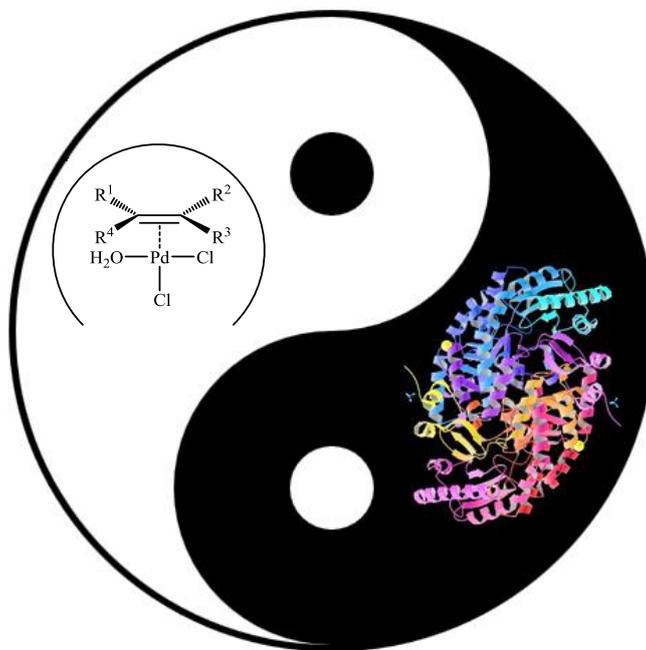


Enantioselektive Synthese von Aminen durch chemoenzymatische Prozesse



Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. rer. nat.

Eingereicht von Florian Uthoff

11.12.2018

Fakultät für Chemie
Universität Bielefeld

Zum Titelblatt:

Der Palladium-Komplex stammt aus dem von *Baeckvall et al.* 1979^[i] vorgeschlagenen Mechanismus der Palladium katalysierten Wacker-Oxidation. Der Mechanismus wird immer wieder in der Literatur^[ii] diskutiert, die Details sind aber bis heute nicht aufgeklärt. Einige Zwischenstufen werden allgemein akzeptiert. In dem Bild ist eine davon aufgeführt.

Auf der schwarzen Fläche des Yin-Yang-Symbols ist die Kristallstruktur des *Vibrio fluvialis*-Aminotransferase Monomers abgebildet.^[iii] Aminotransferasen sind Pyridoxal-5'-phosphat abhängige Enzyme, die in der Natur eine zentrale Rolle im Stickstoffmetabolismus spielen.^[iv] In bakteriellen Zellen werden die Aminotransferasen zum Aufbau von Aminosäuren eingesetzt, die später in größere Aggregate der Zelle wie Peptidoglycane eingebaut werden.^[v] Weil die Aminotransferase auch Anwendung in der medizinischen Chemie findet, versuchten *Midelfort et al.* mit Hilfe einer Kristallstruktur des Enzyms die Substratbreite zu erklären und zu optimieren.^[iii]

[i] Baeckvall, J. E., B. Akermark, Ljunggren, S. O., *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 2411-2416

[ii] J. J. Dong, W. R. Browne, B. L. Feringa, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, n/a; b) J. A. Keith, R. J. Nielsen, J. Oxgaard, W. A. Goddard, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12342–12343; c) D. D. Kragten, van Santen, Rutger A., J. J. Lerou, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *103*, 80–88.

[iii] K. S. Midelfort, R. Kumar, S. Han, M. J. Karmilowicz, K. McConnell, D. K. Gehlhaar, A. Mistry, J. S. Chang, M. Anderson, A. Villalobos et al., *Protein Engineering Design and Selection* **2013**, *26*, 25-33

[iv] B.-Y. Hwang, B.-K. Cho, H. Yun, K. Koteswar, B.-G. Kim, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2005**, *37*, 47–55.

[v] K. Tanizawa, Y. Masu, S. Asano, H. Tanaka, K. Soda, *Journal of Biological Chemistry* **1989**, *264*, 2445–2449.

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit bzw. Leistung eigenständig, ohne fremde Hilfe und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle sinngemäß und wörtlich übernommenen Textstellen aus der Literatur bzw. dem Internet habe ich als solche kenntlich gemacht.

Florian Uthoff

Danksagung

Mein größter Dank gilt Prof. Dr. Harald Gröger, der nicht nur die wissenschaftliche Zusammenarbeit sehr angenehm und konstruktiv gestaltet hat, sondern auch über das Akademische hinaus Aktivitäten mit der Arbeitsgruppe bereichert hat. So konnte ich neben dem fachlichen Wissen auch viele unvergessliche Momente erleben.

Bedanken möchte ich mich auch bei Prof. Dr. Norbert Sewald für die (sehr kurzfristige) Übernahme des Zweitgutachtens.

Großer Dank gilt auch meinen Labormitstreitern der OC1. Allen voran die Langzeitbegleiter Thomas Geisler, Dr. Anke Hummel, Dr. Jens Sproß und Anika Hegemann, die immer frohen Mutes nach Lösungen für die vorgetragenen Herausforderungen suchten. Herzlichen Dank auch an die anderen Labormitstreiter, die neben der Arbeit auch die Feierabende versüßten. Besonders in Erinnerung werden mir die Basketballabende mit Jana Löwe, Alessa Hinzmann, Carmen Plass, Christian Langer, Tobias Betke und Jannis Nonnhoff bleiben.

Ebenfalls nicht vergessen werde ich das Projekt zur Synthese von Ozanimod. Das Projekt konnte jedoch nur so erfolgreich durchgeführt werden, weil alle Kollegen konstruktiv harmoniert haben. Vielen Dank Jana Löwe, Nadine Zumbrägel, Dr. Kai Donsbach, Dr. Christian Quirin, Dr. Ralph Groß, Dr. Ulf Renner und Katharina Krausmann für die großartige Zusammenarbeit.

Ebenfalls als Langzeitbegleiter sehe ich meine Freunde die HPLC, den Homogenisator und die Spülmaschine, die in gut abgestimmtem Rhythmus und exzellenter Kontinuität Ablenkung zu meinen Forschungsarbeiten boten. Schön, dass ich so viel Zeit mit euch verbringen durfte.

Neben Maschinen des Labors (wobei die Grenze manchmal fließend war) möchte ich mich bei meinen Langzeitkollegen Tobias Betke, Dr. Philipp Rommelmann und Matthias Pieper im Labor für die stets unterhaltsame Arbeitsatmosphäre bedanken. Nie vergessen werde ich den Freitag mit seiner individuellen Musik. (An dieser Stelle auch ein herzliches Dankeschön an Helene Fischer, die die musikalische Unterhaltung erst möglich machte.) Besonders in Tobias Betke habe ich einen echten Freund gefunden, der auch privat immer wieder meinen Alltag aufheitert.

Fast wie Maschinen funktioniert haben meine Bachelor und Forschungspraktikanten. Vielen Dank für die schöne Laborzeit und die kunterbunten Ergebnisse Mentor Hyseni, Christian Langer, Sebastian Hedwig, Niklas Adebar, Inna Brod, Philipp Holtorf, Shari Heidemeyer, Nils Weißing, Christina Harms, Paul Machui und Dario Duwe.

Besonders möchte ich an dieser Stelle meinen Eltern, meinem Bruder und meiner Verlobten Birte Strohmann für den täglichen mentalen Aufbau, das Mutmachen und den Beistand während der gesamten Phase meiner Doktorarbeit danken. Vor allem in der Crunchtime konnte ich mich auf euch verlassen. Danke, dass ihr immer hinter mir gestanden habt.

Inhalt

1. Einleitung	1
2. Stand der Wissenschaft	5
2.1. Wacker-Oxidation	5
2.2. Transaminasen	7
2.3. Amindehydrogenasen	13
2.4. Lipasen	16
2.5. Ozanimod	20
2.5.1. Multiple Sklerose	20
2.5.2. Colitis ulcerosa	25
2.5.3. Synthese von Ozanimod	25
3. Motivation & Zielsetzung	27
3.1. Chemoenzymatische Prozesse	27
3.2. Synthese eines Schlüsselbausteins für Ozanimod	32
4. Analytik und Synthese der Referenzsubstanzen	35
4.1. Analytik	35
4.1.1. ¹ H-NMR Analytik	35
4.1.2. Aktivitätsbestimmung von Enzymen	38
4.1.3. E-Wert	40
5. Enzymatische reduktive Aminierung	41
5.1. Transaminasen	41
5.2. Amindehydrogenasen	48
6. Wacker-Oxidation	59
7. Formale asymmetrische Hydroaminierung	62
7.1. Reaktorkonstruktion	62
7.2. Formale asymmetrische Hydroaminierung in Verbindung mit Transaminasen	67
7.3. Formale asymmetrische Hydroaminierung in Verbindung mit Amindehydrogenasen	69
7.4. Hochskalierung der Tandemreaktion in einen erweiterten Labormaßstab	71
8. Ozanimod	74

8.1. Retrosynthese	74
8.2. Biokatalytischer Schlüsselschritt.....	76
8.2.1. Transaminase.....	76
8.2.2. Lipase	80
8.3. Totalsynthese.....	87
8.3.1. Reduktion von Naphthalin 56.....	88
8.3.2. Isomerisierung von Dihydronaphthalin 108.....	91
8.3.3. Oxidative Doppelbindungsspaltung	97
8.3.4. Aufbau des Indanongerüsts	100
8.3.5. Derivatisierung zum Nitril.....	104
8.3.6. Reduktive Aminierung	112
8.3.7. Kinetische Racematspaltung	114
8.3.8. Racemisierung primärer Amine	115
8.3.9. Oxadiazolaufbau.....	126
8.4. Bewertung der erarbeiteten Synthesen	134
9. Zusammenfassung und Ausblick.....	139
9.1. Chemoenzymatische Prozesse.....	139
9.2. Ozanimod	141
9.3. Sichtbarkeit der Arbeit	143
10. Experimenteller Teil.....	144
10.1. Verwendete Chemikalien	144
10.2. Verwendete Geräte	144
10.2.1. NMR-Spektroskopie.....	144
10.2.2. HPLC.....	145
10.2.3. GC	145
10.2.4. Photometer.....	146
10.2.5. Bradford Assay.....	147
10.2.6. Gel-Elektrophorese / SDS-Page	147
10.3. Synthesen und Biotransformationen.....	147

10.3.1. Synthese der Referenzsubstanzen.....	147
10.3.2. Hydroaminierung.....	159
10.3.3. Ozanimod	211
11. Literatur	277
12. Anhang	295

1. Einleitung

Der Mensch lebt am liebsten mit Dingen, die er kennt, besitzt oder ohne großen Aufwand bekommen kann. Das führte dazu, dass sämtliche Produkte, die im Alltag Verwendung finden, zunächst aus Ressourcen gewonnen wurden, die die Erde zur Verfügung stellt.^[1] Neben den in aller Munde befindlichen Ressourcen wie Erdöl und Kohle stehen aber auch Metalle, die aus Bergwerken gewonnen werden.^[2] Durch die Expansion der Menschheit werden diese Vorräte immer knapper und weil niemand seinen Lebensstandard senken möchte, wird nach Alternativen gesucht.^[3] Neben der Suche nach alternativen Rohstoffquellen wird versucht bestehende Verfahren mit besseren Katalysatoren effizienter zu gestalten.^[4] Katalysatoren beschleunigen chemische Reaktionen und werden dabei selbst nicht verbraucht. Mit diesen Katalysatoren können bestehende Prozesse effizienter gestaltet werden, aber auch ganz neue Reaktionen ermöglicht werden.^[5] Die Materialien für die Katalysatoren werden meist aus den oben aufgeführten Rohstoffquellen bezogen, sodass die provokante Frage der Nachhaltigkeit gestellt werden darf. Langfristig bedeutet diese Art des Ressourcenverbrauchs, dass entweder alle wertvollen Materialien recycelt werden oder eine alternative, nachwachsende Quelle gefunden werden muss.

Unter dem letzten Aspekt sind in den letzten Jahrzehnten Enzyme in den Fokus der Wissenschaft gelangt, welche lediglich aus einfachen, natürlichen und nachwachsenden Bausteinen bestehen.^[6] Die Katalysatoren der Natur „arbeiten“ häufig sehr selektiv und unter sehr milden Bedingungen, um das Leben des Organismus zu erhalten.^[7] Diese Eigenschaften sollten auch in der organischen Synthese eingesetzt werden. In manchen Fällen scheiterte eine Anwendung allerdings an biotechnologischen Herausforderungen wie Überexpression oder Substratspezifität.^[7] Mittlerweile stellen diese Faktoren jedoch keine technische Herausforderung mehr dar,^[8] sodass Enzyme bereits in einigen Großproduktionen Anwendung finden.^[9] Auch die kommerzielle Verfügbarkeit von Enzymen steigt stetig an. Diese Anwenderfreundlichkeit sorgt dafür, dass mittlerweile auch in konventionellen Prozessen über Biotechnologie nachgedacht wird.^[7]

In der Industrie finden Biokatalysatoren bevorzugt Anwendung bei Stoffklassen, die auf chemischem Weg nur aufwändig oder gar nicht zugänglich sind. Bevorzugt werden auf diese Weise Aminosäuren, Aminoalkohole, Alkohole, Epoxide und Amine hergestellt.^[7] Auf letztere Stoffklasse wird in dieser Arbeit detaillierter eingegangen.

In den 1850er Jahren wurden Amine von *Wurtz* das erste mal beschrieben.^[10] Deutlich später wurde entdeckt, dass Amine in der Natur weit verbreitet auftreten. Meist sind sie in größeren Biomolekülen in Form eines Peptidgerüsts oder in Alkaloiden verbaut.^[11] Neben den natürlich vorkommenden Aminen stellen sie auch eine wichtige industrielle Substanzklasse dar, denen im Alltag begegnet wird.^[12,13] Amine können abhängig vom Betrachter unterschiedlich kategorisiert werden (siehe Abbildung 1). Im akademischen Sinne werden primäre, sekundäre und tertiäre Amine unterschieden^[14], während aus

stoffeigenschaftenlicher Sicht auch zwischen leichten und schweren Aminen unterschieden werden kann. Leichte Amine werden als Bausteine in verschiedenen Branchen der Chemie wie Arzneimittel, Herbizide, Kosmetika etc. eingesetzt. Als Endprodukte finden sie Anwendung in der Klebstoffindustrie zum Beispiel als Vulkanisier-Beschleuniger.^[12] Schwere Amine dienen als Korrosionsschutz oder werden als kationische Tenside zum Waschen von erzhaltigen Gesteinen eingesetzt.^[13,15]

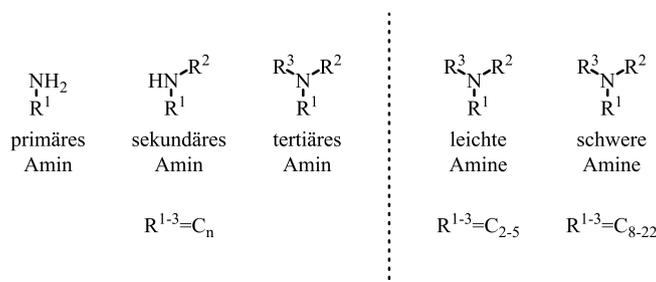


Abbildung 1: Klassifizierung von Aminen aus akademischer Sicht und Perspektive der physikalischen Eigenschaften.^[12,14,16]

In dieser Arbeit liegt der Fokus auf den erstgenannten leichten Aminen und im Speziellen auf enantiomerenreinen Aminen. Diese chiralen Bausteine werden aus industrieller Sicht vor allem in pharmazeutischen Anwendungen eingesetzt.^[17] 40 % der heutigen Wirkstoffe enthalten eine chirale Aminfunktionalität.^[18]

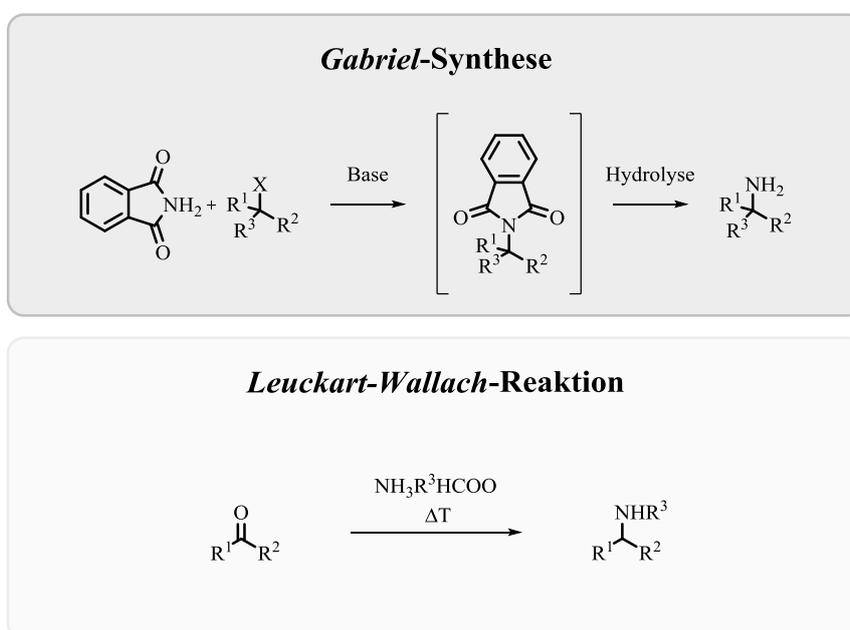


Abbildung 2: Übliche Verfahren zur Synthese von primären Aminen.^[19-23]

Die klassische Herstellungsmethode für primäre Amine ist die *Gabriel-Synthese*. Dabei wird ein Alkylhalogenid mit Phthalimid im basischen Milieu umgesetzt. Die zwei Carbonsäurefunktionalitäten am Stickstoff verhindern eine Mehrfachalkylierung und nach Hydrolyse kann das primäre Amin leicht isoliert werden (siehe Abbildung 2).^[19-21] Im Sinne der Atomökonomie und der Substratverfügbarkeit

findet jedoch eher die *Leuckart-Wallach-Reaktion* Anwendung. Dabei werden leicht zugängliche und funktionalisierbare Carbonylverbindungen mit Ammoniumformiat zu Aminen umgesetzt. Hohe Temperaturen ermöglichen die Spaltung der Ameisensäure und die Freisetzung von Kohlenstoffdioxid. Durch die Wahl der Ammoniumkomponente können primäre, sekundäre und tertiäre Amine auf diesem Wege synthetisiert werden.^[22,23] Die hohen Temperaturen von 160-200 °C führen unter Umständen zu Stabilitäts Herausforderungen von Substrat- und Zielmolekül, sodass in jüngeren Arbeiten mit Hilfe eines Katalysators die Aktivierungsenergie deutlich gesenkt werden konnte.^[24]

Im Hinblick auf chirale Amine sind beide Methoden ungeeignet. Bei der klassischen *Leuckart-Wallach-Reaktion* ist aufgrund des Mechanismus keine asymmetrische Induktion möglich^[25], wobei heute auch Katalysatoren veröffentlicht wurden, die eine Stereoinformation induzieren.^[26] Hierbei kommen allerdings kostenintensive Metalle und komplexe Ligandensysteme zum Einsatz, die nur mäßige Selektivitäten hervorrufen. Bei der *Gabriel-Synthese* wäre durch eine S_N2 -Reaktion mit einer enantiomerenreinen Verbindung eine asymmetrische Induktion denkbar. Solange die Reaktion über den S_N2 -Mechanismus abläuft, können gute *ee*-Werte des Produkts erzielt werden. Allerdings läuft die Substitution bei höher substituierten Molekülen bevorzugt über den S_N1 -Mechanismus, sodass die chirale Information verloren geht. Entsprechend kommt eine asymmetrische *Gabriel-Synthese* nicht in Frage. Moderne Ansätze beschäftigen sich mit einer Modifikation des Substitutionsmechanismus über radikalische Zwischenstufen.^[27] So können auch höher substituierte Moleküle ohne Verlust der chiralen Information substituiert werden. Nachteil dieser Methode ist jedoch, dass sich der Aufwand abhängig vom Substitutionsmuster die Synthese des Substrats als sehr hoch darstellt, weshalb sie für industrielle Prozesse als ungeeignet gilt.

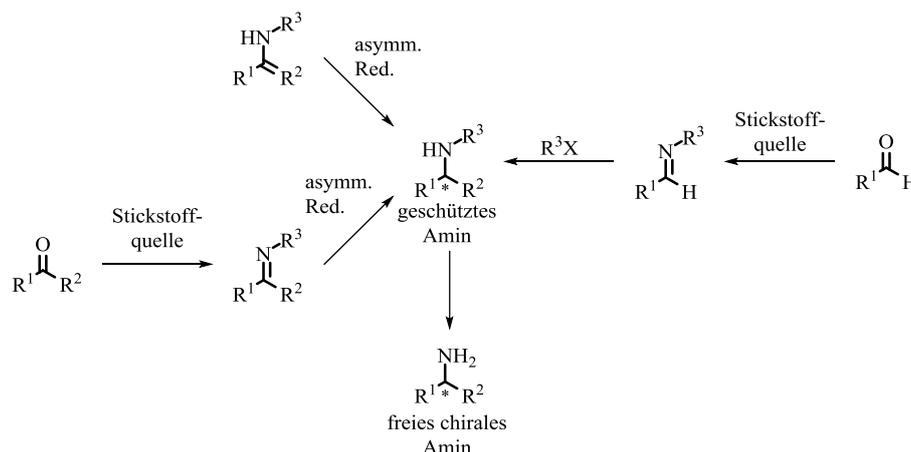


Abbildung 3: Chemische Synthese von chiralen Aminen.^[28]

Heute werden retrosynthetisch eher prochirale Verbindungen als Ausgangsstoffe gewählt und die enantiomerenreinen Verbindungen durch Reduktion von Doppelbindungen mit Hilfe eines chiralen Katalysators hergestellt.^[29] Primäre Amine stellen dabei nach wie vor eine besondere Herausforderung dar, weil die korrespondierenden Imine wenig Stabilität aufweisen können und entsprechende Enamine

abhängig vom Rest des Moleküls auch nur über Schutzgruppen oder -funktionalitäten zugänglich sind. Abbildung 3 zeigt die gängigen Vorgehensweisen zur Synthese von primären Aminen ausgehend von Carbonylverbindungen bzw. Enaminen.^[28] Ein Beispiel stellt die vorübergehende Syntheseroute vom pharmazeutischen Blockbuster *Sitagliptin*[®] **5** dar, welches über eine asymmetrische Hydrierung eines Enamins erhalten werden kann.^[30] Die Katalysatoren zeichnen sich durch hohe Aktivitäten und Selektivitäten aus. Mit der homogenen Wirkungsweise gehen jedoch häufig aufwändige Aufarbeitungen und Produktisolierungen einher. Als Beispiel sei hier wieder der *Sitagliptin*[®] **5** Prozess aufgeführt. Mittlerweile wird *Sitagliptin*[®] **5** auf enzymatischem Weg hergestellt, wobei auch eine prochirale Carbonylverbindung als Ausgangsverbindung verwendet wird. Eine Transaminase wandelt eine Ketofunktion direkt enantioselektiv in ein primäres Amin um.^[31] Durch diese Entwicklung konnte sowohl die Ausbeute gesteigert, als auch die Abfallmenge um 19 % reduziert werden.^[31] Die Wertschätzung dieser Innovation wurde im Jahr 2010 durch den „Presidential Challenge Award 2010“ für grüne Chemie gewürdigt.^[32]

Mittlerweile gibt es eine Vielzahl von Prozessen, die auf dem Weg der Transaminierung enantiomerenreine Amine erzeugen.^[33] In den folgenden Kapiteln wird verstärkt auf diese Enzymklasse eingegangen, um weitere Perspektiven und Einsatzmöglichkeiten aufzuzeigen.

2. Stand der Wissenschaft

2.1. Wacker-Oxidation

Die Wacker-Oxidation beschreibt eine Übergangsmetall katalysierte Oxidation von Alkenen zu Carbonylverbindungen (siehe Abbildung 4). Anfang des 20. Jahrhunderts stieg die Nachfrage nach niederen Carbonylverbindungen.^[34] Bis dahin war es nicht gelungen diese Reaktion in einem Schritt zu realisieren. Industriell wurde Acetylen für den Aufbau niederer organischer Verbindungen eingesetzt.^[34] Erst 1959 konnte ein Konzept vorgestellt werden, bei dem Alkene in Gegenwart von Sauerstoff und Aktivkohle direkt zu Carbonylverbindungen oxidiert werden.^[35] Hierbei wird eine Mischung aus Palladium(II)chlorid und Kupfer(I)chlorid als Katalysator eingesetzt, um Alkene im wässrigen Milieu und in Gegenwart von Sauerstoff zu Aldehyden und Ketonen zu oxidieren (siehe Abbildung 4), wobei im Fall von Ketonen von der *Wacker-Tsuji*-Reaktion gesprochen wird.^[36]

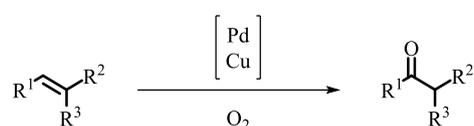


Abbildung 4: Wacker-Oxidation von Alkenen.

Diese zukunftsweisende Entdeckung kann heute als Meilenstein in der Chemie bezeichnet werden. In den 1970er Jahren betrug die Jahresproduktion über 2.5 Mio. t.^[37] Um die Reaktion zu optimieren, wurde versucht, ein molekulares Verständnis des Katalysezyklus zu gewinnen. Erste Mechanismusvorschläge kamen von *Smidt et al.* im Jahr 1962.^[38] Seitdem versuchen viele weitere Arbeitsgruppen die Aufklärung des Mechanismus voranzutreiben.^[39] Neue Befunde führen zur permanenten Angleichung des Mechanismus, welcher zunehmend in seiner Komplexität steigt. So komplex der Mechanismus in der Realität auch sein mag, in Abbildung 5 ist ein vereinfachter Katalysezyklus^[40] aufgezeigt, der ein gutes Verständnis für die chemischen Zusammenhänge vermittelt und durch seine gute Übersicht in etablierten Lehrbüchern^[41] zitiert wird.

Der Katalysezyklus in Abbildung 5 wird am Beispiel von Ethen **2** aufgezeigt, wobei er auch auf beliebige Alkene übertragen werden kann. Ethen wird über die Doppelbindung am Palladium koordiniert und nimmt eine Ligandenposition ein. Nach der Substitution eines Chloridliganden durch ein Wassermolekül, wird dieses deprotoniert und aktiviert das Palladium durch stärkeren Elektronenzug. Die Aktivierung reicht über das Palladium hinweg, sodass die positivierte Doppelbindung des Alkens vom Nukleophil Wasser angegriffen werden kann. Die Abstraktion eines weiteren Chloridliganden führt zu einer freien Koordinationsstelle, die eine β -Hydrideliminierung begünstigt. Der Übergangszustand eines über die Doppelbindung koordinierten Enols zerfällt. Erneute oxidative Addition in α -Position mündet wieder in einen gesättigt, kovalent gebundenen Alkohol. Formal kann von einer Kohlenstoffumlagerung über einen Doppelbindungsübergangszustand am Palladium gesprochen

werden. Aus letzterer Spezies kann direkt das Produkt der Reaktion reaktiv eliminiert werden. Eine weitere Abspaltung von Salzsäure endet in einer Palladium(0)-Spezies, die über einen Kupferkatalysezyklus in Gegenwart von Sauerstoff zum Palladium(II)chlorid oxidiert wird. Als Nettoreaktion bleibt auf diese Weise die Oxidation von Acetaldehyd durch Sauerstoff zu Acetaldehyd **1** stehen.

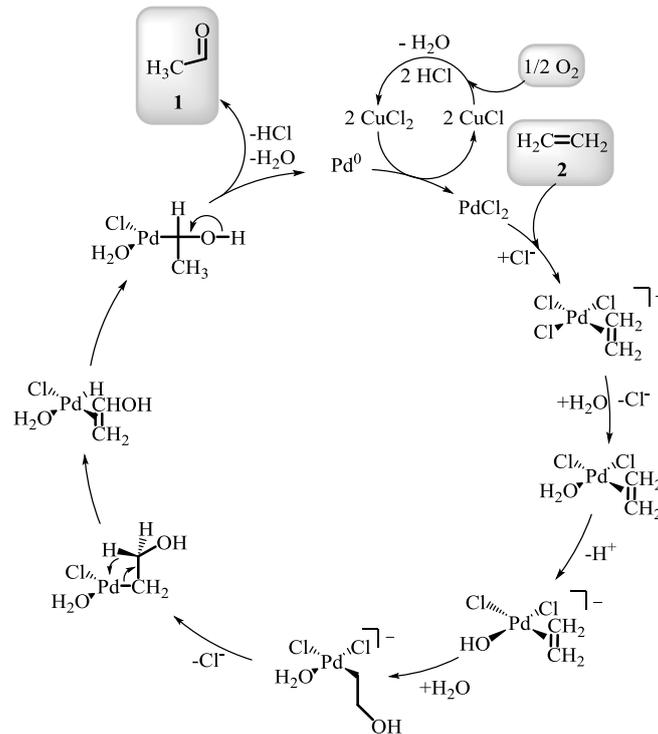


Abbildung 5: Vorgeschlagener Mechanismus der Wacker-Oxidation nach *Henry et al* von 1982.^[40]

2.2. Transaminasen

Beim Aufbau von enantiomerenreinen Aminen auf chemischem Wege entstehen bei der reduktiven Aminierung hohe Kosten durch aufwändige Katalysatoren.^[31] Als Beispiel sei hier wieder das Diabetes-Medikament *Sitagliptin*[®] **5** angeführt. Erst auf der letzten Stufe der Totalsynthese wurde das Stereozentrum durch asymmetrische Hydrierung eines Enamins eingeführt.^[30] Obwohl hohe Enantioselektivitäten erzielt wurden, sorgten der komplexe Katalysator und die aufwändige Abtrennung nach der Reaktion für große Abfallmengen und entsprechend hohe Kosten (siehe Abbildung 6).

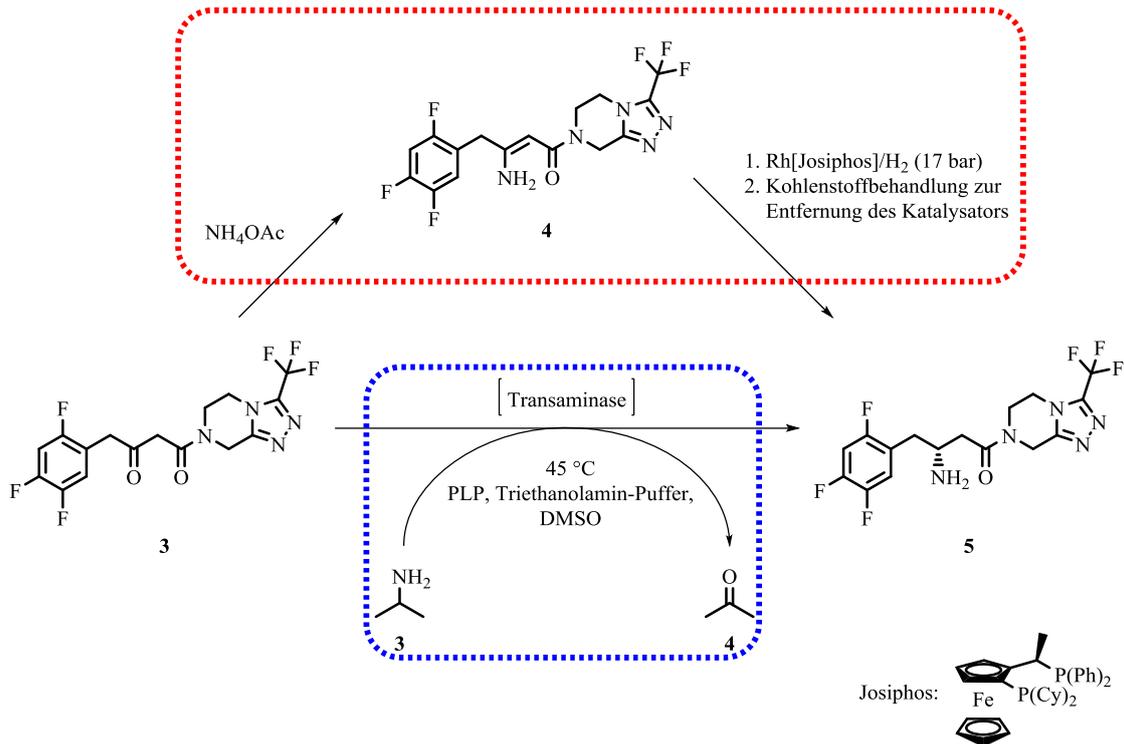


Abbildung 6: Vergleich des chiralen Schlüsselschritt zur Synthese von *Sitagliptin*[®] **5**.^[31,42]

Der Prozess wurde 2010 von einer enzymatischen Route abgelöst, wobei das Abfallgewicht deutlich reduziert und die Gesamtausbeute um 10 % gesteigert werden konnte. Den Schlüssel für diese Innovation stellte eine Transaminase dar, die eine Carbonylverbindung in ein primäres Amin umwandelt. Als Stickstoffquelle dient dem Enzym ein primäres Amin, welches in eine entsprechende Carbonylverbindung überführt wird (siehe Abbildung 7). Diese industrielle Anwendung hat über 10 Jahre auf sich warten lassen, denn die ersten Transaminasen zur Synthese von primären Aminen wurden bereits Ende der 90er Jahre beschrieben.^[43,44]

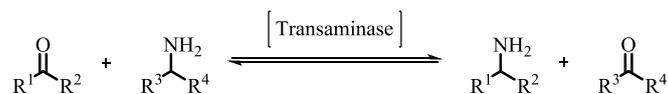


Abbildung 7: Reaktion, die von einer Transaminase katalysiert wird.

Bei der katalytischen Aktivität von Transaminasen handelt es sich immer um Gleichgewichte, sodass verschiedene Anwendungen möglich werden (siehe Abbildung 8).^[45] Am häufigsten wird die Transaminase zur asymmetrischen Synthese von primären, enantiomerenreinen Aminen eingesetzt. Deren Bedeutung kann auch mit industriellen Beispielen belegt werden.^[31,46] Racematspaltungen können in besonderen Fällen interessant sein, weil das thermodynamische Gleichgewicht beim Einsatz von Pyruvat als Cosubstrat deutlich auf der Produktseite liegt.^[45] Die limitierte Ausbeute von 50 % verwandelt die kinetische Racematspaltung aber eher in eine akademische Spielerei gegenüber anderen Methoden mit Hilfe von Lipasen. Eine Variante der kinetischen Racematspaltung stellt die Deracemisierung dar. Dabei werden zwei Enzyme mit unterschiedlichen Stereospezifitäten eingesetzt. Im ersten Schritt trennt eine Transaminase ein racemisch eingesetztes Amin in die Enantiomere. Durch Ergänzung der Reaktion mit einer Transaminase anderer Stereospezifität kann die im ersten Schritt entstandene Carbonylkomponente in das zurückgebliebene Enantiomer transformiert und damit das Racemat vollständig in eines der Enantiomere überführt werden. Akademisch gibt es einige Beispiele für eine erfolgreiche Deracemisierung, allerdings führte der Anspruch des Systems bislang noch zu keiner industriellen Anwendung.^[47]

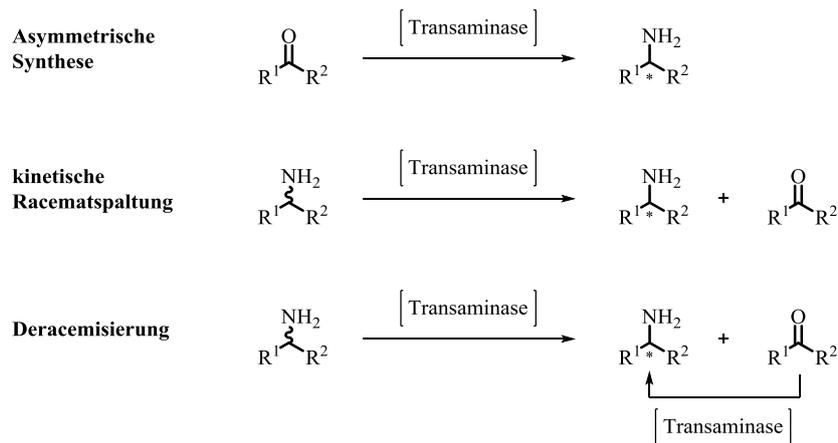


Abbildung 8: Synthetische Anwendungsmöglichkeiten von Transaminasen.

Wie oben beschrieben handelt es sich bei enzymatischen Transaminierungen immer um eine Gleichgewichtsreaktion, sodass für einen maximalen Umsatz ein Druck auf dieses Gleichgewicht ausgeübt werden muss. Im oben aufgegriffenen Beispiel der *Sitagliptin*[®]-Synthese wird ein physikalischer Druck auf das Gleichgewicht in Form von Produktentzug durch Destillation ausgeübt.^[31] Aceton kann durch seinen hohen Dampfdruck im Vakuum entfernt werden und zieht so das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte (siehe Abbildung 9).

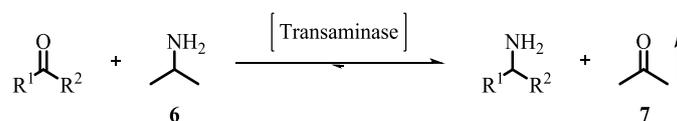


Abbildung 9: Gleichgewichtsverschiebung durch Destillation eines Produkts.

Diese industriell sehr attraktive Methode lässt sich leider nur mit sehr kleinen Aminendonoren durchführen, da bei größeren Resten keine ausreichende Flüchtigkeit mehr gegeben ist. Viele Transaminasen akzeptieren auch kein Isopropylamin zur Katalyse, sodass auf das native Cosubstrat L-Alanin zurückgegriffen werden muss. Weil die Säurefunktionalität des L-Alanins (und ein entsprechender Siedepunkt) keine *in situ* Destillation zulässt, haben sich andere biokatalytische Systeme etabliert, die das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte verschieben (siehe Abbildung 10).^[48]

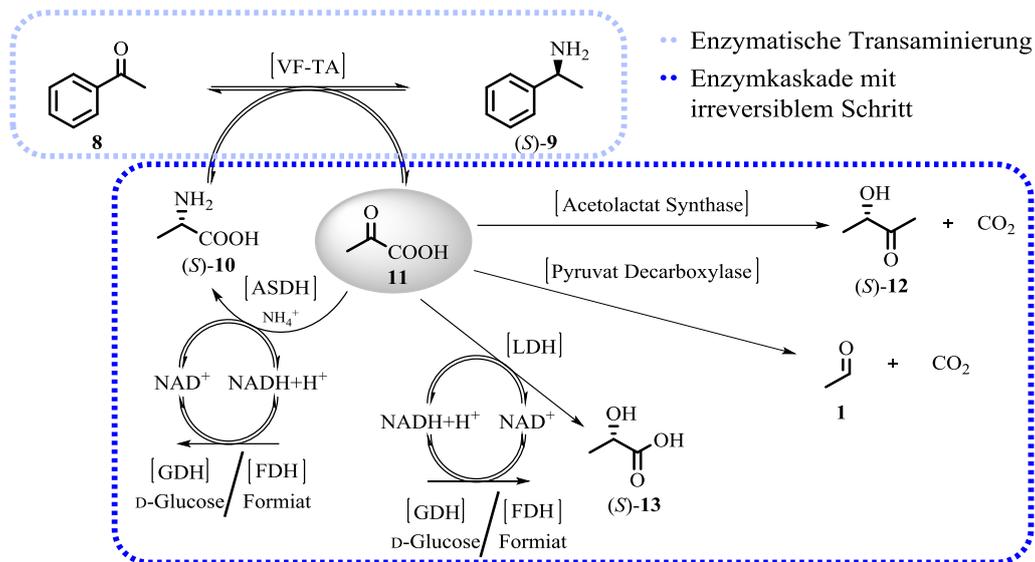


Abbildung 10: Enzymatische Kaskaden, um das Gleichgewicht einer enzymatischen Transaminierung auf die Seite der Produkte zu verschieben.^[48–50]

Die beiden Systeme auf der rechten Seite (siehe Abbildung 10) stellen die vermeintlich einfachsten Möglichkeiten zur Verschiebung des Gleichgewichts dar. Einzig der Zusatz eines weiteren Enzyms (Acetolactat Synthase oder Pyruvat Decarboxylase) ist nötig, um das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte zu verschieben. Im Falle der Acetolactat Synthase entsteht aus zwei Molekülen Pyruvat **11** Acetoin (*S*)-**12** und zwei Äquivalente Kohlenstoffdioxid. Bislang konnten jedoch mit diesem System nur geringe Umsätze sowohl mit Ganzzellkatalysatoren also auch beim Einsatz von Rohextrakten gemessen werden.^[51] Die Aktivität der Acetolactat Synthase im Vergleich zur Transaminase ist sehr gering, sodass große Katalysatormengen zur Verschiebung des Gleichgewichts nötig sind.^[51] Die andere einfache Variante mit einem zusätzlichen Enzym wird durch den Einsatz einer Pyruvat Decarboxylase präsentiert. Dieses System ist etwas tiefergehend untersucht im Vergleich zur Acetolactat Synthase.^[52] Pyruvat wird zu Acetaldehyd **1** und Kohlenstoffdioxid decarboxyliert. So konnten für einige Beispiele gute bis sehr gute Umsätze und sehr gute Enantiomerenüberschüsse gemessen werden. In einigen Fällen kann dieses System jedoch nicht verwendet werden, weil zum Einen der entstehende Aldehyd auch ein potenzielles Substrat darstellt und zum Anderen Acetaldehyd **1** diverse Enzyme inhibiert.^[53] In den beiden anderen Systemen (siehe Abbildung 10 unten links) werden Oxidoreduktasen eingesetzt, die jeweils NADH als Cofaktor benötigen. Im linken Fall regeneriert eine Alaninhydrogenase (ASDH)

L-Alanin (*S*)-**10** in Gegenwart von Ammoniak. Um den Cofaktor nicht äquimolar verwenden zu müssen, werden gängige Regenerierungssysteme aus Formiat und Formiatdehydrogenase (FDH) oder Glucose **14** und Glucosedehydrogenase (GDH) eingesetzt.^[54] Das Potenzial dieses Systems wurde mehrfach aufgezeigt und konnte durch Substratbreite und Selektivität für (*S*)-konfigurierte Amine überzeugen.^[55–58] Die Substratbreite dieses Systems wird zur Zeit noch eingeschränkt, weil bislang keine D-Alanindehydrogenasen beschrieben wurden.^[50] In dem Fall muss für quantitativen Umsatz ein Äquivalent des kostenintensiven D-Alanin (*R*)-**10** vorliegen, während sonst katalytische Mengen genügen. Ein vollständiger Umsatz ist dennoch prinzipiell möglich.^[50] Das flexibelste System stellt hier die Kombination aus Lactatdehydrogenase (LDH) und einem Cofaktorregenerierungssystem bestehend aus Formiat und FDH oder Glucose **14** und GDH dar. Für eine Reihe von pharmakologisch interessanten Bausteinen führte diese Reaktionskaskade zu enantiomerenreinen Aminen in guten bis sehr guten Ausbeuten und sehr guten Enantiomerenüberschüssen (siehe Abbildung 11).^[55,56,59,60] Pyruvat **11** wird dabei durch die LDH zu Lactat (*S*)-**12** reduziert. Der verbrauchte Cofaktor wird durch die Oxidation von Glucose **14** in Gegenwart einer GDH regeneriert. Bis zu dieser Reaktion sind alle Transformationen reversibel. Das Produkt der Oxidation (Gluconolacton **15**) wird jedoch bei dem pH-Wert des Reaktionsmediums verseift und irreversibel zu Verbindung **16** geöffnet.

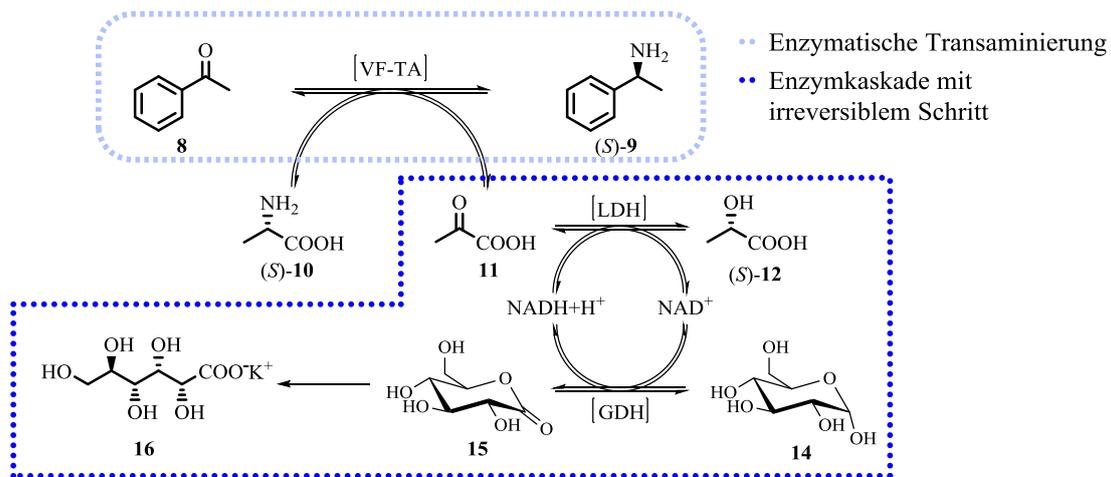


Abbildung 11: Enzymatische Kaskade aus LDH und GDH zur Verschiebung des Gleichgewichts während einer enzymatischen Transaminierung.^[48]

In Abbildung 12 wird der allgemein anerkannte Mechanismus dargestellt, der die Transaminierung in einem einfachen Modell skizziert.^[61] Die Basis für den Katalysezyklus sind Pyridoxalphosphat (PLP) und ein Lysinrest in räumlicher Nähe. Abbildung 12 zeigt den Katalysezyklus am Beispiel von Phenylethylamin (*S*)-**9** und Pyruvat **11** als Cosubstrat. Phenylethylamin (*S*)-**9** übernimmt Pyridoxalphosphat vom Lysinrest als *Schiff'sche Base* (Abbildung 12, oben links). Das vinyloge System ist in Benzylposition des Substrats acide und wird vom Lysinrest deprotoniert. Rearomatisierung des Pyridiniumrings wird durch Protonierung erreicht, wobei die *Schiff'sche Base* in Benzylposition des Phenylethylamins erhalten bleibt. Die Hydrolyse der *Schiff'schen Base* führt zur Freisetzung von

Acetophenon **8**. Die frei gewordene Aminofunktion am PLP wird von Pyruvat **11** adressiert wobei sich unter Abspaltung von Wasser eine Iminbindung ausbildet. Die Benzylposition des Pyridiniumrings wird vom Lysinrest deprotoniert. Das Proton wird auf die α -Position von Pyruvat **11** übertragen. Rearomatisierung führt dazu, dass die *Schiff'sche Base* wieder in Benzylposition des Pyridiniumrings liegt. Unter Abspaltung von L-Alanin (*S*)-**10** wird PLP wieder vom Lysinrest übernommen und der Zyklus beginnt von neuem. Der Schlüsselschritt des Zyklus folglich besteht in der Protonenumlagerung, die durch den Lysinrest katalysiert und zur Umorientierung der *Schiff'schen Base* führt. Das Hydrolyseprodukt entspricht dem Transaminierungsprodukt.

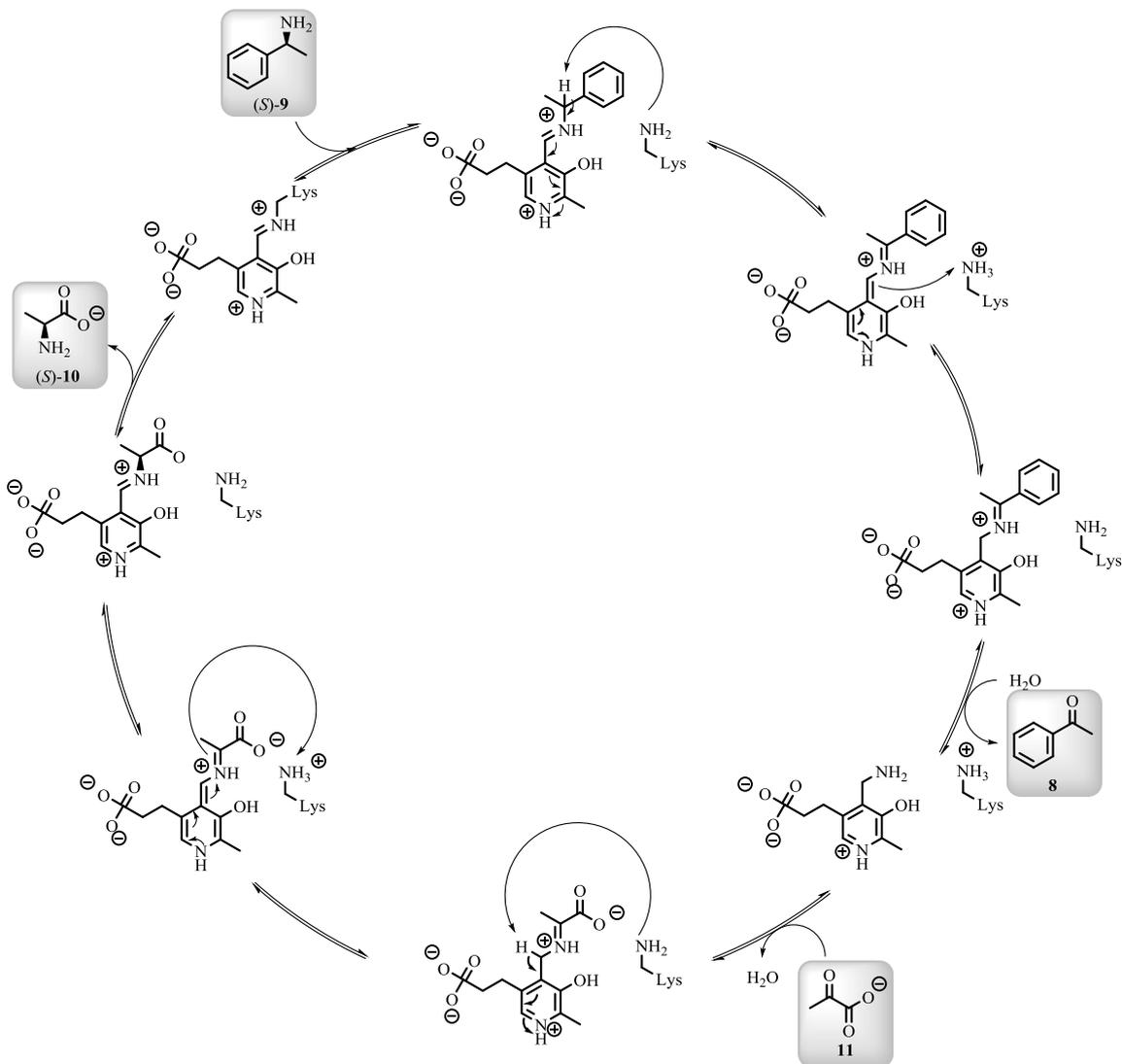


Abbildung 12: Vorgeschlagener Mechanismus für die enzymatische Transaminierung.^[61]

Transaminasen zeichnen sich in der Regel durch sehr hohe Selektivitäten aus. Im Mechanismus wird deutlich, an welcher Stelle die chirale Information auf das entstehende Amin übertragen wird (siehe Abbildung 12 unten links). Dieses Wissen in Verbindung mit Kristallstrukturen wurde genutzt, um die Enantiopreferenz der Transaminase zu wechseln.^[62] (*R*)-selektive Transaminasen sind in der Natur

selten vertreten.^[58] 2003 konnte die Gruppe um *Iwasaki* die erste (*R*)-selektive Transaminase beschreiben.^[63] Kommerzielles Interesse trieb die Entwicklung und Optimierung von natürlichen Transaminasen voran,^[31] sodass sowohl weiter nach neuen Transaminasen gesucht wurde als auch natürlicherweise (*S*)-selektive Transaminasen verändert wurden, um (*R*)-Amine herstellen zu können.^[62] Dabei diente der oben vorgestellte Mechanismus als Grundlage. Das aktive Zentrum wurde über Modelle (siehe Abbildung 13) und Kristallstrukturen analysiert und durch diverse Mutationen verändert.^[64] In Abbildung 13 wird ein solches Modell skizziert, bei dem ein Substrat an PLP über eine *Schiff'sche Base* fixiert ist. In dieser Momentaufnahme steht eine asymmetrische Protonierung bevor. Abhängig von der Orientierung des Substrats wird nach der Protonierung und anschließender Hydrolyse das (*S*)- oder das (*R*)-Amin erhalten. Die räumliche Situation im aktiven Zentrum begünstigt eine Orientierung des Substrats und über Mutationen kann der Raum zu gewünschten Selektivitäten verändert werden.^[64]

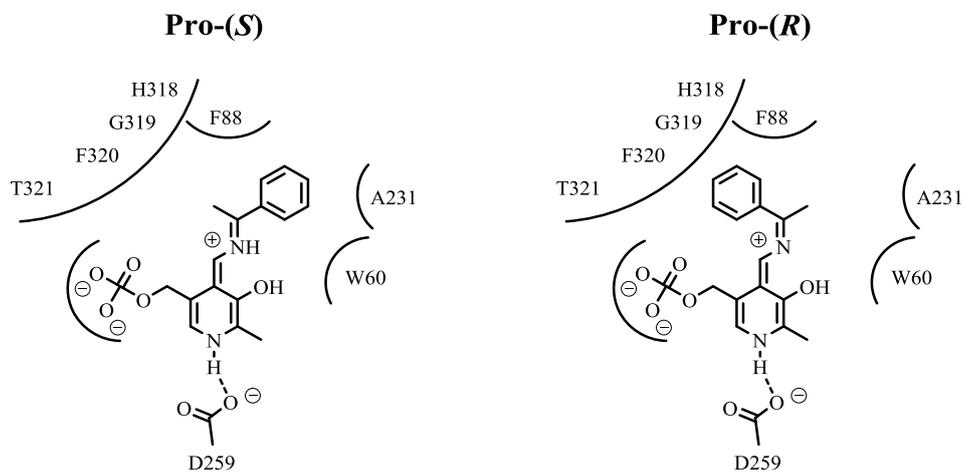


Abbildung 13: Planar chinoides Modell zum Verständnis der Enantioselektivität von Transaminasen.^[64]

Ein etwas anderer Ansatz der Enzymentwicklung wurde von der Gruppe um *Bornscheuer* verfolgt.^[65] Hier werden ebenfalls die aktiven Zentren von Transaminasen analysiert und verglichen. Innerhalb der entscheidenden Proteinsequenzen werden die für die Fixierung des Substrats verantwortlichen Aminosäuren bestimmt. In Datenbanken konnte eine L-selektive Transaminase mit vergleichbarem Strukturmotiv gefunden werden. Ein entscheidender Unterschied zwischen der bekannten (*S*)-selektiven Transaminase und der L-selektiven Transaminase besteht in der Bindung von PLP. Es gibt verschiedene Arten, wie der Cofaktor im Protein fixiert werden kann.^[66] So kann die Substratbindung bzw. die asymmetrische Induktion des PLP entscheidend beeinflusst werden. Das rechte Strukturmotiv (siehe Abbildung 14) ist in der Form nur für wenige Anwendungen relevant. Um zu dem gewünschten (*R*)-selektiven Enzym für Amine zu gelangen, musste die kleine Tasche des aktiven Zentrums noch verändert werden. Mit diesem Konzept konnten direkt mehrere neue (*R*)-selektive Transaminasen vorgestellt werden, die ihrerseits wieder ein unterschiedliches Substratspektrum aufweisen.

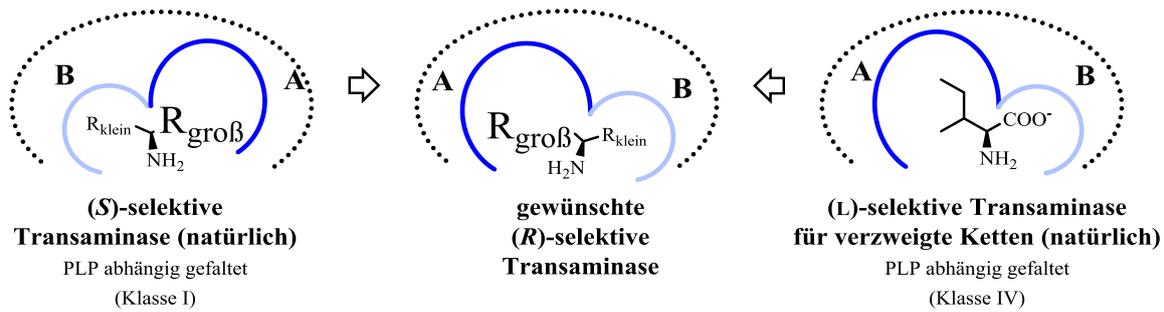


Abbildung 14: Modell zur Entwicklung von (R)-selektiven Transaminasen.^[65]

Aufbauend auf diesen Arbeiten folgten theoretische Berechnungen zur Begründung von Enantioselektivität und Aktivität.^[67] Die Aktivität gegenüber verschiedensten Substraten ist von diversen Gruppen mit unterschiedlichen Perspektiven bearbeitet worden.^[68,69–71] Isopropylamin als günstiger, achiraler Aminodonor stand dabei immer wieder im Fokus.^[70] Aber auch besondere Moleküle mit großen Resten gelangen in den Fokus und konnten als Substrate erfolgreich mit Transaminasen umgesetzt werden.^[71]

2.3. Aminodehydrogenasen

Die Aminodehydrogenasen (AmDH) stellen eine recht junge Enzymklasse dar, die strukturell von den Aminosäuredehydrogenasen (ASDH) abstammt.^[72,73] Aminosäuredehydrogenasen werden von der Natur zum Auf- bzw. Abbau von Aminosäuren verwendet. Sie können eine Carbonylverbindung unter Verwendung von Ammoniak und eines Reduktionsmittels (NAD(P)H) reaktiv asymmetrisch aminieren.

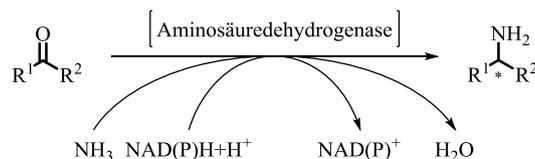


Abbildung 15: Schematische Darstellung einer reductiven Aminierung katalysiert durch eine Aminosäuredehydrogenase.

Aufgrund von Verfügbarkeit, Aktivität und Stabilität sind zwei Arten der Aminosäuredehydrogenasen im Vergleich zu Anderen deutlich intensiver studiert worden und werden deshalb heute auch besser verstanden. Auf der einen Seite steht die Leucindehydrogenase (LeuDh).^[74] Das Enzym bringt eine lange Historie mit sich, weil es schon Jahrzehnte zur Synthese von *tert*-Leucin eingesetzt wird.^[75,76] *tert*-Leucin stellt einen wesentlichen Baustein für verschiedene Pharmazeutika dar.^[77] Aufgrund des kommerziellen Interesses an *tert*-Leucin wurde das Enzym auch im akademischen Zusammenhang untersucht. So konnten *Sekimoto et al.*^[78] bereits 1993 einen Mechanismus beschreiben, der dem Katalysezyklus der Leucindehydrogenase entsprechen soll (siehe Abbildung 16). Leucin **18** wird über

die eigene Säurefunktionalität im aktiven Zentrum des Enzyms fixiert. In Gegenwart des oxidierten Cofaktors (NAD^+) wird formal ein Hydridion abgespalten. Die entstandene Iminiumspezies kann Wasser elektrophil addieren und eine Carbinolspezies ausbilden. Das Carbinol gibt Ammoniak frei und bleibt als α -Ketosäure **17** zurück. Anschließend können die Produkte das aktive Zentrum des Enzyms verlassen und durch neue Substrate ersetzt werden. Die Zwischenstufen in dem Katalysezyklus werden durch die angedeuteten Aminosäuren stabilisiert.^[78] Alle Zwischenstufen verbindet ein chemisches Gleichgewicht, sodass über das Enzym sowohl α -Ketosäuren als auch Aminosäuren zugänglich sind.

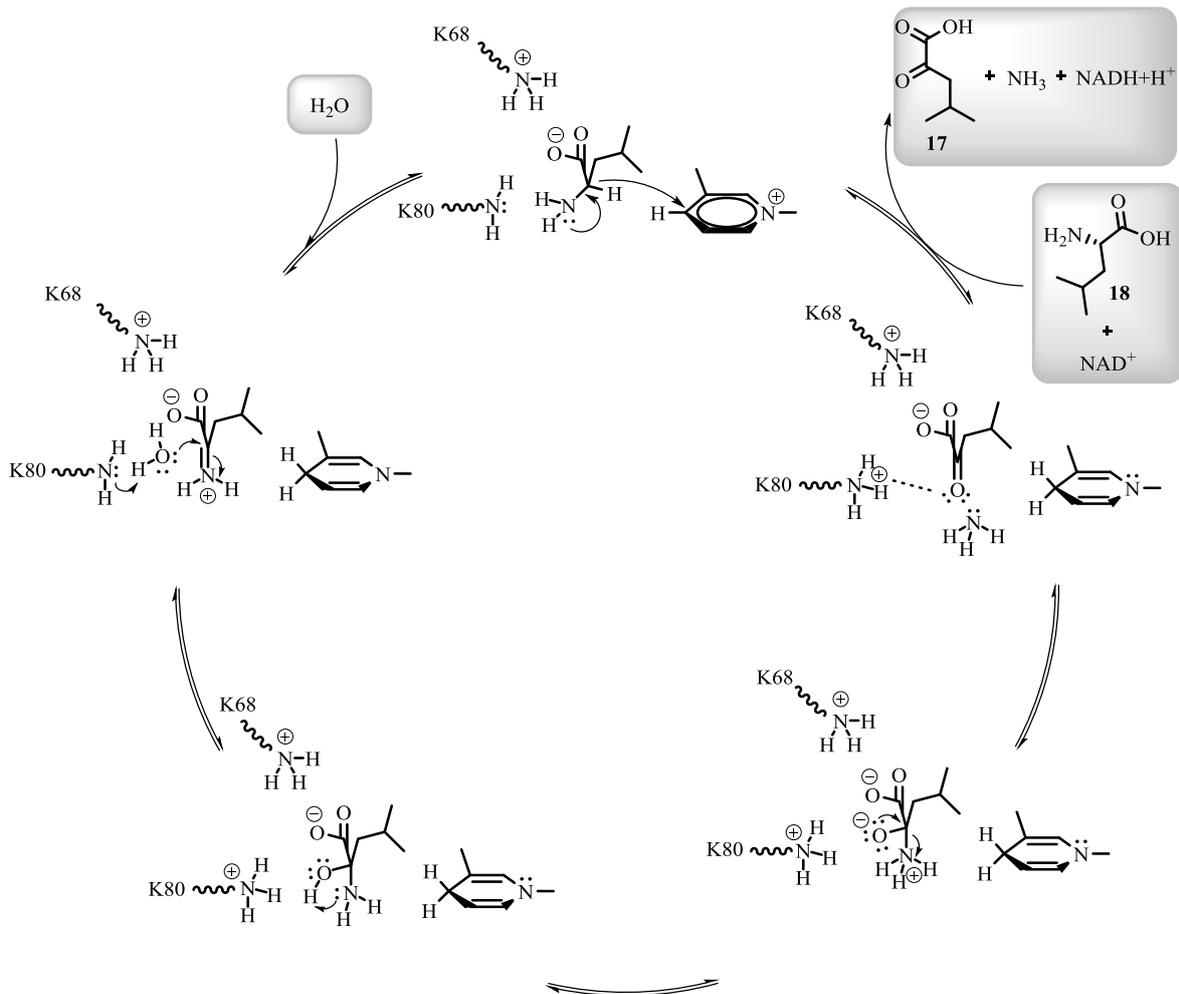


Abbildung 16: Vorgeschlagener Mechanismus für Leucindehydrogenasen.^[78]

Die hohe Aktivität der Leucindehydrogenase motivierte nicht nur die Wissenschaft, das Substratspektrum der ASDH zu erweitern. Das Enzym sollte nicht auf α -Aminosäuren limitiert sein, sondern sollte auch nicht funktionalisierte Carbonylverbindungen in entsprechende Amine transformieren können. Mit einem guten Verständnis des aktiven Zentrums der Leucindehydrogenase gelang es *Abrahamson et al.* das Substratspektrum durch gerichtete Evolution unabhängig von der Säurefunktionalität zu gestalten.^[72] Der polare Teil der Enzymtasche, der zuvor mit der Säurefunktionalität des Substrats interagiert, wurde durch hydrophobe Aminosäuren ersetzt. Auf diese

Weise konnten mit dieser Enzymklasse erstmals auch Carbonylverbindungen in primäre Amine umgesetzt werden.

Das andere bekanntere Enzym aus der Familie der Aminosäuredehydrogenasen ist die Phenylalanindehydrogenase (PheDH). Die PheDH katalysiert analog zu der LeuDH die reduktive Aminierung von Phenylpyruvat zu Phenylalanin. Strukturell besitzen die beiden Enzyme eine hohe Ähnlichkeit bei 48 % gleicher Aminosäuresequenz.^[79,80] Entsprechend wird auch ein sehr ähnlicher Mechanismus für die Katalyse der PheDH beschrieben (siehe Abbildung 17).^[81] Über einen Lysinrest wird das Substrat **20** an dem Carbonsäureende fixiert. Der Cofaktor (NAD^+) nimmt formal ein Hydridion von der Aminosäure auf. Das Iminiumion wird stabilisiert durch ein überbrückende Wassermolekül. Das Wassermolekül wird selbst zum Nukleophil und addiert sich in α -Position zum Carbinolamin. Unter Abspaltung von Ammoniak wird Phenylpyruvat **19** freigesetzt. Ein Austausch von Substrat, Cosubstrat und Cofaktor lässt den Zyklus erneut beginnen. Wie bei der Leucindehydrogenase sind alle Zwischenstufen über ein chemisches Gleichgewicht verbunden. Das Enzym katalysiert sowohl die Aminierung von α -Ketosäuren als auch die Deaminierung von Aminosäuren.

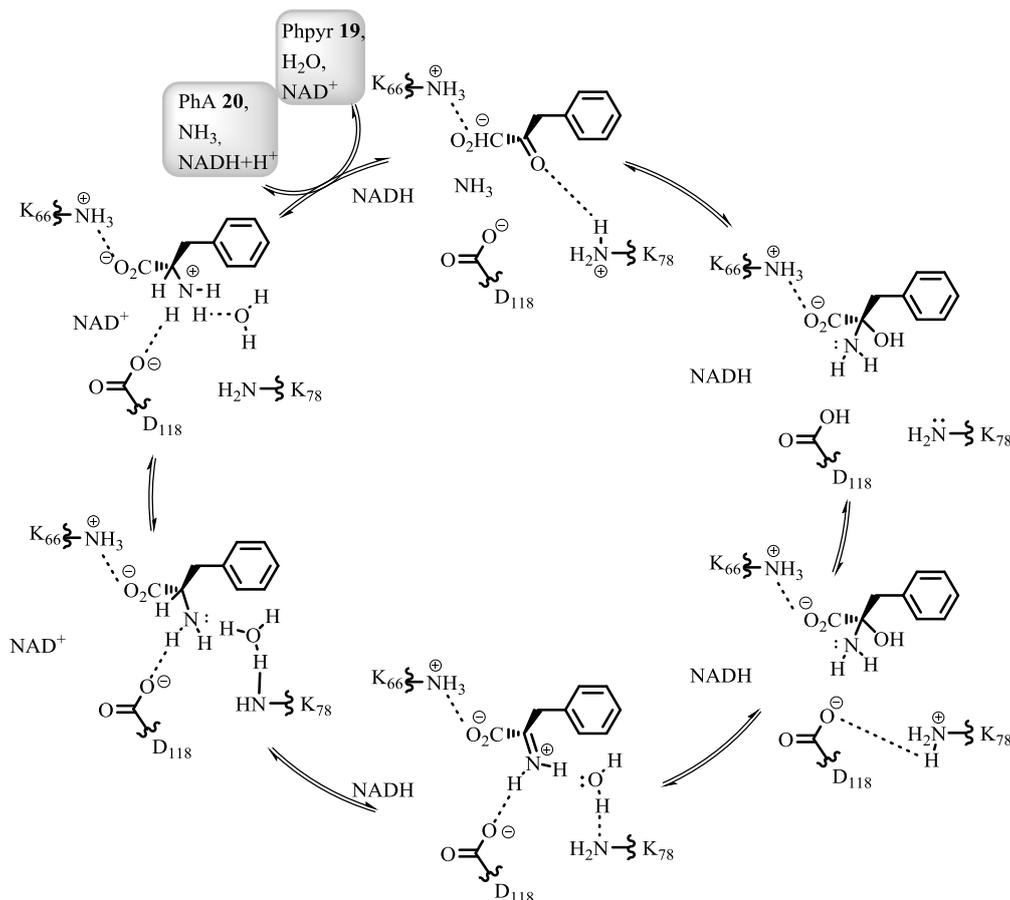


Abbildung 17: Vorgeschlagener Mechanismus für Phenylalanindehydrogenasen nach Brunhuber *et al.*^[81]

Basierend auf den Arbeiten zur Evolution der LeuDH konnten Abrahamson *et al.* auch eine PheDH verändern, sodass Substrate ohne Carbonsäurefunktionalität umgesetzt wurden.^[79] Auf diese Weise

konnten eine Reihe primärer Amine erfolgreich synthetisiert werden. Überraschenderweise konnte durch Kombination von LeuDH und PheDH Gensequenzen zu etwa gleichen Teilen eine weitaus höhere Aktivität bezüglich verschiedener Substrate gemessen werden.^[82] Neben den hohen Aktivitäten wurden auch sehr gute Enantioselektivitäten beobachtet. Um die hohen Aktivitäten auch bei niedrigen Substratlöslichkeiten zu nutzen, konnten *Bommarius et al.* ein Zwei-Phasensystem vorstellen, welches die Produktivität der Amindehydrogenase optimiert.^[83] Konzeptionell wurde das Vorgehen der systematischen Mutation auch auf eine PheDH eines anderen Stammes übertragen und führte ebenfalls zu einer Amindehydrogenase mit leicht verändertem Substratspektrum.^[73] Darauf aufbauend haben auch andere Gruppen neue Substrate für diese Enzymklasse vorgestellt.^[84,85] Basierend auf der DNA-Sequenz wurde auch mit Erfolg nach natürlichen Amindehydrogenasen in Datenbanken gesucht. Auf diese Weise konnten neue Substrate weiteren Enzymen umgesetzt werden.^[86] Mittlerweile weist die Enzymklasse ein beachtliches Substratspektrum auf, welches zu einer Vielzahl von synthetisch interessanten Bausteinen führt (siehe Abbildung 18).

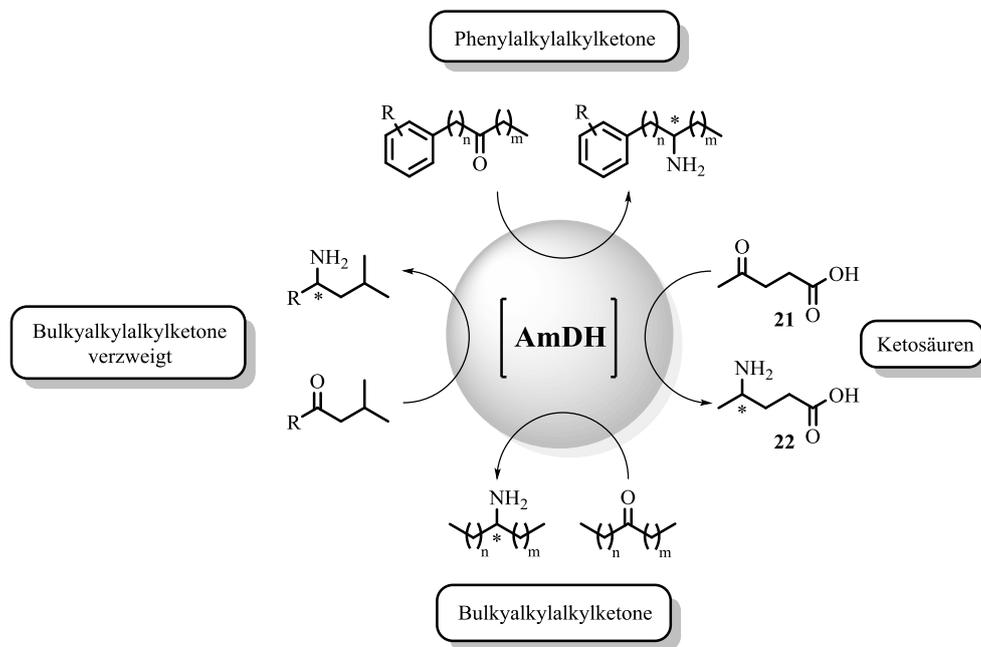


Abbildung 18: Substrate, die bereits erfolgreich mit Amindehydrogenasen umgesetzt wurden.^[73,85,86]

2.4. Lipasen

Lipasen stammen aus der Enzymklasse der α/β -Hydrolasen^[87] und katalysieren die Hydrolyse von Estern und Amiden bzw. die Acylierung von Alkoholen und Aminen,^[88] wobei die Amidspaltung nur selten in der Literatur beschrieben wird.^[89] Lipasen zeichnen sich meist durch ein breites Substratspektrum bei hoher Spezifität aus, weshalb sie sehr vielseitig einsetzbar sind. Sie finden in ganz unterschiedlichen Bereichen wie Reinigung, Leder, Textilien, Öle und Fette, Lebensmittel, Kosmetika und Pharmazeutika Anwendung.^[90] Abbildung 19 zeigt die gängigen Reaktionstypen, wie sie auch in

industriellen Prozessen angewandt werden.^[91] Prinzipiell ist jedes Szenario zur Esterderivatisierung von Carbonsäuren mit einer Lipase als Katalysator lösbar. Säuren können verestert^[92] und umgekehrt hydrolysiert werden.^[93] Umesterungen können zum Beispiel bei der Fettherstellung eine Rolle spielen.^[94] Häufiger werden jedoch Kreuzveresterungen in der Lebensmittelindustrie zur besseren Verträglichkeit von Fetten eingesetzt.^[95] Acidolysen stellen im chemischen Szenario eher eine exotische Reaktion dar, finden aber Anwendung bei der Herstellung von Fetten in der Schokoladenproduktion.^[96] Die Aminolyse dient weit außerhalb der Nahrungsmittelindustrie zur Synthese chiraler Amine. Neben diversen Anwendungen in der pharmazeutischen Chemie^[88] werden auch bei der Synthese des Herbizids *Outlook*[®], welches die BASF im multitausendtonnen Maßstab produziert, eingesetzt.^[97,98]

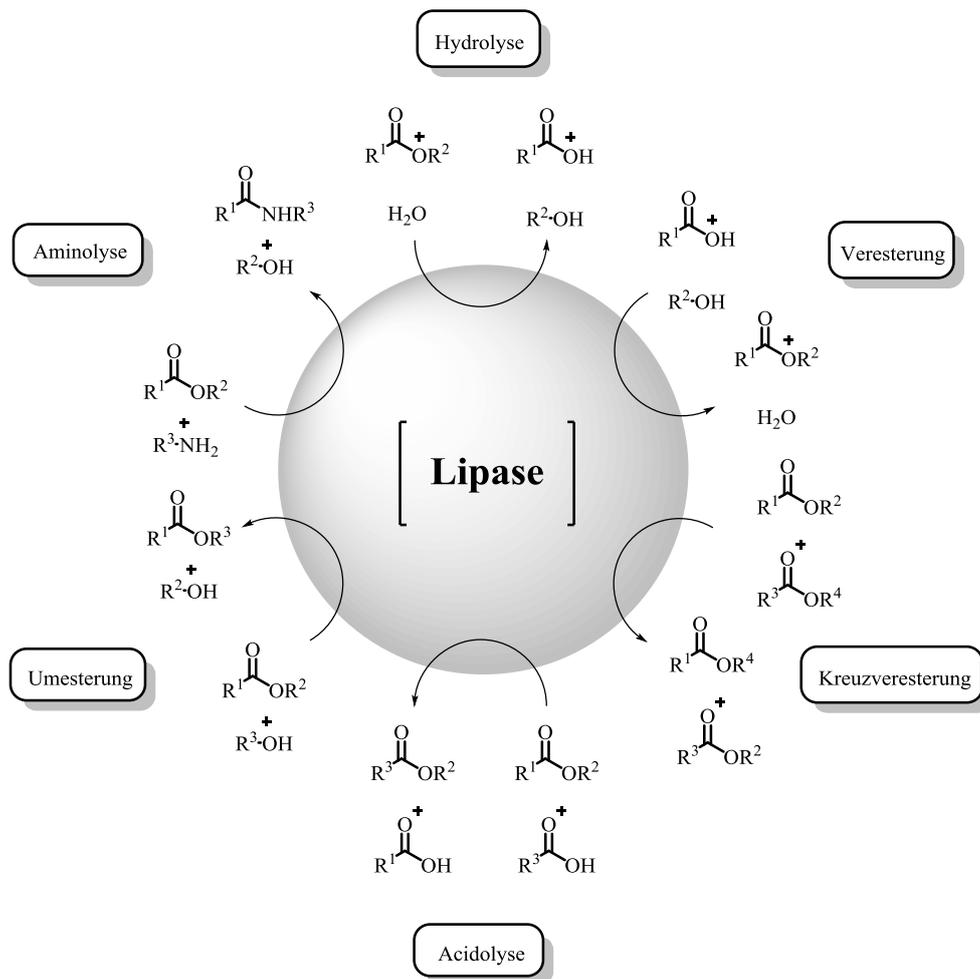


Abbildung 19: Reaktionstypen, die von Lipasen katalysiert werden.^[91]

Synthetisch werden die Lipasen vor allem durch die Tatsache attraktiv, dass sie auch in organischen Lösungsmitteln katalytisch aktiv sind. Während viele verwandte Enzyme wie Esterasen in Abwesenheit von Wasser ihre Aktivität verlieren, kann sich eine zweite Phase bei Lipasen sogar vorteilhaft auswirken. In diesem Fall wird das Enzym erst durch die Entstehung einer Grenzfläche aktiv, weil das katalytische Zentrum durch ein Lid verdeckt bleibt.^[99] Weiterhin benötigen Lipasen keine Cofaktoren für den Katalysezyklus. Dadurch wird der Umgang mit diesen Enzymen sehr einfach, denn die Cofaktoren

stellen häufig die empfindliche Stelle eines biokatalytischen Systems dar. Redox-Cofaktoren wie $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}+\text{H}^{+100]}$ und $\text{FAD}/\text{FADH}_2^{101]}$ oder biologische Energiespeicher wie $\text{ATP}^{187]}$ weisen im freien Zustand eine geringe Stabilität in Wasser auf oder sind selbst sehr kostenintensiv. Die Lipase kann wie jeder andere Katalysator verwendet werden und nach der Reaktion wieder entfernt werden. Somit stellt sie eine interessante Anwenderoption auch für Fachfremde in der Biokatalyse dar.

Der Katalysemechanismus wurde bereits 1976 das erste Mal beschrieben.^[102] Eine katalytische Triade bestehend aus Serin, Histidin und Aspartat (Ser, His, Asp) steht sich räumlich nah und kann das alkoholische Proton von Serin während der Katalyse stabilisieren (siehe Abbildung 20).^[102,103] Das so aktivierte Serin stellt das Nukleophil für die Carbonsäurefunktionalität dar.^[104] Formal entsteht hier ein Synthon zu einem Orthoester. Eine Protonierung aktiviert ein Amin (grundsätzlich aber auch eine alkoholische Spezies), welches anschließend freigesetzt wird (siehe Abbildung 20). Der durch Serin fixierte Ester kann dann von einem Wassermolekül (oder einem Alkohol im Falle einer Umesterung) nukleophil angegriffen werden. Reprotonierung des Serins führt zur Freisetzung der Carbonsäure.

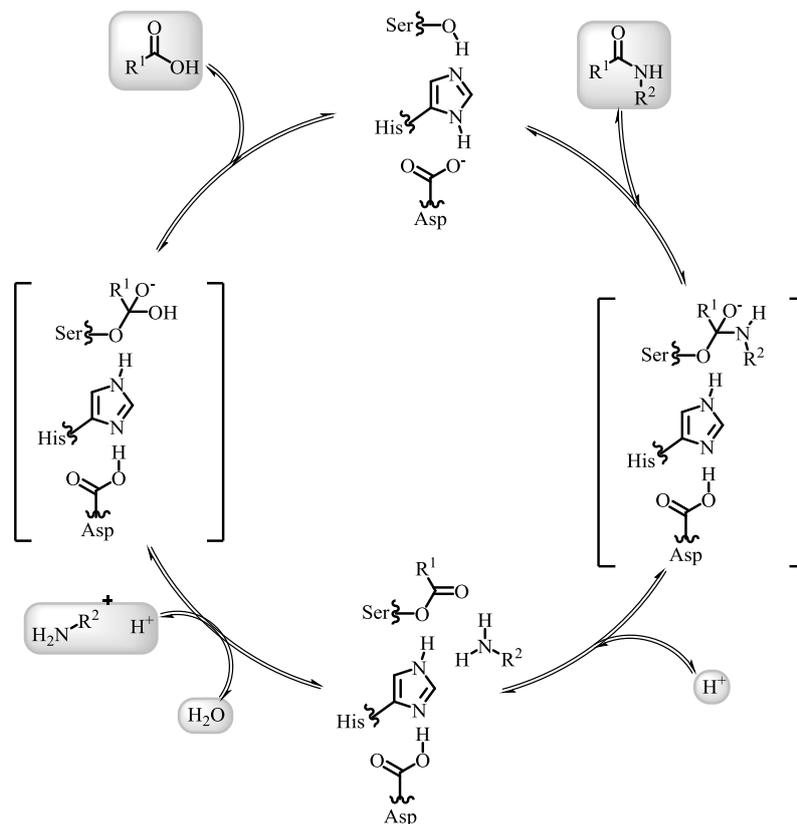


Abbildung 20: Katalysezyklus einer Lipase am Beispiel eines Amids.^[104]

Wie in Abbildung 20 aufgezeigt, befinden sich alle Zustände miteinander in einem Gleichgewicht. Analog zu den Transaminasen muss auch hier für einen maximalen Umsatz der in Abbildung 19 vorgestellten Reaktionstypen ein Druck auf das Gleichgewicht ausgeübt werden. Im Falle einer Aminolyse gibt es keine Herausforderung, weil die thermodynamische Senke des Amids das

Gleichgewicht bereits auf die Seite der Produkte schiebt. Im Falle von Estern finden verschiedene Reagenzien Anwendung, deren Produkte in eine thermodynamische Senke gelangen (siehe Abbildung 21).^[105] Hier können elektronenarme Ester, die nach Umesterung einen elektronenarmen Alkohol hervorrufen, eingesetzt werden. Auch aus einem Oximester entsteht nach Umesterung ein schwaches Nukleophil **23**, welches keine Rückreaktion eingeht. Anhydride sind selbst gute Elektrophile während deren Spaltprodukte die Säuren keine Nucleophilie aufweisen. Bei Vinylestern wird sich die Keto-/Enolautomerie zunutze gemacht. Der nach Umesterung entstandene Vinylalkohol **24** lagert sich zu Acetaldehyd **1** um und lässt keine Rückreaktion zu.

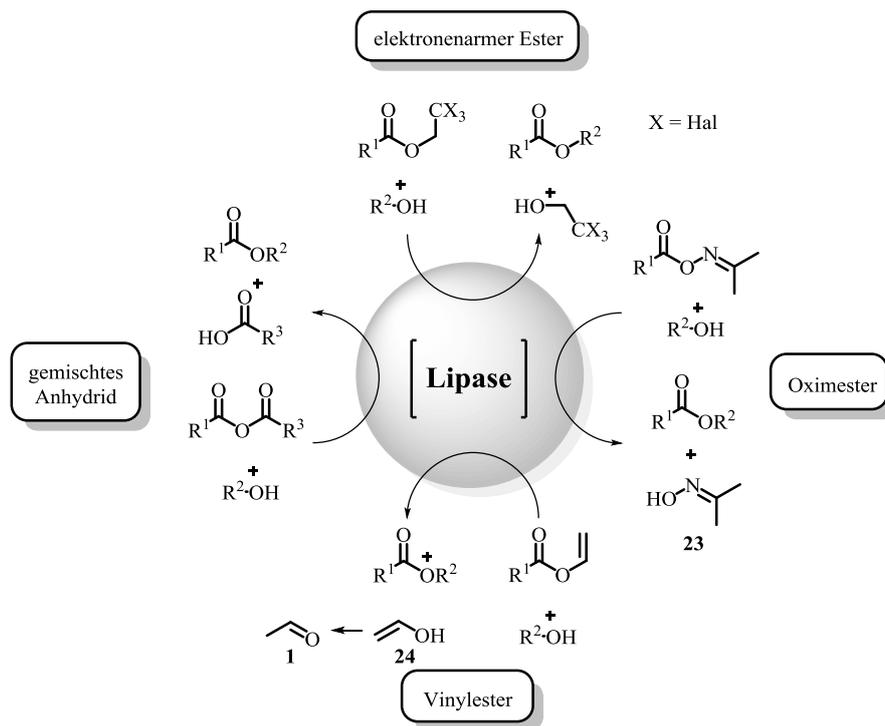


Abbildung 21: Estervarianten, die einen quantitativen Umsatz erlauben.^[105]

Physikalische Verfahren zur Erlangung quantitativen Umsatzes finden in der Praxis eher selten Anwendung, weil entweder die Dampfdrücke der Ester so hoch sind, dass sie ebenfalls aus der Reaktionsmischung entzogen werden oder alle Komponenten nicht flüchtig sind. Das letzte Beispiel betrifft vor allem Anwendungen im Bereich der Fettsäuren, aber auch der Schmierstoffe.

Lipasen zählen zu den wenigen Enzymen, die auch in rein organischer Umgebung ihre Aktivität beibehalten.^[106] Mutmaßlich kommt die Stabilität auch aus der Resistenz gegenüber höheren Temperaturen. Ein wässriges Einphasensystem stellt die ungünstigste Umgebung für das Grenzflächenenzym dar. Hier kann es nicht nur zu geringeren Aktivitäten sondern auch zu Denaturierungen kommen.^[106] Die Grenzflächenaktivität bietet synthetisch aber auch Möglichkeiten. Während die Aktivität von Esterasen nach gängiger *Michaelis-Menten* Kinetik abhängig von der Substratkonzentration ist, zählt bei den Lipasen nur die absolute Stoffmenge in räumlicher Nähe.^[99] Vor

allem bei größeren Molekülen, die in der Regel nicht wasserlöslich sind, weist die Lipase gegenüber anderen Hydrolasen große Vorteile auf.

2.5. Ozanimod

Ozanimod (Arbeitsabkürzung RCP 1063) ist ein Sphingosin-1-phosphat Rezeptor Agonist. Dieser Wirkstoff soll in naher Zukunft gegen Multiple Sklerose und Colitis Ulcerosa eingesetzt werden. Sein kommerzielles Interesse wird bereits weit vor seiner Zulassung durch die Firmenübernahme von *Receptos*[®] aufgezeigt, welche für mehrere Mrd. \$ vom Konkurrenten aufgekauft wurde.^[107]

2.5.1. Multiple Sklerose

Multiple Sklerose (MS) ist eine der am Häufigsten auftretenden Nervenkrankheit und betrifft in Europa 15 von 10000 Personen.^[108] Für die hohe Zahl der Erkrankungen ist MS noch verhältnismäßig wenig verstanden. Obwohl die Krankheit bereits im frühen 19. Jahrhundert das erste Mal beschrieben wurde,^[109] kann bis heute keine eindeutige Ursache für den Ausbruch der Krankheit identifiziert werden. Dies liegt unter anderem an der Herausforderung die Krankheit zu diagnostizieren. Die Symptome sind äußerst vielseitig und erst bei fortgeschrittenem Krankheitsverlauf eindeutig der Multiplen Sklerose zuzuordnen. Bei Multipler Sklerose wird zwischen schubförmigen remittierendem und primär progredienten Verläufen differenziert.^[110] Bei letzterer Form erfolgt durch negative Rückkopplung der Symptome ein stetig intensiverer Krankheitsverlauf und entsprechende Verstärkung der Symptome. Primär progrediente Multiple Sklerose tritt jedoch im Vergleich zur schubförmigen remittierenden Multiplen Sklerose eher selten auf (nur 15 % der bekannten Fälle).^[111] Die häufigere Form des Krankheitsverlaufs ist deutlich schwieriger zu diagnostizieren, weil die schubförmigen Symptome nach vollständigem Rückgang zur Verwechslung mit anderen Krankheiten führen. Die Symptome erstrecken sich über das gesamte Nervensystem und variieren abhängig von Krankheitsstadium und Patient. Patienten klagen innerhalb der Symptomschübe zum Beispiel über Sehstörungen^[112], Missempfindungen bzw. Taubheitsgefühle^[113] und psychische Störungen wie Depression^[114] und Bipolarität^[115].

Bezüglich der Entstehung existiert eine Vielzahl Theorien deren Beweis sich nur schwer erbringen lässt, weil Studien aufgrund der oben genannten Symptome in späteren Krankheitsverläufen ansetzen. Als mögliche Ursachen werden die geographische Umwelt wie auch genetische Einflüsse diskutiert.^[116] Der Wohnort scheint bei Betrachtung der Krankheitsverteilung weltweit eine Rolle zu spielen, denn es gibt Orte (speziell in Äquatornähe), die von Multipler Sklerose praktisch verschont bleiben. Diverse Arbeiten beschäftigen sich mit einer geographischen Verknüpfung der Krankheit.^[117] Molekularbiologisch stehen das Genom^[118] und fehlerhafte Vitamin D-Stoffwechselphysiologie^[119] als mögliche Ursachen zur Diskussion. Pathologisch entstehen nach Ausbruch der Krankheit jedoch immer Entzündungsherde in Nervenbahnen und anliegendem Gewebe. T-Zellen, die sich gegen das zentrale

Nervensystem richten, können unter bestimmten Voraussetzungen die Axone angreifen und initiieren einen Abbau der Myelinschicht.^[120]

Pathologisch gesehen besteht bei MS-Patienten eine Disbalance zwischen den Mechanismen, die defekte Teile im Organismus abbauen und denen, die gesundes Zellmaterial wieder aufbauen (siehe Abbildung 22). Entzündungen in Axonen verlangsamen die Signalübermittlung oder brechen sie ganz ab. Die Entzündungen rufen einen Abbau der Myelinschicht hervor und verstärken so die Symptome der MS. Weitere Lymphozyten gelangen durch eine geschwächte Blut-Hirn-Barriere aus dem Blutkreislauf heraus und bilden neue Entzündungsherde. Bei gesunden Menschen wird der Abbau entzündeter Axone durch endogene Reparatur kompensiert, sodass eine vollständige Heilung möglich ist. MS-Patienten regenerieren aufgrund der Entzündungshäufung fehlerhaft und im Verhältnis zu den Neuentzündungen zu langsam. Dieses Ungleichgewicht führt zu einer positiven Rückkopplung der Krankheitssymptome, die im Verlauf der Krankheit immer intensiver werden.^[121]

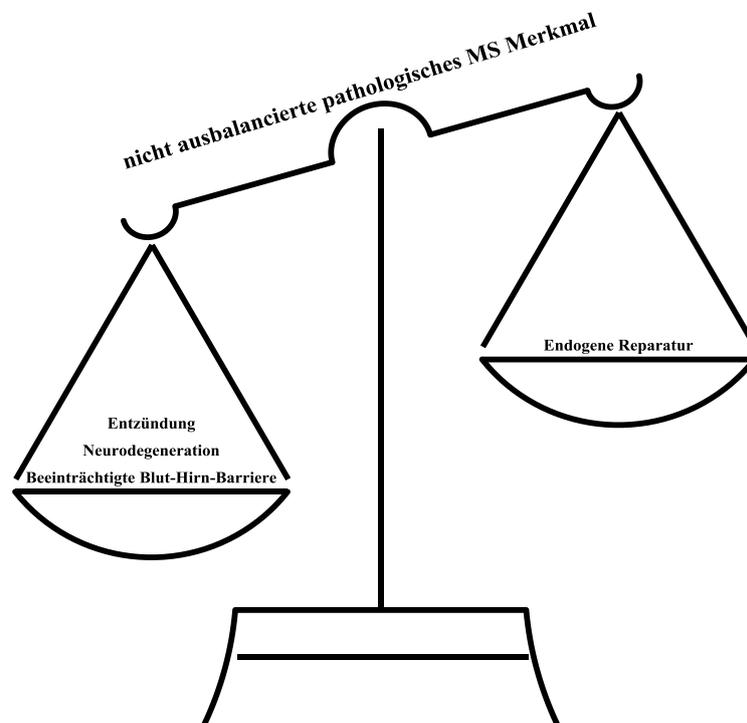


Abbildung 22: Ungleichgewicht der pathologischen Merkmale bei MS Patienten.^[121]

Mit diesem Verständnis der Krankheit wurden auch diverse Medikamente zur Behandlung der Symptome entwickelt. Eine Vielzahl der Medikamente (*Avonex*[®], *Rebif*[®], *Betaferon*[®] und *Alfaferon*[®])^[121] basieren auf β -Interferonen, welche als hormonelle Botenstoffe die Bildung von Lymphozyten und speziell T-Zellen regulieren.^[122] Die Wirkung wird durch verschiedene Studien^[123] bestätigt, aber die Langzeiteffizienz dieser Medikamente wird kontrovers diskutiert.^[122] Keines dieser Medikamente stellt eine vollständige Genesung in Aussicht.

Ein therapeutisch etwas anderer Ansatz wird mit dem Medikament Glatirameracetat (*Copaxon*[®]) verfolgt. Das Peptid, bestehend aus vier natürlich vorkommenden Aminosäuren, imitiert das Myelin-Basis-Protein und bindet an Klasse II-Antikörper der menschlichen Leukozyten.^[121] Damit wird die Aktivierung der Nerven feindlichen T-Zellen unterdrückt. Bei längerer Therapie mit *Copaxon*[®] wird auch eine höhere Bildungsrate von Th2-Zellen beobachtet, welche im zentralen Nervensystem vermehrt entzündungshemmende Zytokine freisetzen.^[124] Entsprechend werden geringere Schäden der Nervenbahnen beobachtet.

Im Prinzip ähnlich wirkt ein $\alpha 4$ Integrin Antikörper (*Tysabri/Natalizumab*[®]). Auch hier wird ein Agonist an die schädlichen T-Zellen gebunden. Durch die Fixierung des Antikörpers kann die Zelle keine Gefäßwände mehr passieren, um an die Entzündungsherde zu gelangen.^[121] Diese Therapiemöglichkeit stellt die effektivste Art und Weise dar, um erwachsenen Menschen zu helfen, wenn die beiden oben genannten Medikationen nicht wirken.^[125] Die Effizienz von *Tysabri/Natalizumab*[®] beruht auf der systematischen Aushebelung des natürlichen Immunsystems. Blockierte Leukozyten machen den Organismus sehr anfällig für das John Cunningham (JC) Virus. Dieses induziert progressive multifokale Leukenzophalopathie (PML), eine Erkrankung des Nervensystems mit ähnlichen Folgen wie der MS.^[126] Therapien gegen PML bestehen nur aus Hochdosierung der T-Zellbildung bzw. im Absetzen von Immunsuppressiva, was genau im Widerspruch zur MS Therapie mit $\alpha 4$ Integrin Antikörpern steht.^[126,127]

Neben diesen drei gängigen Vertretern gibt es noch wenige Exoten (*Novantron/Mitoxantron*[®], *Cannabis/Sativex*[®], *Corticotropin*[®] und *Baclofen*[®]), die in vereinzelt Ländern lizenziert sind, weil sie eher für andere Therapien vorgesehen sind oder nur bei speziellen Fällen der MS eingesetzt werden.^[121]

Ein modernerer Ansatz der MS Therapie verhindert, dass die möglicherweise schädlichen T-Zellen gar nicht aus dem Lymphknoten ins Blut gelangen können, denn es wird keinerlei Aktivierung der Zellen vorgenommen.^[128] Dies wird mit Hilfe des Zellbotenstoffs Sphingosin-1-phosphat **25** (S1P) durchgeführt. S1P **25** stellt einen Lipid Mediator dar, der an vielen biologischen Prozessen beteiligt ist.^[129] Die Rezeptoren (S1P₁₋₅), die auf diesen Liganden reagieren, verteilen sich im gesamten Organismus gebunden an eine Vielzahl von G-Proteinen. Die S1P-Konzentration reguliert über die Rezeptoren intrazellulär das Überleben und die Ca²⁺-Konzentration und extrazellulär wird die Bewegung der Zelle koordiniert.^[129] Die Bewegung kann über eine Manipulation der S1P-Konzentration bzw. eines entsprechenden Agonisten beeinflusst werden. *Mandala et al.* zeigten, dass bei ausreichend hoher Konzentration eines S1P-Agonisten der Austritt von T-Zellen aus den Lymphknoten in die Blutbahn verhindert werden kann.^[130]

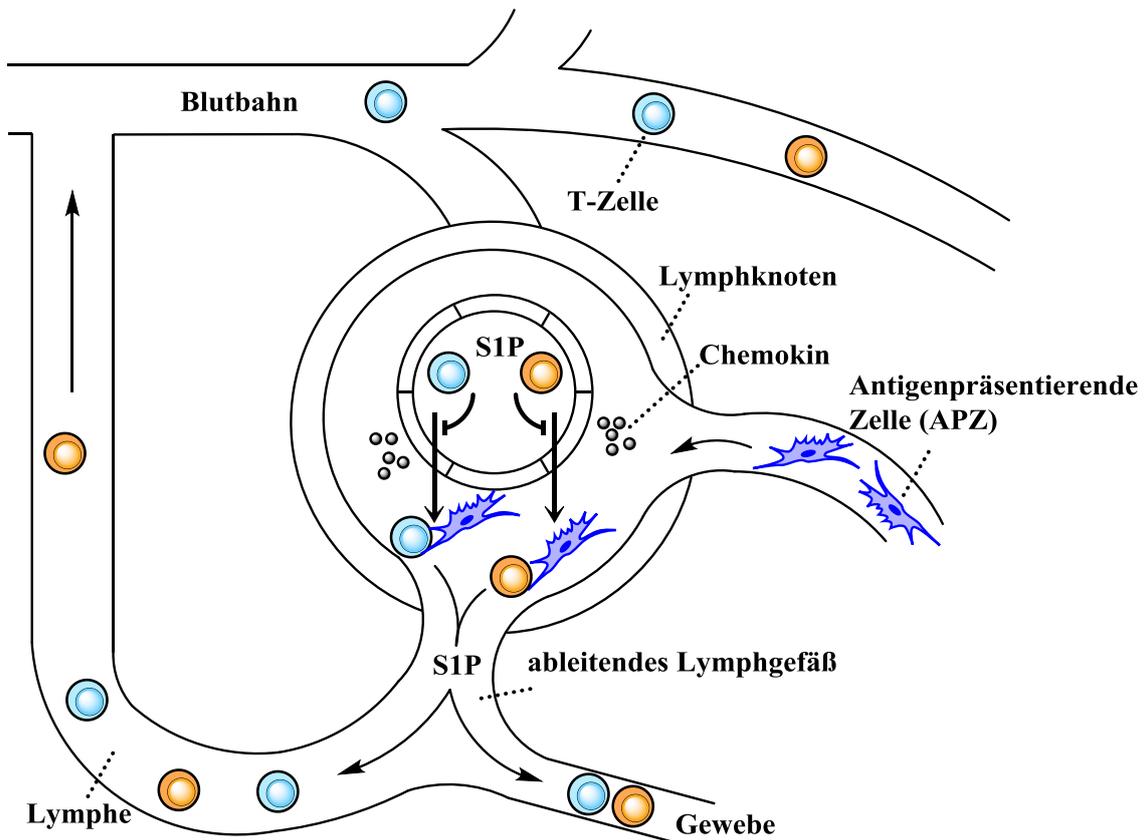


Abbildung 23: Dynamische Bewegung der Lymphozyten um den Lymphknoten angelehnt an *Brinkmann et al.*^[128]

Kurz nach den Arbeiten von *Mandala et al.* konnte auch der für dieses Phänomen verantwortliche Rezeptor identifiziert werden.^[131] In verschiedenen Experimenten konnten *Matloubian et al.* zeigen, dass der S1P₁-Rezeptor den Austritt der T-Zellen aus den Lymphknoten reguliert. Wenn ein Ligand an den S1P₁-Rezeptor bindet, wird dieser schnell und irreversibel in das Innere der Zelle geschleust.^[132] Die Folge ist eine Desensibilisierung an der Oberfläche der T-Zelle und sie kann ihre Position im Organismus nicht mehr durch den S1P-Konzentrationsgradienten leiten lassen. Der Lymphknoten kann nicht mehr verlassen werden. Stattdessen lagert sich die Zelle im peripheren Lymphorgan ab.^[133]

1992 wurde Fingolimod **26** als erster S1P-Rezeptor Agonist synthetisiert. Kurze Zeit später wurde erkannt, dass mit derartigen Agonisten die Wanderung von T-Zellen beeinflusst werden kann und die Rechte des Blockbusters Fingolimod **26** konnte *Novartis*[®] 1997 kaufen.^[134] Bei aller Effizienz des Agonisten gegen MS wurden in Phase III Studien auch Nebenwirkungen beobachtet. Die starke Schwächung des Immunsystems führt leicht zu Infektionen, die unter Umständen tödlich enden.^[134] Unter anderem wird an diesem Agonisten die Selektivität bemängelt. Er bindet unselektiv an vier der S1P-Rezeptoren (S1P_{1, 3-5}).^[135] Vor allem seine Affinität gegenüber S1P₃ wird für die Nebenwirkungen in den Herzkranzgefäßen verantwortlich gemacht.^[136]

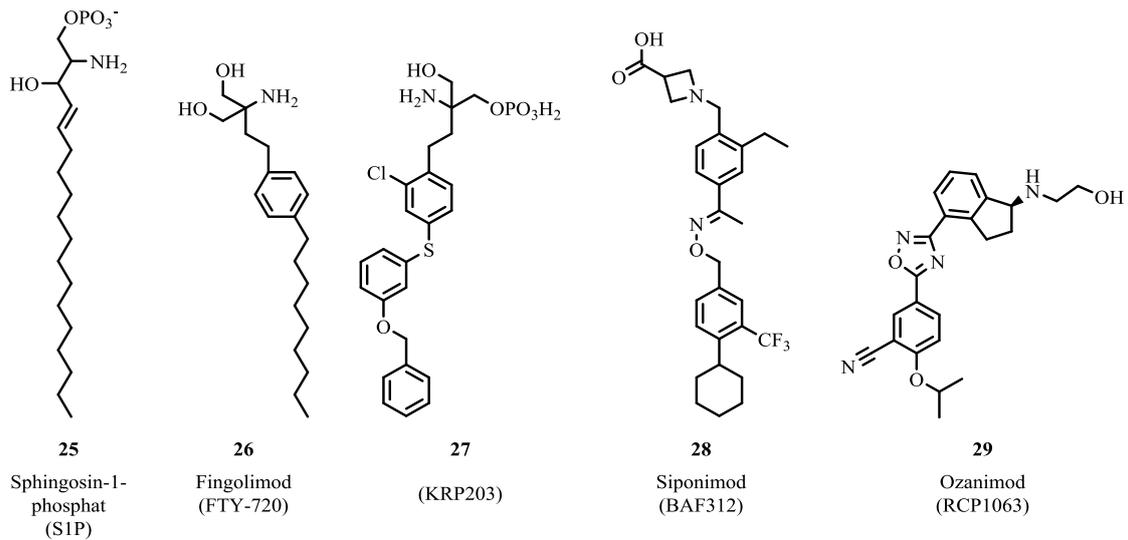


Abbildung 24: Sphingosin-1-phosphat und S1P-Rezeptor Agonisten.

In den folgenden Jahren wurde nach selektiveren Agonisten gesucht und in 2-Amino-2-propandiol hydrochlorid **27** (KRP-203) gefunden. KRP-203 **27** bindet selektiv an S1P_{1,4}. Zu der Zeit wurde jedoch erkannt, dass S1P₅ zur Stärkung der Hirn-Blut-Barriere^[137] beiträgt und den Oligodendrozytenaufbau stärkt und deren Fortbestand sichert.^[138] Vermutlich aus diesem Grund konnte sich KRP-203 **27** nicht im Fokus der Wissenschaft halten und wurde von Siponimod **28** (BAF312) abgelöst. BAF312 **28** bindet nur an S1P₁ und S1P₅, wobei der Ersterer die Verinnerlichung des G-Proteins und damit die Immobilität der T-Zellen im Lymphknoten bedeutet.^[139] Etwa zur selben Zeit wurde erstmalig über Ozanimod **29** berichtet.^[140] Das Molekül sorgte schnell für Aufsehen, weil die Entwicklungsfirma vor der Marktreife des Produkts für 7.2 Mrd. \$ vom Konkurrenten Celgene übernommen wurde.^[107] Ozanimod verspricht eine noch bessere Selektivität als die vorausgegangenen Agonisten.^[133] 2018 sollten die klinischen Studien beendet werden und eine Zulassung des Medikaments erwirkt werden.^[141]

2.5.2. Colitis ulcerosa

Colitis ulcerosa ist eine chronisch entzündliche Darmerkrankung,^[142] die im Vergleich zu MS eine Größenordnung seltener auftaucht. Genauso wie bei Multipler Sklerose konnte die Ursache für den Ausbruch der Krankheit nicht aufgeklärt werden.^[143] Als Symptome werden Diarrhoen, Darmblutungen und Koliken beschrieben, die schleichend stärker werden oder auch schubweise auftreten.^[144] Abhängig von der Schwere der Krankheit wird auch über die Medikation entschieden. In leichten Fällen wird Mesalazin (5-ASA) welches die potenziell pathogene T- und B-Zellkonzentration senkt. Bei schwererem Grad der Erkrankung wird es auch in Kombination mit Steroiden eingesetzt. Erst bei Ausbleiben einer Krankheitsverbesserung wird auf andere Immunsuppressiva wie *Azathioprin* zurückgegriffen, die deutlich erhöhte Nebenwirkungen hervorrufen, weil das natürliche Immunsystem wie in Kapitel 2.5.1 mehr oder weniger unterdrückt wird.^[145] Wie im vorigen Kapitel beschrieben kann Colitis ulcerosa auch mit speziellen Antikörpern therapiert werden, die aber auch mit einem hohen Maß an Nebenwirkungen verbunden sind.^[145,146] Die Entwickler von Ozanimod erhoffen sich, dass durch den selektiven Eingriff in das Immunsystem sowohl die Symptome der Krankheit bekämpft werden, als auch das Maß der Nebenwirkungen auf ein Minimum gesenkt wird.^[147]

2.5.3. Synthese von Ozanimod

Die Synthese von Ozanimod ist bislang nur in einem Patent von Receptos beschrieben.^[148] Hier wird ausgehend von 4-Bromindanon **30** via Kupplungschemie eine Cyanogruppe eingeführt. 4-Cyanoindanon **31** wird in einer diastereoselektiven Synthese mit einem chiralen Sulfonsäureamid zunächst in das Imin **32** überführt und dann diastereoselektiv mit Natriumborhydrid zum chiralen Amin reduziert. Die Sulfonsäure wird abgespalten und das freie Amin **33** mit Boc geschützt. Das verbleibende Proton am Stickstoff wird durch einen TBS-geschützten Hydroxyethylenhenkel substituiert. Am Nitril wird durch Addition von Hydroxalamin das Amidoxim **36** hergestellt, welches sehr einfach mit dem Carbonsäurederivat **40** zum 1,4-Oxadiazol kondensiert werden kann. Die Oxadiazol Kondensation auf einer späten Stufe bietet große Vorteile im Sinne einer konvergenten Gesamtsynthese, weil die beiden Bausteine in etwa gleich groß sind (siehe Abbildung 25).

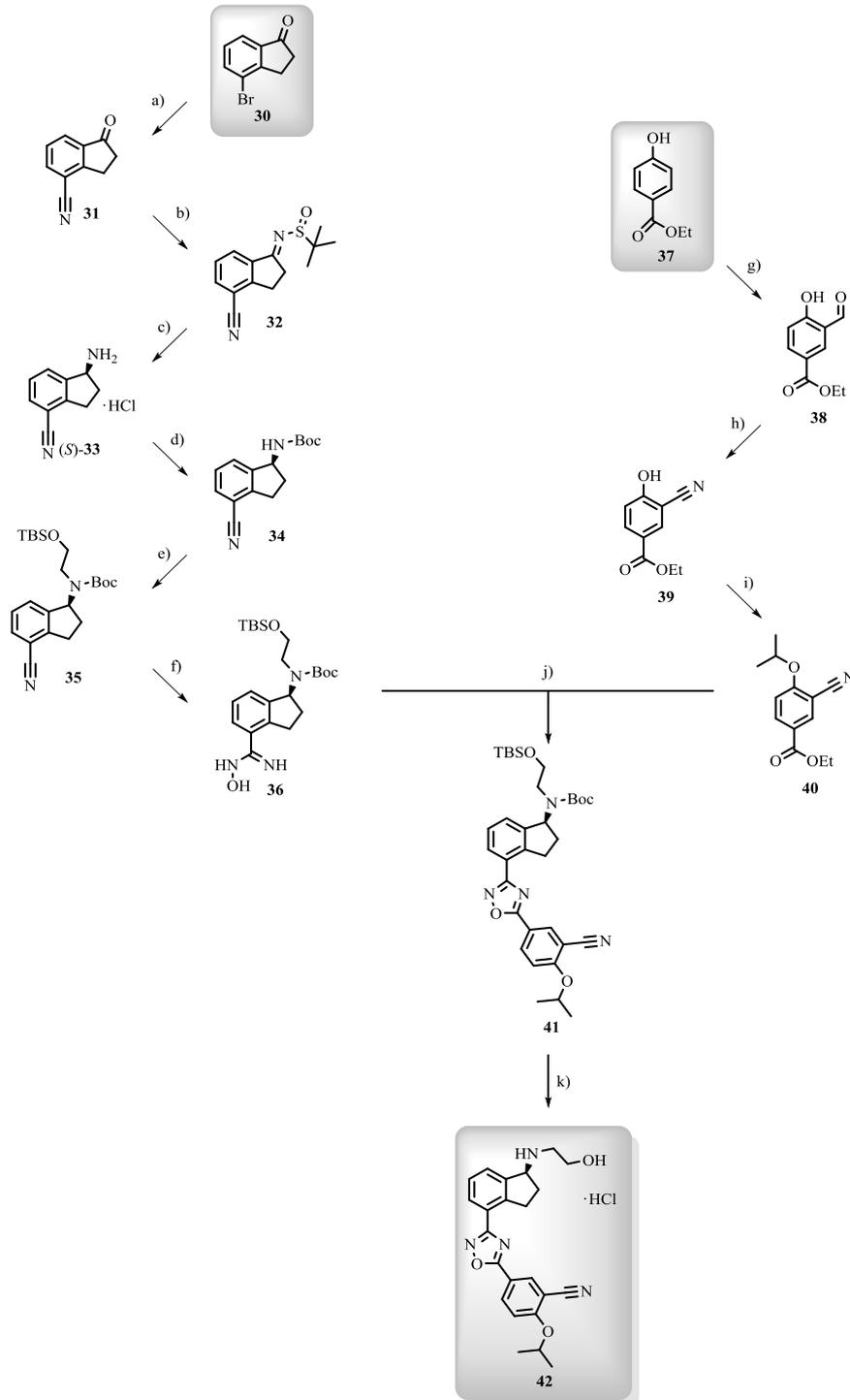


Abbildung 25: Auf der linken Seite ist die Totalsynthese von Ozanimod in der Patentschrift von *Receptos*[®] dargestellt.^[148] Rechts ist oberhalb des Benzoesäurederivats 37 eine mögliche Syntheseroute dargestellt. *Receptos*[®] äußert sich in dem Patent nicht zu dem Synthesebaustein.^[149] Reaktionsbedingungen: a) ZnCN_2 (1.98 Äq), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.05 Äq), 1-Methyl-2-pyrrolidin (LM), 95 °C, 7 h; b) (*R*)-2-Methylpropan-2-sulfonamid (1.11 Äq), $\text{Ti}(\text{EtO})_4$ (1.48 Äq), Toluol (LM), 60 °C, 12 h; c) 1. NaBH_4 (4.00 Äq), THF (LM), -78 °C, 1 h; 2. HCl in Dioxan (2.22 Äq), MeOH (LM), RT, 1.5 h; d) Triethylamin (2.20 Äq), Boc Anhydrid (1.10 Äq), DCM (LM), 0 °C → RT, 1.5 h; e) NaH (5.00 Äq), 2-Bromethoxy-*tert*-butyldimethylsilan (2.20 Äq), DMF (LM), 0 °C → RT, 1.5 h; f) HONH_2Cl (2.99 Äq), EtOH (LM), 80 °C, 4 h; g) MgCl_2 (2.00 Äq), NEt_3 (5.00 Äq), *para*-Formaldehyd (8.00 Äq), DCM (LM), 60 °C, 16 h; h) Hydroxylaminhydrochlorid (1.00 Äq), Acetylchlorid (0.78 Äq), ACN und DMF (LM), 80 °C, 2 h; i) Isopropylbromid (1.73 Äq), Kaliumcarbonat (2.47 Äq), ACN und DMF (LM), 80 °C, 16 h; j) 1. 3-Cyano-4-isopropoxybenzoesäure (0.74 Äq), Hydroxybenzotriazol (1.83 Äq), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC, 1.35 Äq), DMF (LM), 1 h; 2. Substratlösung, 80 °C, 12 h; k) HCl in Dioxan (10.01 Äq), Dioxan (LM), 0 °C → 50 °C, 1 h.

3. Motivation & Zielsetzung

Diese Arbeit beschäftigt sich grundsätzlich mit dem Aufbau von chiralen Aminstrukturen. Als Ziel werden immer enantiomerenreine Verbindungen verfolgt, welche über verschiedene biokatalytische Verfahren erreicht werden sollen. Inhaltlich wurde die Arbeit in zwei Teile gegliedert. Im ersten Teil wird versucht eine Brücke zwischen Chemo- und Biokatalyse zu schlagen. Es soll eine Eintopfreaktion bestehend aus beiden Katalysatortypen zur Synthese von interessanten chiralen Bausteinen entwickelt werden. Im zweiten Teil der Arbeit steht auch der Aufbau von einem enantiomerenreinen Amin im Fokus wobei der stereoselektive Schlüsselschritt an einem konkreten Beispiel in eine Totalsynthese eingebettet ist. Ein neuer Syntheseweg zu Ozanimod wird vorgestellt und die Vor- und Nachteile in verschiedenen Rechenbeispielen transparent dargestellt.

3.1. Chemoenzymatische Prozesse

Eine besonders häufige Aminosubstruktur stellt 1-Phenylethylamin dar, die mit einigen Anwendungsbeispielen belegt wird (siehe Abbildung 26). Die einfachste dieser Strukturen stellt 1-Phenylethylamin **9** selbst dar. Neben dem Einsatz als Organokatalysator in Verbindung mit weiteren enantiomerenreinen Reagentien^[150] oder als chirales Auxiliar in der organischen Synthese von Flosechinan^{®[151]} wird es als Ligand in Verbindung mit Platin zur Krebsbekämpfung^[152] verwendet. Ebenfalls in der Tumorbekämpfung wird α -Amido Tyrphostin **49** als Tyrosin Kinase Inhibitor eingesetzt.^[153]

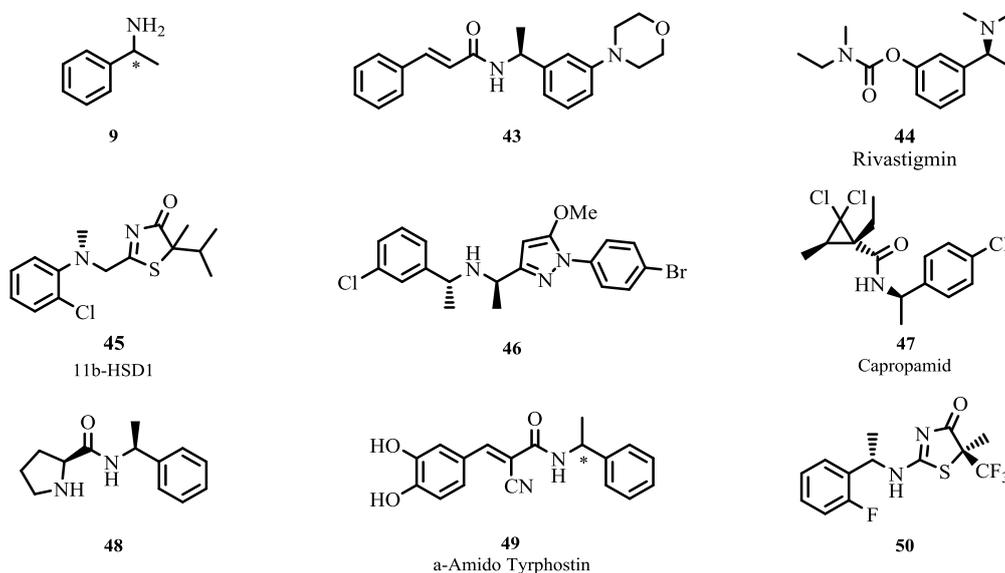


Abbildung 26: Anwendungsbeispiele in denen 1-Phenylethylamin als Baustein enthalten ist.

