

# Synthese von Lactonen, Dioxinen und Nitrilen unter Verwendung von Bio- und Chemokatalysatoren

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.

vorgelegt der Fakultät für Chemie  
der Universität Bielefeld

von

Philipp Rommelmann, M. Sc.

aus Herford

Bielefeld, August 2018



Erstgutachter: Prof. Dr. Harald Gröger  
Zweitgutachter: Prof. Dr. Norbert Sewald

Die vorliegende Arbeit wurde am Lehrstuhl für Organische Chemie I der Universität Bielefeld unter der Leitung von Prof. Dr. Harald Gröger in der Zeit von September 2014 bis August 2018 angefertigt.

Es wurden keine anderen als die in der Arbeit angegebenen Hilfsmittel verwendet.

Die Dissertation wurde selbstständig verfasst und hat in der gegenwärtigen oder einer anderen Fassung noch nicht einer anderen Fakultät oder Hochschule vorgelegen.

Die Dissertation wurde von der Fakultät für Chemie der Universität Bielefeld genehmigt.

Philipp Rommelmann, Synthese von Lactonen, Dioxinen und Nitrilen unter Verwendung von Bio- und Chemokatalysatoren, © August 2018



Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht oder wurden zur Veröffentlichung eingereicht.

#### Publikationen:

S. Wedde, P. Rommelmann, C. Scherkus, S. Schmidt, U. T. Bornscheuer, A. Liese, H. Gröger, An alternative approach towards poly- $\epsilon$ -caprolactone through a chemoenzymatic synthesis: combined hydrogenation, bio-oxidations and polymerization without the isolation of intermediates, *Green Chemistry* **2017**, *19*, 1286-1290.

T. Betke, P. Rommelmann, K. Oike, Y. Asano, H. Gröger, Cyanide-Free and Broadly Applicable Enantioselective Synthetic Platform for Chiral Nitriles through a Biocatalytic Approach, *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 12533-12538; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12361-12366.

P. Rommelmann, T. Betke, H. Gröger, Synthesis of Enantiomerically Pure N-Acyl Amino Nitriles via Catalytic Dehydration of Oximes and Application in a de Novo Synthesis of Vildagliptin, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 1521-1527.

T. Betke, J. Higuchi, P. Rommelmann, K. Oike, T. Nomura, Y. Kato, Y. Asano, H. Gröger, Biocatalytic Synthesis of Nitriles through Dehydration of Aldoximes: The Substrate Scope of Aldoxime Dehydratases, *ChemBioChem* **2018**, *19*, 768-779.

P. Rommelmann, W. Greschner, S. Ihrig, B. Neumann, H.-G. Stammler, H. Gröger, D. Kuck, Combining Stereoselective Enzyme Catalysis with Chirality-Assisted Synthesis in Tribenzotriquinacene Chemistry, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 3891-3899.

P. Rommelmann, B. Nachtigall, T. Guntelmann, H. Gröger, D. Kuck, Stereoselective synthesis of enantiomerically pure bowl-shaped hydroxytribenzotriquinacenes, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 5635-5642.

#### Patent:

H. Gröger, T. Betke, P. Rommelmann, Verfahren zur Herstellung chiraler Aminonitrile, DE-Patentanmeldung: DE102016116130, **2018**.

Posterpräsentationen:

P. Rommelmann, T. Betke, K. Oike, Y. Asano, H. Gröger, Cyanide-free, enantioselective nitrile synthesis with aldoxime dehydratases – Synthetic potential of an unusual enzyme class, Jahrestagung Nachhaltige Chemie, Karlsruhe, **2016**.

Auszeichnung des Posters mit dem Poster-Award.

T. Betke, P. Rommelmann, K. Oike, Y. Asano, H. Gröger, Cyanide-free, enantioselective nitrile synthesis with aldoxime dehydratases – Synthetic potential of an unusual enzyme class, 5. Sitzung des wissenschaftlichen Beirats des CeBiTec, Bielefeld, **2016**.

S. Wedde, P. Rommelmann, C. Scherkus, S. Schmidt, U. T. Bornscheuer, A. Liese, H. Gröger, Towards Production of the Petrochemical Poly-ε-Caprolactone from Biorenewables: Combined Hydrogenation, Bio-Oxidations and Polymerization without Isolation of Intermediates, 5. Sitzung des wissenschaftlichen Beirats des CeBiTec, Bielefeld, **2016**.

## Danksagung

Mein großer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Harald Gröger, der es mir ermöglichte, in das spannende und äußerst vielseitige Themengebiet der Biokatalyse einzutauchen und eine für mich anfangs ganz neue Welt zu erblicken, ohne der klassischen Organischen Chemie den Rücken zukehren zu müssen. Diese Verzahnung führte zu unterschiedlichen Aufgabenstellungen, die ich im Rahmen dieser Arbeit mit viel Freude bearbeiten durfte. Herzlichen Dank für die hervorragende Betreuung und für die vielen hilfreichen Diskussionen zu den einzelnen Themengebieten.

Herrn Prof. Dr. Norbert Sewald möchte ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens danken.

Weiterhin bedanke ich mich herzlich bei Prof. Dr. Dietmar Kuck, durch den ich im Rahmen eines Kooperationsprojekts mein Interesse für „ungewöhnliche Molekülgerüste“ ausleben konnte. Vielen Dank für die fruchtbaren und interessanten Diskussionen rund um das TBTQ-Thema.

Ebenso gebührt Prof. Dr. Yasuhisa Asano mein Dank für den regen Austausch auf dem Gebiet der enzymatischen Nitrilsynthese im Rahmen des Deutsch-Japanischen Kooperationsprojekts der Aldoximdehydratasen.

Ich danke Peter Mester, Gerd Lipinski, Dr. Jens Sproß, Heinz-Werner Patruck und Sandra Heitkamp für die Durchführung unzähliger analytischer Messungen, ohne die eine organisch-chemische Forschung nicht möglich wäre. Vielen Dank für eure Geduld und eure akkurate Arbeitsweise. Für die Aufnahme der Röntgenkristallstruktur sowie für deren Berechnung möchte ich mich bei Beate Neumann und Dr. Hans-Georg Stammler bedanken. Dem Team vom Chemikalienlager um Heike Kosellek danke ich für die zuverlässige Belieferung der benötigten Labormaterialien.

Bei dieser Arbeit haben mich Jasmin Busch, Laura Bernhard, Katharina Wels, Katharina Tölke, Beate Nachtigall und Tim Guntelmann im Rahmen einer Bachelorarbeit sowie Daniel Kreßmann, Steffen Dachwitz und Alessa Hinzmann im Rahmen eines Forschungspraktikums unterstützt. Sie haben durch ihre Forschung zu meinen drei Teilprojekten dieser Arbeit gute Ergebnisse beigetragen. Vielen Dank euch allen!

Nicht weniger wertvoll war die Laborarbeit der Auszubildenden Inga Wißbrock und Annamaria Latus, die mich mit der Durchführung vieler Synthesen tatkräftig unterstützt haben. Auch euch beiden möchte ich herzlich danken.

Was wäre die Organische Chemie I ohne ihre Festangestellten? Angelika Bendick hat uns den Komfort zurückgebracht und sich rührselig um alle außerlaboratorischen Belange gekümmert, nachdem Arja Gaestel in ihren verdienten Ruhestand gegangen ist. Thomas Geisler und Anika Hegemann dürfen ebenfalls nicht fehlen, sorgen sie doch aufmerksam dafür, dass der Laboralltag für alle einen geregelten Gang geht. Ihr seid die Säulen, die den F3-200er-Flur tragen. Dr. Anke Hummel und ihre derzeitige Vertretung, Melissa Kracht, haben sich mit den einen oder anderen administrativen Dingen geplagt, was mir den Rücken für eine reibungslose Laborarbeit freigehalten hat. Euch gilt ebenfalls mein großer Dank.

Während meiner Zeit in der OCI habe ich so viele kurz- und längerfristige Mitarbeiter gehabt, dass ich befürchte jemanden zu vergessen, in der Versuchung, sie alle namentlich zu erwähnen. Damit sich dennoch alle angesprochen fühlen können, zähle ich daher bedarfs halber ein paar Gruppen auf: die ehemaligen Doktorand(inn)en der OCI inkl. der Mattay-Mitglieder, die zu Beginn meiner Promotion dabei waren; die Mitarbeiter der Hummel-Subgroup; alle Bachelorand(inn)en, Forschungspraktikant(inn)en, Masterand(inn)en und (internationalen) Gäste. Vielen Dank, es war eine schöne Zeit mit euch.

Nun sei aber noch so viel Zeit, meinen direkten Arbeitskolleg(inn)en namentlich zu danken. Ihnen möchte ich meinen besonders tiefen Dank aussprechen, denn durch sie ist der Arbeitsalltag nicht nur zu einem Abenteuer mit viel Spaß und Abwechslung geworden. Vielmehr konnte ich bei ihnen stets auf hilfreiche Unterstützung im Laboralltag und auf einen fachlichen Austausch bauen. Dies sind die Personen, die meinen herzlichen Dank verdienen: Dr. Daniel Bakonyi, Tobias Betke, Ji Eun Choi, Franziska Kühn, Jana Löwe, Keiko Oike, Matthias Pieper, Carmen Plass, Florian Uthoff, Severin Wedde und Nadine Zumbrägel. Auch die „ältere“ und „jüngere“ Generation möchte ich an dieser Stelle dankend erwähnen: Niklas Adebar, Ramona Bringmann, Jasmin Busch, Wilko Greschner, Alessa Hinzmann, Jannis Nonnhoff, Lukas Schober, Michael Stricker und Hilmi Yavuzer. Ihr alle seid nicht nur gute Wissenschaftler, sondern auch tolle Persönlichkeiten. Ich werde euch nie vergessen!

Dem bedingungslosen Zuspruch meiner Familie und ihrer uneingeschränkten, aufbauenden Unterstützung habe ich es zu verdanken, dass ich es bis hier hin geschafft habe. Daher möchte ich mich stellvertretend für die ganze Familie ganz besonders bei meinen Eltern, Michael und Birgit, sowie bei Sven bedanken. Es ist schön, dass es euch gibt!





# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2	$\epsilon$ -Caprolactonsynthese ausgehend von Phenol durch Kombination von Chemo- und Biokatalyse.....	3
2.1	Einleitung und wissenschaftlicher Standpunkt .....	3
2.1.1	Der Wandel der Kunststoffressourcen.....	3
2.1.2	Die Vielfaltigkeit nachhaltiger Polymere.....	9
2.1.3	Poly- $\epsilon$ -Caprolacton – ein zukunftsweisender Kunststoff.....	15
2.2	Motivation und Zielsetzung.....	21
2.3	Ergebnisse und Diskussion .....	23
2.3.1	Hydrierung von Phenol.....	23
2.3.2	Kombination der Phenol-Hydrierung mit der Doppeloxydationskaskade .....	36
2.4	Ausblick.....	41
3	Chiralitätsunterstützter Aufbau von Dioxin-verknüpften TBTQ-Einheiten .....	43
3.1	Einleitung und wissenschaftlicher Standpunkt .....	43
3.1.1	Geometrische Molekülgerüste .....	43
3.1.2	Molekülgerüste mit TBTQ-Struktureinheiten.....	46
3.2	Motivation und Zielsetzung.....	53
3.3	Ergebnisse und Diskussion .....	57
3.3.1	Darstellung einer bis-TBTQ-Würfelkante mit racemischen Vorstufen.....	57
3.3.2	Darstellung einer bis-TBTQ-Würfelkante mit enantiomerenreinen Vorstufen .....	64
3.3.3	Entwicklung einer verkürzten Syntheseroute zur Darstellung einer bis-TBTQ-Würfelkante.....	73
3.4	Ausblick.....	92
4	Cyanid-freie Synthese chiraler Nitrile.....	93
4.1	Einleitung und wissenschaftlicher Standpunkt .....	93
4.1.1	Geschichte der Cyanid-freien Nitrilsynthese.....	93
4.1.2	Entwicklung der Nitrilsynthese ausgehend von Aldoximen.....	97
4.1.3	Enzymatischer Zugang zur Cyanid-freien Nitrilsynthese.....	100
4.1.4	Enantiomerenreine Gliptin-Wirkstoffe mit Nitrilfunktionalität .....	104
4.2	Motivation und Zielsetzung.....	106
4.3	Ergebnisse und Diskussion .....	108
4.3.1	Untersuchung neuer Substrate für die enzymatische Nitrilsynthese mit Oxds .....	108
4.3.2	Vildagliptin - eine alternative Syntheseroute .....	136
4.4	Ausblick.....	158
5	Zusammenfassung .....	160
6	Abstract.....	165
7	Experimenteller Teil .....	170
7.1	Allgemeines.....	170
7.1.1	Chemikalien .....	170
7.1.2	Geräte .....	170
7.1.3	Durchführung der Experimente.....	172
7.2	Hydrierung von Phenol .....	173
7.2.1	Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) zu Cyclohexanol ( <b>38</b> ) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav. 173	173

7.2.2	Lösungsmittelfreie Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) zu Cyclohexanol ( <b>38</b> ) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav .....	175
7.2.3	Synthese einer Suspension von Rh-Nanopartikeln in Wasser .....	176
7.2.4	Synthese von Rh-SBA-15 .....	176
7.2.5	Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) zu Cyclohexanol ( <b>38</b> ) mit Rh-SBA-15 im Stahlautoklav .....	176
7.2.6	Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) zu Cyclohexanol ( <b>38</b> ) mit Rh-SBA-15 im Schlenkkolben ....	177
7.2.7	Aktivitätsassay für die <i>L</i> -ADH .....	178
7.2.8	Aktivitätsassay für die <i>A</i> <sub>c</sub> - und <i>A</i> <sub>s</sub> -BVMO .....	179
7.2.9	Reaktionskaskade von Phenol ( <b>40</b> ) zu ε-Caprolacton ( <b>34</b> ) (Hydrierung im Stahlreaktor) .	179
7.2.10	Reaktionskaskade von Phenol ( <b>40</b> ) zu ε-Caprolacton ( <b>34</b> ) (Hydrierung im Schlenkkolben) .....	181
7.3	Synthese eines konkav-konkav-geformten Dioxins .....	182
7.3.1	<i>Rieche</i> -Formylierung von 4b <sup>1</sup> -Methyltribenzotriquinacen ( <b>71</b> ) zu <i>rac</i> -2-Formyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>85</b> ) .....	182
7.3.2	Allgemeine Arbeitsvorschrift 1 (AAV 1): <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von 2-Formyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <b>85</b> ) zu 4b <sup>1</sup> -Methyltribenzotriquinacen-2-formiat ( <b>88</b> ) .....	183
7.3.3	<i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von <i>rac</i> -2-Formyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>85</b> ) zu <i>rac</i> -4b <sup>1</sup> -Methyltribenzotriquinacen-2-formiat ( <i>rac</i> - <b>88</b> ) .....	184
7.3.4	<i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von <i>rac</i> -2-Formyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>85</b> ) und Verseifung des Intermediates zu <i>rac</i> -2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>89</b> ) .	185
7.3.5	Allgemeine Arbeitsvorschrift 2 (AAV 2): Aromatische Iodierung von 2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <b>89</b> ) zu 2-Hydroxy-3-iod-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <b>90</b> ) .....	186
7.3.6	Aromatische Iodierung von <i>rac</i> -2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>89</b> ) zu <i>rac</i> -2-Hydroxy-3-iod-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>90</b> ) .....	186
7.3.7	Allgemeine Arbeitsvorschrift 3 (AAV 3): <i>Ullmann</i> -Kupplung von 2-Hydroxy-3-iod-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <b>90</b> ) zu bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-Tribenzotriquinacen <b>82</b> .....	187
7.3.8	<i>Ullmann</i> -Kupplung von <i>rac</i> -2-Hydroxy-3-iod-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>90</b> ) zu <i>anti</i> - und <i>syn</i> -bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-Tribenzotriquinacen <i>anti</i> - <b>82</b> und <i>syn</i> - <b>82</b> .....	187
7.3.9	Verseifung von ( <i>P</i> )-2-Acetoxy-methyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>87</b> ) zu ( <i>P</i> )-2-Hydroxymethyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>86</b> ) .....	188
7.3.10	<i>Swern</i> -Oxidation von ( <i>P</i> )-2-Hydroxymethyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>86</b> ) zu ( <i>P</i> )-2-Formyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>85</b> ) .....	189
7.3.11	<i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von ( <i>P</i> )-2-Formyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>85</b> ) und Verseifung des Intermediates zu ( <i>P</i> )-2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>89</b> )	190
7.3.12	Aromatische Iodierung von ( <i>P</i> )-2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>89</b> ) zu ( <i>M</i> )-2-Hydroxy-3-iod-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>M</i> )- <b>90</b> ) .....	191
7.3.13	<i>Ullmann</i> -Kupplung von ( <i>M</i> )-2-Hydroxy-3-iod-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>M</i> )- <b>90</b> ) zu <i>syn</i> -bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-Tribenzotriquinacen <i>syn</i> - <b>82</b> .....	192
7.3.14	Röntgenstrukturanalyse von <i>syn</i> -bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-TBTQ <i>syn</i> - <b>82</b> .....	193
7.3.15	Acetylierung von 4b <sup>1</sup> -Methyltribenzotriquinacen ( <b>71</b> ) zu <i>rac</i> -2-Acetyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>92</b> ) .....	194
7.3.16	Screening zur Optimierung der <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation mit unterschiedlichen katalytischen Zusätzen .....	195
7.3.17	<i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von <i>rac</i> -2-Acetyl-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>92</b> ) zu <i>rac</i> -2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>91</b> ) .....	196

7.3.18	Claisen-Kondensation von Dimethylphthalat ( <b>94</b> ) und Pentan-3-on zu 2-Methylindan-1,3-dion ( <b>95</b> ).....	197
7.3.19	Kondensation von 2-Methylindan-1,3-dion ( <b>95</b> ) mit (4-Methoxyphenyl)(phenyl)-methanol ( <b>96</b> ) zu 2-((4-Methoxyphenyl)(phenyl)methyl)-2-methylindan-1,3-dion ( <b>97</b> ) ....	198
7.3.20	Reduktion von 2-((4-Methoxyphenyl)(phenyl)methyl)-2-methylindan-1,3-dion ( <b>97</b> ) zu 2-((4-Methoxyphenyl)(phenyl)methyl)-2-methylindan-1,3-diol ( <i>all-cis</i> - und <i>cis-trans</i> - <b>98</b> ) ....	199
7.3.21	Cyclodehydratisierung von 2-((4-Methoxyphenyl)(phenyl)-methyl)-2-methylindan-1,3-diol ( <i>all-cis</i> - und <i>cis-trans</i> - <b>98</b> ) zu <i>rac</i> -2-Methoxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>93</b> ).....	201
7.3.22	Entschützung von <i>rac</i> -2-Methoxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>93</b> ) zu <i>rac</i> -2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>89</b> ) mit BBr <sub>3</sub> .....	202
7.3.23	Entschützung von <i>rac</i> -2-Methoxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>93</b> ) zu <i>rac</i> -2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>89</b> ) mit HBr.....	203
7.3.24	Allgemeine Arbeitsvorschrift 4 (AAV 4): Acetylierung von 2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <b>89</b> ) zu 2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <b>91</b> ).....	204
7.3.25	Acetylierung von <i>rac</i> -2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>89</b> ) zu <i>rac</i> -2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>91</b> ).....	204
7.3.26	Enzymscreening für die Esterverseifung von <i>rac</i> -2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>91</b> ) zu 2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <b>89</b> ) mit verschiedenen Lipasen und Esterasen .....	205
7.3.27	Parameterscreening für die Esterverseifung von <i>rac</i> -2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>91</b> ) zu 2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen ( <b>89</b> ) mit hydrolytisch aktiven Lipasen.....	206
7.3.28	Selektive Verseifung von <i>rac</i> -2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen ( <i>rac</i> - <b>91</b> ) zu ( <i>M</i> )-2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen (( <i>M</i> )- <b>89</b> ) mit CAL-A.....	207
7.3.29	Aromatische Iodierung von ( <i>M</i> )-2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>M</i> )- <b>89</b> ) zu ( <i>P</i> )-2-Hydroxy-3-iod-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>90</b> ).....	208
7.3.30	Acetylierung von ( <i>M</i> )-2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen (( <i>M</i> )- <b>89</b> ) zu ( <i>M</i> )-2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>M</i> )- <b>91</b> ).....	209
7.3.31	Acetylierung von ( <i>P</i> )-2-Hydroxy-4b <sup>1</sup> -tribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>89</b> ) zu ( <i>P</i> )-2-Acetoxy-4b <sup>1</sup> -methyltribenzotriquinacen (( <i>P</i> )- <b>91</b> ).....	210
7.4	Synthese chiraler Nitrile mittels Aldoximdehydratasen.....	211
7.4.1	Allgemeine Arbeitsvorschrift 5 (AAV 5): Synthese von Oximen <b>122</b> aus Aldehyden <b>135</b>	211
7.4.2	Kondensation von <i>rac</i> -2-Phenylpropionaldehyd ( <i>rac</i> - <b>135b</b> ) zu <i>rac</i> - <i>E</i> / <i>Z</i> -2-Phenylpropionaldoxim ( <i>rac</i> - <i>E</i> / <i>Z</i> - <b>122b</b> ) .....	211
7.4.3	Kondensation von <i>rac</i> -Melonal ( <i>rac</i> - <b>135c</b> ) zu <i>rac</i> - <i>E</i> / <i>Z</i> -2,6-Dimethylhept-5-enaloxim ( <i>rac</i> - <i>E</i> / <i>Z</i> - <b>122c</b> ).....	213
7.4.4	Kondensation von <i>rac</i> -Citronellal ( <i>rac</i> - <b>135d</b> ) zu <i>rac</i> - <i>E</i> / <i>Z</i> -3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ( <i>rac</i> - <i>E</i> / <i>Z</i> - <b>122d</b> ) .....	214
7.4.5	Kondensation von ( <i>R</i> )-Citronellal (( <i>R</i> )- <b>135d</b> ) zu ( <i>R</i> )- <i>E</i> / <i>Z</i> -3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (( <i>R</i> )- <i>E</i> / <i>Z</i> - <b>122d</b> ) .....	215
7.4.6	Kondensation von ( <i>S</i> )-Citronellal (( <i>S</i> )- <b>135d</b> ) zu ( <i>S</i> )- <i>E</i> / <i>Z</i> -3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (( <i>S</i> )- <i>E</i> / <i>Z</i> - <b>122d</b> ).....	216
7.4.7	Kondensation von (1 <i>R</i> )-Myrtenal ((1 <i>R</i> )- <b>135e</b> ) zu (1 <i>R</i> )- <i>E</i> -6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]-hept-2-en-2-carbaldehydoxim ((1 <i>R</i> )- <i>E</i> - <b>122e</b> ) .....	217
7.4.8	Kondensation von ( <i>S</i> )-Perillaaldehyd (( <i>S</i> )- <b>135f</b> ) zu ( <i>S</i> )- <i>E</i> -4-(Prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-en-1-carbaldehydoxim (Perillartin) (( <i>S</i> )- <i>E</i> - <b>122f</b> ).....	217
7.4.9	Allgemeine Arbeitsvorschrift 6 (AAV 6): Synthese von Nitrilen <b>123</b> aus Oximen <b>122</b> .....	218

7.4.10	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>rac-E/Z</i> -2-Phenylpropionaldoxim ( <i>rac-E/Z</i> - <b>122b</b> ) zu <i>rac</i> -2-Phenylpropionitril ( <i>rac</i> - <b>123b</b> ) .....	218
7.4.11	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>rac-E/Z</i> -2,6-Dimethylhept-5-enaloxim ( <i>rac-E/Z</i> - <b>122c</b> ) zu <i>rac</i> -2,6-Dimethylhept-5-encarbonitril ( <i>rac</i> - <b>123c</b> ) .....	219
7.4.12	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>rac-E/Z</i> -3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ( <i>rac-E/Z</i> - <b>122d</b> ) zu <i>rac</i> -3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril ( <i>rac</i> - <b>123d</b> ) .....	220
7.4.13	Cu-katalysierte Dehydratisierung von ( <i>R</i> )- <i>E/Z</i> -3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (( <i>R</i> )- <i>E/Z</i> - <b>122d</b> ) zu ( <i>R</i> )-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril (( <i>R</i> )- <b>123d</b> ) .....	220
7.4.14	Cu-katalysierte Dehydratisierung von ( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> -3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> - <b>122d</b> ) zu ( <i>S</i> )-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril (( <i>S</i> )- <b>123d</b> ) .....	221
7.4.15	Cu-katalysierte Dehydratisierung von (1 <i>R</i> )- <i>E</i> -6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbaldehydoxim ((1 <i>R</i> )- <i>E</i> - <b>122e</b> ) zu (1 <i>R</i> )-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbonitril ((1 <i>R</i> )- <b>123e</b> ) .....	221
7.4.16	Cu-katalysierte Dehydratisierung von ( <i>S</i> )-Perillartin (( <i>S</i> )- <i>E</i> - <b>122f</b> ) zu ( <i>S</i> )-4-(Prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-encarbonitril (( <i>S</i> )- <b>123f</b> ) .....	222
7.4.17	Überexpression der Oxds .....	223
7.4.18	Allgemeine Arbeitsvorschrift 7 (AAV 7): Aktivitätsassay für die Biotransformation von Oximen <b>122</b> zu Nitrilen <b>123</b> mit Oxds .....	224
7.4.19	Aktivitätsassay für die Biotransformation der Aldoxime <b>122a-f</b> .....	225
7.4.20	Allgemeine Arbeitsvorschrift 8 (AAV 8): Biotransformation von Oximen <b>122</b> zu Nitrilen <b>123</b> mit Oxds .....	226
7.4.21	Biotransformation der Aldoxime <b>122b-f</b> mit verschiedenen Oxds .....	228
7.4.22	Biotransformation des Aldoxims <i>rac-E</i> - <b>122b</b> mit verschiedenen Oxds nach unterschiedlichen Reaktionszeiten .....	229
7.4.23	Allgemeine Arbeitsvorschrift 9 (AAV 9): Nitroaldolkondensation von Benzaldehyden <b>138</b> mit Nitromethan zu 2-Nitrovinylaromaten <b>139</b> .....	230
7.4.24	Nitroaldolkondensation von 2-Chlorbenzaldehyd ( <b>138a</b> ) mit Nitromethan zu 1-Chlor-2-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139a</b> ) .....	231
7.4.25	Nitroaldolkondensation von 3-Chlorbenzaldehyd ( <b>138b</b> ) mit Nitromethan zu 1-Chlor-3-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139b</b> ) .....	231
7.4.26	Nitroaldolkondensation von 4-Chlorbenzaldehyd ( <b>138c</b> ) mit Nitromethan zu 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139c</b> ) .....	232
7.4.27	Allgemeine Arbeitsvorschrift 10 (AAV 10): Michael-Addition von Methylgrignard an 2-Nitrovinylaromaten <b>139</b> zu <i>rac</i> -2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten <i>rac</i> - <b>140</b> .....	232
7.4.28	Michael-Addition von Methylgrignard an 1-Chlor-2-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139a</b> ) zu <i>rac</i> -1-Chlor-2-(1-Nitroprop-2-yl)benzol ( <i>rac</i> - <b>140a</b> ) .....	233
7.4.29	Michael-Addition von Methylgrignard an 1-Chlor-3-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139b</b> ) zu <i>rac</i> -1-Chlor-3-(1-Nitroprop-2-yl)benzol ( <i>rac</i> - <b>140b</b> ) .....	233
7.4.30	Michael-Addition von Methylgrignard an 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139c</b> ) zu <i>rac</i> -1-Chlor-4-(1-Nitroprop-2-yl)benzol ( <i>rac</i> - <b>140c</b> ) .....	234
7.4.31	Allgemeine Arbeitsvorschrift 11 (AAV 11): Reduktion von <i>rac</i> -2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten <i>rac</i> - <b>140</b> zu <i>rac-E/Z</i> -2-Arylpropanaloximen <i>rac-E/Z</i> - <b>122</b> .....	234
7.4.32	Reduktion von <i>rac</i> -1-Chlor-2-(1-Nitroprop-2-yl)benzol ( <i>rac</i> - <b>140a</b> ) zu <i>rac-E/Z</i> -2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim ( <i>rac-E/Z</i> - <b>122g</b> ) .....	235
7.4.33	Reduktion von <i>rac</i> -1-Chlor-3-(1-Nitroprop-2-yl)benzol ( <i>rac</i> - <b>140b</b> ) zu <i>rac-E/Z</i> -2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim ( <i>rac-E/Z</i> - <b>122h</b> ) .....	236
7.4.34	Reduktion von <i>rac</i> -1-Chlor-4-(1-Nitroprop-2-yl)benzol ( <i>rac</i> - <b>140c</b> ) zu <i>rac-E/Z</i> -2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim ( <i>rac-E/Z</i> - <b>122i</b> ) .....	238

7.4.35	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>rac-Z-2</i> -(2-Chlorphenyl)propanaloxim ( <i>rac-Z-122g</i> ) zu <i>rac-2</i> -(2-Chlorphenyl)propionitril ( <i>rac-123g</i> ) .....	240
7.4.36	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>rac-E-2</i> -(3-Chlorphenyl)propanaloxim ( <i>rac-E-122h</i> ) zu <i>rac-2</i> -(3-Chlorphenyl)propionitril ( <i>rac-123h</i> ) .....	240
7.4.37	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>rac-E-2</i> -(4-Chlorphenyl)propanaloxim ( <i>rac-E-122i</i> ) zu <i>rac-2</i> -(4-Chlorphenyl)propionitril ( <i>rac-123i</i> ) .....	241
7.4.38	Aktivitätsassay für die Biotransformation der Aldoxime <b>122a-b</b> und <b>122g-i</b> .....	242
7.4.39	Biotransformation der Aldoxime <b>122g-i</b> mit verschiedenen Oxds .....	244
7.4.40	Biotransformation der Aldoxime <i>rac-E-122g</i> mit OxdRE und <i>rac-Z-122h</i> mit OxdFG mit erhöhter Substrat- und DMSO-Konzentration .....	245
7.4.41	Biotransformation des Aldoxims <i>rac-E-122g</i> mit OxdRE im präparativen Maßstab .....	246
7.4.42	Biotransformation des Aldoxims <i>rac-Z-122h</i> mit OxdFG im präparativen Maßstab .....	247
7.4.43	Kondensation von <i>N</i> -Boc-L-Prolinal (( <i>S</i> )- <b>142</b> ) zu <i>E/Z-N</i> -Boc-L-Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-143</i> ) .....	247
7.4.44	Kondensation von <i>N</i> -Boc-D-Prolinal (( <i>R</i> )- <b>142</b> ) zu <i>E/Z-N</i> -Boc-D-Prolinaloxim (( <i>R</i> )- <i>E/Z-143</i> ) .....	248
7.4.45	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>E/Z-N</i> -Boc-L-Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-143</i> ) zu ( <i>S</i> )- <i>N</i> -Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril (( <i>S</i> )- <b>141</b> ) .....	249
7.4.46	Cu-katalysierte Dehydratisierung von <i>E/Z-N</i> -Boc-D-Prolinaloxim (( <i>R</i> )- <i>E/Z-143</i> ) zu ( <i>R</i> )- <i>N</i> -Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril (( <i>R</i> )- <b>141</b> ) .....	250
7.4.47	Biotransformation der Aldoxime ( <i>S</i> )- und ( <i>R</i> )- <i>E/Z-143</i> mit verschiedenen Oxds nach unterschiedlichen Reaktionszeiten .....	250
7.4.48	Solvenz-Screening zur Cu-katalysierten Dehydratisierung von <i>E/Z-N</i> -Boc-L-Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-143</i> ) mit variierenden Mengen MeCN und unterschiedlichen Kosolvenzen .....	251
7.4.49	Hydrierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ) zu L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>148</b> ) .....	252
7.4.50	Acylierung von L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>148</b> ) zu <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>150</b> ) .....	253
7.4.51	Acylierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ) zu <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) .....	254
7.4.52	Versuche zur Hydrierung von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) .....	255
7.4.53	Synthese von 2-Chlor-1-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3 <i>H</i> -pyrrolizin-3-on ( <b>151</b> ) aus <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) .....	256
7.4.54	TEMPO-Oxidation von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>150</b> ) zu <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinal (( <i>S</i> )- <b>136</b> ) .....	257
7.4.55	Kondensation von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinal (( <i>S</i> )- <b>136</b> ) zu ( <i>S</i> )- <i>E/Z-1</i> -(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbaldoxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-137</i> ) .....	258
7.4.56	Cu-katalysierte Dehydratisierung von ( <i>S</i> )- <i>E/Z-1</i> -(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbaldoxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-137</i> ) zu ( <i>S</i> )-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbonitril (( <i>S</i> )- <b>132</b> ) .....	259
8	Darstellungsverzeichnis .....	260
8.1	Abbildungen .....	260
8.2	Schemata .....	264
8.3	Tabellen .....	269
9	Abkürzungsverzeichnis .....	270
10	Literaturverzeichnis .....	272







# 1 Einleitung

In der organisch-chemischen Reaktionsführung ist der Gebrauch von Biokatalysatoren heute nicht mehr wegzudenken. Mit der Weiterentwicklung der Biotechnologie stieg im Verlauf der letzten Jahrzehnte nicht nur in der naturwissenschaftlichen Grundlagenforschung, sondern auch in der industriellen Produktion die Verwendung von Enzymen stetig an. Durch ihren Einsatz konnten chemische Prozesse im Bereich der Bulk- und Feinchemikalien sowie im Pharma- und Lebensmittelsektor hinsichtlich Energieeffizienz, Abfallproduktion und Raum-Zeit-Ausbeute optimiert werden. Besonders die oftmals stark ausgeprägte Eigenschaft eines stereoselektiven Reaktionsverlaufs macht die Verwendung von Enzymen für die Synthese optisch aktiver Verbindungen besonders attraktiv. Um die Vielseitigkeit der Biokatalysatoren optimal ausschöpfen zu können, ist die genaue Betrachtung und Auslotung der Reaktionsparameter ebenso wichtig wie die Erkenntnis über das von dem Biomaterial akzeptierte Substratspektrum. Weitere Fragestellungen im Bereich der organisch-chemischen Forschung beziehen sich auf die Implementierung von Enzymen in bestehende Prozesse und auf die Kombination von Chemo- und Biokatalyse zur Etablierung neuartiger Reaktionssequenzen. So können durch Enzymkatalyse ganz unterschiedliche Segmente in der Welt der organischen Chemie adressiert werden.

Ein interessantes Einsatzgebiet von Enzymen ist in dem Segment der Bulkchemie zu finden. Die chemische Verwertung von nachwachsenden Rohstoffen weist im Gegensatz zu dem Einsatz von begrenzten fossilen Rohstoffen, wie Erdöl und Kohle, aufgrund ihrer theoretisch unbeschränkten Verfügbarkeit ein hohes, zukunftsweisendes Potential für die Produktion von voluminösen Bedarfsgütern auf. In diesem Zusammenhang ist die Entwicklung von Kunststoffen auf der Basis nachwachsender Rohmaterialien zu nennen. Die kürzlich vorgestellte, zweistufige Enzymkaskade zur Produktion des Monomerbausteins  $\epsilon$ -Caprolacton aus Cyclohexanol bietet potentiell eine alternative Route zum bestehenden organochemischen Reaktionsprozess. Eine vorangestellte Erweiterung des enzymatischen Verfahrens ausgehend von nachwachsenden Rohstoffen, wie Zucker oder Lignin, führt über die Zwischenstufe Phenol. Die Optimierung eines mit dem biokatalytischen Prozess kompatiblen Hydrierverfahrens zur Synthese von Cyclohexanol aus Phenol liefert daher eine wertvolle Erkenntnis über die Möglichkeit zur Verknüpfung von Bio- und Chemokatalyse in einem nachhaltigen Reaktionsprozess. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein geeigneter Hydrierkatalysator gefunden, der nach der selektiven Umsetzung von Phenol zu Cyclohexanol durch einfache Filtration effektiv von der Reaktionsmischung abgetrennt werden konnte. Das daraus erhaltene Filtrat wurde ohne negative Auswirkungen erfolgreich in der enzymatischen Reaktionskaskade zur Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton eingesetzt.

Darüber hinaus wurde in dieser Arbeit ein weiterer Aspekt der Biokatalyse ins Auge gefasst, der im Segment der Materialwissenschaften angesiedelt ist. Enzymatische Synthesen können nach dem Konzept der Chiralitätsunterstützten Synthese unter der Voraussetzung eines stereoselektiven Reaktionsverlaufs für den Aufbau von geometrisch definierten, dreidimensionalen Molekülgerüsten verwendet werden. Dazu werden optisch reine Molekülbausteine benötigt, mit denen aufgrund ihrer definierten Struktur gezielt dreidimensionale Gerüste aufgebaut werden können. Ein interessanter Kandidat für solche Molekülgerüste ist das Tribenzotriquinacen, ein starres Molekül mit Schalenförmiger Struktur. Mithilfe einer enzymatischen Reaktion konnten die Enantiomere eines racemischen Gemisches eines substituierten Tribenzotriquinacens separiert werden. Zwei gleiche dieser so erhaltenen, enantiomerenreinen Bausteine wurden miteinander verknüpft, wobei sich selektiv ein Molekülgerüst bildete, bei dem die räumliche Wölbung der beiden Tribenzotriquinaceneinheiten jeweils auf die gleiche Seite der Molekülebene weist. Dieses Dimer kann aufgrund seiner Form als Teil eines molekularen Würfels angesehen werden, bei dem die zentralen Kohlenstoffatome der Tribenzotriquinacene jeweils die Würfecke bilden.

Im dritten Teil dieser Arbeit lag der Fokus im Segment der Feinchemie auf der biokatalytischen Synthese von chiralen Nitrilen. Die heute wichtigen industriellen Prozesse für die Synthese von Nitrilen benötigen entweder hochtoxische Cyanide oder anspruchsvolle Reaktionsbedingungen, wie hohe Temperaturen oder hohe Drücke. Daher bildet ein milderer Prozess ohne die Notwendigkeit von Cyaniden eine willkommene alternative Darstellungsmöglichkeit von Nitrilen, die mit einer relativ jungen Enzymgruppe, den Aldoximdehydratasen, in den letzten Jahren aufgegriffen wurde. Diese Enzyme katalysieren die Dehydratisierung von Aldoximen, welche wiederum aus den entsprechenden Aldehyden gut zugänglich sind. Über diesen zweistufigen Reaktionspfad konnten strukturell unterschiedliche Nitrile dargestellt werden, die das Substratspektrum dieser Biokatalysatoren um eine Vielzahl bereicherten. In den meisten Fällen verlief die Dehydratisierung der Aldoxime stereoselektiv, sodass sich diese Methodik auch für die Synthese von enantiomerenreinen Nitrilen eignete.

Nicht weniger interessant ist die Implementierung von enzymatischen Reaktionen in Syntheserouten zur Darstellung von Wirkstoffen. Die Synthese des Antidiabetikums Vildagliptin bietet aufgrund seiner Molekülstruktur, die aus einem enantiomerenreinen *N*-Acyl- $\alpha$ -aminonitril mit Prolingrundgerüst besteht, auf dem Gebiet der Cyanid-freien Nitrilsynthese ebenfalls die Möglichkeit zur Verwendung von Aldoximdehydratasen. Alternativ zu der enzymatischen Dehydratisierung von *N*-Acylprolinaldoximen konnte die Kupfer-katalysierte Nitrilsynthese, ebenfalls ausgehend von Aldoximen, in eine neue Syntheseroute zur Darstellung von Vildagliptin eingebunden werden.

## 2 $\epsilon$ -Caprolactonsynthese ausgehend von Phenol durch Kombination von Chemo- und Biokatalyse

### 2.1 Einleitung und wissenschaftlicher Standpunkt

#### 2.1.1 Der Wandel der Kunststoffressourcen

In der naturwissenschaftlichen Entwicklung der Menschheit fanden die ersten, mit Hilfe von chemischen Verfahren modifizierten, polymeren Kunststoffe ihren Ursprung in nachwachsenden Rohstoffen. Schon im 11. Jahrhundert wurde der vom Gummibaum abgesonderte Milch-ähnliche Saft von den Maya als Ausgangsmaterial für Spielbälle verwendet.<sup>[1]</sup> Der Saft – Latex genannt – hat die Eigenschaft, an Luft zu einer festen, aber klebrigen und elastischen Masse zu koagulieren. Diese Masse erhielt in Anlehnung an den Ausdruck der Maya „caa-o-chu“ für „weinendes Holz“ den Namen Kautschuk. Anfang des 19. Jahrhunderts wurde Kautschuk-Latex in England benutzt, um Regenmäntel wasserdicht zu machen.<sup>[2]</sup> Indem *Goodyear* in den 1830er Jahren den klebrigen Kautschuk mit Schwefel in der Hitze vermeintlich trocknen wollte, erhielt er ein hoch-elastisches Material, welches nicht mehr klebrig war. Dies war die Geburtsstunde des Gummis. *Hancock* ließ die chemische Quervernetzung der Latex-Polymerketten mit Schwefel etwas später unter dem Namen „Vulkanisation“ patentieren.<sup>[3]</sup> Mit wachsendem Einsatzgebiet des Gummi-Materials stieg der Kautschuk-Verbrauch rapide an, wodurch sich ein Konkurrenzgeschäft um die Gewinnung der Latex-Milch aus natürlich wachsenden und in Plantagen angebauten Arten des Gummibaums entwickelte.<sup>[1]</sup>

Auch die zuvor nur mit physikalischen Methoden modifiziert eingesetzten Polymerfasern der Baumwolle wurden ab Mitte des 19. Jahrhunderts chemischen Prozessen unterzogen, um die in den Fasern enthaltene Cellulose in Materialien mit unterschiedlichen Eigenschaften zu überführen. Durch Einwirken von Baumwollfasern in Nitriersäure synthetisierte *Schönbein* Nitrocellulose, welche bei mäßiger Erwärmung zu einem elastischen Werkstoff erhärtete. 20 Jahre später konnte *Hyatt* durch den Zusatz von Campher aus der Nitrocellulose ein hartes Material – sogenanntes Celluloid® – mit einer glatten Oberfläche erzeugen, welches beispielsweise für Messergriffe, Brillengestelle und Billardkugeln verwendet wurde.<sup>[3]</sup>

Das in Tiermilch vorkommende Protein Casein stellt eine weitere, regenerative Rohstoffquelle für die chemische Produktion von Kunststoffen dar. 1897 erhielten *Krische* und *Spitteler* eine hornartige Masse, indem sie die Proteinketten des Caseins mittels Formaldehyd quervernetzten.<sup>[4]</sup> Diesem Kunststoff gaben seine Erfinder den Namen „Galalith“, griechisch für „Milchstein“.

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurden auch weiterhin neue polymere Materialien aus nachwachsenden Rohstoffen entwickelt, beispielsweise Celluloseacetat, Celluloseether und Cellophan®.<sup>[2]</sup>

Jedoch verlagerte in dieser Zeit eine bahnbrechende und kommerziell äußerst erfolgreiche Patentanmeldung von *Baekeland* das Interesse auf vollständig synthetische Kunststoffe, deren Ursprung nicht in natürlich vorkommenden Polymeren liegt. 1907 brachte er verschiedene Phenole in der Hitze mit Formaldehyd zur Reaktion, wobei stabile und harte Materialien entstanden. Diese Phenolharze gingen als Bakelite® in die Geschichte ein.<sup>[5]</sup>

Von da an wurden diverse Kunststoffe mit den denkbar unterschiedlichsten Eigenschaften entwickelt, deren Ausgangsverbindungen allesamt aus den fossilen Rohstoffen Erdöl und Erdgas gewonnen wurden. So begann in den 20er und 30er Jahren die Massenproduktion von totalsynthetischen Polymeren, die auch heute noch umfassend verwendet werden: Polystyrol, Polyvinylchlorid, Polyvinylacetat, Polymethylmethacrylat, Polyacrylnitril, Polyisobutylen, Polyamide, Polyethylen, Polyurethane, Polytetrafluorethylen und Polyvinylpyrrolidon, um nur einige wenige zu nennen.<sup>[2,6]</sup>

Was das Erfassen der strukturellen Besonderheiten von solchen Kunststoffen auf molekularer Ebene angeht, so leistete *Staudinger* Anfang des 20. Jahrhunderts zukunftsweisende Pionierarbeiten. Er erkannte die Systematik hinter diesen polymeren Materialien, die aus vielen, miteinander verbundenen monomeren Bausteinen aufgebaut sind, und führte hierfür den Begriff „Makromolekül“ ein. Seine Arbeiten wurden 1953 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet.<sup>[7]</sup>

Mit dem Boom der industriellen Herstellung von vollsynthetischen Polymeren rückten die auf Naturstoffen basierenden Kunststoffe mehr und mehr in den Hintergrund. Die Verwendung von synthetisch erzeugten Monomeren wie Styrol, Vinylchlorid, Methylmethacrylat, Acrylnitril und Ethylen in der Kunststoffindustrie war eine zunächst logische Konsequenz der zu diesem Zeitpunkt reichlich vorhandenen und leicht zugänglichen fossilen Rohstoffquellen. Während Erdöl und Erdgas in großen Mengen unter Tage befördert werden konnten, stand oberhalb der Erdkruste ausreichend Landfläche zur Nahrungserzeugung zur Verfügung. *Elias* verglich 1985 die Erträge von damals verwendeten nachwachsenden Rohstoffen für die Kunststoffindustrie mit den Erträgen von Rohstoffen für die Nahrungsmittelverarbeitung auf einer Fläche von einem Hektar Land (Abbildung 2.1).<sup>[1]</sup> Es ist leicht erkennbar, dass aus damaliger Sicht die Nutzung der Landflächen zur Bereitstellung von Nahrungsmitteln, wie Weizen, Reis und Zuckerrüben dem Anbau von wenig ertragreichen Polymer-Rohstoffen, wie Naturkautschuk und Baumwolle sowie der Schafzucht für die Gewinnung von Wolle vorzuziehen war. Der stetig angestiegene Bedarf an Kunststoffen, die in immer mannigfaltigeren Anwendungsbereichen zum Einsatz kamen, konnte durch bisher entwickelte Polymere aus natürlichen, nachwachsenden Rohstoffen ohnehin nicht mehr abgedeckt werden.

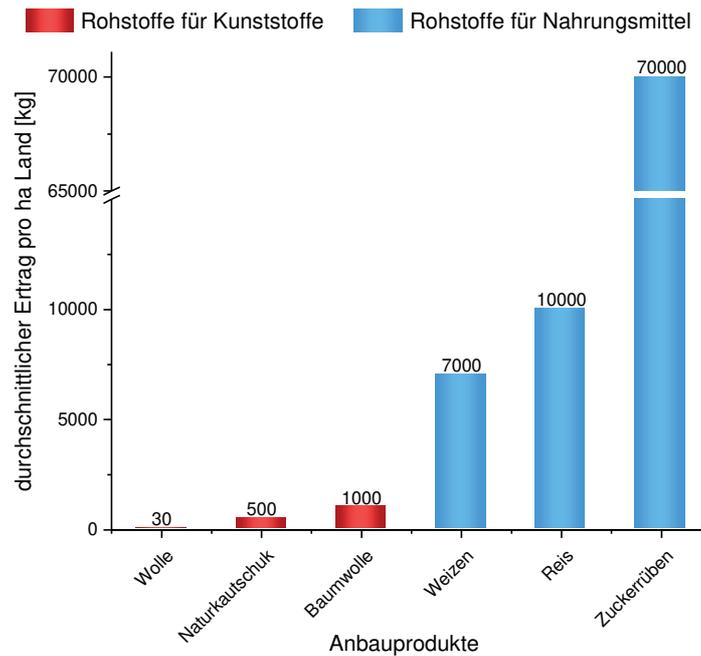


Abbildung 2.1: Durchschnittlicher Ertrag verschiedener Anbauprodukte pro ha Land im Jahr 1985.<sup>[1]</sup>

Sehr anschaulich zeigt sich die Entwicklung des Kunststoff-Bedarfs am Beispiel der USA im Vergleich zu anderen wichtigen Materialien anhand eines Essays von *Wernicke* aus dem Jahr 1996.<sup>[8]</sup> Waren Anfang des 20. Jahrhunderts der Verbrauch und die Nutzung von Holz mit Abstand am höchsten, so nahm sein Stellenwert im Verlauf der Jahre kontinuierlich ab. Metalle, wie Stahl, Blei und Kupfer kamen bis in den Zeitraum des zweiten Weltkriegs vergleichsweise stetig zum Einsatz, während sie nach dem Wiederaufbau langsam an Bedeutung verloren.<sup>[9]</sup> Im Gegensatz dazu stieg der Bedarf von Kaliumcarbonat und Phosphor als wichtige Inhaltsstoffe für Düngemittel seit den 1920er Jahren deutlich an. Die größte, überproportional starke Zunahme erfuhr allerdings die Verwendung von Kunststoffen seit Beginn ihrer Produktion in den 20er und 30er Jahren. Mit einer Menge von etwa 40 Tonnen pro Millionen US\$ Bruttoinlandsprodukt (BIP) überstieg dieser Wert im Jahr 1990 sogar die Summe aller anderen Gütermengen – circa zwölf Tonnen – um mehr als das Dreifache. Wo immer es möglich war, wurden mit fortschreitender Entwicklung schwere Materialien wie Holz und Metalle durch neu entwickelte, leichte Kunststoffe mit den unterschiedlichsten, maßgeschneiderten Materialeigenschaften ersetzt.<sup>[4,10]</sup>

Anhand des von der *Petrochemicals Europe* im Jahr 2015 erstellten Produktstammbaums chemischer Erzeugnisse ausgehend von den fossilen Rohstoffquellen Erdöl und Erdgas wird der Stellenwert von Kunststoffen leicht ersichtlich.<sup>[11]</sup> Dieser zeigt, in welchen vielseitigen Anwendungsbereichen die mannigfaltigen Kunststoffprodukte mit ihrer hohen, strukturellen Diversität zum Einsatz kommen. Sei es im Baugewerbe, im Verpackungsbereich, in der Automobil- und Elektroindustrie, im Textilgewerbe oder in der Medizin, nirgendwo ist die Verarbeitung von Kunststoffen heute noch wegzudenken.

Als Folge dieses stetig wachsenden Kunststoffkonsums stiegen allerdings auch der Bedarf der Ausgangsmaterialien für diese Substanzklasse und damit der Bedarf der Rohstoffquellen Erdöl und Erdgas in hohem Ausmaß. Daher ist es nicht verwunderlich, dass neben dem euphorischen Aufschwung der Kunststoffindustrie seit den 70er Jahren auch Stimmen gegen eine übermäßige Verwendung von fossilen Rohstoffen für die Kunststoffproduktion laut wurden.<sup>[12]</sup> Beispielsweise wies ein Bericht des *Club of Rome* 1972 auf die Begrenztheit der (fossilen) Rohstoffe und damit auf Grenzen des Wachstums hin.<sup>[13]</sup> Dieses Szenario der Knappheit wird noch durch die Tatsache unterstrichen, dass sowohl Erdöl als auch Erdgas neben der Nutzung in der chemischen Produktion auch bei der Erzeugung von Energie eingesetzt werden. In Anbetracht der fortschreitenden Industrialisierung und wachsenden Bevölkerung ist auch in diesem Sektor der Bedarf kontinuierlich gestiegen (Abbildung 2.2).<sup>[14]</sup>

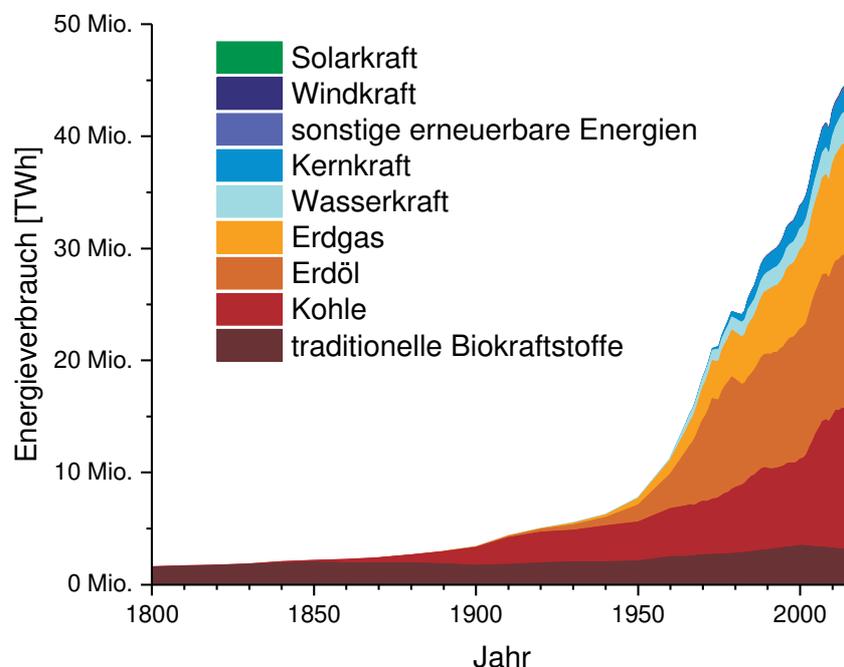


Abbildung 2.2: Stapelflächendiagramm des globalen Primärenergieverbrauchs in TWh in dem Zeitraum zwischen 1800 und 2016, aufgeteilt in verschiedene Energieressourcen.<sup>[14]</sup>

Während bis Ende des 19. Jahrhunderts die Energieversorgung fast ausschließlich durch traditionelle Biokraftstoffe wie Holz und anderen organischen Materialien abgedeckt wurde, kam durch den Untertagebau zu Beginn des 20. Jahrhunderts auch Kohle als Energieträger zum Einsatz. Nennenswerte Mengen Erdöl und Erdgas wurden ab den 1920er Jahren als Energielieferanten verwendet. Etwa bis 1950 blieb der gesamte Jahresverbrauch von Primärenergie unter 10 Mio. TWh. Ab diesem Zeitraum stieg der Verbrauch so rapide an, dass nur etwa 20 Jahre später (1970) bereits ein doppelt so hoher Verbrauch verzeichnet wurde. Weitere 30 Jahre später (2000) verdoppelte sich dieser Wert nochmals auf rund 40 Mio. TWh. In der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts kamen Wasser- und Kernkraft als Energiequelle hinzu, allerdings tragen diese auch bis heute noch nicht mehr als mit etwa 3-6% zur Abdeckung des Gesamtenergiebedarfs bei. Noch

kleiner fallen die Zahlen für die Energieversorgung durch Windkraft, Solarkraft und sonstige erneuerbaren Energien mit jeweils weniger als 1% der Gesamtenergiemenge aus.<sup>[15]</sup> Was den globalen Energieverbrauch in 2016 angeht, ergab sich folgendes Bild: Der Gesamtenergiebedarf von über 45 Mio. TWh wurde, wie in den vergangenen hundert Jahren auch, hauptsächlich durch die fossilen Ressourcen Kohle (27%), Erdöl (32%) und Erdgas (23%) abgedeckt. Hinzu kamen etwa 7% durch Holz und andere traditionelle Biokraftstoffe, was bereits eine Abdeckung von 90% des Gesamtverbrauchs ausmacht. Die verbliebenen 10% setzten sich hauptsächlich aus Wasser- und Kernkraft und unwesentlich aus Solar- und Windkraft sowie sonstigen erneuerbaren Energien zusammen. Neben einem möglichen Wachstum im Sektor der erneuerbaren Energien wird auch für die Zukunft eine ähnliche Zusammensetzung erwartet: Der globale Gesamtbedarf bzw. -verbrauch wird jährlich weiter ansteigen und weiterhin werden Kohle, Erdöl und Erdgas als Haupt-Energielieferanten dienen.<sup>[16]</sup>

Dies wiederum hat zur Folge, dass die fossilen Ressourcen, wie auch schon durch den *Club of Rome* prognostiziert, früher oder später schwinden werden. Eine Studie vom *Institut der deutschen Wirtschaft Köln* aus dem Jahr 2013 beschäftigt sich unter anderem mit der Reichweite fossiler Rohstoffe, sowohl für die energetische als auch für die stoffliche Nutzung (Abbildung 2.3).<sup>[17]</sup>

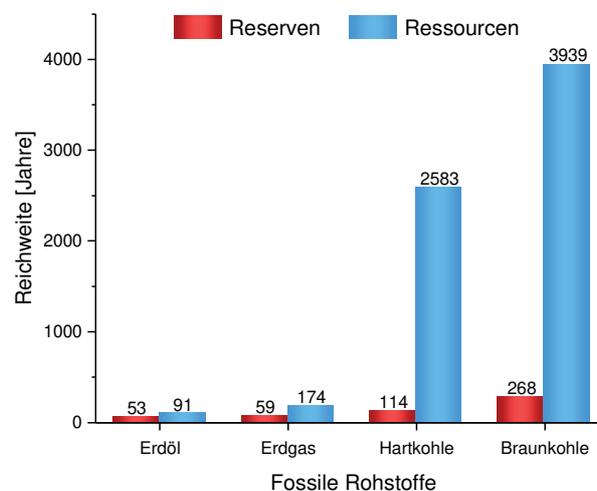


Abbildung 2.3: Reichweite verschiedener fossiler Rohstoffe, aufgeteilt in abbaubare Reserven und in unerschlossene Ressourcen.<sup>[17]</sup>

Während die wirtschaftlich abbaubaren Kohlereserven noch mehrere hundert Jahre und die unerschlossenen Gesamtressourcen sogar mehrere tausend Jahre ausreichen werden, sind von Erdöl und Erdgas sowohl die Reserven als auch die Ressourcen deutlich spärlicher vorhanden. Unter der Annahme des weiter ansteigenden Bedarfs würden die Gesamtmenge Erdöl nur noch gut 100 Jahre und die Gesamtmenge Erdgas nur noch etwa 200 Jahre ausreichen.

Um insbesondere die deutlich begrenzte Reichweite von Erdöl und Erdgas zu verlängern, bestehen prinzipiell zwei verschiedene Ansätze: A) Die energetische Nutzung dieser fossilen Rohstoffe muss deutlich reduziert werden, wobei andere Energiequellen

wie Wasser-, Wind- und Solarkraft sowie erneuerbare Rohstoffe viel stärker in den Vordergrund rücken müssen. B) In der chemischen Industrie muss der Einsatz von fossilen Rohstoffen zur stofflichen Nutzung durch den Einsatz von erneuerbaren, nachwachsenden Rohstoffen abgelöst werden.

Die unter A) genannte Verwendung von nachwachsenden Rohstoffen als Energiequelle zieht wiederum auch einige Nachteile mit sich. Bei den heute notwendigen Energiemengen müssten die Nutzpflanzen auf einer vergleichsweise großen Landfläche angebaut werden, die nur durch eine weitere Abholzung von Wäldern und durch eine Umwandlung von Grün- und Weideflächen zur Verfügung gestellt werden könnte.<sup>[4]</sup> Weiterhin bestünde eine Konkurrenz dieser Anbauflächen zur Nutzung für die Erzeugung von Nahrungsmitteln, was eine Preiserhöhung dieser unverzichtbaren Konsumgüter zur Folge hätte (vgl. Abbildung 2.1).<sup>[18]</sup> Um eine effektive Nutzung der Anbaufläche gewährleisten zu können, müsste das Wachstum der Pflanzen durch Düngemittel unterstützt werden, wodurch die globale Erderwärmung wegen verstärkter Emission von Treibhausgasen wie  $N_2O$  weiter ansteigen würde.<sup>[4]</sup>

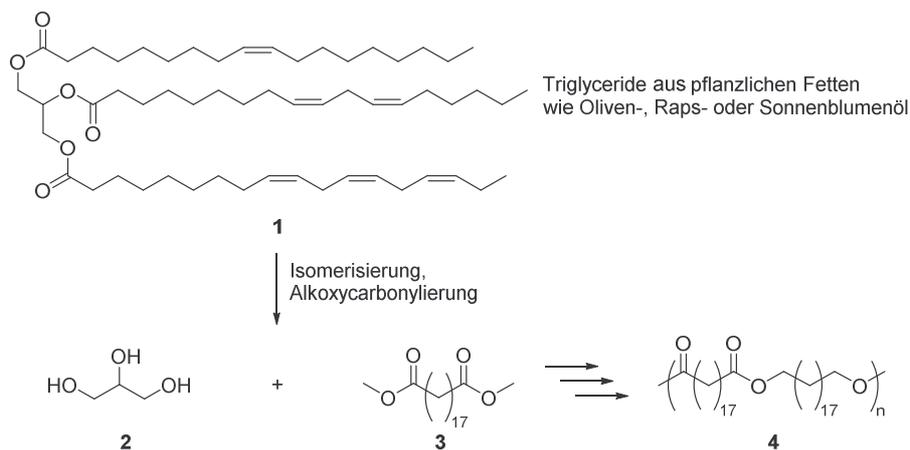
Im Gegensatz dazu stellt der unter B) aufgeführte Ansatz zur verstärkten Produktion von nachhaltigen Kunststoffen einen Kompromiss zwischen Platzbedarf der Anbauflächen und Einsparung fossiler Ressourcen dar. Die chemische Forschung befindet sich auf dem Weg, unterschiedliche Lösungen für diesen Ansatz zu erarbeiten. Da Kunststoffe einen großen Bereich der Produktpalette aus der chemischen Industrie abdecken, ist besonders auf diesem Gebiet die Entwicklung alternativer Produkte auf Basis von nachwachsenden Rohstoffen lohnenswert. In einer Studie des *U.S. Department of Energy* aus dem Jahr 2004 wurde analog zu dem petrochemischen Produktstammbaum ein Modell mit einem komplexen Produktstammbaum ausgehend von den Hauptkomponenten der nachwachsenden Rohstoffe, wie Stärke, Hemicellulose, Cellulose, Lignin sowie pflanzliche Fette und Proteine, vorgestellt.<sup>[19]</sup> Auch hier zeigt sich, dass ein großer Teil der Folgeprodukte für die Herstellung von Kunststoffen verwendet werden kann. Es ergeben sich einerseits teilweise mit der petrochemischen Produktpalette identische Materialien, wie Polyacrylate, Polyamide und Polyurethane. Andererseits werden der petrochemische und der nachhaltige Produktstammbaum untereinander verglichen größtenteils von Kunststoffen mit abweichender chemischer Zusammensetzung dominiert. Dies ist wenig verwunderlich, denn schon die Rohstoffe dieser Materialien basieren auf komplett unterschiedlichen chemischen Strukturmotiven: Erdöle sind Gemische aus verschiedensten aliphatischen, cyclischen und aromatischen, jedoch Heteroatom-armen Kohlenwasserstoffen.<sup>[12]</sup> Dahingegen setzen sich die nachwachsenden Rohstoffe aus Heteroatom-reichen Struktureinheiten wie Sauerstoffhaltige Saccharide und Arylether oder Sauerstoff-, Stickstoff- sowie Schwefelhaltige Aminosäuren zusammen. Folglich weicht auch der chemische Weg vom Aufschluss der Rohmaterialien über die Verarbeitung der Intermediate bis hin zur Herstellung der Monomerbausteine in beiden Fällen voneinander ab. Daraus resultieren letztlich abhängig

von der Rohstoffquelle strukturell unterschiedliche Polymere. Daher treten bei der Entwicklung von Kunststoffen auf Basis nachwachsender Rohstoffe mehrere Herausforderungen auf. Um mit den Produkten aus dem petrochemischen Stammbaum konkurrieren zu können, muss der Herstellungsprozess vergleichsweise effizient und preiswert sein.<sup>[10]</sup> Des Weiteren müssen nachhaltige Kunststoffe analoge oder gar verbesserte Materialeigenschaften verglichen mit herkömmlichen Polymeren petrochemischem Ursprungs aufweisen.<sup>[4]</sup> Damit geht auch der Wunsch nach einer hohen Wiederverwertbarkeit bzw. Bioabbaubarkeit solcher neuartigen Materialien einher, um einer langen Persistenz in der Umwelt entgegenzuwirken.<sup>[20,21,20]</sup>

### 2.1.2 Die Vielfältigkeit nachhaltiger Polymere

Bis *dato* wurden bereits vielfältige Methoden und Prozesse entwickelt, um aus den Komponenten der nachwachsenden Rohstoffe polymere Materialien herzustellen, die den hohen Anforderungen unterschiedlichster Materialeigenschaften entsprechen. Die Vielseitigkeit der Ideen und Konzepte zu solchen Umsetzungen zeigt sich bereits an einigen wenigen Beispielen.

Triglyceride **1** werden im großen Maßstab aus Pflanzenölen gewonnen (156 Mt in 2012), von denen etwa 70% in der Nahrungsmittelproduktion, 20% als Biokraftstoff und 10% in der chemischen Produktion zum Einsatz kommen.<sup>[22]</sup> Diese pflanzlichen Öle lassen sich über wenige Reaktionsstufen in langkettige, aliphatische Polyester überführen.<sup>[10]</sup> Beispielsweise haben *Furst et al.* eine elegante Syntheseroute ausgehend von Triglyceriden **1** aus Oliven-, Raps- oder Sonnenblumenöl beschrieben. (Schema 2.1).<sup>[23]</sup>

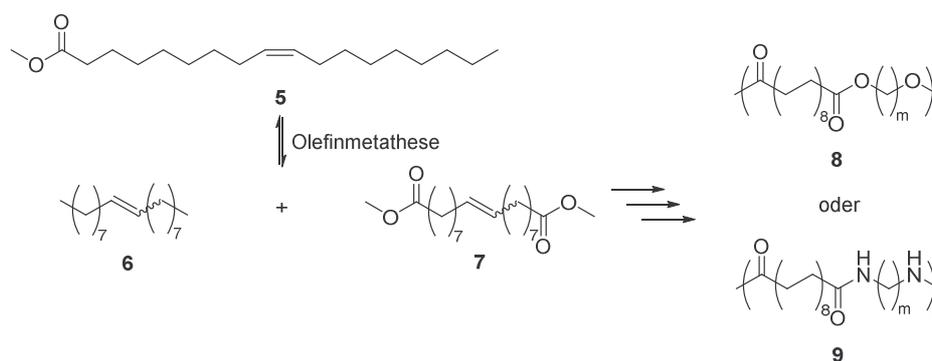


Schema 2.1: Darstellung langkettiger, aliphatischer Polyester **4** ausgehend von Triglyceriden **1** aus Oliven-, Raps- oder Sonnenblumenöl.<sup>[23,24]</sup>

Über einen maßgeschneiderten Palladiumkomplex findet zunächst eine selektive Isomerisierung der Doppelbindung aus den Fettsäureresten an das Ende der Alkylkette statt.<sup>[25]</sup> Durch anschließende Alkoxy-carbonylierung und säurekatalysierte Umesterung wird ein Diester **3** erhalten. Als Nebenprodukt aus der Hydrolyse der Triglyceride fällt Glycerin (**2**) an. Der Diester **3** wird nun zur Disäure hydrolysiert bzw. zum Dialkohol

reduziert. Durch Polykondensation dieser beiden Komponenten bildet sich schließlich der Polyester **4**. Nachteilig bei solch einer Reaktionsführung ist, dass die aus dem gleichen Prozess resultierenden Polyester teils sehr unterschiedliche physikalische Eigenschaften aufweisen können, da die Fettsäurereste je nach Art und Herkunft der pflanzlichen Quelle variieren.<sup>[10]</sup> Die Materialeigenschaften dieser Polymere liegen zwischen denen von Polyethylenen und kurzkettigen Polyestern.<sup>[10]</sup>

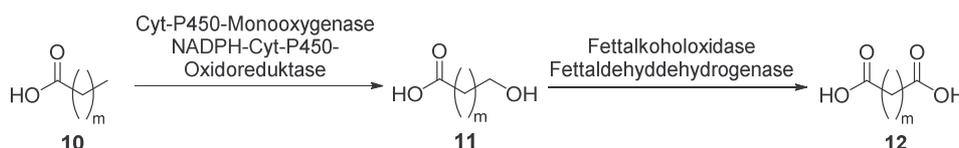
Alternativ eignen sich ungesättigte Fettsäureester aus pflanzlichen Triglyceriden wegen ihrer Doppelbindung(en) zur Modifikation mittels Olefinmetathese (Schema 2.2).<sup>[22]</sup>



Schema 2.2: Darstellung von Polyestern **8** und Polyamiden **9** aus Ölsäuremethylester (**5**) über Olefinmetathese.<sup>[26,27]</sup>

In Abhängigkeit vom gewählten *Grubbs*-Rutheniumkatalysator verläuft die Olefinmetathese von beispielsweise zwei Molekülen Ölsäuremethylester (**5**) mit hoher katalytischer Produktivität (TON: *turnover number*) von bis zu 440.000 zum ungesättigten  $\alpha,\omega$ -Diester **7**.<sup>[26]</sup> Mechanistisch bedingt bildet sich ebenfalls das Alken **6**. Analog zu dem zuvor genannten Beispiel lässt sich der Diester **7** über die gesättigte Disäure mit langkettigen  $\alpha,\omega$ -Diolen oder  $\alpha,\omega$ -Diaminen in entsprechende langkettige Polyester **8** bzw. Polyamide **9** überführen. Auch auf diesem Weg eröffnet sich je nach Wahl der Fettsäureester und der späteren Polykondensationspartner ein Zugang zu einer breiten Palette von Polymeren mit unterschiedlichen Materialeigenschaften.<sup>[22,10]</sup>

Es ist ebenfalls möglich, Enzyme für die Synthese von Polyestervorstufen auf Basis von pflanzlichen Fettsäuren einzusetzen (Schema 2.3).



Schema 2.3: Enzymatische Reaktionskaskade zur Synthese von  $\alpha,\omega$ -Disäuren **12** ausgehend von Fettsäuren **10** mit einer Kettenlänge von  $m = 12$  bis  $m = 20$ .<sup>[28,29,29]</sup>

In einer Kaskade mehrerer enzymatischer Transformationen können Fettsäuren **10** mit unterschiedlicher Kettenlänge selektiv in  $\omega$ -Position mittels eines Hydroxylase-Komplexes hydroxyliert werden.<sup>[22]</sup> Die eingeführte Hydroxyfunktionalität der Intermediate **11** wird

anschließend in zwei Schritten von einer Fettalkoholoxidase und von einer Fettaldehyddehydrogenase zum Aldehyd bzw. zur Carbonsäure oxidiert.<sup>[28]</sup> Auf diesem Weg werden langkettige  $\alpha,\omega$ -Disäuren **12** erhalten, die ebenfalls mit Diolen oder Diaminen zu Polyestern bzw. zu Polyamiden kondensiert werden können. Die Kaskade zur Ausbildung von Dicarbonsäuren ist einem Prozess aus der Natur nachempfunden, bei dem genau diese Reaktionsfolge mit anschließender  $\beta$ -Oxidation zum enzymatischen Abbau langer Alkylketten stattfindet.<sup>[30]</sup>

Die strukturell sehr vielseitige Gruppe der (Poly)Saccharide bietet einen weiteren Ansatz für die Synthese von nachhaltigen Polymeren mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften. Eine weltweite natürliche Produktion von über 150 Gt machen Polysaccharide zu einer attraktiven Materialquelle mit großem Anwendungspotential, denn bisweilen nutzt die Menschheit nur etwa 1% dieser Masse.<sup>[10]</sup> Der am weitesten verbreitete Monomerbaustein dieser Verbindungsklasse ist die Glucose (**13**) als Hauptbestandteil von sowohl Stärke als auch Cellulose (**14**), die in den verschiedensten Gräsern, Getreiden, Sträuchern, Bäumen und sogar Algen vorkommen. Allerdings stellt der Zugang zu Glucose (**13**) aus Cellulose (**14**) bisweilen noch eine größere Herausforderung in der Bioraffinerie dar. Als pflanzliche Zellwand bildet Cellulose (**14**) zusammen mit Hemicellulose (**15**) und Lignin **16** ein faseriges Strukturgerüst aus, die sogenannte Lignocellulose (Abbildung 2.4).<sup>[31]</sup> Die aktuelle Forschung beschäftigt sich unter anderem damit, die Auftrennung und Isolierung dieser drei Komponenten in einem möglichst effizienten Prozess zu realisieren.<sup>[32]</sup>

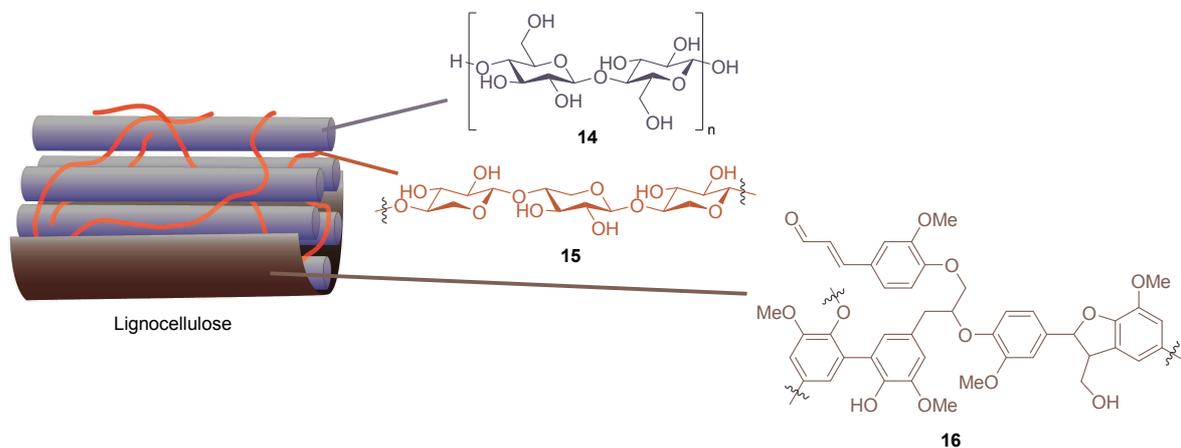


Abbildung 2.4: Schematischer Aufbau von Lignocellulose am Beispiel von Pappelsägemehl mit den Komponenten Cellulose (**14**), Hemicellulose (**15**) und Lignin **16**.<sup>[31]</sup>

Der molekulare Aufbau eines Stärkekorns aus amorpher Amylose (**17**) (lineare Polysaccharidketten mit  $\alpha$ -1,4-glycosidischer Bindung) und kristallinem Amylopektin (**18**) (verzweigte Polysaccharidketten mit  $\alpha$ -1,4- und  $\alpha$ -1,6-glycosidischer Bindung) ist dahingegen strukturell vergleichsweise weniger komplex (Abbildung 2.5).<sup>[33]</sup> Beide Komponenten lassen sich über enzymatische oder chemische Hydrolyse leicht zu Glucose (**13**) spalten.<sup>[10]</sup>

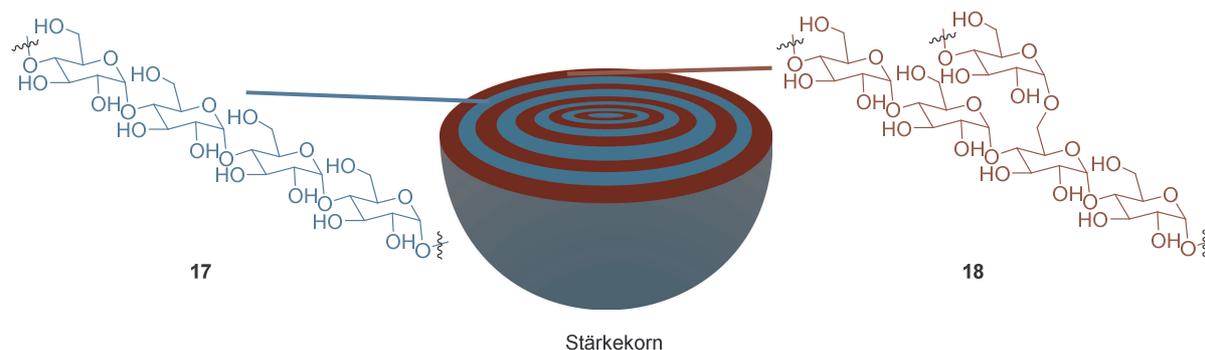
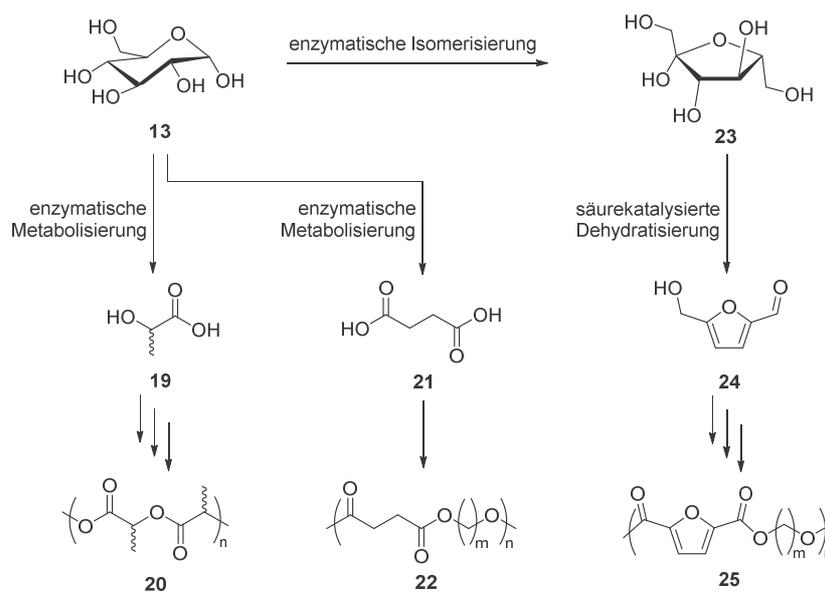


Abbildung 2.5: Schematischer Aufbau eines Stärkekorns.<sup>[33]</sup>

Über weitere bio- oder chemokatalytische Reaktionsschritte kann Glucose (**13**) anschließend zu mannigfaltigen Plattformchemikalien verarbeitet werden, die auch in der Kunststoffproduktion zum Einsatz kommen.<sup>[21]</sup> In Schema 2.4 ist hierfür beispielhaft die Verwendung der drei Zucker-basierten Plattformchemikalien Milchsäure (**19**), Succinsäure (**21**) und 5-(Hydroxymethyl)furfural (5-HMF) (**24**) in der nachhaltigen Polymerchemie aufgezeigt.<sup>[10]</sup>



Schema 2.4: Synthesebeispiele für nachhaltige Polyester mit den Strukturen **20**, **22** und **25** ausgehend von Glucose (**13**) über Milchsäure (**19**), Succinsäure (**21**), Fructose (**23**) und 5-HMF (**24**).<sup>[10]</sup>

Durch Fermentation lässt sich Glucose (**13**) oder auch direkt Stärke mit Mikroorganismen über mehrere Zwischenstufen zu Milchsäure (**19**) abbauen.<sup>[34]</sup> Dieser Baustein kann dann entweder über das Lactid, dem cyclischen Diester zweier Milchsäuremoleküle, mittels Ringöffnungspolymerisation oder mittels Stufenwachstumspolymerisation direkt zu Polylactid (**20**) verarbeitet werden.<sup>[35]</sup> Wegen seiner Wiederverwertbarkeit und Bioabbaubarkeit findet es unter anderem Verwendung als „grünes“ Verpackungsmaterial.<sup>[36]</sup>

Succinsäure (**21**) kann ebenfalls über einen fermentativen Prozess aus Glucose (**13**) hergestellt werden.<sup>[37]</sup> Auch wenn bei einem jährlichen Produktionsvolumen von derzeit

etwa 30-50 kt der größte Anteil petrochemischen Ursprungs ist,<sup>[38]</sup> bauen immer mehr Unternehmen ihre Kapazitäten für die Produktion von biobasierter Succinsäure (**21**) aus.<sup>[39]</sup> In Polykondensationsreaktionen mit Diolen lässt sich Succinsäure (**21**) zu Polyester **22** verarbeiten. Ein wichtiges kommerzielles Produkt stellt hierbei das Polybutylensuccinat (PBS) mit einem Jahresvolumen von 40 kt dar.<sup>[10,40]</sup>

Die Synthese des vielbeachteten 5-HMF (**24**) verläuft über eine enzymatische Isomerisierung von Glucose (**13**) zu Fructose (**23**) und anschließender säurekatalysierter Dehydratisierung.<sup>[41]</sup> Eine mehrfache Oxidation von 5-HMF (**24**) führt zu Furandicarbonsäure,<sup>[42,40]</sup> welche wie im vorherigen Beispiel mit Diolen zu Polyester **25** kondensiert werden kann. Ein prominenter Vertreter dieser Polymere ist das Polyethylenfuranoat (PEF).<sup>[10]</sup> Aufgrund der analogen makromolekularen Struktur und wegen der vergleichbaren Materialeigenschaften wird für einige Anwendungsbereiche – besonders als Getränkeflaschen – ein Ersatz von Polyethylenterephthalat (PET) durch PEF diskutiert.<sup>[43]</sup> Zusätzlich zu dem zukunftsweisenden Potenzial von PEF als vollständig biobasierter Kunststoff im Gegensatz zu dem petrochemisch produzierten PET wird der komplette Lebenszyklus von PEF mit einer Reduzierung von Treibhausgas-Emissionen bis zu 55% als deutlich ökonomischer beurteilt als derjenige von PET.<sup>[44]</sup>

Nach der Cellulose (**14**) ist Lignin **16** das am zweithäufigsten vorkommende natürliche Polymer auf dieser Erde. Über Aufschlussprozesse von Holz bei der Zellstoffherstellung sind weltweit etwa 50 Mt Lignin **16** pro Jahr verfügbar. Hiervon werden bisweilen aber 98% verbrannt und nur 2% kommerziell verwendet.<sup>[21]</sup> Aufgrund der komplexen und variantenreichen Molekülstruktur (Abbildung 2.6) stecken die Versuche zur Verwertung von Lignin für die gezielte Synthese von definierten aromatischen Verbindungen daher noch in den Kinderschuhen.<sup>[45]</sup> Zur Strukturaufklärung von Lignin-Gerüsten wurden unterschiedliche Analysemethoden wie (NMR-)Spektroskopie, Thermogravimetrie und Computerstudien sowie chemische Modifizierungen wie Oxidation, Reduktion, Ozonolyse und photochemischer Abbau angewendet.<sup>[46]</sup> Obwohl die Anwendung dieser Methoden das Bild über die komplexen makromolekularen Ligninstrukturen verschärft hat, können die heutigen Erkenntnisse noch keine absolute Sicherheit über den genauen Aufbau von Lignin garantieren, zumal die Strukturen von Holzart zu Holzart mehr oder weniger stark variieren.<sup>[45]</sup> Aus diesen Erkenntnissen lässt sich immerhin schließen, dass Ligninmoleküle aus drei Grundbausteinen, *p*-Coumarylalkohol (**26**), Coniferylalkohol (**27**) und Sinapylalkohol (**28**), die über verschiedene Ether- und Biphenylbindungen miteinander verknüpft sind, aufgebaut sein müssen (Abbildung 2.6).<sup>[47]</sup> Während Lignine aus Weichhölzern zu etwa 90% aus Coniferylalkohol-Einheiten bestehen und Quervernetzungen aufweisen, liegen Hartholz lignine als lineare Molekülketten mit etwa gleichen Teilen von Coniferylalkohol- und Sinapylalkohol-Einheiten vor.<sup>[48]</sup>

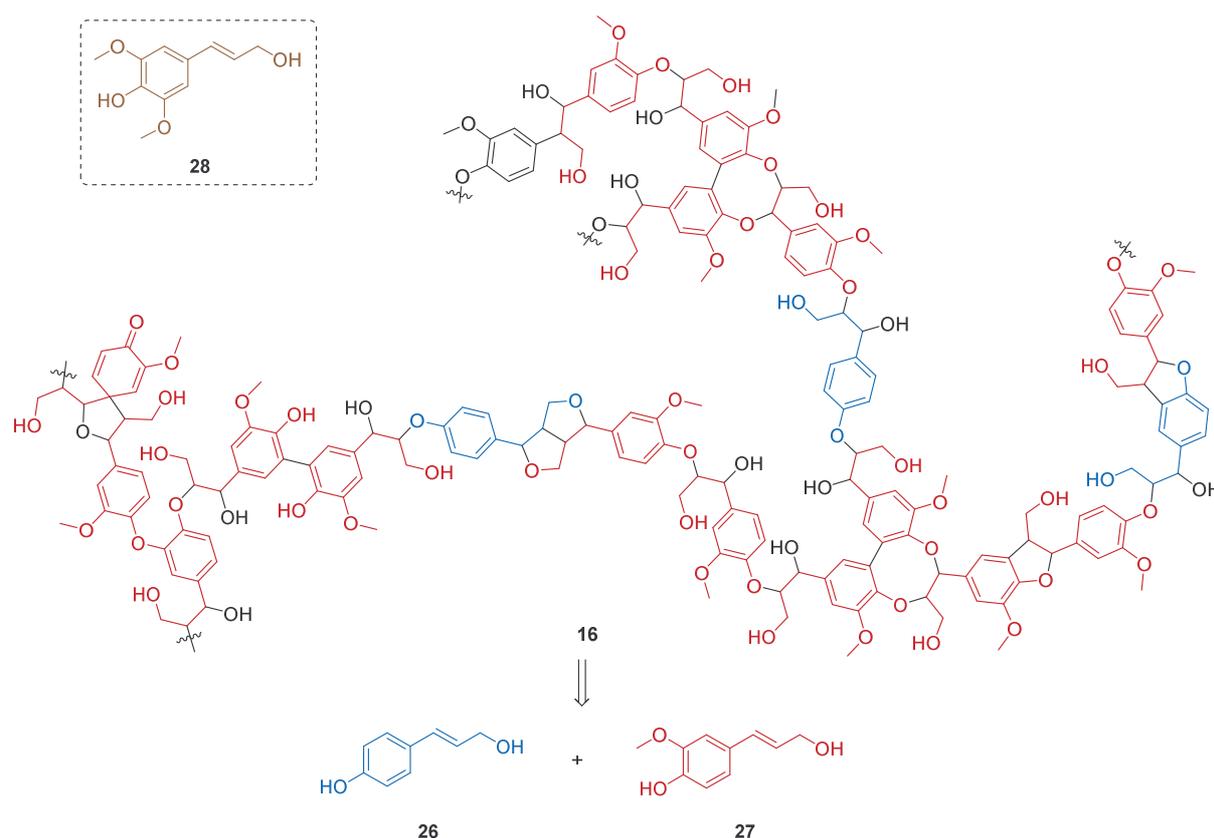
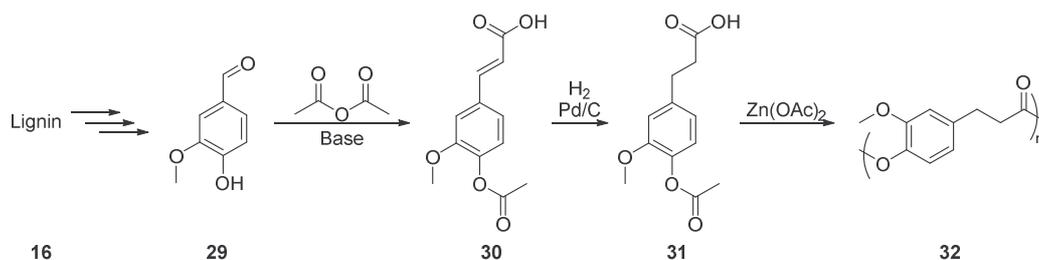


Abbildung 2.6: Mutmaßliche schematische Darstellung eines vernetzten Ligninstrukturabschnitts **16** aus Weichhölzern mit den Grundkörpern *p*-Coumarylalkohol (**26**) und Coniferylalkohol (**27**). Sinapylalkohol (**28**) kommt zusammen mit Coniferylalkohol (**27**) in linearen Hartholz-Ligninen vor.<sup>[45]</sup>

Anders als bei pflanzlichen Fetten und Proteinen sowie bei Stärke und Cellulose (**14**) ist wegen der aromatenreichen Struktur des Ligningerüsts ein direkter Zugang zu aromatischen Molekülbausteinen denkbar.<sup>[21]</sup> Durch Vorbehandlung mit chemischen oder physikalischen Methoden wird die Lignocellulose aufgeschlossen. Dabei wird eine Auftrennung in die Komponenten Lignin **16**, Cellulose (**14**) und Hemicellulose (**15**) angestrebt.<sup>[49]</sup> Bei der Weiterverarbeitung von Lignin **16** liegt die Herausforderung darin, das komplexe Netzwerk aus C-O- und C-C-Bindungen möglichst gezielt und effektiv aufzubrechen, um einfache aromatische Strukturen zu erhalten und dabei den Massenverlust durch Vergasung und Teerbildung minimal zu halten.<sup>[50]</sup> Typischerweise werden hierzu thermochemische und pyrolytische Verfahren<sup>[51]</sup> sowie die Verwendung homogener und heterogener Katalysatoren<sup>[52]</sup> untersucht. Größtenteils entstehen hierbei allerdings Mischungen mit vielen verschiedenen niedermolekularen Komponenten, wie beispielsweise mehrfachsubstituierte Phenol- und Toluol-Derivate, die zur Verarbeitung weiteren Aufbereitungsschritten unterzogen werden müssen.<sup>[53]</sup> Für ein besseres Verständnis über die Vorgänge beim gezielten Abbau der hochkomplexen Ligninstrukturen kommen teils auch niedermolekulare Modellverbindungen mit nachempfundenen Strukturmotiven zum Einsatz.<sup>[54,45]</sup>

Ein konkretes Beispiel für ein Lignin-basiertes Biopolymer ist die Polydihydroferulasäure (**32**) (Schema 2.5).<sup>[55]</sup>



Schema 2.5: Synthese von Polydihydroferulasäure (**32**) aus Lignin-basiertem Vanillin (**29**).<sup>[55]</sup>

Bei der Papierherstellung fällt Vanillin (**29**) zu Anteilen von 5-8% während der Ligninextraktion aus Holz als Nebenprodukt an.<sup>[56]</sup> Dieses wird über eine *Perkin*-Reaktion mit Essigsäureanhydrid und gleichzeitiger Acetylierung der Hydroxyfunktion zu Acetylferulasäure (**30**) verarbeitet. Mittels Hydrierung wird der Monomerbaustein **31** erhalten, welcher zu Polydihydroferulasäure (**32**) kondensiert wird. Dieser Polyester war der erste Kunststoff mit PET-vergleichbaren Materialeigenschaften, der erfolgreich aus nachwachsenden Rohstoffen synthetisiert und patentiert wurde.<sup>[57]</sup>

Diese Reaktionssequenz stellt zwar einen interessanten Zugang zu nachhaltigen Kunststoffen dar, sie nutzt das Potential der umfassend vorhandenen Ligninmasse allerdings kaum aus. Wünschenswert und bisher nicht realisiert sind dahingegen solche Prozesse, in denen das Ligningerüst zu einer strukturell definierten, funktionalisierten aromatischen Verbindung abgebaut wird, um diese anschließend zu einem Polymer zu verarbeiten.

Allein diese nur kleine Auswahl an Beispielen unterstreicht die vielfältigen Ansatzmöglichkeiten bei der Entwicklung von (neuartigen) Polymeren auf der Basis nachwachsender Rohstoffe sowie bei der Optimierung der Syntheseprozesse.

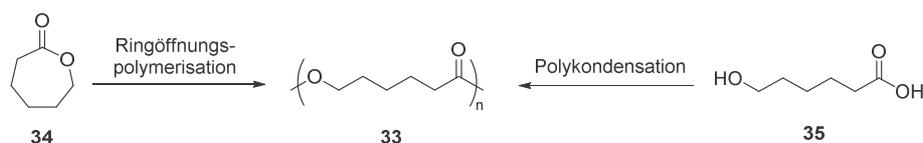
### 2.1.3 Poly- $\epsilon$ -Caprolacton – ein zukunftsweisender Kunststoff

Poly- $\epsilon$ -Caprolacton (PCL) (**33**) ist eines der Kunststoffe, auf die wegen seiner vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten eine zunehmende Aufmerksamkeit gerichtet wird. Je nach Länge der Polymerketten, die aus Hexanoateinheiten aufgebaut sind, variieren die physikalischen und mechanischen Eigenschaften dieser semikristallinen Thermoplaste. Abhängig von der Kettenlänge liegen die Glas temperatur bei  $T_g = -65$  bis  $-60$  °C und die Schmelztemperatur bei  $T_m = +56$  bis  $+65$  °C vergleichsweise niedrig.<sup>[58]</sup>

Neben der eher seltenen Eigenschaft der guten Mischbarkeit mit vielen anderen Polymeren<sup>[59]</sup> ist besonders die Bioabbaubarkeit eine attraktive Charakteristik von PCL (**33**), weshalb es medizinisch als Implantat für die Konstruktion von Gewebematerial<sup>[60]</sup> und für die Langzeitwirkstoffabgabe<sup>[61]</sup> verwendet werden kann. Darüber hinaus findet es Einsatz als Verpackungsmaterial<sup>[62]</sup> und in der Mikroelektronik.<sup>[63]</sup> In 2006 war das belgische Unternehmen *Solvay* mit einem Umsatz von 60 Millionen € in der Produktion des Monomerbausteins  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) und seinen Polymerisationsprodukten weltweiter Marktführer.<sup>[64]</sup> Nach der Übernahme der Produktionsstätte in Warrington, UK, von der schwedischen *Perstorp*- Holding in 2008

wurde die Produktionskapazität bis 2010 zunächst verdoppelt.<sup>[65]</sup> Ein nicht anhaltender, ansteigender Bedarf an PCL-Kunststoffen äußert sich in einer weiteren, geplanten Vergrößerung der Anlage bis 2019.<sup>[66]</sup> Mit der erweiterten Verfügbarkeit von PCL-Kunststoffen geht ein expandierender Verwendungsbereich einher: Die Polymere kommen als Trägermaterial für Schuhe, als Beschichtungsmaterial in der Automobil-, Schifffahrts- und Luftfahrt-Industrie sowie als Komponente in Heißschmelzklebern zur Anwendung.<sup>[65]</sup>

Die chemische Produktion von PCL (**33**) ist gut etabliert und beruht hauptsächlich auf zwei unterschiedlichen Routen (Schema 2.6).

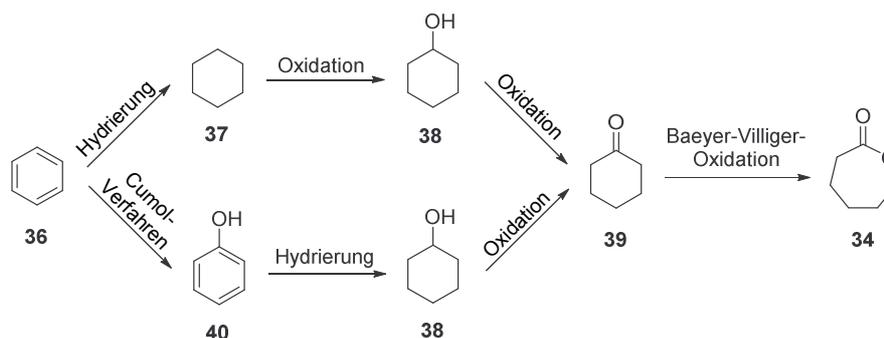


Schema 2.6: Synthesemöglichkeiten von Poly-ε-Caprolacton (**33**) ausgehend von den Monomerbausteinen ε-Caprolacton (**34**) oder 6-Hydroxyhexansäure (**35**).

Zum einen kann der Monomerbaustein ε-Caprolacton (**34**) über Ringöffnungspolymerisation zu PCL (**33**) verarbeitet werden. Dabei sind sowohl anionische als auch kationische Varianten sowie Polymerisation über aktivierte-Monomer-Mechanismen und über Koordinations-Insertions-Mechanismen erfolgreich erforscht.<sup>[58]</sup> Für den Start der Kettenreaktionen wurden für alle vier Varianten die verschiedensten Initiatoren bzw. Katalysatoren erprobt, angefangen von Organometallverbindungen und Metallkomplexe über rein organische Verbindungen bis hin zu Enzymen.<sup>[58]</sup> Das Molekulargewicht der Polymere lässt sich über die Wahl der Reaktionsbedingungen gezielt einstellen.

Zum anderen führt auch die Polykondensation von 6-Hydroxyhexansäure (**35**) zu PCL (**33**). Jedoch wurden mit dieser Methode unabhängig von den Reaktionsbedingungen und der Wahl des (Bio-)Katalysators in der Regel nur niedrigere Molekulargewichte und höhere Polydispersitäten im Vergleich zu den Polymeren aus der Ringöffnungspolymerisation erreicht, was für die meisten Anwendungsbereiche dieses Kunststoffes unerwünscht ist.<sup>[58]</sup>

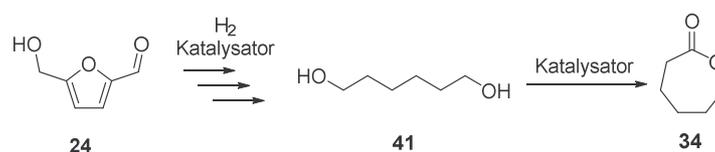
Der industriell produzierte Monomerbaustein ε-Caprolacton (**34**) ist petrochemischen Ursprungs (Schema 2.7). Der Schlüsselbaustein für die Herstellung von ε-Caprolacton (**34**) ist Cyclohexanon (**39**), welches über zwei Syntheserouten aus Benzol (**36**) zugänglich ist. Eine der Routen führt über die Hydrierung des unsubstituierten Aromaten **36** zu Cyclohexan (**37**) und anschließender doppelter Oxidation über Cyclohexanol (**38**) zu Cyclohexanon (**39**).<sup>[67]</sup> Alternativ kann das Keton **39** durch Hydrierung von Phenol (**40**), welches als Teilprodukt bei dem Cumolverfahren ausgehend von Benzol (**36**) anfällt, gewonnen werden.<sup>[67]</sup>



Schema 2.7: Petrochemische Syntheseroute zur Darstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) ausgehend von Benzol (**36**) über zwei Wege.

Zur Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) wird seine Vorstufe Cyclohexanon (**39**) mit Peressigsäure behandelt,<sup>[68]</sup> wodurch über eine *Baeyer-Villiger*-Oxidation<sup>[69]</sup> ein Sauerstoff in  $\alpha$ -Position zur Carbonylgruppe in den Sechsering insertiert.<sup>[70]</sup> Als alternative Sauerstoffdonoren können auch andere Persäuren, wie Perbenzoesäure<sup>[71]</sup> und *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA)<sup>[72]</sup> sowie aus Aldehyden und molekularem Sauerstoff *in situ* erzeugte Persäuren dienen.<sup>[73]</sup> Die Oxidation des Ketons **39** kann darüber hinaus auch mit Metall- oder organokatalytisch aktiviertem Sauerstoff erfolgen.<sup>[74]</sup>

In Anbetracht des steigenden Bedarfs von PCL-Kunststoffen und unter Berücksichtigung des anzustrebenden Rohstoffwandels gewinnen alternative  $\epsilon$ -Caprolacton-Syntheserouten, die unabhängig(er) von fossilen Rohstoffen sind, Aufmerksamkeit in der chemischen Forschung. Beispielsweise stellen *Buntara et al.* eine Syntheseroute für  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) ausgehend von der nachhaltigen Plattformchemikalie 5-HMF (**24**) vor (Schema 2.8).<sup>[75]</sup>



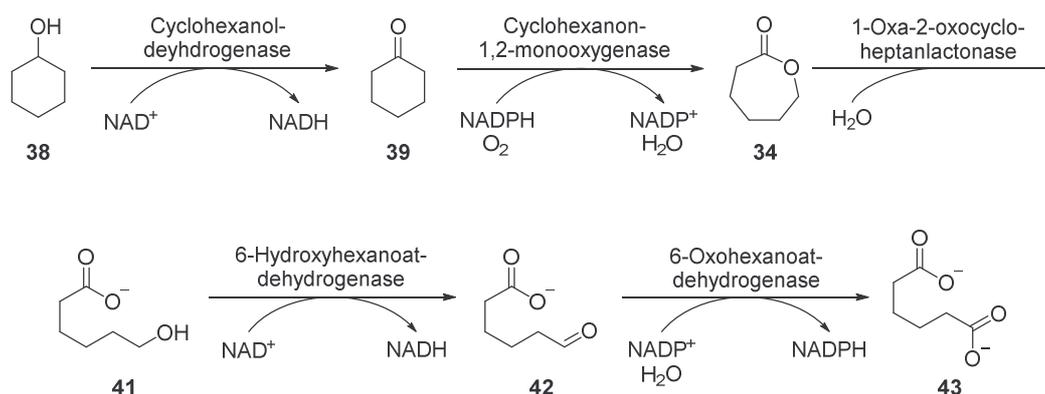
Schema 2.8: Nachhaltige Syntheseroute zur Darstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) ausgehend von 5-HMF (**24**).<sup>[75]</sup>

Eine direkte Hydrierung der Ausgangsverbindung **24** zum gewünschten Intermediat Hexan-1,6-diol (**41**) gelang unter verschiedenen Reaktionsbedingungen nur mit Ausbeuten von weniger als 4%. Daher wurde eine stufenweise Hydrierung über mehrere Zwischenprodukte unter Verwendung von *Raney*-Nickel und Rh-Re/SiO<sub>2</sub> bei teils anspruchsvollen Reaktionsbedingungen (80-180 °C, 80-90 bar H<sub>2</sub>, 4,5-20 h) erprobt, bei der das Diol **41** mit 86% Selektivität gebildet wird. Durch anschließende *Oppenauer*-Oxidation des Diols **41** mit einem Rutheniumkomplex als Katalysator und mit Methylisobutylketon als zusätzlich benötigtes „Opferketon“ konnte  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) mit einer Ausbeute von >99% synthetisiert werden. Abgesehen von der erfolgreich gestalteten Synthesesequenz des Zielbausteins **34** auf Basis von nachwachsenden

Rohstoffen macht die notwendige Verwendung der verschiedenen Katalysatorsysteme in mehreren Teilschritten diese alternative Route industriell wenig attraktiv.

Entsprechend attraktiver könnte eine Synthesesequenz ohne den Bedarf mehrerer Katalysatoren auf Basis von teuren (Halb-)Edelmetallen wie Rhodium, Rhenium und Ruthenium sein. Dies lenkt die Aufmerksamkeit auf die Verwendung von Biokatalysatoren, die in den vergangenen Jahren nicht nur in der naturwissenschaftlichen Forschung, sondern auch in der Industrie als elegante Alternative zu herkömmlichen Chemokatalysatoren rasant an Bedeutung gewannen.<sup>[76]</sup> Neben der Reduktion von Kosten für teure (Metall-)Katalysatoren bringt die Biokatalyse weitere Vorteile wie hohe Chemo-, Regio- und Stereoselektivitäten<sup>[77]</sup> sowie verkürzte Synthesesequenzen durch Eintopfsynthesen und verringerte Abfallproduktion mit sich.<sup>[78]</sup>

Auch für die Produktion von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) liegt die Verwendung von Biokatalysatoren nahe. Dazu genügt ein Blick in die Natur, denn in biologischen Systemen besteht der Metabolismus von Cyclohexanol (**38**) und Cyclohexanon (**39**) aus einer Kaskade von (Oxidations-)Reaktionen, die auch über die Lacton-Zwischenstufe verläuft. Hierbei untersuchten *Donoghue et al.* den Metabolismus von Cyclohexanol (**38**) beispielhaft am Bakterienstamm *Acinetobacter* NCIB 9871 (Schema 2.9).<sup>[79]</sup>



Schema 2.9: Enzymatischer Metabolismus von Cyclohexanol (**38**) zu Adipat (**43**) über mehrere Intermediate in Zellen des Bakterienstamms *Acinetobacter* NCIB 9871.<sup>[79]</sup>

Der erste Schritt der Metabolisierungskaskade besteht aus der Oxidation des eingesetzten Alkohols **38** zu Cyclohexanon (**39**) mit einer Alkoholdehydrogenase (ADH). Das Keton **39** wird mit einer Monooxygenase unter der Verwendung von Sauerstoff in  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) überführt, welches anschließend mit Wasser durch eine Lactonase zu 6-Hydroxyhexanoat (**41**) hydrolysiert wird. Über zwei weitere Oxidationen an der Alkoholfunktion mit einer ADH und einer Aldehyddehydrogenase wird als Endprodukt Adipat (**43**) erhalten, welches von *Acinetobacter* NCIB 9871 nicht weiter metabolisiert wird. Als Redox-Äquivalente dienen die Cofaktoren Nicotinamidadenindinukleotid (NAD) und Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADP) sowohl in der oxidierten Form (NAD<sup>+</sup> bzw. NADP<sup>+</sup>) als auch in der reduzierten Form (NADPH).

Besonders der Syntheseschritt der enzymatischen Oxidation von (ringförmigen) Ketonen zu Lactonen bzw. Estern unter Einsatz von Monooxygenasen regte seitdem

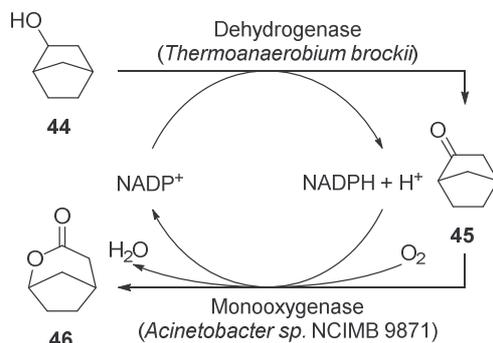
viele Forschergruppen an, die chemische *Baeyer-Villiger*-Oxidation durch ihr biokatalytisches Analogon zu ersetzen.<sup>[73,80,81]</sup>

Beim Blick auf die ersten beiden Reaktionsschritte des Metabolismus (Schema 2.9) fällt auf, dass sich diese Sequenz für die Produktion von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) eignen sollte, denn genau diese Kaskade Cyclohexanol (**38**) – Cyclohexanon (**39**) –  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) ist auch Teil des bestehenden petrochemischen Syntheseprozesses (Schema 2.7). Eine Integration der enzymatischen Synthesesequenz in die Gesamtroute der  $\epsilon$ -Caprolacton-Produktion weist in die Richtung einer nachhaltigen Chemie. Die Herausforderung dabei ist, die einzelnen Syntheseschritte effizient zu kombinieren, um mit dem bestehenden Reaktionsprozess konkurrieren zu können. Bei der Erarbeitung eines optimierten, maßgeschneiderten Gesamtprozesses ist es sinnvoll, zunächst einen Blick auf die einzelnen Teilschritte zu werfen.

Bei dem Bestreben, die beiden enzymatischen Reaktionen von Cyclohexanol (**38**) über Cyclohexanon (**39**) zu  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) in eine großtechnisch anwendbare Syntheseroute zur  $\epsilon$ -Caprolactonproduktion einzubetten, ist es zunächst lohnenswert, bei der Optimierung dieser Sequenz zu starten. Sowohl die Oxidation von Cyclohexanol (**38**) mit einer ADH als auch die Oxidation von Cyclohexanon (**39**) mit einer *Baeyer-Villiger*-Monooxygenase (BVMO) benötigen stöchiometrische Mengen der Cofaktoren NAD(P)<sup>+</sup> bzw. NAD(P)H. Aufgrund der hohen Preise für diese unverzichtbaren Redoxäquivalente ist ein Prozess unter der Verwendung stöchiometrischer Mengen ganz und gar unrentabel und somit ausgeschlossen. Es wurden unterschiedliche Methoden entwickelt, die für eine biokatalytische Synthese notwendigen Cofaktoren zu regenerieren. Dies kann beispielsweise mit einer zweiten Enzymreaktion erfolgen, die den verbrauchten Cofaktor wieder in seine für die eigentliche Reaktion benötigte aktive Form überführt.<sup>[80]</sup> Im Fall der Dehydrogenase-Monooxygenase-Sequenz wird für die erste Reaktion ein Cofaktor in seiner oxidierten Form (NAD(P)<sup>+</sup>) und für die zweite Reaktion das Analogon in seiner reduzierten Form (NAD(P)H) benötigt. Dies haben sich bereits Anfang der 90er Jahre *Willets et al.* zu Nutze gemacht, um ein elegantes Cofaktorregenerierungssystem zu entwickeln (Schema 2.10).<sup>[82,83]</sup>

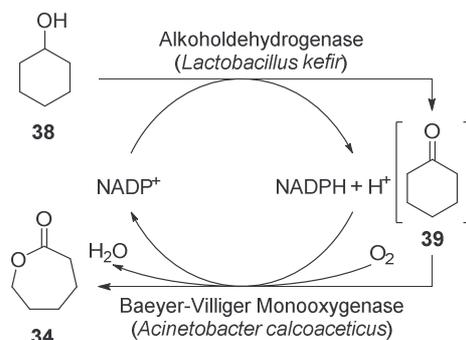
Der Alkohol Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (**44**) wird zunächst mit einer Dehydrogenase aus *Thermoanaerobium brockii* in das bicyclische Keton **45** überführt. Bei dieser Reaktion wird der Cofaktor NADP<sup>+</sup> aus seiner oxidierten Form in die reduzierte Form NADPH überführt. Anschließend reagiert das Keton **45** katalysiert durch eine Monooxygenase aus *Acinetobacter sp.* NCIMB 9871 unter Verbrauch von Sauerstoff zu Lacton **46**. Hierbei wird das in der ersten Enzymreaktion verbrauchte NADP<sup>+</sup> aus der reduzierten Form zurückgebildet. Für die Cofaktorregenerierung genügt hier also allein das Enzymsystem Dehydrogenase und Monooxygenase im Zusammenspiel mit den Reaktionen des Substrats **44** zum Intermediat **45** und zum Produkt **46**. Wichtig ist hierbei, dass die benötigten Cofaktoren in beiden Reaktionen komplementär sind, d.h. entweder

wird eine Kombination aus  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  oder aber aus  $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$  verwendet, was in diesem Falle zutrifft.



Schema 2.10: Enzymatische Doppeloxidationskaskade des bicyclischen Alkohols **44** über das Keton **45** zum Lacton **46** mit einem selbst-regenerierenden Cofaktor-System.<sup>[82,83]</sup>

Im Rahmen des Gemeinschaftsprojekts „Biotechnologische Herstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton“ der Universitäten Greifswald, Hamburg-Harburg, Rostock, Dortmund, Bielefeld und der *Enzymicals* AG (Greifswald), gefördert durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU), AZ 13268, wurde diese Doppeloxidationskaskade für die Entwicklung eines nachhaltigen Prozesses zur Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) zum Vorbild genommen. Durch die Kombination einer ADH aus *Lactobacillus kefir* und einer BVMO aus *Acinetobacter calcoaceticus* gelang analog zu der Sequenz von *Willetts* eine zweistufige Eintopf-Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) aus Cyclohexanol (**38**) über Cyclohexanon (**39**) (Schema 2.11).<sup>[84,85]</sup>



Schema 2.11: Enzymatische Doppeloxidationskaskade von Cyclohexanol (**38**) über Cyclohexanon (**39**) zu  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) mit einem selbst-regenerierenden Cofaktor-System.<sup>[84]</sup>

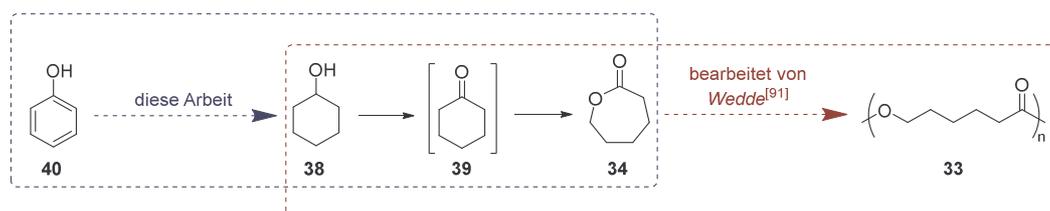
Der im Zuge des ersten Oxidationsprozesses vom Alkohol **38** zum Keton **39** verbrauchte Cofaktor  $\text{NADP}^+$  wird im zweiten Oxidationsprozess vom Keton **39** zum Lacton **34** regeneriert, weshalb auch in diesem System eine katalytische Menge von teurem  $\text{NADP}^+$  ausreichend ist. Nachdem mit dieser Reaktionssequenz ein neuer Grundstein für die biokatalytische Produktion von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) gelegt war, führten erste Prozessoptimierungen der Doppeloxidationskaskade zu Umsätzen von 99% und zu Produktivitäten von maximal 6.45 g/L des gewünschten Ketons **34**.<sup>[84]</sup> Aufgrund einer Inhibierung der BVMO sowohl durch das Substrat **38** und durch das Intermediat **39** als

auch besonders durch das Produkt **34** selbst führte eine Konzentration des Alkohols **38** von mehr als 60 mM und damit vergleichsweise hohen Intermediat- und Produktkonzentrationen zu einer drastischen Verringerung des Umsatzes. Auch eine partielle Deaktivierung der BVMO durch erhöhte Produktkonzentrationen konnte festgestellt werden. Diese Limitierungen stellen eine Herausforderung für die Optimierung des alternativen Syntheseprozesses zur Darstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) dar.

## 2.2 Motivation und Zielsetzung

Die Überwindung der Limitierungen bei der alternativen, Enzym-katalysierten  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese (vgl. Schema 2.11) wurde im Rahmen des oben genannten DBU-Gemeinschaftsprojekts von den Mitarbeitern der Arbeitsgruppen von *Bornscheuer* (Greifswald), *Gröger* (Bielefeld), *Schmid* (Dortmund), *Liese* (Hamburg-Harburg), *Kragl* (Rostock) und *Menyes* (*Enzymicals* AG) übergreifend in verschiedenen Ansätzen mit unterschiedlichen Teilaspekten, wie Proteinengineering<sup>[86]</sup>, Syntheseentwicklung<sup>[87–89]</sup>, Reaktions- und Bioverfahrenstechnik<sup>[90]</sup>, Aufarbeitung/Produktisolierung und Upscaling<sup>[91]</sup>, adressiert.

Weitere Fragestellungen innerhalb des DBU-Projekts bezogen sich auf die Erweiterung der biokatalytischen Eintopf-Synthesesequenz Cyclohexanol (**38**) – Cyclohexanon (**39**) –  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) sowohl in Richtung der Folgechemie als auch in Richtung der Vorstufen (Schema 2.12). Ersteres mündete in Untersuchungen zu einer  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese kombiniert mit einer unmittelbar anschließenden, enzymkatalysierten Polymerisation zu PCL (**33**). Diese Fragestellung wurde unter anderem von *Wedde* erarbeitet.<sup>[92]</sup>

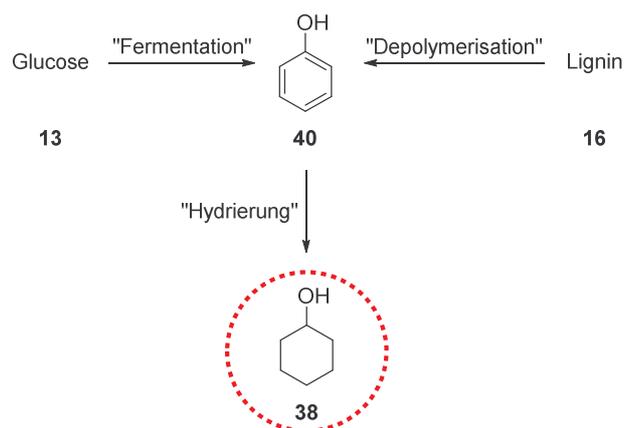


Schema 2.12: Erweiterung der biokatalytischen Cyclohexanol- $\epsilon$ -Caprolacton-Synthesesequenz um die Lipasen-katalysierte Polymerisation zu PCL (**33**) (bearbeitet im Rahmen des DBU-Projekts von *Wedde*<sup>[92]</sup>) und Rück-Integration der Sequenz durch vorangestellte Phenol-Hydrierung (diese Arbeit).

Die Rück-Integration des Prozesses durch eine vorangestellte Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) und die Einbettung dieser Reaktion in die  $\epsilon$ -Caprolacton-Syntheseroute sind Teil dieser Arbeit und werden im Folgenden genauer beleuchtet.

Um die Anwendung der enzymatischen Doppeloxydationskaskade zur Darstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) (Schema 2.11) hinsichtlich der Nachhaltigkeit noch attraktiver zu

gestalten, ist es wünschenswert, die Gesamtsynthese alternativ zu dem bestehenden Petrochemie-basierten Prozess (Schema 2.7) mit einer Plattformchemikalie aus einer nachwachsenden Rohstoffquelle zu beginnen. Diese Fragestellung zielt also darauf hinaus, eine nachhaltige, möglichst effiziente Syntheseroute zur Darstellung von Cyclohexanol (**38**) zu finden. Die in Kapitel 2.1.2 erwähnten nachhaltigen Rohstoffquellen offenbaren auf den ersten Blick zwar keinen direkten Zugang zum gewünschten Alkohol **38**, jedoch sind in der Literatur hierfür zwei unterschiedliche Konzepte zu finden, die beide über die Zwischenstufe Phenol (**40**) führen (Schema 2.13).



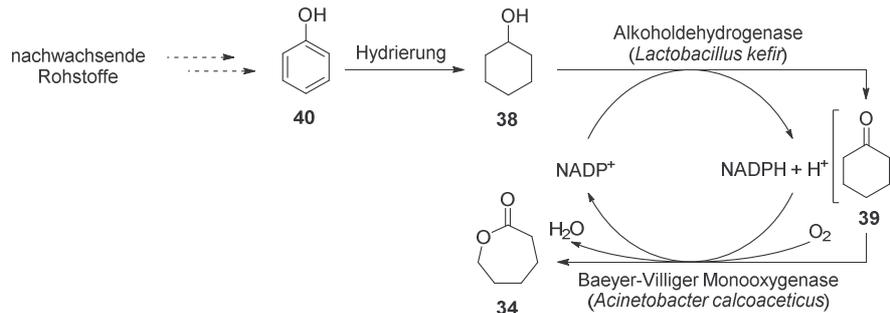
Schema 2.13: Zwei verschiedene Konzepte zur Gewinnung von Cyclohexanol (**38**) ausgehend von den verschiedenen nachhaltigen Rohstoff-Bausteinen Glucose (**13**) und Lignin **16** über die Zwischenstufe Phenol (**40**).

In einem fermentativen Verfahren kann beispielsweise Glucose (**13**) als nachhaltiger Monomerbaustein aus Stärke oder Cellulose (**14**) in Phenol (**40**) überführt werden<sup>[93,94]</sup>, sodass das Zielmolekül **38** durch Hydrierung der aromatischen Zwischenstufe **40**<sup>[67]</sup> erhalten werden kann.

Der molekulare Aufbau von Lignin **16** mit seinem Netzwerk aus aromatischen Untereinheiten legt ebenfalls einen Zugang zu Cyclohexanol (**38**) über sein aromatisches Pendant Phenol (**40**) nahe. Bei diesem Konzept liegt die Schwierigkeit darin, das komplexe Molekülnetzwerk selektiv abzubauen, um einen möglichst hohen Umsatz zu Phenol (**40**) mit möglichst wenigen Nebenprodukten zu erhalten. Als gängige Methode ist hierzu die thermische Ligninpyrolyse bei unterschiedlichen Temperaturen zwischen 180 °C und 1000 °C sowie mit verschiedenen Reaktionszeiten zwischen 5 s und 6 h in der Literatur präsent.<sup>[95,96]</sup> *Zuo et al.* erhielten beispielsweise durch die Copyrolyse von Klärschlamm und Pappelsägemehl eine Mischung aus einer Vielzahl von aromatischen und aliphatischen Verbindungen, unter denen Phenol (**40**) allerdings lediglich zu 1.0-3.5% vertreten war.<sup>[97]</sup> Einen deutlich höheren Phenol-Anteil konnten *Bu et al.* durch Mikrowellenpyrolyse von Douglasienholz mit einem Katalysator aus aktiviertem Kohlenstoff erzielen. Unter verschiedenen Reaktionsbedingungen schwankte der Umsatz zu Phenol (**40**) immerhin zwischen 13 und 39%.<sup>[98]</sup> Auch wenn das auf diesem Wege gebildete Phenol (**40**) vor der Weiterverarbeitung aus den Reaktionsmischungen mit mehr

als 30 unterschiedlichen Komponenten<sup>[97,98]</sup> isoliert werden muss, ist die Möglichkeit zur Phenolgewinnung durch Ligninzerlegung somit grundsätzlich aufgezeigt.

Beide dargelegten Konzepte zur Gewinnung von Cyclohexanol (**38**) aus nachwachsenden Rohstoffen, sowohl die Fermentation von Glucose (**13**) als auch die Depolymerisation von Lignin **16**, beinhalten Phenol (**40**) als wichtiges Intermediat. Dies macht eine genauere Betrachtung der Rückintegration der enzymatischen  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese ausgehend von Phenol (**40**) lohnenswert (Schema 2.14).



Schema 2.14: Synthesepfad zur Rückintegration der Cyclohexanol-Doppeloxydationskaskade durch Phenolhydrierung.

Das Ziel dieser Arbeit besteht in der Kombination einer möglichst optimierten Phenolhydrierung mit der bereits etablierten Doppeloxydationskaskade zur Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**). Hierzu muss zunächst ein geeigneter Hydrierkatalysator gefunden werden, mit dem Phenol (**40**) im Idealfall selektiv und quantitativ in Cyclohexanol (**38**) überführt wird. Weiterhin muss geprüft werden, inwiefern die Hydrierung mit der darauffolgenden doppelten Biotransformation kompatibel ist.

## 2.3 Ergebnisse und Diskussion

### 2.3.1 Hydrierung von Phenol

Um eine möglichst effiziente Erweiterung der enzymatischen  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese durch vorangestellte Phenolhydrierung zu erreichen, ist es erstrebenswert, eine zu den Reaktionsbedingungen der Doppeloxydationskaskade kompatible Hydriermethode zu finden. Eine Kombination der Phenolhydrierung mit der doppelten Biotransformation in einer Eintopfsynthese ist aufgrund der Notwendigkeit von sowohl Wasserstoff für die Hydrierung als auch von Sauerstoff für die *Baeyer-Villiger*-Oxidation (vgl. Schema 2.14) in diesem Prozess direkt auszuschließen, um eine Bildung von Knallgas zu vermeiden. Daher ist ein zweistufiger Prozess aus aufeinanderfolgender Hydrierung und Doppeloxydation obligatorisch. Jedoch könnte dieser Zweistufenprozess hinsichtlich des Aufwands mit einer möglichst simplen Aufarbeitung und Reinigung der Reaktionsmischung nach der Hydrierung optimiert werden. Hierzu ist zu prüfen,

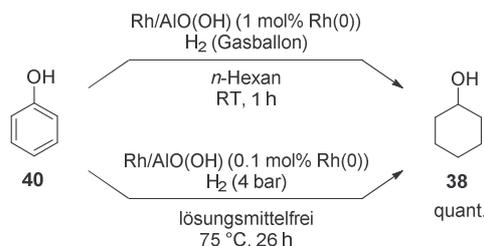
inwiefern das aus der Hydrierung gewonnene Cyclohexanol (**38**) ohne Reinigung mit dem darauffolgenden Prozess der Biotransformation kompatibel ist.

Für einen im Idealfall direkten Einsatz der Reaktionsmischung aus der Phenolhydrierung erscheint ein Prozess mit einem heterogenen Katalysator im wässrigen Milieu optimal, da die anschließende enzymatische  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese in Puffermedium verläuft. In diesem Fall könnte der Katalysator nach der Hydrierung durch einfaches Filtrieren entfernt und die filtrierte, wässrige Reaktionsmischung möglicherweise direkt in dem enzymatischen Prozess eingesetzt werden. Aus der Vielzahl der literaturbekannten Hydriermethoden von aromatischen Systemen<sup>[99]</sup> lässt sich die Suche in Anbetracht dieser Kriterien deutlich einschränken.

Für die selektive Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) mit einem heterogenen Katalysator in wässrigem Reaktionsmedium finden sich verschiedene Syntheseprotokolle mit *Raney*-Nickel<sup>[100,101]</sup> oder mit Hydrierkatalysatoren aus Nickel<sup>[102,103]</sup>, Ruthenium<sup>[104–106]</sup>, Palladium<sup>[107]</sup>, Platin<sup>[108]</sup> oder Rhodium<sup>[109,110,111]</sup>. Eine Hydrierung mit *Raney*-Nickel ist aus atomökonomischen Gründen für die Rückintegration der enzymatischen Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) nicht favorisiert, da das Reagenz stöchiometrisch zum Einsatz kommt und nach der Reaktion nicht zurückgewonnen wird.<sup>[100,101]</sup> Die in der Literatur verwendeten Katalysatoren aus elementarem Nickel benötigen für selektive und hohe Umsätze von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) weitere Zusätze wie Titanitrid<sup>[102]</sup> oder Zeolithe<sup>[103]</sup>. Die Rutheniumkatalysatoren werden entweder in Form von in Polymeren eingebetteten Ru-Nanopartikeln<sup>[104,105]</sup> oder in Form eines Ru-Liganden-Komplexes<sup>[106]</sup> eingesetzt. Die Pd-Nanopartikel benötigen ein Trägermaterial aus Kohle, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> oder SiO<sub>2</sub> sowie die *Lewis*-Säure AlCl<sub>3</sub> für hohe Cyclohexanolausbeuten.<sup>[107]</sup> Der Platinkatalysator liegt in Form von Nanodrähten vor, die vor dem Einsatz durch saure Ätzung erzeugt werden müssen.<sup>[108]</sup> Im Gegensatz dazu liegt der Vorteil bei der Hydrierung mit Rh-Nanopartikeln, welche in Aluminiumoxidhydroxid-Nanofasern eingebettet sind (Rh/AlO(OH)), in ihrer simplen Verwendung des kommerziell erhältlichen Katalysators.<sup>[110]</sup> Auch die in mesoporöses Kieselgel eingebetteten Rh-Nanopartikel (Rh-SBA-15) liefern gute Cyclohexanolausbeuten in einer vergleichsweise einfachen Synthesevorschrift.<sup>[109]</sup> Daher wurden in dieser Arbeit die Syntheseprotokolle mit Rh-Nanopartikeln als Grundlage für die zu erarbeitende Reaktionssequenz verwendet.

*Park et al.* führten Hydrierungen von verschiedenen aromatischen Verbindungen unter der Verwendung des heterogenen Katalysators Rh/AlO(OH) durch und erhielten unter zwei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen jeweils einen vollständigen Umsatz von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) (Schema 2.15).<sup>[110]</sup> In beiden Fällen gelang die selektive Hydrierung unter vergleichsweise milden Reaktionsbedingungen. Im Lösungsmittel *n*-Hexan wurde bereits nach 1 h bei Raumtemperatur und lediglich in einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre mit Ballonreservoir ein quantitativer Umsatz zu Cyclohexanol (**38**) erreicht. Durch Prozessoptimierung konnte die Katalysatormenge von 1% auf 0.1% Rh(0)

gesenkt werden. Dabei wurde allerdings auf ein Lösungsmittel verzichtet, die Reaktionstemperatur auf 75 °C erhöht und die Reaktionszeit auf 26 h verlängert, um mit einem Druck von 4 bar H<sub>2</sub> ebenfalls zu 100% Cyclohexanol (**38**) zu erhalten. Weiterhin zeigten Wiederholungsexperimente zum Recycling des Katalysators über fünf bis zehn Zyklen keinerlei Verringerung des Umsatzes bei der Hydrierung, die in diesem Fall allerdings nicht mit Phenol (**40**), sondern mit Anisol durchgeführt wurde.



Schema 2.15: Forschungsergebnisse von *Park et al.* zur Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) mit Rh/AIO(OH) unter verschiedenen Reaktionsbedingungen.<sup>[110]</sup>

Auch wenn in diesem Beispiel mit einem nichtwässrigen Reaktionssystem gearbeitet wird, so erscheint die Methode aufgrund ihrer milden Reaktionsbedingungen und der kommerziellen Verfügbarkeit des Katalysators dennoch attraktiv für eine Integration in die nachhaltige  $\epsilon$ -Caprolacton-Syntheseroute. Darüber hinaus ließe sich ein derart niedrig siedendes Lösungsmittel wie *n*-Hexan (69 °C)<sup>[112]</sup> mit wenig Aufwand destillativ vom weit höher siedenden Cyclohexanol (**38**) (160 °C)<sup>[113]</sup> trennen, um den Rückstand sowie auch den Lösungsmittel-freien Reaktionsansatz für die darauffolgende enzymatische Reaktion in einem wässrigen System aufzunehmen.

Die von *Park et al.* beschriebene Hydrierung von Phenol (**40**) mit dem Katalysator Rh/AIO(OH) wurde in einem Tischreaktor von *Büchi* (Abbildung 2.7) nachgestellt.



Abbildung 2.7: Foto des verwendeten 100 mL-Tischreaktors von *Büchi* zur Durchführung von Reaktionen mit einem Druck von bis zu 10 bar. Zur Veranschaulichung des Versuchsaufbaus wurde ein mit Luft gefüllter Ballon auf den Zulauf des leeren Reaktors gesetzt.

Dieser Reaktor besteht aus einem dickwandigen 100 mL-Glasgefäß, welches über eine Gummidichtung mit einem Stahldeckel verschraubt werden kann. Somit lässt sich über den Teflonzulauf in dem Reaktor ein Druck von bis zu 10 bar erzeugen. Durch Eintauchen des mit einem Schutzkorb aus Metalldrähten ummantelten Glasgefäßes in ein Ölbad kann die Reaktionsmischung erhitzt werden. Ebenso ist ein Rühren der Reaktionsmischung mit einem Magnetrührer möglich.

Analog zu der Literaturvorschrift wurde die Hydrierung von Phenol (**40**) zunächst im Lösungsmittel *n*-Hexan durchgeführt (Abbildung 2.8 links).

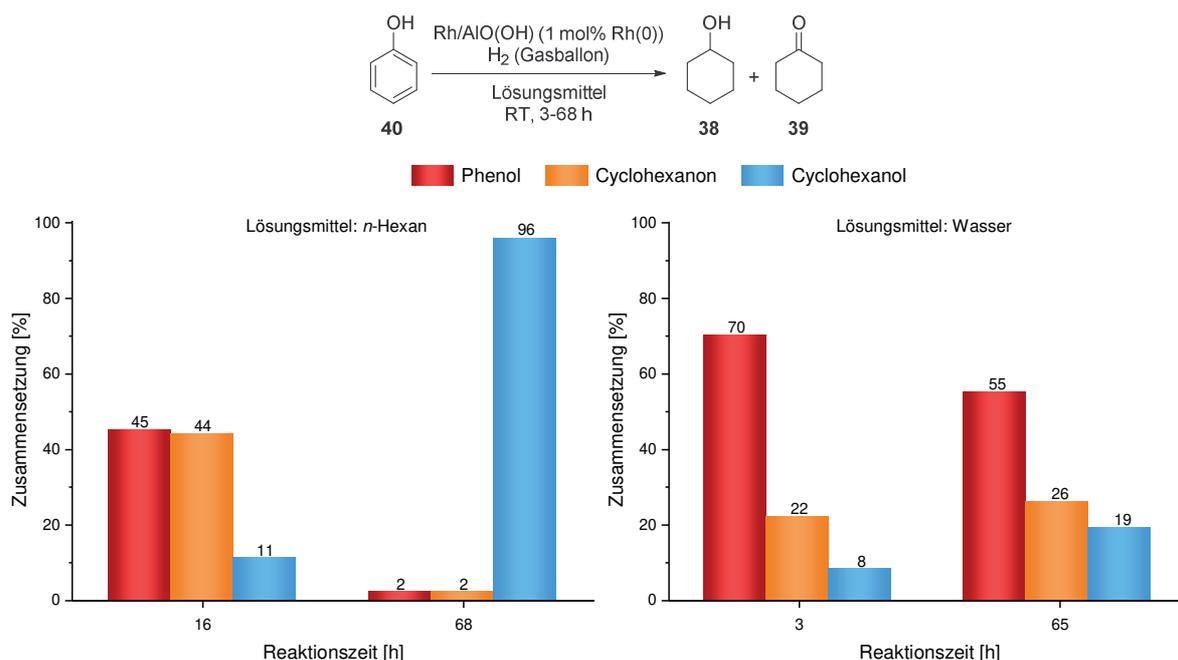


Abbildung 2.8: Per <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol (**40**) mit dem Katalysator Rh/AlO(OH) nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei atmosphärischem H<sub>2</sub>-Druck in den Lösungsmitteln *n*-Hexan (links) bzw. Wasser (rechts).

Die auch von *Park et al.* angewandten Reaktionsbedingungen (1 mol% Rh(0), Raumtemperatur und Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck mit Ballon als Gasreservoir) führten allerdings zu abweichenden Versuchsergebnissen: Während laut Literatur bereits nach einstündiger Reaktionszeit ein vollständiger Umsatz zu Cyclohexanol (**38**) erreicht wurde,<sup>[110]</sup> enthielt die Reaktionsmischung nach 16 h nur 11% des gewünschten Alkohols **38**. Zusätzlich dazu lagen die Zwischenstufe Cyclohexanon (**39**) und nicht umgesetztes Phenol (**40**) mit 44% bzw. 45% des Ansatzes in beträchtlichen Mengen vor. Durch Verlängerung der Reaktionszeit auf 68 h wurde das gewünschte Cyclohexanol (**38**) zu 96% gebildet. Der Aromat **40** wurde nahezu vollständig verbraucht (2% Restgehalt) und auch das Intermediat Cyclohexanon (**39**) lag nach der knapp dreitägigen Reaktionszeit ebenfalls nur noch zu 2% vor. Da ein wässriges Reaktionssystem eine direkte Integration der Hydrierung in den Gesamtprozess der  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese erleichtern sollte, wurde in den anschließenden Versuchen das Lösungsmittel ausgetauscht und die Hydrierung in Wasser durchgeführt (Abbildung 2.8

rechts). Dies hatte eine Verschlechterung der Versuchsergebnisse zur Folge. Während nach einer Reaktionszeit von 3 h zwar 8% Cyclohexanol (**38**) gebildet wurden, erhöhte sich der Umsatz nach fast vierfacher Reaktionszeit (65 h) auf immer noch sehr geringe 19%. Der Anteil des Intermediats Cyclohexanon (**39**) blieb bei der Verlängerung der Reaktionszeit von 3 h auf 65 h mit 22% bzw. 26% relativ konstant. Von dem Edukt **40** blieb auch nach solch einer langen Reaktionszeit dementsprechend viel erhalten (55%).

Die Zusammensetzung der Reaktionsmischungen ließ sich mittels  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie leicht ermitteln. Das Spektrum aus dem wässrigen Hydrieransatz mit einer Reaktionszeit von 65 h, welches nach extraktiver Aufarbeitung von dem Rückstand aufgenommen wurde, zeigt beispielhaft die Signalverteilung einer Mischung aus Phenol (**40**), Cyclohexanon (**39**) und Cyclohexanol (**38**) (Abbildung 2.9).

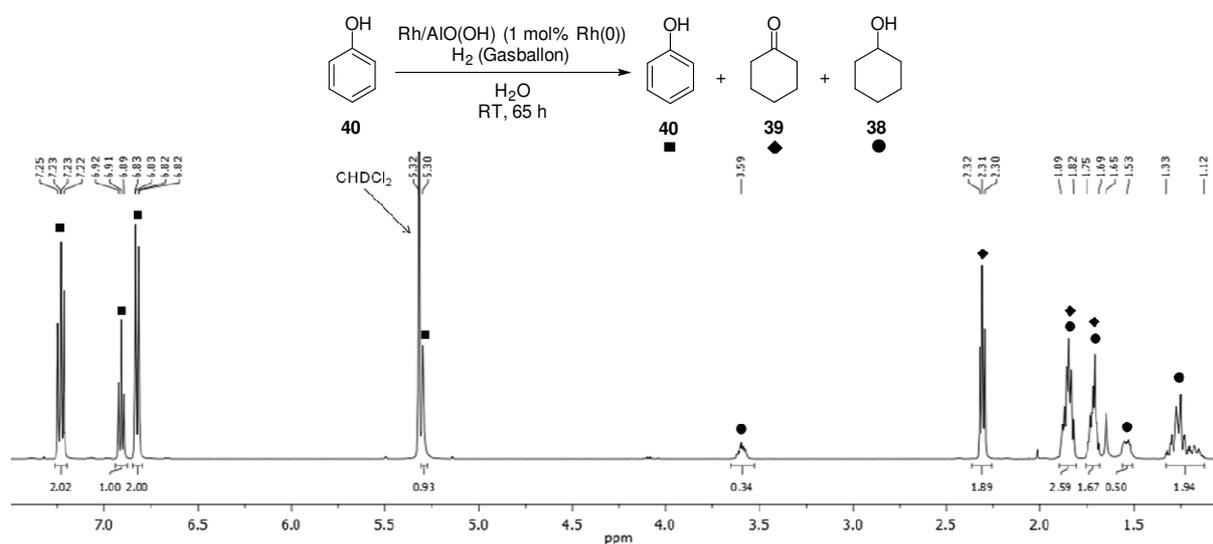


Abbildung 2.9: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rückstands aus der wässrigen Phenolhydrierung nach einer Reaktionszeit von 65 h in  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  mit Zuordnung der durch Phenol (**40**), Cyclohexanon (**39**) und Cyclohexanol (**38**) erzeugten Signale.

