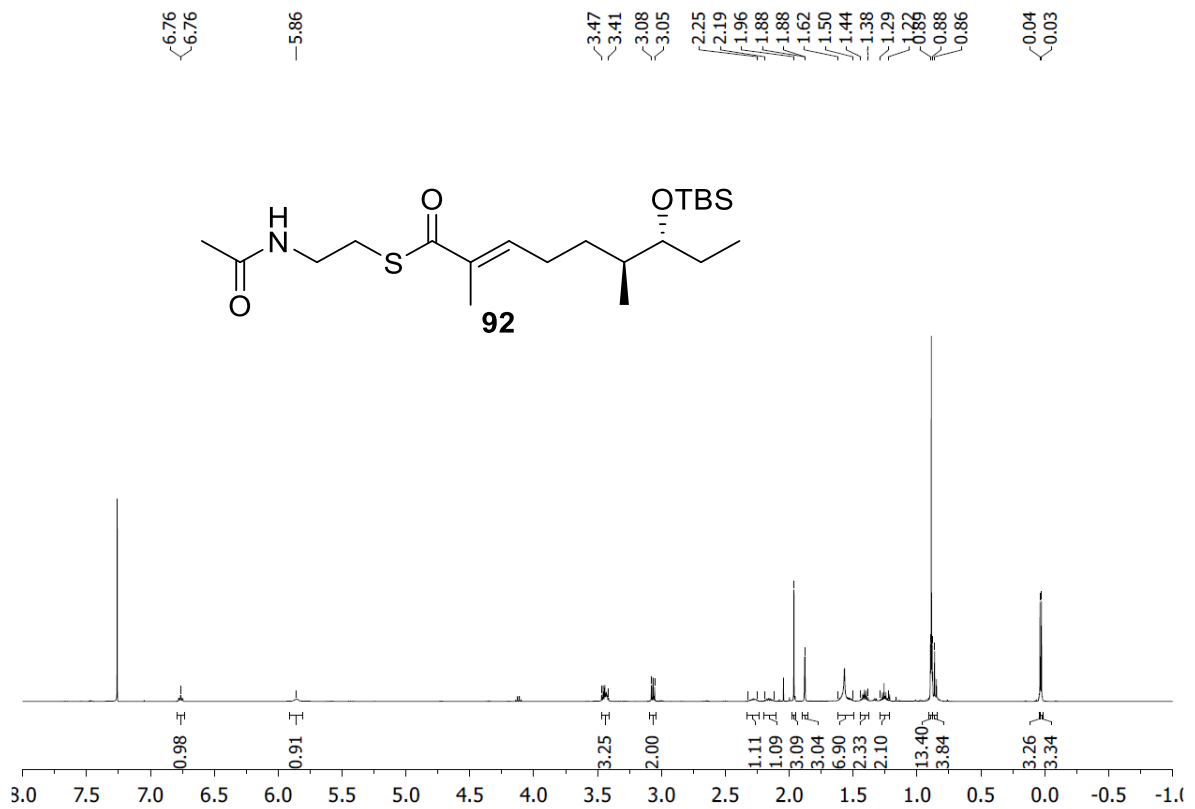


Abbildung 107: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, EtOAc).

Spektrenanhang

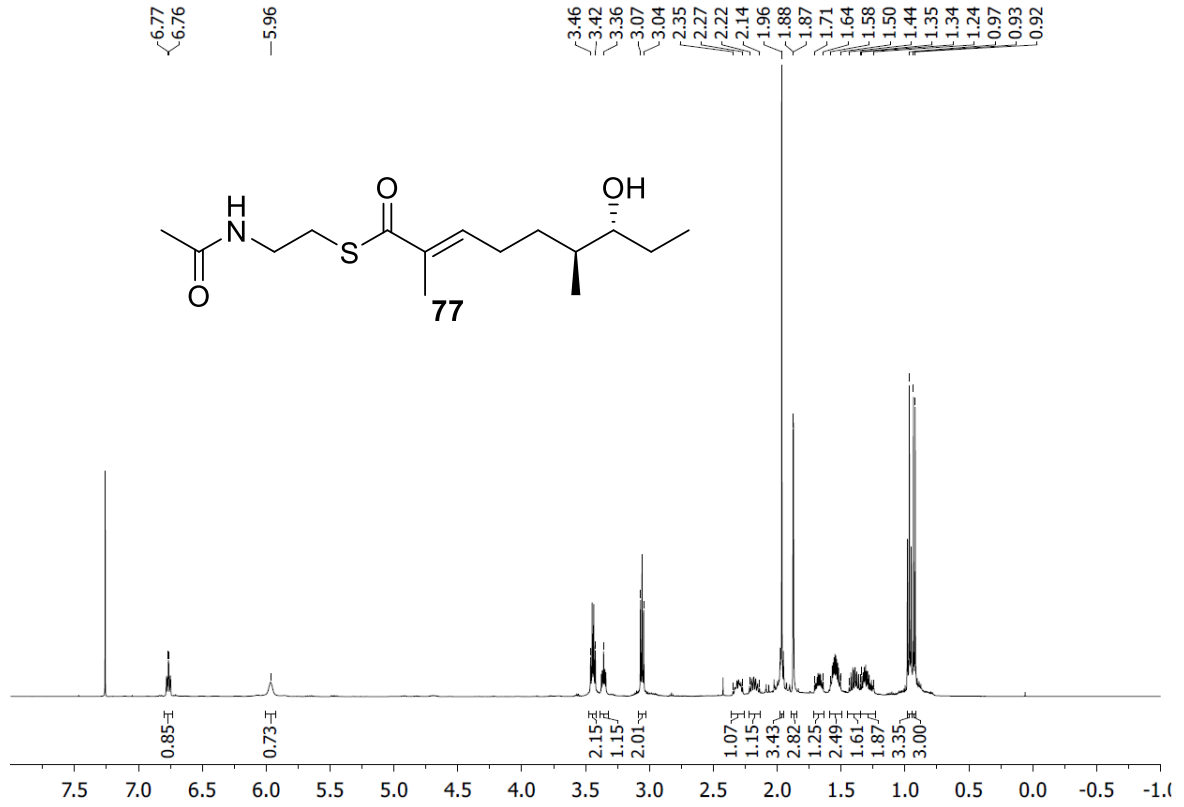


Abbildung 108: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, Aliphaten).

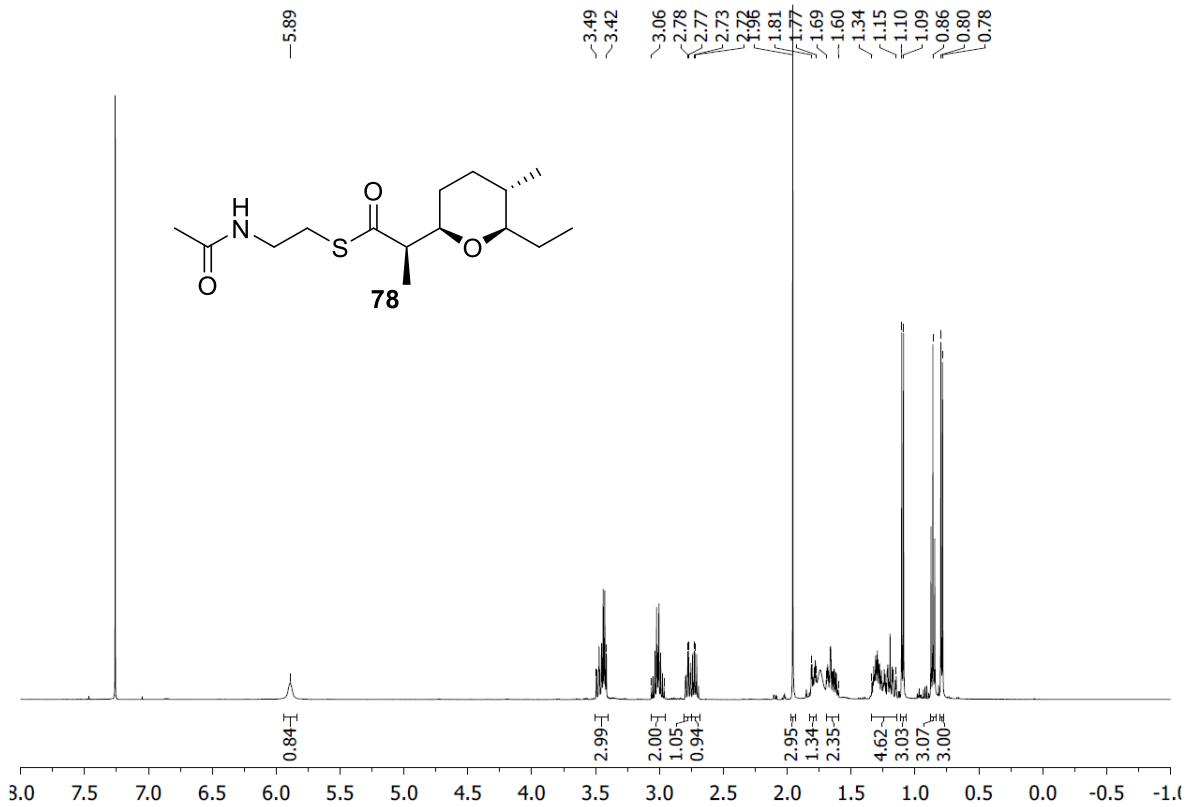


Abbildung 109: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, Aliphaten).

Spektrenanhang

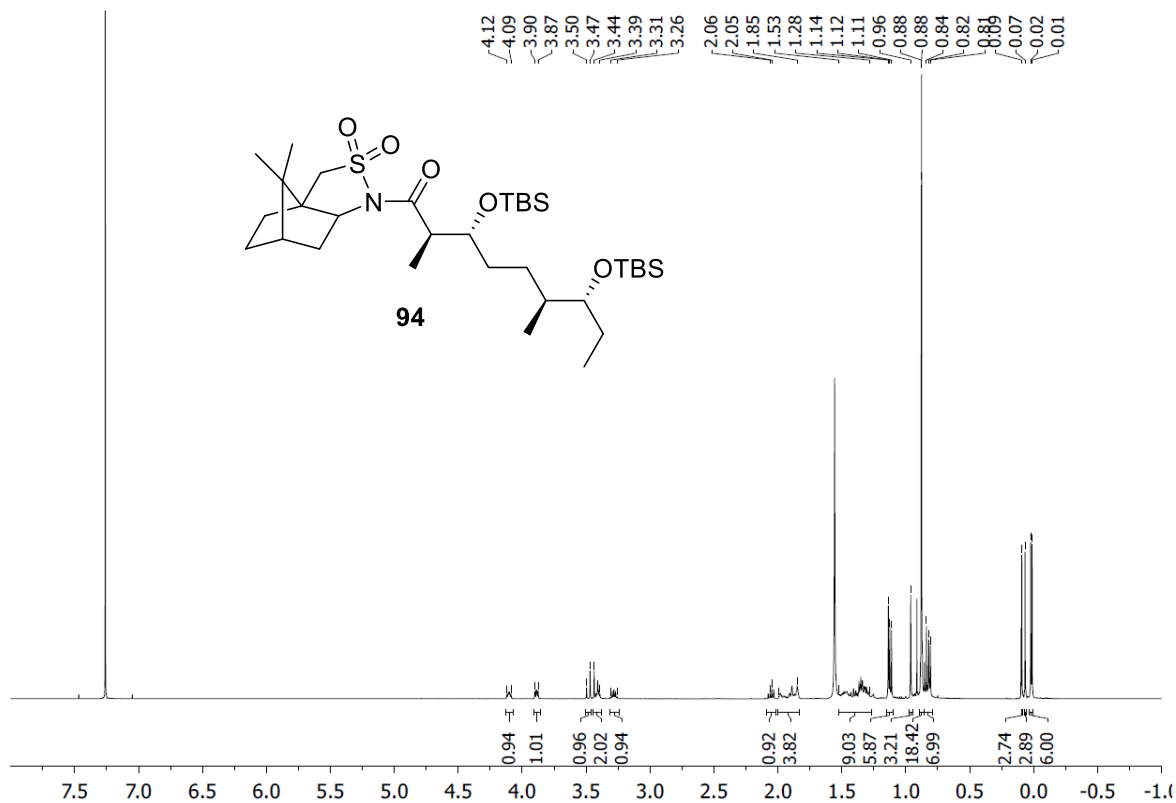


Abbildung 110: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: H_2O).

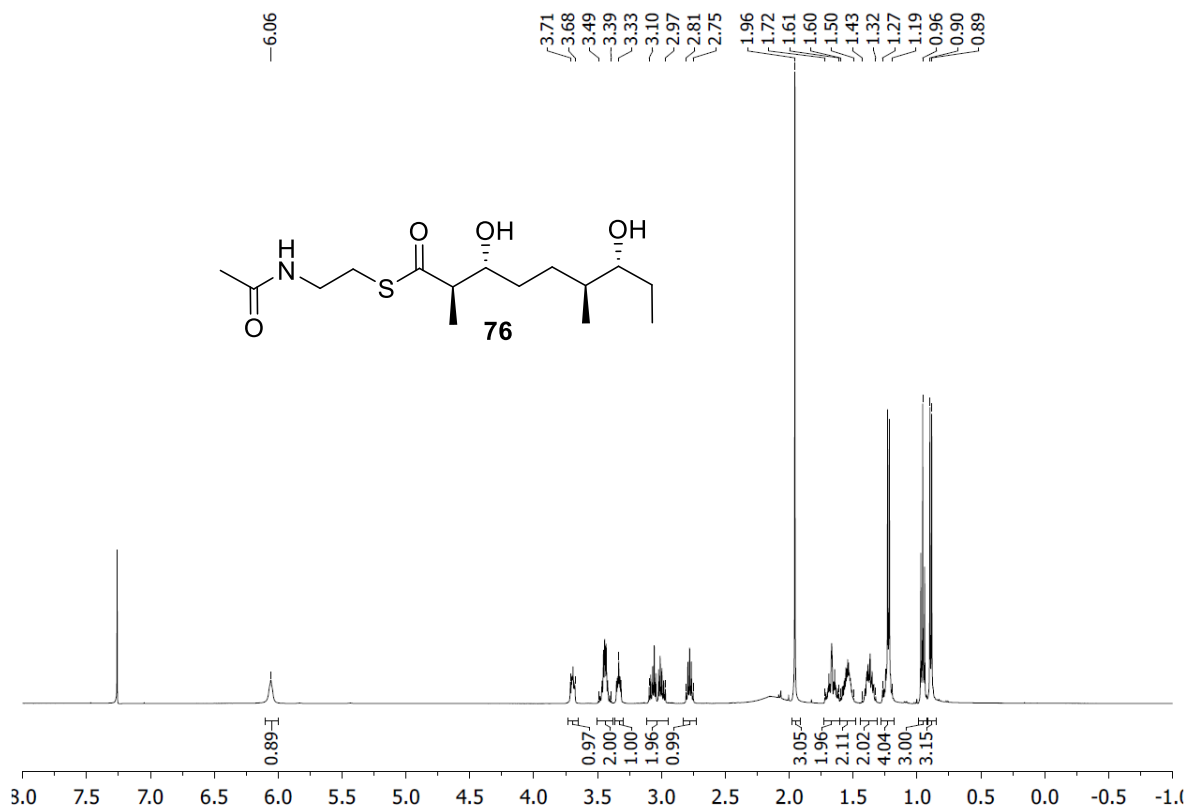


Abbildung 111: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz).

Spektrenanhang

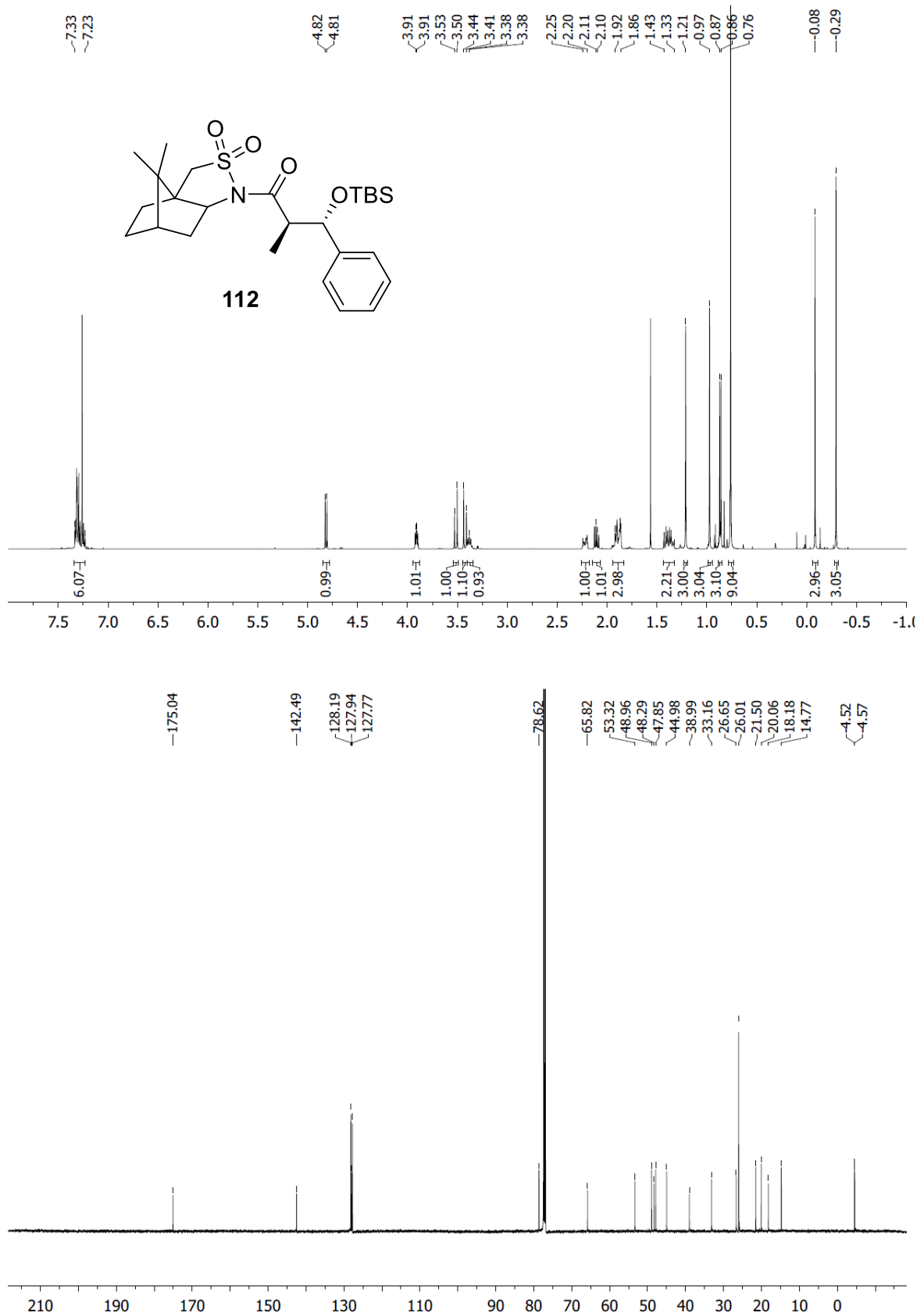


Abbildung 112: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

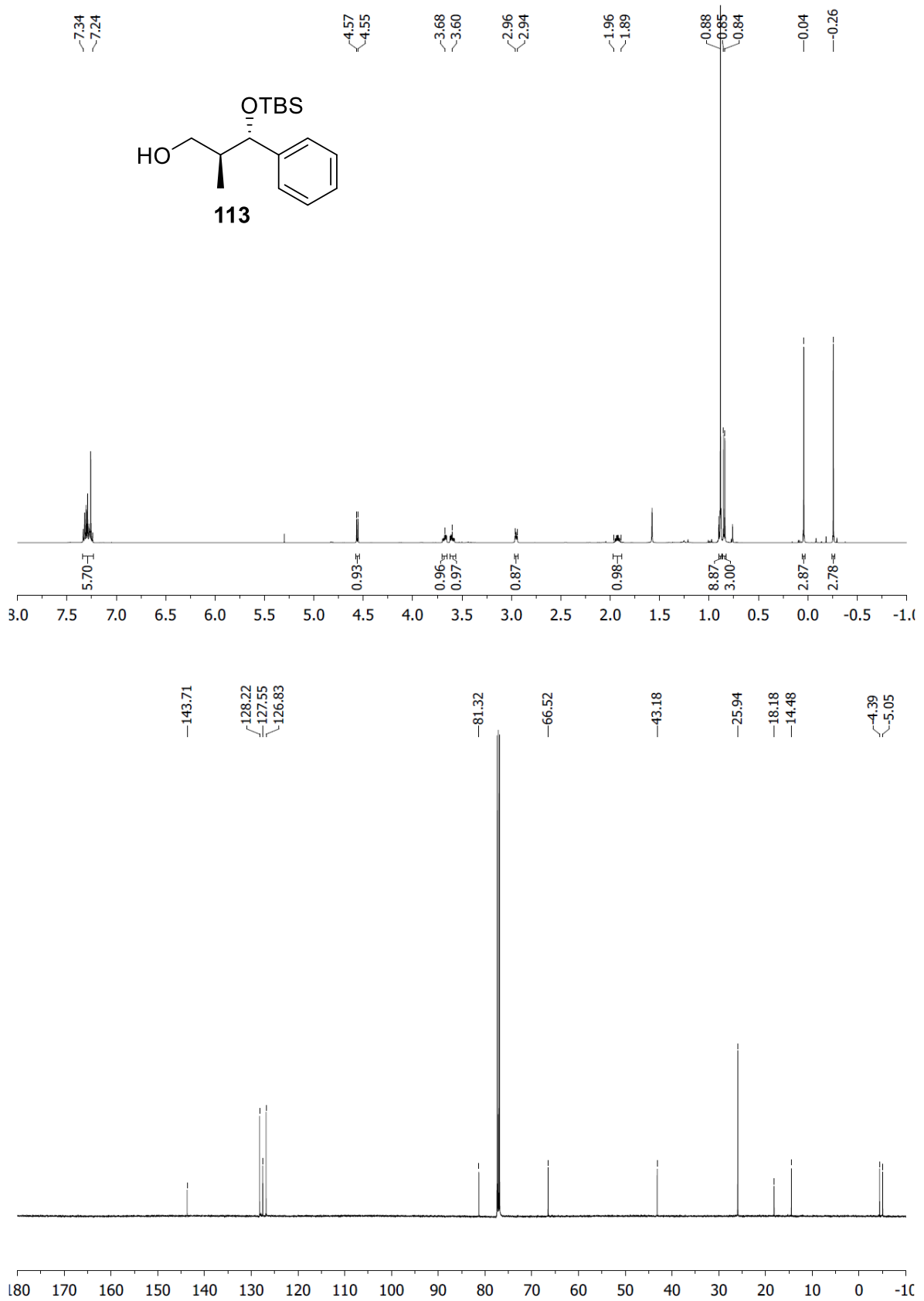


Abbildung 113: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: CH₂Cl₂, H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

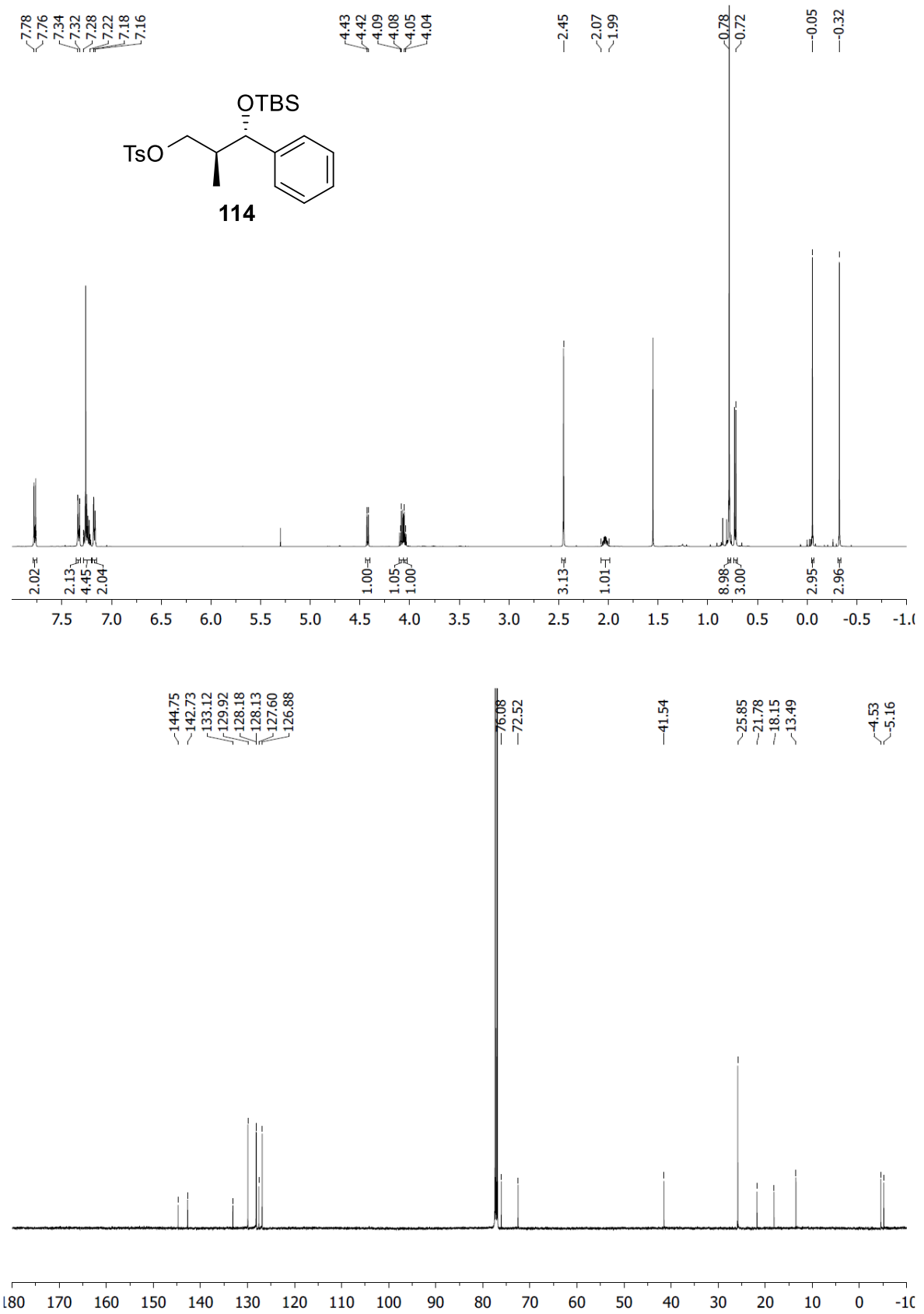


Abbildung 114: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: CH₂Cl₂, H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

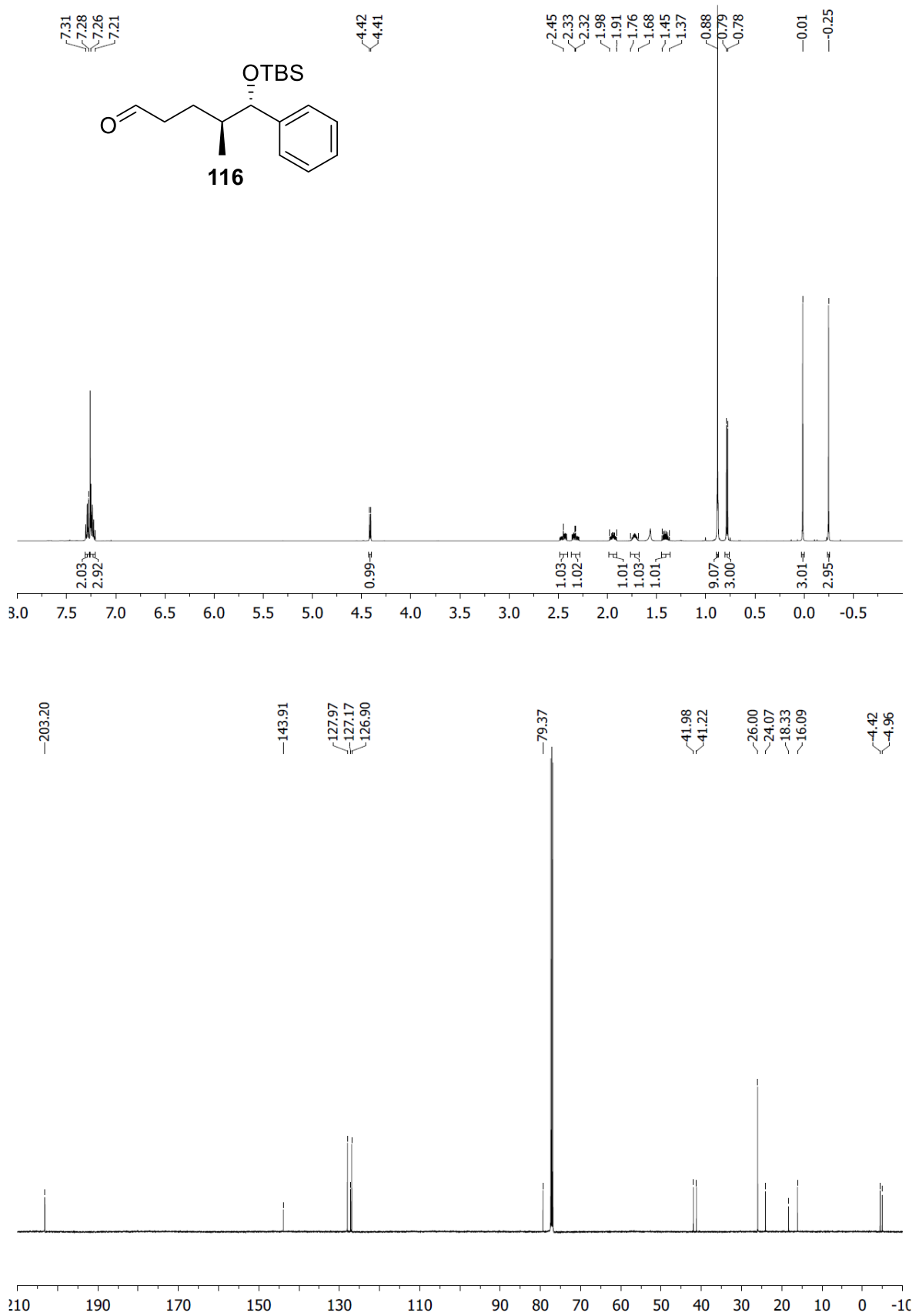


Abbildung 115: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

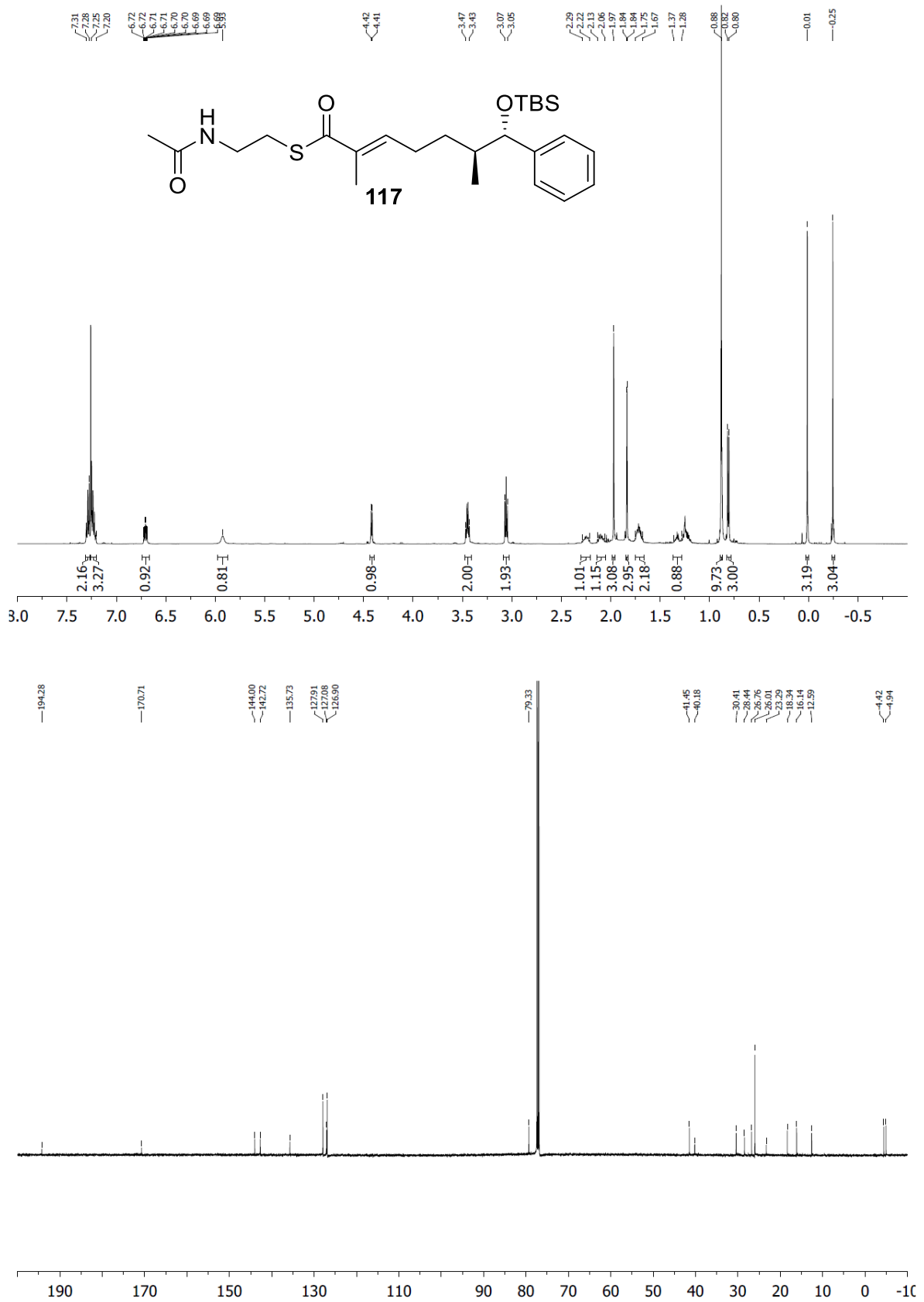


Abbildung 116: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: Aliphaten, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

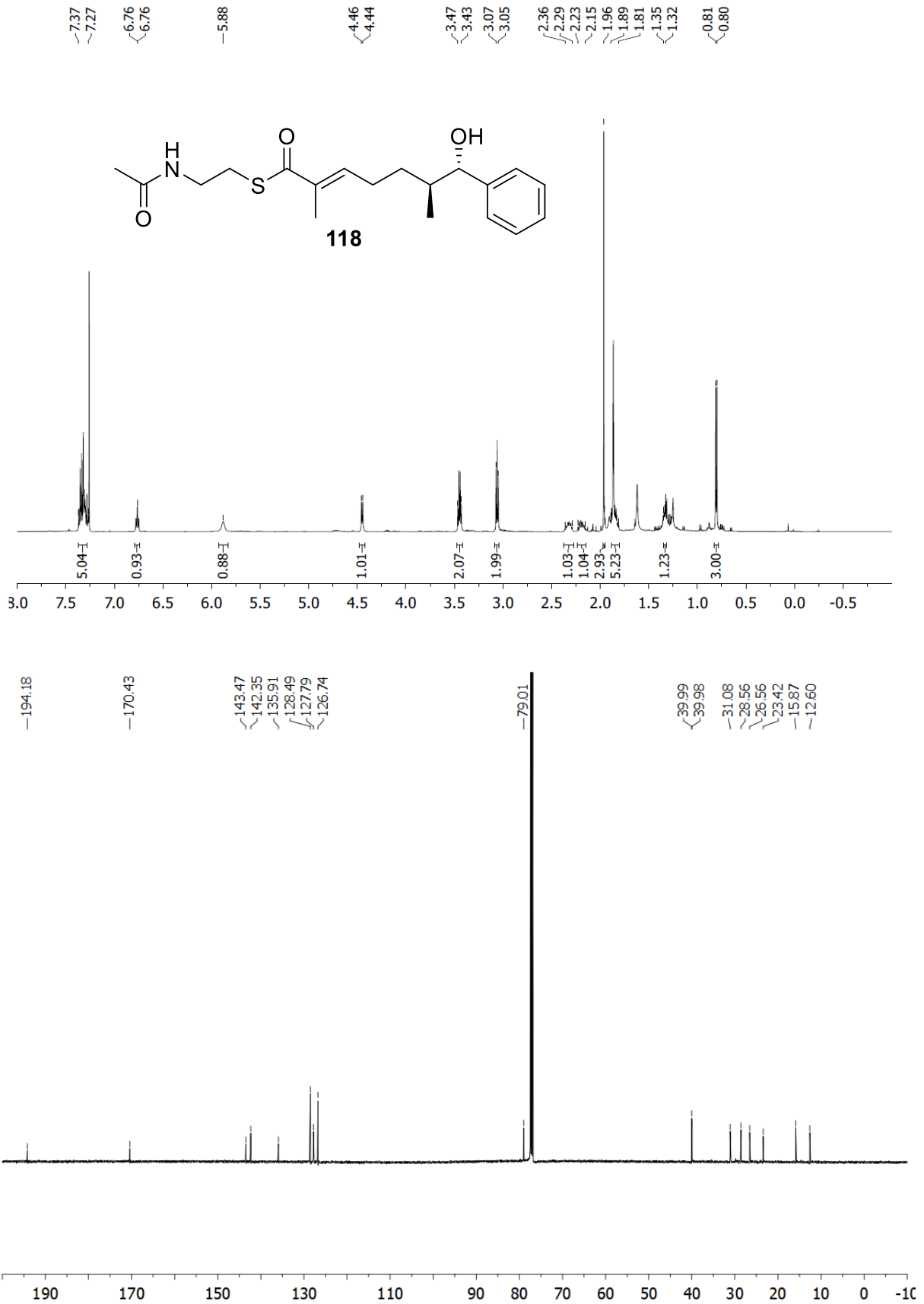


Abbildung 117: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, Aliphaten, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

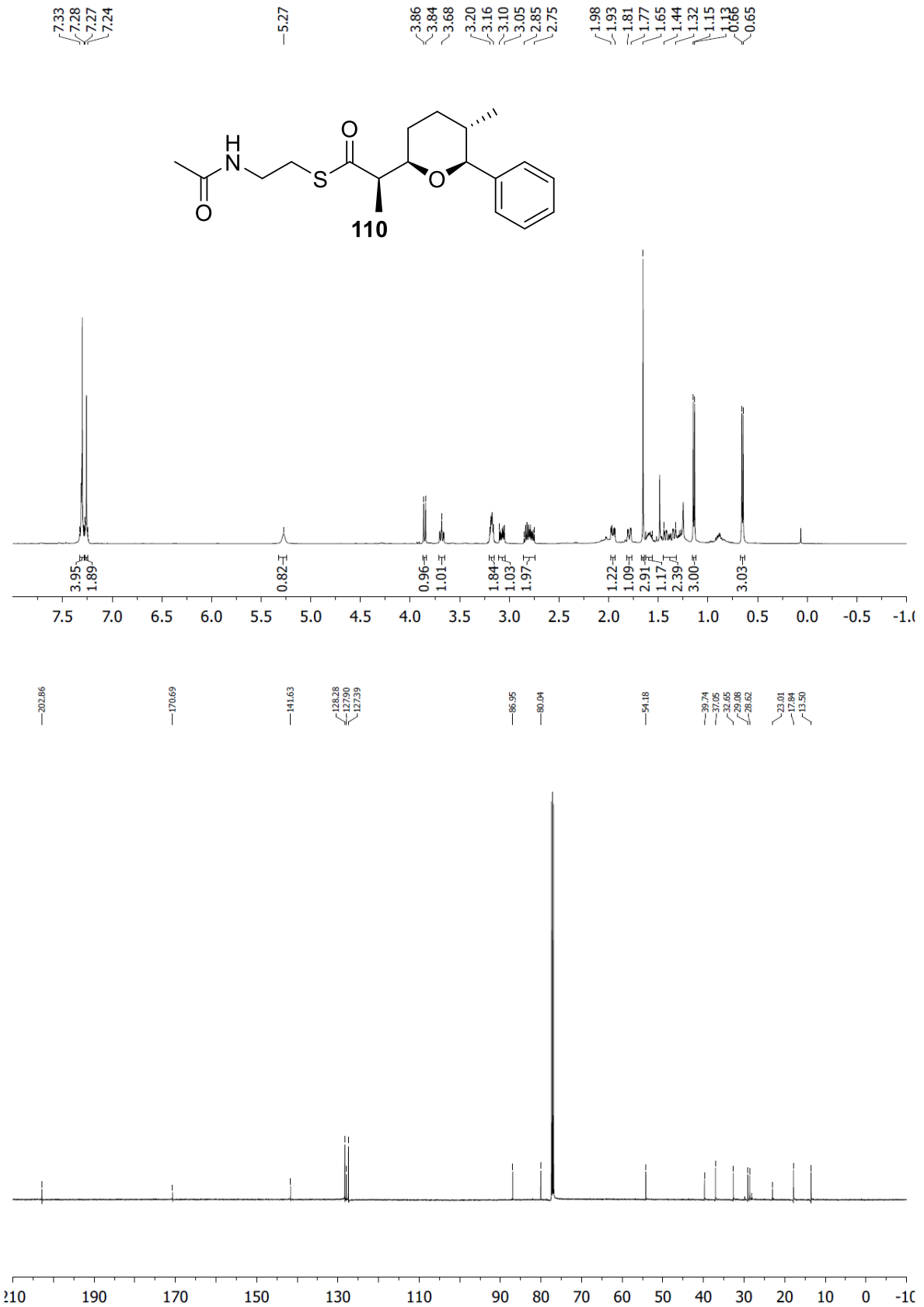


Abbildung 118: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

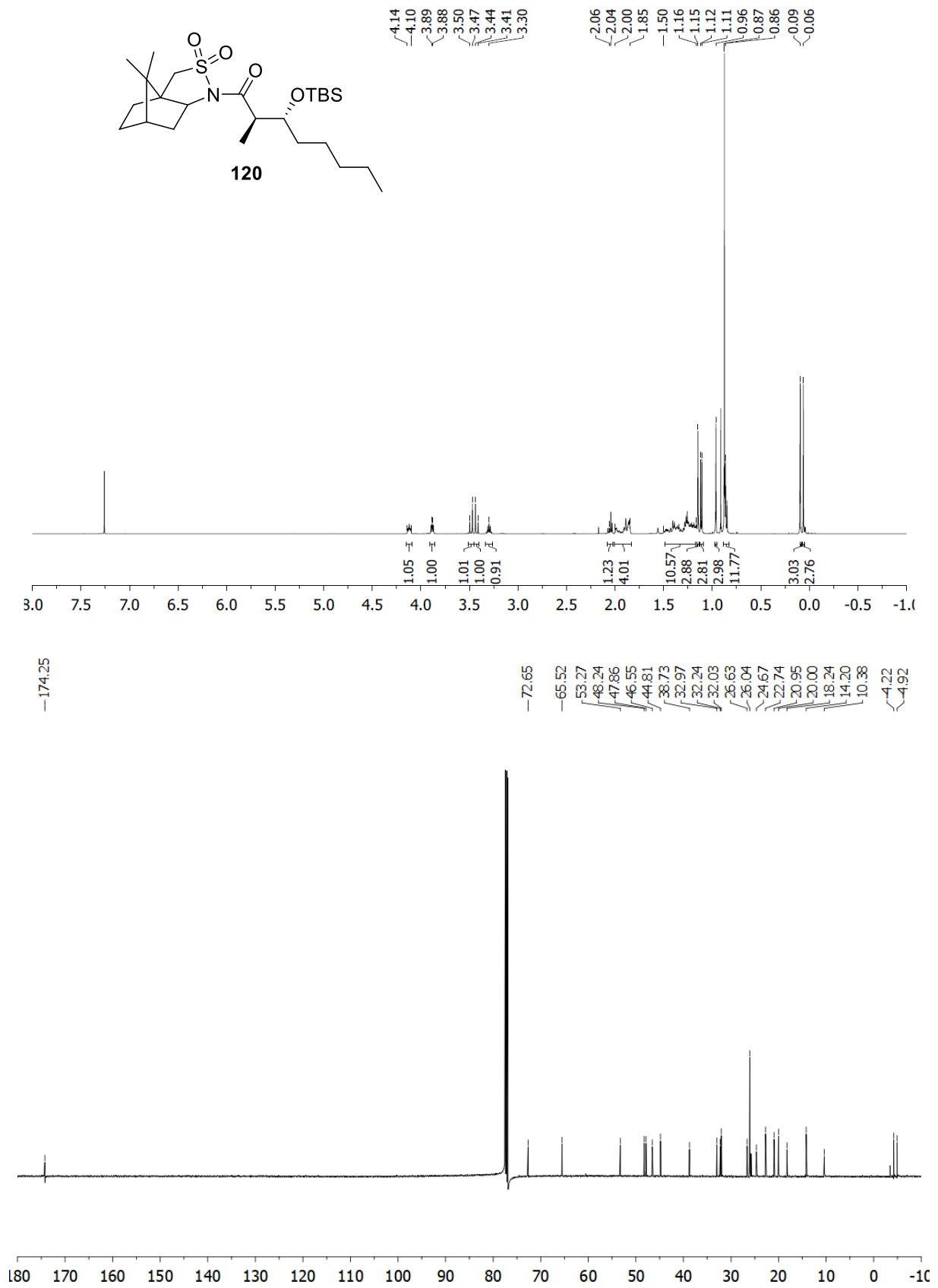


Abbildung 119: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

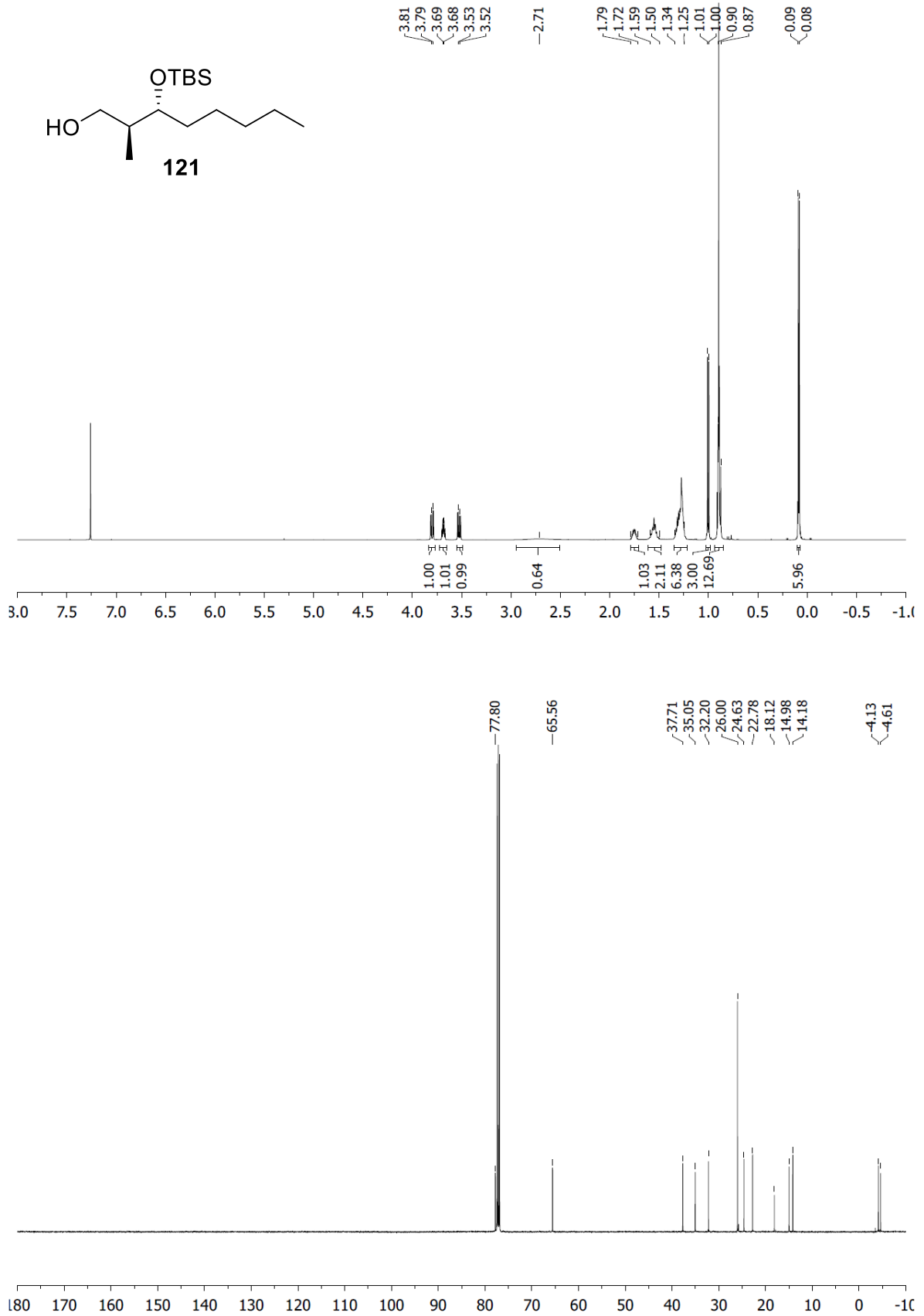


Abbildung 120: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

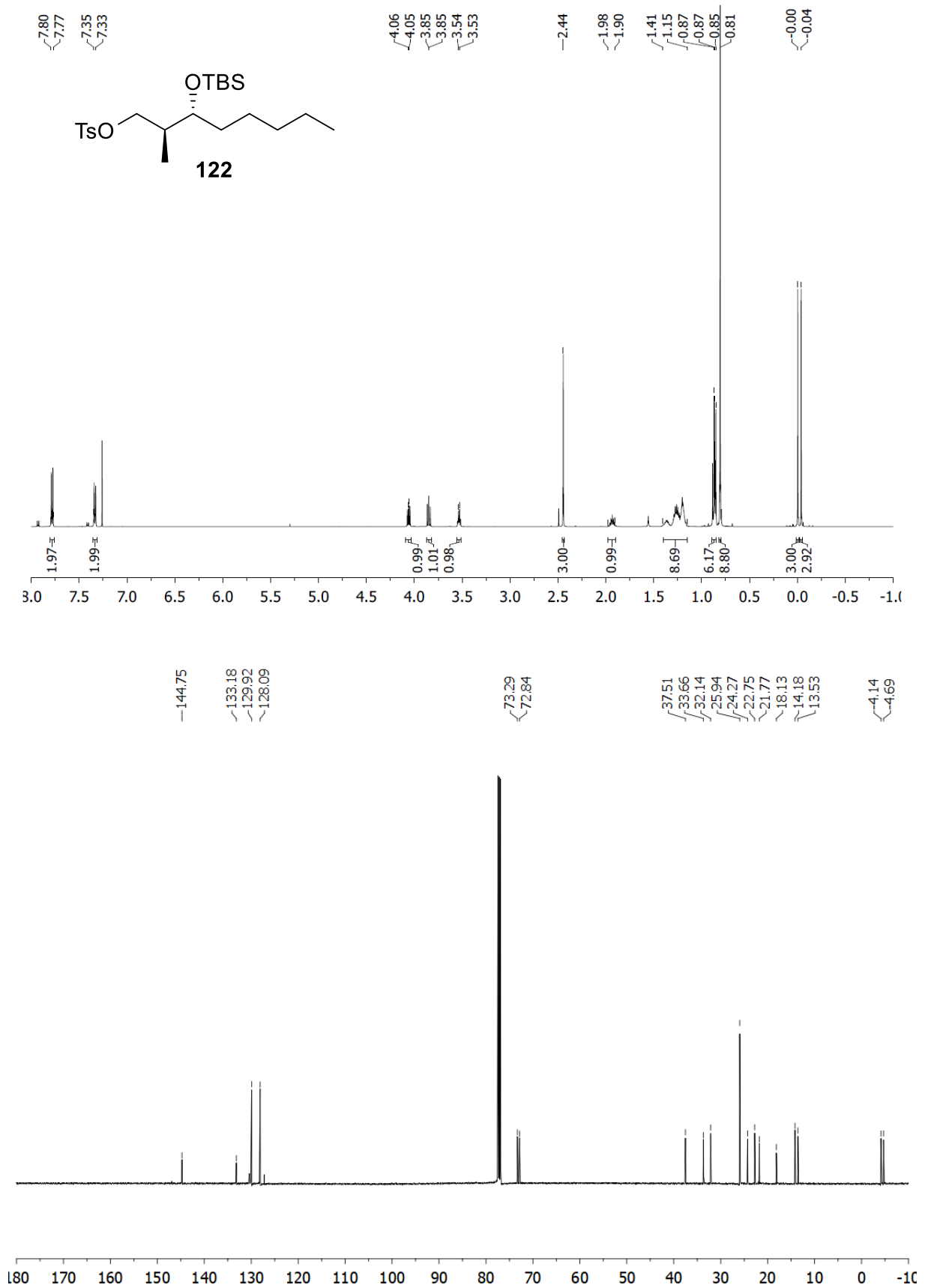


Abbildung 121: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

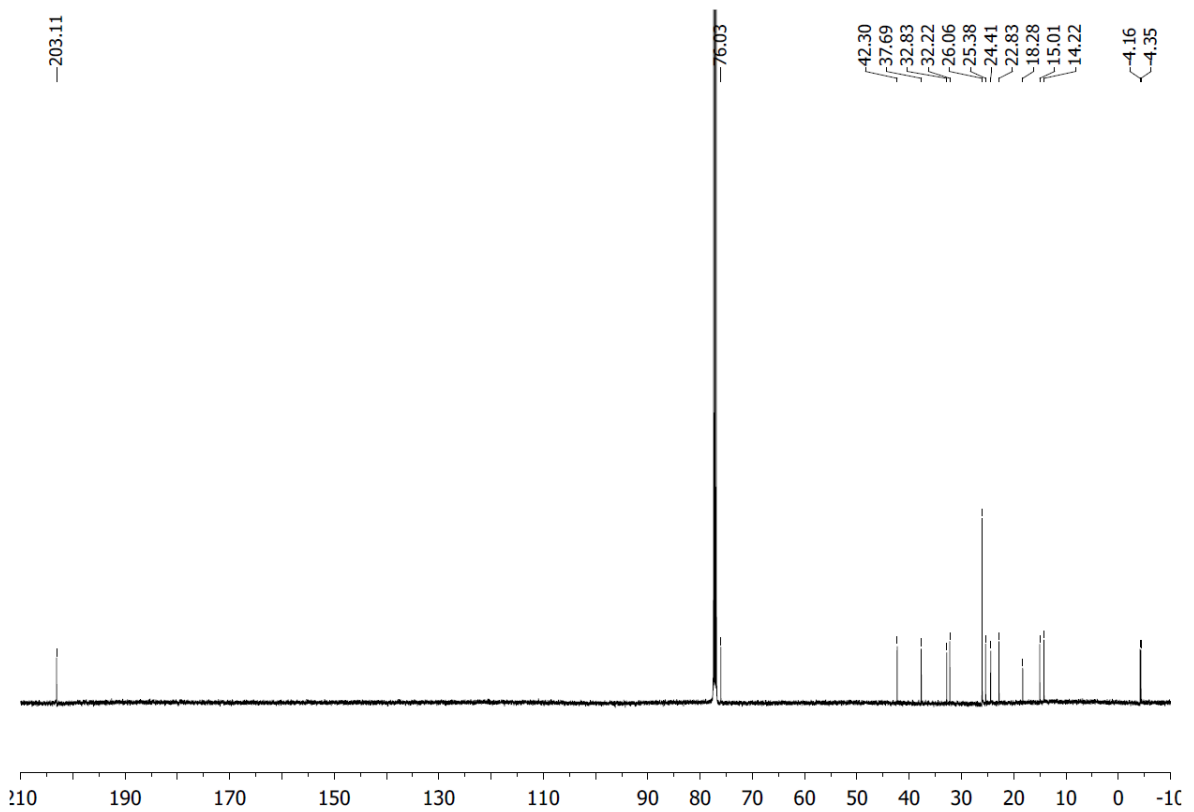
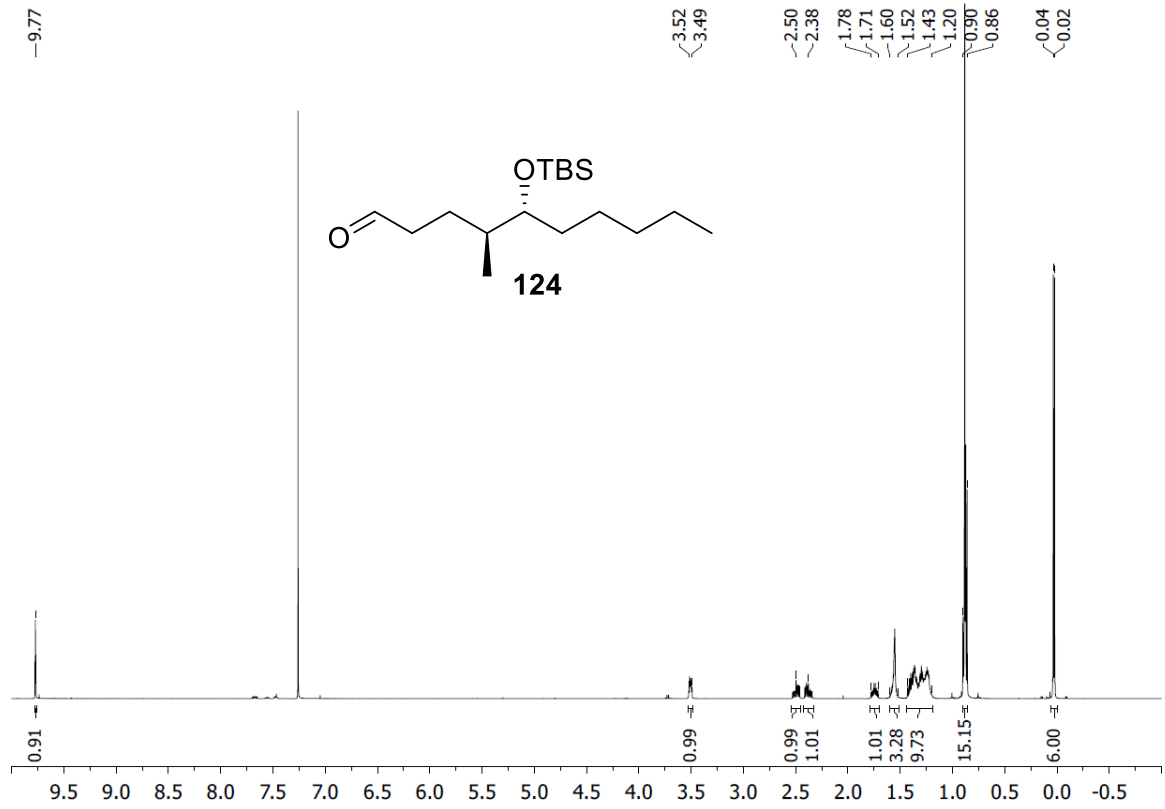


Abbildung 122: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

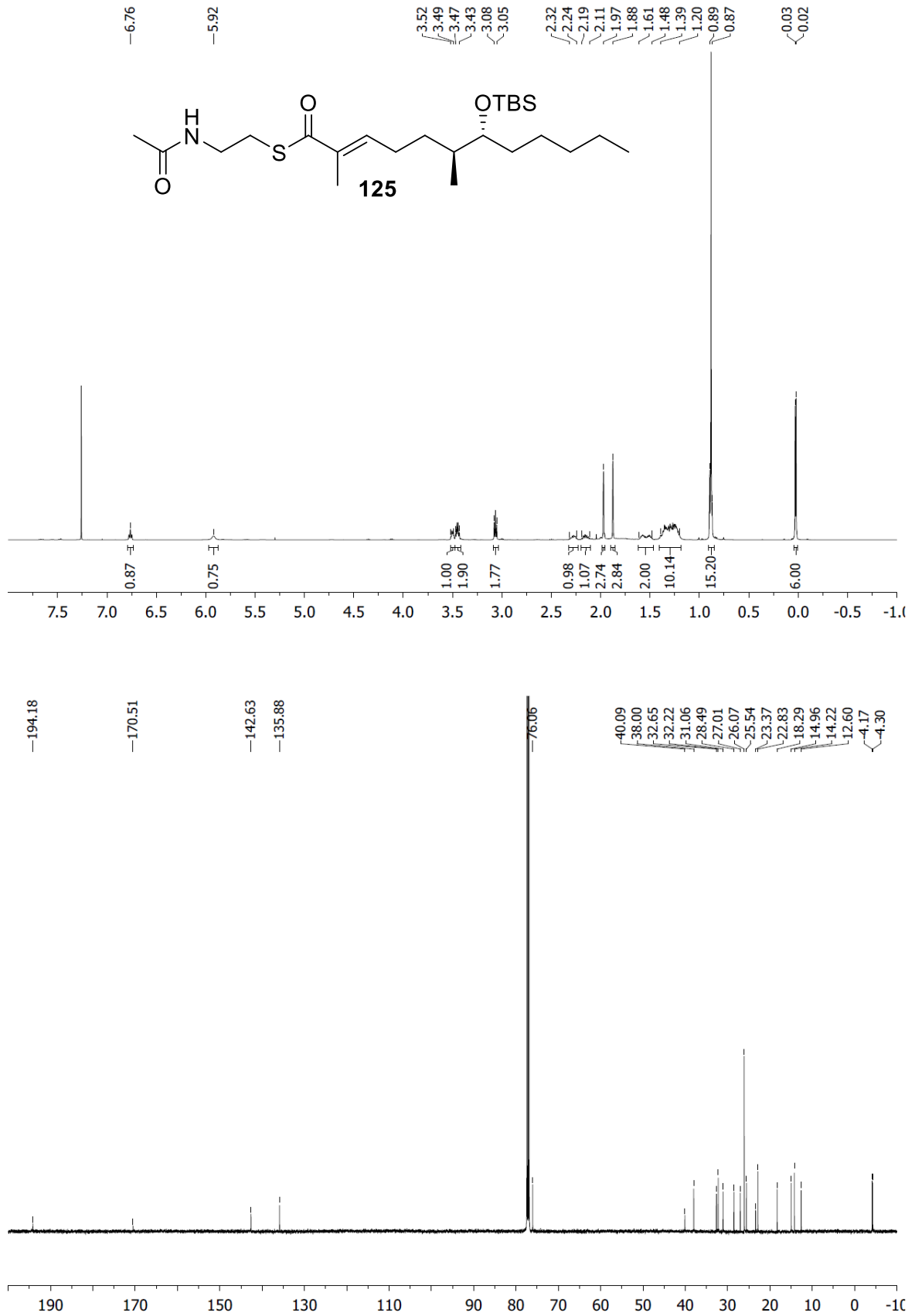


Abbildung 123: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

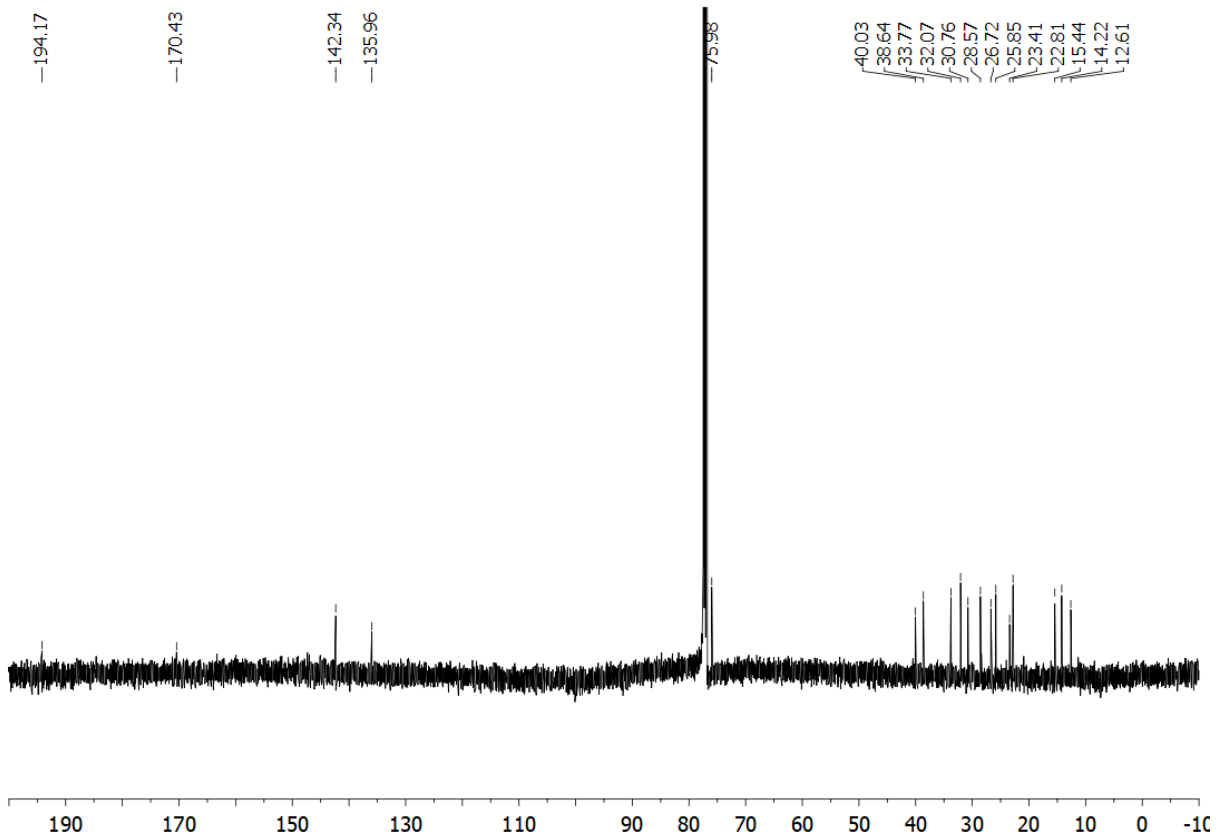
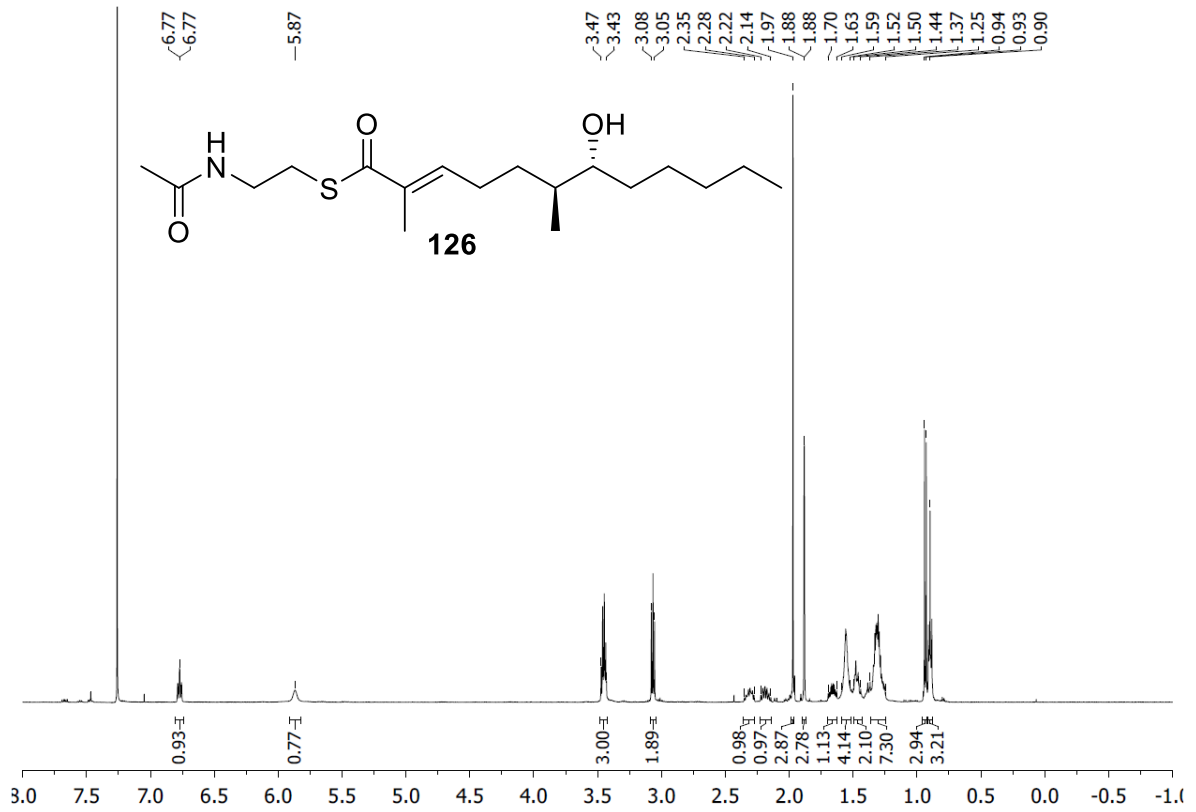


