

# Festphasensynthese von Cyclooctadepsiptiden sowie Methoden zur Herstellung enantiomerenreiner $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren

---



## DISSERTATION

Zur Erlangung des Grades Dr. rer. nat.

Angefertigt im Fachbereich C, Mathematik und Naturwissenschaften  
der Bergischen Universität Wuppertal

von Sebastian Lüttenberg

geb. am 21.02.1982 in Wuppertal

Die Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20121108-103951-2

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20121108-103951-2>]

*"Darin besteht das Wesen der Wissenschaft. Zuerst denkt man an etwas, das wahr sein könnte. Dann sieht man nach, ob es der Fall ist und im allgemeinen ist es nicht der Fall."*

Bertrand Russell (1872-1970), brit. Philosoph u. Mathematiker



Die vorliegende Arbeit mit dem Thema „Festphasensynthese von Cyclooctadepsipeptiden sowie Methoden zur Herstellung enantiomerenreiner  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren“ wurde in der Zeit von November 2008 bis September 2012 am Lehrstuhl für Organische Chemie des Fachbereiches C der Bergischen Universität Wuppertal angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Jürgen Scherkenbeck für die interessante Themenstellung, den gewährten wissenschaftlichen Freiraum und die produktiven wissenschaftlichen Diskussionen.

Außerdem möchte ich mich bei meinen gesamten Laborkollegen für die wissenschaftlichen Diskussionen und die gute Arbeitsatmosphäre bedanken. Besonders möchte ich mich bei Herrn Peter Düppe und Herrn Sivatharushan Sivanathan für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken. Des Weiteren danke ich auch Herrn Tien Dat Ta, Herrn Frank Sondermann, Herrn Jan von der Heyden und Frau Monika Ludwig für die synthetische Unterstützung. Weiterhin danke ich an dieser Stelle allen, die durch die Aufnahme von Spektren und der Durchführung von Analysen zu dieser Arbeit beigetragen haben. Für die Aufnahme der NMR-Spektren danke ich Herrn Andreas Siebert, Frau Melanie Dausend, Frau Ilka Polanz und Frau Simone Bettinger danke ich für die Messungen der Massenspektren. Herrn Jürgen Dönecke danke ich für die Anfertigung von HPLC-UV-Analysen mit chiralem Säulenmaterial zur Bestimmung der Enantiomerenreinheiten. Außerdem möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Fabian Mohr für die Durchführung der Röntgenkristallstrukturanalysen bedanken, sowie bei der Bayer Animal Health GmbH für die Messung der biologischen Daten. Des Weiteren möchte ich Frau Annett Mell und Herrn Prof. Dr. Udo Kragl für die Unterstützung bei der Entwicklung des Membranreaktorverfahrens an der Universität Rostock danken.

Ein besonders großer Dank gilt meinen Eltern, die mich sowohl in finanzieller Hinsicht, als auch moralisch stets unterstützt haben. Darüber hinaus möchte ich in besonderem Maße meiner Freundin Jessica danken, die mir in den letzten Jahren stets zur Seite stand und mir auch in schwierigen Zeiten meines Studiums und meiner Promotion viel Kraft und Motivation gegeben hat.



## Abstract

Cyclodepsipeptides of the enniatin-, PF1022- and verticillide-family represent a diverse class of highly interesting natural products with respect to their manifold biological activities. However, until now no practicable solid-phase synthesis of these compounds has been accomplished, probably due to the problematic combination of *N*-methyl amino acids and hydroxycarboxylic acids. The first part of this work deals with the development of synthetic methods to get access to the building blocks needed for the solid-phase synthesis of the anthelmintic PF1022A, its commercial analogue emodepside and a library of PF1022- and bassianolide analogues. The building blocks except the (*R*)-(*p*-morpholinophenyl)-lactic acid (morphPhLac) were available via standard procedures.

Subsequently two enantioselective methods were developed. One is using an enzymatic procedure consisting of a cofactor regenerating redox system working with the enzymes *D*-lactate dehydrogenase (*D*-LDH) and formate dehydrogenase (FDH). The enzymatic system reduces  $\alpha$ -oxocarboxylic acid derivatives enantioselectively to the corresponding lactic acid derivatives. The cofactor (NADH) is regenerated by reducing NAD in the presence of FDH and a formate salt. The enzymes can be reused by using a membrane reactor. The other method is based on a metal catalyzed asymmetric hydrogenation to reduce enol esters enantioselectively. Both methods provide several derivatives in high yields and enantiomeric purities.

In the second part the building blocks were used to develop different methods for a solid-phase synthesis of PF1022A, its commercial analogue emodepside and other PF1022- and bassianolide-analogues on Kaiser- and Wang-resin. One method, using didepsipeptide building blocks, could be developed on Kaiser- and Wang-resin. The Kaiser-resin has the advantage that a cyclizative cleavage of the linear depsipeptide to the final cyclooctadepsipeptide is possible. PF1022A and emodepside could be synthesized in excellent overall yields. For PF1022A it was also developed on Wang-resin. The Wang-resin was chosen because of its more stable linkage to the substrate. So it's possible to choose the solid support, dependent on the properties of the building blocks needed for the cyclodepsipeptide derivative. In a second method single building blocks were used for a stepwise solid-phase synthesis of PF1022A on Wang-resin. This method allows structural variations in each step and it was possible to synthesize PF1022A, emodepside and three PF1022-analogues. Both methods provide the basis for the solid-phase synthesis of cyclodepsipeptide libraries with a high probability of anthelmintic, antibacterial or insecticidal activities.





# Inhaltsverzeichnis

<b>I Einleitung</b> .....	1
1. Bedeutung von Wurminfektionen .....	1
1.1 Parasitäre Wurmarten .....	3
2. Anthelminthika-Klassen .....	4
2.1 Piperazin.....	5
2.2 Benzimidazole .....	5
2.3 Levamisol und Tetrahydropyrimidine.....	6
2.4 Makrozyklische Lactone .....	7
2.5 Cyclodepsipeptide .....	8
2.5.1 Anthelmintische Wirkung der Cyclooctadepsipeptide Emodepsid und PF1022A in der Human- und Veterinärmedizin.....	10
3. Struktur-Wirkungsbeziehungen von anthelmintischen Cyclooctadepsipeptiden .....	12
4. Bekannte Synthesen von PF1022A und PF1022-Analoga .....	16
4.1 Synthesen in Lösung und an der festen Phase.....	16
4.2 Biosynthesen .....	20
<b>II Zielsetzung</b> .....	21
<b>III Syntheseplanung</b> .....	22
1. Retrosynthetische Betrachtungen und Planung der Synthese von PF1022A .....	22
1.1 Planung und Diskussion zur Wahl der Kupplungsreagenzien .....	24
2. Planung der Synthesen der Grundbausteine für die 4x2- und die 8x1-Synthese von PF1022A .....	26
2.1 Planung der Schutzgruppenstrategie und der Synthesen der Grundbausteine für die 8x1-Synthese .....	26
2.2 Planung der Synthesen der Grundbausteine für die 4x2-Synthese .....	27
3. Planung der enantioselektiven Synthese verschiedener $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren als Bausteine für die Festphasensynthese.....	27

<b>IV Ergebnisse und Diskussion</b> .....	31
1. Synthese der Grundbausteine für die 8x1-Festphasensynthese von PF1022A.....	31
2. Synthese enantiomerenreiner Arylmilchsäuren als Bausteine für die Festphasensynthese verschiedener PF1022-Analoga .....	31
2.1 Synthese der Vorstufen .....	31
2.1.1 Synthese und Hydrolyse der Benzylidenimidazolidine .....	32
2.1.2 Synthese und Hydrolyse der Azlactone .....	33
2.1.3 Synthese und Hydrolyse der Enamine .....	33
2.1.4 Spaltung der $\alpha$ -Oxocarbonsäuremethylester.....	36
2.2 Enantioselektive Reduktionen.....	38
2.2.1 Enantioselektive Reduktion mit (-)-DIP-Cl .....	38
2.2.2 Enantioselektive Reduktion mittels chiraler Oxazaborolidine.....	39
2.2.3 Enantioselektive Reduktion durch Hefe.....	40
2.2.4 Enantioselektive Reduktion durch übergangsmetallkatalysierte Hydrierung ...	40
2.2.4.1 Abschließende Spaltung der Esterschutzgruppen.....	48
2.2.5 Enzymatische Methoden zur enantioselektiven Reduktion von $\alpha$ -Oxo- carbonsäuren .....	49
2.2.5.1 Enantioselektive enzymatische Reduktion im Membranreaktor .....	51
2.3 Herstellung der $\alpha$ -Hydroxycarbonsäureester und der racemischen Verbindungen zur Bestimmung der Enantiomerenreinheiten.....	56
2.3.1 Herstellung der $\alpha$ -Hydroxycarbonsäureester .....	56
2.3.2 Herstellung der racemischen Verbindungen .....	57
2.4 Methodenvergleich.....	59
3. Festphasensynthese von PF1022A und Analoga durch Didepsipeptidkupplungen (4x2-Synthese) .....	60
3.1 Synthese der Didepsipeptid-Bausteine.....	60
3.2 Festphasensynthese am Kaiser-Oxim.....	62
3.3 Festphasensynthese am Wang-Harz.....	65

4. Festphasensynthese von PF1022A aus einzelnen $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren und N-Methylaminosäuren (8x1 – Synthese) .....	66
4.1 8x1-Festphasensynthese von PF1022A am Kaiser-Oxim .....	66
4.2 8x1-Festphasensynthese von PF1022A am Wang-Harz .....	67
5. Synthese von verschiedenen PF1022- und Bassianolid-Derivaten und ihrer zugrunde liegenden Bausteine .....	72
5.1 Synthese der Monobausteine .....	72
5.2 Synthese verschiedener PF1022- und Bassianolid-Derivate an der festen Phase .....	74
5.3 Synthese von Didepsipeptidbausteinen und 4x2-Synthese verschiedener PF1022- und Bassianolid-Analoga .....	76
5.4 Optimierung der Amidbindungsknüpfungen in Lösung und an der festen Phase .....	78
6. Wiederverwertbarkeit von Wang-Harz und Kaiser-Oxim sowie Entwicklung einer Methode zur Regeneration des Kaiser Oxims .....	81
6.1 Wiederverwertbarkeit des Wang-Harzes .....	81
6.2 Wiederverwertbarkeit des Kaiser-Oxims und Entwicklung einer Methode zur Regeneration .....	83
7. Biologische Aktivität und Konformationsuntersuchungen der synthetisierten PF1022- Analoga .....	84
7.1 Biologische Aktivität der synthetisierten PF1022-Analoga .....	84
7.2 Konformationsuntersuchungen der synthetisierten PF1022-Analoga .....	85
<b>V Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>88</b>
<b>VI Experimenteller Teil .....</b>	<b>90</b>
1. Allgemeine Angaben .....	90
2. Verbindungen aus Kapitel IV .....	91
2.1 Festphasensynthesen von PF1022A, Emodepsid, verschiedener PF1022-Analoga und Synthese ihrer zugrunde liegenden Bausteine .....	91
2.2 Synthese enantiomerenreiner $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren .....	128
<b>VII Literaturverzeichnis .....</b>	<b>172</b>



## I Einleitung

### 1. Bedeutung von Wurminfektionen

Besonders in den von Armut geprägten Ländern der Welt erkranken viele Menschen an Infektionskrankheiten. Die bekanntesten sind HIV/AIDS, Malaria und Tuberkulose, aber auch zahlreiche andere Krankheiten verursachen erhebliche gesundheitliche und wirtschaftliche Schäden bei Mensch und Tier.

Während die Industrienationen beträchtliche Mittel in die Forschung zur Bekämpfung der „Großen Drei“ (HIV/AIDS, Malaria und Tuberkulose) investieren, bleiben andere Krankheiten, die im Wesentlichen die Ärmsten der Welt betreffen, oft außerhalb des Forschungsinteresses. Diese Krankheiten werden daher als vernachlässigte, tropische Krankheiten bezeichnet.<sup>1</sup> Der von der WHO verwendete Begriff dafür lautet: „neglected tropical diseases“. Dazu zählen 17 Krankheiten:<sup>2,3</sup>

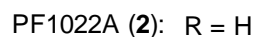
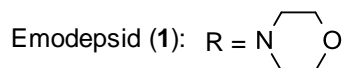
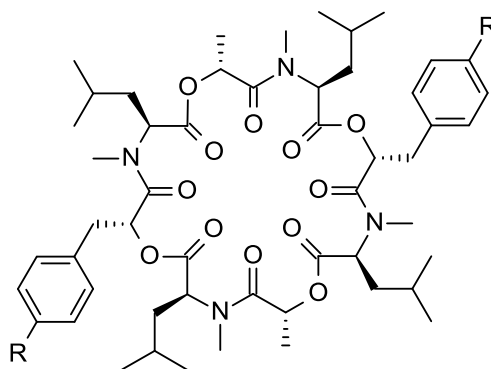
- Buruli Ulkus (Bakterium, Verwandter des Tuberkulose-Erregers)
- Chagas-Krankheit (Protozoen)
- Dengue-Fieber (Virus)
- Dracunculiasis (Medina-Wurm)
- Afrikanische Trypanosomiasis (Schlafkrankheit, Protozoen)
- Leishmaniose (Kala Azar und Orientbeule, Protozoen)
- Lepra (Bakterium, Verwandter des Tuberkulose-Erregers)
- Lymphatische Filariose (Elefantiasis, Wurmkrankheit)
- Onchozerkose (Flussblindheit, Wurmkrankheit)
- Schistosomiasis (Bilharziose, Wurmkrankheit)
- Helminthosen (Wurminfektionen des Verdauungstraktes)
- Trachom (Bakterium)
- Treponematosen (Bakterien)
- Zystizerkose (Bandwurm)
- Echinokokkose (Bandwurm)
- Tollwut (Rabies, Virus)
- Trematoden (Saugwürmer)

Laut WHO sind über eine Milliarde Menschen von diesen Krankheiten betroffen.<sup>2,3</sup> Ein Großteil dieser Krankheiten wird durch parasitäre Würmer verursacht. Diese Krankheiten führen in

den meisten Fällen nicht zum Tod, aber zu einer sehr starken Einschränkung der Lebensqualität. Aus diesem Grund ist es aufschlussreicher, die Summe der durch Krankheit und Behinderung beeinträchtigten Lebensjahre und der durch vorzeitigen Tod verlorenen Lebensjahre (Disability Adjusted Life Years lost, „DALY“) <sup>2,4,5</sup> zu betrachten als ausschließlich die Zahl der Todesfälle. Wurminfektionen sind schätzungsweise für mehr als 39 Millionen DALYs jährlich verantwortlich. <sup>4</sup> Des Weiteren schätzt eine Gruppe um Prof. Utzinger, dass sich 2005 weltweit 56 Millionen Menschen mit Trematoden (Saugwürmer) infizierten, die durch Nahrungsmittel übertragen wurden. <sup>6</sup> Trotz der großen Zahl der betroffenen Menschen ist die Verfügbarkeit an wirksamen Präparaten sehr gering. Bis heute finden Anthelminthikaklassen wie Benzimidazole, Tetrahydropyrimidine und makrozyklische Lactone Anwendung in der Medizin, jedoch mit stark abnehmender Wirksamkeit durch die Bildung resistenter Nematodensämme. <sup>7</sup>

Es gibt allerdings unter dem Namen Profender<sup>®</sup> (Bayer AG) einen neuartigen Wirkstoff, der seit 2005 Anwendung in der Tiermedizin findet. Dabei handelt es sich um ein Cyclooctadepsipeptid mit dem Namen Emodepsid (1). Das Anthelminthikum Emodepsid wird derzeit durch Derivatisierung aus dem fermentativ gewonnenen Naturstoff PF1022A (2) erhalten. Es zeigt einen neuartigen Wirkmechanismus und ist damit resistenzbrechend. <sup>8</sup>

**Abb. 1:** Anthelminthische Cyclooctadepsipeptide Emodepsid (1) und PF1022A (2):



Der erfolgreichen Anwendung des Emodepsids in der Tiermedizin stehen jedoch der hohe Kosten- und Zeitaufwand der fermentativen Gewinnung und anschließenden Derivatisierung gegenüber. Dies macht eine Wirkoptimierung in Bezug auf den Einsatz als Wirkstoff gegen humane, parasitäre Wurminfektionen in Entwicklungsländern nahezu unmöglich. <sup>8,9</sup> Daher stellen Wurminfektionen in diesen Ländern nach wie vor ein ungelöstes Problem dar.

## 1.1 Parasitäre Wurmarten

Die moderne Parasitologie wurde von Rudolf Leuckart (1822-1898) begründet. Er definierte einen Parasiten als „zu klein, zu schwach und zu schlecht bewaffnet, um ein anderes lebendes Geschöpf, auf das es sich zu seiner Ernährung angewiesen sieht, zu überwältigen und zu töten“ und das sich daher damit begnügen muss „es zu plündern, von seinem Blute, Säften oder Teilen zu schmarnotzen“. <sup>10</sup> Präziser wurde die Definition dann durch Arthur Looss (1861-1923): „Parasiten sind Lebewesen, die in oder auf Organismen leben und sich von deren Körpersubstanz, Körpersäften oder Darminhalt ernähren“. <sup>10</sup>

Wurminfektionen (Helminthiasis) sind Erkrankungen, die durch parasitische Würmer ausgelöst werden. Die bedeutsamsten Wurmerkrankungen sind: <sup>2,3</sup>

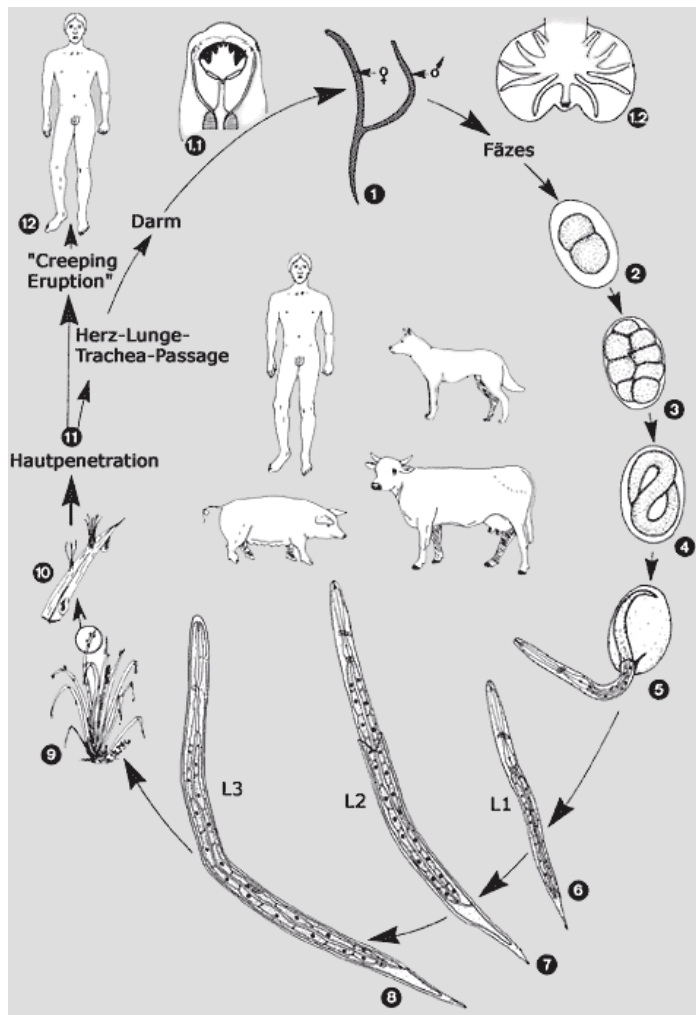
- Askariasis (Spulwurm)
- Capillariasis (Fadenwurm)
- Echinokokkose (Bandwurm)
- Enterobiasis (Madenwurm)
- Filariose (Fadenwurm)
- Onchozerkose (Fadenwurm)
- Taeniasis (Bandwurm)
- Trichinose (Fadenwurm)

Pathogene Wurmarten, von denen ca. 150 Arten den Menschen befallen können, <sup>11</sup> sind vor allem die der Klasse der Nematoden (Fadenwürmer), der Trematoden (Saugwürmer) und der Klasse der Cestoda (Bandwürmer). <sup>12</sup>

Exemplarisch für die Klasse der parasitischen Nematoden, zu der ca. 15000 Arten zählen, <sup>13</sup> ist der Hakenwurm (*Ancylostoma spp.*). Er gehört zur Ordnung der *Rhabditida* und zur Familie der *Ancylostomatidae*. <sup>14</sup> Es handelt sich um zylindrisch gebaute Würmer, deren mittlere Körperlänge bei 1 cm liegt. Als Mundwerkzeuge besitzt der Hakenwurm ein Paar große Doppelhaken. Hakenwürmer verbeißen sich im vorderen Dünndarm ihres warmblütigen Endwirtes, wobei die Blut saugenden Würmer oft den Standort wechseln. <sup>12</sup>

Die weiblichen Hakenwürmer (Nr. 1 in Abb. 2) legen jeden Tag 10000 bis 20000 Eier (Größe: ca. 60 x 40 µm), die mit dem Kot ausgeschieden werden. Bei tropischen Temperaturen entwickeln sich die Eier schon nach 30-48 Stunden zum 1. Juvenilstadium (rhabditiforme Larve L1, Nr. 6 in Abb. 2). Die Larven begeben sich in den feuchten Erdboden, in dem sie bakterienhaltigen Detritus als Nahrung aufnehmen. Nach etwa fünf Tagen und zwei Häutungen haben sich in der feuchten Erde die *invasionsfähigen filariformen* Larven entwickelt (Größe ca. 600 µm, L3, Nr. 8 in Abb. 2). <sup>12,14</sup>

**Abb. 2:** Lebenszyklus eines Hakenwurms wie *Ancylostoma duodenale* nach Mehlhorn:<sup>14</sup>



Die Larven können in diesem Stadium keine Nahrung aufnehmen und ihr ganzes Verhalten ist darauf ausgelegt, einen Wirtkontakt zur Invasion zu nutzen. Dazu warten sie an der Erdoberfläche auf eine Hautberührung, die durch Barfußgehen oder Niederknien zustande kommen kann (Nr. 11 in Abb. 2). Nach Durchdringen der Haut werden sie über den venösen Blutkreislauf in die Lunge transportiert. Anschließend gelangen sie durch Husten und anschließendes Verschlucken in den Dünndarm und häuten sich dort zweimal zum adulten Wurm. Die adulten Würmer können bis zu zehn Jahren in ihren Wirten überleben.<sup>12,14</sup>

Durch ihre nicht-parasitische, freie Lebensphase ist die Verbreitung der

Hakenwürmer auf feucht-warme Gebiete beschränkt. Obwohl die Verbreitung dieser Wurmart beschränkt ist, sind nach aktuellen Schätzungen weltweit rund eine Milliarde Menschen von Hakenwürmern befallen. Durch den Befall von Hakenwürmern werden nachhaltige Blutungen an der Schleimhaut des Dünndarms verursacht. Das austretende Blut wird nur teilweise von den Hakenwürmern aufgenommen, wovon wiederum nur ein Teil verdaut wird. Der größte Teil des aufgenommenen Wirtsblutes dient der Deckung des Sauerstoffbedarfs. Der Bedarf eines Hakenwurmes liegt täglich bei 30 µL. Das bedeutet bei einem Befall von 2000 Individuen einen täglichen Verlust von etwa 60 mL Blut.<sup>14</sup> Daraus folgt, dass je nach Ernährung, abhängig von der Zufuhr an tierischem Protein und Eisen, eine Anämie auftreten kann.<sup>12</sup>

## 2. Anthelminthika-Klassen

Zur Behandlung parasitärer Wurminfektionen sind seit den 1950er Jahren verschiedene Anthelminthika entwickelt worden. Dabei handelt es sich um Chemotherapeutika, die dazu die-



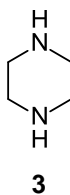
nen, den Befall parasitischer Helminthen zu behandeln, ohne dem Wirt zu schaden.<sup>7,15</sup> Je nach Struktur und Wirkmechanismus sind sie in verschiedene Klassen unterteilt.

## 2.1 Piperazin

Piperazin (**3**) ist der erste anthelmintische Wirkstoff, der in der Veterinär- und Humanmedizin eingesetzt wurde. Die erste Anwendung erfolgte in den 1950er Jahren, aufgrund des salzig-bitteren Geschmacks und der chemischen Instabilität, in Form von Salzen (Citrat oder Adipat).<sup>16</sup> Es wurde bei Wurmbefall durch Fadenwürmer (Nematoden) eingesetzt, ist heute jedoch durch verträglichere Anthelminthika, beziehungsweise solche mit einem breiteren Wirkungsspektrum, ersetzt worden. Des Weiteren können sich im sauren Milieu des Magens mutagene und karzinogene *N*-Nitrosopiperazine bilden.<sup>17,18</sup>

Der Wirkmechanismus wurde am Beispiel des Schweinespulwurms (*Ascaris suum*) untersucht. Das Piperazin agiert als  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) - Agonist und führt durch die Wechselwirkung mit dem Rezeptor zur reversiblen Lähmung der Körpermuskulatur der Helminthen, die auf diese Weise lebend mit dem Kot ausgeschieden werden.<sup>19</sup> Piperazin-Salze können als Anthelminthika dienen, da der GABA-Rezeptor bei Vertebraten ausschließlich im zentralen Nervensystem vorkommt und sich außerdem von dem in Würmern unterscheidet. Trotz des selektiven Wirkmechanismus ist auf eine genaue Dosierung zu achten, da das Piperazin bei Überdosierung die Blut-Hirn-Schranke bei Säugern passiert.<sup>19</sup>

Abb. 3: Piperazin (**3**):

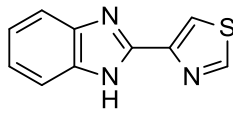


## 2.2 Benzimidazole

Das erste Anthelminthikum dieser Klasse, Thiabendazol (**4**), wurde 1961 entdeckt und 1963 mit einigen weiteren Benzimidazolen als Breitspektrum-Anthelminthikum, für Anwendungen im Veterinär- und Humanbereich auf den Markt gebracht.<sup>5,7</sup> Der Wirkmechanismus wurde am Beispiel des Fadenwurms *Caenorhabditis elegans* untersucht. *C. elegans* reagiert sensitiv auf Benzimidazole durch das single-Gen *ben-1*, welches das im Zytoskelett vorkommende  $\beta$ -Tubulin codiert.<sup>7</sup> Die Wirksamkeit der Benzimidazole ist allerdings schon seit längerer Zeit,

durch die Bildung resistenter Nematodenstämme, stark verringert.<sup>5</sup> Die Resistenzen gegen Benzimidazole wurden bei vier *Trichostrongylus* Species (Nematoden) in Rindern und Schafen und bei Cyathostomen (Nematoden) in Pferden gefunden.

**Abb. 4:** Thiabendazol (4):



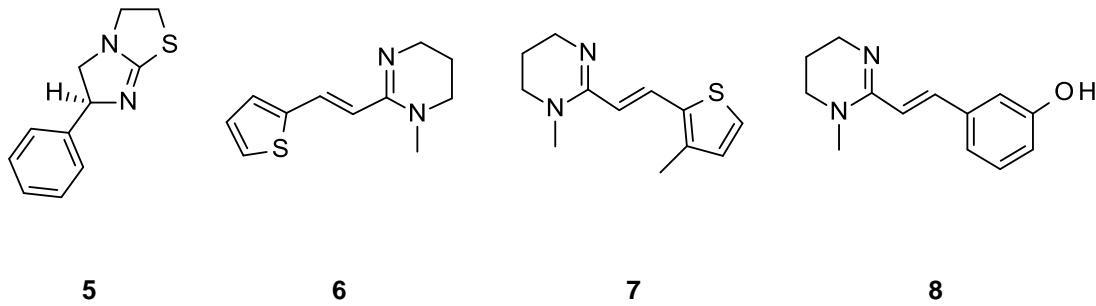
4

**Tabelle 1:** Veröffentlichte Resistenzen gegen Anthelminthika von nematodischen Infektionen:<sup>5</sup>

Anthelminthika	Tier / Parasit
Benzimidazole	Schwein / <i>Oesophagostomum</i> spp
Ivermectin	
Pyrantel	
Benzimidazole	Pferd / Cyathostominae
Phenothiazin	
Piperazin	
Pyrantel	
Benzimidazole	Schaf / <i>Trichostrongylus</i>
Imidazothiazole	
Naphthalophos	
Makrozyklische Lactone (Avermectin/Milbemycin)	
Benzimidazole	Rind / <i>Trichostrongylus</i>
Makrozyklische Lactone (Ivermectin)	

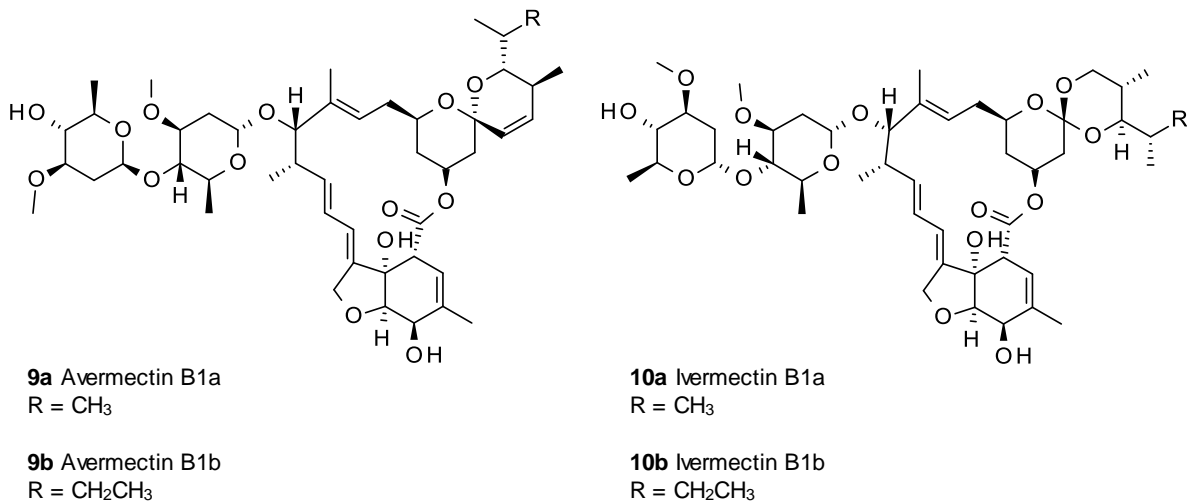
### 2.3 Levamisol und Tetrahydropyrimidine

Eine weitere Anthelminthika-Klasse, deren Wirksamkeit inzwischen durch Resistenzen vermindert ist (Tabelle 1), stellt die Klasse des Levamisols (5) und der Tetrahydropyrimidine (6-8) dar. Diese Klasse von Breitspektrum-Anthelminthika gehört zu den Nikotinrezeptoragonisten.<sup>7</sup> Das bedeutet, dass Levamisol, beziehungsweise die Tetrahydropyrimidine, als selektive nikotinerge Agonisten wirken, wobei sie nur einen sehr geringen Effekt auf die nikotinerge Rezeptoren des Wirtes haben. Die Anthelminthika interagieren mit einem nikotinerge Acetylcholinrezeptor, der in der somatischen Muskulatur des Parasiten zu finden ist. Dies führt in den Ganglien des Parasiten zu einem Depolarisationsblock und hat somit eine spastische Paralyse des Parasiten zur Folge.<sup>20</sup> Substanzen dieser Klasse sind das Imidazothiazol Levamisol (5) und die Tetrahydropyrimidine Pyrantel (6), Morantel (7) und Oxantel (8), wobei nur 5, 6 und 8 Anwendung in der Humanmedizin finden.<sup>5</sup>

**Abb. 5:** Levamisol (5), Pyrantel (6), Morantel (7) und Oxantel (8):

## 2.4 Makrozyklische Lactone

Die Klasse der makrozyklischen Lactone besitzt ein sehr breites Wirkungsspektrum. Diese wirken gegen alle klinisch bedeutsamen Nematodenarten und haben außerdem eine ektoparasitizide und insektizide Wirkung.<sup>20</sup> Zu den anthelmintisch aktiven, makrozyklischen Lactonen zählt das aus *Streptomyces avermitilis* fermentativ gewonnene Avermectin (9), seine Derivate Ivermectin (10a-10b), Abamectin, Doramectin, Eprinomectin, Selamectin und die Milbemycine Milbemycinoxim und Moxidectin.<sup>7,20</sup> Die Avermectine können in vier nah verwandte Paare unterteilt werden: Avermectin A1, A2, B1 und B2 (Abb. 6).<sup>20</sup>

**Abb. 6:** Avermectine (9a-9b), und Ivermectine (10a-10b):

Die makrozyklischen Lactone wirken als Neurotoxine, indem sie bei wirbellosen Tieren die Membrandurchlässigkeit der Nerven- und Muskelzellen für Cl<sup>-</sup>-Ionen erhöhen. Die Lactone binden an Glutamat-aktivierte Chloridkanäle, wodurch es zur Hyperpolarisation der Zellmembran kommt. Dies führt zur Blockierung der Erregungsüberleitung und so zu einer Lähmung der Parasiten. Des Weiteren beeinflussen makrozyklische Lactone vom Avermectin-

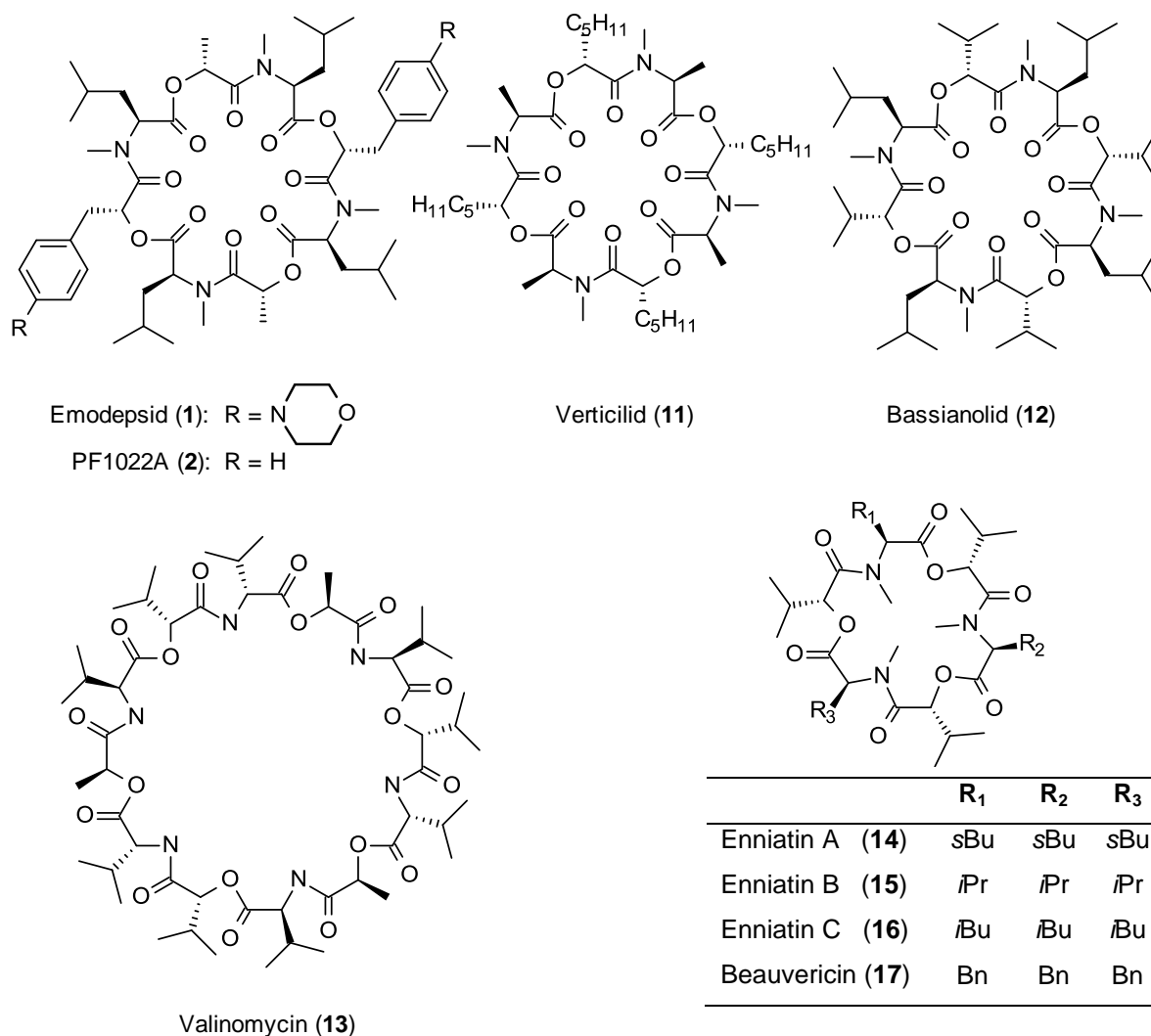
Typ in höheren Dosen die Rezeptoren für  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) in Synapsen, die GABA als Neurotransmitter nutzen. Erhöhte Ausschüttung von GABA führt zur Paralyse und schließlich zum Tod der Parasiten. GABA kommt ebenfalls in den Gehirnen von Säugetieren vor, daher können die makrozyklischen Lactone toxische Effekte auslösen.<sup>21</sup>

## 2.5 Cyclodepsipeptide

Depsipeptide sind definiert als heterologe Peptide mit mindestens einer Esterbindung. Zyklische Depsipeptide mit mehr als einer Esterbindung, vor allem wenn sie alternierend zu den Amidbindungen vorkommen, kommen in der Natur nur selten vor. Einige Beispiele (Abb. 7) natürlich vorkommender Cyclodepsipeptide mit einer breiten Vielfalt biologischer Aktivitäten, unter anderem auch anthelmintische, sind PF1022A (**2**), Verticilid (**11**), Bassianolid (**12**), Valinomycin (**13**), und die Enniatine (**14-17**).<sup>22</sup> Diese Cyclodepsipeptide haben verschiedene strukturelle Eigenschaften gemeinsam. Sie sind beispielsweise mit Ausnahme von Valinomycin aus (*R*)-Hydroxycarbonsäuren und *N*-Methyl-Aminosäuren aufgebaut. Bei Valinomycin (**13**) sind die N-Atome nicht methyliert (Abb. 7).

Durch ihr breites Spektrum biologischer Aktivitäten sind natürlich vorkommende Cyclodepsipeptide von großem Interesse für die pharmazeutische Forschung.<sup>23</sup>

Valinomycin (**13**), das zu den Makrolid-Antibiotika zählt, wird von mehreren Arten der *Streptomyceten* (z. B. *Streptomyces fulvissimus*) produziert und ist ein gut untersuchter Kaliumselektiver Ionophor. Des Weiteren wurde erst kürzlich festgestellt, dass Valinomycin exzellent gegen das Schwere Akute Respiratorische Syndrom-assoziierte Coronavirus (SARS-CoV) wirkt.<sup>24,25</sup> Verticilid (**11**), ein Cyclooctadepsipeptid, das aus einer *Verticillium* sp. isoliert wurde, zeigt eine starke und selektive Inhibierung des Ryanodin-Rezeptors in Insekten.<sup>26</sup> Bassianolid (**12**), ein weiteres Cyclooctadepsipeptid, und die Enniatine (**14-17**), eine Gruppe von Cyclohexadepsipeptiden, besitzen diverse biologische Aktivitäten. Dazu gehören antibiotische, fungizide, insektizide, anthelmintische, antiproliferative und zellmigrationshemmende Effekte.<sup>27,28</sup>

Abb. 7: Natürliche Cyclodepsipeptide:<sup>29</sup>

Die anthelmintische Wirkung des 24-gliedrigen Cyclooctadepsipeptids PF1022A (2) (Abb. 7) wurde erstmals 1990 von dem japanischen Konzern Meiji Seika Kaisha beschrieben.<sup>5</sup> PF1022A (2) ist ein Fermentationsprodukt des Pilzes *Rosellinia* sp. PF1022. Dieser Pilz gehört zur Ordnung der *Agonomycetales* und ist Bestandteil der Mikroflora auf den Blättern der in Japan vorkommenden Pflanze *Camellia japonica*.<sup>5,20</sup> Isoliert und charakterisiert wurde PF1022A (2) erstmals 1992 von Sasaki *et al.*<sup>30</sup>. Der Naturstoff PF1022A (2) besitzt C<sub>2</sub>-Symmetrie und besteht aus vier *N*-Methyl-*L*-Leucin-, zwei *D*-Laktat- und zwei *D*-Phenyl-laktatmolekülen. Diese sind im zyklischen Octadepsipeptid in alternierender *L-D-L*-Konfiguration angeordnet (Abb. 7). Das 1993 von der japanischen Fujisawa Pharmaceutical Company patentierte semisynthetische *bis-para*-Morpholino-Derivat Emodepsid (1) (Abb. 7) zeichnet sich durch eine deutlich höhere Wasserlöslichkeit und damit bessere Bioverfügbarkeit aus.<sup>5,20,30,31</sup>

Die Cyclooctadepsipeptide PF1022A (**2**) und Emodepsid (**1**) besitzen einen neuartigen Wirkmechanismus und brechen alle bekannten Resistenzen bei Helminthen.<sup>8,32</sup> Dabei interferieren die Cyclooctadepsipeptide mit dem nematodischen SLO-1 Kaliumionenkanal.<sup>33,34</sup>

Des Weiteren besitzen Cyclooctadepsipeptide allgemein ionophore Eigenschaften.<sup>35</sup> Sie bilden „Sandwich-Komplexe“ mit Alkali-Metall-Kationen über Ionen-Dipol-Interaktionen. Durch diese Eigenschaft erhöhen sie die Leitfähigkeit der Zellmembran und induzieren Transporte durch den hydrophoben Bereich von biologischen Membranen in die Mitochondrien und durch Modell-Phospholipid-Membranen.<sup>25,36,37,38</sup> Auch PF1022A (**2**) und Emodepsid (**1**) sind gute Chelatbildner von Alkali-Metallionen, vor allem von Natrium und Kaliumionen.<sup>25,39</sup> Die ionophoren Eigenschaften sind bei PF1022A (**2**) und Emodepsid (**1**), im Vergleich zu anderen Cyclooctadepsipeptiden, jedoch nur in geringem Maße vorhanden. Dies zeigt auch die geringe Toxizität der Cyclooctadepsipeptide PF1022A (**2**) und Emodepsid (**1**), da stark ionophore Verbindungen in der Regel toxisch sind. Darüber hinaus sind ionophore Eigenschaften unabhängig von der Stereochemie, da es sich lediglich um Wechselwirkungen des entsprechenden Moleküls mit einer Membran handelt. Die fehlende Aktivität des Antipoden von PF1022A (**2**) belegt eindeutig, dass die anthelmintische Wirkung auf einer stereospezifischen Wechselwirkung mit einem Rezeptor beruht.<sup>7,35</sup>

### 2.5.1 Anthelmintische Wirkung der Cyclooctadepsipeptide Emodepsid und PF1022A in der Human- und Veterinärmedizin

Emodepsid (**1**) ist ein kristalliner Feststoff, der in vier verschiedenen Kristallformen vorkommt.<sup>40</sup> Die Kristallmodifikationen besitzen neben unterschiedlichen Schmelzpunkten auch unterschiedliche Bioverfügbarkeiten. Das auf dem Markt befindliche Arzneimittel (Profender<sup>®</sup>, Bayer) enthält Emodepsid (**1**) mit über 99% der Modifikation mit der höchsten Wasserlöslichkeit und damit auch der höchsten Bioverfügbarkeit. Interessanterweise besitzt diese Modifikation auch den höchsten Schmelzpunkt und damit die höchste thermodynamische Stabilität.<sup>41,42</sup>

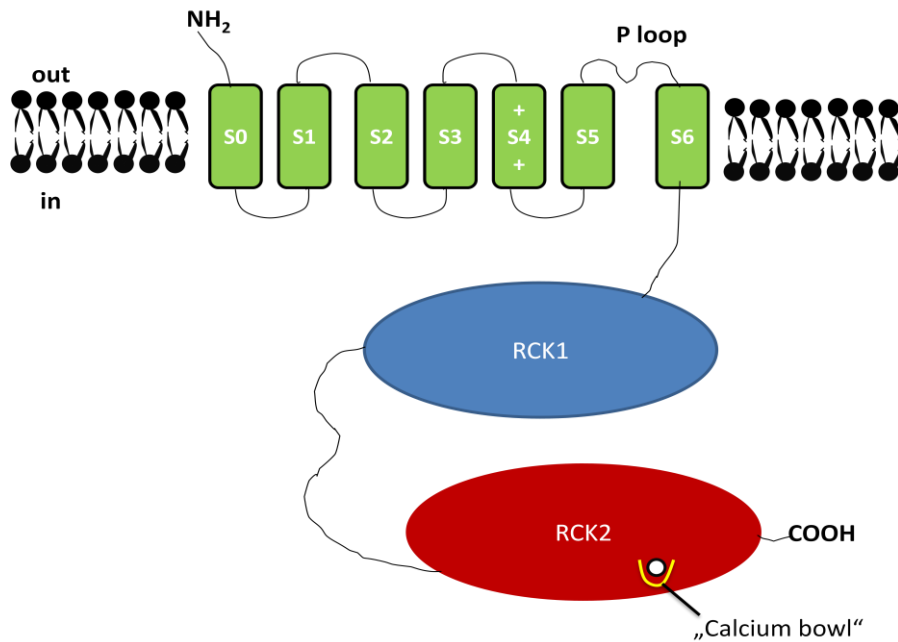
Emodepsid (**1**) wirkt gegen eine Vielzahl von nematodischen Parasiten, die resistent gegen Benzimidazole, Levamisol (**5**, Abb. 5) und Ivermectin (**10a-10b**, Abb. 6) sind.<sup>43</sup> Studien an *Ascaris suum* ergaben eine Abhängigkeit der Wirkung von Calcium- und Kaliumionen und dass Emodepsid (**1**) bei Nematoden eine tödliche Muskelparalyse verursacht.<sup>44</sup> Des Weiteren wird die Eiablage der Parasiten gehemmt.<sup>45,46</sup> *In vitro*-Untersuchungen von Terada *et al.*<sup>5,47</sup> zeigten, dass die Behandlung der Nematoden (*Angiostrongylus cantonensis*) zu einer Lähmung führt, die durch GABA-Antagonisten reversibel ist.<sup>5,48</sup> Daher wurden weitere Untersu-

chungen, die GABA-Rezeptoren betreffend, durchgeführt, die zu der Annahme führten, dass der anthelmintische Effekt des Emodepsids (**1**) auf Wechselwirkungen mit den GABA-Rezeptoren beruht.<sup>49</sup> Allerdings wurde in weiteren Experimenten gezeigt, dass die GABA-Rezeptoren lediglich einen Einfluss auf die Wirkung ausüben, diese jedoch nicht vollständig von der Anlagerung des PF1022A (**2**), bzw. des Emodepsids (**1**), an den GABA-Rezeptoren abhängt.<sup>50</sup> Weiterhin wurde in Studien festgestellt, dass Emodepsid (**1**) an den Rezeptor HC110R bindet, der Ähnlichkeiten mit den Lathrophilin-Rezeptoren von Säugetieren und dem Lat-1 von *Caenorhabditis elegans* aufweist.<sup>25,43,51</sup> Dieser Rezeptor (HC110R) zeigt in Abhängigkeit von PF1022A (**2**), bzw. Emodepsid (**1**), eine Veränderung des Calciumflusses.<sup>51</sup> *C. elegans* reagiert bereits im Bereich nanomolarer Konzentrationen sehr empfindlich auf die Behandlung mit Emodepsid (**1**).<sup>52</sup> Bei dem adulten zwittrigen *C. elegans* führt der Kontakt mit Emodepsid (**1**) zur Inhibition der Pharynxpumpe und verlangsamer Bewegung, dabei wird die Vorwärtsbewegung bei niedrigen Konzentrationen am stärksten beeinträchtigt. Außerdem kommt es zur Inhibition der Eiablage. Allerdings belegen neuere Studien, dass Emodepsid (**1**) unabhängig von Lathrophilin-ähnlichen Rezeptoren Effekte ausübt und die Rolle der Lathrophilin-ähnlichen Rezeptoren untergeordnet ist.<sup>32,33</sup> Weitere genetische Screenings ergaben, dass der Calcium-aktivierte Kaliumionenkanal SLO-1 in *C. elegans* besonders bedeutsam für die anthelmintische Wirkung von Emodepsid (**1**) ist.<sup>7,33,53</sup>

Der Kaliumionenkanal<sup>54</sup> SLO-1 ist homolog zu den bei Säugetieren bekannten BK-Channels (Abb. 8). Die Entdeckung von SLO-1 als einen wichtigen Faktor für den Wirkmechanismus von Emodepsid (**1**), weist Übereinstimmungen mit früheren Studien an *Ascaris suum* auf. Diese zeigten eine Calcium- und Kaliumabhängige Hyperpolarisation.<sup>44</sup> In den Nematoden befindet sich der SLO-1 in den Muskeln und Neuronen.<sup>55</sup> Die Effekte, die Emodepsid (**1**) auf die Körpermuskulatur ausübt, werden über muskuläre SLO-1 Kanäle vermittelt. Bei der Hemmung der Pharynxmuskulatur sind neuronale SLO-1 Kanäle in Kombination mit dem Lathrophilin-1-Rezeptor für die Wirkung verantwortlich.<sup>33</sup>

Der in Abbildung 8 schematisch dargestellte SLO-1 Kanal enthält eine  $\alpha$ -Untereinheit mit sieben Transmembrandomänen (S0-S6). Die porenformende Domäne (P-Loop) bildet den Transmembrankanale. An diesen schließen sich die regulatorischen Domänen RCK1 und RCK2, sowie die Calcium-bindende Region („Calcium bowl“) an. Die Domäne RCK1 und die Calcium-bindende Region enthalten Bindungsstellen für Calcium.<sup>53,56</sup> Die SLO-1  $\alpha$ -Untereinheit besitzt einen extrazellulären N-Terminus. Der C-Terminus liegt intrazellulär und enthält Calcium-Bindungsstellen.<sup>56,57</sup>

Abb. 8: Schema der strukturellen SLO-1-Kaliumionenkanal Komponenten:<sup>33</sup>



Vor allem im Hinblick auf bestehende Resistenzen gegen Ivermectin, Benzimidazole und Tetrahydropyrimidine ist die Aufklärung dieses neuartigen Wirkmechanismus ein entscheidender Durchbruch für die zukünftige und gegenwärtige Behandlung von Wurminfektionen bei Mensch und Tier.

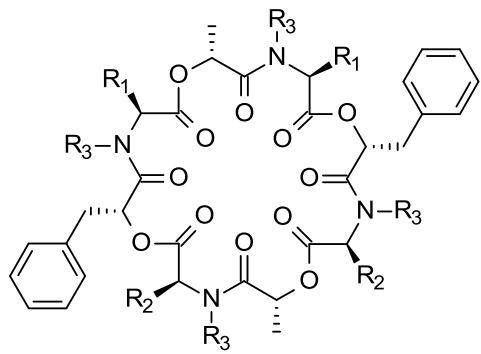
### 3. Struktur-Wirkungsbeziehungen von anthelmintischen Cyclooctadepsipeptiden

Verschiedene Arbeiten in der Vergangenheit haben gezeigt, dass es zur Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen mehrere Ansatzpunkte gibt, die Struktur von PF1022A (2), zu modifizieren. Die Arbeiten ergaben bemerkenswertere Derivate mit vergleichbarer oder sogar stärkerer Aktivität, wie beispielsweise das PF1022-Derivat Emodepsid (1).<sup>5,8,32,58</sup> Zur gezielten Synthese biologisch aktiver Derivate ist es von fundamentaler Bedeutung, die Struktur-Wirkungsbeziehungen des zur Derivatisierung ausgewählten Naturstoffs genau zu kennen. Daher wurden von PF1022A (2) ausgehend umfassende Strukturmodifikationen durchgeführt und *in vivo* (*Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Ascaridia galli*) auf Wirksamkeit überprüft:

- Modifikation des *N*-Alkylsubstituenten, sowie sukzessiver Austausch der *N*-Methyl-*L*-Leucin-Bausteine gegen alternative *N*-Methyl-Aminosäuren zur Untersuchung des Einflusses der Lipophilie und der C<sub>2</sub>-Symmetrie auf die Wirkung.<sup>8,59</sup>



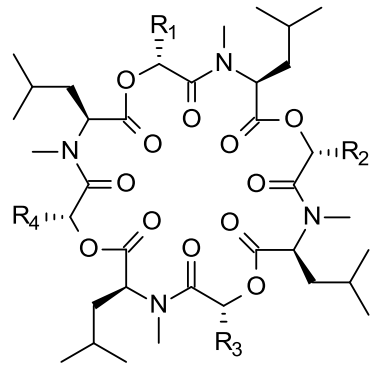
**Abb. 9:** Anthelmintische Aktivität exemplarischer PF1022A-Analoga mit modifizierten *N*-Methyl-*L*-Leucin-Bausteinen:



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	<i>in vivo</i> Aktivität	
				( <i>H. contortus</i> )	[mg/kg]
<b>2</b>	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Bu	Me		0.10
<b>18</b>	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Bu	Et		0.25
<b>19</b>	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Bu	Pr		0.25
<b>20</b>	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr		1.00
<b>21</b>	<i>s</i> Bu	<i>s</i> Bu	Me		5.00
<b>22</b>	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Pr	Me		0.25
<b>23</b>	<i>n</i> Pr	<i>n</i> Pr	Me		nicht detektiert
<b>24</b>	Me	Me	Me		nicht detektiert
<b>25</b>	Bn	Bn	Me		nicht detektiert
<b>26</b>	<i>i</i> Bu	Me	Me		nicht detektiert
<b>27</b>	<i>i</i> Bu	<i>n</i> Pr	Me		0.10

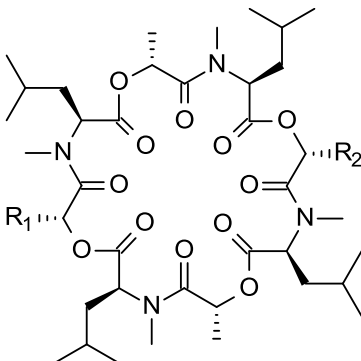


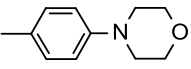
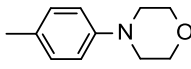
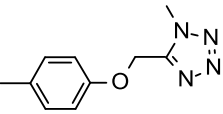

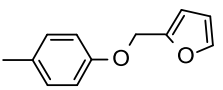

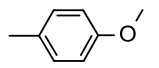

- Austausch der *D*-Milchsäuren und *D*-Phenylmilchsäuren gegen alternative  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren, sowie Modifikation der *para*-Position der Phenylmilchsäuren.<sup>8,32,60,61,62</sup>

**Abb. 10:** Anthelmintische Aktivität einiger PF1022A-Analoga mit alternativen  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure-Bausteinen:



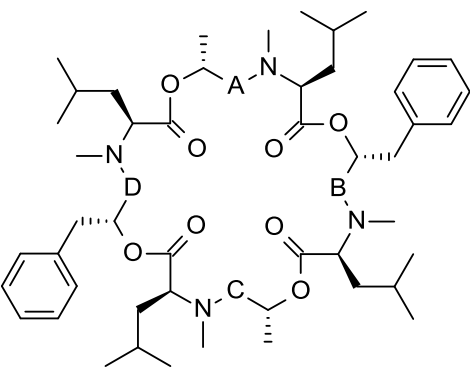
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	<i>in vivo</i> Akti- vität	
					( <i>H. contortus</i> )	[mg/kg]
<b>2</b>	Me	Bn	Me	Bn		0.10
<b>28</b>	<i>i</i> Pr	Bn	<i>i</i> Pr	Bn		1.00
<b>29</b>	Me	Bn	<i>n</i> Bu	Bn		1.00
<b>30</b>	Me	<i>i</i> Bu	Me	Bn		>1.00
<b>31</b>	Me	<i>i</i> Pr	Me	<i>i</i> Pr		>1.00
<b>32</b>	Me	Me	Me	Me		>1.00
<b>33</b>	Me	Dpm	Me	Dpm		0.10
<b>34</b>	Me	Bta	Me	Bta		0.10
<b>35</b>	H	<i>n</i> Pr	Bn	H		>1.00

**Abb. 11:** Anthelmintische Aktivität exemplarischer PF1022A-Analoga mit modifizierten Phenylmilchsäuren:

		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	<i>in vivo</i> Aktivität ( <i>A. galli</i> ) 2 mg/kg
	<b>2</b>			>90%
	<b>1</b>			>90%
	<b>36</b>			>90%
	<b>37</b>			>90%
	<b>38</b>			>90%

- Backbonemodifikationen durch partielle und vollständige Reduktion der Amidfunktionen, Derivatisierung der Amidfunktionen zu Thioamidfunktionen, Amidoximen und Herstellung von Azadepsipeptiden, bei denen Leu- $\alpha$ -C-Atome durch N-Atome ersetzt wurden.<sup>63,64,65,66,67</sup>

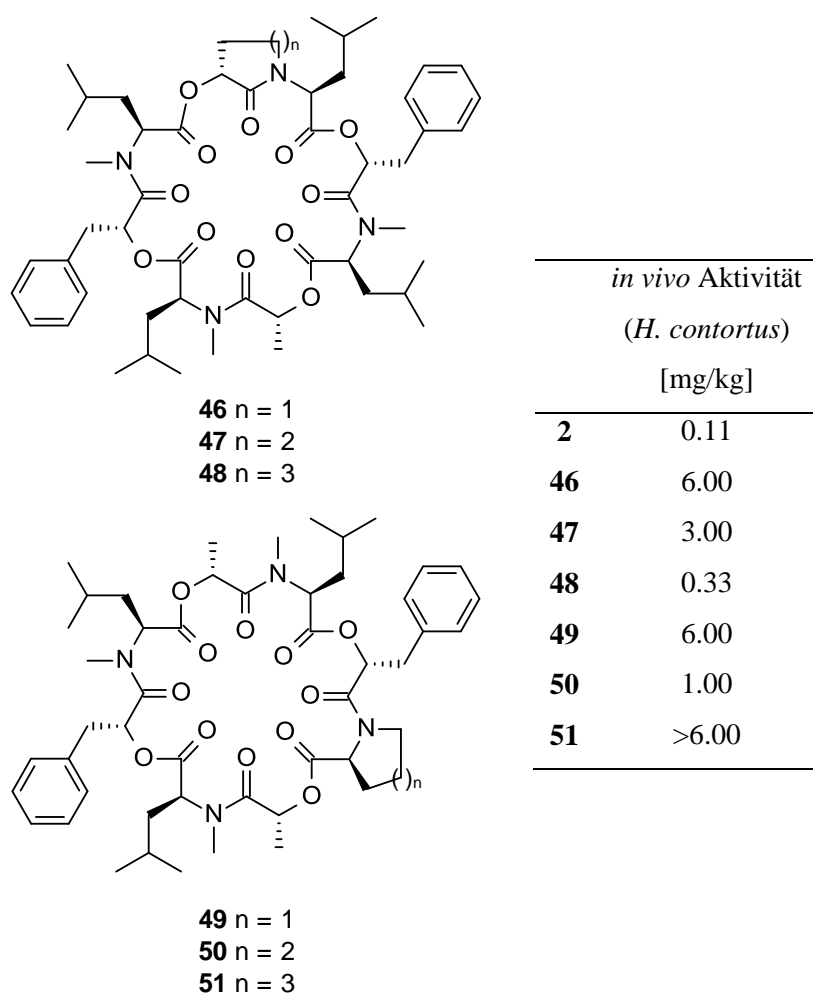
**Abb. 12:** Anthelmintische Aktivität einiger PF1022A-Analoga mit Backbone-Modifikationen:

		A	B	C	D	<i>in vivo</i> Aktivität ( <i>H. contortus</i> ) [mg/kg]
	<b>2</b>	C=O	C=O	C=O	C=O	0.10
	<b>39</b>	CH <sub>2</sub>	C=O	C=O	C=O	0.0-1.0
	<b>40</b>	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	C=O	C=O	0.0-1.0
	<b>41</b>	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	C=O	>1.00
	<b>42</b>	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	>1.00
	<b>43</b>	C=S	C=O	C=O	C=O	0.10
	<b>44</b>	C=S	C=S	C=S	C=S	0.10
<b>45</b>	C=NOMe	C=O	C=O	C=O	>1.00	

Modifikation der  $\alpha$ -C-Atome des *N*-Methyl-*L*-Leucins (zwischen A und B sowie zwischen B und C) ergab *in vivo* gegen *H. contortus* und *T. colubriformis* eine Abnahme der biologischen Aktivität um den Faktor 5-10 im Vergleich zu PF1022A (**2**).<sup>67</sup>

- Einschränkung der Zahl der möglichen Konformere und Stabilisierung einzelner Strukturelemente durch den Einbau zyklischer Aminosäure- und  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäurebausteine.<sup>68,69,70</sup>

**Abb. 13:** Anthelmintische Aktivität einiger PF1022A-Analoga mit zyklischen Bausteinen:



- Konformationsuntersuchungen mittels Röntgenkristallstrukturanalyse und NOESY- bzw. ROESY-NMR-Spektroskopie.<sup>8,71</sup>

Diese Struktur-Wirkungsuntersuchungen lieferten die Erkenntnis, dass hauptsächlich die Modifikation der *para*-Position der Phenylmilchsäuren eine Möglichkeit zur Wirkoptimierung aufzeigt.<sup>8</sup> Da die Modifikation der Phenylringe synthetisch kein großes Problem darstellt,

wurden bereits zahlreiche Derivatisierungen durchgeführt.<sup>5,8,32,61,62</sup> Neben der erfolgreichen Entwicklung des Emodepsids (**1**) gelang es Ohyama *et al.*<sup>61,72</sup> erst kürzlich eine Reihe wirksamer PF1022-Analoga zu synthetisieren. Dabei war zu beobachten, dass insbesondere die Einführung von *O*-Alkylsubstituenten an der *para*-Position einer Phenylmilchsäure zu hochpotenten Derivaten führte (**36-38**, Abbildung 11). Demzufolge ist das Interesse an PF1022-Analoga, deren Phenylmilchsäuren an der *para*-Position modifiziert sind, nach wie vor groß.

#### 4. Bekannte Synthesen von PF1022A und PF1022-Analoga

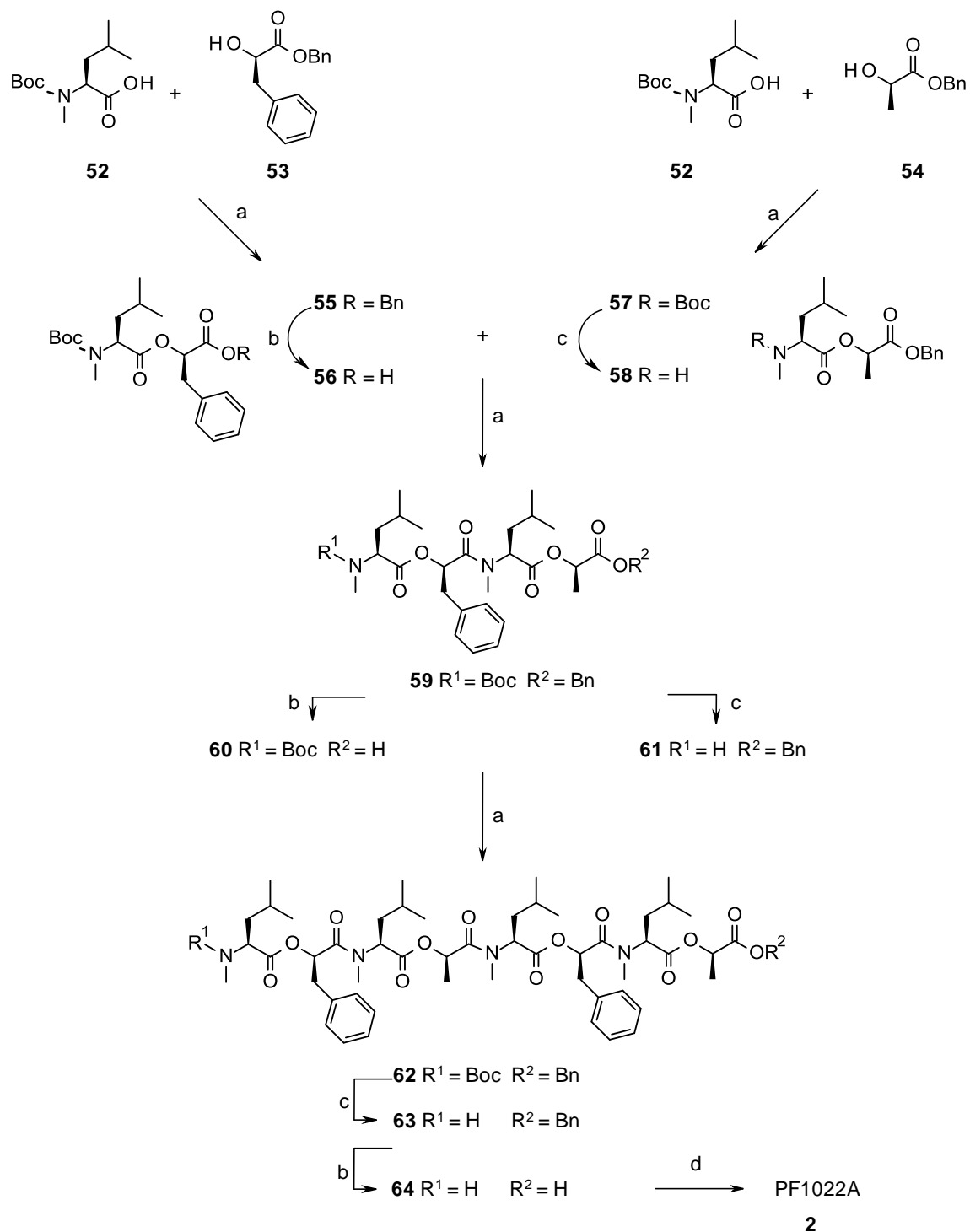
Aufgrund der C<sub>2</sub>-Symmetrie von PF1022A (**2**) vereinfacht sich das Syntheseproblem auf eine Dimerisierung zweier identischer Tetradepsipeptide, jeweils bestehend aus einem (*S*)-*N*-MeLeu-(*R*)-Lac und einem (*S*)-*N*-MeLeu-(*R*)-PhLac Didepsipeptid. Diesen Ansatz verfolgten in den 1990er Jahren verschiedene Arbeitsgruppen und entwickelten daraus Totalsynthesen in Lösung<sup>37,39,73,74</sup> und an der festen Phase.<sup>75,76</sup> Des Weiteren wurde mit Hilfe entsprechender Enzyme eine Biosynthese von kleinen Mengen PF1022A (**2**) und verschiedenen Derivaten entwickelt.<sup>77,78</sup>

##### 4.1 Synthesen in Lösung und an der festen Phase

Die zur Herstellung von PF1022A (**2**) entwickelten Lösungssynthesen wurden entweder mit der *N*-Boc/Benzylester- oder der *N*-Benzyl/*tert*-Butylester-Schutzgruppenstrategie durchgeführt. Während in der Synthese von Dutton und Nelson<sup>39</sup> (Schema 1) *D*-Milchsäure und *D*-Phenylmilchsäure eingesetzt wurden, führten die Gruppen um Ohyama<sup>37</sup> und Kobayashi<sup>73</sup> die *R*-Konfiguration der  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäureeinheiten mit Hilfe einer Mitsunobu-Inversion ein. Die abschließende Makrozyklisierung zum Cyclooctadepsipeptid **2**, unter Bildung einer Amidbindung zwischen *N*-terminalem *N*-MeLeu und *C*-terminalem *D*-Lac unter Hochverdünnungsbedingungen, wurde von Dutton und Nelson mit Hilfe von BOP mit einer Ausbeute von 50% ausgeführt. Dieses Ergebnis konnte von Kobayashi mit DCC auf eine Ausbeute von 55% gesteigert werden. Die Gruppe um Ohyama zyklisierte die lineare Octadepsipeptidvorstufe mit *C*-terminaler *D*-PhLac unter Einsatz von EDCI mit einer Ausbeute von 80%. Die Synthese nach Scherkenbeck<sup>74</sup> (Abb. 14) wurde ausgehend von (*S*)-2-Chlorpropansäure und (*S*)-2-Chloro-3-phenylpropansäure als Synthone für die *R*-konfigurierten  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren durchgeführt. Bei der finalen Makrozyklisierung wurde ebenfalls vom *N*-terminalen *N*-MeLeu zum *C*-terminalen *D*-PhLac zyklisiert. Dabei konnte unter Verwendung von BOP-Cl eine Ausbeute von 87% erreicht werden. Diese Ergebnisse

zeigen eine Abhängigkeit der Zyklisierungsausbeute zur Sequenz der linearen Vorstufe auf, da sowohl Ohyama, als auch Scherckenbeck von *N*-MeLeu zur COOH-Gruppe der *D*-PhLac zyklisierten und jeweils eine Ausbeute über 80% erhielten. Für diese guten Ausbeuten kann

**Schema 1:** Synthese von PF1022A (**2**) in Lösung von Dutton und Nelson.<sup>39</sup>



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) DCC, DMAP, DCM; (b) 10% Pd/C, H<sub>2</sub> (3 atm), EtOH; (c) 10% TFA/DCM; (d) BOP, NMM, DCM.

Abb. 14: Schema der Lösungssynthese von PF1022A (2) nach Scherkenbeck<sup>8,74</sup>:

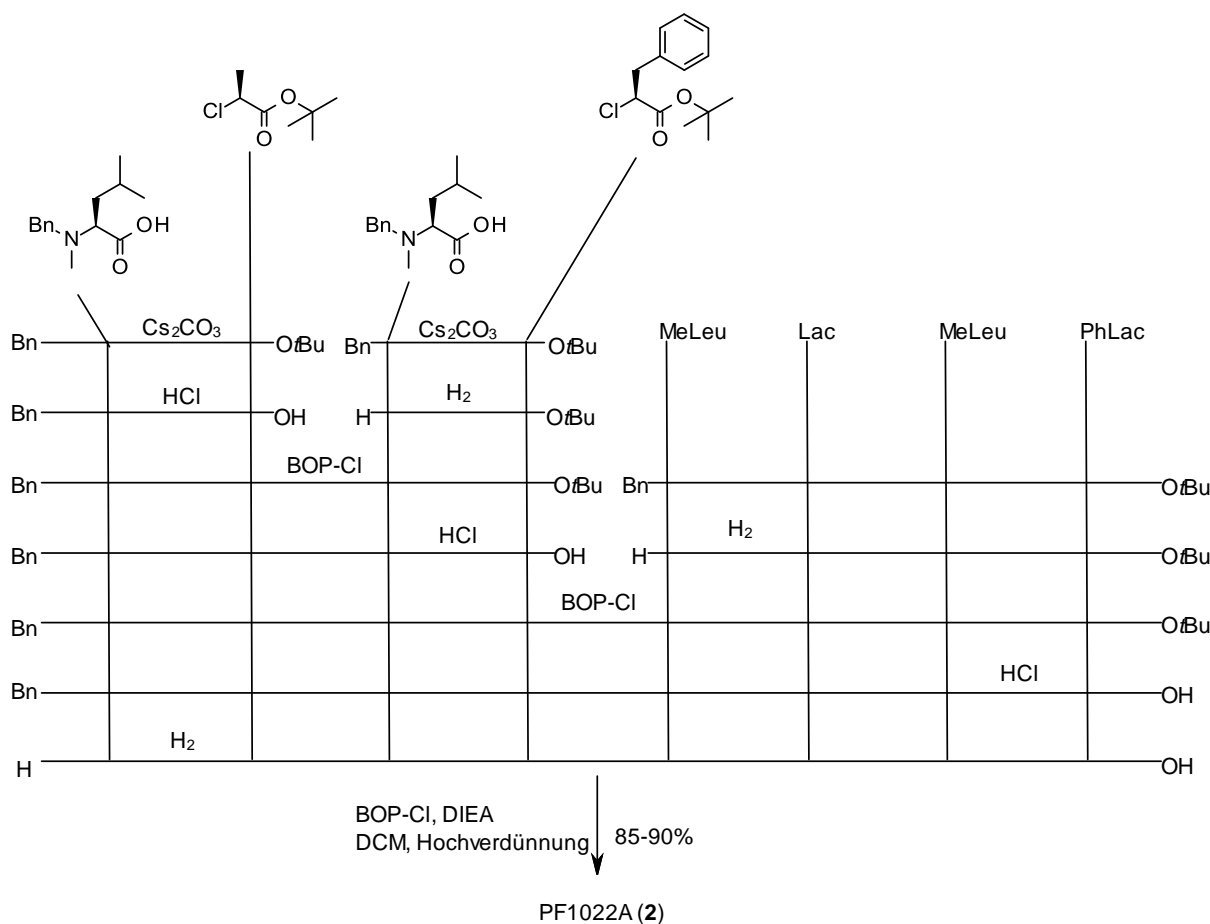
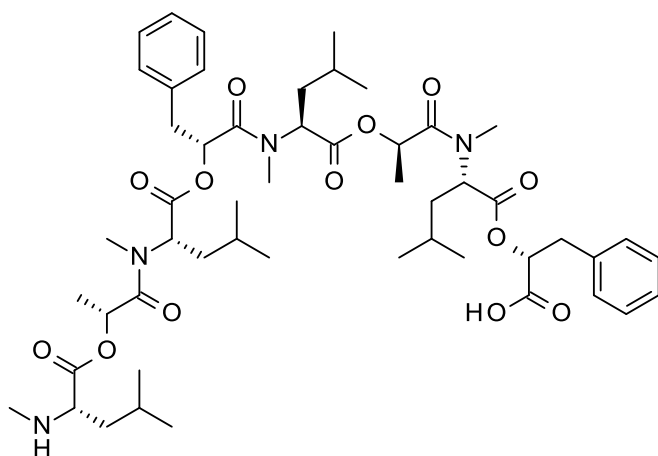


Abb. 15: Rotamer der linearen Vorstufe von PF1022A (2):



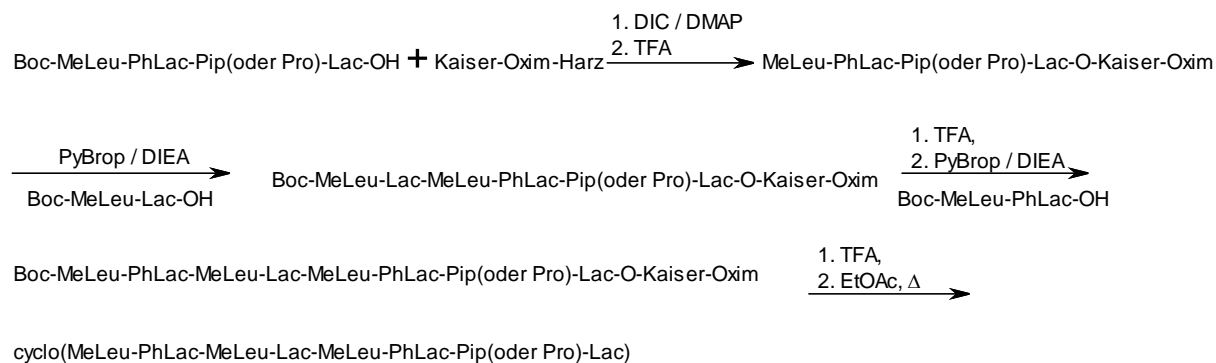
65

eine *cis*-Amidbindung zwischen einem *N*-MeLeu und einer *D*-Lac verantwortlich gemacht werden. Dadurch wird eine U-förmige Konformation möglich, bei der sich *N*- und *C*-Terminus nahe kommen (Abb. 15).<sup>74</sup> Des Weiteren ergibt sich eine Abhängigkeit von den eingesetzten Kupplungsreagenzien, wobei sich EDCI und BOP-Cl als geeignete Reagenzien herausstellten.

Am Kaiser-Oxim-Harz, wurden von Lee einige konformativ eingeschränkte PF1022-Analoga synthetisiert.<sup>75,76</sup> Eine Synthese von PF1022A (2) selbst oder von Emodepsid (1) wurde nicht veröffentlicht. Die Synthese am Kaiser-Oxim erlaubt eine elegante zyklisierende Abspaltung, bei der die festphasengebundenen linearen Octadepsipeptide durch Kochen unter Rückfluss in Ethylacetat zyklisierend von der festen Phase abgespalten werden. Die Hochverdünnungsbe-

dingungen liefert hierbei die Verteilung der Bindungsstellen am Harz. Die intramolekulare Zyklisierung wird durch die *cis*-Amidbindungen, die durch den Einbau von Prolin bzw. Pipicolinsäure zustande kommen, begünstigt (Abb. 16).

**Abb. 16:** Schema der Festphasensynthese von PF1022-Analoga nach Lee<sup>8,75,76</sup>:



Die beschriebenen Synthesen zeigen deutlich Optimierungsbedarf auf. Die Lösungssynthesen kamen über eine Gesamtausbeute von 13% nicht hinaus und sind außerdem mit den typischen Nachteilen der Lösungssynthese behaftet, nämlich zahlreiche chromatographische Reinigungen.<sup>37,39,73,74</sup>

Lee<sup>75,76</sup> plante zunächst eine vier Kupplungsschritte umfassende Festphasensynthese, ausgehend von Didepsipeptidbausteinen. Allerdings musste die Synthese nach dem zweiten Kupplungsschritt abgebrochen werden, da das geschützte Tetradepeptid durch beträchtliche Diketomorpholinbildung nur in 50% Ausbeute erhalten wurde. Daher synthetisierte Lee das *N*-terminal geschützte Tetradepeptid im zweiten Versuch in Lösung. So wurde das Risiko der Diketomorpholinbildung sowie das Knüpfen von problematischen Esterbindungen an der festen Phase umgangen. Die Zahl der Syntheseschritte in Lösung wurde allerdings nicht signifikant verringert. Des Weiteren sind die Ausbeuten der Festphasensynthese inklusive Zyklisierung im Vergleich zu den publizierten Lösungssynthesen geringer. Zusätzlich besteht bei Anwendung der Synthese auf PF1022A (**2**) oder Emodepsid (**1**) die Gefahr, dass die Ausbeuten noch geringer ausfallen, da diese keine zyklischen Aminosäuren enthalten, die eine intramolekulare Zyklisierung begünstigen.

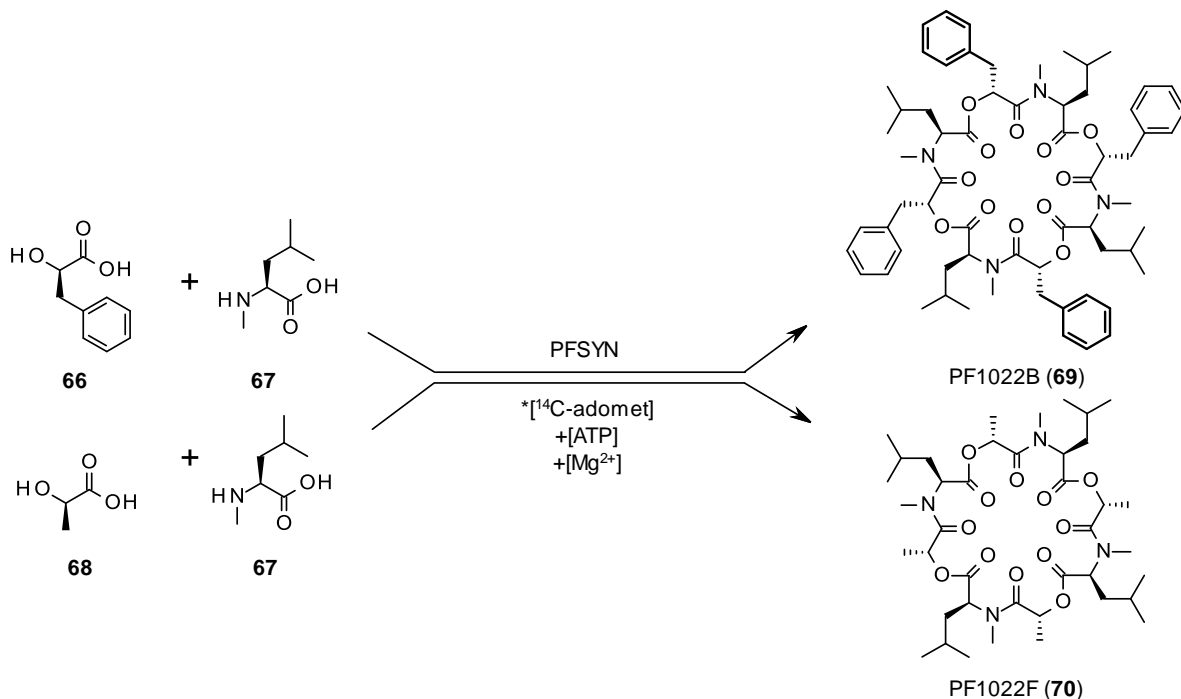
Eine effiziente Synthese, insbesondere für Emodepsid (**1**), ist allerdings gerade im Hinblick auf eine Wirkstoffanwendung zur Behandlung von Wurminfektionen bei Menschen in Entwicklungsländern dringend erforderlich. Derzeit ist die effektivste Herstellung von Emodepsid (**1**) die fermentative Gewinnung von PF1022A (**2**) mit anschließender dreistufiger Derivatisierung. Dies stellt jedoch einen sehr kosten- und zeitaufwändigen Weg dar.<sup>5,30,43,61,79</sup>

## 4.2 Biosynthesen

Für mehrere Depsipeptide wurden neben den chemischen Synthesen auch Biosynthesen mit Hilfe der entsprechenden Enzyme entwickelt.

Die Synthese der Enniatine wird durch Inkubieren des Enzyms Enniatinsynthetase (ESYN) zusammen mit den Aminosäure- und  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuregrundbausteinen, ATP und *S*-Adenosyl-*L*-Methionin (AdoMet) sowie  $MgCl_2$  erreicht. ESYN repräsentiert ein Hybridsystem einer Peptidsynthetase<sup>80</sup> und einer Methyl-Transferase und dient als Modell für andere *N*-Methyl-Cyclopeptid-Synthetasen.<sup>8,77,78</sup> Im Jahr 2000 wurde von Weckwerth *et al.*<sup>77</sup> eine *N*-Methyl-Cyclooctadepsipeptid-Synthetase (PFSYN) isoliert und charakterisiert. Die PFSYN ist der ESYN in Größe und Mechanismus sehr ähnlich. Das Enzym hat ein Molekulargewicht von 350 kDa und folgt, wie andere Peptidsynthetasen, einem Thiotemplat-Mechanismus, in dem die Substrate als Thioester durch Adenylierung aktiviert sind. Die *N*-Methylierung vom Substrat *L*-Leucin findet erst nach der Peptidbindungsbildung statt. PFSYN kann alle bekannten natürlichen Cyclooctadepsipeptide vom Typ PF1022 mit unterschiedlicher Anzahl an *D*-Laktat und *D*-Phenyllaktat in kleinen Mengen synthetisieren.<sup>8,77,78,81</sup>

**Schema 2:** Assay für die *in vitro* Synthese von PF1022-Analoga (PF1022B und F) aus *D*-Lac, *D*-PhLac, *L*-Leu, ATP und AdoMet. Modulare Domänen-Architektur der PFSYN: C (Kondensation), A (Adenylierung), T (Thiolierung), M (Methylierung):<sup>78</sup>





## II Zielsetzung

Es gibt einen großen Bedarf an Cyclooctadepsipeptiden als Wirkstoffe im Veterinär und Humanbereich. Vor diesem Hintergrund sollen Festphasensynthesen von PF1022A (**2**) und Analoga an unterschiedlichen Trägermaterialien entwickelt werden. Dies soll einerseits durch Fragmentkupplungen und andererseits durch die Verwendung einzelner Bausteine des Naturstoffs geschehen. Die Entwicklung soll sowohl am preisgünstigen und stabilen Wang-Harz, als auch am Kaiser-Oxim-Harz erfolgen, das eine zyklisierende Abspaltung des linearen Octadepsipeptids zum Cyclooctadepsipeptid erlaubt.