Die Signale der aromatischen Phenolprotonen lassen sich eindeutig bei Verschiebungen von 7.24, 6.91 und 6.83 ppm identifizieren und zeigen ein für monosubstituierte Aromaten typisches Signalmuster.<sup>[114]</sup> Das Proton der OH-Funktionalität resoniert bei 5.30 ppm. Während die  $\alpha$ -Protonen von Cyclohexanon (**39**) ein eindeutiges Triplet bei 2.31 ppm erzeugen,<sup>[115]</sup> überlagern die Signale der restlichen Cyclohexanonprotonen mit den Signalen von äquatorialen Cyclohexanolprotonen bei Verschiebungen zwischen 1.89 und 1.82 ppm sowie zwischen 1.75 und 1.69 ppm. Das  $\alpha$ -Proton von Cyclohexanol (**38**) resoniert bei 3.60 ppm<sup>[116]</sup> und das Signal des äquatorialen  $\omega$ -Protons findet sich bei 1.53 ppm wieder. Die axialen Protonen erzeugen überlagerte Signalsätze im Bereich von 1.33 bis 1.12 ppm. Die Ermittlung der Zusammensetzung der Reaktionsmischungen erfolgte anhand der Integralverhältnisse der Signale vom *para*-ständigen Phenolproton bei 6.91 ppm, vom  $\alpha$ -Proton in Cyclohexanol (**38**) bei 3.60 ppm und von den  $\alpha$ -Protonen in Cyclohexanon (**39**) bei 2.31 ppm unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Protonenanzahl je Signal.

Neben den vergleichsweise geringen Umsätzen zu Cyclohexanol (**38**) fiel eine rosafarbene Verfärbung der wässrigen Reaktionsmischungen auf, welche nach der längeren Reaktionszeit deutlich intensiver war. Diese Verfärbung, die in den Reaktionsansätzen mit *n*-Hexan nicht auftrat, könnte auf eine Nebenreaktion oder ein Leaching des Katalysators hindeuten. Möglicherweise wurden die nicht kovalent gebundenen Rh-Partikel besonders während der langen Reaktionszeit durch das Wasser aus den Aluminiumoxidhydroxid-Nanofasern gespült, was wiederum den Umsatz beeinflusst haben könnte.

Sollte das Wasser als Lösungsmittel in dem Hydrierprozess mit Rh/AlO(OH) der Grund für ein mögliches Katalysatorleaching sein, so könnte die von *Park et al.* vorgestellte lösungsmittelfreie Hydriermethode (Schema 2.15) eine interessante Alternative zu dem wässrigen Reaktionsprozess darstellen. Die Lösungsmittel-freie Hydrierung von Phenol (**40**) wurde unter literaturähnlichen Reaktionsbedingungen<sup>[110]</sup> durchgeführt (Abbildung 2.10). So wurde eine Katalysatormenge verwendet, die einem Anteil von 0.1 mol% Rh(0) entspricht. Die Reaktion wurde erneut in dem Tischautoklav durchgeführt, somit ließ sich die Reaktionsmischung in einem Ölbad auf 75 °C erwärmen. Vorversuche mit leerem Glasreaktor zeigten, dass der Autoklav lediglich einen Druck von 3 bar H<sub>2</sub> ohne nennenswerten Druckverlust über einen Zeitraum von 24 h aufrecht erhalten konnte. Ein H<sub>2</sub>-Druck von 4 bar war dahingegen nicht haltbar und sank innerhalb von 8 h auf 3 bar ab. Daher wurde abweichend von der Literaturvorschrift mit einem Druck von 3 bar H<sub>2</sub> gearbeitet.

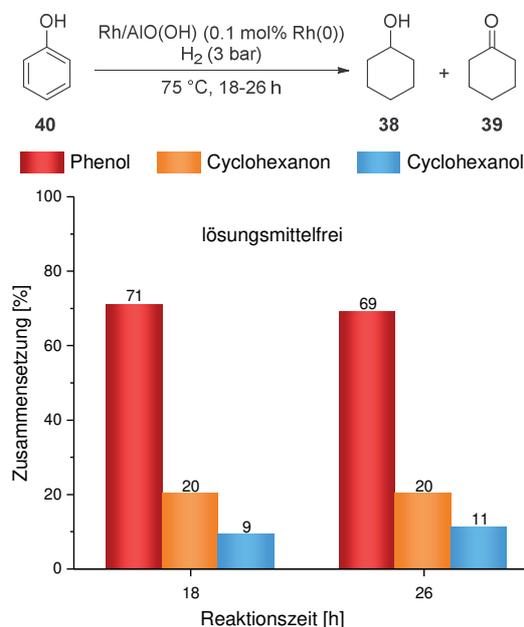


Abbildung 2.10: Per <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der lösungsmittelfreien Hydrierung von Phenol (**40**) mit dem Katalysator Rh/AlO(OH) nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei 75 °C und mit 3 bar H<sub>2</sub>.

Nach einer Reaktionszeit von 18 h wurde lediglich ein geringer Umsatz von 29% des Phenols (**40**) erzielt, wobei 20% Cyclohexanon (**39**) und nur 9% Cyclohexanol (**38**) gebildet wurden. Durch Verlängerung der Reaktionszeit auf 26 h veränderte sich dieses

Bild kaum: Der Anteil des Intermediates **39** blieb bei 20% und der Anteil von Cyclohexanol (**38**) stieg minimal um 2% auf 11% an.

In beiden Ansätzen trat anders als bei den wässrigen Hydrierexperimenten keine Verfärbung der Reaktionsmischung auf. Im Gegensatz zu den guten Literaturergebnissen<sup>[110]</sup> ist eine Prozessoptimierung der Hydrierung von Phenol (**40**) mit dem heterogenen Katalysator Rh/AlO(OH) hinsichtlich möglichst kurzer Reaktionszeiten und hoher selektiver Ausbeuten jedoch wenig aussichtsreich. Daher wurde noch eine alternative Hydriermethode mit einem anderen Katalysator in Betracht gezogen. Auch die Tatsache, dass die wässrigen Ansätze neben der Verfärbung der Reaktionsmischung sowie die lösungsmittelfreien Ansätze auch nach langer Reaktionszeit noch stärkere Umsatzeinbußen verglichen mit der Literatur erlitten, bestärkt die Suche nach einer alternativen, geeigneteren Hydriermethode für die Erweiterung der  $\epsilon$ -Caprolacton-Synthesesequenz.

*Bhoralı et al.* publizierten ebenfalls eine Hydriermethode mit Rh-Nanopartikeln, welche allerdings in diesem Fall in mesoporöses Kieselgel (SBA-15) eingebettet sind.<sup>[109]</sup> SBA-15 besteht aus einem Kieselgelnetzwerk mit röhrenförmigen, hexagonal lamellar angeordneten Hohlräumen (Abbildung 2.11).<sup>[117]</sup>

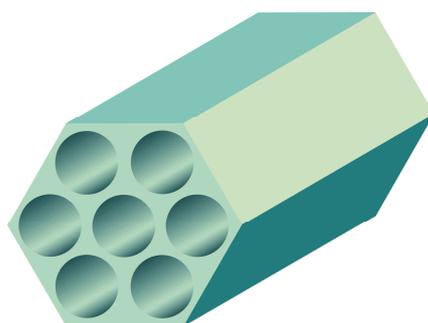
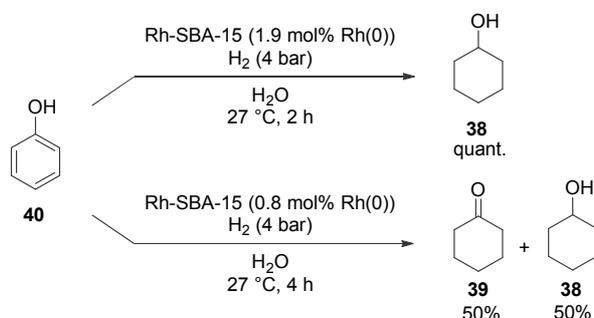


Abbildung 2.11: Schematische Darstellung eines Ausschnitts aus dem mesoporösen Kieselgelnetzwerk SBA-15.<sup>[118]</sup>

In Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen des Herstellungsprozesses werden die Hohlräume in SBA-15 mit Porengrößen zwischen 46 und 100 Å und Porenvolumina von 0.56 bis 1.26 cm<sup>3</sup>/g charakterisiert.<sup>[119]</sup>

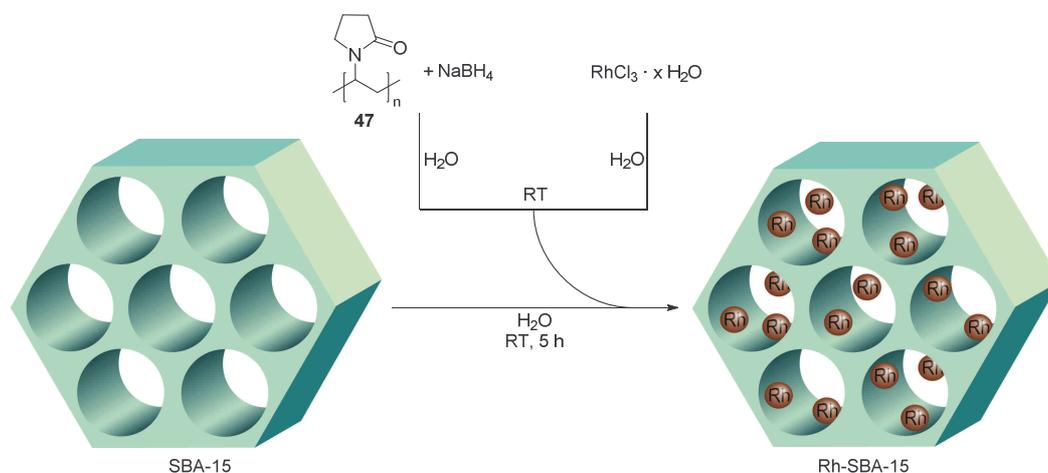
Die Hohlräume des mesoporösen SBA-15 nutzen *Bhoralı et al.* zur Einlagerung von Rh-Nanopartikeln.<sup>[109]</sup> Diesen heterogenen Katalysator verwendeten sie zur Hydrierung von aromatischen und ungesättigten Verbindungen in einer Schüttelhydrierapparatur. Die Hydrierung von Phenol (**40**) erfolgte im Wässrigen bei einer Temperatur von 27 °C und einem Wasserstoffdruck von 4 bar (Schema 2.16). Mit einer Katalysatormenge, die 1.9 mol% Rh(0) entspricht, und einer Reaktionszeit von 2 h wurde der Aromat **40** vollständig zu Cyclohexanol (**38**) hydriert. Nach Reduzierung der Katalysatormenge auf 2/5 und Verdoppelung der Reaktionszeit auf 4 h wurde ebenfalls ein vollständiger Verbrauch des Edukts detektiert, jedoch setzte sich die Reaktionsmischung in diesem Fall zu gleichen Teilen aus Cyclohexanol (**38**) und dem intermediär gebildeten

Cyclohexanon (**39**) zusammen. Wie auch im Fall des Rh/AlO(OH)-Katalysators berichten die Autoren hier über eine Wiederverwendbarkeit des Katalysators Rh-SBA-15 von mindestens fünf Zyklen ohne Umsatzeinbußen. Diese Ergebnisse stellen eine ermutigende Basis für die Integration des Hydrierverfahrens mit Rh-SBA-15 in den biokatalytischen Prozess zur Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) dar.



Schema 2.16: Forschungsergebnisse von *Bhorali et al.* zur Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) mit Rh-SBA-15 unter verschiedenen Reaktionsbedingungen.<sup>[109]</sup>

Die Synthese des Katalysators Rh-SBA-15 erfolgte analog der Literaturvorschrift von *Bhorali et al.* (Schema 2.17).<sup>[109]</sup> Zunächst wurden die Rh-Nanopartikel durch Reduktion von Rhodium(III)-Ionen mit Natriumborhydrid erzeugt, indem eine wässrige Lösung des Reduktionsmittels und Polyvinylpyrrolidon (**47**) unter starkem Rühren schnell zu einer wässrigen, tiefroten RhCl<sub>3</sub>-Lösung gegeben wurde. Das Vereinen der beiden Lösungen bewirkte ein starkes Aufschäumen der Reaktionsmischung und die Rh(0)-Partikel fielen als schwarzer Feststoff aus. Durch die Anwesenheit der Polymers **47**, welches als Schutzmittel fungiert, wurde das Wachstum der sich bildenden Rhodiumpartikel begrenzt und ein Zusammenschluss der Partikel zu größeren Aggregaten verhindert.<sup>[120]</sup> Über die Größe der auf diese Weise gebildeten Rh-Nanopartikel trafen *Bhorali et al.* keine Aussage.<sup>[109]</sup>



Schema 2.17: Synthese von Rh-SBA-15 ausgehend von RhCl<sub>3</sub> · x H<sub>2</sub>O und SBA-15.<sup>[109]</sup> Die grafische Darstellung der SBA-15- und Rh-SBA-15-Ausschnitte ist als schematische, nicht maßstabsgetreue Zeichnung zu verstehen.

Die frisch erzeugte, kolloidale Rh-Suspension wurde anschließend mit einer wässrigen Lösung von SBA-15 verrührt, um die Nanopartikel an dem mesoporösen Kieselgel zu immobilisieren. Für die Synthese wurde kommerzielles SBA-15 verwendet. Sowohl das Spezifikationsdatenblatt<sup>[121]</sup> als auch das Sicherheitsdatenblatt<sup>[122]</sup> des Verkäufers geben keine Daten zu Porengröße und Porenvolumen des mesoporösen Kieselgels an. Der Katalysator Rh-SBA-15 wurde durch Filtration und Trocknen als graues, voluminöses Pulver mit einer Wiederfindung von 96 Gew.% isoliert. Unter der Annahme, dass die gesamte Menge Rhodium in das mesoporöse Kieselgel eingelagert wurde, hat der Katalysator somit eine Beladung von 4 Gew.% Rh(0). Hierzu gibt es allerdings keinerlei Anhaltspunkte. Die im Folgenden aufgeführten Mengenangaben für das Rh-SBA-15 sind daher als Maximalwerte zu verstehen, wodurch die Ergebnisse in Hinblick auf die katalytische Produktivität in der Realität womöglich noch etwas besser ausfallen.

Zur Nachstellung des Hydrierverfahrens von *Bhorali et al.* wurde zunächst ein Stahlreaktor von *Büchi* verwendet (Abbildung 2.12), da in dem zuvor eingesetzten Tischreaktor ein leichter Überdruck von lediglich 4 bar selbst über einen relativ kurzen Zeitraum von 8 h nicht konstant gehalten werden konnte.



Abbildung 2.12: Foto des verwendeten 285 mL-Stahlreaktors von *Büchi* zur Durchführung von Reaktionen mit einem Druck von bis zu 200 bar.

Der Reaktor besteht aus einem Stahlgefäß mit 100 bzw. 285 mL Fassungsvermögen. Über den fest verschraubten Stahldeckel ist der Reaktor mit einer Gaszuleitung und -ableitung verbunden, die separat voneinander geöffnet und geschlossen werden können. Weiterhin führen eine elektronisch gesteuerte Rührwelle und ein Temperaturfühler vom Deckel in das Innere des Reaktors. Je nach benötigtem Überdruck können unterschiedlich skalierte Manometer (0 bis 100, 200 oder 400 bar) an dem Reaktordeckel befestigt werden. Während der Reaktion ist der Reaktor von einem mit Wasser gefüllten Metallmantel umgeben, über den die Heizung bzw. Kühlung der Reaktionsmischung erfolgt (nicht auf

dem Foto zu sehen). Über eine elektronische Steuerung kann ein beliebiges Temperatur-Zeit-Programm eingestellt werden. Die gesamte Apparatur ist in einem für Hochdruckreaktionen ausgelegten Laboratorium mit Druckentlastungsklappe aufgebaut. Der Druckaufbau und -abbau kann von außerhalb des Laboratoriums mit Ventilen am Gasleitungssystem gesteuert werden. Über ein Fenster lässt sich der Versuchsaufbau während der Reaktion optisch verfolgen.

Die Hydrierung von Phenol (**40**) mit dem heterogenen Katalysator Rh-SBA-15 und mit Wasser als Lösungsmittel wurde unter verschiedenen Reaktionsbedingungen durchgeführt und die Reaktionsmischung per  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie auf ihre Zusammensetzung untersucht. Zunächst wurde bei einer Temperatur von 27 °C und einem  $\text{H}_2$ -Druck von 15 bar gearbeitet (Abbildung 2.13 links).

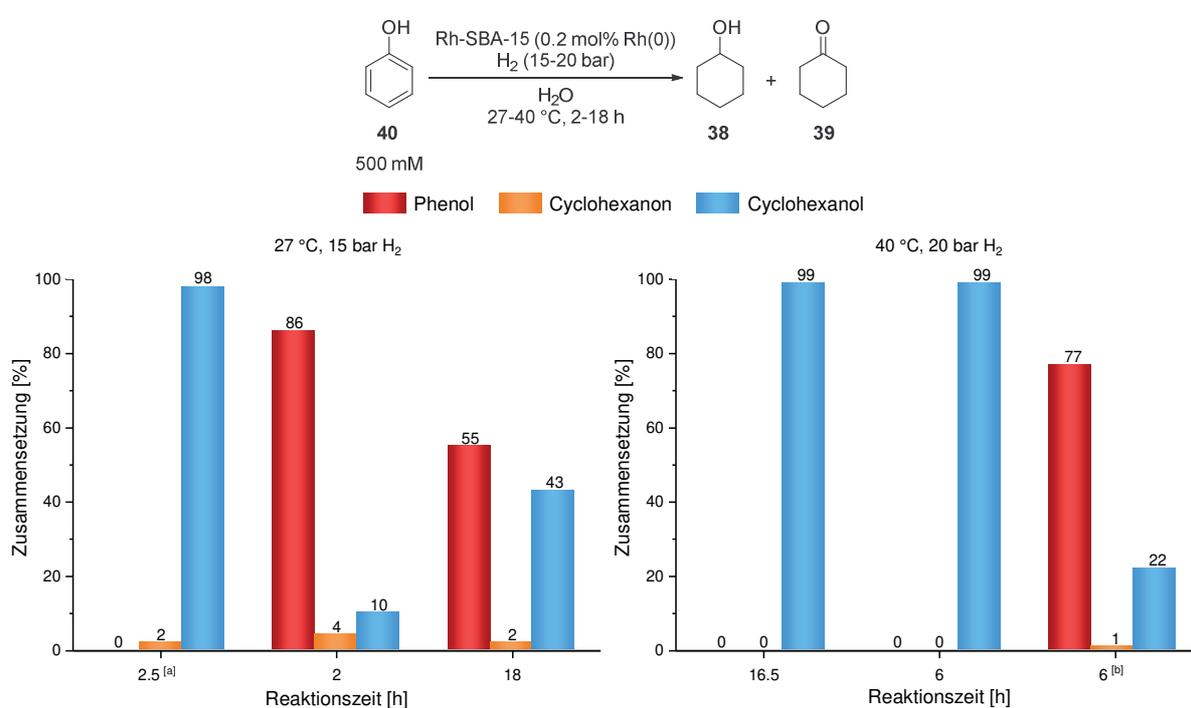


Abbildung 2.13: Per  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol (**40**) in Wasser mit dem Katalysator Rh(0)-SBA-15 nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei 27 °C und 15 bar  $\text{H}_2$  (links) bzw. bei 40 °C und 20 bar  $\text{H}_2$  (rechts). <sup>[a]</sup>: 67 mM Substratkonzentration, 1.9 mol% Rh(0)-SBA-15; <sup>[b]</sup>: Verwendung von einmalig recyceltem Rh(0)-SBA-15.

Bei einer Substratkonzentration von 67 mM und einer Katalysatormenge, die 1.9 mol% Rh(0) entspricht, war das eingesetzte Phenol (**40**) bereits nach 2.5 h fast vollständig zu Cyclohexanol (**38**) hydriert. Lediglich 2% der Reaktionsmischung lagen als intermediär gebildetes Cyclohexanon (**39**) vor. Aufgrund dieser positiven Befunde wurde in den nachfolgenden Experimenten die Substratkonzentration auf 500 mM erhöht und die Menge des Rh(0) um das Zehnfache auf 0.2 mol% verringert. Als Folge davon sank der Umsatz nach zweistündiger Reaktionszeit auf 10% Cyclohexanol (**38**). Der nicht hydrierte Aromat **40** wurde zu 86% zurückgewonnen und der Anteil des Intermediates **39** blieb bei 4% vergleichsweise gering. Durch eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 18 h ließ sich

der Cyclohexanolumsatz auf 43% steigern. Auch hier lagen nur 2% der Reaktionsmischung als Cyclohexanon (**39**) vor.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich durch eine weitere Verlängerung der Reaktionszeit möglicherweise noch höhere Ausbeuten von Cyclohexanol (**38**) erzielen ließen. Um die Reaktionszeit für einen optimierten Hydrierprozess dennoch möglichst kurz zu halten, wurden anstelle einer zeitlichen Verlängerung der Reaktion für eine weitere Optimierung der Synthese daraufhin die Reaktionstemperatur auf 40 °C und der H<sub>2</sub>-Druck auf 20 bar erhöht (Abbildung 2.13 rechts). Dies resultierte bei einer Reaktionszeit von 16.5 h in einem vollständigen Umsatz zu Cyclohexanol (**38**). Nach diesem ermutigenden Ergebnis wurde die Reaktionszeit auf 6 h gekürzt. Auch bei dieser vergleichsweise kurzen Reaktionszeit wurde das Phenol (**40**) vollständig zu dem gewünschten Alkohol **38** hydriert. Da auch *Bhorali et al.* mittels Recycling-Experimenten eine Wiederverwendbarkeit des Katalysators Rh-SBA-15 über mindestens fünf Zyklen gezeigt hatten,<sup>[109]</sup> wurde der Katalysator aus dem zuletzt beschriebenen Reaktionsansatz nach Filtration der Reaktionsmischung und Trocknen des Rückstands erneut in der Phenolhydrierung eingesetzt. Unter gleichen Reaktionsbedingungen (500 mM Substratkonzentration, 40 °C, 20 bar H<sub>2</sub>, 6 h Reaktionszeit) sank der Umsatz zu Cyclohexanol (**38**) auf 22%. Phenol (**40**) wurde zu 77% wiedergefunden und Cyclohexanon (**39**) war lediglich zu 1% vorhanden. Eindeutige Hinweise auf ein Leaching des Katalysators lagen nicht vor. Eine Verringerung der katalytischen Produktivität des recycelten Rh-SBA-15 durch Herausspülen eines Teils der nicht kovalent gebundenen Rh-Nanopartikel aus dem mesoporösen Kieselgel kann als mögliche Ursache nicht ausgeschlossen werden. Um eine konkrete Aussage über die Minderung des Umsatzes treffen zu können, ist eine genaue Analytik der physikochemischen Beschaffenheit des frischen, zuvor nicht verwendeten Rh-SBA-15 verglichen mit den Eigenschaften des recycelten Katalysators notwendig. Da der Fokus dieser Arbeit auf der grundsätzlichen Etablierung eines Hydrierverfahrens von Phenol (**40**) zur Einbindung in eine nachhaltige  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese lag, wurde von einer genaueren Betrachtung des Katalysatorleachings abgesehen.

Im Vergleich der Ergebnisse aus beiden oben beschriebenen Hydrierverfahren fällt auf, dass bei den Experimenten mit Rh-SBA-15 der Anteil von Cyclohexanon (**39**) mit Werten von 1-4% unabhängig von den Reaktionsbedingungen stets sehr gering ausfiel. Im Gegensatz dazu lag der Anteil des Ketons **39** bei der Verwendung von Rh/AlO(OH) mit Werten von 20-44% größtenteils deutlich höher. Dieser Befund könnte einen Hinweis dafür liefern, dass die Teilschritte des Hydrierprozesses Phenol (**40**)  $\rightarrow$  Cyclohexanon (**39**) bzw. Cyclohexanon (**39**)  $\rightarrow$  Cyclohexanol (**38**) bei beiden angewendeten Methoden unterschiedlich schnell ablaufen müssen. Die vergleichsweise hohe Ketonkonzentration bei dem Verfahren mit Rh/AlO(OH) deutet darauf hin, dass in diesem Fall die Reaktion Cyclohexanon (**39**)  $\rightarrow$  Cyclohexanol (**38**) langsamer ablaufen muss als bei dem Verfahren mit Rh-SBA-15, in dem das Intermediat **39** nach seiner

Bildung aus Phenol (**40**) demnach schneller zum Alkohol (**38**) weiterreagiert. Diese Diskrepanz lässt sich möglicherweise durch die unterschiedliche, chemische Umgebung der Rh-Nanopartikel (SBA-15 bzw.  $\text{AlO}(\text{OH})$ ) oder aber durch den unterschiedlich starken  $\text{H}_2$ -Druck (20 bar bzw. 1 und 3 bar) erklären.

Um diese These zu überprüfen, wurde die Hydrierung von Phenol (**40**) mit Rh-SBA-15 unter atmosphärischem  $\text{H}_2$ -Druck durchgeführt. Dazu wurde als Reaktionsgefäß ein Schlenkkolben mit aufgesetztem  $\text{H}_2$ -Ballon verwendet. Für die Entwicklung eines möglichst effizienten Prozesses wurden innerhalb dieser Versuchsreihe zusätzlich die Reaktionsparameter Substratkonzentration und Katalysatormenge variiert, während die Reaktionstemperatur auf  $75\text{ }^\circ\text{C}$  fixiert und die Reaktionszeit zwischen 17 und 24 h gehalten wurde (Abbildung 2.14).

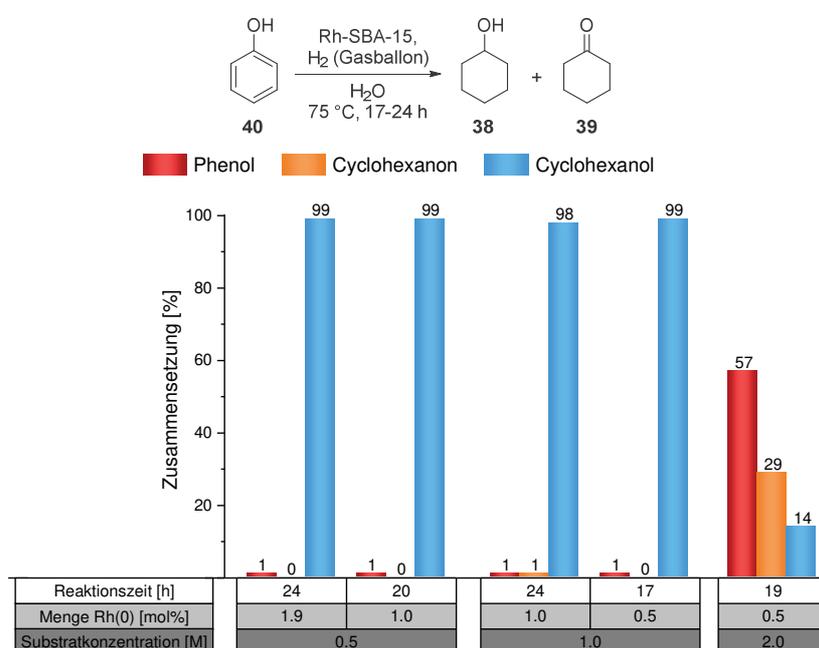


Abbildung 2.14: Per Gaschromatographie (GC) ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol (**40**) in Wasser mit unterschiedlichen Mengen des Katalysators Rh-SBA-15 nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei  $75\text{ }^\circ\text{C}$  und bei atmosphärischem  $\text{H}_2$ -Druck.

Trotz des lediglich atmosphärischen  $\text{H}_2$ -Drucks verlief die Hydrierung von Phenol (**40**) in beinahe allen Ansätzen selektiv zu Cyclohexanol (**38**). Bei einer Substratkonzentration von 0.5 M und einer Katalysatorbeladung von 1.9 mol% Rh(0) wurde nach einer Reaktionszeit von 24 h ein nahezu vollständiger Umsatz zum Alkohol **38** erreicht. Dieses Bild änderte sich auch bei einer Erhöhung der Phenolkonzentration um das Doppelte auf 1.0 M und bei einer Verringerung der Katalysatormenge auf 0.5 mol% Rh(0) nicht. In diesem Ansatz bestand die Reaktionsmischung selbst bei einer verkürzten Reaktionszeit von 17 h ebenfalls zu 99% aus Cyclohexanol (**38**). Erst bei einer weiteren Erhöhung der Substratkonzentration auf 2.0 M sank der Umsatz auf 14% Cyclohexanol (**38**), während 57% Phenol (**40**) zurückerhalten und 29% Cyclohexanon (**39**) gebildet wurden. In diesem Fall scheint jedoch nicht der geringe  $\text{H}_2$ -Druck dafür verantwortlich zu sein, dass ein höherer Anteil des Intermediates **39** gebildet wurde, sondern eher die vergleichsweise

hohe Phenolkonzentration. Dieser Befund bestärkt die Annahme, dass die Phenolhydrierung mit dem Katalysator Rh/AlO(OH) insgesamt anfälliger für die Bildung des Intermediates Cyclohexanon (**39**) ist als der Prozess mit dem Katalysator Rh-SBA-15.

Da auch die Ausarbeitung der Analytik zu einem möglichst einfach durchführbaren Prozess beitragen kann, wurde die Analyse der Reaktionsmischungen von der  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie auf die Gaschromatographie (GC) umgestellt. Dazu wurden mit den Reinverbindungen Kalibrierreihen erstellt. Anschließend wurde mit einer Mischung aus definierten Mengen Cyclohexanol (**38**), Cyclohexanon (**39**) und Phenol (**40**) die exakte Aufarbeitung der Reaktionsmischungen simuliert, um die Wiederfindungsrate zu bestimmen. Somit ließ sich ein proportionaler Bezug der Peakfläche in dem Chromatogramm zu der Konzentration der Substanz herstellen, was wiederum eine Aussage über die prozentuale Zusammensetzung der Reaktionsmischung ermöglichte. Das Gaschromatogramm der Reaktionsmischung mit einer Substratkonzentration von 2.0 M und einer Katalysatorbeladung von 0.5 mol% Rh(0) zeigt beispielhaft die Verteilung der Substanz-Peaks innerhalb der Temperatur- und Zeit-optimierten GC-Methode (Abbildung 2.15). Nach dem Lösungsmittel Ethylacetat bei einer Retentionszeit von 1.6 min wird zuerst Cyclohexanol (**38**) bei 3.2 min detektiert. Im Anschluss folgen Cyclohexanon (**39**) bei einer Retentionszeit von 3.6 min und Phenol (**40**) bei 4.2 min.

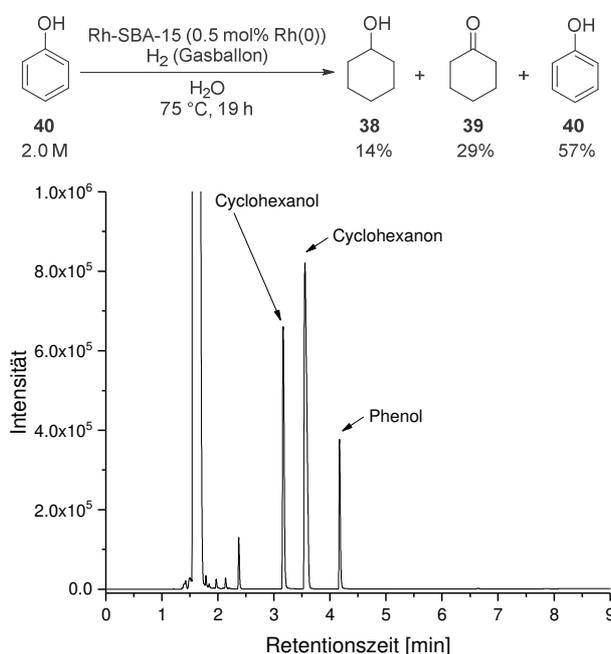


Abbildung 2.15: Gaschromatogramm der Reaktionsmischung aus der wässrigen Hydrierung von Phenol (**40**) mit 0.5 mol% Rh(0) aus Rh-SBA-15 bei atmosphärischem H<sub>2</sub>-Druck und 75 °C nach einer Reaktionszeit von 19 h.

Wie zuvor bei den Hydrieransätzen im Stahlautoklav wurden unter den optimierten Reaktionsbedingungen für die Hydrierung bei atmosphärischem H<sub>2</sub>-Druck Experimente zum Recycling des Katalysators Rh-SBA-15 durchgeführt (Abbildung 2.16).

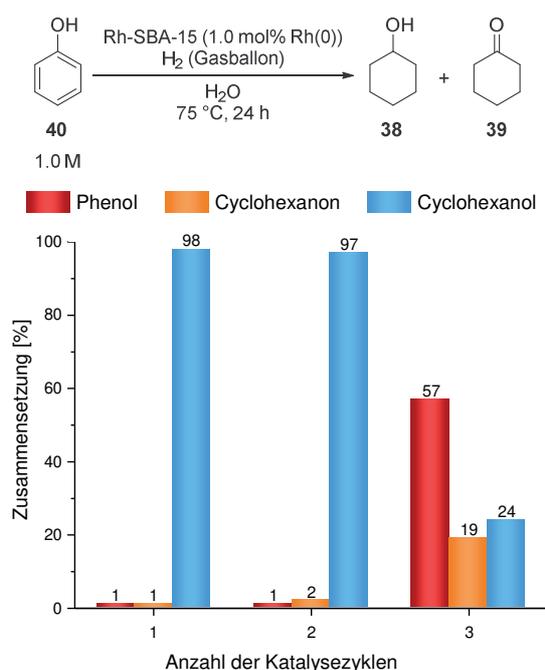


Abbildung 2.16: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol (**40**) in Wasser mit unbenutztem sowie einmalig und zweifach recyceltem Katalysator Rh-SBA-15 nach 24 h bei  $75\text{ }^\circ\text{C}$  und bei atmosphärischem  $H_2$ -Druck.

Nach der ersten Phenolhydrierung mit unbenutztem Rh-SBA-15 wurde der Katalysator durch Filtration und Trocknung recycelt und erneut in einer Hydrierung eingesetzt. Dabei sank der Cyclohexanolumsatz gemäß Literatur von 98% auf 97% kaum. Nach erneutem Recycling des Katalysators änderte sich dieses Bild allerdings drastisch. Unter gleichen Reaktionsbedingungen (1.0 M Substratkonzentration, 1.0 mol% Katalysatorbeladung,  $75\text{ }^\circ\text{C}$  Reaktionstemperatur und 24 h Reaktionszeit) fiel der Umsatz zu Cyclohexanol (**38**) auf 24% ab. Ein analoges Ergebnis wurde auch bei dem Recyclingexperiment im Stahlreaktor erhalten, wobei der Umsatz in diesem Fall bereits bei der ersten Wiederverwendung einbrach. Aus diesem Vergleich lässt sich lediglich mutmaßen, dass der Katalysator bei höheren Drücken (20 bar) einen schnelleren Aktivitätsverlust erleidet, beispielsweise durch das Herausspülen der Rh-Partikel aus dem mesoporösen Kieselgel. Ein weiteres Screening der Reaktionsparameter bei der heterogenkatalysierten Hydrierung von Phenol (**40**) würde möglicherweise eine konkretere Aussage über diesen Effekt liefern können. Da die Kombination der Phenolhydrierung mit dem biokatalytischen Oxidationsprozess zur nachhaltigen Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) im Fokus dieser Arbeit stand, wurde jedoch auf eine weitere Optimierung der Hydrierung verzichtet.

### 2.3.2 Kombination der Phenol-Hydrierung mit der Doppeloxidationskaskade

Nach der Optimierung der heterogenkatalysierten Hydrierung von Phenol (**40**) wurde die Kombinierbarkeit dieses Prozesses mit der biokatalytischen Reaktionskaskade zur Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) untersucht. Für eine möglichst simple und nachhaltige Synthesesequenz ist es unerlässlich, die Reaktionsmischung aus der Hydrierung möglichst ohne aufwendige, abfallintensive Aufarbeitung direkt in der Enzymreaktion einzusetzen.

Daher kamen nur die Hydriermethoden in die nähere Auswahl, die im wässrigen Milieu oder lösungsmittelfrei ablaufen, um eine Abtrennung dieser Lösungsmittel, beispielsweise durch Destillation der Reaktionsmischung, zu umgehen. Weiterhin waren nur die Reaktionen relevant, bei denen die Hydrierung möglichst vollständig und selektiv zu Cyclohexanol (**38**) erfolgte, damit die bereits etablierte biokatalytische Reaktionskaskade nicht durch etwaige Verunreinigungen aus dem Hydrierprozess beeinflusst bzw. gestört wird.

Da die Reaktionsmischungen aus den wässrigen und lösungsmittelfreien Hydrierexperimenten mit dem Katalysator Rh/AlO(OH) aufgrund der unvollständigen Umsetzungen stets durch erhebliche Rückstände von Phenol (**40**) und von intermediär gebildetem Cyclohexanon (**39**) verunreinigt waren (vgl. Abbildung 2.8 und Abbildung 2.10), wurde diese Hydriermethode nicht für die Kombination mit der Doppeloxidationskaskade verwendet. Das Parameterscreening des Hydrierprozesses mit Rh-SBA-15 lieferte im Gegensatz dazu eine Methode zur vollständigen Umsetzung zu Cyclohexanol (**38**) im wässrigen Milieu. Eine Integration dieser Hydriermethode in den biokatalytischen Prozess erschien daher zielführender.

So wurde in einem ersten Ansatz Phenol (**40**) im Stahlreaktor bei 20 bar H<sub>2</sub>, 40 °C und einer Reaktionszeit von 6 h im Wässrigen vollständig zu Cyclohexanol (**38**) hydriert. Das auf diese Weise erhaltene Cyclohexanol (**38**) wurde anschließend analog zu den Reaktionsbedingungen des von *Staudt et al.* publizierten Doppeloxidationsprozesses<sup>[84]</sup> zur Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) eingesetzt. Dazu wurde die Reaktionsmischung aus der Hydrierung nach Entfernung der H<sub>2</sub>-Atmosphäre filtriert, um den Katalysator Rh-SBA-15 abzutrennen. Das Filtrat wurde mit Wasser auf ein definiertes Volumen aufgefüllt, um eine wässrige Stammlösung des Alkohols **38** mit einer Konzentration von 200 mM zu erhalten. Da die Biotransformation in einem wässrigen Puffersystem mit Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) abläuft, wurde die Alkoholstammlösung anschließend mit unterschiedlichen Mengen Wasser und Phosphatpuffer (100 mM, pH 7.0) verdünnt, um Cyclohexanol-Lösungen unterschiedlicher Konzentration (20, 30, 40 und 50 mM) in Phosphatpuffer (50 mM) zu erhalten. Diese Lösungen wurden mit ADH aus *Lactobacillus kefir* (*Lk*-ADH), BVMO aus *Acinetobacter calcoaceticus* (*Ac*-BVMO) und NADP<sup>+</sup> versetzt. Parallel zu diesen Experimenten wurde zeitgleich eine Biotransformation mit kommerziellem Cyclohexanol (**38**) durchgeführt, was einen Vergleich der Ergebnisse untereinander erleichterte. Der Verlauf der Reaktion mit Cyclohexanol (**38**) aus der Hydrierung (40 mM Substratkonzentration) (Abbildung 2.17 links) weicht nur minimal vom Reaktionsverlauf mit kommerziellem Cyclohexanol (**38**) (ebenfalls 40 mM Substratkonzentration) (Abbildung 2.17 rechts) ab.

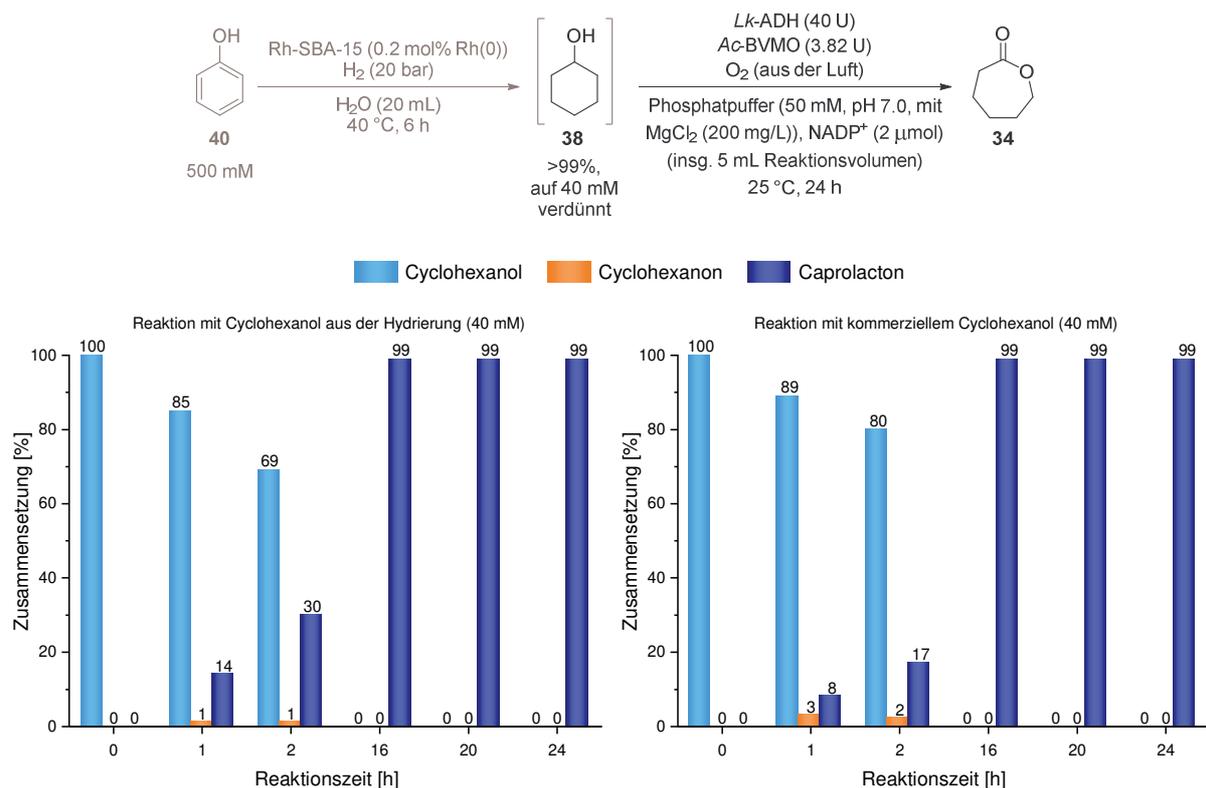


Abbildung 2.17: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Enzymreaktion zu ε-Caprolacton (34) ausgehend von Cyclohexanol (38) aus der Hydrierung im Stahlreaktor (links) und von kommerziellem Cyclohexanol (38) (rechts).

In beiden Fällen blieb im Verlauf der Reaktion der Anteil des intermediär gebildeten Cyclohexanon (39) bei 0-3% stets sehr gering. Eine vollständige Umsetzung zu ε-Caprolacton (34) wurde ebenfalls in beiden Vergleichsexperimenten nach einer Reaktionszeit von maximal 16 h erreicht. Eine negative Beeinflussung des Reaktionsverlaufs durch die Verwendung einer wässrigen Reaktionsmischung, die aus einem Phenol-Hydrierprozess stammt, scheint also nicht gegeben zu sein. Dies wird auch durch die Experimente mit unterschiedlicher Cyclohexanolkonzentration (20, 30 und 50 mM) bestätigt (vgl. Tabelle 7.5). In allen drei Fällen zeichnete sich ein sehr ähnlicher Reaktionsverlauf ab, bei dem der Cyclohexanonanteil nie oberhalb von 2% lag. Auch der Umsatz zu ε-Caprolacton (34) war in den Ansätzen mit 20 mM und 30 mM Cyclohexanol (38) bereits nach 16 h Reaktionszeit quantitativ. Lediglich bei dem höher konzentrierten Ansatz (50 mM) war nach 16 h noch 1% Cyclohexanon (39) vorhanden.

Für die Analytik der Reaktionsmischungen aus dem kombinierten Hydrier- und Oxidationsprozess per GC konnte direkt auf das bereits in der Optimierung des Hydrierverfahrens angewendete Temperaturprogramm zurückgegriffen werden (Abbildung 2.18). Das Signal, welches von ε-Caprolacton (34) erzeugt wird, erschien in dem angewendeten Temperaturprogramm bei einer deutlich längeren Retentionszeit von 5.7 min als die der weiteren Komponenten der Reaktionsmischung (Cyclohexanol (38) bei 3.2 min, Cyclohexanon (39) bei 3.6 min und Phenol (40) bei 4.2 min). Durch simple Extraktion einer kleinen Menge der Reaktionsmischung ist damit eine einfach durchzuführende und gut reproduzierbare Analytik der Reaktionsmischungen gegeben.

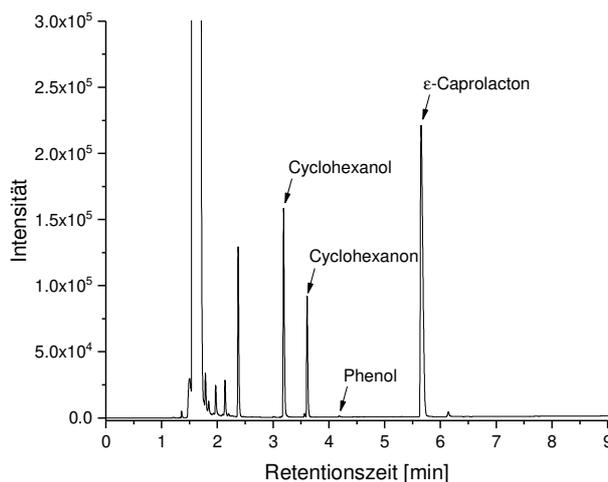


Abbildung 2.18: Beispiel eines Gaschromatogramms einer Reaktionsmischung aus dem kombinierten Hydrier- und Doppeloxydationsprozess mit den eindeutig zuordenbaren Komponenten Cyclohexanol (**38**), Cyclohexanon (**39**), Phenol (**40**) und  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**).

Das gute Ergebnis des ersten kombinierten Hydrier- und Biotransformations-Verfahrens führte daraufhin zu der Fragestellung, ob ein kleiner Rückstand von nicht umgesetztem Phenol (**40**) in irgendeiner Form einen Einfluss auf die enzymatische Synthesesequenz von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) nehmen würde. Um diese Fragestellung zu untersuchen, wurde eine Reaktionsmischung aus einer nur knapp vollständigen Hydrierung in der Biotransformation eingesetzt. Dieses Mal wurde die Hydrierung unter atmosphärischem  $H_2$ -Druck im Schlenkkolben durchgeführt. Daraus resultierte eine Reaktionsmischung mit einer Zusammensetzung von 98% Cyclohexanol (**38**), 1% Cyclohexanon (**39**) und 1% Phenol (**40**). Nach Filtration wurde die Mischung durch Zugabe von Wasser und Phosphatpuffer (100 mM, pH 7.0) so eingestellt, dass zu Beginn der Enzymreaktion eine Cyclohexanolkonzentration von 50 mM in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) vorlag. Auch hier diente ein Parallelexperiment mit kommerziellem Cyclohexanol (**38**) (ebenfalls 50 mM) als Vergleichsansatz zum Ausschluss von Ursachen, die nicht auf das Hydrierexperiment zurückzuführen sind. Die Ergebnisse aus dem Ansatz mit Cyclohexanol (**38**) aus der Hydrierung (Abbildung 2.19 links) weichen nicht nennenswert von den Ergebnissen aus dem Ansatz mit kommerziellem Alkohol **38** (Abbildung 2.19 rechts) ab.

Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurde in beiden Ansätzen ein Umsatz zu knapp 90%  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) erreicht. Dieser Umsatz stieg auch nach weiteren 3.5 h kaum noch an. Über den Verlauf der Reaktion bildete sich ebenfalls in beiden Fällen ein bei etwa 10% relativ konstant bleibender Anteil von Cyclohexanon (**39**), welcher auch nach längerer Reaktionszeit nicht mehr abgebaut wurde. Dieses von dem vorherigen enzymatischen Ansatz (Abbildung 2.17) abweichende Verhalten kann allerdings nicht auf die Präsenz einer kleinen Menge Phenol (**40**) zurückzuführen sein, da der Anteil des Intermediats **39** in dem Vergleichsexperiment mit kommerziellem Cyclohexanol (**38**) sogar nach 27.5 h ebenfalls signifikant blieb. Hierfür muss also eine andere Ursache verantwortlich sein. In beiden Ansätzen wurden jeweils gleiche Aktivitäten für ein Enzym

gewählt, sodass auch dies keinen Einfluss auf den Reaktionsverlauf genommen haben sollte. Ein Unterschied lag allerdings in der Formulierung des Enzyms BVMO. Während im vorherigen Ansatz kommerziell erworbener Rohextrakt von *Ac*-BVMO als lyophilisiertes Pulver verwendet wurde, kam in letzterem Ansatz ein Zellrohextrakt der BVMO aus *Acinetobacter* sp. NCIMB 9871 (*As*-BVMO) als Flüssigformulierung zum Einsatz. Dementsprechend könnten unterschiedliche Komponenten in den Rohextrakten, wie etwa Rückstände aus den zersetzten Zellen, die enzymatische *Baeyer-Villiger*-Oxidation beeinflussen haben. Diese Ergebnisse legen dar, dass eine negative Beeinflussung der enzymatischen Doppeloxidationskaskade in Hinblick auf die Bildung des Monomerbausteins  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) durch geringste Phenolrückstände ausgeschlossen werden kann.

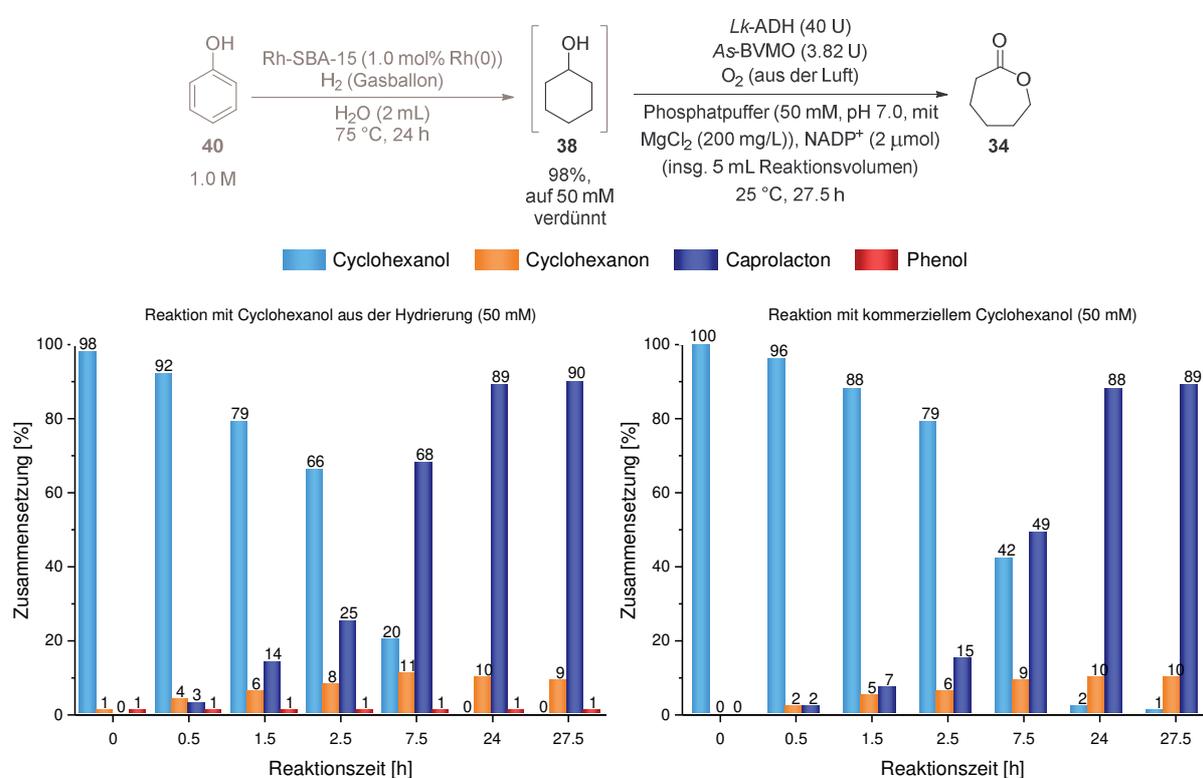


Abbildung 2.19: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Enzymreaktion zu  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) ausgehend von Cyclohexanol (**38**) aus der Hydrierung im Schlenkkolben (links) und von kommerziellem Cyclohexanol (**38**) (rechts).

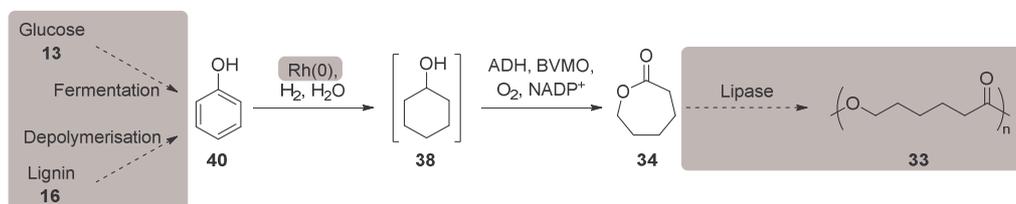
Die Ergebnisse aus den kombinierten Hydrier- und Oxidations-Prozessen lassen sich insgesamt mit der Schlussfolgerung zusammenfassen, dass die Erweiterung der biokatalytischen  $\epsilon$ -Caprolacton-Synthesesequenz durch vorangestellte Phenolhydrierung prinzipiell ohne negative Auswirkungen möglich ist. Ein solcher Prozess lief nach der Prozessoptimierung hinsichtlich der Hydrierung und der Kombination mit der Doppeloxidationskaskade mit einer Produktivität von 5.6 g/L  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) ab. Dieser Wert liegt im Rahmen des Benchmarks für den noch nicht weiter optimierten enzymatischen Doppeloxidationsprozess von *Staudt et al.*<sup>[84]</sup> Die Ergebnisse zur Integration der Phenolhydrierung in die Doppeloxidationskaskade wurden zusammen mit

den Ergebnissen von *Wedde* zur Erweiterung der Synthesesequenz durch enzymatische Polymerisation von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) publiziert.<sup>[123]</sup>

## 2.4 Ausblick

Die im Rahmen des DBU-Gemeinschaftsprojekts zur nachhaltigen  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese von den Verbundpartnern durchgeführten Untersuchungen mündeten auf unterschiedlichen Wegen unter Berücksichtigung vieler Teilaspekte in einem optimierten Verfahren zur Darstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**). Wichtige Meilensteine waren dabei die Erhöhung der Produktivität des Lactons **34** auf 9 g/L durch einen Lösungsmittelzusatz<sup>[89]</sup> bzw. auf 11 g/L mittels Kompartimentierung eines Zweiphasengemisches.<sup>[123]</sup> Durch die Kombination des Doppeloxidationsprozesses mit direkt anschließender enzymatischen Oligomerisierung zu Oligo- $\epsilon$ -Caprolacton konnte während des Prozesses die Konzentration von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) gering gehalten und damit die starke Produktinhibierung der BVMO umgangen werden. Auf diese Weise war es möglich, Cyclohexanol (**38**) mit einer Substratkonzentration von 200 mM vollständig zu Oligo- $\epsilon$ -Caprolacton umzusetzen.<sup>[87]</sup>

Die Kombination dieser Produktivität-erhöhenden Maßnahmen mit der Rückintegration der Synthesesequenz ausgehend von Phenol (**40**) stellt nur eine von vielen interessanten Herausforderungen für die Zukunft dar (Schema 2.18).



Schema 2.18: Ansatzmöglichkeiten für eine weitere Optimierung des Gesamtprozesses zur nachhaltigen Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) und dessen Polymerisationsprodukt **33** ausgehend von nachwachsenden Rohstoffen.

Weitere Ansatzmöglichkeiten können beispielsweise auf den Einbezug von nachwachsenden Rohstoffen in die Synthese von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) zielen. Die Fermentation von Glucose (**13**)<sup>[93,94]</sup> oder die selektive Depolymerisation von Lignin (**16**)<sup>[95,96]</sup> zur Gewinnung von Phenol (**40**) wird aufgrund der sehr unterschiedlichen Reaktionsbedingungen nicht unbedingt als Eintopfverfahren in die Produktion von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) integrierbar sein. Dennoch kann die Untersuchung der Kombination aus Phenolgewinnung und anschließender Verarbeitung in dem Hydrier- und Doppeloxidations-Verfahren sehr lohnenswert sein, um für einen ökonomischeren Prozess beispielsweise eine Aufarbeitung bzw. eine Isolierung des Zwischenproduktes zu sparen.

Mit Blick auf eine industrielle Anwendung der nachhaltigen  $\epsilon$ -Caprolactonsynthese ist für die Phenolhydrierung eine weitere Reduzierung der Katalysatormenge anzustreben, da unter den angewendeten Reaktionsbedingungen mit 0.2-1.0 mol% vergleichsweise viel Rh(0) für einen kompletten Umsatz zu Cyclohexanol (**38**) benötigt wurde. Eine Erhöhung der Wiederverwendbarkeit des Katalysators auf weit mehr als zehn Zyklen würde ebenfalls zu einem effektiveren Hydrierprozess beitragen. Dies könnte etwa über eine stärkere Fixierung der Rh-Nanopartikel in den Hohlräumen des mesoporösen Kieselgels gelöst werden.

Schließlich sollte die Etablierung einer möglichst effektiven Gesamtroute ausgehend von den Rohstoffen Glucose (**13**) oder Lignin (**16**) bis hin zum Endprodukt Poly- $\epsilon$ -Caprolacton (**33**) stark auf eine industrielle Anwendung als Alternative zum bestehenden Prozess gerichtet sein.

### 3 Chiralitätsunterstützter Aufbau von Dioxin-verknüpften TBTQ-Einheiten

#### 3.1 Einleitung und wissenschaftlicher Standpunkt

##### 3.1.1 Geometrische Molekülgerüste

Überall um uns herum gibt es Objekte, die sich durch eine hohe Symmetrie auszeichnen: in der Architektur, in der Dekoration, in der bildenden Kunst, in der Musik und auch in der Natur.<sup>[124]</sup> Einen fundamentalen Grundstein für all diese Bereiche legte der griechische Philosoph *Platon* schon vor über 2000 Jahren durch die Beschreibung von hochsymmetrischen, dreidimensionalen Körpern, die später als *Platonische Körper* in die Geschichte eingingen (Abbildung 3.1).<sup>[125]</sup>

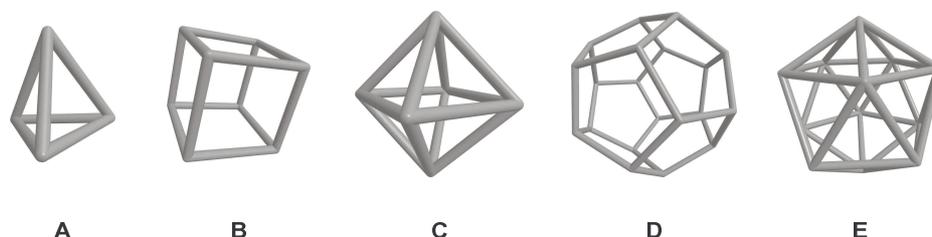


Abbildung 3.1: Die fünf platonischen Körper Tetraeder (**A**), Hexaeder (**B**), Oktaeder (**C**), Dodekaeder (**D**) und Ikosaeder (**E**).

Jeder dieser fünf platonischen Körper ist nach demselben Prinzip aufgebaut: Eine passende Anzahl gleichseitiger  $n$ -Ecke ist über ihre Seitenkanten so miteinander verbunden, dass sich eine geschlossene Struktur ergibt. So setzt sich der Tetraeder (**A**) aus vier Dreiecken, der Hexaeder (Würfel) (**B**) aus sechs Quadraten, der Oktaeder (**C**) aus acht Dreiecken, der Dodekaeder (**D**) aus zwölf Fünfecken und der Ikosaeder (**E**) aus 20 Dreiecken zusammen.<sup>[126]</sup>

Diese hochsymmetrischen Strukturen inspirierten Chemiker zu einer Nachahmung von geometrischen, starren Gerüsten auf molekularer Ebene.<sup>[127]</sup> Bei der Betrachtung der platonischen Körper auf atomarer Größenordnung lag es nahe, diese Molekülgerüste so zu realisieren, dass jede Ecke der Körper von einem Kohlenstoffatom besetzt und jede Kante von einer C-C-Einfachbindung nachgebildet wird. Durch Auffüllen der freien Valenzen an den Kohlenstoffatomen mit Wasserstoffatomen ergeben sich daraus gesättigte Kohlenwasserstoffe. Da die energetisch günstigste Anordnung der vier Substituenten eines C-Atoms mit einem Bindungswinkel von  $109.5^\circ$  tetraedrischer Natur ist, war sofort klar, dass allein aus energetischer Sicht und wegen der begrenzten Anzahl der Valenzen am C-Atom nicht alle der platonischen Körper als einfacher Kohlenwasserstoff realisierbar sein konnten. Der Winkel zwischen zwei angrenzenden Flächen beträgt im Tetraeder (**A**)  $70.5^\circ$  und im Hexaeder (**B**)  $90^\circ$ .<sup>[125]</sup> Die Substituenten eines Kohlenstoffs in solch eine gespannte Bindungssituation zu zwingen, geht aus

synthetischer Sicht mit einem erheblichen Aufwand einher. Eine Realisierung des Oktaeders (**C**) erscheint aufgrund des noch stärker gespannten Systems von quartären C-Atomen, dessen Substituenten alle in einem Halbraum liegen, geradezu utopisch. Der Ikosaeder (**E**) ist aufgrund seiner Struktur mit fünf auf eine Ecke zusammenlaufenden Kanten als Kohlenwasserstoff ebenfalls nicht zu realisieren.<sup>[128]</sup> Der Dodekaeder (**D**) hingegen bringt mit seinem vom Tetraederwinkel nur geringfügig abweichenden Flächenwinkel von  $108^\circ$  gute Voraussetzungen für die Synthese eines derart aufgebauten Kohlenwasserstoffs mit sich.<sup>[125]</sup>

Der Herausforderung zur Synthese der zumindest prinzipiell realisierbaren platonischen Körper Tetraeder (**A**), Hexaeder (**B**) und Dodekaeder (**D**) in Form von Kohlenwasserstoffen haben sich organisch chemische Arbeitsgruppen dennoch seit den 1960er Jahren gestellt, und zwar mit Erfolg.

*Maier et al.* konnten nach jahrelangem Experimentieren 1979 als erstes ein extrem gespanntes Tetraeder-Analogon synthetisieren, allerdings nur in einer Form mit stabilisierenden *tert*-Butylsubstituenten an den Spitzen (Abbildung 3.2).<sup>[129]</sup> Passend zur Struktur dieses Kohlenwasserstoffs wurde es systematisch Tetra-*tert*-butyltetrahedran (**48**) genannt. Ein unsubstituiertes Tetrahedran konnte bis heute nicht realisiert werden.

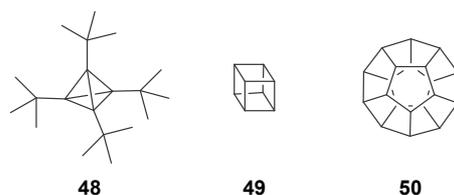


Abbildung 3.2: Realisierte Kohlenwasserstoffe mit der Grundstruktur platonischer Körper Tetra-*tert*-butyltetrahedran (**48**), Cuban (**49**) und Dodecahedran (**50**).

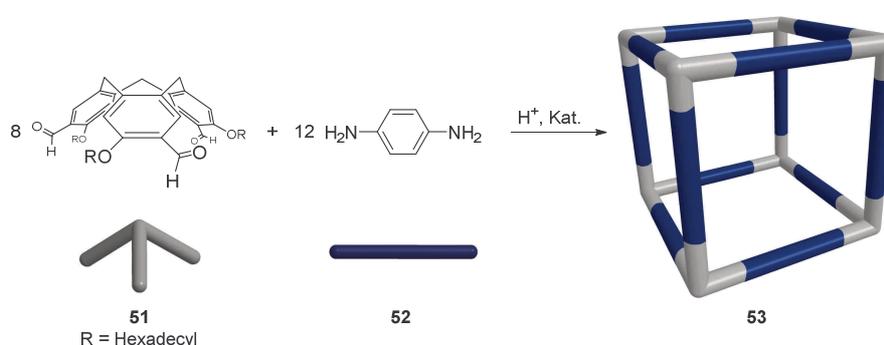
Die erste erfolgreiche Synthese von Cuban (**49**), welches dem Kohlenwasserstoff-Analogon des platonischen Hexaeders (**B**) entspricht, gelang *Eaton* und *Cole* schon einige Jahre früher in 1964 auf zwei ähnlichen Routen mit neun<sup>[130]</sup> bzw. vier<sup>[131]</sup> Synthesestufen. In den darauffolgenden Jahren wurden alternative Syntheserouten für die Darstellung von (substituierten) Cubanen entwickelt, wodurch eine Kommerzialisierung dieses platonischen Kohlenwasserstoffs und seiner Derivate ermöglicht wurde.<sup>[128]</sup>

Dodecahedran (**50**) wurde nach vielen unterschiedlichen Anläufen<sup>[132]</sup> erstmals 1982 von *Paquette et al.* über eine 23-stufige Syntheseroute dargestellt.<sup>[133]</sup> Auch diese Synthese wurde anschließend optimiert, sodass die Darstellung von Dodecahedran (**50**) über die sogenannte „Pagoda-Route“ etwas effektiver gestaltet werden konnte.<sup>[134]</sup>

Die Faszination für symmetrische Körper stoppte aber keinesfalls auf der Ebene der platonischen Kohlenwasserstoffe. Vielmehr wurden diese und weitere symmetrische Körper auch auf deutlich größere molekulare Dimensionen übertragen, um starre, käfigartige Molekülgerüste zu erhalten.<sup>[126]</sup> Die Entwicklung und die Synthese derartiger Molekülgerüste findet ihre Motivation allerdings keineswegs allein in der Ästhetik von symmetrischen Formen. Vielmehr werden diese Gerüste als Käfige für kleinere Moleküle

zur Untersuchung von Wirt-Gast-Wechselwirkungen eingesetzt, beispielsweise mit dem Ziel, Gase in einer sicheren und effizienten Weise zu speichern oder reaktive Substanzen durch Verkapselung zu stabilisieren.<sup>[135]</sup> Desweiteren werden molekulare Käfige für die gezielte Durchführung von Reaktionen im Inneren dieser Gerüste verwendet und die Auswirkungen der räumlichen Umgebung auf den Reaktionsverlauf untersucht.<sup>[136]</sup>

Ein Beispiel für ein größer dimensioniertes, molekulares Gerüst mit der Grundform eines Platonischen Körpers lieferten *Warmuth et al.*. Sie konnten einen molekularen Würfel **53** erzeugen, indem sie das Diamin **52** mit linear angeordneten primären Aminofunktionen und den Trialdehyd **51**, bei dem die drei Aldehydfunktionen nahezu orthogonal zueinander angeordnet sind, in passender Stöchiometrie zur Ausbildung von 24 Iminbindungen verwendeten (Schema 3.1).<sup>[137]</sup>

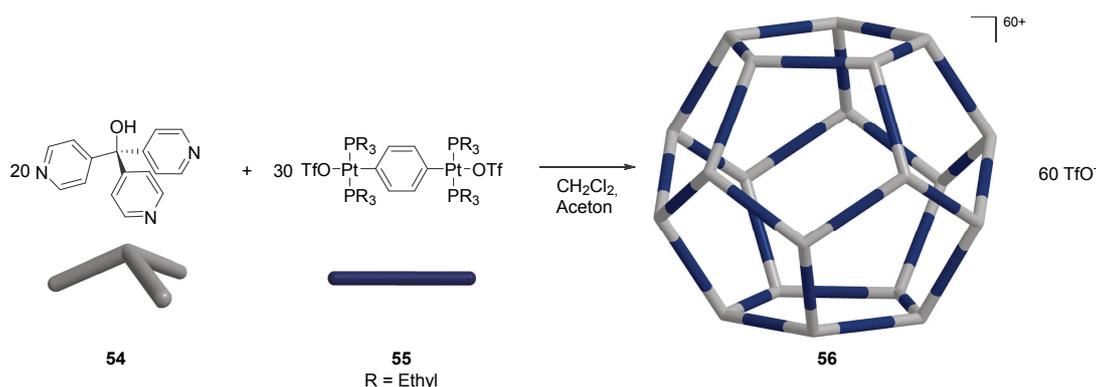


Schema 3.1: Synthese eines hexaedrischen Molekülgerüsts **53** durch Iminbildung zwischen dem Trialdehyd **51** und dem Diamin **52** (schematische, nicht maßstabgetreue Darstellung).<sup>[137]</sup>

Die Ausbildung der Würfelstruktur wird dabei durch die reversible Bildung der Iminbindungen gefördert, da durch die Reversibilität mögliche Fehlbindungen zwischen der Aldehydkomponente **51** und der Diaminkomponente **52** während des Molekülaufbaus korrigiert werden können.<sup>[138]</sup> Die Triebkraft zu dieser Umordnung ist die thermodynamisch begünstigte Bildung möglichst symmetrischer Strukturen.<sup>[139]</sup> Diese Methodik des dynamisch kovalenten Zusammenbaus<sup>[140]</sup> ist oftmals in der supramolekularen Chemie anzutreffen.<sup>[141]</sup>

Die Koordination von Übergangsmetallen an räumlich ausgerichteten Liganden ist eine verbreitete Alternative zum dynamisch kovalenten Aufbau von geometrisch starren Molekülgerüsten.<sup>[142]</sup> Auf diese Weise gelang es beispielsweise *Stang et al.*, einen nanoskopischen Dodekaeder **56** zu synthetisieren (Schema 3.2).<sup>[143]</sup>

Die drei Stickstoffatome der Pyridinsubstituenten in Ligand **54** sind mit Winkeln zwischen 109 ° und 112 ° um das zentrale Kohlenstoffatom angeordnet. Dieser Ligand ist daher nicht für eine hexaedrische (Flächenwinkel = 90 °), sondern eher für eine dodekaedrische (Flächenwinkel  $\approx$  116 °) Anordnung geeignet. Durch Koordination der linear angeordneten Platinatome aus dem bis-Platinkomplex **55** an die Stickstoffatome des Liganden **54** bildete sich unter Berücksichtigung der Stöchiometrie selektiv das 60-fach positiv geladene dodekaedrische Molekülgerüst **56** mit 60 Triflat-Gegenionen (TfO<sup>-</sup>).



Schema 3.2: Synthese eines dodekaedrischen Molekülgerüsts **56** durch Koordination von Platin aus **55** an Pyridin-Stickstoff aus **54** (schematische, nicht maßstabsgetreue Darstellung).<sup>[143]</sup>

Auf ähnliche Weise wurden mit vergleichbarer Methodik bis heute vielzählige, symmetrische Molekülgerüste mit mehr oder weniger komplexer Struktur synthetisiert.<sup>[144]</sup>

### 3.1.2 Molekülgerüste mit TBTQ-Struktureinheiten

Polyquinane stellen aufgrund ihrer geometrischen Eigenschaften eine interessante Verbindungsklasse zum Aufbau starrer, symmetrischer Molekülgerüste dar. Der Grundkörper dieser Molekülgruppe ist Cyclopentan (**57**), welches über seine Kante(n) mit einem oder mehreren Fünfringen verbunden ist. Somit ergeben sich anellierte Polycyclen unterschiedlichster Struktur (Abbildung 3.3).<sup>[145]</sup>

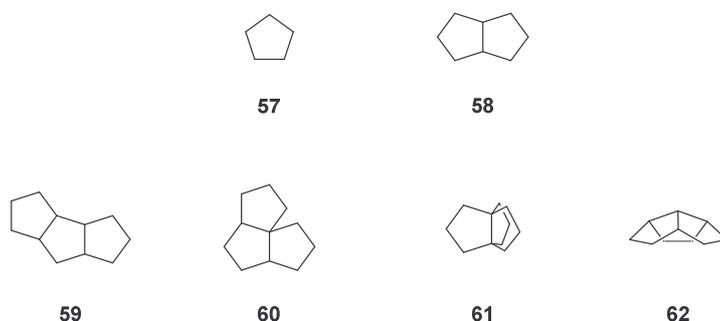


Abbildung 3.3: Strukturformeln des Grundbausteins von Polyquinanen, Cyclopentan (**57**), und der Vertreter der Diquinane **58** und Triquinane **59**, **60**, **61** und **62** mit zwei bzw. drei kantenverknüpften Fünfringen.

Im einfachsten Fall von zwei anellierten Cyclopentanringen gibt es ungeachtet der Stereoisomerie nur eine Anordnungsmöglichkeit. Das Resultat ist der Bicyclus Octahydropentalen (**58**). Allein mit einem weiteren anellierten Fünfring steigt die Anzahl der Triquinane aufgrund der unterschiedlichen Anknüpfungsmöglichkeiten des dritten Cyclopentanrings auf vier verschiedene Strukturen an, wobei auch hier mögliche Stereoisomere noch nicht mitgezählt werden. Die drei Fünfringe können sowohl linear (Triquinan **59**) als auch angular (Triquinan **60**) angeordnet sein. In dem Propellan **61** teilen sich alle drei Fünfringe eine Kante und in Perhydrotriquinacen (**62**) formieren sich die drei Cyclopentanringe um eine zentrale *iso*-Butyleinheit.

Die Vertreter der Triquinane **59**, **60** und **61** finden sich als Grundgerüst in vielfältigen Naturstoffen wieder. So bildet das lineare Triquinan **59** beispielsweise den Grundkörper für (–)-Hirsuten (**63**), einem Pilz-Stoffwechselprodukt (Abbildung 3.4).<sup>[146]</sup> Das anguläre Triquinan **60** liefert die Grundstruktur für den Pflanzeninhaltsstoff (–)-Isocomen (**64**)<sup>[147]</sup> und das Pflanzenhormon (–)-Modhephen (**65**)<sup>[148]</sup> leitet sich von der Propellangrundstruktur **61** ab.

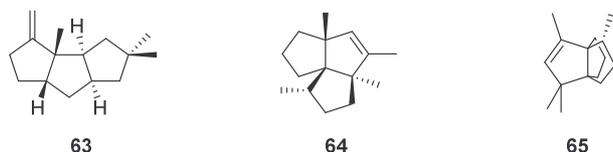


Abbildung 3.4: Strukturformeln der Naturstoffe (–)-Hirsuten (**63**), (–)-Isocomen (**64**) und (–)-Modhephen (**65**) mit Triquinan-Grundgerüst.

Im Gegensatz dazu sind bisher keine Naturstoffe mit einem Grundgerüst aus Perhydrotriquinacen (**62**) bekannt. Aber gerade dieses Molekülgerüst stellt aufgrund seiner dreidimensionalen, strukturellen Eigenschaften einen ganz besonders interessanten Vertreter der Polyquinan-Familie dar. Das *trifuso*-Centrotriquinan **62** wurde 1967 erstmalig von *Jacobson* charakterisiert.<sup>[149]</sup> Er isolierte dieses als Zwischenstufe auf dem Syntheseweg zu Triquinacen (**66**) (Abbildung 3.5). Dieses ungesättigte Analogon war wiederum im gleichen Zeitraum für mehrere organisch-chemische Arbeitsgruppen mit einem Interessengebiet von ungewöhnlichen Molekülgerüsten ein begehrtes Zielmolekül.<sup>[150]</sup>

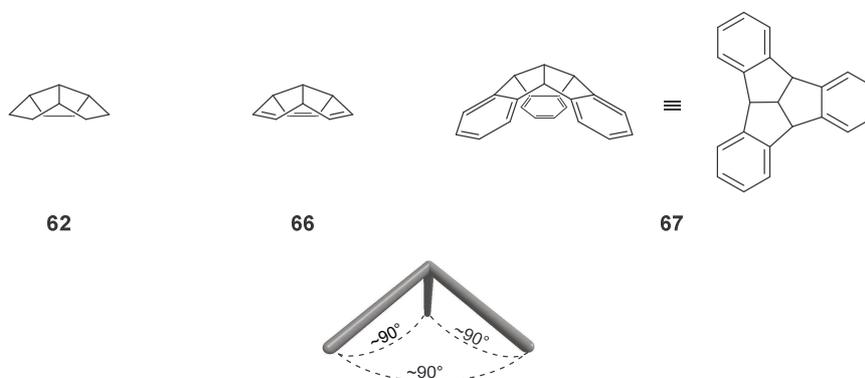
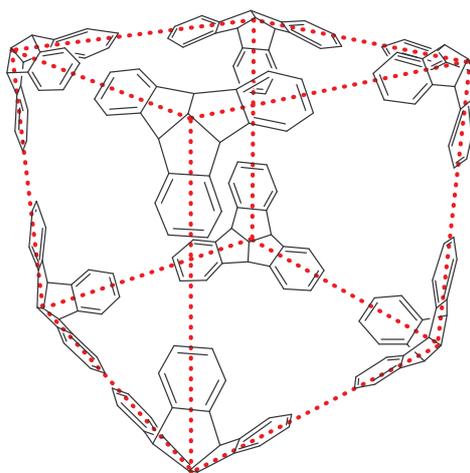


Abbildung 3.5: Strukturverwandte des Perhydrotriquinacens (**62**), Triquinacens (**66**) und Tribenzotriquinacens (**67**) mit nahezu rechtwinklig zueinander ausgerichteten Indaneinheiten.<sup>[151]</sup>

Ein weiterer strukturell interessanter Abkömmling des Perhydrotriquinacens (**62**) ist das Tribenzotriquinacen (TBTQ) (**67**), bei dem an jeden Fünfring an der Peripherie des Moleküls jeweils ein Benzolkern anelliert ist. In diesem starren Molekülgerüst mit konkaver Struktur und  $C_{3v}$ -Symmetrie sind die Achsen vom zentralen C-Atom durch die Flächenmitte der planaren Indaneinheiten jeweils nahezu rechtwinklig zueinander ausgerichtet.<sup>[151,152]</sup> Neben diesen strukturellen Eigenheiten ist das TBTQ (**67**) auch aus chemischer Sicht ein interessanter Baustein für verschiedenste Derivatisierungen. Sowohl die vier Brückenköpfe als auch die sechs aromatischen Positionen an der äußeren

Peripherie lassen sich unabhängig voneinander in mannigfaltiger Weise funktionalisieren.<sup>[153,154]</sup>

Diese chemischen und strukturellen Eigenschaften machen das TBTQ-Grundgerüst zu einem attraktiven Kandidaten für den Aufbau von dreidimensionalen, käfigartigen Molekülen und supramolekularen Molekülverbänden. Die Ausbildung eines würfelförmigen Gerüsts, bei dem das zentrale C-Atom einer TBTQ-Einheit jeweils eine Ecke und die Indanflügel die Kanten besetzen, liegt dabei aufgrund der rechtwinkligen Geometrie des TBTQs (**67**) nahe. Das schematische Modell eines solchen Würfels **68** verdeutlicht die räumliche Anordnung der acht TBTQ-Einheiten (Abbildung 3.6).



**68**

Abbildung 3.6: Schematisches Modell eines (supra)molekularen Würfels **68**, in dessen Ecken die zentralen C-Atome von acht TBTQ-Einheiten, mit ihren Indanflügeln auf die Würfelkanten ausgerichtet, positioniert sind.

Für die selektive, all-konkave Gruppierung von acht TBTQ-Einheiten zu einem hexaedrischen Molekülgerüst wurde zunächst ein theoretischer Ansatz mit kovalenter Verknüpfung der TBTQ-Einheiten entwickelt.<sup>[153]</sup> Diese Idee zielte darauf ab, die TBTQ-Einheiten an allen ihren Indanflügeln in geeigneter Weise zu funktionalisieren, sodass diese anschließend ausschließlich in konkav-konkaver Anordnung miteinander verknüpft werden können. Aufgrund der orthogonalen Ausrichtung der drei Indaneinheiten innerhalb eines TBTQ-Moleküls ergibt sich daraus bei erfolgreicher, intermolekularer Bindungsbildung automatisch eine Würfelstruktur. Neben der Einführung von geeigneten funktionellen Gruppen, die eine chemische Verknüpfung mit weiteren TBTQ-Bausteinen ermöglichen, ist zum Einen ein  $C_3$ -symmetrisches Substitutionsmuster eine Grundvoraussetzung für die gewünschte, strikte konkav-konkave Orientierung der TBTQ-Einheiten. Zum Anderen muss das substituierte TBTQ optisch rein sein, damit es zu keiner Fehlorientierung und damit zu abweichenden Strukturen kommt (Abbildung 3.7).<sup>[155]</sup>

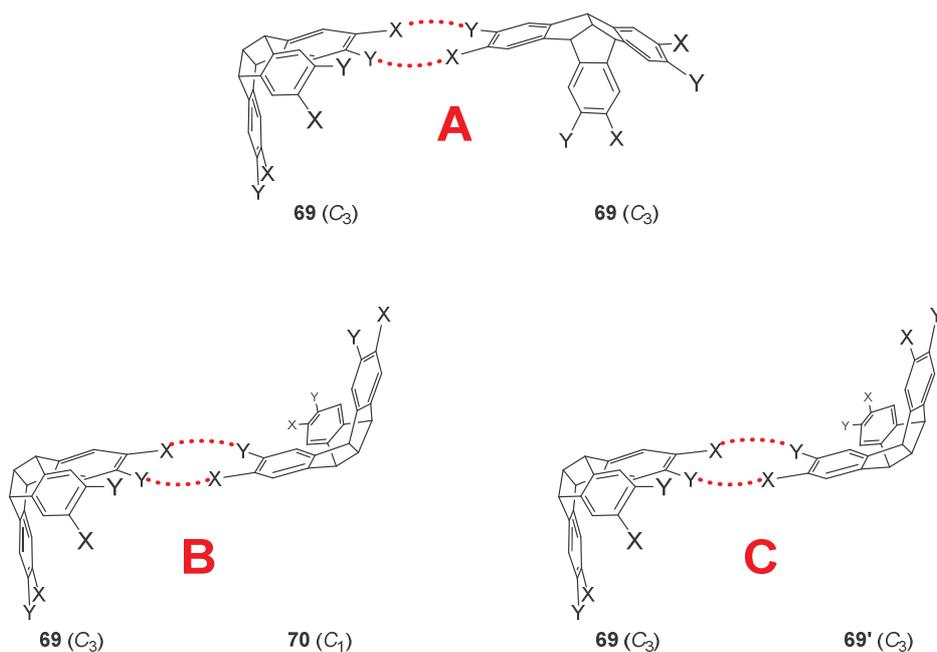


Abbildung 3.7: Schematische Darstellung möglicher paarweiser Anordnungen von substituierten TBTQ-Einheiten **69** und dessen Enantiomer **69'** (jeweils  $C_3$ -symmetrisch) sowie **70** ( $C_1$ -symmetrisch).

Die Reste X und Y dienen bei diesen schematischen Darstellungen lediglich als Platzhalter für unterschiedliche funktionelle Gruppen, über die jeweils eine kovalente Bindung von der Position X aus einer TBTQ-Einheit zu der Position Y aus der benachbarten TBTQ-Einheit gebildet werden soll. Zur besseren Übersicht sind jeweils nur zwei der acht für die Würfelbildung notwendigen TBTQ-Einheiten abgebildet, deren Verknüpfung durch die roten punktierten Linien angedeutet wird.

Nur bei einer Verwendung von enantiomerenreinen TBTQ-Einheiten **69** mit  $C_3$ -symmetrischem Substitutionsmuster kommt es ausschließlich zur Ausbildung einer konkav-konkaven Molekülstruktur **[A]**. Sind die Substituenten X und Y an einer der Indaneinheiten wie in der TBTQ-Struktur **70** vertauscht (die entsprechende symmetrische Punktgruppe ist  $C_1$ ), so muss sich das Molekül **70** für eine Bindungsbildung zwischen X und Y mit **69** so orientieren, dass die TBTQ-Einheiten nun konvex-konkav angeordnet sind **[B]**. Die gleiche unerwünschte Anordnung ergibt sich bei einer entsprechenden Verknüpfung zwischen der TBTQ-Einheit **69** und seinem Spiegelbild **69'** **[C]**. Eine Formation zu einem Würfel ist damit nur in Fall **[A]** möglich, aber nicht in den Fällen **[B]** und **[C]**.

Bei dem Screening der facettenreichen Möglichkeiten zur Brückenkopf- und Aromaten-Funktionalisierung von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) (einem synthetisch besser zugänglichen TBTQ-Vertreter, verglichen mit dem unsubstituierten Grundkörper **67**<sup>[156,157]</sup>) trafen *Kuck et al.* 2009 auf ein TBTQ-Derivat, welches zwar nicht über kovalente Bindungen einen molekularen Würfel ausbildete, aber im Kristallgitter in einer nahezu perfekten würfelartigen Molekülpackung angeordnet war (Abbildung 3.8).<sup>[155]</sup> (*M*)- bzw. (*P*)-Tribrommethyltrinitro-TBTQ **72**, welches über schrittweise Nitrierung und Bromierung ausgehend von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) erhalten

wurde, bildet in kristallisierter Form supramolekulare Würfel aus acht assoziierten TBTQ-Einheiten mit identischer absoluter Konfiguration aus. Dabei sind die einzelnen TBTQ-Moleküle so angeordnet, dass deren zentrale C-Atome die Ecken des Würfels bilden. Die Nitrogruppe eines Moleküls ist auf die unsubstituierte Seite einer Nitrobenzoleinheit des benachbarten Moleküls ausgerichtet und umgekehrt.<sup>[153]</sup> Dies führt dazu, dass die Indanflügel nicht wie in dem Modell **68** exakt auf die Kanten des Würfels orientiert, sondern leicht verdreht sind.

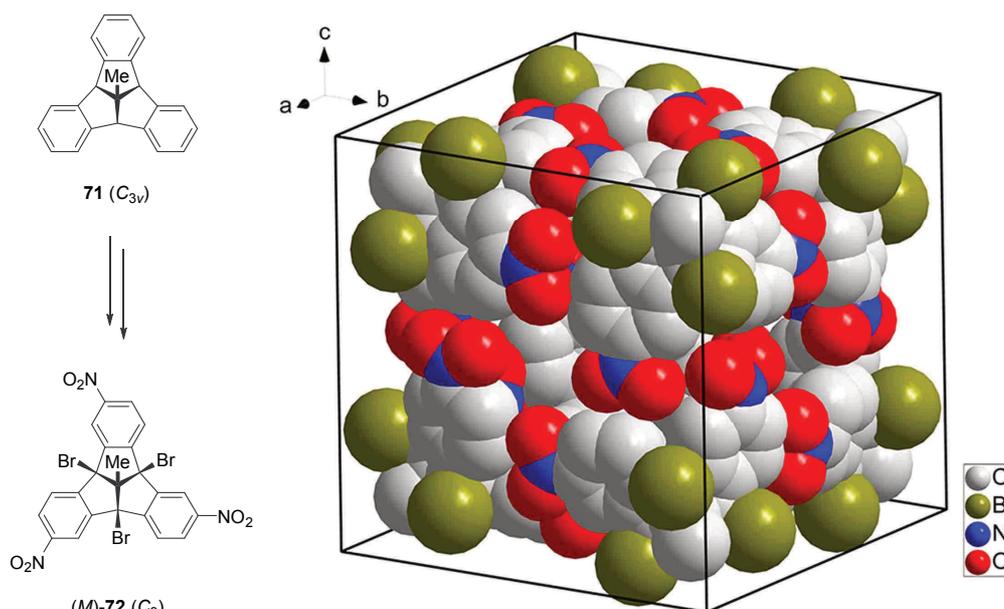
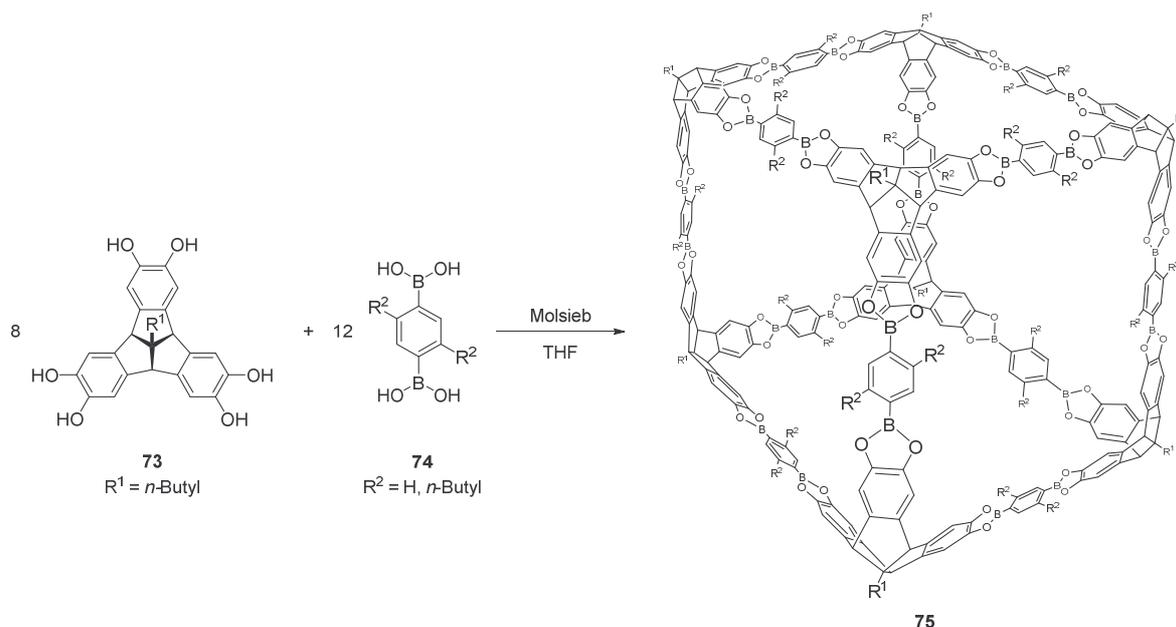


Abbildung 3.8: Schematische Darstellung der Derivatisierung von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) und Einheitszelle eines Einzelkristalls von Tribrommethyltrinitro-TBTQ (*M*)-**72** ( $C_3$ -symmetrisch) assoziiert in Form eines supramolekularen Würfels.<sup>[155]</sup>

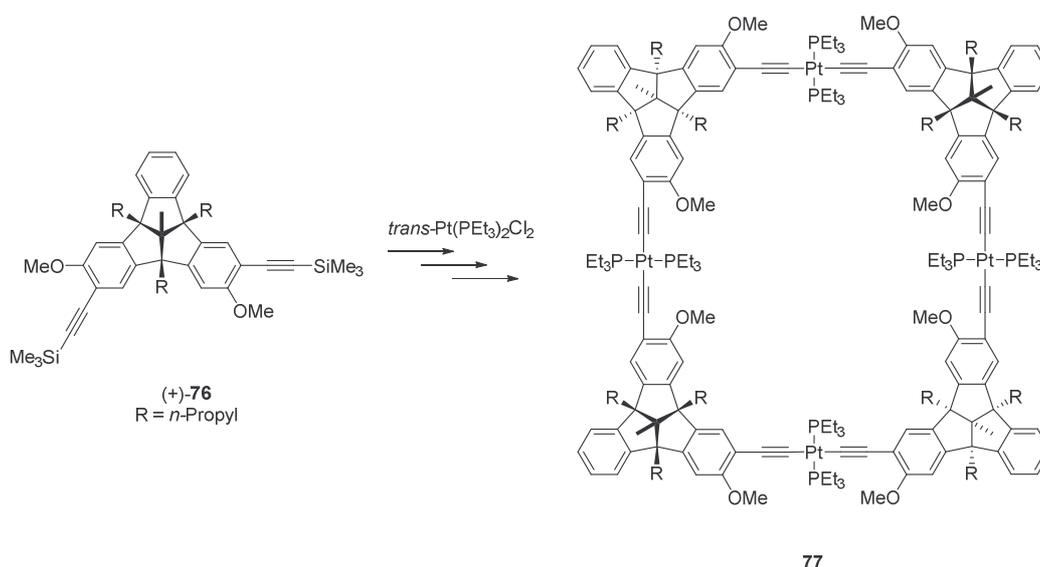
Das Beispiel dieses supramolekularen Würfels untermauert die Eignung von TBTQ-Derivaten mit ihrer speziellen geometrischen Form zur Ausbildung von molekularen, hexaedrischen Käfigen.

Fünf Jahre später gelangen *Benerle et al.*, inspiriert von der strukturellen Besonderheit der TBTQ-Derivate, die Synthese eines molekularen Würfels mit kovalent verknüpften TBTQ-Einheiten.<sup>[158]</sup> Das Bindeglied zwischen den TBTQ-Würfecken besteht aus einer 1,4-Benzoldiboronsäure **74**, welche durch Veresterung über beide Boronsäurefunktionalitäten an die Catecholfunktionalitäten von *n*-Butylhexahydroxy-TBTQ **73** gebunden wird (Schema 3.3). Unter dem Prinzip des dynamisch kovalenten Zusammenbaus war es somit möglich, aus acht TBTQ-Molekülen und zwölf Diboronsäuremolekülen das hexaedrische Molekülgerüst **75** mit mittleren (53% bei  $R^2 = H$ ) bis hohen (94% bei  $R^2 = n$ -Butyl) Ausbeuten zu synthetisieren.



Schema 3.3: Synthese eines kovalenten, molekularen Würfels **75** aus *n*-Butylhexahydroxy-TBTQ **73** und der Diboronsäure **74**.<sup>[158]</sup>

Ein Kooperationsprojekt von *Chow*, *Cao* und *Kuck* greift das Konzept der Koordination von geometrisch starren Liganden an Übergangsmetalle zur Ausbildung von supramolekularen Gerüstverbindungen auf.<sup>[159]</sup> Die beiden Trimethylsilyl-geschützten Acetyleneinheiten des enantiomerenreinen TBTQ-Bausteins (+)-**76** werden stufenweise freigesetzt und an einen Pt<sup>II</sup>-Komplex gebunden (Schema 3.4).

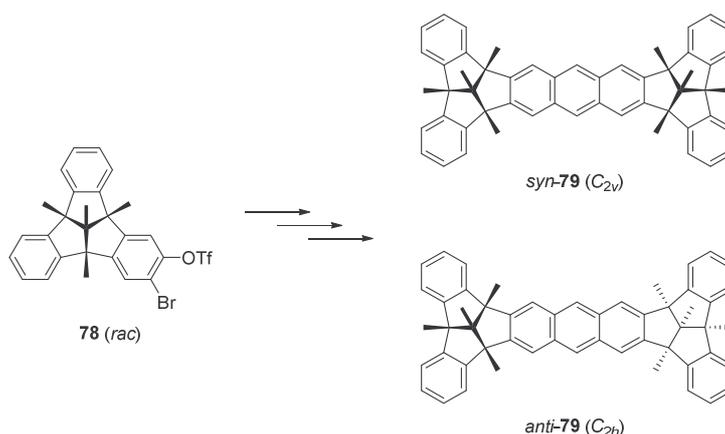


Schema 3.4: Synthese des supramolekularen Quadrats **77** ausgehend von dem enantiomerenreinen TBTQ-Baustein (+)-**76**.<sup>[159]</sup>

Aufgrund der Anordnung von jeweils zwei Acetyleneinheiten an einem Pt<sup>II</sup>-Kern entstehen nach der ersten Entschützung und Komplexierung zunächst lineare Pt-überbrückte TBTQ-Dimere. Durch Abspaltung der zweiten Trimethylsilyl-Schutzgruppe und erneuter Komplexierung zweier TBTQ-Dimere bildet sich ein

quadratisches Molekülgerüst **77**, bestehend aus vier TBTQ-Einheiten auf den Ecken und vier Pt<sup>II</sup>-Kernen, die die TBTQ-Einheiten entlang der Kanten zusammenhalten. Die molekulare Geometrie des Gerüsts **77** wurde mangels geeigneter Kristalle für die Röntgenstrukturanalyse quantenmechanisch simuliert. Demnach sind die vier TBTQ-Einheiten räumlich so angeordnet, dass die Verbindungslinien zwischen den zentralen C-Atomen eine nahezu quadratische Fläche mit Winkeln zwischen 87 und 88° aufspannen. Allerdings ist diese imaginäre Fläche nicht eben, sondern um die Mittelpunkte der Seitenkanten, in denen die Pt<sup>II</sup>-Atome positioniert sind, um etwa 32° verdrillt. Wenn auch mit dieser Anordnung von TBTQ-Einheiten kein molekularer Würfel gebildet werden konnte, so unterstreichen die Ergebnisse aus diesem Beitrag dennoch das hohe Potential der TBTQ-Derivate zur Synthese von nanoskopischen Würfeln.

Ein zweites Beispiel aus einem deutsch-chinesischen Kooperationsprojekt von *Cao* und *Kuck* eröffnet eine elegante Möglichkeit zur chemischen Gerüsterweiterung eines TBTQ-Indanflügels.<sup>[160]</sup> Bromtetramethyl-TBTQ-Triflat **78**, dessen funktionelle Gruppen benachbart an einem der Indanflügel positioniert sind, lässt sich über mehrere Synthesestufen einschließlich Arinbildung, *Diels-Alder*-Reaktion, Acetylenextrusion und Epoxidreduktion mit einem zweiten TBTQ-Baustein verknüpfen (Schema 3.5). Die beiden über ein starres Anthracenmotiv verbrückten TBTQ-Einheiten können reaktionsbedingt so ausgerichtet sein, dass deren konkave Strukturen entweder in den gleichen Halbraum weisen (*syn*-**79**) oder aber zueinander entgegengesetzt ausgerichtet sind (*anti*-**79**).



Schema 3.5: Synthese von *syn*-bikonkavem bzw. *anti*-bikonkavem bis-TBTQ *syn*-**79** ( $C_{2v}$ -symmetrisch) und *anti*-**79** ( $C_{2h}$ -symmetrisch) ausgehend von Bromtetramethyl-TBTQ-Triflat **78**.<sup>[160]</sup>

Das bis-TBTQ *syn*-**79** mit *syn*-bikonkaver Anordnung hat die räumliche Geometrie einer molekularen Würfelkante. Durch eine entsprechende Derivatisierung an allen drei Indanflügeln einer TBTQ-Einheit ist über diesen Reaktionspfad eine Erweiterung des TBTQ-Gerüsts in alle drei Raumrichtungen und damit die Ausbildung eines kovalenten, molekularen Würfels mit starren Kanten denkbar.

Die verschiedenen Möglichkeiten zur Funktionalisierung von TBTQ (**67**) und die bisherigen synthetischen Erfolge im Bereich der Gerüstverbindungen unterstreichen das hohe Potential dieser Verbindungsklasse für den Aufbau von (supra)molekularen Käfigen, insbesondere in Würfelform. Die Entwicklung und die Charakterisierung weiterer, ähnlich aufgebauter Strukturmodelle werden daher einen interessanten Einblick in die Vielseitigkeit dieser ungewöhnlichen Gerüstverbindungen liefern.

### 3.2 Motivation und Zielsetzung

Die Synthese von molekularen Käfigverbindungen ist geprägt von der Vielseitigkeit ihrer Strukturmodelle. Der Aufbau der nanoskopischen Gerüste erfolgt über die relative, räumliche Fixierung von dreidimensionalen, starren Bausteinen. Der Zusammenhalt dieser Bausteine im Netzwerk kann sowohl kovalenter als auch koordinativer Natur sein.<sup>[138,142]</sup> Insbesondere die räumliche Struktur von TBTQ (**67**) und seiner Derivate mit ihren orthogonal zueinander ausgerichteten Indanflügeln eignet sich zur Synthese von molekularen Gerüstverbindungen in Käfigform.<sup>[151]</sup>

Die Einführung von funktionellen Gruppen an die aromatische Peripherie des TBTQ-Gerüsts ist gut etabliert.<sup>[153]</sup> Sie stellt die Ausgangsposition für die kovalente Verknüpfung mehrerer TBTQ-Einheiten dar. So sind abhängig von den Funktionalitäten ganz unterschiedliche Ansätze für den Aufbau einer molekularen Käfigstruktur denkbar. Einer dieser Ansätze fokussiert sich auf die Verknüpfung der TBTQ-Bausteine über Sauerstoffbrücken.<sup>[161]</sup> Das Bindeglied ist in diesem Fall eine Dioxineinheit. Daraus ergibt sich das hypothetische Modell eines Würfels **80**, bei dem acht TBTQ-Einheiten ausschließlich in gegenseitiger *syn*-konkaver Ausrichtung über zwölf Dioxinbrücken verknüpft sind (Abbildung 3.9).

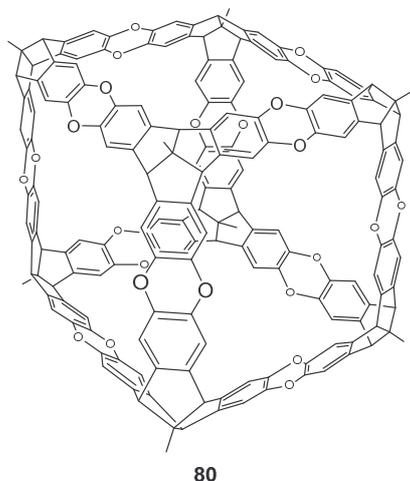
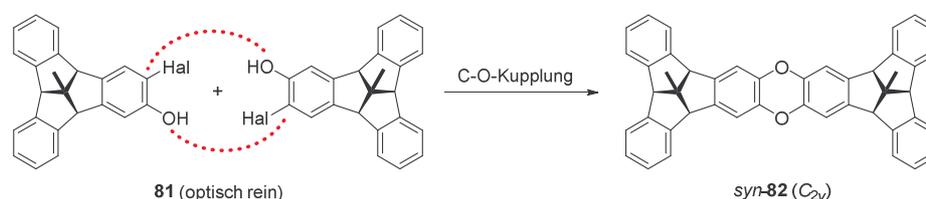


Abbildung 3.9: Hypothetisches Modell eines TBTQ-Würfelerüsts **80** mit Dioxin-verbrückten Indanflügeln.

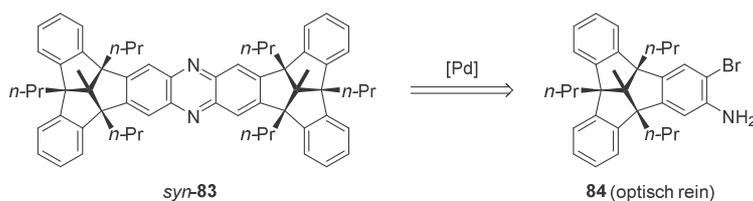
Für einen vereinfachten Ansatz liegt es nahe, zunächst einmal die Verknüpfung von lediglich zwei TBTQ-Einheiten über eine Dioxinbrücke näher zu betrachten. Somit muss das TBTQ-Gerüst nur an einem seiner drei Indanflügel mit geeigneten funktionellen Gruppen ausgestattet werden. Eine gängige Methode für die Ausbildung der gewünschten Diarylethereinheit ist die Kupplung von Arylhalogeniden mit Phenolen. Die Literatur für die Bildung der Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindung verfügt über ein breites Methodenspektrum, welches von Übergangsmetall-katalysierten Reaktionen mit Palladium<sup>[162]</sup>, Rhodium<sup>[163]</sup> oder Oxiden von weiteren Metallen<sup>[164]</sup> bis hin zur Übergangsmetall-freien Kupplung<sup>[165]</sup> reicht. Sehr vielseitig sind auch die Syntheseprotokolle zur Diarylethersynthese über eine *Ullmann*-artige C-O-Kupplungsreaktion mit unterschiedlichen Kupferkatalysatoren.<sup>[166]</sup> Diese breite Methodenpalette bestärkt den Synthesepfad zur Darstellung des Dioxin-verbrückten, *syn*-bikonkaven bis-TBTQs *syn*-**82** über eine doppelte C-O-Kupplung (Schema 3.6).



Schema 3.6: Synthesepfad für die Darstellung von Dioxin-verbrücktem, *syn*-bikonkavem bis-TBTQ *syn*-**82** als Modellverbindung für eine Würfelfkante ausgehend von enantiomerenreinem TBTQ-Halogenphenol **81**.

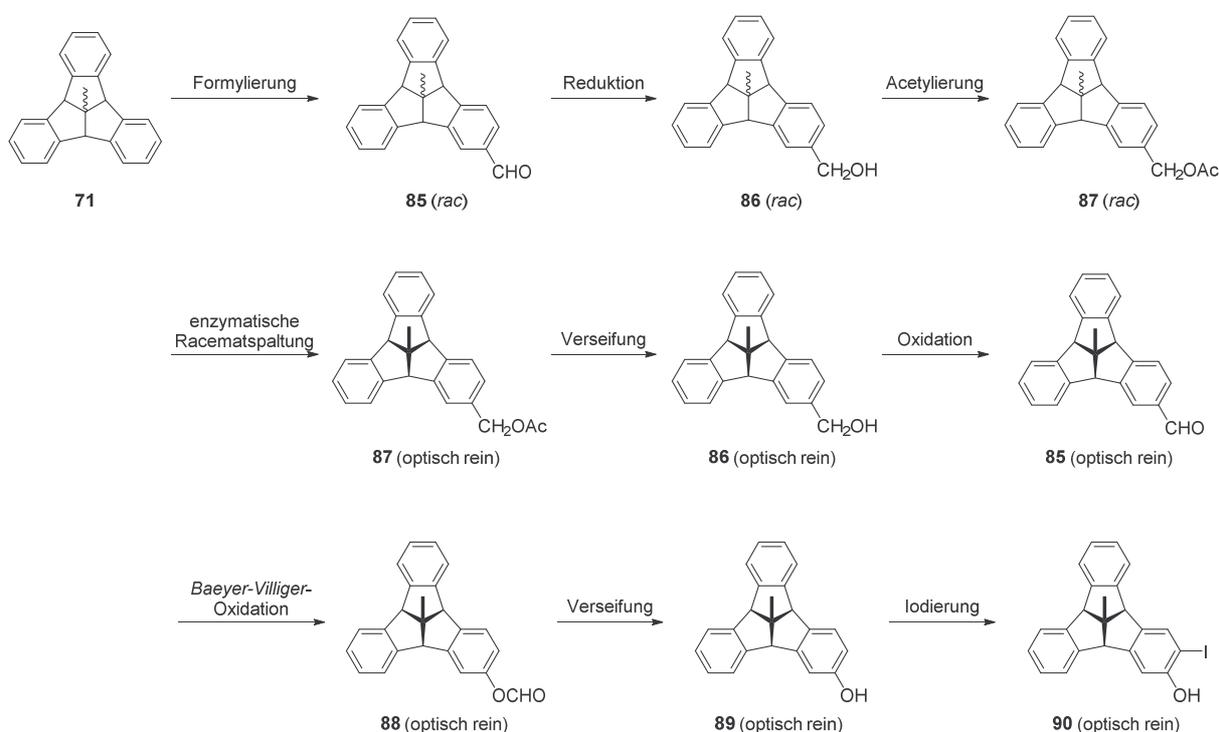
Da bei der Synthese der Modellverbindung für die „Würfelfkante“ **82** zwei Diaryletherbindungen geknüpft werden müssen, ist eine doppelte Funktionalisierung an beiden TBTQ-Bausteinen essentiell. Somit müssen sowohl der Hydroxy- als auch der Halogen-Substituent in einer geeigneten Reihenfolge an einem der Indanflügel des TBTQ-Gerüsts eingeführt werden. Die erstrebte *syn*-bikonkave räumliche Anordnung der TBTQ-Einheiten setzt zudem voraus, dass der einzusetzende Baustein, TBTQ-Halogenphenol **81**, in optisch reiner Form vorliegt, da ansonsten auch die Bildung des unerwünschten *anti*-Isomers erfolgt – analog zu den Anordnungsmöglichkeiten aus Abbildung 3.7. Diese Art der Reaktionsführung wird seit jüngerer Zeit als chiralitätsunterstützte Synthese bezeichnet. Sie dient der Kontrolle der geometrischen Struktur der Zielmoleküle während ihrer Synthese.<sup>[167]</sup>

Ein ähnlicher chiralitätsunterstützter Ansatz wurde kürzlich von *Cao, Chow* und *Kuck* vorgestellt, bei dem ein *syn*-bikonkaves bis-TBTQ-Gerüst **83** mit einer Phenazinverknüpfung über eine *Buchwald-Hartwig*-Kupplung aufgebaut wurde (Schema 3.7).<sup>[168]</sup> Das dafür benötigte enantiomerenreine TBTQ-Bromanilin **84** wurde mit Hilfe eines chiralen Auxiliars aus dem entsprechenden Racemat gewonnen.



Schema 3.7: Buchwald-Hartwig-Kupplung von enantiomerenreinem TBTQ-Bromanilin **84** zu *syn*-bikonkavem, Phenazin-verknüpftem bis-TBTQ *syn*-**83**.<sup>[168]</sup>

Das von *Greschner* erarbeitete Konzept für einen chiralitätsunterstützten Aufbau einer Dioxin-verknüpften, TBTQ-basierten „Würfelkante“ **82** mündete in einem neunstufigen Synthesepfad für die Darstellung des optisch reinen TBTQ-Bausteins **90** ausgehend von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) (Schema 3.8).<sup>[161]</sup>



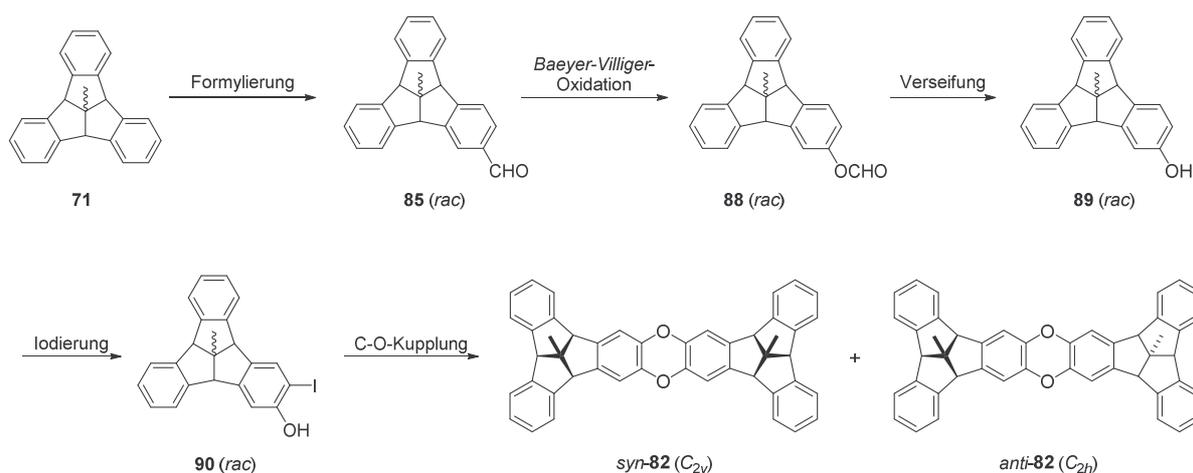
Schema 3.8: Synthesepfad für die Darstellung des optisch reinen TBTQ-Bausteins **90** als Vorstufe für die Dioxin-verknüpfte, TBTQ-basierte Würfelkante **82**.<sup>[161]</sup>

Der überwiegende Teil der Route (acht von neun Reaktionsschritten) beschäftigt sich mit der selektiven Einführung der Hydroxyfunktionalität, um ein enantiomerenreines TBTQ-Phenol **89** zu erhalten. Aus dieser Zielsetzung resultierte die Überlegung, eine enantioselektive, enzymatische Reaktion in die Syntheseroute einzubauen. Aufgrund der für das Syntheseeziel notwendigen OH-Funktionalität lag es daher nahe, eine selektive enzymatische Veresterung bzw. Esterspaltung zu nutzen, um aus einem racemischen TBTQ-Derivat einen enantiomerenreinen TBTQ-Baustein zu erhalten. Unter Berücksichtigung dieser Aspekte wurde die Reihenfolge der synthetischen Reaktionsschritte wie folgt anvisiert:

Über eine Formylierung des unsubstituierten Ausgangsmaterials **71** zum racemischen Monoaldehyd **85** mit anschließender Reduktion zum primären Alkohol **86**

und Acetylierung sollte es möglich sein, das racemische Acetat **87** zu generieren. Mittels enzymatischer, kinetischer Racematspaltung, beispielsweise mit Lipasen, könnte daraus das optisch reine Acetat **87** erhalten werden, welches über eine Esterverseifung in den optisch reinen Benzylalkohol **86** und über eine selektive Oxidation in den optisch reinen Aldehyd **85** überführbar sein sollte. Das optisch reine TBTQ-Phenol **89** sollte über eine *Baeyer-Villiger*-Oxidation des Aldehyds **85** zum Formiat **88** und dessen Verseifung zum Phenol **89** zugänglich sein. Schließlich sollte eine aromatische Monoiodierung das enantiomerenreine Iodphenol **90** liefern.

Die ersten sechs Stufen dieses Synthesepfades wurden von *Greschner* bereits im Milligrammmaßstab etabliert.<sup>[169]</sup> Insbesondere die enzymatische, kinetische Racematspaltung des racemischen Acetats **87** mit der kommerziell erhältlichen Lipase B aus *Candida antarctica* (CAL-B) begünstigte die Synthese eines enantiomerenreinen, monosubstituierten TBTQ-Derivats. Weiterhin wurden erste Versuche zur Darstellung von racemischem Iodphenol **90** auf einer verkürzten Syntheseroute mit fünf Reaktionsschritten ohne kinetische Racematspaltung unternommen, um eine grundsätzliche Durchführbarkeit dieser Reaktionssequenz zu zeigen (Schema 3.9).<sup>[161]</sup>



Schema 3.9: Synthesepfad für die Darstellung des racemischen TBTQ-Bausteins **90** als Vorstufe für die Kondensation zur Dioxin-verknüpften Würfelkante *syn-82* und zum ebenso erwarteten Diastereomer *anti-82*.<sup>[161]</sup>

Die racemische Sequenz setzt sich ähnlich zum stereoselektiven Synthesekonzept aus Formylierung, *Baeyer-Villiger*-Oxidation, Esterverseifung, aromatischer Iodierung und *Ullmann*-Kupplung zusammen. Aufgrund der racemischen Vorstufe **90** ist zu erwarten, dass auf dieser Route bei erfolgreicher C-O-Kupplung aus statistischen Gründen im letzten Reaktionsschritt neben dem erwünschten *syn*-bikonkaven Dioxin *syn-82* auch das unerwünschte *anti*-bikonkave Dioxin *anti-82* gebildet wird.

Basierend auf den Ergebnissen von *Greschner* ist es das Ziel dieser Arbeit, durch Verzahnung der racemischen Syntheseroute mit dem enzymatischen Synthesekonzept (Schema 3.8) erstmalig einen enantioselektiven Reaktionspfad zur Darstellung des *syn*-bikonkaven Dioxins *syn-82* zu etablieren. Eine weitere, interessante Fragestellung

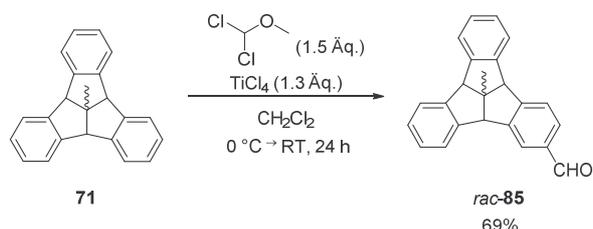
bezieht sich auf die Charakterisierung dieser neuen Gerüstverbindung *syn*-**82**, deren tatsächliche Geometrie bestenfalls mit einer Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt werden könnte. Darüber hinaus stellt die Suche nach einer verkürzten Syntheseroute für diesen länglichen Reaktionspfad aus insgesamt zehn konsekutiven Reaktionen eine lohnenswerte Herausforderung dar.

### 3.3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.3.1 Darstellung einer bis-TBTQ-Würfelkante mit racemischen Vorstufen

Die Synthese des Zielmoleküls *syn*-**82** mit seinen Dioxin-verbrückten TBTQ-Einheiten als Modellverbindung für eine molekulare Würfelkante wurde zunächst auf dem von *Greschner* erarbeiteten Reaktionspfad mit racemischen Molekülbausteinen (Schema 3.9) angestrebt. Die dazu benötigte Ausgangsverbindung, *centro*-Methyl-TBTQ (**71**), wurde nach dem Protokoll von *Kuck* synthetisiert.<sup>[157]</sup>

Die Einführung einer Aldehydfunktion an die aromatische Peripherie von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) gelang über eine *Rieche*-Formylierung (Schema 3.10). Angelehnt an die Originalvorschrift von *Rieche*<sup>[170]</sup> wurde die Formylierung mit Dichlormethylmethylether durchgeführt, welcher mit  $\text{TiCl}_4$  für einen elektrophilen Angriff an eines der aromatischen Systeme von TBTQ **71** aktiviert wurde.<sup>[171]</sup> Über die Stöchiometrie der Reagenzien und eine entsprechend hohe Verdünnung des Reaktionsansatzes konnte die Synthese so gesteuert werden, dass an jedem TBTQ-Molekül hauptsächlich nur eine Aldehydfunktion eingebaut wurde. Die selektive Funktionalisierung an der äußeren Peripherie von TBTQ **71** lässt sich durch die sterisch einfachere Zugänglichkeit des aktivierten Ether- $\text{Ti}^{\text{IV}}$ -Komplexes an diese Position erklären.<sup>[172]</sup>



Schema 3.10: *Rieche*-Formylierung von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) mit  $\text{TiCl}_4$  und Dichlormethylmethylether zu racemischem Formyl-TBTQ *rac*-**85**.<sup>[169]</sup>

Nach wässriger Aufarbeitung des Formylierungsansatzes und säulenchromatographischer Aufreinigung wurde der Monoaldehyd **85** als racemisches Gemisch mit einer im Vergleich zur Literatursausbeute von 56%<sup>[169]</sup> erhöhten Ausbeute von 69% isoliert. Desweiteren wurde bei der Aufreinigung des Rohproduktes neben nicht identifizierten Verunreinigungen hauptsächlich nicht umgesetztes Edukt **71** (28%) zurückgewonnen.

Die Bildung und Isolierung des Formyl-TBTQs *rac-85* konnte durch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie eindeutig belegt werden (Abbildung 3.10).

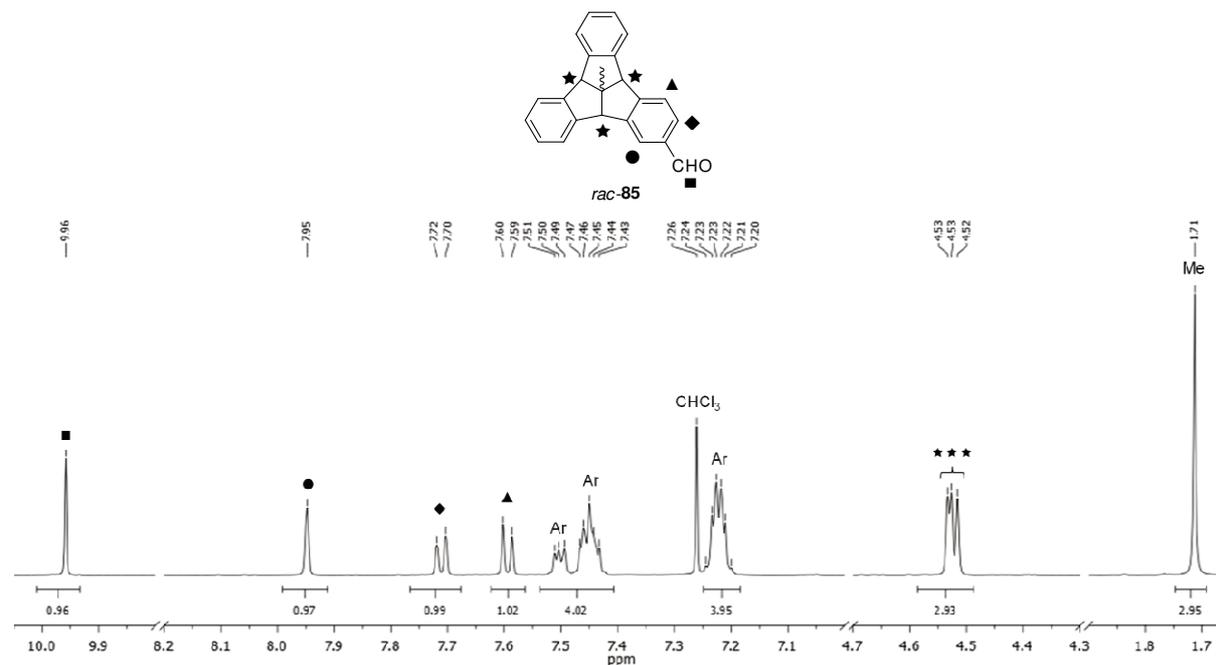
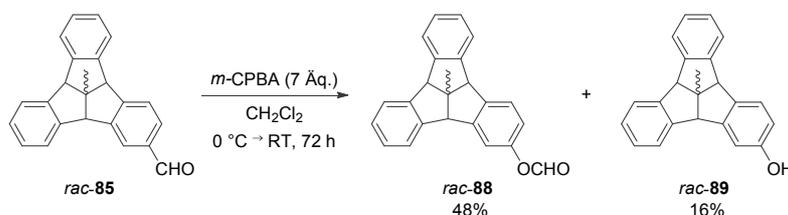


Abbildung 3.10: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des isolierten Monoaldehyds *rac-85* aus der Rieche-Formylierung von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Besonders auffällig ist hier das charakteristische Aldehydsingulett bei einer Verschiebung von 9.96 ppm. Der elektronische Einfluss der eingeführten Aldehydfunktionalität wirkt sich besonders auf die Protonen an dem substituierten Aromaten aus, die als Singulett bei 7.95 ppm und als zwei Dubletts bei 7.71 bzw. 7.60 ppm resonieren. Die beiden unsubstituierten aromatischen Kerne erzeugen Multipletts bei 7.50, 7.45 und 7.22 ppm. Gegenüber der Ausgangsverbindung **71** sind zudem nicht nur die Signalmuster für die aromatischen Protonen vergleichsweise komplexer. Auch die Brückenkopfprotonen resonieren nicht mehr isochron, sie spalten sich zu drei dicht beieinander liegenden Singuletts zwischen 4.53 und 4.52 ppm auf. Die zentrale Methylgruppe erzeugt ein Singulett bei einer Verschiebung von 1.71 ppm. Die erfolgreiche Synthese von Formyl-TBTQ *rac-85* konnte auch mittels Massenspektrometrie (MS) untermauert werden. Das gemessene  $m/z$ -Verhältnis von 323.3 stimmt mit der Molekularmasse des protonierten Produkts ( $[\mathbf{85}+\text{H}]^+$ ) überein.

In der darauffolgenden Synthesestufe wurde der Aldehyd *rac-85* über eine *Baeyer-Villiger*-Oxidation mit dem für diese Reaktion häufig verwendeten Reagenz *m*-CPBA<sup>[173]</sup> in das Formiat *rac-88* überführt (Schema 3.11). Da die Reaktion in Vorversuchen auch mit einem Überschuss Persäure nur langsam und stets unvollständig ablief,<sup>[161]</sup> wurde das Reagenz in zwei gleiche Portionen aufgeteilt und die zweite Hälfte erst nach einer Reaktionszeit von 48 h hinzugefügt. Erfreulicherweise verlief die *Baeyer-Villiger*-Oxidation gemäß den Befunden zum Reaktionsverlauf von elektronenreichen Benzaldehyd-Derivaten, bei denen entgegen der im Allgemeinen höheren Wanderungstendenz von H

gegenüber Phenyl das Formiat und nicht die Carbonsäure gebildet wird.<sup>[174]</sup> So wurde nach der säulenchromatographischen Aufreinigung des Reaktionsansatzes das Formiat *rac*-**88** mit einer moderaten Ausbeute von 48% erhalten. Zusätzlich wurde allerdings auch das Phenol *rac*-**89** mit 16% Ausbeute isoliert, welches durch die direkte Verseifung des Formiats **88** entstanden sein muss. Eine teils spontane Verseifung des gebildeten Formiats zum Alkohol je nach den Reaktionsbedingungen der *Baeyer-Villiger*-Oxidation ist ebenfalls in der Literatur beschrieben.<sup>[174]</sup>



Schema 3.11: *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Formyl-TBTQ *rac*-**85** mit *m*-CPBA zu racemischem TBTQ-Formiat *rac*-**88** und TBTQ-Phenol *rac*-**89**.<sup>[161]</sup>

Sowohl das TBTQ-Formiat *rac*-**88** als auch das TBTQ-Phenol *rac*-**89** waren mittels NMR-Spektroskopie und MS eindeutig charakterisierbar. Der Vergleich der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von beiden Produkten spiegelt die strukturellen Unterschiede von Formiat **88** und Alkohol **89** deutlich wider (Abbildung 3.11). Das markante Singulett des Formiatprotons aus **88** bei einer Verschiebung von 8.27 ppm ist im Spektrum des Phenols **89** nicht vorhanden, wohingegen das breite Singulett bei 4.60 ppm in diesem Spektrum die Anwesenheit eines Hydroxyprotons bestätigt. Während die acht Protonen der unsubstituierten Kerne in beiden Verbindungen als Multipletts zwischen 7.46 und 7.38 sowie zwischen 7.21 und 7.18 ppm bei etwa gleicher Verschiebung resonieren, liegen besonders die Signale der aromatischen Protonen der substituierten Benzolkerne bedingt durch den unterschiedlich starken elektronischen Einfluss der Formiat- bzw. Hydroxy-Funktionalität zueinander deutlich verschoben. Der  $-M$ -Effekt des Formiatsubstituenten bewirkt auf die benachbarten *ortho*- und *meta*-Protonen eine Tieffeldverschiebung der Signale von 0.17 bis 0.30 ppm verglichen mit den Protonen in Nachbarschaft zum Hydroxysubstituenten mit einem  $+M$ -Effekt. Im Spektrum von Phenol **89** sind diese Signale separiert und daher eindeutig zuzuordnen. Das Dublett bei 7.27 ppm, dessen eine Hälfte mit dem Lösungsmittelsignal zusammenfällt, wird von dem *meta*-Proton erzeugt. Das direkt benachbarte *ortho*-Proton resoniert als Doppeldublett bei 6.66 ppm und das isolierte *ortho*-Proton auf der anderen Seite der OH-Funktionalität erzeugt ein Dublett bei 6.89 ppm. Die Zuordnung der Signale wurde durch die Auswertung von 2D-NMR-Experimenten unterstützt. Im Spektrum des Formiats **88** ist von den Signalen der aromatischen Protonen am substituierten Kern nur das Doppeldublett bei 6.95 ppm eindeutig erkennbar. Es lässt sich dem Proton in *ortho*-Position des Substituenten an der äußeren Aromatenperipherie zuordnen. Die beiden anderen Protonen des substituierten Rings fallen mit den Signalsätzen der acht Protonen der beiden unsubstituierten Benzolkerne zusammen.

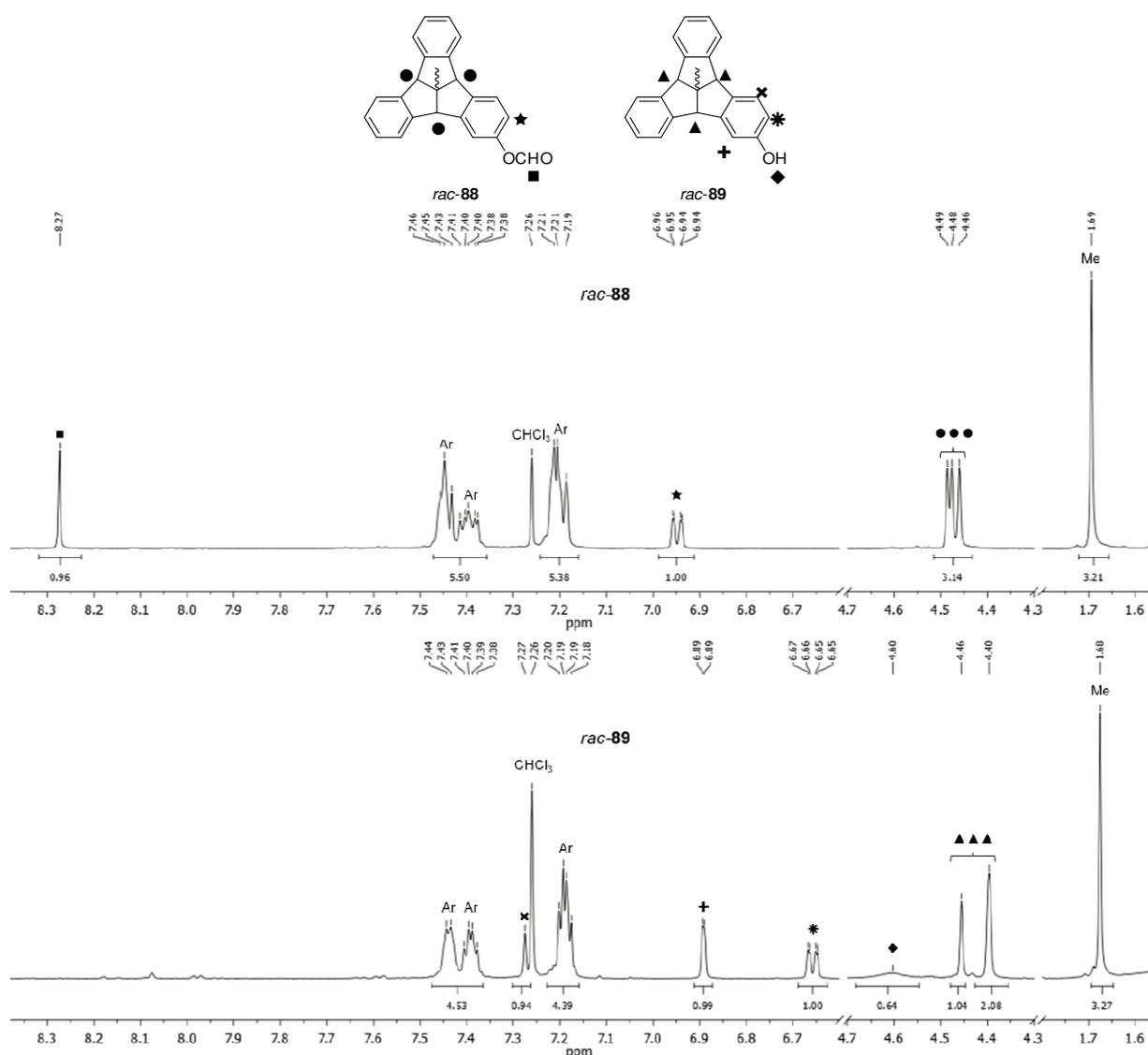
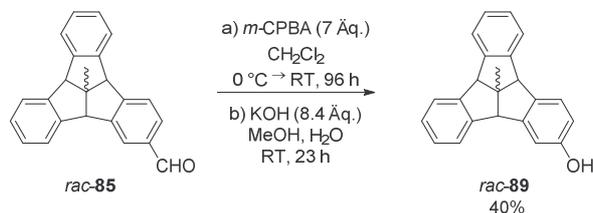


Abbildung 3.11: Ausschnitte aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren des isolierten TBTQ-Formiats **rac-88** (oben) und des TBTQ-Phenols **rac-89** (unten) aus der *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Formyl-TBTQ **rac-85** in CDCl<sub>3</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Das isolierte Formiat **88** zersetzte sich bei seiner Lagerung langsam zu Phenol **89**. Die Labilität konnte durch eine Wiederholung der <sup>1</sup>H-NMR-Messung einer Probe des in einem geschlossenen Glasgefäß bei Raumtemperatur gelagerten, isolierten Formiats **rac-88** bestätigt werden. Nach einer Lagerungszeit von 25 d waren 32% des Formiats **rac-88** zu Phenol **rac-89** hydrolysiert. Da das Phenol **rac-89** auf der geplanten Syntheseroute zum Dioxin-verbrückten, bikonkaven bis-TBTQ *syn-82* ohnehin eine relevante Zwischenstufe darstellt, wurde die Hydrolyselabilität des Formiats **rac-88** ausgenutzt und die Verseifung zu Phenol **rac-89** mit der *Baeyer-Villiger*-Oxidation in einem Zweistufenprozess ohne Isolierung der Zwischenstufe kombiniert (Schema 3.12). Für die Verseifung von Phenylformiaten zu den entsprechenden Phenolen haben sich milde Reaktionsbedingungen in alkalischem Medium etabliert.<sup>[175]</sup> Daher wurde nach Beendigung der *Baeyer-Villiger*-Oxidation lediglich das Lösungsmittel des Reaktionsansatzes entfernt und der gelbe Rückstand wurde mit wässrig-methanolischer

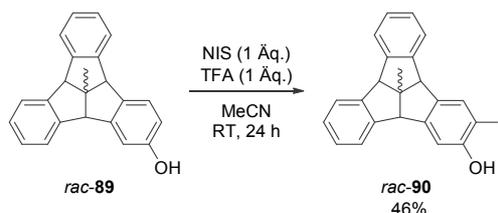
Kalilauge versetzt. Aus dieser Mischung konnte nach extraktiver Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung das TBTQ-Phenol *rac-89* mit einer Ausbeute von 40% isoliert werden.



Schema 3.12: *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Formyl-TBTQ *rac-85* und alkalische Verseifung der Formiatzwischenstufe zu TBTQ-Phenol *rac-89*.

Neben der NMR-spektroskopischen Analyse des Produkts, dessen  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum dem unteren Spektrum in Abbildung 3.11 gleicht, bestätigt die experimentell ermittelte exakte Masse mit einem  $m/z$ -Verhältnis von 311.1433 ( $[\mathbf{89}+\text{H}]^+$ ) mit einer Abweichung von lediglich 0.84 ppm die Bildung des TBTQ-Phenols *rac-89*. Sowohl das NMR-Spektrum als auch die Dünnschichtchromatographie (DC) des Rohprodukts nach der alkalischen Verseifung gaben keine Hinweise auf nicht umgesetztes Formiat *rac-88*. Daher ist davon auszugehen, dass die Verseifung unter den gewählten Reaktionsbedingungen quantitativ erfolgte. Durch Optimierung der Reaktionsparameter der mit der alkalischen Esterverseifung kombinierten *Baeyer-Villiger*-Oxidation konnte *Guntelmann* im Rahmen seiner Bachelorarbeit die Ausbeute des TBTQ-Phenols *rac-89* auf 54% erhöhen.<sup>[176]</sup>

Die von *Greschner* durchgeführten Experimente zur aromatischen Monoiodierung bestätigten *N*-Iodsuccinimid (NIS) als geeignetes Reagenz zu Darstellung von TBTQ-Iodphenol *rac-90* (Schema 3.13).<sup>[161]</sup>



Schema 3.13: Aromatische Iodierung von TBTQ-Phenol *rac-89* zu TBTQ-Iodphenol *rac-90* mit NIS.<sup>[161]</sup>

Angelehnt an das Protokoll von *Bergström et al.* wurde die Monoiodierung mit einem Äquivalent NIS in Kombination mit Trifluoressigsäure (TFA) in Acetonitril realisiert.<sup>[177]</sup> Verglichen mit den dort beschriebenen, hohen Raum-Zeit-Ausbeuten für unterschiedlich substituierte Aromaten zwischen 80 und 100% fiel die Ausbeute des TBTQ Iodphenols *rac-90* mit 46% eher moderat aus. Neben nicht reagiertem TBTQ-Phenol *rac-89*, welches bei der säulenchromatographischen Aufreinigung des Reaktionsansatzes zu 24% zurückgewonnen wurde, trugen verschiedene Nebenprodukte, die nicht weiter charakterisiert wurden, nicht unbeträchtlich zu dieser mäßigen Produktausbeute bei.