Abbildung 124: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

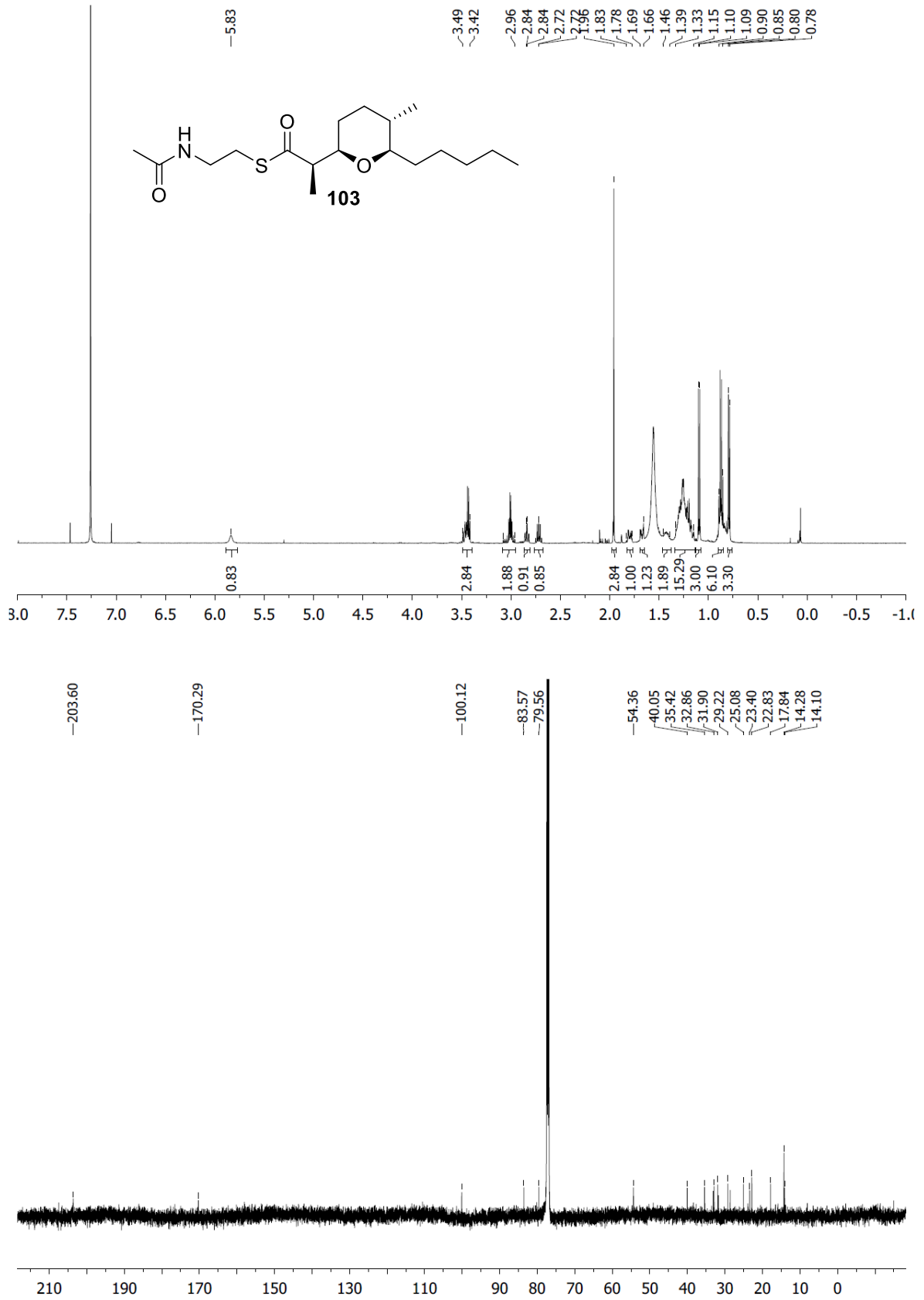


Abbildung 125: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

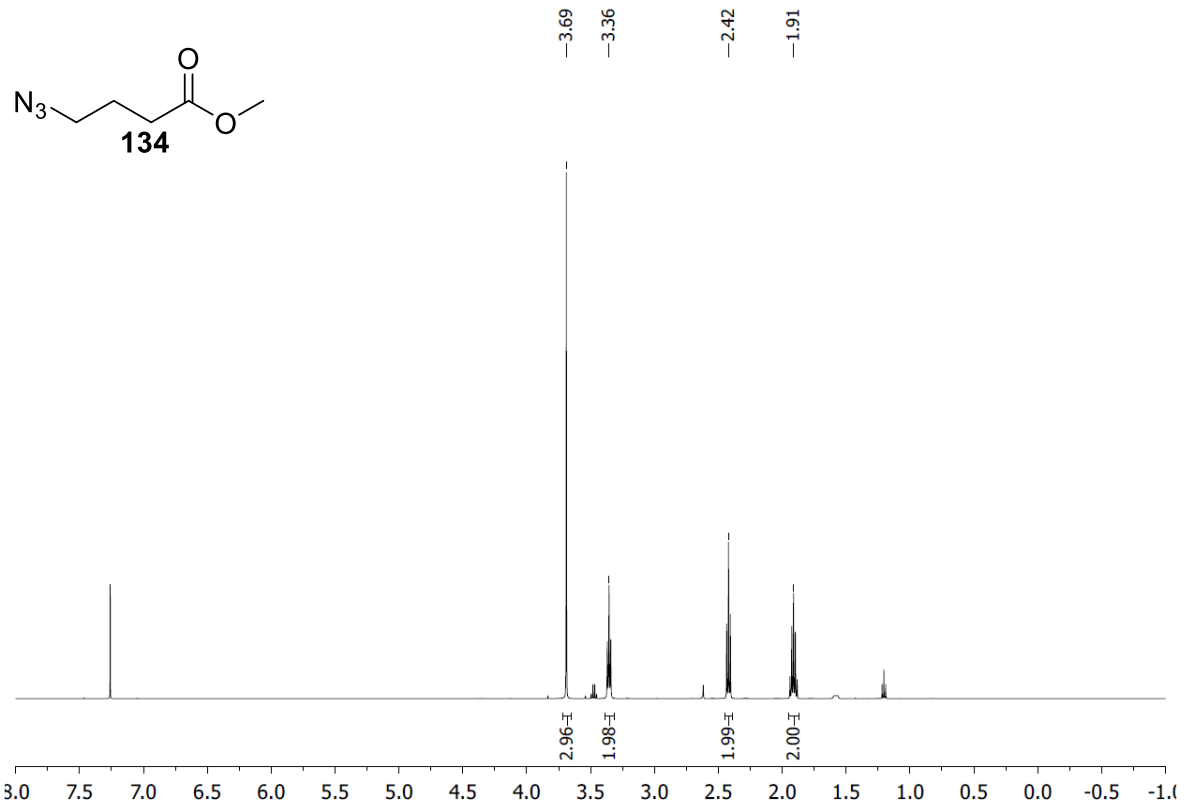
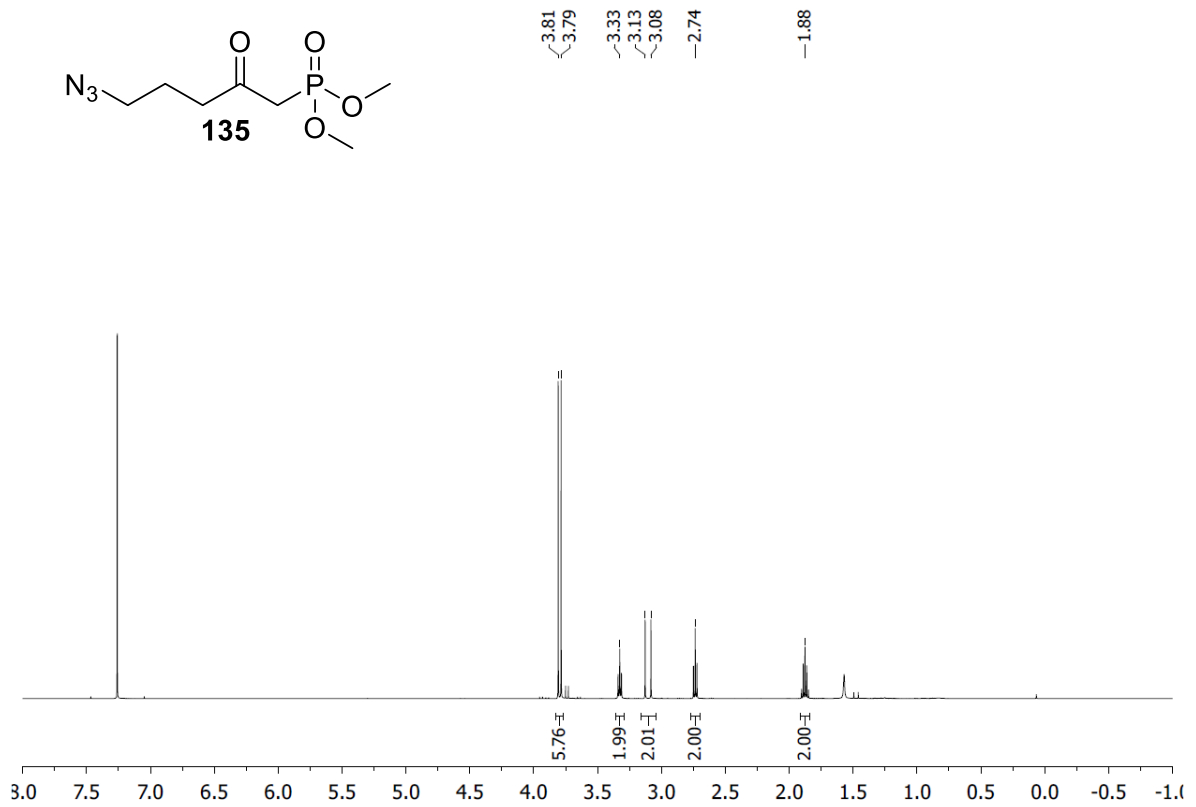


Abbildung 126: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: Methyl-4-brombutyrat).



Spektrenanhang

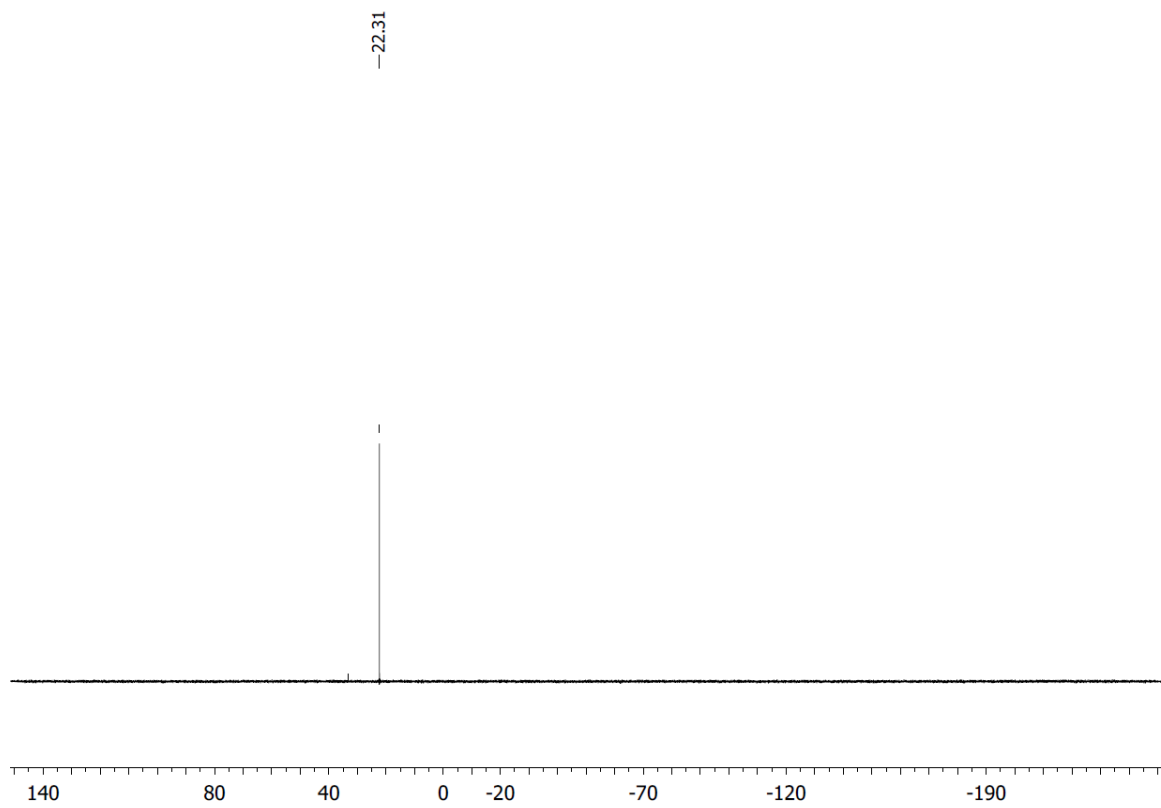
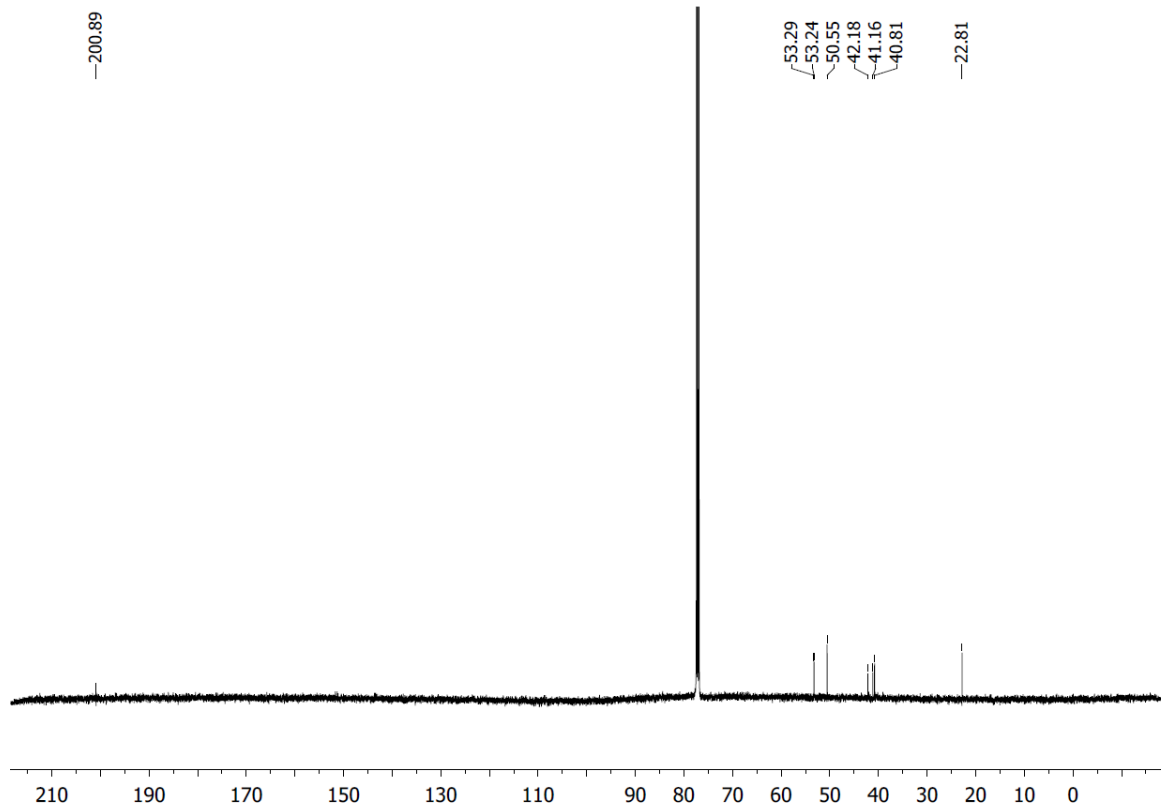
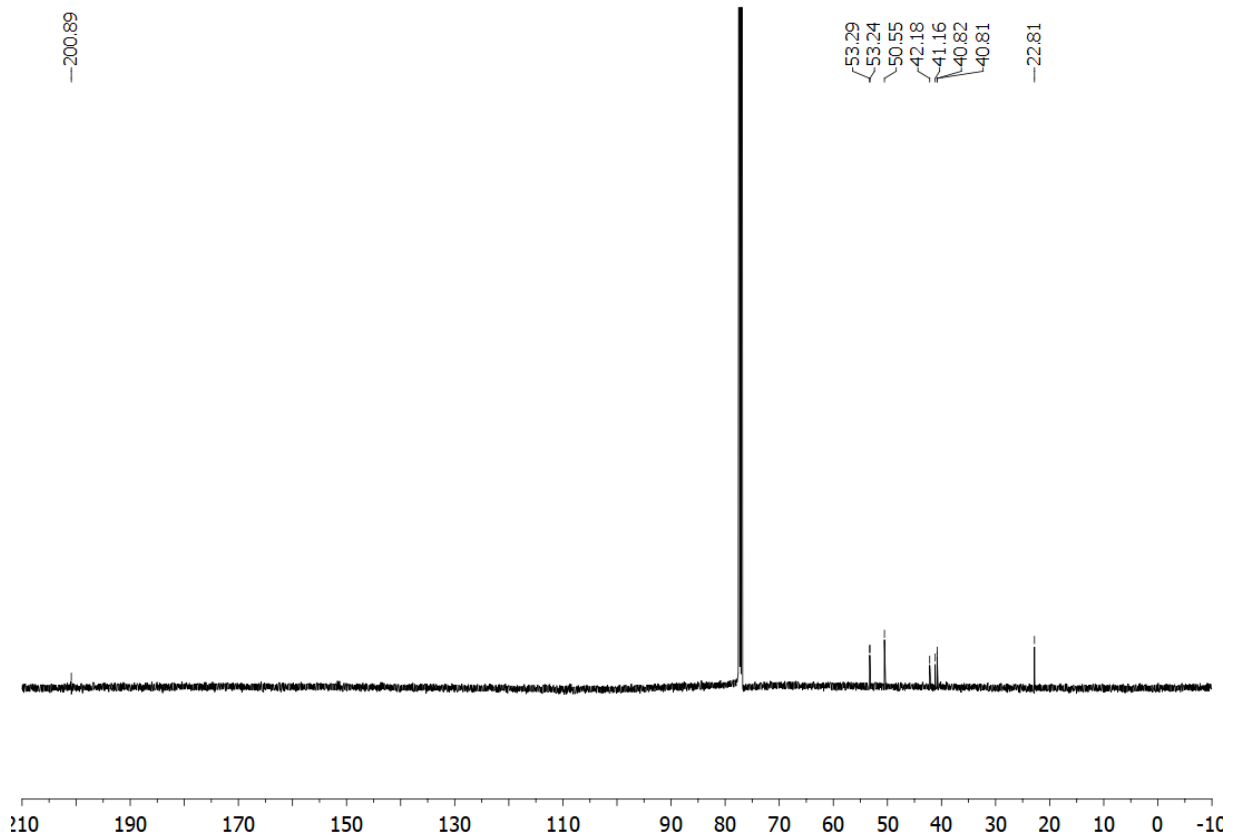
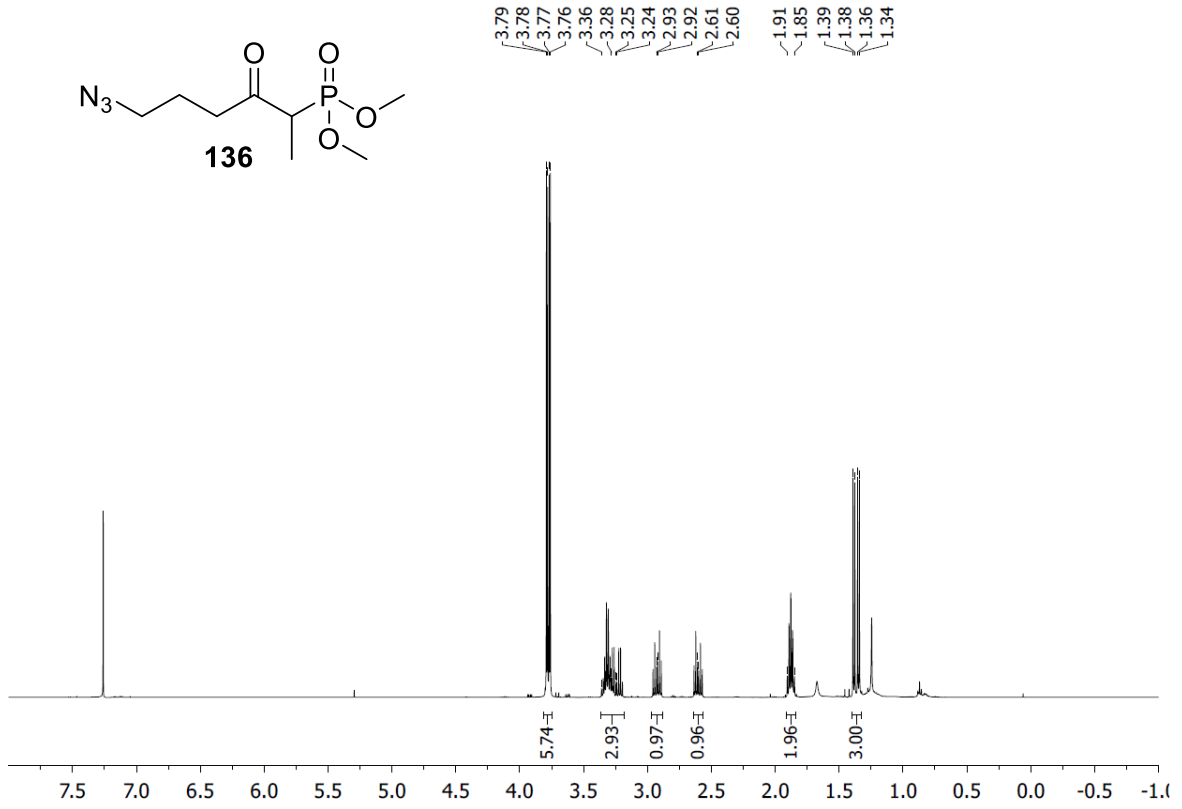
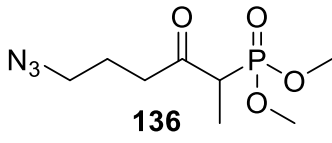


Abbildung 127: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, mitte), $^{31}\text{P-NMR}$ -Spektrum (CDCl₃, 202 MHz, unten).

Spektrenanhang



Spektrenanhang

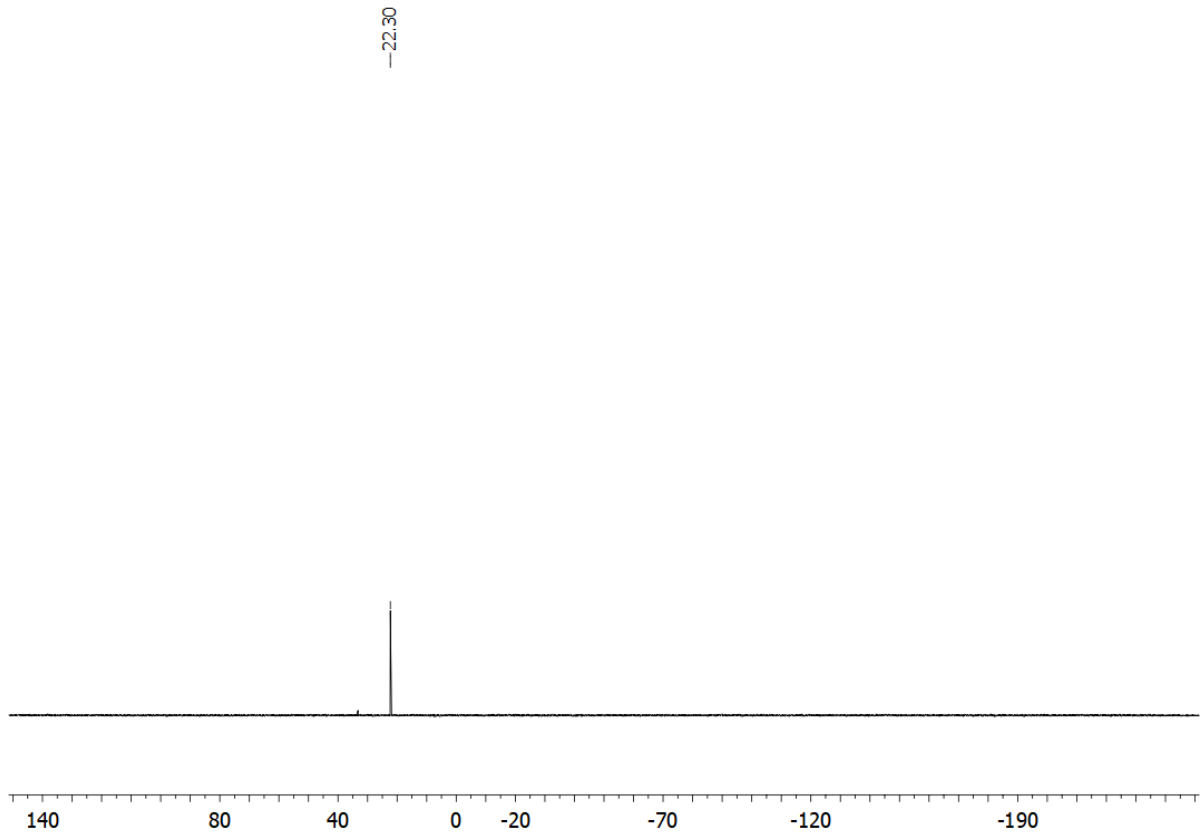
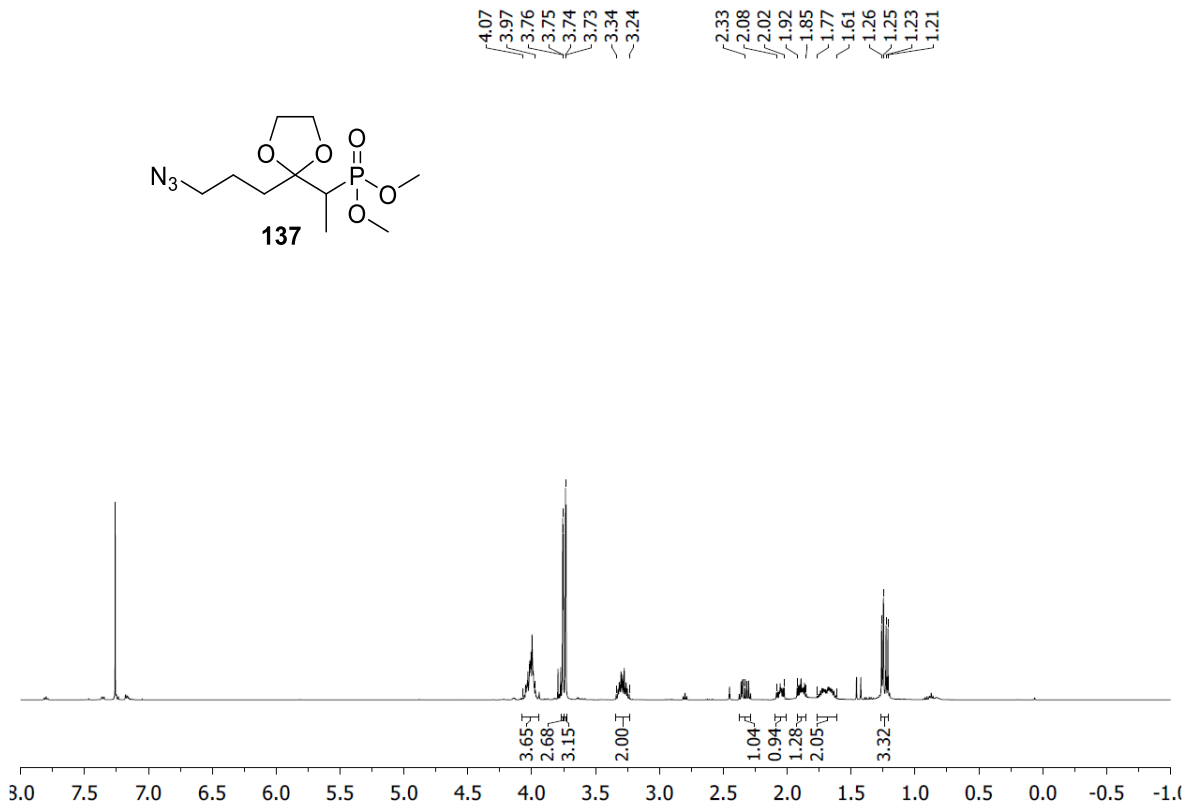


Abbildung 128: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, mitte), ^{31}P NMR-Spektrum (CDCl_3 , 202 MHz, unten).



Spektrenanhang

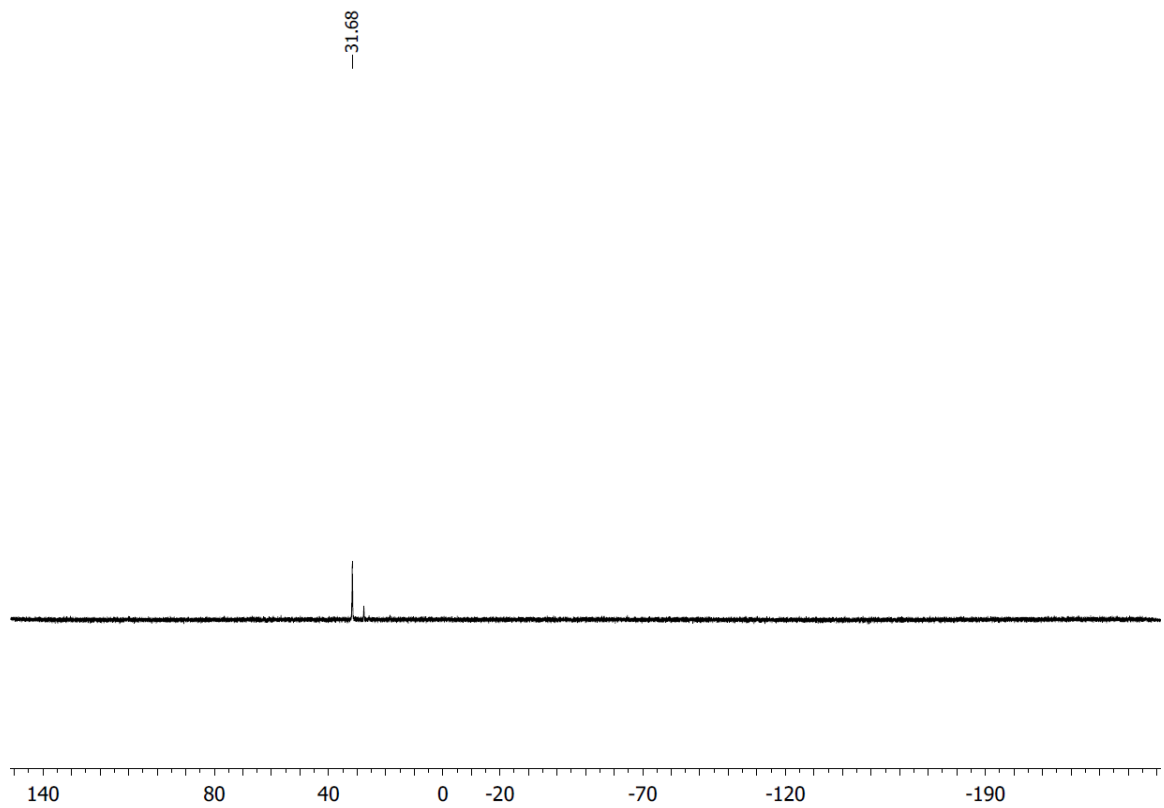
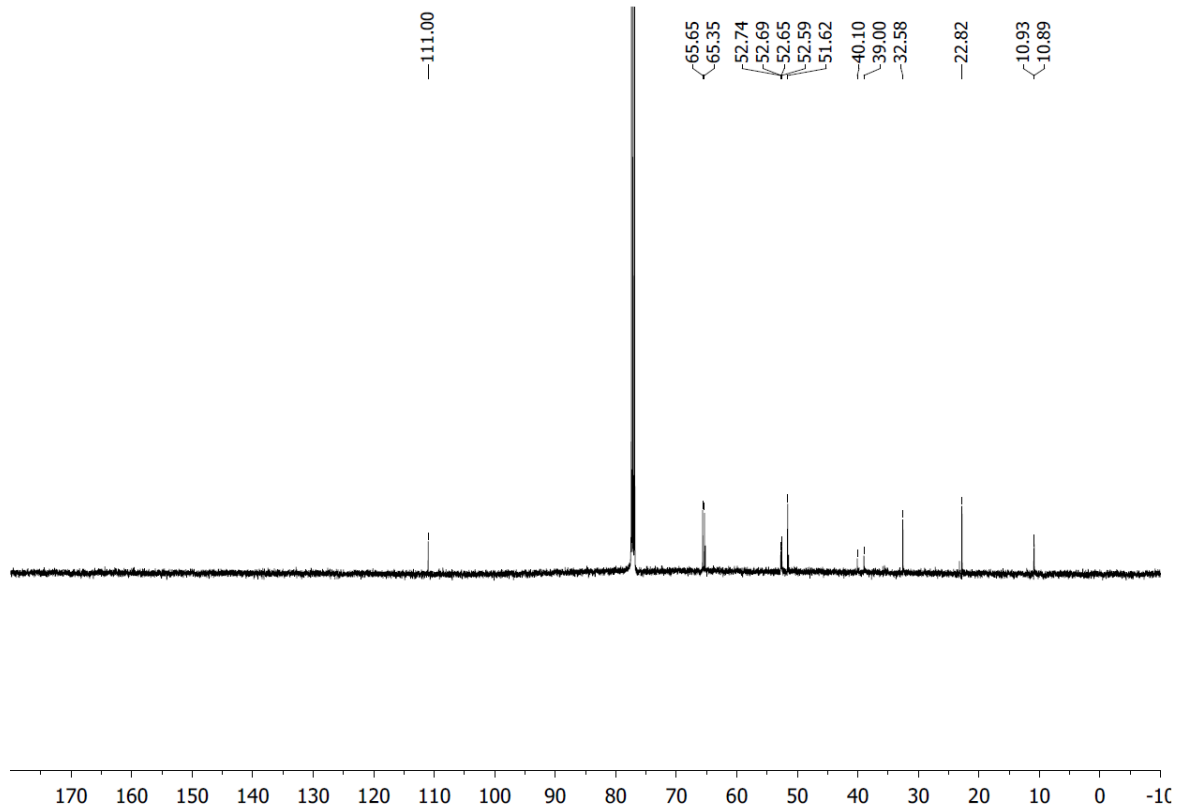
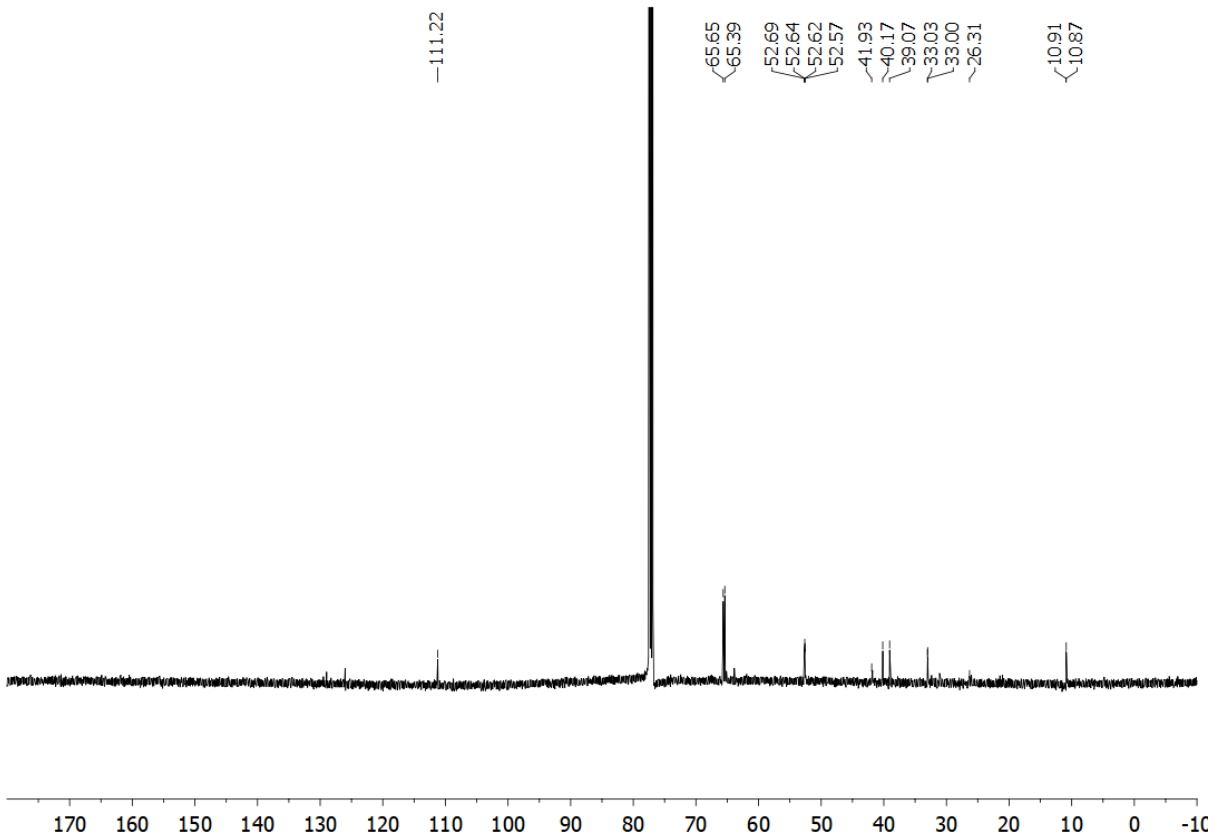
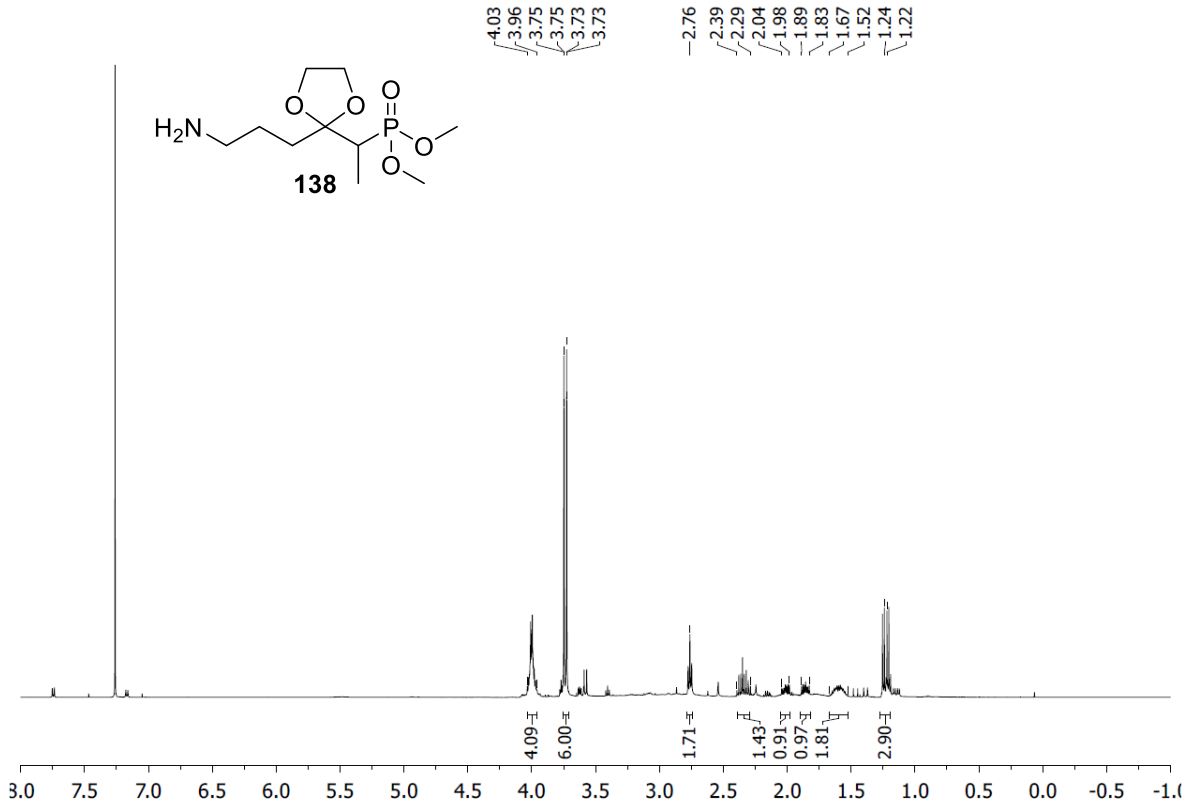


Abbildung 129: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, mitte), ³¹P NMR-Spektrum (CDCl₃, 202 MHz, unten).

Spektrenanhang



Spektrenanhang

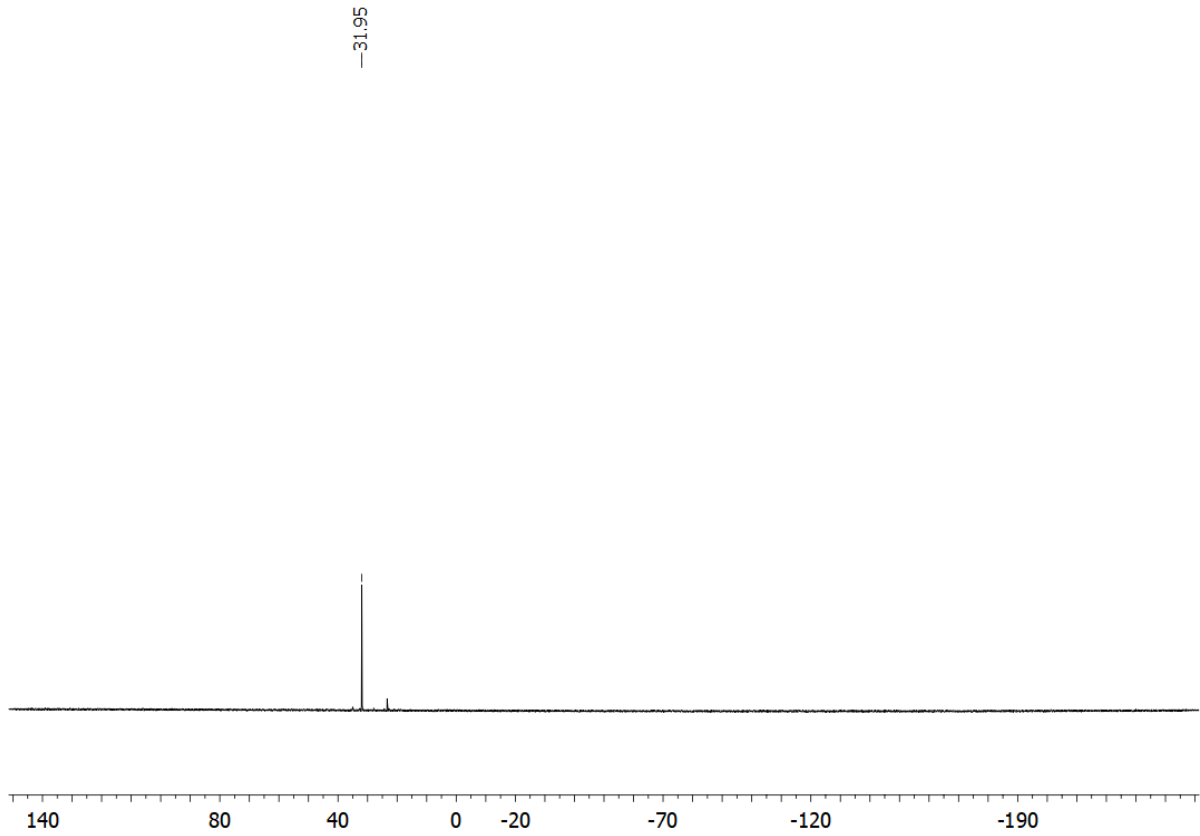
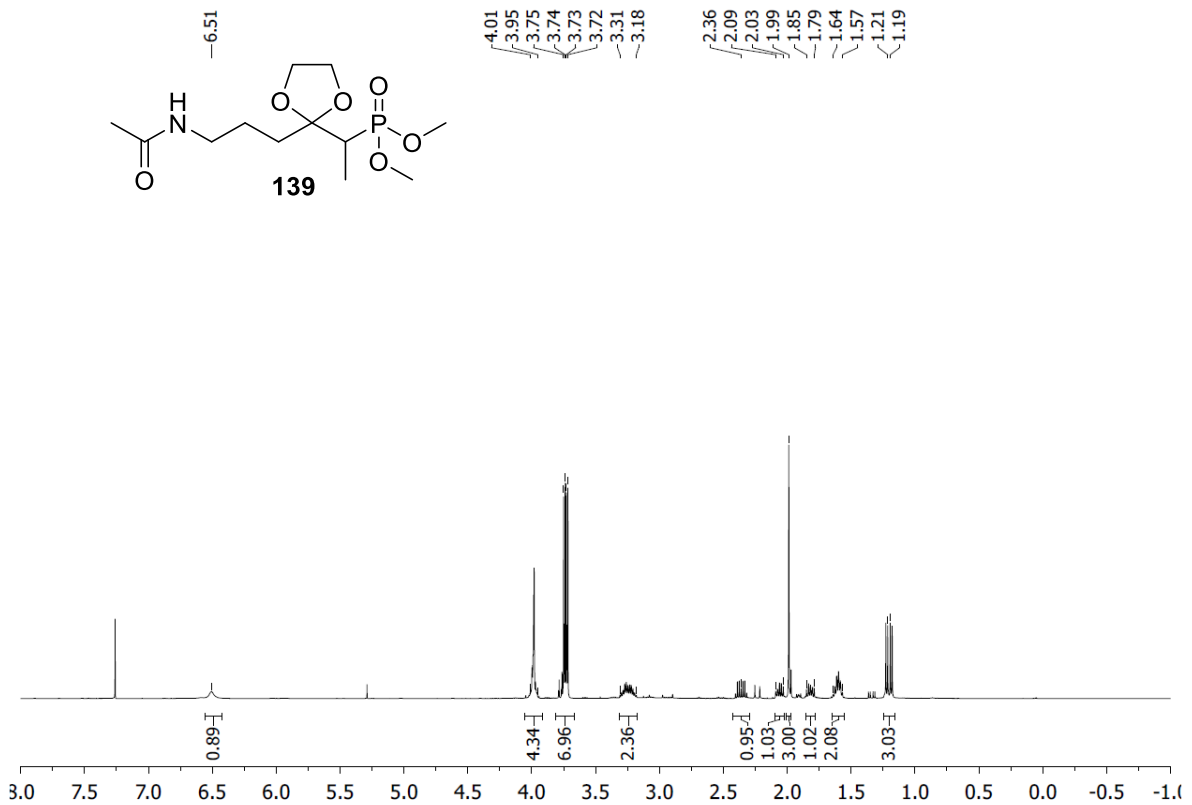


Abbildung 130: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, mitte), ^{31}P NMR-Spektrum (CDCl_3 , 202 MHz, unten).



Spektrenanhang

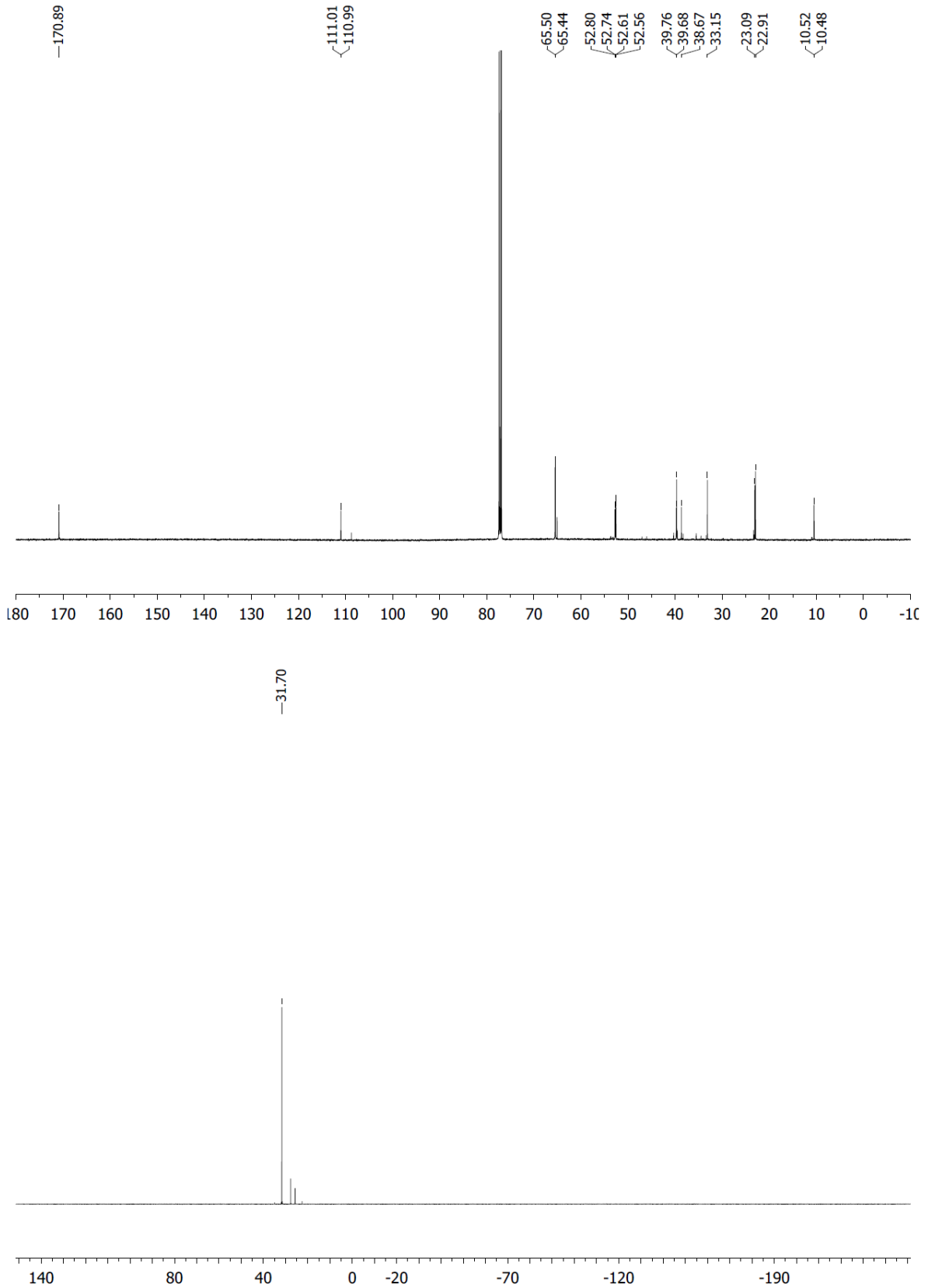
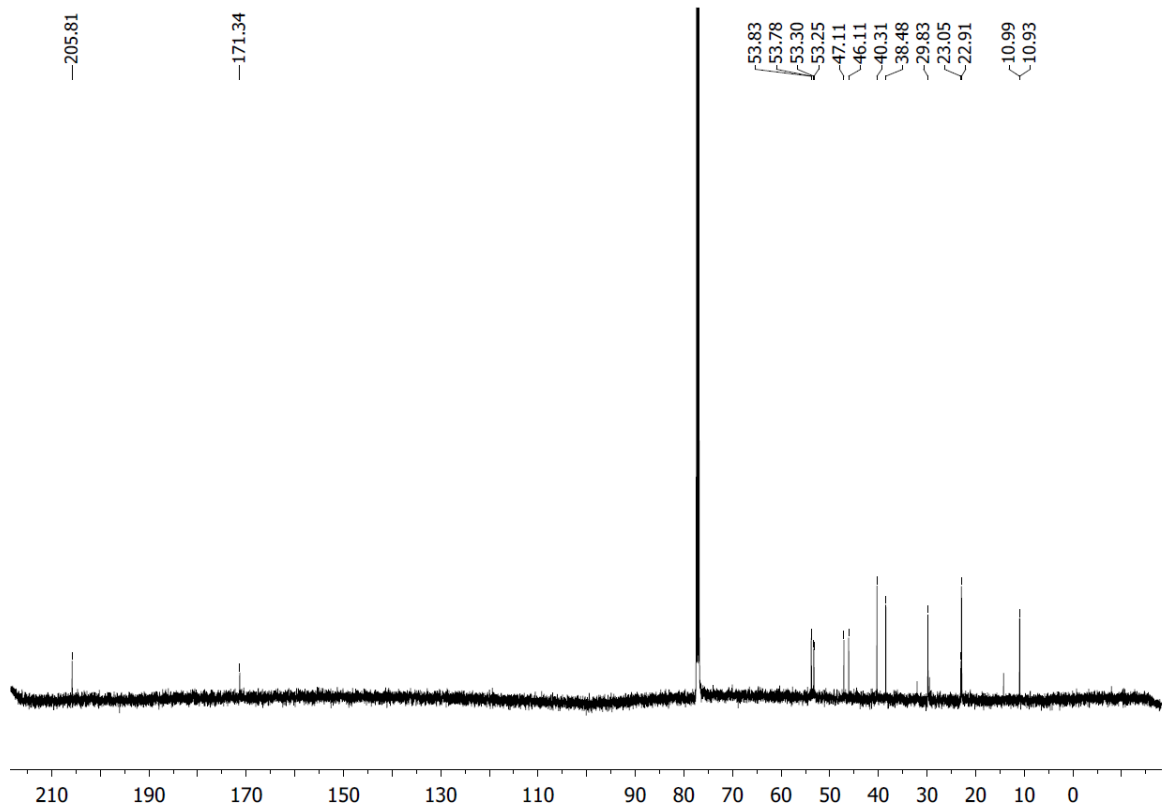
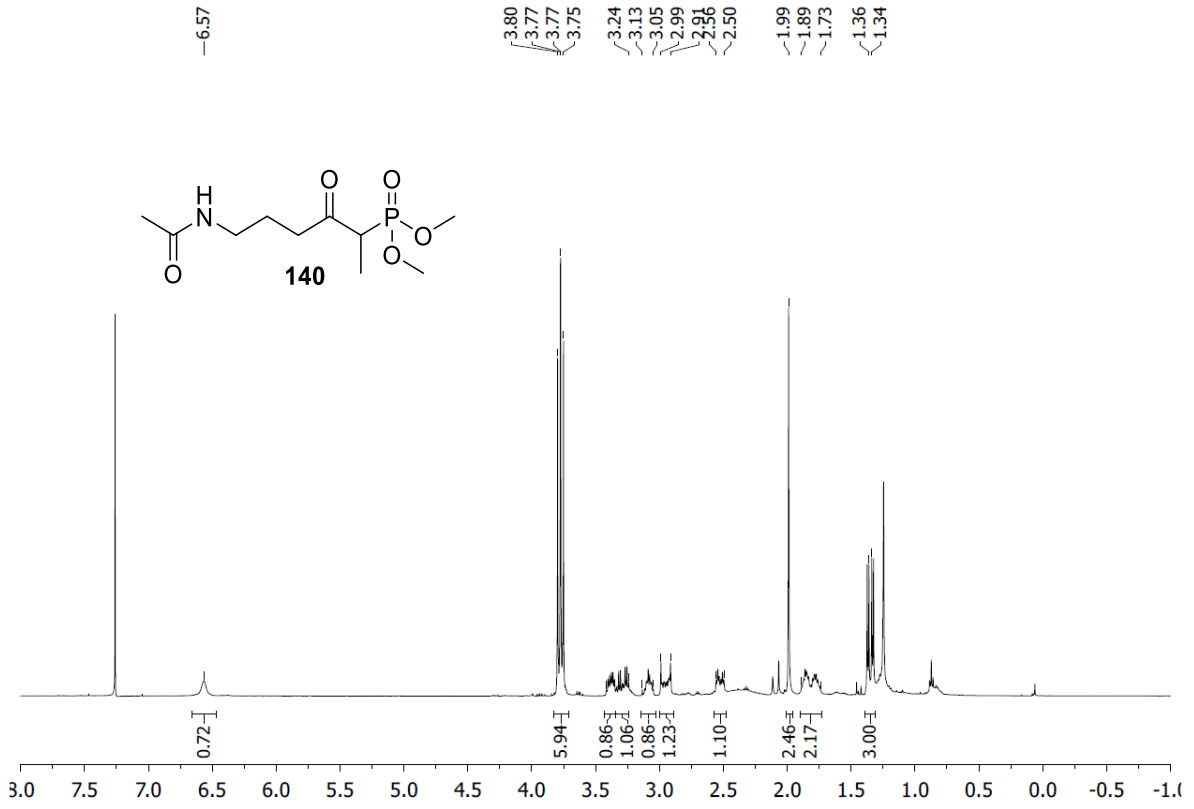


Abbildung 131: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: CH_2Cl_2 , oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, mitte), ^{31}P -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 202 MHz, unten).

Spektrenanhang



Spektrenanhang

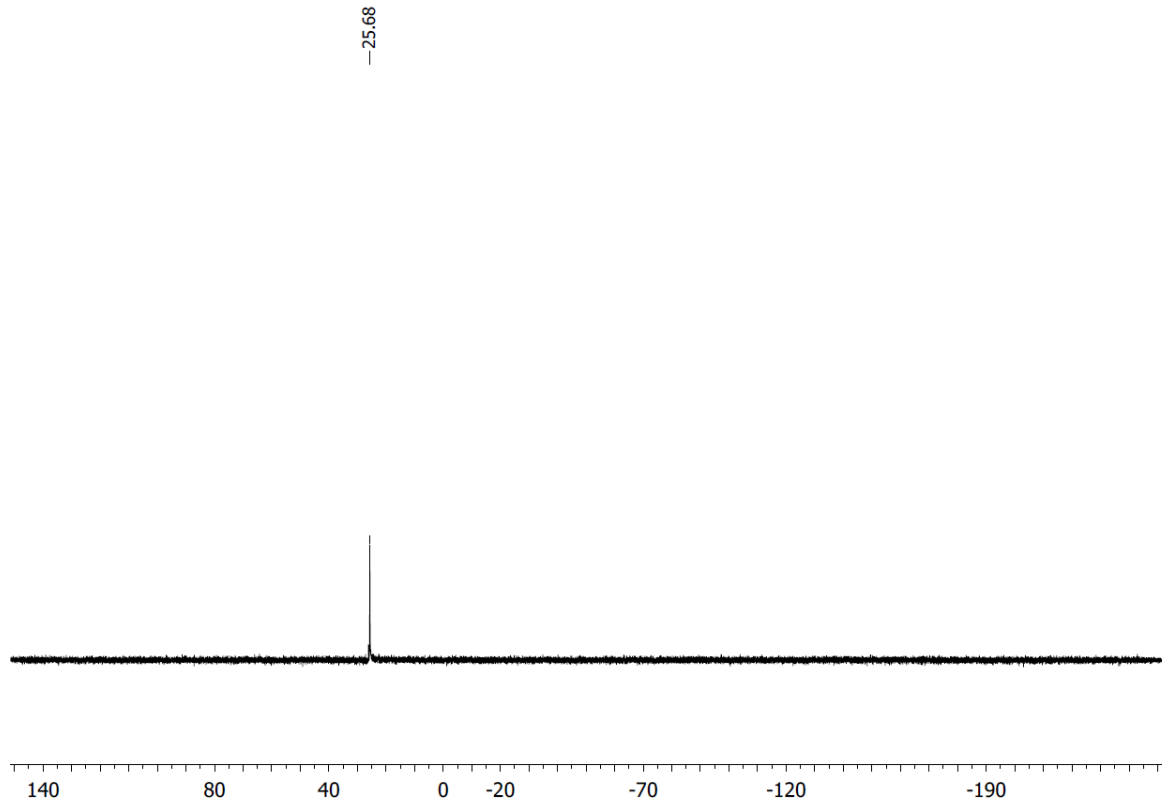
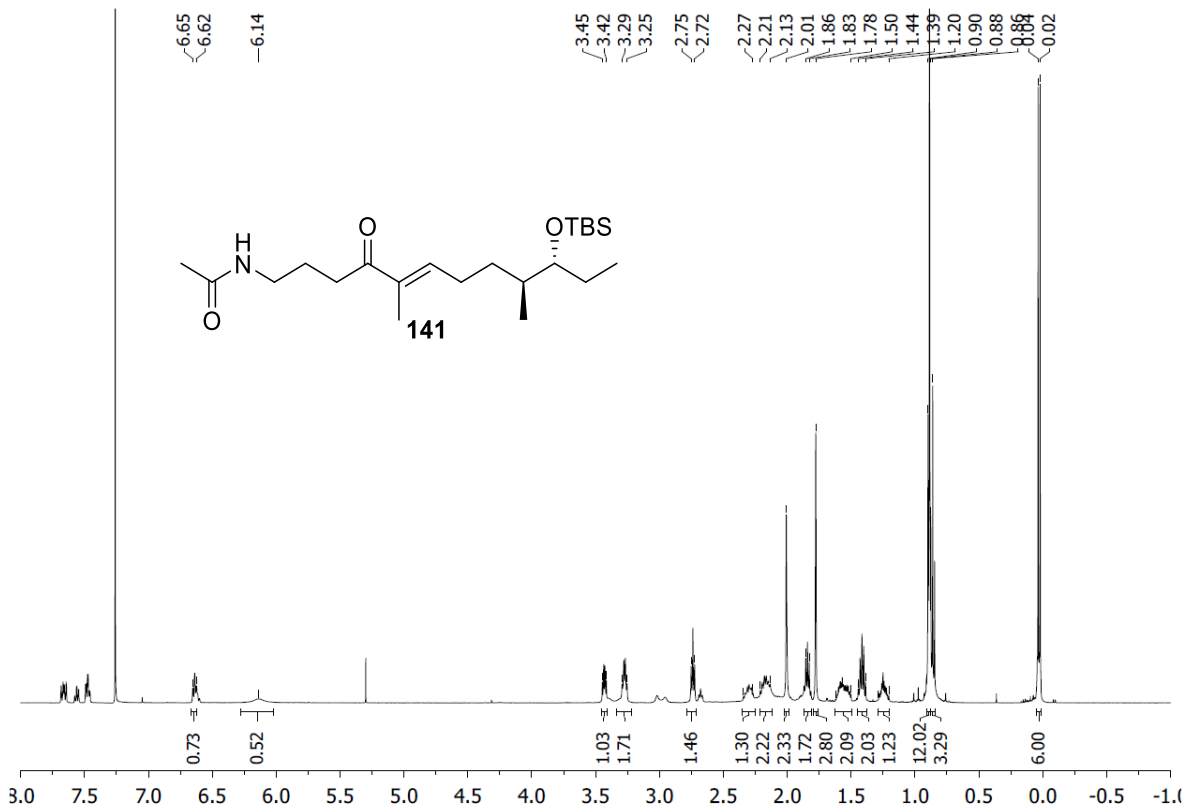


Abbildung 132: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: Aliphaten, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, mitte), ^{31}P NMR-Spektrum (CDCl_3 , 202 MHz, unten).