Die Festphasensynthesen sollen breit variierbar sein, so dass auch kleinere Bibliotheken von PF1022-Analoga hiermit hergestellt werden können. Des Weiteren sollen diese Synthesen bezüglich ihrer Ausbeute konkurrenzfähig sein mit der biotechnologischen Herstellung des PF1022A (**2**) und anschließender Derivatisierung zu Emodepsid (**1**).

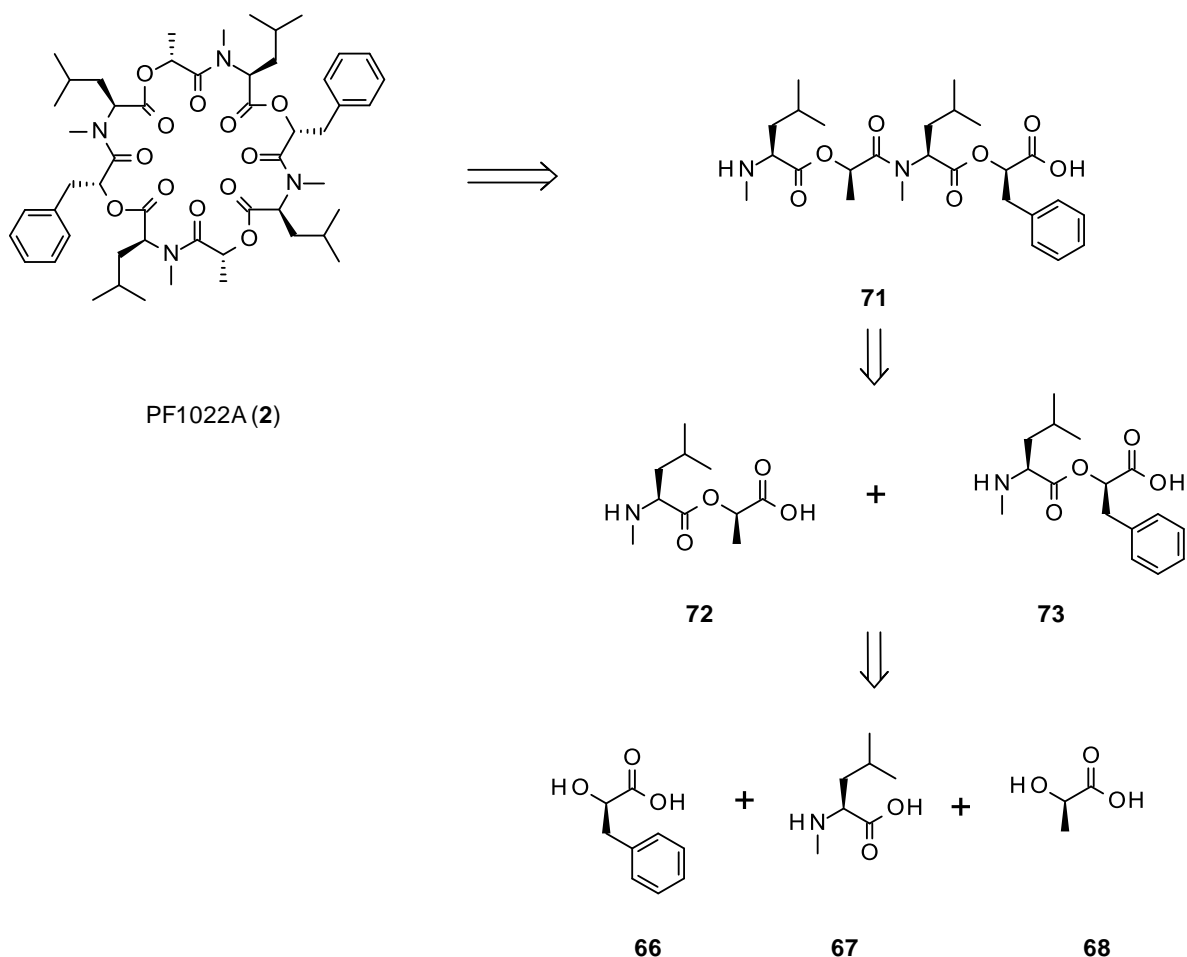
Ein zweiter Aspekt der vorliegenden Arbeit ist die enantioselektive Synthese von substituierten (*R*)-Arylmilchsäuren als Bausteine für die Festphasensynthesen. Für die Herstellung der enantiomerenreinen (*R*)-Arylmilchsäuren, sollen sowohl Übergangsmetallkatalysierte, als auch enzymatische Verfahren eingesetzt werden.

### III Syntheseplanung

#### 1. Retrosynthetische Betrachtungen und Planung der Synthese von PF1022A

Retrosynthetisch lässt sich das C<sub>2</sub>-symmetrische und aus vier Aminosäure- und vier Hydroxycarbonsäure-Einheiten aufgebaute PF1022A (**2**) in zwei gleiche Tetradepsipeptid-Einheiten (4er-Baustein) (**71**) zerlegen, die wiederum aus den zwei Didepsipeptid-Einheiten (2er-Bausteine) **72** und **73** zusammengesetzt sind. Da als Aminosäure lediglich Leucin vorkommt, reduziert sich die Anzahl der Edukte auf jeweils zwei Hydroxycarbonsäuren (*D*-PhLac (**66**), *D*-Lac (**68**)) und *L*-Leucin (**67**).

Abb. 17: Retrosynthese von PF1022A (**2**):



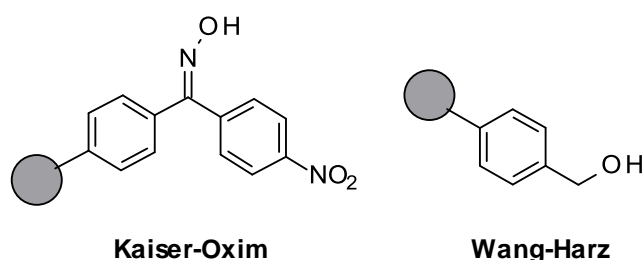
Nach der Zerlegung des Zielmoleküls in leicht zugängliche, beziehungsweise kommerziell erhältliche Bausteine, folgt die Anpassung der Grundbausteine an die Synthesestrategie.

Festphasensynthesen haben sich zu Routinemethoden in der organischen Chemie entwickelt, da sie sehr viele Vorteile gegenüber gewöhnlichen Lösungssynthesen bieten. Aufwändige und mit großen Ausbeuteverlusten verbundene Aufarbeitungs- und Reinigungsschritte werden durch einfache Filtrations- und Waschschrte ersetzt. Dadurch bietet sich die Möglichkeit der Ausbeutesteigerung durch den Einsatz hoher Eduktüberschüsse.<sup>82</sup> Des Weiteren ist das Harz nach der Synthese je nach Trägermaterial wiederverwendbar.\* Dies führt neben den unproblematischen Arbeitsschritten dazu, dass Festphasensynthesen leicht automatisierbar sind.<sup>83</sup>

Besonders geeignet ist die Festphasensynthese bei der Synthese von Peptiden,<sup>82</sup> da in dem Fall lediglich Amidbindungen beziehungsweise bei Depsipeptiden auch Esterbindungen geknüpft werden. Dies ist von besonderer Bedeutung, da alle Reaktionsschritte einer Festphasensynthese mit dem Trägermaterial und dem verwendeten Linker kompatibel sein müssen.<sup>82</sup>

Bei der Herstellung zyklischer Peptide ist die Makrozyklisierung ein problematischer Schritt, da sie, um intermolekulare Reaktionen zu vermeiden, unter Hochverdünnungsbedingungen durchgeführt werden muss.<sup>74</sup> Dies ist jedoch präparativ aufgrund des hohen Lösungsmittelverbrauches ungünstig. Das Problem kann bei der Festphasensynthese mit Kaiser-Oxim-Harz

Abb. 18: Kaiser-Oxim- und Wang-Harz-Linker:



vermieden werden. Das Kaiser-Oxim-Harz bietet die Möglichkeit der zyklisierenden Abspaltung<sup>84,85,86,87,88,89</sup> und ist daher ein ideales Trägermaterial für eine effiziente Festphasensynthese eines zyklischen Peptids oder Depsipeptids. Hinzu kommt das Problem einer aus ökonomischen Gesichtspunkten ungünstigen Derivatisierung des ohnehin schon teuren Naturstoffs

PF1022A (**2**) zu Emodepsid (**1**). Dies würde durch eine Festphasensynthese aus einzelnen Bausteinen oder Fragmenten ebenso umgangen, wie es durch die Wahl des entsprechenden Trägermaterials möglich ist, die aufwändige und teure Makrozyklisierung in Lösung zu vermeiden.

Daher bietet es sich an, als Erstes eine Festphasensynthese für PF1022A (**2**) zu entwickeln, die dann auf Emodepsid (**1**) und weitere Derivate übertragen wird.

Als Trägermaterialien werden das Kaiser-Oxim-Harz, da es die Möglichkeit zur zyklisierenden Abspaltung bietet und das Wang-Harz, da es höher beladbar, preisgünstiger und weniger empfindlich ist, gewählt (Abbildung 18).

\* Die Wiederverwendbarkeit des Trägermaterials wird in Abschnitt IV.6., S. 81 ff besprochen.

Grundsätzlich lässt sich die Festphasensynthese als 8x1- (Verknüpfung von Monobausteinen) oder 4x2-Synthese (Verknüpfung von Didepsipeptidbausteinen) gestalten.

Durch die Aneinanderreihung von Einzelbausteinen, besitzt die 8x1-Synthese eine sehr breite Variierbarkeit zur Herstellung von linearen Depsipeptiden.

Bei der 4x2-Synthese geht ein Teil der Variierbarkeit der Synthese an der festen Phase verloren. Die gewünschten Didepsipeptide müssen vorweg in Lösung synthetisiert werden. Die 4x2-Synthese besitzt aber den Vorteil, dass sich mit Hilfe dieser Strategie, die oft problembehafteten Veresterungen an der festen Phase vermeiden lassen.<sup>83,90</sup>

Da beide taktischen Vorgehensweisen sowohl ihre Vorteile, als auch ihre Nachteile mit sich bringen, wurden beide Strategien verfolgt.

### 1.1 Planung und Diskussion zur Wahl der Kupplungsreagenzien

Bei der 4x2-Synthese steht die Bildung von Amidbindungen mit *N*-Methyl-Aminosäuren im Vordergrund. Diese sind kritisch zu betrachten hinsichtlich niedriger Ausbeute und höherer Racemisierungsgefahr. Vor allem die sterisch hindernden Methylgruppen spielen hierbei eine große Rolle.<sup>91</sup> Dies ist besonders der Fall, wenn sie an der festen Phase generiert werden, da die Reaktionsfähigkeit von festphasengebundenen, sekundären Aminen mit aktivierten Carbonsäuren geringer ist, als in Lösung.<sup>92,93</sup> Obwohl dieses Problem seit Jahrzehnten bekannt ist, gibt es bis heute keine zufriedenstellende Lösung. In der Festphasensynthese der Cyclopeptide Cyclosporin und Omphalotin A hat sich Triphosgen als Kupplungsreagenz für sterisch anspruchsvolle *N*-Methyl-Aminosäuren bewährt, während in der Lösungssynthese von Thiocoralin das konventionellere Kupplungsreagenziensystem HATU/HOAt zu guten Ausbeuten führte.<sup>94,95,96</sup> Außerdem sind BMTB und DFET als moderne Kupplungsreagenzien für diese Problematik entwickelt worden.<sup>97,98</sup> Allerdings sind diese Reagenzien zum einen nicht kommerziell erhältlich und zum anderen sind die Synthesen der Reagenzien problematisch.

Ein aufschlussreiches Beispiel für die durch Verwendung von *N*-Methyl-Aminosäuren auftretenden Probleme, ist in einer Veröffentlichung von Lee zu finden (Abschnitt I.4.1, S. 16 ff).<sup>75,76</sup> Da HATU leicht verfügbar ist und sich zudem in der Literatur oft bewährt hat, wurde neben dem von Lee verwendeten DIC bei der Entwicklung der 4x2-Synthese zunächst von HATU ausgegangen.

Bei der Wahl der Kupplungsreagenzien für die 8x1-Synthese war es vor allem für die Bildung der Esterbindungen problematisch, ein geeignetes Reagenz zu finden, da trotz der Entwick-

lung moderner Reagenzien wie HATU, BMTB, DFET und Triphosgen für die Kupplung von sterisch gehinderten *N*-Methyl-Aminosäuren das Knüpfen von Esterbindungen an der festen Phase noch immer ein synthetisches Problem darstellt.<sup>83,96,98</sup> Des Weiteren sind als Standardreagenzien für Esterbindungen in der Literatur lediglich DIC/DMAP und Hexafluoracetonide von  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren für die Synthese von Depsipeptiden zum Einsatz gekommen.<sup>99,100</sup> Normalerweise werden, abgesehen von der Immobilisierung des ersten Bausteins, Esterbindungen in Lösung und anschließend nur die Peptidbindungen an der festen Phase generiert, oder die Hydroxycarbonsäuren werden ohne Schutzgruppe eingeführt.<sup>75,101</sup>

Bis heute sind nur sehr wenige Verfahren für Depsipeptid-Festphasensynthesen aus Einzelbausteinen bekannt. Eine eindrucksvolle Synthese ist die 24-Stufen umfassende Totalsynthese des Cyclododecdepsipeptids Valinomycin (**13**), bei der an der festen Phase sechs Esterbindungen gebildet werden.<sup>83,102,103</sup> Bei dieser Synthese waren DIC/DMAP sowohl für Ester-, als auch für Amidkupplungen die besten Reagenzien. Aus diesem Grund wurde zunächst dieser Ansatz bei der Entwicklung der 8x1-Festphasensynthese von PF1022A (**2**) verfolgt.

Ein weiterer Aspekt, der in der Planung der Festphasensynthesen berücksichtigt werden muss, ist die Diketomorpholinbildung. Das Kaiser-Oxim besitzt den Nachteil, dass die Diketomorpholinbildung eine wichtige Nebenreaktion bei Kupplungen und Schutzgruppenspaltungen am Harz darstellt, da der Oximester schon durch schwache Nukleophile gespalten werden kann. Beim Wang-Harz ist die Schutzgruppenspaltung auf der Didepsipeptidstufe besonders kritisch.

Da die Kombination von sterisch anspruchsvollen Aminosäuren als erstem und einer *N*-Methyl-Aminosäure als zweitem Baustein besonders zur Bildung von Diketomorpholinen neigt, muss die Schutzgruppenspaltung auf der Didepsipeptidstufe und die Kupplung des zweiten Didepsipeptidbausteins bzw. des dritten Monobausteins besonders sorgfältig optimiert werden.<sup>88,104,105</sup>

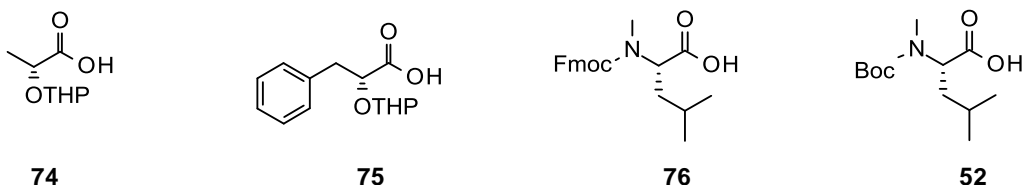
## 2. Planung der Synthesen der Grundbausteine für die 4x2- und die 8x1-Synthese von PF1022A

### 2.1 Planung der Schutzgruppenstrategie und der Synthesen der Grundbausteine für die 8x1-Synthese

Für die Festphasensynthesen des PF1022A (**2**) sind PhLac (**66**), Lac (**68**) und *N*-MeLeu (**67**) als Grundbausteine erforderlich. Da das Kaiser-Oxim vor allem durch basische Nukleophile gespalten wird, wurde die aus sauer spaltbaren Schutzgruppen bestehende *N*-Boc/*O*-THP-Schutzgruppenstrategie gewählt. Das Wang-Harz wiederum bildet eine so stabile Bindung zum Substrat, dass nur unter stark sauren Bedingungen, ähnlich der Boc-Abspaltung, gespalten werden kann. So wird bei diesem Trägermaterial die basisch spaltbare Fmoc-Schutzgruppe für die Aminofunktionen und die schwach sauer spaltbare THP-Gruppe für die Hydroxyfunktionen gewählt.

Daraus ergeben sich die in Abbildung 19 dargestellten Grundbausteine **74**, **75** und **76** für die 8x1-Wang-Harz-Synthese, beziehungsweise **74**, **75** und **52** für die Synthese am Kaiser Oxim.

Abb. 19: Grundbausteine von PF1022A (**2**):



Allerdings können beide Schutzgruppenstrategien Probleme mit Esterbindungen verursachen. Die Standardbedingungen zur Spaltung der Fmoc-Gruppe können partiell Esterbindungen spalten, sowie Diketomorpholin-Bildung und Racemisierung der chiralen  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren verursachen. Auf der anderen Seite hat sich die Fmoc-Gruppe an Standard-Trägermaterialien wie dem Wang-Harz erfolgreich etabliert und kann leicht auf einen Peptid-Synthesizer übertragen werden. Bei den Spaltbedingungen der Boc-Schutzgruppe hingegen, wird die Diketomorpholinbildung unter den stark sauren Bedingungen nahezu unterdrückt, allerdings können aktivierte Ester, wie die zwischen PhLac und dem Linker oder *N*-MeLeu, angegriffen werden. Darüber hinaus sind Harze, die mit der Boc-Schutzgruppe kompatibel sind, beispielsweise das Kaiser-Oxim, signifikant teurer und besitzen dabei eine geringere Beladungskapazität im Vergleich zum Wang-Harz. Demgegenüber erlaubt das Kaiser-Oxim die vorteilhafte zyklisierende Abspaltung und kann mehrfach verwendet werden.

Als Standardschutzgruppen für OH-Funktionen haben sich in der Festphasensynthese Silylether und Acetylgruppen etabliert.<sup>106</sup> Die zur Spaltung von Acetylschutzgruppen benötigten, stark basischen Bedingungen können jedoch als Nebenreaktion auch zu Esterspaltungen und Racemisierung führen. Silylether sind bei Kupplungen an *N*-Methyl-Aminosäuren generell ungeeignet, da die sterische Hinderung der sperrigen Silylsubstituenten zu groß ist. Aus diesen Gründen wurde die THP-Schutzgruppe gewählt. Des Weiteren sind die Spaltbedingungen mit beiden Linkern und sowohl mit der Fmoc-, als auch mit der Boc-Schutzgruppe kompatibel.<sup>107</sup>

## 2.2 Planung der Synthesen der Grundbausteine für die 4x2-Synthese

Durch die C<sub>2</sub>-Symmetrie von PF1022A (**2**) werden nur zwei unterschiedliche Didepsipeptidbausteine für die Festphasensynthese benötigt. So werden für die Synthese von PF1022A (**2**), aufgrund der Spaltbedingungen der verwendeten Trägermaterialien, für die Kaiser-Oxim-Synthese Boc-*L-N*-MeLeu-*D*-Lac-OH und Boc-*L-N*-MeLeu-*D*-PhLac-OH benötigt, während für die Synthese am Wang-Harz die entsprechenden *N*-terminal Fmoc-geschützten Didepsipeptidbausteine erforderlich sind.

Zur Herstellung der Didepsipeptide in Lösung wird, wie in den bekannten Synthesen,<sup>37,39,73,74</sup> die Benzylschutzgruppe für den *C*-Terminus gewählt. Zur Kupplung der *N*-MeLeu-Bausteine **52** bzw. **76** mit den Benzyl-geschützten  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **53** und **54** eignen sich zum einen Carbodiimide und zum anderen Kupplungsbedingungen nach Mitsunobu. Diese sind besonders empfehlenswert, wenn die *S*-Enantiomere besser verfügbar sind als die *R*-Enantiomere.

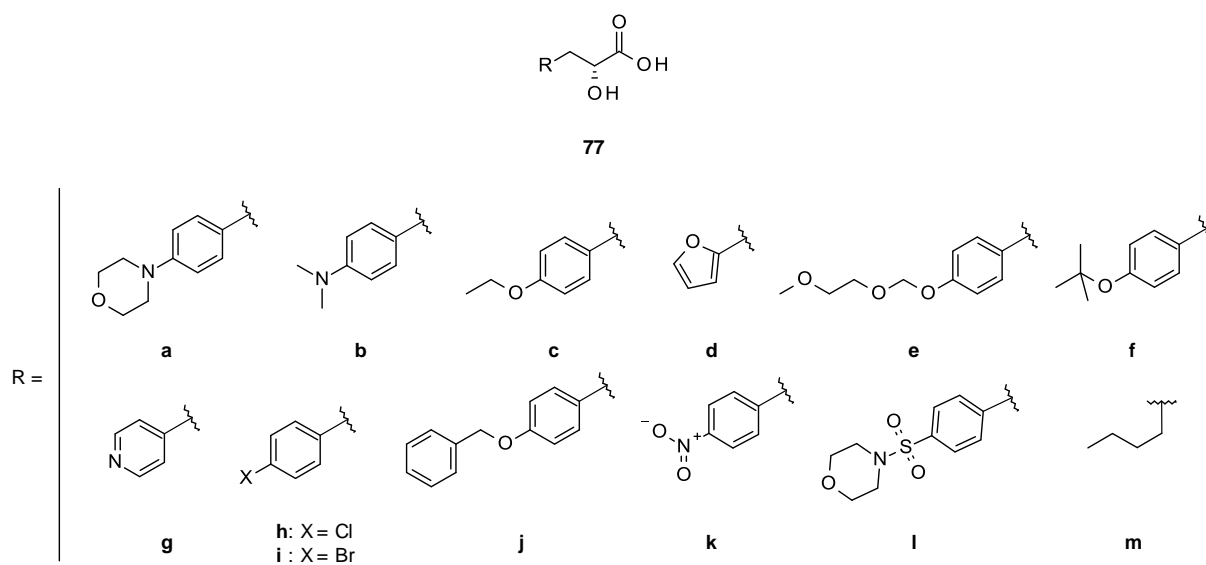
## 3. Planung der enantioselektiven Synthese verschiedener $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren als Bausteine für die Festphasensynthese

Aus Untersuchungen der Struktur-Wirkungsbeziehungen, bzw. durch die Entwicklung von Emodepsid (**1**), ist bekannt, dass die *para*-Position an den Phenylringen des PF1022A (**2**) ohne Wirkungsverlust modifiziert werden kann.<sup>5,8,61,62</sup> Daher ist der Bedarf an Synthesen für enantiomerenreine  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren und speziell für *para*-substituierte Phenylmilchsäuren groß.

Voraussetzung für eine Festphasensynthese ist ein effizienter Zugang zu den erforderlichen Bausteinen. Während Milchsäure (**68**) und Phenylmilchsäure (**66**) kommerziell erhältlich,

bzw. synthetisch leicht zugänglich sind, ist die Synthese substituierter Phenylmilchsäuren kein triviales Problem. Denkbar sind verschiedene Ansätze für die Synthese dieser Verbindungen, jedoch sollte die Synthese die gewünschten Bausteine auch im multi-Gramm-Maßstab liefern können. So wäre es beispielsweise, möglich mit Hilfe der an technische Bedingungen angepassten 8x1-Festphasensynthese, Emodepsid (**1**) wirtschaftlicher als bisher herzustellen. Zur Erfüllung dieser Kriterien sollte die Synthese möglichst wenige, kostengünstige und im Hinblick auf Toxizität und Umweltverträglichkeit, unproblematische Schritte enthalten. Die Standardmethode zur Generierung von  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren besteht in der Umwandlung der entsprechenden Aminosäure durch Diazotierung und anschließende Hydrolyse.<sup>128</sup> Auf diesem Weg lassen sich hauptsächlich aliphatische Hydroxycarbonsäuren aus ihren entsprechenden Aminosäuren herstellen. In allen Fällen, in denen keine natürliche Aminosäure zur Verfügung steht, ist diese Methode ungünstig, da zum einen die entsprechenden Aminosäuren erst enantioselektiv hergestellt werden müssen und zum anderen, die Diazotierung durch die Entwicklung nitroser Gase bedenklich ist. Daher soll zunächst eine Methode entwickelt werden, die sowohl die oben genannten Bedingungen erfüllt, als auch breit anwendbar ist. Mit der einmal entwickelten Synthese sollen eine Reihe verschiedener, substituierter Phenylmilchsäuren enantiomerenrein hergestellt werden. Die Verbindungen sollen durch ihre Eigenschaften die Variabilität der entwickelten Synthese demonstrieren und gleichzeitig für Struktur-Wirkungsuntersuchungen der daraus synthetisierten Cyclooctadepsipeptide interessant sein. Aus diesem Grund wurden die in Abbildung 20 dargestellten Verbindungen als Zielmoleküle für die Synthese ausgewählt.<sup>5,8,61</sup>

**Abb. 20:** Zielmoleküle der enantioselektiven Synthese zur Herstellung *para*-substituierter Phenylmilchsäuren:

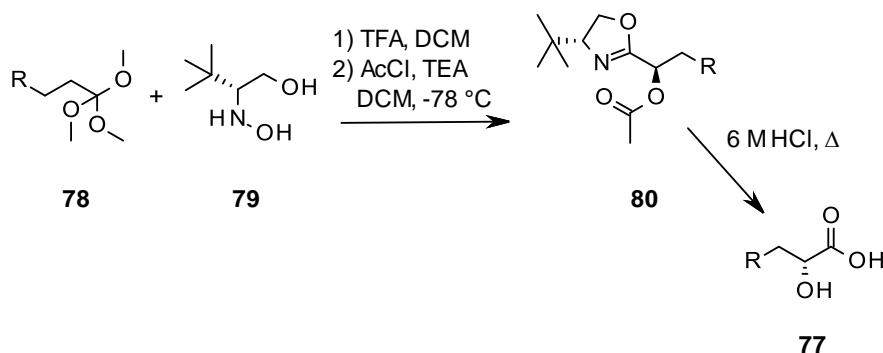




Für die Synthese der aufgeführten substituierten Phenylmilchsäuren stehen zahlreiche Methoden zur Verfügung, jedoch sind die wenigsten hinsichtlich Variierbarkeit und Überführbarkeit in den industriellen Maßstab geeignet. Die wichtigsten Synthesemethoden, die diese Bedingungen weitgehend erfüllen, sind:

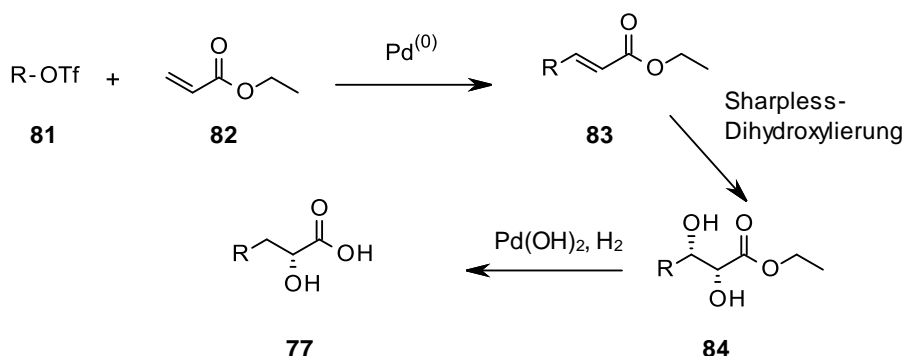
- Synthesen ausgehend von substituierten Orthoestern über eine stereoselektive Cope-Umlagerung.<sup>108</sup>

**Schema 3:** Synthese über stereoselektive Copeumlagerung:



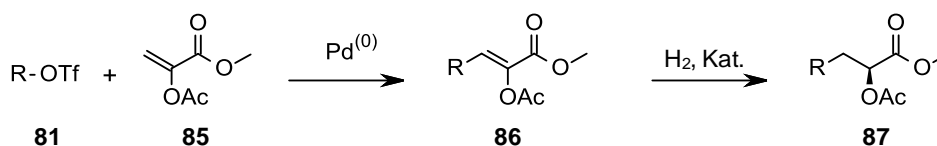
- Synthesen unter Zuhilfenahme einer Sharpless Dihydroxylierung von substituierten Zimtsäuren, die über eine Pd-katalysierte C-C-Verknüpfungsreaktion zugänglich gemacht wurden, gefolgt von einer regioselektiven Hydrierung.<sup>109,110,111,112,113,114,115</sup>

**Schema 4:** Synthese über Sharpless-Dihydroxylierung:

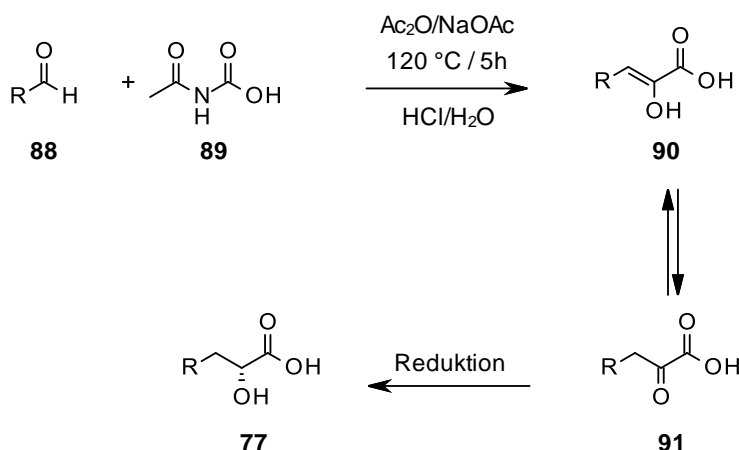


- Synthesen ausgehend von Aryltriflaten über eine Heck-Kupplung und eine enantioselective Hydrierung.<sup>111,116,117,118</sup>

**Schema 5:** Synthese über Heck-Kupplung und enantioselective Hydrierung



- Synthesen durch enantioselective Reduktion von α-Oxocarbonsäuren, die ausgehend von substituierten Benzaldehyden hergestellt werden.<sup>119,120,121,122</sup>

**Schema 6:** Synthese über enantioselective Reduktion von  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren:

Von allen zur Verfügung stehenden Methoden, ist die enantioselective Reduktion der  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren am besten geeignet. Zum einen geht die Synthese der  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren von Benzaldehyden aus, die in einer breiten Vielzahl zur Verfügung stehen. Darüber hinaus stehen für die Reduktion zahlreiche Methoden, wie der Einsatz chiraler Borreagenzien, übergangsmetallkatalysierte Hydrierungen sowie enzymatische Verfahren<sup>123,124</sup> zur Verfügung.

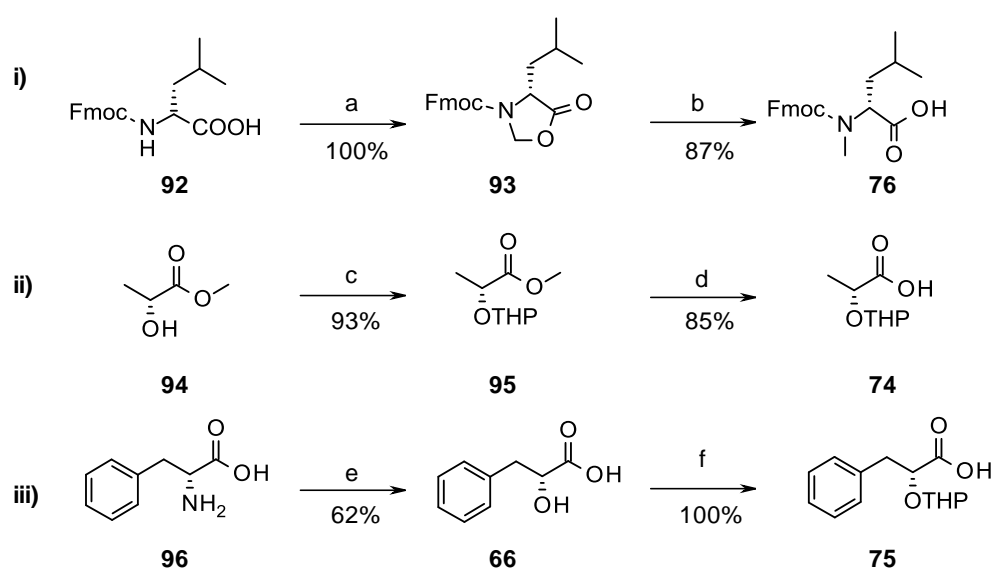
Die Nachteile der alternativen Syntheserouten liegen neben der Verfügbarkeit der Ausgangsmaterialien in den Problemen der Heck-Kupplung und der Sharpless-Dihydroxylierung (Schema 4 bzw. 5). Heck-Kupplungen besitzen den Nachteil, dass Mehrfachkupplungen, bzw. Kupplungen an dem nicht zur Reaktion vorgesehenen Substituenten auftreten, wenn die herzustellende Phenylmilchsäure in der *para*-Position ein Halogen (I, Br, Cl) trägt. Die Sharpless-Dihydroxylierung benötigt neben stark toxischen Osmiumverbindungen mehrere Äquivalente Kaliumhexacyanoferrat, das sich aufgrund des hohen Preises und den hohen Entsorgungskosten ungünstig auf die Effizienz der Reaktion auswirkt.<sup>125</sup>

## IV Ergebnisse und Diskussion

### 1. Synthese der Grundbausteine für die 8x1-Festphasensynthese von PF1022A

Während Boc-*N*-MeLeu (**52**) kommerziell verfügbar ist, wurden die Bausteine **74**, **75** und **76** über zweistufige Synthesen nach Standardliteratur (Schema 7) in guten Ausbeuten hergestellt.<sup>126,127,128,129,130</sup>

**Schema 7:** Darstellung der Grundbausteine für die 8x1-Festphasensynthese von PF1022A (**2**):

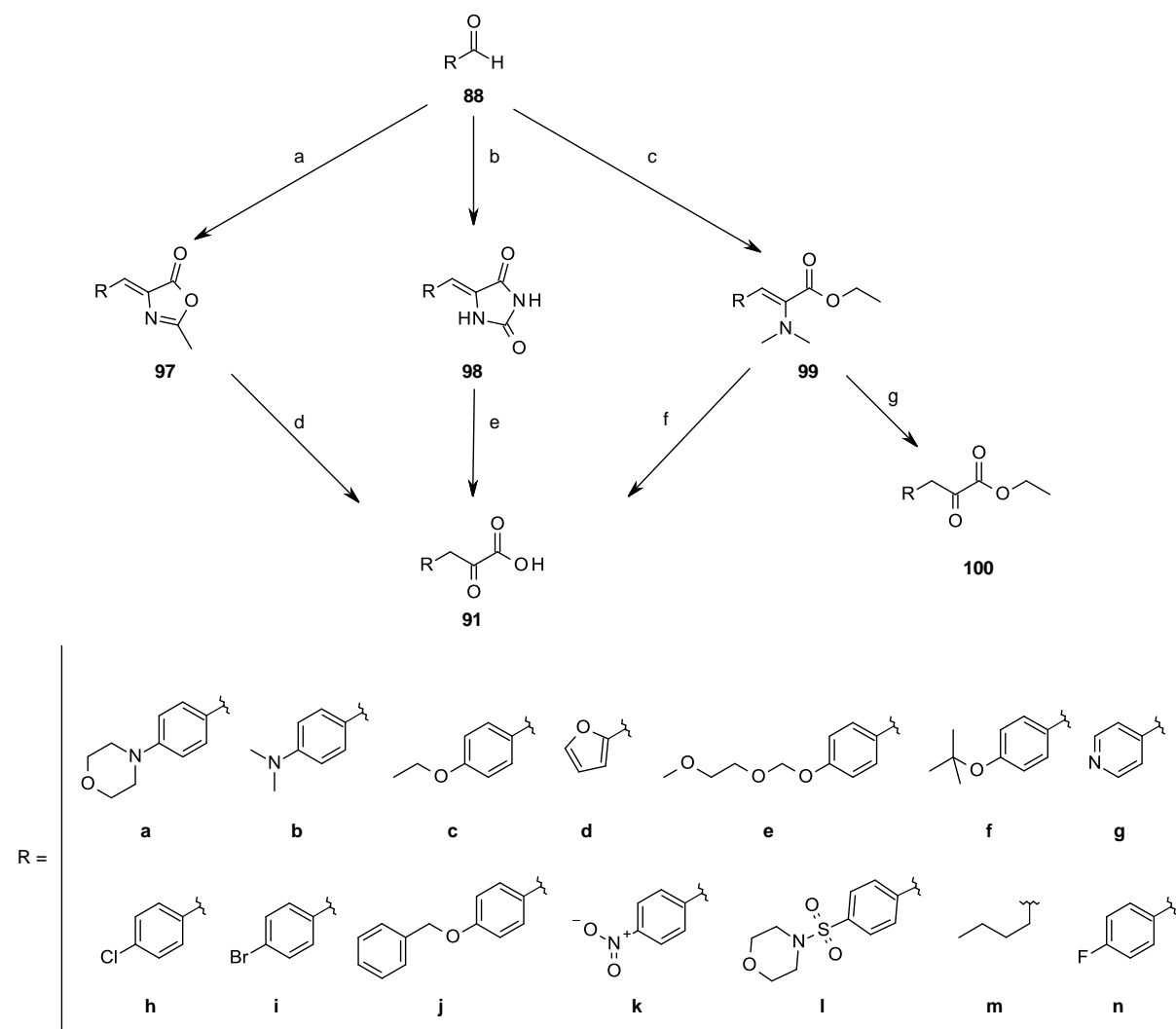


Synthese von Fmoc-*N*-Me-Leucin (**i**), THP-Lac (**ii**) und THP-PhLac (**iii**). Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) Paraformaldehyd, *p*-TsOH, Toluol, 112 °C, 24 h; (b) AlCl<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>SiH, DCM, Rt, 1 h; (c) DHP, *p*-TsOH, Toluol, 50 °C, 3 h; (d) 1 M LiOH (THF/Wasser, 3:5), 0 °C, 5 h; (e) 40% NaNO<sub>2</sub> (aq), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2 h bei 0 °C, 16 h bei Rt, dann Zugabe von 40% NaNO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6 h bei 0 °C, dann Rt, 16 h; (f) DHP, *p*-TsOH, Pyridin, DCM, Rt, 16 h.

### 2. Synthese enantiomerenreiner Arylmilchsäuren als Bausteine für die Festphasensynthese verschiedener PF1022-Analoga

#### 2.1 Synthese der Vorstufen

Zur Synthese der  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren wurden drei Synthesewege experimentell untersucht, die ohne den Einsatz von Metallorganyle auskommen. Die verschiedenen Synthesewege zur  $\alpha$ -Oxocarbonsäure sind in Schema 8 abgebildet.

**Schema 8:** Übersicht der verschiedenen Syntheserouten zur Herstellung von  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren:

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) NaOAc, *N*-Acetylglycin, Ac<sub>2</sub>O, 140 °C, 1 h; (b) Hydantoin, 10% 1-Amino-2-propanol, Wasser, 100 °C, 10 h; (c) *N,N*-Dimethylglycinethylester, NaH, Ethanol, Diethylether, 0 °C bis Rt, 18 h; (d) 3 M HCl<sub>aq</sub>, 100 °C, 3 h; (e) 20% NaOH<sub>aq</sub>, 100 °C, 6 h; (f) 2 M NaOH<sub>aq</sub>, 100 °C, 2 h, dann mit HCl konz. ansäuern, 100 °C, 5 min; (g) 1 M HCl<sub>aq</sub>, Rt.

### 2.1.1 Synthese und Hydrolyse der Benzylidenimidazolidine

Der erste Schritt, die Umsetzung der substituierten Benzaldehyde **88a-n** mit Hydantoin, lieferte lediglich das Benzylidenimidazolidin **98n**. Trotz des Einsatzes verschiedener Methoden,<sup>121,123,124</sup> konnte keine höhere Ausbeute als 14% erzielt werden. Des Weiteren war es nicht möglich den Benzaldehyd **88a** durch Kochen in trockenem Pyridin,<sup>121</sup> oder durch Kochen mit 1-Amino-2-propanol in Wasser<sup>123,124</sup> mit Hydantoin zum Benzylidenimidazolidin **98a** umzusetzen. Die nachfolgende basische Hydrolyse des Benzylidenimidazolidins **98n** erfolgte in einer moderaten Ausbeute von 57%. Da dieser Schritt nicht für alle aus den Zielmolekülen (Abbildung 20) hervorgehenden Resten R durchführbar war und bereits der erste

Schritt mit großen Syntheseproblemen verbunden war, wurde diese Syntheseroute nicht weiter fortgeführt.

### 2.1.2 Synthese und Hydrolyse der Azlactone

Im nächsten Ansatz wurde die Route über die Azlactone **97a-n** zu den  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren **91a-n** verfolgt.<sup>119</sup>

Das Azlacton **97n** wurde in einer guten Ausbeute (79%), das Derivat **97a** jedoch in einer geringen Ausbeute (23%) erhalten. Darüber hinaus ließ sich nur das Azlacton **97n** zur  $\alpha$ -Oxocarbonsäure **91n** umsetzen. Das mit Morpholin substituierte Derivat **97a** wurde dagegen nur in Spuren isoliert. Daher stellt auch diese Synthese keine breit anwendbare Methode zur Herstellung substituierter Phenylmilchsäuren dar, und wurde nicht weitergeführt.<sup>131</sup>

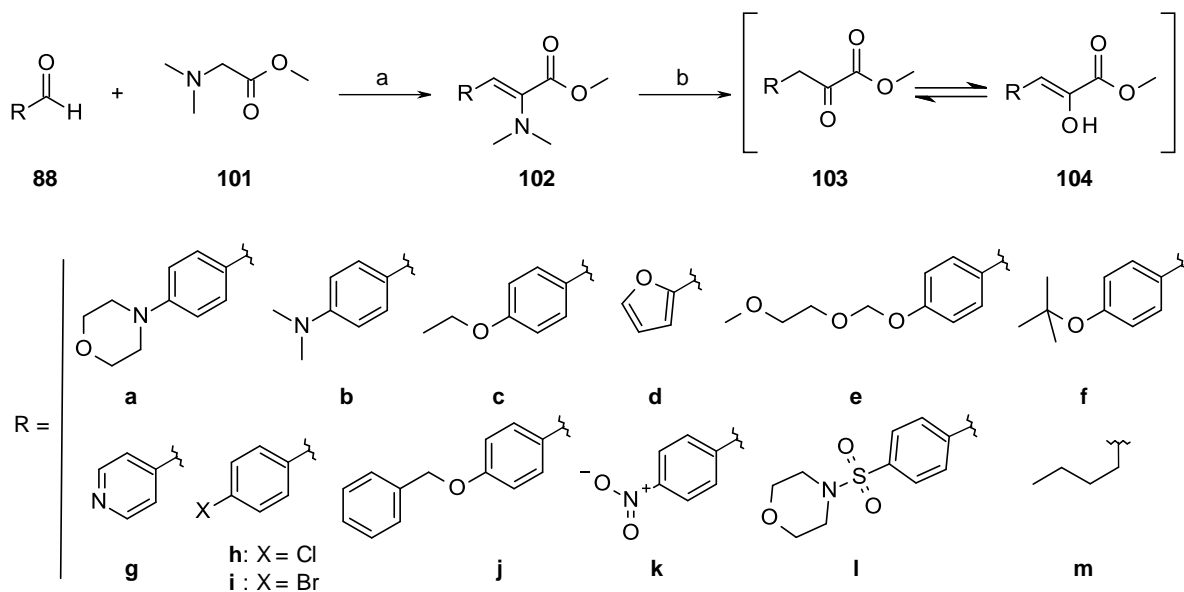
### 2.1.3 Synthese und Hydrolyse der Enamine

Die Synthese der Enamine **99a-n** erfolgte mittels Aldolkondensation der substituierten Benzaldehyde **88a-n** mit *N,N*-Dimethylglycinethylester.<sup>120</sup> Diese Reaktion lieferte die Enamine **99a-b**, **99h** und **99n** in guten Ausbeuten (66-90%). Der nächste Schritt wiederum, die basische Esterhydrolyse gefolgt von der sauren Enaminhydrolyse, ließ sich nur im Fall der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **100a**, **100h** und **100n** erfolgreich durchführen (62% bzw. 38% bzw. 36% Ausbeute). Die Esterhydrolyse lieferte zum einen niedrige Ausbeuten und zum anderen war sie nicht für alle Reste R durchführbar. Zur Lösung dieses Problems wurde zunächst nur das Enamin hydrolysiert, was in allen durchgeführten Experimenten gut gelang. Anschließend wurden mehrere Verfahren zur Optimierung der Esterspaltung untersucht.<sup>131</sup> Es war jedoch nicht möglich, die bisher erzielten Ergebnisse für die Esterhydrolyse zu steigern. Daher wurde der Ethylester durch den labileren Methylester ersetzt. Des Weiteren wurde das Problem der Ethylesterspaltung durch direkte Reduktion der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **100a-n** umgangen.

Da die über ein Enamin verlaufende Synthese nach Horner,<sup>120</sup> im Vergleich zu den zuvor durchgeführten Methoden die effektivste Synthese für die Herstellung von  $\alpha$ -Oxocarbonsäureestern darstellt, wurden die Enamine **102a-m** auf diesem Weg hergestellt und zu den entsprechenden  $\alpha$ -Oxocarbonsäureestern **103a-m** hydrolysiert (Schema 9).

Zur Synthese der Enamine **102a-m** wird der jeweilige Aldehyd **88a-m**, in Gegenwart von Natriumhydrid und Natriummethanolat, durch Zutropfen von *N,N*-Dimethylglycinmethylester umgesetzt. Die Reaktion lieferte die Rohprodukte als *E/Z*-Gemische, die sich leicht mittels Kugelrohrdestillation reinigen ließen. Da das Verhältnis der *E/Z*-Isomere für den weiteren

**Schema 9:** Herstellung der  $\alpha$ -Oxocarbonsäuremethylester zur Synthese enantiomerenreiner  $\alpha$ -Hydroxycarbon-säuren:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) NaH, Methanol, Diethylether, 0 °C bis Rt, 18 h; (b) 1 M HCl<sub>aq</sub>, Rt.

Verlauf der Synthese unerheblich ist, wurde keine weitere Strukturaufklärung betrieben. Mit Ausnahme der Verbindungen **102k**, **102l** und **102m**<sup>132</sup> ließen sich alle Derivate in guten bis exzellenten Ausbeuten (65-96%) herstellen (Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Ausbeuten der Enamine **102a-m**:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute
1	<b>102a</b>	91%
2	<b>102b</b>	87%
3	<b>102c</b>	96%
4	<b>102d</b>	85%
5	<b>102e</b>	74%
6	<b>102f</b>	93%
7	<b>102g</b>	65%
8	<b>102h</b>	84%
9	<b>102i</b>	92%
10	<b>102j</b>	84%
11	<b>102k</b>	27%
12	<b>102l</b>	14%
13	<b>102m</b>	32% <sup>132</sup>

Die schlechten Ausbeuten der Derivate **102k** und **102m** sind auf die Aufreinigung zurückzuführen. Während die Flüchtigkeit bzw. Zersetzbarkeit des Enamins **102m** zu einer geringen Ausbeute führt, ist der Siedepunkt des Derivats **102k** an der Grenze der zersetzungsfreien Destillierbarkeit. Bei Enamin **102l** traten mehrere Probleme auf. Zum einen ließ sich der Aldehyd **88l** nur sehr schlecht zu Verbindung **102l** umsetzen, und zum anderen lag der

Siedepunkt von Enamin **102l** über dem von Verbindung **102k**. Daher war die Verbindung nicht destillierbar.

Eine säulenchromatographische Reinigung kam für die Verbindungen nicht in Frage, da sie sich trotz Desaktivierung des Kieselgels, durch Zugabe von Triethylamin, während der Chromatographie zersetzten.

Der schlechte Umsatz von Verbindung **881** zu Verbindung **1021** wurde durch eine Variation der Methode auf 65% gesteigert. Hierbei wurde der *N,N*-Dimethylglycinmethylester (**101**) bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit LDA in Diethylether/DMPU vorgelegt und mit Benzaldehyd **881** versetzt. Allerdings ist damit das Problem der Reinigung nach wie vor nicht gelöst.

Anschließend wurden die Enamine **102a-m** mittels 1 M Salzsäure zu den  $\alpha$ -Oxocarbonsäureestern **103a-m** hydrolysiert. Im Fall der basischen Derivate **102a**, **102b** und **102g** entstand eine klare Lösung. Das Produkt wurde durch Einstellen eines basischen pH-Werts mit  $\text{NaHCO}_3$  gefällt und mittels Filtration isoliert. Die weiteren Derivate wurden nach Dispergieren in verdünnter Salzsäure mit Diethylether extrahiert. Mit Ausnahme von  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **103e**, der im Kugelrohr destilliert wurde, konnten alle Derivate umkristallisiert werden. Die Ausbeuten der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **103a-j**, beziehungsweise ihrer tautomeren Form **104a-j**, lagen zwischen 54 und 90% (Tabelle 3). Probleme traten erneut bei den Derivaten **102k**, **102m**<sup>132</sup> und **102l** auf. In allen drei Fällen wurden anstelle der Enolester **104k-l** nur Nebenprodukte aus möglichen Aldolreaktionen beobachtet. Dies ist einerseits auf die Reinigungsprobleme, die bereits auf der Stufe der Enamine auftraten, zurückzuführen. Eine weitere

**Tabelle 3:** Ausbeuten der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **104a-m**:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute
1	<b>104a</b>	79%
2	<b>104b</b>	88% <sup>132</sup>
3	<b>104c</b>	73%
4	<b>104d</b>	69%
5	<b>104e</b>	72%
6	<b>104f</b>	58% <sup>132</sup>
7	<b>104g</b>	78%
8	<b>104h</b>	90%
9	<b>104i</b>	73%
10	<b>104j</b>	54%
11	<b>104k</b>	-
12	<b>104l</b>	-
13	<b>104m</b>	- <sup>132</sup>

mögliche Erklärung der schlechteren Ausbeuten, beispielsweise von Derivat **104j** (54%), liegt in der schlechten Wasserlöslichkeit abhängig vom Rest R. Im Fall der lipophileren Derivate ist eine längere Reaktionszeit in der verdünnten Salzsäure zur Umsetzung notwendig. Dadurch kann es allerdings zu Zersetzungsprodukten durch Aldolreaktionen kommen. Dies konnte anhand der HPLC-ESI-MS-Spektren für die Verbindungen **104f**,<sup>132</sup> **104h** und **104m**

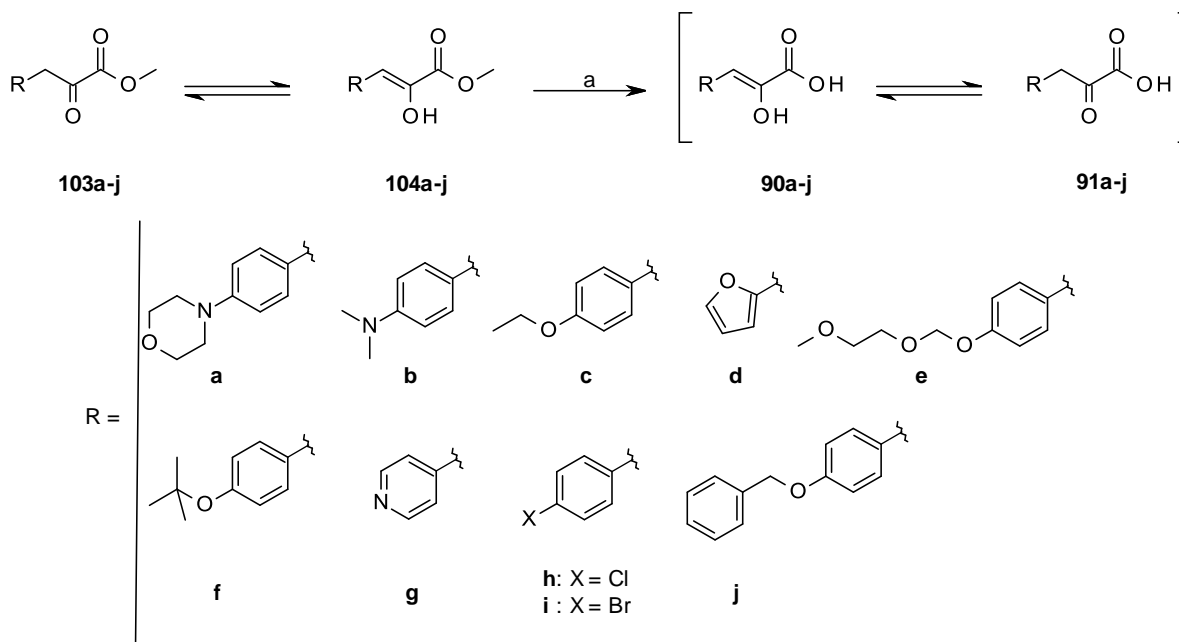
nachgewiesen werden. Mit Ausnahme der Enolester **104c** und **104i** liegen alle  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **103a-j** in der Enolform **104a-j** vor. Die Tautomere der Derivate **104c** und **104i** liegen in etwa gleichgroßen Anteilen vor. Dies konnte mit Hilfe von NMR-Spektroskopie belegt werden.

### 2.1.4 Spaltung der $\alpha$ -Oxocarbonsäuremethylester

Zur Spaltung der  $\alpha$ -Oxocarbonsäuremethylester **103a-j** wurden diese bei 0 °C in einer Lösung aus Wasser und THF als Lösungsvermittler, mit 1.1 Äquivalenten LiOH versetzt und über 4 h bei dieser Temperatur gerührt. Diese milde Methode wurde gewählt, um unerwünschte Aldolnebenreaktionen sowie eine Decarboxylierung der gebildeten  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren zu verhindern. Mit Ausnahme der Derivate **91b** und **91d**, bei denen genau diese Reaktionen überwiegen, wurden die Esterspaltungen in guten Ausbeuten (Tabelle 4) durchgeführt (Schema 10). Aufgrund der Sensibilität der Verbindungen **91a-j** wurde auf eine Reinigung verzichtet. Die Rohprodukte wurden unmittelbar der folgenden enzymatischen Reduktion unterzogen.

Alternativ wurde versucht, die  $\alpha$ -Oxocarbonsäuremethylester **103a-b**, **103d** und **103f** mittels einer enzymatischen Esterspaltung mit *Candida rugosa* lipase in die freien Säuren zu überführen.<sup>180</sup> Der Vorteil besteht darin, dass ohne Aufarbeitung direkt enzymatisch reduziert werden kann. Der pH-Wert wird mit Hilfe eines Autotitrators konstant gehalten und die Enzyme können nach vollständiger Umsetzung zum Reduktionsprodukt mit Hilfe eines Membranreaktors abgetrennt werden. Die Umsetzung der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **103a-b**, **103d** und

**Schema 10:** Esterspaltung der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **103** bzw. **104** zu den  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren **90** bzw. **91**:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) LiOH, H<sub>2</sub>O/THF, 0 °C, 4 h, bzw. *Candida rugosa* lipase, Tris-Puffer<sub>(aq)</sub> pH-Wert = 7.0-7.5, NaOH<sub>(aq)</sub>, Rt, 1 d.

**103f** war jedoch aufgrund geringer Wasserlöslichkeiten, unabhängig von der Reaktionszeit, unvollständig. Lediglich die Zahl der Nebenprodukte stieg mit der Länge der Reaktionszeit an. Daraufhin wurden die Experimente mit DMSO oder *t*-Butylmethylether als Lösungsver-



**Tabelle 4:** Ausbeuten der mittels LiOH durchgeführten Esterspaltungen:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute
1	<b>91a</b>	75%
2	<b>91b</b>	<1%
3	<b>91c</b>	86%
4	<b>91d</b>	<1% <sup>132</sup>
5	<b>91e</b>	44%
6	<b>91f</b>	73% <sup>132</sup>
7	<b>91g</b>	91% <sup>132</sup>
8	<b>91h</b>	62% <sup>132</sup>
9	<b>91i</b>	53%
10	<b>91j</b>	72%

des Lösungsvermittlers sinnvoll.

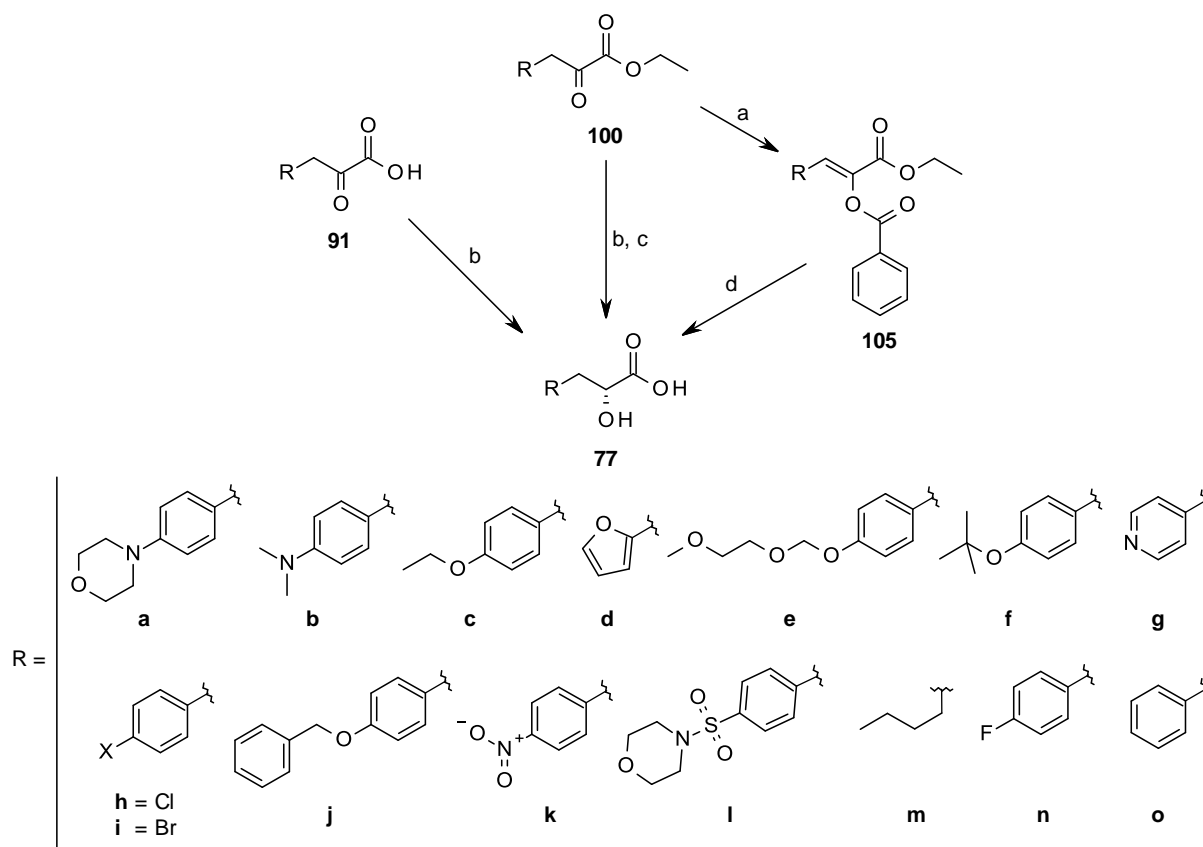
Da die Spaltungsmethode mit LiOH sich als deutlich effizientere Methode herausstellte, wurde diese zur Herstellung der Zielmoleküle **91a-j** eingesetzt.

mittler wiederholt, doch auch diese Methode ergab keine besseren Ausbeuten. Die Herstellung der Derivate **91b** und **91d** erwies sich als ebenso problematisch, wie unter dem Einsatz der LiOH-Methode. So konnte im Fall der Derivate **91b** und **91d** kein Umsatz nachgewiesen werden. Mit Ausnahme von Verbindung **91f** (Umsatz = 75%) wurde kein höherer Umsatz als 30% erreicht. Zur Optimierung der Methode erscheint sowohl ein Screening hinsichtlich der eingesetzten Lipase, als auch

## 2.2 Enantioselektive Reduktionen

Zur enantioselektiven Reduktion wurden zunächst Experimente mit chiralen Borreagenzien wie (-)-DIP-Cl<sup>122,133</sup> und Oxazaborolidinen<sup>131,137</sup> sowie mit Bäckerhefe<sup>131,134,135</sup> und einem chiralen Rh-Katalysator<sup>136</sup> durchgeführt (Schema 11).

**Schema 11:** Übersicht der verschiedenen Reduktionsmethoden zur Herstellung *para*-substituierter Phenylmilchsäuren über die entsprechende  $\alpha$ -Oxocarbonsäure:



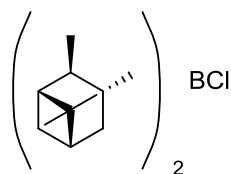
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) Benzoesäure, DIC, DMAP, DCM, Rt, 6 h; (b) (1.) (-)-DIP-Cl, TEA, THF, -20 °C, dann Rt, 8 h, (2.) Hefe, NaOAc/Essigsäure-Puffer (pH = 5), Rt, 72 h, (3.) Verschiedene chirale Oxazaborolidine (Abb. 23)<sup>137</sup>, BH<sub>3</sub>-Me<sub>2</sub>S / DCM oder BH<sub>3</sub>-THF / THF, Rt, 18-50 h, (4.) D-LDH, NADH, FDH, NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub>, EDTA, Wasser, pH = 7, Rt, 15 h; (c) 1 M LiOH (THF/Wasser, 3:5), 0 °C bis Rt, 24 h; (d) (1.) 2 mol% Rh-DuPhos, H<sub>2</sub> (8 bar), DCM, Rt, 24 h, (2.) 1 M LiOH (THF/Wasser, 3:5), 0 °C bis Rt, 18 h.

### 2.2.1 Enantioselektive Reduktion mit (-)-DIP-Cl

Die Reduktion des  $\alpha$ -Oxocarbonsäureesters **100b** mit (-)-DIP-Cl (Abbildung 21) lieferte kein Produkt.<sup>131</sup> Dies ist vermutlich auf die Neigung zur Keto-Enoltautomerie zurückzuführen. Die Derivate **100a-n** liegen nachweislich (durch <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR ermittelt), hauptsächlich in der Enolform vor.<sup>131</sup> Dies ist der einzige, den Mechanismus beeinflussende Unterschied zwischen den Derivaten **100a-n** und dem nachweislich reduzierbaren Methylbenzoylformiat.<sup>122,138</sup> Des

Weiteren ist die enantioselective Reduktion des freien *para*-Hydroxyphenylpyruvats mit (-)-DIP-Cl literaturbekannt.<sup>133</sup> Diese Tatsache schließt zum einen eine störende Interaktion

Abb. 21: Struktur von (-)-DIP-Cl:

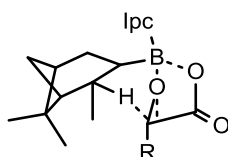


106

des *para*-Phenylsubstituenten aus, zum anderen ergibt sich daraus, dass im Fall von enolisierbaren  $\alpha$ -Oxocarbonsäurederivaten die freie Säure vorliegen muss, damit eine Reduktion erfolgen kann. Das ist wiederum darauf zurückzuführen, dass die Carbonsäurefunktion über eine Koordination am Boratom (Abb. 22) in den Mechanismus eingreift.<sup>139</sup> Weiterhin ließen sich die zuvor durch Enamin- und Esterhydrolyse

hergestellten  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren **91a** und **91n** mittels (-)-DIP-Cl reduzieren.

Abb. 22: Übergangszustand der Reduktion einer  $\alpha$ -Oxocarbonsäure mit (-)-DIP-Cl:



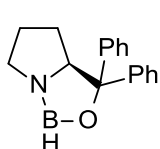
107

Die Ausbeuten der Reduktionen (**91a**: 26%, **91n**: 63%) sind mäßig, stellen jedoch weitere Beispiele für den Einsatz von (-)-DIP-Cl als Reduktionsmittel für  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren dar. Aufgrund der niedrigen Ausbeuten und der schwierigen Aufarbeitung der borhaltigen Komponente wurde diese Methode allerdings nicht weiter verfolgt.

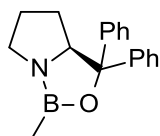
### 2.2.2 Enantioselective Reduktion mittels chiraler Oxazaborolidine

Eine weitere Versuchsreihe zur Reduktion der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **100a-n** bestand im Einsatz verschiedener chiraler Oxazaborolidine als Katalysator (Abbildung 23).<sup>131,137,140</sup>

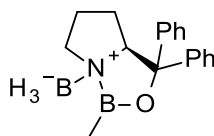
Abb. 23: Strukturen der verwendeten Oxazaborolidin-Katalysatoren:



108



109



110

Trotz des Einsatzes verschiedener Katalysatorsysteme und Lösungsmittel (Schema 11) war es allerdings nicht möglich, die Ausbeuten über 57% und die Enantiomerenüberschüsse über 20% zu steigern.<sup>131</sup> Demzufolge wurde diese Methode ebenfalls nicht weiter verfolgt.

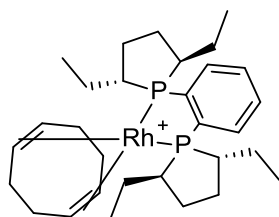
### 2.2.3 Enantioselektive Reduktion durch Hefe

Weiterhin ist bekannt, dass sowohl  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester als auch  $\beta$ -Oxocarbonsäureester, unter Zuhilfenahme der in Hefe enthaltenen Enzyme, biokatalytisch, enantioselektiv reduziert werden können.<sup>134,135,141,142,143</sup> In eigenen Versuchen gelang es jedoch nicht, die Ausbeuten über 7% zu steigern, da die Aufarbeitung und Reinigung mit zahlreichen Problemen verbunden war.<sup>131</sup>

### 2.2.4 Enantioselektive Reduktion durch übergangsmetallkatalysierte Hydrierung

In einem weiteren Ansatz wurde bei  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester **100b**, der Enolsauerstoff als Benzoat geschützt. Die folgende enantioselektive Hydrierung<sup>136</sup> mit Hilfe des Rh-EtDuPhos-Katalysators (1,2-Bis[(2*R*,5*R*)-2,5-diethylphospholano]benzol(1,5-cyclooctadien)-rhodium(I)

**Abb. 24:** Struktur des Rh-DuPhos-Katalysators **111**:



**111**

tetrafluoroborat) **111** (2 mol%), (Abbildung 24), bei 8 bar, lieferte das Produkt lediglich in einer Ausbeute von maximal 22%, jedoch mit einem Enantiomerenüberschuss von 98%. Aufgrund dieser hohen Enantiomerenreinheit und des geringen, im Labor leicht handhabbaren Druckes, wurde diese Methode weiter fortgeführt.

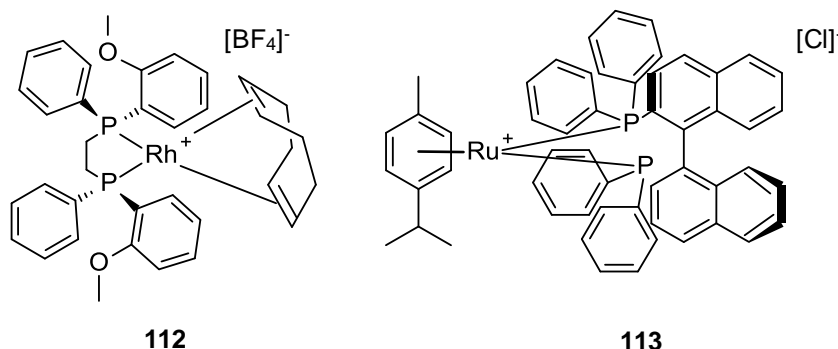
Zur übergangsmetallkatalysierten, enantioselektiven Reduktion der  $\alpha$ -Oxocarbonsäureester ist die Enolform von essentieller Bedeutung, da die Hydrierung an der C-C-Doppelbindung stattfindet. Stabilisiert wurde dieses System durch die Acylierung der OH-Gruppe. Zunächst wurde nach X. Han *et al.*<sup>136,144</sup> und M. J. Burk *et al.*<sup>118,145,146,147,148</sup> der Rhodium-Komplex von EtDuPhos **111** für die asymmetrische Hydrierung gewählt. Hiernach war eine Acylierung mit Benzoesäure vorgesehen.<sup>136</sup> Des Weiteren wurden zur enantioselektiven Hydrierung Experimente mit Rh-DIPAMP ( $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{S,S-DIPAMP})]^+[\text{BF}_4]^-$ ) (**112**)<sup>116,149</sup> und Ru-BINAP ( $[\text{RuCl}(p\text{-cumene})(\text{S-BINAP})]^+ \text{Cl}^-$ ) (**113**)<sup>116,150</sup> durchgeführt (Abbildung 25). Bei diesen Experimenten wurde gemäß Literatur<sup>116</sup> mit den Pivaloaten gearbeitet.

Während die Bedingungen analog zur Steglich-Veresterung mit DIC und DMAP<sup>151,152</sup> bei den Acylierungsreaktionen mit Benzoesäure gute Ausbeuten lieferten, wurden die Pivalinsäurenolester, aufgrund besserer Ausbeuten mit Hilfe von Pivaloylchlorid<sup>153</sup> und Triethylamin als Hilfsbase hergestellt.

Allgemein lieferten die Acylierungsreaktionen Rohprodukte, die sich leicht mittels Säulenchromatographie reinigen ließen. Die Acrylsäureesterderivate **105a-b** und **115a-j** wurden in sehr guten Ausbeuten erhalten (Schema 12, Tabelle 5).

Auffällig war, dass bei allen hergestellten Verbindungen die Doppelbindung *Z*-konfiguriert vorlag. Der Grund dafür liegt darin, dass die Enolester **104a-j** vermutlich bereits in der *Z*-Form vorlagen. Diese Anordnung muss thermodynamisch günstiger sein, da der Rest R in

**Abb. 25:** Strukturen der Rh-DIPAMP- (**112**) und Ru-BINAP-Katalysatoren (**113**):



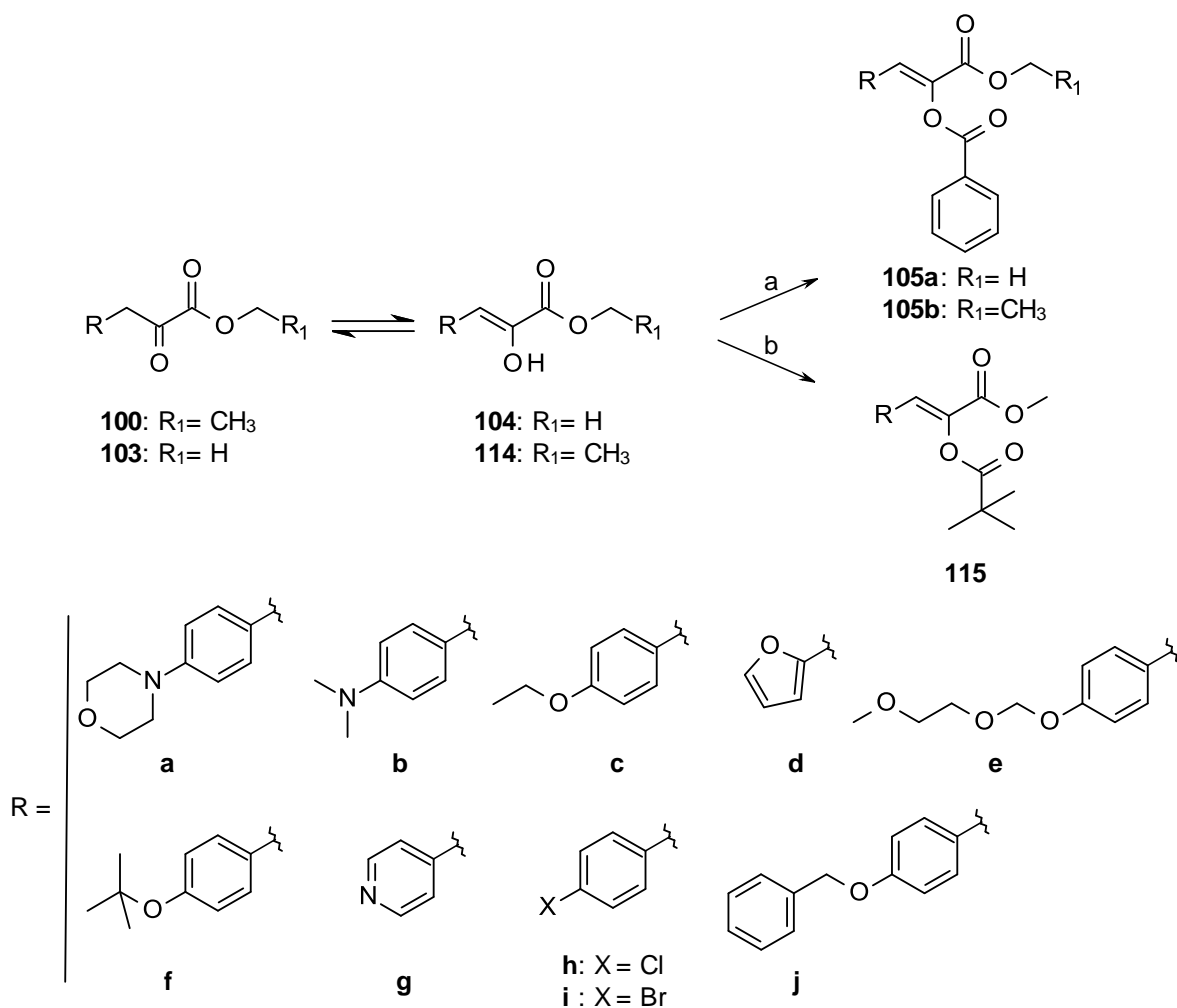
der *E*-Form der Estergruppe deutlich näher liegt, als in der *Z*-Form und somit mit der Estergruppe wechselwirken kann. Diese Wechselwirkungen sind in der *Z*-Form nicht möglich.

**Tabelle 5:** Ausbeuten der Acrylsäureesterderivate **105** und **115**:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute
1	<b>105a</b>	88%
2	<b>105b</b>	83%
3	<b>115a</b>	77%
4	<b>115b</b>	87%
5	<b>115c</b>	97%
6	<b>115d</b>	98% <sup>132</sup>
7	<b>115e</b>	84%
8	<b>115f</b>	74% <sup>132</sup>
9	<b>115g</b>	78% <sup>132</sup>
10	<b>115h</b>	100% <sup>132</sup>
11	<b>115i</b>	94%
12	<b>115j</b>	97%

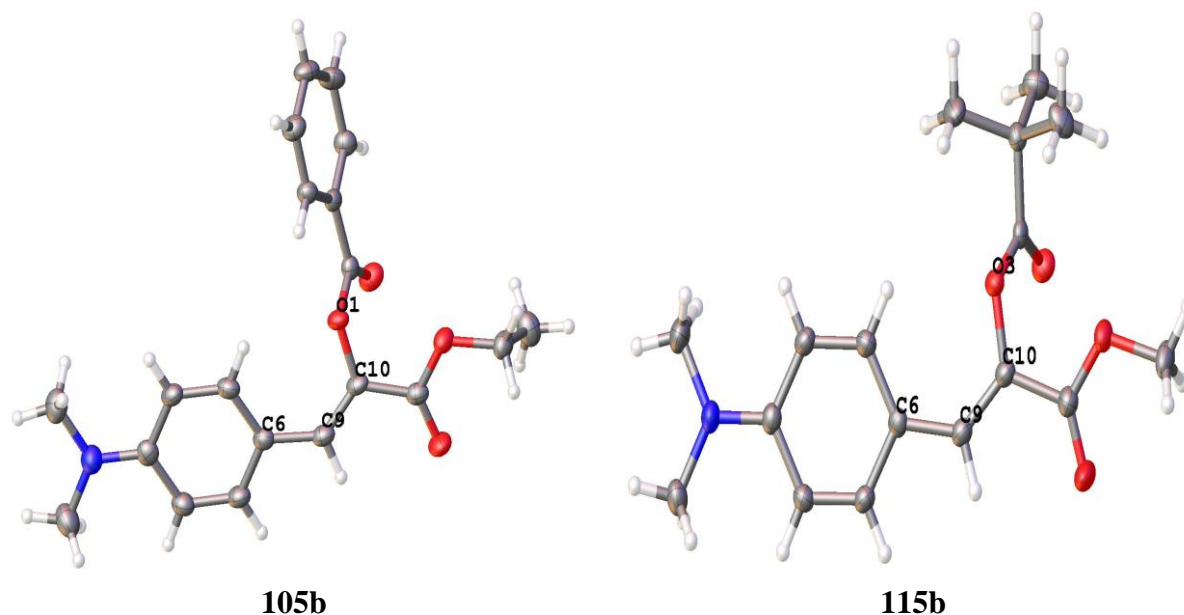
Das alleinige Vorliegen der *Z*-Isomere **105a-b** bzw. **115a-j** konnte mittels Röntgenkristallographie (Abbildungen 26 und 27) und NOESY-NMR-Spektren verifiziert werden. Im Fall von Derivat **105b** wurde ein NOE zwischen dem olefinischen Proton und den Alkylprotonen der Estergruppe beobachtet. Ein NOE zwischen den Protonen des im Benzoat enthaltenen Phenylrings (**105a-b**), bzw. der Methylgruppen des Pivaloats (**115a-j**) und den

Protonen des Aromaten spricht ebenfalls für diesen Strukturvorschlag.

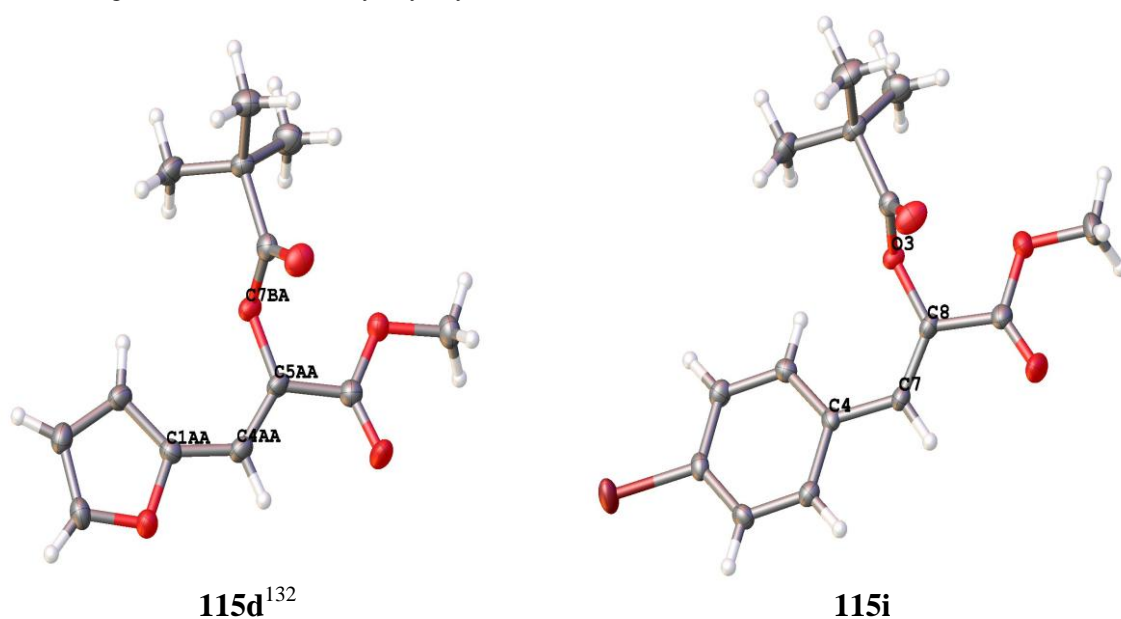
**Schema 12:** Synthese der Acrylsäureesterderivate **105a-b** und **115a-j**:

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) Benzoesäure, DIC, DMAP, DCM, Rt, 6 h; (b) Pivaloylchlorid, TEA, 0 °C bis Rt in 16 h.

In Abbildung 26 sind im direkten Vergleich die  $\alpha$ -Acyloxyacrylsäureesterderivate **105b** und **115b** dargestellt. Die Z-Konfiguration der C-C-Doppelbindung ist durch die Anordnung der Substituenten an den C-Atomen C9, beziehungsweise C10, zu erkennen.

**Abb. 26:** Röntgenstrukturen der  $\alpha$ -Acyloxyacrylsäureesterderivate **105b** und **115b**:

Die *Z*-Konfiguration ist allerdings nicht von essentieller Bedeutung für die anschließende enantioselective Hydrierung. Dies war zunächst von U. Schmidt *et al.*<sup>116</sup> postuliert worden, da nur das zu **115** analoge *Z*-Derivat mit R= Ph und R<sub>1</sub>= CH<sub>3</sub> enantioselectiv hydriert werden konnte. Umfangreiche Studien von M. J. Burk *et al.*<sup>118</sup> konnten diese Abhängigkeit jedoch widerlegen. Die Rh-katalysierte enantioselective Hydrierung von *E/Z*-Gemischen lieferte ebenso exzellente Enantiomerenüberschüsse in der gewünschten Konfiguration, wie die Hydrierung eines reinen *Z*- bzw. *E*-Isomers.