Durch NMR-spektroskopische Untersuchungen des isolierten Materials konnte das Iodphenol *rac-90* eindeutig identifiziert werden (Abbildung 3.12).

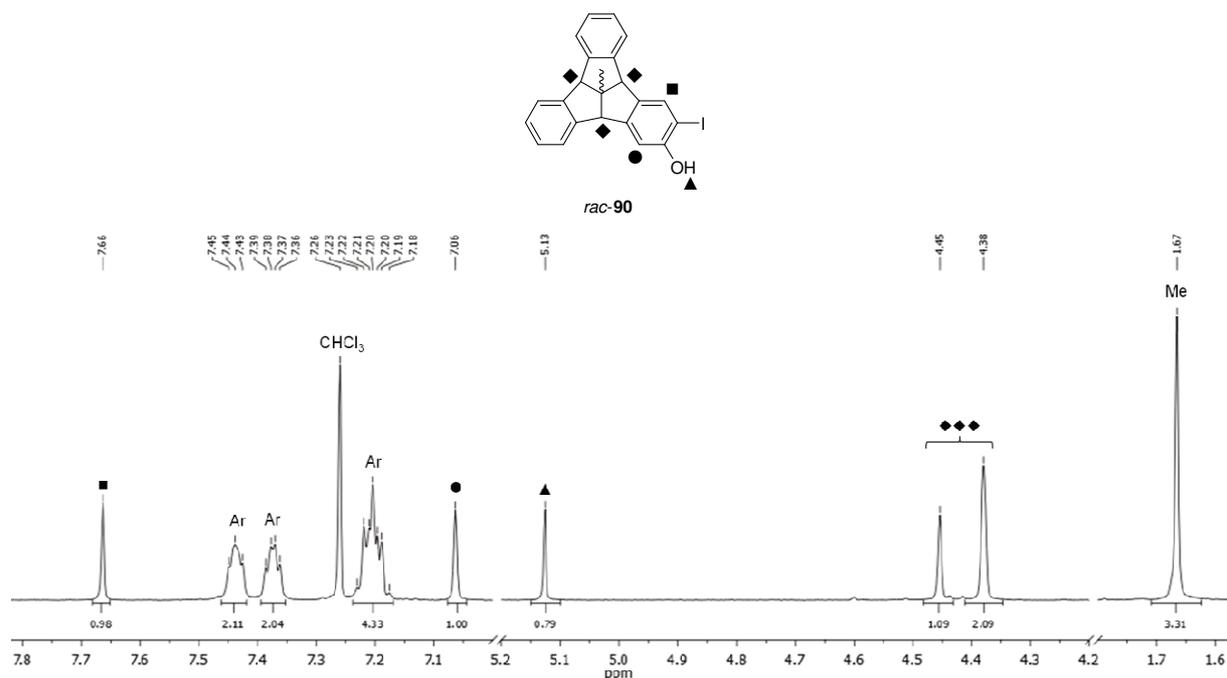
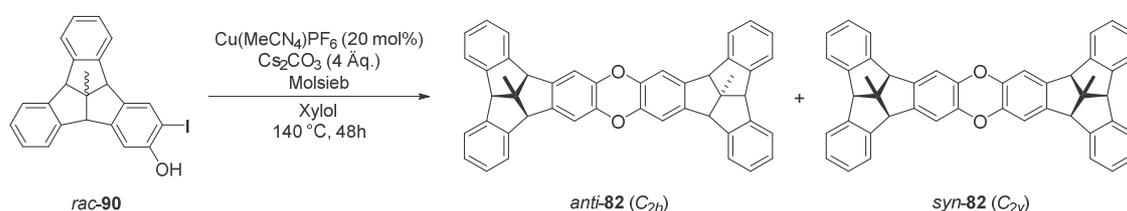


Abbildung 3.12: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des isolierten TBTQ-Iodphenols *rac-90* aus der aromatischen Iodierung von TBTQ-Phenol *rac-89* in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum bildet wie zu erwarten neben den Multipletts zwischen 7,45 und 7,36 ppm sowie zwischen 7,26 und 7,18 ppm für die acht aromatischen Protonen der unsubstituierten Benzolkerne zwei Singulett für die verbliebenen Protonen des zweifach substituierten aromatischen Rings ab. Da das Proton in *ortho*-Position zur Hydroxygruppe über den +M-Effekt dieser Gruppe einen starken elektronischen Einfluss erfährt, ist zu erwarten, dass dieses Proton gegenüber dem Proton in *ortho*-Position zur Iodfunktionalität Hochfeld-verschoben resoniert. Gestützt durch die Werte aus der Tabelle mit den Inkrementverschiebungen von Protonen substituierter Aromaten<sup>[178]</sup> werden daher das Singulett bei 7,66 ppm dem Proton in *ortho*-Position zum Iodsubstituenten und das Singulett bei 7,06 ppm dem Proton in *ortho*-Position zum Hydroxysubstituenten zugeordnet. Des Weiteren resoniert das Proton der Hydroxygruppe als Singulett bei 5,13 ppm. Die Brückenkopfprotonen erzeugen die Signale bei 4,45 und bei 4,38 ppm, wobei in dem Hochfeld-verschobenen Signal zwei dieser Protonen zusammenfallen.

Das racemische TBTQ-Iodphenol *rac-90* wurde schließlich mit einer *Ullmann*-Kupplung in das Dioxin-verknüpfte bis-TBTQ **82** überführt. In der Literatur sind neben den vielen Protokollen für einfache, intermolekulare *Ullmann*-Reaktionen<sup>[166]</sup> kaum zweifache, kreuzweise *Ullmann*-Kupplungen von *ortho*-Halogenphenolen zur Ausbildung von Dibenzo-1,4-dioxinen beschrieben. *Afzali et al.* stellten ein Reaktionssystem mit stöchiometrischen Mengen (Phenylethynyl)kupfer<sup>I</sup> vor, mit dem sie zwei Moleküle *ortho*-Bromphenol in moderaten Ausbeuten zum Dioxin verknüpfen konnten.<sup>[179]</sup> Der äquimolar benötigte Kupferkomplex macht die Reaktionsvorschrift allerdings eher

uninteressant. Mit einem Katalysatorsystem aus Kupfer<sup>I</sup> und Eisen<sup>III</sup> synthetisierten *Zhou et al.* ausgehend von *ortho*-Diiodbenzol und Brenzcatechin ebenfalls Dibenzo-1,4-dioxin, allerdings auch nur in einer geringen Ausbeute von 18% nach einer Reaktionszeit von 7 d.<sup>[180]</sup> Eine kreuzweise doppelte *Ullmann*-artige Verknüpfung von zwei *ortho*-Iodphenolbausteinen ist in der Literatur bisher nicht beschrieben. Auf der Suche nach einem geeigneten, leicht zugänglichen Kupferkatalysator für dieses Synthesevorhaben fand *Greschner* eine Vorschrift von *Kalinin et al.*, in der der kommerziell erhältliche Kupfer<sup>I</sup>-Komplex Cu(MeCN)<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> in effektiver Weise verwendet wurde, um aus Iodaromaten und Phenolen in mäßigen bis exzellenten Ausbeuten zwischen 47% und 97% die entsprechenden Diarylether zu synthetisieren.<sup>[161,181]</sup> Diese Vorschrift wurde auf das TBTQ-Iodphenol *rac-90* angewandt (Schema 3.14).



Schema 3.14: *Ullmann*-Kupplung von TBTQ-Iodphenol *rac-90* mit dem Katalysator Cu(MeCN)<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> zu den Dioxin-verknüpften bis-TBTQs *anti-82* und *syn-82*.

Die *Ullmann*-Kupplung wurde analog zum Literaturprotokoll<sup>[181]</sup> unter inerten Reaktionsbedingungen mit 20 mol% des Kupfer<sup>I</sup>-Katalysators und Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> als Base in siedendem Xylol-Isomerengemisch bei 140 °C durchgeführt. Über den Verlauf der 48-stündigen Reaktionszeit trübte sich die Reaktionsmischung und sie veränderte ihre Farbe von orange-gelb nach braun-schwarz. Nach Filtration, Waschen des Filterkuchens und Entfernen des Lösungsmittels von Filtrat und Waschlösung wurde der Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt. Dabei eluierte nur eine Fraktion, dessen <sup>1</sup>H-NMR-Analytik neben nicht zuordenbaren Signalen von Verunreinigungen aufgrund von doppelten Signalsätzen mit gleichen Integralverhältnissen von etwa 70:30 auf eine Mischung von *anti*- und *syn*-bis-TBTQ **82** hindeutete. Diese ungleiche Bildung könnte durch energetisch unterschiedliche, diastereomere Übergangszustände hervorgerufen werden. Dabei liegt die Vermutung nahe, dass die *anti*-Anordnung gegenüber der *syn*-Anordnung aufgrund einer möglicherweise geringeren Repulsion bei der Annäherung zweier TBTQ-Einheiten thermodynamisch begünstigt ist und daher bevorzugt gebildet wird. Eine genaue Zuordnung der Signale zu den *anti*- und *syn*-Isomeren war jedoch allein anhand der NMR-Analytik nicht möglich.

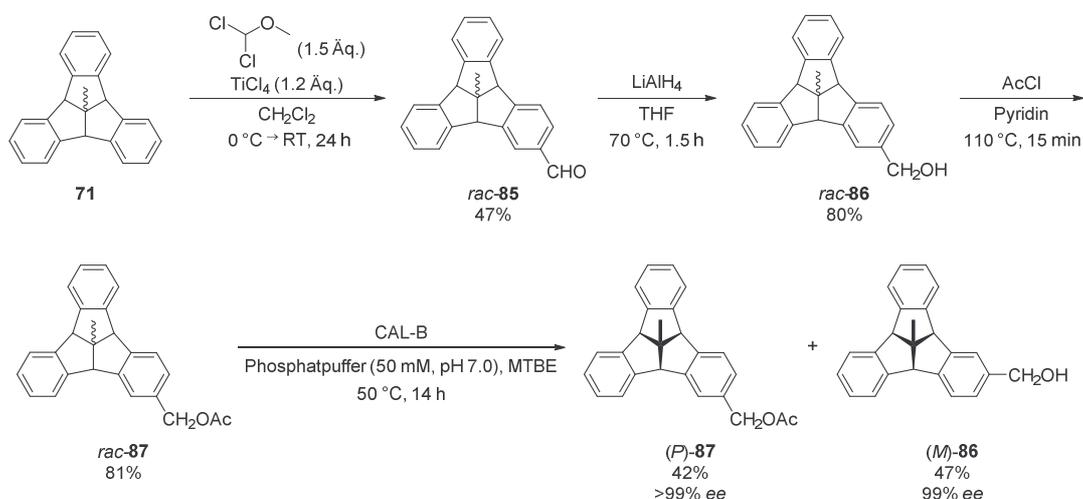
Bei anschließenden DC-Experimenten mit C18-Kieselgel zeigte sich, dass die über die *normal phase*-Säulenchromatographie erhaltene Produktmischung auf dem *reversed phase*-Material mehrere Flecken erzeugte. Die daraus resultierende Hoffnung, die beiden Isomere *syn-82* und *anti-82* mittels C18-Säulenchromatographie trennen zu können, wurde teilweise erfüllt. Zumindest das zuerst eluierende der beiden Isomere wurde mit einer Ausbeute von 7% rein erhalten. Das anschließend eluierende Isomer

konnte dahingegen nur in angereicherter Form in einer 7:3-Mischung mit dem zuvor eluierenden Isomer in einer Ausbeute von 2% (beide Isomere zusammen) erhalten werden. Die geringe Gesamtausbeute von insgesamt 9% spiegelt die offenbare Ineffektivität der in der Literatur bisher wenig beschriebenen zweifachen, kreuzweisen *Ullmann*-Kupplung wider.<sup>[179,180]</sup> Anhand der zahlreichen Signale im NMR-Spektrum des Rohmaterials und der vielen DC-Flecken lässt sich mutmaßen, dass das Edukt zwar weitgehend umgesetzt wurde, jedoch wurden hieraus überwiegend oligomere Nebenprodukte gebildet.

Abgesehen von den geringen Ausbeuten ließ sich die erfolgreiche Bildung der bis-TBTQ-Dioxin-Struktur **82** unter den gewählten Reaktionsbedingungen mittels NMR-Spektroskopie und MS erfreulicherweise eindeutig belegen. Für eine konkrete Aussage über die absolute Konfiguration des dominiert gebildeten und isolierten Isomers ist ein Vergleich mit dem ausschließlich zu erwartenden *syn*-Endprodukt **82** aus der enantiomerenreinen Syntheseroute notwendig. Die Diskussion zur Analytik des isolierten Produkts aus der racemischen Syntheseroute erfolgt daher sinnvollerweise zusammen mit der Diskussion über das Produkt aus der chiralitätsunterstützten Syntheseroute im folgenden Kapitel.

### 3.3.2 Darstellung einer bis-TBTQ-Würfelfante mit enantiomerenreinen Vorstufen

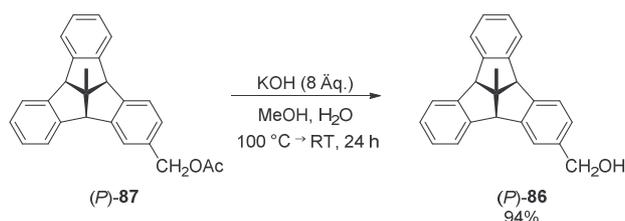
Für die gezielte Synthese des *syn*-bikonkaven, Dioxin-verbrückten bis-TBTQs *syn*-**82** wurde der von *Greschner* entworfene chiralitätsunterstützte Synthesepfad<sup>[161]</sup> (vgl. Schema 3.8) aufgegriffen. Die ersten sechs Reaktionsschritte dieser Syntheseroute wurden von *Greschner* bereits erfolgreich etabliert.<sup>[169]</sup> Im Rahmen ihrer Bachelorarbeit gelang es *Ibrig*, die ersten Synthesestufen bis zum enantiomerenreinen Schlüsselbaustein TBTQ-Benzylester (*P*)-**87** in vergrößerten Ansätzen im Multigrammmaßstab darzustellen (Schema 3.15).<sup>[182]</sup>



Schema 3.15: Synthese von enantiomerenreinem TBTQ-Benzylester (*P*)-**87** im vergrößerten Labormaßstab ausgehend von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**).<sup>[182]</sup>

Die Syntheseroute wurde mit 7.0 g des Startmaterials *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) begonnen, dies entspricht der 3.5-fachen Menge der in der Literatur beschriebenen Ansatzgröße.<sup>[169]</sup> Die Rieche-Formylierung gelang in dieser Größenordnung mit einer leicht verringerten Ausbeute des Formyl-TBTQs *rac*-**85** von 47%. Dahingegen erfolgte die Reduktion der Aldehydfunktionalität mit LiAlH<sub>4</sub> mit einer guten Ausbeute von 80% des TBTQ-Benzylalkohols *rac*-**86**. Die darauffolgende Acetylierung zum TBTQ-Benzylester *rac*-**87** war mit einer Ausbeute von 81% ähnlich effektiv. Aus dieser Reaktionssequenz konnten schließlich 4.1 g des Esters *rac*-**87** erhalten werden, die in einem einzigen Ansatz für die kinetische Racematspaltung mit immobilisiertem Enzym CAL-B verwendet wurden. Unter den optimierten Reaktionsbedingungen wurde die biokatalytische selektive Esterverseifung somit in siebenfacher Ansatzgröße ohne Ausbeute- und Selektivitätsverlust durchgeführt. In einem Zweiphasensystem aus Phosphatpuffer und Methyl-*tert*-butylether (MTBE) wurde über den Reaktionsverlauf von 14 h bei 50 °C nur das (*M*)-Enantiomer des Benzylesters **87** verseift, sodass der TBTQ-Benzylalkohol (*M*)-**86** in einer Ausbeute von 47% und einem sehr hohen Enantiomerenüberschuss (*ee*) mit einem *ee*-Wert von 99% sowie der TBTQ-Benzylester (*P*)-**87** mit einer Ausbeute von 42% und einem exzellenten *ee*-Wert von >99% mittels Säulenchromatographie isoliert wurden.<sup>[182]</sup> Da der enantiomerenreine TBTQ-Benzylester (*P*)-**87** mit einem höheren, nahezu perfekten *ee*-Wert isoliert werden konnte, diente dieser als Grundlage für die weitere Entwicklung des Synthesepfades zur chiralitätsunterstützten Darstellung der bis-TBTQ-basierten Würfelkante *syn*-**82**.

Die alkalische Verseifung des TBTQ-Benzylesters (*P*)-**87** wurde unter Standardreaktionsbedingungen mit Kaliumhydroxid in einem Wasser-Methanol-Gemisch durchgeführt und lieferte in hoher Ausbeute von 94% den enantiomerenreinen TBTQ-Benzylalkohol (*P*)-**86** (Schema 3.16).



Schema 3.16: Alkalische Verseifung von TBTQ-Benzylester (*P*)-**87** mit KOH zu TBTQ-Benzylalkohol (*P*)-**86**.<sup>[169]</sup>

Das nach extraktiver Aufarbeitung erhaltene Produkt (*P*)-**86** war so rein, dass es ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet werden konnte. Die <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopische Analyse des Produkts bestätigte die erfolgreiche Bildung des TBTQ-Benzylalkohols (*P*)-**86** (Abbildung 3.13). Die Signale der drei Protonen des substituierten Benzolkerns fallen mit den Multipletts der acht weiteren aromatischen Protonen zwischen 7.47 und 7.42 ppm sowie zwischen 7.21 und 7.18 ppm zusammen. Dies wird durch die Integralgröße der aromatischen Signale mit einer Gesamtsumme von elf Protonen im

Vergleich zu der Integralgröße der restlichen Signale bekräftigt, auch wenn die aromatischen Signale im Einzelnen nicht eindeutig zuordenbar sind. Die benzylichen Protonen erzeugen ein Singulett bei 4.64 ppm und die Brückenkopfprotonen resonieren bei 4.48 ppm (eines der drei Protonen) und bei 4.47 ppm (zwei der drei Protonen).

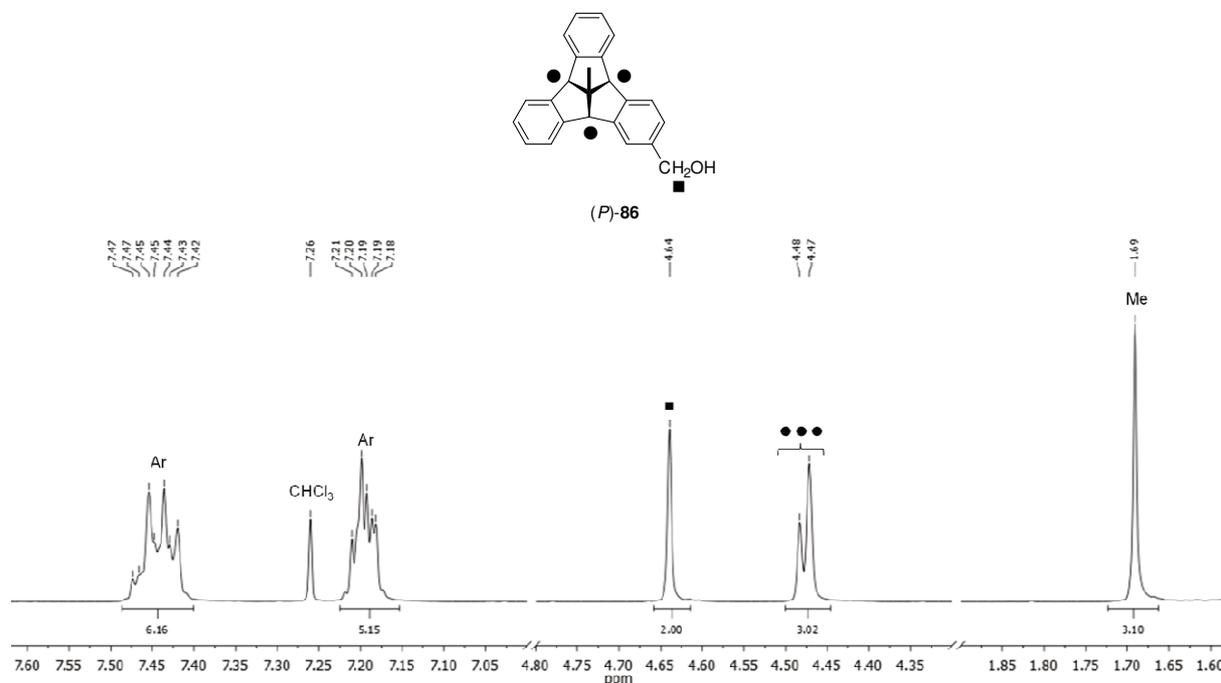
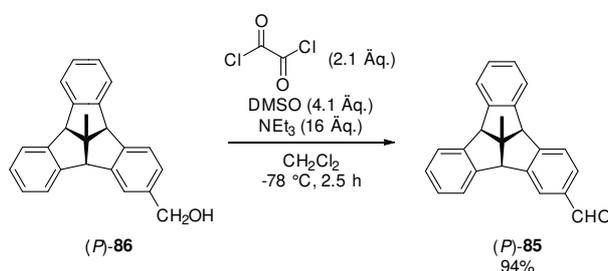


Abbildung 3.13: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des isolierten TBTQ-Benzylalkohols (*P*)-**86** aus der alkalischen Esterverseifung des TBTQ-Benzylesters (*P*)-**87** in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung einiger markanter Signale.

In der darauffolgenden Reaktion wurde der TBTQ-Benzylalkohol (*P*)-**86** mit einer *Swern*-Oxidation selektiv zu TBTQ-Aldehyd (*P*)-**85** oxidiert (Schema 3.17).<sup>[183]</sup> Mit den dafür typischen Reaktionsbedingungen bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  unter Verwendung der Reagenzien Oxalylchlorid und Dimethylsulfoxid (DMSO) wurde der Aldehyd (*P*)-**85** in hoher Ausbeute von 94% isoliert.

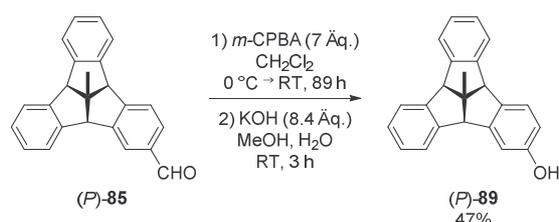


Schema 3.17: *Swern*-Oxidation von TBTQ-Benzylalkohol (*P*)-**86** zu TBTQ-Aldehyd (*P*)-**85**.<sup>[169]</sup>

Auch in diesem Fall bestätigte die Analytik, dass es sich bei dem isolierten Produkt um den TBTQ-Aldehyd (*P*)-**85** handelt. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum gleicht dem des racemischen Vertreters *rac*-**85** in Abbildung 3.10. Die hohe Enantiomerenreinheit des isolierten Produkts konnte mittels chiraler HPLC bestätigt werden. Während der racemische Aldehyd *rac*-**85** unter den gewählten Chromatographiebedingungen bei Retentionszeiten

von 18.5 und 21.5 min eluiert, erzeugte der enantiomerenreine Aldehyd (*P*)-**85** nur ein Signal bei einer Retentionszeit von 18.5 min. Die absolute Konfiguration des TBTQ-Benzaldehyds (*P*)-**85** konnte über einen Vergleich des CD-Spektrums mit dem des strukturverwandten TBTQ-Acetophenons (*P*)-**(92)**, dessen Stereochemie über die Kristallstruktur gelöst werden konnte, abgeleitet werden.<sup>[169]</sup>

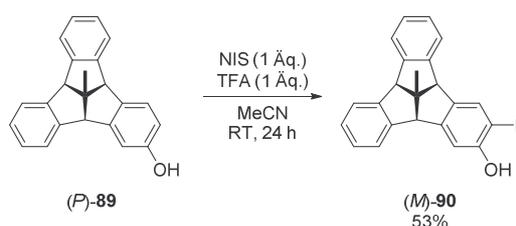
Für die Darstellung des enantiomerenreinen TBTQ-Phenols (*P*)-**89** wurde der TBTQ-Benzaldehyd (*P*)-**85** unter ähnlichen Reaktionsbedingungen wie sein racemisches Analogon mit einer *Baeyer-Villiger*-Oxidation in die Formiatzwischenstufe überführt, welche anschließend alkalisch verseift wurde (Schema 3.18).



Schema 3.18: *Baeyer-Villiger*-Oxidation von TBTQ-Benzaldehyd (*P*)-**85** und alkalische Verseifung der Formiat-Zwischenstufe zu TBTQ-Phenol (*P*)-**89**.

Der TBTQ-Alkohol (*P*)-**89** wurde auch in diesem Fall mit einer eher moderaten Ausbeute von 47% isoliert. Die NMR-spektroskopischen Daten gleichen denen des racemischen Vertreters *rac*-**89**. Auch die exakte Masse der protonierten Spezies ( $[\mathbf{89}+\text{H}]^+$ ) mit einem *m/z*-Verhältnis von 311.1430 konnte mit einer Abweichung von 2.38 ppm sehr genau bestimmt werden. Das Chromatogramm der chiralen HPLC vom isolierten Produkt zeigte im Vergleich zu dem des racemischen Pendants *rac*-**89** (das (*M*)-Isomer eluiert bei 143 min, das (*P*)-Isomer eluiert bei 154 min) nur ein Signal bei der längeren Retentionszeit, dementsprechend wurde für das Produkt ein exzellenter *ee*-Wert von >99% erreicht. Der gemessene spezifische Drehwinkel  $\alpha_D^{20}$  von  $-61^\circ$  ist ein unterstützendes Indiz für die optische Aktivität des enantiomerenreinen TBTQ-Alkohols (*P*)-**89**.

Das in der Syntheseroute darauffolgende TBTQ-Iodphenol (*M*)-**90** bildet die enantiomerenreine Vorstufe auf dem Reaktionspfad zur chiralitätsunterstützten Darstellung des bis-TBTQ-Dioxins *syn*-**82**. Die aromatische Iodierung des TBTQ-Alkohols (*P*)-**89** erfolgte mit NIS analog zu den Reaktionsbedingungen in der racemischen Syntheseroute (Schema 3.19).

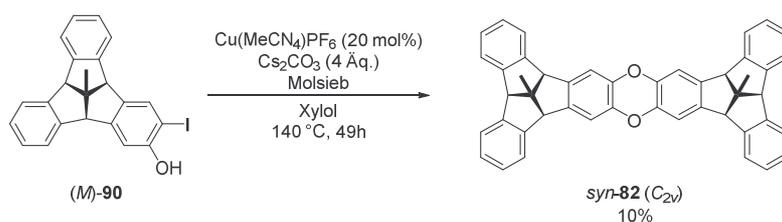


Schema 3.19: Aromatische Iodierung von TBTQ-Phenol (*P*)-**89** zu TBTQ-Iodphenol (*M*)-**90** mit NIS.

Die DC-Analytik des nach wässriger Aufarbeitung der Reaktionsmischung erhaltenen Materials deutet mit insgesamt sechs Flecken neben dem gewünschten Produkt **90** auf einige Verunreinigungen hin. Diese nicht weiter charakterisierten Nebenprodukte konnten mittels Säulenchromatographie entfernt werden, sodass das TBTQ-Iodphenol (*M*)-**90** mit einer Ausbeute von 53% isoliert wurde.

Auch hier lieferten sowohl die Ergebnisse aus der massenspektrometrischen Untersuchung als auch die hohe Ähnlichkeit der NMR-Spektren zu denen des racemischen Analogons *rac*-**90** einen klaren Strukturbeleg für das isolierte Produkt (vgl. Abbildung 3.11). Der spezifische Drehwinkel  $\alpha_D^{20}$  von  $+60^\circ$  des TBTQ-Iodphenols (*M*)-**90** zeigt im Vergleich zu seiner Vorstufe (*P*)-**89** eine entgegengesetzte Drehrichtung des polarisierten Lichtes an. Dies steht im Einklang zu der wechselnden *M/P*-Nomenklatur des inhärent chiralen<sup>[184]</sup> TBTQ-Bausteins, die sich aufgrund der Priorisierung der aromatischen Substituenten I und OH ändert.

Mit einer *Ullmann*-Kupplung wurden analog zum oben beschriebenen Verfahren<sup>[181]</sup> schließlich zwei Moleküle des enantiomerenreinen TBTQ-Iodphenols (*M*)-**90** über eine zweifache C-O-Bindungsbildung miteinander verknüpft (Schema 3.20).



Schema 3.20: *Ullmann*-Kupplung von TBTQ-Iodphenol (*M*)-**90** mit dem Katalysator  $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$  zu dem *syn*-bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQ *syn*-**82**.

Da aufgrund der Enantiomerenreinheit des TBTQ-Iodphenols (*M*)-**90** bei dieser Reaktion nur das *syn*-bikonkave, Dioxin-verknüpfte bis-TBTQ *syn*-**82** zu erwarten war, wurde das Rohprodukt aus der Reaktionsmischung lediglich mittels *normal phase*-Säulenchromatographie zur Entfernung der Verunreinigungen aufgereinigt. Anstelle der *reversed phase*-Säulenchromatographie wurde in diesem Fall der so erhaltene gelbe Feststoff mit eiskaltem Acetonitril gewaschen. Zurück blieb ein farbloser Feststoff, dessen NMR-Analytik die erfolgreiche Bildung und Isolierung des bis-TBTQs **82** verifizierte. Die Ausbeute liegt mit 10% im vergleichbaren Bereich zu der Gesamtausbeute von *syn*- und *anti*-**82** aus dem racemischen Ansatz. Auch hier lässt sich dieser geringe Wert mutmaßlich mit einer vorwiegenden Bildung von oligomeren Nebenprodukten erklären. Der Vergleich der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der isolierten Endprodukte der racemischen und enantiomerenreinen Syntheserouten bestätigt, dass mit dem racemischen Ansatz das *anti*-bikonkave, Dioxin-verbrückte bis-TBTQ *anti*-**82** dominiert gebildet und rein isoliert wurde, während aus der Chiralitätsunterstützten Synthese mit optisch reinen TBTQ-Bausteinen ausschließlich *syn*-**82** gebildet werden konnte (Abbildung 3.14).

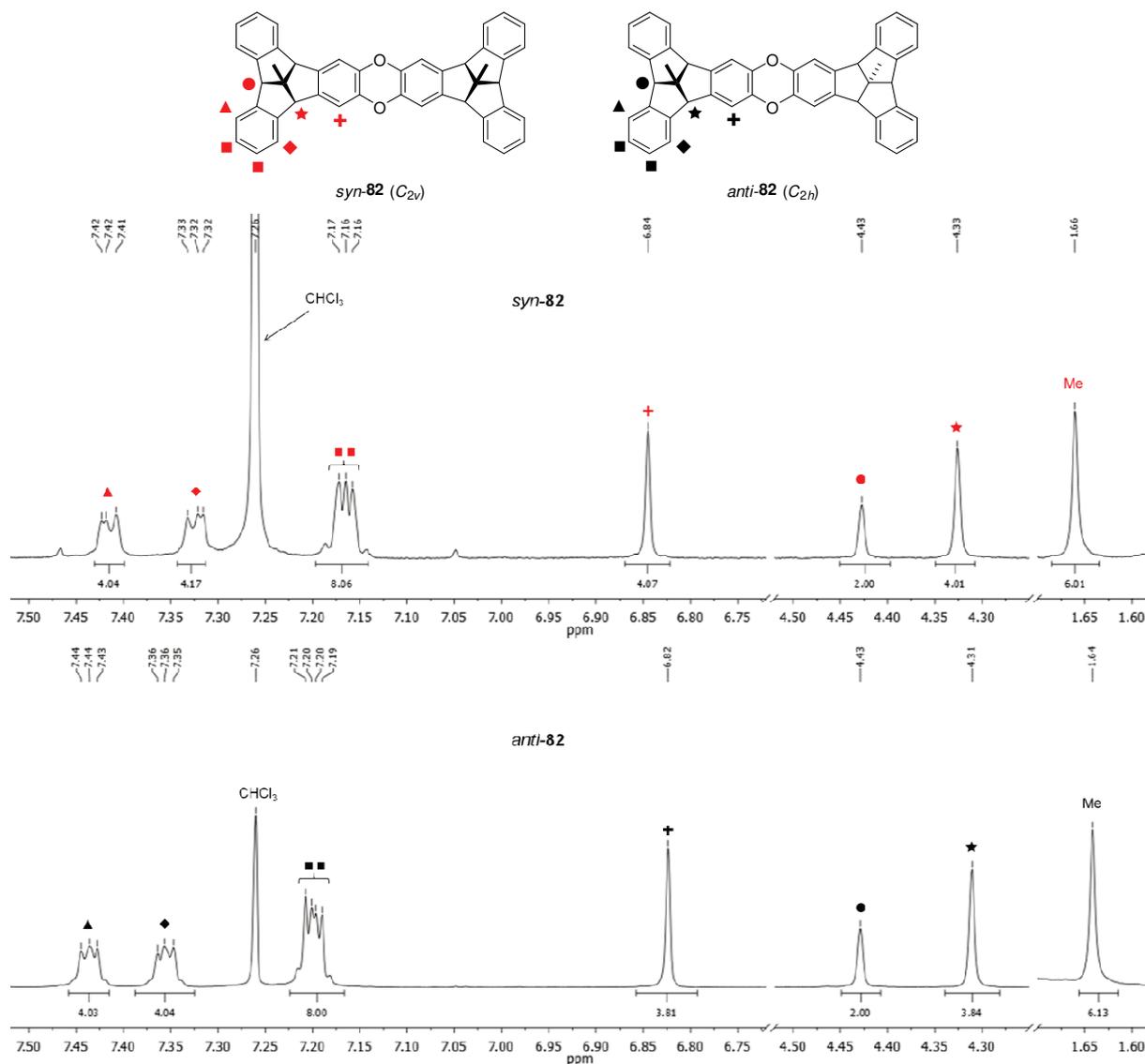


Abbildung 3.14: Ausschnitte aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der isolierten *syn*- und *anti*-bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQs *syn*-**82** (oben) und *anti*-**82** (unten) aus der zweifachen Ullmann-Kupplung des TBtQ-Iodphenols (*M*)-**90** bzw. *rac*-**90** in CDCl<sub>3</sub> mit Zuordnung der Signale.

Die beiden <sup>1</sup>H-NMR-Spektren zeigen untereinander verglichen kleine, aber signifikante Unterschiede in der Verschiebung der jeweiligen Signale. Generell erzeugen die aromatischen Protonen beider Isomere jeweils vier Signale, davon drei Multipletts für das ABCD-Spinsystem der vier äquivalenten äußeren Benzolkerne und ein Singulett für die beiden äquivalenten inneren Benzolkerne. Die nach außen gerichteten aromatischen Protonen (▲) nahe der äußeren Bucht erzeugen das am weitesten im Tieffeld liegende Multiplett bei 7.42 ppm für das *syn*-bis-TBTQ *syn*-**82**. Das Multiplett bei 7.32 ppm wird den aromatischen Protonen (◆) nahe der inneren Bucht zugeordnet. Noch weiter im Hochfeld resonieren die Protonen (■) der äußeren aromatischen Peripherie als Multiplett bei 7.16 ppm. Die aromatischen Protonen (+) der Kerne an der Dioxinbrücke erzeugen aufgrund ihrer direkten Nachbarschaft zur Elektron-schiebenden Etherfunktion ein Hochfeld-verschobenes<sup>[178]</sup> Singulett bei 6.84 ppm.

Im Spektrum des Diastereomers *anti*-**82** liegt interessanterweise nur das Signal der Protonen (⊕) der Dibenzodioxin-Untereinheit noch weiter im Hochfeld bei 6.82 ppm, während die Signalsätze der aromatischen Protonen (▲, ◆ und ■) des ABCD-Spinsystems verglichen zu dem *syn*-Isomer um 0.02-0.04 ppm allesamt Tieffeldverschoben resonieren. Das einzige für beide Isomere isochrome Signal ist das Singulett bei 4.43 ppm, welches von den Brückenkopfprotonen (● und ●) an der äußeren Bucht erzeugt wird. Das Singulett der vier inneren Brückenkopfprotonen (★ und ★) liegt Hochfeld-verschoben bei 4.33 ppm für *syn*-**82** bzw. bei 4.31 ppm für *anti*-**82**. Das Singulett der zentralen Methylgruppen zeigt im Vergleich der beiden Isomere den gleichen Trend: Das Signal von *anti*-**82** liegt bei 1.64 ppm und damit um 0.02 ppm weiter im Hochfeld als das Signal von *syn*-**82**. Die Zuordnung der Signale konnte durch Unterstützung von 2D-Experimenten eindeutig erfolgen. Die <sup>13</sup>C-NMR-Spektren der beiden Diastereomere sind kaum unterscheidbar.

Da die absolute Konfiguration des Zielmoleküls *syn*-**82** mittels <sup>1</sup>H-NMR nicht belegt werden kann, wurde das aus der *Ullmann*-Kupplung mit dem enantiomerenreinen TBTQ-Baustein (*M*)-**90** gewonnene Material für eine röntgenkristallographische Analyse unterschiedlichen Kristallisationsversuchen unterzogen. Nach mehreren Anläufen mit verschiedenen Lösungsmittel(gemische)n und Verdunstungs- bzw. Diffusionsmethoden konnten kleine, farblose Kristalle erhalten werden, die sich aus einer Dichlormethan/Methanol-Lösung mit einem Volumenverhältnis von 20:1 nach sehr langsamer Verdunstung des Lösungsmittelgemisches bildeten. Mittels Röntgenstrukturanalyse dieser Kristalle konnte die *syn*-bikonkave Struktur des Dioxin-verknüpften bis-TBTQs *syn*-**82** eindeutig belegt werden (Abbildung 3.15).<sup>[185]</sup> Die Probe wurde von *Neumann* vermessen und die Berechnung und Auswertung der Daten wurde von *Stammler* durchgeführt.

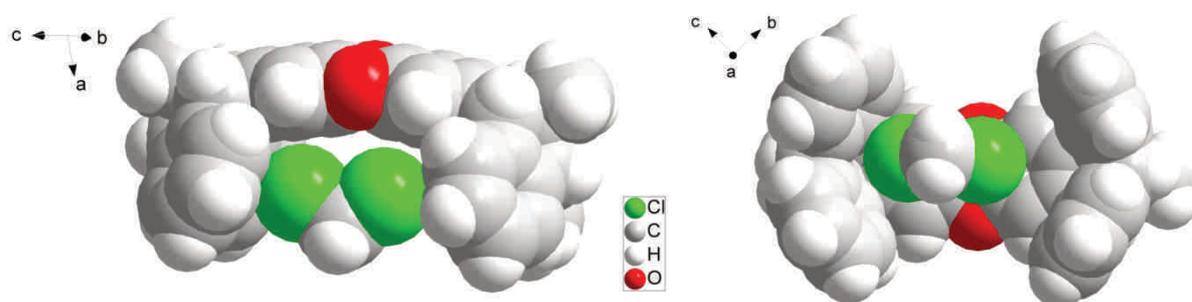


Abbildung 3.15: Mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmtes Kalottenmodell des *syn*-bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQ-Dichlormethan-Addukts *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aus seitlicher Perspektive (links) bzw. mit Sicht von unten in die Höhlung (rechts).<sup>[185]</sup>

Das Kalottenmodell zeigt eindeutig die *syn*-bikonkave Struktur des Moleküls mit einer nahezu perfekten  $C_{2v}$ -Symmetrie. Die Struktur erinnert wie zuvor prognostiziert an ein Modell einer Würfelkante, die allerdings einen leichten Knick hat. Die von den Benzolkernen an der Dioxineinheit aufgespannten Flächen sind um die Disauerstoffbrücke in Richtung der Höhlung des Moleküls um 17.57° leicht nach innen

gebogen, ganz im Kontrast zu der planaren Struktur des unsubstituierten Grundkörpers Dibenzo-1,4-dioxin.<sup>[186]</sup> Innerhalb der Höhlung eines jeden bis-TBTQ-Moleküls befindet sich ein Dichlormethan-Molekül, dessen Chloratome in Richtung der TBTQ-Einheiten ausgerichtet sind. Das Gastmolekül des Wirt-Gast-Addukts *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> liegt allerdings nicht mittig in der Höhlung. Es ist mit Abständen von 3.579-4.003 Å zum näherliegenden Schwerpunkt der drei Benzolkerne einer TBTQ-Untereinheit leicht verschoben. Der Vektor zwischen den Chloratomen des Gastmoleküls liegt parallel zu der Verbindungsachse der zentralen Kohlenstoffatome von beiden TBTQ-Einheiten.

Zwei *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Addukte bilden stets eine dimere Einheit, bei der die Höhlungen der dreidimensionalen Gerüstverbindungen zueinander zeigen (Abbildung 3.16).

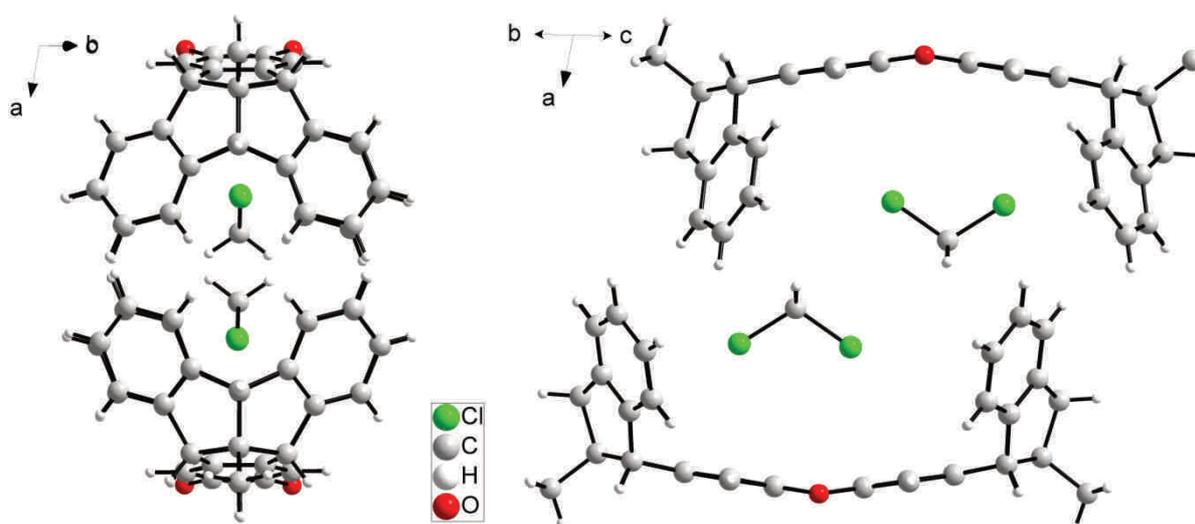


Abbildung 3.16: Stäbchenmodell von zwei Molekülen *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mit Sicht entlang der Verbindungsachse der zentralen Kohlenstoffatome beider TBTQ-Einheiten eines Moleküls (links) und orthogonaler Blickrichtung (rechts).

Im Inneren dieser Kavität befinden sich die beiden Dichlormethan-Moleküle. So wie die Gastmoleküle gegeneinander leicht verschoben in der Höhlung sitzen, so sind auch die beiden zueinander ausgerichteten Wirtsmoleküle entlang der Verbindungslinie der zentralen Kohlenstoffatome der TBTQ-Untereinheiten eines Moleküls um 2.61 Å gegeneinander verschoben. Die Verbindungslinien der vier zentralen Kohlenstoffatome eines [*syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-Dimers bilden somit ein Parallelogramm mit Winkeln von 74.50° und 105.50°. Benachbarte *syn*-**82**-Moleküle innerhalb einer Ebene liegen orthogonal zueinander verschachtelt (Abbildung 3.17). Durch diese Verschachtelung weist die TBTQ-Einheit des einen Moleküls in Richtung der Dioxin-Verknüpfung des nächsten Moleküls und so weiter. Innerhalb einer Lage von [*syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-Dimeren alterniert auch die Bauch-an-Bauch- bzw. Rücken-an-Rücken-Anordnung der dimeren Molekülverbände (Abbildung 3.18).

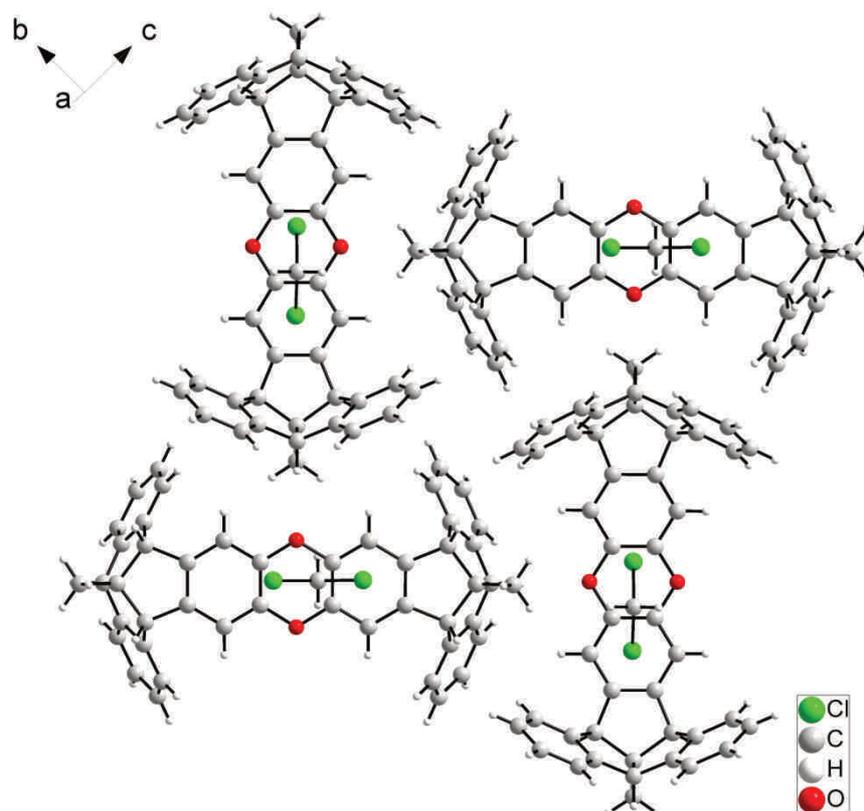


Abbildung 3.17: Stäbchenmodell von vier Molekülen *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mit orthogonaler Verschachtelung von benachbarten Wirt-Gast-Addukten.

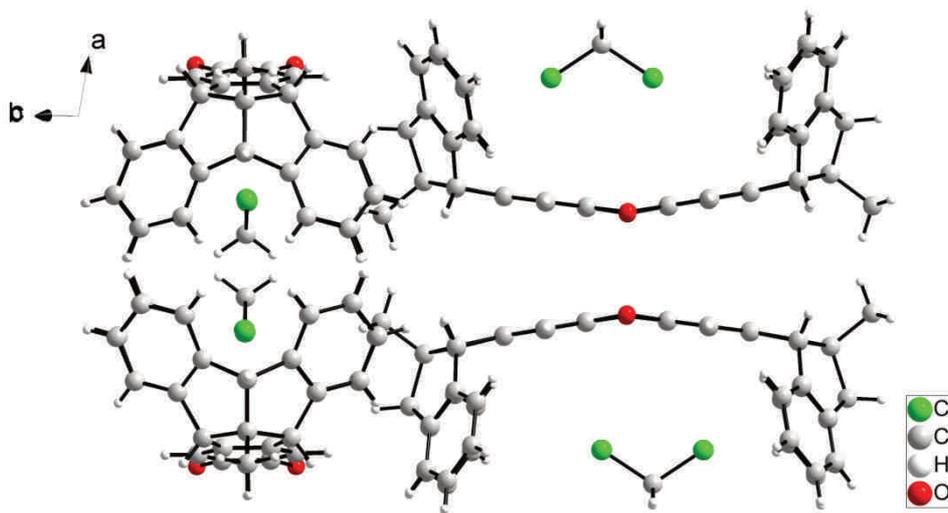


Abbildung 3.18: Stäbchenmodell von vier Molekülen *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mit alternierender Bauch-an-Bauch- bzw. Rücken-an-Rücken-Anordnung benachbarter Dimere von Wirt-Gast-Addukten.

Diese interessanten strukturellen Eigenschaften des kristallinen *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Addukts unterstreichen die Vielseitigkeit von dreidimensionalen Gerüstverbindungen.

Die Darstellung der TBTQ-basierten Modellverbindung für eine molekulare Würfelkante *syn*-**82** gelang mit Erfolg auf der von *Greschner* geplanten Syntheseroute mit einem chiralitätsunterstützten Ansatz (Schema 3.8). Die Ergebnisse dieser und der verkürzten racemischen Route wurden erfolgreich publiziert.<sup>[187]</sup> Neben der geringen

Ausbeute des *Ullmann*-Kupplungsprodukts leidet die zehnstufige Syntheseroute, ausgehend von dem unsubstituierten TBTQ-Kohlenwasserstoff **71**, unter einigen Umwegen. Zum Einen ist die Reduktion des racemischen Aldehyds *rac*-**85** zum Benzylalkohol *rac*-**86** mit anschließender Reoxidation des über die Racematspaltung erhaltenen enantiomerenreinen Alkohols (*P*)-**86** zum optisch reinen Aldehyd (*P*)-**85** für die längliche Synthesesequenz verantwortlich. Zum Anderen tragen auch die Veresterung des racemischen Benzylalkohols *rac*-**86** und die darauffolgende Verseifung des enantiomerenreinen Esters (*P*)-**87** wiederum zum Benzylalkohol (*P*)-**86** zu zusätzlichem Syntheseaufwand bei. Daher ist eine kürzere, direktere Syntheseroute erstrebenswert, dessen Erarbeitung im folgenden Kapitel erläutert wird.

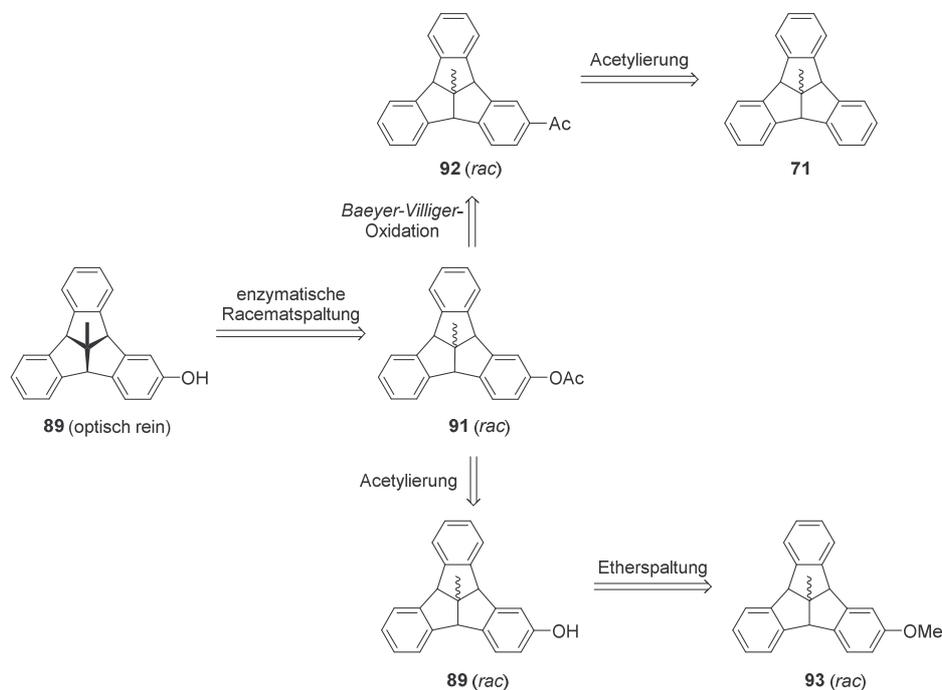
### 3.3.3 Entwicklung einer verkürzten Syntheseroute zur Darstellung einer bis-TBTQ-Würfelfkante

Die oben beschriebene Syntheseroute zum chiralitätsunterstützten Aufbau der *syn*-bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQ-Würfelfkante *syn*-**82** ist aufgrund der relativ langen Syntheseroute inklusive Reduktion, Oxidation, Veresterung und Verseifung nicht optimal. Daher ist ein verkürzter, direkterer Zugang zu der Zielverbindung *syn*-**82** erstrebenswert. Dennoch ist das in der erstgenannten Route verwendete enzymbasierte Konzept der kinetischen Racematspaltung mit Lipasen ein sehr zielgerichtetes Mittel zur Synthese eines enantiomerenreinen TBTQ-Bausteins, der für einen chiralitätsunterstützten Ansatz essentiell ist. Daher sollte die enzymatische Racematspaltung auf jeden Fall auch in der optimierten Syntheseroute ein Schlüsselschritt bleiben. Eine deutliche Vereinfachung der Syntheseroute könnte erzielt werden, wenn die Lipasen-katalysierte Esterspaltung auch mit TBTQ-Phenylester *rac*-**91** anstelle von TBTQ-Benzylester *rac*-**87** selektiv funktionieren würde (Schema 3.21). So wären mit dem optisch reinen TBTQ-Baustein **89** auf diesem Wege nur noch zwei weitere Transformationen (Iodierung und *Ullmann*-Kupplung) notwendig, während es in der bereits etablierten Route sechs Reaktionen mit enantiomerenreinen TBTQ-Bausteinen waren. Dies würde neben einem geringeren synthetischen Aufwand auch wertvolles optisch reines Material sparen.

Die retrosynthetische Betrachtung des für dieses Vorhaben notwendigen Bausteins TBTQ-Phenylester *rac*-**91** offenbart zwei unterschiedliche Herangehensweisen an dessen Synthese. Die erste Route nutzt die bereits gewonnenen Erkenntnisse zur *Baeyer-Villiger*-Oxidation von substituierten TBTQ-Bausteinen aus. In diesem Fall wäre die Vorstufe des Phenylesters *rac*-**91** das Acetyl-TBTQ *rac*-**92**, dessen Darstellung wiederum durch Acetylierung<sup>[169]</sup> von unsubstituiertem *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) möglich ist.

Die zweite Route beinhaltet das Konzept, schon beim Aufbau des TBTQ-Gerüsts eine Funktionalität an einem der Aromaten einzubringen, sodass der neu gebildete TBTQ-Baustein bereits einen Substituenten trägt. Als chemisch robuster, zur relevanten Hydroxygruppe strukturverwandter Substituent würde sich in diesem Fall die Methoxygruppe eignen, aus der über eine Etherspaltung die OH-Funktionalität freigesetzt

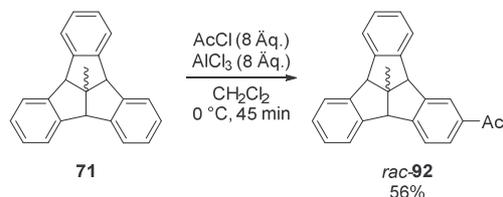
werden könnte. Dementsprechend würde der zweite Synthesepfad ausgehend von Methoxy-TBTQ *rac*-**93** über das racemische TBTQ-Phenol *rac*-**89** mittels Acetylierung ebenfalls zu Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** führen.



Schema 3.21: Retrosynthetische Möglichkeiten zu einer optimierten, verkürzten Syntheseroute zur Darstellung von optisch reinem TBTQ-Phenol **89**.

Auf beiden Routen sind letztendlich nur fünf Synthesestufen ausgehend von unsubstituiertem TBTQ **71** bzw. von Methoxy-TBTQ *rac*-**93** bis zur Zielverbindung *syn*-**82** notwendig. Dies entspricht einer Halbierung der Anzahl der Reaktionen verglichen mit der in Kapitel 3.3.2 vorgestellten Syntheseroute. Da beide Wege interessante Einblicke in die Chemie der TBTQ-Derivate versprechen, wurden auch beide Ansätze verfolgt und auf ihre Durchführbarkeit untersucht.

Die erste, alternative Route zur Synthese von *syn*-bikonkavem, Dioxin-verbrückten bis-TBTQ *syn*-**82** wurde mit der Monoacetylierung von unsubstituiertem *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) initiiert (Schema 3.22).



Schema 3.22: Acetylierung von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) mit Acetylchlorid und  $\text{AlCl}_3$  zu Acetyl-TBTQ *rac*-**92**.

Die Synthese wurde unter den Literatur-beschriebenen Reaktionsbedingungen mit einem Überschuss von Acetylchlorid und  $\text{AlCl}_3$  durchgeführt.<sup>[169]</sup> Um die Wahrscheinlichkeit der Mehrfachacetylierung an den aromatischen Ringen möglichst gering zu halten, wurde eine

kurze Reaktionszeit von lediglich 45 min gewählt. Während das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rohprodukts nach wässriger Aufarbeitung keine Hinweise auf größere Verunreinigungen gab, deutete die DC-Analyse des Rohmaterials deutlich auf zwei unterschiedlich polare Komponenten hin. Diese beiden Komponenten konnten mittels Säulenchromatographie getrennt werden. Das gewünschte Acetyl-TBTQ *rac-92* wurde mittels NMR-Spektroskopie als Hauptkomponente identifiziert. Es wurde in einer Ausbeute von 56% isoliert. Die zweite Komponente der Produktmischung wurde in nicht unbeträchtlichen Mengen von etwa einem Drittel der Masse des eingesetzten Kohlenwasserstoffs **71** gewonnen. Die Signale im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum dieser Verbindung weichen nicht wesentlich von denen des Acetyl-TBTQs *rac-92* ab, sodass davon auszugehen ist, dass es sich hierbei um ein mehrfach acetyliertes TBTQ-Gerüst handelt. Die Bildung einer mehrfach acetylierten TBTQ-Spezies erklärt gleichzeitig die moderate Ausbeute des Mono-Acetyl-TBTQs *rac-92*, dessen Analytik mit den Literaturdaten übereinstimmt.<sup>[169]</sup>

Die darauffolgende Synthese bestand aus der *Baeyer-Villiger*-Oxidation der Acetylfunktion des TBTQ-Bausteins *rac-92*. In einer Versuchsreihe zur *Baeyer-Villiger*-Oxidation verschiedener Ketone mit *m*-CPBA haben *Kotsuki et al.* herausgefunden, dass sich unter Anderem der Zusatz von katalytischen Mengen Trifluormethansulfonsäure (TfOH) oder dessen Scandiumsals ( $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ ) positiv auf die Raum-Zeit-Ausbeute des entsprechenden Produkts auswirkt.<sup>[188]</sup> Da die bisherigen Experimente zur *Baeyer-Villiger*-Oxidation mit *m*-CPBA auch nach langen Reaktionszeiten von eher moderaten Ausbeuten geprägt waren, wurde die Auswirkung der Zusätze  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$  und TfOH auf den Reaktionsverlauf der *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Acetyl-TBTQ *rac-92* untersucht (Abbildung 3.19).

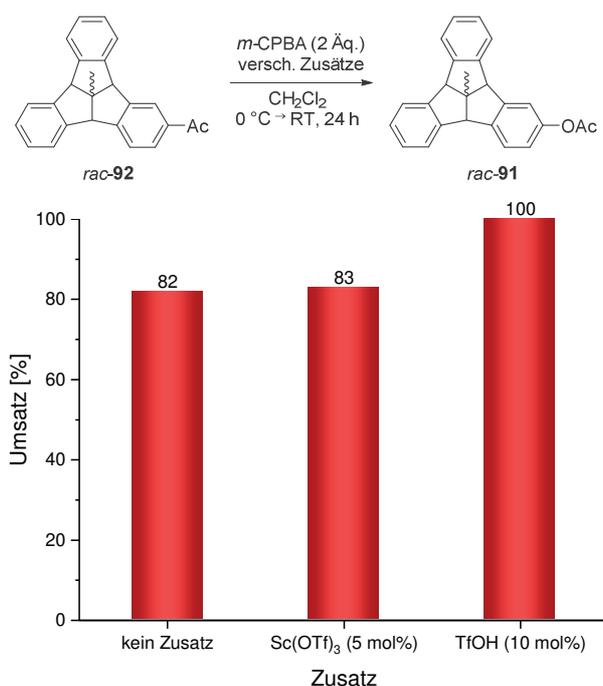
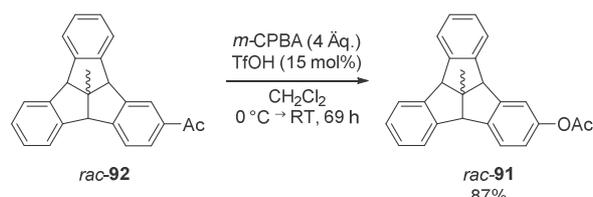


Abbildung 3.19: Per  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ermittelter Umsatz von Acetyl-TBTQ *rac-92* zu Acetoxy-TBTQ *rac-91* aus der *Baeyer-Villiger*-Oxidation mit *m*-CPBA und verschiedenen Zusätzen.

Die Mengen der Reagenzien wurden wie in der Literatur beschrieben gewählt.<sup>[188]</sup> Interessanterweise wurde unter diesen Reaktionsbedingungen auch ohne Zusatz eines Katalysators nach 24 h Reaktionszeit ein vergleichsweise hoher Umsatz von 82% zu dem gewünschten Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** erreicht. Mit zusätzlichem Sc(OTf)<sub>3</sub> konnte der Umsatz unter sonst gleichen Bedingungen auf 83% kaum erhöht werden. Ein Zusatz von TfOH führte allerdings zu einem vollständigen Umsatz. Dieses erfreuliche Ergebnis wurde als Grundlage für die Synthese von Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** im Grammaßstab gewählt (Schema 3.23).



Schema 3.23: *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Acetyl-TBTQ *rac*-**92** mit *m*-CPBA und katalytischen Mengen TfOH zu Acetoxy-TBTQ *rac*-**91**.

Diese Reaktion wurde wie auch im Katalysatorscreening mit zwei Äquivalenten *m*-CPBA und 10 mol% TfOH gestartet. Im Gegensatz zu den Testansätzen fiel im Verlauf der Reaktion aus der Lösung langsam ein feiner, farbloser Feststoff aus. Des Weiteren ergab eine Reaktionskontrolle per DC nach einer Reaktionszeit von 24 h abweichend von den Ergebnissen aus dem Katalysatorscreening noch keinen vollständigen Umsatz. Um die Bildung des Feststoffes als mögliche Ursache für den unvollständigen Umsatz auszuschließen, wurde weiteres Lösungsmittel hinzugefügt, wodurch der Feststoff wieder in Lösung ging. Auch nach weiteren 17 h Reaktionszeit lag laut DC-Analyse immer noch Acetyl-TBTQ *rac*-**92** in der Reaktionsmischung vor. Daher wurden weitere zwei Äquivalente *m*-CPBA und 4 h später nochmals 5 mol% TfOH hinzugefügt. So zeigte die DC nach einer Reaktionszeit von insgesamt 69 h immerhin einen annähernd vollständigen Umsatz an. Nach wässriger Aufarbeitung und Säulenchromatographie wurde das Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** schließlich mit einer guten Ausbeute von 87% isoliert. Die NMR-spektroskopische und massenspektrometrische Analyse belegte eindeutig, dass es sich bei dem isolierten Material um die gewünschte Verbindung *rac*-**91** handelt. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zeigt die für ein monosubstituiertes TBTQ-Gerüst charakteristischen Signale bei entsprechender Verschiebung (Abbildung 3.20).

Während das Signal des *meta*-Protons am substituierten Benzolkern mit einem der beiden Multipletts der acht aromatischen Protonen der unsubstituierten Kerne bei einer Verschiebung von 7.42 ppm zusammenfällt, sind die Signale der zur Acetoxygruppe *ortho*-ständigen Protonen als Singulett bei 7.14 ppm und als Dublett bei 6.90 ppm deutlich zu erkennen. Die Brückenkopfprotonen resonieren als zwei Singulett bei 4.47 und 4.45 ppm. Besonders charakteristisch ist in diesem Spektrum das Singulett der Acetoxymethylgruppe bei 2.29 ppm im Vergleich zu dem Methylsignal der Acetylfunktion von *rac*-**92** im tieferen Feld bei 2.57 ppm. Die zentrale Methylgruppe resoniert wie in allen

$^1\text{H-NMR}$ -Spektren vergleichbarer TBTQ-Bausteine in einem Verschiebungsbereich um 1.68 ppm.

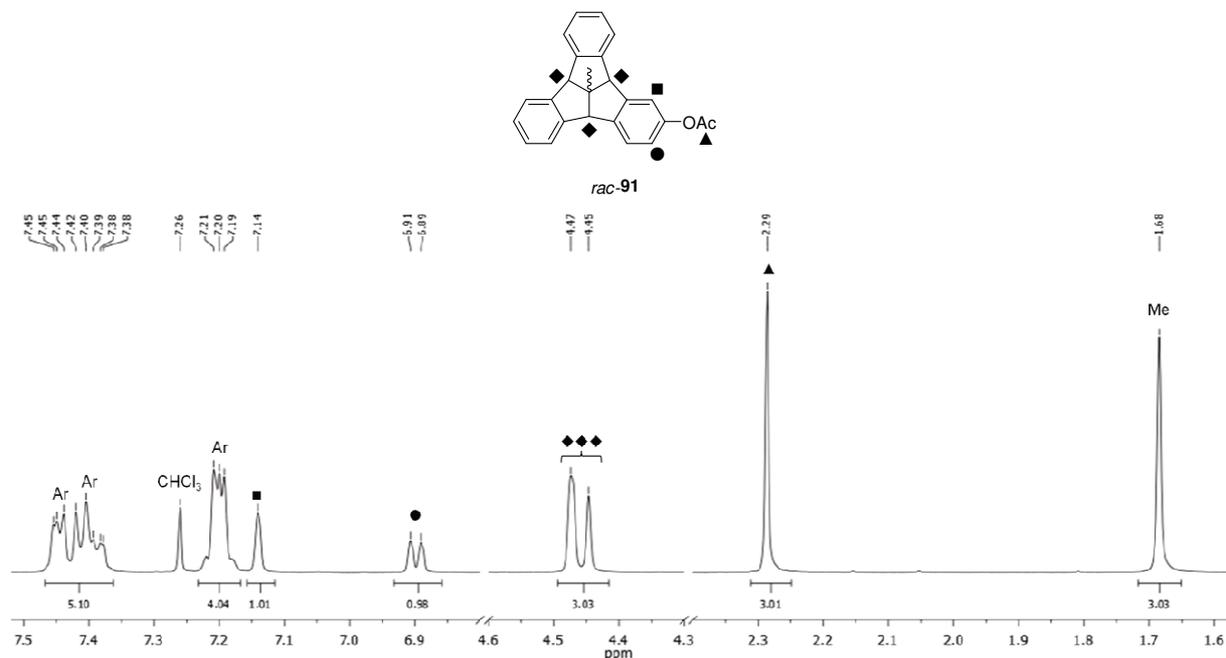
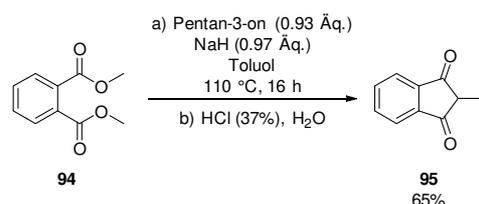


Abbildung 3.20: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des isolierten Acetoxy-TBTQ *rac-91* aus der *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Acetyl-TBTQ *rac-92* in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Nachdem auf dieser ersten Alternativroute der racemische Schlüsselbaustein Acetoxy-TBTQ *rac-91* erfolgreich synthetisiert werden konnte, wurde auch der zweite alternative Synthesepfad über die Komplettsynthese eines substituierten TBTQ-Gerüsts untersucht. Das Synthesekonzept zur Darstellung des Methoxy-substituierten TBTQ-Bausteins *rac-93* entspricht dem des *centro*-Methyl-TBTQs (**71**)<sup>[157]</sup>, mit dem Unterschied, dass eines der drei Benzolkerne von Beginn der Synthesesequenz an eine Methoxyfunktionalität tragen muss. So musste lediglich eine der beiden Komponenten Indandion<sup>[189]</sup> oder Benzhydrol<sup>[190]</sup>, welche für den Aufbau des TBTQ-Gerüsts benötigt werden, mit einem Methoxysubstituenten ausgestattet werden. Dabei fiel die Wahl wegen seiner einfachen synthetischen und kommerziellen Zugänglichkeit auf das Benzhydrol.

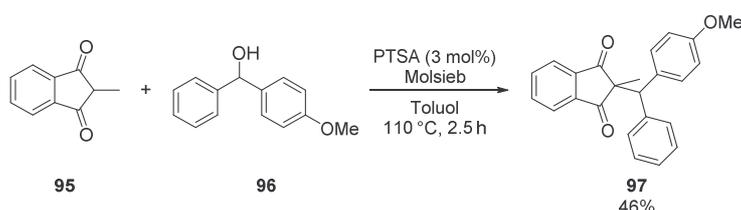
Der für den Aufbau von *centro*-Methyl-substituierten TBTQ-Gerüsten benötigte Grundbaustein 2-Methylindan-1,3-dion (**95**) wurde nach *Mosher et al.* in einer doppelten *Claisen*-Kondensation von Pentan-3-on an Dimethylphthalat (**94**) im 100 g-Maßstab synthetisiert (Schema 3.24).<sup>[191]</sup>



Schema 3.24: Doppelte *Claisen*-Kondensation von Pentan-3-on an Dimethylphthalat (**94**) zu 2-Methylindan-1,3-dion (**95**).<sup>[191]</sup>

Aus der Reaktionsmischung wurde zunächst das Enolat als kräftig roter Feststoff erhalten. Dieser wurde mit Salzsäure protoniert, wobei das Methylindandion **95** als blassgelber Feststoff kristallin aus einer wässrigen Lösung ausfiel und durch Filtration isoliert wurde. Die gute Ausbeute von 65% liegt nur knapp unter dem Literaturwert von 68%.<sup>[191]</sup> Die NMR-spektroskopischen Daten des isolierten Materials belegen eindeutig die Struktur des Indandions **95** und stimmen mit den Literaturdaten überein.<sup>[192]</sup>

Durch eine säurekatalysierte Kondensation von kommerziellem *para*-Methoxy-substituiertem Benzhydrol **96** mit dem zuvor gebildeten Indandion **95** wurden analog zu der literaturbekannten TBTQ-Synthese<sup>[157]</sup> zwei weitere Benzolkerne in das Indanmolekülgerüst eingeführt (Schema 3.25).



Schema 3.25: Säurekatalysierte Kondensation von 2-Methylindan-1,3-dion (**95**) mit *para*-Methoxybenzhydrol **96** zu Benzhydrylmethylindandion (**97**).

Die Kondensation wurde mit katalytischen Mengen *para*-Toluolsulfonsäure (PTSA) in siedendem Toluol durchgeführt. Anders als in der Literatur beschrieben wurde das bei der Reaktion entstehende Wasser jedoch nicht mit einem Wasserabscheider aus der Reaktionsmischung entfernt.<sup>[157]</sup> Das Kondensationswasser wurde in diesem Fall mit Molsieb innerhalb eines *Soxhlet*-Aufsatzes mit Extraktionshülse abgefangen. Auf diese Weise wurde das am Kühler kondensierte Toluol-Wasser-Gemisch oberhalb der Reaktionsmischung getrocknet, sodass weder Substrate noch Produkt mit dem Molsieb in Berührung kamen und ein Abtransport des Wassers dennoch gewährleistet wurde. Mit diesem Reaktionsaufbau konnte die oftmals eher schlechte Trennung von Wasser und Toluol in einem *Dean-Stark*-Wasserabscheider umgangen werden. Nach wässriger Aufarbeitung des Reaktionsansatzes konnte das Benzhydrylmethylindandion **97** durch Kristallisation in einer moderaten Ausbeute von 46% isoliert werden. Die im Vergleich zu analogen Kondensationsreaktionen mit Ausbeuten bis über 90% eher geringe Produktausbeute lässt lediglich vermuten, dass der Wasserentzug mit Molsieb weniger effektiv als im Wasserabscheider abläuft. Als Folge davon würde das Gleichgewicht dieser grundsätzlich reversiblen Reaktion nicht stark genug auf die Produktseite verschoben werden.

Die Molekülstruktur des isolierten Produkts konnte mittels NMR-Spektroskopie bestätigt werden. Neben den Signalen der aliphatischen Protonen lassen sich auch alle aromatischen Signale im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Indandion **97** unter Zuhilfenahme von 2D-NMR-Messungen eindeutig zuordnen (Abbildung 3.21).

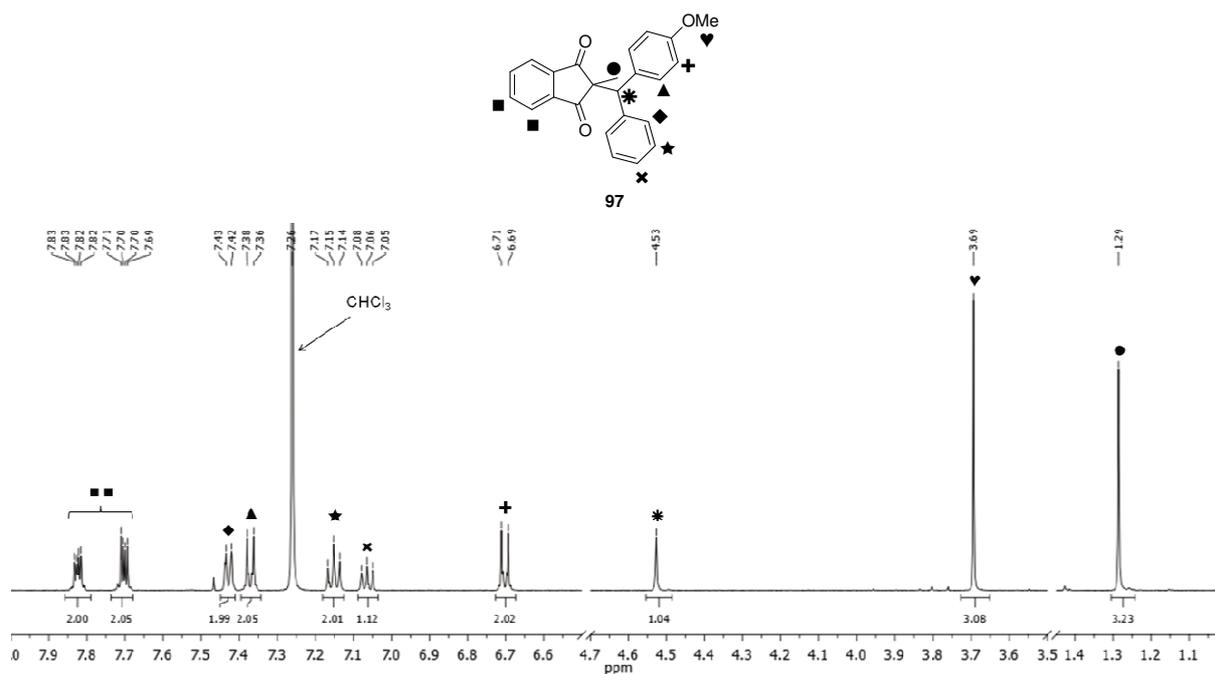
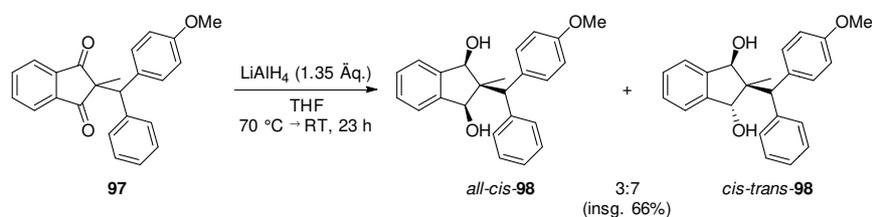


Abbildung 3.21: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des isolierten Benzhydrylmethylindandions **97** aus der Kondensation von Indandion **95** mit *para*-Methoxybenzhydrol **96** in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung der Signale.

Die aromatischen Protonen des Indangerüsts erzeugen ein charakteristisches  $\text{AA}'\text{BB}'$ -Spinsystem bei einer Verschiebung von 7.83 und 7.70 ppm. Die Protonen des unsubstituierten Phenylrests resonieren als Dublett bei 7.43 (*ortho*-H), als Triplet bei 7.16 (*meta*-H) und als weiteres Dublett bei 7.07 ppm (*para*-H). Die Dubletts bei 7.37 und bei 6.70 ppm resultieren aus der Resonanz der Protonen des Methoxy-substituierten Phenylrests, wobei die Protonen in direkter Nachbarschaft zur Methoxygruppe aufgrund deren +M-Effekt abgeschirmt werden und damit Hochfeld-verschoben liegen.<sup>[178]</sup> Das Methinproton resoniert bei 4.53 ppm, die Protonen der Methoxygruppe und der Methylgruppe am quartären C-Atom werden den Singulett bei 3.69 bzw. bei 1.29 ppm zugeordnet.

Die nächste Synthesestufe bestand aus der Reduktion des Diketons **97** zum Indandiol **98** (Schema 3.26).



Schema 3.26: Reduktion von Indandion **97** zu Indandiol **98** mit  $\text{LiAlH}_4$ .

Die Reduktion erfolgte mit einem Überschuss des Reduktionsmittels  $\text{LiAlH}_4$ . Analog zu den Befunden bei der Reduktion von vergleichbaren Benzhydrylindandion-Derivaten<sup>[157]</sup> wurde eine Mischung aus *all-cis*- und *cis-trans*-Diol **98** in einem Verhältnis von etwa 3:7 gebildet, während die Bildung eines *all-trans*-Isomers nicht beobachtet wurde. Dieses

Verhalten bei der Reduktion lässt sich dadurch erklären, dass das Reduktionsmittel räumlich bedingt aus Richtung des sterisch weniger anspruchsvollen Substituenten in 2-Position, also auf der Ringseite des Methylsubstituenten, am Indangerüst angreift. Infolge dieses ersten Hydridtransfers landet die daraus entstehende C-O-Einfachbindung auf der Ringseite des ausladenderen Benzhydryl-Substituenten. Durch diese *cis*-Konfiguration ist die Bildung eines *all-trans*-Isomers auszuschließen. Des Weiteren ist der zweite Hydridtransfer aufgrund der möglichen Fixierung einer O-AlH<sub>3</sub><sup>-</sup>-Spezies an der bereits reduzierten CO-Einfachbindung von der Rückseite begünstigt, was zu einer Bildung der zweiten CO-Einfachbindung mit *trans*-Konfiguration führt. Dies erklärt die begünstigte Bildung des *cis-trans*-Isomers gegenüber dem *all-cis*-Isomer, bei dem der zweite Hydridtransfer von der gleichen Seite wie der erste erfolgen muss.

Während die Diastereomere analoger, literaturbekanntes Indandiol-Gerüstverwandten mittels fraktionierter Kristallisation leicht isoliert werden konnten,<sup>[157]</sup> scheiterte diese Methode mit dem Isomerengemisch von *all-cis*- und *cis-trans*-Diol **98**. Auch die säulenchromatographische Trennung der Diastereomere erwies sich aufgrund ihrer ähnlichen strukturellen und polaren Eigenschaften als schwierig. So konnte reines *all-cis*-**98**, welches zuerst eluierte, nur in einer kleinen Fraktion aufgefangen und mit einer Ausbeute von <1% isoliert werden. In den darauffolgenden Fraktionen wurden Mischungen beider Diastereomere erhalten, bis in der letzten Fraktion schließlich *cis-trans*-**98** mit einer Isomerenreinheit von 98% enthalten war, welches mit einer Ausbeute von 14% isoliert wurde. Die Gesamtausbeute des isolierten Diols **98** beträgt insgesamt 66% bei einem Ansatz von >11 g des Indandions **97**.

Die unterschiedliche Konfiguration an den chiralen Positionen der beiden Diastereomere *all-cis*- und *cis-trans*-**98** wirkt sich auf die Verschiebung und die Feinstruktur der Signale im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum aus und erzeugt charakteristische Signalmuster, welche von *Kuck et al.* für vergleichbare Indandiol-Derivate aufgeklärt wurden.<sup>[157]</sup>

Die aromatischen Protonen von *all-cis*-**98** (Abbildung 3.22 oben) erzeugen Signalsätze, welche denen der aromatischen Protonen des Indandions **97** ähneln. Einzig das AA'BB'-Spinsystem der Indanprotonen ist im Spektrum des Diols um etwa 0.4 ppm ins Hochfeld verschoben, was mit der veränderten elektronischen Umgebung – aus den Carbonylfunktionalitäten mit einem –M-Effekt wurden Alkoholsubstituenten mit einem +M-Effekt – erklärt werden kann. Weiterhin lassen sich auch die Signale des Methinprotons bei 5.16 ppm, der Methoxy-Protonen bei 3.80 ppm und der zentralen Methylgruppe im bemerkenswert hohen Feld bei 0.83 ppm wiederfinden, welche ebenfalls Bestandteil des Spektrums der Ausgangsverbindung **97** sind. Darüber hinaus beinhaltet das Spektrum von *all-cis*-**98** zusätzlich Signalmuster, die von den Hydroxyprotonen bzw. von deren benachbarten Carbinolprotonen erzeugt werden. Während die Carbinolprotonen im tieferen Feld als Dublett bei 4.51 ppm resonieren, erzeugen die beiden diastereotopen Hydroxyprotonen im etwas höheren Feld zwei Dubletts mit gleicher Integralgröße bei 2.26 und 2.24 ppm.

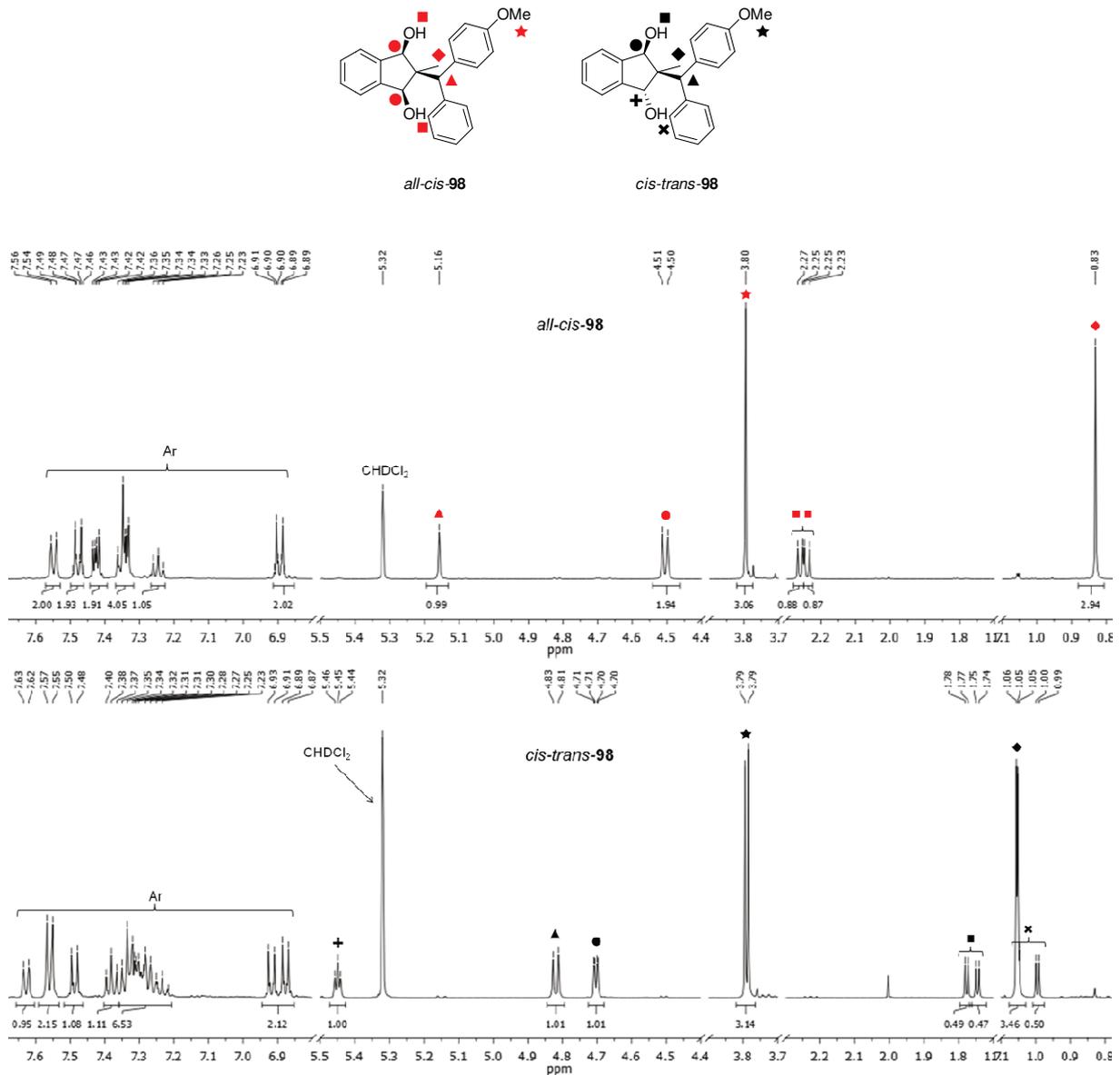
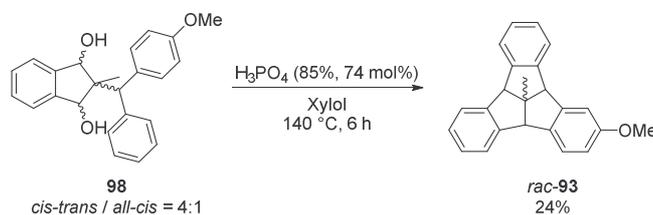


Abbildung 3.22: Ausschnitte aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der isolierten Diole *all-cis*-**98** (oben) und *cis-trans*-**98** (unten) aus der Reduktion von Indandion **97** in CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mit Zuordnung der nicht-aromatischen Signale.

Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von *cis-trans*-**98** (Abbildung 3.22 unten) ist verglichen mit dem *all-cis*-Isomer noch komplexer. Anhand von Dopplungen der Signale zeigt sich, dass das *cis-trans*-Isomer als ein 1:1-Diastereomerengemisch gebildet wurde, dessen Isomere per Säulenchromatographie nicht voneinander getrennt werden konnten. Besonders charakteristisch für die *cis-trans*-Anordnung der Substituenten am Fünfring ist die stereochemisch bedingte, deutlich unterschiedliche Resonanz von beiden Carbinol- und beiden Hydroxy-Protonen. Das Proton der *cis*-ständigen Hydroxygruppe erzeugt zwei Diastereomerendoublets bei 1.76 ppm und das benachbarte Carbinolproton resoniert bei 4.71 ppm. Im Gegensatz dazu entschirmt die Benzhydryleinheit das Carbinolproton an der *trans*-ständigen OH-Funktionalität derart, dass es ein Tieffeld-verschobenes Signal bei 5.45 ppm erzeugt. Das Hydroxyproton hingegen resoniert weit im Hochfeld bei 1.03 ppm.

Da der Großteil des isolierten Indandiols **98** als Isomerengemisch vorlag, wurde in der darauffolgenden doppelten Cyclodehydratisierung zum Methoxy-substituierten TBTQ-Baustein *rac*-**93** eine 4:1-Mischung von *cis-trans*- und *all-cis*-**98** verwendet (Schema 3.27).



Schema 3.27: Doppelte Cyclodehydratisierung von Indandiol *cis-trans*-, *all-cis*-**98** mit Phosphorsäure zu Methoxy-TBTQ *rac*-**93**.

Unter typischen Reaktionsbedingungen für eine Cyclodehydratisierung<sup>[193]</sup> wurde das Diol **98** mit Phosphorsäure in Xylol zum Rückfluss erhitzt, während das aus der Kondensation gebildete Wasser in einem *Dean-Stark*-Wasserabscheider aufgefangen wurde. Anders als bei der literaturbeschriebenen Synthese des Kohlenwasserstoffs *centro*-Methyl-TBTQ (**71**)<sup>[157]</sup> war eine Isolierung des erwarteten Produkts *rac*-**93** mittels Kristallisation nicht möglich, da das Rohprodukt selbst nach Trocknung im Hochvakuum keinen Feststoff bildete, sondern als viskoses Öl vorlag. Daher wurde das Rohmaterial mittels *normal phase*-Säulenchromatographie aufgereinigt. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des daraus erhaltenen Öls wies allerdings gegenüber dem Spektrum des direkt aus der Reaktionsmischung erhaltenen Rohmaterials kaum einen Unterschied auf. Die Vielzahl der Signale in allen Verschiebungsbereichen wies auf eine weiterhin unreine Probe hin. Daher wurde das Material mittels *reversed phase*-DC untersucht, dessen Entwicklung in einem Acetonitril-Wasser-Gemisch eine Vielzahl verschiedener Flecken anzeigte. Schließlich gelang die Isolierung über eine *reversed phase*-Säulenchromatographie, durch die das Methoxy-TBTQ *rac*-**93** mit einer Ausbeute von 24% als farbloser Feststoff erhalten werden konnte. Diese Ausbeute liegt leicht unterhalb der Standardausbeute von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) im Bereich von 30-33%.<sup>[157,193]</sup> Eine mögliche Erklärung hierfür findet sich über den Methoxysubstituenten, der aufgrund seiner elektronischen Eigenschaften einen desaktivierenden Einfluss auf die aromatische *meta*-Position ausübt, an der die Cyclisierung stattfindet.

Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des isolierten Methoxy-TBTQ *rac*-**93** zeigt die charakteristischen Signale für ein monofunktionalisiertes TBTQ-Gerüst mit passenden Integralgrößen (Abbildung 3.23). Abgesehen von den acht aromatischen Protonen der unsubstituierten Benzolkerne mit ihren Multipletts bei 7.50-7.44 ppm sowie bei 7.25-7.21 ppm ist die Zuordnung der drei aromatischen Protonen des substituierten Benzolkerns aufgrund ihrer Signalmuster eindeutig. Das innere Proton in *meta*-Position zur Methoxygruppe erzeugt ein Dublett bei 7.37 ppm. Dieses koppelt mit dem benachbarten äußeren Proton und resoniert als Doppeldublett bei einer Verschiebung von 6.80 ppm. Die doppelte Aufspaltung dieses Signals entsteht durch die <sup>4</sup>J-W-Kopplung mit dem anderen inneren Proton in *ortho*-Position zur Methoxygruppe, welches

aufgrund ebendieser W-Kopplung ein Dublett bei 7.01 ppm erzeugt. Die drei Brückenkopfprotonen resonieren anders als die meisten der in dieser Arbeit beschriebenen TBTQ-Derivate alle bei unterschiedlicher Verschiebung bei 4.51, 4.47 und 4.46 ppm. Ebenfalls eindeutig sind die Singulets der Methoxyprotonen bei 3.81 ppm und der zentralen Methylgruppe bei 1.72 ppm.

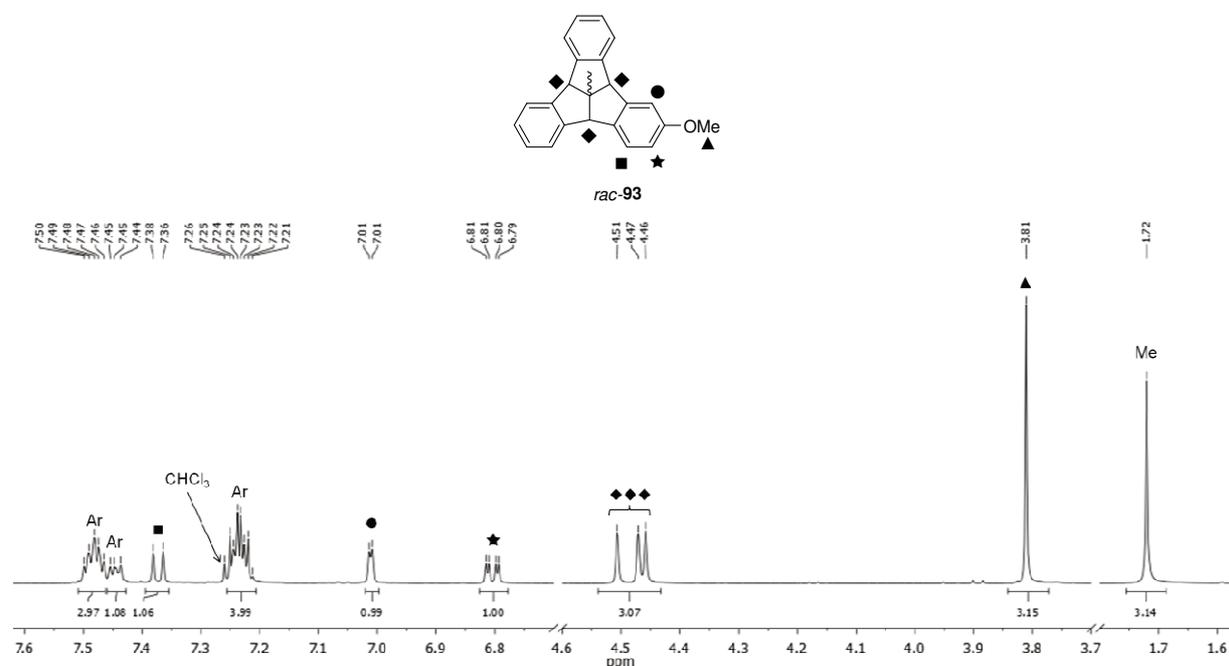


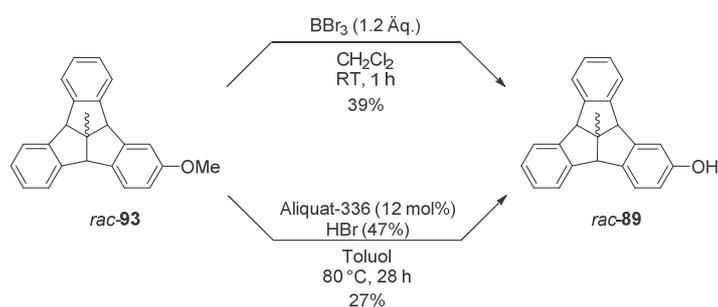
Abbildung 3.23: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des isolierten Methoxy-TBTQ *rac-93* aus der doppelten Cyclodehydratisierung von Indandiol *cis-trans*-, *all-cis-98* in CDCl<sub>3</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Die dreistufige Synthesesequenz zur Darstellung von Methoxy-TBTQ *rac-93* ausgehend von Methylindandion **95** und *para*-Methoxybenzhydrol **96** wurde von Beate Nachtigall im Rahmen ihrer Bachelorarbeit durchgeführt und diente als Grundlage für die oben beschriebenen Reaktionen und für die Analytik der Produkte.<sup>[194]</sup>

Für die Vervollständigung des zweiten verkürzten Synthesepfades zur chiralitätsunterstützten Darstellung der bis-TBTQ-Würfelkante *syn-82* wurde der Methoxy-substituierte TBTQ-Grundbaustein *rac-93* in den TBTQ-Alkohol *rac-89* überführt. Dazu wurden zwei unterschiedliche Methoden getestet.

Ein gängiges und effektives Reagenz zur Spaltung der Etherbindung in Arylmethylethern ist BBr<sub>3</sub>.<sup>[195]</sup> Unter milden Reaktionsbedingungen und kurzen Reaktionszeiten lassen sich unterschiedlich funktionalisierte Anisolderivate mit diesem Reagenz selektiv und mit hohen bis quantitativen Ausbeuten in die entsprechenden Phenole überführen.<sup>[196]</sup> Diese Reaktionsbedingungen wurden erfolgreich auf die Etherspaltung von Methoxy-TBTQ *rac-93* übertragen (Schema 3.28 oben). Nach einstündiger Reaktionszeit des Ethers **93** mit einem leichten Überschuss BBr<sub>3</sub> bei Raumtemperatur und wässriger Aufarbeitung des Ansatzes konnte ein Rohprodukt gewonnen werden, dessen <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum einen vollständigen Umsatz der

Ausgangsverbindung **93** anzeigte. Neben den Produktsignalen weisen allerdings weitere Signale auf nicht identifizierte Verunreinigungen hin. Diese wurden mithilfe einer Säulenchromatographie entfernt, sodass der TBTQ-Alkohol *rac*-**89** mit einer im Vergleich zur Literatur eher moderaten Ausbeute von 39% isoliert werden konnte. Da der Umsatz nach einstündiger Reaktionszeit bereits vollständig war, ist diese mittelmäßige Ausbeute jedoch nicht auf eine langsamere Reaktion, sondern eher auf eine erhöhte Bildung von Nebenprodukten zurückzuführen. Eine Wiederholung des Experiments bei niedrigerer Temperatur und damit bei einer herabgesetzten Reaktivität von  $\text{BBr}_3$  wäre ein möglicher Ansatz zur Erhöhung der Produktausbeute.



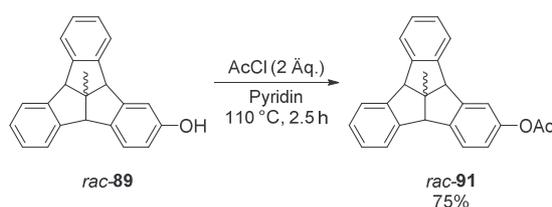
Schema 3.28: Etherspaltung von Methoxy-TBTQ *rac*-**93** mit  $\text{BBr}_3$  bzw. mit HBr zum TBTQ-Alkohol *rac*-**89**.

Alternativ dazu wurde die Etherspaltung von Methoxy-TBTQ *rac*-**93** mit HBr vermittelt durch einen Phasentransferkatalysator (PTK) untersucht (Schema 3.28 unten). Für eine Vielzahl von substituierten Arylmethylethern hat sich dabei Aliquat-336 (Methyltrioctylammoniumchlorid) als geeignet herausgestellt und mit HBr bei einer Temperatur von  $\sim 100$  °C und bei Reaktionszeiten von 4-8 h konnten die entsprechenden Phenole mit Ausbeuten zwischen 62% und 96% isoliert werden.<sup>[197]</sup> Um möglichst wenig Material des wertvollen Methoxy-TBTQ *rac*-**93** zu verbrauchen, wurde die Etherspaltung unter diesen Reaktionsbedingungen zunächst nur in kleinen Ansätzen mit 30-50 mg durchgeführt. Aufgrund dieser geringen Mengen war die Durchmischung des Reaktionsansatzes nur sehr schwer kontrollierbar, daher wurde etwas Toluol als organische Phase zu den Reaktionsmischungen gegeben. Eine DC-Reaktionskontrolle nach vierstündiger Reaktionszeit deutete auf eine unvollständige Reaktion hin. Erst nach weiteren 24 h schien das Startmaterial *rac*-**93** nahezu vollständig verbraucht zu sein. In einer Wiederholung des Experiments mit einer größeren Menge des Methoxy-TBTQ *rac*-**93** wurde die Reaktionsmischung daher 28 h auf 80 °C erhitzt. Die  $^1\text{H-NMR}$ -Analyse des Rohprodukts aus diesem größeren Ansatz zeigte jedoch nur einen Umsatz von 30% zum TBTQ-Alkohol *rac*-**89** an, während 70% des Ethers *rac*-**93** nicht umgesetzt wurden. Entsprechend wurde der Alkohol *rac*-**89** mittels Säulenchromatographie nur in einer Ausbeute von 27% isoliert.

Mit beiden Methoden ( $\text{BBr}_3$  und HBr) war die Etherspaltung von Methoxy-TBTQ *rac*-**93** grundsätzlich erfolgreich. Die NMR-spektroskopischen und massenspektrometrischen Daten des isolierten TBTQ-Alkohols *rac*-**89** stimmen in beiden

Fällen mit denen des Produkts aus der *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Formyl-TBTQ *rac-85* mit anschließender Esterverseifung überein (vgl. Abbildung 3.11). Allerdings bietet die Methode mit  $\text{BBr}_3$  aufgrund der kurzen Reaktionszeit das größere Potential zu einer weiteren Optimierung der Reaktion mit Erhöhung der Ausbeute.

Um auf der zweiten Alternativroute zu dem racemischen Schlüsselbaustein Acetoxy-TBTQ *rac-91* zu gelangen, musste der TBTQ-Alkohol *rac-89* lediglich mit einem Essigsäuresynthion verestert werden. Für solch eine Veresterung hat sich die *Schotten-Baumann*-Reaktion in der *Einhorn*-Variante mit dem Standardreagenz Acetylchlorid in Pyridin etabliert.<sup>[183,198]</sup> Der TBTQ-Alkohol *rac-89* wurde an diese Vorschrift angelehnt 2.5 h bei 110 °C mit einem Überschuss Acetylchlorid in Pyridin behandelt (Schema 3.29).



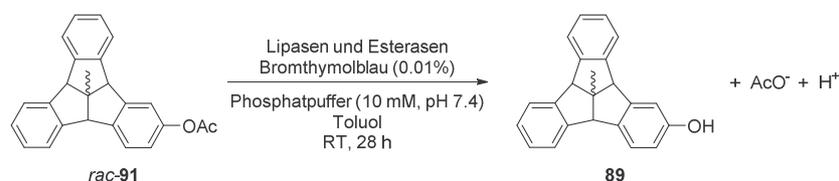
Schema 3.29: Acetylierung von TBTQ-Alkohol *rac-89* mit Acetylchlorid zu Acetoxy-TBTQ *rac-91*.

Nach säulenchromatographischer Aufreinigung des durch wässrige Aufarbeitung erhaltenen Rohmaterials wurde das Acetoxy-TBTQ *rac-91* mit einer Ausbeute von 75% isoliert. Die analytischen Daten des isolierten Materials bestätigen die erfolgreiche Bildung des Esters *rac-91*. Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum gleicht dem des auf der ersten Alternativroute gebildeten TBTQ-Bausteins *rac-91* (vgl. Abbildung 3.20).

Mit der Synthese des racemischen Schlüsselbausteins Acetoxy-TBTQ *rac-91* treffen beide Synthesepläne zur alternativen, optimierten Darstellung des *syn*-bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQs *syn-82* wieder aufeinander (Schema 3.21). Der Vergleich der beiden etablierten Sequenzen ergibt einen ähnlichen Syntheseaufwand auf beiden Routen: Ausgehend von den Grundbausteinen Methylindandion **95** und dem entsprechend (un)substituierten Benzhydrol wurde das Acetoxy-TBTQ *rac-91* jeweils auf einer fünfstufigen Syntheseroute dargestellt. Die erste Route über das unsubstituierte *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) ergab den isolierten Ester *rac-91* in einer Gesamtausbeute von 13%, unter Einbeziehung einer durchschnittlichen Ausbeute des *centro*-Methyl-TBTQs (**71**) von ~26%.<sup>[157]</sup> Die Gesamtausbeute des Esters *rac-91* auf der zweiten Route über das Methoxy-TBTQ *rac-93* betrug im Gegensatz dazu nur 2%. Dieser niedrige Wert resultiert vordergründig aus der geringen Ausbeute bei der Methoxy-TBTQ-Synthese mit insgesamt nur 7%. In Anbetracht dieser Umstände ist die Route über den unsubstituierten TBTQ-Baustein **71** zu präferieren, dennoch gewährte die andere Syntheseroute auch interessante Einblicke in die Chemie der substituierten TBTQ-Bausteine.

Mit dem racemischen TBTQ-Baustein *rac-91* konnte schließlich die Fragestellung adressiert werden, inwiefern dieser von Hydrolasen, wie beispielsweise Lipasen und Esterasen, selektiv zu enantiomerenreinem TBTQ-Phenol **89** umgesetzt wird. Für dieses

Vorhaben war ein effektives Screening mit einer schnellen, zuverlässigen Methodik zur Feststellung der Eignung der untersuchten Enzyme wünschenswert. Basierend auf den Untersuchungen von *Morís-Varas et al.* zur Visualisierung von Enzym-katalysierten Reaktionen durch pH-Indikatoren<sup>[199]</sup> wurde in der Arbeitsgruppe von *Gröger* ein Farbassay zur enzymatischen Esterverseifung mit Hydrolasen entwickelt.<sup>[200]</sup> Dieser nutzt den Farbumschlag des pH-Indikators Bromthymolblau von blau über grün nach gelb im Bereich von pH 7.6-6.0<sup>[201]</sup>, um die erfolgreiche Abspaltung eines Alkohols aus seinem jeweiligen Ester unter Freisetzung der Säure und damit die Absenkung des pH-Wertes anzuzeigen. Dieser Farbassay wurde auf die biokatalytische Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ *rac-91* zum TBTQ-Phenol **89** übertragen und im Rahmen der Bachelorarbeit von *Guntelmann* durchgeführt.<sup>[176]</sup> In einem wässrig-organischen Zweiphasensystem mit nur schwacher Pufferleistung wurde die Verseifung des Esters *rac-91* mit 34 kommerziellen Enzymformulierungen, darunter 32 Lipasen und zwei Esterasen untersucht (Schema 3.30).

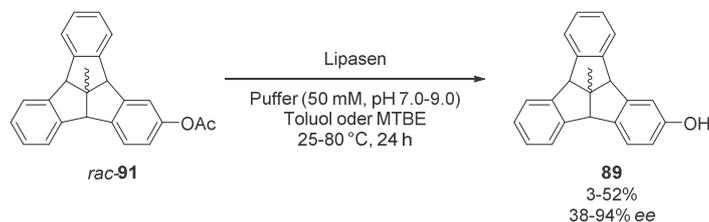


Schema 3.30: Farbassay zur biokatalytischen Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ *rac-91* zu TBTQ-Phenol **89** mit Bromthymolblau unter Verwendung von 32 Lipasen und zwei Esterasen.

Die geringe Konzentration des Indikators Bromthymolblau sorgte für eine blaugrüne Färbung der Reaktionsmischungen, die sich nach der Zugabe des Substrats unterschiedlich entwickelte. Bereits nach einstündiger Reaktionszeit war bei einigen Ansätzen ein Farbumschlag der Mischung nach grün zu beobachten, welcher im Verlauf von 4 h allmählich weiter zu gelbgrün wechselte. Für jede Enzymformulierung wurde gleichzeitig eine Blindreaktion ohne Substrat durchgeführt, um falsch-positive Ergebnisse durch mögliche Hintergrundreaktionen auszuschließen. Nach Auswertung des Farbassays blieben schließlich immerhin fünf Enzymformulierungen übrig, die während der Reaktionszeit von insgesamt 28 h einen eindeutigen Farbumschlag anzeigten und damit potenziell als geeignet für das Substrat Acetoxy-TBTQ *rac-91* infrage kamen. Die Verseifung mit diesen fünf Enzymformulierungen, allesamt Lipasen, wurde im Rahmen der Bachelorarbeit von *Guntelmann* in einem Parameterscreening qualitativ untersucht, um eine konkretere Aussage über Aktivität und Selektivität treffen zu können (Schema 3.31).<sup>[176]</sup>

Der Ester *rac-91* wurde in unterschiedlich konzentrierten Ansätzen in Puffersystemen bei pH 7.0, 7.4 oder 9.0 mit organischem Lösungsmittelzusatz von MTBE oder Toluol bei Temperaturen zwischen 25 und 80 °C mit den fünf potentiell geeigneten Enzymformulierungen immobilisierte CAL-A (*Sigma Aldrich*), immobilisierte CAL-B (*Sigma Aldrich* und *C-LEcta*), lyophilisierte CAL-B (*C-LEcta*) und Lipase D 20

(*Amano*) behandelt. Aus diesem Parameterscreening gingen sehr unterschiedliche Ergebnisse mit geringen bis guten Umsätzen von 3% bis 52% und moderaten bis hohen *ee*-Werten von 38% bis 94% hervor (vgl. Tabelle 7.11).



Schema 3.31: Parameterscreening der enzymatischen Verseifung von Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** zu TBTQ-Phenol **89** mit den Enzymformulierungen aus dem positiven Farbassay unter unterschiedlichen Reaktionsbedingungen.

In allen erfolgreichen biokatalytischen Esterverseifungen wurde selektiv das (*M*)-Enantiomer des Acetoxy-TBTQs **91** umgesetzt. Besonders die immobilisierte CAL-A von *Sigma Aldrich* setzte den Ester *rac*-**91** in einem Phosphatpuffer-Toluol-Gemisch bei pH 7.0 mit einem hohen Umsatz von 40% von den möglichen 50% eines Enantiomers und mit sehr guten *ee*-Werten von 92% zum TBTQ-Phenol (*M*)-**89** um. In diesem Fall erfolgte die kinetische Racematspaltung bezogen auf den Alkohol (*M*)-**89** also mit einer guten Selektivität mit einem E-Wert von 45.<sup>[202]</sup>

Über HPLC-Chromatographie mit einer chiralen Säule konnten alle vier Substrat- und Produkt-Enantiomere aufgetrennt werden (Abbildung 3.24). Aufgrund seiner geringeren Polarität eluiert zunächst das TBTQ-Acetat **91**, wobei die Retentionszeit des (*M*)-Enantiomers mit 87 min etwas geringer ist als die des (*P*)-Enantiomers mit 89 min. Auch von dem TBTQ-Alkohol **89** eluiert zuerst das (*M*)-Enantiomer bei einer Retentionszeit von 143 min nach deutlich längerer Verweildauer auf der chiralen Säule und anschließend das (*P*)-Enantiomer bei 154 min. Mittels Referenzmessungen ließen sich sowohl die Umsätze als auch die *ee*-Werte aus den Peak-Integralen bestimmen.

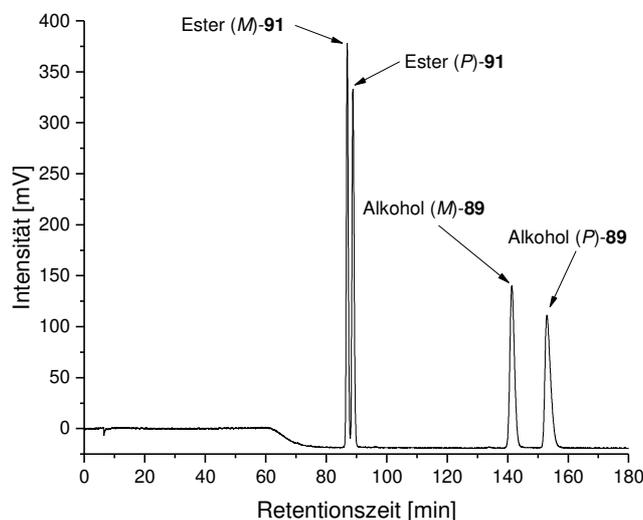
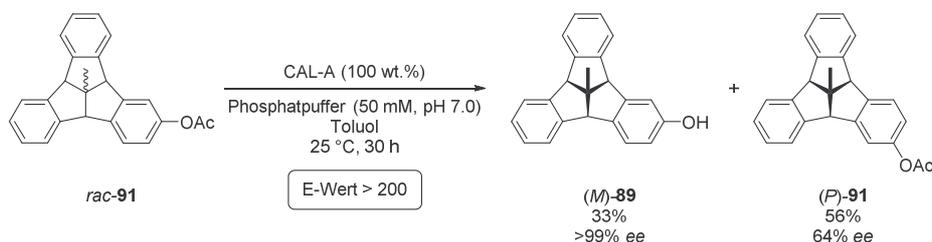


Abbildung 3.24: HPLC-Chromatogramm einer Referenzprobe von Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** und TBTQ-Phenol *rac*-**89**.

Die vielversprechenden Reaktionsbedingungen zur biokatalytischen, stereoselektiven Esterverseifung mit immobilisierter CAL-A von *Sigma Aldrich* wurden für einen größeren, quantitativen Ansatz mit 200 mg Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** übernommen (Schema 3.32).



Schema 3.32: Enzymatische Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** zu TBTQ-Phenol *(M)*-**89** mit immobilisierter CAL-A.

Die enzymatische Reaktion zeigte nach einer Reaktionszeit von 30 h einen Umsatz von 39% zum TBTQ-Alkohol **89** an. Dieser wurde mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie bestimmt, da die Analytik per HPLC aufgrund der langen Retentionszeiten vergleichsweise viel Zeit beansprucht. Nach wässriger Aufarbeitung wurde das Rohmaterial mittels Säulenchromatographie aufgereinigt, um das Produkt quantitativ zu isolieren. In der ersten Fraktion eluierte der nicht umgesetzte Ester *(P)*-**91**, welcher mit einer Ausbeute von 56% isoliert wurde. Die HPLC-Analytik ergab einen *ee*-Wert von 64% (Abbildung 3.25). Die zweite Fraktion beinhaltet den Alkohol *(M)*-**89**, welcher mit einer guten Ausbeute von 33% und einem exzellenten *ee*-Wert von >99% isoliert wurde. Aus diesen Werten ergibt sich für diese Reaktion eine sehr gute Selektivität mit einem E-Wert von >200.

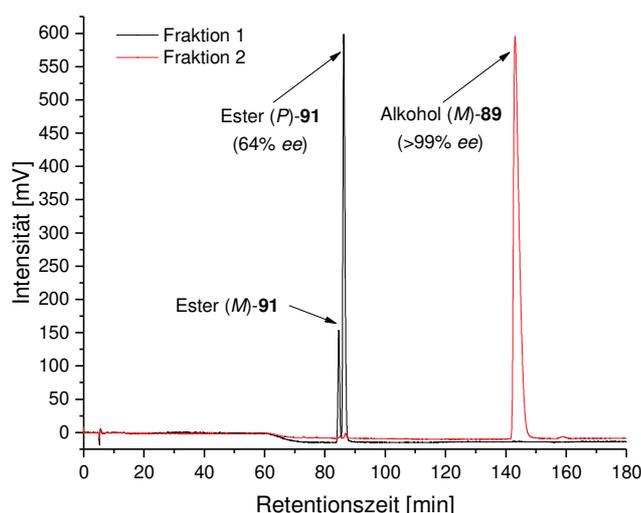
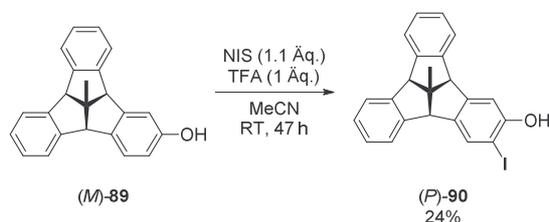


Abbildung 3.25: HPLC-Chromatogramm der isolierten Produktfraktionen aus der enzymatischen Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** mit immobilisierter CAL-A.

Mit der erfolgreichen Synthese des enantiomerenreinen TBTQ-Alkohols *(M)*-**89** ist auch auf der kürzeren Alternativroute der Weg zur chiralitätsunterstützten Synthese des bis-TBTQs *syn*-**82** geebnet. Die beiden letzten Reaktionen bis zum Zielmolekül, die aromatische Iodierung und die darauffolgende doppelte *Ullmann*-Kupplung, sollten analog

zu den Synthesen auf der von *Greschner* entwickelten Syntheseroute durchführbar sein. Bedingt durch die abweichende Synthesesequenz liegen die enantiomeren TBTQ-Bausteine zwar in diesem Fall mit entgegengesetzter Konfiguration vor, jedoch ist diese Tatsache für die Ausbildung des *syn*-bikonkaven bis-TBTQ-Gerüsts *syn*-**82** irrelevant. Sowohl mit der (*M*)- als auch mit der (*P*)-Konfiguration des Iodphenols **90** ist bei der *Ullmann*-Kupplung aus Symmetriegründen nur die *syn*-Anordnung der beiden verknüpften TBTQ-Bausteine möglich.

Im Hinblick auf einen direkten Vergleich der chiroptischen Eigenschaften der enantiomerenreinen TBTQ-Bausteine wurde aus dem TBTQ-Phenol (*M*)-**89** mittels aromatischer Iodierung das TBTQ-Iodphenol (*P*)-**90** gebildet. So wurde der Alkohol (*M*)-**89** unter den bereits weiter oben beschriebenen Reaktionsbedingungen (vgl. Schema 3.19) mit NIS behandelt (Schema 3.33).

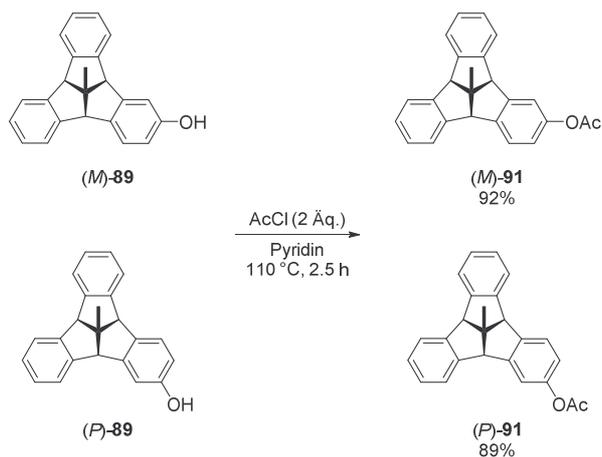


Schema 3.33: Aromatische Iodierung von TBTQ-Phenol (*M*)-**89** zu TBTQ-Iodphenol (*P*)-**90** mit NIS.

Aus diesem Ansatz konnte das TBTQ-Iodphenol (*P*)-**90**, möglicherweise wegen der abweichenden Reaktionszeit und einer damit einhergehenden Zersetzung der Reaktionsmischung, nur in einer niedrigen Ausbeute von 24% isoliert werden. Für eine Charakterisierung der strukturellen und chiroptischen Eigenschaften dieses enantiomerenreinen TBTQ-Bausteins war aus dem Ansatz dennoch genug Material vorhanden.

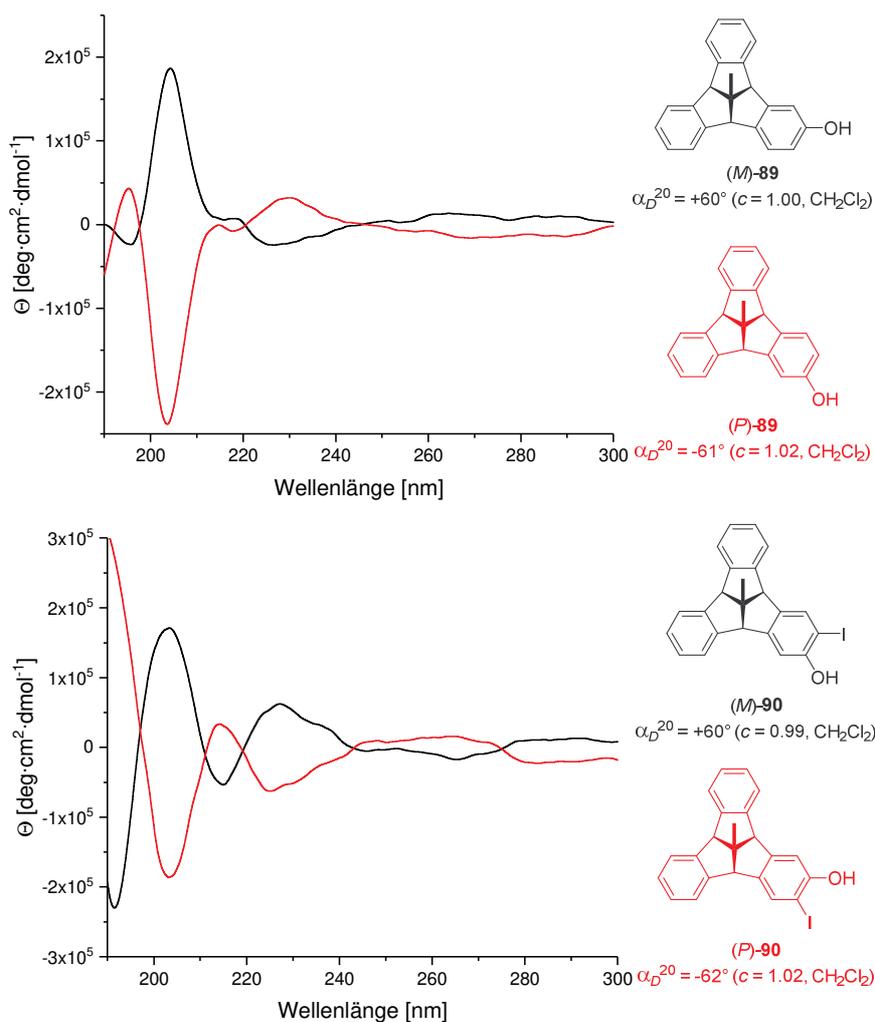
Die erfolgreiche Synthese des TBTQ-Iodphenols (*P*)-**90** konnte mittels NMR-Spektroskopie und MS bestätigt werden. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum gleicht dem des racemischen Pendants *rac*-**90** (vgl. Abbildung 3.12).

Da das Acetoxy-TBTQ **91** aus der selektiven Esterverseifung mit CAL-A nur in enantiomerenangereicherter Form isoliert werden konnte, lag es nahe, für einen Vergleich der chiroptischen Eigenschaften von (*M*)-**91** und (*P*)-**91** die beiden vorliegenden, reinen Enantiomere des TBTQ-Alkohols (*M*)- bzw. (*P*)-**89** mit Acetylchlorid zu verestern (Schema 3.34). Unter analogen Reaktionsbedingungen wurden die beiden enantiomerenreinen Isomere des Acetoxy-TBTQs (*M*)- bzw. (*P*)-**91** mittels Säulenchromatographie mit ähnlich hohen Ausbeuten (92% bzw. 89%) isoliert.



Schema 3.34: Veresterung von TBtQ-Phenol (*M*)- bzw. (*P*)-**89** zu Acetoxy-TBtQ (*M*)- bzw. (*P*)-**91** mit Acetylchlorid in Pyridin.

Schlie\u00dflich wurden f\u00fcr jeweils beide Enantiomere des TBtQ-Phenols **89**, des TBtQ-Iodphenols **90** und des Acetoxy-TBtQs **91** neben der Messung der spezifischen Drehwinkel auch CD-Spektren aufgenommen (Abbildung 3.26).



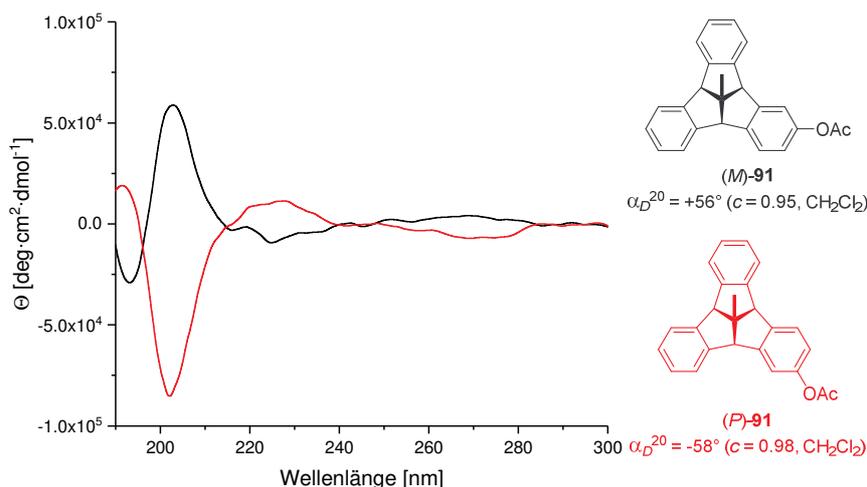


Abbildung 3.26: Experimentelle CD-Spektren (Acetonitril) der enantiomerenreinen TBTQ-Bausteine TBTQ-Phenol (*M*)- bzw. (*P*)-**89** (oben), TBTQ-Iodphenol (*M*)- bzw. (*P*)-**90** (Mitte) und Acetoxy-TBTQ (*M*)- bzw. (*P*)-**91** (unten).

In allen drei Fällen zeichnen sich die CD-Spektren durch den nahezu komplementären Linienverlauf von jeweils beiden Enantiomeren aus. Weiterhin zeigt sich auch ein jeweils ähnlicher Linienverlauf für die (*M*)-Enantiomere und die (*P*)-Enantiomere der drei Verbindungen, der besonders an dem lokalen Maximum ((*M*)-Isomer) bzw. an dem lokalen Minimum ((*P*)-Isomer) zwischen 200 und 210 nm deutlich wird. Die optische Reinheit der TBTQ-Iodphenole (*M*)- bzw. (*P*)-**90** und der Acetoxy-TBTQs (*M*)- bzw. (*P*)-**91** sollte wie deren jeweilige Vorstufe, TBTQ-Phenol (*M*)- bzw. (*P*)-**89**, ebenfalls bei >99% liegen, da bei den durchgeführten Reaktionen, aromatische Iodierung und Acetylierung, eine Racemisierung der TBTQ-Bausteine ausgeschlossen werden kann.

Insgesamt erwies sich die Erarbeitung einer optimierten, verkürzten Synthesesequenz zur Darstellung von *syn*-bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-TBTQ *syn*-**82** als erfolgreich. Der enantiomerenreine Schlüsselbaustein TBTQ-Phenol (*M*)-**89** wurde auf zwei unterschiedlichen, jeweils sechsstufigen Synthesesequenzen ausgehend von Methylindandion **95** mit einer Gesamtausbeute von 4% (über das nichtfunktionalisierte *centro*-Methyl-TBTQ (**71**)) bzw. 0.7% (über Methoxy-TBTQ **93**) erhalten. Im Vergleich dazu liegt die Gesamtausbeute des enantiomerenreinen TBTQ-Phenols (*P*)-**89** auf der von *Greschner* geplanten, zehnstufigen Syntheseroute (ebenfalls ausgehend von Methylindandion **95**) aufgrund der teils etwas höheren Ausbeuten der einzelnen Synthesestufen immerhin noch bei etwa 1%. Jedoch ist der synthetische Aufwand auf der kürzeren Route mit vier Reaktionen weniger erheblich geringer. Mit einer weiteren Optimierung einzelner Reaktionsabschnitte ließe sich die Gesamtausbeute möglicherweise auch noch etwas erhöhen, was den Wert der grundsätzlich erfolgreichen Syntheseroute steigert. Die Ergebnisse zu der alternativen bis-TBTQ-Synthesesequenz wurden zur Veröffentlichung eingereicht.<sup>[203]</sup>

### 3.4 Ausblick

Die Erarbeitung von unterschiedlichen Syntheserouten zur chiralitätsunterstützten Darstellung einer TBTQ-basierten, dreidimensionalen Gerüstverbindung erlaubte viele interessante Einsichten in die Chemie der funktionalisierten TBTQ-Gerüste und deren chemische und strukturelle Eigenschaften. Das auf einem dieser Wege erfolgreich synthetisierte *syn*-bikonkave, Dioxin-verknüpfte bis-TBTQ *syn*-**82** kann als Untereinheit eines molekularen Würfels **80** aus acht miteinander verknüpften TBTQ-Einheiten angesehen werden (Abbildung 3.27).

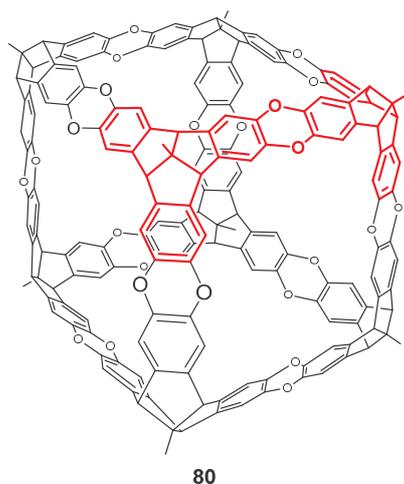


Abbildung 3.27: Hypothetisches Modell eines molekularen Würfels **80** aus acht verknüpften TBTQ-Einheiten mit Hervorhebung des erfolgreich synthetisierten bis-TBTQs *syn*-**82** als Würfelausschnitt in rot.

Zukünftig könnten die durchgeführten chemischen Transformationen an einem der drei Indanflügel des TBTQ-Gerüsts auch auf die beiden bisher unsubstituierten Indanflügel übertragen werden, sodass auf diesem Wege ein Zusammenschluss von acht TBTQ-Bausteinen zur Ausbildung eines Würfel-förmigen Molekülgerüsts denkbar wäre. Schließlich bietet die TBTQ-Literatur bereits vielseitige Beispiele für gut kontrollierbare Syntheseprotokolle zur Darstellung von TBTQ-Gerüsten mit Mehrfachsubstitution an der Aromatenperipherie.<sup>[155,159,204]</sup> In der Realität ginge dieses Unterfangen aber sicherlich mit erheblichem Mehraufwand und bisher unvorhersehbaren Hindernissen synthetischer Natur einher.

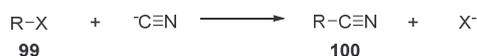
## 4 Cyanid-freie Synthese chiraler Nitrile

### 4.1 Einleitung und wissenschaftlicher Standpunkt

#### 4.1.1 Geschichte der Cyanid-freien Nitrilsynthese

Nitrile sind mit ihrer C-N-Dreifachbindung als funktionelle Gruppe eine weit verbreitete organisch-chemische Substanzklasse. Sie werden in unterschiedlichen Anwendungsbereichen eingesetzt, beispielsweise als Polyacrylnitril in Kunststoffen oder als Cyanacrylate in Klebstoffen. Ein weiterer wichtiger Vertreter dieser Substanzklasse, das Acetonitril, wird als Lösungsmittel in der Synthese und in der Analytik verwendet. Aber auch im Bereich der Spezial- und Feinchemikalien sind vielseitige organische Verbindungen mit einer CN-Funktionalität zu finden. Neben pharmakologisch aktiven Endprodukten bilden Nitrile aufgrund der mannigfaltigen Möglichkeiten zur Folgechemie ebenfalls wertvolle Intermediate.

Im Labor und in der Industrie wurden in den vergangenen 200 Jahren verschiedene Methodiken zur Nitrilsynthese entwickelt. Dabei stellt vor allem die *Kolbe*-Nitrilsynthese eine sehr gebräuchliche Möglichkeit zur Darstellung von Nitrilen **100** dar (Schema 4.1).<sup>[205]</sup> Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine nukleophile Substitution, bei der eine gute Abgangsgruppe, beispielsweise ein Halogen, innerhalb einer organischen Verbindung **99** durch Cyanid ersetzt wird.

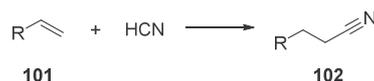


R: org. Rest; X: Abgangsgruppe (z.B. Halogen)

Schema 4.1: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen **100** nach der *Kolbe*-Nitrilsynthese.<sup>[205]</sup>

Die analoge Reaktion von Arylhalogeniden mit Kupfer<sup>I</sup>-Cyanid zur Darstellung von Arylnitrilen wurde als *Rosenmund-von Braun*-Reaktion bekannt.<sup>[206]</sup>

Eine ebenfalls häufig verwendete, alternative Methode zur Darstellung von Nitrilen **102** ist die Hydrocyanierung von ungesättigten Verbindungen wie beispielsweise Alkenen **101** mit einem Metallkatalysator.<sup>[207]</sup>



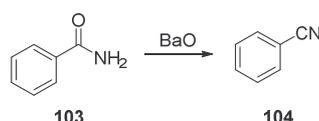
R: org. Rest

Schema 4.2: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen **102** mittels Hydrocyanierung von Alkenen **101**.<sup>[207]</sup>

Der Nachteil der genannten Syntheserouten zeigt sich allerdings in deren Bedarf von hochtoxischen Reagenzien wie Blausäure bzw. deren Metallsalze, die Cyanide. Besonders im Labormaßstab geht die Nitrilsynthese auf diesen Reaktionspfaden daher mit einem

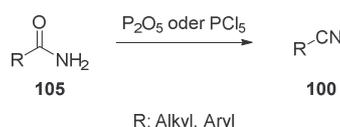
großen sicherheitstechnischen Risiko einher. Diese Problematik führte zu einer erfolgreichen Suche nach alternativen Darstellungsmethoden ohne Verwendung von hochtoxischen Cyaniden. Aus der äußerst reichhaltigen und vielseitigen Historie der Cyanid-freien Nitrilsynthese werden im Folgenden lediglich die wichtigsten Meilensteine skizziert. Diese Beispiele geben einen umfassenden Überblick über die Kreativität der organisch-chemischen Naturwissenschaftler und über die stetige Entwicklung auf diesem Themengebiet.

Die erste Cyanid-freie Nitrilsynthese gelang *Wöhler* und *Liebig* in 1832. Durch Destillation von Benzamid (**103**) über Bariumoxid erhielten sie Benzonitril (**104**).<sup>[208]</sup>



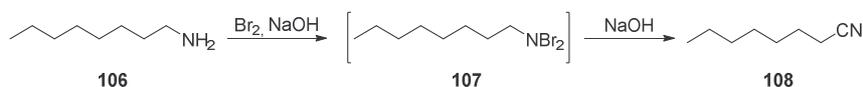
Schema 4.3: Erste Cyanid-freie Nitrilsynthese von Benzonitril (**104**) aus Benzamid (**103**) mit BaO.<sup>[208]</sup>

Diese Methodik der Dehydratisierung von organischen Amiden **105** zu den entsprechenden Nitrilen **100** funktionierte auch mit anorganischen Säureanhydriden oder -haliden, wie *Dumas* in 1847<sup>[209]</sup> und *Gerhardt* in 1858<sup>[210]</sup> zeigen konnten.



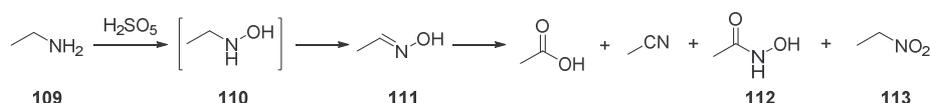
Schema 4.4: Dehydratisierung von Amiden **105** zu Nitrilen **100** mit P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> oder PCl<sub>5</sub>.<sup>[209,210]</sup>

Etwa 30 Jahre später erfolgte die erste Nitrilsynthese ausgehend von einem Amin. In 1883 brachte *Hofmann* Octylamin (**106**) mit einem Gemisch aus Brom und Natriumhydroxid zur Reaktion. Es bildete sich zuerst das bromierte Amin **107**, welches daraufhin durch zweifache HBr-Eliminierung zu Octannitril (**108**) abgebaut wurde.<sup>[211]</sup>



Schema 4.5: *Hofmann*-Abbau von Octylamin (**106**) zu Octannitril (**108**) mit Br<sub>2</sub> und NaOH.<sup>[211]</sup>

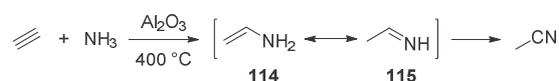
Weitere 20 Jahre später zeigte *Bamberger*, dass Amine auch durch Oxidation in Nitrile überführt werden können.<sup>[212]</sup> Die Umsetzung von Ethylamin (**109**) mit Peroxoschwefelsäure führte zur Oxidation der Aminfunktionalität (Schema 4.6).



Schema 4.6: Reaktion von Ethylamin (**109**) mit Peroxoschwefelsäure zu Hydroxylamin **110** und dessen Folgeprodukte.<sup>[212]</sup>

Das intermediär gebildete Hydroxylamin **110** reagierte weiter zu Acetaldoxim (**111**), welches durch Wasserabspaltung schließlich in Acetonitril überführt wurde. Diese Reaktion war allerdings unselektiv, sodass aus dem Oxim **111** neben großen Mengen von Essigsäure auch Acetohydroxamsäure (**112**) und Nitroethan (**113**) als signifikante Nebenprodukte gebildet wurden.

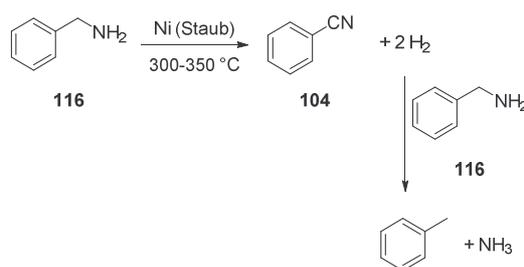
Acetonitril, welches bei *Bamberger* eher per Zufall als Nebenprodukt bei der Ethylaminoxidation anfiel,<sup>[212]</sup> wurde erstmals von *Chichibabin* in 1915 gezielt synthetisiert.<sup>[213]</sup> Dabei wurde das Acetonitril in einer Gasphasenreaktion von Acetylen mit Ammoniak über  $\text{Al}_2\text{O}_3$  bei  $400\text{ }^\circ\text{C}$  aus den Zwischenstufen Enamin **114** und Imin **115** gebildet (Schema 4.7).