Spektrenanhang

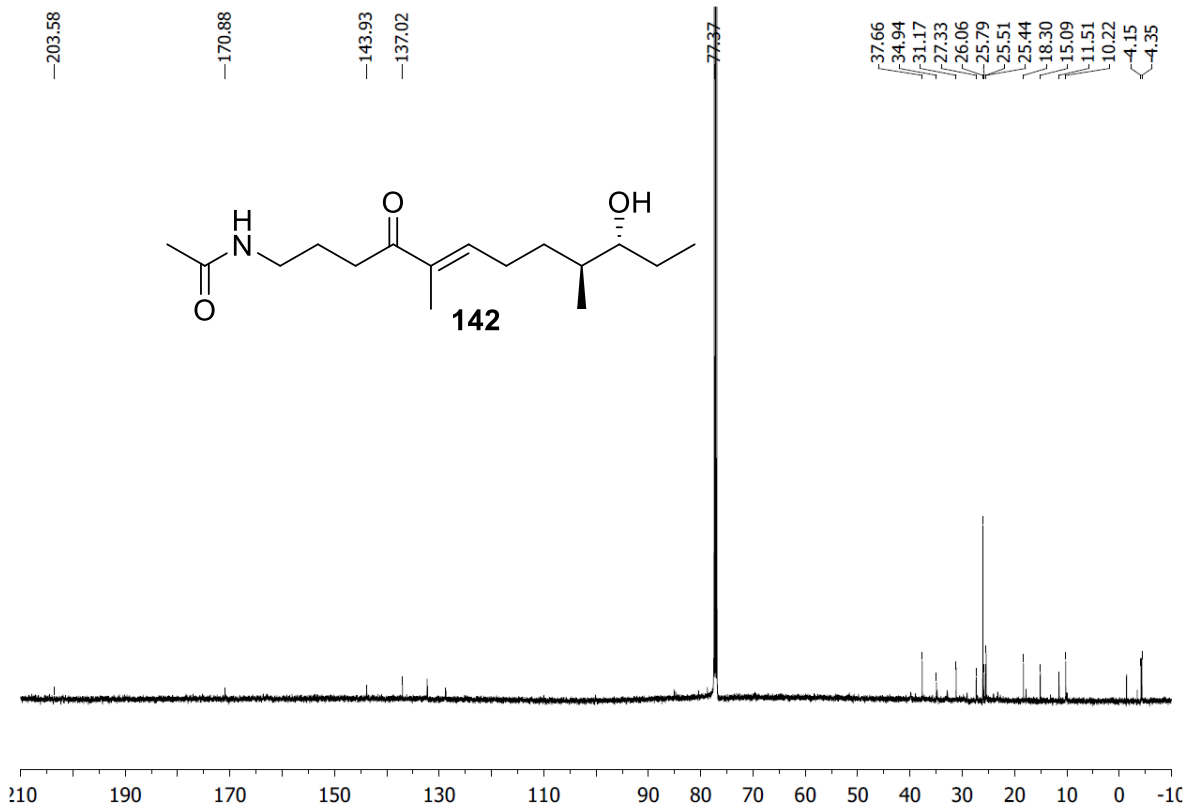
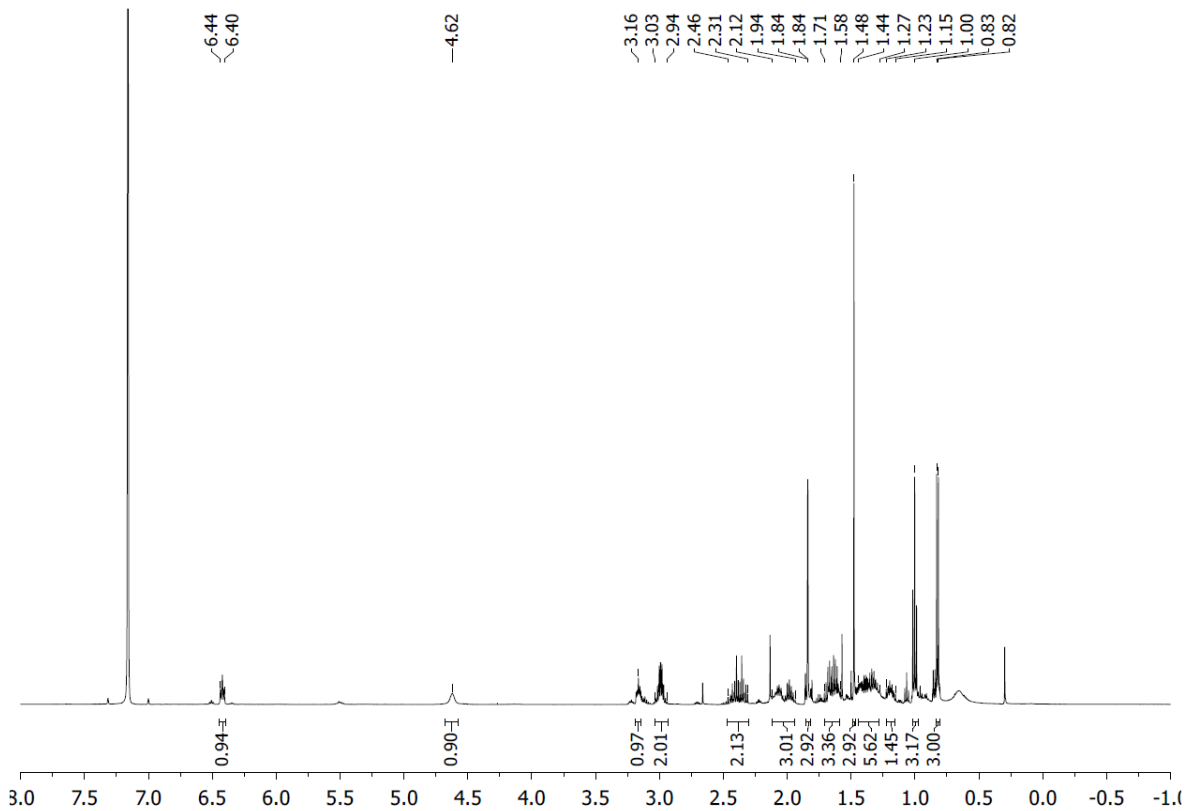


Abbildung 133: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: OPPh₃, CH₂Cl₂, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, Verunreinigung: OPPh₃, unten).



Spektrenanhang

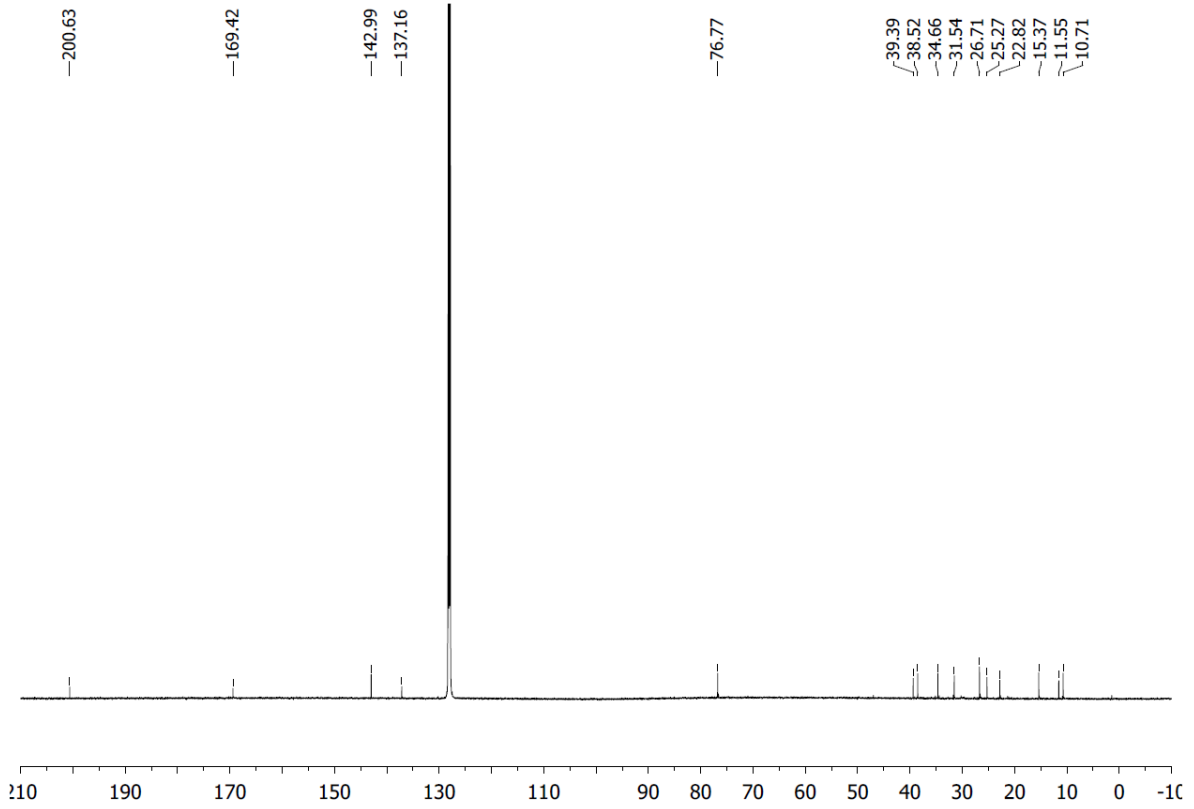
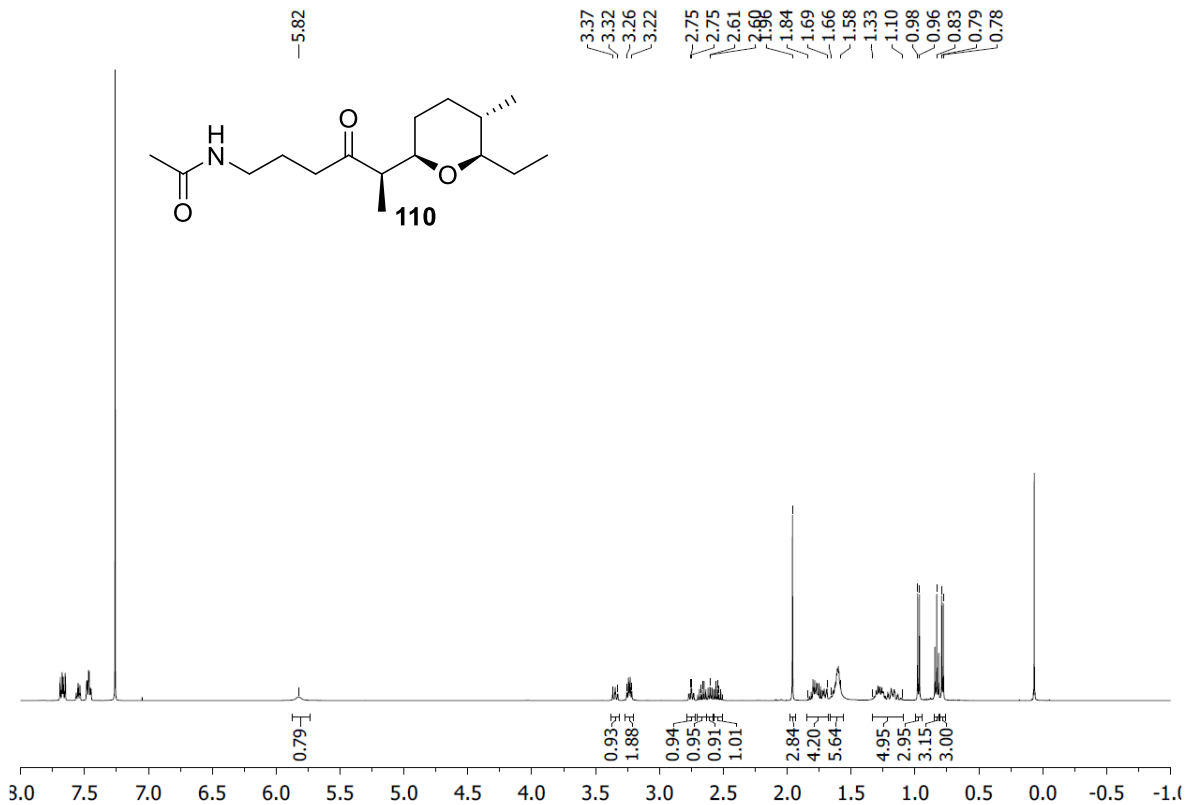


Abbildung 134: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (C₆D₆, 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

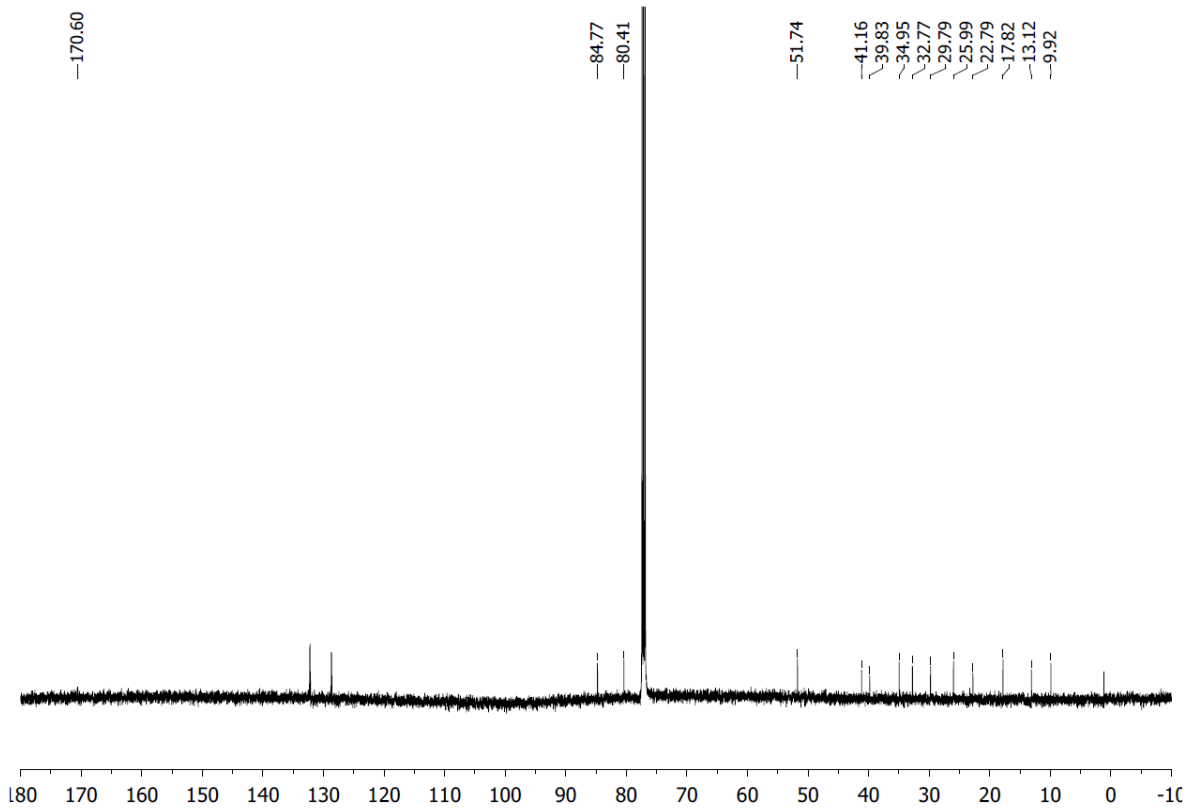
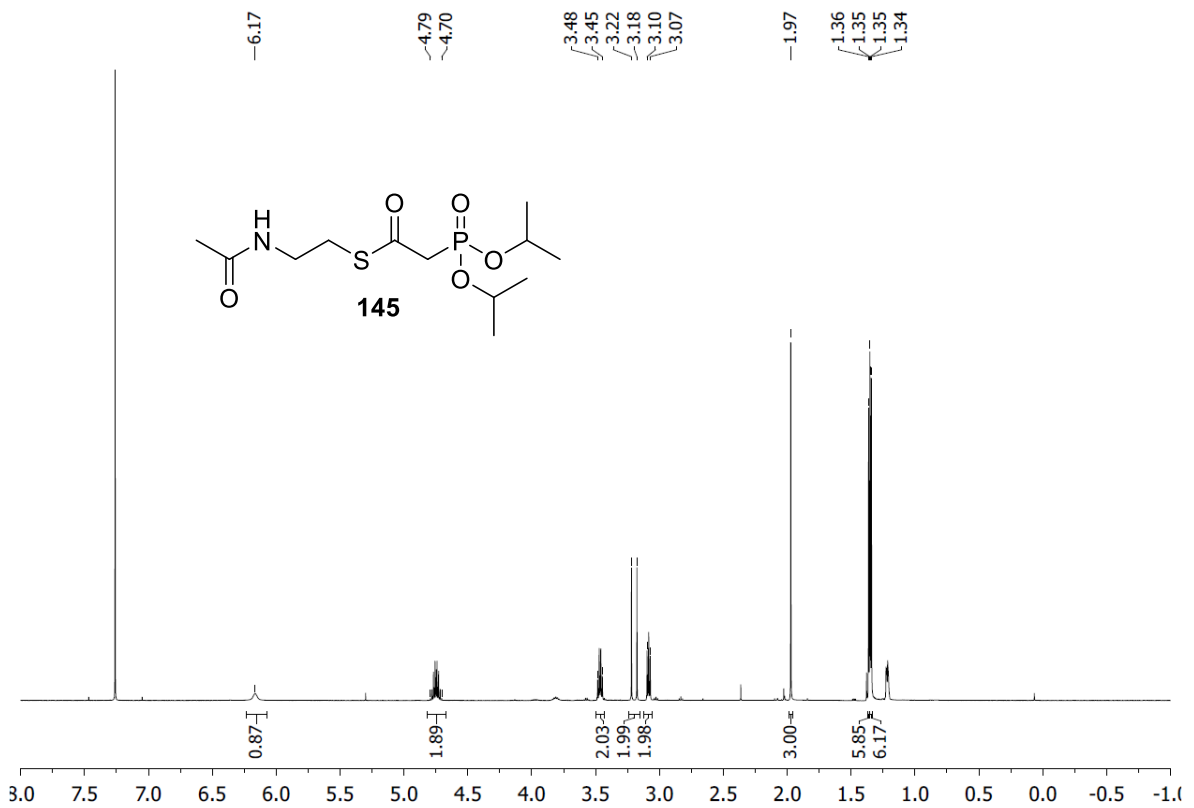


Abbildung 135: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: OPPh_3 , H_2O , Silikonfett, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, Verunreinigung OPPh_3 , unten).



Spektrenanhang

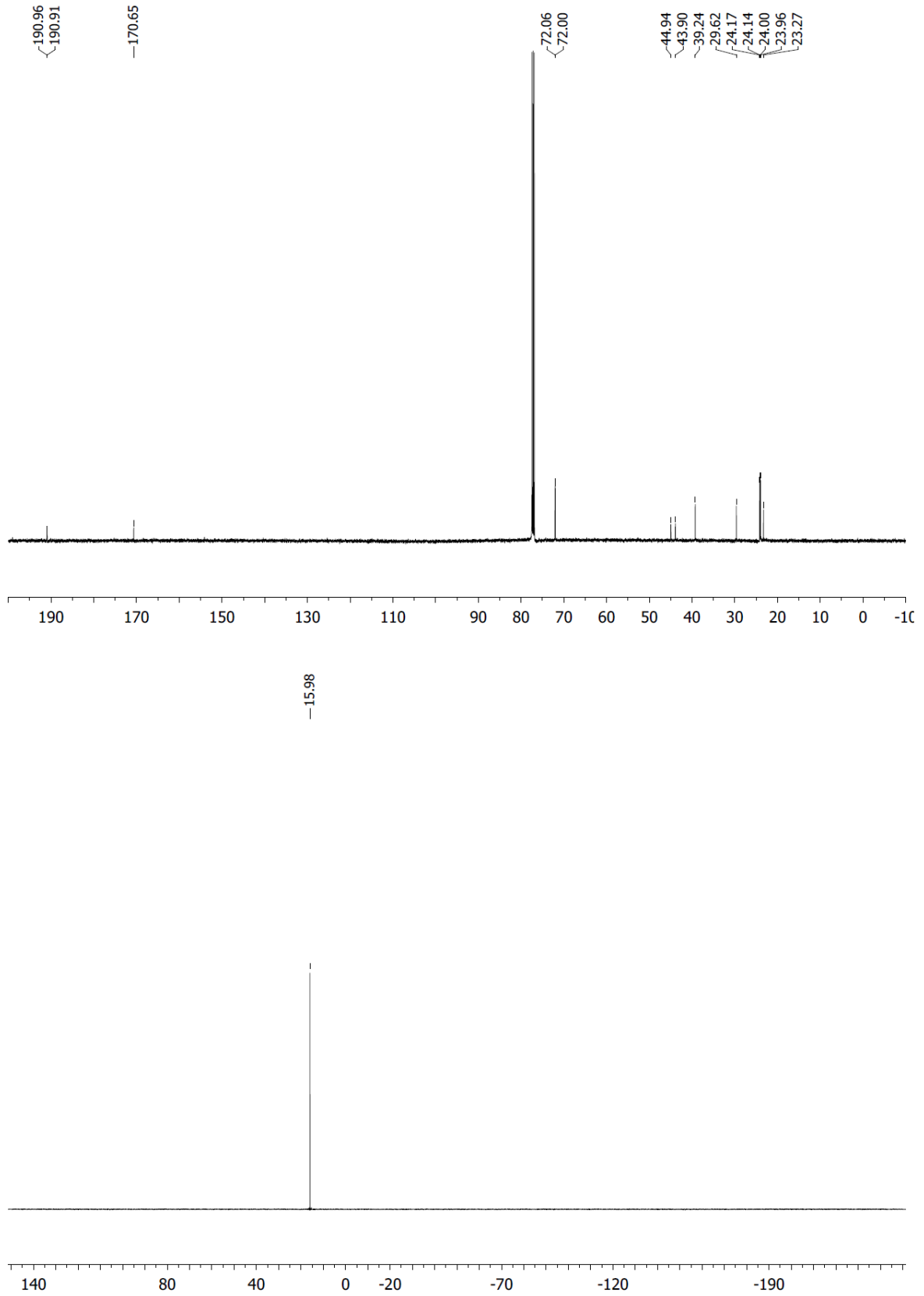


Abbildung 136: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, mitte), ^{31}P -NMR-Spektrum (CDCl₃, 202 MHz, unten).

Spektrenanhang

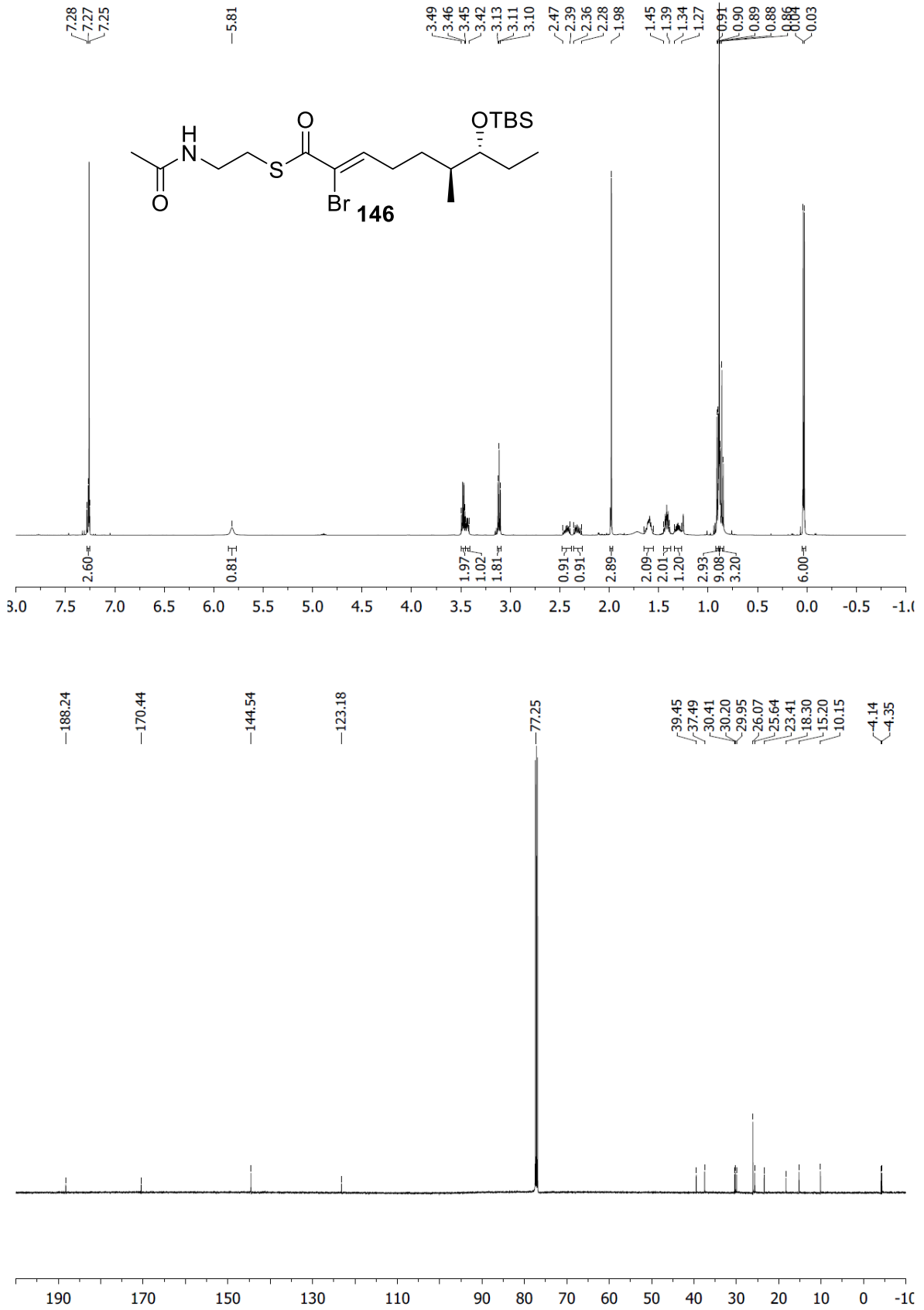


Abbildung 137: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

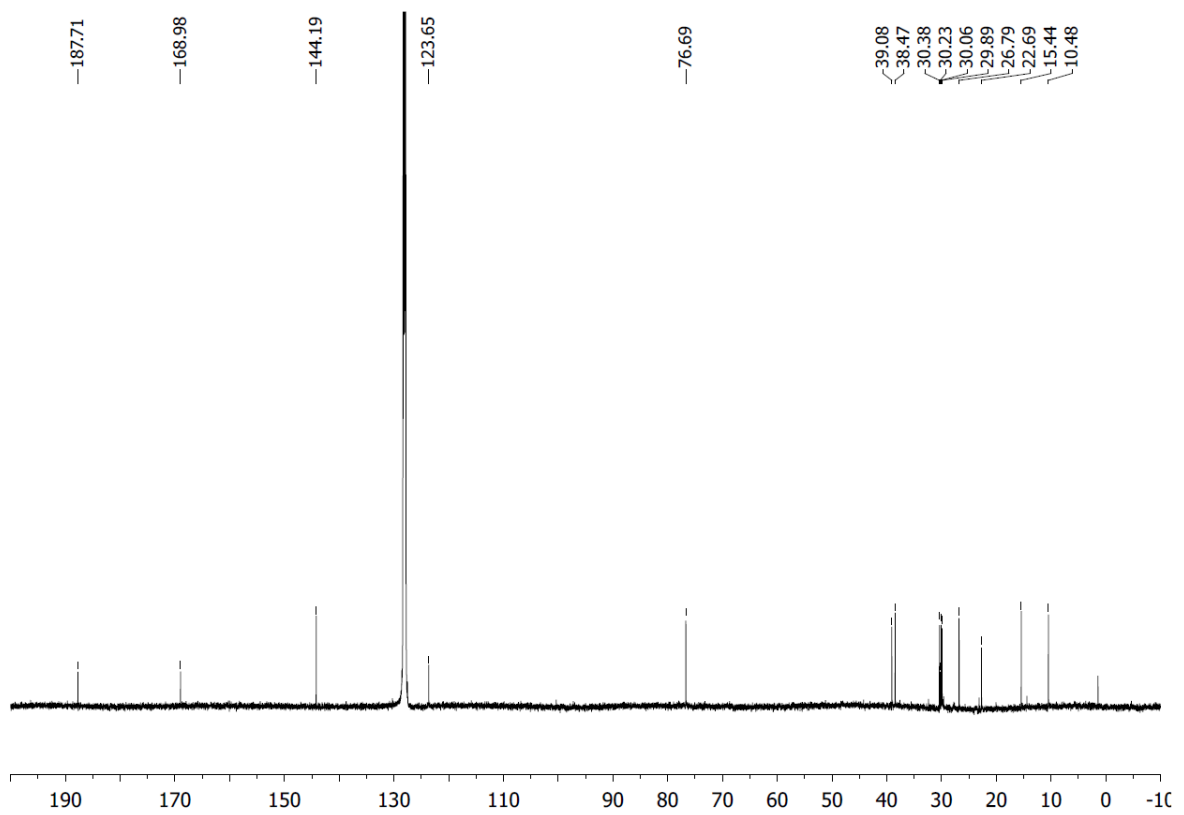
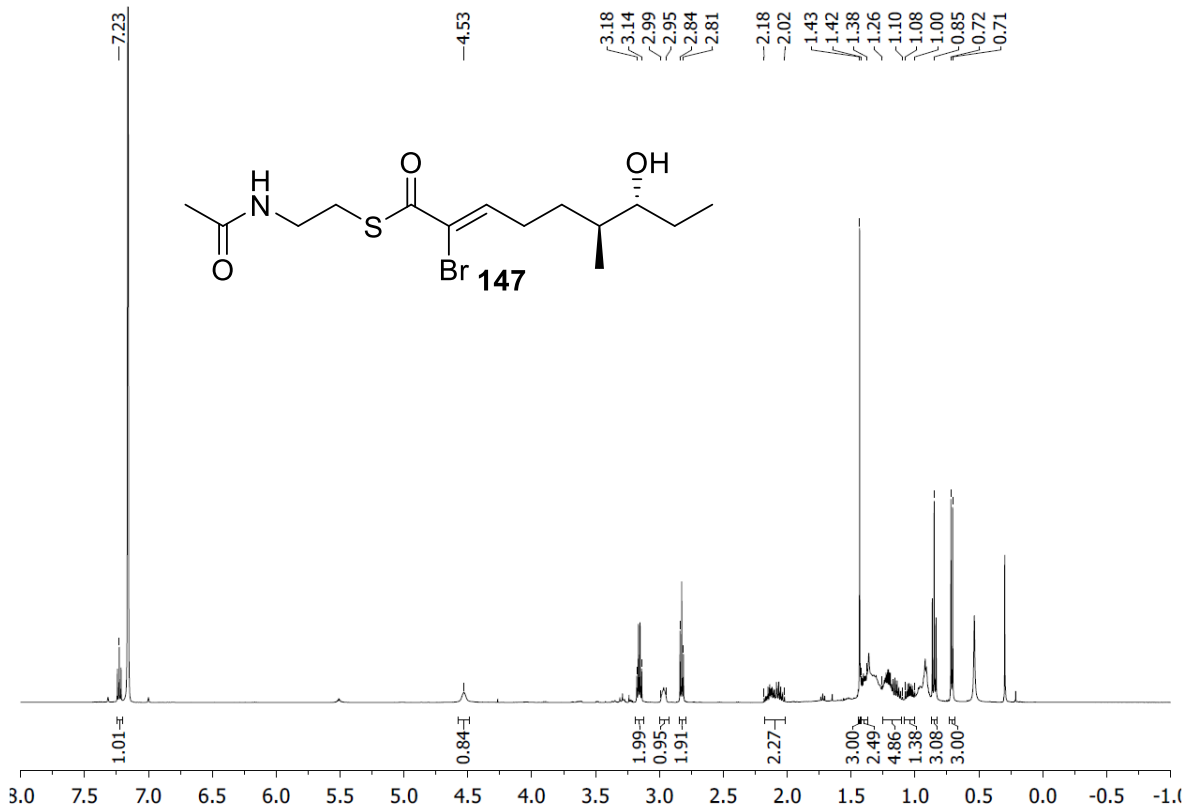


Abbildung 138: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz, Verunreinigungen: H_2O , Aliphaten, Silikonfett, oben), $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum (C_6D_6 , 125 MHz, Verunreinigung: Silikonfett, unten).

Spektrenanhang

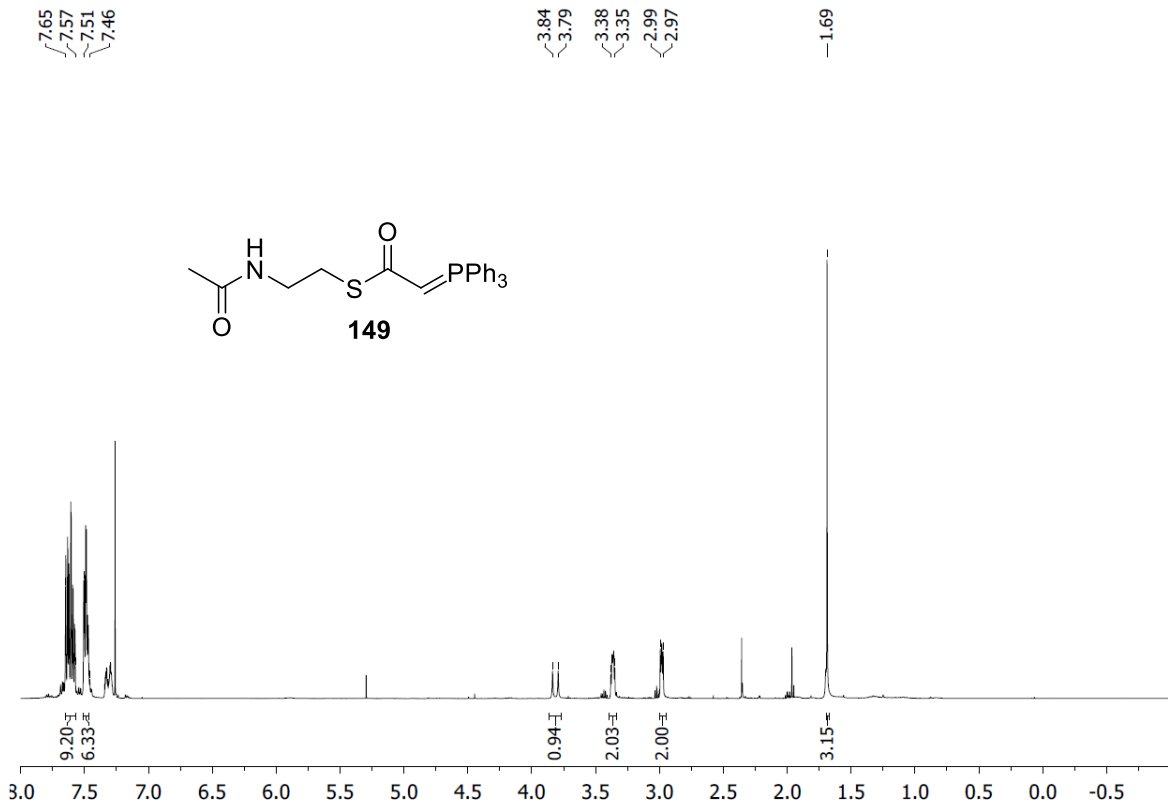
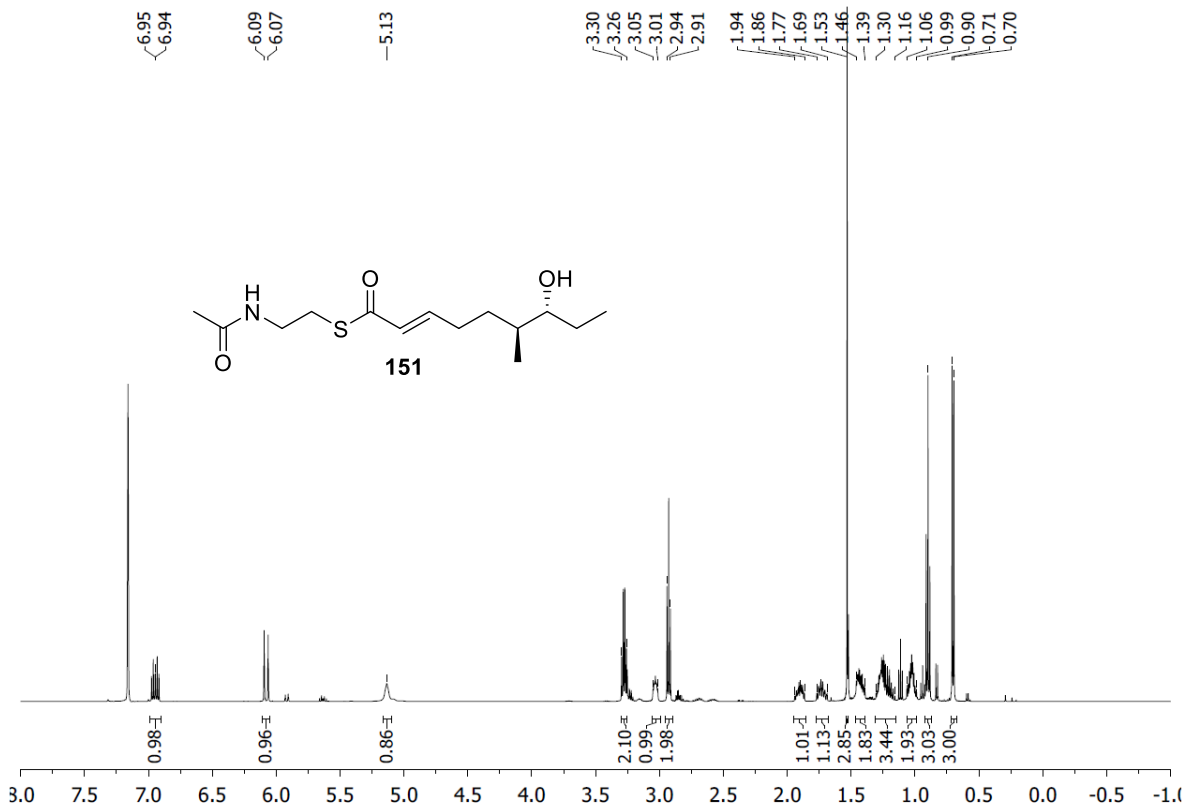


Abbildung 139: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: CH₂Cl₂).



Spektrenanhang

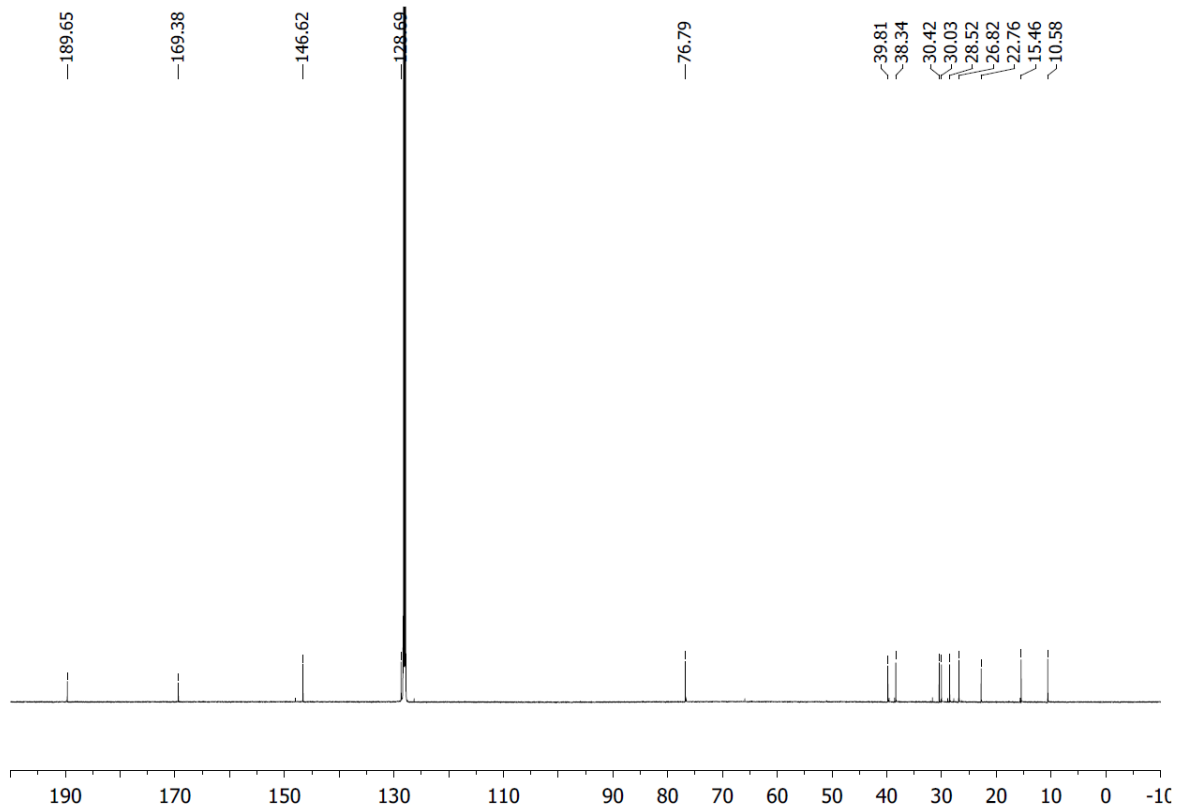
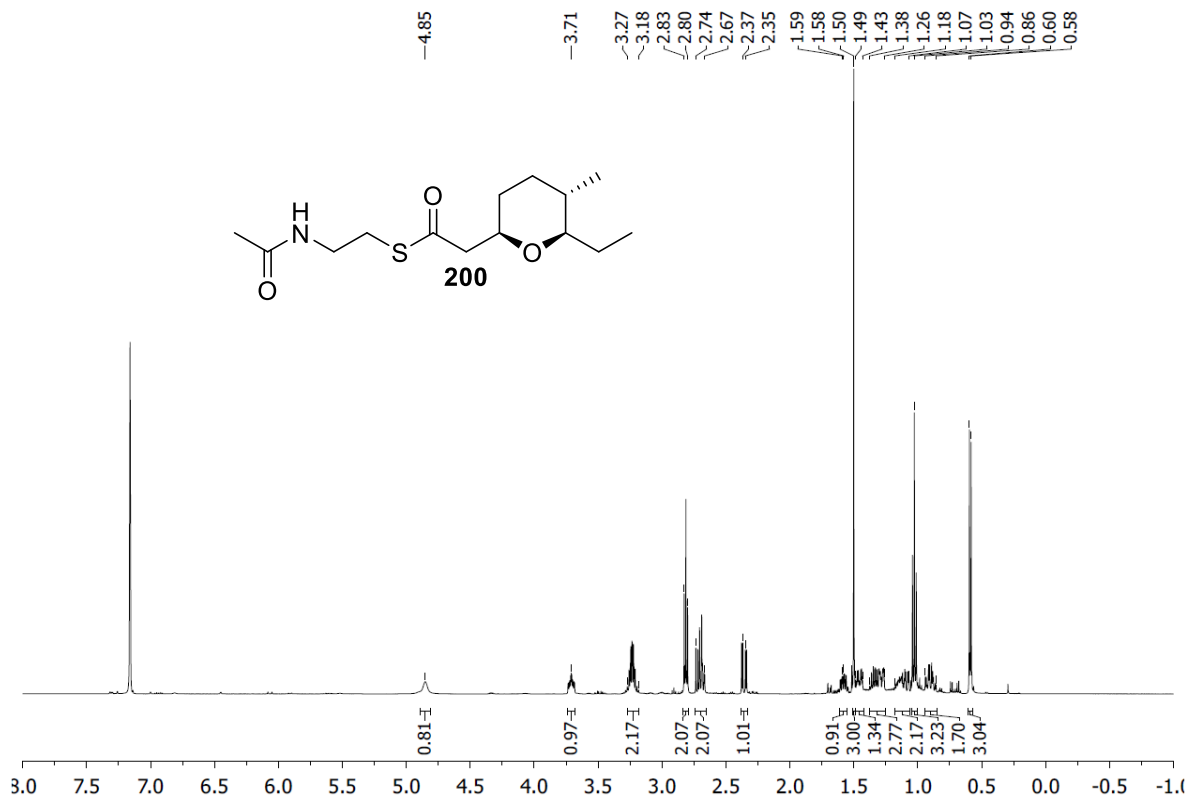


Abbildung 140: ^1H -NMR-Spektrum (C_6D_6 , 500 MHz, Verunreinigungen: H_2O , Aliphaten, Silikonfett, (Z)-Isomer, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (C_6D_6 , 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

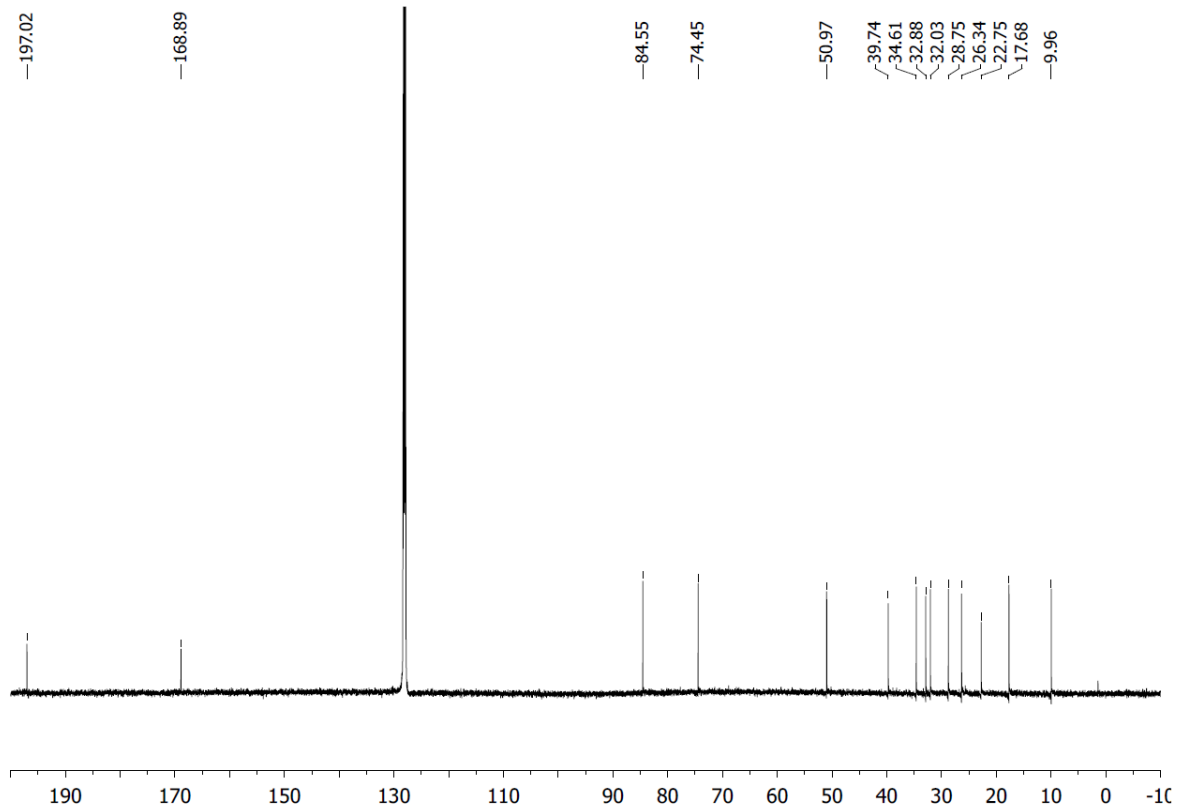
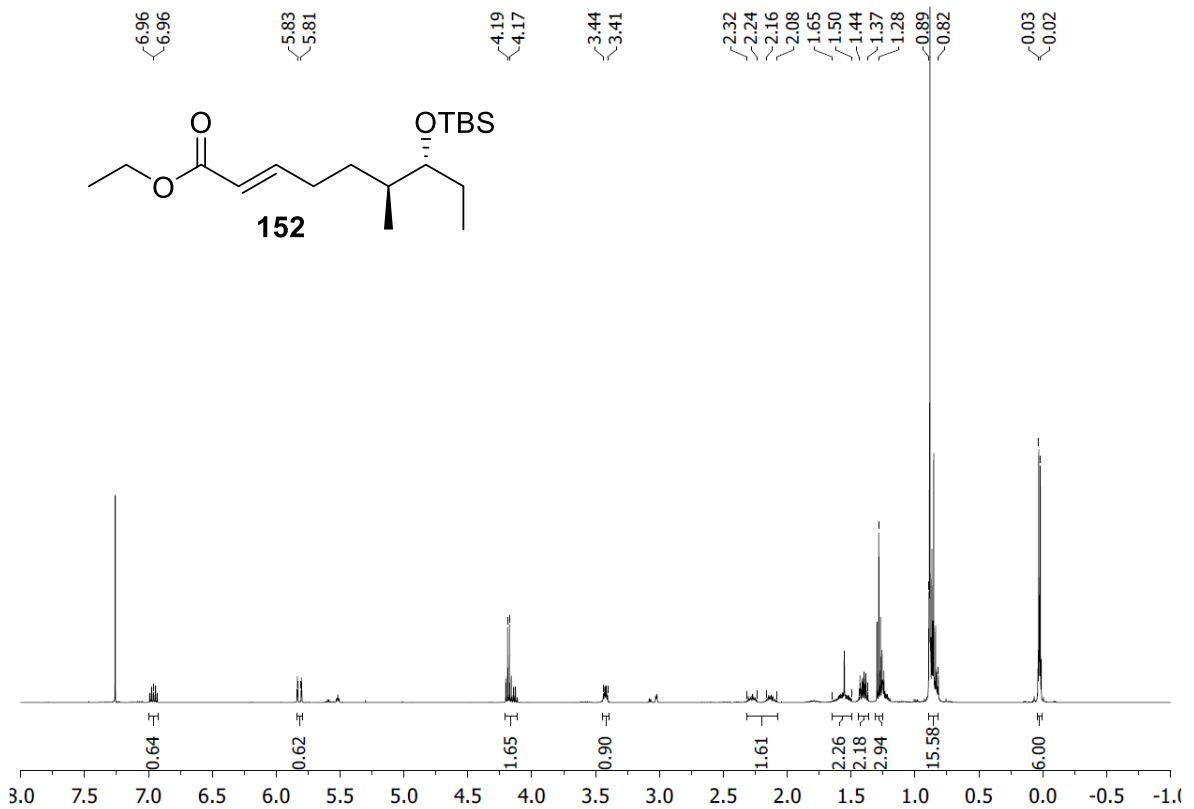


Abbildung 141: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: Silikonfett, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

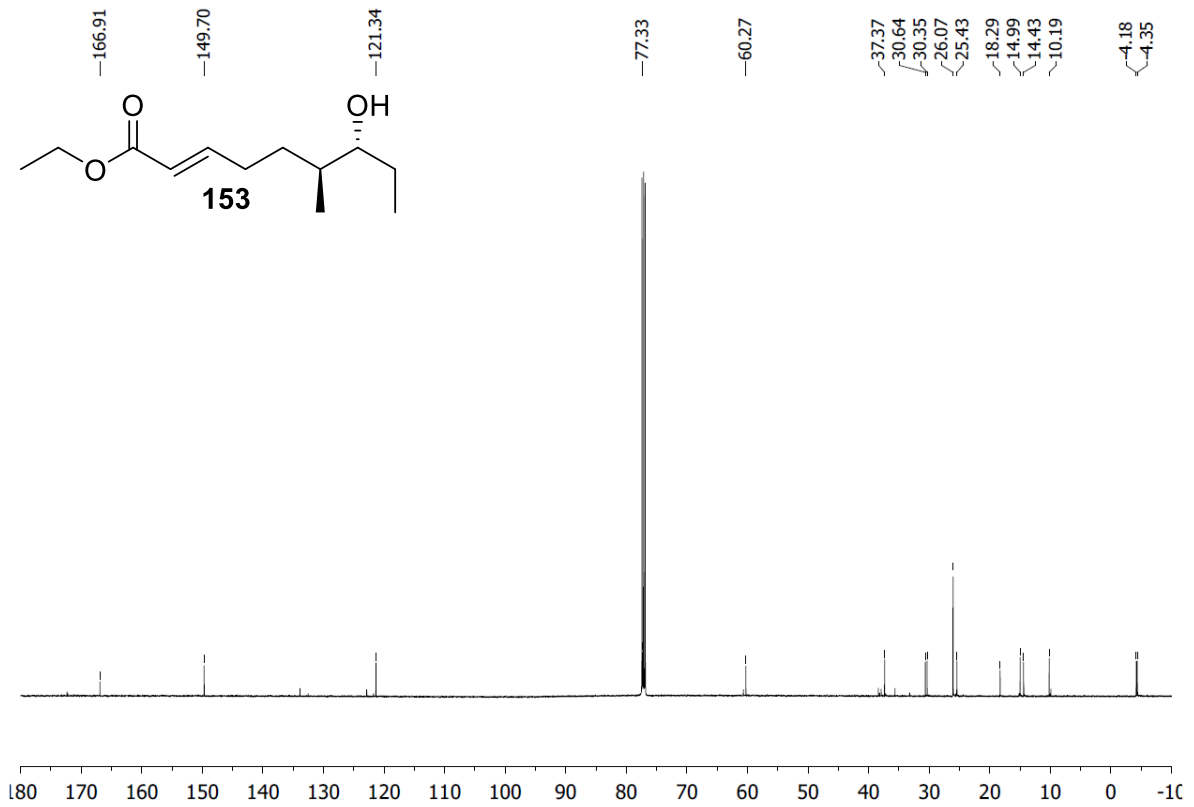
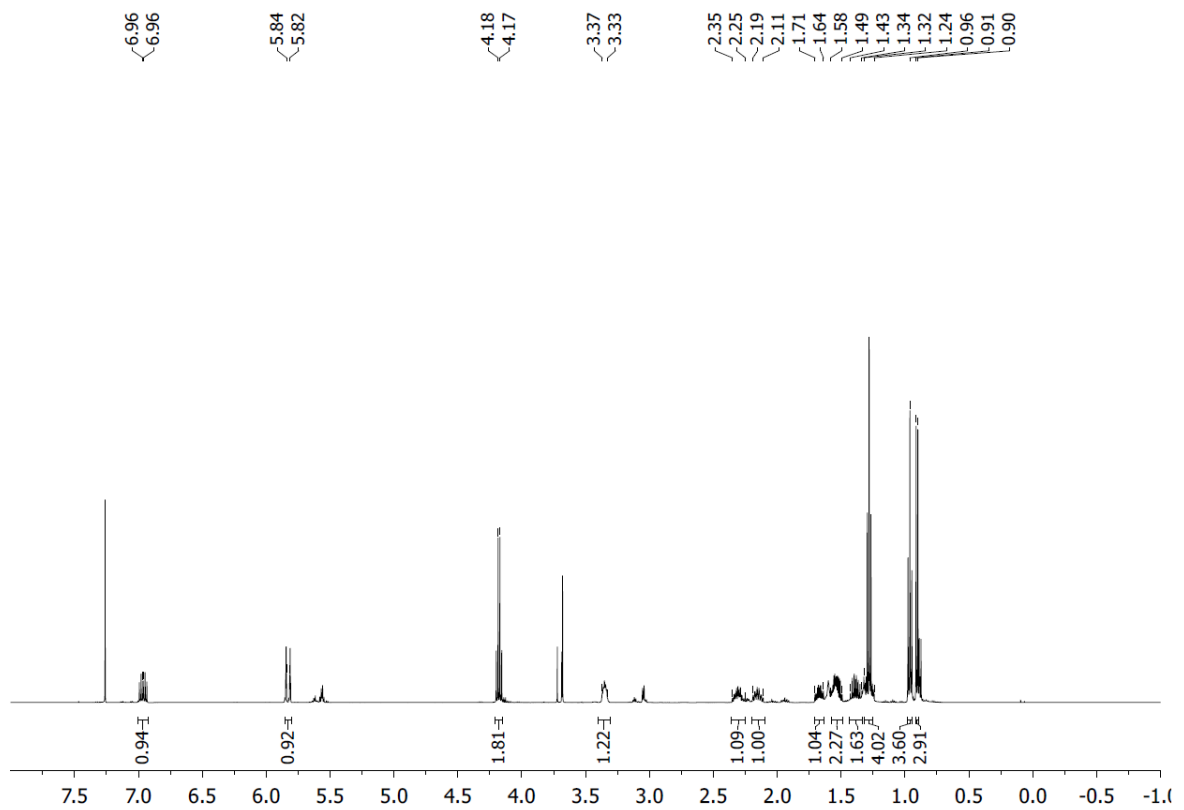


Abbildung 142: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

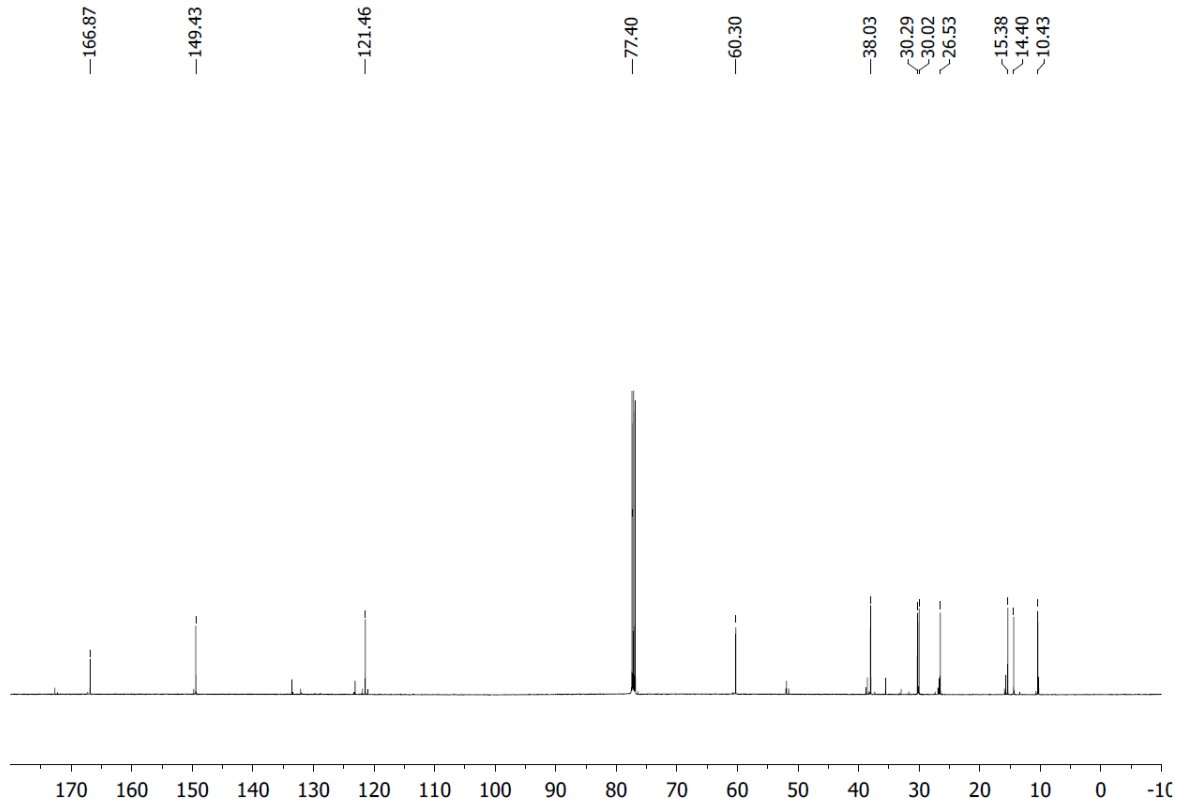
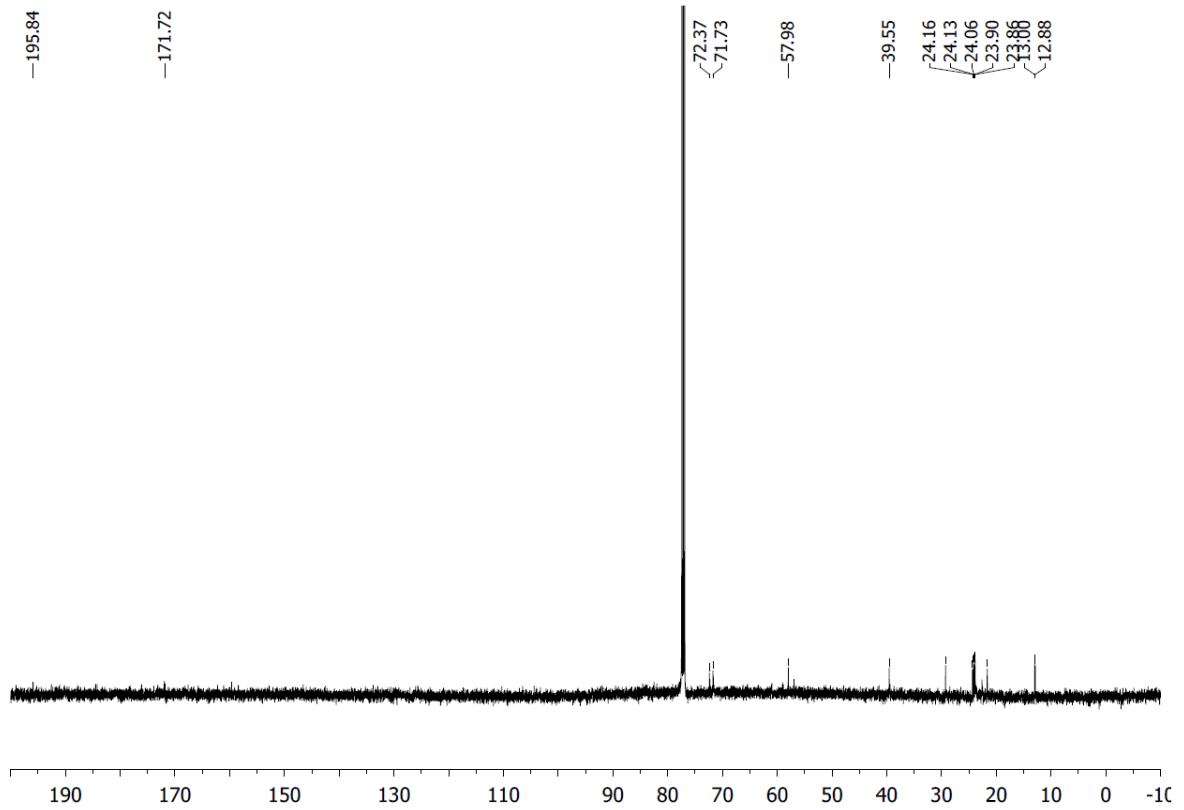
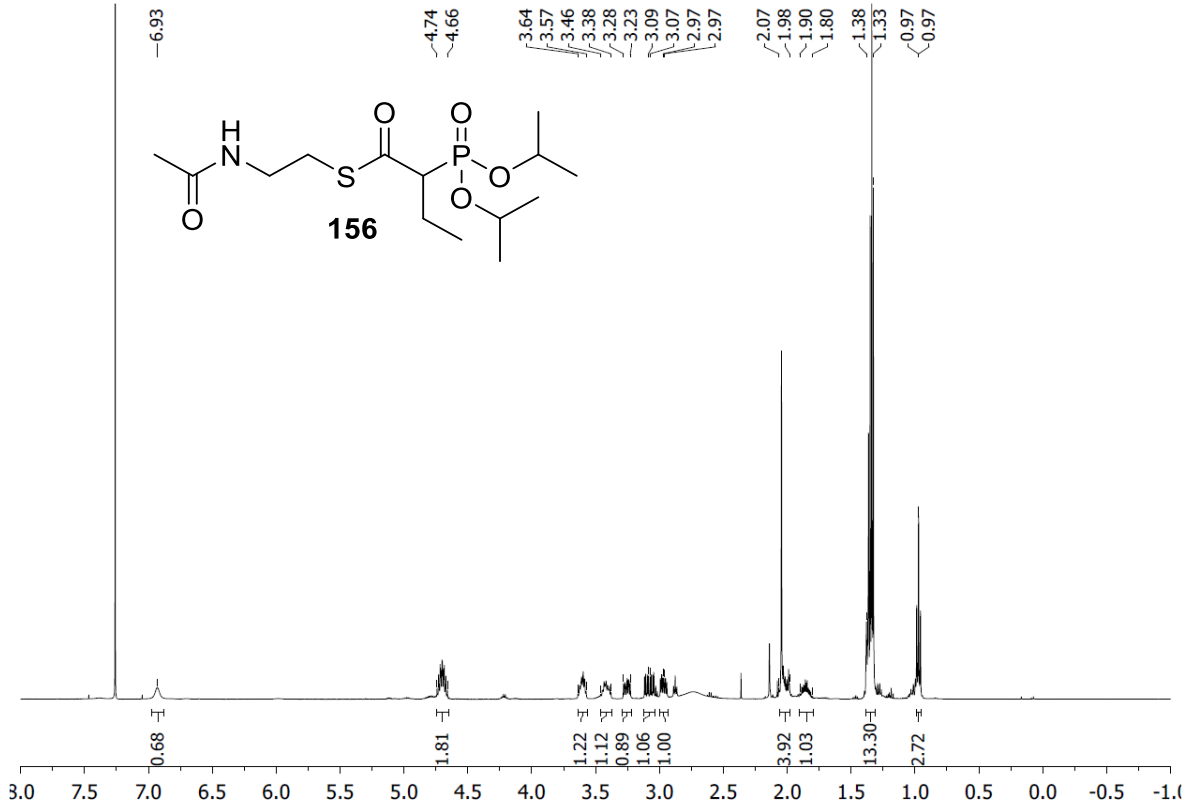


Abbildung 143: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, unten).