Der Cholinesterase Inhibitor Rivastigmin^[154] **44** (*Exelon*[®]) wird zur Medikation von Alzheimer und Parkinsondemenz eingesetzt.^[155] Das Derivat **43** von 1-Phenylethylamin wird als Kaliumkanalöffner zur Blutdrucksenkung verwendet.^[156] Der Blutdruck kann auch mit dem leicht Struktur verwandten

Heterozyklus **50** therapiert werden.^[157] Der Heterozyklus **46** findet Anwendung als Kalziummimetikum in der Therapie von Hyperthyreose.^[158] 2-(*S*)-Phenylethylaminothiazolon **45** ist ein 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 Inhibitor und kann oral zur Medikation von Typ II Diabetes gereicht werden.^[157] Ganz abseits der Medizin wird Capropamid **47** zur Pilzbekämpfung auf Reispflanzen verwendet.^[159]

Der einfachste Zugang von 1-Phenylethylaminen aus retrosynthetischer Sicht geht aus von Aromaten, die über eine *Friedel-Crafts*-Acylierung in entsprechende Carbonylverbindungen überführt werden. Eine reduktive Aminierung mündet direkt in die gewünschten Amine (siehe Abbildung 27). In manchen Fällen kann dieser Syntheseweg jedoch nicht gegangen werden, weil bei der *Friedel-Crafts*-Chemie ausschließlich *ortho*-/ *para*-Produkte zugänglich sind. Es wäre eine *meta*-Direktion denkbar durch deaktivierende Substituenten, aber mit diesen Substraten läuft die *Friedel-Crafts*-Acylierung nicht ab.^[14] Ein alternativer Weg kann über Kupplungschemie gegangen werden. Die Übergangsmetall katalysierte Reaktion orientiert sich ausschließlich an funktionellen Gruppen (typischerweise Halogenen). So könnte ein Styrolbaustein einfach aus einem Arylhalogenid und Kaliumvinyltrifluorborat in Gegenwart von Pd/C und einer Base hergestellt werden.^[160]

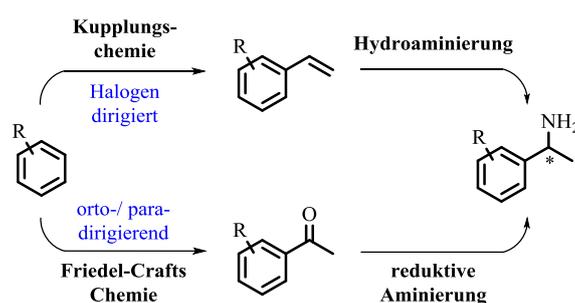


Abbildung 27: Synthesekonzepte zur Produktion von 1-Phenylethylaminen.

Über eine Hydroaminierung können Amine ausgehend von Alkenen generiert werden.^[161] Häufig wird sich eine Aktivierung des Alkens zu Nutze gemacht, um die aktivierte Spezies direkt mit einer Stickstoffspezies abzufangen. Als Katalysatoren dienen hier Übergangsmetalle und besonders häufig seltene Erden.^[162,163] Einige Arbeitsgruppen beschäftigen sich auch mit der asymmetrischen Hydroaminierung.^[164] Auf diesem Weg können sehr gute Selektivitäten erzielt werden.^[163] Eine besondere Herausforderung scheint jedoch der direkte Zugang zu primären Aminen darzustellen, denn dazu gibt es bislang erst ein Beispiel (siehe Abbildung 28 oben).^[165] Dabei wurde eine Reaktionskaskade eingesetzt, die zunächst aus einer Wacker-Oxidation und anschließend einer reduktiven Aminierung mit Hilfe eines Iridiumkatalysators bestand. Auf diesem Weg ist es jedoch nicht gelungen, ein enantiomerenreines Amin herzustellen. Dieser Weg soll ein Kernbestandteil der vorliegenden Arbeit abbilden (siehe Abbildung 28 unten).

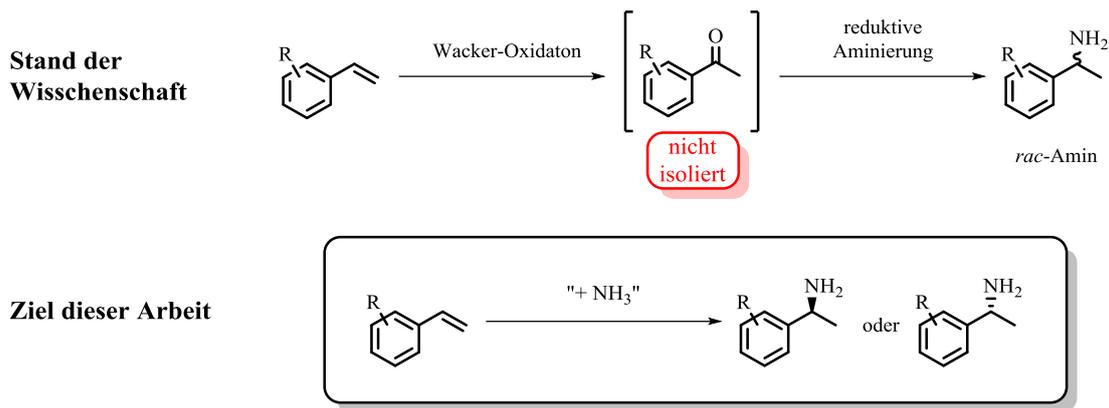


Abbildung 28: Formale asymmetrische Addition von Ammoniak an ein Alken (oben die nicht stereoselektive Variante von Yang *et al.*^[165] und unten das Ziel der vorliegenden Arbeit).

Inspiriert wurde die Arbeit von einem vorangegangenen Projekt der Arbeitsgruppe bei dem es um eine formale asymmetrische Addition von Wasser an ein Alken ging (siehe Abbildung 29 oben). In einer Palladium und Kupfer katalysierten Wacker-Oxidation wird ein Styrolerivat in Gegenwart von Sauerstoff zur Carbonylverbindung oxidiert. Das Acetophenonderivat wird ohne Isolierung direkt zum chiralen Alkohol mit Hilfe einer Alkoholdehydrogenase reduziert. Wie in Kapitel 2.2 und 2.3 vorgestellt wurde, gibt es Enzyme, die Carbonylverbindungen direkt in primäre Amine umwandeln können. Mit diesen Enzymen soll eine Kaskadenreaktion aufgebaut werden, bei der die oben vorgestellten, interessanten Zwischenprodukte der 1-Phenylethylamine entstehen.

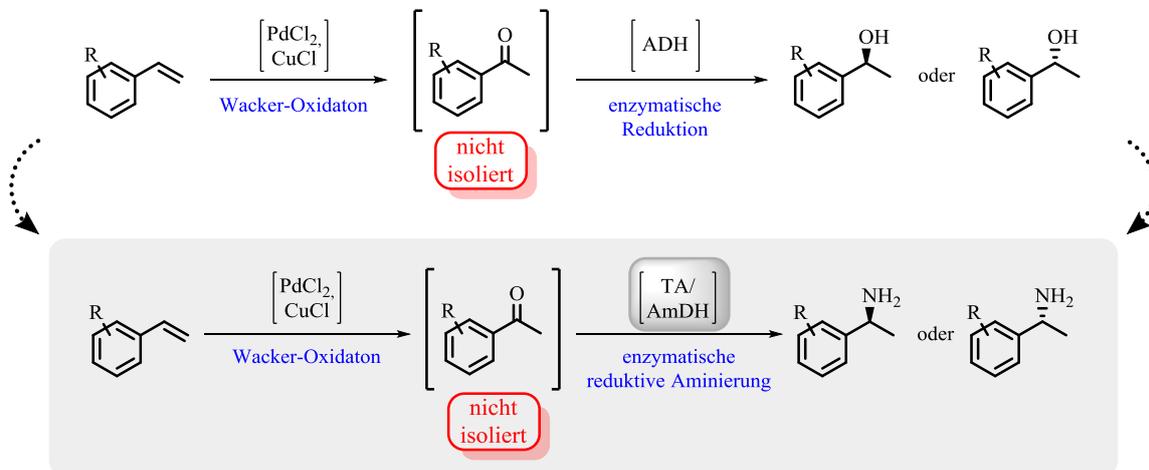


Abbildung 29: Synthesekonzeptübertragung auf eine formale asymmetrische Hydroaminierung in einer chemoenzymatischen Eintopfreaktion. Oben sind die inspirierenden Arbeiten von Sato *et al.*^[166] dargestellt.

Zunächst werden dabei die Transaminasen im enzymatischen Schritt eingesetzt. Es wird auf eine Transaminase (TA) aus *vibrio fluvialis* zurückgegriffen, die immer wieder in der Literatur zu finden ist und unterschiedliche Vorteile aufweist.^[43,55–58,60,167] TAs benötigen für die Katalyse einer reduktiven Aminierung keinen aufwändigen Cofaktor, der regeneriert werden müsste. Stattdessen setzen sie einen Amindonor wie in Kapitel 2.2 beschrieben zu einer Carbonylverbindung um. Dabei dient im

Wesentlichen ein etabliertes System zur Verschiebung des Gleichgewichts auf die Seite der Produkte aus LDH und GDH.

Idealerweise soll eine Tandemreaktion als klassische Eintopfreaktion aufgebaut werden. Im Falle einer Inkompatibilität in welcher Form auch immer, wird auf eine Kompartimentierung nach Abbildung 30 zurückgegriffen. Das nicht isolierte Produkt der Wacker-Oxidation soll durch eine Membran in die Enzymsuspension diffundieren, um dort zum gewünschten Produkt umgesetzt zu werden.

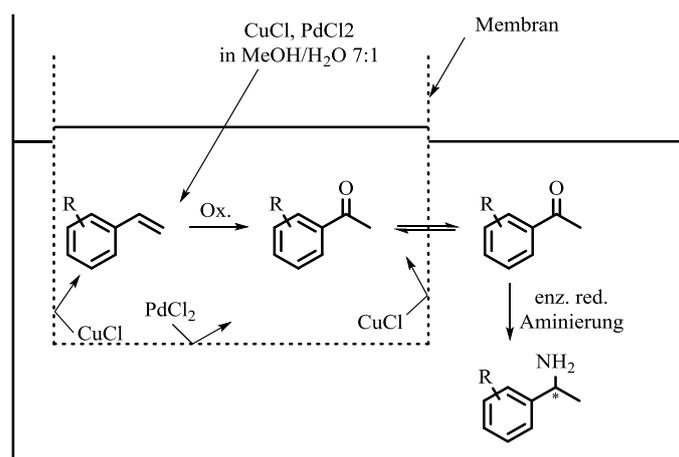


Abbildung 30: Kompartimentsystem einer Kaskadenreaktion aus Wacker-Oxidation und enzymatischer reduktiver Aminierung.

Die Transaminase aus *Vibrio fluvialis* wird außerdem im Hinblick auf Prozessattraktivität in Verbindung mit Cosolventien untersucht. Ein funktionierendes Tandemsystem soll abschließend aus dem analytischen Maßstab in einen kleinen Labormaßstab hochskaliert werden, um auch das Interesse des synthetischen Anwenders zu wecken. Der *proof of concept* konnte für dieses System bereits erbracht werden.^[168] 1-Phenylethylamin konnte erfolgreich durch die in Abbildung 30 vorgestellte Kaskadenreaktion synthetisiert werden. Die Robustheit soll im Rahmen dieser Arbeit auch mit Substratbreite belegt werden.

Ein jüngeres Enzym zur Synthese von Aminen ausgehend von Carbonylverbindungen stellt die Amindehydrogenase (AmDH) dar. Durch geschicktes Engineering konnte das Substratspektrum des nativen Enzyms von Aminosäuren zu Aminen verändert werden.^[72,79,169] Stabilität und Aktivität weisen gegenüber Transaminasen hohes Potenzial^[170] auf, sodass das System der formalen asymmetrischen Hydroaminierung auch auf die Amindehydrogenasen übertragen werden soll. Zunächst wird dabei die Kompatibilität der Katalysatoren und entsprechend die Möglichkeit einer Eintopfreaktion untersucht. Die Amindehydrogenase setzt neben dem Substrat auch den Redoxcofaktor $\text{NADH}+\text{H}^+/\text{NAD}^+$ um, sodass zur Regenerierung des Cofaktors D-Glucose und GDH eingesetzt werden (siehe Abbildung 31 links)

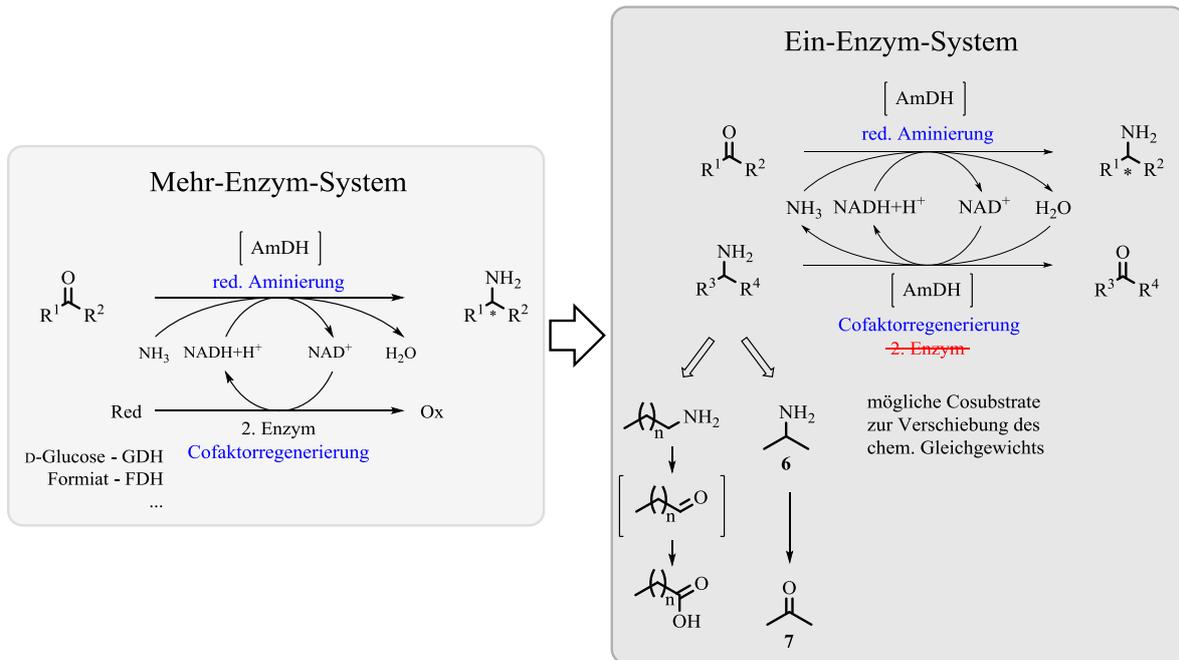


Abbildung 31: Konzeptentwicklung des bestehenden Multi Enzym System (links)^[171,85] hin zum Ein Enzym System (rechts).

In einem zweiten Schritt soll das System zur Cofaktorregenerierung umgestellt werden. Anstatt einem weiteren Enzym und entsprechendem Substrat soll ein System entwickelt werden, welches nur noch ein Enzym (die AmDH) enthält und den Cofaktor möglichst ohne weiteres Substrat regeneriert (siehe Abbildung 31 rechts). Angelehnt ist dieses Konzept an eine Transaminierung. Auf der einen Seite wird Ammoniak und ein Reduktionsmittel verbraucht, um ein Amin aufzubauen. Die parallel ablaufende Reaktion setzt den reduzierten Cofaktor durch Oxidation eines Amins zum Imin frei. Die Hydrolyse des Imins stellt den Ammoniak für die reduktive Aminierung zur Verfügung. Formal genügen diesem System 1 Äquivalent des Cosubstrats, um vollständigen Umsatz zu erzielen. In dem Cosubstrat steckt der Stickstoffdonor und das Redoxäquivalent. Unten in Abbildung 31 sind mögliche Cosubstrate aufgezeigt, mit denen das chemische Gleichgewicht ohne enzymatische Folgereaktion auf die Seite der Produkte geschoben werden kann. Analog zu den Transaminasen wäre Isopropylamin denkbar, sodass wie im *Sitagliptin*[®]-Prozess Aceton *in situ* aus der Reaktionsmischung verdampft werden kann. Eine neue Idee steckt im Einsatz eines endständigen primären Amins. Die Deaminierung durch die Amindehydrogenase lässt einen Aldehyd entstehen, der im wässrigen Milieu zur Autoxidation neigt.^[172] Auf diese Weise könnte ein neues attraktives „Ein Enzym System“ zur enzymatischen asymmetrischen reduktiven Aminierung generiert werden.

3.2. Synthese eines Schlüsselbausteins für Ozanimod

Der Wirkstoff Ozanimod wurde von der Firma Receptos erstmalig 2014 patentiert und in synthetischem Zusammenhang beschrieben.^[148] Die Synthese von Receptos beinhaltet einige wirtschaftliche Fragezeichen bzw. größere Kostenpunkte. Zunächst wird 4-Bromindanon **30** als Ausgangsrohstoff gewählt, was einen recht teuren Grundbaustein darstellt. Die kommerzielle Verfügbarkeit ist gegeben, aber die Herstellung sehr aufwändig und entsprechend teuer ist der Rohstoff. Die Folgechemie ist ebenfalls mit hohen Kosten für Reagenzien, Abfall und auch für ausreichende Sicherheit im toxikologischen Sinne verbunden (siehe Abbildung 32).

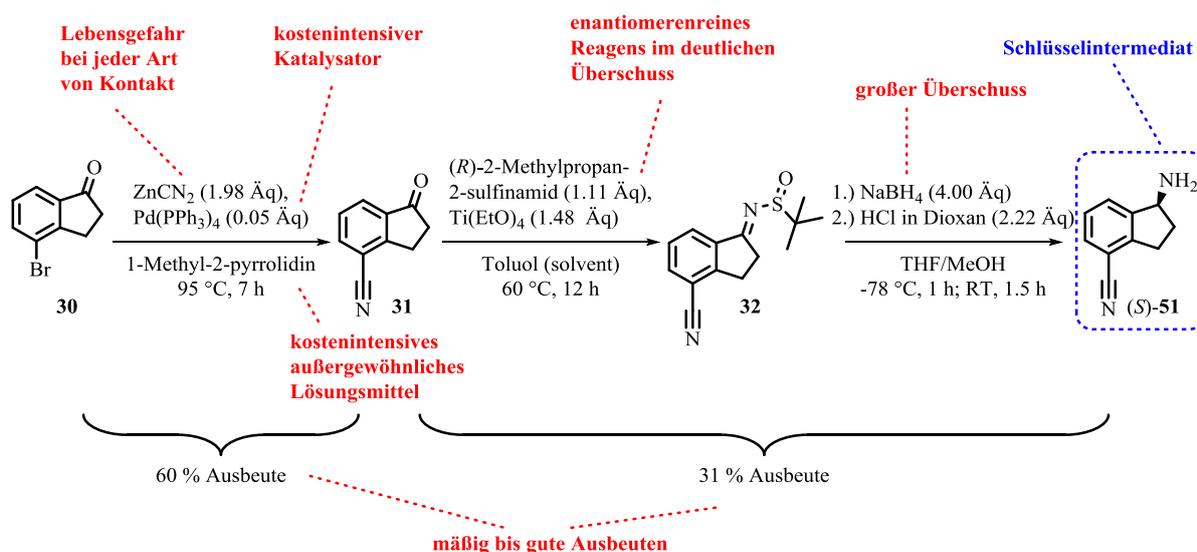


Abbildung 32: Synthese des chiralen Schlüsselbausteins von Ozanimod nach dem Patent von Receptos.^[148]

So entstand die Idee die Syntheseroute zum Schlüsselbaustein des Amins **51** zu optimieren. Zwei zentrale Fragen prägten das Projekt. Zum einen sollte das Stereozentrum auf biokatalytischem Wege eingeführt werden. Hier bieten sich nach aktuellem Stand der Wissenschaft vier konzeptionell unterschiedliche Wege an (siehe Abbildung 33). Eine Möglichkeit das enantiomerenreine Amin **51** zu erhalten, besteht in der kinetischen Racematspaltung eines Enantiomerengemisches. Hier können verschiedene Hydrolasen zum Einsatz kommen je nachdem, ob ein Enantiomer hydrolysiert oder acyliert werden soll. Bei wasserunlöslichen Substraten eignen sich bevorzugt Lipasen.^[173] Wie gut dieser biokatalytische Weg funktionieren kann, zeigt die Produktion eines Intermediats des Herbizids Outlook[®]. Die BASF produziert jährlich 2500 t via kinetischer Racematspaltung mit einer Lipase.^[97] Leichte Verfügbarkeit des Katalysators und ein einfacher Umgang machen diesen Katalysator attraktiv. Der Nachteil einer kinetischen Racematspaltung ist jedoch immer die Ausbeutelimitierung von 50 % des gewünschten Enantiomers. Die anderen drei biokatalytischen Konzepte basieren auf einer prochiralen Ausgangsverbindung, die reaktiv in eine chirale Verbindung überführt wird. Hierbei kann beispielsweise eine Iminreduktase zur Reduktion eines Imins eingesetzt werden (siehe Abbildung 33 unten links). Wie alle Oxidoreduktasen benötigt die Iminreduktase einen Cofaktor zur Durchführung

der katalytischen Reaktion. Der Cofaktor kann aber durch gängige Systeme wie Glucose/GDH in katalytischen Mengen rezykliert werden. Bislang sind Iminreduktasen nur in wässriger Umgebung beschrieben, sodass für das Zielamin **51** eine gewisse Stabilität in Wasser gegeben sein muss, um das Substrat in das Produkt umzusetzen. In dieser Hinsicht weniger sensibel sind die beiden anderen Enzymklassen. Die Amindehydrogenase kann eine Carbonylverbindung in Gegenwart von Ammoniak und eines reduzierten Cofaktors reduzieren. So besteht ein direkter Zugang zu primären Aminen. Hier spielt die Stabilität eines intermediären Imins nur eine untergeordnete Rolle, weil diese reaktive Spezies lediglich im katalytischen Zentrum des Enzyms vorliegt. Die Transaminase (siehe Abbildung 33 oben rechts) katalysiert den Austausch einer Aminogruppe gegen eine Carbonylverbindung. Bei ihrem Einsatz wird für quantitativen Umsatz immer ein Äquivalent Aminodonor benötigt. An dieser Stelle des Projekts sind auch noch verschiedene Substitutionsmuster denkbar. So kann prinzipiell an jeder Stelle der Gesamtsynthese asymmetrisch reaktiv aminiert werden. Aus wirtschaftlicher Sicht müssen entsprechend späte Reaktionsschritte mit wertvollen Substraten besonders erfolgreich durchgeführt werden. Eine Racematspaltung wird deshalb eher auf einer frühen Stufe durchgeführt werden, während die asymmetrischen Transformationen mit Transaminase, Amindehydrogenase und Iminreduktase auch im späten Stadium der Gesamtsynthese interessant sein können.

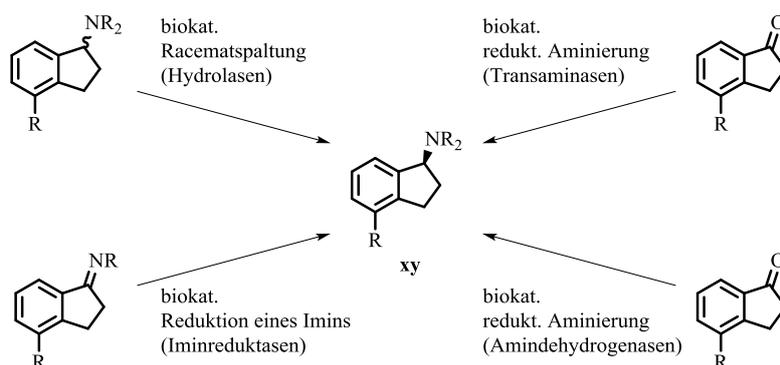


Abbildung 33: Biokatalytische Konzepte zur Synthese eines enantiomerenreinen Amins.

Die zweite Frage beschäftigte sich mit möglichen Ausgangsrohstoffen, aus denen die Substrate für den biokatalytischen Schritt gewonnen werden können. Dabei kristallisierte sich Naphthalin **56** als ein sehr einfacher und interessanter Rohstoff heraus (siehe Abbildung 34). Naphthalin **56** muss zum 1,2-Dihydronaphthalin **55** reduziert werden.^[174] Im einfachsten Fall kann dieses elektrochemisch geschehen. Die Doppelbindung wird oxidativ gespalten, sodass die Dicarbonsäure **106** erhalten wird.^[175] Mit *Friedel-Crafts*-Chemie kann das Indanongerüst **107** aufgebaut werden.^[175]

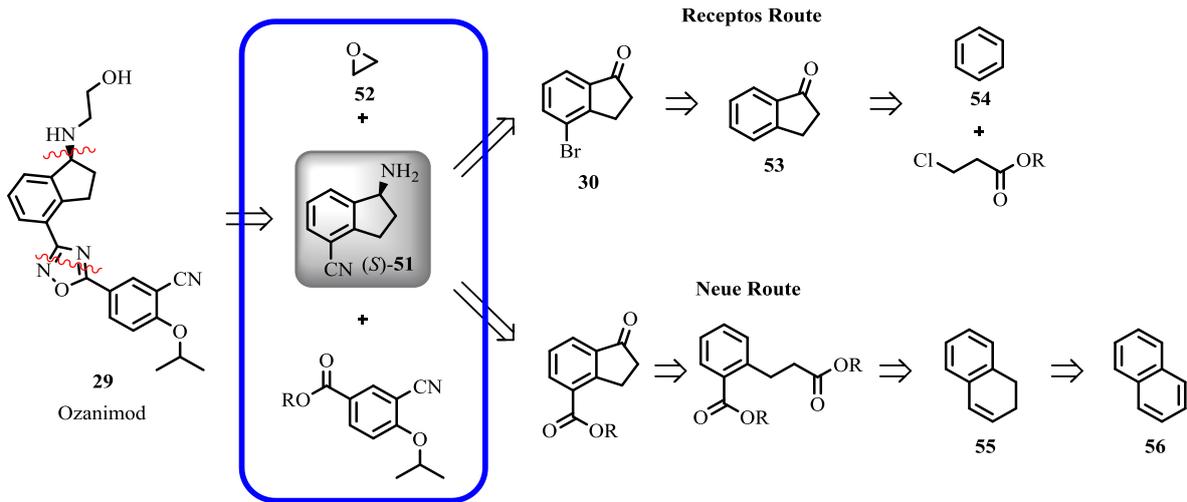


Abbildung 34: Retrosynthetische Zerlegung von Ozanimod in ähnlich große Bausteine im Sinne einer konvergenten Synthese.

Die verbliebene freie Säure muss zum Nitril derivatisiert werden. Alle Zwischenprodukte wurden bei der Entwicklung eines geeigneten biokatalytischen Schritts als Substrate für die Transaminase und Lipase berücksichtigt. Für die Lipase wird die reduktive Aminierung vor den biokatalytischen Reaktionsschritt geschaltet. Beim Einsatz der Lipase handelt es sich um eine klassische kinetische Racematspaltung, bei der das Ausbeutelimit bei 50 % liegt. Das ungewünschte Enantiomer wird acyliert und soll nachträglich racemisiert und wieder in den Gesamtprozess zurückgeführt werden. Ausgehend von (S)-OZA 6 verläuft die Synthese analog zu der von Receptos über die Bildung des Oxadiazols und abschließend dem Einführen des Henkels am Amin.

In dieser Arbeit werden verschiedene Reaktionsbedingungen aufgezeigt, unter denen die oben dargestellte retrosynthetische Route verfolgt werden kann. Mit den gewonnenen Daten wird abschließend ein Vergleich der vorhandenen Route von Receptos und der Neuen durchgeführt. Im Hinblick auf Rohstoffkosten und Abfallmengen werden die beiden Prozesse gegenübergestellt und analysiert.

4. Analytik und Synthese der Referenzsubstanzen

4.1. Analytik

In diesem Kapitel werden alle analytischen Methoden vorgestellt, die in der Arbeit eingesetzt wurden. Etwas ausführlicher wird die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie diskutiert, weil darin die Basis für die Umsatzbestimmung jeder enzymatischen Reaktion liegt. Hier werden die Lösungen anfänglicher Herausforderungen erläutert. Abgerundet wird das Kapitel mit den verwendeten Verfahren zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses und der Enzymaktivität.

4.1.1. $^1\text{H-NMR}$ Analytik

4.1.1.1. Umsatzberechnung der enzymatischen Transaminierung

Die Transaminierung wird in einer Suspension aus Enzymen und Cosubstraten in verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt. Die Aufarbeitung bestand zunächst in einer 19-stündigen Inkubation im sauren Milieu. Anschließend wurde die Suspension mit Dichlormethan (DCM) bei pH 14 extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet (siehe Abbildung 35).

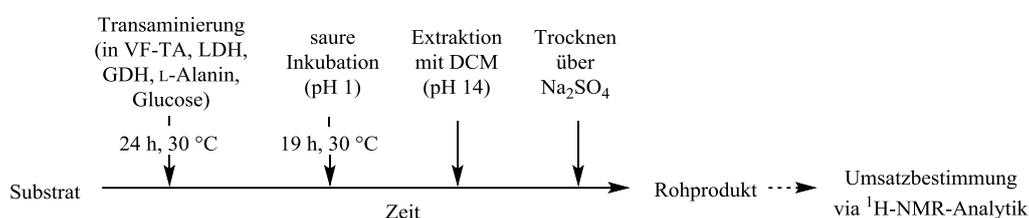


Abbildung 35: Aufarbeitung nach enzymatischer Transaminierung.

Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Rohprodukte wurden genutzt um den Umsatz der Reaktion zu bestimmen. Durch Vergleich der Signale der Methylgruppen von Substrat **8** und Produkt (*R*)-**9** bzw. (*R*)-**9** wird der Umsatz berechnet. Erste Experimente zeigten, dass beim Einsatz von Dimethylsulfoxid (DMSO) als Lösungsmittel eben dieses im Rohprodukt zurückbleibt. Im gängigen Lösungsmittel für NMR-Spektren Chloroform-d überlagert das Signal von DMSO teilweise oder vollständig mit dem der Methylgruppe von Acetophenon **8**. Eine Umsatzbestimmung mit dem Signal der Methylgruppe ist nicht möglich. Die anderen Signale des Substrats im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum kommen für eine Umsatzbestimmung auch nicht in Frage, weil sie mit den aromatischen Signalen des Amins **9** überlagern. Um die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie trotzdem für eine Umsatzbestimmung nutzen zu können, werden Lösungsmittel unterschiedlicher Polaritäten untersucht. Das Ziel dabei ist, eine klare Signalseparation zu erhalten.

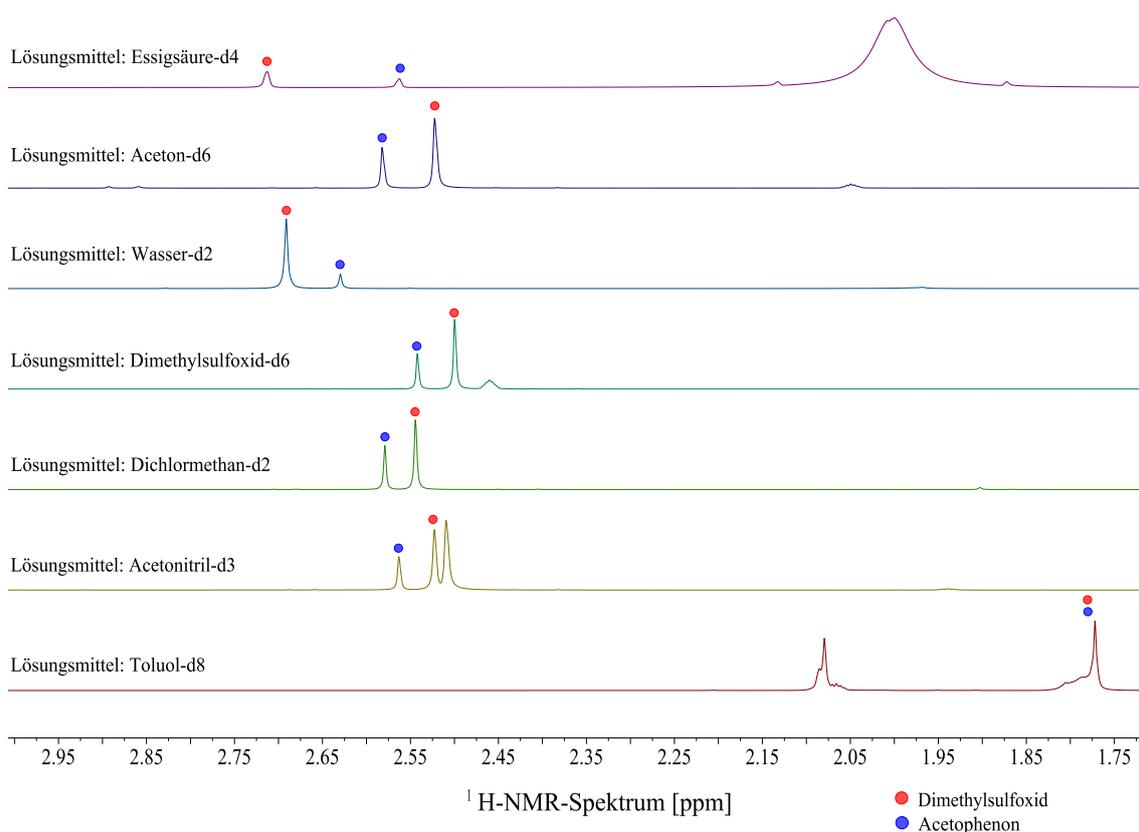


Abbildung 36: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von Acetophenon **6** und DMSO in verschiedenen Lösungsmitteln.

In Abbildung 36 wird gezeigt, dass sich zunächst alle getesteten Lösungsmittel außer Toluol und Acetonitril für die vollständige Signalseparation eignen. Die Aufspaltungen liegen zwischen 0.04 ppm und 0.15 ppm. Bei den nächsten Experimenten mit Dichlormethan-d₂ als Lösungsmittel zeigte sich jedoch, dass der Einfluss weiterer Komponenten in der $^1\text{H-NMR}$ -Probe, wie das gebildete Amin **9** und evtl. andere organische Substanzen, die $^1\text{H-NMR}$ -Signale wieder überlagern lässt. Für alle folgenden Experimente mit DMSO als Lösungsmittel wurde deshalb Essigsäure-d₄ eingesetzt, um die maximale Aufspaltung zu erhalten (siehe Abbildung 36). In Kontrollversuchen konnte gezeigt werden, dass die $^1\text{H-NMR}$ -Signale von DMSO und Acetophenon **8** unter den hiesigen Bedingungen immer vollständig separiert sind.

4.1.1.2. Bestimmung eines Korrekturfaktors

Bereits bei den ersten Experimenten der enzymatischen Transaminierung hat sich gezeigt, dass die Wiederfindung zwischen 20 % und 99 % liegt. Der Grund für die großen Schwankungen ist der Einsatz von sehr viel Biomasse (~70 mg) und wenig Substrat **8** (~5 mg). Weil diese Schwankungen eine absolute Umsatzbestimmung schwierig gestalten, wird in diesem Kapitel eine Methode zur Bestimmung eines relativen Umsatzes diskutiert. Der relative Umsatz wird anhand des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums, wie im

vorigen Kapitel beschrieben, berechnet. Um sicher zu stellen, dass auch bei einer geringen Wiederfindung das Verhältnis von Substrat und Produkt nicht beeinflusst wird, werden Simulationsversuche durchgeführt. Dabei wird eine bekannte Mischung aus Amin (*S*)-**9** und Acetophenon **8** in VF-TA, LDH, GDH und Glucose **14** suspendiert. Die katalysierte Transaminierung wird unterbunden, indem kein Cosubstrat in die Simulationsmischung gegeben wird (siehe Abbildung 37).

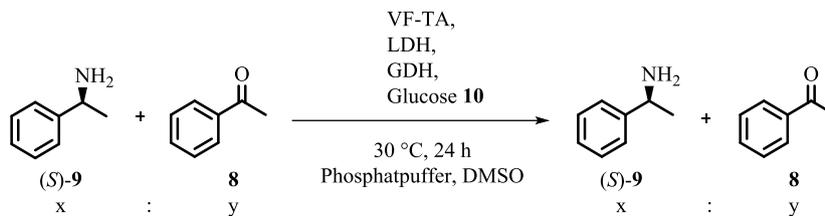


Abbildung 37: Reaktionssimulation der enzymatischen Transaminierung zur Untersuchung des Extraktionsverhaltens.

Vor und nach der Simulation mit Modellmischungen wird das Verhältnis zwischen Phenylethylamin (*S*)-**9** und Acetophenon **8** $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch bestimmt. Die Reaktionsmischung wird nach der Standardprozedur aufgearbeitet und anschließend das Verhältnis von Amin (*S*)-**9** und Keton **8** im Rohprodukt bestimmt (siehe Tabelle 1).

In Tabelle 1 wird gezeigt, dass nach der Reaktionssimulation immer mehr Phenylethylamin (*S*)-**9** im Verhältnis zu Acetophenon **8** nachgewiesen werden kann als vor der Reaktionssimulation. Acetophenon **8** wird vermutlich von der Biomasse adsorbiert oder chemisch umgesetzt, weil auch diverse Bemühungen zur vollständigen Wiederfindung nicht gelangen. Trotzdem zeigt Tabelle 1, dass das Verhältnis nach der Extraktion konstant ist.

Tabelle 1: Extraktionsverhalten von Phenylethylamin (S)-9 und Acetophenon 8 aus der Enzymsuspension.

	Vor der Simulation	Nach der Simulation (Wiederfindung [%])
Verhältnis Phenylethylamin (S)-9 / Acetophenon 8	1.00	1.05 (n.b.)
		1.13 (n.b.)
		1.12 (73)
		1.08 (57)
		1.10 (58)

Anhand der sehr unterschiedlichen Wiederfindungen (in Tabelle 1 in Klammern angegeben) muss folglich das Extraktionsverhalten unabhängig von der Wiederfindung sein. Es kann weiterhin ein relativer Umsatz bestimmt werden, der mit der Realität übereinstimmt. Da sich das Verhältnis vor und nach der Reaktion jedoch verändert, muss der Umsatz korrigiert werden. Die letzte Spalte aus Tabelle 1 zeigt, dass bei jeder Aufarbeitung im Mittel 9 % von Keton **8** in der Reaktionsmischung verbleiben. Für die Umsatzermittlung wird in den nächsten Kapiteln die nachgewiesene Menge Acetophenon **8** entsprechend erhöht.

4.1.2. Aktivitätsbestimmung von Enzymen

Um den Einsatz von Enzymen als Biokatalysatoren transparent und reproduzierbar zu machen, wird vor jeder Reaktion die Aktivität der Enzyme gemessen.^[176] So kann immer die optimale Biomasse zu der Reaktion gegeben werden. Die Aktivität A entspricht der umgesetzten Menge Substrat S [μmol] pro Zeiteinheit t [min].^[177]

$$A = \frac{S}{t} \left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} = 1 \text{ U} \right]$$

Gleichung 1: Definition der Aktivität.

Ein übliches Mittel um die Aktivität eines Enzyms zu bestimmen ist der Photometertest. Beim Photometertest wird die Reaktion, die durch das Enzym katalysiert wird photometrisch beobachtet. Die Wellenlänge wird dabei so gewählt, dass nur ein Substrat oder ein Produkt absorbiert. Mit Hilfe des Lambert-Beer-Gesetzes kann dann der Umsatz pro Zeiteinheit bestimmt werden. Nach dem Lambert-Beer-Gesetz entspricht die Absorption A_i dem Produkt aus der Schichtdicke der Messzelle d , der Substratkonzentration S_K und dem Wellenlängen abhängigen Absorptionskoeffizienten ϵ .^[176]

$$A_i = \epsilon \cdot S_K \cdot d$$

Gleichung 2: Lambert-Beer-Gesetz.

Durch Zusammenführung von Gleichung 1 und Gleichung 2 lässt sich die Aktivität mit Hilfe der Geräte und präparativ abhängigen Parameter anhand der Absorptionkurve direkt berechnen (siehe Gleichung 3).^[176]

$$A \left[\text{U/mL} \right] = \frac{\Delta E}{t} \cdot \frac{V_t}{\epsilon \cdot V_S \cdot d \cdot f}$$

Gleichung 3: Formel zur Bestimmung der Aktivität mit dem Photometer.

In dieser Arbeit werden verschiedene Enzyme verwendet. Bei drei der eingesetzten Enzyme handelt es sich um Oxidoreduktasen, die mit Hilfe des Cofaktorsystems $\text{NADH} + \text{H}^+ / \text{NAD}^+$ ein Substrat oxidieren bzw. reduzieren können. NADH hat eine starke Absorption bei 340 nm (siehe gängige Aktivitätsassays). Weil die Substrate und deren Produkte bei dieser Wellenlänge keinerlei Absorption zeigen, wird die Aktivität für die Lactatdehydrogenase (LDH) und die Glucosedehydrogenase (GDH) bei 340 nm vermessen.

Die Transaminasen setzen kein NADH um, sodass eine andere Reaktionskomponente photometrisch beobachtet werden muss. Bei der Vermessung der Absorptionsspektren von Phenylethylamin **9** und Acetophenon **8** hat sich herausgestellt, dass bei 245 nm ausschließlich Keton **8** absorbiert. Die Aktivitätsmessungen werden deshalb alle bei 245 nm durchgeführt.

Bei der enzymatischen Transaminierung handelt es sich um eine Gleichgewichtsreaktion. Für den Umsatz von Acetophenon **8** zu Phenylethylamin (*S*)-**9** liegt das Gleichgewicht sehr weit auf der Seite des Substrats. Da beim Photometertest kein Druck auf das Gleichgewicht ausgeübt wird, wird die Aktivität der Transaminase in die andere Reaktionsrichtung gemessen. Der Umsatz von Phenylethylamin (*S*)-**9** zu Acetophenon **8** wird photometrisch analysiert und daraus die Aktivität bestimmt. Hier sind $\Delta E/t$ die Steigung der Absorptionskurve, V_t das absolute Volumen der Messzelle, V_S das Volumen der zugegebenen Enzymlösung und f der Verdünnungsfaktor der Enzymlösung.

4.1.3. E-Wert

Der E-Wert ist ein Maß für die Enantioselektivität einer Reaktion. Er berücksichtigt die Reaktionsgeschwindigkeiten der einzelnen Enantiomere und berechnet sich nach Gleichung 4.

$$E = \frac{\ln [(1-C) \cdot (1-ee_p)]}{\ln [(1-C) \cdot (1+ee_p)]}$$

Gleichung 4: Formel zur Berechnung des E-Wertes.

Ein E-Wert unter 15 ist für praktische Anwendungen wenig attraktiv. Zwischen 15 und 30 gilt ein E-Wert als angemessen bis gut. Höhere E-Werte gelten als exzellent. Bei E-Werten >200 führen bereits kleine Fehler der Analytik (HPLC und ¹H-NMR-Spektroskopie) zu signifikanten Änderungen des E-Wertes. Die berechneten Werte werden im Laufe der Arbeit trotzdem angegeben

5. Enzymatische reduktive Aminierung

In diesem Kapitel wird die biokatalytische Teilreaktion des vorgestellten Konzepts der formalen asymmetrischen Hydroaminierung präsentiert und diskutiert (siehe Abbildung 38). Ziel ist die Realisierung einer Eintopfreaktion, weshalb zunächst die Kompatibilität der unterschiedlichen Katalysatoren im Fokus steht.

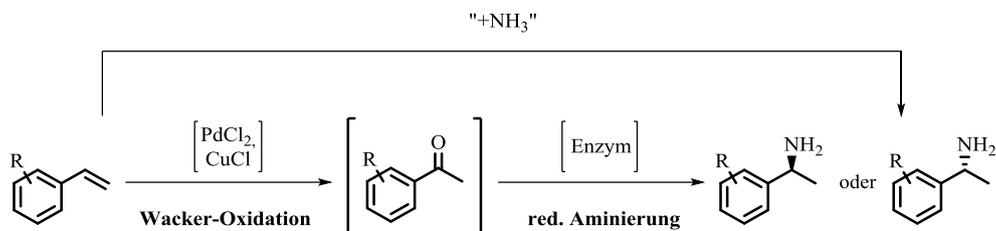


Abbildung 38: Formale asymmetrische Addition von Ammoniak an ein nicht funktionalisiertes Alken.

Als Biokatalysatoren werden hier die Transaminase (aus *Vibrio fluvialis*) und die Amindehydrogenase (aus *Exiguobacterium sibiricum*) untersucht. Beide sollen am Ende der Arbeit modular in Tandemreaktion eingesetzt werden können, um zu enantiomerenreinen Aminen zu gelangen.

5.1. Transaminasen

Aus den beiden vorgestellten Enzymklassen der Transaminase und der Amindehydrogenase bilden erstere aus einer Carbonylverbindung ein primäres Amin und parallel dazu die Umkehrreaktion mit einem Cosubstrat. In diesem Kapitel wird neben der Kompatibilität der Katalysatoren auch das Substratspektrum im Hinblick auf eine Anwendung der Tandemreaktion untersucht (siehe Abbildung 39).

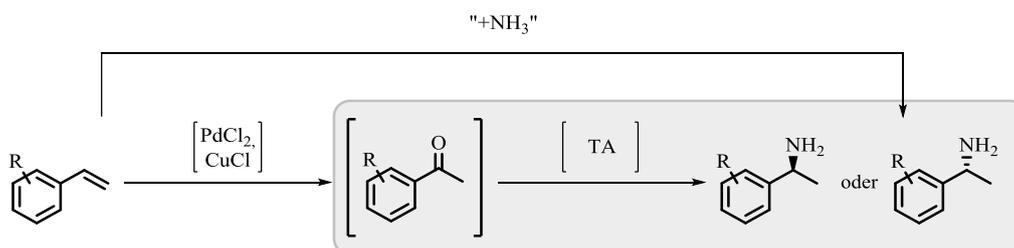


Abbildung 39: Formale asymmetrische Addition von Ammoniak an ein nicht funktionalisiertes Alken. Der Fokus liegt hier auf der enzymatischen reduktiven Aminierung mit einer Transaminase.

In Kapitel 2.2 wurde die Enzymklasse der Transaminasen eingehend vorgestellt. In dieser Arbeit wurde die Transaminase aus *Vibrio fluvialis* eingesetzt (siehe auch Literatur^[56,58]). Die Transaminase gehört zu den Enzymen, die kein Isopropylamin als Cosubstrat akzeptieren und entsprechend auf das natürliche Cosubstrat L-Alanin zurückgegriffen werden muss. Um das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte zu schieben wird eine enzymatische Kaskade aus Lactatdehydrogenase (LDH) und

Glucosedehydrogenase (GDH) eingesetzt (siehe Abbildung 40). Die LDH reduziert das Koppelprodukt Pyruvat **11** zu Lactat (*S*)-**13**. Der dabei verbrauchte Cofaktor (NADH) wird durch die Oxidation von Glucose **14** zu Gluconolacton **15** regeneriert. Die Verseifung des Lactons stellt unter diesen Bedingungen im basisch wässrigen Milieu den irreversiblen Schritt dar und verschiebt das chemische Gleichgewicht auf die Seite der Produkte (siehe Abbildung 40 oben).

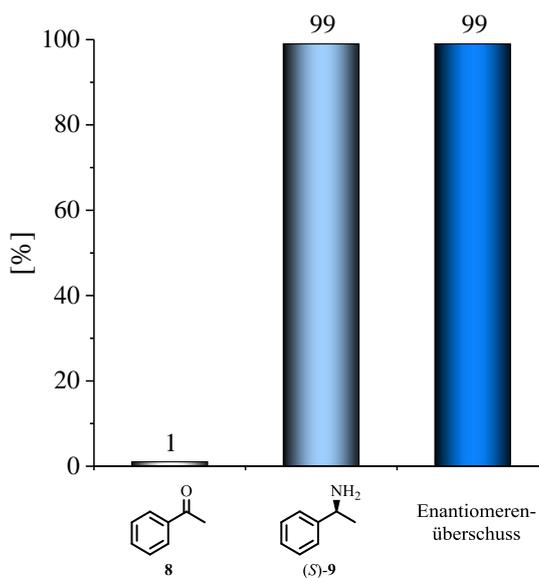
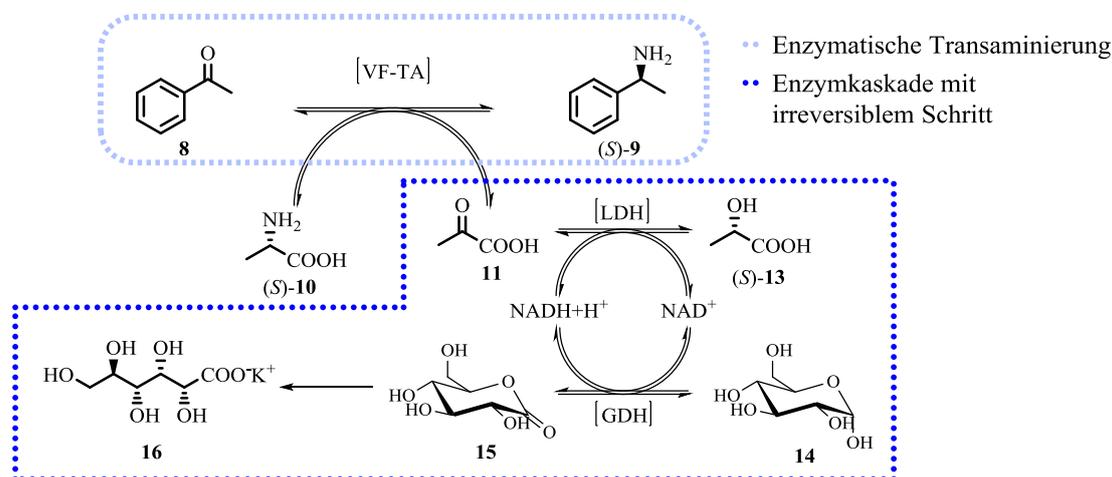
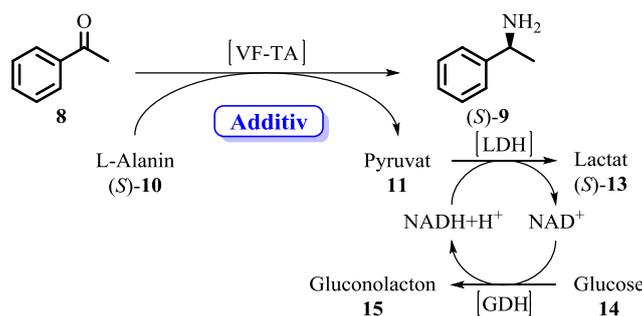


Abbildung 40: Benchmark Experiment zur enzymatischen Transaminierung von Acetophenon **8 zu 1-Phenylethylamin (*S*)-**9**. Zur Gleichgewichtsverschiebung wird eine enzymatische Kaskade aus LDH und GDH verwendet.**

In Abbildung 40 unten wird das Benchmark Experiment nach dem oben vorgestellten Konzept dargestellt. Acetophenon wurde quantitativ zum gewünschten 1-Phenylethylamin (*S*)-**9** umgesetzt. Das Produkt (*S*)-**9** wird mit exzellentem Enantiomerenüberschuss von 99 % *ee* isoliert. Die Ausbeute variierte je nach Enzymcharge zwischen 50 % und 95 %. Aus diesem Grund wurde zur sicheren Umsatzbestimmung eine Methode entwickelt, die unabhängig von der Ausbeute ist (siehe Kapitel 4.1.1). Die Bedingungen der Reaktion wurden für alle weiteren Experimente übernommen.

Bei der einfachsten Eintopfreaktion werden alle Reagenzien in einen „Topf“ zusammengegeben und für die Reaktionszeit durchmischt. Anschließend wird das Zielprodukt isoliert. Ein solches Vorgehen setzt voraus, dass alle Komponenten miteinander kompatibel sind und nicht gegenseitig Nebenreaktionen oder Inhibierungen hervorrufen. Aus diesem Grund wurden in den nächsten Experimenten die Katalysatorkompatibilität von Transaminase und Wacker-Oxidation untersucht (durchgeführt in einer vorigen Arbeit des Autors).^[168] Die Wacker-Oxidation soll wie in Kapitel 6 beschrieben mit den Katalysatoren PdCl₂ und CuCl durchgeführt werden. Bezogen auf die Substratmenge werden entsprechende Stoffmengen der beiden Salze zu der enzymatischen Transaminierung gegeben. Die Ergebnisse sind in Abbildung 41 gezeigt.



Additiv	Reaktionszeit [h]	Umsatz [%]	Enantiomerenüberschuss [%ee]
-	24	97	99
PdCl ₂ (0.14 Äq)	24	86	99
CuCl (1.27 Äq)	24	3	n.d.

Abbildung 41: Kompatibilitätsuntersuchung von Transaminase und Wacker-Katalysator.^[168]

Bei den Kompatibilitätsexperimenten zeigte sich, dass eine klassische Eintopfreaktion aus Wacker-Oxidation und Transaminierung nicht zum gewünschten Aminprodukt führen kann. Während das Palladiumsalz die Aktivität nur wenig verringert kommt es beim Zusatz von CuCl zu einer nahezu quantitativen Inhibierung. Bei der Transaminierung in Gegenwart des Kupfersalzes konnten lediglich 3 % Umsatz gemessen werden. Interessanterweise wird die Enantioselektivität durch Palladium nicht beeinflusst. Das Produkt konnte mit einem Enantiomerenüberschuss von 99 %ee isoliert werden.

Aus diesem Experiment geht auch hervor, dass eine klassische Eintopfreaktion im sequentiellen Modus nicht möglich ist, weil die Transaminierung durch die Katalysatoren der vorangegangenen Wacker-Oxidation inhibiert wird. Eine Möglichkeit der Inhibierung vorzubeugen, besteht in der gegenseitigen Kompartimentierung (siehe Abbildung 42). Die Reaktionssysteme werden durch ein Material getrennt, welches nur vom Produkt der ersten Teilreaktion passiert werden kann. Die inkompatiblen Spezies verbleiben in ihrem Kompartiment und können keinen negativen Einfluss auf die Folgechemie nehmen. Als Membranmaterial hat sich in früheren Arbeiten bei einer vergleichbaren

Herausforderung Polydimethylsiloxan (PDMS) empfohlen.^[166] Dabei ging es um die Kompartimentierung von Wacker-Oxidation und enzymatischer Reduktion mit Hilfe einer Alkoholdehydrogenase. Auch vor dieser Arbeit zeigte sich, dass organische Substanzen durch die Membran diffundieren können, während sehr polare Spezies in ihrem Kompartiment gehalten werden.^[178] Das Membranmaterial besteht aus einem Silikongerüst, welches durch Methylsubstituenten am Silizium weniger Quervernetzungen enthält. Die Folge sind poröse Struktur und ein Gel ähnliches Verhalten. Der Methylsubstituent, der in die porösen Räume innerhalb der Membran zeigt, bewirkt gute Wechselwirkungen mit unpolaren Substanzen und Abweisung gegenüber Salzen.

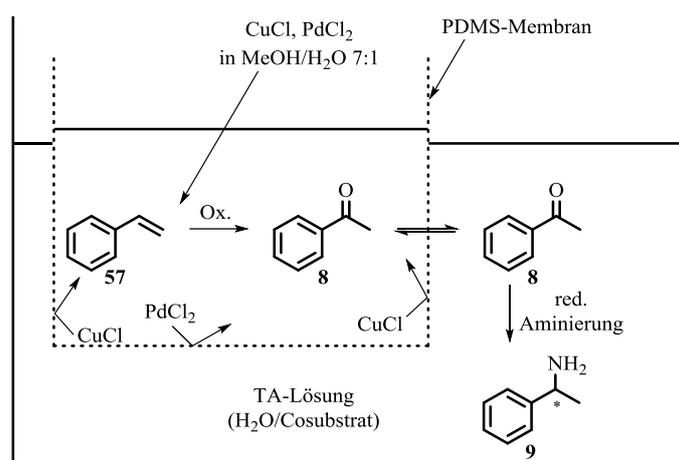


Abbildung 42: Kompartimentierung von zwei inkompatiblen Reaktionssystemen.

Vor der Betrachtung der biokatalytischen Transaminierung im kompartimentierten System wird die Diffusionsgeschwindigkeit von Acetophenon **8** durch eine PDMS-Membran untersucht. Dabei soll ein Eindruck gewonnen werden, wie lange eine vollständige Diffusion des Substrats durch die Membran andauert. Die Transaminase weist im Vergleich zu beispielsweise Lipasen^[179] eine eher geringe Stabilität auf, welche nach 24 h vollständig erlischt. Entsprechend muss für einen quantitativen Umsatz bis zu diesem Zeitpunkt das Substrat in das entsprechende Kompartiment des Reaktors gelangen (siehe Abbildung 42). Um die Diffusionsgeschwindigkeit zu untersuchen, wird ein Reaktor mit den Lösungsmitteln der Teilreaktionen (Wacker-Oxidation und Transaminierung) gefüllt und mit Acetophenon im inneren Volumen aufgestockt. Zu den gegebenen Zeiten wurden beide Volumina extrahiert und der Acetophenongehalt quantifiziert (siehe Abbildung 43).

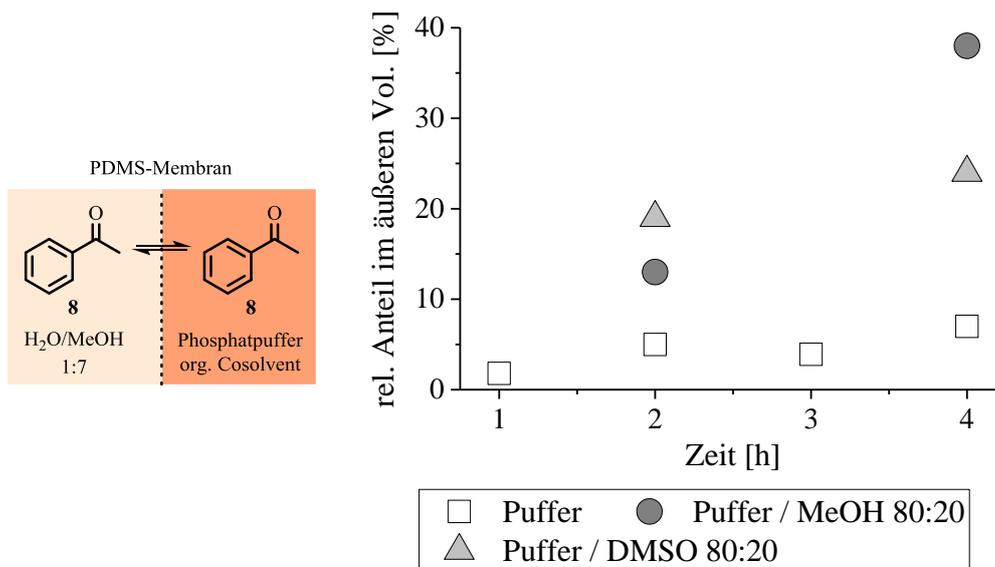


Abbildung 43: Diffusionsgeschwindigkeit von Acetophenon durch eine PDMS-Membran. Die Volumina und Konzentrationen sind dabei an die Wacker-Oxidation und Transaminierung angepasst.

Im ersten Experiment zeigte sich, dass nach 4 h etwa 7 % des eingesetzten Acetophenons **8** in den äußeren Teil des Reaktors gelangten. Mit einem vereinfachten linearen Diffusionsverlauf würde ein vollständiger Transport in das äußere Volumen über 50 h benötigen. Damit würde ein unvollständiger Umsatz der Transaminierung einhergehen. Die Diffusionsgeschwindigkeit wird durch den Konzentrationsgradienten (1/100), der durch die Bedingungen von Wacker-Oxidation (siehe Kapitel 6) und die Transaminierung bedingt wird, sehr gut aufrechterhalten. Um in das System eine weitere Triebkraft einzubinden, wurde im äußeren Volumen ein organisches Cosolvens ergänzt. Die Wahl fällt hier auf DMSO, welches sich bereits in anderen Arbeiten im Zusammenhang mit Biokatalyse bewährt hat.^[31,49] Außerdem wurde MeOH als Cosolvens untersucht, welches ebenfalls membrangängig ist und aus der Wacker-Oxidation in das biokatalytische System eindringen könnte. Durch den Einsatz von 20 % v/v DMSO oder MeOH wurde die Diffusionsgeschwindigkeit mehr als verdoppelt, sodass ein vollständiger Transport von Acetophenon in den äußeren Teil des Reaktors innerhalb von 24 h möglich ist. Bereits nach 4 h gelangten 25 % des Acetophenons durch den Einsatz von DMSO in den äußeren Teil des Reaktors. Bei gleichem Anteil MeOH waren sogar schon 40 % des Substrats **8** in das äußere Volumen diffundiert.

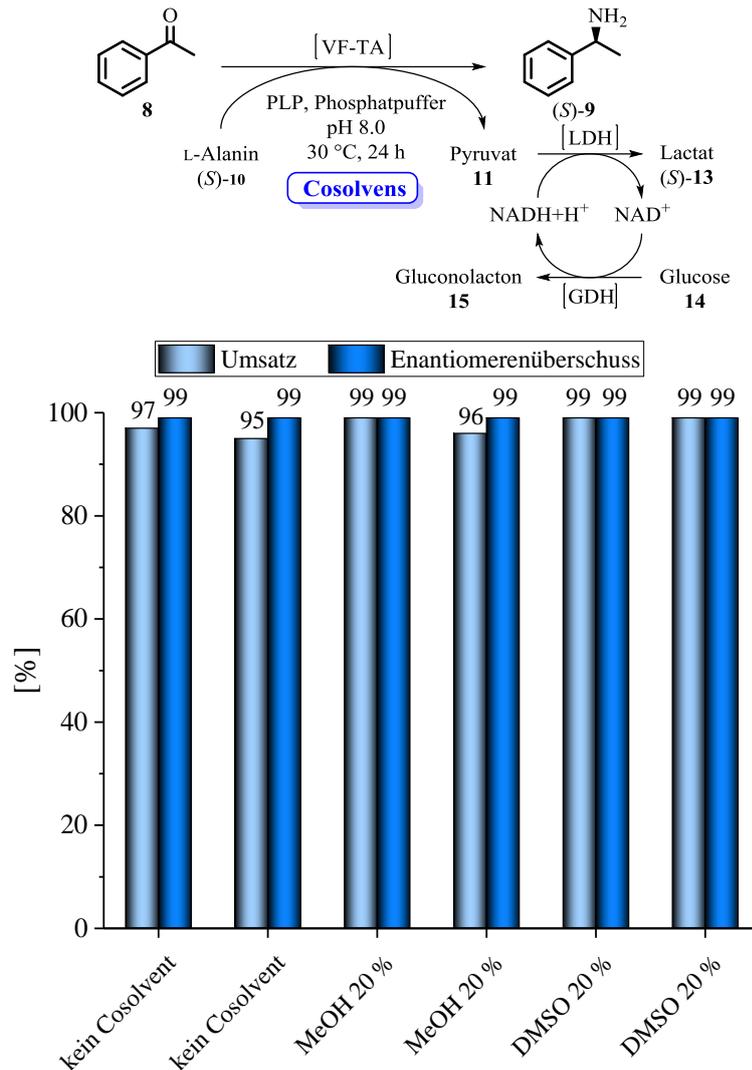


Abbildung 44: Cosolvensuntersuchung für die enzymatische Transaminierung mit *Vibrio fluvialis*. Alle Experimente wurden mit einer Doppelbestimmung durchgeführt.

Im folgenden Experiment wurde die Kompatibilität der biokatalytischen Transaminierung mit dem oben aufgeführten Anteil des Cosolvens untersucht (siehe Abbildung 44). Dabei zeigte sich, dass sowohl DMSO als auch MeOH als Cosolventien geeignet sind. Weder Umsatzeinbußen noch Selektivitätsverluste konnten detektiert werden. Bei quantitativem Umsatz und exzellentem Enantiomerenüberschuss blieb die Transaminierung von den organischen Lösungsmitteln unberührt.

Abschließend wird in diesem Kapitel das Substratspektrum untersucht. Um die Anwendbarkeit des Konzepts der chemoenzymatischen asymmetrischen Hydroaminierung in der Breite aufzuzeigen, wurden verschieden substituierte Acetophenonderivate nach den oben diskutierten Bedingungen mit der VF-TA umgesetzt (siehe Abbildung 45).

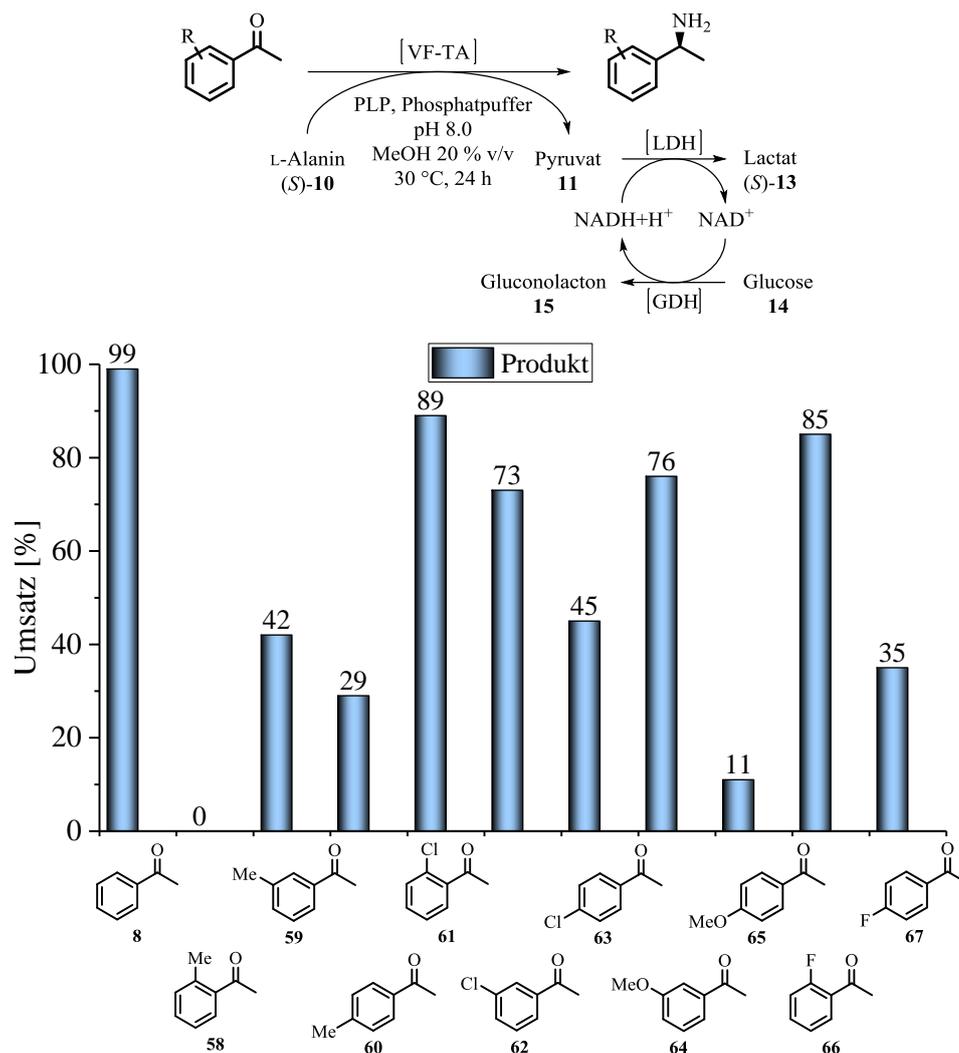


Abbildung 45: Substratspektrum der VF-TA gegenüber verschiedenen Acetophenonderivaten.

Bei den Experimenten zeigte sich, dass vor allem *para*-substituierte Acetophenonderivate keine guten Substrate darstellen. Je größer der Substituent (-Me **60** oder OMe **65**) an dieser Position ist, desto geringer wurde der gemessene Umsatz. Lediglich die kleinen Substituenten -Cl **63** und -F **67** wiesen einen akzeptablen Umsatz auf. Von der VF-TA wurden *ortho*-substituierte Acetophenonderivate sehr gut umgesetzt, wenn es sich um kleine Substituenten handelt (-Cl **61** und -F **66**). Ein großer Substituent wie -Me wurde gar nicht akzeptiert. Zwischen den gut akzeptierten *ortho*-Substituenten und den weniger akzeptierten *para*-Substituenten lagen die *meta*-substituierten Acetophenonderivate. Sowohl -Cl **62** als auch -OMe **64** stellen gut angenommene Substituenten dar. Ein leicht geringerer Umsatz wurde bei der Transformation von 3'-Methylacetophenon **59** gemessen. Möglicherweise begünstigt das Heteroatom in *meta*-Position den Umsatz des Acetophenonderivats.

In diesem Kapitel konnten Bedingungen aufgezeigt werden, die für eine Kombination von Wacker-Oxidation und enzymatischer Transaminierung in Frage kommen. Leider schien eine klassische Eintopfreaktion nicht möglich zu sein. Stattdessen wurde in diesem Kapitel bereits ein Lösungsansatz

präsentiert, der mit dem Teilschritt der Transaminierung kompatibel ist. Das Konzept der Kompartimentierung wird in den nächsten Kapiteln weiter in der Tiefe diskutiert. Für die Anwendbarkeit des Konzepts der formalen asymmetrischen Hydroaminierung konnte auch ein Substratspektrum aufgezeigt werden, sodass verschiedene Arten von Molekülen zugänglich werden. Durch den Einsatz von organischen Lösungsmitteln als Additiv, konnte bereits eine Möglichkeit vorgestellt werden, die Diffusionsgeschwindigkeit durch eine PDMS-Membran deutlich zu steigern. Auf diese Weise kann die Reaktionsgeschwindigkeit in einer Tandemreaktion (siehe Kapitel 7) gesteigert werden.

5.2. Amindehydrogenasen

In diesem Kapitel wurde die asymmetrische reduktive Aminierung mit einer Amindehydrogenase (AmDH) im Hinblick auf eine Eintopfsynthese (siehe Abbildung 46) untersucht. Am Ende des Kapitels soll die enzymatische Reaktion so gut verstanden sein, dass auf den Ergebnissen basierend eine Kaskadenreaktion im Sinne einer formalen asymmetrischen Addition von Ammoniak an ein nicht funktionalisiertes Alken durchgeführt werden kann.

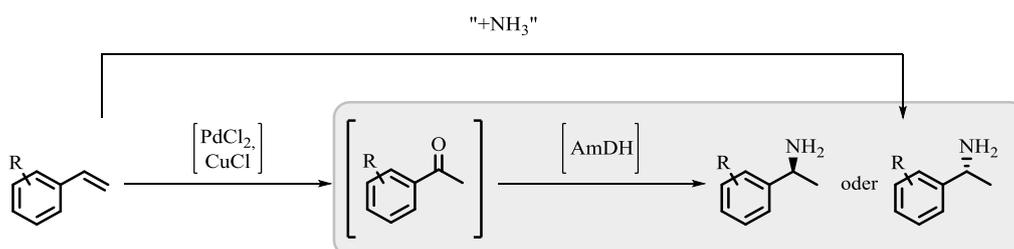


Abbildung 46: Formale asymmetrische Hydroaminierung bestehend aus Wacker-Oxidation und enzymatischer reduktiver Aminierung mit einer Amindehydrogenase.

Zunächst wurde eine Benchmark Reaktion durchgeführt, bei der die Bedingungen aus der Literatur weitgehend übernommen wurden.^[170] Das verwendete Enzym stammt von einer Leucindehydrogenase des Organismus *Exigobacterium Sibiricum*^[180] ab und wurde durch verschiedene Mutationen zu einer AmDH. Acetophenon **8** wurde als Referenzsubstrat in Gegenwart dieser Amindehydrogenase zu 1-Phenylethylamin **9**. Die Reaktionsmischung wird durch einen großen Überschuss Ammoniak, zwei Äquivalente D-Glucose **14** und Glucosedehydrogenase ergänzt. Der Cofaktor NAD^+ wird der Reaktionsmischung nur in katalytischen Mengen zugegeben. Durch den Einsatz von D-Glucose in Verbindung mit einer GDH wird nicht nur der Cofaktor regeneriert, sondern auch das chemische Gleichgewicht auf die Seite der Produkte verschoben. Gluconolacton als oxidiertes Glucoseprodukt wird unter den Reaktionsbedingungen basisch verseift. Bei dem hohen pH-Wert liegt die entstehende Säure auch stets deprotoniert vor, sodass ein erneuter Ringschluss nicht möglich ist (siehe

Abbildung 47). Die Konzentrationen wurden angelehnt an die von Löwe durchgeführten Experimente.^[181]

Abbildung 47 zeigt eindrucksvoll, wie gut und selektiv die reduktive Aminierung katalysiert durch die Amindehydrogenase abläuft. Ein Umsatz von 96 % bei nahezu quantitativer Wiederfindung spiegelt die Effektivität der Reaktion und die Robustheit der Analytik wider. Außerdem überzeugte die Amindehydrogenase mit exzellenter Selektivität bei einem gemessenen Enantiomerenüberschuss von >99 %*ee*. Diese Bedingungen wurden ohne weitere Optimierungen für die folgenden Experimente übernommen.

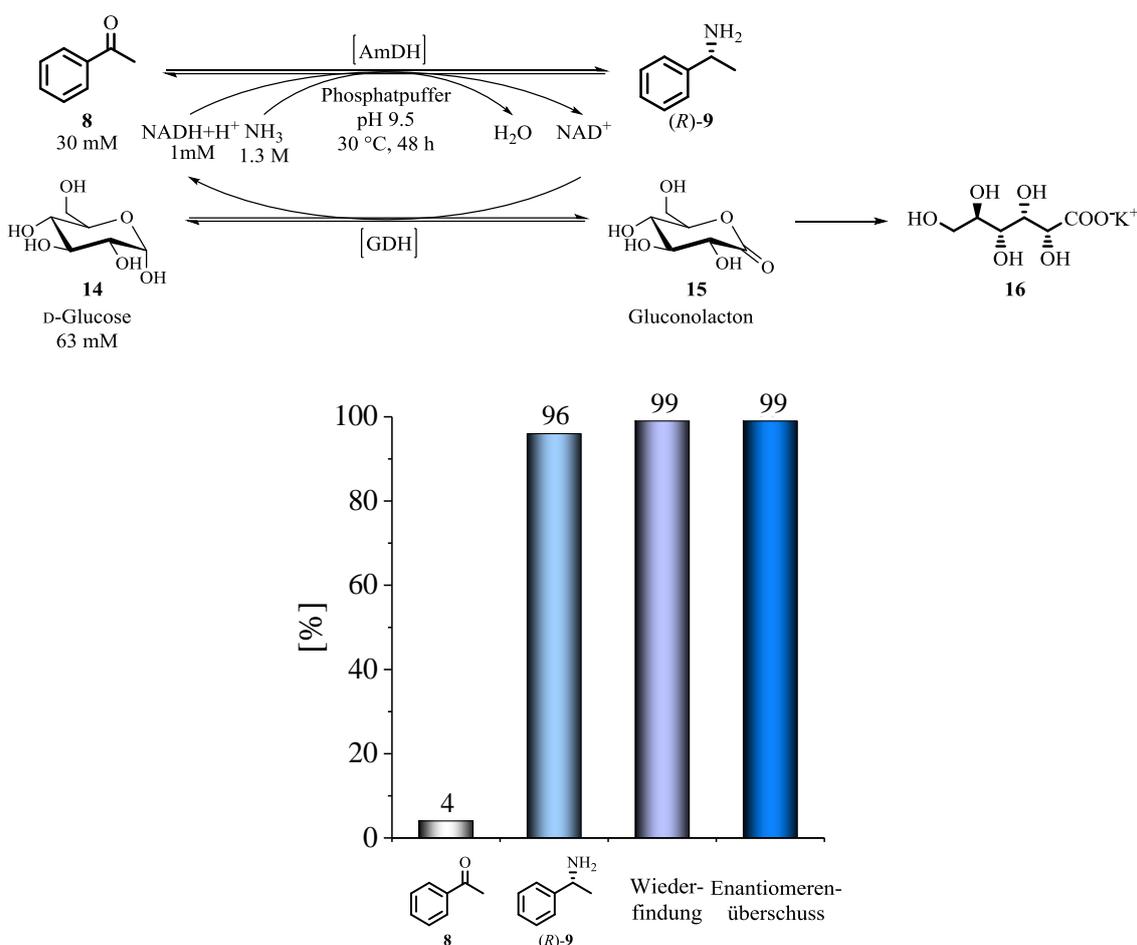


Abbildung 47: Benchmark Transformation von Acetophenon 8 zu 1-Phenylethylamin (R)-9 in Gegenwart einer Amindehydrogenase.

Im Hinblick auf eine Kaskadenreaktion im Sinne einer formalen asymmetrischen Hydroaminierung folgt als nächstes die Betrachtung des einfachsten Systems, der Eintopfreaktion. Um eine solche Eintopfreaktion durchführen zu können, müssen die Katalysatoren der Teilreaktionen miteinander kompatibel sein. Diese Kompatibilität wird mit den folgenden Experimenten untersucht. Der Fokus wurde dabei zuerst auf die enzymatische Kaskade gelegt. Während die Wacker-Oxidation als zuerst durchgeführte Reaktion nicht zwangsläufig kompatibel sein muss, so ist der umgekehrte Fall für ein

erfolgreiches Experiment entscheidend. In einem sequentiellen Verfahren können die Katalysatoren der Wacker-Oxidation zunächst ohne Einschränkung eingesetzt werden. Nach Zugabe der enzymatischen Katalysatorkomponente dürfte die Aktivität verloren gehen, weil das Substrat bereits vollständig zu Acetophenon **8** umgesetzt ist. Umgekehrt kann die Eintopfreaktion nicht ablaufen, wenn die enzymatische Kaskade durch die Übergangmetallsalze der Wacker-Oxidation eingeschränkt oder inhibiert wird. Eine einfache Abtrennung aufgrund der physikalischen und chemischen Eigenschaften der Reaktionsmischung ist hier nicht möglich.

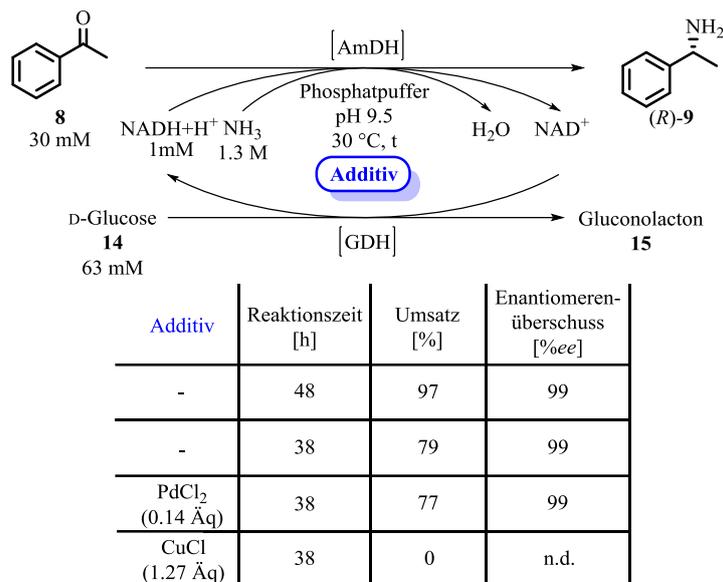


Abbildung 48: Überprüfung der Katalysatorkompatibilität von Amindehydrogenase und den beiden Metallsalzen der Wacker-Oxidation.

Abbildung 48 zeigt die Ergebnisse aus den Experimenten zur Kompatibilität der enzymatischen Kaskade mit den Metallsalzen der Wacker-Oxidation. Die Menge der Metallsalze wird dabei anhand der Bedingungen für die Wacker-Oxidation abgewogen. In Zeile 1 der Tabelle ist das oben diskutierte Benchmark-Experiment aufgeführt. Um auch kleinere Einschränkungen der Enzymaktivität zu registrieren, wurde für die Folgeexperimente die Reaktionszeit auf 38 h reduziert (siehe Abbildung 48, Zeile 2). Wird der Reaktionsmischung PdCl₂ als Additiv zugefügt, sinkt der Umsatz geringfügig auf 77 % ab. Die Selektivität der enzymatischen Transformation in Gegenwart des Palladiumsalzes bleibt unbeeinflusst. Die Biotransformation in Gegenwart von CuCl bleibt vollständig aus. Nach 38 h konnte kein Umsatz gemessen werden und entsprechend auch keine Selektivität bestimmt werden.

Aus diesen Experimenten folgt, dass eine Eintopfreaktion egal ob in sequentieller oder paralleler Form in Gegenwart beider Katalysatorkomponenten nicht in Frage kommt. Angelehnt an die vorangegangenen Arbeiten der Kombination von Wacker-Oxidation und Transaminierung kann auch in diesem Fall eine PDMS-Membran die Lösung darstellen (siehe Abbildung 49). Damit wäre nicht nur eine weitere chemoenzymatische Kaskade erfolgreich aufgebaut, sondern könnte auch gezeigt werden,

dass die Kompartimentierung als modulares System extrem robust (im Sinne des Konzepts) und flexibel (im Hinblick auf synthetische Anwendungsbreite) einsetzbar ist.

Bei der Entwicklung einer chemoenzymatischen Kaskade mit Transaminasen stellte sich die PDMS-Membran als günstiges semipermeables Trennmittel heraus. Einer Enzymdeaktivierung konnte vor vollständigem Umsatz entgegengewirkt werden. Das Szenario eines biokatalytischen Umsatzes mit Amindehydrogenasen ist nahezu gleich. Das Enzym und die Cofaktoren /-substrate stellen eine wässrige Lösung im äußeren Volumen des Reaktors dar (siehe Abbildung 49). Aus diesem Grund können alle Daten, die in Kapitel 5.1 gewonnen wurden, auf diese Herausforderung übertragen werden. Sehr hilfreich und im Hinblick auf eine attraktive Prozessanwendung stellte sich ein Cosolvensadditiv heraus. So konnte die Diffusionsgeschwindigkeit des Zwischenprodukts Acetophenon **8** (und seiner Derivate) durch die Membran deutlich erhöht werden. Diese Idee wurde auch im Zusammenhang mit den Amindehydrogenasen verfolgt.

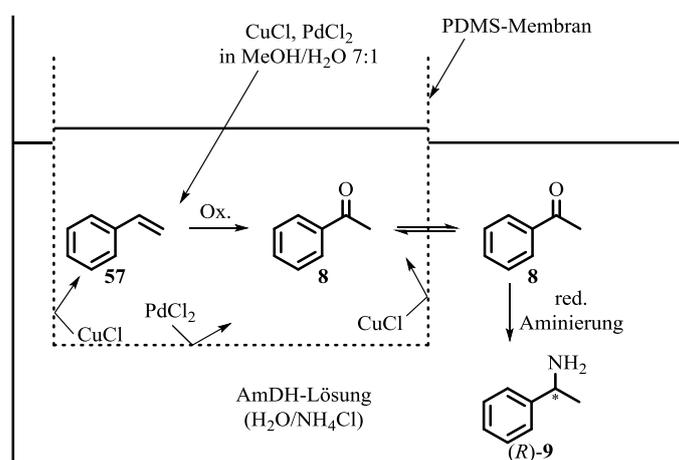


Abbildung 49: Kompartimentierung zweier inkompatibler Katalysatoren durch eine PDMS-Membran.

In Abbildung 50 sind die Umsätze und Enantiomerenüberschüsse in Gegenwart verschiedener Cosolventien dargestellt. Bei der Wahl der Cosolventien wurde weniger auf Anzahl verschiedener Lösungsmittel geachtet, als vielmehr geschaut, welche sich in vorangegangenen Arbeiten bereits als kompatibel herauskristallisierten. Transaminasen zeigten gegenüber MeOH und DMSO hohe Toleranz bis zu einem Volumenanteil von 20 %.^[182] Deshalb wurden diese beiden Lösungsmittel auch für die Amindehydrogenasen als erstes in Betracht gezogen.

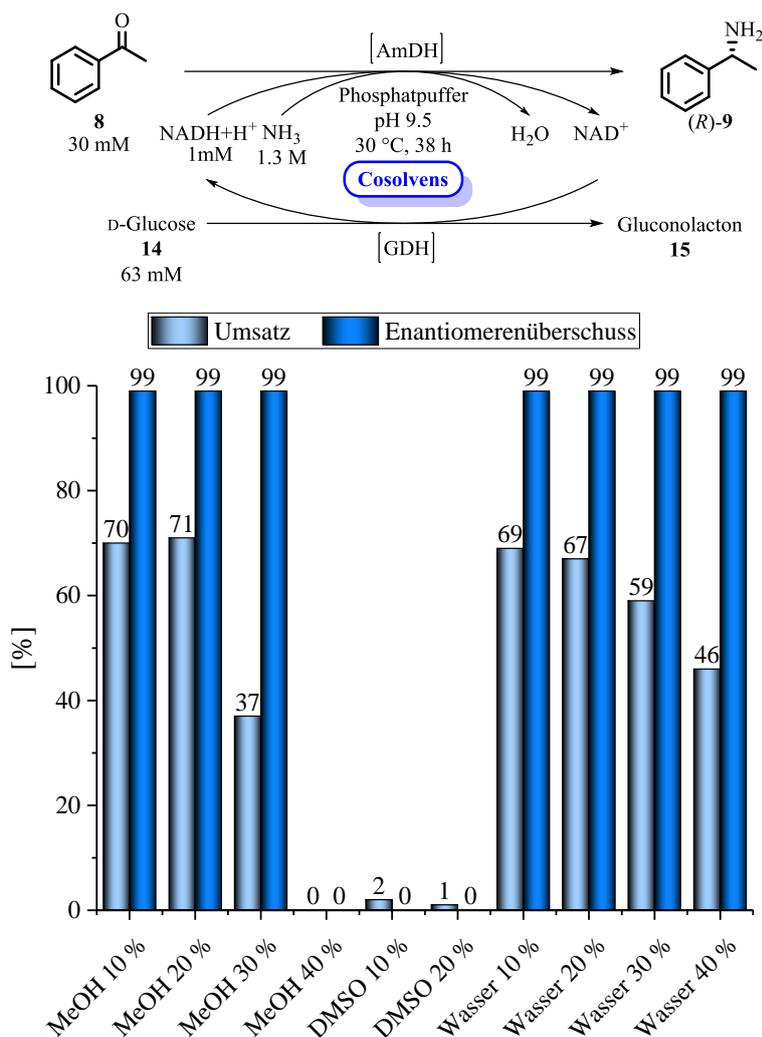


Abbildung 50: Reduktive Aminierung mit Amindehydrogenasen in Gegenwart verschiedener Cosolventien.

Im obigen Experiment wurde der Volumenanteil eines Cosolvents sukzessiv erhöht. Als Kontrollexperiment wurde parallel ein Versuch mit selbigem Anteil reinem Wasser durchgeführt, um zu verhindern, dass Umsatzunterschiede auf Konzentrationsänderungen der Reaktionskomponenten zurückzuführen sind. Abbildung 50 zeigt, dass MeOH bis zu einem 20 %igen Volumenanteil zugesetzt werden kann ohne Umsatzeinbußen im Vergleich zur Referenz hinnehmen zu müssen. Wurde der Volumenanteil weiter erhöht, sinkt der Umsatz schnell gegen null (bei 40 % MeOH). DMSO wurde von der Amindehydrogenase nahezu gar nicht toleriert. Bei einem Volumenanteil von 10 % sank der Umsatz auf 2 % und eine Erhöhung des DMSO-Anteils führte zur Nachweisgrenze eines Umsatzes. Die Enantioselektivität der AmDH blieb von jedem Additiv Additiv unbeeinträchtigt, wobei die in DMSO durchgeführten Experimente keine Enantiomerenüberschussmessung zuließen. Das Experiment mit 30 % Volumenanteil MeOH zeigte, dass die Aktivität deutlich gesenkt war, aber die Enantiomerenreinheit des gewünschten Produkts erhalten blieb.

Mit diesen Ergebnissen stand ein weiteres Modul zur formalen asymmetrischen Hydroaminierung durch Kombination von Wacker-Oxidation und enzymatischer reduktiver Aminierung bereit. Das System aus Amindehydrogenase, GDH und D-Glucose in Gegenwart von Cofaktor und einem Überschuss Ammoniak kann in Kapitel 7 direkt zur Kombination mit der Wacker-Oxidation eingesetzt werden.

Im nächsten Schritt sollte das Mehrkomponentensystem der Amindehydrogenase vereinfacht werden und eine alternative Cofaktorregenerierung vorgestellt werden. Die Amindehydrogenase katalysiert wie auch die Transaminase die reduktive Aminierung, wobei es sich um ein thermodynamisches Gleichgewicht handelt.^[171] Alle Teilreaktionen verlaufen reversibel. Somit ist auch eine Rückreaktion von primären Aminen zu Carbonylverbindungen denkbar. In einigen Aktivitätsassays wird diese Reaktion bereits beschrieben, wobei die Reaktion in umgekehrte Richtung um den Faktor 100 schneller abläuft.^[72,169] Aber eine Grundaktivität ist vorhanden, sodass ein System wie rechts in Abbildung 51 dargestellt möglich scheint. Dabei wird die Amindehydrogenase selbst zur Cofaktorregenerierung genutzt. Als Cosubstrat fungiert ein primäres Amin. Um die Gleichgewichtsreaktion auf die Seite der Produkte unabhängig von den thermodynamischen Eigenschaften des gewünschten Aminprodukts zu verschieben, sind unter dem rechten Reaktionsschema in Abbildung 51 mögliche Cosubstrate aufgeführt, die das ganze Reaktionssystem irreversibel gestalten. Den einfachsten Vertreter stellt Isopropylamin dar, welches erst oxidiert und anschließend zu Aceton hydrolysiert wird. Analog zu den Transaminasen kann Aceton durch die hohe Flüchtigkeit *in situ* aus der Reaktionsmischung verdampft werden.

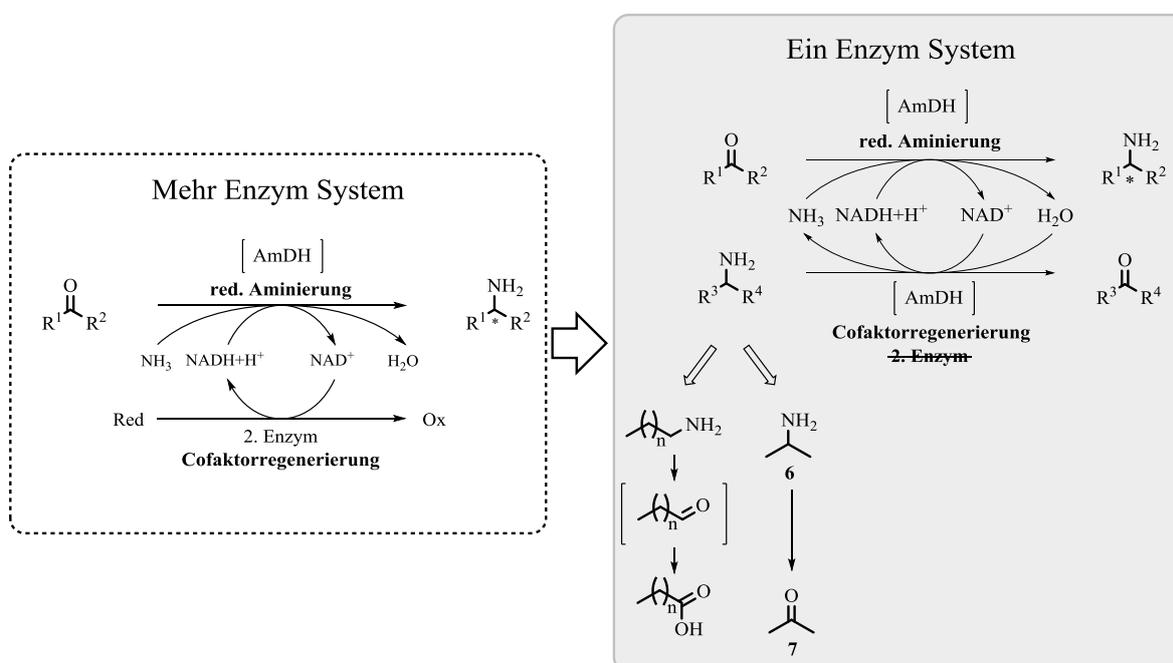


Abbildung 51: Komprimierte reduktive Aminierung katalysiert durch eine Amindehydrogenase mit nur einem Enzym.

Ein alternativer Ansatz, der in der Literatur bislang nicht beschrieben ist, wird auf der linken Seite von Abbildung 51 gezeigt. Ein endständiges primäres Amin wird durch die Amindehydrogenase zum Aldehyd umgesetzt. In Gegenwart von Sauerstoff findet Autoxidation zur Carbonsäure statt, welche irreversibel ist und auf diese Weise das biokatalytische System auf die Seite der Produkte verschiebt.

Um das in Abbildung 51 vorgestellte System aufzubauen, wurden zunächst die Teilschritte analysiert. Als erstes wurden zwei Substrate gewählt, deren Analytik recht einfach zu etablieren ist. Hier wurden *para*-Methylacetophenon **60** als Substrat für die reduktive Aminierung gewählt. Zur Cofaktorregenerierung wird (*R*)-1-Phenylethylamin **9** eingesetzt. Aufgrund der voraussichtlich niedrigeren Aktivität in oxidativer Richtung, wurde das Cosubstrat bereits im Überschuss eingesetzt. Der Cofaktor wurde in oxidiertem Form zu Beginn der Reaktion zugefügt.

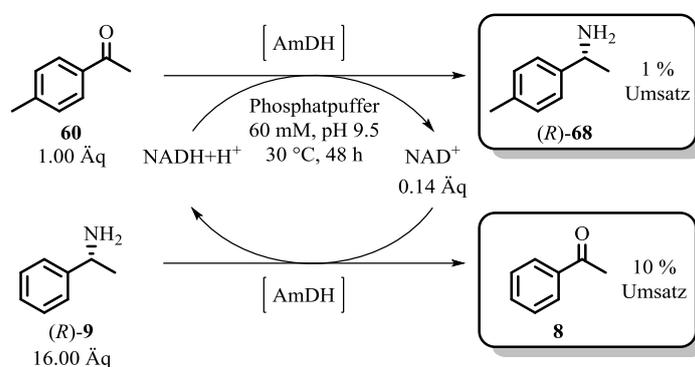


Abbildung 52: Enzymatische reduktive Aminierung mit einer Amindehydrogenase mit eigener Cofaktorregenerierung.

Abbildung 52 zeigt, dass das gewünschte Amin nach 48 h mit einem Umsatz von 1 % detektiert wurde. Das Nebenprodukt mit einem Umsatz von 10 % entstanden. Mit diesem Experiment kann gezeigt werden, dass ein solches System mit interner Cofaktorregenerierung möglich ist, jedoch bei dem geringen Umsatz für eine synthetische Anwendung noch nicht in Frage kommt. Im nächsten Schritt wurde für die reduktive Aminierung ein Substrat gewählt, gegenüber welchem die AmDH eine deutlich höhere Aktivität aufweist, da der Regenerierungsschritt über 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** bereits zu diesem Zeitpunkt funktioniert. Die Wahl fällt auf Isopropylmethylketon **69**, welches schneller von der Amindehydrogenase umgesetzt wird als *para*-Methylacetophenon.^[170,180]

In Abbildung 53 ist das Experiment mit dem neuen Substrat für die reduktive Aminierung dargestellt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde ein 31 %iger Umsatz von 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** zu Acetophenon **8** nachgewiesen. Damit konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass das selbstregenerierende Cofaktorsystem funktioniert, denn es sind mehr Äquivalente Acetophenon **8** entstanden, als Cofaktor zu Beginn der Reaktion zur Verfügung stand. Isopropylmethylamin (*R*)-**70** und das korrespondierende Keton **8** konnten im Rohprodukt in Spuren nachgewiesen werden, aber eine Umsatzbestimmung anhand der Integrale im ¹H-NMR-Spektrum war nicht sinnvoll. Der Grund liegt wohl in der Art der Aufarbeitung. Nach Abbruch der Reaktion wird die Reaktionsmischung mit DCM

extrahiert und die organische Phase im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Sowohl Isopropylmethylketon als auch Isopropylmethylamin sind flüchtige Substanzen, die dem Rohprodukt wahrscheinlich im Vakuum entzogen wurden. Um das Amin auch quantitativ nachzuweisen wären an dieser Stelle Derivatisierungen denkbar, aber diese lagen nicht im Fokus dieser Arbeit. Mit dem eindeutigen Umsatz der Nebenreaktion zur Cofaktorregenerierung aus Abbildung 53 wurde der erfolgreiche Ablauf der oberen Reaktion angenommen und für die weitere Optimierung vorausgesetzt.

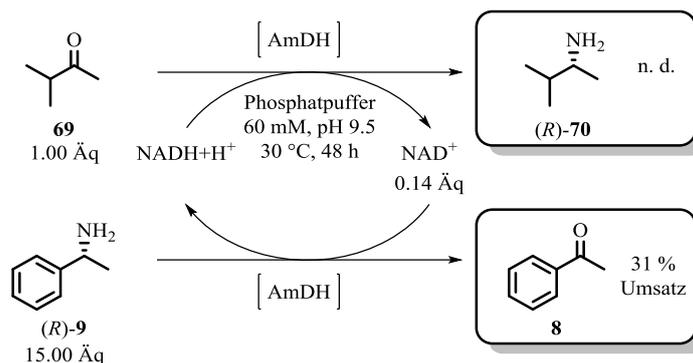


Abbildung 53: Enzymatische reduktive Aminierung mit einer Amindehydrogenase mit eigener Cofaktorregenerierung.

Für einen höheren Umsatz wären eine geringere Substratkonzentration oder mehr Amindehydrogenase denkbar. Beides würde zu gigantischen Wassermengen im Vergleich zur Produktmenge führen. Deshalb wurde an dieser Stelle ein Blick auf den Mechanismus geworfen, um mögliche geschwindigkeitsbestimmende Teilschritte zu finden. In dem von *Sekimoto et al.*^[78] vorgeschlagenen Mechanismus gibt es zwei chemische Teilschritte. Zum einen wird das Amin zum Imin oxidiert und darauf folgt die Hydrolyse eines Imins.

Im postulierten Mechanismus folgt nach der Oxidation ein Verweilen des reduzierten Cofaktors in der Nähe des zuvor umgesetzten Substrats. Das heißt sollte einer dieser Schritte langsam erfolgen, kann durch Veränderung von Substratkonzentrationen kein Einfluss genommen werden. In einem auflösenden Schritt (siehe Abbildung 54 oben rechts) werden alle Substrate ausgetauscht und es werden keine Angaben bezüglich der Reihenfolge des Ein- und Austritts der Substrate aufgeführt. Auch bezüglich der Austauschgeschwindigkeit wurden keine Ergebnisse abgebildet. Im einfachsten Fall könnte der Ammoniak als kleines Molekül vielleicht am schnellsten aus dem aktiven Zentrum diffundieren, während der Cofaktor aufgrund seiner Größe eher langsam aus dem Enzym diffundiert. Für die gewünschte eigene Cofaktorregenerierung ist die mögliche Mobilität von Ammoniak ungünstig, weil er wiederum für die reduktive Aminierung der Carbonylverbindung essentiell ist. Im folgenden Experiment wurde neben dem Aminäquivalent auch ein Überschuss Ammoniak zugegeben, um nach obiger Hypothese die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass das Enzym und Ammoniak aufeinandertreffen.

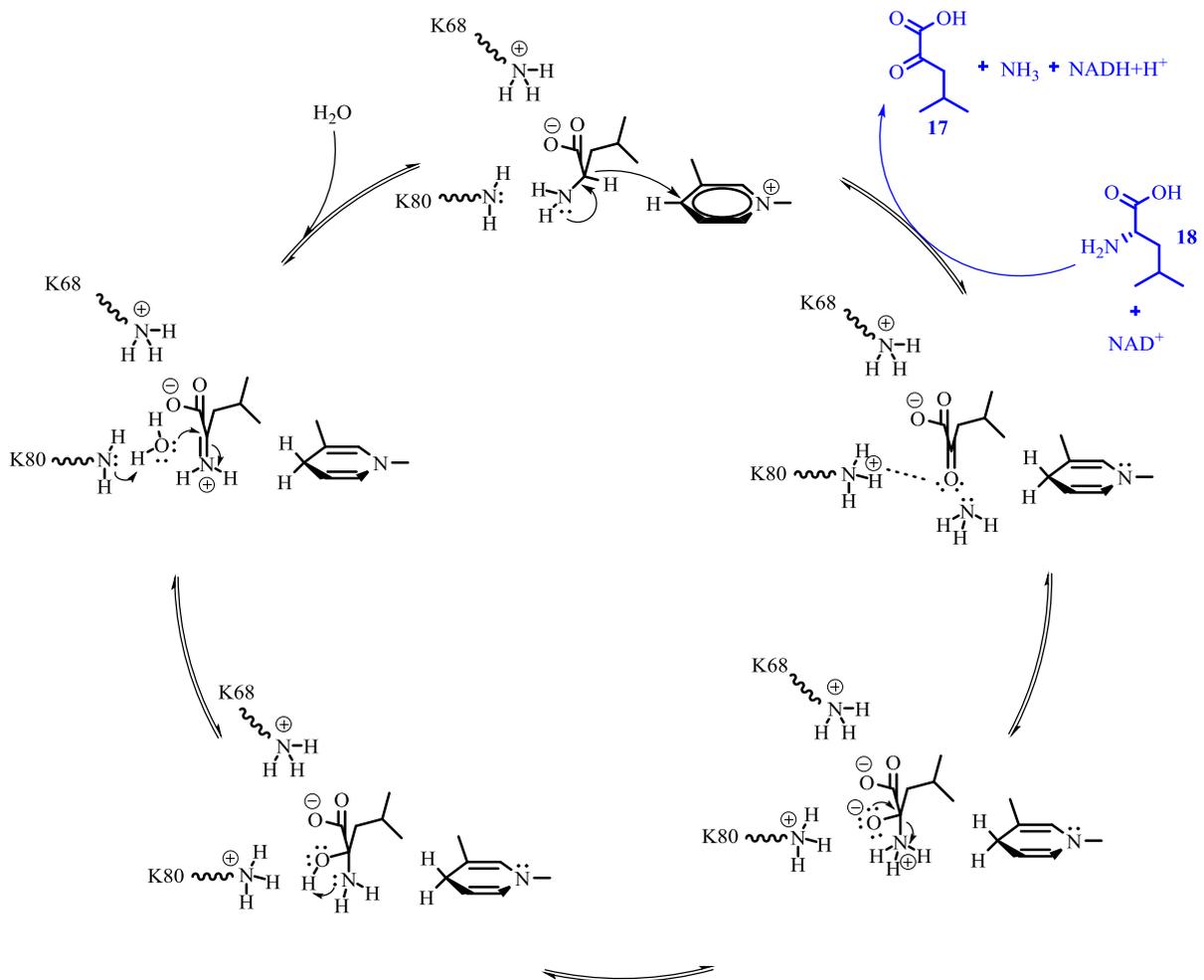


Abbildung 54: Vorgeschlagener Mechanismus für Leucindehydrogenasen.^[78]

Abbildung 55 zeigt, dass Ammoniak im Überschuss zu einer Verdreifachung des Umsatzes vom Cosubstrat führt. Er beschleunigt die Reaktion, sodass nach 48 h ein 96 % des eingesetzten Cosubstrats (*R*)-**9** in Form von Acetophenon **8** detektiert wurden.

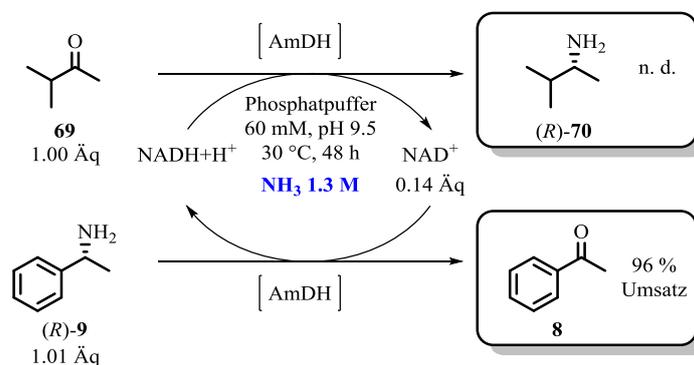


Abbildung 55: Enzymatische reduktive Aminierung mit einer Amindehydrogenase mit eigener Cofaktorregenerierung.

Mit dieser Reaktion scheinen Bedingungen gefunden worden zu sein, mit denen weiter im Hinblick auf ein neues innovatives selbstregenerierendes Amindehydrogenasesystem gearbeitet werden konnte. Im

letzten Experiment wurde keines der in Abbildung 51 vorgestellten Konzepte zur Verschiebung des chemischen Gleichgewichts angewandt. Prinzipiell hätte die Reaktion bei anderen thermodynamischen Eigenschaften der Substrate auch gar nicht ablaufen können, wobei 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** aus anderen Arbeiten^[183] bereits als guter Amindonor bekannt ist. Deshalb sollten als nächstes die in Abbildung 51 vorgestellten Kandidaten untersucht werden. Auf der einen Seite ein endständiges primäres Amin, welches nach oxidativer Deaminierung *via* Autoxidation irreversibel in eine Carbonsäure überführt wird und auf der anderen Seite Isopropylamin. Das Koppelprodukt Aceton kann mit seiner Flüchtigkeit *in situ* verdampft werden und so das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte verschieben.

Als erstes wurde Butylamin **71** als mögliches Substrat untersucht. Dazu wurden Acetophenon **8** und Butylamin **71** als Substrate für die AmDH vorgelegt und in dem oben beschriebenen System inkubiert (siehe Abbildung 56). Nach 48 h kann weder 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** noch der korrespondierende Aldehyd **72** bzw. die daraus entstandene Säure **73**.

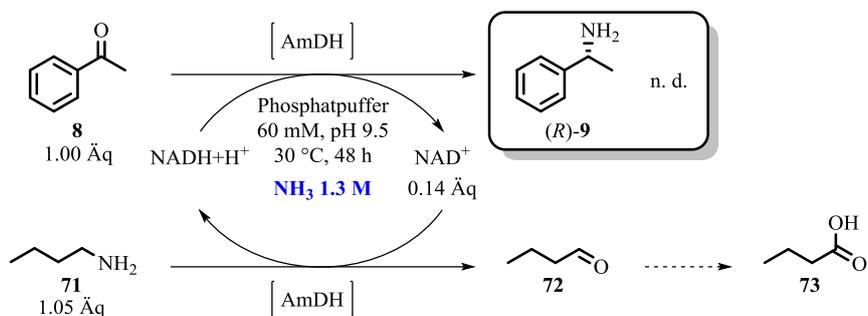


Abbildung 56: Reduktive Aminierung mit AmDH und Butylamin **71 als Amindonor.**

An dieses Experiment wurde eine Biotransformation mit Hexylamin als Reduktionsäquivalent angeschlossen mit demselben Ergebnis. Weder 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** noch die Carbonylanaloga wurden nach der Reaktion wiedergefunden. Scheinbar stellen endständige Amine keine Substrate für die verwendete Amindehydrogenase dar.

Leicht strukturverwandt zu dem sehr gut akzeptierten Isopropylmethylamin **70** ist Isopropylamin **6**. Im nächsten Experiment wird neben dem Substrat Acetophenon **8** Isopropylamin **6** als Redoxäquivalent und Stickstoffdonor eingesetzt (siehe Abbildung 57).

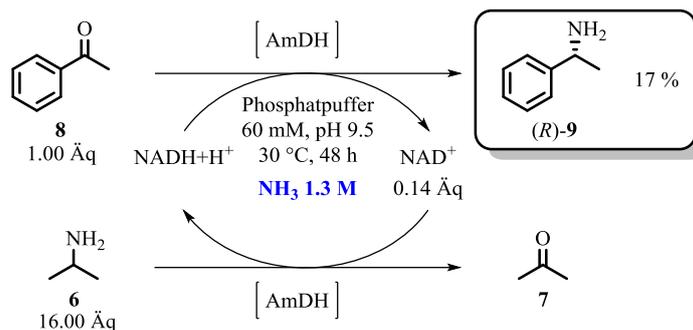


Abbildung 57: Reduktive Aminierung mit AmDH und Isopropylamin 6 als Amindonor

Nach 48 h kann ein Umsatz von 17 % des Acetophenons **8** zum gewünschten Amin (*R*)-**9** detektiert werden. Damit kann auch ein attraktives Cosubstrat erfolgreich in dem neuen 1-Enzysystem der AmDH erfolgreich umgesetzt werden.

Die aufgezeigte Reaktionsführung stellt einen erfolgreichen *proof of concept* dar, wird aber für eine Tandemreaktion im Sinne der formalen Hydroaminierung nicht eingesetzt aufgrund des geringen Umsatzes und der hohen Katalysatormenge. Obwohl der Umsatz noch zu gering ist, um ein synthetische Interesse zu wecken, kann mit dem Konzept kombiniert mit verfahrenstechnischen Lösungen wie *in situ* Destillation des Acetons in kurzer Zeit eine attraktive Synthesestrategie entstehen.

Die Ursache für den geringen Umsatz kann nach der obigen Diskussion mehrere Ursachen haben. Aceton kann auf der einen Seite ein thermodynamisch weniger bevorzugtes Produkt sein. Eine andere Begründung wäre die deutlich geringere Aktivität der Amindehydrogenas gegenüber der Austauschreaktion Isopropylamin-Aceton. Aus technischer Sicht wäre dem ersten Fall leicht entgegenzuwirken, indem das entstehende Aceton *in situ* verdampft wird. Auf diese Weise wird das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte verschoben.

6. Wacker-Oxidation

In diesem Kapitel wird die erste Teilreaktion der formalen asymmetrischen Hydroaminierung genauer untersucht (siehe Abbildung 58). Neben der Reproduktion eines literaturbekannten Experiments soll das Substratspektrum erweitert werden, sodass eine Tandemreaktion nach Abbildung 58 auch in der Synthese verschiedener Bausteine für zum Beispiel Pharmazeutika Anwendung finden kann.

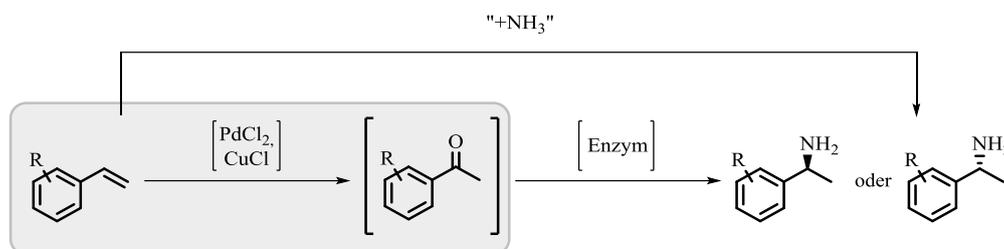
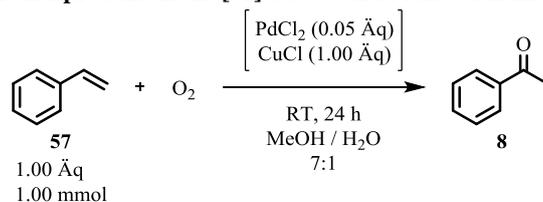


Abbildung 58: Formale asymmetrische Addition von Ammoniak an ein nicht funktionalisiertes Alken. Hervorgehoben ist die Teilreaktion Wacker-Oxidation.

Bevor auf das Substratspektrum eingegangen wird, soll zu Beginn ein Experiment aus der Literatur wiederholt werden. Bei der Wahl des Experiments werden im Hinblick auf eine Anwendung der Reaktion günstige Reagenzien gewählt. Als Oxidationsmittel soll entsprechend Sauerstoff eingesetzt werden. Neben der Palladiumspezies für die Oxidation des Alkens wird ein weiterer Katalysator benötigt, der die Palladiumspezies nach dem Katalysezyklus regeneriert. An dieser Stelle hat sich Kupfer(I)chlorid empfohlen, welches durch Sauerstoff oxidiert werden kann. Oxidiertes Kupfer (Kupfer(II)) kann von Palladium(0) reduziert werden, sodass sowohl die Wacker-Oxidation als auch die Sauerstofffixierung erneut beginnen kann. Die Reaktionsbedingungen mit Sauerstoff als Oxidationsmittel und Palladium(II)chlorid und Kupferchlorid als Katalysatoren wurden von *Sato*^[184] für ein Wasser/MeOH System optimiert und in dieser Arbeit übernommen. In vorherigen Arbeit des Autors konnten die Ergebnisse für das Benchmarksubstrat Styrol bereits erfolgreich reproduziert werden.^[168]

Tabelle 2 ist zu entnehmen, dass neben dem gewünschten Produkt eine Reihe von Nebenprodukten entstehen. Es ist bekannt, dass mit der Wacker-Oxidation nur eine begrenzte Selektivität erreicht wird.^[185] Die Nebenprodukte resultieren aus reaktiven Spezies, die während der Reaktion entstehen und von Molekülen oder Atomen abgefangen werden, die sich zufällig in räumlicher Nähe befinden. Mit Hilfe des Katalysezyklus (siehe Abbildung 5) können die Nebenprodukte leicht erklärt werden. Die durch das Palladium aktivierte Doppelbindung des Alkens wird durch verschiedene Nucleophile abgefangen. Chemisch ähneln die Nebenprodukte einer ungewollten *Tsuji-Trost*-Reaktion,^[186] die sich auch nicht weiter unterdrücken lässt. Bei allen Alkenen entstehen abhängig von den molekularen Eigenschaften mehr oder weniger Nebenprodukte.^[187] Für Styrol konnte ein produktbezogener Umsatz von 85 % erzielt werden. Der Nebenproduktanteil von 15 % beruhte hauptsächlich auf Oxospezies, die vermutlich aus der Addition der Nucleophile Wasser und MeOH an reaktive Übergangszustände resultierten.

Tabelle 2: Rohproduktanteile [%] der Wacker-Oxidation mit Styrol 15.



Exp.									
	57	8	rac-74	rac-75	rac-76	77	78	79	80
1	0	84	1	2	0	3	2	3	1
2	0	85	1	2	0	3	2	3	1
3 ^a	0	89	0	2	0	0	3	-	-

Die Rohproduktanteile [%] wurden anhand der Integralverhältnisse im ¹H-NMR-Spektrum berechnet. ^tBuOH als interner Standard ermöglichte die in der Tabelle angegebene Absolutbestimmung. a) Ergebnisse von Sato^[166].

Das Ziel der Arbeit, eine formale asymmetrische Hydroaminierung als synthetische Plattform, forderte an dieser Stelle Substratbreite. Im Folgenden wurden zunächst für die Wacker-Oxidation verschieden substituierte Styrolerivate im Hinblick auf Umsatz und Selektivität untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 59 dargestellt. Zur besseren Übersicht wurde das Nebenproduktprofil ausgelassen und alle Nebenprodukte in einer Säule zusammengefasst.

Die produktbezogenen Umsätze in Abbildung 59 fallen sehr unterschiedlich aus. In allen Fällen wird kein Substrat mehr detektiert. Besonders selektiv laufen die Oxidationen von Substraten, die in *para*-Position einen Substituenten tragen. Ein ähnliches Bild lässt sich bei den *meta*-substituierten Styrolen beobachten. Es werden nur geringe Mengen der Nebenprodukte detektiert. Deutlich weniger selektiv werden Styrole oxidiert, die in *ortho*-Position substituiert waren. Elektronenziehende Substituenten beeinflussen die Reaktion ebenfalls negativ. Ein Chlorsubstituent, egal in welcher Position, erzwingt einen niedrigeren Zielproduktanteil im Vergleich zu den Substraten, die an gleicher Position durch eine Methyl- oder Methoxygruppe substituiert waren. Besonders auffällig war die Einwirkung in *ortho*-Position. Hier wurde mit Abstand die geringste Menge des Wunschprodukts **81** erhalten. Ähnliche Ergebnisse wurden bei einem Fluorsubstituenten beobachtet. Aus den Experimenten wird deutlich, dass die Wacker-Oxidation einen räumlichen Freiraum um die zu oxidierende Doppelbindung benötigt. Außerdem werden elektronenarme Aromaten weniger gut umgesetzt, als die elektronenreichen Pendants.