Schema 4.7: Synthese von Acetonitril aus Acetylen und Ammoniak mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .<sup>[213]</sup>

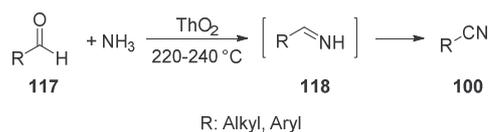
Allerdings wurde auch unter diesen Reaktionsbedingungen nicht ausschließlich Acetonitril erhalten. Durch Reaktion der Intermediate **114** und **115** untereinander bzw. mit den Edukten entstanden in diesem Prozess nicht unerhebliche Mengen Pyridin, Picoline, Pyrrole und weitere vergleichbare Verbindungen.<sup>[214]</sup>

Erste Beobachtungen zur Dehydrierung von primären Aminen machten *Sabatier*<sup>[215]</sup> und *Mailhe*<sup>[216]</sup> vor etwa 100 Jahren. Durch Erhitzen von Benzylamin (**116**) mit Nickelstaub auf  $300\text{-}350\text{ }^\circ\text{C}$  erhielten sie Benzonitril (**104**) (Schema 4.8). Der dabei freigesetzte Wasserstoff reagierte allerdings unter diesen Bedingungen mit der Ausgangsverbindung **116**, wodurch in einer Desaminierung als Nebenprodukte Toluol und Ammoniak entstanden.

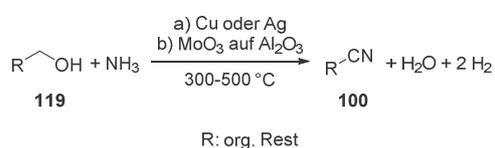


Schema 4.8: Dehydrierung von Benzylamin (**116**) zu Benzonitril (**104**) mit Ni-Staub und Nebenreaktion zu Toluol.<sup>[215,216]</sup>

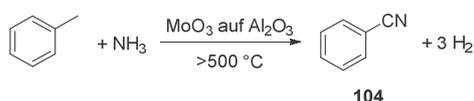
Alternative Untersuchungen von *Mailhe* zur Cyanid-freien Nitrilsynthese führten etwa zur selben Zeit zu der Erkenntnis, dass auch Aldehyde **117** mit Ammoniak zu Nitrilen **100** umgesetzt werden können (Schema 4.9).<sup>[217]</sup> Mit einem geeigneten Katalysator, in diesem Fall Thoriumdioxid, konnte das intermediär gebildete Imin **118** bei Temperaturen von über  $200\text{ }^\circ\text{C}$  entsprechend dehydriert werden.


 Schema 4.9: Synthese von Nitrilen **100** aus Aldehyden **117** mit ThO<sub>2</sub> über die Iminzwischenstufe **118**.<sup>[217]</sup>

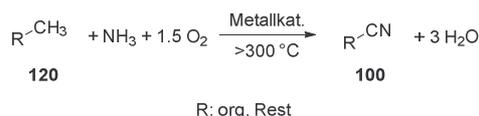
Nach den neuen Kenntnissen über die Cyanid-freie Nitrilsynthese ausgehend von verschiedenen Verbindungsklassen wie Aminen, Amiden und Aldehyden konnten *Spence* in 1944<sup>[218]</sup> bzw. *Bishop* in 1950<sup>[219]</sup> unabhängig voneinander bestätigen, dass auch Alkohole **119** mit Ammoniak als Stickstoffquelle in Nitrile **100** überführt werden können (Schema 4.10). Als Katalysatoren kamen dafür feinverteiltes Kupfer oder Silber bzw. MoO<sub>3</sub> auf Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> zum Einsatz. Mit letzterem Katalysator wurde beispielsweise aus Butanol in nur einem Reaktionsdurchlauf der C4-Baustein Buttersäurenitril mit einer Ausbeute von immerhin 45% erhalten.<sup>[219]</sup>


 Schema 4.10: Synthese von Nitrilen **100** aus Alkoholen **119** mit elementarem Cu oder Ag<sup>[218]</sup> bzw. mit MoO<sub>3</sub> auf Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>[219]</sup>.

Mit dem gleichen Katalysatorsystem aus MoO<sub>3</sub> auf Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> erhielt *Chapman* 1950 Benzonnitril (**104**) aus einer Gasphasenreaktion von Toluol mit Ammoniak mit guten Gesamtausbeuten von bis zu 85% nach mehreren Prozessdurchläufen (Schema 4.11).<sup>[220]</sup>


 Schema 4.11: Synthese von Benzonnitril (**104**) aus Toluol mit NH<sub>3</sub>.<sup>[220]</sup>

Diese Reaktion erinnert an die im großtechnischen Maßstab industriell relevante Ammonoxidation, die nach ähnlichem Prinzip mit Ammoniak als Stickstoffquelle und einem Metallkatalysator, wie beispielsweise Platin, abläuft (Schema 4.12).<sup>[67]</sup> Durch den zusätzlichen Sauerstoffanteil in der Reaktionsmischung fällt Wasser anstelle von Wasserstoff an.

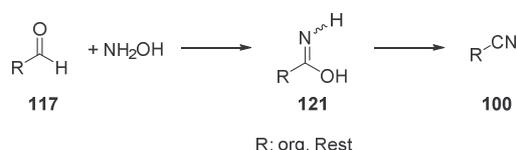

 Schema 4.12: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen **100** aus organischen Verbindungen **120** mit einer Methylgruppe über das Ammonoxidationsverfahren mit Ammoniak und Sauerstoff.<sup>[67]</sup>

Neben der letztgenannten, wichtigen Methode zur Cyanid-freien Nitrilsynthese sind die zuvor erläuterten Darstellungsmöglichkeiten für eine großtechnische, industrielle Anwendung aufgrund der unselektiven Reaktionsverläufe und eher niedrigen Ausbeuten

nur sehr begrenzt geeignet. In der organisch-chemischen Forschung wurde über die vergangenen Jahrhunderte eine weitere Cyanid-freie Methode entwickelt, die im Vergleich dazu Nitrile deutlich selektiver und mit guten bis exzellenten Ausbeuten liefert. Im Folgenden wird diese Methode näher erläutert.

#### 4.1.2 Entwicklung der Nitrilsynthese ausgehend von Aldoximen

Eine weitaus selektivere Methode zur Darstellung von Nitrilen **100** ohne die Verwendung toxischer Cyanide ist die Dehydratisierung von Aldoximen **121**, die wiederum durch Kondensation von Aldehyden **117** mit Hydroxylamin sehr einfach zugänglich sind (Schema 4.13).



Schema 4.13: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen **100** über Aldoxime **121** ausgehend von Aldehyden **117**.

Die Synthese von Aldoximen **121** aus Aldehyden **117** weist chemisch betrachtet Ähnlichkeiten zu der bereits im 19. Jahrhundert gut etablierten Ausbildung von *Schiff*'schen Basen zwischen primären Aminen und Aldehyden oder Ketonen. Daher liegt es nahe, dass frühe Versuche zur Dehydratisierung von Oximen **121** ebenfalls mehr als 100 Jahre zurückzuverfolgen sind.<sup>[221]</sup> So wurden zwischen 1880 und 1920 verschiedene Methoden gefunden, um Aldoxime **121** unter formaler Wasserabspaltung in ihre entsprechenden Nitrile **100** zu überführen. Dazu kamen beispielsweise Reagenzien wie Essigsäureanhydrid,<sup>[222]</sup> Thionylchlorid,<sup>[223]</sup> Blei<sup>II</sup>-Oxid,<sup>[224]</sup> Benzolsulfonylchlorid,<sup>[225]</sup> Phosphorpentoxid<sup>[226]</sup> oder Ethylchlorformiat<sup>[227]</sup> in stöchiometrischen Mengen mehr oder weniger effektiv zum Einsatz. Auch eine thermische Wasserabspaltung bei Kontakt mit Thoriumdioxid oder Aluminiumoxid und bei Temperaturen von 340-360 °C wurde erfolgreich untersucht.<sup>[217]</sup> Auch in der neueren Literatur gibt es zahlreiche Beispiele für selektive und effektive Dehydratisierungen von Aldoximen **121** zu Nitrilen **100** unter Verwendung von sowohl stöchiometrisch eingesetzten Reagenzien als auch Katalysatoren.

In der Cyanid-freien Nitrilsynthese aus Oximen haben sich beispielsweise verschiedene Phosphor-basierte Dehydratisierungsreagenzien bewährt. Die starke Triebkraft einer Bindungsbildung zwischen dem Phosphor vom Reagenz und dem Sauerstoff vom Oxim bewirkt die Freisetzung des Nitrils unter formaler Abspaltung von Wasser. Beispiele für diese Phosphor-basierten Reagenzien sind Propanphosphonsäureanhydrid (T3P®) (**I**),<sup>[228]</sup> *in situ* gebildetes Chlorphosphoniumsalz **II**<sup>[229]</sup> oder Ethyldichlorophosphat (**III**)<sup>[230]</sup> sowie Benzotriazolylxytris-(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat (BOP) (**IV**)<sup>[231]</sup> in Zusammenarbeit mit der Base 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (1,8-DBU) (Abbildung 4.1 oben). Die

Dehydratisierung kann aber auch mit dem Fluorübertragungsreagenz XtalFluor-E® (**V**)<sup>[232]</sup> oder mit einem Gemisch aus Trichlortriazin (TCT) (**VI**) und Dimethylformamid (DMF)<sup>[233]</sup>, deren aktive Spezies an das typische *Vilsmeier*-Reagenz Chlor-*N,N*-dimethylformiminiumchlorid erinnern, erfolgen (Abbildung 4.1 Mitte). In weiteren Synthesevorschriften werden Chloral (**VII**)<sup>[234]</sup> *Burgess*-Reagenz (**VIII**)<sup>[235]</sup> 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid (CMPI) (**IX**)<sup>[236]</sup> oder Pyridiniumchlorochromat (PCC) (**X**)<sup>[237]</sup> als effektive Dehydratisierungsmittel bei der Nitrilsynthese ausgehend von Aldoximen vorgeschlagen (Abbildung 4.1 unten).

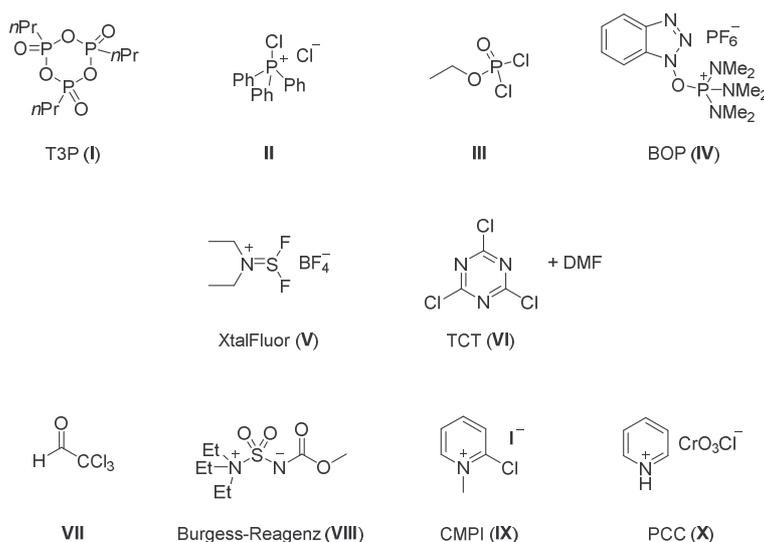


Abbildung 4.1: Erfolgreich eingesetzte Dehydratisierungsreagenzien für die Nitrilsynthese ausgehend von Aldoximen.

Die meisten dieser in stöchiometrischen Mengen benötigten Reagenzien sind allerdings auch toxisch, was gegenüber den herkömmlichen Nitrilsynthesen unter Verwendung von Cyaniden keinen großen Vorteil birgt. Weiterhin spielen die Aspekte der Zugänglichkeit der Reagenzien und der Reaktionsbedingungen bei der Einschätzung von Reaktionsprozessen ebenfalls eine relevante Rolle. Auch aus diesem Blickwinkel ist ein Großteil der vorgestellten Methoden eher mit teureren Reagenzien und mit einem höheren Syntheseaufwand verbunden.

Im Gegensatz zu diesen Methoden mit stöchiometrischen Reagenzien sind auch einige Alternativen mit substöchiometrischen Mengen eines Katalysators bekannt. Beispiele hierfür sind der Benzolseleninsäure-Präkatalysator (**XI**)<sup>[238]</sup>, der Rutheniumkomplex **XII** auf Kohle<sup>[239]</sup> oder der Cobaltkomplex **XIII**<sup>[240]</sup> (Abbildung 4.2 oben), oder aber unterschiedliche Palladiumkomplexe **XIV**<sup>[241]</sup> oder **XV**<sup>[242]</sup> sowie Kupfer<sup>II</sup>-Acetat<sup>[243,244]</sup> und andere Übergangsmetallsalze<sup>[244]</sup> (Abbildung 4.2 unten).

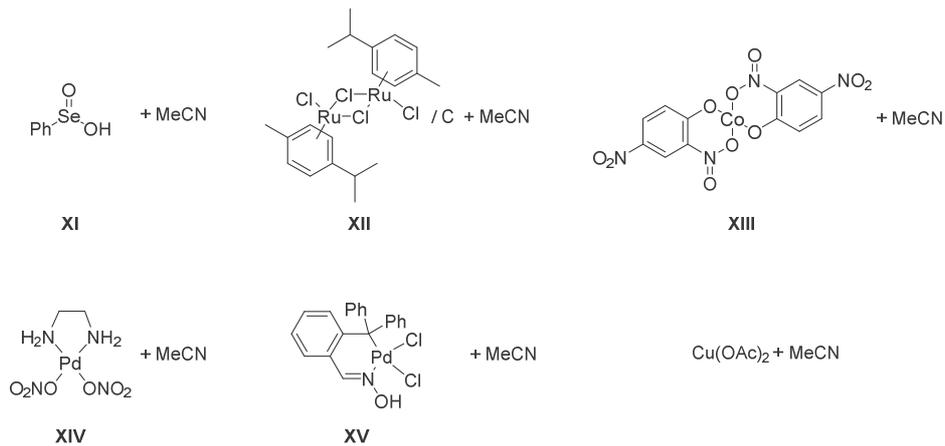
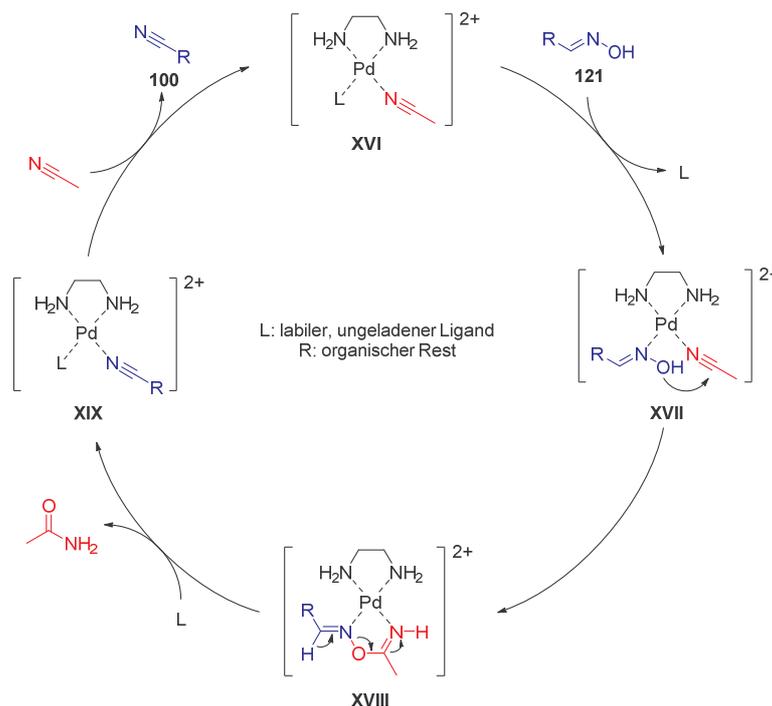


Abbildung 4.2: Erfolgreich eingesetzte Dehydratisierungskatalysatoren für die Nitril-Synthese ausgehend von Aldoximen.

Während Acetonitril im Prozess mit dem Selenkatalysator **XI** nur als Lösungsmittel fungiert, ist es in den anderen hier gezeigten Katalysenmethoden als Reagenz involviert. Dies zeigt der postulierte Mechanismus von *Tamura*, in dem formal Wasser vom Oxim auf das Acetonitril übertragen wird, wodurch sich aus diesem Hilfsreagenz Acetamid bildet (Schema 4.14).<sup>[241]</sup>



Schema 4.14: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Metall-katalysierte Dehydratisierung von Oximen zu Nitrilen mit dem Hilfsreagenz Acetonitril.<sup>[241]</sup>

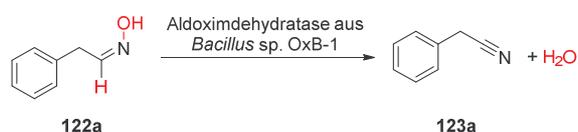
Nach diesem Mechanismus koordiniert das Acetonitril mit seinem Stickstoffatom über eine freie Koordinationsstelle an den Palladiumkomplex [**XVI**]. Durch einen Ligandenaustausch kann auch das Oxim **121** mit seinem Stickstoffatom an eine benachbarte Koordinationsstelle an den Palladiumkomplex koordinieren [**XVII**]. Anschließend kommt es zu einer Elektronenübertragung vom Sauerstoffatom des Oxims

auf das elektrophile Kohlenstoffatom des Acetonitrils und damit zur intermolekularen O-C-Bindungsbildung [**XVIII**]. Über eine Elektronenwanderung und Deprotonierung der ehemaligen Oximspezies bzw. Protonierung der modifizierten Acetonitrilspezies wird Acetamid aus dem Komplex freigesetzt [**XIX**]. Der anschließende Ligandenaustausch des neu gebildeten Produktnitrils **100** mit einem weiteren Molekül Acetonitril und erneute Koordination eines neuen Oximmoleküls **121** schließen den Katalysezyklus. Das auf diese Weise entstandene Acetamid konnte bei der Durchführung der Reaktion nachgewiesen werden, was die Plausibilität dieses Mechanismus unterstreicht. Des Weiteren konnte *Tambara* zeigen, dass in Abwesenheit eines Hilfsreagenzes wie Acetonitril stets das entsprechende Amid aus dem eingesetzten Oxim gebildet wird.<sup>[241]</sup>

Dieser interessante Mechanismus scheint aber nicht nur auf den Palladium-katalysierten Prozess beschränkt zu sein, wie *Attanasil*<sup>[243]</sup> schon einige Jahre zuvor postulieren und *Ma et al.*<sup>[244]</sup> spezifizieren konnten. In ihrer Forschung stellten sie heraus, dass die Metall-katalytische Dehydratisierung von Oximen zu Nitrilen auch mit kommerziell erhältlichem Kupfer<sup>II</sup>-Acetat unter Zugabe von Acetonitril in analoger Weise funktioniert. Als Substrate wurden sowohl aromatische und heteroaromatische als auch aliphatische Oxime erfolgreich umgesetzt, offenbar mit einem analogen Mechanismus mit formaler Wasserübertragung auf das Hilfsreagenz Acetonitril. Aufgrund des deutlich niedrigeren Kupferpreises im Vergleich zu dem des Edelmetalls Palladium liefert dieses Syntheseprotokoll mit Katalysatormengen von 10 mol% Cu(OAc)<sub>2</sub> eine elegante Methode zur Cyanid-freien Nitrilsynthese ausgehend von Aldoximen.

#### 4.1.3 Enzymatischer Zugang zur Cyanid-freien Nitrilsynthese

Abseits von der Metall-katalysierten Nitrilsynthese wurde vor etwa 20 Jahren eine alternative katalytische Methode zur Dehydratisierung von Oximen entdeckt. Aufgrund der Tatsache, dass Cyanide auch auf Pflanzenorganismen toxisch wirken, wurde angenommen, dass die in Pflanzen nachgewiesenen Nitrile auf einem biosynthetischen Reaktionspfad ohne Beteiligung von Cyaniden gebildet werden müssen. Bei dem Versuch, die Biosynthese und den Metabolismus von organischen Nitrilen in pflanzlichen Systemen aufzuklären, stießen *Asano et al.* auf ein Enzym, welches fähig war, Aldoxime unter Wasserabspaltung in die entsprechenden Nitrile zu überführen. Aus einer Bodenprobe konnten sie das Bakterium *Bacillus* sp. OxB-1 als verantwortlichen Stamm für den biosynthetischen Abbau von *Z*-Phenylacetaldoxim (**122a**) unter Wasserabspaltung zu Phenylacetonitril (**123a**) isolieren und identifizieren (Schema 4.15).<sup>[245]</sup>



Schema 4.15: Biosynthese von Phenylacetonitril (**123a**) aus *Z*-Phenylacetaldoxim (**122a**) unter Wasserabspaltung mit einer Aldoximdehydratase aus *Bacillus* sp. OxB-1.<sup>[245]</sup>

Das für die Katalyse dieser Reaktion verantwortliche Enzym erhielt passend zu seiner Funktion den Namen Aldoximdehydratase (Oxd). Die in den darauffolgenden Jahren vorgenommenen Bemühungen zur detaillierten Charakterisierung von verschiedenen Oxds mündeten in der erfolgreichen Lösung von Proteinkristallstrukturen mit und ohne Liganden. Anhand des Bändermodells der Proteinstruktur eines Homodimers von OxdA aus dem Bakterienstamm *Pseudomonas chlororaphis* B23 zeigt sich beispielhaft der interessante Aufbau der Oxds (Abbildung 4.3).<sup>[246]</sup>

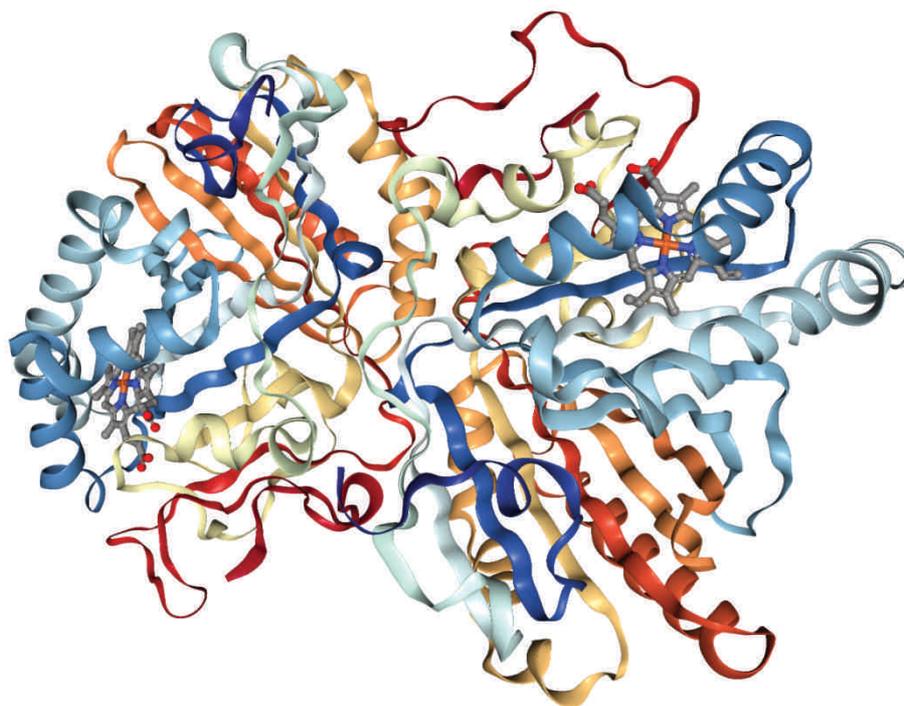


Abbildung 4.3: Bändermodell der quartären Proteinstruktur eines OxdA-Dimers aus *Pseudomonas chlororaphis* B23 mit Hämeinheiten als Stäbchenmodell.<sup>[247]</sup>

Jede Oxd enthält pro aktive Einheit eine Hämoglobingruppe (Hämgruppe), die in Abbildung 4.3 als Stäbchenmodell skizziert ist. Bei näherer Betrachtung der Proteinstruktur in der Umgebung der Hämeinheit fallen insbesondere die oberhalb des Porphyrinrings nahe beieinander gelegenen Aminosäuren Arginin-178, Histidin-320 und Serin-219 ins Auge, die an eine katalytische Triade erinnern.<sup>[248]</sup> In der Kristallstruktur von OxdA ohne Substrat deuten die geringen Abstände zwischen den Aminosäureresten der Triade sowie zwischen der NH-Funktionalität des Histidinrests und dem Hämeisen von 5.16 Å bzw. zwischen Serin-OH und Fe von 4.77 Å auf eine gemeinsame Interaktion während des Katalyseprozesses hin (Abbildung 4.4 links). Die Kristallstruktur von OxdRE aus *Rhodococcus* sp. N-771 mit gebundenem *n*-Propionaldoxim zeigt eine eindeutige Interaktion des Hämeisens mit dem Oximstickstoff des Substrates (Abbildung 4.4 rechts). Die Anordnung der Oxim-OH-Funktionalität in Richtung His-320 und Ser-219 mit Abständen von 2.87 bzw. 2.82 Å unterstreicht auch die Wechselwirkung des Substrates mit den Aminosäuren der katalytischen Triade.

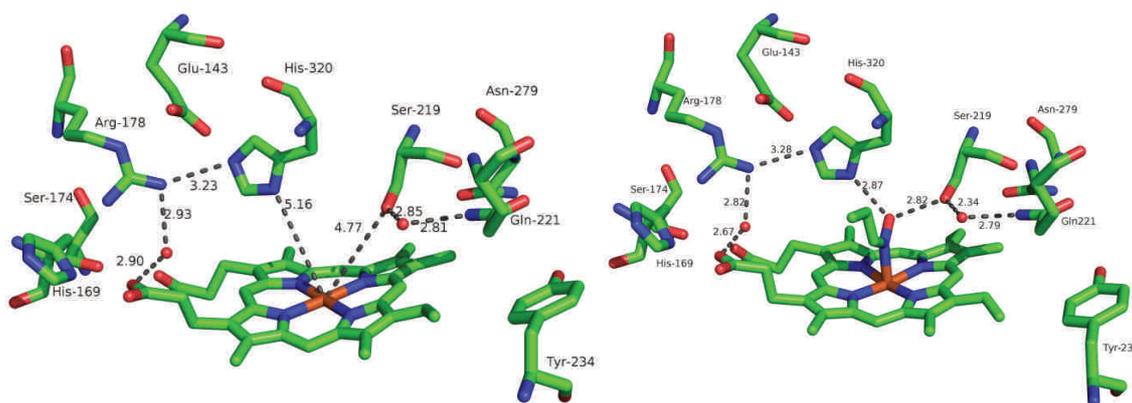
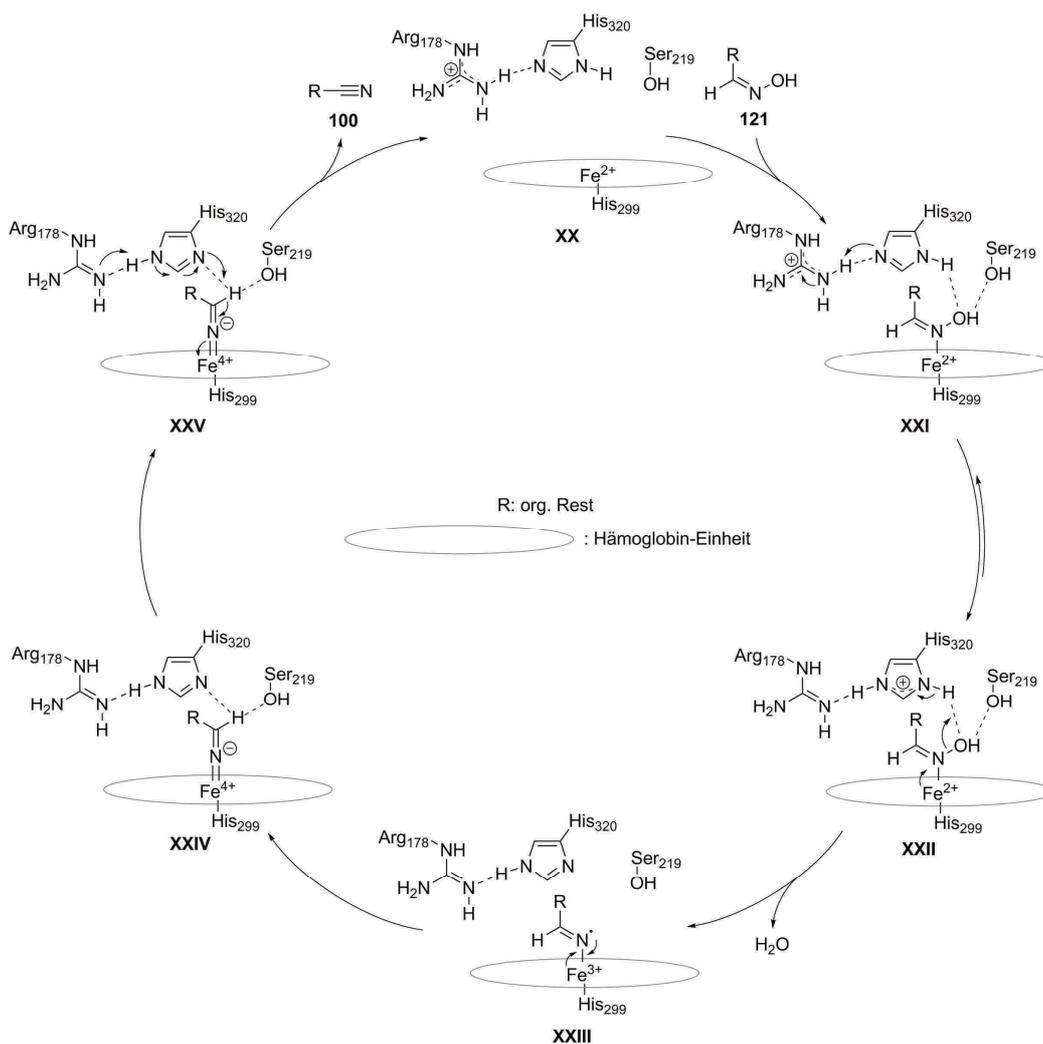


Abbildung 4.4: Oxd-Röntgenkristallstruktur als Stäbchenmodell eines Ausschnitts aus dem aktiven Zentrum von OxdA aus *Pseudomonas chlororaphis* B23 ohne Substrat<sup>[246]</sup> (links) und von OxdRE aus *Rhodococcus* sp. N-771 mit gebundenem *n*-Propionaldoxim<sup>[249]</sup> (rechts). Die Strukturen wurden mit der Software PyMOL aus den entsprechenden Protein-Röntgenstrukturdaten visualisiert.<sup>[247,250]</sup>

Diese Erkenntnisse führten zu der Aufstellung eines Reaktionsmechanismus für die enzymatische Dehydratisierung von Oximen **121** zu Nitrilen **100** mit OxdS (Schema 4.16).<sup>[246]</sup>

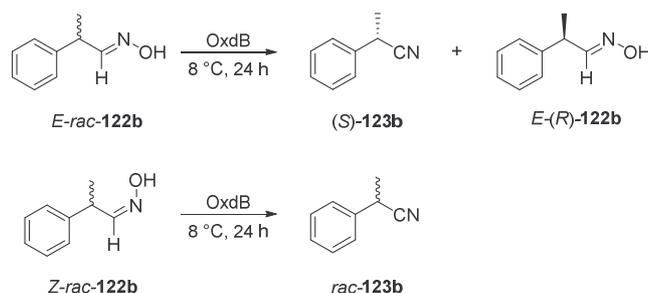


Schema 4.16: Postulierter Reaktionsmechanismus für die enzymatische Dehydratisierung von Oximen **121** zu Nitrilen **100** mit OxdS in Anlehnung an *Nomura et al.*<sup>[246]</sup>

Der vorgeschlagene Mechanismus ergibt sich aus dem interessanten Zusammenspiel der katalytischen Triade Arg-His-Ser – mit einem zu Proteasen analogen Katalysemechanismus<sup>[248]</sup> – und der Hämgruppe – als analoger Bestandteil von Cytochrom P450-Proteinen.<sup>[251]</sup> Im Ausgangszustand ohne Substrat befindet sich das Hämeisen in der Oxidationsstufe +II [XX]. Das Oxim **121** positioniert sich daraufhin so, dass der Oximstickstoff an das Eisen koordiniert. Weiterhin richtet sich das Substrat **121** mit seiner OH-Gruppe in Richtung der Aminosäurereste von Ser-219 und His-320 aus [XXI]. Durch diese intermolekulare Wechselwirkung über Wasserstoffbrücken kommt es zur Abspaltung der Oxim-OH-Gruppe, welche sich mit einem Proton von His-320 zu Wasser verbindet [XXII]. Der His-320-Rest wird wiederum durch die Wechselwirkung mit einem Guanidinproton des benachbarten Arg-178 stabilisiert. Durch Elektronenübertragung von Fe<sup>II</sup> auf den Oximstickstoff wird das Hämeisen zunächst auf die Oxidationsstufe +III [XXIII] und schließlich auf die Oxidationsstufe +IV [XXIV] oxidiert. Der Ligand orientiert sich neu, sodass nun das Wasserstoffatom an der N-C-Doppelbindung mit einem His-Stickstoff und mit der Ser-OH-Gruppe in Wechselwirkung tritt. Schließlich kann es als Proton von der His-Seitenkette abstrahiert werden [XXV], wodurch sich das Nitril **100** ausbildet. Gleichzeitig wird das Hämeisen nach Freisetzung des Produkts wieder auf die Oxidationsstufe +II reduziert. Durch die Koordination eines weiteren Oximmoleküls beginnt der Katalysezyklus erneut. Durch eine quantenmechanische Studie konnte gezeigt werden, dass die Dehydratisierung von Oximen nur funktioniert, wenn das Hämeisen im Zuge der Bindung des Substrates in der Oxidationsstufe +II vorliegt. Im Gegensatz dazu erfolgt die Koordination des Substrates an ein Fe<sup>III</sup> bevorzugt über den Oximsauerstoff und eine Dehydratisierung ist folglich nicht mehr möglich.<sup>[252]</sup>

In ausführlichen Studien zur Anwendung dieser neuen, interessanten Oxd-Enzyme konnte die Toleranz eines breiten Substratspektrums mit aliphatischen, aromatischen, heteroaromatischen und arylaliphatischen Oximen erfolgreich gezeigt werden.<sup>[253]</sup> Hierzu ist im Rahmen der Kollaboration der Arbeitsgruppen *Gröger* und *Asano* von der Universität Toyama, Japan kürzlich ein Review publiziert worden, in dem auch die strukturellen und enzymkinetischen Eigenschaften verschiedener Oxds erläutert werden.<sup>[254]</sup>

Auch chirale Aldoxime werden von Oxds erkannt und umgesetzt, wie *Metzner* zu Beginn des Deutsch-Japanischen Kooperationsprojekts zeigen konnte.<sup>[255,256]</sup> Dabei stellte sich ganz besonders an einem der untersuchten Substrate heraus, dass die OxdB aus *Bacillus* sp. OxB-1 in der Lage ist, racemische Aldoxime stereoselektiv zum Nitril umzusetzen. Dieses Phänomen wurde an der Umsetzung eines Strukturverwandten des Standardsubstrats *Z*-Phenylacetaldoxim (**122a**), *rac*-2-Phenylpropionaldoxim (**122b**), beobachtet (Schema 4.17).<sup>[256]</sup>



Schema 4.17: Benchmarkexperiment zur stereoselektiven Dehydratisierung von 2-Phenylpropionaldoxim (**122b**) zu 2-Phenylpropionitril (**123b**) mit OxdB.<sup>[256]</sup>

Bei der Synthese der Oxime aus den entsprechenden Aldehyden werden in der Regel sowohl das *E*- als auch das *Z*-Isomer gebildet, wobei das *E/Z*-Verhältnis je nach Art des molekularen Aufbaus unterschiedliche Werte annehmen kann.<sup>[221]</sup> Auch das chirale Oxim **122b** lag nach seiner Synthese als *E/Z*-Isomerengemisch vor. Mittels Säulenchromatographie konnten die Konfigurationsisomere in hoch angereicherter (*E/Z* = 99:1) bzw. in leicht angereicherter (*Z/E* = 11.5:1) Form isoliert werden. Die Biotransformationen dieser racemischen Oxime *E-rac-122b* bzw. *Z-rac-122b* mit OxdB zeigten einen äußerst interessanten Aspekt in Bezug auf die Stereoselektivität der Enzymreaktion. Während die enzymatische Dehydratisierung des *E*-Isomerenangereicherten Oxims *E-rac-122b* bei einer Reaktionstemperatur von 30 °C nach 24 h Reaktionszeit nur ein racemisches Gemisch des Nitrils **123b** lieferte, zeigte der gleiche Prozess bei einer verringerten Temperatur von 8 °C einen hochstereoselektiven Reaktionsverlauf (Schema 4.17 oben). In diesem Fall wurde nur das Isomer *E*-(*S*)-**122b** in das entsprechende Nitril (*S*)-**123b** mit einem hohen *ee*-Wert von 98% überführt, während das Isomer *E*-(*R*)-**122b** nicht umgesetzt wurde. Im Gegensatz dazu zeigte die Biotransformation des racemischen *Z*-Isomerengemisches *Z-rac-122b* unter sonst gleichen Reaktionsbedingungen nur einen unselektiven Reaktionsverlauf (Schema 4.17 unten). Auch bei einer verringerten Reaktionstemperatur von 8 °C lag nach einer 24-stündigen Reaktionszeit des *Z*-Isomerenangereicherten Substrats *Z-rac-122b* lediglich ein racemisches Gemisch des Nitrils *rac-123b* vor. Nach nur sehr kurzer Reaktionszeit konnte dahingegen ein Überschuss des anderen Nitrilenantiomers (*R*)-**123b** mit einem moderaten *ee*-Wert von 67% erhalten werden. In Abhängigkeit der *E/Z*-Isomerie des Substrates wurde also nicht nur eine unterschiedliche Stereoselektivität, sondern auch eine potentiell entgegengesetzte Stereospezifität beobachtet. Diese Reaktionsergebnisse bilden einen Meilenstein für die genauere Betrachtung der enzymatischen Nitrilsynthese mit chiralen Oximen unter Verwendung von Oxds.

#### 4.1.4 Enantiomerenreine Gliptin-Wirkstoffe mit Nitrilfunktionalität

Ein potentielles Anwendungsgebiet für die oben beschriebene Enzym-katalysierte Dehydratisierung von Aldoximen ist im Bereich der Feinchemie zu finden. In diesem Segment sind enantiomerenreine  $\alpha$ -Aminonitrile als wichtige Schlüsselbausteine für pharmakologisch wirksame Feinchemikalien<sup>[257,258]</sup> und wertvolle Intermediate<sup>[258,259]</sup>

wiederzufinden. So zeichnen sich einige Vertreter der Wirkstoffgruppe der Gliptine strukturell durch eine  $\alpha$ -Aminonitril-Funktionalität aus (Abbildung 4.5).

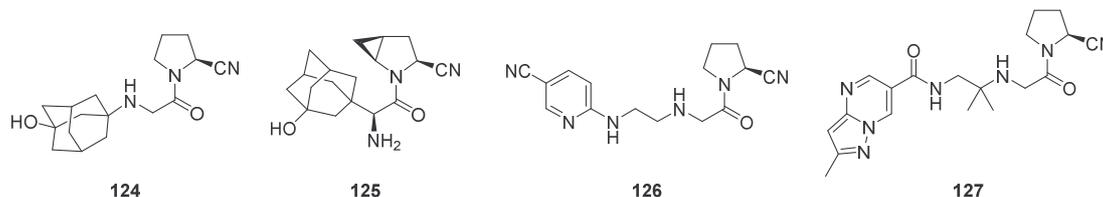


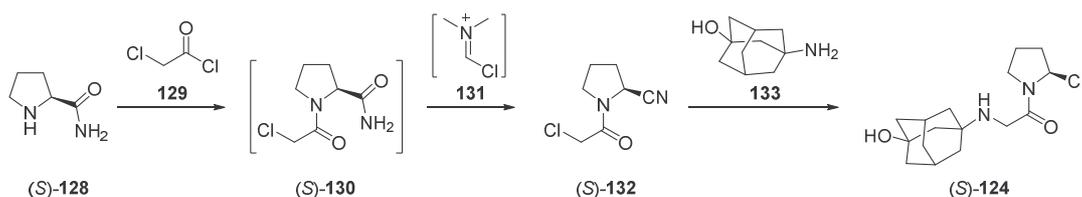
Abbildung 4.5: Strukturformeln von Vildagliptin (**124**), Saxagliptin (**125**), NVP-DPP-728 (**126**) und Anagliptin (**127**) als Vertreter der Gliptin-Wirkstoffgruppe.

Sie sind in optisch reiner Form als oral einzunehmende Wirkstoffe gegen die Krankheit *Diabetes mellitus* Typ II auf dem Markt erhältlich. Die chronische Stoffwechselkrankheit entsteht im menschlichen Körper aufgrund einer Insulinresistenz, die neben einer genetischen Veranlagung auch durch Übergewicht und Bewegungsmangel gefördert wird. Aufgrund dieser Resistenz können die Zuckermoleküle im Blut von dem Hormon Insulin nach der Nahrungsaufnahme nur schlecht in die Zellen weitergeleitet werden. Als Folge davon leiden Menschen mit dieser Krankheit an einem hohen Glukosespiegel im Blut.<sup>[260]</sup>

Vildagliptin ((*S*)-**124**) gehört zu der Klasse der Dipeptidyl-Peptidase-IV-Inhibitoren. Das Enzym Dipeptidyl-Peptidase-IV (DPP-IV) ist eine Serinprotease, welche Dipeptide am *N*-Terminus verschiedener Proteine hydrolytisch abspaltet. So wird auch das Glucagon-like Peptid 1 (GLP-1), ein Hormon zur Stimulierung der Insulinproduktion, von DPP-IV zu einem inaktiven Metaboliten abgebaut. Das Gliptin ((*S*)-**124**) bindet als Substrat an das aktive Zentrum von DPP-IV und hemmt damit die hydrolytische Peptidabspaltung am GLP-1. Das GLP-1 bleibt somit aktiv und sorgt für eine erhöhte Insulinproduktion, was wiederum den Blutzuckerspiegel absenkt.<sup>[261]</sup>

Studien konnten zeigen, dass die Interaktion der Nitrilfunktionalität des Gliptins ((*S*)-**124**) mit der Enzymbindungsstelle für die Inhibition der DPP-IV essentiell ist.<sup>[262]</sup> Dementsprechend findet sich die  $\alpha$ -Aminonitril-Funktionalität auch bei anderen Gliptinen, wie beispielsweise Saxagliptin (**125**),<sup>[263]</sup> NVP-DPP-728 (**126**)<sup>[264]</sup> und Anagliptin (**127**),<sup>[265]</sup> wieder (Abbildung 4.5).

Vildagliptin ((*S*)-**124**) wurde von *Novartis Pharma* entwickelt und vermarktet. Zur Synthese kommt ein elegantes *continuous flow*-Verfahren ausgehend von dem *chiral pool*-Molekül L-Prolinamid ((*S*)-**128**) zum Einsatz (Schema 4.18).<sup>[266]</sup>

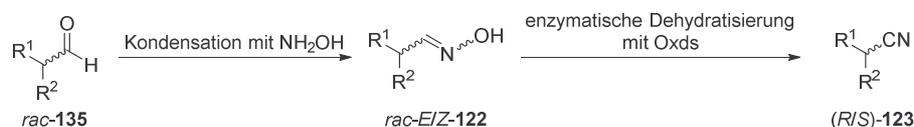


Schema 4.18: Von *Novartis Pharma* entwickelte Syntheseroute zur Darstellung von Vildagliptin ((*S*)-**124**) ausgehend von L-Prolinamid ((*S*)-**128**).<sup>[266]</sup>

Zunächst wird die Aminfunktionalität von L-Prolinamid ((*S*)-**128**) mit Chloressigsäurechlorid (**129**) acyliert. Direkt nach der Bildung des *N*-Acylprolinamids (*S*)-**130** wird dieses mit dem *in situ* gebildetem *Vilsmeier-Haack*-Reagenz **131** zur Reaktion gebracht. Dadurch kommt es zur Dehydratisierung der Amidfunktionalität, wodurch das Nitril (*S*)-**132** entsteht. Diese Schritte verlaufen in einem einzigen, zusammenhängenden *continuous flow*-System. Lediglich die letzte Synthesestufe, die Einführung des Adamantangerüsts **133** durch nukleophile Substitution, erfolgt nach Isolierung der Schlüsselkomponente (*S*)-**132** im *batch*-Prozess. Auf diese Weise kann der Wirkstoff (*S*)-**124** in einer zweistufigen Synthesesequenz mit einer Gesamtausbeute von 79% erhalten werden. Trotz des eleganten Prozesses und der guten Zugänglichkeit der enantiomerenreinen Startverbindung (*S*)-**128** über Amidierung von natürlich verfügbarem L-Prolin ((*S*)-**134**) leidet die Praktikabilität dieser Syntheseroute unter der Verwendung verschiedener gefährlicher und teratogener Chemikalien wie Dimethylformamid und Phosphoroxychlorid zur Generierung des *Vilsmeier-Haack*-Reagenzes **131**.

## 4.2 Motivation und Zielsetzung

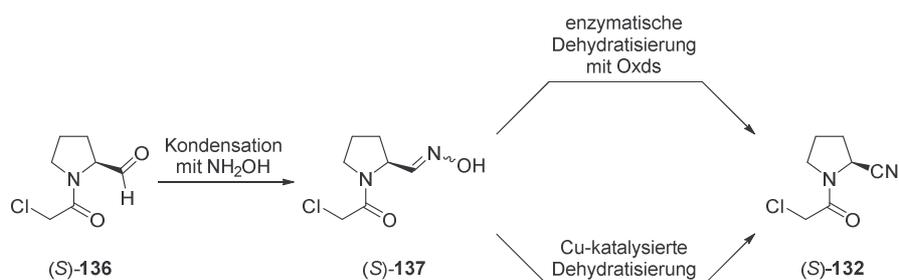
Die enzymatische Dehydratisierung von Aldoximen bietet neben dem zuvor beschriebenen, Metall-katalysierten Verfahren eine vielversprechende, alternative Möglichkeit zur Cyanid-freien Nitrilsynthese. Das von den Oxds tolerierte Substratspektrum aus aliphatischen, aromatischen, heteroaromatischen und arylaliphatischen Oximen deutet eine breite Anwendbarkeit dieser biokatalytischen Nitrildarstellung an. In Anbetracht der Tatsache, dass Enzyme im Allgemeinen in Bezug auf chirale Substrate teils mit hoher Stereoselektivität arbeiten,<sup>[77]</sup> ergibt die Ausweitung des Oxid-Substratspektrums auf chirale Oxime eine äußerst interessante Fragestellung zur stereoselektiven Synthese von chiralen Nitrilen. Daher ist es von großem Interesse, die Dehydratisierung von racemischen Gemischen von optisch aktiven Aldoximen mittels Oxds zu untersuchen, um ihre mutmaßlich stereoselektive Arbeitsweise im Detail verstehen zu können. Da bisher nur mit einem einzigen chiralen Substrat ein hochstereoselektiver Reaktionsverlauf bei der enzymatischen Nitrilsynthese erhalten wurde (vgl. Schema 4.17), ist es das Ziel dieser Arbeit, das Substratspektrum der Oxds um weitere chirale Aldoxime *E/Z-rac-122* zu erweitern (Schema 4.19). Diese sollten aus den entsprechenden racemischen, mit aliphatischen, cyclischen und aromatischen Struktureinheiten ausgestatteten Aldehyden *rac-135* einfach zugänglich sein.



Schema 4.19: Synthesepfad für die Biotransformation von racemischen Aldoximen *rac-E/Z-122* zu chiralen Nitrilen (*R/S*)-**123**, ausgehend von racemischen Aldehyden *rac-135* mit aliphatischen, cyclischen und aromatischen Resten R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup>.

Mithilfe einer entsprechenden Analyse der Produkte aus den Biotransformationen soll erforscht werden, inwiefern diese neuen Substrate *E/Z-rac-122* von den Oxds stereoselektiv zu den korrespondierenden Nitrilen (*R/S-123*) umgesetzt werden. Für die Etablierung eines möglichst breiten Substratspektrums werden von *Betke*<sup>[267]</sup> und *Oike*<sup>[268]</sup> im Rahmen des Kooperationsprojekts von *Gröger* und *Asano* parallel dazu weitere chirale, strukturell unterschiedliche Aldoxime untersucht.

Eine weitere Fragestellung adressiert die Implementierung der Oxd-katalysierten Dehydratisierung von Aldoximen in der Synthese von enantiomerenreinen  $\alpha$ -Aminonitrilen, die als zentrale Struktureinheit in Gliptin-Wirkstoffen, wie Vildagliptin ((*S*)-**124**), zu finden sind (vgl. Abbildung 4.5). Die Synthese des Gliptins (*S*)-**124** nach dem derzeitigen Prozess von *Novartis Pharma* ist mit anspruchsvollen und aus toxikologischer Sicht bedenklichen Reaktionsbedingungen verbunden (vgl. Schema 4.18). So könnte das enzymatische Verfahren zur Cyanid-freien Darstellung von Nitrilen in die Entwicklung einer alternativen Syntheseroute eingebunden werden (Schema 4.20).



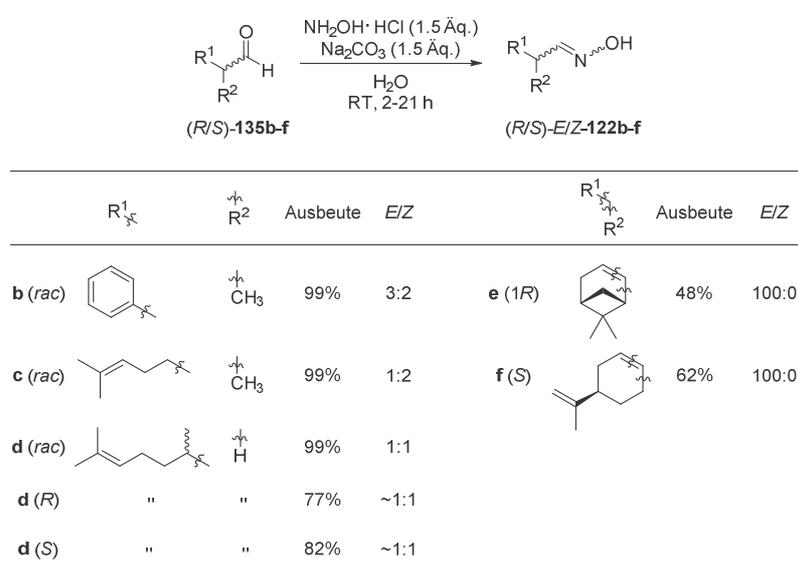
Schema 4.20: Synthesepfad für eine alternative Darstellung des Vildagliptin-Schlüsselbausteins (*S*)-**132** ausgehend von dem Aldehyd (*S*)-**136** über das Oxim (*S*)-**137**.

Hierbei könnte ausgehend von dem enantiomerenreinen Aldehyd (*S*)-**136**, der über ein *chiral pool*-Substrat mit Prolin-Grundstruktur zugänglich sein sollte, das Oxim (*S*)-**137** durch Kondensation mit Hydroxylamin erhalten werden. Durch enzymatische Dehydratisierung könnte daraus der Schlüsselbaustein (*S*)-**132** gebildet werden, welcher abschließend analog zu der Route von *Novartis Pharma* durch Verknüpfung mit dem Adamantangerüst **133** auf diesem alternativen Weg ebenfalls das Zielmolekül (*S*)-**124** liefern würde. Alternativ zu dem enzymatischen Verfahren ist in diesem Fall auch die Implementierung der Kupfer-katalysierten Oximdehydratisierung<sup>[244]</sup> denkbar, da durch die geplante Verwendung eines enantiomerenreinen Substrates aus dem *chiral pool* ein stereoselektiver Reaktionsverlauf, wie er nur auf dem enzymatischem Weg erreicht werden könnte, nicht zwingend erforderlich ist.

### 4.3 Ergebnisse und Diskussion

#### 4.3.1 Untersuchung neuer Substrate für die enzymatische Nitrilsynthese mit Oxds

Die enzymatische Dehydratisierung von Oximen mit Oxds bietet eine umweltfreundliche Möglichkeit zur Cyanid-freien Nitrilsynthese. Für eine zielgerichtete Erweiterung der Substratpalette lag der Fokus dieser Arbeit auf der Synthese von leicht zugänglichen, chiralen Oximen. Daher wurden für die Oximdarstellung zunächst kommerziell erhältliche, racemische und enantiomerenreine Aldehyde verwendet. Diese wurden in einer einfachen Kondensationsreaktion mit Hydroxylamin in die entsprechenden Oxime überführt, die die Basis der enzymatischen Untersuchungen mit den Oxds bildeten (Schema 4.21).



Schema 4.21: Synthese der chiralen Oxime **122b-f** aus den Aldehyden **135b-f** mit  $\text{NH}_2\text{OH}$ .

Die Oximformation erfolgte nach einem einfachen Syntheseprotokoll, das auch Metzner bereits für seine Substratsynthesen anwendete.<sup>[255]</sup> Hierbei wurden die Aldehyde zu einer wässrigen Lösung aus einem Überschuss Hydroxylamin-Hydrochlorid und Natriumcarbonat gegeben. Die Freisetzung des Hydroxylamins aus seinem Salz erfolgte durch Neutralisation mit der Base. Zudem ist die Bildung des Oxims in einer leicht basischen Reaktionsumgebung begünstigt, da im sauren Milieu die Wahrscheinlichkeit der Rückreaktion durch Oximhydrolyse erhöht ist.<sup>[269]</sup> Aufgrund der unter diesen Reaktionsbedingungen schnell ablaufenden Oximbildung<sup>[221]</sup> waren milde Reaktionstemperaturen und kurze Reaktionszeiten von 2-5 h ausreichend. Jedoch wurden einige der Ansätze für einen möglichst hohen Umsatz teilweise auch eine etwas längere Zeit von bis zu 21 h gerührt. Für drei der sieben Ansätze wurden die auf diese Weise erhaltenen Produkte mittels Säulenchromatographie mit nahezu quantitativen Ausbeuten isoliert. Dazu gehören der chirale Verwandte des aromatischen Standardoxims **122a**, Aldoxim *rac*-**122b**, welches nach Isolierung mit einem E/Z-Verhältnis von 3:2 vorlag, der Abkömmling des Melonals (**135c**), Aldoxim *rac*-**122c** mit einem E/Z-Verhältnis von 1:2

und das Derivat des Citronellals (**135d**), Aldoxim *rac*-**122d** mit einem *E/Z*-Verhältnis von 1:1. Mit guten Ausbeuten von 77% bzw. 82% wurden auch die enantiomerenreinen Citronellaloxime ((*R*)-**122d**) und ((*S*)-**122d**) aus den entsprechenden Aldehyden (*R*)-**135d** und (*S*)-**135d** erhalten. Die enantiomerenreinen, natürlich vorkommenden Monoterpene Myrtenal ((*1R*)-**135e**) und Perillaaldehyd ((*S*)-**135f**) lieferten die Oxime (*1R*)-*E*-**122e** und (*S*)-*E*-**122f** in eher moderaten Ausbeuten von 48% bzw. 62%. Diese beiden Oxime wurden interessanterweise ausschließlich in der *E*-Konfiguration gebildet und isoliert. Dies lässt sich über die Stabilisierung der *E*-Anordnung durch die benachbarte Doppelbindung in Kombination mit einer  $\alpha$ -Verzweigung erklären.<sup>[270,271]</sup>

Die jeweiligen Oxime ließen sich durch ihre charakteristischen Signale im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum eindeutig identifizieren. Besonders interessant ist dabei die deutlich unterschiedliche Verschiebung der Protonen an der Oximfunktionalität in Abhängigkeit von der *E*- und *Z*-Konfiguration. Anhand des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums einer *E/Z*-Mischung des aromatischen Oxims *rac*-**122b** wird dies beispielhaft deutlich (Abbildung 4.6).

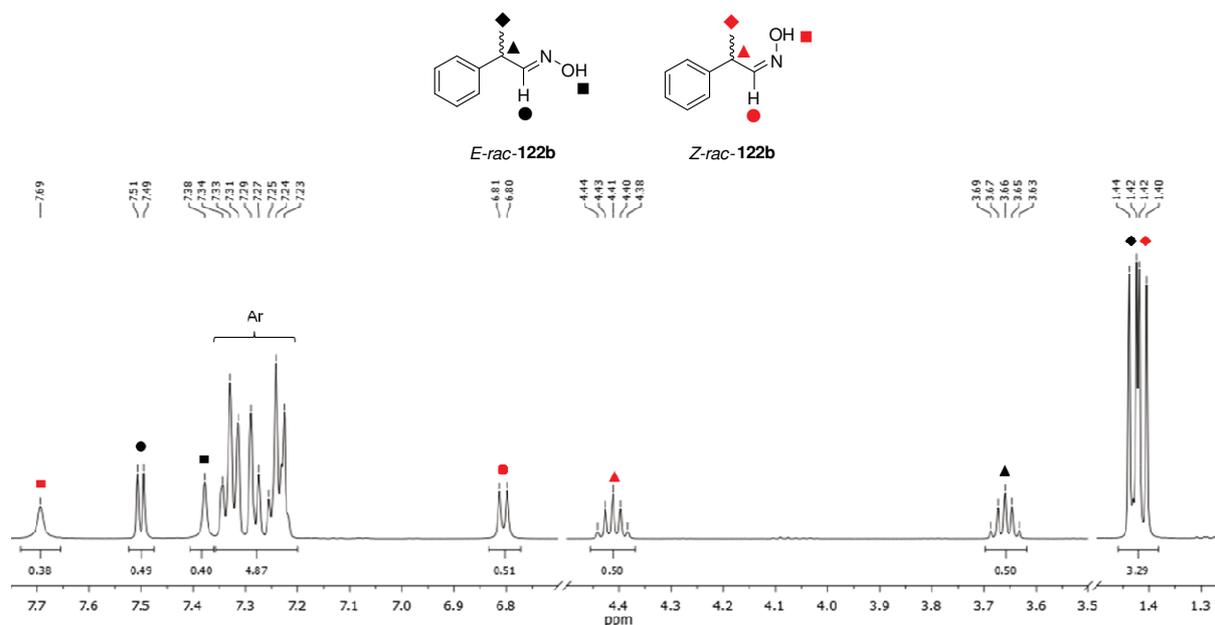


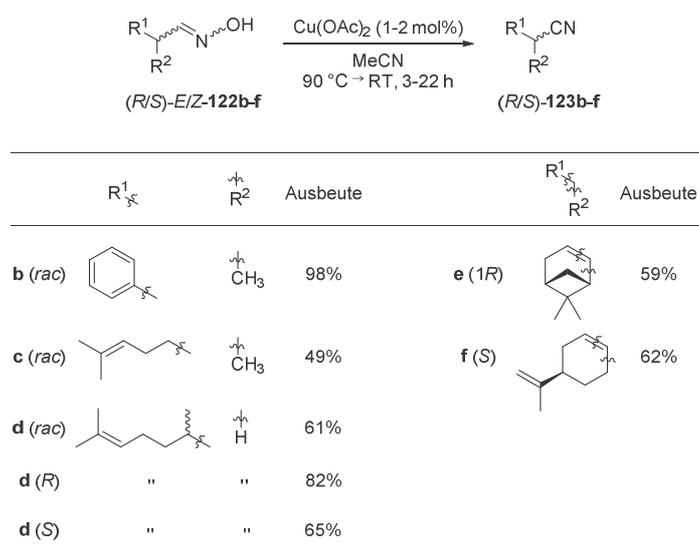
Abbildung 4.6: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von *rac*-*E/Z*-2-Phenylpropionaldoxim (**122b**) aus der Kondensation des Aldehyds *rac*-**135b** mit NH<sub>2</sub>OH in CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Das Hydroxyproton des Oximisomers *Z*-**122b** resoniert als breites Singulett am weitesten im Tieffeld bei einer Verschiebung von 7.69 ppm. Das Proton an der C-N-Doppelbindung erzeugt ein Dublett bei 6.81 ppm. Das Quintett bei 4.41 ppm und das Dublett bei 1.41 ppm werden von dem Proton am chiralen C-Atom bzw. von der benachbarten Methylgruppe erzeugt. Die Protonensignale des *E*-Isomers liegen im Vergleich dazu teils bei höherer und teils bei tieferer Verschiebung. Das Signal des Hydroxyprotons des Oximisomers *E*-**122b** liegt verglichen mit dem von *Z*-**122b** um 0.31 ppm weiter im Hochfeld bei 7.38 ppm. Dahingegen verursacht der elektronegative Sauerstoff aufgrund seiner größeren räumlichen Nähe in *E*-**122b** eine signifikant stärkere

Entschirmung des Protons an der C-N-Doppelbindung, das dadurch deutlich tieffeldverschoben bei 7.50 ppm resoniert. Das chirale Methinproton wiederum erfährt als Konsequenz der *trans*-Anordnung einen vergleichsweise geringeren Einfluss der Elektronendichte am Sauerstoff, sodass sein Signal im Vergleich zu dem von *Z*-**122b** bei 3.66 ppm im deutlich höheren Feld liegt. Der elektronische Einfluss des Oximsauerstoffs scheint auf die räumlich etwas weiter entfernte Methylgruppe keine Auswirkung zu haben, denn das Signal ist bei 1.43 ppm kaum verschoben zu dem Signal der Methylgruppe von *Z*-**122b**. Der Signalsatz für die aromatischen Protonen zwischen 7.34 und 7.23 ppm komplettiert das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Aldoxim-Isomerengemisches *rac*-*E/Z*-**122b**.

Das typische Signalmuster der *E*- bzw. *Z*-konfigurierten Oximfunktionalitäten ist in analoger Weise auch in den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der anderen synthetisierten Oxime wiederzufinden, sodass die NMR-Charakterisierung abgesehen von den Signalen des restlichen Molekülgerüsts für alle Oxime ein ähnliches Bild liefert.

Vor der Durchführung der Biotransformationen mit den synthetisierten Aldoximen **122b-f** war es notwendig, eine schnelle Methodik zur Analyse der Reaktionsmischungen aus den Umsetzungen mit den Oxids zu etablieren, beispielsweise mittels HPLC oder GC. Neben den Substraten **122b-f** wurden dafür folglich auch die potentiellen Produkte **123b-f** benötigt. Daher wurden diese Nitrile **123b-f** zunächst in kleineren Mengen aus den entsprechenden Oximen **122b-f** synthetisiert. Hierfür eignete sich aufgrund der simplen Reaktionsführung und der guten Zugänglichkeit der Reagenzien die Dehydratisierung mit katalytischen Mengen Kupfer<sup>II</sup>-Acetat und dem Hilfsreagenz Acetonitril (Schema 4.22).<sup>[244]</sup>



Schema 4.22: Metall-katalysierte Dehydratisierung der chiralen Oxime **122b-f** zu den Nitrilen **123b-f** mit  $\text{Cu(OAc)}_2$  und MeCN.

Während in der Literatur für diesen Prozess stets 10 mol% des kommerziell erhältlichen Kupferkatalysators verwendet wurden, konnte die Katalysatormenge für die Dehydratisierung der Oxime **122b-f** auf 1-2 mol% reduziert werden, ohne einen

signifikanten Abfall der Umsätze zu beobachten. Die Reaktionsmischungen wurden stets so lange erhitzt, bis die DC-Reaktionskontrollen einen vollständigen Umsatz anzeigten. Dementsprechend variierten die Reaktionszeiten zwischen 3 und 22 h.

Unter diesen Reaktionsbedingungen wurden die Nitrile **123b-f** mit moderaten bis hohen Ausbeuten zwischen 49% und 98% per Säulenchromatographie des Rohmaterials isoliert. Die auf diesem Wege synthetisierten Nitrile **123b-f** wurden lediglich als Referenz zur Etablierung einer geeigneten Analyseverfahren verwendet. Daher wurde auf eine weitere Optimierung der Reaktionsbedingungen verzichtet. Auch die Ansätze mit einer niedrigeren Ausbeute lieferten ausreichend Material für HPLC- und GC-Referenzmessungen.

$^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchungen der Nitrile **123b-f** ergaben im Vergleich zu den Spektren ihrer Ausgangsverbindungen **122b-f** stets ähnliche Unterschiede, die sich vor allem in dem Fehlen der beiden Signale für die Protonen der Oximfunktionalität bemerkbar machte. Darüber hinaus bewirkte die neu entstandene Nitrilfunktionalität auch auf die benachbarten Protonen – sofern vorhanden – eine leichte Verschiebung der Signale. Beispielhaft wird dies an den Signalen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 2-Phenylpropionitril (*rac*-**123b**) deutlich (Abbildung 4.7). Neben dem Multiplett im Verschiebungsbereich zwischen 7.41 und 7.32 ppm, welches von den aromatischen Protonen erzeugt wird, kennzeichnen zwei weitere Signale die erfolgreiche Bildung des Nitrils *rac*-**123b**. Das Methinproton resoniert als Quartett bei 3.93 ppm und die benachbarten Methylprotonen resonieren als Dublett bei 1.63 ppm. Analog dazu weisen die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der anderen synthetisierten Nitrile **123c-f** ein im Vergleich zu den Aldoximen **122c-f** im Allgemeinen übersichtlicheres Signalmuster auf, das nur aufgrund der unterschiedlichen Molekülgerüste entsprechend variiert.

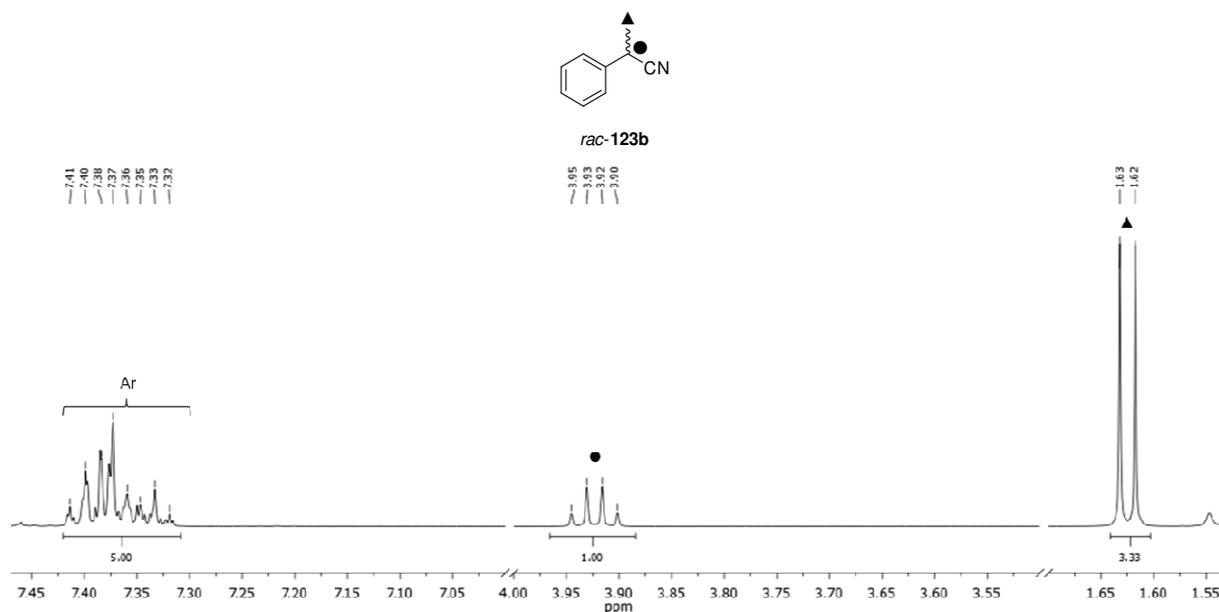


Abbildung 4.7: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von *rac*-2-Phenylpropionitril (**123b**) aus der Metall-katalysierten Dehydratisierung des Oxims *rac*-**122b** in  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Mit den erfolgreich synthetisierten Aldoximen **122b-f** und Nitrilen **123b-f** war es nun möglich, eine passende Analyseverfahren für jedes der Substrat-Produkt-Paare zu etablieren, die auch die einzelnen Enantiomere aufgelöst darstellt. Für diese Zwecke eignete sich je nach Art des Moleküls entweder chirale HPLC oder chirale GC. Die Analytik der aromatischen Derivate *rac-E/Z-122b* bzw. *rac-123b* mittels HPLC wurde bereits von Metzner etabliert und optimiert und genau so übernommen.<sup>[256]</sup> Da die Detektion der Moleküle mittels HPLC über deren UV-Absorption erfolgt, war für die nichtaromatischen, offenkettigen und cyclischen Derivate **122c-f** bzw. **123c-f** eine Detektion per GC mit einem Flammenionisationsdetektor erfolversprechender. So wurde mit einer chiralen GC-Säule für jedes Substrat-Produkt-Paar ein geeignetes Temperaturprogramm entwickelt, das zumindest die Enantiomere der Nitrile **123c-f** auftrennen kann (Abbildung 4.8).

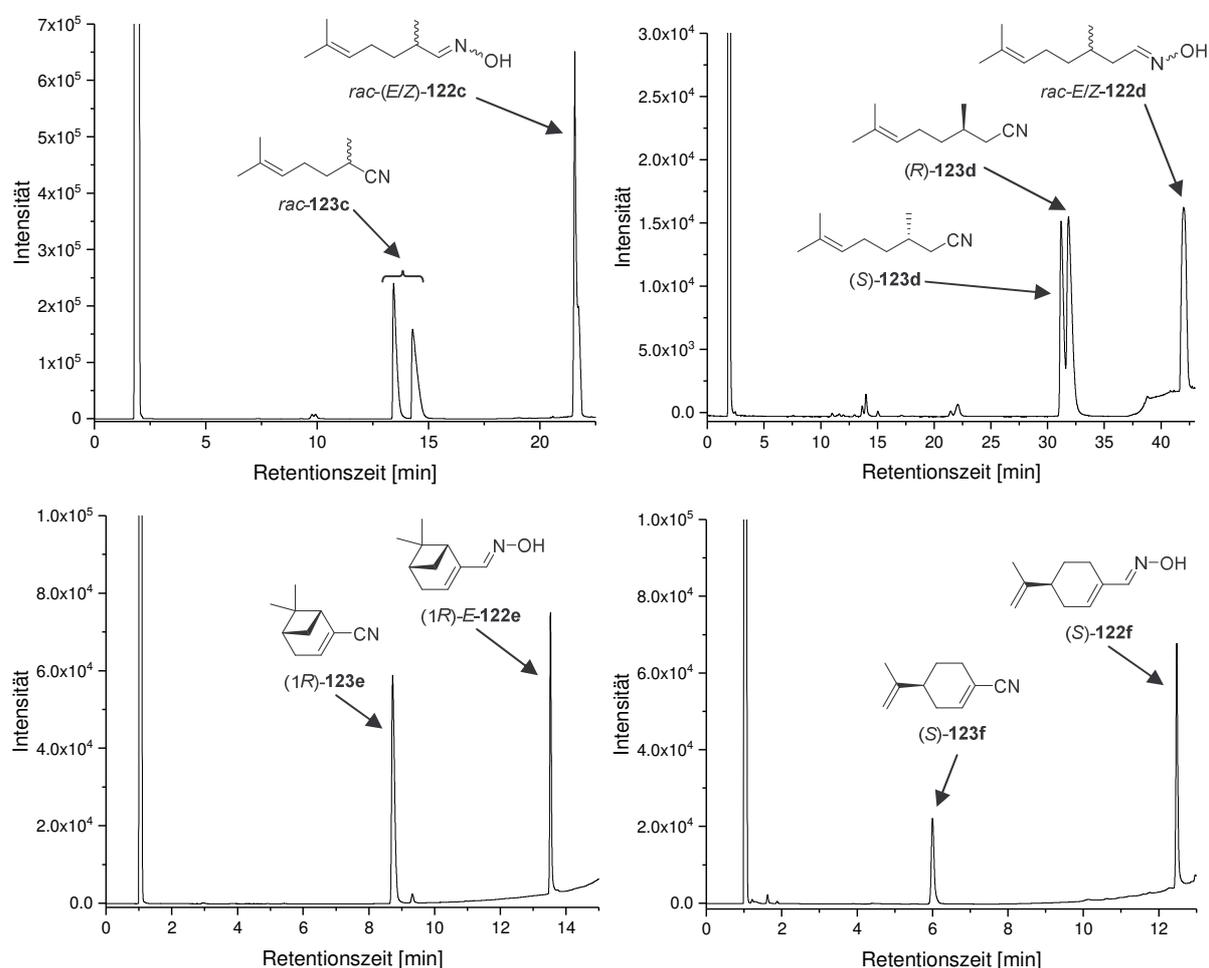


Abbildung 4.8: Gaschromatogramme der offenkettigen Aldoxime **122c-d** und Nitrile **123c-d** (oben) sowie der cyclischen Aldoxime **122e-f** und Nitrile **123e-f** (unten).

Eine Unterscheidung der *E*- bzw. *Z*-Oxime **122c-f** und deren jeweilige (*R*)- bzw. (*S*)-Enantiomere war vermutlich aufgrund einer thermischen *E-Z*-Isomerisierung und der damit einhergehenden Signalverbreiterung und -überlappung nicht möglich. Dennoch konnten über die Peakflächen mittels Kalibrierreihen das Oxim/Nitril-Verhältnis und

damit auch der Umsatz einer enzymatischen Dehydratisierung bestimmt werden. Da über das Melonalderivat **123c** in der Literatur bisher noch keine Informationen zur absoluten Konfiguration zu finden waren, konnten die beiden Peaks mit gleich großer Fläche aus dem racemischen Gemisch nicht dem (R)- und (S)-Enantiomer zugeordnet werden (Abbildung 4.8 oben links). Im Gegensatz dazu war die eindeutige Zuordnung der Peaks des Citronellalderivats *rac*-**123d** zu den beiden Enantiomeren durchaus möglich. Dies gelang über die GC-Analyse der enantiomerenreinen Nitrile (R)- und (S)-**123d**, die aus den kommerziell erhältlichen, optisch reinen Aldehyden (R)- und (S)-**135d** synthetisiert wurden. Nach Durchlauf durch die chirale GC-Säule wurde zuerst (S)- und danach (R)-**123d** detektiert (Abbildung 4.8 oben rechts). Es stellte sich heraus, dass entgegen der Herstellerangabe der verwendete Aldehyd *rac*-**135d** nicht racemisch sein konnte, sondern als R/S-Mischung in einem Verhältnis von ~60:40 vorlag, da auch die Peaks der Nitrilenantiomeren R- bzw. S-**123d** ein Verhältnis von ~60:40 aufweisen. Zur Vereinfachung werden die Citronellalderivate **122d** und **123d** im Folgenden dennoch als racemisch bezeichnet. Wie zu erwarten ergab die GC-Analyse der enantiomerenreinen Monoterpenderivate **123e** und **123f** anstelle von zwei gleich großen Signalen nur jeweils einen einzelnen Peak (Abbildung 4.8 unten). Lediglich ein kleiner Nachbarpeak im Chromatogramm des Myrtenalderivats (1R)-**123e** mit einem Integralverhältnis von 97:3 könnte auf eine nicht enantiomerenreine Probe hinweisen, was allerdings für das geplante Substratscreening der Oxds nicht hinderlich sein sollte. Auch in diesem Fall werden die Myrtenalderivate **122e** und **123e** im Folgenden vereinfachend als enantiomerenrein angesehen.

Die etablierte Methodik zur schnellen Analyse der Substrat-Produkt-Paare **122b-f** und **123b-f** diente als Grundlage für die folgenden Untersuchungen zur Erweiterung des Oxd-Substratspektrums mit chiralen Aldoximen.

Für die enzymatische Oximdehydratisierung wurden fünf verschiedene, in der bisherigen Literatur am häufigsten eingesetzten Oxds verwendet: Neben der bereits erwähnten OxdB aus *Bacillus* sp. OxB-1<sup>[272,273]</sup> kamen zusätzlich OxdA aus *Pseudomonas chlororaphis* B23,<sup>[274]</sup> OxdRE aus *Rhodococcus* sp. N-771,<sup>[275]</sup> OxdRG aus *Rhodococcus globerulus* A-4<sup>[276]</sup> und OxdFG aus *Fusarium graminearum* MAFF305135<sup>[277]</sup> zum Einsatz. Die Zellen dieser rekombinant vorliegenden Enzyme wurden nach dem Literaturprotokoll mittels mikroaerober Kultivierung von *E. coli*-Bakterien mit den entsprechenden Oxd-Genhaltigen Plasmiden überexprimiert (vgl. Kap. 7.4.17).<sup>[256]</sup> Zur Ernte der Zellen wurden die Kulturen zentrifugiert, abdekantiert und gewaschen. Nach Abdekantieren der gewaschenen und zentrifugierten Zellen wurde die Biofeuchtmasse (BFM) per Auswaage gemessen, auf deren Basis die Enzymaktivität mit der Einheit U/mg<sub>(BFM)</sub> bestimmt wurde. Die Überexpression der Oxds wurde mittels *SDS-PAGE* überprüft.<sup>[278]</sup> Zur Lagerung der Zellen wurden diese in einem geringen Volumen Phosphatpuffer resuspendiert und in einem kleinen Gefäß mit Argon überschichtet kühl gelagert, um die Luftoxidation des Hämeisens und damit die Inaktivierung des Enzyms möglichst zu unterbinden.<sup>[252]</sup>

Um einen schnellen Überblick darüber zu erhalten, welche der ausgewählten Substrate **122b-f** von den fünf Oxds ungeachtet der Stereoselektivität generell akzeptiert und umgesetzt werden, wurde für diese Aldoxime zunächst ein Aktivitätsassay durchgeführt (Abbildung 4.9). Dieser ist an die von *Metzner* entwickelte Methodik angelehnt, bei der die Biotransformation vom Oxim zum Nitril nach einer kurzen Reaktionszeit abgebrochen wird, um den Umsatz mittels HPLC- oder GC-Analyse der Reaktionsmischung zu bestimmen.<sup>[256]</sup> Nach einer Reaktionszeit von 1 min kann die Produktbildung pro Zeiteinheit noch als linear angenommen werden, wodurch sich aus dem Umsatz des Oxims zum Nitril leicht die Substrat-spezifische Aktivität der Oxds berechnen lässt. Bei den Untersuchungen der Reaktionsparameter stellte sich heraus, dass entgegen der bisherigen Vermutung keine Zugabe von zusätzlichem Cofaktor Flavinmononukleotid (FMN)<sup>[245]</sup> zur Erhaltung der Aktivität der ganzen Zellen notwendig war.<sup>[279]</sup> Daher wurden sowohl die Aktivitätsassays als auch die Biotransformationen ohne Zusatz von artifiziell FMN durchgeführt.

Da ein Großteil der in der Literatur angegebenen  $K_m$ -Werte verschiedener Oxime unter 2.5 mM liegt,<sup>[272,275,277]</sup> erfolgte die Bestimmung der Substrat-spezifischen Aktivitäten mit 5 mM Substratlösungen, um eine Sättigung der Enzyme zu gewährleisten und damit bei möglichst maximaler Umsatzgeschwindigkeit zu arbeiten.

Wie *Metzner* bereits zeigen konnte, verlief die enzymatische Dehydratisierung bei einer Reaktionstemperatur von 8 °C als Resultat einer unterdrückten thermischen *E-Z*-Isomerisierung der Substrate mit einer erhöhten Stereoselektivität.<sup>[256]</sup> Für den Aktivitätsassay wurde daher ebenfalls diese niedrigere Reaktionstemperatur gewählt, da bei den chiralen Aldoximen gerade auch die Stereoselektivität der Biotransformation einen interessanten Untersuchungsaspekt darstellt.

Nach einer Reaktionszeit von 1 min wurde die Biotransformation durch Zugabe von entweder einer Salzsäure-Acetonitril-Mischung oder Dichlormethan gestoppt, was in beiden Fällen zu einer Denaturierung und damit zu einer Inaktivierung des Enzyms führte. Die anschließende HPLC- bzw. GC-Analytik lieferte teils sehr unterschiedliche Ergebnisse und erlaubte einen interessanten Einblick in die Aktivitäten der verschiedenen Oxds für unterschiedliche Substrate (Abbildung 4.9).

Für einen besseren absoluten Vergleich wurde auch das achirale Standardsubstrat *Z*-Phenylacetaldoxim (**Z-122a**) unter diesen Assaybedingungen umgesetzt. Wie zu erwarten zeigten alle Oxds gute Aktivitäten gegenüber dieses Substrats mit Werten von 0.2 bis über 0.6 U/mg<sub>(BFM)</sub>, wobei mit OxdB die höchste Aktivität erreicht wurde. Bei der folgenden Diskussion der Aktivitätswerte ist zu berücksichtigen, dass die Expressionslevel der jeweiligen Oxds trotz einheitlich durchgeführter Kultivierung der Biomasse von Ansatz zu Ansatz leichten Schwankungen unterlagen. Dementsprechend ist aus den angegebenen Werten lediglich eine in erster Näherung untereinander vergleichbare und qualitative Tendenz abzulesen.

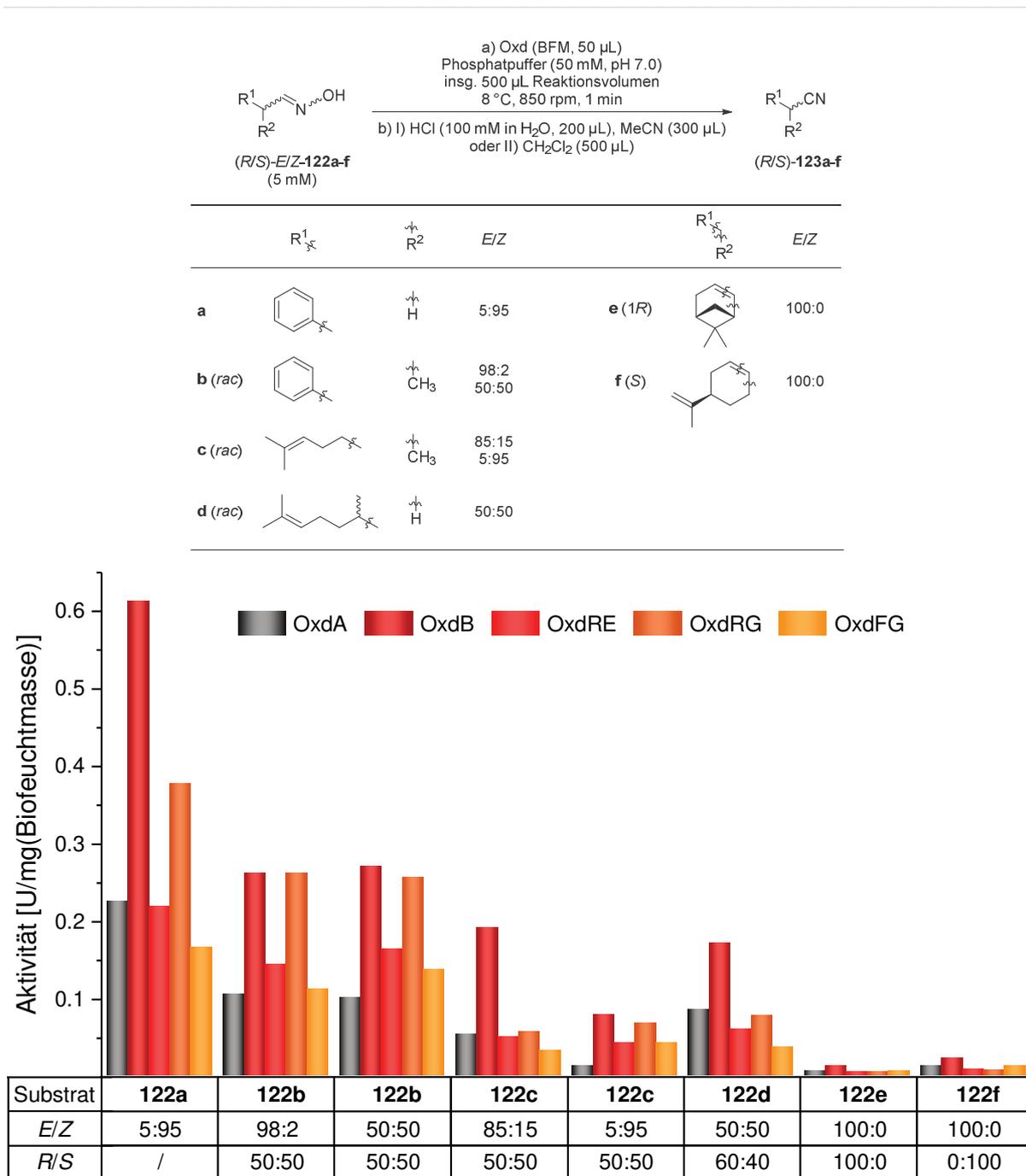


Abbildung 4.9: Aktivitätsassay der (chiralen) Aldoxime **122a-f** mit unterschiedlichen *E/Z*-Verhältnissen mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG und den aus den Umsätzen der Reaktionen ermittelten Substrat-spezifischen Aktivitäten mit der Einheit U/mg<sub>(BFM)</sub>.

Das chirale *rac*-2-Phenylpropionaldoxim (*rac*-**122b**), der aus dem Aldehyd *rac*-**135b** mit einem natürlichen *E/Z*-Verhältnis von 3:2 gebildet wurde, zeigte schon bei Metzner die Eigenschaft, in Abhängigkeit der *E/Z*-Isomerie von OxdB selektiv bzw. unselektiv umgesetzt zu werden. Zur Auftrennung des *E*- und *Z*-Isomers wurde das Oxim *rac*-**122b** zunächst mittels manueller Säulenchromatographie aufgereinigt. Aufgrund der allgemeinen Tendenz zur thermischen *E-Z*-Isomerisierung von Oximen wurden die aufgefangenen Fraktionen mit Eis gekühlt. Zusätzlich dazu erfolgte die Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum bei Raumtemperatur. Auf diese Weise konnte in mehreren

Anläufen das Isomer *rac-E-122b* mit einem *E/Z*-Verhältnis von 93:7 stark angereichert werden. Da das andere Isomer *rac-Z-122b* direkt nach dem *E*-Isomer eluierte, war eine Anreicherung nicht möglich. Der höchste *Z*-Isomergehalt betrug lediglich 50%.

Selbst bei Raumtemperatur konnte für das Oxim *rac-122b* eine langsame *E-Z*-Isomerisierung in Richtung einer thermodynamischen Senke beobachtet werden: Nach 10 bzw. 20 d wurden die Lösungsmittel-freien Fraktionen aus der Säulenchromatographie erneut analysiert. In der Probe mit hohem *E*-Isomerenanteil reicherte sich über die Lagerungszeit das *Z*-Isomer wieder an, sodass nach 10 d eine *E/Z*-Mischung von 85:15 und nach 20 d sogar von 70:30 vorlag. Auch die Probe mit der 1:1-Mischung aus *rac-E*- und *rac-Z-122b* veränderte ihre Zusammensetzung bei ungekühlter Lagerung. Nach 10 d war das *E*-Isomer auf 60% und nach 20 d wie bei der anderen Probe auf 70% angereichert. Diese Beobachtungen führten dazu, die isolierten Oxime bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  zu lagern, um die *E-Z*-Isomerisierung zu unterdrücken. Mit der automatischen Säulenchromatographie war es möglich, das Isomer *rac-E-122b* bis auf 98% anzureichern, während das Isomer *rac-Z-122b* auch in diesem Fall mit höchstens 50% erhalten werden konnte. Zumindest für das *E*-Isomer bewirkten sowohl die kürzere Verweildauer der Substanz auf der Kieselgelkartusche als auch die höhere Substanzkonzentration der einzelnen Fraktionen im Vergleich zur manuellen Säulenchromatographie eine bessere Trennleistung.

Im Aktivitätsassay wurden sowohl das angereicherte *rac-E-122b* als auch das 1:1-Gemisch *rac-E/Z-122b* verwendet, was für die einzelnen Oxds zu ähnlichen Ergebnissen führte. Mit Werten zwischen 0.1 und 0.3 U/mg<sub>(BFM)</sub> sind die Aktivitäten im Vergleich zum Standardsubstrat **122a** lediglich etwas verringert. Die höchsten Aktivitäten lieferten OxdB und OxdRG sowohl für das *E*-Isomer als auch für das *E/Z*-Isomergemisch.

Für das Melonalderivat *rac-E/Z-122c* ergab die automatische Säulenchromatographie ebenfalls eine erfolgreiche Anreicherung der Oximisomere, in diesem Fall sogar für das *E*- und das *Z*-Isomer. Ersteres konnte bis zu 85% angereichert werden, letzteres sogar bis zu 95%. Mit diesen angereicherten Oximen *rac-E*- bzw. *rac-Z-122c* lieferte der Assay Aktivitäten, die im Vergleich zu den vorher aufgeführten Substraten insgesamt noch etwas geringer ausfielen. Mit zwei Ausnahmen lagen die Aktivitäten gegenüber diesem Substrat bei Werten um 0.05 U/mg<sub>(BFM)</sub>. Davon ausgenommen war die Aktivität von OxdB gegenüber dem *E*-Isomer mit 0.2 U/mg<sub>(BFM)</sub> höher und die von OxdA gegenüber dem *Z*-Isomer mit nur 0.01 U/mg<sub>(BFM)</sub> geringer.

Die *E*- und *Z*-Isomere des um eine Methylenheit verlängerten, homologen Citronellalderivats *rac-122d* konnten selbst mit der automatischen Säulenchromatographie nicht angereichert werden, da die Trennleistung auch in unterschiedlichen Lösungsmittelgemischen nicht ausreichend war. So wurde für den Aktivitätsassay die auf natürliche Weise gebildete 1:1-Mischung *rac-E/Z-122d* verwendet. Die Aktivitäten der

Oxds lagen für dieses Substrat zwischen 0.05 und 0.2 U/mg<sub>(BFM)</sub>, tendenziell etwas höher als für das strukturverwandte Melonalderivat *rac*-**122c**.

Die Untersuchung der Monoterpenderivate **122e** und **122f**, die enantiomerenrein und ausschließlich als *E*-Oxim vorlagen, ergab in beiden Fällen für alle Oxds keine nennenswerte Aktivität mit maximal 0.01 U/mg<sub>(BFM)</sub>.

Zusammenfassend ergab sich aus diesem Aktivitätsassay eine grobe dreigeteilte Abstufung für die unterschiedlichen eingesetzten Aldoxime: Die arylaliphatischen Substrate **122a** und **122b** wurden mit einer guten Aktivität umgesetzt. Gegenüber den offenkettigen Substraten **122c** und **122d** zeigten die Oxds immerhin noch eine mäßige Aktivität. Eine nur geringe Aktivität der Oxds wurde gegenüber den alicyclischen Substraten **122e** und **122f** beobachtet.

Nach diesen vielversprechenden Aktivitätsassays wurden mit den oben beschriebenen Substraten Biotransformationen mit längeren Reaktionszeiten durchgeführt. So wurden die Aldoxime **122b-f**, teils in angereicherter *E*- bzw. *Z*-Form, nacheinander mit den fünf zur Verfügung stehenden Zellsuspensionen von OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG unter ähnlichen Reaktionsbedingungen wie im Aktivitätsassay umgesetzt. Um nennenswerte Umsätze zu erreichen, wurden die Reaktionszeiten dieser enzymatischen Oximdehydratisierung auf 45 min-20 h erhöht.

Die Biotransformation von *rac*-*E*-2-Phenylpropionaldoxim (*rac*-*E*-**122b**) stellt eine Erweiterung der Ergebnisse von Metzner dar, der die Umsetzung dieses Substrates mit OxdB bereits untersucht hat.<sup>[255,256]</sup> Im Vergleich dazu zeigten die anderen Enzyme OxdA, OxdRE, OxdRG und OxdFG ein nahezu identisches Verhalten (Abbildung 4.10).

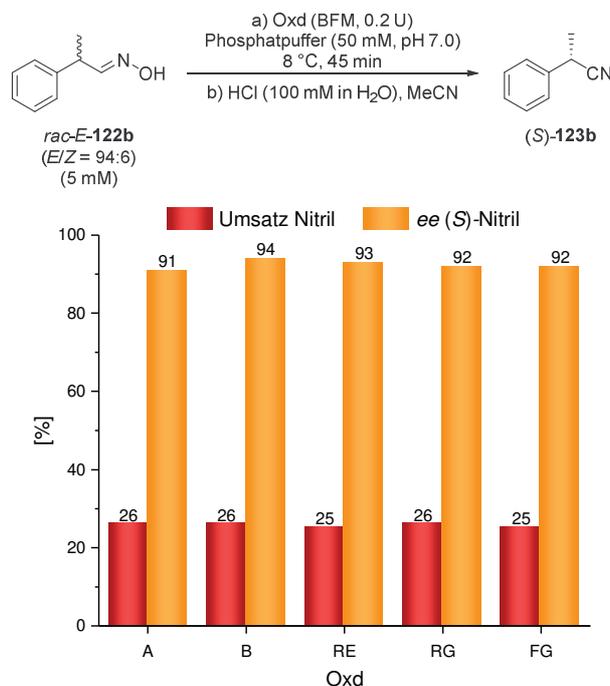


Abbildung 4.10: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen von Aldoxim *rac*-*E*-**122b** mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG.

In allen Fällen wurde das Substrat nach einer Reaktionszeit von 45 min mit 25% bis 26% zum entsprechenden Nitril (*S*)-**123b** umgesetzt, und das mit sehr guten *ee*-Werten von 91-94%. Alle Oxds sind mit guten *E*-Werten zwischen 28 und 47 bezüglich des Substrats *rac*-*E*-**122b** (*S*)-selektiv. Bei diesen Werten muss berücksichtigt werden, dass das in der Reaktion eingesetzte Substrat immerhin zu 6% auch das *Z*-Isomer beinhaltet, dessen enzymatische Dehydratisierung nur unselektiv verläuft.<sup>[256]</sup> In Anbetracht dieser Tatsache sind die unter den Reaktionsbedingungen erhaltenen *ee*- und *E*-Werte sehr hoch.

Auf eine Untersuchung der enzymatischen Dehydratisierung einer 1:1-Mischung *rac*-*E*/*Z*-**122b** wurde verzichtet, auch wenn der Aktivitätsassay eine mit dem angereicherten *E*-Isomer vergleichbare Aktivität ergeben hat. Ein solcher Versuch würde nach den Erkenntnissen von Metzner keinen nennenswert stereoselektiven Reaktionsverlauf zeigen und ist daher in Anbetracht des Forschungsziels weniger relevant.

Anders sieht es bei dem Melonalderivat *rac*-**122c** aus, dessen *E*- und *Z*-Isomere immerhin zu 85% bzw. zu 95% angereichert werden konnten. Die Biotransformationen wurden mit beiden Substraten durchgeführt und lieferten je nach Oxd teils sehr interessante und unterschiedliche Reaktionsergebnisse (Abbildung 4.11).

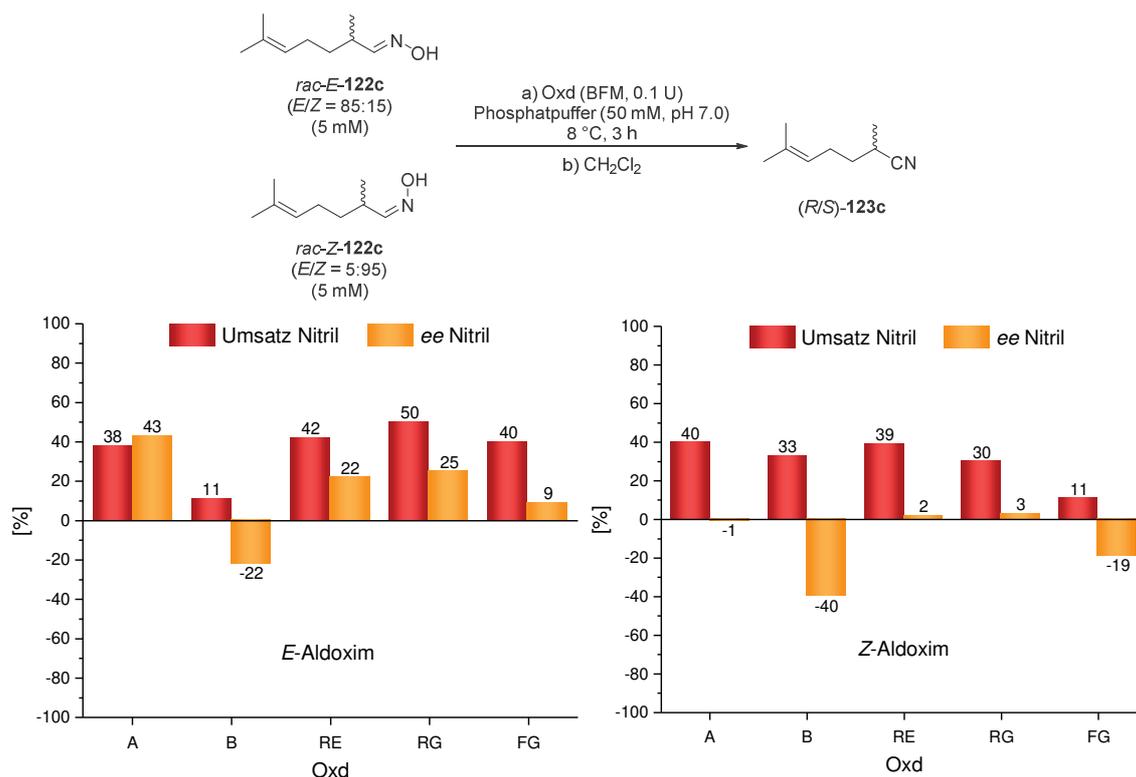


Abbildung 4.11: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime *rac*-*E*-**122c** (links) und *rac*-*Z*-**122c** (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an.

Nach einer Reaktionszeit von 3 h variierten die Umsätze zu dem entsprechenden Nitril **123c** von niedrigen 11% bis zu guten 50%. Die *ee*-Werte hingegen lagen in allen Fällen lediglich zwischen 0% und 40%. Allerdings gab es interessanterweise je nach Oxd teilweise entgegengesetzte Enantioselektivitäten. Da die absolute Konfiguration des

enantiomerenangereicherten Nitrils (*R/S*)-**123c** unbekannt ist, wurde die bevorzugte Bildung des einen oder anderen Enantiomers durch die Vorzeichen (+) bzw. (–) angegeben, die sich auf den ersten bzw. zweiten Nitrilpeak im Chromatogramm beziehen. So wurde das *E*-Isomeren-angereicherte Aldoxim *rac-E-122c* von OxdB im Vergleich zu den anderen vier Oxds mit entgegengesetzter Stereoselektivität gebildet. Im Gegensatz dazu wurde das Aldoxim *rac-Z-122c* von OxdA, OxdRE und OxdRG nahezu unselektiv zum racemischen Nitril *rac-123c* umgesetzt. Nur mit OxdB und OxdFG ergab sich eine stereoselektive Präferenz für das gleiche Enantiomer wie bei dem Umsatz von *rac-E-122c* mit OxdB. Unabhängig von der *E/Z*-Isomerie katalysierte die OxdB also die Bildung des Nitrils **123c** mit geringer Bevorzugung eines der beiden Nitrilenantiomere. Dahingegen zeigten OxdA, OxdRE und OxdRG nur gegenüber dem *E*-Substrat eine Stereoselektivität, während das *Z*-Substrat nahezu unselektiv umgesetzt wurde. Besonders interessant sind die Ergebnisse aus der Biotransformation mit OxdFG. Die Umsetzung von Aldoxim **122c** mit diesem Enzym ergab abhängig von der *E/Z*-Isomerie des Substrats eine entgegengesetzte Stereospezifität. Genauer gesagt, mit dem *Z*-Substrat bildet sich bevorzugt das andere Nitrilenantiomer als mit dem *E*-Substrat.

Da die *E*- bzw. *Z*-Isomere des Citronellalderivats **122d** nicht angereichert werden konnten, wurde dieses Substrat in einer *E/Z*-Mischung von 1:1 in den Biotransformationen mit verschiedenen Oxds eingesetzt (Abbildung 4.12).

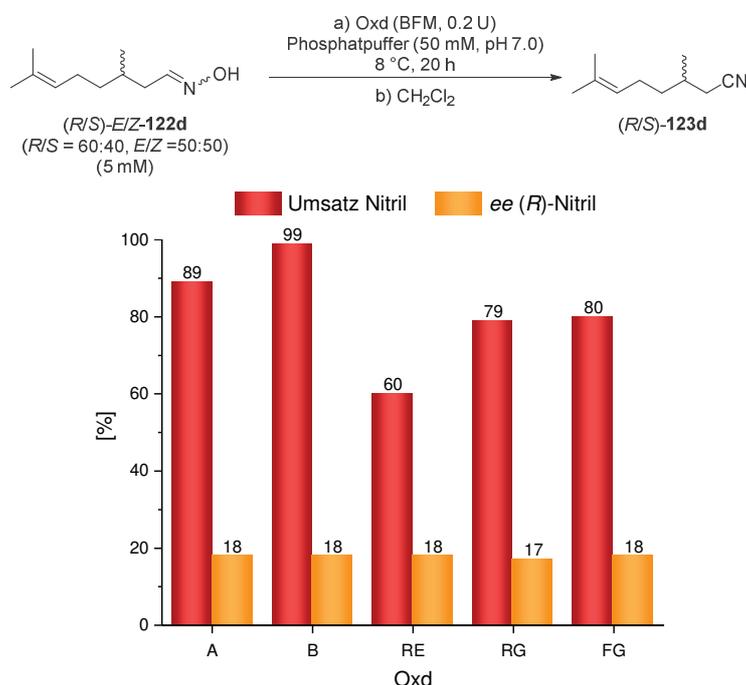


Abbildung 4.12: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen von Aldoxim (*R/S*)-*E/Z*-**122d** mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG.

Hier zeigte sich für alle Oxds ein ähnliches Bild: Während die Umsätze zum Nitril **123d** zwischen 60% und 99% vergleichsweise hoch ausfielen, verlief die Dehydratisierung in allen Fällen unselektiv. Die eingesetzte (*R/S*)-Substratmischung mit einem 60:40-Verhältnis spiegelte sich in einem *ee*-Wert des Nitrils (*R*)-**123d** von 17% bis 18% wider.

Das Substrat **122d** wurde also gut, aber unselektiv von den Oxds umgesetzt. Ein möglicher Grund hierfür könnte die von den bisher eingesetzten Aldoximen abweichende Molekülstruktur sein, in der das Stereozentrum nicht in  $\alpha$ -, sondern in  $\beta$ -Position zur Oximfunktionalität liegt. Daraus resultiert eine höhere konformative Flexibilität der Bindungen zwischen dem chiralen C-Atom und der Oximgruppe. Dies wiederum könnte die Wahrscheinlichkeit erhöhen, dass alle Oximisomere von (*R/S*)-*E/Z*-**122d** in das aktive Zentrum der Oxds hineinpassen, in geeigneter Weise an die Hämgruppe koordinieren und umgesetzt werden können.

Wie auch die Ergebnisse aus den Aktivitätsassays der Monoterpenderivate (*1R*)-*E*-**122e** und (*S*)-*E*-**122f** zeigten, ergab die Biotransformation mit diesen Substraten auch nach längerer Reaktionszeit keine nennenswerten Umsätze zu den jeweiligen Nitrilen (*1R*)-**123e** und (*S*)-**123f**. Diese Vermutung wurde durch die Biotransformation dieser Substrate mit einer Reaktionszeit von 20 h bestätigt (Abbildung 4.13). Auch nach dieser längeren Reaktionszeit wurden von dem Myrtenalderivat **122e** durchschnittlich nur 1% und von Perillartin (**122f**) nur 4% umgesetzt. Da beide Substrate enantiomerenrein eingesetzt wurden, ist es nicht verwunderlich, dass die *ee*-Werte der Produkte in allen Fällen bei 99% liegen.

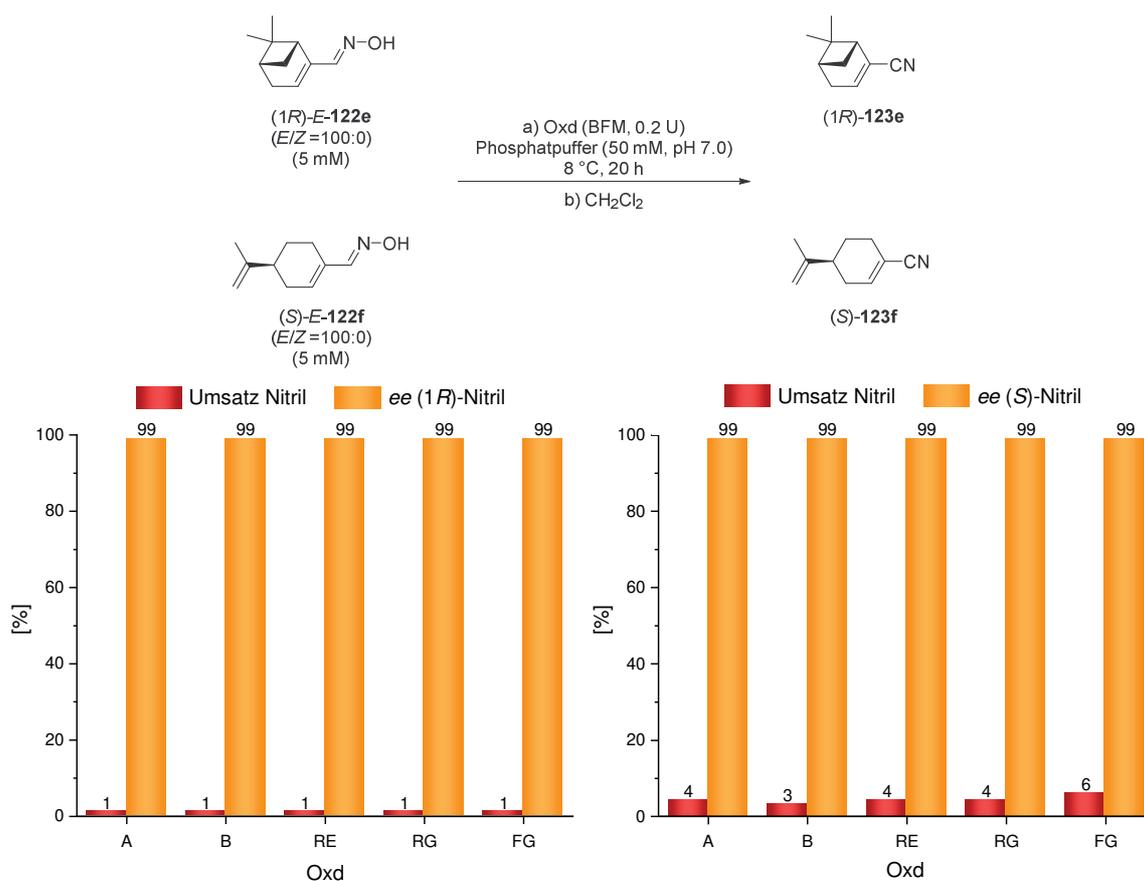


Abbildung 4.13: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime (*1R*)-*E*-**122e** (links) und (*S*)-*E*-**122f** (rechts) mit OxidA, OxidB, OxidRE, OxidRG und OxidFG.

Unveröffentlichte Ergebnisse von *Betke* zeigen, dass die Verwendung eines geringen Anteils eines dipolaren Kosolvenz wie DMSO oder Methanol mit Mengen von bis zu 20 Vol.% in einigen Fällen bei der Biotransformation von Aldoximen mit Oxds aufgrund der verbesserten Substratlöslichkeit einen positiven Einfluss auf den Umsatz zum Nitril bewirkt, ohne für das Enzym schädlich zu sein.<sup>[267]</sup> Daher hat *Wels* im Rahmen ihrer Bachelorarbeit den Einfluss unterschiedlicher Mengen DMSO auf die Biotransformation der Monoterpenaldoxime (1*R*)-*E*-**122e** und (*S*)-*E*-**122f** mit den unterschiedlichen Oxds untersucht. In einem Parameterscreening konnte sie zeigen, dass selbst die Erhöhung von DMSO-Gehalt, Reaktionstemperatur und Reaktionszeit zu keiner signifikanten Steigerung des Umsatzes führten.<sup>[280]</sup>

Insgesamt lieferte die Auswertung der Biotransformationen mit den strukturell unterschiedlichen Aldoximen **122b-f** hinsichtlich der Erweiterung des Substratspektrums ein differenziertes Bild. Die fünf Enzyme OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG zeigten gegenüber alicyclischen Substraten wie den Monoterpenaldoximen (1*R*)-*E*-**122e** und (*S*)-*E*-**122f** eine zu geringe Aktivität, um nennenswerte Umsätze zu den korrespondierenden Nitrilen (1*R*)-**123e** und (*S*)-**123f** zu erzielen. Das offenkettige Citronellalderivat (*R/S*)-*E/Z*-**122d** wurde von den Oxds mit signifikanter Aktivität zwar gut bis vollständig, aber nicht stereoselektiv zum Nitril (*R/S*)-**123d** umgesetzt, was hinsichtlich einer stereoselektiven Nitrilsynthese ebenfalls wenig relevant ist. Mit dem um eine Methyleinheit kürzeren Melonalderivat *rac*-*E/Z*-**122c** verlief die enzymatische Dehydratisierung dahingegen teilweise mit einer geringen Präferenz des einen oder anderen Nitrilenantiomers (*R*)- bzw. (*S*)-**123c**. Am stärksten ausgeprägt waren die *ee*-Werte jedoch bei der Umsetzung des aromatischen Aldoxims *rac*-*E*-**122b** mit den Oxds. In allen Fällen wurde das (*S*)-Nitril (*S*)-**123b** mit hohen *ee*-Werten von bis zu 94% gebildet.

Um den weiteren Reaktionsverlauf der Biotransformationen mit dem erfolgversprechenden Substrat *rac*-*E*-**122b** zu untersuchen, wurde die Reaktion mit unterschiedlichen Reaktionszeiten wiederholt. Alle Oxds lieferten hierbei vergleichbare Ergebnisse, die sich am Beispiel von OxdRG gut veranschaulichen lassen (Abbildung 4.14). Nach einer kurzen Reaktionszeit von 45 min lag der Umsatz zum Nitril (*S*)-**123b** bereits bei guten 26% und auch der *ee*-Wert war mit 92% sehr hoch. In diesem Fall wurde das Aldoxim *rac*-*E*-**122b** wie auch zuvor schon beschrieben mit hoher Selektivität umgesetzt. Der Umsatz stieg nach vierstündiger Reaktionszeit auf mehr als 50% an, was mit einem verringerten *ee*-Wert von 81% einher ging. Während das (*S*)-Isomer des racemischen Aldoximgemisches also schnell umgesetzt wurde, stieg der zusätzliche Anteil des (*R*)-Nitrils im Laufe der Reaktion vergleichsweise langsam an. So wurde nach einer Zeit von 20 h ein Umsatz von 61% erreicht. Infolgedessen sank auch der *ee*-Wert nach dieser Reaktionszeit auf 62% ab. Da für jede Zeitnahme ein neuer Reaktionsansatz verwendet wurde, ist davon auszugehen, dass die Reaktionsbedingungen der einzelnen Experimente trotz genauer Einwaagen und strikter Kontrolle der

Reaktionsparameter einer Schwankung unterlagen. Daher kann der angegebene Reaktionsverlauf nur eine grundsätzliche Tendenz bezogen auf Umsatz und *ee*-Wert aufzeigen. Dennoch lässt sich aus dieser Tendenz, die auch für die anderen Oxds mit dem Aldoxim *rac-E-122b* in vergleichbarer Weise beobachtet wurde, ein interessanter Aspekt der enzymatischen Nitrilsynthese mit Oxds abstrahieren: Bei einer genauen Anpassung der Reaktionsparameter ist es prinzipiell möglich, in einem enantioselektiven Reaktionsverlauf hohe Umsätze und *ee*-Wert eines optisch aktiven Nitrils zu erhalten.

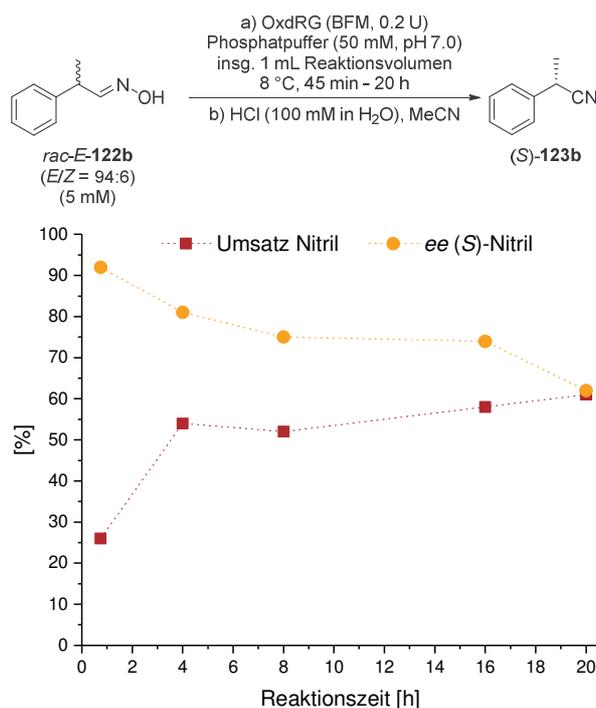


Abbildung 4.14: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen des Aldoxims *rac-E-122b* (*E/Z* = 94:6) mit OxdRG nach unterschiedlichen Reaktionszeiten.

Da die biokatalysierte Bildung eines enantiomerenreinen Nitrils aus einem racemischen Aldoxim abseits der aliphatischen Strukturen besonders mit dem aromatischen Substrat *rac-E-2-Phenylpropionaldoxim* (*rac-E-122b*) funktionierte, lässt sich mit diesen und den Ergebnissen von *Betke*<sup>[267]</sup> und *Oikel*<sup>[268]</sup> aus parallel dazu durchgeführten Experimenten mit ähnlichen Substraten eine privilegierte Substratleitstruktur für eine möglichst effektive, stereoselektive Oximdehydratisierung postulieren (Abbildung 4.15).

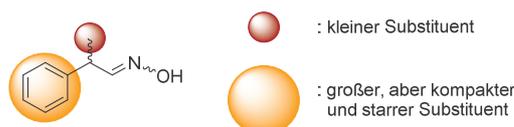
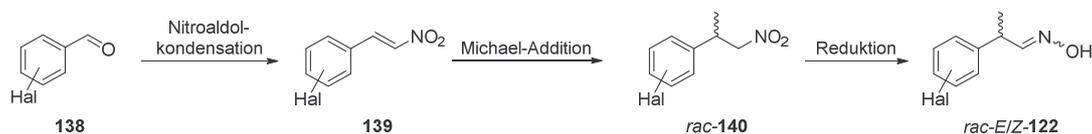


Abbildung 4.15: Mutmaßliche, privilegierte Oxim-Leitstruktur für die stereoselektive Nitrilsynthese mit Oxds.

Das Aldoxim *rac-E/Z-122b* zeichnet sich durch den starken Größenunterschied der Substituenten am chiralen C-Atom aus. In diesem Fall steht die Methylgruppe als sehr kleiner organischer Rest einem Phenylsubstituenten gegenüber, der deutlich größerer,

aber dennoch kompakter und starrer Natur ist. Als Folge davon könnte eines der Substratisomere aus sterischer Sicht leichter an das aktive Zentrum der Oxd binden und somit bevorzugt umgesetzt werden. Desweiteren hat sich gezeigt, dass Substrate mit einem Stereozentrum in  $\alpha$ -Position zur Oximeinheit in Hinblick auf die Stereoselektivität bessere Ergebnisse liefern als solche mit einem weiter entfernt gelegenen Chiralitätszentrum wie im Citronellalderivat (*R/S*)-*E/Z*-**122d**.

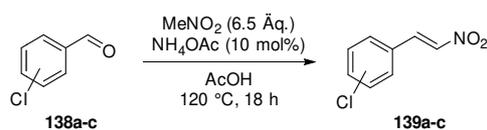
Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde die Idee entwickelt, den Phenylrest sowohl an der *ortho*-, als auch an der *meta*- und *para*-Position durch Halogensubstituenten zu erweitern, um mehrere Substrate mit gleicher Leitstruktur wie in Abbildung 4.15 zu generieren, in der enzymatischen Oximdehydratisierung einzusetzen und die Auswirkungen der Substituenten auf die Stereoselektivität der Reaktion zu erforschen. Die dafür notwendigen Aldoxime **122** waren über eine dreistufige Syntheseroute ausgehend von den Halogen-substituierten Benzaldehydderivaten **138** zugänglich (Schema 4.23).



Schema 4.23: Synthesekonzept für die Darstellung von Halogen-substituierten Aldoximen *rac-E/Z*-**122** aus Benzaldehydderivaten **138** über Nitroalkene **139** und Nitroalkane *rac*-**140**.

Die Syntheseroute führt über eine Nitroaldolkondensation von Nitromethan an das halogenierte Benzaldehyd **138** zum Nitroalken **139**.<sup>[281]</sup> Dieses wiederum lässt sich durch eine *Michael*-Addition von Methylgrignard in das entsprechende Nitroalkan *rac*-**140** überführen.<sup>[282]</sup> Über eine Reduktion unter Disproportionierung mit Benzylbromid kann das Halogen-substituierte 2-Phenylpropionaldoxim *rac-E/Z*-**122** gebildet werden.<sup>[283]</sup> Der Fokus dieser Arbeit lag auf den Chlor-substituierten Strukturen, während parallel dazu auch die Brom- und Fluor-substituierten Derivate von *Betkel*<sup>[267]</sup> und *Oikel*<sup>[268]</sup> untersucht wurden.

Die erste Stufe der Syntheseroute lieferte mit einer Nitroaldolkondensation der Chlorbenzaldehyde **138a-c** unter den von *Wong et al.* beschriebenen Reaktionsbedingungen<sup>[281]</sup> mit Nitromethan in Eisessig die entsprechenden 2-Nitrovinylaromaten **139a-c** mit moderaten Ausbeuten zwischen 40% und 54% (Schema 4.24). Eine Aufreinigung des Rohmaterials mittels Umkristallisation war lediglich mit dem *para*-substituierten Nitroalken **139c** möglich, da nur dieses als Feststoff aus der Reaktionsmischung ausfiel, während die anderen beiden Derivate **139a** und **139b** nicht als Feststoff vorlagen. Eine Säulenchromatographie lieferte schließlich die reinen Produkte, die nach dem Entfernen des Lösungsmittels von den Produktfraktionen ebenfalls als Feststoffe isoliert werden konnten.



	Substitution	Ausbeute
<b>a</b>	<i>ortho</i> -Cl	51%
<b>b</b>	<i>meta</i> -Cl	40%
<b>c</b>	<i>para</i> -Cl	54%

Schema 4.24: Synthese der 2-Nitrovinylaromaten **139a-c** aus den Chlorbenzaldehyden **138a-c** mit Nitromethan.

Die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Nitroalkene **139a-c** sind aufgrund der wenig komplexen Molekülstruktur sehr übersichtlich und beinhalten ausschließlich Signale im aromatischen Verschiebungsbereich zwischen 8.40 und 7.30 ppm. Dies wird am Beispiel des *para*-substituierten Nitrovinylaromaten **139c** besonders deutlich (Abbildung 4.16).

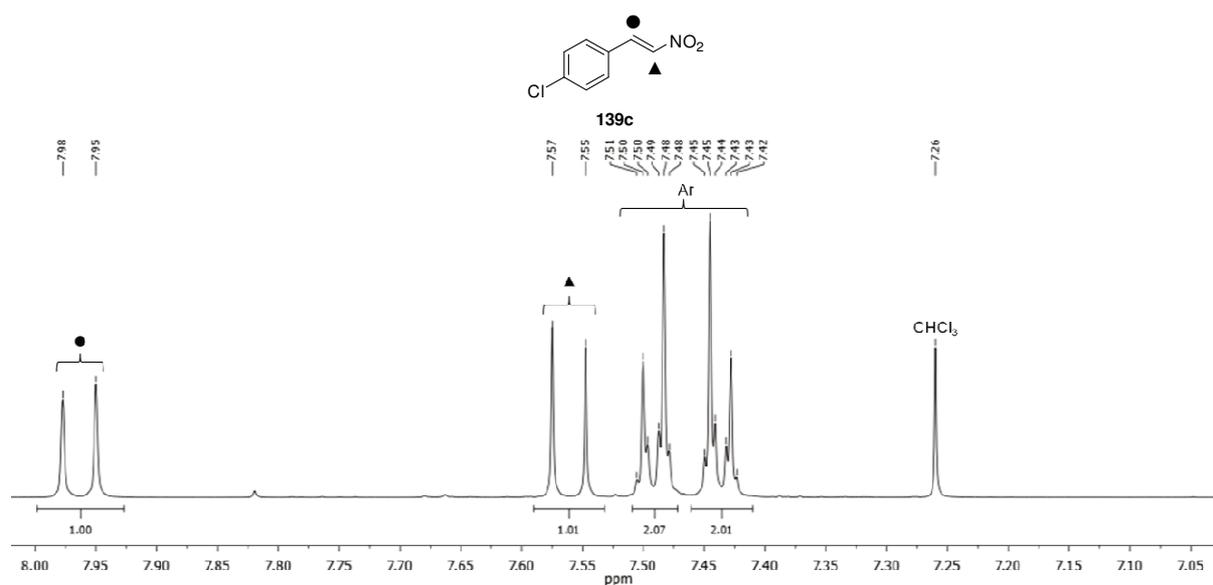
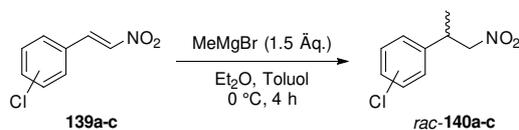


Abbildung 4.16: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol (**139c**) aus der Nitroaldolkondensation von 4-Chlorbenzaldehyd (**138c**) mit Nitromethan in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Neben dem  $\text{AA}'\text{BB}'$ -Spinsystem bei Verschiebungen von 7.50 bzw. 7.44 ppm, welches durch die aromatischen Protonen erzeugt wird, liegen zwei Dubletts bei 7.97 und 7.56 ppm im noch tieferen Feld. Bei diesen Verschiebungen resonieren die Vinylprotonen, die aufgrund ihrer elektronenziehenden Substituenten stark entschirmt werden. Am stärksten wirkt sich der Elektronenzug der Nitrogruppe auf das Aromaten-nahe Vinylproton aus, wodurch das hierdurch erzeugte Signal weiter im Tieffeld liegt als das des  $\text{NO}_2$ -nahen Protons. Abgesehen von den abweichenden Signalstrukturen der aromatischen Protonen von **139a** und **139b** sehen die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren dieser Nitroalkene nahezu identisch aus.

Aus den Nitroalkenen **139a-c** wurden im darauffolgenden Schritt nach einem Protokoll von Yao *et al.*<sup>[282]</sup> die Nitroalkane *rac*-**140a-c** mit einer *Michael*-Addition von Methylmagnesiumbromid synthetisiert (Schema 4.25).



	Substitution	Ausbeute
<b>a</b>	<i>ortho</i> -Cl	49%
<b>b</b>	<i>meta</i> -Cl	43%
<b>c</b>	<i>para</i> -Cl	52%

Schema 4.25: Synthese der 2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten *rac*-**140a-c** aus den 2-Nitrovinylaromaten **139a-c** mit Methylmagnesiumbromid.

Bei dieser Reaktion lagen die Ausbeuten der mittels Säulenchromatographie isolierten Produkte im Bereich zwischen 43% und 52%. Mit dem Hauptziel dieses Projekts im Blick, das Substratspektrum der Oxds zu untersuchen und zu erweitern, wurde auf eine Optimierung des Prozesses verzichtet und der Fokus auf eine möglichst zielgerichtete Synthese der aromatischen, Chlor-substituierten Aldoxime *rac-E/Z*-**122g-i** gerichtet.

Die NMR-spektroskopische Charakterisierung der isolierten Produkte bestätigt in allen drei Fällen die erfolgreiche Bildung der Nitroalkane *rac*-**140a-c**. Beispielhaft zeigt das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des *para*-substituierten Derivats *rac*-**140c** die charakteristischen Signalmuster und Verschiebungen der Protonen des 1-Nitroprop-2-yl-Substituenten (Abbildung 4.17).

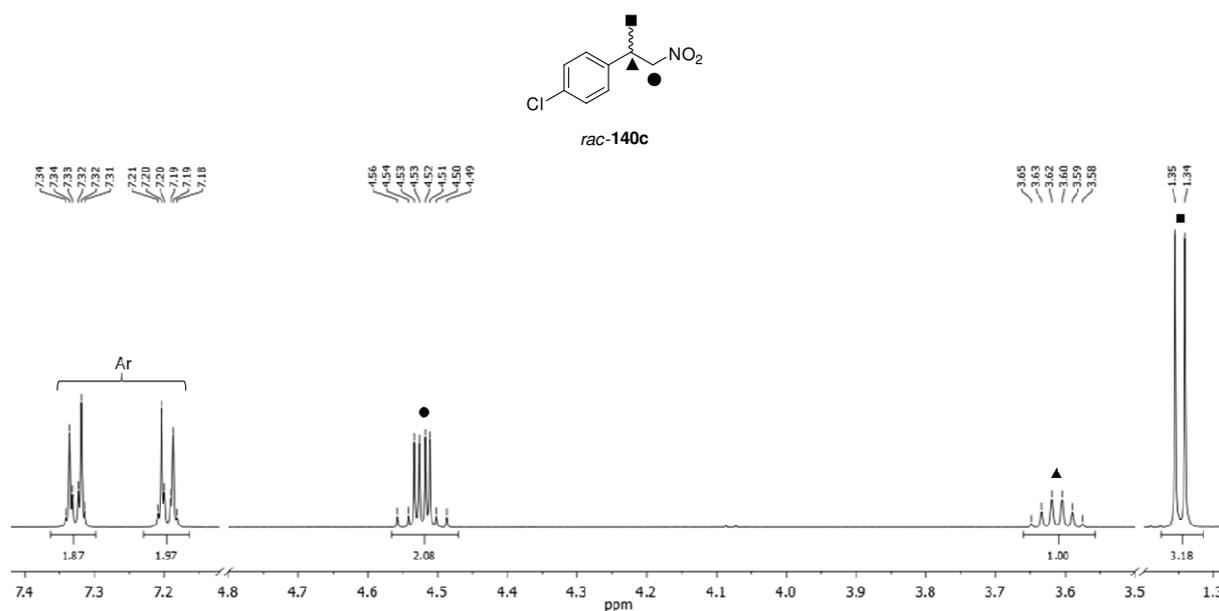
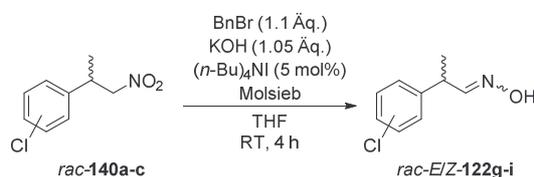


Abbildung 4.17: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von *rac*-1-Chlor-4-(1-nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140c**) aus der *Michael*-Addition von Methylmagnesiumbromid an 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol (**139c**) in CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale.

Die diastereotopen Protonen der Methyleninheit erzeugen aufgrund ihrer direkten Nachbarschaft zum chiralen Methinproton als racemische Mischung zwei ineinander verschobene Doppeldoublets bei einer Verschiebung von 4.54 bzw. 4.51 ppm. Etwas weiter im Hochfeld resoniert das Methinproton als Sextett bei 3.62 ppm. Das Dublett bei 1.35 ppm wird von den Protonen der Methylgruppe erzeugt. Das 1,4-Substitutionsmuster des Aromaten äußert sich in diesem Fall wie auch bei der Vorstufe in einem AA'BB'-Spinsystem der aromatischen Protonen, hier bei 7.33 bzw. bei 7.20 ppm.

Die Synthese der für die Biotransformation benötigten Aldoxime *rac-E/Z-122g-i* gelang unter den von *Czekelius et al.* beschriebenen Reaktionsbedingungen<sup>[283]</sup> über eine Reduktion der Nitroalkane *rac-140a-c*, die eine interessante Disproportionierung mit Benzylbromid einbezieht (Schema 4.26).



	Substitution	<i>E/Z</i>	Ausbeute
<b>g</b>	<i>ortho</i> -Cl	99:1	39%
		1:99	41%
<b>h</b>	<i>meta</i> -Cl	99:1	26%
		1:99	15%
<b>i</b>	<i>para</i> -Cl	99:1	36%
		1:99	18%

Schema 4.26: Synthese der 2-(Chlorphenyl)propanaloxime *rac-E/Z-122g-i* aus den 2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten *rac-140a-c* mit Benzylbromid.

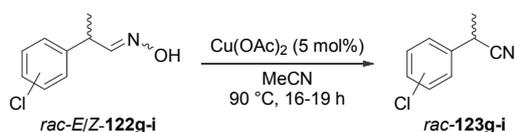
Unter den basischen Reaktionsbedingungen wird das Nitroalkan zunächst an der  $\alpha$ -Methylengruppe deprotoniert, wodurch über die Ausbildung einer C-N-Doppelbindung ein Nitronat entsteht. Das Benzylbromid wird durch katalytische Mengen des Ammoniumiodids über einen Br<sup>-</sup>/I<sup>-</sup>-Austausch aktiviert, sodass es im Anschluss daran mit dem Nitronat über eine Substitution ein *O*-Benzylnitronat bildet. Aus dieser Zwischenstufe wird schließlich das Aldoxim unter Abspaltung von Benzaldehyd freigesetzt.<sup>[284]</sup> Als Bruttoreaktion wird also die Nitrogruppe zur Oximgruppe reduziert, während das benzyliche Hilfsreagenz zu Benzaldehyd oxidiert wird.

Das Nebenprodukt Benzaldehyd wurde bei der NMR-spektroskopischen Analyse der Rohproduktmischungen aus der Reduktion der Nitroalkane *rac-140a-c* in stöchiometrischen Mengen detektiert. Teilweise waren zusätzlich dazu signifikante Mengen von Benzaldehyd in den Rohmaterialien enthalten. Dieses entstand möglicherweise durch Übertragung von Hydroxylamin von den neu gebildeten Arylpropionaldoximen *rac-E/Z-122g-i* auf das Nebenprodukt Benzaldehyd, vermittelt

durch nicht gebundenes Wasser in der Reaktionsmischung. Dies spiegelte sich auch in den unterschiedlich hohen Ausbeuten bei dieser Reaktion wider. Eine erhöhte Benzaldoximbildung ging mit einer verringerten Produktausbeute einher. So wurde das *ortho*-Cl-Derivat *rac-E/Z-122g* in einer guten Gesamtausbeute von 80% isoliert, während die isolierte Ausbeute der *meta*-Cl- und *para*-Cl-Derivate *rac-E/Z-122h+i* bei 41% bzw. 54% deutlich niedriger ausfiel. Mittels automatischer Säulenchromatographie war es möglich, die *E*- bzw. *Z*-Isomere aller drei Aldoxime *rac-122g-i* jeweils auf über 99% anzureichern. In Hinblick auf die Ergebnisse aus der Biotransformation des unsubstituierten 2-Phenylpropionaldoxims (*rac-E-122b*) könnte dies für die Stereoselektivität von großer Bedeutung sein.

Mittels NMR-spektroskopischer und massenspektrometrischer Analyse konnten die *E*- und *Z*-Isomere der Aldoxime *rac-122g-i* eindeutig zugeordnet werden. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren weisen mit Ausnahme der Signale der aromatischen Protonen in allen drei Fällen eine große Ähnlichkeit zu dem Spektrum des strukturverwandten, unsubstituierten 2-Phenylpropionaldoxims (*rac-E/Z-122b*) auf (vgl. Abbildung 4.6). Die Elementaranalysen bestätigten mit minimalen Abweichungen von <2% zudem eine hohe Reinheit der Verbindungen.

Die Synthese der Referenznitrile *rac-123g-i* erfolgte auf bereits etablierte Weise aus den Aldoximen *rac-E/Z-122g-i* mit katalytischen Mengen Kupfer<sup>II</sup>-Acetat in Acetonitril (Schema 4.27). Da die Metall-katalysierte Dehydratisierung in den ersten Umsetzungen im Vergleich zu den vorherigen Experimenten nur langsam verlief, wurde die Katalysatormenge von 1-2% auf 5% erhöht. So zeigten die DC-Reaktionskontrollen je nach Ansatz nach Reaktionszeiten von 16-19 h schließlich vollständige Umsätze an. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung des Rohmaterials wurden die entsprechenden Produkte mit moderaten bis guten Ausbeuten zwischen 42% und 75% isoliert. Die erfolgreiche Isolierung der Nitrile *rac-123g-i* konnte auch in diesem Fall mittels NMR-Spektroskopie und MS bestätigt werden. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren ähneln dem des strukturverwandten, unsubstituierten 2-Phenylpropionitrils (*rac-123b*) (vgl. Abbildung 4.7).



	Substitution	Ausbeute
<b>g</b>	<i>ortho</i> -Cl	68%
<b>h</b>	<i>meta</i> -Cl	42%
<b>i</b>	<i>para</i> -Cl	75%

Schema 4.27: Metall-katalysierte Dehydratisierung der chiralen Oxime *rac-E/Z-122g-i* zu den Nitrilen *rac-123g-i* mit Cu(OAc)<sub>2</sub> und MeCN.

Mit den Chlor-substituierten Aldoximen *rac-E/Z-122g-i* und dessen Nitrilen *rac-123g-i* wurden HPLC-Methoden für eine schnelle Analyse der Reaktionsmischungen aus den geplanten Biotransformationen entwickelt. Während mit achiraler *reversed phase* HPLC-Analytik über Kalibrierreihen eine Aussage über die Reaktionsumsätze getroffen werden konnte, ermöglichte die Analyse mittels chiraler *normal phase* HPLC die Bestimmung der *ee*-Werte. Die erfolgreiche Auftrennung der Isomere zeigt sich beispielhaft an den überlagerten HPLC-Chromatogrammen der *para*-Chlor-substituierten Derivate *rac-E-122i* bzw. *rac-Z-122i* und *rac-123i* (Abbildung 4.18).

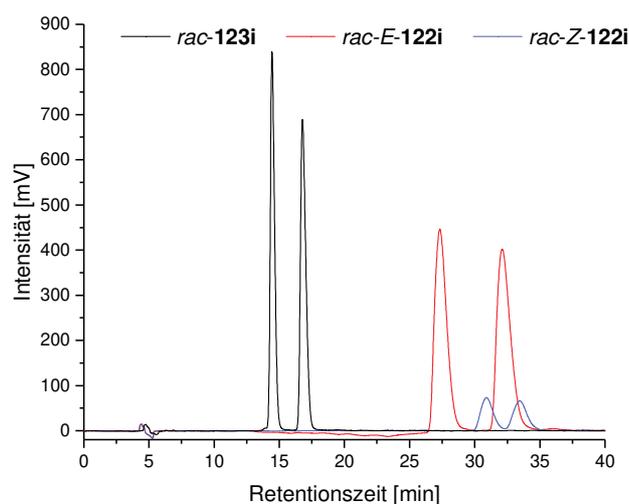


Abbildung 4.18: Überlagerte HPLC-Chromatogramme der isolierten, *para*-Chlor-substituierten Aldoxime *rac-E-122i* bzw. *rac-Z-122i* und des entsprechenden Nitrils *rac-123i*.

Die Nitrilenantiomere eluieren bei kürzerer Retentionszeit zwischen 14 und 18 min und sind gut trennbar. Dahingegen werden die *rac-E*- und *rac-Z*-Aldoximisomere bei längerer Retentionszeit zwischen 26 und 35 min mit einer teilweisen Überlagerung detektiert. Dies stellt jedoch kein Hindernis für die Berechnung der Selektivität der Biotransformation dar. Mit der gleichen HPLC-Methode können die Nitrilenantiomere der *ortho*- und *meta*-substituierten Derivate *rac-123g+h* ebenfalls getrennt werden, während auch hier die Aldoximisomere *rac-E/Z-122g+h* teilweise überlagert eluieren.

Nach der Substrat- und Produkt-Referenzsynthese sowie der Etablierung einer einfachen HPLC-Analytik war es nun möglich, die Chlor-substituierten Aldoxime *rac-E/Z-122g-i* in dem etablierten Prozess der enzymatischen Nitrilsynthese mit Oxds einzusetzen, um die Effekte der postulierten Leitstruktur (vgl. Abbildung 4.15) auf die Stereoselektivität der Biotransformation zu untersuchen. Dazu wurde zunächst unter bewährten Reaktionsbedingungen ein Aktivitätsassay mit den neu synthetisierten Substraten unter Verwendung der fünf Oxds durchgeführt (Abbildung 4.19).