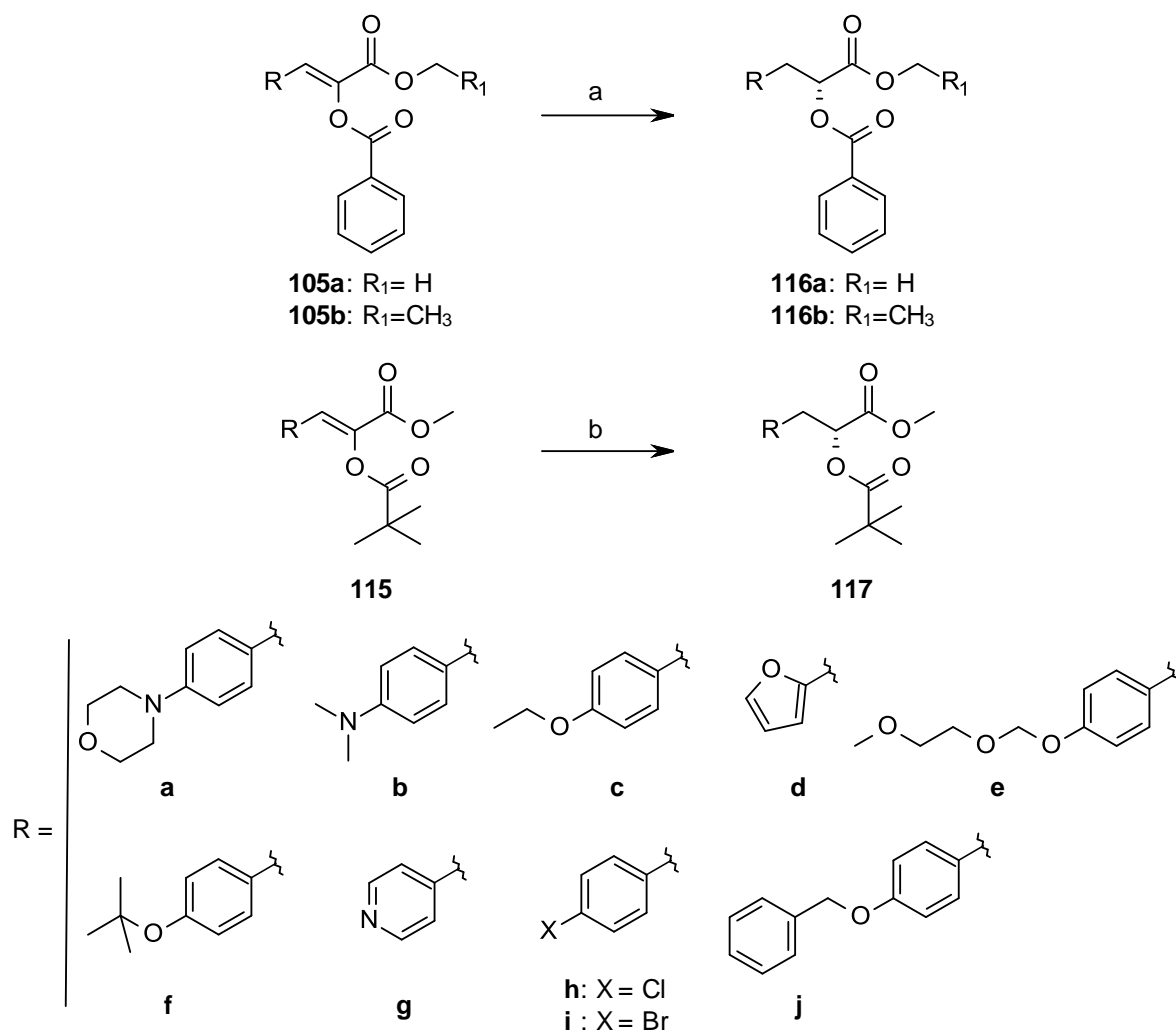
**Abb. 27:** Röntgenstrukturen der  $\alpha$ -Acyloxyacrylsäureesterderivate **115d** und **115i**:

Zur asymmetrischen Hydrierung von  $\alpha$ -Amido- oder  $\alpha$ -Acyloxyacrylsäuren und ihren Estern stehen, seit der Entwicklung der asymmetrischen katalytischen Hydrierung von W. S. Knowles *et al.* und L. Horner *et al.* 1968,<sup>154,155</sup> sowie der Entwicklung von Ru-BINAP durch R. Noyori,<sup>156,157,158</sup> eine Vielzahl moderner Katalysatoren zur Verfügung. Beispielsweise wurden kürzlich Arbeiten über den Rh-ZhangPhos<sup>159</sup> und den Rh-SMS-Phos<sup>160</sup> veröffentlicht. Diese Katalysatoren lieferten die Produkte, nach Hydrierung bei 1 bar Wasserstoffdruck, in exzellenten Ausbeuten und Enantiomerenreinheiten. Da die neuartigen Katalysatoren für eine Synthese im Multigrammaßstab geeignet sein sollten, wurden zunächst die kommerziell verfügbaren Katalysatoren **111**, **112** und **113** verwendet. **111** und **112** können wie Rh-ZhangPhos und Rh-SMS-Phos ebenfalls bei Drücken unter 10 bar verwendet werden. Dies stellt eine wichtige Grundvoraussetzung für Arbeiten unter Standardlaborbedingungen dar. Der Ru-BINAP-Katalysator (**113**) benötigt allerdings 50 bar Wasserstoffdruck. Doch da der Katalysator **113** deutlich preisgünstiger und der hohe Betriebsdruck für eine industrielle Anwendung zwar problematisch, aber möglich ist, wurde **113** ebenfalls in die Untersuchungen einbezogen.

Wegen der Empfindlichkeit der Katalysatoren wurden alle Einwaagen und Zugaben in der Glove-Box unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Bei den ersten Experimenten wurden die  $\alpha$ -Acyloxyacrylsäurederivate **105a** bzw. **105b** mit dem Rh-EtDuPhos-Katalysator (**111**) bei 8 bar Wasserstoff hydriert. Der Einsatz des Katalysators **111** war trotz mehrerer Optimierungsversuche bezüglich der Variation des Lösungsmittels (DCM bzw. MeOH/DCM, 1:1) und der Katalysatormenge zwischen 1 und 10 mol% nicht erfolgreich. Im Fall von Benzoat **105b** konnte trotz der exzellenten Enantiomerenreinheit (98%) keine höhere Ausbeute als 22% erzielt werden. Im Fall von Benzoat **105a** lag die Ausbeute sogar nur bei 1%. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden keine weiteren Experimente mit dem Katalysator **111** durchgeführt.



**Schema 13:** Enantioselektive Hydrierung der Acrylsäureesterderivate **105a-b** und **115a-j** mit den Katalysatoren **111**, **112** und **113**:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) **116a**, **116b**: 8.0 bar  $H_2$ , 2 mol% **111**, DCM, Rt, 24 h, **116b**: 50 bar  $H_2$ , 1 mol% **113**, MeOH, 50°C, 4d; (b) **117b**: 50 bar  $H_2$ , 1 mol% **113**, MeOH, 50°C, 4d, **117a-j**: 5.0 bar  $H_2$ , 1 mol% **112**, MeOH, Rt, 4 d.

Im nächsten Anlauf wurde Verbindung **105b** mit Ru-BINAP (**113**) bei 50 °C und 50 bar Wasserstoffdruck in Methanol hydriert. Doch sowohl die Ausbeute, als auch der Enantiomerenüberschuss waren nicht zufriedenstellend. In einem weiteren Versuch wurde die Enol-OH-Gruppe, den Literaturbedingungen<sup>116</sup> entsprechend, durch einen Pivalinsäureester geschützt. Allerdings lieferte diese Hydrierung (**115b**) auch keine bessere Ausbeute bzw. Enantiomerenreinheit.

Erheblich bessere Ergebnisse lieferte die Hydrierung der Pivaloate **115a-j** mit Rh-DIPAMP (**112**).

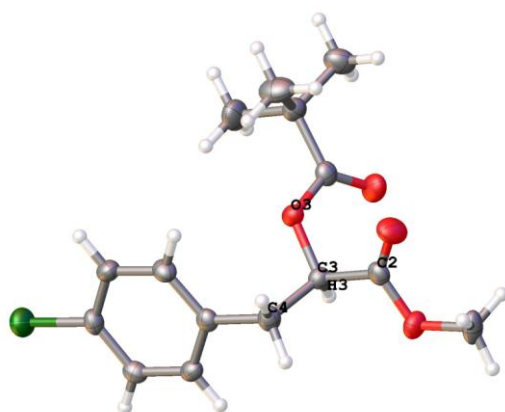
**Tabelle 6:** Ausbeuten der Hydrierungsprodukte **116** und **117**:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute Rh-DuPhos	ee <sup>*</sup>	Ausbeute Ru-BINAP	ee <sup>*</sup>	Ausbeute Rh-DIPAMP	ee <sup>*</sup>
1	<b>116a</b>	1%	n. d.				
2	<b>116b</b>	22%	98%	33%	34%		
3	<b>117a</b>					90% <sup>132</sup>	99%
4	<b>117b</b>			38%	34%	79%	95%
5	<b>117c</b>					96%	96%
6	<b>117d</b>					81% <sup>132</sup>	96%
7	<b>117e</b>					92%	96%
8	<b>117f</b>					91% <sup>132</sup>	98%
9	<b>117g</b>					Kein Umsatz <sup>132</sup>	-
10	<b>117h</b>					91% <sup>132</sup>	>99%
11	<b>117i</b>					60%	96%
12	<b>117j</b>					73%	69%

\*= Die ee-Werte wurden unter Zuhilfenahme von HPLC mit chiralem Säulenmaterial im direkten Vergleich zu racemischem Referenzmaterial ermittelt.

Die Derivate **115a-j** wurden jeweils mit 1 mol% Rh-DIPAMP (**112**) über vier Tage bei 5 bar Wasserstoffdruck in Methanol hydriert (Schema 13, Tabelle 6). Mit Ausnahme der Verbindungen **115g** und **115j** wurden alle Derivate in guten bis exzellenten Ausbeuten und Enantiomerenüberschüssen zu den geschützten  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **117a-j** umgesetzt.

Der im Pivaloat **115g** enthaltene Pyridinrest wirkt vermutlich als Katalysatorgift und verhindert so die Bildung von Hydrierungsprodukt **117g**. Die von Pyridin ausgehende, inhibierende

**Abb. 28:** Röntgenstruktur des Hydrierungsprodukts **117h**<sup>132</sup>:

Wirkung wurde durch zahlreiche experimentelle Arbeiten nachgewiesen.<sup>161,162,163,164,165</sup>

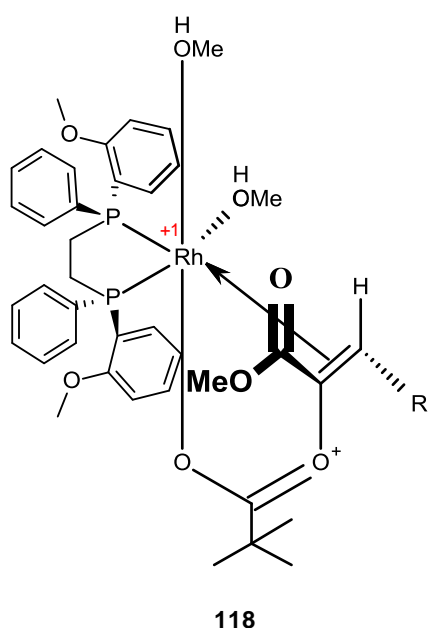
Beispielsweise zeigten Studien von Hirota *et al.*, dass für die hydrogenolytische Spaltung einer phenolischen Benzylethergruppe in Anwesenheit von Pyridin eine wesentlich längere Reaktionszeit notwendig war, als in Gegenwart von Ammoniak. Darüber hinaus wurde ein Mo-

lekül, das sowohl eine phenolische Benzyl-, als auch eine *p*-Methoxybenzylgruppe trägt, hydriert. In Anwesenheit von Pyridin wurde nur die Benzylgruppe gespalten, während unter pyridinfreien Bedingungen beide Gruppen gespalten wurden.<sup>164</sup>

Zur Überprüfung der Konfiguration der gebildeten enantiomerenreinen Produkte, wurde exemplarisch eine Röntgenstruktur des Hydrierungsproduktes **117h** aufgenommen (Abbildung 28). Die gewünschte *R*-Konfiguration liegt am C-Atom C3 vor.

Der Reaktionsmechanismus der Rh-katalysierten asymmetrischen Reduktion (Abbildungen 29 und 30) ist wohlbekannt.<sup>166,167,168,169,170</sup> Im ersten Schritt des Reaktionsmechanismus findet ein Ligandenaustausch statt. Der Cyclooctadienligand des Rh-Komplexes **112** wird, unter

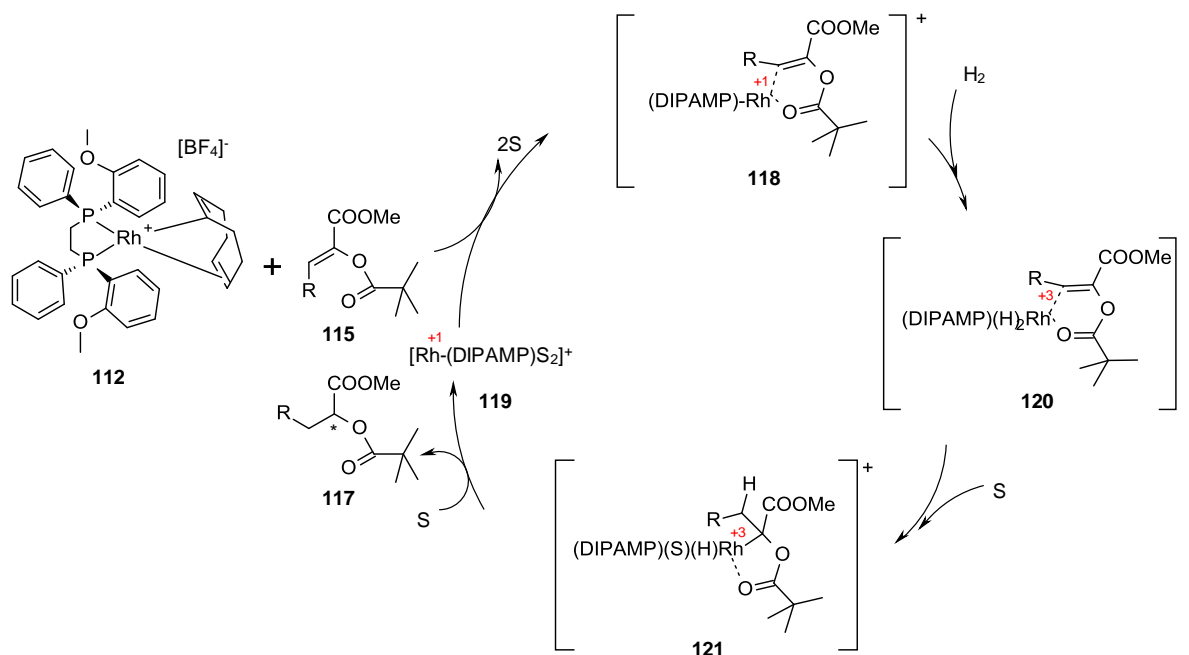
**Abb. 29:** Minderisomer des Übergangszustandes **118**:



Bildung des Chelatkomplexes **118**, durch das Alken **115** ausgetauscht. Anschließend folgt eine oxidative Addition von H<sub>2</sub> zum Rh(III)-Dihydrid-Komplex **120**. Dann überträgt das Dihydrid **120** die H-Atome auf die koordinierte olefinische Doppelbindung. Auf die Insertionsreaktion des Olefins mit dem Dihydrid **120** folgt die reduktive Eliminierung des fünfgliedrigen Organorhodiumhydrids **121** zum Komplex **119**, bzw. zum gesättigten Produkt **117**. Die *cis*-Addition eines H<sub>2</sub>-Moleküls geschieht dabei durch die *cis*-Olefininsertion in **120** und dem Hydridtransfer in **121** unter Retention der Konfiguration.<sup>171</sup> Da DIPAMP

ein chiraler C<sub>2</sub>-symmetrischer Ligand ist, kann der Enolesterkomplex **118** als Diastereomerenmisch vorliegen, abhängig davon, von welcher Seite der prochirale Enolester **115** komplexiert wird. Die Enantioselektivität der Reaktion wird durch die Multiplikation der Gleichgewichtskonzentrationen der Stereoisomere und ihrer relativen Reaktivitäten bestimmt. Bemerkenswert ist, dass das weniger stabile Minderisomer von **118** eine höhere Reaktivität mit H<sub>2</sub> aufweist, als das Hauptisomer. So kann das Minderisomer von **118** trotz der geringen Stabilität das Hauptenantiomer liefern.<sup>146,149,170</sup>

Weiterhin schlägt eine detaillierte theoretische Studie vor, dass die oxidative Addition von H<sub>2</sub> an **118** endergonisch und reversibel ist. Des Weiteren stellt die Olefin/Rh-H-Insertion, **120** → **121**, den Turnover-limitierenden Schritt dar.<sup>172</sup>

**Abb. 30:** Mechanismus der Rh-katalysierten enantioselectiven Hydrierungen:

S = Lösungsmittel bzw. einzähliger Ligand

### 2.2.4.1 Abschließende Spaltung der Esterschutzgruppen

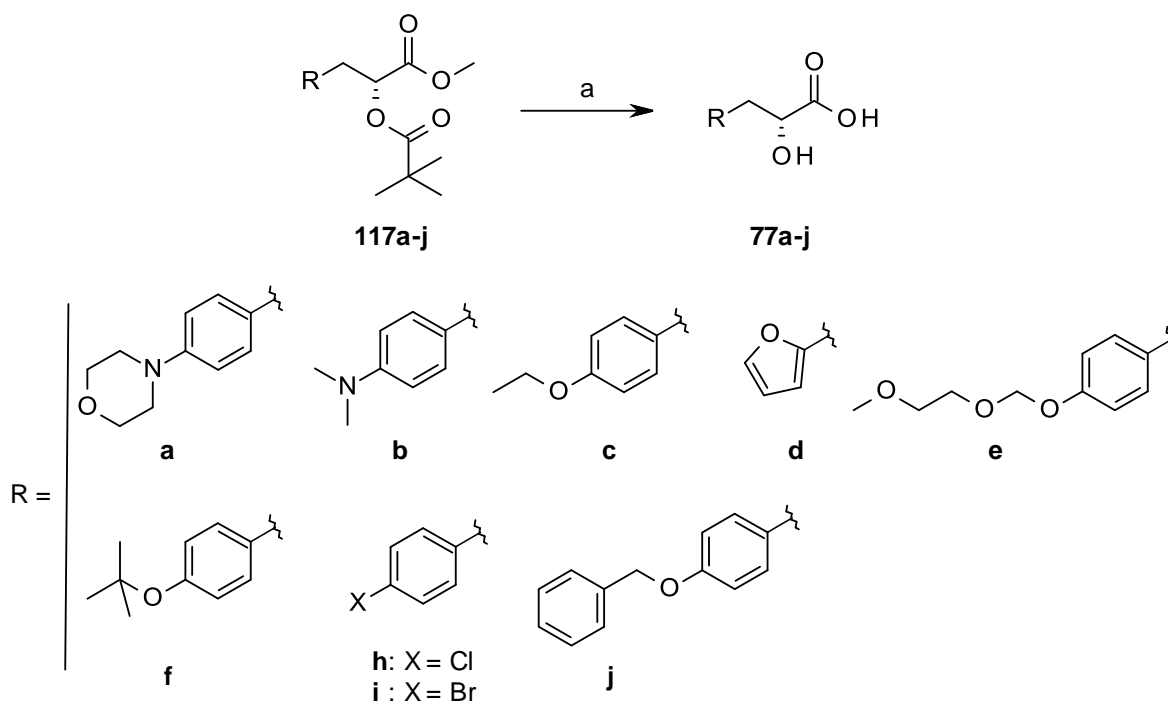
Aufgrund des sterischen Anspruchs des Pivaloats verliefen die abschließenden Ester-spaltungen über mehrere Tage in wässriger Lösung. Zur Spaltung der Ester wurden drei Äquivalente LiOH eingesetzt (Schema 14). Die Verwendung von LiOH<sub>(aq)</sub> ist als milde racemisierungsfreie Methode bekannt.<sup>129</sup> Die Reinigung der als Lithiumsalz erhaltenen

**Tabelle 7:** Ausbeuten der (*R*)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure-Derivate **77a-j**:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute
1	<b>77a</b>	84%
2	<b>77b</b>	100%
3	<b>77c</b>	86%
4	<b>77d</b>	29% <sup>132</sup>
5	<b>77e</b>	71%
6	<b>77f</b>	56% <sup>132</sup>
7	<b>77h</b>	51% <sup>132</sup>
8	<b>77i</b>	87%
9	<b>77j</b>	98%

$\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **77a-j**, erfolgte mittels Säulenchromatographie. Durch die Verwendung stark polarer Laufmittel mitgeschlepptes Kieselgel wurde durch Aufnehmen der Produkte in unpolaren Lösungsmitteln und Abfiltrieren entfernt.

**Schema 14:** Spaltung der Esterfunktionen der chiralen Hydrierungsprodukte **117a-j** zu den gewünschten (*R*)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **77a-j**:

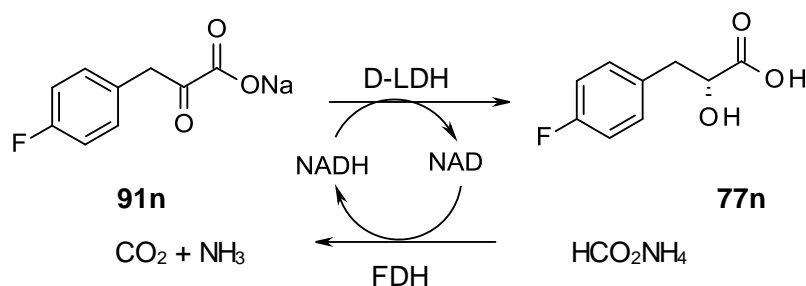


Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) LiOH, H<sub>2</sub>O/THF, Rt, 4 d.

### 2.2.5 Enzymatische Methoden zur enantioselektiven Reduktion von $\alpha$ -Oxocarbonsäuren

Seit der Entwicklung von kofaktorregenerierenden, enzymatischen Redoxsystemen in kontinuierlichen Membranreaktoren, wurden zahlreiche Synthesen von Aminosäuren und  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren entwickelt.<sup>123,124,173,174,175,176</sup> Besonders interessant ist dabei die technische Synthese von (*para*-Fluorophenyl)milchsäure (**77n**, Abbildung 31) nach J. Tao und K. McGee.<sup>123,124</sup>

**Abb. 31:** Enantioselektive enzymatische Reduktion durch Lactatdehydrogenase mit Kofaktorregenerierung:<sup>123,124</sup>



Bei dem Verfahren handelt es sich um ein komplexes Redoxsystem, das aus zwei Enzymen mit Kofaktorregenerierung besteht. In einem Membranreaktor wird das Salz der

$\alpha$ -Ketocarbonsäure **91n** in Anwesenheit von Lactatdehydrogenase (*D*-LDH) mit NADH stereoselektiv zur entsprechenden *D*- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77n** reduziert. Der Kofaktor NADH überträgt ein Hydridion auf die Carbonylgruppe und wird dabei zu NAD oxidiert.<sup>177</sup> Durch die Anwesenheit von Formiatdehydrogenase (FDH) wird NAD mit Ammoniumformiat wieder zu NADH reduziert. Daher ist es möglich, den teuren Kofaktor in katalytischen Mengen einzusetzen.<sup>123,124</sup>

Die Synthese kann einfach, wie auch die übergangsmetallkatalysierte Syntheseroute, von der  $\alpha$ -Ketocarbonsäureester-Synthesestufe ausgehend durchgeführt werden. Das bedeutet, die Syntheserouten gehen von denselben Ausgangsverbindungen aus und unterscheiden sich erst ab der dritten Synthesestufe. Da beide Reduktionsverfahren auf der enantioselektiven Reduktion von  $\alpha$ -Oxocarbonsäurederivaten beruhen, sind diese hinsichtlich ihrer Effizienz unmittelbar vergleichbar. Die enzymatische Syntheseroute ist allerdings noch durch weitere Vorteile besonders attraktiv. Sie kommt im Gegensatz zur übergangsmetallkatalysierten Syntheseroute, ohne Schutzgruppen aus und ist mit vier Synthesestufen kürzer. Weiterhin wird, mit Ausnahme des Zielmoleküls, keine säulenchromatographische Reinigung benötigt und die Verwendung von Druckapparaturen ist ebenso wenig erforderlich, wie der Einsatz einer Glovebox. Ein besonders wichtiger Vorteil besteht darin, dass die Enzyme durch den Einsatz eines kontinuierlichen Membranreaktors prinzipiell mehrere Tage lang wiederverwendet werden können, da die Enzyme durch die Membran zurückgehalten werden und so neuem Substrat zur Reaktion zur Verfügung stehen.<sup>123,124</sup>

Zur Überprüfung der Anwendbarkeit des Verfahrens wurde eine Probe von 1 mL wässriger Lösung mit ca. 10 mg Substanz, mit Puffer, NADH und *D*-LDH versetzt. Durchgeführt wurden die Experimente mit den Pyruvaten **91a**, **91h** und **91o**. Die photometrische Untersuchung der Proben erfolgte bei einem pH-Wert von 7.0. Zur Beobachtung des Abbaus von NADH zu NAD wurde bei einer Wellenlänge von 340 nm eingestrahlt.<sup>178</sup> Des Weiteren wurde zum Vergleich, in einer Doppelbestimmung, ein Blindwert ohne Substrat gemessen (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Beobachtungen zur Oxidation von NADH zu NAD durch Absorptionsabnahme bei 340 nm:

Versuch	Derivat	Extinktion bei 340 nm
1	Blind	Konstanter Wert
2	Blind	Konstanter Wert
3	<b>91h</b>	Kontinuierliche Abnahme
4	<b>91o</b>	Kontinuierliche Abnahme

**Diagramm 1:** Verlauf der Messung zur Oxidation von NADH zu NAD durch Absorptionsabnahme bei 340 nm (Pyruvat **91o**):

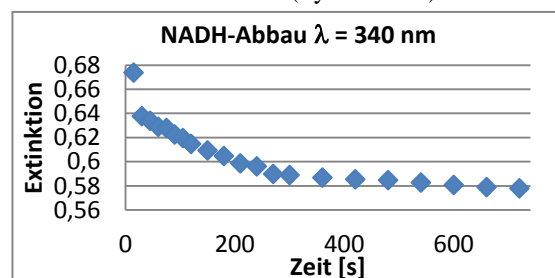


Tabelle 8 fasst zusammen, für welche Derivate im Vergleich zum Blindwert eine Absorptionsabnahme, das heißt ein Abbau von NADH, zu beobachten war, während in Diagramm 1 der Verlauf der Messung von Derivat **91o** dargestellt ist. Bei der  $\alpha$ -Oxocarbonsäure **91a** konnte aufgrund der stark gefärbten Lösungen keine photometrische Untersuchung durchgeführt werden.

Der Umsatz wurde bei den Pyruvaten **91a** und **91o** zusätzlich mittels HPLC-ESI-MS beobachtet. Dabei war neben dem eingesetzten Edukt **91a** bzw. **91o** auch das Produkt **77a** bzw. **77o** zu finden. Der Enantiomerenüberschuss konnte in diesem Stadium der Experimente noch nicht untersucht werden. Allerdings sagt der aus der Literatur entnehmbare, aktuelle Stand der Forschung aus, dass mittels LDH und NADH durchgeführte Reduktionen immer exzellente Enantiomerenreinheiten aufweisen.<sup>123,124,178,179,180,181,182</sup>

### 2.2.5.1 Enantioselektive enzymatische Reduktion im Membranreaktor

Zur Entwicklung eines geeigneten Membranreaktorverfahrens für die enantioselektive, enzymatische Reduktion der  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren **91a-j** wurden zwei verschiedene Versuchsaufbauten gewählt. Ein Aufbau bestand aus einem kontinuierlichen Membranreaktor, der Zweite aus einem diskontinuierlichen, bei dem die Zugabe von neuem Substrat, gemäß eines Batch-Verfahrens, nach vollständigem Umsatz der zuvor eingefüllten Batch-Menge und anschließender Filtration durch die Membran, erfolgte. Eine Gemeinsamkeit der beiden Reaktorsysteme besteht darin, dass die Enzyme durch die Membran zurückgehalten und so in einem Recyclingverfahren wiederverwendet werden können.

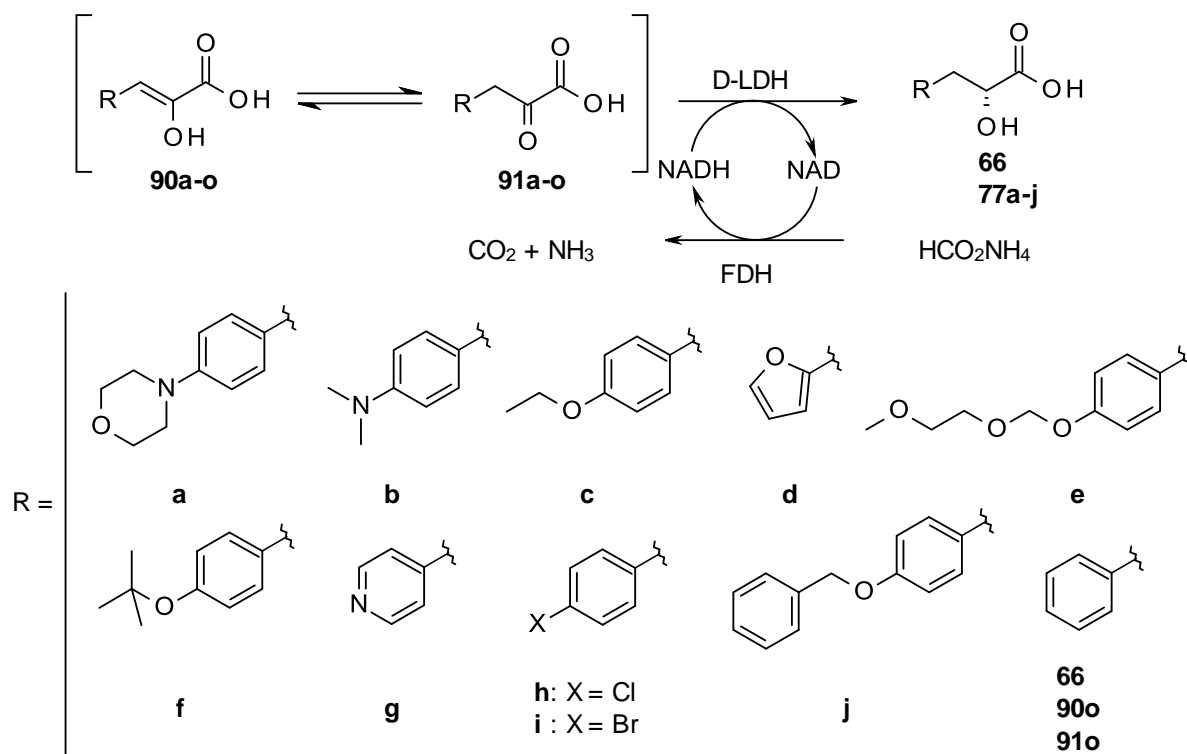
Der kontinuierliche Membranreaktor ist sehr variabel. Je nach Flussgeschwindigkeit besteht die Möglichkeit die Verweildauer der Reaktanden im Reaktor einzustellen. Zusätzlich kann das System im Kreis oder als kontinuierliche Filtration betrieben werden. In eigenen Versu-

chen wurde die Anlage als kontinuierlich filtrierendes System eingesetzt und somit das Filtrat nicht wieder zurückgeführt. Diese Vorgehensweise war möglich, da mit 60  $\mu\text{L}/\text{min}$  der Fluss so langsam gewählt wurde, dass den Reaktanden eine Verweilzeit von etwa 90 min zur Verfügung stand.

Bei der Berechnung der Ansatzgröße muss das Reaktorvolumen einbezogen werden, denn nur in diesem Volumen können Substrat und Enzyme in Kontakt treten. Die Zugabe der Enzyme erfolgte über eine Probenschleife mittels HPLC-Pumpe. Zur Vermeidung einer Filterkuchenbildung auf der Membranoberfläche wurde der Ansatz gerührt, wobei auf langsame Rührgeschwindigkeit zu achten ist, da die Enzyme anderenfalls durch die Scherkräfte Schaden nehmen können. Der Reaktionsverlauf des kofaktorregulierten biotechnologischen Systems ist in Schema 15 dargestellt. Das lässt den Schluss zu, dass der pH-Wert durch die  $\text{NH}_3$ -Bildung, kontinuierlich mit dem Umsatz ansteigt. Dies wird jedoch durch den Puffer EDTA und die stetige Zufuhr von frischem Substrat weitgehend verhindert. Tatsächlich zeigten die experimentellen Beobachtungen, einen konstant bleibenden pH-Wert. Daher konnte eine permanente Kontrolle des pH-Wertes außer Acht gelassen werden.

Für das Filtrationssystem wurden Membranen aus regenerierter Cellulose mit einem Cutoff von 10 kDa eingesetzt, die zuvor durch Einlegen in unsterilem reinst Wasser von den enthaltenen Stabilisatoren befreit worden waren.

**Schema 15:** Enantioselektive enzymatische Reduktion durch Lactatdehydrogenase mit Kofaktorregenerierung:



Weitere Reagenzien und Reaktionsbedingungen: pH-Wert = 7.0, EDTA, Mercaptoethanol, Rt.

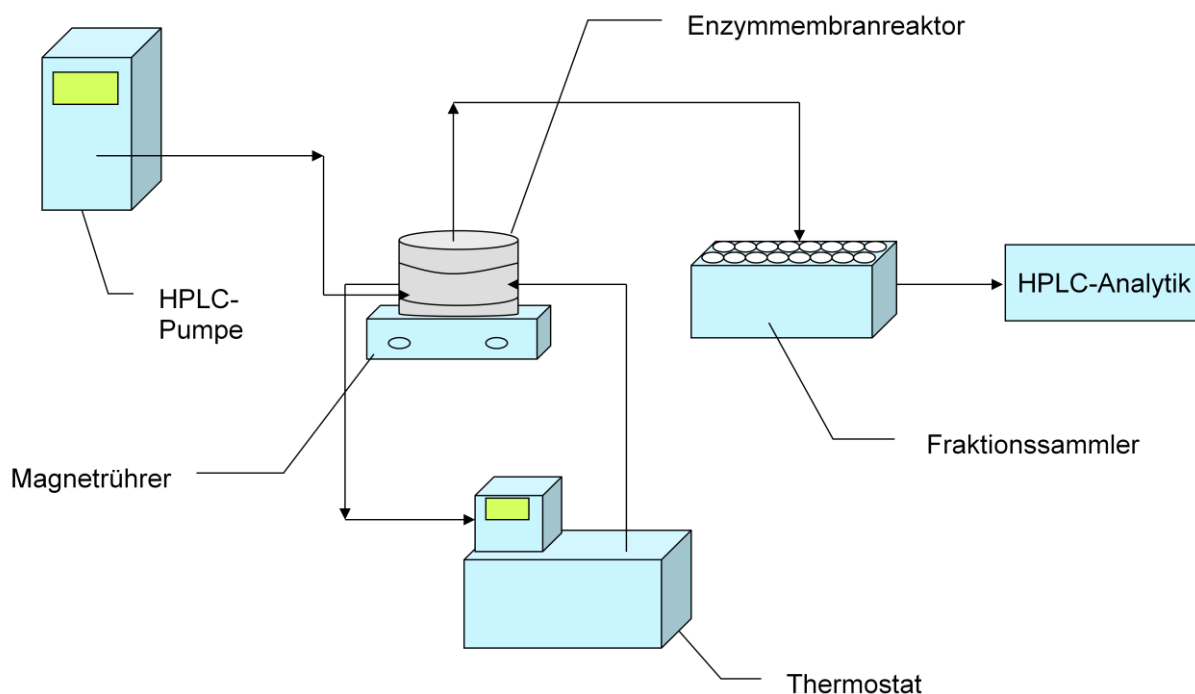


Zur Durchführung der enantioselektiven Reduktion wurde der Reaktor ohne Membran zunächst mit 70 %iger ethanolischer Lösung sterilisiert. Anschließend wurde der Reaktor mit reinem Wasser gespült. Dann erfolgte nach Einsetzen der Membran eine Spülung mit Substratlösung und letztlich der Start der Reaktion durch Zugabe der Enzyme.

In der Literatur wurde der Reaktor über neun Tage betrieben, wobei die Enzyme ihre Aktivität mit einer Rate von 1% pro Tag verloren.<sup>123,124</sup> Dieser Befund konnte experimentell im kontinuierlichen Membranreaktor nicht bestätigt werden, da nach 15 h keine Enzymaktivität mehr vorhanden war.

Im Fall von Natriumphenylpyruvat (**91o**) stieg der Umsatz innerhalb von 5 h auf 62%. Da der Reaktor als kontinuierliche Filtration betrieben und das Filtrat in einem Gefäß gesammelt wurde, ließ sich lediglich der Gesamtumsatz bestimmen. Eine Messung nach 15 h Reaktionszeit ergab einen Gesamtumsatz von 30%, demzufolge liegt die Enzymstabilität zwischen fünf und fünfzehn Stunden. Das heißt, dass in diesem Zeitraum die Umsetzung von Pyruvat **91o** zum Erliegen kam und somit durch die kontinuierliche Filtration nur Edukt nachgeliefert wurde. Der Versuchsaufbau zur enantioselektiven enzymatischen Reduktion im kontinuierlichen Membranreaktor ist in Abbildung 32 schematisch dargestellt.

**Abb. 32:** Schematischer Aufbau des kontinuierlichen Membranreaktors:



Reaktionsbedingungen: Reaktorvolumen: 5 mL, Reaktionstemperatur: Rt, Substratzufluss: 0.06 mL/min, Verweilzeit: ca. 90 min, Membran: YM 10 (regenerierte Cellulose), Cutoff: 10 kDa, Substratlösung: 10 mM Natriumphenylpyruvat, 40 mM Ammoniumformiat, 0.025 mM EDTA, 0.05 mM Mercaptoethanol, 0.1 mM NAD, 1 U/mL FDH (Aktivität: *Candida boidinii* ca. 0.92 U/mg), 20 U/mL D-LDH (Aktivität: *Leuconostoc mesenteroides* ca. 1834 U/mL).

Die Reaktionskontrolle wurde mittels HPLC durchgeführt (Tabelle 9).

**Tabelle 9:** Gradient und Eigenschaften des HPLC-Gerätes:

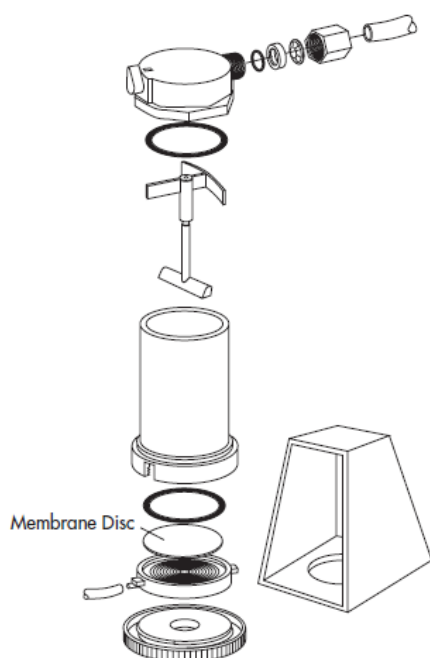
Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
0	10	90
20	100	0
23	100	0

Supelco Discovery C18 (250 mm x 5  $\mu$ m x 3 mm), T = 35 °C,  $\lambda$  = 210 nm, Fluss = 0,4 ml/min, Eluent A: MeOH + 0.1 % Ameisensäure, Eluent B: reinst Wasser + 0.1 % Ameisensäure.

Im zweiten Ansatz wurde prinzipiell derselbe Versuchsaufbau gewählt, mit dem Unterschied, dass die Beladung des Reaktors nicht über eine Pumpe, sondern direkt manuell erfolgte. Somit kann der Reaktor nur diskontinuierlich betrieben werden.

Zur Durchführung wurde das Substratvolumen (50 mL) eingefüllt, mit Enzymen versetzt und mit einem Überdruck von 0.1 bis 0.2 bar Hilfsgas (Argon, Stickstoff oder Luft) unter Rühren, langsam durch die Membran (Polyethersulfon, Cutoff = 10 kDa) filtriert. Dieser Durchlauf kann generell bis zum vollständigen Umsatz beliebig oft durchgeführt werden. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 33 dargestellt.

**Abb. 33:** Schematischer Aufbau des diskontinuierlichen Membranreaktors<sup>183</sup>:



Nach jedem Durchlauf wurde zur Umsatzkontrolle eine HPLC-Probe entnommen. Bereits nach dem ersten Durchlauf (40 min) war ein Umsatz von ca. 9% zu beobachten. Dieser konnte durch eine weitere Filtration gesteigert werden. Nach weiteren 90 min waren 67% des Pyruvats **91o** zu Phenylmilchsäure (**66**) umgesetzt (Tabelle 10).

Es wurden mehrfach kleinere Substratmengen zugegeben, die ebenfalls problemlos umgesetzt wurden. Eine Verlängerung der Reaktionszeit auf insgesamt 15 h ergab einen Gesamtumsatz von 100%. Eine Desaktivierung der Enzyme war nicht zu beobachten (Tabelle 10).

**Tabelle 10:** Abhängigkeit des Umsatzes von der Zeit und Einfluss von zugefügtem Substratvolumen:

Zeit	0 min	40 min	80 min	120 min	172 min	15 h
Konz. ( <b>91o</b> )	10.0 mM	9.1 mM	6.5 mM	4.6 mM	3.3 mM	0 mM
Konz. ( <b>66</b> )	0 mM	0.9 mM	3.5 mM	5.4 mM	6.7 mM	10 mM
Umsatz [%]	0	9	35	54	67	100
Zugefügtes Substratvolumen	0 mL	0 mL	0 mL	2 mL	2 mL	10 mL

Im Folgenden wurde die  $\alpha$ -Oxocarbonsäure **91a** im diskontinuierlichen Membranreaktor umgesetzt. Zur Verifizierung der Wiederverwertbarkeit der Enzyme, wurden zwei Ansätze (je 10 mmol Pyruvat **91a**) hintereinander mit jeweils frischem Substrat, ohne weitere Enzymzugabe, durchgeführt. Da die Umsetzung von Natriumphenylpyruvat (**91o**) nach 15 h vollständig war, stand auch diesen Ansätzen jeweils eine Reaktionszeit von 15 h zur Verfügung. Der Umsatz des ersten Ansatzes lag bei 99-100% und der des Zweiten bei 91-95%. Es ist somit davon auszugehen, dass die Inaktivierung des Enzymsystems kleiner als 5-10% pro Lauf ist.

Im direkten Vergleich ist der kontinuierliche Membranreaktor weniger geeignet. Der geringere Umsatz kann zwar durch Variation der Verweilzeit im Reaktor gesteigert werden, doch die Desaktivierung der Enzyme nach ca. 5-15 h (Rückgang des Gesamtumsatzes von 62% auf 30%) ist nicht zu vermeiden. Aus diesem Grund wurden die Derivate **91a-j** im diskontinuierlichen Membranreaktor umgesetzt.

**Tabelle 11:** Ausbeuten der enzymatischen, enantio-selektiven Reduktionen im diskontinuierlichen Membranreaktor:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute
1	<b>66</b>	100%
2	<b>77a</b>	66%
3	<b>77c</b>	37%
4	<b>77e</b>	75%
5	<b>77f</b>	72% <sup>132</sup>
6	<b>77g</b>	95% <sup>132</sup>
7	<b>77h</b>	44% <sup>132</sup>
8	<b>77i</b>	68%
9	<b>77j</b>	60%

Mit Ausnahme der  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **77b** und **77d**, deren freie  $\alpha$ -Ketocarbonsäure unzugänglich war, sowie der Derivate **77c** und **77h**, deren Ausbeuten lediglich im Bereich von 40% lagen, wurden alle  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren in guten Ausbeuten hergestellt (Tabelle 11).

Die Enantiomerenüberschüsse wurden auf dieser Synthesestufe nicht bestimmt, da die Substanzen für eine chromatographische

Trennung auf chiralem Säulenmaterial zu polar sind. Daher wurden die hergestellten Milchsäurederivate **66** und **77a-j** zu den jeweiligen Methyl- bzw. Benzylestern umgesetzt (Schema 16).

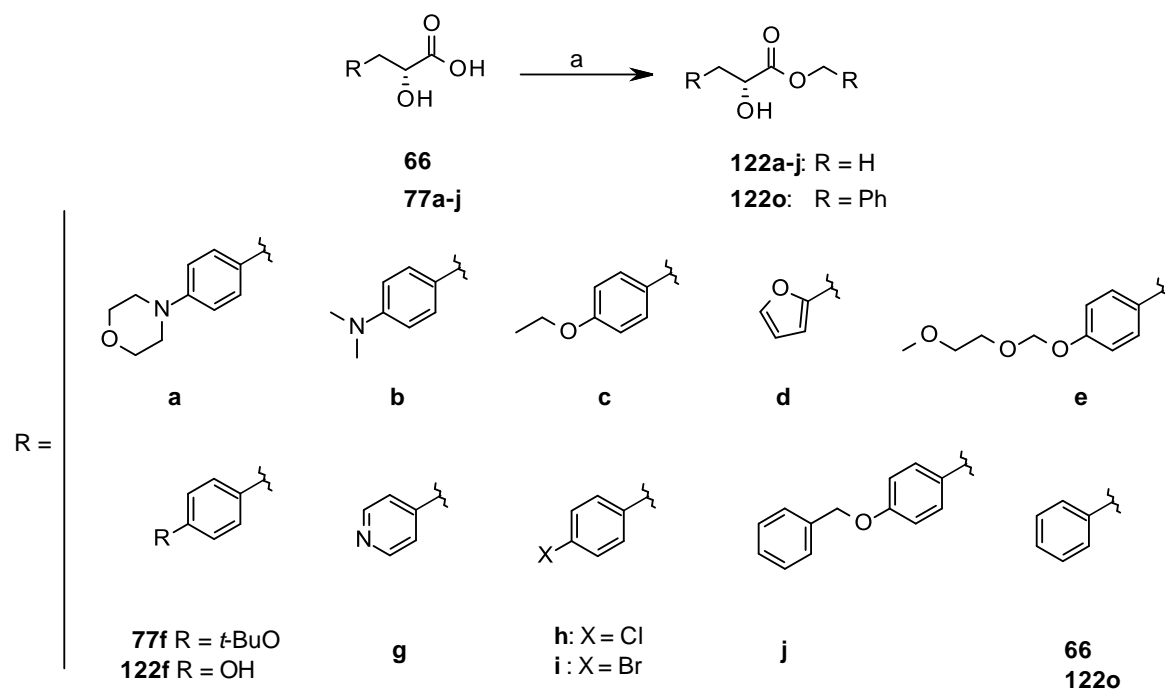
## 2.3 Herstellung der $\alpha$ -Hydroxycarbonsäureester und der racemischen Verbindungen zur Bestimmung der Enantiomerenreinheiten

### 2.3.1 Herstellung der $\alpha$ -Hydroxycarbonsäureester

Die Veresterung erfolgte mit Thionylchlorid in Methanol.<sup>184</sup> Mit Ausnahme von  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77f** ließen sich alle Derivate **77a-j** in ihre Methylester überführen (Tabelle 12, Schema 16). Im Fall von Verbindung **77f** wurde der *t*-Butoxyether ebenfalls gespalten, so dass auch die racemische Verbindung **124f** (Schema 17) diesen Reaktionsbedingungen ausgesetzt werden musste. Der racemische *para*-Hydroxyphenylmilchsäuremethylester wurde mit einer Ausbeute von 56% erhalten.

Im Fall von Verbindung **122o** wurde der Benzylester mit Benzylalkohol in Toluol gebildet. Das entsprechende Racemat entstand durch die Veresterung von *D/L*-Phenylmilchsäure in einer Ausbeute von 66%.

**Schema 16:** Veresterung der enantiomerenreinen  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **66** und **77a-j**:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) **122a-j**: Thionylchlorid, MeOH, 0 °C, 15 h, bzw. **122o**: Benzylalkohol, Toluol, Wasserabscheider, *p*-TsOH, 112 °C, 4 h.

**Tabelle 12:** Ausbeuten und Enantiomerenüberschüsse der Methylester **122a-o**:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute	ee*
1	<b>122a</b>	52% <sup>132</sup>	>99%
2	<b>122c</b>	87%	96%
3	<b>122e</b>	17%	82%
4	<b>122f</b>	50% <sup>132</sup>	>99% <sup>132</sup>
5	<b>122g</b>	47% <sup>132</sup>	>99% <sup>132</sup>
6	<b>122h</b>	67% <sup>132</sup>	>99% <sup>132</sup>
7	<b>122i</b>	46%	98%
8	<b>122j</b>	99%	88%
9	<b>122o</b>	68%	96%

\*= Die ee-Werte wurden unter Zuhilfenahme von HPLC mit chiralem Säulenmaterial im direkten Vergleich zu racemischem Referenzmaterial ermittelt.

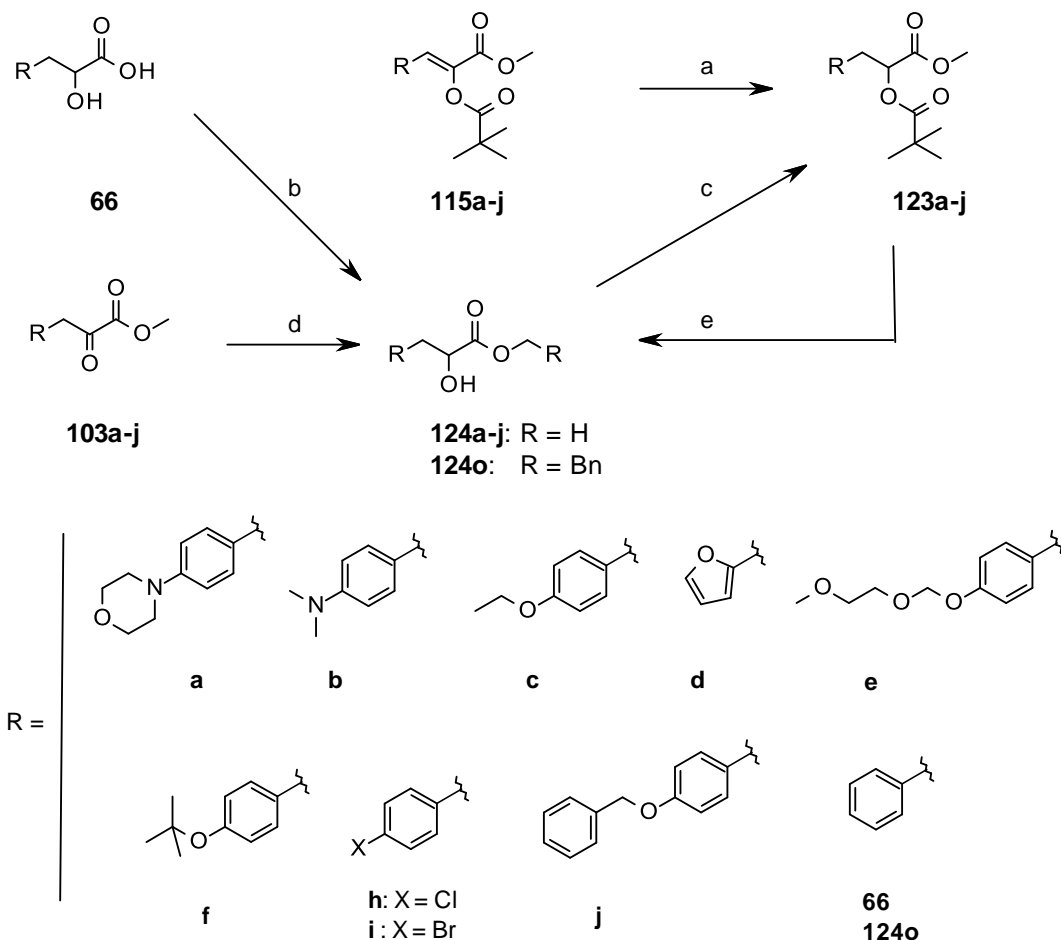
### 2.3.2 Herstellung der racemischen Verbindungen

Da für die Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse racemische Referenzsubstanzen erforderlich waren, wurde für jedes Hydrierungsprodukt **117a-j** eine racemische Synthese durchgeführt. Durch die vielfältigen Eigenschaften der Reste R mussten zwei Synthesewege entwickelt werden (Schema 17). Der naheliegendste Weg ist eine achirale Hydrierung der Alkene **115a-j** mittels Pd/C bzw. Pd(OH)<sub>2</sub>/C.

Bei den Derivaten **115h** und **115i** wurde hierbei allerdings das Halogen Pd-katalysiert durch ein H-Atom ersetzt. Bei Verbindung **115d** fand eine Hydrierung des Furanrestes zum Tetrahydrofuranrest statt, und bei Derivat **115j** wurde die Hydrierung nicht durchgeführt, da der *para*-Substituent hydrogenolytisch spaltbar ist.

Für den alternativen Syntheseweg, bei dem die enantioselektive Reduktion mit Hilfe eines enzymatischen Verfahrens durchgeführt wird (Abschnitt IV.2.2.5, S. 49 ff), werden ebenfalls die racemischen  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuremethylester **124a-j** benötigt. Diese wurden aus den  $\alpha$ -Oxocarbonsäureestern **103a-j** mittels NaBH<sub>4</sub>-Reduktion in THF hergestellt.<sup>185</sup> Für die

**Schema 17:** Synthesen der racemischen Referenzsubstanzen **123a-j** für die enantiomerenreinen Hydrierungsprodukte **117a-j**, sowie der racemischen Verbindungen **124a-o** als Referenz für die chiralen Verbindungen **122a-o**:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) **123a-b**, **123f**: 1 atm H<sub>2</sub>, 8 mol% Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20%), MeOH, Rt, 5 h, **123e**: 10 mol% Pd/C (10%), MeOH, Rt, 5 h; (b) **124o**: Benzylalkohol, Toluol, Wasserabscheider, *p*-TsOH, 112 °C, 4 h (c) **123c-d**, **123h-j**: Pivaloylchlorid, NaH, DCM, 0 °C bis Rt in 18 h; (d) **124a-j**: NaBH<sub>4</sub>, THF, -10 °C, 6h; (e) **124e**: (1.) LiOH, H<sub>2</sub>O/THF, Rt, 4 d, (2.) Thionylchlorid, MeOH, 0 °C, 15 h.

Verwendung als racemische Referenz für die chiralen Hydrogenolyseprodukte **117a-j**, wurden anschließend die Pivalinsäureester **123c-d** und **123h-j** synthetisiert. Dazu wurden die Derivate **124c-d** und **124h-j** in DCM mit NaH deprotoniert und mit Pivaloylchlorid acyliert. Die Ausbeuten der racemischen Derivate sind in Tabelle 13 dargestellt.

Eine Besonderheit war bei der Reduktion von Verbindung **103e** mit NaBH<sub>4</sub> zu beobachten. Das gewünschte Produkt konnte neben einer Vielzahl von nicht identifizierbaren Nebenprodukten nur in Spuren gefunden werden. Daher wurde eine alternative Synthese zur Herstellung von **124e** verfolgt.

**Tabelle 13:** Ausbeuten der racemischen Verbindungen **123** und **124**:

Versuch Nr.	Derivat	Ausbeute	Derivat	Ausbeute
1	<b>123a</b>	31% <sup>a</sup>	<b>124a</b>	58% <sup>b</sup>
2	<b>123b</b>	74% <sup>a</sup>	<b>124b</b>	62% <sup>b</sup>
3	<b>123c</b>	97% <sup>c</sup>	<b>124c</b>	53% <sup>b</sup>
4	<b>123d</b>	60% <sup>c,132</sup>	<b>124d</b>	61% <sup>b,132</sup>
5	<b>123e</b>	56% <sup>a</sup>	<b>124e</b>	<1% <sup>b</sup>
6	<b>123f</b>	78% <sup>a,132</sup>	<b>124f</b>	91% <sup>b,132</sup>
7			<b>124g</b>	40% <sup>b,132</sup>
8	<b>123h</b>	65% <sup>c,132</sup>	<b>124h</b>	62% <sup>b,132</sup>
9	<b>123i</b>	49% <sup>c</sup>	<b>124i</b>	51% <sup>b</sup>
10	<b>123j</b>	19% <sup>c</sup>	<b>124j</b>	83% <sup>b</sup>
11			<b>124o</b>	66% <sup>d</sup>

a = Reaktion über Hydrierung; b = Reduktion mit NaBH<sub>4</sub>

c = Acylierung mit Pivaloylchlorid; Veresterung mit Benzylalkohol

Die Estergruppen der racemischen Verbindung **123e** wurden mit LiOH<sub>(aq)</sub> gespalten (39% Ausbeute) und der Methyl ester unter Verwendung von Thionylchlorid in Methanol neu gebildet (19% Ausbeute).<sup>184</sup>

## 2.4 Methodenvergleich

Im direkten Vergleich der Methoden zur enantioselektiven Synthese substituierter  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren scheinen beide Verfahren in etwa gleich geeignet zu sein. Die über die Übergangsmetallkatalysierte Hydrierung verlaufende Synthese, liefert stabilere und leichter zu reinigende Verbindungen in höheren Gesamtausbeuten (Tabelle 14). Demnach wäre diese Syntheseroute effizienter. Die geringeren Ausbeuten der enzymatischen Methode sind auf die zur Reduktion erforderlichen, labilen  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren zurückzuführen. Dennoch kann sich die enzymatische Syntheseroute als wirtschaftlicher erweisen, da sie weniger Synthesestufen und säulenchromatographische Reinigungen erfordert. Des Weiteren können im Reduktionsschritt sowohl der Kofaktor regeneriert, als auch die Enzyme recycelt werden. Somit empfiehlt sich die Übergangsmetallkatalysierte Syntheseroute für den Labormaßstab, da hier säulenchromatographische Reinigungen keinen Nachteil darstellen. Im Fall einer kontinuierlichen Herstellung der Substanzen ist die enzymatische Methode empfehlenswerter, da sich in diesem Fall besonders die Kofaktorregenerierung und das Enzymrecycling auf die Effizienz der Synthese auswirken.

**Tabelle 14:** Gesamtausbeuten der enantioselektiven Synthesen von substituierten  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **77a-j** im Vergleich:

Versuch Nr.	Derivat	Gesamtausbeute Enzymatische Syntheseroute	ee*	Gesamtausbeute Übergangsmetall-katalysierte Syntheseroute	ee*
1	<b>77a</b>	36%	>99%	42%	99%
2	<b>77b</b>	Nicht durchführbar		53%	95%
3	<b>77c</b>	22%	96%	46%	96%
4	<b>77d</b>	Nicht durchführbar		14%	96%
5	<b>77e</b>	18%	82%	19%	96%
6	<b>77f</b>	28%	>99%	20%	98%
7	<b>77g</b>	44%	>99%	Nicht durchführbar	
8	<b>77h</b>	21%	>99%	35%	>99%
9	<b>77i</b>	24%	98%	33%	96%
10	<b>77j</b>	20%	88%	31%	69%

\*= Die ee-Werte wurden unter Zuhilfenahme von HPLC mit chiralem Säulenmaterial im direkten Vergleich zu racemischem Referenzmaterial ermittelt.

Ausnahmen für die Anwendbarkeit beider Methoden bilden die  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **77b**, **77d** und **77g**. Während sich die Verbindungen **77b** und **77d** ausschließlich durch Übergangsmetall-Katalyse herstellen lassen, ist Verbindung **77g** nur über die enzymatische Syntheseroute zugänglich. Das bedeutet, die übergangsmetallkatalysierte Hydrierung reagiert empfindlich auf Substituenten die als Katalysatorgift wirken, wie das aufgeführte Pyridinderivat **77g** zeigt. Im Gegenzug zeichnet sich durch die problematische Esterspaltung vor der enzymatischen Reduktion eine größere Substratspezifität ab.

Bemerkenswerterweise ist der Benzylether **77j** ein weniger geeignetes Substrat für beide Verfahren, während der langkettige Aryl-Alkylether **77e** besonders für die enzymatische Methode ein weniger geeignetes Substrat darstellt. Offensichtlich bietet die Bindungstasche der *D*-LDH nicht genug Platz für langkettige *para*-Substituenten, so dass eine enantioselektive Reduktion nur in geringerem Maße erfolgen kann.

### 3. Festphasensynthese von PF1022A und Analoga durch Didepsipeptidkupplungen (4x2 – Synthese)

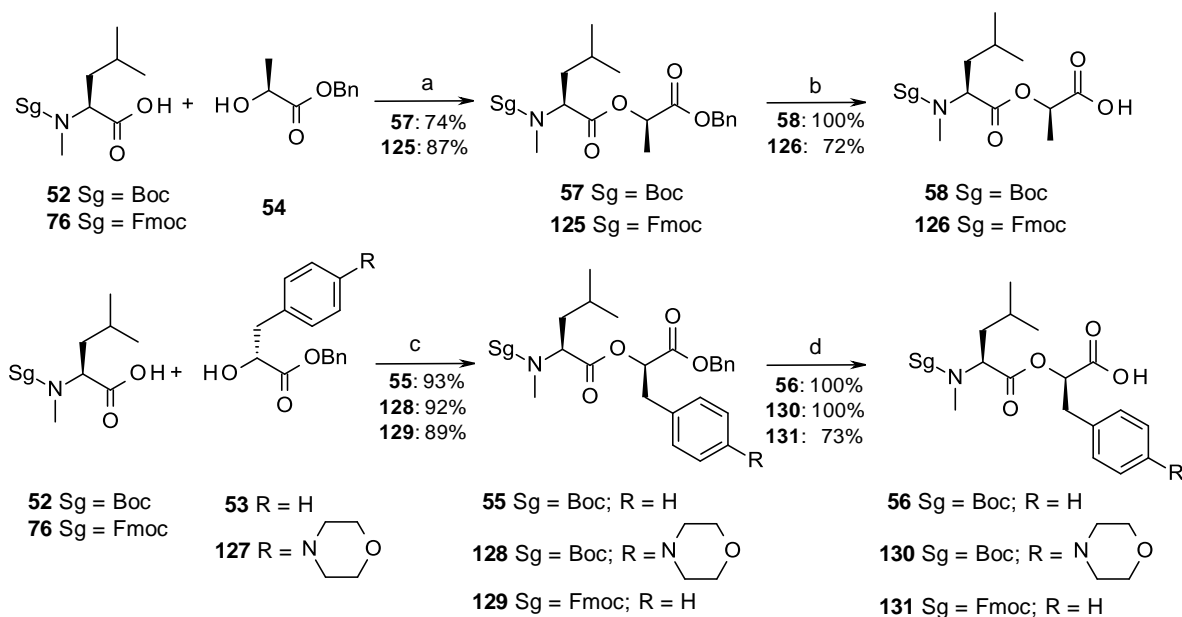
#### 3.1 Synthese der Didepsipeptid-Bausteine

Die als Ausgangsmaterialien für die Festphasensynthese eingesetzten Didepsipeptide **58**, **126**, **56** und **130-131** wurden ausgehend von Boc- oder Fmoc-geschütztem *N*-MeLeu (**52** und **76**)



und den Benzyl-geschützten Laktaten **53**, **54** und **127**, nach Standardliteraturprozeduren (Schema 18), in guten bis exzellenten Ausbeuten, hergestellt.<sup>126,128,186,187</sup> Da das unnatürliche (*R*)-Benzyllaktat aufgrund des hohen Kaufpreises nicht zur Verfügung stand wurden die Kupplungsprodukte **57** und **125** aus dem preisgünstigen natürlichen (*S*)-Benzyllaktat **54** und den *N*-MeLeu **52** und **76** hergestellt. Zum Erhalt der gewünschten *R*-Konfiguration wurden Mitsunobu-Reaktionsbedingungen angewendet.<sup>73,188</sup> Aufgrund der geringeren Kosten wurde im Fall der Phenylmilchsäure (**66**) direkt das *R*-Enantiomer eingesetzt. Die Benzyl-geschützten Phenyllaktate **53** und **127** wurden daher mit **52** bzw. **76**, unter Zuhilfenahme von DCC, zu den Didepsipeptiden **55** und **128-129** umgesetzt. Die Benzylschutzgruppe wurde hydrogenolytisch mit Pd/C, oder im Fall von Verbindung **126** mit Hilfe des Pearlman-Katalysators gespalten.<sup>189</sup> Die korrespondierenden Säuren entstanden in exzellenten Ausbeuten.

**Schema 18:** Bausteinsynthesen für die 4x2-Festphasensynthese von Emodepsid (**1**) und PF1022A (**2**):<sup>190</sup>



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) TPP, DEAD, THF, 0 °C für 2 h, dann 1 h Rt; (b) **58**: H<sub>2</sub>, Pd/C (10%), EtOH, Rt, 4 h; **126**: H<sub>2</sub>, Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20%), EtOH, Rt, 4 h; (c) DCC, HOBt, DMAP, DCM, 0 °C, 30 min, dann Rt für 24 h; (d) H<sub>2</sub>, Pd/C(10%), EtOH, Rt, 4 h.

Epimerisierung wurde in keinem der Syntheseschritte beobachtet, weder bei den Kupplungsschritten, noch bei den Hydrogenolyseschritten.<sup>191</sup>

### 3.2 Festphasensynthese am Kaiser-Oxim

Die Ausbeuten bei der Immobilisierung der Bausteine **56**, **58** und **130** am Kaiser-Oxim waren stark abhängig vom jeweiligen Didepsipectid, den Kupplungsreagenzien und den verwendeten Lösungsmitteln (Tabelle 15).

Die besten Ausbeuten, bestimmt durch Pikrinsäuretitration nach Schutzgruppenspaltung, wurden durch Kupplung von Didepsipectid **56** mit HATU als Kupplungsreagenz erhalten (Tabelle 15, Versuch 6).<sup>192,193</sup> Das in der Kaiser-Oxim-Synthese von Lee verwendete DIC ergab in den Experimenten mit dem Baustein **56** bzw. **58** nur mäßige Ausbeuten (19%).<sup>75,76</sup> Allgemein wurden bei der Immobilisierung des Didepsipectids **58** geringere Ausbeuten (Tabelle 15, Versuch 4), sowie bei der folgenden Kupplung zum Tetradepsipectid, mehr Diketo-

**Tabelle 15:** Ausbeuten der Kupplungsschritte der Didepsipectide **56** und **58** am Kaiser-Oxim unter verschiedenen Bedingungen:

Versuch	Didepsipectid (Menge [Äq.])	Zahl der Kupplungen	Reaktions- bedingungen	Lösungs- mittel	Ausbeute
1	<b>58</b> (2)	1	2 Äq. HATU, 2 Äq. HOBt, 5 Äq. DIEA	DMF	65%
2	<b>58</b> (2)	1	3 Äq. DIC, 3 Äq. DMAP	DMF	19%
3	<b>58</b> (3)	1	3 Äq. HATU, 3 Äq. HOBt, 8 Äq. DIEA	DMF	70%
4	<b>58</b> (2)	1	2 Äq. HATU 3 Äq. DIEA	DCM	62%
5	<b>56</b> (1)	2	1 Äq. TBTU, 6 Äq. NMM	DMF	53%
6	<b>56</b> (2)	1	2 Äq. HATU, 3 Äq. DIEA	DCM	87%
7	<b>56</b> (1)	2	1 Äq. TBTU, 3 Äq. NMM	DMF	58%
8	<b>56</b> (3)	1	3 Äq. HATU, 6 Äq. DIEA	DMF	48%
9	<b>56</b> (3)	1	3 Äq. DIC, 3 Äq. HOBt, 6 Äq. DIEA	DMF	19%

morpholinbildung gefunden, als bei der Verwendung des Bausteins **56**. Die Ausbeuten der Kupplungen des Morpholin-substituierten Didepsipectids **130** mit dem Kaiser-Oxim ähnelten denen von Verbindung **56**.

Während der Kettenverlängerungsreaktion zum Tetradepsipectid *N*-MeLeu-Lac-*N*-MeLeu-PhLac (**135**) bestand die Hauptnebenreaktion in der Spaltung des Didepsipectids *N*-MeLeu-PhLac von der festen Phase zum korrespondierenden Dioxomorpholin. Zusätzlich reagierten

**Tabelle 16:** Kettenverlängerung zum Tetradepsipeptid Boc-*N*-MeLeu-Lac-*N*-MeLeu-PhLac-Harz (**135**):<sup>191</sup>

Versuch	Boc- <i>N</i> -MeLeu-Lac Äquivalente	Kupplungs-Reagenz (Äq.)	Base (Äq.)	Lösungs- mittel	Fragmente <sup>a</sup>
1	2	TBTU (2)	NMM (6)	DMF	50% B, 45% AB
2	5	TBTU (5)	NMM (6.6)	DMSO	100% B
3	5	TBTU (5)	NMM (6.6)	Nitrobenzol	100% B
4	5	TBTU (5)	NMM (6.6)	Aceton	100% B
5	2	BTFFH (5)	DIEA (10)	DMF	80% B, 20% AB
6	3	HATU (2)	DIEA (6.5)	DMF	90% AB, 10% B
7	3	HATU (2)	DIEA (6.5)	DCM	70% AB, 30% B

<sup>a</sup>: HPLC-MS von Testabspaltungen mit Morpholin; B: Morpholid von *N*-Me-Leu-Lac; AB: Morpholid von *N*-MeLeu-Lac-*N*-MeLeu-PhLac.

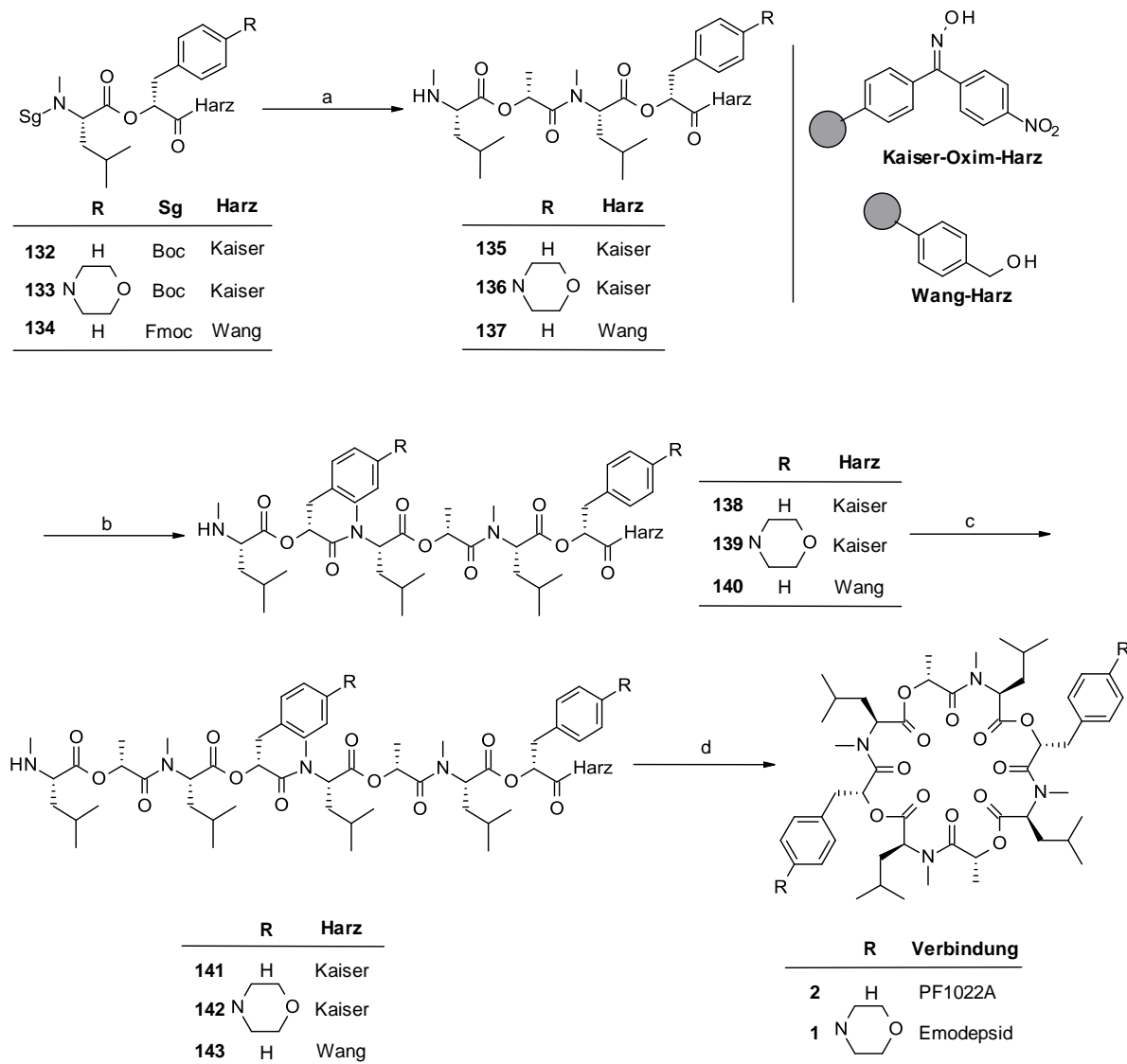
die durch Abspaltung des Dioxomorpholins freigewordenen Bindungsstellen am Harz mit dem zweiten Didepsipeptidbaustein Boc-*N*-MeLeu-Lac-OH unter Bildung einer Fehlsequenz. Diese Spaltungsreaktion zeigte sich ebenfalls stark abhängig von Kupplungsreagenz, Lösungsmittel und der eingesetzten Hilfsbase (Tabelle 16). Glücklicherweise waren die bereits bei der Kupplung des ersten Didepsipeptidbausteins am Harz erfolgreichen Reagenzien HATU/DIEA, auch in diesem Fall am besten für die Kettenverlängerung zum Tetradepsipeptid **135** (Tabelle 16) geeignet.

Generell führten die Kupplungen unter Verwendung von HATU bei der Synthese von PF1022A (**2**) und Emodepsid (**1**) zu guten Ausbeuten im Bereich von 75-90%. Dies kann für Kupplungen von *N*-Methyl-Aminosäuren an der festen Phase als bemerkenswert angesehen werden (Schema 19). Dennoch war es nicht möglich die Bildung von Diketomorpholinen vollständig zu unterdrücken.

Ein charakteristisches Merkmal des Kaiser-Oxims ist die Oximesterbindung, die als Aktivester durch Solvolyse oder Aminolyse zu Peptidestern oder Amiden gespalten werden kann.<sup>194,195,196</sup> Daher erlaubt die Reaktivität des Oximesters eine zyklisierende Abspaltung. Allerdings sollte die Beladungskapazität 0.7 mmol/g Harz nicht sehr weit überschreiten, da andernfalls, die für die Zyklisierung notwendigen Hochverdünnungsbedingungen nicht gegeben sind, und die Zyklisierungsausbeute durch intermolekulare Kupplungsreaktionen deutlich geringer ausfällt.<sup>85</sup>

Für Cyclopeptide ist eine Vielzahl von Reaktionsbedingungen für die zyklisierende Abspaltung bekannt, bei Cyclodepsipeptiden hingegen ist dies nicht der Fall.<sup>85,86,87</sup>

Nach einigen Experimenten zeigte sich, dass schwach saure Bedingungen (2.2 Äquiv. DIEA, 5.5 Äquiv. HOAc in DCM) am besten für die zyklisierende Abspaltung der linearen Octa-

**Schema 19:** 4x2-Festphasensynthese von Emodepsid (**1**) und PF1022A (**2**) am Kaiser-Oxim bzw. am Wang-Harz.<sup>190,191</sup>

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) **135**, **136**: (i) 25% TFA/DCM, Rt, 30 min; (ii) Boc-*N*-Me-Leu-Lac-OH (**58**), HATU, DIEA, DMF, Rt, 16 h; (iii) 25% TFA/DCM, Rt, 30 min. **137**: (i) 25% Piperidin/THF, Rt, 30 min; (ii) Fmoc-*N*-Me-Leu-Lac-OH (**126**), HATU, DIEA, THF, Rt, 16 h; (iii) 25% Piperidin/THF, Rt, 30 min. (b) **138**: (i) Boc-*N*-Me-Leu-PhLac-OH (**56**), HATU, DIEA, DMF, Rt, 16 h; (ii) 25% TFA/DCM, Rt, 30 min; **139**: (i) Boc-*N*-Me-Leu-morphPhLac-OH (**130**), HATU, DIEA, DMF, Rt, 16 h; (ii) 25% TFA/DCM, Rt, 30 min; **140**: (i) Fmoc-*N*-Me-Leu-PhLac-OH (**131**), HATU, DIEA, THF, Rt, 16 h; (ii) 25% Piperidin/THF, Rt, 30 min. (c) **141**, **142**: (i) Boc-*N*-Me-Leu-Lac-OH (**58**), HATU, DIEA, DMF, Rt, 16 h; (ii) 25% TFA/DCM, Rt, 30 min; **143**: (i) Fmoc-*N*-Me-Leu-Lac-OH (**126**), HATU, DIEA, THF, Rt, 16 h; (ii) 25% Piperidin/THF, Rt, 30 min. (d) **Kaiser-Oxim**: DIEA (2.2 Äq.), HOAc (5.5 Äq.), DCM, Rt, 16 h; **Wang-Harz**: (i) 50% TFA/DCM, Rt, 1 h; (ii) BOP-Cl, DIEA, Rt, 48 h.

depsipeptide **141** und **142** zu PF1022A (**2**) bzw. Emodepsid (**1**) geeignet sind (75% Ausbeute, bezogen auf die Beladung der linearen Vorstufe **141**). Dagegen lieferten die neutralen Bedingungen nach Lee (Ethylacetat) und die schwach basischen Bedingungen (Pyridin) lediglich sehr geringe Ausbeuten (10 beziehungsweise 27%).<sup>75,76,88</sup>

Die ungewöhnlich hohe Zyklisierungsausbeute von PF1022A (**2**) kann, wie bei der Zyklisierungsreaktion in Lösung, durch die *cis*-Amidbindung zwischen einem Leucin und einer Milchsäure erklärt werden.<sup>74</sup> Das durch die zyklisierende Abspaltung erhaltene Rohprodukt von PF1022A (**2**) wies eine Reinheit von nahezu 80% auf und wurde mit Hilfe von Flash-Chromatographie gereinigt. Die Gesamtausbeute der Festphasensynthese betrug 30% und stellt damit einen deutlich effizienteren Zugang zu PF1022A (**2**) dar als die Lösungssynthese.<sup>74</sup>

Bemerkenswerterweise wurde Emodepsid (**1**) durch die für PF1022A (**2**) entwickelten Kupplungs- und Abspaltbedingungen in einer höheren Gesamtausbeute (45%) erhalten. Die durchschnittliche Ausbeute pro Stufe inklusive der kritischen Makrozyklisierungsreaktion liegt damit über 90%.<sup>191</sup>

Die entwickelte 4x2-Festphasensynthese am Kaiser-Oxim stellt somit eine effektive Methode für die Synthese des Cyclooctadepsipeptids PF1022A (**2**) und seines kommerziellen Analogas Emodepsid (**1**) dar.

### 3.3 Festphasensynthese am Wang-Harz

Neben den besten Bedingungen der Kaiser-Oxim-Synthese wurden auch die Bedingungen der Valinomycin-(**13**)-Festphasensynthese nach O. Kuisle *et al.*<sup>83</sup> in die Entwicklung miteinbezogen. Aufgrund schwer zu unterdrückender Dimethylaminbildung und erhöhter Racemisierungsgefahr, wurde bei den Versuchsreihen zur Wang-Harz-Synthese von PF1022A (**2**), THF verwendet.<sup>83,97,197</sup> In THF zeigte das Wang-Harz ein gutes Quellverhalten. Darüber hinaus waren alle Edukte und Reagenzien gut löslich.

Im Gegensatz zur Kaiser-Oxim-Synthese wurden bei der Kupplung des ersten Didepsipeptidbausteins die Reagenzien DIC/DMAP/HOBt (je 3 Äq.) verwendet, da unter diesen Bedingungen die Kupplung in exzellenter Ausbeute (93%) möglich war. Für die Amid-Kupplungen erwiesen sich erneut HATU/DIEA als Reagenzien der Wahl. Diese Ester- und Amidkupplungsbedingungen waren deutlich effizienter im Vergleich zu den Bedingungen aus der Valinomycin-(**13**)-Synthese (3 Äq. DIC, 0.1 Äq. DMAP). Trotzdem waren die Ausbeuten der Amidbildungsreaktionen im direkten Vergleich mit den Kupplungen am Kaiser-Oxim generell geringer. Zwar lag die Ausbeute des Tetradepsipeptids Fmoc-*N*-MeLeu-Lac-*N*-MeLeu-

PhLac (**137**) im Bereich von 80%, dennoch stieg die Zahl der Fehl- und Deletionssequenzen in den folgenden beiden Kupplungsschritten an. Einige Nebenprodukte entstanden durch Esterspaltungen bei den Kupplungen zum Hexadepsipeptid **140** und zum Teil auch bei der Kupplung zum Octadepsipeptid **143**, das ausgehend vom Hexadepsipeptid in einer Ausbeute von 50% erhalten wurde. Die Spaltung des linearen Octadepsipeptids **143** von der festen Phase, unter Zuhilfenahme von 50% TFA in DCM, ergab ein Rohprodukt mit einem Produktgehalt im Bereich von 40-50%. Die folgende Makrozyklisierung des Rohproduktes in Lösung mit BOP-Cl gemäß Literaturverfahren<sup>59,74</sup> lieferte PF1022A (**2**) nach säulenchromatographischer Reinigung in nahezu quantitativer Ausbeute. Dies entspricht einer Gesamtausbeute der 4x2-Festphasensynthese von 20-25%.

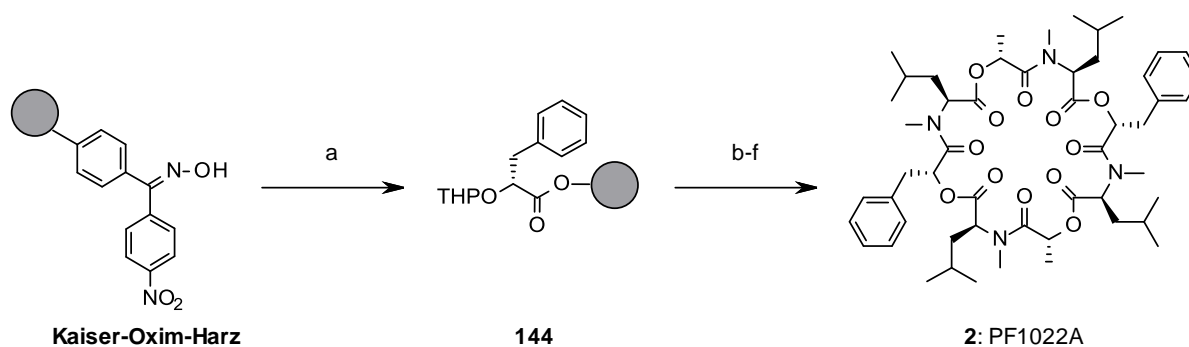
Trotz der etwas geringeren Gesamtausbeute der 4x2-Wang-Harz-Synthese im Vergleich mit der Synthese am Kaiser-Oxim, ist diese Methode ebenfalls sehr gut für eine Festphasensynthese von Cyclooctadepsipeptiden des PF1022-Typs geeignet.

#### 4. Festphasensynthese von PF1022A aus einzelnen $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren und *N*-Methylaminosäuren (8x1 – Synthese)

##### 4.1 8x1-Festphasensynthese von PF1022A am Kaiser-Oxim

Als Trägermaterial wurde zunächst das Kaiser-Oxim-Harz eingesetzt, das sich in der Festphasensynthese von Emodepsid (**1**) und PF1022A (**2**) aus Didepsipeptid-Bausteinen (4x2-Synthese) erfolgreich bewährt hat (siehe Abschnitt IV.3.2, S. 62 ff).

**Schema 20:** Festphasensynthese von PF1022A (**2**) am Kaiser-Oxim:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) THP-PhLac **75**, HATU, DIEA, DCM, Rt, 16 h; (b) *p*-TsOH, DCM/MeOH 97:3, Rt, 2x1 h; (c) Boc-*N*-Me-Leu **52**, DIC, HOBT, DMAP, DMF, Rt, 16 h; (d) 25% TFA/DCM, Rt, 30 min; (e) THP-Lac **74** bzw. THP-PhLac **75**, HATU, DIEA, DMF, Rt, 16 h; (f) DIEA (2.2 Äq.), HOAc (5.5 Äq.), DCM, Rt, 16 h.

In der deutlich längeren 8x1-Synthese von PF1022A (**2**) traten jedoch mit jeder Stufe mehr Deletions- und Fehlsequenzen, begleitet von vorzeitiger Abspaltung vom Harz auf, so dass eine unseparierbare Mischung von Produkten nach der sechsten beziehungsweise siebten Kupplung im HPLC-MS-Spektrum zu finden war.

Bei der Synthese wurde jede Kupplung zweimal durchgeführt. Anschließend wurde eine kleine Menge Harz entnommen und mit Spatlösung (1% Morpholin in Toluol) behandelt. Eine Analyse des Rückstands erfolgte mit Hilfe von HPLC-ESI-MS. Im Falle eines Eduktanteiles in der Probe wurde ein dritter Kupplungszyklus hinzugefügt.

Zur Bildung der Esterbindungen wurden, mit Ausnahme der Kupplung des ersten Bausteins, je drei Äquivalente DIC/DMAP/HOBt verwendet. Die Immobilisierung des ersten Bausteins sowie die Bildung der Amidbindungen erfolgte mit zwei Äquivalenten HATU und drei Äquivalenten DIEA. Nach Boc-Abspaltungen wurden beim ersten Kupplungszyklus vier Äquivalente DIEA eingesetzt.