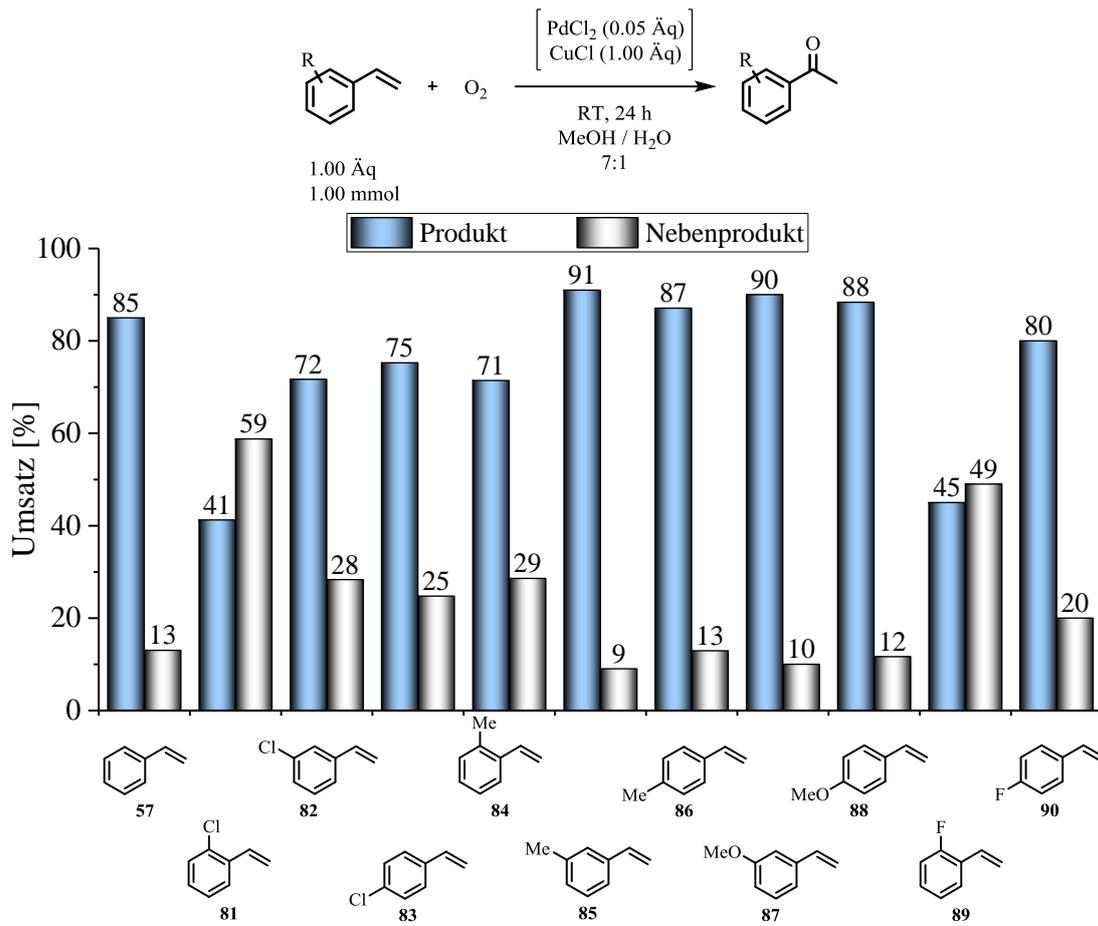


Abbildung 59: Substratspektrum der Wacker-Oxidation mit verschiedenen Styrolderivaten.

7. Formale asymmetrische Hydroaminierung

In diesem Kapitel werden die beiden zuvor diskutierten Teilreaktion zu einer Tandemreaktion zusammengeführt. Basierend auf einem günstigen Reaktordesign wird am Ende dieses Kapitels eine synthetisch anwendbare Plattform zur Synthese enantiomerenreiner Amine vorgestellt (siehe Abbildung 60).

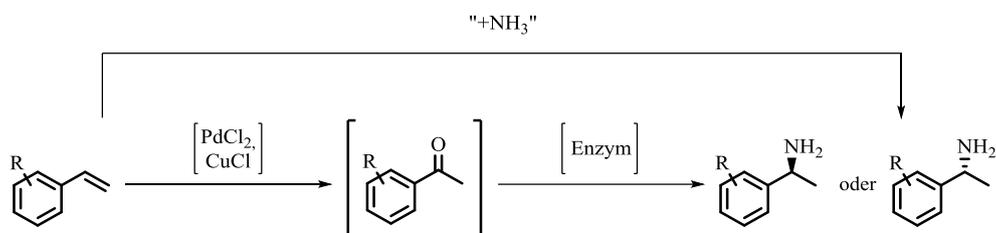


Abbildung 60: Formale asymmetrische Addition von Ammoniak an ein nicht funktionalisiertes Alken.

7.1. Reaktorkonstruktion

In diesem Kapitel sollen die Ergebnisse aus vorangegangenen Teilen der Arbeit zusammengeführt werden. Ziel dabei war die Etablierung einer chemoenzymatischen formalen asymmetrischen Hydroaminierung von nicht funktionalisierten Alkenen. Als Substrate werden verschiedene Styrolderivate eingesetzt, die zunächst in einer Wacker-Oxidation zu den entsprechenden Carbonylverbindungen oxidiert werden. Die Ketone werden enzymatisch reaktiv aminiert. Hierbei werden sowohl Transaminasen als auch die erst kürzlich entwickelten Amindehydrogenasen als Biokatalysatoren eingesetzt. In den Kapiteln 5 & 6 wurde eingehend diskutiert, dass die Kupfersalze aus der Wacker-Oxidation die verwendeten Enzyme deaktiviert. Eine Eintopfreaktion zur formalen Addition von Ammoniak an ein Alken in der gerade beschriebenen Form musste daher ausgeschlossen werden. Durch Trennung der beiden Reaktionssysteme könnte dennoch eine Tandemreaktion aufgebaut werden, bei der das Zwischenprodukt (die Carbonylverbindung) nicht isoliert werden muss. Als räumlicher Trenner zeigte sich PDMS in vergleichbaren Arbeiten als günstiges Material.^[166] Das Material besitzt eine poröse Struktur mit einer hydrophoben Oberfläche. Im Zusammenhang mit Kaskadenreaktionen wurde dieses Material erstmalig von *Bowden et al.* beschrieben.^[188,189] Bei den untersuchten Beispielen ging es immer um die räumliche Trennung wässriger Systeme von organischen Phasen, welche in einer Mischung die Zielkaskade nicht zulassen. Dabei zeigte sich, dass PDMS nicht nur passierbar von unpolaren Substanzen ist, sondern auch resistent gegenüber sehr reaktiven Substanzen wie LiAlH_4 und Grignardverbindungen.^[188] In Folgearbeiten wurden auch diverse Palladium-katalysierte Reaktionen untersucht.^[189,178] Dabei konnte auch das Milieu der Wacker-Oxidation in einem PDMS-Kompartiment eingeschlossen werden.^[178] *Sato et al.* setzten das Material zur Trennung von Wacker-Oxidation und einer enzymatischen Ketonreduktion ein und konnten damit ein robustes chemoenzymatisches System präsentieren.^[166]

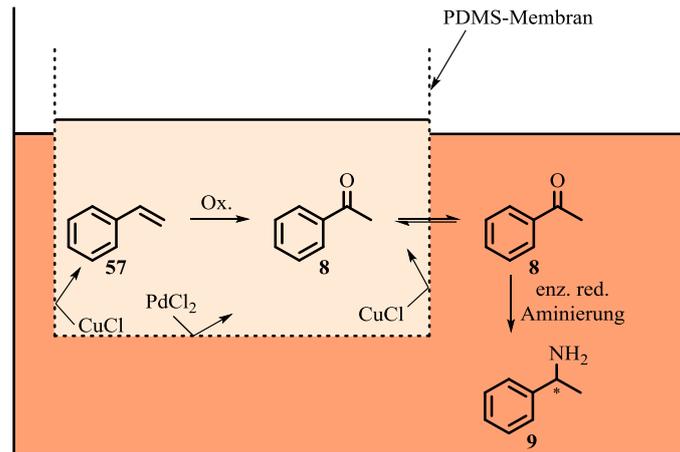


Abbildung 61: Kompartimentierung von Wacker-Oxidation und enzymatischer reduktiven Aminierung durch eine PDMS-Membran.

Im hier betrachteten Fall sollte die Wacker-Oxidation im Innenraum der Membran durchgeführt werden, weil Substratkonzentration bei der Wacker-Oxidation (1.1 M) deutlich höher war als die der biokatalytischen reduktiven Aminierung (30-50 mM). Analog zu Abbildung 61 folgt auf diese Weise ein höheres Konzentrationsgefälle und entsprechend höhere Diffusionsgeschwindigkeiten der Zwischenprodukte zum äußeren Volumen. Das äußere Volumen wird im Sinne einer sequentiellen Vorgehensweise nach vollständigem Umsatz der Wacker-Oxidation mit der Enzymsuspension gefüllt (siehe Abbildung 62). Eine parallele Reaktionsführung stellte hier aufgrund der begrenzten Enzymstabilität der Transaminase keine Option dar.

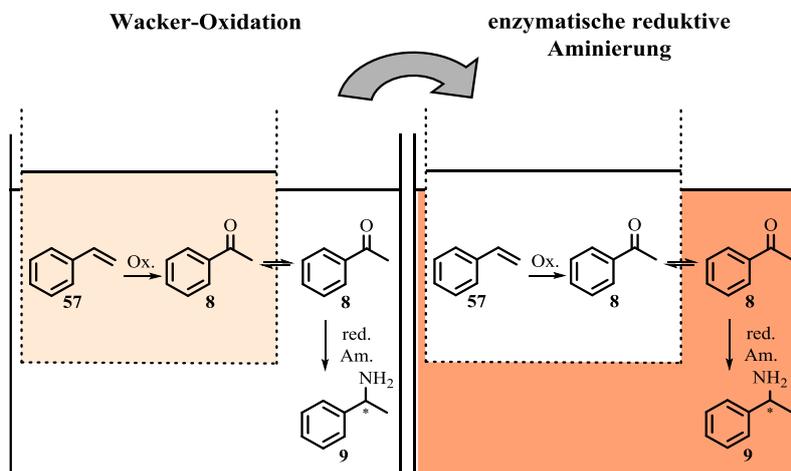


Abbildung 62: Sequentielle Reaktionsführung einer chemoenzymatischen Kaskade mit Kompartimenten.

Der Maßstab für die ersten Tandemexperimente wurde an denen von *Sato et al.*^[166] angelehnt. Aufgrund der geringen Aktivität der VF-TA wird zur Ressourcenschonung jeweils 0.5 mmol eines Styrolderivats zum entsprechenden Amin umgewandelt. Die erste Reaktorkonstruktion ist in Abbildung 63 (Reaktor 1) dargestellt. Die Membran wird in einer Polyethylenhülle am Boden des Reaktors fixiert, um gegen ein Umkippen gesichert zu sein. Die Abbildung zeigt zugleich auch einen Nachteil dieses ersten

Reaktortyps. Der Magnetrührer am Boden des Reaktors stieß bei Rotation immer wieder gegen die Kunststoffhülse und konnte die Membran zum Kippen bringen. Mit einer höheren Rührgeschwindigkeit ging auch ein höheres Kipprisiko einher. Die kritische Rührgeschwindigkeit lag bei etwa 50 rpm, was eine geringe Durchmischung des im Verhältnis recht großen Volumens der enzymatischen reduktiven Aminierung zur Folge hat. Entsprechend konnten auch nur niedrige Diffusionsgeschwindigkeiten von Acetophenon durch die Membran beobachtet werden. Um den Reaktor vom Rührgeschwindigkeitslimit zu entkoppeln, wurde beim nächsten Reaktortyp die stabilisierende Kunststoffhülse von oben gehalten (siehe Abbildung 63 Reaktor 2). So konnte die Rührgeschwindigkeit ohne Risiko auf 500 rpm erhöht werden. Da bei dieser Konstruktion um die Membran eine mehr oder weniger laminare Kreisbewegung entsteht, bleibt sie stabil in der Hülse stehen. Die Auswirkung auf die Diffusionsgeschwindigkeit ist in Abbildung 63 rechts dargestellt. Zu den gegebenen Messzeiten können im äußeren Volumen etwa 50 % mehr Acetophenon beim Einsatz von Reaktor 2 gemessen werden. Entsprechend wird diese Konstruktion auch für die weiteren Experimente eingesetzt.

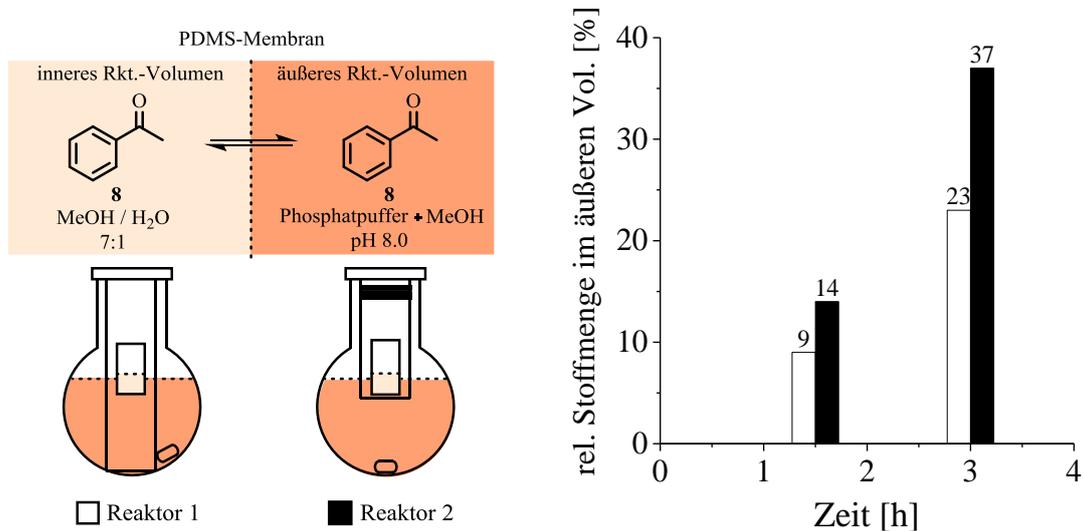


Abbildung 63: Schematische Darstellung der Reaktorkonstruktionen.

Die hier zu entwickelnde chemoenzymatische Kaskade soll nicht nur für die Umwandlung von Styrol in 1-Phenylethylamin eingesetzt werden, sondern einer breiten Produktpalette Zugang bieten. Deshalb wird neben dem Diffusionsverhalten von Acetophenon auch das Verhalten weiterer möglicher Zwischenprodukte untersucht, um sicher zu stellen, dass die Membran kein Hindernis oder eine Limitierung darstellt. Hier werden verschieden substituierte Acetophenonderivate betrachtet, die sich wenig in ihrer Größe und stärker in ihrer Polarität unterscheiden.

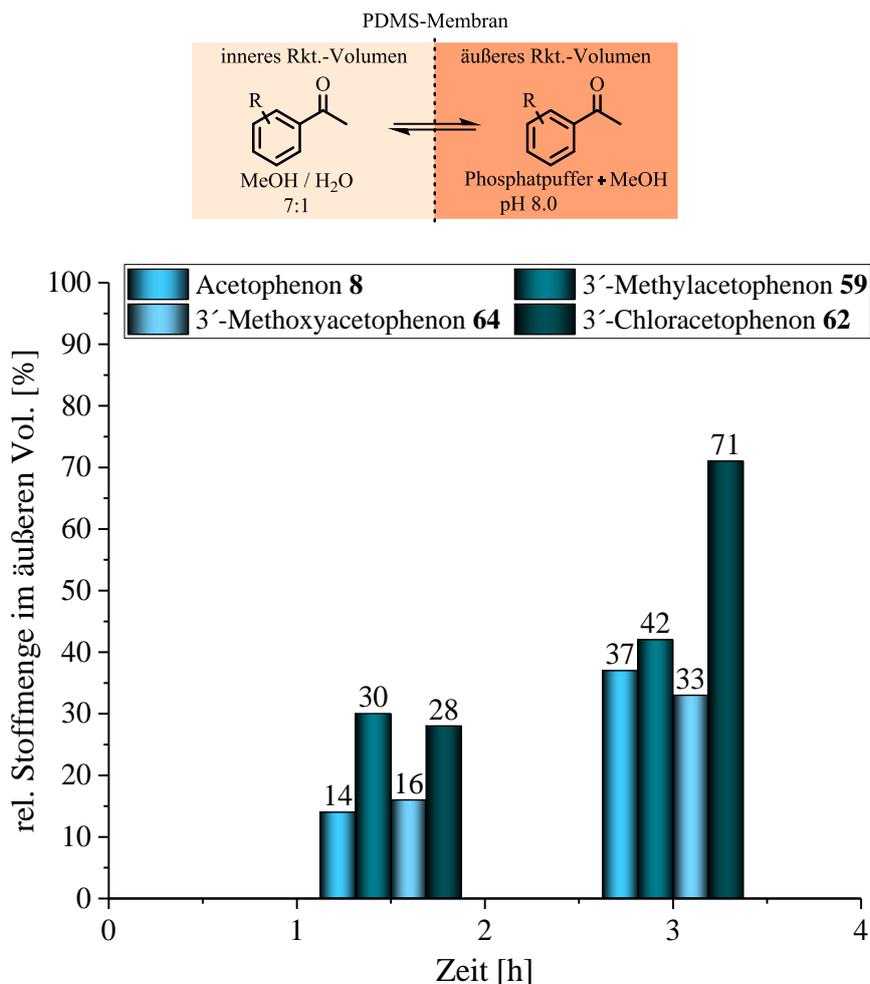


Abbildung 64: Diffusionsgeschwindigkeit verschiedener Acetophenonderivate durch eine PDMS-Membran.

Abbildung 64 zeigt die Diffusionsgeschwindigkeiten verschiedener in *meta*-Position substituiertes Acetophenonderivate. Der linke Balken zeigt immer die Referenz Acetophenon. Rechts daneben folgen die relativen Stoffmengen im äußeren Volumen für 3'-Methylacetophenon **59**, 3'-Methoxyacetophenon **64** und 3'-Chloracetophenon **62**. Es sind nur geringe Unterschiede der Diffusionsgeschwindigkeit gemessen worden. 3'-Methylacetophenon **59** und 3'-Chloracetophenon **62** können offensichtlich etwas leichter durch die Membran zu diffundieren. Das heißt die Membran scheint für die Substratbreite der gewünschten Kaskadenreaktion keine Limitierung zu sein.

Mit den in Abbildung 64 gewonnenen Daten lässt sich eine Zeit abschätzen, nach der die Ausgangsstoffmenge in das äußere Volumen diffundiert ist. Diese Zeit lag im Falle von Acetophenon bei 12-15 h. Diese Zeit kann den Umsatz der enzymatischen Transaminierung einschränken, denn die VF-TA weist nach 24 h keine Aktivität mehr auf. Entsprechend müsste mehr Katalysator für einen vollständigen Umsatz innerhalb der kürzeren Zeit verwendet werden. Höhere Katalysatorkosten bedeuten ein weniger attraktives Verfahren, weshalb im Folgenden eine technische Lösung für diese Herausforderung wird dargestellt. Sowohl die Transaminase als auch die Amindehydrogenase akzeptierten MeOH als Cosolvens in Maßen. Das nächste Experiment zeigt die

Diffusionsgeschwindigkeit von Acetphenon **8** in reines MeOH, wobei das Volumen der theoretisch eingesetzten Cosolvensmenge entspricht (siehe Abbildung 65). Zur besseren Orientierung ist neben den Balken für die Diffusion in reines MeOH auch der Vergleichswert von dem Wasser/MeOH Gemisch aufgetragen. Abbildung 65 zeigt, dass es zwischen den beiden Arten Acetphenon **8** in das äußere Volumen diffundieren zu lassen, keinen großen Unterschied gibt. Der größere Konzentrationsgradient im Falle der Mischung scheint die Polarität des Methanols und damit die bessere Löslichkeit von Acetphenon genau aufzuwiegen. Die vollständige Extraktion von Acetphenon in reines MeOH benötigt nach diesen Messwerten auch 12-15 h.

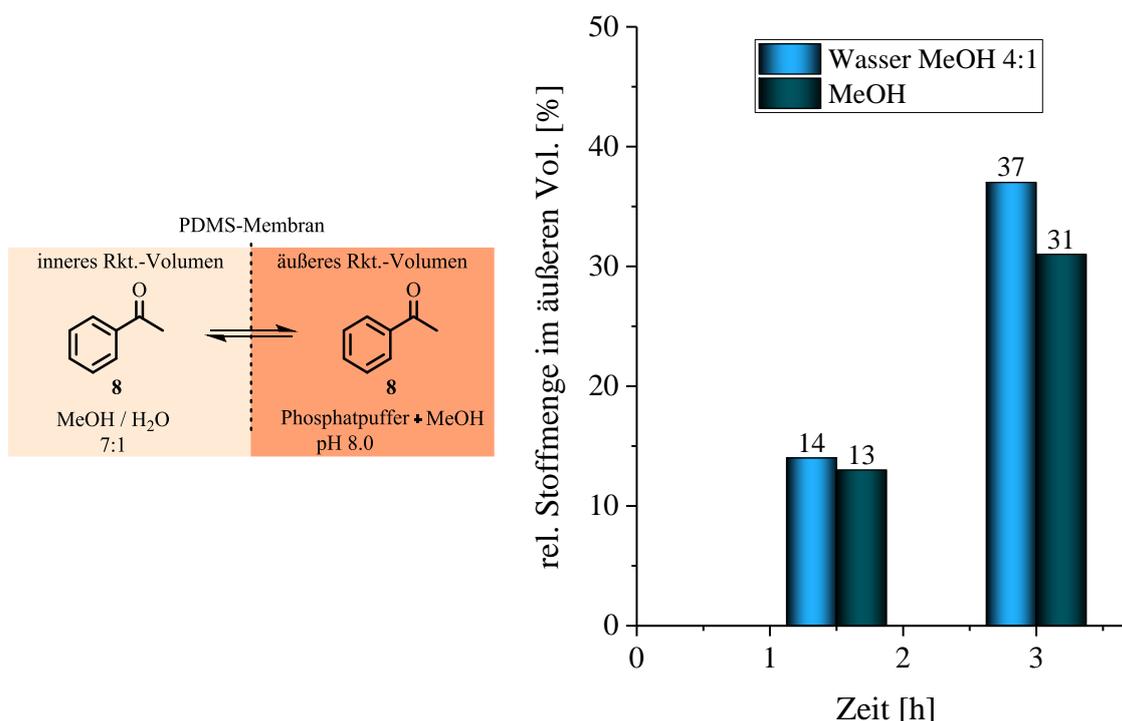


Abbildung 65: Vergleich der Diffusionsgeschwindigkeit von Acetphenon in ein Wasser/MeOH Gemisch und in reines MeOH.

Durch die Extraktion in reines MeOH kann jedoch der Biokatalysator geschont werden, um nachher den maximalen Ertrag zu erzielen. Die Kaskadenreaktion wurde nun analog zu Abbildung 66 aufgebaut. Nach Beendigung der Wacker-Oxidation wurde MeOH im äußeren Volumen vorgelegt und ein quantitatives Diffundieren durch die PDMS-Membran abgewartet. Anschließend wurde die MeOH-Lösung mit der Enzymsuspension/-lösung aufgestockt und die Biotransformation begann. Auf diese Weise konnten die kinetischen Daten aus den Einzelbetrachtungen der Teilreaktionen übernommen werden. Die enzymatische reduktive Aminierung sollte, wie in den vorigen Kapiteln beschrieben, ablaufen und keinerlei Einschränkungen aufweisen.

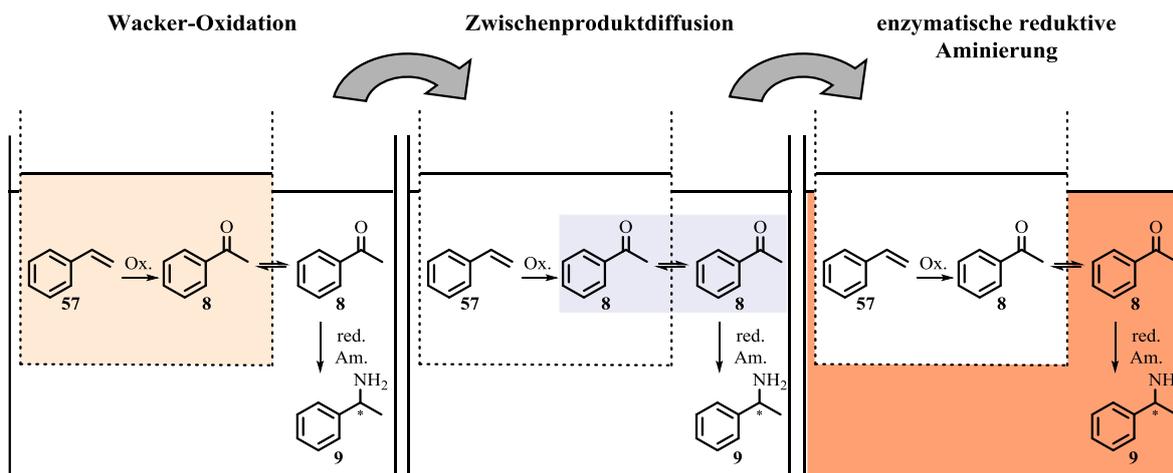


Abbildung 66: Sequentielle Reaktionsführung einer chemoenzymatischen Kaskade mit Kompartimenten.

7.2. Formale asymmetrische Hydroaminierung in Verbindung mit Transaminasen

In diesem Kapitel werden die Wacker-Oxidation und die optimierte enzymatische Transaminierung zusammengeführt. In einer vorangegangenen Arbeit des Autors konnte bereits der *proof of concept* für die Synthese von 1-Phenylethylamin (*S*)-**9** ausgehend von Styrol **57** erfolgreich vorgestellt werden. In diesem Kapitel werden die oben erarbeiteten Substratspektren kombiniert, sodass mit dem Konzept der formalen asymmetrischen Hydroaminierung eine attraktive Syntheseanwendung entsteht. Bei der Wacker-Oxidation haben sich vor allem *para*-substituierte Styrolerivate mit hohen Selektivitäten für eine Tandemreaktion empfohlen. Die *ortho*-substituierten Styrole wiesen eine hohe Neigung zur Nebenproduktbildung auf, weshalb eine chemoenzymatische Kaskade hinsichtlich der Ausbeute durch diese Substrate stark eingeschränkt wäre. Der Fokus wurde folglich auf die anderen oben aufgeführten Styrolerivate gelegt. Das in Kapitel 5.1 aufgeführte Substratspektrum der Transaminasen zeigt, dass die günstigsten Substrate keine Substitution in *para*-Position aufweisen. Im Falle sehr kleiner Substituenten kann jedoch eine für die Kaskade interessante Aktivität gemessen werden. Entsprechend wurden alle Substrate mit guten produktbezogenen Umsätzen sowohl bei der Wacker-Oxidation als auch bei der Transaminierung in einer Tandemreaktion untersucht. Als Reaktor wird das Kapitel 7.1 entwickelte und optimierte System eingesetzt. Die Ergebnisse für verschiedene Substrate sind in Abbildung 67 aufgezeigt.

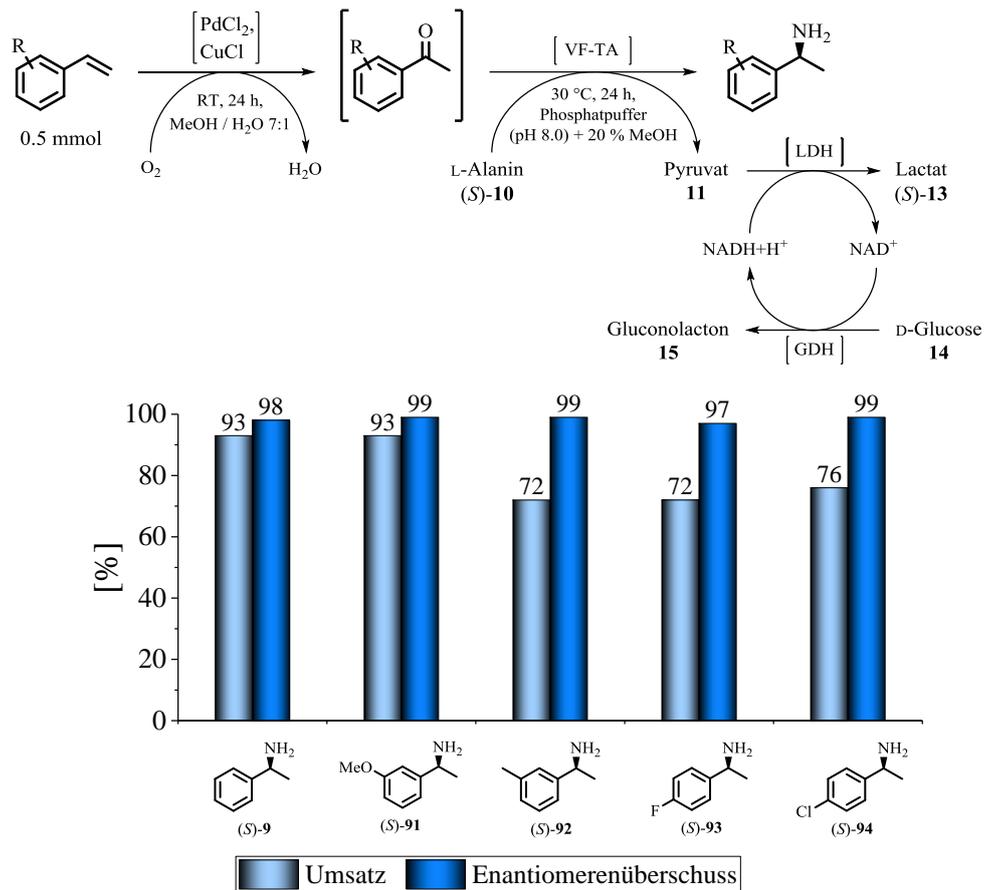


Abbildung 67: Substratspektrum der formalen asymmetrischen Hydroaminierung durch Wacker-Oxidation und enzymatischer Transaminierung.

Den aufgeführten Experimenten ist zu entnehmen, dass die formale asymmetrische Hydroaminierung auch in der Breite anwendbar ist. Bei allen Substraten konnten sehr gute produktbezogene Umsätze detektiert und exzellente *ee*-Werte gemessen werden. Eine attraktive Synthesekombination für Wacker-Oxidation und Transaminierung wird für *para*- und *meta*-substituierte Styrolderivate aufgezeigt. Besonders die retrosynthetisch anspruchsvolleren *meta*-substituierten Styrole werden über die vorgestellte Route sehr gut zugänglich. Als Highlight ist vielleicht 3'-Methoxy-1-phenylethylamin (S)-91 als ein Baustein für das pharmazeutisch genutzte Rivastigmin hervorzuheben (siehe Abbildung 68).^[190]

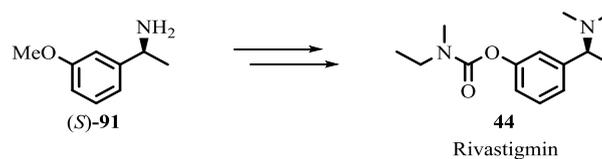


Abbildung 68: Mögliche Synthese des Alzheimer Medikaments Rivastigmin 44.^[190]

7.3. Formale asymmetrische Hydroaminierung in Verbindung mit Amindehydrogenasen

In diesem Kapitel wird eine Alternative zu der in Kapitel 7.2 eingesetzten Transaminase aufgezeigt. Wie im vorigen Kapitel sollte ein System aufgebaut werden, bei dem ein Styrolerivat gemäß einer formalen asymmetrischen Hydroaminierung in ein 1-Phenylethylaminderivat überführt wird. Die Transaminase aus *Vibrio fluvialis* musste für einen vollständigen Umsatz mit einer enzymatischen Kaskade ergänzt werden. Pyruvat **11** wurde durch eine LDH unter Cofaktorverbrauch reduziert. Der Cofaktor wurde durch ein D-Glucose **14**/GDH System regeneriert. Das heißt es wurden zwei Enzyme eingesetzt, die mit der Zielkaskade überhaupt nichts zu tun haben (siehe Abbildung 69).

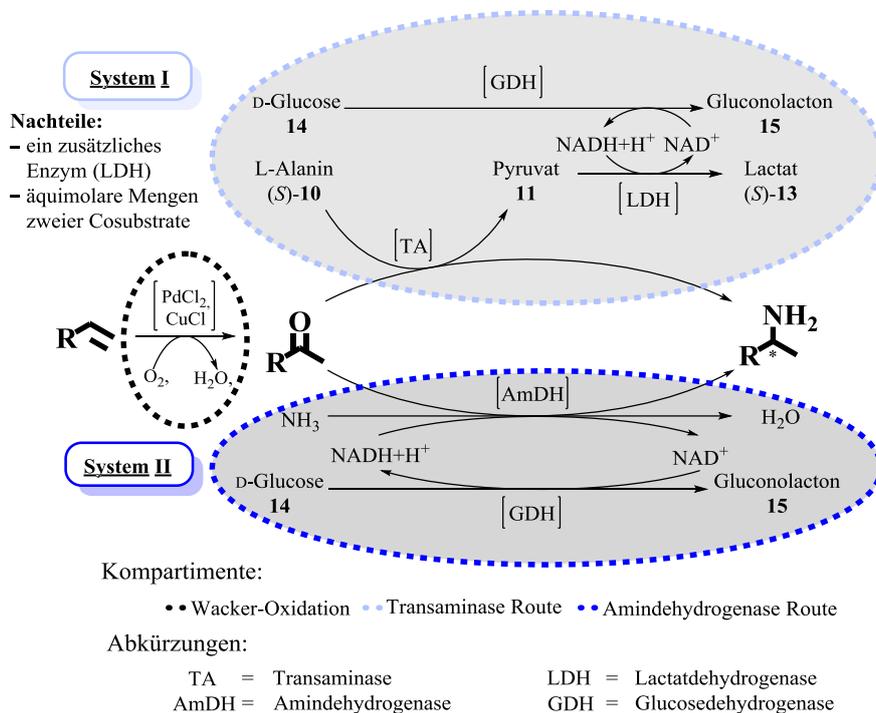


Abbildung 69: Konzeptvergleich der formalen asymmetrischen Hydroaminierung oben durchgeführt mit Transaminasen^[182] und unten durchgeführt mit Amindehydrogenasen^[191].

Die Amindehydrogenase hingegen verwendet den reduzierten Cofaktor für die reduktive Aminierung. Aus diesem Grund kann das Gleichgewicht mit dem irreversiblen Schritt der Gluconolactonringöffnung mit nur einem weiteren Enzym in die Biotransformation eingebaut werden. Das biokatalytische System wird dadurch viel einfacher und flexibler hinsichtlich möglicher Bedingungsangleichungen. Außerdem wird ein komplexes Cosubstrat (L-Alanin) durch die Basischemikale Ammoniak ersetzt.

Die Bedingungen für die Teilreaktionen (Wacker-Oxidation und reduktive Aminierung) wurden in den vorangegangenen Kapiteln eingehend diskutiert. Aufgrund einer Inkompatibilität von Amindehydrogenase und Kupferionen wird in dem Tandemsystem auf die bewährte PDMS-Membran zurückgegriffen, die ein Austreten der Kupferionen in die biokatalytische Reaktionslösung verhindert.

Für eine optimale Diffusionsgeschwindigkeit wurde neben dem Zusatz von MeOH in der biokatalytischen Phase das optimierte Reaktorsystem aus Kapitel 7.1 eingesetzt. Das Ergebnis der Tandemreaktion für den Umsatz von Styrol zu 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** ist in Abbildung 70 dargestellt.

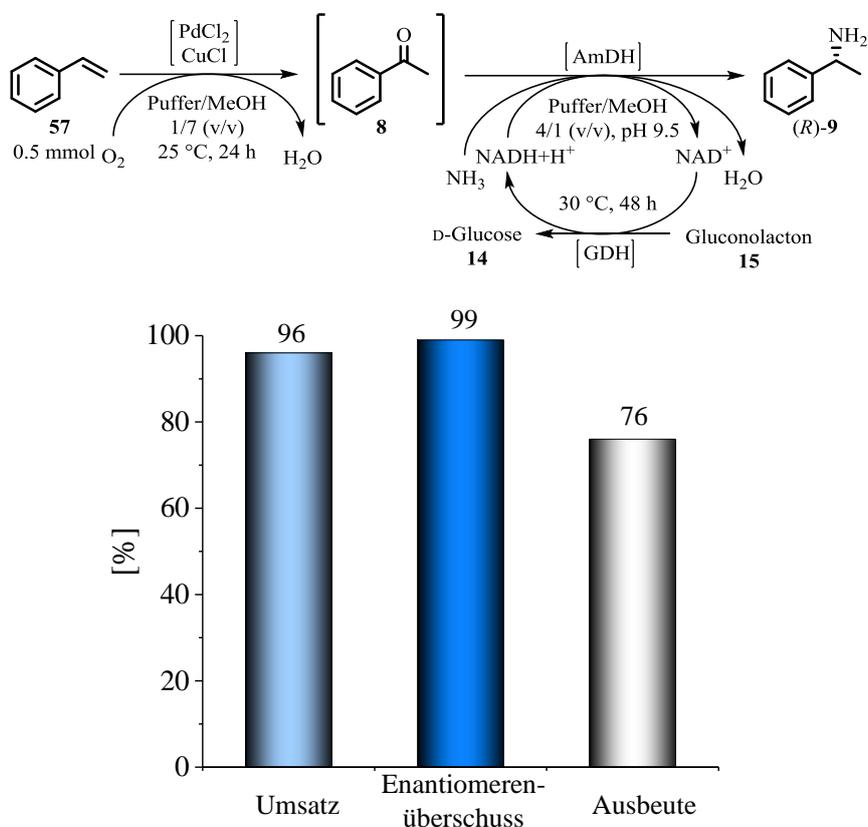


Abbildung 70: Tandemreaktion aus Wacker-Oxidation und biokatalytischer reduktiver Aminierung mit AmDH.

Das Konzept der Kompartimentierung konnte hier erfolgreich auf die Kombination Wacker-Oxidation und reduktive Aminierung mit AmDH übertragen werden. Bei einem quantitativen Umsatz und exzellenter Enantioselektivität (99 %*ee*) wurden 76 % der eingesetzten Stoffmenge in Form des Wunschprodukts (*R*)-**9** isoliert. Mit diesem Experiment konnte neben dem Zugang zum anderen Enantiomer von 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** im Vergleich zu den Transaminasen auch die Robustheit des Gesamtkonzepts aufgezeigt werden. Ohne größeren Aufwand lässt sich die Tandemreaktion modular gestalten. Weitere Enzyme (die nicht durch MeOH inhibiert werden) können direkt eingesetzt werden und Zugang zu einer Vielfalt von Produkten dieser Syntheseplattform ermöglichen.

7.4. Hochskalierung der Tandemreaktion in einen erweiterten Labormaßstab

Nachdem in den vorangegangenen Kapiteln der Fokus auf Substratbreite gelegt und erfolgreich publiziert wurde,^[182,191] sollte in den Folgearbeiten eine Prozessvariante vorgestellt werden, die das oben vorgestellte Konzept auch über den Labormaßstab hinaus ermöglicht.

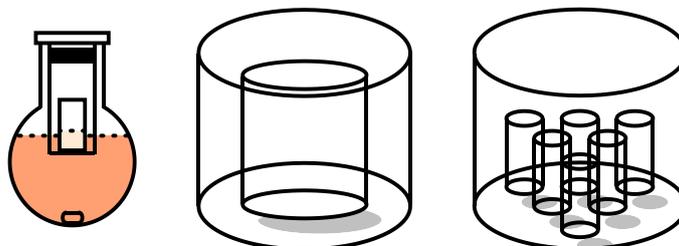


Abbildung 71: Schematische Darstellung des bisherigen Reaktorsystems und möglicher Folgereaktoren für einen erhöhten Maßstab.

Wie in Abbildung 71 dargestellt, gibt es zwei Möglichkeiten, das Reaktionsvolumen hochzuskalieren. Hier wurde zunächst das technisch einfachere Modell untersucht. Die zwei Reaktionsgefäße werden proportional zueinander vergrößert. Eine einfache Vergrößerung der Membranhülse war nicht möglich, denn das weiche Material bot nicht genügend Stabilität für ein eigenständiges Stehen. Um die nötige Stabilität aufzubauen wurde ein Drahtgitter in die Membran eingebunden (siehe Abbildung 72 Mitte). Mit der Vergrößerung des Reaktors ändern sich auch die geometrischen Parameter, welche an zwei Stellen Einfluss auf die Tandemreaktion nehmen können. Bei der Wacker-Oxidation wird Sauerstoff aus der Luft in die Reaktion eingebunden. Eine kleinere Kontaktfläche der flüssigen Phase mit der Gasphase kann einen Umsatzrückgang bedeuten. Außerdem dient der Membranhülse als Fläche für die Diffusion des Wacker Produkts in das äußere Volumen. Das Oberfläche zu Volumen Verhältnis wird besonders bei kleinen Radien des Zylinders vorteilhaft. Das steht im Widerspruch zu den günstigen Bedingungen der Wacker-Oxidation.

In Abbildung 72 sind die Konstruktionen und relevante Reaktionsparameter der kleinen PDMS-Hülse (Umsatz 0.5 mmol in der Tandemreaktion aus Kapitel 7.2) und dem größeren Reaktortyp dargestellt. In diesem Fall wurde die Wacker-Oxidation betrachtet und untersucht, ob eine Verringerung der Oberfläche A_{Wack} (in diesem Fall der Deckel des Zylinders in Abbildung 72) einen Einfluss auf den Umsatz zur Folge hat. Im Diagramm rechts sind die entsprechenden experimentellen Ergebnisse dargestellt. Verglichen wird das etablierte Experiment in der PDMS-Hülse mit dem neuen Reaktor (Drahtgitter gecoatet) und einer Reaktionsführung mit den Geometrien des neuen Reaktors und einer inerten Glasoberfläche (Glaszylinder). Der Glaszylinder dient hier als Modellreaktor, um einen Einfluss des Stabilisatormaterials beim gecoateten Drahtgitter auszuschließen. Abbildung 72 rechts zeigt, dass der Umsatz nicht durch die kleinere Kontaktfläche A_{Wack} zur Gasphase beeinflusst wird, obwohl diese um knapp 60 %/Volumeneinheit (A_{Wack}/V) reduziert wurde. Der etwas niedrigere Umsatz in dem neuen

Reaktor konnte auf eine nicht optimale Ummantelung durch das Membranpolymer zurückgeführt werden. Nach dem Experiment zeigte sich das Metallgitter deutlich angegriffen. Das heißt die Reaktionsmischung ist in direkten Kontakt mit dem Draht gekommen und dieser konnte Einfluss auf die Wacker-Oxidation nehmen.

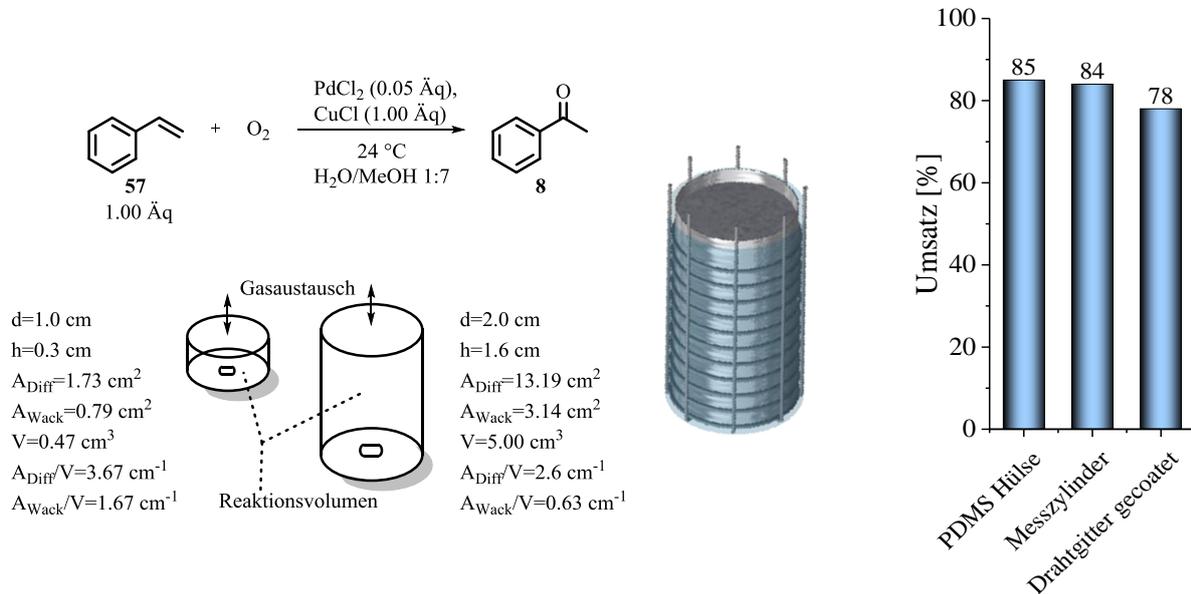


Abbildung 72: Schematische Darstellung der kleinen PDMS-Hülse im Vergleich zur vergrößerten Hülse. Angegeben sind auch die geometrischen Größen, um die hier relevanten Daten vergleichen zu können. Im Diagramm rechts sind die Umsätze bei der Wacker-Oxidation in den drei skizzierten Reaktorvarianten dargestellt.

Dieses Experiment motivierte, den Aufbau der Membran noch einmal zu optimieren. Während bei dem Prototypen ein feinmaschiges Drahtgitter direkt mit dem Membranmaterial bestrichen wurde, konnte bei den Nachfolgern sowohl die zuverlässige Beschichtung des Metalls als auch eine dünnere Membranschicht ermöglicht werden. Dazu wurde der Innenraum des Gitters mit Alufolie abgedeckt und anschließend mit Glaswolle verdichtet. So konnte eine dünne PDMS-Schicht aufgetragen und in der Wärme ausgehärtet werden. Auf diese Weise konnte der Umsatz bei der Wacker-Oxidation analog zu dem Messzylinder auf 83 % erhöht werden.

Im folgenden Abschnitt werden zu dem oben vorgestellten Reaktortyp zwei weitere Modelle vorgestellt, die vom geometrischen Aufbau her identisch sind. Zum einen wurde aufgrund der oben vorgestellten Herausforderung des Drahtgitters in Gegenwart der Wacker-Oxidation ein inerte Glasreaktor mit mehreren Löchern gecoatet. Im Hinblick auf eine effiziente Diffusion in das äußere Volumen wird auch ein Reaktor mit grobmaschigerem Draht PDMS überzogen und bezüglich der Diffusionsgeschwindigkeit untersucht. Die relativen Diffusionsgeschwindigkeiten von Acetophenon **8** durch die jeweiligen Membranen sind in Abbildung 73 dargestellt.

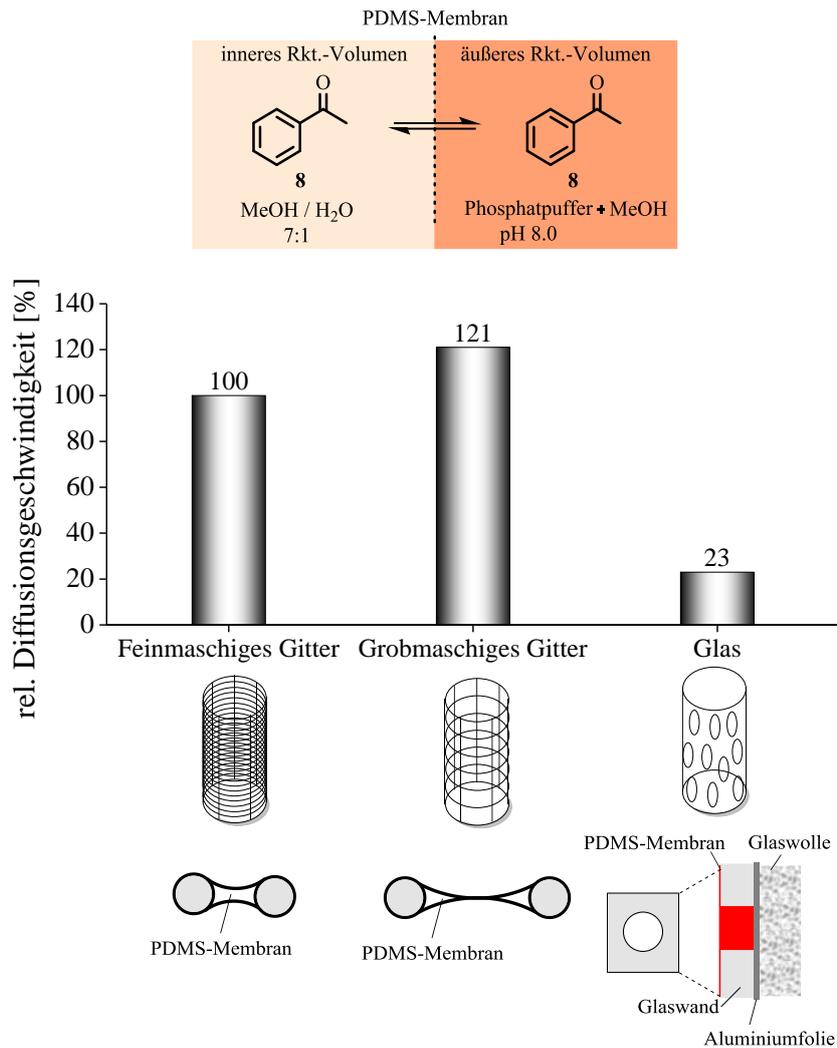


Abbildung 73: Vergleich der relativen Diffusionsgeschwindigkeiten durch unterschiedlich konstruierte Reaktoren.

In Abbildung 73 wird im oberen Teil gezeigt, dass sich die grobere Maschung des Drahtes positiv auf die Diffusionsgeschwindigkeit (20 %) von Acetophenon durch die Membran auswirkte. Neben der erwarteten größeren Oberfläche für eine mögliche Diffusion spielte auch die unter den schematischen Reaktoren dargestellte Membranbildung eine Rolle. Aufgrund der Herstellungsweise wurde ein grobmaschiger Reaktor in der Mitte der Metallfenster immer dünnere Schichten im Vergleich zum Prototypen aufweisen. Deutlich langsamer diffundierte Acetophenon **8** durch die Membran des Glasreaktors. Das lag zum einen an der geringen Lochzahl, die technisch bei Glas nicht zu erhöhen war, und an der Herstellung der Membran. In den Glasreaktor wurde ein zylindrisches Volumen gefüllt (Aluminiumfolie und Glaswolle) und anschließend der Komplex mit der Membran überzogen. Auf diese Weise füllten sich die Glaslöcher mit zu viel Polymermaterial. Trotzdem bleibt der Reaktor interessant, weil er ohne weiteres kompatibel mit der Wacker-Oxidation ist. Zur Zeit wird an einem besseren Verfahren zur Membranherstellung gearbeitet. In einem Benchmark-Experiment konnte der Drahtgitterreaktor bereits erfolgreich eingesetzt werden.

8. Ozanimod

8.1. Retrosynthese

Im Rahmen eines Industrieprojektes wird die Synthese/Prozessstrategie für das pharmakologisch attraktive Ozanimod (siehe Abbildung 74) untersucht, welches zur Behandlung von Multipler Sklerose eingesetzt werden soll.^[133] Retrosynthetisch bieten sich dazu verschiedene Möglichkeiten, um zum Zielmolekül zu gelangen. Im Fokus steht dabei die Integration von biokatalytischen Technologien in einen industriell interessanten Prozess.

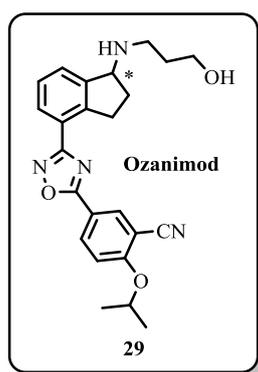


Abbildung 74: Chemische Struktur von Ozanimod 29.

Zunächst wird der chirale Baustein des 1-Aminoindans betrachtet, welches einen Schlüsselbaustein in der Gesamtsynthese von Ozanimod **29** darstellt. Wie in Abbildung 75 gezeigt wird, kann 1-Aminoindan **98** und seine substituierten Derivate biokatalytisch über zwei Routen erreicht werden. Das chirale Amin ist über eine enzymatische reduktive Aminierung (Transaminase, Aminoaldehydase) direkt zugänglich. Neben den der in einigen Prozessen etablierten Transaminase kommt für die Transformation von Carbonylverbindungen zu chiralen Aminen grundsätzlich auch eine Aminoaldehydase in Frage. Die Technologie mit diesem Enzym stand jedoch noch am Anfang und hätte mehr Zeit und Engagement gefordert, sodass diese Variante aufgrund des zeitlichen Projektrahmens nicht priorisiert wurde. In dieser Arbeit wird entsprechend der Fokus auf die Enzymklasse der Transaminasen gelegt.

Das Amin kann auch auf chemischem Weg ohne Berücksichtigung der Chiralität hergestellt werden (Leuckart-Wallach Chemie o. ä.)^[23]. Dabei entsteht das Racemat des 1-Aminoindanderivats. Das Racemat kann dann biokatalytisch auf mehrere Weisen gespalten werden (siehe Kapitel 2.2-2.4). Aufgrund von Komplexität des biokatalytischen Systems und der geringen Aktivität des Enzyms selbst werden die Aminoaldehydase und die Transaminase für eine Racematspaltung nicht berücksichtigt. Bei Racematspaltungen von derartigen Aminen eignen sich Lipasen besonders gut, weil sie neben einer hohen Aktivität auch organische Lösungsmittel tolerieren bzw. organische Phasen benötigen. Ein

Enzym findet bei diesen Strukturmotiven und aufgrund seiner ausgeprägten kommerziellen Verfügbarkeit immer wieder Anwendung.^[192] Es handelt sich um die Lipase B aus *Candida antarctica*.

Außerdem kann im Hinblick auf Ozanimod auch eine Iminreduktase (IRED) interessant sein. Diese Enzyme können Imine asymmetrisch unter Verbrauch von NAD(P)H zu Aminen reduzieren. Leider konnten Iminreduktasen zu damaligem Zeitpunkt nur in Wasser als Katalysator eingesetzt werden, in welchem die Substratimine nahezu keine Stabilität aufweisen.^[193] Entsprechend werden die beiden letztgenannten Enzymklassen in dieser Arbeit nicht weiter diskutiert.

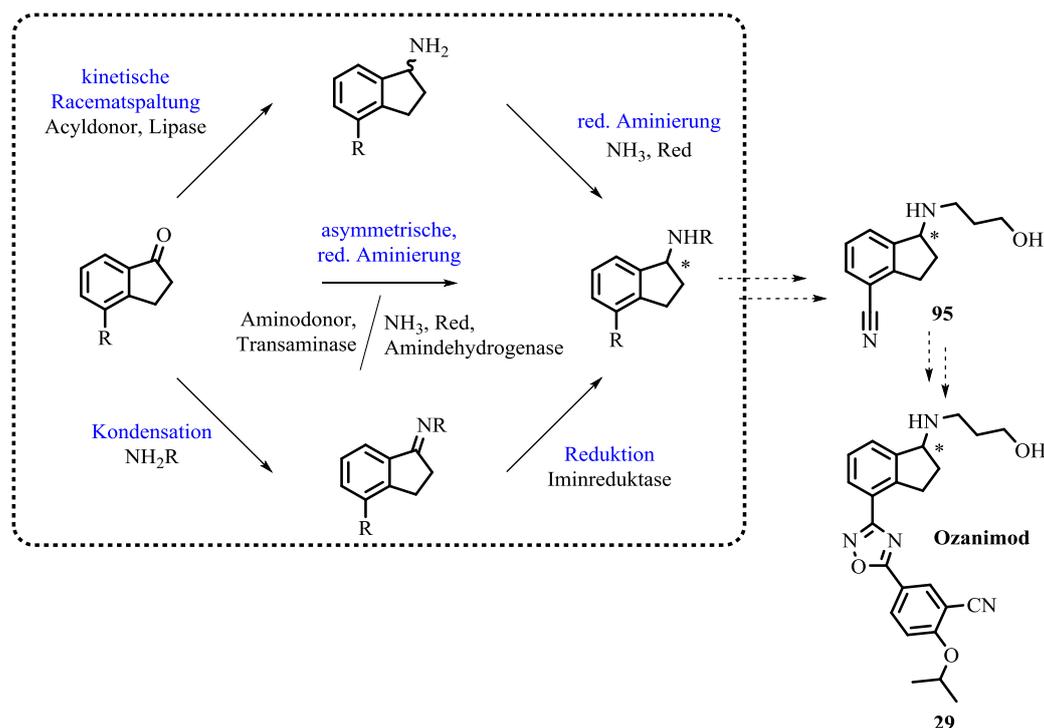


Abbildung 75: Syntheseroute zur Darstellung von Ozanimod ausgehend vom chiralen Baustein 1-Aminoindan.

Die beiden anderen Varianten (asymmetrische reduktive Aminierung und kinetische Racematspaltung) kommen für einen Prozess in Frage, wobei sie sich im Sinne der Prozessstrategie elementar unterscheiden. Eine Racematspaltung, wie sie oben in Abbildung 75 dargestellt ist, wäre ein sehr einfaches Verfahren mit günstigem Katalysator und einfacher Reaktionsführung. Wie bei jeder kinetischen Racematspaltung liegt die maximale Ausbeute bei 50 %. Daher kommt die Reaktion eher bei günstigen Produkten in Betracht, wenn die Entsorgung oder die nachträgliche Racemisierung nicht so kostenintensiv ist. Die asymmetrische reduktive Aminierung mit Hilfe der Transaminase bietet den Vorteil eines möglichen quantitativen Umsatzes. Die Katalysatorbeladung ist jedoch in aktuell vergleichbaren Prozessen sehr hoch und entsprechend werden große Mengen Biomasse benötigt.^[69,194] Aus diesem Grund wird die Transaminierung bezüglich der Katalysatorkosten den Nachzug gegenüber der Lipase erhalten. Sie gelangt erst in den Fokus, wenn die Produkte kostenintensiv werden und das Verwerfen einer Hälfte des Racemats zu teuer wird.

8.2. Biokatalytischer Schlüsselschritt

In diesem Kapitel werden die biokatalytischen Möglichkeiten von Transaminase und Lipase aufgezeigt, um zum enantiomerenreinen Schlüsselintermediat (*S*)-**51** zu gelangen. Dabei wird auf die Enzymklassen der Transaminasen (siehe Abbildung 76 unten) und der Lipasen (siehe Abbildung 76 oben) eingegangen. Die günstigere Route wird dann im nächsten Kapitel in eine Totalsynthese bis zum Schlüsselbaustein (*S*)-**51** eingebettet.

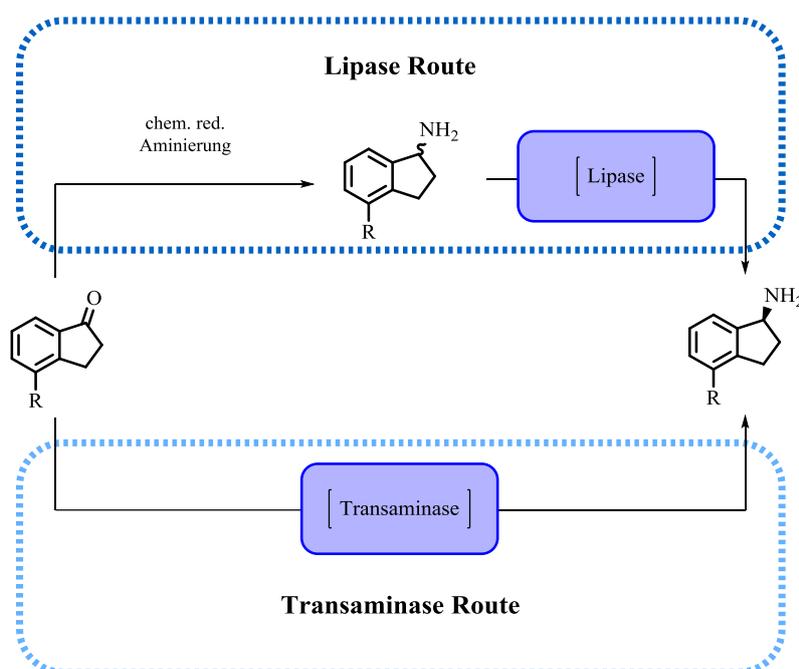


Abbildung 76: Biokatalytische Syntheserouten zum Schlüsselbaustein von Ozanimod.

8.2.1. Transaminase

Im Rahmen der Gesamtsynthese von Ozanimod stellt ein an Position 4 substituiertes Indanongerüst einen Schlüsselbaustein (siehe Kapitel 8.1) dar. Das Amin kann aus der Carbonylfunktion über eine reduktive Aminierung sehr gut generiert werden. Bei der reduktiven Aminierung entsteht ein Stereozentrum, wobei nur ein Enantiomer für das biologisch aktive Zielmolekül eingesetzt werden kann. Um zu dem gewünschten Enantiomer zu gelangen, gibt es grundsätzlich zwei Konzepte. Entweder das Amin wird racemisch hergestellt und später in einer Racematspaltung in die Enantiomere gespalten oder die Reaktion wird asymmetrisch durchgeführt. Mit Hilfe eines chiralen Katalysators kann die Stereoinformation während der Reaktion übertragen werden und im Produkt findet sich nur ein Enantiomer wieder. Für letzteren Reaktionstyp kommen zum Beispiel Transaminasen als Katalysatoren in Frage. Transaminasen können eine Carbonylfunktion in ein primäres Amin überführen, während im gleichen Zug ein Amin in ein Keton transformiert wird.

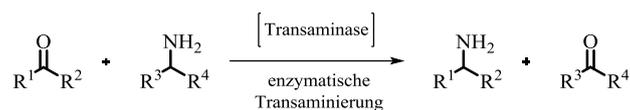


Abbildung 77: Allgemeines Reaktionsschema für Transaminase katalysierte Transformationen.

Grundsätzlich zeichnen sich Transaminasen durch eine sehr hohe Selektivität aus. Im Falle einer Substratazeptanz (die bei Wildtypenzymen soweit bekannt, auf bestimmte Struktur motive begrenzt ist) auf Seiten der Transaminase, werden oft sehr hohe Enantiomerenüberschüsse im Produkt detektiert (Ausnahmen erstmalig von *Bornscheuer et al.* entdeckt)^[71].

Ein Zwischenprodukt in der Gesamtsynthese ist die 4-Indanonsäure **107**. Aus diesem Produkt muss die Carbonylfunktion in ein primäres Amin überführt und die Carbonsäure in ein Nitril transformiert werden. Das Nitril kann über Generierung eines primären Amids und anschließender Dehydratisierung mit geeigneten Reagenzien gewonnen werden. Um das Substratspektrum von gängigen Transaminasen besser zu verstehen, werden in diesem Zusammenhang auch strukturverwandte Modellsubstrate untersucht.

Für die Untersuchungen werden zwei Transaminasen eingesetzt. Die Transaminase aus *Vibrio fluvialis* (VF-TA) ist eine der am häufigsten beschriebenen Transaminasen, unter anderem, weil sie im Verhältnis zu gleichartigen Katalysatoren eine hohe Aktivität und dabei sehr gute Selektivität aufweist. Als Cosubstrat wird üblicherweise L-Alanin (*S*)-**10** eingesetzt. Da eine transaminasekatalysierte Reaktion immer eine Gleichgewichtsreaktion ist, muss für quantitativen Umsatz ein Druck auf das thermodynamische Gleichgewicht ausgeübt werden. Beim Einsatz von L-Alanin (*S*)-**10** als Cosubstrat muss immer ein Produkt aus dem Gleichgewicht entzogen werden, weil das Koppelprodukt Pyruvat die Reaktion immer auf die Seite der Edukte verschiebt. Ein gängiges, nachgeschaltetes System stellt die Reduktion des Pyruvats **11** mit einer Lactatdehydrogenase und Cofaktorregenerierung durch eine Glucosedehydrogenase dar (siehe Abbildung 78).

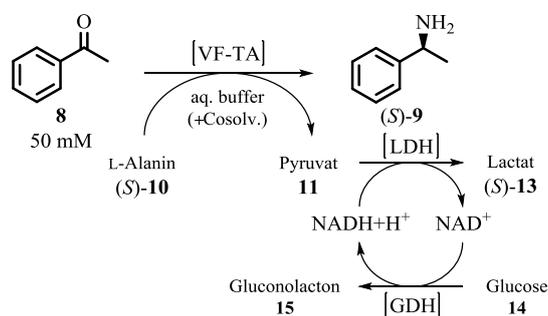


Abbildung 78: Konzept der Transaminierung mit VF-TA.

Eine etwas jüngere Entdeckung der auch der aktuelle *Sitagliptin*-Prozess zu Grunde liegt,^[31] ist der Einsatz von industriell attraktiveren Cosubstraten als L-Alanin, die idealerweise auch nicht chiral sind. Isopropylamin stellt den aktuellen Blockbuster als Cosubstrat dar. Das leichtflüchtige Nebenprodukt

Aceton bietet neben der guten Verfügbarkeit von Isopropylamin auch einen einfachen Weg zur Gleichgewichtsverschiebung zu Gunsten der Produkte durch *in situ* Destillation. In dieser Arbeit wird auch der Einsatz einer Transaminase aus *Arthrobacter sp.* (ArS-TA) untersucht, welche neben L-Alanin auch Isopropylamin als Cosubstrat akzeptiert.

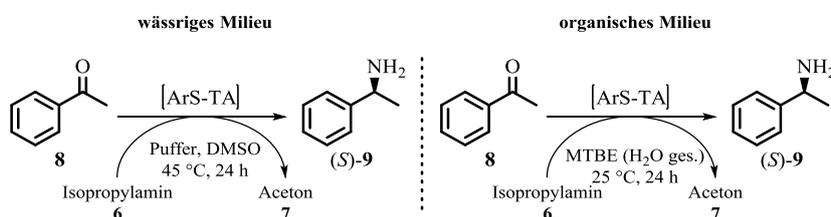


Abbildung 79: Konzepte der Transaminierung mit ArS-TA.

Bei dieser Transaminase besteht auch die Möglichkeit organische Lösungsmittel einzusetzen, welche die Substratlöslichkeit erhöhen und auf diese Weise höhere Reaktionsgeschwindigkeiten zulassen. Die VF-TA (wie die meisten anderen bekannten Enzyme) reagieren eher empfindlich auf organische Solventien Lösungsmittel (außer wenige Ausnahmen)^[106,195]. Auch die Produktisolierung wird auf diese Weise deutlich vereinfacht.

Die oben beschriebenen Transaminasen mit entsprechenden Reaktionsstrategien werden hier im Einsatz mit im Bezug auf Ozanimod geeigneten (Modell-)Substraten beschrieben. Zunächst wird der Einsatz der ArS-TA erläutert. Neben dem Aminodonor Isopropylamin 6 wird mit Wasser gesättigter MTBE als Lösungsmittel eingesetzt.

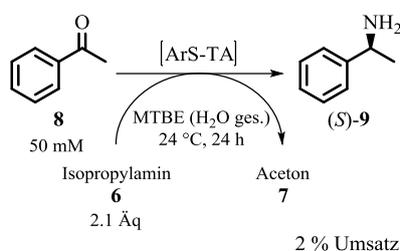


Abbildung 80: Transaminierung mit ArS-TA in organischem Lösungsmittel.

Abbildung 80 und Abbildung 81 zeigen, dass keines der möglichen Substrate bzw. eine strukturverwandte Spezies ein günstiges Substrat für diese Transaminase darstellen. Beim Einsatz von MTBE als Lösungsmittel konnte ein sehr geringer Umsatz von Acetophenon gemessen werden. Im Vergleich dazu scheint die Transaminase eine höhere Aktivität in ihrer nativen wässrigen Umgebung aufzuweisen. Der Wechsel des Lösungsmittels führt zu einer Umsatzsteigerung auf 34 %. Substrate mit einem Indanongerüst wurden unter diesen Bedingungen gar nicht von der ArS-TA umgesetzt. An dieser Stelle wurde ArS-TA nicht weiter untersucht, weil die Verwendung dieser TA einen sehr hohen Optimierungsaufwand zur Folge gehabt hätte.

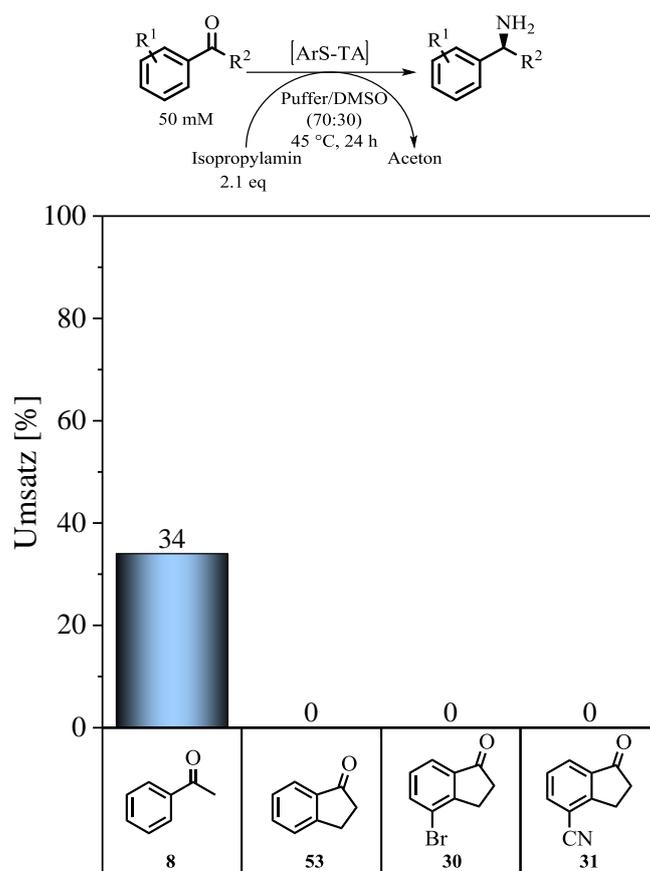


Abbildung 81: Transaminierung mit ArS-TA in wässrigem Milieu.

Die oben genannten Substrate wurden nachfolgend mit der Transaminase aus *Vibrio fluvialis* umgesetzt. Abbildung 82 zeigt, dass die Säure funktionalisierten Aromaten eine gut akzeptierte Substratklasse der VF-TA darstellen. Auch das Indanongerüst, als leicht veränderte Struktur, wird mit einigen relevanten Substituenten als Substrat vom Enzym angenommen. Überraschenderweise können in diesem Zusammenhang für den Brom- und den Cyanosubstituenten nur sehr geringe *ee*-Werte beobachtet werden. Nur bei dem Estersubstituenten in der letzten Spalte können gute Umsätze und sehr gute Selektivitäten für die Transaminase beobachtet werden.

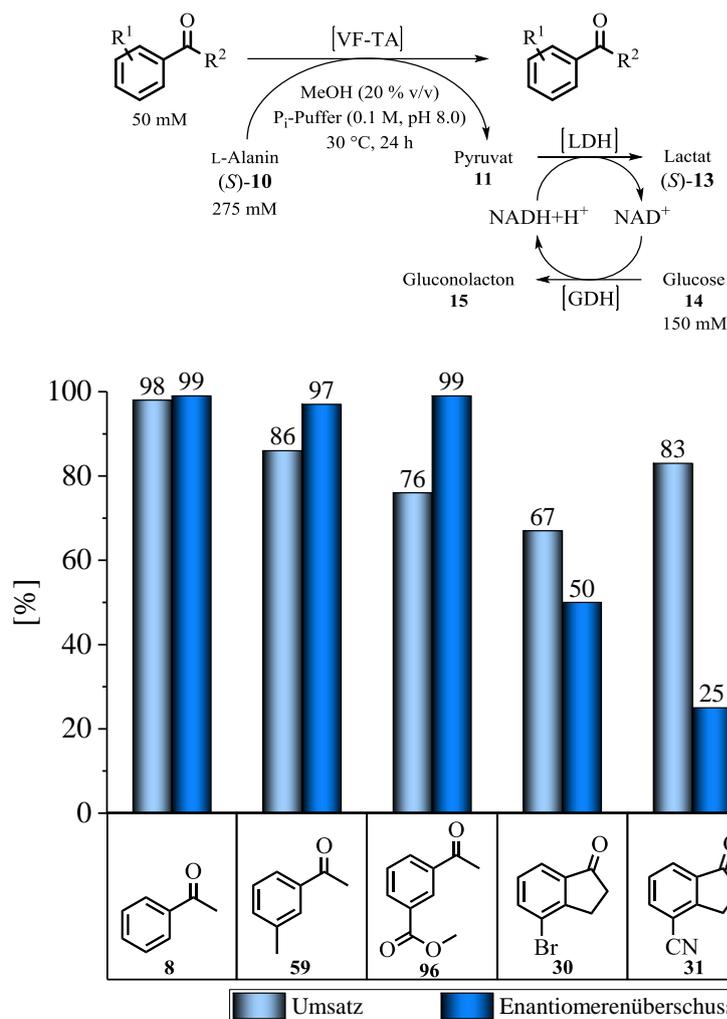


Abbildung 82: Transaminierung mit VF-TA in Gegenwart von 20 % MeOH.

Abschließend kann die Transaminase sicherlich als Perspektivenzym eingestuft werden. Die Transaminase aus *Vibrio fluvialis* zeigt bereits gute Aktivitäten gegenüber interessanten Zwischenstufen der Gesamtsynthese. Allerdings ist die Stabilität sehr gering und entsprechend die Katalysatorbelastung ebenfalls hoch. Durch die eingesetzte zehnfache Masse des Katalysators im Vergleich zum Substrat wird der Reaktionsschritt im Prozess sehr teuer und aufwändig. Die Optimierung eines solchen Enzyms (ggf. auch der ArS-TA) würde wahrscheinlich mehrere Jahre in Anspruch nehmen. Bislang ist auch nur ein Musterbeispiel für Transaminasen durch *Sitagliptin* beschrieben.^[31]

8.2.2. Lipase

In diesem Kapitel wird die kinetische Racematspaltung zum Schlüsselbaustein von Ozanimod diskutiert. Dabei wird der Fokus auf das kommerziell gut zugängliche Enzym aus *Candida antarctica* Lipase B gelegt. Die meisten Experimente zu diesem Thema wurden von Löwe^[181] in einer anderen Arbeit durchgeführt, sodass dieses Kapitel nur so ausführlich beschrieben wird, dass die Gesamtsynthese und

das Vorgehen dabei sinnvoll eingeordnet werden können. Wie zuvor beschrieben, bietet sich eine kinetische Racematspaltung aufgrund der Ausbeutelimittierung von 50 % eines Enantiomers vor allem bei günstigen Synthesebausteinen an. Das nicht gewünschte Enantiomer verfällt oder kann racemisiert werden. Mit der Möglichkeit einer Racemisierung wird eine kinetische Racematspaltung auch bei wertvolleren Molekülen kommerziell interessant.

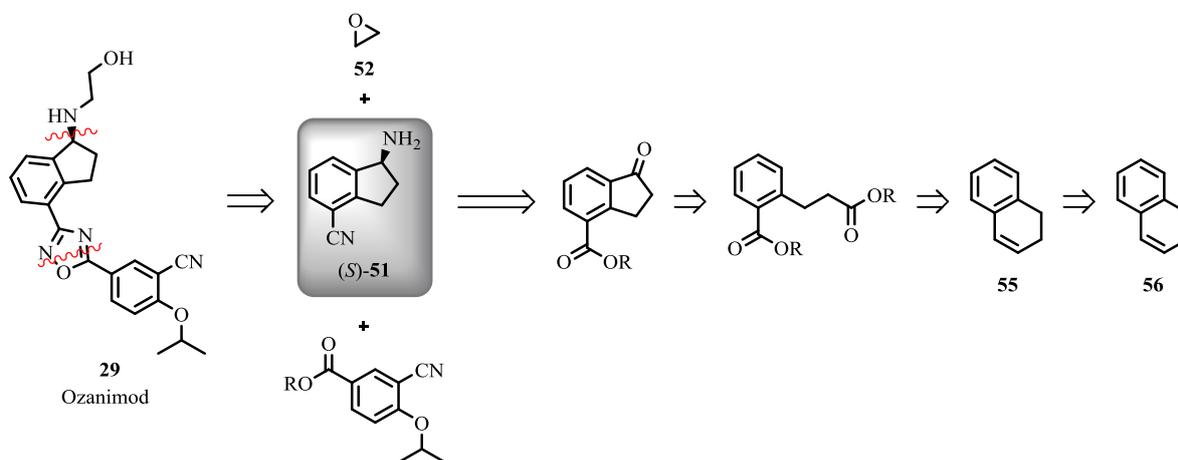


Abbildung 83: Retrosynthetische Zerlegung von Ozanimod in ähnlich große Bausteine im Sinne einer konvergenten Synthese.

Im vorliegenden Beispiel von Ozanimod kann eine Racematspaltung zur Enantiomerenanreicherung prinzipiell auf einer späten Stufe durchgeführt werden. Da eine Racemisierung des nicht gewünschten Isomers jedoch nicht zu erwarten ist, wird die Enantiomertrennung auf einer früheren Stufe untersucht (siehe Abbildung 83). Je weiter die Gesamtsynthese fortgeschritten ist, desto ungünstiger wird der Ausbeuteverlust von 50 % in Form des ungewünschten Enantiomers. Ausgehend von einem Indanonsäurebaustein, welcher reaktiv aminiert wird, soll eine kinetische Racematspaltung aufgebaut werden, sodass wie in Abbildung 83 dargestellt, 4-Cyano-1-aminoindan für die Kondensation der Ozanimodbausteine zur Verfügung steht. Um flexibel in Bezug auf Enzymaktivitäten zu sein, werden unterschiedlich substituierte 1-Aminoindan Substrate hinsichtlich einer kinetischen Racematspaltung untersucht (siehe Abbildung 84).

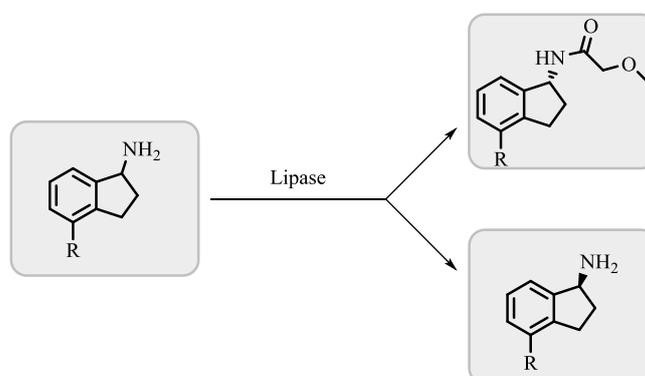


Abbildung 84: Kinetische Racematspaltung von 1-Aminoindanderivaten mit einer Lipase.

Neben verschiedenen Substraten wird auch der Acyldonor variiert. Es ist bekannt, dass Ethylacetat als leicht zugänglicher und günstiger Donor eher langsam von der Lipase umgesetzt wird.^[196,197] Die BASF fand in Ethylmethoxyacetat einen Donor, der um ein vielfaches schneller acyliert, als Ethylacetat.^[198] Der Grund für die überraschend hohe Donoraktivität stößt auch auf akademisches Interesse,^[199] wobei die Ursache für die außergewöhnlich hohe Acylierungsrate von Ethylmethoxyacetat bis heute ungeklärt ist. Weitere Acyldonoren wurden immer wieder mit Ethylmethoxyacetat als Referenz verglichen,^[197] konnten aber nie die gleiche Performance erreichen. Das Heteroatom wirkt sich dabei häufig deutlicher auf die Acylierungsaktivität^[200] aus im Vergleich zu unterschiedlichen Kettenlängen.^[197] In Diethylmalonat konnte einige Jahre später nicht nur ein Donor vergleichbarer Performance, sondern auch ein deutlich nachhaltigerer Rohstoff gefunden werden.^[196] Sowohl Methoxyacetat in Form verschiedener Ester als auch Diethylmalonat werden in dieser Arbeit berücksichtigt.

Das einleitende Experiment wird mit Ethylmethoxyacetat **99** als Acyldonor und 1-Aminoindan *rac*-**98** als nukleophile Komponente durchgeführt. 1-Aminoindan **98** bietet neben einer guten Verfügbarkeit ein große strukturelle Verwandtheit, sodass es hier als Modellsubstrat für 4-Cyano-1-aminoindan **51** eingesetzt wird, welches sehr viel schwieriger zugänglich ist und nur geringe Rohstoffmengen bereitstanden. Die Reaktionsbedingungen wurden angelehnt an eine vorangegangene Arbeit des Autors.^[201] Die immobilisierte Lipase (CAL-B) wird in Amin, Acyldonor und *n*-Heptan suspendiert und bei 60 °C thermisch behandelt. Nach verschiedenen Reaktionszeiten wurde eine Probe entnommen und mittels NMR-Spektroskopie der Umsatz bestimmt. Anschließend wurde das Amin aus der Probe ohne Enantiopreferenz mit Acetylchlorid acyliert und die Probe mit Hilfe chiraler HPLC untersucht. Die Enantiomerenüberschüsse zu den gemessenen Umsätzen sind in Abbildung 85 aufgetragen. Die Messwerte sind eingerahmt von Kurven zweier E-Werte (20 & 80), die sich nach Gleichung 4 berechnen lassen, um die Messgenauigkeit zu veranschaulichen. Das Substrat weist bei einem Umsatz von 40 % einen Enantiomerenüberschuss von 55 %*ee* auf. Das entspricht laut Gleichung 4 einem E-Wert von 20. Eine ähnliche Selektivität ergibt sich aus den anderen Messwerten des Substrats, welches durch die schwarze Linie (E-Wert 20) in Abbildung 85 deutlich wird. Die *ee*-Werte des entstandenen Amids liegen für die gemessenen Umsätze über 95 %. Das entspricht Selektivitäten von etwa 80 (gezeigt durch die graue gestrichelte Linie in Abbildung 85). Die unterschiedlichen E-Werte von Amin und Amid können durch einen kleinen Fehler bei der Umsatzbestimmung begründet werden. Die Fehlerbalken in Abbildung 85 zeigen, dass bereits zwei Prozent Umsatzabweichung zu großen Selektivitätsunterschieden führt. Das macht vor allem E-Wertbestimmungen jenseits von 100 sehr anspruchsvoll und stellt hohe Anforderungen an die Analytik. Unabhängig von der etwas ungenauen Analytik kann an dieser Stelle ein ungefährender Referenzwert für weitere Experimente mit den oben genannten Variationen aufgenommen werden.

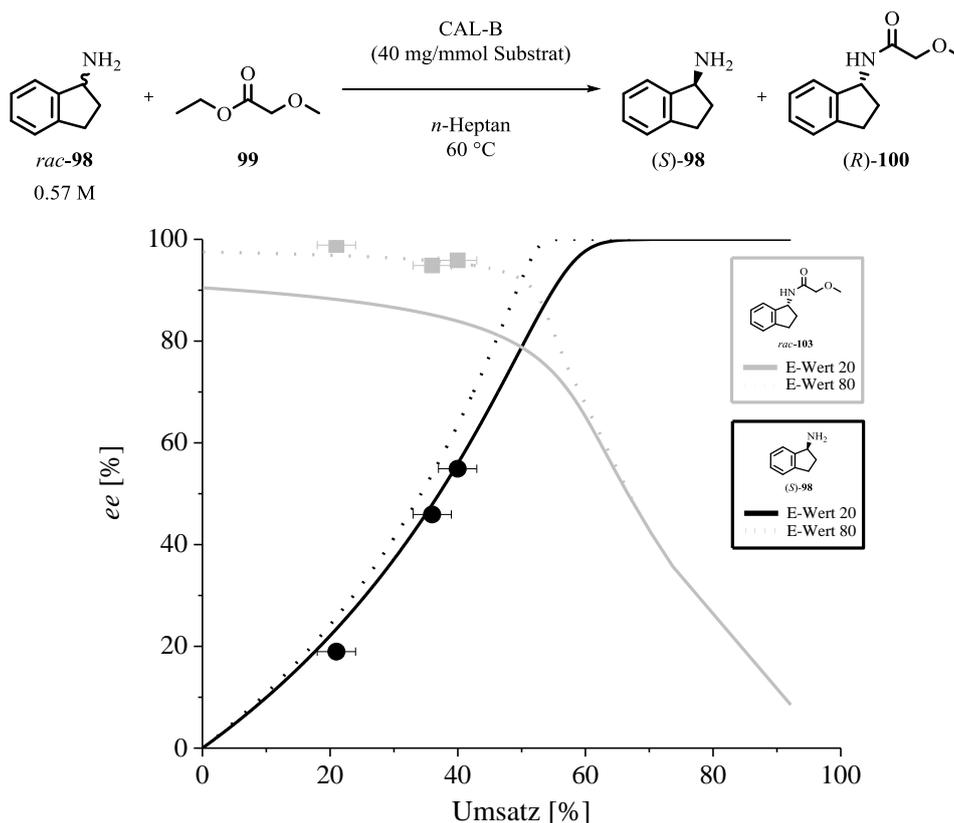


Abbildung 85: Benchmark Experiment zur kinetischen Racematspaltung von 1-Aminoindan mit CAL-B.

Die *ee*-Wert Bestimmung *via* HPLC gelingt etwas exakter (siehe Fehlerbalken Abbildung 85), weshalb in den folgenden Experimenten der Umsatz aus den beiden Enantiomerenüberschüssen von Substrat und Produkt berechnet wird (siehe Gleichung 5). Auf diese Weise wird die Abweichung der Selektivitäten nach Substrat und Produkt minimiert.

$$C = \frac{\left(\frac{ee_{\text{Substr}}}{ee_{\text{Prod}}} \right)}{\left(1 + \frac{ee_{\text{Substr}}}{ee_{\text{Prod}}} \right)}$$

Gleichung 5: Umsatz in Abhängigkeit der *ee*-Werte von Produkt und Substrat.

Mit der optimierten Analytik wird ein Screening bezüglich Lösungsmittel und Acyldonor mit dem Modellsubstrat *rac*-98 und CAL-B durchgeführt. Die experimentellen Daten wurden von *Jana Löwe* ermittelt.^[181] Alle Ergebnisse sind in Abbildung 86 zusammengefasst. Im Falle des Acyldonors Diethylmalonat **101** liegt der E-Wert gegenüber den genannten Lösungsmitteln zwischen 11 (Toluol) und 36 (*n*-Heptan). In Gegenwart des Acyldonors Ethylmethoxyacetat **99** weist die CAL-B im Mittel eine etwas höhere Selektivität auf. Interessanterweise scheint Toluol hier einen positiven Einfluss auf den E-Wert zu nehmen, denn mit diesem Lösungsmittel wird die höchste Selektivität (E-Wert: 57) für Ethylmethoxyacetat gemessen. Nicht besonders überraschend kommt im Vergleich dazu die hohe

Selektivität für den verzweigten Methoxyacetatester **99**, der einen E-Wert von 113 erreicht. Das Phänomen höherer Selektivitäten von verzweigten Alkoholen im Gegensatz zu linearen Alkoholen ist literaturbekannt.^[202]

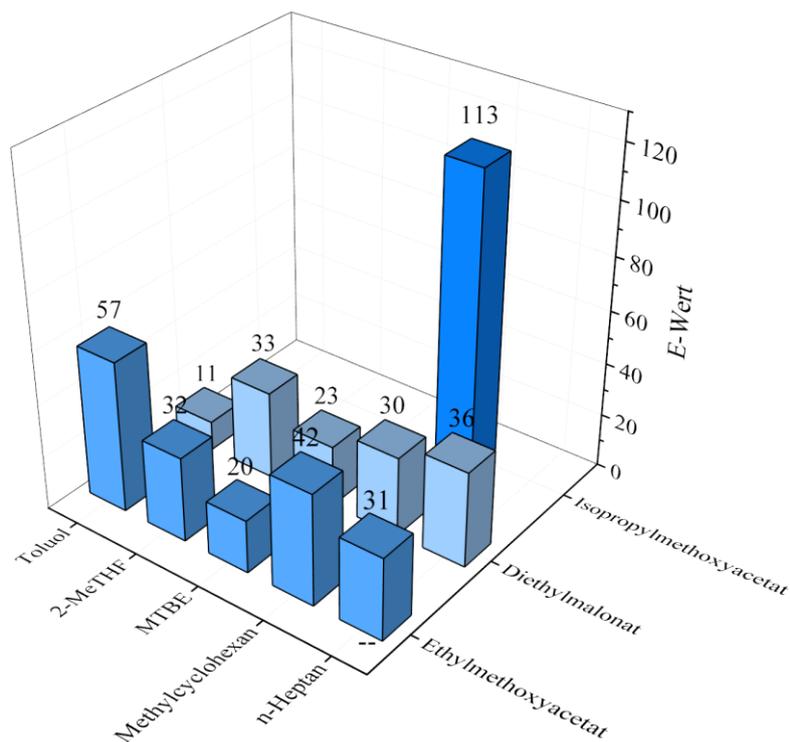
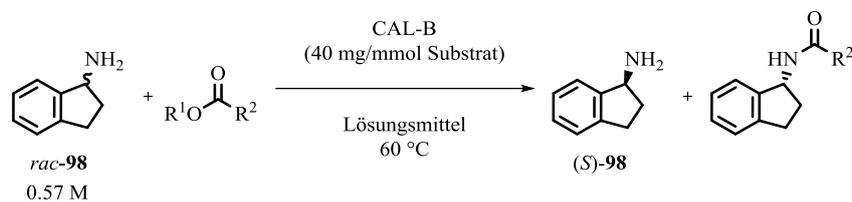


Abbildung 86: E-Werte für die CAL-B gegenüber verschiedenen Lösungsmitteln und Acyldonoren mit dem Modellsubstrat 1-Aminoindan *rac-98*.^[181]

die Ermittlung eines geeigneten Substrats für die enzymatisch kinetische Racematspaltung ist der nächste Schritt. Im Hinblick auf die Gesamtsynthese wären günstige Substrate, 1-Aminoindangerüste, die an Position 4 funktionalisiert sind, um anschließend den Oxadiazolring von Ozanimod aufbauen zu können. Als Funktionalitäten wurden hier ein Bromsubstituent, eine Cyanogruppe und ein Methylester gewählt (siehe Abbildung 87) aus welchen eine nachträgliche Funktionalisierung leicht möglich ist. Die Experimente wurden von *Jana Löwe*^[181] durchgeführt und die Ergebnisse sind in Abbildung 87 präsentiert. Aufgetragen sind die Umsätze zu einem bestimmten Zeitpunkt mit zugehörigem Enantiomerenüberschuss und daraus resultierend auch die Selektivität der Reaktion. Als Lösungsmittel wurde nach dem oben durchgeführten Screening und im Hinblick auf Nachhaltigkeit eines zukünftigen Prozesses 2-MeTHF gewählt.

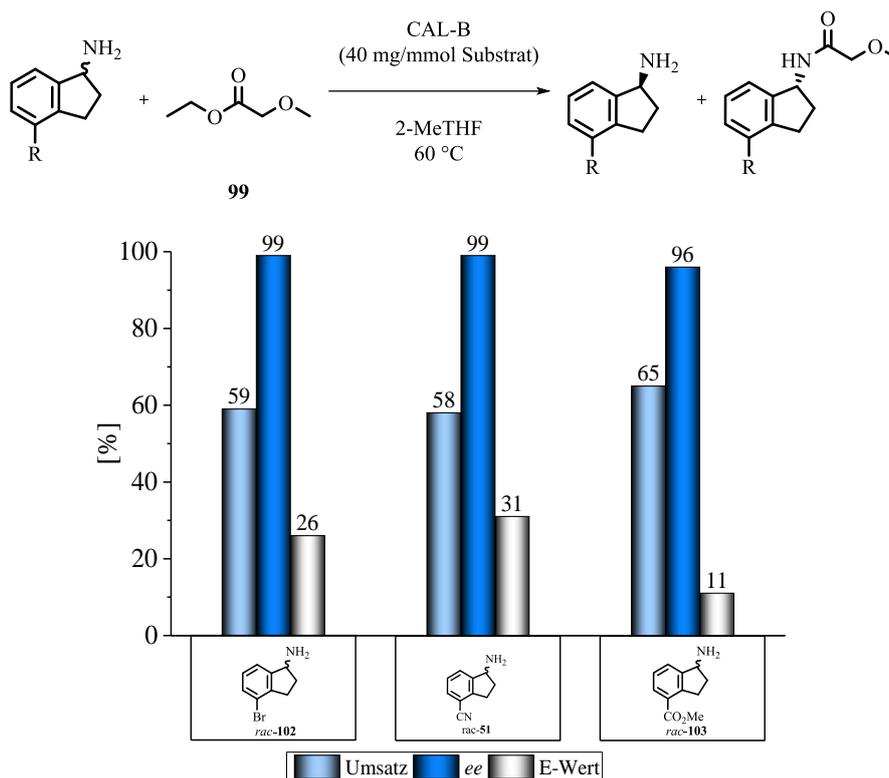


Abbildung 87: Selektivität der CAL-B gegenüber geeigneten Substraten für die Gesamtsynthese von Ozanimod 29.^[181]

Bei den Experimenten zeigte sich, dass das Indanderivat mit dem Methylester *rac-103* die geringste Selektivität aufweist (E-Wert 11). Bei einem Umsatz von 65 % wurde erst ein Enantiomerenüberschuss von 96 % gemessen. Ein wenig selektiver wurden die Brom- und Cyanosubstituierten Indanderivate acyliert. 4-Brom-1-aminoindan *rac-102* wies mit einem E-Wert von 26 eine geringere Selektivität im Vergleich zu dem Cyano substituierten Indangerüst *rac-51* (E-Wert 31) auf. Im Hinblick auf einen Prozess sind die unterschiedlichen Selektivitäten marginal. Ab einem E-Wert von 20 wird das System synthetisch attraktiv.^[173] Damit kommen sowohl der Cyano- als auch der Bromsubstituent für eine Synthese in Frage. Im Hinblick auf die Gesamtsynthese wird für die weiteren Experimente jedoch nur noch auf das Cyano substituierte Indangerüst zurückgegriffen. Die Nitrilfunktion kann zum Aufbau des Oxadiazolrings direkt eingesetzt werden, während ein möglicher Bromsubstituent vorher weiter derivatisiert werden müsste.

Zum Abschluss dieses biokatalytischen Kapitels wird noch eine Synthesesequenz ausgehend von der Carbonylverbindung **31** über das racemische Amin *rac-51* zum chiralen Baustein (*S*)-**51** (durchgeführt von Jana Löwe^[181]). Auf diese Weise konnte das enantiomerenreine Amin (*S*)-**51** mit einer Ausbeute von 20 % und exzellentem Enantiomerenüberschuss (99 % *ee*) isoliert werden (siehe Abbildung 88). Die moderate Ausbeute wird limitiert durch die reduktive Aminierung, welche lediglich einen produktbezogenen Umsatz von 43 % liefert. Entsprechend kann in diesem Experiment nach den oben gewonnenen Ergebnissen eine Selektivität von 24 ermittelt werden.

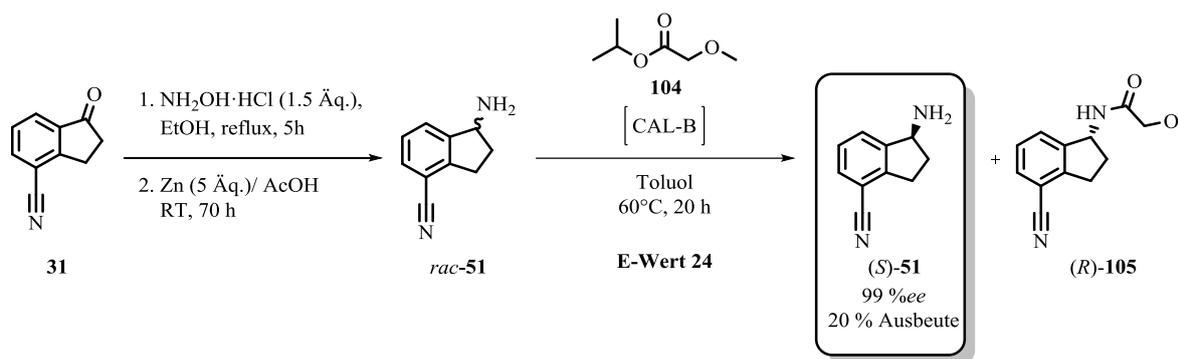


Abbildung 88: Synthesesequenz von Indanon 31 zum enantiomerenreinen Amin (S)-51.

In diesem Kapitel konnten neben einem möglichen Katalysator bereits Bedingungen vorgestellt werden, die in Kürze zu einem Prozess führen. Geeignete Substrate wurden evaluiert und konnten abschließend in einer erfolgreichen Synthesesequenz die Robustheit des Gesamtprozesses auf diesem frühen Stadium der Entwicklung aufzeigen.

8.3. Totalsynthese

Die Synthese von Ozanimod ist bislang nur in einem Patent von Receptos beschrieben. Hier wird ausgehend von 4-Bromindanon **30** via Kupplungschemie eine Cyanogruppe eingeführt. 4-Cyanoindanon **31** wird in einer diastereoselektiven Synthese mit einem chiralen Sulfonsäureamid zunächst in das Imin **32** überführt und dann diastereoselektiv mit Natriumborhydrid zum chiralen Amin reduziert. Die Sulfonsäure wird abgespalten und das freie Amin (*S*)-**51** mit Boc geschützt. Am Nitril wird anschließend Hydroxalamin addiert, welches sehr einfach mit einem Carbonsäurederivat zum 1,4-Oxadiazol kondensiert werden kann. Die Oxidiazol Kondensation auf einer späten Stufe bietet große Vorteile im Sinne einer konvergenten Gesamtsynthese, weil die beiden Bausteine in etwa gleich groß sind. Nachdem der Heterozyklus aufgebaut ist, muss nur noch der Hydroxyethylenhenkel am Amin eingeführt werden (siehe Abbildung 89 orange route).

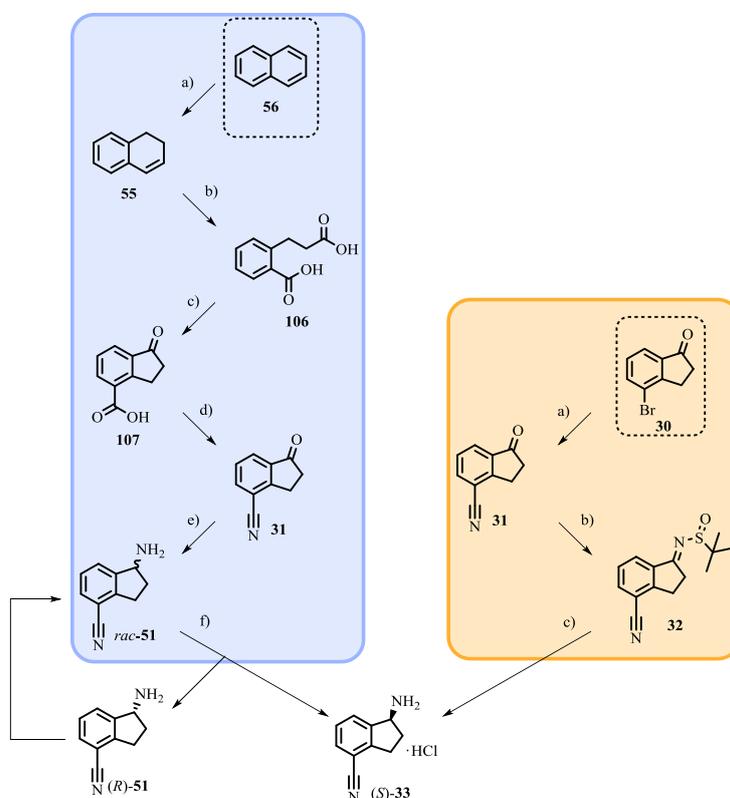


Abbildung 89: Gegenüberstellung der neu ausgearbeiteten Route und der von Receptos®.^[148]

Wie in Kapitel 3.2 diskutiert, beinhaltet diese Route einige wirtschaftliche und prozesschemische Nachteile. Der Einsatz giftiger Cyanide erfordert hohe Sicherheitsstandards und die Katalysatoren werden in hohen Äquivalenzen benötigt. Die Art der Chemie bedingt auch niedrige Ausbeuten aufgrund der Bildung von Nebenprodukten. In den folgenden Unterkapiteln wird eine alternative Syntheseroute vorgestellt (siehe Abbildung 89 links), die neben dem Einsatz günstigerer Reagenzien auch von einem deutlich einfacheren Substrat ausgeht. Naphthalin **56** wird selektiv reduziert, sodass nur eine vinyloge Doppelbindung zum Aromaten bestehen bleibt. Diese isolierte Doppelbindung wird im Sinne einer

Ozonolyse gespalten. Durch die Wahl der Folgechemie entstehen an den beiden getrennten Kohlenstoffen Säurefunktionalitäten. Die alkyliche Säure wird aktiviert und bildet über *Friedel-Crafts*-Chemie ein Indangerüst. Durch eine besetzte *ortho*-Position kann bei der Reaktion nur das gewünschte Isomer **107** entstehen. Die zurückbleibende Säurefunktionalität wird zum Nitril derivatisiert, um an die Folgechemie von Receptos anzuknüpfen. In diesem Fall wird jedoch auf den Einsatz von Cyaniden verzichtet. Das Indanon **31** wird anschließend reaktiv aminiert, um anschließend aus der biokatalysierten Racematspaltung das enantiomerenreine Amin (*S*)-**51** zu erhalten. Für das nicht gewünschte Enantiomer wird ein möglicher Weg aufgezeigt, das Stereozentrum zu racemisieren.

8.3.1. Reduktion von Naphthalin 56

In diesem Kapitel wird die Reduktion von Naphthalin **56** zu Dihydronaphthalin **55** untersucht und diskutiert (siehe Abbildung 90). In der Literatur werden bereits diverse Möglichkeiten zur selektiven milden Reduktion von Naphthalin vorgestellt,^[174,203–207] wobei immer wieder Borane und Metalle als Reduktionsmittel Anwendung gefunden haben. Auf dieser frühen Stufe der Gesamtsynthese muss der Synthesaufwand gering bleiben, um den Preis des Endprodukts niedrig zu halten. Aus diesem Grund wurde von den komplexen Boranen^[205] und Schwermetallen^[207,206] Abstand genommen.

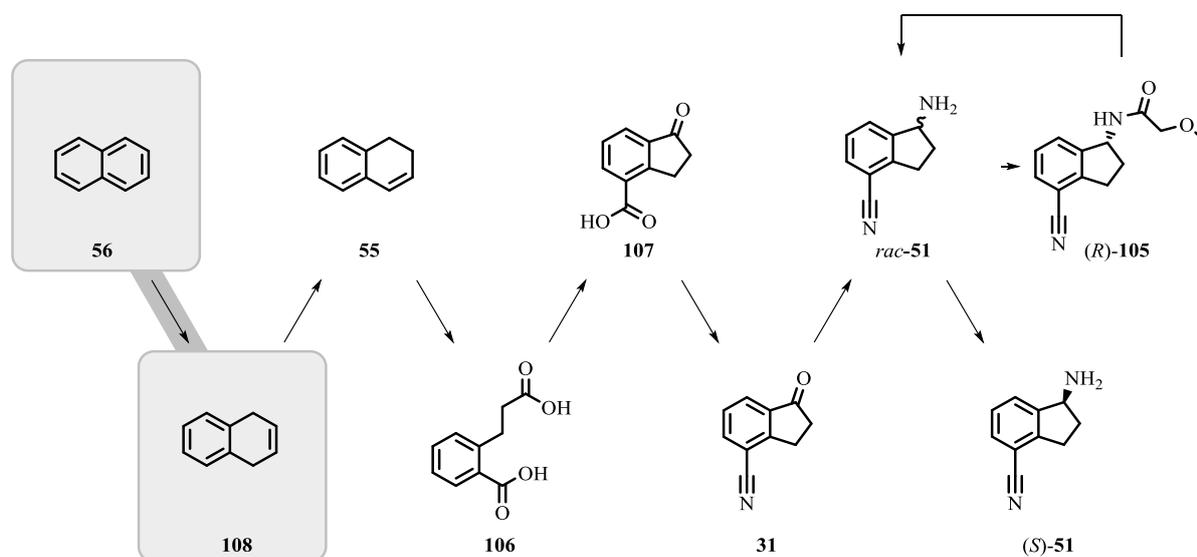


Abbildung 90: Gesamtsynthese zum Schlüsselbaustein von Ozanimod 29.
Die in diesem Kapitel vorgestellte Reduktion von Naphthalin ist farblich unterlegt.

Besonders attraktiv sowohl aus nachhaltiger, als auch aus kommerzieller Sicht scheint eine elektrochemische Reduktion zu sein.^[174] *Asahara et al.* haben die Selektivität der elektrochemischen Reduktion von Naphthalin in Abhängigkeit vom Lösungsmittel untersucht. Dabei wurden sehr unterschiedliche Produktverteilungen beim Einsatz unterschiedlicher Alkohole beobachtet. Auf diese Weise konnte die Reaktion bei Bedarf nahezu quantitativ zu Gunsten des hiesigen Wunschprodukts **55** gedrückt werden (siehe Abbildung 91).

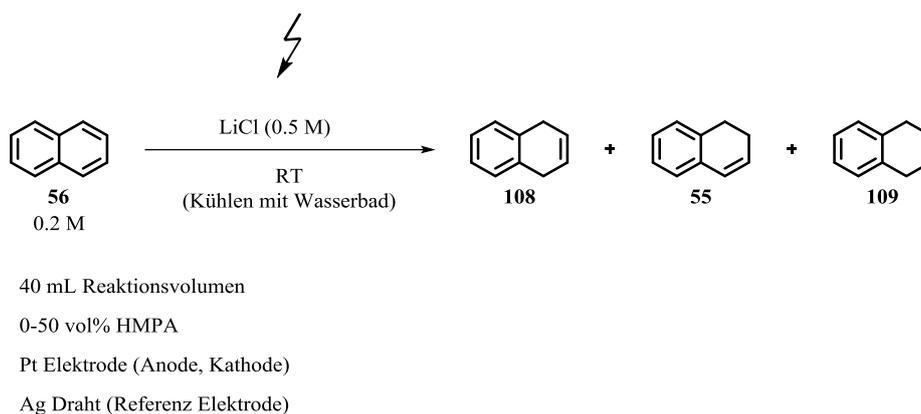


Abbildung 91: Elektrochemische Reduktion von Naphthalin zu verschiedenen Reduktionsprodukten.^[174]

Theoretisch hätte an dieser Stelle eine Reproduktion dieser Reaktion dargestellt werden müssen. Anschließend wäre eine Optimierung im Sinne der grünen Chemie interessant, sodass die Reduktion vielleicht auch ohne sehr giftiges und kostenintensives Hexymethylphosphorsäureamid (HMPA) abläuft. Die Beschaffung der Rohstoffe und Reaktormaterialien wurde in dem zeitlich limitierten Projekt jedoch als so aufwändig eingestuft, dass der Fokus auf eine alternative Syntheseroute gelegt wurde, um Ausgangsmaterial für die Folgestufen zur Verfügung zu haben.

Im Folgenden wird eine Synthese ähnlich einer Birch Reduktion vorgestellt. Die Reaktionsbedingungen sind an die von *Menzek et al.* angelehnt.^[208] Natrium wird in Diethylether suspendiert und reduziert Naphthalin. Nach dem Übertrag von zwei Elektronen wird der Übergangszustand von einer Säure protoniert. In der klassischen Birch Reduktion wird Ammoniak als Protonendonator und Lösungsmittel eingesetzt.^[209] Das von *Menzek et al.* vorgestellte System bietet den Vorteil, dass neben einer Reaktion bei Raumtemperatur auch die Selektivität besser gesteuert werden kann. Neben einem anderen Lösungsmittel wird auch der Protonendonator Ammoniak (pK_s 23)^[210] durch *tert*-Butanol (pK_s 19)^[211] ersetzt. Auf diese Weise lässt sich der Umsatz quantitativ über die Wahl des Lösungsmittels zu 1,4-Dihydronaphthalin oder Tetralin steuern.^[208] Hier soll Diethylether zum gewünschten Reduktionsprodukt **108** führen. Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur homogenisiert und das Produkt kann nach Hydrolyse ohne weitere Reinigung isoliert werden.

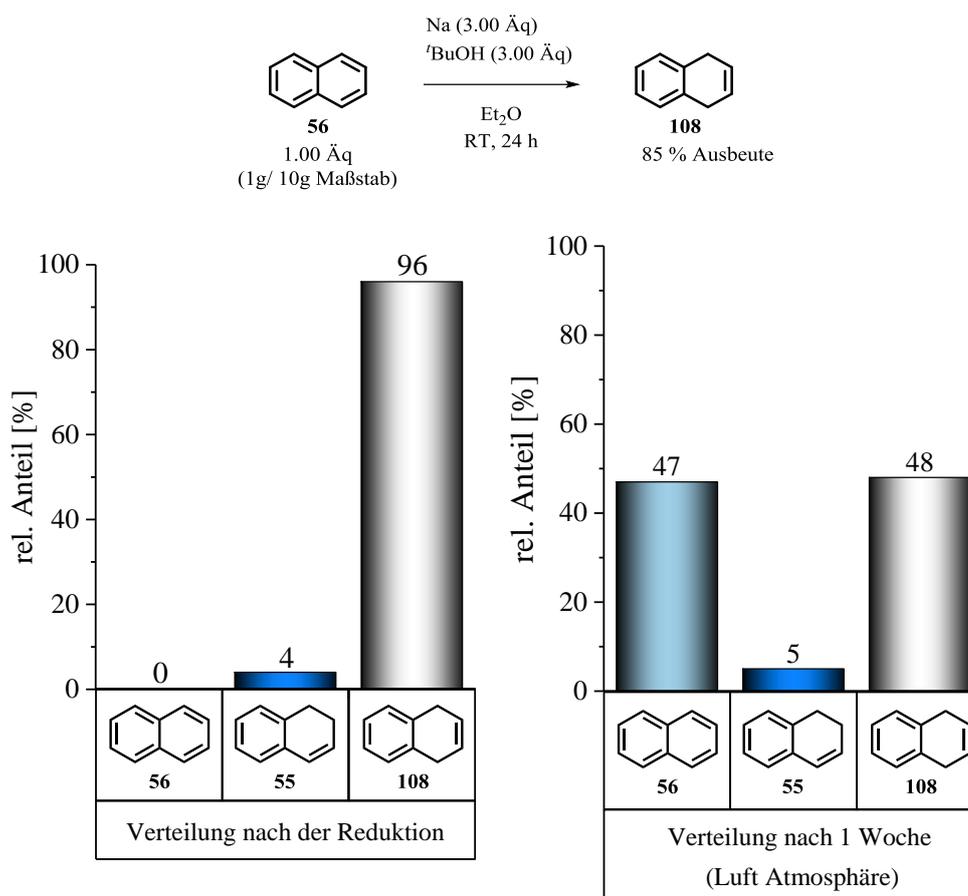


Abbildung 92: Selektive milde Reduktion von Naphthalin.^[208]

Bei vollständigem Umsatz können 85 % Dihydronaphthalin **108/55** nach der Reaktion isoliert werden. Die Verteilung der beiden Isomere ist in Abbildung 92 dargestellt. Leider wird mit dieser Methode hauptsächlich das nicht gewünschte Isomer **108** von Dihydronaphthalin gebildet. Lediglich 5 % des isolierten Produkts entsprechen der Wunschverbindung **55**. Aus mechanistischer Sicht ist dieser Befund nicht überraschend.^[203,208] Eine reduzierte Spezies (zunächst als Radikal, dann als Carbanion) verschiebt die aktivierte Position immer wieder in Benzyllage. Entsprechend kann eine Protonierung nur in der Benzyllage erfolgen. Die Doppelbindung gegenüber dem aromatischen System dient zur Resonanzstabilisierung, bleibt aber von einer Protonierung unberührt. Trotzdem entsteht in der Produktmischung ein kleiner Teil des gewünschten 1,2-Dihydronaphthalin **55**. 1,2-Dihydronaphthalin **55** ist das thermodynamisch stabilere Produkt und sollte bei einem möglichen Reaktionspfad bevorzugt entstehen. Mechanistisch sind diese Pfade jedoch kinetisch gehemmt.^[203,208] Hier konnte das Wunschprodukt vermutlich *in situ* aus 1,4-Dihydronaphthalin **108** gewonnen werden. Es ist bekannt, dass Dihydronaphthalin **108** in Gegenwart starker Basen umgelagert werden kann.^[212] Durch die Deprotonierung von *t*BuOH liegt eine starke Base in der Reaktionsmischung vor, die die Umlagerung katalysieren kann. Da das Alkoholat jedoch in Diethylether weitgehend unlöslich ist, findet auch nahezu keine Umlagerung statt und der Anteil von 1,2-Dihydronaphthalin **55** bleibt bei 5 %. Die

Folgesynthese setzt 1,2-Dihydronaphthalin **55** voraus, sodass im nächsten Kapitel ein gezielter Weg zur Umlagerung entwickelt werden musste.

8.3.2. Isomerisierung von Dihydronaphthalin 108

Im letzten Kapitel konnte eine erfolgreiche Synthese von 1,4-Dihydronaphthalin vorgestellt werden. Zur Darstellung der Disäure **106** muss entweder ein Weg der Umlagerung zum 1,2-Isomer gefunden werden oder eine ganz neue Route entworfen werden. Thermodynamisch ist, wie oben erwähnt, 1,2-Dihydronaphthalin energieärmer aufgrund der vinylogenen Doppelbindungssituation. Aus diesem Grund wird an dieser Stelle ausschließlich nach einem Katalysator gesucht, der Dihydronaphthalin einen Übergang in seine thermodynamische Senke ermöglicht.

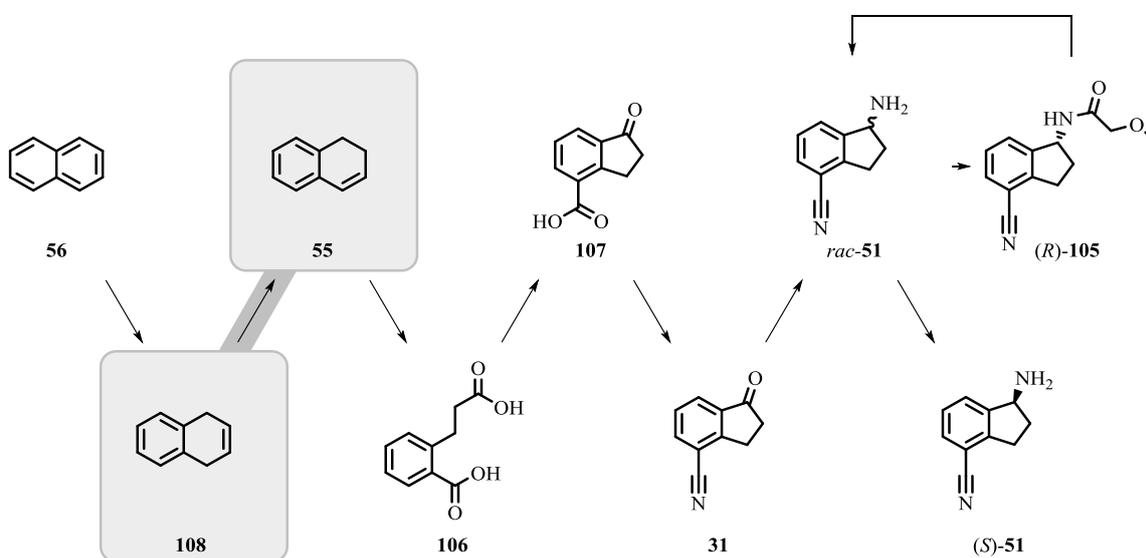


Abbildung 93: Gesamtsynthese zum Schlüsselbaustein von Ozanimod.
Die in diesem Kapitel vorgestellte Umlagerung von Dihydronaphthalin ist farblich unterlegt.