Spektrenanhang



Spektrenanhang

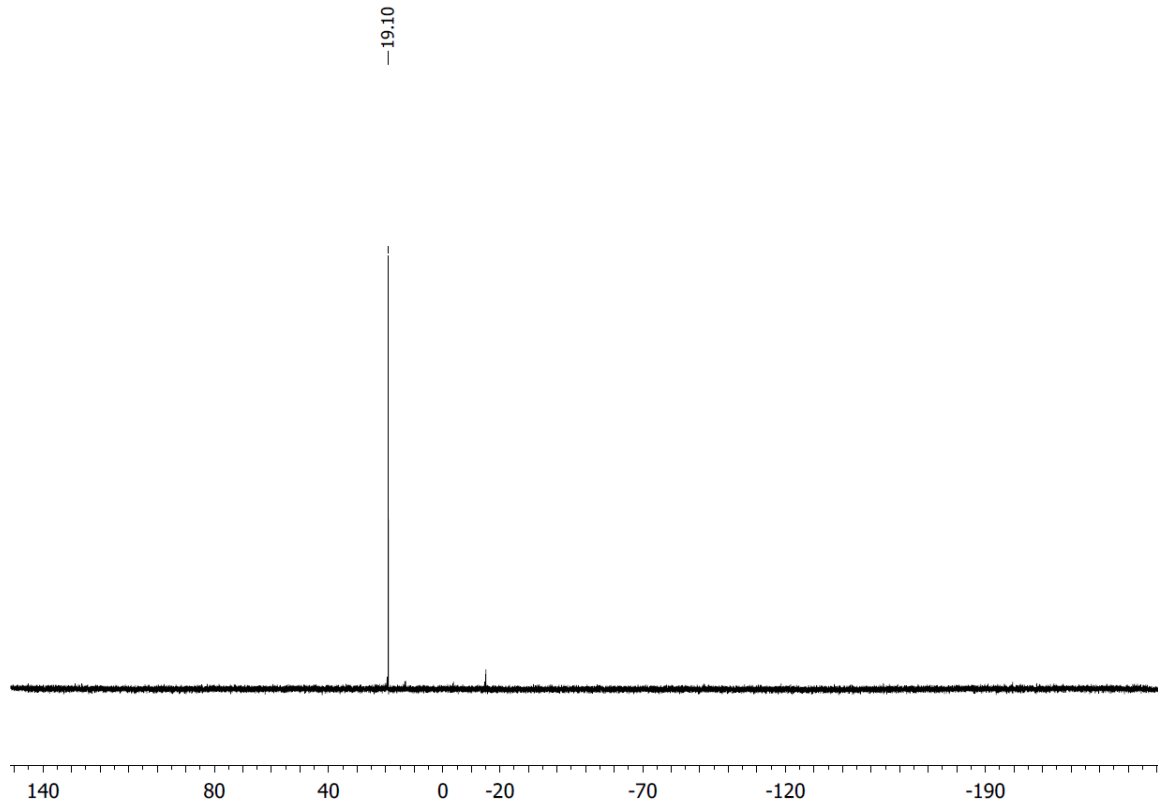
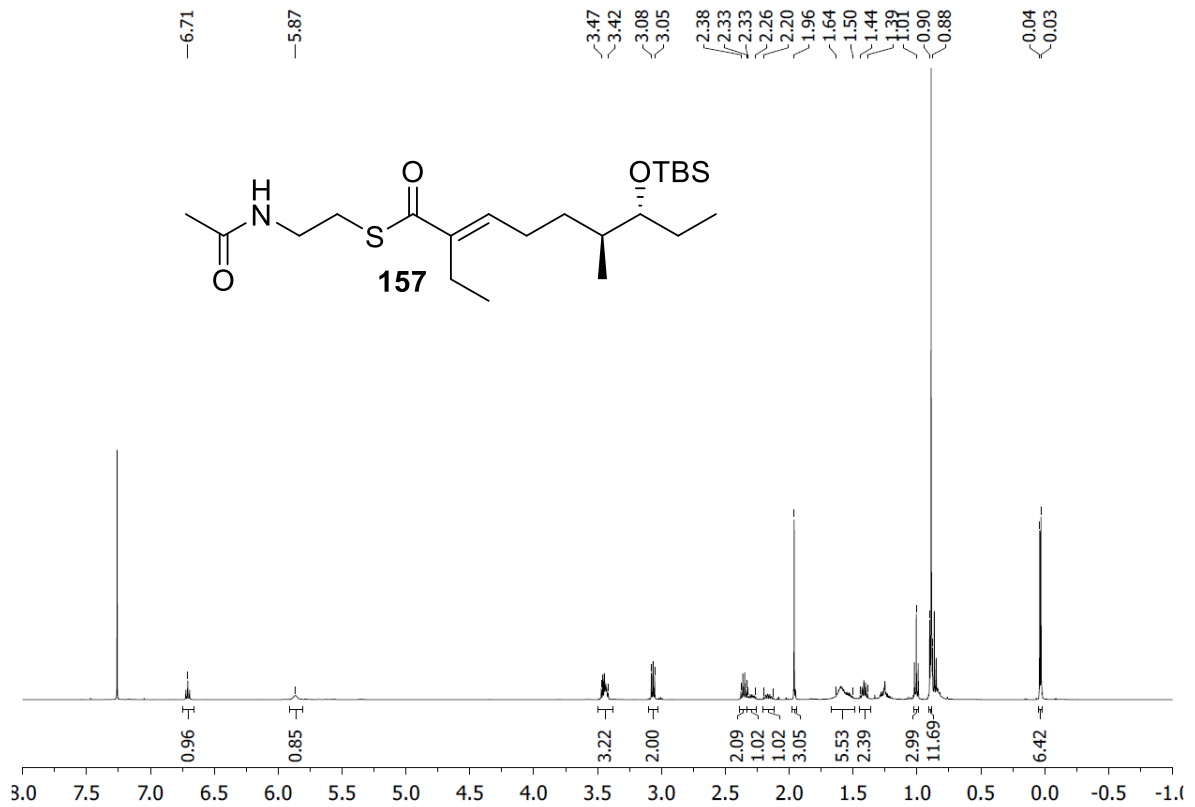


Abbildung 144: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, mitte), ^{31}P NMR-Spektrum (CDCl_3 , 202 MHz, unten).



Spektrenanhang

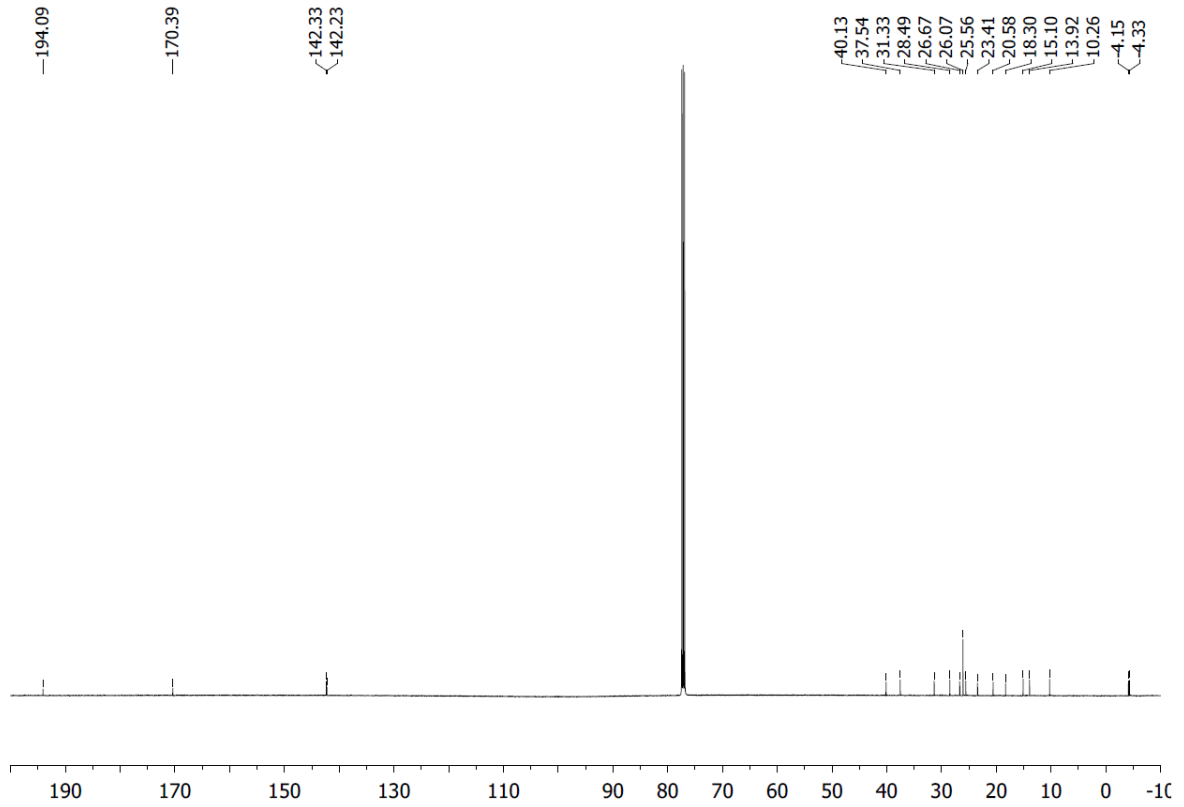
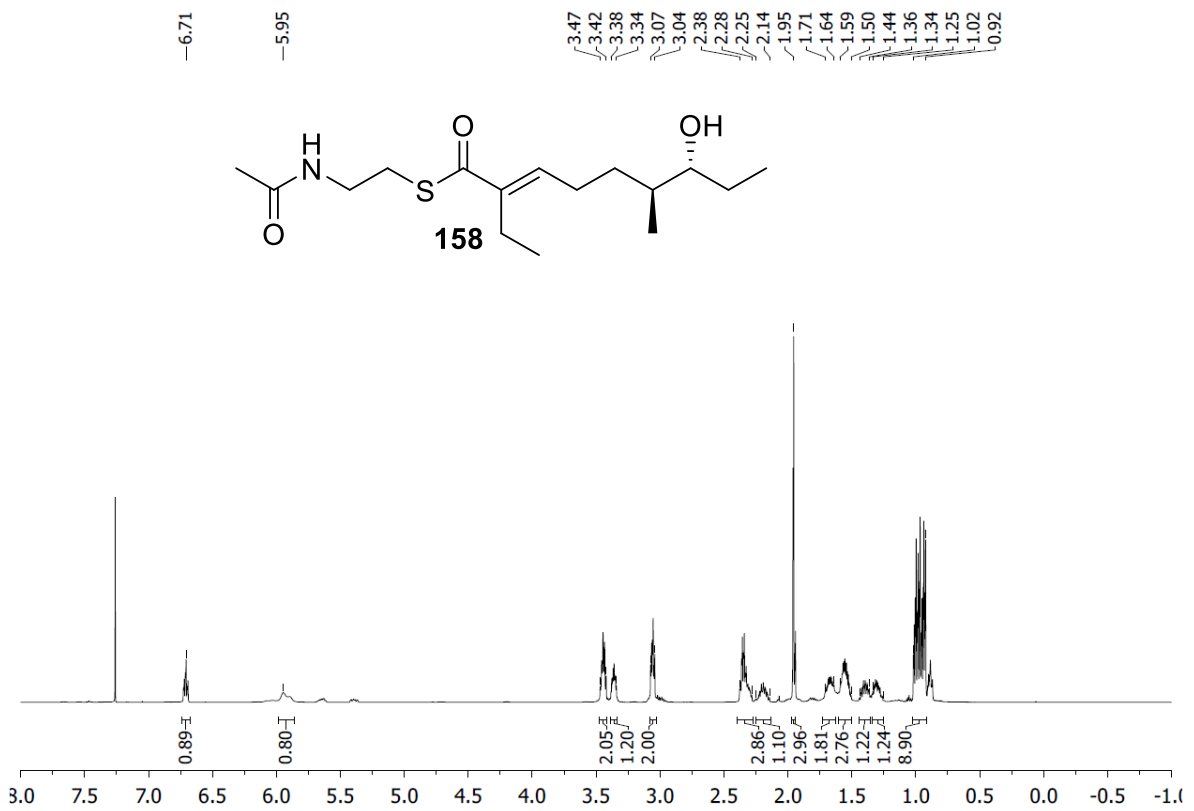


Abbildung 145: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: H_2O , oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

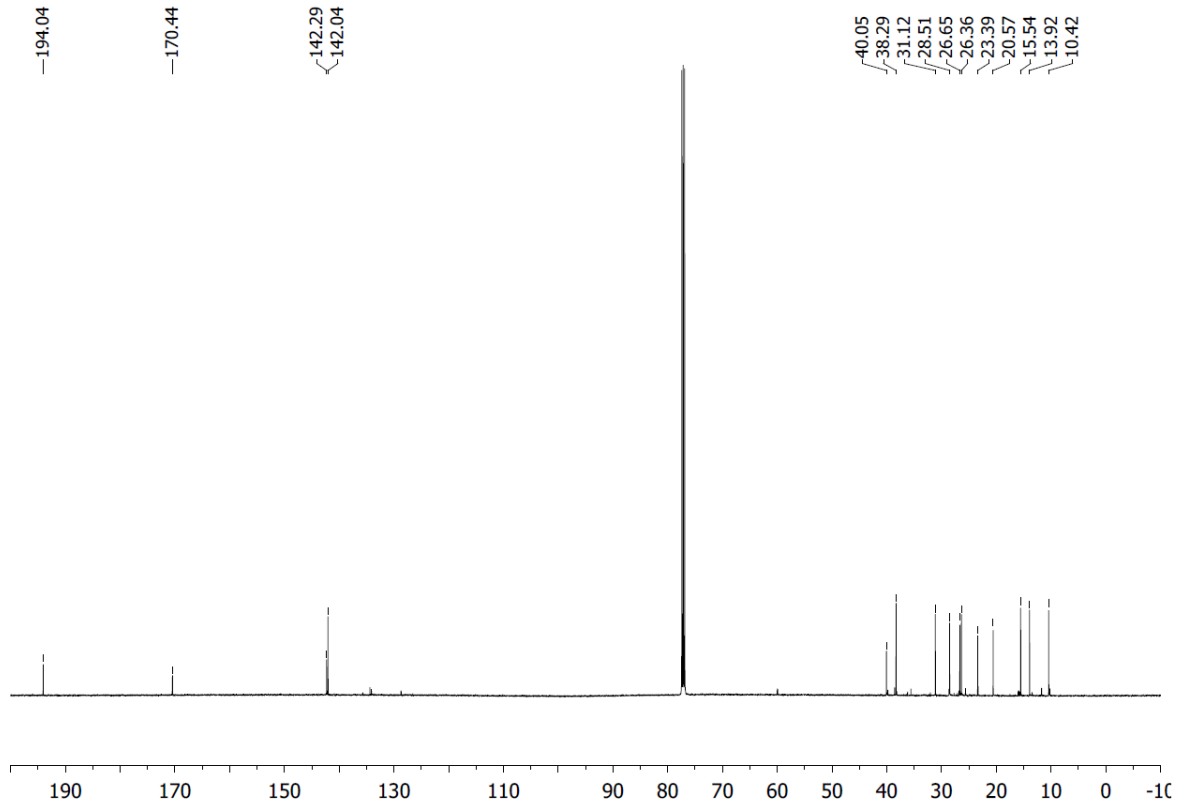
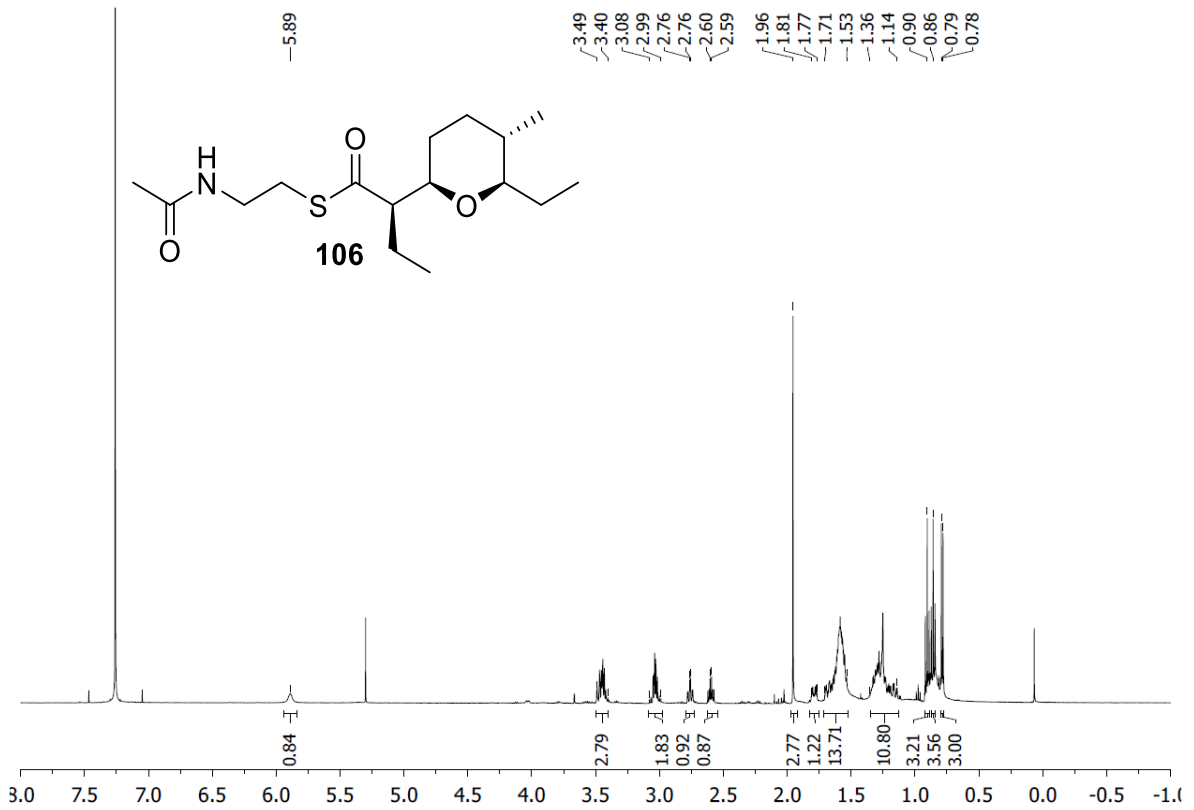


Abbildung 146: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

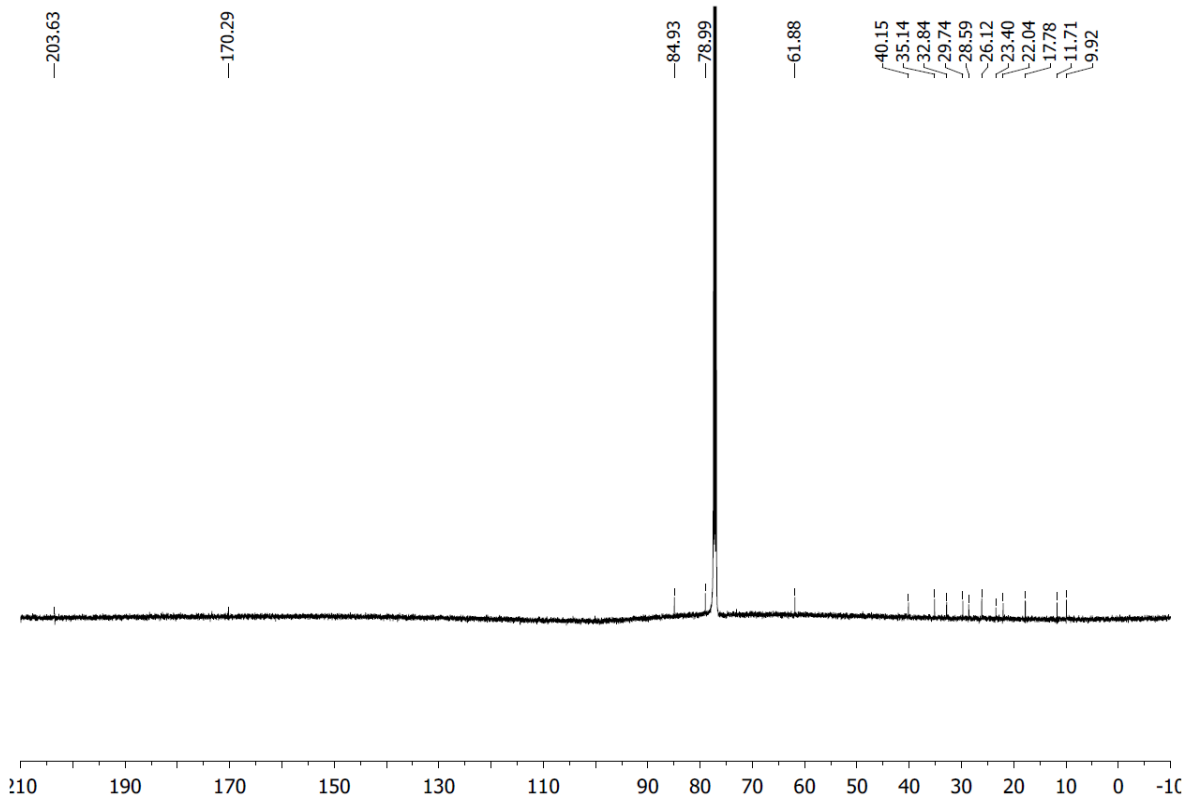
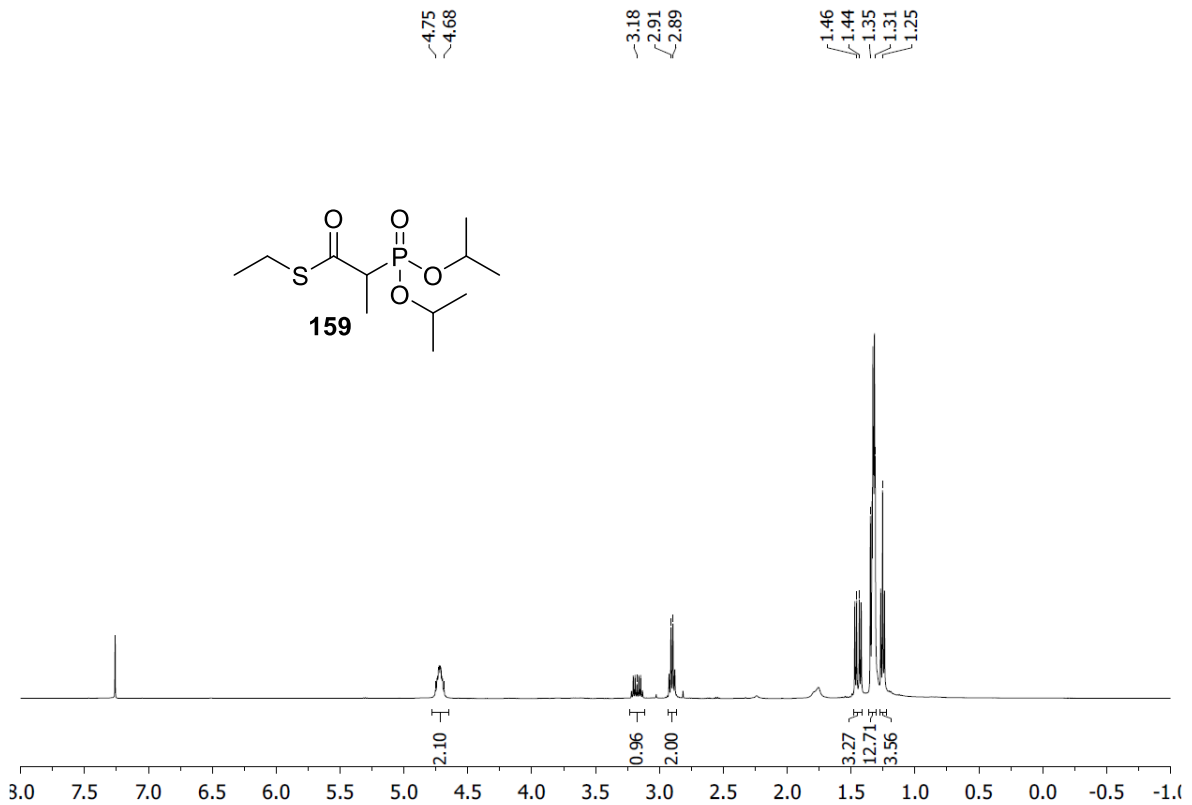


Abbildung 147: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: CH_2Cl_2 , H_2O , Aliphaten, Silikonfett, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

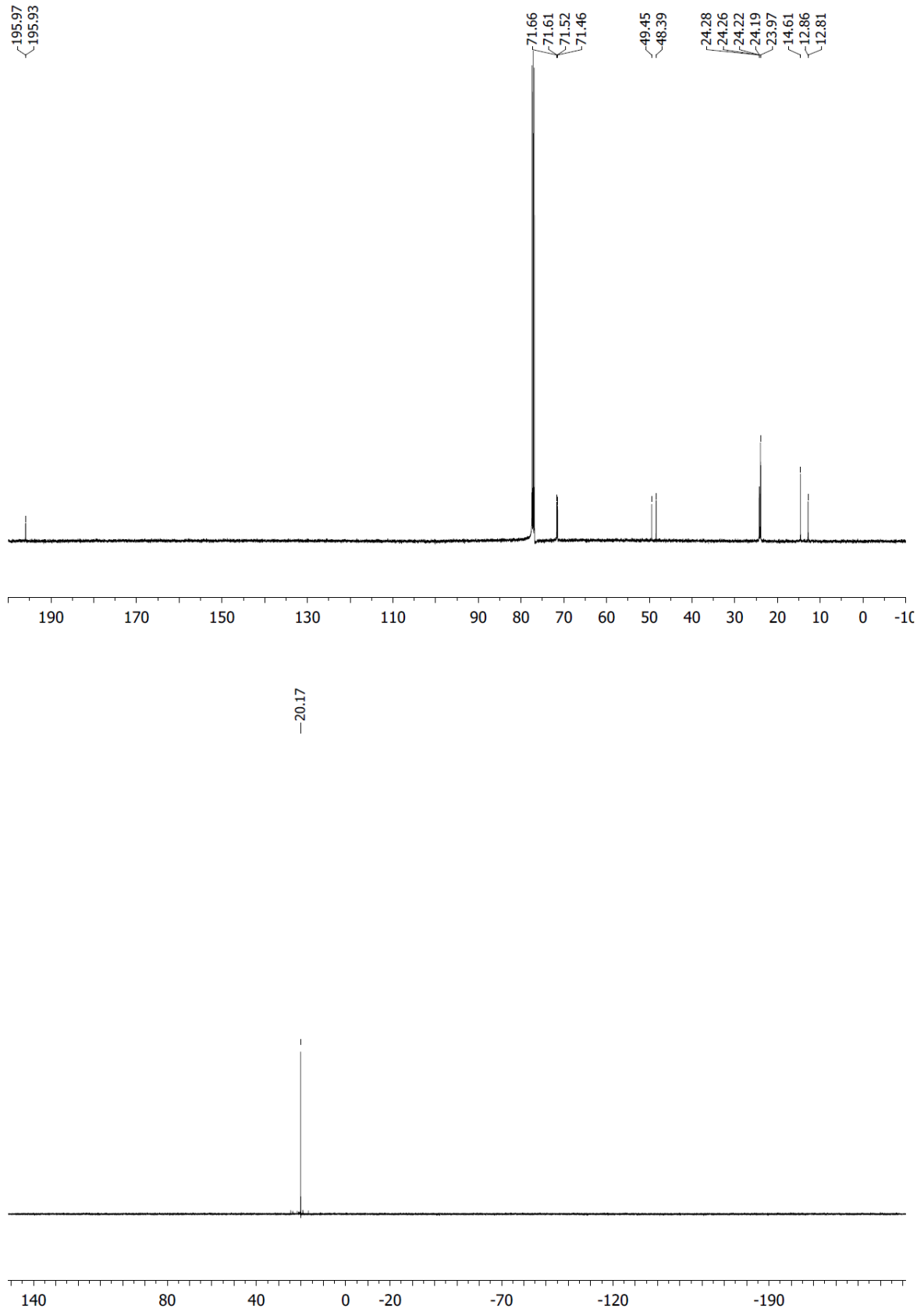


Abbildung 148: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: CH_2Cl_2 , DMAP, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, mitte), ^{31}P NMR-Spektrum (CDCl_3 , 202 MHz, unten).

Spektrenanhang

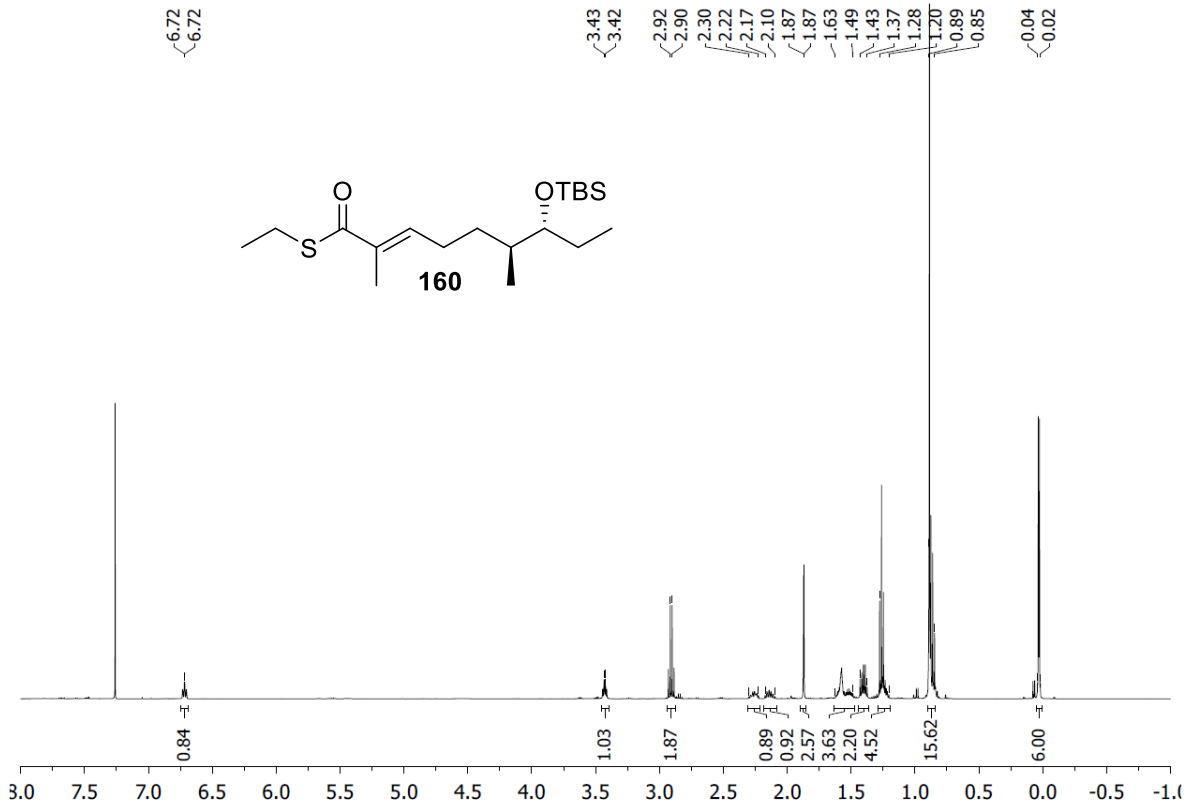


Abbildung 149: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , Verunreinigungen: H_2O , Aliphaten, 500 MHz).

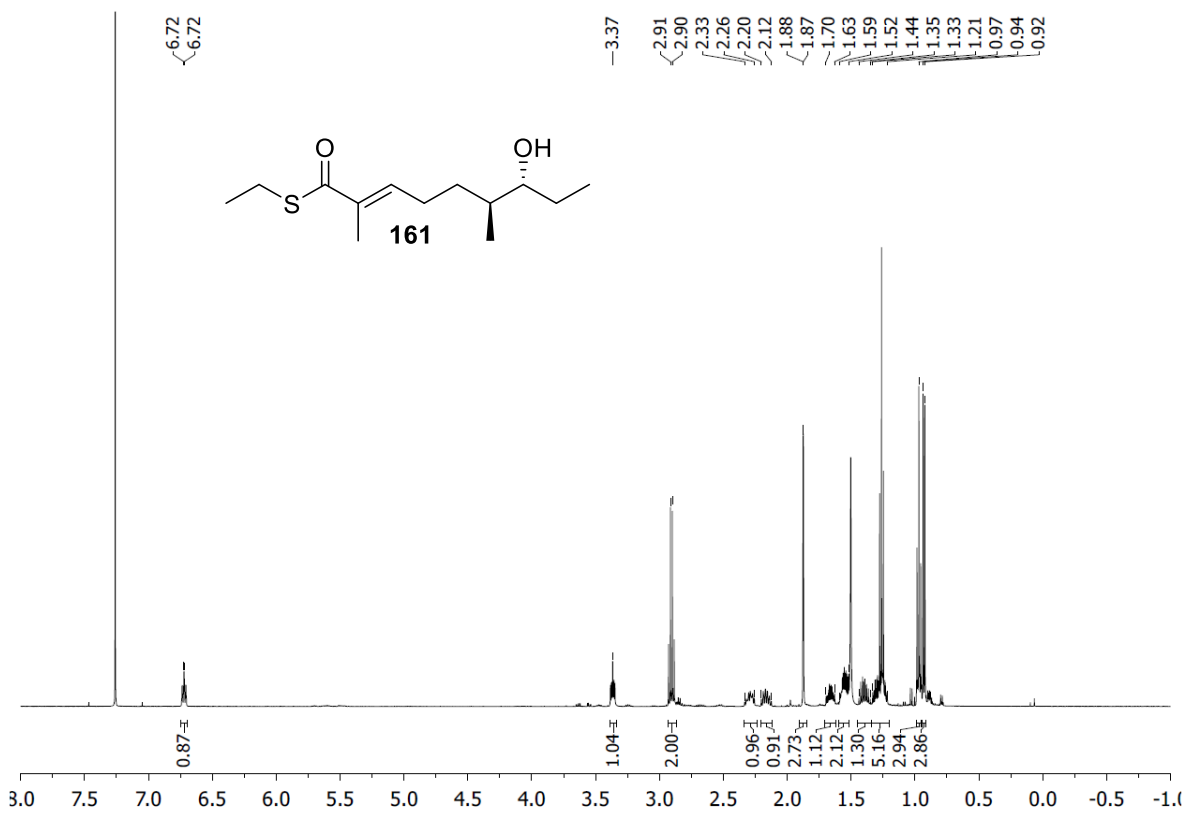


Abbildung 150: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz).

Spektrenanhang

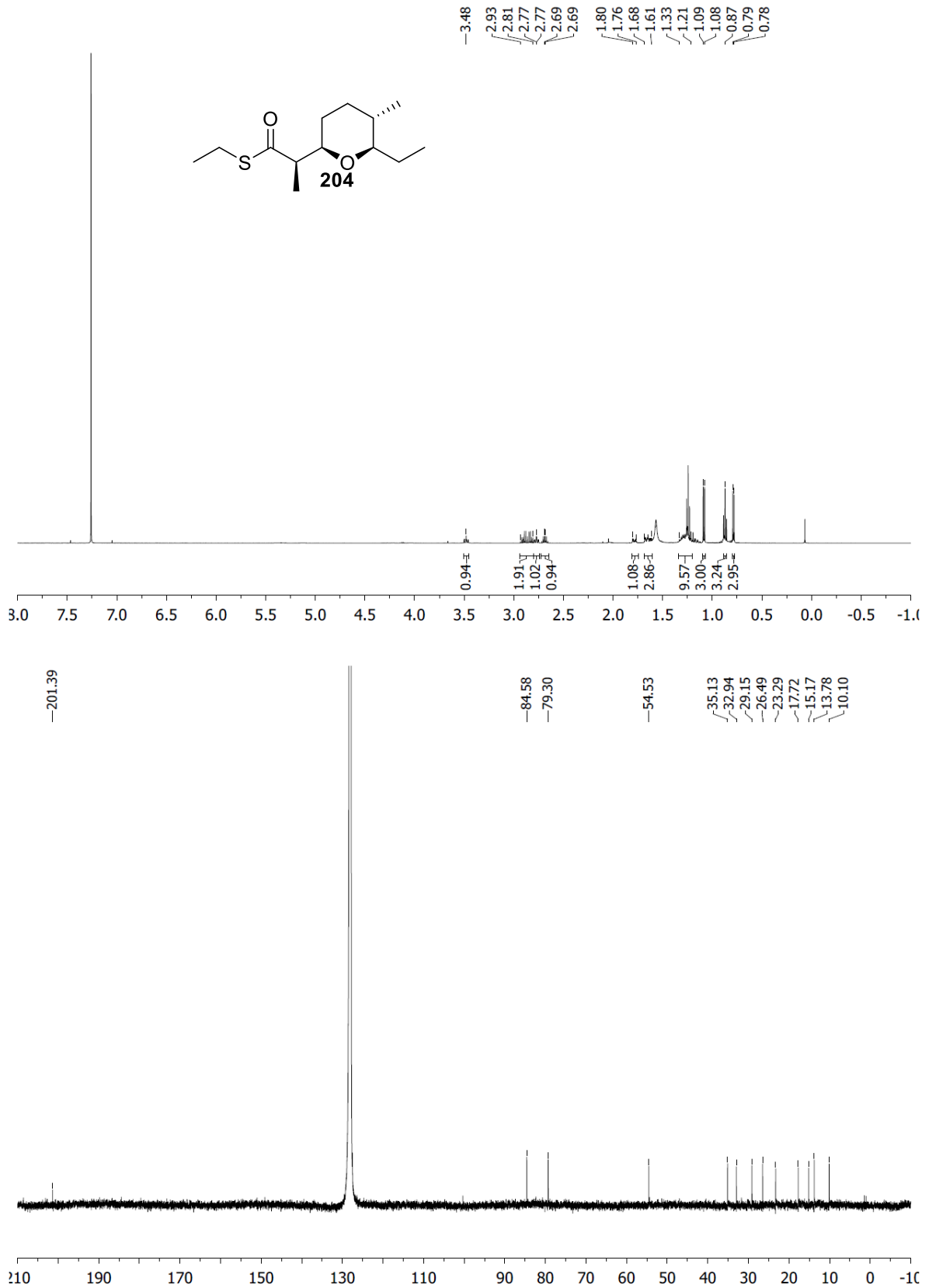


Abbildung 151: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

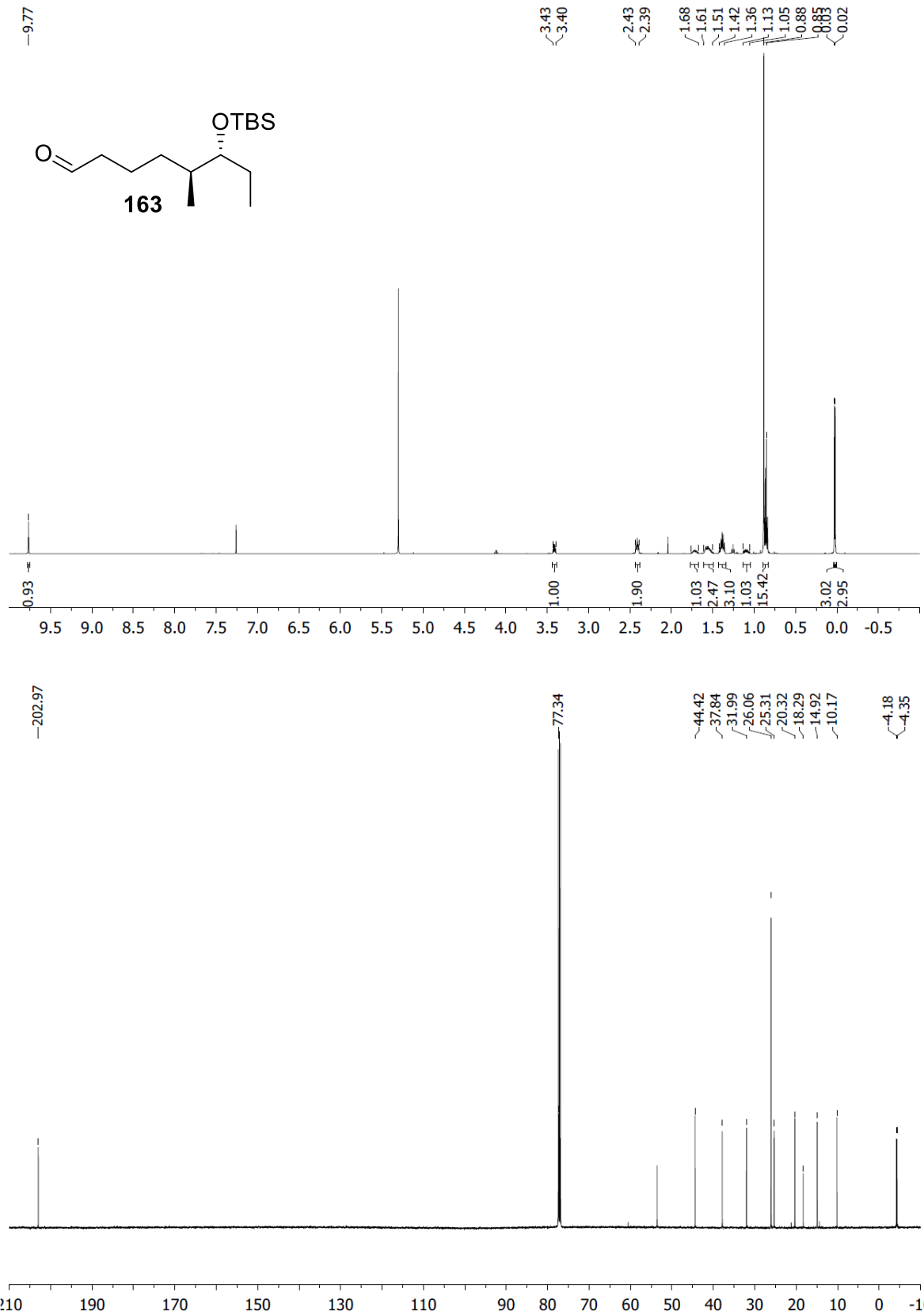


Abbildung 152: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: CH₂Cl₂, EtOAc, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, Verunreinigung: CH₂Cl₂, unten).

Spektrenanhang

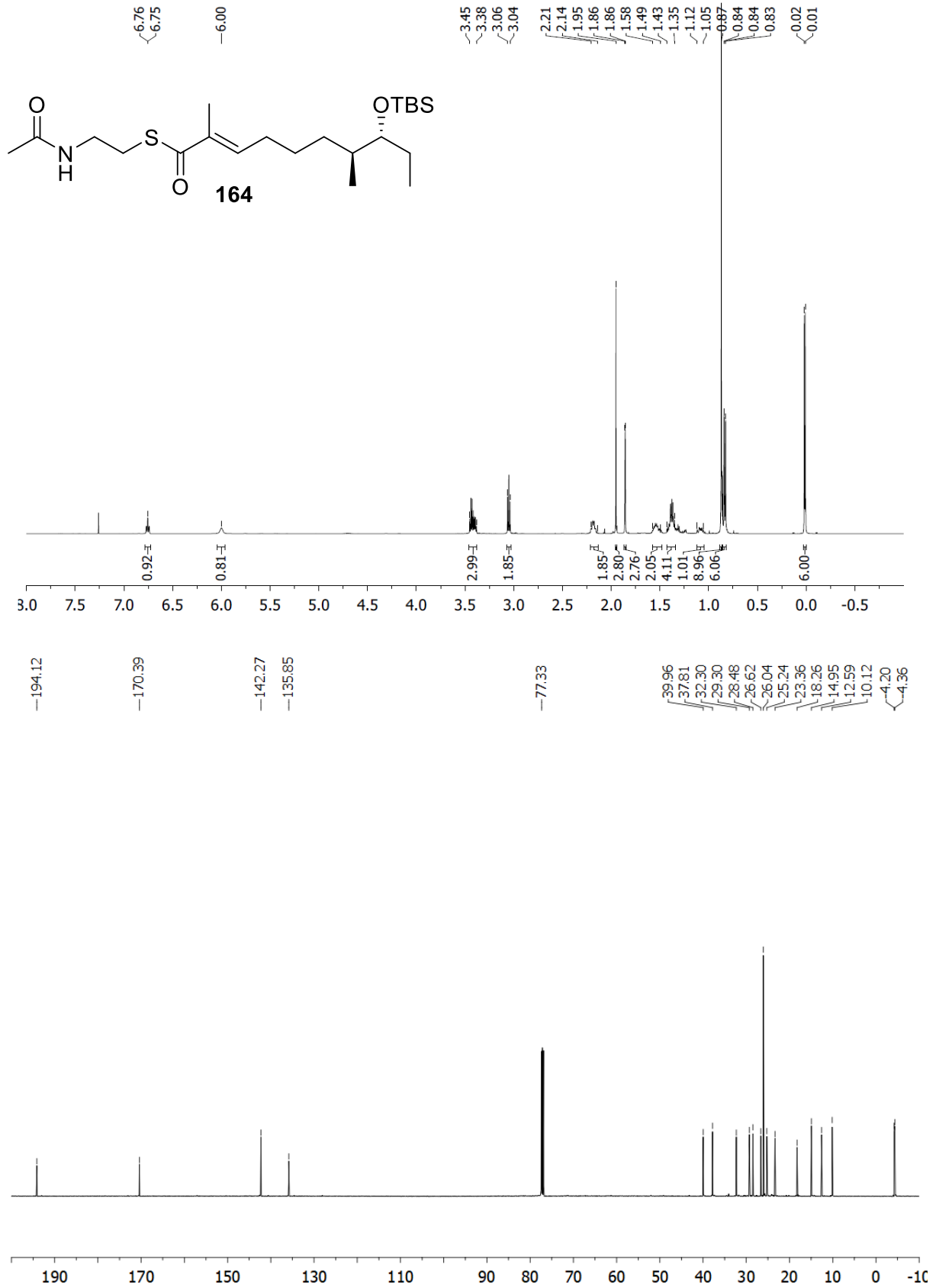


Abbildung 153: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

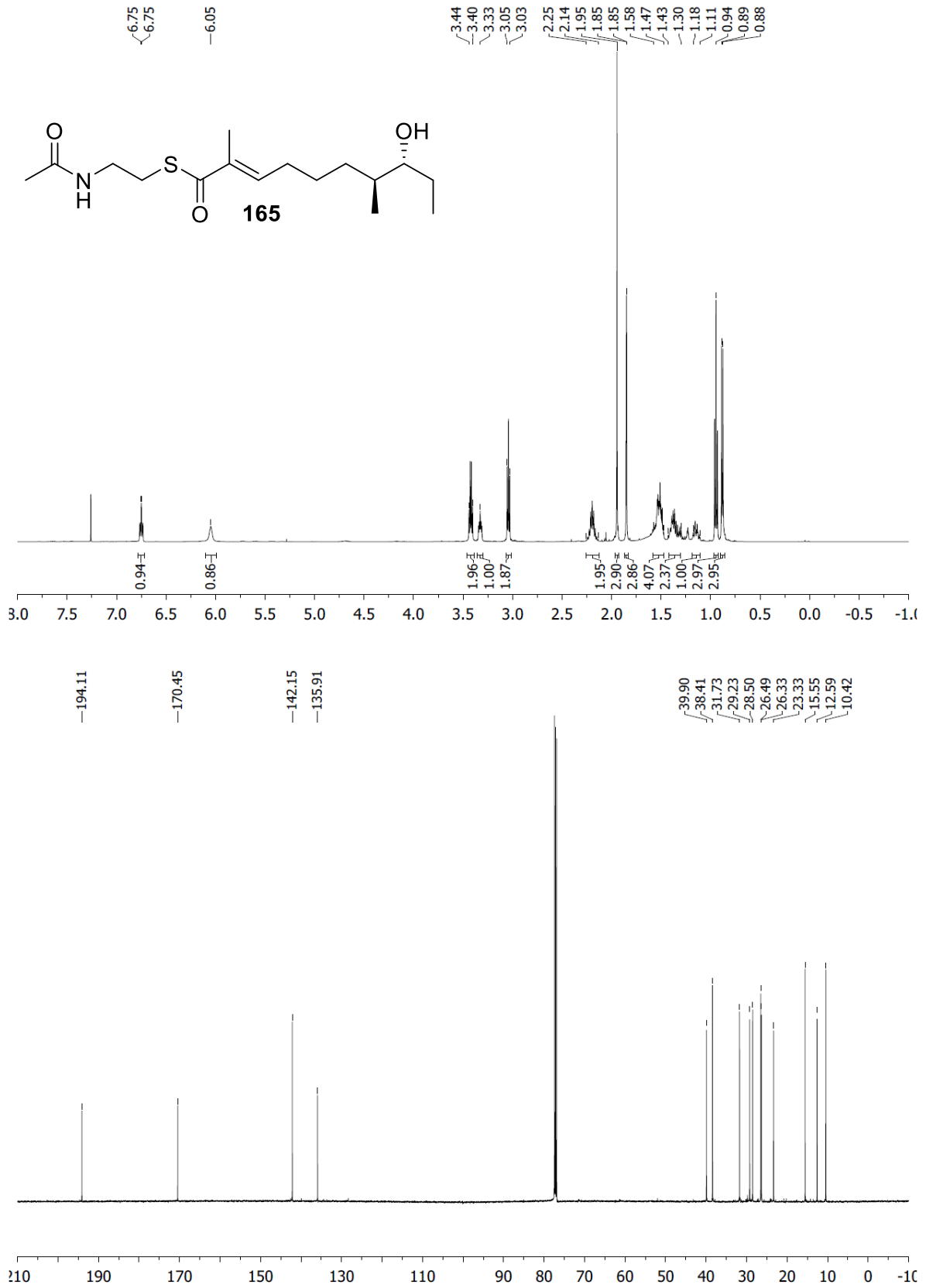


Abbildung 154: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

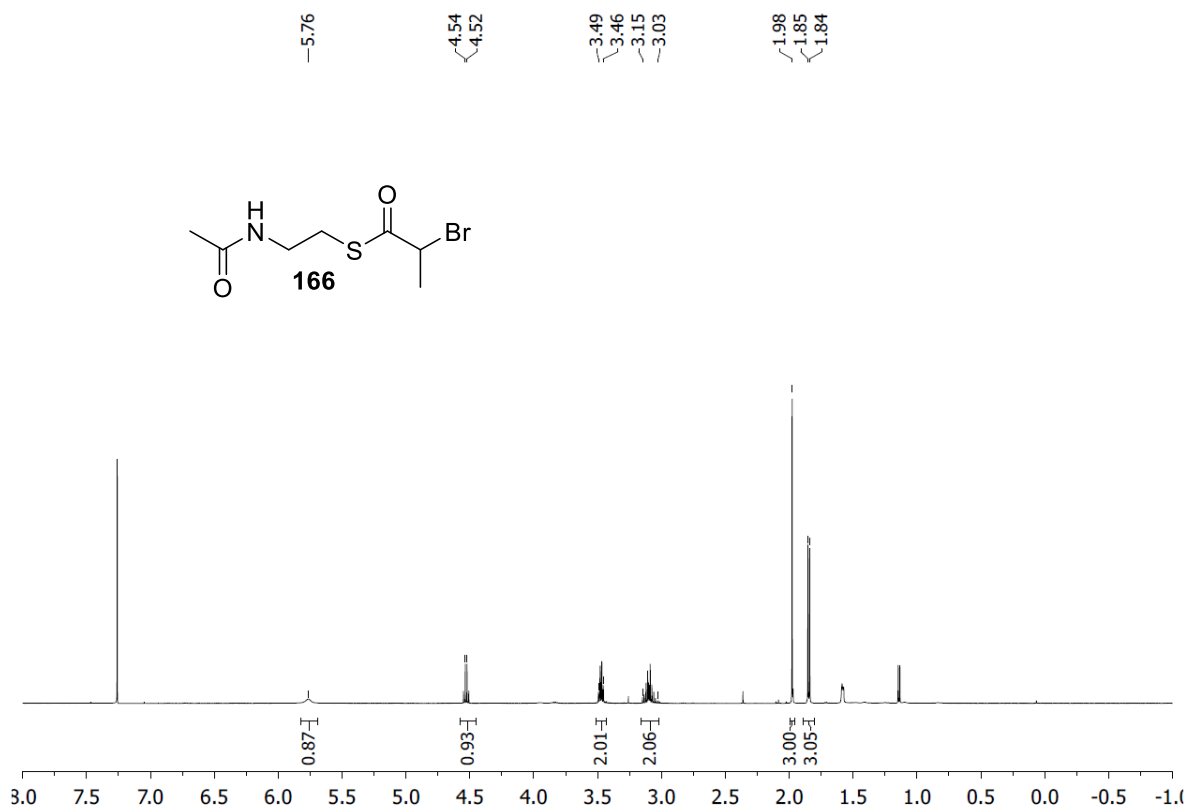


Abbildung 155: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: 2-Brompropionsäure).

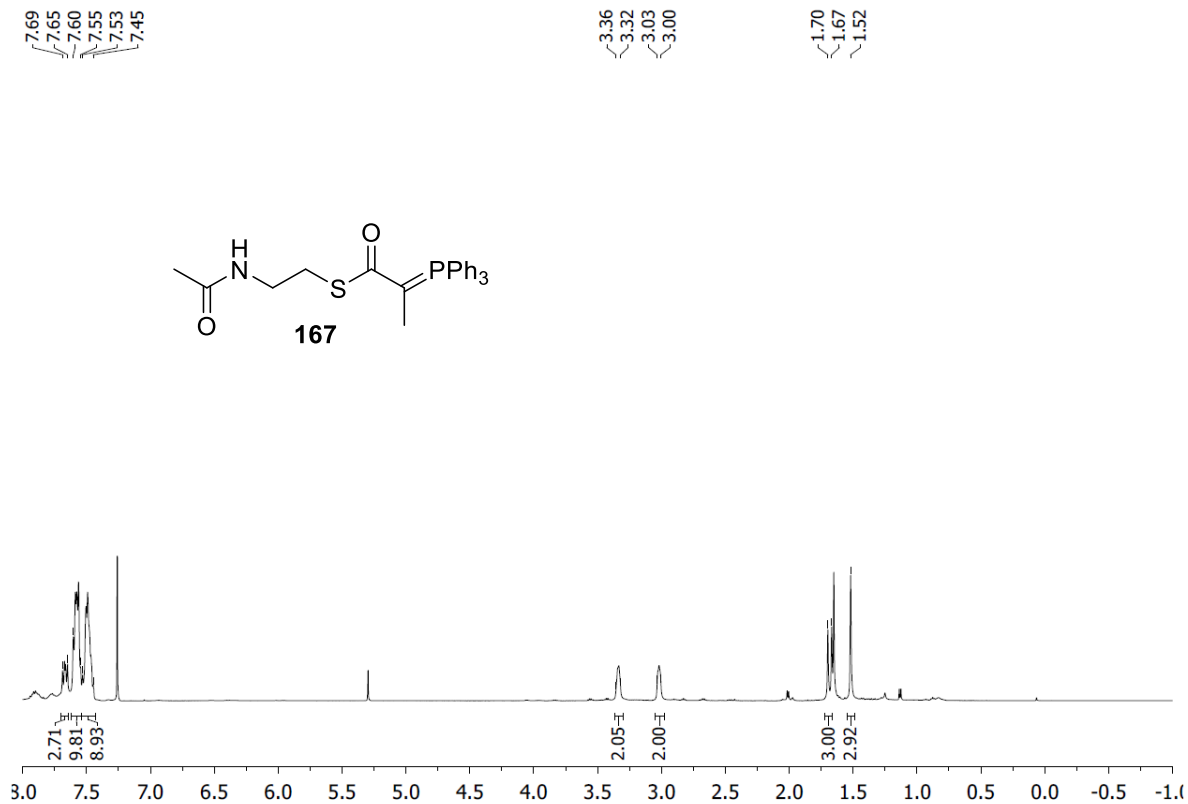


Abbildung 156: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: OPPh_3 , CH_2Cl_2).

Spektrenanhang

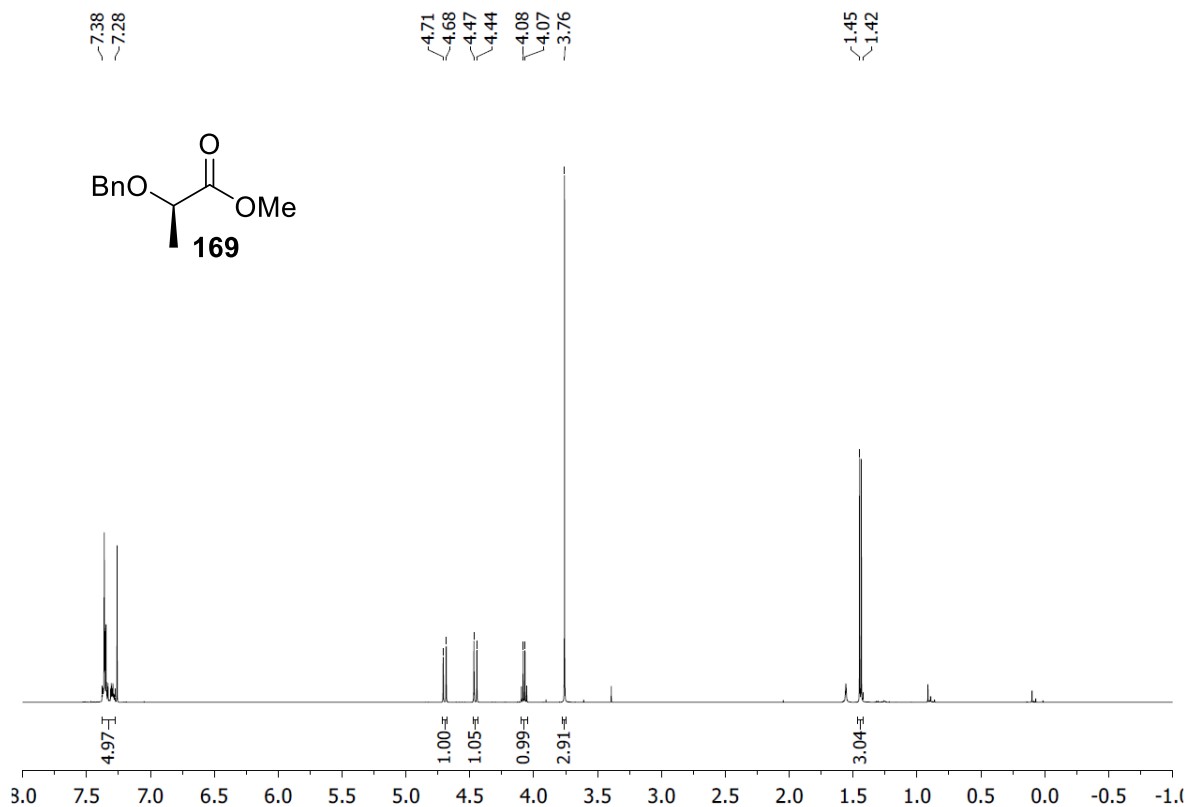


Abbildung 157: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

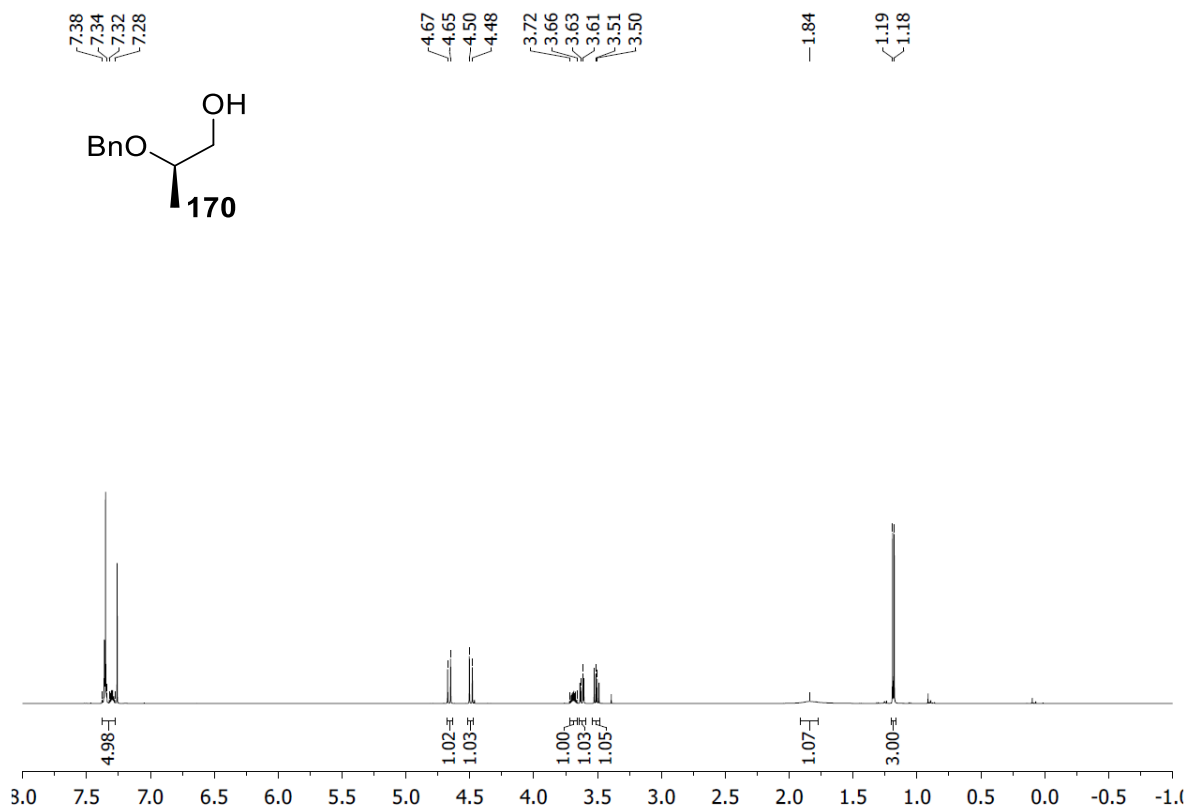


Abbildung 158: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

Spektrenanhang

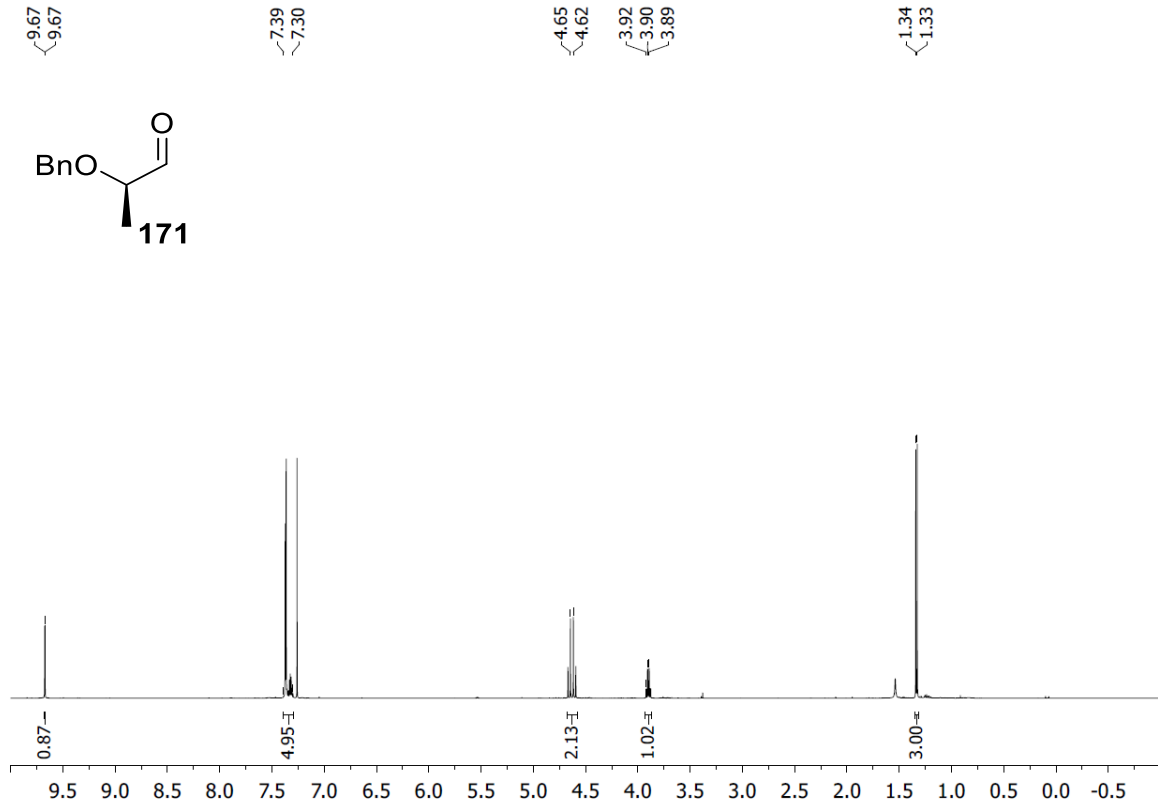
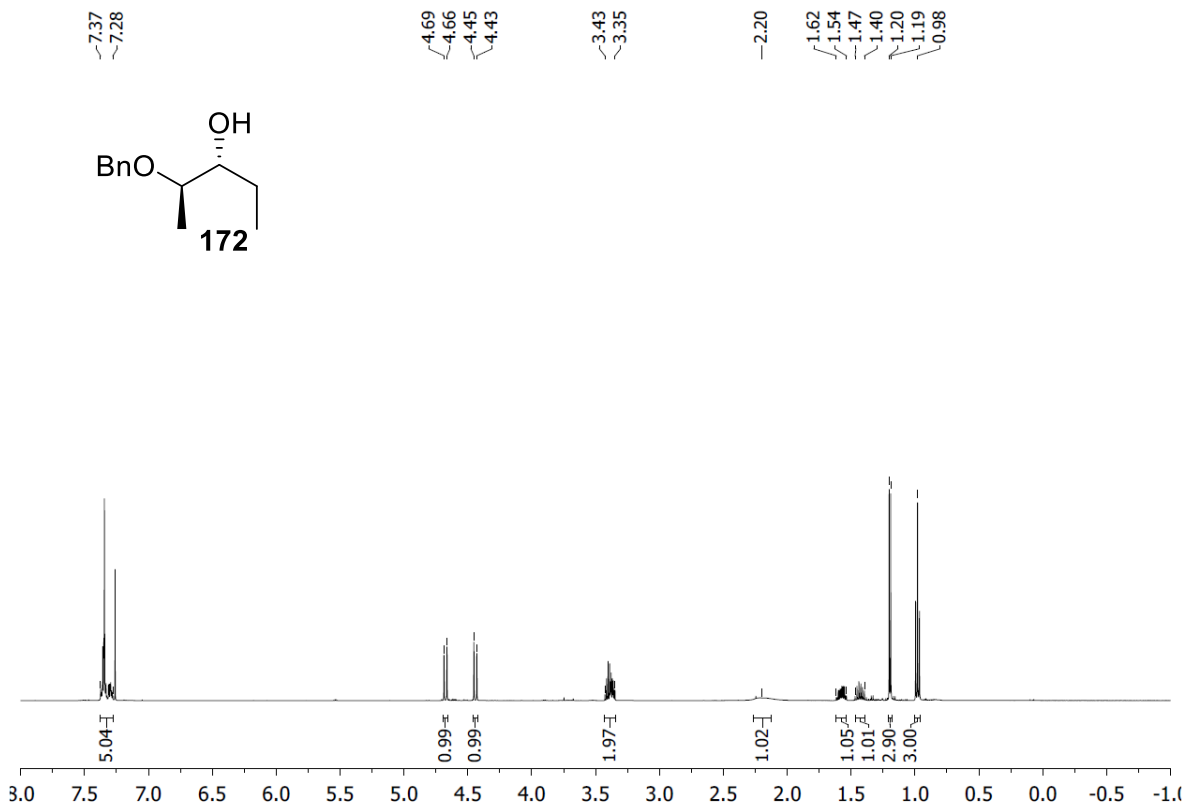


Abbildung 159: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).