Für einen besseren Vergleich wurden zusätzlich die Aktivitäten des Standardsubstrats *Z*-Phenylacetaldoxim (*Z-122a*) und des Leitstruktur-Grundkörpers 2-Phenylpropionaldoxim (*rac-E/Z-122b*) angegeben. Dadurch wird deutlich, dass sowohl die racemische *E*-, als auch die *Z*-Enantiomerenmischung des *ortho*-Chlorderivats

*rac-E-122g* bzw. *rac-Z-122g* mit ähnlicher Aktivität wie das unsubstituierte Pendant *rac-E/Z-122b* umgesetzt werden. Bis auf zwei leicht nach unten abweichende Ausnahmen liegen die Aktivitätswerte für die *ortho*-Chlorderivate *rac-E-* und *rac-Z-122g* zwischen 0.15 und 0.25 U/mg<sub>(BFM)</sub>. Dieses Ergebnis belegt, dass der *ortho*-Chlorsubstituent am aromatischen System zumindest auf die Aktivität der Oxds keinen Einfluss hat und eine enzymatische Dehydratisierung vergleichsweise gut funktionieren sollte. Ein anderes Bild ergibt sich scheinbar bei den *meta*- und *para*-Chlor-substituierten Aldoximen *rac-E-* und *rac-Z-122h+i*. Hier wurde nach einer Reaktionszeit von einer Minute kein Umsatz detektiert.

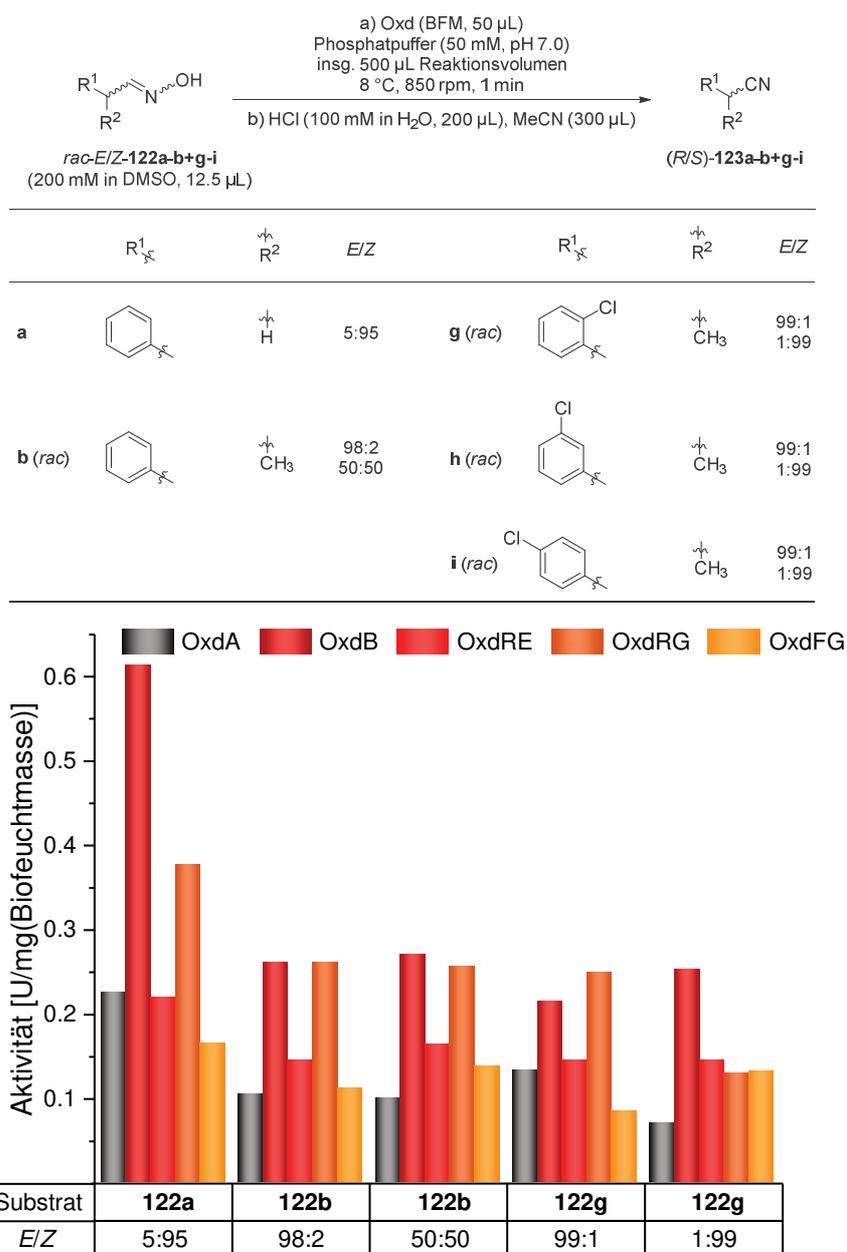


Abbildung 4.19: Aktivitätsassay der (chiralen) Aldoxime **122a**, *rac-122b* und *rac-122g* mit unterschiedlichen E/Z-Verhältnissen mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG und den aus den Umsätzen der Reaktionen ermittelten Substrat-spezifischen Aktivitäten mit der Einheit U/mg<sub>(BFM)</sub>.

Trotz der unterschiedlichen Ergebnisse aus den Aktivitätsassays wurden alle Chlor-substituierten Aldoxime *rac*-**122g-i** sowohl als isoliertes *E*-, als auch als *Z*-Isomer mit den fünf Oxds umgesetzt, um eine konkrete Aussage über die Stereoselektivität der einzelnen Reaktionen treffen zu können. Zunächst wurden die *ortho*-Chlorderivate *rac*-*E*- bzw. *rac*-*Z*-**122g**, welche schon im Assay vielversprechende Resultate zeigten, unter den etablierten Reaktionsbedingungen mit den Oxds umgesetzt (Abbildung 4.20).

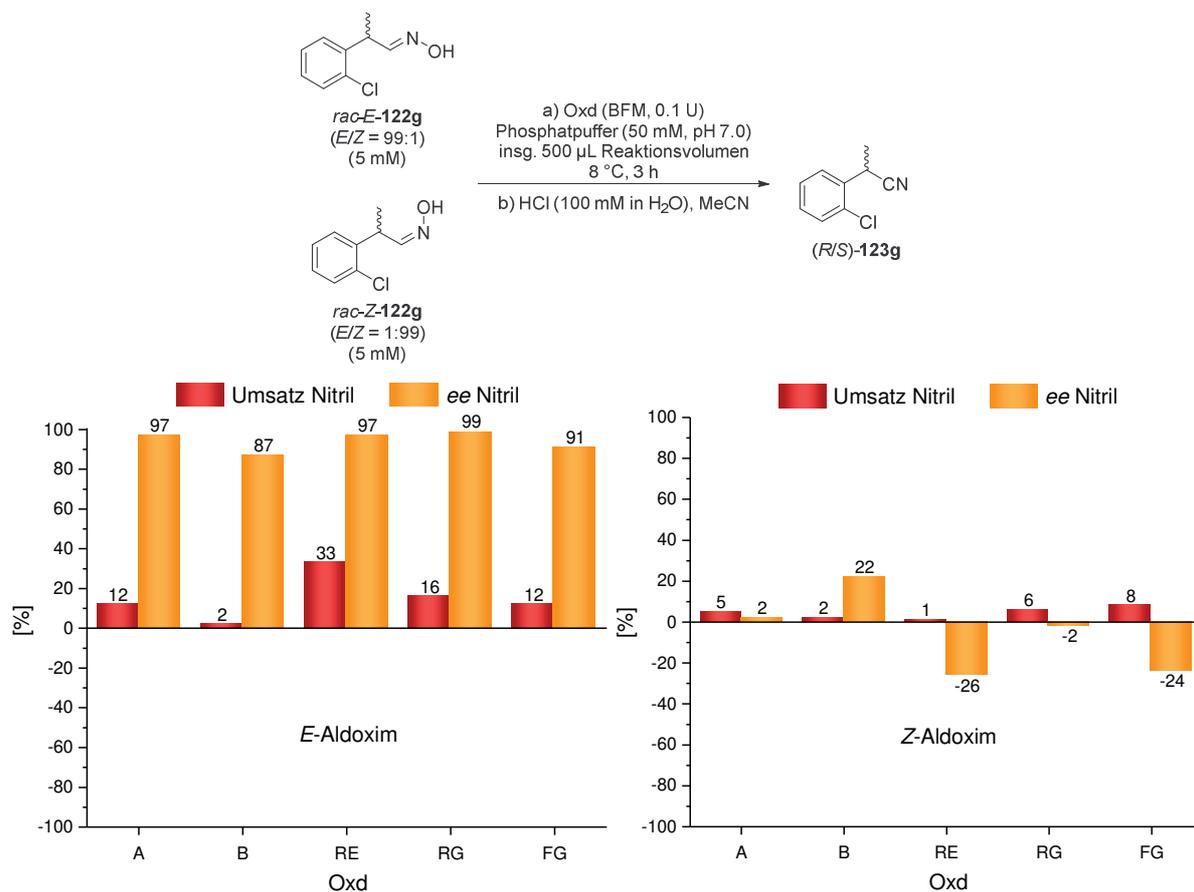


Abbildung 4.20: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime *rac*-*E*-**122g** (links) und *rac*-*Z*-**122g** (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an.

Die Analyse der nach dreistündiger Reaktionszeit gequenchten Ansätze zeigte vielversprechende Ergebnisse. Zwar blieben die Umsätze des *E*-Oxims *rac*-*E*-**122g** zum entsprechenden Nitril **123g** mit Werten zwischen 2% und 33% im niedrigen bis moderaten Bereich, aber die Reaktion verlief mit allen Oxds sehr selektiv. Aus den Reaktionen wurde jeweils das gleiche Enantiomer, dessen absolute Konfiguration noch unbekannt war, mit hohen bis hervorragenden *ee*-Werten zwischen 87% und 99% gebildet. Aus diesen Werten resultieren teils sehr hohe Selektivitäten mit *E*-Werten von 14 bis >200. Für das *Z*-Oxim *rac*-*Z*-**122g** ergab sich im Gegensatz dazu ein anderes Bild. Für alle Oxds fielen die Umsätze mit Werten von nur 1-8% vergleichsweise niedrig aus. Auch die *ee*-Werte waren für diese Ansätze lagen bei niedrigen 2-26%. Das Interessante bei dieser Reaktion war jedoch, dass für OxdRE und OxdFG im Vergleich zu den

Reaktionen mit dem *E*-Isomer *rac-E-122g* eine entgegengesetzte Stereoselektivität beobachtet wurde. In Abhängigkeit der *E*- bzw. *Z*-Konfiguration des *ortho*-Chlor-substituierten Aldoxims *rac-122g* wurde also für die Enzyme OxdRE und OxdFG ein Wechsel der Stereospezifität bei der Nitrilbildung festgestellt.

Auch bei den *meta*-Chlor-substituierten Aldoximen *rac-E*- bzw. *rac-Z-122h* wurde dieses Phänomen in ähnlicher Weise beobachtet (Abbildung 4.21).

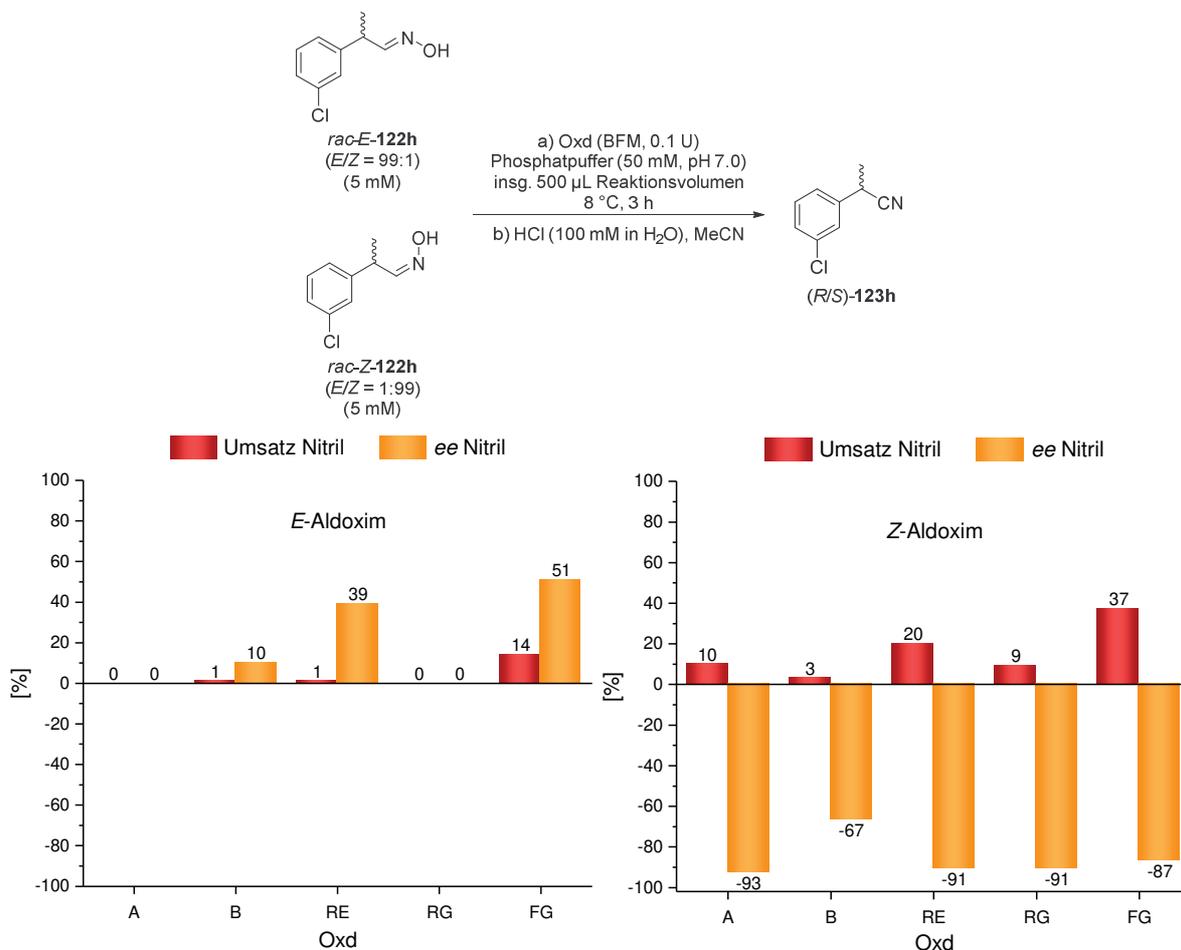


Abbildung 4.21: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime *rac-E-122h* (links) und *rac-Z-122h* (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an.

Entgegen den Ergebnissen aus dem Aktivitätsassay, bei dem mit diesen Substraten kein Umsatz beobachtet wurde, konnte in den Biotransformationen nach einer Reaktionszeit von 3 h sowohl bei Verwendung des *E*-, als auch des *Z*-Isomers mit fast allen Oxds eine Aktivität beobachtet werden. In diesem Fall war es allerdings das *Z*-Isomer, welches das Nitril **123h** mit deutlich höheren Umsätzen mit Werten zwischen 3% und 37% sowie mit hohen bis sehr hohen *ee*-Werten zwischen 67% und 93% lieferte. Hieraus wurden Selektivitäten mit guten *E*-Werten von 22-32 errechnet. Dahingegen wurden für das *E*-Isomer *rac-E-122h* nur mit dem Enzym OxdFG ein nennenswerter Umsatz von 14% und ein moderater *Ee*-Wert von 51% erzielt. Jedoch lag auch hier wieder eine

entgegengesetzte Enantiopräferenz vor, sodass mit demselben Enzym mit dem *E*-Isomer bevorzugt das andere Enantiomer als mit dem *Z*-Isomer gebildet wurde.

Die Ergebnisse aus den Biotransformationen mit dem *para*-Chlor-substituierten Aldoximen *rac-E*- bzw. *rac-Z*-**122i** unterstreichen ebenfalls die *E/Z*-Konfigurations-abhängige Stereoselektivität der biokatalytischen Oximdehydratisierung (Abbildung 4.22).

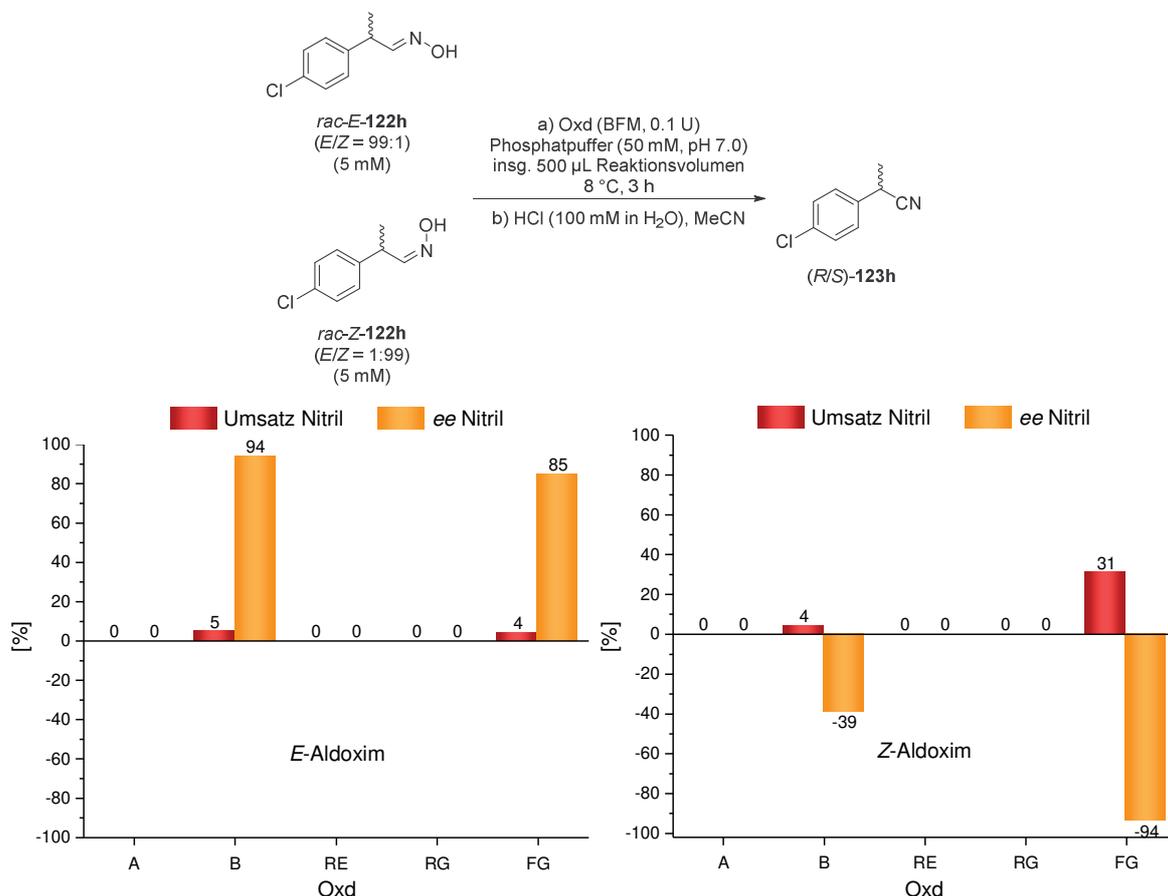


Abbildung 4.22: Umsätze und *ee*-Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime *rac-E*-**122i** (links) und *rac-Z*-**122i** (rechts) mit OxidA, OxidB, OxidRE, OxidRG und OxidFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an.

Entgegen der Befunde aus dem Aktivitätsassay wurden unter den Standardreaktionsbedingungen der Biotransformation mit OxidB und mit OxidFG Umsätze zum Nitril **123i** erzielt. Die Umsätze vom *E*-Aldoxim *rac-E*-**122i** fielen zwar in beiden Fällen mit 5% bzw. 4% nur sehr gering aus, jedoch ließ sich auch bei diesen niedrigen Werten eine eindeutige Stereoselektivität mit hohen Produkt-*ee*-Werten von 94% bzw. 85% erkennen. Mit dem *Z*-Aldoxim *rac-Z*-**122i** wurde wiederum selektiv das andere Enantiomer gebildet. Hierbei konnte mit OxidFG das beste Ergebnis mit einem Umsatz von 31% und einem *ee*-Wert von 94% erzielt werden.

Die drei Chlor-substituierten, aromatischen Aldoxime *rac*-**122g-i** lieferten als isolierte *E*- bzw. *Z*-Isomere bei ihrer Biotransformation zu den jeweiligen Nitrilen **123g-i** eine interessante Erkenntnis über die Selektivität von Oxids. Nicht jede der Oxids setzte alle sechs untersuchten Substrate um, aber sofern eine Aktivität gemessen werden konnte,

so erfolgte der Umsatz in den meisten Fällen stereoselektiv. Abhängig von der *E/Z*-Konfiguration wurden die Nitrile von den gleichen Enzymen mit entgegengesetzter Enantiopräferenz gebildet. Dabei reagierten die Substrate mit *E*-Konfiguration unabhängig von der Position des Chlorsubstituenten stets zu dem auf der chiralen HPLC-Säule früher eluierenden und die Substrate mit *Z*-Konfiguration entsprechend zu dem später eluierenden Nitrilenantiomer. Unter der Annahme, dass die Enantiomere aller Chlor-substituierten Nitrile **123g-i** auf der chiralen Säule in gleicher Reihenfolge eluieren, lassen sich die Ergebnisse folgendermaßen zusammenfassen: Die *E*-Aldoxime *rac-E-122g-i* werden von den für dieses Substrat aktiven Oxds selektiv umgesetzt und bilden bevorzugt das Enantiomer mit jeweils gleicher absoluter Konfiguration. Die *Z*-Aldoxime *rac-Z-122g-i* zeigen das gleiche Verhalten, sie bilden allerdings mit einer einzigen Ausnahme bevorzugt das andere Enantiomer. Die Ausnahme stellt das *ortho*-Chlor-substituierte Substrat *rac-122g* dar, welches mit OxdB unabhängig von der *E/Z*-Konfiguration das gleiche Enantiomer bevorzugt bildet.

Da die Biotransformationen mit den Chlor-substituierten Aldoximen *rac-E/Z-122g-i* teils sehr vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich Umsatz und Selektivität lieferten, lag es nahe, die enzymkatalysierte Dehydratisierung auf einen präparativen Maßstab zu vergrößern, um möglichst enantiomerenreines Produkt isolieren zu können. Dazu wurden beispielhaft zwei Substrate ausgewählt, die bei der Biotransformation mit guten Umsätzen in die entsprechenden Produkte mit vermeintlich unterschiedlicher absoluter Konfiguration überführt wurden. Zum einen kam daher das *ortho*-Chlor-substituierte Aldoxim *rac-E-122g* zum Einsatz, welches mit OxdRE hinsichtlich Umsatz und *ee*-Wert die besten Ergebnisse lieferte. Zum anderen wurde das *meta*-Chlor-substituierte Aldoxim *rac-Z-122h* verwendet, das wiederum mit OxDFG vielversprechende Resultate zeigte. Für die Anpassung der Reaktionsbedingungen an einen präparativen Maßstab wurde einerseits die Substratkonzentration von 5 mM um das Fünffache auf 25 mM erhöht. Für eine bessere Substratlöslichkeit wurde andererseits der DMSO-Gehalt von 2.5 Vol.% um das Achtfache auf 20 Vol.% angehoben. Vorangegangene Studien zeigten, dass die Oxds auch bei dieser erhöhten Lösungsmittelkonzentration ohne signifikanten Aktivitätsverlust arbeiten.<sup>[267]</sup> Unter diesen Reaktionsbedingungen wurde zunächst für beide Substrate eine Testreaktion durchgeführt, aus der nach 0.5 h, 2.5 h und 5 h jeweils eine Probe entnommen, aufgearbeitet und analysiert wurde, um den Zeitverlauf der Reaktion zu untersuchen (Abbildung 4.23).

Für beide Substrate stieg der Umsatz im Verlauf der Reaktion weiter an, wobei in dem Ansatz mit dem *ortho*-Chlor-substituierten Oxim *rac-E-122g* ein höherer Umsatz von 24% verglichen mit dem Umsatz des *meta*-Chlor-substituierten Oxims *rac-Z-122h* von 16% erzielt wurde. Dies lässt sich durch die im Allgemeinen geringere Aktivität der Oxds gegenüber dem Oxim *rac-Z-122h* erklären, wie auch der Aktivitätsassay gezeigt hat (vgl. Abbildung 4.19). Umso erfreulicher war es, dass auch unter den veränderten

Reaktionsbedingungen mit höherer Substratkonzentration und höherem DMSO-Anteil generell ein Umsatz zu den entsprechenden Nitrilen **123g** bzw. **123h** festgestellt werden konnte.

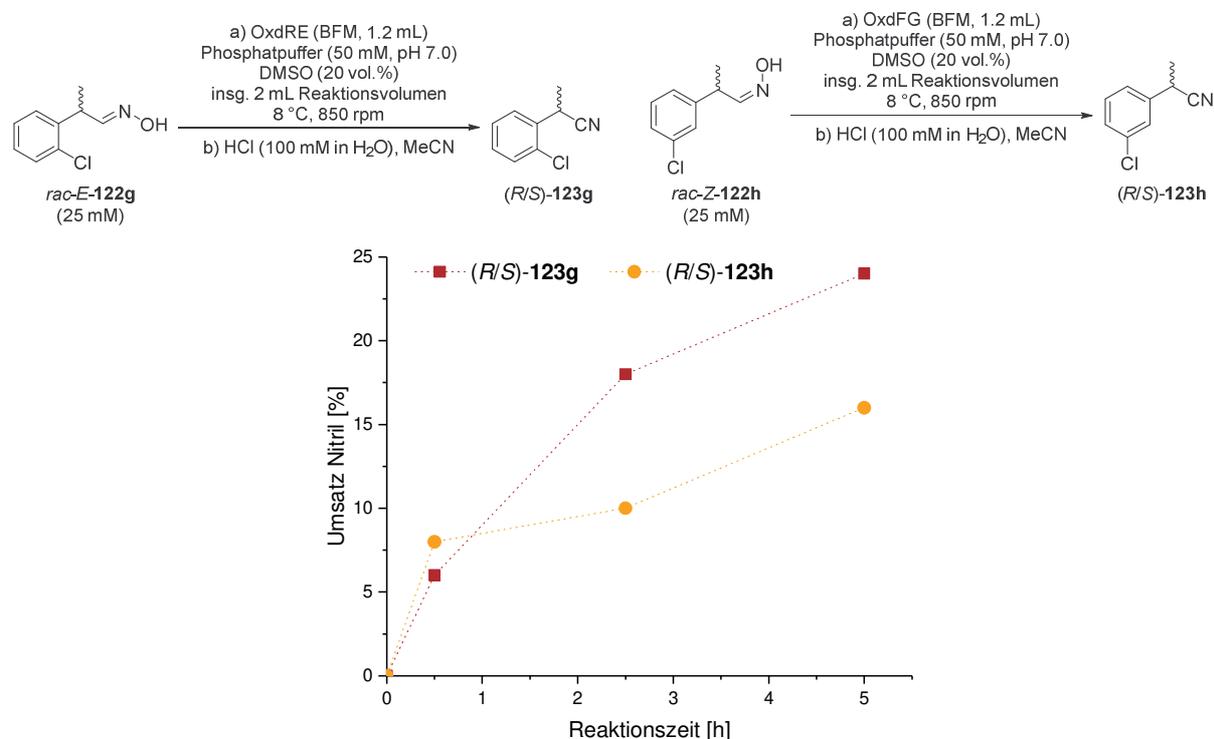
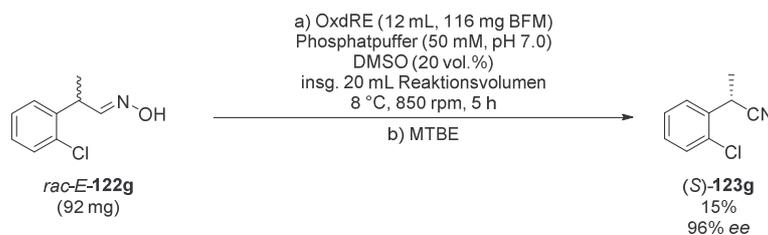


Abbildung 4.23: Reaktionsverlauf der Biotransformationen der Aldoxime **rac-E-122g** und **rac-Z-122h** mit OxidRE bzw. OxidFG und erhöhter Substrat- und DMSO-Konzentration.

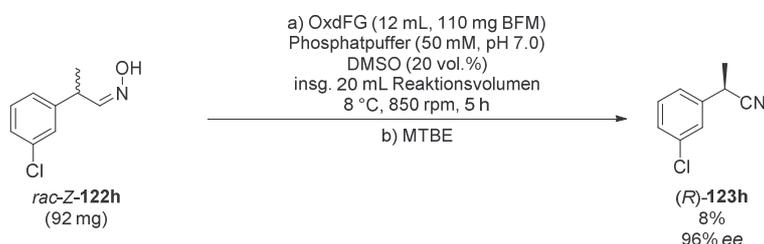
Anschließend wurde für die Aldoxime **rac-E-122g** und **rac-Z-122h** jeweils ein größerer Reaktionsansatz unter den zuvor etablierten Reaktionsbedingungen, jedoch mit 92 mg Substrat und insgesamt 20 mL Reaktionsvolumen, durchgeführt. Auch wenn der Umsatz nach 5 h Reaktionszeit in den vorherigen Ansätzen nur mäßig war, wurden diese präparativen Ansätze ebenfalls nach 5 h aufgearbeitet. So konnte sichergestellt werden, dass das bevorzugte Stereoisomer noch nicht komplett umgesetzt war, um einen möglichst hohen *ee*-Wert für das Produkt zu erhalten. Zur Aufarbeitung der Ansätze wurde die Reaktionsmischung extrahiert. Der Rückstand wurde mit einer automatischen Säulenchromatographie aufgereinigt. So wurde aus der Biotransformation des *ortho*-Chlor-Aldoxims **rac-E-122g** selektiv das (*S*)-Enantiomer des korrespondierenden Nitrils **123g** in einer Ausbeute von 15% und mit einem sehr hohen *ee*-Wert von 96% isoliert (Schema 4.28).

Die absolute Konfiguration des Produkts wurde über seinen Drehwert von  $\alpha_D^{20} = -40^\circ$  ( $c = 0.92$ , CHCl<sub>3</sub>) im Abgleich mit den Literaturdaten bestimmt.<sup>[285]</sup>



Schema 4.28: Biotransformation des Aldoxims *rac-E-122g* mit OxdRE zu Nitril (*S*)-**123g** im präparativen Maßstab.

Die Biotransformation des *meta*-Chlor-Aldoxims *rac-Z-122h* lieferte im Gegensatz dazu erwartungsgemäß selektiv das (*R*)-Enantiomer des Nitrils **123h**, zwar mit einer etwas geringeren Ausbeute von 8%, aber mit sehr hohem *ee*-Wert von ebenfalls 96% (Schema 4.29).



Schema 4.29: Biotransformation des Aldoxims *rac-Z-122h* mit OxdFG zu Nitril (*R*)-**123h** im präparativen Maßstab.

Auch in diesem Fall konnte die absolute Konfiguration mit Hilfe des Drehwertes von  $\alpha_D^{20} = +20^\circ$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) im Abgleich zu den Literaturdaten verifiziert werden.<sup>[285]</sup>

Zusammen mit den Ergebnissen aus den analytischen Biotransformationen der restlichen Chlor-substituierten Derivate bestätigen diese Befunde die zuvor postulierte These, dass aus den *E*-Aldoximen bevorzugt die (*S*)-Nitrile und aus den *Z*-Aldoximen die (*R*)-Nitrile gebildet werden. Die von *Betke*<sup>[267]</sup> und *Oikel*<sup>[268]</sup> durchgeführten Untersuchungen zu den Brom- und Fluor-substituierten Analoga der Leitstruktur *rac-E/Z-122b* (vgl. Abbildung 4.15) zeigten den gleichen Trend und wurden zusammen mit den oben beschriebenen und weiteren Ergebnissen zur Erweiterung des Oxd-Substratspektrums mit chiralen Substraten veröffentlicht.<sup>[278]</sup>

Die interessante Erkenntnis über die *E*- bzw. *Z*-Konfigurations-abhängige Enantiopräferenz bei den Biotransformationen der Oxime mit dem Grundgerüst von 2-Phenylpropionaldoxim (*rac-E/Z-122b*) deutet auf einen deutlich unterschiedlichen sterischen bzw. energetischen Einfluss der Oximstruktur auf die Enzym-Substrat-Interaktion während des Katalyseprozesses hin. In Rahmen seiner Masterarbeit hat *Yavuzer* die unterschiedliche Präferenz bei der Bildung von (*R*)- oder (*S*)-Nitrilen in Abhängigkeit der *E/Z*-Konfiguration der Substrate über Docking-Experimente rational modelliert.<sup>[286]</sup> Nach seinen Berechnungen am Beispiel von OxdRE ist die Bindungsaffinität der (*S*)-*E*-Aldoxime mit 2-Phenylpropionaldoxim-Leitstruktur an das Enzym größer als die der (*R*)-*E*-Aldoxime. Umgekehrt zeigte sich bei den (*R*)-*Z*-Aldoximen gegenüber dem Enzym eine größere Bindungsaffinität als bei den

(*S*)-*Z*-Aldoximen.<sup>[286]</sup> Diese Berechnungen stehen somit im Einklang mit den experimentellen Ergebnissen.

#### 4.3.2 Vildagliptin - eine alternative Syntheseroute

Nach der erfolgreichen Erweiterung des Oxd-Substratspektrums auf chirale Substrate mit teils stereoselektivem Reaktionsverlauf wurde der Fokus auf ein weiteres mögliches Produkt einer solchen biokatalytischen Oximdehydratisierung zur Cyanid-freien Nitrilsynthese gerichtet: (*S*)-*N*-Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**141**) (Abbildung 4.24).

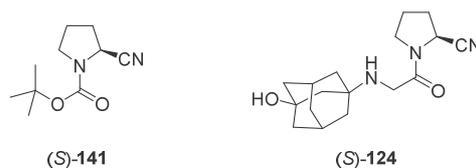


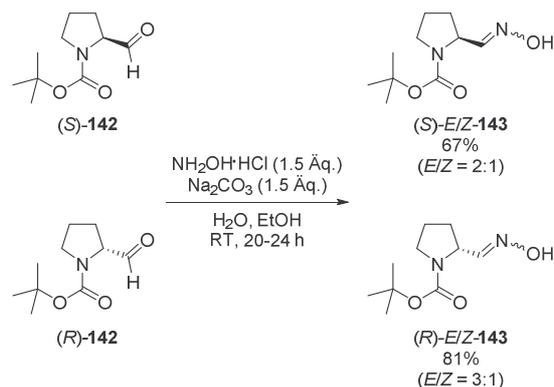
Abbildung 4.24: Strukturformeln von (*S*)-*N*-Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**141**) und Vildagliptin ((*S*)-**124**).

Das enantiomerenreine *N*-Acyl- $\alpha$ -aminonitril (*S*)-**141** ist insofern eine interessante Verbindung, als dass es dem Wirkstoff Vildagliptin ((*S*)-**124**) bis auf den unterschiedlichen *N*-Acylsubstituenten strukturell sehr ähnelt und zugleich auch eine potenzielle Vorstufe des Wirkstoffs (*S*)-**124** darstellt.

Da die aktuelle Syntheseroute von *Novartis Pharma* für die Darstellung von Vildagliptin ((*S*)-**124**) aus toxikologischer Sicht problematisch ist (vgl. Schema 4.18), bietet die Darstellung solcher *N*-Acyl- $\alpha$ -aminonitrile unter Einbeziehung einer biokatalytischen Oximdehydratisierung eine ökonomischere Variante zur Nitrilherstellung und somit ein hohes Potential für einen alternativen Syntheseweg. Andererseits ist durch die Verwendung eines *chiral pool*-Substrats auch die nicht stereoselektive, Kupfer-katalysierte Methode zur Cyanid-freien Nitrilsynthese aus Aldoximen als potenzielle Möglichkeit für eine alternative Vildagliptinsynthese in Betracht zu ziehen (vgl. Schema 4.20).

Zur Evaluierung des enzymatischen Schlüsselschritts wurde aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zum Wirkstoff (*S*)-**124** zunächst *N*-Boc-L-Prolinaloxim ((*S*)-**143**) als Modellsubstrat für die biokatalytische Dehydratisierung von *N*-Acyl- $\alpha$ -aminoaldoximen ins Auge gefasst, welches über simple Kondensation mit Hydroxylamin aus kommerziell erhältlichem *N*-Boc-L-Prolinal ((*S*)-**142**) gut zugänglich sein sollte. Auch das andere Enantiomer (*R*)-**142** des Prolin-basierten Aldehyds (*S*)-**142** ist kommerziell verfügbar und kann somit in vergleichender Weise für die Etablierung der enzymatischen Modellreaktion verwendet werden, um eventuelle stereoselektive Effekte bei der Biotransformation mit Oxds beachten zu können.

So wurden zunächst die Aldoxime (*S*)- bzw. (*R*)-**143** durch Umsetzung der enantiomerenreinen Aldehyde (*S*)- bzw. (*R*)-**142** mit Hydroxylamin auf bewährte Weise synthetisiert (Schema 4.30).



Schema 4.30: Synthese der Prolinaloxime (*S*)- bzw. (*R*)-*E/Z*-**143** aus den enantiomerenreinen Aldehyden (*S*)- bzw. (*R*)-**142** mit  $\text{NH}_2\text{OH}$ .

Bis auf die Herstellerangaben zur Reinheit der kommerziell erworbenen Prolinale (*S*)- bzw. (*R*)-**142** von jeweils 97% lagen über die Enantiomerenreinheit der Ausgangsverbindungen keine Informationen vor.<sup>[287]</sup>

Da sich in der wässrigen Reaktionsmischung nach Zugabe der Aldehyde (*S*)- bzw. (*R*)-**142** und der Salze am Boden des Gefäßes ein Agglomerat bildete und dieses den Rührkern verklebte, wurde Ethanol zu der Mischung hinzugefügt, woraufhin sich das Agglomerat auflöste und die Mischung gleichmäßig gerührt werden konnte. Durch Zugabe von Wasser nach Beendigung der Reaktionszeit konnte die Reaktionsmischung wie üblich extraktiv aufgearbeitet und das Rohmaterial per Säulenchromatographie aufgereinigt werden. Dabei war es nicht möglich, die *E*- und *Z*-Isomere voneinander zu trennen, sodass *E/Z*-*N*-Boc-*L*-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**143**) mit einem *E/Z*-Verhältnis von 2:1 in einer Ausbeute von 67% und *E/Z*-*N*-Boc-*D*-Prolinaloxim ((*R*)-*E/Z*-**143**) mit einem *E/Z*-Verhältnis von 3:1 in einer Ausbeute von 81% isoliert wurden. Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von ersterem Aldoxim (*S*)-*E/Z*-**143** veranschaulicht beispielhaft die deutlich unterscheidbaren Resonanzen der Protonen der *E*- und *Z*-Isomere (Abbildung 4.25).

Interessanterweise resonieren die einzelnen Protonen beider Isomere jeweils als Signalsatz von zwei verschieden großen, verbreiterten Signalen mit unterschiedlicher Verschiebung. Die Aufspaltung in zwei Signale könnte durch die Fixierung der *N*-*C*<sup>Boc</sup>-Bindung in zwei möglichen Konfigurationen als Folge einer Mesomeriestabilisierung zwischen dem freien Elektronenpaar am Stickstoff und der *C*-*O*-Doppelbindung, wie sie auch bei Peptidbindungen als *cis/trans*-Isomerie anzutreffen ist, hervorgerufen werden.<sup>[288]</sup> Die dadurch entstehende unterschiedliche chemische und elektronische Umgebung der Nachbarprotonen wirkt sich auf deren Verschiebung aus, wodurch die Protonen dieser Isomere nicht mehr isochron resonieren. Da die zu einem Proton zugehörigen Teilsignale unterschiedlich groß sind, ist davon auszugehen, dass eine der beiden Konfigurationen gegenüber der anderen energetisch bevorzugt ist. Für das *E*-Isomer liegt das Verhältnis dieser beiden Konfigurationsisomere bei etwa 2:3, für das *Z*-Isomer bei etwa 1:2. Derartige Effekte und deren Auswirkungen auf die  $\text{NMR}$ -Signalmuster sind für acylierte Prolinderivate eingehend studiert worden.<sup>[289]</sup> Die

Verbreiterung der einzelnen Peaks wiederum ist eine mögliche Folge der konformativen Flexibilität des Pyrrolidinrings. Aufgrund seiner Ringspannung ist der Fünfring nicht planar, vielmehr liegen je nach Konformation ein oder zwei Atom(e) außerhalb der Ringebene. So kann der Fünfring verschiedene energetisch günstige Anordnungen in sogenannten Briefumschlag- oder Halbsesselkonformationen annehmen.<sup>[290]</sup> In Abhängigkeit von diesen unterschiedlichen Konformationen ist die Spin-Spin-Kopplung zwischen den benachbarten Protonen unterschiedlich, sodass sich komplexe Aufspaltungsmuster der einzelnen Signale ergeben.<sup>[291]</sup> Die Umwandlung der unterschiedlichen Konformationen scheint in diesem Fall jedoch so schnell zu sein, dass sie nicht mehr von dem Spektrometer aufgelöst werden kann. Als Folge davon liegen die Signale verbreitert vor und die Aufspaltungsmuster sind nicht mehr erkennbar.<sup>[292]</sup> Die Bestimmung etwaiger Kopplungskonstanten zwischen den benachbarten Protonen ist daher im vorliegenden Fall nicht möglich.

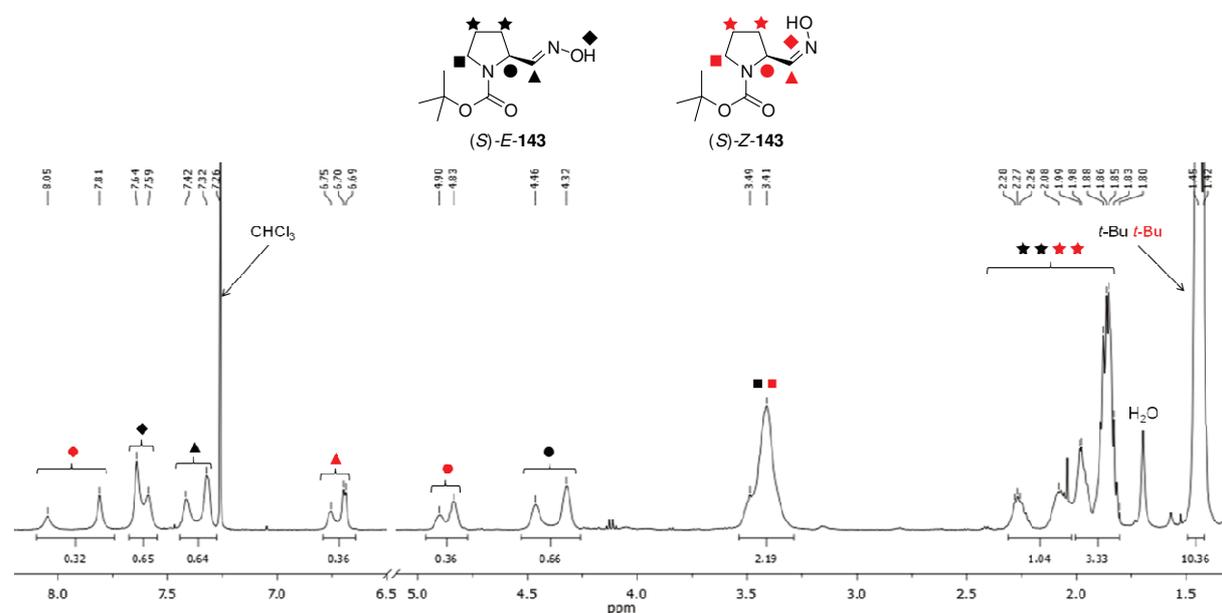
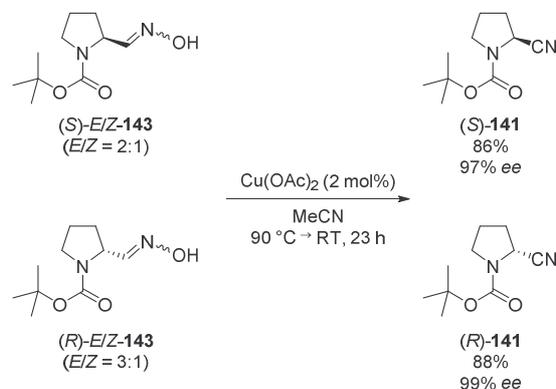


Abbildung 4.25: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von *E/Z*-*N*-Boc-*L*-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-143) aus der Kondensation des Aldehyds (*S*)-142 mit NH<sub>2</sub>OH in CDCl<sub>3</sub> mit Zuordnung der Signale.

Analog zu den Verschiebungen der Aldoxim-Protonen und des chiralen Protons von 2-Phenylpropionaldoxim (*rac*-*E/Z*-122b) zeigen auch die entsprechenden Signale der Protonen von Aldoxim (*S*)-*E/Z*-143 einen durch die *E/Z*-Konfiguration beeinflussten, charakteristischen Hochfeld- bzw. Tieffeld-Shift (vgl. Abbildung 4.6). Die Hydroxyprotonen resonieren am weitesten im Tieffeld bei 8.05 bzw. 7.81 ppm (für das *Z*-Isomer) und bei 7.64 bzw. 7.59 ppm (für das *E*-Isomer). Die Protonen an der C-N-Doppelbindung erzeugen Signalsätze bei 7.42 bzw. 7.32 ppm (für das *E*-Isomer) und bei 6.75 bzw. 6.70 ppm (für das *Z*-Isomer). Auch der Signalsatz des chiralen Methinprotons liegt für das *E*-Isomer bei einer anderen Verschiebung (4.46 bzw. 4.32 ppm) und damit weiter im Hochfeld als für das *Z*-Isomer (4.90 bzw. 4.83 ppm). Die Signale der Methylene- und *t*-Butylprotonen sind für das *E*- bzw. *Z*-Isomer nicht eindeutig

zuzuweisen und resonieren als überlagerte Signalsätze bei 3.40 ppm bzw. von 2.28 bis 1.80 ppm und bei 1.44 ppm.

Anschließend wurden über die bewährte Methodik mit Kupfer<sup>II</sup>-Acetat und Acetonitril aus den Oximen (*S*)- bzw. (*R*)-*E/Z*-**143** die jeweiligen Nitrile (*S*)-**141** und (*R*)-**141** als Referenzverbindungen synthetisiert (Schema 4.31).



Schema 4.31: Metall-katalysierte Dehydratisierung der Prolinaloxime (*S*)- bzw. (*R*)-*E/Z*-**143** zu den Prolin-basierten Nitrilen (*S*)- bzw. (*R*)-**141** mit  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  und MeCN.

Die Oximdehydratisierung erfolgte quantitativ, wie die <sup>1</sup>H-NMR-Analytik des Rohprodukts nach Entfernen des Lösungsmittels von der Reaktionsmischung bestätigte. Abweichend von den oben beschriebenen Reaktionsansätzen wurde die Aufreinigung des Rohprodukts mittels Säulenchromatographie direkt im Anschluss ohne vorherige, extraktive Aufarbeitung durchgeführt. Möglicherweise trug dies zu einem im Vergleich zu früheren Durchführungen geringeren Produktverlust und damit zu einer erhöhten Produktausbeute von 86% bzw. 88% bei. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Produkte (*S*)- und (*R*)-**141** sind im Vergleich zu denen der Vorstufen (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** deutlich übersichtlicher, wie am Beispiel des Spektrums vom (*S*)-Enantiomer zu erkennen ist (Abbildung 4.26).

Auch in diesem Fall liegen bedingt durch die mögliche Ausrichtung der Boc-Gruppe in zwei unterschiedliche Richtungen zwei Rotationsisomere des Nitrils (*S*)-**141** vor, was sich in doppelten Signalsätzen für die einzelnen Protonen mit einem Verhältnis von etwa 2:3 äußert. Die Signale sind wie im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Vorstufe ebenfalls aufgrund der konformativen Flexibilität des Pyrrolidinrings verbreitert. Dementsprechend erzeugt das chirale Methinproton zwei verbreiterte Signale bei 4.57 bzw. bei 4.45 ppm. Die Methylenprotonen in direkter Nachbarschaft zum Ringstickstoff resonieren als Signalsatz aus zwei Multipletts zwischen 3.56 und 3.29 ppm. Weiter im Hochfeld liegt zwischen 2.29 und 1.98 ppm ein Signalsatz mit mehreren Multipletts, der von den restlichen vier Methylenprotonen erzeugt wird. Die Protonen der *t*-Butylgruppe resonieren im typischen Verschiebungsbereich bei 1.51 und 1.48 ppm.

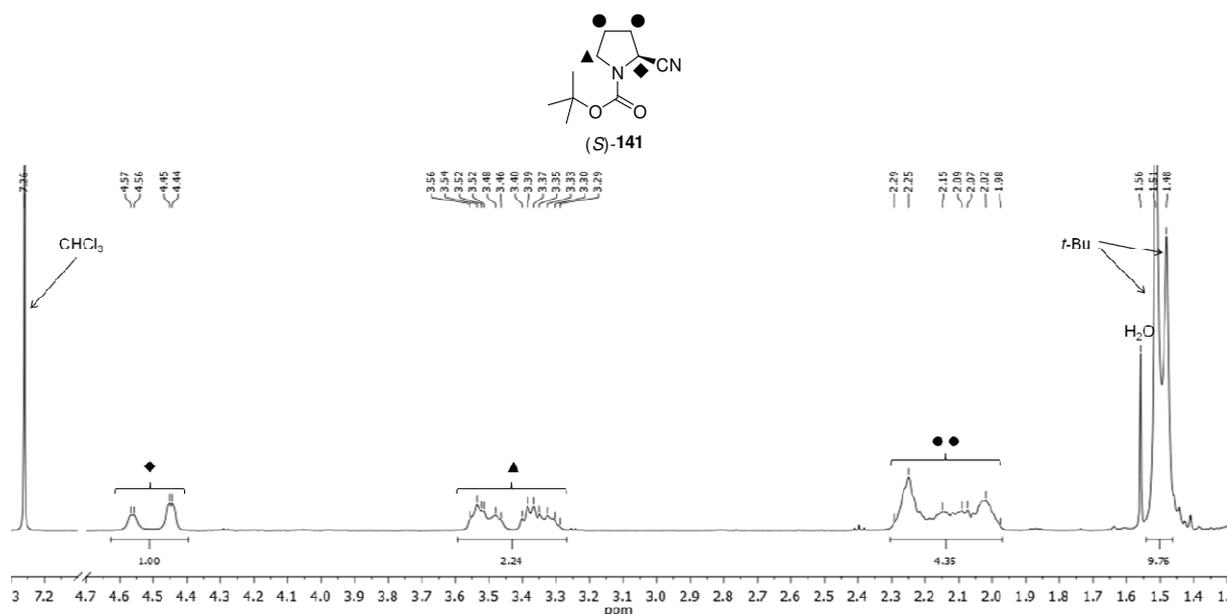


Abbildung 4.26: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (*S*)-*N*-Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**141**) aus der Metall-katalysierten Dehydratisierung des Oxims (*S*)-*E/Z*-**143** in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung der Signale.

Die Enantiomerenreinheit der auf dem oben beschriebenen Synthesepfad erhaltenen Nitrile (*S*)-**141** und (*R*)-**141** konnte mittels GC überprüft werden. Zusammen mit den Vorstufen (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** wurde eine Methode entwickelt, die mit einer chiralen Säule erfolgreich die Produktenantimere trennen konnte (Abbildung 4.27).

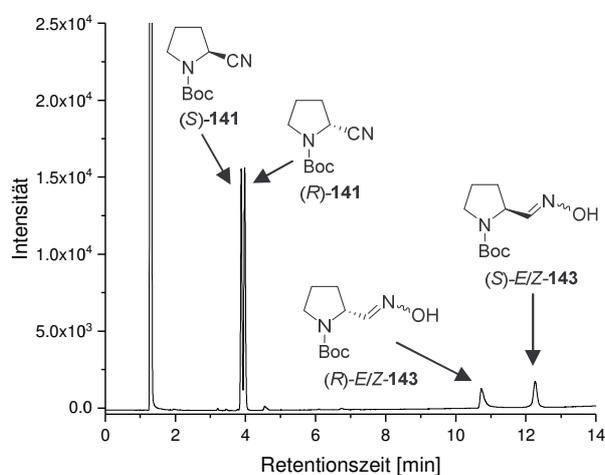


Abbildung 4.27: Gaschromatogramm der *N*-Acylaminoxime (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** und deren Nitrile (*S*)- und (*R*)-**141**.

Die Nitrile (*S*)-**141** und (*R*)-**141** werden bei kurzen Retentionszeiten von 3.9 und 4.0 min detektiert. Die *E*- und *Z*-Isomere der jeweiligen Vorstufen (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** können dahingegen nicht getrennt werden und eluieren bei längeren Retentionszeiten von 10.7 und 12.3 min. Die GC-Analytik ergab für die Referenznitrile (*S*)-**141** und (*R*)-**141** exzellente *ee*-Werte von 97% und 99%. Dies bestätigt die ebenso hohe Enantiomerenreinheit der kommerziell erworbenen Aldehyd-Ausgangsverbindungen (*S*)- und (*R*)-**142**, die mangels geeigneter GC-Säule zuvor nicht aufgeklärt werden konnte.

Diese Beobachtung führte zu der erfreulichen Erkenntnis, dass die hier angewendete chemische Syntheseroute Aldehyd  $\rightarrow$  Oxim  $\rightarrow$  Nitril trotz Verwendung von Startmaterialien aus enolisierbaren Aldehyden mit prinzipieller Anfälligkeit zur Racemisierung unter Retention der Stereoinformation abläuft.

Nach der Etablierung der Analytik war es nun möglich, Versuche zur biokatalytischen Nitrilsynthese mit den Prolinaloximen (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** durchzuführen. Dazu wurden beide Substratisomere mit OxdA, OxdB und OxdRE versetzt und die Umsätze nach Reaktionszeiten von 1 h, 2 h und 24 h untersucht (Abbildung 4.28).

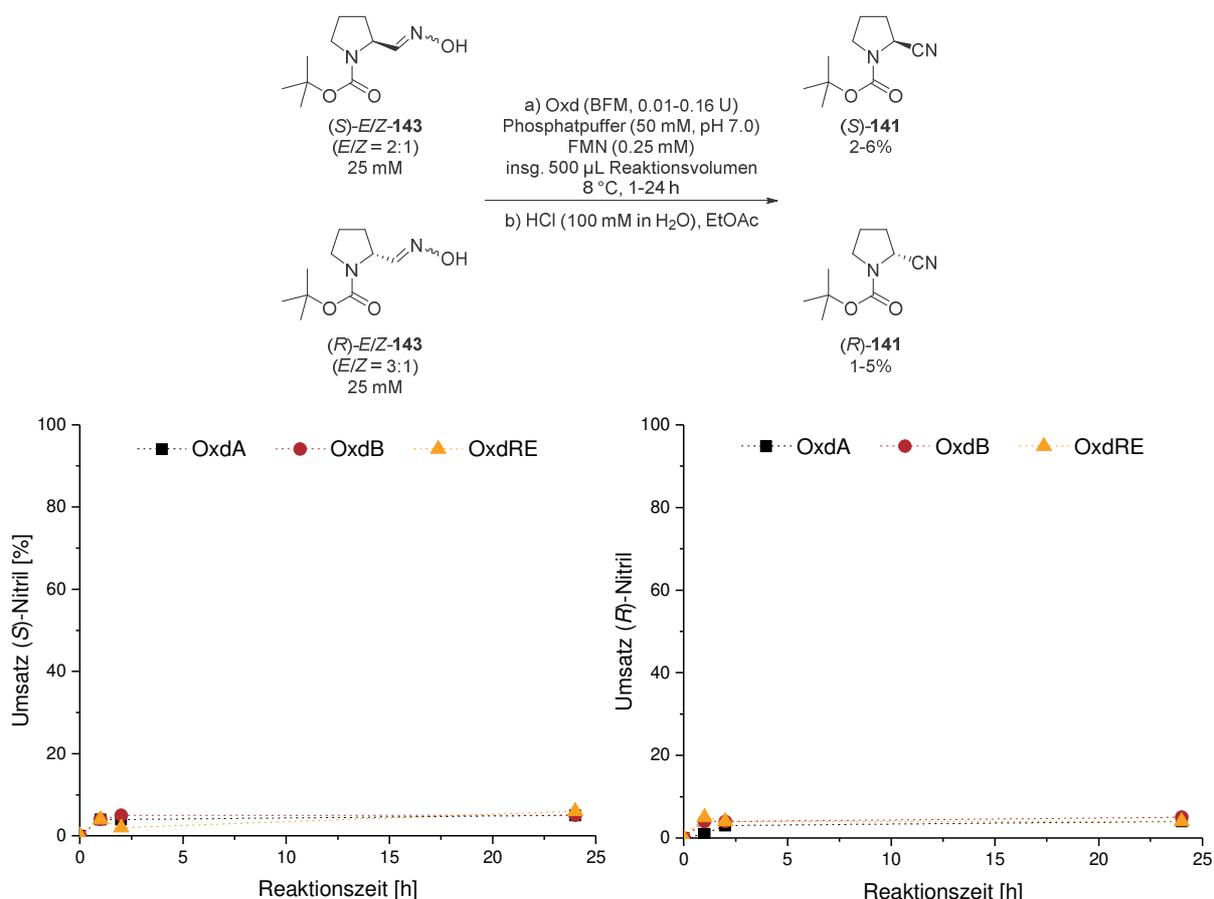


Abbildung 4.28: Umsätze aus den Biotransformationen der Aldoxime (*S*)-*E/Z*-**143** (links) und (*R*)-*E/Z*-**143** (rechts) mit OxdA, OxdB und OxdRE nach unterschiedlichen Reaktionszeiten.

Abweichend von den bisher beschriebenen Biotransformationen wurde in diesem Fall der Cofaktor FMN zu den Reaktionsmischungen hinzugegeben, da diese Experimente durchgeführt wurden, bevor die Zugabe von FMN als entbehrlich erachtet wurde.<sup>[279]</sup> Ein negativer Einfluss des Cofaktors auf die Substratumsetzung ist auszuschließen, sodass die Ergebnisse aus den Biotransformationen ohne den Einsatz von artifiziellem FMN prinzipiell mit diesen Ergebnissen vergleichbar sein sollten.

Die Analyse der Enzymreaktionen mit den Prolinaloximen (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** mittels GC ergab für alle Ansätze nur niedrige Umsätze. Keine der drei verwendeten Oxds vermochte auch über einen längeren Zeitraum von 24 h nennenswerte Mengen der

entsprechenden Nitrile (*S*)- und (*R*)-**141** zu bilden. Die Umsätze lagen in allen Fällen im sehr niedrigen Bereich von lediglich 1-6%. Auch ein Substrat mit vergleichbarer Molekülstruktur – das von der Aminosäure Phenylalanin abgeleitete Aldoxim – wurde von den Oxds nur zu sehr geringen Anteilen umgesetzt, wie *Betke* parallel zu den oben beschriebenen Experimenten zeigen konnte.<sup>[267]</sup> Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Aktivität der Oxds gegenüber Substraten mit *N*-Acyl- $\alpha$ -aminoaldoxim-Struktur für eine substantielle Nitrilsynthese offenbar ungenügend ist. Die Implementierung einer enzymatischen Nitrilsynthese in einem alternativen Verfahren zur Darstellung von Vildagliptin ((*S*)-**124**) kann daher als nicht zielführend erachtet werden.

Im Gegensatz dazu motivieren die guten Ergebnisse aus der Kupfer-katalysierten Referenzsynthese der Nitrile (*S*)- und (*R*)-**141** (vgl. Schema 4.31) zum Einsatz in einer alternativen Vildagliptinsynthese, denn durch die Verwendung eines enantiomerenreinen Substrats aus dem *chiral pool* ist ein stereoselektiver Reaktionsverlauf, der nur mit dem enzymatischen Syntheseweg prinzipiell möglich wäre, hier nicht zwingend erforderlich. Da die Nitrilsynthese mit katalytischen Mengen Kupfer<sup>II</sup>-Acetat<sup>[244]</sup> unter Retention der Stereochemie abläuft, ist diese Methode ebenfalls für die Implementierung in eine alternative Syntheseroute zum enantiomerenreinen Wirkstoff (*S*)-**124** in Betracht zu ziehen. Dabei sollte sich die Verwendung eines Katalysators wie Kupfer<sup>II</sup>-Acetat aufgrund seiner preiswerten, kommerziellen Verfügbarkeit nicht als Nachteil erweisen.

In der Kupfer-katalysierten Nitrilsynthese wird Acetonitril nicht nur als Lösungsmittel verwendet, sondern auch als Hilfsreagenz, auf welches das aus dem Aldoxim bei der Dehydratisierung freigesetzte Wasser übertragen wird, wobei sich Acetamid bildet (vgl. Schema 4.14). Aus Kostengründen stellen die Reduzierung der Menge des Hilfsreagenzes Acetonitril auf ein notwendiges Minimum und der Ersatz von Acetonitril als Solvenz durch ein preisgünstiges Lösungsmittel einen interessanten Ansatz zur weiteren Optimierung der Synthese dar. Daher wurde ein Solvenzscreening für die Synthese des Modellnitrils (*S*)-**141** aus dem Prolinaloxim (*S*)-*E/Z*-**143** durchgeführt, um den Einfluss gebräuchlicher Lösungsmittel auf den Reaktionsverlauf zu untersuchen (Abbildung 4.29). Die Reaktionsumsätze wurden aus den Integralverhältnissen der Substrat- und Produkt-Signale in den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der extraktiv aufgearbeiteten Reaktionsmischungen bestimmt.

Die Reaktion wurde zunächst mit unterschiedlichen Mengen Acetonitril und mit Ethylacetat als Kosolvenz durchgeführt (Abbildung 4.29 links). Bereits mit 1 Äquivalent Acetonitril wurde ein Umsatz von >50% zum Nitril (*S*)-**141** erreicht. Dieses erfreuliche Ergebnis ist insofern überraschend, als dass die Wasserübertragung vom Substrat auf das Hilfsreagenz, vermittelt durch deren Koordination an das Cu<sup>2+</sup>-Zentrum, offenbar mit hoher Effektivität abläuft. Weiterhin stützt dieser Befund den postulierten Reaktionsmechanismus, bei dem theoretisch nur ein Äquivalent eines Hilfsreagenzes wie Acetonitril für die Dehydratisierung notwendig ist. Dass dennoch im Experiment mit einem Äquivalent Acetonitril kein vollständiger Umsatz zum Nitril (*S*)-**141** erzielt werden

konnte, lässt sich über Lösungsmittel-bedingte Verdünnungseffekte der Reaktionsmischung erklären, die die Wahrscheinlichkeit des Aufeinandertreffens der notwendigen Komponenten – Katalysator, Substrat und Hilfsreagenz – herabsetzen. Zwei Äquivalente führten zu keiner nennenswerten Erhöhung des Umsatzes, aber mit vier Äquivalenten Acetonitril konnte unter sonst gleichen Reaktionsbedingungen bereits ein guter Umsatz von >70% erzielt werden. Durch Erhöhung der Menge des Hilfsreagenzes auf zehn Äquivalente stieg der Umsatz auf >80% und mit 15 Äquivalenten wurde das Nitril zu >90% gebildet. Eine weitere Erhöhung des Acetonitrilanteils führte zu keiner Verbesserung des Umsatzes. Sogar in reinem Acetonitril, welches der 64-fachen Stoffmenge bezogen auf das Aldoxim (*S*)-*E/Z*-**143** entspricht, stagnierte der Umsatz unter den gewählten Reaktionsbedingungen bei 92%.

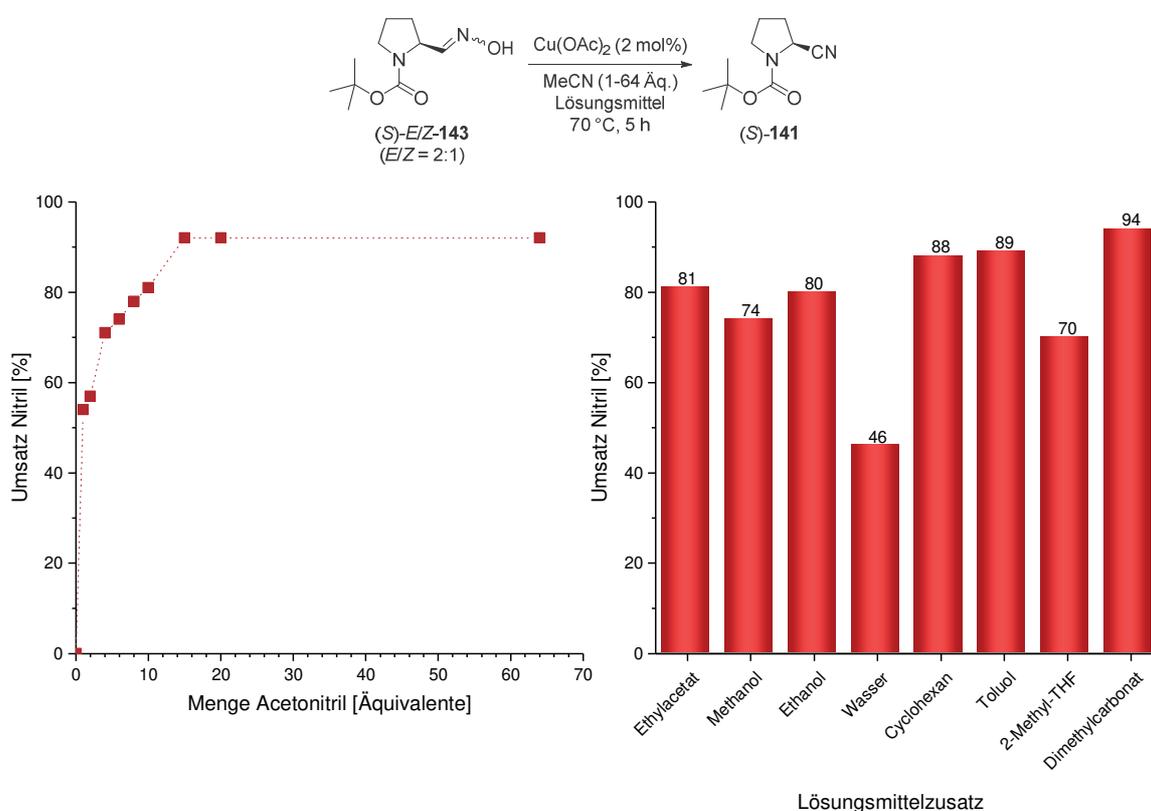


Abbildung 4.29: Umsätze aus der Metall-katalysierten Dehydratisierung von Prolinaloxim (*S*)-*E/Z*-**143** zu Nitril (*S*)-**141** mit  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  mit variierenden Mengen MeCN sowie mit Ethylacetat als Lösungsmittel (bei 1-20 Äq. MeCN) bzw. ohne Zusatz von Lösungsmitteln (bei 64 Äq. MeCN) (links) und mit 10 Äq. MeCN und unterschiedlichen Lösungsmittelzusätzen (rechts).

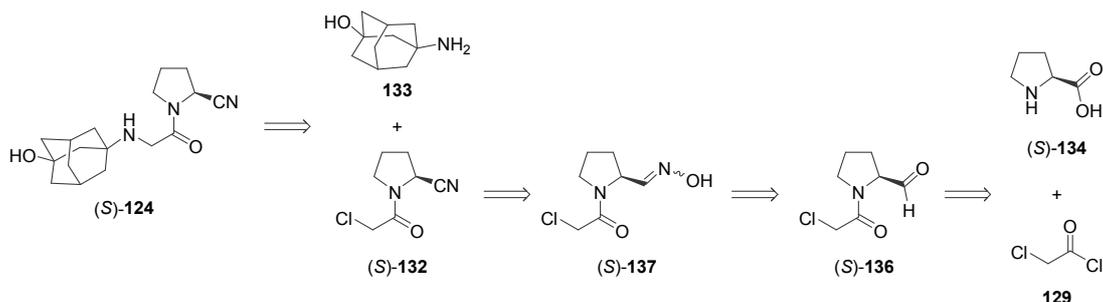
Als Kompromiss zwischen einem möglichst hohen Umsatz und einer möglichst geringen Menge Hilfsreagenz wurde die Reaktion anschließend mit 10 Äquivalenten Acetonitril und unterschiedlichen gängigen Lösungsmitteln als Kosolvenz wiederholt (Abbildung 4.29 rechts). Verglichen mit dem Umsatz von 81% in Ethylacetat ergab der Zusatz von polar protischen Solvenzien wie Methanol und Ethanol ähnlich gute Ergebnisse mit Umsätzen von 74% bzw. 80%. Ein signifikant schlechteres Ergebnis lieferte die Verwendung von Wasser, wodurch der Umsatz auf <50% sank. Es ist davon

auszugehen, dass Wasser in diesem Fall als kompetitiver Ligand an das Cu<sup>2+</sup>-Zentrum des Katalysators koordiniert und das Oxim somit verdrängt, wodurch die Übertragung des Wassers vom Oxim auf das Acetonitril nicht mehr stattfinden kann. Solch einen negativen Einfluss von Wasser auf den Katalysezyklus der Kupfer-katalysierten Oximdehydratisierung haben auch schon *Ma et al.* beobachtet.<sup>[244]</sup> Im Gegensatz dazu wurde durch den Zusatz von apolaren, aprotischen Lösungsmitteln wie Cyclohexan und Toluol eine leichte Erhöhung des Umsatzes auf 88% bzw. 89% erzielt. In 2-Methyltetrahydrofuran (2-Methyl-THF) wurde das Nitril (*S*)-**141** zu 70% gebildet. Das beste Ergebnis lieferte das polar-aprotische Lösungsmittel Dimethylcarbonat, welches als grüner Lösungsmittlersatz empfohlen wird.<sup>[293]</sup> Der Umsatz zum Nitril (*S*)-**141** konnte in diesem Fall auf 94% erhöht werden.

Durch den Zusatz verschiedener Kosolvenzien war es möglich, auch mit einer reduzierten Menge des Hilfsreagenzes Acetonitril von lediglich zehn Äquivalenten hohe bis sehr hohe Umsätze bei der Kupfer-katalysierten Nitrilsynthese zu erzielen. Diese Ergebnisse deuten das durchaus hohe Potential der chemischen Methode zur Cyanid-freien Nitrilsynthese neben dem enzymatischen Verfahren mit Oxds an. Im Falle der *N*-Acyl- $\alpha$ -aminoaldoxime (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143**, die ohnehin nicht von den Oxds umgesetzt werden, bietet diese nicht stereoselektive, Kupfer-katalysierte Dehydratisierung eine relevante Alternative. Die Ausgangsverbindungen (*S*)- und (*R*)-**142** sind in enantiomerenreiner Form über die *chiral pool*-Moleküle L- und D-Prolin ((*S*)- und (*R*)-**134**) gut zugänglich, wodurch eine stereoselektive Aldoximdehydratisierung in diesem Fall nicht erforderlich ist.

Die nächste Herausforderung bestand in der Entwicklung einer alternativen Vildagliptinsyntheseroute unter Verwendung der oben beschriebenen, chemischen Aldehyd-Aldoxim-Nitril-Sequenz. In Anlehnung an diese zuvor etablierte Reaktionssequenz mit dem Modellsubstrat *N*-Boc-L-Prolinal ((*S*)-**142**) und unter der Berücksichtigung, ein möglichst gut zugängliches Startmaterial aus dem *chiral pool* zu verwenden, bot sich die Aminosäure L-Prolin ((*S*)-**134**) als Ausgangspunkt für die neue Route an.<sup>[294]</sup> Retrosynthetisch betrachtet lässt sich die Darstellung von Vildagliptin ((*S*)-**124**) unter den oben genannten Voraussetzungen in unterschiedliche Teilschritte zerlegen (Schema 4.32).

Die Verknüpfung des Cyanopyrrolidins (*S*)-**132** mit dem wertvollen Adamantangerüst **133** bietet sich als letzter Schritt zur Ausbildung des Wirkstoffes (*S*)-**124** an, wie es auch in der Route von *Novartis Pharma* etabliert ist.<sup>[266]</sup> Die dafür benötigte Vorstufe, das Nitril (*S*)-**132**, sollte nach der etablierten Synthesesequenz über das Aldoxim (*S*)-**137** aus dem *N*-Chloracetyl-substituierten Prolinal (*S*)-**136** zugänglich sein. Die Synthese dieses Schlüsselbausteins könnte mit dem anvisierten Startmaterial L-Prolin ((*S*)-**134**) über eine Reduktion der Carbonsäure zum Aldehyd und über eine Acylierung der Aminofunktion erfolgen. Hierbei ist sowohl die Reihenfolge Acylierung–Reduktion, als auch Reduktion–Acylierung theoretisch denkbar.



Schema 4.32: Mögliche, retrosynthetische Betrachtung einer alternativen Vildagliptin-Syntheseroute ausgehend von L-Prolin ((*S*)-**134**) unter Einbeziehung der etablierten Aldehyd  $\rightarrow$  Aldoxim  $\rightarrow$  Nitril-Synthesesequenz.

Die Wahl der Reaktionsbedingungen bei dieser geplanten, neuen Vildagliptinsyntheseroute spielt in Hinblick auf eine mögliche industrielle Anwendung eine entscheidende Rolle. Dabei sollten möglichst milde Prozesse ohne zu starke Erwärmung oder starke Kühlung der Reaktionsmischungen sowie möglichst preiswerte Reagenzien und Katalysatoren bevorzugt werden. Für den ersten Reaktionsschritt ist daher eine direkte Reduktion der Aminosäure L-Prolin ((*S*)-**134**) auf die Oxidationsstufe des Aldehyds möglicherweise nicht der am besten geeignete Weg. Diese Art der selektiven Reduktion wird mit Carbonsäureestern unter Verwendung von teuren Metallhydriden wie Diisobutylaluminiumhydrid durchgeführt, die in stöchiometrischen Mengen benötigt werden. Hinzu kommt die tiefe Reaktionstemperatur von  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , die diese Methodik industriell unattraktiv macht.<sup>[295]</sup> Der Umweg über eine Reduktion der Carbonsäurefunktion zur Alkoholfunktion mit anschließender selektiver Oxidation zum Aldehyd kann im Gegensatz dazu trotz des zusätzlichen Reaktionsschrittes eine vergleichsweise attraktive Methode darstellen. Abgesehen von der Variante mit äquivalenten Mengen von teurem Lithiumaluminiumhydrid,<sup>[183]</sup> die zweifelsohne ebenfalls nicht die günstigste Wahl sein wird, bietet die Metall-katalytische Hydrierung von Carbonsäureestern mit Wasserstoff ein durchaus relevantes Verfahren zur Generierung von Alkoholen.<sup>[296]</sup> So kommen beispielsweise die strukturverwandten Rutheniumkomplexe *Gusev*-Katalysator (**144**),<sup>[297]</sup> Ru-MACHO (**145**)<sup>[298]</sup> und Ru-MACHO-BH (**146**)<sup>[299,300]</sup> zum Einsatz, die erfolgreich als effektive Hydrierkatalysatoren für die Reduktion einer ganzen Bandbreite von Carbonsäureestern zu deren entsprechenden Alkoholen verwendet werden (Abbildung 4.30).

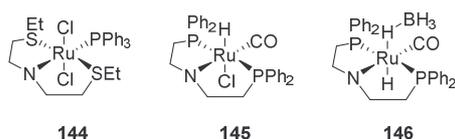
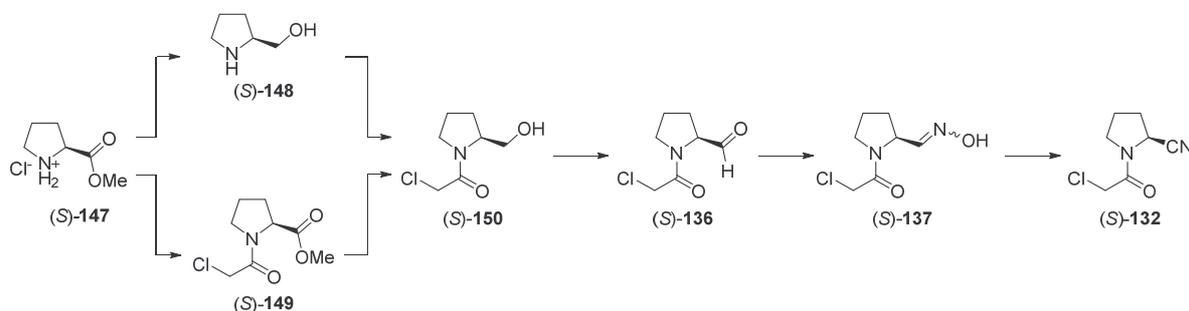


Abbildung 4.30: Strukturformeln der Rutheniumkomplexe *Gusev*-Katalysator (**144**), Ru-MACHO (**145**) und Ru-MACHO-BH (**146**) zur Hydrierung von Carbonsäureestern zu deren Alkoholen.

Da derartige Reduktionen bisher nicht mit Aminosäureestern durchgeführt wurden, wäre die Metall-katalytische Reduktion eines Prolinesters, in diesem Fall das leicht zugängliche und kommerziell erhältliche L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**), zur Ausbildung

von L-Prolinol ((*S*)-**148**) auch aus grundlegender Sichtweise ein interessanter Startpunkt für eine alternative Syntheseroute zum Vildagliptin-Schlüsselbaustein (*S*)-**132** (Schema 4.33).



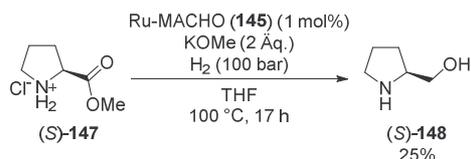
Schema 4.33: Synthesepfad für die Darstellung des Vildagliptin-Schlüsselbausteins (*S*)-**132** mittels alternativer Syntheseroute ausgehend von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**).

Der Alkohol (*S*)-**148** könnte anschließend durch Acylierung der Aminofunktion mit der relevanten Chloracetyl-Seitenkette verknüpft werden, um *N*-Chloracetyl-L-prolinol ((*S*)-**150**) zu generieren. Wie zuvor erwähnt, ist andernfalls auch eine umgekehrte Reihenfolge denkbar, in der der Ester (*S*)-**147** zuerst mit Chloroessigsäurechlorid (**129**) versetzt wird, um *N*-Chloracetyl-L-prolin-methylester ((*S*)-**149**) zu erhalten und anschließend die Reduktion zum Alkohol (*S*)-**150** erfolgt.

Das mit beiden Varianten in zwei Reaktionsschritten generierte L-Prolinol ((*S*)-**150**) könnte daraufhin selektiv zu dem entsprechenden Aldehyd (*S*)-**136** oxidiert werden. Dies ist grundsätzlich ebenfalls auf unterschiedliche Weise möglich. Insbesondere ist die durch das Tetramethylpiperidinyloxy-Radikal (TEMPO) vermittelte Oxidation wegen ihrer hohen Effektivität und wegen der guten Verfügbarkeit der dafür benötigten Reagenzien und Katalysatoren zunächst zu favorisieren.<sup>[183,301]</sup> Diese Methode wird auch in industriellen Prozessen für verschiedene Alkoholorxidationen eingesetzt.<sup>[302]</sup>

Das *N*-Chloracetyl-L-prolinal ((*S*)-**136**) könnte schließlich in analoger Weise zu der bereits etablierten Reaktionssequenz durch Kondensation mit Hydroxylamin in das Aldoxim (*S*)-**137** überführt werden, um daraus mittels Kupfer-katalysierter Dehydratisierung das Nitril (*S*)-**132** als Vildagliptin-Schlüsselbaustein zu erhalten. Der abschließende Reaktionsschritt zur Verknüpfung dieses Bausteins (*S*)-**132** mit dem Adamantangerüst **133** ist bereits literaturbekannt<sup>[266]</sup> und steht daher nicht im Fokus dieser Arbeit.

Zu der geplanten Ausarbeitung einer alternativen Vildagliptin-Syntheseroute wurde ausgehend von dem Prolinester (*S*)-**147** zunächst die Sequenz Reduktion–Acylierung untersucht. Dazu wurde das Startmaterial (*S*)-**147** in Gegenwart des Hydrierkatalysators Ru-MACHO (**145**) mit Wasserstoff behandelt (Schema 4.34).



Schema 4.34: Hydrierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((S)-147) zu L-Prolinol ((S)-148) mit Wasserstoff und Ru-MACHO (145).

Die Hydrierung wurde in einem Stahlreaktor (vgl. Abbildung 2.12) bei einem Wasserstoffdruck von 100 bar durchgeführt. Das basische Kaliummethanolat diente zum einen der Aktivierung des Katalysators und zum anderen der Neutralisation des Hydrochloridsalzes. Nach einer Reaktionszeit von 17 h bei einer Temperatur von 100 °C wurde die Reaktionsmischung extraktiv aufgearbeitet. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des auf diese Weise gewonnenen Rohmaterials bildete neben kleinen Signalen von Spuren der Katalysatorspezies ausschließlich Produktsignale ab. Unter der Annahme, dass der neutralisierte Prolinmethylester aufgrund seines geringeren Dipolmoments mindestens genauso gut in die organische Phase aufgenommen wird wie das polarere, protische Produkt (S)-148, lässt sich aus den Ergebnissen dieser <sup>1</sup>H-NMR-Analyse ein kompletter Umsatz zu L-Prolinol ((S)-148) mutmaßen. Die Reste des Katalysators ließen sich durch Aufnahme des Rohmaterials in Methanol erfolgreich entfernen, indem das in Lösung gegangene Produkt von dem unlöslichen Katalysatorrest durch Filtration abgetrennt wurde. Der Aminoalkohol (S)-148 wurde mit einer moderaten Ausbeute von 25% isoliert. Sofern der Ester (S)-147 komplett hydriert wurde, ist diese geringe Ausbeute auf eine offenbar uneffektive Aufarbeitung der Reaktionsmischung zurückzuführen. Bei der Extraktion wird ein Großteil des Produkts (S)-148 aufgrund seiner polar-protischen Moleküleigenschaften in der wässrigen Phase verblieben sein. Zur Optimierung der Aufarbeitung ist die Fällung eines Produkt-Ammoniumsalzes durch Ansäuern der Reaktionsmischung denkbar. Mit einer geeigneten Säure ist eine Erhöhung der Ausbeute auf diesem Wege prinzipiell vorstellbar, jedoch wurde eine Prozessoptimierung an dieser Stelle unterlassen und der Fokus auf die grundsätzliche Etablierung der geplanten Syntheseroute gerichtet.

Über NMR-spektroskopische und massenspektrometrische Analytik konnte das synthetisierte L-Prolinol ((S)-148) eindeutig identifiziert werden. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zeigt die für einen substituierten Pyrrolidinring charakteristischen Signalmuster (Abbildung 4.31). Bedingt durch das Chiralitätszentrum im Molekül sind die Protonen diastereotop. Es liegen neun nichtäquivalente Spins vor, die durch Kopplung untereinander ein entsprechend komplexes Signalmuster für jedes Proton erzeugen.<sup>[303]</sup> Die Protonen der Methylolgruppe resonieren am weitesten im Tieffeld bei einer Verschiebung von 3.50 ppm, gefolgt von dem benachbarten, chiralen Proton bei 3.14 ppm, den Protonen der Methylengruppe in direkter Nachbarschaft zur Aminofunktion bei 2.94 und 2.82 ppm sowie den restlichen vier Methylenprotonen bei 1.86, 1.77 und 1.47 ppm, deren Zuordnung durch die Auswertung von 2D-Experimenten unterstützt wurde.

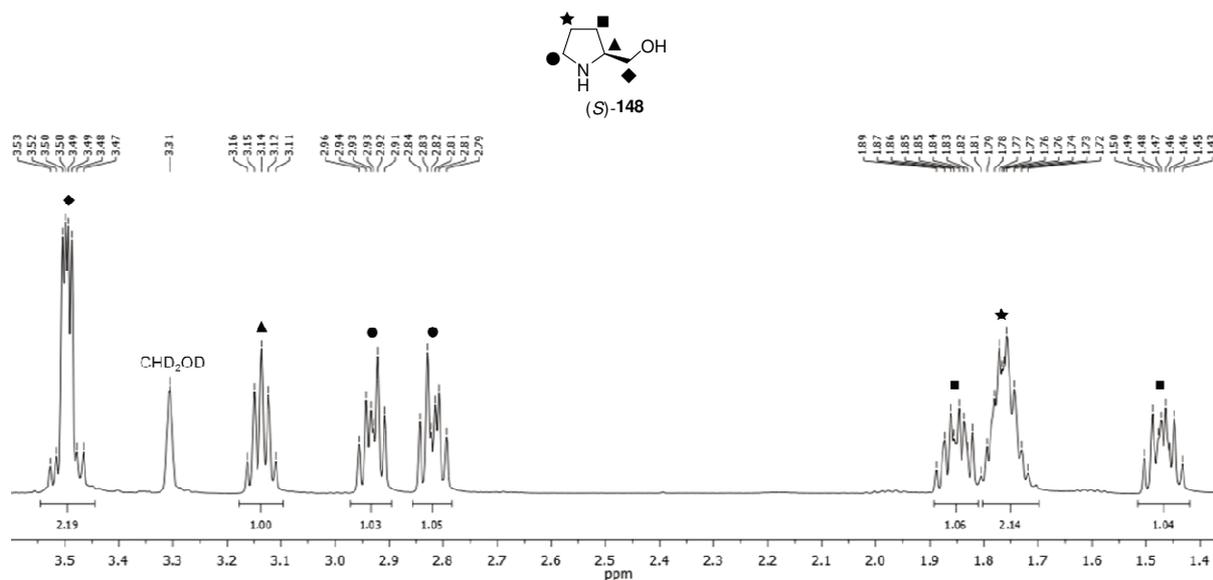
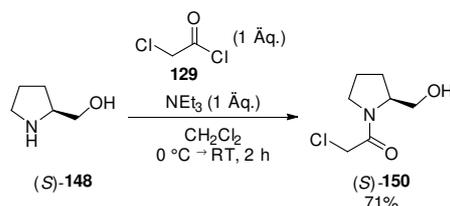


Abbildung 4.31: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von L-Prolinol ((*S*)-**148**) aus der Metallkatalytischen Hydrierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) in  $\text{CD}_3\text{OD}$  mit Zuordnung der Signale.

Die anschließende Acylierung des synthetisierten L-Prolinols ((*S*)-**148**) erfolgte mit Chloressigsäurechlorid (**129**) nach einer Vorschrift von *Vasiloin et al.*<sup>[304]</sup> mit der Base Triethylamin zum Abfangen des freiwerdenden Chlorwasserstoffs (Schema 4.35)



Schema 4.35: Acylierung von L-Prolinol ((*S*)-**148**) zu *N*-Chloroacetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) mit Chloressigsäurechlorid (**129**).

Eine DC-Reaktionskontrolle zeigte nach einer Reaktionszeit von 2 h einen vollständigen Umsatz des Amins (*S*)-**148** an. Anders als in der Literatur beschrieben wurde die Reaktionsmischung nicht wässrig aufgearbeitet, sondern der ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert und gewaschen. Der Niederschlag konnte über NMR-Analytik als Triethylammoniumchlorid identifiziert werden. Mit einer Säulenchromatographie des eingengten Filtrats wurde *N*-Chloroacetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) in einer Ausbeute von 71% isoliert, die im Vergleich zur Literaturausbeute von 46% deutlich höher lag. Die NMR-spektroskopischen Daten des isolierten Materials entsprechen denen in der Literatur.<sup>[304]</sup> Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Chloroacetylprolinols (*S*)-**150** ist, wie das der Vorstufe (*S*)-**148**, geprägt durch komplexe Signalmuster der diastereotopen Protonen (Abbildung 4.32).

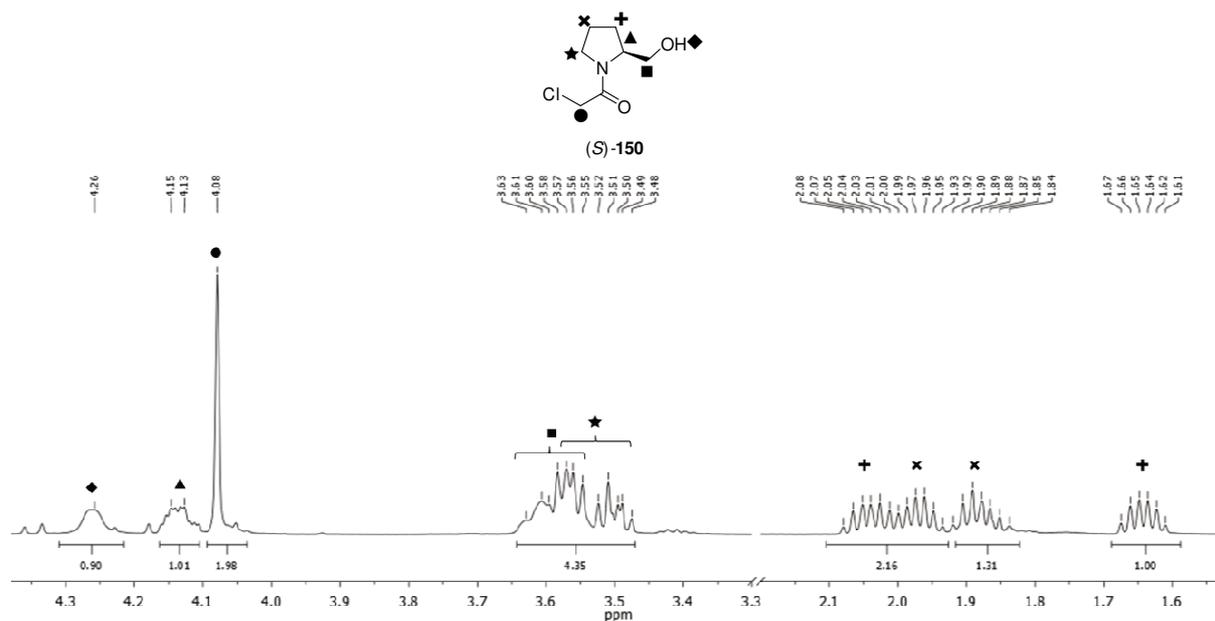
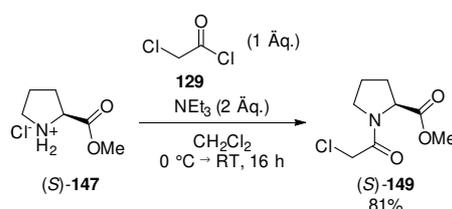


Abbildung 4.32: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von *N*-Chloroacetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) aus der Acylierung von L-Prolinol ((*S*)-**148**) in  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  mit Zuordnung der Signale.

Das Hydroxyproton erzeugt das am weitesten ins Tieffeld verschobene Signal, ein verbreitertes Singulett bei 4.26 ppm. Das Proton am chiralen Ringkohlenstoff resoniert weiter im Hochfeld bei 4.14 ppm als verbreitertes Multipllett. Im Vergleich zu dem Spektrum des unsubstituierten Prolinols (*S*)-**148** enthält das Spektrum des acylierten Produkts (*S*)-**150** zusätzlich ein Singulett bei 4.08 ppm, welches den Methylenprotonen des Chloroacetylsubstituenten zuzuordnen ist. Die Signale der übrigen acht Methylenprotonen resonieren in einem Verschiebungsbereich zwischen 3.63 und 1.61 ppm, wobei die Signale der Methylengruppen in direkter Nachbarschaft zum Sauerstoff und zum Stickstoff weiter im Tieffeld (3.63–3.48 ppm) und die restlichen Ringprotonen weiter im Hochfeld (2.08–1.61 ppm) liegen.

Alternativ zu dieser grundsätzlich erfolgreichen, zweistufigen Sequenz wurde auch die umgekehrte Reaktionsfolge – Acylierung mit anschließender Hydrierung – auf ihre Durchführbarkeit untersucht. Dazu wurde zuerst die gewählte Ausgangsverbindung L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) in bewährter Weise mit Chloressigsäurechlorid (**129**) acyliert (Schema 4.36).



Schema 4.36: Acylierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) zu *N*-Chloroacetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) mit Chloressigsäurechlorid (**129**).

In diesem Fall wurden zwei Äquivalente der Base hinzugegeben, um das Hydrochloridsalz des Prolinesters (*S*)-**147** zu neutralisieren und den bei der Reaktion entstehenden Chlorwasserstoff zu binden. Diese Reaktion dauerte mit 16 h bis zur vollständigen

Umsetzung des Startmaterials verglichen mit der Acylierung von L-Prolinol ((*S*)-**148**) mit einer Reaktionszeit von lediglich 2 h deutlich länger. Durch Säulenchromatographie des Rohprodukts nach wässriger Aufarbeitung wurde *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) mit einer hohen Ausbeute von 81% isoliert.

Wie dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Produkts entnommen werden konnte, lagen analog zu der *cis/trans*-Isomerie bei Peptidbindungen<sup>[288]</sup> in diesem Fall bedingt durch die Rotation des Acylsubstituenten um die *N-C<sup>Acyl</sup>*-Bindung wieder zwei Konfigurationen des Prolinesters (*S*)-**149** in einem Verhältnis von etwa 1:5 vor (Abbildung 4.33). Die beiden Signalsätze des chiralen Methinprotons liegen bei einer Verschiebung von 4.74 und 4.48 ppm um 0.26 ppm auseinander, was auf eine deutlich unterschiedliche elektronische Umgebung in beiden Konfigurationsisomeren hindeutet. Im Verschiebungsbereich zwischen 4.32 und 4.07 ppm resonieren die Methylenprotonen des Acylsubstituenten in ebenfalls zwei deutlich unterschiedlichen Signalsätzen. Die Protonen der Methoxygruppe erzeugen zwei Singulets bei 3.79 und 3.74 ppm. Wie bei den anderen Prolinderivaten bereits mehrfach gezeigt, resonieren die sechs diastereotopen Methylenprotonen des Pyrrolidinrings als Signalsätze mit komplexen Aufspaltungsmustern zwischen 3.75 und 1.84 ppm.

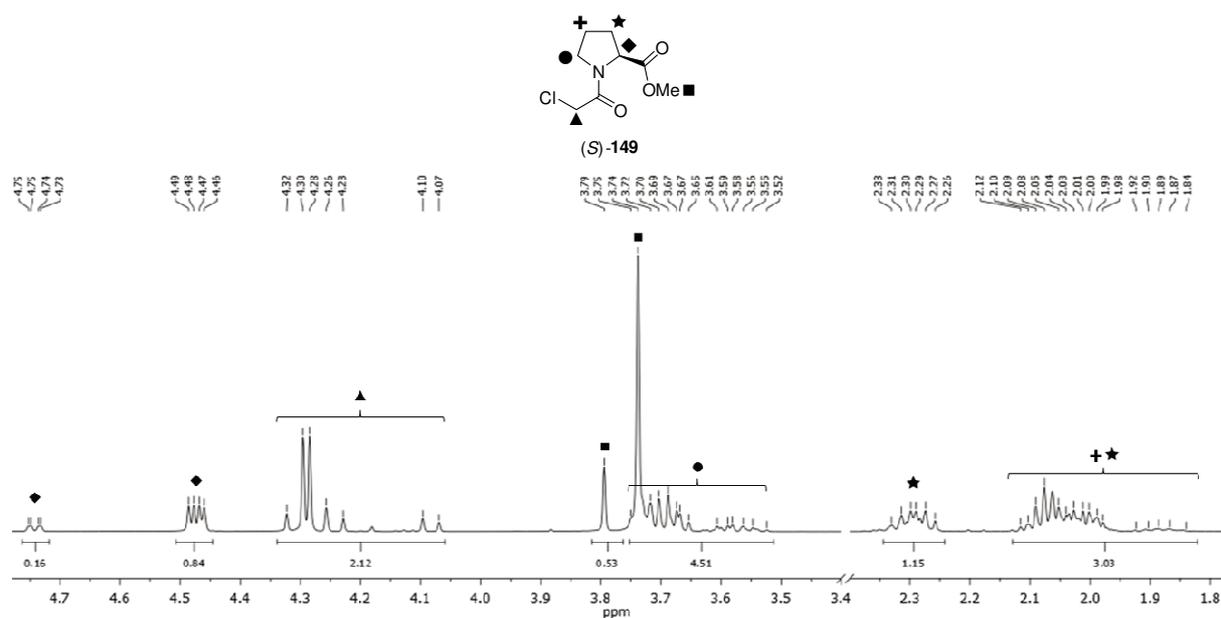
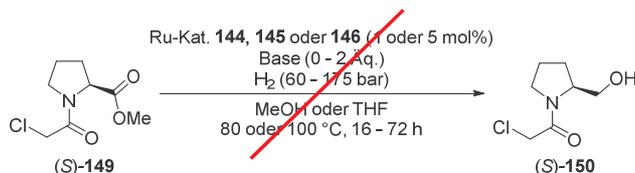


Abbildung 4.33: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) aus der Acylierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) in  $\text{CD}_3\text{OD}$  mit Zuordnung der Signale.

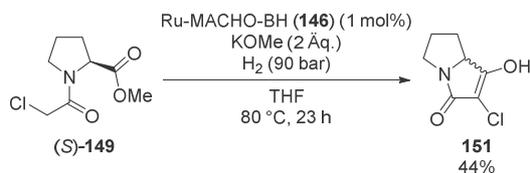
Der erfolgreich synthetisierte Methylester (*S*)-**149** wurde anschließend mehreren Hydrierversuchen unterzogen. Dazu wurden die erfolgversprechenden Ru-Komplexe *Gusev*-Katalysator (**144**), Ru-MACHO (**145**) und Ru-MACHO-BH (**146**) eingesetzt (Schema 4.37).



Schema 4.37: Hydrierversuche von *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**149**) mit den Ru-Katalysatoren **144**, **145** und **146** unter verschiedenen Reaktionsbedingungen.

Der *Gusev*-Katalysator (**144**) ist im Gegensatz zu den anderen beiden Ru-Komplexen **145** und **146** luftstabil und daher bei der Beladung des Stahlreaktors mit der Reaktionsmischung einfacher zu handhaben.<sup>[297]</sup> Die Hydrierexperimente liefen unter gängigen Reaktionsbedingungen für die Esterhydrierung bei einer Reaktionstemperatur von 80 °C mit der Base Kaliummethanolat zur Aktivierung des Katalysators in den Lösungsmitteln Methanol oder THF ab. Jedoch führten weder unterschiedliche Reaktionszeiten zwischen 17 und 72 h noch verschieden hohe Wasserstoffdrücke von 60-175 bar zu keiner erfolgreichen Umsetzung von *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**). Unter keiner dieser Reaktionsbedingungen konnte im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der umgesetzten Reaktionsmischung das gewünschte Produkt *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) nachgewiesen werden. Daher wurden anschließend auch die beiden anderen Katalysatoren Ru-MACHO (**145**) und Ru-MACHO-BH (**146**) für diese Hydrierung unter vergleichbaren Reaktionsbedingungen getestet, jedoch auch ohne Erfolg.

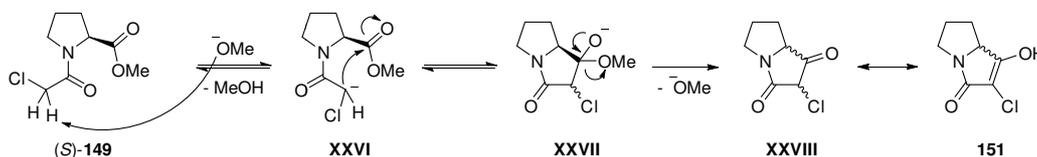
Bei einem dieser Versuche wurde eine zunächst unbekannte, nicht erwartete Verbindung **151** gebildet (Schema 4.38).



Schema 4.38: Synthese des Pyrrolizidins **151** aus *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) unter Hydrierungsbedingungen.

In diesem Fall wurde die Base Kaliummethanolat zu der Reaktionsmischung gegeben, obwohl sie für die Aktivierung des Katalysators **146**, die hier durch die thermische Dissoziation von BH<sub>3</sub> erfolgte, nicht notwendig war. Die Reaktion verlief in THF bei einer Temperatur von 80 °C und einem Druck von 90 bar Wasserstoff über einen Zeitraum von 23 h im Stahlreaktor. Nach wässriger Extraktion der Reaktionsmischung fiel im Gegensatz zu den anderen Hydrierversuchen, die allesamt braune Feststoff-Öl-Gemische lieferten, die Ausbildung eines gelben Feststoffs während des Einengens im Vakuum auf. Die mäßige Löslichkeit dieses Rückstands in deuteriertem Chloroform, die sich bei der Vorbereitung zur NMR-Charakterisierung abzeichnete, wurde für eine Umkristallisation des Materials ausgenutzt. So wurde schließlich ein farbloser Feststoff erhalten, der mittels NMR-Spektroskopie und MS als 2-Chlor-1-hydroxy-5,6,7,7a-

tetrahydro-3*H*-pyrrolizin-3-on (**151**), eine bisher nicht charakterisierte Verbindung, identifiziert werden konnte. Das Produkt **151** mit einem Pyrrolizidinalkaloid-Grundgerüst<sup>[305]</sup> wurde in einer moderaten Ausbeute von 44% isoliert. Die Bildung dieses Bicyclus wird mutmaßlich über die Deprotonierung des Prolinesters (*S*)-**149** an der Methylengruppe des Acylsubstituenten durch die Base initiiert (Schema 4.39).



Schema 4.39: Postulierter Mechanismus für die Bildung von Pyrrolizidin **151** aus *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**149**).

Folglich greift das daraus entstandene Carbanion an den positiv polarisierten Carboxykarbonstoff an [**XXVI**], woraufhin Methanolat abgespalten wird [**XXVII**]. Das Dion **XXVIII** tautomerisiert schließlich in die stabilere Enolform **151**, die bei der NMR-spektroskopischen Analyse letztlich als einzige Komponente vorlag. Eine Racemisierung am Stereozentrum wurde nicht nachgewiesen, diese kann aber unter den basischen Reaktionsbedingungen aufgrund einer möglichen Enolisierung des Dions **XXVIII** in Richtung der Brückenkopffosition nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum spiegeln die Signale mit ihrer Verschiebung und ihren komplexen Aufspaltungsmustern die sieben diastereotopen Ringprotonen des Pyrrolizidins **151** wider (Abbildung 4.34).

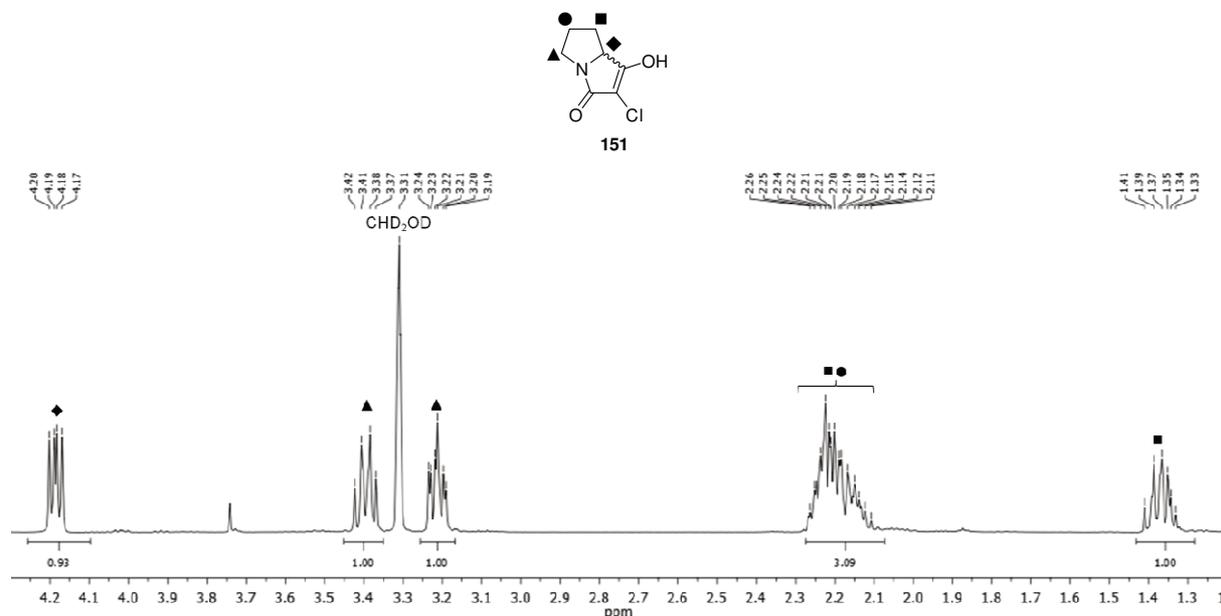


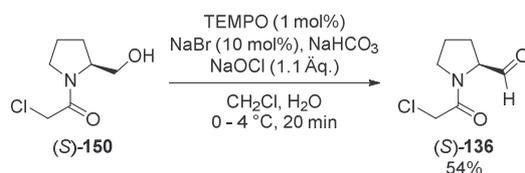
Abbildung 4.34: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Pyrrolizidin **151** aus der Reaktion von *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) unter basischen Hydrierbedingungen in  $\text{CD}_3\text{OD}$  mit Zuordnung der Signale.

Am weitesten im Tieffeld resoniert das Proton am Stereozentrum bei einer Verschiebung von 4,19 ppm. Die Methylenprotonen in direkter Nachbarschaft zum

Brückenkopfstickstoff erzeugen zwei Signalsätze bei 3.40 und 3.22 ppm. Weiter im Hochfeld resonieren die restlichen Methylenprotonen als Multiplett aus drei überlagerten Signalsätzen zwischen 2.26 und 2.11 ppm mit einem Integral von drei Protonen sowie als weiterer Signalsatz bei 1.37 ppm mit einem Integral von einem Proton. Die Analytik der neuen Verbindung **151** wurde komplettiert durch die Messung des Schmelzpunkts von 202 °C, sowie durch die Aufnahme eines IR-Spektrums, in dem charakteristische Banden für Methylen-, Amin- und Amid-Schwingungen vorliegen, und durch die Bestimmung der Zusammensetzung mittels Elementaranalyse.

Unter der Annahme des oben aufgeführten Mechanismus zur Bildung des Pyrrolizidins **151** (Schema 4.39) ist die Anwesenheit von Wasserstoff und vom Ru-Katalysator **146** für diese Reaktion nicht notwendigerweise essentiell. Insofern ergibt sich aus diesem unerwarteten Experiment eine interessante Fragestellung für die Synthese von Pyrrolizidinen. Diese würde allerdings auf die Chemie eines ganz anderen Verbindungstyps abzielen, weshalb auf die Optimierung einer solchen Pyrrolizidinsynthese verzichtet wurde.

Mit den fehlgeschlagenen Hydrierexperimenten unter Verwendung von *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) ist folglich die Synthesesequenz mit der einleitenden Hydrierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) und anschließender *N*-Acylierung des gebildeten L-Prolinols ((*S*)-**148**) die einzig mögliche der beiden geplanten Syntheserouten (vgl. Schema 4.33). Dementsprechend wurde das auf diesem Weg erhaltene *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) als nächstes mittels TEMPO-Oxidation selektiv zu *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) oxidiert (Schema 4.40).



Schema 4.40: Oxidation von *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) zu *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) mit TEMPO.

Für diese Oxidation wurden die im *Organikum* beschriebenen Reaktionsbedingungen mit 1 mol% TEMPO, 10 mol% Natriumbromid und einem leichten Überschuss von Natriumhypochlorid in einem Zweiphasensystem bei pH 9.5 unter Kontrolle der Reaktionstemperatur zwischen 0 und 4 °C verwendet.<sup>[183]</sup> Nach einer kurzen Reaktionszeit von 20 min und extraktiver Aufarbeitung wurde *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) als gelb-orangefarbenes Öl mit einer Ausbeute von 54% erhalten. Eine weitere Aufreinigung des Produkts mittels Säulenchromatographie scheiterte, da es während der Chromatographie offenbar schnell zur entsprechenden Säure oxidierte. Somit wurde auf eine Aufreinigung verzichtet und der Aldehyd (*S*)-**136** wurde bis zur Weiterverarbeitung kühl gelagert, um die Autooxidation zu unterbinden. Die leichten

Verunreinigungen machten sich auch im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum durch weitere kleine Signale und durch inexakte Integralverhältnisse der Produktsignale bemerkbar (Abbildung 4.35).

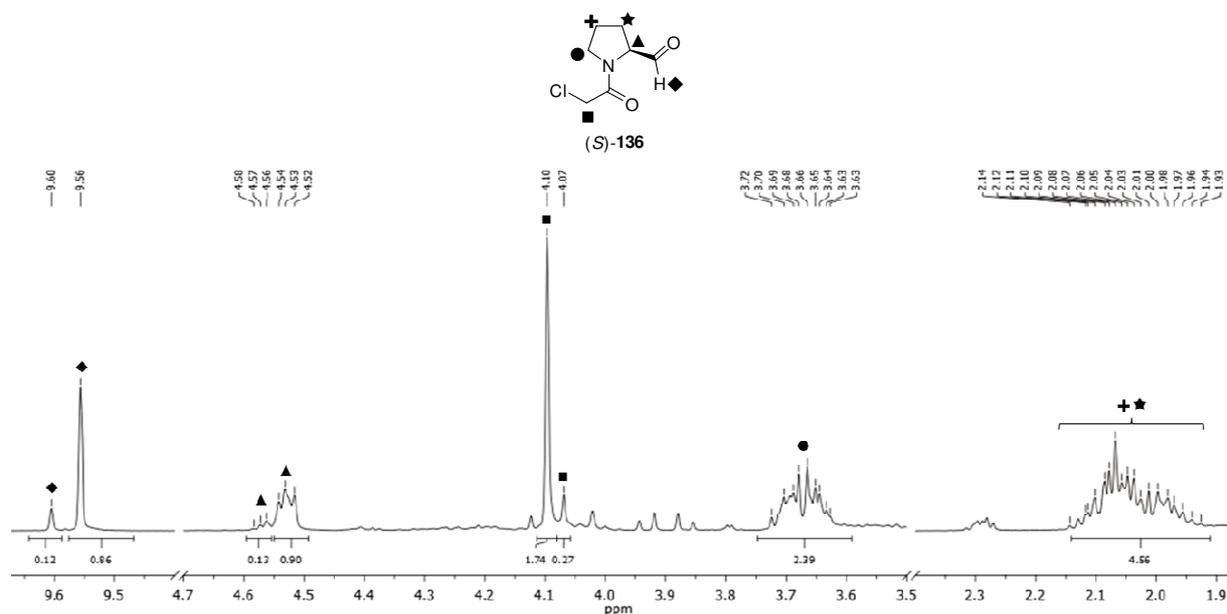
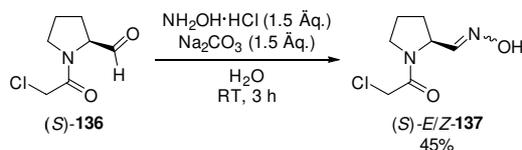


Abbildung 4.35: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) aus der TEMPO-Oxidation von *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung der Signale.

In diesem Fall lag das Produkt bedingt durch zwei verschiedene, räumliche Ausrichtungen des Acylsubstituenten in zwei Konfigurationen im Verhältnis von etwa 1:9 vor, wie die Integrale der nicht überlagerten Doppelsignale zeigten. Diese Dopplung ist an den Signalen des Aldehydprotons bei einer Verschiebung von 9.60 bzw. 9.56 ppm, des Protons am Stereozentrum bei 4.57 bzw. 4.53 ppm und der Methylenprotonen des Acylsubstituenten bei 4.10 bzw. 4.07 ppm deutlich zu erkennen. Die Multipletts bei 3.68 ppm und zwischen 2.14 und 1.93 ppm werden von den restlichen sechs Ringprotonen erzeugt. Der bisher nicht literaturbekannte Aldehyd ((*S*)-**136**) wurde auch mittels hochauflösender Masse charakterisiert, deren gemessener Wert mit 1.59 ppm nur minimal von dem berechneten Wert abweicht. Die Bildung von *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) erfolgte über die TEMPO-Oxidation insgesamt mit eher moderater Ausbeute, die noch optimiert werden kann. Grundsätzlich ist mit dieser Methodik aber der nächste Schritt in Richtung einer alternativen Vildagliptin-Syntheseroute gesetzt.

Der Aldehyd ((*S*)-**136**) wurde anschließend gemäß der geplanten Syntheseroute unter den gut etablierten Reaktionsbedingungen mit Hydroxylamin zum Aldoxim ((*S*)-**137**) kondensiert (Schema 4.41). Nach einer Reaktionszeit von 3 h bei Raumtemperatur im wässrigen System konnte mittels DC-Analytik ein vollständiger Umsatz ermittelt werden. Durch extractive Aufarbeitung des Ansatzes und säulenchromatographische Aufreinigung des Rohprodukts wurde *E/Z*-*N*-Chloracetyl-L-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**137**) in einer Ausbeute von 45% isoliert. Diese verhältnismäßig geringe Ausbeute ist auf eine ineffektive Extraktion zurückzuführen, durch die das polare Produkt ((*S*)-*E/Z*-**137**) offenbar nicht komplett in die organische Phase überführt werden konnte. Auch in

diesem Fall ist eine Erhöhung der Ausbeute durch Optimierung der Aufarbeitung wahrscheinlich.



Schema 4.41: Synthese von *E/Z*-*N*-Chloracetyl-L-Prolineoxim ((*S*)-*E/Z*-137) aus *N*-Chloracetyl-L-Proline ((*S*)-136) mit  $\text{NH}_2\text{OH}$ .

Die Signalsätze im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Aldoxim (*S*)-*E/Z*-137 deuten auf eine Mischung aus vier unterscheidbaren Isomeren hin (Abbildung 4.36).

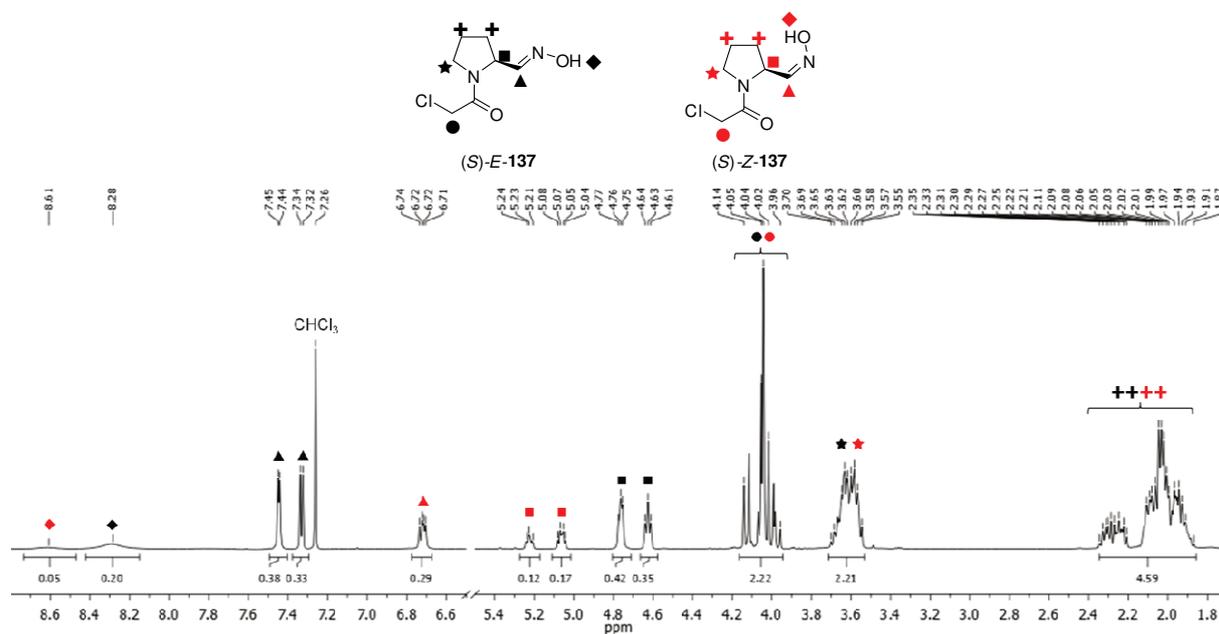


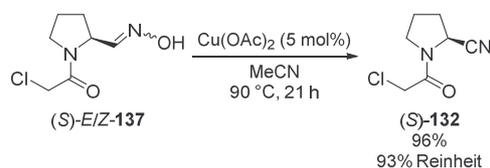
Abbildung 4.36: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von *E/Z*-*N*-Chloracetyl-L-Prolineoxim ((*S*)-*E/Z*-137) aus der Kondensation des Aldehyds (*S*)-136 mit  $\text{NH}_2\text{OH}$  in  $\text{CDCl}_3$  mit Zuordnung der Signale.

Zum Einen sind die *E*- und *Z*-Isomere aufgrund der charakteristischen, unterschiedlichen Verschiebungen des jeweiligen Oximprotons an der C-N-Doppelbindung und des Protons am direkt benachbarten Stereozentrum deutlich zu erkennen. Die Integralverhältnisse dieser Protonen spiegeln ein *E/Z*-Verhältnis von 3:1 wider. Zum Anderen liegen sowohl das *E*- als auch das *Z*-Isomer bedingt durch zwei mögliche Ausrichtungen des Acylsubstituenten in jeweils zwei unterschiedlichen Konfigurationen vor, was zu einer Signaldopplung führt. Aus den Integralverhältnissen dieser Doppelsignale ergibt sich für das *E*-Isomer ein Verhältnis von etwa 5:6 und für das *Z*-Isomer im Verhältnis von etwa 5:7 bezogen auf die Rotationsisomere. Zusätzlich dazu sind die Signale durch komplexe Aufspaltungsmuster geprägt, die aufgrund der diastereotopen Positionen in diesem chiralen Molekül entstehen.

Die Signale der Hydroxyprotonen sind nur schwach ausgeprägt und liegen stark verbreitert im tiefen Feld bei einer Verschiebung von 8.61 ppm für die *Z*-Isomere bzw.

8.28 ppm für die *E*-Isomere. Die Signale des Oxim-Protons an der C-N-Doppelbindung liegen von den *E*-Isomeren deutlich weiter im Tieffeld bei 7.45 und 7.33 ppm als von den *Z*-Isomeren, dessen Signale bei 6.73 ppm überlagern. Etwas weiter im Hochfeld befinden sich die Signale des Protons am Stereozentrum, wobei in diesem Fall die Signale des *Z*-Isomers bei 5.23 und 5.06 ppm ins Tieffeld verschoben gegenüber denen des *E*-Isomers bei 4.76 und 4.63 ppm liegen. Die Signale der Methylenprotonen des Acylsubstituenten von allen vier Isomeren überlagern in einem Verschiebungsbereich zwischen 4.14 und 3.96 ppm. Schließlich resonieren auch die restlichen sechs Methylenprotonen der vier Isomere als überlagerte Signalsätze bei Verschiebungen zwischen 3.70 und 3.55 ppm und zwischen 2.35 und 1.87 ppm. Die konkrete Zuordnung der Signale gelang unter Zuhilfenahme von Spektren aus 2D-NMR-Experimenten. Auch die Messung einer hochauflösenden Masse mit nur geringen Abweichungen von 1.99 ppm vom berechneten Wert bestätigt die erfolgreiche Bildung des bisher nicht in der Literatur beschriebenen Aldoxims ((*S*)-*E/Z*-**137**).

Die letzte Reaktion der angestrebten alternativen Vildagliptinsyntheseroute bestand in der Dehydratisierung des Prolinaloxims (*S*)-*E/Z*-**137** zur Ausbildung des Nitrilschlüsselbausteins (*S*)-**132**, der gleichfalls als vorletzte Stufe in der herkömmlichen Syntheseroute des Wirkstoffs (*S*)-**124** von *Novartis Pharma* vorkommt.<sup>[266]</sup> Da die biokatalytische Dehydratisierung von Aldoximen mit vergleichbarer Molekülstruktur fehlschlug (vgl. Abbildung 4.28), wurde für diesen Fall die etablierte Kupfer-katalysierte Methode verwendet (Schema 4.42).



Schema 4.42: Metall-katalysierte Dehydratisierung von *E/Z*-*N*-Chloracetyl-L-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**137**) zu (*S*)-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**132**) mit Cu(OAc)<sub>2</sub> und MeCN.

Unter den üblichen Reaktionsbedingungen mit 5 mol% des Katalysators Kupfer<sup>II</sup>-Acetat in siedendem Acetonitril wurde nach einer Reaktionszeit von 21 h mittels DC-Reaktionskontrolle ein vollständiger Umsatz des Prolinaloxims (*S*)-*E/Z*-**137** ermittelt. In diesem Fall war die Isolierung des Produkts mittels Säulenchromatographie so effektiv, dass das literaturbekannte<sup>[306]</sup> Produkt (*S*)-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**132**) mit einer sehr hohen Ausbeute von 96% erhalten wurde. Jedoch konnte das zur Isolierung verwendete Lösungsmittel Ethylacetat auch durch intensives Trocknen des isolierten Materials im Hochvakuum nicht vollständig vom Produkt entfernt werden, wie die <sup>1</sup>H-NMR-Analytik bestätigte (Abbildung 4.37). Der Größenvergleich der Integrale der Produktsignale mit den Integralen der Ethylacetatsignale ergab unter Berücksichtigung der jeweiligen molaren Massen ein Anteil von ~7% Ethylacetat. Dementsprechend liegt das Nitril (*S*)-**132** mit einer Reinheit von ~93% vor.

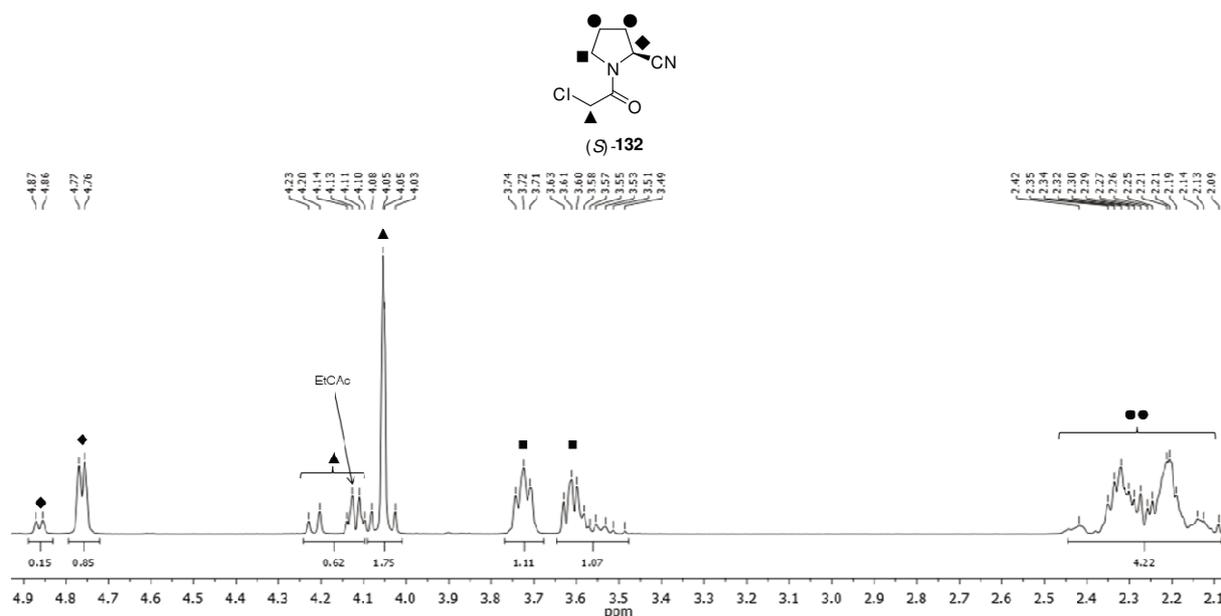


Abbildung 4.37: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von (*S*)-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**132**) aus der Kupfer-katalysierten Dehydratisierung von *E/Z*-*N*-Chloracetyl-L-Prolinalexim ((*S*)-*E/Z*-**137**) in CDCl<sub>3</sub> mit Zuordnung der Signale.

Auch in dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Nitrils (*S*)-**132** manifestiert sich die Existenz von zwei Konfigurationsisomeren, die durch die unterschiedliche räumliche Ausrichtung des Acylsubstituenten vorliegen. So ergeben sich wie in den vorherigen Spektren für einige der Protonen doppelte Signalsätze, in diesem Fall in einem Verhältnis von etwa 1:6. Die Chiralität des Moleküls bewirkt aufgrund der diastereotopen Protonen eine zusätzliche Aufspaltung der Signale. Das Proton am Stereozentrum erzeugt dementsprechend zwei Signalsätze bei 4.87 und 4.77 ppm. Weiter im Hochfeld resonieren die Methylenprotonen des Acylsubstituenten im Bereich zwischen 4.23 und 4.03 ppm, in dem auch das Quartett der Methylengruppe des Ethylacetatrückstands liegt. Auch die Ringprotonen in direkter Nachbarschaft zum Stickstoffatom erzeugen zwei Signalsätze bei 3.73 bzw. bei 3.57 ppm. Die restlichen vier Methylenprotonen resonieren im Hochfeld und überlagern als Multipletts zwischen 2.44 und 2.11 ppm.

Analog zu den Ergebnissen aus der Synthesesequenz für die Darstellung der mit einer Boc-Gruppe versehenen Modellverbindungen (*S*)- und (*R*)-**141**, die unter Retention der Stereoinformation gebildet wurden, ist auch für die Synthese von (*S*)-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**132**) zu erwarten, dass auf der gewählten Darstellungsrouten keine Racemisierung am Stereozentrum stattfand. Zwar wurde für das Nitril (*S*)-**132** keine geeignete HPLC- bzw. GC-Methode gefunden, mit der die Enantiomerenreinheit nachgewiesen werden konnte, jedoch wird die These gestützt durch die Messung der optischen Rotation, die einen spezifischen Drehwinkel von  $\alpha_D^{20} = -147^\circ$  ( $c = 1.01$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) ergab. So war die Darstellung des Schlüsselbausteins (*S*)-**132** für die Synthese von Vildagliptin (*S*)-**124** auf dem neu erarbeiteten Reaktionspfad insgesamt erfolgreich, wengleich für die einzelnen Reaktionsschritte durchaus noch Optimierungspotential vorhanden ist. Die Ergebnisse zur alternativen Vildagliptinsynthese wurden in einer Publikation veröffentlicht.<sup>[307]</sup>

## 4.4 Ausblick

Die biokatalytische Dehydratisierung von chiralen Aldoximen mit Oxds wurde als Cyanid-freie Alternative zur Darstellung von chiralen Nitrilen erfolgreich angewandt. Auf diese Weise konnten arylaliphatische, offenkettige und alicyclische Substrate umgesetzt werden, teilweise sogar mit hoher Stereoselektivität. Aus diesen Ergebnissen kristallisierte sich eine Leitstruktur für eine besonders effektive Nitrilsynthese heraus. Arylaliphatische Aldoxime, die am Stereozentrum in  $\alpha$ -Position zur Oximfunktionalität einen kleinen Substituenten, wie eine Methylgruppe und einen großen, starren Substituenten, wie einen Phenylrest, tragen, wurden mit besonders hoher Selektivität umgesetzt. In Abhängigkeit von der *E/Z*-Isomerie wurde in einigen Fällen sogar ein Wechsel der Enantiopräferenz beobachtet, sodass das *E*-Oxim bevorzugt das (*S*)-Nitril und das *Z*-Oxim bevorzugt das (*R*)-Nitril ausbildete. Diese Ergebnisse stellen eine interessante Grundlage für eine weiterreichende Forschung auf dem Gebiet der Cyanid-freien Nitrilsynthese mit Oxds dar. Für einen effektiven Syntheseprozess im größeren Maßstab kann die von den Oxds tolerierte Substratkonzentration auf der einen Seite möglicherweise durch die Verwendung eines geeigneten Kosolvenz erhöht werden. Auf der anderen Seite ist aber auch die Reduzierung der notwendigen Enzymmenge ein relevanter Faktor für großmaßstäbige Biotransformation mit Oxds. Hierzu kann sowohl ein Screening von möglicherweise aktiveren bzw. stabileren Mutanten als auch eine Immobilisierung der bisher immer in Form von Biofeuchtmasse eingesetzten Enzyme hilfreich sein. Auch die Rückintegration der Synthesesequenz zur Darstellung relevanter Aldehyde, beispielsweise durch Hydroformylierung von Alkenen, stellt hinsichtlich der Substratzugänglichkeit einen spannenden Forschungsansatz dar.

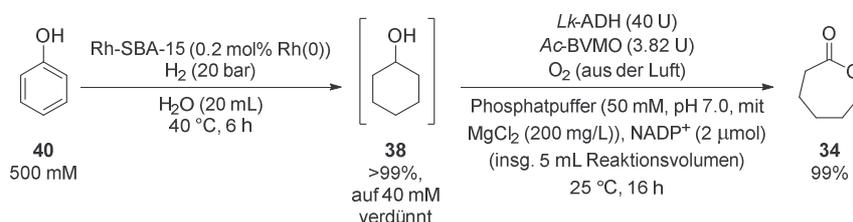
Um das interessante Phänomen der enantiospezifischen Nitrilbildung in Abhängigkeit von der *E/Z*-Konfiguration der Substrate detailliert verstehen zu können, kann ein Computermodeling mit genauer Betrachtung der Enzym-Substrat-Interaktionen möglicherweise eine Erklärung für dieses Verhalten liefern. Das auf diese Weise gewonnene Verständnis würde wiederum dazu beitragen, die Oxds mittels gezielter Mutation noch besser maßschneidern zu können, um auch Aldoxime mit einer anderen Molekülstruktur mit hoher Aktivität und möglichst selektiv umzusetzen.

Für die Synthese des Wirkstoffs Vildagliptin gegen *Diabetes mellitus* Typ II wurde aufbauend auf den Ergebnissen zur Cyanid-freien Nitrilsynthese ein alternativer Reaktionspfad entwickelt, bei dem auf die Verwendung verschiedener gefährlicher und teratogener Chemikalien, wie Dimethylformamid und Phosphoroxychlorid, verzichtet werden kann. Zwar war die Verwendung von Oxds zur Ausbildung eines Nitrilschlüsselbausteins nicht erfolgreich, jedoch eignete sich auch die Kupfer-katalysierte Methode zur Dehydratisierung von Aldoximen in diesem Fall als eine gute, umweltfreundlichere Alternative. Ausgehend von enantiomerenreinem L-Prolinmethylester, der als *chiral pool*-Baustein gut verfügbar ist, wurde die direkte

Vorstufe von Vildagliptin in einer fünfstufigen Synthesesequenz erfolgreich synthetisiert. Ohne Optimierung der Einzelschritte wurde der Baustein allerdings bisher nur in einer geringen Gesamtausbeute von ~4% erhalten, wobei hierzu vor allem die erste Stufe der Route, eine Metall-katalysierte Hydrierung, mit einer bisher nicht optimierten Ausbeute von 25% signifikant beiträgt. Durch Optimierung der einzelnen Teilschritte hinsichtlich Raum-Zeit-Ausbeute und gegebenenfalls auch über eine Kombination mehrerer Schritte in einem sequenziellen Modus oder im Eintopfverfahren sollten eine Erhöhung der Gesamtausbeute und eine Effektivierung der alternativen Syntheseroute möglich sein. Ein Verzicht auf die Isolierung der einzelnen Zwischenstufen mittels Säulenchromatographie, die für eine umfassende Analytik der teils in der Literatur noch nicht bekannten Verbindungen unerlässlich war, sollte den Reaktionspfad zudem durch Abfallreduzierung und Zeiteinsparung noch effektiver werden lassen.

## 5 Zusammenfassung

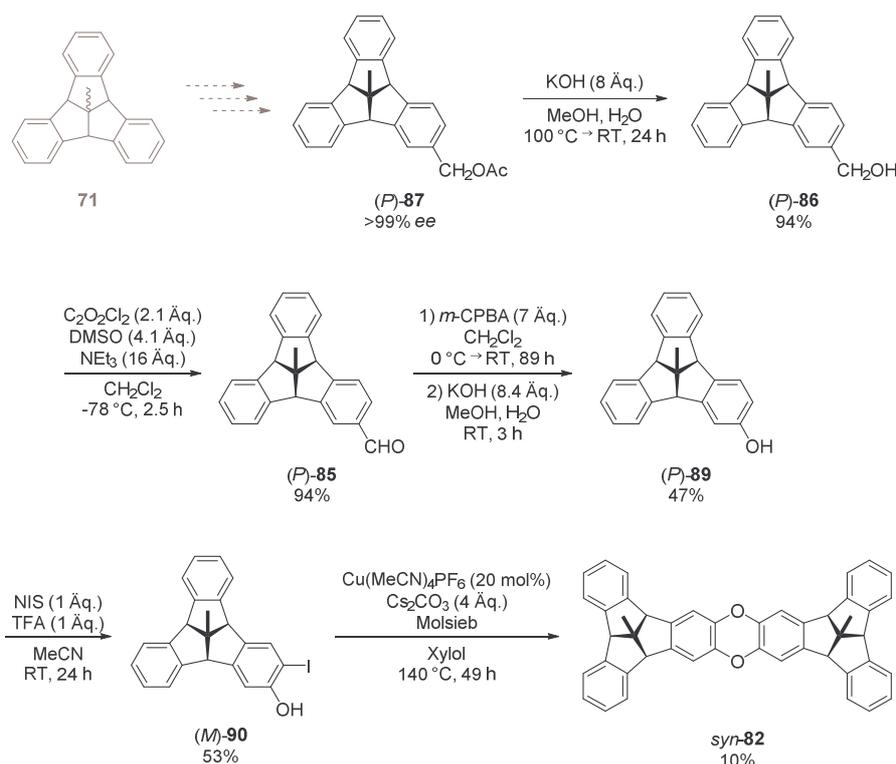
In dieser Arbeit wurden unterschiedliche Aspekte der Biokatalyse mit verschiedenen Fragestellungen adressiert. Im ersten Teil lag der Fokus auf dem Aspekt der Kombination von Bio- und Chemokatalyse zur Synthese der Bulkchemikalie  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**), einem Monomerbaustein für die Kunststoffherstellung. Dabei gelang es, die Metall-katalysierte Hydrierung von Phenol (**40**) mit der kürzlich etablierten enzymatischen Oxidationskaskade von Cyclohexanol (**38**) über Cyclohexanon (**39**) zu  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) in eleganter Weise zu verknüpfen (Schema 5.1).



Schema 5.1: Zweistufenprozess zur Darstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) aus Metall-katalysierter Hydrierung von Phenol (**40**) und enzymatischer Doppeloxidation der Zwischenstufe Cyclohexanol (**38**) ohne Aufarbeitung der Reaktionsmischung aus der Hydrierung.

In einem Katalysatorscreening für die Phenolhydrierung zeigte sich, dass Phenol (**40**) mit einem Überdruck Wasserstoff und mit katalytischen Mengen von Rhodiumnanopartikeln, die in mesoporösem Kieselgel eingebettet sind (Rh-SBA-15), vollständig und selektiv zu Cyclohexanol (**38**) umgesetzt werden konnte. Da die Reaktion im Wässrigen ablief, konnte die wässrige Reaktionsmischung nach Entfernen des Katalysators durch simple Filtration ohne Isolierung der Zwischenstufe direkt in der Enzymreaktion eingesetzt werden. Die enzymatische Doppeloxidationskaskade lieferte unter den etablierten Reaktionsbedingungen mit dem Filtrat aus der Hydrierung und mit kommerziellem Cyclohexanol (**38**) nahezu identische Ergebnisse, bei denen  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) mit Umsätzen von 99% gebildet wurde. Im Hinblick auf die potentielle Zugänglichkeit von Phenol (**40**) aus Zucker oder Lignin deutet diese Reaktionskaskade eine alternative Syntheseroute zur Darstellung von  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) aus nachwachsenden Rohstoffen an.