Eine erste Idee entstand aus der Schutzgruppenchemie. Alkohole können mit Allylhalogeniden zu entsprechenden Allylethern kondensiert werden. Dadurch wird der reaktive Alkohol in eine inerte Etherfunktion überführt. Die allylische Doppelbindung wird unter milden Reaktionsbedingungen ebenfalls nicht chemisch berührt. Zum Entschützen des Alkohols kann die Doppelbindung palladiumkatalysiert umgelagert werden. Das Vinyletherprodukt ist thermodynamisch bevorzugt und kann quantitativ synthetisiert werden.^[213] Vinylether lassen sich im sauren Milieu einfach in Alkohol und Carbonylverbindung spalten, sodass die gewünschte Funktionalität wieder vorliegt. Formal liegt bei 1,4-Dihydronaphthalin auch eine allylische Doppelbindung vor, die in eine thermodynamisch bevorzugte vinyloge Doppelbindung überführt werden soll. Als Katalysator für die Umlagerung wird Tetrakis(triphenyl)phosphin-palladium eingesetzt. Substrat und Katalysator werden in THF zum Rückfluss erhitzt und zu verschiedenen Zeitpunkten wird die Reaktionsmischung gaschromatographisch untersucht.

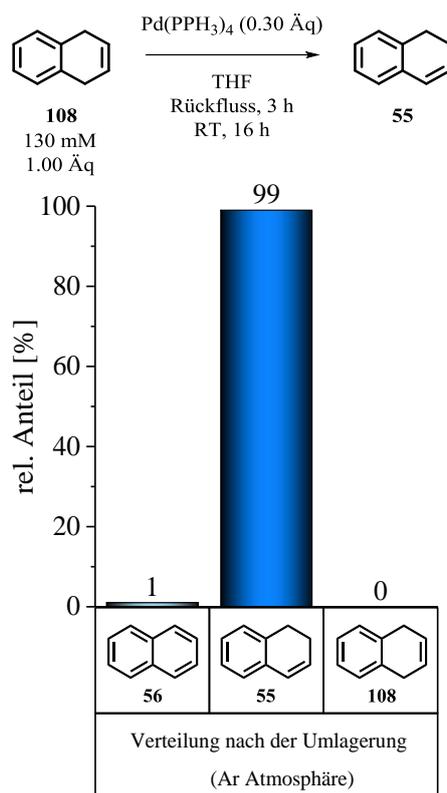


Abbildung 94: Isomerisierung von 1,4-Dihydronaphthalin **108** angelehnt an *Vutukuri et al.*^[213]

Abbildung 94 zeigt, dass nach 16 h fast ausschließlich 1,2-Dihydronaphthalin **55** in der Reaktionsmischung vorliegt. Spuren von Naphthalin **56** sind wohl auf einen nicht vollständigen Umsatz der Reduktion zurückzuführen. Die vorgestellte Reaktion zeigt, dass Tetrakis(triphenyl)-phosphinpalladium als Katalysator geeignet ist, wobei die Katalysatorbeladung mit 30 mol% für einen kommerziellen Prozess wenig Perspektive aufzeigt. Zum einen hat der Katalysator im Vergleich zu Produkt und Substrat ein hohes Eigengewicht und steigert so die Abfallmenge, zum anderen führt die Seltenheit des Palladium zu hohen Kosten. Im folgenden Experiment wurde die Katalysatormenge auf 0.3 mol% reduziert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 95 dargestellt. Überraschenderweise wird das Wunschprodukt nach Ende der Reaktion nur noch in Spuren nachgewiesen. 98 % des Rohprodukts verteilen sich zu gleichen Teilen auf Naphthalin **56** und Tetralin **109**. In Kapitel 8.3.1 konnte gezeigt werden, dass 1,4-Dihydronaphthalin **108** oxidationsempfindlich ist. Deshalb wurde Sauerstoff in den hier aufgeführten Experimenten ausgeschlossen und scheidet als Ursache für die überraschende Produktverteilung aus. Da eine ausgeglichene Produktverteilung zwischen Naphthalin und Tetralin detektiert wurde, liegt eine Disproportionierung nahe. Im vorigen Kapitel konnte auch die Stabilität von Dihydronaphthalin **55** unter Argon Atmosphäre aufgezeigt werden, sodass das Palladium eine Disproportionierung katalysieren muss. Während im vorigen Experiment gezeigt werden konnte, dass die Umlagerung kinetisch bevorzugt stattfindet, führt die Disproportionierung in thermodynamische Senken.

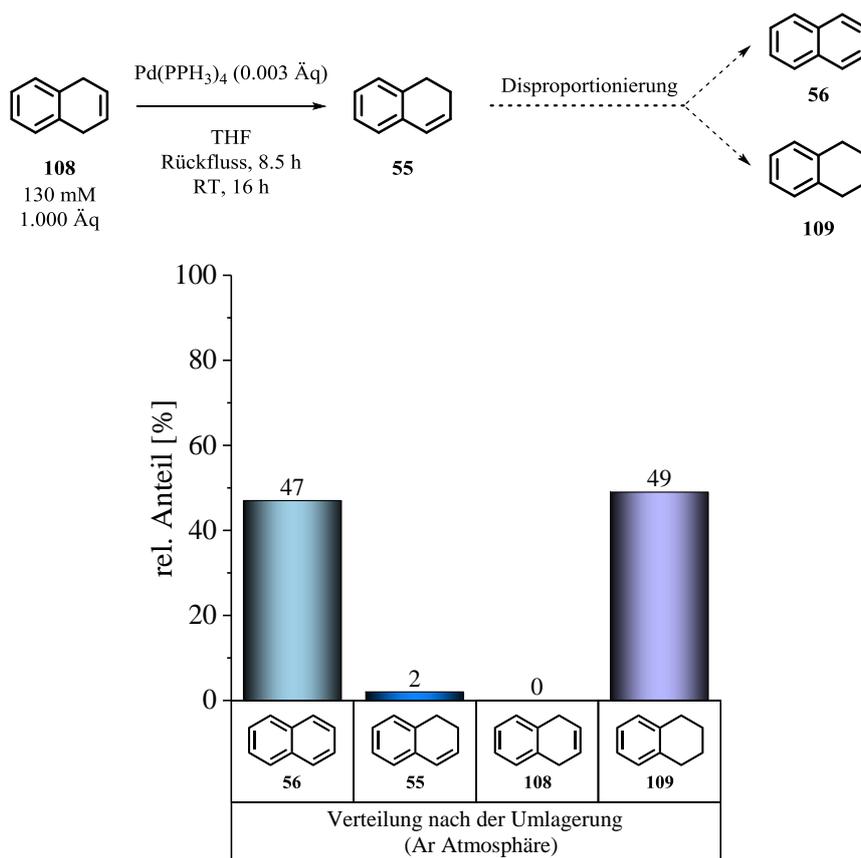


Abbildung 95: Isomerisierung von 1,4-Dihydronaphthalin **108** mit reduzierter Katalysatormenge angelehnt *Vutukuri et al.*^[213]

Für einen kommerziellen interessanten Prozess müsste an dieser Stelle eine Lösung für den Spagat zwischen Katalysatorbeladung und Disproportionierung gefunden werden. Auf diesem frühen Stadium des Projekts wurde deshalb auch noch in andere Richtungen überlegt. Doppelbindungen können durch Übergangsmetalle,^[213] aber auch durch Säuren aktiviert werden. Eine starke Säure protoniert die Doppelbindung. Die positive Ladung des Carbokations ist nicht resonanzstabilisiert, sodass die Protonierung wahrscheinlich nur unter harschen Bedingungen stattfindet. Nach Bildung des Carbokations kann jedoch ein Proton in Benzylposition wieder abgespalten werden und es entsteht das thermodynamisch bevorzugte 1,2-Dihydronaphthalin **55**. An dieser Stelle wurde Schwefelsäure als starke Säure gewählt, um eine Umlagerung zu initiieren. In einem ersten Experiment wurde THF als Lösungsmittel verwendet. Nach 3 stündigem Erhitzen zum Rückfluss konnte noch kein erhöhter Anteil des Wunschprodukts detektiert werden (siehe Abbildung 96 links).

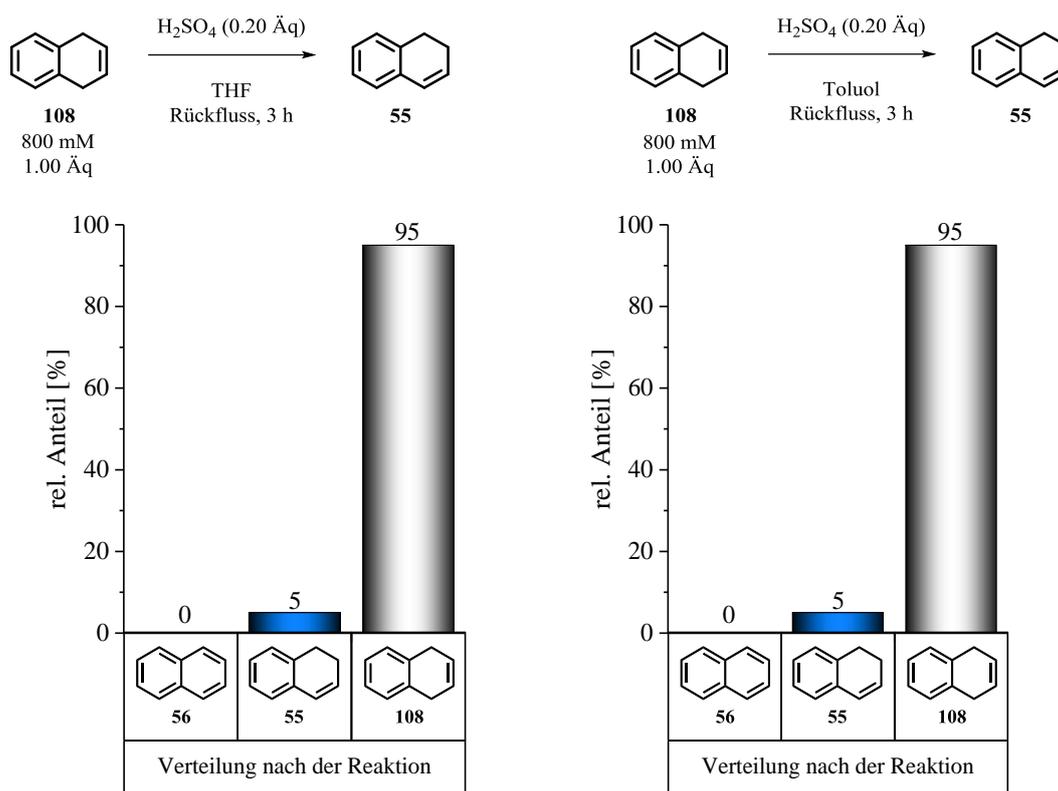


Abbildung 96: Versuch einer Umlagerung von Dihydronaphthalin 108 in das thermodynamisch bevorzugte Isomer mit einer Brønstedt Säure.

Wie im vorigen Abschnitt diskutiert, wird ein theoretisches Carbokation nicht resonanzstabilisiert, sodass eventuell viel Energie nötig ist, um diese Doppelbindung zu protonieren. Aus diesem Grund wurde das Lösungsmittel gegen Toluol getauscht, um höhere Temperaturen in der Reaktionsmischung erzeugen zu können. Auch dabei konnte keine Anreicherung von 1,2-Dihydronaphthalin **55** beobachtet werden (siehe Abbildung 96 rechts). In beiden Reaktionen konnte keine Veränderung der Substratverteilung detektiert werden, sodass die Umlagerung im sauren Milieu vielleicht möglich, aber hier nicht weiter untersucht wurde. Stattdessen wurde der Fokus auf eine Umlagerung im Basischen gelegt. In der Literatur gibt es bereits Beispiele für die Umlagerung mit verschiedenen organischen Basen.^[214] Die vorgestellten Substrate ähneln den hier verwendeten Molekülen, sodass eine Konzeptübertragung nahe liegt. Die verwendeten Basen standen kurzfristig nicht zur Verfügung, sodass zunächst auf Kaliumtertbutylat als sterisch anspruchsvolle und starke Base zurückgegriffen wurde. Aus der Arbeit von *Wu et al.* geht nicht hervor, warum die Basen so komplex sein müssen, denn die Sterik nimmt in dieser Arbeit keinen Einfluss auf den Verlauf der Isomerisierung.^[214] Kaliumtertbutylat wird bereits im Zusammenhang mit derartigen Umlagerungen beschrieben,^[212] sodass im Folgenden diese Base weiter untersucht wird. Als Lösungsmittel wurden wie oben THF und für etwas höhere Temperaturen Toluol gewählt.

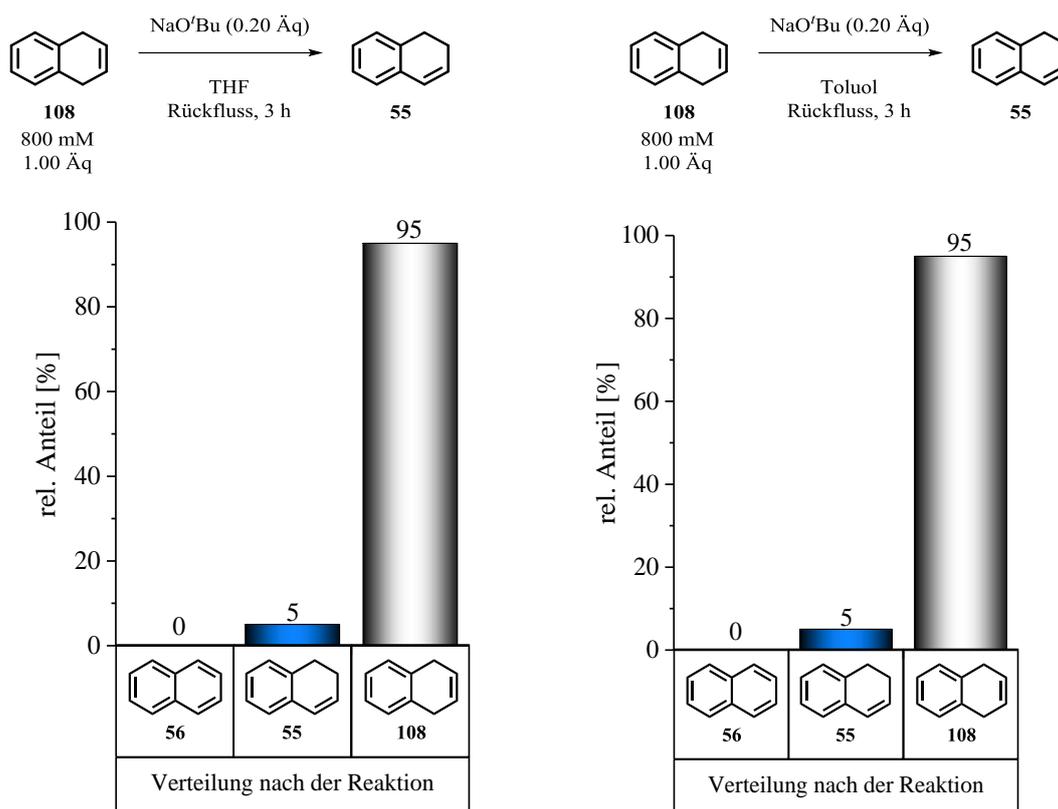


Abbildung 97: Versuch einer Umlagerung von Dihydronaphthalin 108 in das thermodynamisch bevorzugte Isomer mit Kaliumtertbutylat.

Weder in THF noch in Toluol konnte eine Veränderung der Substratverteilung gemessen werden (siehe Abbildung 97). Für die nicht erfolgte Umlagerung kann es eine Vielzahl Erklärungen geben. Die erste wäre sicher die im Vergleich zu *Wu et al.* andere Base,^[214] welche eine niedrigere Basizität aufweist.^[211] Außerdem kann bei sehr reaktiven Übergangszuständen die Wahl des Lösungsmittels entscheidend auf den Erfolg der Reaktion einwirken. Hier ist allerdings mit THF als aprotisches Donorlösungsmittel und Toluol als sehr unpolares Lösungsmittel ein breites Spektrum von Lösungsmiteleigenschaften abgedeckt. Um den Einfluss des Lösungsmittels auszuschließen, wurde ein Experiment im analytischen Maßstab durchgeführt, bei dem Kaliumtertbutylat vorgelegt und das Substrat zugetropft wurde. Nach einer stark exothermen Reaktion konnte der Anteil von 1,2-Dihydronaphthalin **55** auf 20 % gesteigert werden. Das heißt die Basizität für eine Umlagerung reicht aus, um Dihydronaphthalin in das thermodynamisch bevorzugte Isomer umzulagern. Die geringe Steigerung des gewünschten Isomers wird mit dem heterogenen Reaktionsablauf erklärt. Der Tropfen ist bei dem Kontakt mit Kaliumtertbutylat so heiß geworden, dass er verdampfte und an der Reaktorwand wider kondensierte. Eine weitere Durchmischung war aufgrund des festen Aggregatzustands der Base nicht möglich. Aus diesem Grund kann aus diesem Experiment auch nur eine qualitative Aussage gewonnen werden.

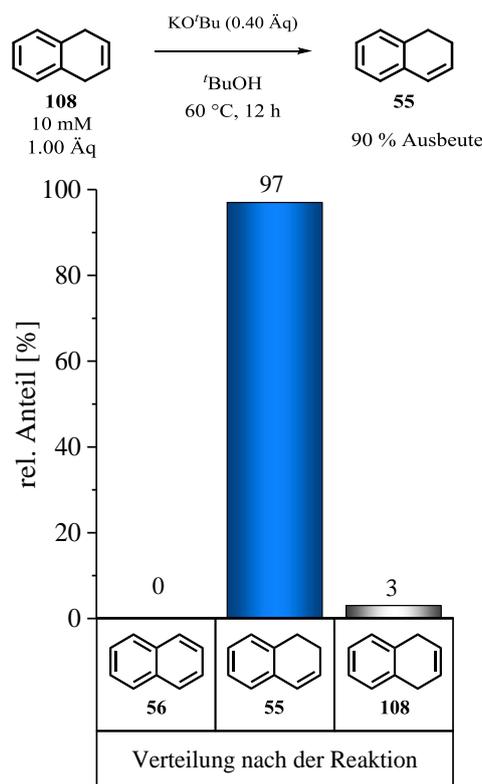


Abbildung 98: Versuch einer Umlagerung von Dihydronaphthalin 108 in das thermodynamisch bevorzugte Isomer 55 mit Kaliumtertbutylat.

Mit dem letzten Experiment wurde Kaliumtertbutylat als geeignete Base identifiziert. Im nächsten Schritt ging es um günstige Rahmenbedingungen für die Reaktion, wobei die Lösungsmittel THF und Toluol nach den obigen Experimenten ausgeschlossen wurden. Auf der Suche nach einem Lösungsmittel gelangte ^tBuOH in den Fokus. Das Lösungsmittel, welches der protonierten katalysierenden Base entspricht könnte sowohl Phasenvermittler zwischen Dihydronaphthalin und Kaliumtertbutylat aufgrund der mittleren Polarität sein, als auch Protonendonator. Letzteres könnte zu einer schnellen Verteilung der katalytisch aktiven Spezies durch Protonentransfer führen. Das Ergebnis ist in Abbildung 98 dargestellt. Nach 12 h bei 60 °C wird 1,2-Dihydronaphthalin **55** im Verhältnis 98:2 zu 1,4-Dihydronaphthalin im Produkt mit 90 % Ausbeute isoliert. Hiermit sind Bedingungen für eine Umlagerung gefunden worden, die ohne Umwege zu dem Wunschprodukt **55** führen. Eine Reduzierung der Katalysatormenge führt interessanterweise nicht zu erhöhten Reaktionszeiten. Stattdessen wirkt sich eine niedrige Substratkonzentration negativ auf die Isomerisierungsgeschwindigkeit aus. Wird sie zu gering gewählt, findet gar keine Reaktion statt. Das Verhältnis von 98:2 wird mit steigender Reaktionszeit nicht überschritten. Scheinbar liegt an dieser Stelle ein Gleichgewicht vor, welches mit anderen technischen Lösungen optimiert werden müsste. An dieser Stelle wird die Umlagerung jedoch nicht weiter diskutiert, weil die Verunreinigung durch das nicht gewünschte Isomer **108** für die folgenden Stufen kein Hindernis darstellt und mit 98 % genügend Material für die Folgestufen vorliegt.

8.3.3. Oxidative Doppelbindungsspaltung

In diesem Kapitel soll ein Weg entwickelt werden die isolierte Doppelbindung von 1,2-Dihydronaphthalin zu spalten und zwei Carbonsäurefunktionalitäten entstehen zu lassen (siehe Abbildung 99 grau unterlegt). Im Sinne der Atomökonomie kommt hier eine Ozonolyse als erste Möglichkeit in Betracht. Erst kürzlich wurden von *Cochran* mögliche Reaktionsbedingungen vorgestellt.^[215] Während bei der klassischen Ozonolyse Carbonylverbindungen erhalten werden^[14], können durch den Einsatz geeigneter Reagenzien und Substrate nach der entscheidenden Ozonfixierung auch Carbonsäuren synthetisiert werden. Aufgrund des sicherheitstechnischen Anspruchs eines solchen Verfahrens, wird hier im Labormaßstab zunächst auf diesen Weg verzichtet. Stattdessen soll ein einfacher Weg gefunden werden, der schnell Materialzugang zur nächsten Stufe ermöglicht, weil die Disäure **106** kommerziell nur schwer zugänglich ist.

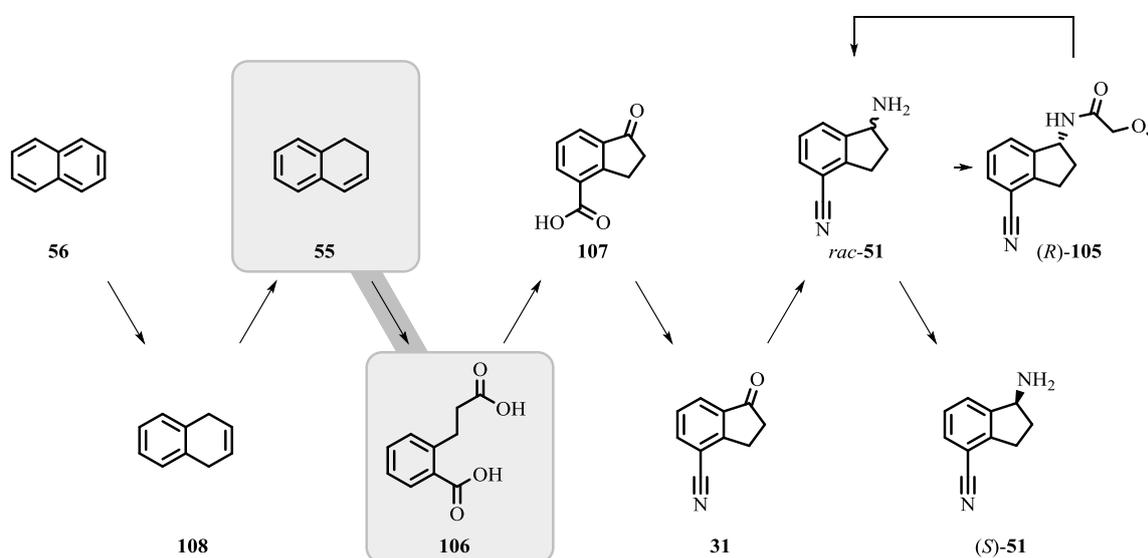


Abbildung 99: Oxidative Doppelbindungsspaltung von Verbindung 55 (grau unterlegt) eingebettet in die Gesamtsynthese zum Schlüsselbaustein 4-Cyano-1-aminoindan (S)-51.

1998 stellte die Arbeitsgruppe um *Noyori* einen Weg zur oxidativen Doppelbindungsspaltung vor, der eine neue, grüne Möglichkeit zur Synthese von Adipinsäure darstellt.^[216] Cyclohexen wird in Gegenwart von Wasserstoffperoxid, Natriumwolframat und einem Phasentransferkatalysator zur Adipinsäure oxidiert. Günstige Reagenzien und milde Reaktionsbedingungen bieten eine Alternative zur Synthese des Schlüsselbausteins für Nylon 6,6.^[217] Im vorliegenden Beispiel soll nicht Cyclohexen sondern 1,2-Dihydronaphthalin **55** oxidiert werden. Wird der vorgeschlagene Mechanismus von *Sato et al.* auf 1,2-Dihydronaphthalin **55** übertragen, so erscheint eine Oxidation möglich.^[216] In Abbildung 100 sind die Reaktionsbedingungen eines ersten Versuchs (durchgeführt von *Christina Harms*)^[218] Dihydronaphthalin zu oxidieren dargestellt.

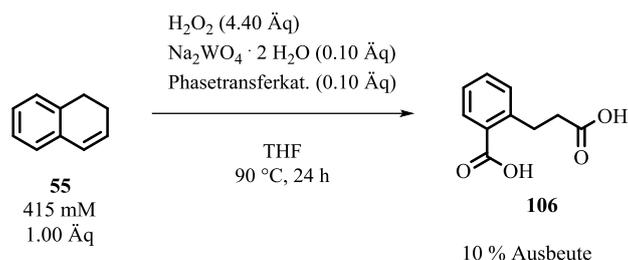


Abbildung 100: Oxidative Doppelbindungsspaltung nach *Noyori et al.*^[216]

Nach der Aufarbeitung konnte das Zielprodukt mit einem Umsatz von 21 % NMR-spektroskopisch nachgewiesen werden. Obwohl die Reaktionszeit im Vergleich zu *Sato et al.* bereits erhöht wurde,^[216] lief die Reaktion nicht quantitativ ab. Neben dem Substrat und der Zielverbindung konnten auch nicht identifizierte Verunreinigungen detektiert werden. Eine Herausforderung bei diesem ersten Experiment war sicherlich der sehr kleine Maßstab beim Einsatz von 100 μL Substrat **55**, bei der die Durchmischung der Reaktionslösung nicht immer gegeben war. Um detailliertere Schlussfolgerungen aus dieser Reaktion zu ziehen, müsste der Maßstab deutlich vergrößert werden. Zu diesem Zeitpunkt lag jedoch für weitere Experimente nicht genügend Ausgangsmaterial vor, sodass der Fokus zunächst auf die parallel durchgeführten anderen oxidativen Methoden gelegt wurde.

Angelehnt an ein Patent,^[175] welches die Oxidation einer chemisch vergleichbaren Verbindung beschreibt, wurde 1,2-Dihydronaphthalin **55** mit Kaliumpermanganat zu oxidiert (durchgeführt von *Christina Harms*)^[218]. In wässriger basischer Lösung wurde in DCM gelöstes Dihydronaphthalin suspendiert. Nach 3 h wurde der entstandene Braunstein filtriert und das Filtrat mit konzentrierter Salzsäure der pH-Wert 2 eingestellt. Die Lösung wurde mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

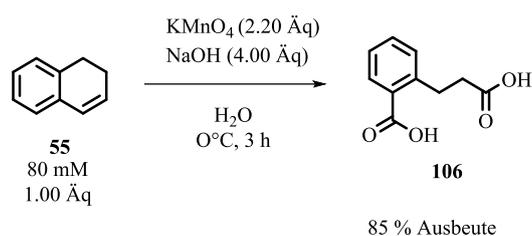


Abbildung 101: Oxidative Doppelbindungsspaltung angelehnt an *Tan et al.* mit extraktiver Produktisolierung.^[175]

In diesem ersten Experiment kann gezeigt werden, dass ein quantitativer Umsatz zum Zielprodukt möglich ist. Im Rohprodukt kann kein Edukt mehr nachgewiesen werden. Die Auswaage des Rohprodukts entspricht 85 % des erwarteten Gewichts. In der Analytik werden neben dem Zielprodukt auch nicht identifizierte Verbindungen detektiert. Das heißt für die nächste Stufe in der Gesamtsynthese müssen Aufreinigungen vorgenommen werden. Prinzipiell wären alle gängigen Methoden wie Destillation, Chromatographie, Extraktion und Umkristallisation denkbar, wobei die ersten beiden

aufgrund des Siedepunkts von Disäure **106** und des finanziellen Aufwands auf dieser frühen Stufe nicht priorisiert werden. Eine Extraktion wurde mit der Isolierung des Rohprodukts im Grunde durchgeführt. Auch eine Extraktion der basisch wässrigen Phase führte zu keiner verbesserten Reinheit des Produkts. Die Verunreinigungen scheinen somit eher polarer Natur zu sein, was auch durch RP-HPLC des Produkts bestätigt wurde. Die einfachste Aufreinigung wäre eine Kristallisation aus der Reaktionsmischung. In einem ersten Experiment konnten so 5 % des Zielprodukts in sehr hoher Reinheit sowohl NMR-spektroskopisch als auch chromatographisch (HPLC 85 area%) erhalten werden. Nach Erniedrigen des pH-Werts auf 2 fällt das Produkt bei ausreichend hohen Produktkonzentrationen aus. Die oben aufgeführte geringe Ausbeute ist wohl auf den hohen Wasseranteil zurückzuführen. Nach Einengen des Wassers kann die Ausbeute auf 75 % erhöht werden. Bei weiterem Einengen wird neben dem Zielprodukt auch Natriumchlorid aus der Neutralisation gefällt und mindert die Produktqualität erneut.

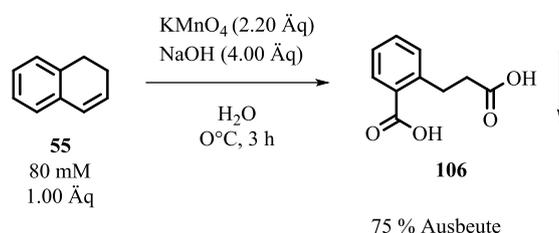


Abbildung 102: Oxidative Doppelbindungsspaltung angelehnt an Tan et al. mit anschließender Produktfällung.^[175]

In Abbildung 102 wird das erfolgreichste Experiment vorgestellt, welches auch im Grammmaßstab reproduziert wurde. Die Synthese wurde auf diesem Stand des Projekts nicht weiter optimiert, weil eine zufriedenstellende Ausbeute für die weitere Materialproduktion gegeben war. Für eine weitere Optimierung müsste eine Lösung für die Entsalzung der Mutterlauge gefunden werden. Mit dem ersten Experiment konnte gezeigt werden, dass der Umsatz quantitativ und nahezu selektiv abläuft. Das heißt die Ausbeute ist durch die hohen Salzmengen in der Mutterlauge limitiert. Eine Möglichkeit zur Steigerung der Ausbeute wäre zunächst eine nahezu vollständige Fällung der Disäure **106** und des Kochsalzes und anschließendem Waschen des Produkts mit verdünnter Säure, um das Salz aus dem Produkt zu waschen.

Für die Folgesynthese konnte ein Experiment vorgestellt werden, welches gute Ausbeuten in sehr guter Reinheit liefert und nebenbei ohne weitere Herausforderungen hochskaliert werden kann. Im Grammmaßstab wurde keine Exothermie beobachtet, sodass auch eine Durchführung im größeren Maßstab als der hier Vorgestellte möglich scheint.

8.3.4. Aufbau des Indanongerüsts

In diesem Kapitel sollen Reaktionsbedingungen erarbeitet werden, unter denen aus Disäure **106** das Indanongerüst **107** zugänglich ist. Formal handelt es sich hier um *Friedel-Crafts*-Chemie. Eine elektrophile Carbonylspezies soll an ein aromatisches System kondensiert werden (siehe Abbildung 103). Durch die *ortho*-Substitution der Disäure **106** kann bei der elektrophilen aromatischen Substitution nur auf einer Seite der intramolekulare Ringschluss stattfinden. Grundsätzlich wäre der Ringschluss auch von der anderen Seite im Sinne einer *Friedel-Crafts*-Alkylierung denkbar. Dann könnte als Nebenprodukt jedoch der elektrophile Angriff in *ortho*- und *para*-Position aus Sicht der Carbonsäurefunktion geschehen. Letztere Position würde auch ein Fünfringsystem hervorrufen, aber nicht zum gewünschten Baustein **107** führen. Außerdem kann voraussichtlich eine intermolekulare *Friedel-Crafts*-Acylierung bei unzureichender Verdünnung der Reaktionsmischung beobachtet werden.

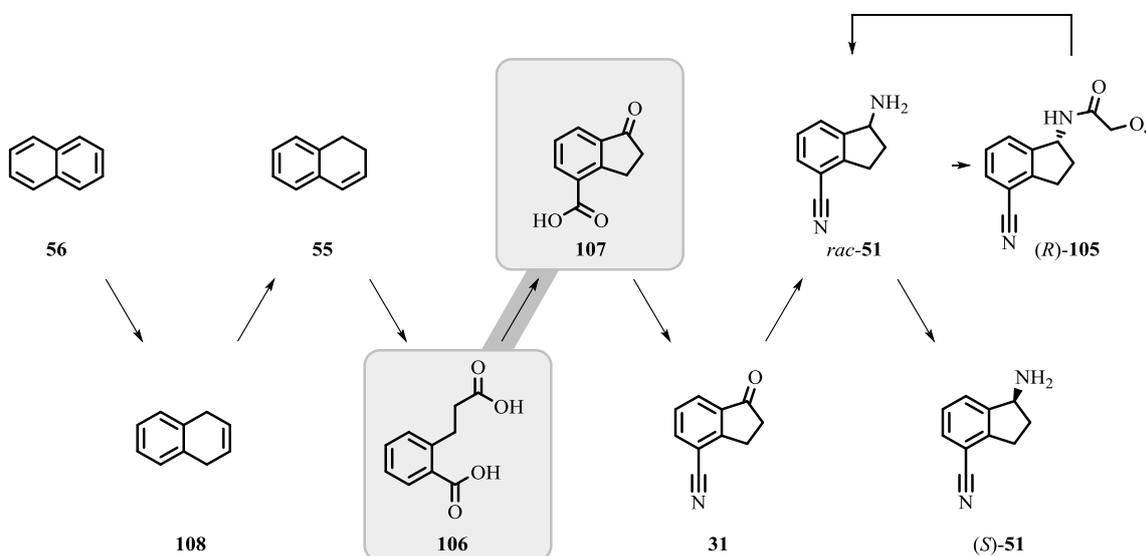


Abbildung 103: *Friedel-Crafts* artiger Ringschluss zum Indanongerüst (grau unterlegt) eingebettet in die Gesamtsynthese zum Schlüsselbaustein 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-51.

In den Lehrbüchern wird die *Friedel-Crafts*-Acylierung immer am Beispiel eines Säurehalogenids und eines aromatischen Rings „katalysiert“ durch Aluminiumtrichlorid erläutert.^[14,219] „Katalysiert“ steht hier in Anführungsstrichen, weil bei der *Friedel-Crafts*-Acylierung nach der Acylierung ein Aluminatkomplex entsteht, der erst nach Hydrolyse das acylierte Produkt freigibt.^[14,220] In Gegenwart von Wasser bildet Aluminium direkt Aluminiumhydroxid, sodass formal kein katalytischer Zyklus vorliegt. Vielmehr handelt es sich bei Aluminiumtrichlorid um ein Cosubstrat, welches in äquimolaren Mengen für einen quantitativen Umsatz zugesetzt werden muss. Im vorliegenden Beispiel der Disäure **106** muss zunächst ein geeignetes Säurehalogenid erzeugt werden. Üblicherweise wird das kostengünstige und leicht zugängliche Säurechlorid mit Hilfe von Thionylchlorid erzeugt,^[220] welches anschließend mit der Lewissäure versetzt wird, um ausreichend für eine Acylierung aktiviert zu sein.

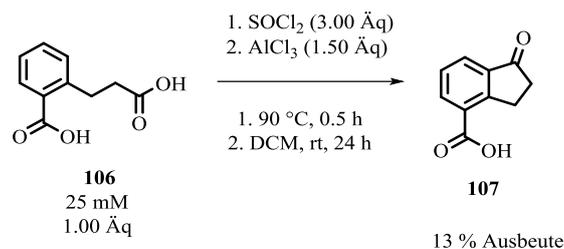


Abbildung 104: *Friedel-Crafts-Acylierung angelehnt an Becker et al.*^[220]

Für die Disäure **106** werden zwei Äquivalente Thionylchlorid verwendet, damit beide Säurefunktionalitäten in das entsprechende Säurehalogenid umgesetzt werden. Eine selektive Halogenierung ist ohne Schutzgruppentechniken nicht möglich. In der Wärme entsteht so innerhalb einer halben Stunde die gewünschte Funktionalität, die in DCM mit AlCl_3 versetzt wird. Nach weiteren 24 h Reaktionszeit sollte das Zielprodukt wie in Abbildung 104 dargestellt, in der Reaktionsmischung vorliegen. Nach der vorschriftsmäßigen Hydrolyse^[220] können 13 % des Substrats in Form des Zielprodukts isoliert werden. Die Qualität wäre für die folgenden Gesamtsyntheschritte ausreichend, allerdings bleibt die Ausbeute mit 13 % eher gering. Ein Grund für die niedrige Ausbeute kann die Deaktivierung des Aromaten durch die benzyliche Säurefunktion darstellen. Elektronenarme Aromaten reagieren in einer *Friedel-Crafts-Acylierung* deutlich langsamer oder gar nicht.^[14,220] Mit diesem Experiment konnte die Indanonsäure **107** als Referenz erstmalig aus der Disäure **106** hergestellt werden, soll aber im Folgenden über einen alternativen Weg synthetisiert werden, der zu höheren Ausbeuten führt.

In einem Patent zur Synthese von *Coronalon*[®] wird ein *Friedel-Crafts* artiger Ringschluss in reiner Schwefelsäure beschrieben.^[175] Die hohe Acidität der Schwefelsäure soll ausreichen, um die Carbonsäurefunktion ausreichend elektrophil zu aktivieren. Das beschriebene System besteht aus einer Disäure **106**, die in *meta*-Position einen Ethylsubstituenten trägt. Diese Vorgehensweise wird durch die hohe Ausbeute von 87 % bei einer elektronisch vergleichbaren Struktur auch für das gegebene Beispiel interessant. Im Vergleich zum obigen Experiment wird neben einer Senkung der Reaktionszeit die Temperatur deutlich heraufgesetzt (siehe Abbildung 105).

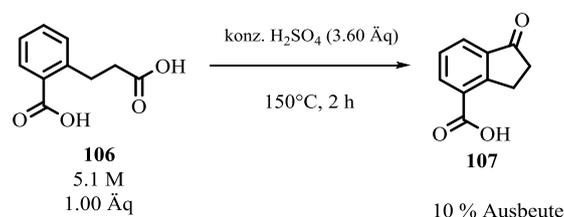


Abbildung 105: *Friedel-Crafts* artige Acylierung angelehnt an *Tan et al.*^[175]

Das erste Experiment (durchgeführt von *Christina Harms*)^[218] wurde analog zu *Tan et al.*^[175] in einer sehr konzentrierten Reaktionsmischung durchgeführt. Das Substrat wurde in 3.6 Äq 98 %iger

Schwefelsäure gelöst und erhitzt. Schnell wurde die Lösung dunkel und trüb und bereits nach der Hälfte der Reaktionszeit ist die Reaktionsmischung so viskos geworden, dass keine Durchmischung mehr möglich war. Nach Ablauf der 2 h wurde die Reaktionsmischung durch Zugabe von Eis hydrolysiert und mit DCM extrahiert. Das Produkt konnte in mäßiger Qualität extraktiv gewonnen werden, wobei die Ausbeute mit 10 % im Vergleich zu Literatur niedrig ausfällt.^[175] Hauptsächlich leidet die Qualität des Produkts daran, dass selbiges kaum gebildet wurde. Lediglich 16 % des Substrats wurden zur Indanonsäure **107** umgesetzt. Ein Grund für den geringen Umsatz kann die ungünstige Durchmischung bei dem sehr klein gewählten Maßstab sein.

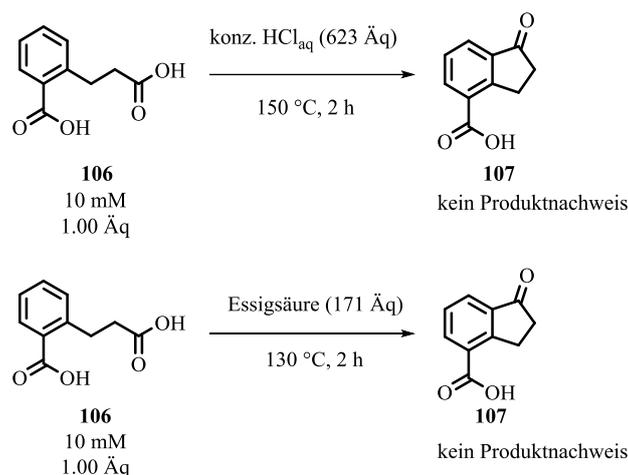


Abbildung 106: Friedel-Crafts artige Acylierung mit Salzsäure und Essigsäure als Katalysator.

Die Schwefelsäure aus dem obigen Experiment stellt auf der einen Seite einen sehr günstigen Katalysator dar, aber bringt mit ihren physikalischen und toxikologischen Eigenschaften auch einige Nachteile mit sich. Aus diesem Grund werden in den folgenden zwei Experimenten andere Säuren untersucht, die bezüglich der diskutierten Punkte weniger Herausforderungen mit sich bringen würden. Leider konnte weder mit Salzsäure noch mit Essigsäure unter den gegebenen Bedingungen (siehe Abbildung 106) ein Produktnachweis erbracht werden. Aus diesem Grund wurde auch auf eine weitere Optimierung dieser Synthesewege verzichtet und der Fokus auf die Optimierung einer Reaktion mit Schwefelsäure als Katalysator gelegt.

Der ungünstigen Durchmischung als naheliegende Ursache für die geringe Ausbeute sollte durch Erhöhung der Katalysatormenge vorgebeugt werden. In den folgenden Experimenten wurden anstatt der 3.6 Äq gleich 623 Äq Schwefelsäure und somit die Schwefelsäure auch als Lösungsmittel eingesetzt.

UV-aktiven Substanzen, die zurückgeblieben sind, vervollständigen die eingesetzte Masse, wobei keine signifikanten Produkt-/ Eduktmengen in der wässrigen Phase nachgewiesen werden können. In Abbildung 108 ist das Experiment aufgeführt, welches zu der höchsten Ausbeute mit dem günstigen Katalysator Schwefelsäure führt. Die exzellente Produktqualität kann ohne weitere Aufreinigung für die nächsten Schritte eingesetzt werden.

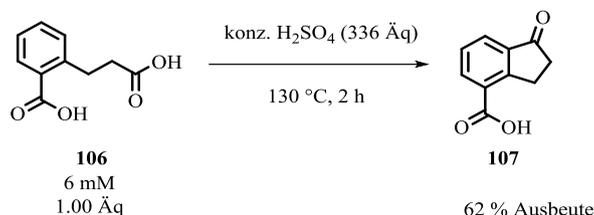


Abbildung 108: Friedel-Crafts artige Acylierung mit Schwefelsäure als Katalysator unter den optimierten Reaktionsbedingungen.

In diesem Kapitel konnte ein Syntheseweg aufgezeigt werden, über den die Transformation von Disäure **106** zum Indanongerüst **107** möglich ist. Die Ausbeute von 62 % befriedigt sicher kein kommerzielles Interesse, aber eine weitere Optimierung auf dieser Stufe des Projekts wurde nicht priorisiert. Auf diese Weise kann auch Material im größeren Maßstab für die folgenden Stufen dargestellt werden (siehe Abbildung 108).

8.3.5. Derivatisierung zum Nitril

Nachdem im letzten Kapitel eine Synthese für das Grundgerüst Indanon vorgestellt wurde, gilt es nun die Indanonsäure **107** zu 4-Cyanoindanon **31** zu derivatisieren (siehe Abbildung 109). Grundsätzlich wäre auch eine andere Reihenfolge, wie einleitend diskutiert in Kapitel 3.2, zur Synthese des racemischen Amins *rac*-**51** denkbar. Die Derivatisierung kann auch nach der reduktiven Aminierung erfolgen, wobei eine Schutzgruppe oder Folgechemie zur Isolierung des Amins notwendig wird, die zunächst umgangen werden soll. Entsprechend wird in diesem Kapitel erst die Derivatisierung von Carbonsäure zu Nitril diskutiert und im folgenden Kapitel auf die reduktive Aminierung von Indanon **31** eingegangen.

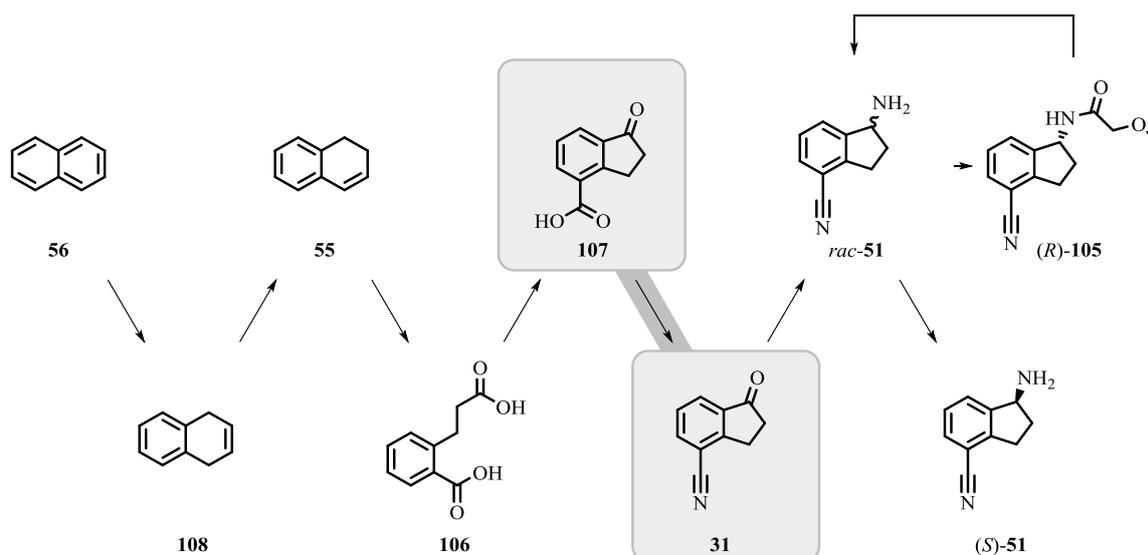


Abbildung 109: Derivatisierung des Indanongerüsts **107** (grau unterlegt) eingebettet in die Gesamtsynthese zum Schlüsselbaustein 4-Cyano-1-aminoindan (*R*)-**51**.

Die Indanonsäure **107** soll über ein primäres Amid mit abschließender Dehydratisierung in das entsprechende Nitril **31** überführt werden. In den ersten Experimenten wird eine Aktivierung der Carbonsäure mit Thionylchlorid gewählt. Um Ressourcen zu schonen werden die methodischen Experimente mit *para*-Fluorbenzoesäure als Modellsubstrat durchgeführt. Aus chemischer Sicht sollte die Säurefunktionalität durch das Indanongerüst wenig beeinflusst werden, sodass lediglich sterische Effekte berücksichtigt werden müssen. Parallel dazu bietet der Fluorsubstituent eine gute Möglichkeit, die Reaktion via ^{19}F -NMR-Spektroskopie zu verfolgen. Bei der Wahl der Synthesen wird auch darauf geachtet, dass die Reagenzien mit der Carbonylfunktion des später einzusetzenden Indanongerüsts kompatibel sind. Mit Thionylchlorid lässt sich das Säurechlorid der Benzoesäure **110** einfach und in guten Ausbeuten (86 %) gewinnen (siehe Abbildung 110 mitte).

Die aktivierte Säure **111** wird bei Raumtemperatur mit Ammoniak in THF versetzt. Nach zwei Stunden kann das primäre Amid **112** in quantitativen Ausbeuten (92 %) erhalten werden (siehe Abbildung 110 unten). Das Produkt bedarf auch keiner weiteren Aufreinigung nach der Extraktion. Die Reaktion verläuft äußerst selektiv.

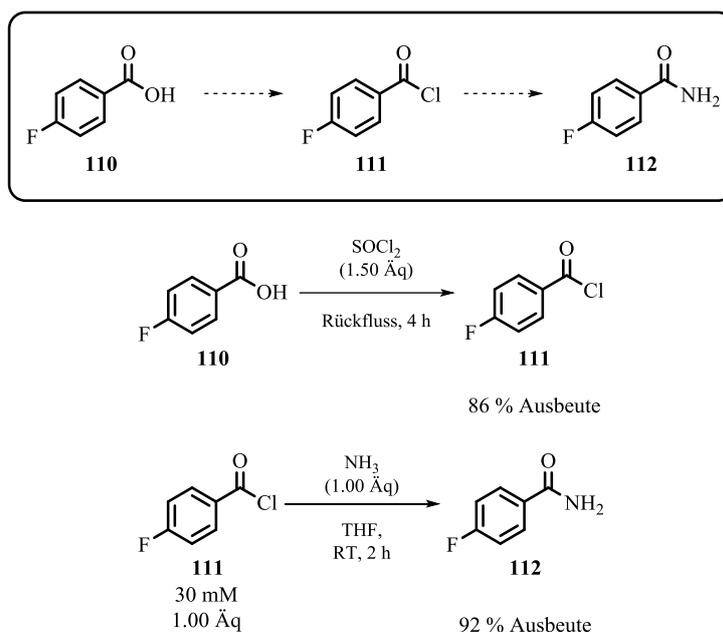


Abbildung 110: Aktivierung von Benzoesäure durch Thionylchlorid zum Säurechlorid und anschließender Umsatz zum primären Amid mit Ammoniak.

Im nächsten Schritt wird die Indanonsäure **107** unter den oben aufgeführten Bedingungen umgesetzt. Eine Destillation des Säurechlorids gelang nicht, sodass nach dem Umsatz mit Thionylchlorid lediglich der Überschuss abdestilliert wurde und der Rückstand direkt mit Ammoniak versetzt wurde. Nach der Reaktion konnte jedoch kein Zielprodukt **114** isoliert und wenig Edukt **107** im Rohprodukt nachgewiesen werden (siehe Abbildung 111).

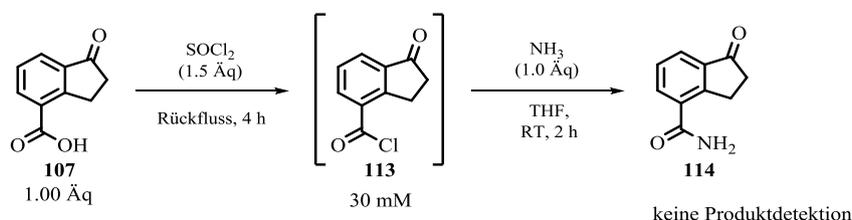


Abbildung 111: Derivatisierung von Indanonsäure 107 zum primären Amid 114.

Um herauszufinden, welcher Teil der Reaktion nicht wie geplant abgelaufen ist, wurde der Umsatz zum Säurechlorid NMR-spektroskopisch verfolgt. Dabei fiel auf, dass die Signale der aliphatischen Protonen mit steigender Reaktionszeit immer kleiner wurden. Dagegen entstanden sowohl im aromatischen Bereich als auch zwischen 3.8 und 5.0 ppm im Protonenspektrum eine Vielzahl neuer Signale. Es ist bekannt, dass leicht enolisierbare Verbindungen zu Halogenierungen neigen.^[221] So kann auch Acetophenon in Gegenwart ausreichend dehydratisierender Reagenzien in ein Chloralken überführt werden.^[222] Auch bei anderen aliphatischen Ringstrukturen wurde ein solches Reaktionsverhalten beobachtet.^[223] Aufgrund der Datenlage konnten derartige Halogenverbindungen nicht eindeutig nachgewiesen werden, aber bieten eine sinnvolle Erklärung für das nicht entstandene Säurechlorid. Da eine Derivatisierung auf diesem Weg gar nicht möglich scheint, wurde nach anderen (schonenderen)

Methoden gesucht, um die Carbonsäure **107** zu aktivieren. Eine gängige Möglichkeit besteht im Einsatz von Chlorameisensäureestern.^[224–226] Auf diese Weise ist auch das seltene Substrat der Indanonsäure **107** bereits beschrieben, wobei keine nennenswerte Nebenproduktformation aufgeführt wird.^[226]

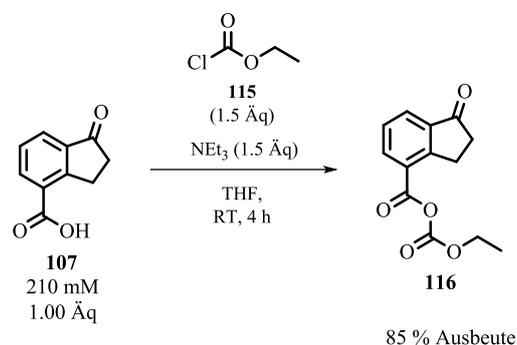


Abbildung 112: Bildung eines gemischten Anhydrids aus Indanonsäure **107 und Chlorameisensäureethylester **115**.**

Der Umsatz von Chlorameisensäureethylester **115** mit Indanonsäure **107** in THF und Gegenwart einer Base führt zu quantitativem Umsatz und einer Ausbeute von 85 %. Da es sich bei diesem Produkt um eine nicht bekannte Verbindung handelt, wurde diese den aktuellen Standards entsprechend durch ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie und exakte Masse eindeutig nachgewiesen und charakterisiert. Das Anhydrid reagiert auch nur langsam mit Wasser,^[225] sodass eine Extraktion zur Produktreinigung und Isolierung möglich ist. In trockener Atmosphäre kann das Produkt bei Raumtemperatur über Monate gelagert werden ohne, dass ein Zerfall beobachtet wird.

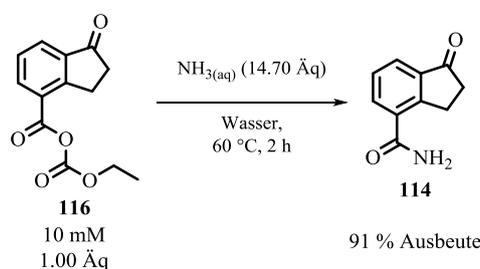


Abbildung 113: Bildung eines primären Amids aus einem gemischten Anhydrid.

Das gemischte Anhydrid **116** wird angelehnt an *Noguchi et al.*^[225] mit einer wässrigen Ammoniaklösung zum primären Amid umgesetzt. So wird das Zielprodukt **114** nach zwei Stunden mit einer Ausbeute von 91 % isoliert (siehe Abbildung 113). Reaktionskontrollen via NMR-Spektroskopie bestätigten zuvor einen quantitativen Umsatz. Das Produkt bedarf nach extraktiver Isolierung auch keine weitere Aufreinigung für die nächste Stufe. Sowohl NMR-spektroskopisch als auch chromatografisch (RP-HPLC) konnten keine nennenswerten Verunreinigungen detektiert werden.

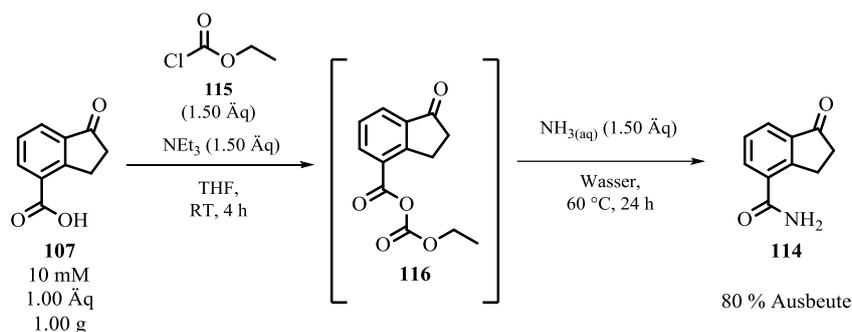


Abbildung 114: Eintopfreaktion von der Indanonsäure 107 zum primären Amid 114.

Analog zu *Noguchi et al.* wird nach einer sequentiellen Reaktionsführung ohne Isolierung des gemischten Anhydrids 80 % des Zielprodukts in gleicher Produktqualität wie oben beschrieben isoliert.^[225] Auf diese Weise kann im Hinblick auf eine Gesamtsynthese eine Aufarbeitung gespart werden. Damit kann eine Methode zur Derivatisierung vorgestellt, die das gewünschte Amid **114** in guten Ausbeuten liefert.

Im Folgenden Abschnitt soll die Dehydratisierung des oben hergestellten primären Amids **114** diskutiert werden. In der synthetischen Welt werden eine Reihe von Wasser bindenden Reagenzien vorgestellt, die nicht alle im Detail diskutiert werden. Neben Übergangsmetall katalysierten Dehydratisierungen kommt immer ein oxophiles bzw. hydrophiles Reagenz zum Einsatz, welches den Sauerstoff des Amids irreversibel bindet.^[227] Die Natur der Elemente bewirkt, dass so bevorzugt Silicium,^[228] Phosphor^[229] und Schwefelverbindungen^[230] zum Einsatz kommen. Aber auch aktivierte Carbonsäuren wie Trifluoressigsäureanhydrid^[231] und Cyanurchlorid^[232,233] werden immer wieder in der Literatur abhängig von den Funktionalitäten am Zielmolekül gefunden. In dieser Arbeit werden zunächst aufgrund ihrer Verfügbarkeit Thionylchlorid, Phosphorylchlorid, Phosphorpentachlorid, Phosphorpentoxid, Cyanurchlorid und Trifluoressigsäureanhydrid als Dehydratisierungsreagenzien untersucht.

Auch in diesem Abschnitt wird zur Ressourcenschonung und einfachen Reaktionsverfolgung das Modells substrat *para*-Fluorbenzamid **112** eingesetzt. Auf diese Weise können Umsätze in Reaktionskontrollen leicht ¹⁹F-NMR-spektroskopisch verfolgt werden. Als erstes Entwässerungsreagenz wurde Thionylchlorid untersucht (siehe Abbildung 115). Bei einem quantitativen Umsatz (81 % bezogen auf Produkt **117**) konnten nach Beendigung der Reaktion 21 % des Ausgangsmaterials in Form des Zielprodukts **117** isoliert werden. 11 % des Amids **112** wurden zum entsprechenden Säurechlorid umgesetzt und hydrolysierten entsprechend nach der Aufarbeitung. Neben der geringen Ausbeute dieser Dehydratisierungsreaktion ist auch keine Kompatibilität gegenüber dem Indanonsystem zu erwarten, sodass Thionylchlorid als Dehydratisierungsreagenz für das vorliegende Substrat **114** ausscheidet.

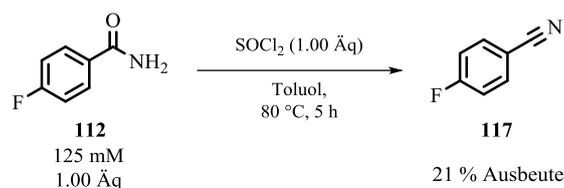


Abbildung 115: Dehydratisierung von *para*-Fluorbenzamid 112 durch Thionylchlorid.

Als nächstes wurden diverse Phosphorverbindungen untersucht, wobei als erstes auf Phosphorylchlorid eingegangen wird.^[234] Die Reaktionsbedingungen werden an die von *Perni et al.* angelehnt.^[235] In einem inerten Lösungsmittel wird das Amid **112** und Phosphorylchlorid mit einer Base zum Abfangen des entstehenden Hydrochlorids thermisch behandelt. Nach 2 h wird ein quantitativer Umsatz zum Zielprodukt **117** gemessen und die Reaktion extraktiv aufgearbeitet. Dabei konnten 45 % des eingesetzten Materials in Form des gewünschten Nitrils **117** isoliert werden (siehe Abbildung 116). Es zeigte sich, dass auch mildere Reaktionsbedingungen (50°C in DCM) zur gleichen Ausbeute führen.

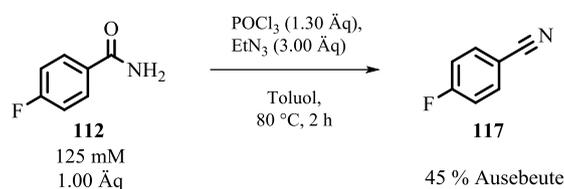


Abbildung 116: Dehydratisierung von *para*-Fluorbenzamid 112 durch Phosphorylchlorid.

Phosphorpentachlorid ist schon sehr lange im Zusammenhang mit der Dehydratisierung von Nitrilen bekannt.^[236] Hier werden die Reaktionsbedingungen allerdings an die Umsetzung mit Phosphorylchlorid angelehnt, um die thermische Belastung der organischen Moleküle so gering wie möglich zu halten. Nach 2 h bei 80°C wird NMR-spektroskopisch ein quantitativer Umsatz zum Nitril gemessen und die Reaktion extraktiv aufgearbeitet. Dies führte zu einer Ausbeute von 21 % (siehe Abbildung 117).

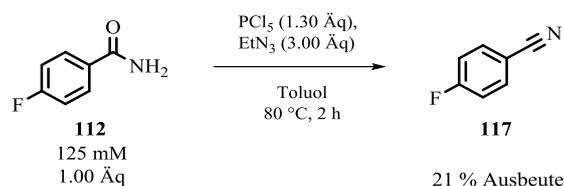


Abbildung 117: Dehydratisierung von *para*-Fluorbenzamid 112 durch Phosphorpentachlorid.

Ein Dehydratisierungsreagenz für niedrige Temperaturen stellt Cyanurchlorid dar. Dieses reagiert bereits bei 0°C mit primären Amiden und setzt das entsprechende Nitril frei.^[232,233] Cyanurchlorid enthält drei Säurechloridsynthone, die für eine Wasserfixierung in Frage kommen. Entsprechend sollte ein Unterschuss von 33 % für einen quantitativen Umsatz ausreichen. Triethylamin soll das entstehende Hydrochlorid während der Reaktion abfangen. Die Temperatur ist an die Literaturwerte angelehnt.^[233] Die Umsatzkontrolle durch NMR-Spektroskopie zeigte eine selektive Reaktion zum gewünschten

Nitril **117**. Bei einem Umsatz von 80 % stagnierte die Reaktion und wurde extraktiv aufgearbeitet. Das Zielprodukt **117** konnte mit einer Ausbeute von 53 % isoliert werden (siehe Abbildung 118).

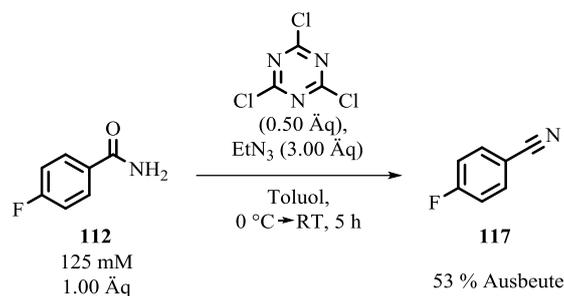


Abbildung 118: Dehydratisierung von *para*-Fluorbenzamid **112** durch Cyanurchlorid.

Das vielleicht älteste Reagenz im Zusammenhang der Dehydratisierung von primären Amiden ist Phosphorpentoxid. Bereits 1847 beschrieben *Dumas et al.* ein primäres Amid erfolgreich entwässert zu haben und zu Nitrilen gelangt zu sein.^[237] An dieser Stelle wurden die Reaktionsbedingungen an den vorangegangenen Experimenten orientiert. Die NMR-spektroskopische Verfolgung zeigte eine stete Umsatzsteigerung, welche durch Nachdosieren von Phosphorpentoxid bis zu einer Äquivalenz von 1.2 auch zur Quantität vervollständigt wird. Nebenprodukte konnten nicht detektiert werden. Die Extraktion zur Produktisolierung führte zu einer Ausbeute von 70 % (siehe Abbildung 119). Leider führte der Transfer dieser Reaktion aus dem analytischen Maßstab in den Labormaßstab nicht zu dem gleichen Ergebnis. Am Boden des Reaktors sammelte sich ein Addukt aus Phosphorpentoxid, welches teilweise Wasser und teilweise das primäre Amid fixiert hat. Letzteres konnte mittels HPLC nachgewiesen werden. Eine Zudosierung führte wie beim analytischen Maßstab zum Reaktionsfortschritt, aber die Äquivalenz hätte weit über 5 erhöht werden müssen, wobei das Dehydratisierungsreagenz theoretisch im Unterschuss ausreichen sollte.

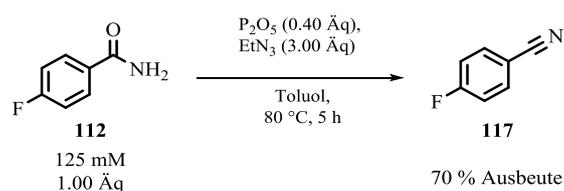


Abbildung 119: Dehydratisierung von *para*-Fluorbenzamid **112** durch Phosphorpentoxid.

Eine weiteres Reagenz zur Dehydratisierung stellt Trifluoressigsäureanhydrid dar.^[238] Während die ersten Arbeiten mit diesem Reagenz bei sehr niedrigen Temperaturen durchgeführt wurden, konnte später auch die thermische Stabilität dieser Reaktion gezeigt werden.^[239] Besonders häufig findet dieses Reagenz Anwendung bei komplexeren Molekülen, die mehrere Funktionalitäten enthalten.^[240,241] Die Selektivität dieses Reagenzes bei größeren Molekülen liefert sehr gute Ergebnisse. Aufgrund der bekannten Selektivität wird an dieser Stelle von dem Modellsubstrat auf das Substrat für die Synthese von Ozanimod **29** gewechselt. Die Bedingungen sind angelehnt an verschiedene Arbeiten aus der

Literatur (siehe Abbildung 120).^[238–241] Eine NMR-spektroskopische Reaktionsverfolgung war an dieser Stelle ausgeschlossen, weil die Protonensignale von Substrat **114** und Produkt **31** nicht isoliert voneinander gemessen werden konnten. Die Kohlenstoffsignale können obwohl die Signale isoliert auftreten, nicht zur Quantifizierung der Stoffmengen genutzt werden.^[242] Aus diesem Grund wurde eine HPLC-Methode entwickelt, mit der die Umsatzentwicklung verfolgt werden kann.

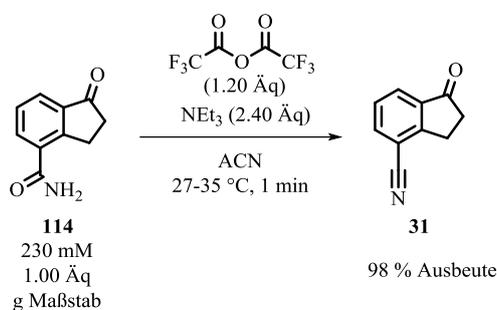


Abbildung 120: Dehydratisierung von Amid **114** durch Trifluoressigsäureanhydrid.

Es zeigte sich, dass bei etwa 30 °C die Reaktion bereits nach 1 min quantitativ abgelaufen ist. Das Produkt wurde wie bei den vorigen Experimenten extraktiv isoliert. Das gewünschte Indanon **31** konnte mit einer Ausbeute von 98 % gewonnen werden. Nebenprodukte konnten nur in Spuren detektiert, aber nicht genauer zugeordnet werden. Unter diesen Bedingungen gelang auch der Maßstabstransfer bis zum Umsatz von 1.4 g Substrat **114** ohne Ausbeute- und Reinheitsverlust.

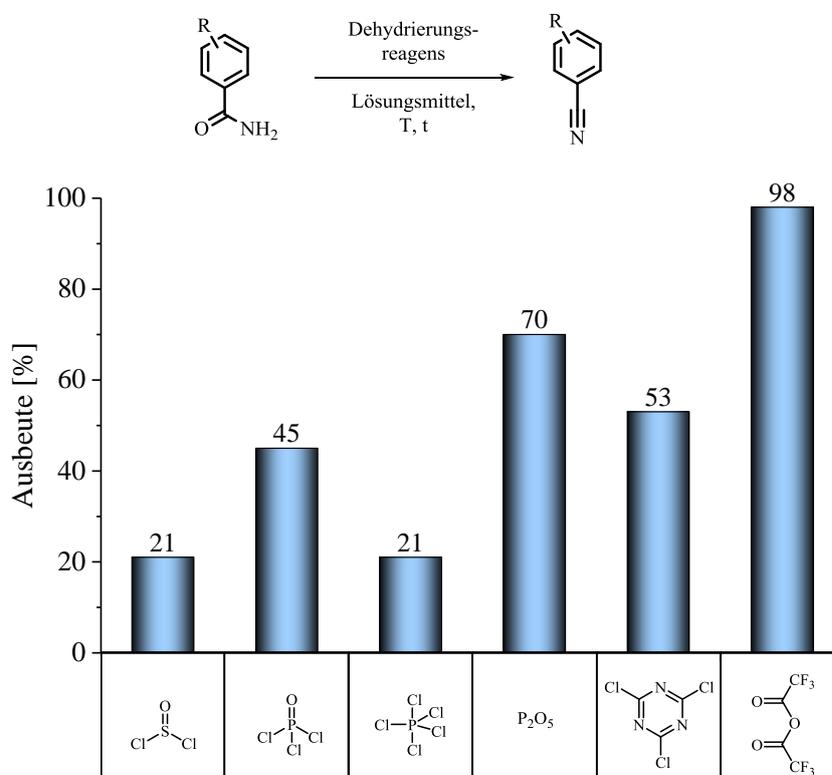


Abbildung 121: Gegenüberstellung der Ausbeuten zur Nitrilsynthese mit verschiedenen Dehydratisierungsreagenzien.

Abbildung 121 fasst noch einmal die erzielten Ergebnisse zur Dehydratisierung primärer Amide zusammen. Außer mit Thionylchlorid war in allen Fällen ein nahezu quantitativer Umsatz möglich. Die Phosphorchloride und Cyanurchlorid haben sich auch durch ihre Selektivität empfohlen. In allen drei Fällen fiel die Ausbeute im Vergleich zum Umsatz jedoch deutlich geringer aus, sodass diese Reagenzien ebenfalls nicht weiter untersucht wurden. Phosphorpentoxid lieferte als Dehydratisierungsreagenz im analytischen Maßstab sehr gute Ausbeuten und vorausgegangene Umsätze. Die Hochskalierung der Reaktion in den Labormaßstab scheiterte jedoch aufgrund einer Verklumpung im Reaktor. Das gummiartige Polymer fixierte das Substrat und ließ keinen vollständigen Umsatz zu, sodass für einen möglichen Prozess aus den obigen Experimenten nur das letzte Reagenz in Frage kommt. Mit Trifluoressigsäureanhydrid konnten sehr gute Ausbeuten von 98 % bei exzellenter Produktreinheit im analytischen und präparativen Maßstab erzielt werden. Während der Reaktion im präparativen Maßstab konnte im Vergleich zur Reaktion im analytischen Maßstab auch keine erhöhte Wärmetönung gemessen werden, sodass eine weitere Hochskalierung sehr realistisch erscheint.

8.3.6. Reduktive Aminierung

In Kapitel 8.2 zeigte sich, dass zur Synthese des enantiomerenreinen Amins (*S*)-**51** bevorzugt die Lipase eignet. Als günstigstes Substrat für die CAL-B (ausgeschnitten aus der Gesamtsynthese) wurde Indanon **31** identifiziert. In Abbildung 34 von Kapitel 3.2 wurden verschiedene Optionen vorgestellt, um das Substrat für eine Racematspaltung zu synthetisieren. Welcher der Wege für einen Prozess in Frage kommt, hing unter anderem von der Frage eines günstigen Substrates für den biokatalytischen Schritt ab. Prinzipiell wäre auch eine reduktive Aminierung vor der Derivatisierung der Indanonsäure **107** zum Nitril **31** denkbar.

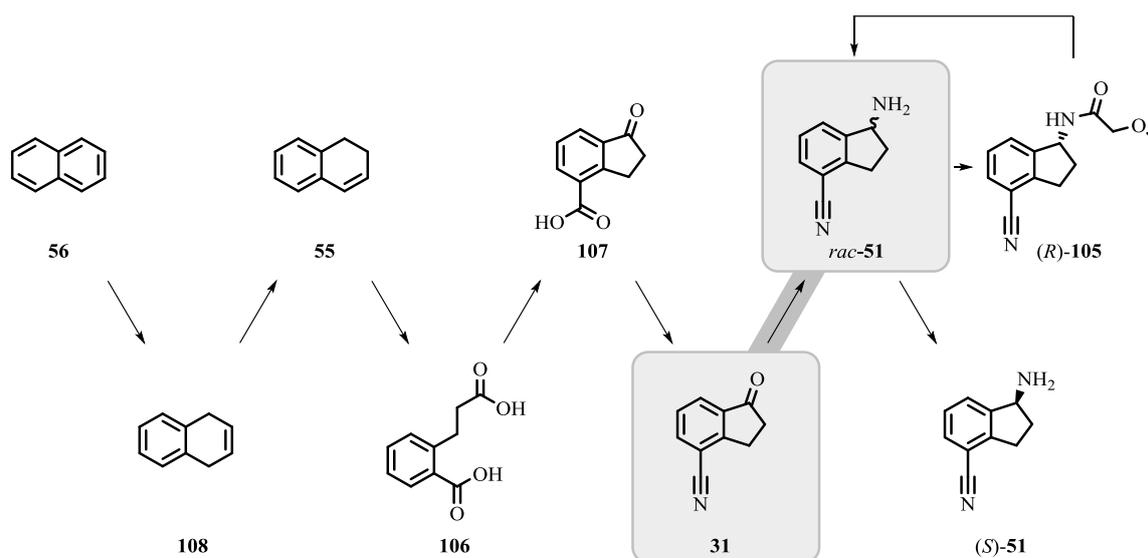


Abbildung 122: Reduktive Aminierung des Indanongerüsts **31** (grau unterlegt) eingebettet in die Gesamtsynthese zum Schlüsselbaustein 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51**.

Unter den in den letzten Kapiteln erarbeiteten Reaktionsbedingungen wäre eine Schutzgruppe für das Amin erforderlich. Um diese zwei Syntheseschritte (Schützung und Entschützung) auszusparen, wird die reduktive Aminierung nach der Derivatisierung zum Nitril **31** durchgeführt. Die reduktive Aminierung setzt sich hier aus zwei Teilschritten zusammen. Zunächst addieren sich eine Carbonylverbindung und eine Stickstoffspezies (Ammoniak, primäres/sekundäres Amin) zu einem Carbinolamin, welches unter Protonierung Wasser abspaltet und eine Iminiumspezies bildet (siehe Abbildung 123). Das Iminiumion kann in Gegenwart eines Reduktionsmittels zum Amin reduziert werden.^[243]

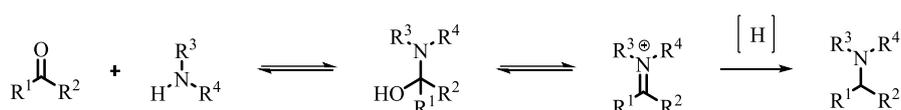


Abbildung 123: Formale reduktive Aminierung einer Carbonylverbindung.^[244]

Bei der Wahl des Reduktionsmittels sind der chemischen Phantasie keine Grenzen gesetzt, wobei sich abhängig von Substrat, Produkt und entsprechenden Funktionalitäten bestimmte Reagenzien ausschließen.^[244,245,246] Eine der ältesten Formen der reduktiven Aminierung ist die Leuckart-Wallach-Reaktion.^[22] Bei ihr wird Ammoniumformiat als Reduktionsmittel und Stickstoffquelle gleichzeitig eingesetzt, welches durch die Bildung von Kohlendioxid als Nebenprodukt auch das chemische Gleichgewicht auf die Seite der Produkte verschiebt. Ein Nachteil dieser Form der reduktiven Aminierung liegt in der hohen Aktivierungsenergie. Vor allem primäre Amine werden erst bei Temperaturen von 180 °C gebildet.^[22,247] In jüngeren Arbeiten wurden auch ÜM-Katalysatoren vorgestellt, die geringere Temperaturen für einen vollständigen Umsatz benötigen.^[24,248] Deutlich später wurden auch metallische Hydride zur Reduktion verschiedener Iminspezies eingesetzt.^[249] Vor allem elektronisch maßgeschneiderte Borhydride brachten Vielfalt in den Reaktionstyp, weil sie auch diverse funktionelle Gruppen tolerieren.^[246] Eine Herausforderung bleiben aber die Nitrile, welche selbst leicht zu Aminen reduziert^[250] oder als Elektrophil gegenüber Hydriden^[251] reagieren. Aus diesem Grund lag es nahe, dass zuerst Reaktionsbedingungen mit sehr ähnlichem Molekülgerüst und gleichen Funktionalitäten gewählt werden. *Gillen et al.*^[252] zeigten, dass sie Bedingungen gefunden haben, die sowohl das Nitril tolerieren und ein Indanogerüst reduktiv aminieren können.

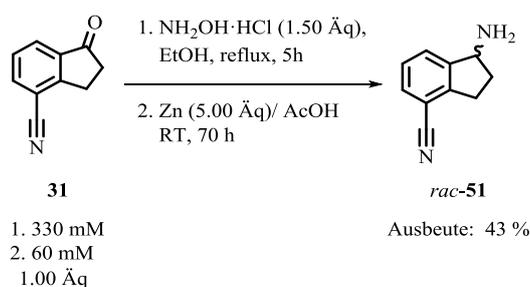


Abbildung 124: Reduktive Aminierung von Indanon **31** zum racemischen Amin *rac-51*.^[252]

Zunächst wird Hydroxylamin an die Carbonylfunktion kondensiert und anschließend das Ketoxim mit Zink in Essigsäure reduziert. Eine extractive Aufarbeitung führte zu einer Ausbeute von 43 %. Bei Wiederholung des Versuchs konnte durch chromatographische Umsatzverfolgung (RP-HPLC) gezeigt werden, dass die Reaktion zunächst langsam beginnt, nach 8 h eine vergleichsweise hohe Reaktionsgeschwindigkeit gemessen wird und die Reaktion bereits nach 46 h zum Erliegen kommt. Leider konnte auch in diesem Fall der analytische Maßstab nicht auf den präparativen Maßstab (0.5 g) übertragen werden. Obwohl keine optischen und thermischen Besonderheiten im größeren Maßstab beobachtet wurden, sank die Ausbeute auf unter 5 %. Da weder Zeit für weitere Experimente im Rahmen des Projekts noch Rohstoffe für die Durchführung zum Abschluss dieser Experimente vorlagen, kann über die genaue Ursache nur spekuliert werden. Eine Begründung kann in der Qualität des Zinks liegen. Löwe konnte bereits zeigen, dass weniger als 5 Äq Zink die Ausbeute direkt senken, obwohl aus redoxchemischer Sicht 1.00 Äq ausreichen sollte.^[181]

Abgesehen von dem letzten Experiment im Grammmaßstab gelang die Reproduktion der reduktiven Aminierung über das Ketoxim und mit Zink als Reduktionsmittel. Die Ausbeute fiel mit 43 % eher moderat aus, reichte aber auf diesem Stand des Projekts, um Material für die biokatalytische, kinetische Racematspaltung herzustellen. Weitere Optimierungen hatten an dieser Stelle keine Priorität.

8.3.7. Kinetische Racematspaltung

In diesem Kapitel wird die kinetische Racematspaltung von Amin *rac*-**51** vorgestellt (siehe Abbildung 125). Die Ergebnisse und Vorgehensweisen wurden bereits in Kapitel 8.2.2 eingehend diskutiert und werden hier nur noch auf die optimierten Bedingungen reduziert, damit die Gesamtsynthese des Schlüsselbausteins (*S*)-**51** im Zusammenhang dargestellt wird.

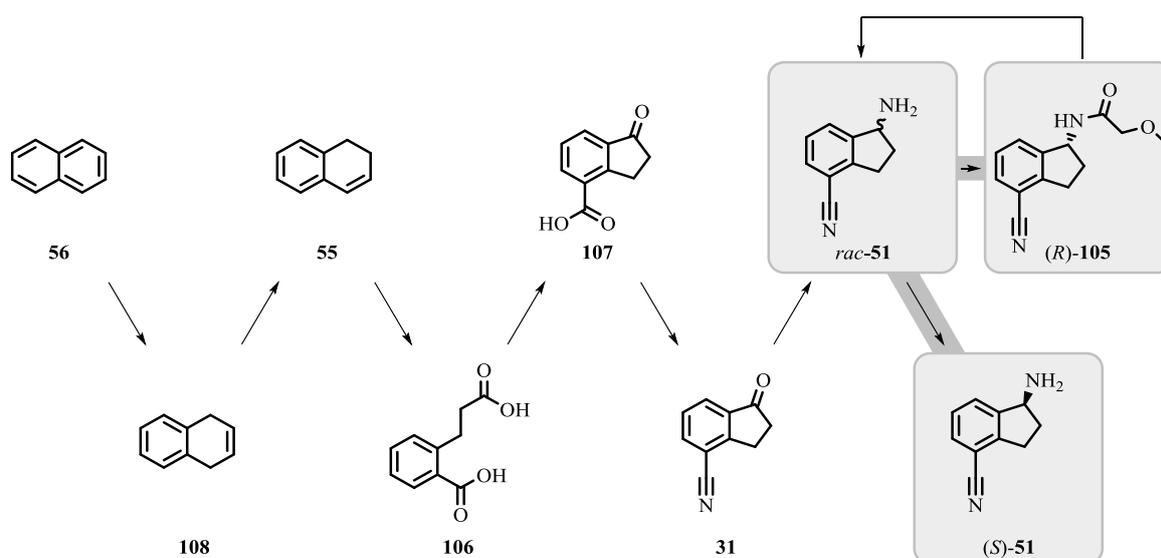


Abbildung 125: Kinetische Racematspaltung des Amins *rac*-**51** (grau unterlegt) eingebettet in die Gesamtsynthese zum Schlüsselbaustein 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51**.

Im Screening bezüglich Acyldonor, Lösungsmittel und einem geeigneten racemischen Substrat zeigte sich, dass die CAL-B gegenüber dem cyanosubstituierten Amin **51** die höchste Selektivität unter den sinnvollen Substraten im Hinblick auf die Gesamtsynthese zeigte. Als Lösungsmittel empfahl sich Toluol in Kombination mit Isopropylmethoxyacetat **104** als Acyldonor. In einem abschließenden Experiment konnte bei einem E-Wert von 24 das Amin (*S*)-**51** mit einer Ausbeute von 47 % und einem Enantiomerenüberschuss von 99 %*ee* aus dem Racemat *rac*-**51** abgetrennt werden (durchgeführt von Löwe)^[181].

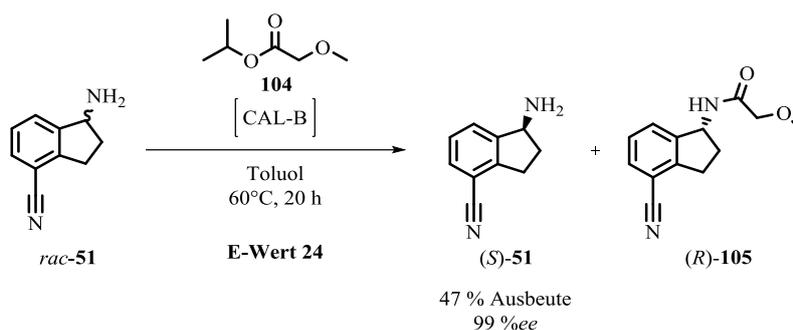


Abbildung 126: Kinetische Racematspaltung von Amin *rac*-**51** mit CAL-B und Isopropylmethoxyacetat **104** als Acyldonor.^[181]

Auf diese Weise konnte ein sehr guter, robuster Zugang zum enantiomerenangereicherten Amin (*S*)-**51** vorgestellt und etabliert werden. Im Folgenden werden Möglichkeiten diskutiert, das nicht gewünschte Enantiomer (*R*)-**51** zu racemisieren und in den Gesamtprozess zurückzuführen. Auf diese Weise wird die Ausbeutelimittierung der kinetischen Racematspaltung von 50 % umgangen und kann auf 100 % erhöht werden.

8.3.8. Racemisierung primärer Amine

Bei der Gesamtsynthese des Schlüsselbausteins (*S*)-**51** für Ozanimod **29** stellte sich eine kinetische Racematspaltung als günstigster Weg zur Enantiomerenanreicherung heraus. Die Lipase CAL-B acyliert selektiv nur das nicht gewünschte Enantiomer bei einem E-Wert von 24. Da 4-Cyano-1-aminoindan *rac*-**51** bereits ein recht aufwändiges Molekül ist, soll an dieser Stelle der Synthese nicht die Hälfte des Materials verfallen, sondern möglichst vollständig in den Gesamtprozess zurückgeführt werden. Das heißt das acylierte Amin muss hydrolysiert und racemisiert werden (siehe Abbildung 127). Die Hydrolyse wird an dieser Stelle nicht genauer betrachtet, weil sie bereits in der Literatur^[253] beschrieben und die Racemisierung als größere Herausforderung anzusehen ist.

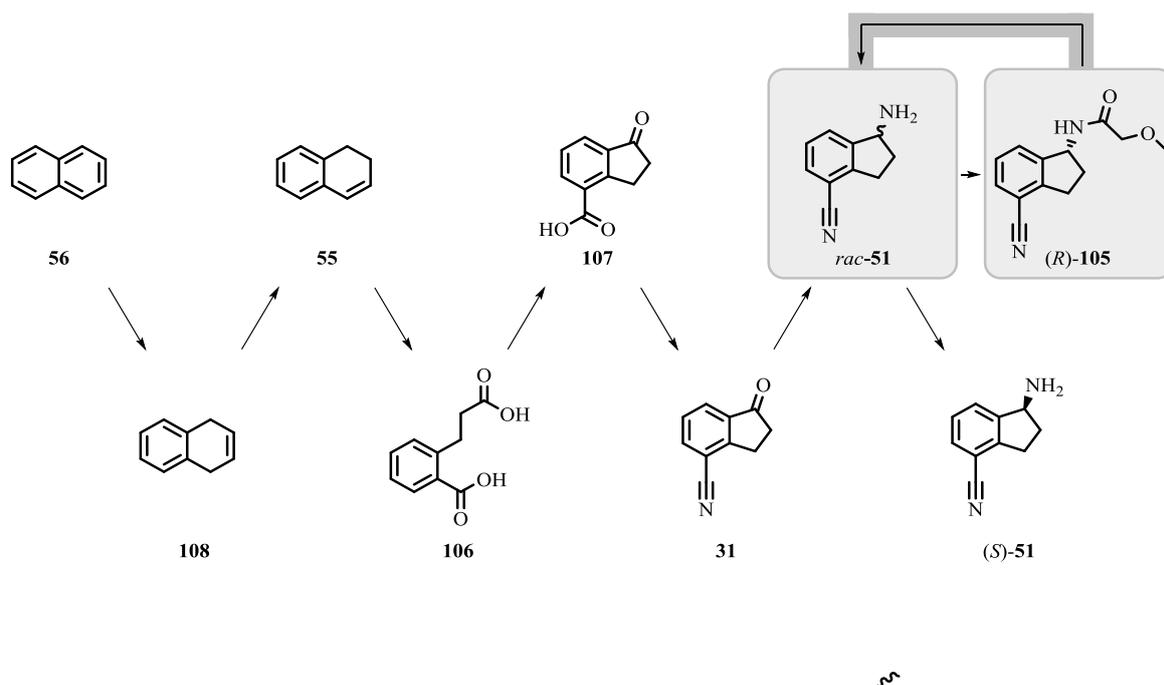


Abbildung 127: Racemisierung des Amids (R)-105 zur Rückführung in den Gesamtprozess.

Um ausgehend von einer enantiomerenangereicherten Verbindung zum Racemat zu gelangen, muss das Stereozentrum in einen achiralen Übergangszustand gebracht werden. Dies geht umso einfacher, je besser die Resonanzstabilisierung erfolgt. So können zum Beispiel Aminosäuren aufgrund der α -Acidität einfach im basischen Milieu racemisiert werden.^[254,75] Durch die Enolautomerie wird das Stereozentrum in α -Position vorübergehend sp^2 hybridisiert und verliert seine chirale Information. Bei primären Aminen ist eine Deprotonierung neben der Stickstofffunktionalität nur in Abhängigkeit vom Rest des Moleküls möglich (wie im Falle der α -Aminosäuren).

Ein anderes Konzept neben der Racemisierung durch Protonentausch stellt der Einsatz eines Redoxsystems dar. Speziell für sekundäre Alkohole gibt es bereits eine Vielzahl von Beispielen in denen ein Übergangsmetall katalysiertes Redoxsystem zu einer dynamisch kinetischen Racematspaltung eingesetzt wird.^[255] Durch Oxidation des Alkohols entsteht eine prochirale Carbonylverbindung, die nicht selektiv vom selben Katalysator wider reduziert wird, sodass am Ende der nicht enantiomerenangereicherte Alkohol erhalten wird. Dieser Weg eines Redoxsystems ist ebenfalls für primäre Amine denkbar (siehe Abbildung 128 mitte), wobei die Stabilität der entstehenden Imine deutlich eingeschränkt ist, sodass die Rücktransformation meist zu Ausbeuteverlusten führt. Durch geschicktes Katalysatordesign wurden auch mit dieser Methode dynamisch kinetische Racematspaltungen für primäre Amine erfolgreich vorgestellt (siehe Abbildung 129 mitte).^[256,257] Einige Arbeiten umgehen auch die Herausforderung des instabilen Imins, indem ein Ketoxim als stabiles Substrat eingesetzt wird. Ein Redoxkatalysator erzeugt ein Gleichgewicht zwischen reduzierter Aminspezies und oxidiert Ketoximspezies, wobei die Aminspezies permanent stereoselektiv acyliert wird.^[258]

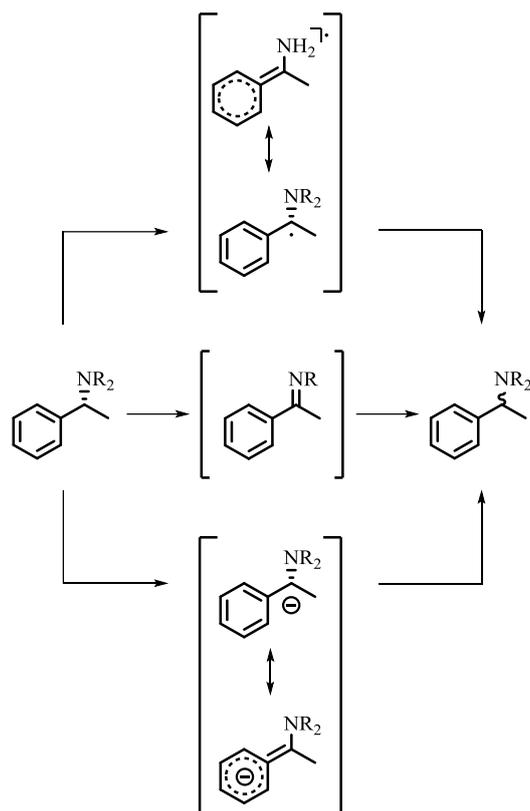


Abbildung 128: Mögliche Wege zur Racemisierung von primären Aminen.
 Alle führen über eine sp^2 -Hybridisierung im Übergangszustand.

Eine andere Möglichkeit das instabile Imin bei der Racemisierung zu umgehen, besteht in der Abstraktion eines Wasserstoffatoms (siehe Abbildung 129 oben). Der radikalische Übergangszustand wird über den Stickstoff resonanzstabilisiert und durch unterschiedliche Hybridisierung geht die chirale Information verloren.^[259] Als Katalysatoren werden Thiole verwendet, die als Thiylradikal in der Lage sind von anderen Molekülen Wasserstoffatome zu abstrahieren.^[260] Neben den recht stabilen benzyllischen Amins substraten^[259] können auch alkyllische primäre Amine racemisiert werden.^[261] Analog zur Erzeugung eines Radikals kann auch ein Resonanz stabilisiertes Carbanion erzeugt werden, welches durch Veränderung des Hybridisierungszustands die chirale Information verliert. Dieses Vorgehen ist allerdings nur möglich, wenn die α -Position zum Stickstoff eine höhere Acidität aufweist, als die anderen Positionen im Molekül. Das Paradebeispiel stellen benzyllische Amine wie 1-Phenylethylamin **9** dar, die von der BASF auf diese Art und Weise racemisiert werden (siehe Abbildung 129 unten).^[262–265] In jüngeren Arbeiten wurde auch ein Hilfsreagenz vorgestellt, mit welchem die Deprotonierung in α -Position der Aminogruppe erleichtert wird.^[266] Ein durch Nitrogruppen äußerst elektronenarmer Benzaldehyd stabilisiert das Carbanion und ermöglicht eine Deprotonierung bereits bei Raumtemperatur.

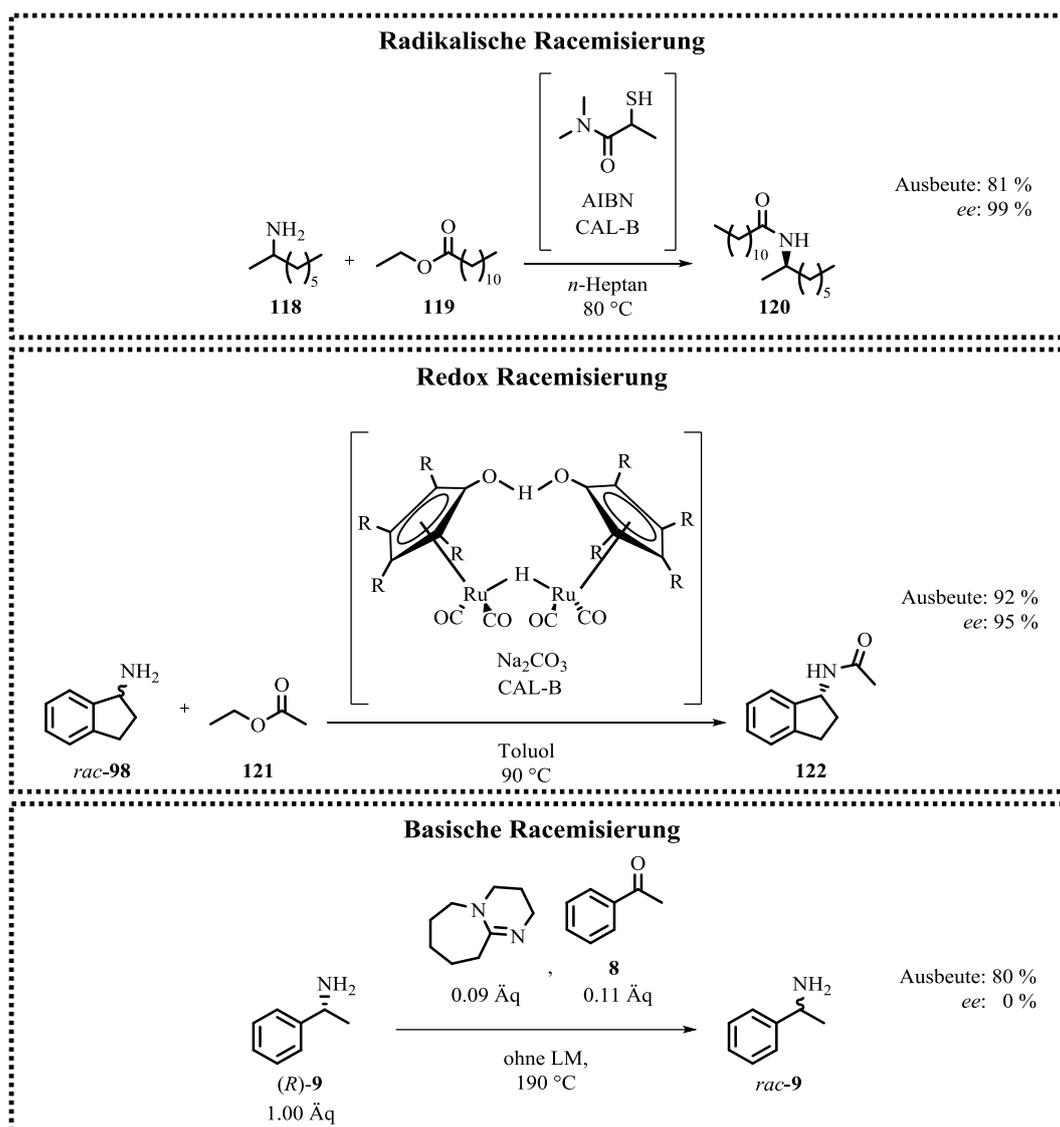


Abbildung 129: Verschiedene Möglichkeiten primäre Amine zu racemisieren.^[256,261,265,263,264] das

Aufgrund der hohen chemischen Vergleichbarkeit der Aminofunktionalität bei 4-Cyano-1-aminoindan **51** und 1-Phenylethylamin **9** wird zunächst das technisch eingesetzte Verfahren zur Racemisierung durch eine Base untersucht. Zur Ressourcenschonung wird die Racemisierung auch hier mit den Modellsubstraten 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** und *ortho*-Tolunitril **123** reproduziert. Beim Amin **9** wird der Enantiomerenüberschuss im Verlauf der Zeit beobachtet. Weil Nitrilgruppen unter diesen Umständen instabil sein könnten, wird parallel zur Racemisierung auch die Stabilität der Nitrilgruppe bei dem chemisch zu 4-Cyano-1-aminoindan **51** sehr verwandten *ortho*-Tolunitril **123** untersucht. Die Messwerte sind in Abbildung 130 aufgetragen.

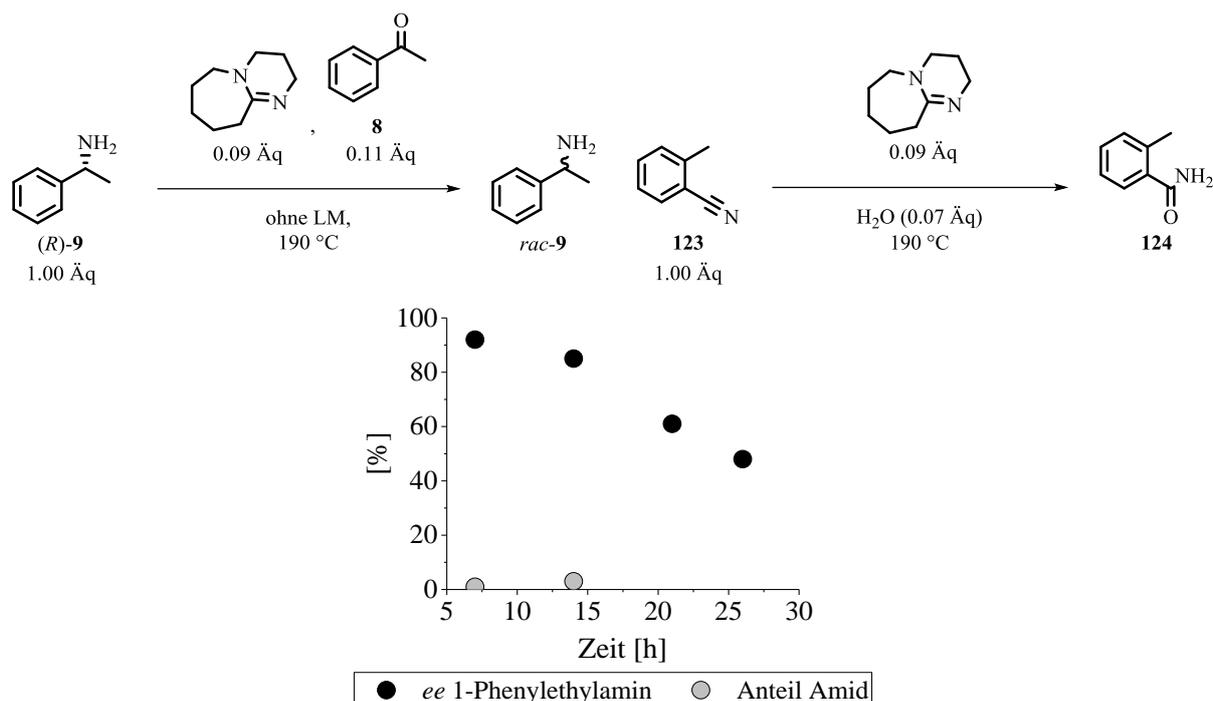


Abbildung 130: Benchmark Experiment zur Racemisierung primärer benzylicher Amine in Gegenwart einer Base angelehnt an Ditrich.^[262] Außerdem wurde die Nebenproduktbildung des korrespondierenden Amids 124 aufgetragen.

1-Phenylethylamin (*R*)-**9** racemisiert in Gegenwart von Diazabicycloundecen (DBU) und katalytischen Mengen der korrespondierenden Carbonylverbindung **8** zu *rac*-**9**. Nach 26 h sinkt der *ee*-Wert auf 48 %. Damit konnte die Methode der basischen Racemisierung erfolgreich reproduziert werden. Die vollständige Racemisierung erfordert jedoch eine lange Zeit mit hoher thermischer Belastung, die mit der Nitrilfunktionalität evtl. nicht kompatibel ist. In Abbildung 130 stellen die violetten Punkte den Anteil des Nebenprodukts *ortho*-Methylbenzamid **124** bezogen auf das eingesetzte *ortho*-Tolunitril **123** dar. 3 % des Nebenprodukts werden nach 14 h nachgewiesen. Entsprechend wäre bei vollständiger Racemisierung in etwa 50 h ein pauschaler Ausbeuteverlust von etwa 10 % zu erwarten. Die Nebenproduktbildungsrate motiviert das Verfahren weiter zu optimieren. Die Zeit der thermischen Belastung soll reduziert werden, um die Nebenproduktanteile so gering wie möglich zu halten. Dazu wird der von Ditrich vorgeschlagene Mechanismus herangezogen (siehe Abbildung 131).^[262] Darin wird aus dem zu racemisierenden Amin und der korrespondierenden Carbonylverbindung zunächst eine *Schiff'sche Base* gebildet. Das entstandene Imin wird durch die Base deprotoniert, um die chirale Information zu verlieren, und anschließend reprotoniert. Neben der Deprotonierung kann die *Schiff'sche Base* auch ein weiteres Amin addieren und ein Vollaminal bilden. Im Gleichgewicht zerfällt dieses auch wieder in Amin und Imin, wobei sowohl die addierte Aminspezies als auch die zuvor racemisierte Spezies eliminiert werden kann. Im letzten Fall entsteht neben der racemisierten Aminspezies auch eine enantiomerenangereicherte Iminspezies, die den Zyklus von vorne durchlaufen kann. Auf diese Weise können sowohl die Base, als auch die korrespondierende Carbonylverbindung in katalytischen Mengen eingesetzt werden.

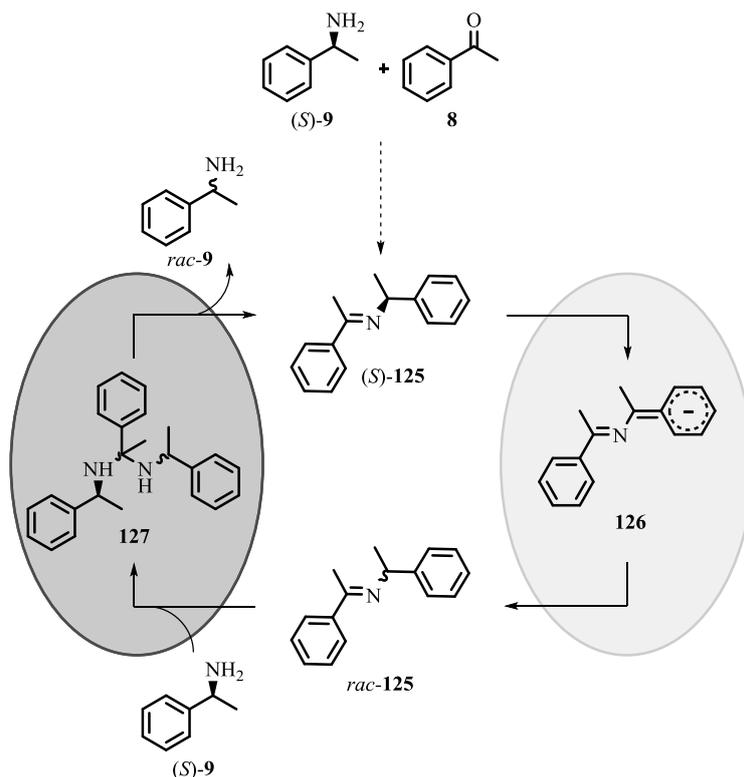


Abbildung 131: Vorgeschlagener Mechanismus für die basische Racemisierung benzylicher Amine nach Ditrich et al.^[262]

Mit diesem Katalysezyklus lassen sich die chemischen Vorgänge während der Racemisierung benzylicher Amine mit zwei Schlüsselschritten beschreiben. Zu Beginn steht die Deprotonierung und Reprotonierung zur Entfernung der chiralen Information, welche anschließend in einer Austauschreaktion das racemische Amin freisetzen und neues enantiomerenangereichertes Imin zur Racemisierung bereitstellen. Im Folgenden soll untersucht werden, welcher der beiden Teilschritte den Geschwindigkeitsbestimmenden für den gesamten Zyklus darstellt. Um die Austauschreaktion zu beobachten, werden enantiomerenreines Imin (S)-125 und racemisches 1-Phenylethylamin *rac*-9 im Verhältnis 1:1 vorgelegt und ohne Base thermisch behandelt (durchgeführt von *Dario Duwe*).^[267] Analysiert wird der *ee*-Wert des eingesetzten enantiomerenreinen Imins während der Simulation. Weil mit Reaktionsbeginn auch der Austausch mit einem (*R*)-Enantiomer von 1-Phenylethylamin **9** möglich ist, sollte der Enantiomerenüberschuss sinken. Durch Abwesenheit der Base soll die Racemisierung unterdrückt werden. Das heißt der *ee*-Wert wird nicht auf „0“ sinken, sondern zwischen 30 % und 50 % konstant bleiben. Zu diesem Zeitpunkt müsste sich ein Gleichgewicht einstellen dessen Enantiomerenüberschuss auf dem leichten Überschuss des (*S*)-Aminbausteins **9** basiert. Die Messwerte sind in Abbildung 132 dargestellt.

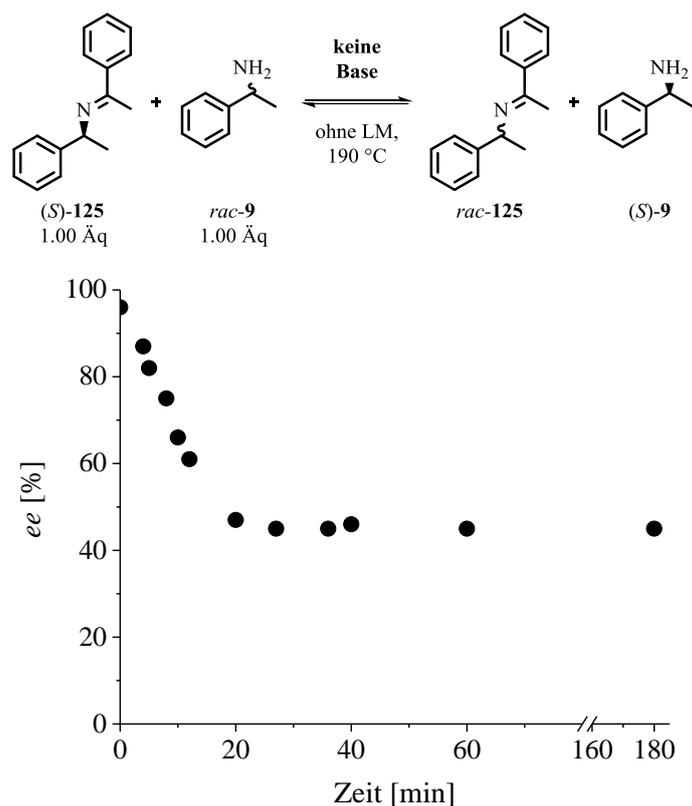


Abbildung 132: Austauschreaktion von Amin und Imin über eine Vollaminalspezies in Abwesenheit einer Base.^[267]

Abbildung 132 zeigt, dass der Enantiomerenüberschuss wie erwartet abnimmt. Nach 20 min wird ein *ee*-Wert von 45 % erreicht, der sich im weiteren Verlauf der Simulation nicht mehr verändert. Bei diesem Enantiomerenüberschuss hat sich folglich das Gleichgewicht aus den beiden chiralen Bausteinen eingestellt. Im Hinblick auf die Racemisierung von Aminen sei hier deutlich auf die hohe Reaktionsgeschwindigkeit hingewiesen. Während die vollständige Racemisierung von 1-Phenylethylamin (*S*)-**9** wie oben beschrieben über zwei Tage dauert, bewegt sich die Teilreaktion des Aminaustauschs (siehe Abbildung 131 links) auf einer deutlich niedrigeren Zeitskala. Nach den hier ermittelten Messwerten sollte die Austauschreaktion keine zeitliche Limitierung darstellen, weil sie unter einer Stunde bereits quantitativ abgelaufen ist.

Um zu überprüfen, ob die zweite Teilreaktion des in Abbildung 131 (rechts) vorgestellten Mechanismus für die niedrigen Racemisierungsgeschwindigkeiten begründet, wird enantiomerenreines Amin (*S*)-**9** mit einem Äquivalent korrespondierender Carbonylverbindung **8** umgesetzt. Die entstandene *Schiff'sche Base* wird in Gegenwart von DBU thermisch analog zur oben vorgestellten Racemisierung behandelt. Zu gegebenen Zeiten wird der Enantiomerenüberschuss des Imins **125** gemessen (siehe Abbildung 133).

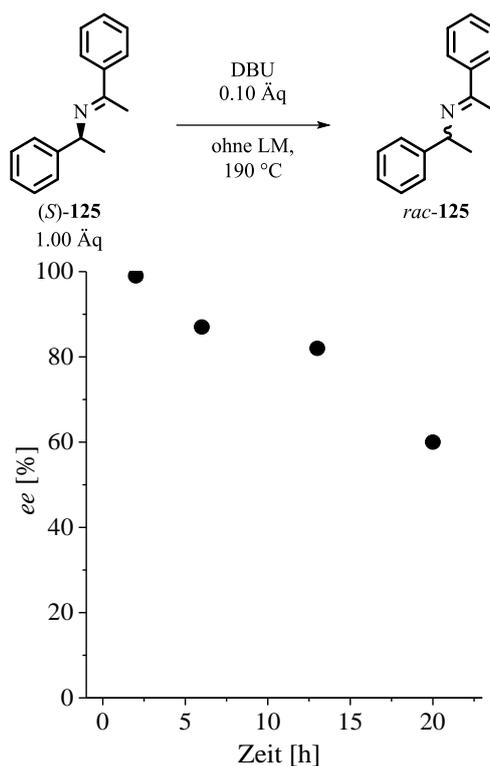


Abbildung 133: Racemisierung des Imins **125** in Gegenwart von DBU.^[267]

Der Enantiomerenüberschuss nimmt wie erwartet ab. Die Racemisierung des Imins **125** findet wie erwartet statt. Ausgehend von enantiomerenreinem Imin (*S*)-**125** wird nach 20 h nur noch ein *ee*-Wert von 60 % gemessen. Damit kann der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für die Racemisierung von benzyllischen Aminen eindeutig identifiziert werden. Während die Austauschreaktion des Imins **125** innerhalb einer Stunde abläuft, benötigt eine quantitative Deprotonierung und Reprotonierung der *Schiff'schen Base* über zwei Tage.

Der Schlüssel für eine höhere Racemisierungsgeschwindigkeit liegt also in einer schnelleren Deprotonierung des Imins. Dies kann auf zwei Arten erfolgen. Entweder wird eine stärkere Base eingesetzt oder die Acidität des Moleküls erhöht. Beide Möglichkeiten werden in den folgenden Abschnitten untersucht und bewertet, wobei zunächst auf die Basenstärke eingegangen wird. Bei allen Experimenten wird von enantiomerenreinem Imin (*S*)-**125** ausgegangen und lediglich die Deprotonierung und Reprotonierung betrachtet, weil die Austauschreaktion über ein Vollaminal für die Reaktionsgeschwindigkeit nahezu irrelevant ist und so die Reaktionsgeschwindigkeit besser beobachtet werden kann.

Hier werden zwei Basen gewählt, deren pK_S -Werte sich um eine Größenordnung nach oben und nach unten verschieben. 1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN) stellt in diesem Experiment die etwas schwächere Base im Vergleich zu DBU dar. Als stärkere Base wird Triazabicyclodecen (TBD) eingesetzt. Die Bedingungen für dieses Experiment wurden aus der Simulation für die Deprotonierung

und Reprotonierung übernommen. Das enantiomerenreine Imin (*S*)-**125** wird in Gegenwart der zwei genannten Basen thermisch behandelt. Zu gegebenen Zeiten wurde der Enantiomerenüberschuss des Imins **125** gemessen (siehe Abbildung 134)

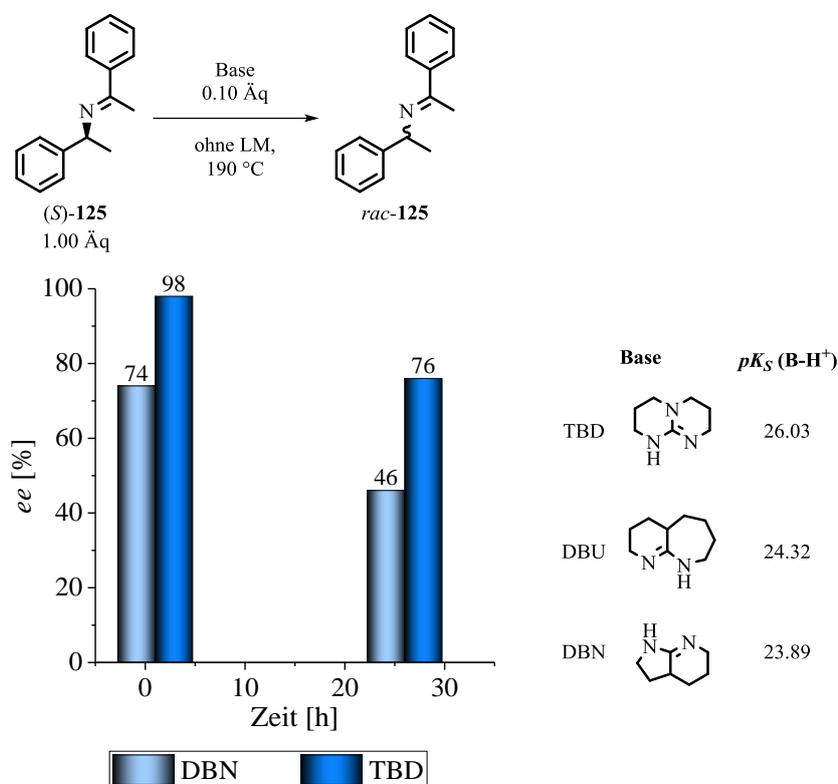


Abbildung 134: Racemisierung von Imin **125** in Gegenwart verschiedener Basen.^[267] Rechts sind die zugehörigen pK_S -Werte eingetragen.^[268–270]

Die Experimente in Abbildung 134 zeigen, dass bereits Aciditätsunterschiede einer Größenordnung in Bezug auf die pK_S -Werte einen erheblichen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Racemisierung aufweisen. Interessanterweise verläuft die Racemisierung mit TBD (pK_S :26.03)^[268] langsamer als mit der schwächeren Base DBN (pK_S : 23.89)^[270]. Beide Experimente rahmen die Messpunkte mit der Base DBU (pK_S : 23.89)^[269] oben und unten ein. Das heißt die Deprotonierung und die Reprotonierung müssen auch separat betrachtet werden. Die stärkere Base deprotoniert sicherlich erwartungsgemäß schneller, aber gibt das Proton nicht wieder frei. Stattdessen weist die schwächere Base eine höhere Racemisierungsrate auf, weil die Reprotonierung des Carbanions **126** einfacher abläuft. Für einen Prozess müsste folglich ein Basenscreening durchgeführt werden, welches in eine Optimumsverteilung mündet. Die Basenstärke muss ausreichen, um ein benzylisches Imin wie **125** zu deprotonieren und gleichzeitig darf die Acidität der protonierten Base nicht zu gering sein, sodass die Reprotonierung des Carbanions **126** auch in ökonomischen Zeitskalen abläuft. Ein zeitaufwändiges Screening verschiedener Basen wird in diesem frühen Stadium des Projekts nicht durchgeführt. Stattdessen wird der Fokus auf die Acidität des Imins gelegt. Kann eine höhere Acidität des Imins die Racemisierungsgeschwindigkeit erhöhen? Um diese Frage zu beantworten, wird

(*S*)-1-Phenylethylamin **9** in Gegenwart katalytischer Mengen von 3,5-Dinitrosalicylaldehyd **128** und der Base DBU thermisch (190 °C) behandelt. In Abbildung 135 ist wie in den vorigen Abbildungen der Enantiomerenüberschuss gegen die Zeit aufgetragen. Interessanterweise wird eine vollständige Racemisierung bereits nach wenigen Stunden beobachtet.