Spektrenanhang

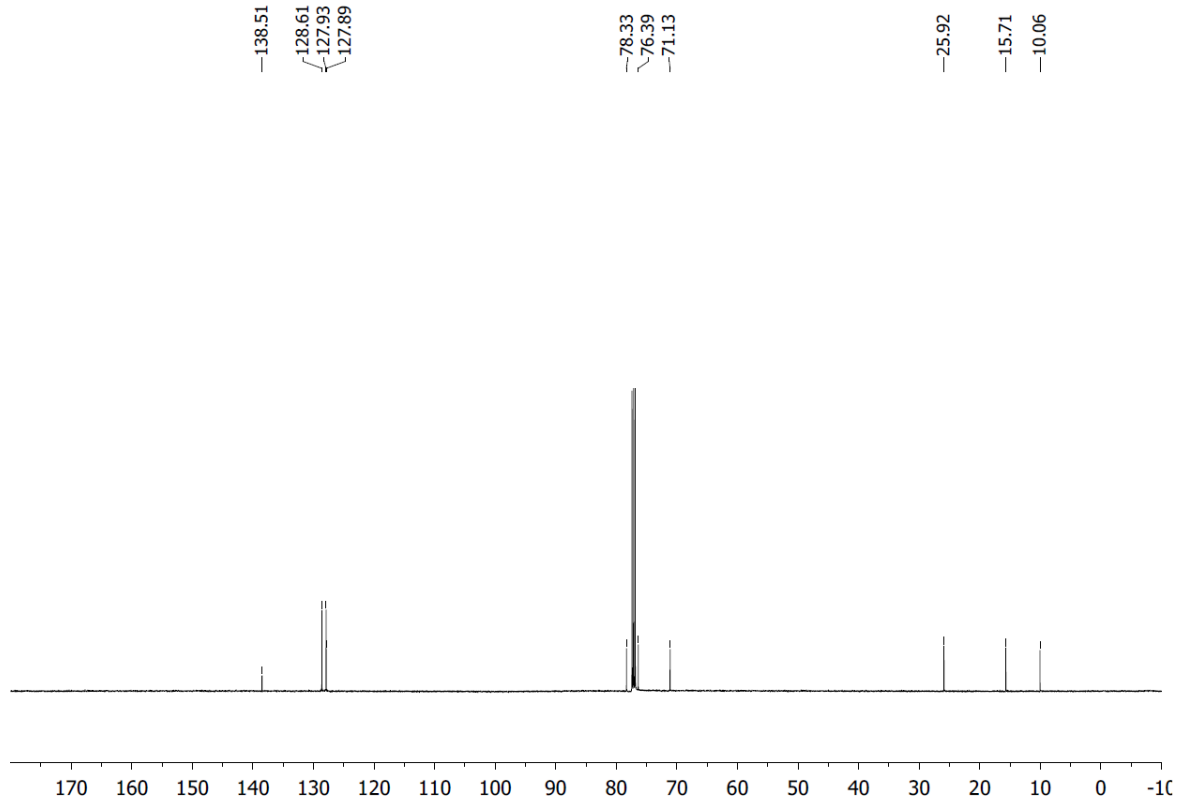
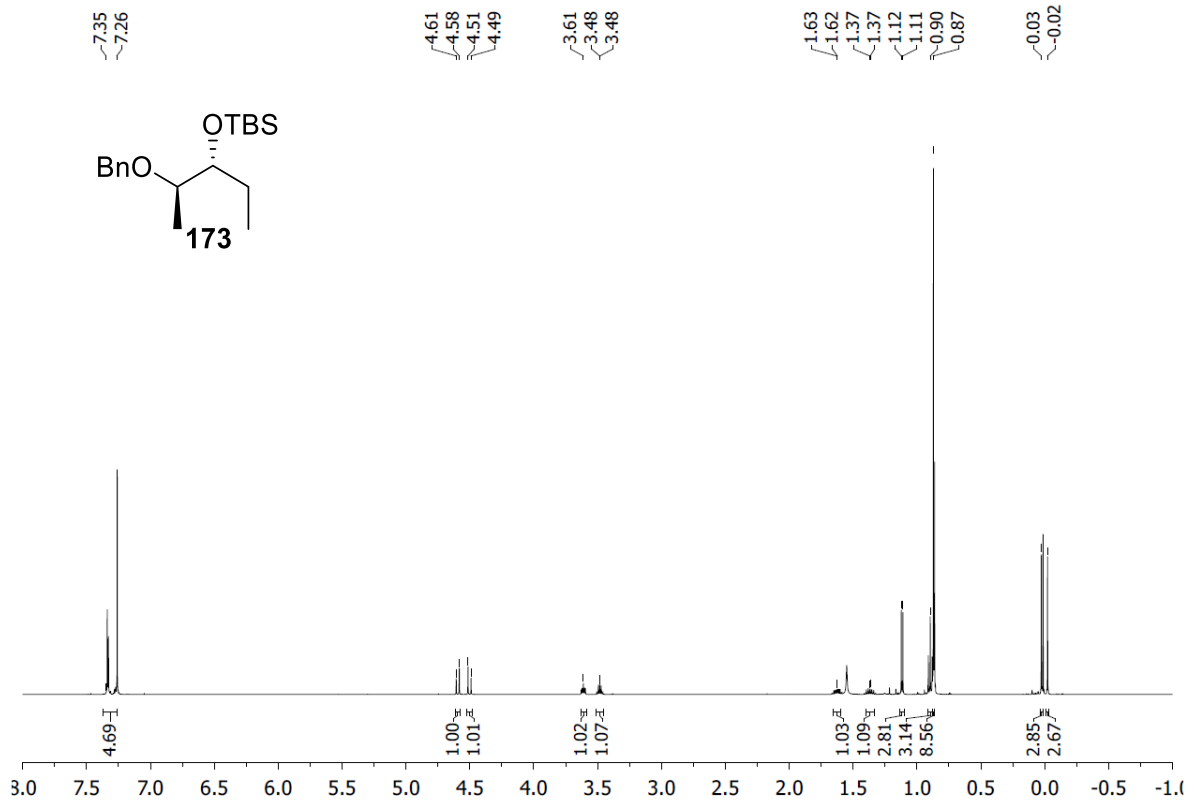


Abbildung 160: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).



Spektrenanhang

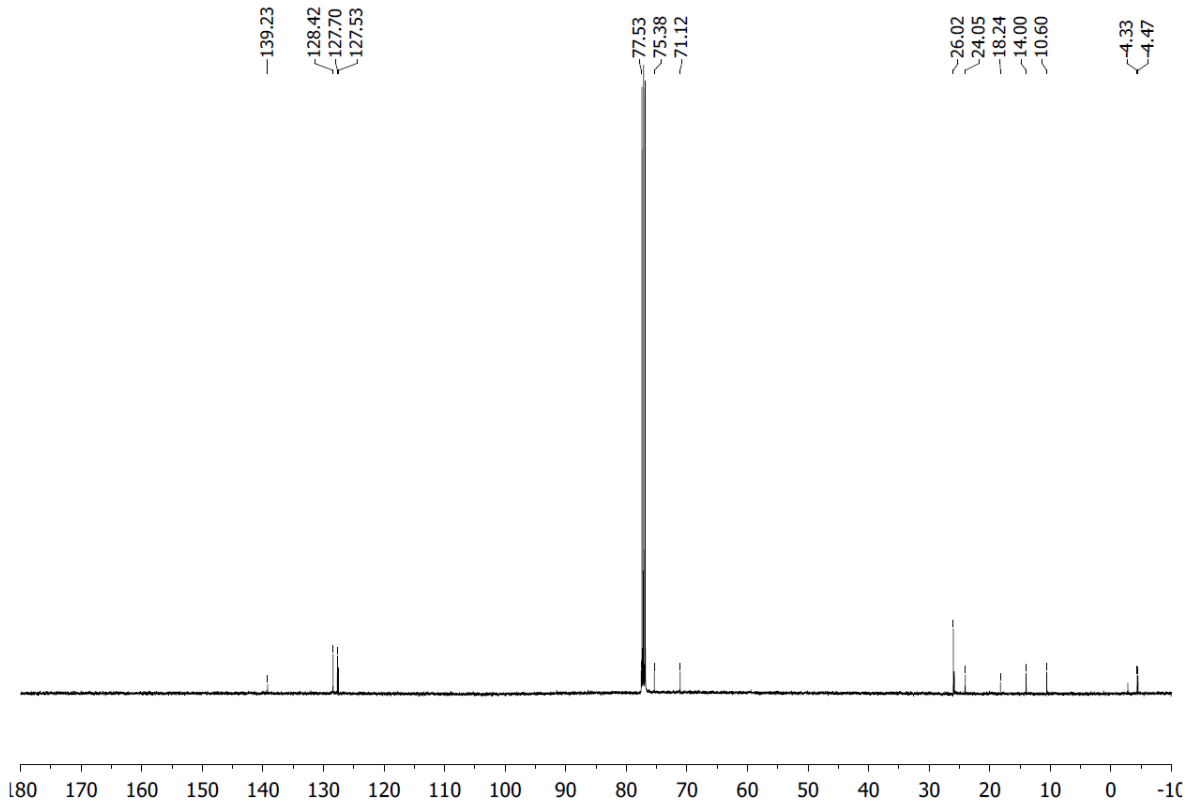


Abbildung 161: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: H_2O , oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, unten).

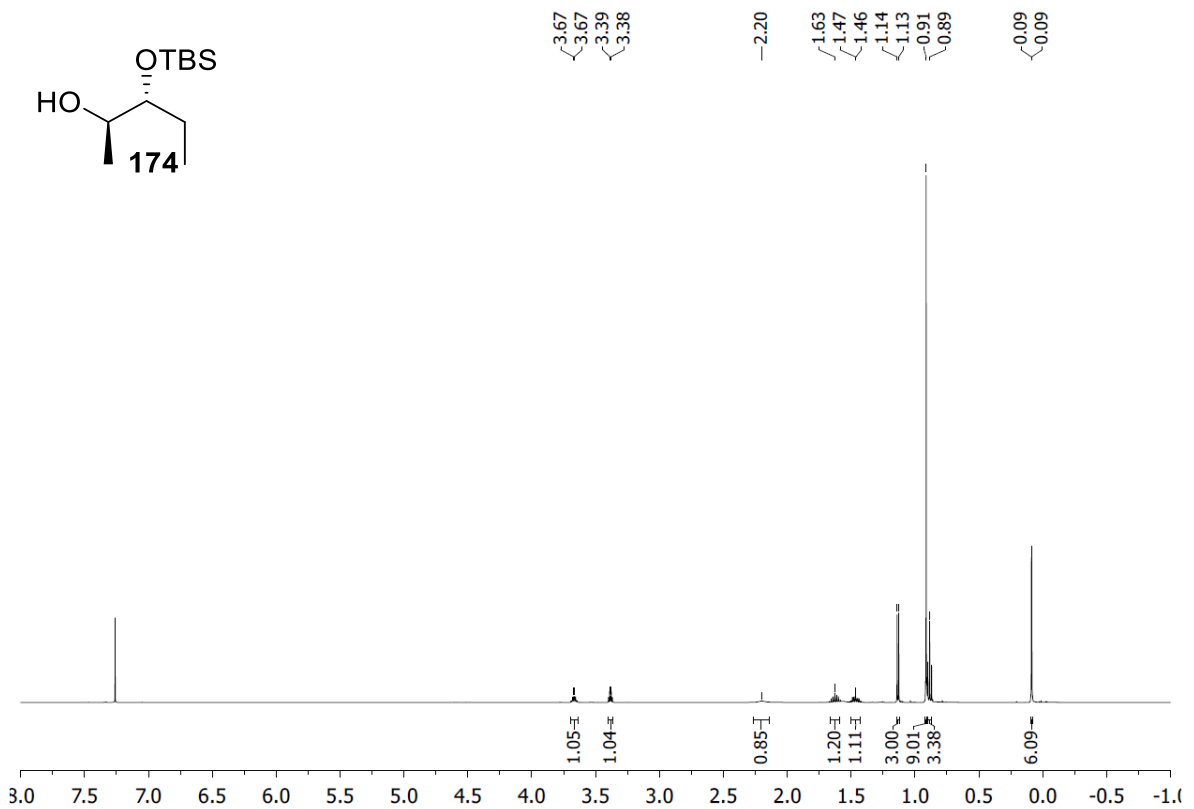


Abbildung 162: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz).

Spektrenanhang

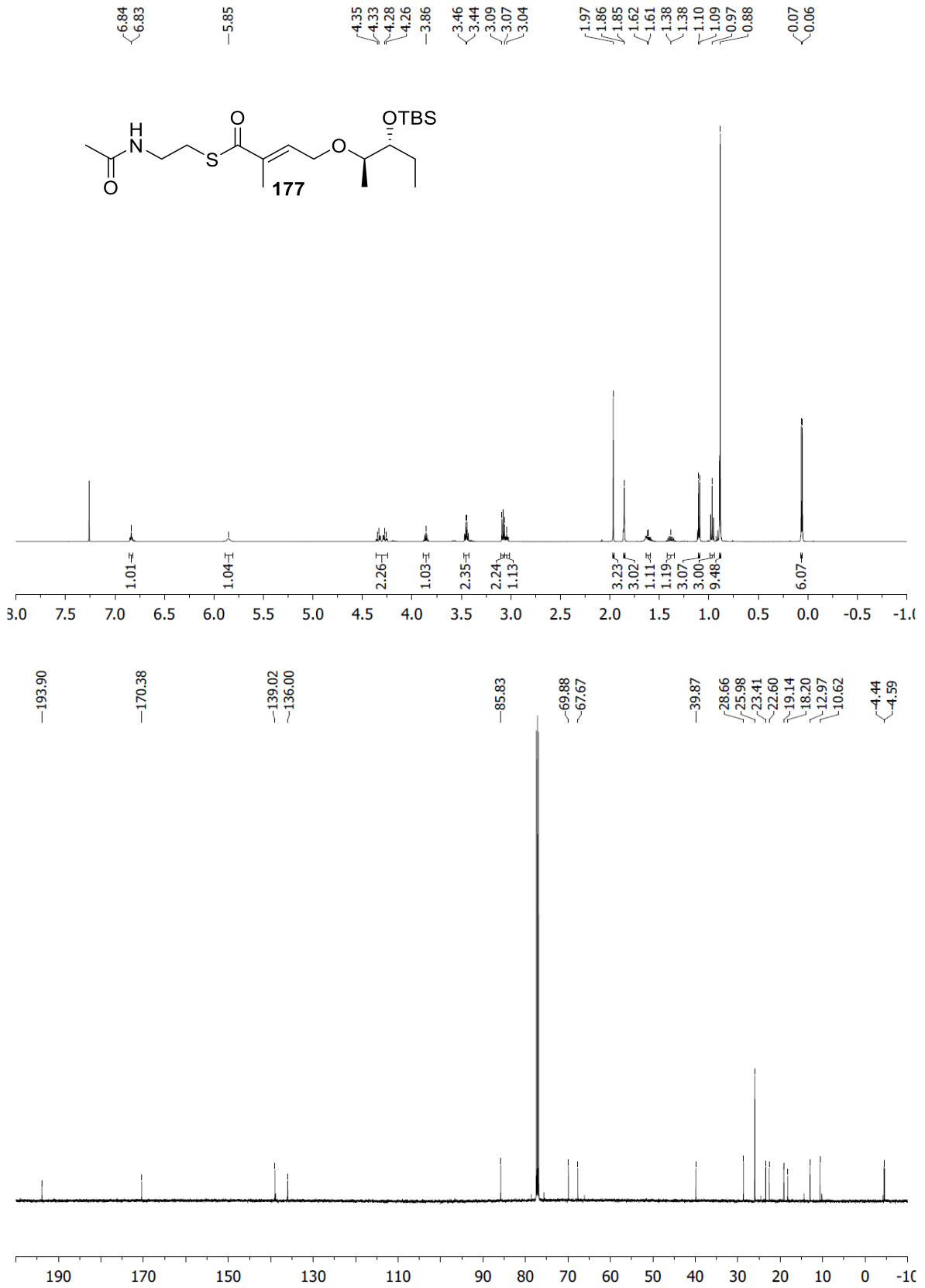


Abbildung 163: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

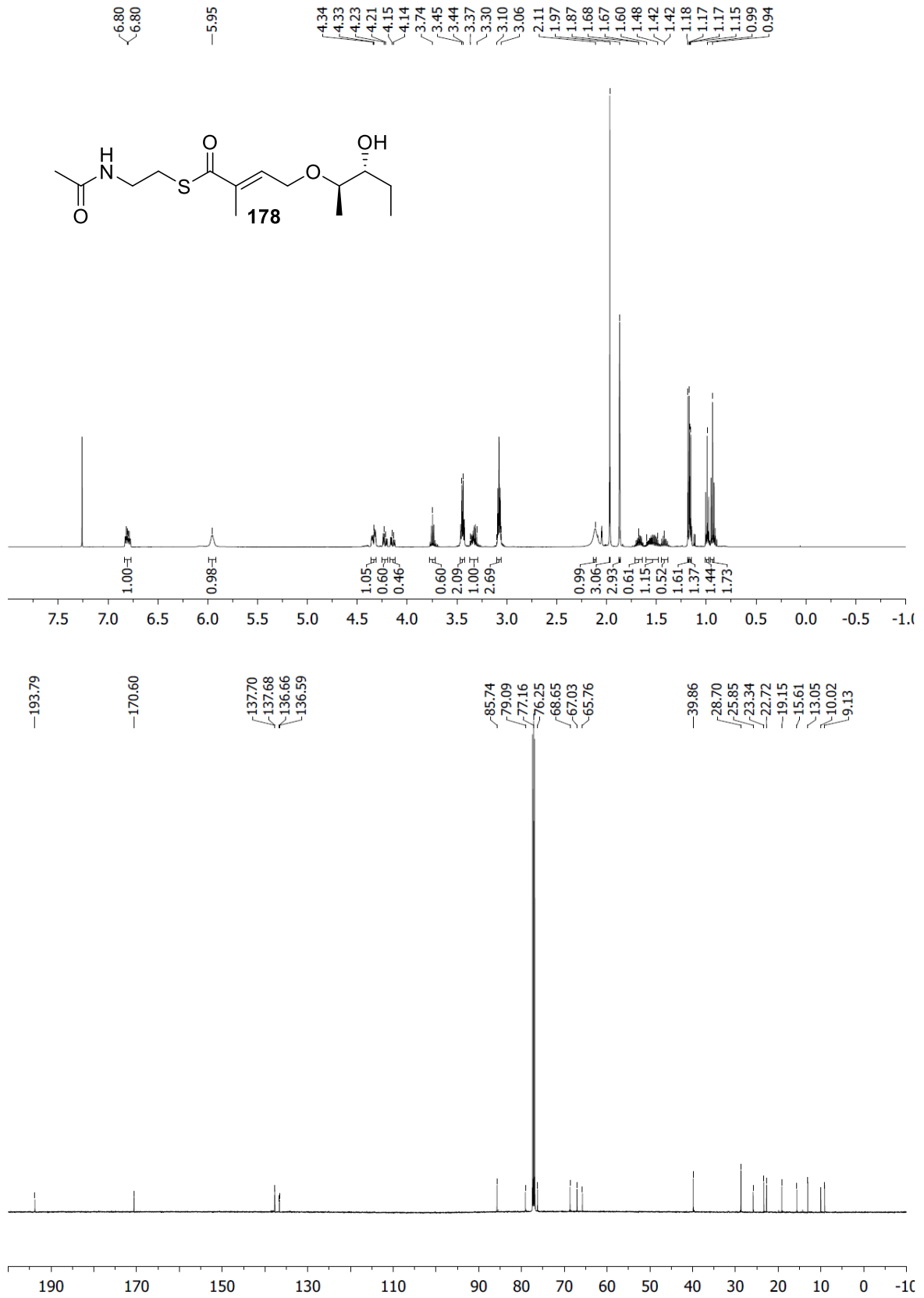


Abbildung 164: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

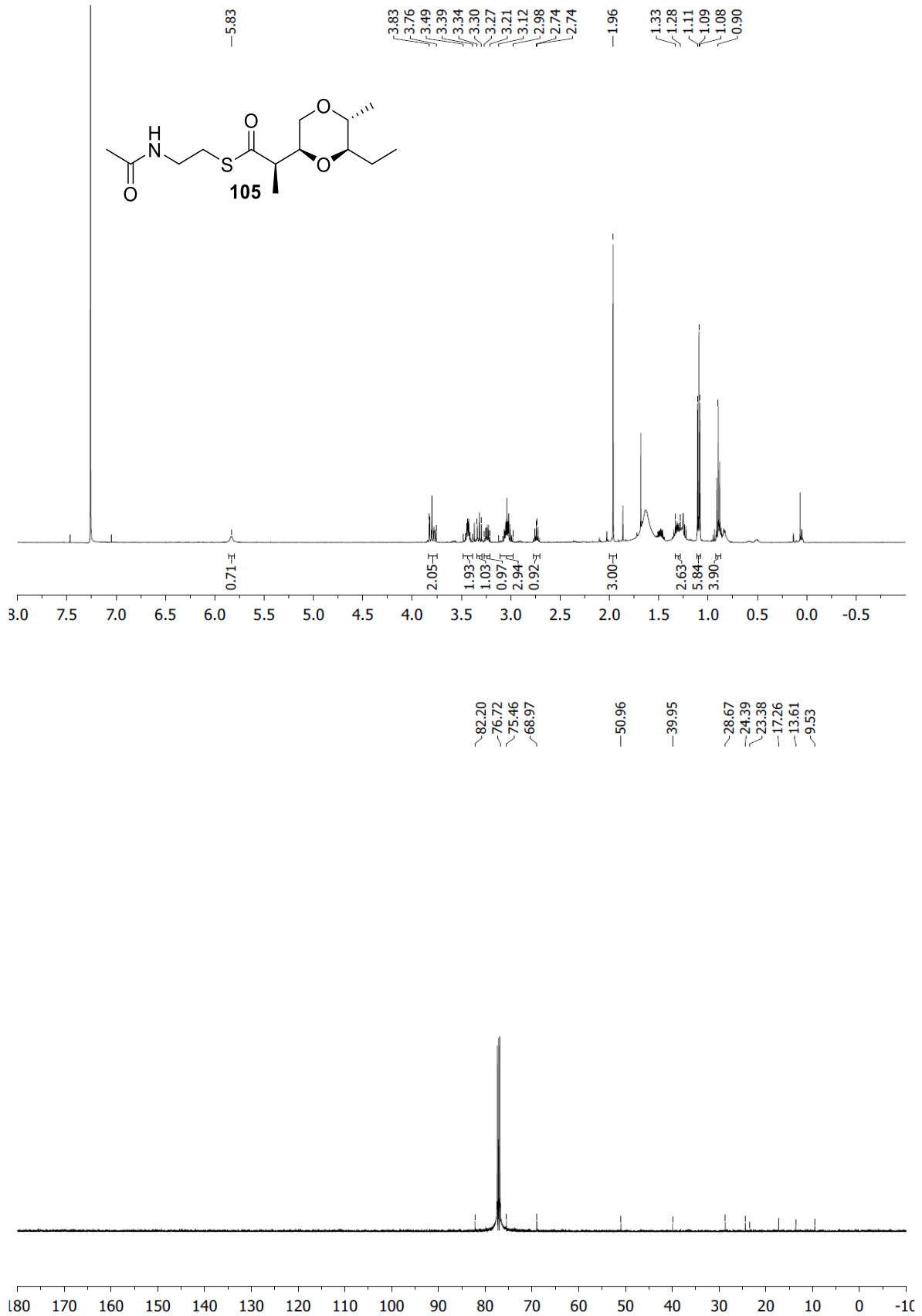


Abbildung 165: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (phasenkorrigiertes JMOD, CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

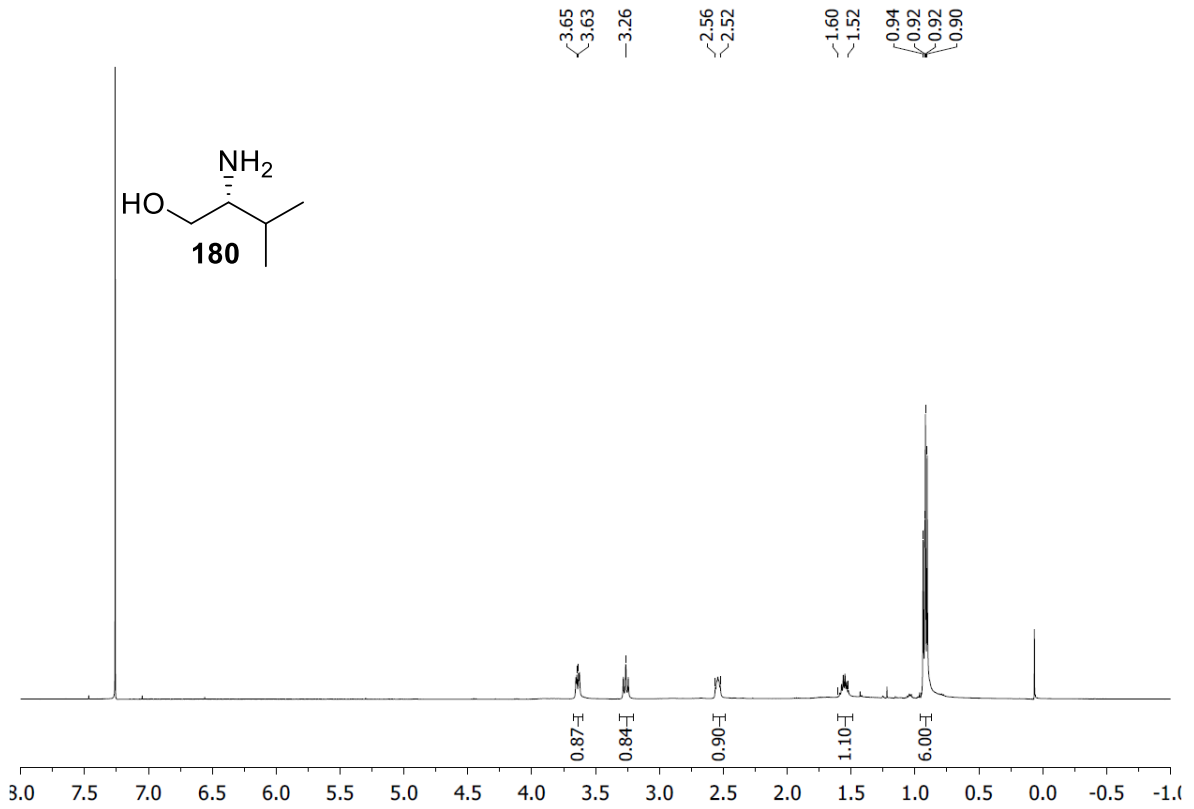


Abbildung 166: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: Silikonfett).

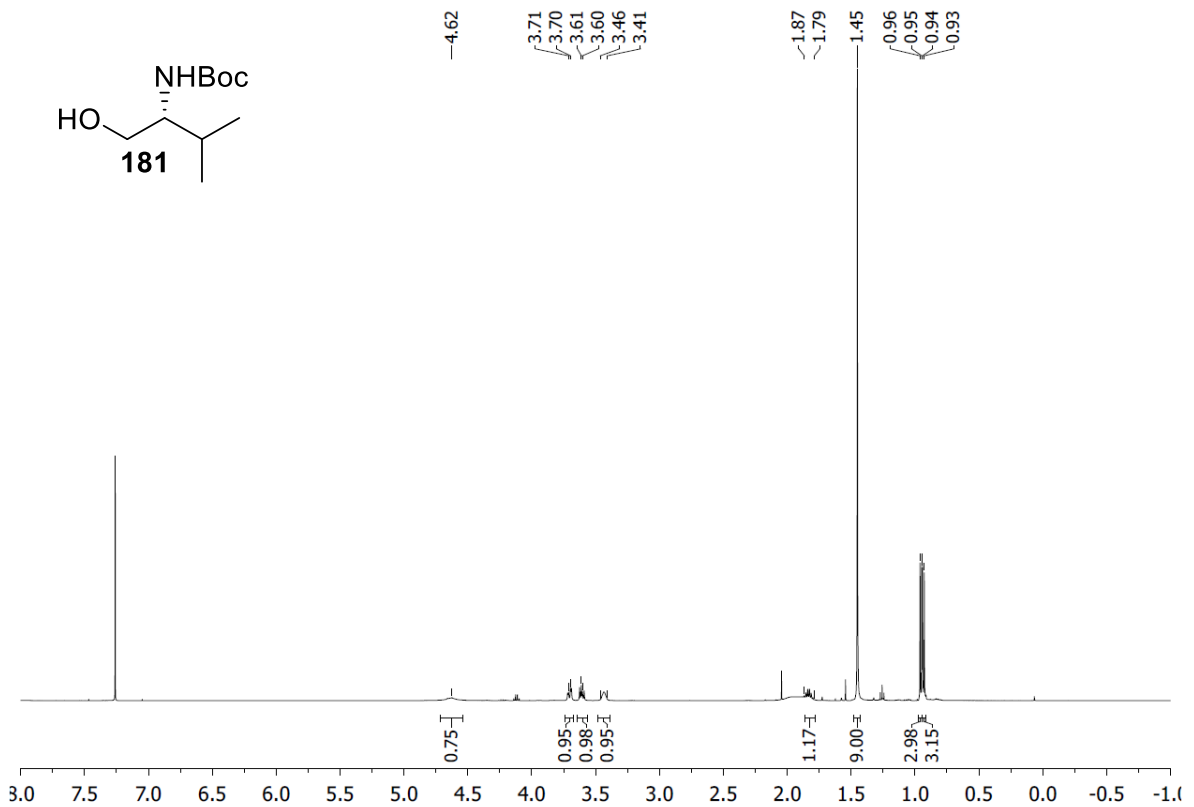


Abbildung 167: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: EtOAc).

Spektrenanhang

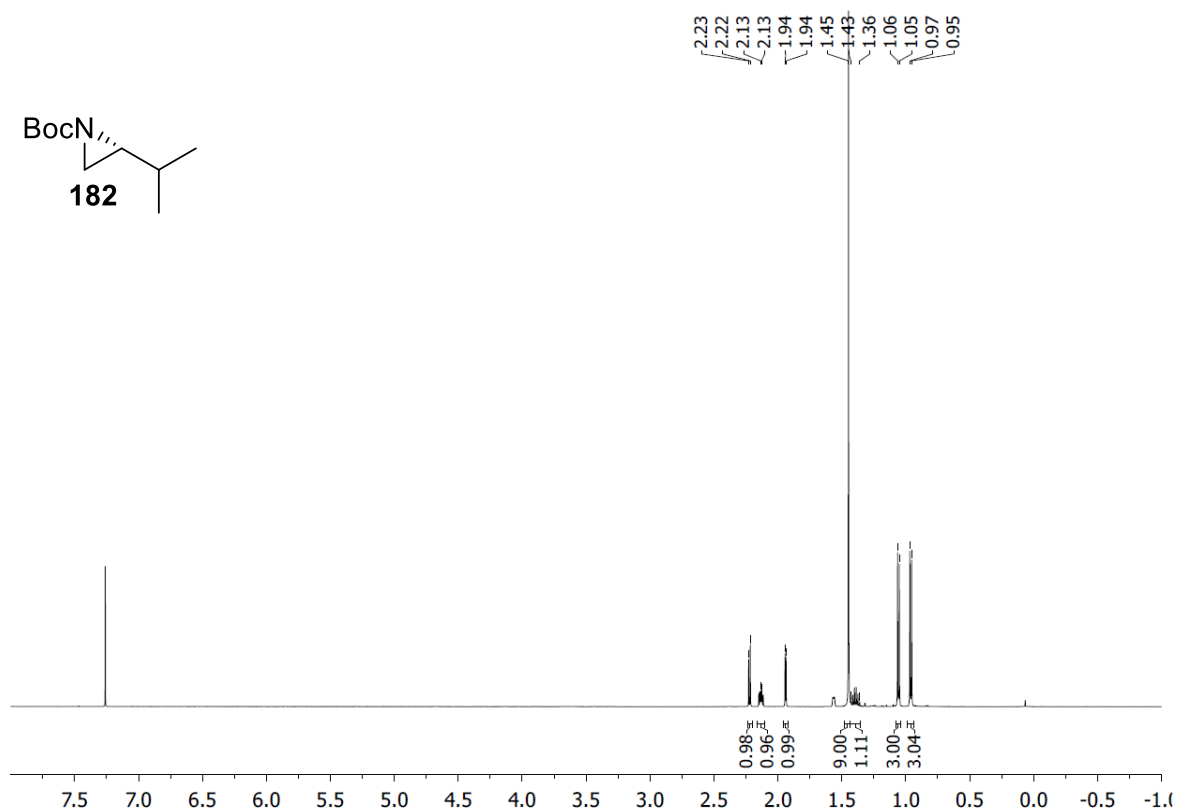


Abbildung 168: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

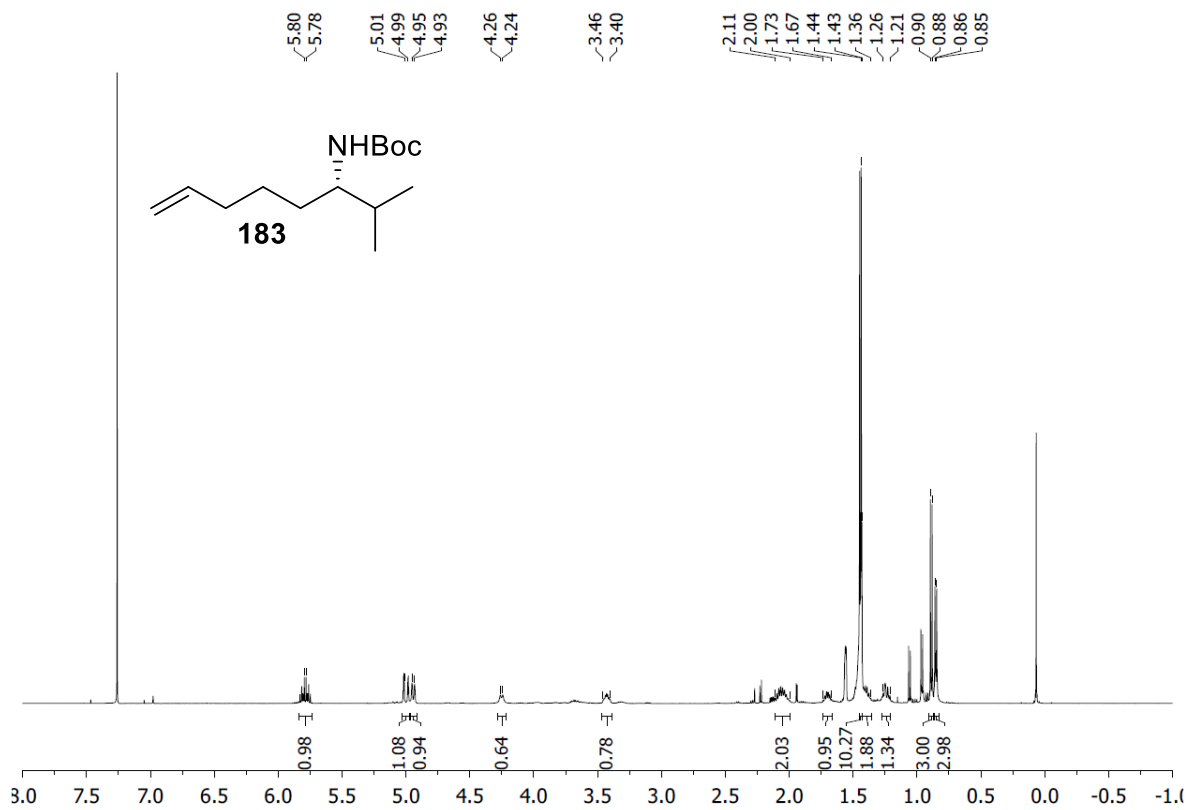


Abbildung 169: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Silikonfett).

Spektrenanhang

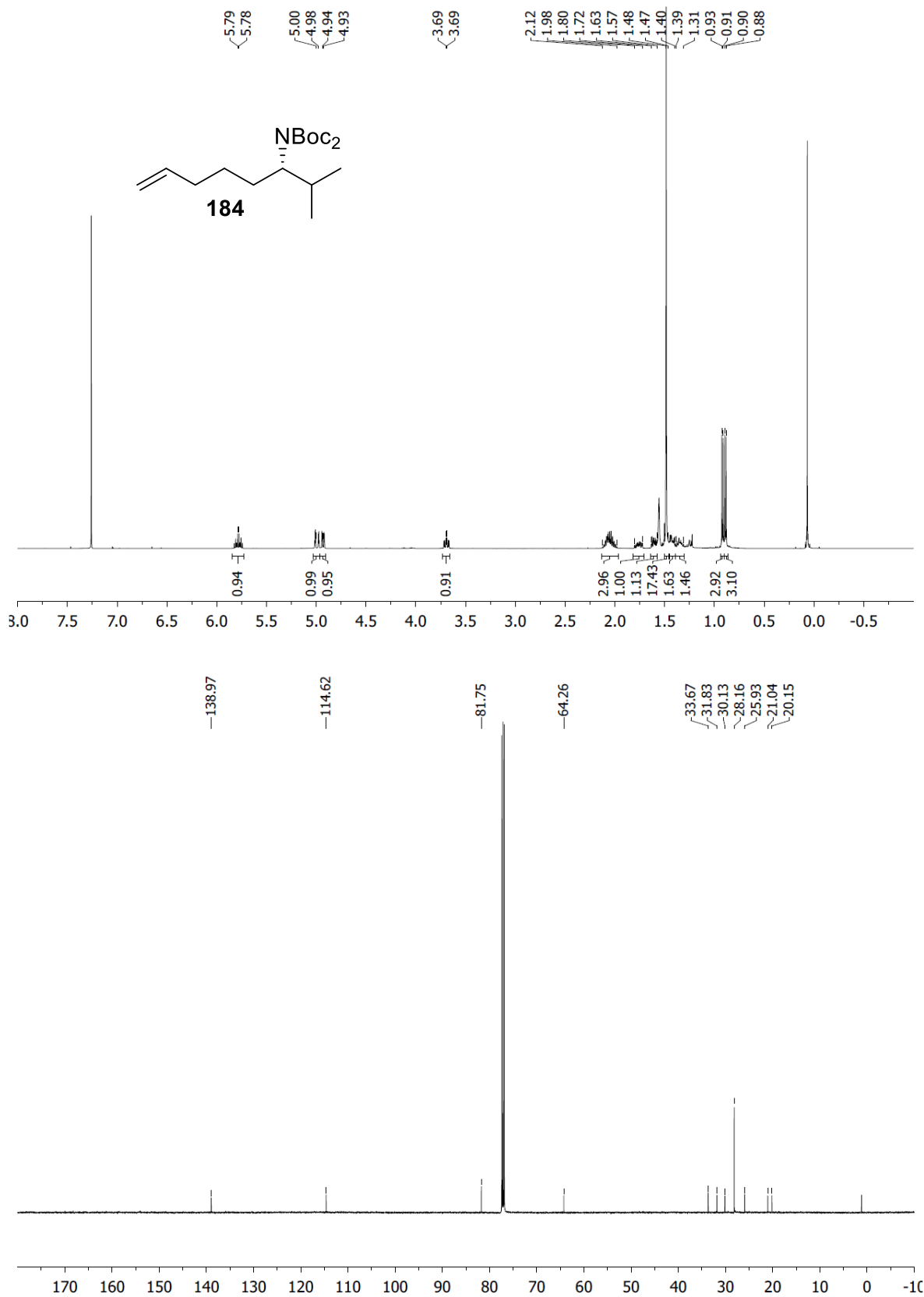


Abbildung 170: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, Verunreinigung: Silikonfett, unten).

Spektrenanhang

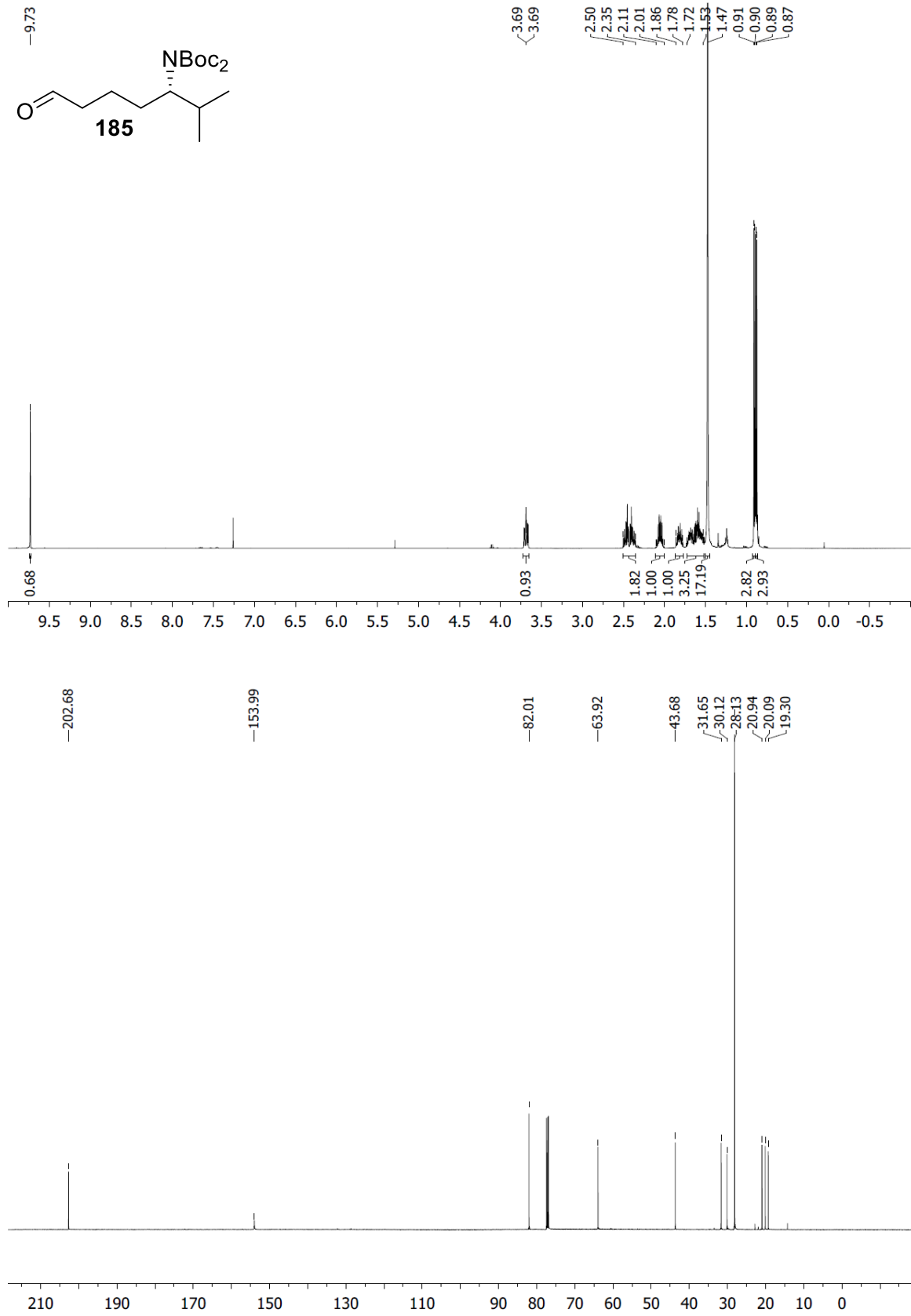


Abbildung 171: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

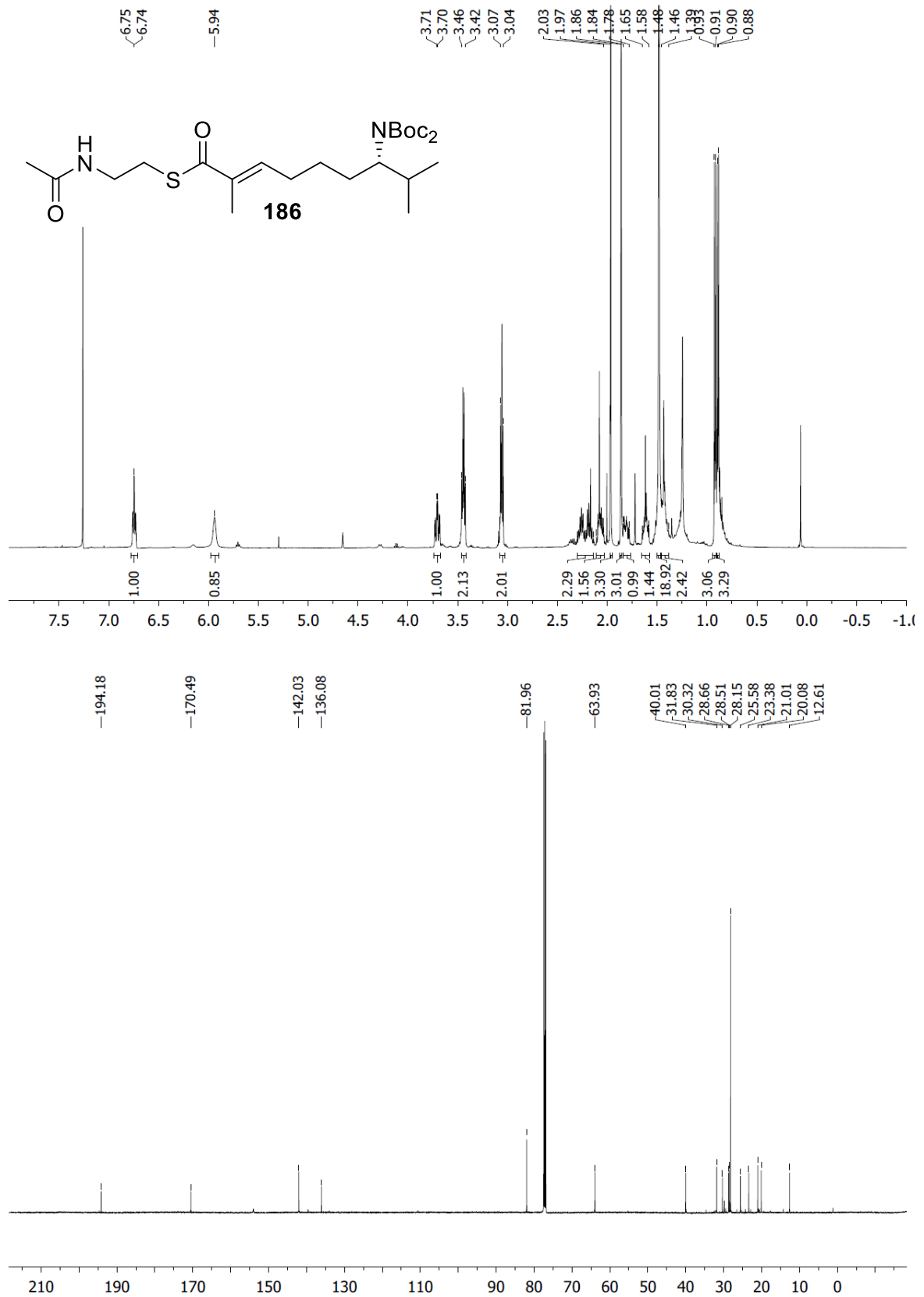


Abbildung 172: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

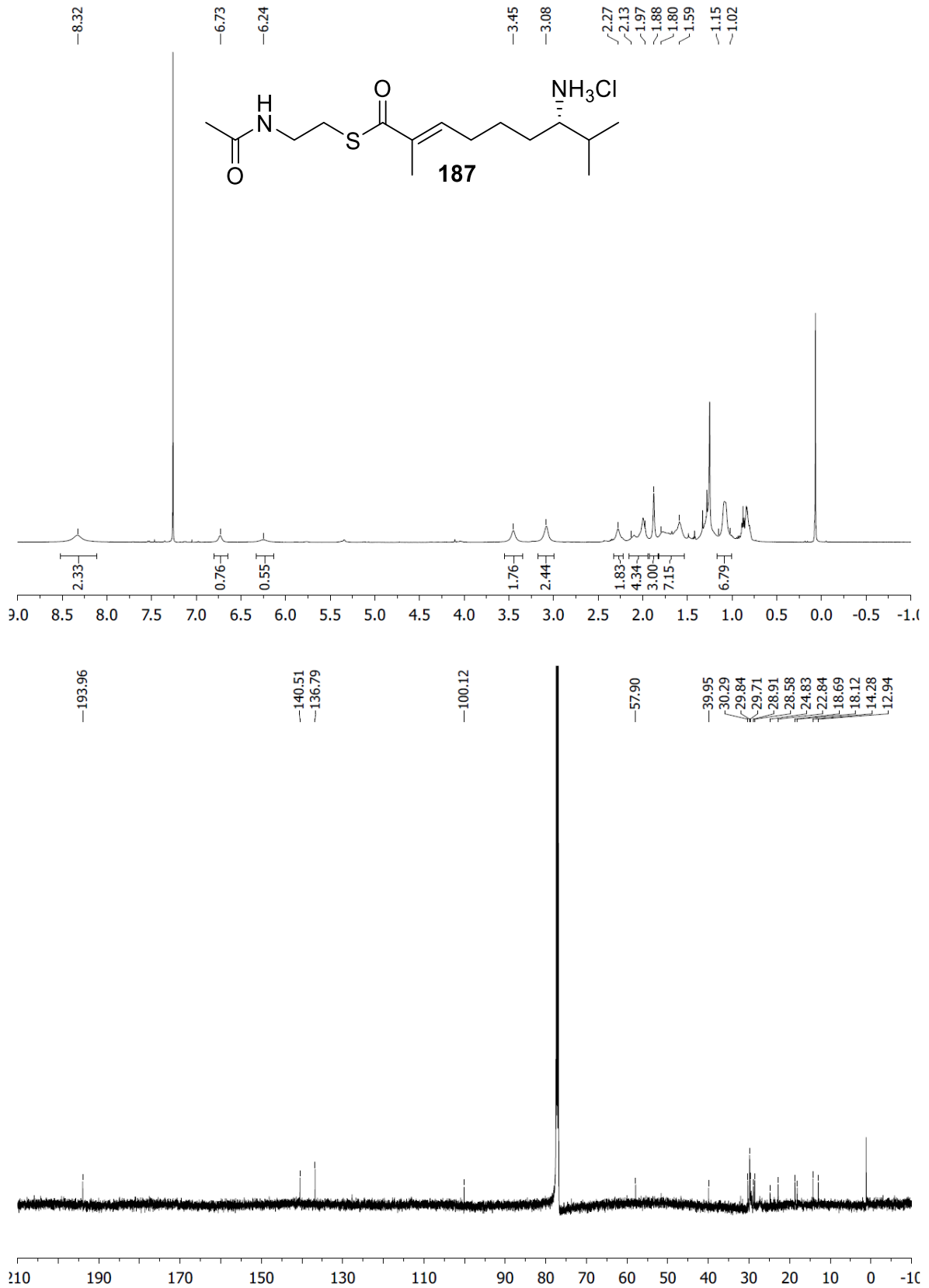


Abbildung 173: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, Verunreinigung: Silikonfett, unten).

Spektrenanhang

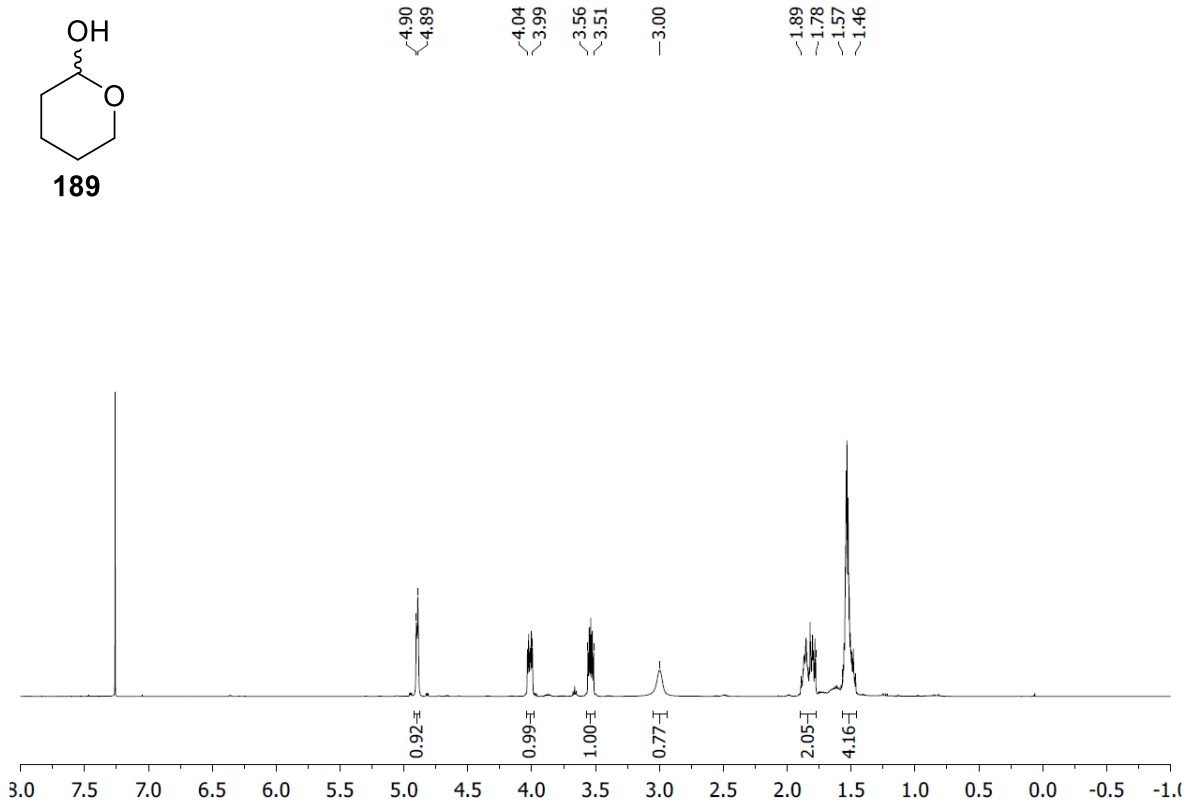


Abbildung 174: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz).

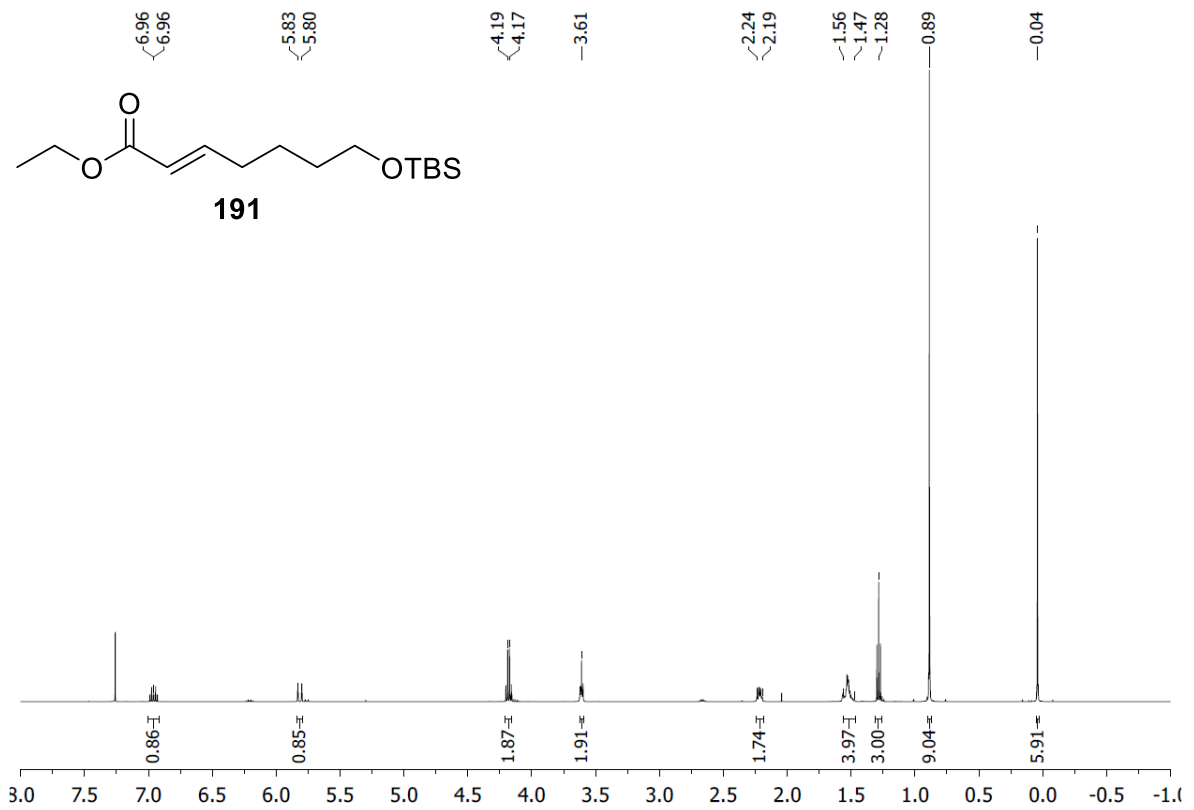


Abbildung 175: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz).

Spektrenanhang

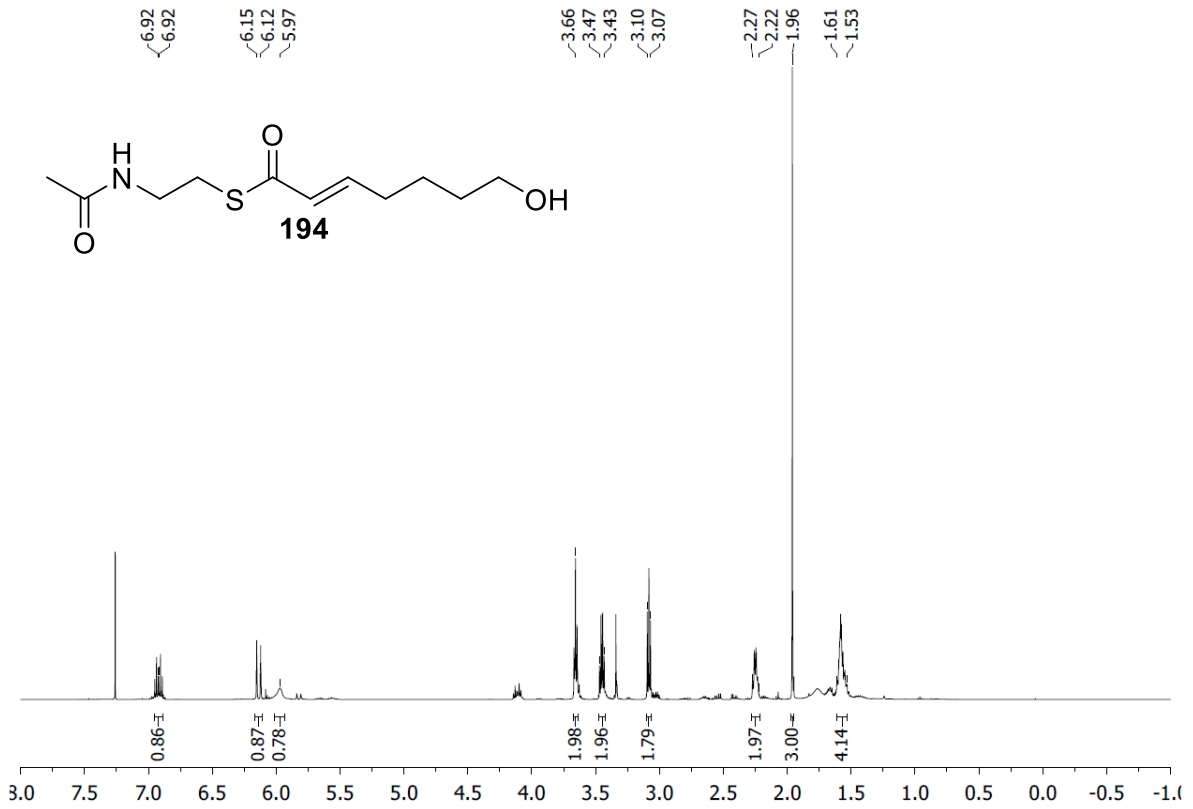


Abbildung 176: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

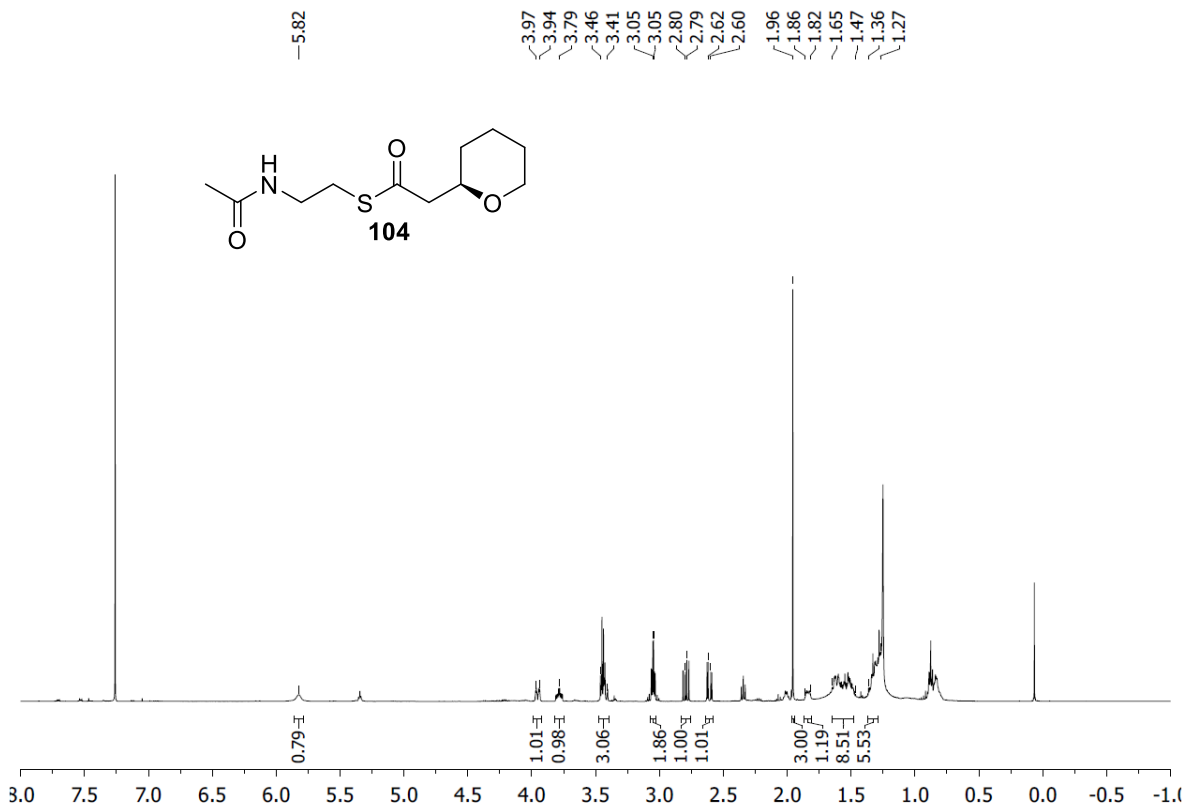


Abbildung 177: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett).