Die Amidkupplungsbedingungen sowie die Bedingungen zur Anbringung des ersten Bausteins wurden, ebenso wie die Wahl des Lösungsmittels, aus der erfolgreichen 4x2-Synthese übernommen. Dort hatte sich DCM für den ersten Kupplungsschritt und DMF für alle weiteren Kupplungsschritte als bestes Lösungsmittel erwiesen.

#### 4.2 8x1-Festphasensynthese von PF1022A am Wang-Harz

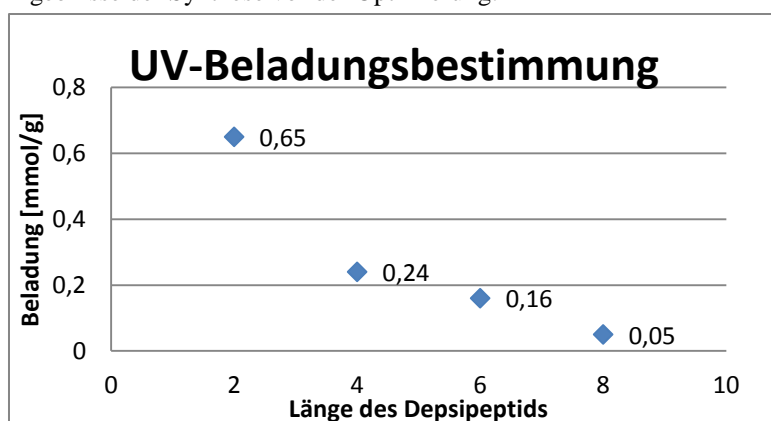
Bei der 8x1-Synthese wurde erneut THF als Lösungsmittel eingesetzt, da es sich bereits bei der 4x2-Synthese am Wang-Harz bewährt hatte. Zudem wurden alle Kupplungsreaktionen zunächst gemäß den Bedingungen der Valinomycin-(**13**)-Festphasensynthese mit den Reagenzien DIC (3 Äq.) und DMAP (0.1 Äq.) durchgeführt. Nach jedem Kupplungsschritt wurde eine kleine Menge Harz entnommen, den Abspaltbedingungen unterzogen und das entstandene Rohprodukt mittels HPLC-ESI-MS analysiert. Darüber hinaus wurde die Beladung des Harzes, zur Verfolgung der Ausbeuten, bei jeder Fmoc-Abspaltung photometrisch bestimmt (Diagramm 2).<sup>201</sup>

Wie in Diagramm 2 zu erkennen ist, nimmt die Beladung vor allem zwischen der Di- und der Tetrapeptidstufe ab. Daher wurden die folgenden Optimierungsversuche besonders auf diese Stufen ausgerichtet.

Da die Amidbindungen bei der Entwicklung der 4x2-Synthese von PF1022A (**2**) sowohl am Wang-Harz, als auch am Kaiser-Oxim bereits optimiert waren (Abschnitt IV.3.2, S. 62 ff) wurde der Fokus der Optimierungsversuche (Tabelle 17) verstärkt auf die Bildung von Esterbindungen ausgerichtet.

THP-PhLac (**75**) wurde aufgrund der geringeren Neigung zur Dioxomorpholinbildung im Vergleich zu THP-Lac (**74**) als erster Baustein an das Harz gebunden.<sup>198</sup> Die geschützte Phenylmilchsäure **75** wurde mit einer Ausbeute von über 90% unter Verwendung der Reagenzien DIC/DMAP/HOBt in zwei Kupplungszyklen an das Wang-Harz gebunden (Versuch 1b, Tabelle 17). Ohne Verwendung von HOBt sank die Ausbeute erheblich, so dass selbst

**Diagramm 2:** Photometrische Beladungsbestimmung nach Fmoc-Abspaltung zur Verfolgung der Festphasensynthese von PF1022A (**2**). Ergebnisse der Synthese vor der Optimierung:<sup>201</sup>



nach drei Kupplungszyklen lediglich eine Ausbeute von 62% erreicht wurde. Bemerkenswerterweise stellte sich EDCI als unbrauchbar heraus, und sogar HATU, das in der Literatur des Öfteren Anwendung in der Esterbildung findet, erbrachte im Ankupplungsschritt an das Harz nur eine moderate Aus-

beute.<sup>190,199,200</sup> Im ersten Kettenverlängerungsschritt wurde die Esterbindung zwischen dem festphasengebundenen PhLac und Fmoc-*N*-MeLeu (**76**) erneut unter Verwendung von

**Tabelle 17:** 8x1-Festphasensynthese von PF1022A (**2**) – Optimierung der Kupplungsschritte 1-4:

Stufe (Versuch)	Baustein (3.0 Äq.)	Produkt (gebildete Bindung)	Zahl der Kuppl.	Reaktionsbedingungen (Äquivalente)	Ausbeute (%)
1a	THP-PhLac	<b>144</b> (Ester)	3	DIC (3.0), DMAP (0.1)	62 <sup>a</sup>
1b			2	<b>DIC (3.0), DMAP (3.0), HOBt (3.0)</b>	<b>92<sup>a</sup></b>
1c			2	EDCI (3.0), DMAP (0.1)	17 <sup>a</sup>
1d			3	HATU (2.0), DIEA (3.0)	36 <sup>a</sup>
2a	Fmoc- <i>N</i> -MeLeu	<b>134</b> (Ester)	3	DIC (3.0), DMAP (0.1)	91 <sup>b</sup>
2b			2	<b>DIC (3.0), DMAP (3.0), HOBt (3.0)</b>	<b>93<sup>b</sup></b>
2c			2	EDCI (3.0), DMAP (0.1)	44 <sup>b</sup>
3a	THP-Lac	<b>145</b> (Amid)	2	<b>HATU (2.0), DIEA (3.0)</b>	<b>77<sup>a</sup></b>
3b			2	DIC (3.0), DMAP (0.1)	54 <sup>a</sup>
3c			2	DIC (3.0), DMAP (3.0), HOBt (3.0)	48 <sup>a</sup>
3d			2	EDCI (3.0), DMAP (0.1)	19 <sup>a</sup>
3e			1	Säurechlorid (3.0), DMAP (1.0)	34 <sup>a</sup>
4a	Fmoc- <i>N</i> -MeLeu	<b>146</b> (Ester)	2	DIC (3.0), DMAP (0.1)	51 <sup>b</sup>
4b			2	<b>DIC (3.0), DMAP (3.0), HOBt (3.0)</b>	<b>77<sup>b</sup></b>
4c			1	Säurechlorid (3.0), DMAP (1.0)	5 <sup>b</sup>
4d			1	(Fmoc- <i>N</i> Me-Leu) <sub>2</sub> O (3.0), DMAP (3.0)	38 <sup>b</sup>
4e			2	TPP (3.0), DEAD (3.0)	51 <sup>b</sup>

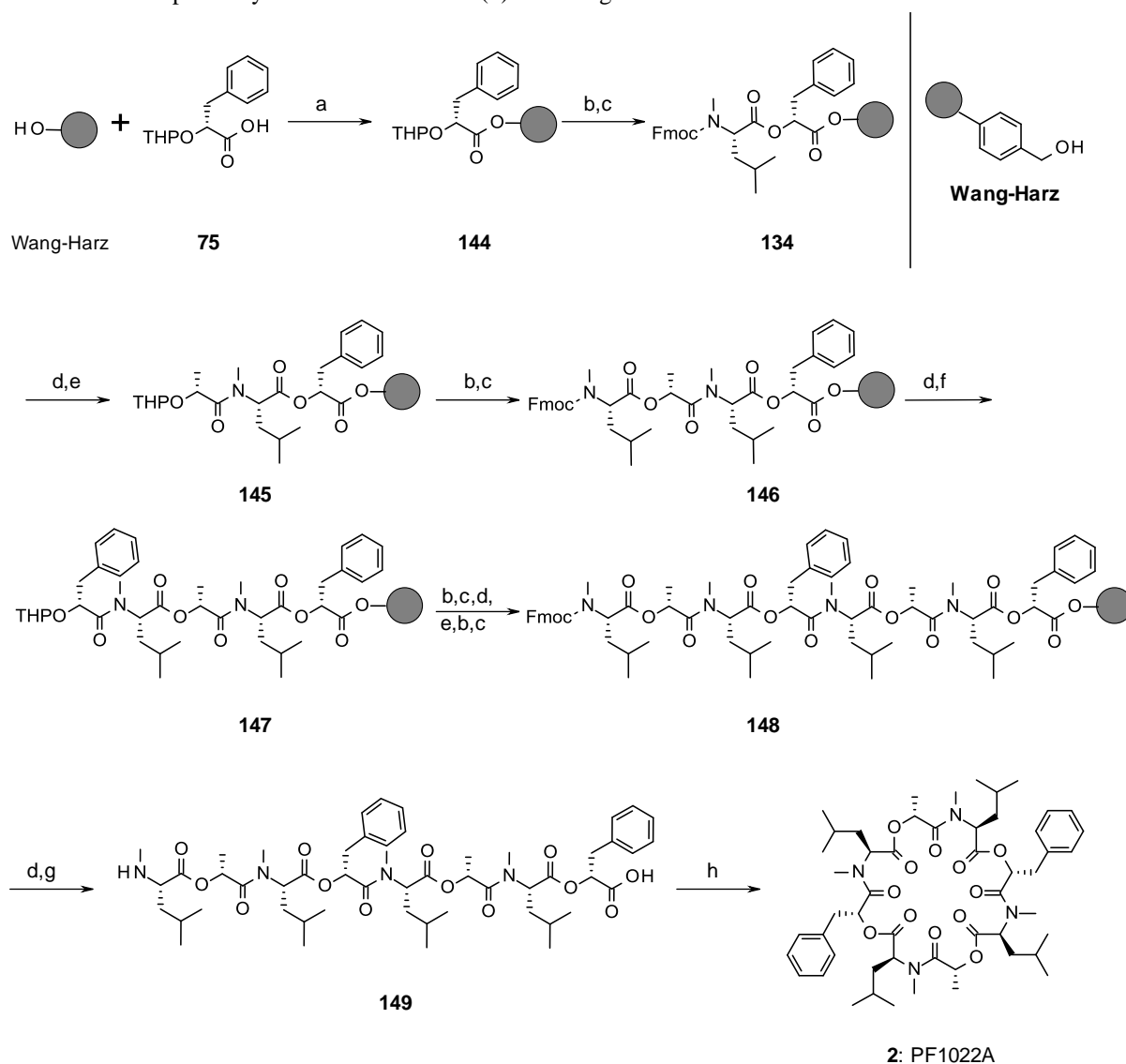
<sup>a</sup>: Gravimetrische Bestimmung der Ausbeute nach Entschützung und Spaltung des Produkts vom Harz,

<sup>b</sup>: UV-Bestimmung nach Fmoc-Spaltung.<sup>201</sup> Die Ausbeutenberechnung ist bezogen auf die Beladung von 1.07 mmol/g Harz, korrigiert um den mittels HPLC-MS bestimmten Produktgehalt. In allen Experimenten wurde THF als Lösungsmittel verwendet.



DIC/DMAP/HOBt in zwei Kupplungszyklen mit der höchsten Ausbeute (93%) gebildet. Der nächste Schritt, die Abspaltung der Fmoc-Gruppe vom Dipeptidsegment **134**, ist besonders anfällig für Dioxomorpholinbildung. Umfassende Literaturstudien belegen, dass die Rolle der ersten und zweiten Aminosäure ebenso kritisch ist wie die Kupplungsbedingungen. Befinden sich, wie zum Beispiel bei PF1022A (**2**) sterisch anspruchsvolle Aminosäuren (Val, Leu, Phe) in der ersten und *N*-Methyl-Aminosäuren in der zweiten Position, wird üblicherweise die Diketopiperazinbildung erleichtert.<sup>88,104,105,202,203,204</sup> Trotz aller Optimierungsversuche war es daher nicht möglich, die Dioxomorpholinbildung auf dieser kritischen Stufe unter einen Anteil von 10% in der Spatlösung zu senken. Dass dieser Schritt besonders kritisch ist,

**Schema 21:** Festphasensynthese von PF1022A (**2**) am Wang-Harz:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) DIC, HOBt, DMAP, THF, Rt, 16 h; (b) *p*-TsOH, DCM/MeOH 97:3, Rt, 2x1 h; (c) Fmoc-*N*-Me-Leu **76**, DIC, HOBt, DMAP, THF, Rt, 16 h; (d) 25% Piperidin/THF, Rt, 30 min; (e) THP-Lac **74**, HATU, DIEA, THF, Rt, 16 h; (f) THP-PhLac **75**, HATU, DIEA, THF, Rt, 16 h; (g) 50% TFA/DCM, Rt, 1 h; (h) BOP-Cl, DIEA, DCM, Hochverdünnung, Rt, 48 h.

zeigten die folgenden Fmoc-Abspaltungen, bei denen der Anteil an Dioxomorpholin in der Spalllösung lediglich zwischen 1% und maximal 5% lag. Eine weitere Optimierung der Fmoc-Spaltbedingungen war nicht möglich, da die Verwendung anderer Basen wie beispielsweise DBU, sich aufgrund schlechter Ausbeuten als unbrauchbar herausstellte.

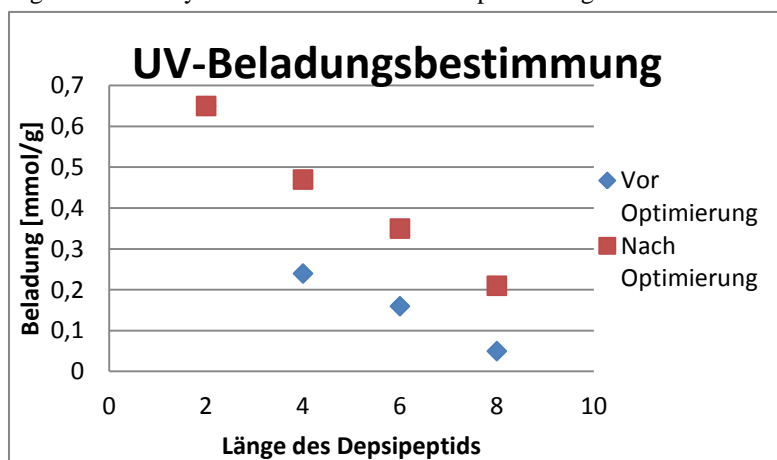
Zur Kupplung des dritten Bausteins (THP-Lac (**74**)) an das Harz-gebundene *N*-MeLeu (**134** → **145**), wurden verschiedene Methoden getestet, unter anderem das THP-Lac-Säurechlorid (Versuch 3e in Tabelle 17, und Schema 21). Während diese Methode hauptsächlich durch unvollständige Kupplung, Racemisierung und vorzeitige Abspaltungen vom Harz niedrige Ausbeuten lieferte, konnten durch den Einsatz von HATU/DIEA und DIC/DMAP/HOBt gute Ausbeuten erzielt werden. Da Carbodiimide für ein höheres Racemisierungsrisiko bekannt sind, wurde für alle weiteren Amidbildungsreaktionen HATU verwendet.

Es stellte sich heraus, dass die Reaktion zwischen festphasengebundenem Lac und *N*-MeLeu (**145** → **146**) schwieriger ist, als die vorangegangenen Esterbildungsreaktionen zwischen Wang-Harz und PhLac (**75** → **144**) sowie PhLac/*N*-MeLeu (**144** → **134**). Daher wurden zusätzlich zu DIC/DMAP/HOBt weitere Verfahren, die häufig zur Generierung schwieriger Esterbindungen genutzt werden, eingesetzt. So wurde beispielsweise das hochreaktive Fmoc-*N*-MeLeu-Säurechlorid, der Yamaguchi-Dichlorobenzoat-Aktivester (Versuch 4d, Tabelle 17) und Kupplungsbedingungen mit (*S*)-Lac nach Mitsunobu (Versuch 4e, Tabelle 17) verwendet.<sup>73,188,205</sup> Sowohl die Reaktion mit dem Säurechlorid, als auch die Yamaguchi-Methode ergaben unzureichende Ausbeuten, während die Mitsunobu-Reaktion deutlich bessere Ergebnisse lieferte. Dennoch war das System DIC/DMAP/HOBt in diesem Kupplungsschritt allen anderen überlegen.

Der Erfolg der Optimierungsversuche ist in Diagramm 3 veranschaulicht. Die Messwerte auf der Di- und der Tetradepsipeptidstufe sind am aussagekräftigsten, da in diesen Fällen deutlich weniger Fehlsequenzen vorlagen, die eine höhere Beladung vortäuschen können.

Nach Optimierung wurde eine Verbesserung der Beladung auf der Tetradepsipeptidstufe von 96% erreicht. Des Weiteren konnten auch die Beladungen auf der Hexa- und der Octadepsipeptidstufe deutlich gesteigert werden.

**Diagramm 3:** Photometrische Beladungsbestimmung nach Fmoc-Abspaltung zur Verfolgung der Festphasensynthese von PF1022A (**2**). Ergebnisse der Synthese vor und nach der Optimierung.<sup>201</sup>



Aufgrund der Symmetrie von PF1022A (**2**) sind alle weiteren Kettenverlängerungsschritte einfache Wiederholungen der ersten vier Kupplungsschritte. Daher wurden keine weiteren Optimierungsversuche unternommen.

Die Spaltung der Fmoc-Gruppe fand unter Standardbedingungen statt (THF, 25% Piperidin, 30 min). Die THP-Schutzgruppe wurde mit dem von Kuisle<sup>83</sup> beschriebenen Verfahren mit verdünnter *p*-TsOH (5 mg/mL in DCM/MeOH 97:3, 2x1 h) quantitativ gespalten.

Die Gesamtausbeute des linearen Octadepsipeptids **149** betrug nach Abspaltung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe und der Spaltung vom Harz (50% TFA in DCM, 1.5 h, quantitative Ausbeute) 16%. Dies bedeutet, dass jede der 16 Stufen an der festen Phase mit einer durchschnittlichen Ausbeute von 89% abgelaufen ist.

Die Makrozyklisierungsreaktion wurde unter Hochverdünnungsbedingungen in DCM mit BOP-Cl als Kupplungsreagenz durchgeführt. PF1022A (**2**) wurde in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten, ungeachtet dessen, ob die Vorstufe **149** als gereinigtes oder ungereinigtes Rohprodukt eingesetzt wurde. Darüber hinaus kann PF1022A (**2**) durch seine hohe Lipophilie einfach mittels Flash-Chromatographie auf Kieselgel von den unzyklisierten Nebenprodukten separiert werden. Die außergewöhnlich hohe Zyklisierungsausbeute ist, wie bereits erwähnt (Abschnitt I.4.1, S. 16 ff), auf eine U-förmige Konformation der linearen Vorstufe **149** zurückzuführen.<sup>74</sup> Das synthetische PF1022A (**2**) ist in allen biologischen und spektroskopischen Daten identisch mit einer Probe des fermentativ gewonnenen Naturstoffs.<sup>206</sup>

Mit dieser Synthese wurde der Weg geschaffen, zyklische Depsipeptide aus einzelnen *N*-Methyl-Aminosäuren und  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren aufzubauen. Im Fall von PF1022A (**2**) ermöglicht diese Synthese den Zugang zu dem Naturstoff mit einer Gesamtausbeute von 13-

16% (89% durchschnittliche Ausbeute pro Stufe). Obgleich die Synthese, insbesondere bei den Amidbildungsreaktionen, noch Raum für Optimierungen zulässt, ist sie den Lösungssynthesen (maximal 13% Ausbeute) deutlich überlegen.

## 5. Synthese von verschiedenen PF1022- und Bassianolid-Derivaten und ihrer zugrunde liegenden Bausteine

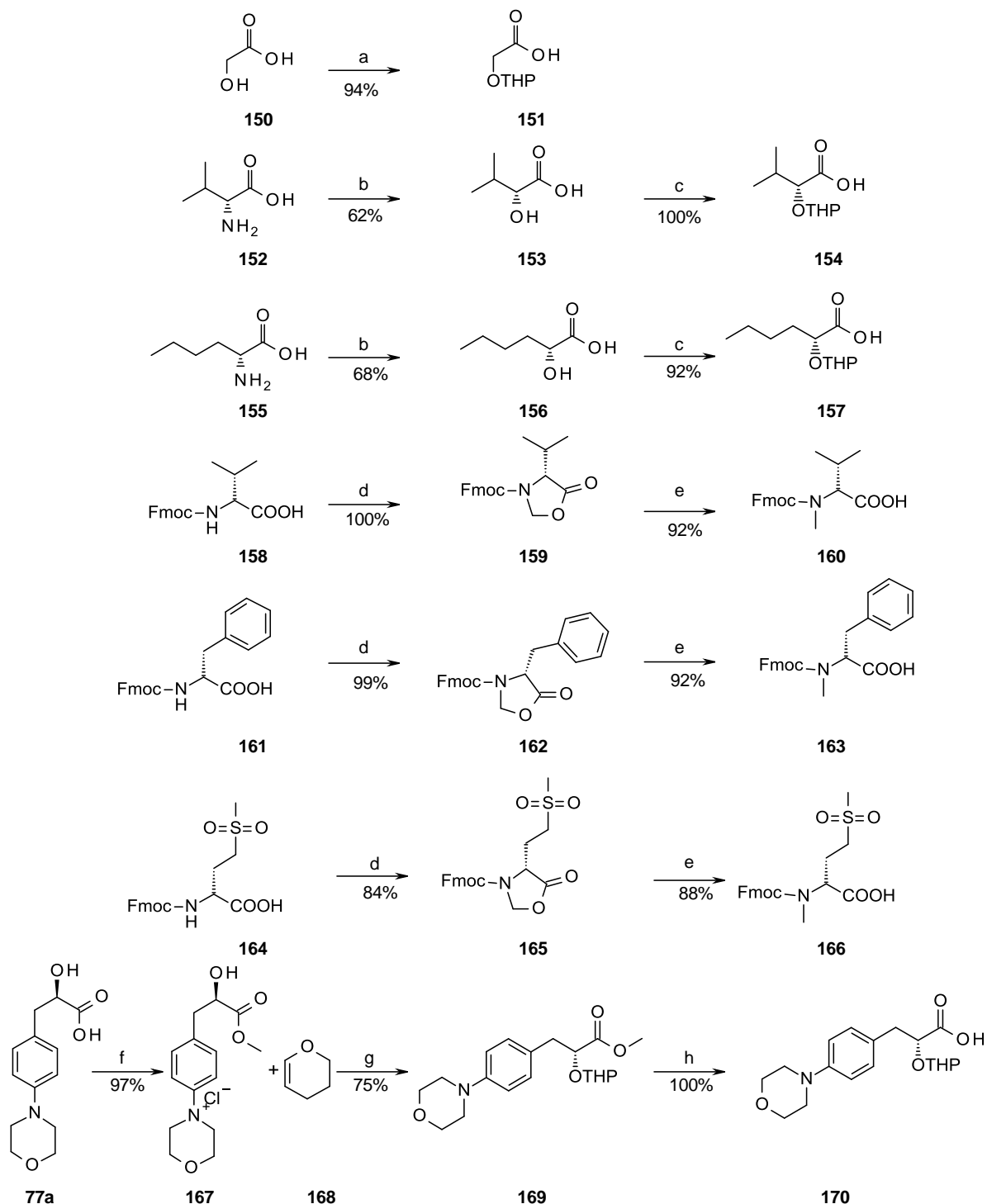
### 5.1 Synthese der Monobausteine

Zur Synthese von Emodepsid (**1**) und diverser PF1022- und Bassianolid-Derivate,<sup>207</sup> wurde die entwickelte 8x1-Festphasensynthese am Wang-Harz verwendet. Dazu mussten zunächst die Grundbausteine hergestellt werden. Die hierfür erforderlichen mehrstufigen Synthesen sind in Schema 22 abgebildet.

Die Fmoc-geschützten *N*-Methyl-Aminosäuren **160**, **163** und **166** lassen sich, ebenso wie Fmoc-*N*-MeLeu (**76**), in guten Ausbeuten nach Standardliteratur herstellen.<sup>126</sup> Problematischer sind die Synthesen der weniger stabilen THP-Ether. Während die Synthese der geschützten Glykolsäure **151** mit einer exzellenten Ausbeute von 94% gelang, mussten die Synthesen der THP-geschützten  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **154** und **157** optimiert werden. Die zu THP-PhLac (**75**) analoge Synthese nach Kuisle<sup>83</sup> führte zunächst nicht zum Erfolg. Eine geringfügige Abänderung,<sup>130</sup> bei der anstelle von 1.4 Äquivalenten 3,4-Dihydro-2*H*-pyran (**168**) nur 1.0 Äquivalente eingesetzt wurden und zu der katalytischen Menge von *p*-TsOH eine gleich große Stoffmenge Pyridin zugesetzt wurde, führte im Falle von Verbindung **157** zu 92% und im Fall von **154** sogar zu einer quantitativen Ausbeute.

Als besonders problematisch erwies sich die Herstellung der THP-geschützten (*para*-Morpholinophenyl)milchsäure (**170**). Durch den im Molekül enthaltenen basischen Stickstoff, ist ein Einsatz katalytischer Mengen *p*-TsOH nicht möglich. Allerdings brachte auch der Einsatz von 1.1 Äquivalenten *p*-TsOH zur Umsetzung von MorphPhLac **77a**<sup>186</sup> keinen Erfolg. Aus diesem Grund wurde der in Schema 22 aufgeführte Umweg über den Methylester gewählt. Diese Syntheseroute ermöglicht erstmals den Zugang zu Molekül **170**.

Die Ausbeute der THP-Schüttung ist mit 75% als gut einzustufen und liefert das gewünschte Molekül. Darüber hinaus sollte es durch weitere Optimierungsarbeit möglich sein, die Ausbeute noch weiter zu steigern.

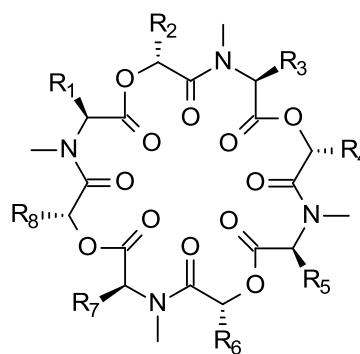
**Schema 22:** Bausteinsynthesen für die 8x1-Festphasensynthese von Emodepsid (**1**) und neun weiteren Derivaten:

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) 3,4-Dihydro-2H-pyran, *p*-TsOH, CHCl<sub>3</sub>, 4 °C, 1 h; (b) 40% NaNO<sub>2</sub> (aq), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2 h 0 °C, 16 h Rt, dann Zugabe von 40% NaNO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6 h 0 °C, dann 16 h Rt; (c) 3,4-Dihydro-2H-pyran, *p*-TsOH, DCM, Rt, 24 h; (d) Paraformaldehyd, *p*-TsOH, Toluol, 112 °C, 24 h; (e) AlCl<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>SiH, DCM, Rt, 1 h; (f) SOCl<sub>2</sub>, MeOH, Rt, 16 h; (g) *p*-TsOH, Acetonitril, 40 °C, 24 h; (h) 1 M LiOH (THF/Wasser, 3:5), 0 °C, 5 h.

## 5.2 Synthese verschiedener PF1022- und Bassianolid-Derivate an der festen Phase

Zur Herstellung der in Abb. 34 dargestellten PF1022- und Bassianolid-Analoga (**1** und **171-179**) wurden die in Schema 22 gezeigten Bausteine nach der in Schema 21 dargestellten Festphasensynthese am Wang-Harz hergestellt.

Abb. 34: Derivate von PF1022A (**2**) bzw. Bassianolid (**12**):



Derivat	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
<b>1</b>	<i>i</i> Bu	Me	<i>i</i> Bu	MBn	<i>i</i> Bu	Me	<i>i</i> Bu	MBn
<b>171</b>	<i>i</i> Bu	H	<i>i</i> Bu	Bn	<i>i</i> Bu	H	<i>i</i> Bu	Bn
<b>172</b>	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr	MSE	<i>i</i> Pr	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr
<b>173</b>	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr	Bn	<i>i</i> Pr	Bn	<i>i</i> Pr
<b>174</b>	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>n</i> Bu	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr
<b>175</b>	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr
<b>176</b>	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>n</i> Bu	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr
<b>177</b>	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr	Bn	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Bu	<i>i</i> Pr
<b>178</b>	<i>i</i> Bu	H	<i>i</i> Bu	Bn	<i>i</i> Bu	Me	<i>i</i> Bu	Bn
<b>179</b>	<i>i</i> Bu	Me	<i>i</i> Bu	Bn	<i>i</i> Bu	Me	<i>i</i> Pr	Bn

MBn = (4-Morpholinylphenyl)methyl  
MSE = Methylsulfonylethyl

Die Reaktionsbedingungen für die Synthese wurden der Optimierung der 8x1-Festphasensynthese von PF1022A (**2**) entnommen (Tabelle 17: Versuchsreihen 1b, 2b, 3a bzw. 4b).

Bereits während der Festphasensynthese wurde durch Produktabspaltung von kleinen Harz-Proben, die mittels HPLC-ESI-MS analysiert wurden, beobachtet, dass nur die Synthesen der PF1022-Analoga **171**, **178** und **179**, im Vergleich zur PF1022A-Synthese, gute Ausbeuten liefern würden.

Dies bestätigte sich nach der Abspaltung der linearen Octadepsipeptide vom Wang-Harz. Während die Vorstufen von **171**, **178** und **179** einen relativ hohen Produktanteil in dem vom Harz gespaltenen Rohprodukt enthielten, zeigten Emodepsid (**1**) und die Bassianolid-Derivate **172-177** nur einen sehr geringen Produktanteil und zahlreiche Nebenprodukte. Aufgrund der Vielzahl der Nebenprodukte in den Rohprodukten der linearen Vorstufen von **1** und **172-177**, war eine säulenchromatographische Reinigung nicht möglich. Im Fall der Rohprodukte der Vorstufen von **171**, **178** und **179** war die Zusammensetzung, bezogen auf die Produktreinheit, deutlich besser. Daher wurde analog zu den Synthesen von PF1022A (**2**) auch in diesem Fall auf eine mit Verlusten, sowie hohem Zeit- und Materialaufwand verbundene chromatographische Reinigung über präparative HPLC verzichtet. Nach der mit BOP-Cl in DCM durchge-

fürten Makrozyklisierung<sup>74</sup> lieferte die säulenchromatographische Reinigung die Cyclooctadepsipeptide **178** und **179** mit 9% (**178**) bzw. 4% (**179**) Gesamtausbeute (87% pro Stufe bei **178**, bzw. 82% pro Stufe bei **179**), und im Falle von **171** sogar eine Ausbeute von 21% über 17 Stufen. Dies entspricht einer durchschnittlichen Ausbeute von 91% pro Stufe.

**Tabelle 18:** 8x1-Festphasensynthese der Cyclooctadepsipeptide **1** und **171-179**. Überblick über die Ausbeuten:

Derivat	Ausbeute		Total-Ausbeute 17 Stufen	Durchschnittl. Ausbeute pro Stufe
	Festphasensynthese 16 Stufen	Ausbeute Zyklisierung		
<b>1</b>	4%	51%	3%	81%
<b>171</b>	27%	79%	21%	91%
<b>172</b>	2%		<1%	
<b>173</b>	<1%		<1%	
<b>174</b>	1%		<1%	
<b>175</b>	2%		<1%	
<b>176</b>	<1%		<1%	
<b>177</b>	2%		<1%	
<b>178</b>	17%	55%	9%	87%
<b>179</b>	12%	28%	4%	82%

Verbindung **1** konnte lediglich mit einer geringen Gesamtausbeute von 3% hergestellt werden. Dies weist ebenso auf weiteren Optimierungsbedarf hin, wie die Synthese der Bassianolid-Analoga **172-177**, deren chromatographische Reinigung aufgrund zahlreicher Verunreinigungen nicht erfolgreich war.

Die Makrozyklisierungsreaktionen liefen erwartungsgemäß, bis auf eine Ausnahme gut ab. Im Fall von Cyclopeptide **179** wurde lediglich eine Ausbeute von 28% erreicht. Dieses Ergebnis zeigt, dass sich ein *iso*-Propylrest am *N*-Terminus aus sterischen Gründen nachteilig auf die Bildung der für die Zyklisierung erforderlichen Amidbindung auswirkt.

Diese Ergebnisse zeigen, insbesondere im Hinblick auf die Synthesen von PF1022A (**2**) und der Derivate **171**, **178** und **179**, dass die entwickelte 8x1-Synthese exakt auf PF1022A (**2**) und ähnliche, sterisch weniger anspruchsvolle Derivate, optimiert ist und somit einen höchst effizienten Zugang zu den Verbindungen **2**, **171**, **178** und **179** darstellt. Gestärkt wird diese Betrachtungsweise dadurch, dass das Zyklisierungsproblem der Verbindung **179** durch eine simple Umstellung der Depsipeptidsequenz der linearen Vorstufe gelöst werden kann.

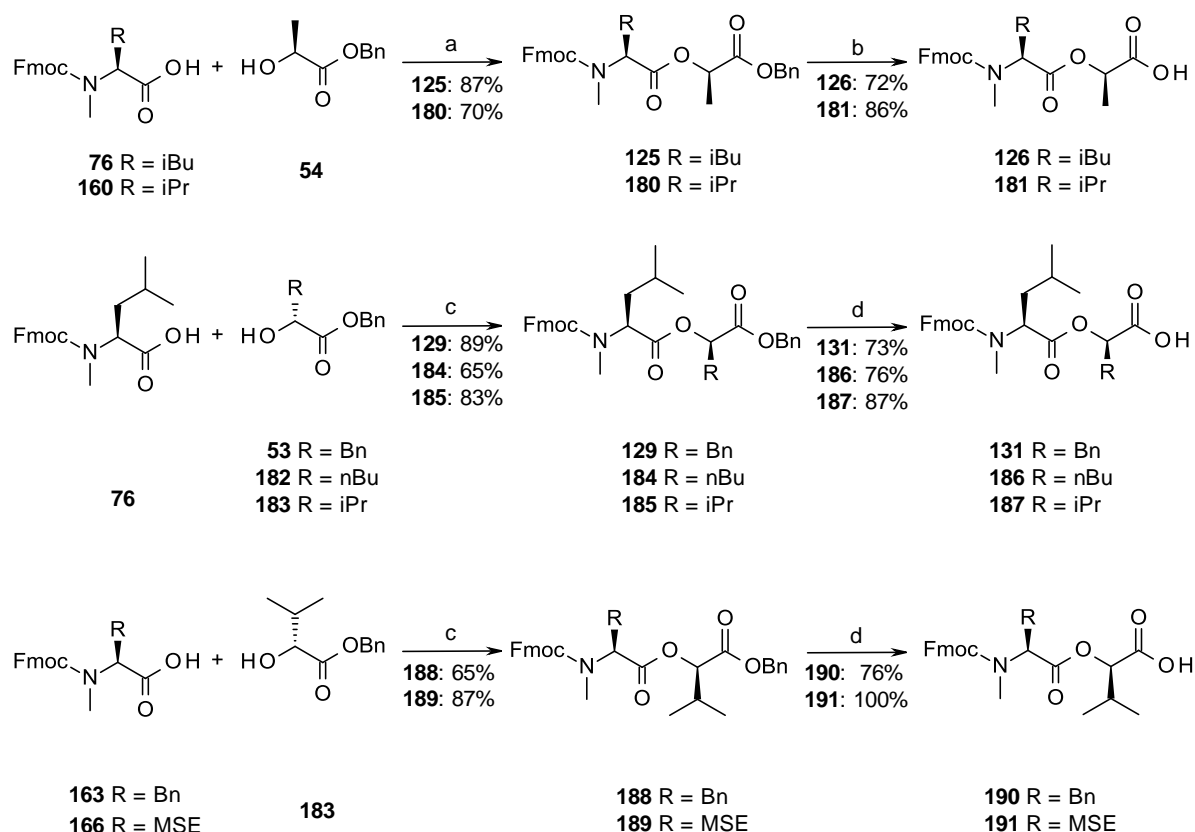
Die misslungenen Synthesen der Cyclooctadepsipeptide **1** und **172-177** führten zu einem strategischen Richtungswechsel in zweifacher Hinsicht. Zum einen wurde die Reihenfolge der Bausteine so verändert, dass für die Zyklisierungsreaktion *N*-terminal ein Leu und *C*-terminal,

je nach Möglichkeit, PhLac (**179**), Hiv (**172**, **173**, **175**, **177**) oder Hca (**174**, **176**) positioniert ist. Hierdurch wird die sterische Behinderung bei den Zyklisierungen minimiert. Zum andern wurde die Synthesestrategie von 8x1 auf 4x2 umgestellt.

### 5.3 Synthese von Dipeptidbausteinen und 4x2-Synthese verschiedener PF1022- und Bassianolid-Analoga

Die Synthese der Dipeptidbausteine zur Herstellung der PF1022- und Bassianolid-Analoga **172-177** und **179** erfolgte gemäß Standardliteraturverfahren, in guten Ausbeuten (Schema 23).<sup>73,126,128,187-189</sup> Analog zur Umsetzung von **66** zu **53**, wurden die Benzylester **182** und **183** über eine Veresterung der  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **154** und **157** synthetisiert. Dies erfolgte durch Kochen unter Rückfluss in Toluol und katalytischen Mengen an *p*-TsOH in guten bis exzellenten Ausbeuten.

**Schema 23:** Bausteinsynthesen für die 4x2-Festphasensynthese der PF1022- bzw. Bassianolid-Analoga **172-177** und **179**:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) TPP, DEAD, THF, 0 °C für 2 h, dann 1 h Rt; (b) **181**: H<sub>2</sub>, Pd/C (10%), EtOH, Rt, 4 h; **126**: H<sub>2</sub>, Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20%), EtOH, Rt, 4 h; (c) **129**: DCC, HOBT, DMAP, DCM, 0 °C, 30 min, dann Rt für 24 h; **184-185**, **188-189**: DIC, HOBT, DMAP, DCM, 0 °C, 30 min, dann Rt für 24 h; (d) H<sub>2</sub>, Pd/C(10%), EtOH, Rt, 4 h.



Bei der anschließenden 4x2-Festphasensynthese am Wang-Harz konnten allerdings nur im Hinblick auf die Makrozyklisierung und die Immobilisierung des ersten Didepsipeptidbausteins Verbesserungen erzielt werden. Nach der 8x1-Festphasensynthese wurde für Verbindung **179** bei der Makrozyklisierung lediglich eine Ausbeute von 28% erreicht. Durch die Änderung der Sequenz der linearen Vorstufe ließ sich die Ausbeute auf 100% steigern. Der Grund für die niedrige Zyklisierungsausbeute im ersten Versuch kann demzufolge nur an der sterischen Hinderung liegen, die durch den *iso*-Propylrest des *N*-terminalen *N*-MeVal verursacht wird.

**Tabelle 19:** 4x2-Festphasensynthese der Cyclooctadepsipeptide **172-177** und **179**. Überblick über die Ausbeuten:

Derivat	Ausbeute Festphasensynthese 8 Stufen	Ausbeute Zyklisierung	Total-Ausbeute 9 Stufen	Durchschnittl. Ausbeute pro Stufe
<b>172</b>	<1%		<1%	
<b>173</b>	<1%		<1%	
<b>174</b>	1%		<1%	
<b>175</b>	<1%		<1%	
<b>176</b>	4%	94%	4%	70%
<b>177</b>	<1%		<1%	
<b>179</b>	16%	100%	16%	82%

Bei der Herstellung der Verbindungen **174** und **176** waren an zwei Stellen der Synthese Verbesserungen im Vergleich mit der zuvor durchgeführten 8x1-Synthese zu beobachten. Zum einen konnte die Bindung des ersten Didepsipeptidbausteins **186** an die feste Phase mit nahezu quantitativer Ausbeute (94 beziehungsweise 100%) erfolgen, zum anderen zeigte sich auch bei der Makrozyklisierung eine Verbesserung. Während bei Verbindung **174** aufgrund der großen Zahl der Nebenprodukte bzw. des geringen Produktanteils keine chromatographische Reinigung und damit keine definitive Aussage über die Ausbeute möglich war, wurde Verbindung **176** mit einer Zyklisierungsausbeute (Bedingungen: BOP-Cl in DCM<sup>74</sup>) von 94% erhalten. Auch in diesem Fall war eine vollständige Abtrennung aller Nebenprodukte nicht möglich, da dies durch zu nah beieinanderliegende Retentionszeiten und geringe UV-Absorption von Produkt und Nebenprodukten erschwert war.

Allgemein war bei den Synthesen der Verbindungen **172-177** ein besonders starker Rückgang der Ausbeuten bei der Immobilisierung eines *N*-terminal *N*-MePhe-tragenden Didepsipeptidbausteins zu beobachten. Dies setzte sich bei der Ankupplung des nächsten Bausteins fort. Erwartungsgemäß lieferte der Baustein mit einem sterisch nicht anspruchsvollen *n*-Bu-

Rest das beste Ergebnis (Verbindung **176**). Ebenso wie bei der zuvor durchgeführten 8x1-Synthese, muss die Darstellung der Verbindungen **172-175** und **177** aufgrund der Isolierungsprobleme als vorerst gescheitert betrachtet werden.

Insgesamt hat lediglich die Umstellung der Synthesesequenz einen gewissen Erfolg erzielt, während sich das Vermeiden der kritischen Esterbindungsknüpfungen an der festen Phase nicht vorteilig ausgewirkt hat. Dennoch wurde durch diese Studie einwandfrei bewiesen, dass bei der ausschließlichen Verwendung sterisch anspruchsvoller Bausteine, die Festphasensynthese weitgehend versagt. Sogar bei der erfolgreichen Synthese von **179** wurde, nachdem der sperrige Valin-Baustein **181** eingeführt worden war, ein deutlicher Rückgang der Ausbeute verzeichnet.

#### 5.4 Optimierung der Amidbindungsknüpfungen in Lösung und an der festen Phase

Zur Optimierung der Amidbildungsreaktionen wurden zwei verschiedene Ansätze verfolgt. Zunächst wurde die kritischste Amidbildungsreaktion der 8x1-Festphasensynthese von Emodepsid (**1**) optimiert. Dabei handelt es sich um die Ankupplung des fünften Bausteins (4-Morpholinophenyl)milchsäure **77a**<sup>186</sup> an ein festphasengebundenes *N*-MeLeu. Für diesen Kupplungsschritt wurden fünf verschiedene Bedingungen ausgewählt. HATU/DIEA wurden als Referenzreagenzien erneut eingesetzt, da sich diese Bedingungen in den vorhergehenden Optimierungen als erfolgreich bewährt hatten.

Coste beschrieb 1994, dass das Halogenphosphoniumreagenz PyBroP besonders geeignet für die Kupplung von *N*-methylierten Aminosäuren ist.<sup>92,93,208</sup> BOP-Cl wurde gewählt, da es in der Lösungssynthese von PF1022A (**2**) sehr erfolgreich war.<sup>74</sup> Dagegen wurden die Carbo-diimide DIC und DCC nicht mit in die Optimierungsarbeiten aufgenommen. Diese waren sowohl in der Entwicklung der 4x2, als auch der 8x1-Festphasensynthese stets HATU unterlegen. Das von Wischnat eingeführte BMTB, das in der Kupplung von *N*-Methylaminosäuren effektiver als HATU sein soll, konnte nicht synthetisiert werden, da das notwendige MeBr als Laborchemikalie nicht zur Verfügung stand.<sup>98</sup> In der Lösungssynthese von Thiocoralin führte das konventionelle Kupplungsreagenziensystem HATU/HOAt zu guten Ausbeuten, weshalb es auch in diese Versuchsreihe eingeführt wurde.<sup>95</sup> Außerdem wurde Triphosgen in dieser Versuchsreihe getestet. Insbesondere bei Amidkupplungen von *N*-Methyl-Valin, die aufgrund ihres sterischen Anspruchs sehr gut zur Problematik passen, hat sich dieses Kupplungsreagenz an der festen Phase bewährt.<sup>94,96</sup>

Bei den Kupplungsversuchen war eindeutig zu erkennen, dass HATU/DIEA ein sehr gutes System von Kupplungsreagenzien darstellt, allerdings zeigten PyBroP und in besonderem Maße Triphosgen eine noch bessere Eignung für dieses Kupplungsproblem (Tabelle 20).

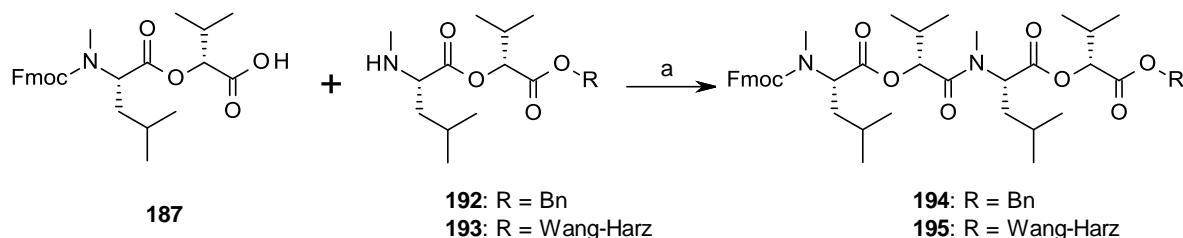
**Tabelle 20:** Ausbeuten der Kupplungsversuche zur Anbringung von THP-MorphPhLac (**170**) an das am Wang-Harz immobilisierte Tetradeptid *N*-MeLeu-Lac-*N*-MeLeu-MorphPhLac-Harz unter verschiedenen Bedingungen:

Versuch	Baustein (Menge [Äq.])	Zahl der Kupplungen	Reaktionsbedingungen	Ausbeute <sup>a</sup>
1	<b>170</b> (3)	2	2 Äq. HATU, 3 Äq. DIEA	THF/Rt/16 h 47%
2	<b>170</b> (3)	2	2 Äq. PyBroP, 3 Äq. DIEA	THF/Rt/16 h 62%
3	<b>170</b> (3)	2	1.15 Äq. BTC, 10 Äq. Collidin, 8 Äq. DIEA	THF/Rt/16 h 91%
4	<b>170</b> (3)	2	2 Äq. BOP-Cl 3 Äq. DIEA	THF/Rt/16 h 35%
5	<b>170</b> (3)	2	2 Äq. HATU, 2 Äq. HOAt, 3 Äq. DIEA	THF/Rt/16 h 21%

a = Umsatz aus HPLC-ESI-MS-UV berechnet bezogen auf die Vorstufe

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, dass BTC (Triphosgen) zur Knüpfung von Amidbindungen mit *N*-Methylaminosäuren an der festen Phase das Reagenz der Wahl ist. Zur Sicherstellung dieser Aussage, müssen allerdings noch andere Vergleiche angestellt werden. Zum einen ist die Ausbeute nur aus den HPLC-ESI-MS-UV-Spektren der Edukte bzw. Produkte berechnet und zum anderen enthält diese Studie nur ein Kupplungsbeispiel. Demnach und aufgrund der Ergebnisse aus den Synthesen der Verbindungen **172-177**, wurden im zweiten Ansatz die in der Emodepsidsynthese getesteten Bedingungen auf einen Fall von Amidbindungsbildung der Verbindungen **172-177** übertragen (Schema 24).

**Schema 24:** Versuche zur Optimierung der Amidkupplungen zur Synthese der Bassianolid-Analoga **172-177** in Lösung und am Wang-Harz:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) **194:** Kupplungsreagenzien (Tabelle 21), THF, 0 °C für 10 min, dann Rt für 16 h; **195:** Kupplungsreagenzien (Tabelle 21), THF, Rt, 16 h.

Zum Aufbau einer möglichen Alternative zur Festphasensynthese der Verbindungen **172-177**, wurden die Bedingungen (Tabelle 21) auch in Lösung durchgeführt. Da bei Festphasensynthesen zur Ausbeutesteigerung grundsätzlich mit großen Überschüssen gearbeitet wird, war der Materialaufwand für die Kupplungsversuche an der festen Phase höher als in Lösung. Aus diesem Grund war es effizienter, zunächst mit den Versuchen in Lösung zu beginnen und zusätzliche Bedingungen zu testen.

**Tabelle 21:** Versuche zur Optimierung der Amidkupplungen für die Synthese der Bassianolid-Analoga **96-101** in Lösung und am Wang-Harz:

Versuch	187 Äq.	Kupplungs- Reagenz (Äq.)	Base (Äq.)	Ausbeute	
				Lösungssynthese	Festphasensynthese
1	1 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup>	HATU (1 <sup>a</sup> / 2 <sup>b</sup> )	DIEA (2 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup> )	28%	19%
2	1 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup>	PyBroP (1 <sup>a</sup> / 2 <sup>b</sup> )	DIEA (2 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup> )	45%	28%
3	1 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup>	BTC (1.15)	Collidin (4 <sup>a</sup> / 10 <sup>b</sup> ) DIEA (3 <sup>a</sup> / 8 <sup>b</sup> )	16%	79%
4	1 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup>	BOP-Cl (1 <sup>a</sup> / 2 <sup>b</sup> )	DIEA (2 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup> )	53%	32%
5	1 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup>	BEP (1 <sup>a</sup> / 2 <sup>b</sup> )	DIEA (2 <sup>a</sup> / 3 <sup>b</sup> )	45%	41%
6	1 <sup>a</sup>	HATU (1 <sup>a</sup> ) HOAt (1 <sup>a</sup> )	DIEA (2 <sup>a</sup> )	32%	
7	1 <sup>a</sup>	HATU (1 <sup>a</sup> ) HOBt (1 <sup>a</sup> )	DIEA (2 <sup>a</sup> )	31%	
8	1 <sup>a</sup>	HATU (1 <sup>a</sup> ) HOBt-Hydrat (1 <sup>a</sup> )	DIEA (2 <sup>a</sup> )	23%	
9	1 <sup>a</sup>	DFET (1 <sup>a</sup> )	NMM (0.3 <sup>a</sup> )	15%	

a = Lösungssynthese, b= Festphasensynthese

Als weiteres Kupplungsreagenz empfahl sich BEP, da P. Li *et al.* in einer vergleichbaren Reaktion eine Ausbeute von 91% erreicht hatte.<sup>209</sup> Da BEP sich in Lösung neben BOP-Cl und PyBroP am besten bewährte, wurde es anstelle der bei der Emodepsidsynthese an der festen Phase am wenigsten effektiven Reagentien HATU/HOAt (Tabelle 20) auch an der festen Phase eingesetzt, wo es neben BTC am erfolgreichsten war. BTC lieferte erneut an der festen Phase das beste Ergebnis (Vergleiche Tabelle 20 und 21) bei der Kupplung einer Amidbindung mit *N*-MeLeu. In der Lösungssynthese war es deutlich unterlegen. Diese Beobachtung spiegelt den Stand der aktuellen Literatur wider, in der zahlreiche Anwendungen von BTC zur Bildung von Peptidbindungen an der festen Phase beschrieben sind,<sup>92,94,96,210</sup> jedoch nur wenige in Lösung.<sup>211</sup> HATU/HOAt, das bei der Emodepsidsynthese an der festen Phase (Tabelle 20) die geringste Ausbeute lieferte, war bei der Kupplung der Didepsipeptidsäure **187** mit

dem Didepsipeptidester **192** in Lösung ebenso effektiv wie HATU/HOBt und HATU ohne Triazol (Ausbeuten zwischen 28 und 32%). Das Kupplungsreagenziensystem HATU/HOBt wurde aufgrund der Erkenntnisse von Kuisle *et al.* sowohl mit wasserfreiem, als auch mit wasserhaltigem HOBt eingesetzt. Kuisle beschrieb eine Beeinträchtigung der Ausbeuten durch das Kristallwasser des eingesetzten HOBt.<sup>83</sup> Dieser Effekt konnte in dieser Versuchsreihe tendenziell bestätigt werden, da die Ausbeute mit getrocknetem HOBt (31%) höher war als mit HOBt-Hydrat (23%). Ein weiteres in Lösung eingesetztes Kupplungsreagenz ist das Triazin DFET, das kürzlich als Kupplungsreagenz für sterisch gehinderte Substrate veröffentlicht wurde.<sup>97</sup> Der Einsatz von DFET lieferte jedoch nach literaturgemäßem Einsatz lediglich Ausbeuten zwischen 15 und 20%.

Der direkte Vergleich isolierter Ausbeuten vergleichbarer Kupplungsbedingungen von Lösungs- und Festphasenchemie bestätigt, dass festphasengebundene Nukleophile eine geringere Reaktivität besitzen als in Lösung. Für die Lösungssynthese hat sich einmal mehr BOP-Cl als das Reagenz der Wahl herausgestellt, während BTC an der festen Phase sehr gute Ausbeuten liefert. Nach den Untersuchungen kann, abgesehen von BOP-Cl und BTC, folgende Reihenfolge nach Höhe der Ausbeuten für beide Synthesemethoden aufgestellt werden:

BEP > PyBroP > HATU.

Als Ergebnis dieser Optimierungsversuche lässt sich abschließend festhalten, dass sich in Lösung BOP-Cl, BEP und PyBroP zur Kupplung von sterisch gehinderten Substraten an *N*-methylierte Aminosäuren empfehlen, während an der festen Phase mit Hilfe von Triphosgen (BTC) gekuppelt werden sollte.

## **6. Wiederverwertbarkeit von Wang-Harz und Kaiser-Oxim sowie Entwicklung einer Methode zur Regeneration des Kaiser Oxims**

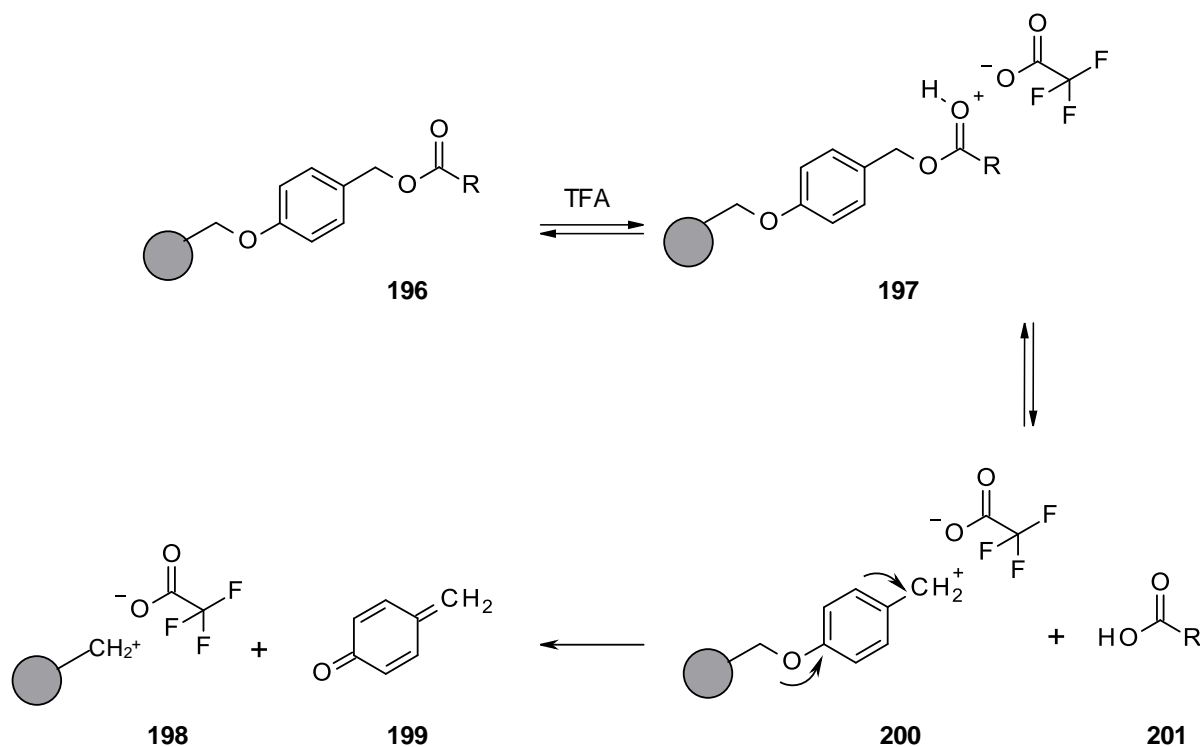
### **6.1 Wiederverwertbarkeit des Wang-Harzes**

Aufgrund des hohen Preises, sollte das Trägermaterial für Festphasensynthesen mehrfach verwendbar sein. Unter diesem Aspekt wurden sowohl das Kaiser-Oxim, als auch das Wang-Harz auf Wiederverwertbarkeit und Regenerierbarkeit untersucht.

Dazu wurde die Kapazität des Wang-Harzes nach Abspaltung des Produktes unter Standardbedingungen (TFA/DCM 1:1) gemessen.

Entsprechend der Bedingungen der effektivsten 8x1-Festphasensynthese (Abschnitt IV.4.2, Tabelle 17, S. 68) wurden je drei Äquivalente Baustein (Fmoc-*N*-MeLeu), DIC, DMAP und HOBt in THF zum Wang-Harz (in THF gequollen) gegeben und 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Beladung wurde nach einer und nach zwei Kupplungsprozeduren unter Zuhilfenahme eines UV-VIS-Spektralphotometers nach Literaturbedingungen bestimmt.<sup>201</sup> Beide Messungen ergaben eine Beladung von 0.26 mmol/g. Das Ergebnis wurde mit Hilfe von HPLC-ESI-MS-Spektren qualitativ bestätigt. Daraus folgt, dass die Kapazität des Wang-Harzes auf etwa ein Viertel der ursprünglichen Kapazität gesunken ist. Dieser Rückgang ist auf eine Zerstörung des Linkers bei der wasserfreien Abspaltung mit TFA zurückzuführen (Schema 25).

**Schema 25:** Wahrscheinlicher Mechanismus der Substratspaltung vom Wang-Harz unter wasserfreien, stark sauren Bedingungen:



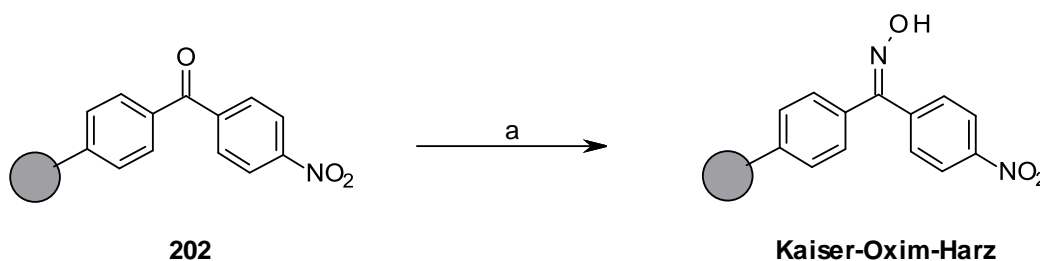
Dies wird durch Giraud *et al.*<sup>212</sup> bestätigt. Die Arbeitsgruppe fand nach Abspaltung eines Trp-haltigen Peptides vom Wang-Harz in Position 2 des Indols einen *p*-Hydroxybenzylsubstituenten, der nur auf Verbindung **199** zurückgeführt werden kann. Zur Überprüfung des Einflusses von Wasser auf die Zerstörung des Linkers wurde der Versuch unter der Zugabe mehrerer Äquivalente Wasser wiederholt, ohne jedoch eine höhere Wiederbeladbarkeit zu erreichen.

Demnach ist aufgrund der Zerstörung des Linkers eine Wiederverwendung ebenso wie eine Regeneration nicht möglich.

## 6.2 Wiederverwertbarkeit des Kaiser-Oxims und Entwicklung einer Methode zur Regeneration

Das Kaiser-Oxim-Harz besitzt einen völlig anderen Spaltmechanismus. Während beim Wang-Harz der substratbindende Benzylester durch eine Fragmentierung gespalten wird, findet die Spaltung des Oxim-Esters mit Hilfe von Nucleophilen statt. So bleibt der Linker funktionsfähig und kann erneut beladen werden. Die Beladungskapazität nimmt allerdings durch unvermeidbare Hydrolysereaktionen zum korrespondierenden Keton **202** ebenfalls ab, so dass die Wiederverwendbarkeit des Harzes begrenzt ist. Da die Synthese des Kaiser-Oxims nach De-Grado und Kaiser<sup>84,213</sup> ebenfalls dieses Keton (**202**) als Synthesestufe enthält, liegt es allerdings nah, den folgenden Syntheseschritt auch zur Regeneration von gebrauchtem Kaiser-Oxim-Harz einzusetzen. Dazu wird das Keton-haltige Kaiser-Oxim-Harz in einer Lösung von Hydroxylaminhydrochlorid und Pyridin in Ethanol für 8.5 h unter Rückfluss gekocht und anschließend filtriert und gewaschen (Schema 26).<sup>84</sup>

**Schema 26:** Reaktion zur Regeneration von gebrauchtem Kaiser-Oxim Harz:



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (a) 2 M Hydroxylamin / 1.2 M Pyridin in Ethanol, 80 °C, 8.5 h.

Diese Bedingungen wurden in mehreren Experimenten sowohl auf gebrauchtes, als auch auf mittels Kaliumpermanganat sowie Ammoniumpersulfat zerstörtes Oxim-Harz angewendet (Tabelle 22).

Die Beladungen der Kaiser-Oxim-Harz-Proben wurden nach Immobilisierung von Fmoc-Leu mittels Fmoc-Titration, beziehungsweise nach der Beladung mit Boc-Leu mittels Pikrinsäuretitration gemäß Literaturverfahren bestimmt.<sup>192,201</sup>

**Tabelle 22:** Versuche zur Methodenentwicklung für die Regeneration von Kaiser-Oxim-Harz.<sup>214</sup>

Zustand des Kaiser-Oxims	Fmoc-Titration <sup>201</sup> (UV-Bestimmung)	Pikrinsäure-Titration <sup>192</sup> (UV-Bestimmung)
Neu [mmol/g]	0.66	0.63
Gebraucht [mmol/g]	0.46	0.49
Gebraucht und regeneriert [mmol/g]	0.65	0.65
Spaltung mit KMnO <sub>4</sub> [mmol/g]	0.09	0.08
Reaktiviert nach KMnO <sub>4</sub> [mmol/g]	0.15	0.14
Spaltung mit (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> [mmol/g]	0.37	0.38
Reaktiviert nach (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> [mmol/g]	0.53	0.53

Zum Vergleich der Regenerationsversuche wurde auch die Beladung von neuem und einmal verwendetem Harz bestimmt. Wie in Tabelle 22 deutlich erkennbar ist, nimmt die Beladung des Harzes durch die Verwendung als Syntheseträgermaterial ab. Darüber hinaus ist aus der Tabelle ersichtlich, dass die Beladung durch das beschriebene Regenerationsverfahren vollständig wiederhergestellt wird. Das Regenerationsverfahren erhöht sogar die Beladung von Kaiser-Oxim, das zuvor mit starken Oxidationsmitteln wie Kaliumpermanganat oder Ammoniumpersulfat behandelt worden war. Damit stellt das entwickelte Verfahren eine effektive und leicht durchführbare Methode zur Regeneration von gebrauchtem Kaiser-Oxim-Harz dar. Durch diese Methode kann das Kaiser-Oxim-Harz nahezu unbegrenzt wiederverwendet werden. Dies stellt neben der Möglichkeit zur zyklisierenden Abspaltung des Substrates einen weiteren großen Vorteil dieses Harzes dar.<sup>214</sup>

## 7. Biologische Aktivität und Konformationsuntersuchungen der synthetisierten PF1022-Analoga

### 7.1 Biologische Aktivität der synthetisierten PF1022-Analoga

Die anthelmintische Aktivität der mittels Festphasensynthese synthetisierten PF1022-Analoga **171**, **178** und **179** wurde im Rahmen einer Kooperation mit der Bayer Animal Health GmbH ermittelt. Getestet wurden die Derivate *in vitro* an adulten Parasiten *Nippostrongylus brasiliensis* nach literaturbekannten Verfahren (Tabelle 23).<sup>38,215</sup> Aufgrund der engen strukturellen



**Tabelle 23:** Ergebnisse der *in vitro* Untersuchungen der Derivate **171**, **178** und **179** am Parasiten *Nippostrongylus brasiliensis*:

Verbindung	Aktivität	
	bei 10 ppm [%]	bei 1 ppm [%]
<b>1</b>	100	100
<b>2</b>	100	100
<b>171</b>	84	84
<b>178</b>	100	84
<b>179</b>	100	35

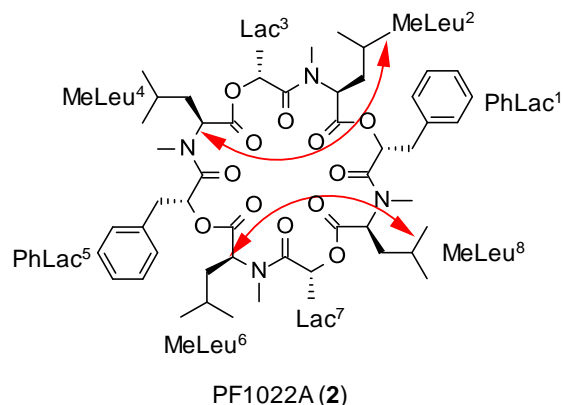
Verwandtschaft zum PF1022A (**2**) war bei den Derivaten **171** und **178** eine anthelmintische Aktivität zu verzeichnen. Bei Derivat **179** hingegen wirkte sich die strukturelle Veränderung durch die Einführung des *N*-Me-Val anstelle eines *N*-MeLeu, so deutlich aus, dass bei einer Wirk-

stoffkonzentration von 1 ppm lediglich eine biologische Aktivität von 35% vorlag. Insgesamt sind sowohl PF1022A (**2**) als auch Emodepsid (**1**) wirkungsstärker. Beide Verbindungen zeigen bei 1 ppm noch die volle Wirkung.

## 7.2 Konformationsuntersuchungen der synthetisierten PF1022-Analoga

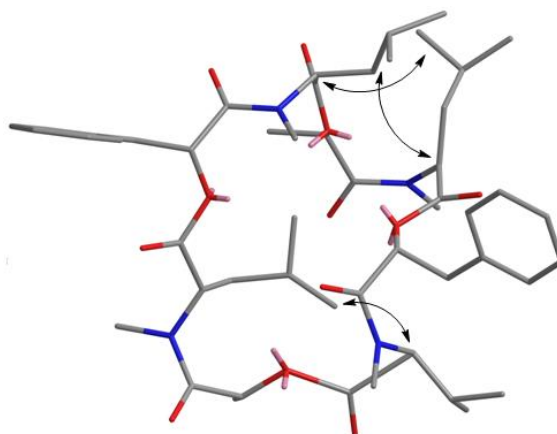
Eine seit langem diskutierte Frage ist die der „Biologisch aktiven Konformation“ des PF1022A (**2**). Die Struktur von PF1022A (**2**) wurde ausführlich mit Hilfe von Röntgen-Kristallstrukturanalyse<sup>71</sup> und NMR-Spektroskopie studiert. Die Kristallstrukturen eines aus Methanol erhaltenen PF1022A-Kristalls (monoclinisch,  $P 2_1$ ) sowie aus einem in Aceton gezüchteten Kristall (orthorhombisch,  $P 2_12_12_1$ ), waren nahezu identisch. Beide zeigten eine *cis*-Amidbindung zwischen *N*-Methyl-*L*-Leucin und *D*-Milchsäure. Die NMR-Untersuchungen ergaben, dass PF1022A (**2**) in Lösung ( $CDCl_3$ ) in Form einer 3:1-Mischung aus zwei Konformeren vorliegt. Während das Hauptisomer eine unsymmetrische Konformation besitzt, kann dem Minderisomer eine symmetrische Konformation zugewiesen werden, bei der alle vier Amidbindungen *trans* konfiguriert sind.<sup>8</sup> Bei der unsymmetrischen Konformation liegt eine Amidbindung zwischen (*R*)-Lac<sup>3</sup> und (*S*)-MeLeu<sup>2</sup> *cis* konfiguriert vor (Abb. 35). Daraus resultiert, dass die Seitenketten von MeLeu<sup>2</sup> und MeLeu<sup>4</sup> in unmittelbare Nähe zueinander gezwungen werden. Dieser Effekt kann durch NOE's in 2D-NOESY-NMR-Spektren verifiziert werden (Abbildung 35). Die resultierenden NOE's konnten zwischen MeLeu<sup>4</sup>H<sub>α</sub> und MeLeu<sup>2</sup>CH<sub>3</sub>H<sub>δ</sub> beziehungsweise zwischen MeLeu<sup>6</sup>H<sub>α</sub> und MeLeu<sup>8</sup>-CH<sub>3</sub>H<sub>δ</sub> beobachtet werden. Letzterer demonstriert, dass die Seitenkette von MeLeu<sup>8</sup> in das makrozyklische Ringsystem hineingefaltet ist.<sup>8</sup>

**Abb. 35:** NOE's zur Bestimmung der asymmetrischen Konformation von PF1022A (**2**):



Die NOE's sind Abstandsabhängig und können nur bei wechselwirkende Protonen beobachtet werden, deren räumlicher Abstand zwischen 2 und 5 Å liegt.<sup>216,217,218</sup> Zur Visualisierung der gemessenen NOE's ist in Abbildung 36 die dreidimensionale Struktur von PF1022V (**179**) in der PF1022A-(**2**)-analogen unsymmetrischen Konformation abgebildet. Die beobachteten NOE's sind durch die abgebildeten Pfeile zwischen den wechselwirkenden Protonen visualisiert. Deutlich zu erkennen ist, dass die Seitenkette von einem MeLeu-Baustein in das makrozyklische Ringsystem hineingefaltet ist. Dadurch entsteht ein kurzer Abstand zwischen der MeLeu-C<sub>δ</sub>H<sub>3</sub>-Gruppe und dem H-α des MeVal der Verbindung **179**, der einem starken NOE entspricht. Dieser wurde im NOESY-NMR-Spektrum ebenso beobachtet, wie die schwachen NOE-Signale zwischen den α-H-Atomen und den δ-H-Atomen der übrigen MeLeu-Bausteine.

**Abb. 36:** Dreidimensionale Struktur von PF1022V (**179**) in der asymmetrischen Konformation (Näherung mittels ChemBio3D Ultra 11.0 (Camebridge Soft) ermittelt. Lösungsumgebung = Vakuum):



Die für die unsymmetrische Konformation charakteristischen NOE's sind mit Hilfe der abgebildeten Pfeile visualisiert.

Die dem PF1022A (**2**) entsprechende unsymmetrische Konformation wurde mittels NOESY-NMR-Spektroskopie für die synthetischen Cyclooctadepsipeptide **171**, **178** und **179** nachgewiesen. Diese Konformation liegt bei den Verbindungen **171** und **179** mehrheitlich vor, während bei Verbindung **178** gleich große Anteile beobachtet wurden (Tabelle 24).

**Tabelle 24:** Verhältnis der Konformere der Cyclooctadepsipeptide **2**, **171**, **178** und **179** in Lösung (CDCl<sub>3</sub>).

Verbindung	Konformerengemisch	
	unsymmetrisch	symmetrisch
<b>2</b>		3:1
<b>171</b>		2:1
<b>178</b>		1:1
<b>179</b>		4.5:1

## V Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Methoden zur Festphasensynthese der Cyclooctadepsipeptide PF1022A (**2**) und Emodepsid (**1**) entwickelt. Die Verfahren unterscheiden sich durch das verwendete Trägermaterial und die eingesetzten Bausteine. Zum einen wurde eine Methode entwickelt, bei der, ausgehend von einzelnen Bausteinen, eine schrittweise depsipeptidkettenaufbauende Festphasensynthese (8x1-Synthese) zu den linearen Vorstufen von Emodepsid (**1**) bzw. PF1022A (**2**) erfolgte. Diese wurden in Lösung unter Hochverdünnung<sup>74</sup> zyklisiert. Alternativ wurde eine Festphasensynthese erarbeitet, die auf Fragmentkupplungen von Didepsipeptidbausteinen beruht (4x2-Synthese). Eingesetzt wurde einerseits das preisgünstige und stabile Wang-Harz und andererseits das labilere, aber auch wiederverwendbare Kaiser-Oxim-Harz. Während sich das Kaiser-Oxim für eine 17-stufige 8x1-Festphasensynthese von PF1022A (**2**) aus einzelnen Bausteinen als zu empfindlich erwies, wurde mit Hilfe der kürzeren 4x2-Methode aus Fragmentkupplungen, nach Optimierung der Amidkupplungsbedingungen, eine Gesamtausbeute von 30% über neun Stufen, einschließlich einer zyklisierenden Abspaltung, erreicht. Für Emodepsid (**1**) ergab sich eine Gesamtausbeute von 45%. Das Kaiser-Oxim ließ sich nach der Festphasensynthese vollständig regenerieren.

Parallel wurde die 4x2-Synthese auch am Wang-Harz untersucht. Die Synthese wurde für PF1022A (**2**) in einer Gesamtausbeute von 20-25% und für ein Derivat (**179**) mit erhöhter sterischer Hinderung bei der Kupplung des dritten Bausteins (*N*-Me-Leu-PhLac) an *N*-Me-Val in einer Gesamtausbeute von 16% durchgeführt. Über die 8x1-Synthese am Wang-Harz wurde PF1022A (**2**) nach Optimierung der Esterbindungsbedingungen in einer Gesamtausbeute von 13-16% über 17 Stufen erhalten. Dieses Ergebnis ist gleichbedeutend mit einer durchschnittlichen Ausbeute von 89% pro Stufe. Somit ließen sich auch die problematischen Esterbindungsknüpfungen an der festen Phase erfolgreich durchführen. Das fertige PF1022A (**2**) wurde mittels BOP-Cl unter Hochverdünnungsbedingungen<sup>74</sup> ausgehend vom Rohprodukt der linearen Vorstufe **149** nach beiden Methoden der Festphasensynthese, in sehr guten Ausbeuten hergestellt. Im Anschluss an die Entwicklung der 8x1-Synthese wurden zehn Derivate nach dieser Methode synthetisiert. Abgesehen von den PF1022-Analoga **1**, **171**, **178** und **179** wurden mit den Verbindungen **172-177** Bassianolid-Derivate hergestellt, deren Synthese ausschließlich Kupplungen von sterisch anspruchsvollen Bausteinen enthält. Während sich die linearen Vorstufen der PF1022-Derivate **171**, **178** und **179** in guten Gesamtausbeuten (12-27%) herstellen ließen, konnten die linearen Vorstufen der Derivate **1** und **172-177** lediglich

mit einem Anteil von 2-3% Ausbeute nachgewiesen werden. Optimierungen mit einer Vielzahl von Kupplungsreagenzien ergaben, dass BTC (Triphosgen) für Amidkupplungen an der festen Phase am besten geeignet ist, während die besten Ausbeuten in Lösung mit BOP-Cl erhalten wurden. Durch diese Optimierungsarbeiten sollte es in Zukunft möglich sein, die bisherigen Ausbeuten deutlich zu steigern.

In einem weiteren Teil der vorliegenden Arbeit wurden zwei breit anwendbare enantioselektive Synthesemethoden für Arylmilchsäuren entwickelt. Dabei handelt es sich zum einen um ein biotechnologisches Redoxsystem aus zwei Enzymen (*D*-LDH und FDH) mit Kofaktoregeneration. Zum anderen wurde eine Rh-DIPAMP (**112**) katalysierte, enantioselektive Hydrierung bei niedrigem Druck eingesetzt. Bei den enzymatischen Verfahren wurde ein kontinuierliches und ein Batch-Membranreaktorverfahren untersucht. Bei der enantioselektiven Hydrierung wurden die Übergangsmetallkatalysatoren Rh-DuPhos (**111**), Rh-DIPAMP (**112**) und Ru-BINAP (**113**) verwendet. Über die enzymatische Methode ließen sich die  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **77a**, **77c** und **77e-j** in Gesamtausbeuten bis zu 44% und exzellenten Enantiomerenüberschüssen bis zu 99% herstellen. Die bei den Synthesen von den Verbindungen **77b** und **77d** auftretenden Probleme sind auf die Empfindlichkeit der  $\alpha$ -Oxocarbonsäuren zurückzuführen. Diese Verbindungen waren allerdings mit Hilfe der übergangsmetallkatalysierten Synthesemethode zugänglich. Über diese Syntheseroute wurden die Derivate **77a-f** und **77h-j** in Gesamtausbeuten bis zu 53% und ebenfalls exzellenten Enantiomerenüberschüssen bis zu 99% hergestellt. Die  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77g** war über diese Methode nicht zu erhalten, da der Pyridin-Rest als Katalysatorgift wirkt.<sup>161-165</sup> Abgesehen von diesen Substratspezifitäten stellen beide Synthesen einen effizienten Zugang zu enantiomerenreinen Arylmilchsäuren dar, wobei der enzymatischen Variante bei größeren Ansätzen der Vorzug zu geben ist.

## VI Experimenteller Teil

### 1. Allgemeine Angaben

#### 1.1 Verwendete Geräte und Reagenzien

Wenn nicht anders beschrieben, wurden die eingesetzten Reagenzien käuflich erworben und direkt eingesetzt. Alle Reaktionen wurden, mit Ausnahme der Hydrierungen zur Benzylesterspaltung und den Reaktionen in wässrigen Lösungen, in getrockneten Lösungsmitteln unter Schutzgasatmosphäre (Argon oder Stickstoff) durchgeführt. THF und Et<sub>2</sub>O wurden über LiAlH<sub>4</sub> getrocknet und anschließend destilliert. MeCN, DCM, DMF, DBU, TEA, DIEA, Piperidin, Toluol und Pyridin wurden entweder über CaH<sub>2</sub> getrocknet und anschließend destilliert oder durch Filtrieren über eine kurze Säule mit basischem Aluminiumoxid getrocknet. MeOH wurde mit Magnesium unter Rückfluss gekocht und anschließend destilliert. Die Dünnschichtchromatographie wurde mit Kieselgelplatten (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 250 µm) der Firma Merck durchgeführt. Die Detektion erfolgte entweder durch UV-Licht (254 nm) oder/und durch Eintauchen in KMnO<sub>4</sub>-Lösung und anschließendem Erhitzen mit einer Heißluftpistole. Freie Aminofunktionen wurden mit Ninhydrin-Lösung und anschließendem Erhitzen angefärbt. Die präparative Säulenchromatographie wurde mit Kieselgel 60 (0.04-0.063 mm) der Firma Macherey Nagel durchgeführt. Die verwendeten Lösungsmittel wurden zuvor am Rotationsverdampfer destilliert. Infrarot-Spektren wurden entweder an einem JASCO FT/IR-4200 oder an einem Nicolet Protégé 460 Spectrometer E.S.P. gemessen. Die GC-MS-Spektren wurden mit einem Shimadzu GC-17A und daran gekoppeltem Shimadzu GCMS-QP 5050 A aufgenommen. Als Ionisationsmethode wurde EI verwendet. Für die GC wurden die Kapillarsäulen FS-OV-1-CB 0.25 (l = 25 m) und Optima-1-Accent-0.25 (l = 25 m) verwendet. HPLC-MS-Spektren wurden mit den Geräten Varian 500 IonTrap (LC-ESI-MS System, Säule: RP18, 5 µm) oder Bruker MicrOTOF (LC-ESI-MS System) auf einer C<sub>18</sub>-Säule der Firma MZ Analysentechnik (PerfectSil Target ODS-3 HD 5µm, 100\*4.6 mm) aufgenommen. Für die hochauflösenden Massenspektren wurde das Bruker MicrOTOF verwendet. Die Enantiomerentüberschüsse wurden mittels HPLC bestimmt. Die verwendeten Säulen (Chiracel OD-H und Chiralpak IA) wurden mit dem Laufmittelsystem Heptan/Isopropanol bzw. Heptan/Ethanol betrieben. Die Polarimetrie wurde mit Hilfe eines Perkin-Elmer 241 Polarimeters durchgeführt. Als Referenz wurde MeOH und als Lichtquelle Na-Licht verwendet. Die NMR-Spektren wurden mit einem Bruker Avance 400 (Messfrequenzen: <sup>1</sup>H = 400.13 MHz, <sup>13</sup>C = 100.62 MHz) – Gerät bzw. einem Bruker Avance III 600 (Messfrequenzen: <sup>1</sup>H = 600.13 MHz, <sup>13</sup>C = 150.90 MHz) gemessen. Die chemischen Verschiebungen sind in δ-Werten angegeben, bezogen auf das Lösemittel als internem Standard. Die Spinmultiplizität wird mit den folgenden Symbolen angegeben: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), ψ-s (pseudo-Singulett), ψ-d (pseudo-Dublett), ψ-t (pseudo-Triplett), ψ-q (pseudo-Quartett), dd (Dublett vom Dublett), dt (Dubletts vom Triplet) und m (Multipllett). Kopplungskonstanten beziehen sich, wenn nicht anders aufgeführt, auf zwei Protonen und sind in Hz angegeben. Die Nummerierung der Moleküle dient der anschaulichen Zuordnung der Signale und erfolgte nicht nach IUPAC.

## 1.2 Abkürzungen

ATP, Adenosintri-phosphat; BEP, 2-Brom-1-ethylpyridiniumtetrafluorborat; BINAP, 2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl; Bn, Benzyl; Boc, *tert*-Butyloxycarbonyl; BOP, Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat; BOP-Cl, Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphorsäurechlorid; Bta, 2-Benzothiazolyl; BTC, Bis(trichlormethyl)carbonat; BTFFH, Fluordipyrrolidinocarbeniumhexafluorophosphat; CH, Cyclohexan; COD, Cyclooctadien; DBU, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en; DCC, Dicyclohexylcarbodiimid; DCM, Dichlormethan; DEAD, Azodicarbonsäurediethylester; DFET, 4-Di(4,6-[2,2,2-trifluoroethoxy]-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholiniumtetrafluorborat; DHP, 3,4-Dihydro-2*H*-pyran; DIC, Diisopropylcarbodiimid; DIEA, *N,N*-Diisopropylethylamin; DIP-Cl, (-)-*B*-Chlorodiisopinocampheylboran; DIPAMP, 1,2-Ethandiyl-bis[(*o*-methoxyphenyl)-phenylphosphin]; DMAP, 4-Dimethylaminopyridin; DMF, *N,N*-Dimethylformamid; DMPU, 1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1*H*)-pyrimidinon; DMSO, Dimethylsulfoxid; Dpm, Diphenylmethyl; EDCI, 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Methylidid; EDTA, Ethylendiamintetraessigsäure; EE, Ethylacetat; Et, Ethyl; EtDuPhos, 1,2-Bis[2,5-diethylphospholano]benzol; Et<sub>2</sub>O, Diethylether; EtOH, Ethanol; FDH, Formiatdehydrogenase; Fmoc, Fluorenylmethoxycarbonyl; HATU, *N,N,N',N'*-Tetramethyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroniumhexafluorophosphat; Hca, 2-Hydroxycapronsäure; Hiv, 2-Hydroxyisovaleriansäure; HOAc, Essigsäure; HOAt, 1-Hydroxy-7-azabenzotriazole; HOBt, 1-Hydroxybenzotriazol; *i*Bu, *iso*-Butyl; IPA, Isopropylalkohol; Ipc, *iso*-Pinocampheyl; *i*Pr, *iso*-Propyl; Lac, Milchsäure; LDA, Lithiumdiisopropylamid; LDH, Laktatdehydrogenase; Leu, Leucin; Me, Methyl; MeCN, Acetonitril; MEM, Methoxyethoxymethyl; MeOH, Methanol; MBn, (4-Morpholinylphenyl)methyl; Morph, Morpholin; MorphPhLac, (4-Morpholinophenyl)milchsäure; MSE, Methylsulfonylethyl; MTBE, Methyl-*tert*-butylether; NADH, Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid; *n*Bu, *n*-Butyl; NMM, *N*-Methylmorpholin; NOE, Nuclear Overhauser Effect; Ph, Phenyl; PhLac, Phenylmilchsäure; PyBroP, Brom-tris-pyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat; ROE, Rotating-Frame Nuclear Overhauser Effect; Rt, Raumtemperatur; *s*Bu, *sek*-Butyl; Sg, Schutzgruppe; *t*Bu, *tert*-Butyl; *t*BuOH, *tert*-Butanol; TEA, Triethylamin; TFA, Trifluoressigsäure; THF, Tetrahydrofuran; THP, Tetrahydropyranyl; *p*-TsOH, *para*-Toluolsulfonsäure; TPP, Triphenylphosphin; Tris, Tris(hydroxymethyl)-aminomethan.