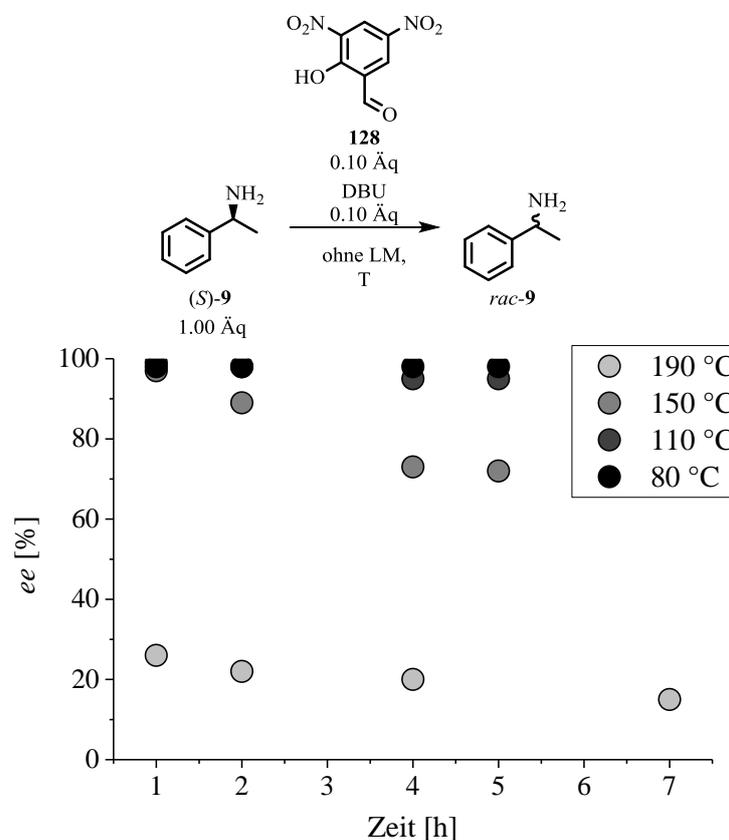


Abbildung 135: Racemisierung von 1-Phenylethylamin (*S*)-**9** in Gegenwart von 3,5-Dinitrosalicylaldehyd **128** und DBU.^[267]

Die hohe Racemisierungsgeschwindigkeit im obigen Experiment legt eine weitere Optimierung nahe. Wie oben bereits diskutiert, besteht bei der thermischen Belastung von 190 °C die Gefahr der (auch beobachteten) Nebenproduktbildung. Entsprechend wäre eine schonendere Methode sehr erstrebenswert. In Abbildung 135 sind neben dem Experiment bei 190 °C auch Experimente bei niedrigeren Temperaturen aufgetragen. Eine Senkung der Temperatur auf 150 °C erniedrigt die Racemisierungsgeschwindigkeit etwa auf ein Drittel. Bei 110 °C kann noch eine Racemisierung beobachtet werden allerdings werden bei dieser Temperatur wieder mehrere Tage zur vollständigen Racemisierung benötigt. Wird die Temperatur weiter auf 80 °C reduziert, kann keine *ee*-Wertveränderung mehr detektiert werden. Grundsätzlich zeigen die Experimente, dass eine Senkung der Reaktionstemperatur möglich ist, um das Amin vor Nebenreaktionen zu schützen. Allerdings wird bei höheren Reaktionszeiten das Nebenprodukt Acetophenon **8** beobachtet.

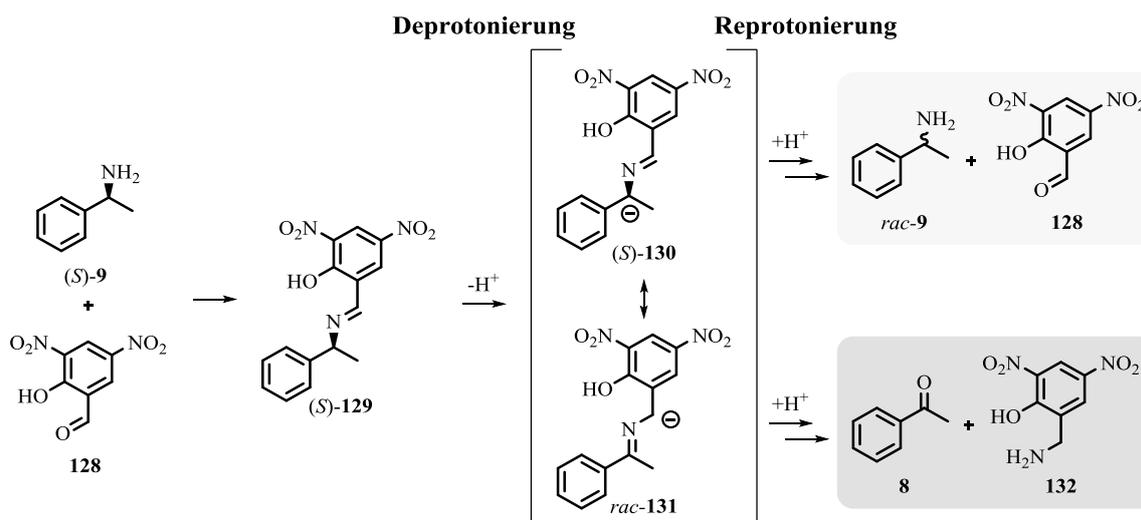


Abbildung 136: Reaktionspfad zum Nebenprodukt Acetophenon **8** während der Racemisierung in Gegenwart von 3,5-Dinitrosalicylaldehyd **128**.

Richtig überraschend ist die Nebenproduktbildung nicht, wenn der Reaktionspfad von Deprotonierung und Reprotonierung betrachtet wird (siehe Abbildung 136). Wie zu Beginn des Kapitels beschrieben bilden Carbonylverbindung und Amin zunächst eine *Schiff'sche Base*. Diese wird durch anschließende Resonanzstabilisierung relativ leicht deprotoniert. Während in den oben aufgeführten Beispielen immer zum Amin korrespondierende Carbonylverbindungen eingesetzt wurden, liegt hier eine andere Komponente vor. Im Beispiel oben war bei der Reprotonierung egal, in welcher Orientierung das Carbanion reprotoniert wird. Beim Einsatz von 3,5-Dinitrosalicylaldehyd entstehen verschiedene Produkte bei Reprotonierung in unterschiedlicher Orientierung. Wird die Benzyloposition des Ausgangsamins **130** reprotoniert, entsteht wie gewünscht das racemische Amin *rac-9*. Die Reprotonierung des Aldehyds führt dagegen zu den Nebenprodukten Acetophenon **8** und 3,5-Dinitro-2-hydroxybenzylamin **132**, die neben dem Ausbeuteverlust auch den Fortlauf der Reaktion negativ beeinflussen.

Obwohl die Nebenproduktbildung beobachtet wird, scheint jedoch eine vollständige Racemisierung möglich zu sein, sonst wäre das einleitende Experiment wohl viel früher zum Stillstand gekommen. Es konnte jedoch im Rahmen der Messzeit fast das Racemat von 1-Phenylethylamin erreicht werden, sodass es sich bei den in Abbildung 136 dargestellten Reaktionspfaden um reversible Reaktionen handeln muss. Eine Protonierung des Carbanions **131** in nicht gewünschter Orientierung verlangsamt die Racemisierung des Amins, kann die Reaktion aber nicht gänzlich aufhalten.

In diesem Kapitel konnte zunächst das Verfahren zur Racemisierung benzyliischer Amine der BASF reproduziert werden. Außerdem konnte ein detailliertes Verständnis der Reaktionspfade aufgebaut werden, welches eine weitere Optimierung des Prozesses (speziell für das eigentliche Substrat (S)-**51**) deutlich erleichtert. Außerdem konnte 3,5-Dinitrosalicylaldehyd **128** erstmalig auch zur Racemisierung von Aminen vorgestellt werden. Die bessere Aktivierung der Iminspezies **129** spiegelt sich in der

niedrigeren Reaktionszeit wider. Auf diese Weise besteht auch die Möglichkeit, eine Racemisierung bei Molekül schonenderen Temperaturen durchzuführen.

8.3.9. Oxadiazolaufbau

In diesem Kapitel wird der Aufbau des Heterozyklus von Ozanimod **29** intensiv analysiert und diskutiert. Oxadiazole sind Heterozyklen, die ein Sauerstoff- und zwei Stickstoffatome enthalten. Seit dem Jahr 2000 erfährt diese Heterozyklusklasse vermehrte Anwendung in Pharmazie, Pestizidchemie und Polymer- und Materialwissenschaften^[271] belegt durch die Häufung von Patentanmeldungen.^[272] Oxadiazole können in drei Regioisomeren auftreten (siehe Abbildung 137), wobei das rechte 1,2,5-Isomer deutlich weniger Anwendung findet.^[272] Ozanimod enthält den am häufigsten patentierten 1,2,4-Oxadiazolring im Zentrum des Moleküls.^[272]

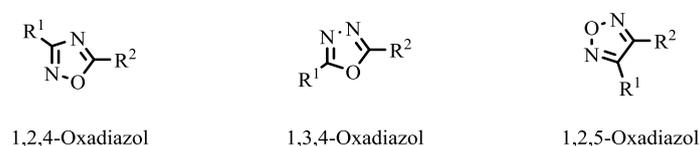


Abbildung 137: Mögliche Regioisomere von Oxadiazolen.

Die Synthese von 1,2,4-Oxadiazolen wird in der Literatur über fünf verschiedene Wege beschrieben.^[273] Eine Möglichkeit besteht in der *O*-Acylierung eines Amidoxims, welches anschließend zum Heterozyklus kondensiert wird. Hierbei werden Amidoxim und aktivierte Carbonsäure thermisch behandelt, um das 1,2,4-Oxadiazol freizusetzen.^[273,274] Deutlich seltener beschrieben wird die Heterozyklus Synthese über ein *N*-acyliertes Amidoxim, welches sich intermediär unter ganz bestimmten Molekülstrukturen bildet.^[275] Der Zerfall dieses Amidoxims zum Oxadiazol wird als sehr selektiv beschrieben, wobei die chemische Situation eher als Spezialfall zu sehen ist und deshalb selten Anwendung findet. In manchen Fällen eignet sich auch die Synthese über eine Oxidation eines zuvor hergestellten 4,5-Dihydro-1,2,4-oxadiazols.^[276] In der Literatur wird die Heterozyklus Synthese auch anhand von [3+2] Cycloadditionen beschrieben.^[277] Die fünfte bislang beschriebene Möglichkeit zur Bildung von 1,2,4-Oxadiazolen stellt die Umlagerung anderer Heterozyklen dar.^[278]

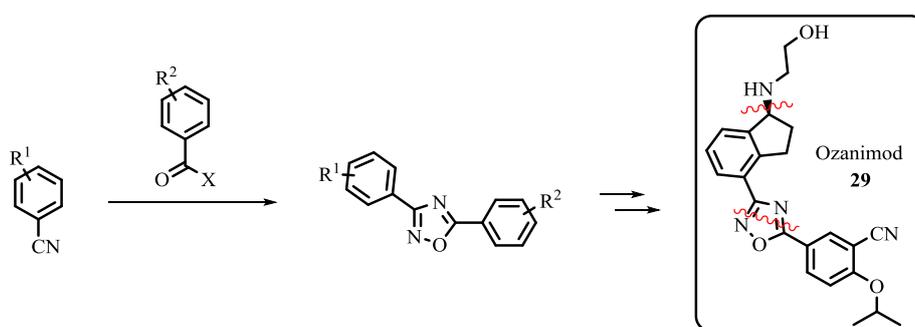


Abbildung 138: Aufbau von Oxadiazolringen aus Nitrilen und Carbonsäurederivaten.

In dieser Arbeit wird vorrangig der erstgenannte Weg untersucht, weil bei der großen Anwendungsbreite die Erfolgchancen für die geplante Synthese am höchsten sind. Das heißt Hydroxylamin wird in einem ersten Schritt an ein Nitril addiert. Zur Ressourchenschonung wird *ortho*-Tolunitril als elektronisch vergleichbares und Struktur verwandtes Molekül in den ersten Experimenten eingesetzt. Außerdem kann *ortho*-Tolunitril und deren Folgeprodukte sehr einfach NMR-spektroskopisch verfolgt werden, um eine besseres Verständnis der Reaktion zu erlangen. Die Addition von Hydroxylamin bzw. dessen Hydrochloridsalz wurde bereits vielfach in der Literatur beschrieben, wobei sich mehrere Bedingungen als günstig erwiesen.^[272,279,280] In einem ersten Experiment werden die Bedingungen an die von *Voros et al.*^[279] angelehnt. *Ortho*-Tolunitril **123** wird in Gegenwart von Hydroxylammoniumchlorid und EtOH zum Rückfluss erhitzt. Die aktive Spezies Hydroxylamin soll durch die Base Triethylamin freigesetzt werden. Hydroxylamin als freies Reagenz weist eine geringe Stabilität auf und kann in höheren Konzentrationen zur Explosion führen.^[281] Deshalb wird das Amin durch die Base *in situ* freigesetzt.

Nach 17 h wird die Reaktion extraktiv aufgearbeitet und das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch untersucht. In Abbildung 139 ist der prozentuale Anteil von Nitril **123**, dem Zielprodukt **133** und dem Nebenprodukt **124** dargestellt. Bei nahezu vollständigem Umsatz wird eine Produktmischung des Wunschprodukts **133** und dessen Nebenprodukt **124** etwa im Verhältnis 2:1 erhalten. Für ein erstes Experiment ist das Ergebnis durchaus zufriedenstellend aber der hohe Nebenproduktanteil motiviert die prinzipiell einfache Reaktion der Addition etwas genauer zu untersuchen. Verschiedene Parameter der Reaktion wie Zeit, Basenäquivalenz und Reinheit der eingesetzten Chemikalien wurden variiert (durchgeführt von *Nils Weißing* im Rahmen seiner *Bachelorarbeit*)^[282], um einen Hinweis auf die Nebenproduktbildungsrate zu bekommen (siehe Abbildung 140).

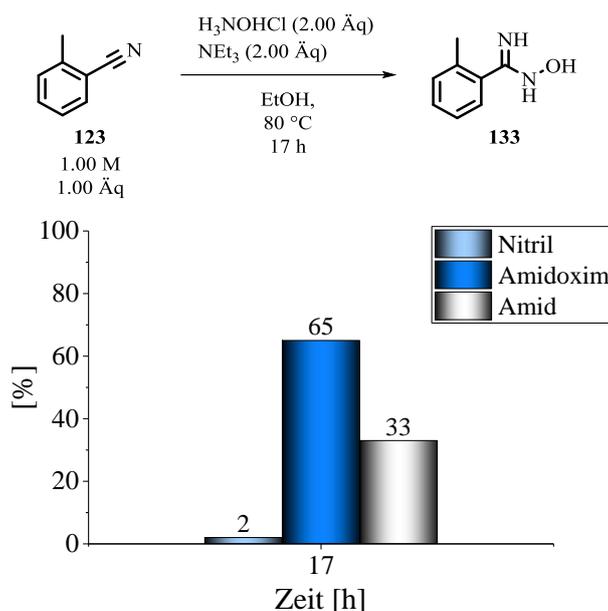


Abbildung 139: Addition von Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123**.

Auf der linken Seite in Abbildung 140 ist das oben vorgestellte Benchmark Experiment zum Vergleich aufgetragen. Eine Reduzierung der Base führt zu einer schnelleren Amidbildung. Obwohl die Reaktionszeit verkürzt wurde, bildeten sich bereits 32 % des Substrats zum Nebenprodukt **124**. Eine weitere Senkung der Basenäquivalenz ergab einen deutlich geringeren Umsatz, wobei die Produktverteilung 2:1 auf Seiten des Amidoxims **133** lag. In den folgenden Experimenten wurde untersucht, ob Wasser einen Einfluss auf die Reaktion nimmt. Getrockneter EtOH und der Einsatz von Schutzgas führt zu keiner wesentlichen Veränderung der Produktverteilung. Wasser scheint an dieser Stelle keinen Einfluss auf die Nebenproduktbildung zu nehmen.

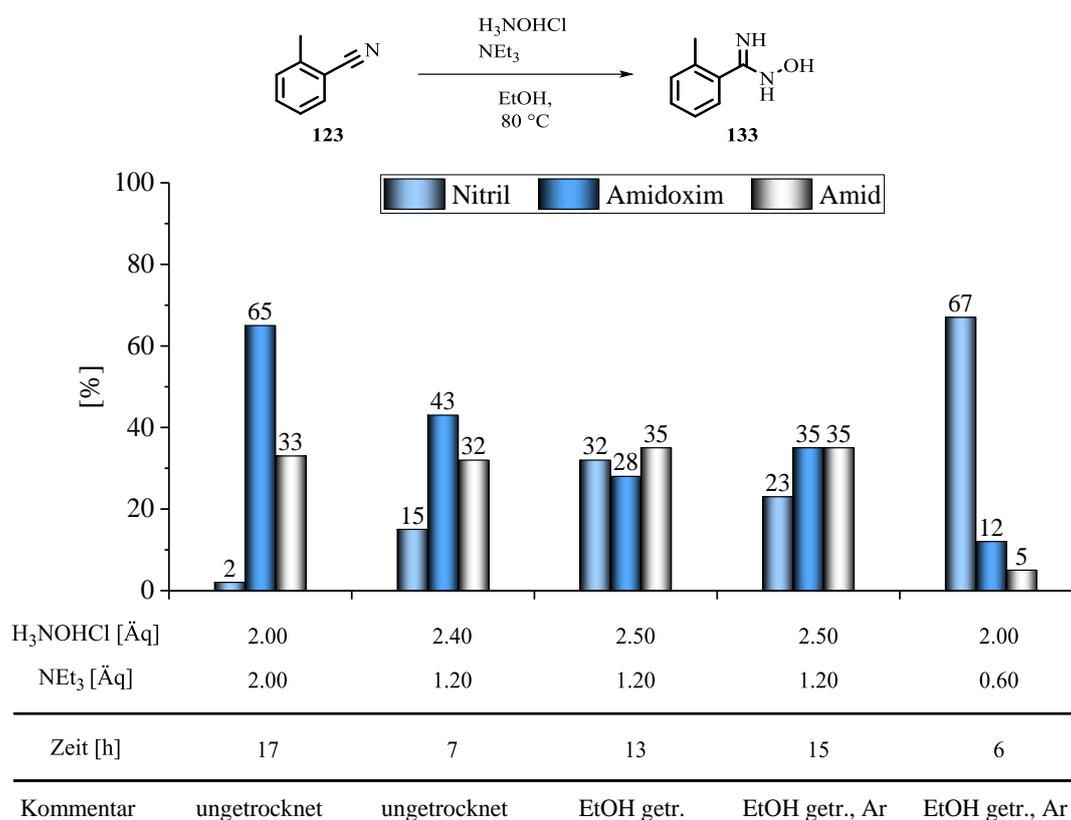


Abbildung 140: Parameterscreening für die Addition von Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123** in EtOH.^[282]

Eine weitere gängige Variante zur Synthese des Amidoxims **133** besteht im Einsatz von MeOH als Lösungsmittel und NaHCO₃ als Base zum Freisetzen des Hydroxylamins (angelehnt an *Schmidt et al.*)^[283]. Das polare Lösungsmittel löst neben dem Substrat auch eine gewisse Menge der Base, welche anschließend Hydroxylamin freisetzt.

Abbildung 141 zeigt, dass bei fast quantitativem Umsatz 72 % des Produkts dem gewünschten Amidoxim **133** entsprechen. 18 % des Rohprodukts werden durch das oben diskutierte Nebenprodukt **124** abgebildet. Auf diese Weise gelingt bereits eine Steigerung des Produktverhältnisses zu Gunsten des Amidoxims **133**. Interessanterweise lag der Nebenproduktanteil zwei Stunden vor Abbruch der Reaktion noch unter 5 %. Zu diesem Zeitpunkt lag der Umsatz bei 50 % und entsprechend

günstiger war das Produkt/Nebenproduktverhältnis. Höhere Reaktionszeiten führen zu einer Senkung des Zielproduktanteils. Offensichtlich gibt es für das Amidoxim einen Reaktionspfad, über den es nach der Addition von Hydroxylamin zum Amid **124** abreagieren kann. Aufgrund der permanenten Zunahme des Amidanteils scheint eben dieses in einer thermodynamischen Senke zu liegen.

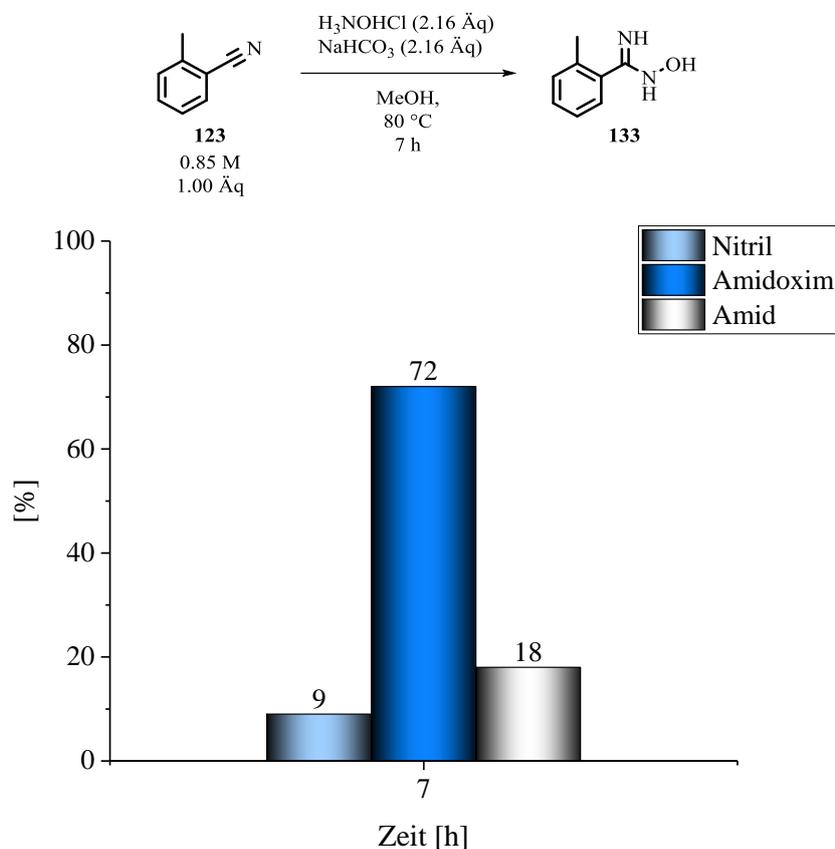


Abbildung 141: Addition von Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123** in MeOH.^[282]

Um die Reaktion kinetisch zu kontrollieren und so das sich schnell bildende Amidoxim abzufangen wird die Temperatur abgesenkt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 142 dargestellt. Zunächst verläuft die Reaktion wie geplant. Das Substrat **123** wird zum gewünschten Amidoxim **133** umgesetzt und das Nebenprodukt wird in deutlichem Unterschuss gebildet. Bei einem Umsatz über 50 % wird die Reaktion allerdings sehr langsam gegenüber der Anfangsgeschwindigkeit und kommt nach 300 h fast zum Erliegen. Auf diese Weise kann die Nebenproduktbildung deutlich gesenkt werden, aber ein vollständiger Umsatz scheint unter diesen Bedingungen nicht möglich zu sein.

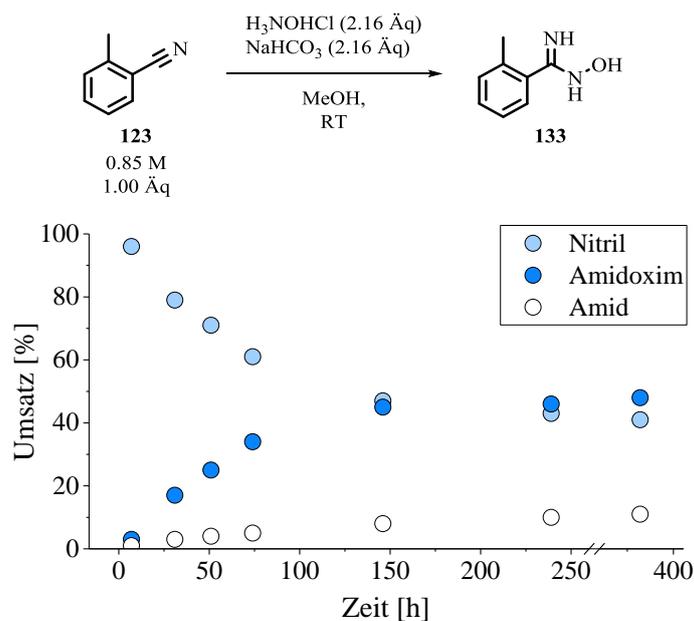


Abbildung 142: Addition von Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123** in MeOH.

Weißing^[282] konnte in seiner Arbeit zeigen, dass die Amidbildung nicht durch Wasser, durch die Extraktion und auch nicht durch atmosphärische Luft zu begründen ist. Im folgenden Experiment wird untersucht, ob Hydroxylamin auf die Amidbildung Einfluss nimmt. Dazu wird ein Gemisch mit bekanntem Verhältnis aus Amidoxim **133** und Amid **124** den oben genannten Reaktionsbedingungen (80 °C) ausgesetzt. Nach 15 h wird die Mischung extrahiert und die Zusammensetzung NMR-spektroskopisch bestimmt. Wie in Abbildung 143 gezeigt, hat sich das Verhältnis von Amidoxim **133** und Amid **124** (66:33 zu Beginn der Simulation) auf die Seite des Amids **124** verschoben. Das heißt für die Nebenproduktbildung bei der Addition von Hydroxylamin ist eben dieses selbst verantwortlich.

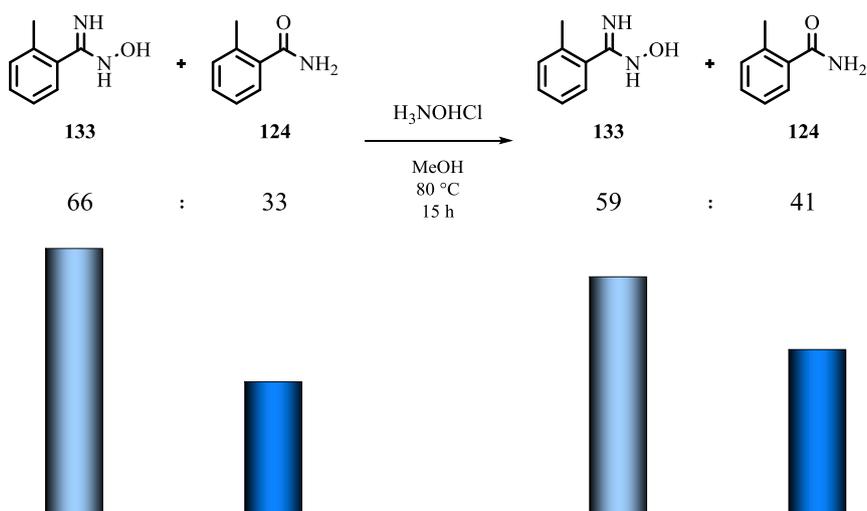


Abbildung 143: Simulation zur Nebenproduktbildung bei der Addition von Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123**.

Dieses Ergebnis steht auch im Einklang mit allen vorangegangenen Versuchen, Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123** zu addieren (siehe Abbildung 140 und Abbildung 144). Zu Beginn der Reaktionen bildet sich bevorzugt das gewünschte Amidoxim **133**, welches in Gegenwart von Hydroxylamin zum Amid **124** zerfällt. Aus einer hohen Konzentration Amidoxim **133** folgt eine hohe Abbaurrate zum Amid **124**, sodass bei vollständigem Umsatz des Nitrils substrates **123** bereits ein großer Teil des Zielprodukts **133** zum Amid abgebaut ist (siehe Abbildung 144).

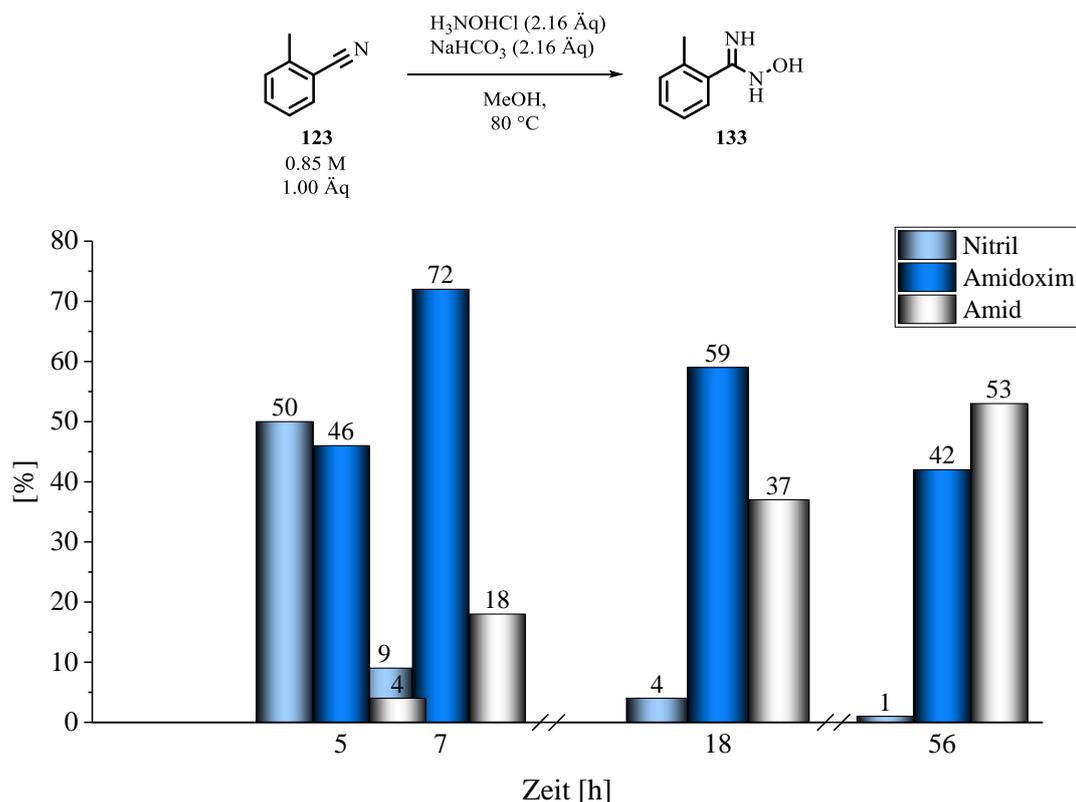


Abbildung 144: Addition von Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123** in MeOH.^[282]

Mit dem in den letzten Abschnitten gewonnenen Erkenntnissen wird im Folgenden versucht eine technische Lösung für die Vermeidung der Nebenproduktbildung vorzustellen. Die Addition von Hydroxylamin an das Nitril **123** findet kinetisch bevorzugt statt. Das heißt solange die Hydroxylamin Konzentration ausreichend gering im Verhältnis zum Amidoxim ist, wird die Amidbildung unterdrückt. Das kann durch die in Abbildung 145 gezeigte Versuchsreihe belegt werden. Alle Experimente wurden in einer 8 stündigen Reaktionszeit durchgeführt. Die Äquivalenz von Hydroxylamin aus den obigen Experimenten wurde beibehalten, wobei sie in gleichen Teilen nach gegebenen Zeiten dosiert wurde. Das heißt, im ersten Experiment wurde stündlich 1/8 der Stoffmenge Hydroxylamins aus den obigen Experimenten zur Reaktionsmischung gegeben. So war die Konzentration während der gesamten Reaktion des freien Hydroxylamins am geringsten, was durch das gute Verhältnis von Wunschprodukt **133** und Amid **124** bestätigt wird. Dagegen besteht zum Beispiel bei 4 stündlicher Dosierung (und entsprechend vierfacher Menge Hydroxylamin) bereits nach 8 h ein Drittel der

Produktmischung aus Amid **124**. Mit diesem Verständnis kann der Transfer zum eigentlichen Substrat durchgeführt werden, welcher im zeitlichen Rahmen des Projekts nicht mehr durchgeführt wurde. Eine Ausbeute wird wahrscheinlich von der elektronischen Struktur und entsprechender Neigung zum Nebenprodukt abhängen (siehe Literatur^[283,284]), sollte aber nach den obigen Experimenten optimal durchgeführt werden können.

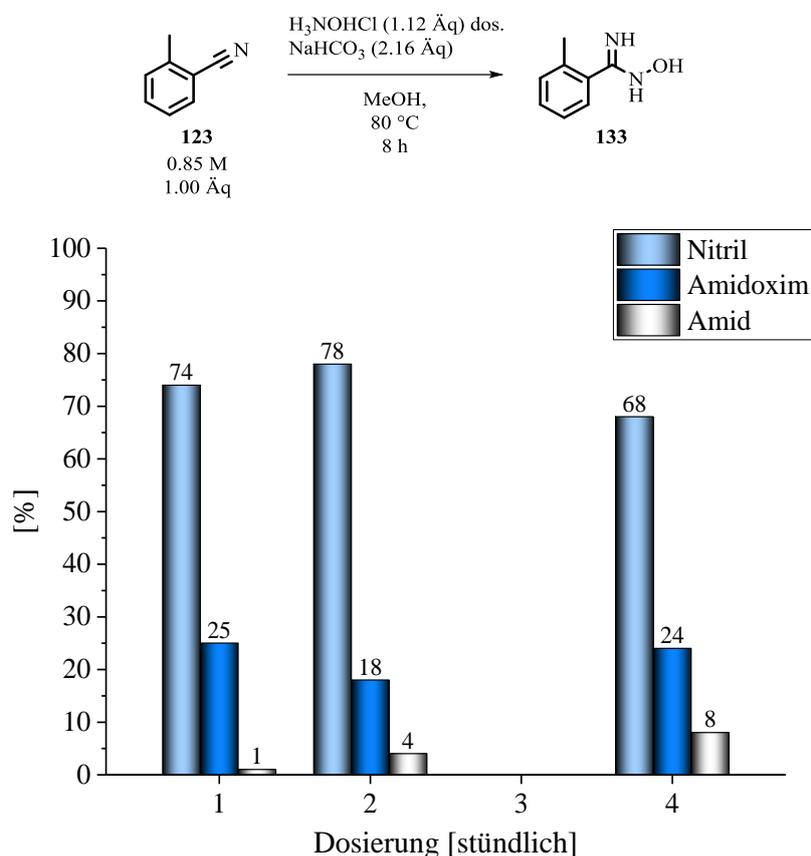


Abbildung 145: Addition von Hydroxylamin an *ortho*-Tolunitril **123**, wobei Hydroxylamin dosiert wird, um die Nebenproduktbildung zu vermeiden.

Mit der letzten Versuchsreihe konnte eine technische Lösung zur Vermeidung der Amidbildung bei der Addition von Hydroxylamin an ein Nitril vorgestellt werden, sodass nun auf die Bildung des Oxadiazols eingegangen werden kann. Wie oben bereits beschrieben, gibt es in der Literatur eine Vielzahl von Beispielen für den Ringschluss aus Amidoxim und aktivierter Carbonsäure.^[273] In diesem Fall wurde entschieden, das Amidoxim mit einem Säurechlorid zu kondensieren (angelehnt an *Chiou et al.*^[285] und durchgeführt von *Weißing*^[282]). Auch hier wurde zur Ressourcenschonung mit einem Modellsubstrat gearbeitet. Desweiteren kann das Modellsubstrat *para*-Fluorbenzoesäurechlorid **111** sehr gut ¹⁹F-NMR-spektroskopisch verfolgt werden, um ein besseres Verständnis der Reaktion zu erhalten.

Das Amidoxim **133** wurde als Gemisch mit dem oben diskutierten Nebenprodukt (Amid **124**) eingesetzt, weil es mit keiner gängigen Reinigungsmethode gelungen ist, das Amidoxim allein zu isolieren. Im ersten Experiment zur Kondensation von Amidoxim **133** und Säurechlorid **111** zeigte sich, dass bezogen

auf das eingesetzte Amidoxim quantitativer Umsatz und eine Ausbeute von 95 % erzielt wurden (siehe Abbildung 146). Das Oxadiazol kann auch einfach chromatografisch von der eingesetzten Verunreinigung des Amids **124** abgetrennt werden.

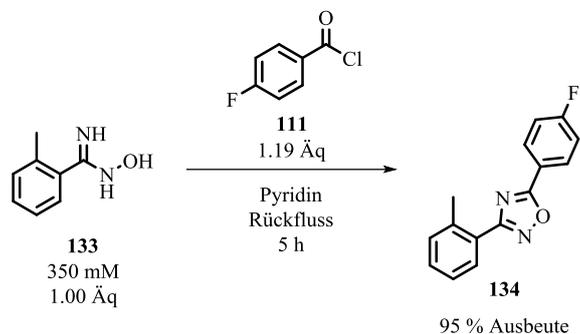


Abbildung 146: Kondensation von Amidoxim **133** und Säurechlorid **111** zum 1,2,4-Oxadiazol **134**.^[282]

In den Experimenten zur Synthese von Amidoxim **133** zeigte sich, dass die Ausbeute des Amidoxims abhängig von der Zeit und des korrespondierenden Umsatzes in einer Maximumskurve verläuft und die Reaktion zur optimalen Ausbeute vor einem vollständigen Umsatz abgebrochen wird. *Weißing* konnte in seiner Arbeit abschließend zeigen, dass Rückstände des Nitrils **123** aus der Addition von Hydroxylamin keinen Einfluss auf die Oxadiazolzyklisierung haben.^[282] So kann das Rohprodukt nach der Addition von Hydroxylamin direkt für die Zyklisierung des Oxadiazols eingesetzt werden. Die Nebenprodukte (Nitril **123** und Amid **124**) werden nach dem Ringschluss abgetrennt und analog zu Abbildung 147 zurück in den Gesamtprozess geführt. Auf diese Weise gehen die Nebenprodukte nicht verloren und können im Sinne der Nachhaltigkeit weiter im Prozess eingesetzt werden.

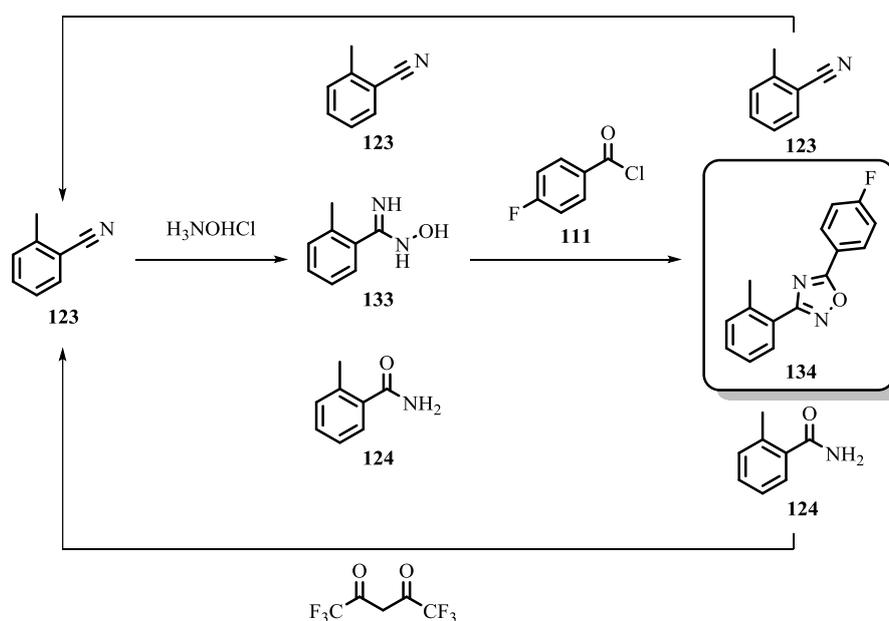


Abbildung 147: Rückführung der Nebenprodukte aus der Synthese des Amidoxims **133**.^[282]

8.4. Bewertung der erarbeiteten Synthesen

In diesem Kapitel werden die zuvor erarbeiteten Synthesen im Vergleich zu der etablierten Route von Receptos zu 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51** diskutiert.^[148] Dabei sollen Vor- und Nachteile beider Routen herausgearbeitet werden. In Abbildung 148 sind noch einmal die einzelnen Schritte der Synthese ausgehend von Naphthalin **56** und analog dazu die Route ausgehend von 4-Bromindanon **30** aufgezeigt. Naphthalin **56** wird unter milden Bedingungen selektiv reduziert und anschließend in das thermodynamisch bevorzugte Molekül **55** umgelagert. In einer oxidativen Doppelbindungsspaltung wird die Disäure **106** erhalten, welche mit *Friedel-Crafts*-Chemie in das Indanongerüst **107** überführt wird. Die verbleibende Säurefunktionalität wird zum Nitril **31** derivatisiert und anschließend das Indanongerüst reaktiv aminiert. Das racemische Amin **51** wird mit einer Lipase in seine Enantiomere gespalten. Das gewünschte Amin (*S*)-**51** wird isoliert, während das Nebenprodukt (*R*)-**105** racemisiert und in den biokatalytischen Schritt zurückgeführt wird (Abbildung 148 oben).

Demgegenüber steht die Route von *Receptos*[®], welche ausgehend von 4-Bromindanon **30** eine Substitution zur Einführung der Nitrilfunktion vorsieht und anschließend mit *Elman's* Auxiliar eine asymmetrische reduktive Aminierung beschreibt (siehe Abbildung 148 unten).

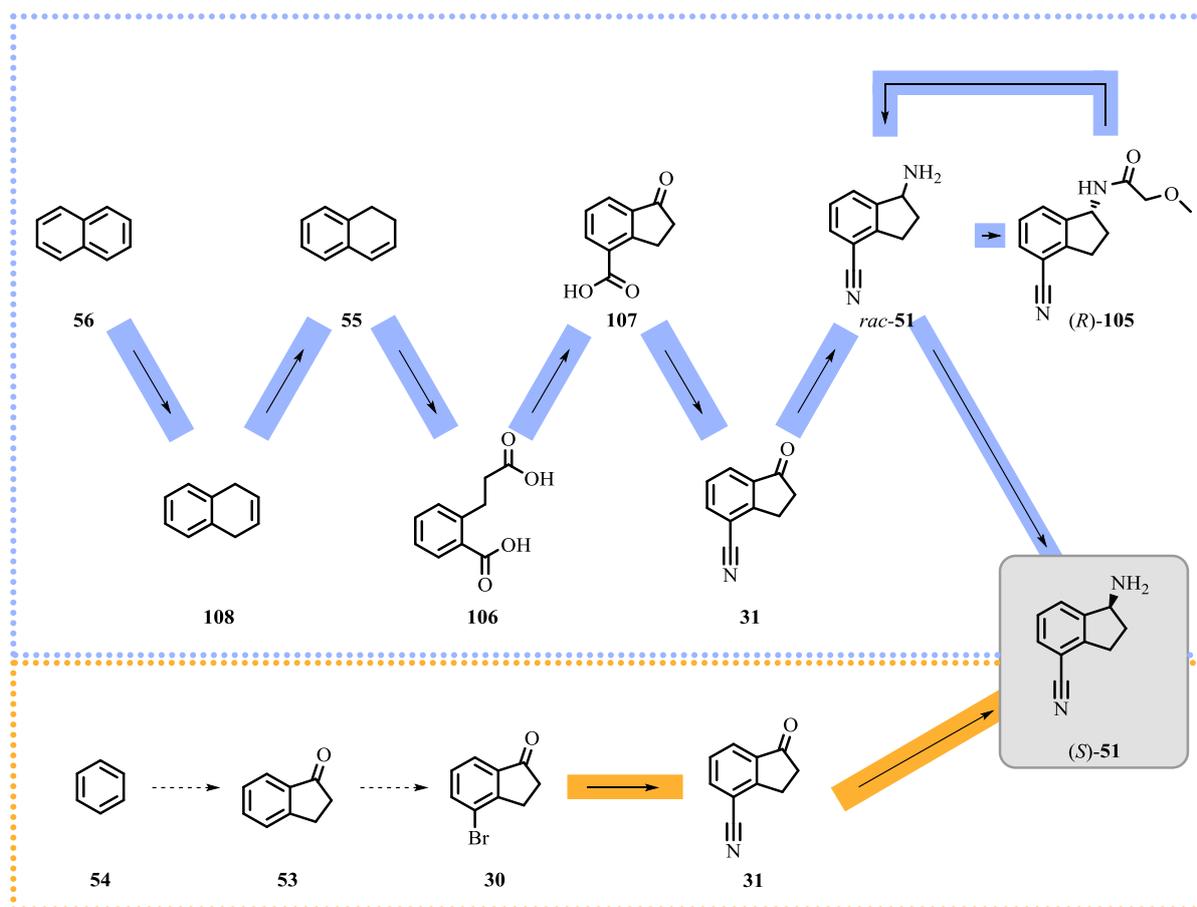


Abbildung 148: Gegenüberstellung der *Receptos* Route und der neuen Naphthalinroute.

Wie in Kapitel 3.2 beschrieben, beinhaltet die *Receptos* Route einige kostenintensive und gefährliche Chemikalien, welche den Syntheseweg in der Anwendung weniger attraktiv aussehen lassen. Außerdem treiben teilweise geringe Ausbeuten den Preis des Produkts in die Höhe.

In Abbildung 149 werden die relativen Preise für 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51** nach beiden Routen miteinander verglichen. Zur Berechnung wurden die Katalogpreise von *Alfa Aesar* wenn möglich, sonst von *Sigma Aldrich* verwendet, um möglichst transparente Werte zu erhalten. In die Kalkulation mit eingeflossen sind, die Reagenzäquivalente und die experimentellen Ausbeuten. Rezyklisierungen von nicht umgesetzten Chemikalien wurden nicht berücksichtigt. Entsprechend kann die Kalkulation für die Naphthalin Route als eine „worst case“ Berechnung gesehen werden. Die kinetische Racematspaltung wurde in der Form berücksichtigt, dass das gewünschte Enantiomer mit einer Ausbeute anhand der oben durchgeführten Experimente auf der Habenseite summiert wurde mit der Summe der Ausbeuten aus der Rezyklisierung über die Racemisierung. Dies ergab einen Grenzwert sowohl für die Ausbeute als auch für die Rohstoffmengen, welche letztendlich in der Kalkulation sichtbar werden. Die Hydrolyse des nicht gewünschten Enantiomers (*S*)-**105** wurde mit keinem experimentellen Ergebnis belegt, sondern orientiert sich für die Berechnung direkt an der Literatur.^[253]

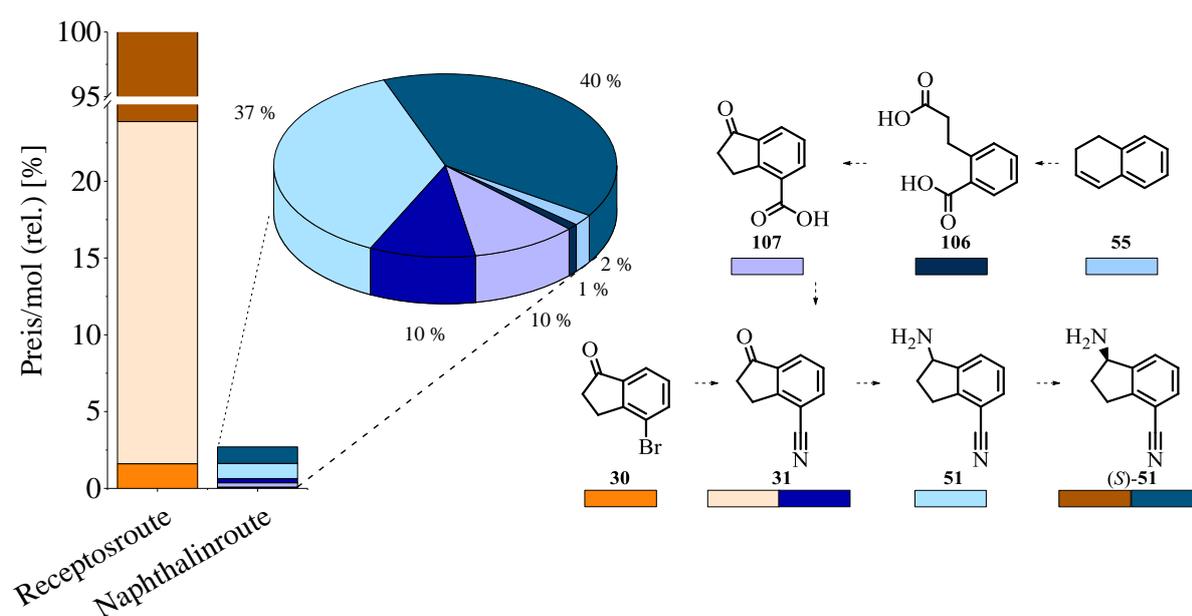


Abbildung 149: Rohstoffkostenvergleich der neuen Syntheseroute ausgehend von Naphthalin **56** und der von *Receptos*.

Abbildung 149 zeigt auf der linken Seite den relativen Preis/mol von 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51** (links die etablierte Route von *Receptos* und rechts die neue Route ausgehend von Naphthalin **56**). Der Preis nach der *Receptos* Route ist normiert auf 100%. Bei diesem Kostenvergleich fällt auf, dass durch die neue Route die Kosten beim Rohstoffeinkauf um fast zwei Größenordnungen gesenkt werden können. Der neue Preis vom enantiomerenreinen Amin (*S*)-**51** liegt bei etwa 2.5% im Vergleich zur

alten Route. Wie bereits einleitend diskutiert ist das bromierte Indanon **30** kein günstiges Ausgangsmaterial. Bei den entstehenden Kosten kann nach der neuen Route schon fast das Zielprodukt (*S*)-**51** synthetisiert werden. Die neue Route bietet aber auch in der Detailansicht beachtliche Vorteile. Der Schlüsselschritt mit der Einführung des Stereozentrums wurde von *Receptos* durch *Elman's Auxiliar* gelöst. Abbildung 149 zeigt, dass drei Viertel der Produktionskosten vom enantiomerenreinen Amin (*S*)-**51** in die asymmetrische reduktive Aminierung fließen. Hier wurde der kleine Umweg einer nicht selektiven reduktiven Aminierung mit anschließender biokatalytischer Racematspaltung gewählt. Durch Racemisierung kann auch das nicht gewünschte Enantiomer (*R*)-**51** wieder in den Gesamtprozess zurückgeführt werden. Dieser alternative Weg führt zu einer Rohstoffkostensenkung von 97 % bei dem asymmetrischen Schlüsselschritt.

Rechts neben dem Balkendiagramm zeigt ein Tortendiagramm die relative Kostenverteilung der einzelnen Syntheseschritte nach der neuen Syntheseroute (siehe Abbildung 149 Mitte). Ähnlich wie bei der alten Route ist asymmetrische reduktive Aminierung mit zwei Dritteln der Gesamtkosten ein kostenintensiver Schritt. Ein wesentlicher Grund dafür ist die hohe Äquivalenz des Zinks bei der Ketoximreduktion zum Amin *rac*-**51**. Der biokatalytische Schritt, welcher preislich in gleicher Größenordnung liegt, wird durch den Katalysator und die Reagenzien bei der Rezyklisierung kostenintensiv. Hier wird es allerdings nur wenig Möglichkeiten zur Verbesserung geben, während die reduktive Aminierung vielleicht besser auf anderem Wege durchgeführt wird.^[286] Diese Untersuchungen konnten jedoch im Rahmen des Projekts aus apparativen und zeitlichen Gründen nicht mehr durchgeführt werden. Den zweiten aufwändigen Reaktionsschritt stellt die Zyklisierung zum Indanon **107** dar. Hier werden die Rohstoffkosten hauptsächlich durch die geringe Ausbeute in die Höhe getrieben. Die anderen Teilschritte leisten einen eher geringen Beitrag zu den Kosten des Gesamtprozesses.

Abschließend soll die Abfallmenge beider Prozesse bilanziert werden, da Abfallwirtschaft und daraus resultierende Nachhaltigkeit an Wichtigkeit in der Gesellschaft immer weiter zunehmen. In Abbildung 150 werden zu den beiden vorgestellten Prozessen jeweils zwei Tortendiagramme dargestellt. Im oberen Teil wird die Abfallverteilung inklusive der Lösungsmittel aufgeführt. In den meisten Fällen können die Lösungsmittel jedoch durch Destillation und ggf. Aufbereitung in den Prozess zurückgeführt werden und erzeugen entsprechend weniger bis gar keinen Abfall. Deshalb werden auch die Verteilungen ohne Berücksichtigung der Lösungsmittel darunter angegeben.

Naphthalinroute

Receptosroute

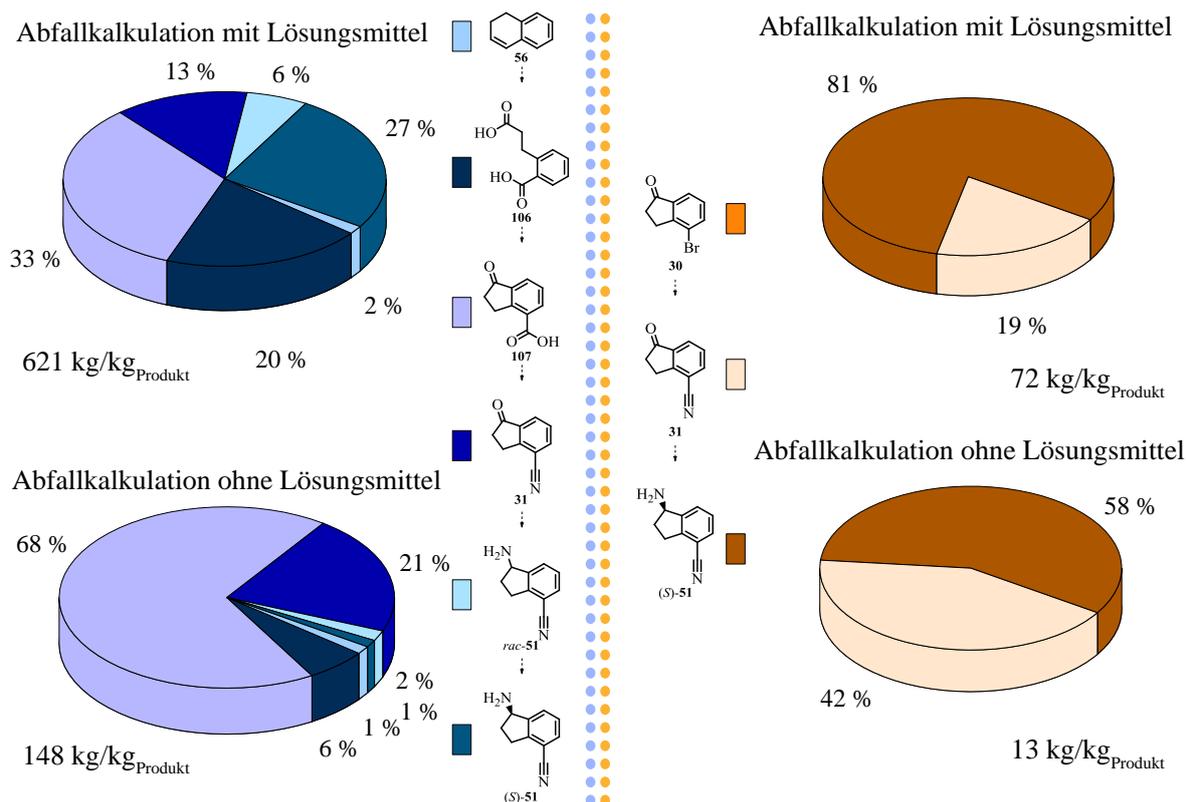


Abbildung 150: Abfallkalkulation für die beiden diskutierten Synthesen zu 4-Cyano-1-aminoindan (S)-51.

Nach der neuen Synthese werden pro kg Produkt auch 621 kg Abfall erhalten. Darin inbegriffen sind auch die Lösungsmittel der einzelnen Stufen. Bei Rückintegration der Lösungsmittel in den Prozess und gleichzeitige Abfallvermeidung sinkt dieser Wert auf 148 kg/kg_{Produkt}. Damit wird bereits auf diesem frühen Stand der Entwicklung ein E-Faktor erreicht, der für diese Produktklasse typisch ist (siehe Tabelle 3).^[287] Den linken Tortendiagrammen kann auch entnommen werden, welche Reaktionen in sehr niedriger Konzentration durchgeführt werden. Je niedriger die Substratkonzentration während der Reaktionen ist, desto kleiner ist der prozentuale Anteil in der Abfallverteilung ohne Lösungsmittel. Besonders deutlich wird dieser Zusammenhang am Beispiel der oxidativen Doppelbindungsspaltung zur Disäure **106**. Bei Rezyklisierung der Lösungsmittel sinkt der Anteil des Gesamtabfalls von 20 % auf 6 %. Dasselbe wird bei der Racematspaltung mit angeschlossener Racemisierung beobachtet. Hier fällt der prozentuale Anteil ohne Lösungsmittel von 27 % auf 2 %. Der größte Teil des Abfalls wird bei dem Ringschluss zum Indanongerüst **107** gebildet. Das liegt an der nur aufwändig zu rezyklisierenden Schwefelsäure. Neben der hohen Dichte sorgen auch niedrige Substratkonzentrationen für hohe Abfallmengen. Dieser Schritt bedarf weiterer Entwicklung.

Tabelle 3: Typische E-Faktoren in Abhängigkeit unterschiedlicher Industriezweige.^[287]

Industrie-Segment	Jahrestonnage	E-Faktor [kg _{Abfall} /kg _{Produkt}]
Öl-Raffinierung	10 ⁶ -10 ⁸	<0.1
Bulk-Chemikalien	10 ⁴ -10 ⁶	<1-5
Feinchemikalien	10 ² -10 ⁴	5-50
Pharmazeutika	10-10	25->100

Im Vergleich zu der Receptosroute liegen die Abfalltonnagen der neuen Route wie erwartet deutlich höher. Bei mehr Syntheseschritten entsteht in der Regel auch mehr Abfall. Sowohl inklusive als auch exklusive der Lösungsmittel liegt der E-Faktor des neuen Syntheseweges etwa 10 mal über dem des Receptosprodukts. Dabei wird allerdings die Herstellung von 4-Bromindanon **30** nicht berücksichtigt. Dieses muss in einer wenig selektiven Bromierung verbunden mit niedriger Ausbeute hergestellt werden, welcher ebenfalls eine große Abfallmenge folgt (zum Beispiel nach Lit.^[288]). Nach den aktuellen Preisübersichten^[289] für gewerbliche Abfallentsorgung steht der finanzielle Aufwand der neuen Route in keinem Verhältnis zu den sehr viel niedrigeren Rohstoffkosten, sodass von einem interessanten und perspektivreichem Weg gesprochen werden kann.

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass die retrosynthetische Neuerschließung von 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51** als Schlüssel-molekül zum Aufbau von Ozanimod auch auf dem frühen Entwicklungsstand sehr attraktiv ist. Obwohl die einzelnen Syntheseschritte noch nicht den Wunschausbeuten und -bedingungen entsprechen, konnte ein konkurrenzfähiger Prozess aufgezeigt werden. Die Ziele einen Weg zu finden, in dem das Stereozentrum unter milden Bedingungen eingeführt wird, und gleichzeitig hochtoxische Reagenzien wie Zn(CN)₂ zu umgehen, wurde mit Erfolg vorgestellt.

9. Zusammenfassung und Ausblick

Als Abschluss der Diskussion aller experimentellen Ergebnisse werden in diesem Kapitel die Schlüsselerkenntnisse noch einmal zusammengefasst. Angeschlossen an die Zusammenfassung der beiden Teilthemen „Chemoenzymatische Prozesse“ und „Ozanimod“ wird die aus den beiden Projekten entstandene Sichtbarkeit der Arbeit aufgezeigt.

9.1. Chemoenzymatische Prozesse

Ziel in diesem Projekt war die Entwicklung einer Eintopfreaktion aus chemisch katalysierter Wacker-Oxidation und einer biokatalytischen reduktiven Aminierung. Diese beiden Reaktionen entsprechen formal einer asymmetrischen Addition von Ammoniak an ein nicht funktionalisiertes Alken. Im Laufe der Arbeit zeigte sich, dass sowohl die Transaminase als auch die Amindehydrogenase als mögliche Enzyme für eine biokatalytische reduktive Aminierung von den Kupferionen der Wacker-Oxidation inhibiert werden. Durch Kompartimentierung mit Hilfe einer PDMS-Membran konnte eine Lösung vorgestellt werden, die den chemoenzymatischen Eintopfprozess ohne Umsatzverluste erlaubt. Mit der Transaminase wurde durch dieses Konzept erstmalig die formale asymmetrische Addition von Ammoniak an ein Alken in der Literatur beschrieben (siehe Abbildung 151, System I). Angeschlossen an die Wacker-Oxidation diente L-Alanin (S)-**10** als Amindonor und wird in einer biokatalytischen Kaskade zu Lactat (S)-**13** umgesetzt.

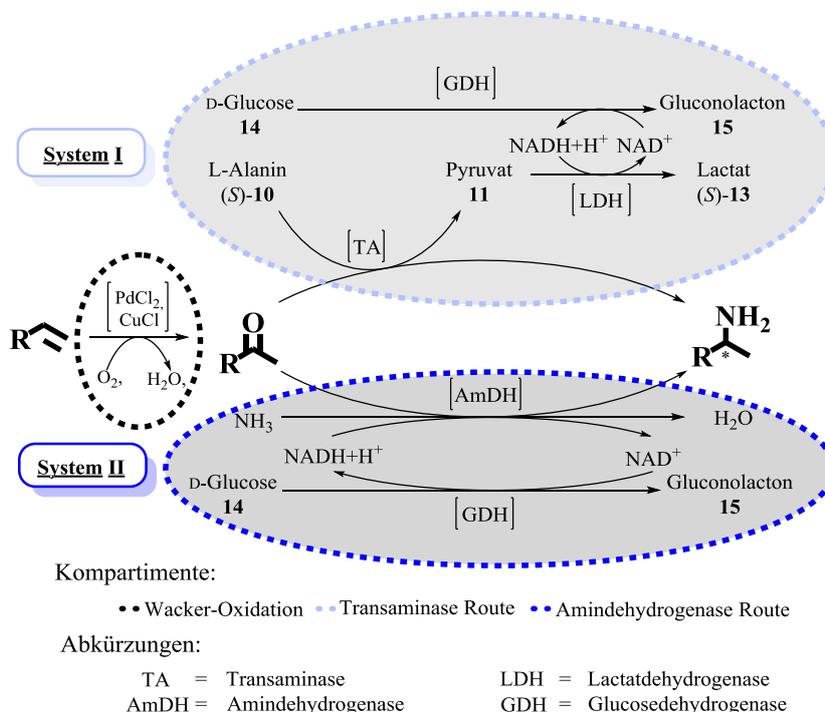


Abbildung 151: Konzepte zur Kombination von Wacker-Oxidation und biokatalytischer reduktiver Aminierung als Eintopfreaktion.

Mit dem neueren Enzym der Amindehydrogenasen konnte ein System vorgestellt werden, welches der Addition von Ammoniak an ein Alken noch näher kommt. Die Amindehydrogenase kann Carbonylverbindungen mit Ammoniumionen in Gegenwart eines Reduktionsmittels (NADH) reaktiv aminieren (siehe Abbildung 151, System II). Durch das zweite Enzym wird auch das Substratspektrum, welches mit diesem Konzept zugänglich ist, deutlich erweitert.^[72,170,85,290,86,84]

Die Kompartimentierung durch das weiche PDMS-Material stellt im analytischen Maßstab eine gute Lösung dar. Um dieses Konzept jedoch synthetisch anzuwenden, müssen am Reaktor einige technische Veränderungen vorgenommen werden. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass ein Drahtgitter die notwendige Stabilität bringt und mit spezieller Coatingtechnik gelingt auch der erfolgreiche chemoenzymatische Eintopfprozess. Einfacher hinsichtlich des Handlings war ein ummantelter Glasreaktor, der jedoch durch wenige und ungünstige Lochpositionen unvorteilhafte Diffusionseigenschaften aufweist. Darüber hinaus konnte auch gezeigt werden, dass die Veränderung des Oberfläche zu Volumenverhältnisses keinen Einfluss auf die Durchführung der heterogenen Wacker-Oxidation hat. So kann bei der Reaktorkonstruktion ein für die Diffusionsgeschwindigkeit des Zwischenprodukts vorteilhafter kleiner Radius mit großer Höhe gewählt werden.

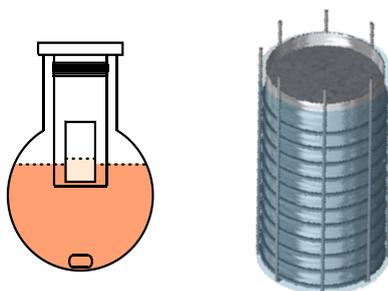


Abbildung 152: Reaktorkonstruktionen im analytischen und präparativen Maßstab.

Die Amindehydrogenase wurde auch dahingehend untersucht, ob eine Umsetzung analog zu der Transaminase möglich ist. Auf diese Weise vereinfacht sich das in biokatalytische Tandemkonzept aus AmDH und GDH zu einem Ein-Enzym-System (siehe Abbildung 151). Als Stickstoffquelle wird ein Amin eingesetzt, welches sowohl Stickstoffdonor als auch Reduktionsmittel darstellt. Mit geeigneten Donoren konnten hier quantitative Umsätze erreicht werden und somit das biokatalytische System weiter vereinfacht werden. Neben dem gezeigten Beispiel konnte auch der Umsatz von Isopropylamin als Redoxäquivalent grundlegend gezeigt werden. So könnte in Zukunft eine neue synthetische Plattform geschaffen werden.

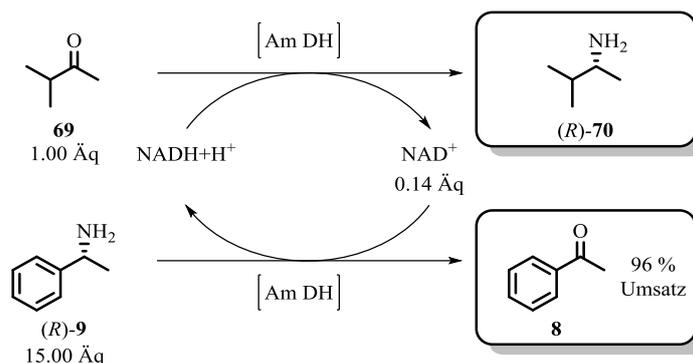


Abbildung 153: Biokatalytische Transaminierung mit einer Amindehydrogenase.

Mit den erfolgreich durchgeführten Tandemreaktionen konnte nicht nur ein Zugang zu den beiden unterschiedlichen Enantiomeren von 1-Phenylethylamin **9** aufgezeigt werden, sondern auch eine synthetisch robuste Plattform vorgestellt werden, die modular bezogen auf die gewünschte Anforderung eingesetzt werden kann. Maßgeschneidert auf das Zielmolekül können die Reaktionskomponenten kombiniert werden, um synthetischen Zugang zu den gewünschten Verbindungen zu erhalten (siehe Abbildung 154).

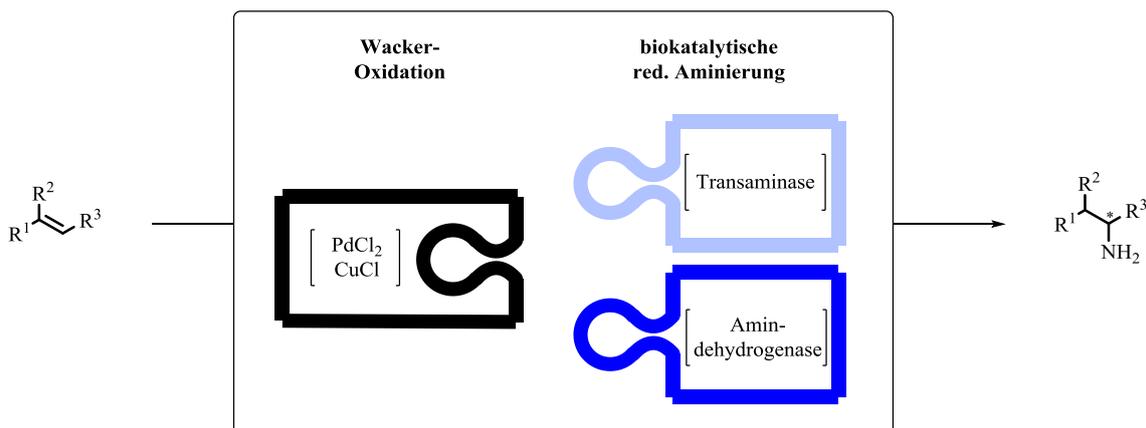


Abbildung 154: Modulares System der in dieser Arbeit vorgestellten formalen asymmetrischen Addition von Ammoniak an ein nicht funktionalisiertes Alken.

9.2. Ozanimod

Im Rahmen des Ozanimod Projekts wurde die Herstellung des chiralen Amins (*S*)-**51**, welches als Schlüsselbaustein des Wirkstoffs Ozanimod **29** zu sehen ist, retrosynthetisch neu erschlossen. Dabei galt es die bislang eingesetzten toxischen Cyanide und sehr kostenintensiven Reagenzien zur asymmetrischen reduktiven Aminierung zu vermeiden. Mit einer innovativen Ausgangsverbindung ist es gelungen eine Synthese vorzustellen, die neben den erreichten genannten Zielen auch auf einem sehr günstigen Ausgangsrohstoff basiert (siehe Abbildung 155). Bis zu dem Schlüsselbaustein (*S*)-**51** konnten alle Reaktionsschritte erfolgreich durchgeführt werden. Dabei wurde Naphthalin **56** selektiv zu

Dihydronaphthalin **108** reduziert. Das falsche Regioisomer konnte erfolgreich in das für die Gesamtsynthese relevante Isomer **55** umgelagert werden. Mit Kaliumpermanganat wurde die isolierte Doppelbindung gespalten und die Disäure **106** gewonnen. Mit Schwefelsäure wurde ein Katalysator und Lösungsmittel für den *Friedel-Crafts* artigen Ringschluss vorgestellt, der zum Indanongerüst **107** führt. Die freie Säure wird zum Nitril funktionalisiert ohne toxische Cyanide zu benötigen. Die anschließende reduktive Aminierung wurde nicht stereoselektiv über ein Ketoxim mit Zink durchgeführt. Das racemische Amin *rac*-**51** wurde mit Hilfe einer Lipase in die Enantiomere geteilt. Das gewünschte Isomer (*S*)-**51** wurde isoliert, während das Andere nach Hydrolyse des Amids mit einer Base racemisiert und im biokatalytischen Schritt rezykliert wurde.

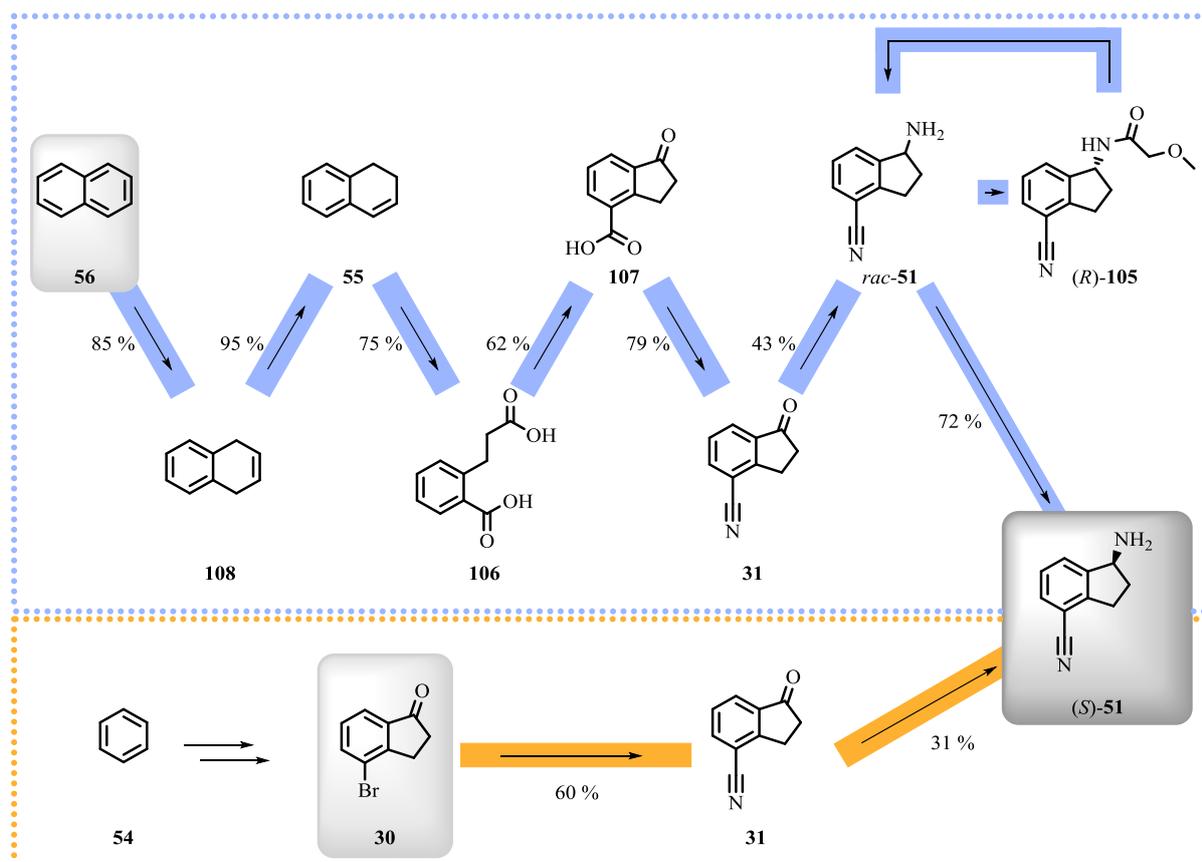


Abbildung 155: Vergleich der Synthesekonzepte ausgehend von 4-Bromindanon **30** und Naphthalin **56** zu 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51**.

Im Rahmen dieser Arbeit und teilweise in Kooperation mit weiteren Teammitgliedern^[282,218,181] (gekennzeichnet in den jeweiligen Kapiteln) wurden nicht nur die Synthesekonzepte experimentell bestätigt, sondern teilweise in diesem frühen Stadium der Entwicklung beachtliche Ausbeuten erzielt. Außerdem konnte gezeigt werden, dass auch mit diesen wenig optimierten Syntheseschritten eine kommerzielle Attraktivität besteht, weil die Molekülstrukturen geschickt gewählt wurden und entsprechende Reagenzien günstig zur Verfügung stehen. So konnte auf diesem frühen Stadium der Entwicklung die zu Beginn gesetzten Ziele übertroffen werden indem bereits jetzt ein kostengünstigerer Prozess im Vergleich zur Route von *Receptos* vorgestellt wurde.

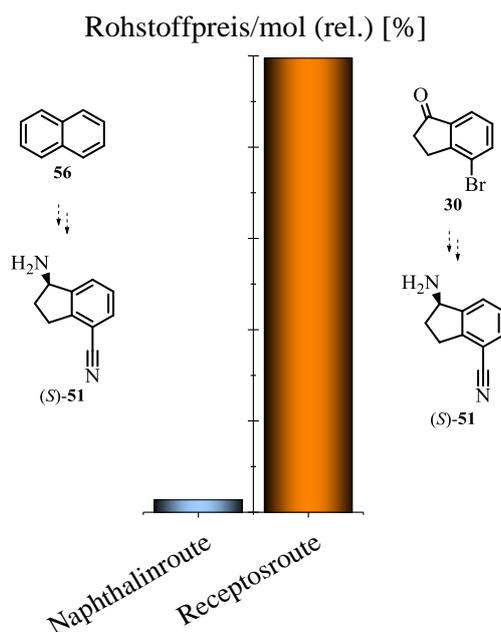


Abbildung 156: Relativer Rohstoffkostenvergleich der alten Receptosroute und der neuen Naphthalinroute zu Aminoindan (*S*)-51.

9.3. Sichtbarkeit der Arbeit

Das Thema der chemoenzymatischen Eintopfreaktionen konnte neben zwei Posterpräsentationen in Weimar auf der ORCHEM 2016 und Budapest auf der Biotrans 2017 auch in Fachjournals publiziert werden. Die erste Arbeit in der es um die Kombination aus Wacker-Oxidation und Transaminierung ging, kann in ChemCatChem nachgelesen werden.^[182] Die Variante bei der die Transaminase durch eine Amindehydrogenase ersetzt wird, wurde in JOC veröffentlicht.^[191]

Aus dem Ozanimod Projekt konnten einige Experimente im Paper zum Thema Lösungsmittel freie kinetische Racematspaltung mit CAL-B eingegliedert werden.^[291] Desweiteren wurde das Synthesekonzept zum Schlüsselbaustein 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-51 ausgehend von Naphthalin 56 beim europäischen Patentamt eingereicht.^[292]

10. Experimenteller Teil

10.1. Verwendete Chemikalien

Die für diese Masterarbeit verwendeten käuflichen Chemikalien wurden bezogen von Sigma-Aldrich[®], Alfa Aesar[®], Roth[®], Merck[®], VWR[®], Acros Organics[®], Amano Enzyme Inc.[®] und Oriental Yeast Co[®] und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

10.2. Verwendete Geräte

10.2.1. NMR-Spektroskopie

Alle ¹H-NMR-Spektren wurden entweder auf einem Avance 500 oder einem DRX 500 Spektrometer der Firma Bruker[®] aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ werden in ppm relativ zum Standard Tetramethylsilan (TMS) angegeben. Als Referenz der Spektren wird das Lösungsmittel genutzt (Chloroform-d: 7.26 ppm, Dichlor-methan-d₂: 5.30 ppm, Toluol-d₈: 2.08 ppm, Acetonitril-d₃: 1.94 ppm, Essigsäure-d₄: 2.00 ppm, Aceton-d₆: 2.05 ppm, Wasser-d₂: 4.79 ppm, DMSO-d₆: 2.50 ppm). Spinmultiplizitäten werden, wie in Tabelle 4 dargestellt, abgekürzt. Die erhaltenen Daten werden mit *MestReNova* von *Mestrelab*[®] ausgewertet und visualisiert. Die Integrale der einzelnen Signale bilden die Basis für die Umsatzbestimmung. Der Umsatz (C) wird berechnet, indem das Produktsignal (P) mit der Summe von Produkt (P)- und Eduktsignal (E) ins Verhältnis gesetzt wird.

$$C = \frac{\int P}{\int P + \int E}$$

Gleichung 6: Definition des Umsatzes c.

Tabelle 4: Abkürzungen der Spinmultiplizitäten.

Multiplizität	Abkürzung
Singulett	s
Dublett	d
Triplett	t
Quartett	q
Quintett	qui

10.2.2. HPLC

Die Normalphasen-Chromatogramme wurden mit einem LC-Net II/ADC Gerät und Pumpen (PU-2080 plus) der Firma *JASCO*[®] aufgenommen. Die Trennung der Probenmischung erfolgte mit Säulen von *Daicel Chemical Industries*[®] (Chiralpak AD-H). Die Daten werden mit der Software *Galaxy* (Version 1.10.0.5590) der Firma *Agilent Technologies*[®] ausgewertet und mit dem Programm *Origin* von *OriginLab*[®] visualisiert. Die RP-HPLC stammt von der Firma *Hitachi* bestehend aus einem D-7000 Interface, Jetstream 2 Plus (Seriennummer 150708 D-Line) Säulenofen, L-7400 UV-Detektor, L-7200 Autosampler, L-7100 Pumpen und L-7614 Entgaser. Die Chromatogramme wurden mit einer Herstellersoftware ausgewertet.

10.2.3. GC

Die Gaschromatogramme wurden mit zwei unterschiedlichen Geräten vermessen. Die Chromatogramme für die Umsatzbestimmung wurden auf einem GC-2010 Plus der Firma *Shimadzu*[®] mit einer achiralen Säule aufgenommen. Bei der Säule BP5 MS von *SGE Analytical Science*[®] handelt es sich um eine 30 m lange Kapillare, die innen von einem 0.25 µm dicken Film aus Polydimethylsiloxan (95 %) und Polyphenylmethylsiloxan (5 %) überzogen ist. Der Durchmesser beträgt 0.25 mm. Die Enantiomerenüberschüsse wurden mittels einer chiralen Kapillarsäule (CP-Chirasil-Dex-CB) von *Agilent Technologies*[®] bestimmt. Die 30 m lange Kapillare hat einen Durchmesser von 0.25 mm und ist innen von einem 0.25 µm dicken Film aus Dimethylpolysiloxan überzogen ist. An das Polymer sind Cyclodextrineinheiten gebunden, die für die Auftrennung der Stereoisomere verantwortlich sind. Alle Chromatogramme wurden mit Hilfe der Software *GC-Solutions* der Firma *Shimadzu*[®] ausgewertet und mit Hilfe des Programms *Origin* von *OriginLab*[®] visualisiert.

In den Experimenten von Kapitel 10.3.2.5.3.9 wurde Acetophenon mit Hilfe einer Kalibrierung exakt quantifiziert. Dazu wurden Lösungen von Acetophenon in DCM in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt. Die Lösungen wurden durch eine Dreifachbestimmung in die Kalibrierung aufgenommen (siehe Tabelle 5). Für die Kalibriergerade wurden die Mittelwerte der gemessenen Integrale bei der Dreifachbestimmung gegen die analysierte Stoffmenge aufgetragen (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Messdaten und arithmetischen Mittel zur Bestimmung einer Kalibrierkurve.

Experiment	Konzentration Kalibrierlösung [mM]	Eingespritzte Stoffmenge	Retentionszeit [min]	Gemessenes Integral	Arithmetisches Mittel
1	10	0.010 µmol	7.26	680107	725786

Experiment	Konzentration Kalibrierlösung [mM]	Eingespritzte Stoffmenge	Retentionszeit [min]	Gemessenes Integral	Arithmetisches Mittel
2	10	0.010 μmol	7.25	709098	
3	10	0.010 μmol	7.25	788153	
4	5	0.005 μmol	7.26	363980	
5	5	0.005 μmol	7.26	366977	377589
6	5	0.005 μmol	7.26	401812	
7	2	0.002 μmol	7.27	170580	
8	2	0.002 μmol	7.27	187090	± 183046
9	2	0.002 μmol	7.27	191470	

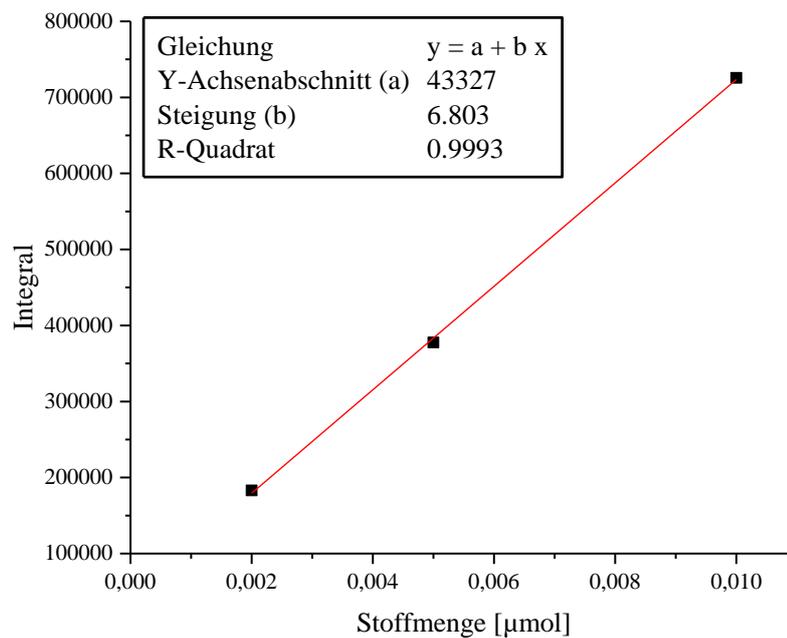


Abbildung 157: Linearer Fit durch die Messpunkte der Kalibrierlösungen aus Tabelle 5.

10.2.4. Photometer

Enzymaktivitäten wurden mit einem Photometer der Firma *Jasco* bestimmt. Die Daten aus dem V-630 Modell wurden mit einer Herstellersoftware ausgewertet.

10.2.5. Bradford Assay

Alle Bradford Assays wurden mit einem Spectrophotometer auf Microtiterplatten aufgenommen. Das Spectrophotometer *MULTISKAN GO* wurde von der Firma *Thermo Fisher Scientific*[®] erhalten. Alle Messungen wurden bei 595 nm durchgeführt. Die erhaltenen Daten wurden in übliche Statistikprogramme übertragen und ausgewertet.

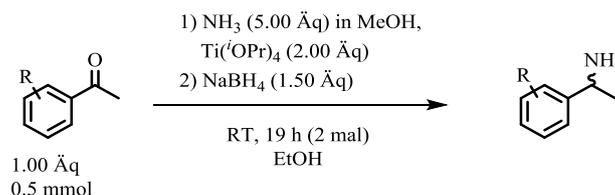
10.2.6. Gel-Elektrophorese / SDS-Page

Die Spannungen an einem Polyacrylamidgel wurden mit Hilfe des *Electrophoresis Power Supply EPS 301* der Firma *GE Healthcare Life Sciences* erzeugt. Die mit Farbindikatoren versehenen Proteine wurden mit einer Digitalkamera fotografiert und als schwarz-weiß Kopie in die Arbeit eingefügt.

10.3. Synthesen und Biotransformationen

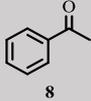
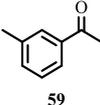
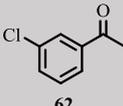
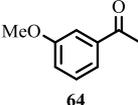
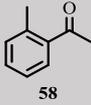
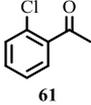
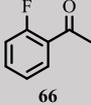
10.3.1. Synthese der Referenzsubstanzen

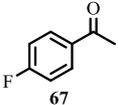
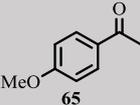
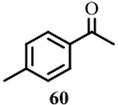
10.3.1.1. Synthese der racemischen Amine für die Analytik

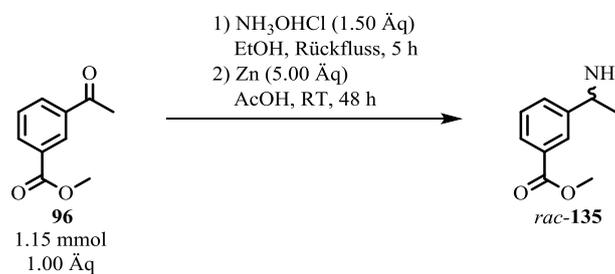


Verschiedene Acetophenonderivate werden auf chemischem Wege für die Analytik reaktiv aminierte. Exemplarisch wird die Vorschrift mit Acetophenon **8** beschrieben. Alle substituierten Derivate werden analog synthetisiert. Die relevanten Daten sind jeweils in Tabelle 6) aufgelistet. Acetophenon **8** (971 μL , 8.3 mmol, 1.00 Äq) wird in 20 mL Ethanol abs. gelöst. Dazu wird methanolische Ammoniak-Lsg. (5.9 mL, 7 M, 41.5 mmol, 5.00 Äq) gegeben. Die Reaktionsmischung wird mit Titansäuretetraisopropylester (4.92 mL, 16.6 mmol, 2.00 Äq) komplettiert. Die Mischung wird bei Raumtemperatur gerührt. Nach 23 h wird Natriumborhydrid (0.51 g, 13.5 mmol, 1.50 Äq) zur Reaktionsmischung gegeben. Nach weiteren 68 h bei Raumtemperatur werden die anorganischen Salze mit konz. wässriger Ammoniak-Lsg. (3 mL, 25 %, 39.9 mmol, 4.80 Äq) gefällt. Nach Zentrifugation (6000 rpm, 20 °C, 5 min) wird die flüssige Phase abdekantiert und bei pH 12 3 mal mit 10 mL DCM extrahiert. Um das Amin von organischen Verunreinigungen zu befreien, wird die gesamte organische Phase mit 10 mL wässriger Salzsäure ($\approx\text{pH } 1$) extrahiert. Durch Änderung des pH-Wertes auf 12 und erneute Extraktion mit DCM wird das gereinigte Amin erhalten.

Tabelle 6: Eingesetzte Stoffmengen zur reduktiven Aminierung und die resultierenden Ausbeuten der Amine.

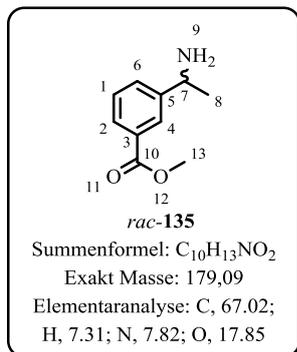
Substrat	n (Substrat) [mmol]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	¹ H-NMR-Analytik 500 MHz, CDCl ₃ : δ [ppm]
 8	8.3	27	49	1.39 (d, ³ J _{HH} =6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³ J _{HH} =6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H ^{ar}). Stimmt mit Referenz überein. ^[293]
 59	7.5	459	45	1.41 (d, ³ J _{HH} =6.7 Hz, 3 H, H-9), 2.38 (s, 3 H, H-10), 4.11 (q, ³ J _{HH} =6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.05-7.27 (m, 4 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[294]
 62	6.5	599	58	1.40 (d, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 3 H, H-9), 4.12 (q, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.20-7.30 (m, 3 H, H ^{ar}), 7.37 (s, 1 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[295]
 64	6.7	482	48	1.41 (d, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 3 H, H-9), 3.83 (s, 3 H, H-11), 4.08 (q, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 1 H, H-7), 6.80-7.30 (m, 4 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[295]
 58	7.5	394	39	1.40 (d, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 3 H, H-9), 2.38 (s, 3 H, H-11), 4.40 (q, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 1 H, H-7), 6.80-7.30 (m, 4 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[296]
 61	6.5	608	60	1.42 (d, ³ J _{HH} =6.5 Hz, 3 H, H-9), 4.58 (q, ³ J _{HH} =6.5 Hz, 1 H, H-7), 7.15-7.75 (m, 4 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[297]
 66				1.41 (d, ³ J _{HH} =6.8 Hz, 3 H, H-9), 1.56 (s, 2 H, H-9), 4.38 (q, ³ J _{HH} =6.8 Hz, 1 H, H-7), 6.98-7.42 (m, 4 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[298]

Substrat	n (Substrat) [mmol]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	¹ H-NMR-Analytik 500 MHz, CDCl ₃ : δ [ppm]
				1.37 (d, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 3 H, H-9), 4.25 (q, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.00-7.27 (m, 4 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[299]
				1.37 (d, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 3 H, H-9), 3.80 (s, 3 H, H-11), 4.08 (q, ³ J _{HH} =6.6 Hz, 1 H, H-7), 6.80-7.30 (m, 4 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[300]
				1.38 (d, ³ J _{HH} =6.7 Hz, 3 H, H-9), 2.33 (s, 3 H, H-10), 4.08 (q, ³ J _{HH} =6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.14 (d, ³ J _{HH} =8.0 Hz, 2 H, H ^{ar}), 7.34 (d, ³ J _{HH} =8.0 Hz, 2 H, H ^{ar}). Stimmt mit der Referenz überein. ^[300]



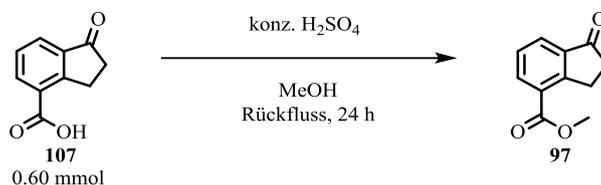
3'-Acetobenzoesäuremethylester **96** (204.70 mg, 1.15 mmol, 1.00 Äq) und Hydroxylammoniumchlorid (120.71 mg, 1.74 mmol, 1.50 Äq) werden in EtOH (20 mL) suspendiert und für 5 h zum Rückfluss erhitzt. EtOH wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in EtOAc aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Nach Waschen der organischen Phase mit ges. NaCl-Lösung (2 mal 20 mL) wird über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mit Zn-Pulver (573.58 mg, 8.77 mmol, 5.00 Äq) in AcOH (20 mL) suspendiert und für 48 h bei RT gerührt. Die Suspension wird über Kieselgel filtriert und das Kieselgel mit EtOAc nachgewaschen. Die organische Phase wird mit Salzsäure (3 mal 20 mL, 1 M) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Natronlauge auf pH 14 gebracht. Die wässrige Phase wird mit EtOAc (3 mal 20 mL) extrahiert und die vereinte organische Phase über Kieselgel filtriert. Das Kieselgel wird mit EtOAc (10 mL)

nachgewaschen und die vereinten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Isoliert werden 108.1 mg eines gelblichen Feststoffs.

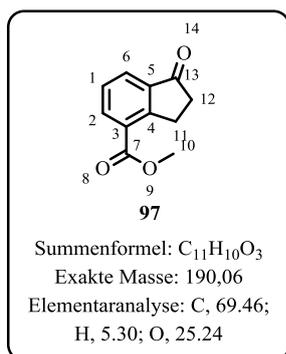


Ausbeute: 108.1 mg (50 %)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm)= 1.43 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, 3 H, H-8), 3.95 (s, 3 H, H-13), 4.21 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, 1 H, H-7), 7.43 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-1), 7.59 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-6), 7.94 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-2), 8.05 (s, 1 H, H-4). Die Verbindung *rac*-135 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[301]

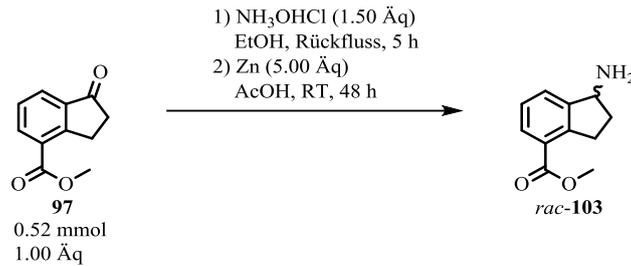


4'-Indanonsäure **107** (106.03 mg, 0.6 mmol) werden in MeOH (10 mL) gelöst und mit katalytischen Mengen konzentrierter Schwefelsäure (2 mL) versetzt. Die Lösung wird zum Rückfluss erhitzt, wobei die Kondensflüssigkeit über ein Soxhlet gefüllt mit Molsieb von Wasser befreit wird. Nach 24 h wird MeOH im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser (20 mL) aufgenommen und mit DCM (20 mL) 3 mal extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit ges. NaHCO_3 -Lösung gewaschen über MgSO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

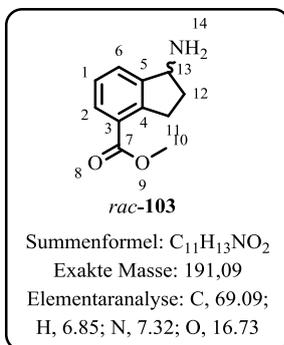


Ausbeute: 111.76 mg (98 %)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm)= 2.71-2.81 (m, 2 H, H-8), 3.49-3.57 (m, 2 H, H-7), 3.99 (s, 3 H, H-10), 7.51 (tt, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz & 0.8 Hz, 1 H, H-1), 7.98 (dd, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz & 1.2 Hz, 1 H, H-2), 8.31 (dd, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz & 1.2 Hz, 1 H, H-6).



4'-Indanonsäuremethylester **97** (98.53 mg, 0.52 mmol, 1.00 Äq) und Hydroxylammoniumchlorid (54.20 mg, 0.78 mmol, 1.50 Äq) werden in EtOH (20 mL) suspendiert und für 5 h zum Rückfluss erhitzt. EtOH wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in EtOAc aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Nach Waschen der organischen Phase mit ges. NaCl-Lösung (2 mal 20 mL) wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mit Zn-Pulver (170.01 mg, 2.60 mmol, 5.00 Äq) in AcOH (20 mL) suspendiert und für 48 h bei RT gerührt. Die Suspension wird über Kieselgel filtriert und das Kieselgel mit EtOAc nachgewaschen. Die organische Phase wird mit Salzsäure (3 mal 20 mL, 1 M) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Natronlauge auf pH 14 gebracht. Die wässrige Phase wird mit EtOAc (3 mal 20 mL) extrahiert und die vereinte organische Phase über Kieselgel filtriert. Das Kieselgel wird mit EtOAc (10 mL) nachgewaschen und die vereinten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Isoliert werden 108.1 mg eines gelblichen Feststoffs.

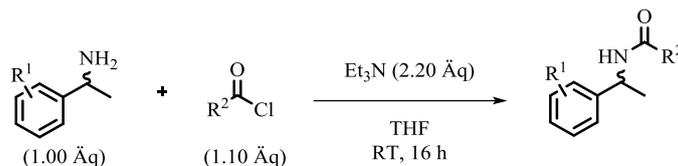


Ausbeute: 46.55 mg (47 %)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm)= 2.50 (m, 2 H, H-11), 3.10 (m, , $^3J_{\text{HH}}=17.6$ Hz & 8.8 Hz, 1 H, H-12), 3.45 (m, , $^3J_{\text{HH}}=17.6$ Hz & 8.8 Hz & 3.4 Hz, 1 H, H-12), 3.92 (s, 3 H, H-10), 4.39 (t, , $^3J_{\text{HH}}=7.5$ Hz, 1 H, H-13), 7.33 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.5$ Hz, 1 H, H-1), 7.55 (d, , $^3J_{\text{HH}}=7.4$ Hz, 1 H, H-6), 7.92 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-2). Die Verbindung **103** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und

nachgewiesen werden.

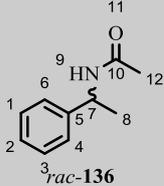
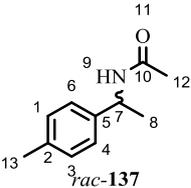
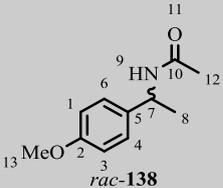
10.3.1.2. Synthese der Amide für die *ee*-Analytik

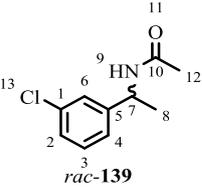
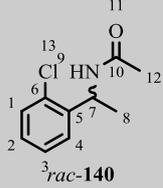
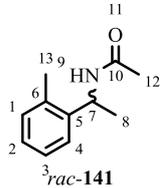


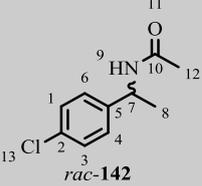
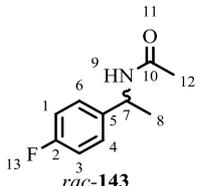
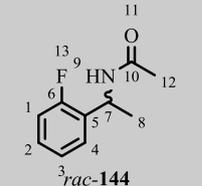
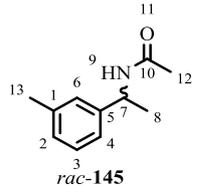
Alle Amine werden vor der *ee*-Analytik zum Amid derivatisiert. Zum Aufbau einer entsprechenden Analytik werden alle racemischen Amine chemisch in genannte Amide überführt. Exemplarisch wird die Acylierung primärer Amine am Beispiel von 1-Phenylethylamin *rac-9* beschrieben. Die Vorschrift

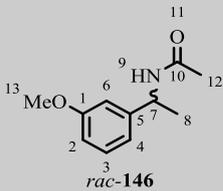
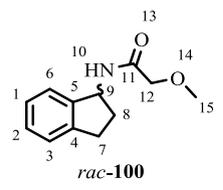
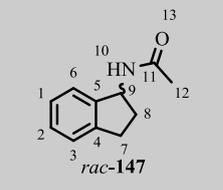
wurde auf alle anderen Amine maßstabsgetreu übertragen. Die relevanten Messdaten sind in Tabelle 7 aufgelistet. Das Amin *rac-9* (458 μL , 3.55 mmol, 1.00 $\text{\AA}q$) wird in THF (10 mL) und Triethylamin (1090 μL , 7.82 mmol, 2.20 $\text{\AA}q$) gelöst. Tropfenweise wird Acetylchlorid (278 μL , 3.91 mmol, 1.10 $\text{\AA}q$) zugegeben und 16 h bei RT gerührt. Die Reaktion wird durch Hydrolyse beendet und mit EtOAc versetzt bis sich zwei Phasen bilden. Die beiden Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird mit EtOAc gewaschen und anschließend mit der ersten organischen Phase vereint. Die vereinte organische Phase wird mit Salzsäure (1 M) und Natronlauge (1 M) gewaschen (je 3 mal), über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Erhalt des Zielproduktes wird NMR-spektroskopisch nachgewiesen (wenn nicht anders angegeben, nicht weiter aufgereinigt) und die Produkte anschließend auf der HPLC vermessen. Die detektierten Retentionszeiten sind in Tabelle 7 aufgeführt.

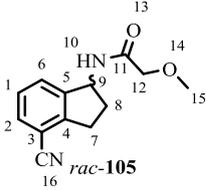
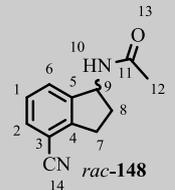
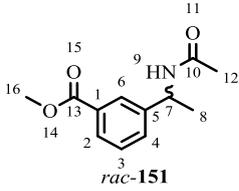
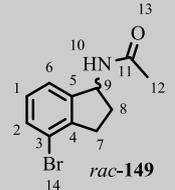
Tabelle 7: Racemische Amide als Referenzsubstanz für den Aufbau einer *ee*-Analytik

Substrat [μL (mmol)]	Acyldonor [μL (mmol)]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	$^1\text{H-NMR}$ -Analytik (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]
 458 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	567	98	1.50 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 2.00 (s, 3 H, H-12), 5.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung 136 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[302]
 512 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	616	98	1.46 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 3 H, H-8), 1.96 (s, 3 H, H-12), 2.32 (s, 3 H, H-13), 5.03-5.14 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 1 H, H-7), 5.78 (br, 1 H, H-9), 7.10-7.30 (m, 4 H, H^{ar}). Die Verbindung 137 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[303]
 520 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	651	95	1.45 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 3 H, H-8), 1.94 (s, 3 H, H-12), 3.78 (s, 3 H, H-13), 4.99-5.11 (q, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 1 H, H-7), 5.93 (br, 1 H, H-9), 6.85 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.7$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.23 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.7$ Hz, 2 H, H-4 & H-6). Die

Substrat [μL (mmol)]	Acyldonor [μL (mmol)]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	$^1\text{H-NMR}$ -Analytik (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]
				Verbindung 138 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[304]
 $^3\text{rac-139}$	492 (3.55) Acetylchlorid	693	99	1.43 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 3 H, H-8), 1.97 (s, 3 H, H-12), 5.06 (q, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 1 H, H-7), 6.23 (br, 1 H, H-9), 7.20-7.30 (m, 4 H, H ^{ar}). Die Verbindung 139 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[305]
 $^3\text{rac-140}$	494 (3.55) Acetylchlorid	672	96	1.51 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 3 H, H-8), 2.04 (s, 3 H, H-12), 5.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 1 H, H-7), 6.58 (br, 1 H, H-9), 7.20-7.50 (m, 4 H, H ^{ar}). Die Verbindung 140 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[305]
 $^3\text{rac-141}$	493 (3.55) Acetylchlorid	610	97	1.40 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-8), 1.95 (s, 3 H, H-12), 2.32 (s, 3 H, H-13), 5.20-5.30 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 6.62 (br, 1 H, H-9), 7.12-7.30 (m, 4 H, H ^{ar}). Die Verbindung 141 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[302]

Substrat [μL (mmol)]	Acyldonor [μL (mmol)]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	$^1\text{H-NMR}$ -Analytik (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]
 494 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	644	92	1.43 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 3 H, H-8), 1.95 (s, 3 H, H-12), 4.99-5.11 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 1 H, H-7), 6.02 (br, 1 H, H-9), 7.10-7.30 (m, 4 H, H ^{ar}). Die Verbindung 142 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[306]
 465 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	598	93	1.44 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 3 H, H-8), 1.95 (s, 3 H, H-12), 5.01-5.13 (q, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 1 H, H-7), 6.11 (br, 1 H, H-9), 6.99-7.30 (m, 4 H, H ^{ar}). Die Verbindung 143 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[302]
 465 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	623	97	1.44 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.0$ Hz, 3 H, H-8), 1.94 (s, 3 H, H-12), 5.23-5.32 (m, 1 H, H-7), 6.75 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.2$ Hz, 1 H, H-9), 6.97-7.31 (m, 4 H, H ^{ar}). Die Verbindung 144 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[302]
 514 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	591	94	1.44 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-8), 1.85 (s, 3 H, H-12), 2.34 (s, 3 H, H-13), 5.20-5.31 (m, 1 H, H-7), 7.13-7.29 (m, 4 H, H ^{ar}). Die Verbindung 145 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[302]

Substrat [μL (mmol)]	Acyldonor [μL (mmol)]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	¹ H-NMR-Analytik (500 MHz, CDCl ₃): δ [ppm]
 525 (3.55) <i>rac</i> -146	278 (3.91) Acetylchlorid	658	96	1.44 (d, ³ J _{HH} =7.0 Hz, 3 H, H-8), 1.94 (s, 3 H, H-12), 3.78 (s, 3 H, H-13), 5.00-5.11 (q, ³ J _{HH} =7.0 Hz, 1 H, H-7), 6.07 (br, 1 H, H-9), 6.76-6.89 (m, 3 H, H ^{ar}), 7.23 (m, 1 H, H ^{ar}). Die Verbindung 146 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden. ^[303]
 456 (3.55) <i>rac</i> -100	357 (3.91) Methoxy- acetylchlorid	663	91	1.85-1.90 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.63-2.70 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.90-2.96 (m, 1 H, H-7/H-8), 3.02-3.07 (m, 1 H, H-7/H-8), 3.41 (s, 3 H, H-15), 3.97 (d, ² J _{HH} =1.1 Hz, 2 H, H-12), 5.55 (q, ³ J _{HH} =7.9 Hz, 1 H, H-9), 7.21-7.25 (m, 4 H, H ^{ar}) Die Verbindung ist nicht literatrubekannt und wurde von Löwe vollständig charakterisiert. ^[181] Die gemessenen Daten stimmen mit der Referenz überein.
 456 (3.55) <i>rac</i> -147	278 (3.91) Acetylchlorid	566	91	1.80-1.86 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.03 (s, 1 H, H-15), 2.64-2.69 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.86-2.95 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.89-2.94 (m, 1 H, H-7/H-8), 5.48 (q, ³ J _{HH} =7.7 Hz, 1H, H-12), 7.20-7.25 (m, 3 H, H ^{ar}), 7.28-7.30 (m, 1 H, H ^{ar}). Die Verbindung ist nicht literatrubekannt und wurde von Löwe vollständig charakterisiert. ^[181] Die gemessenen Daten stimmen mit der Referenz überein.

Substrat [μL (mmol)]	Acyl donor [μL (mmol)]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	¹ H-NMR-Analytik (500 MHz, CDCl ₃): δ [ppm]
 480 (3.55)	357 (3.91) Methoxy- acetylchlorid	784	96	1.92-2.00 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.67-2.71 (m, 1 H, H-7/H-8), 3.07-3.12 (m, 1 H, H-7/H-8), 3.21-3.25 (m, 1 H, H-7/H-8), 3.40 (s, 3 H, H-15), 3.96 (d, ² J _{HH} =2.5 Hz, 2 H, H-12), 5.58 (q, ³ J _{HH} =8.1 Hz, 1 H, H-9), 7.30 (dd, ³ J _{HH} =7.7 Hz, 1 H, H ^{ar}), 7.51 (dd, ³ J _{HH} =7.4 Hz, 2 H, H ^{ar}). Die Verbindung ist nicht literatrubekannt und wurde von Löwe vollständig charakterisiert. ^[181] Die gemessenen Daten stimmen mit der Referenz überein.
 480 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	696	98	1.87-1.92 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.14 (s, 1 H, H-12), 2.63-2.69 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.87-2.93 (m, 1 H, H-7/H-8), 3.08-3.15 (m, 1 H, H-7/H-8), 5.55 (q, ³ J _{HH} =7.7 Hz, 1 H, H-9), 7.30 (dd, ³ J _{HH} =7.8 Hz, 1 H, H ^{ar}), 7.52 (t, 3 H, ³ J _{HH} =7.8 Hz, 2 H, H ^{ar}). Die Verbindung ist nicht literatrubekannt und wurde von Löwe vollständig charakterisiert. ^[181] Die gemessenen Daten stimmen mit der Referenz überein.
 584 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	730	93	1.28 (s, 3 H, H-15), 2.09 (d, ³ J _{HH} =7.1 Hz, 3 H, H-8), 3.98 (s, 3 H, H-16), 4.14 (q, ³ J _{HH} =7.1 Hz, 1 H, H-7), 7.41-8.02 (m, 4 H, H ^{ar}).
 505 (3.55)	278 (3.91) Acetylchlorid	945	94	1.80-1.86 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.09 (s, 1 H, H-12), 2.60-2.66 (m, 1 H, H-7/H-8), 2.85-2.91 (m, 1 H, H-7/H-8), 3.04-3.10 (m, 1 H, H-7/H-8), 5.55 (q, ³ J _{HH} =7.7 Hz, 1 H, H-9), 7.09 (t, ³ J _{HH} =7.6 Hz, 1 H, H ^{ar}), 7.22 (d, 1 H, ³ J _{HH} =7.4 Hz, 1 H, H ^{ar}), 7.22 (d, 1 H, ³ J _{HH} =7.39 Hz, 1 H, H ^{ar}). Die

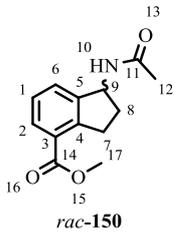
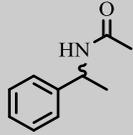
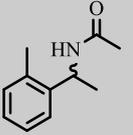
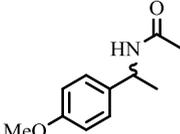
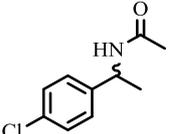
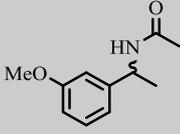
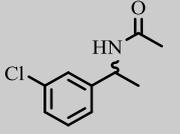
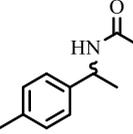
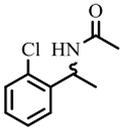
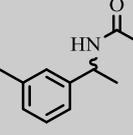
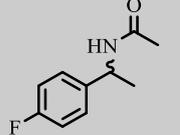
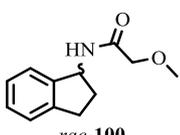
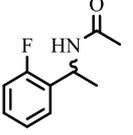
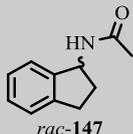
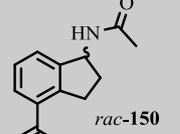
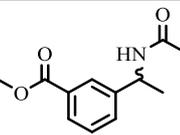
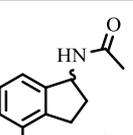
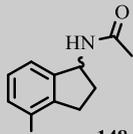
Substrat [μL (mmol)]	Acyldonor [μL (mmol)]	Rohprodukt [mg]	Ausbeute [%]	¹ H-NMR-Analytik (500 MHz, CDCl ₃): δ [ppm]
Verbindung ist nicht literatrubekannt und wurde von Löwe vollständig charakterisiert. ^[181] Die gemessenen Daten stimmen mit der Referenz überein.				
	67 (0.50)	278 (3.91) Acetylchlorid	83 94	1.80-1.85 (m, 1H, H-7), 2.04 (s, 3 H, H-12) 2.61-2.66 (m, 1 H, H-7), 3.12-3.18 (m, 1 H, H-8), 3.33 (s, 3 H, H-17), 3.35-3.40 (m, 1 H, H-8), 5.50 (q, ³ J= 7.9 Hz, 1 H, H-9), 7.29 (t, ³ J _{HH} =7.6 Hz, 1 H, H ^{ar}), 7.48 (d, ³ J _{HH} =7.5 Hz, 2 H, H ^{ar}), 7.48 (d, ³ J _{HH} =7.8 Hz, 1 H, H ^{ar}). Die Verbindung ist nicht literatrubekannt und wurde von Löwe vollständig charakterisiert. ^[181] Die gemessenen Daten stimmen mit der Referenz überein.

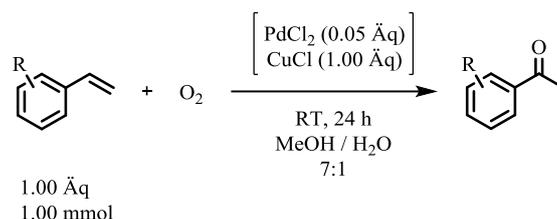
Tabelle 8: Retentionszeiten der Amine nach Derivatisierung zum Amid auf der chiralen HPLC.

Verbindung	Retentionszeit ^a [min]	Verbindung	Retentionszeit ^a [min]
 <i>rac-136</i>	14.3 ^a 20.3 ^a	 <i>rac-141</i>	10.9 ^a 17.3 ^a
 <i>rac-138</i>	25.9 ^a 32.7 ^a	 <i>rac-142</i>	23.0 ^a 28.0 ^a
 <i>rac-146</i>	18.4 ^a 24.7 ^a	 <i>rac-139</i>	17.6 ^a 23.2 ^a
 <i>rac-137</i>	19.6 ^a 25.2 ^a	 <i>rac-140</i>	16.3 ^a 22.4 ^a
 <i>rac-145</i>	12.7 ^a 16.7 ^a	 <i>rac-143</i>	14.0 ^a 18.7 ^a
 <i>rac-100</i>	15.7 ^a 18.6 ^a	 <i>rac-144</i>	9.4 ^a 11.9 ^a
 <i>rac-147</i>	13.5 ^a 17.0 ^a	 <i>rac-150</i>	17.1 ^b 20.4 ^b
 <i>rac-151</i>	16.5 ^b 20.6 ^b	 <i>rac-149</i>	26.0 ^c 31.7 ^c
 <i>rac-148</i>	19.9 ^d 22.4 ^d		

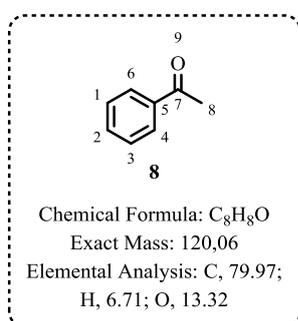
a) Bedingungen: CO₂/IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm; b) Bedingungen CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OB-H Säule; 210 nm; c) Bedingungen: CO₂/IPA 95:5; 2.0 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm; d) Bedingungen: CO₂/IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

10.3.2. Hydroaminierung

10.3.2.1. Wacker-Oxidation



Exemplarisch wird die Durchführung für Acetophenon **8** beschrieben. Die weiteren Substrate werden analog umgesetzt (siehe Tabelle 9). PdCl₂ (8.73 mg, 0.05 mmol, 0.05 Äq), CuCl (98.42 mg, 1.00 mmol, 1.00 Äq), MeOH (700 µL) und Wasser (100 µL) werden in einem Kolben vorgelegt. Dazu wird Styrol **57** (115 µL, 1.00 mmol, 1.00 Äq) gegeben. Das Reaktionssystem wird durch einen Ballon gefüllt mit Sauerstoff verschlossen und bei Raumtemperatur für 24 h gerührt. Nach Reaktionsende wird die Reaktionsmischung mit Wasser (2 mL) und DCM (insgesamt 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und vom LM befreit (10 min, 500 mbar, 40 °C). Das Rohprodukt wird ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht. Dazu wird jede Probe mit ^tBuOH als Standard versetzt und die absoluten Stoffmengen berechnet. Die Umsätze zu allen Produkten und Nebenprodukten sind in Tabelle 10 gezeigt. Alle eingesetzten Chemikalien sind in Tabelle 9 aufgeführt.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.26 (d, ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-7), 5.76 (d, ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H), 6.73 (dd, ³J_{HH}=17.6 Hz; ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Styrol]; 2.61 (s, 3 H, H-8), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Acetophenon]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H), 4.91 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethanol]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 4.31 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-methoxyethan]; 1.85 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H), 5.00 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-chlorethan]; 2.93 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H), 3.35 (s, , 6 H), 4.55 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1,1-Dimethoxy-2-phenylethan]; 3.63 (s, 3 H), 3.71 (s, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [2-Phenylelessigsäuremethylester]; 3.70 (d, ³J_{HH}=2.3 Hz, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 9.77 (t, ³J_{HH}=2.3 Hz, 1 H) [2-Phenylacetaldehyd]; 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 10.03 (s, 1 H) [Benzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit den Referenzen der Literatur überein.^[307–315]

Tabelle 9: Eingesetzte Mengen für die Wacker-Oxidation von Styrolderivaten.