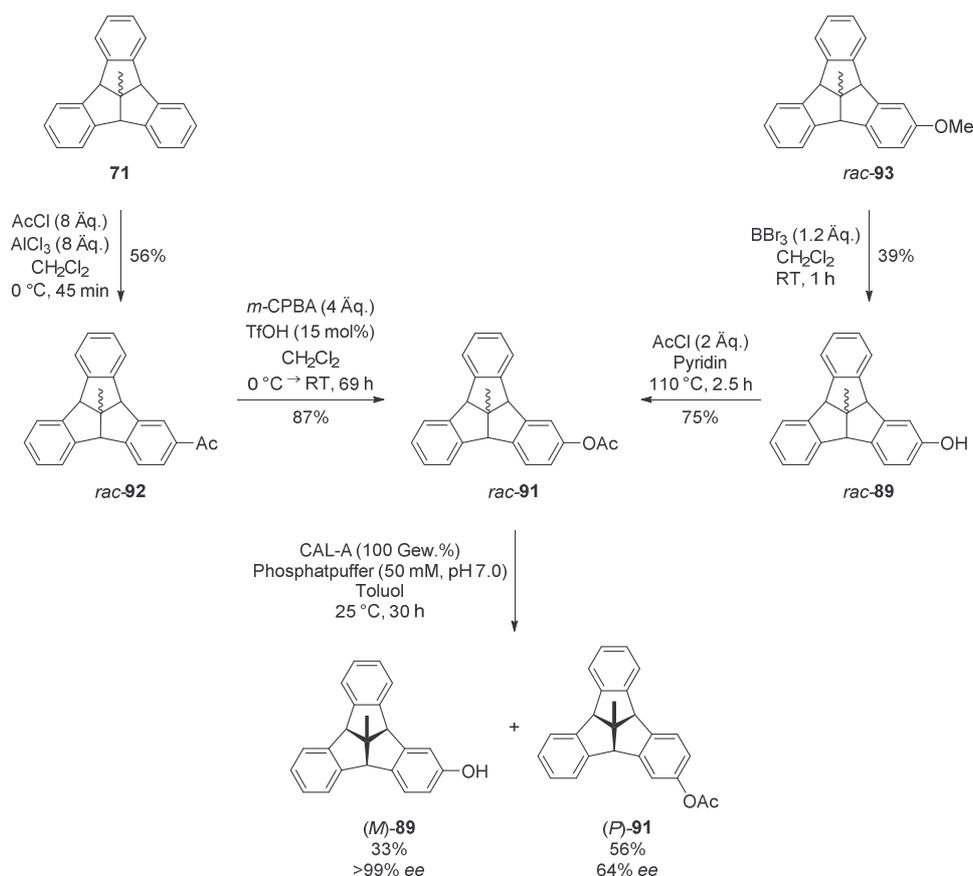
Der zweite Teil dieser Arbeit befasste sich im Bereich der Materialwissenschaften mit dem Aspekt der Verwendung von Biokatalyse zur gezielten Darstellung eines starren, dreidimensionalen Molekülgerüsts. Nach dem Konzept der chiralitätsunterstützten Synthese wurde erstmals das Molekülgerüst *syn*-**82**, welches aus zwei in *syn*-bikonkaver Orientierung über eine Dioxineinheit verknüpften, gewölbten Tribenzotriquinacen-Einheiten (TBTQ-Einheiten) besteht, erfolgreich dargestellt und charakterisiert (Schema 5.2).



Schema 5.2: Syntheseroute zur chiralitätsunterstützten Darstellung von *syn*-bikonkavem bis-TBTQ *syn*-82 ausgehend von *centro*-Methyl-TBTQ (71) mittels enzymatischer Racematspaltung.

Der dafür benötigte, enantiomerenreine TBTQ-Benzylester (*P*)-87 wurde zuvor durch Monofunktionalisierung von *centro*-Methyl-TBTQ (71), die zunächst zu einem racemischen Gemisch führte, über mehrere Stufen inklusive einer enzymatischen Racematspaltung mit einer Lipase synthetisiert. Durch Verseifung wurde der optisch reine TBTQ-Benzylalkohol (*P*)-86 erhalten, welcher mit einer *Swern*-Oxidation zuerst zum TBTQ-Aldehyd (*P*)-85 oxidiert und anschließend mittels *Baeyer-Villiger*-Oxidation und Verseifung der Formiatzwischenstufe in das TBTQ-Phenol (*P*)-89 überführt wurde. Eine aromatische Iodierung lieferte das TBTQ-Iodphenol (*M*)-90, mit dem über eine kreuzweise, doppelte *Ullmann*-artige Verknüpfung das Zielmolekül *syn*-82 mit ausschließlich *syn*-bikonkaver Anordnung der beiden TBTQ-Schalen erhalten wurde. Die Röntgenkristallstruktur bestätigt die dreidimensionale Geometrie dieses starren Molekülgerüsts.

Die Darstellung des optisch reinen Schlüsselbausteins TBTQ-Phenol (*M*)-89 gelang anschließend auch auf einer verkürzten Synthesesequenz (Schema 5.3). Wahlweise war die racemische Schlüsselkomponente, Acetoxy-TBTQ *rac*-91, ausgehend von dem unsubstituierten *centro*-Methyl-TBTQ (71) oder von Methoxy-TBTQ *rac*-93, dessen Methoxygruppe bereits beim Aufbau des TBTQ-Gerüsts vorhanden war, zugänglich. Auf der ersten Route wurde das TBTQ 71 durch Acetylierung in das Acetyl-TBTQ *rac*-92 überführt, welches mittels *Baeyer-Villiger*-Oxidation das Acetoxy-TBTQ *rac*-91 lieferte. Auf der zweiten Route wurde durch Etherspaltung das TBTQ-Phenol *rac*-89 erhalten, welches anschließend zu Acetoxy-TBTQ *rac*-91 verestert wurde.



Schema 5.3: Alternative Syntheserouten zur Darstellung von enantiomerenreinem TBTQ-Phenol (*M*)-89 ausgehend von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) oder Methoxy-TBTQ **rac-93**.

Ein Screening von 32 Lipasen und zwei Esterasen lieferte fünf Enzymformulierungen, die Acetoxy-TBTQ **rac-91** als Substrat für eine enzymatische Esterspaltung akzeptierten. Von diesen Enzymen setzte die immobilisierte *Candida antarctica* Lipase A (CAL-A) das (*M*)-Substrat besonders selektiv um, sodass das enantiomerenreine TBTQ-Phenol (*M*)-89 in einem optimierten Reaktionsprozess mit einer Ausbeute von 33% und einem exzellenten *ee*-Wert von >99% erhalten werden konnte.

Im dritten Teil dieser Arbeit konnte das Substratspektrum von Aldoximdehydratasen (Oxds), die Aldoxime enzymatisch in Nitrile überführen, um einige chirale Substrate erweitert werden. Dazu wurden die fünf Enzyme OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG verwendet, von denen jeweils mindestens eines einen Großteil der untersuchten, racemischen Substrate stereoselektiv umsetzte. Abhängig von der *E*- bzw. *Z*-Konfiguration der Aldoxime erfolgte die Dehydratisierung für einige Substrate dabei mit entgegengesetzter Enantiopräferenz, sodass mit dem gleichen Enzym bei Verwendung des *Z*-Aldoxims das andere Nitrilenantiomer bevorzugt gebildet wurde als bei Verwendung des *E*-Aldoxims. Aus dem Screening von neun strukturell unterschiedlichen Substraten sind die besten Ergebnisse aus den Biotransformationen mit guten Umsätzen und hohen Enantioselektivitäten in Abbildung 5.1 dargestellt. Die hohe Stereoselektivität konnte aufgrund der niedrigen Reaktionstemperatur von 8 °C erreicht werden, bei der die *E*-*Z*-Isomerisierung der Substrate unterdrückt wurde.

$$\text{R}-\text{C}(\text{R}_2)=\text{N}-\text{OH} \xrightarrow[\text{8 °C}]{\text{Oxidans, Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)}} \text{R}-\text{C}(\text{R}_2)\text{CN}$$

*rac-E/Z-122*  *(R/S)-123*

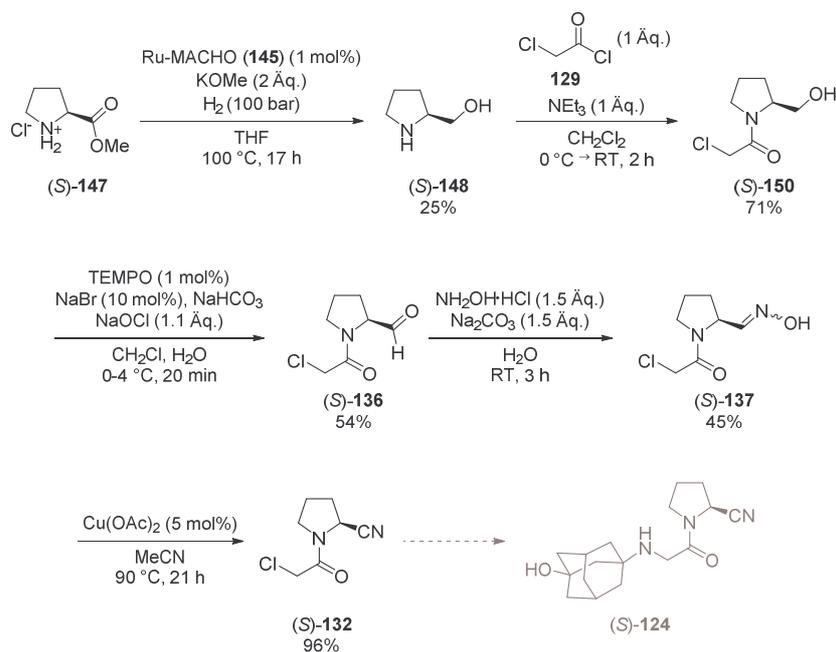
Substrat	R <sub>3C</sub>	Oxidans	Reaktionszeit	Umsatz	Produkt-ee
<i>E-122b</i>		B	45 min	26%	94% ( <i>S</i> )
<i>E-122c</i>		A	3 h	38%	43% (+)
<i>Z-122c</i>		B	3 h	33%	40% (-)
<i>E-122g</i>		RE	3 h	33%	97% ( <i>S</i> )
<i>Z-122g</i>		FG	3 h	8%	24% ( <i>R</i> )
<i>E-122h</i>		FG	3 h	14%	51% ( <i>S</i> )
<i>Z-122h</i>		RE	3 h	20%	91% ( <i>R</i> )
<i>E-122i</i>		B	3 h	5%	94% (+)
<i>Z-122i</i>		FG	3 h	31%	94% (-)

Abbildung 5.1: Ergebnisse aus den Biotransformationen verschiedener racemischer Aldoxime *rac-E/Z-122* mit Oxids (Auswahl mit guten Umsätzen und hohen Enantioselektivitäten). Bei unbekannter absoluter Konfiguration des Nitrilenantiomers geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im HPLC- bzw. GC-Chromatogramm an.

Während das arylaliphatische Nitril **123b** von allen Oxids und in besonderem Maße von OxidB mit hohen *ee*-Werten von bis zu 94% gebildet wurde, konnten mit dem acyclischen langkettigen Aldoxim **122c** nur moderate Enantiomerenüberschüsse mit *ee*-Werten um 40% erzielt werden. Allerdings zeigte sich hier eine entgegengesetzte Enantiopräferenz bei der Verwendung des *E*- bzw. des *Z*-Isomers. Weitere nicht aufgelistete, offenkettige und alicyclische Substrate, wie die Oxime der Monoterpenderivate Citronellal, Myrtenal und Perillaaldehyd, wurden entweder nur unselektiv oder aber gar nicht von den eingesetzten Oxids umgesetzt. Diese Ergebnisse führten zu der Vermutung, dass insbesondere die Aldoxime mit arylaliphatischer Molekülstruktur wie in **122b** mit hoher Enantioselektivität umgesetzt werden. Diese Vermutung wurde durch die Ergebnisse aus den Biotransformationen entsprechender Analoga, die in unterschiedlicher Position Chlor-substituiert sind, bestätigt. Mit moderaten bis guten Umsätzen zwischen 5% und 33% wurden die chlorierten Substrate **122g**, **122h** und **122i** selektiv umgesetzt, wobei die Nitrile **123g**, **123h** und **123i** mit *ee*-Werten zwischen 24% und 97% gebildet wurden. Durch die unterschiedliche Enantiopräferenz bei der Biotransformation wurden mit den *E*-konfigurierten Substraten bevorzugt die (*S*)-Nitrile und mit den *Z*-konfigurierten Substraten die (*R*)-Nitrile erhalten.

Schließlich konnte die zur Synthese der Referenznitrile verwendete Kupferkatalysierte Dehydratisierung von Aldoximen in eine alternative Syntheseroute zur

Darstellung von Vildagliptin ((*S*)-**124**), einem Wirkstoff gegen *Diabetes mellitus* Typ II, implementiert werden (Schema 5.4).

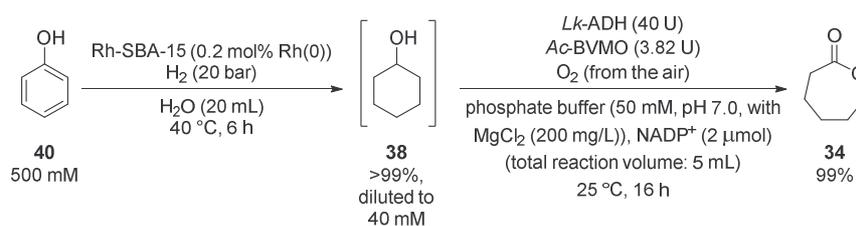


Schema 5.4: Alternative Syntheseroute zur Darstellung des Vildagliptin-Schlüsselbausteins (*S*)-**132** ausgehend von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) unter Verwendung einer Kupfer-katalysierten Oximdehydratisierung.

Dazu wurde eine Sequenz entwickelt, in der das *chiral pool*-Molekül L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) Metall-katalysiert zu L-Prolinol ((*S*)-**148**) reduziert wurde. Durch *N*-Acylierung wurde der Alkohol (*S*)-**150** erhalten, der mit einer TEMPO-Oxidation in den Aldehyd (*S*)-**136** überführt wurde. Aus diesem wurde das Aldoxim (*S*)-**137** generiert, welcher durch Kupfer-katalysierte Dehydratisierung das Nitril (*S*)-**132** als Schlüsselbaustein für die Vildagliptinsynthese lieferte.

## 6 Abstract

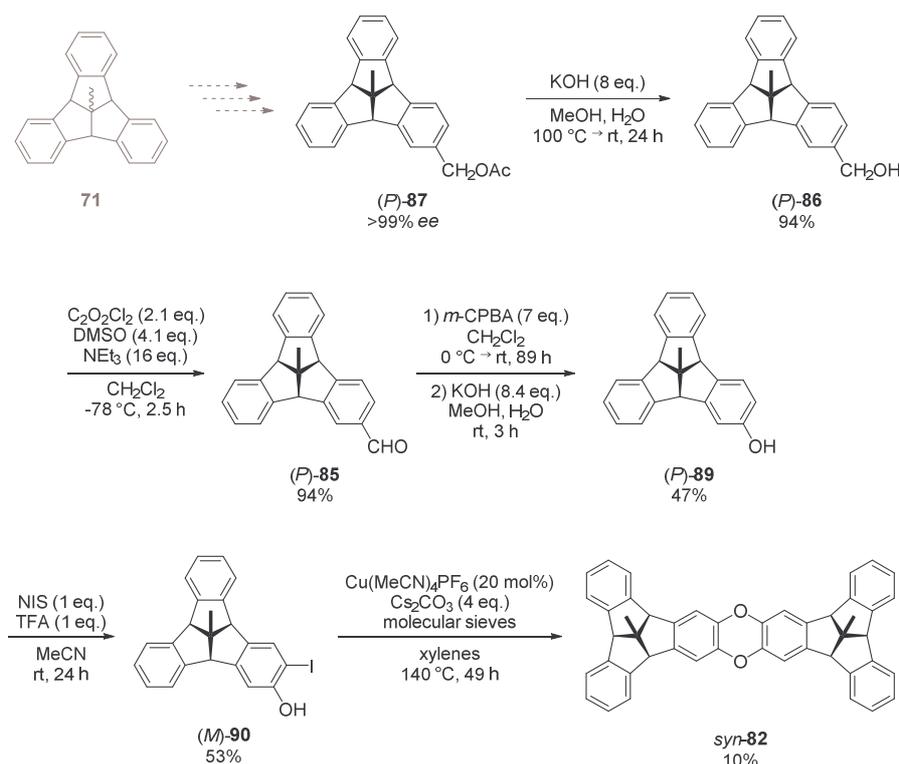
In this work different aspects of biocatalysis in various applications were addressed. In the first part, the combination of bio- and chemo-catalysis for the synthesis of the bulk chemical  $\epsilon$ -caprolactone (**34**), a monomer component for the production of plastics, was focused. It was possible to connect the metal-catalyzed hydrogenation of phenol (**40**) to the recently established enzymatic oxidation cascade of cyclohexanol (**38**) via cyclohexanone (**39**) to  $\epsilon$ -caprolactone (**34**) in an elegant manner (Scheme 6.1).



Scheme 6.1: Two-step process for the preparation of  $\epsilon$ -caprolactone (**34**), starting from the metal-catalyzed hydrogenation of phenol (**40**) in combination with the enzymatic double oxidation of the crude cyclohexanol (**38**) without workup of the reaction mixture from the hydrogenation.

A catalyst screening for the hydrogenation revealed that phenol (**40**) could be transformed completely and selectively to cyclohexanol (**38**) with an excess of hydrogen and with catalytic amounts of rhodium nanoparticles which are embedded in mesoporous silica (Rh-SBA-15). Since the reaction proceeded in the aqueous phase, the aqueous reaction mixture could be used directly for the enzymatic reaction after removal of the catalyst by simple filtration without isolation of the intermediate. The enzymatic oxidation cascade delivered nearly identical results under the established reaction conditions using either the filtrate from the hydrogenation or commercial cyclohexanol (**38**), leading to conversions of 99% to  $\epsilon$ -caprolactone (**34**) in both cases. Regarding the potential accessibility of phenol (**40**) from sugar or lignin, this reaction cascade suggests an alternative synthetic pathway for the preparation of  $\epsilon$ -caprolactone (**34**) starting from renewable raw materials.

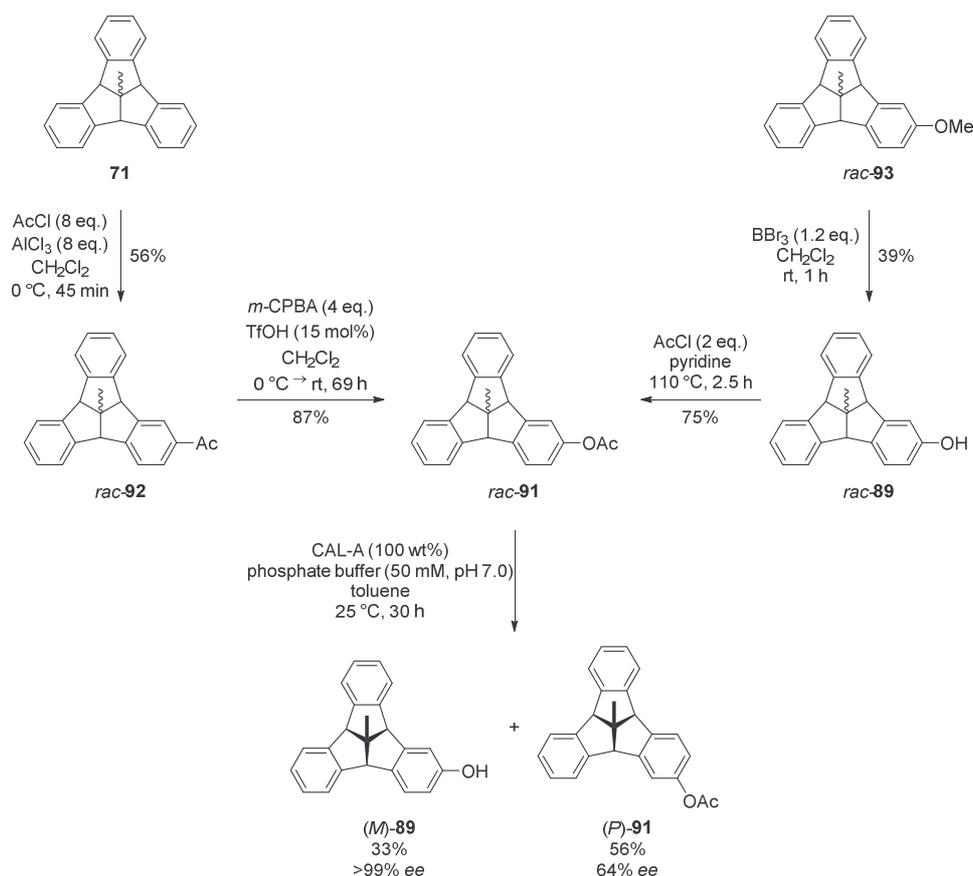
The application of biocatalysis to the field of material sciences for the construction of a rigid three-dimensional molecular framework was addressed in the second part of this thesis. Following the concept of chirality-assisted synthesis, the scaffold *syn*-**82**, consisting of two bowl-shaped tribenzotriquinacene (TBTQ) units linked in *syn*-bi-concave orientation *via* a dioxin unit, was successfully synthesized and characterized for the first time (Scheme 6.2).



Scheme 6.2: Synthetic route for the chirality-assisted preparation of *syn*-biconcave bis-TBTQ **syn-82** from TBTQ **71** by enzymatic resolution.

The required enantiomerically pure TBTQ-based benzyl ester **(P)-87** was previously synthesized in several steps by monofunctionalization of TBTQ **71**, including an enzymatic resolution with a lipase. Ester hydrolysis of the optically pure acetate **(P)-87** provided the benzylic alcohol **(P)-86**, which was then oxidized to TBTQ-aldehyde **(P)-85** *via Swern* oxidation. Subsequently, the aldehyde **(P)-85** was transformed into the hydroxy-TBTQ **(P)-89** by *Baeyer-Villiger* oxidation and hydrolysis of the intermediate formate. Aromatic iodination afforded the TBTQ-iodophenol **(M)-90**, which was converted into the target molecule **syn-82** with exclusively *syn*-bi-concave orientation of the two TBTQ bowls, using a twofold crosswise *Ullmann*-type coupling. The X-ray crystal structure confirms the three-dimensional geometry of this rigid molecular skeleton.

Furthermore, the optically pure key building block TBTQ-phenol **(M)-89** was successfully synthesized on a shorter reaction sequence (Scheme 6.3). Alternatively, the racemic key component, TBTQ-based aryl acetate **rac-91**, was accessible either from the unsubstituted TBTQ **71** or from the methoxy-TBTQ **rac-93**, which was prepared in presence of the methoxy functionality beforehand. On the first route, TBTQ **71** was acetylated to TBTQ-acetophenone **rac-92**, which provided the TBTQ-based ester **rac-91** by *Baeyer-Villiger* oxidation. On the second route, the hydroxy-TBTQ **rac-89** was obtained by ether cleavage and subsequent esterification to aryl acetate **rac-91**.



Scheme 6.3: Alternative synthetic routes for the preparation of enantiomerically pure TBTQ-phenol (*M*)-**89** from TBTQ **71** or from methoxy-TBTQ *rac*-**93**.

A screening of 32 lipases and two esterases provided five enzyme formulations that accepted TBTQ-based ester *rac*-**91** as a substrate for an enzymatic ester hydrolysis. Immobilized *Candida antarctica* lipase A (CAL-A) showed the best results. Thus, in an optimized reaction process, enantiomerically pure TBTQ-phenol (*M*)-**89** could be isolated in 33% yield and with excellent enantiomeric excess (>99% ee).

In the third part of this work, the substrate scope of aldoxime dehydratases (Oxds), which convert aldoximes enzymatically into nitriles, was extended by several chiral substrates. For this purpose, the five enzymes OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG and OxdFG were used, of which at least one of them was able to convert a large part of the racemic substrates stereoselectively. Depending on the *E* or *Z* configuration of the aldoximes, one or the other corresponding nitrile enantiomer was preferentially formed with the same enzyme. The best results from these biotransformations with good conversions and high enantioselectivities are shown in Figure 6.1 as an excerpt from the screening of nine structurally different substrates. The high stereoselectivities could be achieved by suppressing the *E*-*Z* isomerization of the substrates at low reaction temperatures of 8 °C.

$$\text{R}-\text{C}(\text{R}_2)=\text{N}-\text{OH} \xrightarrow[\text{8 } ^\circ\text{C}]{\text{Oxd, phosphate buffer (50 mM, pH 7.0)}} \text{R}-\text{C}(\text{R}_2)\text{CN}$$

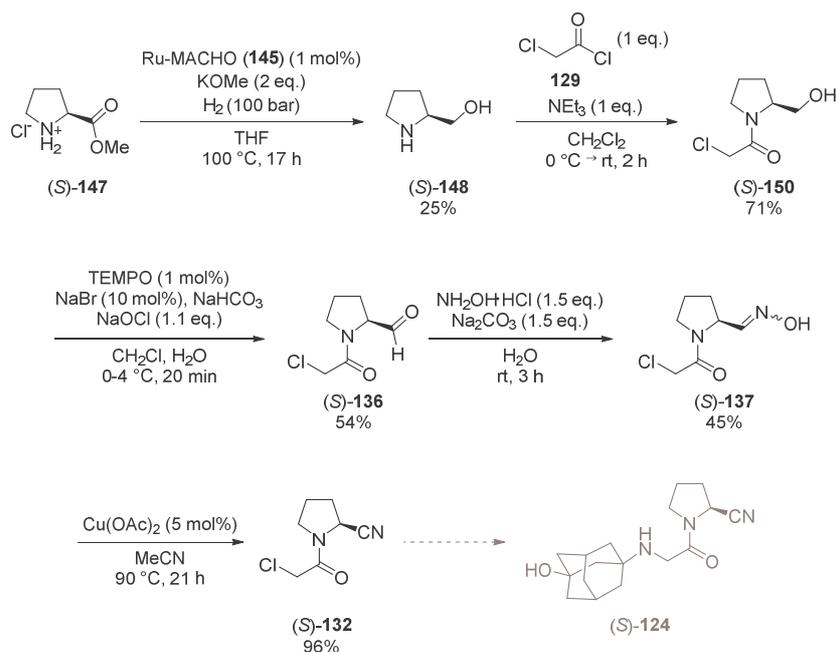
*rac-E/Z-122*  *(R/S)-123*

substrate	R <sub>3C</sub>	Oxd	reaction time	conversion	ee (product)
<i>E-122b</i>		B	45 min	26%	94% (S)
<i>E-122c</i>		A	3 h	38%	43% (+)
<i>Z-122c</i>		B	3 h	33%	40% (-)
<i>E-122g</i>		RE	3 h	33%	97% (S)
<i>Z-122g</i>		FG	3 h	8%	24% (R)
<i>E-122h</i>		FG	3 h	14%	51% (S)
<i>Z-122h</i>		RE	3 h	20%	91% (R)
<i>E-122i</i>		B	3 h	5%	94% (+)
<i>Z-122i</i>		FG	3 h	31%	94% (-)

Figure 6.1: Results from the biotransformations of various racemic aldoximes *rac-E/Z-122* with Oxds (selection with good conversions and high enantioselectivities). If the configuration of the nitrile enantiomer is unknown, the symbols (+) and (-) indicate the first or second signal in the HPLC or GC chromatogram.

While the aryl-aliphatic nitrile **123b** was produced by all Oxds, and in particular by OxdB, with high enantiomeric excesses (up to 94% *ee*), only moderate enantiomeric excesses (up to 43% *ee*) could be achieved with the acyclic long-chain aldoxime **122c**. However, the nitrile **123b** was formed with opposite enantioselectivity, depending on the *E* or *Z* configuration of the substrate. Other unlisted, acyclic long-chain and cyclic aliphatic substrates, such as the oximes derived from the monoterpenes citronellal, myrtenal, and perillaldehyde, have either been converted unselectively or were not accepted at all by the Oxds. These results led to the assumption that in particular those aldoximes with aryl-aliphatic molecular structure as in **122b** give high enantioselectivities. This assumption was confirmed by the results of the biotransformations of chloro-substituted aldoximes with analogue molecular structure. The chlorinated substrates **122g**, **122h**, and **122i** were converted selectively into the nitriles **123g**, **123h**, and **123i** with moderate to good conversions (5 to 33%) and with medium to high enantiomeric excesses (24 to 97% *ee*). Due to the different enantioselectivities, the (*S*)-nitriles were preferentially formed by the substrates with *E* configuration and the (*R*)-nitriles resulted from the substrates with *Z* configuration.

Finally, the copper-catalyzed dehydration of aldoximes used in the synthesis of the reference nitriles could be implemented in an alternative synthetic route for the preparation of vildagliptin ((*S*)-**124**), a drug against *diabetes mellitus* type II (Scheme 6.4).



Scheme 6.4: Alternative synthetic route for the preparation of the vildagliptin key building block (S)-132 starting from L-proline methyl ester hydrochloride ((S)-147) using a copper-catalyzed oxime dehydration.

For this purpose, a synthetic sequence was developed in which the chiral pool molecule L-proline methyl ester hydrochloride ((S)-147) was reduced to L-prolinol ((S)-148) by a metal-catalyzed hydrogenation. N-acylation gave the alcohol (S)-150, which was then converted into the aldehyde (S)-136 by TEMPO oxidation. Subsequent formation of the aldoxime (S)-137 and copper catalyzed dehydration provided the nitrile (S)-132 as a key building block for the synthesis of vildagliptin ((S)-124) *via* an alternative synthetic pathway.

## 7 Experimenteller Teil

### 7.1 Allgemeines

#### 7.1.1 Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien, Lösungsmittel und isolierten, teilweise immobilisierten Enzyme wurden von den Firmen *Acros Organics*, *Alfa Aesar*, *Amano*, *C-LEcta*, *Carl Roth*, *Enzymicals*, *Fisher*, *Fluka*, *Fluorochem*, *J. T. Baker*, *Merck*, *Sigma Aldrich*, *Strem*, *TCI* und *VWR* bezogen. Die Aldehyde wurden vor der Verwendung frisch destilliert, alle anderen Chemikalien wurden wie erhalten eingesetzt. Die Lösungsmittel wurden in p.A.-Qualität ohne weitere Aufreinigung verwendet. Für feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden über Molsieb getrocknete, mit Septum verschlossene Lösungsmittel eingesetzt. Für die Säulenchromatografie wurden technisches Ethylacetat und destilliertes Cyclohexan verwendet. Die Gene der Enzyme OxdRE, OxdRG und OxdFG wurden in Codon-optimierter Form in pET28a-Plasmiden mit sechsfachem N-terminalen His-Tag von *GeneArt (Thermo Fisher Scientific)* bezogen. Das Gen des Enzyms Oxd-B befindet sich auf einem pUC 18-Vektor und wurde zusammen mit dem Gen des Enzyms Oxd-A in einem pET28a-Plasmid mit C-terminalem His-Tag vom Arbeitskreis *Asano* (Universität Toyama, Japan) zur Verfügung gestellt. Die ADH *Lk*-(R)ADH(-) stammt aus dem Arbeitskreis *Hummel* (Forschungszentrum Jülich).

#### 7.1.2 Geräte

$^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden bei Raumtemperatur mit den FT-NMR-Spektrometern „DRX 500“, „Avance III 500“ und „Avance III 500 HD“ ( $^1\text{H}$ : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 125 MHz) sowie mit dem Spektrometer „Avance 600“ ( $^1\text{H}$ : 600 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 150 MHz) von *Bruker* aufgenommen. Alle Proben wurden als Lösung in  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  oder  $\text{D}_2\text{O}$  aufgenommen. Die Spektren wurden auf die Lösungsmittelsignale kalibriert ( $\text{CDCl}_3$ :  $^1\text{H}$ : 7.26 ppm /  $^{13}\text{C}$ : 77.16 ppm;  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ :  $^1\text{H}$ : 5.32 ppm /  $^{13}\text{C}$ : 54.00 ppm;  $\text{DMSO-}d_6$ :  $^1\text{H}$ : 2.50 ppm /  $^{13}\text{C}$ : 39.52 ppm;  $\text{CD}_3\text{OD}$ :  $^1\text{H}$ : 3.31 ppm /  $^{13}\text{C}$ : 49.00 ppm;  $\text{D}_2\text{O}$ :  $^1\text{H}$ : 4.79 ppm). Die Kopplungskonstanten sind in Hz und die Spinmultiplizitäten sind als s (Singulett), bs (breites Singulett), d (Dublett), dd (Dublett eines Dubletts), t (Triplet), dt (Dublett eines Triplets), q (Quartett), qui (Quintett), sex (Sextett) und m (Multipllett) angegeben. Die Angabe der verhältnismäßigen Integralgröße von Signalen im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum erfolgt durch die Kennzeichnung maj (major, größeres Signal) und min (minor, kleineres Signal).

ESI-Massenspektren wurden mit dem Ionenfallen-Massenspektrometer „Esquire 3000“ von *Bruker Daltonic* im positiven oder negativen Modus aufgenommen. Die Aufnahme von EI-Massenspektren erfolgte am Sektorfeld-Massenspektrometer

„AutoSpec X“ von *Fisons*. Die Bestimmung der Feinmassen wurde an dem TOF-LC-Massenspektrometer „6220“ von *Agilent* durchgeführt.

Die automatische Säulenchromatographie wurde mit der „Isolera One“ von *Biotage* durchgeführt. Es wurden Kieselgelkartuschen „SNAP Ultra“ mit 10 g, 25 g, 50 g oder 100 g Kieselgel der Qualität „HP-Sphere 25  $\mu\text{m}$ “ verwendet. Die Auftragung der Substanzen erfolgte entweder als Lösung direkt auf die Kartusche, oder als Lösung adsorbiert an Kieselgel-Samplers „SNAP Ultra“ mit 1 g, 3 g oder 10 g Kieselgel der Qualität „HP-Sphere 25  $\mu\text{m}$ “ oder aber als Feststoff adsorbiert an Kieselgel 60 (40-63  $\mu\text{m}$ ) über ein „Dry Load Vessel“. Es wurden Laufmittelgemische aus Ethylacetat und Cyclohexan oder MTBE und Cyclohexan mit unterschiedlichen Gradienten eingesetzt. *Reversed phase* Chromatographie erfolgte mit einer 30 g Kartusche „SNAP KP-C18-HS“, wobei die Substanz als Lösung direkt auf die Kartusche aufgetragen wurde. Hierfür wurde ein Laufmittelgemisch aus Wasser und Acetonitril mit unterschiedlichen Gradienten verwendet.

HPLC-Messungen wurden an zwei Gerätesystemen von *Jasco* (Pumpen PU-2080Plus, automatischer Rückdruckregler BP-2080Plus, Säulenthermostat CO-2060Plus, Multiwellenlängen-Detektor MD-2010Plus, Autosampler AS-2059-SFPlus und Entgaser DG-2080-53) durchgeführt. Für *reversed phase* HPLC wurde die Säule Nucleodur c18htec von *Macherey-Nagel* mit einem Laufmittelgemisch aus Wasser und Acetonitril 70:30 (v/v), Fließgeschwindigkeiten von 1.0-1.5 mL/min und einer Säulentemperatur von 40 °C benutzt. Die Detektion der Substanzen erfolgte mit einem UV-Detektor bei den Wellenlängen 210 nm und 220 nm. Für chirale HPLC-Messungen wurden die Säulen Chiralcel OJ-H und Chiralcel OB-H von *Daicel* verwendet. Als Laufmittel kamen Lösungsmittelgemische aus überkritischem CO<sub>2</sub> und *iso*-Propanol sowie aus *n*-Hexan und *iso*-Propanol unterschiedlicher Zusammensetzung, angegeben in Volumenverhältnissen (v/v), mit Fließgeschwindigkeiten von 0.7-2.0 mL zum Einsatz. Die Temperatur der Säulen betrug 20 °C. Die Detektion der Substanzen erfolgte mit einem UV-Detektor bei den Wellenlängen 210 nm und 220 nm.

GC-Chromatogramme wurden an den drei Gaschromatographen „GC-2010“ von *Shimadzu* mit den Säulen „BP5MS“ (0.25 mm ID x 30.0 m L, 0.25  $\mu\text{m}$  film) von *SGE*, „BGB-174“ (0.25 mm ID x 30.0 m L, 0.25  $\mu\text{m}$  film) von *BGB*, „Lipodex E“ (0.25 mm ID x 25.0 m L, 0.25  $\mu\text{m}$  film) von *Macherey-Nagel* und „CP-Chirasil-Dex CB“ (0.32 mm ID x 25 m L, 0.25  $\mu\text{m}$  film) von *Agilent* aufgenommen. Als Trägergas diente N<sub>2</sub>.

Drehwertmessungen wurden an dem Polarimeter „Modell 341“ von *Perkin Elmer* durchgeführt. Die Messungen erfolgten in einer Küvette mit einer Schichtdicke von 1 cm bei Raumtemperatur und bei einer Wellenlänge von 589 nm (Natrium-D-Linie). Die Substanzen wurden als Lösungen mit Konzentrationen von ~1 g/100 mL in Dichlormethan vermessen.

CD-Spektren wurden an dem CD-Spektrometer J-810 von *Jasco* gemessen.

IR-Spektren wurden an dem FT-IR-Spektrometer mit ATR-Zelle „Thermo 380“ von *Nicolet* aufgenommen. Die Substanzen wurden unverdünnt als Feststoff oder Flüssigkeit vermessen.

Elementaranalysen wurden an dem „EURO EA Elemental Analyser“ durchgeführt.

Schmelzpunkte wurden mit einem „Melting Point B-540“ von *Büchi* bestimmt und sind unkorrigiert.

Die Röntgenstruktur wurde an dem Rigaku Diffraktometer von *SuperNova* gelöst.

Hochdruck-Experimente wurden in dem Autoklaven-System „Limbo“ von *Büchi* durchgeführt. Der Stahlreaktor mit der Reaktionsmischung wurde vor der Beladung mit H<sub>2</sub> drei Mal mit 50 bar N<sub>2</sub> gespült. Nach der Reaktion wurde überschüssiges H<sub>2</sub> abgelassen und der Reaktor wurde vor dem Öffnen drei Mal mit 50 bar N<sub>2</sub> gespült.

Zum Kühlen von Reaktionsgefäßen wurde der Kryostat „CF31“ von *Julabo* verwendet.

Kleine Reaktionsansätze wurden mit den Thermomixern „comfort“ von *Eppendorf* und „MT 100“ von *Universal Labortechnik* in *Eppendorf*-Gefäßen geschüttelt und temperiert. Für alle weiteren Reaktionen wurden die Magnetrührer-Heizplatten „RCT basic“ und „RCT classic“ von *IKA* zum Rühren und Erhitzen eingesetzt.

Zur Homogenisierung wurden Suspensionen im Ultraschallbad „Sonorex RK100“ von *Bandelin* behandelt.

Die UV-Absorption von NAD(P)<sup>+</sup> bzw. NAD(P)H in Ansätzen zur Aktivitätsbestimmung der Alkoholdehydrogenase *Lk*-(R)ADH(-) und der *Baeyer-Villiger*-Monooxygenasen *Ac*-BVMO und *A<sub>r</sub>*-BVMO wurde mit dem UV/Vis-Spektrophotometer „V-630“ von *Jasco* bestimmt.

Zur Verringerung von Mulmschichten beim Extrahieren und zur schnellen Sedimentation von (Enzym-)Suspensionen wurden die Zentrifugen „CT 15RE“ von *himac* und „Multifuge 3S-R“ von *Heraeus* verwendet.

Extraktionen im 1-15 mL-Maßstab wurden in *Eppendorf*-Gefäße oder *Falcon*-Tubes am „Analog Vortex Mixer“ von *VWR* durchgeführt. Ebenso wurde der Mixer zum Aufschlämmen von (Enzym-)Suspensionen eingesetzt.

Definierte Substanzmengen wurden an den Waagen „CPA225D“ und „MC1“ von *Sartorius* abgewogen.

### 7.1.3 Durchführung der Experimente

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Reaktionen unter Umgebungsatmosphäre (Raumtemperatur, Luft) ausgeführt. Luft- bzw. feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden unter Verwendung der Standard-Schlenk-Technik unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit durchgeführt. Als Inertgas wurde durch Calciumchlorid und Trockenperlen geleitetes Argon verwendet. Das Vakuum wurde mit der Drehschieberpumpe „RZ 2.5“ von *Vacuubrand* erzeugt.

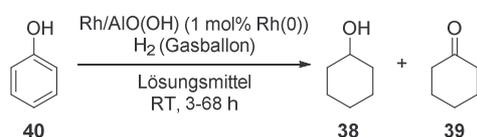
Das Entfernen von Lösungsmitteln erfolgte am Rotationsverdampfer „Rotavapor R-200“ von *Büchi* bei vermindertem Druck, erzeugt durch die Membran-Vakuumpumpe „MZ 2C“ von *Vacuubrand*, und bei einer Wasserbadtemperatur von 40 °C im Heizbad „Heating Bath B-490“ von *Büchi*, wenn nicht anders angegeben. Weiterhin anhaftende Lösungsmittel wurden im Hochvakuum entfernt, wenn nicht anders beschrieben.

Für die analytische Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel 60 beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator F<sub>254</sub> von *Merck* und von *Macherey-Nagel* verwendet. Weiterhin wurden Aluminiumfolien beschichtet mit Kieselgel 60 RP-18 mit Fluoreszenzindikator F<sub>254</sub> von *Merck* für *reversed phase* Dünnschichtchromatographie eingesetzt. Die Flecken wurden unter UV-Licht bei Wellenlängen von 254 nm und 366 nm oder durch Eintauchen der DC-Folien in Iod-Dampf, Kaliumpermanganat-Lösung oder Molybdätosphorsäure-Lösung detektiert.

Alternativ zu der automatischen Säulenchromatographie von *Biotage* wurden manuelle Säulenchromatographien mit Kieselgel 60 (Korngröße 40-63 µm) durchgeführt. Die Zusammensetzungen der Lösungsmittelgemische sind in Volumenverhältnissen (v/v) angegeben.

## 7.2 Hydrierung von Phenol

### 7.2.1 Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Park et al.* durchgeführt.<sup>[110]</sup> In einem Tischautoklav mit Glasreaktor wurde Phenol (**40**) (94.1 mg, 1.00 mmol) entweder mit *n*-Hexan (2 mL) oder mit Wasser (2 mL) versetzt. Nach Zugabe des Katalysators Rh/AlO(OH) (5 Gew.% Rh, 20.0 mg, 1 mol% Rh(0)) wurde der Autoklav verschlossen und unter Rühren evakuiert, bis das Lösungsmittel leicht siedete. Daraufhin wurde der Autoklav mit Argon belüftet, erneut evakuiert und durch Aufsetzen eines H<sub>2</sub>-Ballons mit H<sub>2</sub> befüllt. Nach unterschiedlicher Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Entfernen des Ballons und Öffnen des Autoklaven beendet. Je nach verwendetem Lösungsmittel wurde die Reaktionsmischung unterschiedlich aufgearbeitet:

#### a) Aufarbeitung der *n*-Hexan-haltigen Reaktionsmischung

Die Reaktionsmischung wurde zum Entfernen des Katalysators durch eine Fritte (Porengröße 4) filtriert und diese mit Ethylacetat (6 mL) nachgespült. Zum Recycling des Katalysators wurde dieser an der Luft getrocknet. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde per <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.1 dargestellt.

## b) Aufarbeitung der wässrigen Reaktionsmischung

Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser (5 mL) und Ethylacetat (6 mL) versetzt und in einem *Falcon*-Tube am Vortexer extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer Pipette abgenommen, um die wässrige Phase erneut mit Ethylacetat (6 mL) auf die gleiche Weise zu extrahieren. Die organischen Phasen wurden vereint und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde per  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.1 dargestellt. Zum Recycling des Katalysators wurde die wässrige Phase zentrifugiert (14000 U/min, RT, 10 min). Der Feststoff wurde durch Abdekantieren von der Flüssigkeit getrennt und anschließend an der Luft getrocknet.

Tabelle 7.1: Reaktionsbedingungen für die Hydrierung von Phenol (**40**) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav und per  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen.

Solvenz	Reaktionszeit [h]	Anteil	Anteil	Anteil
		Phenol [%]	Cyclohexanon [%]	Cyclohexanol [%]
<i>n</i> -Hexan	16	45	44	11
<i>n</i> -Hexan	68	2	2	96
Wasser	3	70	22	8
Wasser	65	55	26	19

Phenol (**40**):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.24 (dd,  $^3J = 8.5$  Hz,  $^3J = 7.5$  Hz, 2 H,  $\mathbf{H}^{meta}$ ), 6.91 (t,  $^3J = 7.4$  Hz, 1 H,  $\mathbf{H}^{para}$ ), 6.83 (dd,  $^3J = 8.6$  Hz,  $^4J = 1.0$  Hz, 2 H,  $\mathbf{H}^{ortho}$ ), 5.30 (s, 1 H, OH).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[114]</sup>

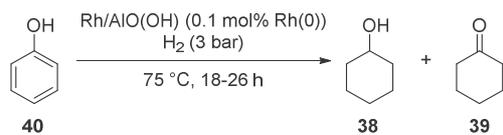
Cyclohexanon (**39**):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 2.31 (t,  $^3J = 6.7$  Hz, 4 H, C(O)CH<sub>2</sub>), 1.89-1.82 (m, 4 H, C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.75-1.69 (m, 2 H, C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[115]</sup>

Cyclohexanol (**38**):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 3.60 (m, 1 H, C(OH)H), 1.89-1.82 (m, 2 H, C(OH)CH<sup>*äq*</sup>), 1.75-1.69 (m, 2 H, C(OH)CH<sub>2</sub>CH<sup>*äq*</sup>), 1.53 (m, 1 H, C(OH)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sup>*äq*</sup>), 1.33-1.12 (m, 5 H, C(OH)CH<sup>*ax*</sup>CH<sup>*ax*</sup>CH<sup>*ax*</sup>).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[116]</sup>

### 7.2.2 Lösungsmittelfreie Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Park et al.* durchgeführt.<sup>[110]</sup> In einem Tischautoklav mit Glasreaktor wurde Phenol (**40**) (1.88 g, 20.0 mmol) vorgelegt. Nach Zugabe des Katalysators Rh/AlO(OH) (5 Gew.% Rh, 41.0 mg, 0.1 mol% Rh(0)) wurde der Autoklav verschlossen und unter Rühren evakuiert. Daraufhin wurde der Autoklav mit Argon belüftet, erneut evakuiert und mit H<sub>2</sub> (3 bar) befüllt. Die Reaktionsmischung wurde auf 75 °C erhitzt. Nach unterschiedlicher Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Abkühlen auf Raumtemperatur und Öffnen des Autoklaven beendet. Die Reaktionsmischung wurde durch eine Fritte (Porengröße 4) filtriert und der Rückstand mit Ethylacetat (5 mL) gewaschen. Zum Recycling des Katalysators wurde dieser an der Luft getrocknet. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde per <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.2 dargestellt.

Tabelle 7.2: Reaktionsbedingungen für die lösungsmittelfreie Hydrierung von Phenol (**40**) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav und per <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen.

Reaktionszeit	Anteil Phenol	Anteil Cyclohexanon	Anteil Cyclohexanol
[h]	[%]	[%]	[%]
18	71	20	9
26	69	20	11

Phenol (**40**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.23 (dd, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2 H, **H<sub>meta</sub>**), 6.91 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 1 H, **H<sub>para</sub>**), 6.83 (dd, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.0 Hz, 2 H, **H<sub>ortho</sub>**), 5.23 (s, 1 H, **OH**).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[114]</sup>

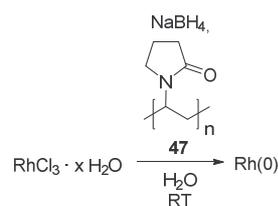
Cyclohexanon (**39**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 2.31 (t, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, 4 H, C(O)**CH<sub>2</sub>**), 1.88-1.82 (m, 4 H, C(O)**CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 1.74-1.69 (m, 2 H, C(O)**CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[115]</sup>

Cyclohexanol (**38**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 3.60 (m, 1 H, C(OH)**H**), 1.88-1.82 (m, 2 H, C(OH)**CH<sup>äq</sup>**), 1.74-1.69 (m, 2 H, C(OH)**CH<sub>2</sub>CH<sup>äq</sup>**), 1.53 (m, 1 H, C(OH)**CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sup>äq</sup>**), 1.32-1.15 (m, 5 H, C(OH)**CH<sup>ax</sup>CH<sup>ax</sup>CH<sup>ax</sup>**).

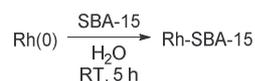
Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[116]</sup>

## 7.2.3 Synthese einer Suspension von Rh-Nanopartikeln in Wasser

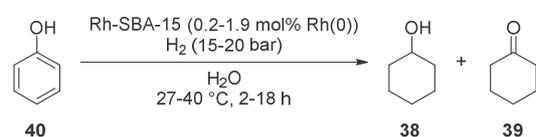


Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Bborali et al.* durchgeführt.<sup>[109]</sup> Polyvinylpyrrolidon (**47**) (0.02 g) wurde in H<sub>2</sub>O (100 mL) gelöst und NaBH<sub>4</sub> (0.10 g, 2.64 mmol) hinzugegeben. Diese farblose Lösung wurde unter Rühren schnell zu einer tiefroten Lösung aus RhCl<sub>3</sub> · x H<sub>2</sub>O (40 Gew.% Rh, 0.10 g, 0.4 mmol Rh) in H<sub>2</sub>O (100 mL) gegeben, wobei die Reaktionsmischung stark aufschäumte und ein schwarzer Niederschlag ausfiel. Die Suspension wurde direkt zur Einlagerung von Rh-Nanopartikeln in mesoporöses Kieselgel SBA-15 verwendet.

## 7.2.4 Synthese von Rh-SBA-15



Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Bborali et al.* durchgeführt.<sup>[109]</sup> Eine Suspension von SBA-15 (1.00 g) in H<sub>2</sub>O (50 mL) wurde bei Raumtemperatur 2 h kräftig gerührt. Unter Rühren wurde eine frisch erstellte wässrige Suspension von Rh-Nanopartikeln (40 mg bzw. 0.4 mmol Rh(0), 200 mL) hinzugegeben und die so erhaltene schwarze Suspension wurde bei Raumtemperatur 5 h kräftig gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch eine Fritte (Porengröße 4) filtriert und der Rückstand mit H<sub>2</sub>O (3 x 60 mL) gewaschen. Der schwarze Feststoff wurde im Trockenschrank 16 h bei 100 °C getrocknet. Es wurde Rh(0)-SBA-15 (1.00 g) als graubraunes, voluminöses, leichtes Pulver in einer Massenausbeute von 96% erhalten. Der Katalysator wurde dunkel und trocken gelagert.

7.2.5 Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) mit Rh-SBA-15 im Stahlautoklav

Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Bborali et al.* durchgeführt.<sup>[109]</sup> In einem Stahlreaktor wurden Phenol (**40**) (0.94 g, 10.0 mmol) und Rh-SBA-15 (50.0 mg, 0.2 mol% Rh(0)) in H<sub>2</sub>O (20 mL) suspendiert. Nach Spülen mit N<sub>2</sub> wurde der Reaktor mit H<sub>2</sub> (15 oder 20 bar) beladen. Die Reaktionsmischung wurde über unterschiedliche Reaktionszeiten bei verschiedenen Temperaturen gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde der Überdruck abgelassen und der Reaktor mit N<sub>2</sub> gespült. Die schwarze Suspension wurde durch eine Fritte (Porengröße 4) filtriert und der Rückstand mit H<sub>2</sub>O (10 mL) gewaschen. Zum Recyceln des Katalysators wurde der gewaschene Rückstand

6 h im Trockenschrank bei 100 °C getrocknet, wobei ein graues Pulver zurückerhalten wurde. Das Filtrat wurde mit Ethylacetat (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, wobei ein farbloses Öl zurückblieb. Der Rückstand wurde per <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.3 dargestellt.

Tabelle 7.3: Reaktionsbedingungen für die Hydrierung von Phenol (**40**) mit Rh-SBA-15 im Stahlautoklav und per <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen.

Menge Rh-SBA-15 [mg] (mol% Rh(0))	Substratkonzentration [mM]	H <sub>2</sub> -Druck [bar]	Temperatur [° C]	Reaktionszeit [h]	Anteil Phenol [%]	Anteil Cyclohexanon [%]	Anteil Cyclohexanol [%]
50.0 (1.9) <sup>[a]</sup>	67 <sup>[a]</sup>	15	27	2.5	-	2	98
50.0 (0.2)	500	15	27	2	86	4	10
50.0 (0.2)	500	15	27	18	55	2	43
50.0 (0.2)	500	20	40	16.5	-	-	>99
50.0 (0.2)	500	20	40	6	-	-	>99
50.0 <sup>[b]</sup>	500	20	40	6	77	1	22

<sup>[a]</sup>: Folgende Mengen wurden verwendet: Phenol (**40**) (94.1 mg, 1.0 mmol) und Wasser (15 mL).

<sup>[b]</sup>: Einmalig recycelter Katalysator (es lagen keine Hinweise für Leaching der Rh-Partikel und über die absolute Menge des verbliebenen Rh vor).

Phenol (**40**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.24 (dd, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2 H, **H<sub>meta</sub>**), 6.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 1 H, **H<sub>para</sub>**), 6.83 (dd, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.0 Hz, 2 H, **H<sub>ortho</sub>**), 5.21 (s, 1 H, **OH**).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[114]</sup>

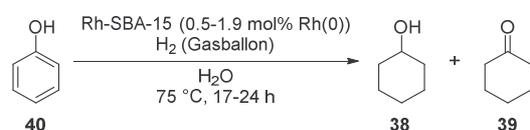
Cyclohexanon (**39**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 2.31 (t, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, 4 H, C(O)CH<sub>2</sub>), 1.89-1.82 (m, 4 H, C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.74-1.68 (m, 2 H, C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[115]</sup>

Cyclohexanol (**38**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 3.61 (m, 1 H, C(OH)H), 1.89-1.82 (m, 2 H, C(OH)CH<sup>äq</sup>), 1.74-1.68 (m, 2 H, C(OH)CH<sub>2</sub>CH<sup>äq</sup>), 1.53 (m, 1 H, C(OH)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sup>äq</sup>), 1.33-1.11 (m, 5 H, C(OH)CH<sup>ax</sup>CH<sup>ax</sup>CH<sup>ax</sup>).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[116]</sup>

### 7.2.6 Hydrierung von Phenol (**40**) zu Cyclohexanol (**38**) mit Rh-SBA-15 im Schlenkkolben



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Bhoralı et al.* durchgeführt.<sup>[109]</sup>

In einem 25mL-Schlenkkolben wurde Phenol (**40**) (94.2-377 mg, 1-4 mmol) in

H<sub>2</sub>O (2-4 mL) suspendiert. Nach Zugabe des Katalysators Rh-SBA-15 wurde der Kolben über die Olive mit Hahn evakuiert, bis das Wasser gelinde siedete, anschließend mit Ar belüftet, erneut evakuiert und durch Anschluss eines H<sub>2</sub>-Ballons an die Olive mit H<sub>2</sub> befüllt. Unter Rühren wurde die Reaktionsmischung bei geöffnetem Hahn zum Ballon im Ölbad auf 75 °C erhitzt. Nach unterschiedlicher Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Abkühlen auf Raumtemperatur, Entfernen des Ballons und Öffnen des Kolbens beendet. Die Reaktionsmischung wurde durch eine Fritte filtriert und der Rückstand mit H<sub>2</sub>O (5-10 mL) gewaschen. Der Katalysator wurde zum Recycling 6 h im Trockenschrank bei 100 °C getrocknet. Das Filtrat wurde in einem Messkolben auf ein definiertes Volumen aufgefüllt. 500 µL des Filtrats wurden in einem *Eppendorf*-Gefäß mit Ethylacetat (3 x 500 µL) am Vortexer extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden im Messkolben mit Ethylacetat auf 2 mL aufgefüllt, in ein Glasgefäß überführt und per GC vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.4 dargestellt.

Tabelle 7.4: Reaktionsbedingungen für die Hydrierung von Phenol (**40**) mit Rh-SBA-15 im Schlenkkolben und per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen.

Menge Rh-SBA-15 [mg] (mol% Rh(0))	Substrat- konzentration [M]	Reaktions- zeit [h]	Anteil Phenol [%]	Anteil Cyclohexanon [%]	Anteil Cyclohexanol [%]
50.0 (1.9)	0.5	24	1	0	99
25.7 (1.0)	0.5	20	1	0	99
51.5 (1.0)	1.0	24	1	1	98
25.7 (0.5)	1.0	17	1	0	99
51.5 (0.5)	2.0	19	57	29	14
51.5 <sup>[a]</sup>	1.0	24	1	2	97
51.1 <sup>[b]</sup>	1.0	24	57	19	24

<sup>[a]</sup>: Einmalig recycelter Katalysator. <sup>[b]</sup>: Zweifach recycelter Katalysator. Es lagen keine Hinweise für Leaching der Rh(0)-Partikel und über die absolute Menge des verbliebenen Rh(0) vor.

GC: BGB-174 (chiral) (0.25 mm ID x 30.0 m L, 0.25 µm film), 70 °C Starttemperatur (1 min); 40 °C/min Temperaturrampe; 180 °C; 2 °C/min Temperaturrampe; 190 °C; 40 °C/min Temperaturrampe; 200 °C Endtemperatur; R<sub>t1</sub> = 3.2 min (Cyclohexanol (**38**)), R<sub>t2</sub> = 3.6 min (Cyclohexanon (**39**)), R<sub>t3</sub> = 4.2 min (Phenol (**40**)).

### 7.2.7 Aktivitätsassay für die *Lk*-ADH

Die Aktivität der *Lk*-ADH wurde analog zu der Vorschrift von *Staudt et al.*<sup>[84]</sup> photometrisch über den Verbrauch von NADPH zu NADP<sup>+</sup> durch die Reduktion des Standardsubstrats Acetophenon bestimmt.<sup>[308]</sup> Dazu wurden Acetophenon (500 µL, 20 mM in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)), Phosphatpuffer (470 µL, 50 mM, pH 7.0) und NADPH (20 µL, 10 mM in H<sub>2</sub>O) in einer Küvette vorgelegt und die Absorption dieser Mischung auf null gesetzt. Nach Zugabe des ADH-Rohextraktes (10 µL, 1:1000 verdünnt mit Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)) wurde die Abnahme der Absorption bei einer Wellenlänge von 340 nm über einen Zeitraum von 60 s, in dem die Absorption

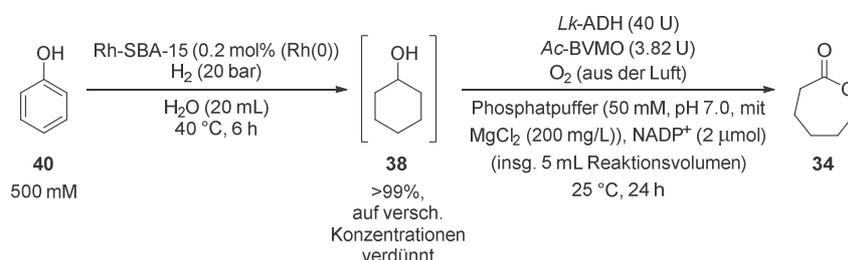
linear abnimmt, verfolgt. Die Enzymaktivität  $A$  ( $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) kann über die Absorptionsänderung, die der Steigung der Geraden  $\Delta E$  ( $\text{min}^{-1}$ ) entspricht, nach Gleichung (I) mit den Variablen  $V$  (Gesamtvolumen der Assay-Probe (1 mL)),  $f$  (Verdünnungsfaktor des Enzym-Rohextraktes (1000)),  $\epsilon$  (Extinktionskoeffizient von NADPH bei  $\lambda = 340 \text{ nm}$  ( $6.3\cdot 10^{-6} \text{ mL}\cdot\mu\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )),  $v$  (Volumen des Enzymrohextraktes (0.01 mL)) und  $d$  (Schichtdicke der Küvette (1 cm)) berechnet werden.

$$A = \frac{\Delta E \cdot V \cdot f}{\epsilon \cdot v \cdot d} \quad (\text{I})$$

### 7.2.8 Aktivitätsassay für die *A<sub>c</sub>*- und *A<sub>s</sub>*-BVMO

Die Aktivität der *A<sub>c</sub>*- und *A<sub>s</sub>*-BVMO wurde analog zu der Vorschrift von *Staudt et al.*<sup>[84]</sup> photometrisch über den Verbrauch von NADPH zu NADP<sup>+</sup> durch die *Baeyer-Villiger*-Oxidation des Standardsubstrats Cyclohexanon (**39**) bestimmt.<sup>[308]</sup> Dazu wurden Cyclohexanon (**39**) (500  $\mu\text{L}$ , 20 mM in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)), Phosphatpuffer (470  $\mu\text{L}$ , 50 mM, pH 7.0) und NADPH (20  $\mu\text{L}$ , 10 mM in H<sub>2</sub>O) in einer Küvette vorgelegt und die Absorption dieser Mischung auf null gesetzt. Nach Zugabe des gelösten BVMO-Lyophilisats (20.64  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)) bzw. BVMO-Rohextraktes (10  $\mu\text{L}$ ) wurde die Abnahme der Absorption bei einer Wellenlänge von 340 nm über einen Zeitraum von 60 s, in dem die Absorption linear abnimmt, verfolgt. Die Enzymaktivität  $A$  ( $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) kann über die Absorptionsänderung, die der Steigung der Geraden  $\Delta E$  ( $\text{min}^{-1}$ ) entspricht, nach Gleichung (I) mit den Variablen  $V$  (Gesamtvolumen der Assay-Probe (1 mL)),  $f$  (Verdünnungsfaktor des Enzym-Rohextraktes (1)),  $\epsilon$  (Extinktionskoeffizient von NADPH bei  $\lambda = 340 \text{ nm}$  ( $6.3\cdot 10^{-6} \text{ mL}\cdot\mu\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )),  $v$  (Volumen des Enzymrohextraktes (0.01 mL)) und  $d$  (Schichtdicke der Küvette (1 cm)) berechnet werden.

### 7.2.9 Reaktionskaskade von Phenol (**40**) zu $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) (Hydrierung im Stahlreaktor)



Gemäß Reaktionsvorschrift 7.2.5 wurde zuerst Phenol (**40**) (0.94 g, 10.0 mmol) vollständig zu Cyclohexanol (**38**) hydriert. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das Filtrat mit H<sub>2</sub>O auf ein Gesamtvolumen von 50 mL aufgefüllt. Verschiedene Aliquote der somit erhaltenen Cyclohexanol-Lösung (0.2 M) wurden durch Zugabe unterschiedlicher Mengen H<sub>2</sub>O verdünnt, sodass nach weiterer Zugabe des jeweils gleichen Volumens Phosphatpuffer (100 mM, pH 7.0) Cyclohexanol-Konzentrationen von 20 mM, 30 mM,

40 mM und 50 mM in Phosphatpuffer (50 mM, pH = 7.0) erhalten wurden. In vier 10 mL Rundkolben wurden jeweils *L*-ADH (40 U, 62  $\mu$ L, Rohextrakt in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)), *Ac*-BVMO (3.82 U, 500  $\mu$ L, 20.64 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup> Lyophilisat in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)) und Phosphatpuffer (1.838 mL, 50 mM, pH 7.0, mit MgCl<sub>2</sub> (200 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>)) vorgelegt. Dazu wurde jeweils eine der vorbereiteten unterschiedlich konzentrierten Cyclohexanol-Lösung (2.5 mL) gegeben. Die Reaktionsmischungen wurden 5 min im Wasserbad bei 25 °C gerührt. Zum Start der Reaktion wurde NADP<sup>+</sup> (100  $\mu$ L, 20 mM in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)) hinzugegeben, sodass für jede Reaktion ein Reaktionsvolumen von insgesamt 5 mL in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) erhalten wurde. Der Kolben wurde nicht verschlossen, um die O<sub>2</sub>-Zufuhr zu gewährleisten. Nach 1, 2, 16, 20 und 24 h Reaktionszeit wurden zur Reaktionskontrolle jeweils 500  $\mu$ L der Reaktionsmischungen entnommen und in einem *Eppendorf*-Gefäß mit Ethylacetat (3 x 500  $\mu$ L) am Vortexer extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden im Messkolben mit Ethylacetat auf 2 mL aufgefüllt, in ein Glasgefäß überführt und per GC vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.5 dargestellt.

Tabelle 7.5: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus dem kombinierten Prozess aus Hydrierung im Stahlreaktor und Doppeloxidation von Phenol (**40**) zu  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) für verschiedene Substratkonzentrationen nach unterschiedlicher Reaktionszeit.

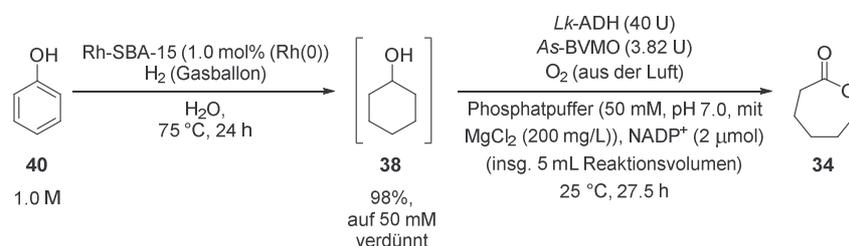
Substrat- konzentration [mM]	Reaktionszeit [h]	Anteil Cyclohexanol [%]	Anteil Cyclohexanon [%]	Anteil $\epsilon$ -Caprolacton [%]
20	1	73	1	26
20	2	43	0	57
20	16	0	0	>99
20	20	0	0	>99
20	24	0	0	>99
30	1	87	1	12
30	2	71	2	27
30	16	0	0	>99
30	20	0	0	>99
30	24	0	0	>99
40	1	85	1	14
40	2	69	1	30
40	16	0	0	>99
40	20	0	0	>99
40	24	0	0	>99
50	1	90	1	9
50	2	79	1	20
50	16	0	1	99
50	20	0	1	99
50	24	0	1	99
40 <sup>[a]</sup>	1	89	3	8
40 <sup>[a]</sup>	2	80	3	17

Substrat- konzentration [mM]	Reaktionszeit [h]	Anteil Cyclohexanol [%]	Anteil Cyclohexanon [%]	Anteil $\epsilon$ -Caprolacton [%]
40 <sup>[a]</sup>	16	0	0	>99
40 <sup>[a]</sup>	20	0	0	>99
40 <sup>[a]</sup>	24	0	0	>99

<sup>[a]</sup>: Vergleichsexperiment mit kommerziellem Cyclohexanol.

GC: BP5MS (0.25 mm ID x 30.0 m L, 0.25  $\mu$ m film), 70 °C Starttemperatur (3.8 min); 40 °C/min Temperaturrampe; 200 °C Endtemperatur;  $R_{t1}$  = 3.26 min (Cyclohexanol (**38**)),  $R_{t2}$  = 3.31 min (Cyclohexanon (**39**)),  $R_{t3}$  = 6.06 min ( $\epsilon$ -Caprolacton (**34**)).

### 7.2.10 Reaktionskaskade von Phenol (**40**) zu $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) (Hydrierung im Schlenkkolben)



Gemäß Reaktionsvorschrift 7.2.6 wurde zuerst Phenol (**40**) (0.19 g, 2.00 mmol) zu Cyclohexanol (**38**) hydriert. Die Reaktionsmischung setzte sich folgendermaßen zusammen: Cyclohexanol (**38**): 98%, Cyclohexanon (**39**): 1%, Phenol (**40**): 1%. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das Filtrat mit H<sub>2</sub>O auf ein Gesamtvolumen von 8 mL aufgefüllt. Zu dem Filtrat wurde Phosphatpuffer (8 mL, 100 mM, pH 7.0) gegeben, sodass daraus eine Cyclohexanol-Lösung (16 mL, 125 mM in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)) resultierte. In einem 10 mL Rundkolben wurden Lk-ADH (40 U, 20  $\mu$ L, Rohextrakt in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)), As-BVMO (3.82 U, 2.183 mL, Rohextrakt in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)) und Phosphatpuffer (0.597 mL, 50 mM, pH 7.0, mit MgCl<sub>2</sub> (200 mg·L<sup>-1</sup>)) vorgelegt. Dazu wurde die vorbereitete Cyclohexanol-Lösung (2.0 mL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 5 min im Wasserbad bei 25 °C gerührt. Zum Start der Reaktion wurde NADP<sup>+</sup> (200  $\mu$ L, 10 mM in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0)) hinzugegeben, sodass ein Reaktionsvolumen von insgesamt 5 mL in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) und eine Substratkonzentration von 50 mM erhalten wurde. Der Kolben wurde nicht verschlossen, um die O<sub>2</sub>-Zufuhr zu gewährleisten. Nach 0.5, 1.5, 2.5, 7.5, 24 und 27.5 h Reaktionszeit wurden zur Reaktionskontrolle jeweils 500  $\mu$ L der Reaktionsmischung entnommen und in einem Eppendorf-Gefäß mit Ethylacetat (3 x 500  $\mu$ L) am Vortexer extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden im Messkolben mit Ethylacetat auf 2 mL aufgefüllt, in ein Glasgefäß überführt und per GC vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.6 dargestellt.

Tabelle 7.6: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus dem kombinierten Prozess aus Hydrierung im Schlenkrohr und Doppeloxidation von Phenol (**40**) zu  $\epsilon$ -Caprolacton (**34**) nach unterschiedlicher Reaktionszeit.

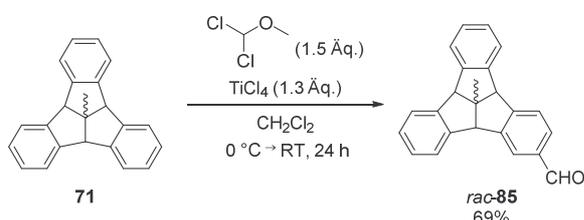
Reaktionszeit [h]	Anteil Phenol [%]	Anteil Cyclohexanon [%]	Anteil Cyclohexanol [%]	Anteil $\epsilon$ -Caprolacton [%]
0.5	1	4	92	3
1.5	1	6	79	14
2.5	1	8	66	25
7.5	1	11	20	68
24	1	10	0	89
27.5	1	9	0	90
0.5 <sup>[a]</sup>	-	2	96	2
1.5 <sup>[a]</sup>	-	5	88	7
2.5 <sup>[a]</sup>	-	6	79	15
7.5 <sup>[a]</sup>	-	9	42	49
24 <sup>[a]</sup>	-	10	2	88
27.5 <sup>[a]</sup>	-	10	1	89

<sup>[a]</sup>: Vergleichsexperiment mit kommerziellem Cyclohexanol.

GC: BGB-174 (chiral) (0.25 mm ID x 30.0 m L, 0.25  $\mu$ m film), 70 °C Starttemperatur (1 min); 40 °C/min Temperaturrampe; 180 °C; 2 °C/min Temperaturrampe; 190 °C; 40 °C/min Temperaturrampe; 200 °C Endtemperatur;  $R_{t1}$  = 3.2 min (Cyclohexanol (**38**)),  $R_{t2}$  = 3.6 min (Cyclohexanon (**39**)),  $R_{t3}$  = 4.2 min (Phenol (**40**)),  $R_{t4}$  = 5.7 min ( $\epsilon$ -Caprolacton (**34**)).

## 7.3 Synthese eines konkav-konkav-geformten Dioxins

### 7.3.1 *Rieche*-Formylierung von 4b<sup>1</sup>-Methyltribenzotriquinacen (**71**) zu *rac*-2-Formyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**85**)



Die Synthese wurde nach der Literaturvorschrift von *Greschner et al.* durchgeführt.<sup>[169]</sup> Eine Lösung von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) (4.66 g, 15.8 mmol) in Dichlormethan (100 mL) wurde im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Unter Rühren wurde eine Mischung aus TiCl<sub>4</sub> (1.3 Äq., 2.15 mL, 19.3 mmol) und Dichlormethylmethylether (1.5 Äq., 2.15 mL, 23.7 mmol) über einen Zeitraum von 30 min langsam hinzugegeben. Die rotschwarze Reaktionsmischung wurde 4 h bei 0 °C gerührt. Im Anschluss daran wurde die braunrote Suspension langsam auf Raumtemperatur aufgetaut und 20 h gerührt. Nach der portionierten Zugabe von Wasser (160 mL) wurde die gelbe Suspension 1.5 h bei

Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser und ges. wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 100 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein gelbes, viskoses Öl (6.41 g) erhalten. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, MTBE (2-20% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Aldehyd *rac*-**85** (3.52 g, R<sub>f</sub> = 0.45 (10% MTBE in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 69% erhalten.

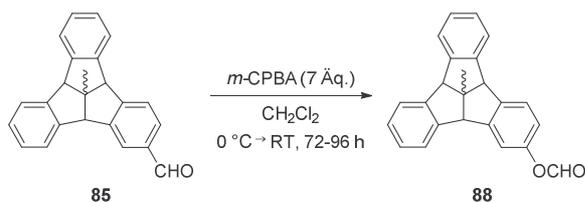
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 9.96 (s, 1 H, CHO), 7.95 (s, 1 H, **H**<sup>Ar,ortho</sup>), 7.71 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1 H, **H**<sup>Ar,ortho</sup>), 7.60 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1 H, **H**<sup>Ar,meta</sup>), 7.50 (m, 1 H, **H**<sup>Ar</sup>), 7.45 (m, 3 H, **H**<sup>Ar</sup>), 7.22 (m, 4 H, **H**<sup>Ar</sup>), 4.53 (s, 1 H, CH), 4.53 (s, 1 H, CH), 4.52 (s, 1 H, CH), 1.71 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 192.1 (CHO), 152.9 (C<sup>q</sup>), 146.8 (C<sup>q</sup>), 145.6 (C<sup>q</sup>), 145.4 (C<sup>q</sup>), 144.7 (C<sup>q</sup>), 144.3 (C<sup>q</sup>), 136.4 (C<sup>q</sup>), 130.2 (C<sup>q</sup>), 128.02 (C<sup>q</sup>), 127.97 (C<sup>q</sup>), 127.91 (C<sup>q</sup>), 127.83 (C<sup>q</sup>), 125.5 (C<sup>q</sup>), 125.1 (C<sup>q</sup>), 124.70 (C<sup>q</sup>), 124.60 (C<sup>q</sup>), 124.56 (C<sup>q</sup>), 124.49 (C<sup>q</sup>), 63.8 (CH), 63.7 (CH), 63.1 (CH), 61.1 (C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>), 27.6 (CH<sub>3</sub>).

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 323.3 (18) [M + H]<sup>+</sup>, 345.2 (83) [M + Na]<sup>+</sup>, 361.2 (27) [M + K]<sup>+</sup>, 667.2 (100) [2 M + Na]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[169]</sup>

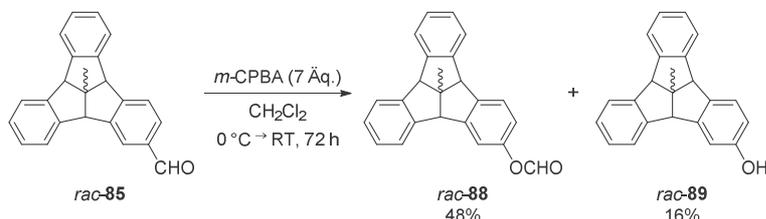
### 7.3.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift 1 (AAV 1): Baeyer-Villiger-Oxidation von 2-Formyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (**85**) zu 4b<sup>1</sup>-Methyltribenzotriquinacen-2-formiat (**88**)



Die Synthesen wurden analog zu einer Vorschrift von *Greschner* durchgeführt.<sup>[161]</sup> Eine Lösung des TBTQ-Aldehyds **85** in Dichlormethan (30 mL) wurde im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Unter Rühren wurde *m*-CPBA (3.5 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur aufgetaut und 48 h gerührt. Dann wurde erneut *m*-CPBA (3.5 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde je nach Ansatz weitere 24-48 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Reduktion der überschüssigen Peroxide wurde eine wässr. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde 30 min gerührt. Anschließend wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde drei Mal mit Dichlormethan (1:1) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der

Rückstand wurde mittels automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) aufgereinigt.

### 7.3.3 Baeyer-Villiger-Oxidation von *rac*-2-Formyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**85**) zu *rac*-4b<sup>1</sup>-Methyltribenzotriquinacen-2-formiat (*rac*-**88**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 1. Zu einer Lösung des TBTQ-Aldehyds *rac*-**85** (0.74 g, 2.29 mmol) in Dichlormethan (30 mL) wurden im Abstand von 48 h zwei Portionen *m*-CPBA (je 1.84 g, 8.01 mmol) gegeben. Nach einer weiteren Reaktionszeit von 24 h wurde eine wässr. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (3.84 g in 20 mL H<sub>2</sub>O) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 μm, Ethylacetat (5-27% Gradient) in Cyclohexan) wurde das TBTQ-Formiat *rac*-**88** (374 mg, R<sub>f</sub> = 0.60 (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 48% erhalten. In einer zweiten Fraktion wurde TBTQ-Alkohol *rac*-**89** (113 mg, R<sub>f</sub> = 0.36 (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff erhalten.

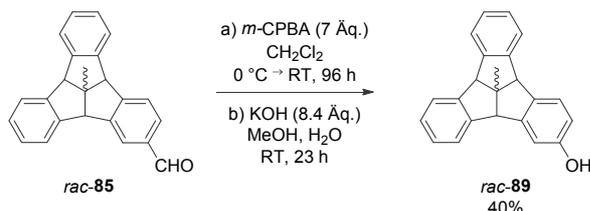
TBTQ-Formiat *rac*-**88**: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 8.27 (s, 1 H, OC(O)H), 7.42 (m, 5 H, H<sup>Ar</sup>), 7.20 (m, 5 H, H<sup>Ar</sup>), 6.95 (dd, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1 H, H<sup>Ar,ortho</sup>), 4.49 (s, 1 H, CH), 4.48 (s, 1 H, CH), 4.46 (s, 1 H, CH), 1.69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 159.7 (OC(O)H), 149.7 (C<sup>q</sup>), 147.4 (C<sup>q</sup>), 145.6 (C<sup>q</sup>), 145.5 (C<sup>q</sup>), 145.1 (C<sup>q</sup>), 144.8 (C<sup>q</sup>), 143.8 (C<sup>q</sup>), 127.87 (C<sup>q</sup>), 127.79 (C<sup>q</sup>), 127.77 (C<sup>q</sup>), 127.72 (C<sup>q</sup>), 125.4 (C<sup>q</sup>), 124.63 (C<sup>q</sup>), 124.61 (C<sup>q</sup>), 124.44 (C<sup>q</sup>), 124.41 (C<sup>q</sup>), 120.4 (C<sup>q</sup>), 117.1 (C<sup>q</sup>), 63.7 (CH), 63.5 (CH), 63.1 (CH), 61.5 (C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>), 27.6 (CH<sub>3</sub>).

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 361.2 (100) [M + Na]<sup>+</sup>, 377.2 (16) [M + K]<sup>+</sup>, 699.2 (8) [2 M + Na]<sup>+</sup>.

TBTQ-Alkohol *rac*-**89**: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.44 (m, 2 H, H<sup>Ar</sup>), 7.40 (m, 2 H, H<sup>Ar</sup>), 7.27 (d, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 1 H, H<sup>Ar,meta</sup>), 7.19 (m, 4 H, H<sup>Ar</sup>), 6.89 (d, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, 1 H, H<sup>Ar,ortho</sup>), 6.66 (dd, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1 H, H<sup>Ar,ortho</sup>), 4.60 (s, 1 H, OH), 4.46 (s, 1 H, CH), 4.40 (s, 2 H, CH), 1.68 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

7.3.4 *Baeyer-Villiger-Oxidation* von *rac*-2-Formyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**85**) und Verseifung des Intermediates zu *rac*-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**89**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 1. Zu einer L\u00f6sung des TBTQ-Aldehyds *rac*-**85** (1.01 g, 3.12 mmol) in Dichlormethan (60 mL) wurden im Abstand von 48 h zwei Portionen *m*-CPBA (je 2.23 g, 10.9 mmol) gegeben. Nach einer weiteren Reaktionszeit von 48 h wurde eine w\u00e4ssr. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-L\u00f6sung (5.22 g in 20 mL H<sub>2</sub>O) hinzugegeben. Nach Extraktion und Entfernen des L\u00f6sungsmittels im Vakuum wurde ein blassgelber Feststoff (1.87 g) erhalten, welcher in einem Gemisch aus Methanol und Wasser (5:1, 100 mL) suspendiert wurde. Nach Zugabe von KOH-Pellets (8.4 \u00c4q., 26.1 mmol, 1.54 g) wurde die Suspension 23 h bei Raumtemperatur ger\u00fchrt. Das L\u00f6sungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der zur\u00fcckgebliebene braunrote Feststoff wurde nach Zugabe von Wasser (30 mL) mit Ethylacetat (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden \u00fcber MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des L\u00f6sungsmittels im Vakuum wurde ein br\u00e4unliches \u00d6l mit Feststoff (1.10 g) erhalten. Mittels automatischer S\u00e4ulenchromatographie (Kieselgel 25 \u00b5m, Ethylacetat (5-40% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Alkohol *rac*-**89** (390 mg, R<sub>f</sub> = 0.34 (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 40% erhalten.

Schmelzpunkt: 95.8-97.2 \u00b0C.

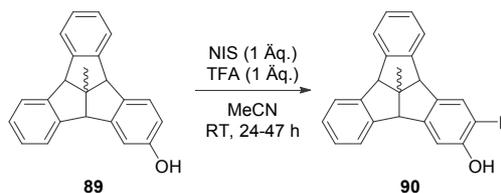
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.44 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.40 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.27 (d, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,meta</sup>**), 7.19 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 6.89 (d, <sup>4</sup>J = 2.0 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 6.66 (dd, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 4.58 (s, 1 H, **OH**), 4.46 (s, 1 H, **CH**), 4.40 (s, 2 H, **CH**), 1.68 (s, 3 H, **CH<sub>3</sub>**).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 155.4 (**COH**), 147.3 (**C<sup>q</sup>**), 145.9 (**C<sup>q</sup>**), 145.7 (**C<sup>q</sup>**), 145.4 (**C<sup>q</sup>**), 145.3 (**C<sup>q</sup>**), 138.0 (**C<sup>q</sup>**), 127.66 (**C<sup>q</sup>**), 127.59 (**C<sup>q</sup>**), 127.55 (**C<sup>q</sup>**), 127.50 (**C<sup>q</sup>**), 125.2 (**C<sup>q</sup>**), 124.55 (**C<sup>q</sup>**), 124.53 (**C<sup>q</sup>**), 124.49 (**C<sup>q</sup>**), 124.44 (**C<sup>q</sup>**), 115.0 (**C<sup>q</sup>**), 111.0 (**C<sup>q</sup>**), 63.64 (**CH**), 63.56 (**CH**), 62.9 (**CH**), 61.5 (**C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>**), 27.7 (**CH<sub>3</sub>**).

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 328.3 (76) [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 643.2 (100) [M + Na]<sup>+</sup>.

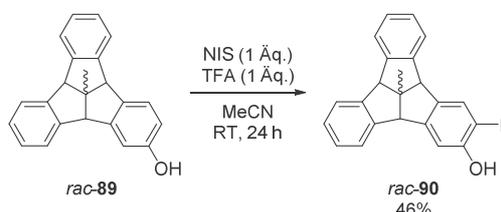
Exakte Masse (ESI): C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>O<sup>+</sup> ([M + H]<sup>+</sup>), berechnet 311.1430, gefunden 311.1433.

7.3.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift 2 (AAV 2): Aromatische Iodierung von 2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (**89**) zu 2-Hydroxy-3-iod-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (**90**)



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Bergström et al.* durchgeführt.<sup>[177]</sup> Zu einer Lösung des TBTQ-Alkohols **89** in Acetonitril wurde unter Rühren zuerst *N*-Iodsuccinimid (1 Äq.), dann Trifluoressigsäure (1 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde je nach Ansatz 24 oder 47 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Reduktion des nicht abreagierten *N*-Iodsuccinimids wurde eine wässr. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung hinzugegeben und die Suspension wurde 30 min gerührt. Anschließend wurde die Phasen Reaktionsmischung drei Mal mit Dichlormethan (1:1) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde mittels automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) aufgereinigt.

7.3.6 Aromatische Iodierung von *rac*-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**89**) zu *rac*-2-Hydroxy-3-iod-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**90**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 2. Eine Mischung von TBTQ-Alkohol *rac*-**89** (500 mg, 1.61 mmol), *N*-Iodsuccinimid (362 mg, 1.61 mmol) und Trifluoressigsäure (0.12 mL, 1.61 mmol) in Acetonitril (25 mL) wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine wässr. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (20.0 g in 28 mL H<sub>2</sub>O) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, Ethylacetat (2-21% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Iodphenol *rac*-**90** (323 mg, R<sub>f</sub> = 0.43 (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als blassgelber Feststoff in einer Ausbeute von 46% erhalten.

Schmelzpunkt: 189.9-192.1 °C (Braunfärbung der Probe ab 152 °C).

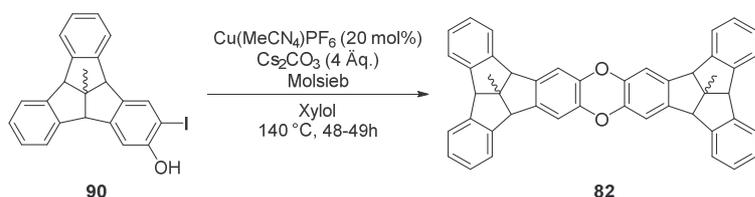
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.66 (s, 1 H, **H**<sup>Ar,ortho(I)</sup>), 7.44 (m, 2 H, **H**<sup>Ar</sup>), 7.38 (m, 2 H, **H**<sup>Ar</sup>), 7.21 (m, 4 H, **H**<sup>Ar</sup>), 7.06 (s, 1 H, **H**<sup>Ar,ortho(OH)</sup>), 5.13 (s, 1 H, OH), 4.45 (s, 1 H, CH), 4.38 (s, 2 H, CH), 1.67 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 154.3 ( $\text{C}^q$ ), 148.6 ( $\text{C}^q$ ), 145.5 ( $\text{C}^q$ ), 145.4 ( $\text{C}^q$ ), 145.2 ( $\text{C}^q$ ), 144.7 ( $\text{C}^q$ ), 140.1 ( $\text{C}^q$ ), 133.6 ( $\text{C}$ ), 127.83 ( $\text{C}$ ), 127.77 ( $\text{C}$ ), 127.75 ( $\text{C}$ ), 127.73 ( $\text{C}$ ), 124.61 ( $\text{C}$ ), 124.56 ( $\text{C}$ ), 124.46 ( $\text{C}$ ), 124.41 ( $\text{C}$ ), 110.7 ( $\text{C}$ ), 84.8 ( $\text{C}^q$ ), 63.6 ( $\text{CH}$ ), 63.2 ( $\text{CH}$ ), 62.5 ( $\text{CH}$ ), 61.8 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 437.2 (100)  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 459.0 (20)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ .

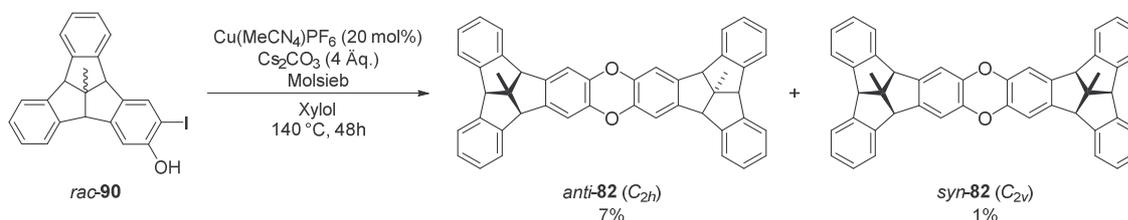
Exakte Masse (ESI):  $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{IONa}^+$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), berechnet 459.0216, gefunden 459.0208.

### 7.3.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift 3 (AAV 3): Ullmann-Kupplung von 2-Hydroxy-3-iod-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (**90**) zu bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-Tribenzotriquinacen **82**



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Kalinin et al.* durchgeführt.<sup>[181] [161]</sup> In einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Zweihalskolben mit Rückflusskühler wurden Molsieb (4 Å), TBTQ-Iodphenol **90**,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (4 Äq.), Xylol und  $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$  (20 mol%) in dieser Reihenfolge vorgelegt. Die Mischung wurde je nach Ansatz 48 oder 49 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung durch eine Fritte (Porengröße 4) filtriert und der Filterkuchen mit Toluol gewaschen. Das Lösungsmittel des mit der Waschlösung vereinten Filtrats wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels zweifacher automatischer Säulenchromatographie (zuerst mit  $\text{SiO}_2$  und Cyclohexan/Ethylacetat, dann mit C18-Material und Wasser/Acetonitril) aufgereinigt.

### 7.3.8 Ullmann-Kupplung von *rac*-2-Hydroxy-3-iod-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**90**) zu *anti*- und *syn*-bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-Tribenzotriquinacen *anti*-**82** und *syn*-**82**



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 3. Eine Mischung von Molsieb (50.0 mg), TBTQ-Iodphenol *rac*-**90** (100 mg, 0.23 mmol),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (299 mg, 0.92 mmol), Xylol (2 mL) und  $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$  (18.1 mg, 0.05 mmol) wurde 48 h zum Rückfluss erhitzt. Durch Filtration der Reaktionsmischung und Aufreinigung mittels zweifacher automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (5-40% Gradient) in Cyclohexan und C18-Kieselgel, Wasser (50-0% Gradient) in Acetonitril) wurde das *anti*-bikonkave,

Dioxin-verbrückte bis-TBTQ *anti*-**82** (5.1 mg) als blassgelber Feststoff in einer Ausbeute von 7% erhalten. Aus einer weiteren Fraktion ging ein blassgelber Feststoff (1.6 mg, 2%) hervor, der aus einer Mischung von *syn*-**82** und *anti*-**82** in einem Verhältnis von 7:3 besteht.

*anti*-bis-TBTQ *anti*-**82**: Schmelzpunkt: >410 °C (Zersetzung; Braunfärbung der Probe ab 268 °C ohne Schmelzen).

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.44 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.36 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.20 (m, 8 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 6.82 (s, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 4.43 (s, 2 H,  $\text{CH}$ ), 4.31 (s, 4 H,  $\text{CH}$ ), 1.64 (s, 6 H,  $\text{CH}_3$ ).

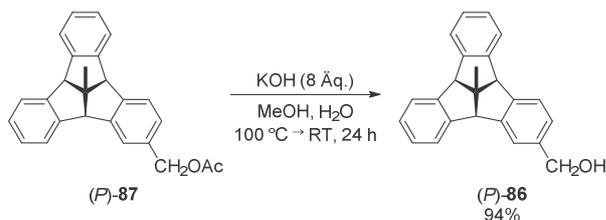
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 145.5 (4  $\text{C}^q$ ), 145.3 (4  $\text{C}^q$ ), 141.8 (4  $\text{C}^q$ ), 140.6 (4  $\text{C}^q$ ), 127.70 (4  $\text{C}^r$ ), 127.66 (4  $\text{C}^r$ ), 124.6 (4  $\text{C}^r$ ), 124.4 (4  $\text{C}^r$ ), 111.7 (4  $\text{C}^r$ ), 63.6 (2  $\text{CH}$ ), 63.2 (4  $\text{CH}$ ), 61.7 (2  $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.6 (2  $\text{CH}_3$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 639.2 (100)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , (29) 655.2  $[\text{M} + \text{K}]^+$ .

Exakte Masse (ESI):  $\text{C}_{46}\text{H}_{32}\text{O}_2\text{Na}^+$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), berechnet 639.2295, gefunden 639.2297.

*syn*-bis-TBTQ *syn*-**82**:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.41 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.32 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.16 (m, 8 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 6.84 (s, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 4.43 (s, 2 H,  $\text{CH}$ ), 4.32 (s, 4 H,  $\text{CH}$ ), 1.66 (s, 6 H,  $\text{CH}_3$ ).

### 7.3.9 Verseifung von (*P*)-2-Acetoxymethyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**87**) zu (*P*)-2-Hydroxymethyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**86**)



Die Synthese wurde nach der Literaturvorschrift von *Greschner et al.* durchgeführt.<sup>[169]</sup> Der TBTQ-Benzylester (*P*)-**87** (1.71 g, 4.67 mmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und Wasser (5:1, 120 mL) vorgelegt. Anschließend wurde KOH (8 Äq., 2.47 g, 37.4 mmol) hinzugegeben und die Suspension wurde 3 h zum Rückfluss erhitzt. Schließlich wurde die Reaktionsmischung 21 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der zurückgebliebene blassgelbe Feststoff in Wasser (20 mL) aufgenommen und die Mischung wurde mit Ethylacetat (4 x 50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde TBTQ-Benzylalkohol (*P*)-**86** (1.43 g) als blassgelber Feststoff in einer Ausbeute von 94% erhalten und ohne weitere Aufarbeitung in der nächsten Synthesestufe eingesetzt.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.45 (m, 6 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.22 (m, 5 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 4.64 (s, 2 H,  $\text{CH}_2$ ), 4.48 (s, 1 H,  $\text{CH}$ ), 4.47 (s, 2 H,  $\text{CH}$ ), 1.69 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

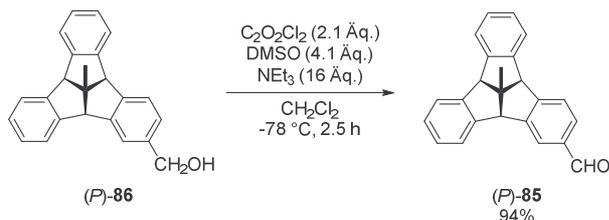
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 146.1 ( $\text{C}^q$ ), 145.6 ( $\text{C}^q$ ), 145.50 ( $\text{C}^q$ ), 145.47 ( $\text{C}^q$ ), 145.35 ( $\text{C}^q$ ), 145.28 ( $\text{C}^q$ ), 140.5 ( $\text{C}^q$ ), 127.67 ( $\text{C}$ ), 127.64 ( $\text{C}$ ), 127.62 (2  $\text{C}$ ), 126.7 ( $\text{C}$ ), 124.63 ( $\text{C}$ ), 124.55 (2  $\text{C}$ ), 124.53 ( $\text{C}$ ), 124.46 ( $\text{C}$ ), 123.3 ( $\text{C}$ ), 65.6 ( $\text{CH}_2$ ), 63.7 ( $\text{CH}$ ), 63.6 ( $\text{CH}$ ), 63.4 ( $\text{CH}$ ), 61.1 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 307.2 (31)  $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$ , 342.3 (26)  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ , 347.2 (100)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 363.2 (10)  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , 671.3 (61)  $[2 \text{M} + \text{Na}]^+$ .

HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H (chiral), 20 °C, *sc*- $\text{CO}_2$ /*iso*-Propanol 9:1, 2.0 mL/min, 230 nm;  $R_{t1}$  = 18.9 min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[169]</sup>

#### 7.3.10 *Swern*-Oxidation von (*P*)-2-Hydroxymethyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**86**) zu (*P*)-2-Formyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**85**)



Die Synthese wurde nach der Literaturvorschrift von *Greschner et al.* durchgeführt.<sup>[169]</sup> In einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Schlenkkolben wurde Oxalylchlorid (2.1 Äq., 0.76 mL, 8.80 mmol) in Dichlormethan (25 mL) gelöst. Die Lösung wurde unter Rühren im Aceton-Trockeneis-Bad auf  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt. Über einen Tropftrichter wurde eine Lösung von Dimethylsulfoxid (4.1 Äq., 1.22 mL, 17.2 mmol) in Dichlormethan (25 mL) innerhalb von 10 min hinzuge tropft. Danach wurde die Reaktionsmischung 10 min bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt und anschließend wurde eine Lösung des TBTQ-Benzylalkohols (*P*)-**86** (1.36 g, 4.20 mmol) in Dichlormethan (25 mL) innerhalb von 40 min langsam unter Rühren hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt und im Anschluss daran wurde Triethylamin (16 Äq., 9.32 mL, 67.2 mmol) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde eine weitere Stunde bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Nach dem Auftauen auf Raumtemperatur wurde Wasser (25 mL) zu der Reaktionsmischung gegeben, um diese zu extrahieren. Die wässrige Phase wurde mit weiterem Dichlormethan (3 x 25 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung, 1%ige Schwefelsäure, Wasser und ges. wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (je 25 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein blassgelber Feststoff (1.45 g) erhalten. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat

(2-19% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Aldehyd (*P*)-**85** (1.27 g,  $R_f = 0.65$  (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 94% erhalten.

Schmelzpunkt: 154.2-156.0 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 9.96 (s, 1 H, CHO), 7.95 (s, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar,ortho}}$ ), 7.71 (d,  $^3J = 7.8$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar,ortho}}$ ), 7.59 (d,  $^3J = 7.8$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar,meta}}$ ), 7.50 (m, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar}}$ ), 7.45 (m, 3 H,  $\text{H}^{\text{Ar}}$ ), 7.22 (m, 4 H,  $\text{H}^{\text{Ar}}$ ), 4.53 (s, 1 H, CH), 4.53 (s, 1 H, CH), 4.52 (s, 1 H, CH), 1.71 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

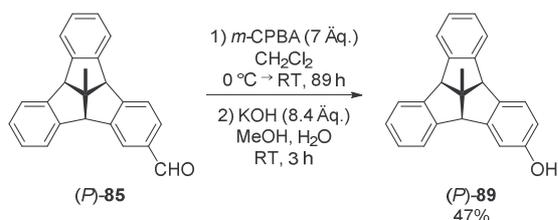
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 192.1 (CHO), 152.9 ( $\text{C}^q$ ), 146.8 ( $\text{C}^q$ ), 145.6 ( $\text{C}^q$ ), 145.4 ( $\text{C}^q$ ), 144.7 ( $\text{C}^q$ ), 144.3 ( $\text{C}^q$ ), 136.4 ( $\text{C}^q$ ), 130.2 ( $\text{C}^a$ ), 128.03 ( $\text{C}^a$ ), 127.98 ( $\text{C}^a$ ), 127.92 ( $\text{C}^a$ ), 127.83 ( $\text{C}^a$ ), 125.5 ( $\text{C}^a$ ), 125.2 ( $\text{C}^a$ ), 124.70 ( $\text{C}^a$ ), 124.61 ( $\text{C}^a$ ), 124.57 ( $\text{C}^a$ ), 124.50 ( $\text{C}^a$ ), 63.8 (CH), 63.7 (CH), 63.1 (CH), 61.1 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.6 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 323.2 (30)  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 345.2 (59)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 361.1 (24)  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , 386.2 (46)  $[\text{M} + \text{MeCN} + \text{Na}]^+$ , 667.2 (100)  $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ .

HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H (chiral), 20 °C, *sc*-CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 9:1, 2.0 mL/min, 230 nm;  $R_{t1} = 18.5$  min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[169]</sup>

### 7.3.11 Baeyer-Villiger-Oxidation von (*P*)-2-Formyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**85**) und Verseifung des Intermediates zu (*P*)-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**89**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 1. Zu einer Lösung des TBTQ-Aldehyds (*P*)-**85** (1.20 g, 3.73 mmol) in Dichlormethan (45 mL) wurden im Abstand von 48 h zwei Portionen *m*-CPBA (je 2.93 g, 13.1 mmol) gegeben. Nach einer weiteren Reaktionszeit von 41 h wurde eine wässr. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (6.25 g in 25 mL H<sub>2</sub>O) hinzugegeben. Nach Extraktion und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein blassgelber Feststoff (2.72 g) erhalten, welcher in einem Gemisch aus Methanol und Wasser (5:1, 120 mL) suspendiert wurde. Nach Zugabe von KOH (8.4 Äq., 2.09 g, 31.3 mmol) wurde die Suspension 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum eingengt und die zurückgebliebene braunrote Suspension wurde nach Zugabe von Wasser (30 mL) mit Ethylacetat (6 x 40 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein gelber Feststoff (0.92 g) erhalten. Mittels automatischer

Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (5-40% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Alkohol (*P*)-**89** (539 mg,  $R_f = 0.34$  (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 47% mit einem *ee*-Wert von >99% erhalten.

Schmelzpunkt: 95.2-96.8  $^{\circ}\text{C}$ .

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.44 (m, 2 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.40 (m, 2 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.27 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar,meta}$ ), 7.19 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 6.89 (d,  $^4J = 1.6$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 6.66 (dd,  $^3J = 6.8$  Hz,  $^4J = 1.8$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 4.58 (s, 1 H, OH), 4.46 (s, 1 H, CH), 4.40 (s, 2 H, CH), 1.67 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 155.4 ( $\text{COH}$ ), 147.2 ( $\text{C}^q$ ), 145.9 ( $\text{C}^q$ ), 145.7 ( $\text{C}^q$ ), 145.4 ( $\text{C}^q$ ), 145.3 ( $\text{C}^q$ ), 138.0 ( $\text{C}^q$ ), 127.66 ( $\text{C}^r$ ), 127.59 ( $\text{C}^r$ ), 127.55 ( $\text{C}^r$ ), 127.50 ( $\text{C}^r$ ), 125.2 ( $\text{C}^r$ ), 124.55 ( $\text{C}^r$ ), 124.53 ( $\text{C}^r$ ), 124.49 ( $\text{C}^r$ ), 124.44 ( $\text{C}^r$ ), 115.0 ( $\text{C}^r$ ), 111.0 ( $\text{C}^r$ ), 63.64 (CH), 63.56 (CH), 62.9 (CH), 61.5 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\text{CH}_3$ ).

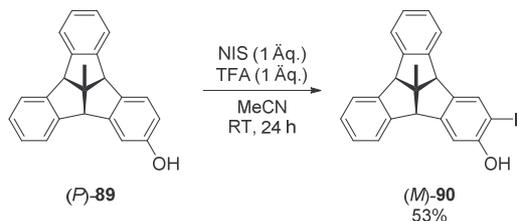
MS (–ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 345.0 (100)  $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ .

HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H (chiral), 20  $^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{sc-CO}_2/\text{iso-Propanol}$  (0.75 mL/min), Lösungsmittelgradient: 99:1 (50 min), 99:1  $\rightarrow$  90:10 (10 min), 90:10 (120 min), 230 nm;  $R_{t1} = 154$  min.

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = -61^{\circ}$  ( $c = 1.02$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

Exakte Masse (ESI):  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{O}^+$  ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ), berechnet 311.1430, gefunden 311.1423.

### 7.3.12 Aromatische Iodierung von (*P*)-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**89**) zu (*M*)-2-Hydroxy-3-iod-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*M*)-**90**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 2. Eine Mischung von TBTQ-Alkohol (*P*)-**89** (460 mg, 1.48 mmol), *N*-Iodsuccinimid (334 mg, 1.48 mmol) und Trifluoressigs\u00e4ure (0.11 mL, 1.48 mmol) in Acetonitril (20 mL) wurde 24 h bei Raumtemperatur ger\u00fchrt. Anschließend wurde eine w\u00e4ssr.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -L\u00f6sung (18.4 g in 25 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer S\u00e4ulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-16% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Iodphenol (*M*)-**90** (340 mg,  $R_f = 0.43$  (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 53% erhalten.

Schmelzpunkt: 190.0-191.3 °C (Braunfärbung der Probe ab 152 °C).

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.66 (s, 1 H, **H<sup>Ar,ortho(I)</sup>**), 7.44 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.38 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.21 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.06 (s, 1 H, **H<sup>Ar,ortho(OH)</sup>**), 5.13 (s, 1 H, **OH**), 4.45 (s, 1 H, **CH**), 4.38 (s, 2 H, **CH**), 1.66 (s, 3 H, **CH<sub>3</sub>**).

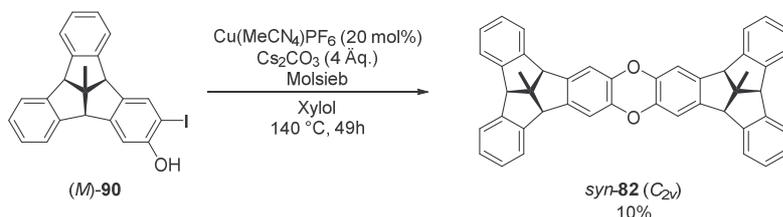
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 154.3 (**C<sup>q</sup>**), 148.5 (**C<sup>q</sup>**), 145.5 (**C<sup>q</sup>**), 145.4 (**C<sup>q</sup>**), 145.2 (**C<sup>q</sup>**), 144.7 (**C<sup>q</sup>**), 140.1 (**C<sup>q</sup>**), 133.6 (**C<sup>q</sup>**), 127.83 (**C<sup>q</sup>**), 127.77 (**C<sup>q</sup>**), 127.75 (**C<sup>q</sup>**), 127.72 (**C<sup>q</sup>**), 124.61 (**C<sup>q</sup>**), 124.56 (**C<sup>q</sup>**), 124.46 (**C<sup>q</sup>**), 124.41 (**C<sup>q</sup>**), 110.7 (**C<sup>q</sup>**), 84.8 (**C<sup>q</sup>**), 63.6 (**CH**), 63.2 (**CH**), 62.5 (**CH**), 61.8 (**C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>**), 27.7 (**CH<sub>3</sub>**).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 437.2 (100) [M + H]<sup>+</sup>, 459.1 (49) [M + Na]<sup>+</sup>.

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = +60^\circ$  ( $c = 0.99$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Exakte Masse (ESI): C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>IONa<sup>+</sup> ([M + Na]<sup>+</sup>), berechnet 459.0216, gefunden 459.0204.

7.3.13 *Ullmann*-Kupplung von (*M*)-2-Hydroxy-3-iod-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*M*)-**90**) zu *syn*-bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-Tribenzotriquinacen *syn*-**82**



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 3. Eine Mischung von Molsieb (60.0 mg), TBTQ-Iodphenol (*M*)-**90** (115 mg, 0.26 mmol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (345 mg, 1.06 mmol), Xylol (7 mL) und Cu(MeCN)<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> (19.9 mg, 0.05 mmol) wurde 49 h zum Rückfluss erhitzt. Abweichend von AAV 3 wurde die Reaktionsmischung heiß durch eine Fritte (Porengröße 4) filtriert und der Filterkuchen wurde mit 100 °C warmem Xylol (20 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel des mit der Waschlösung vereinten Filtrats wurde im Vakuum entfernt, wobei ein brauner Feststoff (164 mg) zurückblieb. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu$ m, Ethylacetat (5-34% Gradient) in Cyclohexan) wurde ein farbloser Feststoff in blassgelbem Öl (102 mg) erhalten. Dieser wurde mit eiskaltem Acetonitril (1 mL) versetzt, wobei sich das Öl verdünnte und der Feststoff sich nicht löste. Die Mischung wurde durch einen Büchnertrichter filtriert. Der Filterkuchen wurde mit eiskaltem Acetonitril (1 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet, wodurch das *syn*-bikonkave, Dioxin-verbrückte bis-TBTQ *syn*-**82** als blassgelber Feststoff (8.5 mg) in einer Ausbeute von 10% in reiner Form isoliert wurde. Durch sehr langsames Verdampfen des Lösungsmittels einer Lösung von bis-TBTQ *syn*-**82** in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH

(20:1, 2.2 mL) über einen Zeitraum von drei Wochen wurde das *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Addukt in Form von klaren, farblosen Kristallen erhalten.

Schmelzpunkt (Kristall): >410 °C (Zersetzung; Braunfärbung der Probe ab 324 °C ohne Schmelzen).

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.42 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.32 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.16 (m, 8 H, **H<sup>Ar</sup>**), 6.85 (s, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 4.43 (s, 2 H, **CH**), 4.33 (s, 4 H, **CH**), 1.66 (s, 6 H, **CH<sub>3</sub>**).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 145.4 (4 **C<sup>q</sup>**), 145.2 (4 **C<sup>q</sup>**), 141.7 (4 **C<sup>q</sup>**), 140.6 (4 **C<sup>q</sup>**), 127.70 (4 **C<sup>q</sup>**), 127.65 (4 **C<sup>q</sup>**), 124.6 (4 **C<sup>q</sup>**), 124.4 (4 **C<sup>q</sup>**), 111.7 (4 **C<sup>q</sup>**), 63.6 (2 **CH**), 63.2 (4 **CH**), 61.7 (2 **C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>**), 27.7 (2 **CH<sub>3</sub>**).

Exakte Masse (MALDI-ToF, DCTB): C<sub>46</sub>H<sub>33</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M + H]<sup>+</sup>), berechnet 617.2480, gefunden 617.2455.

#### 7.3.14 Röntgenstrukturanalyse von *syn*-bikonkavem, Dioxin-verbrücktem bis-TBTQ *syn*-**82**

Die Vermessung des unter 7.3.13 beschriebenen Einzelkristalls des *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Addukts wurde von *Neumann* durchgeführt und die Struktur wurde von *Stammler* unter Benutzung von Olex2<sup>[309]</sup> mit dem ShelXS<sup>[310]</sup> Strukturaufklärungsprogramm über die Direktmethode bestimmt und mit dem ShelXL<sup>[311]</sup> Verfeinerungspaket über die Kleinstquadratminimierung optimiert (Tabelle 7.7).

Tabelle 7.7: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von *syn*-**82**·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

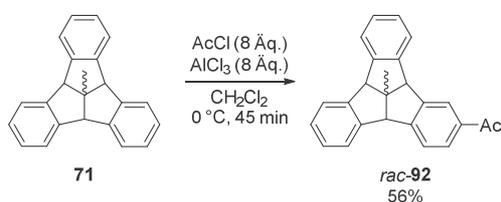
Summenformel	C <sub>47</sub> H <sub>34</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht	701.64 g/mol
Messtemperatur/K	100.01(10)
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	P2 <sub>1</sub> /n
a/Å	15.06176(8)
b/Å	15.46024(5)
c/Å	15.43277(6)
$\alpha$ /°	90
$\beta$ /°	103.7683(5)
$\gamma$ /°	90
Volumen/Å <sup>3</sup>	3490.39(3)
Z	4
$\rho_{\text{calc}}$ /cm <sup>3</sup>	1.335
$\mu$ /mm <sup>-1</sup>	1.987
F(000)	1464.0
Kristallgröße/mm <sup>3</sup>	0.391 × 0.262 × 0.216
Strahlung/Å	CuK $\alpha$ ( $\lambda$ = 1.54184)
2 $\Theta$ Bereich für die Datenerhebung/°	9.332 to 144.248
Indexbereiche	-18 ≤ h ≤ 18, -19 ≤ k ≤ 19, -19 ≤ l ≤ 19
Anzahl der gesammelten Reflexionen	123184
unabhängige Reflexionen	6850 [ $R_{\text{int}}$ = 0.0281, $R_{\text{sigma}}$ = 0.0082]

Tabelle 7.8 (Forts.): Kristalldaten und Strukturverfeinerung von syn-82-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Reflexionen mit $I > 2\sigma(I)$	6801
Daten/Einschränkungen/Parameter	6850/0/462
Anpassungsgüte auf $F^2$	1.023
finale R Indizes [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R_1 = 0.0484$ , $wR_2 = 0.1291$
finale R Indizes [all data]	$R_1 = 0.0486$ , $wR_2 = 0.1292$
größte Differenz peak/hole / $e \text{ \AA}^{-3}$	0.58/-0.82

Weiterführende Daten zur Struktur können unter der CCDC-Nummer 1828661 im Cambridge Crystallographic Data Centre unter [www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html](http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html) frei zugänglich eingesehen werden.

### 7.3.15 Acetylierung von 4b<sup>1</sup>-Methyltribenzotriquinacen (**71**) zu *rac*-2-Acetyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**92**)



Die Synthese wurde nach der Literaturvorschrift von *Greschner et al.* durchgeführt.<sup>[169]</sup> In einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Dreihalskolben mit Tropftrichter wurde  $\text{AlCl}_3$  (8 Äq., 10.9 g, 81.5 mmol) in Dichlormethan (350 mL) suspendiert. Die gelbe Suspension wurde im Eisbad unter Rühren auf 0 °C abgekühlt. Über den Tropftrichter wurde anschließend eine Lösung von Acetylchlorid (8 Äq., 5.82 mL, 81.5 mmol) in Dichlormethan (24 mL) über einen Zeitraum von 20 min hinzugegossen. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionsmischung 30 min bei 0 °C gerührt. Dann wurde eine Lösung von *centro*-Methyl-TBTQ (**71**) (3.00 g, 10.2 mmol) in Dichlormethan (100 mL) über einen Zeitraum von 30 min langsam hinzugegossen. Die Reaktionsmischung wurde weitere 15 min bei 0 °C gerührt und schließlich wurde vorsichtig Wasser (120 mL) zur Hydrolyse hinzugegeben. Nach Zugabe von Ethylacetat (50 mL) wurde die Reaktionsmischung extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (2 x 50 mL) und mit Ethylacetat (50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Ethylacetat (250 mL) versetzt, sodass die Trübung verschwand. Die organische Phase wurde mit ges. wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und mit Wasser (je 150 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein farbloser Feststoff (3.61 g) erhalten. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-25% Gradient) in Cyclohexan) wurde Acetyl-TBTQ *rac*-**92** (1.93 g,  $R_f = 0.47$  (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 56% erhalten.

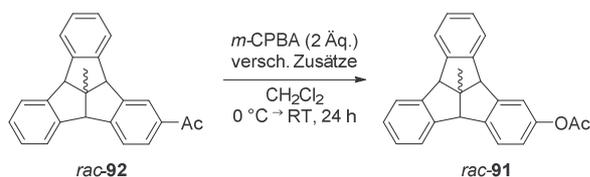
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.03 (s, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 7.80 (d,  $^3J = 7.9$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.51 (m, 2 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.44 (m, 3 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.22 (m, 4 H  $\text{H}^{Ar}$ ), 4.51 (s, 3 H, CH), 2.57 (s, 3 H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.70 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 197.9 ( $\text{C(O)}$ ), 151.2 ( $\text{C}^q$ ), 146.3 ( $\text{C}^q$ ), 145.6 ( $\text{C}^q$ ), 145.4 ( $\text{C}^q$ ), 144.9 ( $\text{C}^q$ ), 144.5 ( $\text{C}^q$ ), 137.0 ( $\text{C}^q$ ), 128.3 ( $\text{C}^t$ ), 127.91 ( $\text{C}^t$ ), 127.87 ( $\text{C}^t$ ), 127.86 ( $\text{C}^t$ ), 127.76 ( $\text{C}^t$ ), 124.66 ( $\text{C}^t$ ), 124.57 (2  $\text{C}^t$ ), 124.54 ( $\text{C}^t$ ), 124.47 (2  $\text{C}^t$ ), 63.8 (CH), 63.6 (CH), 63.3 (CH), 61.1 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.6 ( $\text{CH}_3$ ), 26.9 ( $\text{C(O)CH}_3$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 337.2 (20)  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 354.3 (6)  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ , 359.2 (100)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 375.2 (12)  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , 695.2 (22)  $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ .

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[169]</sup>

### 7.3.16 Screening zur Optimierung der *Baeyer-Villiger*-Oxidation mit unterschiedlichen katalytischen Zusätzen



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Kotsuki et al.* durchgeführt.<sup>[188]</sup> Für das Screening wurden drei Ansätze mit einer Lösung von Acetyl-TBTQ *rac-92* (100 mg, 0.30 mmol) in Dichlormethan (1.5 mL) vorbereitet. Zum ersten Ansatz wurde kein Zusatz, zum zweiten Ansatz wurde  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$  (5 mol%, 7.3 mg, 15  $\mu\text{mol}$ ) und zum dritten Ansatz wurde TfOH (10 mol%, 2.6  $\mu\text{L}$ , 30  $\mu\text{mol}$ ) hinzugegeben. Nach Abkühlen auf 0 °C wurde zu allen Ansätzen *m*-CPBA (2 Äq., 133 mg, 0.59 mmol) hinzugefügt. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktionsmischung wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Reduktion der überschüssigen Peroxide wurde eine Lösung von  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (2 Äq., 148 mg, 0.59 mmol) in Wasser (1.5 mL) hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde 15 min gerührt. Nach Zugabe von Wasser (2 mL) wurde die Mischung mit Dichlormethan (3 x 5 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und eine Probe des Rückstands wurde mittels  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie analysiert. Die Umsätze zu Acetoxy-TBTQ *rac-91* aus den verschiedenen Ansätzen sind in Tabelle 7.9 angegeben.

Tabelle 7.9: Umsatz zu Acetoxy-TBTQ *rac-91* aus der *Baeyer-Villiger*-Oxidation von Acetyl-TBTQ *rac-92* mit verschiedenen Zusätzen.

Ansatz	Zusatz [mol%]	Umsatz zu <i>rac-91</i> (per NMR bestimmt) [%]
1	/	82
2	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ [5]	83
3	TfOH [10]	>99

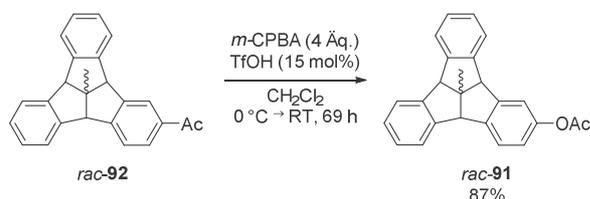
Acetoxy-TBTQ *rac-91*:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.41 (m, 5 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.21 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.14 (s, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 6.90 (d,  $^3J = 7.9$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 4.474 (s, 1 H,  $\text{CH}$ ), 4.471 (s, 1 H,  $\text{CH}$ ), 4.44 (s, 1 H,  $\text{CH}$ ), 2.28 (s, 3 H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.68 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

Acetyl-TBTQ *rac-92*:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.03 (s, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 7.80 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.51 (m, 2 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.41 (m, 3 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.21 (m, 4 H  $\text{H}^{Ar}$ ), 4.51 (s, 1 H,  $\text{CH}$ ), 4.50 (s, 2 H,  $\text{CH}$ ), 2.57 (s, 3 H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.70 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

3-Chlorbenzoesäure:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.10 (s, 1 H,  $\text{H}^{Ar(2)}$ ), 8.00 (d,  $^3J = 7.7$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar(4)}$ ), 7.60 (d,  $^3J = 7.9$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar(6)}$ ), 7.41 (m, 1 H,  $\text{H}^{Ar(5)}$ ).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[312]</sup>

### 7.3.17 Baeyer-Villiger-Oxidation von *rac-2*-Acetyl-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac-92*) zu *rac-2*-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac-91*)



Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Kotsuki et al.* durchgeführt.<sup>[188]</sup> Eine Lösung von Acetyl-TBTQ *rac-92* (1.00 g, 2.97 mmol) in Dichlormethan (15 mL) wurde im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Unter Rühren wurde zuerst TfOH (10 mol%, 26.1  $\mu\text{L}$ , 0.29 mmol) und im Anschluss daran *m*-CPBA (2 Äq., 1.33 g, 5.94 mmol) zu der Reaktionsmischung gegeben. Nach Auftauen auf Raumtemperatur wurde die Suspension 24 h gerührt. Es wurde erneut Dichlormethan (25 mL) hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde weitere 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde erneut *m*-CPBA (2 Äq., 1.33 g, 5.94 mmol) hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Schließlich wurde erneut TfOH (5 mol%, 13.1  $\mu\text{L}$ , 0.15 mmol) hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde nochmals 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bis die DC-Reaktionskontrolle einen vollständigen Umsatz anzeigte. Zur Reduktion der überschüssigen Peroxide wurde eine ges. wässr. Lösung von  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (2.95 g in 30 mL Wasser) hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde 30 min gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 x 25 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (30 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein farbloser Feststoff (1.13 g) erhalten. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-13% Gradient) in Cyclohexan) wurde Acetoxy-TBTQ (*rac-91*) (0.91 g,  $R_f = 0.67$  (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 87% erhalten.

Schmelzpunkt: 96.1-97.4 °C.

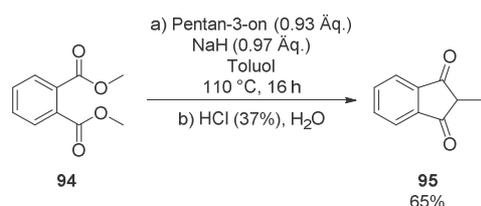
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.42 (m, 5 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.20 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.14 (s, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 6.90 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 4.47 (s, 2 H, 2CH), 4.45 (s, 1 H, CH), 2.29 (s, 3 H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.68 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 169.9 (C(O)), 150.4 (C $^q$ ), 147.0 (C $^q$ ), 145.6 (C $^q$ ), 145.5 (C $^q$ ), 145.3 (C $^q$ ), 145.0 (C $^q$ ), 143.2 (C $^q$ ), 127.8 (C $^t$ ), 127.69 (2 C $^t$ ), 127.66 (C $^t$ ), 125.1 (C $^t$ ), 124.6 (2 C $^t$ ), 124.49 (C $^t$ ), 124.45 (C $^t$ ), 120.9 (C $^t$ ), 117.6 (C $^t$ ), 63.7 (CH), 63.5 (CH), 63.1 (CH), 61.5 (C $^q$ CH<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>3</sub>), 21.3 (C(O)CH<sub>3</sub>).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 370.3 (7) [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 375.2 (100) [M + Na]<sup>+</sup>, 391.2 (11) [M + K]<sup>+</sup>, 727.2 (9) [2 M + Na]<sup>+</sup>.

Exakte Masse (ESI): C<sub>25</sub>H<sub>21</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M + H]<sup>+</sup>), berechnet 353.1536, gefunden 353.1533.

### 7.3.18 Claisen-Kondensation von Dimethylphthalat (**94**) und Pentan-3-on zu 2-Methylindan-1,3-dion (**95**)



Die Synthese wurde nach der Literaturvorschrift von Mosher *et al.* durchgeführt.<sup>[191]</sup> In einem mit Argon durchgespülten Dreihalskolben wurde Natriumhydrid (60% in Paraffinöl, 0.97 Äq., 20.0 g, 0.50 mol) in Toluol (500 mL) suspendiert. Unter Rühren wurde eine Mischung aus Dimethylphthalat (**94**) (100 g, 0.52 mol) und Pentan-3-on (0.93 Äq., 41.1 g, 0.48 mmol) innerhalb einer Stunde langsam in die graublaue Suspension getropft. Nach beendeter Zugabe wurde die orangefarbene Suspension 16 h zum Rückfluss erhitzt. Die dunkelrote Suspension wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, im Vakuum filtriert und mit Toluol (100 mL) gewaschen. Der dunkelrote Feststoff wurde im Vakuum getrocknet und anschließend in Wasser (1300 mL) gelöst. Durch Zugabe von konz. Salzsäure (37%, 65 mL) fielen gelbe Kristalle aus. Nach 48 h Kühlen bei 4 °C wurde die Mischung filtriert und die Kristalle wurden im Vakuum getrocknet. 2-Methylindan-1,3-dion (**95**) (49.5 g) wurde als gelber, kristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 65% rein erhalten. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.97 und 7.84 (AA'BB'-Spinsystem, je 2 H,  $\text{H}^{Indan}$ ), 3.05 (q,  $^3J = 7.7$  Hz, 1 H, CH), 1.40 (d,  $^3J = 7.8$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 201.3 (2 C(O)), 142.1 (2 C $^q$ ), 135.8 (2 C $^t$ ), 123.4 (2 C $^t$ ), 48.9 (CH), 10.6 (CH<sub>3</sub>).





$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 158.8 ( $\text{C}^{\text{Ar},\text{ipso}}$ ), 145.7 ( $\text{C}^{\text{q},\text{Indan}}$ ), 145.6 ( $\text{C}^{\text{q},\text{Indan}}$ ), 143.1 ( $\text{C}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{para}}$ ), 134.6 ( $\text{C}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{ipso}}$ ), 131.5 (2  $\text{C}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{meta}}$ ), 130.5 (2  $\text{C}^{\text{Ar},\text{ortho}}$ ), 129.6 ( $\text{C}^{\text{t},\text{Indan}}$ ), 129.5 ( $\text{C}^{\text{t},\text{Indan}}$ ), 128.9 (2  $\text{C}^{\text{Ar},\text{meta}}$ ), 126.8 ( $\text{C}^{\text{Ar},\text{para}}$ ), 126.7 ( $\text{C}^{\text{t},\text{Indan}}$ ), 126.6 ( $\text{C}^{\text{t},\text{Indan}}$ ), 114.3 (2  $\text{C}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{ortho}}$ ), 82.3 ( $\text{CHOH}$ ), 82.2 ( $\text{CHOH}$ ), 55.8 ( $\text{OCH}_3$ ), 53.9 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 48.6 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 20.8 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 383.3 (100)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 743.4 (27)  $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ .

Exakte Masse (ESI):  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Na}^+$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), berechnet 383.1618, gefunden 383.1607.

*cis-trans*-**98** (~1:1-Mischung von Diastereomeren): Schmelzpunkt: 96.5-98.3 °C.

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.63 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar},\text{ortho}}$ ), 7.56 (d,  $^3J \approx 7.1$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar},\text{ortho}}$ ), 7.56 (d,  $^3J = 8.5$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{meta}}$ ), 7.49 (d,  $^3J = 8.7$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{meta}}$ ), 7.40 – 7.22 (m, 7 H,  $\text{H}^{\text{Ar},\text{meta}}$ ,  $\text{H}^{\text{Indan}}$ ,  $\text{H}^{\text{Ar},\text{para}}$ ), 6.92 (d,  $^3J = 8.7$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{ortho}}$ ), 6.88 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{\text{Ar}(\text{OMe}),\text{ortho}}$ ), 5.46 (d,  $^3J = 4.3$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{trans}}$ ), 5.45 (d,  $^3J = 4.2$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{trans}}$ ), 4.83 (s, ~0.5 H,  $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 4.81 (s, ~0.5 H,  $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 4.705 (d,  $^3J = 4.5$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{cis}}$ ), 4.702 (d,  $^3J = 4.5$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{cis}}$ ), 3.795 (s, ~1.5 H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.785 (s, ~1.5 H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.78 (d,  $^3J = 4.6$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{cis}}$ ), 1.75 (d,  $^3J = 4.6$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{cis}}$ ), 1.06 (s, ~1.5 H,  $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 1.05 (s, ~1.5 H,  $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 1.05 (d,  $^3J \approx 4.6$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{trans}}$ ), 1.00 (d,  $^3J = 4.6$  Hz, ~0.5 H,  $\text{CHOH}^{\text{trans}}$ ).

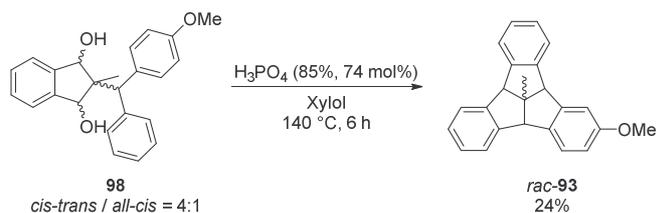
$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 159.2 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 158.8 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 145.12 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 145.06 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 143.7 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 143.3 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 142.1 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 142.0 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 135.2 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 134.8 ( $\text{C}^{\text{q}}$ ), 131.6 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 131.3 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 130.5 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 130.2 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 129.6 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 129.4 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 128.9 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 128.6 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 127.4 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 126.9 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 125.7 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 125.6 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 125.10 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 125.08 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 114.7 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 114.3 ( $\text{C}^{\text{A}}$ ), 81.7 ( $\text{CHOH}$ ), 81.63 ( $\text{CHOH}$ ), 81.55 ( $\text{CHOH}$ ), 81.4 ( $\text{CHOH}$ ), 56.16 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 56.12 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 55.79 ( $\text{OCH}_3$ ), 55.75 ( $\text{OCH}_3$ ), 55.1 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 54.9 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 15.6 ( $\text{CH}_3\text{CCH}$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 383.3 (100)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 393.4 (72)  $[\text{M} + \text{MeOH} + \text{H}]^+$ , 743.4 (25)  $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ .

Exakte Masse (ESI):  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Na}^+$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), berechnet 383.1618, gefunden 383.1608.

Mischung von *all-cis*- und *cis-trans*-**98**: MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 383.3 (100)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 399.2 (52)  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , 424.2 (6)  $[\text{M} + \text{MeCN} + \text{Na}]^+$ , 743.3 (33)  $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ .

Elementaranalyse:  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_3$ , berechnet C 79.97%, H 6.71%, gefunden C 79.04%, H 6.95%.

7.3.21 Cyclodehydratisierung von 2-((4-Methoxyphenyl)(phenyl)-methyl)-2-methylindan-1,3-diol (*all-cis*- und *cis-trans*-**98**) zu *rac*-2-Methoxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (*rac*-**93**)

Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Kuck et al.* durchgeführt.<sup>[157]</sup> Eine 4:1-Mischung aus *cis-trans*- und *all-cis*-Indandiol **98** (1.59 g, 4.40 mmol), Xylol (20 mL) und *ortho*-Phosphorsäure (85%ig, 0.22 mL, 3.30 mmol, 74 mol%) wurde 6 h an einem *Dean-Stark*-Wasserabscheider zum Rückfluss erhitzt. Die heiße, braun-schwarze Reaktionsmischung wurde durch eine K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Schicht (1.5 cm x 2.5 cm) filtriert und mit heißem Xylol (25 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel des braunen Filtrats wurde im Vakuum entfernt. Mittels zweifacher automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 μm, Ethylacetat (0-5% Gradient) in Cyclohexan und C18-Kieselgel, Wasser (48-6% Gradient) in Acetonitril) wurde Methoxy-TBTQ *rac*-**93** (338 mg) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 24% erhalten.

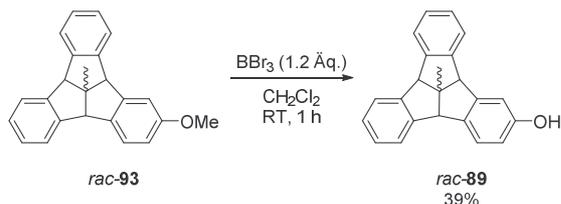
Schmelzpunkt: 87.3-89.9 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.48 (m, 3 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.45 (m, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.37 (d, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,meta</sup>**), 7.24 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.01 (d, <sup>4</sup>J = 2.3 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 6.80 (dd, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 4.51 (s, 1 H, **CH**), 4.47 (s, 1 H, **CH**), 4.46 (s, 1 H, **CH**), 3.81 (s, 3 H, **OCH<sub>3</sub>**), 1.72 (s, 3 H, **CH<sub>3</sub>**).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 159.7 (**C<sup>q</sup>**), 146.9 (**C<sup>q</sup>**), 145.9 (**C<sup>q</sup>**), 145.7 (**C<sup>q</sup>**), 145.40 (**C<sup>q</sup>**), 145.35 (**C<sup>q</sup>**), 137.9 (**C<sup>q</sup>**), 127.62 (**C**), 127.57 (**C**), 127.55 (**C**), 127.46 (**C**), 125.0 (**C**), 124.6 (**C**), 124.51 (**C**), 124.49 (**C**), 124.44 (**C**), 113.7 (**C**), 109.7 (**C**), 63.7 (**CH**), 63.6 (**CH**), 62.9 (**CH**), 61.5 (**C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>**), 55.6 (**OCH<sub>3</sub>**), 27.7 (**CH<sub>3</sub>**).

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 325.2 (86) [M + H]<sup>+</sup>, 342.2 (100) [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 347.2 (34) [M + Na]<sup>+</sup>.

Exakte Masse (ESI): C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>O<sup>+</sup> ([M + H]<sup>+</sup>), berechnet 325.1587, gefunden 353.1580.

7.3.22 Entschützung von *rac*-2-Methoxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (*rac*-**93**) zu *rac*-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (*rac*-**89**) mit BBr<sub>3</sub>

Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Punna et al.* durchgeführt.<sup>[196]</sup> In einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Schlenkkolben wurde Methoxy-TBTQ *rac*-**93** (67.8 mg, 0.21 mmol) in Dichlormethan (2 mL) vorgelegt. In die gelbe Lösung wurde BBr<sub>3</sub> (1.2 Äq., 25.0 µL, 0.26 mmol) unter Rühren über eine Spritze durch ein Septum langsam hinzugegossen. Die braune Lösung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurde langsam Eiswasser (5 mL) hinzugegeben, bis sich kein Gas mehr entwickelte. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (4 x 5 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser (10 mL) und mit ges. wässr. NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein gelbes Öl (55.7 mg) erhalten. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, Ethylacetat (2-20% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Alkohol *rac*-**89** (25.2 mg, R<sub>f</sub> = 0.30 (10% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 39% erhalten.

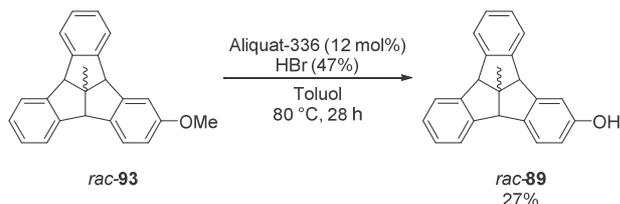
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.45 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.40 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.27 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,meta</sup>**), 7.19 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 6.90 (d, <sup>4</sup>J = 2.2 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 6.66 (dd, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>4</sup>J = 2.0 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 4.61 (s, 1 H, OH), 4.46 (s, 1 H, CH), 4.40 (s, 2 H, CH), 1.68 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 155.4 (**COH**), 147.3 (**C<sup>q</sup>**), 145.9 (**C<sup>q</sup>**), 145.7 (**C<sup>q</sup>**), 145.4 (**C<sup>q</sup>**), 145.3 (**C<sup>q</sup>**), 138.0 (**C<sup>q</sup>**), 127.66 (**C<sup>t</sup>**), 127.59 (**C<sup>t</sup>**), 127.56 (**C<sup>t</sup>**), 127.50 (**C<sup>t</sup>**), 125.2 (**C<sup>t</sup>**), 124.55 (**C<sup>t</sup>**), 124.53 (**C<sup>t</sup>**), 124.49 (**C<sup>t</sup>**), 124.44 (**C<sup>t</sup>**), 115.0 (**C<sup>t</sup>**), 111.0 (**C<sup>t</sup>**), 63.64 (**CH**), 63.56 (**CH**), 62.9 (**CH**), 61.5 (**C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>**), 27.7 (**CH<sub>3</sub>**).

MS (–ESI, MeCN): m/z (%) = 309.0 (100) [M – H]<sup>–</sup>.

Exakte Masse (ESI): C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>O<sup>+</sup> ([M + H]<sup>+</sup>), berechnet 311.1430, gefunden 311.1435.

HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H (chiral), 20 °C, sc-CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol (0.75 mL/min), Lösungsmittelgradient: 99:1 (50 min), 99:1 → 90:10 (10 min), 90:10 (120 min), 230 nm; R<sub>t</sub> = 143 min (*M*)-**89**, R<sub>t</sub> = 154 min (*P*)-**89**.

7.3.23 Entschützung von *rac*-2-Methoxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (*rac*-**93**) zu *rac*-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (*rac*-**89**) mit HBr

Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Waghmode et al.* durchgeführt.<sup>[197]</sup> Zu einer Lösung von Methoxy-TBTQ *rac*-**93** (190 mg, 0.59 mmol) in Toluol (2 mL) wurde unter Rühren zuerst Aliquat-336 (12 mol%, 33.4 mg, 0.07 mmol), dann wässr. HBr (47%ig, 0.22 mL, 3.96 mmol) hinzugegeben. Die gelbe Reaktionsmischung wurde 28 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde Wasser (4 mL) hinzugegeben und die Mischung wurde mit Ethylacetat (4 x 4 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein braunes Öl (155 mg) erhalten. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 μm, Ethylacetat (2-20% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Alkohol *rac*-**89** (48.9 mg, R<sub>f</sub> = 0.24 (10% Ethylacetat in Cyclohexan)) als hellbrauner Feststoff in einer Ausbeute von 27% erhalten.