Spektrenanhang

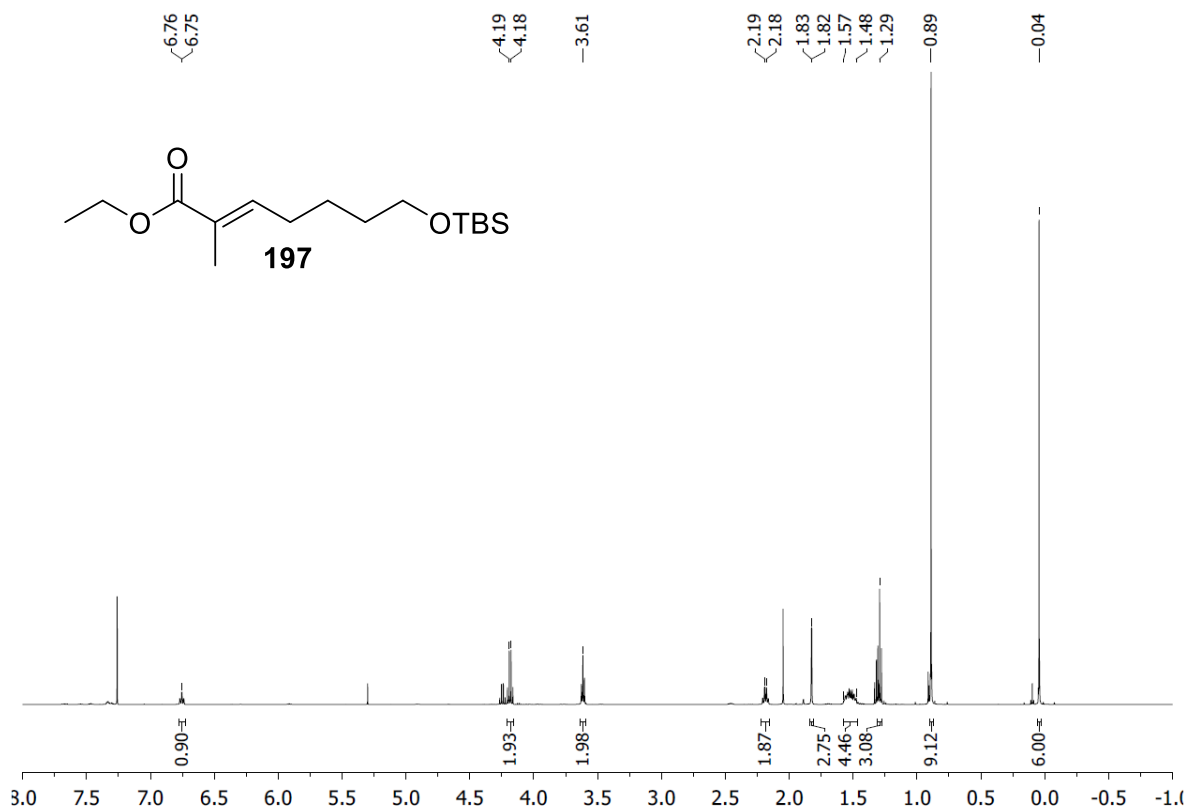


Abbildung 178: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: CH₂Cl₂, Aceton).

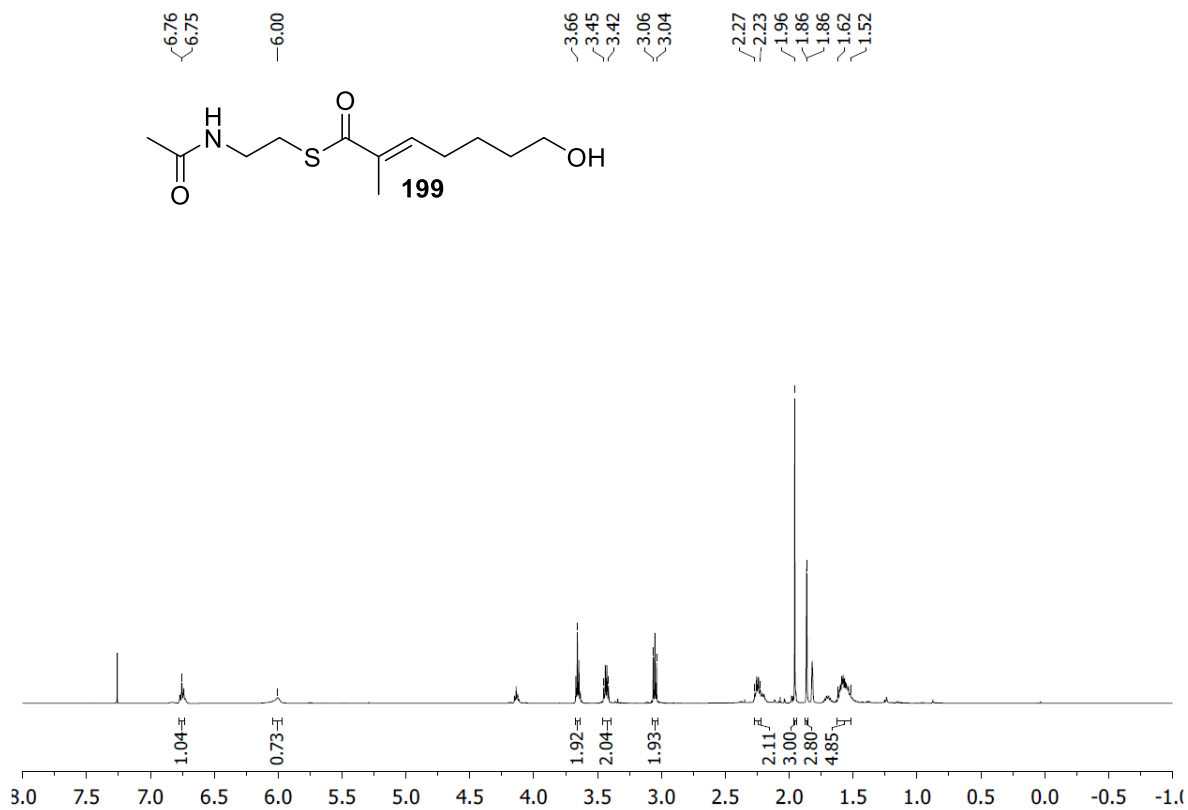


Abbildung 179: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett).

Spektrenanhang

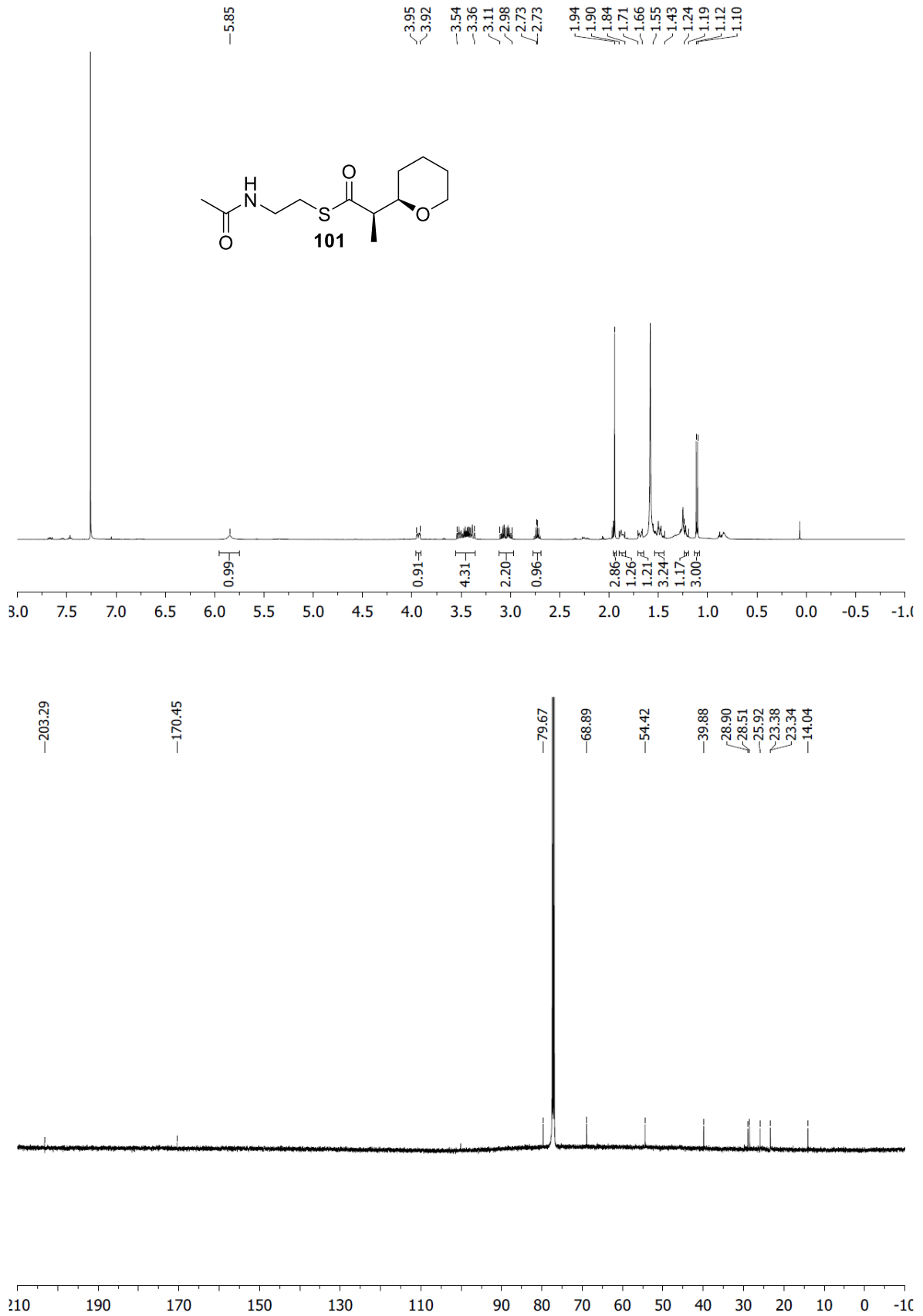


Abbildung 180: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

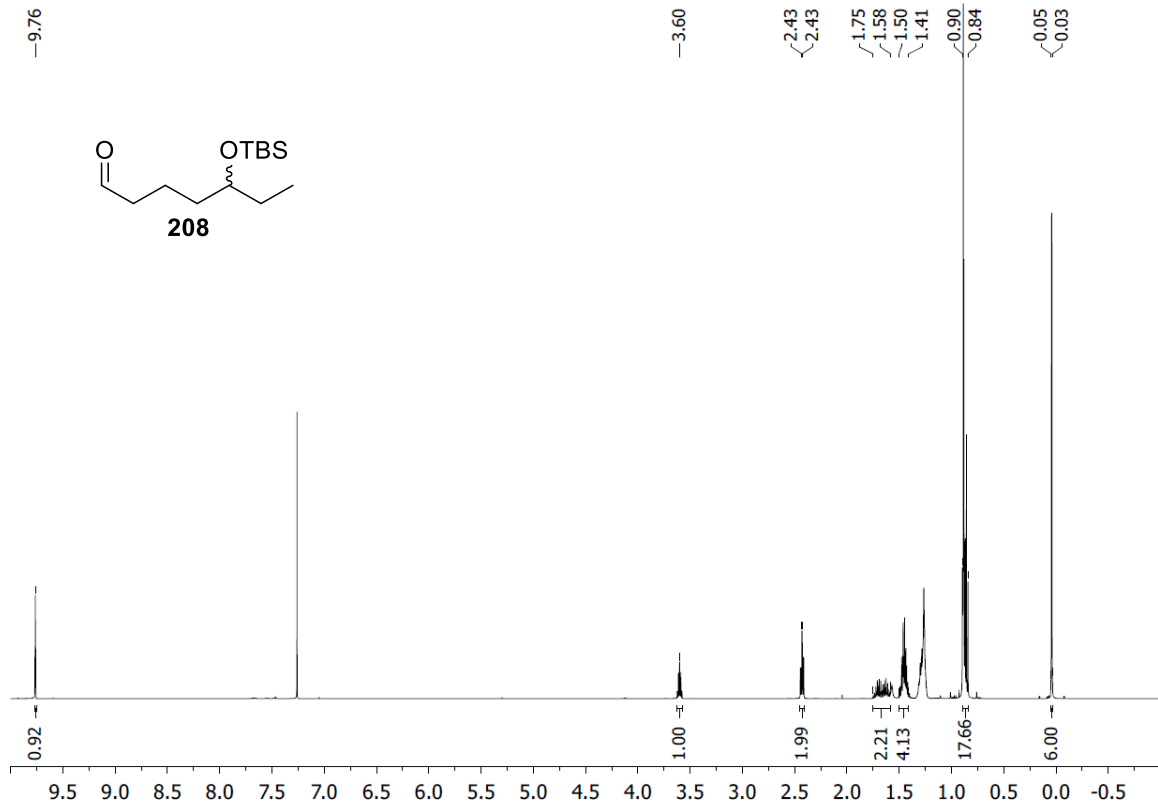


Abbildung 181: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigung: Aliphaten, H_2O).

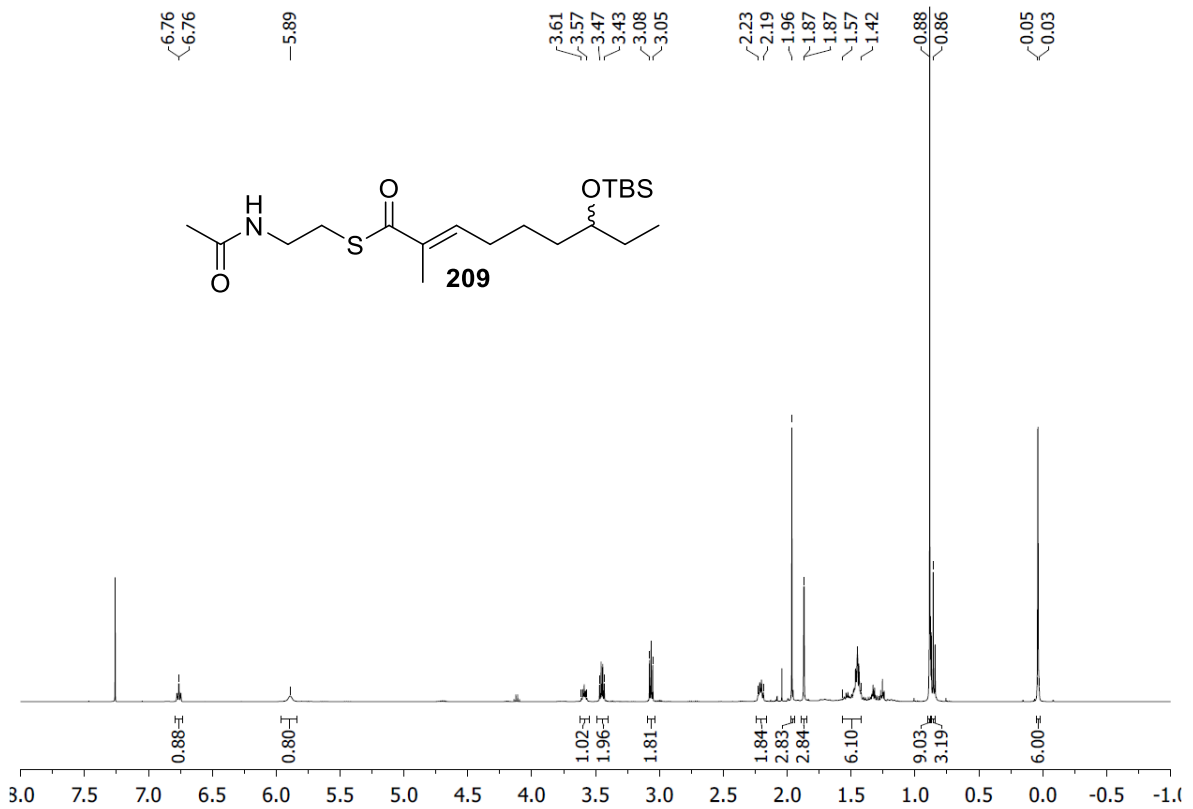


Abbildung 182: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: Aliphaten, EtOAc).

Spektrenanhang

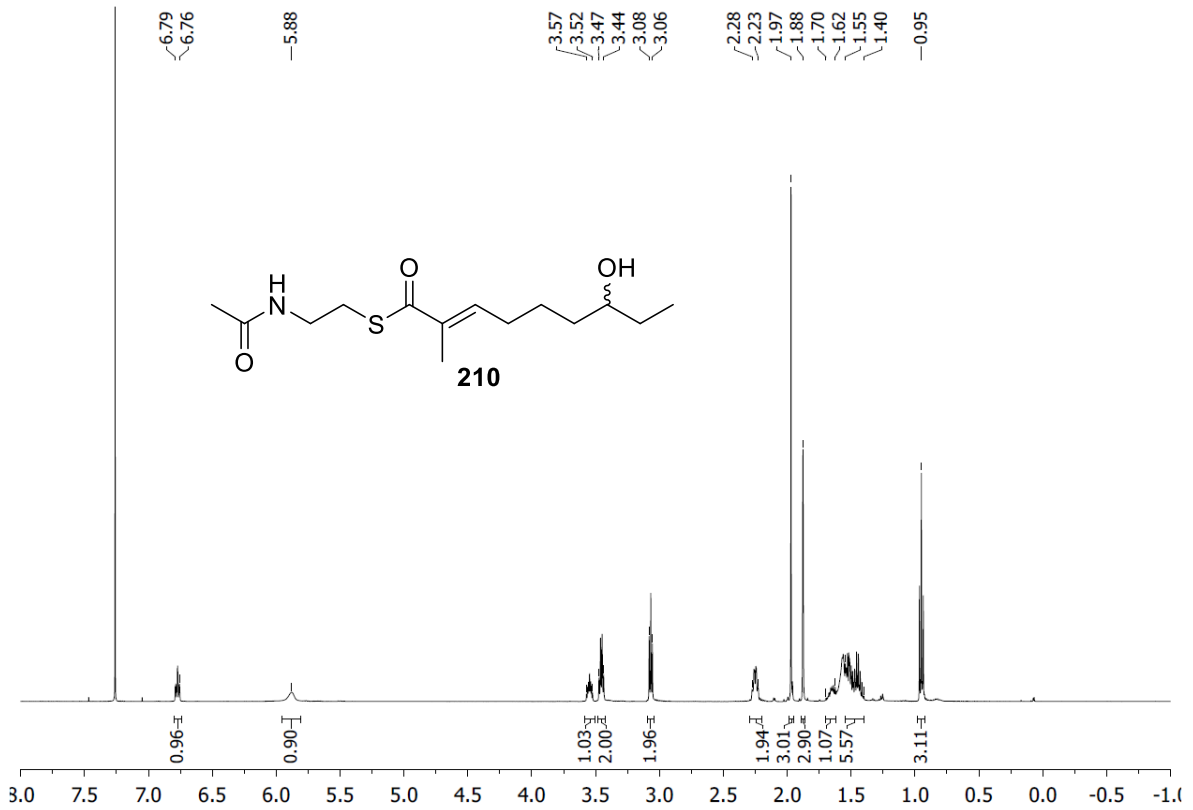


Abbildung 183: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O).

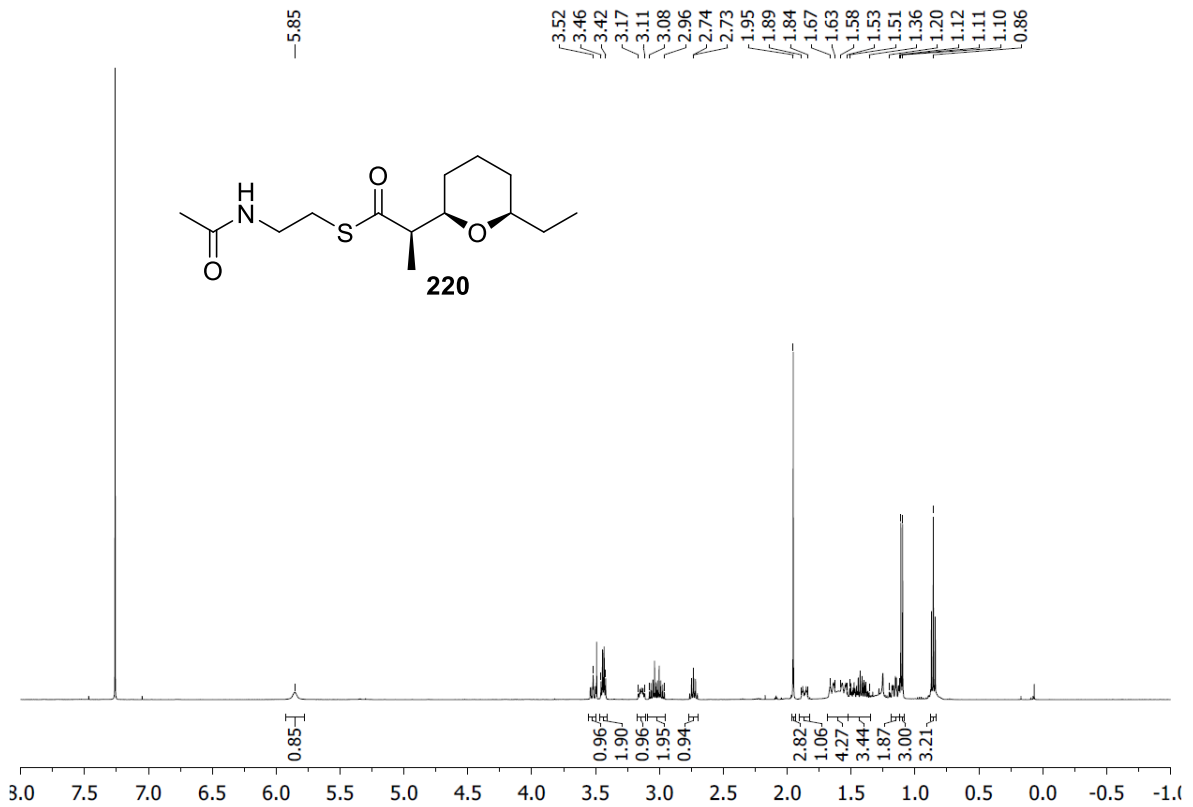


Abbildung 184: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O).

Spektrenanhang

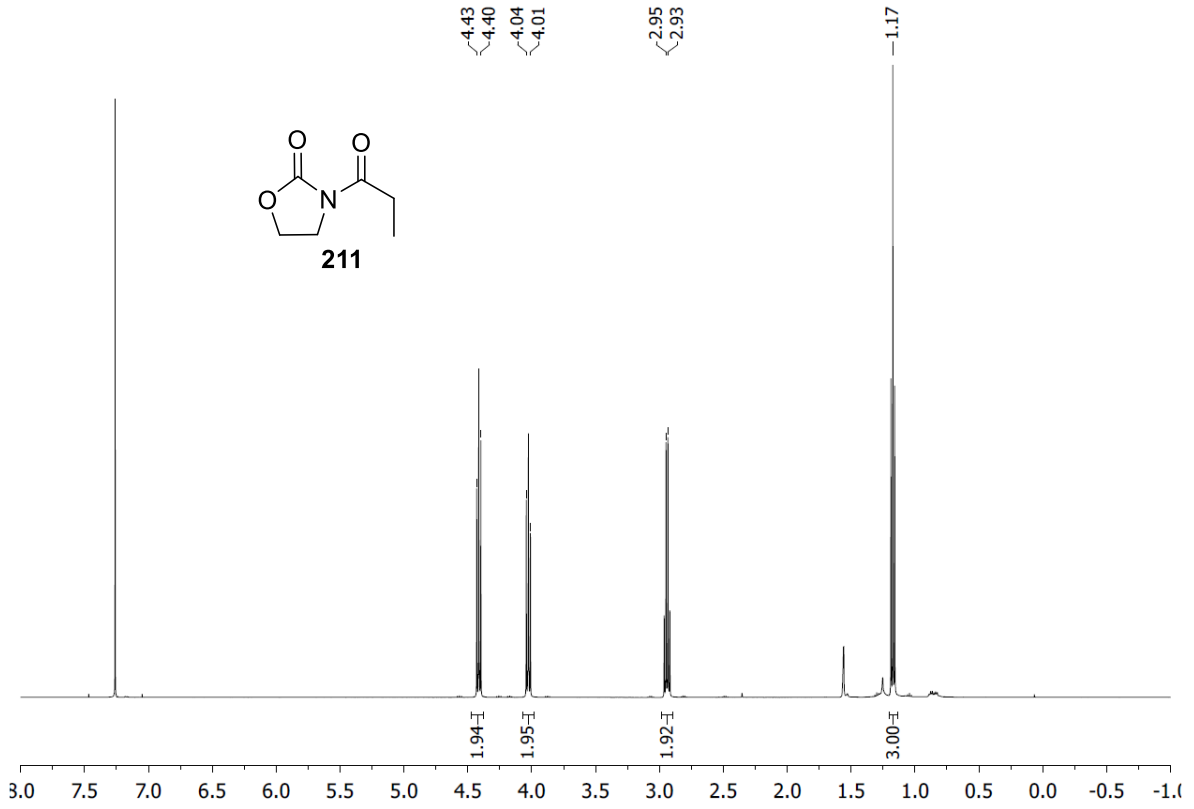
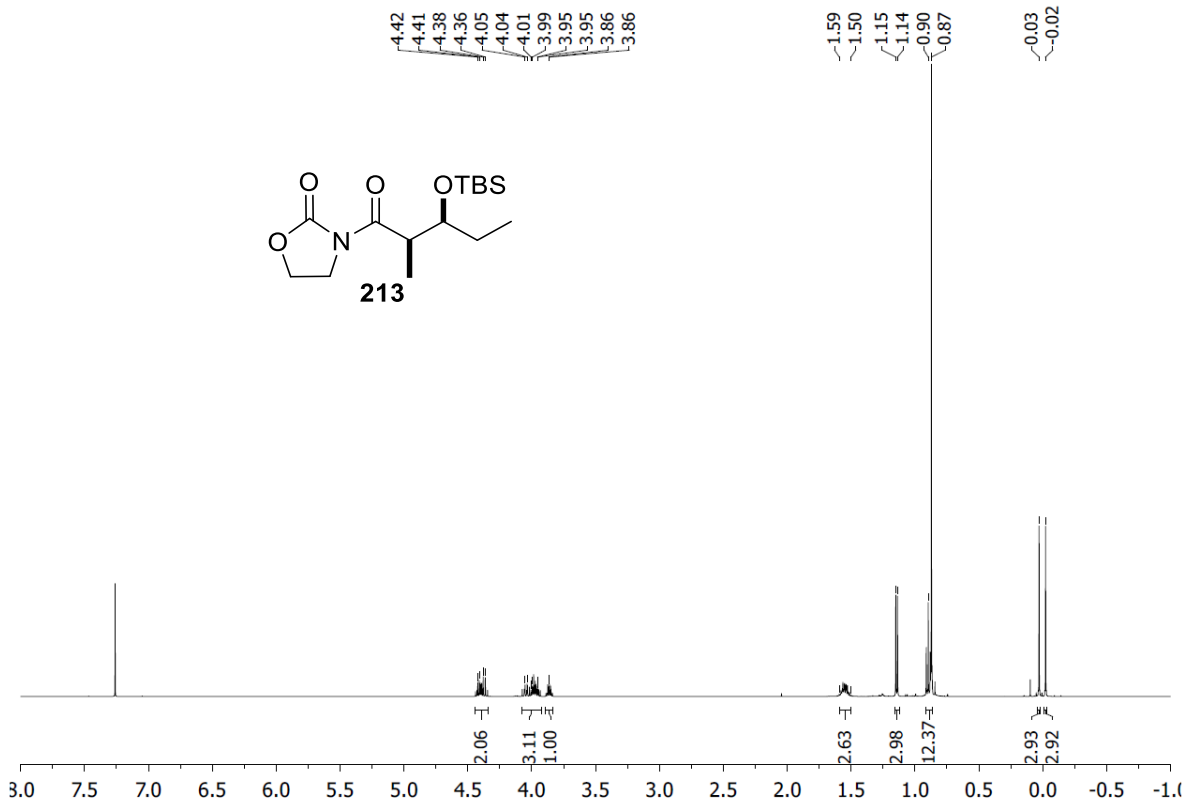


Abbildung 185: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O).



Spektrenanhang

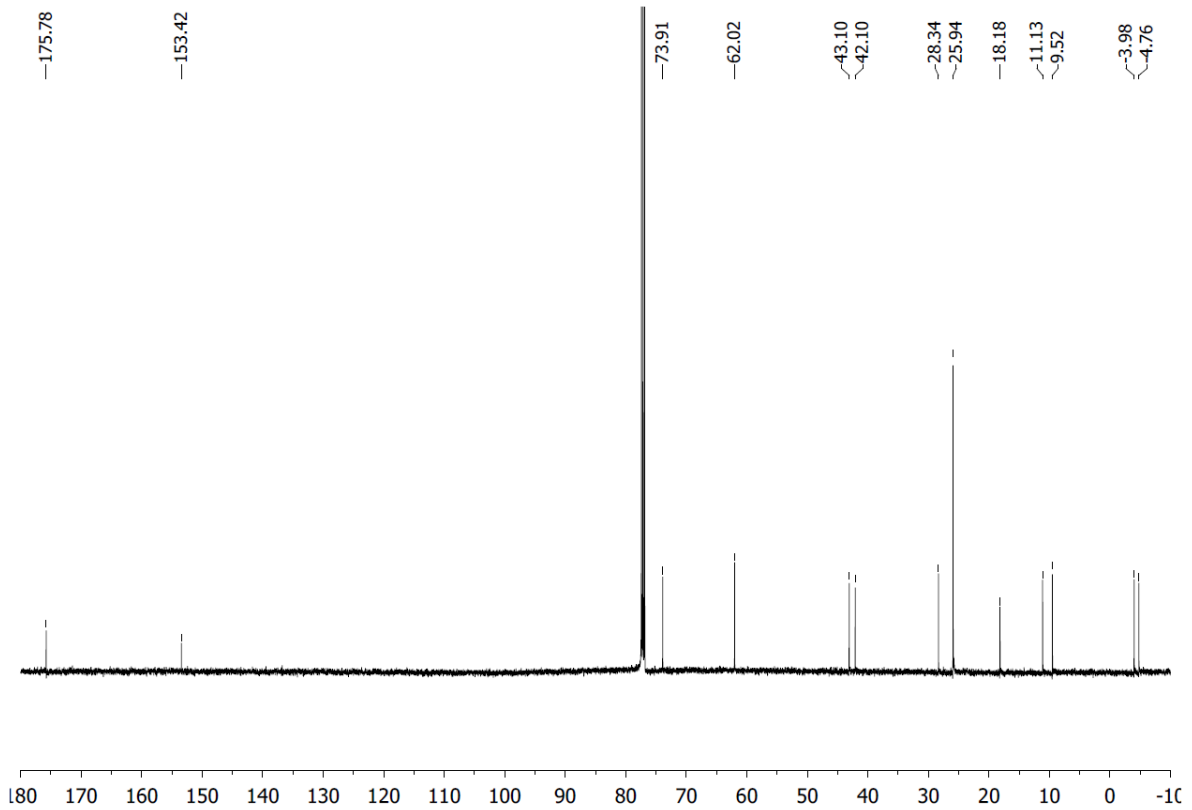


Abbildung 186: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, unten).

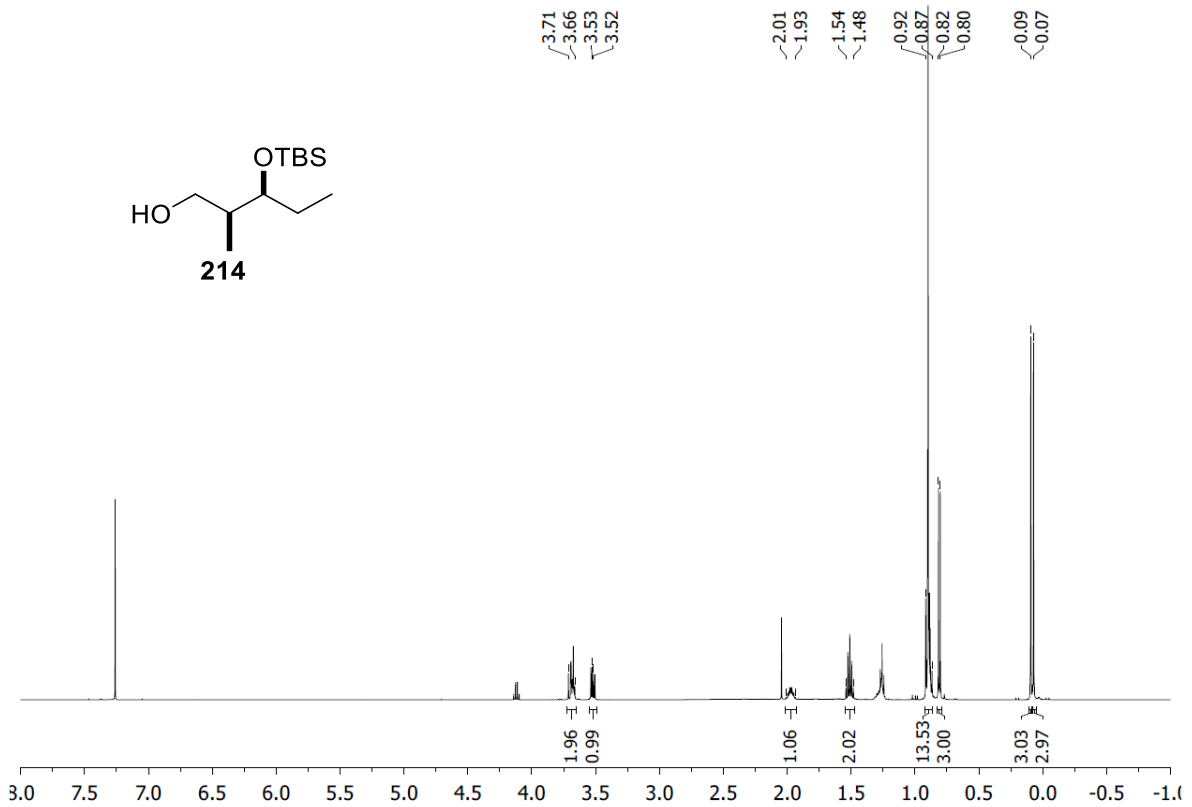


Abbildung 187: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: EtOAc, Aliphaten).

Spektrenanhang

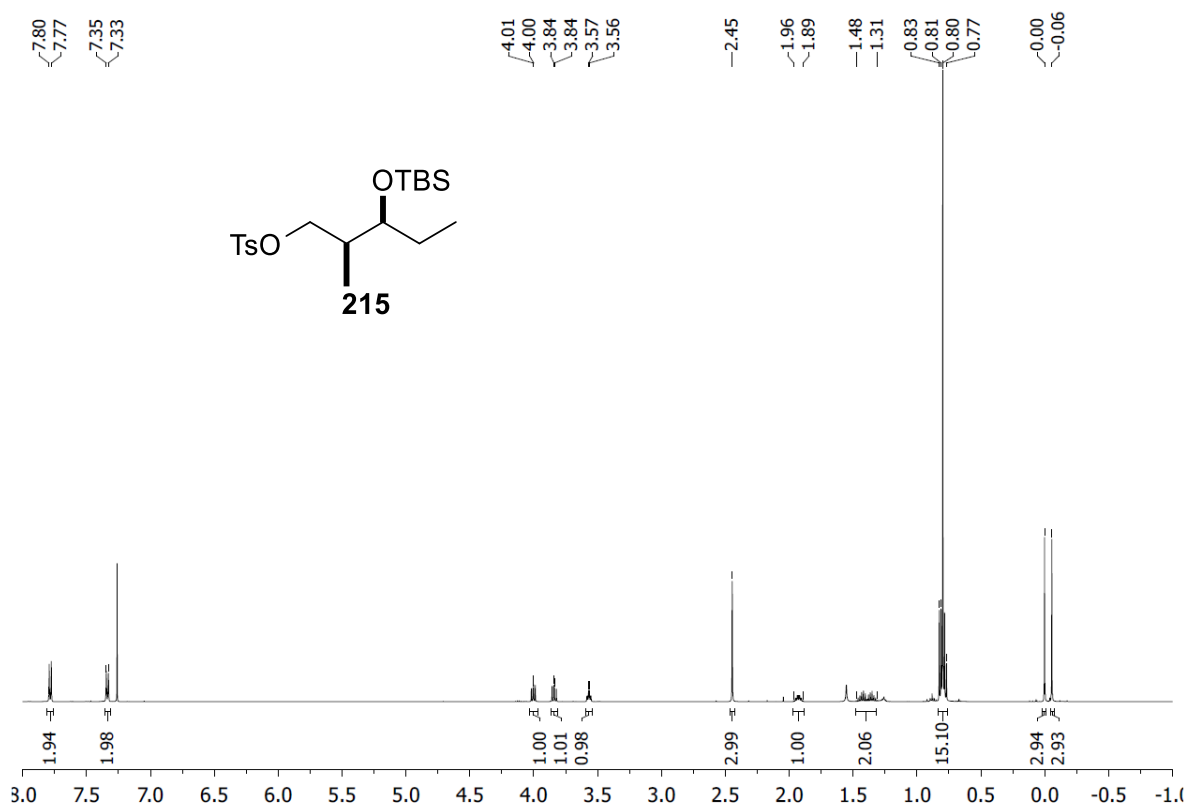


Abbildung 188: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten).

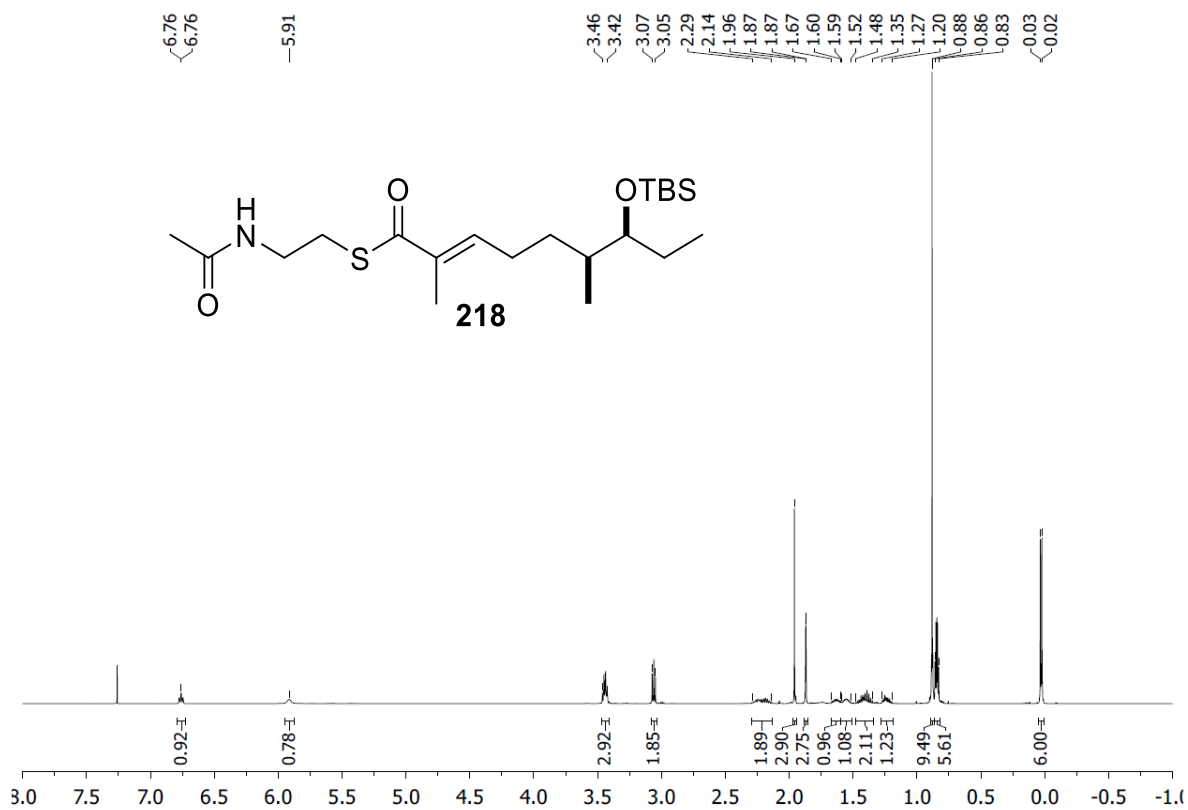


Abbildung 189: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

Spektrenanhang

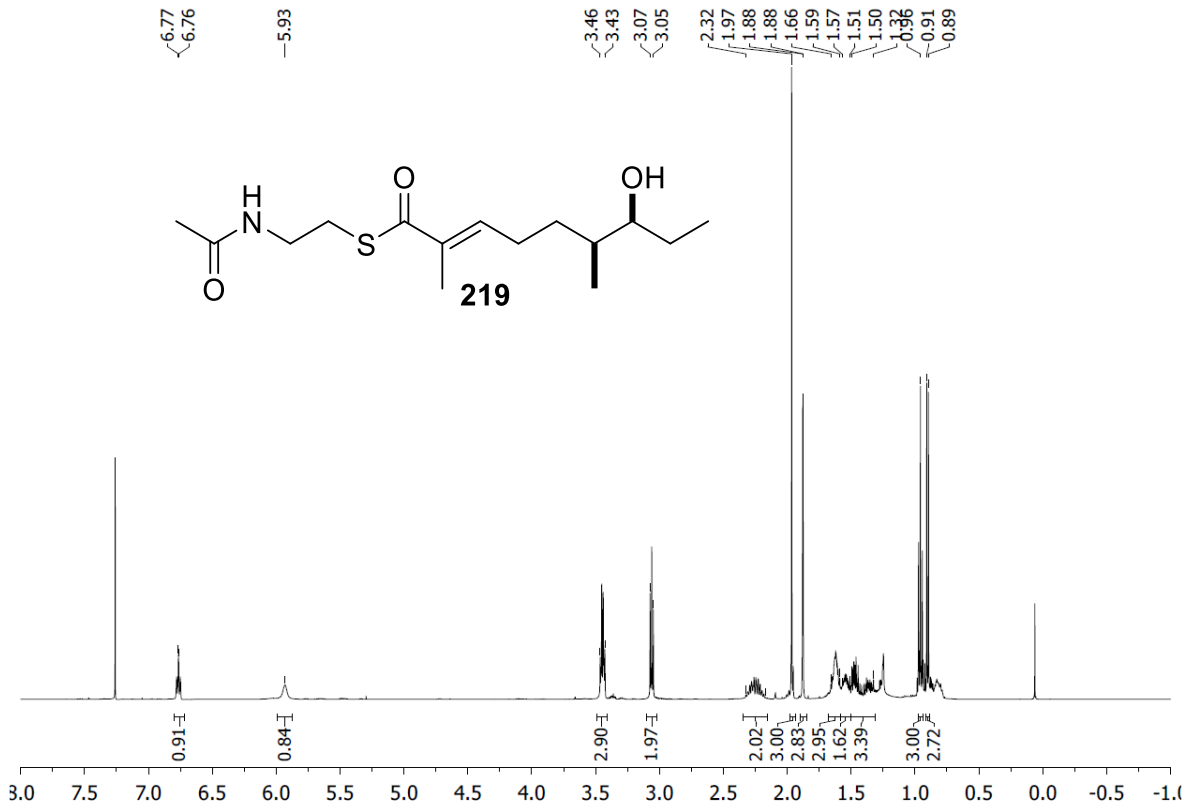


Abbildung 190: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten).

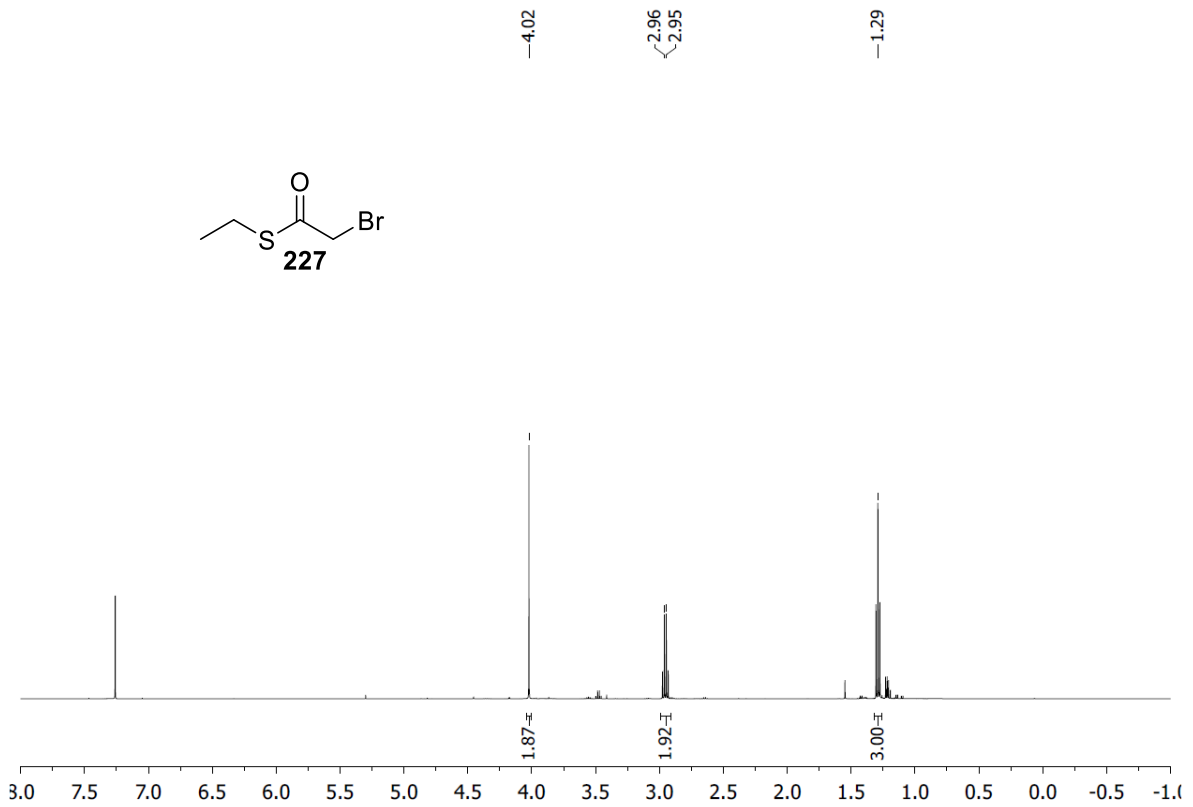


Abbildung 191: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

Spektrenanhang

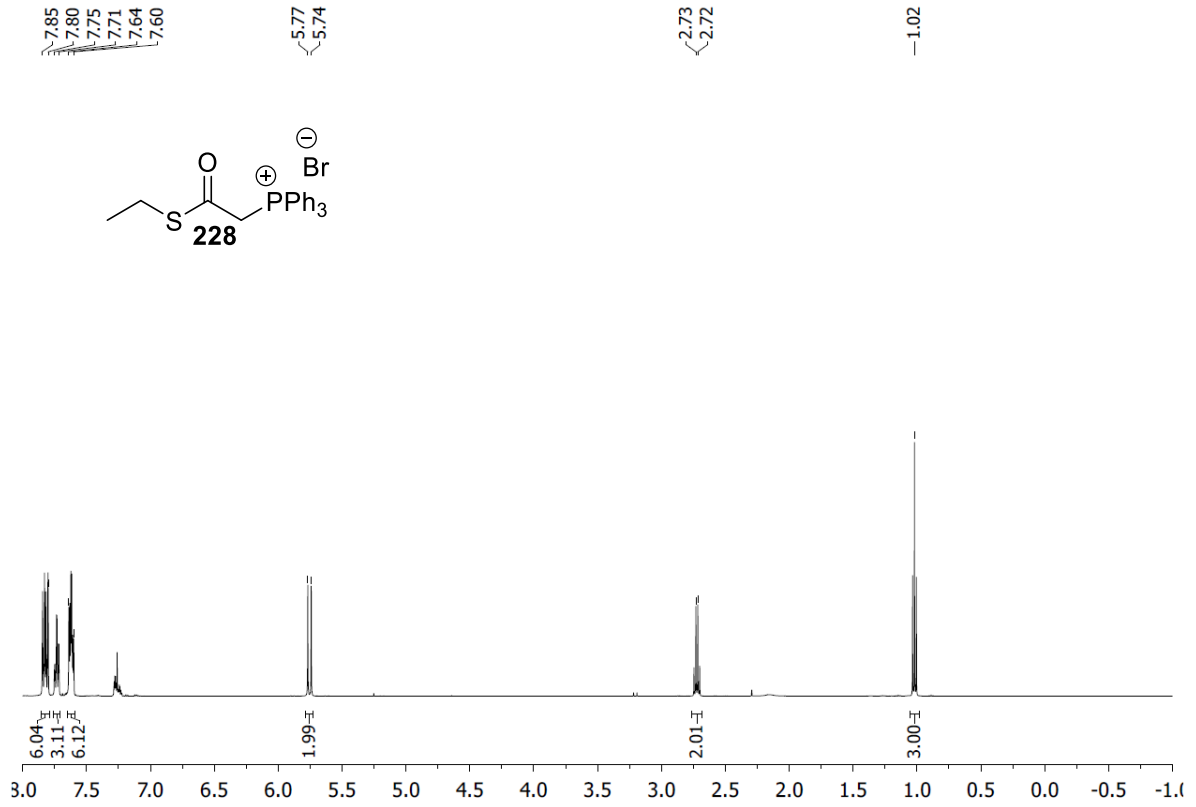
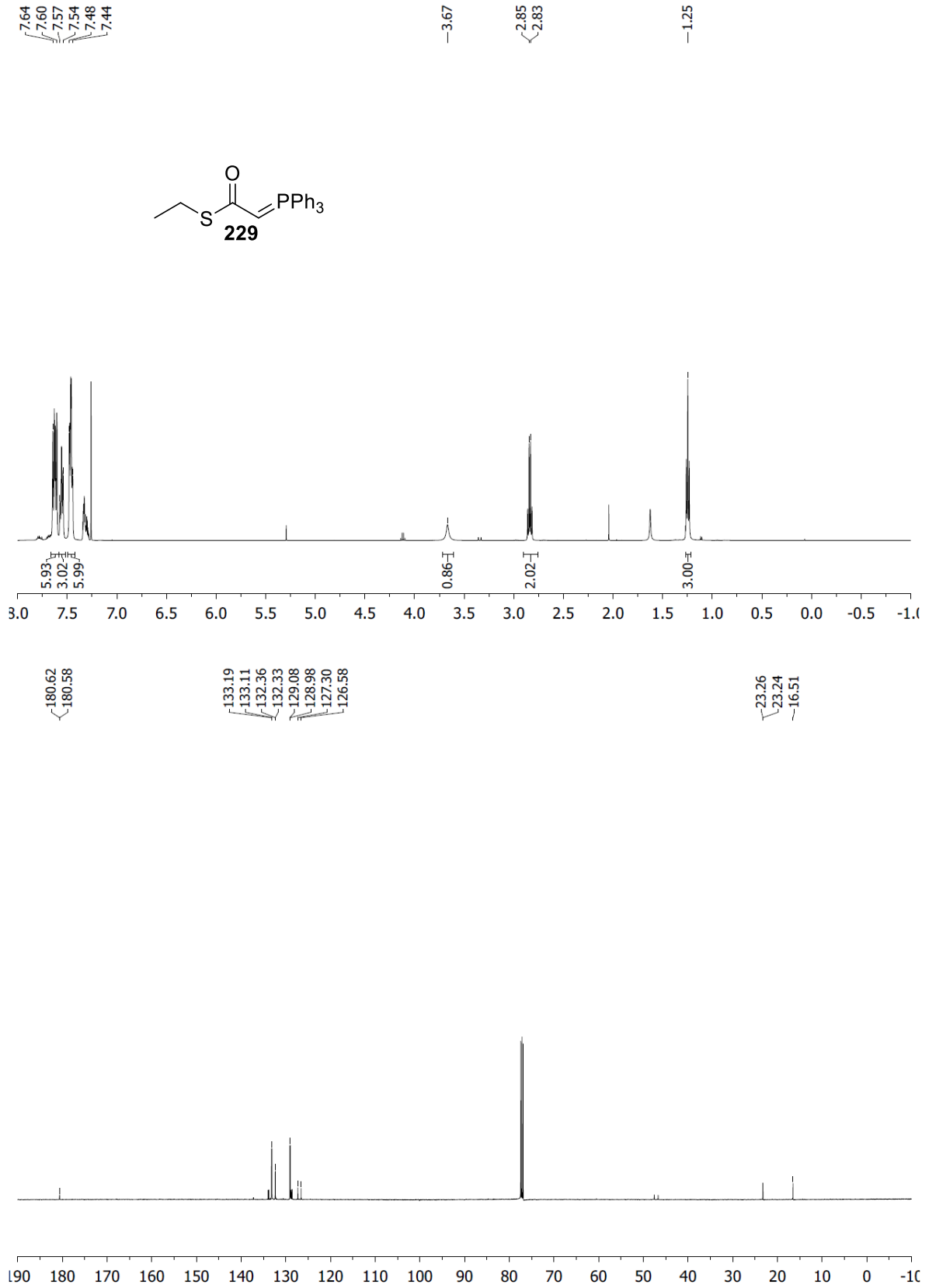


Abbildung 192: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl₃, 500 MHz).

Spektrenanhang



Spektrenanhang

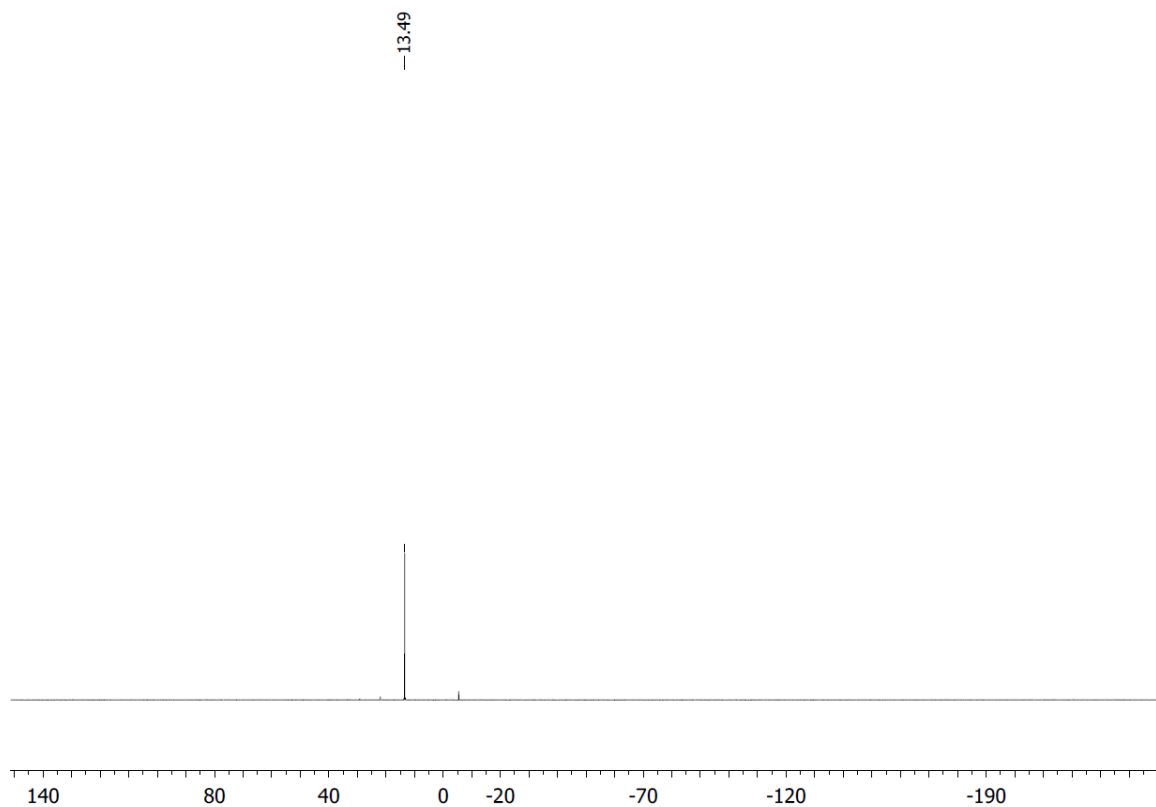


Abbildung 193: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: H_2O , CH_2Cl_2 , EtOAc, oben), ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, mitte), ^{31}P NMR-Spektrum (CDCl_3 , 202 MHz, unten).

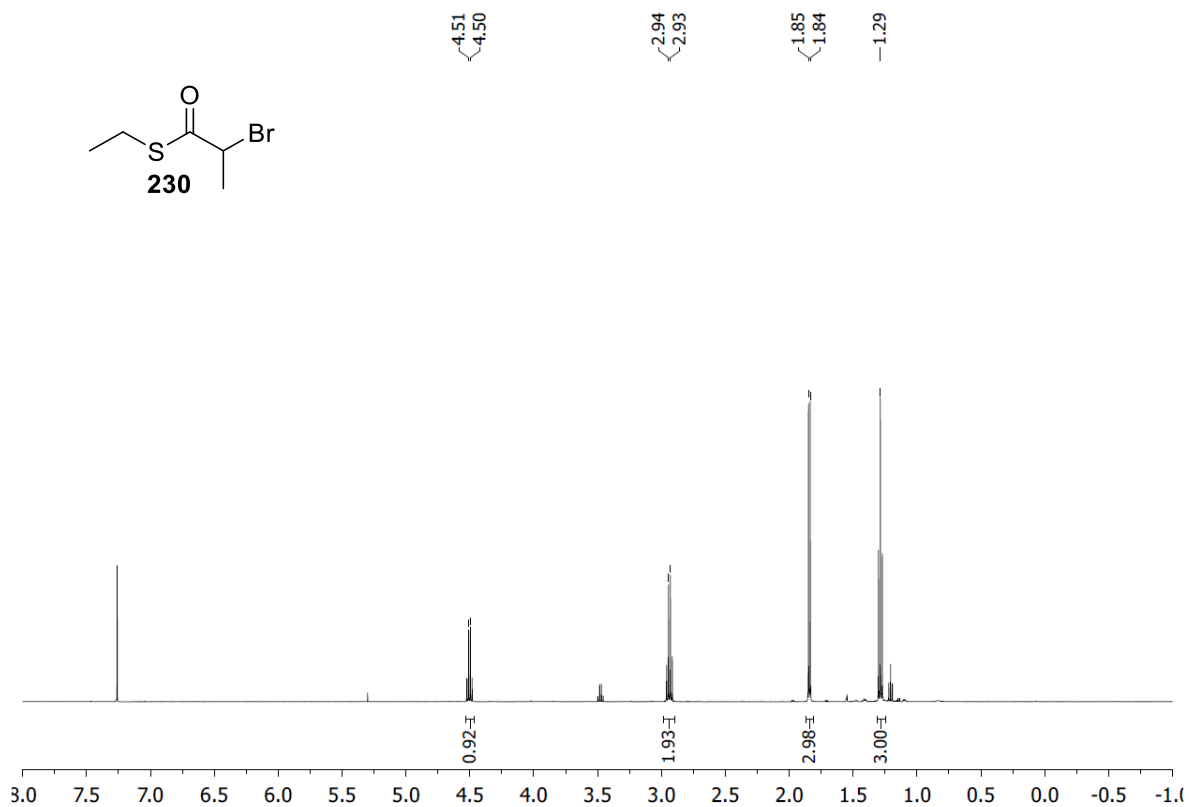


Abbildung 194: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, Verunreinigungen: CH_2Cl_2 , EtOAc).

Spektrenanhang

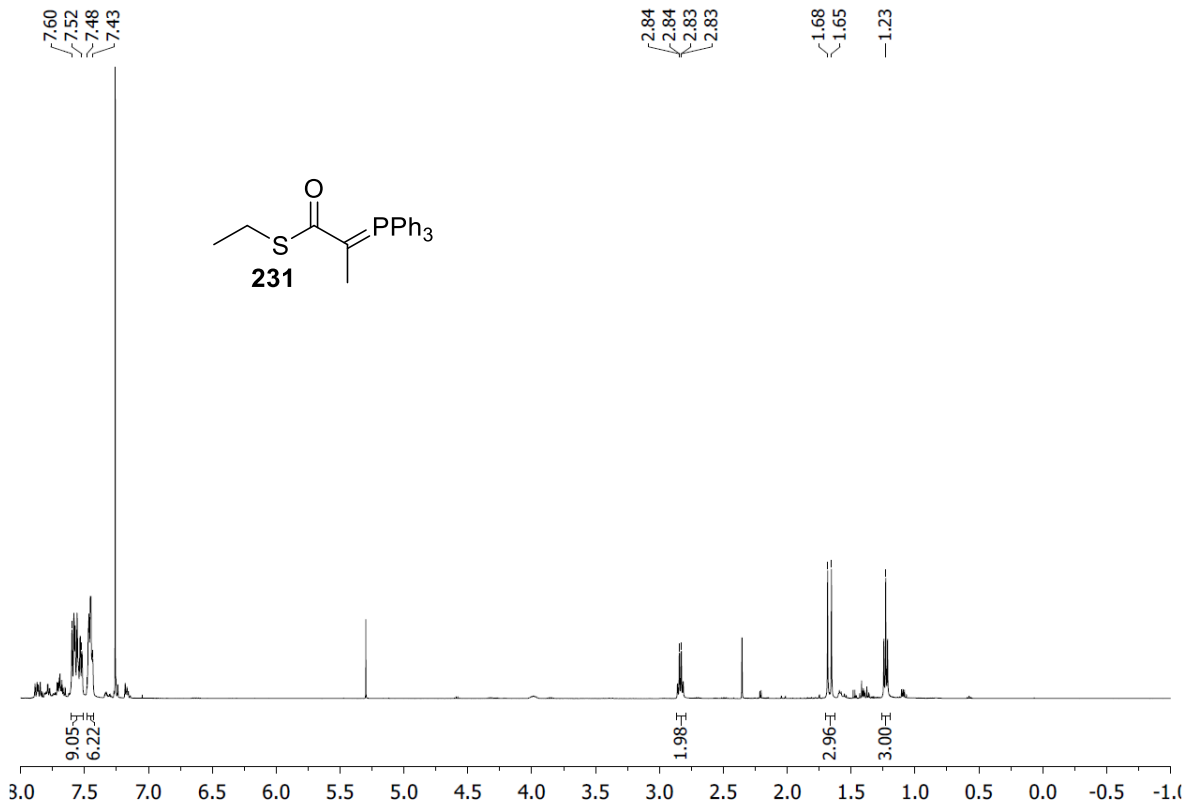


Abbildung 195: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: OPPh₃, CH₂Cl₂).

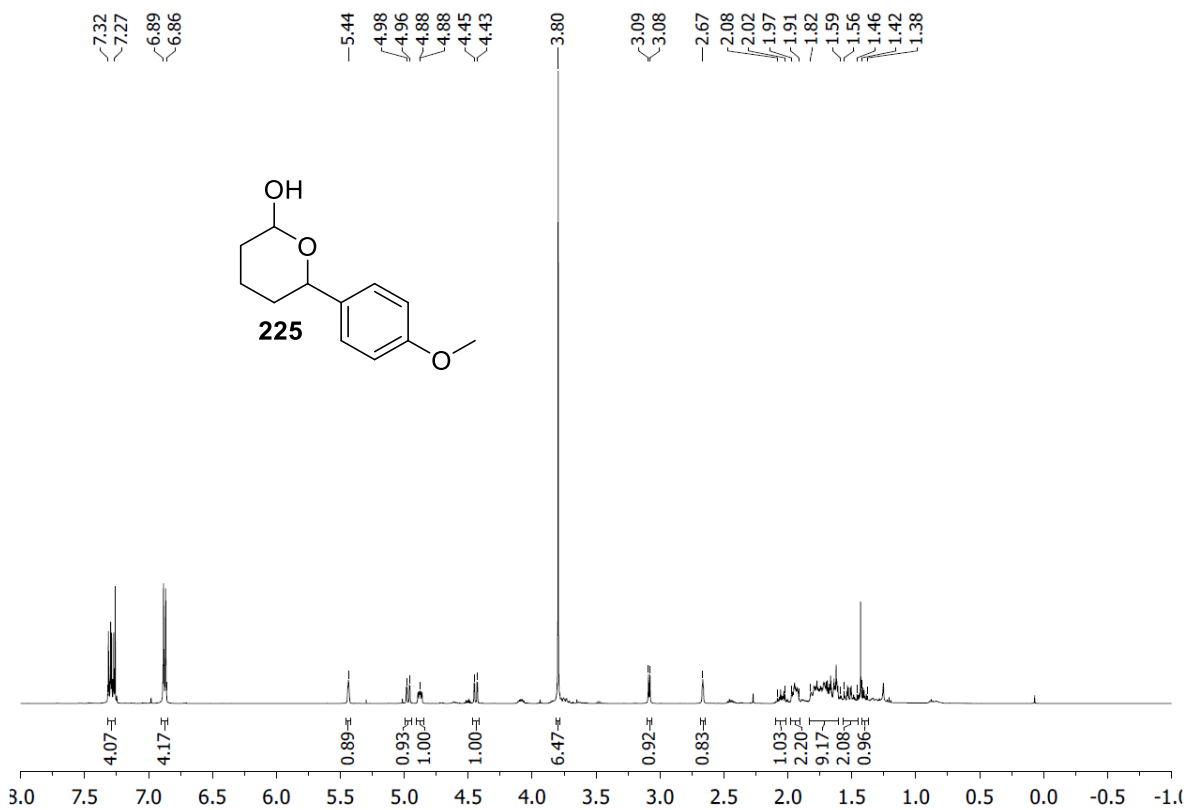


Abbildung 196: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett).