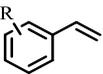
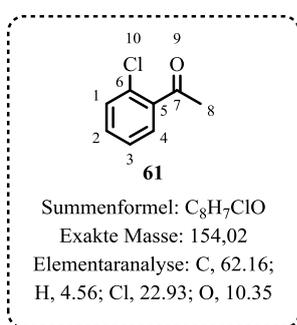
R				PdCl ₂			CuCl			MeOH	H ₂ O
	[μL]	mmol	Äq]	[mg]	mmol	Äq]	[mg]	mmol	Äq]	[μL]	[μL]
2-Cl 81	126	1.00	1.00	8.61	0.05	0.05	99.12	1.00	1.00	700	100
3-Cl 82	124	1.00	1.00	8.49	0.05	0.05	98.07	0.99	0.99	700	100
4-Cl 83	128	1.00	1.00	8.53	0.05	0.05	99.98	1.01	1.01	700	100
2-Me 84	130	1.00	1.00	8.72	0.05	0.05	99.06	1.00	1.00	700	100
3-Me 85	105	1.00	1.00	8.64	0.05	0.05	98.04	0.99	0.99	700	100
4-Me 86	129	1.00	1.00	8.70	0.05	0.05	99.38	1.00	1.00	700	100
2-F 89	118	1.00	1.00	8.97	0.05	0.06	97.15	0.98	1.20	700	100
4-F 90	119	1.00	1.00	8.68	0.05	0.05	100.02	1.01	1.01	700	100
3-MeO 87	136	1.00	1.00	8.90	0.05	0.05	98.98	1.00	1.00	700	100
4-MeO 88	134	1.00	1.00	9.53	0.05	0.05	97.85	0.99	0.99	700	100

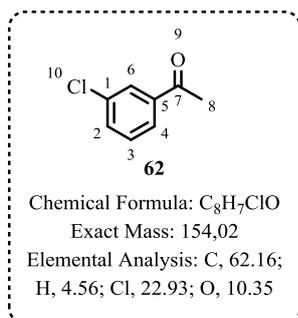
Tabelle 10: Absoluter Produktanteil bestimmt durch NMR-Spektroskopie mit ^tBuOH als Standard.

Produkt	57		2-Cl	3-Cl	4-Cl	2-Me	3-Me	4-Me	2-F	4-F	3-MeO	4-MeO
	57	81	82	83	84	85	86	89	90	87	88	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	84	85	42	72	75	70	91	108	45	80	99	76
	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1
	2	2	0	1	1	6	2	5	2	1	0	0
	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	3	3	39	22	8	11	2	4	42	6	6	3
	2	2	1	1	7	4	2	3	2	2	1	3
	3	3	15	7	3	3	1	1	1	2	2	2
	1	1	1	2	2	2	1	2	1	1	1	1

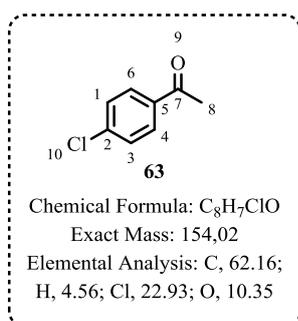


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) =5.41 (dd, ³J_{HH}=11.0 Hz; ²J_{HH}=1.0 Hz, 1 H, H-8), 5.77 (dd, ³J_{HH}=17.5 Hz; ²J_{HH}=1.0 Hz, 1 H, H-8), 7.15 (dd, 1 H, ³J_{HH}=11.0 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-7), 7.21 (dt, ³J_{HH}=7.5 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-3), 7.26 (dt, ³J_{HH}=7.5 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-2), 7.38 (dd, ³J_{HH}=8.0 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-1), 7.59 (dd, ³J_{HH}=7.5 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-4) [2-Chlorstyrol]; 2.64 (s, 3 H, H-8), 7.30-7.40 (m, 3 H, H^{ar}), 7.53-7.56 (m, 1 H, H^{ar}) [2'-Chloracetophenon]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H, H-8), 1.94 (s, 1 H, H-9), 5.29 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H, H-7), 7.19-7.33 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Chlorphenylethanol]; 3.05 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H, H-7), 3.34 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.61 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H, H-8), 7.09-7.43 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Dimethoxy-2-phenylethan]; 3.67 (s, 2 H, H-8), 3.76 (s, 3 H, H-12), 7.16-7.34 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Chlorphenylethylsäuremethylester]; 3.85 (s, 2 H, H-7), 7.22-7.29 (m, 3 H, H^{ar}), 7.42-7.45 (m, 1 H, H^{ar}), 9.75 (t, ³J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-8) [2'-Chloracetaldehyd];

7.39 (t, $^3J_{\text{HH}}=8.0$ Hz, 1 H, H-1), 7.45 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.0$ Hz, 1 H, H-2), 7.51-7.54 (m, 1 H, H-3), 7.92 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.0$ Hz, 1 H, H-4), 10.45 (s, 1 H, H-7) [2'-Chlorbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[316,317,318,319-321] Die Verbindungen 2'-Chlordimethoxy-2-phenylethan und 2'-Chlormethoxy-2-phenylethan wurden aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.

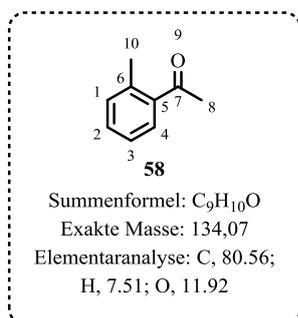


$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 5.33 (d, $^3J_{\text{HH}}=11.0$ Hz, 1 H, H-8), 5.79 (d, $^3J_{\text{HH}}=17.5$ Hz, 1 H, H-8), 6.68 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}}=11.0$ Hz; $^3J_{\text{HH}}=17.5$ Hz, 1 H, H-7), 7.25-7.31 (m, 3 H, H^{ar}), 7.43 (s, 1 H, H-6) [3'-Chlorstyrol]; 2.59 (s, 3 H, H-8), 7.39-7.43 (m, 1 H, H^{ar}), 7.52-7.55 (m, 1 H, H^{ar}), 7.82-7.84 (m, 1 H, H^{ar}), 7.92-7.93 (m, 1 H, H^{ar}) [3'-Chloracetophenon]; 1.38 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 3 H, H-8), 1.90 (s, 1 H, H-9), 4.77 (q, 1 H, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 1 H, H-7), 7.12-7.17 (m, 4 H, H^{ar}) [3'-Chlorphenylethanol]; 3.60 (s, 2 H, H-7), 3.70 (s, 3 H, H-11), 7.15-26 (m, 4 H, H^{ar}) [3'-Chlorphenylethylmethylester]; 3.69 (s, 2 H, H-7), 7.10-7.12 (m, 1 H, H^{ar}), 7.23 (s, 1 H, H-6), 7.28-7.34 (m, 2 H, H^{ar}), 9.75 (t, $^3J_{\text{HH}}=1.8$ Hz, 1 H, H-8) [3'-Chloracetaldehyd]; 7.63-7.91 (m, 4 H, H^{ar}), 10.05 (s, 1 H, H-7) [3'-Chlorbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[316,317,322,323a,320,323b] Die Verbindungen 3'-Chlordimethoxy-2-phenylethan und 3'-Chlormethoxy-2-phenylethan wurden aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.

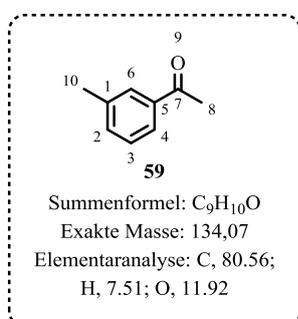


$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 5.29 (d, $^3J_{\text{HH}}=10.9$ Hz, 1 H, H-8), 5.75 (d, $^3J_{\text{HH}}=18.1$ Hz, 1 H, H-8), 6.69 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}}=10.9$ Hz; $^3J_{\text{HH}}=18.1$ Hz, 1 H, H-7), 7.25-7.39 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Chlorstyrol]; 2.58 (s, 3 H, H-8), 7.42 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.8$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.88 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.8$ Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-Chloracetophenon]; 1.42 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 3 H, H-8), 2.68 (s, 1 H, H-9), 4.80 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 1 H, H-7), 7.27 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Chlorphenylethanol]; 1.42 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.4$ Hz, 3 H, H-8), 3.23 (s, 3 H, H-11), 4.29 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 1 H, H-7), 7.26 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.4$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.34 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.4$ Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-1-Chlorphenyl-1-methoxyethan]; 1.83 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.9$ Hz, 3 H, H-8), 5.06 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.9$ Hz, 1 H, H-7), 7.30-7.38 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-1-Chlorphenyl-1-chloethan]; 2.85 (d, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 2 H, H-7), 3.31 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.47 (t, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 1 H, H-7), 7.20-7.38 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Dimethoxy-2-(para-chlorphenylethan)]; 3.52 (s, 2 H, H-8), 3.61 (s, 3 H, H-12), 7.15-7.30 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Chlorphenylethylmethylester]; 3.88 (d, $^3J_{\text{HH}}=2.0$ Hz, 2 H, H-7), 7.32 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.8$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.82 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.8$ Hz, 2 H, H-4 & H-6), 9.71 (t, $^3J_{\text{HH}}=2.0$ Hz, 1 H, H-8) [4'-Chloracetaldehyd]; 7.49-7.53 (dt, $J=7.5$ Hz; 9.8 Hz, 2 H, H^{ar}), 7.81-7.84 (m, $J=13.0$ Hz, 2 H, H^{ar}),

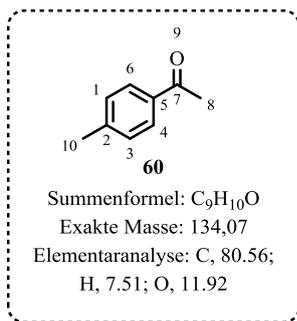
9.96 (s, 1 H, H-8) [4'-Chlorbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[316,317,324,310,325–327,314,321]



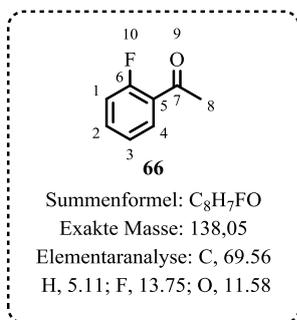
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) =2.35 (s, 3 H, H-9), 5.28 (dd, ³J_{HH}=1.4 Hz; ³J_{HH}=11.1 Hz, 1 H, H-8), 5.635 (dd, ³J_{HH}=1.4 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-8), 6.94 (dd, 1 H, ³J_{HH}=11.1 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-7), 7.13-7.20 (m, 3 H, H^{ar}), 7.46-7.49 (m, 1 H, H^{ar}) [2'-Methylstyrol]; 2.53 (s, 3 H, H-8), 2.57 (s, 3 H, H-10), 7.22-7.27 (m, 2 H, H^{ar}), 7.34-7.37 (m, 1 H, H^{ar}), 7.67-7.69 (m, 2 H, H^{ar}) [2'-Methylacetophenon]; 1.48 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H, H-8), 2.20 (s, 1 H, H-9), 2.37 (s, 3 H, H-10), 5.12 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 7.15-7.30 (m, 3 H, H^{ar}), 7.53 (d, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H^{ar}) [2'-Methylphenylethanol]; 1.44 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 3 H, H-8), 2.33 (s, 3 H, H-11), 3.23 (s, 3 H, H-10), 4.56 (q, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.12-7.25 (m, 3 H, H^{ar}), 7.37-7.41 (m, 1 H, H^{ar}) [4'-1-Methylphenyl-1-methoxyethan]; 7.39 (t, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-1), 7.45 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-2), 7.51-7.54 (m, 1 H, H-3), 7.92 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-4), 10.45 (s, 1 H, H-7) [2'-Methylbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[328,317,329,330] Die Verbindungen 2'-Methyl-2-phenylchloroethan, 2'-Methyldimethoxy-2-phenylethan, 2'-Methylphenylessigsäureethylester und 2'Methylacetaldehyd wurden aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) =2.40 (s, 3 H, H-9), 5.27 (d, ³J_{HH}=11.0 Hz, 1 H, H-8), 5.78 (d, ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-8), 6.74 (dd, ³J_{HH}=11.0 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-7), 7.12-7.13 (m, 1 H, H-6), 7.26-7.28 (m 3 H, H^{ar}) [3'-Methylstyrol]; 2.41 (s, 3 H, H-10), 2.59 (s, 3 H, H-8), 7.34-7.37 (m, 2 H, H^{ar}), 7.74-7.77 (m, 2 H, H-7) [3'-Methylacetophenon]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H, H-8), 2.40 (s, 1 H, H-10), 4.87 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 7.12 (m, 1 H, H^{ar}), 7.19 (m, 2 H, H^{ar}), 7.26-7.29 (m, 1 H, H^{ar}) [3'-Methylphenylethanol]; 2.19 (s, 3 H, H-13), 2.86 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H, H-7), 3.30 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.53 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H, H-8), 7.04-7.13 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Dimethoxy-2-(para-methylphenylethan)]; 2.36 (s, 3 H, H-10), 7.42 (d, ³J_{HH}=7.8 Hz, 2 H, H-7), 7.68 (m, 2 H, H^{ar}), 9.98 (s, 1 H, H-8) [3'-Methylacetaldehyd]; 2.43 (s, 3 H, H-9), 3.64 (d, ³J_{HH}=2.4 Hz, 2 H, H-7), 7.02 (m, 2 H, H^{ar}), 7.12 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 9.74 (t, ³J_{HH}=2.4 Hz, 1 H, H-8) [3'-Methylbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[316,317,331,326,332,321] Die Verbindungen 3'-Methylmethoxy-2-phenylethan, 3'-Methyl-2-phenylchloroethan und 3'-Methylphenylessigsäureethylester wurden aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.

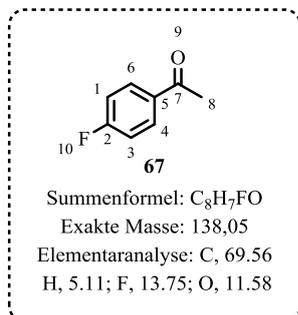


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) =2.40 (s, 3 H, H-9), 5.24 (dd, ³J_{HH}=0.8 Hz; ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-8), 5.75 (dd, ³J_{HH}=0.8 Hz; ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H, H-8), 6.75 (dd, 1 H, ³J_{HH}=10.9 Hz; ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H, H-7), 7.19 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H^{ar}), 7.36 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H^{ar}) [4'-Methylstyrol]; 2.41 (s, 3 H, H-10), 2.57 (s, 3 H, H-8), 7.25 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.85 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-Methylacetophenon]; 1.50 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H, H-8), 2.15 (s, 1 H, H-9), 2.38 (s, 3 H, H-10), 4.87 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 7.19 (d, ³J_{HH}=8.1 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.29 (d, ³J_{HH}=8.1 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-Methylphenylethanol]; 1.46 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-8), 2.38 (s, 3 H, H-9), 3.24 (s, 3 H, H-10), 4.30 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 4 H, H^{ar}). [4'-1-Methylphenyl-1-methoxyethan]; 1.85 (d, ³J_{HH}=6.9 Hz, 3 H, H-8), 2.35 (s, 3 H, H-10), 5.09 (q, ³J_{HH}=6.9 Hz, 1 H, H-7), 7.17 (m, 2 H, H^{ar}), 7.32 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-1-Methylphenyl-1-chlorethan]; 2.17 (s, 3 H, H-13), 2.87 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H, H-7), 3.33 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.52 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H, H-7), 7.11 (d, ³J_{HH}=7.8 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.18 (d, ³J_{HH}=7.8 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [2'-Dimethoxy-2-(para-methylphenylethan)]; 2.33 (s, 3 H, H-7), 3.59 (s, 2 H, H-8), 3.68 (s, 3 H, H-12), 7.15 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Methylphenylessigsäuremethylester]; 2.19 (s, 3 H, H-3), 3.65 (d, ³J_{HH}=2.1 Hz, 2 H, H-7), 7.11 (d, ³J_{HH}=7.8 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.18 (d, ³J_{HH}=7.8 Hz, 2 H, H-4 & H-6), 9.70 (t, ³J_{HH}=2.1 Hz, 1 H, H-8) [4'-Methylacetaldehyd]; 2.44 (s, 3 H, H-7), 7.33 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.77 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H-4 & H-6), 9.96 (s, 1 H, H-8) [4'-Methylbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein. [333,317,329,310,325,334,335,314,336]

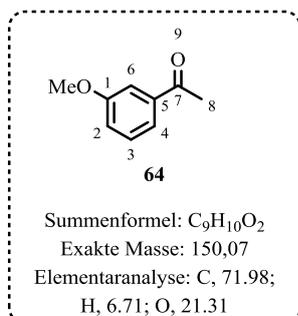


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) =5.41 (dd, ³J_{HH}=11.0 Hz; ²J_{HH}=1.0 Hz, 1 H, H-8), 5.77 (dd, ³J_{HH}=17.5 Hz; ²J_{HH}=1.0 Hz, 1 H, H-8), 7.15 (dd, 1 H, ³J_{HH}=11.0 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-7), 7.21 (dt, ³J_{HH}=7.5 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-3), 7.26 (dt, ³J_{HH}=7.5 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-2), 7.38 (dd, ³J_{HH}=8.0 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-1), 7.59 (dd, ³J_{HH}=7.5 Hz; ⁴J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-4) [2'-Fluorstyrol]; 2.62-2.64 (s, 3 H, H-8), 7.09-7.14 (m, 1 H, H^{ar}), 7.19-7.23 (m, 1 H, H^{ar}), 7.48-7.53 (m, 1 H, H^{ar}), 7.84-7.88 (m, 1 H, H^{ar}) [2'-Fluoracetophenon]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H, H-8), 1.94 (s, 1 H, H-9), 5.29 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H, H-7), 6.99 (t, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H^{ar}), 7.13 (t, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H^{ar}), 7.20-7.25 (t, 1 H, H^{ar}), 7.45-7.48 (m, 1 H, H^{ar}) [2'-Fluorphenylethanol]; 3.74 (s, 2 H, H-8), 3.76 (s, 3 H, H-12), 7.14-7.23 (m, 2 H, H^{ar}), 7.29-7.46 (m, 2 H, H^{ar}) [2'-Fluorphenylessigsäuremethylester]; 3.73 (s, 2 H, H-7), 7.07-7.34 (m, 4 H, H^{ar}), 9.76 (t, ³J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-8) [2'-Fluoracetaldehyd]; 7.39 (t, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-1), 7.19 (m, 2 H, H^{ar}), 7.60 (m, 1 H, H^{ar}), 7.75 (m, 1 H, H^{ar}), 9.90 (s, 1 H, H-7) [2'-Fluorbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein. [337a-c,332,337d] Die Verbindungen 2'-Fluor-2-phenylmethoxyethan, 2'-Fluor-2-phenylchlorethan und 2'-Fluordimethoxy-2-phenylethan wurden aus Analogieschlüssen der anderen

Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.

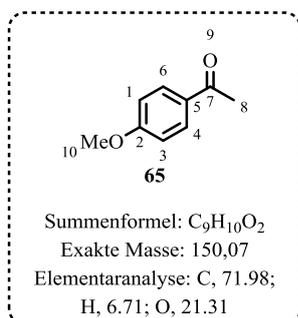


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.23 (d, ³J_{HH}=11.0 Hz, 1 H, H-8), 5.68 (d, ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H, H-8), 6.69 (dd, 1 H, ³J_{HH}=11.0 Hz; ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H, H-7), 6.95-7.07 (m, 2 H, H^{ar}), 7.34-7.44 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluorstyrol]; 2.58 (s, 3 H, H-8), 7.12 (m, 2 H, H^{ar}), 7.96-8.00 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluoracetophenon]; 1.47 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H, H-8), 1.95 (s, 1 H, H-9), 4.87 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 6.96-7.08 (m, 2 H, H^{ar}), 7.28-7.38 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluorphenylethanol]; 1.43 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H, H-8), 3.21 (s, 3 H, H-11), 4.28 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H, H-7), 7.01-7.35 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-1-Fluorphenyl-1-methoxyethan]; 2.87 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H, H-7), 3.32 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.48 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H, H-7), 7.18 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.28 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [2'-Dimethoxy-2-(para-Fluorphenylethan)]; 3.58 (s, 2 H, H-8), 3.69 (s, 3 H, H-12), 6.68-7.01 (m, 2 H, H^{ar}), 7.12-7.14 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluorphenylethylmethyläther]; 3.69 (d, ³J_{HH}=1.5 Hz, 2 H, H-8), 7.04-7.09 (m, 2 H, H^{ar}), 7.16-7.21 (m, 2 H, H^{ar}), 9.75 (t, ³J_{HH}=1.5 Hz, 1 H, H-9) [4'-Fluoracetaldehyd]; 7.16-7.20 (m, 2 H, H^{ar}), 7.87-7.90 (m, 2 H, H^{ar}), 9.94 (d, 1 H, H-8) [4'-Fluorbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[333,331,310,338,326,339,332,315] Die Verbindung 4'-Fluor-2-phenylchloroethan wurde aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.80 (s, 3 H, H-9), 5.24 (d, ³J_{HH}=10.8 Hz, 1 H, H-8), 5.73 (d, ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-8), 6.68 (dd, ³J_{HH}=10.8 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-7), 6.80 (dd, ³J_{HH}=8.3 Hz; ⁴J_{HH}=2.7 Hz, 1 H, H-4), 6.94 (s, 1 H, H-2), 7.00 (s, 1 H, H-6), 7.23 (t, ³J_{HH}=8.3 Hz, 1 H, H-3) [3'-Methoxystyrol]; 2.51 (s, 3 H, H-8), 6.02 (s, 3 H, H-10), 6.81-6.83 (m, 1 H, H^{ar}), 7.41-7.54 (m, 3 H, H^{ar}) [3'-Methoxyacetophenon]; 1.50 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H, H-8), 2.38 (s, 3 H, H-10), 4.86-4.91 (m, 1 H, H-7), 6.83 (m, 1 H, H^{ar}), 6.94-6.97 (m, 2 H, H^{ar}), 7.28 (t, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-3) [3'-Methoxyphenylethanol]; 3.61 (s, 2 H, H-8), 3.69 (s, 3 H, H-11), 3.79 (s, 3 H, H-12), 7.15-7.30 (m, 4 H, H^{ar}) [3'-Methoxyphenylethylmethyläther]; 3.66 (s, 2 H, H-7), 3.81 (s, 3 H, H-10), 6.75 (s, 1 H, H-6), 6.81 (d, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H-2), 6.80 (dd, ³J_{HH}=8.3 Hz; ⁴J_{HH}=2.4 Hz, 1 H, H-4), 7.29 (app. t, ³J_{HH}=7.9 Hz, 1 H, H-3), 9.74 (t, ³J_{HH}=2.4 Hz, 1 H, H-8) [3'-Methoxyacetaldehyd]; 3.85 (s, 3 H, H-9), 7.15-7.17 (m, 1 H, H^{ar}), 7.38-7.44 (m, 2 H, H^{ar}), 9.96 (s, 1 H, H-7) [3'-Methoxybenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[340-344,319,345,336] Die Verbindungen 3'-Methoxy-2-phenylmethoxyethan, 3'-Methoxy-2-phenylchloroethan und 3'-Methoxydimethoxy-2-phenylethan

wurden aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.74 (s, 3 H, H-9), 5.06 (dd, ²J_{HH}=1.0 Hz; ³J_{HH}=11.0 Hz, 1 H, H-8), 5.54 (dd, ²J_{HH}=1.0 Hz; ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H, H-8), 6.60 (dd, 1 H, ³J_{HH}=11.0 Hz; ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H, H-7), 6.76-6.82 (m, 2 H, H^{ar}), 7.25-7.32 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Methoxystyrol]; 2.54 (s, 3 H, H-8), 3.83 (s, 3 H, H-10), 6.92 (d, ³J_{HH}=8.8 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.93 (d, ³J_{HH}=8.8 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-Methoxyacetophenon]; 1.47 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H, H-8), 2.31 (s, 1 H, H-9), 3.81 (s, 3 H, H-10), 4.83 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 6.89 (d, ³J_{HH}=8.5 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.29 (d, ³J_{HH}=8.5 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-Methoxyphenylethanol]; 1.44 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-8), 3.22 (s, 3 H, H-Me), 3.82 (s, 3 H, H-10), 4.28 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 6.91 (d, ³J_{HH}=8.8 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.26 (d, ³J_{HH}=8.8 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-1-Methoxyphenyl-1-methoxyethan]; 1.87 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H, H-8), 3.82 (s, 3 H, H-10), 5.12 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H, H-7), 6.90 (d, ³J_{HH}=8.7 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.37 (d, ³J_{HH}=8.8 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-1-Methoxyphenyl-1-chlorethan]; 2.85 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H, H-7), 3.30 (s, 6 H, H-11 & H-12), 3.75 (s, 3 H, H-13), 4.48 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H, H-7), 7.00-7.15 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Dimethoxy-2-(*para*-Methoxyphenylethan)]; 3.57 (s, 2 H, H-8), 3.68 (s, 3 H, H-12), 3.79 (s, 3 H, H-7), 6.86 (d, ³J_{HH}=8.4 Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.20 (d, ³J_{HH}=8.4 Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-Methoxyphenylessigsäuremethylester]; 3.63 (d, ³J_{HH}=2.1 Hz, 2 H, H-7), 3.80 (s, 3 H, H-3), 6.93-7.10 (m, 4 H, H^{ar}), 9.70 (t, ³J_{HH}=2.1 Hz, 1 H, H-8) [4'-Methoxyacetaldehyd]; 3.86 (s, 3 H, H-7), 7.01 (d, 2 H, H-1 & H-3), 7.83 (d, 2 H, H-4 & H-6), 9.87 (s, 1 H, H-8) [4'-Methoxybenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[328,317,322,346,326,335,314]

10.3.2.2. Reduktive Aminierung mit Transaminasen

10.3.2.2.1. Gensequenz der VF-TA

ATGAACAAACCGCAGAGCTGGGAAGCGCGTGCGGAAACCTATAGCCTGTATGGCTTTAC
CGATATGCCGAGCCTGCATCAGCGTGGCACCGTTGTTGTTACCCATGGCGAAGGCCCGTA
TATCGTTGATGTTAACGGCCGTCGTTATCTGGATGCGAATAGCGGCCTGTGGAATATGGT
TGCGGGCTTTGATCATAAAGGCCTGATCGATGCGGCGAAAGCGCAGTATGAACGTTTTCC
GGGCTATCATGCGTTTTTTGGCCGTATGAGCGATCAGACCGTGATGCTGAGCGAAAACT
GGTTGAAGTGAGCCCGTTTGATAGCGGCCGTGTGTTTTATACCAACAGCGGCAGCGAAGC
GAATGATAACCATGGTTAAAATGCTGTGGTTTCTGCATGCGGCGGAAGGTAAACCGCAGAA
ACGTAATAATTCTGACCCGCTGGAACGCGTATCATGGCGTTACCGCGGTTAGCGCGAGCAT
GACCGGCAAACCGTATAACAGCGTGTGGTCTGCCGCTGCCGGGTTTTGTTTCATCTGACC
TGCCCGCATTATTGGCGTTATGGCGAAGAAGGCGAAACCGAAGAACAGTTTGTTCGCGGT
CTGGCGCGTGAAC TGAAGAAACCATT CAGCGCGAAGGCGCGGATAACCATTGCGGGTTTT
TTTGC GGAACCGGTTATGGGTGCGGGTGGTGTATTCCGCCGGCGAAAGGTTATTTTCAG
GCGATTCTGCCGATCCTGCGCAAATATGATATTCCGGTGATCAGCGATGAAGTGATTTGC
GGCTTTGGTTCGTACCGGTAATACCTGGGGTTGCGTGACCTATGATTTTACCCCGGATGCG
ATCATTAGCAGCAAAAACCTGACCGCGGGCTTTTTTCCGATGGGTGCGGTTATTCTGGGT
CCGGAAC TGAACAGTCTGGAACCGCGATTGAAGCGATCGAAGAATTTCCGCATGG
TTTTACCGCGAGCGGTCATCCGTTGGTTGTGCGATTGCGCTGAAAGCGATCGATGTGGT
TATGAACGAAGGCCTGGCGGAAAATGTTTCGTCGTCTGGCGCCGCGTTTTGAAGAACGCCT
GAAACATATTGCGGAACGTCCGAACATTGGCGAATATCGCGGCATTGGTTTTATGTGGGC
GCTGGAAGCGGTTAAAGATAAAGCGAGCAAAACCCCGTTTGATGGCAATCTGAGCGTGA
GCGAACGTATTGCGAATACCTGCACCGATCTGGGTCTGATTTGTTCGTCGCTCCGCTGGGTCAGA
GCGTTGTTCTGTGCCCGCCGTTTATTCTGACCGAAGCGCAGATGGATGAAATGTTTCGATA
AACTGGAAAAAGCGCTGGATAAAGTTTTTCGCGGAAGTTGCGTAA

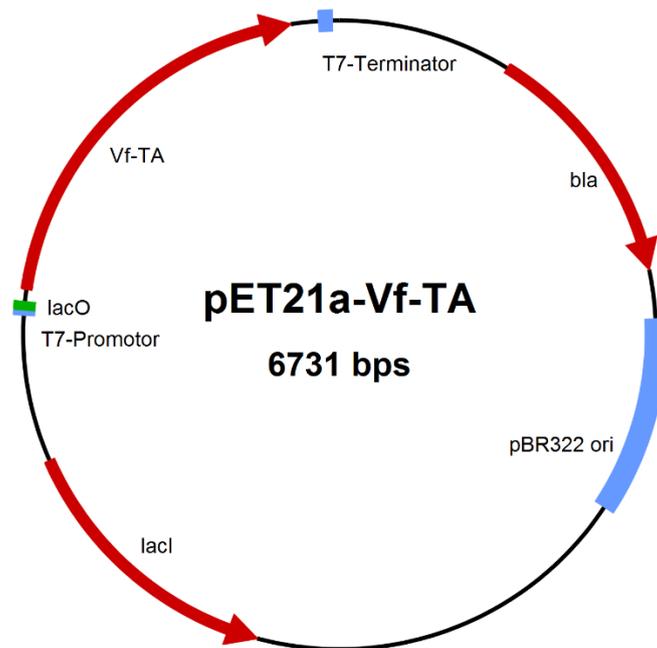


Abbildung 158: Schematische Darstellung des eingesetzten Plasmids zur Expression von VF-TA.

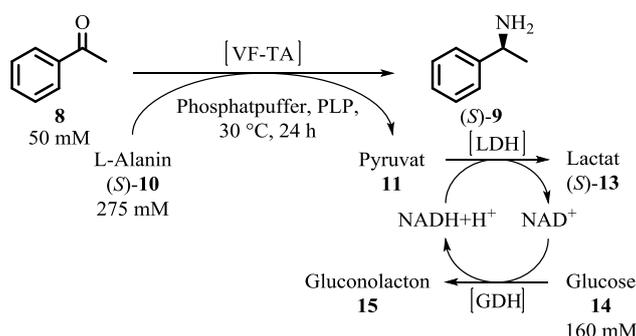
10.3.2.2.2. Gentransformation, Überexpression und Aktivitätsbestimmung von VF-TA

Das gewünschte Plasmid (100 ng, käuflich erworben bei Fisher Scientific) wird zu einer gefrorenen Zellsuspension (100 μ L *E. coli* BL21(DE3), $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) gegeben. Die Zellen werden 30 min auf Eis inkubiert und anschließend für 90 sec auf $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperiert. Die Suspension wird erneut 2 Min auf Eis gekühlt und anschließend mit LB-Medium (900 μ L) versetzt, sodass die Zellen anwachsen können. Nach 2 h werden 50 μ L der angewachsenen Suspension auf einer Agarplatte (geimpft mit Carbenicillin 100 mg/L) ausgestrichen und über Nacht auf $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperiert. Eine Vorkultur wird aus 5 Kolonien der Agarplatte gewonnen, die über Nacht in LB-Medium (geimpft mit Carbenicillin 100 mg/L) bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ geschüttelt wird. Die angewachsenen Zellen sind potent genug für eine Überexpression in Form einer Hauptkultur.

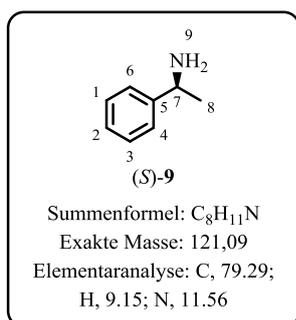
Die Hauptkultur (LB-Medium, 330 mL, 100 mg/L carbenicillin) wird etwa 1/100 v/v mit der Übernachtskultur angeimpft (5 mL). Bis zu einer optischen Dichte von 0.8 (ca. 3 h) werden die Zellen bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ und 180 rpm geschüttelt. Die Überexpression wird mit Isopropylthiogalactopyranosid (IPTG, 1 mM Endkonzentration) induziert. Die Kultur wird ab diesem Zeitpunkt nur noch bei $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bei 180 rpm geschüttelt (16 h). Die Zellsuspension wird zentrifugiert (10000 rpm, at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min) und in Puffer (Phosphat 100 mM, PLP 0.1 mM, pH 8) resuspendiert. Die Zellwände werden mittels Ultraschall Behandlung (3 mal) zerstört und durch Zentrifugieren (10000 rpm, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min) sedimentiert. Der Rohextrakt wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren und lyophilisiert. Das Lyophilisat wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert.

Die Aktivität der Transaminase wurde an einem Photometer gemessen. Dazu wurde enantiomerenreines 1-Phenylethylamin (*S*)-**9** (2.5 mM), Pyruvat (2.5 mM) und PLP (0.1 mM) in Phosphatpuffer (0.1 M, pH 8.0) gelöst. Ein typisches Beispiel für einen Aktivitätstest stellt der Einsatz von 1 mg Lyophilisat dar. Das Lyophilisat wird in Phosphatpuffer (1 mL, 0.1 M, pH 8.0) gelöst. In einer Küvette wird die Substratlösung (980 μ L) vortemperiert (30 °C) und mit der Enzymlösung (20 μ L) versetzt. Die Reaktion wird photometrisch bei 245 nm beobachtet. Aus der Steigung zu Beginn der Reaktion wird die Aktivität nach Gleichung 3 berechnet.

10.3.2.2.3. Synthese von (*S*)-**9** mit VF-TA in Phosphatpuffer



Analog zu AAV4 werden L-Alanin (*S*)-**10** (24.60 mg, 0.28 mmol, 7.0 \ddot{A} q, 275 mM Endkonzentration), Glucose **14** (32.71 mg, 0.18 mmol, 4.5 \ddot{A} q, 160 mM Endkonzentration) und die Lyophilisate von der VF-TA (76 mg, 23 U, 575 U/mmol_{Substrat}) und der GDH (12.70 mg, 60 U, 1230 U/mmol_{Substrat}) in einem Reaktionsgefäß eingewogen. Die Substanzen werden in Phosphatpuffer (1 mL, 0.1 M, pH 8.0) und PLP (100 μ L, 10 mM) suspendiert und mit LDH (40 μ L, 23 U, 575 U/mmol_{Substrat}) und Acetophenon **8** (4.23 μ L, 0.04 mmol, 1.0 \ddot{A} q, 50 mM Endkonzentration) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Reaktionsmischung 19 h mit einem Volumenäquivalent Salzsäure (1 M) bei 30 °C behandelt. Der pH-Wert wird mit konzentrierter Natronlauge auf 14 eingestellt und die Suspension 3 mal mit DCM extrahiert. Phasentrennung wird durch Zentrifugieren erreicht (5000 rpm, 5 min, 22 °C). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der Umsatz ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wird das Rohprodukt analog zu Kapitel 10.3.1.2 zum Amid derivatisiert.

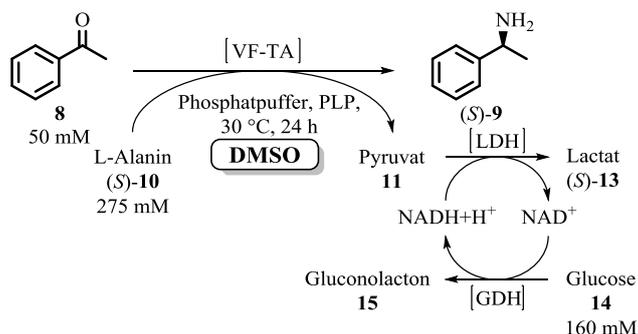


	Experiment 1	Experiment 2
Umsatz [%]	99	96
Wiederfindung [%]	38	75
<i>ee</i> [%] (bestimmt durch HPLC)	99	99

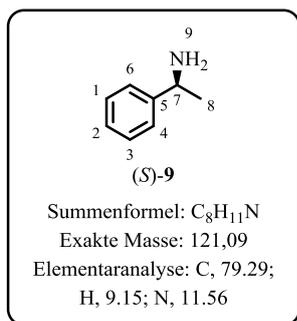
t_R (chirale HPLC): 14.3 min (S)-136, CO₂/IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (S)-9 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.2.4. Synthese von (S)-9 mit VF-TA in Phosphatpuffer und DMSO



In einem Reaktionsgefäß werden L-Alanin (S)-10 (24.86 mg, 0.28 mmol, 3.9 Äq, 275 mM Endkonzentration), Glucose 14 (32.67 mg, 0.18 mmol, 2.6 Äq, 160 mM Endkonzentration) und die Lyophilisate von der VF-TA (77.32 mg, 23 U, 575 U/mmol_{Substrat}) und der GDH (5.64 mg, 30 U, 615 U/mmol_{Substrat}) eingewogen. Die Substanzen werden in Phosphatpuffer (800 μ L, 0.1 M, pH 8.0), DMSO (200 μ L) und PLP (100 μ L, 10 mM) suspendiert und mit LDH (33 μ L, 23 U, 575 U/mmol_{Substrat}) und Acetophenon 8 (10.10 mg, 0.07 mmol, 1.0 Äq, 50 mM Endkonzentration) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Suspension mit verdünnter Salzsäure (500 μ L, 1 M) auf pH 2 eingestellt und für 19 h bei 30 °C gerührt. Vor der Extraktion mit DCM (3 mal 5 mL) wird der pH-Wert mit konzentrierter Natronlauge auf 14 erhöht. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der Umsatz ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wird das Rohprodukt analog zu Kapitel 10.3.1.2 zum Amid derivatisiert.

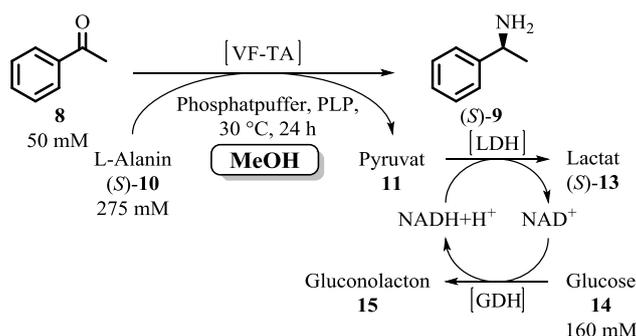


	Experiment 1	Experiment 2
Umsatz [%]	99	96
Wiederfindung [%]	38	75
<i>ee</i> [%] (bestimmt durch HPLC)	99	99

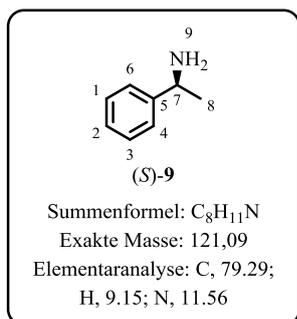
t_R (chirale HPLC): 14.3 min (*S*)-**136**, CO₂/IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*S*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.2.5. Synthese von (*S*)-**9** mit VF-TA in Phosphatpuffer und MeOH



In einem Reaktionsgefäß werden L-Alanin (*S*)-**10** (24.86 mg, 0.28 mmol, 3.9 Äq, 275 mM Endkonzentration), Glucose **14** (32.67 mg, 0.18 mmol, 2.6 Äq, 160 mM Endkonzentration) und die Lyophilisate von der VF-TA (77.32 mg, 23 U, 575 U/mmol_{Substrat}) und der GDH (5.64 mg, 30 U, 615 U/mmol_{Substrat}) eingewogen. Die Substanzen werden in Phosphatpuffer (800 μ L, 0.1 M, pH 8.0), DMSO (200 μ L) und PLP (100 μ L, 10 mM) suspendiert und mit LDH (33 μ L, 23 U, 575 U/mmol_{Substrat}) und Acetophenon **8** (10.10 mg, 0.07 mmol, 1.0 Äq, 50 mM Endkonzentration) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Suspension mit verdünnter Salzsäure (500 μ L, 1 M) auf pH 2 eingestellt und für 19 h bei 30 °C gerührt. Vor der Extraktion mit DCM (3 mal 5 mL) wird der pH-Wert mit konzentrierter Natronlauge auf 14 erhöht. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der Umsatz ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wird das Rohprodukt analog zu Kapitel 10.3.1.2 zum Amid derivatisiert.



	Experiment 1	Experiment 2
Umsatz [%]	98	98
Wiederfindung [%]	95	80
<i>ee</i> [%] (bestimmt durch HPLC)	99	99

t_R (chirale HPLC): 14.3 min (*S*)-**136**, CO₂/IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

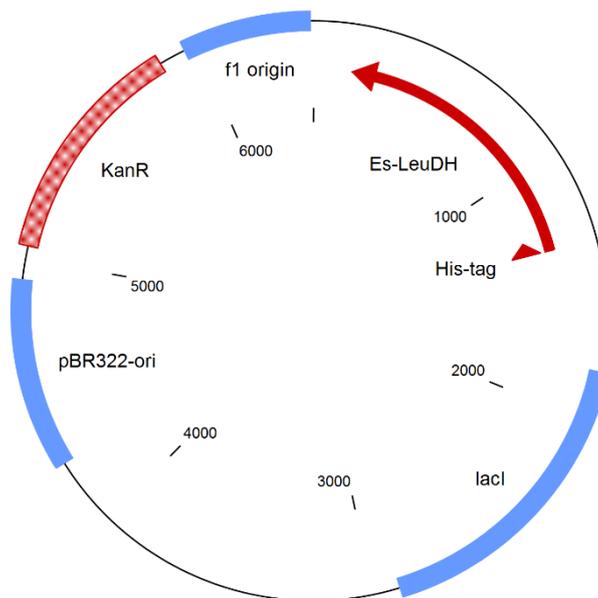
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*S*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3. Reduktive Aminierung mit Amindehydrogenasen

10.3.2.3.1. Gentransformation, Expression und Aktivitätsbestimmung

ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGCAGCCAT
 ATGGTTGAAACAAACGTAGAAGCACGATTCAGTATTTTCGAAACGATGGCAATGGAAGA
 TTACGAACAAGTCGTATTTTGTACGATAAAGTCTCAGGATTAAGGCGATTATCGCGAT
 TCATGATACGACACTCGGACCAGCACTCGGCGGACTCCGTATGTGGAACATGCGTCTGA
 CGAGGAAGCATTGATCGACGCGCTTCGTTTGGCAAAGGCATGACGTATAGCAATGCGG
 CAGCCGGTCTGAACCTTGGCGGCGGGAAAGCGGTCATCATCGGTGATGCGAAAACGCAA
 AAATCAGAAGCTCTGTTCCGTGCATTCGGTCGTTACGTACAGTCGTTAAACGGACGTTAC
 ATCACTGCGGAAGACGTCAACACAACAGTCGCCGACATGGATTATATCCACATGGAAAC
 AGATTTTCGTAACCGGTGTCAGCCCGGCATTTCGGATCAAGCGGCAATCCGTCACCAGTCAC
 GGCTTATGGCGTTTACCGCGGAATGAAGGCAGCCGCTAAAGAAGTATATGGCACAGATTC
 ACTCGGAGGAAAAACAGTTGCGATTCAAGGTGTTGGTAACGTTGCTTTCAACCTATGCCG
 TCACTTGCATGAAGAAGGCGCAAATTGATTGTCACAGACATCAATCAAGATGCATTACG
 CCGTGCAGAAGAAGCGTTTGGCGCTCTCGTCGTCGGACCGGATGAAATTTACAGCGTCGA
 TGCCGATATCTTTGCGCCGTGTGCCTTAGGTGCGACATTGAACGATGAGACGATTCCACA
 ACTGAAAGTGAAAATCATTGCCGGAGCAGCACTAAACCAACTCAAAGAAGATCGTCACG
 GAGATATGCTCCAGGAACGCGGTATTTTATATACACCGGACTTCGTCATCAACGCAGGAG
 GTGTCATCAATGTGGCCGACGAACTCGACGGGTACAACCGTGAGCGGGCGATGAAAAAA
 GTCGAACTCGTCTATGATGCGGTAGCAAAAGTCATCGAAATTGCCAAACGTGACCATCTG

CCGACTTACCGGGCAGCAGAGAAGATGGCAGAAGAACGGATCGCGACAATGGGCAGTGC
CCGCAGCCAGTTCTTACGCCGGGATAAAAACATTTTAGGATCACGCGGTAA



pET28a_Es-LeuDH_K77S_N270L_(N)6His
6418 bps

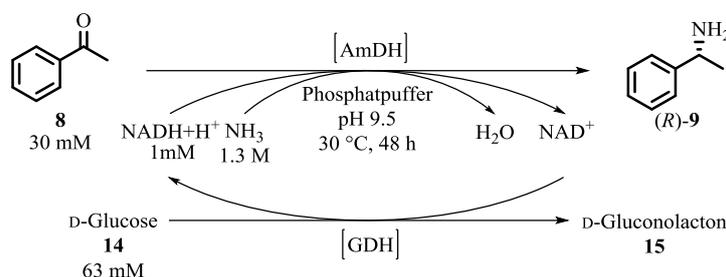
Abbildung 159: Schematische Darstellung des eingesetzten Plasmids zur Expression von Es-LeuDH.

Plasmid DNA (10 μ L) werden zu 50 μ L potenten Zellen aus *E. coli* BL21(DE3) gegeben und 30 min auf Eis inkubiert. Die Zellen werden 90 sec bei 42 $^{\circ}$ C hitzegeschockt und erneut 5 min auf Eis inkubiert. Die Zellsuspension wird mit LB-Medium (1 mL) aufgestockt und für 3 h bei 37 $^{\circ}$ C geschüttelt (180 rpm). Anschließend wird die Kultur auf einer Agarplatte mit entsprechendem Antibiotikum (hier Kanamycin 50 μ g/mL) ausgestrichen. Die Kultur wächst über Nacht bei 37 $^{\circ}$ C. Einige Kolonien werden gepickt und in LB-Medium mit Kanamycin (50 μ g/mL) anwachsen gelassen (37 $^{\circ}$ C, 180 rpm). Die Vorkultur wird zum 1 %igen animpfen der Hauptkultur (TB-Medium mit Kanamycin 50 μ g/mL) verwendet. Die Kultur wird bei 37 $^{\circ}$ C und 180 rpm wachsen gelassen bis sie eine optische Dichte von 0.5 erreicht. Zu diesem Zeitpunkt wird die Überexpression mit IPTG (1/1000 v/v, 1 M) induziert. Die Expressionstemperatur wird auf 20 $^{\circ}$ C reduziert und die Kultur für weitere 16 h bei 180 rpm geschüttelt. Die Zellmasse wird aus dem Medium zentrifugiert (4000 g, 4 $^{\circ}$ C, 30 min). Für einen optimalen Zellaufschluss werden die Zellen 25 %ig in Phosphatpuffer (60 mM, pH 7.0) resuspendiert und mit Ultraschall (3 mal 3 min) behandelt. Die Suspension wird zentrifugiert (20000 g, 4 $^{\circ}$ C, 20 min) und der

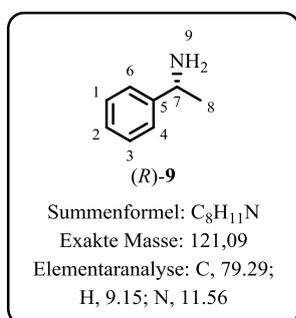
Rohextrakt über der Zellmasse entnommen und für Biotransformationen ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

Um die Aktivität des Rohextraktes zu bestimmen wird eine Küvette mit 980 μL Substratlösung (Ammoniumchlorid 2 M, Phosphatpuffer 60 mM (pH 9.5), Isopropylmethylketon (20 mM)) gefüllt, mit Rohextrakt (10 μL) und NADH-Lösung (10 μL , 10 M) versetzt und auf 30 °C temperiert. Die Änderung der Absorption bei 340 nm wird am Photometer verfolgt. Die Steigung zu Beginn wird nach Gleichung 3 in eine Aktivität umgerechnet.

10.3.2.3.2. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer



Ammoniak (1.3 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH₃ (776 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD⁺ (20 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



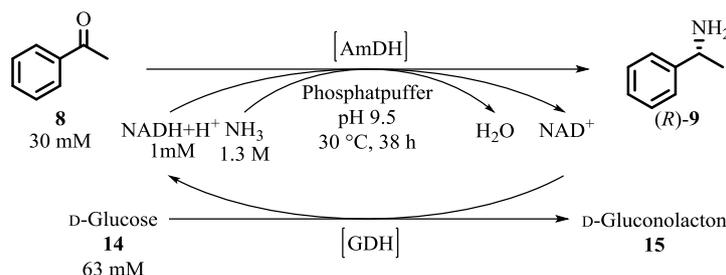
Umsatz: 96 %

Wiederfindung: 99 %

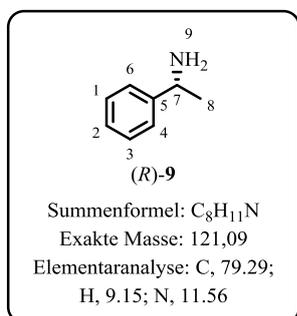
Enantiomerenüberschuss: 99 %*ee* (bestimmt *via* HPLC)

t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂/IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.3. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer

Ammoniak (1.3 M) und GDH (0.19 U/μmol_{Substrat}) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/mmol_{Substrat}) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH₃ (776 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD⁺ (20 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



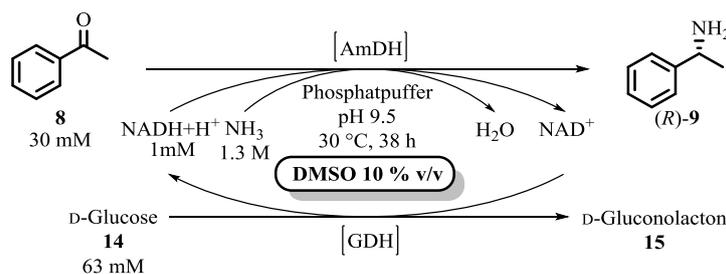
Umsatz: 79 %

Wiederfindung: 96 %

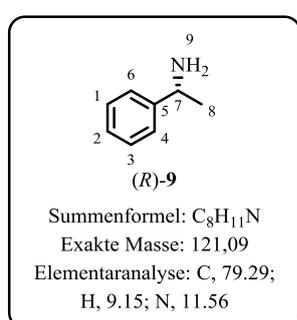
Enantiomerenüberschuss: 99 %*ee* (bestimmt *via* HPLC)

t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂/IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.4. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und DMSO (10 % v/v)

Ammoniak (1.1 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD^+ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH_3 (649 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD^+ (20 μL), DMSO (127 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 2 %

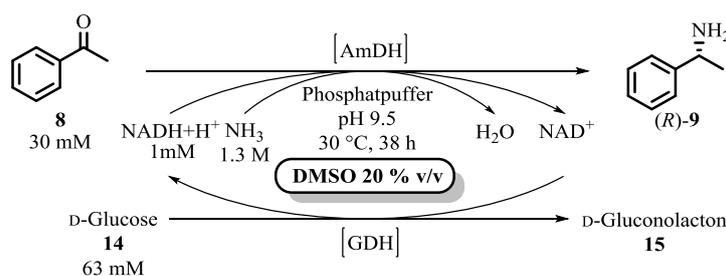
Wiederfindung: 95 %

Enantiomerenüberschuss: n.d. (bestimmt *via* HPLC)

t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO_2 / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

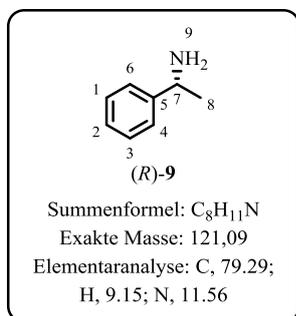
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.5. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und DMSO (20 % v/v)



Ammoniak (1.0 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD^+ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH_3 (522 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD^+ (20 μL), DMSO (254 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4

getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 1 %

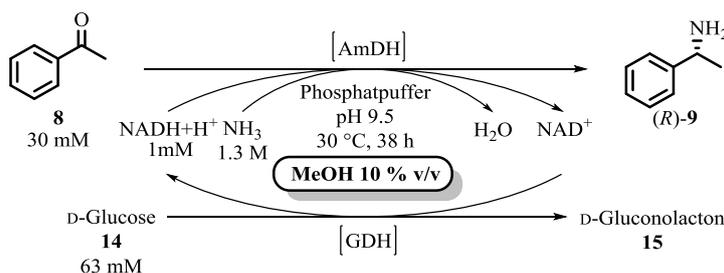
Wiederfindung: 97 %

Enantiomerenüberschuss: n.d. (bestimmt *via* HPLC)

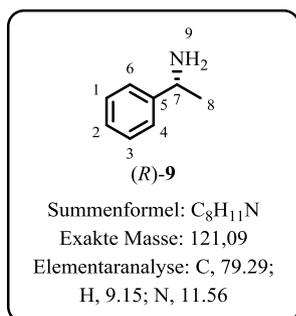
t_R (chirale HPLC): 20.3 min (R)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (R)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.6. Synthese von (R)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und MeOH (10 % v/v)



Ammoniak (1.1 M) und GDH (0.19 U/ μ mol_{Substrat}) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/mmol_{Substrat}) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μ M) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μ L), GDH (6 μ L), NH₃ (649 μ L), Glucose **14** (50 μ L), NAD⁺ (20 μ L), MeOH (127 μ L) und Acetophenon **8** (4.22 μ L). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 70 %

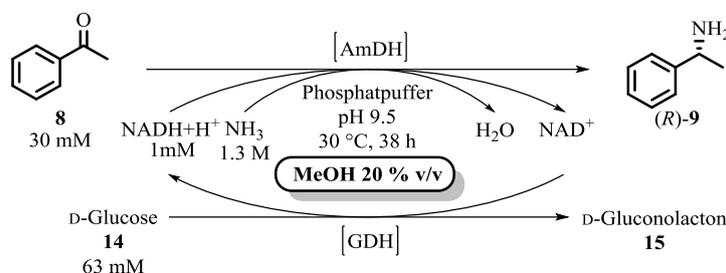
Wiederfindung: 98 %

Enantiomerenüberschuss: 99 %*ee* (bestimmt *via* HPLC)

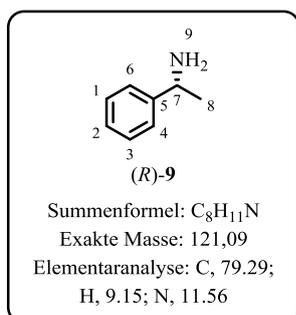
t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.7. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und MeOH (20 % v/v)



Ammoniak (1.0 M) und GDH (0.19 U/μmol_{Substrat}) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/mmol_{Substrat}) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH₃ (522 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD⁺ (20 μL), MeOH (254 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 71 %

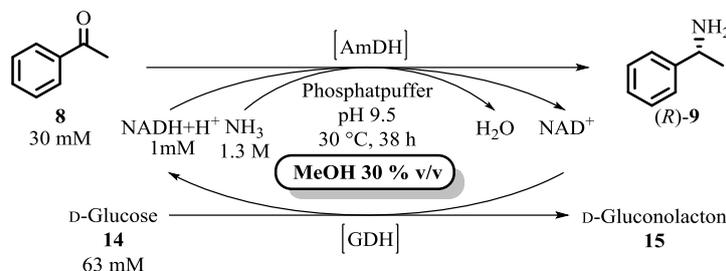
Wiederfindung: 99 %

Enantiomerenüberschuss: 99 %*ee* (bestimmt *via* HPLC)

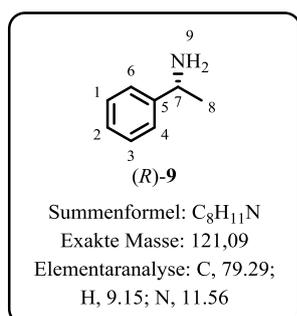
t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.8. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und MeOH (30 % v/v)



Ammoniak (0.7 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH₃ (396 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD⁺ (20 μL), MeOH (380 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



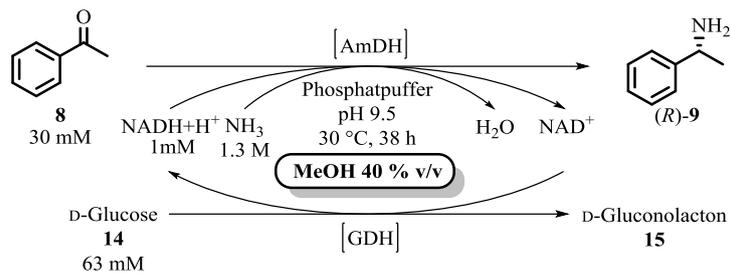
Umsatz: 37 %

Wiederfindung: 93 %

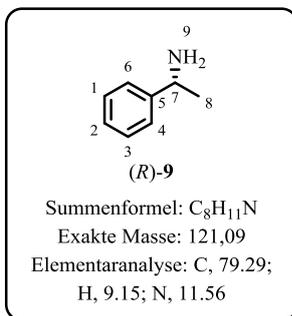
Enantiomerenüberschuss: 99 %*ee* (bestimmt *via* HPLC)

t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.9. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und MeOH (40 % v/v)

Ammoniak (0.4 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH₃ (270 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD⁺ (20 μL), MeOH (506 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



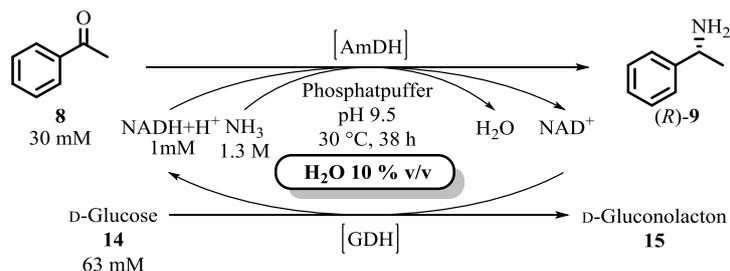
Umsatz: 0 %

Wiederfindung: 97 %

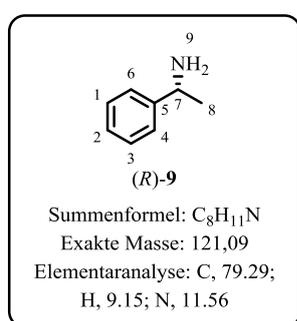
Enantiomerenüberschuss: n.d. (bestimmt *via* HPLC)

t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³*J*_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³*J*_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.10. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und H₂O (10 % v/v)

Ammoniak (1.1 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD^+ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH_3 (649 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD^+ (20 μL), H_2O (127 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 69 %

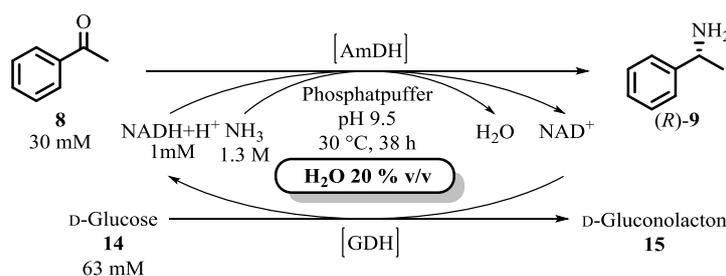
Wiederfindung: 94 %

Enantiomerenüberschuss: 99 % *ee* (bestimmt *via* HPLC)

t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO_2 / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

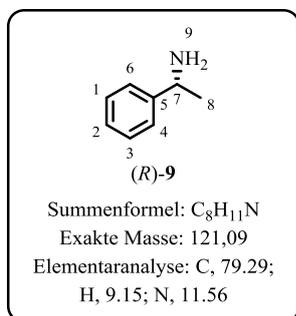
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.11. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und H_2O (20 % v/v)



Ammoniak (1.0 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD^+ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH_3 (522 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD^+ (20 μL), H_2O (254 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4

getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 67 %

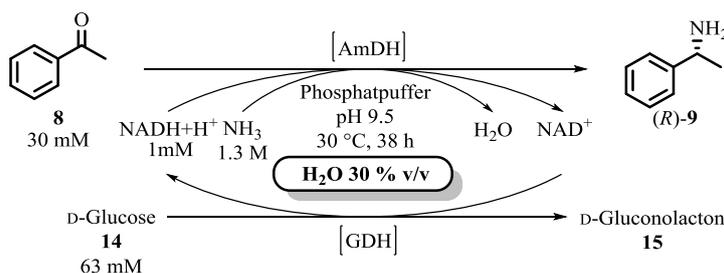
Wiederfindung: 98 %

Enantiomerenüberschuss: 99 % *ee* (bestimmt *via* HPLC)

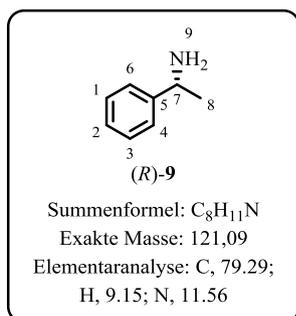
t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.12. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und H₂O (30 % v/v)



Ammoniak (0.7 M) und GDH (0.19 U/ μ mol_{Substrat}) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ μ mol_{Substrat}) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μ M) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μ L), GDH (6 μ L), NH₃ (396 μ L), Glucose **14** (50 μ L), NAD⁺ (20 μ L), H₂O (380 μ L) und Acetophenon **8** (4.22 μ L). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 59 %

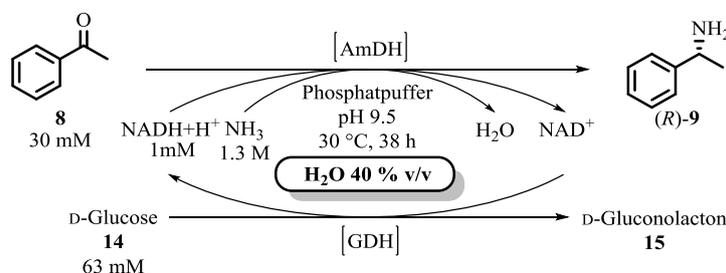
Wiederfindung: 97 %

Enantiomerenüberschuss: 99 %*ee* (bestimmt *via* HPLC)

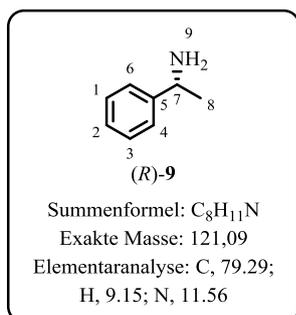
t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.13. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und H₂O (40 % v/v)



Ammoniak (0.4 M) und GDH (0.19 U/μmol_{Substrat}) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/mmol_{Substrat}) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD⁺ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 48 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH₃ (270 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD⁺ (20 μL), H₂O (506 μL) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



Umsatz: 46 %

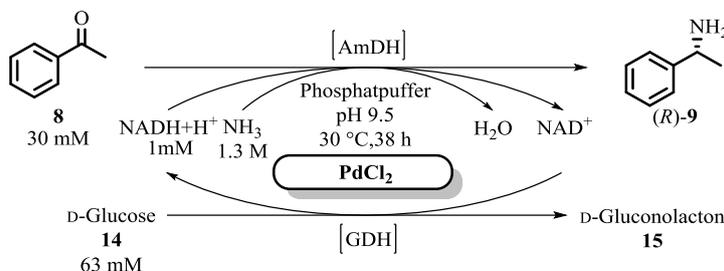
Wiederfindung: 99 %

Enantiomerenüberschuss: 99 %*ee* (bestimmt *via* HPLC)

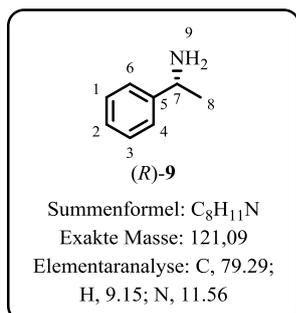
t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.14. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und PdCl_2



Ammoniak (1.3 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD^+ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) und PdCl_2 gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 38 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH_3 (776 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD^+ (20 μL), PdCl_2 (0.72 mg, 0.004 mmol) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



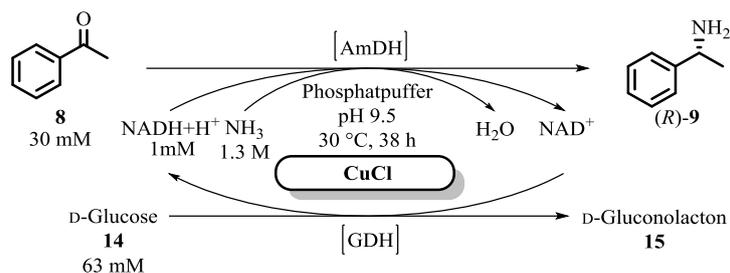
Umsatz: 77 %

Wiederfindung: 93 %

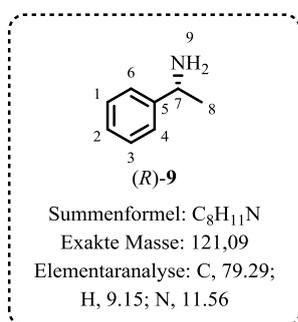
Enantiomerenüberschuss: 99 % *ee* (bestimmt *via* HPLC)

t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO_2 / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.15. Synthese von (*R*)-**9** mit AmDH in Phosphatpuffer und CuCl

Ammoniak (1.3 M) und GDH (0.19 U/ $\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$) werden in AmDH Rohextrakt (0.06 M Phosphatpuffer, pH 7.0, 0.23 U/ $\text{mmol}_{\text{Substrat}}$) gelöst. Zu der Lösung werden Stocklösungen (50 mM und 1 M) des Cofaktors NAD^+ (1 μM) und der Glucose **14** (40 mM) und CuCl gegeben. Die Enzymlösung wird mit Acetophenon **8** (30 mM) versetzt und 38 h bei 30 °C gerührt. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (413 μL), GDH (6 μL), NH_3 (776 μL), Glucose **14** (50 μL), NAD^+ (20 μL), CuCl (4.51 mg, 0.046 mmol) und Acetophenon **8** (4.22 μL). Nach der Reaktion wird die Mischung mit DCM extrahiert (3 mal). Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt. Der Enantiomerenüberschuss wird nach Derivatisierung zum Acetamid **136** auf der chiralen HPLC bestimmt.



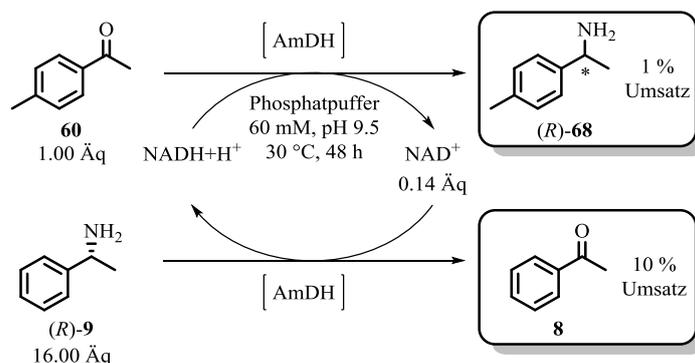
Umsatz: 0 %

Wiederfindung: 93 %

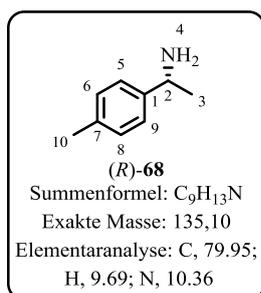
Enantiomerenüberschuss: n.d. (bestimmt *via* HPLC)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen

Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

10.3.2.3.16. Synthese von (*R*)-**68** und Acetophenon **8** mit AmDH ohne 2. Enzym

Zu einer Lösung aus AmDH Rohextrakt (3.04 U/mmol_{Substrat 60}) werden *para*-Methylacetophenon **60** (5 mM), 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** (80 mM) und Stocklösung (50 mM) des Cofaktors (0.9 μM) gegeben. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (6.6 mL), *para*-Methylacetophenon **60** (4.83 μL, 0.034 mmol, 1.00 Äq), 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** (70.33 μL, 0.545 mmol, 16.03 Äq), NAD⁺ (100 μL). Die Enzymlösung wird 48 h bei 30 °C gerührt. Die Reaktion wird extraktiv (3 mal) mit DCM aufgearbeitet. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt.

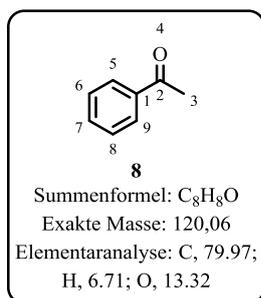


Umsatz: 1 %

Wiederfindung: 96 %

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.38 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 2.33 (s, 3 H, H-10), 4.08 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.14 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H^{ar}), 7.34 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 2 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**68** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und

nachgewiesen werden.^[296]

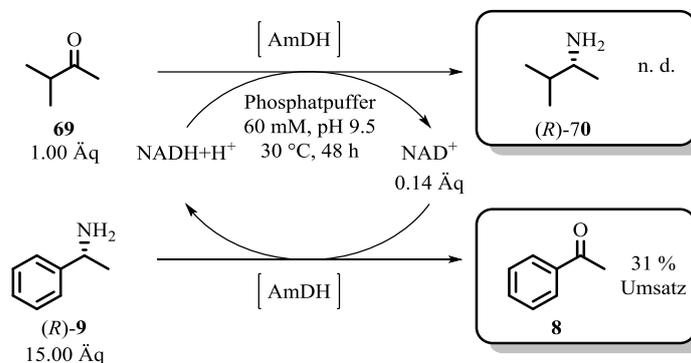


Umsatz: 10 %

Wiederfindung: 98 %

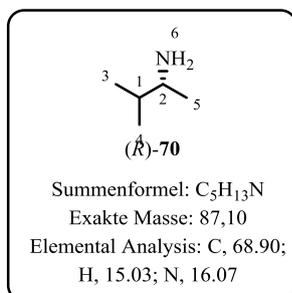
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.61 (s, 3 H, H-8), 7.10-7.40 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung **8** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[308]

10.3.2.3.17. Synthese von (*R*)-**70** und Acetophenon **8** mit AmDH ohne **2**. Enzym



Zu einer Lösung aus AmDH Rohextrakt (3.04 U/mmol_{Substrat 69}) werden Isopropylmethylketon **69** (5 mM), 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** (75 mM) und Stocklösung (50 mM) des Cofaktors (0.9 μM) gegeben. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH

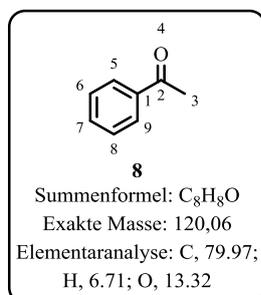
(6.6 mL), Isopropylmethylketon **69** (3.88 μL , 0.036 mmol, 1.00 Äq), 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** (70.33 μL , 0.551 mmol, 15.30 Äq), NAD^+ (100 μL). Die Enzymlösung wird 48 h bei 30 °C gerührt. Die Reaktion wird extraktiv (3 mal) mit DCM aufgearbeitet. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt.



Umsatz: nicht exakt quantifiziert

Wiederfindung: 7 %

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.11 (d, 6 H, H-3/H-4), 2.14 (s, 3 H, H-5), 2.58 (m, 1 H, H-1). Die Verbindung (*R*)-**70** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert jedoch nicht quantifiziert werden.^[347]

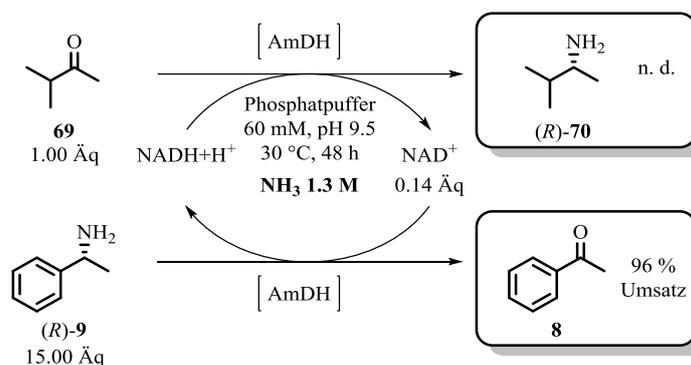


Umsatz: 31 %

Wiederfindung: 96 %

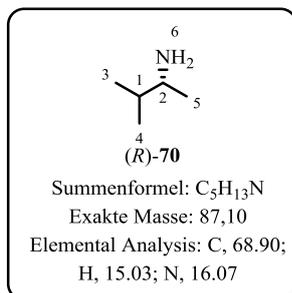
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.61 (s, 3 H, H-8), 7.10-7.40 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung **8** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[308]

10.3.2.3.18. Synthese von (*R*)-**70** und Acetophenon **8** mit AmDH ohne 2. Enzym



Zu einer Lösung aus AmDH Rohextrakt (3.04 U/mmol_{Substrat 69}) werden Isopropylmethylketon **69** (30 mM), 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** (30 mM) und Stocklösungen (50 mM und 2 M, pH 9.5) des Cofaktors (0.9 μM) und Ammoniaks (1.3 M) gegeben. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (6.6 mL), Isopropylmethylketon **69** (28.10 μL , 0.27 mmol, 1.00 Äq), 1-Phenylethylamin (*R*)-**9** (35.16 μL , 0.28 mmol, 1.05 Äq), NAD^+ (154 μL) NH_3 (3.17 mL). Die Enzymlösung wird 48 h bei 30 °C gerührt. Die Reaktion wird extraktiv (3 mal) mit DCM

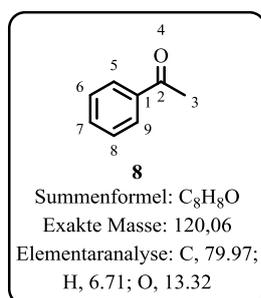
aufgearbeitet. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt.



Umsatz: nicht exakt quantifiziert

Wiederfindung: 56 %

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.11 (d, 6 H, H-3/H-4), 2.14 (s, 3 H, H-5), 2.58 (m, 1 H, H-1). Die Verbindung (*R*)-**70** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[347]

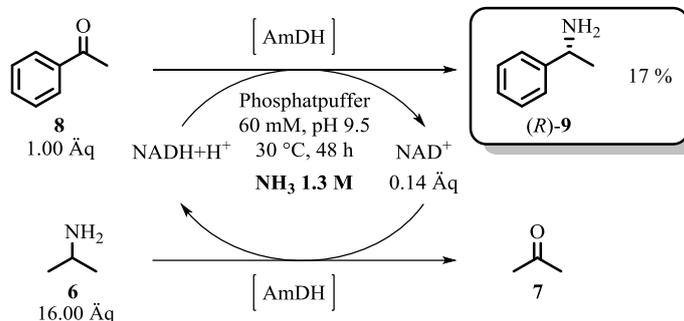


Umsatz: 96 %

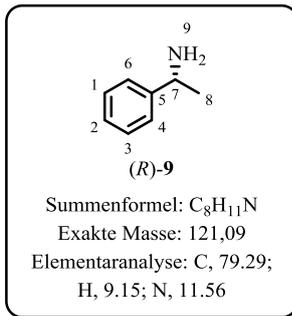
Wiederfindung: 98 %

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.61 (s, 3 H, H-8), 7.10-7.40 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung **8** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[308]

10.3.2.3.19. Synthese von (*R*)-**9** und Aceton **7** mit AmDH ohne **2**. Enzym



Zu einer Lösung aus AmDH Rohextrakt ($3.04 \text{ } \mu\text{mol}_{\text{Substrat } 8}$) werden Isopropylamin **6** (56 mM), Acetophenon **8** (4 mM) und Stocklösungen (50 mM und 2 M, pH 9.5) des Cofaktors (0.9 μM) und Ammoniaks (1.3 M) gegeben. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (6.6 mL), Isopropylamin **6** (48.00 μL , 0.558 mmol, 16.00 Äq), Acetophenon **8** (4.08 μL , 0.035 mmol, 1.00 Äq), NAD^+ (154 μL) NH_3 (3.17 mL). Die Enzymlösung wird 48 h bei 30 °C gerührt. Die Reaktion wird extraktiv (3 mal) mit DCM aufgearbeitet. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt.



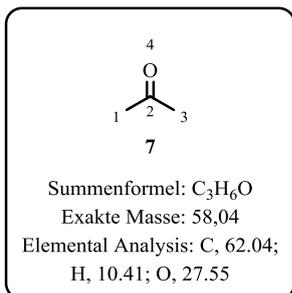
Umsatz: 17 %

Wiederfindung: 95 %

Enantiomerenüberschuss: n.d. (bestimmt *via* HPLC)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (*R*)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen

Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]

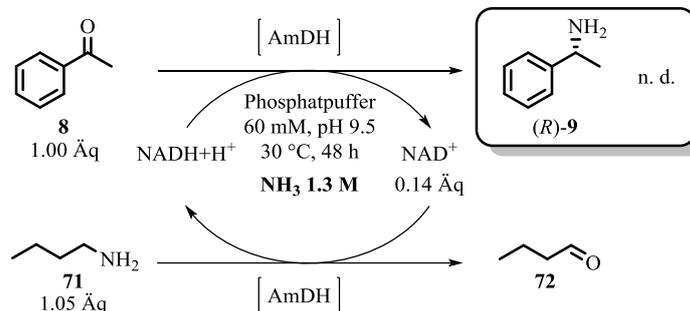


Umsatz: nicht exakt quantifiziert

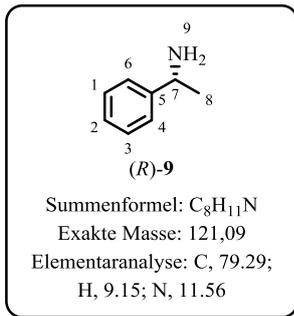
Wiederfindung: 13 %

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.14 (s, 6 H, H-1 & H-3). Die Verbindung **7** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[347]

10.3.2.3.20. Synthese von (*R*)-**9** und Aldehyd **72** mit AmDH ohne **2**. Enzym



Zu einer Lösung aus AmDH Rohextrakt (3.04 /mmol_{Substrat 8}) werden Butylamin **71** (31 mM), Acetophenon **8** (30 mM) und Stocklösungen (50 mM und 2 M, pH 9.5) des Cofaktors (0.9 μM) und Ammoniaks (1.3 M) gegeben. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (3.3 mL), Butylamin **71** (13.35 μL, 0.135 mmol, 1.05 Äq), Acetophenon **8** (15.00 μL, 0.130 mmol, 1.00Äq), NAD⁺ (77 μL) NH₃ (1.59 mL). Die Enzymlösung wird 48 h bei 30 °C gerührt. Die Reaktion wird extraktiv (3 mal) mit DCM aufgearbeitet. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt.



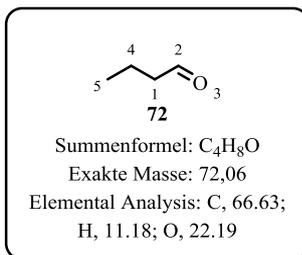
Umsatz: 0 %

Wiederfindung: 96 %

Enantiomerenüberschuss: n.d. (bestimmt *via* HPLC)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (R)-9 konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen

Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]



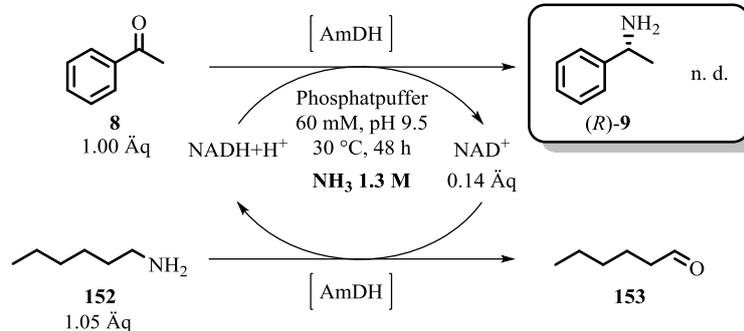
Umsatz: 0 %

Wiederfindung: 78 %

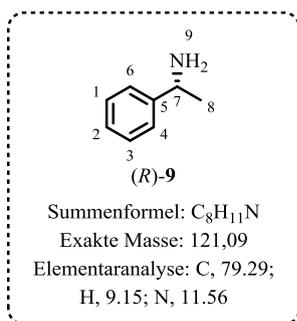
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.96 (t, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H, H-5), 1.64 (m, 2 H, H-4), 2.37 (m, 2 H, H-1), 9.76 (s, 1 H, H-2). Die literaturbekannten NMR-spektroskopischen Daten zu Verbindung 72

konnten nach Durchführung des Experiments nicht nachgewiesen werden.^[347]

10.3.2.3.21. Synthese von (R)-9 und Aldehyd 153 mit AmDH ohne 2. Enzym



Zu einer Lösung aus AmDH Rohextrakt (3.04 /mmol_{Substrat 8}) werden Hexylamin **152** (31 mM), Acetophenon **8** (30 mM) und Stocklösungen (50 mM und 2 M, pH 9.5) des Cofaktors (0.9 μM) und Ammoniaks (1.3 M) gegeben. Exemplarisch werden die absoluten Mengen einmalig von einem Experiment dargestellt. AmDH (3.3 mL), Hexylamin **152** (17.86 μL, 0.135 mmol, 1.05 Äq), Acetophenon **8** (15.00 μL, 0.130 mmol, 1.00Äq), NAD⁺ (77 μL) NH₃ (1.59 mL). Die Enzymlösung wird 48 h bei 30 °C gerührt. Die Reaktion wird extraktiv (3 mal) mit DCM aufgearbeitet. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch bestimmt.



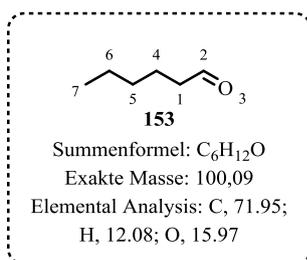
Umsatz: 0 %

Wiederfindung: 94 %

Enantiomerenüberschuss: n.d. (bestimmt *via* HPLC)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung (R)-**9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen

Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]



Umsatz: 0 %

Wiederfindung: 89 %

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.93 (t, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H, H-7), 1.45 (m, 4 H, H-6 & H-5), 1.64 (m, 2 H, H-4), 2.48 (m, 2 H, H-1), 9.71 (s, 1 H, H-2). Die Verbindung **153** konnte durch Vergleich der

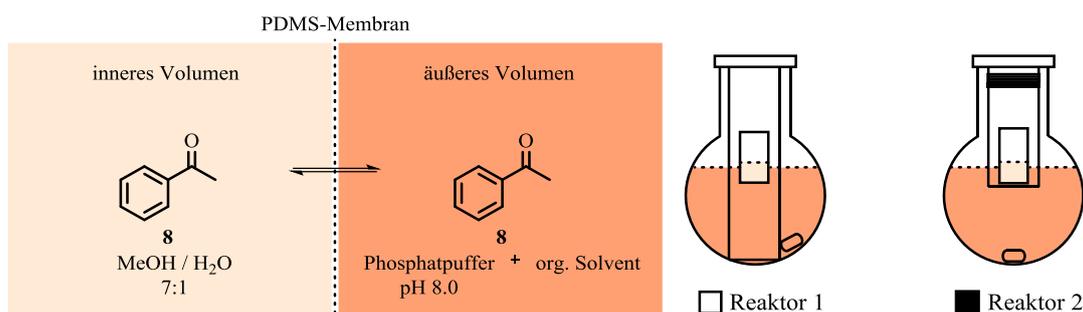
NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[348]

10.3.2.4. Reaktorkonstruktion für eine sequentielle Tandemreaktion

10.3.2.4.1. Aufbau einer PDMS-Membran (1 mL)

Ein Schraubdeckelglas (1 mL Volumen) wird mit 5 Tropfen Trichlor-(1H, 1H, 2H, 2H-perfluorooctyl)silan im Exsikkator für 3 h bei 45 mbar getrocknet. Sylgard® 184 wird durchmischt, entgast und 5 min bei 65 °C vortemperiert. Das Schraubdeckelglas wird in die Elastomerlösung eingetaucht. Nach Abschluss der Tropfenbildung wird es kopfüber im Trockenschrank bei 65 °C für 1 h gegart. Dieser Vorgang wird einmal wiederholt. Nachdem der zweite Vorgang abgeschlossen ist, wird das Schraubdeckelglas erneut in die Elastomerlösung getaucht und abtropfen gelassen. Nach Abschluss der Tropfenbildung wird das Schraubdeckelglas aufrecht für 15 min bei 150 °C in den Trockenschrank gestellt und die PDMS-Schicht ausgehärtet. Die PDMS-Schicht wird am Glashals abgeschnitten. Um die PDMS-Schicht von der Glaswand zu lösen, wird das Glasgefäß in *n*-Hexan eingelegt. Dabei quillt die PDMS-Membran und löst sich von der Glaswand. Das fertige Membrangefäß wird durch Spülen mit Wasser und DCM gereinigt und anschließend zum Experiment verwendet.

10.3.2.4.2. Reaktroptimierung und Bestimmung entsprechender Diffusionsgeschwindigkeiten



In einer PDMS-Hülse (1 mL) werden Wasser, MeOH und Acetophenon **8** vorgelegt. Das äußere Volumen wird mit Phosphatpuffer (und organischem Lösungsmittel) gefüllt. Beide Volumina werden gerührt und nach verschiedenen Zeiten mit DCM 3 mal extrahiert. Anhand eines NMR-Standards wird die Menge Acetophenons **8** im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum quantifiziert. Die eingesetzten Volumina sind in Tabelle 11 angegeben. Die ausgewerteten Ergebnisse sind in Tabelle 12 aufgeführt. Die Experimente 1-12 sind mit Reaktor 1 durchgeführt worden. Dabei wurde die PDMS-Hülse auf dem Boden des Reaktors durch ein Gestänge stabilisiert und die Rührgeschwindigkeit beträgt 50 rpm. Bei den Experimenten 13-14 wurde das Gestänge von oben in die Reaktionslösung getaucht (siehe Reaktor 2) und bei 350 rpm gerührt.

Tabelle 11: Eingesetzte Volumina zur Bestimmung der Diffusionsgeschwindigkeit von Acetophenon **6** durch eine PDMS-Membran.

Experiment	Inneres Volumen (innerhalb der Membran)			Äußeres Volumen (außerhalb der Membran)		Inkubationszeit
	MeOH [μL]	H ₂ O [μL]	Substrat [μL]	Phosphatpuffer (0.1 M, pH 8.0) [mL]	Org. Solvens [mL]	
1	350	50	58 ^a	13.98	0	1.0
2	350	50	58 ^a	13.98	0	2.0
3	350	50	58 ^a	13.98	0	3.0
4	350	50	58 ^a	13.98	0	4.0
5	350	50	58 ^a	13.30	0.70 (MeOH)	2.0
6	350	50	58 ^a	13.30	0.70 (MeOH)	4.0
7	350	50	58 ^a	11.20	2.80 (MeOH)	2.0

Experiment	Inneres Volumen (innerhalb der Membran)			Äußeres Volumen (außerhalb der Membran)		Inkubationszeit
	MeOH [μ L]	H ₂ O [μ L]	Substrat [μ L]	Phosphatpuffer (0.1 M, pH 8.0) [mL]	Org. Solvens [mL]	
8	350	50	58 ^a	11.20	2.80 (MeOH)	4.0
9	350	50	58 ^a	13.30	0.70 (DMSO)	2.0
10	350	50	58 ^a	13.30	0.70 (DMSO)	4.0
11	350	50	58 ^a	11.20	2.80 (DMSO)	2.0
12	350	50	58 ^a	11.20	2.80 (DMSO)	4.0
13	350	50	58 ^a	11.20	2.80 (MeOH)	2.0
14	350	50	58 ^a	11.20	2.80 (MeOH)	4.0
15	350	50	68 ^b	11.20	2.80 (MeOH)	1.5
16	350	50	68 ^b	11.20	2.80 (MeOH)	3.0
17	350	50	69 ^c	11.20	2.80 (MeOH)	1.5
18	350	50	69 ^c	11.20	2.80 (MeOH)	3.0
19	350	50	65 ^d	11.20	2.80 (MeOH)	1.5
20	350	50	65 ^d	11.20	2.80 (MeOH)	3.0
21	350	50	58 ^a	0.00	2.80	1.5
22	350	50	58 ^a	0.00	2.80	3.0

a) Acetophenon **8**; b) 3-Methylacetophenon **59**; c) 3-Methoxyacetophenon **64**; d) 3-Chloracetophenon **62**;

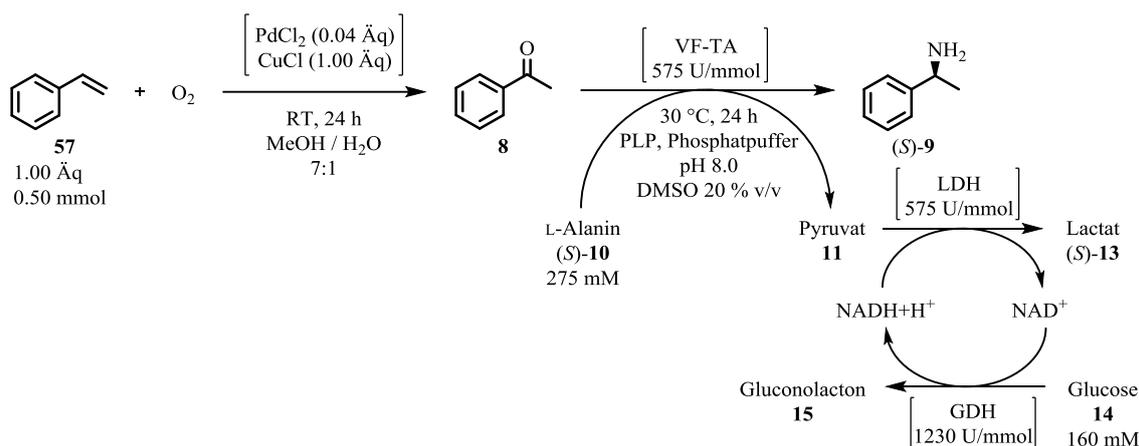
Tabelle 12: Relativer Anteil Acetophenons 6 nach Ende der Inkubationszeit im äußeren Volumen.

Experiment	Org. Solvens	Inkubationszeit [h]	Rel. Anteil im äußeren Volumen [%]	Wiederfindung [%]
1	-	1.0	2	60
2	-	2.0	5	69
3	-	3.0	4	51
4	-	4.0	7	16
5	5 % MeOH	2.0	8	89
6	5 % MeOH	4.0	23	99
7	20 % MeOH	2.0	15	89
8	20 % MeOH	4.0	43	88
9	5 % DMSO	2.0	15	81
10	5 % DMSO	4.0	22	89
11	20 % DMSO	2.0	26	74
12	20 % DMSO	4.0	30	79
13	20 % MeOH	2.0	14	76
14	20 % MeOH	4.0	37	84
15	20 % MeOH	1.5	30	81
16	20 % MeOH	3.0	42	89
17	20 % MeOH	1.5	16	74
18	20 % MeOH	3.0	33	79

Experiment	Org. Solvens	Inkubationszeit [h]	Rel. Anteil im äußeren Volumen [%]	Wiederfindung [%]
19	20 % MeOH	1.5	28	76
20	20 % MeOH	3.0	71	84
21	100 % MeOH	1.5	13	88
22	100 % MeOH	3.0	31	82

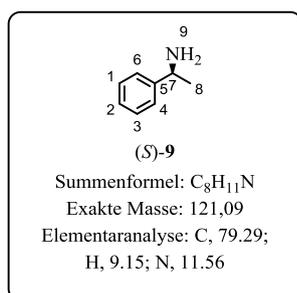
10.3.2.5. Formale asymmetrischen Addition von Ammoniak an Styrol

10.3.2.5.1. Mit Transaminasen



Exemplarisch wird die asymmetrische Addition von Ammoniak an ein Alken am Beispiel von Styrol **57** beschrieben. Die eingesetzten Stoffmengen aller weiteren Substrate sind in Tabelle 13 aufgeführt. PdCl₂ (4.39 mg, 0.02 mmol, 0.04 Äq) und CuCl (49.62 mg, 0.50 mmol, 1.00 Äq) werden in einer 1-mL PDMS-Hülse (erstellt nach AAV8) mit MeOH (350 µL) und Wasser (50 µL) suspendiert. Nach Zugabe von Styrol **57** (57 µL, 0.50 mmol, 1.00 Äq) wird das System unter einem Ballon, der gefüllt ist mit Sauerstoff, geschlossen. Nach 24-stündiger Durchmischung bei Raumtemperatur wird das Volumen außerhalb der Hülse (14 mL) mit MeOH (10.9 mL) gefüllt und der Reaktor bei RT gerührt. Nach 19 h wird das äußere Volumen mit einer Enzymsuspension aus VF-TA (665 mg, 310 U, 575 U/mmol_{Substrat}), LDH (52 µL, 78 U, 156 U/mmol_{Substrat}), PLP (5.45 mL, 10 mM, Endkonzentration 1 mM) und GDH (3 mL, 108 U, 216 U/mmol_{Substrat}), gelöst in Phosphatpuffer (in Tabelle 13 mit P_i-Puffer) (43.6 mL, 0.1 M, pH 8.0), gefüllt. Darin sind auch die Cosubstrate L-Alanin ((**S**)-**10**) (329.91 mg, 3.70 mmol, 7.4 Äq,

Endkonzentration 275 mM) und Glucose **14** (376.92 mg, 2.01 mmol, 4.0 Äq, Endkonzentration 160 mM) gelöst. Die Reaktion wird für weitere 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird der pH-Wert der enzymatischen Phase auf 1 mit Salzsäure korrigiert. Die Säureinkubation erfolgt über 19 h bei 30 °C. Vor der abschließenden Extraktion beider Volumina mit DCM (3 mal 20 mL) wird der pH-Wert (innen und außen) mit konzentrierter Natronlauge auf 14 erhöht. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses erfolgt nach Derivatisierung zum Amid analog zu AAV1 via HPLC-Analytik.



Umsatz: 93 %

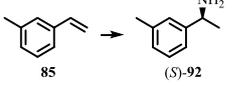
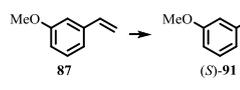
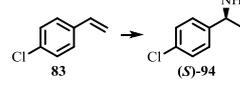
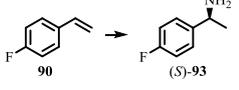
Wiederfindung: 73 %

ee: 99 % (bestimmt via HPLC-Analytik des Acetamids **136**)

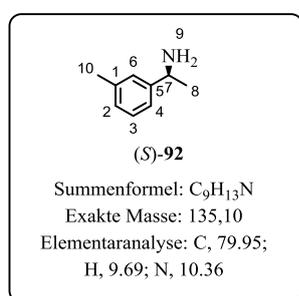
t_R (chirale HPLC): 14.3 min (S)-**136**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethylamin]; 5.26 (d, ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-7), 1 H), 5.76 (d, ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H), 6.73 (dd, ³J_{HH}=17.6 Hz; ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Styrol]; 2.61 (s, 3 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Acetophenon]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H), 4.91 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethanol]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 4.31 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-methoxyethan]; 1.85 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H), 5.00 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-chlorethan]; 2.93 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H), 3.35 (s, 6 H), 4.55 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1,1-Dimethoxy-2-phenylethan]; 3.63 (s, 3 H), 3.71 (s, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [2-Phenylethylsäuremethylester]; 3.70 (d, ³J_{HH}=2.3 Hz, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 9.77 (t, ³J_{HH}=2.3 Hz, 1 H) [2-Phenylacetaldehyd]; 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 10.03 (s, 1 H) [Benzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit den Referenzen der Literatur überein.^[293,307-315]

Tabelle 13: Eingesetzte Mengen für die asymmetrische Addition von Ammoniak an unterschiedliche Styrolerivate.

							
Styrol 85	64.9 µL 0.50 mmol 1.00 Äq	Styrol 87	67.8 µL 0.50 mmol 1.00 Äq	Styrol 83	63.8 µL 0.50 mmol 1.00 Äq	Styrol 90	59.8 µL 0.50 mmol 1.00 Äq
PdCl ₂	4.47 mg 0.03 mmol 0.05 Äq	PdCl ₂	4.97 mg 0.03 mmol 0.05 Äq	PdCl ₂	4.68 mg 0.03 mmol 0.05 Äq	PdCl ₂	4.57 mg 0.03 mmol 0.05 Äq
CuCl	49.61 mg 0.50 mmol 1.00 Äq	CuCl	49.88 mg 0.50 mmol 1.00 Äq	CuCl	49.74 mg 0.50 mmol 1.00 Äq	CuCl	49.59 mg 0.50 mmol 1.00 Äq
MeOH	350 µL 8.66 mmol 17.29 Äq	MeOH	350 µL 8.66 mmol 17.29 Äq	MeOH	350 µL 8.66 mmol 17.29 Äq	MeOH	350 µL 8.66 mmol 17.29 Äq
H ₂ O	50 µL 2.78 mmol 5.56 Äq	H ₂ O	50 µL 2.78 mmol 5.56 Äq	H ₂ O	50 µL 2.78 mmol 5.56 Äq	H ₂ O	50 µL 2.78 mmol 5.56 Äq
MeOH	10.9 µL 269 mmol 538 Äq	MeOH	10.9 µL 269 mmol 538 Äq	MeOH	10.9 µL 269 mmol 538 Äq	MeOH	10.9 µL 269 mmol 538 Äq
VF-TA	665 mg 310 U	VF-TA	2504 mg 310 U	VF-TA	2103 mg 310 U	VF-TA	710 mg 310 U
GDH	153 mg 108 U	GDH	158 mg 108 U	GDH	156 mg 108 U	GDH	153 mg 108 U
Glucose 14	412 mg 2.26 mmol 4.53 Äq	Glucose 14	408 mg 2.26 mmol 4.53 Äq	Glucose 14	409 mg 2.26 mmol 4.53 Äq	Glucose 14	403 mg 2.26 mmol 4.53 Äq
L-Alanin (S)- 10	1469 mg 16.52 mmol 33.04 Äq	L-Alanin (S)- 10	1475 mg 16.52 mmol 33.04 Äq	L-Alanin (S)- 10	1459 mg 16.52 mmol 33.04 Äq	L-Alanin (S)- 10	1468 mg 16.52 mmol 33.04 Äq
LDH	486 µL 78 U	LDH	486 µL 78 U	LDH	486 µL 78 U	LDH	486 µL 78 U

P _i -puffer	43.6 µL 0.1 M 8.0 pH	P _i -puffer	43.6 µL 0.1 M 8.0 pH	P _i -puffer	43.6 µL 0.1 M 8.0 pH	P _i -puffer	43.6 µL 0.1 M 8.0 pH
PLP	5.45 µL 10 mM 7.0 pH						



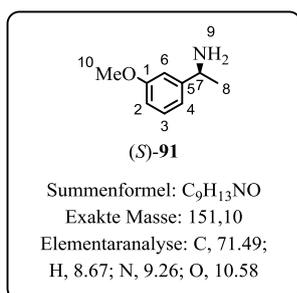
Umsatz: 72 %

Wiederfindung: 73 %

ee: 99 % (bestimmt via HPLC-Analytik des Acetamids **145**)

t_R (chirale HPLC): 12.7 min (S)-**145**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.41 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 2.38 (s, 3 H, H-10), 4.11 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.05-7.27 (m, 4 H, H^{ar}) [3'-Methylphenylethylamin]; 2.40 (s, 3 H, H-9), 5.27 (d, ³J_{HH}=11.0 Hz, 1 H, H-8), 5.78 (d, ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-8), 6.74 (dd, ³J_{HH}=11.0 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-7), 7.12-7.13 (m, 1 H, H-6), 7.26-7.28 (m 3 H, H^{ar}) [3'-Methylstyrol]; 2.41 (s, 3 H, H-10), 2.59 (s, 3 H, H-8), 7.34-7.37 (m, 2 H, H^{ar}), 7.74-7.77 (m, 2 H, H-7) [3'-Methylacetophenon]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H, H-8), 2.40 (s, 1 H, H-10), 4.87 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H, H-7), 7.12 (m, 1 H, H^{ar}), 7.19 (m, 2 H, H^{ar}), 7.26-7.29 (m, 1 H, H^{ar}) [3'-Methylphenylethanol]; 2.19 (s, 3 H, H-13), 2.86 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H, H-7), 3.30 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.53 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H, H-8), 7.04-7.13 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Dimethoxy-2-(*para*-methylphenylethan)]; 2.36 (s, 3 H, H-10), 7.42 (d, ³J_{HH}=7.8 Hz, 2 H, H-7), 7.68 (m, 2 H, H^{ar}), 9.98 (s, 1 H, H-8) [3'-Methylacetaldehyd]; 2.43 (s, 3 H, H-9), 3.64 (d, ³J_{HH}=2.4 Hz, 2 H, H-7), 7.02 (m, 2 H, H^{ar}), 7.12 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 9.74 (t, ³J_{HH}=2.4 Hz, 1 H, H-8) [3'-Methylbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[294,316,317,331,326,332,321] Die Verbindungen 3'-Methylmethoxy-2-phenylethan, 3'-Methyl-2-phenylchlorethan und 3'-Methylphenylethylsäureethylester wurden aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.



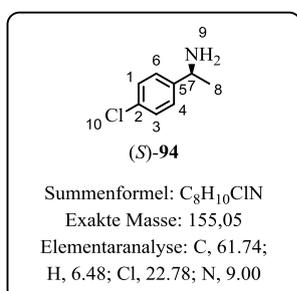
Umsatz: 92 %

Wiederfindung: 91 %

ee: 98 % (bestimmt via HPLC-Analytik des Acetamids **146**)

t_R (chirale HPLC): 18.4 min (S)-**146**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.41 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 3 H, H-9), 3.83 (s, 3 H, H-11), 4.08 (q, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-7), 6.80-7.30 (m, 4 H, H^{ar}) [3'-Methoxyphenylethylamin]; 3.80 (s, 3 H, H-9), 5.24 (d, ³J_{HH}=10.8 Hz, 1 H, H-8), 5.73 (d, ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-8), 6.68 (dd, ³J_{HH}=10.8 Hz; ³J_{HH}=17.5 Hz, 1 H, H-7), 6.80 (dd, ³J_{HH}=8.3 Hz; ⁴J_{HH}=2.7 Hz, 1 H, H-4), 6.94 (s, 1 H, H-2), 7.00 (s, 1 H, H-6), 7.23 (t, ³J_{HH}=8.3 Hz, 1 H, H-3) [3'-Methoxystyrol]; 2.51 (s, 3 H, H-8), 6.02 (s, 3 H, H-10), 6.81-6.83 (m, 1 H, H^{ar}), 7.41-7.54 (m, 3 H, H^{ar}) [3'-Methoxyacetophenon]; 1.50 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H, H-8), 2.38 (s, 3 H, H-10), 4.86-4.91 (m, 1 H, H-7), 6.83 (m, 1 H, H^{ar}), 6.94-6.97 (m, 2 H, H^{ar}), 7.28 (t, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-3) [3'-Methoxyphenylethanol]; 3.61 (s, 2 H, H-8), 3.69 (s, 3 H, H-11), 3.79 (s, 3 H, H-12), 7.15-7.30 (m, 4 H, H^{ar}) [3'-Methoxyphenylethylamin]; 3.66 (s, 2 H, H-7), 3.81 (s, 3 H, H-10), 6.75 (s, 1 H, H-6), 6.81 (d, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H-2), 6.80 (dd, ³J_{HH}=8.3 Hz; ⁴J_{HH}=2.4 Hz, 1 H, H-4), 7.29 (app. t, ³J_{HH}=7.9 Hz, 1 H, H-3), 9.74 (t, ³J_{HH}=2.4 Hz, 1 H, H-8) [3'-Methoxyacetaldehyd]; 3.85 (s, 3 H, H-9), 7.15-7.17 (m, 1 H, H^{ar}), 7.38-7.44 (m, 2 H, H^{ar}), 9.96 (s, 1 H, H-7) [3'-Methoxybenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[297,340-344,319,345,336] Die Verbindungen 3'-Methoxy-2-phenylmethoxyethan, 3'-Methoxy-2-phenylchloroethan und 3'-Methoxydimethoxy-2-phenylethan wurden aus Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.



Umsatz: 76 %

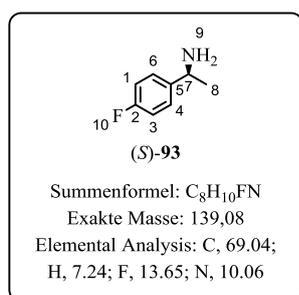
Wiederfindung: 83 %

ee: 99 % (bestimmt via HPLC-Analytik des Acetamids **142**)

t_R (chirale HPLC): 23.0 min (S)-**142**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C;
 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.36 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H, H-9), 4.09 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Chlorphenylethylamin]; 5.29 (d, ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-8), 5.75 (d, ³J_{HH}=18.1 Hz, 1 H, H-8), 6.69 (dd, 1 H, ³J_{HH}=10.9 Hz; ³J_{HH}=18.1 Hz, 1 H, H-7), 7.25-7.39 (m, 4 H, H^{ar})

[4'-Chlorstyrol]; 2.58 (s, 3 H, H-8), 7.42 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.8$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.88 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.8$ Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-Chloracetophenon]; 1.42 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 3 H, H-8), 2.68 (s, 1 H, H-9), 4.80 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 1 H, H-7), 7.27 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Chlorphenylethanol]; 1.42 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.4$ Hz, 3 H, H-8), 3.23 (s, 3 H, H-11), 4.29 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 1 H, H-7), 7.26 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.4$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.34 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.4$ Hz, 2 H, H-4 & H-6) [4'-1-Chlorphenyl-1-methoxyethan]; 1.83 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.9$ Hz, 3 H, H-8), 5.06 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.9$ Hz, 1 H, H-7), 7.30-7.38 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-1-Chlorphenyl-1-chlorethan]; 2.85 (d, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 2 H, H-7), 3.31 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.47 (t, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 1 H, H-7), 7.20-7.38 (m, 4 H, H^{ar}) [2'-Dimethoxy-2-(*para*-chlorphenylethan)]; 3.52 (s, 2 H, H-8), 3.61 (s, 3 H, H-12), 7.15-7.30 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Chlorphenylessigsäuremethylester]; 3.88 (d, $^3J_{\text{HH}}=2.0$ Hz, 2 H, H-7), 7.32 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.8$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.82 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.8$ Hz, 2 H, H-4 & H-6), 9.71 (t, $^3J_{\text{HH}}=2.0$ Hz, 1 H, H-8) [4'-Chloracetaldehyd]; 7.49-7.53 (dt, $J=7.5$ Hz; 9.8 Hz, 2 H, H^{ar}), 7.81-7.84 (m, $J=13.0$ Hz, 2 H, H^{ar}), 9.96 (s, 1 H, H-8) [4'-Chlorbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[297,316,317,324,310,325-327,314,321]



Umsatz: 72 %

Wiederfindung: 78 %

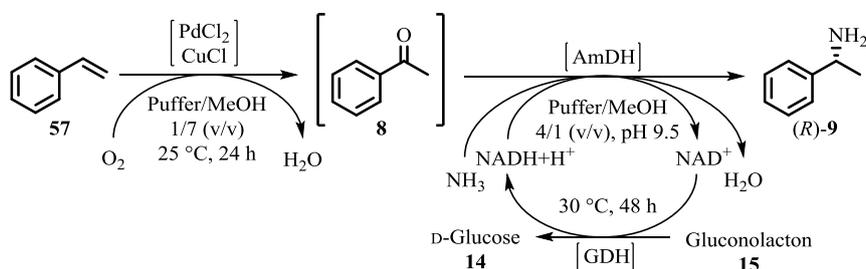
ee: 97 % (bestimmt via HPLC-Analytik des Acetamids **143**)

t_R (chirale HPLC): 14.0 min (S)-**143**, CO₂ / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

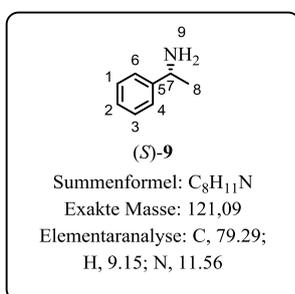
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.37 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, 3 H, H-9), 4.25 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, 1 H, H-7), 7.00-7.27 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-Fluorphenylethylamin]; 5.23 (d, $^3J_{\text{HH}}=11.0$ Hz, 1 H, H-8), 5.68 (d, $^3J_{\text{HH}}=17.6$ Hz, 1 H, H-8), 6.69 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}}=11.0$ Hz; $^3J_{\text{HH}}=17.6$ Hz, 1 H, H-7), 6.95-7.07 (m, 2 H, H^{ar}), 7.34-7.44 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluorstyrol]; 2.58 (s, 3 H, H-8), 7.12 (m, 2 H, H^{ar}), 7.96-8.00 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluoracetophenon]; 1.47 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.4$ Hz, 3 H, H-8), 1.95 (s, 1 H, H-9), 4.87 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.4$ Hz, 1 H, H-7), 6.96-7.08 (m, 2 H, H^{ar}), 7.28-7.38 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluorphenylethanol]; 1.43 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 3 H, H-8), 3.21 (s, 3 H, H-11), 4.28 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 1 H, H-7), 7.01-7.35 (m, 4 H, H^{ar}) [4'-1-Fluorphenyl-1-methoxyethan]; 2.87 (d, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 2 H, H-7), 3.32 (s, 6 H, H-11 & H-12), 4.48 (t, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 1 H, H-7), 7.18 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 2 H, H-1 & H-3), 7.28 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 2 H, H-4 & H-6) [2'-Dimethoxy-2-(*para*-Fluorphenylethan)]; 3.58 (s, 2 H, H-8), 3.69 (s, 3 H, H-12), 6.68-7.01 (m, 2 H, H^{ar}), 7.12-7.14 (m, 2 H, H^{ar}) [4'-Fluorphenylessigsäuremethylester]; 3.69 (d, $^3J_{\text{HH}}=1.5$ Hz, 2 H, H-8), 7.04-7.09 (m, 2 H, H^{ar}), 7.16-7.21 (m, 2 H, H^{ar}), 9.75 (t, $^3J_{\text{HH}}=1.5$ Hz, 1 H, H-9) [4'-Fluoracetaldehyd]; 7.16-7.20 (m, 2 H, H^{ar}), 7.87-7.90 (m, 2 H, H^{ar}), 9.94 (d, 1 H, H-8) [4'-Fluorbenzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit Referenzen aus der Literatur überein.^[299,333,331,310,338,326,339,332,315] Die Verbindung 4'-Fluor-2-phenylchlorethan wurde aus

Analogieschlüssen der anderen Wacker-Oxidationsprodukte zugeordnet, weil keine NMR-spektroskopischen Daten in der Literatur verfügbar waren.

10.3.2.5.2. Mit Amindehydrogenasen



Styrol **57** (56 μL , 0.5 mmol, 1.00 Äq) wird in einer Mischung aus PdCl_2 (4.5 mg, 0.03 mmol, 0.05 Äq), CuCl (49.5 mg, 0.5 mmol, 1.00 Äq), H_2O (350 μL) und MeOH (50 μL) in einer PDMS-Hülse suspendiert. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur unter einem Ballon gefüllt mit Sauerstoff durchgeführt. Nach 24 h wird das äußere Volumen mit dem organischen Cosolvens aufgefüllt und die Reaktionsmischung für weitere 19 h gerührt. Das äußere Volumen wird mit einer Lösung aus Ammoniak (1.3 M), Glucose **14** (40 mM), AmDH (in Phosphatpuffer (0.06 M, pH 7) gelöst, 0.23 $\text{U}/\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$), NAD^+ (in Phosphatpuffer (0.1 M, pH 7) gelöst, 1 μM) und GDH (0.19 $\text{U}/\mu\text{mol}_{\text{Substrat}}$). Die Größe des äußeren Volumens ist abhängig von der Aktivität der Amindehydrogenase und wird entsprechend immer angepasst. In einem Experiment wurden folgende absoluten Mengen eingesetzt: AmDH (5.48 mL), GDH (79.6 μL), NH_3 (10.3 mL Stocklösung, 2 M, pH 9.5), NAD^+ (265 μL Stocklösung, 50 mM) und Glucose (664 μL Stocklösung, 1 M). Nach Zugabe der enzymatischen Lösung wird die Reaktionsmischung 48 h bei 30 °C gerührt. Das Produkt wird mit DCM extraktiv (3 mal) aus der Reaktionsmischung gewonnen. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz wird NMR-spektroskopisch und der Enantiomerenüberschuss via HPLC nach Derivatisierung zum Amid bestimmt.



Umsatz: 96 %

Ausbeute: 73 %

ee: 99 % (bestimmt via HPLC-Analytik des Acetamids **136**)

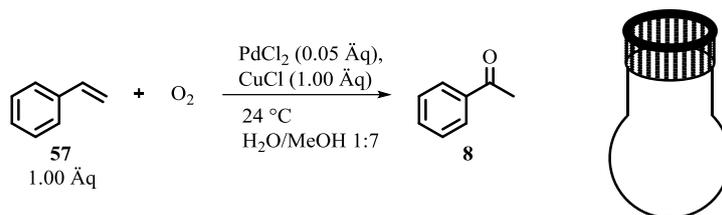
t_R (chirale HPLC): 20.3 min (*R*)-**136**, CO_2 / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethylamin]; 5.26 (d, $^3J_{\text{HH}}=10.9$ Hz, 1 H, H-7), 5.76 (d, $^3J_{\text{HH}}=17.6$ Hz, 1 H), 6.73 (dd, $^3J_{\text{HH}}=17.6$ Hz; $^3J_{\text{HH}}=10.9$ Hz, 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Styrol]; 2.61 (s,

3 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Acetophenon]; 1.51 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.4$ Hz, 3 H), 4.91 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.4$ Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethanol]; 1.49 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 4.31 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.5$ Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-methoxyethan]; 1.85 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 3 H), 5.00 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.8$ Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-chlorethan]; 2.93 (d, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 2 H), 3.35 (s, 6 H), 4.55 (t, $^3J_{\text{HH}}=5.6$ Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1,1-Dimethoxy-2-phenylethan]; 3.63 (s, 3 H), 3.71 (s, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [2-Phenylelessigsäuremethylester]; 3.70 (d, $^3J_{\text{HH}}=2.3$ Hz, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 9.77 (t, $^3J_{\text{HH}}=2.3$ Hz, 1 H) [2-Phenylacetaldehyd]; 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 10.03 (s, 1 H) [Benzaldehyd]. Die gemessenen Daten stimmen mit den Referenzen der Literatur überein.^[293,307-315]

10.3.2.5.3. Hochskalierung der Tandemreaktion in den erweiterten Labormaßstab

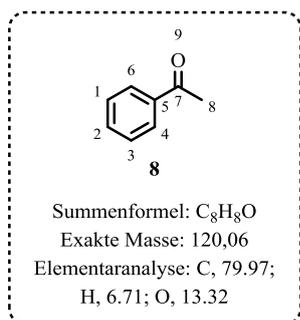
10.3.2.5.3.1. Wacker-Oxidation im Rundkolben



PdCl₂ (46.00 mg, 0.26 mmol, 0.05 Äq) wird zusammen mit CuCl (0.53 g, 5.38 mmol, 1.00 Äq) vorgelegt, mit dest. Wasser (0.53 mL) und MeOH (3.76 mL) versetzt. In die gebildete grüne Suspension wird Styrol **57** (618 µL, 5.38 mmol, 1.00 Äq) gegeben. Der Kolben wird mit einem Stopfen und einer Olive versehen, welche ein mit Sauerstoff gefüllten Ballon tragen. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur für 19 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde extraktiv mit DCM (3 mal 10 mL) und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit (10 min, 500 mbar, 40 °C). Das Rohprodukt wird ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht. Dazu wird jede Probe mit ^tBuOH als Standard versetzt und die absoluten Stoffmengen berechnet. Die Umsätze zu allen Produkten und Nebenprodukten sind in Tabelle 14 gezeigt.

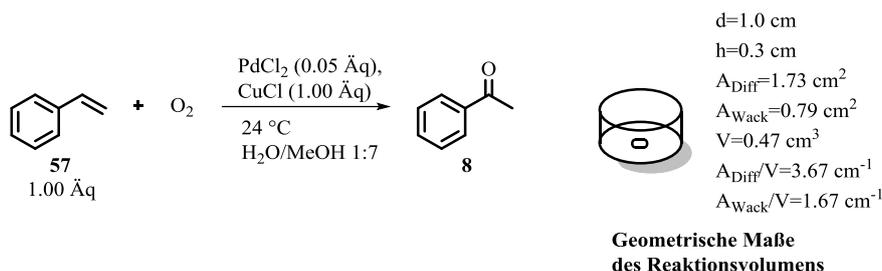
Tabelle 14: Absoluten Umsätze der Wacker-Oxidation bestimmt anhand des Standards ^tBuOH.