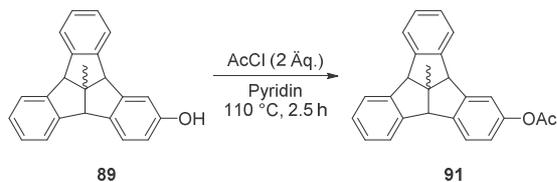
Schmelzpunkt: 95.3-96.6 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.45 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.40 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.27 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,meta</sup>**), 7.19 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 6.89 (d, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 6.66 (dd, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 4.58 (s, 1 H, OH), 4.46 (s, 1 H, CH), 4.40 (s, 2 H, CH), 1.68 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

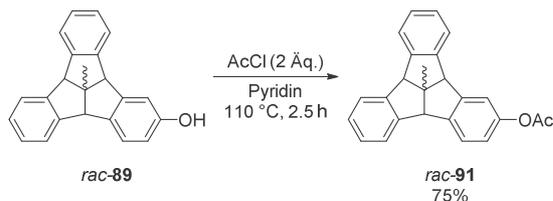
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 155.4 (**COH**), 147.3 (**C<sup>q</sup>**), 145.9 (**C<sup>q</sup>**), 145.7 (**C<sup>q</sup>**), 145.4 (**C<sup>q</sup>**), 145.3 (**C<sup>q</sup>**), 138.0 (**C<sup>q</sup>**), 127.66 (**C<sup>t</sup>**), 127.59 (**C<sup>t</sup>**), 127.56 (**C<sup>t</sup>**), 127.50 (**C<sup>t</sup>**), 125.2 (**C<sup>t</sup>**), 124.55 (**C<sup>t</sup>**), 124.53 (**C<sup>t</sup>**), 124.49 (**C<sup>t</sup>**), 124.44 (**C<sup>t</sup>**), 115.0 (**C<sup>t</sup>**), 111.0 (**C<sup>t</sup>**), 63.64 (**CH**), 63.56 (**CH**), 62.9 (**CH**), 61.5 (**C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>**), 27.7 (**CH<sub>3</sub>**).

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 333.2 (100) [M + Na]<sup>+</sup>, 349.2 (25) [M + K]<sup>+</sup>, 643.0 (32) [2 M + Na]<sup>+</sup>.

Exakte Masse (ESI): C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>O<sup>+</sup> ([M + H]<sup>+</sup>), berechnet 311.1430, gefunden 311.1432.

7.3.24 Allgemeine Arbeitsvorschrift 4 (AAV 4): Acetylierung von 2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (**89**) zu 2-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (**91**)

Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Raju et al.* durchgeführt.<sup>[198]</sup> Zu einer Lösung des TBTQ-Alkohols **89** in Pyridin wurde Acetylchlorid (2 Äq.) gegeben. Die Suspension wurde 2.5 h bei 110 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Salzsäure (2-3 M) hinzugegeben. Die Mischung wurde vier Mal mit Dichlormethan (1:1) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (1:1) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde mittels automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) aufgereinigt.

7.3.25 Acetylierung von *rac*-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (*rac*-**89**) zu *rac*-2-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**91**)

Die Synthese erfolgte analog zu AAV 4. Eine Suspension von TBTQ-Alkohol *rac*-**89** (196 mg, 0.63 mmol) und Acetylchlorid (90.2  $\mu$ L, 1.26 mmol) in Pyridin (5.6 mL) wurde 2.5 h bei 110 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Salzsäure (3 M, 19.8 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu$ m, Ethylacetat (1-10% Gradient) in Cyclohexan) wurde Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** (133 mg,  $R_f = 0.33$  (5% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 75% isoliert.

Schmelzpunkt: 96.6-98.6 °C.

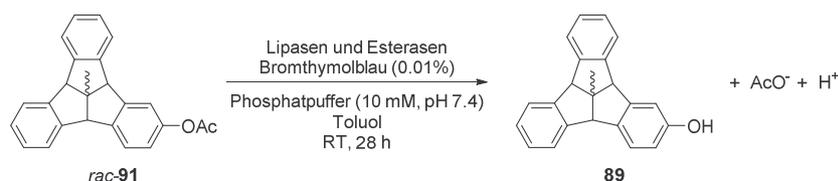
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.42 (m, 5 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.20 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.14 (d,  $^4J = 1.3$  Hz, 1 H, **H<sup>Ar,ortho</sup>**), 6.90 (dd,  $^3J = 8.2$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 4.47 (s, 2 H, **CH**), 4.45 (s, 1 H, **CH**), 2.28 (s, 3 H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.68 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 169.9 (C(O)), 150.4 (C<sup>q</sup>), 147.0 (C<sup>q</sup>), 145.6 (C<sup>q</sup>), 145.5 (C<sup>q</sup>), 145.3 (C<sup>q</sup>), 145.0 (C<sup>q</sup>), 143.2 (C<sup>q</sup>), 127.8 (C<sup>q</sup>), 127.69 (2 C<sup>q</sup>), 127.66 (C<sup>q</sup>), 125.1 (C<sup>q</sup>), 124.6 (2 C<sup>q</sup>), 124.49 (C<sup>q</sup>), 124.45 (C<sup>q</sup>), 120.9 (C<sup>q</sup>), 117.6 (C<sup>q</sup>), 63.7 (CH), 63.5 (CH), 63.1 (CH), 61.5 (C<sup>q</sup>CH<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>3</sub>), 21.3 (C(O)CH<sub>3</sub>).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 370.3 (6)  $[M + NH_4]^+$ , 375.2 (100)  $[M + Na]^+$ , 727.2 (6)  $[2 M + Na]^+$ .

Exakte Masse (ESI):  $C_{25}H_{21}O_2^+$  ( $[M + H]^+$ ), berechnet 353.1536, gefunden 353.1538.

### 7.3.26 Enzymscreening für die Esterverseifung von *rac*-2-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**91**) zu 2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (**89**) mit verschiedenen Lipasen und Esterasen



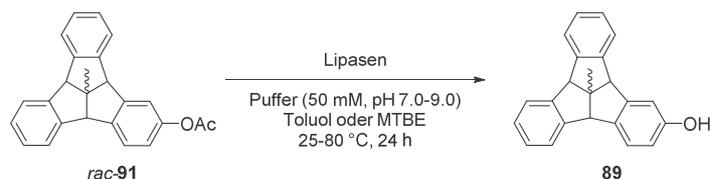
Eine Serie von 32 Lipasen und 2 Esterasen wurde auf ihre Hydrolyse-Aktivität gegenüber Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** getestet (Tabelle 7.10). Dazu wurde in einer Mikrotiterplatte mit 96 Wells eine Suspension des jeweiligen Enzyms (100 mg/mL) in Phosphatpuffer (10 mM, pH 7.4, 20  $\mu$ L) mit einer frisch angesetzten Lösung von Bromthymolblau (0.01%) in Phosphatpuffer (10 mM, pH 7.4, 180  $\mu$ L) versetzt. Für jede Enzymformulierung wurden 2 Wells vorbereitet. Zu jeweils einem der beiden Wells wurde eine Lösung von Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** in Toluol (250 mM, 20  $\mu$ L) gegeben. Die Mikrotiterplatte wurde 28 h langsam bei Raumtemperatur geschüttelt. Dabei wurde der Farbumschlag der einzelnen Ansätze von blau-grün nach gelb nach 0, 1, 2, 4, 6, 24 und 28 h kontrolliert. Für diejenigen Vergleichs-Enzymmischungen, bei denen auch ohne Ester *rac*-**91** ein Farbumschlag beobachtet wurde, wurde das Screening mit höher verdünnten Enzymsuspensionen (1:10 oder 1:40) wiederholt.

Tabelle 7.10: Für das Enzymscreening zur Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** verwendete Lipasen und Esterasen.

Nr.	Enzymname	Herkunft	Aktivität ja(+) / nein(-)	Verdünnung
01	Lipase CE 5	<i>Amano</i>	–	1:10
02	Lipase L 5	<i>Amano</i>	–	–
03	Lipase R 10	<i>Amano</i>	–	–
04	Lipase D 20	<i>Amano</i>	+	–
05	Lipase AY 30	<i>Amano</i>	–	–
06	Lipase N Conc	<i>Amano</i>	–	1:10
07	Lipase PS immobilisiert auf toyonite-200-P.	<i>Amano</i>	–	–
08	Lipase GC 4	<i>Amano</i>	–	–
09	Lipase PS immobilisiert auf diatomite	<i>Amano</i>	–	–
10	Lipase R-10	<i>Amano</i>	–	–
11	Lipase F-AP 15	<i>Amano</i>	–	1:10
12	Lipase G	<i>Amano</i>	–	1:10
13	Lipase M-AP 10	<i>Amano</i>	–	1:10
14	Lipase AP6	<i>Amano</i>	–	1:10
15	Lipase M 10	<i>Amano</i>	–	1:10
16	Lipase PS SD	<i>Amano</i>	–	–
17	Lipase AYS	<i>Amano</i>	–	–

Nr.	Enzymname	Herkunft	Aktivität ja(+) / nein(-)	Verdünnung
18	Lipase immobilisiert	TOYOBO	–	–
19	Lipase A ( <i>aspergillus niger</i> )	Amano	–	–
20	Lipase ( <i>penicillium camamberti</i> )	Fluka	–	–
21	Lipase PS ( <i>pseudomonas cepacia</i> )	Amano	–	–
22	Lipase (hog pancreas)	(unbekannt)	–	1:10
23	Lipase AYG	Amano	–	–
24	Lipase PS IM	Amano	–	–
25	Lipase (hog pancreas)	Fluka	–	1:10
26	Lipase (porcine pancreas)	Sigma	–	1:10
27	Lipase AK	Amano	–	1:40
28	Lipase ( <i>rhizopus niveus</i> )	Sigma	–	1:10
29	CAL-B lyophilisiert	C-LEcta	+	1:10
30	CAL-B immobilisiert	C-LEcta	+	–
31	CAL-B immobilisiert	Sigma	+	–
32	CAL-A immobilisiert	Sigma	+	–
33	Eresterase (porcine liver)	(unbekannt)	–	1:10
34	Cholesterinesterase ( <i>pseudomonas</i> )	Boehringer M.	–	–

### 7.3.27 Parameterscreening für die Esterverseifung von *rac*-2-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**91**) zu 2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen (**89**) mit hydrolytisch aktiven Lipasen



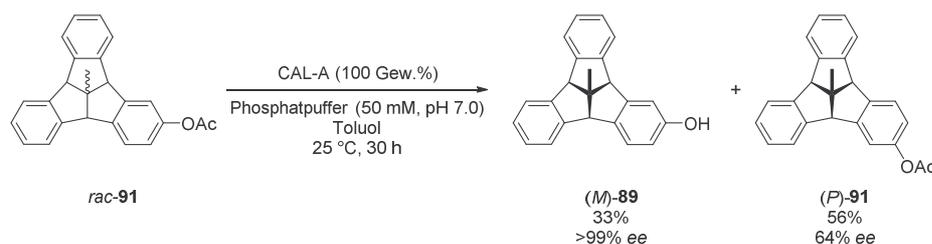
Da Reaktionsansätze mit den Enzymformulierungen CAL-A (immobilisiert, *Sigma Aldrich*), CAL-B (immobilisiert, *Sigma Aldrich*), CAL-B (immobilisiert, *C-LEcta*), CAL-B (lyophilisiert, *C-LEcta*) und Lipase D 20 (*Amano*) im qualitativen Aktivitätsassay eine Farbänderung anzeigten, wurden Aktivität und Selektivität dieser Enzyme gegenüber Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** daher in weiteren Reaktionsansätzen unter unterschiedlichen Reaktionsbedingungen überprüft. Dazu wurde eine Mischung aus Enzymformulierung (5-52 mg) und Ester *rac*-**91** (9-52 mg) in Puffer (AMP-Puffer: 50 mM, pH 9.0 oder Phosphatpuffer: 50 mM, pH 7.0 oder pH 7.4, 0.5-10 mL) und Lösungsmittel (MTBE oder Toluol, 0.05-10 mL) 24 h bei 25-80 °C gerührt. Anschließend wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde mit MTBE oder Toluol gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Von der organischen Lösung wurde ein Teil (0.3–1.5 mL) in ein Glasgefäß überführt und per chiraler HPLC analysiert, um den Umsatz und den *ee*-Wert des gebildeten TBTQ-Alkohols **89** zu bestimmen (Tabelle 7.11).

Tabelle 7.11: Parameterscreening der gegenüber Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** hydrolytisch aktiven Lipasen und dessen Ergebnisse (Umsatz zu TBTQ-Alkohol **89**, *ee*-Wert und E-Wert).

Lipase	Menge Enzym [mg]	Menge Substrat [mg]	Lösungsmittel (mL)	Puffer <sup>[e]</sup> (pH/Menge [mL])	Temp. [° C]	Umsatz zu <b>89</b> [%]	<i>ee</i> -Wert [%]	E-Wert
CAL-B <sup>[a]</sup>	25	50	MTBE (7)	Phos. (7.0, 7)	50	3	88	17
CAL-B <sup>[a]</sup>	50	9	Toluol (0.05)	AMP (9.0, 0.5)	25	16	84	15
CAL-B <sup>[a]</sup>	52	52	Toluol (7)	Phos. (7.0, 7)	80	6	94	36
CAL-B <sup>[a]</sup>	50	9	Toluol (0.05)	Phos. (7.4, 0.5)	25	9	74	8
CAL-B <sup>[b]</sup>	5	9	Toluol (0.05)	Phos. (7.4, 0.5)	25	20	38	2
D 20 <sup>[c]</sup>	5	9	Toluol (0.05)	Phos. (7.4, 0.5)	25	7	38	2
CAL-B <sup>[d]</sup>	49	9	Toluol (0.05)	Phos. (7.0, 0.5)	25	23	88	25
CAL-B <sup>[d]</sup>	51	9	Toluol (0.05)	AMP (9.0, 0.5)	25	25	92	40
CAL-A <sup>[d]</sup>	52	9	Toluol (0.05)	Phos. (7.0, 0.5)	25	52	48	5
CAL-A <sup>[d]</sup>	30	30	Toluol (10)	Phos. (7.0, 10)	25	40	92	45

<sup>[a]</sup>: *C-LEcta* (immobilisiert); <sup>[b]</sup>: *C-LEcta* (lyophilisiert); <sup>[c]</sup>: *Amano*; <sup>[d]</sup>: *Sigma Aldrich* (immobilisiert); <sup>[e]</sup>: Phos.: Phosphatpuffer; AMP: 2-Amino-2-methyl-1-propanol-Puffer.

### 7.3.28 Selektive Verseifung von *rac*-2-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen (*rac*-**91**) zu (*M*)-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen ((*M*)-**89**) mit CAL-A



Eine Mischung aus Acetoxy-TBTQ *rac*-**91** (200 mg, 0.57 mmol) und CAL-A (200 mg, *Sigma Aldrich*, immobilisiert an Immobead 150, rekombinant aus *Aspergillus oryzae*, Aktivität: 1612 U/g) in Toluol (50 mL) und Phosphatpuffer (50 mL, 50 mM, pH = 7.0) wurde 30 h bei 25 °C mit 850 rpm gerührt. Nach Zugabe von ges. wässr. NaCl-Lösung (15 mL) wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein farbloses, viskoses Öl (293 mg) erhalten. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 μm, Ethylacetat (2-19% Gradient) in Cyclohexan) wurde in der ersten Fraktion Acetoxy-TBTQ (*P*)-**91** (111 mg, R<sub>f</sub> = 0.41 (10% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 56% mit einem *ee*-Wert von 64% zurückgewonnen. In einer zweiten Fraktion wurde TBTQ-Alkohol (*M*)-**89** (75.6 mg, R<sub>f</sub> = 0.20 (10% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 33% mit einem *ee*-Wert von >99% erhalten.

Acetoxy-TBTQ (*P*)-**91** (64% *ee*): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.42 (m, 5 H, **H**<sup>Ar</sup>), 7.20 (m, 4 H, **H**<sup>Ar</sup>), 7.14 (d, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1 H, **H**<sup>Ar,ortho</sup>), 6.90 (dd, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>4</sup>J =

1.8 Hz, 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 4.47 (s, 2 H,  $\mathbf{CH}$ ), 4.44 (s, 1 H,  $\mathbf{CH}$ ), 2.28 (s, 3 H,  $\mathbf{C(O)CH_3}$ ), 1.68 (s, 3 H,  $\mathbf{CH_3}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 169.9 ( $\mathbf{C(O)}$ ), 150.4 ( $\mathbf{C}^q$ ), 147.0 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.6 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.5 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.3 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.0 ( $\mathbf{C}^q$ ), 143.2 ( $\mathbf{C}^q$ ), 127.8 ( $\mathbf{C}^t$ ), 127.69 (2  $\mathbf{C}^t$ ), 127.66 ( $\mathbf{C}^t$ ), 125.1 ( $\mathbf{C}^t$ ), 124.6 (2  $\mathbf{C}^t$ ), 124.49 ( $\mathbf{C}^t$ ), 124.45 ( $\mathbf{C}^t$ ), 120.9 ( $\mathbf{C}^t$ ), 117.6 ( $\mathbf{C}^t$ ), 63.7 ( $\mathbf{CH}$ ), 63.5 ( $\mathbf{CH}$ ), 63.1 ( $\mathbf{CH}$ ), 61.5 ( $\mathbf{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\mathbf{CH}_3$ ), 21.3 ( $\mathbf{C(O)CH}_3$ ).

HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H (chiral), 20 °C,  $\text{sc-CO}_2$ /*iso*-Propanol (0.75 mL/min), Lösungsmittelgradient: 99:1 (50 min), 99:1  $\rightarrow$  90:10 (10 min), 90:10 (120 min), 230 nm;  $R_{t1}$  = 87 min (*M*)-**91**,  $R_{t2}$  = 89 min (*P*)-**91**.

TBTQ-Alkohol (*M*)-**89** (>99% *ee*): Schmelzpunkt: 96.0-97.2 °C.

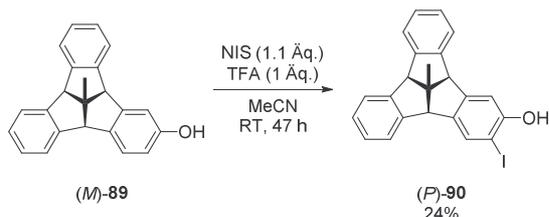
$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.44 (m, 2 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 7.39 (m, 2 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 7.27 (d,  $^3J$  = 7.4 Hz, 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar,meta}$ ), 7.19 (m, 4 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 6.89 (d,  $^4J$  = 2.2 Hz, 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar,ortho}$ ), 6.66 (dd,  $^3J$  = 8.2 Hz,  $^4J$  = 2.2 Hz, 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar,ortho}$ ), 4.62 (s, 1 H,  $\mathbf{OH}$ ), 4.46 (s, 1 H,  $\mathbf{CH}$ ), 4.40 (s, 2 H,  $\mathbf{CH}$ ), 1.68 (s, 3 H,  $\mathbf{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 155.4 ( $\mathbf{COH}$ ), 147.3 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.9 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.7 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.4 ( $\mathbf{C}^q$ ), 145.3 ( $\mathbf{C}^q$ ), 138.0 ( $\mathbf{C}^q$ ), 127.67 ( $\mathbf{C}^t$ ), 127.59 ( $\mathbf{C}^t$ ), 127.56 ( $\mathbf{C}^t$ ), 127.50 ( $\mathbf{C}^t$ ), 125.2 ( $\mathbf{C}^t$ ), 124.56 ( $\mathbf{C}^t$ ), 124.53 ( $\mathbf{C}^t$ ), 124.49 ( $\mathbf{C}^t$ ), 124.44 ( $\mathbf{C}^t$ ), 115.0 ( $\mathbf{C}^t$ ), 111.0 ( $\mathbf{C}^t$ ), 63.65 ( $\mathbf{CH}$ ), 63.57 ( $\mathbf{CH}$ ), 62.9 ( $\mathbf{CH}$ ), 61.5 ( $\mathbf{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\mathbf{CH}_3$ ).

HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H (chiral), 20 °C,  $\text{sc-CO}_2$ /*iso*-Propanol (0.75 mL/min), Lösungsmittelgradient: 99:1 (50 min), 99:1  $\rightarrow$  90:10 (10 min), 90:10 (120 min), 230 nm;  $R_{t1}$  = 143 min.

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = +60^\circ$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

7.3.29 Aromatische Iodierung von (*M*)-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*M*)-**89**) zu (*P*)-2-Hydroxy-3-iod-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**90**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 2. Eine Mischung von TBTQ-Alkohol (*M*)-**89** (70.0 mg, 0.23 mmol), *N*-Iodsuccinimid (1.1 Äq., 56.9 mg, 0.25 mmol) und Trifluoressigsäure (17.3  $\mu\text{L}$ , 0.23 mmol) in Acetonitril (2 mL) wurde 47 h bei

Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde abweichend von AAV 2 eiskaltes Wasser (2 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-20% Gradient) in Cyclohexan) wurde TBTQ-Iodphenol (*P*)-**90** (23.2 mg,  $R_f = 0.43$  (20% Ethylacetat in Cyclohexan)) als blassgelber Feststoff in einer Ausbeute von 24% erhalten.

Schmelzpunkt: 189.1-192.3 °C (Braunfärbung der Probe ab 154 °C).

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.66 (s, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho(I)}$ ), 7.44 (m, 2 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.37 (m, 2 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.21 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.06 (s, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho(OH)}$ ), 5.13 (s, 1 H, OH), 4.45 (s, 1 H, CH), 4.38 (s, 2 H, CH), 1.67 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

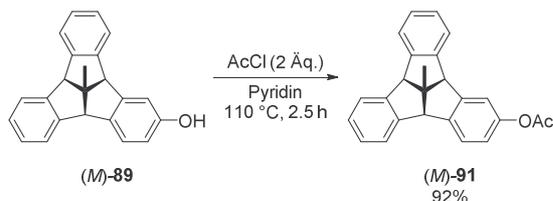
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 154.3 ( $\text{C}^q$ ), 148.5 ( $\text{C}^q$ ), 145.5 ( $\text{C}^q$ ), 145.4 ( $\text{C}^q$ ), 145.2 ( $\text{C}^q$ ), 144.7 ( $\text{C}^q$ ), 140.1 ( $\text{C}^q$ ), 133.6 ( $\text{C}^r$ ), 127.83 ( $\text{C}^r$ ), 127.76 ( $\text{C}^r$ ), 127.75 ( $\text{C}^r$ ), 127.72 ( $\text{C}^r$ ), 124.61 ( $\text{C}^r$ ), 124.56 ( $\text{C}^r$ ), 124.46 ( $\text{C}^r$ ), 124.41 ( $\text{C}^r$ ), 110.7 ( $\text{C}^r$ ), 84.8 ( $\text{C}^q$ ), 63.6 (CH), 63.2 (CH), 62.5 (CH), 61.8 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (–ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 434.8 (100)  $[\text{M} - \text{H}]^-$ .

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = -62^\circ$  ( $c = 1.02$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

Exakte Masse (ESI):  $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{IONa}^+$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), berechnet 459.0216, gefunden 459.0205.

7.3.30 Acetylierung von (*M*)-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen ((*M*)-**89**) zu (*M*)-2-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*M*)-**91**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 4. Eine Suspension von TBTQ-Alkohol (*M*)-**89** (7.4 mg, 24  $\mu\text{mol}$ ) und Acetylchlorid (3.4  $\mu\text{L}$ , 48  $\mu\text{mol}$ ) in Pyridin (1 mL) wurde 2.5 h bei 110 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Salzsäure (2 M, 2 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (1-10% Gradient) in Cyclohexan) wurde Acetoxy-TBTQ (*M*)-**91** (7.7 mg,  $R_f = 0.43$  (5% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 92% isoliert.

Schmelzpunkt: 96.2-98.9 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.41 (m, 5 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.20 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.14 (d,  $^4J = 1.9$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 6.89 (dd,  $^3J = 8.2$  Hz,  $^4J = 2.1$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 4.47 (s, 2 H,  $\text{CH}$ ), 4.44 (s, 1 H,  $\text{CH}$ ), 2.28 (s, 3 H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.68 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

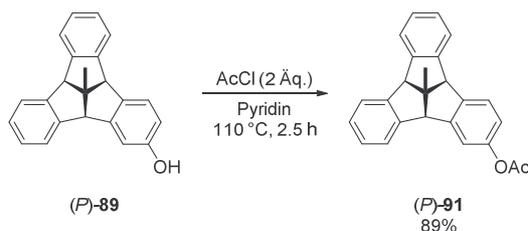
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 169.9 ( $\text{C(O)}$ ), 150.4 ( $\text{C}^q$ ), 147.0 ( $\text{C}^q$ ), 145.6 ( $\text{C}^q$ ), 145.5 ( $\text{C}^q$ ), 145.3 ( $\text{C}^q$ ), 145.0 ( $\text{C}^q$ ), 143.2 ( $\text{C}^q$ ), 127.8 ( $\text{C}^t$ ), 127.69 (2  $\text{C}^t$ ), 127.67 ( $\text{C}^t$ ), 125.1 ( $\text{C}^t$ ), 124.6 (2  $\text{C}^t$ ), 124.50 ( $\text{C}^t$ ), 124.46 ( $\text{C}^t$ ), 120.9 ( $\text{C}^t$ ), 117.6 ( $\text{C}^t$ ), 63.7 ( $\text{CH}$ ), 63.5 ( $\text{CH}$ ), 63.1 ( $\text{CH}$ ), 61.5 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\text{CH}_3$ ), 21.3 ( $\text{C(O)CH}_3$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 375.2 (100)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 391.1 (8)  $[\text{M} + \text{K}]^+$ .

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = +56^\circ$  ( $c = 0.95$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

Exakte Masse (ESI):  $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{Na}^+$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), berechnet 375.1356, gefunden 375.1358.

### 7.3.31 Acetylierung von (*P*)-2-Hydroxy-4b<sup>1</sup>-tribenzotriquinacen ((*P*)-**89**) zu (*P*)-2-Acetoxy-4b<sup>1</sup>-methyltribenzotriquinacen ((*P*)-**91**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 4. Eine Suspension von TBTQ-Alkohol (*P*)-**89** (8.9 mg, 29  $\mu\text{mol}$ ) und Acetylchlorid (4.1  $\mu\text{L}$ , 58  $\mu\text{mol}$ ) in Pyridin (1 mL) wurde 2.5 h bei 110  $^\circ\text{C}$  ger\u00fchrt. Nach Abk\u00fchlen auf Raumtemperatur wurde Salzs\u00e4ure (2 M, 2 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer S\u00e4ulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (1-10% Gradient) in Cyclohexan) wurde Acetoxy-TBTQ (*P*)-**91** (9.0 mg,  $R_f = 0.43$  (5% Ethylacetat in Cyclohexan)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 89% isoliert.

Schmelzpunkt: 96.8-99.4  $^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.41 (m, 5 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.20 (m, 4 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 7.14 (d,  $^4J = 1.9$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar,ortho}$ ), 6.90 (dd,  $^3J = 8.2$  Hz,  $^4J = 2.1$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 4.47 (s, 2 H,  $\text{CH}$ ), 4.44 (s, 1 H,  $\text{CH}$ ), 2.28 (s, 3 H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.68 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 169.9 ( $\text{C(O)}$ ), 150.4 ( $\text{C}^q$ ), 147.0 ( $\text{C}^q$ ), 145.6 ( $\text{C}^q$ ), 145.5 ( $\text{C}^q$ ), 145.3 ( $\text{C}^q$ ), 145.0 ( $\text{C}^q$ ), 143.2 ( $\text{C}^q$ ), 127.8 ( $\text{C}^t$ ), 127.69 (2  $\text{C}^t$ ), 127.67 ( $\text{C}^t$ ), 125.1 ( $\text{C}^t$ ), 124.6 (2  $\text{C}^t$ ), 124.50 ( $\text{C}^t$ ), 124.46 ( $\text{C}^t$ ), 120.9 ( $\text{C}^t$ ), 117.6 ( $\text{C}^t$ ), 63.7 ( $\text{CH}$ ), 63.5 ( $\text{CH}$ ), 63.1 ( $\text{CH}$ ), 61.5 ( $\text{C}^q\text{CH}_3$ ), 27.7 ( $\text{CH}_3$ ), 21.3 ( $\text{C(O)CH}_3$ ).

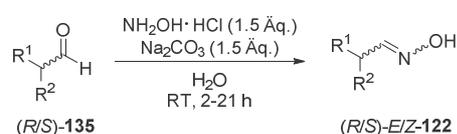
MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 370.2 (3)  $[M + NH_4]^+$ , 375.2 (100)  $[M + Na]^+$ , 391.1 (3)  $[M + K]^+$ , 727.1 (3)  $[2 M + Na]^+$ .

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = -58^\circ$  ( $c = 0.98$ ,  $CH_2Cl_2$ ).

Exakte Masse (ESI):  $C_{25}H_{21}O_2^+$  ( $[M + H]^+$ ), berechnet 353.1536, gefunden 353.1540.

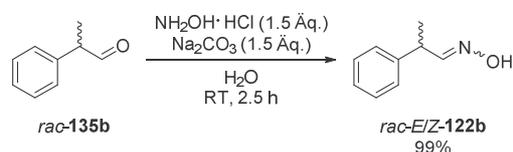
## 7.4 Synthese chiraler Nitrile mittels Aldoximdehydratasen

### 7.4.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift 5 (AAV 5): Synthese von Oximen **122** aus Aldehyden **135**



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von Metzner *et al.* durchgeführt.<sup>[256]</sup> Der Aldehyd (R/S)-**135** wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (1.5 Äq.) und Natriumcarbonat (1.5 Äq.) in Wasser gegeben und die Reaktionsmischung wurde je nach Ansatz 2-21 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei sehr schlechter Löslichkeit des Aldehyds wurde Ethanol zugesetzt. Die Umsetzung zum Oxim wurde mittels DC (Cyclohexan/Ethylacetat) verfolgt. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionsmischung drei Mal mit Ethylacetat (1:1) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $MgSO_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Zur Isolierung der *E*- und *Z*-Isomere wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie oder mittels automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) aufgereinigt.

### 7.4.2 Kondensation von *rac*-2-Phenylpropionaldehyd (*rac*-**135b**) zu *rac*-*E*/*Z*-2-Phenylpropionaldoxim (*rac*-*E*/*Z*-**122b**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. *rac*-2-Phenylpropionaldehyd (*rac*-**135b**) (13.4 mL, 100 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (10.4 g, 150 mmol) und  $Na_2CO_3$  (15.9 g, 150 mmol) in  $H_2O$  (100 mL) gegeben und die farblose Suspension wurde 2.5 h gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde *rac*-*E*/*Z*-2-Phenylpropanaloxim (*rac*-*E*/*Z*-**122b**) (14.8 g,  $R_{f1} = 0.36$  und  $R_{f2} = 0.30$ ) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 99% mit einem *E*/*Z*-Verhältnis von 3:2 erhalten.

Um das *E*- bzw. das *Z*-Isomer des Oxims anzureichern, wurden nacheinander kleine Mengen von *rac-E/Z-122b* (0.75 g, 0.55 g, 0.20 g und 0.53 g) mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (3-24% Gradient) in Cyclohexan) aufgetrennt. So wurden in der ersten Fraktion *rac-E-122b* (0.47 g,  $R_{f1} = 0.36$  (Cyclohexan/Ethylacetat 7:1)) mit einem *E/Z*-Verhältnis von 98:2 und in der zweiten Fraktion *rac-E/Z-122b* (0.18 g,  $R_{f1} = 0.36$  und  $R_{f2} = 0.30$  (Cyclohexan/Ethylacetat 7:1)) mit einem *E/Z*-Verhältnis von 1:1 jeweils als farbloses Öl erhalten.

*rac-E-2-Phenylpropanaloxim (rac-E-122b)*:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.50 (d,  $^3J = 6.1$  Hz, 1 H, **CHNOH**), 7.38 (bs, 1 H, **CHNOH**), 7.34-7.23 (m, 5 H, **H<sup>Ar</sup>**), 3.66 (qui,  $^3J = 6.9$  Hz, 1 H, **PHCH**), 1.43 (d,  $^3J = 7.1$  Hz, 3 H, **CH<sub>3</sub>**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 155.3 (**CNOH**), 142.9 (**C<sup>ipso</sup>**), 129.2 (**C<sup>meta</sup>**), 127.9 (**C<sup>ortho</sup>**), 127.4 (**C<sup>para</sup>**), 40.9 (**CHCH<sub>3</sub>**), 19.3 (**CHCH<sub>3</sub>**).

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.0 mL/min, 40 °C, 220 nm,  $R_{t1} = 11.3$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H, *n*-Hexan/*iso*-Propanol 95:5, 0.7 mL/min, 20 °C, 220 nm,  $R_{t1} = 34.7$  min (*S*),  $R_{t2} = 41.3$  min (*R*).

*rac-Z-2-Phenylpropanaloxim (rac-Z-122b)*:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.69 (bs, 1 H, **CHNOH**), 7.34-7.23 (m, 5 H, **H<sup>Ar</sup>**), 6.81 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 1 H, **CHNOH**), 4.41 (qui,  $^3J = 7.2$  Hz, 1 H, **PHCH**), 1.41 (d,  $^3J = 7.1$  Hz, 3 H, **CH<sub>3</sub>**).

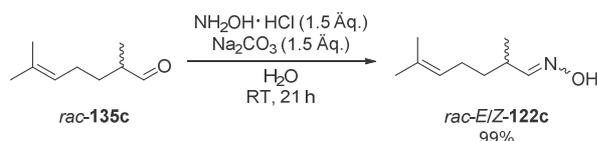
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 155.3 (**CNOH**), 143.2 (**C<sup>ipso</sup>**), 129.1 (**C<sup>meta</sup>**), 127.7 (**C<sup>ortho</sup>**), 127.2 (**C<sup>para</sup>**), 35.5 (**CHCH<sub>3</sub>**), 19.0 (**CHCH<sub>3</sub>**).

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.0 mL/min, 40 °C, 220 nm,  $R_{t1} = 12.8$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H, *n*-Hexan/*iso*-Propanol 95:5, 0.7 mL/min, 20 °C, 220 nm,  $R_{t1} = 24.7$  min (*S*),  $R_{t2} = 38.0$  min (*R*).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[256]</sup>

### 7.4.3 Kondensation von *rac*-Melonal (*rac*-**135c**) zu *rac*-*E/Z*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*E/Z*-**122c**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. *rac*-Melonal (*rac*-**135c**) (14.0 g, 100 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (10.4 g, 150 mmol) und Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15.9 g, 150 mmol) in H<sub>2</sub>O (100 mL) gegeben und die farblose Suspension wurde 21 h gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde *rac*-*E/Z*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*E/Z*-**122c**) (15.7 g, R<sub>f1</sub> = 0.35 und R<sub>f2</sub> = 0.29) als blaugelbes Öl in einer Ausbeute von 99% mit einem *E/Z*-Verhältnis von 1:2 erhalten.

Um das *E*- bzw. das *Z*-Isomer des Oxims anzureichern, wurden nacheinander kleine Mengen von *rac*-*E/Z*-**122c** (0.77 g und 0.80 g) mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 μm, Ethylacetat (3-19% Gradient) in Cyclohexan) aufgetrennt. So wurden in der ersten Fraktion *rac*-*E*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*E*-**122c**) (1.04 g, R<sub>f1</sub> = 0.35 (Cyclohexan/Ethylacetat 7:1)) mit einem *E/Z*-Verhältnis von 85:15 und in der zweiten Fraktion *rac*-*Z*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*Z*-**122c**) (0.18 g, R<sub>f1</sub> = 0.29 (Cyclohexan/Ethylacetat 7:1)) mit einem *E/Z*-Verhältnis von 5:95 jeweils als farbloses Öl erhalten.

*rac*-*E*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*E*-**122c**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.34 (bs, 1 H, CHNOH), 7.27 (d, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 1 H, CHNOH), 5.09 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 1 H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 2.34 (h, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.99 (q, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2 H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.68 (s, 3 H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 1.60 (s, 3 H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 1.51-1.35 (m, 2 H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.06 (d, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 157.0 (CHNOH), 132.5 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 124.4 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 35.2 (CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 34.5 (CH<sub>3</sub>CH), 26.0 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 25.9 (CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 18.3 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 17.9 (CH<sub>3</sub>CH).

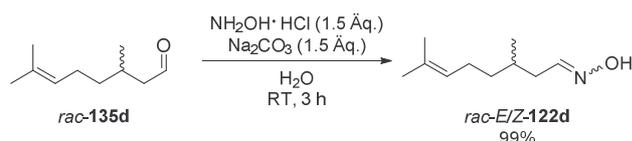
GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 85 °C Starttemperatur (17.5 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 165 °C Endtemperatur (3.5 min), R<sub>t1</sub> = 19.2 min, R<sub>t2</sub> = 21.6 min.

*rac*-*Z*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*Z*-**122c**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.62 (bs, 1 H, CHNOH), 6.50 (d, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1 H, CHNOH), 5.09 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 1 H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 3.10 (h, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.99 (q, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2 H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.68 (s, 3 H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 1.60 (s, 3 H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C=CH), 1.51-1.35 (m, 2 H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.06 (d, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 158.0 (**CHNOH**), 132.4 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 124.5 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 35.3 ( $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 26.3 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 26.0 ( $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 17.9 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 17.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 85 °C Starttemperatur (17.5 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 165 °C Endtemperatur (3.5 min),  $R_{t1}$  = 19.2 min,  $R_{t2}$  = 21.6 min.

#### 7.4.4 Kondensation von *rac*-Citronellal (*rac*-**135d**) zu *rac*-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (*rac*-*E/Z*-**122d**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. *rac*-Citronellal (*rac*-**135d**) (18.2 mL, 100 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (10.4 g, 150 mmol) und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (15.9 g, 150 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL) gegeben und die farblose Suspension wurde 3 h gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde *rac*-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (*rac*-*E/Z*-**122d**) (16.7 g,  $R_{f1}$  = 0.32 und  $R_{f2}$  = 0.23) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 99% mit einem *E/Z*-Verhältnis von 1:1 erhalten.

*rac*-*E*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (*rac*-*E*-**122d**):  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.68 (bs, 1 H, **CHNOH**), 7.42 (t,  $^3J$  = 6.5 Hz, 1 H, **CHNOH**), 5.08 (m, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 2.37 (m, 1 H, **CH<sub>2</sub>CHNOH**), 2.24 (m, 1 H, **CH<sub>2</sub>CHNOH**), 2.04 (m, 1 H, **CH<sub>3</sub>CH**), 1.99 (m, 2 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 1.68 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.60 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.36 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.23 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.95 (d,  $^3J$  = 6.7 Hz, 3 H, **CH<sub>3</sub>CH**).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{t1}$  = 42.2 min.

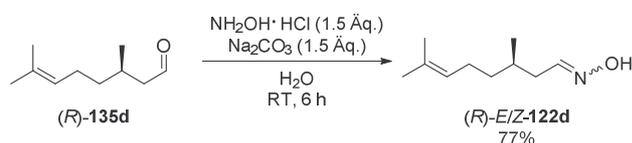
*rac*-*Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (*rac*-*Z*-**122d**):  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.05 (bs, 1 H, **CHNOH**), 6.74 (t,  $^3J$  = 5.5 Hz, 1 H, **CHNOH**), 5.08 (m, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 2.37 (m, 1 H, **CH<sub>2</sub>CHNOH**), 2.24 (m, 1 H, **CH<sub>2</sub>CHNOH**), 2.04 (m, 1 H, **CH<sub>3</sub>CH**), 1.99 (m, 2 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 1.68 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.60 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.36 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.23 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.93 (d,  $^3J$  = 6.7 Hz, 3 H, **CH<sub>3</sub>CH**).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{f1} = 42.2$  min.

*rac-E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (*rac-E/Z*-**122d**):  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 152.6 (CNOH), 152.1 (CNOH), 132.0 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}$ ), 124.92 ( $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 124.88 ( $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 37.4 ( $\text{CH}_2\text{CHCH}_3$ ), 37.2 ( $\text{CH}_2\text{CHCH}_3$ ), 36.9 ( $\text{CH}_2\text{CNOH}$ ), 32.3 ( $\text{CH}_2\text{CNOH}$ ), 31.5 ( $\text{CH}_2\text{CHCH}_3$ ), 31.1 ( $\text{CH}_2\text{CHCH}_3$ ), 26.01 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}$ ), 25.96 ( $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 25.94 ( $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 20.0 ( $\text{CH}_2\text{CHCH}_3$ ), 19.8 ( $\text{CH}_2\text{CHCH}_3$ ), 17.9 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}$ ).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[313]</sup>

#### 7.4.5 Kondensation von (*R*)-Citronellal ((*R*)-**135d**) zu (*R*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*R*)-*E/Z*-**122d**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. (*R*)-(+)-Citronellal ((*R*)-**135d**) (0.51 g, 3.0 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (0.31 g, 4.5 mmol) und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0.48 g, 4.5 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) gegeben und die farblose Suspension wurde 6 h gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde (*R*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*R*)-*E/Z*-**122d**) (0.39 g,  $R_{f1} = 0.34$  und  $R_{f2} = 0.24$ ) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 77% mit einem *E/Z*-Verhältnis von  $\sim 1:1$  erhalten.

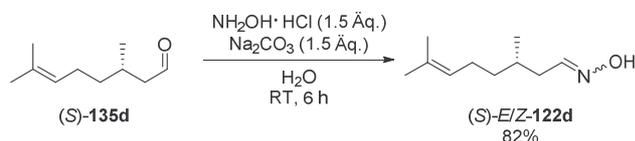
(*R*)-*E*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*R*)-*E*-**122d**):  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.42 (t,  $^3J = 6.5$  Hz, 1 H, CHNOH), 5.08 (m, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 2.37 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.24 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.04 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.99 (m, 2 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 1.68 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.60 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.36 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.23 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.95 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{f1} = 42.2$  min.

(*R*)-*Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*R*)-*Z*-**122d**):  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.74 (t,  $^3J = 5.5$  Hz, 1 H, CHNOH), 5.08 (m, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 2.37 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.24 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.04 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.99 (m, 2 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 1.68 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.60 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.36 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.23 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.93 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{t1} = 42.2$  min.

#### 7.4.6 Kondensation von (*S*)-Citronellal ((*S*)-**135d**) zu (*S*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*S*)-*E/Z*-**122d**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. (*S*)-(-)-Citronellal ((*S*)-**135d**) (0.48 g, 3.0 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (0.31 g, 4.5 mmol) und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0.48 g, 4.5 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) gegeben und die farblose Suspension wurde 6 h gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde (*S*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*S*)-*E/Z*-**122d**) (0.41 g,  $R_{t1} = 0.32$  und  $R_{t2} = 0.25$ ) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 82% mit einem *E/Z*-Verhältnis von  $\sim 1:1$  erhalten.

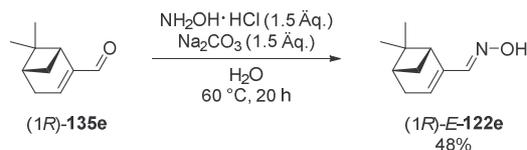
(*S*)-*E*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*S*)-*E*-**122d**):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.42 (t,  $^3J = 6.5$  Hz, 1 H,  $\text{CHNOH}$ ), 5.08 (m, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 2.37 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.24 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.04 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.99 (m, 2 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 1.68 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.60 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.36 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.23 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.95 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{t1} = 42.2$  min.

(*S*)-*Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*S*)-*Z*-**122d**):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.74 (t,  $^3J = 5.5$  Hz, 1 H,  $\text{CHNOH}$ ), 5.08 (m, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 2.37 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.24 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ), 2.04 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.99 (m, 2 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCHCH}_2$ ), 1.68 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.60 (s, 3 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}$ ), 1.36 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.23 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.93 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{t1} = 42.2$  min.

### 7.4.7 Kondensation von (1R)-Myrtenal ((1R)-**135e**) zu (1R)-E-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbaldehydoxim ((1R)-**E-122e**)



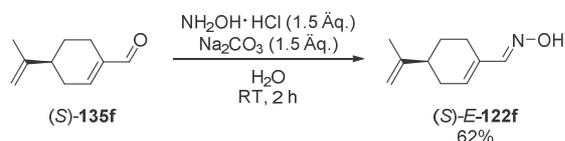
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. (1R)-(-)-Myrtenal ((1R)-**135e**) (6.21 g, 40.0 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (4.17 g, 60.0 mmol) und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (6.36 g, 40 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL) gegeben und die farblose Suspension wurde 20 h abweichend von AAV 5 bei 60 °C gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 10:1) wurde (1R)-E-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbaldehydoxim ((1R)-**E-122e**) (3.18 g,  $R_f = 0.34$ ) als farblose, feine Kristalle in einer Ausbeute von 48% ausschließlich als *E*-Isomer erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.71 (s, 1 H, **CHNOH**), 7.48 (s, 1 H, **CHNOH**), 5.89 (m, 1 H, **CH=CCHNOH**), 2.74 (m, **CH=CCHC(CH}\_3)\_2**), 2.48-2.36 (m, 3 H, **CH}\_2\text{CH=C}**, **CH=CCHCH}\_2**), 2.15 (m, 1 H, **CHCH}\_2\text{CH=C}**), 1.32 (s, 3 H, **C(CH}\_3)\_2**), 1.15 (d,  $^3J = 8.9$  Hz, 1 H, **CH=CCHCH}\_2**), 0.81 (s, 3 H, **C(CH}\_3)\_2**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 152.0 (**CHNOH**), 143.3 (**C<sup>q</sup>CHNOH**), 132.0 (**CH=C<sup>q</sup>CHNOH**), 41.3 (**CH=CCH**), 41.1 (**CHCH}\_2\text{CH=C}**), 38.1 (**C(CH}\_3)\_2**), 32.9 (**CH}\_2\text{CH=C}**), 31.5 (**CH=CCHCH}\_2**), 26.3 (**C(CH}\_3)\_2**), 21.2 (**C(CH}\_3)\_2**).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 110 °C Starttemperatur (8 min), 10 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur (2 min),  $R_{t1} = 13.6$  min.

### 7.4.8 Kondensation von (S)-Perillaaldehyd ((S)-**135f**) zu (S)-E-4-(Prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-en-1-carbaldehydoxim (Perillartin) ((S)-**E-122f**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. (S)-(-)-Perillaaldehyd ((S)-**135f**) (1.64 g, 10.0 mmol) wurde zu einer Lösung von Hydroxylamin-Hydrochlorid (1.04 g, 15.0 mmol) und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1.59 g, 15.0 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL) gegeben und die farblose Suspension wurde 2 h gerührt. Abweichen von AAV 5 wurde das nach der Aufarbeitung erhaltene Rohmaterial mittels Umkristallisation aus Cyclohexan/Ethylacetat 7:1 aufgereinigt. Nach Trocknung wurde (S)-Perillartin ((S)-**E-122f**) (1.04 g) als farblose, nadelförmige Kristalle in einer Ausbeute von 62% ausschließlich als *E*-Isomer erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.73 (s, 1 H, **CHNOH**), 7.70 (s, 1 H, **CHNOH**), 6.05 (m, 1 H, **CH=CCHNOH**), 4.74 (m, 2 H, **CH}\_2\text{=CCH}\_3**), 2.41 (m, 1 H, **CH=CCH}\_2**),

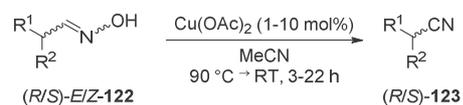
2.32 (m, 1 H, CHCH<sub>2</sub>CH=C), 2.24-2.06 (m, 3 H, CHCH<sub>2</sub>CH=C, CH=CCH<sub>2</sub>, CHCH<sub>2</sub>CH=C), 1.88 (m, 1 H, CH=CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.75 (s, 3 H, CH<sub>2</sub>=CCH<sub>3</sub>), 1.49 (m, 1 H, CH=CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 153.5 (CHNOH), 150.0 (C<sup>α</sup>CHNOH), 135.8 (CH=C<sup>α</sup>CHNOH), 133.0 (CH<sub>2</sub>=C<sup>α</sup>CH<sub>3</sub>), 109.2 (CH<sub>2</sub>=C<sup>α</sup>CH<sub>3</sub>), 41.4 (CHCH<sub>2</sub>CH=C<sup>α</sup>), 31.8 (CHCH<sub>2</sub>CH=C<sup>α</sup>), 27.4 (CH=C<sup>α</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 24.4 (CH=C<sup>α</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 21.0 (CH<sub>2</sub>=C<sup>α</sup>CH<sub>3</sub>).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 130 °C Starttemperatur (8 min), 10 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur (2 min), R<sub>t</sub> = 12.5 min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[270]</sup>

#### 7.4.9 Allgemeine Arbeitsvorschrift 6 (AAV 6): Synthese von Nitrilen **123** aus Oximen **122**

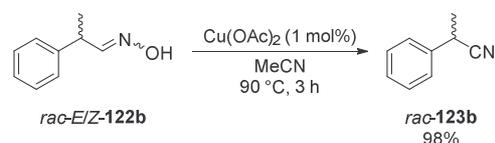


Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Ma et al.* durchgeführt.<sup>[244]</sup> Zu einer Lösung des Oxims (R/S)-E/Z-**122** in Acetonitril wurde Kupfer<sup>II</sup>-acetat (1-10 mol%) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde je nach Ansatz 3-22 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Die Umsetzung zum Nitril wurde mittels DC (Cyclohexan/Ethylacetat) verfolgt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel der Reaktionsmischung im Vakuum entfernt. Die Isolierung des Nitrils erfolgte über zwei unterschiedliche Varianten:

I) Der Rückstand wurde ohne wässrige Aufarbeitung direkt mittels Säulenchromatographie oder automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat oder MTBE) aufgereinigt.

II) Der Rückstand wurde in Wasser und ges. wässr. NaCl-Lösung aufgenommen und die Mischung wurde drei bis vier Mal mit Ethylacetat (1:1) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie oder mittels automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) aufgereinigt.

#### 7.4.10 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *rac*-E/Z-2-Phenylpropionaldoxim (*rac*-E/Z-**122b**) zu *rac*-2-Phenylpropionitril (*rac*-**123b**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *rac*-E/Z-2-Phenylpropanaldoxim (*rac*-E/Z-**122b**) (0.31 g, 2.10 mmol) in Acetonitril (5 mL) wurde mit

Kupferacetat (1 mol%, 3.8 mg, 0.02 mmol) 3 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, MTBE) wurde *rac*-2-Phenylpropionitril (*rac*-**123b**) (0.26 g,  $R_{f1} = 0.92$ ) als blassgelbes Öl in einer Ausbeute von 98% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.41-7.32 (m, 5 H,  $\text{H}^{Ar}$ ), 3.92 (q,  $^3J = 7.3$  Hz, 1 H,  $\text{CHCN}$ ), 1.63 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

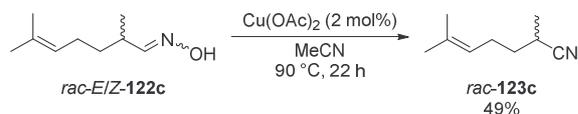
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.0 ( $\text{C}^{ipso}$ ), 129.6 ( $\text{C}^{meta}$ ), 128.5 ( $\text{C}^{para}$ ), 127.3 ( $\text{C}^{ortho}$ ), 122.2 ( $\text{CN}$ ), 31.8 ( $\text{CHCH}_3$ ), 21.8 ( $\text{CHCH}_3$ ).

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur  $\text{C}_{18}$  HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.0 mL/min, 40 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 21.0$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OJ-H, *n*-Hexan/*iso*-Propanol 95:5, 0.7 mL/min, 20 °C, 220 nm,  $R_{t1} = 16.5$  min (*R*),  $R_{t2} = 17.5$  min (*S*).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[256]</sup>

#### 7.4.11 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *rac*-*E*/*Z*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*E*/*Z*-**122c**) zu *rac*-2,6-Dimethylhept-5-encarbonitril (*rac*-**123c**)



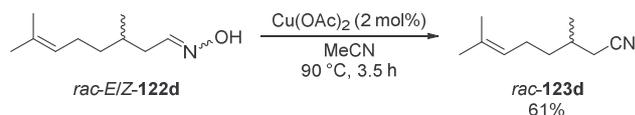
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *rac*-*E*/*Z*-2,6-Dimethylhept-5-enaloxim (*rac*-*E*/*Z*-**122c**) (3.10 g, 20.0 mmol) in Acetonitril (20 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 72.9 mg, 0.40 mmol) 22 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde *rac*-2,6-Dimethylhept-5-encarbonitril (*rac*-**123c**) (1.34 g,  $R_{f1} = 0.53$ ) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 49% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.11 (m, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 2.66 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 2.22 (m, 2 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.78-1.57 (m, 2 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.76 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^E\text{C}=\text{CH}$ ), 1.70 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^Z\text{C}=\text{CH}$ ), 1.37 (d,  $^3J = 7.1$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 133.9 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 123.7 ( $\text{CN}$ ), 122.9 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 34.7 ( $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 26.03 ( $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 25.96 ( $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 25.4 ( $\text{CH}_3^E\text{C}=\text{CH}$ ), 18.4 ( $\text{CH}_3^Z\text{C}=\text{CH}$ ), 18.0 ( $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 85 °C Starttemperatur (17.5 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 165 °C Endtemperatur (3.5 min),  $R_{t1} = 14.1$  min,  $R_{t2} = 15.1$  min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[314]</sup>

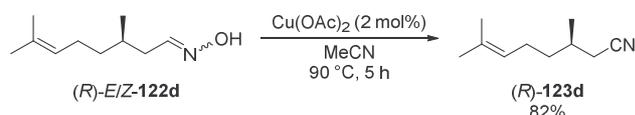
7.4.12 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *rac*-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (*rac*-**E/Z-122d**) zu *rac*-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril (*rac*-**123d**)

Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *rac*-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim (*rac*-**E/Z-122d**) (3.39 g, 20 mmol) in Acetonitril (20 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 72.3 mg, 0.40 mmol) 3.5 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde *rac*-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril (*rac*-**123d**) (1.86 g,  $R_f = 0.55$ ) als blassgelbes Öl in einer Ausbeute von 61% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.09 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 2.32 (dd,  $^2J = 16.7$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 2.23 (dd,  $^2J = 16.7$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 2.01 (m, 2 H,  $\text{C}=\text{CHCH}_2$ ), 1.84 (o,  $^3J = 6.7$  Hz, 1 H,  $(\text{CH}_3\text{CH})$ ), 1.68 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^E\text{C}=\text{CH}$ ), 1.61 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^Z\text{C}=\text{CH}$ ), 1.44 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.33 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.05 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 132.6 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 124.1 ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 119.5 (**CN**), 36.4 ( $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 30.6 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 26.0 ( $\text{CH}_3^E\text{C}=\text{CH}$ ), 25.8 ( $\text{C}=\text{CHCH}_2$ ), 24.9 ( $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 19.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 17.9 ( $\text{CH}_3^Z\text{C}=\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{t1} = 32.2$  min (S),  $R_{t2} = 32.9$  min (R).

7.4.13 Cu-katalysierte Dehydratisierung von (*R*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*R*)-**E/Z-122d**) zu (*R*)-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril ((*R*)-**123d**)

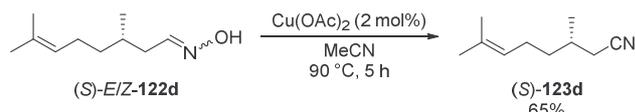
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von (*R*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*R*)-**E/Z-122d**) (98.9 mg, 0.59 mmol) in Acetonitril (2 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 2.2 mg, 0.12 mmol) 5 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde (*R*)-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril ((*R*)-**123d**) (72.7 mg,  $R_f = 0.59$ ) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 82% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.07 (t,  $^3J = 7.1$  Hz, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 2.33 (dd,  $^2J = 16.6$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 2.24 (dd,  $^2J = 16.6$  Hz,  $^3J = 7.1$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 2.01 (m, 2 H,  $\text{C}=\text{CHCH}_2$ ), 1.87 (o,  $^3J = 6.6$  Hz, 1 H,  $(\text{CH}_3\text{CH})$ ), 1.69 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^E\text{C}=\text{CH}$ ), 1.61 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^Z\text{C}=\text{CH}$ ), 1.44 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.33 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.05 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

$\text{CH}_3^E\text{C}=\text{CH}$ ), 1.61 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^Z\text{C}=\text{CH}$ ), 1.46 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.34 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.08 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{t1} = 33.3$  min (S) (9%),  $R_{t2} = 33.7$  min (R) (91%).

#### 7.4.14 Cu-katalysierte Dehydratisierung von (*S*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*S*)-*E/Z*-**122d**) zu (*S*)-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril ((*S*)-**123d**)

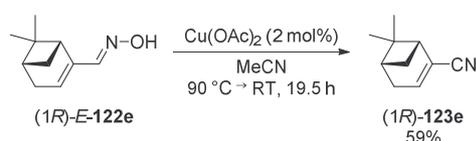


Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von (*S*)-*E/Z*-3,7-Dimethyloct-6-enaloxim ((*S*)-*E/Z*-**122d**) (98.1 mg, 0.59 mmol) in Acetonitril (2 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 2.4 mg, 0.12 mmol) 5 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde (*S*)-3,7-Dimethyloct-6-encarbonitril ((*S*)-**123d**) (57.3 mg,  $R_f = 0.57$ ) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 65% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.07 (t,  $^3J = 7.1$  Hz, 1 H,  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}$ ), 2.33 (dd,  $^2J = 16.1$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 2.24 (dd,  $^2J = 16.6$  Hz,  $^3J = 6.8$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 2.01 (m, 2 H,  $\text{C}=\text{CHCH}_2$ ), 1.87 (o,  $^3J = 6.7$  Hz, 1 H,  $(\text{CH}_3\text{CH})$ ), 1.69 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^E\text{C}=\text{CH}$ ), 1.61 (s, 3 H,  $\text{CH}_3^Z\text{C}=\text{CH}$ ), 1.45 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.34 (m, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.08 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 70 °C Starttemperatur (37 min), 40 °C/min Temperaturrampe, 160 °C, 2 °C/min Temperaturrampe, 172.5 °C Endtemperatur,  $R_{t1} = 32.8$  min (S) (99%),  $R_{t2} = 34.4$  min (R) (1%).

#### 7.4.15 Cu-katalysierte Dehydratisierung von (1*R*)-*E*-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbaldehydoxim ((1*R*)-*E*-**122e**) zu (1*R*)-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbonitril ((1*R*)-**123e**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von (1*R*)-*E*-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbaldehydoxim ((1*R*)-*E*-**122e**) (0.49 g, 3.00 mmol) in Acetonitril (10 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 10.9 mg, 0.06 mmol) 3.5 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt und anschließend abweichend von AAV 6 zusätzliche 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde (1*R*)-6,6-

Dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carbonitril ((1*R*)-**123e**) (0.26 g,  $R_f = 0.60$ ) als blassgelbes Öl in einer Ausbeute von 59% erhalten.

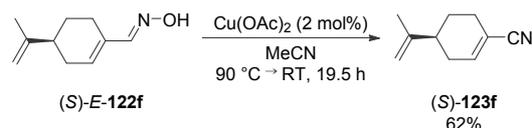
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.56 (m, 1 H,  $\text{CH}=\text{CCN}$ ), 2.50 (m, 1 H,  $\text{CH}=\text{CCHCH}_2$ ), 2.46 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 2.43 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 2.39 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 2.15 (m, 1 H,  $\text{CH}=\text{CCHC}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.32 (s, 3 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.24 (d,  $^3J = 9.4$  Hz, 1 H,  $\text{CH}=\text{CCHCH}_2$ ), 0.88 (s, 3 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 142.8 ( $\text{CH}=\text{CCN}$ ), 121.3 ( $\text{CH}=\text{CCN}$ ), 119.0 ( $\text{CH}=\text{CCN}$ ), 45.2 ( $\text{CH}=\text{CCHC}(\text{CH}_3)_2$ ), 40.5 ( $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 38.6 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 33.2 ( $\text{CH}=\text{CCHCH}_2$ ), 31.7 ( $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 25.9 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 21.2 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 110 °C Starttemperatur (8 min), 10 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur (2 min),  $R_f = 9.0$  min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[315]</sup>

#### 7.4.16 Cu-katalysierte Dehydratisierung von (*S*)-Perillartin ((*S*)-**E-122f**) zu (*S*)-4-(Prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-encarbonitril ((*S*)-**123f**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von (*S*)-Perillartin ((*S*)-**E-122f**) (0.50 g, 3.0 mmol) in Acetonitril (10 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 10.9 mg, 0.06 mmol) 3.5 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt und anschließend abweichend von AAV 6 zusätzliche 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 7:1) wurde (*S*)-4-(Prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-encarbonitril ((*S*)-**123f**) (0.28 g,  $R_f = 0.42$ ) als blassgelbes Öl in einer Ausbeute von 62% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.64 (m, 1 H,  $\text{CH}=\text{CCN}$ ), 4.78 (m, 1 H,  $\text{CH}_2=\text{CCH}_3$ ), 4.71 (m, 1 H,  $\text{CH}_2=\text{CCH}_3$ ), 2.32 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 2.30 (m, 2 H,  $\text{CH}=\text{CCH}_2$ ), 2.19 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 2.09 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 1.87 (m, 1 H,  $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.74 (s, 3 H,  $\text{CH}_2=\text{CCH}_3$ ), 1.51 (m, 1 H,  $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 148.8 ( $\text{CH}_2=\text{CCH}_3$ ), 145.2 ( $\text{CH}_2=\text{CCH}_3$ ), 120.1 ( $\text{CN}$ ), 112.5 ( $\text{CH}=\text{CCN}$ ), 109.9 ( $\text{CH}=\text{CCN}$ ), 39.8 ( $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 31.5 ( $\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{C}$ ), 27.6 ( $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$ ), 26.9 ( $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{CH}_2$ ), 20.9 ( $\text{CH}_2=\text{CCH}_3$ ).

GC: *Macherey-Nagel* Lipodex E, 130 °C Starttemperatur (8 min), 10 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur (2 min),  $R_f = 6.2$  min.

#### 7.4.17 Überexpression der Oxds

Die Überexpressionen der Oxds erfolgten in Anlehnung an die Literaturvorschrift von Metzner *et al.*<sup>[256]</sup> Für die Vorkultur wurde LB-Medium (10 mL) und je nach Antibiotikaresistenz des *E. coli*-Klons Kanamycin (50 µg/mL) (OxdA, OxdRE, OxdRG und OxdFG) bzw. Carbenicillin (100 µg/mL) und Chloramphenicol (34 µg/mL) (OxdB) in einem 100 mL-Erlenmeyerkolben mit dem entsprechenden rekombinanten *E. coli*-Klon beimpft und 24 h bei 37 °C und 180 rpm inkubiert.

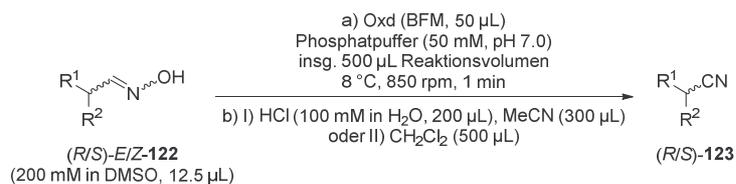
Für die Hauptkultur wurde Autoinduktionsmedium (100-450 mL, Zusammensetzung für 1 L: TB-Medium (890 mL, pH 7.0), Glucose (10 mL, 50 g/L) und Lactose (100 mL, 20 g/L)) in 100-500 mL-Erlenmeyerkolben mit der Vorkultur (1.0 Vol.%) beimpft und Kanamycin (50 µg/mL) (OxdA, OxdRE, OxdRG und OxdFG) bzw. Carbenicillin (100 µg/mL) und Chloramphenicol (34 µg/mL) (OxdB) hinzugefügt. Die Kultur wurde 1 h bei 37 °C und 180 rpm und anschließend 72 h bei 180 rpm und 15 °C (OxdA, OxdRE, OxdRG und OxdFG) bzw. 30 °C (OxdB) inkubiert.

Zum Ernten der Zellen wurde die Kultur 15 min bei 4 °C und 4000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde abdekantiert und das Enzym pellet wurde zweifach mit Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) gewaschen. Nach erneuter Zentrifugation unter den gleichen Bedingungen und Abdekantieren des Überstandes wurde das Pellet gewogen, um die Biofeuchtmasse (BFM) zu bestimmen. Schließlich wurde das Pellet in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) resuspendiert, um eine 50- bis 100-fach konzentrierte Zellsuspension zu erhalten, die in einem möglichst kleinen Gefäß mit Argon überschichtet bei 4 °C gelagert wurde. Die *SDS-PAGE* zur Überprüfung der Expressionslevel der Oxds wurden von Betke und Oike durchgeführt.<sup>[278]</sup>

Die verwendeten Plasmide der Oxds für die Transformation in *E. coli* sind in Tabelle 7.12 aufgelistet. Die jeweiligen Gen- und Proteinsequenzen sowie weitere Eigenschaften der Oxds können aus den angegebenen Literaturstellen entnommen werden.

Tabelle 7.12: Verwendete Plasmide der Oxds für die Transformation in *E. coli*.

Vektor/Plasmid	Quellorganismus	Oxd	Herkunft
pET28_OxdA(C)	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> B23	OxdA <sup>[272,273]</sup>	Arbeitsgruppe Asano
pUC19_OxdB	<i>Bacillus</i> sp. OxB-1	OxdB <sup>[274]</sup>	Arbeitsgruppe Asano
pET28_OxdRE(N)	<i>Rhodococcus</i> sp. N-771	OxdRE <sup>[275]</sup>	Thermo Fisher Scientific
pET28_OxdRG(N)	<i>Rhodococcus globerulus</i> A-4	OxdRG <sup>[276]</sup>	Thermo Fisher Scientific
pET28_OxdFG(N)	<i>Fusarium graminearum</i> MAFF305135	OxdFG <sup>[277]</sup>	Thermo Fisher Scientific

7.4.18 Allgemeine Arbeitsvorschrift 7 (AAV 7): Aktivitätsassay für die Biotransformation von Oximen **122** zu Nitrilen **123** mit Oxds

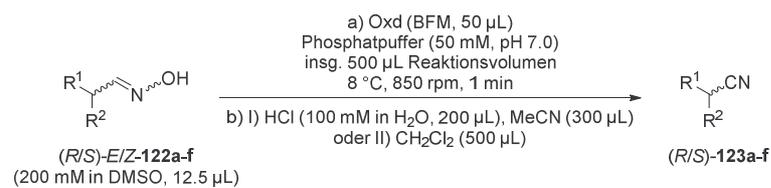
Der Aktivitätsassay der Oxds erfolgte in Anlehnung an die Literaturvorschrift von Metzner *et al.*<sup>[256]</sup> Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) wurde in einem 1.5 mL-*Eppendorf*-Gefäß vorgelegt. Der Puffer wurde in einem Thermomixer auf 8 °C gekühlt. Nach Zugabe der Oxd-Zellsuspension (50 µL) wurde die Mischung 5 min unter Schütteln mit 850 rpm inkubiert. Zum Start der Reaktion wurde das Aldoxim **122** (200 mM in DMSO, 12.5 µL) hinzugegeben. Die Menge des Phosphatpuffers wurde so gewählt, dass das Reaktionsvolumen bei einer Substratkonzentration von 5 mM und einer DMSO-Konzentration von 2.5 Vol.% insgesamt 500 µL betrug. Die Reaktionsmischung wurde 1 min bei 8 °C mit 850 rpm geschüttelt. Der Abbruch der Reaktion und die Analyse der Mischung erfolgten je nach Substrat über zwei unterschiedliche Varianten:

I) Zu der Reaktionsmischung wurde HCl (100 mM in H<sub>2</sub>O, 200 µL) und MeCN (300 µL) hinzugefügt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung zentrifugiert (21500 g, 4 °C, 5 min). Der Überstand (800 µL) wurde in ein weiteres *Eppendorf*-Gefäß überführt und erneut zentrifugiert (21500 g, 4 °C, 5 min). Schließlich wurde der Überstand (700 µL) in ein Glasgefäß gegeben und der Inhalt per *reversed phase*-HPLC analysiert.

II) Zu der Reaktionsmischung wurde CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 µL) hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde durch Schütteln extrahiert, kurz zentrifugiert und die organische Phase abgetrennt. Auf diese Weise wurde die wässrige Phase noch zwei weitere Male mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (jeweils 500 µL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden in einem 2 ml-Messkolben vereint und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> auf ein Volumen von 2 mL aufgefüllt. Der Inhalt des Messkolbens wurde schließlich in ein Glasgefäß überführt und per chiraler GC analysiert.

In beiden Varianten wurde Umsatz mit Hilfe von Kalibrierreihen über die Peakfläche des Produkts bestimmt. Die Enzymaktivität A (U/mg<sub>(BFM)</sub>) kann nach Gleichung (II) über die Variablen  $\chi_{\text{Nitril}}$  (Anteil des Nitrils in der Reaktionsmischung), V (Gesamtvolumen der Assayprobe (mL)), f (Verdünnungsfaktor der Zellsuspension), t (Reaktionszeit (min)), v (Volumen der Zellsuspension (mL)) und  $\beta_{\text{Oxd}}$  (BFM der Oxd (mg/L)) berechnet werden.

$$A = \frac{\chi_{\text{Nitril}} \cdot V \cdot f}{t \cdot v \cdot \beta_{\text{Oxd}}} \quad (\text{II})$$

7.4.19 Aktivitätsassay für die Biotransformation der Aldoxime **122a-f**

	R <sup>1</sup> <sub>3x</sub>	R <sup>2</sup>	E/Z		R <sup>1</sup> <sub>3x</sub> R <sup>2</sup>	E/Z
<b>a</b>		H	5:95	<b>e</b> (1R)		100:0
<b>b</b> (rac)		CH <sub>3</sub>	98:2 50:50	<b>f</b> (S)		100:0
<b>c</b> (rac)		CH <sub>3</sub>	85:15 5:95			
<b>d</b> (rac)		H	50:50			

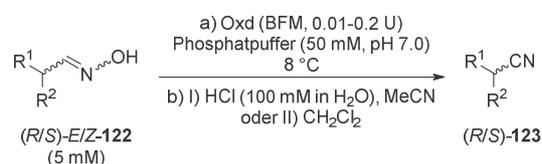
Der Aktivitätsassay erfolgte analog zu AAV 7. Für die Substrate **122a-b** wurde zur Aufarbeitung der Reaktion Methode I) verwendet, für die Substrate **122c-f** Methode II). Die Ergebnisse der Aktivitätsassays sind in Tabelle 7.13 dargestellt.

Tabelle 7.13: Ergebnisse aus den Aktivitätsassays für die Biotransformationen der Substrate **122a-f** mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG.

Substrat	E/Z	Oxd	Aktivität [U/mg <sub>(BFM)</sub> ]
<b>122a</b>	5:95	A	0.22
<b>122a</b>	5:95	B	0.61
<b>122a</b>	5:95	RE	0.22
<b>122a</b>	5:95	RG	0.38
<b>122a</b>	5:95	FG	0.16
<b>122b</b>	98:2	A	0.10
<b>122b</b>	98:2	B	0.26
<b>122b</b>	98:2	RE	0.14
<b>122b</b>	98:2	RG	0.26
<b>122b</b>	98:2	FG	0.11
<b>122b</b>	50:50	A	0.10
<b>122b</b>	50:50	B	0.27
<b>122b</b>	50:50	RE	0.16
<b>122b</b>	50:50	RG	0.26
<b>122b</b>	50:50	FG	0.14
<b>122c</b>	85:15	A	0.05
<b>122c</b>	85:15	B	0.19
<b>122c</b>	85:15	RE	0.05
<b>122c</b>	85:15	RG	0.06
<b>122c</b>	85:15	FG	0.03
<b>122c</b>	5:95	A	0.01

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Aktivität [U/mg <sub>(BFM)</sub> ]
122c	5:95	B	0.08
122c	5:95	RE	0.04
122c	5:95	RG	0.07
122c	5:95	FG	0.04
122d	50:50	A	0.08
122d	50:50	B	0.17
122d	50:50	RE	0.06
122d	50:50	RG	0.08
122d	50:50	FG	0.04
122e	100:0	A	0.005
122e	100:0	B	0.01
122e	100:0	RE	0.004
122e	100:0	RG	0.004
122e	100:0	FG	0.006
122f	100:0	A	0.01
122f	100:0	B	0.02
122f	100:0	RE	0.008
122f	100:0	RG	0.007
122f	100:0	FG	0.01

#### 7.4.20 Allgemeine Arbeitsvorschrift 8 (AAV 8): Biotransformation von Oximen **122** zu Nitrilen **123** mit Oxds



Die Biotransformationen erfolgten in Anlehnung an die Literaturvorschrift von Metzner *et al.*<sup>[256]</sup> Sie wurden je nach Ansatzgröße auf zwei unterschiedliche Varianten durchgeführt:

a) Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) wurde in einem 1.5 mL-*Eppendorf*-Gefäß vorgelegt. Der Puffer wurde in einem Thermomixer auf 8 °C gekühlt. Nach Zugabe der Oxd-Zellsuspension (mit definierter Aktivität bezogen auf das Standardsubstrat **Z-122a**) wurde die Mischung 5 min unter Schütteln mit 850 rpm inkubiert. Zum Start der Reaktion wurde das Aldoxim **122** (200 mM in DMSO, 12.5 µL) hinzugegeben. Die Menge des Phosphatpuffers wurde so gewählt, dass das Reaktionsvolumen bei einer Substratkonzentration von 5 mM und einer DMSO-Konzentration von 2.5 Vol.% insgesamt 500 µL betrug. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei 8 °C mit 850 rpm geschüttelt. Der Abbruch der Reaktion und die Analyse der Mischung erfolgten je nach Substrat über zwei unterschiedliche Varianten:

I) Zu der Reaktionsmischung wurde HCl (100 mM in H<sub>2</sub>O, 200 µL) und MeCN (300 µL) hinzugefügt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung zentrifugiert (21500 g,

4 °C, 5 min). Der Überstand (800 µL) wurde in ein weiteres *Eppendorf*-Gefäß überführt und erneut zentrifugiert (21500 g, 4 °C, 5 min). Schließlich wurde der Überstand (700 µL) in ein Glasgefäß gegeben und der Inhalt per *reversed phase*-HPLC analysiert, um den Umsatz zu bestimmen. Für die Bestimmung des *ee* wurde der Inhalt aus dem Glasgefäß in ein weiteres *Eppendorf*-Gefäß gegeben und mit MTBE (700 µL) durch Schütteln extrahiert. Die organische Phase wurde abgetrennt und in ein Glasgefäß überführt. Zu der organischen Phase wurde MTBE (300 µL) gegeben und die Probe wurde mit chiraler HPLC vermessen.

II) Zu der Reaktionsmischung wurde CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 µL) hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde durch Schütteln extrahiert, kurz zentrifugiert und die organische Phase abgetrennt. Auf diese Weise wurde die wässrige Phase noch zwei weitere Male mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (jeweils 500 µL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden in einem 2 ml-Messkolben vereint und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> auf ein Volumen von 2 mL aufgefüllt. Der Inhalt des Messkolbens wurde schließlich in ein Glasgefäß überführt und per chiraler GC analysiert.

b) Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0) wurde in einem 10 mL-Rundkolben vorgelegt. Der Puffer wurde in einem Kryostat-gekühlten Wasserbad auf 8 °C abgekühlt. Nach Zugabe der Oxd-Zellsuspension (mit definierter Aktivität bezogen auf das Standardsubstrat **Z-122a**) wurde die Mischung 5 min unter magnetischem Rühren bei 600 rpm inkubiert. Zum Start der Reaktion wurde das Aldoxim **122** (200 mM in DMSO, 25 µL) hinzugegeben. Die Menge des Phosphatpuffers wurde so gewählt, dass das Reaktionsvolumen bei einer Substratkonzentration von 5 mM und einer DMSO-Konzentration von 2.5 Vol.% insgesamt 1 mL betrug. Die Reaktionsmischung wurde 0.5-20 h bei 8 °C mit 600 rpm gerührt. Der Abbruch der Reaktion und die Analyse der Mischung erfolgten je nach Substrat über zwei unterschiedliche Varianten:

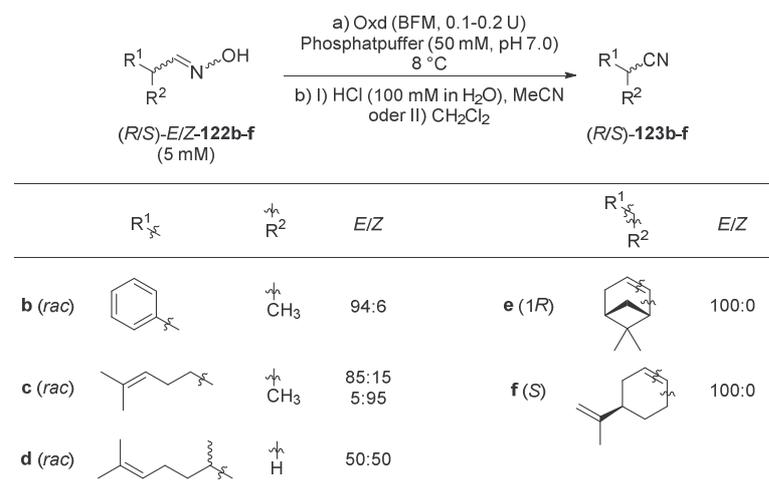
I) Zu der Reaktionsmischung wurde HCl (100 mM in H<sub>2</sub>O, 400 µL) und MeCN (600 µL) hinzugefügt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung zentrifugiert (21500 g, 4 °C, 5 min). Der Überstand (1.6 mL) wurde in ein weiteres *Eppendorf*-Gefäß überführt und erneut zentrifugiert (21500 g, 4 °C, 5 min). Schließlich wurde der Überstand (700 µL) in ein Glasgefäß gegeben und der Inhalt per *reversed phase*-HPLC analysiert, um den Umsatz zu bestimmen. Für die Bestimmung des *ee* wurde der Inhalt aus dem Glasgefäß in ein weiteres *Eppendorf*-Gefäß gegeben und mit MTBE (700 µL) durch Schütteln extrahiert. Die organische Phase wurde abgetrennt und in ein Glasgefäß überführt. Zu der organischen Phase wurde MTBE (300 µL) gegeben und die Probe wurde mit chiraler HPLC vermessen.

II) Zu der Reaktionsmischung wurde CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL) hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde durch Schütteln extrahiert, kurz zentrifugiert und die organische Phase abgetrennt. Auf diese Weise wurde die wässrige Phase noch zwei weitere Male mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (jeweils 1 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden auf zwei 2 mL-Messkolben aufgeteilt. Deren Inhalte wurden mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> auf ein Volumen von 2 mL aufgefüllt und in einem Glasgefäß vereint. Nach kurzem Schütteln wurde der Inhalt auf

zwei Glasgefäße aufgeteilt und per chiraler GC analysiert. Die Messwerte wurden gemittelt.

In allen Varianten wurde Umsatz mit Hilfe von Kalibrierreihen über die Peakfläche des Produkts bestimmt. Der *ee*-Wert wurde über das Verhältnis der Peakflächen der Produktenantimere ermittelt.

#### 7.4.21 Biotransformation der Aldoxime **122b-f** mit verschiedenen Oxds



Die Biotransformation erfolgte analog zu AAV 8. Für das Substrat **122b** wurden zur Durchführung der Reaktion Methode b) mit 0.2 U der Oxd mit einer Reaktionszeit von 45 min und zur Aufarbeitung Methode I) verwendet. Die Reaktion mit dem Substrat **122c** wurde nach Methode a) mit 0.1 U der Oxd durchgeführt, aber die Aufarbeitung erfolgte nach Methode II). Für die restlichen Substrate **122d-f** wurden Methode b) mit 0.2 U der Oxd mit einer Reaktionszeit von 20 h und Aufarbeitung II) verwendet. Die Ergebnisse der Biotransformationen sind in Tabelle 7.14 dargestellt.

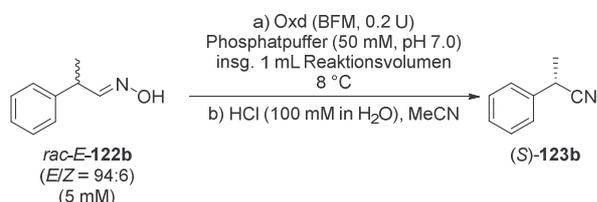
Tabelle 7.14: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate **122a-f** mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG.

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Umsatz (Nitril) [%]	<i>ee</i> -Wert Nitril <sup>[a]</sup> [%]	<i>E</i> -Wert
<b>122b</b>	94:6	A	26	91 ( <i>S</i> )	28
<b>122b</b>	94:6	B	26	94 ( <i>S</i> )	47
<b>122b</b>	94:6	RE	25	93 ( <i>S</i> )	37
<b>122b</b>	94:6	RG	26	92 ( <i>S</i> )	31
<b>122b</b>	94:6	FG	25	92 ( <i>S</i> )	32
<b>122c</b>	85:15	A	38	43 (+)	<10
<b>122c</b>	85:15	B	11	22 (-)	<10
<b>122c</b>	85:15	RE	42	22 (+)	<10
<b>122c</b>	85:15	RG	50	25 (+)	<10
<b>122c</b>	85:15	FG	40	9 (+)	<10
<b>122c</b>	5:95	A	40	1 (-)	<10
<b>122c</b>	5:95	B	33	40 (-)	<10
<b>122c</b>	5:95	RE	39	2 (+)	<10

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Umsatz (Nitril) [%]	<i>ee</i> -Wert Nitril <sup>[a]</sup> [%]	E-Wert
122c	5:95	RG	30	3 (+)	<10
122c	5:95	FG	11	19 (–)	<10
122d	50:50	A	89	18 (R)	0
122d	50:50	B	99	18 (R)	0
122d	50:50	RE	60	18 (R)	0
122d	50:50	RG	79	17 (R)	0
122d	50:50	FG	80	18 (R)	0
122e	100:0	A	1	99 (1R)	/
122e	100:0	B	1	99 (1R)	/
122e	100:0	RE	1	99 (1R)	/
122e	100:0	RG	1	99 (1R)	/
122e	100:0	FG	1	99 (1R)	/
122f	100:0	A	4	99 ( <i>S</i> )	/
122f	100:0	B	3	99 ( <i>S</i> )	/
122f	100:0	RE	4	99 ( <i>S</i> )	/
122f	100:0	RG	4	99 ( <i>S</i> )	/
122f	100:0	FG	6	99 ( <i>S</i> )	/

<sup>[a]</sup>: Bei unbekannter absoluter Konfiguration des Nitrils geben die Symbole (+) und (–) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an.

#### 7.4.22 Biotransformation des Aldoxims *rac-E-122b* mit verschiedenen Oxds nach unterschiedlichen Reaktionszeiten



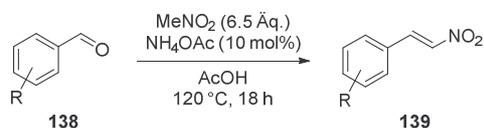
Die Biotransformation erfolgte analog zu AAV 8. Für das Substrat *rac-E-122b* wurden zur Durchführung der Reaktion Methode b) mit 0.2 U der Oxd und zur Aufarbeitung Methode I) verwendet. Für jede Oxd erfolgten 5 Durchläufe mit unterschiedlichen Reaktionszeiten (45 min, 4 h, 8 h, 16 h und 20 h). Die Ergebnisse der Biotransformationen sind in Tabelle 7.15 dargestellt.

Tabelle 7.15: Ergebnisse aus den Biotransformationen des Substrats *rac-E-122b* (*E/Z* = 94:6) mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG nach unterschiedlichen Reaktionszeiten.

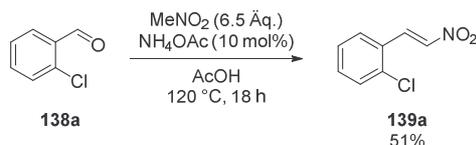
Reaktionszeit [h]	Oxd	Umsatz Nitril [%]	<i>ee</i> -Wert ( <i>S</i> )-Nitril [%]	E-Wert
0.75	A	26	91	28
4	A	56	79	38
8	A	56	75	25
16	A	56	78	40
20	A	59	67	18
0.75	B	26	94	47
4	B	53	89	73

Reaktionszeit [h]	Oxd	Umsatz Nitril [%]	ee-Wert ( <i>S</i> )-Nitril [%]	E-Wert
8	B	52	90	80
16	B	52	90	85
20	B	50	84	31
0.75	RE	25	93	37
4	RE	54	85	60
8	RE	51	77	19
16	RE	58	73	26
20	RE	63	56	13
0.75	RG	26	92	31
4	RG	54	81	36
8	RG	52	75	17
16	RG	58	74	34
20	RG	61	62	20
0.75	FG	25	92	32
4	FG	51	84	33
8	FG	48	81	21
16	FG	52	83	31
20	FG	54	70	14

#### 7.4.23 Allgemeine Arbeitsvorschrift 9 (AAV 9): Nitroaldolkondensation von Benzaldehyden **138** mit Nitromethan zu 2-Nitrovinylaromaten **139**



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Wong et al.* durchgeführt.<sup>[281]</sup> Zu einer Lösung des Benzaldehyds **138** in Eisessig wurde unter Rühren Ammoniumacetat (10 mol%) gegeben. Nachdem sich dieses gelöst hatte, wurde Nitromethan (6.5 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 18 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser hinzugegeben. Wenn ein Feststoff ausfiel, so wurde dieser im Vakuum abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Wenn kein Feststoff ausfiel, so wurde die Reaktionsmischung drei Mal mit Ethylacetat (1:1) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Schließlich wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) oder durch Umkristallisation aufgereinigt.

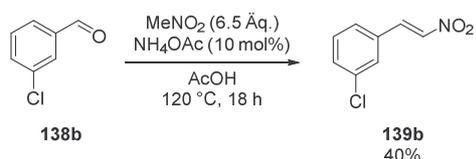
7.4.24 Nitroaldolkondensation von 2-Chlorbenzaldehyd (**138a**) mit Nitromethan zu 1-Chlor-2-(2-nitrovinyl)benzol (**139a**)

Die Synthese erfolgte analog zu AAV 9. 2-Chlorbenzaldehyd (**138a**) (4.50 mL, 40.0 mmol) wurde in Eisessig (20 mL) mit Ammoniumacetat (0.31 g, 4.00 mmol) und Nitromethan (14.0 mL, 260 mmol) versetzt. Nach Erhitzen wurde Wasser (50 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 10:1) wurde 1-Chlor-2-(2-nitrovinyl)benzol (**139a**) (3.71 g,  $R_f = 0.41$ ) als kräftig gelber, kristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 51% erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.40 (d,  $^3J = 13.7$  Hz, 1 H, O<sub>2</sub>N-CH=CH), 7.63 (dd,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1 H, **H<sub>meta</sub>**), 7.62 (d,  $^3J = 13.7$  Hz, 1 H, O<sub>2</sub>N-CH=CH), 7.52 (dd,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^4J = 1.2$  Hz, 1 H, **H<sub>ortho</sub>**), 7.45 (td,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1 H, **H<sub>meta</sub>**), 7.36 (td,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 0.9$  Hz, 1 H, **H<sub>para</sub>**).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 139.5 (**C<sub>ortho,Cl</sub>**), 136.4 (**C<sub>ipso</sub>**), 135.5 (O<sub>2</sub>N-CH=CH), 133.5 (O<sub>2</sub>N-CH=CH), 131.2 (**C<sub>meta</sub>**), 129.2 (**C<sub>para</sub>**), 129.1 (**C<sub>ortho,H</sub>**), 128.1 (**C<sub>meta</sub>**).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[316,317]</sup>

7.4.25 Nitroaldolkondensation von 3-Chlorbenzaldehyd (**138b**) mit Nitromethan zu 1-Chlor-3-(2-nitrovinyl)benzol (**139b**)

Die Synthese erfolgte analog zu AAV 9. 3-Chlorbenzaldehyd (**138b**) (5.00 mL, 40.0 mmol) wurde in Eisessig (20 mL) mit Ammoniumacetat (0.31 g, 4.00 mmol) und Nitromethan (14.0 mL, 260 mmol) versetzt. Nach Erhitzen wurde Wasser (50 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 10:1) wurde 1-Chlor-3-(2-nitrovinyl)benzol (**139b**) (2.90 g,  $R_f = 0.40$ ) als sattgrüner, kristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 40% erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.95 (d,  $^3J = 13.7$  Hz, 1 H, O<sub>2</sub>N-CH=CH), 7.60 (d,  $^3J = 13.7$  Hz, 1 H, O<sub>2</sub>N-CH=CH), 7.57-7.40 (m, 4 H, **H<sub>Ar</sub>**).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 138.8 (**C<sub>ipso</sub>**), 137.9 (O<sub>2</sub>N-CH=CH), 135.8 (**C<sub>meta,Cl</sub>**), 132.6 (O<sub>2</sub>N-CH=CH), 132.4 (**C<sub>meta,H</sub>**), 131.2 (**C<sub>para</sub>**), 129.3 (**C<sub>ortho</sub>**), 127.9 (**C<sub>ortho</sub>**).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[317]</sup>

#### 7.4.26 Nitroaldolkondensation von 4-Chlorbenzaldehyd (**138c**) mit Nitromethan zu 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol (**139c**)



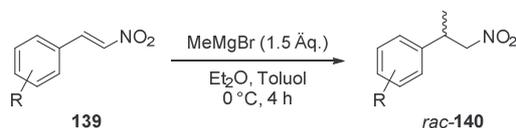
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 9. 4-Chlorbenzaldehyd (**138c**) (5.64 g, 40.0 mmol) wurde in Eisessig (20 mL) mit Ammoniumacetat (0.31 g, 4.00 mmol) und Nitromethan (14.0 mL, 260 mmol) versetzt. Nach Erhitzen wurde Wasser (50 mL) hinzugegeben. Durch Umkristallisation aus Ethanol (17 mL) wurde 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol (**139c**) (3.91 g) als lindgrüner, kristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 54% erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.97 (d,  $^3J = 13.7$  Hz, 1 H, O<sub>2</sub>N-CH=CH), 7.56 (d,  $^3J = 13.7$  Hz, 1 H, O<sub>2</sub>N-CH=CH), 7.50 und 7.44 (AA'BB'-Spinsystem, 4 H, H<sup>Ar</sup>).

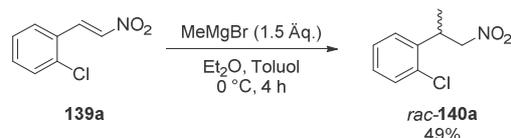
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 138.7 (C<sup>para</sup>), 138.2 (O<sub>2</sub>N-CH=CH), 131.3 (C<sup>ipso</sup>), 130.9 (2 C<sup>ortho</sup>), 130.2 (2 C<sup>meta</sup>), 129.5 (O<sub>2</sub>N-CH=CH).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[317,318]</sup>

#### 7.4.27 Allgemeine Arbeitsvorschrift 10 (AAV 10): Michael-Addition von Methylgrignard an 2-Nitrovinylaromaten **139** zu *rac*-2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten *rac*-**140**



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Yao et al.* durchgeführt.<sup>[282]</sup> Das Nitroalken **139** wurde einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Schlenkkolben vorgelegt und der Kolben wurde mit einem Septum verschlossen. Über eine Spritze wurde trockenes Toluol hinzugegeben. Die Lösung wurde unter Rühren im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Anschließend wurde langsam Methylmagnesiumbromid (3 M in Diethylether, 1.5 Äq.) mit einer Spritze innerhalb einer Stunde hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde 4 h bei 0 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Zugabe von wässriger Ammoniumchloridlösung (10%ig) fiel ein blassgelber Niederschlag aus. Die Suspension wurde weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend drei Mal mit Dichlormethan (1:1) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Schließlich wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) aufgereinigt.

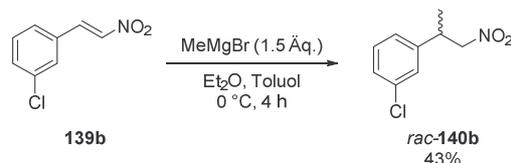
7.4.28 Michael-Addition von Methylgrignard an 1-Chlor-2-(2-nitrovinyl)benzol (**139a**) zu *rac*-1-Chlor-2-(1-Nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140a**)

Die Synthese erfolgte analog zu AAV 10. Eine Lösung von 1-Chlor-2-(2-nitrovinyl)benzol (**139a**) (3.53 g, 19.2 mmol) in Toluol (30 mL) wurde mit Methylmagnesiumbromid (3 M in Diethylether, 9.60 mL) versetzt. Zum Beenden der Reaktion wurde wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (10%ig, 40 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde *rac*-1-Chlor-2-(1-nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140a**) (1.87 g, R<sub>f</sub> = 0.44 (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als gelbes Öl in einer Ausbeute von 49% erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.41 (m, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.32-7.22 (m, 3 H, **H<sup>Ar</sup>**), 4.68 (dd, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1 H, O<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 4.50 (dd, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 1 H, O<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 4.16 (sex, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.38 (d, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 138.8 (**C<sup>ipso</sup>**), 134.2 (**C<sup>ortho,Cl</sup>**), 130.6 (**C<sup>meta</sup>**), 129.2 (**C<sup>ortho,H</sup>**), 128.0 (**C<sup>para</sup>**), 127.9 (**C<sup>meta</sup>**), 80.6 (O<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 35.4 (CH<sub>3</sub>CH), 18.0 (CH<sub>3</sub>CH).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[319]</sup>

7.4.29 Michael-Addition von Methylgrignard an 1-Chlor-3-(2-nitrovinyl)benzol (**139b**) zu *rac*-1-Chlor-3-(1-Nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140b**)

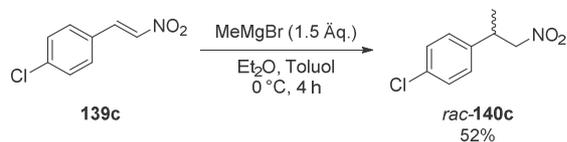
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 10. Eine Lösung von 1-Chlor-3-(2-nitrovinyl)benzol (**139b**) (2.78 g, 15.1 mmol) in Toluol (30 mL) wurde mit Methylmagnesiumbromid (3 M in Diethylether, 7.60 mL) versetzt. Zum Beenden der Reaktion wurde wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (10%ig, 40 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde *rac*-1-Chlor-3-(1-nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140b**) (1.30 g, R<sub>f</sub> = 0.39 (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als gelbes Öl in einer Ausbeute von 43% erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.31-7.24 (m, 3 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.15 (m, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 4.56 (dd, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 1 H, O<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 4.51 (dd, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 1 H, O<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 3.61 (sex, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.36 (d, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 143.9 ( $\text{C}^{\text{ipso}}$ ), 135.1 ( $\text{C}^{\text{meta,Cl}}$ ), 130.8 ( $\text{C}^{\text{meta,H}}$ ), 128.2 ( $\text{C}^{\text{para}}$ ), 127.7 ( $\text{C}^{\text{ortho}}$ ), 125.9 ( $\text{C}^{\text{ortho}}$ ), 81.9 ( $\text{O}_2\text{NCH}_2$ ), 38.9 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 19.1 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[319]</sup>

#### 7.4.30 Michael-Addition von Methylgrignard an 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol (**139c**) zu *rac*-1-Chlor-4-(1-Nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140c**)



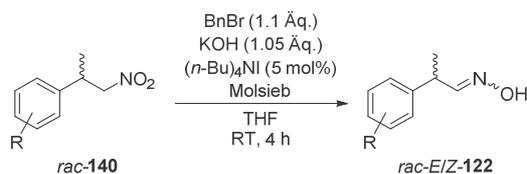
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 10. Eine Lösung von 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol (**139c**) (3.93 g, 21.4 mmol) in Toluol (40 mL) wurde mit Methylmagnesiumbromid (3 M in Diethylether, 10.7 mL) versetzt. Zum Beenden der Reaktion wurde wässr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (10%ig, 40 mL) hinzugegeben. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde *rac*-1-Chlor-4-(1-nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140c**) (2.21 g,  $R_f = 0.37$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als blassgelbes Öl in einer Ausbeute von 52% erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.33 und 7.20 (AA'BB'-Spinsystem, 4 H,  $\text{H}^{\text{Ar}}$ ), 4.54 (dd,  $^2J = 12.2$  Hz,  $^3J = 7.9$  Hz, 1 H,  $\text{O}_2\text{NCH}_2$ ), 4.51 (dd,  $^2J = 12.2$  Hz,  $^3J = 7.6$  Hz, 1 H,  $\text{O}_2\text{NCH}_2$ ), 3.62 (sex,  $^3J = 7.3$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.35 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 140.3 ( $\text{C}^{\text{ipso}}$ ), 133.6 ( $\text{C}^{\text{para}}$ ), 129.5 ( $\text{C}^{\text{meta}}$ ), 129.0 ( $\text{C}^{\text{ortho}}$ ), 82.1 ( $\text{O}_2\text{NCH}_2$ ), 38.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 19.1 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[319,320]</sup>

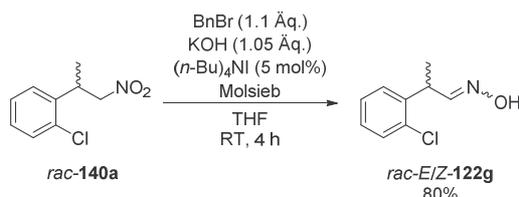
#### 7.4.31 Allgemeine Arbeitsvorschrift 11 (AAV 11): Reduktion von *rac*-2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten *rac*-**140** zu *rac*-*E/Z*-2-Arylpropanaloximen *rac*-*E/Z*-**122**



Die Synthesen wurden analog zu der Literaturvorschrift von *Czekelins et al.* durchgeführt.<sup>[283]</sup> In einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Schlenkkolben wurde Molsieb (4 Å) vorgelegt. Nach Zugabe von frisch destilliertem THF und Kaliumhydroxid (85%ig, 1.05 Äq.) im Ar-Gegenstrom wurde der Kolben mit einem Septum verschlossen. Zum Trocknen des Lösungsmittels und der Kaliumhydroxid-Plätzchen wurde der Kolbeninhalt 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden Benzylbromid (1.1 Äq.) und Tetrabutylammoniumiodid (5 mol%) hinzugefügt, woraufhin die Mischung weitere 20 min bei Raumtemperatur gerührt wurde. Schließlich wurde das Nitroalkan *rac*-**140** hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach ca. 1 h ein farbloser Feststoff ausfiel. Dann wurde Wasser hinzugegeben, sodass sich

der Feststoff wieder löste. Das Reaktionsgemisch wurde drei Mal mit Dichlormethan (1:1) extrahiert und die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Schließlich wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels automatischer Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat) aufgereinigt.

#### 7.4.32 Reduktion von *rac*-1-Chlor-2-(1-Nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140a**) zu *rac*-*E*/*Z*-2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-*E*/*Z*-**122g**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 11. In dem ausgeheizten Schlenkkolben wurden Molsieb (300 mg), Tetrahydrofuran (20 mL) und Kaliumhydroxid (85%ig, 359 mg, 5.30 mmol) vorgelegt. Anschließend wurden Benzylbromid (656  $\mu\text{L}$ , 5.50 mmol) und Tetrabutylammoniumiodid (92.5 mg, 0.25 mmol) hinzugegeben. Zuletzt wurde *rac*-1-Chlor-2-(1-nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140a**) (1.00 g, 5.00 mmol) hinzugefügt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (1-20% Gradient) in Cyclohexan) wurden *rac*-*E*-2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-**E-122g**) (0.36 g,  $R_f = 0.26$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 39% mit einem *E*/*Z*-Verhältnis von >99:1 und *rac*-*Z*-2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-**Z-122g**) (0.38 g,  $R_f = 0.17$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 41% mit einem *E*/*Z*-Verhältnis von <1:99 erhalten.

*rac*-*E*-2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-**E-122g**):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.55 (dd,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^4J = 1.8$  Hz, 1 H, **H<sup>meta</sup>**), 7.39 (d,  $^3J = 7.6$  Hz, 1 H, **CHNOH**), 7.29-7.19 (m, 3 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.15 (s, 1 H, **CHNOH**), 4.18 (qui,  $^3J = 7.0$  Hz, 1 H, **CH<sub>3</sub>CH**), 1.43 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 3 H, **CH<sub>3</sub>CH**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 154.0 (**CHNOH**), 140.3 (**C<sup>ipso</sup>**), 134.1 (**C<sup>ortho,Cl</sup>**), 130.3 (**C<sup>ortho,H</sup>**), 129.0 (**C<sup>meta</sup>**), 128.7 (**C<sup>para</sup>**), 127.8 (**C<sup>meta</sup>**), 37.4 (**CH<sub>3</sub>CH**), 18.1 (**CH<sub>3</sub>CH**).

IR (trocken):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3248, 3055, 2979, 2909, 1472, 1438, 1375, 1296, 1257, 1197, 1165, 1147, 1110, 1069, 1035, 1017, 942, 927, 865, 777, 756, 732, 700, 682, 641, 595, 536, 485, 446, 422, 412.

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm,  $R_t = 16.9$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H, CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm, R<sub>t1</sub> = 19.2 min, R<sub>t2</sub> = 27.3 min.

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 183.9 (55) [M + H]<sup>+</sup>, 206.0 (100) [M + Na]<sup>+</sup>.

*rac*-Z-2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-Z-122g): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.60 (s, 1 H, CHNOH), 7.38 (dd, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.0 Hz, 1 H, H<sup>meta</sup>), 7.32 (dd, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1 H, H<sup>ortho</sup>), 7.27 (dt, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1 H, H<sup>para</sup>), 7.20 (dt, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1 H, H<sup>meta</sup>), 6.86 (d, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1 H, CHNOH), 4.68 (qui, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.42 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 154.7 (CHNOH), 141.2 (C<sup>ipso</sup>), 134.0 (C<sup>ortho,Cl</sup>), 130.3 (C<sup>ortho,H</sup>), 128.6 (C<sup>meta</sup>), 128.5 (C<sup>para</sup>), 127.8 (C<sup>meta</sup>), 33.5 (CH<sub>3</sub>CH), 18.4 (CH<sub>3</sub>CH).

IR (trocken): ν [cm<sup>-1</sup>] = 3172, 3063, 3027, 2972, 2853, 1471, 1457, 1439, 1375, 1309, 1273, 1256, 1200, 1062, 1027, 937, 902, 866, 821, 745, 711, 669, 585, 567, 533, 460, 447, 417.

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm, R<sub>t</sub> = 16.9 min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H, CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm, R<sub>t1+2</sub> = 26.0 min.

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 184.0 (68) [M + H]<sup>+</sup>, 205.9 (100) [M + Na]<sup>+</sup>.

Elementaranalyse: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClNO, berechnet C 58.87%, H 5.49%, N 7.63%, gefunden C 58.96%, H 5.51%, N 7.58%.

#### 7.4.33 Reduktion von *rac*-1-Chlor-3-(1-Nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-140b) zu *rac*-E/Z-2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-E/Z-122h)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 11. In dem ausgeheizten Schlenkkolben wurden Molsieb (250 mg), Tetrahydrofuran (20 mL) und Kaliumhydroxid (85%ig, 281 mg, 4.20 mmol) vorgelegt. Anschließend wurden Benzylbromid (525 µL, 4.40 mmol) und Tetrabutylammoniumiodid (74.0 mg, 0.20 mmol) hinzugegeben. Zuletzt wurde *rac* 1-Chlor-3-(1-nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-140b) (0.80 g, 4.00 mmol) hinzugefügt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel

25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurden *rac-E-2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim* (*rac-E-122h*) (0.19 g,  $R_{f1} = 0.24$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 26% mit einem *E/Z*-Verhältnis von >99:1 und *rac-Z-2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim* (*rac-Z-122h*) (0.11 g,  $R_{f1} = 0.19$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 15% mit einem *E/Z*-Verhältnis von <1:99 erhalten.

*rac-E-2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim* (*rac-E-122h*):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.48 (d,  $^3J = 6.1$  Hz, 1 H, **CHNOH**), 7.28 (m, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.23 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.18 (s, 1 H, **CHNOH**), 7.14 (m, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 3.65 (qui,  $^3J = 7.0$  Hz, 1 H, **CH<sub>3</sub>CH**), 1.43 (d,  $^3J = 6.1$  Hz, 3 H, **CH<sub>3</sub>CH**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 154.6 (**CHNOH**), 144.9 (**C<sup>ipso</sup>**), 134.8 (**C<sup>meta,Cl</sup>**), 130.6 (**C<sup>meta,H</sup>**), 128.1 (**C<sup>ortho</sup>**), 127.5 (**C<sup>para</sup>**), 126.4 (**C<sup>ortho</sup>**), 40.6 (**CH<sub>3</sub>CH**), 19.1 (**CH<sub>3</sub>CH**).

IR (trocken):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3240, 3088, 2970, 2931, 2873, 1737, 1653, 1595, 1572, 1474, 1450, 1427, 1374, 1300, 1229, 1217, 1198, 1082, 1024, 999, 931, 879, 826, 783, 696, 669, 599.

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 18.3$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H,  $\text{CO}_2$ /*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 21.1$  min,  $R_{t2} = 21.9$  min.

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 184.0 (77) [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>, 206.0 (100) [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

Elementaranalyse: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClNO, berechnet C 58.87%, H 5.49%, N 7.63%, gefunden C 58.98%, H 5.56%, N 7.42%.

*rac-Z-2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim* (*rac-Z-122h*):  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.87 (s, 1 H, **CHNOH**), 7.28 (m, 2 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.23 (m, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 7.19 (m, 1 H, **H<sup>Ar</sup>**), 6.78 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 1 H, **CHNOH**), 4.40 (qui,  $^3J = 7.2$  Hz, 1 H, **CH<sub>3</sub>CH**), 1.41 (d,  $^3J = 7.1$  Hz, 3 H, **CH<sub>3</sub>CH**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 155.1 (**CHNOH**), 145.2 (**C<sup>ipso</sup>**), 134.8 (**C<sup>meta,Cl</sup>**), 130.5 (**C<sup>meta,H</sup>**), 128.0 (**C<sup>ortho</sup>**), 127.3 (**C<sup>para</sup>**), 126.1 (**C<sup>ortho</sup>**), 35.2 (**CH<sub>3</sub>CH**), 18.8 (**CH<sub>3</sub>CH**).

IR (trocken):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3202, 3068, 3024, 2970, 2932, 2874, 1740, 1656, 1594, 1569, 1472, 1455, 1425, 1373, 1326, 1263, 1229, 1217, 1193, 1136, 1109, 1081, 1027, 998, 928, 894, 875, 828, 787, 721, 692, 670, 534, 442, 418.

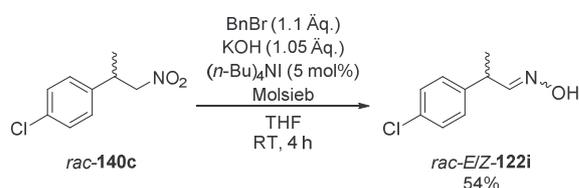
RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm, R<sub>f1</sub> = 21.3 min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H, CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm, R<sub>f1</sub> = 24.4 min, R<sub>f2</sub> = 26.4 min.

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 184.0 (26) [M + H]<sup>+</sup>, 206.0 (100) [M + Na]<sup>+</sup>.

Elementaranalyse: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClNO, berechnet C 58.87%, H 5.49%, N 7.63%, gefunden C 58.75%, H 5.56%, N 7.24%.

#### 7.4.34 Reduktion von *rac*-1-Chlor-4-(1-Nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140c**) zu *rac*-*E/Z*-2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-*E/Z*-**122i**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 11. In dem ausgeheizten Schlenkkolben wurden Molsieb (300 mg), Tetrahydrofuran (20 mL) und Kaliumhydroxid (85%ig, 362 mg, 5.30 mmol) vorgelegt. Anschließend wurden Benzylbromid (656 µL, 5.50 mmol) und Tetrabutylammoniumiodid (92.9 mg, 0.25 mmol) hinzugegeben. Zuletzt wurde *rac*-1-Chlor-4-(1-nitroprop-2-yl)benzol (*rac*-**140c**) (1.00 g, 5.00 mmol) hinzugefügt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurden *rac*-*E*-2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-**E-122i**) (0.34 g, R<sub>f1</sub> = 0.19 (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 36% mit einem *E/Z*-Verhältnis von >99:1 und *rac*-*Z*-2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-**Z-122i**) (0.16 g, R<sub>f1</sub> = 0.15 (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 18% mit einem *E/Z*-Verhältnis von <1:99 erhalten.

*rac*-*E*-2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-**E-122i**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.47 (d, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 1 H, CHNOH), 7.31 und 7.19 (AA'BB'-Spinsystem, 4 H, H<sup>Aa</sup>), 7.21 (s, 1 H, CHNOH), 3.65 (qui, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.42 (d, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 154.8 (CHNOH), 141.4 (C<sup>ipso</sup>), 133.0 (C<sup>para</sup>), 129.4 (C<sup>ortho</sup>), 129.3 (C<sup>meta</sup>), 40.3 (CH<sub>3</sub>CH), 19.1 (CH<sub>3</sub>CH).

IR (trocken): ν [cm<sup>-1</sup>] = 3262, 2980, 2906, 1479, 1434, 1411, 1373, 1325, 1294, 1282, 1101, 1090, 1066, 1012, 941, 929, 825, 781, 720, 666, 658, 621, 574, 535, 453.

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm, R<sub>t1</sub> = 19.0 min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H, CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm, R<sub>t1</sub> = 27.3 min, R<sub>t2</sub> = 32.1 min.

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 184.0 (72) [M + H]<sup>+</sup>, 408.3 (100) [2 M + K]<sup>+</sup>.

Elementaranalyse: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClNO, berechnet C 58.87%, H 5.49%, N 7.63%, gefunden C 59.35%, H 5.64%, N 7.52%.

*rac*-Z-2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac*-Z-**122i**): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.44 (s, 1 H, CHNOH), 7.31 und 7.23 (AA'BB'-Spinsystem, 4 H, H<sup>Ar</sup>), 6.76 (d, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 1 H, CHNOH), 4.40 (qui, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.40 (d, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 155.3 (CHNOH), 141.7 (C<sup>*ipso*</sup>), 132.8 (C<sup>*para*</sup>), 129.22 (C<sup>*ortho*</sup>), 129.20 (C<sup>*meta*</sup>), 34.9 (CH<sub>3</sub>CH), 18.9 (CH<sub>3</sub>CH).

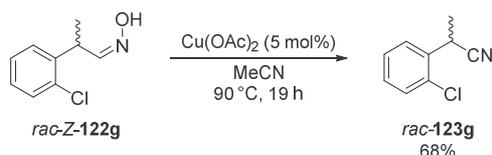
IR (trocken): ν [cm<sup>-1</sup>] = 3195, 3068, 2970, 2860, 1738, 1653, 1489, 1452, 1435, 1404, 1372, 1319, 1257, 1230, 1217, 1112, 1093, 1024, 1011, 931, 893, 882, 824, 756, 723, 707, 692, 669, 637, 625, 558, 514, 484.

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur C<sub>18</sub> HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm, R<sub>t1</sub> = 22.1 min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H, CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm, R<sub>t1</sub> = 30.9 min, R<sub>t2</sub> = 33.4 min.

MS (+ESI, MeCN): m/z (%) = 184.0 (10) [M + H]<sup>+</sup>, 206.0 (20) [M + Na]<sup>+</sup>, 408.3 (100) [2 M + K]<sup>+</sup>.

Elementaranalyse: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClNO, berechnet C 58.87%, H 5.49%, N 7.63%, gefunden C 58.60%, H 5.66%, N 7.68%.

7.4.35 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *rac-Z*-2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac-Z-122g*) zu *rac*-2-(2-Chlorphenyl)propionitril (*rac-123g*)

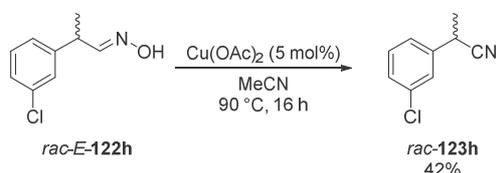
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *rac-Z*-2-(2-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac-Z-122g*) (70.0 mg, 0.38 mmol) in Acetonitril (3 mL) wurde mit Kupferacetat (5 mol%, 3.50 mg, 0.02 mmol) 19 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde *rac*-2-(2-Chlorphenyl)propionitril (*rac-123g*) (43.0 mg,  $R_f = 0.64$  (Cyclohexan/Ethylacetat 7:1)) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 68% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.58 (dd,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 7.42 (dd,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 7.36 (dt,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.5$  Hz 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 7.30 (dt,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz 1 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 4.36 (q,  $^3J = 7.2$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.62 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 135.5 ( $\mathbf{C}^{ortho,Cl}$ ), 133.0 ( $\mathbf{C}^{ipso}$ ), 130.5 ( $\mathbf{C}^{ortho,H}$ ), 130.1 ( $\mathbf{C}^{para}$ ), 128.8 ( $\mathbf{C}^{meta}$ ), 128.3 ( $\mathbf{C}^{meta}$ ), 30.3 ( $\mathbf{CN}$ ), 29.4 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 20.2 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur  $\text{C}_{18}$  HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm,  $R_f = 31.0$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H,  $\text{CO}_2$ /*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm,  $R_{f1} = 10.0$  min (*S*),  $R_{f2} = 11.7$  min (*R*).

7.4.36 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *rac-E*-2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac-E-122h*) zu *rac*-2-(3-Chlorphenyl)propionitril (*rac-123h*)

Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *rac-E*-2-(3-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac-E-122h*) (26.0 mg, 0.14 mmol) in Acetonitril (2 mL) wurde mit Kupferacetat (5 mol%, 1.3 mg, 0.01 mmol) 16 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde *rac*-2-(3-Chlorphenyl)propionitril (*rac-123h*) (10.0 mg,  $R_f = 0.40$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 42% erhalten.

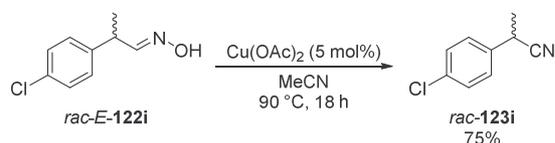
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.37-7.27 (m, 4 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 3.91 (q,  $^3J = 7.3$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.63 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 139.9 ( $\mathbf{C}^{meta,Cl}$ ), 135.4 ( $\mathbf{C}^{ipso}$ ), 131.0 ( $\mathbf{C}^{meta,H}$ ), 128.8 ( $\mathbf{C}^{ortho}$ ), 127.5 ( $\mathbf{C}^{para}$ ), 125.7 ( $\mathbf{C}^{ortho}$ ), 100.6 ( $\mathbf{CN}$ ), 31.5 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 21.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur  $\text{C}_{18}$  HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 29.8$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H,  $\text{CO}_2$ /*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 15.4$  min (S),  $R_{t2} = 18.4$  min (R).

7.4.37 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *rac-E*-2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac-E*-**122i**) zu *rac*-2-(4-Chlorphenyl)propionitril (*rac*-**123i**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *rac-E*-2-(4-Chlorphenyl)propanaloxim (*rac-E*-**122i**) (52.0 mg, 0.28 mmol) in Acetonitril (3 mL) wurde mit Kupferacetat (5 mol%, 2.6 mg, 0.01 mmol) 18 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde *rac*-2-(4-Chlorphenyl)propionitril (*rac*-**123i**) (35.0 mg,  $R_{f1} = 0.33$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 75% erhalten.

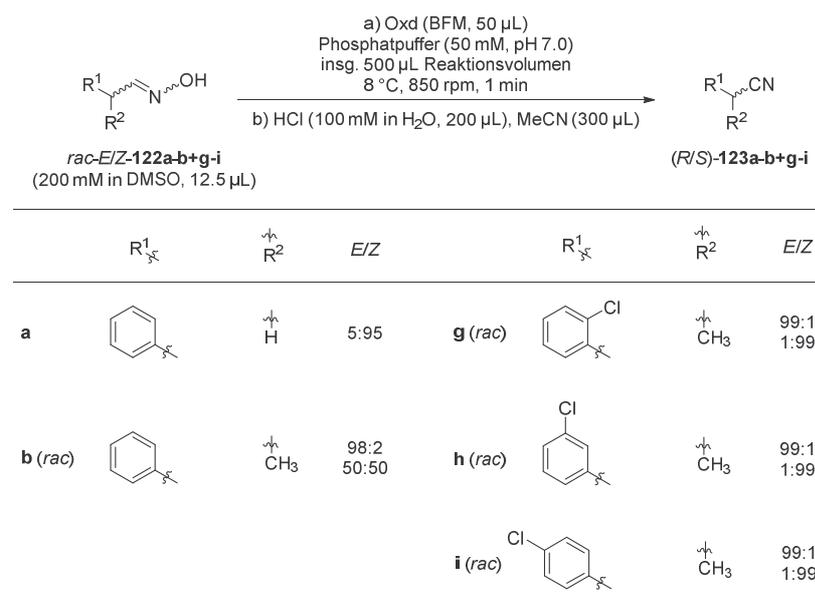
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.39 und 7.32 ( $\text{AA}'\text{BB}'$ -Spinsystem, 4 H,  $\mathbf{H}^{Ar}$ ), 3.91 (q,  $^3J = 7.3$  Hz, 1 H,  $\text{CHCN}$ ), 1.62 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 3 H,  $\text{CHCH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 136.5 ( $\mathbf{C}^{para}$ ), 134.3 ( $\mathbf{C}^{ipso}$ ), 129.7 (2  $\mathbf{C}^{ortho}$ ), 128.8 (2  $\mathbf{C}^{meta}$ ), 121.8 ( $\mathbf{CN}$ ), 31.3 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 21.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}$ ).

RP-HPLC: *Macherey-Nagel* Nucleodur  $\text{C}_{18}$  HTec, Wasser/Acetonitril 70:30, 1.5 mL/min, 40 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 30.9$  min.

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H,  $\text{CO}_2$ /*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 14.4$  min,  $R_{t2} = 16.8$  min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[321]</sup>

7.4.38 Aktivitätsassay für die Biotransformation der Aldoxime **122a-b** und **122g-i**


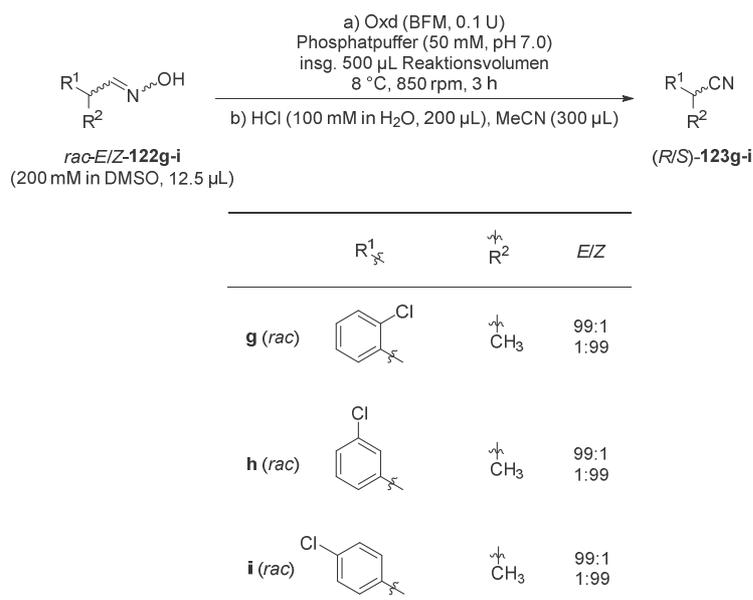
Der Aktivitätsassay erfolgte analog zu AAV 7. Für alle Substrate **122a-b** und **122g-i** wurde zur Aufarbeitung der Reaktion Methode I) verwendet. Die Ergebnisse der Aktivitätsassays sind in Tabelle 7.16 dargestellt.

Tabelle 7.16: Ergebnisse aus den Aktivitätsassays für die Biotransformationen der Substrate **122a-b** und **122g-i** mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG.

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Aktivität [U/mg <sub>(BFM)</sub> ]
<b>122a</b>	5:95	A	0.22
<b>122a</b>	5:95	B	0.61
<b>122a</b>	5:95	RE	0.22
<b>122a</b>	5:95	RG	0.38
<b>122a</b>	5:95	FG	0.16
<b>122b</b>	98:2	A	0.10
<b>122b</b>	98:2	B	0.26
<b>122b</b>	98:2	RE	0.14
<b>122b</b>	98:2	RG	0.26
<b>122b</b>	98:2	FG	0.11
<b>122b</b>	50:50	A	0.10
<b>122b</b>	50:50	B	0.27
<b>122b</b>	50:50	RE	0.16
<b>122b</b>	50:50	RG	0.26
<b>122b</b>	50:50	FG	0.14
<b>122g</b>	99:1	A	0.13
<b>122g</b>	99:1	B	0.21
<b>122g</b>	99:1	RE	0.14
<b>122g</b>	99:1	RG	0.25
<b>122g</b>	99:1	FG	0.08

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Aktivität [U/mg <sub>(BFM)</sub> ]
122g	1:99	A	0.07
122g	1:99	B	0.25
122g	1:99	RE	0.14
122g	1:99	RG	0.13
122g	1:99	FG	0.13
122h	99:1	A	- <sup>[a]</sup>
122h	99:1	B	-
122h	99:1	RE	-
122h	99:1	RG	-
122h	99:1	FG	-
122h	1:99	A	-
122h	1:99	B	-
122h	1:99	RE	-
122h	1:99	RG	-
122h	1:99	FG	-
122i	99:1	A	-
122i	99:1	B	-
122i	99:1	RE	-
122i	99:1	RG	-
122i	99:1	FG	-
122i	1:99	A	-
122i	1:99	B	-
122i	1:99	RE	-
122i	1:99	RG	-
122i	1:99	FG	-

<sup>[a]</sup>: Unter den oben angegebenen Assaybedingungen konnte kein Umsatz zum entsprechenden Nitril nachgewiesen werden.

7.4.39 Biotransformation der Aldoxime **122g-i** mit verschiedenen Oxds

Die Biotransformation erfolgte analog zu AAV 8. Für alle Substrate **122g-i** wurden zur Durchführung der Reaktion Methode a) mit 0.1 U der Oxd mit einer Reaktionszeit von 3 h und zur Aufarbeitung Methode I) verwendet. Die Ergebnisse der Biotransformationen sind in Tabelle 7.17 dargestellt.

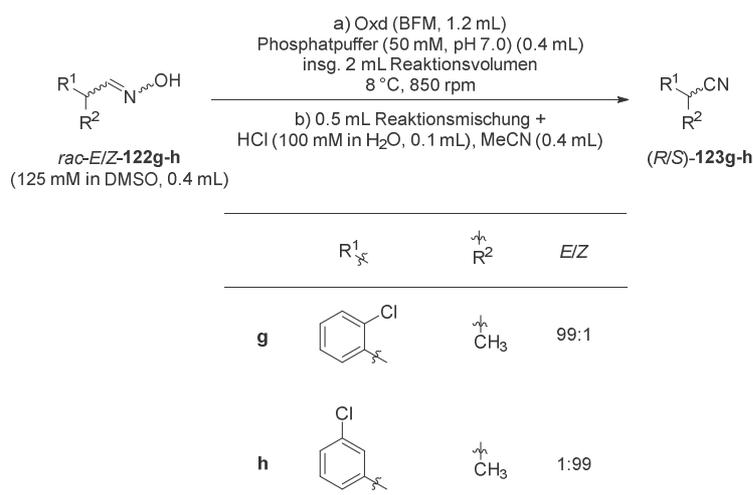
Tabelle 7.17: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate **122g-i** mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG.

Substrat	E/Z	Oxd	Umsatz (Nitril) <sup>[a]</sup> [%]	ee-Wert Nitril <sup>[b]</sup> [%]	E-Wert <sup>[c]</sup>
<b>122g</b>	99:1	A	12	97 (S)	70
<b>122g</b>	99:1	B	2	87 (S)	14
<b>122g</b>	99:1	RE	33	97 (S)	108
<b>122g</b>	99:1	RG	16	99 (S)	>200
<b>122g</b>	99:1	FG	12	91 (S)	24
<b>122g</b>	1:99	A	5	2 (S)	-
<b>122g</b>	1:99	B	2	22 (S)	-
<b>122g</b>	1:99	RE	1	26 (R)	<10
<b>122g</b>	1:99	RG	6	2 (R)	-
<b>122g</b>	1:99	FG	8	24 (R)	-
<b>122h</b>	99:1	A	-	-	-
<b>122h</b>	99:1	B	1	10 (S)	-
<b>122h</b>	99:1	RE	1	39 (S)	-
<b>122h</b>	99:1	RG	-	-	-
<b>122h</b>	99:1	FG	14	51 (S)	<10
<b>122h</b>	1:99	A	10	93 (R)	32
<b>122h</b>	1:99	B	3	67 (R)	-
<b>122h</b>	1:99	RE	20	91 (R)	28
<b>122h</b>	1:99	RG	9	91 (R)	22

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Umsatz (Nitril) <sup>[a]</sup> [%]	<i>ee</i> -Wert Nitril <sup>[b]</sup> [%]	<i>E</i> -Wert <sup>[c]</sup>
<b>122h</b>	1:99	FG	37	87 (R)	25
<b>122i</b>	99:1	A	-	-	-
<b>122i</b>	99:1	B	5	94 (+)	32
<b>122i</b>	99:1	RE	-	-	-
<b>122i</b>	99:1	RG	-	-	-
<b>122i</b>	99:1	FG	4	85 (+)	13
<b>122i</b>	1:99	A	-	-	-
<b>122i</b>	1:99	B	4	39 (-)	<10
<b>122i</b>	1:99	RE	-	-	-
<b>122i</b>	1:99	RG	-	-	-
<b>122i</b>	1:99	FG	31	94 (-)	51

<sup>[a]</sup>: -: Es konnte kein Umsatz nachgewiesen werden. <sup>[b]</sup>: Bei unbekannter absoluter Konfiguration des Nitrils geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an. <sup>[c]</sup>: -: Die Angabe eines *E*-Wertes ist aufgrund eines zu geringen Umsatzes und/oder *ee* hinfällig.

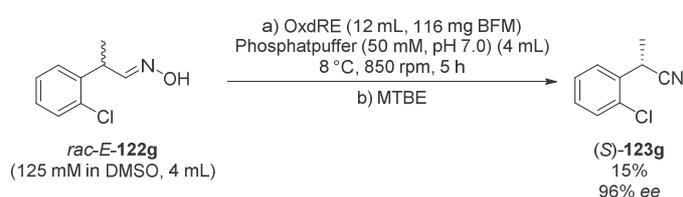
#### 7.4.40 Biotransformation der Aldoxime *rac-E-122g* mit OxdRE und *rac-Z-122h* mit OxdFG mit erhöhter Substrat- und DMSO-Konzentration



Die Biotransformation erfolgte analog zu AAV 8. Für beide Substrate *rac-E-122g* und *rac-Z-122h* wurde zur Durchführung der Reaktion Methode a) verwendet, allerdings mit 1.2 mL der Oxd-Zellsuspension und mit einer erhöhten Konzentrationen von 25 mM Substrat und 20 Vol.% DMSO bei einem Gesamtvolumen der Reaktionsmischung von 2 mL. Nach unterschiedlichen Reaktionszeiten (0.5 h, 2.5 h und 5 h) wurden jeweils 0.5 mL des Gemisches aus der Reaktion entnommen und nach Methode I) aufgearbeitet. Die Ergebnisse der Biotransformationen sind in Tabelle 7.18 dargestellt.

Tabelle 7.18: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate *rac-E-122g* mit OxdRE und *rac-Z-122h* mit OxdFG nach unterschiedlichen Reaktionszeiten.

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Reaktionszeit [h]	Umsatz (Nitril) [%]
<b>122g</b>	99:1	RE	0.5	6
<b>122g</b>	99:1	RE	2.5	18
<b>122g</b>	99:1	RE	5	24
<b>122h</b>	1:99	FG	0.5	8
<b>122h</b>	1:99	FG	2.5	10
<b>122h</b>	1:99	FG	5	16

7.4.41 Biotransformation des Aldoxims *rac-E-122g* mit OxdRE im präparativen Maßstab

Eine Mischung aus Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0, 4.0 mL) und OxdRE (12.0 mL, 116 mg BFM) wurde mit Argon überschichtet. Die Mischung wurde mit einem Magnetrührer gerührt und in einem per Kryostat gekühlten Wasserbad (5 °C) auf 8 °C abgekühlt. Zum Start der Reaktion wurde das Aldoxim *rac-E-122g* (125 mM in DMSO, 12.0 mL) hinzugegeben und die Reaktionsmischung 5 h bei 8 °C gerührt. Zur Umsatzkontrolle wurden 0.5 mL des Gemisches aus der Reaktion entnommen und nach Methode I) aus AAV 8 aufgearbeitet. Der Rest der Reaktionsmischung (19.5 mL) wurde mit MTBE (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Durch Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 μm, Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde (*S*)-2-(2-Chlorphenyl)propionitril ((*S*)-**123g**) (12.8 mg,  $R_f = 0.66$  (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 15% mit und einem *ee*-Wert von 96% erhalten.

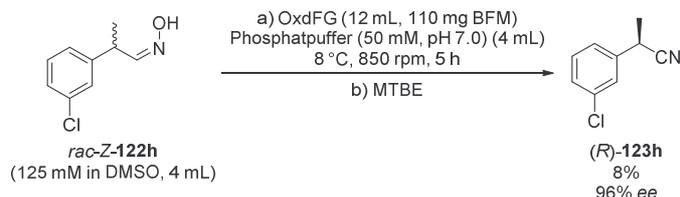
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.58 (dd,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, 1 H, **H<sup>A</sup>**), 7.42 (dd,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, **H<sup>A</sup>**), 7.37 (dt,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.5$  Hz, 1 H, **H<sup>A</sup>**), 7.32 (dt,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, 1 H, **H<sup>A</sup>**), 4.37 (q,  $^3J = 7.2$  Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.62 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = -40^\circ$  ( $c = 0.92$ , CHCl<sub>3</sub>).

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H, CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm,  $R_{t1} = 11.3$  min (*S*),  $R_{t2} = 12.9$  min (*R*).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[285]</sup>

#### 7.4.42 Biotransformation des Aldoxims *rac*-Z-**122h** mit OxdFG im präparativen Maßstab



Eine Mischung aus Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.0, 4.0 mL) und OxdFG (12.0 mL, 110 mg BFM) wurde mit Argon überschichtet. Die Mischung wurde mit einem Magnetrührer gerührt und in einem per Kryostat gekühlten Wasserbad (5 °C) auf 8 °C abgekühlt. Zum Start der Reaktion wurde das Aldoxim *rac*-Z-**122h** (125 mM in DMSO, 12.0 mL) hinzugegeben und die Reaktionsmischung 5 h bei 8 °C gerührt. Zur Umsatzkontrolle wurden 0.5 mL des Gemisches aus der Reaktion entnommen und nach Methode I) aus AAV 8 aufgearbeitet. Der Rest der Reaktionsmischung (19.5 mL) wurde mit MTBE (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Durch Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, Ethylacetat (2-18% Gradient) in Cyclohexan) wurde (R)-2-(3-Chlorphenyl)propionitril ((R)-**123h**) (6.7 mg, R<sub>f</sub> = 0.45 (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1)) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 8% mit und einem *ee*-Wert von 96% erhalten.

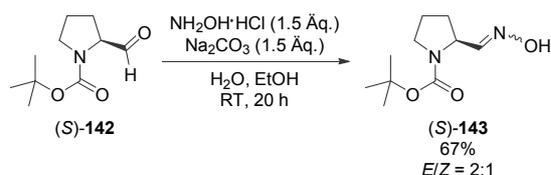
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ [ppm] = 7.37-7.27 (m, 4 H, **H<sup>Ar</sup>**), 3.91 (q, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 1 H, CH<sub>3</sub>CH), 1.63 (d, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>CH).

Spezifischer Drehwinkel: α<sub>D</sub><sup>20</sup> = +20° (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>).

NP-HPLC: *Daicel* Chiracel OB-H, CO<sub>2</sub>/*iso*-Propanol 98:2, 1.0 mL/min, 20 °C, 210 nm, R<sub>t1</sub> = 10.9 min (*S*), R<sub>t2</sub> = 12.8 min (*R*).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[285]</sup>

#### 7.4.43 Kondensation von *N*-Boc-L-Prolinal ((*S*)-**142**) zu *E/Z*-*N*-Boc-L-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**143**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. *N*-Boc-L-Prolinal ((*S*)-**142**) (199 mg, 1.00 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (104 mg, 1.50 mmol) und Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (159 mg, 1.50 mmol) in Wasser (3 mL) gegeben und Ethanol (2 mL) wurde

hinzugefügt. Die milchig-trübe Reaktionsmischung wurde 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 2:1) wurde *E/Z-N-Boc-L-Proinaloxim* ((*S*)-**143**) (143 mg,  $R_{f1} = 0.23$  (Cyclohexan/Ethylacetat 3:1)) als farbloses, hochviskoses Öl in einer Ausbeute von 67% mit einem *E/Z*-Verhältnis von 2:1 erhalten.

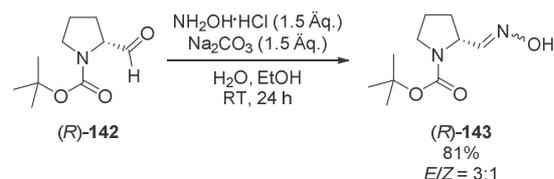
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.05 (s,  $\sim 0.3$  H, *Z*-CHNOH), 7.81 (s,  $\sim 0.7$  H, *Z*-CHNOH), 7.64 (s,  $\sim 0.6$  H, *E*-CHNOH), 7.59 (s,  $\sim 0.4$  H, *E*-CHNOH), 7.42 (s,  $\sim 0.4$  H, *E*-CHNOH), 7.32 (s,  $\sim 0.6$  H, *E*-CHNOH), 6.75 (s,  $\sim 0.3$  H, *Z*-CHNOH), 6.70 (m,  $\sim 0.7$  H, *Z*-CHNOH), 4.90 (s,  $\sim 0.3$  H, *Z*-CHCHNOH), 4.83 (m,  $\sim 0.7$  H, *Z*-CHCHNOH), 4.46 (s,  $\sim 0.4$  H, *E*-CHCHNOH), 4.32 (s,  $\sim 0.6$  H, *E*-CHCHNOH), 3.41 (m, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.28-1.80 (m, 4 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.45 (s,  $\sim 7.5$  H,  $\text{CH}_3$ ), 1.42 (s,  $\sim 1.5$  H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 154.5 ( $\text{NCO}_2$ ), 151.9 ( $\text{CHNOH}$ ), 80.1 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 56.2 ( $\text{CHCHNOH}$ ), 46.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 28.6 (3  $\text{CH}_3$ ), 27.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

GC: *Agilent* CP-Chirasil-Dex CB, 160 °C Starttemperatur (7 min), 2 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur,  $R_{f1} = 12.3$  min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[295]</sup>

#### 7.4.44 Kondensation von *N-Boc-D-Proinal* ((*R*)-**142**) zu *E/Z-N-Boc-D-Proinaloxim* ((*R*)-*E/Z*-**143**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. *N-Boc-D-Proinal* ((*R*)-**142**) (199 mg, 1.00 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (104 mg, 1.50 mmol) und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (159 mg, 1.50 mmol) in Wasser (3 mL) gegeben und Ethanol (2 mL) wurde hinzugefügt. Die milchig-trübe Reaktionsmischung wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 2:1) wurde *E/Z-N-Boc-D-Proinaloxim* ((*R*)-**143**) (177 mg,  $R_{f1} = 0.34$ ) als farbloses, hochviskoses Öl in einer Ausbeute von 81% mit einem *E/Z*-Verhältnis von 3:1 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.05 (s,  $\sim 0.3$  H, *Z*-CHNOH), 7.81 (s,  $\sim 0.7$  H, *Z*-CHNOH), 7.64 (s,  $\sim 0.6$  H, *E*-CHNOH), 7.58 (s,  $\sim 0.4$  H, *E*-CHNOH), 7.41 (s,  $\sim 0.4$  H, *E*-CHNOH), 7.32 (s,  $\sim 0.6$  H, *E*-CHNOH), 6.76 (s,  $\sim 0.3$  H, *Z*-CHNOH), 6.70

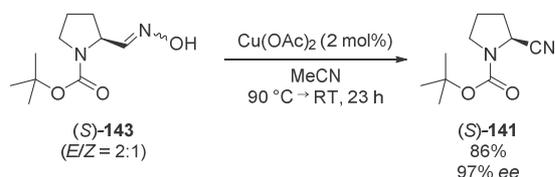
(m, ~0.7 H, Z-CHNOH), 4.90 (s, ~0.3 H, Z-CHCHNOH), 4.83 (m, ~0.7 H, Z-CHCHNOH), 4.47 (s, ~0.4 H, E-CHCHNOH), 4.32 (s, ~0.6 H, E-CHCHNOH), 3.41 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.27-1.80 (m, 4 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.45 (s, ~7.5 H, CH<sub>3</sub>), 1.42 (s, ~1.5 H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 154.5 (NCO<sub>2</sub>), 151.6 (CHNOH), 80.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 56.3 (CHCHNOH), 46.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 28.6 (3 CH<sub>3</sub>), 27.0 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

GC: *Agilent* CP-Chirasil-Dex CB, 160 °C Starttemperatur (7 min), 2 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur, R<sub>t</sub> = 10.7 min.