## 2. Verbindungen aus Kapitel IV

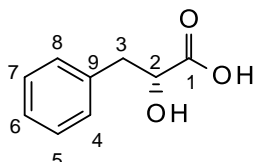
### 2.1 Festphasensynthesen von PF1022A, Emodepsid, verschiedener PF1022-Analoga und Synthese ihrer zugrunde liegenden Bausteine

#### 2.1.1 Herstellung der Grundbausteine für die 8x1 Festphasensynthese

##### ***D*-Phenylmilchsäure (66, SEB-061, FSM-104)**

*D*-Phenylalanin (30.0 g, 0.18 mol) wird in 2 M Schwefelsäure (202 mL) gelöst, auf 0 °C abgekühlt und anschließend innerhalb von 2 h tropfenweise mit Natriumnitrit (21.7 g, 0.31 mol, in 44 mL Wasser) versetzt. Danach wird die Mischung 6 h bei 0 °C gerührt und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Im nächsten Schritt wird erneut auf 0 °C abgekühlt und die Mischung langsam mit 2 M Schwefelsäure (45 mL) versetzt. Dann wird

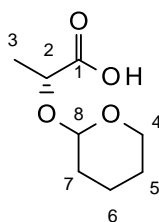
eine weitere Portion Natriumnitrit-Lösung (10.9 g, 0.16 mol, in 22 mL Wasser) innerhalb von 2 h tropfenweise zugesetzt. Darauf wird die Mischung 6 h bei 0 °C und danach über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Im ersten Aufarbeitungsschritt wird die Reaktionsmischung mit Diethylether versetzt bis ein weißer Niederschlag sichtbar wird. Die organische Phase wird separiert und die wässrige Phase wird mit NaCl gesättigt. Anschließend wird die wässrige Phase fünfmal mit 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeeengt. Das Rohprodukt wird in Diethylether kristallisiert, mit Cyclohexan gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Reaktion liefert Verbindung **66** als weißen kristallinen Feststoff in einer Ausbeute von 62% (18.5 g, 0.11 mol).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 1.28 (m, 1H, 3-H), 1.48 (m, 1H, 3-H), 1.71 (m, 1H, OH), 2.73 (m, 1H, 2-H), 5.58 (m, 1H, 4-8-H), 5.66 (d, J = 4.1 Hz, 4H, 4-8H), 8.82 (s, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 41.6 (3-C), 72.8 (2-C), 127.5, 129.2, 130.2, 130.4, 130.5 (4-8-C), 138.8 (9-C), 177.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 120 (35) [M-CO<sub>2</sub>H]<sup>-</sup>, 165 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 165.0555 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub><sup>-</sup>: 165.0551. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.45 (CH:EE, 1:1+10% Essigsäure). **IR** (Film): 3448 (O-H), 1734 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 122-124 °C (lit.<sup>128</sup>, 123-124 °C). **[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>**: +26.6° (c = 3.80 Aceton), lit.<sup>128</sup> +26.7° (c = 3.80, Aceton).

#### (2R)-2-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)propansäure (**74**, SEB-028)

Eine Lösung aus Methyl ester **95** (2.07 g, 11.00 mmol) in 1 M THF/LiOH (5:3 aq., 50 mL) wird 5 h bei 0 °C gerührt. Dann wird die Reaktionsmischung mittels Salzsäure (10% HCl in Wasser) auf pH = 3 eingestellt und viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die kombinierten Extrakte werden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach einengen und trocknen im Vakuum wird die THP-geschützte D-Milchsäure (**74**) als klare farblose Flüssigkeit (1.64 g, 9.40 mmol, 85%) erhalten. Eine weitere Reinigung ist nicht erforderlich.

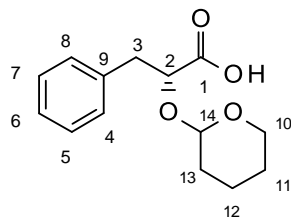


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.45 (d, J = 7.1 Hz, 1H, 3-H), 1.50 (d, J = 7.1 Hz, 2H, 3-H), 1.55 (m, 2H, 5-H), 1.70 (m, 2H, 6-H), 1.83 (m, 2H, 7-H), 3.52 (dd, J = 5.1, 5.6 Hz, 1H, 4-H), 3.86 (m, 1H, 4-H), 4.25, 4.43 (2q, J = 7.1 Hz, 1H, 2-H), 4.65, 4.73 (dd, t, J = 2.5, 3.1, 3.6 Hz, 1H, 8-H), 9.76 (s, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 19.1 (3-C), 19.6 (5-C), 25.3 (6-C), 30.3 (7-C), 62.8 (4-C), 70.1 (2-C), 98.0 (8-C), 178.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 89 (15) [M-THP]<sup>-</sup>, 101 (11) [M-MeAcOH]<sup>-</sup>, 173 (100) [M-H]<sup>-</sup>, 174 (11) [M]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 197.0785 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 197.0790. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.07 (CH:EE, 1:1+0.1% TEA). **IR** (Film): 3103 (O-H), 1735 (C=O) cm<sup>-1</sup>.



**(R)-3-Phenyl-2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)propansäure (75, SEB-037)**

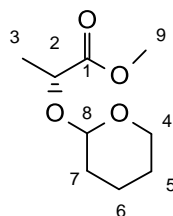
Zu einer Lösung aus (*D*)-PhLac **66** (6.71 g, 40.38 mmol) in DCM (200 mL), wird 1 Äq. 3,4-Dihydro-2*H*-pyran (3.43 g, 40.38 mmol) und eine Lösung aus *p*-TsOH (605.16 mg, 3.15 mmol) und Pyridin (251.65 mg, 3.15 mmol) in DCM (10 mL) gegeben. Die Mischung wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung unter vermindertem Druck eingeengt und der Rückstand in Diethylether (100 mL) gelöst. Die Lösung wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeengt. Das Rohprodukt wird im Vakuum getrocknet und kann ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt werden. Die Reaktion liefert das Produkt **75** als weißen pastösen Feststoff in einer Ausbeute von 100% (10.11 g, 40.21 mmol).



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.48 (m, 2H, 11-H), 1.60 (m, 2H, 12-H), 1.67 (m, 2H, 13-H), 3.00 (m, 1H, 3-H), 3.06, 3.27, 3.44, 3.95 (4m, 2H, 10-H), 3.19 (m, 1H, 3-H), 4.19, 4.79 (dd, t, J = 2.5, 4.1, 2.5 Hz, 1H, 14-H), 4.27, 4.52 (2dd, J = 3.6, 5.60 Hz, 1H, 2-H), 7.22-7.31 (m, 5H, 4-8-H), 10.00 (s, 1H, COOH) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 20.4 (11-C), 24.8 (12-C), 32.0 (13-C), 38.5 (3-C), 61.0 (10-C), 74.2 (2-C), 96.5 (14-C), 126.7, 128.2, 128.3, 129.5, 129.8 (4-8-C), 137.0 (9-C), 176.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 184 (17) [M-Ph]<sup>+</sup>, 251 (4) [M+H]<sup>+</sup>, 268 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 273.1097 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 273.1103. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.24, 0.55 (CH:EE, 1:1+0.1% TEA). **IR (Film):** 3437 (O-H), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(2R)-2-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)propansäuremethylester (95, SEB-041)**

Dihydropyran (8.98 g, 105.66 mmol) wird bei 50 °C innerhalb einer Stunde zu einer Lösung aus Methyl (*D*)-laktat (10.00 g, 96.06 mmol) und *p*-TsOH (165.41 mg, 0.96 mmol) in Toluol (100 mL) zugetropft. Nach zwei-stündigem Rühren bei dieser Temperatur wird die Lösung mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeengt. Die anschließende Kugelrohrdestillation (8.9x10<sup>-2</sup> mbar, 70 °C) liefert den THP-Ether **95** (16.84 g, 89.47 mmol, 93%) als farblose Flüssigkeit.



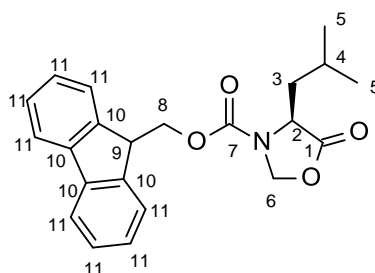
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.34 (d, J = 7.1 Hz, 1H, 3-H), 1.39 (d, J = 7.1 Hz, 2H, 3-H), 1.49 (m, 2H, 5-H), 1.64 (m, 2H, 6-H), 1.79 (m, 2H, 7-H), 3.39 (m, 1H, 4-H), 3.68 (s, 3H, 9-H), 3.77 (m, 1H, 4-H), 4.15, 4.37 (2q, J = 7.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.64 (m, 1H, 8-H), ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 18.7 (3-C), 19.1 (5-C), 25.3 (6-C), 30.4 (7-C), 51.7 (9-C), 62.3 (4-C), 69.9 (2-C), 97.5 (8-C), 173.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 206 (4) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 211 (100) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 211.0941 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 211.0946. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.38, 0.51 (CH:EE, 1:1+0.1% TEA). **IR (Film):** 1754 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Oxazolidine 93, 159, 162 und 165**

Die Fmoc-Aminosäure (**92**, **158**, **161** bzw. **164**) wird in Toluol (200-400 mL) vorgelegt und mit *p*-Toluolsulfonsäure (4.52 g, 23.53 mmol) sowie Paraformaldehyd (45.28 g, 1.49 mol) versetzt. Die Lösung wird 24 h am Wasserabscheider gekocht. Anschließend wird die Lösung abgekühlt und dreimal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung ausgeschüttelt. Dann wird die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

**(S)-4-Isobutyl-5-oxo-oxazolidin-3-carbonsäure-9H-fluoren-9-yl-methylester (93, SEB-091)**

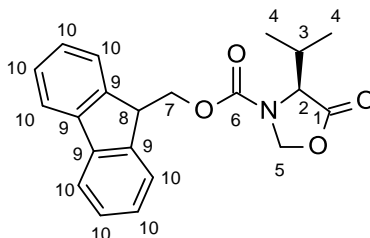
Edukt: Fmoc-*L*-Leucin (80.00 g, 0.22 mol). Die Reaktion liefert eine Ausbeute von 81.89 g (0.22 mol, 100%) der Verbindung **93** als weißen Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.84 (m, 6H, 5-H), 1.33 – 1.87 (m, 3H, 3-H, 4-H), 4.25 (m, 2H, 8-H), 4.70 (m, 2H, 9-H, 2-H), 5.08 (m, 2H, 6-H), 7.21 – 7.79 (m, 8H, 11-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.4 (5-C), 6.9, 21.0, 23.1 (3-C), 21.0, 23.1, 24.7 (4-C), 37.2 (8-C), 47.2 (9-C, 2-C), 56.4 (9-C, 2-C), 67.6 (6-C), 120.0, 124.7, 124.8, 125.0, 125.1, 127.1, 127.1, 127.7 (11-C), 141.4, 143.9 (10-C), 156.5, 157.1 (7-C), 177.6 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 144 (7) [M-iPr, -9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 179 (100) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 366 (21) [M+H]<sup>+</sup>, 388 (26) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 388.1519 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>NNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 388.1519. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.52 (CH:EE, 1:1). **IR** (KBr): 1799 (C=O), 1721 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 68-70 °C.

**(S)-4-Isopropyl-5-oxo-oxazolidin-3-carbonsäure-9H-fluoren-9-yl-methylester (159, SEB-127)**

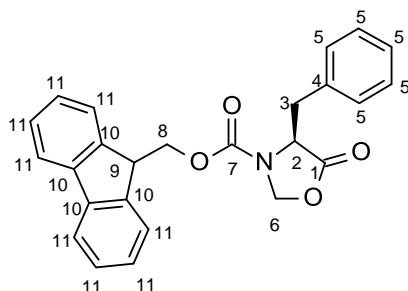
Edukt: Fmoc-*L*-Valin (24.75 g, 72.85 mmol). Die Reaktion liefert Verbindung **159** in einer quantitativen Ausbeute (25.63 g, 72.85 mmol) als weißen Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.70-1.16 (m, 6H, 4-H), 1.61–1.89, 2.20-2.45 (2m, 1H, 3-H), 3.63-3.78, 3.89-4.19 (2m, 1H, 2-H), 4.26 (m, 1H, 8-H), 4.71 (m, 2H, 7-H), 5.04, 5.29-5.47 (2m, 2H, 5-H), 7.36, 7.44 (2m, 4H, 10-H), 7.57, 7.80 (2d, J = 7.6, 7.8 Hz, 4H, 10-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 17.7 (4-C), 21.5, 30.9 (3-C), 47.2 (8-C), 59.9 (2-C), 67.4 (7-C), 78.2 (5-C), 119.0, 124.7, 124.8, 125.0, 125.1, 127.1, 127.1, 129.0 (10-C), 141.5, 143.3 (9-C), 153.4 (6-C), 171.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 179 (100) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 352 (19) [M+H]<sup>+</sup>, 374 (19) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 374.1359 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>NNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 374.1363. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.50 (CH:EE, 1:1). **IR** (KBr): 1801 (C=O), 1716 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 73-76 °C

**(S)-4-Benzyl-5-oxo-oxazolidin-3-carbonsäure-9H-fluoren-9-yl-methylester (162, SEB-129)**

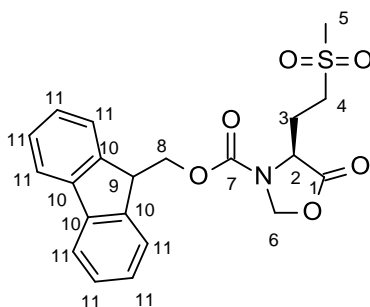
Edukt: Fmoc-*L*-Phenylalanin (25.00 g, 63.88 mmol). Die Reaktion liefert Verbindung **162** in einer Ausbeute von 99% (25.31 g, 63.36 mmol) als hellgelben pastösen Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.46, 2.82 (2m, 1H, 3-H), 3.21, 3.45 (2m, 1H, 3-H), 4.05, 4.53 (2m, 1H, 2-H), 4.19, 5.17 (2m, 1H, 6-H), 4.30 (m, 1H, 9-H), 4.75, 5.00 (2m, 2H, 8-H), 6.77, 7.40-7.49, 7.55-7.73, 7.81-7.83 (4m, 8H, 11-H), 7.20-7.32 (m, 5H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 35.4 (3-C), 47.2 (9-C), 56.2 (2-C), 67.4 (8-C), 77.8 (6-C), 120.1, 124.4, 125.1, 125.2, 127.2, 127.4, 127.8, 127.9, 128.0, 128.2, 128.6, 129.0, 129.5, 129.8 (5-C, 11-C), 134.3, 137.8, 141.4, 143.4 (4-C, 10-C), 152.3 (7-C), 171.7 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 179 (100) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 400 (77) [M+H]<sup>+</sup>, 417 (13) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 422 (40) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 422.1358 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>21</sub>NNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 422.1363. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.61 (CH:EE, 1:1). **IR** (KBr): 1813 (C=O), 1703 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(S)-4-Methylsulfonylethyl-5-oxo-oxazolidin-3-carbonsäure-9H-fluoren-9-yl-methylester (165, SEB-128)**

Edukt: Fmoc-*L*-Methioninsulfon (5.00 g, 12.27 mmol). Die Reaktion liefert Verbindung **165** in einer Ausbeute von 84% (4.29 g, 10.33 mmol) als weißen Schaum.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.87-2.22, 2.25-2.49 (2m, 2H, 3-H), 2.25-2.49, 2.52-2.88 (2m, 2H, 4-H), 2.88 (m, 3H, 5-H), 3.52-3.78, 4.22-4.38 (2m, 1H, 2-H), 4.27 (m, 1H, 9-H), 4.73 (m, 2H, 8-H), 5.09, 5.32-5.47 (2m, 2H, 6-H), 7.20, 7.28, 7.35, 7.46, 7.57, 7.81 (6m, 8H, 11-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.5 (3-C, 4-C), 23.8 (3-C), 40.6 (5-C), 42.0 (4-C), 47.1 (2-C), 47.2 (9-C), 53.1 (2-C), 67.7 (8-C), 75.3, 79.1 (6-C), 119.7, 120.2, 124.5, 125.3, 127.3, 128.1, 127.2, 129.0 (11-C), 137.9, 141.5, 143.2 (10-C), 152.9 (7-C), 171.2 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 179 (28) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 416 (10) [M+H]<sup>+</sup>, 433 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 438 (10) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 438.0982 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>NNaO<sub>6</sub>S<sup>+</sup>: 438.0982. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.16 (CH:EE, 1:1). **IR** (KBr): 1800 (C=O), 1714 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

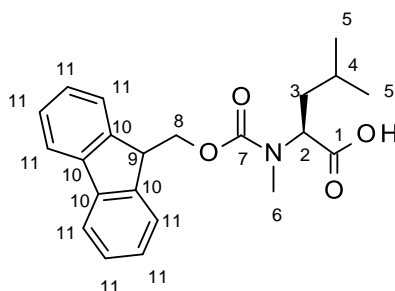
**Allgemeine Vorschrift zur Synthese der N-methylierten Fmoc-Aminosäuren 76, 160, 163 und 166**

Das Oxazolidin (**93**, **159**, **162** bzw. **165**) und AlCl<sub>3</sub> (2 Äq.) werden in 250 mL trockenem DCM vorgelegt und bei Raumtemperatur mit Triethylsilan (2 Äq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 60 min bei Raumtemperatur

gerührt. Anschließend wird die Lösung in einen Scheidetrichter überführt und dreimal mit je 100 mL 1 M HCl ausgeschüttelt. Trocknen der organischen Phase über Natriumsulfat, filtrieren, einengen und Trocknen im Vakuum liefert das Rohprodukt.

**(S)-2-[(9H-Fluoren-9-yl-methoxycarbonyl)-methyl-amino]-4-methylpentansäure (76, SEB-092)**

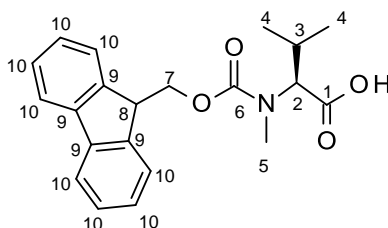
Edukt: Oxazolidin **93** (11.44 g, 31.31 mmol). Die Umkristallisation des Rohproduktes aus Cyclohexan/Dichlormethan 8:2 liefert 87% (10.01 g, 27.23 mmol) des weißen kristallinen Feststoffs **76**.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.94–1.03 (m, 6H, 5-H), 1.47–1.79 (m, 3H, 3-H, 4-H), 2.91 (s, 3H, 6-H), 4.24 (m, 1H, 9-H), 4.46 (m, 2H, 8-H), 4.62, 4.98 (2m, 1H, 2-H), 7.28–7.44 (m, 4H, 11-H), 7.57 (m, 2H, 11-H), 7.79 (m, 2H, 11-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.8, 21.1, 23.0 (5-C), 6.8, 37.2 (3-C), 24.6 (4-C), 30.2 (6-C), 47.2 (9-C), 56.3 (2-C), 67.6 (8-C), 119.9, 124.7, 124.8, 125.0, 125.1, 127.1, 127.1, 127.6 (11-C), 141.3, 143.8 (10-C), 156.4, 157.1 (7-C), 177.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 146 (7) [M-iPr, -9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 179 (7) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 368 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 385 (16) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 390.1681 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 390.1676. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.16 (CH:EE, 1:1+0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3427 (O-H), 1754 (C=O), 1655 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 112–114 °C, (lit.<sup>126</sup> 113–116 °C). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -19.5° (c = 1.00 DMF), lit.:<sup>126</sup> -19.5° (c = 1.00, DMF).

**(S)-2-[(9H-Fluoren-9-yl-methoxycarbonyl)-methyl-amino]-3-methylbutansäure (160, SEB-133)**

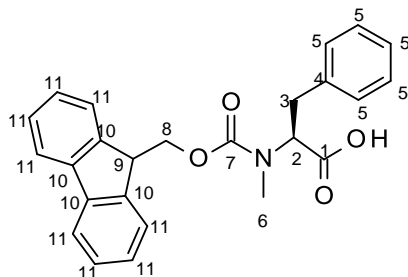
Edukt: Oxazolidin **159** (24.80 g, 70.58 mmol). Die Reaktion liefert das Produkt **160** in einer Ausbeute von 92% (22.93 g, 64.88 mmol) als weißen Feststoff, der ohne Reinigung weiter umgesetzt wird.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.81, 0.93, 1.08 (3d, J = 6.7 Hz, 5H, 4-H), 0.98 (m, 1H, 4-H), 2.13, 2.28 (2m, 1H, 3-H), 2.93 (s, 3H, 5-H), 4.16, 4.39 (2m, 1H, 2-H), 4.29 (m, 1H, 8-H), 4.51 (m, 2H, 7-H), 7.33, 7.42, 7.63, 7.79 (4m, 8H, 10-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 19.0, 19.7, 19.9 (4-C), 27.5 (3-C), 31.6 (5-C), 47.3 (8-C), 64.0, 65.3 (2-C), 67.7, 67.9 (7-C), 120.0, 124.9, 127.1, 127.7, 127.7 (10-C), 141.4, 143.8, (9-C), 157.6 (6-C), 174.7 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 179 (100) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 354 (90) [M+H]<sup>+</sup>, 371 (10) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 376 (37) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 376.1519 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 376.1519. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.18 (CH:EE, 1:1). **IR** (KBr): 3428 (O-H), 1737 (C=O), 1651 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 183–186 °C, (lit.<sup>126</sup> 185–187 °C). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -31.2° (c = 1.00 DCM), lit.:<sup>126</sup> -31.2° (c = 1.00, DCM).

**(S)-2-[(9H-Fluoren-9-yl-methoxycarbonyl)-methyl-amino]-3-phenylpropansäure (163, SEB-136)**

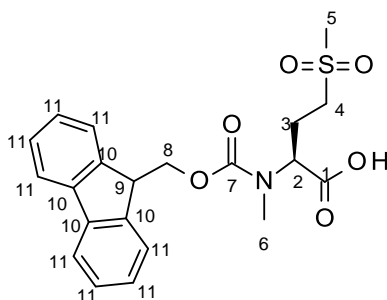
Edukt: Oxazolidin **162** (8.12 g, 20.33 mmol). Die Reaktion liefert Verbindung **163** nach säulen-chromatographischer Reinigung (CH:EE, 3:1) in einer Ausbeute von 92% (7.48 g, 18.63 mmol) als weißen Schaum.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.83, 2.85 (2s, 3H, 6-H), 3.17, 3.44 (m,dd, J = 4.9, 14.3 Hz, 2H, 3-H), 4.18, 4.25 (2m, 1H, 9-H), 4.41, 4.59 (2m, 2H, 8-H), 4.65, 5.01 (2m, 1H, 2-H), 7.01 (d, J = 6.4 Hz, 1H, 11-H), 7.32 (m, 6H, 5-H, 11-H), 7.44-7.55 (m, 4H, 5-H, 11-H), 7.79 (m, 2H, 11-H), 10.06 (s-br, 1H, COOH) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 32.3 (6-C), 34.6, 34.8 (3-C), 47.0, 47.2 (9-C), 60.5, 60.7 (2-C), 67.4, 67.8 (8-C), 119.9, 124.6, 124.7, 124.8, 125.0, 126.3, 126.8, 127.0, 127.1, 127.6, 128.7, 128.8 (5-C, 11-C), 136.9, 141.2, 141.3, 141.7, 143.9 (4-C, 10-C), 156.0, 156.7 (7-C), 175.8, 176.0 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 179 (59) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 402 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 419 (21) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 424.1519 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 424.1519. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.10 (CH:EE, 1:1). **IR** (KBr): 3431 (O-H), 1708 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt:** 67-71 °C. [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: -39.5° (c = 1.00 DMF), lit.:<sup>126</sup> -39.6° (c = 1.00, DMF).

**(S)-2-[(9H-Fluoren-9-yl-methoxycarbonyl)-methyl-amino]-4-methylsulfonylbutansäure (166, SEB-134)**

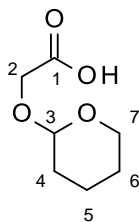
Edukt: Oxazolidin **165** (4.26 g, 10.25 mmol). Die Reaktion liefert Verbindung **166** in einer Ausbeute von 88% (3.76 g, 9.00 mmol) als weißen Feststoff, der ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wird.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 2.05, 2.25, 2.32, 2.49 (4m, 2H, 3-H), 2.82, 2.97 (2s, 3H, 5-H), 2.82, 2.97, 3.15 (3m, 2H, 4-H), 4.29 (m, 1H, 9-H), 4.40, 4.66 (2m, 1H, 2-H), 4.55 (m, 2H, 8-H), 7.35, 7.42, 7.65 (3m, 6H, 11-H), 7.83 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 11-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 23.1 (3-C), 32.4, 40.7 (5-C, 6-C), 47.3 (9-C), 52.2 (4-C), 59.1, 59.6 (2-C), 68.8 (8-C), 119.6, 120.9, 121.0, 125.9, 126.0, 128.2, 128.3, 128.8, 128.9 (5-C, 11-C), 142.7, 145.3 (10-C), 158.5 (7-C), 178.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 179 (47) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 196 (100) [M-Fmoc]<sup>+</sup>, 418 (75) [M+H]<sup>+</sup>, 435 (37) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 440 (46) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 440.1139 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NNaO<sub>6</sub>S<sup>+</sup>: 440.1138. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.10 (EE + 0.5% Essigsäure). **IR** (KBr): 3448 (O-H), 1733 (C=O), 1647 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt:** 176-179 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -9.0° (c = 1.00 DMF).

**2-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)essigsäure (151, SEB-126)**

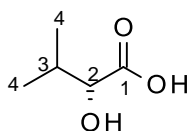
Glykolsäure **150** (5.00 g, 66 mmol) wird in 80 mL DCM gelöst. Anschließend wird die Lösung mit 1 Äq. 3,4-Dihydro-2H-pyran und einer Lösung aus 0.08 Äq. *p*-TsOH und 0.08 Äq. Pyridin in 10 mL DCM versetzt. Die Reaktionsmischung wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird die Mischung unter reduziertem Druck eingeeengt und der Rückstand in 100 mL Diethylether gelöst. Es wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeeengt. Das Rohprodukt wird im Vakuum getrocknet und kann ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt werden. Die Reaktion liefert das Produkt **151** als farblose Flüssigkeit in einer Ausbeute von 94% (9.89 g, 62 mmol).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.59 (m, 3H, 4-H, 5-H, 6-H), 1.74-1.91 (m, 3H, 4-H, 5-H, 6-H), 3.54, 3.90 (2 m, 2H, 7-H), 4.23, 4.28 (2 s, 2H, 2-H), 4.72, 4.97 (2 m, 1H, 3-H), 9.38 (s, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 19.6, 25.3, 30.8 (4-C, 5-C, 6-C), 60.1, 64.8, (2-C), 62.7 (7-C), 98.8 (3-C), 176.7 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 159 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 159.0660. [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 159.0663. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.35, 0.72 (CH:EE, 1:1+0.5% TEA). **IR** (Film): 1747 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R)-2-Hydroxy-iso-valeriansäure (153, SEB-124)**

*D*-Valin (25.0 g, 0.21 mol) wird in 2 M Schwefelsäure (235 mL) gelöst, auf 0 °C abgekühlt und innerhalb von 2 h tropfenweise mit einer Natriumnitrit-Lösung (40%, 52 mL) versetzt. Anschließend wird 6 h bei 0 °C und weiter über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird erneut auf 0 °C abgekühlt und langsam mit 60 mL 2 M Schwefelsäure versetzt. Dann wird innerhalb von 2 h weitere Natriumnitrit-Lösung (40%, 26 mL) zugegeben. Anschließend wird 6 h bei 0 °C und weiter über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit Diethylether versetzt bis das ausgefallene Rohprodukt gerade gelöst ist (ca. 200 mL). Anschließend wird die organische Phase abgetrennt, die wässrige Phase mit Natriumchlorid gesättigt und fünfmal mit Ethylacetat (120 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird über Nacht im Vakuum getrocknet. Dann wird das Rohprodukt mit Hexan vermischt und durch kräzen mit dem Glasstab kristallisiert. Die weißen Kristalle werden mit wenig Hexan gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Produkt **153**, ein weißer, bei Raumtemperatur (25 °C) schmelzender kristalliner Feststoff, wird in einer Ausbeute von 62% (15.2 g, 128.67 mmol) erhalten.

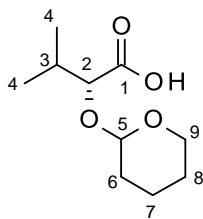


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.92, 1.05 (2d, J = 6.8 Hz, 6H, 4-H), 2.15 (m, 1H, 3-H), 4.16 (d, J = 3.6 Hz, 1H, 2-H), 7.54 (s-br, 2H, OH, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 15.8, 18.7 (4-C), 31.9 (3-C), 75.2 (2-C), 179.0 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 117 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 117.0559 [M-H]<sup>-</sup>,

berechnet für  $C_5H_9O_3^-$ : 117.0557. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.29 (CH:EE, 1:1+0.5% Essigsäure). **IR** (Film): 3419 (O-H), 1716 (C=O)  $cm^{-1}$ . **[ $\alpha$ ]<sup>22</sup><sub>D</sub>**: -13.7° (c = 1.11, Chloroform), lit.:<sup>219</sup> -13.7° (c = 1.11, Chloroform).

**(2R)-3-Methyl-2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)butansäure (154, SEB-132)**

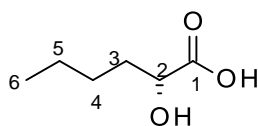
Zu einer Lösung von Carbonsäure **153** (20.0 g, 169.3 mmol) in Dichlormethan (300 mL), werden Dihydropyran (1 Äq.) und eine Lösung aus *p*-Toluolsulfonsäure (0.08 Äq.) und Pyridin (0.08 Äq.) in DCM zugegeben. Anschließend wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Dann wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Diethylether (100 mL) gelöst. Die Lösung wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Die Reaktion liefert Verbindung **154** in quantitativer Ausbeute (34.3 g, 169.30 mmol) als schwach gelbe viskose Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.91, 0.96, 0.99, 1.02, 1.05, 1.06 (6d, J = 6.8 Hz, 6H, 4-H), 1.53-1.88 (m, 6H, 6-H, 7-H, 8-H), 2.17 (m, 1H, 3-H), 3.52, 3.87 (2m, 2H, 9-H), 4.10, 4.15 (2d, J = 3.7, 4.7 Hz, 1H, 2-H), 4.56, 4.72, 4.97 (3m, 1H, 5-H), 9.95 (s-br, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 15.8, 16.5, 17.4, 18.7 (4-C), 19.0, 19.2, 25.1, 25.3, 28.9, 30.4 (6-C, 7-H, 8-H), 31.4, 31.8 (3-C), 62.2, 62.4 (9-C), 74.9, 78.3 (2-C), 94.8, 97.2, 102.6 (5-C), 177.1, 178.2 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 201 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 201.1131 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für  $C_{10}H_{17}O_4^-$ : 201.1132. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.30, 0.55 (CH:EE, 1:1+0.1% TEA). **IR** (Film): 3443 (O-H), 1732 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R)-2-Hydroxycapronsäure (156, SEB-125)**

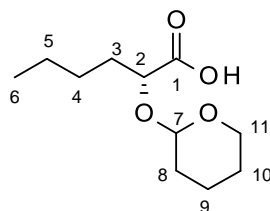
*D*-Norleucin (15.0 g, 0.11 mol) wird in 2 M Schwefelsäure (127.2 mL) gelöst, auf 0 °C abgekühlt und innerhalb von 2 h tropfenweise mit einer Natriumnitrit-Lösung (40%, 27.8 mL) versetzt. Anschließend wird 6 h bei 0 °C und weiter über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird erneut auf 0 °C abgekühlt und langsam mit 2 M Schwefelsäure (28.5 mL) versetzt. Dann wird innerhalb von 2 h weitere Natriumnitrit-Lösung (40%, 13.9 mL) zugegeben. Anschließend wird 6 h bei 0 °C und weiter über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Daraufhin Diethylether zugegeben und die organische Phase wird abgetrennt. Die wässrige Phase wird mit Natriumchlorid gesättigt und fünfmal mit Ethylacetat (60 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird über Nacht im Vakuum getrocknet. Dann wird das Rohprodukt mit Hexan vermischt und durch krazen mit dem Glasstab im Eisbad kristallisiert. Die weißen Kristalle werden mit wenig Hexan gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Reaktion liefert das Produkt **156** als weißen, bei Raumtemperatur (20 °C) schmelzenden kristallinen Feststoff mit einer Ausbeute von 68% (10.24 g, 77.48 mmol).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.92 (t, J = 7.1 Hz, 3H, 6-H), 1.40 (m, 4H, 4-H, 5-H), 1.71, 1.86 (2m, 2H, 3-H), 4.28 (dd, J = 4.3, 7.6 Hz, 1H, 2-H), 6.87 (s-br, 2H, OH, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 13.7 (6-C), 22.3, 26.7 (4-C, 5-C), 33.9 (3-C), 70.6 (2-C), 179.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 131 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 131.0713 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub><sup>-</sup>: 131.0714. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.42 (CH:EE, 1:1+ 1% Essigsäure). **IR** (Film): 3388 (O-H), 3194 (O-H), 1732 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: -0.6° (c = 1.00, Chloroform), lit.:<sup>220</sup> -0.6° (c = 1.00, Chloroform).

### (2R)-2-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)hexansäure (157, SEB-131)

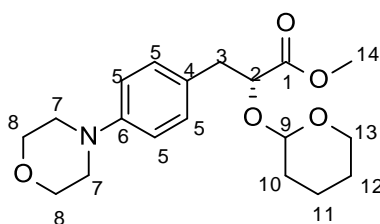
Zu einer Lösung von α-Hydroxycarbonsäure **156** (1.00 g, 7.57 mmol) in 80 mL getrocknetem Dichlormethan, werden Dihydropyran (1 Äq.) und eine Lösung aus *p*-Toluolsulfonsäure (0.08 Äq.) und Pyridin (0.08 Äq.) in DCM zugegeben. Anschließend wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Dann wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Diethylether (100 mL) gelöst. Die Lösung wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeeengt. Die Reaktion liefert das gewünschte Produkt **157** in einer Ausbeute von 92% (1.50 g, 6.94 mmol) als schwach gelbes Öl.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.94 (m, 3H, 6-H), 1.33-1.64 (m, 8H, 4-H, 5-H, 9-H, 10-H), 1.75, 1.86 (2m, 4H, 3-H, 8-H), 3.55, 3.88 (2m, 2H, 11-H), 4.27, 4.37 (2m, 1H, 2-H), 4.60, 4.74, 4.98 (3m, 1H, 7-H), 8.32 (s-br, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 13.8, 13.9 (6-C), 19.1, 19.7, 22.3, 22.4, 25.3, 25.5, 26.9, 27.4 (4-C, 5-C, 9-H, 10-H), 30.4, 30.8, 31.9, 32.6, 33.9 (3-C, 8-C), 62.4, 62.9 (11-C), 70.2, 73.9 (2-C), 94.7, 97.6, 102.1 (7-C), 177.5, 179.0 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 215 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 215.1293 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 215.1289. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.27, 0.63 (CH:EE, 1:1+0.1% TEA). **IR** (Film): 3435 (O-H), 1747 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### (R)-3-(4-Morpholinophenyl)-2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)propansäuremethylester (169, SEB-138)

Der Methylester **167** (2.94 g, 9.05 mmol), *p*-Toluolsulfonsäure (0.10 Äq.) und Pyridin (0.10 Äq.) werden in 100 mL getrocknetem ACN vorgelegt. Bei 40°C wird langsam 3,4-Dihydro-2H-pyran (1 Äq.) zugetropft. Anschließend wird 24 h bei dieser Temperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Ethylacetat versetzt und mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wird anschließend mit NaCl gesättigt und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 3:1 + 0.5% TEA) liefert 2.38 g (6.80 mmol, 75%) des THP-Ethers **169** als farblose viskose Flüssigkeit.

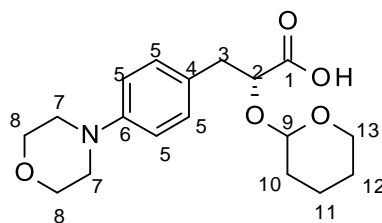




**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.35, 1.52, 1.62, 1.74, 1.85 (5m, 6H, 10-12-H), 2.98, 3.06 (2m, 2H, 3-H), 3.09, 3.25, 3.44, 3.92 (4m, 2H, 13-H), 3.15 (m, 4H, 7-H, 8-H), 3.72, 3.73 (2s, 3H, 14-H), 3.89 (m, 4H, 7-H, 8-H), 4.20, 4.47 (2m, 1H, 2-H), 4.41, 4.75 (2m, 1H, 9-H), 6.89 (m, 2H, 5-H), 7.16 (d, J = 8.4 Hz, 1H, 5-H), 7.22 (d, J = 8.4 Hz, 1H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 18.2, 19.0, 25.2, 25.3, 26.9 (10-12-C), 38.3, 38.4 (3-C), 49.6, 49.8 (7-C, 8-C), 51.8 (14-C), 60.9, 62.3 (13-C), 66.8 (7-C, 8-C), 74.5, 78.6 (2-C), 96.2, 99.8 (9-C), 115.7, 115.8, 130.2, 130.5 (5-C), 149.9 (4-C, 6-C), 172.8 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 350 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 372 (17) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 372.1781 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NNaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 372.1781. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.41 (CH:EE, 1:1+0.5% TEA). **IR** (Film): 1750 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### (R)-3-(4-Morpholinophenyl)-2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)propansäure (**170**, SEB-137)

Zur Esterspaltung wird der Methylester **169** (2.38 g, 6.80 mmol) bei 0 °C in THF/ LiOH<sub>(aq)</sub> gelöst. Nach 20 h Rühren bei langsamem Auftauen von 0 °C auf Raumtemperatur wird die wässrige Reaktionsmischung zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Dann wird die wässrige Phase eingeeengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Die Reaktion liefert das Produkt **170** in quantitativer Ausbeute (2.32g, 6.8 mmol) als weißen Schaum.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 1.23, 1.46, 1.61, 1.75, 1.90 (5m, 6H, 10-12-H), 2.80, 3.01 (2m, 2H, 3-H), 2.91, 3.05, 3.36, 3.99 (4m, 2H, 13-H), 3.07 (m, 4H, 7-H, 8-H), 3.82 (m, 4H, 7-H, 8-H), 4.03, 4.17 (2m, 1H, 2-H), 4.18, 4.73 (2m, 1H, 9-H), 6.90 (m, 2H, 5-H), 7.19 (d, J = 8.5 Hz, 1H, 5-H), 7.26 (d, J = 8.5 Hz, 1H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 18.0, 19.2, 22.8, 25.1, 25.3, 30.0, 30.1 (10-12-C), 38.8, 38.9 (3-C), 49.8, 50.0 (7-C, 8-C), 60.0, 62.5 (13-C), 66.6 (7-C, 8-C), 77.4, 81.6 (2-C), 95.4, 100.7 (9-C), 115.6, 129.8, 130.1, 130.9 (5-C), 131.6, 149.9 (4-C, 6-C), 179.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 336 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 359 (10) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 336.1808 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 336.1805. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.05 (CH:EE, 1:1+0.5% TEA). **IR** (Film): 3431 (O-H), 1612 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

## 2.1.2 Aufbau der Cyclooctadepsipeptide **2**, **171**, **178** und **179** am Wang Harz mittels 8x1 Festphasensynthese

### Ankuppung des 1. Bausteins an die feste Phase

Wang-Harz (500 mg, 1.07 mmol/g Beladungskapazität) wird in THF (1.0 mL/100 mg Harz) suspendiert und zum Aufquellen 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird abgesaugt und das gequollene Harz mit einer Lösung aus PhLac (**75**) (3 Äq.), DIC (3 Äq.), HOBt (3 Äq.) und DMAP (3 Äq.) in THF (1.0 mL/100 mg Harz) versetzt. Nach der Zugabe wird die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Lösungsmittel entfernt und das Harz jeweils dreimal (jeweils 3 min) mit 10 mL DCM, Aceton und DCM gewaschen und dann im Vakuum bis zur Massenkonstanz getrocknet. Der Vorgang wird einmal wiederholt.

### Spaltung der THP-Schutzgruppe

Das Harz (500 mg) wird mit 10 mL einer Lösung aus *p*-TsOH in DCM/MeOH 97:3 (5 mg/mL) 1 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird 3 min mit derselben Lösung gewaschen. Der Vorgang wird wiederholt. Dann wird das Harz je dreimal (je 3 min) mit 10 mL DCM, Aceton und DCM gewaschen und im Vakuum getrocknet.

### Allgemeine Prozedur für Esterkupplungen

Das Harz wird in THF (1.0 mL/100 mg Harz) suspendiert und zum Aufquellen 30 min geschüttelt. Anschließend wird abgesaugt und mit je 3 Äquivalenten Fmoc-*L-N*-Me-Aminosäure (**76** bzw. **160**), DIC, HOBt, und DMAP in THF (1.0 mL/100 mg Harz) versetzt. Nach der Zugabe wird die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Lösungsmittel entfernt und das Harz jeweils dreimal (je 3 min) mit 10 mL DCM, Aceton und DCM gewaschen und dann im Vakuum bis zur Massenkonstanz getrocknet. Der Vorgang wird einmal wiederholt.

### Spaltung der Fmoc-Schutzgruppe

Das in THF gequollene Harz (500 mg) wird in eine Lösung aus 25% Piperidin in THF (10.0 mL) suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann wird filtriert und jeweils sechsmal (je 3 min) mit 10 mL DCM, MeOH und DCM gewaschen. Dann wird das Harz im Vakuum bis zur Massenkonstanz getrocknet.

### Amidkupplungen

Das in THF gequollene Harz wird mit einer Lösung aus  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure (**74**, **75** bzw. **151**) (3 Äq.), HATU (2 Äq.) und DIEA (3 Äq.) in THF (1.0 mL/100 mg Harz) versetzt und bei Raumtemperatur 16 h geschüttelt. Dann wird das Harz filtriert und jeweils dreimal (je 3 min) mit 10 mL DCM, Aceton und DCM gewaschen und im Vakuum getrocknet. Der Vorgang wird einmal wiederholt.

### Testabspaltung zur Reaktionskontrolle

Harzproben von 5 mg werden mit 0.5 mL TFA/DCM 1:1 versetzt und 1 h geschüttelt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit 500  $\mu$ L ACN versetzt. Die überstehende Lösung wird mittels HPLC-ESI-MS analysiert.

### Farbtests zur Reaktionskontrolle

#### Bromphenolblau-Test

Eine Mikrospatelspitze Bromphenolblau wird in 20 mL DCM gelöst. Zur Durchführung des Tests wird eine geringe Anzahl an Beads mit wenigen Tropfen der Bromphenolblaulösung versetzt. Eine auftretende Blaufärbung innerhalb von fünf Minuten zeigt das Vorhandensein freier Aminofunktionen an.

#### Kaiser-Test

Eine geringe Anzahl an Beads wird in einem HPLC-Vial mit jeweils 2-3 Tropfen der Lösungen 1-3 versetzt. Das Vial wird 5 min geschüttelt und auf 100°C erhitzt. Nach 2 min Erhitzen weist eine Blaufärbung der Beads auf

das Vorhandensein freier Aminofunktionen hin. (Lösung 1: 500 mg Ninhydrin in 10 mL EtOH, Lösung 2: 80 mg Phenol in 20 mL EtOH, Lösung 3: 2 mL 0.001 mol/L KCN-Lösung wird mit Pyridin auf 100 mL verdünnt).<sup>221</sup>

### Bestimmung des Beladungsgrades eines Harzes mittels Fmoc-Titration

Die Bestimmung der Beladung erfolgt nach folgenden Schritten:

- 10-15 mg eines mit einer Fmoc-Aminosäure beladenen, im Vakuum getrockneten, Harzes werden in ein HPLC-Vial überführt.
- Dazu werden 3 Tropfen Piperidin und 7 Tropfen Dichlormethan gegeben und das Gemisch für 30 Minuten geschüttelt.
- Anschließend wird die Lösung in einen 25 ml Kolben filtriert und das Harz zweimal mit DCM nachgewaschen.
- Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.
- 1-2 mL *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (1:1) werden hinzugegeben, die Mischung kurz mit Ultraschall behandelt und anschließend lyophilisiert.
- Der erhaltene Feststoff wird in 10 mL DCM gelöst, mit einer Transferpipette 1 ml in einen 10 mL Messkolben gegeben und mit DCM aufgefüllt.
- Die Lösung wird in eine UV-Küvette überführt und die Extinktion bei 301 nm ( $\epsilon = 7800$ ), 290 nm ( $\epsilon = 5800$ ) und 267 nm ( $\epsilon = 17500$ ) gemessen.
- Die Beladung wird über folgende Gleichung berechnet:

$$x \left( \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Extinktion} * 100000}{\epsilon * m(\text{mg})}$$

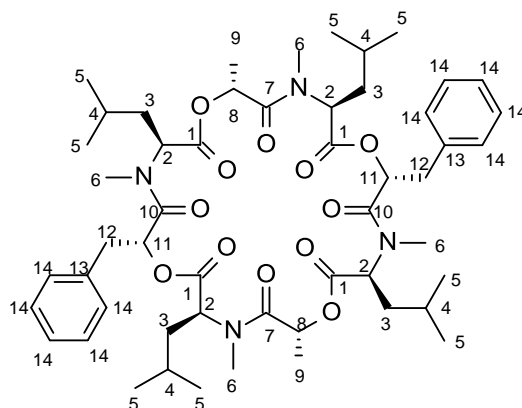
und ergibt sich aus den Mittelwerten der drei ermittelten Beladungen  $x(\text{mmol/g})$ .<sup>201</sup>

### Allgemeine Vorschrift für die Spaltung der linearen Octadepsipeptide vom Wang-Harz

Zur Spaltung des Produktes von der festen Phase wird das Harz mit 10 mL TFA/DCM 1:1 versetzt und 1.5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Gemisch verfärbt sich violett. Anschließend wird filtriert und achtmal mit 10 mL DCM gewaschen. Die DCM-Phase wird zweimal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingengt. Die erhaltenen Rohprodukte werden sofort ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

### Cyclooctadepsipeptid PF1022A (2, SEB-060)

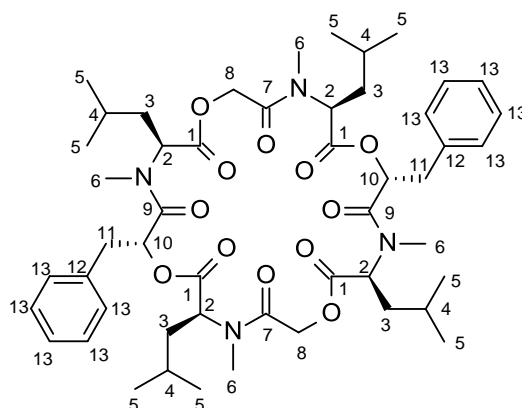
Octadepsipeptid **149** (196.8 mg, Gehalt: 16%, 31.5 mg, 32.6  $\mu\text{mol}$ ) wird in 200 mL trockenem Dichlormethan unter Argonatmosphäre gelöst, und bei 0 °C gerührt. Anschließend wird DIEA (65.3 mg, 86.0  $\mu\text{L}$ , 504.0  $\mu\text{mol}$ ), sowie BOP-Cl (61.6 mg, 242.0  $\mu\text{mol}$ ) zugesetzt. Dann wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird weiteres BOP-Cl (61.6 mg, 242.0  $\mu\text{mol}$ ) und DIEA (65.3 mg, 86.0  $\mu\text{L}$ , 504.0  $\mu\text{mol}$ ) zugesetzt und für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub> - Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingengt und über Säulenchromatographie (Toluol/IPA 20:1) gereinigt. Die Reaktion liefert 25.0 mg (26.3  $\mu\text{mol}$ , 81%, basierend auf dem Gehalt des eingesetzten Octadepsipeptids **149**) des Cyclooctadepsipeptids **2** als weißen Feststoff.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.68\text{--}0.95$  (m, 15H, 5-H, 9-H), 1.15–1.75 (m, 12H, 3-H, 4-H), 1.28 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H, 9-H), 2.68, 2.77, 2.80, 2.85, 2.91 (5s, 12H, 6-H), 3.05 (m, 2H, 12-H), 4.41, 5.11, 5.22 (3m, 4H, 2-H), 5.01, 5.32, 5.42 (3m, 2H, 8-H), 5.52, 5.68, 5.71 (3m, 2H, 11-H), 7.20–7.35 (m, 5H, 14-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 15.5, 16.3, 16.8, (9\text{-C}), 20.4, 20.6, 20.8, 20.8, 20.9, 21.0, 23.0, 23.1, 23.2, 23.2, 23.4, 23.9, 24.2, 24.3, 24.3, 24.4, 28.9, 30.1, 30.1, 30.2, 30.3, 30.6 (4\text{-C}, 5\text{-C}, 6\text{-C}), 35.7, 36.3, 36.5, 36.6, 36.7, 36.7, 36.8, 37.1, 37.3 (3\text{-C}, 12\text{-C}), 53.0, 53.2, 53.3, 56.4 (2\text{-C}), 66.7, 67.5, 67.7 (11\text{-C}), 70.1, 70.9, 71.0 (8\text{-C}), 126.7, 126.7, 126.8, 128.1, 128.2, 128.2, 129.5 (14\text{-C}), 135.1, 135.2, 135.9 (13\text{-C}), 169.0, 169.0, 169.3, 169.5, 169.7, 170.2, 170.3, 170.7, 170.9 (1\text{-C}, 7\text{-C}, 10\text{-C})$  ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 475 (4)  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ , 950 (1)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 966 (100)  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 971 (23)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z = 971.5351$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{52}\text{H}_{76}\text{N}_4\text{NaO}_{12}^+$ : 971.5352.  **$R_f$ -Wert**: 0.21 (Toluol:IPA, 20:1). **IR** (KBr): 1739 (C=O), 1660 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

**Cyclo-((L)-MeLeu-(D)-Gly-(L)-MeLeu-(D)-PhLac-(L)-MeLeu-(D)-Gly-(L)-MeLeu-(D)-PhLac) (171, SEB-232)**

Das Rohprodukt der linearen Vorstufe von **171** (463.0 mg, Gehalt: 26.4%, 122.2 mg, 0.13 mmol) wird in 490 mL trockenem Dichlormethan gelöst. Anschließend werden der bei 0 °C rührenden Reaktionsmischung DIEA (156 mg, 206  $\mu\text{L}$ , 1.20 mmol) und BOP-Cl (148 mg, 0.58 mmol) zugesetzt. Es wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird weiteres BOP-Cl (148 mg, 0.58 mmol) und DIEA (156 mg, 206  $\mu\text{L}$ , 1.20 mmol) zugesetzt und für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, eingeeengt und über Säulenchromatographie (CH:EE, 2:1) gereinigt. Die Reaktion liefert das Produkt **171** in einer Ausbeute von 79% (94.7 mg, 0.10 mmol) als weißen Feststoff.

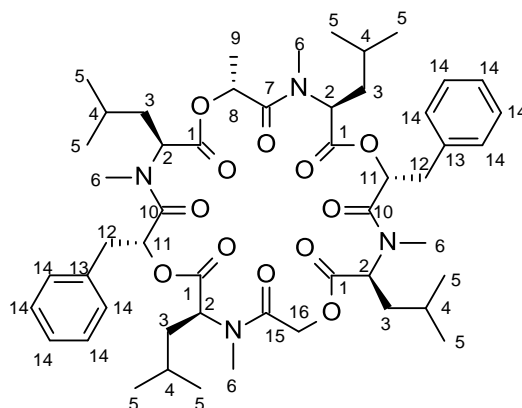


**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.84\text{--}1.11$  (m, 24H, 5-H), 1.23–1.84 (m, 12H, 3-H, 4-H), 2.78 2.85, 2.92, 2.98 (4s, 12H, 6-H), 3.15 (m, 4H, 11-H), 4.23, 5.37 (2m, 4H, 2-H), 4.46, 4.78 (2m, 4H, 8-H), 5.54, 5.75 (2m, 2H, 10-

H), 7.24-7.34 (m, 10H, 13-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 21.1, 21.2, 23.2, 24.5, 24.6, 24.9, 28.8, 29.7, 31.0$  (4-C, 5-C, 6-C), 36.7, 37.5 (3-C, 11-C), 46.2, 54.0, 54.2, 54.5, 56.3, 61.5 (2-C, 8-C), 62.8, 71.4, 72.6 (8-C, 10-C), 126.9, 127.1, 127.2, 127.3, 128.5, 128.6, 128.6, 129.4, 129.5, 129.6 (13-C), 135.2, 135.4 (12-C), 166.8, 167.3, 169.8, 170.3 (1-C, 7-C, 10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 938 (100)  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 943 (3)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z = 943.5036$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{50}\text{H}_{72}\text{N}_4\text{NaO}_{12}^+$ : 943.5039. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.38 (CH:EE, 2:1). **IR** (KBr): 1744 (C=O), 1663 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

### Cyclooctadepsipeptid PF1022W (178, SEB-178)

Das Rohprodukt der linearen Vorstufe von **178** (460 mg, Gehalt: 23%, 106 mg, 0.11 mmol) wird in trockenem DCM (480 mL) gelöst und unter Argonatmosphäre bei 0 °C gerührt. Dann wird die Lösung mit DIEA (206  $\mu\text{L}$ , 1.20 mmol) und BOP-Cl (148 mg, 0.58 mmol) versetzt und für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird mehr BOP-Cl (148 mg, 0.58 mmol) und DIEA (206  $\mu\text{L}$ , 1.20 mmol) zugegeben und das Rühren bei Raumtemperatur wurde für weiter 24 h fortgesetzt. Anschließend wird die Lösung mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wird dann säulenchromatographisch (Toluol:IPA, 40:1) gereinigt. Die Reaktion liefert reines PF1022W (57.5 mg, 61.5  $\mu\text{mol}$ , 55%) als weißen Feststoff.

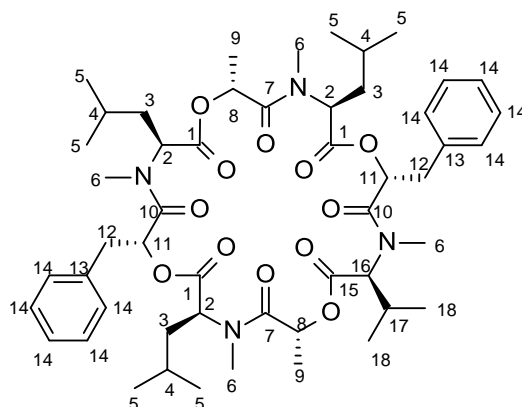


$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta = 0.86-1.01$  (m, 24H, 5-H, 9-H), 1.28-1.85 (m, 15H, 3-H, 4-H, 9-H), 2.75, 2.85, 2.87, 2.95, 3.00 (5s, 12H, 6-H), 3.13, 3.23 (2 m, 4H, 12-H), 4.60-5.06 (m, 2H, 16-H), 5.15-5.42 (m, 5H, 2-H, 8-H), 5.47-5.71 (m, 2H, 11-H), 7.27-7.39 (m, 10H, 14-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.0, 16.0$  (9-C), 21.1, 21.1, 21.2, 21.4, 22.6, 23.1, 23.2, 23.3, 24.1, 24.3, 24.5, 24.6, 25.1, 29.0, 29.3, 29.6, 30.3, 31.9 (4-C, 5-C, 6-C), 36.2, 36.4, 36.7, 37.0, 37.4, 37.6, 38.0 (3-C, 11-C), 53.9, 54.1, 54.2, 57.2, 61.2 (2-C, 16-C), 68.7, 70.4, 71.5 (8-C, 10-C), 126.9, 127.0, 127.2, 128.5, 128.5, 128.6, 129.3, 129.4, 129.5 (14-C), 135.0, 135.2 (13-C), 169.7, 170.3, 170.9, 171.0, 171.3 (1-C, 7-C, 10-C, 15-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z = 468$  (2)  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ , 952 (100)  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 957 (8)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z = 957.5188$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{51}\text{H}_{74}\text{N}_4\text{NaO}_{12}^+$ : 957.5195. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.28 (CH:EE, 1:1). **IR** (KBr): 1743 (C=O), 1655 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

### Cyclooctadepsipeptid PF1022V (179, SEB-177)

DIEA (134 mg, 1.04 mmol) und BOP-Cl (127 mg, 0.50 mmol) werden bei 0 °C zu einer Lösung der linearen Vorstufe von **179** (390.0 mg, Gehalt: 18.0%, 70.2 mg, 0.07 mmol) in DCM (400 mL) gegeben. Die Reaktion wird für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird nach erneuter Zugabe der gleichen Mengen BOPCl und DIEA für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -

Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Säulenchromatographische (CH:EE, 7:3) Reinigung des Rückstands liefert PF1022V (19.0 mg, 20.3  $\mu\text{mol}$ , 28%) als weißen Feststoff.

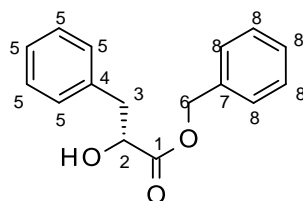


**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.66–1.08 (m, 24H, 5-H, 18-H), 1.25–1.80 (m, 15H, 4-H, 9-H, 3-H), 2.19 (m, 1H, 17-H), 2.68, 2.78, 2.82, 2.85, 2.87, 3.01, 3.07, 3.10 (8s, 12H, 6-H), 3.11, 3.17 (2m, 4H, 12-H), 4.53, 5.28–5.47 (2m, 4H, 2-H, 8-H), 4.98, 5.05, 5.10 (3 m, 1H, 16-H), 5.54, 5.65, 5.74 (3m, 3H, 8-H, 11-H), 7.21–7.34 (m, 10H, 14-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 14.3, 15.9, 16.4, 16.6, 17.4, 18.5, 19.5, 19.6, 19.8, 20.8, 20.8, 21.2, 21.3, 21.4, 21.6, 23.1, 23.2, 23.3, 23.5, 24.2, 24.5, 24.7, 25.0, 25.0, 26.9, 27.0, 28.9, 29.3, 29.7, 30.8, 31.1, 32.4 (4-C, 5-C, 6-C, 9-C, 17-C, 18-C), 36.6, 36.9, 37.4 (3-C, 12-C), 54.1, 55.0, 57.1, 61.0 (2-C, 16-C), 67.4, 68.5 (11-C), 70.8 (8-C), 126.1, 126.8, 127.1, 127.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.6, 129.5, 129.7, 129.8, 130.3 (14-C), 136.0 (13-C), 170.0, 170.6, 171.0 (1-C, 7-C, 10-C, 15-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  = 468 (1)  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ , 952 (100)  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 957 (5)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 957.5198  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{51}\text{H}_{74}\text{N}_4\text{NaO}_{12}^+$ : 957.5195.  **$R_f$ -Wert**: 0.15 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1743 (C=O), 1662 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

### 2.1.3 Herstellung der Grundbausteine für die 4x2 Festphasensynthese

#### (D)-Benzyl-3-phenyllactat (**53**, MOL-005)<sup>191</sup>

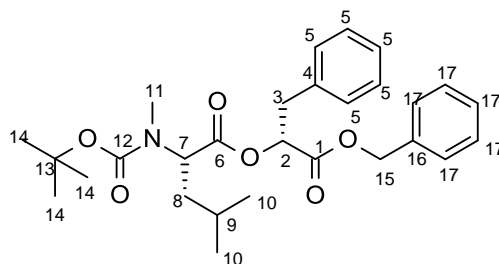
D-Phenylmilchsäure (8.3 g, 50 mmol) wird in Toluol (160 mL) dispergiert und mit Benzylalkohol (1.5 Äq.) sowie *p*-TsOH (0.01 Äq.) versetzt. Die Reaktionsmischung am Wasserabscheider zum Kochen unter Rückfluss erhitzt und 4 h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wird die Mischung mit MTBE verdünnt und mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wird mit MTBE extrahiert. Dann werden die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Zur Entfernung der Benzylalkoholüberschusses wird der Rückstand im Kugelrohr bei 120°C und  $3.5 \times 10^{-2}$  bar destilliert. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (CH/EE 3:1) gereinigt. Die Reaktion liefert 11.31 g (0.044 mol, 88%) des Benzylesters **53** als farblose Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.79 (s, 1H, OH), 2.99 (dd, J = 7.0, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.14 (dd, J = 4.7, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 4.47-4.55 (m, 1H, 2-H), 5.19-5.20 (2s, 2H, 6-H), 7.13-7.44 (m, 10H, 5-H, 8-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 40.5 (3-C), 67.3 (6-C), 71.2 (2-C), 126.8, 128.3, 128.5, 128.6, 128.6, 129.5 (5-C, 8-C), 136.0, 136.1 (4-C, 7-C), 173.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 257 (15) [M+H]<sup>+</sup>, 279 (32) [M+Na]<sup>+</sup>, 535 (9) [2M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 279.0999 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>3</sub><sup>+</sup>: 279.0997. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.16 (CH:EE, 7:1). **IR** (Film): 3436 (O-H), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### **Boc-(L)-MeLeu-(D)-PhLac-OBn (55, MOL-007)**<sup>191</sup>

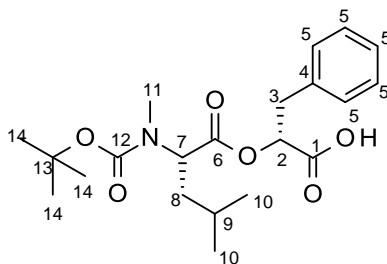
Eine Lösung aus DCC (4.46 g, 21.6 mmol) in DCM (40 mL) wird innerhalb von 20 min bei 0°C zu einer Lösung aus (D)-Phenylmilchsäurebenzylester (5.13 g, 20.0 mmol), N-Boc-N-Methyl-(L)-Leucine (4.91 g, 20.0 mmol), HOBt (2.92 g, 21.6 mmol) und DMAP (2.64 g, 21.6 mmol) in DCM (80 mL) zugetropft. Anschließend wird die Reaktion 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wird zweimal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>- und NaCl-gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (CH:EE, 7:1) gereinigt. Die Reaktion liefert das Kupplungsprodukt **55** (9.03 g, 93%) als einen weißen kristallinen Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.89 (d, J = 6.0 Hz, 6H, 10-H), 1.43 (s, 9H, 14-H), 1.49-1.61 (m, 3H, 9-H, 8-H), 2.61, 2.66 (2s, 3H, 11-H), 3.07-3.24 (m, 2H, 3-H), 4.61-4.99 (2 m, 1H, 7-H), 5.04-5.19 (m, 2H, 15-H), 5.27, 5.29 (2m, 1H, 2-H), 7.12-7.39 (2 m, 10H, 5-H, 17-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.1, 21.3 (10-C), 23.2 (9-C), 24.5, 24.8 (10-C), 28.3, 28.4 (14-C), 29.8, 30.0 (11-C), 37.3 (8-C), 37.6 (3-C), 55.6 (2-C), 56.7 (7-C), 67.1, 67.2 (15-C), 73.3, 73.3 (13-C), 127.0, 128.4, 128.4, 128.5, 128.6, 129.4, 129.6 (5-C, 17-C), 135.0, 135.5 (4-C, 16-C), 169.0, 171.7 (1-C, 6-C, 12-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 384 (100) [M-Boc]<sup>+</sup>, 484 (43) [M+H]<sup>+</sup>, 501 (52) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 506.2520 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 506.2513. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.32 (CH:EE, 7:1). **IR** (KBr): 1740 (C=O), 1692 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt:** 50–51 °C.

#### **Boc-(L)-MeLeu-(D)-PhLac-OH (56, MOL-009)**<sup>191</sup>

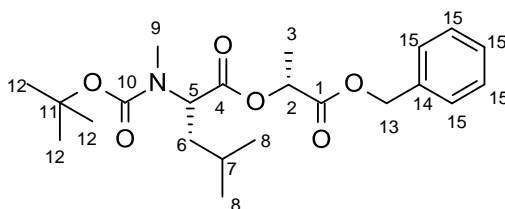
Hydrogenolyse des Dipeptids **55** (3.9 g, 8.0 mmol) wird auf dieselbe Weise wie für Verbindung **131** durchgeführt (12 h, Raumtemperatur). Das Dipeptid **56** wird in quantitativer Ausbeute (3.2 g, 8.0 mmol) als farbloses Öl erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.82-0.92 (d, J = 6.0 Hz, 6H, 10-H), 1.43, 1.45 (2s, 9H, 14-H), 1.48-1.70 (m, 3H, 8-H, 9-H), 2.73, 2.75 (2 s, 3H, 11-H), 3.12, 3.26 (2dd, J = 4.0, 14.0 Hz, 2H, 3-H), 4.62-4.73 (m, 1H, 7-H), 5.26, 5.31 (2m, 1H, 2-H), 7.18-7.34 (m, 5H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.1, 21.5 (10-C), 23.0, 23.1 (9-C), 24.5, 24.8 (10-C), 28.3, 28.3 (14-C), 30.0, 31.4 (11-C), 37.2, 37.3 (8-C), 37.5, 37.6 (3-C), 56.7 (2-C), 58.5 (7-C), 73.0 (13-C), 127.1, 128.4, 128.5, 129.3, 129.6 (5-C), 135.7 (4-C), 155.5, 155.7 (12-C), 171.6, 173.0 (1-C, 6-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 294 (100) [M-Boc]<sup>+</sup>, 338 (38) [M-*t*Bu+H]<sup>+</sup>, 394 (20) [M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 416.2049 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 416.2044. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.10 (CH:EE, 7:2). **IR** (Film): 1742 (C=O), 1671 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### **Boc-(L)-MeLeu-(D)-Lac-OBn (57, MOL-003)**<sup>191</sup>

(L)-Benzyl-lactat (3.60 g, 20.0 mmol), *N*-Boc-*N*-Methyl-(L)-Leucin (4.91 g, 20.0 mmol) und Triphenylphosphan (6.30 g, 24.0 mmol) werden in THF (12 mL) gelöst. Dann wird bei 0 °C eine Lösung aus DEAD (3.78 mL, 24.0 mmol) in THF (12 mL) innerhalb von 2 h tropfenweise zugegeben. Anschließend wird die Lösung 1h bei Raumtemperatur gerührt, mit Ethylacetat verdünnt und zweimal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (jeweils 18 mL) und 0.5 M Zitronensäure (jeweils 18 mL) gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Säulenchromatographie (CH:EE, 8:2) des Rückstands liefert das geschützte Didepsipeptid **57** (6.02 g, 14.8 mmol, 74%) als farblose viskose Flüssigkeit.



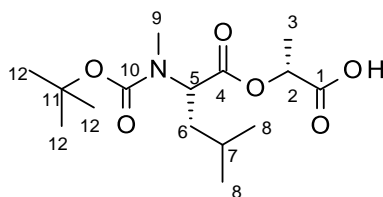
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.91-0.97 (m, 6H, 8-H), 1.45 (s, 9H, 12-H), 1.48-1.54 (2 m, 4H, 7-H, 3-H), 1.62-1.73 (m, 2H, 6-H), 2.69-2.81 (m, 3H, 9-H), 4.68-4.80 (m, 1H, 5-H), 4.90-5.04 (m, 1H, 2-H), 5.09-5.24 (m, 2H, 13-H), 7.29-7.39 (m, 5H, 15-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (CD<sub>3</sub>CN): δ = 16.9 (3-C), 23.2, 24.5, 24.8 (7-C, 8-C), 28.3 (12-C), 29.8, 30.2 (9-C), 37.3, 37.6 (6-C), 55.8, 56.8 (5-C), 67.02 (13-C), 69.1 (2-C), 79.8, 80.1 (11-C), 128.2, 128.4, 128.6 (15-C), 135.2 (14-C), 156.3 (10-C), 170.1, 171.9 (1-C, 4-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 308 (100) [M-Boc+H]<sup>+</sup>, 352 (34) [M-*t*Bu+H]<sup>+</sup>, 408 (31) [M+H]<sup>+</sup>, 837 (5) [2M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 430.2204 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 430.2200. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.32 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 1742 (C=O), 1693 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### **Boc-(L)-MeLeu-(D)-Lac-OH (58, MOL-004)**<sup>191</sup>

Eine Suspension aus Didepsipeptid **57** (4.08 g, 10.0 mmol) und Pd/C (10%, 0.5 g) in Ethanol (60 mL) wird bei Raumtemperatur über Nacht hydriert (1 bar). Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und mit Ethanol ge-



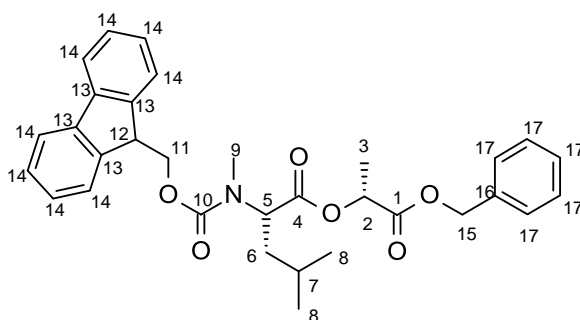
waschen. Boc-(*L*)-MeLeu-(*D*)-Lac-OH **58** (3.17 g, 10.0 mmol, 100%) wird nach Einengen des Filtrats als gräuliches Öl erhalten. Eine Reinigung des Rohproduktes ist nicht erforderlich.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.89-0.97 (m, 6H, 8-H), 1.45 (s, 9H, 12-H), 1.52 (d, J = 7.0 Hz, 3H, 3-H), 1.54-1.63 (m, 1H, 7-H), 1.62-1.79 (m, 2H, 6-H), 2.80 (s, 3H, 9-H), 4.68-4.77, 4.77-4.86 (2 m, 1H, 5-H), 5.10 (q, J = 7.0 Hz, 1H, 2-H), 8.39 (s-br, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 16.8, 16.8 (3-C), 21.1, 21.4 (8-C), 23.1, 23.2 (9-C), 24.6, 24.8 (7-C), 28.3 (12-C), 29.9, 31.0, 37.3, 37.5 (2-C, 6-C), 68.6, 68.7 (5-C), 80.4 (11-C), 155.9, 156.3 (10-C), 171.7, 174.5, 174.7 (1-C, 4-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 244 (100) [M-Boc]<sup>+</sup>, 317 (4) [M]<sup>+</sup>, 655 (8) [2M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 340.1733 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 340.1731. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.10 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1668 (C=O), 1697 (C=O), 1742 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### Fmoc-(*L*)-MeLeu-(*D*)-Lac-OBn (**125**, FSM-133)<sup>214</sup>

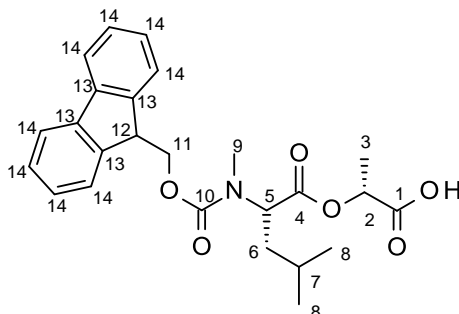
*L*-Milchsäurebenzylester (7.0 g, 38.1 mmol), *N*-Fmoc-*N*-methyl-*L*-leucin (14.0 g, 38.1 mmol) und Triphenylphosphin (TPP) (1.2 Äq.) werden unter Argon-Atmosphäre in 100 mL trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Nach Abkühlen auf 0 °C werden innerhalb von 2 h eine Lösung von Diethylazodicarboxylat (DEAD) (1.2 Äq.) in 50 mL trockenem THF mittels einer Spritzenpumpe zugetropft. Anschließend wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Ethylacetat verdünnt, zweimal mit je 50 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, 0.5 M Zitronensäure-Lösung und Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (CH/EE 9:1) gereinigt. Es werden 17.6 g (33.2 mmol, 87%) der Verbindung **125** als gelbes viskoses Öl erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.81, 0.91 (d, J = 6.4 Hz, 3H, 8-H), 0.96 (ψt, J = 6.4 Hz, 3H, 8-H), 1.47-1.74 (m, 6H, 6-H, 7-H, 3-H), 2.85, 2.87 (2s, 3H, 9-H), 4.24, 4.30 (2m, 1H, 12-H), 4.38, 4.50 (2m, 2H, 11-H), 4.66, 5.04 (2m, 1H, 5-H), 5.07, 5.14 (2m, 1H, 2-H) 5.20 (m, 2H, 15-H), 7.31 (m, 8H, 14-H, 17-H), 7.57 (m, 3H, 14-H), 7.76 (m, 3H, 14-H), ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 16.9 (3-C), 21.4, 23.3 (8-C), 24.7 (7-C), 30.7 (9-C), 37.2 (6-C), 47.3 (12-C), 56.5 (5-C), 67.1 (15-C), 67.7 (11-C), 69.2 (2-C), 120.0, 124.8, 125.0, 125.1, 127.0, 127.7, 128.2, 128.5, 128.6 (14-C, 17-C), 141.3, 143.9, 144.1 (13-C, 16-C), 156.9 (10-C), 170.0, 171.0 (1-C, 4-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 308 (14) [M-Fmoc]<sup>+</sup>, 530 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 547 (50) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 552.2366 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>32</sub>H<sub>35</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 552.2357. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.30 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1745 (C=O), 1704 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-Lac-OH (126, SEB-076)**

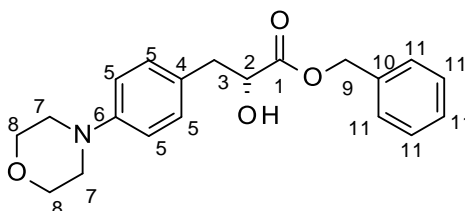
Benzylester **125** (19.7 g, 37.2 mmol) wird in 200 mL getrocknetem Ethanol vorgelegt, mit Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20%, 1.1 g) versetzt und bei Raumtemperatur 4h hydriert (1 bar). Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, mit Ethanol nachgewaschen und das Filtrat eingeeignet. Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 8:2 und EE:EtOH, 1:1+0.1% AcOH) liefert 11.8 g (27 mmol, 72%) der Carbonsäure **126** als weißen Schaum.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.79 (d, J = 6.5 Hz, 1H, 8-H), 0.91 (d, J = 6.6 Hz, 1H, 8-H), 0.94 (m, 4H, 8-H), 1.51–1.78 (m, 6H, 6-H, 7-H, 3-H), 2.87, 2.89 (2s, 3H, 9-H), 4.25, 4.29 (2m, 1H, 12-H), 4.37 (m, 1H, 11-H), 4.51 (m, 1H, 11-H), 4.61, 4.99 (2m, 1H, 5-H), 5.02, 5.13 (2m, 1H, 2-H), 7.29 (m, 2H, 14-H), 7.40 (m, 2H, 14-H), 7.62 (m, 1H, 14-H), 7.79 (m, 2H, 14-H) 8.08 (s-br, 1H, COOH) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.2, 23.0 (8-C), 24.6 (3-C, 7-C), 30.4 (9-C), 37.2 (6-C), 47.2 (12-C), 56.5 (5-C), 67.7 (11-C), 68.9 (2-C), 120.0, 124.8, 125.1, 125.1, 127.1, 127.6, 127.7, 128.5 (14-C), 141.4, 143.8 (13-C), 156.4, 157.2 (10-C), 171.5, 175.1, 177.1 (1-C, 4-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 179 (17) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 218 (34) [M-Fmoc]<sup>+</sup>, 440 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 457 (39) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 462.1888 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 462.1887. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.11 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3160 (O-H), 1746 (C=O), 1714 (C=O), 1667 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R)-2-Hydroxy-3-(4-morpholinophenyl)propansäurebenzylester (127, MOL-006)<sup>191</sup>**

Eine Suspension aus (R)-3-(4-Morpholino)phenylmilchsäure (4.02 g, 16.0 mmol), Benzylalkohol (5.19 g, 48.0 mmol) und *p*-Toluolsulfonsäure (3.31 g, 19.2 mmol) in Toluol (60 mL) wird 4 h unter Rückfluss erhitzt, bis sich die theoretisch erzielbare Stoffmenge Wasser im Wasserabscheider abgeschieden hat. Dann wird die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur gekühlt, mit MTBE verdünnt und mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wird dreimal mit MTBE extrahiert. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH:EE, 1:1 + 0.1% TEA) gereinigt. Die Reaktion liefert Benzylester **127** (4.22 g, 12.3 mmol, 77%) als weißen Feststoff.

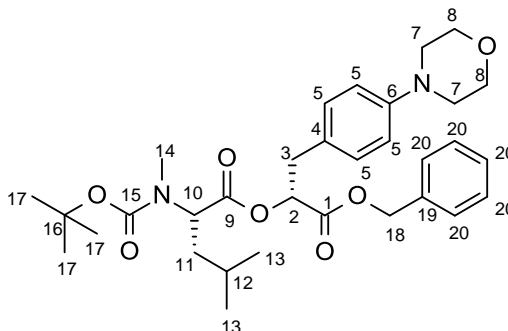


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.69 (s, 1H, OH), 2.92 (dd, J = 6.0, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.05 (dd, J = 5.0, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.09–3.17 (m, 4H, 7-H), 3.81–3.90 (m, 4H, 8-H), 4.45 (m, 1H, 2-H), 5.18 (s, 2H, 9-H), 6.79 (d, J = 9.0 Hz, 2H, 5-H), 7.06 (d, J = 9.0 Hz, 2H, 5-H), 7.30–7.43 (m, 5H, 11-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 39.6 (3-C), 49.4 (7-C), 66.9 (8-C), 67.3 (9-C), 71.4 (2-C), 115.7 (5-C), 127.4 (4-C), 128.6, 128.6, 130.3 (5-C),

135.1, 150.2 (6-C, 9-C), 174.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 342 (100)  $[M+H]^+$ , 705 (6)  $[2M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:** 342.1706  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{20}H_{24}NO_4^+$ : 342.1700. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.27 (CH:EE, 1:1 + 0.1% TEA). **IR** (KBr): 3526 (O-H), 1716 (C=O)  $cm^{-1}$ .

#### **Boc-(L)-MeLeu-(D)-morphPhLac-OBn (128, MOL-008)**<sup>191</sup>

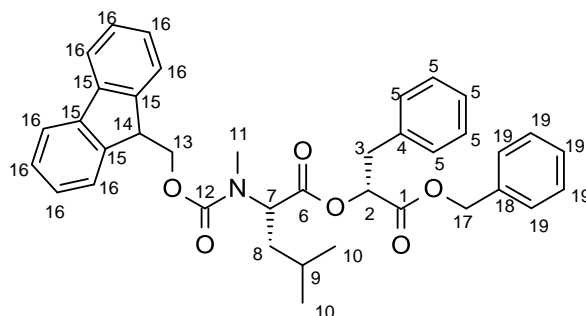
Dipeptid **128** wird mit Hilfe der für **55** beschriebenen Prozedur aus **127** (3.4 g, 10.0 mmol) und **52** (2.5 g, 10.0 mmol) hergestellt. Nach Säulenchromatographie (CH:EE, 1:1 + 0.1% TEA) wird eine farblose viskose Flüssigkeit in einer Ausbeute von 92% (5.2 g, 9.2 mmol) erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.90 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 6H, 13-H), 1.44 and 1.49 (2s, 9H, 17-H), 1.53-1.65 (m, 3H, 11-H, 12-H), 2.64, 2.66 (2s, 3H, 14-H), 2.99-3.09 (m, 2H, 3-H), 3.08-3.13 (m, 4H, 7-H), 3.82-3.87 (m, 4H, 8-H), 4.71, 4.99 (2m, 1H, 2-H), 5.12 (m, 2H, 18-H), 5.17-5.26 (m, 1H, 10-H), 6.79 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H, 5-H), 7.06 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H, 5-H), 7.20-7.37 (m, 5H, 20-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 21.1, 21.3 (13-C), 23.2 (12-C), 24.5, 24.7 (13-C), 28.4 (17-C), 29.8, 30.1 (14-C), 36.4 (3-H), 37.7 (11-H), 49.4 (7-C), 60.3 (2-C), 66.9 (8-C), 67.1 (10-C), 73.6 (18-C), 79.8 (16-C), 115.6 (5-C), 126.7 (4-C), 128.4, 128.5, 130.2 (5-C, 20-C), 130.3, 135.0 (6-C, 19-C), 150.3 (15-C), 169.0, 171.7 (1-C, 9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 513 (35)  $[M-tBu+H]^+$ , 569 (100)  $[M+H]^+$ , 591 (2)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 591.3052  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{32}H_{44}N_2NaO_7^+$ : 591.3041. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.52 (CH:EE, 1:1 + 0.1% TEA). **IR** (Film): 1752 (C=O), 1669 (C=O)  $cm^{-1}$ .