Exp.									
	57	8	rac-74	rac-75	rac-76	77	78	79	80
1	0	84	1	2	0	3	2	3	1



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.26 (d, ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-7), 5.76 (d, ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H), 6.73 (dd, ³J_{HH}=17.6 Hz; ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Styrol **57**]; 2.61 (s, 3 H, H-8), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Acetophenon **8**]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H), 4.91 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethanol *rac-74*]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 4.31 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-methoxyethan *rac-75*]; 1.85 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H), 5.00 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-chloethan *rac-76*]; 2.93 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H), 3.35 (s, , 6 H), 4.55 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1,1-Dimethoxy-2-phenylethan **77**]; 3.63 (s, 3 H), 3.71 (s, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [2-Phenylacetic acid methylester **78**]; 3.70 (d, ³J_{HH}=2.3 Hz, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 9.77 (t, ³J_{HH}=2.3 Hz, 1 H) [2-Phenylacetaldehyd **79**]; 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 10.03 (s, 1 H) [Benzaldehyd **80**]. Die gemessenen Daten stimmen mit den Referenzen der Literatur überein.^[307–315]

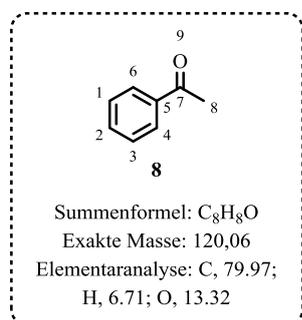
10.3.2.5.3.2. Wacker-Oxidation in einer PDMS-Hülse (1 mL)



PdCl₂ (4.39 mg, 0.024 mmol, 0.05 Äq) wird zusammen mit CuCl (0.05 g, 0.50 mmol, 1 Äq) vorgelegt, mit dest. Wasser (0.05 mL) und MeOH (0.35 mL) versetzt. In die gebildete schwarze Suspension wird Styrol **57** (57 µL, 1.00 mmol, 1 Äq) gegeben. Die Hülse wird in einer Halterung stabilisiert und der Kolben nach oben mit einer Olive und einem mit Sauerstoff gefüllten Ballon verschlossen. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur für 20 h gerührt. Anschließend wird das äußere Volumen der Hülse mit einem Puffer/MeOH Gemisch (15 mL, 4:1) aufgefüllt und der Reaktor weiter bei 350 rpm gerührt. Nach 20 h der Diffusion werden beide Volumina extraktiv (3 mal 10 mL) mit DCM aufgearbeitet. Die vereinten organischen Phasen werden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit (10 min, 500 mbar, 40 °C). Das Rohprodukt wird ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht. Dazu wird jede Probe mit ^tBuOH als Standard versetzt und die absoluten Stoffmengen berechnet. Die Umsätze zu allen Produkten und Nebenprodukten sind in Tabelle 15 gezeigt.

Tabelle 15: Absoluten Umsätze der Wacker-Oxidation bestimmt anhand des Standards ^tBuOH.

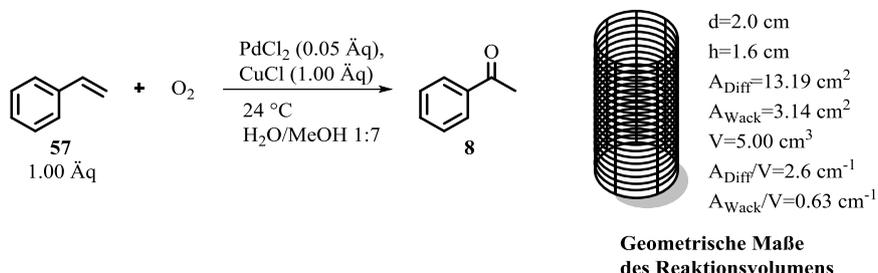
Exp.									
	57	8	rac-74	rac-75	rac-76	77	78	79	80
1	0	85	1	2	0	3	2	2	1



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.26 (d, ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-7), 5.76 (d, ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H), 6.73 (dd, ³J_{HH}=17.6 Hz; ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Styrol **57**]; 2.61 (s, 3 H, H-8), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Acetophenon **8**]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H), 4.91 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethanol *rac*-**74**]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 4.31 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-methoxyethan *rac*-**75**]; 1.85 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H), 5.00 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-chlorethan *rac*-**76**]; 2.93 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H), 3.35 (s, , 6 H), 4.55 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1,1-Dimethoxy-2-phenylethan **77**]; 3.63 (s, 3 H), 3.71 (s, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [2-Phenylacetic acid methyl ester **78**]; 3.70 (d, ³J_{HH}=2.3 Hz, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 9.77 (t, ³J_{HH}=2.3 Hz, 1 H) [2-Phenylacetaldehyd **79**]; 6.80-

7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 10.03 (s, 1 H) [Benzaldehyd **80**]. Die gemessenen Daten stimmen mit den Referenzen der Literatur überein.^[307–315]

10.3.2.5.3.3. Wacker-Oxidation in einer PDMS-Hülse (Labormaßstab)

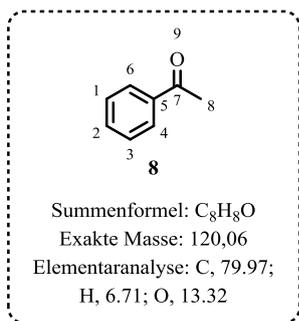


PdCl₂ (96.8 mg, 0.53 mmol, 0.05 Äq) wird zusammen mit CuCl (1.05 g, 10.59 mmol, 0.95 Äq) vorgelegt, mit dest. Wasser (1.04 mL) und MeOH (7.40 mL) versetzt. In die gebildete grün - schwarze Suspension wird Styrol **57** (1.22 mL, 11.14 mmol, 1 Äq) gegeben. Die Hülse wird in einem Becherglas stabilisiert und nach oben mit einer Olive und einem mit Sauerstoff gefüllten Ballon verschlossen. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur für 20 h gerührt. Anschließend wird das äußere Volumen der Hülse mit einem Puffer/MeOH Gemisch (333 mL, 4:1) aufgefüllt und der Reaktor weiter bei 350 rpm gerührt. Nach 20 h der Diffusion werden beide Volumina extraktiv (3 mal 10 mL) mit DCM aufgearbeitet. Die vereinten organischen Phasen werden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit (10 min, 500 mbar, 40 °C). Das Rohprodukt wird ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht. Dazu wird jede Probe mit ^tBuOH als Standard versetzt und die absoluten Stoffmengen berechnet. Die Umsätze zu allen Produkten und Nebenprodukten sind in Tabelle 16 gezeigt.

Tabelle 16: Absoluten Umsätze der Wacker-Oxidation bestimmt anhand des Standards ^tBuOH.

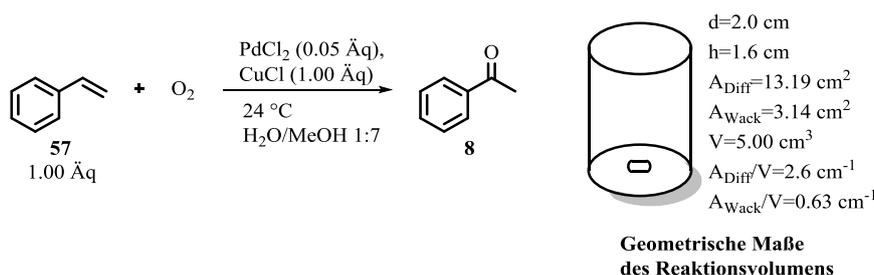
Exp.									
	57	8	rac-74	rac-75	rac-76	77	78	79	80
1 ^a	0	78	1	1	0	8	2	1	1
2 ^b	0	82	1	2	0	5	2	2	1

a) Der Reaktor wurde nach der Vorschrift in Kapitel 10.3.2.5.3.5 aufgebaut. b) der Reaktor wurde nach der Vorschrift von Kapitel 10.3.2.5.3.6 aufgebaut.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.26 (d, ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-7), 5.76 (d, ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H), 6.73 (dd, ³J_{HH}=17.6 Hz; ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Styrol **57**]; 2.61 (s, 3 H, H-8), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Acetophenon **8**]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H), 4.91 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethanol *rac*-**74**]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 4.31 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-methoxyethan *rac*-**75**]; 1.85 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H), 5.00 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-chlorethan *rac*-**76**]; 2.93 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H), 3.35 (s, , 6 H), 4.55 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1,1-Dimethoxy-2-phenylethan **77**]; 3.63 (s, 3 H), 3.71 (s, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [2-Phenylelessigsäuremethylester **78**]; 3.70 (d, ³J_{HH}=2.3 Hz, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 9.77 (t, ³J_{HH}=2.3 Hz, 1 H) [2-Phenylacetaldehyd **79**]; 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 10.03 (s, 1 H) [Benzaldehyd **80**]. Die gemessenen Daten stimmen mit den Referenzen der Literatur überein.^[307–315]

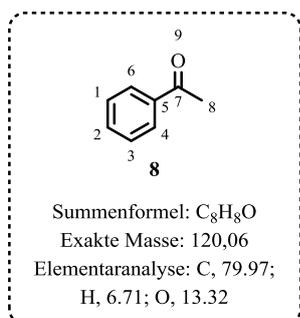
10.3.2.5.3.4. Wacker-Oxidation im Messzylinder



PdCl₂ (46.00 mg, 0.26 mmol, 0.05 Äq) wird zusammen mit CuCl (0.53 g, 5.38 mmol, 1.00 Äq) vorgelegt, mit dest. Wasser (0.53 mL) und MeOH (3.76 mL) versetzt. In die gebildete grüne Suspension wird Styrol **2** (618 µL, 5.38 mmol, 1.00 Äq) gegeben. Der Messzylinder wird mit einem Stopfen und einer Olive versehen, welche ein mit Sauerstoff gefüllten Ballon (zwei Ventil Volumina) tragen. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur für 19 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde extraktiv mit DCM (3 mal 10 mL) und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit (10 min, 500 mbar, 40 °C). Das Rohprodukt wird ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht. Dazu wird jede Probe mit ^tBuOH als Standard versetzt und die absoluten Stoffmengen berechnet. Die Umsätze zu allen Produkten und Nebenprodukten sind in Tabelle 17 gezeigt.

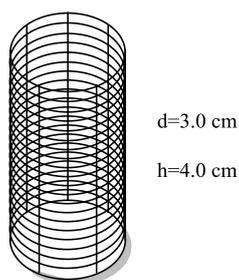
Tabelle 17: Absoluten Umsätze der Wacker-Oxidation bestimmt anhand des Standards 'BuOH.

Exp.									
	57	8	rac-74	rac-75	rac-76	77	78	79	80
	1	0	84	1	2	0	3	2	3
	0	84	1	2	0	3	2	3	1



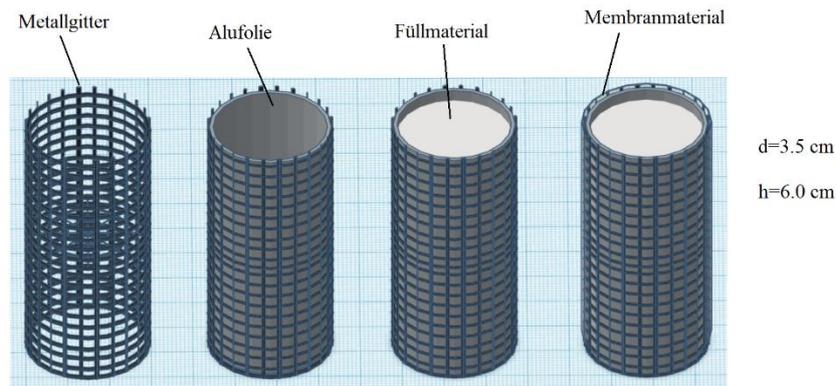
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.26 (d, ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H, H-7), 5.76 (d, ³J_{HH}=17.6 Hz, 1 H), 6.73 (dd, ³J_{HH}=17.6 Hz; ³J_{HH}=10.9 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Styrol **57**]; 2.61 (s, 3 H, H-8), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [Acetophenon **8**]; 1.51 (d, ³J_{HH}=6.4 Hz, 3 H), 4.91 (q, ³J_{HH}=6.4 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenylethanol *rac*-**74**]; 1.49 (d, ³J_{HH}=6.5 Hz, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 4.31 (q, ³J_{HH}=6.5 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-methoxyethan *rac*-**75**]; 1.85 (d, ³J_{HH}=6.8 Hz, 3 H), 5.00 (q, ³J_{HH}=6.8 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1-Phenyl-1-chlorethan *rac*-**76**]; 2.93 (d, ³J_{HH}=5.6 Hz, 2 H), 3.35 (s, , 6 H), 4.55 (t, ³J_{HH}=5.6 Hz, 1 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [1,1-Dimethoxy-2-phenylethan **77**]; 3.63 (s, 3 H), 3.71 (s, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}) [2-Phenyleessigsäuremethylester **78**]; 3.70 (d, ³J_{HH}=2.3 Hz, 2 H), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 9.77 (t, ³J_{HH}=2.3 Hz, 1 H) [2-Phenylacetaldehyd **79**]; 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}), 10.03 (s, 1 H) [Benzaldehyd **80**]. Die gemessenen Daten stimmen mit den Referenzen der Literatur überein.^[307–315]

10.3.2.5.3.5. Aufbau einer PDMS-Hülse mit einem engmaschigen Drahtgitter (Prototyp)



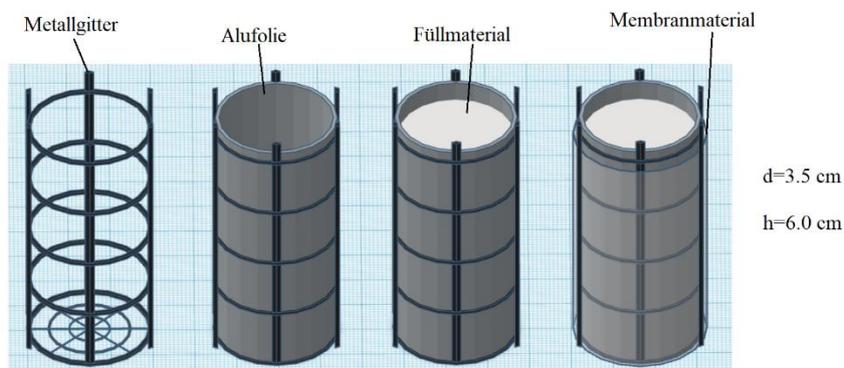
Ein Edeltstahlgitter (h=4 cm, d=3 cm) wird in PDMS (Sylgard[®] 184) getaucht und von überschüssigem PDMS-Material befreit. Nach 1 h bei 65 °C wird das Gitter erneut mit einer PDMS-Schicht überzogen, sodass sich auch in den Zwischenräumen eine Membranschicht ausbildet. Das Material wird 15 min bei 150 °C ausgehärtet. Während des Aushärtungsprozesses löst sich die PDMS-Schicht in den Zwischenräumen bei einzelnen Experimenten auf. Die offenen Stellen werden mit dem flüssigen Material bestrichen und abgedichtet.

10.3.2.5.3.6. Aufbau einer PDMS-Hülse mit einem engmaschigen Drahtgitter



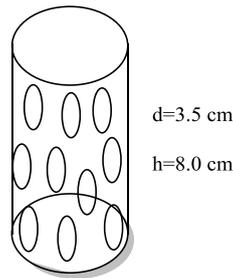
Das Gitter wird von innen mit Streifen aus Alufolie bedeckt, mit Glaswolle ausgestopft und in PDMS eingetaucht. Es wird für 1 h bei 65 °C angehärtet und im Anschluss wiederum in PDMS eingetaucht. Für die endgültige Aushärtung wird das Gitter für 20 min bei 150 °C erhitzt. Die Glaswolle kann schließlich entfernt und das Gitter in verdünnte wässrige HCl gelegt werden, sodass die Alustreifen aufgelöst werden. Die Hülse wird mit Wasser und DCM gewaschen, mit einer Teflonhülse (NS-29) versehen und mit PDMS abgedichtet.

10.3.2.5.3.7. Aufbau einer PDMS-Hülse mit einem grobmaschigen Drahtgitter



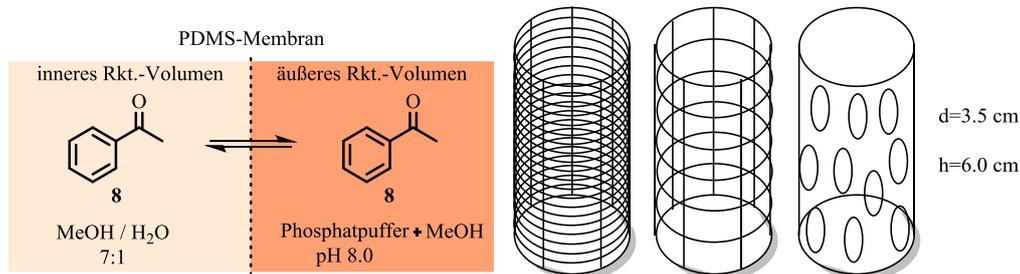
Ein Edelmetallgitter mit groben Maschen wird von innen mit einem Mantel aus einem einzigen Stück Alufolie versehen und mit Glaswolle ausgestopft. Im nächsten Arbeitsschritt wird eine Teflonhülse (NS-29) mit Hilfe von (Sylgard® 184) angeklebt. Im Anschluss wird das Gitter in PDMS getaucht, die Freiflächen werden zusätzlich mit einem Spatel mit PDMS benetzt und die Schicht für 1 h bei 65 °C angehärtet. Es wird eine zweite PDMS-Schicht aufgetragen und die PDMS-Membran für 30 min bei 150 °C ausgehärtet. Die Glaswolle wird entfernt und die Alufolie durch wässrig verdünnte HCl aufgelöst. Das Gitter wird mit Wasser und DCM gewaschen und kleinere Fehlstellen in der Membran mit PDMS (Sylgard® 184) verklebt.

10.3.2.5.3.8. Aufbau einer PDMS-Hülse aus einem gelöcherten Glaszylinder



Ein Glaszylinder ($h=8$ cm, $d=3.5$ cm) mit NS-29 Schliff wird mit Löchern ($d=5$ mm) versehen. Im inneren wird ein Boden aus Alufolie angebracht und auf diesem ein Zylinder aus Alufolie gesetzt. Das von innen durch Alufolie ausgemantelte Glasgefäß wird mit Glaswolle gefüllt, in PDMS (Sylgard® 184) gewälzt und die PDMS-Schicht für 1 h bei 65 °C angehärtet. Im Anschluss wird Gitter C in PDMS (Sylgard® 184) getaucht und für 30 min bei 150 °C ausgehärtet. Die Glaswolle wird entfernt, die Alufolie in wässrig verdünnter HCl aufgelöst und das Gitter mit Wasser und DCM gereinigt.

10.3.2.5.3.9. Diffusionsgeschwindigkeit durch eine PDMS-Membran verschiedener Reaktoren (Labormaßstab)

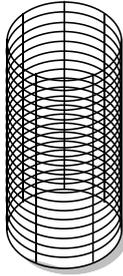
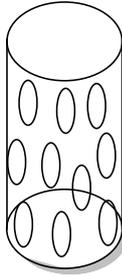


Mit den folgenden Experimenten Für den Diffusionstest wird die Hülse des Reaktors mit einem MeOH/Wasser-Gemisch (40 mL, 7:1 v/v) gefüllt und in einem Messzylinder ($V_{\text{außen}}$) fixiert, der mit einem Phosphatpuffer/MeOH-Gemisch (280 mL, 4:1 v/v) gefüllt ist. In der Hülse wird Acetophenon **8** (200 μL , 1.715 mmol) vorgelegt und die Apparatur mit Parafilm luftdicht verschlossen und bei Raumtemperatur durchmischt (350 rpm). Stündlich wird der Acetophenongehalt im äußeren Volumen *via* GC quantifiziert. Eine Probe (500 μL) wird aus $V_{\text{außen}}$ entnommen und mit DCM (500 μL) extrahiert. Davon werden 100 μL mit DCM (900 μL) aufgestockt und gaschromatographisch vermessen. Durch die in Kapitel 10.2.3 ermittelte Kalibrierkurve können die Chromatogramme zur Berechnung von Acetophenon Stoffmengen eingesetzt werden. Die für die Auswertung relevanten Integrale sind in Tabelle 18 eingetragen.

Tabelle 18: Acetophenongehalt des äußeren Volumens in Abhängigkeit von der Zeit bei Vorlage im inneren Volumen und unterschiedlichen Reaktortypen.

Gitterreaktor feine Maschen		Gitterreaktor grobe Maschen		Glasreaktor	
t [h]	Integral Area	t [h]	Integral Area	t [h]	Integral Area
1.0	0	1.5	1435	1.0	0
3.0	1308	2.5	2263	2.0	0
4.0	2008	3.5	3424	3.0	0
5.0	1986	4.5	4770	4.0	0
6.0	2911	5.5	8010	5.0	0
7.0	3738	6.5	5003	6.0	0
23.0	5840	22.0	10118	7.0	0
24.0	5753	23.0	11732	24.0	1007
25.0	9889	24.0	12188	25.0	1375
27.0	4994	29.0	8180	26.0	1190
28.0	5952	46.0	18469	28.0	1017
29.0	5928			30.0	1298
				32.0	1553
				46.0	2774
				51.0	2645
				56.0	3207
				70.0	4519

Tabelle 19: Relative Diffusionsgeschwindigkeiten von Acetophenon durch eine PDMS-Membran bei verschiedenen Reaktorkonstruktionen (basierend auf den Messwerten von Tabelle 18).

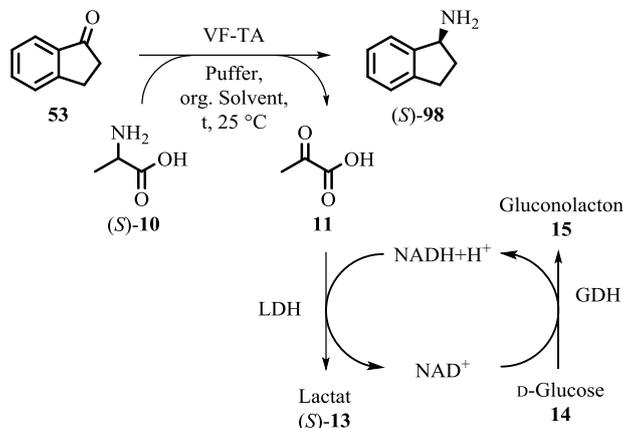
Reaktortyp			
Rel. Diffusionsgeschwindigkeit durch die Membran [%]	100	121	23

10.3.3. Ozanimod

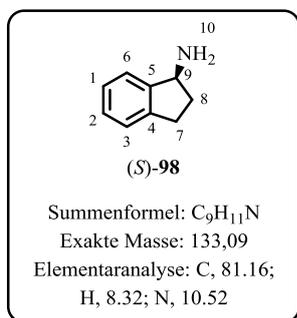
10.3.3.1. Biotransformationen

10.3.3.1.1. Transaminierung mit VF-TA

10.3.3.1.1.1. Synthese von 1-Aminoindan (DMSO als Cosolvens)



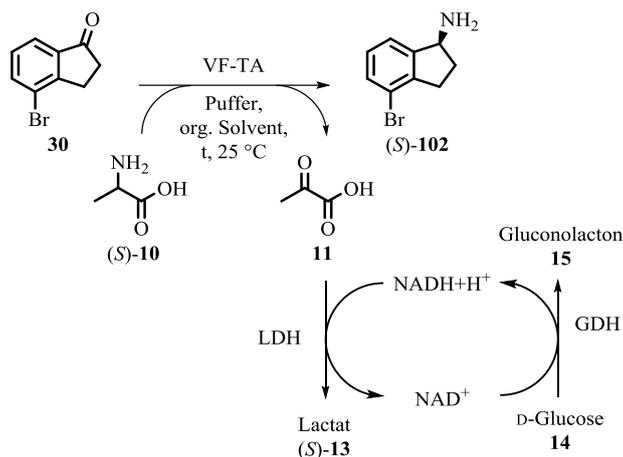
L-Alanin (*S*-**10**) (24.86 mg, 0.28 mmol, 3.9 Äq), Glucose **14** (32.67 mg, 0.18 mmol, 2.6 Äq) und die Lyophilisate von der VF-TA (77.32 mg, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und der GDH (5.64 mg, 30 U, 615 U/mmol Substrat) werden eingewogen. Die Substanzen werden in Phosphatpuffer (800 µL, 0.1 M, pH 8.0), DMSO (200 µL) und PLP (100 µL, 10 mM) suspendiert und mit LDH (33 µL, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und Indanon **53** (10.04 mg, 0.07 mmol, 1.0 Äq) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Suspension mit verdünnter Salzsäure (500 µL, 1 M) auf pH 2 eingestellt und für 19 h bei 30 °C gerührt. Vor der Extraktion mit DCM (3 mal 5 mL) wird der pH-Wert mit konzentrierter Natronlauge auf 14 erhöht. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der Umsatz ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wird das Rohprodukt zum Amid derivatisiert. Umsatz: 7 %.



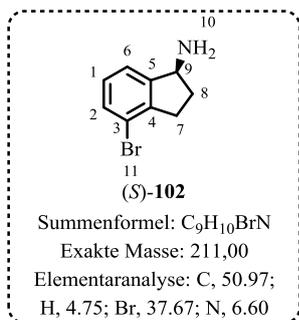
Umsatz: 7 %.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) =1.90-1.98 (m, 1 H, H-7/8), 2.37-2.46 (m, 1 H, H-7/8*), 2.83 (m, 1 H, H-7/8*), 2.93-3.00 (m, 1 H, H-7/8), 4.59-4.69 (m, 1 H, H-10), 7.15-7.24 (m, 3 H, H^{ar}), 7.31 (d, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H^{ar}). Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein und führten zur eindeutigen Identifizierung und

entsprechendem Nachweis.^[349]

10.3.3.1.1.2. Synthese von 4-Brom-1-aminoindan (*S*)-**102** (DMSO als Cosolvens)

L-Alanin (*S*)-**10** (24.86 mg, 0.28 mmol, 3.9 Äq), Glucose **14** (32.67 mg, 0.18 mmol, 2.6 Äq) und die Lyophilisate von der VF-TA (77.32 mg, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und der GDH (5.64 mg, 30 U, 615 U/mmol Substrat) werden eingewogen. Die Substanzen werden in Phosphatpuffer (800 µL, 0.1 M, pH 8.0), DMSO (200 µL) und PLP (100 µL, 10 mM) suspendiert und mit LDH (33 µL, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und Indanon **30** (6.49 mg, 0.04 mmol, 1.0 Äq) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Suspension mit verdünnter Salzsäure (500 µL, 1 M) auf pH 2 eingestellt und für 19 h bei 30 °C gerührt. Vor der Extraktion mit DCM (3 mal 5 mL) wird der pH-Wert mit konzentrierter Natronlauge auf 14 erhöht. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der Umsatz ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wird das Rohprodukt zum Amid derivatisiert.

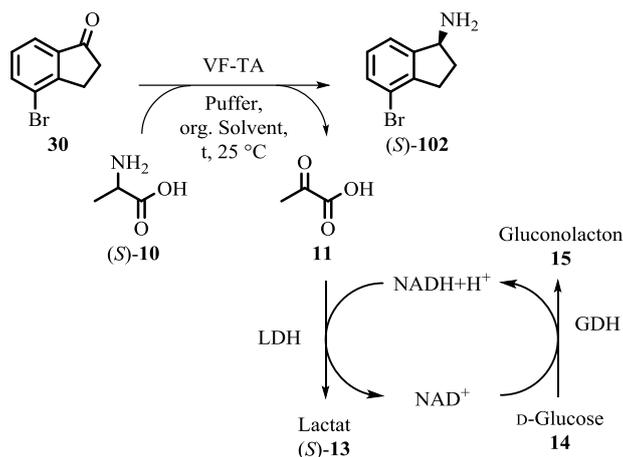


Umsatz: 0 %.

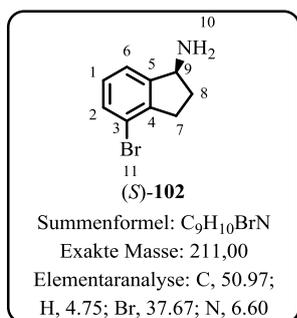
Enantiomerenüberschuss: n.d.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.63 (m, 1 H, H-8), 3.06 (m, 2 H, H-7), 3.28 (m, 1 H, H-8), 4.64 (t, ³J_{HH}=7.1 Hz, 1 H, H-9), 7.30-8.02 (m, 3 H, H^{ar}). Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein und

fürten zur eindeutigen Identifizierung und entsprechendem Nachweis.^[350]

10.3.3.1.1.3. Synthese von 4-Brom-1-aminoindan (*S*)-**102** (MeOH als Cosolvens)

L-Alanin (*S*)-**10** (24.86 mg, 0.28 mmol, 3.9 Äq), Glucose **14** (32.67 mg, 0.18 mmol, 2.6 Äq) und die Lyophilisate von der VF-TA (77.32 mg, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und der GDH (5.64 mg, 30 U, 615 U/mmol Substrat) werden eingewogen. Die Substanzen werden in Phosphatpuffer (800 μ L, 0.1 M, pH 8.0), MeOH (200 μ L) und PLP (100 μ L, 10 mM) suspendiert und mit LDH (33 μ L, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und Indanon **30** (6.23 mg, 0.04 mmol, 1.0 Äq) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Suspension mit verdünnter Salzsäure (500 μ L, 1 M) auf pH 2 eingestellt und für 19 h bei 30 °C gerührt. Vor der Extraktion mit DCM (3 mal 5 mL) wird der pH-Wert mit konzentrierter Natronlauge auf 14 erhöht. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der Umsatz $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch bestimmt. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wird das Rohprodukt zum Amid derivatisiert.

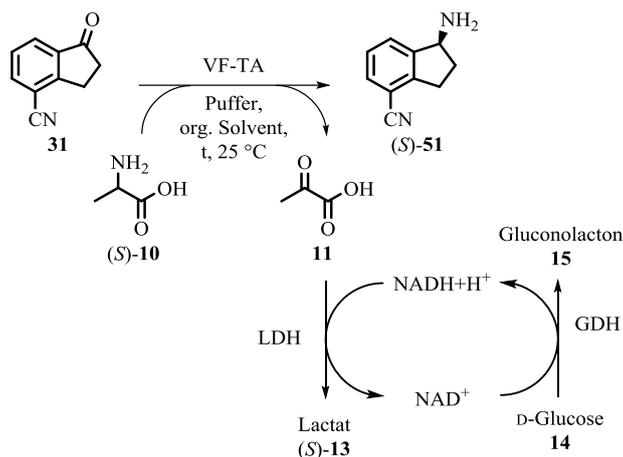


Umsatz: 50 %.

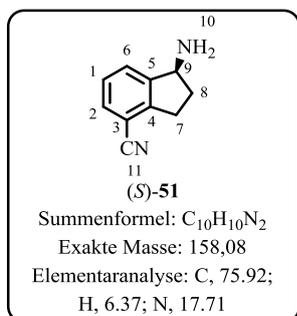
Enantiomerenüberschuss: 66 %*ee* (bestimm *via* HPLC-Analytik nach Derivatisierung zum Amid **149**).

t_R (chirale HPLC): 26.0 min (*S*)-**149**, CO_2 /IPA 95:5; 2.0 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.63 (m, 1 H, H-8), 3.06 (m, 2 H, H-7), 3.28 (m, 1 H, H-8), 4.64 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.1$ Hz, 1 H, H-9), 7.30-8.02 (m, 3 H, H^{ar}). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung (*S*)-**102** eindeutig identifiziert werden.^[350]

10.3.3.1.1.4. Synthese von 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51** (MeOH als Cosolvens)

L-Alanin (*S*)-**10** (24.86 mg, 0.28 mmol, 3.9 Äq), Glucose **14** (32.67 mg, 0.18 mmol, 2.6 Äq) und die Lyophilisate von der VF-TA (77.32 mg, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und der GDH (5.64 mg, 30 U, 615 U/mmol Substrat) werden eingewogen. Die Substanzen werden in Phosphatpuffer (800 μ L, 0.1 M, pH 8.0), MeOH (200 μ L) und PLP (100 μ L, 10 mM) suspendiert und mit LDH (33 μ L, 23 U, 575 U/mmol Substrat) und Indanon **31** (4.8 mg, 0.04 mmol, 1.0 Äq) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei 30 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Suspension mit verdünnter Salzsäure (500 μ L, 1 M) auf pH 2 eingestellt und für 19 h bei 30 °C gerührt. Vor der Extraktion mit DCM (3 mal 5 mL) wird der pH-Wert mit konzentrierter Natronlauge auf 14 erhöht. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der Umsatz $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch bestimmt. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wird das Rohprodukt zum Amid derivatisiert.



Umsatz: 93 %.

Enantiomerenüberschuss: 20 % *ee* (nach Derivatisierung zum Amid **148**).

t_R (chirale HPLC): 19.9 min (*S*)-**148**, CO_2 / IPA 95:5; 1.5 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.79 (m, 1 H, H-8), 2.62 (m, 1 H, H-7), 2.98 (m, 1 H, H-8), 3.20 (m, 1 H, H-7), 4.43z (t, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz, 1 H, H-9), 7.33 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-1), 7.51 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-6), 7.58 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-2). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 29.7 (C-7), 37.1 (C-8), 57.3 (C-9), 108.9 (C-3), 117.8 (C-11), 127.4 (C-1), 128.1 (C-2), 130.8 (C-6), 147.3 (C-4), 148.8 (C-5). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung (*S*)-**51** eindeutig identifiziert werden.^[148]

10.3.3.1.2. Transaminierung mit ArS-TA

10.3.3.1.2.1. Gensequenz, Transformation und Überexpression von ArS-TA

ATGGGTCTGACCGTTCAGAAAATTA ACTGGGAACAGGTTAAAGAGTGGGATCGCAAATA
TCTGATGCGTACCTTTAGCACCCAGAATGAATATCAGCCGGTCCGATTGAAAGCACCGA
AGGTGATTATCTGATTACACCGGGTGGCACCCGTCTGCTGGATTTTTTCAATCAGCTGTGT
TGTGTTAATCTGGGCCAGAAAAATCAGAAAGTGAACGCAGCAATTAAGAAGCACTGGA
TCGTTACGGTTTTGTGTGGGATACCTATGCAACCGATTATAAAGCAAAAGCAGCCAAAAT
CATCATCGAGGATATTCTGGGAGATGAAGATTGGCCTGGTAAAGTTCGTTTTGTTAGCAC
CGGTAGCGAAGCAGTTGAAACCGCACTGAATATTGCACGTCTGTATACCAATCGTCCGCT
GGTTGTTACCCGTGAACATGATTATCATGGTTGGACCGGTGGTGCAGCAACCGTTACACG
TCTGCGTAGCTTTCGTAGCGGTCTGGTTGGTAAAATAGCGAAAGCTTTAGCGCACAGAT
TCCGGGTAGCAGCTGTAGCAGCGCAGTTCTGATGGCACCGAGCAGCAATACCTTTCAGGA
TAGCAATGGTAACTATCTGAAAGATGAAAATGGTGAAGTCTGAGCGTGAAATATACCC
GTCGTATGATCGAAAATTATGGTCCGGAACAGGTGGCAGCAGTTATTACCGAAGTTAGCC
AGGGTGTGGTAGCACCATGCCTCCGTATGAATATGTTCCGCAGATTTCGTAAAATGACCA
AAGAACTGGGTGTTCTGTGGATTAGTGATGAAGTCTGACCGTTTTGGTTCGTACCGGTA
AATGGTTTGGTTATCAGCATTATGGTGTTCAGCCGGATATTATCACAATGGGTAAAGGTC
TGAGCAGCAGCAGCCTGCCTGCGGGTGCAGTTGTTGTTAGCAAAGAAATTGCAGCCTTCA
TGGATAAACATCGTTGGGAAAGCGTTAGCACCTATGCAGGTCATCCGGTTGCAATGGCAG
CCGTTTTGTCAAATCTGGAAGTTATGATGGAAGAAAATCTGGTGGAACAGGCAAAAAAC
AGCGGTGAATATATCCGTAGCAAACCTGGAAGTCTGCAAGAAAAACATAAAAGCATCGG
CAACTTTGATGGTTATGGTCTGCTGTGGATTGTGGATATTGTTAATGCAAAAACCAAAC
CCCGTACGTTAAACTGGATCGCAATTTTCGTCATGGCATGAATCCGAATCAGATTCCGAC
CCAGATTATTATGGAAAAAGCCCTGGAAAAAGGTGTGCTGATTGGTGGTGAATGCCGA
ATACCATGCGTATTGGTGCAAGCCTGAATGTTAGCCGTGGTGATATTGATAAAGCAATGG
ATGCACTGGATTATGCCCTGGATTACCTGGAAAGTGGTGAATGGCAGCAGAGCTAA

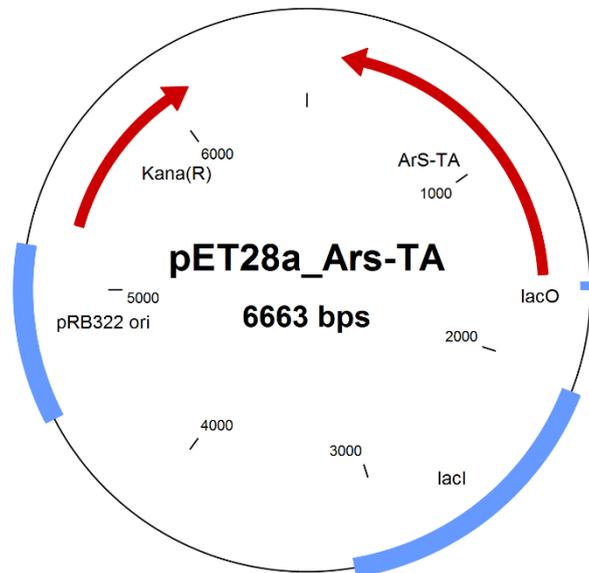
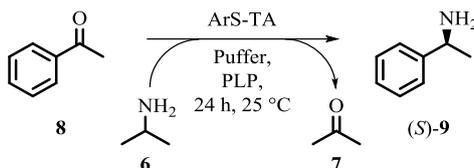


Abbildung 160: Schematische Darstellung des eingesetzten Plasmids zur Expression von ArS-TA.

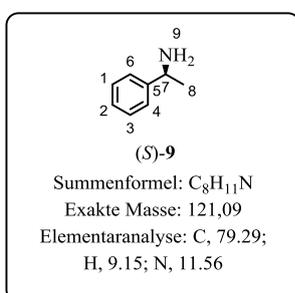
Zu 100 μL Zellsuspension wird 1 μL Plasmidsuspension gegeben. Die Mischung wird 30 min auf Eis inkubiert. Nach 90 sekündigem Hitzeschock bei 42 $^{\circ}\text{C}$ wird die Mischung erneut 2 min auf Eis gelegt. Zu der Suspension werden 1 mL LB-Medium und 1 μL Ampicillin gegeben. Nach 2 h bei 37 $^{\circ}\text{C}$ werden 150 μL der angewachsenen Zellen auf einer LB-Agarplatte, die mit Ampicillin versetzt ist, ausgestrichen. Nach einer Nacht bei 30 $^{\circ}\text{C}$ werden 4-5 der angewachsenen Kolonien in einen sterilen Erlenmeyerkolben zu 10 mL LB-Medium und 10 μL Ampicillin gegeben. Der Kolben wird über Nacht bei 37 $^{\circ}\text{C}$ geschüttelt. In einem sterilen Kolben werden 60 mL LB-Medium und 60 μL Ampicillin vorgelegt. Dazu werden 6 mL der Vorkultur gegeben. Sobald die Zellen eine optische Dichte (OD) von ca. 1.2 erreicht haben, wird die Expression der Transaminase mit Isopropyl- β -D-thio-galactopyranosid (IPTG; 0,5 mM Endkonzentration) induziert und die Zellen für weitere 20 h bei 20 $^{\circ}\text{C}$ und 200 rpm geschüttelt. Nach der Expression wurden die Zellen bei 10000 g und 4 $^{\circ}\text{C}$ geerntet (1.45 g) und anschließend mittels Ultraschall aufgeschlossen. Der Zellaufschluss sah wie folgt aus: 3 mal 2 min bei ca. 10-15 % Power und 50 % Puls mit jeweils 1 min Pause. Der Rohextrakt wird im nächsten Schritt von unlöslichen Proteinen getrennt, indem zuerst die aufgeschlossenen Zellen bei 5000 g und 4 $^{\circ}\text{C}$ für 5 min zentrifugiert wurden. Der Überstand wurde anschließend bei 20000 g und 4 $^{\circ}\text{C}$ für 30 min zentrifugiert. Der erhaltene Überstand bildet den Rohextrakt, der für weitere Experimente eingesetzt wurde und das

Pellet bildet die unlöslichen Proteine (*Inclusion bodies*), die nicht richtig gefaltet wurden. Die *Inclusion bodies* werden in 6 M Harnstoff konserviert und auf dem SDS-PAGE mit dem Rohextrakt verglichen. Der Rohextrakt wurde auf zwei Petrischalen verteilt und bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Der eingefrorene Rohextrakt wird über Nacht bei $-96\text{ }^{\circ}\text{C}$ und 0.165 mbar lyophilisiert. Es werden 0.16 g eines leicht gelblichen Lyophilisats isoliert.

10.3.3.1.2.2. Synthese von 1-Phenylethylamin (*S*)-9



Acetophenon **8** (50 μL , 0.49 mmol, 1.00 Äq, Enkonzentration 50 mM) wird in Phosphatpuffer (2.7 mL, 0.1 M, pH 8.0) gelöst. Die Lösung wird mit Isopropylamin **6** (3.0 mL, 34.97 mmol, 71.37 Äq, Endkonzentration 3.5 M), PLP-Lösung (4.3 mL, 10 mM, pH 8.0) und ArSTa Lyophilisat (76 mg) versetzt. Nach 24 h bei $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ wird die Reaktionsmischung extraktiv mit DCM (3 mal 5 mL) aufgearbeitet. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz der Reaktion wird NMR-spektroskopisch ausgehend vom Rohprodukt bestimmt.

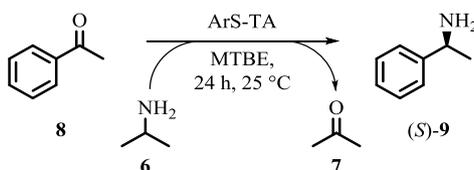


Umsatz: 34 %.

Wiederfindung: 83 %.

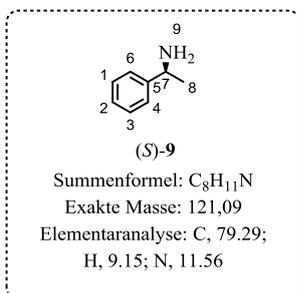
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7\text{ Hz}$, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7\text{ Hz}$, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung (*S*)-9 eindeutig identifiziert werden.^[293]

10.3.3.1.2.3. Synthese von 1-Phenylethylamin (*S*)-9 in organischem Lösungsmittel



Acetophenon **8** (11.66 μL , 0.10 mmol, 1.00 Äq, Enkonzentration 50 mM) wird in Methyltertbutylether (2.0 mL, H_2O gesättigt) gelöst. Die Lösung wird mit Isopropylamin **6** (25.7 μL , 0.30 mmol, 3.00 Äq, Endkonzentration 150 mM) und ArSTa Lyophilisat (40 mg) versetzt. Nach 24 h bei $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ wird die

Reaktionsmischung extraktiv mit DCM (3 mal 5 mL) aufgearbeitet. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz der Reaktion wird NMR-spektroskopisch ausgehend vom Rohprodukt bestimmt.



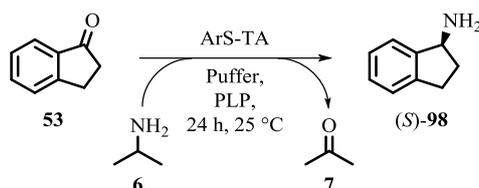
Umsatz: 2 %.

Wiederfindung: 96 %.

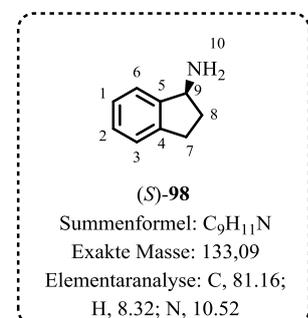
Enantiomerenüberschuss: n.d.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung (S)-**9** eindeutig identifiziert werden.^[293]

10.3.3.1.2.4. Synthese von 1-Aminoindan (S)-**98**



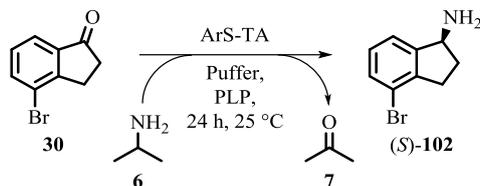
Indanon **53** (11.73 mg, 0.09 mmol, 1.00 Äq, Enkonzentration 50 mM) wird in Phosphatpuffer (540 μL , 0.1 M, pH 8.0) gelöst. Die Lösung wird mit Isopropylamin **6** (600 μL , 7.00 mmol, 77.72 Äq, Endkonzentration 3.5 M), PLP-Lösung (860 μL , 10 mM, pH 8.0) und ArSTa Lyophilisat (15.20 mg) versetzt. Nach 24 h bei 30 °C wird die Reaktionsmischung extraktiv mit DCM (3 mal 5 mL) aufgearbeitet. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz der Reaktion wird NMR-spektroskopisch ausgehend vom Rohprodukt bestimmt.



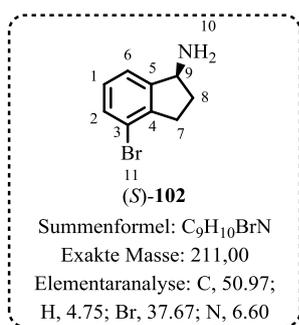
Umsatz: 0 %.

Enantiomerenüberschuss: n.d.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.63 (m, 1 H, H-8), 3.06 (m, 2 H, H-7), 3.28 (m, 1 H, H-8), 4.64 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.1$ Hz, 1 H, H-9), 7.30-8.02 (m, 3 H, H^{ar}). Die spektroskopischen Daten der Referenz *rac*-**98** stimmen mit der Literatur überein, konnten aber nach der Biotransformation nicht detektiert werden.^[350]

10.3.3.1.2.5. Synthese von 4'-Brom-1-aminoindan (*S*)-**102**

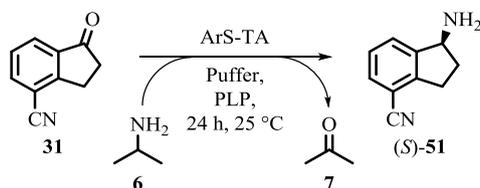
4'-Bromindanon **30** (19.10 mg, 0.09 mmol, 1.00 Äq, Enkonzentration 50 mM) wird in Phosphatpuffer (540 µL, 0.1 M, pH 8.0) gelöst. Die Lösung wird mit Isopropylamin **6** (600 µL, 7.00 mmol, 77.72 Äq, Endkonzentration 3.5 M), PLP-Lösung (860 µL, 10 mM, pH 8.0) und ArSTa Lyophilisat (15.20 mg) versetzt. Nach 24 h bei 30 °C wird die Reaktionsmischung extraktiv mit DCM (3 mal 5 mL) aufgearbeitet. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz der Reaktion wird NMR-spektroskopisch ausgehend vom Rohprodukt bestimmt.



Umsatz: 0 %.

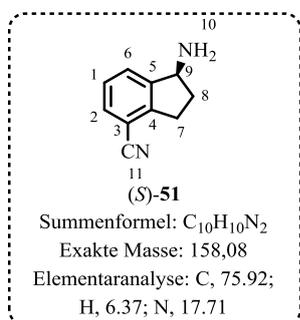
Enantiomerenüberschuss: n.d.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.63 (m, 1 H, H-8), 3.06 (m, 2 H, H-7), 3.28 (m, 1 H, H-8), 4.64 (t, ³J_{HH}=7.1 Hz, 1 H, H-9), 7.30-8.02 (m, 3 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 31.6 (C-7), 31.8 (C-8), 56.8 (C-9), 120.4 (C^{ar}), 123.5 (C^{ar}), 129.0 (C^{ar}), 131.9 (C^{ar}), 143.1 (C^{ar}), 144.2 (C^{ar}). Die spektroskopischen Daten der Referenz *rac*-**102** stimmen mit der Literatur überein, konnten aber nach der Biotransformation nicht detektiert werden.^[350]

10.3.3.1.2.6. Synthese von 4'-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51**

4'-Cyanoindanon **31** (13.88 mg, 0.09 mmol, 1.00 Äq, Enkonzentration 50 mM) wird in Phosphatpuffer (540 µL, 0.1 M, pH 8.0) gelöst. Die Lösung wird mit Isopropylamin **6** (600 µL, 7.00 mmol, 77.72 Äq, Endkonzentration 3.5 M), PLP-Lösung (860 µL, 10 mM, pH 8.0) und ArSTa Lyophilisat (15.20 mg) versetzt. Nach 24 h bei 30 °C wird die Reaktionsmischung extraktiv mit DCM (3 mal 5 mL)

aufgearbeitet. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Umsatz der Reaktion wird NMR-spektroskopisch ausgehend vom Rohprodukt bestimmt.

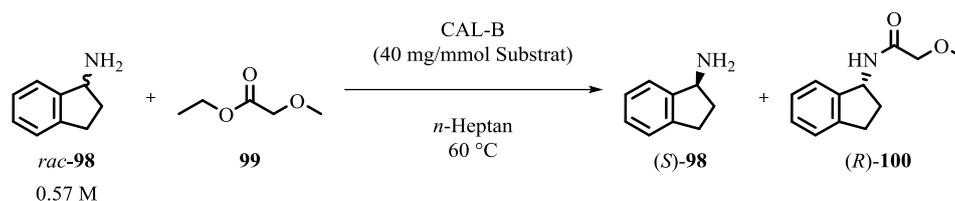


Umsatz: 0 %.

Enantiomerenüberschuss: n.d.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.79 (m, 1 H, H-8), 2.62 (m, 1 H, H-7), 2.98 (m, 1 H, H-8), 3.20 (m, 1 H, H-7), 4.43z (t, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz, 1 H, H-9), 7.33 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-1), 7.51 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-6), 7.58 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-2). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 29.7 (C-7), 37.1 (C-8), 57.3 (C-9), 108.9 (C-3), 117.8 (C-11), 127.4 (C-1), 128.1 (C-2), 130.8 (C-6), 147.3 (C-4), 148.8 (C-5). Die spektroskopischen Daten der Referenz *rac*-**51** stimmen mit der Literatur überein, konnten aber nach der Biotransformation nicht detektiert werden.^[148]

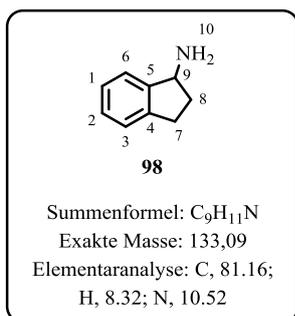
10.3.3.1.3. Racematspaltung von *rac*-**98** mit CAL-B



1-Aminoindan *rac*-**98** (19.24 μL , 0.150 mmol, 1.00 $\text{\AA}q$) und Ethylmethoxyacetat **99** (17.60 μL , 0.150 mmol, 1.00 $\text{\AA}q$) werden in *n*-Heptan (256 μL) gelöst und mit CAL-B (6.00 mg, 40 mg/mmol_{Substrat}) versetzt. Die Reaktionsmischung wird bei 60 °C gerührt. Zu gegebenen Zeiten wird eine Probe (40 μL) entnommen und NMR-spektroskopisch untersucht. Anschließend wird die Probe nach Kap. 10.3.1.2 derivatisiert und anschließend die *ee*-Werte aller Komponenten auf der chiralen HPLC bestimmt.

Tabelle 20: Umsätze und Enantiomerenüberschüsse zu gegebenen Zeiten von Substrat **98** und Produkt **100**.

Zeit [h]	Umsatz [%]	<i>ee</i> -Substrat 98 [%]	<i>ee</i> -Produkt 100 [%]
1.5	21	19	99
8.0	36	46	95
16.0	40	55	96



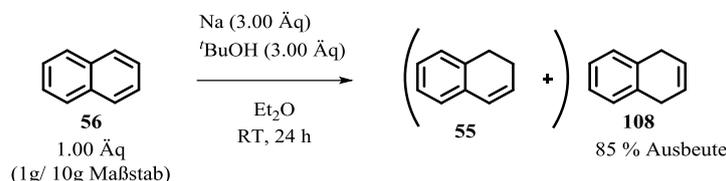
t_R (chirale HPLC): 15.7 min (*S*)-**100**, 18.6 min (*R*)-**100**, 13.5 min (*S*)-**147**, 17.0 min (*R*)-**147**, CO₂ / IPA 95:5; 2.0 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; AD-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.90-1.98 (m, 1 H, H-7/8), 2.37-2.46 (m, 1 H, H-7/8*), 2.83 (m, 1 H, H-7/8*), 2.93-3.00 (m, 1 H, H-7/8), 4.59-4.69 (m, 1 H, H-10), 7.15-7.24 (m, 3 H, H^{ar}), 7.31 (d, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H^{ar}). Die spektroskopischen Daten stimmen mit der

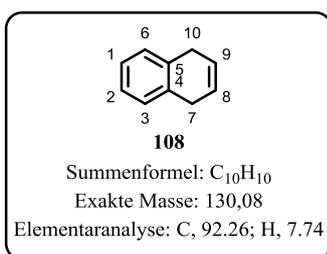
Literatur überein und führten zur eindeutigen Identifizierung und entsprechendem Nachweis.^[349]

10.3.3.2. Totalsynthese von 4-Cyano-1-aminoindan (*S*)-**51**

10.3.3.2.1. Reduktion von Naphthalin **56**



Zu einer Lösung aus Naphthalin **56** (5.00 g, 39 mmol, 1.00 Äq) und Diethylether (80 mL) wird stückchenweise Natrium (2.25 g, 98 mmol, 2.5 Äq) gegeben. Die Suspension wird eingefroren und die Gasphase durch Schutzgas (Ar) ersetzt. ^tBuOH (7.25 g, 98 mmol, 2.5 Äq) wird in Diethylether (10 mL) gelöst und zu der Natriumsuspension getropft (15-20 min). Nach 3 h bei Raumtemperatur wird die flüssige Phase abdekantiert und der Rückstand mit Diethylether (20 mL) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und vom Lösungsmittel im Vakuum befreit.



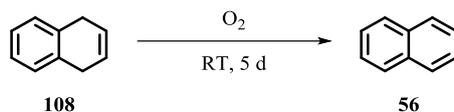
Ausbeute: 85 %.

Reinheit: 95 % (5 % bestehen aus 1,2-Dihydrophthalin **55**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.35 (d, 4 H, H-10, -7), 5.88 (t, 2 H, H-8, -9), 7.09 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 29.8 (C-7, -10), 124.8 (C-1, -2), 125.9 (C-8, -9), 128.4

(C-3, -6), 134.2 (C-4, -5). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **108** eindeutig identifiziert werden.^[347]

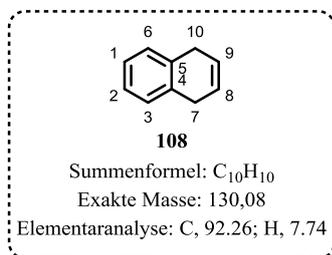
10.3.3.2.2. Oxidationsempfindlichkeit von 1,4-Dihydronaphthalin **108**



Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin **108** (Isomerengemisch aus Versuchsbeschreibung 10.3.3.2.1, 30 μL , 0.4 mmol, 1.00 $\text{\AA}\text{q}$) wird über Luftatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wird nach 5 d NMR-spektroskopisch untersucht. Die Verteilung der einzelnen Komponenten ist in Tabelle 21 aufgeführt.

Tabelle 21: Verteilung zwischen 1,2-Dihydronaphthalin, 1,4-Dihydronaphthalin **108 und Naphthalin **56** bei Lagerung unter atmosphärischer Luft.**

Experiment 1	 108	 55	 56
Verteilung [%] vorher	95	5	0
Verteilung [%] nachher	0	5	95

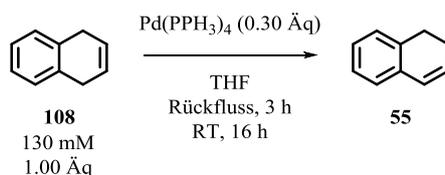


Ausbeute: 99 %.

Reinheit: 95 % Naphthalin **56** (5 % 1,2-Dihydronaphthalin **55**).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]; 7.40-7.50 (m, 4 H, H-3, -6, -7, -10), 7.841 (m, 4 H, H-1, -2, -8, -9) [Naphthalin **56**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **56** und **108** eindeutig identifiziert werden.^[347]

10.3.3.2.3. Isomerisierung von 1,4-Dihydronaphthalin **108**

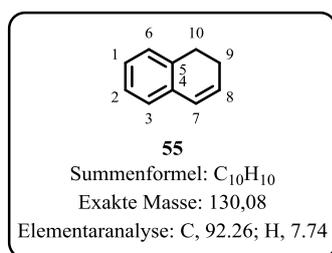


Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin **108** (Isomerengemisch, 50 mg, 0.4 mmol, 1.00 $\text{\AA}\text{q}$) und Tetrahydrofuran (3 mL) wird Tetrakis(triphenyl)phosphinpalladium (65 mg, 0.06 mmol, 0.30 $\text{\AA}\text{q}$) gegeben. Die Suspension wird eingefroren und die Gasphase durch Schutzgas (Ar) ersetzt. Die

Suspension wird 15 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 22 aufgeführt.

Tabelle 22: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin **55** und 1,4-Dihydronaphthalin **108** vor und nach der Umalgerung.

Experiment 1	 108	 55
Verteilung [%] vorher	95	5
Verteilung [%] nachher	3	97

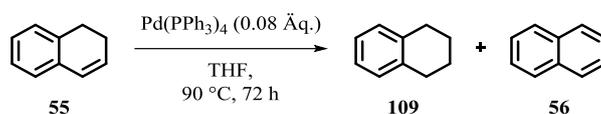


Ausbeute: 93 %.

Reinheit: 100 %.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 23.2 (C-9), 27.5 (C-10), 125.9 (C), 126.4 (C), 126.8 (C), 127.5 (C), 127.8 (C), 128.5 (C), 134.2 (C-5), 135.4 (C-4). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **55** und **108** eindeutig identifiziert werden.^[347]

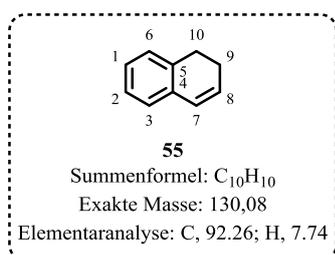
10.3.3.2.4. Disproportionierung von 1,2-Dihydronaphthalin **55**



Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin (Isomerenmischung, 400 μL, 0.4 mmol, 1.00 Äq) und Tetrahydrofuran (3 mL) wird Tetrakis(triphenyl)phosphin-palladium (10.66 mg, 0.01 mmol, 0.08 Äq) gegeben. Die Suspension wird ohne Schutzgas 76 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 aufgeführt.

Tabelle 23: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin **55, 1,4-Dihydronaphthalin **108**, Naphthalin **56** und Tetralin **109** vor und nach der Disproportionierung.**

Experiment 1	 108	 55	 56	 109
Verteilung [%] vorher	95	5	0	0
Verteilung [%] nachher	0	3	49	48



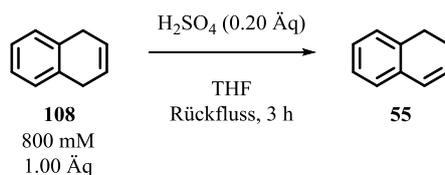
Ausbeute: 52.01 mg (91 %).

Reinheit: 3 %.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]; 7.475 (m, 4 H, H-3, -6, -7, -10), 7.841 (m, 4 H, H-1, -2, -8, -9) [Naphthalin **56**], 1.80 (m, 4 H, H-9, -8), 2.77 (t, 4 H, H-10, -7), 7.05-7.10 (m, 4 H, H^{ar}) [Tetralin **109**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **55**, **56**, und **109** eindeutig identifiziert werden.^[347]

10.3.3.2.5. Isomerisierung im Sauren

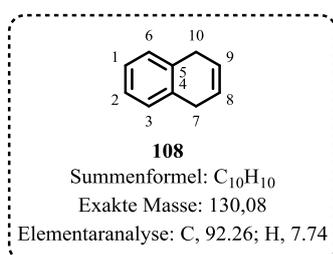
10.3.3.2.5.1. Synthese von **55** in Gegenwart von Schwefelsäure und THF



Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin (Isomergemisch, 1.02 g, 7.7 mmol, 1.00 Äq) und Tetrahydrofuran (10 mL) wird Schwefelsäure (95 %, 85 μ L, 1.9 mmol, 0.20 Äq) gegeben. Die Suspension wird eingefroren und die Gasphase durch Schutzgas (Ar) ersetzt. Die Suspension wird 15 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 24 aufgeführt.

Tabelle 24: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin 55 und 1,4-Dihydronaphthalin 108 vor und nach dem Isomerisierungsversuch.

Experiment 1	 108	 55
Verteilung [%] vorher	95	5
Verteilung [%] nachher	95	5

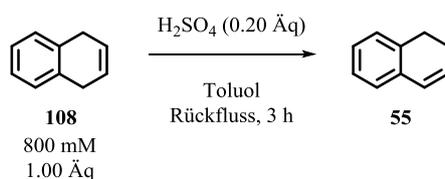


Ausbeute: 0.93 g (93 %).

Reinheit: 95 % (5 % 1,2-Dihydronaphthalin **55**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.35 (d, 4 H, H-10, -7), 5.88 (t, 2 H, H-8, -9), 7.09 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,4-Dihydronaphthalin **108**]; 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **55** und **108** eindeutig identifiziert werden.^[347]

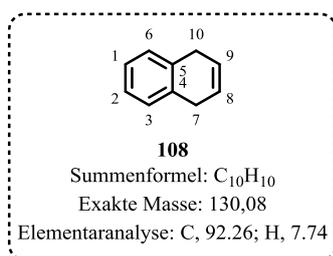
10.3.3.2.5.2. Synthese von 55 in Gegenwart von Schwefelsäure und Toluol



Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin (Isomerengemisch, 1.01 g, 7.7 mmol, 1.00 Äq) und Toluol (10 mL) wird Schwefelsäure (95 %, 85 µL, 1.9 mmol, 0.20 Äq) gegeben. Die Suspension wird eingefroren und die Gasphase durch Schutzgas (Ar) ersetzt. Die Suspension wird 15 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 aufgeführt.

Tabelle 25: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin 55 und 1,4-Dihydronaphthalin 108 vor und nach dem Isomerisierungsversuch.

Experiment 1	 108	 55
Verteilung [%] vorher	95	5
Verteilung [%] Nachher	95	5



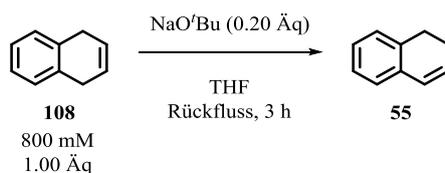
Ausbeute: 0.92 g (92 %).

Reinheit: 95 % (5 % 1,2-Dihydronaphthalin **55**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.35 (d, 4 H, H-10, -7), 5.88 (t, 2 H, H-8, -9), 7.09 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,4-Dihydronaphthalin **108**]; 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **108** und **55** eindeutig identifiziert werden.^[347]

10.3.3.2.6. Isomerisierung im Basischen

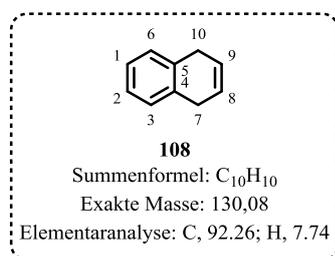
10.3.3.2.6.1. Isomerisierung von 108 in Gegenwart von Kaliumtertbutylat und THF



Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin (Isomerengemisch, 1.01 g, 7.7 mmol, 1.00 Äq) und Tetrahydrofuran (10 mL) wird Kaliumtertbutanolat (220 mg, 1.9 mmol, 0.20 Äq) gegeben. Die Suspension wird eingefroren und die Gasphase durch Schutzgas (Ar) ersetzt. Die Suspension wird 15 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 22 aufgeführt.

Tabelle 26: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin 55 und 1,4-Dihydronaphthalin 108 vor und nach dem Isomerisierungsversuch.

Experiment 1	 108	 55
Verteilung [%] vorher	95	5
Verteilung [%] Nachher	95	5

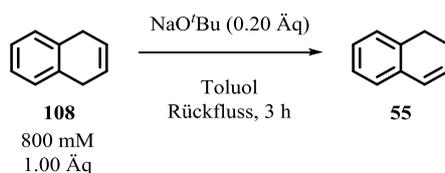


Ausbeute: 0.92 g (92 %).

Reinheit: 95 % (5 % 1,2-Dihydronaphthalin **55**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.35 (d, 4 H, H-10, -7), 5.88 (t, 2 H, H-8, -9), 7.09 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,4-Dihydronaphthalin **108**]; 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **55** und **108** eindeutig identifiziert werden.^[347]

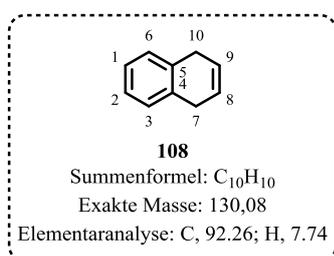
10.3.3.2.6.2. Isomerisierung von 108 in Gegenwart von Kaliumtertbutylat und Toluol



Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin (Isomerengemisch, 1.04 g, 7.7 mmol, 1.00 Äq) und Toluol (10 mL) wird Kaliumtertbutanolat (215 mg, 1.9 mmol, 0.20 Äq) gegeben. Die Suspension wird eingefroren und die Gasphase durch Schutzgas (Ar) ersetzt. Die Suspension wird 15 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden vom Lösungsmittel im Vakuum befreit.

Tabelle 27: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin 55 und 1,4-Dihydronaphthalin 108 vor und nach dem Isomerisierungsversuch.

Experiment 1	 108	 55
Verteilung [%] vorher	95	5
Verteilung [%] Nachher	95	5

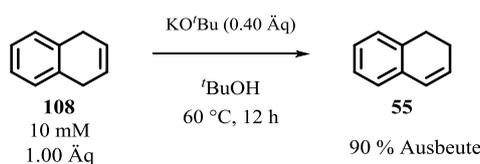


Ausbeute: 0,96 g (96 %).

Reinheit: 95 % (5 % 1,2-Dihydronaphthalin **55**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.35 (d, 4 H, H-10, -7), 5.88 (t, 2 H, H-8, -9), 7.09 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,4-Dihydronaphthalin **108**]; 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **108** und **55** eindeutig identifiziert werden.^[347]

10.3.3.2.6.3. Isomerisierung von 108 in Gegenwart von Kaliumtertbutylat und ^tBuOH

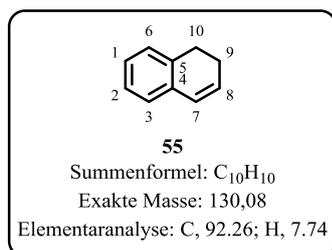


Zu einer Lösung aus 1,4-Dihydronaphthalin (7,92 g, 60,1 mmol, 1,00 Äq) in *tert*-Butanol (6 mL, 63,22 mmol, 1,05 Äq) werden Kalium-*tert*-butanolat (2,50 g, 22,3 mmol, 0,40 Äq) gegeben und die Suspension 12 h bei 60 °C unter Argonatmosphäre gerührt. Nach Abkühlung des Reaktionsgemisches wird DCM hinzugegeben und dreimal mit Wasser gewaschen. Die Lösung wird über MgSO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt als leicht gelbliche Flüssigkeit gewonnen.

Die Reaktionskontrolle wurde per GC durchgeführt und die Reinheit des Produktes mittels ¹H-NMR-Analytik bestimmt.

Tabelle 28: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin 55 und 1,4-Dihydronaphthalin 108 vor und nach dem Isomerisierungsversuch.

Experiment 1	 108	 55
Verteilung [%] vorher	95	5
Verteilung [%] Nachher	3	97



Ausbeute: 7.82 g (90 %).

Reinheit: 97 % (3 % 1,4-Dihydronaphthalin **108**).

t_R (GC): 5.06 min (**55**), 5.26 min (**108**); Phenomenex ZB-5MSi, 131.9 kPa, 198.2 mL/min, 44.2 cm/sec, 3 m/min, 200 °C Verdampfungskammer, 250 °C Detektor, Temp.-Profil: 40 °C; 150 °C

(20 °C/min); 154 °C (2 °C/min); 180 °C (20 °C/min).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.35 (d, 4 H, H-10, -7), 5.88 (t, 2 H, H-8, -9), 7.09 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,4-Dihydronaphthalin **108**], 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]. ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 23.2 (C-9), 27.5 (C-10), 125.9 (C), 126.4 (C), 126.8 (C), 127.5 (C), 127.8 (C), 128.5 (C), 134.2 (C-5), 135.4 (C-4) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **55** und **108** eindeutig identifiziert werden.^[347]

10.3.3.2.7. Oxidationsempfindlichkeit von 1,2-Dihydronaphthalin 55

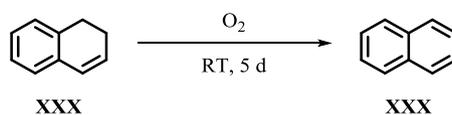
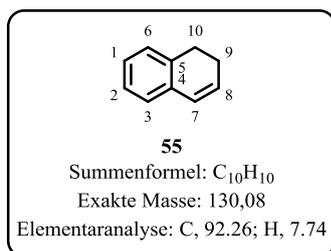


Abbildung 161: Oxidationsempfindlichkeit von 1,4-Dihydronaphthalin.

Zu einer Lösung aus Dihydronaphthalin (Isomerengemisch aus Versuchsbeschreibung 10.3.3.2.1, 30 μ L, 0.4 mmol, 1.00 Äq) wird über Luftatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wird nach 5 d NMR-spektroskopisch untersucht.

Tabelle 29: Verteilung von 1,2-Dihydronaphthalin **55, Naphthalin **56** und 1,4-Dihydronaphthalin **108** vor und nach der Lagerung unter atmosphärischer Luft.**

Experiment 1	 108	 55	 56
Verteilung [%] vorher	3	97	0
Verteilung [%] Nachher	0	95	5



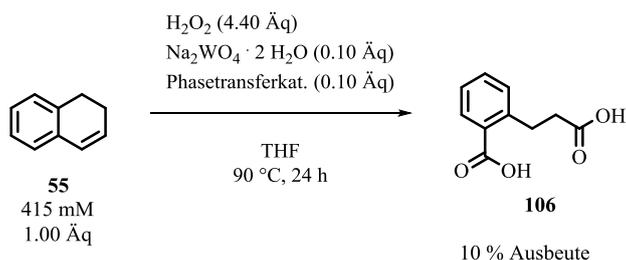
Ausbeute: 99 %.

Reinheit: 95 % Naphthalin (5 % 1,2-Dihydronaphthalin **55**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.28 (m, 2 H, H-9), 2.75 (t, 2 H, H-10), 5.99 (m, 1 H, H-8), 6.42 (m, 1 H, H-7), 6.85-7.29 (m, 4 H, H-1, -2, -3, -6) [1,2-Dihydronaphthalin **55**], 7.475 (m, 4 H, H-3, -6, -7, -10), 7.841 (m, 4 H, H-1, -2, -8, -9) [Naphthalin **56**]. ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 23.2 (C-9), 27.5 (C-10), 125.9 (C), 126.4 (C), 126.8 (C), 127.5 (C), 127.8 (C), 128.5 (C), 134.2 (C-5), 135.4 (C-4) [1,2-Dihydronaphthalin **55**]. Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnten die Verbindungen **55** und **56** eindeutig identifiziert werden.^[347]

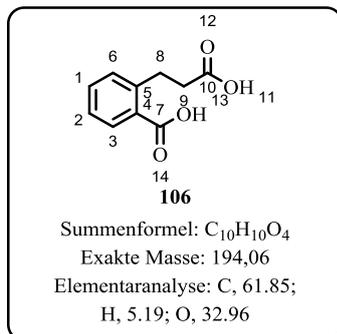
10.3.3.2.8. Doppelbindungsspaltung von 1,2-Dihydronaphthalin **55**

10.3.3.2.8.1. Synthese von Disäure **106** mit Wasserstoffperoxid und Natriumwolframat^[218]



Methyltrioctylammoniumhydrogensulfat (3.57 mg, 0.008 mmol, 0.10 Äq) und Na₂WO₄ · 2 H₂O (2.75 mg, 0.008 mmol, 0.10 Äq) werden in 30 %iger H₂O₂-Lösung (0.08 mL, 3.38 mmol, 4.40 Äq) vorgelegt. Nach der Zugabe von 1,2-Dihydronaphthalin **55** (0.1 mL, 0.77 mmol, 1.00 Äq) wird für 24 Stunden auf 90 °C erwärmt und stark gerührt. Die sehr dickflüssige Suspension wird mit Natronlauge (4 M, 3 mal 3 mL) und Ethylacetat (3 mal 3 mL) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen werden mit konz. Salzsäure (1 mL) auf pH 1 eingestellt und mit Ethylacetat (3 mal 5 mL) extrahiert. Das Lösungsmittel

der vereinigten organischen Phasen wird unter vermindertem Druck entfernt und ein braun-schwarzer Feststoff erhalten.



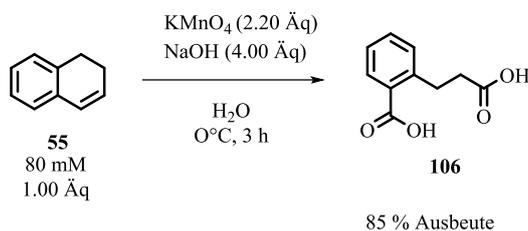
Ausbeute: 15.01 mg (10 %).

t_R (RP-HPLC): 16.6 min (**106**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

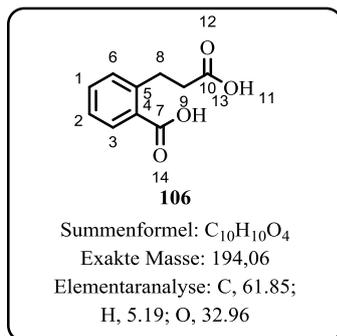
m/z (M+Na): 217.0; m/z (M-H): 192.8.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.51 (m, 2 H, H-8), 3.12-3.16 (m, 2 H, H-9), 7.29-7.33 (m, 1 H, H-1), 7.34 (d, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H-6), 7.44-7.51 (m, 1 H, H-3), 7.81 (dd, ³J_{HH}=7.8 Hz; ³J_{HH}=1.3 Hz 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 30.0 (C-8), 36.3 (C-9), 127.2 (C^{ar}), 131.2 (C^{ar}), 131.4 (C^{ar}), 131.7 (C^{ar}), 132.7 (C^{ar}), 142.8 (C-4), 169.6 (C-7), 174.7 (C-10). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **106** eindeutig identifiziert werden.^[351]

10.3.3.2.8.2. Synthese von Disäure **106** mit Kaliumpermanganat und extraktiver Aufarbeitung



Kaliumpermanganat (269.37 mg, 1.7 mmol, 2.20 Äq) wird in Wasser (10 mL) gelöst. Tropfenweise wird unter Eisbadkühlung eine Lösung aus 1,2-Dihydronaphthalin **55** (100 μ L, 0.77 mmol, 1.00 Äq) und Dichlormethan (250 μ L) zur wässrigen Lösung gegeben. Die Mischung wird drei Stunden bei 0 °C gerührt. Der entstandene Feststoff (Braunstein) wird über Kieselgel abfiltriert und das Filtrat mit Natriumhydroxid (125.7 mg, 3.13 mmol, 4.00 Äq) basisch eingestellt. Die wässrige Lösung wird 3 mal mit Dichlormethan (10 mL) gewaschen und anschließend mit konz. Salzsäure auf pH <1 eingestellt. Die saure Lösung wird 3 mal mit Dichlormethan (10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Die Disäure wird als brauner Feststoff erhalten.



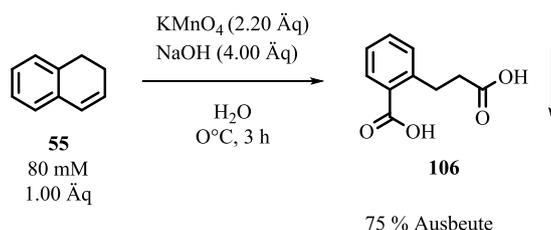
Ausbeute: 127.09 mg (85 %).

t_R (RP-HPLC): 16.6 min (**106**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M+Na): 217.0; m/z (M-H): 192.8.

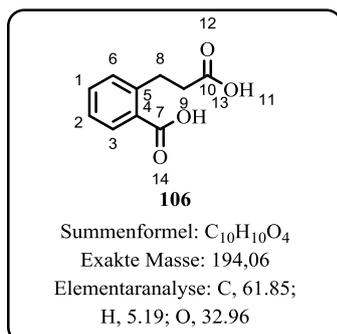
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.51 (m, 2 H, H-8), 3.12-3.16
 (m, 2 H, H-9), 7.29-7.33 (m, 1 H, H-1), 7.34 (d, ³J_{HH}=7.5 Hz, 1 H, H-6), 7.44-7.51 (m, 1 H, H-3), 7.81
 (dd, ³J_{HH}=7.8 Hz; ³J_{HH}=1.3 Hz 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) =30.0 (C-8), 36.3
 (C-9), 127.2 (C^{ar}), 131.2 (C^{ar}), 131.4 (C^{ar}), 131.7 (C^{ar}), 132.7 (C^{ar}), 142.8 (C-4), 169.6 (C-7), 174.7
 (C-10). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die
 Verbindung **106** eindeutig identifiziert werden.^[351]

10.3.2.8.3. Synthese von Disäure **106** mit Kaliumpermanganat und Produktisolierung durch Kristallisation



Kaliumpermanganat (70.33 g, 448 mmol, 3.7 Äq) wird in Wasser (2.1 L) und auf 4 °C gekühlt. 1,2-Dihydronaphthalin **55** (15.66 g, 120 mmol, 1.00 Äq) wird in Dichlormethan (50 mL) gelöst und unter Eisbadkühlung innerhalb von 3 min zur Permanganatlösung getropft (keine Wärmeentwicklung). Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur kommen gelassen. Die Reaktion wird mittels DC verfolgt (LM: Hexan/EtOAc 7:3, AcOH 1%; R_f Produkt: 0.1). Nach 3 h wird Natriumhydroxid (32.05 g, 6.8 Äq) zur Reaktionsmischung geben und die Suspension filtriert. Die flüssige Phase wird auf 500 mL im Vakuum eingengt und mit konzentrierter Salzsäure auf pH 1 gebracht. Der ausgefallene Feststoff (7.5 g) wird abfiltriert und getrocknet (60 °C). Der Feststoff wird

auf der RP-HPLC charakterisiert.



Ausbeute: 17.48 g (75 %).

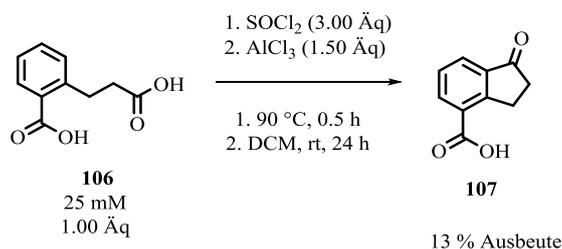
t_R (RP-HPLC): 16.6 min (**106**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M+Na): 217.0; m/z (M-H): 192.8.

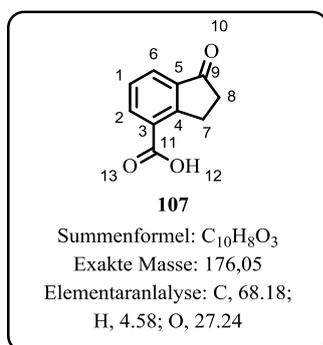
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.51 (m, 2 H, H-8), 3.12-3.16 (m, 2 H, H-9), 7.29-7.33 (m, 1 H, H-1), 7.34 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.5$ Hz, 1 H, H-6), 7.44-7.51 (m, 1 H, H-3), 7.81 (dd, $^3J_{\text{HH}}=7.8$ Hz; $^3J_{\text{HH}}=1.3$ Hz, 1 H, H-2). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 30.0 (C-8), 36.3 (C-9), 127.2 (C^{ar}), 131.2 (C^{ar}), 131.4 (C^{ar}), 131.7 (C^{ar}), 132.7 (C^{ar}), 142.8 (C-4), 169.6 (C-7), 174.7 (C-10). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **106** eindeutig identifiziert werden.^[351]

10.3.3.2.9. Aufbau des Indanongerüsts

10.3.3.2.9.1. Synthese von Indanonsäure **107** durch *Friedel-Crafts-Chemie*^[218]



Tropfenweise wird Thionylchlorid (150 μL , 1.57 mmol, 3.00 Äq) zu 2-(3-Carboxypropyl)benzoesäure **106** (101.40 mg, 0.52 mmol, 1.00 Äq) gegeben. Die Reaktionsmischung wird 30 min auf 90 °C erwärmt und anschließend überschüssiges Thionylchlorid abdestilliert. Der zurückgebliebene orange Feststoff wird in Dichlormethan (20 mL) aufgenommen und unter Eisbadkühlung wird Aluminiumtrichlorid (89.62 mg, 0.60 mmol, 1.15 Äq) dazugegeben. Die Lösung wird 1 h bei 0 °C gerührt und anschließend auf Eiswasser gegossen. Mit konzentrierter Salzsäure (2 mL) wird der pH-Wert <1 eingestellt. Die wässrige Phase wird mit Dichlormethan (3 mal 20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (3 mal 30 mL) gewaschen. Die organische Phase wird im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und es wird ein orange farbener Feststoff erhalten.



Ausbeute 11.65 mg (13 %).

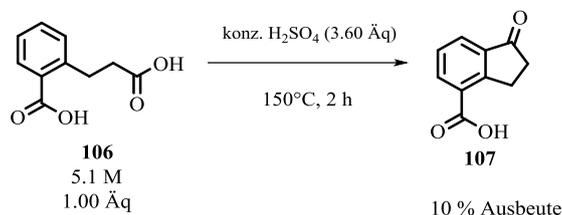
t_R (RP-HPLC): 15.3 min (**107**), C_{18} , 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/ H_2O 7:93 (bis 8 min), ACN/ H_2O 10:90 (bis 12 min), ACN/ H_2O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-H): 174.8.

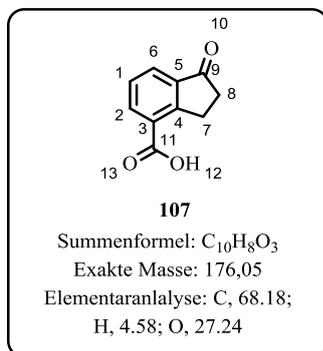
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 3.16-3.22 (m, 2 H, H-7), 3.54-3.58 (m, 2 H, H-8), 7.62 (m, 1 H, H-1), 8.03 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz, 1 H, H-6), 8.38 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.0$ Hz, 1 H, H-2). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO): δ (ppm) = 27.4 (C-7), 36.2 (C-8), 127.6 (C-1), 128.2 (C-1), 129.5 (C-3), (C-6), 136.6 (C-2), 138.4 (C-5), 156.8 (C-4), 167.3 (C-11), 206.4 (C-9). Durch Vergleich der

NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **107** eindeutig identifiziert werden.^[352]

10.3.3.2.9.2. Synthese von Indanonsäure **107** mit Schwefelsäure als Katalysator^[218]



Tropfenweise wird konz. Schwefelsäure (500 μL , 9.4 mmol, 3.60 Äq) zu 2-(2-Carboxyethyl)benzoesäure **106** (500.23 mg, 2.57 mmol, 1.0 Äq) gegeben. Die Lösung wird 2 h auf 150 °C erwärmt und anschließend in Wasser (50 mL) aufgenommen. Mit Natriumhydrogencarbonat wird die Lösung neutralisiert und mit Dichlormethan (3 mal 40 mL) gewaschen. Mit konz. Schwefelsäure wird ein pH-Wert <2 eingestellt und die Lösung erneut mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und ^1H -NMR-spektroskopisch untersucht.



Umsatz: 16 %.

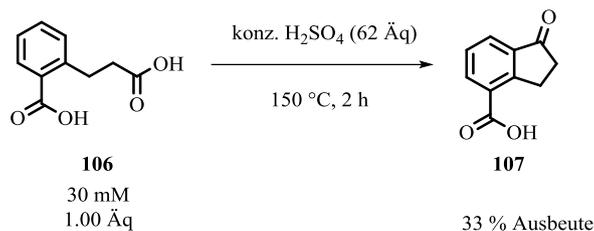
Ausbeute 43.18 mg (10 %).

t_R (RP-HPLC): 15.3 min (**107**), C_{18} , 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/ H_2O 7:93 (bis 8 min), ACN/ H_2O 10:90 (bis
 12 min), ACN/ H_2O 25:75 (bis 19 min).

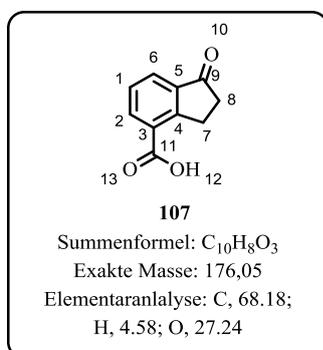
m/z (M-H): 174.8.

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 3.16-3.22 (m, 2 H, H-7), 3.54-3.58 (m, 2 H, H-8), 7.62 (m, 1 H, H-1), 8.03 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz, 1 H, H-6), 8.38 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.0$ Hz, 1 H, H-2). ^{13}C -NMR (500 MHz, DMSO): δ (ppm) = 27.4 (C-7), 36.2 (C-8), 127.6 (C-1), 128.2 (C-1), 129.5 (C-3), (C-6), 136.6 (C-2), 138.4 (C-5), 156.8 (C-4), 167.3 (C-11), 206.4 (C-9). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **107** eindeutig identifiziert werden.^[352]

10.3.3.2.9.3. Synthese von Indanonsäure **107** mit Schwefelsäure als Katalysator



3-(2-Carboxyphenyl)propionsäure **106** (28.92 mg, 0.15 mmol, 1.00 Äq) wird in Schwefelsäure (5 mL, 93 mmol, 62 Äq) gelöst und für 1.5 h auf 150 °C erhitzt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Reaktionsmischung direkt mit Dichlormethan extrahiert (3 mal 8 mL). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wird in CDCl₃ gelöst und NMR-spektroskopisch untersucht.



Umsatz: 100 %.

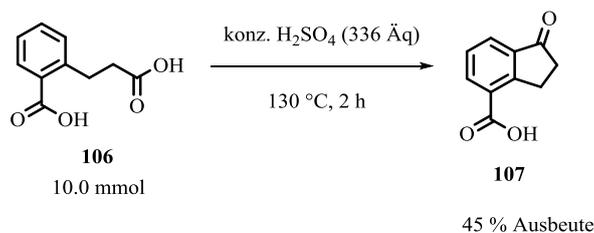
Ausbeute 8.72 mg (33 %).

t_R (RP-HPLC): 15.3 min (**107**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelpprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

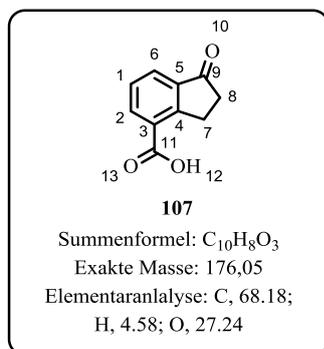
m/z (M-H): 174.8.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.16-3.22 (m, 2 H, H-7), 3.54-3.58 (m, 2 H, H-8), 7.62 (m, 1 H, H-1), 8.03 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-6), 8.38 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO): δ (ppm) = 27.4 (C-7), 36.2 (C-8), 127.6 (C-1), 128.2 (C-1), 129.5 (C-3), (C-6), 136.6 (C-2), 138.4 (C-5), 156.8 (C-4), 167.3 (C-11), 206.4 (C-9). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **107** eindeutig identifiziert werden.^[352]

10.3.3.2.9.4. Synthese von Indanonsäure **107** mit höherer Schwefelsäure Äquivalenz und kontinuierlicher flüssig-flüssig Extraktion



3-(2-Carboxyphenyl)propionsäure **106** (2.01 g, 10 mmol, 1.0 Äq) wird in Schwefelsäure (180 mL, 3366 mmol, 336 Äq) gelöst und für 2 h auf 130 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung wird nach Abbruch der Reaktion auf Eis (300 g) gegeben und weitere 2 h im Eisbad gekühlt. Für 16 h wird die Suspension bei 8 °C gelagert und dann filtriert. Das Filtrat wird für 24 h in einem flüssig-flüssig Extraktor mit Dichlormethan (500 mL) behandelt. Nach Einengen der organischen Phase im Vakuum wird ein leicht gelber Feststoff isoliert. Der Feststoff wird NMR-spektroskopisch charakterisiert.



Umsatz: 100 %.

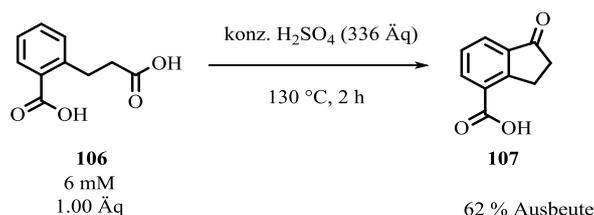
Ausbeute 793 mg (45 %).

t_R (RP-HPLC): 15.3 min (**107**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

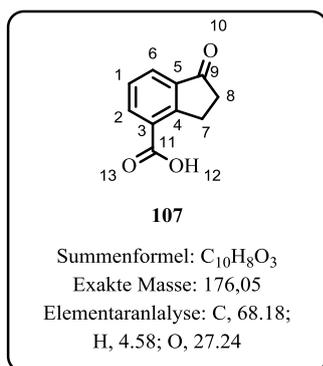
m/z (M-H): 174.8.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.16-3.22 (m, 2 H, H-7), 3.54-3.58 (m, 2 H, H-8), 7.62 (m, 1 H, H-1), 8.03 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-6), 8.38 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO): δ (ppm) = 27.4 (C-7), 36.2 (C-8), 127.6 (C-1), 128.2 (C-1), 129.5 (C-3), (C-6), 136.6 (C-2), 138.4 (C-5), 156.8 (C-4), 167.3 (C-11), 206.4 (C-9). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **107** eindeutig identifiziert werden.^[352]

10.3.3.2.9.5. Synthese von Indanonsäure **107** mit höherer Schwefelsäure Äquivalenz, Zudosierung des Substrats und kontinuierlicher flüssig-flüssig Extraktion



3-(2-Carboxyphenyl)propionsäure **106** (2.00 g, 10 mmol, 1.0 Äq) wird in Natronlauge (20 mL, 5 M) gelöst und zur Schwefelsäure (180 mL, 336 mmol, 336 Äq), die auf 130 °C temperiert ist zugetropft (1 mL/6 min). Die Reaktionsmischung wird nach Abbruch der Reaktion auf Eis (300 g) gegeben und weitere 2 h im Eisbad gekühlt. Für 16 h wird die Suspension bei 8 °C gelagert und dann filtriert. Das Filtrat wird für 24 h in einem Flüssig-Flüssig Extraktor mit Dichlormethan (500 mL) behandelt. Nach Einengen der organischen Phase im Vakuum wird ein leicht gelber Feststoff isoliert. Der Feststoff wird auf der RP-HPLC charakterisiert. Die schwefelsäure Lösung wird nach obiger Methode untersucht und es können keine signifikanten Mengen des Zielprodukts mehr nachgewiesen werden (40 mg).



Umsatz: 100 %.

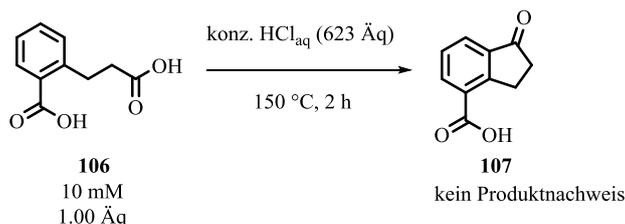
Ausbeute 1098 g (62 %).

t_R (RP-HPLC): 15.3 min (**107**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

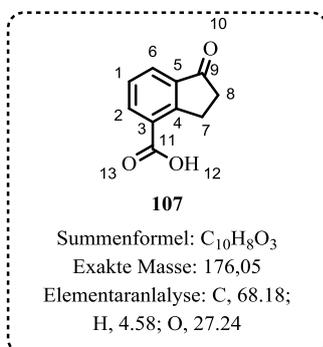
m/z (M-H): 174.8.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.16-3.22 (m, 2 H, H-7), 3.54-3.58 (m, 2 H, H-8), 7.62 (m, 1 H, H-1), 8.03 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-6), 8.38 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO): δ (ppm) = 27.4 (C-7), 36.2 (C-8), 127.6 (C-1), 128.2 (C-1), 129.5 (C-3), (C-6), 136.6 (C-2), 138.4 (C-5), 156.8 (C-4), 167.3 (C-11), 206.4 (C-9). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **107** eindeutig identifiziert werden.^[352]

10.3.3.2.9.6. Synthese von Indanonsäure **107** mit Salzsäure als Katalysator



3-(2-Carboxyphenyl)propionsäure **106** (99.71 mg, 0.51 mmol, 1.00 Äq) wird in Schwefelsäure (5 mL, 60.0 mmol, 214.00 Äq) gelöst und für 5 auf 150 °C erhitzt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Reaktionsmischung direkt mit Dichlormethan extrahiert (3 mal 8 mL). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wird in CDCl₃ gelöst und NMR-spektroskopisch untersucht.



Umsatz: 0 %.

Ausbeute 28.47 mg (98 %) →Edukt.

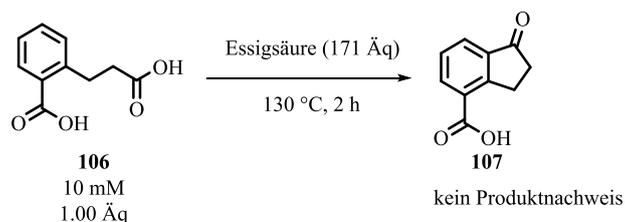
t_R (RP-HPLC): 15.3 min (**107**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-H): 174.8.

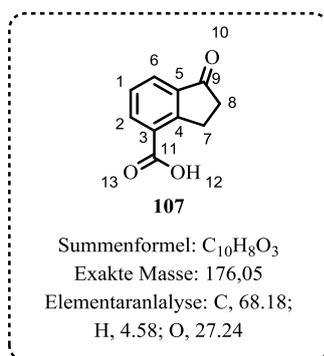
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.16-3.22 (m, 2 H, H-7), 3.54-3.58 (m, 2 H, H-8), 7.62 (m, 1 H, H-1), 8.03 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-6), 8.38 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO): δ (ppm) = 27.4 (C-7), 36.2 (C-8), 127.6 (C-1), 128.2 (C-1), 129.5 (C-3), (C-6), 136.6 (C-2), 138.4 (C-5),

156.8 (C-4), 167.3 (C-11), 206.4 (C-9). Durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen der Daten der Referenz **107** mit der Literatur konnte die Verbindung **107** eindeutig identifiziert aber nach der beschriebenen Transformation nicht detektiert werden.^[352]

10.3.3.2.9.7. Synthese von Indanonsäure **107** mit Schwefelsäure als Katalysator Essigsäure als Katalysator



3-(2-Carboxyphenyl)propionsäure **106** (99.87 mg, 0.51 mmol, 1.00 Äq) wird in Essigsäure-d₄ (5 mL, 87.34 mmol, 171 Äq) gelöst und für 5 h auf 130 °C erhitzt. Nach 5 h wird 1 mL NMR-spektroskopisch untersucht. Die NMR-Probe und die Reaktionsmischung werden mit DCM und Wasser (3 mal je 50 mL). Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.



Umsatz: 0 %.

Ausbeute 97.05 mg (98 %) →Edukt.

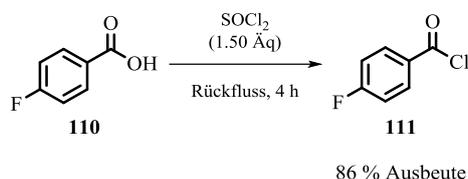
t_R (RP-HPLC): 15.3 min (**107**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-H): 174.8.

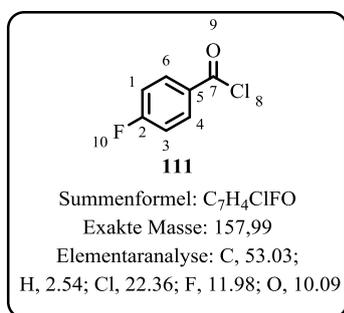
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.16-3.22 (m, 2 H, H-7), 3.54-3.58 (m, 2 H, H-8), 7.62 (m, 1 H, H-1), 8.03 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-6), 8.38 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO): δ (ppm) = 27.4 (C-7), 36.2 (C-8), 127.6 (C-1), 128.2 (C-1), 129.5 (C-3), (C-6), 136.6 (C-2), 138.4 (C-5), 156.8 (C-4), 167.3 (C-11), 206.4 (C-9). Durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen der Daten der Referenz **107** mit der Literatur konnte die Verbindung **107** eindeutig identifiziert aber nach der beschriebenen Transformation nicht detektiert werden.^[352]

10.3.3.2.10. Derivatisierung der Säure zum Amid

10.3.3.2.10.1. Überführung von *para*-Fluorbenzoesäure **110** in das entsprechende Säurechlorid **111**



In ein Glasgefäß werden *para*-Fluorbenzoesäure **110** (20.0 g, 142.7 mmol, 1.0 Äq) und Thionylchlorid (15.5 ml, 214.1 mmol, 1.5 Äq) gegeben und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Produkt im Vakuum abdestilliert und als klare Flüssigkeit gewonnen.

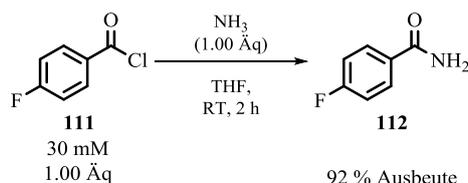


Ausbeute: 18.71 g (87 %).

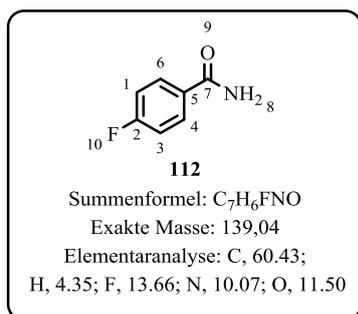
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.16 (ddd, ³J_{HH}=8.8 Hz, ³J_{HF}=5.1 Hz, ⁴J_{HH}=1.4 Hz, 2 H, H-4 & H-6), 7.23–7.15 (m, 2 H, H-1 & H-3). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 168.3 (C-2), 167.2 (C-7), 134.4 (d, ³J_{CF}=10.0 Hz, C-4), 129.7 (d, ¹J_{CF}=3.0 Hz, C-6), 116.5 (d, ²J_{CF}=22.5 Hz, C-1), 115.9 (C-3). ¹⁹F-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm)

= -100.74 – -100.87 (m). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **111** eindeutig identifiziert werden.^[353]

10.3.3.2.10.2. Derivatisierung des Säurechlorids **111** zum Amid **112**



Zu einer Ammoniaklösung in THF (38.6 ml, 0.5 M, 19.3 mmol, 1.50 Äq) und Triethylamin (10.6 ml, 51.5 mmol, 4.00 Äq) wird das Säurechlorids **111** (1.51 ml, 12.62 mmol, 1.00 Äq) bei Raumtemperatur über 10 Minuten zugetropft und für 3 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser gewaschen und dreimal mit 1 M Salzsäure extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit NaOH auf einen pH-Wert von 12 gebracht und anschließend das dargestellte Amid **112** mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde in Form von weißen Flocken gewonnen.

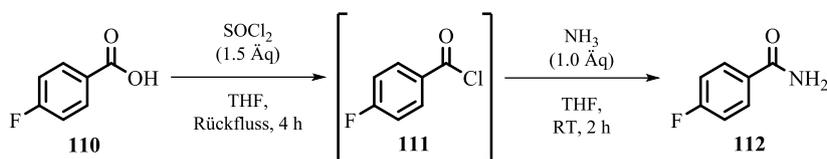


Ausbeute: 1.62 g (92 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.89-7.82 (m, 2 H, H-3 & H-5), 7.16 (t, ³J_{HH}=8.4 Hz, 2 H, H-2 & H-6). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 167.0 (C-2), 164.9 (C-7), 130.7 (C-4), 130.2 (C-6), 129.7 (C-5), 116.5 (C-1), 115.9 (C-3). ¹⁹F-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -107.2 (t, J=4.5 Hz). Durch Vergleich der

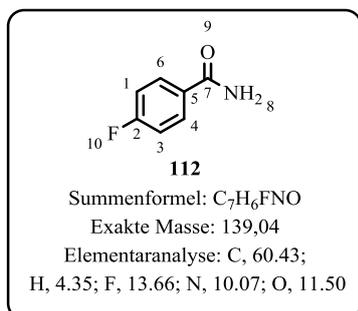
NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **112** eindeutig identifiziert werden.^[354]

10.3.3.2.10.3. Eintopfreaktion von der Carbonsäure **110** zum Amid **112**



92 % Ausbeute

In ein Glasgefäß werden *para*-Fluorbenzoesäure **110** (1.80 g, 12.87 mmol, 1.00 Äq) und Thionylchlorid (11.40 ml, 19.30 mmol, 1.50 Äq) gegeben und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Thionylchlorid wird destillativ entfernt und der Rückstand mit Ammoniaklösung in THF (38.6 ml, 0.5 M, 19.3 mmol, 1.50 Äq) und Triethylamin (10.6 ml, 51.5 mmol, 4.00 Äq) versetzt. Nach 3 h bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch mit Wasser gewaschen und mit 1 M Salzsäure (3 mal 10 mL) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit NaOH auf einen pH-Wert von 12 gebracht und anschließend das dargestellte Amid **112** mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde in Form von weißen Flocken gewonnen.

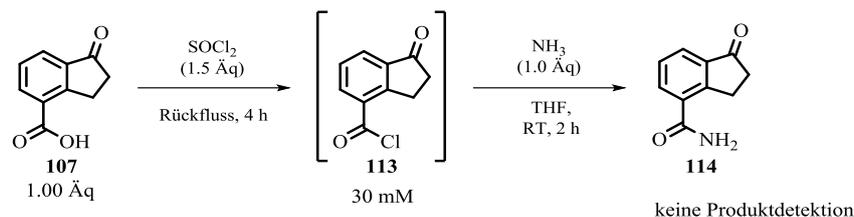


Ausbeute: 1.65 g (92 %).

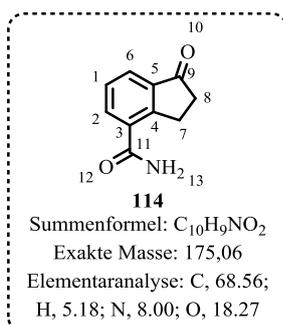
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.89-7.82 (m, 2 H, H-3 & H-5), 7.16 (t, ³J_{HH}=8.4 Hz, 2 H, H-2 & H-6). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 167.0 (C-2), 164.9 (C-7), 130.7 (C-4), 130.2 (C-6), 129.7 (C-5), 116.5 (C-1), 115.9 (C-3). ¹⁹F-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -107.2 (t, J=4.5 Hz). Durch Vergleich der

NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **112** eindeutig identifiziert werden.^[354]

10.3.3.2.10.4. Synthese von 4-Cyanoindanon **31** ausgehend von der Säure **107** über ein Säurechlorid

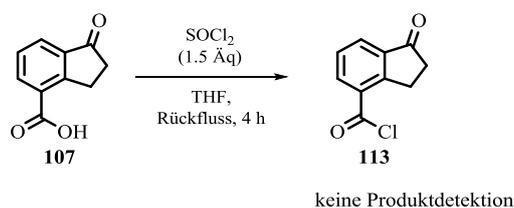


In ein Glasgefäß werden Indanonsäure **107** (101.02 mg, .57 mmol, 1.00 Äq) und Thionylchlorid (62.02 μl , 0.86 mmol, 1.50 Äq) gegeben und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Thionylchlorid wird destillativ entfernt und der Rückstand mit Ammoniaklösung in THF (1.72 ml, 0.5 M, 0.86 mmol, 1.50 Äq) und Triethylamin (318.0 μl , 2.28 mmol, 4.00 Äq) versetzt. Nach 3 h bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch mit Wasser gewaschen und mit 1 M Salzsäure (3 mal 10 mL) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit NaOH auf einen pH-Wert von 12 gebracht und anschließend das dargestellte Amid **114** mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde in Form von weißen Flocken gewonnen.

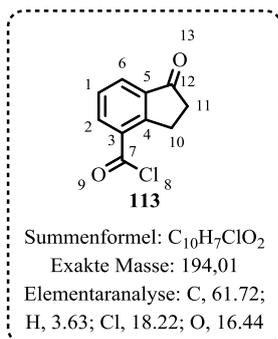


Ausbeute: keine Produktisolierung.

10.3.3.2.10.5. Derivatisierung von Indanonsäure **106** zum Säurechlorid mit Thionylchlorid

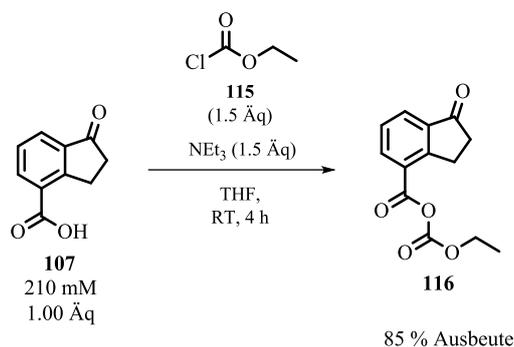


In ein Glasgefäß werden Indanonsäure **107** (101.02 mg, .57 mmol, 1.00 Äq) und Thionylchlorid (62.02 μl , 0.86 mmol, 1.50 Äq) gegeben und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Thionylchlorid wird destillativ entfernt und der Rückstand NMR-spektroskopisch untersucht. Das Zielprodukt ist nicht literaturbekannt, sodass die gemessenen Spektren mit Erwartungswerten anhand der Literatur verglichen wurden.^[355] Im ^{13}C -NMR-Spektrum hätte sich das Signal für C-7 von der Ausgangsverbindung unterscheiden müssen. Hier konnten jedoch keine korrespondierenden Signale gemessen werden.

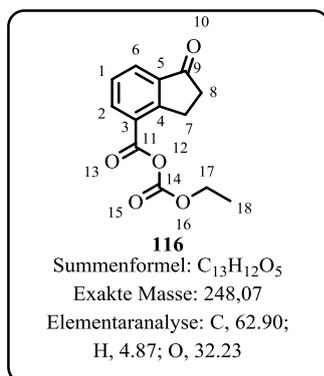


Ausbeute: keine Produktisolierung.

10.3.3.2.10.6. Synthese des gemischten Anhydrids **116** ausgehend von Säure **107**



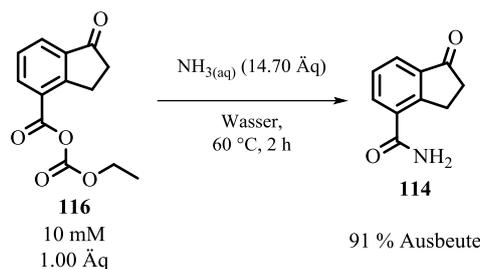
4-Indanonsäure **107** (1.00 g, 5.7 mmol, 1.00 Äq) wird in THF (25 mL) und Triethylamin (1.25 mL, 8.8 mmol, 1.5 Äq) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Innerhalb von 1 min wird Chlorameisensäureethylester **115** (850 µL, 8.6 mmol, 1.5 Äq) zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird Reaktionsmischung auf Raumtemperatur kommen gelassen und 1 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit DCM (3 mal 30 mL) gegen Wasser extrahiert. Die organischen Phasen werden vereint und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Produkt wird aufgrund seiner Neuheit vollständig charakterisiert.



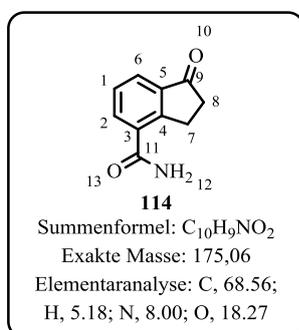
Ausbeute: 1.31 g (85 %).

m/z (M+Na): 271.1; m/z (exakte Masse): 271.0577.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.45 (t, 3 H, H-18), 2.77 (m, 2 H, H-7), 3.55 (m, 2 H, H-8), 4.45 (q, 2 H, H-17), 7.56 (m, 1 H, H-1), 8.05 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-2), 8.32 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-6). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 13.9 (C-18), 27.1 (C-7), 36.0 (C-8), 66.0 (C-17), 125.8 (C-1), 127.9 (C-3), 129.6 (C-6), 137.0 (C-2), 138.8 (C-5), 148.5 (C-4), 148.9 (C-11), 158.0 (C-14), 205.8 (C-9). Die Verbindung **116** ist nicht literaturbekannt, konnte jedoch durch Vergleich der erwarteten und den gemessenen NMR-Spektren zusätzlich zur exakten Massebestimmung eindeutig identifiziert werden.

10.3.3.2.10.7. Derivatisierung des Anhydrids **116** zum primären Amid **114**

Das gemischte Anhydrid **116** (100 mg, 0.37 mmol, 1.00 Äq) wird erst mit Wasser (2 mL) und dann mit Ammoniak (1.6 mL, 5.42 mmol, 14.7 Äq) versetzt und für 2 h bei 60 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Mischung 3 mal mit EtOAc (50 mL) extrahiert. Die organischen Phasen werden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Feststoff NMR-spektroskopisch analysiert.

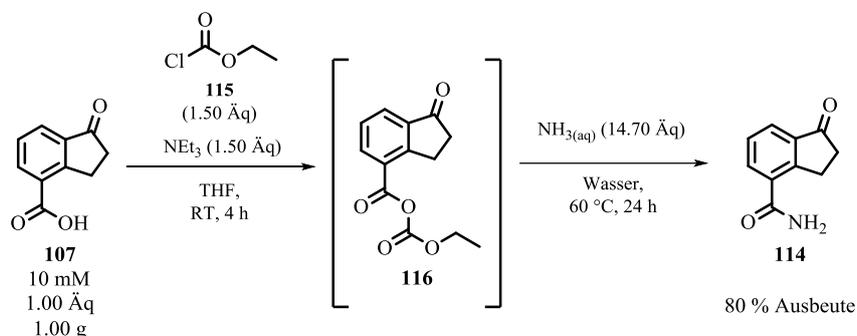


Ausbeute: 58.98 mg (91 %).

t_R (RP-HPLC): 4.6 min (**114**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis 12 min),
 ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

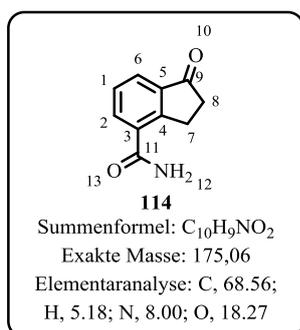
m/z (M-H): 173.8.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.45 (t, 3 H, H-18), 2.77 (m, 2 H, H-7), 3.55 (m, 2 H, H-8), 4.45 (q, 2 H, H-17), 7.56 (m, 1 H, H-1), 8.05 (d, ³ J_{HH} =7.6 Hz, 1 H, H-2), 8.38 (d, ³ J_{HH} =8.0 Hz, 1 H, H-6). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 26.3 (C-7), 36.2 (C-8), 126.8 (C-1), 127.7 (H-6), 132.0 (C-2), 132.8 (C-3), 138.5 (C-5), 154.7 (C-4), 168.7 (C-11), 206.4 (C-9). Die Verbindung **114** ist nicht literaturbekannt, konnte jedoch durch Vergleich der erwarteten und den gemessenen NMR-Spektren zusätzlich zur Massebestimmung eindeutig identifiziert werden.

10.3.3.2.10.8. Eintopfreaktion zur Derivatisierung von Carbonsäure **107** zum primären Amid **114**

4-Indanonsäure **107** (1.00 g, 5.7 mmol, 1.00 Äq) wird in THF (25 mL) und Triethylamin (1.25 mL, 8.8 mmol, 1.5 Äq) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Innerhalb von 1 min wird

Chlorameisensäureethylester **115** (850 μL , 8.6 mmol, 1.5 Äq) zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird Reaktionsmischung auf Raumtemperatur kommen gelassen und 1 h gerührt. Die Suspension wird erst mit Wasser (2 mL) und dann mit Ammoniak (25 mL, 367 mmol, 14.7 Äq) versetzt und für 2 h bei 60 °C gerührt. Nach Abbruch der Reaktion wird die Mischung 3 mal mit EtOAc (50 mL) extrahiert. Die organischen Phasen werden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Feststoff (800 mg) auf der RP-HPLC analysiert. Die wässrige Phase wird auf pH 1 mit Salzsäure (2 N) gestellt und erneut mit EtOAc (3x 50 mL) extrahiert. Die organischen Phasen werden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Feststoff (150 mg) auf der RP-HPLC analysiert. Bei der zuerst isolierten Verbindung handelt es sich um das Zielprodukt (91 area%) und bei der zweiten Verbindung um das Edukt (88 area%).



Ausbeute: 800 mg (80 %).

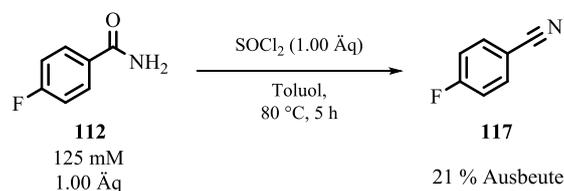
t_R (RP-HPLC): 4.6 min (**114**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis 12 min),
ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-H): 173.8.

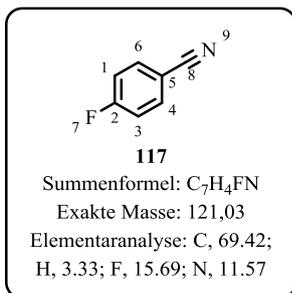
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.45 (t, 3 H, H-18), 2.77 (m, 2 H, H-7), 3.55 (m, 2 H, H-8), 4.45 (q, 2 H, H-17), 7.56 (m, 1 H, H-1), 8.05 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-2), 8.38 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-6). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 26.3 (C-7), 36.2 (C-8), 126.8 (C-1), 127.7 (H-6), 132.0 (C-2), 132.8 (C-3), 138.5 (C-5), 154.7 (C-4), 168.7 (C-11), 206.4 (C-9). Die Verbindung **114** ist nicht literaturbekannt, konnte jedoch durch Vergleich der erwarteten und den gemessenen NMR-Spektren zusätzlich zur Massebestimmung eindeutig identifiziert werden.

10.3.3.2.11. Dehydratisierung primärer Amide zum Nitril

10.3.3.2.11.1. Dehydratisierung von Amid **112** mit Thionylchlorid



Zu einer Lösung aus 4-Fluorbenzoesäureamid **112** (100.01 mg, 0.69 mmol, 1.00 Äq) mit TEA (350 μL , 2.50 mmol, 3.00 Äq) in Toluol (5 mL) wurde über 5 Minuten SOCl₂ (56 μL , 0.69 mmol, 1.00 Äq) zugetropft und dann das Reaktionsgemisch 5 h bei 70 °C gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch mit EtOAc versetzt und mit 1 M Salzsäure, 1 M NaOH-Lösung und mit Wasser gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Nitril **117** als weißer Feststoff gewonnen.

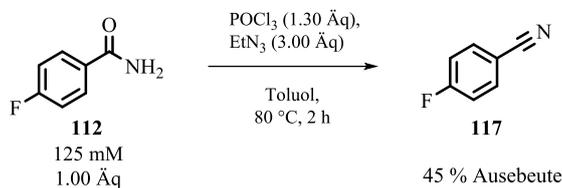


Umsatz: 81 %.

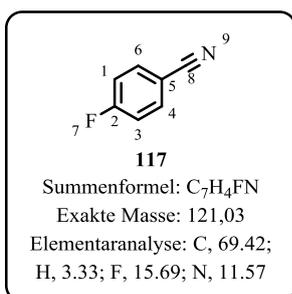
Ausbeute: 17.55 mg (21 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.22-7.11 (m, 1 H, H^{ar}), 7.72-7.65 (m, 2 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 108.5 (d, ⁴J_{CF}=3.5 Hz, C-1/C-3), 116.6 (C-1/C-3), 117.1 (C-5), 118.0 (C-8), 134.6 (C-4/C-6), 134.8 (C-4/C-6), 165.1 (d, ¹J_{CF}=256.4 Hz, C-2). ¹⁹F-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -102.39 (ddd, J = 13.1, 8.3, 5.2 Hz). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **117** eindeutig identifiziert werden.^[356]

10.3.3.2.11.2. Dehydratisierung von Amid **112** mit Phosphorylchlorid



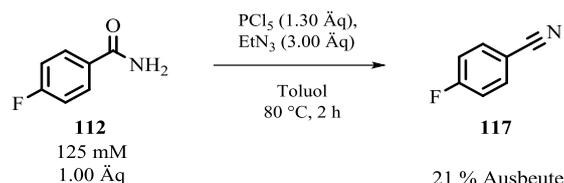
Zu einer Lösung aus Amid **112** (100.04 mg, 0.69 mmol, 1.00 Äq) mit TEA (350 µL, 2.50 mmol, 3.00 Äq) in Toluol (5 mL) wurden über 5 Minuten POCl₃ (100 µL, 0.90 mmol, 1.30 Äq) zugetropft und anschließend 5 h bei 70 °C gerührt. Nach Ende der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch mit EtOAc versetzt und mit 1 M Salzsäure, 1 M NaOH-Lösung und Wasser gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Nitril **117** als weißer Feststoff gewonnen.