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[295]</sup>

#### 7.4.45 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *E/Z*-*N*-Boc-*L*-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**143**) zu (*S*)-*N*-Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**141**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *E/Z*-*N*-Boc-*L*-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**143**) (123 mg, 0.57 mmol) in Acetonitril (7 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 2.58 mg, 11.5 μmol) 7 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt und abweichend von AAV 6 anschließend weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Abweichend von AAV 6 wurde die Reaktionsmischung nicht extraktiv aufgearbeitet, sondern nach Entfernen des Lösungsmittels direkt mit einer Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 2:1) aufgereinigt, woraufhin (*S*)-*N*-Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**141**) (97 mg, R<sub>t</sub> = 0.63) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 86% erhalten wurde.

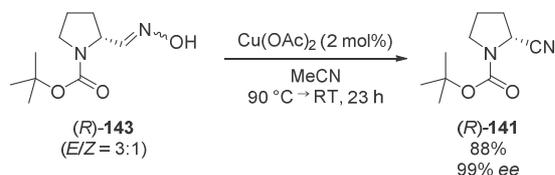
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 4.57 (m, ~0.4 H, CHCN), 4.45 (m, ~0.6 H, CHCN), 3.51 (m, 1 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.35 (m, 1 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.29-1.98 (m, 4 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.51 (s, ~5.4 H, CH<sub>3</sub>), 1.48 (s, ~3.6 H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 153.17 (maj, NCO<sub>2</sub>), 153.15 (min, NCO<sub>2</sub>), 119.27 (maj, CHCN), 119.21 (min, CHCN), 81.6 (maj, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 81.1 (min, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 47.3 (maj, CHCN), 47.2 (min, CHCN), 46.1 (min, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 45.9 (maj, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31.8 (maj, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31.0 (min, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 28.5 (3CH<sub>3</sub>), 24.8 (min, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 24.0 (maj, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

GC: *Agilent* CP-Chirasil-Dex CB, 160 °C Starttemperatur (7 min), 2 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur, R<sub>t</sub> = 3.9 min (97% ee).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[322]</sup>

#### 7.4.46 Cu-katalysierte Dehydratisierung von *E/Z*-*N*-Boc-D-Prolinaloxim ((*R*)-*E/Z*-**143**) zu (*R*)-*N*-Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril ((*R*)-**141**)



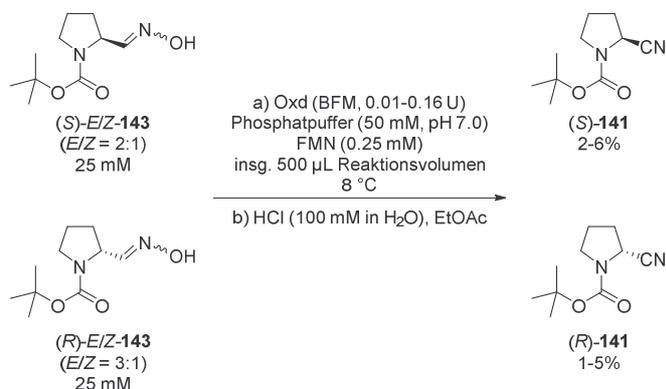
Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von *E/Z*-*N*-Boc-D-Prolinaloxim ((*R*)-*E/Z*-**143**) (161 mg, 0.75 mmol) in Acetonitril (7 mL) wurde mit Kupferacetat (2 mol%, 2.73 mg, 15.0 μmol) 7 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt und abweichend von AAV 6 anschließend weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Abweichend von AAV 6 wurde die Reaktionsmischung nicht extraktiv aufgearbeitet, sondern nach Entfernen des Lösungsmittels direkt mit einer Säulenchromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Ethylacetat 2:1) aufgereinigt, woraufhin (*R*)-*N*-Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril ((*R*)-**141**) (130 mg,  $R_f = 0.62$ ) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 88% erhalten wurde.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 4.57 (m, ~0.4 H, CHCN), 4.45 (m, ~0.6 H, CHCN), 3.51 (m, 1 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.35 (m, 1 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.29-1.98 (m, 4 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.51 (s, ~5.4 H, CH<sub>3</sub>), 1.48 (s, ~3.6 H, CH<sub>3</sub>).

GC: *Agilent* CP-Chirasil-Dex CB, 160 °C Starttemperatur (7 min), 2 °C/min Temperaturrampe, 180 °C Endtemperatur,  $R_f = 4.0$  min (99% ee).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[323]</sup>

#### 7.4.47 Biotransformation der Aldoxime (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** mit verschiedenen Oxds nach unterschiedlichen Reaktionszeiten



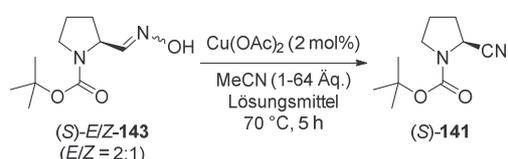
Die Biotransformation erfolgte analog zu AAV 8. Zur Durchführung der Reaktion wurde Methode a) angewendet, allerdings mit einer erhöhten Substratmenge (25 μL, 500 mM in DMSO) und mit 0.16 U OxdA bzw. OxdB oder 0.01 U OxdRE. Zusätzlich wurde FMN (125 μL, 1 mM in H<sub>2</sub>O) hinzugefügt. Für jedes Substrat und jede Oxd erfolgten drei

Durchläufe mit unterschiedlichen Reaktionszeiten (1 h, 2 h und 24 h). Zur Aufarbeitung der Ansätze wurde Methode II) gewählt, allerdings wurde zum Beenden der Reaktion lediglich HCl (100 mM in H<sub>2</sub>O, 100  $\mu$ L) hinzugegeben. Die Mischung wurde zentrifugiert und mit Ethylacetat (2 x 500  $\mu$ L) extrahiert. Die Ergebnisse der Biotransformationen sind in Tabelle 7.19 dargestellt.

Tabelle 7.19: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate (*S*)- und (*R*)-*E/Z*-**143** mit den Oxds OxdA, OxdB und OxdRE.

Substrat	<i>E/Z</i>	Oxd	Reaktionszeit [h]	Umsatz (Nitril) [%]
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	A	1	4
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	A	2	4
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	A	24	5
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	B	1	4
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	B	2	5
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	B	24	5
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	RE	1	4
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	RE	2	2
( <i>S</i> )- <b>143</b>	2:1	RE	24	6
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	A	1	1
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	A	2	3
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	A	24	4
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	B	1	4
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	B	2	4
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	B	24	5
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	RE	1	5
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	RE	2	4
( <i>R</i> )- <b>143</b>	3:1	RE	24	4

#### 7.4.48 Solvenz-Screening zur Cu-katalysierten Dehydratisierung von *E/Z*-*N*-Boc-L-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**143**) mit variierenden Mengen MeCN und unterschiedlichen Kosolvenzien



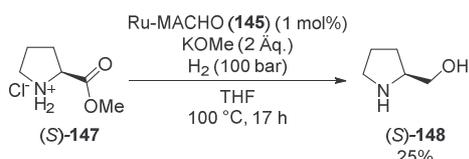
Die Reaktionen wurden in 2 mL-Glasgef\u00e4\u00dfen durchgef\u00fchrt. F\u00fcr jeden Ansatz wurden *E/Z*-*N*-Boc-L-Prolinaloxim ((*S*)-*E/Z*-**143**) (64.3 mg, 300  $\mu$ mol) und Kupferacetat (2 mol%, 1.1 mg, 6.0  $\mu$ mol) vorgelegt. Zu den Ans\u00e4tzen f\u00fcr das Screening variierender Mengen MeCN wurden Ethylacetat (1 mL) und verschiedene Mengen MeCN (1-20 \u00c4q.) hinzugegeben. Zus\u00e4tzlich wurde ein Ansatz ausschlie\u00dflich mit MeCN (1 mL, 64 \u00c4q.) ohne Ethylacetat vorbereitet. F\u00fcr das Screening von Kosolvenzien wurden MeCN (10 \u00c4q., 157  $\mu$ L) und verschiedene L\u00f6sungsmittel (1 mL) zu den Ans\u00e4tzen gegeben. Die

Gefäße wurden verschlossen und die Reaktionsmischungen wurden 5 h bei 70 °C gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde Wasser (2 mL) zu dem Rückstand gegeben. Die Mischung wurde mit Dichlormethan (3 x 2 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Bestimmung des Umsatzes erfolgte mit <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie des Rückstands über den Vergleich der Integrale von Substrat- und Produkt-Protonen. Die Ergebnisse des Solvenz-Screenings sind in dargestellt.

Tabelle 7.20: Ergebnisse aus dem Solvenz-Screening zur Cu-katalysierten Dehydratisierung von Prolinaloxim (*S*)-*E*/*Z*-**143** mit variierenden Mengen MeCN und unterschiedlichen Kosolvenzien.

Lösungsmittel	Menge Acetonitril [Äq.]	Umsatz Nitril [%]
Ethylacetat	1	54
Ethylacetat	2	57
Ethylacetat	4	71
Ethylacetat	6	74
Ethylacetat	8	78
Ethylacetat	10	81
Ethylacetat	15	92
Ethylacetat	20	92
Acetonitril	64	92
Cyclohexan	10	88
Toluol	10	89
Wasser	10	46
Ethanol	10	80
Methanol	10	74
2-Methyl THF	10	70
Dimethylcarbonat	10	94

#### 7.4.49 Hydrierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) zu L-Prolinol ((*S*)-**148**)



Die Synthese wurde in Anlehnung an die Literaturvorschrift von *Kuriyama et al.* durchgeführt.<sup>[298]</sup> L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) (2.00 g, 12.0 mmol) wurde in einem Hochdruckstahlreaktor in THF (25 mL) gelöst und KOMe (2 Äq., 1.68 g, 24.0 mmol) wurde hinzugefügt. Der Reaktor wurde mit Ar durchgespült, währenddessen der Katalysator Ru-MACHO (**145**) (1 mol%, 72.8 mg, 0.12 mmol) hinzugegeben wurde. Der Reaktor wurde luftdicht verschlossen und mit Wasserstoff (100 bar) beladen. Die Reaktionsmischung wurde 17 h bei 100 °C mechanisch gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde der Überdruck abgelassen und Wasser (15 mL) zur Reaktionsmischung gegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 20 mL), Dichlormethan (2 x 20 mL) und 2-Methyl-THF (2 x 15 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach

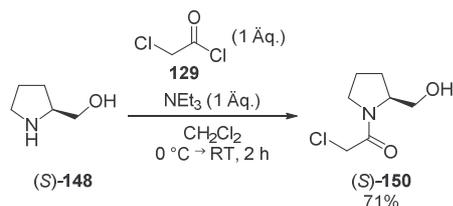
Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein gelber Feststoff erhalten, der mit Methanol versetzt wurde. Die unlöslichen Komponenten wurden durch Filtration entfernt. Nach Entfernen des Lösungsmittels vom Filtrat im Vakuum wurde L-Prolinol ((*S*)-**148**) (300 mg,  $R_f = 0.46$  (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1)) als blassgelbes Öl in einer Ausbeute von 25% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  [ppm] = 3.50 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.14 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 2.94 (m, 1 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.82 (m, 1 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.86 (m, 1 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.77 (m, 2 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.47 (m, 1 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  [ppm] = 68.3 (min,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 65.4 (maj,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 61.2 (maj,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 60.1 (min,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 48.7 (min,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 47.0 (maj,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 30.0 (min,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 28.7 (maj,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 26.2 (maj,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 25.0 (min,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[324]</sup>

#### 7.4.50 Acylierung von L-Prolinol ((*S*)-**148**) zu *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**)



Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Vasiloin et al.* durchgeführt.<sup>[304]</sup> L-Prolinol ((*S*)-**148**) (10.0 g, 99.0 mmol) wurde in Dichlormethan (150 mL) gelöst. Unter kräftigem Rühren wurde Triethylamin (1 Äq., 13.7 mL, 99 mmol) hinzugegeben. Nach Abkühlen der blassgelben Lösung auf 0 °C im Eisbad wurde über einen Tropftrichter Chloressigsäurechlorid (**129**) (1 Äq., 7.9 mL, 99 mmol) innerhalb von 5 min unter Rühren langsam hinzugegeben. Die Suspension wurde 5 min bei 0 °C gerührt und dann innerhalb 2 h unter Rühren langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Der entstandene Feststoff wurde durch Filtration abgetrennt und das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt. Der zur Trockne eingedampfte Rückstand wurde in Diethylether suspendiert. Die Suspension wurde mit Unterdruck durch eine Fritte (Porengröße 4) filtriert und der Filterkuchen wurde mit kleinen Mengen Diethylether gewaschen. Das Lösungsmittel der vereinten organischen Phasen wurde im Vakuum entfernt. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Methanol (3-15% Gradient) in Dichlormethan) des Rückstands wurde *N*-Chloroacetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) (12.5 g) als gelbes Öl in einer Ausbeute von 71% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 4.26 (bs, 1 H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.14 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 4.08 (s, 2 H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3.59 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.57 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ).

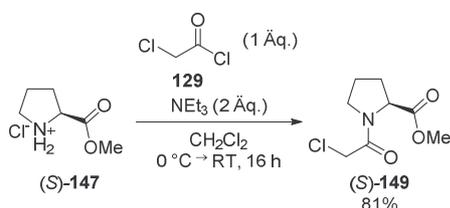
$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 3.50 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.05 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.97 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.88 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.64 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):  $\delta$  [ppm] = 167.6 (maj,  $\text{NC}(\text{O})$ ), 166.3 (min,  $\text{NC}(\text{O})$ ), 66.7 (maj,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 64.9 (min,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 62.6 (maj,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 59.9 (min,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 48.6 (maj,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 46.6 (min,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 43.3 (maj,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 43.0 (min,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 28.7 (min,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 28.6 (maj,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 25.0 (maj,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 22.4 (min,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

MS (+ESI, MeOH):  $m/z$  (%) = 177.9 (5)  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 199.9 (21)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 377.1 (100)  $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ .

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[304]</sup>

#### 7.4.51 Acylierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) zu *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**)



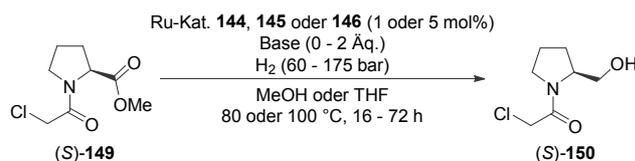
Die Synthese wurde analog zu der Literaturvorschrift von *Vasiloiu et al.* durchgeführt.<sup>[304]</sup> L-Prolinmethylester-Hydrochlorid ((*S*)-**147**) (5.0 g, 30 mmol) wurde in Dichlormethan (30 mL) gelöst. Nach Abkühlen der Lösung auf 0 °C im Eisbad wurde Triethylamin (2 Äq., 8.6 mL, 60 mmol) hinzugegeben, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Unter Rühren wurde über einen Tropftrichter Chloressigsäurechlorid (**129**) (1 Äq., 2.4 mL, 30 mmol) langsam hinzugegeben. Die Suspension wurde 1.5 h bei 0 °C und nach Entfernen des Eisbads weitere 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Suspension wurde Wasser (10 mL) gegeben und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt. Mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25 µm, Ethylacetat (12-87% Gradient) in Cyclohexan) wurde *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) (5.0 g,  $R_f$  = 0.78 (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1)) als blassgelber Feststoff in einer Ausbeute von 81% erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  [ppm] = 4.74 (dd,  $^3J = 8.3$  Hz,  $^3J = 8.2$  Hz,  $\sim 1/6$  H,  $\text{CHCO}_2\text{CH}_3$ ), 4.48 (dd,  $^3J = 8.9$  Hz,  $^3J = 8.6$  Hz,  $\sim 5/6$  H,  $\text{CHCO}_2\text{CH}_3$ ), 4.32-4.07 (m, 2 H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3.79 (s,  $\sim 0.5$  H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.75-3.52 (m, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 3.74 (s,  $\sim 2.5$  H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 2.30 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.12-1.84 (m, 3 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  [ppm] = 173.9 (maj,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 173.5 (min,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 168.0 (min,  $\text{NC}(\text{O})$ ), 176.6 (maj,  $\text{NC}(\text{O})$ ), 61.5 (min,  $\text{CHCO}_2\text{CH}_3$ ), 60.8 (maj,  $\text{CHCO}_2\text{CH}_3$ ), 53.3 (min,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 52.8 (maj,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 48.32 (maj,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 48.16 (min,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 42.8 (maj,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 42.7 (min,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 32.0 (min,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 30.1 (maj,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 25.8 (maj,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 23.2 (min,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[325]</sup>

#### 7.4.52 Versuche zur Hydrierung von *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**)



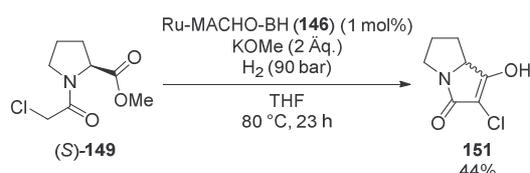
Die Synthesen wurden in Anlehnung an die Literaturvorschriften von *Spasyuk et al.*,<sup>[297]</sup> *Kuriyama et al.*<sup>[298]</sup> und *Werkmeister et al.*<sup>[299,300]</sup> durchgeführt. *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) (0.7-2.1 g, 3.3-10.0 mmol) wurde in einem Hochdruckstahlreaktor in Methanol oder THF (10-50 mL) gelöst und je nach Katalysator wurde entweder keine Base, KOMe (2 Äq.) oder NaOMe (1 Äq.) hinzugefügt. Der Reaktor wurde mit Ar durchgespült, währenddessen einer der Katalysatoren *Gusev*-Katalysator (**144**) (1 oder 5 mol%), Ru-MACHO (**145**) (1 mol%) oder Ru-MACHO-BH (**146**) (1 oder 5 mol%) hinzugegeben wurde. Der Reaktor wurde luftdicht verschlossen und mit Wasserstoff (60-175 bar) beladen. Die Reaktionsmischung wurde 16-72 h bei 80 oder 100 °C mechanisch gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde der Überdruck abgelassen. Die basischen Ansätze wurden mit Salzsäure (2 M) auf pH 6 angesäuert, während zu den Ansätzen ohne Basenzusatz Wasser (10-15 mL) hinzugegeben wurde. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3-4 x 20 mL) und ggf. Ethylacetat (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand per  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie zur Bestimmung des Umsatzes zu *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) vermessen. Die Ergebnisse sind in dargestellt.

Tabelle 7.21: Ergebnisse aus den Hydrierversuchen mit *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**) unter Verwendung der Ru-Katalysatoren *Gusev*-Katalysator (**144**), Ru-MACHO (**145**) oder Ru-MACHO-BH (**146**) mit unterschiedlichen Reaktionsbedingungen.

Kat. (Menge [mol%])	Konz. ( <b>S-149</b> [mmol])	Base	Lösungs- mittel	Temp. [°C]	Zeit [h]	$\text{H}_2$ - Druck [bar]	Umsatz zu <b>S-150</b> [%]
<b>144</b> (1)	166	KOMe	MeOH	80	19	75	0
<b>144</b> (1)	146	KOMe	MeOH	80	72	60	0
<b>144</b> (1)	166	KOMe	MeOH	80	24	100	0
<b>144</b> (5)	128	KOMe	MeOH	80	17	175	0

Kat. (Menge [mol%])	Konz. ( <i>S</i> -149 [mmol])	Base	Lösungs- mittel	Temp. [°C]	Zeit [h]	H <sub>2</sub> - Druck [bar]	Umsatz zu <i>S</i> -150 [%]
144 (1)	157	KOMe	THF	80	17	100	0
145 (1)	1000	NaOMe	MeOH	100	16	75	0
146 (1)	163	-	THF	80	40	100	0
146 (5)	146	-	THF	100	17	100	0

#### 7.4.53 Synthese von 2-Chlor-1-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3*H*-pyrrolizin-3-on (**151**) aus *N*-Chloracetyl-L-Prolinmethylester ((*S*)-**149**)



*N*-Chloracetyl-L-prolinmethylester ((*S*)-**149**) (1.5 g, 7.3 mmol) wurde in einem Hochdruckstahlreaktor in THF (20 mL) gelöst und KOMe (2 Äq., 0.98 g, 14.6 mmol) wurde hinzugefügt. Der Reaktor wurde mit Ar durchgespült, währenddessen der Katalysator Ru-MACHO-BH (**146**) (1 mol%, 43.0 mg, 0.07 mmol) hinzugegeben wurde. Der Reaktor wurde luftdicht verschlossen und mit Wasserstoff (90 bar) beladen. Die Reaktionsmischung wurde 23 h bei 80 °C mechanisch gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde der Überdruck abgelassen und die Reaktionsmischung wurde mit Salzsäure (2 M) auf pH 6 angesäuert. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (4 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt. Mittels Umkristallisation des gelben Rückstands aus Chloroform wurde 2-Chlor-1-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3*H*-pyrrolizin-3-on (**151**) (0.95 g) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 44% erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  [ppm] = 4.19 (dd,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^2J = 6.3$  Hz, 1 H, CHC(OH)), 3.40 (m, 1 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.22 (m, 1 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.26-2.11 (m, 3 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.37 (m, 1 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  [ppm] = 175.6 (CHC(OH)), 172.1 (NC(O)), 97.1 (C(O)C(Cl)), 64.8 (CHC(OH)), 44.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.3 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

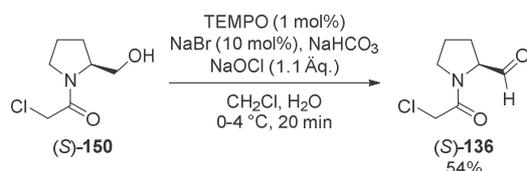
IR:  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] = 2888 (m, CH<sub>2</sub>), 2584 (m, Amin), 1599 (s, Amid), 1373 (s, Amid).

MS (+ESI, MeOH):  $m/z$  (%) = 173.9 (15) [M + H]<sup>+</sup>, 195.9 (30) [M + Na]<sup>+</sup>, 369.1 (100) [2 M + Na]<sup>+</sup>, 541.9 (8) [3 M + Na]<sup>+</sup>.

Schmelzpunkt: 202 °C.

Elementaranalyse: C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>2</sub>, berechnet C 48.43%, H 4.65%, N 8.07%, gefunden C 47.05%, H 4.80%, N 7.57%.

#### 7.4.54 TEMPO-Oxidation von *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) zu *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**)



Die Synthese wurde analog zu der Vorschrift im *Organikum* durchgeführt.<sup>[183]</sup> *N*-Chloracetyl-L-Prolinol ((*S*)-**150**) (3.01 g, 16.9 mmol) wurde in Dichlormethan (8 mL) gelöst und TEMPO (1 mol%, 26.5 mg, 0.17 mmol) hinzugegeben. Zu der gelben Lösung wurde unter Rühren eine Lösung von NaBr (10 mol%, 178 mg, 1.69 mmol) in Wasser (1 mL) gegeben. Nach Abkühlen der Mischung im Eis-Kochsalz-Bad wurde unter Rühren eine NaOCl-Lösung (1.1 Äq., 1.96 M, mit festem NaHCO<sub>3</sub> auf pH 9.5 eingestellt, 18.3 mmol, 9.53 mL) innerhalb 20 min so zugetropft, dass die Temperatur der Reaktionsmischung 4 °C nicht überstieg. Anschließend wurde die trübe braune Mischung 20 min bei 0 °C gerührt. Nach Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Dichlormethan (4 x 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden dann mit Salzsäure (2 N, 10 mL, mit Kaliumiodid (0.34 mmol, 56.1 mg) versetzt), wässr. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (0.1 N, 10 mL), wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (10%, 10 mL) und Wasser (10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) (1.61 g) als gelb-orangefarbenes Öl in einer Ausbeute von 54% erhalten. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

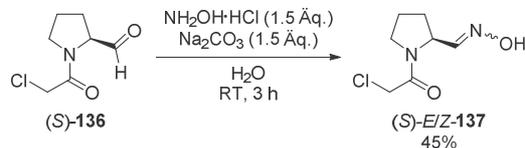
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 9.60 (s, ~0.1 H, CHO), 9.56 (s, ~0.9 H, CHO), 4.57 (m, ~0.1 H, CHCHO), 4.53 (m, ~0.9 H, CHCHO), 4.10 (s, ~1.8 H, C(O)CH<sub>2</sub>Cl), 4.07 (s, ~0.2 H, C(O)CH<sub>2</sub>Cl), 3.68 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.14-1.93 (m, 4 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 198.4 (maj, CHO), 198.0 (min, CHO), 165.8 (NC(O)), 65.8 (min, CHCHO), 65.4 (maj, CHCHO), 47.43 (maj, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 47.39 (min, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 41.9 (min, C(O)CH<sub>2</sub>Cl), 41.8 (maj, C(O)CH<sub>2</sub>Cl), 27.9 (min, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 25.9 (maj, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 25.0 (maj, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.3 (min, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

MS (+ESI, MeCN): *m/z* (%) = 175.9 (4) [M + H]<sup>+</sup>, 197.9 (100) [M + Na]<sup>+</sup>, 238.9 (13) [M + MeCN + Na]<sup>+</sup>, 373.1 (42) [2 M + Na]<sup>+</sup>.

Exakte Masse (ESI):  $C_7H_{11}ClNO_2^+$  ( $[M + H]^+$ ), berechnet 176.0473, gefunden 176.0470.

7.4.55 Kondensation von *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) zu (*S*)-*E*/*Z*-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbaldoxim ((*S*)-*E*/*Z*-**137**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 5. *N*-Chloracetyl-L-Prolinal ((*S*)-**136**) (0.30 g, 1.7 mmol) wurde zu einer Lösung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid (0.18 g, 2.6 mmol) und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0.27 g, 2.6 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (3 mL) gegeben und die Suspension wurde 3 h gerührt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (10-100% Gradient) in Cyclohexan) wurde (*S*)-*E*/*Z*-1-(2-Chloroacetyl)pyrrolidin-2-carbaldoxim ((*S*)-*E*/*Z*-**137**) (0.15 g,  $R_f = 0.61$  (Ethylacetat)) als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 45% mit einem *E*/*Z*-Verhältnis von 3:1 erhalten.

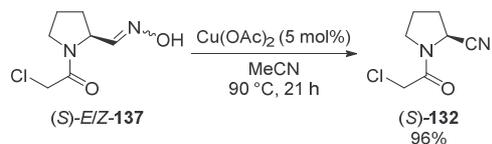
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.61 (bs,  $\sim 0.1$  H, **CHNOH**) 8.28 (bs,  $\sim 0.2$  H, **CHNOH**), 7.45 (d,  $^3J = 4.2$  Hz,  $\sim 0.4$  H, *E*-**CHNOH**), 7.33 (d,  $^3J = 6.3$  Hz,  $\sim 0.3$  H, *E*-**CHNOH**), 6.73 (d,  $^3J = 7.1$  Hz,  $\sim 0.2$  H, *Z*-**CHNOH**), 6.72 (d,  $^3J = 5.4$  Hz,  $\sim 0.1$  H, *Z*-**CHNOH**), 5.23 (m,  $\sim 0.1$  H, *Z*-**CHCHNOH**), 5.06 (m,  $\sim 0.2$  H, *Z*-**CHCHNOH**), 4.76 (m,  $\sim 0.4$  H, *E*-**CHCHNOH**), 4.63 (m,  $\sim 0.3$  H, *E*-**CHCHNOH**), 4.14-3.96 (m, 2 H, **C(O)CH<sub>2</sub>Cl**), 3.70-3.55 (m, 2 H, **NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 2.35-1.87 (m, 4 H, **NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 166.2 (maj, *Z*-**NC(O)**), 165.8 (min, 165.5 **NC(O)**), 165.6 (min, **NC(O)**), 165.5 (maj, *E*-**NC(O)**), 152.9 (min, *Z*-**CHNOH**), 151.3 (min, *E*-**CHNOH**), 149.8 (maj, *Z*-**CHNOH**), 149.5 (maj, *E*-**CHNOH**), 56.6 (maj, *Z*-**CHCHNOH**), 56.5 (maj, *E*-**CHCHNOH**), 53.9 (min, **CHCHNOH**), 52.0 (min, **CHCHNOH**), 47.5 (min, *E*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 47.2 (min, *Z*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 47.1 (maj, *E*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 47.0 (maj, *Z*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 42.2 (maj, *E*-**C(O)CH<sub>2</sub>Cl**), 42.1 (min, *E*-**C(O)CH<sub>2</sub>Cl**), 41.9 (maj, *Z*-**C(O)CH<sub>2</sub>Cl**), 41.7 (min, *Z*-**C(O)CH<sub>2</sub>Cl**), 31.6 (min, *Z*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 31.3 (maj, *Z*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 29.3 (min, *E*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 28.5 (maj, *E*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 25.6 (min, *E*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 24.5 (maj, *E*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 23.3 (min, *Z*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**), 22.2 (maj, *Z*-**NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>**).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 213.0 (42)  $[M + \text{Na}]^+$ , 403.1 (100)  $[2M + \text{Na}]^+$ .

Exakte Masse (ESI):  $C_7H_{12}ClN_2O_2^+$  ( $[M + H]^+$ ), berechnet 191.0582, gefunden 191.0578.

7.4.56 Cu-katalysierte Dehydratisierung von (*S*)-*E/Z*-1-(2-Chloroacetyl)pyrrolidin-2-carbaldoxim ((*S*)-*E/Z*-**137**) zu (*S*)-1-(2-Chloroacetyl)pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**132**)



Die Synthese erfolgte analog zu AAV 6. Eine Lösung von (*S*)-*E/Z*-1-(2-Chloroacetyl)pyrrolidin-2-carbaldoxim ((*S*)-*E/Z*-**137**) (114 mg, 0.60 mmol) in Acetonitril (8 mL) wurde mit Kupferacetat (5 mol%, 5.6 mg, 0.03 mmol) 21 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Durch Extraktion und Aufreinigung mittels automatischer Säulenchromatographie (Kieselgel 25  $\mu\text{m}$ , Ethylacetat (10-100% Gradient) in Cyclohexan) wurde (*S*)-1-(2-Chloroacetyl)pyrrolidin-2-carbonitril ((*S*)-**132**) (100 mg,  $R_f = 0.58$  (Ethylacetat)) als farbloses Öl in einer Ausbeute von 96% und einer Reinheit von 86% erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 4.87 (d,  $^3J = 7.6$  Hz,  $\sim 1/7$  H,  $\text{CHCN}$ ), 4.77 (d,  $^3J = 7.8$  Hz,  $\sim 6/7$  H,  $\text{CHCN}$ ), 4.17 (m,  $\sim 2/7$  H,  $\text{C(O)CH}_2\text{Cl}$ ), 4.12 (q,  $^3J \approx 7.1$  Hz,  $\sim 0.33$  H,  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 4.05 (m,  $\sim 12/7$  H,  $\text{C(O)CH}_2\text{Cl}$ ), 3.73 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 3.57 (m, 1 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.44-2.11 (m, 4 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.04 (s,  $\sim 0.5$  H,  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.26 (t,  $^3J \approx 7.1$  Hz,  $\sim 0.5$  H,  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 165.4 ( $\text{NC(O)}$ ), 117.9 ( $\text{CHCN}$ ), 60.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 47.1 ( $\text{CHCN}$ ), 46.7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 41.6 ( $\text{C(O)CH}_2\text{Cl}$ ), 30.2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 25.4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 21.2 ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 14.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

MS (+ESI, MeCN):  $m/z$  (%) = 172.9 (5)  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 190.0 (5)  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ , 194.9 (27)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 236.0 (4)  $[\text{M} + \text{MeCN} + \text{Na}]^+$ , 367.1 (100)  $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ .

Spezifischer Drehwinkel:  $\alpha_D^{20} = -147^\circ$  ( $c = 1.01$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

Die Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[306]</sup>

## 8 Darstellungsverzeichnis

### 8.1 Abbildungen

Abbildung 2.1: Durchschnittlicher Ertrag verschiedener Anbauprodukte pro ha Land im Jahr 1985. <sup>[1]</sup> .....	5
Abbildung 2.2: Stapelflächendiagramm des globalen Primärenergieverbrauchs in TWh in dem Zeitraum zwischen 1800 und 2016, aufgeteilt in verschiedene Energieressourcen. <sup>[14]</sup> .....	6
Abbildung 2.3: Reichweite verschiedener fossiler Rohstoffe, aufgeteilt in abbaubare Reserven und in unerschlossene Ressourcen. <sup>[17]</sup> .....	7
Abbildung 2.4: Schematischer Aufbau von Lignocellulose am Beispiel von Pappelsägemehl mit den Komponenten Cellulose ( <b>14</b> ), Hemicellulose ( <b>15</b> ) und Lignin <b>16</b> . <sup>[31]</sup> .....	11
Abbildung 2.5: Schematischer Aufbau eines Stärkekorns. <sup>[33]</sup> .....	12
Abbildung 2.6: Mutmaßliche schematische Darstellung eines vernetzten Ligninstrukturausschnitts <b>16</b> aus Weichhölzern mit den Grundkörpern <i>p</i> -Coumarylalkohol ( <b>26</b> ) und Coniferylalkohol ( <b>27</b> ). Sinapylalkohol ( <b>28</b> ) kommt zusammen mit Coniferylalkohol ( <b>27</b> ) in linearen Hartholz ligninen vor. <sup>[45]</sup> .....	14
Abbildung 2.7: Foto des verwendeten 100 mL-Tischreaktors von <i>Büchi</i> zur Durchführung von Reaktionen mit einem Druck von bis zu 10 bar. Zur Veranschaulichung des Versuchsaufbaus wurde ein mit Luft gefüllter Ballon auf den Zulauf des leeren Reaktors gesetzt. ....	25
Abbildung 2.8: Per <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) mit dem Katalysator Rh/AlO(OH) nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei atmosphärischem H <sub>2</sub> -Druck in den Lösungsmitteln <i>n</i> -Hexan (links) bzw. Wasser (rechts). ....	26
Abbildung 2.9: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum des Rückstands aus der wässrigen Phenolhydrierung nach einer Reaktionszeit von 65 h in CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit Zuordnung der durch Phenol ( <b>40</b> ), Cyclohexanon ( <b>39</b> ) und Cyclohexanol ( <b>38</b> ) erzeugten Signale. ....	27
Abbildung 2.10: Per <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der lösungsmittelfreien Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) mit dem Katalysator Rh/AlO(OH) nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei 75 °C und mit 3 bar H <sub>2</sub> .....	28
Abbildung 2.11: Schematische Darstellung eines Ausschnitts aus dem mesoporösen Kieselgelnetzwerk SBA-15. <sup>[18]</sup> .....	29
Abbildung 2.12: Foto des verwendeten 285 mL-Stahlreaktors von <i>Büchi</i> zur Durchführung von Reaktionen mit einem Druck von bis zu 200 bar. ....	31
Abbildung 2.13: Per <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) in Wasser mit dem Katalysator Rh(0)-SBA-15 nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei 27 °C und 15 bar H <sub>2</sub> (links) bzw. bei 40 °C und 20 bar H <sub>2</sub> (rechts). <sup>[a]</sup> : 67 mM Substratkonzentration, 1.9 mol% Rh(0)-SBA-15; <sup>[b]</sup> : Verwendung von einmalig recyceltem Rh(0)-SBA-15. ....	32
Abbildung 2.14: Per Gaschromatographie (GC) ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) in Wasser mit unterschiedlichen Mengen des Katalysators Rh-SBA-15 nach unterschiedlicher Reaktionszeit bei 75 °C und bei atmosphärischem H <sub>2</sub> -Druck.....	34
Abbildung 2.15: Gaschromatogramm der Reaktionsmischung aus der wässrigen Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) mit 0.5 mol% Rh(0) aus Rh-SBA-15 bei atmosphärischem H <sub>2</sub> -Druck und 75 °C nach einer Reaktionszeit von 19 h. ....	35
Abbildung 2.16: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) in Wasser mit unbenutztem sowie einmalig und zweifach recyceltem Katalysator Rh-SBA-15 nach 24 h bei 75 °C und bei atmosphärischem H <sub>2</sub> -Druck. ....	36

Abbildung 2.17: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Enzymreaktion zu $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ) ausgehend von Cyclohexanol ( <b>38</b> ) aus der Hydrierung im Stahlreaktor (links) und von kommerziellem Cyclohexanol ( <b>38</b> ) (rechts).....	38
Abbildung 2.18: Beispiel eines Gaschromatogramms einer Reaktionsmischung aus dem kombinierten Hydrier- und Doppeloxydationsprozess mit den eindeutig zuordenbaren Komponenten Cyclohexanol ( <b>38</b> ), Cyclohexanon ( <b>39</b> ), Phenol ( <b>40</b> ) und $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ).....	39
Abbildung 2.19: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus der Enzymreaktion zu $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ) ausgehend von Cyclohexanol ( <b>38</b> ) aus der Hydrierung im Schlenkkolben (links) und von kommerziellem Cyclohexanol ( <b>38</b> ) (rechts).....	40
Abbildung 3.1: Die fünf platonischen Körper Tetraeder ( <b>A</b> ), Hexaeder ( <b>B</b> ), Oktaeder ( <b>C</b> ), Dodekaeder ( <b>D</b> ) und Ikosaeder ( <b>E</b> ).....	43
Abbildung 3.2: Realisierte Kohlenwasserstoffe mit der Grundstruktur platonischer Körper Tetra- <i>tert</i> -butyltetraederan ( <b>48</b> ), Cuban ( <b>49</b> ) und Dodecahedran ( <b>50</b> ).....	44
Abbildung 3.3: Strukturformeln des Grundbausteins von Polyquinanen, Cyclopentan ( <b>57</b> ), und der Vertreter der Diquinane <b>58</b> und Triquinane <b>59</b> , <b>60</b> , <b>61</b> und <b>62</b> mit zwei bzw. drei kantenverknüpften Fünfringen.....	46
Abbildung 3.4: Strukturformeln der Naturstoffe (-)-Hirsuten ( <b>63</b> ), (-)-Isocomen ( <b>64</b> ) und (-)-Modhephen ( <b>65</b> ) mit Triquinan-Grundgerüst.....	47
Abbildung 3.5: Strukturverwandte des Perhydrotriquinacens ( <b>62</b> ), Triquinacens ( <b>66</b> ) und Tribenzotriquinacens ( <b>67</b> ) mit nahezu rechtwinklig zueinander ausgerichteten Indaneinheiten. <sup>[151]</sup> .....	47
Abbildung 3.6: Schematisches Modell eines (supra)molekularen Würfels <b>68</b> , in dessen Ecken die zentralen C-Atome von acht TBTQ-Einheiten, mit ihren Indanflügeln auf die Würfelkanten ausgerichtet, positioniert sind.....	48
Abbildung 3.7: Schematische Darstellung möglicher paarweiser Anordnungen von substituierten TBTQ-Einheiten <b>69</b> und dessen Enantiomer <b>69'</b> (jeweils $C_3$ -symmetrisch) sowie <b>70</b> ( $C_1$ -symmetrisch).....	49
Abbildung 3.8: Schematische Darstellung der Derivatisierung von <i>centro</i> -Methyl-TBTQ ( <b>71</b> ) und Einheitszelle eines Einzelkristalls von Tribrommethyltrinitro-TBTQ ( <i>M</i> )- <b>72</b> ( $C_3$ -symmetrisch) assoziiert in Form eines supramolekularen Würfels. <sup>[155]</sup> .....	50
Abbildung 3.9: Hypothetisches Modell eines TBTQ-Würfelgerüsts <b>80</b> mit Dioxin-verbrückten Indanflügeln.....	53
Abbildung 3.10: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des isolierten Monoaldehyds <i>rac</i> - <b>85</b> aus der <i>Rieche</i> -Formylierung von <i>centro</i> -Methyl-TBTQ ( <b>71</b> ) in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung einiger markanter Signale....	58
Abbildung 3.11: Ausschnitte aus den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des isolierten TBTQ-Formiats <i>rac</i> - <b>88</b> (oben) und des TBTQ-Phenols <i>rac</i> - <b>89</b> (unten) aus der <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von Formyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>85</b> in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung einiger markanter Signale.....	60
Abbildung 3.12: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des isolierten TBTQ-Iodphenols <i>rac</i> - <b>90</b> aus der aromatischen Iodierung von TBTQ-Phenol <i>rac</i> - <b>89</b> in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung einiger markanter Signale....	62
Abbildung 3.13: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des isolierten TBTQ-Benzylalkohols ( <i>P</i> )- <b>86</b> aus der alkalischen Esterverseifung des TBTQ-Benzylesters ( <i>P</i> )- <b>87</b> in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung einiger markanter Signale.....	66
Abbildung 3.14: Ausschnitte aus den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der isolierten <i>syn</i> - und <i>anti</i> -bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQs <i>syn</i> - <b>82</b> (oben) und <i>anti</i> - <b>82</b> (unten) aus der zweifachen <i>Ullmann</i> -Kupplung des TBTQ-Iodphenols ( <i>M</i> )- <b>90</b> bzw. <i>rac</i> - <b>90</b> in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung der Signale.....	69
Abbildung 3.15: Mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmtes Kalottenmodell des <i>syn</i> -bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQ-Dichlormethan-Addukts <i>syn</i> - <b>82</b> $\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ aus seitlicher Perspektive (links) bzw. mit Sicht von unten in die Höhlung (rechts). <sup>[185]</sup> .....	70

Abbildung 3.16: Stäbchenmodell von zwei Molekülen <i>syn</i> - <b>82</b> ·CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit Sicht entlang der Verbindungsachse der zentralen Kohlenstoffatome beider TBTQ-Einheiten eines Moleküls (links) und orthogonaler Blickrichtung (rechts).....	71
Abbildung 3.17: Stäbchenmodell von vier Molekülen <i>syn</i> - <b>82</b> ·CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit orthogonaler Verschachtelung von benachbarten Wirt-Gast-Addukten.....	72
Abbildung 3.18: Stäbchenmodell von vier Molekülen <i>syn</i> - <b>82</b> ·CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit alternierender Bauch-an-Bauch- bzw. Rücken-an-Rücken-Anordnung benachbarter Dimere von Wirt-Gast-Addukten.....	72
Abbildung 3.19: Per <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie ermittelter Umsatz von Acetyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>92</b> zu Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> aus der <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation mit <i>m</i> -CPBA und verschiedenen Zusätzen.....	75
Abbildung 3.20: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum des isolierten Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> aus der <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von Acetyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>92</b> in CDCl <sub>3</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale. ...	77
Abbildung 3.21: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum des isolierten Benzhydrylmethylindandions <b>97</b> aus der Kondensation von Indandion <b>95</b> mit <i>para</i> -Methoxybenzhydrol <b>96</b> in CDCl <sub>3</sub> mit Zuordnung der Signale.....	79
Abbildung 3.22: Ausschnitte aus den <sup>1</sup> H-NMR-Spektren der isolierten Diole <i>all-cis</i> - <b>98</b> (oben) und <i>cis-trans</i> - <b>98</b> (unten) aus der Reduktion von Indandion <b>97</b> in CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit Zuordnung der nicht-aromatischen Signale.....	81
Abbildung 3.23: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum des isolierten Methoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>93</b> aus der doppelten Cyclodehydratisierung von Indandiol <i>cis-trans</i> -, <i>all-cis</i> - <b>98</b> in CDCl <sub>3</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale. ....	83
Abbildung 3.24: HPLC-Chromatogramm einer Referenzprobe von Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> und TBTQ-Phenol <i>rac</i> - <b>89</b> .....	87
Abbildung 3.25: HPLC-Chromatogramm der isolierten Produktfraktionen aus der enzymatischen Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> mit immobilisierter CAL-A.....	88
Abbildung 3.26: Experimentelle CD-Spektren (Acetonitril) der enantiomerenreinen TBTQ-Bausteine TBTQ-Phenol ( <i>M</i> )- bzw. ( <i>P</i> )- <b>89</b> (oben), TBTQ-Iodphenol ( <i>M</i> )- bzw. ( <i>P</i> )- <b>90</b> (Mitte) und Acetoxy-TBTQ ( <i>M</i> )- bzw. ( <i>P</i> )- <b>91</b> (unten).....	91
Abbildung 3.27: Hypothetisches Modell eines molekularen Würfels <b>80</b> aus acht verknüpften TBTQ-Einheiten mit Hervorhebung des erfolgreich synthetisierten bis-TBTQs <i>syn</i> - <b>82</b> als Würfelausschnitt in rot. ....	92
Abbildung 4.1: Erfolgreich eingesetzte Dehydratisierungsreagenzien für die Nitrilsynthese ausgehend von Aldoximen. ....	98
Abbildung 4.2: Erfolgreich eingesetzte Dehydratisierungskatalysatoren für die Nitril-Synthese ausgehend von Aldoximen. ....	99
Abbildung 4.3: Bändermodell der quartären Proteinstruktur eines OxdA-Dimers aus <i>Pseudomonas chlororaphis</i> B23 mit Hämeinheiten als Stäbchenmodell. <sup>[247]</sup> .....	101
Abbildung 4.4: Oxd-Röntgenkristallstruktur als Stäbchenmodell eines Ausschnitts aus dem aktiven Zentrum von OxdA aus <i>Pseudomonas chlororaphis</i> B23 ohne Substrat <sup>[246]</sup> (links) und von OxdRE aus <i>Rhodococcus</i> sp. N-771 mit gebundenem <i>n</i> -Propionaldoxim <sup>[249]</sup> (rechts). Die Strukturen wurden mit der Software PyMOL aus den entsprechenden Protein-Röntgenstrukturdaten visualisiert. <sup>[247,250]</sup> .....	102
Abbildung 4.5: Strukturformeln von Vildagliptin ( <b>124</b> ), Saxagliptin ( <b>125</b> ), NVP-DPP-728 ( <b>126</b> ) und Anagliptin ( <b>127</b> ) als Vertreter der Gliptin-Wirkstoffgruppe.....	105
Abbildung 4.6: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von <i>rac</i> - <i>E/Z</i> -2-Phenylpropionaldoxim ( <b>122b</b> ) aus der Kondensation des Aldehyds <i>rac</i> - <b>135b</b> mit NH <sub>2</sub> OH in CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale.....	109
Abbildung 4.7: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von <i>rac</i> -2-Phenylpropionitril ( <b>123b</b> ) aus der Metall-katalysierten Dehydratisierung des Oxims <i>rac</i> - <b>122b</b> in CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale.....	111

Abbildung 4.8: Gaschromatogramme der offenkettigen Aldoxime <b>122c-d</b> und Nitrile <b>123c-d</b> (oben) sowie der cyclischen Aldoxime <b>122e-f</b> und Nitrile <b>123e-f</b> (unten).....	112
Abbildung 4.9: Aktivitätsassay der (chiralen) Aldoxime <b>122a-f</b> mit unterschiedlichen <i>E/Z</i> -Verhältnissen mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG und den aus den Umsätzen der Reaktionen ermittelten Substrat-spezifischen Aktivitäten mit der Einheit U/mg <sub>(BFM)</sub> .....	115
Abbildung 4.10: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen von Aldoxim <i>rac-E-122b</i> mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. ....	117
Abbildung 4.11: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime <i>rac-E-122c</i> (links) und <i>rac-Z-122c</i> (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an. ....	118
Abbildung 4.12: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen von Aldoxim ( <i>R/S</i> )- <i>E/Z-122d</i> mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. ....	119
Abbildung 4.13: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime ( <i>1R</i> )- <i>E-122e</i> (links) und ( <i>S</i> )- <i>E-122f</i> (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. ....	120
Abbildung 4.14: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen des Aldoxims <i>rac-E-122b</i> ( <i>E/Z</i> = 94:6) mit OxdRG nach unterschiedlichen Reaktionszeiten.....	122
Abbildung 4.15: Mutmaßliche, privilegierte Oxim-Leitstruktur für die stereoselektive Nitrilsynthese mit OxdS. ....	122
Abbildung 4.16: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139c</b> ) aus der Nitroaldolkondensation von 4-Chlorbenzaldehyd ( <b>138c</b> ) mit Nitromethan in CDCl <sub>3</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale. ....	124
Abbildung 4.17: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von <i>rac-1</i> -Chlor-4-(1-nitroprop-2-yl)benzol ( <i>rac-140c</i> ) aus der Michael-Addition von Methylmagenisumbromid an 1-Chlor-4-(2-nitrovinyl)benzol ( <b>139c</b> ) in CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> mit Zuordnung einiger markanter Signale. ....	125
Abbildung 4.18: Überlagerte HPLC-Chromatogramme der isolierten, <i>para</i> -Chlor-substituierten Aldoxime <i>rac-E-122i</i> bzw. <i>rac-Z-122i</i> und des entsprechenden Nitrils <i>rac-123i</i> . ....	128
Abbildung 4.19: Aktivitätsassay der (chiralen) Aldoxime <b>122a</b> , <i>rac-122b</i> und <i>rac-122g</i> mit unterschiedlichen <i>E/Z</i> -Verhältnissen mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG und den aus den Umsätzen der Reaktionen ermittelten Substrat-spezifischen Aktivitäten mit der Einheit U/mg <sub>(BFM)</sub> .....	129
Abbildung 4.20: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime <i>rac-E-122g</i> (links) und <i>rac-Z-122g</i> (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an. ....	130
Abbildung 4.21: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime <i>rac-E-122h</i> (links) und <i>rac-Z-122h</i> (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an. ....	131
Abbildung 4.22: Umsätze und <i>ee</i> -Werte aus den Biotransformationen der Aldoxime <i>rac-E-122i</i> (links) und <i>rac-Z-122i</i> (rechts) mit OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. Da die absolute Konfiguration des Nitrils unbekannt ist, geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im Chromatogramm an. ....	132
Abbildung 4.23: Reaktionsverlauf der Biotransformationen der Aldoxime <i>rac-E-122g</i> und <i>rac-Z-122h</i> mit OxdRE bzw. OxdFG und erhöhter Substrat- und DMSO-Konzentration. ....	134
Abbildung 4.24: Strukturformeln von ( <i>S</i> )- <i>N</i> -Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril (( <i>S</i> )- <b>141</b> ) und Vildagliptin (( <i>S</i> )- <b>124</b> ). ....	136
Abbildung 4.25: Ausschnitt aus dem <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von <i>E/Z-N</i> -Boc- <i>L</i> -Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-143</i> ) aus der Kondensation des Aldehyds ( <i>S</i> )- <b>142</b> mit NH <sub>2</sub> OH in CDCl <sub>3</sub> mit Zuordnung der Signale. ....	138

Abbildung 4.26: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von ( <i>S</i> )- <i>N</i> -Boc-Pyrrolidin-2-carbonitril (( <i>S</i> )- <b>141</b> ) aus der Metall-katalysierten Dehydratisierung des Oxims ( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> - <b>143</b> in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung der Signale.....	140
Abbildung 4.27: Gaschromatogramm der <i>N</i> -Acylaminoaldoxime ( <i>S</i> )- und ( <i>R</i> )- <i>E/Z</i> - <b>143</b> und deren Nitrile ( <i>S</i> )- und ( <i>R</i> )- <b>141</b> .....	140
Abbildung 4.28: Umsätze aus den Biotransformationen der Aldoxime ( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> - <b>143</b> (links) und ( <i>R</i> )- <i>E/Z</i> - <b>143</b> (rechts) mit OxdA, OxdB und OxdRE nach unterschiedlichen Reaktionszeiten. ....	141
Abbildung 4.29: Umsätze aus der Metall-katalysierten Dehydratisierung von Prolinaloxim ( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> - <b>143</b> zu Nitril ( <i>S</i> )- <b>141</b> mit $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ mit variierenden Mengen MeCN sowie mit Ethylacetat als Lösungsmittel (bei 1-20 Äq. MeCN) bzw. ohne Zusatz von Lösungsmitteln (bei 64 Äq. MeCN) (links) und mit 10 Äq. MeCN und unterschiedlichen Lösungsmittelzusätzen (rechts).....	143
Abbildung 4.30: Strukturformeln der Rutheniumkomplexe <i>Gusev</i> -Katalysator ( <b>144</b> ), Ru-MACHO ( <b>145</b> ) und Ru-MACHO-BH ( <b>146</b> ) zur Hydrierung von Carbonsäureestern zu deren Alkoholen.....	145
Abbildung 4.31: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>148</b> ) aus der Metall-katalytischen Hydrierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ) in $\text{CD}_3\text{OD}$ mit Zuordnung der Signale.....	148
Abbildung 4.32: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>150</b> ) aus der Acylierung von L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>148</b> ) in $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ mit Zuordnung der Signale.....	149
Abbildung 4.33: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) aus der Acylierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ) in $\text{CD}_3\text{OD}$ mit Zuordnung der Signale.....	150
Abbildung 4.34: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Pyrrolizidin <b>151</b> aus der Reaktion von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) unter basischen Hydrierbedingungen in $\text{CD}_3\text{OD}$ mit Zuordnung der Signale. ....	152
Abbildung 4.35: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinal (( <i>S</i> )- <b>136</b> ) aus der TEMPO-Oxidation von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>150</b> ) in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung der Signale.....	154
Abbildung 4.36: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von <i>E/Z-N</i> -Chloracetyl-L-Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> - <b>137</b> ) aus der Kondensation des Aldehyds ( <i>S</i> )- <b>136</b> mit $\text{NH}_2\text{OH}$ in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung der Signale. ....	155
Abbildung 4.37: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von ( <i>S</i> )-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbonitril (( <i>S</i> )- <b>132</b> ) aus der Kupfer-katalysierten Dehydratisierung von <i>E/Z-N</i> -Chloracetyl-L-Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> - <b>137</b> ) in $\text{CDCl}_3$ mit Zuordnung der Signale.....	157
Abbildung 5.1: Ergebnisse aus den Biotransformationen verschiedener racemischer Aldoxime <i>rac-E/Z</i> - <b>122</b> mit OxdS (Auswahl mit guten Umsätzen und hohen Enantioselektivitäten). Bei unbekannter absoluter Konfiguration des Nitrilenantiomers geben die Symbole (+) und (-) das erste bzw. zweite Signal im HPLC- bzw. GC-Chromatogramm an. ....	163

## 8.2 Schemata

Schema 2.1: Darstellung langkettiger, aliphatischer Polyester <b>4</b> ausgehend von Triglyceriden <b>1</b> aus Oliven-, Raps- oder Sonnenblumenöl. <sup>[23,24]</sup> ....	9
Schema 2.2: Darstellung von Polyestern <b>8</b> und Polyamiden <b>9</b> aus Ölsäuremethylester ( <b>5</b> ) über Olefinmetathese. <sup>[26,27]</sup> ....	10
Schema 2.3: Enzymatische Reaktionskaskade zur Synthese von $\alpha,\omega$ -Disäuren <b>12</b> ausgehend von Fettsäuren <b>10</b> mit einer Kettenlänge von $m = 12$ bis $m = 20$ . <sup>[28,29,29]</sup> .....	10

Schema 2.4: Synthesebeispiele für nachhaltige Polyester mit den Strukturen <b>20</b> , <b>22</b> und <b>25</b> ausgehend von Glucose ( <b>13</b> ) über Milchsäure ( <b>19</b> ), Succinsäure ( <b>21</b> ), Fructose ( <b>23</b> ) und 5-HMF ( <b>24</b> ). <sup>[10]</sup> .....	12
Schema 2.5: Synthese von Polydihydroferulasäure ( <b>32</b> ) aus Lignin-basiertem Vanillin ( <b>29</b> ). <sup>[55]</sup> .....	15
Schema 2.6: Synthesemöglichkeiten von Poly- $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>33</b> ) ausgehend von den Monomerbausteinen $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ) oder 6-Hydroxyhexansäure ( <b>35</b> ).....	16
Schema 2.7: Petrochemische Syntheseroute zur Darstellung von $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ) ausgehend von Benzol ( <b>36</b> ) über zwei Wege.....	17
Schema 2.8: Nachhaltige Syntheseroute zur Darstellung von $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ) ausgehend von 5-HMF ( <b>24</b> ). <sup>[75]</sup> .....	17
Schema 2.9: Enzymatischer Metabolismus von Cyclohexanol ( <b>38</b> ) zu Adipat ( <b>43</b> ) über mehrere Intermediate in Zellen des Bakterienstamms <i>Acinetobacter</i> NCIB 9871. <sup>[79]</sup> .....	18
Schema 2.10: Enzymatische Doppeloxidationskaskade des bicyclischen Alkohols <b>44</b> über das Keton <b>45</b> zum Lacton <b>46</b> mit einem selbst-regenerierenden Cofaktor-System. <sup>[82,83]</sup> .....	20
Schema 2.11: Enzymatische Doppeloxidationskaskade von Cyclohexanol ( <b>38</b> ) über Cyclohexanon ( <b>39</b> ) zu $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ) mit einem selbst-regenerierenden Cofaktor-System. <sup>[84]</sup> .....	20
Schema 2.12: Erweiterung der biokatalytischen Cyclohexanol- $\epsilon$ -Caprolacton-Synthesesequenz um die Lipasen-katalysierte Polymerisation zu PCL ( <b>33</b> ) (bearbeitet im Rahmen des DBU-Projekts von <i>Wedde</i> <sup>[92]</sup> ) und Rück-Integration der Sequenz durch vorangestellte Phenol-Hydrierung (diese Arbeit).....	21
Schema 2.13: Zwei verschiedene Konzepte zur Gewinnung von Cyclohexanol ( <b>38</b> ) ausgehend von den verschiedenen nachhaltigen Rohstoff-Bausteinen Glucose ( <b>13</b> ) und Lignin <b>16</b> über die Zwischenstufe Phenol ( <b>40</b> ).....	22
Schema 2.14: Syntheseplan zur Rückintegration der Cyclohexanol-Doppeloxidationskaskade durch Phenolhydrierung.....	23
Schema 2.15: Forschungsergebnisse von <i>Park et al.</i> zur Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) zu Cyclohexanol ( <b>38</b> ) mit Rh/AlO(OH) unter verschiedenen Reaktionsbedingungen. <sup>[110]</sup> .....	25
Schema 2.16: Forschungsergebnisse von <i>Bhoralı et al.</i> zur Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) zu Cyclohexanol ( <b>38</b> ) mit Rh-SBA-15 unter verschiedenen Reaktionsbedingungen. <sup>[109]</sup> .....	30
Schema 2.17: Synthese von Rh-SBA-15 ausgehend von RhCl <sub>3</sub> · x H <sub>2</sub> O und SBA-15. <sup>[109]</sup> Die grafische Darstellung der SBA-15- und Rh-SBA-15-Ausschnitte ist als schematische, nicht maßstabgetreue Zeichnung zu verstehen.....	30
Schema 2.18: Ansatzmöglichkeiten für eine weitere Optimierung des Gesamtprozesses zur nachhaltigen Synthese von $\epsilon$ -Caprolacton ( <b>34</b> ) und dessen Polymerisationsprodukt <b>33</b> ausgehend von nachwachsenden Rohstoffen.....	41
Schema 3.1: Synthese eines hexaedrischen Molekülgerüsts <b>53</b> durch Iminbildung zwischen dem Trialdehyd <b>51</b> und dem Diamin <b>52</b> (schematische, nicht maßstabgetreue Darstellung). <sup>[137]</sup> .....	45
Schema 3.2: Synthese eines dodekaedrischen Molekülgerüsts <b>56</b> durch Koordination von Platin aus <b>55</b> an Pyridin-Stickstoff aus <b>54</b> (schematische, nicht maßstabgetreue Darstellung). <sup>[143]</sup> .....	46
Schema 3.3: Synthese eines kovalenten, molekularen Würfels <b>75</b> aus <i>n</i> -Butylhexahydroxy-TBTQ <b>73</b> und der Diboronsäure <b>74</b> . <sup>[158]</sup> .....	51
Schema 3.4: Synthese des supramolekularen Quadrats <b>77</b> ausgehend von dem enantiomerenreinen TBTQ-Baustein (+)- <b>76</b> . <sup>[159]</sup> .....	51
Schema 3.5: Synthese von <i>syn</i> -bikonkavem bzw. <i>anti</i> -bikonkavem bis-TBTQ <i>syn</i> - <b>79</b> (C <sub>2v</sub> -symmetrisch) und <i>anti</i> - <b>79</b> (C <sub>2v</sub> -symmetrisch) ausgehend von Bromtetramethyl-TBTQ-Triflat <b>78</b> . <sup>[160]</sup> .....	52
Schema 3.6: Syntheseplan für die Darstellung von Dioxin-verbrücktem, <i>syn</i> -bikonkavem bis-TBTQ <i>syn</i> - <b>82</b> als Modellverbindung für eine Würfelkante ausgehend von enantiomerenreinem TBTQ-Halogenphenol <b>81</b> .....	54
Schema 3.7: <i>Buchwald-Hartwig</i> -Kupplung von enantiomerenreinem TBTQ-Bromanilin <b>84</b> zu <i>syn</i> -bikonkavem, Phenazin-verknüpftem bis-TBTQ <i>syn</i> - <b>83</b> . <sup>[168]</sup> .....	55

Schema 3.8: Synthesepfad für die Darstellung des optisch reinen TBTQ-Bausteins <b>90</b> als Vorstufe für die Dioxin-verknüpfte, TBTQ-basierte Würfelkante <b>82</b> . <sup>[161]</sup> .....	55
Schema 3.9: Synthesepfad für die Darstellung des racemischen TBTQ-Bausteins <b>90</b> als Vorstufe für die Kondensation zur Dioxin-verknüpften Würfelkante <i>syn</i> - <b>82</b> und zum ebenso erwarteten Diastereomer <i>anti</i> - <b>82</b> . <sup>[161]</sup> .....	56
Schema 3.10: <i>Rieche</i> -Formylierung von <i>centro</i> -Methyl-TBTQ ( <b>71</b> ) mit TiCl <sub>4</sub> und Dichlormethylmethylether zu racemischem Formyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>85</b> . <sup>[169]</sup> .....	57
Schema 3.11: <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von Formyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>85</b> mit <i>m</i> -CPBA zu racemischem TBTQ-Formiat <i>rac</i> - <b>88</b> und TBTQ-Phenol <i>rac</i> - <b>89</b> . <sup>[161]</sup> .....	59
Schema 3.12: <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von Formyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>85</b> und alkalische Verseifung der Formiatzwischenstufe zu TBTQ-Phenol <i>rac</i> - <b>89</b> . .....	61
Schema 3.13: Aromatische Iodierung von TBTQ-Phenol <i>rac</i> - <b>89</b> zu TBTQ-Iodphenol <i>rac</i> - <b>90</b> mit NIS. <sup>[161]</sup> .....	61
Schema 3.14: <i>Ullmann</i> -Kupplung von TBTQ-Iodphenol <i>rac</i> - <b>90</b> mit dem Katalysator Cu(MeCN) <sub>4</sub> PF <sub>6</sub> zu den Dioxin-verknüpften bis-TBTQs <i>anti</i> - <b>82</b> und <i>syn</i> - <b>82</b> . .....	63
Schema 3.15: Synthese von enantiomerenreinem TBTQ-Benzylester ( <i>P</i> )- <b>87</b> im vergrößerten Labormaßstab ausgehend von <i>centro</i> -Methyl-TBTQ ( <b>71</b> ). <sup>[182]</sup> .....	64
Schema 3.16: Alkalische Verseifung von TBTQ-Benzylester ( <i>P</i> )- <b>87</b> mit KOH zu TBTQ-Benzylalkohol ( <i>P</i> )- <b>86</b> . <sup>[169]</sup> .....	65
Schema 3.17: <i>Swern</i> -Oxidation von TBTQ-Benzylalkohol ( <i>P</i> )- <b>86</b> zu TBTQ-Aldehyd ( <i>P</i> )- <b>85</b> . <sup>[169]</sup> .....	66
Schema 3.18: <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von TBTQ-Benzaldehyd ( <i>P</i> )- <b>85</b> und alkalische Verseifung der Formiat-Zwischenstufe zu TBTQ-Phenol ( <i>P</i> )- <b>89</b> . .....	67
Schema 3.19: Aromatische Iodierung von TBTQ-Phenol ( <i>P</i> )- <b>89</b> zu TBTQ-Iodphenol ( <i>M</i> )- <b>90</b> mit NIS. ..	67
Schema 3.20: <i>Ullmann</i> -Kupplung von TBTQ-Iodphenol ( <i>M</i> )- <b>90</b> mit dem Katalysator Cu(MeCN) <sub>4</sub> PF <sub>6</sub> zu dem <i>syn</i> -bikonkaven, Dioxin-verknüpften bis-TBTQ <i>syn</i> - <b>82</b> . .....	68
Schema 3.21: Retrosynthetische Möglichkeiten zu einer optimierten, verkürzten Syntheseroute zur Darstellung von optisch reinem TBTQ-Phenol <b>89</b> . .....	74
Schema 3.22: Acetylierung von <i>centro</i> -Methyl-TBTQ ( <b>71</b> ) mit Acetylchlorid und AlCl <sub>3</sub> zu Acetyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>92</b> . .....	74
Schema 3.23: <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von Acetyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>92</b> mit <i>m</i> -CPBA und katalytischen Mengen TfOH zu Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> . .....	76
Schema 3.24: Doppelte <i>Claisen</i> -Kondensation von Pentan-3-on an Dimethylphthalat ( <b>94</b> ) zu 2-Methylindan-1,3-dion ( <b>95</b> ). <sup>[191]</sup> .....	77
Schema 3.25: Säurekatalysierte Kondensation von 2-Methylindan-1,3-dion ( <b>95</b> ) mit <i>para</i> -Methoxybenzhydrol <b>96</b> zu Benzhydrylmethylindandion ( <b>97</b> ). .....	78
Schema 3.26: Reduktion von Indandion <b>97</b> zu Indandiol <b>98</b> mit LiAlH <sub>4</sub> . .....	79
Schema 3.27: Doppelte Cyclodehydratisierung von Indandiol <i>cis-trans</i> -, <i>all-cis</i> - <b>98</b> mit Phosphorsäure zu Methoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>93</b> . .....	82
Schema 3.28: Etherspaltung von Methoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>93</b> mit BBr <sub>3</sub> bzw. mit HBr zum TBTQ-Alkohol <i>rac</i> - <b>89</b> . .....	84
Schema 3.29: Acetylierung von TBTQ-Alkohol <i>rac</i> - <b>89</b> mit Acetylchlorid zu Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> . .....	85
Schema 3.30: Farbbassay zur biokatalytischen Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> zu TBTQ-Phenol <b>89</b> mit Bromthymolblau unter Verwendung von 32 Lipasen und zwei Esterasen. ....	86
Schema 3.31: Parameterscreening der enzymatischen Verseifung von Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> zu TBTQ-Phenol <b>89</b> mit den Enzymformulierungen aus dem positiven Farbbassay unter unterschiedlichen Reaktionsbedingungen. ....	87
Schema 3.32: Enzymatische Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> zu TBTQ-Phenol ( <i>M</i> )- <b>89</b> mit immobilisierter CAL-A. ....	88

Schema 3.33: Aromatische Iodierung von TBTQ-Phenol ( <i>M</i> )- <b>89</b> zu TBTQ-Iodphenol ( <i>P</i> )- <b>90</b> mit NIS...	89
Schema 3.34: Veresterung von TBTQ-Phenol ( <i>M</i> )- bzw. ( <i>P</i> )- <b>89</b> zu Acetoxy-TBTQ ( <i>M</i> )- bzw. ( <i>P</i> )- <b>91</b> mit Acetylchlorid in Pyridin.....	90
Schema 4.1: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen <b>100</b> nach der Kolbe-Nitrilsynthese. <sup>[205]</sup> .....	93
Schema 4.2: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen <b>102</b> mittels Hydrocyanierung von Alkenen <b>101</b> . <sup>[207]</sup> .....	93
Schema 4.3: Erste Cyanid-freie Nitrilsynthese von Benzonitril ( <b>104</b> ) aus Benzamid ( <b>103</b> ) mit BaO. <sup>[208]</sup> .....	94
Schema 4.4: Dehydratisierung von Amidinen <b>105</b> zu Nitrilen <b>100</b> mit P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> oder PCl <sub>5</sub> . <sup>[209,210]</sup> .....	94
Schema 4.5: Hofmann-Abbau von Octylamin ( <b>106</b> ) zu Octannitril ( <b>108</b> ) mit Br <sub>2</sub> und NaOH. <sup>[211]</sup> .....	94
Schema 4.6: Reaktion von Ethylamin ( <b>109</b> ) mit Peroxoschwefelsäure zu Hydroxylamin <b>110</b> und dessen Folgeprodukte. <sup>[212]</sup> .....	94
Schema 4.7: Synthese von Acetonitril aus Acetylen und Ammoniak mit Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . <sup>[213]</sup> .....	95
Schema 4.8: Dehydrierung von Benzylamin ( <b>116</b> ) zu Benzonitril ( <b>104</b> ) mit Ni-Staub und Nebenreaktion zu Toluol. <sup>[215,216]</sup> .....	95
Schema 4.9: Synthese von Nitrilen <b>100</b> aus Aldehyden <b>117</b> mit ThO <sub>2</sub> über die Iminzwischenstufe <b>118</b> . <sup>[217]</sup>	96
Schema 4.10: Synthese von Nitrilen <b>100</b> aus Alkoholen <b>119</b> mit elementarem Cu oder Ag <sup>[218]</sup> bzw. mit MoO <sub>3</sub> auf Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . <sup>[219]</sup> .....	96
Schema 4.11: Synthese von Benzonitril ( <b>104</b> ) aus Toluol mit NH <sub>3</sub> . <sup>[220]</sup> .....	96
Schema 4.12: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen <b>100</b> aus organischen Verbindungen <b>120</b> mit einer Methylgruppe über das Ammonoxidationsverfahren mit Ammoniak und Sauerstoff. <sup>[67]</sup> .....	96
Schema 4.13: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Nitrilen <b>100</b> über Aldoxime <b>121</b> ausgehend von Aldehyden <b>117</b> . ....	97
Schema 4.14: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Metall-katalysierte Dehydratisierung von Oximen zu Nitrilen mit dem Hilfsreagenz Acetonitril. <sup>[241]</sup> .....	99
Schema 4.15: Biosynthese von Phenylacetonitril ( <b>123a</b> ) aus <i>Z</i> -Phenylacetaldoxim ( <b>122a</b> ) unter Wasserabspaltung mit einer Aldoximdehydratase aus <i>Bacillus</i> sp. OxB-1. <sup>[245]</sup> .....	100
Schema 4.16: Postulierter Reaktionsmechanismus für die enzymatische Dehydratisierung von Oximen <b>121</b> zu Nitrilen <b>100</b> mit Oxds in Anlehnung an <i>Nomura et al.</i> <sup>[246]</sup> .....	102
Schema 4.17: Benchmarkexperiment zur stereoselektiven Dehydratisierung von 2-Phenylpropionaldoxim ( <b>122b</b> ) zu 2-Phenylpropionitril ( <b>123b</b> ) mit OxdB. <sup>[256]</sup> .....	104
Schema 4.18: Von <i>Novartis Pharma</i> entwickelte Syntheseroute zur Darstellung von Vildagliptin (( <i>S</i> )- <b>124</b> ) ausgehend von L-Prolinamid (( <i>S</i> )- <b>128</b> ). <sup>[266]</sup> .....	105
Schema 4.19: Synthesepfad für die Biotransformation von racemischen Aldoximen <i>rac</i> - <i>E/Z</i> - <b>122</b> zu chiralen Nitrilen ( <i>R/S</i> )- <b>123</b> , ausgehend von racemischen Aldehyden <i>rac</i> - <b>135</b> mit aliphatischen, cyclischen und aromatischen Resten R <sup>1</sup> und R <sup>2</sup> . ....	106
Schema 4.20: Synthesepfad für eine alternative Darstellung des Vildagliptin-Schlüsselbausteins ( <i>S</i> )- <b>132</b> ausgehend von dem Aldehyd ( <i>S</i> )- <b>136</b> über das Oxim ( <i>S</i> )- <b>137</b> . ....	107
Schema 4.21: Synthese der chiralen Oxime <b>122b-f</b> aus den Aldehyden <b>135b-f</b> mit NH <sub>2</sub> OH.....	108
Schema 4.22: Metall-katalysierte Dehydratisierung der chiralen Oxime <b>122b-f</b> zu den Nitrilen <b>123b-f</b> mit Cu(OAc) <sub>2</sub> und MeCN.....	110
Schema 4.23: Synthesekonzept für die Darstellung von Halogen-substituierten Aldoximen <i>rac</i> - <i>E/Z</i> - <b>122</b> aus Benzaldehydderivaten <b>138</b> über Nitroalkene <b>139</b> und Nitroalkane <i>rac</i> - <b>140</b> . ....	123
Schema 4.24: Synthese der 2-Nitrovinylaromaten <b>139a-c</b> aus den Chlorbenzaldehyden <b>138a-c</b> mit Nitromethan.....	124
Schema 4.25: Synthese der 2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten <i>rac</i> - <b>140a-c</b> aus den 2-Nitrovinylaromaten <b>139a-c</b> mit Methylmagnesiumbromid. ....	125

Schema 4.26: Synthese der 2-(Chlorphenyl)propanaloxime <i>rac-E/Z-122g-i</i> aus den 2-(1-Nitroprop-2-yl)aromaten <i>rac-140a-c</i> mit Benzylbromid.....	126
Schema 4.27: Metall-katalysierte Dehydratisierung der chiralen Oxime <i>rac-E/Z-122g-i</i> zu den Nitrilen <i>rac-123g-i</i> mit Cu(OAc) <sub>2</sub> und MeCN.....	127
Schema 4.28: Biotransformation des Aldoxims <i>rac-E-122g</i> mit OxdRE zu Nitril ( <i>S</i> )- <b>123g</b> im präparativen Maßstab.....	135
Schema 4.29: Biotransformation des Aldoxims <i>rac-Z-122h</i> mit OxdFG zu Nitril ( <i>R</i> )- <b>123h</b> im präparativen Maßstab.....	135
Schema 4.30: Synthese der Prolinaloxime ( <i>S</i> )- bzw. ( <i>R</i> )- <i>E/Z-143</i> aus den enantiomerenreinen Aldehyden ( <i>S</i> )- bzw. ( <i>R</i> )- <b>142</b> mit NH <sub>2</sub> OH.....	137
Schema 4.31: Metall-katalysierte Dehydratisierung der Prolinaloxime ( <i>S</i> )- bzw. ( <i>R</i> )- <i>E/Z-143</i> zu den Prolin-basierten Nitrilen ( <i>S</i> )- bzw. ( <i>R</i> )- <b>141</b> mit Cu(OAc) <sub>2</sub> und MeCN.....	139
Schema 4.32: Mögliche, retrosynthetische Betrachtung einer alternativen Vildagliptin-Syntheseroute ausgehend von L-Prolin (( <i>S</i> )- <b>134</b> ) unter Einbeziehung der etablierten Aldehyd → Aldoxim → Nitril-Synthesesequenz.....	145
Schema 4.33: Synthesepfad für die Darstellung des Vildagliptin-Schlüsselbausteins ( <i>S</i> )- <b>132</b> mittels alternativer Syntheseroute ausgehend von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ). .....	146
Schema 4.34: Hydrierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ) zu L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>148</b> ) mit Wasserstoff und Ru-MACHO ( <b>145</b> ). .....	147
Schema 4.35: Acylierung von L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>148</b> ) zu <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>150</b> ) mit Chloressigsäurechlorid ( <b>129</b> ).....	148
Schema 4.36: Acylierung von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ) zu <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) mit Chloressigsäurechlorid ( <b>129</b> ).....	149
Schema 4.37: Hydrierversuche von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) mit den Ru-Katalysatoren <b>144</b> , <b>145</b> und <b>146</b> unter verschiedenen Reaktionsbedingungen.....	151
Schema 4.38: Synthese des Pyrrolizidins <b>151</b> aus <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) unter Hydrierungsbedingungen.....	151
Schema 4.39: Postulierter Mechanismus für die Bildung von Pyrrolizidin <b>151</b> aus <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>149</b> ).....	152
Schema 4.40: Oxidation von <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinol (( <i>S</i> )- <b>150</b> ) zu <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinal (( <i>S</i> )- <b>136</b> ) mit TEMPO.....	153
Schema 4.41: Synthese von <i>E/Z-N</i> -Chloracetyl-L-Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-137</i> ) aus <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinal (( <i>S</i> )- <b>136</b> ) mit NH <sub>2</sub> OH.....	155
Schema 4.42: Metall-katalysierte Dehydratisierung von <i>E/Z-N</i> -Chloracetyl-L-Prolinaloxim (( <i>S</i> )- <i>E/Z-137</i> ) zu ( <i>S</i> )-1-(2-Chloracetyl)pyrrolidin-2-carbonitril (( <i>S</i> )- <b>132</b> ) mit Cu(OAc) <sub>2</sub> und MeCN.....	156
Schema 5.1: Zweistufenprozess zur Darstellung von ε-Caprolacton ( <b>34</b> ) aus Metall-katalysierter Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) und enzymatischer Doppeloxidation der Zwischenstufe Cyclohexanol ( <b>38</b> ) ohne Aufarbeitung der Reaktionsmischung aus der Hydrierung.....	160
Schema 5.2: Syntheseroute zur chiralitätsunterstützten Darstellung von <i>syn</i> -bikonkavem bis-TBTQ <i>syn-82</i> ausgehend von <i>centro</i> -Methyl-TBTQ ( <b>71</b> ) mittels enzymatischer Racematspaltung.....	161
Schema 5.3: Alternative Syntheserouten zur Darstellung von enantiomerenreinem TBTQ-Phenol ( <i>M</i> )- <b>89</b> ausgehend von <i>centro</i> -Methyl-TBTQ ( <b>71</b> ) oder Methoxy-TBTQ <i>rac-93</i> .....	162
Schema 5.4: Alternative Syntheseroute zur Darstellung des Vildagliptin-Schlüsselbausteins ( <i>S</i> )- <b>132</b> ausgehend von L-Prolinmethylester-Hydrochlorid (( <i>S</i> )- <b>147</b> ) unter Verwendung einer Kupfer-katalysierten Oximdehydratisierung.....	164

### 8.3 Tabellen

Tabelle 7.1: Reaktionsbedingungen für die Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav und per <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen. ....	174
Tabelle 7.2: Reaktionsbedingungen für die lösungsmittelfreie Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) mit Rh/AlO(OH) im Tischautoklav und per <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen. ....	175
Tabelle 7.3: Reaktionsbedingungen für die Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) mit Rh-SBA-15 im Stahlautoklav und per <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen. ....	177
Tabelle 7.4: Reaktionsbedingungen für die Hydrierung von Phenol ( <b>40</b> ) mit Rh-SBA-15 im Schlenkkolben und per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen. ....	178
Tabelle 7.5: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus dem kombinierten Prozess aus Hydrierung im Stahlreaktor und Doppeloxidation von Phenol ( <b>40</b> ) zu ε-Caprolacton ( <b>34</b> ) für verschiedene Substratkonzentrationen nach unterschiedlicher Reaktionszeit. ....	180
Tabelle 7.6: Per GC ermittelte Zusammensetzung der Reaktionsmischungen aus dem kombinierten Prozess aus Hydrierung im Schlenkrohr und Doppeloxidation von Phenol ( <b>40</b> ) zu ε-Caprolacton ( <b>34</b> ) nach unterschiedlicher Reaktionszeit. ....	182
Tabelle 7.7: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von <i>syn</i> - <b>82</b> ·CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .....	193
Tabelle 7.8: Umsatz zu Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> aus der <i>Baeyer-Villiger</i> -Oxidation von Acetyl-TBTQ <i>rac</i> - <b>92</b> mit verschiedenen Zusätzen. ....	195
Tabelle 7.9: Für das Enzymscreening zur Esterverseifung von Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> verwendete Lipasen und Esterasen. ....	205
Tabelle 7.10: Parameterscreening der gegenüber Acetoxy-TBTQ <i>rac</i> - <b>91</b> hydrolytisch aktiven Lipasen und dessen Ergebnisse (Umsatz zu TBTQ-Alkohol <b>89</b> , <i>ee</i> -Wert und <i>E</i> -Wert). ....	207
Tabelle 7.11: Verwendete Plasmide der Oxds für die Transformation in <i>E. coli</i> . ....	223
Tabelle 7.12: Ergebnisse aus den Aktivitätsassays für die Biotransformationen der Substrate <b>122a-f</b> mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. ....	225
Tabelle 7.13: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate <b>122a-f</b> mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. ....	228
Tabelle 7.14: Ergebnisse aus den Biotransformationen des Substrats <i>rac</i> - <i>E</i> - <b>122b</b> ( <i>E/Z</i> = 94:6) mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG nach unterschiedlichen Reaktionszeiten. ....	229
Tabelle 7.15: Ergebnisse aus den Aktivitätsassays für die Biotransformationen der Substrate <b>122a-b</b> und <b>122g-i</b> mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. ....	242
Tabelle 7.16: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate <b>122g-i</b> mit den Oxds OxdA, OxdB, OxdRE, OxdRG und OxdFG. ....	244
Tabelle 7.17: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate <i>rac</i> - <i>E</i> - <b>122g</b> mit OxdRE und <i>rac</i> - <i>Z</i> - <b>122h</b> mit OxdFG nach unterschiedlichen Reaktionszeiten. ....	246
Tabelle 7.18: Ergebnisse aus den Biotransformationen der Substrate ( <i>S</i> )- und ( <i>R</i> )- <i>E/Z</i> - <b>143</b> mit den Oxds OxdA, OxdB und OxdRE. ....	251
Tabelle 7.19: Ergebnisse aus dem Solvenz-Screening zur Cu-katalysierten Dehydratisierung von Prolinaloxim ( <i>S</i> )- <i>E/Z</i> - <b>143</b> mit variierenden Mengen MeCN und unterschiedlichen Kosolvenzien. ....	252
Tabelle 7.20: Ergebnisse aus den Hydrierversuchen mit <i>N</i> -Chloracetyl-L-Prolinmethylester (( <i>S</i> )- <b>149</b> ) unter Verwendung der Ru-Katalysatoren <i>Gusev</i> -Katalysator ( <b>144</b> ), Ru-MACHO ( <b>145</b> ) oder Ru-MACHO-BH ( <b>146</b> ) mit unterschiedlichen Reaktionsbedingungen. ....	255

## 9 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
1,8-DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
2-Methyl-THF	2-Methyltetrahydrofuran
5-HMF	5-(Hydroxymethyl)furfural
Å	Angström, $10^{-10}$ m
AcCl	Acetylchlorid
AcO <sup>-</sup>	Acetat
ADH	Alkoholdehydrogenase
Aliquat-336	Methyltrioctylammoniumchlorid
Äq.	Äquivalente
Arg	Arginin
AZ	Aktenzeichen
BFM	Biofeuchtmasse
BIP	Bruttoinlandsprodukt
BOP	Benzotriazolylxytris-(dimethylamino)phosphoniumhexafluoro-phosphat
BVMO	<i>Bayer-Villiger</i> -Monooxygenase
bzw.	beziehungsweise
CAL-A	<i>Candida antarctica</i> Lipase A
CAL-B	<i>Candida antarctica</i> Lipase B
CD	zirkularer Dichroismus
cm <sup>3</sup>	Kubikzentimeter
CMPI	2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid
d	Tag
DBU	Deutsche Bundesstiftung Umwelt
DC	Dünnschichtchromatographie
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPP-IV	Dipeptidyl-Peptidase-IV
ee	Enantiomerenüberschuss
FMN	Flavinmononukleotid
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
Gew.	Gewicht
GLP-1	Glucagon-like Peptid 1
Gt	Gigatonne, $10^9$ t
H	Stunde
Häm	Hämoglobin
His	Histidin
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Hz	Hertz
Kt	Kilotonne, $10^3$ t
L	Liter
m	Meter
M	molar

---

<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
min	Minute
mL	Milliliter
mM	millimolar
MS	Massenspektrometrie
Mt	Megatonne, 10 <sup>6</sup> t
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
nm	Nanometer, 10 <sup>-9</sup> m
NMR	Kernspinresonanz
Oxd	Aldoximdehydratase
PBS	Polybutylensuccinat
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PCL	Poly- $\epsilon$ -Caprolacton
PEF	Polyethylenfuranoat
PET	Polyethylenterephthalat
ppm	parts per million
PTK	Phasentransferkatalysator
PTSA	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
Rh/AIO(OH)	Rh-Nanopartikel eingebettet in Aluminiumoxidhydroxid-Nanofasern
Rh-SBA-15	Rh-Nanopartikel eingebettet in mesoporösem Kieselgel
rpm	Umdrehungen pro Minute
s	Sekunde
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese
Ser	Serin
t	Tonne
T3P®	Propanphosphonsäureanhydrid
TBTQ	Tribenzotriquinacen
TCT	Trichlortriazin
TEMPO	Tetramethylpiperidinyloxy
TFA	Trifluoressigsäure
TfO-	Triflat
TfOH	Trifluormethansulfonsäure
T <sub>g</sub>	Glastemperatur
T <sub>m</sub>	Schmelztemperatur
TON	turnover number, katalytische Produktivität
TWh	Terawattstunde, 10 <sup>12</sup> Wh
UK	Vereintes Königreich
Vol.	Volumen
Wh	Wattstunde

## 10 Literaturverzeichnis

- [1] H.-G. Elias, *Große Moleküle*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **1985**.
- [2] H. Domininghaus, *Allgemeine Kunststoffbibel*, 2. Aufl., Zechner & Hüthig Verlag, Speyer, **1970**.
- [3] M. Kaufman, *Riesenkäse. Kunststoffe verändern unsere Welt*. Das Buch zur Sache, Deutsche Verlags-Anstalt, Stuttgart, **1970**.
- [4] R. Mülhaupt, *Macromol. Chem. Phys.* **2013**, *214*, 159.
- [5] D. Braun, G. Collin, *Chemie in unserer Zeit* **2010**, *44*, 190.
- [6] H. Morawetz, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 95; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1987**, *26*, 93.
- [7] R. Mülhaupt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1054.
- [8] I. K. Wernick, R. Herman, S. Govind, J. H. Ausubel, *Daedalus* **1996**, *125*, 171.
- [9] A. L. Andrady, *Plastics and the environment*, J. Wiley and Sons, Hoboken, **2003**.
- [10] Y. Zhu, C. Romain, C. K. Williams, *Nature* **2016**, *540*, 354.
- [11] Petrochemicals Europe, "Petrochemicals Flow Chart\_Update 2015\_V03", zu finden unter <http://www.petrochemistry.eu/flowchart.html>, **2017**.
- [12] D. Osteroth, *Von der Kohle zur Biomasse. Chemierohstoffe und Energieträger im Wandel der Zeit*, Springer, Berlin, Heidelberg, **1989**.
- [13] a) D. H. Meadows, D. L. Meadows, J. Randers, W. W. Behrens III, *The Limits to Growth*, Universe Books, New York, **1972**; b) D. L. Meadows, D. H. Meadows, E. Zahn, P. Milling, *Die Grenzen des Wachstums. Bericht des Club of Rome zur Lage der Menschheit*, Deutsche Verlags-Anstalt, Stuttgart, **1972**.
- [14] V. Smil, *Energy Transitions. Global and National Perspectives*, 2. Aufl., Praeger, Santa Barbara, **2017**.
- [15] R. Heinberg, D. Fridley, *Our Renewable Future. Laying the Path for 100% Clean Energy*, IslandPress, Washington, **2016**.
- [16] H. Andruleit, H. G. Babies, S. Fleig, S. Ladage, J. Meßner, M. Pein, D. Rebscher, M. Schauer, S. Schmidt, G. von Goerne, *ENERGIESTUDIE 2016 - Reserven, Ressourcen und Verfügbarkeit von Energierohstoffen*, Hannover, **2016**.
- [17] H. Bardt, *Fossile Rohstoffe der Chemischen Industrie. Eine Herausforderung für den Standort NRW*, **2013**.
- [18] J. C. Serrano-Ruiz, R. Luque, A. Sepúlveda-Escribano, *Chemical Society reviews* **2011**, *40*, 5266.
- [19] T. A. Werpy, J. E. Holladay, J. F. White, *Top Value Added Chemicals from Biomass. I. Results of Screening for Potential Candidates from Sugars and Synthesis Gas*, **2004**.
- [20] S. A. Miller, *ACS Macro Lett.* **2013**, *2*, 550.
- [21] F. H. Isikgor, C. R. Becer, *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 4497.
- [22] F. Stempfle, P. Ortmann, S. Mecking, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 4597.
- [23] M. R. L. Furst, R. Le Goff, D. Quinzler, S. Mecking, C. H. Botting, D. J. Cole-Hamilton, *Green Chem* **2012**, *14*, 472.
- [24] L. Maisonnette, T. Lebarbé, E. Grau, H. Cramail, *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 5472.
- [25] C. Jiménez-Rodríguez, G. R. Eastham, D. J. Cole-Hamilton, *Inorg. Chem. Commun.* **2005**, *8*, 878.
- [26] M. B. Dinger, J. C. Mol, *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 671.
- [27] H. L. Ngo, K. Jones, T. A. Foglia, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2006**, *83*, 629.
- [28] S. Huf, S. Krügener, T. Hirth, S. Rupp, S. Zibek, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, *113*, 548.
- [29] U. Schörken, P. Kempers, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2009**, *111*, 627.
- [30] S. Zibek, S. Huf, W. Wagner, T. Hirth, S. Rupp, *Chem. Ing. Tech.* **2009**, 1797.
- [31] H. Kobayashi, A. Fukuoka, *Green Chem.* **2013**, *15*, 1740.
- [32] B. Kamm, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5146; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5056.
- [33] A. Raguin, O. Ebenhöf, *Biochem. Soc. Trans.* **2017**, *45*, 885.

- [34] a) M. A. Abdel-Rahman, Y. Tashiro, K. Sonomoto, *J. Biotechnol.* **2011**, *156*, 286; b) P. Mäki-Arvela, I. L. Simakova, T. Salmi, D. Y. Murzin, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 1909.
- [35] S. Inkinen, M. Hakkarainen, A.-C. Albertsson, A. Södergård, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 523.
- [36] R. Auras, B. Harte, S. Selke, *Macromol. Biosci.* **2004**, *4*, 835.
- [37] C. Wang, A. Thygesen, Y. Liu, Q. Li, M. Yang, D. Dang, Z. Wang, Y. Wan, W. Lin, J. Xing, *Biotechnol. Biofuels* **2013**, *6*, 74.
- [38] M. L. A. Jansen, W. M. van Gulik, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2014**, *30*, 190.
- [39] B. Cok, I. Tsiropoulos, A. L. Roes, M. K. Patel, *Biofuel. Bioprod. Bior.* **2014**, *8*, 16.
- [40] I. Delidovich, P. J. C. Hausoul, L. Deng, R. Pfützenreuter, M. Rose, R. Palkovits, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 1540.
- [41] H. Huang, C. A. Denard, R. Alamillo, A. J. Crisci, Y. Miao, J. A. Dumesic, S. L. Scott, H. Zhao, *ACS Catal.* **2014**, *4*, 2165.
- [42] B. Liu, Y. Ren, Z. Zhang, *Green Chem.* **2015**, *17*, 1610.
- [43] S. K. Burgess, J. E. Leisen, B. E. Kraftschik, C. R. Mubarak, R. M. Kriegel, W. J. Koros, *Macromolecules* **2014**, *47*, 1383.
- [44] A. J. J. E. Eerhart, A. P. C. Faaij, M. K. Patel, *Energy Environ. Sci.* **2012**, *5*, 6407.
- [45] J. Zakzeski, P. C. A. Bruijninx, A. L. Jongerijs, B. M. Weckhuysen, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3552.
- [46] E. A. Capanema, M. Y. Balakshin, J. F. Kadla, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 9639.
- [47] F. S. Chakar, A. J. Ragauskas, *Ind. Crops Prod.* **2004**, *20*, 131.
- [48] G. Brunow, *Biorefineries - Industrial Processes and Products*, Wiley-VCH-Verl., Weinheim, **2006**.
- [49] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch, *Bioresour. Technol.* **2005**, *96*, 673.
- [50] R. T. Mathers, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2012**, *50*, 1.
- [51] W.-J. Liu, H. Jiang, H.-Q. Yu, *Green Chem.* **2015**, *17*, 4888.
- [52] a) A. K. Deepa, P. L. Dhepe, *ACS Catal.* **2014**, *5*, 365; b) D. V. Evtuguin, C. Pascoal Neto, J. Rocha, J. D. Pedrosa de Jesus, *Appl. Catal., A* **1998**, *167*, 123; c) J. F. Blandez, S. Navalón, M. Alvaro, H. Garcia, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 3020.
- [53] Z. Fang, R. L. Smith Jr. (Hrsg.) *Biofuels and Biorefineries. Production of Biofuels and Chemicals from Lignin*, Springer, Singapore, **2016**.
- [54] P. F. Britt, A. C. Buchanan, M. J. Cooney, D. R. Martineau, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1376.
- [55] L. Mialon, A. G. Pemba, S. A. Miller, *Green Chem.* **2010**, *12*, 1704.
- [56] G. Wu, M. Heitz, E. Chornet, *Ind. Eng. Chem. Res.* **1994**, *33*, 718.
- [57] L. Mialon, S. A. Miller, US 2013/0137847, **12.11**.
- [58] M. Labet, W. Thielemans, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3484.
- [59] J. Peña, T. Corrales, I. Izquierdo-Barba, A. L. Doadrio, M. Vallet-Regí, *Polym. Degrad. Stab.* **2006**, *91*, 1424.
- [60] a) D. W. Hutmacher, T. Schantz, I. Zein, K. W. Ng, S. H. Teoh, K. C. Tan, *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *55*, 203; b) M. J. Jenkins, K. L. Harrison, M. M. C. G. Silva, M. J. Whitaker, K. M. Shakesheff, S. M. Howdle, *Eur. Polym. J.* **2006**, *42*, 3145.
- [61] a) V. R. Sinha, K. Bansal, R. Kaushik, R. Kumria, A. Trehan, *Int. J. Pharm.* **2004**, *278*, 1; b) R. Chandra, R. Rustgi, *Prog. Polym. Sci.* **1998**, *23*, 1273; c) D. R. Chen, J. Z. Bei, S. G. Wang, *Polym. Degrad. Stab.* **2000**, *67*, 455.
- [62] Y. Ikada, H. Tsuji, *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, *21*, 117.
- [63] J. L. Hedrick, T. Magbitang, E. F. Connor, T. Glauser, W. Volksen, C. J. Hawker, V. Y. Lee, R. D. Miller, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 3308.
- [64] Adhesives & Sealants Industry, "Perstorp Announces Solvay Caprolactone Aquisition", zu finden unter <https://www.adhesivesmag.com/articles/87020-perstorp-announces-solvay-caprolactone-acquisition>, **2017**.

- [65] ICIS News, "Perstorp to double caprolactone production by 2010", zu finden unter <https://www.icis.com/resources/news/2008/06/03/9128980/perstorp-to-double-caprolactone-production-by-2010/>, **2017**.
- [66] Plastics News, "Perstorp upgrades UK plant", zu finden unter <http://www.plasticsnews.com/article/20170901/NEWS/309029999/perstorp-upgrades-uk-plant>, **2017**.
- [67] H.-J. Arpe, *Industrielle Organische Chemie. Bedeutende Vor- und Zwischenprodukte*, 6. Aufl., Wiley-VCH-Verl., Weinheim, **2007**.
- [68] a) H. A. Wittcoff, B. G. Reuben, J. S. Plotkinauth, *Industrial Organic Chemicals*, 3. Aufl., J. Wiley and Sons, Hoboken, **2013**; b) P. S. Starcher, B. Phillips, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 4079; c) M. Johansson, "Stepping up commitment to Caprolactone market by upgrading Capa™ plant in Warrington, UK", zu finden unter [https://www.perstorp.com/en/news\\_center/pressreleases/2017/20170831\\_stepping\\_up\\_commitment\\_to\\_caprolactone\\_market\\_by\\_upgrading\\_plant\\_in\\_uk/](https://www.perstorp.com/en/news_center/pressreleases/2017/20170831_stepping_up_commitment_to_caprolactone_market_by_upgrading_plant_in_uk/), **2017**.
- [69] A. Baeyer, V. Villiger, *Ber.* **1899**, *32*, 3625.
- [70] R. Criegee, *Ann.* **1948**, *560*, 127.
- [71] S. L. Friess, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2571.
- [72] S. Horvat, P. Karallas, J. M. White, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 2151.
- [73] G.-J. ten Brink, I. W. C. E. Arends, R. A. Sheldon, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 4105.
- [74] a) C. Bolm, G. Schlingloff, C. Weickhardt, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 3405; b) S.-I. Murahashi, Y. Oda, T. Naota, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7557; c) O. Fukuda, S. Sakaguchi, Y. Ishii, Yasutaka, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3479.
- [75] T. Buntara, S. Noel, P. H. Phua, I. Melián-Cabrera, J. G. de Vries, H. J. Heeres, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7083.
- [76] a) J.-M. Choi, S.-S. Han, H.-S. Kim, *Biotechnol. Adv.* **2015**, *33*, 1443; b) C. C. C. R. de Carvalho, *Microb. Biotechnol.* **2017**, *10*, 250.
- [77] B. M. Nestl, B. A. Nebel, B. Hauer, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, *15*, 187.
- [78] R. Wohlgemuth, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2010**, *21*, 713.
- [79] N. A. Donoghue, P. W. Trudgill, *Eur J Biochem* **1975**, *60*, 1.
- [80] M. D. Mihovilovic, B. Müller, P. Stanetty, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3711.
- [81] S. M. Roberts, P. W. H. Wan, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **1998**, *4*, 111.
- [82] A. J. Willetts, C. J. Knowles, M. S. Levitt, S. M. Roberts, H. Sandeya, N. F. Shipston, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 1608.
- [83] G. Grogan, S. Roberts, A. Willetts, *Biotechnol. Lett.* **1992**, *14*, 1125.
- [84] S. Staudt, U. T. Bornscheuer, U. Menyes, W. Hummel, H. Gröger, *Enzyme Microb. Technol.* **2013**, *53*, 288.
- [85] S. Staudt, *Synthese von industriell relevanten Alkohol-, Keton- und Lacton-Verbindungen durch Redoxreaktionen mit Biokatalysatoren. Dissertation*, Universität Erlangen-Nürnberg, **2014**.
- [86] a) S. Schmidt, M. Genz, K. Balke, U. T. Bornscheuer, *J. Biotechnol.* **2015**, *214*, 199; b) M. Dörr, M. P. C. Fibinger, D. Last, S. Schmidt, J. Santos-Aberturas, D. Böttcher, A. Hummel, C. Vickers, M. Voss, U. T. Bornscheuer, *Biotechnol. Bioeng.* **2016**, *113*, 1421; c) K. Balke, S. Schmidt, M. Genz, U. T. Bornscheuer, *ACS chem. biol.* **2016**, *11*, 38.
- [87] S. Schmidt, C. Scherkus, J. Muschiol, U. Menyes, T. Winkler, W. Hummel, H. Gröger, A. Liese, H.-G. Herz, U. T. Bornscheuer, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 2825; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 2784.
- [88] S. Schmidt, H. C. Büchenschütz, C. Scherkus, A. Liese, H. Gröger, U. T. Bornscheuer, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 3951.
- [89] A. Reimer, S. Wedde, S. Staudt, S. Schmidt, D. Höffer, W. Hummel, U. Kragl, U. T. Bornscheuer, H. Gröger, *J. Heterocyclic Chem.* **2017**, *54*, 391.

- [90] a) C. Scherkus, S. Schmidt, U. T. Bornscheuer, H. Gröger, S. Kara, A. Liese, *ChemCatChem* **2016**, *8*, 3446; b) C. Scherkus, S. Schmidt, U. T. Bornscheuer, H. Gröger, S. Kara, A. Liese, *Biotechnol. Bioeng.* **2017**, *114*, 1215; c) R. Karande, L. Debor, D. Salamanca, F. Bogdahn, K-H. Engesser, K. Buehler, A. Schmid, *Biotechnol. Bioeng.* **2016**, *113*, 52; d) R. Karande, B. Halan, A. Schmid, K. Buehler, *Biotechnol. Bioeng.* **2014**, *111*, 1831; e) R. Karande, A. Schmid, K. Buehler, *Org. Process Res. Dev.* **2015**, *20*, 361.
- [91] U. T. Bornscheuer, U. Menyes, S. Schmidt, R. Wardenga, S. Borchert, EP2899280A1, **2014**.
- [92] S. Wedde, *geplante Dissertation*, Universität Bielefeld, **2016**.
- [93] N. J. P. Wierckx, H. Ballerstedt, J. A. M. de Bont, J. Wery, *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 8221.
- [94] L. Miao, Q. Li, A. Diao, X. Zhang, Y. Ma, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99*, 5163.
- [95] C. Amen-Chen, H. Pakdel, C. Roy, *Bioresour. Technol.* **2001**, *79*, 277.
- [96] X. Ren, J. Gou, W. Wang, Q. Li, J. Chang, B. Li, *BioResources* **2013**, *8*, 4681.
- [97] W. Zuo, B. Jin, Y. Huang, Y. Sun, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *21*, 9717.
- [98] Q. Bu, H. Lei, S. Ren, L. Wang, J. Holladay, Q. Zhang, J. Tang, R. Ruan, *Bioresour. Technol.* **2011**, *102*, 7004.
- [99] A. Stanislaus, B. H. Cooper, *Catalysis Reviews* **1994**, *36*, 75.
- [100] T. Tsukinoki, T. Kanda, G.-B. Liu, H. Tsuzuki, M. Tashiro, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5865.
- [101] Y. Xiang, L. Ma, C. Lu, Q. Zhang, X. Li, *Green Chem.* **2008**, *10*, 939.
- [102] V. Molinari, C. Giordano, M. Antonietti, D. Esposito, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 1758.
- [103] W. Song, Y. Liu, E. Baráth, C. Zhao, J. A. Lercher, *Green Chem.* **2015**, *17*, 1204.
- [104] A. Maximov, A. Zolotukhina, V. Murzin, E. Karakhanov, E. Rosenberg, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 1197.
- [105] A. Indra, P. Maity, S. Bhaduri, G. K. Lahiri, *ChemCatChem* **5**, 322.
- [106] D. Jantke, M. Cokoja, M. Drees, W. A. Herrmann, F. E. Kühn, *ChemCatChem* **2013**, *5*, 3241.
- [107] P. Zhang, T. Wu, M. Hou, J. Ma, H. Liu, T. Jiang, W. Wang, C. Wu, B. Han, *ChemCatChem* **2014**, *6*, 3323.
- [108] T. Yu, J. Wang, X. Li, X. Cao, H. Gu, *ChemCatChem* **2013**, *5*, 2852.
- [109] N. Bhorali, J. N. Ganguli, *Catal. Lett.* **2013**, *143*, 276.
- [110] I. S. Park, M. S. Kwon, K. Y. Kang, J. S. Lee, J. Park, *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 2039.
- [111] a) L. Giraldo, M. Bastidas-Barranco, J. C. Moreno-Piraján, *Molecules* **2014**, *19*, 20594; b) G. Falini, A. Gualandi, D. Savoia, *Synthesis* **2009**, *14*, 2440; c) V. Mévellec, A. Nowicki, A. Roucoux, C. Dujardin, P. Granger, E. Payen, K. Philippot, *New J. Chem.* **2006**, *30*, 1214.
- [112] Sigma-Aldrich, *Sicherheitsdatenblatt n-Hexan*, **2017**.
- [113] Sigma-Aldrich, *Sicherheitsdatenblatt Cyclohexanol*, **2017**.
- [114] R. J. Abraham, M. Reid, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2002**, 1081.
- [115] H. Hooshyar, H. Rahemi, K. A. Dilmagani, S. F. Tayyari, *J. Theor. Comput. Chem.* **2007**, *6*, 459.
- [116] Spectral Database for Organic Compounds SDBS, "NMR-Spektrum von Cyclohexanol", zu finden unter [http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct\\_frame\\_disp.cgi?sdbno=581](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_disp.cgi?sdbno=581), **2018**.
- [117] D. Zhao, Q. Huo, J. Feng, B. F. Chmelka, G. D. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6024.
- [118] Y. Wan, D. Zhao, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2821.
- [119] D. Zhao, J. Feng, Q. Huo, N. Melosh, G. H. Fredrickson, B. F. Chmelka, G. D. Stucky, *Science* **1998**, *279*, 548.
- [120] Y. Tan, X. Dai, Y. Li, D. Zhu, *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 1069.
- [121] Sigma-Aldrich, *Spezifikationsdatenblatt SBA-15*.
- [122] Sigma-Aldrich, *Sicherheitsdatenblatt SBA-15*, **2013**.
- [123] S. Wedde, P. Rommelmann, C. Scherkus, S. Schmidt, U. T. Bornscheuer, A. Liese, H. Gröger, *Green Chem.* **2017**, *19*, 1286.

- [124] a) M. Senechal, G. Fleck, S. Sherer, *Shaping space. Exploring Polyhedra in Nature, Art, and the Geometrical Imagination*, Springer, New York, **2013**; b) R. Wille, *Symmetrie in Geistes- und Naturwissenschaft. Hauptvorträge und Diskussionen des Symmetrie Symposiums an der Technischen Hochschule Darmstadt vom 13. bis 17. Juni 1986 im Rahmen des Symmetrieprojektes der Stadt Darmstadt*, Springer, Berlin, Heidelberg, **1988**.
- [125] W. Grahn, *Chem. Unserer Zeit* **1981**, *15*, 52.
- [126] L. R. MacGillivray, J. L. Atwood, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1080; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1118.
- [127] a) F. Vögtle, *Reizvolle Moleküle der Organischen Chemie*, Teubner, Stuttgart, **1989**; b) M. H. I. Hargittai, *Symmetry through the Eyes of a Chemist*, 3. Aufl., Springer, **2009**.
- [128] H. Hopf, *Classics in Hydrocarbon Chemistry. Syntheses, Concepts, Perspectives*, Wiley-VCH-Verl., Weinheim, **2000**.
- [129] G. Maier, S. Pfriem, U. Schäfer, R. Matusch, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 520.
- [130] P. E. Eaton, T. W. Cole, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1357.
- [131] P. E. Eaton, T. W. Cole, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 962.
- [132] P. E. Eaton, *Tetrahedron* **1979**, *35*, 2189.
- [133] a) L. A. Paquette, R. J. Ternansky, D. W. Balogh, G. Kentgen, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5446; b) R. J. Ternansky, D. W. Balogh, L. A. Paquette, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4503.
- [134] a) H. Prinzbach, K. Weber, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2329; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 2239; b) H. Prinzbach, F. Wahl, A. Weiler, P. Landenberger, J. Wörth, L. T. Scott, M. Gelmont, D. Olevano, F. Sommer, B. von Issendorff, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6268.
- [135] a) D. J. Cram, J. M. Cram, *Container Molecules and Their Guests*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1997**; b) F. Vögtle, *Supramolekulare Chemie. Eine Einführung*, 2. Aufl., Teubner, Stuttgart, **1992**.
- [136] D. M. Vriezema, M. Comellas Aragonès, J. A. A. W. Elemans, J. J. L. M. Cornelissen, A. E. Rowan, R. J. M. Nolte, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1445.
- [137] D. Xu, R. Warmuth, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7520.
- [138] J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2455.
- [139] D. Philp, J. F. Stoddart, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 1154.
- [140] S. J. Rowan, S. J. Cantrill, G. R. L. Cousins, J. K. M. Sanders, J. F. Stoddart, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 898.
- [141] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry - Concepts and Perspectives*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1995**.
- [142] S. Leininger, B. Olenyuk, P. J. Stang, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 853.
- [143] B. Olenyuk, M. D. Levin, J. A. Whiteford, J. E. Shield, P. J. Stang, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10434.
- [144] a) N. M. Rue, J. Sun, R. Warmuth, *Isr. J. Chem.* **2011**, *51*, 743; b) G. Zhang, M. Mastalerz, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 1934; c) M. Mastalerz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5042.
- [145] P. Gund, T. M. Gund, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 4458.
- [146] K. Weinges, H. Reichert, U. Huber-Patz, H. Irngartinger, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 403.
- [147] G. G. G. Manzardo, M. Karpf, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 659.
- [148] L. Fitjer, H. M. Oltra, M. Noltemeyer, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1534.
- [149] I. T. Jacobson, *Acta Chem. Scand.* **1967**, *21*, 2235.
- [150] a) R. B. Woodward, T. Fukunaga, R. C. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 3162; b) A. de Meijere, D. Kaufmann, O. Schallner, *Angew. Chem.* **1971**, *83*, 404; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1971**, *10*, 417; c) C. Mercier, P. Soucy, W. Rosen, P. Deslongchamps, *Synth. Commun.* **1973**, *3*, 161; d) M. J. Wyvratt, L. A. Paquette, *Tetrahedron Lett.* **1974**, *28*, 2433; e) A. de Meijere, *Tetrahedron Lett.* **1974**, *21*, 1845; f) A.

- K. Gupta, G. S. Lannoye, G. Kubiak, J. Schkeryantz, S. Wehrli, J. M. Cook, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2169.
- [151] D. Kuck, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 4885.
- [152] I. Hargittai (Hrsg.) *D. Kuck: Centropolyindans: Benzannulated Polyquinanes with a Central Carbon Atom*, VCH, New York, **1990**.
- [153] D. Kuck, *Pure Appl. Chem.* **2006**, *78*, 58.
- [154] a) D. Kuck, A. Schuster, R. A. Krause, J. Tellenbröcker, C. P. Exner, M. Penk, H. Bögge, A. Müller, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3587; b) J. Linke, N. Bader, J. Tellenbröcker, D. Kuck, *Synthesis* **2018**, *50*, 175.
- [155] J. Strübe, B. Neumann, H.-G. Stammer, D. Kuck, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 2256.
- [156] a) D. Kuck, E. Neumann, A. Schuster, *Chem. Ber.* **1994**, *127*, 151; b) D. Kuck, *Synlett* **1996**, 949.
- [157] D. Kuck, T. Lindenthal, A. Schuster, *Chem. Ber.* **1992**, *125*, 1449.
- [158] S. Klotzbach, T. Scherpf, F. Beuerle, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 12454.
- [159] W.-R. Xu, G.-J. Xia, H.-F. Chow, X.-P. Cao, D. Kuck, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 12011.
- [160] W.-X. Niu, E.-Q. Yang, Z.-F. Shi, X.-P. Cao, D. Kuck, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1422.
- [161] W. Greschner, *geplante Dissertation*, Universität Bielefeld, **2015**.
- [162] a) A. Aranyos, D. W. Old, A. Kiyomori, J. P. Wolfe, J. P. Sadighi, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4369; b) Z. R. M. Hosseini-Sarvari, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 44105; c) N. Iranpoor, H. Firouzabadi, A. Rostami, *Appl. Organometal. Chem.* **2013**, *27*, 501.
- [163] H. J. Kim, M. Kim, S. Chang, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2368.
- [164] S. M. Agawane, J. M. Nagarkar, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 5220.
- [165] a) J. Zhao, Y. Zhao, H. Fu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3769; b) Y. Yuan, I. Thomé, S. H. Kim, D. Chen, A. Beyer, J. Bonnamour, E. Zuidema, S. Chang, C. Bolm, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 2892; c) Z. Liu, R. C. Larock, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 99.
- [166] a) A. Ouali, R. Laurent, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, M. Taillefer, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15990; b) B. Sreedhar, R. Arundhathi, P. L. Reddy, M. L. Kantam, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7951; c) D. Ma, Q. Cai, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3799; d) H. Rao, Y. Jin, H. Fu, Y. Jiang, Y. Zhao, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 3636; e) H.-J. Cristau, P. P. Cellier, S. Hamada, J.-F. Spindler, M. Taillefer, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 913; f) J. Niu, H. Zhou, Z. Li, J. Xu, S. Hu, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7814; g) J. Y. Kim, J. C. Park, A. Kim, A. Y. Kim, H. J. Lee, H. Song, K. H. Park, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, *2009*, 4219; h) Q. Zhang, D. Wang, X. Wang, K. Ding, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7187; i) S. Yang, C. Wu, H. Zhou, Y. Yang, Y. Zhao, C. Wang, W. Yang, J. Xu, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 53; j) Sk. M. Islam, S. Mondal, P. Mondal, A. S. Roy, K. Tuhina, N. Salam, M. Mobarak, *J. Organomet. Chem.* **2012**, *696*, 4264; k) X. Lv, W. Bao, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3863; l) Y.-J. Chen, H.-H. Chen, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5609; m) M. Rovira, M. Soler, I. Güell, M.-Z. Wang, L. Gómez, X. Ribas, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 7315.
- [167] a) X. Liu, Z. J. Weinert, M. Sharafi, C. Liao, J. Li, S. T. Schneebeli, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12772; b) M. Sharafi, Z. Weinert, I. Cohen, C. Liao, M. Ivancic, J. Li, S. Schneebeli, *Synlett* **2016**, 27, 2145; c) M. Mastalerz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 45; d) D. Beaudoin, F. Rominger, M. Mastalerz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 15599.
- [168] Z.-M. Li, Y.-W. Li, X.-P. Cao, H.-F. Chow, D. Kuck, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 3433.
- [169] W. Greschner, B. Neumann, H.-G. Stammer, H. Gröger, D. Kuck, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 13968; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 13764.
- [170] a) A. Rieche, H. Gross, E. Höft, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1960**, *93*, 88; b) A. Rieche, H. Gross, E. Höft, *Org. Synth.* **1967**, *5*, 365.
- [171] O. García, E. Nicolás, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4961.
- [172] I. Ramos-Tomillero, M. Paradís-Bas, I. de P. R. Moreira, J. M. Bofill, E. Nicolás, F. Albericio, *Molecules* **2015**, *20*, 5409.
- [173] G. R. Krow, *Org. React.* **1993**, 251.

- [174] C. H. Hassall, *Org. React.* **1957**, *9*, 73.
- [175] I. M. Godfrey, M. V. Sargent, J. A. Elix, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1974**, 1353.
- [176] T. Guntelmann, *Optimierung der Syntheseroute zu enantiomerenreinem 2-Hydroxy-methyl-tribenzotriquinacen*. Bachelorarbeit, Universität Bielefeld, **2017**.
- [177] M. Bergström, G. Suresh, V. R. Naidu, C. R. Unelius, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 3234.
- [178] E. Pretsch, P. Bühlmann, M. Badertscher, *Structure Determination of Organic Compounds. Tables of Spectral Data*, 4. Aufl., Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2009**.
- [179] A. Afzali, H. Firouzabadi, A. Khalafi-nejad, *Synth. Commun.* **2006**, *13*, 335.
- [180] Q. Zhou, L. Su, T. Jiang, B. Zhang, R. Chen, H. Jiang, Y. Ye, M. Zhu, D. Han, J. Shen, G. Dai, Z. Li, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 1125.
- [181] A. V. Kalinin, J. F. Bower, P. Riebel, V. Snieckus, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2986.
- [182] S. Ihrig, *Lipascenscreening und Up-Scaling-Verfahren zur stereoselektiven biokatalytischen Synthese von Centropolyindanen*. Bachelorarbeit, Universität Bielefeld, **2016**.
- [183] H. G. O. Becker, R. Beckert, G. Domschke, E. Fanghänel, W. D. Habicher, P. Metz, D. Pavel, K. Schwetlick, *Organikum. Organisch-chemisches Grundpraktikum*, 21. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.
- [184] a) A. Dalla Cort, L. Mandolini, C. Pasquini, L. Schiaffino, *New J. Chem.* **2004**, *28*, 1198; b) A. Szumna, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 4274.
- [185] P. Rommelmann, W. Greschner, S. Ihrig, B. Neumann, H.-G. Stammer, H. Gröger, D. Kuck, "Röntgenkristallstruktur von syn-CI, CCDC 1828661", zu finden unter <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/>, **2018**.
- [186] a) M. Senma, Z. Taira, T. Taga, K. Osaki, *Cryst. Struct. Comm.* **1973**, *2*, 311; b) A. W. Cordes, C. K. Fair, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci* **1974**, *30*, 1621; c) P. Singh, J. D. McKinney, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci* **1978**, *34*, 2956.
- [187] P. Rommelmann, W. Greschner, S. Ihrig, B. Neumann, H.-G. Stammer, H. Gröger, D. Kuck, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 3891–3899.
- [188] H. Kotsuki, K. Arimura, T. Araki, T. Shinohara, *Synlett* **1999**, 462.
- [189] a) R. J. Heffner, M. M. Joullié, *Synth. Commun.* **1991**, *21*, 2231; b) R.-Y. Yang, D. Kizer, H. Wu, E. Volckova, X.-S. Miao, S. M. Ali, M. Tandon, R. E. Savage, T. C. K. Chan, M. A. Ashwell, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5635.
- [190] T. Barros, J. Williamson, O. Antunes, E. Muri, *Lett Drug Des Discov* **2009**, *6*, 186.
- [191] W. A. Mosher, R. W. Soeder, *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 1561.
- [192] M. P. Sammes, P. N. Maini, *Magn. Reson. Chem.* **1987**, *25*, 372.
- [193] D. Kuck, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 515; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1984**, *23*, 508.
- [194] B. Nachtigall, *Ein neuer Weg zur Synthese funktionalisierter Tribenzotriquinacene Einfluss einer elektronenziehenden Gruppe auf die Synthese von Tribenzotriquinacenen*. Bachelorarbeit, Universität Bielefeld, **2016**.
- [195] T. M. Kosak, H. A. Conrad, A. L. Korich, R. L. Lord, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 7460.
- [196] S. Punna, S. Meunier, M. G. Finn, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2777.
- [197] S. B. Waghmode, G. Mahale, V. P. Patil, K. Renalson, D. Singh, *Synth. Commun.* **2013**, *43*, 3272.
- [198] B. C. Raju, R. N. Rao, P. Suman, P. Yogeewari, D. Sriram, T. B. Shaik, S. V. Kalivendi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 2855.
- [199] F. Moris-Varas, A. Shah, J. Aikens, N. P. Nadkarni, J. D. Rozzell, D. C. Demirjian, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 2183.
- [200] A. Hummel, *Screening Assay for Hydrolases*, Universität Bielefeld, **2017**.
- [201] Sigma-Aldrich, *Spezifikationsdatenblatt Bromthymolblau*.
- [202] K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry. A Textbook*, 7. Aufl., Springer, Cham, **2018**.
- [203] P. Rommelmann, B. Nachtigall, T. Guntelmann, H. Gröger, D. Kuck, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 5635-5642.

- [204] a) T. Wang, Q.-Q. Hou, Q.-F. Teng, X.-J. Yao, W.-X. Niu, X.-P. Cao, D. Kuck, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 12412; b) T. Wang, Y.-F. Zhang, Q.-Q. Hou, W.-R. Xu, X.-P. Cao, H.-F. Chow, D. Kuck, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 1062; c) W.-R. Xu, H.-F. Chow, X.-P. Cao, D. Kuck, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 9335; d) W.-R. Xu, H.-F. Chow, X.-P. Cao, D. Kuck, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 4221.
- [205] L. Friedman, H. Shechter, *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 877.
- [206] K. W. Rosenmund, E. Struck, *Ber. Dtsch. Chem. Ges. A and B* **1919**, *52*, 1749.
- [207] P. Arthur, D. C. England, B. C. Pratt, G. M. Whitman, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 5364.
- [208] F. Wöhler, J. Liebig, *Ann.* **1832**, *3*, 249, 267.
- [209] J. Dumas, F. Malaguti, F. LeBlanc, *Compt. Rend.* **1847**, *25*, 384, 473.
- [210] C. Gerhardt, *Ann.* **1858**, *108*, 214.
- [211] A. W. Hofmann, *Ber.* **1883**, *16*, 558.
- [212] E. Bamberger, *Ber.* **1902**, *35*, 4293.
- [213] A. E. Chichibabin, *J. Russ. Phys. Chem. Soc.* **1915**, *47*, 709.
- [214] A. E. Tschitschibabin, P. A. Moschkin, *J. prakt. Chem.* **1924**, *107*, 109.
- [215] P. Sabatier, G. Gaudion, *Compt. Rend.* **1917**, *165*, 224, 310.
- [216] A. Mailhe, F. de Godon, *Compt. Rend.* **1917**, *165*, 557.
- [217] A. Mailhe, F. de Godon, *Compt. Rend.* **1918**, *166*, 215.
- [218] L. R. U. Spence, D. J. Butterbaugh, F. W. Robinson, *Chem. Abstr.* **1944**, *38*, 3296.
- [219] R. B. Bishop, W. I. Denton, *Chem. Abstr.* **1950**, *44*, 2545.
- [220] W. I. Denton, R. B. Bishop, H. P. Caldwell, H. D. Chapman, *Ind. eng. Chem.* **1950**, *42*, 796.
- [221] Z. Rappoport, J. F. Liebman (Hrsg.) *Patai Series: The Chemistry of Functional Groups. The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic acids*, J. Wiley and Sons, West Sussex, **2009**.
- [222] a) S. Gabriel, R. Meyer, *Ber.* **1881**, *14*, 2332; b) B. Lach, *Chem. Ber.* **1884**, *17*, 1571.
- [223] C. Moureu, *Bull. Soc. Chim.* **1894**, *11*, 1067.
- [224] W. Borsche, *Ber.* **1906**, *39*, 2503.
- [225] M. O. Forster, H. M. Judd, *J. Chem. Soc.* **1910**, *97*, 254.
- [226] R. Scholl, J. Adler, *Monatsh.* **1918**, *39*.
- [227] O. L. Brady, G. P. McHugh, *J. Chem. Soc.* **1923**, *123*, 1190.
- [228] J. K. Augustine, R. N. Atta, B. K. Ramappa, C. Boodappa, *Synlett* **2009**, *20*, 3378.
- [229] R. M. Denton, J. An, P. Lindovska, W. Lewis, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 2899.
- [230] J.-L. Zhu, F.-Y. Lee, J.-D. Wu, C.-W. Kuo, K.-S. Shia, *Synlett* **2007**, *8*, 1317.
- [231] M. K. Singh, M. K. Lakshman, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3079.
- [232] M. Keita, M. Vandamme, J.-F. Paquin, *Synthesis* **2015**, *47*, 3758.
- [233] L. de Luca, G. Giacomelli, A. Porcheddu, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6272.
- [234] S. Chandrasekhar, K. Gopalaiah, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 755.
- [235] a) B. Jose, M. S. Sulatha, P. M. Pillai, S. Prathapan, *Synth. Commun.* **2000**, *30*, 1509; b) C. P. Miller, D. H. Kaufman, *Synlett* **2000**, 1169.
- [236] K. Lee, S.-B. Han, E.-M. Yoo, S.-R. Chung, H. Oh, S. Hong, *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 1775.
- [237] S. Chandrappa, T. S. R. Prasanna, K. Vinaya, D. S. Prasanna, K. S. Rangappa, *Synth. Commun.* **2013**, *43*, 2756.
- [238] X. Zhang, J. Sun, Y. Ding, L. Yu, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5840.
- [239] E. Choi, C. Lee, Y. Na, S. Chang, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2369.
- [240] W. Jang, S. E. Kim, C. M. Yang, S. Yoon, M. Park, J. Lee, Y. Kim, M. Kim, *Catalysis Communications* **2015**, *60*, 120.
- [241] K. Tambara, G. D. Pantoş, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 2466.
- [242] L. Menéndez-Rodríguez, E. Tomás-Mendivil, J. Francos, C. Nájera, P. Crochet, V. Cadierno, *Catal. Sci. Technol.* **2015**, *5*, 3754.
- [243] O. Attanasi, P. Palma, F. Serra-Zanetti, *Synthesis* **1983**, 741.

- [244] X.-Y. Ma, Y. He, T.-T. Lu, M. Lu, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 2560.
- [245] Y. Asano, Y. Kato, *FEMS Microbiology Letters* **1998**, *158*, 185.
- [246] J. Nomura, H. Hashimoto, T. Ohta, Y. Hashimoto, K. Wada, Y. Naruta, K.-I. Oinuma, M. Kobayashi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 2810.
- [247] J. Nomura, H. Hashimoto, T. Ohta, Y. Hashimoto, K. Wada, Y. Naruta, K.-I. Oinuma, M. Kobayashi, "Röntgenkristallstruktur von OxdA", zu finden unter <https://www.rcsb.org/structure/3W08>, **2018**.
- [248] A. Warshel, G. Naray-Szabo, F. Sussman, J.-K. Hwang, *Biochemistry* **1989**, *28*, 3629.
- [249] H. Sawai, H. Sugimoto, Y. Kato, Y. Asano, Y. Shiro, S. Aono, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 32089.
- [250] H. Sawai, H. Sugimoto, Y. Kato, Y. Asano, Y. Shiro, S. Aono, "Röntgenkristallstruktur von OxdRE mit Propionaldoxim", zu finden unter <http://www.rcsb.org/structure/3A16>, **2018**.
- [251] J. A. Hasler, R. Estabrook, M. Murray, I. Pikuleva, M. Waterman, J. Capdevila, V. Holla, C. Helvig, J. R. Falck, G. Farrell, L. S. Kaminsky, S. D. Spivack, E. Boitier, P. Beaune, *Mol. Aspects Med.* **1999**, *20*, 1.
- [252] R.-Z. Liao, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 9396.
- [253] S.-X. Xie, Y. Kato, Y. Asano, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2001**, *65*, 2666.
- [254] T. Betke, J. Higuchi, P. Rommelmann, K. Oike, T. Nomura, Y. Kato, Y. Asano, H. Gröger, *ChemBioChem* **2018**, *19*, 768.
- [255] R. Metzner, *Chemoenzymatic syntheses for the production of Rosuvastatin and other enantiomerically pure pharmaceutical building blocks. Dissertation*, Universität Bielefeld, **2014**.
- [256] R. Metzner, S. Okazaki, Y. Asano, H. Gröger, *ChemCatChem* **2014**, *6*, 3105.
- [257] A. J. Scheen, *Expert Opin. Pharmacother.* **2012**, *13*, 81.
- [258] D. Enders, J. P. Shilvock, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 359.
- [259] M. North, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4126.
- [260] C. Langenberg, S. J. Sharp, M. B. Schulze, O. Rolandsson, K. Overvad, N. G. Forouhi, J. Spranger, D. Drogan, J. M. Huerta, L. Arriola, B. de Lauzon-Guillan, M.-J. Tormo, E. Ardanaz, B. Balkau, J. W. Beulens, H. Boeing, H. B. Bueno-de-Mesquita, F. Clavel-Chapelon, F. L. Crowe, P. W. Franks, C. A. Gonzalez, S. Grioni, J. Halkjaer, G. Hallmans, R. Kaaks, N. D. Kerrison, T. J. Key, K. T. Khaw, A. Mattiello, P. Nilsson, T. Norat, L. Palla, D. Palli, S. Panico, J. R. Quirós, D. Romaguera, I. Romieu, C. Sacerdote, M.-J. Sánchez, N. Slimani, I. Sluijs, A. M. W. Spijkerman, B. Teucher, A. Tjonneland, R. Tumino, D. L. van der A, Y. T. van der Schouw, E. J. M. Feskens, E. Riboli, N. J. Wareham, *PLoS medicine* **2012**, *9*, e1001230.
- [261] E. B. Villhauer, J. A. Brinkman, G. B. Naderi, B. F. Burkey, B. E. Dunning, K. Prasad, B. L. Mangold, M. E. Russell, T. E. Hughes, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2774.
- [262] F. F. Fleming, L. Yao, P. C. Ravikumar, L. Funk, B. C. Shook, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7902.
- [263] a) S. A. Savage, G. S. Jones, S. Kolotuchin, S. A. Ramrattan, T. Vu, R. E. Waltermire, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 1169; b) W. J. Metzler, J. Yanchunas, C. Weigelt, K. Kish, H. E. Klei, D. Xie, Y. Zhang, M. Corbett, J. K. Tamura, B. He, L. G. Hamann, M. S. Kirby, J. Marcinkeviciene, *Protein Sci.* **2008**, *17*, 240.
- [264] E. B. Villhauer, J. A. Brinkman, G. B. Naderi, B. E. Dunning, B. L. Mangold, M. D. Mone, M. E. Russell, S. C. Weldon, T. E. Hughes, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2362.
- [265] N. Kato, M. Oka, T. Murase, M. Yoshida, M. Sakairi, S. Yamashita, Y. Yasuda, A. Yoshikawa, Y. Hayashi, M. Makino, M. Takeda, Y. Mirenska, T. Kakigami, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7221.
- [266] L. Pellegatti, J. Sedelmeier, *Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*, 551.
- [267] T. Betke, *geplante Dissertation*, Universität Bielefeld, **2016**.
- [268] K. Oike, *geplante Dissertation*, Universität Bielefeld, **2016**.
- [269] A. Corsaro, U. Chiacchio, V. Pistarà, *Synthesis* **2001**, 1903.
- [270] E. M. Acton, H. Stone, M. A. Leaffer, S. M. Oliver, *Experientia* **1970**, *26*, 473.

- [271] B. Unterhalt, L. Böschmeyer, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1971**, *147*, 153.
- [272] Y. Kato, K. Nakamura, H. Sakiyama, S. G. Mayhew, Y. Asano, *Biochemistry* **2000**, *39*, 800.
- [273] Y. Kato, Y. Asano, *Protein Expr. Purif.* **2003**, *28*, 131.
- [274] K.-I. Oinuma, Y. Hashimoto, K. Konishi, M. Goda, T. Noguchi, H. Higashibata, M. Kobayashi, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 29600.
- [275] Y. Kato, S. Yoshida, S.-X. Xie, Y. Asano, *J. Biosci. Bioeng.* **2004**, *97*, 250.
- [276] S.-X. Xie, Y. Kato, H. Komeda, S. Yoshida, Y. Asano, *Biochemistry* **2003**, *42*, 12056.
- [277] Y. Kato, Y. Asano, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69*, 2254.
- [278] T. Betke, P. Rommelmann, K. Oike, Y. Asano, H. Gröger, *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 12533; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12361.
- [279] T. Betke, P. Rommelmann, *Unveröffentlichte Ergebnisse*, Universität Bielefeld, **2016**.
- [280] K. Wels, *Parameterscreening der Biotransformation von Aldehydoximen mittels Aldoximdehydratase*. Bachelorarbeit, Universität Bielefeld, **2016**.
- [281] J. C. Wong, G. Tang, X. Wu, C. Liang, Z. Zhang, L. Guo, Z. Peng, W. Zhang, X. Lin, Z. Wang, J. Mei, J. Chen, S. Pan, N. Zhang, Y. Liu, M. Zhou, L. Feng, W. Zhao, S. Li, C. Zhang, M. Zhang, Y. Rong, T.-G. Jin, X. Zhang, S. Ren, Y. Ji, R. Zhao, J. She, Y. Ren, C. Xu, D. Chen, J. Cai, S. Shan, D. Pan, Z. Ning, X. Lu, T. Chen, Y. He, L. Chen, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8903.
- [282] C.-F. Yao, K.-H. Kao, J.-T. Liu, C.-M. Chu, Y. Wang, W.-C. Chen, Y.-M. Lin, W.-W. Lin, M.-C. Yan, J.-Y. Liu, M.-C. Chuang, J.-L. Shiue, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 791.
- [283] C. Czekelius, E. M. Carreira, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 612.
- [284] H. B. Hass, M. L. Bender, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 3482.
- [285] E. Brenna, M. Crotti, F. G. Gatti, A. Manfredi, D. Monti, F. Parmeggiani, S. Santangelo, D. Zampieri, *ChemCatChem* **2014**, *6*, 2425.
- [286] H. Yavuzer, *Rationalizing the enantioselectivity and activity of aldoxime dehydratases and their application in organic synthesis*. Masterarbeit, Universität Bielefeld, **2017**.
- [287] a) Sigma-Aldrich, *Spezifikationsdatenblatt Boc-L-Prolinol*; b) Sigma-Aldrich, *Spezifikationsdatenblatt Boc-D-Prolinol*.
- [288] L. Pogliani, M. Ellenberger, J. Valat, A. M. Bellocq, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1975**, *7*, 345.
- [289] R. E. Galardy, J. R. Alger, M. Liakopoulou-Kyriakides, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1982**, *19*, 123.
- [290] C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. de Leeuw, H. P. M. de Leeuw, C. Altona, *Biopolymers* **1981**, *20*, 1211.
- [291] L. Pogliani, M. Ellenberger, J. Valat, *Org. Magn. Reson.* **1975**, *7*, 61.
- [292] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 8. Aufl., Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, **2012**.
- [293] D. Prat, A. Wells, J. Hayler, H. Sneddon, C. R. McElroy, S. Abou-Shehada, P. J. Dunn, *Green Chem* **2016**, *18*, 288.
- [294] Y. Izumi, I. Chibata, T. Itoh, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 176.
- [295] Y. J. Chung, E. J. Ryu, G. Keum, K. Byeang Hyeon, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 209.
- [296] M. Tamura, R. Tamura, Y. Takeda, Y. Nakagawa, K. Tomishige, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 6656.
- [297] D. Spasyuk, S. Smith, D. G. Gusev, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 2538.
- [298] W. Kuriyama, T. Matsumoto, O. Ogata, Y. Ino, K. Aoki, S. Tanaka, K. Ishida, T. Kobayashi, N. Sayo, T. Saito, *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *16*, 166.
- [299] S. Werkmeister, J. Neumann, K. Junge, M. Beller, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 12226.
- [300] S. Werkmeister, K. Junge, M. Beller, *Org. Process Res. Dev.* **2014**, *18*, 289.
- [301] C. Noula, V. Loukas, G. Kokotos, George, *Synthesis* **2002**, 1735.
- [302] R. Ciriminna, M. Pagliaro, *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 245.
- [303] R. J. Abraham, B. D. Hudson, W. A. Thomas, *Magn. Reson. Chem.* **1986**, *24*, 812.
- [304] M. Vasiliou, I. Cervenka, P. Gaertner, M. Weil, C. Schröder, K. Bica, *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, *26*, 1069.

- [305] M. Klapper, S. Götze, R. Barnett, K. Willing, P. Stallforth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8944.
- [306] S. K. Singh, N. Manne, M. Pal, *Beilstein J. Org. Chem.* **2008**, *4*, Nr. 20.
- [307] P. Rommelmann, T. Betke, H. Gröger, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 1521.
- [308] H. Bisswanger, *Practical Enzymology. Stereoselective and environmentally friendly reactions*, 2. Aufl., Wiley-Blackwell, Weinheim, **2011**.
- [309] O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Cryst.* **2009**, *42*, 339.
- [310] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst. A* **2008**, *64*, 112.
- [311] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst. C* **2015**, *71*.
- [312] A. Singh, A. K. Singh, N. K. Mehrotra, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2004**, *77*, 661.
- [313] R. Sharma, M. Nagar, *J. Indian Chem. Soc.* **2010**, *87*, 1021.
- [314] J. L. Charlton, H. K. Lai, G. N. Lypka, *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 458.
- [315] a) B. Wiese, G. Knühl, D. Flubacher, J. W. Prieß, B. Ulriksen, K. Brödner, G. Helmchen, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3246; b) N. Coşkun, *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 1625.
- [316] P. Jakubec, D. M. Cockfield, P. S. Hynes, E. Cleator, D. J. Dixon, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 1147.
- [317] J. Park, C. Song, K. Choi, T. Sim, B. Moon, E. J. Roh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 5515.
- [318] M. Sathish, J. Chetna, N. H. Krishna, N. Shankaraiah, A. Alarifi, A. Kamal, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 2159.
- [319] S. Li, K. Huang, J. Zhang, W. Wu, X. Zhang, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 10840.
- [320] D. M. Mampreian, A. H. Hoveyda, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2829.
- [321] G. Rajagopal, S. S. Kim, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4351.
- [322] X. Ji, M. Su, J. Wang, G. Deng, S. Deng, Z. Li, C. Tang, J. Li, J. Li, L. Zhao, H. Jiang, H. Liu, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *75*, 111.
- [323] F.-Y. Tang, L.-Q. Qu, Y. Xu, R.-J. Ma, S.-H. Chen, G. Li, *Synth. Commun.* **2007**, *37*, 3793.
- [324] D. Enders, P. Fey, H. Kipphardt, *Org. Prep. Proced. Int.* **2009**, *17*, 1.
- [325] V. Aucagne, D. A. Leigh, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4505.