#### **Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-PhLac-OBn (129, SEB-100)**

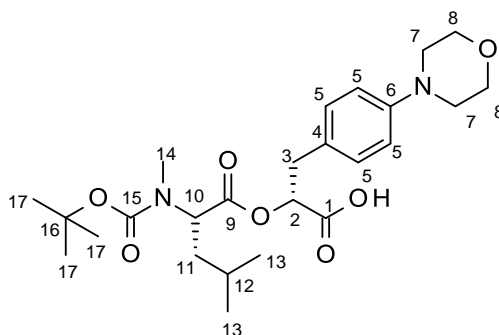
(D)-3-Phenylmilchsäurebenzylester (7.3 g, 28.5 mmol) wird in 100 mL trockenem Dichlormethan vorgelegt, auf 0 °C abgekühlt und mit Carbonsäure **76** (10.5 g, 28.5 mmol) in 100 mL trockenem Dichlormethan versetzt. Dann werden HOBt (1.1 Äq.) und DMAP (1.1 Äq.) zugegeben und 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wird innerhalb von 20 min eine Lösung von DCC (1.1 Äq.) in 100 mL trockenem Dichlormethan zugetropft und die Lösung 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 100 mL Ethylacetat suspendiert und filtriert. Danach wird die Lösung zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH/EE 9:1) gereinigt. Die Reaktion liefert 15.4 g (25.4 mmol, 89%) hellgelbes Öl.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.75 (d, J = 6.5 Hz, 1H, 10-H), 0.86 (d, J = 6.5 Hz, 1H, 10-H), 0.94 (t, J = 5.7 Hz, 4H, 10-H), 1.45–1.64 (m, 3H, 8-H, 9-H), 2.76 (s, 3H, 11-H), 3.15 (m, 1H, 3-H), 3.20 (m, 1H, 3-H) 4.19, 4.31 (m, 1H, 14-H), 4.43–4.50 (m, 2H, 13-H), 4.62, 5.04 (t, dd, J = 5.3, 8.0 Hz, 1H, 7-H), 5.13–5.18 (m, 2H, 17-H), 5.23, 5.31 (2m, 1H, 2-H), 7.14 (m, 2H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.20 (m, 2H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.29 (m, 3H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.36 (m, 5H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.45 (m, 2H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.50, 7.55 (2d, J = 7.6 Hz, 1H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.65 (t, J = 6.6 Hz, 1H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.78 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 5-H, 16-H, 19-H), 7.82 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 5-H, 16-H, 19-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.7, 23.0, (10-C), 24.5 (9-C), 30.1 (11-C), 37.2 (8-C), 37.6 (3-C), 47.2 (14-C), 56.4 (7-C), 67.2, 67.7 (13-C), 73.3 (2-C), 120.0, 124.8, 125.0, 127.0, 127.6, 127.7, 128.4, 128.6, 129.0, 129.4, (5-C, 16-C, 19-C), 135.0, 135.4, 141.4, 143.9, 144.1 (4-C, 15-C, 18-C), 156.8 (12-C), 171.2, 173.7 (1-C, 6-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 384 (8) [M+H-Fmoc]<sup>+</sup>, 606 (70) [M+H]<sup>+</sup>, 623 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 628 (35) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 628.2671 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>38</sub>H<sub>39</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 628.2670. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.50 (CH:EE, 8:2). **IR** (KBr): 1743 (C=O), 1701 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### **Boc-(L)-MeLeu-(D)-morphPhLac-OH (130, MOL-010)**<sup>191</sup>

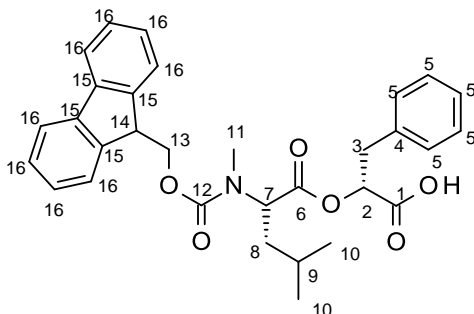
Hydrogenolyse des Dipeptides **128** (2.8 g, 5.0 mmol) nach der Methode für Verbindung **131** (12 h, Raumtemperatur) liefert Verbindung **130** in quantitativer Ausbeute (2.4 g, 5.0 mmol) als dunkelrotem Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.87-0.94 (m, 6H, 13-H), 1.44 (s, 9H, 17-H), 1.47-1.77 (m, 3H, 11-H, 12-H), 2.74, 2.83 (2s, 3H, 14-H), 3.01-3.09, 3.14-3.23 (2m, 2H, 3-H), 3.10-3.15 (m, 4H, 7-H), 3.82-3.87 (m, 4H, 8-H), 4.37-4.47, 4.63-4.74 (2 m, 1H, 10-H), 5.18-5.25, 5.25-5.33 (2 m, 1H, 2-H), 6.84 (d, J = 8.0 Hz, 2H, 5-H), 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.1, 21.3 (13-C), 23.1, 23.2 (12-C), 24.5, 24.8 (13-C), 28.3 (17-C), 30.0, 31.2 (14-C), 36.4 (11-C), 37.5, 37.6 (3-C), 49.6 (7-C), 56.6, 56.8 (2-C), 58.4 (10-C), 66.8 (8-C), 73.4 (16-C), 116.0 (5-C), 127.6 (4-C), 130.2, 130.3 (5-C), 150.1 (6-C), 156.5 (15-C), 171.6, 172.6 (1-C, 9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 423 (88) [M-tBu]<sup>+</sup>, 479 (100) [M]<sup>+</sup>, 480 (27) [M+H]<sup>+</sup>, 957 (28) [2M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 479.2755 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>: 479.2752. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.17 (CH:EE, 1:1 + 0.1% TEA). **IR** (KBr): 1783 (C=O), 1691 (C=O), 1613 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-PhLac-OH (131, SEB-075)**

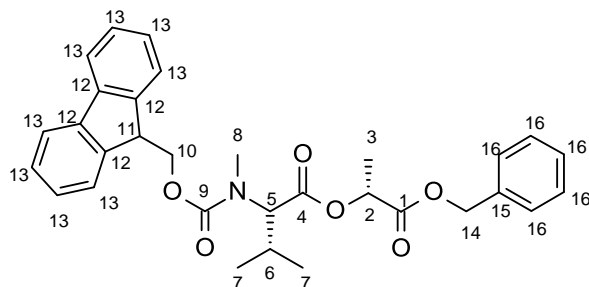
Benzylester **129** (18.1 g, 30.0 mmol) wird in 200 mL Ethanol vorgelegt, mit Pd/C (10%, 0.3 g) versetzt und bei Raumtemperatur 2 h hydriert (1 bar). Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, mit Ethanol nachgewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (CH:EE, 1:1 + 0.5% Essigsäure) werden 11.2 g (73%, 22 mmol) Produkt **131** als weißer Schaum erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.75 (d, J = 6.5 Hz, 1H, 10-H), 0.87 (d, J = 6.6 Hz, 1H, 10-H), 0.94 (q, J = 7.0 Hz, 4H, 10-H), 1.45–1.64 (m, 3H, 8-H, 9-H), 2.81 (s, 3H, 11-H), 3.12 (m, 1H, 3-H), 3.25 (m, 1H, 3-H), 4.16, 4.30 (2m, 1H, 14-H), 4.48 (m, 2H, 13-H), 4.59, 4.93 (2m, 1H, 7-H), 5.20, 5.32 (2m, 1H, 2-H), 7.20–7.36 (m, 8H, 5-H, 16-H), 7.43 (m, 2H, 5-H, 16-H), 7.63 (m, 1H, 5-H, 16-H), 7.80 (m, 2H, 5-H, 16-H), 9.72 (s-br, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.0, 23.0 (10-C), 24.5 (9-C), 30.3 (11-C), 37.2 (8-C), 37.5 (3-C), 47.2 (14-C), 56.4 (7-C), 67.7 (13-C), 73.0 (2-C), 120.0, 124.8, 125.1, 125.1, 127.1, 127.6, 127.7, 128.5, 128.6, 129.0, 129.4, 129.8 (5-C, 16-C), 135.5, 141.4, 143.8 (4-C, 15-C), 156.4, 157.1 (12-C), 171.2, 173.7 (1-C, 6-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 179 (3) [9-Fluorenyl]<sup>+</sup>, 294 (16) [M-Fmoc]<sup>+</sup>, 516 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 533 (35) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 538 (1) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 538.2201 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>31</sub>H<sub>33</sub>NNaO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 538.2200. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.11 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3156 (O-H), 1732 (C=O), 1668 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**Fmoc-(L)-MeVal-(D)-Lac-OBn (180, SEB-189)**

(L)-Milchsäurebenzylester (1.2 g, 6.5 mmol) und N-Fmoc-N-Methyl-(L)-Valin **160** (3.2 g, 9.0 mmol) werden gemäß der Vorschrift zur Herstellung von Verbindung **125** zum geschützten Dipeptid **180** umgesetzt. Chromatographische Reinigung liefert das Produkt **180** als viskoses farbloses Öl in eine Ausbeute von 70% (2.3 g, 4.6 mmol).

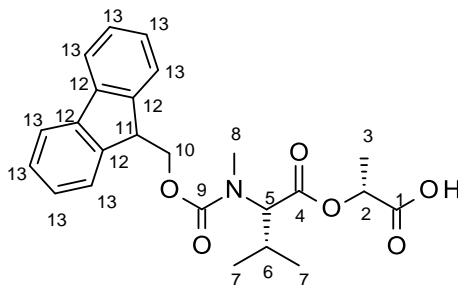


**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.80, 0.91, 0.95, 1.05 (4d, J = 6.7 Hz, 6H, 7-H), 1.53 (q, J = 6.7 Hz, 3H, 3-H), 2.18, 2.25 (2m, 1H, 6-H), 2.89, 2.90 (2s, 3H, 8-H), 4.31 (m, 1H, 11-H), 4.39, 4.47, 4.58 (3m, 2H, 10-H), 4.26, 4.65 (m, d, J = 10.4 Hz, 1H, 5-H), 5.13–5.25 (m, 3H, 2-H, 14-H), 7.31–7.44 (m, 9H, 13-H, 16-H), 7.64 (t, J = 8.8 Hz, 2H, 13-H), 7.79 (t, J = 5.9 Hz, 2H, 13-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 16.8, 16.9 (3-C), 18.7, 19.6, 19.7, 20.4 (6-C, 7-C), 26.4, 27.4, 30.2 (8-C), 47.3 (11-C), 63.7, 64.1 (5-C), 66.8, 67.0, 67.1, 67.3, 67.6, 67.7, 68.9 (2-C, 10-C, 14-C), 119.9, 124.9, 125.0, 125.1, 127.0, 127.6, 128.1, 128.2, 128.4, 128.5, 128.6,

128.6 (13-C, 16-C), 135.2, 141.3, 143.9, 144.1, 144.2 (12-C, 15-C), 157.0 (9-C), 169.9, 170.2 (1-C, 4-C ppm). **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 516 (100)  $[M+H]^+$ , 533 (61)  $[M+NH_4]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 516.2383  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{31}H_{34}NO_6^+$ : 516.2381. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.25 (CH:EE, 8:2). **IR (Film):** 1743 (C=O), 1701 (C=O)  $cm^{-1}$ .

#### Fmoc-(L)-MeVal-(D)-Lac-OH (181, SEB-190)

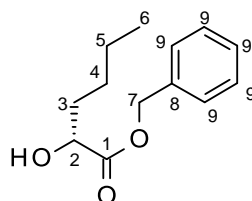
Hydrogenolyse des Dipeptids **180** (2.5 g, 4.8 mmol) nach der Methode für Verbindung **131** (1.5 h, Raumtemperatur) liefert Carbonsäure **181** nach säulenchromatographischer Reinigung (CH:EE, 7:3 + 0.1% Essigsäure) in 86% Ausbeute (1.8 g, 4.2 mmol) als hellgelbes Öl.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.76, 1.04 (2d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H, 7-H), 0.92 (m, 3H, 7-H), 1.53 (m, 3H, 3-H), 2.16, 2.26 (2m, 1H, 6-H), 2.88, 2.91 (2 s, 3H, 8-H), 4.29 (m, 1H, 11-H), 4.40–4.62 (m, 2H, 10-H), 5.14 (m, 1H, 2-H), 7.32 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, 13-H), 7.41 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, 13-H), 7.61 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, 13-H), 7.78 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, 13-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 16.8, 18.6, 18.8, 19.6, 19.7 (3-C, 6-C, 7-C), 27.2, 27.4, 30.2, 30.5 (8-C), 47.3 (11-C), 63.9, 64.0 (5-C), 67.7, 67.8 (10-C), 68.5 (2-C), 119.9, 125.0, 125.0, 127.0, 127.7 (13-C), 141.3, 143.8 (12-C), 157.2 (9-C), 170.2, 174.7 (1-C, 4-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 426 (100)  $[M+H]^+$ , 443 (25)  $[M+NH_4]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 426.1909  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{24}H_{28}NO_6^+$ : 426.1911. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.46 (CH:EE, 1:1 + 0.5% Essigsäure). **IR (Film):** 3444 (O-H), 1751 (C=O), 1701 (C=O), 1648 (C=O)  $cm^{-1}$ .

#### (R)-2-Hydroxycapronsäurebenzylester (182, SEB-191)

(R)-2-Hydroxycapronsäure (1.98 g, 14.98 mmol) wird in 160 mL Toluol suspendiert und mit Benzylalkohol (2.43 g, 22.47 mmol) und *p*-Toluolsulfonsäure (33 mg, 0.18 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 4 h am Wasserabscheider erhitzt. Nach Reaktionsende wird die Lösung mit MTBE verdünnt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wird mehrfach mit MTBE extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt 3.497 g gelbe Flüssigkeit, wird durch Säulenchromatographie (CH:EE, 9:1) gereinigt. Es werden 1.98 g (8.91 mmol, 60%) schwach gelbe Flüssigkeit erhalten.

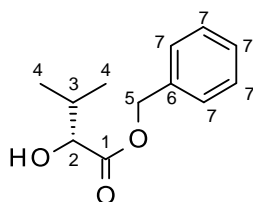


**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.91 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 3H, 6-H), 1.34, 1.45 (2m, 4H, 4-H, 5-H), 1.69, 1.82 (2m, 2H, 3-H), 2.61 (s-br, 1H, OH), 4.25 (dd,  $J$  = 4.2, 7.5 Hz, 1H, 2-H), 5.23, 5.26 (2d,  $J$  = 12.0 Hz, 2H, 7-H), 7.39

(m, 5H, 9-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 13.7, 13.8$  (6-C), 22.1, 22.4, 26.8, 26.9 (4-C, 5-C), 34.1 (3-C), 67.2 (7-C), 70.5 (2-C), 128.3, 128.5, 128.6, 128.6 (9-C), 135.3 (8-C), 175.2 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 245 (100)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 467 (17)  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 245.1147$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NaO}_3^+$ : 245.1148. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.74 (CH:EE, 1:1 + 0.5% Essigsäure). **IR** (Film): 3448 (O-H), 1736 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

### (R)-2-Hydroxy-iso-valeriansäurebenzylester (183, SEB-188)

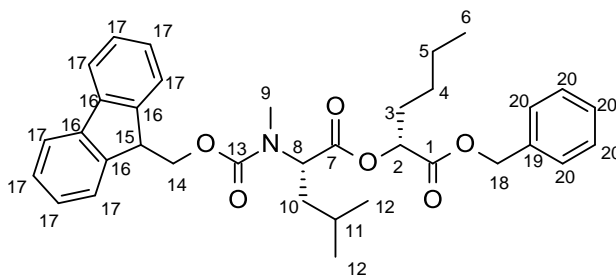
Verbindung **153** (16.1 g, 136.3 mmol) wird gemäß der Prozedur für Verbindung **182** umgesetzt. Die Reaktion liefert **183** nach säulenchromatographischer (CH:EE, 9:1) Reinigung in einer Ausbeute von 83% (23.5 g, 112.8 mmol) als schwach gelbe Flüssigkeit.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.86, 1.04$  (2d,  $J = 7.1$  Hz, 6H, 4-H), 2.12 (m, 1H, 3-H), 2.63 (s-br, 1H, OH), 4.11 (d,  $J = 3.6$  Hz, 1H, 2-H), 5.22, 5.27 (2d,  $J = 12.0$  Hz, 2H, 5-H), 7.39 (m, 5H, 7-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 15.8, 18.7$  (4-C), 32.4 (3-C), 67.2 (5-C), 75.0 (2-C), 128.4, 128.5, 128.6, 129.7 (7-C), 135.2 (6-C), 174.8 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 117 (4)  $[\text{M-Bn}]^+$ , 231 (100)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 439 (9)  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 231.0992$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NaO}_3^+$ : 231.0992. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.61 (CH:EE, 1:1 + 0.5% Essigsäure). **IR** (Film): 3451 (O-H), 1732 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

### Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-Hca-OBn (184, SEB-194)

Dipeptid **184** wird mit Hilfe der für Verbindung **185** beschriebenen Prozedur aus Benzylester **182** (3.0 g, 13.5 mmol) und Fmoc-Aminosäure **76** (5.0 g, 13.5 mmol) hergestellt. Nach Säulenchromatographie (CH:EE, 93:7) wird ein hellgelbes viskoses Öl in einer Ausbeute von 65% (5.0 g, 8.8 mmol) erhalten.

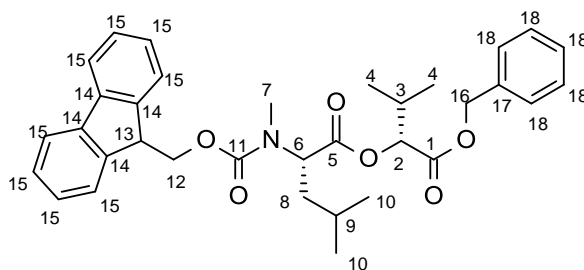


$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.80-1.00$  (m, 9H, 6-H, 12-H), 1.22-1.38 (m, 4H, 4-H, 5-H), 1.56 (m, 1H, 11-H), 1.68, 1.76 (2m, 2H, 10-H), 1.85 (m, 2H, 3-H), 2.87, 2.90 (2s, 3H, 9-H), 4.24, 4.31 (2t,  $J = 6.9, 7.2$  Hz, 1H, 15-H), 4.39-4.53 (m, 2H, 14-H), 4.75, 5.02 (2t,  $J = 7.7, 6.2$  Hz, 8-H), 5.09 (m, 1H, 2-H), 5.14-5.26 (m, 2H, 18-H), 7.30-7.44 (m, 9H, 17-H, 20-H), 7.59 (m, 1H, 17-H), 7.64 (m, 1H, 17-H), 7.79 (t,  $J = 8.1$  Hz, 2H, 17-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 13.7, 13.7, 14.1, 14.2$  (6-C, 12-C), 21.0, 21.1, 21.3, 22.0, 22.1, 22.1, 23.0, 23.2, 24.6, 24.7, 27.0 (3-C, 4-C, 5-C, 11-C), 30.0, 30.2 (9-C), 30.6, 37.1, 37.6 (10-C), 47.2 (15-C), 56.5 (8-C), 67.0 (18-C), 67.7 (14-C), 72.8 (2-C), 119.9, 124.8, 124.9, 125.0, 125.1, 127.0, 127.0, 127.6, 128.3, 128.4, 128.6 (17-C, 20-C), 135.1, 135.2, 141.3, 141.3, 143.8, 144.0, 144.1 (19-C, 16-C), 156.4, 156.9 (13-C), 169.6, 169.8,

171.1, 171.5 (1-C, 7-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 350 (8) [M-Fmoc+H]<sup>+</sup>, 572 (76) [M+H]<sup>+</sup>, 589 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 572.3009 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>NO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 572.3007. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.61 (CH:EE, 7:3). **IR (Film):** 1744 (C=O), 1704 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-Hiv-OBn (185, SEB-187)

Eine Lösung aus DIC (1 Äq.) in DCM (100 mL) wird bei 0 °C innerhalb von 20 min zu einer Lösung aus (D)-Hiv-OBn (14.79 g, 71.0 mmol), Fmoc-Aminosäure **76** (26.09 g, 71.0 mmol), HOBt (1 Äq.) und DMAP (1 Äq.) in DCM (100 mL) zugetropft. Dann wird die Reaktionsmischung 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Reaktionsende wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Ethylacetat (200 mL) gelöst. Anschließend wird die Lösung nacheinander zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeeignet. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH/EE 92:8) gereinigt. Es werden 33.05 g, (59.3 mmol, 83%) des Benzylesters **185** als hellgelbes Öl erhalten.

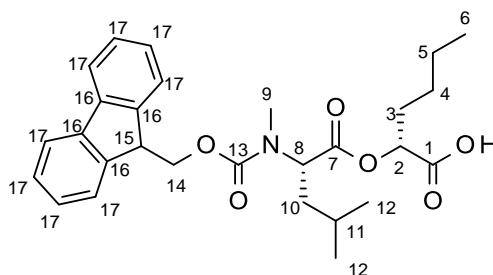


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.84-1.06 (m, 12H, 4-H, 10-H), 1.57 (m, 1H, 9-H), 1.69 (t, J = 7.3 Hz, 1H, 8-H), 1.77 (m, 1H, 8-H), 2.28 (m, 1H, 3-H), 2.89, 2.90 (2 s, 3H, 7-H), 4.25, 4.31 (2t, J = 6.4, 6.8 Hz, 1H, 13-H), 4.49 (m, 2H, 12-H), 4.75, 5.11 (2m, 1H, 6-H), 4.88, 4.95 (2d, J = 4.1 Hz, 1H, 2-H), 5.16, 5.25 (2m, 2H, 16-H), 7.30-7.45 (m, 9H, 15-H, 18-H), 7.59 (t, J = 6.7 Hz, 1H, 15-H), 7.65 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 15-H), 7.79 (t, J = 8.2 Hz, 2H, 15-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 17.0, 18.7, 20.9, 21.1, 21.3, 23.0, 23.2, 24.5, 24.6, 29.9(3-C, 4-C, 9-C, 10-C), 30.0, 30.2, 32.1 (7-C), 37.1, 37.5 (8-C), 47.2, 47.2 (13-C), 56.5 (6-C), 66.9, 67.0, 67.2 (16-C), 67.7 (12-C), 77.1, 77.2 (2-C), 119.7, 119.9, 119.9, 120.9, 124.7, 124.8, 125.0, 127.0, 127.6, 128.3, 128.4, 128.4, 128.5, 128.6 (15-C, 18-C), 135.1, 135.2, 141.3, 143.8, 143.9, 144.0 (14-C, 17-C), 156.4, 156.9 (11-C), 168.9, 169.1, 171.0, 171.6 (1-C, 5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 336 (8) [M-Fmoc+H]<sup>+</sup>, 558 (81) [M+H]<sup>+</sup>, 575 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 558.2855 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>NO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 558.2850. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.80 (CH:EE, 1:1 + 0.5% Essigsäure). **IR (Film):** 1742 (C=O), 1704 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-Hca-OH (186, SEB-195)

Hydrogenolyse des Didepsipeptides **184** (4.8 g, 8.4 mmol) nach der Methode für Verbindung **131** (3.5 h, Raumtemperatur) liefert Verbindung **186** nach säulenchromatographischer Reinigung (CH:EE, 8:2 + 0.1% Essigsäure) in 76% Ausbeute (3.1 g, 6.4 mmol) als gelbes viskoses Öl.

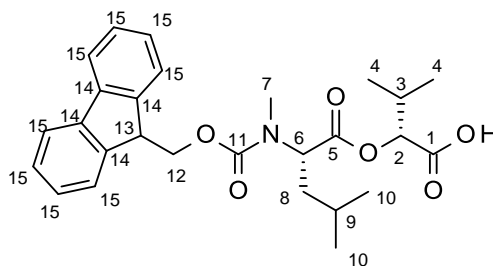




**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.82-1.01 (m, 9H, 6-H, 12-H), 1.28-1.40 (m, 4H, 4-H, 5-H), 1.56 (m, 1H, 11-H), 1.69, 1.78 (2 m, 2H, 10-H), 1.88 (m, 2H, 3-H), 2.91, 2.93 (2 s, 3H, 9-H), 4.25, 4.30 (2t, J = 6.2, 6.9 Hz, 1H, 15-H), 4.41-4.51 (m, 2H, 14-H), 4.72, 5.02 (2 m, 1H, 8-H), 4.98, 5.07 (t, m, J = 6.3 Hz, 1H, 2-H), 7.33 (m, 2H, 17-H), 7.42 (m, 2H, 17-H), 7.58 (t, J = 9.0 Hz, 1H, 17-H), 7.63 (t, J = 6.0 Hz, 1H, 17-H), 7.79 (m, 2H, 17-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 13.7, 13.7, 14.2 (6-C, 12-), 21.0, 21.2, 21.4, 22.0, 23.0, 23.2, 24.6, 24.7, 27.0 (3-C, 4-C, 5-C, 11-C), 30.4, 30.5 (9-C), 30.6, 37.2, 37.5 (10-C), 47.2 (15-C), 56.4, 56.7 (8-C), 67.8, 67.9 (14-C), 72.3, 72.4 (2-C), 120.0, 124.8, 124.8, 125.0, 125.0, 127.0, 127.0, 127.7 (17-C), 141.3, 141.3, 143.8, 143.9, 144.0 (16-C), 156.5, 157.1 (13-C), 171.6, 174.7 (1-C, 7-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 260 (25) [M-Fmoc+H]<sup>+</sup>, 482 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 499 (30) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 482.2539 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>NO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 482.2537. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.20 (CH:EE, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 3448 (O-H), 1750 (C=O), 1701 (C=O), 1654 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-Hiv-OH (187, SEB-186)

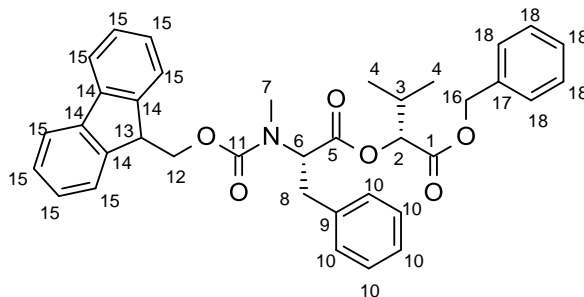
Hydrogenolyse des Dipeptides **185** (30.0 g, 53.8 mmol) entsprechend der Vorschrift für Verbindung **131** (3 h, Raumtemperatur) liefert das Dipeptid **187** nach säulenchromatographischer Reinigung (CH:EE, 9:1 + 0.1% Essigsäure) in 87% Ausbeute (22.0 g, 4.2 mmol) als orangefarbenes Öl.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.83 (d, J = 6.5 Hz, 1H, 10-H), 0.95-1.04 (m, J = 6.5 Hz, 11H, 4-H, 10-H), 1.58 (m, 1H, 9-H), 1.72, 1.81 (2m, 2H, 8-H), 2.31 (m, 1H, 3-H), 2.93 (s, 3H, 7-H), 4.26, 4.31 (2 m, 1H, 13-H), 4.50 (m, 2H, 12-H), 4.73, 5.08 (2 m, 1H, 6-H), 4.87, 4.96 (2d, J = 3.8 Hz, 1H, 2-H), 7.34 (m, 2H, 15-H), 7.43 (m, 2H, 15-H), 7.59 (m, 1H, 15-H), 7.65 (d, J = 7.3 Hz, 1H, 15-H), 7.79 (m, 2H, 15-H), 10.57 (s-br, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 16.9, 18.8, 20.7, 21.0, 21.1, 21.3, 21.4, 22.9, 23.2, 24.5, 24.7, 29.8, 29.9 (3-C, 4-C, 9-C, 10-C), 30.2, 30.3 (7-C), 37.1, 37.5 (8-C), 47.1, 47.2 (13-C), 56.5, 56.6 (6-C), 67.8, 67.8 (12-C), 76.7 (2-C), 119.9, 119.9, 119.9, 124.7, 124.8, 125.0, 125.2, 127.0, 127.0, 127.0, 127.6, 128.1, 128.9 (15-C), 137.8, 141.3, 143.7, 143.8, 143.9 (14-C), 156.6, 157.1 (11-C), 171.4, 171.6, 174.2, 174.3 (1-C, 5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 246 (23) [M-Fmoc+H]<sup>+</sup>, 468 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 485 (36) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 468.2381 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 468.2381. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.53 (CH:EE, 1:1 + 0.5% Essigsäure). **IR** (Film): 3200 (O-H), 1736 (C=O), 1702 (C=O), 1664 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**Fmoc-(L)-MePhe-(D)-Hiv-OBn (188, SEB-192)**

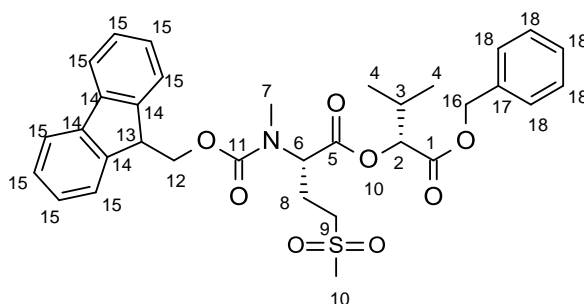
Das Dipeptid **188** wird mit Hilfe der für Verbindung **185** beschriebenen Prozedur aus Benzylester **183** (13.3 g, 64.0 mmol) und Carbonsäure **163** (25.7 g, 64.0 mmol) hergestellt. Nach Säulenchromatographie (CH:EE, 7:3) wird ein gelbes viskoses Öl in einer Ausbeute von 65% (24.6 g, 41.6 mmol) erhalten.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.83-1.07 (m, 6H, 4-H), 2.30 (m, 1H, 3-H), 2.92, 2.93 (2 s, 3H, 7-H), 3.26, 3.35 (2 m, 2H, 8-H), 4.23, 4.31 (2t,  $J$  = 7.1, 8.1 Hz, 1H, 13-H), 4.37-4.56 (m, 2H, 12-H), 4.84, 4.91 (2 m, 1H, 2-H), 5.18, 5.37 (2 m, 1H, 6-H), 5.22-5.35 (m, 2H, 16-H), 7.12 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H, 10-H), 7.17-7.71 (m, 15H, 10-H, 15-H, 18-H), 7.80 (m, 2H, 15-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 15.8, 16.8, 16.9, 16.9, 18.5, 18.6, 18.7, 29.9, 29.9 (3-C, 4-C), 30.0, 30.0, 30.7 (7-H), 31.1, 31.3 (8-C), 46.9, 47.0, 47.1 (13-C), 53.1, 53.7 (6-C), 66.7, 66.9, 67.0, 67.1 (16-C), 67.7, 67.9, 68.1 (12-C), 74.9, 77.2 (2-C), 119.8, 119.9, 124.7, 124.8, 124.9, 125.0, 125.0, 126.1, 126.3, 126.6, 126.7, 126.9, 126.9, 127.0, 127.5, 127.6, 128.0, 128.1, 128.2, 128.2, 128.3, 128.3, 128.4, 128.4, 128.4, 128.5, 128.5, 128.6, 128.6, 128.7 (10-C, 15-C, 18-C), 135.1, 136.8, 141.1, 141.2, 143.7, 143.9, 143.9 (9-C, 14-C, 17-C), 155.9, 156.6 (11-C), 168.7, 170.5 (1-C, 5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 370 (14)  $[\text{M-Fmoc+H}]^+$ , 592 (100)  $[\text{M+H}]^+$ , 609 (86)  $[\text{M+NH}_4]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 592.2692  $[\text{M+H}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{NO}_6^+$ : 592.2694. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.52 (CH:EE, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 1743 (C=O), 1702 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

**Fmoc-(L)-MeMet(O<sub>2</sub>)-(D)-Hiv-OBn (189, SEB-193)**

Die Kupplungsreaktion von Benzylester **183** (1.46 g, 7.00 mmol) mit Fmoc-Aminosäure **166** (2.92 g, 7.00 mmol) nach der Prozedur von Verbindung **185** liefert das Produkt **189** nach säulenchromatographischer (CH:EE, 7:3) Reinigung in einer Ausbeute von 87% (3.71 g, 6.10 mmol) als hellgelben pastösen Feststoff.

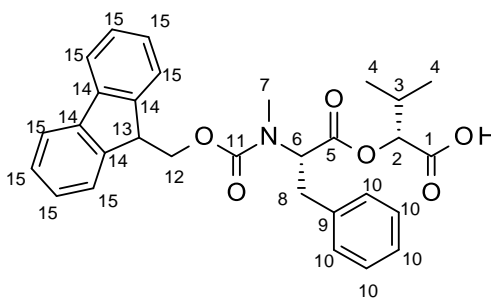


$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.89, 0.97 (2m, 6H, 4-H), 2.28 (m, 2H, 3-H, 8-H), 2.56 (m, 1H, 8-H), 2.66, 3.15 (2m, 2H, 9-H), 2.88, 2.94 (2s, 6H, 7-H, 10-H), 4.26 (m, 1H, 13-H), 4.44, 4.96 (2m, 1H, 6-H), 4.49, 4.58, 4.66 (3m, 2H, 12-H), 4.81, 4.94 (2m, 1H, 2-H), 5.15, 5.24 (2m, 2H, 16-H), 7.36 (m, 9H, 15-H, 18-H), 7.59 (m, 2H, 15-H), 7.81 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 2H, 15-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 16.9, 18.7 (4-C), 21.7, 21.8 (8-C), 30.0 (3-C), 30.9, 40.7 (7-C, 10-C), 47.2 (13-C), 50.9, 51.4 (9-C), 57.4 (6-C), 67.1, 67.3 (16-C), 68.0 (12-C), 77.6 (2-C), 120.0, 124.5, 124.7, 124.9, 127.1, 127.2, 127.8, 128.4, 128.6, 128.6 (15-C, 18-C), 135.0, 141.3,

143.6, 143.7 (14-C, 17-C), 156.9 (11-C), 168.8, 169.7 (1-C, 5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 386 (19)  $[M-Fmoc+H]^+$ , 608 (32)  $[M+H]^+$ , 625 (100)  $[M+NH_4]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 630.2133  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{33}H_{37}NNaO_8S^+$ : 630.2132. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.10 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1743 (C=O), 1703 (C=O), 1616 (C=O)  $cm^{-1}$ .

#### Fmoc-(L)-MePhe-(D)-Hiv-OH (190, SEB-198)

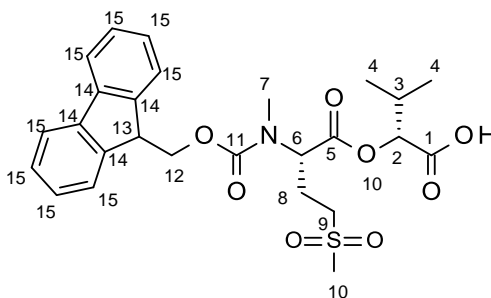
Hydrogenolyse des Dipeptides **188** (24.4 g, 41.2 mmol) nach der Methode für Verbindung **131** (2 h, Raumtemperatur) liefert Verbindung **190** nach säulenchromatographischer Reinigung (CH:EE, 8:2 + 0.1% Essigsäure) in 76% Ausbeute (15.7 g, 31.3 mmol) als gelbes viskoses Öl.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.83-1.03 (m, 6H, 4-H), 2.31 (m, 1H, 3-H), 2.90, 2.93 (2 s, 3H, 7-H), 3.26, 3.35 (2 m, 2H, 8-H), 4.22, 4.28 (2t,  $J$  = 7.1, 6.8 Hz, 1H, 13-H), 4.32-4.45 (m, 2H, 12-H), 4.78, 4.88 (2m, 1H, 2-H), 5.10, 5.32 (2 m, 1H, 6-H), 7.10 (m, 1H, 10-H), 7.19-7.68 (m, 10H, 10-H, 15-H), 7.78 (m, 2H, 15-H), 9.32 (s-br, 1H, COOH) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 16.8, 16.9, 18.6, 18.8, 29.8, 29.9 (3-C, 4-C), 30.0, 31.0 (7-C, 8-C), 47.0, 47.1, 47.1 (13-C), 53.4, 53.8 (6-C), 67.6, 68.0, 68.1, 68.2 (12-C), 120.0, 124.8, 125.0, 126.1, 126.2, 126.4, 126.8, 126.9, 127.0, 127.1, 127.6, 127.7, 128.1, 128.6, 128.7, 128.8, 131.4, 131.6, 132.3, 132.9 (10-C, 15-C), 136.8, 141.2, 141.3, 143.7, 143.8, 143.9 (9-C, 14-C), 155.5, 156.2, 156.9 (11-C), 170.4, 170.6, 173.8, 174.0 (1-C, 5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 280 (39)  $[M-Fmoc+H]^+$ , 502 (100)  $[M+H]^+$ , 519 (15)  $[M+NH_4]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 502.2221  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{30}H_{32}NO_6^+$ : 502.2224. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.14 (CH:EE, 8:2 + 0.5% Essigsäure). **IR** (Film): 3444 (O-H), 1750 (C=O), 1701 (C=O), 1648 (C=O)  $cm^{-1}$ .

#### Fmoc-(L)-MeMet(O<sub>2</sub>)-(D)-Hiv-OH (191, SEB-196)

Die Hydrierung von Verbindung **189** (3.5 g, 5.8 mmol) erfolgt nach der Vorschrift zur Hydrierung von Verbindung **131**. Säulenchromatographische (CH/EE 1:1 + 0.1% Essigsäure) Reinigung des erhaltenen Rohproduktes liefert das Produkt **191** in quantitativer Ausbeute (3.0 g, 5.8 mmol) als weißen Schaum.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.93, 0.99 (2m, 6H, 4-H), 2.29 (m, 2H, 3-H, 8-H), 2.56 (m, 1H, 8-H), 2.69, 3.18 (2m, 2H, 9-H), 2.87, 2.94 (2s, 6H, 7-H, 10-H), 4.26 (m, 1H, 13-H), 4.43, 4.79 (2m, 1H, 6-H), 4.48, 4.60 (2m, 2H, 12-H), 4.89, 4.93 (2m, 1H, 2-H), 7.33, 7.42 (2m, 4H, 15-H), 7.55, 7.60, 7.78 (3d,  $J$  = 7.4 Hz, 4H, 15-H)

ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 16.9, 18.9$  (4-C), 21.8, 23.1 (8-C), 29.8 (3-C), 31.3, 40.6 (7-C, 10-C), 47.1 (13-C), 50.8, 51.3 (9-C), 57.2, 57.7 (6-C), 67.4, 68.1 (12-C), 77.9 (2-C), 120.0, 124.5, 124.7, 124.9, 127.1, 127.2, 127.7, 128.4, 128.6 (15-C), 141.3, 143.6, 143.7 (14-C), 157.1, 158.0 (11-C), 169.5, 169.7, 176.3 (1-C, 5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 179 (5) [9-Fluorenyl] $^+$ , 296 (54) [M-Fmoc+H] $^+$ , 518 (100) [M+H] $^+$ , 535 (89) [M+NH $_4$ ] $^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 540.1659$  [M+Na] $^+$ , berechnet für  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{NNaO}_8\text{S}^+$ : 540.1663. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.20 (CH:EE, 1:1 + 0.5% Essigsäure). **IR** (KBr): 3341 (O-H), 1744 (C=O), 1701 (C=O), 1617 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2.1.4 Aufbau der Cyclooctadepsipeptide an Kaiser-Oxim und Wang Harz mittels 4x2 Festphasensynthese

### 4x2-Festphasensynthese am Kaiser-Oxim

#### Ankupplung des ersten Didepsipeptidbausteins<sup>191</sup>

Kaiser-Oxim-Harz (100 mg, 0.068 mmol) wird in DCM (1.0 mL) suspendiert und zum Quellen 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann werden **56** bzw. **130** (2 Äq.) und HATU (51.7 mg, 0.14 mmol) in DCM (1 mL), sowie DIEA (29.0  $\mu\text{L}$ , 0.20 mmol) zugegeben. Nach 16 h Schütteln bei Raumtemperatur wird das Harz filtriert und dreimal mit jeweils 10 mL (je 3 min) DCM und DCM/EtOH 1:1 gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

#### End-capping<sup>191</sup>

Essigsäureanhydrid (0.064 mL, 0.68 mmol) und DIEA (58.0  $\mu\text{L}$ , 0.34 mmol) werden zu einer Suspension aus Harz (100 mg) in DCM (0.5 mL) gegeben. Die Mischung wird 2 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann wird das Harz filtriert und jeweils dreimal mit MeOH (10 mL) und DCM (10 mL) gewaschen (je 3 min). Anschließend wird das Harz im Vakuum getrocknet.

#### Vorschrift zur Spaltung der Boc-Schutzgruppe<sup>191</sup>

Kaiser-Oxim wird in einer Lösung aus TFA/DCM (25%, 1.3 mL/100 mg Harz) suspendiert und bei Raumtemperatur 30 min geschüttelt. Dann wird das Harz filtriert und jeweils mit 10 mL DCM (3x), EtOH (1x), DCM (2x), EtOH (3x), DMF (3x), und DCM (1x) gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

#### Bestimmung des Beladungsgrades eines Harzes mittels Pikrinsäuretitration

Nach der Boc-Spaltung wird das Harz (10 mg) in 1 mL DCM aufgequollen (15 min). Dann wird zweimal mit DIEA (3 mL, 5% in DCM) 3 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird dreimal mit DCM (10 mL) gewaschen. Dann wird dreimal 3 min mit Pikrinsäure-Lösung (3 mL, 0.1 M in DCM) geschüttelt und mit DCM (3x10 mL) gewaschen. Danach wird das Pikrat mit 5% DIEA in DCM eluiert (3 mL, 3x 3 min) und mit DCM (3x10 mL) gewaschen. Die Lösung wird eingeeengt und im Vakuum getrocknet. Dann wird mit 10 mL DCM versetzt. Aus dieser Lösung werden 2 mL entnommen und auf 10 mL mit Ethanol/DCM (95:5) aufgefüllt. Diese Lösung wird mittels eines Spectralphotometers bei 358 nm ( $\epsilon = 14500$ ) analysiert. Die Beladung wird über folgende Gleichung berechnet:

$$x \left( \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Extinktion} * 100000}{\epsilon * m(\text{mg})}$$

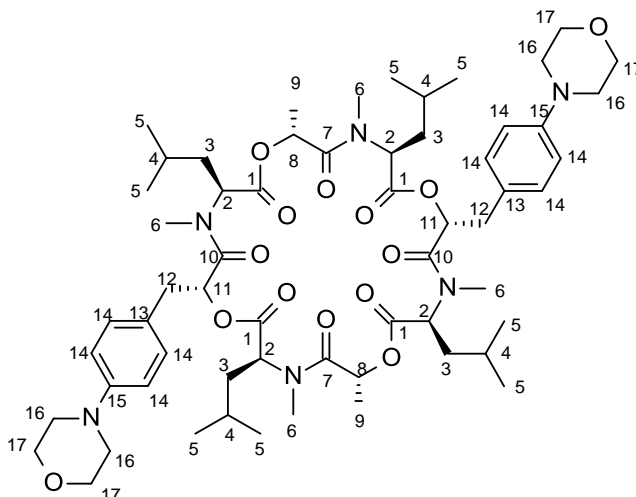
und ergibt sich aus den Mittelwerten der drei ermittelten Beladungen  $x(\text{mmol/g})$ .<sup>192</sup>

### Amidkupplungen<sup>191</sup>

Eine Lösung aus Didepsipeptidsäure (3 Äq.) in DMF (1.0 mL), HATU (2 Äq.) und DIEA (6.5 Äq.) wird zu einer Suspension aus Harz (100 mg) in DMF (1.5 mL) gegeben. Nach 16 h schütteln bei Raumtemperatur wird das Harz filtriert und nach folgender Prozedur gewaschen: DMF (3x10 mL), DCM (3x10 mL), DMF (3x10 mL), DCM (3x10 mL). Dann wird das Harz bis zur Massenkonstanz im Vakuum getrocknet.

### Zyklisierende Abspaltung: Emodepsid (**1**, MOL-029)<sup>191</sup>

Die zyklisierende Abspaltung wird nach der für PF1022A (**2**) beschriebenen Methode mit **142** (36.4 mg) durchgeführt. Nach chromatographischer Reinigung mittels präparativer HPLC (ACN/H<sub>2</sub>O) wird Emodepsid (**1**) in einer Gesamtausbeute von 45% (9.3 mg, 8.3  $\mu\text{mol}$ ) als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

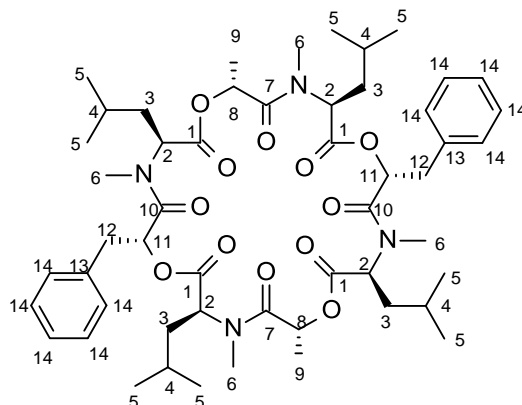


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.77-1.05 (m, 30H, 5-H, 9-H), 1.20-1.83 (m, 18H, 3-H, 4-H, 9-H), 2.73, 2.74, 2.80, 2.83, 3.00 (5s, 12H, 6-H), 2.85-3.07 (m, 4H, 12-H), 3.08-3.15 (m, 8H, 16-H), 3.81-3.88 (vt, 8H, 17-H), 4.47, 5.08, 5.19 5.34, 5.38-5.53 (5m, 6H, 2-H, 11-H), 5.54-5.67 (m, 2H, 8-H), 6.77-6.86 (m, 4H, 14-H), 7.09-7.17 (m, 4H, 14-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 15.8, 17.1, 20.9, 21.1, 21.2, 23.4, 23.5, 23.5, 23.6, 24.2, 24.7, 24.9, 29.4 (4-C, 5-C, 9-C), 30.5, 31.2 (6-C), 36.2, 36.7, 37.2, 37.5, 38.1 (3-C, 12-C), 49.9 (16-C), 54.0, 57.1 (2-C, 11-C), 66.5 (17-C), 66.6, 66.9, 68.6 (2-C, 11-C), 70.8, 71.3 (8-C), 116.1, 116.9, 130.4, 130.6 (14-C), 141.7 (13-C, 15-C), 169.8, 170.2, 170.4, 170.6, 171.0, 171.2, 171.7 (1-C, 7-C, 10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 374 (28) [M+3H]<sup>3+</sup>, 560 (85) [M+2H]<sup>2+</sup>, 1119 (69) [M+H]<sup>+</sup>, 1141 (100) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: 1141.6414 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>60</sub>H<sub>90</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>14</sub><sup>+</sup>: 1141.6407. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.42 (EE:EtOH, 9:1). **IR** (KBr): 1744 (C=O), 1665 (C=O), 1614 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### Zyklisierende Abspaltung: PF1022A (**2**, MOL-020)<sup>191</sup>

Eine Suspension aus harzgebundenem Octadepsipeptid **141** (50 mg) in DCM (0.5 mL) wird mit DIEA (2.2 Äq.) und Essigsäure (5.0 Äq.) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird filtriert und achtmal mit DCM (10 mL) gewaschen. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC (ACN/H<sub>2</sub>O Gradient) gereinigt. Es werden 8.1 mg (8.5  $\mu\text{mol}$ ) PF1022A (**2**) in einer

Reinheit von 99.5% als weißen Feststoff erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 75%, bezogen auf die Beladung des Harzes mit der linearen Vorstufe **141** bzw. 30% über alle Schritte.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.67–0.98 (m, 21H, 5-H, 9-H), 1.06–1.76 (m, 15H, 3-H, 4-H), 1.28 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, 9-H), 2.68, 2.77, 2.80, 2.85, 2.91 (5s, 12H, 6-H), 3.05 (m, 2H, 12-H), 4.41, 5.11, 5.22 (3m, 4H, 2-H), 5.01, 5.32, 5.42 (3m, 2H, 8-H), 5.52, 5.68, 5.71 (3m, 2H, 11-H), 7.21–7.33 (m, 10H, 14-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 15.5, 16.3, 16.8, (9-C), 20.4, 20.6, 20.8, 20.8, 20.9, 21.0, 23.0, 23.1, 23.2, 23.2, 23.4, 23.9, 24.2, 24.3, 24.3, 24.4, 28.9, 30.1, 30.1, 30.2, 30.3, 30.6 (4-C, 5-C, 6-C), 35.7, 36.3, 36.5, 36.6, 36.7, 36.7, 36.8, 37.1, 37.3 (3-C, 12-C), 53.0, 53.2, 53.3, 56.4 (2-C), 66.7, 67.5, 67.7 (11-C), 70.1, 70.9, 71.0 (8-C), 126.7, 126.7, 126.8, 128.1, 128.2, 128.2, 129.5 (14-C), 135.1, 135.2, 135.9 (13-C), 169.0, 169.0, 169.3, 169.5, 169.7, 170.2, 170.3, 170.7, 170.9 (1-C, 7-C, 10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: *m/z* (%) = 475 (4) [M+2H]<sup>2+</sup>, 949 (1) [M+H]<sup>+</sup>, 966 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 971 (23) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: *m/z* = 971.5351 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>52</sub>H<sub>76</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>12</sub><sup>+</sup>: 971.5352. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.21 (Toluol:IPA, 20:1). **IR** (KBr): 1739 (C=O), 1660 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### Prozedur zur Regeneration von Kaiser-Oxim

Zu einer unter Rückfluss kochenden Lösung aus Hydroxylaminhydrochlorid (200 mg, 2.9 mmol) und Pyridin (296 mg, 3.8 mmol) in Ethanol (1.5 mL) wird innerhalb von 5 min Kaiser-Oxim (100 mg) gegeben. Die Suspension wird anschließend 8.5 h unter Rückfluss gekocht. Danach wird das Harz filtriert und mit einer Mischung aus Methanol und Wasser (3:1, dreimal, 3 mL), Dimethylformamid (zweimal, 3 mL) und Methanol (sechsmal, 3 mL). Dann wird das Harz im Vakuum getrocknet.

#### 4x2-Festphasensynthese am Wang-Harz

##### Ankupplung des ersten Dipeptidbausteins an die feste Phase

Wang-Harz (500 mg) wird in THF (1.0 mL/100 mg Harz) suspendiert und zum Quellen 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Lösungsmittel entfernt und das Harz mit einer Lösung aus Dipeptid **131** (3 Äq.), DIC (3 Äq.), HOBt (3 Äq.) und DMAP (3 Äq.) in THF (1.0 mL / 100 mg Harz) versetzt. Die Suspension wird 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt und anschließend filtriert. Dann wird das Harz dreimal mit DCM (10 mL), Aceton (10 mL) und DCM (10 mL) (je 3 min) gewaschen und Vakuum bis zur Massenkonzanz getrocknet. Der Vorgang wird einmal wiederholt.

### Vorschrift zur Spaltung der Fmoc-Schutzgruppe

Das Harz (500 mg) wird 30 min in THF gequollen. Nach abtrennen des Lösungsmittels wird eine Lösung aus Piperidin in THF (25%, 10 mL) hinzugefügt und das Gemisch für 45 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann wird das Harz filtriert und je dreimal mit DCM (10 mL), Aceton (10 mL) und DCM (10 mL) (je 3 min) gewaschen. Anschließend wird das Harz bis zur Massenkonstanz im Vakuum getrocknet. Zur Bestimmung der Beladung des Harzes wird ein Aliquot der vereinigten Waschlösungen entnommen und wie unter Punkt 2.1.2 beschrieben analysiert.

### Amidkupplungen

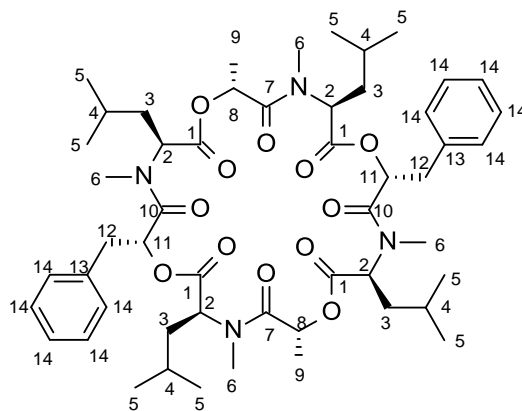
Eine Lösung aus Didepsipeptidsäure (3 Äq.), HATU (2 Äq.) und DIEA (3 eq) in THF (1.0 mL/100 mg Harz) wird zum in THF gequollenen Harz gegeben. Die Suspension wird anschließend 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann wird das Lösungsmittel abfiltriert und das Harz dreimal mit DCM (10 mL), Aceton (10 mL) und DCM (10 mL) jeweils 3 min gewaschen. Der Vorgang wird einmal wiederholt.

### Vorschrift zur Spaltung der linearen Depsipeptide vom Wang-Harz

Das mit dem linearen Octadepsipeptid beladene Wang-Harz wird mit einer Lösung aus TFA/DCM (1:1; 10 mL/500 mg Harz) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz filtriert und achtmal mit DCM (jeweils 10 mL) gewaschen. Die Lösung wird eingeeengt und das erhaltene Rohprodukt in der folgenden Makrozyklisierungsreaktion umgesetzt.

### Cyclooctadepsipeptid PF1022A (2, SEB-060)

DIEA (65.3 mg, 0.504 mmol) und BOP-Cl (61.6 mg, 0.242 mmol) werden bei 0 °C zu einer Lösung des ungereinigten Octadepsipeptids **149** (221.7 mg, entsprechen 0.092 mmol reiner Substanz) in DCM (200 mL). Die Reaktion wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden dieselben Mengen BOP-Cl und DIEA erneut zugegeben. Danach wird die Mischung für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird die Lösung mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Die säulenchromatographische Reinigung (Toluol:IPA, 20:1) des Rückstands liefert PF1022A (**2**, 87.8 mg, 92.5 µmol, 100%) als weißen Feststoff.

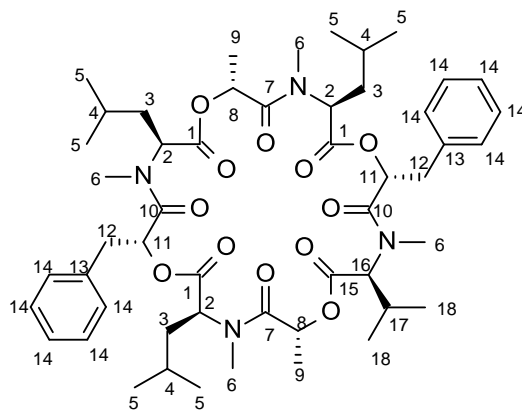


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.68–0.98 (m, 21H, 5-H, 9-H), 1.15–1.75 (m, 14H, 3-H, 4-H), 1.28 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 9-H), 2.68, 2.77, 2.80, 2.85, 2.91 (5s, 12H, 6-H), 3.05 (m, 2H, 12-H), 4.41, 5.11, 5.22 (3m, 4H, 2-H), 5.01, 5.32, 5.42 (3m, 2H, 8-H), 5.52, 5.68, 5.71 (3m, 2H, 11-H), 7.23–7.32 (m, 10H, 14-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 15.5, 16.3, 16.8, (9-C), 20.4, 20.6, 20.8, 20.8, 20.9, 21.0, 23.0, 23.1, 23.2, 23.2, 23.4, 23.9,

24.2, 24.3, 24.3, 24.4, 28.9, 30.1, 30.1, 30.2, 30.3, 30.6 (4-C, 5-C, 6-C), 35.7, 36.3, 36.5, 36.6, 36.7, 36.7, 36.8, 37.1, 37.3 (3-C, 12-C), 53.0, 53.2, 53.3, 56.4 (2-C), 66.7, 67.5, 67.7 (11-C), 70.1, 70.9, 71.0 (8-C), 126.7, 126.7, 126.8, 128.1, 128.2, 128.2, 129.5 (14-C), 135.1, 135.2, 135.9 (13-C), 169.0, 169.0, 169.3, 169.5, 169.7, 170.2, 170.3, 170.7, 170.9 (1-C, 7-C, 10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 475 (4)  $[M+2H]^{2+}$ , 950 (1)  $[M+H]^+$ , 966 (100)  $[M+NH_4]^+$ , 971 (23)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 971.5351  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{52}H_{76}N_4NaO_{12}^+$ : 971.5352. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.21 (Toluol:IPA, 20:1). **IR (KBr):** 1739 (C=O), 1660 (C=O)  $cm^{-1}$ .

#### Cyclooctadepsipeptid PF1022V (179, SEB-177)

DIEA (2.5 Äq.) und BOP-Cl (1.2 Äq.) werden bei 0 °C zu einer Lösung der linearen Vorstufe von **179** (167 mg, Gehalt: 19%, 0.033 mmol reine Substanz) in DCM gegeben. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur werden erneut BOP-Cl (1.2 Äq.) und DIEA (2.5 Äq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wird für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt, mit gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingeeignet. Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 7:3) des Rückstands liefert PF1022V (**179**) (31.0 mg, 0.033 mmol, 100%) als weißen Feststoff.



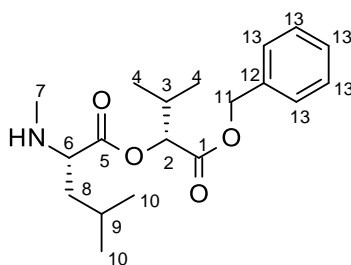
**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.66–1.08 (m, 24H, 5-H, 18-H), 1.25–1.80 (m, 15H, 4-H, 9-H, 3-H), 2.19 (m, 1H, 17-H), 2.68, 2.78, 2.82, 2.85, 2.87, 3.01, 3.07, 3.10 (8s, 12H, 6-H), 3.11, 3.17 (2m, 4H, 12-H), 4.53, 5.28–5.47 (2m, 4H, 2-H, 8-H), 4.98, 5.05, 5.10 (3 m, 1H, 16-H), 5.54, 5.65, 5.74 (3m, 3H, 8-H, 11-H), 7.21–7.34 (m, 10H, 14-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 14.3, 15.9, 16.4, 16.6, 17.4, 18.5, 19.5, 19.6, 19.8, 20.8, 20.8, 21.2, 21.3, 21.4, 21.6, 23.1, 23.2, 23.3, 23.5, 24.2, 24.5, 24.7, 25.0, 25.0, 26.9, 27.0, 28.9, 29.3, 29.7, 30.8, 31.1, 32.4 (4-C, 5-C, 6-C, 9-C, 17-C, 18-C), 36.6, 36.9, 37.4 (3-C, 12-C), 54.1, 55.0, 57.1, 61.0 (2-C, 16-C), 67.4, 68.5 (11-C), 70.8 (8-C), 126.1, 126.8, 127.1, 127.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.6, 129.5, 129.7, 129.8, 130.3 (14-C), 136.0 (13-C), 170.0, 170.6, 171.0 (1-C, 7-C, 10-C, 15-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  = 468 (1)  $[M+2H]^{2+}$ , 952 (100)  $[M+NH_4]^+$ , 957 (5)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 957.5198  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{51}H_{74}N_4NaO_{12}^+$ : 957.5195. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.15 (CH:EE, 7:3). **IR (KBr):** 1743 (C=O), 1662 (C=O)  $cm^{-1}$ .



### 2.1.5 Optimierung der Amidbindungsbildung in Lösung und an der festen Phase

#### (L)-MeLeu-(D)-Hiv-OBn (192, SEB-213)

Dipeptid **185** (200 mg, 0.36 mmol) wird in Piperidin (20% in THF) gelöst und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz, durch DC-Kontrolle (CH:EE, 7:3) ermittelt, wird das Gemisch eingengt und der Rückstand nach trocknen im Vakuum säulenchromatographisch (CH:EE, 8:2) gereinigt. Es werden 103 mg (0.31 mmol, 86%) gelbe viskose Flüssigkeit erhalten.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.96 (m, 12H, 4-H, 10-H), 1.50 (m, 3H, 8-H, NH), 1.72 (m, 1H, 9-H), 2.29 (m, 1H, 3-H), 2.35 (s, 3H, 7-H), 3.29 (t, J = 7.2 Hz, 1H, 6-H), 4.92 (d, J = 4.5 Hz, 1H, 2-H), 5.16, 5.22 (2d, J = 12.2 Hz, 2H, 11-H), 7.35 (m, 5H, 13-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 17.1, 18.8, 22.4, 22.5 (4-C, 10-C), 24.9 (9-C), 30.1 (3-C), 34.6 (7-C), 42.7 (8-C), 61.6 (6-C), 66.9 (11-C), 76.9 (2-C), 128.3, 128.4, 128.5 (13-C), 135.3 (12-C), 169.4, 175.7 (1-C, 5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 336 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 358 (1) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 336.2176 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 336.2169. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.19 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 3335 (N-H), 1739 (C=O), 1680 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

#### Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-Hiv-(L)-MeLeu-(D)-Hiv-OBn (194, SEB-223)

##### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung von Verbindung 194 unter Verwendung verschiedener Kupplungsreagenzien

Amin **192** (65.0 mg, 0.19 mmol) und Carbonsäure **187** (90.6 mg, 0.19 mmol) werden in THF (6.0 mL) gelöst und anschließend mit Kupplungsreagenz (1 Äq.) (BEP, HATU, PyBroP, BOP-Cl, HATU/HOAt, HATU/HOBt bzw. HATU/HOBt xH<sub>2</sub>O) und DIEA (2 Äq.) versetzt und 10 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird das Reaktionsgemisch mit DCM verdünnt und dreimal mit Wasser gewaschen. Danach wird die wässrige Phase mit NaCl gesättigt und mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (CH:EE, 9:1) gereinigt. Das Produkt **194** wird als farbloses viskoses Öl je nach eingesetztem Kupplungsreagenz in folgenden Ausbeuten erhalten: 28% (HATU), 45% (PyBroP), 53% (BOP-Cl), 45% (BEP), 32% (HATU/HOAt), 31% (HATU/HOBt), 23% (HATU/HOBtxH<sub>2</sub>O).

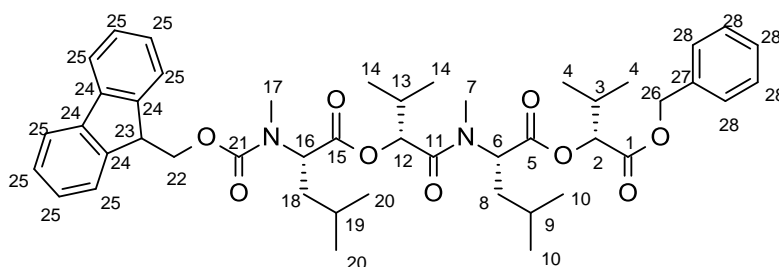
##### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung von Verbindung 194 unter Verwendung von Triphosgen

Triphosgen (1.15 Äq.) wird in THF (6.0 mL) gelöst. Anschließend wird die Fmoc-Aminosäure **187** (90.6 mg, 0.19 mmol) dazugegeben und gelöst. Dann wird die Lösung mit 2,4,6-Collidin (4 Äq.) versetzt. Diese Lösung wird zu einer Lösung aus **192** (65.0 mg, 0.19 mmol) und DIEA (3 Äq.) gegeben, die bei 0 °C unter Argonatmosphäre gerührt wird. Danach wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wird das Reaktionsgemisch mit DCM verdünnt und dreimal mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wird mit NaCl gesättigt und mit DCM extrahiert. Dann werden die vereinigten organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> trocknen, filtriert und eingengt.

engt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Die Reaktion liefert das Produkt in einer Ausbeute von 24 mg (30.6  $\mu\text{mol}$ , 16%) **194** als farbloses viskoses Öl.

#### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung von Verbindung **194** unter Verwendung von DFET

Eine Lösung von DFET (1 Äq.) und Verbindung **187** (90.6 mg, 0.19 mmol) in THF (6.0 mL) wird bei 0 °C gerührt und mit NMM (0.3 Äq.) versetzt. Die Lösung wird bei dieser Temperatur gerührt bis kein DFET mehr mittels DC ( $\text{CHCl}_3$ ) dedektiert werden kann (30 min). Anschließend wird **192** (65.0 mg, 0.19 mmol) zugegeben und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird das Reaktionsgemisch eingeeengt und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wird je zweimal mit Wasser, 1 M  $\text{NaHSO}_4$ , Wasser, 1 M  $\text{NaHCO}_3$ , Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingeeengt. Säulenchromatographische (CH:EE, 9:1) Reinigung des Rohproduktes liefert 23 mg (29.3  $\mu\text{mol}$ , 15%) des Tetrapeptids **194** als farbloses viskoses Öl.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.85-1.01 (m, 24H, 4-H, 10-H, 14-H, 20-H), 1.43, 1.57 (2m, 2H, 9-H, 19-H), 1.74 (m, 4H, 8-H, 18-H), 2.12, 2.28 (2m, 2H, 3-H, 13-H), 2.98 (s, 6H, 7-H, 17-H), 4.28 (m, 1H, 23-H), 4.45 (m, 2H, 22-H), 4.77, 5.05, 5.39 (3m, 2H, 6-H, 16-H), 4.88, 4.91, 5.10, 5.17 (4m, 2H, 2-H, 12-H), 5.13, 5.24 (2d,  $J$  = 12.1 Hz, 2H, 26-H), 7.30-7.44 (m, 9H, 25-H, 28-H), 7.58, 7.65, 7.78 (3m, 4H, 25-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 18.6, 19.2, 19.3, 21.1, 21.2, 21.3, 23.1, 23.2, 23.3 (4-C, 10-C, 14-C, 20-C), 24.7, 24.7 (9-C, 19-C), 29.6, 29.8, 30.0, 30.2 (3-C, 13-C), 30.5, 31.2 (7-C, 17-C), 37.2, 37.2 (8-C, 18-C), 47.3 (23-H), 54.5, 56.5 (6-C, 16-C), 66.9 (26-C), 67.7 (22-C), 75.4, 75.5, 77.5 (2-C, 12-C), 119.9, 124.9, 125.1, 127.0, 127.6, 128.4, 128.6 (25-C, 28-C), 135.2, 141.3, 143.9, 144.1 (24-C, 27-C), 157.0 (21-C), 169.3, 169.9, 171.4 (1-C, 5-C, 11-C, 15-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 785 (5)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 802 (100)  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 807 (3)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 807.4194  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{NaO}_9^+$ : 807.4191.  **$R_f$ -Wert**: 0.49 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1738 (C=O), 1664 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **Fmoc-(L)-MeLeu-(D)-Hiv-(L)-MeLeu-(D)-Hiv-OH (195, SEB144)**

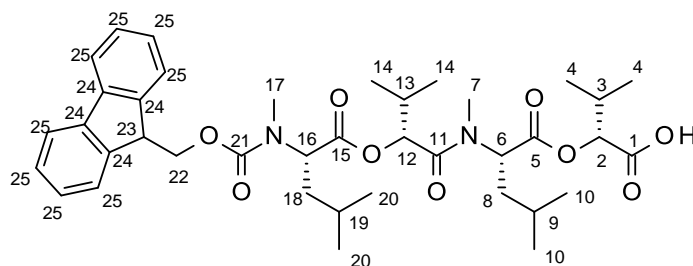
##### Vorschrift zur Herstellung von Verbindung **195** unter Verwendung von Triphosgen

Wang-Harz **193** (154 mg, 0.11 mmol, Hergestellt aus Verbindung **187** und 100 mg Wang-Harz (1.07 mmol/g, Beladungskapazität) unter Verwendung der für PF1022A (**2**) beschriebenen Prozedur) wird in THF (2.0 mL) suspendiert und zum Aufquellen 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird die Suspension mit DIEA (8 Äq.) versetzt. Dann werden die Carbonsäure **187** (150 mg, 0.32 mmol), Triphosgen (1.15 Äq.) und 2,4,6-Collidin (10 Äq.) in THF (2.5 mL) zugegeben und die Suspension bei Raumtemperatur 16 h geschüttelt. Danach wird das Harz dreimal mit jeweils 10 mL (je 3 min) DCM, Aceton und DCM gewaschen und im Vakuum getrocknet. Der Vorgang wird wiederholt. Im Anschluss wird das Harz mit einem Gemisch aus DCM und TFA (1:1, 6 mL) versetzt und 1.5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Danach wird das Harz filtriert und achtmal mit jeweils 10 mL DCM (je 3 min) gewaschen. Die DCM-Lösung wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen,

über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird im Vakuum getrocknet und im Anschluss mittels Säulenchromatographie (CH:EE, 1:1 + 0.1% AcOH) gereinigt. Es werden 64 mg (0.08 mmol, 79%) **195** als hellgelber pastöser Feststoff erhalten.

#### Vorschrift zur Herstellung von Verbindung **195** unter Verwendung von verschiedenen Kupplungsreagenzien

Wang-Harz **193** (Hergestellt aus Verbindung **187** und 100 mg Wang-Harz (1.07 mmol/g, Beladungskapazität) unter Verwendung der für **2** beschriebenen Prozedur) (154 mg, 0.11 mmol) wird in THF (2.0 mL) suspendiert und zum Aufquellen 30 min geschüttelt. Anschließend wird die Carbonsäure **187** (150 mg, 0.32 mmol), Kupplungsreagenz (2 Äq.) (BEP, HATU, PyBroP, BOP-Cl) und DIEA (3 Äq.) in THF (2.0 mL) zugegeben. Nach der Zugabe wird die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz dreimal mit jeweils 10 mL DCM (je 3 min), Aceton und DCM gewaschen und dann im Hochvakuum bis zur Massenkonzanz getrocknet. Der Vorgang wird wiederholt. Zur Abspaltung wird das Harz mit 6 mL TFA (50% in DCM) versetzt und 2 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz achtmal mit jeweils 10 mL DCM (je 3 min) gewaschen und die Lösung eingengt. Die Ausbeuten nach säulenchromatographischer (CH:EE, 1:1 + 0.1% Essigsäure) Reinigung des hellgelben pastösen Feststoffes **195** betragen je nach verwendetem Kupplungsreagenz: 19% (HATU), 28% (PyBroP), 32% (BOP-Cl), 41% (BEP).



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.81-1.06 (m, 24H, 4-H, 10-H, 14-H, 20-H), 1.46 (m, 2H, 9-H, 19-H), 1.66-1.91 (m, 4H, 8-H, 18-H), 2.25 (m, 2H, 3-H, 13-H), 2.92, 2.98, 3.10, 3.13 (4s, 6H, 7-H, 17-H), 4.26 (m, 1H, 23-H), 4.50 (m, 2H, 22-H), 4.92, 5.19 (2m, 2H, 2-H, 12-H), 4.98, 5.34 (2m, 2H, 6-H, 16-H), 7.32, 7.42 (2m, 4H, 25-H), 7.63, 7.69 (2m, 2H, 25-H), 7.78 (m, 2H, 25-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 16.9, 17.4, 18.6, 18.7, 18.8, 21.0, 21.2, 22.0, 23.1 (4-C, 10-C, 14-C, 20-C), 22.5, 37.1 (8-C, 18-C), 24.8, 24.8 (9-C, 19-C), 29.9, 30.0 (3-C, 13-C), 30.2, 31.6 (7-C, 17-C), 45.1, 47.2 (23-H), 54.9, 56.8 (6-C, 16-C), 68.2 (22-C), 75.5, 77.6 (2-C, 12-C), 120.0, 124.9, 125.0, 125.1, 127.1, 127.7 (25-C), 141.3, 143.7 (24-C), 157.7 (21-C), 160.4, 170.8 (1-C, 5-C, 11-C, 15-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 695 (26)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 712 (100)  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 717 (2)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 717.3725  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{NaO}_9^+$ : 717.3722.  **$R_f$ -Wert**: 0.22 (CH:EE, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 1739 (C=O), 1667 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2.2 Synthese enantiomerenreiner $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren

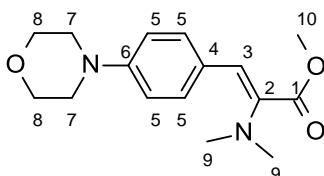
### 2.2.1 Synthese der Enamine 102a-m und der Enolester 104a-j

#### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 102a-m:

In einem ausgeheizten Rundkolben wird unter Argon Natriumhydrid (2 Äq.) vorgelegt und in getrocknetem Et<sub>2</sub>O suspendiert. Unter starkem Rühren wird trockenes Methanol (0.2 Äq.) sowie der Aldehyd **88a-m** (1 Äq.) zugegeben. Die Suspension wird im Eisbad abgekühlt und langsam mit Dimethylaminoessigsäuremethylester (3 Äq.) versetzt. Anschließend wird die Suspension im Eisbad unter Argon über Nacht gerührt. Nach ca. 18 h Rühren wird die Suspension im Eisbad gekühlt und mit Eiswasser versetzt. Die Suspension wird dann in einen Scheidetrichter überführt und mit Et<sub>2</sub>O/DCM (1:1) versetzt. Nach dem abtrennen der wässrigen Phase wird diese dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingengt und im Vakuum getrocknet.

#### (*E/Z*)-2-(Dimethylamino)-3-(4-morpholinophenyl)acrylsäuremethylester (**102a**, SEB-093, DAT-002)

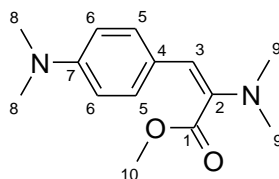
Edukt: *p*-Morpholinobenzaldehyd (3.81 g, 19.31 mmol). Ausbeute: 91%, 5.11 g, 17.58 mmol eines gelben Feststoffs nach der Destillation bei 220 °C, 8x10<sup>-3</sup> mbar.



<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.67, 2.72 (2s, 6H, 9-H), 3.14, 3.23 (2t, J = 4.9 Hz, 4H, 7-H), 3.72, 3.81 (2s, 3H, 10-H), 3.87 (m, J = 4.9 Hz, 4H, 8-H), 5.59, 6.93 (2s, 1H, 3-H), 6.82, 6.88 (2d, J = 8.9, 9.0 Hz, 2H, 5-H), 7.05, 7.71 (2d, J = 8.8, 9.0 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 40.6, 42.4 (9-C), 48.4, 49.2 (7-C), 51.3, 52.1 (10-C), 66.7, 66.8 (8-C), 107.0, 129.3 (3-C), 114.4, 115.4 (5-C), 126.2 (4-C), 127.9, 131.6 (5-C), 137.8, 142.0 (2-C), 149.2, 151.0 (6-C), 167.3, 168.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 231 (46) [M-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>, 291 (100) [M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 291.1704 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>: 291.1703. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.26, 0.39 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1717 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 70 °C.

#### (*E/Z*)-2-(Dimethylamino)-3-(4-dimethylaminophenyl)acrylsäuremethylester (**102b**, SEB-094, DAT-001)

Edukt: *p*-*N,N*-Dimethylaminobenzaldehyd (4.50 g, 29.86 mmol). Destillation bei 195 °C, 2.9x10<sup>-2</sup> mbar. Ausbeute: 87% (6.45 g, 26.03 mmol) eines gelben Feststoffs.

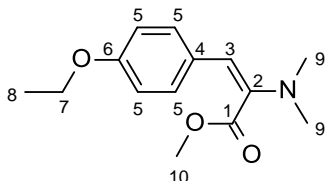


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.68, 2.71 (2s, 6H, 9-H), 2.94, 3.01 (2s, 6H, 8-H), 3.74, 3.81 (2s, 3H, 10-H), 5.64, 7.00 (2s, 1H, 3-H), 6.66, 6.71 (2d, J = 9.0, 9.1 Hz, 2H, 6-H), 7.03, 7.75 (2d, J = 8.5, 9.1 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 40.1, 40.5 (8-C), 40.7, 42.3 (9-C), 51.1, 52.2 (10-C), 108.5, 131.3 (3-C),

111.5 112.5 (6-C), 123.0 (4-C), 128.0, 132.1 (5-C), 136.2 (2-C), 150.5 (7-C), 167.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 189 (99)  $[M-C_2H_4O_2+H]^+$ , 249 (100)  $[M+H]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 271.1414  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{14}H_{20}N_2NaO_2^+$ : 271.1417. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.33, 0.44 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1701 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 36-38 °C.

**(E/Z)-2-(Dimethylamino)-3-(4-ethoxyphenyl)acrylsäuremethylester (102c, SEB-233)**

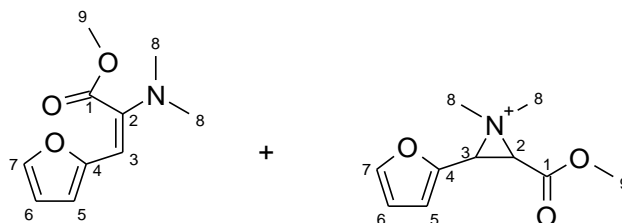
Edukt: *p*-Ethoxybenzaldehyd (3.49 g, 23.00 mmol). Destillation bei 175 °C,  $8.0 \times 10^{-2}$  mbar. Ausbeute: 96% (5.52 g, 22.15 mmol) einer gelben Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.45 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 3H, 8-H), 2.68, 2.73 (2s, 6H, 9-H), 3.71, 3.82 (2s, 3H, 10-H), 4.08 (q,  $J$  = 7.0 Hz, 2H, 7-H), 5.64, 6.92 (2s, 1H, 3-H), 6.90 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.71 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 14.6, 14.8 (8-C), 40.6, 42.4 (9-C), 51.4, 52.1 (10-C), 63.3, 63.9 (7-C), 114.1, 114.5, 131.8, 131.9 (5-C), 127.6, 128.6 (3-C), 138.3 (4-C), 142.4 (6-C), 157.1 (2-C), 167.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 190 (92)  $[M-CO_2Me+H]^+$ , 250 (100)  $[M+H]^+$ , 272 (2)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 250.1442  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{14}H_{20}NO_3^+$ : 250.1438. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.63 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1708 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(E/Z)-2-(Dimethylamino)-3-(furan-2-yl)acrylsäuremethylester und (E/Z)-2-(Furan-2-yl)-3-(methoxycarbonyl)-1,1-dimethylaziridin-1-ium (102d, SEB-121, DAT-005)**

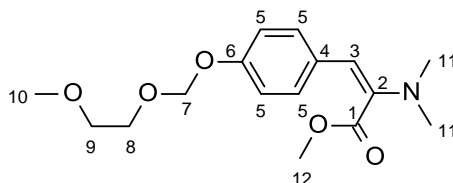
Edukt: 2-Furaldehyd (1.60 g, 16.32 mmol). Destillation bei 115 °C,  $3.1 \times 10^{-1}$  mbar. Ausbeute: Gemisch aus **102d** und dem korrespondierenden Aziridinium: 85% (2.72 g, 13.94) mmol einer gelben Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.33, 2.45, 2.70, 2.75 (s, 6H, 8-H), 3.63, 3.76, 3.79, 3.85 (s, 3H, 9-H), 3.61, 5.05, (2dd,  $J$  = 10.5, 8.1, 10.5, 7.9 Hz, 2H, 2-,3-H), 6.28, 6.34, 6.84 (d, m, d,  $J$  = 3.3, 3.4 Hz, 1H, 5-H), 6.00, 6.34, 6.49 (d, m, dd, dd,  $J$  = 3.3, 0.8, 1.9 Hz, 1H, 6-H), 7.23 (dd,  $J$  = 0.8, 1.9 Hz, 1H, 7-H), 7.39 (2d,  $J$  = 0.8, 1.9 Hz, 1H, 7-H), 7.45 (dd,  $J$  = 0.8, 1.9 Hz, 1H, 7-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 40.1, 41.6, 42.2, 42.4 (8-C), 51.1, 51.3, 51.5, 52.2 (9-C), 63.2, 66.1, 70.1, 70.6, 92.8, 117.2, 137.8 (2-, 3-C), 107.2, 108.5, 110.2, 110.3, (5-, 6-C), 104.6, 112.1 (6-C), 107.5, 113.1 (5-C), 140.3, 142.1, 142.6, 142.7 (7-C), 150.7, 152.6, 163.9 (4-C), 166.4, 169.3, 171.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 136 (100)  $[M-C_2H_4O_2+H]^+$ , 196 (68)  $[M+H]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 196.0975  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{10}H_{14}NO_3^+$ : 196.0974. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.11, 0.17, 0.39, 0.56 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1733 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(E/Z)-2-(Dimethylamino)-3-(4-methoxyethoxymethoxyphenyl)acrylsäuremethylester (102e, SEB-240)**

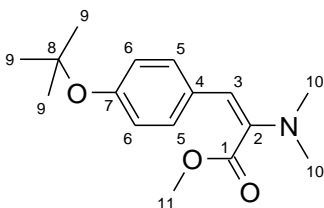
Edukt: *p*-Methoxyethoxymethylbenzaldehyd (4.78 g, 22.73 mmol). Destillation bei 220 °C,  $8.0 \times 10^{-2}$  mbar. Ausbeute: 74% (5.20 g, 16.81 mmol) einer gelben viskosen Flüssigkeit.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 2.67, 2.73 (2s, 6H, 11-H), 3.38 (s, 3H, 10-H), 3.58, 3.84 (2m, 4H, 8-H, 9-H), 3.71, 3.82 (2s, 3H, 12-H), 5.25, 5.31, 5.37 (3s, 2H, 7-H), 6.89 (s, 1H, 3-H), 6.96, 7.05, 7.18, 7.68, 7.85 (5d,  $J$  = 8.9 Hz, 4H, 5-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 40.5, 42.4 (11-C), 51.5, 52.1 (12-C), 59.0 (10-C), 67.6, 67.7, 68.0, 71.5, 71.6 (8-C, 9-C), 93.1, 93.3, 93.5 (7-C), 115.8, 116.1, 116.3, 127.9, 128.9, 130.9 (5-C), 128.1, 131.8 (3-C), 138.8 (4-C), 142.4 (6-C), 155.4, 157.2 (2-C), 167.2 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 250 (20)  $[\text{M-CO}_2\text{Me+H}]^+$ , 310 (100)  $[\text{M+H}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 332.1469  $[\text{M+Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NNaO}_5^+$ : 332.1468. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.32 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1710 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

**(E/Z)-3-(4-tert-Butoxyphenyl)-2-dimethylaminoacrylsäuremethylester (102f, SEB-103, DAT-006)**

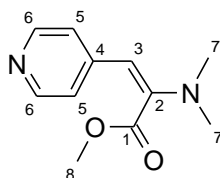
Edukt: *p-tert.*-Butoxybenzaldehyd (4.00 g, 21.99 mmol). Destillation bei 200 °C,  $4.0 \times 10^{-2}$  mbar. Ausbeute: 93% (5.66 g, 20.39 mmol) einer hellgelben viskosen Flüssigkeit.



$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.38, 1.45 (s, 9H, 9-H), 2.66, 2.72 (s, 6H, 10-H), 3.66, 3.81 (s, 3H, 11-H), 5.62, 6.89 (s, 1H, 3-H), 6.97, 7.10 (2d,  $J$  = 8.7, 8.6 Hz, 2H, 6-H), 7.63, 7.81 (2d,  $J$  = 8.9, 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 28.9, 28.8 (9-C), 40.4, 42.5 (10-C), 51.5, 52.0 (11-C), 106.5, 123.7 (3-C), 122.4, 123.2 (6-C), 131.0, 130.0 (5-C), 127.5 (4-C), 139.0 (2-C), 155.9 (7-C), 167.2 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 162 (33)  $[\text{M-C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{-C}_4\text{H}_{10}\text{+H}]^+$ , 218 (37)  $[\text{M-C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{+H}]^+$ , 278 (100)  $[\text{M+H}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 278.1756  $[\text{M+H}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{NO}_3^+$ : 278.1751. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.42, 0.55 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1713 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

**(E/Z)-2-(Dimethylamino)-3-(pyridin-4-yl)acrylsäuremethylester (102g, SEB-109)**

Edukt: Pyridin-4-carbaldehyd (3.14 g, 28.45 mmol). Ausbeute nach Destillation bei 120 °C,  $4.0 \times 10^{-2}$  mbar: 65% (3.79 g, 18.39 mmol) einer hellroten Flüssigkeit.