Spektrenanhang

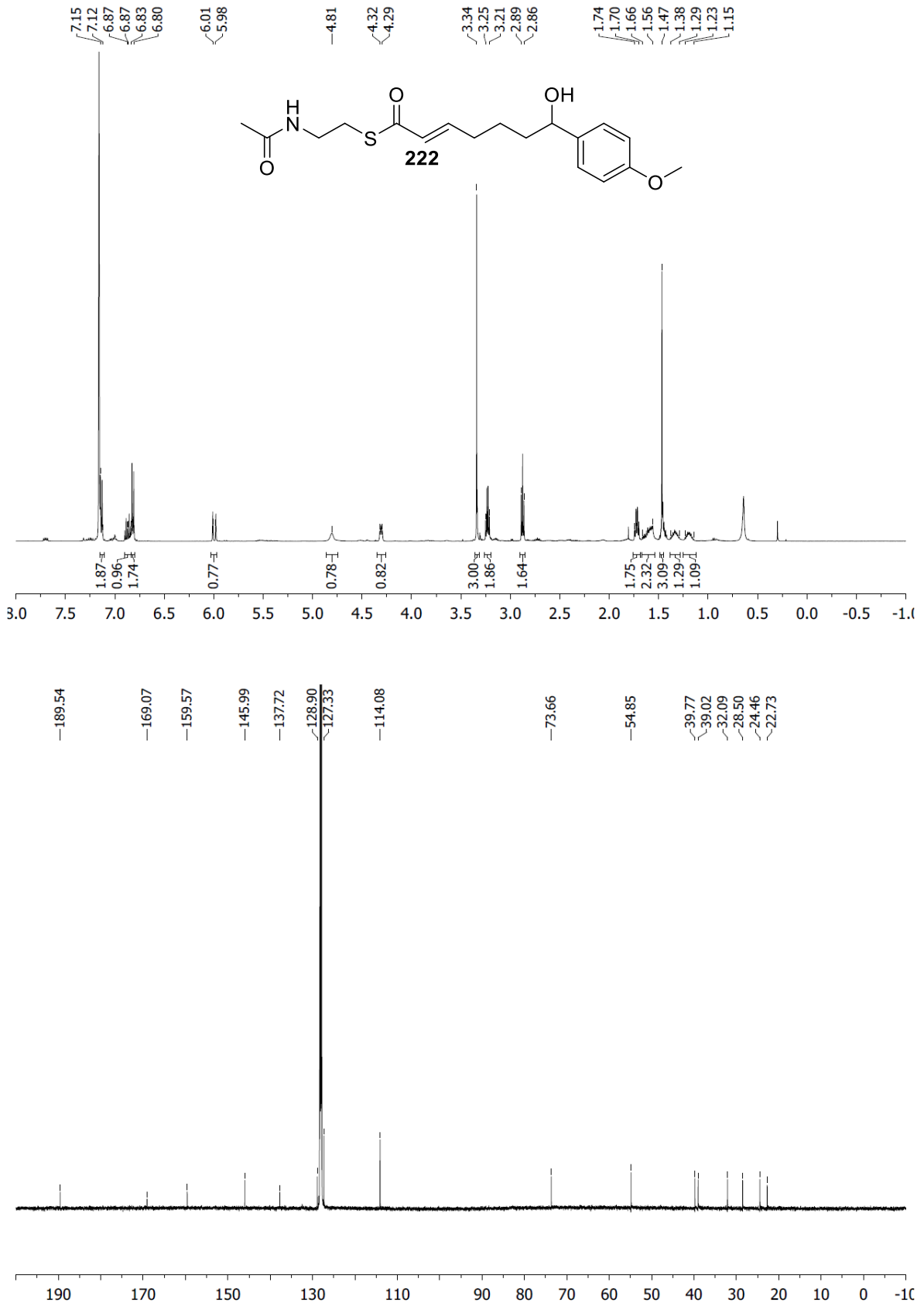


Abbildung 197: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (C₆D₆, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

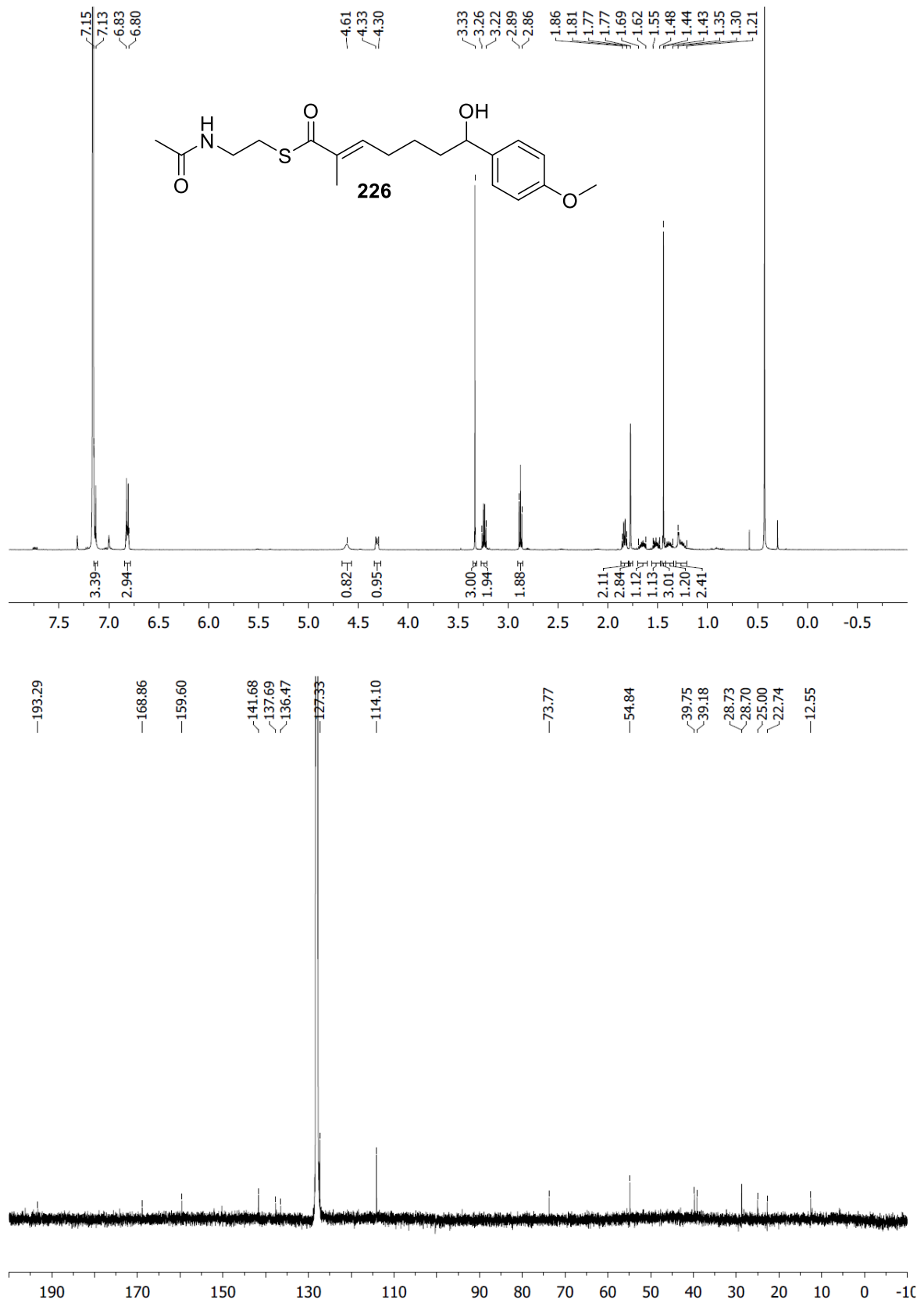


Abbildung 198: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz, Verunreinigung: Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (C₆D₆, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

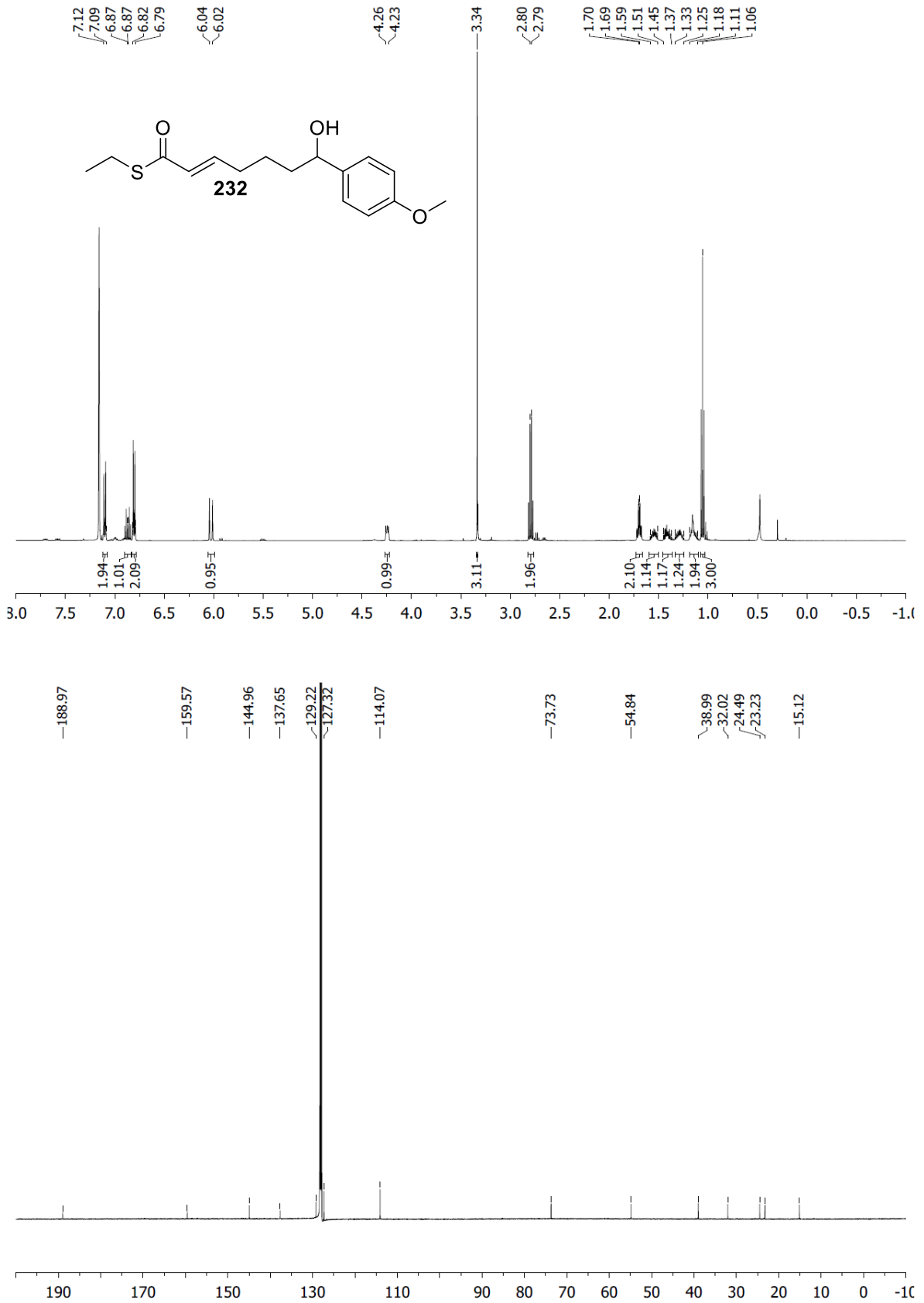


Abbildung 199: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz, Verunreinigung: H₂O, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (C₆D₆, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

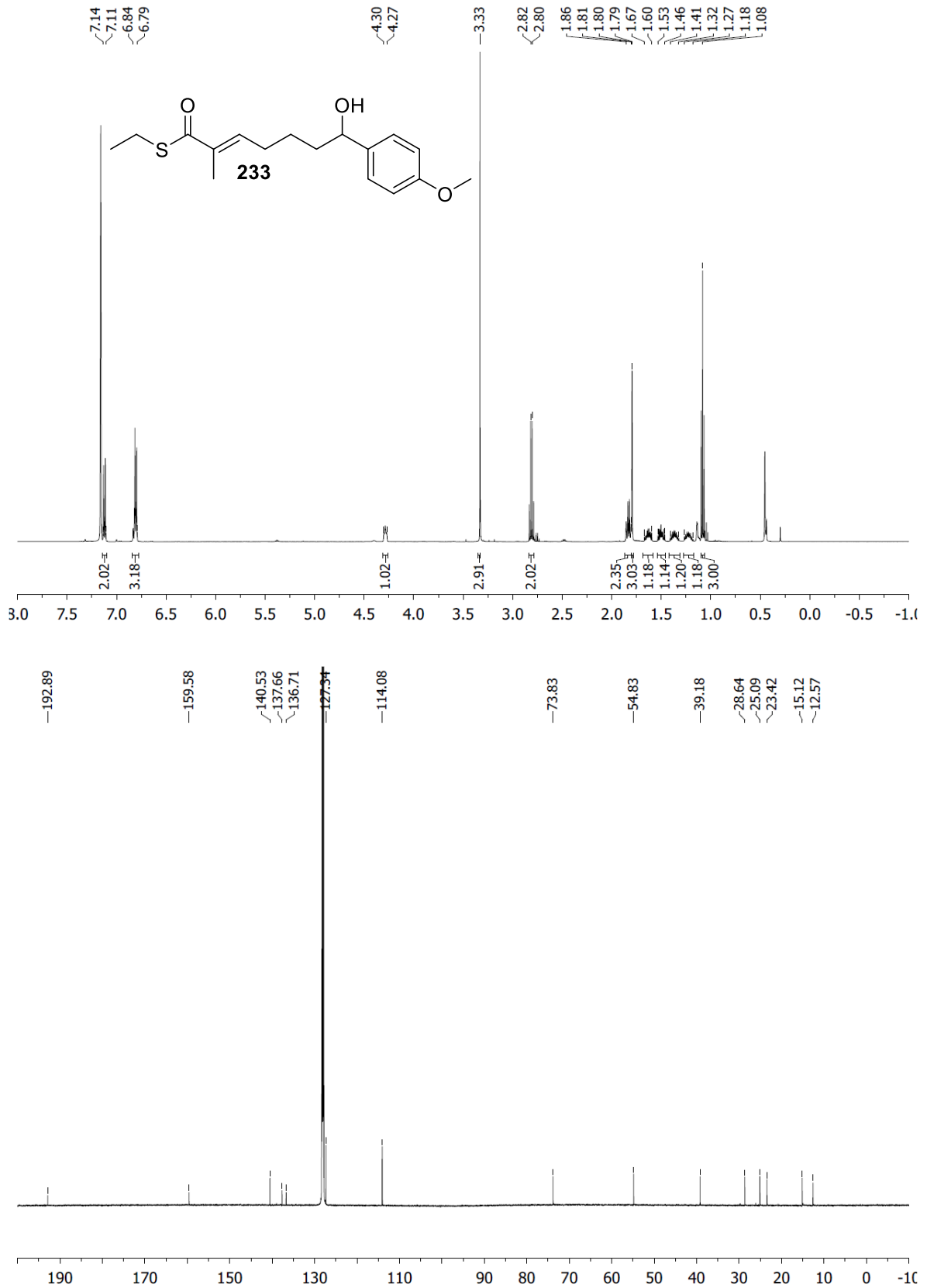


Abbildung 200: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (C₆D₆, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

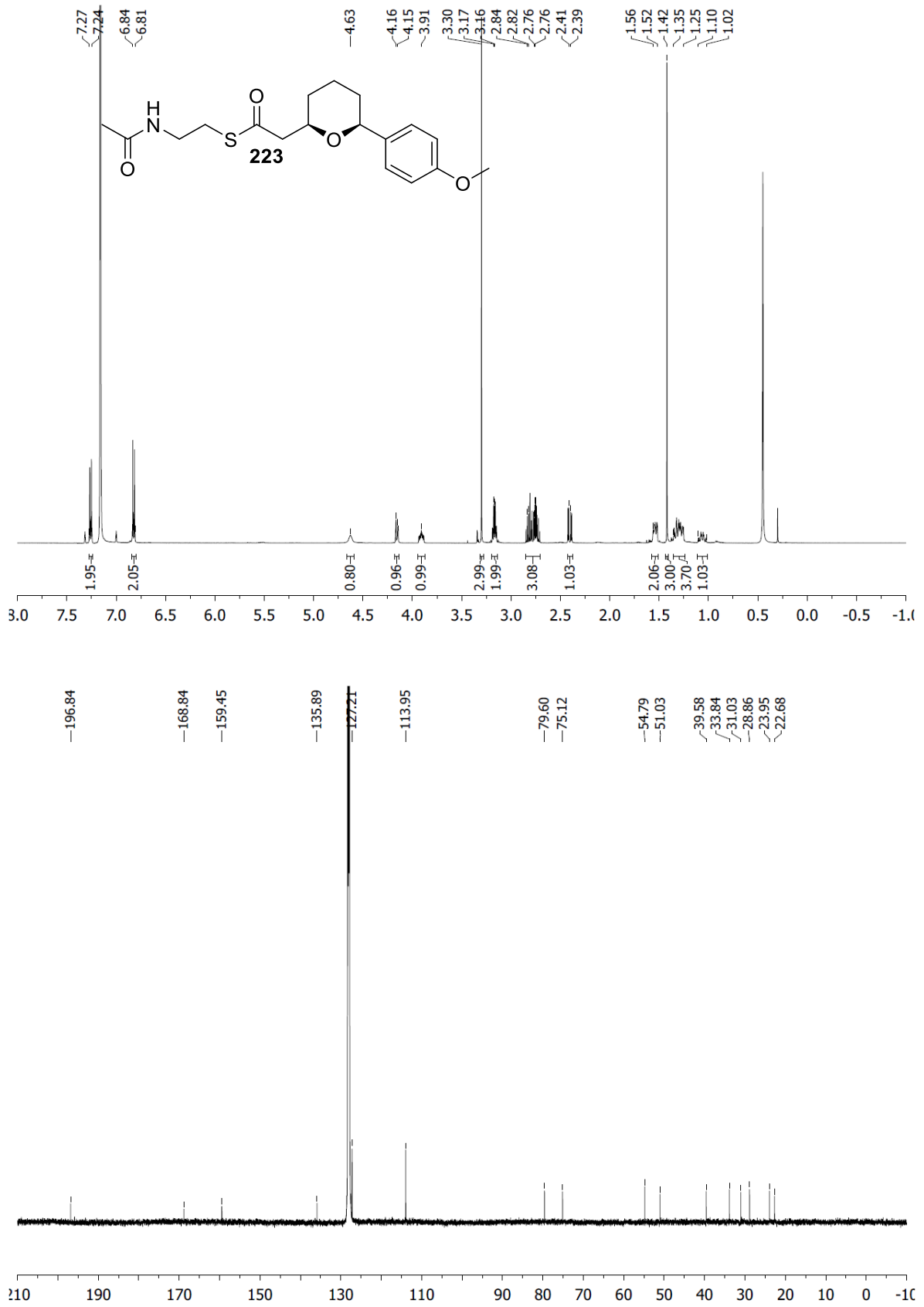


Abbildung 201: ¹H-NMR-Spektrum (C₆D₆, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (C₆D₆, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

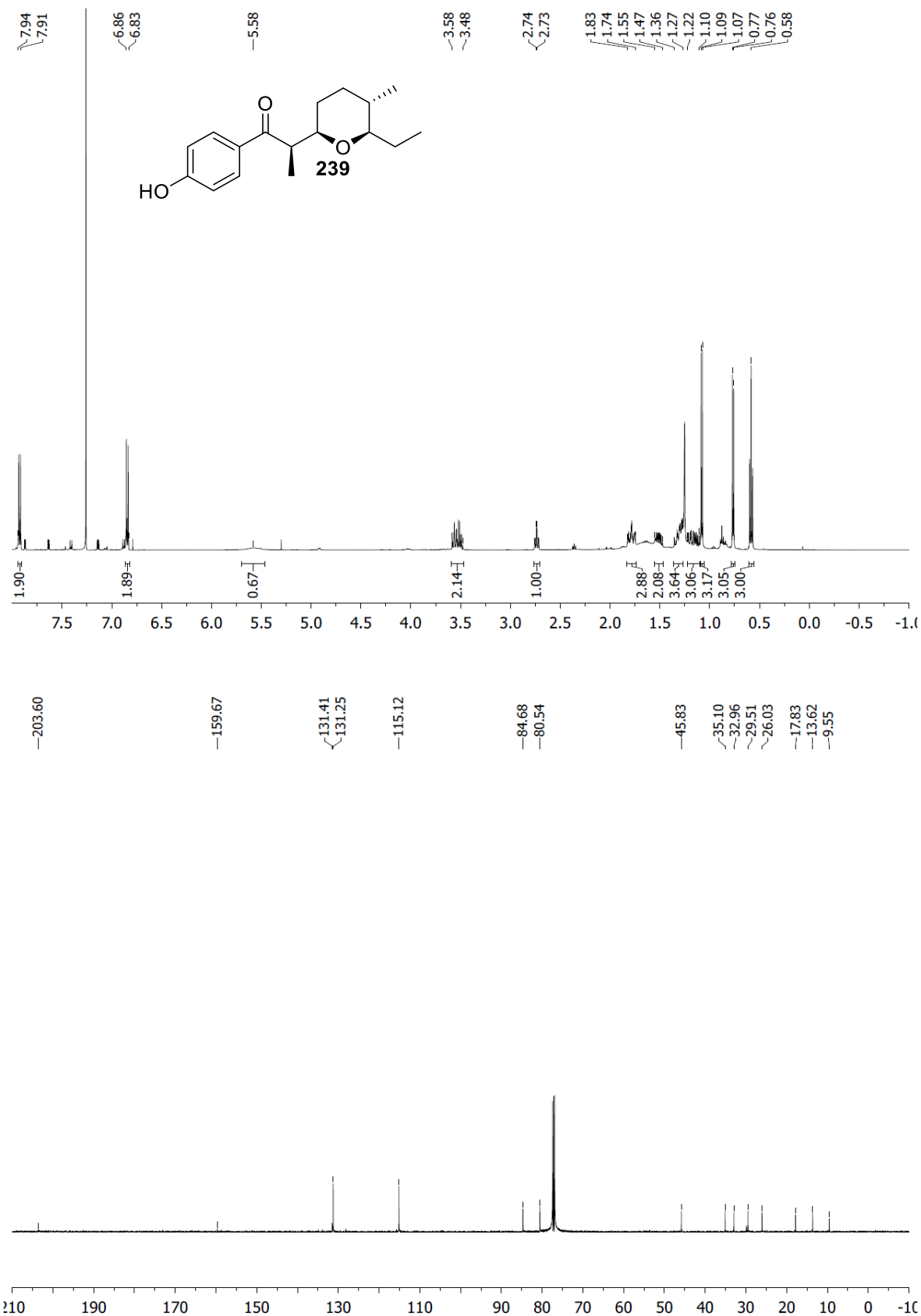


Abbildung 202: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (phasenkorrigiertes JMOD, CDCl₃, 125 MHz, unten; die quartären C-Atome wurden *via* HMBC detektiert).

Spektrenanhang

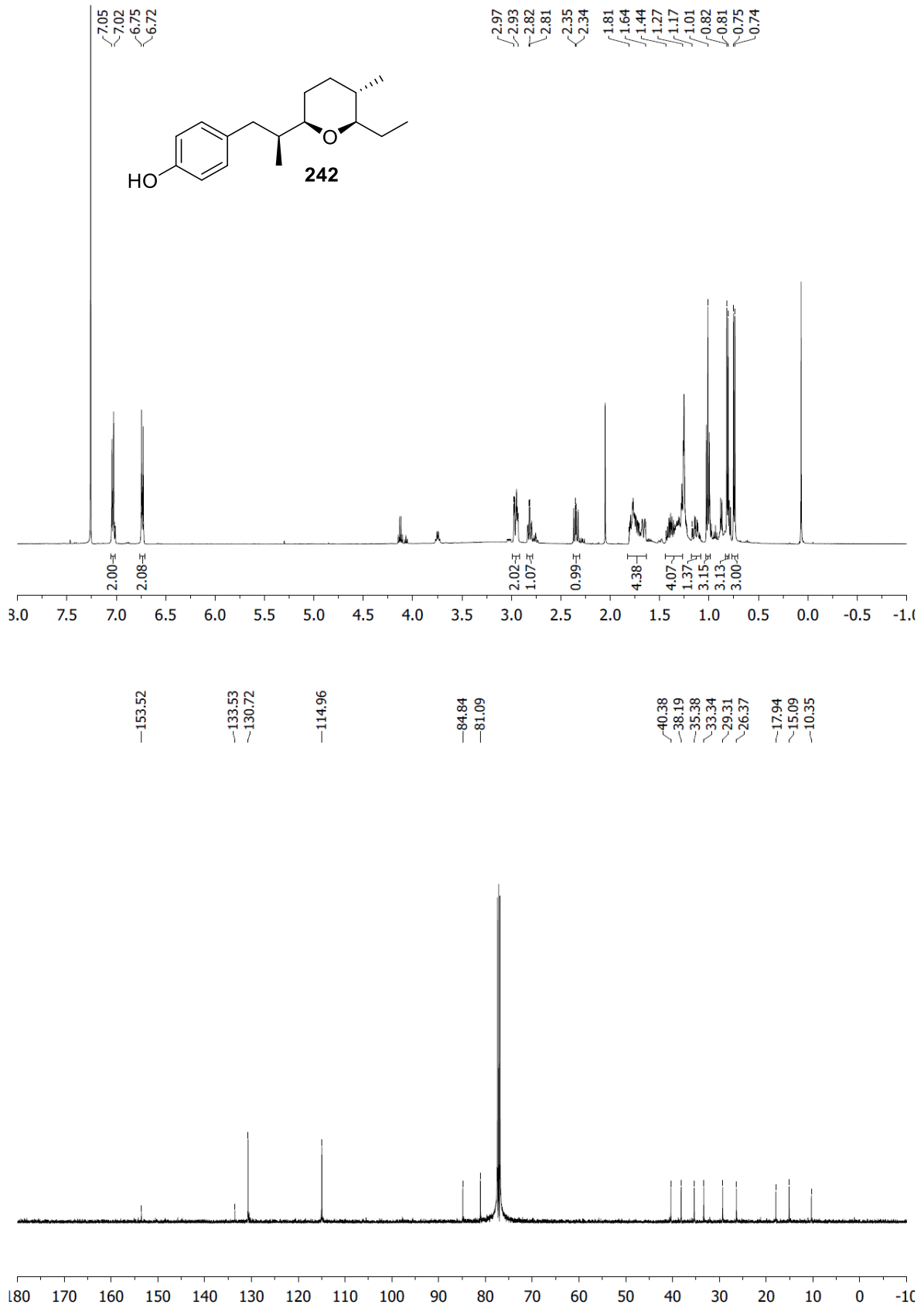


Abbildung 203: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: EtOAc, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (phasenkorrigiertes JMOD, CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

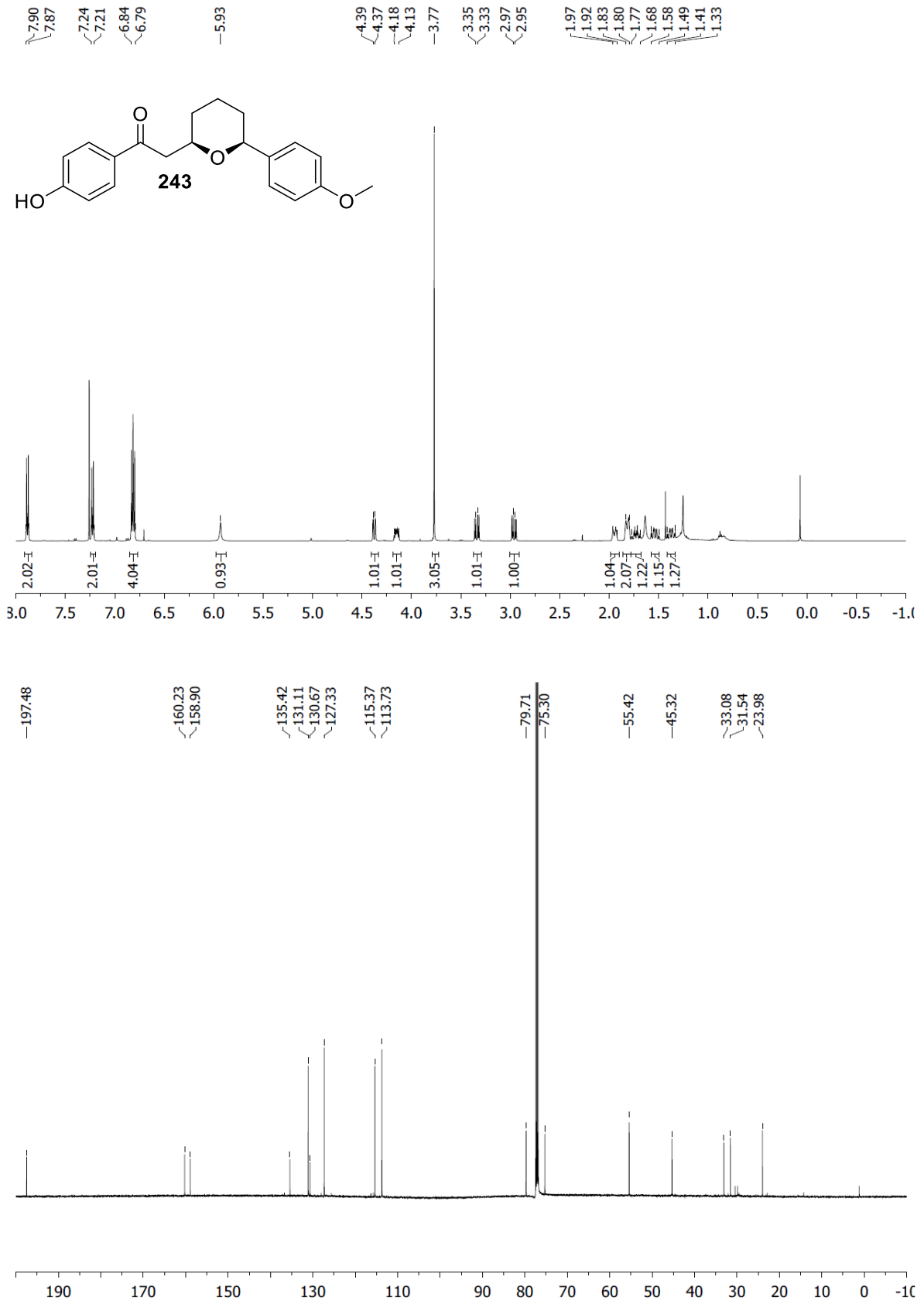


Abbildung 204: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

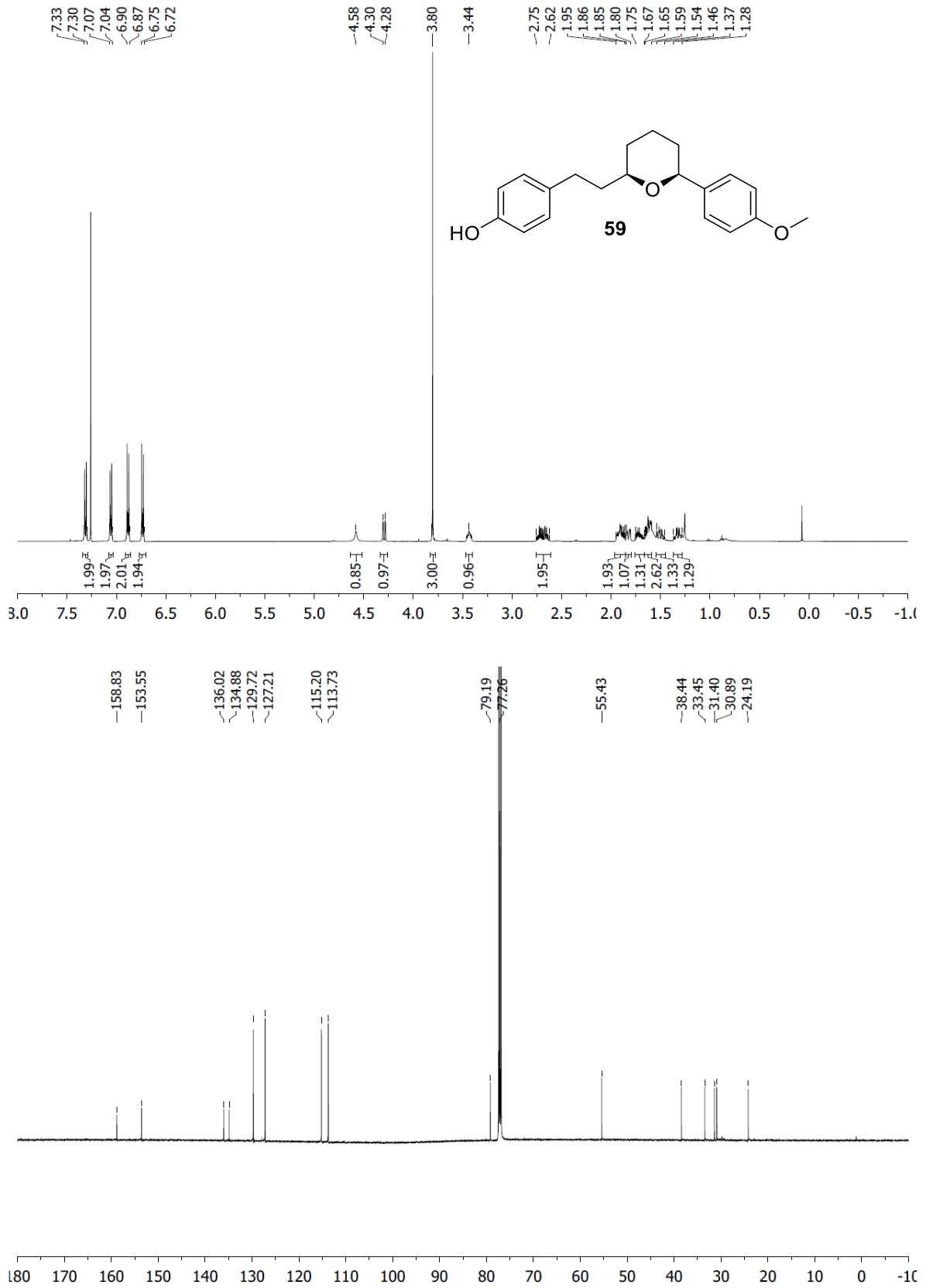


Abbildung 205: ¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃, 500 MHz, Verunreinigungen: H₂O, Aliphaten, Silikonfett, oben), ¹³C-NMR-Spektrum (CDCl₃, 125 MHz, unten).

Spektrenanhang

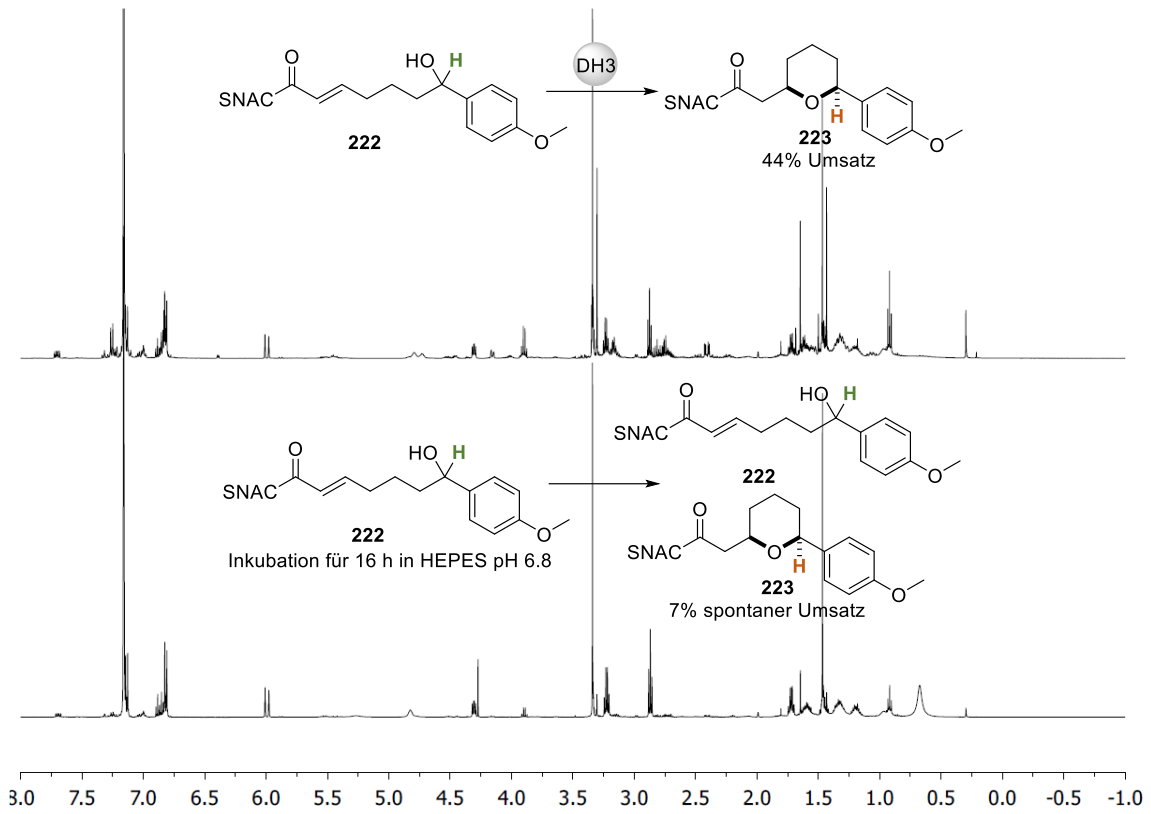


Abbildung 206: Umsetzung des **222** (a, oben) mit AmbDH3 und (b, unten) ohne AmbDH3.

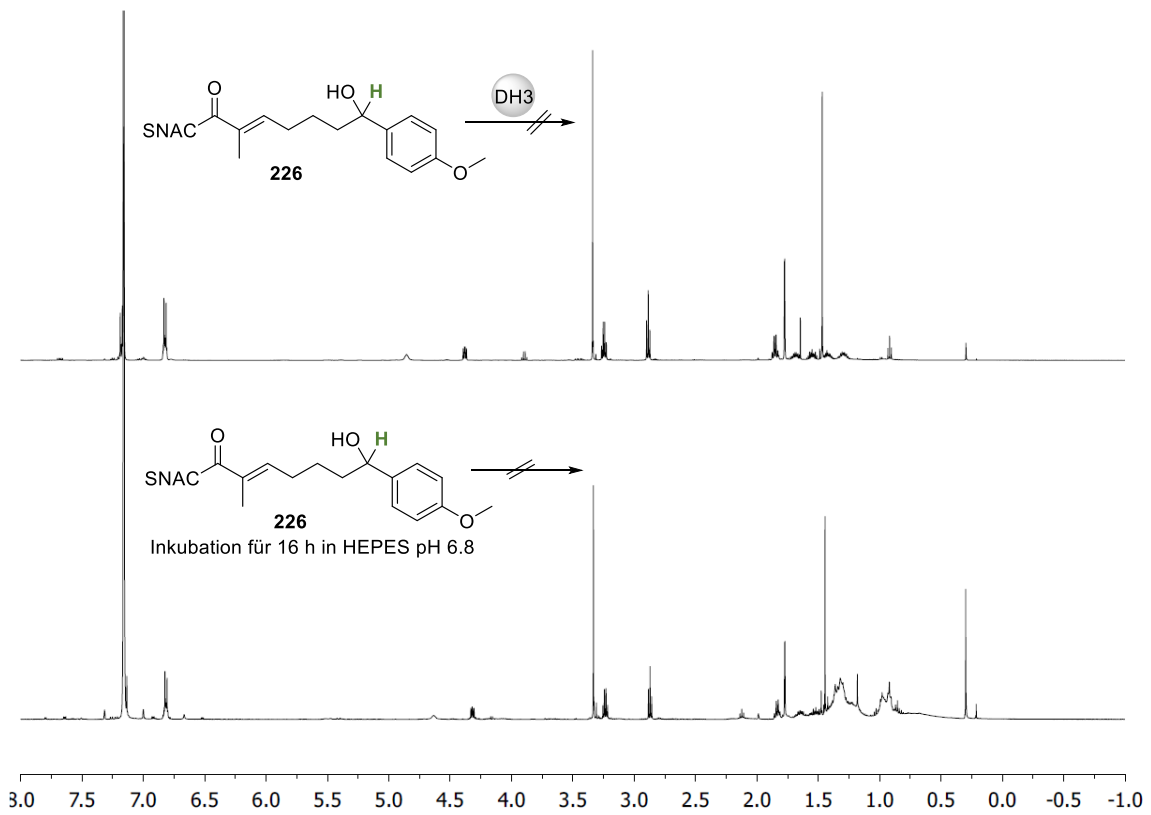


Abbildung 207: Umsetzung des **226** (a, oben) mit AmbDH3 und (b, unten) ohne AmbDH3.

Spektrenanhang

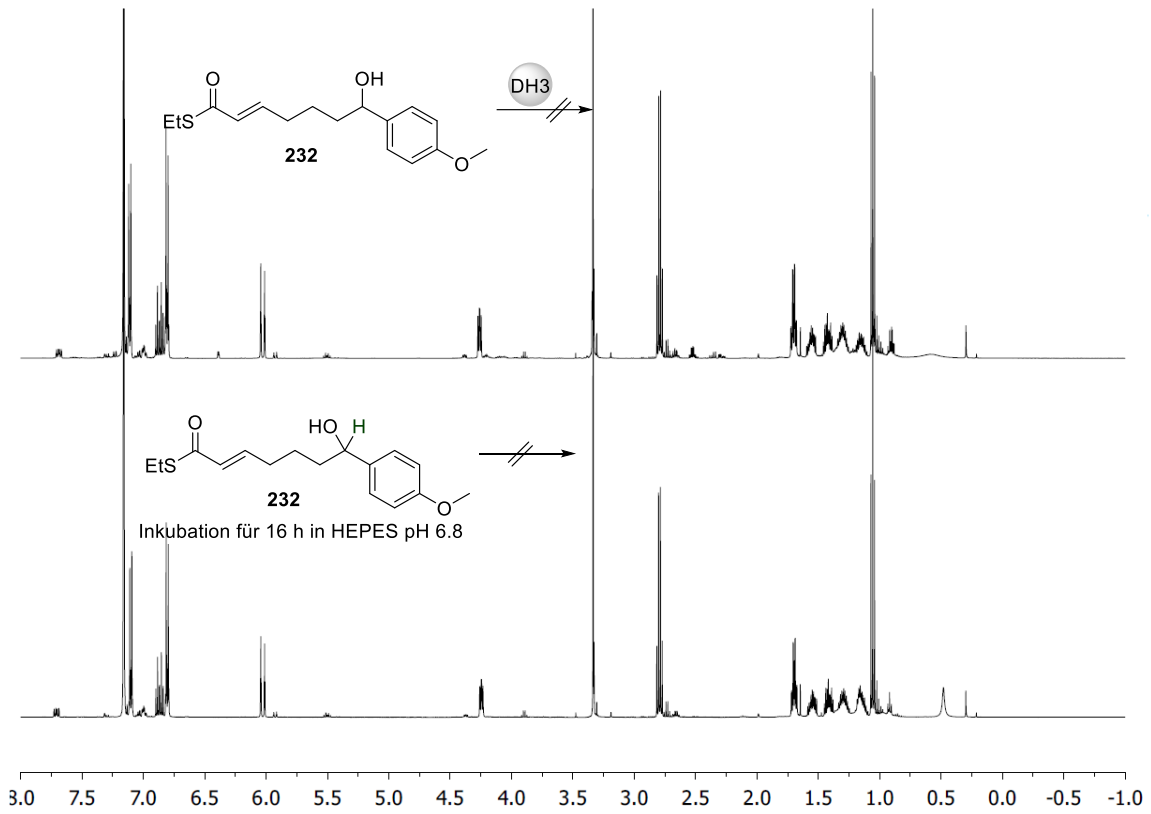


Abbildung 208: Umsetzung des **232** (a, oben) mit AmbDH3 und (b, unten) ohne AmbDH3.

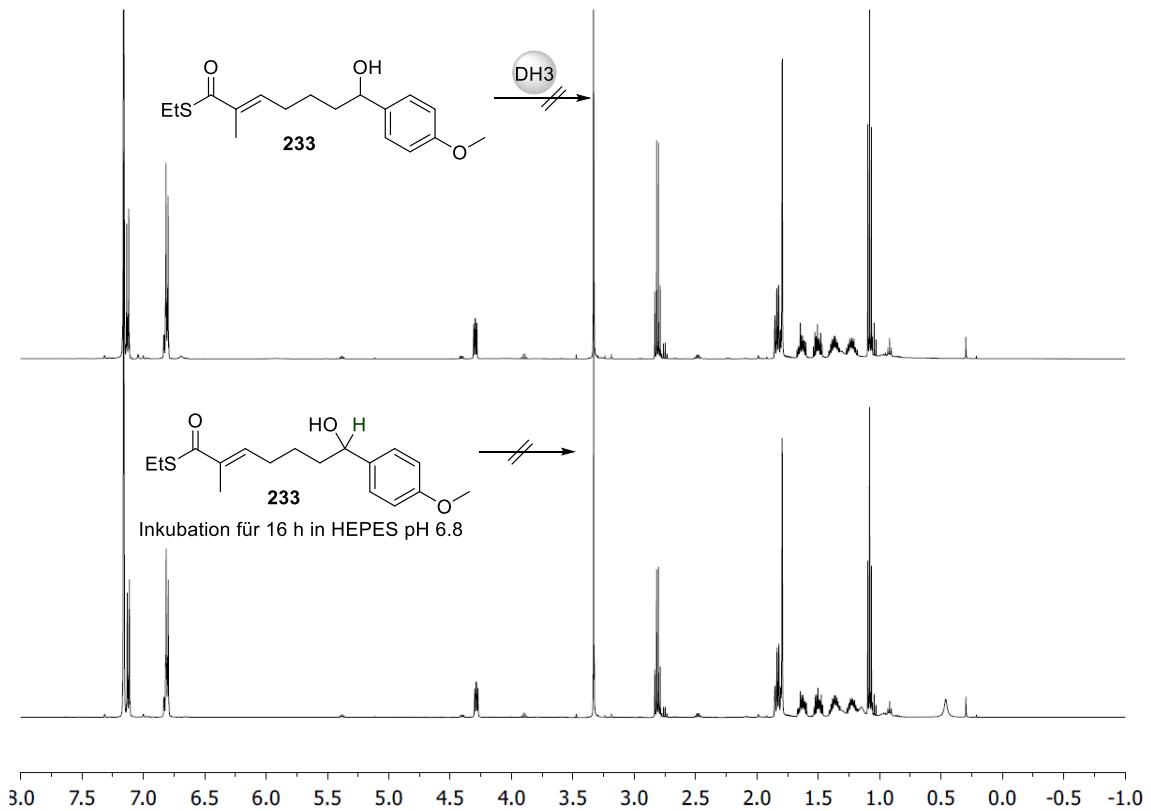


Abbildung 209: Umsetzung des **233** (a, oben) mit AmbDH3 und (b, unten) ohne AmbDH3.

Spektrenanhang

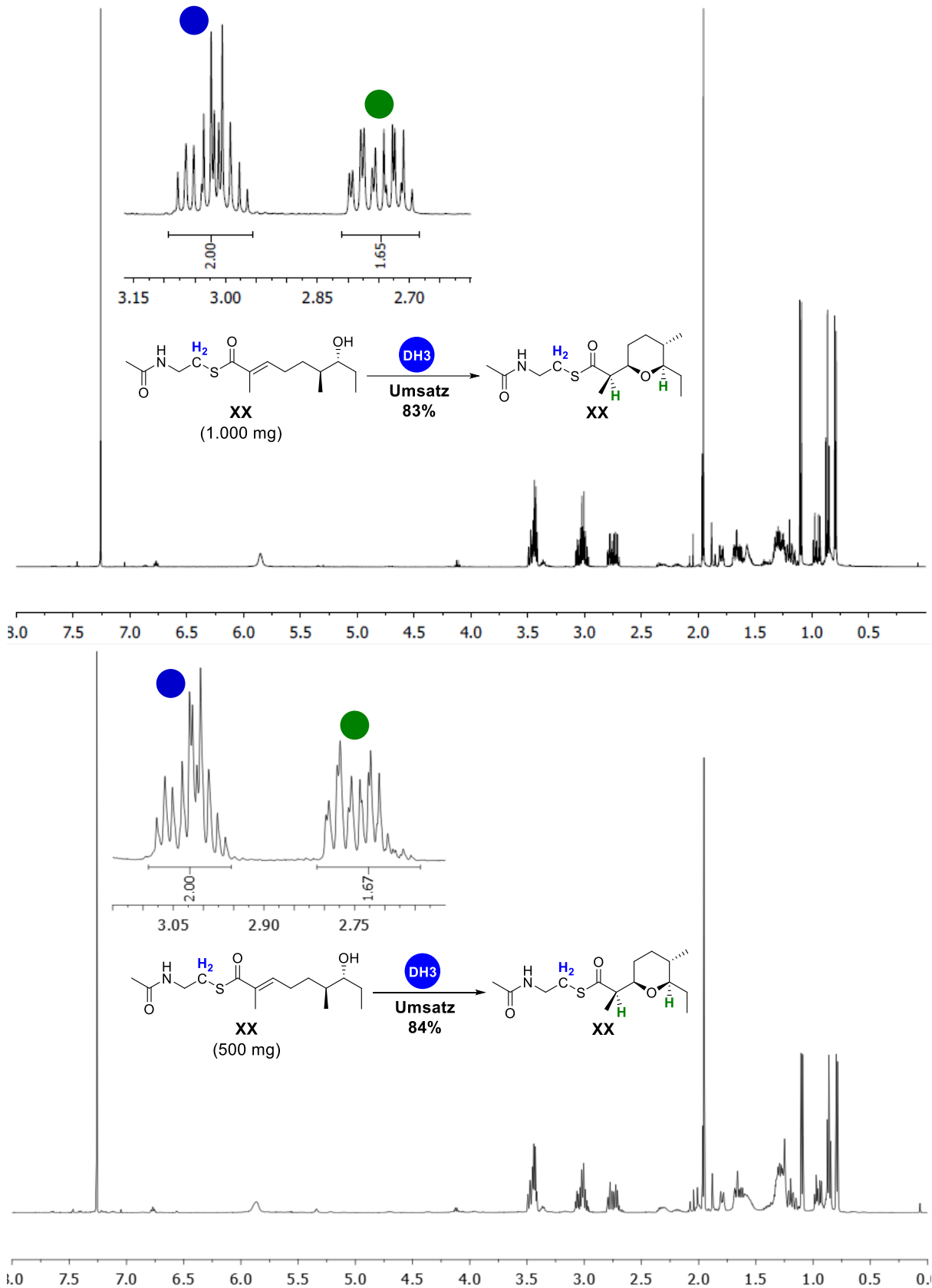
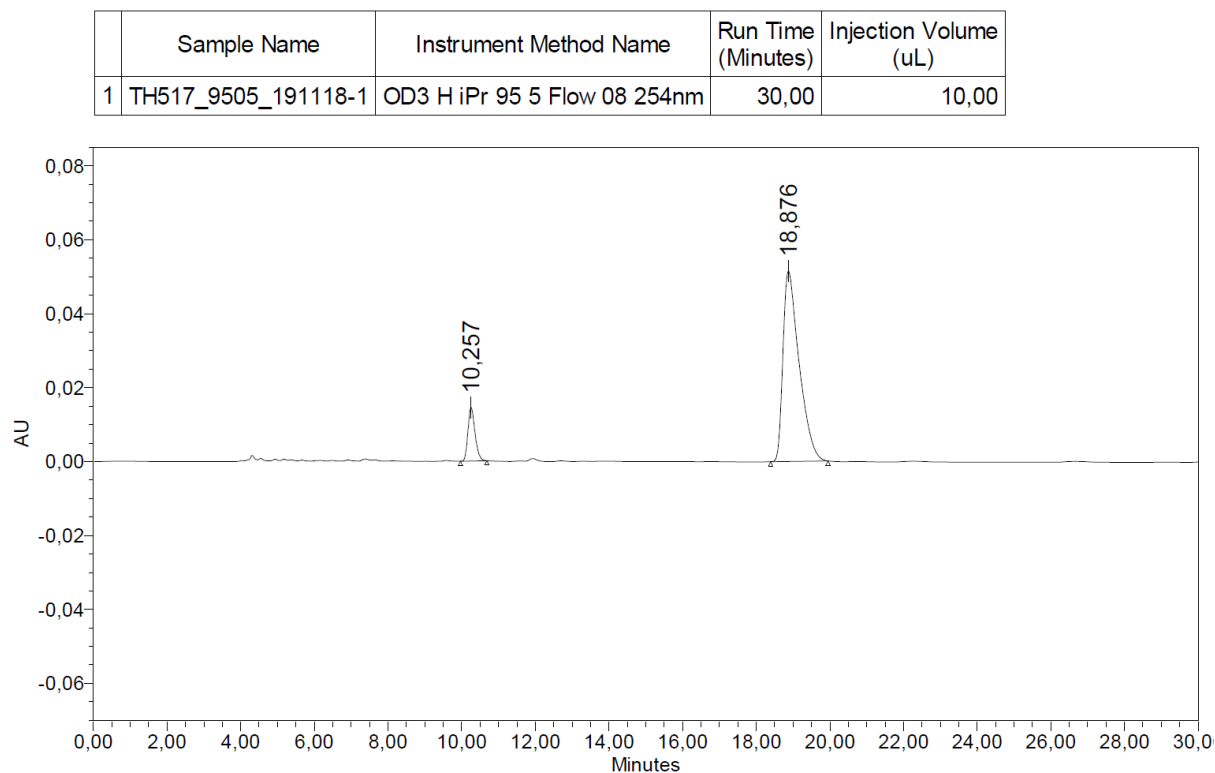


Abbildung 210: $^1\text{H-NMR}$ Analyse der optimierten Umsetzungen des Substrats **77** mit AmbDH3 im 1000 mg (oben) und 500 mg Maßstab (unten).

Spektrenanhang



Ret. Time	Start (min)	End (min)	Height	% Height	Area	% Area	
1	10,26	9,97	10,68	14525	22,00	193503	10,99
2	18,88	18,39	19,95	51500	78,00	1567804	89,01

Abbildung 211: Analyse von (-)-*Centrolobin* via chiraler HPLC zur Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses (59:ent-59 / 89:11).

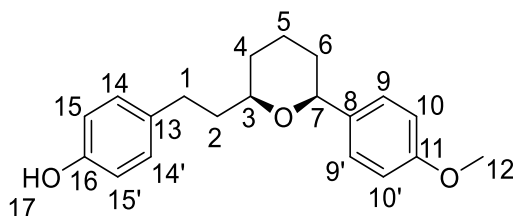


Tabelle 4: Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ Verschiebungen und Multiplizitäten von (-)-*Centrolobin* (59) mit der Literatur.

^1H	δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3)	δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3) ^[83]
9, 9'	7.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H)	7.33 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H)
14, 14'	7.06 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H)	7.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H)
10, 10'	6.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H)	6.90 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H)
15, 15'	6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H)	6.71 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H)
17	4.58 (br, 1H)	5.14 (br, 1H)
7	4.29 (dd, $J = 11.2, 2.1$ Hz, 1H)	4.32 (dd, $J = 11.0, 2.0$ Hz, 1H)
12	3.80 (s, 3H)	3.81 (s, 3H)

Spektrenanhang

3	3.44 (dddd, $J = 10.7, 8.1, 4.6, 1.9$ Hz, 1H)	3.47 (dddd, $J = 9.8, 7.5, 1.8$ Hz, 1H)
1	2.75-2.62 (m, 2H)	2.70 (m, 2H)
2, 5 _{eq}	1.95-1.86 (m, 2H)	1.92 (m, 2H)
6 _{eq}	1.85-1.80 (m, 1H)	1.84 (m, 1H)
2	1.76-1.67 (m, 1H)	1.74 (m, 1H)
5 _{ax} , 4 _{eq}	1.66-1.59 (m, 2H)	1.62 (m, 2H)
6 _{ax}	1.54-1.46 (m, 1H)	1.56 (m, 1H)
4 _{ax}	1.37-1.28 (m, 1H)	1.35 (m, 1H)

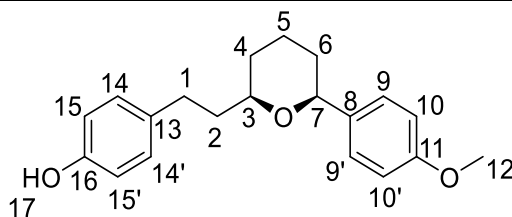


Tabelle 5: Vergleich der ^{13}C -NMR Verschiebungen von (-)-Centrolabin (**59**) mit der Literatur.

^{13}C	δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3)	δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3) ^[83]
11	158.8 (q)	158.7
16	153.6 (q)	153.5
8	136.0 (q)	135.6
13	134.9 (q)	134.5
14, 14'	129.7 (t)	129.5
9, 9'	127.2 (t)	127.1
15, 15'	115.2 (t)	115.1
10, 10'	113.7 (t)	113.6
7	79.2 (t)	79.2
3	77.3 (t)	77.3
12	55.4 (p)	55.3
2	38.4 (s)	38.2
6	33.5 (s)	33.2
4	31.4 (s)	31.2
1	30.9 (s)	30.7

Spektrenanhang

5	24.2 (s)	24.0
---	----------	------

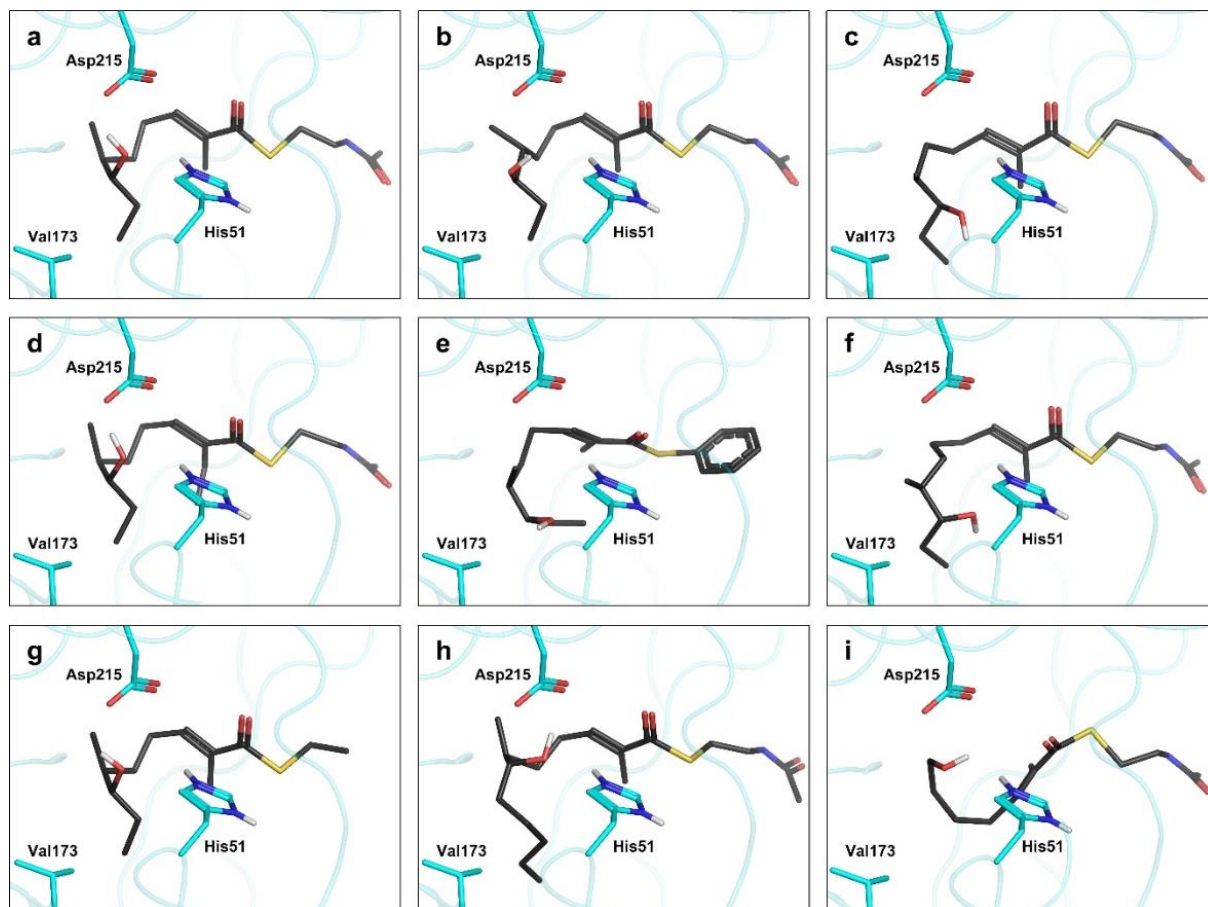


Abbildung 212: Modellierte Substrate in der aktiven Tasche von AmbDH3. a) **77**; b) **(6S,7S)-219**; c) **(6R,7R)-219**; d) **158**; e) **244**; f) **165**; g) **161**; h) **126**; i) **199**.^[110]

Tabelle 6: Distanzen zwischen den Aminosäuresubstituenten der katalytischen Diade in der aktiven Tasche von AmbDH3 und 7(8)-OH, bzw. C3 der hineinmodellierten Substrate.^[110]

Distanz [Å]	A	b	c	d	E	f	g	h	i
D215-7(8)-OH	2.1	2.6	6.2	1.9	5,2	6.5	2.2	2.4	2.9
7(8)OH-C3	3.6	4.9	3.9	3.5	3.9	3.7	4.0	3.2	3.5
H51-C3	3.3	3.3	2.6	3.1	2.3	3.1	3.1	3.0	2.4
Umsatz [%]	87	18	0	17	0	0	43	13	37

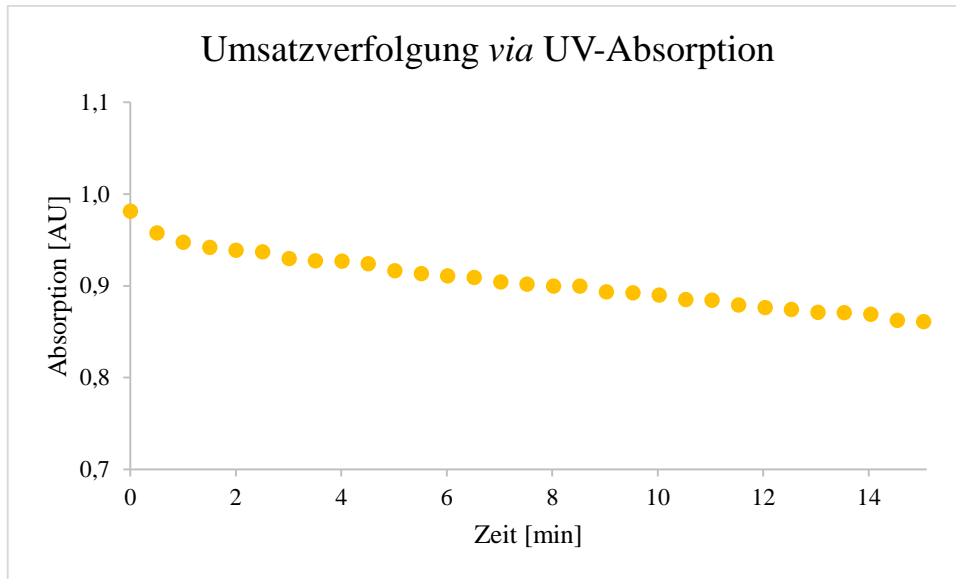


Abbildung 213: Umsatzverfolgung der AmbDH3-katalysierten Umsetzung von **77** (1.0 mM Substrat-, 50 μ M Proteinkonzentration) zu **78** via UV-Absorption innerhalb der ersten 15 min.

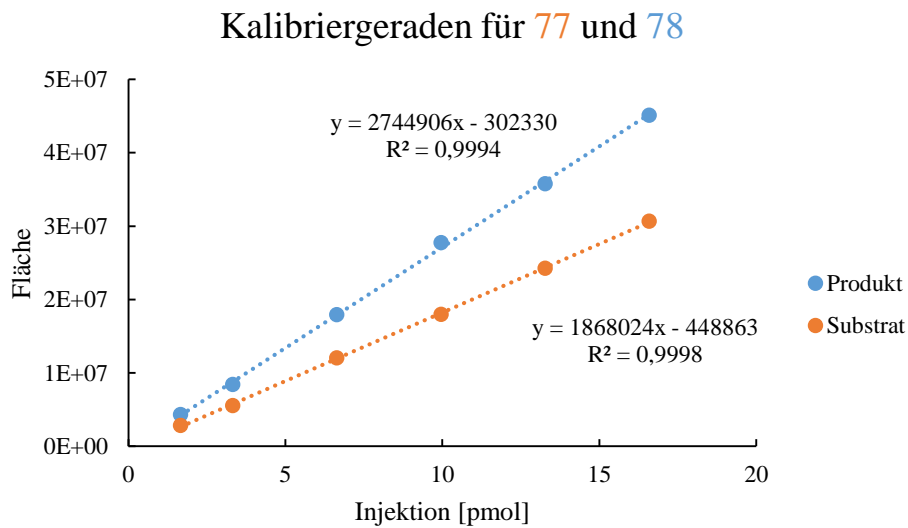


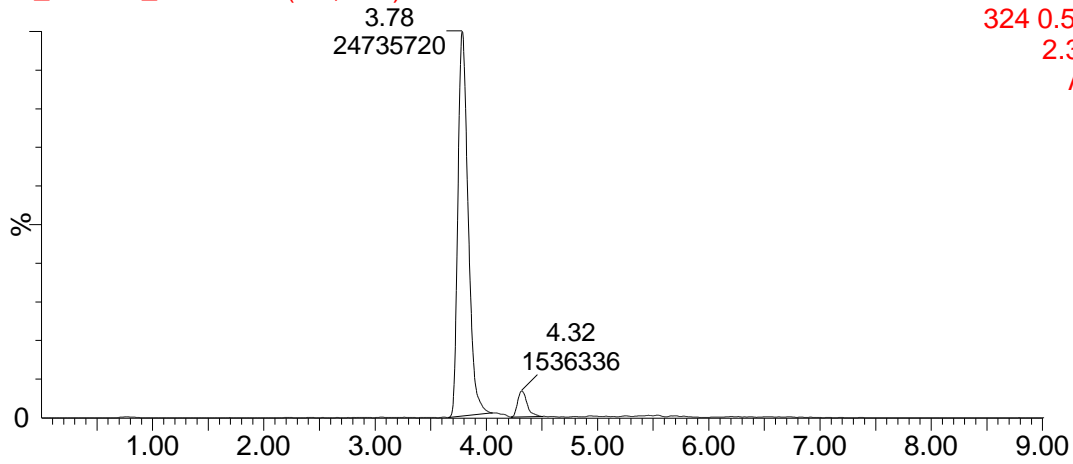
Abbildung 214: Kalibriergeraden für die Bestimmung der Probenkonzentrationen der Verbindungen **77** und **78** via UPLC-MS-Chromatogramme.