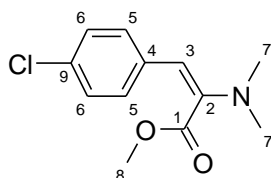


$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 2.79 (s, 6H, 7-H), 3.74 (s, 3H, 8-H), 5.24 (s, 1H, 3-H), 6.89 (dd,  $J$  = 1.9, 4.5 Hz, 2H, 5-H), 8.29 (dd,  $J$  = 1.7, 4.5 Hz, 2H, 6-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 39.9 (7-C), 52.6 (8-C),

99.7 (3-C), 120.9 (5-C), 145.4 (4-C), 149.0 (6-C), 150.3 (2-C), 167.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 207 (100)  $[M+H]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 207.1128  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{11}H_{15}N_2O_2^+$ : 207.1128. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.13 (CH:EE, 1:1). **IR** (Film): 1732 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(E/Z)-3-(4-Chlorophenyl)-2-dimethylaminoacrylsäuremethylester (102h, SEB-110)**

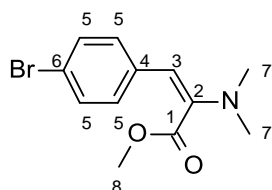
Edukt: *p*-Chlorbenzaldehyd (4.00 g, 27.89 mmol). Ausbeute nach der Destillation bei 175 °C,  $5.1 \times 10^{-1}$  mbar: 84% (5.63 g, 23.48 mmol) einer gelben Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 2.67, 2.76 (2s, 6H, 7-H), 3.71, 3.83 (2s, 3H, 8-H); 5.51, 6.74 (2s, 1H, 3-H), 7.03, 7.31 (2d,  $J$  = 8.5, 8.6 Hz, 2H, 6-H), 7.20, 7.54 (2d,  $J$  = 8.5, 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 40.5, 42.5 (7-C), 51.7, 52.2 (8-C), 104.4, 124.1 (3-C), 128.1, 128.3 (6-C), 128.1, 131.0 (5-C), 133.5, 133.8 (4-C), 140.7, 143.8 (9-C, 2-C), 166.9, 167.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 180 (77)  $[M-C_2H_4O_2+H]^+$ , 240 (100)  $[M+H]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 240.0787  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{12}H_{15}ClNO_2^+$ : 240.0786. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.43, 0.57 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1717 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(E/Z)-3-(4-Bromophenyl)-2-dimethylaminoacrylsäuremethylester (102i, SEB-226)**

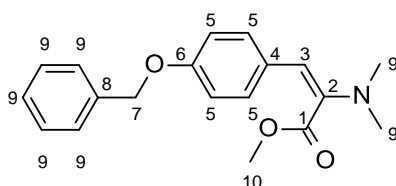
Edukt: *p*-Brombenzaldehyd (4.28 g, 23.14 mmol). Ausbeute nach der Destillation bei 180 °C,  $2.0 \times 10^{-1}$  mbar: 92% (6.03 g, 21.22 mmol) einer gelben viskosen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 2.67, 2.76 (2s, 6H, 7-H), 3.72, 3.84 (2s, 3H, 8-H); 5.49, 6.71 (2s, 1H, 3-H), 6.98, 7.36 (2d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.48 ( $\psi$ s, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 40.3, 42.5 (7-C), 51.8, 52.3 (8-C), 104.4, 123.9 (3-C), 128.5, 128.5 (5-C), 131.1, 131.3, 131.6 (5-C), 134.3, 136.3 (4-C), 140.9, 143.8 (6-C, 2-C), 167.0, 167.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 224 (81)  $[M-C_2H_4O_2+H]^+$ , 284 (100)  $[M+H]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 284.0280  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{12}H_{15}BrNO_2^+$ : 284.0281. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.40, 0.55 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1729 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(E/Z)-3-(4-Benzyloxyphenyl)-2-dimethylaminoacrylsäuremethylester (102j, SEB-234)**

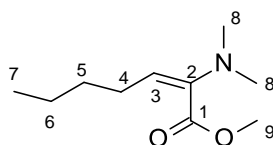
Edukt: *p*-Benzyloxybenzaldehyd (4.98 g, 23.00 mmol). Destillation bei 180 °C,  $2.0 \times 10^{-1}$  mbar. Ausbeute: 84% (6.03 g, 19.37 mmol) einer gelben viskosen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.70, 2.76 (2s, 6H, 9-H), 3.72, 3.84 (2s, 3H, 10-H), 5.08, 5.12 (2s, 2H, 7-H), 5.63, 6.94 (2s, 1H, 3-H), 6.91, 7.00, 7.09 (3d, J = 8.7 Hz, 3H, 5-H), 7.37-7.49 (m, 5H, 8-H), 7.73 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 40.5, 42.4 (9-C), 51.4, 52.1 (10-C), 69.9, 70.0 (7-C), 106.7, 128.5 (3-C), 114.4, 114.7, 131.6, 131.8, 131.9 (5-C), 127.4, 127.8, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.6 (9-C), 136.7, 137.0, 138.5 (4-C, 8-C), 142.5 (6-C), 157.0, 158.9 (2-C), 167.2, 168.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 252 (24) [M-CO<sub>2</sub>Me+H]<sup>+</sup>, 312 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 334 (1) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 334.1411 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NNaO<sub>3</sub><sup>+</sup>: 334.1414. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.52 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 1734 (C=O), 1709 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### (E/Z)-2-(Dimethylamino)-hept-2-enosäuremethylester (102m, DAT-011)<sup>132</sup>

Edukt: Pentanal (2.00 g, 22.76 mmol). Destillation bei 200 °C, 1,8x10<sup>-1</sup> mbar. Ausbeute: 32% (1.35 g, 7.30 mmol) einer gelben Flüssigkeit.



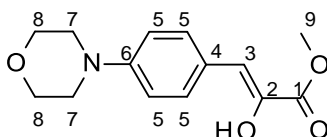
**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.90 (m, 3H, 7-H), 1.34 (m, 4H, 5-, 6-H), 2.15, 2.26 (2m, 2H, 4-H), 2.52, 2.59 (2s, 6H, 8-H), 3.71, 3.80 (2s, 3H, 9-H), 4.75, 6.26 (2t, 1H, 3-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 13.8 (7-C), 22.5 (6-C), 26.9 (4-C), 30.9 (5-C), 41.4, 43.8 (8-C), 51.1, 51.6 (9-C), 113.3, 136.8 (3-C), 141.1 (2-C), 166.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 126 (100) [M-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>, 186 (90) [M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 186.1489 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>: 186.1489. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.61 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1718 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 104a und 104b

Das Enamin **102a** bzw. **102b** wird in einen Kolben unter Rühren mit Salzsäure (ca. 100 mL, 1 M) versetzt. Die wässrige Phase wird mehrmals mit DCM gewaschen und anschließend mittels Natriumhydrogencarbonat basisch gestellt. Hierbei kristallisiert ein Niederschlag aus, der mittels Filtration isoliert wird. Der Filterkuchen wird mit Wasser gewaschen in einen Kolben überführt und im Vakuum getrocknet. Der gebildete Feststoff wird mittels Umkristallisation gereinigt.

### 2-Hydroxy-3-(4-morpholinophenyl)acrylsäuremethylester (104a, SEB-078)

Edukt: Enamin **102a** (6.00 g, 20.66 mmol). Umkristallisation aus Aceton. Ausbeute: 79% (4.30 g, 16.32 mmol) eines gelben Feststoffs.



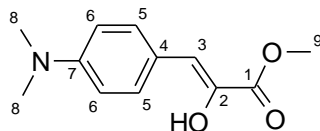
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.23 (t, J = 4.8 Hz, 4H, 7-H), 3.88 (t, J = 4.7 Hz, 4H, 8-H), 3.92 (s, 3H, 9-H), 6.51 (s, 1H, 3-H), 6.91 (d, J = 9.0 Hz, 2H, 5-H), 7.72 (d, J = 9.0 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 49.0 (7-C), 53.3 (9-C), 66.9 (8-C), 111.9 (3-C), 115.3 (5-C), 125.5 (4-C), 131.7 (5-C), 137.5 (2-C), 150.7 (6-C), 166.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 204 (9) [M-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>, 264 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 286



(15)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 264.1232 [M+H]^+$ , berechnet für  $C_{14}H_{18}NO_4^+$ : 264.1230. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.22 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3403 (O-H), 1685 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 160-162 °C.

### 3-(4-Dimethylaminophenyl)-2-hydroxyacrylsäuremethylester (104b, DAT-013)<sup>132</sup>

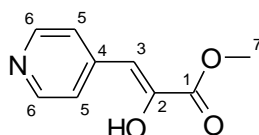
Edukt: Enamin **102b** (1.02 g, 2.64 mmol). Umkristallisation aus Aceton. Ausbeute: 88% (0.51 g, 2.31 mmol) eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 3.02$  (s, 6H, 8-H), 3.91 (s, 3H, 9-H), 5.94 (s, 1H, OH), 6.53 (s, 1H, 3-H), 6.74 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H, 6-H), 7.72 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 40.4$  (8-C), 52.7 (9-C), 112.0 (6-C), 112.4 (3-C), 122.3 (4-C), 131.3 (5-C), 136.3 (2-C), 150.1 (7-C), 167.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 147 (10)  $[M-C_2H_4O_2-OH+H]^+$ , 162 (20)  $[M-C_2H_4O_2+H]^+$ , 222 (100)  $[M+H]^+$ , 244 (9)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 222.1126 [M+H]^+$ , berechnet für  $C_{12}H_{16}NO_3^+$ : 222.1125. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.23 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3440 (O-H), 1676 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 124-126 °C.

### 2-Hydroxy-3-(pyridin-4-yl)-propansäuremethylester (104g, SEB-111, DAT-008)

Das Enamin **102g** (1.44 g, 6.98 mmol) wird mit Salzsäure (ca. 150 mL, 1 M) versetzt, die wässrige Lösung mit NaCl gesättigt und mit einem Gemisch aus DCM/Aceton versetzt. Die Reaktionsmischung wird mit  $NaHCO_3$  basisch gestellt. Anschließend werden die Phasen separiert und die wässrige Phase mit DCM dreimal extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit  $Na_2SO_4$  getrocknet, eingengt und im Vakuum getrocknet. Es bildet sich ein signalgelber Feststoff. Der gebildete Feststoff wird aus Aceton umkristallisiert. Ausbeute: 78% (0.97 g, 5.41 mmol) eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 3.80$  (s, 3H, 7-H), 6.27 (s, 1H, 3-H), 7.80 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H, 5-H), 8.39 (d,  $J = 6.5$  Hz, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 52.5$  (7-C), 103.3 (3-C), 121.8 (5-C), 144.3 (6-C), 147.2 (4-C), 153.2 (2-C), 164.8 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 120 (100)  $[M-C_2H_4O_2+H]^+$ , 180 (36)  $[M+H]^+$ , 202 (2)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 180.0656 [M+H]^+$ , berechnet für  $C_9H_{10}NO_3^+$ : 180.0661. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.18 (EE). **IR** (KBr): 3433 (O-H), 1723 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 160-163 °C.

### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 104c-f und 104h-j

Das Enamin **102c-f** bzw. **102h-j** wird unter Rühren mit 1 M Salzsäure versetzt. Anschließend wird  $Et_2O$  zu der Suspension gegeben. Nach vollständigem Umsatz, der mittels DC detektiert wird, wird die wässrige Phase mit NaCl gesättigt und dreimal mit  $Et_2O$  extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit  $Na_2SO_4$  getrocknet, filtriert, eingengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Die erhaltenen Rohprodukte werden mittels Umkristallisation gereinigt.

**3-(4-Ethoxyphenyl)-2-hydroxyacrylsäuremethylester (104c, SEB-237)**

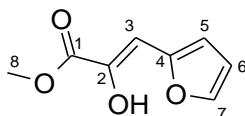
Edukt: Enamin **102c** (5.48 g, 19.01 mmol). Der gebildete Feststoff wird aus Et<sub>2</sub>O umkristallisiert. Ausbeute: 73% (4.58 g, 13.81 mmol) eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.44 (t, J = 7.0 Hz, 6H, 8-H), 3.80, 3.85, 3.92 (3s, 6H, 9-H), 4.05 (m, 4H, 7-H), 4.07 (m, 2H, 3-H), 5.94 (s-br, 1H, OH), 6.53 (s, 1H, 3-H), 6.90 (m, 4H, 5-H), 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 1H, 5-H), 7.74 (d, J = 8.0 Hz, 3H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 14.7 (8-C), 44.9 (3-C), 52.9, 53.0, 53.3 (9-C), 63.2, 63.4, 63.5 (7-C), 111.3 (3-C), 113.9, 114.0, 114.5, 114.8, 129.1, 130.8, 131.4, 132.7 (5-C), 123.2, 126.7 (4-C), 137.5 (2-C), 158.4, 158.8 (6-C), 166.8 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 163 (100) [M-CO<sub>2</sub>Me]<sup>+</sup>, 223 (92) [M+H]<sup>+</sup>, 245 (19) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 245.0780 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 245.0784. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.46 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3414 (O-H), 1687 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 102-105 °C.

**3-(Furan-2-yl)-2-hydroxyacrylsäuremethylester (104d, SEB-122, DAT-010)**

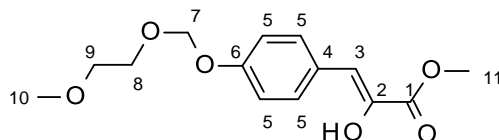
Edukt: Enamin **102d** (2.68 g, 13.73 mmol). Der gebildete Feststoff wird aus Aceton umkristallisiert. Ausbeute: 69% (1.59 g, 9.42 mmol) eines braunen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.93 (s, 3H, 8-H), 6.51 (s, 1H, OH), 6.52 (m, 1H, 6-H), 6.59 (s, 1H, 3-H), 6.87 (d, J = 3.6 Hz, 1H, 5-H), 7.47 (dd, J = 0.5, 1.8 Hz, 1H, 7-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 53.0 (8-C), 101.2 (3-C), 112.3 (6-C), 113.0 (5-C), 137.5 (7-C), 142.5 (4-C), 149.8 (2-C), 165.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 109 (100) [M-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>, 169 (26) [M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 167.0347 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub><sup>-</sup>: 167.0350. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.42 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3404 (O-H), 1704 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 90-92 °C.

**2-Hydroxy-3-(4-methoxyethoxymethoxyphenyl)acrylsäuremethylester (104e, SEB-241)**

Edukt: Enamin **102e** (5.16 g, 14.71 mmol). Das gebildete Rohprodukt wird mittels Kugelrohrdestillation bei 200 °C und 2.0x10<sup>-2</sup> mbar gereinigt. Ausbeute: 72% (4.59 g, 10.64 mmol) einer gelben viskosen Flüssigkeit.

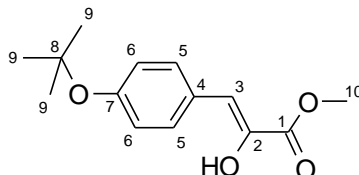


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.38 (m, 3H, 10-H), 3.57 (m, 2H, 8-H, 9-H), 3.64, 3.78, 3.91 (3s, 3H, 11-H), 3.83 (m, 2H, 8-H, 9-H), 5.26, 5.29, 5.35 (3s, 2H, 7-H), 6.51 (s, 1H, 3-H), 6.80, 6.93, 7.06, 7.17, 7.31, 7.72, 7.84 (7m, 4H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 52.6, 53.0, 53.3 (11-C), 58.9, 59.6 (10-C), 67.5, 67.6, 67.9, 68.0, 71.4, 71.5 (8-C, 9-C), 93.0, 93.2, 93.4 (7-C), 110.9 (3-C), 115.8, 116.1, 116.3, 116.5, 116.6, 130.7, 130.8, 130.9, 131.3, 131.5, 131.8 (5-C), 124.7, 126.0, 127.9, 132.6 (4-C), 137.9 (2-C), 156.4, 156.9 (6-C), 162.2, 166.7 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 300 (116) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 305 (100) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z =

305.1001  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{14}H_{18}NaO_6^+$ : 305.0996. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.13 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 3434 (O-H), 1743 (C=O), 1693 (C=O)  $cm^{-1}$ .

### 3-(4-*tert*-Butoxyphenyl)-2-hydroxyacrylsäuremethylester (104f, DAT-012)<sup>132</sup>

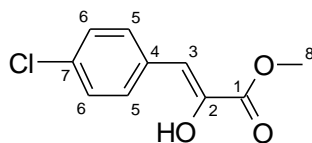
Edukt: Enamin **102f** (5.72 g, 17.00 mmol). Der gebildete Feststoff wird aus DCM umkristallisiert. Ausbeute: 58% (3.22 g, 9.78 mmol) eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 1.38 (s, 9H, 9-H), 2.17 (s, 1H, 2-H), 3.92 (s, 3H, 10-H), 6.52 (s, 1H, 3-H), 7.00 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.69 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 28.6 (9-C), 52.8 (10-C), 78.9 (8-C), 111.1 (3-C), 122.4 (4-C), 123.9 (6-C), 130.6 (5-C), 155.7 (2-C), 167.0 (7-C), 191.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 192 (100)  $[M-C_4H_9-H]^+$ , 249 (43)  $[M-H]^+$ . **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.42 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3392 (O-H), 1747 (C=O), 1693 (C=O)  $cm^{-1}$ .

### 3-(4-Chlorophenyl)-2-hydroxyacrylsäuremethylester (104h, SEB-112)

Edukt: Enamin **102h** (5.11 g, 21.32 mmol). Der gebildete Feststoff wird aus  $Et_2O$  umkristallisiert. Ausbeute: 90% (4.07 g, 19.12 mmol) eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 3.93 (s, 3H, 8-H), 6.13 (s, 1H, OH), 6.50 (s, 1H, 3-H), 7.34 (m,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.71 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 53.3 (8-C), 109.9 (3-C), 128.6 (6-C), 131.1 (5-C), 131.8 (4-C), 133.6 (7-C), 139.4 (2-C), 166.4 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 151 (100)  $[M-CO_2Me]^-$ , 211 (48)  $[M-H]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 211.0169  $[M-H]^+$ , berechnet für  $C_{10}H_8ClO_3^-$ : 211.0167. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.43 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3403 (O-H), 1739 (C=O), 1693 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 148-151 °C.

### 3-(4-Bromophenyl)-2-hydroxyacrylsäuremethylester (104i, SEB-236)

Edukt: Enamin **102i** (5.99 g, 20.65 mmol). Der gebildete Feststoff wird aus  $Et_2O$  umkristallisiert. Ausbeute: 73% (5.24 g, 15.13 mmol) eines gelben Feststoffs.

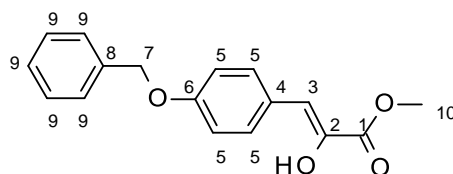


**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 3.52, 4.10 (2s, 2H, 3-H), 3.77, 3.87, 3.93 (3s, 6H, 8-H), 6.47 (s, 1H, 3-H), 6.77 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.25 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.50, 7.62 (2m, 4H, 5-H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 38.7, 45.0 (3-C), 53.1, 53.3, 53.3 (8-C), 109.9 (3-C), 127.8, 130.6, 130.9, 131.1, 131.3, 131.4, 131.6, 131.9, 132.3, 132.8, 133.0 (5-C, 6-C), 139.5, 146.6 (2-C, 4-C, 7-C), 170.6, 171.8 (1-C) ppm.

**HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 194 (100)  $[M-C_2H_4O_2-H]^-$ , 255 (64)  $[M-H]^-$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 254.9662  $[M-H]^-$ , berechnet für  $C_{10}H_8BrO_3^-$ : 254.9662. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.30 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3397 (O-H), 1754 (C=O), 1738 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 126-129 °C.

### 3-(4-Benzoyloxyphenyl)-2-hydroxyacrylsäuremethylester (104j, SEB-242)

Edukt: Enamin **102j** (5.24 g, 15.28 mmol). Der gebildete Feststoff wird aus Et<sub>2</sub>O umkristallisiert. Ausbeute: 54% (2.35 g, 8.28 mmol) eines hellgelben Feststoffs.



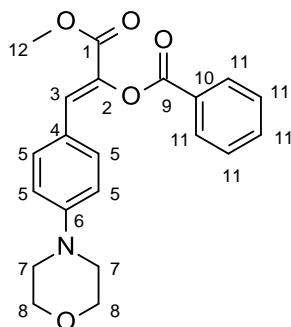
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.87, 3.94 (2s, 3H, 10-H), 5.08, 5.12 (2s, 2H, 7-H), 6.35 (s-br, 1H, OH), 6.54 (s, 1H, 3-H), 7.02 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, 5-H), 7.41 (m, 5H, 9-H), 7.76 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 53.0 (10-C), 70.0, 70.2 (7-C), 111.1 (3-C), 114.5, 115.1, 115.2, 130.9, 131.5 (5-C), 127.1, 127.4, 128.0, 128.6, 128.7 (9-C), 129.3 (4-C, 8-C), 136.8, 137.6 (2-C, 8-C), 158.6 (6-C), 166.8 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 285 (100)  $[M+H]^+$ , 307 (21)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 307.0941  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{17}H_{16}NaO_4^+$ : 307.0941. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.32 (CH:EE, 8:2). **IR** (KBr): 3403 (O-H), 1678 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 112-115 °C.

## 2.2.2 Syntheseroute über enantioselektive Hydrierung

### Synthese der *O*-acylierten Enolester 105a-b und 115a-j

#### (*Z*)-2-Benzoyloxy-3-(4-morpholinophenyl)acrylsäuremethylester (105a, SEB-087)

Der Enolester **104a** (2.0 g, 7.6 mmol) wird in DCM gelöst und 5 min unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird er mit Benzoesäure (1.5 Äq.), DIC (1.5 Äq.) und DMAP (0.1 Äq.) versetzt. Nach beendeter Zugabe wird 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird die Reaktionsmischung eingedampft und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 9:1) des Rohproduktes liefert: 2.5 g (6.7 mmol, 88%) signalgelben Schaum.

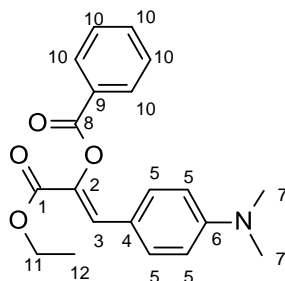


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN):  $\delta$  = 3.17 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 4H, 7-H), 3.62 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 4H, 8-H), 3.81 (s, 3H, 12-H), 6.86 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, 5-H), 7.40 (s, 1H, 3-H), 7.50 (m, 4H, 5-H, 11-H), 7.75 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, 11-H), 8.20

(d,  $J = 7.5$  Hz, 2H, 5-H, 11-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta = 48.4$  (7-C), 53.0 (12-C), 67.1 (8-C), 115.3 (5-C, 11-C), 118.2, 123.0 153.4 (2-C, 4-C, 6-C, 10-C), 128.2 (3-C), 128.6, 129.5, 129.7, 130.1, 130.5, 131.0, 132.7, 134.1, 135.2 (5-C, 11-C), 164.2, 165.4 (1-C, 9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 368 (100)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 390 (6)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 368.1492$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_5^+$ : 368.1492. **IR** (KBr): 1718 (C=O), 1602 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .

#### (Z)-2-Benzoyloxy-3-(4-dimethylaminophenyl)acrylsäureethylester (105b, SEB-079)

Der Enolester **114b**<sup>131</sup> (500.0 mg, 2.1 mmol) wird in DCM gelöst und 5 min unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird er mit je 1.5 Äquivalenten Benzoesäure, DIC und DMAP versetzt. Nach beendeter Zugabe wird die Mischung 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird eingengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Säulenchromatographische Reinigung (CH/EE 9:1) liefert 601.4 mg (1.8 mmol, 83%) eines hellgelben kristallinen Feststoffs.



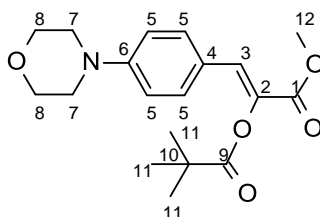
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta = 1.29$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 12-H), 2.97 (s, 6H, 7-H), 4.26 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H, 11-H), 6.68 (d,  $J = 9.1$  Hz, 2H, 5-H), 7.39 (s, 1H, 3-H), 7.55 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H, 5-H), 7.63 (t,  $J = 7.6, 8.1$  Hz, 2H, 10-H), 7.76 (t,  $J = 7.5, 8.7$  Hz, 1H, 10-H), 8.22 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H, 10-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta = 14.2$  (12-C), 40.0 (7-C), 61.3 (11-C), 111.7 (5-C, 10-C), 119.8 (4-C), 128.1 (3-C), 128.6, 129.2, 130.3, 131.9, 133.5, 133.6 (5-C, 10-C), 151.1 (2-C, 6-C, 9-C), 163.1, 164.5 (1-C, 8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 340 (100)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 362 (9)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 340.1544$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{NO}_4$ : 340.1543. **IR** (KBr): 1737 (C=O), 1715 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 99-102 °C.

#### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 115a-j

Die Enolester **104a-j** werden in DCM gelöst und 5 min bei 0 °C unter Argon gerührt. Anschließend wird tropfenweise Pivaloylchlorid (4 Äq.) und TEA (2 Äq.) zugefügt. Nach beendeter Zugabe wird auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h bei dieser Temperatur gerührt. Dann wird Wasser zugegeben und zweimal mit DCM extrahiert. Anschließend wird über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert, eingengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

#### (Z)-3-(4-Morpholinophenyl)-2-pivaloxyacrylsäuremethylester (115a, SEB-119)

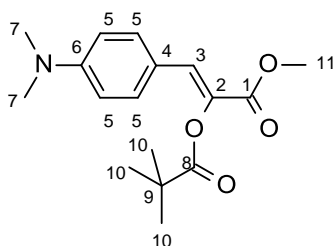
Edukt: Enolester **104a** (1.30 g, 4.79 mmol). Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 77% (1.29 g, 3.70 mmol) einer gelbgrünen viskosen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.41 (s, 9H, 11-H), 3.25 (t, J = 4.9 Hz, 4H, 7-H), 3.82 (s, 3H, 12-H), 3.86 (t, J = 4.9 Hz, 4H, 8-H), 6.87 (d, J = 8.9 Hz, 2H, 5-H), 7.28 (s, 1H, 3-H), 7.53 (d, J = 8.9 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.3 (11-C), 39.0 (10-C), 48.1 (7-C), 52.2 (12-C), 66.7 (8-C), 114.4 (5-C), 123.2 (4-C), 127.3 (3-C), 131.7 (5-C), 134.4 (2-C), 151.9 (6-C), 163.5 (1-C), 176.3 (9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 348 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 695 (20) [2M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 348.1806 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 348.1805. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.26 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1754 (C=O), 1722 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(Z)-3-(4-Dimethylaminophenyl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115b, SEB-114)**

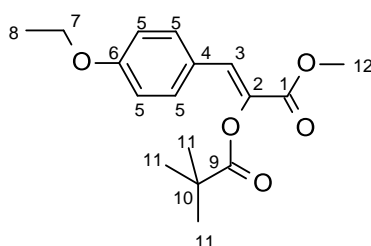
Edukt: Enolester **104b** (1.07 g, 4.82 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 87% (1.28 g, 4.18 mmol) eines gelben kristallinen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.45 (s, 9H, 10-H), 3.03 (s, 6H, 7-H), 3.83 (s, 3H, 11-H), 6.68 (d, J = 9.1 Hz, 2H, 5-H), 7.29 (s, 1H, 3-H), 7.52 (d, J = 9.1 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.4 (10-C), 39.1 (9-C), 40.2 (7-C), 52.2 (11-C), 111.7 (5-C), 120.0 (4-C), 128.1 (3-C), 132.0 (5-C), 133.7 (2-C), 151.3 (6-C), 163.9 (1-C), 176.4 (8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 306 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 328 (5) [M+Na]<sup>+</sup>, 611 (16) [2M+H]<sup>+</sup>, 633 (6) [2M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 306.1700 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 306.1700. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.42 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1751 (C=O), 1713 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 88-89 °C.

**(Z)-3-(4-Ethoxyphenyl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115c, SEB-231)**

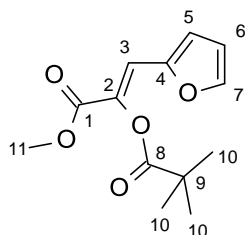
Edukt: Enolester **104c** (2.20 g, 7.85 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 20:1) gereinigt. Ausbeute: 97% (2.38 g, 7.65 mmol) eines weißen kristallinen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.41 (s, 9H, 11-H), 1.44 (t, J = 6.9 Hz, 3H, 8-H), 3.84 (s, 3H, 12-H), 4.08 (q, J = 6.9 Hz, 2H, 7-H), 6.90 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 5-H), 7.31 (s, 1H, 3-H), 7.55 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 14.7 (8-C), 27.1 (11-C), 39.0 (10-C), 52.3 (12-C), 63.5 (7-C), 114.5, 131.8 (5-C), 124.6 (4-C), 127.0 (3-C), 135.5 (2-C), 160.1 (6-C), 163.3 (1-C), 176.1 (9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 307 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 324 (31) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 329 (6) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 329.1359 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 329.1359. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.52 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1755 (C=O), 1715 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 55-56 °C.

**(Z)-3-(Furan-2-yl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115d, DAT-019)**<sup>132</sup>

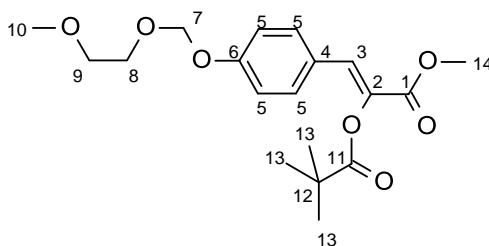
Edukt: Enolester **104d** (0.56 g, 3.32 mmol). Der Rückstand wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 98% (0.82 g, 3.24 mmol) eines weißen Feststoffs.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.42 (s, 9H, 10-H), 3.82 (s, 3H, 11-H), 6.49 (dd, J = 1.9, 3.6 Hz, 1H, 6-H), 6.73 (d, J = 3.6 Hz, 1H, 5-H), 7.26 (s, 1H, 3-H), 7.50 (dd, J = 0.8, 1.9 Hz, 1H, 7-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.0 (10-C), 39.1 (9-C), 52.5 (11-C), 112.4 (6-C), 115.4 (5-C), 116.2 (3-C), 134.7(2-C), 144.8 (7-C), 176.2 (8-C), 162.9 (1-C), 148.2 (4-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 253 (47) [M+H]<sup>+</sup>, 270 (21) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 275 (100) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 275.0892 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 275.0890. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.20 (CH:EE, 9:1). **IR** (KBr): 1750 (C=O), 1717 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 48 °C.

**(Z)-3-(4-Methoxyethoxymethoxyphenyl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115e, SEB-244)**

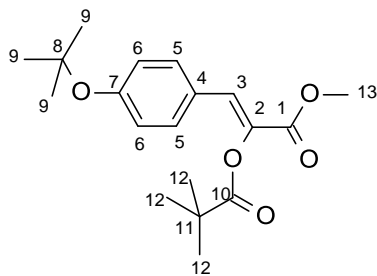
Edukt: Enolester **104e** (0.79 g, 2.80 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 84% (0.85 g, 2.33 mmol) einer hellgelben viskosen Flüssigkeit.



<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.41 (s, 9H, 13-H), 3.40 (s, 3H, 10-H), 3.57, 3.84 (2m, 4H, 8-H, 9-H), 3.84 (s, 3H, 14-H), 5.31 (s, 2H, 7-H), 7.07 (d, J = 9.3 Hz, 2H, 5-H), 7.30 (s, 1H, 3-H), 7.56 (d, J = 9.3 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.0 (13-C), 39.0 (12-C), 52.3 (14-C), 59.0 (10-C), 67.8, 71.5 (8-C, 9-C), 93.2 (7-C), 115.7, 116.2, 131.7 (5-C), 125.9 (4-C), 126.8 (3-C), 135.9 (2-C), 158.3 (6-C), 163.2 (1-C), 176.1 (11-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 367 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 384 (92) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 389 (39) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 389.1573 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>: 389.1571. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.18 (CH:EE, 8:2). **IR** (KBr): 1756 (C=O), 1727 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(Z)-3-(4-tert-Butoxyphenyl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115f, DAT-020)**<sup>132</sup>

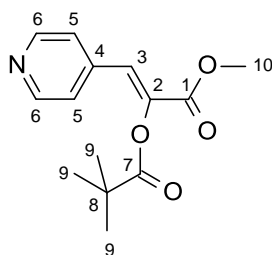
Edukt: Enolester **104f** (0.94 g, 3.75 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 18:1) gereinigt. Ausbeute: 74% (0.93 g, 2.78 mmol) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.39 (s, 9H, 9-H), 1.40 (s, 9H, 12-H), 3.83 (s, 3H, 13-H), 6.99 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 6-H), 7.30 (s, 1H, 3-H), 7.51 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.2 (12-C), 29.0 (9-C), 39.0 (11-C), 52.3 (13-C), 79.4 (8-C), 123.6 (6-C), 126.8 (4-C), 127.0 (3-C), 131.1 (5-C), 136.2 (2-C), 157.3 (7-C), 163.2 (1-C), 176.2 (10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 279 (100) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>, 335 (28) [M+H]<sup>+</sup>, 352 (37) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 686 (19) [2M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 357.1675 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 357.1672. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.46 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1755 (C=O), 1724 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 49-50 °C.

**(Z)-2-Pivaloyloxy-3-(pyridin-4-yl)acrylsäuremethylester (115g, DAT-017)**<sup>132</sup>

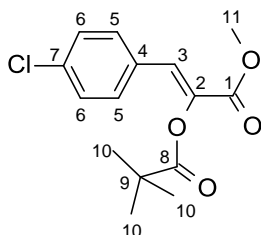
Edukt: Enolester **104g** (0.74 g, 2.57 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 7:3) gereinigt. Ausbeute: 78% (0.58 g, 2.00 mmol) eines rotbraunen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.38 (s, 9H, 9-H), 3.86 (s, 3H, 10-H), 7.23 (s, 1H, 3-H), 7.40 (d, J = 6.2 Hz, 2H, 5-H), 8.64 (d, J = 6.1 Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 26.9 (9-C), 39.1 (8-C), 52.9 (10-C), 123.8 (5-C), 124.3 (3-C), 139.5 (4-C), 141.0 (2-C), 150.1 (6-C), 162.3 (1-C), 175.9 (7-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 264 (100) [M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 264.1234 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 264.1230. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.48 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1759 (C=O), 1736 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 48-49 °C.

**(Z)-3-(4-Chlorophenyl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115h, DAT-015)**<sup>132</sup>

Edukt: Enolester **104h** (1.37 g, 6.45 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 15:1) gereinigt. Ausbeute: 100% (1.91 g, 6.43 mmol) eines weißen Feststoffs.



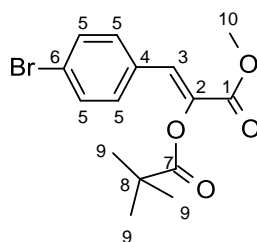
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.39 (s, 9H, 10-H), 3.85 (s, 3H, 11-H), 7.29 (s, 1H, 3-H), 7.36 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.52 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 26.9 (10-C), 39.0 (9-C), 52.6 (11-C), 125.9 (3-C), 128.9 (5-C), 130.6 (4-C), 131.2 (6-C), 135.7 (7-C), 137.8 (2-C), 162.9 (1-C), 176.1 (8-C)



ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 297 (15)  $[M+H]^+$ , 314 (45)  $[M+NH_4]^+$ , 319 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 319.0707  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{15}H_{17}ClNaO_4^+$ : 319.0708. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.49 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1754 (C=O), 1719 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 89-91 °C.

**(Z)-3-(4-Bromophenyl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115i, SEB-239)**

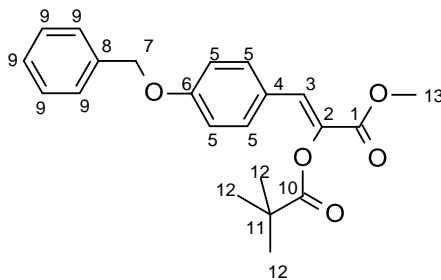
Edukt: Enolester **104i** (1.84 g, 7.22 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 20:1) gereinigt. Ausbeute: 94% (2.32 g, 6.78 mmol) eines weißen kristallinen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 1.39 (s, 9H, 9-H), 3.85 (s, 3H, 10-H), 7.27 (s, 1H, 3-H), 7.45 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.53 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 26.8 (9-C), 39.0 (8-C), 52.6 (10-C), 123.9 (4-C), 125.9 (3-C), 129.2 (6-C), 131.0, 131.4, 131.8, 132.0, 132.5 (5-C), 137.8 (2-C), 162.8 (1-C), 176.0 (7-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 341 (32)  $[M+H]^+$ , 358 (100)  $[M+NH_4]^+$ , 363 (82)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 363.0203  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{15}H_{17}BrNaO_4^+$ : 363.0202. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.68 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1753 (C=O), 1717 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 97-100 °C.

**(Z)-3-(4-Benzoyloxyphenyl)-2-pivaloyloxyacrylsäuremethylester (115j, SEB-243)**

Edukt: Enolester **104j** (0.80 g, 2.81 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 10:1) gereinigt. Ausbeute: 97% (1.01 g, 2.73 mmol) eines weißen kristallinen Feststoffs.

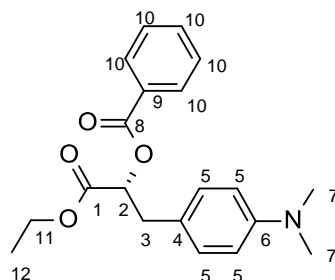


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 1.41 (s, 9H, 12-H), 3.84 (s, 3H, 13-H), 5.11 (s, 2H, 7-H), 6.99 (d,  $J$  = 9.1 Hz, 2H, 5-H), 7.31 (s, 1H, 3-H), 7.42 (m, 5H, 9-H), 7.56 (d,  $J$  = 9.1 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 27.1 (12-C), 39.0 (11-C), 52.3 (13-C), 70.0 (7-C), 114.9, 127.4, 128.1, 128.6, 131.8 (5-C), 125.1 (4-C), 126.9 (3-C), 135.7, 136.5 (2-C, 8-C), 159.9 (6-C), 163.3 (1-C), 176.1 (10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 369 (100)  $[M+H]^+$ , 386 (83)  $[M+NH_4]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 391.1520  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{22}H_{24}NaO_5^+$ : 391.1516. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.38 (CH:EE, 8:2). **IR** (KBr): 1746 (C=O), 1726 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 100-103 °C.

### Übergangsmetallkatalysierte enantioselektive Hydrierung

#### (*R*)-3-(4-Dimethylaminophenyl)-1-ethoxy-1-oxopropan-2-yl-benzoat (**116b**, SEB-080)

In einem Autoklavenbehälter wird **105b** (118.5 mg, 0.35 mmol) in trockenem, entgastem DCM vorgelegt. Anschließend wird der Katalysator [(*R,R*)-EtDu-Phos(COD)Rh]BF<sub>4</sub> (**111**) (2 mol%) unter Stickstoffatmosphäre zugegeben und der Autoklav mit 8.0 bar Wasserstoffdruck versetzt. Die Reaktion wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird die Reaktionsmischung eingeeengt und der Rückstand säulenchromatographisch (CH:EE, 10:1) gereinigt. Es werden 26.2 mg (0.08 mmol, 22%, 98% ee) hellgelbe Flüssigkeit erhalten.



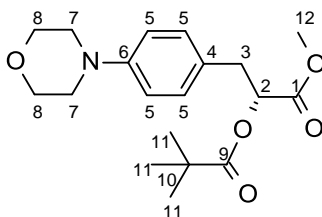
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ = 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H, 12-H), 2.91 (s, 6H, 7-H), 3.20 (m, 2H, 3-H), 4.18 (q, J = 7.1 Hz, 2H, 11-H), 5.32 (m, 1H, 2-H), 6.73 (d, J = 9.1 Hz, 2H, 5H), 7.19 (d, J = 9.0 Hz, 2H, 5-H), 7.55 (t, J = 8.1 Hz, 2H, 10-H), 7.68 (t, J = 8.1 Hz, 1H, 10-H), 8.05 (d, J = 8.1 Hz, 2H, 10-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ = 14.4 (12-C), 37.1 (3-C), 40.8 (7-C), 62.1 (11-C), 74.9 (2-C), 112.8, 113.5 (5-C), 118.3 (4-C), 129.7, 130.4, 131.1, 132.8, 134.5 (5-H, 10-H), 151.1 (6-C, 9-C), 163.1, 164.5 (1-C, 8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 342 (100) [M+H]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 342.1701 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 342.1700. **IR** (Film): 1727 (C=O), 1680 (C=O) cm<sup>-1</sup>. [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +2.9° (c = 0.19, MeOH).

#### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen **117a-j**

Der Acrylsäureester **115a-j** und der Katalysator (*S,S*)-(+)-1,2-bis[*o*-Methoxyphenyl]-(phenyl)phosphino]ethane(1,5-cyclooctadien)rhodium(I)tetrafluorborat (**112**) (1 mol%) werden unter Stickstoffatmosphäre in trockenem Methanol (60 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wird über 4 Tage bei Raumtemperatur unter 5 bar Wasserstoff in einem Laborautoklaven gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt.

#### (*R*)-3-(4-Morpholinophenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (**117a**, DAT-044)<sup>132</sup>

Edukt: Acrylsäureester **115a** (0.55 g, 1.59 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 90% (0.50 g, 1.43 mmol, 99% ee) einer farblosen, viskosen Flüssigkeit.

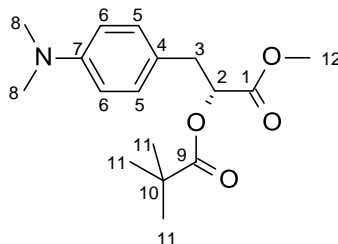


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.20 (s, 9H, 11-H), 3.05 (dd, J = 8.3, 14.4 Hz, 1H, 3-H), 3.13 (m, 1H, 3-H), 3.15 (t, J = 4.6 Hz, 2H, 7-H), 3.73 (s, 3H, 12-H), 3.87 (t, J = 4.7 Hz, 2H, 8-H), 5.16 (m, 1H, 2-H), 6.87 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.15 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.1 (11-C), 36.6 (3-C),

38.6 (10-C), 49.4 (7-C), 52.1 (12-C), 66.9 (8-C), 72.8 (2-C), 115.6 (5-C), 127.5 (4-C), 130.1 (5-C), 150.2 (6-C), 170.3 (1-C), 177.8 (9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 350 (100)  $[M+H]^+$ , 372 (23)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 350.1963  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{19}H_{28}NO_5^+$ : 350.1962. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.22 (CH:EE, 7:3). **IR (Film):** 1767 (C=O), 1735 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{25}$ : +3.4° (c = 0.35, MeOH).

**(R)-3-(4-Dimethylaminophenyl)(2-pivaloyloxy)propansäuremethylester (117b, SEB-118)**

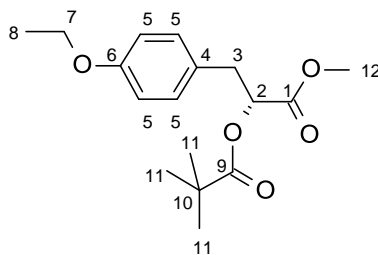
Edukt: Acrylsäureester **115b** (0.18 g, 0.57 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 79% (0.14 g, 0.45 mmol, 95% ee) einer farblosen viskosen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.22 (s, 9H, 11-H), 2.94 (s, 6H, 8-H), 3.04 (dd, J = 8.6, 14.4 Hz, 1H, 3-H), 3.12 (dd, J = 4.3, 14.3 Hz, 1H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 12-H), 5.14 (m, 1H, 2-H), 6.70 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.12 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 5-H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 27.0 (11-C), 38.5 (10-C), 40.9 (8-C), 36.4 (3-C), 52.0 (12-C), 73.1 (2-C), 112.7 (5-C, 6-C), 123.9 (4-C), 130.0 (5-C, 6-C), 149.6 (7-C), 170.4 (1-C), 177.8 (9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 308 (100)  $[M+H]^+$ , 330 (14)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 308.1856  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_{17}H_{26}NO_4^+$ : 308.1856. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.48 (CH:EE, 7:3). **IR (KBr):** 1765 (C=O), 1725 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{25}$ : +2.4° (c = 0.17, MeOH).

**(R)-3-(4-Ethoxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (117c, SEB-251)**

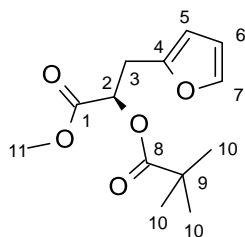
Edukt: Acrylsäureester **115c** (1.50 g, 4.90 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 96% (1.44 g, 4.68 mmol, 96% ee) einer farblosen viskosen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.20 (s, 9H, 11-H), 1.42 (t, J = 7.0 Hz, 3H, 8-H), 3.06, 3.14 (2dd, J = 4.3, 9.1 Hz, 2H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 12-H), 4.03 (q, J = 7.0 Hz, 2H, 7-H), 5.16 (dd, J = 4.3, 9.1 Hz, 1H, 2-H), 6.83 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.14 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 14.8 (8-C), 26.9 (11-C), 36.5 (3-C), 38.6 (10-C), 52.1 (12-C), 63.4 (7-C), 72.8 (2-C), 114.3, 130.3 (5-C), 127.9 (4-C), 157.9 (6-C), 170.2 (1-C), 177.8 (9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 207 (100)  $[M-(CH_3)_3CCO_2]^+$ , 309 (2)  $[M+H]^+$ , 326 (20)  $[M+NH_4]^+$ , 331 (3)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 331.1516  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{17}H_{24}NaO_5^+$ : 331.1517. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.43 (CH:EE, 8:2). **IR (Film):** 1760 (C=O), 1737 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{20}$ : +8.1° (c = 1.56, MeOH).

**(R)-3-(Furan-2-yl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (117d, DAT-021)**<sup>132</sup>

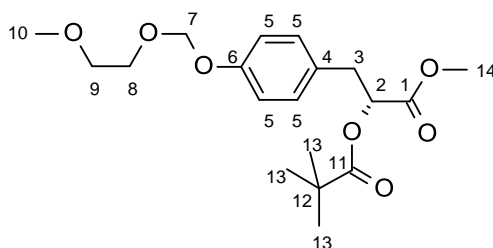
Edukt: Acrylsäureester **115d** (0.73 g, 2.91 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 15:1) gereinigt. Ausbeute: 81% (0.60 g, 2.36 mmol, 96% ee) einer farblosen Flüssigkeit.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.21 (s, 9H, 10-H), 3.19 (dd, J = 7.8, 15.5 Hz, 1H, 3-H), 3.24 (dd, J = 5.0, 15.6 Hz, 1H, 3-H), 3.75 (s, 3H, 11-H), 5.29 (m, 1H, 2-H), 6.12 (dd, J = 0.8, 3.0 Hz, 1H, 5-H), 6.29 (dd, J = 2.0, 3.0 Hz, 1H, 6-H), 7.32 (dd, J = 0.8, 2.0 Hz, 1H, 7-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.0 (10-C), 30.1 (3-C), 38.7 (9-C), 52.3 (11-C), 70.4 (2-C), 107.5 (5-C), 110.5 (6-C), 142 (7-C), 150.1 (4-C), 169.9 (1-C), 177.6 (8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 153 (100) [M-C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 255 (18) [M+H]<sup>+</sup>, 272 (14) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 277 (45) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 277.1046 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 277.1046. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.49 (CH:EE, 9:1). **IR** (Film): 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>. [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: +15.4° (c = 0.20, MeOH).

**(R)-3-(4-Methoxyethoxymethoxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (117e, SEB-258)**

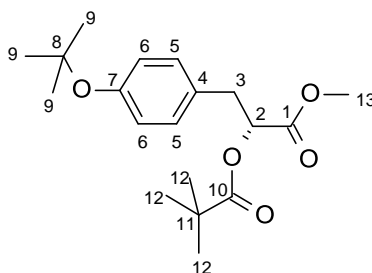
Edukt: Acrylsäureester **115e** (0.78 g, 2.12 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 8:2) gereinigt. Ausbeute: 92% (0.71 g, 1.94 mmol, 96% ee) einer farblosen viskosen Flüssigkeit.



<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.19 (s, 9H, 13-H), 3.06, 3.15 (2dd, J = 4.2, 9.1 Hz, 2H, 3-H), 3.39 (s, 3H, 10-H), 3.57, 3.83 (2m, 4H, 8-H, 9-H), 3.73 (s, 3H, 14-H), 5.16 (m, 1H, 2-H), 5.26 (s, 2H, 7-H), 7.00 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H), 7.15 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 26.9 (13-C), 36.5 (3-C), 38.6 (12-C), 52.1 (14-C), 58.9 (10-C), 67.9, 71.6 (8-C, 9-C), 72.7 (2-C), 93.5 (7-C), 115.2, 115.6, 116.2, 130.4, 130.5, 131.5 (5-C), 129.4 (4-C), 156.3 (6-C), 170.2 (1-C), 177.7 (11-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 386 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 391 (3) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 391.1727 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>: 391.1724. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.12 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 1759 (C=O), 1736 (C=O) cm<sup>-1</sup>. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +7.5° (c = 1.10, MeOH).

**(R)-3-(4-tert-Butoxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (117f, DAT-032)**<sup>132</sup>

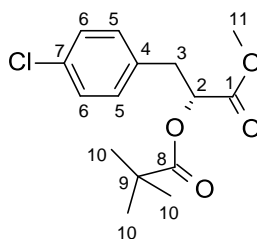
Edukt: Acrylsäureester **115f** (0.49 g, 1.46 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 18:1) gereinigt. Ausbeute: 91% (0.44 g, 1.32 mmol, 98% ee) einer leichtgelblichen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.16 (s, 9H, 12-H), 1.33 (s, 9H, 9-H), 3.06 (dd, J = 9.3, 14.2 Hz, 1H, 3-H), 3.18 (dd, J = 4.2, 14.2 Hz, 1H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 13-H), 5.16 (m, 1H, 2-H), 6.93 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 6-H), 7.12 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.0 (12-C), 28.7 (9-C), 36.8 (3-C), 38.7 (11-C), 52.3 (13-C), 72.7 (2-C), 78.5 (8-C), 124.2 (6-C), 129.8 (5-C), 131.1 (4-C), 154.3 (7-C), 170.4 (1-C), 177.9 (10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 179 (74) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 281 (14) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>+H]<sup>+</sup>, 354 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 359.1836 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 359.1829. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.50 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1761 (C=O), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>**: +7.6° (c = 0.25, MeOH).

**(R)-3-(4-Chlorophenyl)-2-pivaloyloxypropylmethylester (117h, DAT-026)**<sup>132</sup>

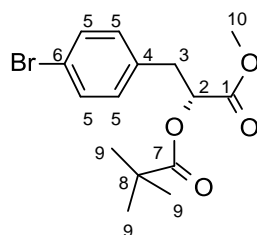
Edukt: Acrylsäureester **115h** (0.63 g, 2.14 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 22:1) gereinigt. Ausbeute: 91% (0.58 g, 1.95 mmol, >99% ee) eines weißen kristallinen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.19 (s, 9H, 10-H), 3.09 (dd, J = 8.8, 14.2 Hz, 1H, 3-H), 3.19 (dd, J = 4.2, 14.3 Hz, 1H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 11-H), 5.19 (m, 1H, 2-H), 7.17 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H), 7.28 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.0 (10-C), 36.8 (3-C), 38.7 (9-C), 52.3 (11-C), 72.4 (2-C), 128.6 (6-C), 130.9 (5-C), 133.1 (7-C), 134.8 (4-C), 170.1 (1-C), 177.6 (8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 299 (56) [M+H]<sup>+</sup>, 316 (97) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 321 (100) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 321.0865 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>ClNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 321.0864. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.52 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1760 (C=O), 1738 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 34-35 °C. **[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: +8.4° (c = 0.25, MeOH).

**(R)-3-(4-Bromophenyl)-2-pivaloyloxypropylmethylester (117i, SEB-249)**

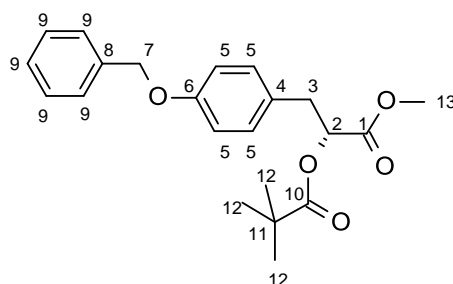
Edukt: Acrylsäureester **115i** (0.62 g, 1.80 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 20:1) gereinigt. Ausbeute: 60% (0.37 g, 1.09 mmol, 96% ee) eines weißen kristallinen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.20 (s, 9H, 9-H), 3.09 (dd, J = 4.2, 9.0 Hz, 1H, 3-H), 3.19 (dd, J = 4.2, 9.0 Hz, 1H, 3-H), 3.74 (s, 3H, 10-H), 5.20 (dd, J = 4.2, 9.0 Hz, 1H, 2-H), 7.12 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.44 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 26.9 (9-C), 36.7 (3-C), 38.7 (8-C), 52.3 (10-C), 72.2 (2-C), 121.0 (4-C), 129.2, 131.1, 131.5, 132.0, 132.6 (5-C), 135.0 (6-C), 169.9 (1-C), 177.6 (7-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 343 (66) [M+H]<sup>+</sup>, 360 (96) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 365 (100) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 365.0364 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>BrNaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 365.0359. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.50 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1751 (C=O), 1738 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 33-36 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +8.8° (c = 0.22, MeOH).

### (R)-3-(4-Benzoyloxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (117j, SEB-255)

Edukt: Acrylsäureester **115j** (0.80 g, 2.17 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 40:1) gereinigt. Ausbeute: 73% (0.59 g, 1.59 mmol, 69% ee) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.22 (s, 9H, 12-H), 3.08, 3.18 (2dd, J = 4.3, 8.8 Hz, 2H, 3-H), 3.75 (s, 3H, 13-H), 5.08 (s, 2H, 7-H), 5.18 (m, 1H, 2-H), 6.95 (d, J = 8.9 Hz, 2H, 5-H), 7.18 (d, J = 8.9 Hz, 2H, 5-H) 7.32-7.47 (m, 5H, 9-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 26.9 (12-C), 36.5 (3-C), 38.5 (11-C), 52.1 (13-C), 69.9 (7-C), 72.7 (2-C), 114.7, 114.8, 114.9, 126.9, 127.4, 127.9, 128.1, 128.4, 128.5, 128.6, 129.2, 130.4, 131.8 (5-C, 9-C), 125.0 (4-C), 136.4 (8-C), 157.8 (6-C), 170.2 (1-C), 177.7 (10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 269 (100) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 371 (4) [M+H]<sup>+</sup>, 388 (43) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 393 (6) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 393.1670 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 393.1672. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.43 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 1754 (C=O), 1732 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 58-60 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +4.1° (c = 1.04, MeOH).

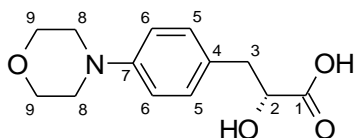
### Esterhydrolyse der Verbindungen 117a-j

#### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 77a-j

Zur Esterspaltung werden die Verbindungen **117a-j** bei Raumtemperatur in THF (5 mL) gelöst und anschließend mit einer Lösung aus drei Äquivalenten LiOH in 30 mL Wasser versetzt. Nach 4 Tagen Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung zweimal mit DCM extrahiert. Die wässrige Phase wurde eingengt und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt.

#### (R)-2-Hydroxy-3-(4-morpholinophenyl)propansäure (77a, SEB-104)

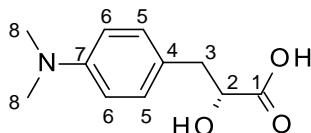
Edukt: Propansäureester **117a** (1.07 g, 3.06 mmol). Nach 48 h wird die Reaktionsmischung eingengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:3) gereinigt. Ausbeute: 84% (0.65 g, 2.57 mmol) eines hellroten Feststoffs.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 2.81 (dd,  $J$  = 8.2, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.07 (dd,  $J$  = 3.2, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.10 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 2H, 8-H), 3.84 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 2H, 9-H), 4.19 (m, 1H, 2-H), 6.90 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.21 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H, 6-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 40.9 (3-C), 51.2 (8-C), 68.2 (9-C), 73.0 (2-C), 117.2 (5-C, 6-C), 130.6 (4-C), 131.4 (5-C, 6-C), 151.5 (7-C), 177.4 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 250 (100)  $[\text{M-H}]^-$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 252.1235  $[\text{M+H}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+$ : 252.1230.  **$R_f$ -Wert**: 0.35 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3427 (O-H), 1586 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 115-117 °C.  $[\alpha]_D^{22}$ : +2.9° ( $c$  = 0.21, MeOH).

### (R)-3-(4-Dimethylaminophenyl)-2-hydroxypropansäure (77b, SEB-088)

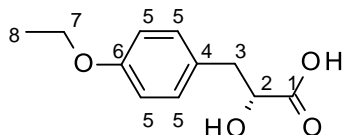
Edukt: Propansäureester **117b** (0.77 g, 2.49 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 100% (0.52 g, 2.49 mmol) eines hellgelben Schaumes.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 2.76 (dd,  $J$  = 8.0, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 2.88 (s, 6H, 8-H), 3.03 (dd,  $J$  = 3.5, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 4.14 (m, 1H, 2-H), 6.74 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.16 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, 5-H, 6-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 40.9 (3-C), 41.6 (8-C), 75.1 (2-C), 114.7 (5-C, 6-C), 129.2 (4-C), 131.3 (5-C, 6-C), 151.0 (7-C), 181.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 208 (100)  $[\text{M-H}]^-$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 210.1129  $[\text{M+H}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_3^+$ : 210.1125.  **$R_f$ -Wert**: 0.37 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3431 (O-H), 1562 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{25}$ : +11.9° ( $c$  = 0.32, MeOH).

### (R)-3-(4-Ethoxyphenyl)-2-hydroxypropansäure (77c, SEB-257)

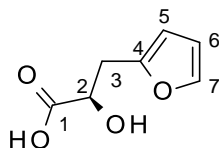
Edukt: Propansäureester **117c** (1.26 g, 4.10 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE:MeOH, 9:1 + 0.05% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 86% (0.74 g, 3.52 mmol) eines weißen Feststoffs.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 1.37 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, 8-H), 2.84 (m, 1H, 3-H), 3.07 (m, 1H, 3-H), 4.00 (q,  $J$  = 7.0 Hz, 2H, 7-H), 4.27 (m, 1H, 2-H), 6.82 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.18 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 15.1 (8-C), 40.8 (3-C), 64.3 (7-C), 73.5 (2-C), 115.1, 131.0, 131.4 (5-C), 135.9 (4-C), 158.8 (6-C), 178.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 209 (100)  $[\text{M-H}]^-$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 209.0813  $[\text{M-H}]^-$ , berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_4^-$ : 209.0819.  **$R_f$ -Wert**: 0.42 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3466 (O-H), 3187 (O-H), 1739 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 156-160 °C.  $[\alpha]_D^{25}$ : +28.3° ( $c$  = 0.23, MeOH).

**(R)-3-(Furan-2-yl)-2-hydroxypropansäure (77d, DAT-050)**<sup>132</sup>

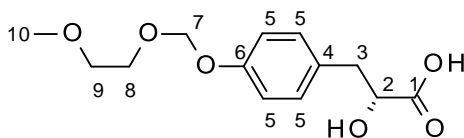
Edukt: Propansäureester **117d** (0.22 g, 0.88 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 29% (40 mg, 0.26 mmol) eines hellgelben Feststoffs.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 2.89 (dd, J = 8.3, 15.3 Hz, 1H, 3-H), 3.15 (dd, J = 3.4, 15.4 Hz, 1H, 3-H), 4.21 (m, 1H, 2-H), 6.15 (dd, J = 0.8, 3.1 Hz, 2H, 5-H), 6.30 (dd, J = 1.8, 3.1 Hz, 1H, 6-H), 7.36 (dd, J = 0.8, 1.8 Hz, 1H, 7-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 35.1 (3-C), 72.6 (2-C), 107.6 (5-C), 111.3 (6-C), 142.2 (7-C), 154.6 (4-C), 180.6 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 155 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 155.0346 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 155.0344. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.37 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3414 (O-H), 1579 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt:** 140-142 °C. [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +7.2° (c = 0.20, MeOH).

**(R)-2-Hydroxy-3-(4-methoxyethoxymethoxyphenyl)propansäure (77e, SEB-261)**

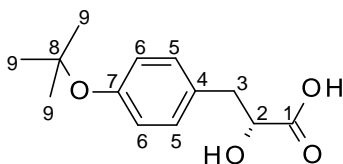
Edukt: Propansäureester **117e** (0.55 g, 1.49 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE:MeOH, 9:1 + 0.05% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 71% (0.29 g, 1.06 mmol) eines weißen Feststoffs.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 2.85 (m, 1H, 3-H), 3.09 (m, 1H, 3-H), 3.34 (s, 3H, 10-H), 3.55 (m, 2H, 8-H, 9-H), 3.79 (m, 2H, 8-H, 9-H), 4.24 (m, 1H, 2-H), 5.21, 5.23 (2s, 2H, 7-H), 6.72, 6.96 (2d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.12, 7.21 (2d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 39.7 (3-C), 59.0 (10-C), 67.8, 68.6, 72.6 (8-C, 9-C), 72.8 (2-C), 94.7, 95.3 (7-C), 115.9, 116.0, 117.2, 130.4, 131.4, 131.6 (5-C), 133.1, 133.3 (4-C), 156.9, 157.3 (6-C), 175.8 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 181 (14) [M-MEM]<sup>-</sup>, 269 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 269.1026 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>6</sub><sup>-</sup>: 269.1031. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.28 (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3427 (O-H), 1713 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt:** 52-55 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +32.9° (c = 0.34, MeOH).

**(R)-3-(4-tert-Butoxyphenyl)-2-hydroxypropansäure (77f, DAT-049)**<sup>132</sup>

Edukt: Propansäureester **117f** (0.26 g, 0.86 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 56% (80 mg, 0.34 mmol) eines weißen Feststoffs.



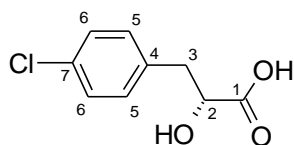
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 1.33 (s, 9H, 9-H), 2.82 (dd, J = 8.0, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.10 (dd, J = 3.4, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 4.17 (m, 1H, 2-H), 6.90 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.22 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H, 6-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 29.3 (9-C), 41.9 (3-C), 75.0 (2-C), 79.3 (8-C), 125.0 (5-C, 6-C), 131.2 (5-C, 6-C), 135.9 (4-C), 155.1 (7-C), 181.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 237 (100) [M-H]<sup>-</sup>.



**HR-ESI-MS:**  $m/z = 237.1133$   $[M-H]^-$ , berechnet für  $C_{13}H_{17}O_4^-$ : 237.1132. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.42 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3420 (O-H), 1593 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 203-205 °C.  $[\alpha]_D^{25}$ : +3.3° (c = 0.37, MeOH).

**(R)-3-(4-Chlorophenyl)-2-hydroxypropansäure (77h, DAT-048)**<sup>132</sup>

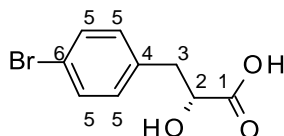
Edukt: Propansäureester **117h** (0.22 g, 0.74 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 51% (75 mg, 0.37 mmol) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 2.86$  (dd,  $J = 7.8, 14.0$  Hz, 1H, 3-H),  $3.09$  (dd,  $J = 3.7, 13.9$  Hz, 1H, 3-H),  $4.17$  (m, 1H, 2-H),  $7.24$  (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, 5-H),  $7.28$  (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 41.9$  (3-C),  $74.9$  (2-C),  $129.4$  (5-C),  $132.6$  (6-C),  $133.0$  (7-C),  $139.0$  (4-C),  $180.7$  (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 199 (100)  $[M-H]^-$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 199.0165$   $[M-H]^-$ , berechnet für  $C_9H_8ClO_3^-$ : 199.0167. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.55 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3510 (O-H), 1599 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 154-156 °C.  $[\alpha]_D^{25}$ : +4.5° (c = 0.38, MeOH).

**(R)-3-(4-Bromophenyl)-2-hydroxypropansäure (77i, SEB-260)**

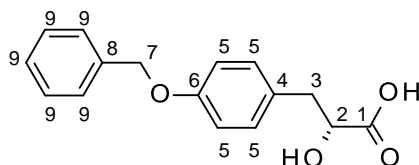
Edukt: Propansäureester **117i** (0.21 g, 0.61 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE, + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 87% (0.13 g, 0.53 mmol) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 2.84$  (m, 1H, 3-H),  $3.10$  (m, 1H, 3-H),  $4.16$  (m, 1H, 2-H),  $7.22$  (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H, 5-H),  $7.40$  (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 41.5$  (3-C),  $74.2$  (2-C),  $120.8$ ,  $139.4$  (4-C, 6-C),  $132.0$ ,  $132.6$  (5-C),  $171.3$  (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 198 (5)  $[M-CO_2]^-$ , 242 (100)  $[M-H]^-$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 242.9662$   $[M-H]^-$ , berechnet für  $C_9H_8BrO_3^-$ : 242.9662. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.23 (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3466 (O-H), 1739 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 96-100 °C.  $[\alpha]_D^{20}$ : +23.1° (c = 0.26, MeOH).

**(R)-3-(4-Benzyloxyphenyl)-2-hydroxypropansäure (77j, SEB-250)**

Edukt: Propansäureester **117j** (0.40 g, 0.73 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE, +0.5% MeOH, +0.1% Essigsäure) gereinigt. Ausbeute: 98% (0.20 g, 0.72 mmol) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 3.44$  (m, 2H, 3-H),  $5.02$  (m, 1H, 2-H),  $5.02$ ,  $5.08$  (2s, 2H, 7-H),  $6.88$  (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H, 5-H),  $7.18$  (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H, 5-H),  $7.30$ ,  $7.36$ ,  $7.40$  (3m, 5H, 9-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,

Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 44.5 (3-C), 70.4 (7-C), 70.7 (2-C), 114.3, 115.0, 127.8, 128.2, 128.8, 128.9, 129.0, 130.4, 130.5, 131.5 (5-C, 9-C), 128.4, 137.5 (4-C, 8-C), 157.5 (6-C), 161.4 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 271 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 271.0979 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 271.0976. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.16 (EE, +0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3419 (O-H), 1610 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 200-203 °C. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +8.5° (c = 0.26, MeOH).

### 2.2.3 Syntheseroute über enantioselektive enzymatische Reduktion

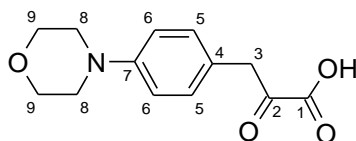
#### Synthese der $\alpha$ -Ketocarbonsäuren 91a-j

##### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 91a-j

Zur Esterspaltung werden die Enolester **104a-j** bei 0 °C in LiOH<sub>(aq.)</sub> (1.11 Äq.) suspendiert. Nach 5 h Rühren bei langsamem Auftauen von 0 °C auf Raumtemperatur wird die wässrige Phase zweimal mit DCM, zweimal mit EE extrahiert und anschließend eingengt. Nach Trocknung im Vakuum werden die Rohprodukte direkt weiter umgesetzt.

##### 3-(4-Morpholinophenyl)-2-oxopropansäure (91a, SEB-090)

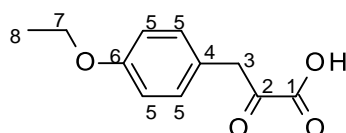
Edukt: Enolester **104a** (1.73 g, 6.58 mmol). Ausbeute: 75% (1.24 g, 4.95 mmol) eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 3.19 (t, J = 4.7 Hz, 1H, 8-H), 3.21, 3.40 (2m, 1H, 8-H), 3.79 (t, J = 4.9 Hz, 1H, 9-H), 3.84, 3.87 (2t, J = 4.8 Hz, 1H, 9-H), 6.75, 7.12, 7.79 (3d, J = 9.1 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.02, 7.05, 7.08 (3m, 2H, 5-H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 46.2 (3-C), 50.5 (8-H), 51.0 (8-C), 51.4 (8-C), 67.6 (9-C), 67.7 (9-C), 68.0 (9-C), 114.6 (5-C, 6-C), 115.2 (5-C, 6-C), 116.9 (5-C, 6-C), 130.9 (5-C, 6-C), 131.9 (5-C, 6-C), 133.7 (5-C, 6-C), 153.5 (7-C), 165.0 (1-C), 192.6 (2-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 248 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 250.1074 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 250.1074. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.53 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3439 (O-H), 1602 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

##### 3-(4-Ethoxyphenyl)-2-oxopropansäure (91c, SEB-246)

Edukt: Enolester **104c** (0.97 g, 4.34 mmol). Ausbeute: 86% (0.78 g, 3.75 mmol) eines weißen Feststoffs.

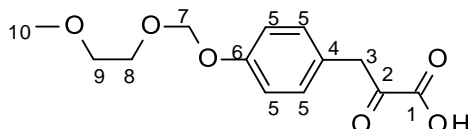


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 1.38 (m, 3H, 8-H), 3.40, 3.49 (2m, 2H, 3-H), 3.99, 4.13 (2m, 2H, 7-H), 6.67-7.86 (m, 4H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 12.7 (8-C), 37.9, 42.6 (3-C), 62.9 (7-C), 112.5, 112.8, 113.0, 113.3, 113.9, 126.3, 126.9, 129.1, 129.9 (5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 207 (100)

[M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS:**  $m/z = 207.0665$  [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 207.0663. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.85 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3426 (O-H), 1607 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### 3-(4-*tert*-Butoxyphenyl)-2-oxopropansäure (91e, SEB-247)

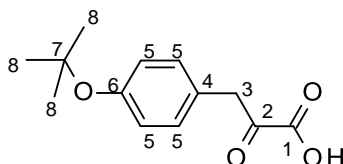
Edukt: Enolester **104e** (0.67 g, 2.38 mmol). Ausbeute: 44% (0.28 g, 1.04 mmol) eines gelben pastösen Feststoffs (Rohprodukt mit einem Gehalt von 27% (HPLC-ESI-MS)).



**HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 267 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.79 (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure).

### 3-(4-*tert*-Butoxyphenyl)-2-oxopropansäure (91f, DAT-038)<sup>132</sup>

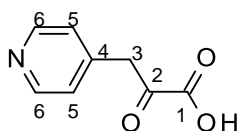
Edukt: Enolester **104f** (0.23 g, 0.93 mmol). Ausbeute: 59% (0.13 g, 0.55 mmol) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta = 1.38$  (s, 9H, 8-H), 3.76 (s, 2H, 3-H), 6.94 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H, 5-H), 6.97 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H, 5-H), 7.17 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H, 5-H), 7.89 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta = 29.2$  (8-C), 123.7, 125.2, 131.4 (5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 235 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS:**  $m/z = 235.0981$  [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 235.0976. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.48 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3441 (O-H), 1607 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### 2-Oxo-3-(pyridin-4-yl)propansäure (91g, DAT-037)<sup>132</sup>

Edukt: Enolester **104g** (0.32 g, 1.77 mmol). Ausbeute: 91% (0.28 g, 1.61) mmol eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta = 4.70$  (s, 2H, 3-H), 7.44 (d,  $J = 6.1$  Hz, 2H, 5-H), 8.49 (d,  $J = 6.1$  Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta = 63.3$  (3-C), 122.8, 127.6 (5-C), 146.0 (4-C), 149.9 (6-H) 160.5 (1-C), 173.0 (2-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 164 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS:**  $m/z = 164.0354$  [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 164.0353. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.27 (EE:MeOH, 1:1). **IR** (KBr): 3431 (O-H), 1735 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### 3-(4-Chlorophenyl)-2-oxopropansäure (91h, DAT-028)<sup>132</sup>

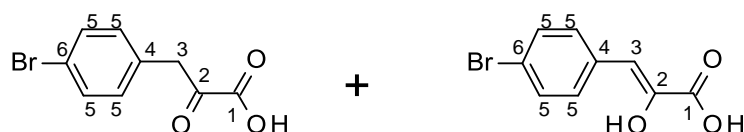
Edukt: Enolester **104h** (0.62 g, 2.93 mmol). Ausbeute: 57% (0.32 g, 1.66 mmol) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 3.85 (s, 2H, 3-H), 6.04 (s, 1H, 3-H), 7.19 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.33 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H), 7.62 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 44.7 (3-C), 127.9, 128.0, 129.3, 131.6 (5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 197 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 197.0013 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 197.0011. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.50 (EE:MeOH, 1:1). **IR** (KBr): 3430 (O-H), 1713 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### 3-(4-Bromophenyl)-2-oxopropansäure (91i, SEB-245)

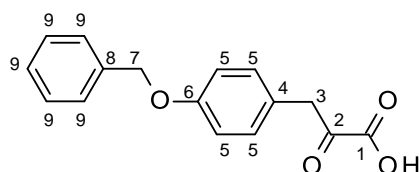
Edukt: Enolester **104i** (0.79 g, 3.06 mmol). Ausbeute: 53% (0.39 g, 1.62 mmol) eines weißen Feststoffs (Rohprodukt mit einem Gehalt von 37% (HPLC-ESI-MS)).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 3.35-3.49 (m, 2H, 3-H), 6.69-7.79 (m, 9d, J = 8.4 Hz, 4H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 37.7, 42.9 (3-C), 125.7, 126.4, 128.9, 129.2, 129.4, 129.7, 129.8, 129.9, 130.2, 130.6 (5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 240 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.55 (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3421 (O-H), 1706 (C=O), 1601 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

### 3-(4-Benzyloxyphenyl)-2-oxopropansäure (91j, SEB-248)

Edukt: Enolester **104j** (0.97 g, 4.34 mmol). Ausbeute: 86% (0.78 g, 3.75 mmol) eines weißen Feststoffs.



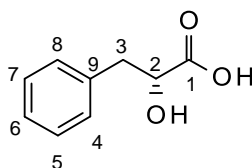
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 3.42 (s, 2H, 3-H), 5.11 (s, 2H, 7-H), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H), 7.23 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H), 7.42 (m, 5H, 9-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 43.9 (3-C), 70.4 (7-C), 115.0, 127.2, 127.6, 128.1, 128.5, 130.2 (5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 178 (28) [M-Bn]<sup>-</sup>, 269 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.85 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3403 (O-H), 1603 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

## Enantioselektive enzymatische Reduktion

### D-Phenylmilchsäure (66, SEB-084)

In eine Ultrafiltrationsrührzelle mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa) wird eine Lösung aus EDTA (2.5 μmol), Mercaptoethanol (5.0 μmol) und Ammoniumformiat (4.0 mmol) in 100 mL Reinstwasser gegeben. Anschließend wird Natriumphenylpyruvat (**91o**, 186.1 mg, 1.0 mmol) und NAD (10.0 μmol) darin gelöst. Die Suspension wird gerührt, bis sich alles löst. Die Lösung wird mit 1 M HCl auf pH=7.0 eingestellt. Anschließend werden D-LDH (200 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (5 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U/ mg Feststoff) hinzugegeben und 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 0.1 bis 0.3 bar Hilfsgasdruck (Argon) filtriert. Der Umsatz wird mittels DC (CH/EE 1:1 + 10% Essigsäure) kontrolliert. Ist der Umsatz vollständig wird der pH auf 3 eingestellt und die

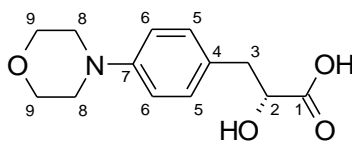
Lösung mit MTBE extrahiert. Nach der Extraktion wird die organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingeengt. Es werden 166 mg (1.0 mmol, 100%) eines weißen kristallinen Feststoffs erhalten, der keiner weiteren Reinigung bedarf.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 1.28 (m, 1H, 3-H), 1.48 (m, 1H, 3-H), 1.71 (m, 1H, OH), 2.73 (m, 1H, 2-H), 5.58 (m, 1H, 4-8-H), 5.66 (d,  $J$  = 4.1 Hz, 4H, 4-8H), 8.82 (s, 1H, COOH) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 41.6 (3-C), 72.8 (2-C), 127.5, 129.2, 130.2, 130.4, 130.5 (4-8-C), 138.8 (9-C), 177.1 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 120 (35)  $[\text{M}-\text{CO}_2\text{H}]^-$ , 165 (100)  $[\text{M}-\text{H}]^-$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 165.0555  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3^-$ : 165.0551.  **$R_f$ -Wert**: 0.45 (CH:EE, 1:1 + 10% Essigsäure). **IR** (Film): 3448 (O-H), 1734 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 122-124 °C (lit.<sup>128</sup>, 123-124 °C).  **$[\alpha]_D^{25}$** : +26.6° ( $c$  = 3.80 Aceton), lit.<sup>128</sup>, +26.7° ( $c$  = 3.80, Aceton).

#### (R)-2-Hydroxy-3-(4-morpholinophenyl)propansäure (77a, SEB-104)

Eine Lösung aus EDTA (2.5  $\mu\text{mol}$ ), Mercaptoethanol (5.0  $\mu\text{mol}$ ) und Ammoniumformiat (4.0 mmol) in 100 mL Milli-Q-Wasser wird in eine Ultrafiltrationsrührzelle mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa) gegeben. Anschließend wird Pyruvat **91a** (248.3 mg, 1.0 mmol) und NAD (10.0  $\mu\text{mol}$ ) darin gelöst. Die Suspension wird gerührt, bis sich alles löst. Danach wird die Lösung mit 1 M HCl auf pH=7.0 eingestellt. Weiterhin werden *D*-LDH (200 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (5 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U /mg Feststoff) hinzugegeben und 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 0.1 bis 0.3 bar Hilfgasdruck (Argon) filtriert. Der Umsatz wird mittels DC (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) kontrolliert. Nach dem Abtrennen der Enzyme wird das Wasser entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Die Reaktion liefert eine Ausbeute von 166.4 mg (0.66 mmol, 66%) eines orangefarbenen Feststoffs.

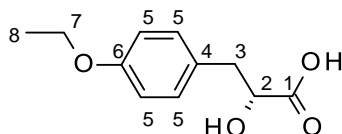


**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 2.81 (dd,  $J$  = 8.2, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.07 (dd,  $J$  = 3.2, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.10 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 2H, 8-H), 3.84 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 2H, 9-H), 4.19 (m, 1H, 3-H), 6.90 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.21 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H, 6-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 40.9 (3-C), 51.2 (8-C), 68.2 (9-C), 73.0 (2-C), 117.2 (5-C, 6-C), 130.6 (4-C), 131.4 (5-C, 6-C), 151.5 (7-C), 177.4 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 250 (100)  $[\text{M}-\text{H}]^-$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 252.1230  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+$ : 252.1230.  **$R_f$ -Wert**: 0.35 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3427 (O-H), 1586 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 115-117 °C.  **$[\alpha]_D^{22}$** : +2.9° ( $c$  = 0.21, MeOH).

#### (R)-3-(4-Ethoxyphenyl)-2-hydroxypropansäure (77c, SEB-253)

In eine Ultrafiltrationsrührzelle mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa) wird eine Lösung aus EDTA (5.3  $\mu\text{mol}$ ), Mercaptoethanol (10.7  $\mu\text{mol}$ ) und Ammoniumformiat (8.16 mmol) in 100 mL Milli-Q-

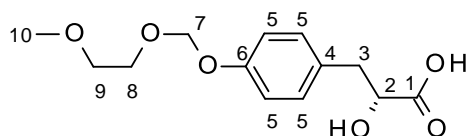
Wasser gegeben. Anschließend wird Pyruvat **91c** (424.7 mg, 2.04 mmol) und NADH (20.4  $\mu$ mol) darin gelöst. Die Suspension wird gerührt, bis sich alles löst. Dann wird die Lösung mit 1 M HCl auf pH=7.0 eingestellt. Anschließend werden *D*-LDH (500 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (25 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U/ mg Feststoff) hinzugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 0.1 bis 0.3 bar Hilfsgasdruck (Argon) filtriert. Der Umsatz wird mittels DC (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) kontrolliert. Ist der Umsatz vollständig wird der pH auf 3 eingestellt und die Lösung mit MTBE extrahiert. Nach der Extraktion wird die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeengt. Dann wird das Rohprodukt säulenchromatographisch (EE:MeOH, 9:1 + 0.05% Essigsäure) gereinigt. Die Reaktion liefert 159 mg (0.75 mmol, 37%) der gewünschten Hydroxycarbonsäure als weißen Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta$  = 1.37 (t, J = 6.9 Hz, 3H, 8-H), 2.84 (m, 1H, 3-H), 3.07 (m, 1H, 3-H), 4.00 (q, J = 7.0 Hz, 2H, 7-H), 4.27 (m, 1H, 2-H), 6.82 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.18 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta$  = 15.1 (8-C), 40.8 (3-C), 64.3 (7-C), 73.5 (2-C), 115.1, 131.0, 131.4 (5-C), 135.9 (4-C), 158.8 (6-C), 178.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 209 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 209.0813 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 209.0819. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.42 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3466 (O-H), 3187 (O-H), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 156-160 °C. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +28.3° (c = 0.23, MeOH).

#### (R)-2-Hydroxy-3-(4-methoxyethoxymethoxyphenyl)propansäure (77e, SEB-261)

Das Pyruvat **91e** (142.2 mg, 0.53 mmol) und NADH (22.0  $\mu$ mol) werden in einer Lösung aus EDTA (15.2  $\mu$ mol), Mercaptoethanol (11.3  $\mu$ mol) und Ammoniumformiat (6.07 mmol) in 100 mL Milli-Q-Wasser gelöst. Diese wird in eine Ultrafiltrationsrührzelle mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa) gegeben. Die Lösung wird mit 1 M HCl auf pH=7.0 eingestellt. Anschließend werden *D*-LDH (150 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (8 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U/ mg Feststoff) hinzugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 0.1 bis 0.3 bar Hilfs-gasdruck (Argon) filtriert. Der Umsatz wird mittels DC (EE:MeOH, 9:1+0.1% Essigsäure) kontrolliert. Ist der Umsatz vollständig, wird der pH auf 3 eingestellt und die Lösung mit MTBE extrahiert. Weiterhin wird die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure) werden 108 mg (0.40 mmol, 75%) des weißen Feststoffs **77e** erhalten.

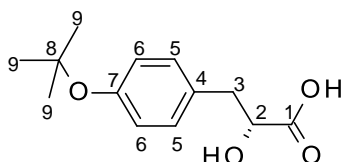


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta$  = 2.85 (m, 1H, 3-H), 3.09 (m, 1H, 3-H), 3.34 (s, 3H, 10-H), 3.55 (m, 2H, 8-H, 9-H), 3.79 (m, 2H, 8-H, 9-H), 4.24 (m, 1H, 2-H), 5.21, 5.23 (2s, 2H, 7-H), 6.72, 6.96 (2d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.12, 7.21 (2d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta$  = 39.7 (3-C), 59.0 (10-C), 67.8, 68.6, 72.6 (8-C, 9-C), 72.8 (2-C), 94.7, 95.3 (7-C), 115.9, 116.0, 117.2, 130.4, 131.4, 131.6 (5-C), 133.1, 133.3 (4-C), 156.9, 157.3 (6-C), 175.8 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 181 (14) [M-MEM]<sup>-</sup>, 269 (100)

[M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 269.1026 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>6</sub><sup>-</sup>: 269.1031. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.28 (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3427 (O-H), 1713 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt:** 52-55 °C. **[α]<sup>20</sup><sub>D</sub>:** +32.9° (c = 0.34, MeOH).

**(R)-3-(4-tert-Butoxyphenyl)-2-hydroxypropansäure (77f, DAT-046)**<sup>132</sup>

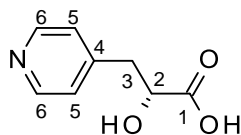
Das Pyruvat **91f** (88.0 mg, 0.37 mmol) wird mit EDTA (0.3 mg, 0.94 μmol), Mercaptoethanol (0.15 mg, 1.87 μmol), Ammoniumformiat (94.4 mg, 1.50 mmol) und NADH (3.5 mg) versetzt. Die Suspension wird gerührt, bis sich alles löst (ggf. Ultraschall). Die Lösung wird mit HCl (1 mol/L) auf pH = 7.0 eingestellt. Anschließend werden *D*-LDH (90 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (4.5 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U /mg Feststoff) hinzugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 62 h wird die Lösung mittels Ultrafiltrationsrührzelle, mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa), mit 0.1 bis 0.5 bar Hilfsgasdrucks (Argon), filtriert. Nach dem Abtrennen der Enzyme wird das Wasser entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Die Reaktion liefert das Produkt **77f** in einer Ausbeute von 72% (54 mg, 0.27 mmol) als hellgelben Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 1.33 (s, 9H, 9-H), 2.82 (dd, J = 8.0, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.10 (dd, J = 3.4, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 4.17 (m, 1H, 2-H), 6.90 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.22 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 29.3 (9-C), 41.9 (3-C), 75.0 (2-C), 79.3 (8-C), 125.0 (5-C, 6-C), 131.2 (5-C, 6-C), 135.9 (4-C), 155.1 (7-C), 181.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 237 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 237.1133 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 237.1132. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.42 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3420 (O-H), 1593 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt:** 203-205 °C. **[α]<sup>25</sup><sub>D</sub>:** +3.3° (c = 0.37, MeOH).

**(R)-2-Hydroxy-3-(pyridin-4-yl)-propansäure (77g, DAT-041)**<sup>132</sup>

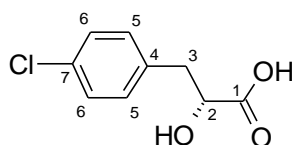
Das Pyruvat **91g** (116.3 mg, 0.71 mmol) wird mit EDTA (0.581 mg, 1.77 μmol), Mercaptoethanol (0.247 μL, 3.54 μmol), Ammoniumformiat (178.7 mg, 2.83 mmol) und NADH (6.7 mg) versetzt. Die Suspension wird gerührt, bis sich alles löst (ggf. Ultraschall). Dann wird die Lösung mit HCl (1 M) auf pH = 7.0 eingestellt. Anschließend werden *D*-LDH (173.6 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (8.68 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U /mg Feststoff) hinzugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 49 h wird die Lösung mittels Ultrafiltrationsrührzelle, mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa), mit 0.1 bis 0.5 bar Hilfsgasdrucks (Argon) filtriert. Nach dem Abtrennen der Enzyme wird das Wasser entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (EE:MeOH, 7:3 + 0.1%) gereinigt. Die Reaktion liefert die Hydroxycarbonsäure **77g** in einer Ausbeute von 95% (112 mg, 0.67 mmol) als roten Feststoff.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 2.94$  (dd,  $J = 8.0, 13.9$  Hz, 1H, 3-H), 3.17 (dd,  $J = 3.7, 13.9$  Hz, 1H, 3-H), 4.24 (m, 1H, 2-H), 7.40 (d,  $J = 6.1$  Hz, 2H, 5-C), 8.41 (d,  $J = 6.1$  Hz, 2H, 6-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 41.5$  (3-C), 72.1 (2-C), 126.9 (5-C), 149.5 (6-C), 151.1 (4-C), 179.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 166 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**:  $m/z = 168.0659$  [M+H]<sup>+</sup>, berechnet  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_3^+$ : 168.0655. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.17 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3427 (O-H), 1736 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .  **$[\alpha]_D^{25}$** : +1.7° (c = 0.940, MeOH).

**(R)-3-(4-Chlorophenyl)-2-hydroxypropansäure (77h, DAT-040)**<sup>132</sup>

Das Pyruvat **91h** (201.0 mg, 1.02 mmol) wird mit EDTA (0.7 mg, 2.54  $\mu\text{mol}$ ), Mercaptoethanol (0.355  $\mu\text{L}$ , 5.09  $\mu\text{mol}$ ), Ammoniumformiat (256.6 mg, 4.07 mmol) und NADH (9.6 mg) versetzt. Die Suspension wird gerührt, bis sich alles löst (ggf. Ultraschall). Dann wird die Lösung mit HCl (1 M) auf pH = 7.0 eingestellt. Anschließend werden *D*-LDH (249 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (12.47 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U /mg Feststoff) hinzugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 50 h wird die Lösung mittels Ultrafiltrationsrührzelle, mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa), mit 0.1 bis 0.5 bar Hilfsgasdrucks (Argon) filtriert. Nach dem Abtrennen der Enzyme wird das Wasser entfernt. Das Produkt **77h** wird nach säulenchromatographischer (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure) Reinigung als hellgelber Feststoff in einer Ausbeute von 44% (89 mg, 0.45 mmol) erhalten.

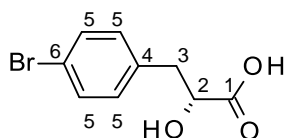


**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 2.86$  (dd,  $J = 7.8, 14.0$  Hz, 1H, 3-H), 3.09 (dd,  $J = 3.7, 13.9$  Hz, 1H, 3-H), 4.17 (m, 1H, 2-H), 7.24 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, 5-H), 7.28 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, 6-H) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 41.9$  (3-C), 74.9 (2-C), 129.4 (5-C), 132.6 (6-C), 133.0 (7-C), 139.0 (4-C), 180.7 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 199 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**:  $m/z = 199.0165$  [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_8\text{ClO}_3^-$ : 199.0167. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.55 (EE:MeOH, 7:3 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3510 (O-H), 1599 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 154-156 °C.  **$[\alpha]_D^{25}$** : +4.5° (c = 0.38, MeOH).

**(R)-3-(4-Bromophenyl)-2-hydroxypropansäure (77i, SEB-260)**

In eine Ultrafiltrationsrührzelle mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa) wird eine Lösung aus EDTA (9.8  $\mu\text{mol}$ ), Mercaptoethanol (5.2  $\mu\text{mol}$ ) und Ammoniumformiat (3.95 mmol) in 100 mL Milli-Q-Wasser gegeben. Anschließend wird Verbindung **91i** (180 mg, 0.74 mmol) und NADH (10.3  $\mu\text{mol}$ ) darin gelöst. Die Suspension wird gerührt, bis sich alles löst. Dann wird die Lösung mit 1 M HCl auf pH = 7.0 eingestellt. Anschließend werden *D*-LDH (280 U aus *Staphylococcus epidermis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (15 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U /mg Feststoff) hinzugegeben und 42 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 0.1 bis 0.3 bar Hilfsgasdruck (Argon) filtriert. Der Umsatz wird mittels DC (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure) kontrolliert. Ist der Umsatz vollständig wird der pH auf 3 eingestellt und die Lösung mit MTBE extrahiert. Nach der Extraktion wird die organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingeengt. Dann wird das Rohprodukt säulenchromatographisch (EE, + 0.1% Essigsäure) gereinigt. Die Reaktion liefert 122 mg (0.50 mmol, 68%) der Hydroxycarbonsäure **77i** als weißen Feststoff.

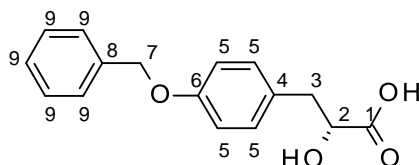




**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>): δ = 2.84 (m, 1H, 3-H), 3.10 (m, 1H, 3-H), 4.16 (m, 1H, 2-H), 7.22 (d, J = 8.3 Hz, 2H, 5-H), 7.40 (d, J = 8.3 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>): δ = 41.5 (3-C), 74.2 (2-C), 120.8, 139.4 (4-C, 6-C), 132.0, 132.6 (5-C), 171.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 198 (5) [M-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 242 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 242.9662 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 242.9662. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.23 (EE:MeOH, 9:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3466 (O-H), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 96-100 °C. **[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: +23.1° (c = 0.26, MeOH).

### (R)-3-(4-Benzyloxyphenyl)-2-hydroxypropionsäure (77j, SEB-250)

Das Pyruvat **91j** (250 mg, 0.93 mmol) und NADH (9.7 μmol) werden in einer Lösung aus EDTA (2.4 μmol), Mercaptoethanol (4.9 μmol) und Ammoniumformiat (3.89 mmol) in 100 mL Milli-Q-Wasser gelöst. Diese wird in eine Ultrafiltrationsrührzelle mit Polyethersulfon-Ultrafiltrationsmembran (Cutoff 10 kDa) gegeben. Die Lösung wird mit 1 M HCl auf pH = 7.0 eingestellt. Anschließend werden *D*-LDH (238 U aus *Staphylococcus epidermidis*, Aktivität: 97 U/ mg Feststoff) und FDH (12.3 U aus *Candida boidinii*, Aktivität: 0.45 U /mg Feststoff) hinzugegeben und 42 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 0.1 bis 0.3 bar Hilfsgasdruck (Argon) filtriert. Der Umsatz wird mittels DC (EE, + 0.1% Essigsäure) kontrolliert. Ist der Umsatz vollständig, wird der pH auf 3 eingestellt und die Lösung mit MTBE extrahiert. Weiterhin wird die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (EE, + 0.5% MeOH, + 0.1% Essigsäure) werden 150 mg (0.55 mmol, 60%) der Verbindung **77j** als weißer Feststoff erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>): δ = 3.44 (m, 2H, 3-H), 5.02 (m, 1H, 2-H), 5.02, 5.08 (2s, 2H, 7-H), 6.88 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H), 7.18 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H), 7.30, 7.36, 7.40 (3m, 5H, 9-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>): δ = 44.5 (3-C), 70.4 (7-C), 70.7 (2-C), 114.3, 115.0, 127.8, 128.2, 128.8, 128.9, 129.0, 130.4, 130.5, 131.5 (5-C, 9-C), 128.4, 137.5 (4-C, 8-C), 157.5 (6-C), 161.4 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 271 (100) [M-H]<sup>-</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 271.0979 [M-H]<sup>-</sup>, berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>: 271.0976. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.16 (EE, + 0.1% Essigsäure). **IR** (KBr): 3419 (O-H), 1610 (C=O) cm<sup>-1</sup>. **Schmelzpunkt**: 200-203 °C. **[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>**: +8.5° (c = 0.26, MeOH).

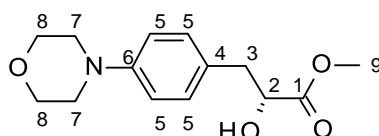
### 2.2.4 Synthese der Ester 122a-o, sowie der racemischen Verbindungen zur Bestimmung der Enantiomerenreinheit

#### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 122a-j

Die (*R*)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren **77a-j** werden in 15 mL trockenem MeOH suspendiert und bei 0 °C gerührt. Anschließend wird Thionylchlorid (6 Äq.) langsam hinzu getropft. Anschließend wird das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur 16 h gerührt. Der Umsatz wurde mittels DC (Laufmittel: EE:MeOH, 1:1) kontrolliert. Nach vollständigem Umsatz wird überschüssiges MeOH und Thionylchlorid unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wird in Ethylacetat gelöst und anschließend dreimal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird dann mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert, eingengt und das erhaltene Rohprodukt im Vakuum getrocknet.

#### (*R*)-2-Hydroxy-3-(4-morpholinophenyl)propansäuremethylester (**122a**, DAT-062)<sup>132</sup>

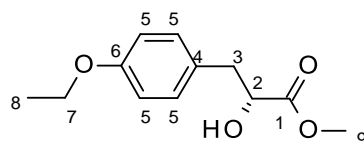
Edukt: (*R*)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77a** (15 mg, 0.06 mmol). Ausbeute: 52% (8 mg, 0.03 mmol, >99% ee) einer gelben viskosen Flüssigkeit. Eine Reinigung des Rohproduktes ist nicht erforderlich.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta$  = 2.87 (dd, *J* = 7.5, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 2.99 (dd, *J* = 5.1, 13.9 Hz, 1H, 3-H), 3.11 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H, 7-H), 3.71 (s, 3H, 9-H), 3.84 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H, 8-H), 4.33 (m, 1H, 2-H), 6.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 5-H), 7.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>):  $\delta$  = 41 (3-H), 51.0 (7-C), 52.3 (9-C), 68.0 (8-C), 73.3 (2-C), 117.1 (5-C), 130.1 (4-C), 131.2 (5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: *m/z* (%) = 266 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 288 (41) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: *m/z* = 266.1387 [M-H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 266.1387. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.54 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 3425 (O-H), 1740 (C=O) cm<sup>-1</sup>. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>: +2.1° (c = 0.34, MeOH).

#### (*R*)-3-(4-Ethoxyphenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (**122c**, SEB-263)

Edukt: (*R*)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77c** (68 mg, 0.32 mmol). Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 8:2) liefert Verbindung **122c** in einer Ausbeute von 87% (63 mg, 0.28 mmol, 96% ee) als farblose viskose Flüssigkeit.

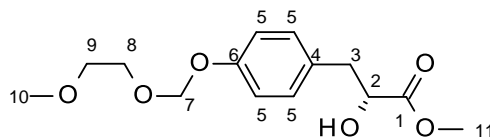


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.42 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, 8-H), 2.70 (s-br, 1H, OH), 2.92 (dd, *J* = 6.9, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.08 (dd, *J* = 4.1, 14.1 Hz, 1H, 3-H), 3.78 (s, 3H, 9-H), 4.02 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, 7-H), 4.43 (m, 1H, 2-H), 6.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 5-H), 7.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 14.8 (8-C), 39.7 (3-C), 52.4 (9-C), 63.4 (7-C), 71.4 (2-C), 114.5 (5-C), 128.0 (4-C), 130.4 (5-C), 158.0 (6-C), 174.6 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: *m/z* (%) = 165 (100) [M-CO<sub>2</sub>Me]<sup>+</sup>, 247 (22) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: *m/z* =

247.0933  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{12}H_{16}NaO_4^+$ : 247.0941. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.19 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 3476 (O-H), 1739 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-5.7^\circ$  ( $c = 0.47$ , MeOH).

**(R)-2-Hydroxy-3-(4-methoxyethoxymethoxyphenyl)propansäuremethylester (122e, SEB-264)**

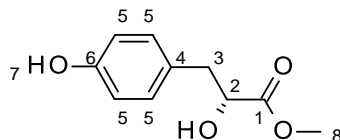
Edukt: (R)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77e** (58 mg, 0.21 mmol). Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 8:2) des Rohproduktes liefert Verbindung **122e** in einer Ausbeute von 17% (10 mg, 0.04 mmol, 82% ee) als farblose viskose Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 2.61, 2.90$  (2t,  $J = 7.6$  Hz, 4H, 8-H, 9-H), 3.05 (dd,  $J = 8.7, 14.3$  Hz, 1H, 3-H), 3.15 (dd,  $J = 4.6, 14.3$  Hz, 1H, 3-H), 3.68 (s, 3H, 10-H), 3.74 (s, 3H, 11-H), 4.88 (s-br, 1H, OH), 5.16 (m, 1H, 2-H), 6.77 (m, 2H, 7-H), 6.77, 7.10 (2m, 4H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 29.7, 30.1, 35.9$  (8-C, 9-C), 36.6 (3-C), 51.6 (10-C), 52.2 (11-C), 72.8 (2-C), 114.6 (7-C), 115.2, 115.3, 128.2, 129.4, 130.6 (5-C), 131.9 132.7 (4-C), 154.0, 154.6 (6-C), 173.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 302 (100)  $[M+NH_4]^+$ . **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.45 (CH:EE, 1:1). **IR** (Film): 3410 (O-H), 1735 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-27.5^\circ$  ( $c = 0.08$ , MeOH).

**(R)-2-Hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)propansäuremethylester (122f, DAT-059)<sup>132</sup>**

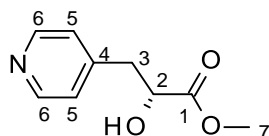
Edukt: (R)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77f** (37 mg, 0.15 mmol). Ausbeute: 50% (15 mg, 0.08 mmol, >99% ee) einer roten Flüssigkeit. Eine Reinigung des Produktes ist nicht erforderlich.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 2.92$  (dd,  $J = 6.4, 14.0$  Hz, 1H, 3-H), 3.08 (dd,  $J = 4.2, 14.1$  Hz, 1H, 3-H), 3.80 (s, 3H, 8-H), 4.44 (m, 1H, 2-H), 5.54 (s, 1H, 7-H), 6.76 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H, 5-H), 7.08 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 39.7$  (3-C), 52.5 (8-C), 71.4 (2-C), 115.5 (5-C), 128.1 (4-C), 130.7 (5-C), 154.8 (6-C), 174.7 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 219 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z = 219.0630$   $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{10}H_{12}NaO_4^+$ : 219.0628. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.83 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 3386 (O-H), 1738 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+0.87^\circ$  ( $c = 1.15$ , MeOH).

**(R)-2-Hydroxy-3-(pyridin-4-yl)propansäuremethylester (122g, DAT-057)<sup>132</sup>**

Edukt: (R)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77g** (59 mg, 0.35 mmol). Ausbeute: 47% (30 mg, 0.17 mmol, >99% ee) eines rotbraunen Öls. Eine Reinigung des Produktes ist nicht erforderlich.

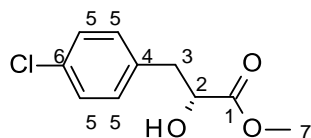


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 2.97$  (dd,  $J = 7.4, 14.0$  Hz, 1H, 3-H), 3.15 (dd,  $J = 4.2, 14.0$  Hz, 1H, 3-H), 3.80 (s, 3H, 7-H), 4.50 (m, 1H, 2-H), 7.20 (d,  $J = 5.2$  Hz, 2H, 5-H), 8.50 (d,  $J = 5.1$  Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 39.7$  (3-C), 52.7 (7-C), 70.3 (2-C), 124.9 (5-C), 146.3 (4-C), 149.3 (6-C), 174.0 (1-C)

ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 282 (100)  $[M+H]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 182.0815  $[M+H]^+$ , berechnet für  $C_9H_{12}NO_3^+$ : 182.0812. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.46 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR (Film):** 3440 (O-H), 1745 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{25}$ : +9.6° (c = 0.24, MeOH).

**(R)-3-(4-Chlorophenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (122h, DAT-058)**<sup>132</sup>

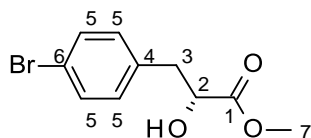
Edukt: (R)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77h** (61 mg, 0.30 mmol). Ausbeute: 67% (44 mg, 0.20 mmol, >99% ee) einer gelben Flüssigkeit. Eine Reinigung des Produktes ist nicht erforderlich.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.95 (dd, J = 6.8, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.11 (dd, J = 4.3, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.79 (s, 3H, 7-H), 4.45 (m, 1H, 2-H), 7.17 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.28 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 39.7 (3-C), 52.6 (7-C), 71.0 (2-C), 128.5, 130.8 (5-C), 132.8, 134.8 (4-C, 6-C), 174.4 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 237 (100)  $[M+Na]^+$ . **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.63 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR (Film):** 3465 (O-H), 1740 (C=O)  $cm^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{25}$ : +1.3° (c = 0.23, MeOH).

**(R)-3-(4-Bromophenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (122i, SEB-262)**

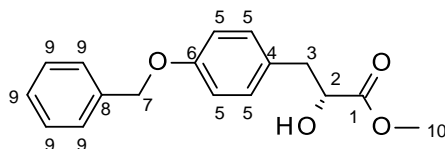
Edukt: (R)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77i** (68 mg, 0.28 mmol). Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 9:1) liefert das Produkt **122i** in einer Ausbeute von 46% (33 mg, 0.13 mmol, 98% ee) als weißen Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.83 (s-br, 1H, OH), 2.93 (dd, J = 6.9, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.11 (dd, J = 4.4, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.79 (s, 3H, 7-H), 4.45 (m, 1H, 2-H), 7.12 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.44 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 39.8 (3-C), 52.5 (7-C), 70.9 (2-C), 120.9, 135.3 (4-C, 6-C), 131.2, 131.4 (5-C), 174.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 281 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 280.9752  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{10}H_{11}BrNaO_3^+$ : 280.9784. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.15 (CH:EE, 8:2). **IR (Film):** 3492 (O-H), 1731 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 53-56 °C.  $[\alpha]_D^{25}$ : +7.6° (c = 0.29, MeOH).

**(R)-3-(4-Benzyloxyphenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (122j, SEB-265)**

Edukt: (R)- $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **77j** (13 mg, 0.05 mmol). Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (CH:EE, 8:2) gereinigt. Die Reaktion liefert das Produkt **122j** in einer Ausbeute von 99% (14 mg, 0.05 mmol, 88% ee) als weißen Feststoff.

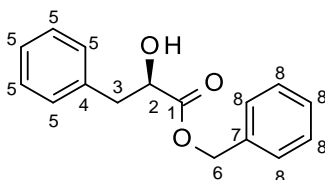


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.94 (dd, J = 6.7, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.09 (dd, J = 4.4, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.80 (s, 3H, 10-H), 4.46 (m, 1H, 2-H), 5.07 (s, 2H, 7-H), 6.94 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.16 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H),

7.33-7.47 (m, 5H, 9-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 39.7$  (3-C), 52.4 (10-C), 70.0 (7-C), 71.4 (2-C), 114.8, 130.5 (5-C), 127.4, 127.9, 128.5 (9-C), 137.1 (4-C, 8-C), 157.9 (6-C), 174.6 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 287 (22)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 304 (32)  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 309 (100)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z = 309.1096$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NaO}_4^+$ : 309.1097. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.14 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 3540 (O-H), 1727 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 66-69 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +11.1° (c = 0.09, MeOH).

#### (R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäurebenzylester (122o, SEB-105)

*D*-Phenylmilchsäure (**66**, 60 mg, 0.36 mmol) wird in 20 mL Toluol suspendiert und mit Benzylalkohol (1.5 Äq.) und *p*-Toluolsulfonsäure (0.01 Äq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wird vier Stunden am Wasserabscheider erhitzt. Nach Reaktionsende wird die Lösung mit MTBE verdünnt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die wässrige Phase wird mehrfach mit MTBE extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Zur Entfernung des überschüssigen Benzylalkohols wird im Kugelrohr bei 120°C und  $3.5 \times 10^{-2}$  bar destilliert. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (CH:EE, 3:1) gereinigt. Die Reaktion liefert 62.6 mg (0.24 mmol, 68%, 96% ee) farblose Flüssigkeit.



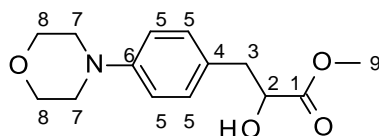
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.79$  (s, 1H, OH), 2.99 (dd,  $J = 6.6, 13.9$  Hz, 1H, 3-H), 3.14 (dd,  $J = 4.7, 14.0$  Hz, 1H, 3-H), 4.47-4.55 (m, 1H, 2-H), 5.19-5.20 (2s, 2H, 6-H), 7.13-7.44 (2m, 10H, 5-H, 8-H) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 40.5$  (3-C), 67.3 (6-C), 71.2 (2-C), 126.8, 128.3, 128.5, 128.6, 128.6, 129.5 (5-C, 8-C), 136.0, 136.1 (4-C, 7-C), 173.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 91 (6)  $[\text{C}_7\text{H}_7]^+$ , 257 (15)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 279 (32)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 535 (9)  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z = 279.0999$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , berechnet für  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{NaO}_3^+$ : 279.0997. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.16 (CH:EE, 7:1). **IR** (Film): 3436 (O-H), 1739 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ .  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +54.8° (c = 1.50, DCM), lit.:<sup>222</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +54.9° (c = 1.50, DCM).

#### Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 124a-j

Die Enolester **104a-j** werden in trockenem THF (20 mL) gelöst und bei -10°C gerührt. Anschließend werden  $\text{NaBH}_4$  (2 Äq.) zugegeben. Es wird 8 h bei -10°C gerührt und der Umsatz mittels DC kontrolliert. Nach vollständigem Umsatz wird die Reaktionsmischung mit gesättigter NaCl-Lösung (ca. -10 °C) versetzt und dreimal mit DCM extrahiert. Die organische Phase wird über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert, eingengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

#### (R/S)-2-Hydroxy-3-(4-morpholinophenyl)propansäuremethylester (124a, SEB-116)

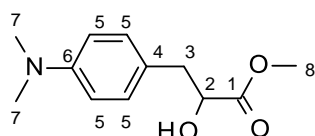
Edukt: Enolester **104a** (0.10 g, 0.38 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 7:3) gereinigt. Als Ausbeute werden 58 mg (0.22 mmol, 58%) orangefarbene Flüssigkeit erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 2.87 (dd, J = 7.5, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 2.99 (dd, J = 5.1, 13.9 Hz, 1H, 3-H), 3.11 (t, J = 4.8 Hz, 4H, 7-H), 3.71 (s, 3H, 9-H), 3.84 (t, J = 4.9 Hz, 4H, 8-H), 4.33 (m, 1H, 2-H), 6.91 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H), 7.14 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 41 (3-H), 51.0 (7-C), 52.3 (9-C), 68.0 (8-C), 73.3 (2-C), 117.1 (5-C), 130.1 (4-C), 131.2 (5-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 266 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 288 (41) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 266.1387 [M-H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 266.1387. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.54 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 3425 (O-H), 1740 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R/S)-3-(4-Dimethylaminophenyl)-2-hydroxypropylmethylester (124b, SEB-115)**

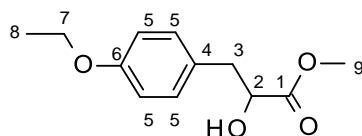
Edukt: Enolester **104b** (0.10 g, 0.45 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH/EE 7:3) gereinigt. Als Ausbeute werden 63 mg (0.28 mmol, 62%) orangefarbene Flüssigkeit erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ = 2.81 (dd, J = 7.1, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 2.91 (s, 6H, 7-H), 2.94 (dd, J = 4.9, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.32 (s-br, 1H, OH), 3.71 (s, 3H, 8-H), 4.32 (m, 1H, 2-H), 6.71 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H), 7.07 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ = 40.3 (3-C), 40.9 (7-C), 52.4 (8-C), 72.7 (2-C), 113.5 (5-C), 125.7 (4-C), 129.2, 131.0, 131.1 (5-C), 150.8 (6-C), 174.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 120 (13) [Ph-NMe<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 134 (5) [H<sub>2</sub>CPh-NMe<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 224 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 246 (53) [M+Na]<sup>+</sup>, 469 (2) [2M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 224.1278 [M+H]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>: 224.1281. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.56 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 3440 (O-H), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R/S)-3-(4-Ethoxyphenyl)-2-hydroxypropylmethylester (124c, SEB-263)**

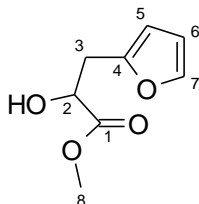
Edukt: Enolester **104c** (150 mg, 0.67 mmol). Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 8:2) liefert **124c** in einer Ausbeute von 53% (80 mg, 0.36 mmol) als farblose viskose Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.42 (t J = 7.0 Hz, 3H, 8-H), 2.70 (s-br, 1H, OH), 2.92 (dd, J = 6.9, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.08 (dd, J = 4.1, 14.1 Hz, 1H, 3-H), 3.78 (s, 3H, 9-H), 4.02 (q, J = 7.0 Hz, 2H, 7-H), 4.43 (m, 1H, 2-H), 6.85 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H), 7.14 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 14.8 (8-C), 39.7 (3-C), 52.4 (9-C), 63.4 (7-C), 71.4 (2-C), 114.5 (5-C), 128.0 (4-C), 130.4 (5-C), 158.0 (6-C), 174.6 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 165 (100) [M-CO<sub>2</sub>Me]<sup>+</sup>, 247 (22) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 247.0933 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 247.0941. **R<sub>F</sub>-Wert**: 0.19 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 3476 (O-H), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R/S)-3-(Furan-2-yl)-2-hydroxypropansäuremethylester (124d, DAT-043)**<sup>132</sup>

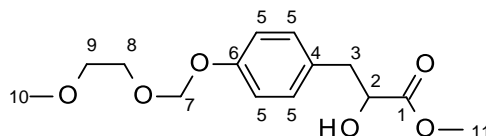
Edukt: Enolester **104d** (0.194 g, 1.16 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 61% (119 mg, 0.70 mmol) gelber Feststoff.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 1.52 (dd, J = 7.2, 15.2 Hz, 1H, 3-H), 1.64 (dd, J = 5.3, 15.1 Hz, 1H, 3-H), 2.26 (s, 3H, 8-H), 2.95 (m, 1H, 2-H), 4.66 (dd, J = 0.8, 3.3 Hz, 1H, 5-H), 4.83 (dd, J = 1.9, 3.3 Hz, 1H, 6-H), 5.90 (dd, J = 0.8, 1.91 Hz, 1H, 7-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 34.4 (3-C), 52.5 (8-C), 70.8 (2-C), 108.4 (5-C), 111.7 (6-C), 143.1 (7-C), 152.7 (4-C), 175.8 (1-C) ppm. HPLC-MS (ESI): m/z (%) = 153 (100) [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>, 193 (80) [M+H]<sup>+</sup>. R<sub>f</sub>-Wert: 0.25 (CH:EE, 7:3). IR (KBr): 3465 (O-H), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R/S)-2-Hydroxy-3-(4-methoxyethoxymethoxyphenyl)propansäuremethylester (124e, SEB-264)**

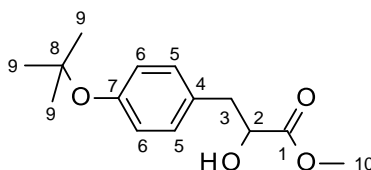
Edukt: Pivaloat **123e** (24 mg, 0.09 mmol) wird gemäß der Esterschutzgruppenspaltung der Pivaloate **117a-j** zur racemischen α-Hydroxycarbonsäure **77e** umgesetzt, die ohne weitere Reinigung mit Thionylchlorid in Methanol gemäß der Vorschrift zur Herstellung der α-Hydroxycarbonsäure methylester **122a-j** zu **124e** weiter umgesetzt wird. Säulenchromatographische Reinigung (CH:EE, 8:2) des Rohproduktes liefert **124e** in einer Ausbeute von 19% (5 mg, 0.02 mmol) als farblose viskose Flüssigkeit.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.61, 2.90 (2t, J = 7.6 Hz, 4H, 8-H, 9-H), 3.05 (dd, J = 8.7, 14.3 Hz, 1H, 3-H), 3.15 (dd, J = 4.6, 14.3 Hz, 1H, 3-H), 3.68 (s, 3H, 10-H), 3.74 (s, 3H, 11-H), 4.88 (s-br, 1H, OH), 5.16 (m, 1H, 2-H), 6.77 (m, 2H, 7-H), 6.77, 7.10 (2m, 4H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 29.7, 30.1, 35.9 (8-C, 9-C), 36.6 (3-C), 51.6 (10-C), 52.2 (11-C), 72.8 (2-C), 114.6 (7-C), 115.2, 115.3, 128.2, 129.4, 130.6 (5-C), 131.9 132.7 (4-C), 154.0, 154.6 (6-C), 173.5 (1-C) ppm. HPLC-MS (ESI): m/z (%) = 302 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. R<sub>f</sub>-Wert: 0.45 (CH:EE, 1:1). IR (Film): 3410 (O-H), 1735 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R/S)-3-(4-tert-Butoxyphenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (124f, DAT-053)**<sup>132</sup>

Edukt: Enolester **104f** (0.84 g, 0.33 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 91% (76.7 mg, 0.30 mmol) einer gelben Flüssigkeit.

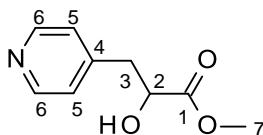


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.34 (s, 9H, 9-H), 2.93 (dd, J = 6.9 Hz, 14.1 Hz, 1H, 3-H), 3.07 (dd, J = 4.5, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 4.43 (dd, J = 4.5, 6.9 Hz, 1H, 2-H), 6.92 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 6-H), 7.11 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 28.8 (9-C), 39.9 (3-C), 52.3 (10-C), 71.4 (2-C), 78.3 (8-C), 124.0

(6-C), 129.8 (5-C), 131.1 (4-C), 154.3 (7-C), 174.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 275 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 275.1259  $[M+Na]^+$ , berechnet  $C_{14}H_{20}NaO_4^+$ : 275.1254. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.23 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 3454 (O-H), 1743 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R/S)-2-Hydroxy-3-(pyridin-4-yl)-propansäuremethylester (124g, DAT-052)<sup>132</sup>**

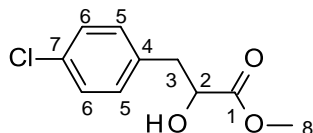
Edukt: Enolester **104g** (0.11 g, 0.63 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (EE:MeOH, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 40% (46.2 mg, 0.25 mmol) einer gelben Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 2.94 (dd,  $J$  = 7.5, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.12 (dd,  $J$  = 4.3, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.76 (s, 3H, 7-H), 4.16 (s, 1H, OH), 4.48 (m, 1H, 2-H), 7.18 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 2H, 5-H), 8.44 (d, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 39.7 (3-C), 52.5 (7-C), 70.4 (2-C), 124.9 (5-C), 146.3 (4-C), 149.3 (6-C), 174.0 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 164 (11)  $[M-H_2O+H]^+$ , 182 (100)  $[M+H]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 182.0809  $[M+H]^+$ , berechnet  $C_9H_{12}NO_3^+$ : 182.0812. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.63 (EE:MeOH, 1:1 + 0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 3207 (O-H), 1746 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R/S)-3-(4-Chlorophenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (124h, DAT-036)<sup>132</sup>**

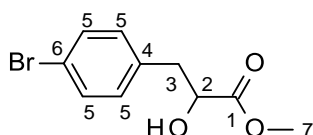
Edukt: Enolester **104h** (0.114 g, 0.53 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 62% (71 mg, 0.33 mmol) eines gelben Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 2.90 (s, 1H, OH), 2.95 (dd,  $J$  = 6.8, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.11 (dd,  $J$  = 4.4, 14.1 Hz, 1H, 3-H), 3.79 (s, 3H, 8-H), 4.45 (m, 1H, 2-H), 7.17 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H, 5-H), 7.28 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 39.7 (3-C), 52.5 (8-C), 71.0 (2-C), 128.5 (6-C), 130.8 (5-C), 132.8 (7-C), 134.8 (4-C), 174.5 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 237 (100)  $[M+Na]^+$ . **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.23 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 3405 (O-H), 1749 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 52-54 °C.

**(R/S)-3-(4-Bromophenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (124i, SEB-262)**

Edukt: Enolester **104i** (0.150 g, 0.43 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 8:2) gereinigt. Ausbeute: 51% (57.2 mg, 0.22 mmol) eines weißen Feststoffs.



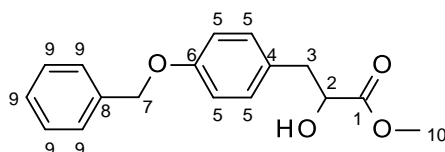
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 2.83 (s-br, 1H, OH), 2.93 (dd,  $J$  = 6.9, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.11 (dd,  $J$  = 4.4, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.79 (s, 3H, 7-H), 4.45 (m, 1H, 2-H), 7.12 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.44 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 39.8 (3-C), 52.5 (7-C), 70.9 (2-C), 120.9, 135.3 (4-C, 6-C), 131.2, 131.4 (5-C), 174.3 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 281 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z$  = 280.9752



$[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{10}H_{11}BrNaO_3^+$ : 280.9784. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.15 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 3492 (O-H), 1731 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 53-56 °C.

**(R)-3-(4-Benzyloxyphenyl)-2-hydroxypropansäuremethylester (124j, SEB-265)**

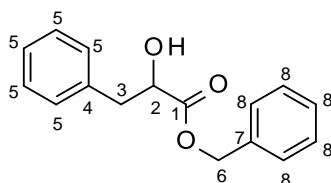
Edukt: Enolester **104j** (200 mg, 0.62 mmol). Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (CH:EE, 8:2) gereinigt. Die Reaktion liefert das Produkt in einer Ausbeute von 83% (154 mg, 0.51 mmol) als weißen Feststoff.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 2.94 (dd,  $J$  = 6.7, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.09 (dd,  $J$  = 4.4, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.80 (s, 3H, 10-H), 4.46 (m, 1H, 2-H), 5.07 (s, 2H, 7-H), 6.94 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.16 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.33-7.47 (m, 5H, 9-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 39.7 (3-C), 52.4 (10-C), 70.0 (7-C), 71.4 (2-C), 114.8, 130.5 (5-C), 127.4, 127.9, 128.5 (9-C), 137.1 (4-C, 8-C), 157.9 (6-C), 174.6 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 287 (22)  $[M+H]^+$ , 304 (32)  $[M+NH_4]^+$ , 309 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 309.1096  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{17}H_{18}NaO_4^+$ : 309.1097. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.14 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 3540 (O-H), 1727 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt**: 66-69 °C.  $[\alpha]_D^{20}$ : +11.1° ( $c$  = 0.09, MeOH).

**(R/S)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäurebenzylester (124o, SEB-105)**

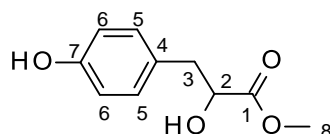
*DL*-Phenylmilchsäure (**66**, 0.50 g, 50.0 mmol) wird in 20 mL Toluol suspendiert und mit Benzylalkohol (1.5 Äq.) und *p*-Toluolsulfonsäure (0.01 Äq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wird vier Stunden am Wasserabscheider erhitzt. Nach Reaktionsende wird die Lösung mit MTBE verdünnt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die wässrige Phase wird mehrfach mit MTBE extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Zur Entfernung des überschüssigen Benzylalkohols wird im Kugelrohr bei 120°C und  $3.5 \times 10^{-2}$  bar destilliert. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (CH:EE, 3:1) gereinigt. Die Reaktion liefert 0.51 g (1.98 mmol, 66%) farblose Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 2.79 (s, 1H, OH), 2.99 (dd,  $J$  = 6.6, 13.9 Hz, 1H, 3-H), 3.14 (dd,  $J$  = 4.7, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 4.47-4.55 (m, 1H, 2-H), 5.19-5.20 (2s, 2H, 6-H), 7.13-7.44 (2m, 10H, 5-H, 8-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 40.5 (3-C), 67.3 (6-C), 71.2 (2-C), 126.8, 128.3, 128.5, 128.6, 128.6, 129.5 (5-C, 8-C), 136.0, 136.1 (4-C, 7-C), 173.9 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**:  $m/z$  (%) = 91 (6)  $[C_7H_7]^+$ , 257 (15)  $[M+H]^+$ , 279 (32)  $[M+Na]^+$ , 535 (9)  $[2M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS**:  $m/z$  = 279.0999  $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{16}H_{16}NaO_3^+$ : 279.0997. **IR** (Film): 3436 (O-H), 1739 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R/S)-Methyl-2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)propansäureester (124f, DAT-061)**<sup>132</sup>

*t*-Butylether **124f** (51.2 mg, 0.20 mmol), wird unter Argon in 15mL trockenen MeOH suspendiert und bei 0 °C gerührt. Anschließend wird Thionylchlorid (90 µL, 1.22 mmol) langsam hinzu getropft. Das Reaktionsgemisch wird dann bei Raumtemperatur 16 h gerührt. Anschließend wird überschüssiges MeOH und Thionylchlorid unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wird in Ethylacetat gelöst und anschließend dreimal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird dann mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert, eingeeengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Die Reaktion liefert eine Ausbeute von 56% (22 mg, 0.11 mmol) des Phenols **124f** als gelbe Flüssigkeit. Eine Reinigung ist nicht erforderlich.



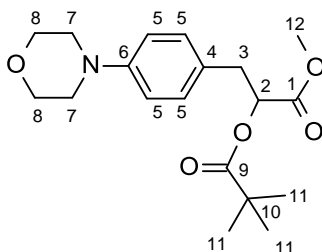
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.92 (dd, J = 6.4, 14.0 Hz, 1H, 3-H), 3.08 (dd, J = 4.2, 14.1 Hz, 1H, 3-H), 3.80 (s, 3H, 8-H), 4.44 (m, 1H, 2-H), 5.54 (s, 1H, OH-Phenol), 6.76 (d, J = 7.9 Hz, 2H, 5-H, 6-H), 7.08 (d, J = 7.9 Hz, 2H, 5-H, 6-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 39.7 (3-C), 52.5 (8-C), 71.4 (2-C), 115.5 (5-C, 6-C), 128.1 (4-C), 130.7 (5-C, 6-C), 154.8 (7-C), 174.7 (1-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 219 (100) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 219.0630 [M-Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>: 219.0628. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.83 (EE:MeOH, 1:1+0.1% Essigsäure). **IR** (Film): 3386 (O-H), 1738 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 123a-b und 123e-f**

Die Acrylsäureester **115a-b** und **115e-f** werden in MeOH gelöst und mit Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20%, 8 mol%) versetzt. Die Hydrierungen werden bei Raumtemperatur unter einem Druck von 1 atm Wasserstoff durchgeführt. Nach 5 h wird filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Rohprodukte werden im Vakuum getrocknet.

**(R/S)-3-(4-Morpholinophenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123a, SEB-120)**

Edukt: Acrylsäureester **115a** (52 mg, 0.15 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 31% (16 mg, 0.05 mmol) einer farblosen, viskosen Flüssigkeit.

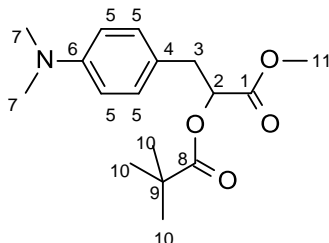


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.20 (s, 9H, 11-H), 3.05 (dd, J = 8.3, 14.4 Hz, 1H, 3-H), 3.13 (m, 1H, 3-H), 3.15 (t, J = 4.6 Hz, 2H, 7-H), 3.73 (s, 3H, 12-H), 3.87 (t, J = 4.7 Hz, 2H, 8-H), 5.16 (m, 1H, 2-H), 6.87 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 5-H), 7.15 (d, J = 8.7 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.1 (11-C), 36.6 (3-C), 38.6 (10-C), 49.4 (7-C), 52.1 (12-C), 66.9 (8-C), 72.8 (2-C), 115.6 (5-C), 127.5 (4-C), 130.1 (5-C), 150.2 (6-C), 170.3 (1-C), 177.8 (10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 350 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 372 (23) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-**

**MS:**  $m/z = 350.1963 [M+H]^+$ , berechnet für  $C_{19}H_{28}NO_5^+$ : 350.1962. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.22 (CH:EE, 7:3). **IR (Film):** 1767 (C=O), 1735 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R/S)-3-(4-Dimethylaminophenyl)(2-pivaloyloxy)propansäuremethylester (123b, SEB-118)**

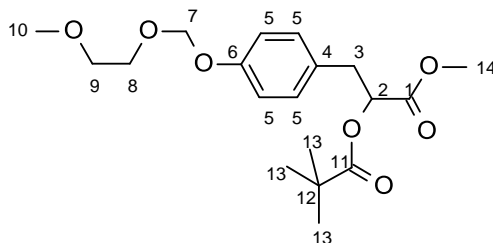
Edukt: Acrylsäureester **115b** (0.20 g, 0.65 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 74% (0.15 g, 0.48 mmol) einer farblosen viskosen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 1.22$  (s, 9H, 10-H), 2.94 (s, 6H, 7-H), 3.04 (dd,  $J = 8.6, 14.4$  Hz, 1H, 3-H), 3.12 (dd,  $J = 4.3, 14.3$  Hz, 1H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 11-H), 5.14 (m, 1H, 2-H), 6.70 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H, 5-H), 7.12 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 27.0$  (10-C), 38.5 (9-C), 40.9 (7-C), 36.4 (3-C), 52.0 (11-C), 73.1 (2-C), 112.7 (5-C), 123.9 (4-C), 130.0 (5-C), 149.6 (6-C), 170.4 (1-C), 177.8 (8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 308 (100)  $[M+H]^+$ , 330 (14)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 308.1856 [M+H]^+$ , berechnet für  $C_{17}H_{26}NO_4^+$ : 308.1856. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.48 (CH:EE, 7:3). **IR (KBr):** 1765 (C=O), 1725 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R/S)-3-(4-Methoxyethoxymethoxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123e, SEB-258)**

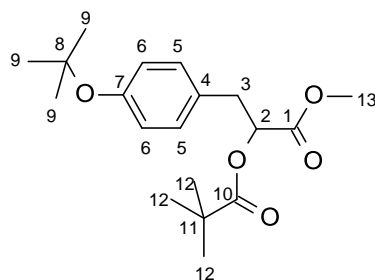
Edukt: Acrylsäureester **115e** (46 mg, 0.13 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 8:2) gereinigt. Ausbeute: 56% (26 mg, 0.07 mmol) einer farblosen viskosen Flüssigkeit.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 1.19$  (s, 9H, 13-H), 3.06, 3.15 (2dd,  $J = 4.2, 9.1$  Hz, 2H, 3-H), 3.39 (s, 3H, 10-H), 3.57, 3.83 (2m, 4H, 8-H, 9-H), 3.73 (s, 3H, 14-H), 5.16 (m, 1H, 2-H), 5.26 (s, 2H, 7-H), 7.00 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, 5-H), 7.15 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 26.9$  (13-C), 36.5 (3-C), 38.6 (12-C), 52.1 (14-C), 58.9 (10-C), 67.9, 71.6 (8-C, 9-C), 72.7 (2-C), 93.5 (7-C), 115.2, 115.6, 116.2, 130.4, 130.5, 131.5 (5-C), 129.4 (4-C), 156.3 (6-C), 170.2 (1-C), 177.7 (11-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 386 (100)  $[M+NH_4]^+$ , 391 (3)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 391.1727 [M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{19}H_{28}NaO_7^+$ : 391.1724. **R<sub>F</sub>-Wert:** 0.12 (CH:EE, 8:2). **IR (Film):** 1759 (C=O), 1736 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R/S)-3-(4-tert-Butoxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123f, DAT-030)<sup>132</sup>**

Edukt: der Acrylsäureester **115f** (0.22 g, 0.66 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (DCM) gereinigt. Ausbeute: 78% (0.18 g, 0.52 mmol) einer hellgelben Flüssigkeit.



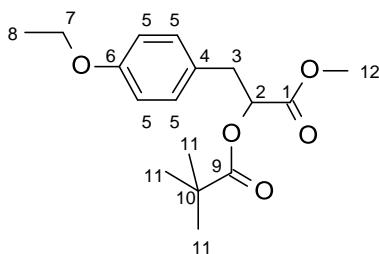
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.16 (s, 9H, 12-H), 1.33 (s, 9H, 9-H), 3.06 (dd, J = 9.3, 14.2 Hz, 1H, 3-H), 3.18 (dd, J = 4.2, 14.2 Hz, 1H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 13-H), 5.16 (m, 1H, 2-H), 6.93 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 6-H), 7.12 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.0 (12-C), 28.7 (9-C), 36.8 (3-C), 38.7 (11-C), 52.3 (13-C), 72.7 (2-C), 78.5 (8-C), 124.2 (6-C), 129.8 (5-C), 131.1 (4-C), 154.3 (7-C), 170.4 (1-C), 177.9 (10-C) ppm. **HPLC-MS (ESD)**: m/z (%) = 179 (74) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 281 (14) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>+H]<sup>+</sup>, 354 (100) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 359.1836 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 359.1829. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.50 (CH:EE, 7:3). **IR** (Film): 1761 (C=O), 1739 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen 123c-d und 123h-j**

In einem ausgeheizten Rundkolben wird unter Argonatmosphäre Natriumhydrid (2 Äq.) vorgelegt und mit 20 mL getrocknetem DCM suspendiert. Unter starkem Rühren wird der Enolester **104c-d** bzw. **104h-j** (1 Äq.) zugegeben. Die Suspension wird im Eisbad abgekühlt und langsam mit Pivaloylchlorid (4 Äq.) versetzt. Anschließend wird die Suspension im Eisbad über Nacht gerührt. Nach 19 h Rühren wird die Suspension im Eisbad erneut gekühlt und mit 10 mL Eiswasser versetzt. Dann wird die Suspension in einen Scheidetrichter überführt und mit DCM versetzt. Die wässrige Phase wird dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt.

**(R/S)-3-(4-Ethoxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123c, SEB-251)**

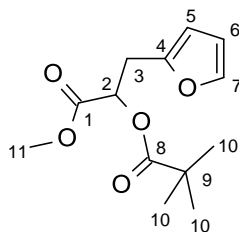
Edukt: Enolester **104c** (64 mg, 0.29 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 9:1) gereinigt. Ausbeute: 97% (85 mg, 0.28 mmol) einer farblosen viskosen Flüssigkeit.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.20 (s, 9H, 11-H), 1.42 (t, J = 7.0 Hz, 3H, 8-H), 3.06, 3.14 (2dd, J = 4.3, 9.1 Hz, 2H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 12-H), 4.03 (q, J = 7.0 Hz, 2H, 7-H), 5.16 (dd, J = 4.3, 9.1 Hz, 1H, 2-H), 6.83 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H), 7.14 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 5-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 14.8 (8-C), 26.9 (11-C), 36.5 (3-C), 38.6 (10-C), 52.1 (12-C), 63.4 (7-C), 72.8 (2-C), 114.3, 130.3 (5-C), 127.9 (4-C), 157.9 (6-C), 170.2 (1-C), 177.8 (9-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 207 (100) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 309 (2) [M+H]<sup>+</sup>, 326 (20) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 331 (3) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS:** m/z = 331.1516 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 331.1517. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.43 (CH:EE, 8:2). **IR (Film):** 1760 (C=O), 1737 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

**(R/S)-3-(Furan-2-yl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123d, DAT-060)<sup>132</sup>**

Edukt: Enolester **104d** (69 mg, 0.41 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 11:1) gereinigt. Die Reaktion liefert eine Ausbeute von 60% (62 mg, 0.24 mmol) einer gelben Flüssigkeit.

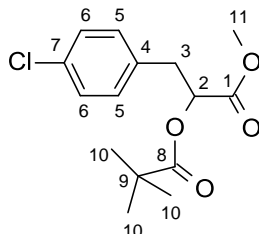


<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.21 (s, 9H, 10-H), 3.19 (dd, J = 7.8, 15.5 Hz, 1H, 3-H), 3.24 (dd, J = 5.0, 15.6 Hz, 1H, 3-H), 3.75 (s, 3H, 11-H), 5.29 (m, 1H, 2-H), 6.12 (dd, J = 0.8, 3.0 Hz, 1H, 5-H), 6.29 (dd, J = 2.0, 3.0 Hz, 1H, 6-H), 7.32 (dd, J = 0.8, 2.0 Hz, 1H, 7-H) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 27.0 (10-C), 30.1 (3-C), 38.7 (9-C), 52.3 (11-C), 70.4 (2-C), 107.5 (5-C), 110.5 (6-C), 142 (7-C), 150.1 (4-C), 169.9 (1-C), 177.6 (8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):** m/z (%) = 153 (100) [M-C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 255 (18) [M+H]<sup>+</sup>, 272 (14) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 277 (45)

$[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 277.1046$   $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{13}H_{18}NaO_5^+$ : 277.1046. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.49 (CH:EE, 9:1). **IR** (Film): 1739 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**(R/S)-3-(4-Chlorophenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123h, DAT-042)**<sup>132</sup>

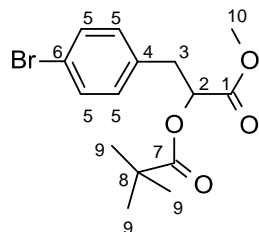
Edukt: Enolester **104h** (139 mg, 0.65 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 11:1) gereinigt. Es wird eine Ausbeute von 65% (126 mg, 0.42 mmol) einer gelben Flüssigkeit (**123h**) erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 1.19$  (s, 9H, 10-H), 3.09 (dd,  $J = 8.8, 14.2$  Hz, 1H, 3-H), 3.19 (dd,  $J = 4.2, 14.3$  Hz, 1H, 3-H), 3.73 (s, 3H, 11-H), 5.19 (m, 1H, 2-H), 7.17 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, 5-H), 7.28 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, 6-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 27.0$  (10-C), 36.8 (3-C), 38.7 (9-C), 52.3 (11-C), 72.4 (2-C), 128.6 (6-C), 130.9 (5-C), 133.1 (7-C), 134.8 (4-C), 170.1 (1-C), 177.6 (8-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 299 (56)  $[M+H]^+$ , 316 (97)  $[M+NH_4]^+$ , 321 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 321.0865$   $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{15}H_{19}ClNaO_4^+$ : 321.0864. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.52 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1760 (C=O), 1738 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 34-35 °C.

**(R/S)-3-(4-Bromophenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123i, SEB-249)**

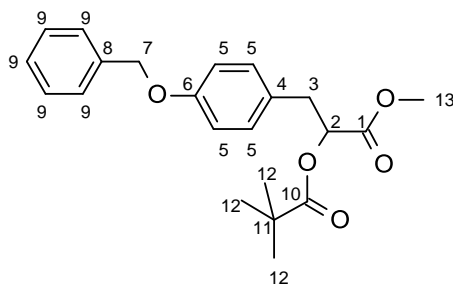
Edukt: Enolester **104i** (48 mg, 0.19 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 20:1) gereinigt. Ausbeute: 49% (31 mg, 0.09 mmol) eines weißen kristallinen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 1.20$  (s, 9H, 9-H), 3.09 (dd,  $J = 4.2, 9.0$  Hz, 1H, 3-H), 3.19 (dd,  $J = 4.2, 9.0$  Hz, 1H, 3-H), 3.74 (s, 3H, 10-H), 5.20 (dd,  $J = 4.2, 9.0$  Hz, 1H, 2-H), 7.12 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, 5-H), 7.44 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, 5-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 26.9$  (9-C), 36.7 (3-C), 38.7 (8-C), 52.3 (10-C), 72.2 (2-C), 121.0 (4-C), 129.2, 131.1, 131.5, 132.0, 132.6 (5-C), 135.0 (6-C), 169.9 (1-C), 177.6 (7-C) ppm. **HPLC-MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 343 (66)  $[M+H]^+$ , 360 (96)  $[M+NH_4]^+$ , 365 (100)  $[M+Na]^+$ . **HR-ESI-MS:**  $m/z = 365.0364$   $[M+Na]^+$ , berechnet für  $C_{15}H_{19}BrNaO_4^+$ : 365.0359. **R<sub>f</sub>-Wert:** 0.50 (CH:EE, 7:3). **IR** (KBr): 1751 (C=O), 1738 (C=O)  $cm^{-1}$ . **Schmelzpunkt:** 33-36 °C.

**(R/S)-3-(4-Benzoyloxyphenyl)-2-pivaloyloxypropansäuremethylester (123j, SEB-255)**

Edukt: Enolester **104j** (92 mg, 0.32 mmol). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (CH:EE, 40:1) gereinigt. Ausbeute: 19% (23 mg, 0.06 mmol) eines weißen Feststoffs.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.22 (s, 9H, 12-H), 3.08, 3.18 (2dd, J = 4.3, 8.8 Hz, 2H, 3-H), 3.75 (s, 3H, 13-H), 5.08 (s, 2H, 7-H), 5.18 (m, 1H, 2-H), 6.95 (d, J = 8.9 Hz, 2H, 5-H), 7.18 (d, J = 8.9 Hz, 2H, 5-H) 7.32-7.47 (m, 5H, 9-H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 26.9 (12-C), 36.5 (3-C), 38.5 (11-C), 52.1 (13-C), 69.9 (7-C), 72.7 (2-C), 114.7, 114.8, 114.9, 126.9, 127.4, 127.9, 128.1, 128.4, 128.5, 128.6, 129.2, 130.4, 131.8 (5-C, 9-C), 125.0 (4-C), 136.4 (8-C), 157.8 (6-C), 170.2 (1-C), 177.7 (10-C) ppm. **HPLC-MS (ESI)**: m/z (%) = 269 (100) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 371 (4) [M+H]<sup>+</sup>, 388 (43) [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 393 (6) [M+Na]<sup>+</sup>. **HR-ESI-MS**: m/z = 393.1670 [M+Na]<sup>+</sup>, berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 393.1672. **R<sub>f</sub>-Wert**: 0.43 (CH:EE, 8:2). **IR** (Film): 1754 (C=O), 1732 (C=O) cm<sup>-1</sup>.

## VII Literaturverzeichnis

1. <http://www.bmbf.de/de/15337.php>, 18.03.2012.
2. Förderkonzept Vernachlässigte und armutsassoziierte Krankheiten, BMBF, Bonn, Berlin **2011**.
3. [http://www.who.int/neglected\\_diseases/diseases/en](http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en), 18.03.2012.
4. P. Olliaro, J. Seiler, A. Kuesel, J. Horton, J.N. Clark, R. Don, J. Keiser, *PLoS Neglected Tropical Diseases* **2011**, 5, 1-8.
5. A. Harder, G. von Samson-Himmelstjerna, *Parasitol. Res.* **2002**, 88, 481-488.
6. T. Fürst, J. Keiser, J. Utzinger, *The Lancet Infectious Diseases* **2012**, 12, 210-221.
7. L. Holden-Dye, R.J. Walker, *Anthelmintic Drugs, Wormbook* **2007**, 1-13.
8. J. Scherkenbeck, P. Jeschke, A. Harder, *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, 2, 759-777.
9. K. Amliwala, K. Bull, J. Willson, A. Harder, L. Holden-Dye, R.J. Walker, *Drugs of the Future* **2004**, 29, 1015-1024.
10. J. Dönges, *Parasitologie: mit besonderer Berücksichtigung humanpathogener Formen*, 2. Auflage – Stuttgart; New York: Thieme **1988**, 2-10.
11. <http://home.datacomm.ch/kuengr/Wurmparasitosen/Wuermer.htm>, 15.04.2012.
12. J. Dönges, *Parasitologie: mit besonderer Berücksichtigung humanpathogener Formen*, 2. Auflage – Stuttgart; New York: Thieme **1988**, 146-316.
13. V. Storch, U. Welsch, *Systematische Zoologie*, 4. Auflage – Stuttgart; New York: Gustav Fischer Verlag **1991**, 127-139.
14. J. Pelikan, M. Tanner, N. Weiss, Schweiz. *Tropen- und Public Health-Inst. Universität Basel*, <http://www.infektionsbiologie.ch/parasitologie/seiten/modellparasiten/mp05ancy.html>, 15.04.2012.
15. W. Löschner, F. R. Ungemach, R. Kroker, *Pharmakotherapie bei Haus-und Nutztieren*: 5. Auflage – Berlin, Wien, Blackwell Verlag **2002**, 245-288.
16. J. Del Castillo, T. A. Morales, V. Sanchez, *Nature* **1963**, 200, 706-707.
17. B.R. Manger: *Anthelmintics*. In: *Veterinary Applied Pharmacology & Therapeutics*, Baillière Tindall, London (UK) **1991**, 513-54.
18. M.L. Aubry, *Br. J. Pharmacol.* **1970**, 38, 332-344.
19. R. J. Martin, *Br. J. Pharmacol.* **1982**, 77, 255-265.
20. S. Schürmann, *In-vitro-Aktivität der Cyclooctadepsipeptide Emodepsid und PF1022A im Vergleich zu Ivermectin und Levamisol bei gastrointestinalen Nematoden*, Dissertation TH Hannover **2007**, 28-43.
21. W. C. Campbell, M.H. Fisher, E. O. Stapley, G. Albers-Schönberg, T. A. Jacob, *Science* **1983**, 221, 823-828.
22. H. Tomoda, T. Doi, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 32-39.
24. R. Lemmens-Gruber, M. R. Kamyar, R. Dornetshuber, *Curr. Med. Chem.* **2009**, 16, 1122-1137.
24. Y.-Q. Cheng, *ChemBioChem* **2006**, 7, 471-477.
25. B. Saeger, *Der heptahelikale Transmembran-Rezeptor HC110-R aus dem parasitisch-en Nematoden Haemonchus contortus als Target für das Breitspektrum-Anthelminthikum PF1022A*, Dissertation H.- H. Universität Düsseldorf **2000**, 3-6.
26. S. Monma, T. Sunazuka, K. Nagai, T. Arai, K. Shiomi, R. Matsui, S. Omura, *Org. Lett.* **2006**, 8, 5601-5604.
27. Y. Xu, E. M. K. Wijeratne, P. Espinosa-Artiles, A. A. L. Gunatilaka, I. Molnár, *ChemBioChem* **2009**, 10, 345-354.
28. P. Jeschke, W. Etzel, A. Harder, M. Schindler, A. Göhrt, U. Pleiss, H. Kleinkauf, R. Zocher, G. Thielking, W. Gau, G. Bonse, *Cyclodepsipeptides: from natural product to anthelmintically active synthetic enniatins*. Diederichsen (Ed.) *New perspectives in bioorganic chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim **1999**, 207-214.
29. S. Lüttenberg, F. Sondermann, J. Scherkenbeck, *Tetrahedron* **2012**, 68, 2068-2073.
30. T. Sasaki, M. Takagi, T. Yaguchi, S. Miyadoh, T. Okada, M. Koyama, *J. Antibiotics* **1992**, 45, 692-697.
31. A. Harder, H.P. Schmitt-Wrede, J. Krucken, P. Marinovski, F. Wunderlich, J. Willson, K. Amliwala, L. Holden-Dye, R. Walker, *Int. J. Antimicrobial Agents* **2003**, 22, 318-331.
32. P. Jeschke, K. Iinuma, A. Harder, M. Schindler, T. Murakami, *Parasitol. Res.* **2005**, 97, 11-16.
33. M. Guest, K. Bull, R. J. Walker, K. Amliwala, V. O'Connor, A. Harder, L. Holden-Dye, N. A. Hopper, *Int. J. Parasitol.* **2007**, 37, 1577-1588.
34. A. Crisford, C. Murray, V. O'Connor, R. J. Edwards, N. Kruger, C. Welz, G. von Samson-Himmelstjerna, A. Harder, R. J. Walker, L. Holden-Dye, *Mol. Pharmacol.* **2011**, 79, 1031-1043.
35. G. Geßner, S. Meder, T. Rink, G. Boheim, A. Harder, P. Jeschke, J. Scherkenbeck, M. Londershausen, *Pestic Sci.* **1996**, 48, 399 – 407.



36. I. M. Andreev, G. G. Malenkov, A. M. Shkrob, M. M. Shemyakin, *Molekulyarnaya Biologiya* **1971**, 5, 614–623.
37. M. Ohyama, K. Jinuma, A. Isogai, A. Suzuki, *Biosci. Biotech. Biochem.* **1994**, 58, 1193–1194.
38. R. J. Martin, A. Harder, M. Londershausen, P. Jeschke, *Pestic Sci.* **1996**, 48, 343–349.
39. F. E. Dutton, S. J. Nelson, *J. Antibiot.* **1994**, 47, 1322–1327.
40. J. Baronsky, S. Bongaerts, M. Traeubel, H.-C. Weiss, N. Urbanetz, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2009**, 71, 88–99.
41. P. Lange, *Emodepsid – Bestimmung des Resorptionsortes und Formulierungskonzepte zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit*, Dissertation H.-H. Universität Düsseldorf **2011**, 1-2.
42. J. Kalbe, M. Traeubel, A. Harder, G. von Samson-Himmelstjerna, *Crystal modification of a cyclic depsipeptide having improved strength*, Patent WO2002/066048 **2002**.
43. A. Harder, L. Holden-Dye, R. Walker, F. Wunderlich, *Parasitol. Res.* **2005**, 97, 1-10.
44. J. Willson, K. Amliwala, A. Harder, L. Holden-Dye, R. J. Walker, *Parasitology* **2003**, 126, 79–86.
45. J. Willson, K. Amliwala, A. Davis, A. Cook, M. F. Cuttle, N. Kriek, N. A. Hopper, V. O'Connor, A. Harder, R.J. Walker, L. Holden-Dye, *Curr. Biol.* **2004**, 14, 1374-1379.
46. K. Amliwala, K. Bull, J. Willson, A. Harder, L. Holden-Dye, R. J. Walker, *Drugs of the future* **2004**, 29, 1015-1024.
47. M. Terada, *Jpn. J. Parasitol.* **1992**, 42, 199-210.
48. J. Grunemann, *Untersuchungen zur ruminalen Verweilzeit des antiparasitär wirksamen Depsipeptids Bay 44-4400*, Dissertation TH Hannover **2000**, 20.
49. W. Chen, M. Terada, J. T. Cheng, *Parasitol. Res.* **1996**, 82, 97–101.
50. S. Miltsch, *Überprüfung neuronaler Rezeptoren bei parasitischen Nematoden und Caenorhabditis elegans auf ihre Beteiligung an anthelminthischen Wirkmechanismen*, Dissertation FU Berlin **2011**, 158-162.
51. B. Saeger, H. P. Schmitt-Wrede, M. Dehnhardt, W. P. Bente, J. Krucken, A. Harder, G. von Samson-Himmelstjerna, H. Wiegand, F. Wunderlich, *Faseb. J.* **2001**, 15, 1332–1334.
52. K. Bull, A. Cook, N. A. Hopper, A. Harder, L. Holden-Dye, R. J. Walker, *Int. J. Parasitol.* **2006**, 37, 627-636.
53. L. Holden-Dye, V. O'Connor, N. A. Hopper, R. J. Walker, A. Harder, K. Bull, M. Guest, *Invert. Neurosci* **2007**, 7, 199-208.
54. Z. W. Wang, O. Saifee, M. L. Nonet, L. Salkoff, *Neuron* **2001**, 32, 867-881.
55. M. Carre-Pierrat, K. Grisoni, K. Gieseler, M. C. Mariol, E. Martin, M. Jospin, B. Allard, L. Segalat, *J. Mol. Biol.* **2006**, 358, 387-395.
56. S. Miltsch, *Überprüfung neuronaler Rezeptoren bei parasitischen Nematoden und Caenorhabditis elegans auf ihre Beteiligung an anthelminthischen Wirkmechanismen*, Dissertation FU Berlin **2011**, 41-42.
57. P. Meera, M. Wallner, M. Song, L. Toro, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, 94, 14066-14071.
58. P. Jeschke, A. Harder, W. Etzel, W. Gau, G. Thielking, G. Bonse, K. Inuma, *Pest Manag. Sci.* **2001**, 57, 1000-1006.
59. J. Scherkenbeck, A. Harder, A. Plant, H. Dyker, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1035-1040.
60. K. Inuma, Meiji Seika Kaisha, unveröffentlichte Ergebnisse.
61. M. Ohyama, Y. Okada, M. Takahashi, O. Sakanaka, M. Matsumoto, K. Atsumi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2011**, 75, 1354-1363.
62. O. Sakanaka, Y. Okada, M. Ohyama, M. Matsumoto, M. Takahashi, Y. Murai, K. Inuma, A. Harder, N. Mencke, *Novel cyclic depsipeptide PF1022 derivatives*, Patent WO97/11064, **1997**.
63. H. Dyker, J. Scherkenbeck, A. Harder, N. Mencke, G. von Samson-Himmelstjerna, *PCT Application* **1998**, 9 855 469.
64. P. A. Bartlett, K. L. Spear, N. E. Jacobsen, *Biochemistry* **1982**, 21, 1608-1611.
65. P. Jeschke, A. Harder, G. von Samson-Himmelstjerna, N. Mencke, G. Bonse, K. Inuma, O. Sakanaka, *PCT Application* **1998**, 9 843 965.
66. P. Jeschke, A. Harder, G. von Samson-Himmelstjerna, W. Etzel, W. Gau, G. Thielking, G. Bonse, *Pest Manag. Sci.* **2002**, 58, 1205-1215.
67. H. Dyker, J. Scherkenbeck, D. Gondol, A. Goehrt, A. Harder, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 3760-3766.
68. F. E. Dutton, B. H. Lee, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5313-5316.
69. J. Scherkenbeck, H. Dyker, D. Gondol, A. Harder, A. Plant, F. Reichel, *Pestic. Sci.* **1999**, 55, 457-461.
70. F. E. Dutton, B. H. Lee, S. S. Johnson, E. M. Coscarelli, P. H. Lee, *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 2057-2073.
71. Y. Kodama, Y. Takeuchi, A. Suzuki, *Sci. Reports of Meiji Seika Kaisha* **1992**, 31, 1-8.
72. M. Ohyama, *Sci. Report of Meiji Seika Kaisha* **2006**, 45, 8-34.
73. M. Kobayashi, T. Nanba, T. Toyama, A. Saito, *Annu. Rep. Sankyo Res. Lab.* **1994**, 46, 67-75.
74. J. Scherkenbeck, A. Plant, A. Harder, N. Mencke, *Tetrahedron* **1995**, 51, 8459-8470.

75. B. H. Lee, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 757-760.
76. B. H. Lee, F. E. Dutton, D. P. Thompson, E. M. Thomas, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 353-356.
77. W. Weckwerth, K. Miyamoto, K. Inuma, M. Krause, M. Glinski, T. Storm, G. Bonse, H. Kleinkauf, R. Zocher, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 17909-17915.
78. J. Müller, S. C. Feifel, T. Schmiederer, R. Zocher, R. D. Süßmuth, *ChemBioChem* **2009**, 10, 323-328.
79. A. Harder, G. von Samson-Himmelstjerna, *Parasitol. Res.* **2001**, 87, 924-928.
80. H. Kleinkauf, H. Von Dohren, *Acta Biochim. Pol.* **1997**, 44, 839-847.
81. M. Glinski, T. Hornbogen, R. Zocher, *Enzymatic synthesis of fungal N-Methylated cyclopeptides and depsipeptides. In: Enzyme Technologies for Pharmaceutical and Biotechnological Applications*, Ed.: H. Kirst et al., New York: Marcel Dekker Inc. **2001**, 471-497.
82. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2153.
83. O. Kuisle, E. Quiñoá, R. Riguera, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8063-8075.
84. W.F. DeGrado, E.T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 3258-3261.
85. J.-P. Blanchette, P. Ferland, N. Voyer, *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 4929-4933.
86. S. Jackson, W. DeGrado, A. Dwivedi, A. Parthasarathy, A. Higley, J. Krywko, A. Rockwell, J. Markwalder, G. Wells, R. Wexler, S. Mousa, R. Harlow, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3220-3230.
87. M. Xu, N. Nishino, H. Mihara, T. Fujimoto, N. Izumiya, *Chem. Lett.* **1992**, 191-192.
88. R.A. Smith, M.A. Bobko, W. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 2369-2374.
89. T. Suguro, M. Yanai, *J. Antibiot.* **1999**, 52, 835-838.
90. B. F. Gisin, R. B. Merrifield, D. C. Tosteson, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 2691-2695.
91. M. Teixidó, F. Albericio, E. Giralt, *J. Peptide Res.* **2005**, 65, 153-166.
92. A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6557-6602.
93. S.-Y. Han, Y. A. Kim, *Tetrahedron* **2004**, 60, 2447-2467.
94. B. Thern, J. Rudolph, G. Jung, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 5013-5016.
95. J. Tulla-Puche, E. Marcucci, E. Prats-Alfonso, N. Bayó-Puxan, F. Albericio, *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 834-839.
96. B. Thern, J. Rudolph, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2307-2309.
97. K. G. Jastrzabek, R. Subiros-Funosas, F. Albericio, B. Kolesinska, Z. J. Kaminski, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 4506-4513.
98. R. Wischnat, J. Rudolph, R. Hanke, R. Kaese, A. May, H. Theis, U. Zuther, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4393-4394.
99. F. Albericio, K. Burger, J. Ruíz-Rodríguez, J. Spengler, *Org. Lett.* **2005**, 7, 597-600.
100. F. Albericio, K. Burger, T. Cupido, J. Ruiz, J. Spengler, *Arkivoc*, **2005**, 191-199.
101. M. Miyashita, T. Nakamori, M. Akamatsu, T. Murai, H. Miyagawa, T. Ueno, *Pept. Chem.* **1996**, 34, 137-140.
102. J. Spengler, B. Koksich, F. Albericio, *Pept. Sci.* **2007**, 88, 823-828.
103. S. Deechongkit, P. E. Dawson, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 16762-16771.
104. N. Nidhino, M. Xu, H. Mihara, T. Fujimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 991-994.
105. P. M. Fischer, *J. Peptide Sci.* **2003**, 9, 9-35.
106. J. S. Davies, J. Howe, J. Jayatilake, T. Riley, *Lett. Pept. Sci.* **1997**, 441-445.
107. O. Kuisle, E. Quiñoá, R. Riguera, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 1203-1206.
108. M. Breuning, T. Häuser, E.-M. Tanzer, *Org. Lett.* **2009**, 11, 4032-4035.
109. D. Bernier, R. Brückner, *Synthesis* **2007**, 15, 2249-2272.
110. T. Sakamoto, Y. Kondo, Y. Kashiwagi, H. Yamanaka, *Heterocycles* **1988**, 27, 257-260.
111. S. Cacchi, P. G. Ciattini, E. Morera, G. Ortar, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3039-3042.
112. Z. M. Wang, H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 5104-5105.
113. M. Nakajima, K. Tomioka, K. Koga, *Tetrahedron* **1993**, 49, 10807-10816.
114. D. Acetti, E. Brenna, C. Fuganti, *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, 18, 488-492.
115. D. S. Gardner, J. B. Santella, A. J. Tebben, D. G. Batt, S. S. Ko, S. C. Traeger, P. K. Welch, E. A. Wadman, P. Davies, P. H. Carter, J. V. Duncia, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 586-595.
116. U. Schmidt, J. Langner, B. Kirschbaum, C. Braun, *Synthesis* **1994**, 1138-1140.
117. H. Sakamoto, Y. Kondo, H. Yamanaka, *Heterocycles* **1988**, 27, 257-260.
118. M. J. Burk, C. S. Kalberg, A. Pizzano, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4345-4353.
119. P. Busca, F. Paradisi, E. Moynihan, A. R. Maguire, P. C. Engel, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 2684-2691.
120. L. Horner, E. O. Renth, *Liebigs Ann. Chem.* **1967**, 703, 37-43.
121. G. Billek, *Organic Syntheses, Coll.* **1963**, 43, 49.
122. N. Valls, M. Lopez-Canet, M. Vallribera, J. Bonjoch, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 3446-3460.
123. J. Tao, K. McGee, *Org. Proc. Res. Dev.* **2002**, 6, 520-524.

124. J. Tao, K. McGee, *Asymmetric Catalysis on Industrial Scale*; Ed.: H. U. Blaser, E. Schmidt, 1. Auflage – Weinheim: Wiley-VCH **2004**, 323-334.
125. M. Beller, C. Döbler, G. Mehlretter, *Verfahren zur asymmetrischen Dihydroxylierung von Olefinen mittels Osmium-Katalysatoren*, Patent DE19920039A1, **2000**.
126. S. Zhang, T. Govender, T. Norström, P. I. Arvidsson, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6918-6920.
127. M. P. J. Donners, M. C. Hersmis, J. P. A. Custers, J. Meuldijk, J. A. J. M. Vekemans, L. A. Hulshof, *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 606-610.
128. Y. Xu, X. Duan, M. Li, M. Jiang, G. Zhao, Y. Meng, L. Chen, *Molecules* **2005**, *10*, 259-264.
129. A. Zubia, L. Mendoza, S. Vivanco, E. Aldaba, T. Carrascal, B. Lecea, A. Arrieta, T. Zimmerman, F. Vidal-Vanaclocha, F. P. Cossío, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2903-2907.
130. H. O. Kim, R. K. Olsen, O. S. Choi, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4531-4536.
131. J. von der Heyden, Durchführung der praktischen Laborarbeiten, **2009**.
132. T. D. Ta, Durchführung der praktischen Laborarbeiten, **2011**.
133. T. Doi, Y. Hoshina, H. Mogi, Y. Yamada, T. Takahashi, *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 571-582.
134. K. Nakamura, S. Kondo, Y. Kawai, A. Ohno, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 2738-2743.
135. M. Kayser, M. Mihovilovic, J. Kearns, A. Feicht, J. Steward, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6603-6608.
136. X. Han, X.-J. Jiang, R. L. Civiello, A. P. Degnan, P. V. Chaturvedula, J. E. Macor, G. M. Dubowchik, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3993-3996.
137. E. J. Corey, R. K. Bakshi, S. Shibata, C.-P. Chen, V. K. Singh, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7925-7926.
138. H. C. Brown, J. Chandrasekharan, P. V. Ramachandran, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1539-1546.
139. Z. Wang, B. La, J. Fortunak, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5501-5504.
140. L. Pretlow, R. Williams, M. Elliot, *Chirality* **2003**, *15*, 674-679.
141. C. Neuberg, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1949**, *4*, 75-117.
142. R. Csuk, B. I. Glanzer, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 49-97.
143. S. Servi, *Synthesis* **1990**, 1-25.
144. X. Han, R. L. Civiello, H. Fang, D. Wu, Q. Gao, P. V. Chaturvedula, J. E. Macor, G. M. Dubowchik, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8502-8510.
145. M. J. Burk, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 363-372.
146. M. J. Burk, J. E. Feaster, W. A. Nugent, R. L. Harlow, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10125-10138.
147. S. K. Armstrong, J. M. Brown, M. J. Burk, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 879-882.
148. M. J. Burk, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8518-8519.
149. B. D. Vineyard, W. S. Knowles, M. J. Sabacky, G. L. Bachman, D. J. Weinkauff, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5946-5952.
150. A. Miyashita, A. Yasuda, H. Takaya, K. Toriumi, T. Ito, T. Souchi, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7932-7934.
151. B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 522-524.
152. D. Bernier, F. Moser, R. Brückner, *Synthesis* **2007**, *15*, 2240-2248.
153. O. J.-C. Nicaise, D. M. Mans, A. D. Morrow, E. Villa Hefti, E. M. Palkovacs, R. K. Singh, M. A. Zukowska, M. D. Morin, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 6433-6443.
154. W. S. Knowles, M. J. Sabacky, *Chem. Commun.* **1968**, 1445-1446.
155. L. Horner, H. Siegel, H. Bütthe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1968**, *7*, 942.
156. A. Miyashita, A. Yasuda, H. Takaya, K. Toriumi, T. Ito, T. Souchi, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7932-7934.
157. T. Ikariya, Y. Ishii, H. Kawano, T. Arai, M. Saburi, S. Yoshikawa, S. Akutagawa, *Chem. Commun.* **1995**, 922-924.
158. R. Noyori, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008-2022.
159. X. Zhang, K. Huang, G. Hou, B. Cao, X. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6421-6424.
160. B. Zupančič, B. Mohar, M. Stephan, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1296-1299.
161. P. C. L'Argentiere, N. S. Figoli, *J. Chem. Technol. Biotech.* **1990**, *48*, 361-368.
162. F. E. Massoth, J. Miciukiewicz, *J. Catal.* **1986**, *101*, 505-514.
163. S. W. Cowley, F. E. Massoth, *J. Catal.* **1978**, *51*, 291-292.
164. H. Sajiki, K. Hirota, *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 320-324.
165. B. P. Czech, R. A. Bartsch, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 4076-4078.
166. A. S. C. Chan, J. J. Pluth, J. Halpern, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5952-5954.
167. J. Halpern, *Precious Met.* **1995**, *19*, 411-421.
168. J. M. Brown, P. A. Chaloner, *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 1877-1880.
169. J. M. Brown, P. J. Guiry, A. Wienand, *Principle of Molecular Recognition*; Ed.: A. D. Buckingham, A. C. Legon, S. M. Roberts, Glasgow: Blackie **1993**, 79-107.

170. M. Kitamura, M. Tsukamoto, Y. Bessho, M. Yoshimura, U. Kobs, M. Widhalm, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6649-6667.
171. J. Bakos, R. Karaivanov, M. Laghmari, D. Sinou, *Organometallics* **1994**, *13*, 2951-2956.
172. C. R. Landis, P. Hilfenhaus, S. Feldgus, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8741-8754.
173. U. Kragl, A. Gödde, C. Wandrey, W. Kinzy, J. J. Cappon, J. Lugtenburg, *Tetrahedron Asym.* **1993**, *4*, 1193-1202.
174. U. Kragl, W. Kruse, W. Hummel, C. Wandrey, *Biotechnol. Bioeng.* **1996**, *52*, 309-319.
175. J. Wöltinger, A. S. Bommarius, K. Drauz, C. Wandrey, *Org. Proc. Res. Dev.* **2001**, *5*, 241-248.
176. E. Schmidt, O. Ghisalba, D. Gyax, G. Sedelmeier, *J. Biotechnol.* **1992**, *24*, 315-327.
177. T. Shinoda, K. Arai, M. Shigematsu-Iida, Y. Ishikura, S. Tanaka, T. Yamada, M. S. Kimber, E. F. Pai, S. Fushinobu, H. Taguchi, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 17068-17075.
178. H. K. Chenault, G. M. Whitesides, *Appl. Biochem. Biotech.* **1987**, *14*, 147-197.
179. M.-J. Kim, J. Y. Kim, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 326-327.
180. A. Sutherland, C. L. Willis, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7764-7769.
181. E. S. Simon, R. Plante, G. M. Whitesides, *Appl. Biochem. Biotech.* **1989**, *22*, 169-179.
182. M.-J. Kim, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2959-2964.
183. Millipore Corporation, DATA SHEET, Series 8000 Stirred Cells and Ultrafiltration Membranes.
184. G. Wu, J. Liu, L. Bi, M. Zhao, C. Wang, M. Baudy-Floc'h, J. Ju, S. Peng, *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 5510-5528.
185. B. Baskar, N. G. Pandian, K. Priya, A. Chadha, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 12296-12306.
186. Für die Verwendung in der Festphasensynthese wurden von der Bayer AG, von Verbindung **77a**, Mengen im Multigramm-Maßstab zur Verfügung gestellt.
187. M. Prashad, D. Har, B. Hu, H. Y. Kim, O. Repic, T. J. Blacklock, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 125-128.
188. T. Grab, S. Bräse, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1765-1768.
189. W. M. Pearlman, *Tetrahedron Lett.* **1967**, *17*, 1663-1664.
190. J. Scherkenbeck, S. Lüttenberg, M. Ludwig, K. Brücher, A. Kotthaus, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 1546-1553.
191. M. Ludwig, Durchführung der experimentellen Arbeiten der Boc-geschützten Didepsipeptide sowie der 4x2-Synthese am Kaiser Oxim, **2008**.
192. B. Gisin, *Anal. Chim. Acta* **1972**, *58*, 248-249.
193. J.E. Van Eyk, R.S. Hodges, *J. Biol. Chem.* **1988**, *4*, 1726-1732.
194. J.M. Belitsky, D.H. Nguyen, N.R. Wurtz, P.B. Dervan, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2767-2774.
195. G.M. Moraes, M.P. Bemquerer, M.T.M. Miranda, *J. Peptide. Res.* **2000**, *55*, 279-288.
196. A. Pichette, N. Voyer, R. Larouche, J.-C. Meillon, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1279-1282.
197. L. A. Carpino, A. El-Faham, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6813-6830.
198. A. Kotthaus, *Forschungsbericht*, Universität Wuppertal, **2006**.
199. R. T. Pon, S. Yu, Y. S. Sanghvi, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 1051-1057.
200. A. Ingram, R. J. Stokes, J. Redden, K. Gibson, B. Moore, K. Faulds, D. Graham, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 8578-8583.
201. M. Winter, R. Warrass, *Combinatorial Chemistry*; Ed.: H. Fenniri; Oxford University: Oxford **2000**, 117-138.
202. I. Coin, *J. Pept. Sci.* **2010**, *16*, 223-230.
203. L. A. Carpino, M. Philbin, M. Ismail, G. A. Truran, E. M. E. Mansour, S. Iguchi, D. Ionescu, A. El-Faham, R. Warrass, M. S. Weiss, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9915-9916.
204. L. A. Carpino, M. Ismail, G. A. Truran, E. M. E. Mansour, S. Iguchi, D. Ionescu, A. El-Faham, C. Riemer, R. Warrass, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4324-4338.
205. U. D. Lengweiler, M. G. Fritz, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta.* **1996**, *79*, 670-701.
206. Referenzsubstanz des fermentativ gewonnenen PF1022A, sowie biologische Ergebnisse wurden von der Bayer Animal Health GmbH zur Verfügung gestellt.
207. Bayer Animal Health GmbH, *Neue 24-gliedrige Cyclooctadepsipeptide aus Pilzstämmen und deren Verwendung als Anthelminthika bzw. Endoparasitizide*, Patent EP09178799, **2011**.
208. J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2437.
209. P. Li, J.-C. Xu, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8119-8131.
210. A. Patgiri, M. R. Witten, P. S. Arora, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1773-1776.
211. J. Rudolph, G. Jung, B. Thern, Patent WO 02/076927 A2, **2002**.
212. M. Giraud, F. Cavalier, J. Martinez, *J. Pept. Sci.* **1999**, *5*, 457-461.
213. W. F. DeGrado, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1295-1300.
214. F. Sondermann, Durchführung der praktischen Laborarbeiten, **2009**.

215. G. von Samson-Himmelstjerna, A. Harder, T. Schmieder, J. Kalbe, N. Mencke, *Parasitol. Res.* **2000**, 86, 194-199.
216. F. A. L. Anet, A. J. R. Bourn, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 5250-5251.
217. D. Neuhaus, M. Williamson, *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*, New York: Wiley-VCH **2000**, 258 ff.
218. H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 4. Auflage, Weinheim: Wiley-VCH **2006**, 303-309.
219. N. Yamagiwa, J. Tian, J. Matsunaga, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 3413-3422.
220. A. Bodlenner, S. Glueck, B. M. Nestl, C. C. Gruber, N. Baudendistel, B. Hauer, W. Kroutil, K. Faber, *Tetrahedron* **2009**, 65, 7752-7755.
221. E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, 34, 595-598.
222. Y. Xu, L. Chen, X. Duan, Y. Meng, L. Jiang, M. Li, G. Zhao, Y. Li, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 4377-4379.