Spektrenanhang

THkin_191115_025-1

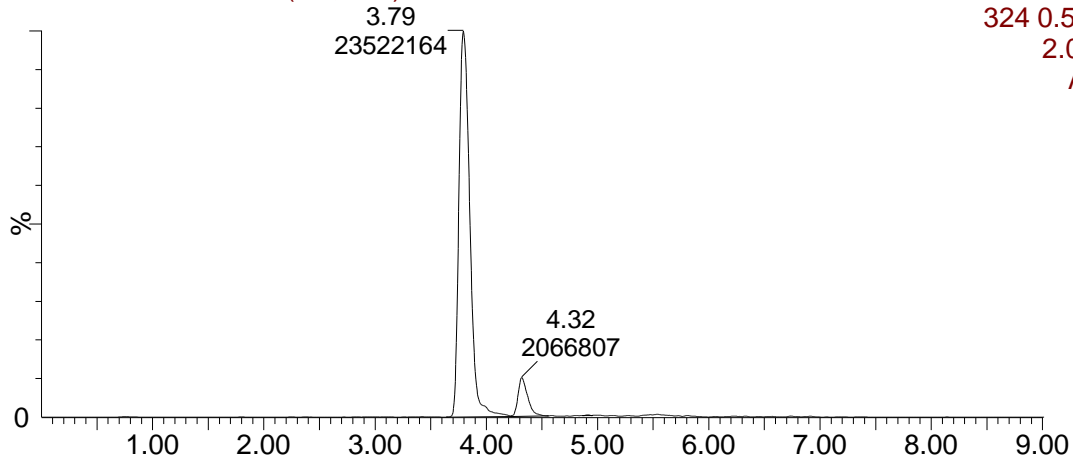
THkin_191115_025-3 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
2.33e8
Area



THkin_191115_025-2 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
2.08e8
Area



THkin_191115_025-1 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
1.23e8
Area

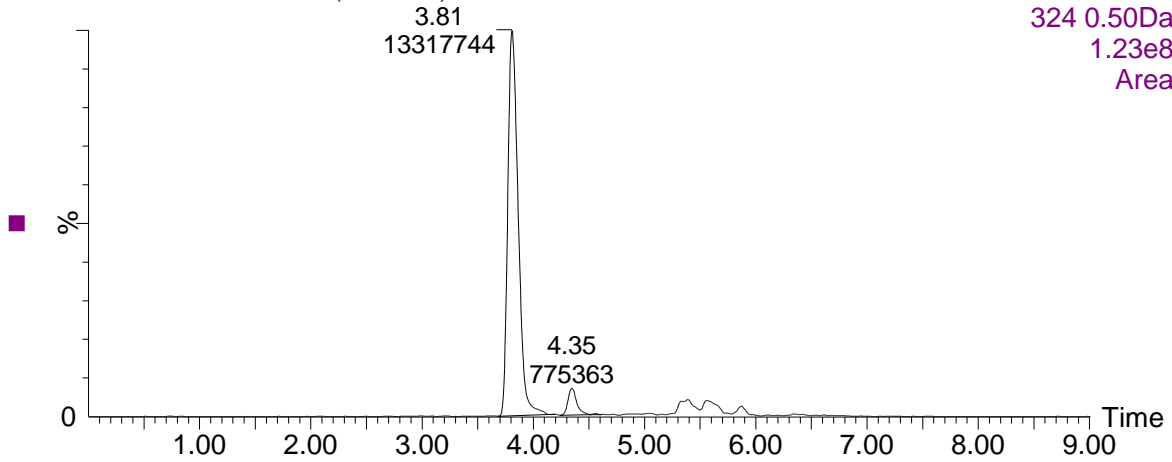


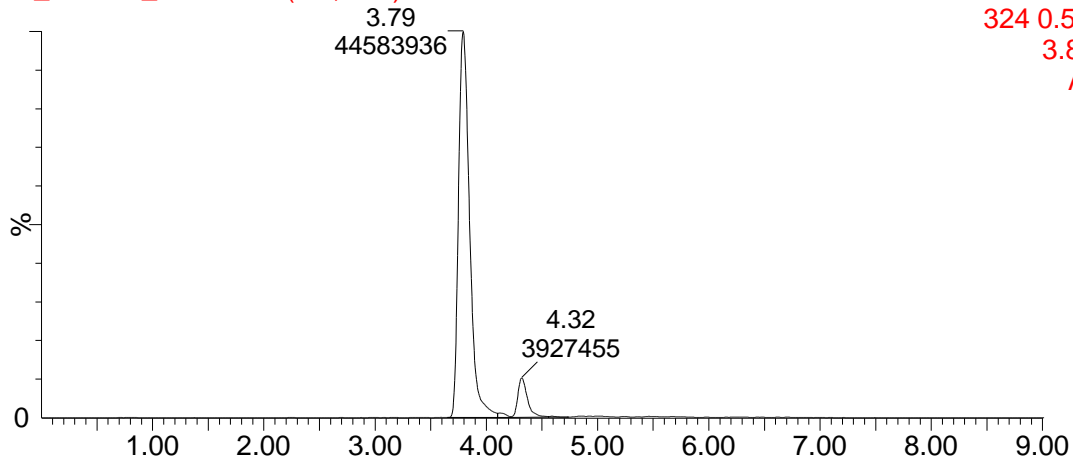
Abbildung 215: UPLC-MS-Chromatogramme der Umsetzung von **77** (0.14 mM) der kinetischen Untersuchung von AmbDH3.

Spektrenanhang

THkin_191115_050-1

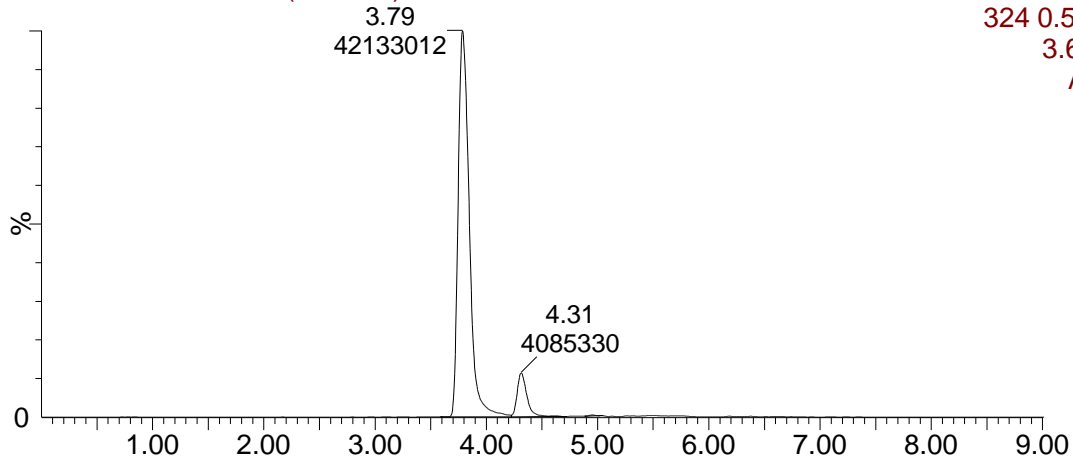
THkin_191115_050-3 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
3.86e8
Area



THkin_191115_050-2 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
3.62e8
Area



THkin_191115_050-1 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
3.39e8
Area

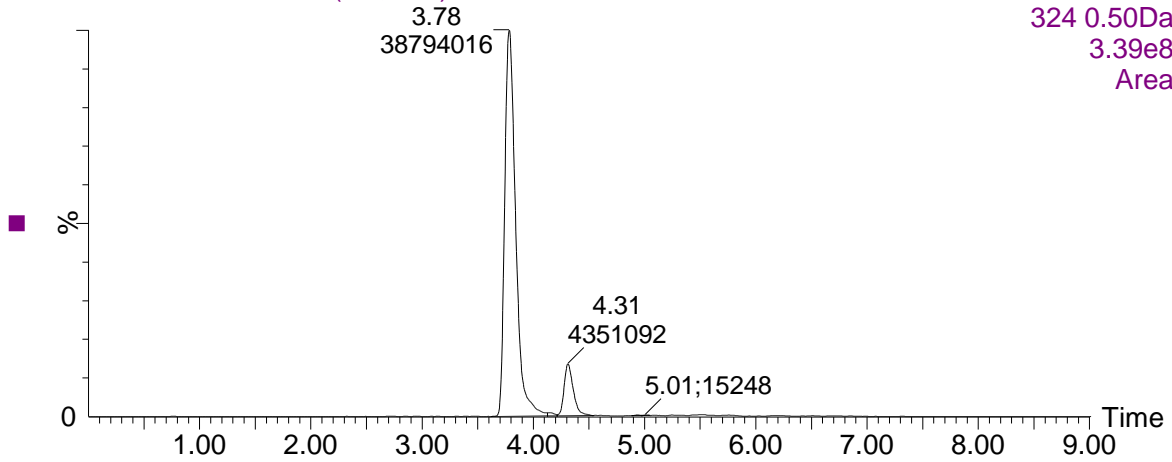


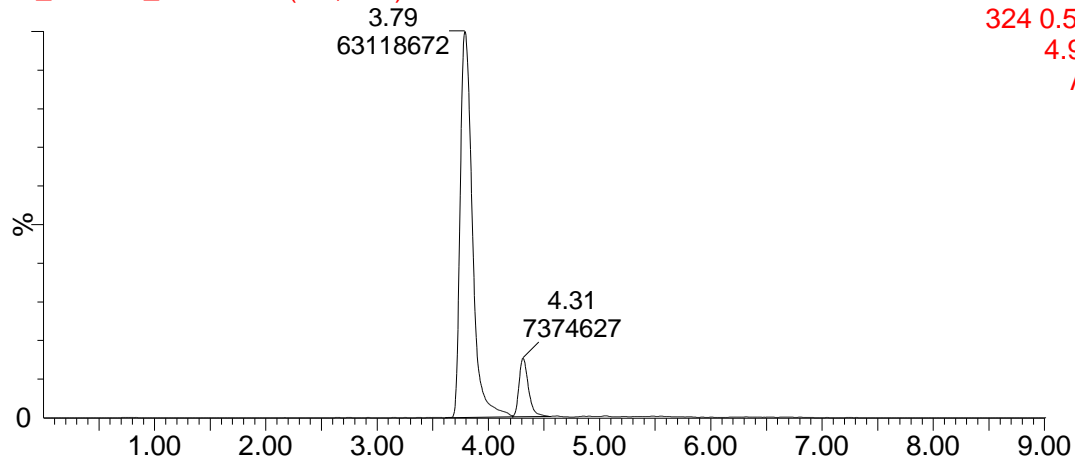
Abbildung 216: UPLC-MS-Chromatogramme der Umsetzung von **77** (0.24 mM) der kinetischen Untersuchung von AmbDH3.

Spektrenanhang

THkin_191115_100-1

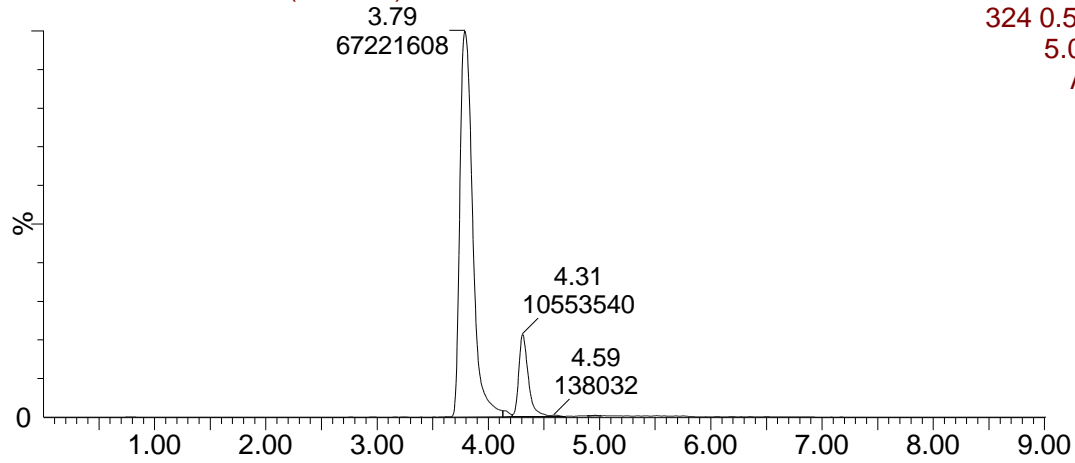
THkin_191115_100-3 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
4.97e8
Area



THkin_191115_100-2 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
5.05e8
Area



THkin_191115_100-1 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
4.86e8
Area

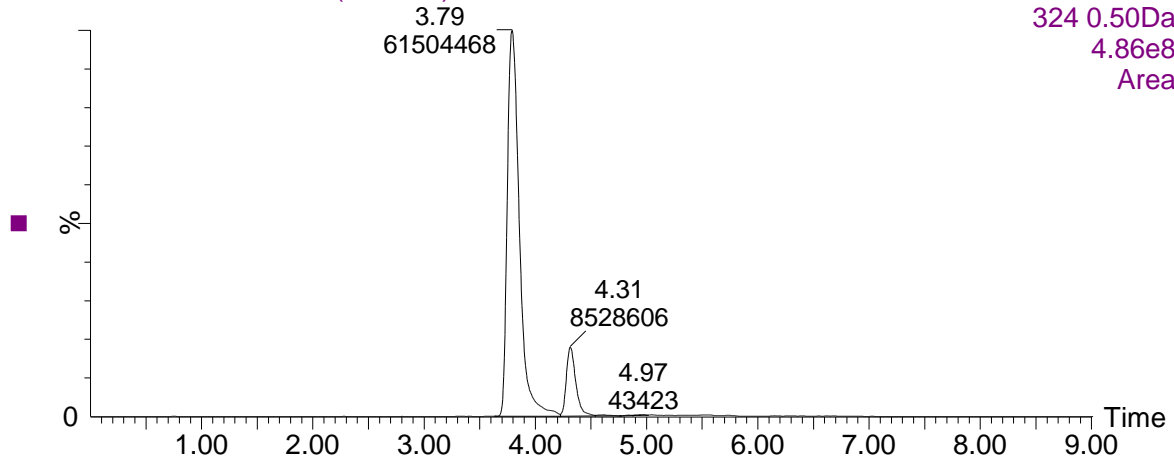


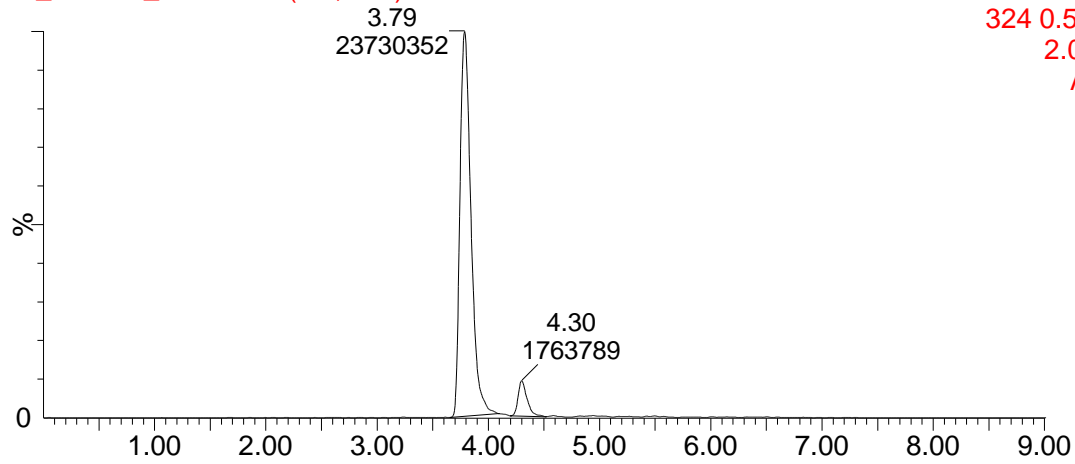
Abbildung 217: UPLC-MS-Chromatogramme der Umsetzung von **77** (0.37 mM) der kinetischen Untersuchung von AmbDH3.

Spektrenanhang

THkin_191115_200-1

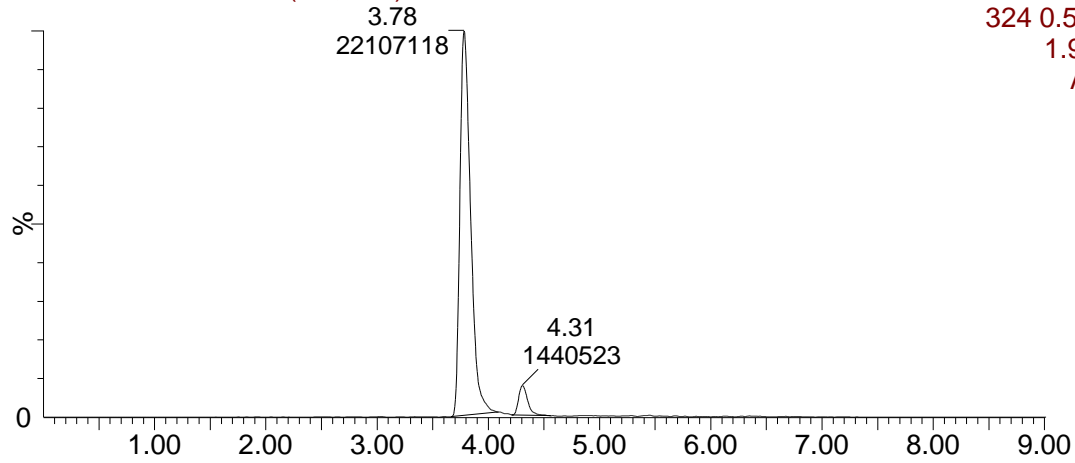
THkin_191115_200-3 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
2.07e8
Area



THkin_191115_200-2 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
1.99e8
Area



THkin_191115_200-1 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
324 0.50Da
2.37e8
Area

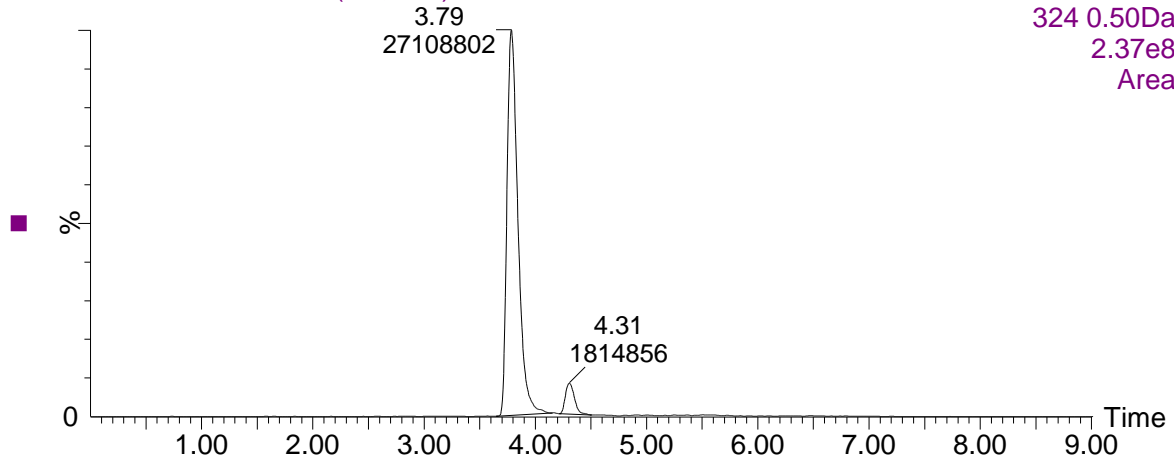


Abbildung 218: UPLC-MS-Chromatogramme der Umsetzung von **77** (1.4 mM) der kinetischen Untersuchung von AmbDH3.

TH220_171019_Ues-2

TH220_171019_Ues-2 Sm (Mn, 2x3)

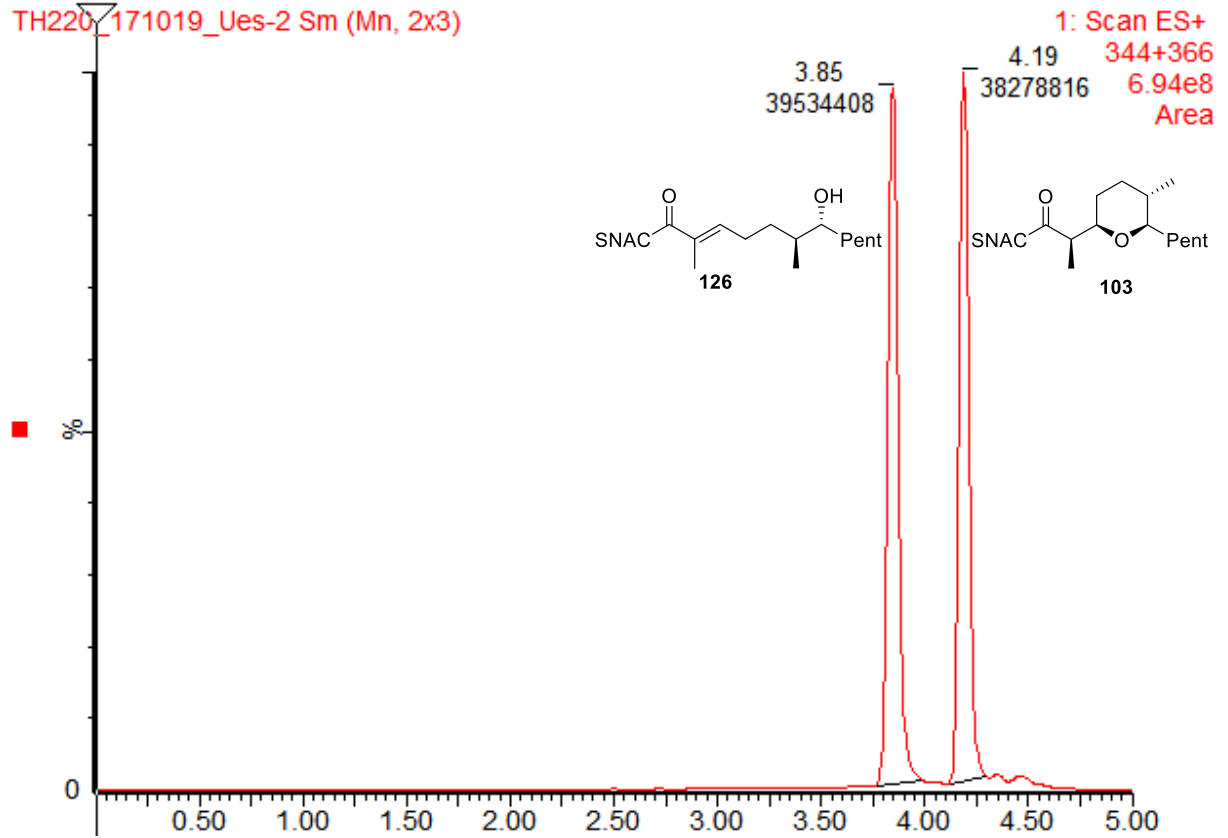


Abbildung 219: UPLC-MS-Chromatogramm der Umsetzung von **126**-gesättigtem HEPES-Puffer mit AmbDH3.

Spektrenanhang

TH343_10_180803

TH343_10_180803 Sm (Mn, 2x3)

1: Scan ES+
338
1.02e8
Area

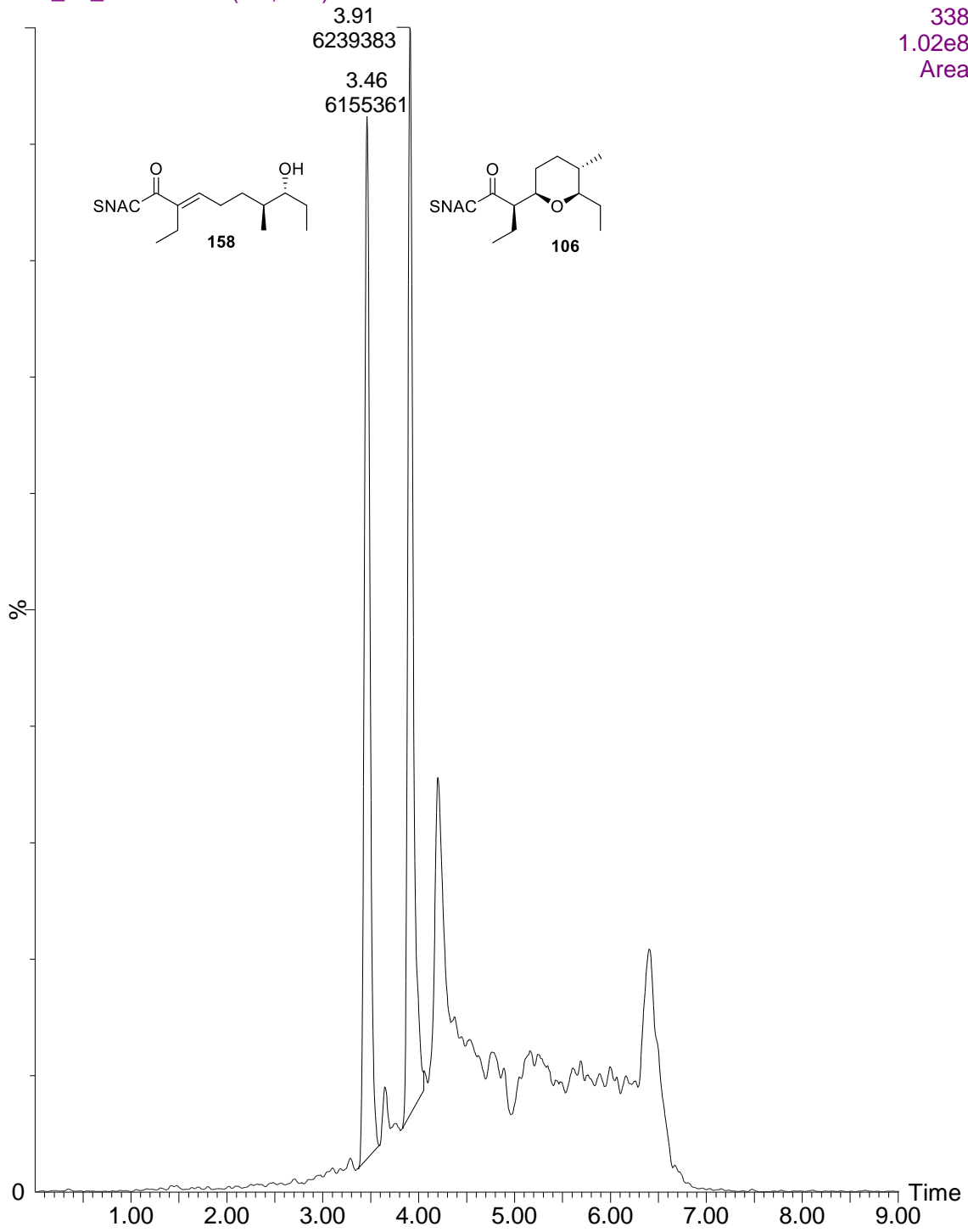


Abbildung 220: UPLC-MS-Chromatogramm der Umsetzung von **158** im 0.1 mg-Maßstab mit AmbDH3.

Spektrenanhang

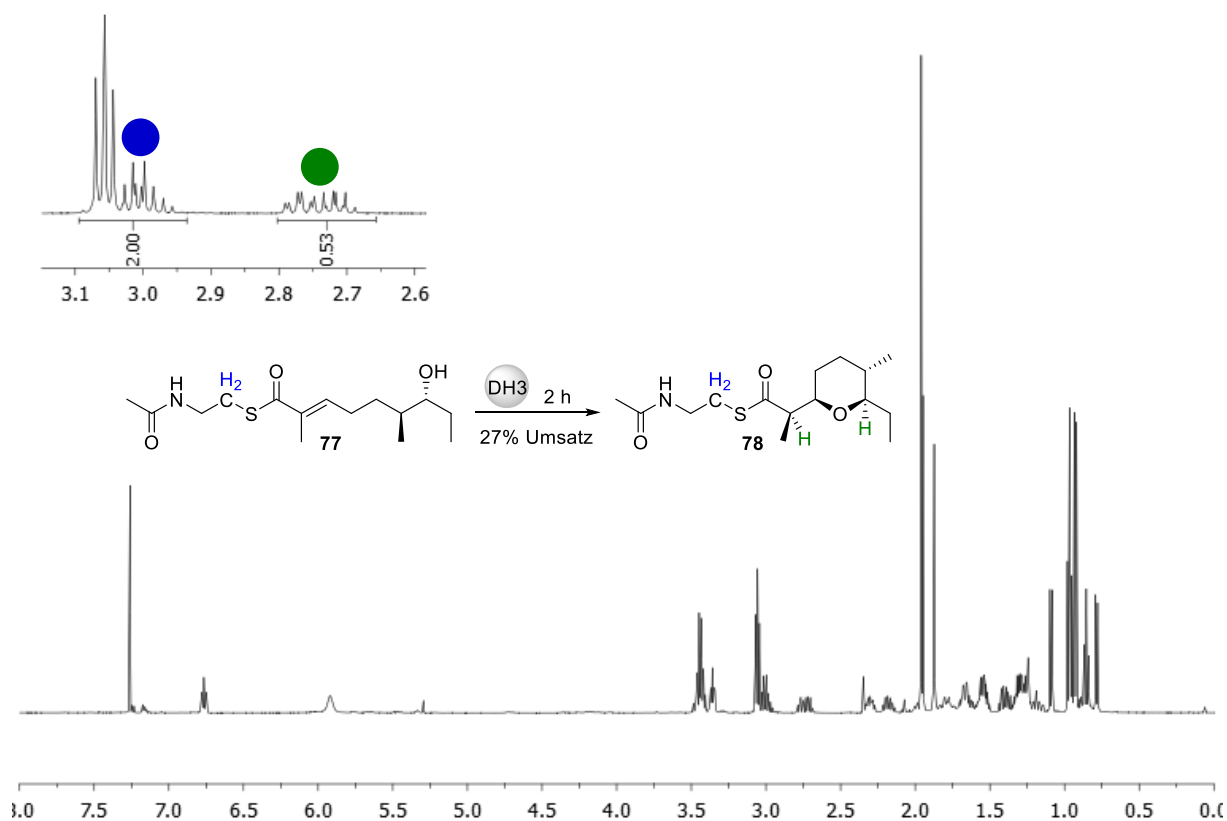


Abbildung 221: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Inkubation von **77** mit AmbDH3 für 2 h. Die zur Umsatzbestimmung (27%) verwendeten Signale wurden hervorgehoben und farblich markiert.

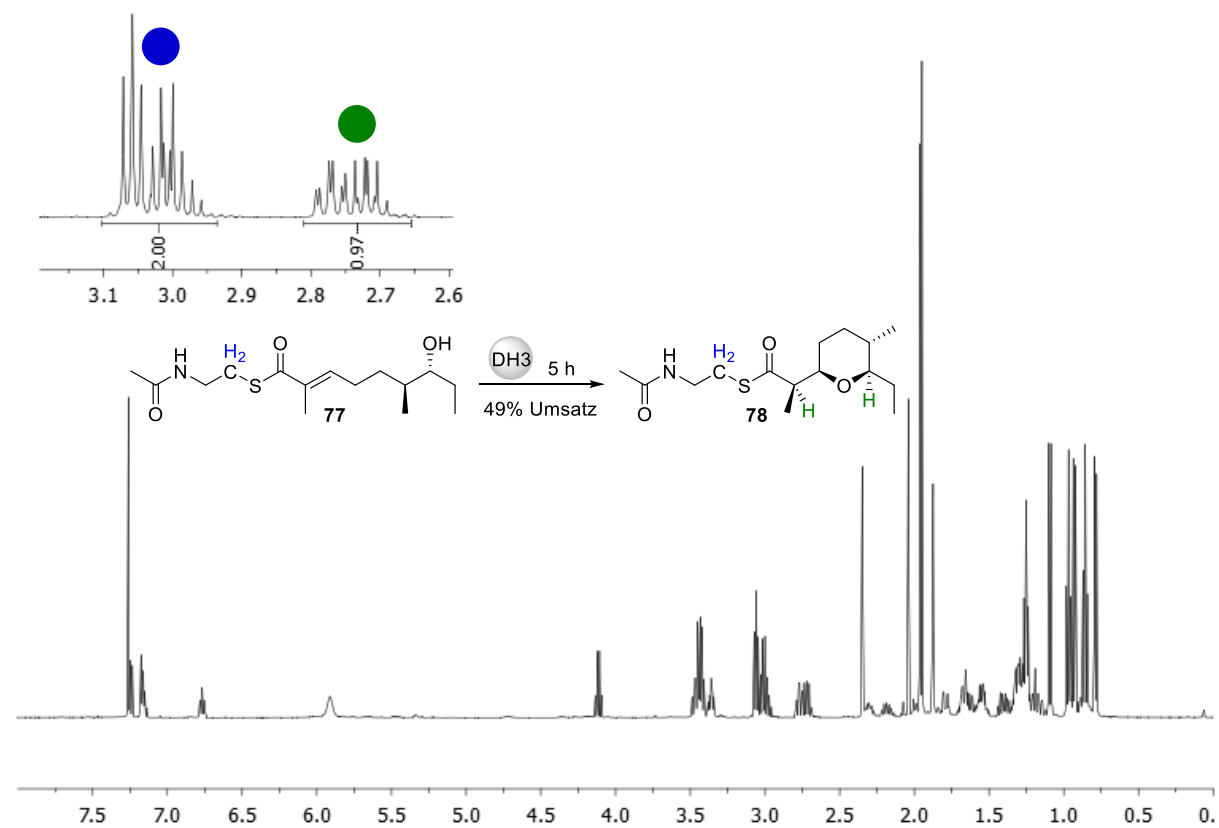


Abbildung 222: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Inkubation von **77** mit AmbDH3 für 5 h. Die zur Umsatzbestimmung (49%) verwendeten Signale wurden hervorgehoben und farblich markiert.

Spektrenanhang

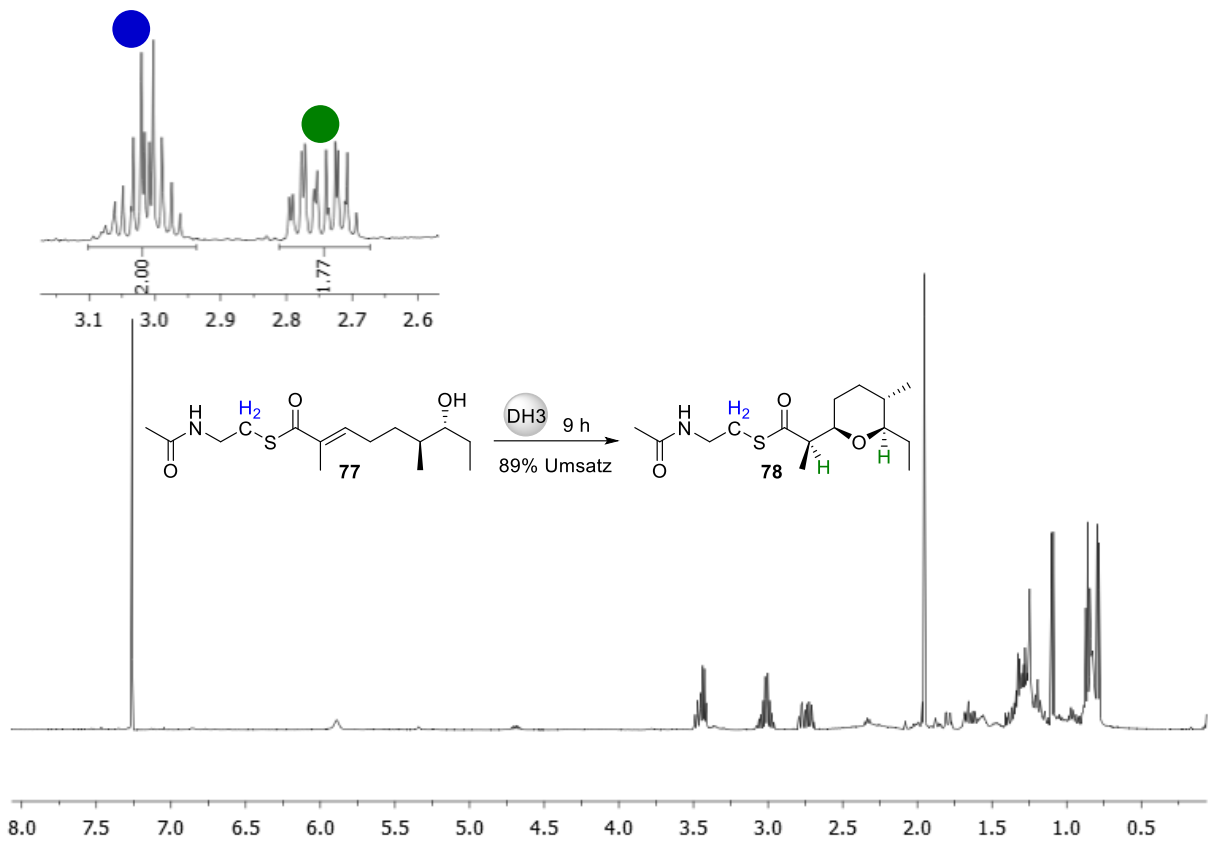


Abbildung 223: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Inkubation von **77** mit AmbDH3 für 9 h. Die zur Umsatzbestimmung (89%) verwendeten Signale wurden hervorgehoben und farblich markiert.

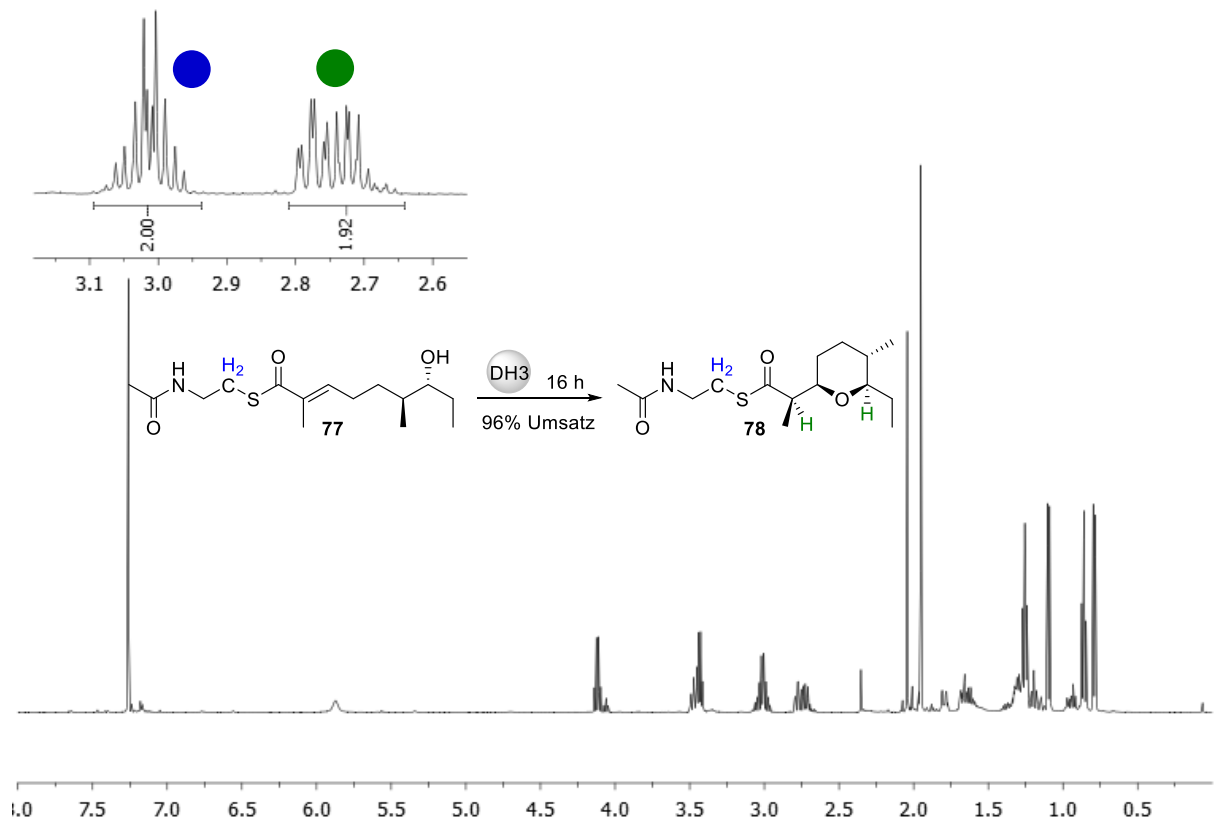


Abbildung 224: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Inkubation von **77** mit AmbDH3 für 16 h. Die zur Umsatzbestimmung (96%) verwendeten Signale wurden hervorgehoben und farblich markiert.

Literaturverzeichnis

- [1] N. Kardos, A. L. Demain, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *92*, 677–687, 10.1007/s00253-011-3587-6.
- [2] E. P. Abraham, G. G. F. Newton, *Biochem. J.* **1961**, *79*, 377–393, 10.1042/bj0790377.
- [3] K. Gerth, P. Washausen, G. Höfle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1996**, *49*, 71–75, 10.7164/antibiotics.49.71.
- [4] G. Habermehl, P. E. Hammann, H. C. Krebs, W. Ternes, *Naturstoffchemie*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2008**.
- [5] R. B. Woodward, E. Logusch, K. P. Nambiar, K. Sakan, D. E. Ward, B. W. Au-Yeung, P. Balaram, L. J. Browne, P. J. Card, C. H. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3215–3217, 10.1021/ja00401a051.
- [6] R. B. Woodward, E. Logusch, K. P. Nambiar, K. Sakan, D. E. Ward, B. W. Au-Yeung, P. Balaram, L. J. Browne, P. J. Card, C. H. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3210–3213, 10.1021/ja00401a049.
- [7] R. B. Woodward, B. W. Au-Yeung, P. Balaram, L. J. Browne, D. E. Ward, B. W. Au-Yeung, P. Balaram, L. J. Browne, P. J. Card, C. H. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3213–3215, 10.1021/ja00401a050.
- [8] W. Minas, in *Microb. Process. Prod.*, Humana Press, Totowa, NJ, **2005**, S. 65–90.
- [9] M. A. Williams, J. E. Ladbury, **2003**, S. 137–161.
- [10] K. L. Pierce, R. T. Premont, R. J. Lefkowitz, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 639–650, 10.1038/nrm908.
- [11] F. Lindner, S. Friedrich, F. Hahn, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 14091–14101, 10.1021/acs.joc.8b02047.
- [12] K. Ermanis, Y.-T. Hsiao, U. Kaya, A. Jeuken, P. A. Clarke, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 482–490, 10.1039/C6SC03478K.
- [13] P. A. Clarke, K. Ermanis, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5550–5553, 10.1021/ol3026523.
- [14] H. Fuwa, K. Noto, M. Sasaki, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1820–1823, 10.1021/ol200333p.
- [15] H. Fuwa, N. Ichinokawa, K. Noto, M. Sasaki, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 2588–2607, 10.1021/jo202179s.
- [16] C. Schneider, A. Schuffenhauer, *European J. Org. Chem.* **2000**, *2000*, 73–82, 10.1002/(SICI)1099-0690(200001)2000:1<73::AID-EJOC73>3.0.CO;2-4.
- [17] M. G. Banwell, C. T. Bui, H. T. T. Pham, G. W. Simpson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1996**, 967, 10.1039/p19960000967.

- [18] Y. Kuroda, K. J. Nicacio, I. A. da Silva-Jr, P. R. Leger, S. Chang, J. R. Gubiani, V. M. Deflon, N. Nagashima, A. Rode, K. Blackford, A. G. Ferreira, L. D. Sette, D. E. Williams, R. J. Andersen, S. Jancar, R. G. S. Berlinck, R. Sarpong, *Nat. Chem.* **2018**, *10*, 938–945, 10.1038/s41557-018-0084-x.
- [19] R. Nannei, S. Dallavalle, L. Merlini, A. Bava, G. Nasini, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6277–6280, 10.1021/jo060839i.
- [20] H. J. Prins, *Chem. Weekbl.* **1919**, *16*, 1510.
- [21] X. Han, G. Peh, P. E. Floreancig, *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 1193–1208, 10.1002/ejoc.201201557.
- [22] E. Lee, S. J. Choi, H. Kim, H. O. Han, Y. K. Kim, S. J. Min, S. H. Son, S. M. Lim, W. S. Jang, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2002**, *41*, 176–178, 10.1002/1521-3773(20020104)41:1<176::AID-ANIE176>3.0.CO;2-#.
- [23] P. Liu, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10772–10773, 10.1021/ja016893s.
- [24] K. C. Nicolaou, M. E. Duggan, C. K. Hwang, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2468–2469, 10.1021/ja00269a067.
- [25] K. C. Nicolaou, M. H. D. Postema, C. F. Claiborne, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 1565–1566, 10.1021/ja9534866.
- [26] K. C. Nicolaou, M. H. D. Postema, E. W. Yue, A. Nadin, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10335–10336, 10.1021/ja962862z.
- [27] R. D. Taylor, M. MacCoss, A. D. G. Lawson, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5845–5859, 10.1021/jm4017625.
- [28] A. F. Pozharskii, A. T. Soldatenkov, A. R. Katritzky, *Heterocycles in Life and Society*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2011**.
- [29] R. Dua, S. Shrivastava, S. K. Sonwane, S. K. Srivastava, *Adv. Biol. Res. (Rennes)*. **2011**, *5*, 120–144.
- [30] T. Liu, D. E. Cane, Z. Deng, **2009**, S. 187–214.
- [31] F. Hemmerling, F. Hahn, *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 1512–1550, 10.3762/bjoc.12.148.
- [32] S. M. Cooper, W. Laosripaiboon, A. S. Rahman, J. Hothersall, A. K. El-Sayed, C. Winfield, J. Crosby, R. J. Cox, T. J. Simpson, C. M. Thomas, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 825–833, 10.1016/j.chembiol.2005.05.015.
- [33] A. K. El-Sayed, J. Hothersall, S. M. Cooper, E. Stephens, T. J. Simpson, C. M. Thomas, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 419–430, 10.1016/S1074-5521(03)00091-7.
- [34] L. Wang, A. Parnell, C. Williams, N. A. Bakar, M. R. Challand, M. W. van der Kamp,

- T. J. Simpson, P. R. Race, M. P. Crump, C. L. Willis, *Nat. Catal.* **2018**, *1*, 968–976, 10.1038/s41929-018-0183-5.
- [35] T. Taguchi, K. Kunieda, M. Takeda-Shitaka, D. Takaya, N. Kawano, M. R. Kimberley, K. I. Booker-Milburn, G. R. Stephenson, H. Umeyama, Y. Ebizuka, K. Ichinose, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5917–5927, 10.1016/j.bmc.2004.08.026.
- [36] K. Ichinose, D. J. Bedford, D. Tornus, A. Bechthold, M. J. Bibb, W. Peter Reville, H. G. Floss, D. A. Hopwood, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 647–659, 10.1016/S1074-5521(98)90292-7.
- [37] G. Berkhan, F. Hahn, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, *53*, 14240–14244, 10.1002/anie.201407979.
- [38] K. H. Sung, G. Berkhan, T. Hollmann, L. Wagner, W. Blankenfeldt, F. Hahn, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 343–347, 10.1002/anie.201707774.
- [39] S. M. Ringel, R. C. Greenough, S. Roemer, D. Connor, A. L. Gutt, B. Blair, G. Kanter, M. von Strandtmann, *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1977**, *30*, 371–375, 10.7164/antibiotics.30.371.
- [40] G. Berkhan, C. Merten, C. Holec, F. Hahn, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2016**, *55*, 13589–13592, 10.1002/anie.201607827.
- [41] K. C. Nicolaou, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, *53*, 4730–4730, 10.1002/anie.201402816.
- [42] C. A. Kuttruff, M. D. Eastgate, P. S. Baran, *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 419–432, 10.1039/C3NP70090A.
- [43] J. Mulzer, *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 595, 10.1039/c3np70105k.
- [44] S. Friedrich, F. Hahn, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 1473–1508, 10.1016/j.tet.2014.12.026.
- [45] ICH, *Guideline for elemental impurities Q3D (R1)*, **2019**.
- [46] D. Enders, J. L. Vicario, A. Job, M. Wolberg, M. Müller, *Chem. - A Eur. J.* **2002**, *8*, 4272–4284, 10.1002/1521-3765(20020916)8:18<4272::AID-CHEM4272>3.0.CO;2-K.
- [47] M. Wolberg, W. Hummel, M. Müller, *Chem. - A Eur. J.* **2001**, *7*, 4562–4571, 10.1002/1521-3765(20011105)7:21<4562::AID-CHEM4562>3.0.CO;2-4.
- [48] K. Mashima, K. Kusano, N. Sato, Y. Matsumura, K. Nozaki, H. Kumobayashi, N. Sayo, Y. Hori, T. Ishizaki, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3064–3076, 10.1021/jo00090a026.
- [49] E. J. Corey, S. Shibata, R. K. Bakshi, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2861–2863, 10.1021/jo00247a044.
- [50] P. Ferraboschi, D. Colombo, M. De Mieri, P. Grisenti, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 4384–4388, 10.1016/j.tetlet.2009.05.066.
- [51] R. N. Patel, A. Banerjee, V. Nanduri, A. Goswami, F. T. Comezoglu, *J. Am. Oil Chem.*

- Soc.* **2000**, 77, 1015–1019, 10.1007/s11746-000-0161-y.
- [52] K. Bogár, B. Martín-Matute, J.-E. Bäckvall, *Beilstein J. Org. Chem.* **2007**, 3, 10.1186/1860-5397-3-50, DOI 10.1186/1860-5397-3-50.
- [53] M. Ninomiya, Y. Ando, F. Kudo, K. Ohmori, K. Suzuki, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2019**, 58, 4264–4270, 10.1002/anie.201814172.
- [54] C. Khosla, R. S. Gokhale, J. R. Jacobsen, D. E. Cane, *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, 68, 219–253, 10.1146/annurev.biochem.68.1.219.
- [55] M. B. Austin, J. P. Noel, *Nat. Prod. Rep.* **2003**, 20, 79–110, 10.1039/b100917f.
- [56] E. Teuscher, M. F. Melzig, U. Lindequist, *Biogene Arzneimittel. Ein Lehrbuch der pharmazeutischen Biologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **2012**.
- [57] A. T. Keatinge-Clay, *Nat. Prod. Rep.* **2012**, 29, 1050, 10.1039/c2np20019h.
- [58] J. Staunton, B. Wilkinson, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 2611–2630, 10.1021/cr9600316.
- [59] C. M. Bebear, H. Renaudin, A. Bryskier, C. Bebear, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, 44, 1980–1982, 10.1128/AAC.44.7.1980-1982.2000.
- [60] D. J. Hoban, G. G. Zhanel, J. A. Karlowsky, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **1999**, 35, 37–44, 10.1016/S0732-8893(99)00053-X.
- [61] B. Shen, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, 7, 285–295, 10.1016/S1367-5931(03)00020-6.
- [62] M. Metsä-Ketelä, T. Oja, T. Taguchi, S. Okamoto, K. Ichinose, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2013**, 17, 562–570, 10.1016/j.cbpa.2013.06.032.
- [63] B. M. Duggar, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1948**, 51, 177–181, 10.1111/j.1749-6632.1948.tb27262.x.
- [64] R. Lukačín, K. Springob, C. Urbanke, C. Ernwein, G. Schröder, J. Schröder, U. Matern, *FEBS Lett.* **1999**, 448, 135–140, 10.1016/S0014-5793(99)00355-5.
- [65] S. Samappito, J. E. Page, J. Schmidt, W. De-Eknamkul, T. M. Kutchan, *Phytochemistry* **2003**, 62, 313–323, 10.1016/S0031-9422(02)00545-9.
- [66] D. L. Akey, J. R. Razelun, J. Tehranisa, D. H. Sherman, W. H. Gerwick, J. L. Smith, *Structure* **2010**, 18, 94–105, 10.1016/j.str.2009.10.018.
- [67] D. Gay, Y.-O. You, A. Keatinge-Clay, D. E. Cane, *Biochemistry* **2013**, 52, 8916–8928, 10.1021/bi400988t.
- [68] A. Keatinge-Clay, *J. Mol. Biol.* **2008**, 384, 941–953, 10.1016/j.jmb.2008.09.084.
- [69] L. Vetcher, H. G. Menzella, T. Kudo, T. Motoyama, L. Katz, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51, 3734–3736, 10.1128/AAC.00369-07.
- [70] G. Höfle, H. Steinmetz, K. Gerth, H. Reichenbach, *Liebigs Ann. der Chemie* **1991**, 1991, 941–945, 10.1002/jlac.1991199101161.

- [71] B. Julien, Z.-Q. Tian, R. Reid, C. D. Reeves, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 1277–1286, 10.1016/j.chembiol.2006.10.004.
- [72] J. Piel, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 14002–14007, 10.1073/pnas.222481399.
- [73] J. H. Frank, K. Kanamitsu, *J. Med. Entomol.* **1987**, *24*, 155–191, 10.1093/jmedent/24.2.155.
- [74] A. B. Smith, S. Dong, J. B. Brennehan, R. J. Fox, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12109–12111, 10.1021/ja906115a.
- [75] D. T. Wagner, Z. Zhang, R. A. Meoded, A. J. Cepeda, J. Piel, A. T. Keatinge-Clay, *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 975–983, 10.1021/acscchembio.8b00049.
- [76] I. L. De Albuquerque, C. Galeffi, C. G. Casinovi, G. B. Marini-Bettolo, *Gazz. Chim. Ital.* **1964**, *94*, 287–295.
- [77] A. F. de C. Alcântara, M. R. Souza, D. Piló-Veloso, *Fitoterapia* **2000**, *71*, 613–615, 10.1016/S0367-326X(00)00196-9.
- [78] C. A. C. Araujo, L. V. Alegrio, L. L. Leon, *Phytochemistry* **1998**, *49*, 751–754, 10.1016/S0031-9422(97)00976-X.
- [79] Y. Matsumoto, M. Yonaga, *Synlett* **2014**, *25*, 1764–1768, 10.1055/s-0033-1340195.
- [80] M. Iqbal, N. Mistry, P. A. Clarke, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 4960–4966, 10.1016/j.tet.2011.04.043.
- [81] K. Nakata, T. Tokumaru, H. Iwamoto, Y. Nishigaichi, I. Shiina, *Asian J. Org. Chem.* **2013**, *2*, 920–922, 10.1002/ajoc.201300139.
- [82] B. Nagarjuna, B. Thirupathi, C. Venkata Rao, D. K. Mohapatra, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 4916–4918, 10.1016/j.tetlet.2015.06.084.
- [83] F. Rogano, P. Rüedi, *Helv. Chim. Acta* **2010**, *93*, 1281–1298, 10.1002/hlca.201000096.
- [84] W. Chaładaj, R. Kowalczyk, J. Jurczak, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1740–1743, 10.1021/jo902167r.
- [85] H. Fuwa, K. Noto, M. Sasaki, *Heterocycles* **2010**, *82*, 641, 10.3987/COM-10-S(E)37.
- [86] P. A. Clarke, W. H. C. Martin, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9061–9063, 10.1016/j.tetlet.2004.10.035.
- [87] W. D. Fiers, G. J. Dodge, D. H. Sherman, J. L. Smith, C. C. Aldrich, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 16024–16036, 10.1021/jacs.6b09748.
- [88] M. J. Todd, J. Gomez, *Anal. Biochem.* **2001**, *296*, 179–187, 10.1006/abio.2001.5218.
- [89] G. H. Seong, J. Heo, R. M. Crooks, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3161–3167, 10.1021/ac034155b.
- [90] M. Elmogy, T. T. M. Bassal, H. A. Yousef, M. A. Dorrah, A. A. Mohamed, B. Duvic, *J.*

- Insect Sci.* **2015**, *15*, 57–57, 10.1093/jisesa/iev038.
- [91] J. N. Earnhardt, M. Qian, C. Tu, M. M. Lakkis, N. C. H. Bergenhem, P. J. Laipis, R. E. Tashian, D. N. Silverman, *Biochemistry* **1998**, *37*, 10837–10845, 10.1021/bi980046t.
- [92] Y. Li, G. J. Dodge, W. D. Fiers, R. A. Fecik, J. L. Smith, C. C. Aldrich, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7003–7006, 10.1021/jacs.5b02325.
- [93] W. D. Fiers, G. J. Dodge, D. H. Sherman, J. L. Smith, C. C. Aldrich, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 16024–16036, 10.1021/jacs.6b09748.
- [94] Y. Li, G. J. Dodge, W. D. Fiers, R. A. Fecik, J. L. Smith, C. C. Aldrich, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7003–7006, 10.1021/jacs.5b02325.
- [95] S. Bali, H. M. O'Hare, K. J. Weissman, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 478–484, 10.1002/cbic.200500430.
- [96] S. Bali, K. J. Weissman, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1935–1942, 10.1002/cbic.200600285.
- [97] G. Berkhan, Dissertation, Hannover, **2016**.
- [98] Y. Wakamiya, M. Ebine, M. Murayama, H. Omizu, N. Matsumori, M. Murata, T. Oishi, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 6060–6064, 10.1002/anie.201712167.
- [99] M. T. Reetz, M. Hüllmann, T. Seitz, *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1987**, *26*, 477–479, 10.1002/anie.198704771.
- [100] C.-C. Chen, S.-F. Wang, Y.-Y. Su, Y. A. Lin, P.-C. Lin, *Chem. - An Asian J.* **2017**, *12*, 1326–1337, 10.1002/asia.201700339.
- [101] N. M. Weldy, A. G. Schafer, C. P. Owens, C. J. Herting, A. Varela-Alvarez, S. Chen, Z. Niemeyer, D. G. Musaev, M. S. Sigman, H. M. L. Davies, S. B. Blakey, *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 3142–3146, 10.1039/C6SC00190D.
- [102] J. Ham, K. Choi, J. Ko, H. Lee, M. Jung, *Protein Pept. Lett.* **1998**, *5*, 257.
- [103] N. Zidar, A. Žula, T. Tomašič, M. Rogers, R. W. Kirby, J. Tytgat, S. Peigneur, D. Kikelj, J. Ilaš, L. P. Mašič, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *139*, 232–241, 10.1016/j.ejmech.2017.08.015.
- [104] L.-A. Chen, M. A. Ashley, J. L. Leighton, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 4568–4573, 10.1021/jacs.7b01590.
- [105] M. Defosseux, N. Blanchard, C. Meyer, J. Cossy, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4037–4040, 10.1021/ol035177n.
- [106] Z. A. Kasun, X. Gao, R. M. Lipinski, M. J. Krische, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 8900–8903, 10.1021/jacs.5b05296.
- [107] C. P. Holmes, P. A. Bartlett, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 98–108, 10.1021/jo00262a025.
- [108] P. J. Kociński, R. C. D. Brown, A. Pommier, M. Procter, B. Schmidt, *J. Chem. Soc.*

- Perkin Trans. 1* **1998**, 9–40, 10.1039/a705385a.
- [109] P. Pöplau, S. Frank, B. I. Morinaka, J. Piel, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52*, 13215–13218, 10.1002/anie.201307406.
- [110] T. Hollmann, G. Berkhan, L. Wagner, K. H. Sung, S. Kolb, H. Geise, F. Hahn, *ACS Catal.* **2020**, *10*, 4973–4982, 10.1021/acscatal.9b05071.
- [111] L. Bagnoli, C. Scarponi, M. G. Rossi, L. Testaferri, M. Tiecco, *Chem. - A Eur. J.* **2011**, *17*, 993–999, 10.1002/chem.201002593.
- [112] D. A. Evans, E. Vogel, J. V. Nelson, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6120–6123, 10.1021/ja00514a045.
- [113] R. Mahrwald, in *Aldol React.*, Springer Netherlands, Dordrecht, **2009**, S. 23–38.
- [114] C. Fischer, S. W. Smith, D. A. Powell, G. C. Fu, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1472–1473, 10.1021/ja058222q.
- [115] J. A. Marshall, A. Piettre, M. A. Paige, F. Valeriote, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1771–1779, 10.1021/jo026433x.
- [116] Y. Hayashi, J. Kanayama, J. Yamaguchi, M. Shoji, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9443–9448, 10.1021/jo025641m.
- [117] W. Oppolzer, C. Darcel, P. Rochet, S. Rosset, J. De Brabander, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1319–1337, 10.1002/hlca.19970800502.
- [118] G. Lefèvre, A. Jutand, *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 4796–4805, 10.1002/chem.201304716.
- [119] Y. Yu, L. S. Liebeskind, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3554–3557, 10.1021/jo049964p.
- [120] J. M. Villalobos, J. Srogl, L. S. Liebeskind, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15734–15735, 10.1021/ja074931n.
- [121] K. Sudarshan, I. S. Aidhen, *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 2298–2302, 10.1002/ejoc.201300097.
- [122] G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics* **2010**, *29*, 2176–2179, 10.1021/om100106e.
- [123] Y. Li, W. Zhang, H. Zhang, W. Tian, L. Wu, S. Wang, M. Zheng, J. Zhang, C. Sun, Z. Deng, Y. Sun, X. Qu, J. Zhou, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 5823–5827, 10.1002/anie.201802805.
- [124] K. Oe, Y. Ohfuné, T. Shinada, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 2550–2553, 10.1021/ol5009526.
- [125] M.-A. Schneider, S. Dötterl, K. Seifert, *Chem. Biodivers.* **2013**, *10*, 1252–1259, 10.1002/cbdv.201200385.

- [126] A. Sacchetti, E. Mauri, M. Sani, M. Masi, F. Rossi, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 6817–6820, 10.1016/j.tetlet.2014.10.069.
- [127] M. Brünjes, Dissertation, Hannover, **2006**.
- [128] F. Hahn, N. Kandziora, S. Friedrich, P. F. Leadlay, *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 634–640, 10.3762/bjoc.10.55.
- [129] D. Uraguchi, T. Kizu, Y. Ohira, T. Ooi, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 13489–13491, 10.1039/C4CC06081D.
- [130] H. Lubin, A. Tessier, G. Chaume, J. Pytkowicz, T. Brigaud, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1496–1499, 10.1021/ol100211s.
- [131] P. M. Smith, E. J. Thomas, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1998**, 3541–3556, 10.1039/a805856c.
- [132] J. McNulty, D. McLeod, *European J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 29–33, 10.1002/ejoc.201601172.
- [133] S. K. Reddy Guduru, S. Chamakuri, I. O. Raji, K. R. MacKenzie, C. Santini, D. W. Young, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 11777–11793, 10.1021/acs.joc.8b01708.
- [134] D. M. Hodgson, N. S. Kaka, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 9958–9960, 10.1002/anie.200804369.
- [135] A. Guérinot, A. Serra-Muns, C. Gnamm, C. Bensoussan, S. Reymond, J. Cossy, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1808–1811, 10.1021/ol100422d.
- [136] K. Asano, S. Matsubara, *Synthesis (Stuttg.)* **2018**, *50*, 4243–4253, 10.1055/s-0036-1591592.
- [137] C. E. Grünenfelder, J. K. Kisunzu, H. Wennemers, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2016**, *55*, 8571–8574, 10.1002/anie.201602230.
- [138] H. Lebel, M. Davi, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2352–2358, 10.1002/adsc.200800381.
- [139] J. A. Bull, A. B. Charette, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1895–1902, 10.1021/ja907504w.
- [140] O. Pàmies, J.-E. Bäckvall, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1261–1265, 10.1021/jo016096c.
- [141] S. Aksakal, C. Remzi Becer, *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 7011–7018, 10.1039/C6PY01721E.

(Eidesstattliche) Versicherungen und Erklärungen

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

Hiermit versichere ich eidesstattlich, dass ich die Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe (vgl. Art. 64 Abs. 1 Satz 6 BayHSchG).

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation nicht bereits zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht habe und dass ich nicht bereits diese oder eine gleichartige Doktorprüfung endgültig nicht bestanden habe.

(§ 8 Satz 2 Nr. 4 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich, dass ich Hilfe von gewerblichen Promotionsberatern bzw. –vermittlern oder ähnlichen Dienstleistern weder bisher in Anspruch genommen habe noch künftig in Anspruch nehmen werde.

(§ 8 Satz 2 Nr. 7 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass die elektronische Fassung der Dissertation unter Wahrung meiner Urheberrechte und des Datenschutzes einer gesonderten Überprüfung unterzogen werden kann.

(§ 8 Satz 2 Nr. 8 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass bei Verdacht wissenschaftlichen Fehlverhaltens Ermittlungen durch universitätsinterne Organe der wissenschaftlichen Selbstkontrolle stattfinden können.

.....

Ort, Datum, Unterschrift