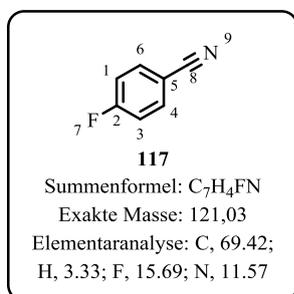
Umsatz: 100 %.

Ausbeute: 37.60 mg (45 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.22-7.11 (m, 1 H, H^{ar}), 7.72-7.65 (m, 2 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 108.5 (d, ⁴J_{CF}=3.5 Hz, C-1/C-3), 116.6 (C-1/C-3), 117.1 (C-5), 118.0 (C-8), 134.6 (C-4/C-6), 134.8 (C-4/C-6), 165.1 (d, ¹J_{CF}=256.4 Hz, C-2). ¹⁹F-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -102.39 (ddd, J = 13.1, 8.3, 5.2 Hz). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **117** eindeutig identifiziert werden.^[356]

10.3.3.2.11.3. Dehydratisierung von Amid **112** mit Phosphorpentachlorid

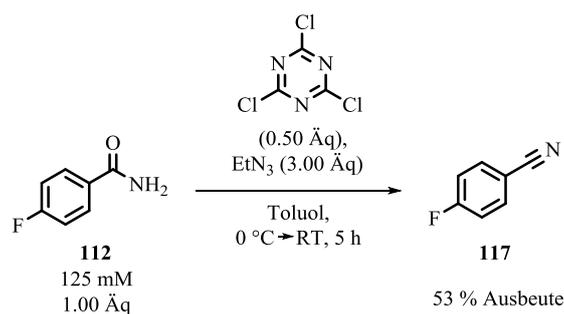
In einem Kolben wurden PCl_5 (187.12 mg, 0.90 mmol, 1.30 Äq) vorgelegt und dann eine Lösung aus Amid **112** (100 mg, 0.69 mmol, 1.00 Äq) mit TEA (350 μL , 2.50 mmol, 3.0 Äq) in Toluol (5 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit EtOAc versetzt und mit 1 M Salzsäure, 1 M NaOH-Lösung und Wasser gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Nitril **117** als weißer Feststoff gewonnen.



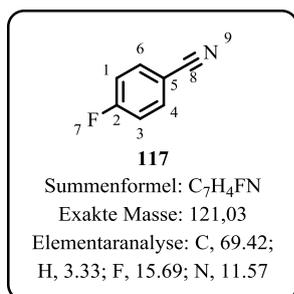
Umsatz: 100 %.

Ausbeute: 17.53 mg (21%).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.22-7.11 (m, 1 H, H^{ar}), 7.72-7.65 (m, 2 H, H^{ar}). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 108.5 (d, $^4J_{\text{CF}}=3.5$ Hz, C-1/C-3), 116.6 (C-1/C-3), 117.1 (C-5), 118.0 (C-8), 134.6 (C-4/C-6), 134.8 (C-4/C-6), 165.1 (d, $^1J_{\text{CF}}=256.4$ Hz, C-2). $^{19}\text{F-NMR}$ (470 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = -102.39 (ddd, $J = 13.1, 8.3, 5.2$ Hz). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **117** eindeutig identifiziert werden.^[356]

10.3.3.2.11.4. Dehydratisierung von Amid **112** mit Cyanurchlorid

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung aus 4-Fluorbenzoesäureamid **112** (100.01 mg, 0.72 mmol, 1.00 Äq) in DMF (1.5 mL) wurden Cyanurchlorid (68.10 mg, 0.37 mmol, 0.50 Äq) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur 24 h gerührt und anschließend mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde mit 1 M HCl Lösung, 1 M NaOH Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt **117** als weißer Feststoff erhalten.

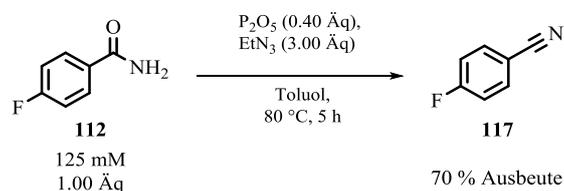


Umsatz: 80 %.

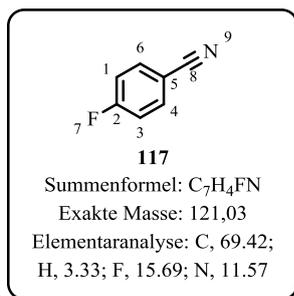
Ausbeute: 33.56 mg (53%).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.22-7.11 (m, 1 H, H^{ar}), 7.72-7.65 (m, 2 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 108.5 (d, ⁴J_{CF}=3.5 Hz, C-1/C-3), 116.6 (C-1/C-3), 117.1 (C-5), 118.0 (C-8), 134.6 (C-4/C-6), 134.8 (C-4/C-6), 165.1 (d, ¹J_{CF}=256.4 Hz, C-2). ¹⁹F-NMR (470 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -102.39 (ddd, J = 13.1, 8.3, 5.2 Hz). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **117** eindeutig identifiziert werden.^[356]

10.3.3.2.11.5. Dehydratisierung von Amid **112** mit Phosphorpentoxid (100 mg)



In einen Kolben wurden P₂O₅ (80.04 mg, 0.30 mmol, 0.40 Äq) vorgelegt und eine Lösung aus Amid **112** (100.02 mg, 0.69 mmol, 1.0 Äq) mit TEA (350 µL, 2.50 mmol, 3.00 Äq) in Toluol (5 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h bei 70 °C gerührt und Reaktionskontrollen mittels ¹H-NMR-Spektroskopie durchgeführt. Dabei musste zweimal P₂O₅ (240 mg, 0.9 mmol, 0.4 Äq) zugegeben werden, um eine vollständige Umsetzung zu erhalten. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit EtOAc versetzt und mit 1 M Salzsäure, 1 M NaOH-Lösung und mit Wasser gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Nitril **117** als weißer Feststoff gewonnen.

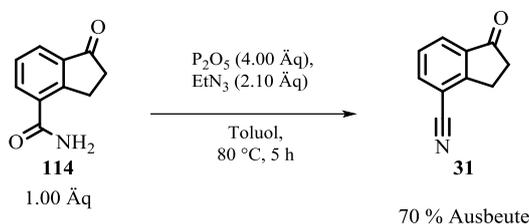


Umsatz: 95 %.

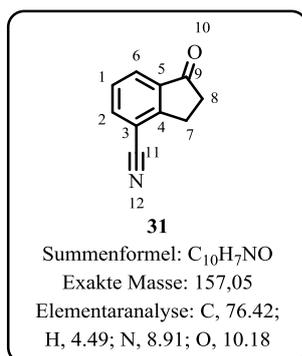
Ausbeute: 18.36 mg (29 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.22-7.11 (m, 1 H, H^{ar}), 7.72-7.65 (m, 2 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 108.5 (d, ⁴J_{CF}=3.5 Hz, C-1/C-3), 116.6 (C-1/C-3), 117.1 (C-5), 118.0 (C-8), 134.6 (C-4/C-6), 134.8 (C-4/C-6), 165.1 (d, ¹J_{CF}=256.4 Hz, C-2). ¹⁹F-NMR (470 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -102.39 (ddd, J = 13.1, 8.3, 5.2 Hz). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung **117** eindeutig identifiziert werden.^[356]

10.3.3.2.11.6. Dehydratisierung von Amid **114** mit Phosphorpentoxid (300 mg)



Das Amid **114** (298 mg, 1.7 mmol, 1.0 Äq) wird in Toluol (25 mL) und Triethylamin (500 µL, 3.56 mmol, 2.1 Äq) suspendiert. Dazu wird P₂O₅ (1010 mg, 6.8 mmol, 4.0 Äq) gegeben und die Mischung für 2 h auf 80 °C temperiert. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert (30 mL) und mit EtOAc (3x 10 mL) extrahiert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und ein bräunlicher Feststoff (210 mg, 58 area% Zielprodukt) erhalten. Am oberen Kolbenrand haben sich Kristalle gebildet, die separat analysiert (98 area% Zielprodukt) wurden.

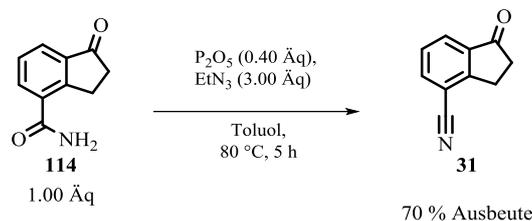


Ausbeute: 210 mg (79 %).

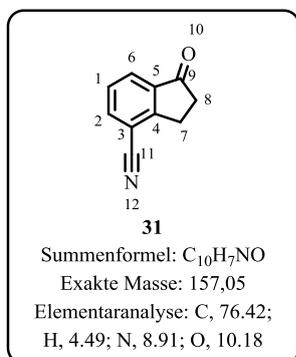
t_R (RP-HPLC): 17.5 min (**31**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm, Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-Na): 179.0.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.82 (m, 2 H, H-7), 3.36 (m, 2 H, H-8), 7.54 (t, 1 H, H-1), 7.91 (d, ³J_{HH}=7.6 Hz, 1 H, H-6), 7.99 (d, ³J_{HH}=8.0 Hz, 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 25.3 (C-7), 35.8 (C-8), 111.5 (C-3), 116.1 (C-11), 128.1 (C-6), 128.3 (C-1), 137.7 (C-2), 138.2 (C-5), 157.7 (C-4), 204.5 (C-9). Die Verbindung ist literaturbekannt, jedoch bietet diese keine Analytik zum Vergleich. Durch Vergleich der erwarteten und den gemessenen NMR-Spektren zusätzlich zur Massebestimmung konnte die Verbindung **31** eindeutig identifiziert werden.

10.3.3.2.11.7. Dehydratisierung von Amid **114** mit Phosphorpentoxid (2 g)

Das Amid **114** (1980 mg, 11 mmol, 1.0 Äq) wird in Toluol (90 mL) und Triethylamin (2400 µL, 18 mmol, 1.5 Äq) suspendiert. Dazu wird P_2O_5 (1710 mg, 11 mmol, 1.0 Äq) gegeben und die Mischung für 2 h auf 80 °C temperiert. Ein Teil des Feststoffs (1.5 mg) am Kolbenboden wird mit Wasser und Acetonitril (1 mL, 1:1) auf der RP-HPLC untersucht. P_2O_5 (1710 mg, 11 mmol, 1.0 Äq) wird in die Reaktionsmischung nachdosiert und weitere 2 h auf 80 °C erhitzt. Es wird eine Feststoffprobe (4.55 mg) analog obiger prepariert. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert (100 mL) und in der Wärme (60 °C) extrahiert. Durch Zugabe von Toluol (100 mL) wird ein weiteres Mal in der Wärme (60 °C) extrahiert. Die wässrige Phase wird mit EtOAc suspendiert und filtriert. Nach Phasentrennung wird die wässrige Phase mit EtOAc (2x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und ein bräunlicher Feststoff (1300 mg, 9 area% Zielprodukt) erhalten. Am oberen Kolbenrand haben sich Kristalle gebildet, die separat analysiert (98 area% Zielprodukt) wurden.

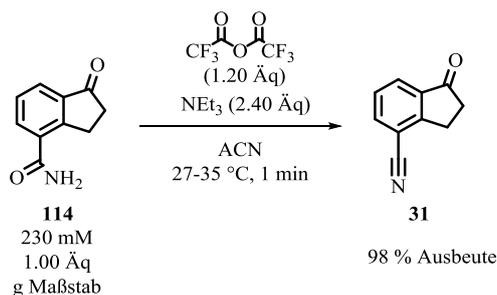


Ausbeute: 1.30 g (75 %).

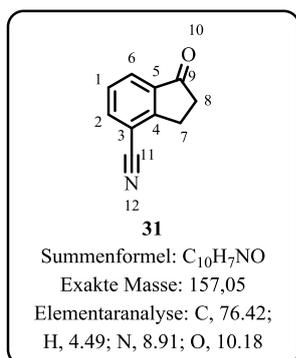
t_R (RP-HPLC): 17.5 min (**31**), C_{18} , 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/ H_2O 7:93 (bis 8 min), ACN/ H_2O 10:90 (bis 12 min),
 ACN/ H_2O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-Na): 179.0.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.82 (m, 2 H, H-7), 3.36 (m, 2 H, H-8), 7.54 (t, 1 H, H-1), 7.91 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz, 1 H, H-6), 7.99 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.0$ Hz, 1 H, H-2). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 25.3 (C-7), 35.8 (C-8), 111.5 (C-3), 116.1 (C-11), 128.1 (C-6), 128.3 (C-1), 137.7 (C-2), 138.2 (C-5), 157.7 (C-4), 204.5 (C-9). Die Verbindung ist literaturbekannt, jedoch bietet diese keine Analytik zum Vergleich. Durch Vergleich der erwarteten und den gemessenen NMR-Spektren zusätzlich zur Massebestimmung konnte die Verbindung **31** eindeutig identifiziert werden.

10.3.3.2.11.8. Dehydratisierung von Amid **114** mit Trifluoressigsäureanhydrid

Das Amid (1420 mg, 8.0 mmol, 1.00 Äq) wird in Acetonitril (30 mL) und Triethylamin (2754 μL , 9.0 mmol, 2.40 Äq) suspendiert. Dazu wird Trifluoressigsäureanhydrid (1.39 μL , 9.8 mmol, 1.20 Äq) getropft (über 10 min) sodass eine Temperatur von 35 $^\circ\text{C}$ nie überschritten wird. Nach 10 min wird eine Probe (25 μL) entnommen und mit Wasser und Acetonitril (1 mL, 1:1) aufgestockt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert (30 mL) und mit EtOAc (3x 30 mL) extrahiert. Die organischen Phasen werden mit Wasser (60 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel der vereinigten organischen Phasen wird im Vakuum entfernt und ein bräunlicher Feststoff (1.86 g) erhalten, der zwei Mal aus Toluol (10 mL) im Vakuum zurückgewonnen wird. Das Zielprodukt (89 area% konnte erfolgreich auf der RP-HPLC nachgewiesen werden.



Ausbeute: 1.23 g (98 %).

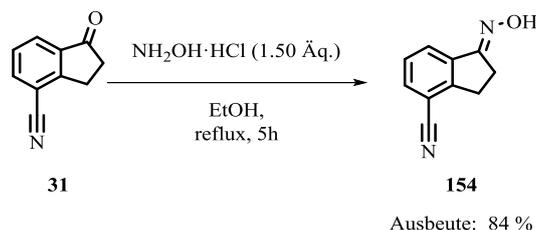
t_R (RP-HPLC): 17.5 min (**31**), C_{18} , 1 mL/min, 20 $^\circ\text{C}$, pH 2, 210 nm, Laufmittelprofil: ACN/ H_2O 7:93 (bis 8 min), ACN/ H_2O 10:90 (bis 12 min), ACN/ H_2O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-Na): 179.0.

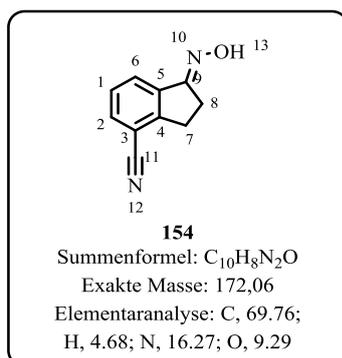
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.82 (m, 2 H, H-7), 3.36 (m, 2 H, H-8), 7.54 (t, 1 H, H-1), 7.91 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.6$ Hz, 1 H, H-6), 7.99 (d, $^3J_{\text{HH}}=8.0$ Hz, 1 H, H-2). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 25.3 (C-7), 35.8 (C-8), 111.5 (C-3), 116.1 (C-11), 128.1 (C-6), 128.3 (C-1), 137.7 (C-2), 138.2 (C-5), 157.7 (C-4), 204.5 (C-9). Die Verbindung **31** ist literaturbekannt, jedoch bietet diese keine Analytik zum Vergleich. Durch Vergleich der erwarteten und den gemessenen NMR-Spektren zusätzlich zur Massebestimmung konnte die Verbindung **31** eindeutig identifiziert werden.

10.3.3.2.12. Reduktive Aminierung

10.3.3.2.12.1. Synthese von Ketoxim 154



Das Nitril **31** (2.52 g, 16 mmol, 1.00 Äq) wird in Ethanol (45 mL) gelöst und mit Hydroxylaminhydrochlorid (1.70 g, 24 mmol, 1.50 Äq) versetzt (keine Wärmetönung) und zum Rückfluss erhitzt. Nach 2 h wird eine Probe (25 µL) entnommen und mit Wasser und Acetonitril (1 mL, 1:1) aufgestockt und auf der RP-HPLC vermessen (87 area% Zielprodukt, 1 area% Edukt). Die Reaktion wird abgebrochen und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird in Toluol (500 mL) in der Siedehitze fast vollständig gelöst und dann heiß filtriert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der erhaltene Feststoff (2.30 g) auf der RP-HPLC untersucht. Es handelt sich um das Zielprodukt (93 area%).

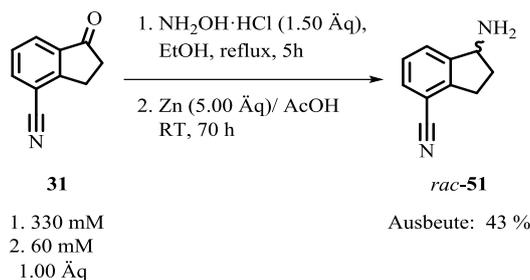


Ausbeute: 2.30 g (84 %).

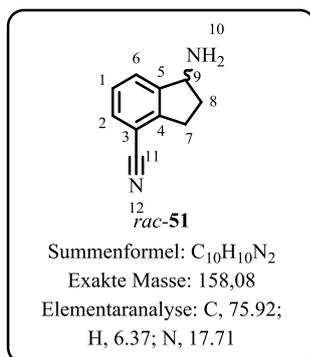
t_R (RP-HPLC): 19.1 min (**154**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis
 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M-H): 170.9.

Die Verbindung ist literaturbekannt, jedoch bietet diese keine Analytik zum Vergleich. Durch Vergleich der erwarteten und den gemessenen NMR-Spektren zusätzlich zur Massebestimmung konnte die Verbindung **154** eindeutig identifiziert werden.

10.3.3.2.12.2. Synthese von Amin *rac*-**51** (analytischer Maßstab)

4-Cyano-1-indanon **31** (100 mg, 0.64 mmol, 1.00 Äq) wird mit Hydroxylaminhydrochlorid (70.43 mg, 1.01 mmol, 1.58 Äq) in Ethanol (10 mL) für 5 h erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der zurückgebliebene Feststoff zwischen Wasser und Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Zinkstaub (209.25 mg, 3.20 mmol, 5.00 Äq) wird in Essigsäure (10 mL) mit (E)-5-brom-2,3-dihydro-1H-inden-1-on-oxim für 70 h bei Raumtemperatur suspendiert. Die Reaktionsmischung wird über wenig Kieselgel gefiltert mit Ethylacetat bei pH 2 mal extrahiert. Bei der vereinigten wässrigen Phase wird der pH-Wert auf 14 korrigiert und die Phase mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und vom Lösungsmittel im Vakuum befreit.

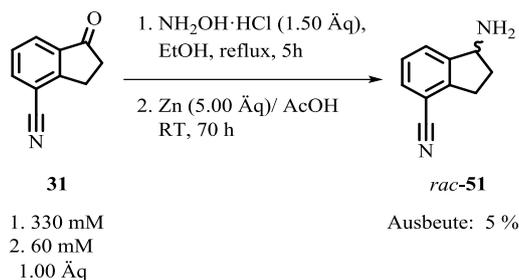


Ausbeute: 43.54 mg (43 %).

t_R (RP-HPLC): 1.1 min (**51**), C_{18} , 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm,
 Laufmittelprofil: ACN/ H_2O 7:93 (bis 8 min), ACN/ H_2O 10:90 (bis 12 min), ACN/ H_2O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M+H): 159.0.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.63 (m, 1 H, H-8), 3.06 (m, 2 H, H-7), 3.28 (m, 1 H, H-8), 4.64 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.1$ Hz, 1 H, H-9), 7.36 (t, $^3J_{\text{HH}}=7.8$ Hz, 1 H, H-1), 7.57 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-6), 7.70 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1 H, H-2). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 29.7 (C-7), 37.1 (C-8), 57.3 (C-9), 108.9 (C-3), 117.8 (C-11), 127.4 (C-1), 128.1 (C-2), 130.8 (C-6), 147.3 (C-4), 148.8 (C-5). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung *rac*-**51** eindeutig identifiziert werden.^[148]

10.3.3.2.12.3. Synthese von Amin *rac*-51 (Labormaßstab)

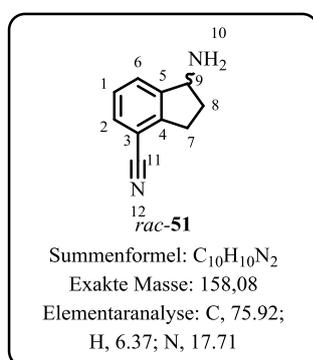
Das Nitril **31** (2.52 g, 16 mmol, 1.0 Äq) wird in Ethanol (45 mL) gelöst und mit Hydroxylaminhydrochlorid (1.70 g, 24 mmol, 1.5 Äq) versetzt (keine Wärmetönung) und zum Rückfluss erhitzt. Nach 2 h wird eine Probe (25 µL) entnommen und mit Wasser und Acetonitril (1 mL, 1:1) aufgestockt und auf der RP-HPLC vermessen (87 area% Zielprodukt, 1 area% Edukt). Die Reaktion wird abgebrochen und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird in Toluol (500 mL) in der Siedehitze fast vollständig gelöst und dann heiß filtriert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der erhaltene Feststoff (2.3 g) auf der RP-HPLC untersucht. Es handelt sich um das Zielprodukt (93 area%). Das Ketoxim **154** (2.30 g, 13.3 mmol, 1.0 Äq) wird in Essigsäure (45 mL) gelöst und mit Zinkstaub (4.40 g, 66.5 mmol, 5.0 Äq) versetzt (keine Wärmetönung). Unter Schutzgas (N₂) zu gegebenen Zeiten wird eine Probe (15 µL) entnommen und mit Wasser und Acetonitril (1 mL, 1:1) aufgestockt und auf der RP-HPLC vermessen. Nach 3 h wird ein Teil der Reaktionsmischung (600 µL homogenisiert) entnommen und bei 50 °C unter Schutzgas (N₂) weitergerührt. Zu gegebenen Zeiten wird auch von der Reaktion eine Umsatzkontrolle nach obiger Beschreibung durchgeführt. Nach 22 h wird die Reaktion bei 50 °C abgebrochen und die Mischung über Celite filtriert. Der pH-Wert wird mit Natronlauge auf 14 korrigiert und die wässrige Phase mit Dichlormethan (3x 10 mL) extrahiert. Nach Einengen des Lösungsmittels wird ein schwarzes Öl (43 mg) isoliert.

Die Reaktion bei Raumtemperatur wird nach 46 h abgebrochen und über Celite filtriert. Das Filtrat wird in Toluol aufgenommen (2x 100 mL) und im Vakuum zur Trockne eingengt. Der trockene Feststoff wird mit Dichlormethan (50 mL) und Wasser (50 mL, pH 2.6) gewaschen. Die wässrige Phase wird mit Dichlormethan (2x 50 mL) und mit Natronlauge (50 %) auf pH 14 gestellt. Die organische Phase wird eingengt und auf der RP-HPLC (FUT OP1) charakterisiert. Die wässrige Phase wird mit Dichlormethan (3x 50 mL) extrahiert und die vereinten organischen Phasen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das erhaltene Öl (293 mg) wird auf der RP-HPLC (FUT OP2) charakterisiert.

Der Rückstand des Filtrats wird in Essigsäure (10 mL) aufgenommen und mit Wasser (50 mL, pH 2.6) aufgestockt. Die wässrige Phase wird mit EtOAc (3x 100 mL) extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird keine Substanz isoliert. Der pH-Wert der wässrigen Phase wird mit Natronlauge auf 14 gestellt und die entstandene Suspension mit Dichlormethan (3x 100 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

Das isolierte Öl (200 mg) wird auf der RP-HPLC (FUT OP4) charakterisiert. Das Öl wird in Wasser (10 mL, pH 2.6) gelöst und mit Dichlormethan (3x 10 mL) gewaschen. Mit Natronlauge (50 %) wird der pH-Wert der wässrigen Phase auf 14 gestellt und die Suspension mit Dichlormethan (3x 20 mL) extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird ein Feststoff (45 mg) isoliert, der auf der RP-HPLC (FUT OP6) charakterisiert wurde.

Alle wässrigen Phasen werden vereint, filtriert und mit Dichlormethan (3x 100 mL) extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand mittels RP-HPLC (FUT OP5) charakterisiert. Die wässrige Phase wird zur Trockne im Vakuum eingedunstet und mit Dichlormethan (500 mL) unter Rückfluss suspendiert. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird wenig Substanz (50 mg) isoliert.



Ausbeute: 126.56 mg (5 %).

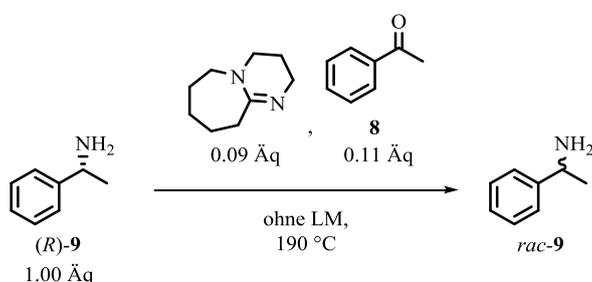
t_R (RP-HPLC): 1.1 min (**51**), C₁₈, 1 mL/min, 20 °C, pH 2, 210 nm, Laufmittelpprofil: ACN/H₂O 7:93 (bis 8 min), ACN/H₂O 10:90 (bis 12 min), ACN/H₂O 25:75 (bis 19 min).

m/z (M+H): 159.0.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.63 (m, 1 H, H-8), 3.06 (m, 2 H, H-7), 3.28 (m, 1 H, H-8), 4.64 (t, ³J_{HH}=7.1 Hz, 1 H, H-9), 7.36 (t, ³J_{HH}=7.8 Hz, 1 H, H-1), 7.57 (d, ³J_{HH}=7.7 Hz, 1 H, H-6), 7.70 (d, ³J_{HH}=7.7 Hz, 1 H, H-2). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 29.7 (C-7), 37.1 (C-8), 57.3 (C-9), 108.9 (C-3), 117.8 (C-11), 127.4 (C-1), 128.1 (C-2), 130.8 (C-6), 147.3 (C-4), 148.8 (C-5). Durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur konnte die Verbindung *rac-51* eindeutig identifiziert werden.^[148]

10.3.3.2.13. Racemisierung primärer benzyliischer Amine

10.3.3.2.13.1. Proof of concept

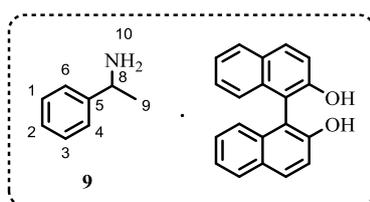


(*R*)-1-Phenylethylamin **9** (1000 μ L, 7.76 mmol, 1.00 Äq) und Acetophenon **8** (100 μ L, 0.86 mmol, 0.11 Äq) werden zusammen für zwei Stunden auf 100 °C erwärmt und anschließend mit DBU (100 μ L, 0.67 mmol, 0.09 Äq) versetzt und auf 190 °C erhitzt. In regelmäßigen Abständen werden 10 μ L

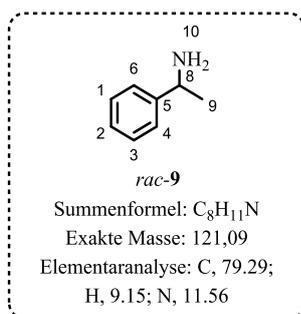
entnommen und mit 30 mg enantiomerenreinem (*S*)-1-Binaphthol gemischt und in CDCl_3 gelöst. Die Probe wird NMR-spektroskopisch analysiert, um den aktuellen *ee*-Wert des 1-Phenylethylamins **9** zu bestimmen. Durch die Wechselwirkungen von 1-Phenylethylamin **9** mit 1-Binaphthol wird das benzyliche Proton diastereotop und das Signal im ^1H -NMR-Spektrum spaltet ein weiteres mal auf (in ein Dublett von Quartetts). Die Integralverhältnisse werden zur Berechnung des *ee*-Werts eingesetzt. Die charakteristischen Verschiebungen des Benzylprotons (bei etwaigem Substanzverhältnis 3/1 Binaphthol:Amin) liegen bei 3.60 ppm und 3.80 ppm. Die einzelnen Probenanalysen sind in Tabelle 30 dargestellt. Zur Bestätigung des *ee*-Wertes wird die letzte Probe extrahiert und das freie Amin isoliert und mit Essigsäureanhydrid derivatisiert. Das Acetamid wird nach bekannter Methode auf der HPLC analysiert.

Tabelle 30: Enantiomerenüberschüsse von 1-Phenylethylamin **9 aufgetragen gegen die Zeit.**

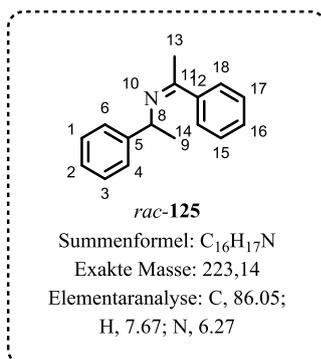
Zeit	Enantiomerenüberschuss
[h]	[% <i>ee</i>]
7	92
14	85
21	61
26	48



^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.21 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, 3 H, H-9 (*R*)), 1.25 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-9 (*S*)), 3.72 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-8 (*R*)), 3.84 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-8 (*S*)), 7.15-8.00 (m, 10 H, H^{ar}).

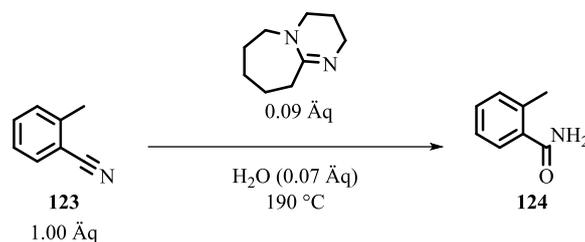


^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.39 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 3 H, H-3), 4.10 (q, $^3J_{\text{HH}}=6.7$ Hz, 1 H, H-6), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung *rac*-**9** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[293]



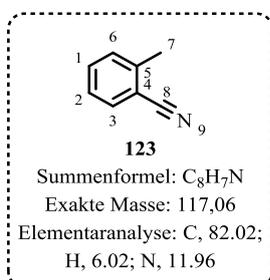
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.32-1.44 (m, 3 H, H-3), 2.61 (s, 3 H, H-2), 4.16 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-6), 7.14-7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26-7.38 (m, 4 H, H^{ar}), 7.46 (m, 2 H, H^{ar}), 7.51-7.59 (m, 1 H, H^{ar}). Die Verbindung *rac*-**125** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[357]

10.3.3.2.13.2. Stabilität der Nitrilgruppe

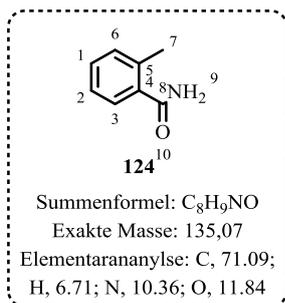


DBU (100 µL, 0.67 mmol, 0.09 Äq), Wasser (10 µL, 0.56 mmol, 0.07 Äq) und *ortho*-Tolunitril (1000 µL, 8.54 mmol, 1.00 Äq) werden auf 190 °C erhitzt. Nach 7 h und 14 h Tabelle 31: **Enantiomerenüberschüsse von 1-Phenylethylamin aufgetragen gegen die Zeit.**

Zeit [h]	Umsatz zum Amid [%]
7	1
14	3

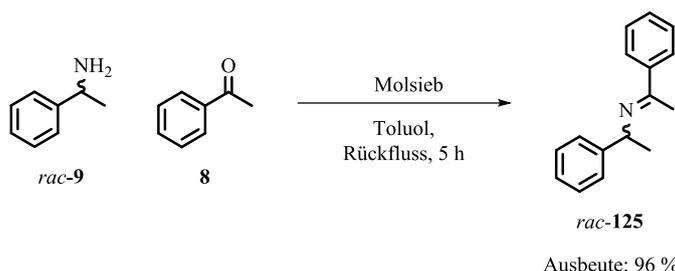


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.53 (s, 3 H, H-8), 7.16-7.60 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 118.0 (C^{ar}), 126.9 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.7 (C^{ar}), 134.9 (C^{ar}), 137.8 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **123** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatureindeutig identifiziert werden.^[358]

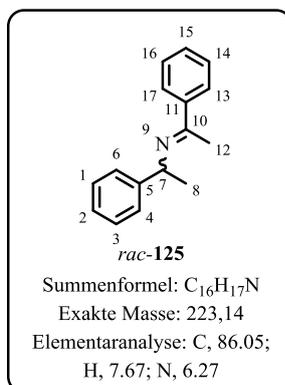


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.48 (s, 3 H, H-7), 5.95 (s, 1 H, H-9) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 112.7 (C^{ar}), 118.1 (C^{ar}), 126.2 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 132.5 (C^{ar}), 132.6 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **124** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[358,359]

10.3.3.2.13.3. Synthese von 1-phenyl-N-(1-phenylethyl)ethan-1-imin *rac*-**125**



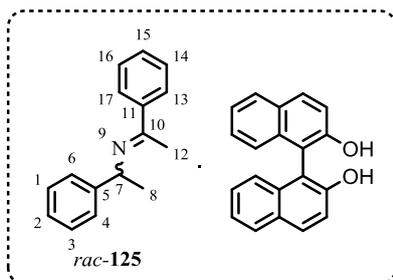
In einem 250-ml-Rundkolben wird Toluol (125 ml) vorgelegt und mit Acetophenon **8** (15 ml, 128.7 mmol, 1.00 Äq) und *rac*-1-Phenylethylamin **9** (17.4 ml, 135 mmol, 1.05 Äq) versetzt und für 18 h in einer Soxhletapparatur mit 4Å-Molsieb (4.00 g) zum Rückfluss erhitzt. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat, Abfiltrieren und Einengen am Rotationsverdampfer wird das Produkt als gelbe Flüssigkeit erhalten.



Ausbeute: 27.42 g (96 %).

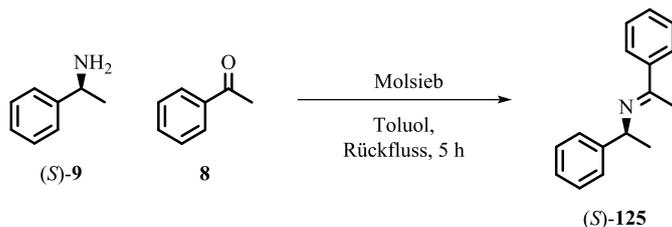
t_R (chirale HPLC): 11.4 min (*R*)-**125**, 12.2 min (*S*)-**125**, *n*-Hexan / IPA 95:5; 0.8 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.32-1.44 (m, 3 H, H-8), 2.61 (s, 3 H, H-12), 4.16 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.14-7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26-7.38 (m, 4 H, H^{ar}), 7.46 (m, 2 H, H^{ar}), 7.51-7.59 (m, 1 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 15.7 (C-8), 25.1 (C-12), 51.4 (C-7), 59.9, 125.7 (C^{ar}), 126.7 (C^{ar}), 126.8 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.4 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 129.4 (C^{ar}), 133.1 (C^{ar}), 137.2 (C^{ar}), 163.6 (C-10). Die Verbindung *rac*-**125** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[357]



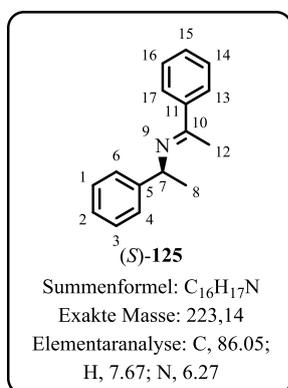
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) nach Zugabe von 3 Äq Binaphthol: δ (ppm) = 1.18 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, H-8 (*R*)), 1.24 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, H-8 (*S*)), 3.78 (q, $^3J_{\text{HH}}=6,7$ Hz, H-7 (*S*)), 2.63 (s, H-12), 3.88 (q, $^3J_{\text{HH}}=6,7$ Hz, H-7 (*R*)), 7.10-8.00 (m, H^{ar}).

10.3.3.2.13.4. Synthese von 1-phenyl-N-(1-phenylethyl)ethan-1-imin (*S*)-125



Ausbeute: 96 %

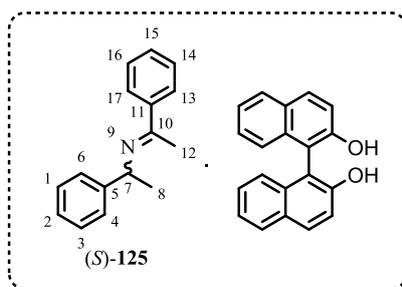
In einem 250-ml-Rundkolben wird Toluol (125 ml) vorgelegt und mit Acetophenon **8** (55 ml, 42.9 mmol, 1.00 Äq) und (*S*)-1-Phenylethylamin **9** (5.8 ml, 45.0 mmol, 1.05 Äq) versetzt und für 18 h in einer Soxhletapparatur mit 4 Å-Molsieb (4.00 g) zum Rückfluss erhitzt. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat, Abfiltrieren und Einengen am Rotationsverdampfer wird das Produkt als gelbe Flüssigkeit erhalten.



Ausbeute: 8.39 g (98 %).

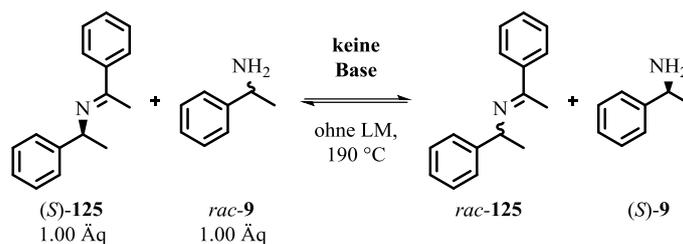
t_R (chirale HPLC): 12.2 min (*S*)-**125**, *n*-Hexan / IPA 95:5; 0.8 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.32-1.44 (m, 3 H, H-8), 2.61 (s, 3 H, H-12), 4.16 (d, $^3J_{\text{HH}}=6.6$ Hz, 1 H, H-7), 7.14-7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26-7.38 (m, 4 H, H^{ar}), 7.46 (m, 2 H, H^{ar}), 7.51-7.59 (m, 1 H, H^{ar}). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm)=15.7 (C-8), 25.1 (C-12), 51.4 (C-7), 59.9, 125.7 (C^{ar}), 126.7 (C^{ar}), 126.8 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.4 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 129.4 (C^{ar}), 133.1 (C^{ar}), 137.2 (C^{ar}), 163.6 (C-10). Die Verbindung (*S*)-**125** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[357]



$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) nach Zugabe von 3 Äq Binaphthol: δ (ppm) = 1.24 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, H-8 (S)), 3.78 (q, $^3J_{\text{HH}} = 6,7$ Hz, H-7 (S)), 2.63 (s, H-12), 7.10-8.00 (m, H^{Ar}).

10.3.3.2.13.5. Austauschreaktion von Halbamin 127

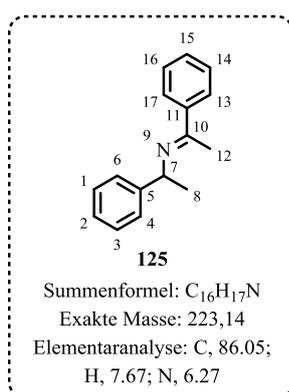


Enantiomerenreines Imin **3** (3 ml, 13.4 mmol, 1.00 eq) wird in einem Rundkolben vorgelegt und mit *rac*-1-Phenylethylamin (1.73 ml, 13.4 mmol, 1.00 Äq.) versetzt und unter Rühren auf 190 °C erhitzt. Anschließend werden zu gegebenen Zeiten Proben (10 μL) entnommen, für die HPLC mit DCM (900 μL) aufgestockt und auf der chiralen Säule (HPLC) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 32 aufgeführt.

Tabelle 32: Zeitlicher Verlauf des Enantiomerenüberschusses von Imin 125 während der Austauschreaktion über das Halbamin 127.

Probe	Zeit [min]	Enantiomerenüberschuss (Imin 125) [%ee]
1	0	96
2	3	91
3	4	87
4	5	82
5	8	75
6	10	66
7	12	61

Probe	Zeit [min]	Enantiomerenüberschuss (Imin 125) [% <i>ee</i>]
8	20	47
9	27	45
10	36	45
11	40	46
12	60	45
13	180	45
14	240	43
15	360	43
16	1380	43
17	1440	42
18	1500	42

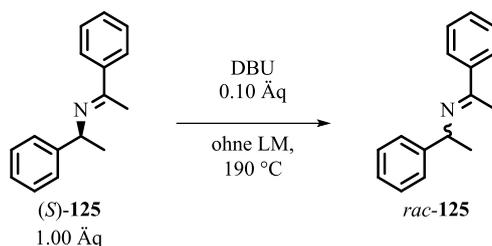


t_R (chirale HPLC): 11.4 min (*R*)-**125**, 12.2 min (*S*)-**125**, *n*-Hexan / IPA 95:5; 0.8 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.32-1.44 (m, 3 H, H-8), 2.61 (s, 3 H, H-12), 4.16 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.14-7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26-7.38 (m, 4 H, H^{ar}), 7.46 (m, 2 H, H^{ar}), 7.51-7.59 (m, 1 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm)=15.7 (C-8), 25.1 (C-12), 51.4 (C-7), 59.9, 125.7 (C^{ar}), 126.7 (C^{ar}), 126.8 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.4 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 129.4 (C^{ar}), 133.1 (C^{ar}), 137.2 (C^{ar}), 163.6 (C-10). Die

Verbindung **125** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[357]

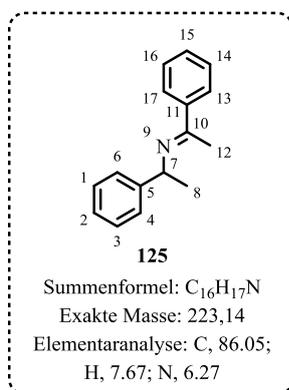
10.3.3.2.13.6. Racemisierung und Synthese von 1-phenyl-N-(1-phenylethyl)ethan-1-imin **125** mit DBU



Enantiomerenreines Imin (*S*)-**125** (5.00 ml, 22.4 mmol, mmol, 1.00 Äq) wird vorgelegt und mit DBU (333 µl, 2.2 mmol, 0.10 Äq) versetzt und unter Rühren auf 190 °C erhitzt. Anschließend werden mit einer Glaspipette und bei abgeschaltetem Rührer zu gegebenen Zeiten Proben (10 µL) entnommen und chromatographisch untersucht. Die so bestimmten Enantiomerenüberschüsse sind in Tabelle 33 aufgeführt.

Tabelle 33: Zeitlicher Verlauf des Enantiomererüberschusses während der Racemisierung von Imin **125 durch DBU.**

Probe	Zeit [h]	Enantiomerenüberschuss (Imin 125) [%ee]
1	2	100
2	6	87
3	13	82
4	20	60

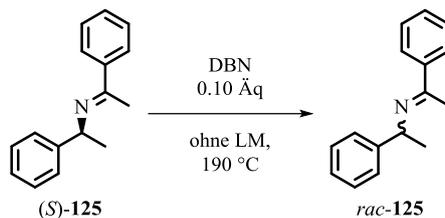


t_R (chirale HPLC): 11.4 min (*R*)-**125**, 12.2 min (*S*)-**125**, *n*-Hexan / IPA 95:5; 0.8 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.32-1.44 (m, 3 H, H-8), 2.61 (s, 3 H, H-12), 4.16 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.14-7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26-7.38 (m, 4 H, H^{ar}), 7.46 (m, 2 H, H^{ar}), 7.51-7.59 (m, 1 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm)=15.7 (C-8), 25.1 (C-12), 51.4 (C-7), 59.9, 125.7 (C^{ar}), 126.7 (C^{ar}), 126.8 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.4 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 129.4 (C^{ar}), 133.1 (C^{ar}), 137.2 (C^{ar}), 163.6 (C-10). Die

Verbindung **125** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[357]

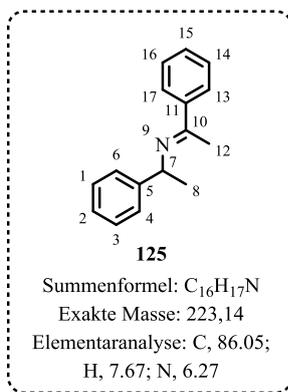
10.3.2.13.7. Racemisierung und Synthese von 1-phenyl-N-(1-phenylethyl)ethan-1-imin **125** mit DBN



Enantiomerenreines Imin **(S)-125** (5.00 ml, 22.4 mmol, mmol, 1.00 Äq) wird vorgelegt und mit DBN (272 µl, 2.2 mmol, 0.10 Äq) versetzt und unter Rühren auf 190 °C erhitzt. Anschließend werden mit einer Glaspipette und bei abgeschaltetem Rührer zu gegebenen Zeiten Proben entnommen und chromatographisch untersucht. Die so bestimmten Enantiomerenüberschüsse sind in Tabelle 34 aufgeführt.

Tabelle 34: Zeitlicher Verlauf des Enantiomererüberschusses während der Racemisierung von Imin **125 durch DBN.**

Probe	Zeit [h]	Enantiomerenüberschuss (Imin 125) [%ee]
1	1	74
2	26	46

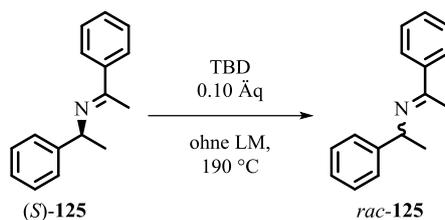


t_R (chirale HPLC): 11.4 min (*R*)-**125**, 12.2 min (*S*)-**125**, *n*-Hexan / IPA 95:5; 0.8 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.32-1.44 (m, 3 H, H-8), 2.61 (s, 3 H, H-12), 4.16 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.14-7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26-7.38 (m, 4 H, H^{ar}), 7.46 (m, 2 H, H^{ar}), 7.51-7.59 (m, 1 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm)=15.7 (C-8), 25.1 (C-12), 51.4 (C-7), 59.9, 125.7 (C^{ar}), 126.7 (C^{ar}), 126.8 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.4 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 129.4 (C^{ar}), 133.1 (C^{ar}), 137.2 (C^{ar}), 163.6 (C-10). Die

Verbindung **125** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert werden.^[357]

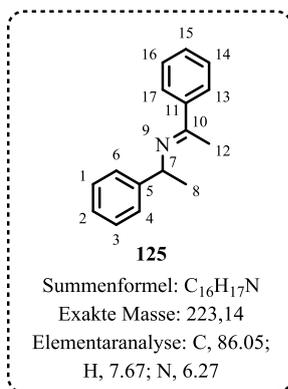
10.3.3.2.13.8. Racemisierung von Synthese von 1-phenyl-N-(1-phenylethyl)ethan-1-imin **125** mit DBN



Enantiomerenreines Imin (*S*)-**125** (5.00 ml, 22.4 mmol, mmol, 1.00 Äq) wird vorgelegt und mit TBD (249.0 µl, 2.2 mmol, 0.10 Äq) versetzt und unter Rühren auf 190 °C erhitzt. Anschließend werden mit einer Glaspipette und bei abgeschaltetem Rührer zu gegebenen Zeiten Proben entnommen und chromatographisch untersucht. Die so bestimmten Enantiomerenüberschüsse sind in Tabelle 35 aufgeführt.

Tabelle 35: Zeitlicher Verlauf des Enantiomererüberschusses während der Racemisierung von Imin **125 durch TBD.**

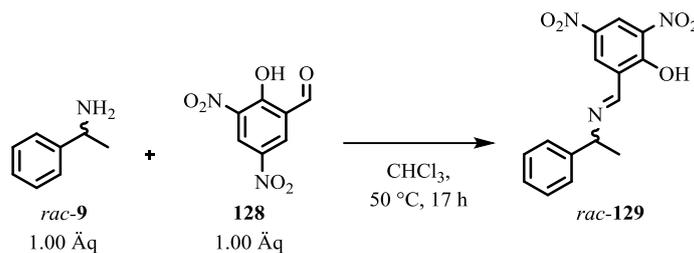
Probe	Zeit [h]	Enantiomerenüberschuss (Imin 125) [%ee]
1	1	98
2	26	76



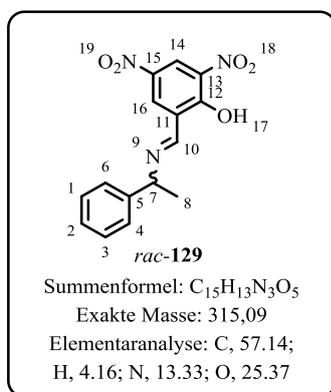
t_R (chirale HPLC): 11.4 min (*R*)-**125**, 12.2 min (*S*)-**125**, *n*-Hexan / IPA 95:5; 0.8 mL/min; 20 °C; 10 mPa Rückdruck; OJ-H Säule; 210 nm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.32-1.44 (m, 3 H, H-8), 2.61 (s, 3 H, H-12), 4.16 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 1 H, H-7), 7.14-7.26 (m, 1 H, H^{ar}), 7.26-7.38 (m, 4 H, H^{ar}), 7.46 (m, 2 H, H^{ar}), 7.51-7.59 (m, 1 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm)=15.7 (C-8), 25.1 (C-12), 51.4 (C-7), 59.9, 125.7 (C^{ar}), 126.7 (C^{ar}), 126.8 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.3 (C^{ar}), 128.4 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 129.4 (C^{ar}), 133.1 (C^{ar}), 137.2 (C^{ar}), 163.6 (C-10). Die

Verbindung **125** konnte durch den Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur^[357] eindeutig identifiziert werden.

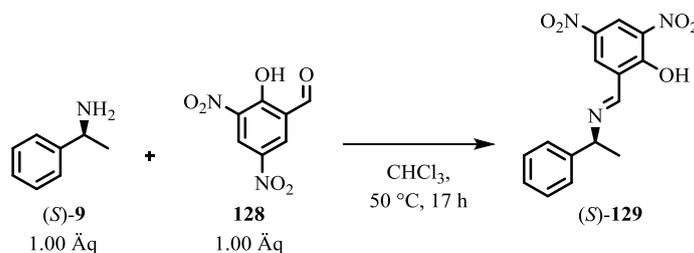
10.3.3.2.13.9. Synthese von 2,4-Dinitro-6-(((1-phenylethyl)iminio)methyl)phenol *rac*-129

In einem 50-ml-Rundkolben werden 3,5-Dinitrosalicylaldehyd **128** (49.71 mg, 0.24 mmol, 1.0 Äq) und *rac*-1-Phenylethylamin **9** (30.5 µl, 0.24 mmol, 1.0 Äq) vorgelegt und mit Chloroform (25 ml) versetzt und für 17 Stunden auf 50 °C erhitzt. Nach Einengen am Rotationsverdampfer wird das Produkt als roter Feststoff erhalten (72.5 mg, 0.23 mmol, 96 %).

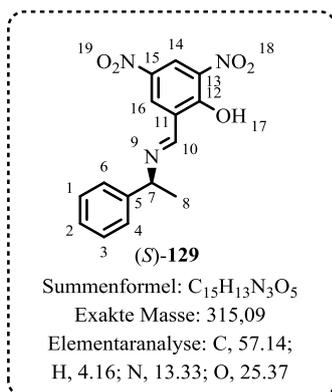


Ausbeute: 72.5 mg (96 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.88 (d, ³J_{HH}=6.9 Hz, 3 H, H-8), 4.18 (s, ³J_{HH}=7.0 Hz, 1 H, H-7), 5.00 (q, 1 H, H-9), 8.43–7.04 (m, 7 H, H^{Ar}), 9.01 (d, ³J_{HH}=3.0 Hz, 1 H, H-10). Die Verbindung *rac*-**129** ist nicht literatrubekannt. Die gemessenen Daten stimmen mit den Erwartungen überein und weitere Bemühungen zum exakten Nachweis wurden nicht vorgenommen.

10.3.3.2.13.10. Synthese von 2,4-Dinitro-6-(((1-phenylethyl)iminio)methyl)phenol *rac*-129

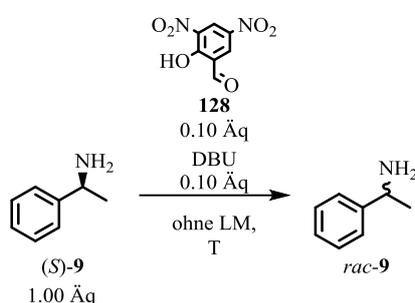
In einem 50-ml-Rundkolben werden 3,5-Dinitrosalicylaldehyd **128** (77.11 mg, 0.36 mmol, 1.00 Äq) und 1-Phenylethylamin (*S*)-**9** (47.3 µl, 0.37 mmol, 1.05 Äq) vorgelegt und mit Chloroform (25 ml) versetzt und für 17 Stunden auf 50 °C erhitzt. Nach Einengen am Rotationsverdampfer wird das Produkt als roter Feststoff erhalten (72.5 mg, 0.23 mmol, 96 %).



Ausbeute: 72.4 mg (96 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.88 (d, ³J_{HH}=6.9 Hz, 3 H, H-8), 4.18 (s, ³J_{HH}=7.0 Hz, 1 H, H-7), 5.00 (q, 1 H, H-9), 8.43–7.04 (m, 7 H, H^{Ar}), 9.01 (d, ³J_{HH}=3.0 Hz, 1 H, H-10). Die Verbindung (S)-129 ist nicht literatrubekannt. Die gemessenen Daten stimmen mit den Erwartungen überein und weitere Bemühungen zum exakten Nachweis wurden nicht vorgenommen.

10.3.3.2.13.11. Racemisierung von 1-Phenylethylamin (S)-9 mit 2,4-Dinitrosalicylaldehyd 128

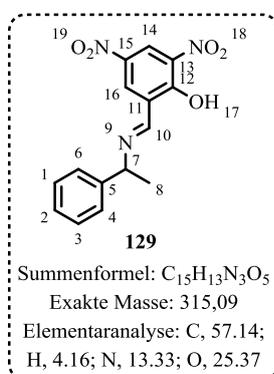


(S)-1-Phenylethylamin **9** (2 ml, 15.5 mmol, 1.00 eq) wird in einem Rundkolben vorgelegt und darin 3,5-Dinitrosalicylaldehyd **128** (329 mg, 1.5 mmol, 0.10 eq) suspendiert. Nach Zugabe von DBU (231 µl, 1.5 mmol, 0.10 eq) wird auf die gegebenen Temperaturen erhitzt und zu gegebenen Zeiten (siehe Tabelle 36) Proben entnommen, die NMR-spektroskopisch untersucht wurden.

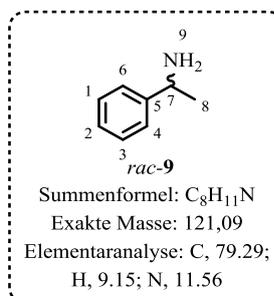
Tabelle 36: Zeitlicher Verlauf der Enantiomerenüberschüsse bei der Racemisierung von 1-Phenylethylamin **9** mit 2,4-Dinitrosalicylaldehyd **128**.

Probe	T [°C]	Zeit [h]	Enantiomerenüberschuss [%ee]
1	190	1	26
2		2	22
3		4	20
4		7	15
5	150	1	97
6		2	89
7		4	73

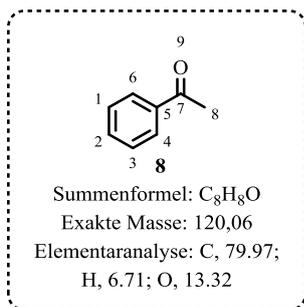
Probe	T [°C]	Zeit [h]	Enantiomerenüberschuss [% <i>ee</i>]
8	110	5	72
9		1	99
10		2	98
11		4	95
12		5	95
13		1	98
14		2	98
15	80	4	98
16		5	98



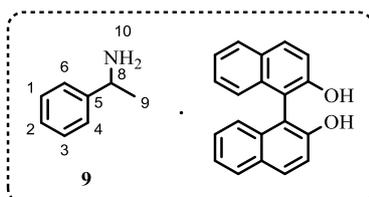
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.88 (d, ³J_{HH}=6.9 Hz, 3 H, H-8), 4.18 (s, ³J_{HH}=7.0 Hz, 1 H, H-7), 5.00 (q, 1 H, H-9), 8.43-7.04 (m, 7 H, H^{ar}), 9.01 (d, ³J_{HH}=3.0 Hz, 1 H, H-10). Die Verbindung 129 ist nicht literatrubekannt. Die gemessenen Daten stimmen mit den Erwartungen überein und weitere Bemühungen zum exakten Nachweis wurden nicht vorgenommen.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.39 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9), 4.10 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-7), 7.10-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung **9** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[300]



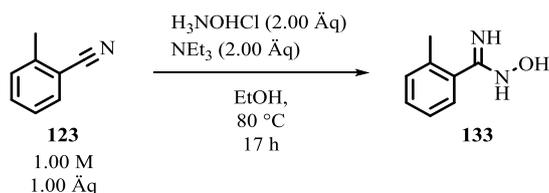
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.61 (s, 3 H, H-8), 6.80-7.30 (m, 5 H, H^{ar}). Die Verbindung **8** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[308]



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.21 (d, ³J_{HH}=6.6 Hz, 3 H, H-9 (R)), 1.25 (d, ³J_{HH}=6.7 Hz, 3 H, H-9 (S)), 3.72 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-8 (R)), 3.84 (q, ³J_{HH}=6.7 Hz, 1 H, H-8 (S)), 7.15-8.00 (m, 10 H, H^{ar}).

10.3.3.2.14. Aufbau eines Oxadiazolrings

10.3.3.2.14.1. Addition von Hydroxylamin an Nitril **123** in EtOH

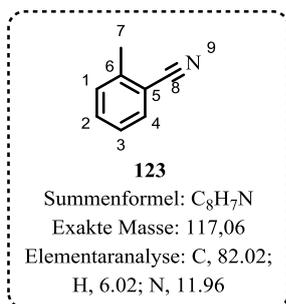


Exemplarisch wird die Reaktion einmal vollständig beschrieben. Alle Folge experimente sind mit den eingesetzten Stoffmengen und Reaktionszeiten in Tabelle 37 beschrieben. Hydroxylammoniumchlorid (1.408 g, 20 mmol, 2.00 Äq) wird vorgelegt und in EtOH (10 mL), Triethylamin (2800 µL, 20 mmol, 2.00 Äq) und *ortho*-Tolunitril **123** (1170 µL, 10 mmol, 1.00 Äq) suspendiert. Nach 17 stündigen Rückfluss wird das Reaktionsgemisch hydrolysiert, mit Chloroform (3 mal) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen (2 mal). Die organische Phase wird im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

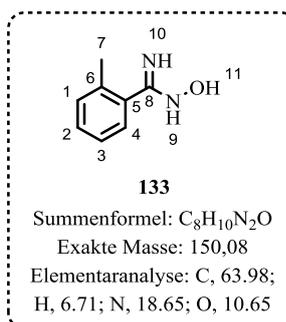
Tabelle 37: Produktverteilung nach Abbruch der Addition von Hydroxylamin an ein *ortho*-Tolunitril.

Exp.	Nitril 123 [Äq] [M] [mg]	Et ₃ N	H ₃ NOHCl	Reaktions- zeit	Produktanteile		
					<i>ortho</i> -Tolunitril 123 [%]	<i>ortho</i> -Toluamidoxim 133 [%]	<i>ortho</i> -Toluamid 124 [%]
					1	1.00 1.0 1172	2.00 2.0 2024

Exp.	Nitril 123 Et ₃ N H ₃ NOHCl			Reaktionszeit	Produktanteile		
	[Äq]	[M]	[mg]		<i>ortho</i> -Tolunitril 123 [%]	<i>ortho</i> -Toluamidoxim 133 [%]	<i>ortho</i> -Toluamid 124 [%]
2	1.00	1.20	2.40	7	15	43	32
	1.0	1.2	2.4				
	1172	1214	1680				
3	1.00	0.60	2.00	6	67	12	50
	1.0	0.6	2.0				
	1172	607	1440				
4	1.00	1.20	2.50	13	32	28	35
	1.0	1.2	2.4				
	1170	1214	1744				
5	1.00	1.20	2.50	15	23	35	35
	1.0	1.2	2.4				
	1170	1217	1751				

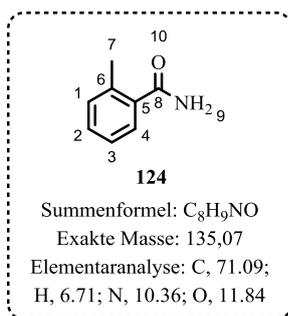


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.53 (s, 3 H, H-8), 7.16-7.60 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 118.0 (C^{ar}), 126.9 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.7 (C^{ar}), 134.9 (C^{ar}), 137.8 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **123** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[358]



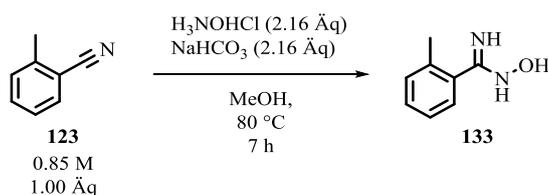
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.45 (s, 1 H, H-10) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.74 (s, 2 H, H-9, H-10) 7.19-7.32 (m, 4 H, H^{ar}), 9.38 (s, 1 H, H-11). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 19.8 (C-7), 125.4 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 128.9 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 134.3 (C^{ar}), 136.4 (C^{ar}), 152.5 (C-8). Die Verbindung **133** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und

nachgewiesen werden.^[360]



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.48 (s, 3 H, H-7), 5.95 (s, 1 H, H-9) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 112.7 (C^{ar}), 118.1 (C^{ar}), 126.2 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 132.5 (C^{ar}), 132.6 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **124** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[359]

10.3.3.2.14.2. Addition von Hydroxylamin an Nitril **123** in MeOH



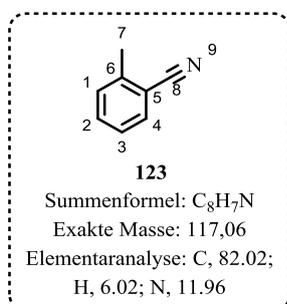
Exemplarisch wird die Reaktion einmal vollständig beschrieben. Alle Folgeexperimente sind mit den eingesetzten Stoffmengen, Temperaturen und Reaktionszeiten in Tabelle 38 beschrieben. Hydroxylammoniumchlorid (1.498 g, 21.56 mmol, 2.16 Äq) wird vorgelegt und in MeOH (10 mL), Natriumhydrogencarbonat (1815 mg, 21.60 mmol, 2.16 Äq) und *ortho*-Tolunitril **123** (1170 µL, 10.00 mmol, 1.00 Äq) suspendiert. Nach 5 stündigem Rückfluss wird das Reaktionsgemisch hydrolysiert, mit Chloroform (3 mal) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen (2 mal). Die organische Phase wird im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch untersucht und so entsprechende Produktanteile bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 38 aufgelistet.

Tabelle 38: Produktverteilung nach Abbruch der Addition von Hydroxylamin an ein *ortho*-Tolunitril **123.**

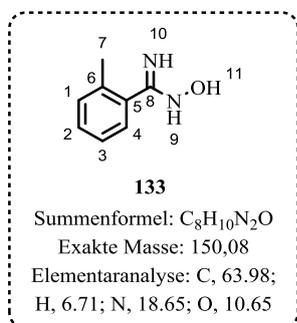
Exp.	Nitril 123 NaHCO ₃ H ₃ NOHCl			T [°C]	Reaktionszeit [h]	Produktanteile		
	[Äq]	[M]	[mg]			Nitril 123 [%]	Amidoxim 133 [%]	Amid 124 [%]
1	1.00	2.16	2.16	80	5	50	46	4
	1.00	2.16	2.16					
	1172	1815	1498					
2	1.00	2.20	2.16	80	7.3	9	72	19
	1.00	2.16	2.16					

Exp.	Nitril 123 NaHCO ₃ H ₃ NOHCl			T [°C]	Reaktionszeit [h]	Produktanteile		
	[Äq]	[M]	[mg]			Nitril 123 [%]	Amidoxim 133 [%]	Amid 124 [%]
	1172	1849	1500					
3	1.00 1.00 1172	2.17 2.17 1819	2.17 2.17 1511	80	18	4	59	37
4	1.00 1.00 1172	2.16 2.16 1816	2.16 2.16 1502	80	56	1	42	53
5	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	7	96	3	1
6	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	31	79	17	3
7	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	51	71	25	4
8	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	74	61	34	5
9	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	146	47	45	8
10	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	194	44	46	10
11	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	239	43	46	10
12	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	308	41	49	10
13	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	20	382	41	48	11
14	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1556	2.16 1.84 1284	80	7	27	47	27

Exp.	Nitril 123 NaHCO ₃ H ₃ NOHCl			T [°C]	Reaktionszeit [h]	Produktanteile		
	[Äq]	[M]	[mg]			Nitril 123 [%]	Amidoxim 133 [%]	Amid 124 [%]
15	1.00 0.85 1000	2.16 1.84 1554	1.08 0.85 649	80	7	70	22	8
16	1.00 0.43 1000	4.32 1.86 1554	2.16 0.93 649	20	7	94	4	2
17	1.00 0.43 1000	4.32 1.86 1554	2.16 0.93 649	80	7	1	53	46
18	1.00 8.54 1000	2.16 18.40 1554	1.08 9.20 649	20	7	93	5	2
19	1.00 8.54 1000	2.16 18.40 1557	1.08 9.20 647	80	3	62	12	25

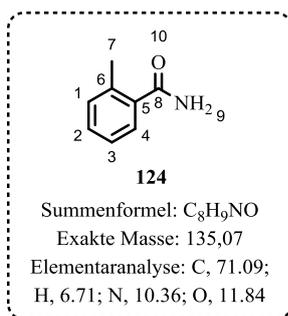


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.53 (s, 3 H, H-8), 7.16-7.60 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 118.0 (C^{ar}), 126.9 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.7 (C^{ar}), 134.9 (C^{ar}), 137.8 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **123** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[358]



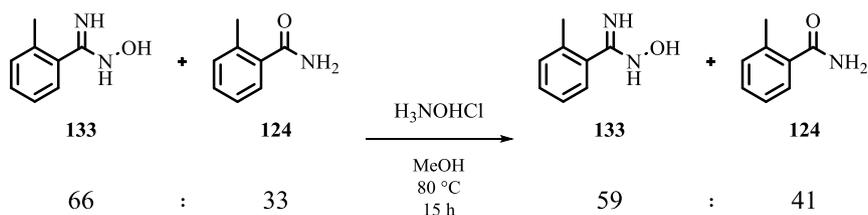
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.45 (s, 1 H, H-10) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.74 (s, 2 H, H-9, H-10) 7.19-7.32 (m, 4 H, H^{ar}), 9.38 (s, 1 H, H-11). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 19.8 (C-7), 125.4 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 128.9 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 134.3 (C^{ar}), 136.4 (C^{ar}), 152.5 (C-8). Die Verbindung **133** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und

nachgewiesen werden.^[360]

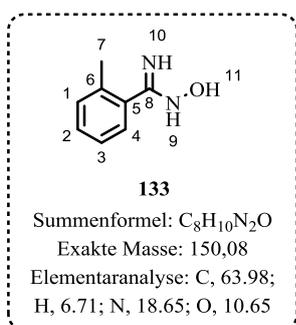


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.48 (s, 3 H, H-7), 5.95 (s, 1 H, H-9) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 112.7 (C^{ar}), 118.1 (C^{ar}), 126.2 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 132.5 (C^{ar}), 132.6 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **124** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[359]

10.3.3.2.14.3. Zersetzung des Amidoxims **133** zum Amid **124** in Gegenwart von Hydroxylamin

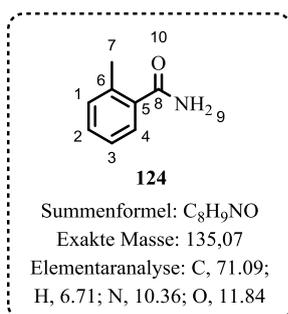


Ein Stoffgemisch aus Amidoxim und Amid (202 mg) mit Stoffmengenverhältnis 66:33 wird mit Hydroxylammoniumchlorid (94.3 mg, 1.33 mmol) in Methanol 24 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird hydrolysiert und mit Dichlormethan (3 mal) extrahiert. Das Lösungsmittel der vereinten organischen Phasen wird im Vakuum entfernt. Es wird ein farbloser Feststoff erhalten (180 mg). Das Stoffmengenverhältnis von Amid und Amidoxim wird mittels ¹H-NMR-Spektroskopie ermittelt. Das Stoffmengenverhältnis beträgt 59:41 (Amidoxim **133** zu Amid **124**). Es werden 90 % des eingesetzten Materials nach der Aufarbeitung isoliert.



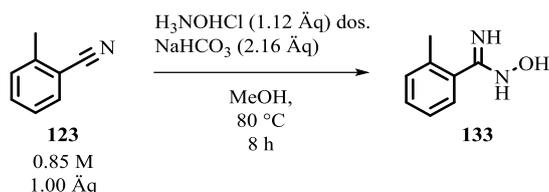
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.45 (s, 1 H, H-10) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.74 (s, 2 H, H-9, H-10) 7.19-7.32 (m, 4 H, H^{ar}), 9.38 (s, 1 H, H-11). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 19.8 (C-7), 125.4 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 128.9 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 134.3 (C^{ar}), 136.4 (C^{ar}), 152.5 (C-8). Die Verbindung **133** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und

nachgewiesen werden.^[360]



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.48 (s, 3 H, H-7), 5.95 (s, 1 H, H-9) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 112.7 (C^{ar}), 118.1 (C^{ar}), 126.2 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 132.5 (C^{ar}), 132.6 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **124** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[359]

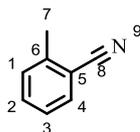
10.3.3.2.14.4. Rationierung der Hydroxylaminstoffmenge



Exemplarisch wird die Reaktion einmal vollständig beschrieben. Alle Folgeexperimente sind mit den eingesetzten Stoffmengen, Temperaturen und Dosierungen in Tabelle 39 beschrieben. Hydroxylammoniumchlorid (81 g, 1.17 mmol, 0.14 Äq) wird vorgelegt und in MeOH (10 mL), Natriumhydrogencarbonat (1549 mg, 18.43 mmol, 2.16 Äq) und *ortho*-Tolunitril (1000 µL, 8.54 mmol, 1.00 Äq) suspendiert. Die Suspension wird auf 80 °C erhitzt und stündlich mit Hydroxylammoniumchlorid (81 mg, 1.17 mmol, 0.14 Äq) versetzt. Nach 8 h wird das Reaktionsgemisch hydrolysiert, mit Chloroform (3 mal) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen (2 mal). Die organische Phase wird im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wird NMR-spektroskopisch untersucht und so entsprechende Produktanteile bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 39 dargestellt.

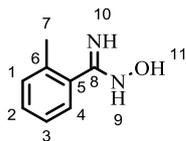
Tabelle 39: Produktverteilung nach Abbruch der Addition von Hydroxylamin an ein *ortho*-Tolunitril 123.

Exp.	Nitril 123 NaHCO ₃ H ₃ NOHCl			Dosierung	T [°C]	Reaktionszeit [h]	Produktanteile		
	[Äq]	[M]	[mg]				Nitril 123 [%]	Amidoxim 133 [%]	Amid 124 [%]
1	1.00	2.16	2.16	stündl.	80	8	74	25	1
	1.00	2.16	2.16						
	1000	1549	81						
2	1.00	2.20	2.16	2-stündl.	80	8	78	18	4
	1.00	2.16	2.16						
	1000	1552	162						
3	1.00	2.17	2.17	4-stündl.	80	8	68	24	8
	1.00	2.17	2.17						
	1000	1543	324						

**123**

Summenformel: C₈H₇N
 Exakte Masse: 117,06
 Elementaranalyse: C, 82,02;
 H, 6,02; N, 11,96

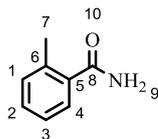
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.53 (s, 3 H, H-8), 7.16-7.60 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 118.0 (C^{ar}), 126.9 (C^{ar}), 128.5 (C^{ar}), 128.7 (C^{ar}), 134.9 (C^{ar}), 137.8 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **123** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[358]

**133**

Summenformel: C₈H₁₀N₂O
 Exakte Masse: 150,08
 Elementaranalyse: C, 63,98;
 H, 6,71; N, 18,65; O, 10,65

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.45 (s, 1 H, H-10) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 2.39 (s, 3 H, H-7), 5.74 (s, 2 H, H-9, H-10) 7.19-7.32 (m, 4 H, H^{ar}), 9.38 (s, 1 H, H-11). ¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 19.8 (C-7), 125.4 (C^{ar}), 128.6 (C^{ar}), 128.9 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 134.3 (C^{ar}), 136.4 (C^{ar}), 152.5 (C-8). Die Verbindung **133** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und

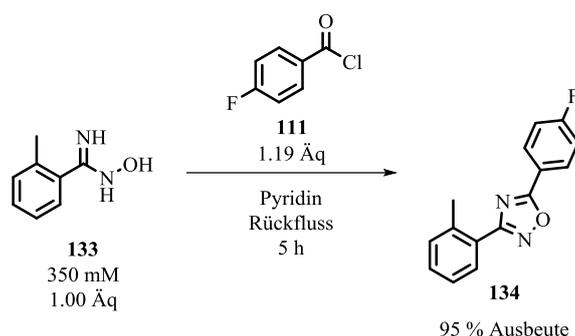
nachgewiesen werden.^[360]

**124**

Summenformel: C₈H₉NO
 Exakte Masse: 135,07
 Elementaranalyse: C, 71,09;
 H, 6,71; N, 10,36; O, 11,84

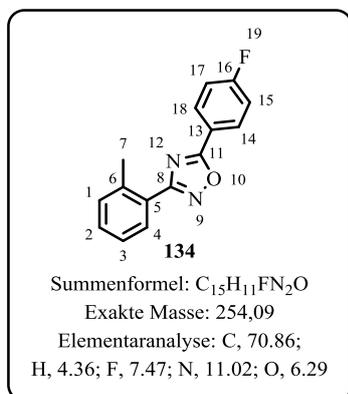
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.48 (s, 3 H, H-7), 5.95 (s, 1 H, H-9) 7.14-7.63 (m, 4 H, H^{ar}). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.4 (C-7), 112.7 (C^{ar}), 118.1 (C^{ar}), 126.2 (C^{ar}), 130.2 (C^{ar}), 132.5 (C^{ar}), 132.6 (C^{ar}), 141.9 (C-8). Die Verbindung **124** konnte durch Vergleich der NMR-spektroskopischen Daten mit der Literatur eindeutig identifiziert und nachgewiesen werden.^[359]

10.3.3.2.14.5. Kondensation von Amidoxim **133** mit Säurechlorid **111**



Ein Gemisch aus Amidoxim **133** und Amid **124** (105 mg Amidoxim **133**, 0.70 mmol, 1.00 Äq, 95 mg Amid **124**, 0.72 mmol) wird in einem Reaktionsgefäß vorgelegt und mit Pyridin (2 ml), THF (10 ml) und *para*-Fluorbenzoesäurechlorid **111** (100 µl, 0.83 mmol, 1.19 Äq) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird für 66 h zum Rückfluss erhitzt. Es wird mit Chloroform und hydrolysiert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit Chloroform extrahiert. Nach Entfernen des

Lösungsmittels der vereinigten organischen Phasen im Vakuum wird das Rohprodukt als blassgelber Feststoff erhalten. Nach zweifacher säulenchromatographischer Aufarbeitung (1. Biotage, Snap Ultra 50 mg, Eluent: CyHex/EtOAc 90/10 – 30/70, 2. manuell, Länge: 16 cm, Ø 4 cm, Eluent: CyHex/EtOAc 35/65) wird das Produkt **134** als farbloser Feststoff (107 mg, 0.067 mmol, 95 %) mit Resten von Cyclohexan (von der Ausbeute bereits abgezogen) erhalten.

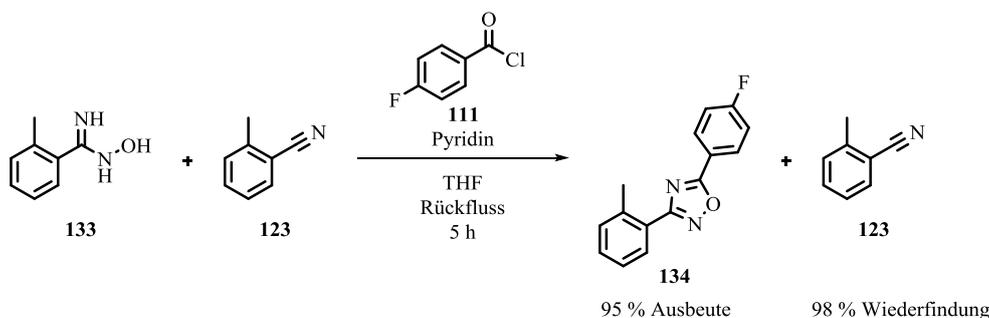


Ausbeute: 119 mg (95 % bezogen auf das Amidoxim **133**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.68 (s, 3 H, H-7), 7.24 (m, 2 H, H-14 & H-18) 7.35 (m, 2 H, H-1 & H-3), 7.41 (m, 1 H, H-2), 8.07 (m, 1 H, H-4), 8.24 (m, 2 H, H-15 & H-17). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.3 (C-7), 116.6 (d, ²J_{CF}=22.2 Hz, C-15 & H-17), 120.9 (d, ⁴J_{CF}=3.0 Hz, C-13), 126.2 (C-3/C-4), 126.2 (C-3/C-4), 130.2 (C-1), 130.7 (C-2), 130.8 (m, C-14 & C-18), 131.5 (C-5), 138.4 (C-6), 165.6 (d, ¹J_{CF}=254.3 Hz, C-16), 169.8 (C-8), 173.9 (C-11). ¹⁹F-NMR

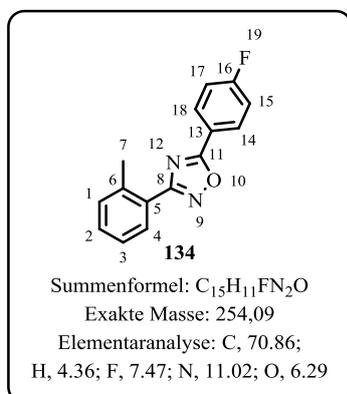
(500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -105.3 (tt). Die Verbindung **134** ist nicht literaturbekannt. Die gemessenen Daten stimmen mit den Erwartungen überein und weitere Bemühungen zum exakten Nachweis wurden nicht vorgenommen.

10.3.3.2.14.6. Kondensation von Amidoxim **133** mit Säurechlorid **111** – Kompatibilität mit Nitril **123**



Ein Gemisch aus Amidoxim **133** und Amid **124** und Nitril **123** (104 mg Amidoxim **133**, 0.70 mmol, 1.00 Äq, 7 mg Amid **124**, 0.06 mmol, 0.10 Äq, 88 mg Nitril **123**, 0.76 mmol, 1.10 Äq) wird in einem Reaktionsgefäß vorgelegt und mit Pyridin (2 ml), THF (10 ml) und *para*-Fluorbenzoesäurechlorid **111** (100 µl, 0.83 mmol, 1.19 Äq) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird für 49 h zum Rückfluss erhitzt. Es wird mit Chloroform und hydrolysiert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit Chloroform extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels der vereinigten organischen Phasen im Vakuum wird das Rohprodukt als blassgelber Feststoff erhalten. Nach säulenchromatographischer Aufarbeitung (1. Biotage, Snap Ultra 50 mg, Eluent: CyHex/EtOAc 90/10 – 30/70) wird das Produkt **134**

als farbloser Feststoff (105 mg, 0.66 mmol, 95 %) mit Resten von Cyclohexan (von der Ausbeute bereits abgezogen) erhalten. *ortho*-Tolunitril wird nahezu quantitativ aus den Reinigungsschritten wieder aufgefangen (98 % Wiederfindung).



Ausbeute: 105 mg (95 % bezogen auf das Amidoxim **133**).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.68 (s, 3 H, H-7), 7.24 (m, 2 H, H-14 & H-18) 7.35 (m, 2 H, H-1 & H-3), 7.41 (m, 1 H, H-2), 8.07 (m, 1 H, H-4), 8.24 (m, 2 H, H-15 & H-17). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.3 (C-7), 116.6 (d, ²J_{CF}=22.2 Hz, C-15 & H-17), 120.9 (d, ⁴J_{CF}=3.0 Hz, C-13), 126.2 (C-3/C-4), 126.2 (C-3/C-4), 130.2 (C-1), 130.7 (C-2), 130.8 (m, C-14 & C-18), 131.5 (C-5), 138.4 (C-6), 165.6 (d, ¹J_{CF}=254.3 Hz, C-16), 169.8 (C-8), 173.9 (C-11). ¹⁹F-NMR

(500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = -105.3 (tt). Die Verbindung **134** ist nicht literaturbekannt. Die gemessenen Daten stimmen mit den Erwartungen überein und weitere Bemühungen zum exakten Nachweis wurden nicht vorgenommen.^[361]

11. Literatur

- [1] K. Kümmerer, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2017**, 56, 16420.
- [2] J. A. Krautkraemer, *Journal of Economic Literature* **1998**, 36, 2065.
- [3] A. Fisher, M. Ward, *Journal of Environmental Economics and Management* **2000**, 39, 264.
- [4] J. R. Ludwig, C. S. Schindler, *Chem* **2017**, 2, 313.
- [5] E. Roduner, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 8226.
- [6] T. Itoh, U. Hanefeld, *Green Chem* **2017**, 19, 331.
- [7] B. M. Nestl, S. C. Hammer, B. A. Nebel, B. Hauer, *Angew. Chem* **2014**, 126, 3132.
- [8] J. L. Porter, R. A. Rusli, D. L. Ollis, *Chembiochem : a European journal of chemical biology* **2016**, 17, 197.
- [9] G. Hughes, J. C. Lewis, *Chem. Rev.* **2018**, 118, 1.
- [10] P. Duhem in *Boston Studies in the Philosophy of Science*, Springer Netherlands, **2002**, S. 62–67.
- [11] J.-J. Brunet, D. Neibecker in *Catalytic Heterofunctionalization*, WILEY-VCH Verlag GmbH, **2001**, S. 91–141.
- [12] A. E. Schweizer, R. L. Fowlkes, J. H. McClain, T. E. Whyte Jr., *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* **1978**, 2, 272.
- [13] H. B. Bathina, R. A. Reck, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* **1985**, 83.
- [14] K. Peter C. Vollhardt, Neil E. Schore, *Organic Chemistry: Structure & Function*, 7. Aufl., W. H. Freeman and Company, **2014**.
- [15] a) Klaus Weissermel, Hans-Jürgen Arpe, *Industrial Organic Chemistry*, 2. Aufl., Wiley-VCH, New York, **1993**; b) Philip J. Chenier, *Survey of Industrial Chemistry*, 2. Aufl., Wiley-VCH, New York, **1992**.
- [16] a) K. Visek, *Amines, Fatty*, **2003**; b) K. S. Hayes, *Hoelderich Special Issue* **2001**, 221, 187.
- [17] a) D. Enders, U. Reinhold, *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, 8, 1895; b) R. Bloch, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* **1998**, 98, 1407.
- [18] D. Ghislieri, N. J. Turner, *Topics in Catalysis* **2014**, 57, 284.
- [19] S. Gabriel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1887**, 20, 2224.
- [20] Gibson, M. S., Bradshaw, R. W., *Angew. Chem* **1968**, 80, 986.
- [21] Gibson, M. S., Bradshaw, R. W., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, 7, 919.
- [22] R. Leuckart, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, 18, 2341.
- [23] Moore Maurice L., *The Leuckart Reaction*, **2011**.
- [24] M. Kitamura, D. Lee, S. Hayashi, S. Tanaka, M. Yoshimura, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 8685.
- [25] C. B. Pollard, D. C. Young, *J. Org. Chem.* **1951**, 16, 661.
- [26] R. Kadyrov, T. H. Riermeier **2003**, 42, 5472.
- [27] a) S. Chen, X. Huang, E. Meggers, Houk, K. N., *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 17902; b) J. Li, M. Kong, B. Qiao, R. Lee, X. Zhao, Z. Jiang, *Nature communications* **2018**, 9, 2445.

- [28] M. Höhne, U. T. Bornscheuer, *ChemCatChem* **2009**, *1*, 42.
- [29] R. Noyori, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008.
- [30] J. Balsells, Y. Hsiao, K. B. Hansen, F. Xu, N. Ikemoto, A. Clausen, J. D. Armstrong, *Synthesis of Sitagliptin, the Active Ingredient in Januvia® and Janumet®*, **2010**.
- [31] C. K. Savile, J. M. Janey, E. C. Mundorff, J. C. Moore, S. Tam, W. R. Jarvis, J. C. Colbeck, A. Krebber, F. J. Fleitz, J. Brands et al., *Science* **2010**, *329*, 305.
- [32] Stephen K. Ritter, *Chemical and Engineering News* **2010**, *88*, 9.
- [33] M. Fuchs, J. E. Farnberger, W. Kroutil, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 6965.
- [34] R. Jira, *Angewandte Chemie* **2009**, *121*, 9196.
- [35] J. Smidt, W. Hafner, R. Jira, J. Sedlmeier, R. Sieber, R. Rüttinger, H. Kojer, *Angew. Chem* **1959**, *71*, 176.
- [36] Jiro Tsuji, Hideo Nagashima, Hisao Nemoto, *Organic Syntheses* **1984**, *9*.
- [37] K. Weissermel and H.-J. Arpe (Hrsg.) *Industrial Organic Chemistry*, WILEY-VCH Verlag GmbH, **2008**.
- [38] J. Smidt, W. Hafner, R. Jira, R. Sieber, J. Sedlmeier, A. Sabel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1962**, *1*, 80.
- [39] a) P. M. Henry, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 3246; b) Baeckvall, J. E., B. Akermark, Ljunggren, S. O., *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 2411; c) Siegbahn, Per E. M., *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 14672; d) J. A. Keith, J. Oxgaard, W. A. Goddard, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3132; e) J. A. Keith, R. J. Nielsen, J. Oxgaard, W. A. Goddard, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12342.
- [40] W. K. Wan, K. Zaw, P. M. Henry, *Journal of Molecular Catalysis* **1982**, *16*, 81.
- [41] C. Elschenbroich in *Organometallicchemie* (Hrsg.: C. Elschenbroich), Vieweg+Teubner, **2008**, S. 593–681.
- [42] K. B. Hansen, Y. Hsiao, F. Xu, N. Rivera, A. Clausen, M. Kubryk, S. Krska, T. Rosner, B. Simmons, J. Balsells et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8798.
- [43] J.-S. Shin, B.-G. Kim, *Biotechnol. Bioeng* **1999**, *65*, 206.
- [44] J.-S. Shin, B.-G. Kim, *Biotechnol. Bioeng* **1998**, *60*, 534.
- [45] M. Höhne, U. T. Bornscheuer, *Application of Transaminases*, **2012**.
- [46] a) de Souza, Rodrigo O. M. A., L. S. M. Miranda, U. T. Bornscheuer, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 12040; b) Andreas Liese, Karsten Seelbach, Christian Wandrey, *Industrial Biotransformations*, Wiley-Blackwell, **2008**.
- [47] a) D. Koszelewski, D. Clay, D. Rozzell, W. Kroutil, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 2289; b) D. Koszelewski, D. Pressnitz, D. Clay, W. Kroutil, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4810.
- [48] D. Zhu, L. Hua, *Biotechnol. J.* **2009**, *4*, 1420.
- [49] F. Guo, P. Berglund, *Green Chem.* **2017**, *19*, 333.
- [50] R. C. Simon, N. Richter, E. Busto, W. Kroutil, *ACS Catal* **2014**, *4*, 129.
- [51] H. Yun, B.-G. Kim, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2008**, *72*, 3030.

- [52] M. Höhne, S. Kühn, K. Robins, U. T. Bornscheuer, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 363.
- [53] B. Franken, T. Eggert, K. E. Jaeger, M. Pohl, *BMC Biochemistry* **2011**, *12*, 10.
- [54] D. Koszelewski, I. Lavandera, D. Clay, G. M. Guebitz, D. Rozzell, W. Kroutil, *Angew. Chem* **2008**, *120*, 9477.
- [55] F. G. Mutti, C. S. Fuchs, D. Pressnitz, J. H. Sattler, W. Kroutil, *Adv. Synth. Catal* **2011**, *353*, 3227.
- [56] F. G. Mutti, C. S. Fuchs, D. Pressnitz, N. G. Turrini, J. H. Sattler, A. Lerchner, A. Skerra, W. Kroutil, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 1003.
- [57] D. Pressnitz, C. S. Fuchs, J. H. Sattler, T. Knaus, P. Macheroux, F. G. Mutti, W. Kroutil, *ACS Catal* **2013**, *3*, 555.
- [58] D. Koszelewski, M. Göritzer, D. Clay, B. Seisser, W. Kroutil, *ChemCatChem* **2010**, *2*, 73.
- [59] a) M. D. Truppo, J. D. Rozzell, N. J. Turner, *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 234; b) S. Schätzle, F. Steffen-Munsberg, A. Thontowi, M. Höhne, K. Robins, U. T. Bornscheuer, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2439.
- [60] K. Tauber, M. Fuchs, J. H. Sattler, J. Pitzer, D. Pressnitz, D. Koszelewski, K. Faber, J. Pfeffer, T. Haas, W. Kroutil, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 4030.
- [61] R. B. Silverman, *The Organic Chemistry of Enzyme-Catalysed Reactions*, 2. Aufl., Academic Press, London, **2002**.
- [62] M. Svedendahl, C. Branneby, L. Lindberg, P. Berglund, *ChemCatChem* **2010**, *2*, 976.
- [63] A. Iwasaki, Y. Yamada, Y. Ikenaka, J. Hasegawa, *Biotechnol Lett* **2003**, *25*, 1843.
- [64] M. S. Humble, K. E. Cassimjee, V. Abedi, H.-J. Federsel, P. Berglund, *ChemCatChem* **2012**, *4*, 1167.
- [65] M. Höhne, S. Schätzle, H. Jochens, K. Robins, U. T. Bornscheuer, *Nat Chem Biol* **2010**, *6*, 807.
- [66] a) J. N. Jansonius, *Current Opinion in Structural Biology* **1998**, *8*, 759; b) R. Percudani, A. Peracchi, *BMC bioinformatics* **2009**, *10*, 273.
- [67] N. van Oosterwijk, S. Willies, J. Hekelaar, Terwisscha van Scheltinga, Anke C, N. J. Turner, B. W. Dijkstra, *Biochemistry* **2016**, *55*, 4422.
- [68] a) Dourado, Daniel F. A. R., S. Pohle, A. T. P. Carvalho, D. S. Dheeman, J. M. Caswell, T. Skvortsov, I. Miskelly, R. T. Brown, D. J. Quinn, C. C. R. Allen et al., *ACS Catal.* **2016**, *6*, 7749; b) S.-W. Han, J. Kim, H.-S. Cho, J.-S. Shin, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 3752; c) S.-W. Han, E.-S. Park, J.-Y. Dong, J.-S. Shin, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 2712; d) S.-W. Han, E.-S. Park, J.-Y. Dong, J.-S. Shin, *Adv. Synth. Catal* **2015**, *357*, 1732; e) E.-S. Park, J.-S. Shin, *Enzyme and Microbial Technology* **2011**, *49*, 380; f) E.-S. Park, S.-R. Park, S.-W. Han, J.-Y. Dong, J.-S. Shin, *Adv. Synth. Catal* **2014**, *356*, 212; g) K. Deepankumar, S. P. Nadarajan, S. Mathew, S.-G. Lee, T. H. Yoo, E. Y. Hong, B.-G. Kim, H. Yun, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 417; h) M. Genz, O. Melse, S. Schmidt, C. Vickers, M. Dörr, T. van den Bergh, H.-J. Joosten, U. T. Bornscheuer, *ChemCatChem* **2016**, *8*, 3199; i) A. Nobili, F. Steffen-Munsberg, H. Kohls, I. Trentin, C. Schulzke, M. Höhne, U. T. Bornscheuer, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 757.

- [69] P. Tufvesson, J. Lima-Ramos, J. S. Jensen, N. Al-Haque, W. Neto, J. M. Woodley, *Biotechnol. Bioeng* **2011**, *108*, 1479.
- [70] A. W. H. Dawood, M. S. Weiß, C. Schulz, I. V. Pavlidis, H. Iding, de Souza, Rodrigo O. M. A., U. T. Bornscheuer, *ChemCatChem* **2018**, *0*.
- [71] I. V. Pavlidis, M. S. Weiß, M. Genz, P. Spurr, S. P. Hanlon, B. Wirz, H. Iding, U. T. Bornscheuer, *Nature Chem* **2016**, *8*, 1076.
- [72] M. J. Abrahamson, E. Vázquez-Figueroa, N. B. Woodall, J. C. Moore, A. S. Bommarius, *Angew. Chem. Int. Ed* **2012**, *51*, 3969.
- [73] L. J. Ye, H. H. Toh, Y. Yang, J. P. Adams, R. Snajdrova, Z. Li, *ACS Catal.* **2015**, *5*, 1119.
- [74] M. I. Flydal, A. Martinez, *IUBMB Life* **2013**, *65*, 341.
- [75] A. S. Bommarius, M. Schwarm, K. Stingl, M. Kottenhahn, K. Huthmacher, K. Drauz, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 2851.
- [76] Zhang, Tong-Cun, Nakajima, Motowo, *Advances in Applied Biotechnology. Proceedings of the 2nd International Conference on Applied Biotechnology (ICAB 2014)-Volume I*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2015**.
- [77] E. Y. Hong, M. Cha, H. Yun, B.-G. Kim, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2010**, *66*, 228.
- [78] T. Sekimoto, T. Matsuyama, T. Fukui, K. Tanizawa, *Journal of Biological Chemistry* **1993**, *268*, 27039.
- [79] M. J. Abrahamson, J. W. Wong, A. S. Bommarius, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 1780.
- [80] J. L. Vanhooke, J. B. Thoden, N. M. W. Brunhuber, J. S. Blanchard, H. M. Holden, *Biochemistry* **1999**, *38*, 2326.
- [81] N. M. W. Brunhuber, J. B. Thoden, J. S. Blanchard, J. L. Vanhooke, *Biochemistry* **2000**, *39*, 9174.
- [82] B. R. Bommarius, M. Schurmann, A. S. Bommarius, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 14953.
- [83] S. K. Au, B. R. Bommarius, A. S. Bommarius, *ACS Catal* **2014**, *4*, 4021.
- [84] J. Liu, B. Q. W. Pang, J. P. Adams, R. Snajdrova, Z. Li, *ChemCatChem* **2017**, *9*, 425.
- [85] T. Knaus, W. Böhmer, F. G. Mutti, *Green chemistry : an international journal and green chemistry resource : GC* **2017**, *19*, 453.
- [86] O. Mayol, S. David, E. Darii, A. Debard, A. Mariage, V. Pellouin, J.-L. Petit, M. Salanoubat, V. de Berardinis, A. Zaparucha et al., *Catal. Sci. Technol.* **2016**, *6*, 7421.
- [87] Julio Polaina, Andrew P, MacCabe, *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications*, 1. Aufl., Springer, Dordrecht, **2007**.
- [88] F. Theil, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2203.
- [89] A. Liljebblad, P. Kallio, M. Vainio, J. Niemi, L. T. Kanerva, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 886.
- [90] Ali Kademi, Danielle Leblanc, Alain Houde, A. Pandey (Hrsg.) *Concise Encyclopedia of Bioresource Technology. Lipases*, Haworth Press, New York, **2004**.
- [91] A. Houde, A. Kademi, D. Leblanc, *Applied biochemistry and biotechnology* **2004**, *118*, 155.

- [92] a) M. P. Marszałł, T. Siódmiak, *Catalysis Communications* **2012**, *24*, 80; b) J. C. Pastre, D. L. Browne, S. V. Ley, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 8849; c) P. Spizzo, A. Basso, C. Ebert, L. Gardossi, V. Ferrario, D. Romano, F. Molinari, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 11005.
- [93] N. Anand, M. Kapoor, K. Ahmad, S. Koul, R. Parshad, K. S. Manhas, R. L. Sharma, G. N. Qazi, S. C. Taneja, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1059.
- [94] M. Mittelbach, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **1990**, *67*, 168.
- [95] D. E. Pszczola, *Food Technology* **2001**, *55*, 54.
- [96] H. T. Osborn, C. C. Akoh, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2006**, *1*, 110.
- [97] M. Breuer, K. Ditrich, T. Habicher, B. Hauer, M. Keßeler, R. Stürmer, T. Zelinski, *Angew. Chem. Int. Ed* **2004**, *43*, 788.
- [98] A. Liese, K. Seelbach, A. Buchholz, J. Haberland, *Processes: Hydrolases EC 3 - EC 3.1.1.3 to EC 3.4.17.2*, **2006**.
- [99] S. Hari Krishna, N. G. Karanth, *Catalysis Reviews* **2002**, *44*, 499.
- [100] L. Rover, J. C. Fernandes, G. d. O. Neto, L. T. Kubota, E. Katekawa, S. H. Serrano, *Analytical Biochemistry* **1998**, *260*, 50.
- [101] a) V. Massey, *Journal of Biological Chemistry* **1994**, *269*, 22459; b) Q. H. GIBSON, J. W. HASTINGS, *The Biochemical journal* **1962**, *83*, 368; c) A. N. Woodmansee, J. A. Imlay, *Journal of Biological Chemistry* **2002**, *277*, 34055.
- [102] C. Chapus, M. Semeriva, *Biochemistry* **1976**, *15*, 4988.
- [103] T. Vernet, E. Ziomek, A. Recktenwald, J. D. Schrag, C. de Montigny, D. C. Tessier, D. Y. Thomas, M. Cygler, *Journal of Biological Chemistry* **1993**, *268*, 26212.
- [104] G. Dodson, A. Wlodawer, *Trends in Biochemical Sciences* **1998**, *23*, 347.
- [105] V. Gotor-Fernández, R. Brieva, V. Gotor, *Synthesis, Testing and Pharmacological Applications of Inhibitors of Lipolytic Enzymes* **2006**, *40*, 111.
- [106] A. Kumar, K. Dhar, S. S. Kanwar, P. K. Arora, *Biological Procedures Online* **2016**, *18*, 2.
- [107] Lisa Jarvis, *Chemical and Engineering News* **2015**, *July 20*, 9.
- [108] T. Hein, W. Hopfenmüller, *Der Nervenarzt* **2000**, *71*, 288.
- [109] J. Pearce, *Eur Neurol* **2005**, *54*, 49.
- [110] F. D. Lublin, S. C. Reingold, *Neurology* **1996**, *46*, 907.
- [111] J. S. Wolinsky, *Journal of the Neurological Sciences* **2003**, *206*, 145.
- [112] J. M. Dargin, R. A. Lowenstein, *Ophthalmologic Emergencies* **2008**, *26*, 199.
- [113] C. Solaro, G. Bricchetto, M. P. Amato, E. Cocco, B. Colombo, G. D'Aleo, C. Gasperini, A. Ghezzi, V. Martinelli, C. Milanese et al., *Neurology* **2004**, *63*, 919.
- [114] Minden SL, Schiffer RB, *Archives of Neurology* **1990**, *47*, 98.
- [115] Randolph B. Schiffer, N. Margaret Wineman, Lowell R. Weitkamp, *American Journal of Psychiatry* **1986**, *143*, 94.

- [116] C. O’Gorman, R. Lucas, B. Taylor, *International journal of molecular sciences* **2012**, *13*, 11718.
- [117] a) S. Simpson, L. Blizzard, P. Otahal, I. van der Mei, B. Taylor, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **2011**, *82*, 1132; b) C. R. Gale, C. N. Martyn, *Progress in Neurobiology* **1995**, *47*, 425.
- [118] H. Schmidt, D. Williamson, A. Ashley-Koch, *American Journal of Epidemiology* **2007**, *165*, 1097.
- [119] J. Smolders, P. Menheere, A. Kessels, J. Damoiseaux, R. Hupperts, *Mult Scler* **2008**, *14*, 1220.
- [120] R. Hohlfeld, H. Wekerle, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, *101 Suppl 2*, 14599.
- [121] K. K. Dev, F. Mullershausen, H. Mattes, R. R. Kuhn, G. Bilbe, D. Hoyer, A. Mir, *Pharmacology & therapeutics* **2008**, *117*, 77.
- [122] G. Filippini, L. Munari, B. Incorvaia, G. C. Ebers, C. Polman, R. D’Amico, G. P. A. Rice, *The Lancet* **2003**, *361*, 545.
- [123] a) The IFNB Multiple Sclerosis Study Group, *Neurology* **1993**, *43*, 655; b) D. W. Paty, D. Li, *Neurology* **1993**, *43*, 662; c) L. D. Jacobs, D. L. Cookfair, R. A. Rudick, R. M. Herndon, J. R. Richert, Am Salazar, J. S. Fischer, D. E. Goodkin, C. V. Granger, J. H. Simon et al., *Multiple Sclerosis* **1995**, *1*, 118; d) The IFNB Multiple Sclerosis Study Group, *Neurology* **1995**, *45*, 1277; e) Jacobs Lawrence D., Cookfair Diane L., Rudick Richard A., Herndon Robert M., Richert John R., Salazar Andres M., Fischer Jill S., Goodkin Donald E., Granger Carl V., Simon Jack H. et al., *Ann Neurol.* **1996**, *39*, 285.
- [124] M. Filippi, M. Rovaris, M. A. Rocca, M. P. Sormani, J. S. Wolinsky, G. Comi, *Neurology* **2001**, *57*, 731.
- [125] a) C. H. Polman, P. W. O’Connor, E. Havrdova, M. Hutchinson, L. Kappos, D. H. Miller, J. T. Phillips, F. D. Lublin, G. Giovannoni, A. Wajgt et al., *N Engl J Med* **2006**, *354*, 899; b) R. A. Rudick, W. H. Stuart, P. A. Calabresi, C. Confavreux, S. L. Galetta, E.-W. Radue, F. D. Lublin, B. Weinstock-Guttman, D. R. Wynn, F. Lynn et al., *N Engl J Med* **2006**, *354*, 911; c) E. Havrdova, S. Galetta, M. Hutchinson, D. Stefoski, D. Bates, C. H. Polman, P. W. O’Connor, G. Giovannoni, J. T. Phillips, F. D. Lublin et al., *The Lancet Neurology* **2009**, *8*, 254.
- [126] C. Warnke, M. P. Wattjes, O. Adams, H. Hartung, R. Martin, T. Weber, M. Stangel, *Der Nervenarzt* **2016**, *87*, 1300.
- [127] a) D. B. Clifford, A. DeLuca, D. M. Simpson, G. Arendt, G. Giovannoni, A. Nath, *The Lancet Neurology* **2010**, *9*, 438; b) K. Hellwig, R. Gold, *Journal of Neurology* **2011**, *258*, 1920; c) G. Bloomgren, S. Richman, C. Hotermans, M. Subramanyam, S. Goelz, A. Natarajan, S. Lee, T. Plavina, J. V. Scanlon, A. Sandrock et al., *N Engl J Med* **2012**, *366*, 1870.
- [128] Brinkmann Volker, Cyster Jason G., Hla Timothy, *American Journal of Transplantation* **2004**, *4*, 1019.
- [129] S. Spiegel, S. Milstien, *Journal of Biological Chemistry* **2002**, *277*, 25851.

- [130] S. Mandala, R. Hajdu, J. Bergstrom, E. Quackenbush, J. Xie, J. Milligan, R. Thornton, G.-J. Shei, D. Card, C. Keohane et al., *Science* **2002**, 296, 346.
- [131] M. Matloubian, C. G. Lo, G. Cinamon, M. J. Lesneski, Y. Xu, V. Brinkmann, M. L. Allende, R. L. Proia, J. G. Cyster, *Nature* **2004**, 427, 355.
- [132] F. Mullershausen, F. Zecri, C. Cetin, A. Billich, D. Guerini, K. Seuwen, *Nature chemical biology* **2009**, 5, 428.
- [133] F. L. Scott, B. Clemons, J. Brooks, E. Brahmachary, R. Powell, H. Dedman, H. G. Desale, G. A. Timony, E. Martinborough, H. Rosen et al., *British journal of pharmacology* **2016**, 173, 1778.
- [134] K. Garber, *Nature Biotechnology* **2008**, 26, 844.
- [135] V. Brinkmann, M. D. Davis, C. E. Heise, R. Albert, S. Cottens, R. Hof, C. Bruns, E. Prieschl, T. Baumruker, P. Hiestand et al., *Journal of Biological Chemistry* **2002**, 277, 21453.
- [136] E. H. Demont, J. M. Bailey, R. A. Bit, J. A. Brown, C. A. Campbell, N. Deeks, S. J. Dowell, C. Eldred, P. Gaskin, J. R. J. Gray et al., *Journal of medicinal chemistry* **2016**, 59, 1003.
- [137] R. van Doorn, P. G. Nijland, N. Dekker, M. E. Witte, M. A. Lopes-Pinheiro, B. van het Hof, G. Kooij, A. Reijerkerk, C. Dijkstra, van van der Valk, Paul et al., *Acta Neuropathologica* **2012**, 124, 397.
- [138] Miron Veronique E., Jung Cha Gyun, Kim Hye Jung, Kennedy Timothy E., Soliven Betty, Antel Jack P., *Ann Neurol.* **2007**, 63, 61.
- [139] a) K. Selmaj, D. K. B. Li, H.-P. Hartung, B. Hemmer, L. Kappos, M. S. Freedman, O. Stüve, P. Rieckmann, X. Montalban, T. Ziemssen et al., *The Lancet Neurology* **2013**, 12, 756; b) J. A. Cohen, D. L. Arnold, G. Comi, A. Bar-Or, S. Gujrathi, J. P. Hartung, M. Cravets, A. Olson, P. A. Frohna, K. W. Selmaj, *The Lancet Neurology* **2016**, 15, 373.
- [140] Andrew Pollack, *The New York Times* **2015**, 14th July.
- [141] *Genetic Engineering & Biotechnology News* **2015**, 14th July.
- [142] a) D. C. Baumgart, S. R. Carding, *The Lancet* **2007**, 369, 1627; b) D. C. Baumgart, W. J. Sandborn, *The Lancet* **2007**, 369, 1641; c) R. J. Xavier, D. K. Podolsky, *Nature* **2007**, 448, 427.
- [143] B. J. Rembacken, Am Snelling, P. M. Hawkey, D. M. Chalmers, A. T. Axon, *The Lancet* **1999**, 354, 635.
- [144] E. F. Stange, S. P. L. Travis, S. Vermeire, C. Beglinger, L. Kupcinkas, K. Geboes, A. Barakauskiene, V. Villanacci, A. von Herbay, B. F. Warren et al., *Gut* **2006**, 55 Suppl 1, i1-i15.
- [145] S. Danese, C. Fiocchi, *N Engl J Med* **2011**, 365, 1713.
- [146] a) A. Kornbluth, D. B. Sachar, *The American Journal Of Gastroenterology* **2010**, 105, 501 EP -; b) S. Campbell, S. Travis, D. Jewell, *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* **2005**, 17.
- [147] W. J. Sandborn, B. G. Feagan, D. C. Wolf, G. D'Haens, S. Vermeire, S. B. Hanauer, S. Ghosh, H. Smith, M. Cravets, P. A. Frohna et al., *N Engl J Med* **2016**, 374, 1754.

- [148] E. Martinborough, M. Boehm, Yeager, Adam, Richard, J. Tamiya, L. Huang, E. Brahmachary, M. Moorjani, Timony, Gregg, Alan, J. Brooks, R. Peach et al., WO 2015/066515 A1, **2013**.
- [149] Y. Chi, X. Huang, CN 201611223256, **2016**.
- [150] a) G. D. Yadav, S. Singh, *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, 26, 1156; b) R. Horinouchi, K. Kamei, R. Watanabe, N. Hieda, N. Tatsumi, K. Nakano, Y. Ichikawa, H. Kotsuki, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2015, 4457.
- [151] F. Song, R. Salter, L. E. Weaner, *J. Label Compd. Radiopharm* **2015**, 58, 173.
- [152] Ullrich Englert, Anca Beatrice Braun, WO2009077462 (A2), **2007**.
- [153] A. Gazit, N. Osherov, I. Posner, P. Yaish, E. Poradosu, C. Gilon, A. Levitzki, *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1896.
- [154] M. Fuchs, D. Koszelewski, K. Tauber, J. Sattler, W. Banko, A. K. Holzer, M. Pickl, W. Kroutil, K. Faber, *2011 Tetrahedron Prize for Creativity in Organic Chemistry, Trends in Catalysis and Biocatalysis, Manfred Reetz* **2012**, 68, 7691.
- [155] B. Winblad, J. Cummings, N. Andreasen, G. Grossberg, M. Onofrj, C. Sadowsky, S. Zechner, J. Nagel, R. Lane, *Int. J. Geriat. Psychiatry* **2007**, 22, 456.
- [156] Y.-J. Wu, H. He, L.-Q. Sun, A. L'Heureux, J. Chen, P. Dextraze, Starrett, John E., C. G. Boissard, V. K. Gribkoff, J. Natale et al., *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 2887.
- [157] St. Jean, David J., C. Yuan, E. A. Bercot, R. Cupples, M. Chen, J. Fretland, C. Hale, R. W. Hungate, R. Komorowski, M. Veniant et al., *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 429.
- [158] S. F. Poon, St. Jean, David J., P. E. Harrington, C. Henley, J. Davis, S. Morony, F. D. Lott, J. D. Reagan, J. Y.-L. Lu, Y. Yang et al., *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 6535.
- [159] G. Tsuji, T. Takeda, I. Furusawa, O. Horino, Y. Kubo, *Pesticide Biochemistry and Physiology* **1997**, 57, 211.
- [160] L. Joucla, G. Cusati, C. Pinel, L. Djakovitch, *Tetrahedron Letters* **2008**, 49, 4738.
- [161] a) L. Huang, M. Arndt, K. Gooßen, H. Heydt, L. J. Gooßen, *Chem. Rev.* **2015**, 115, 2596; b) T. E. Müller, K. C. Hultsch, M. Yus, F. Foubelo, M. Tada, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 3795.
- [162] a) Z. Zhang, L. S. Liebeskind, *Org. Lett.* **2006**, 8, 4331; b) J. M. Lauzon, P. Eisenberger, S.-C. Roşca, L. L. Schafer, *ACS Catal.* **2017**, 7, 5921; c) E. K. J. Lui, L. L. Schafer, *Adv. Synth. Catal.* **2016**, 358, 713.
- [163] Y. Yang, S.-L. Shi, D. Niu, P. Liu, S. L. Buchwald, *Science* **2015**, 349, 62.
- [164] a) H.-L. Teng, Y. Luo, B. Wang, L. Zhang, M. Nishiura, Z. Hou, *Angew. Chem.* **2016**, 128, 15632; b) M. A. Giardello, V. P. Conticello, L. Brard, M. R. Gagne, T. J. Marks, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 10241; c) D. V. Gribkov, K. C. Hultsch, F. Hampel, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 3748; d) A. Hu, M. Ogasawara, T. Sakamoto, A. Okada, K. Nakajima, T. Takahashi, W. Lin, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 2051; e) J. Y. Kim, T. Livinghouse, *Org. Lett.* **2005**, 7, 1737; f) M. C. Wood, D. C. Leitch, C. S. Yeung, J. A. Kozak, L. L. Schafer, *Angew. Chem. Int. Ed* **2007**, 46, 354.
- [165] Y. Yang, N. I. Wong, P. Teo, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2015, 1207.

- [166] H. Sato, W. Hummel, H. Gröger, *Angew. Chem. Int. Ed* **2015**, *54*, 4488.
- [167] a) K. S. Midelfort, R. Kumar, S. Han, M. J. Karmilowicz, K. McConnell, D. K. Gehlhaar, A. Mistry, J. S. Chang, M. Anderson, A. Villalobos et al., *Protein Engineering Design and Selection* **2013**, *26*, 25; b) N. Richter, R. C. Simon, W. Kroutil, J. M. Ward, H. C. Hailes, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 6098; c) A. Lerchner, S. Achatz, C. Rausch, T. Haas, A. Skerra, *ChemCatChem* **2013**, *5*, 3374; d) H. Yun, B.-K. Cho, B.-G. Kim, *Biotechnol. Bioeng* **2004**, *87*, 772.
- [168] Florian Uthoff, *Masterarbeit*, Universität Bielefeld, Bielefeld, **2015**.
- [169] B. R. Bommarius, M. Schürmann, A. S. Bommarius, *Chemical communications (Cambridge, England)* **2014**, *50*, 14953.
- [170] J. Löwe, A. A. Ingram, H. Gröger, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2018**, *26*, 1387.
- [171] A. Pushpanath, E. Siirola, A. Bornadel, D. Woodlock, U. Schell, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 3204.
- [172] Marc Biermann, *Dissertation*, Universität Bielefeld, Bielefeld, **2016**.
- [173] U. T. Bornscheuer, R. J. Kazlauskas, *Hydrolases in Organic Synthesis: Regio and Stereoselective Biotransformations*, 2. Aufl., Wiley and Sons, Weinheim, **2006**.
- [174] T. Asahara, M. Senō, H. Kaneko, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1968**, *41*, 2985.
- [175] Jianwen Tan, Zhongyu Zhou, Jian Yan, Mei Zhang, Jing Wang, CN102432494 (A), **2011**.
- [176] E. Baltierra-Trejo, L. Márquez-Benavides, J. M. Sánchez-Yáñez, *Journal of Microbiological Methods* **2015**, *119*, 126.
- [177] NC-IUB Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry, *European Journal of Biochemistry* **1979**, *97*, 319.
- [178] A. L. Miller, N. B. Bowden, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4834.
- [179] T. Antczak, J. Mrowiec-Białoń, S. Bielecki, A. Jarzębski, J. Malinowski, A. Lachowski, E. Galas, *Biotechnol Tech* **1997**, *11*, 9.
- [180] F.-F. Chen, Y.-Y. Liu, G.-W. Zheng, J.-H. Xu, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 3838.
- [181] Jana Löwe, *Unpublished Results* **2016**.
- [182] F. Uthoff, H. Sato, H. Gröger, *ChemCatChem* **2017**, *9*, 555.
- [183] a) M. Voges, R. Abu, M. T. Gundersen, C. Held, J. M. Woodley, G. Sadowski, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 976; b) J. Jiang, X. Chen, J. Feng, Q. Wu, D. Zhu, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2014**, *100*, 32.
- [184] *Cooperative Catalysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2015**.
- [185] I. Schnapperelle, *Diplomarbeit*, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen-Nürnberg, **2010**.
- [186] a) Barry M. Trost, *Pure and Applied Chemistry* **1981**, *53*, 2357; b) Jiro Tsuji, *Pure and Applied Chemistry* **1982**, *54*, 197.
- [187] J. Tsuji, *Synthesis* **1984**, *1984*, 369.
- [188] M. B. Runge, M. T. Mwangi, A. L. Miller, M. Perring, N. B. Bowden, *Angewandte Chemie* **2008**, *120*, 949.

- [189] M. T. Mwangi, M. B. Runge, K. M. Hoak, M. D. Schulz, N. B. Bowden, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6780.
- [190] J. Mangas-Sánchez, M. Rodríguez-Mata, E. Busto, V. Gotor-Fernández, V. Gotor, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5304.
- [191] F. Uthoff, H. Gröger, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 9517.
- [192] S. Naik, A. Basu, R. Saikia, B. Madan, P. Paul, R. Chatterjee, J. Brask, A. Svendsen, *Selected Papers from the IXth International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations* **2010**, *65*, 18.
- [193] Nadine Zumbrägel, *Unpublished Results* **2016**.
- [194] P. Tufvesson, W. Fu, J. S. Jensen, J. M. Woodley, *Special Issue on Industrial Biotechnology* **2010**, *88*, 3.
- [195] a) R. Z. Kazandjian, A. M. Klibanov, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5448; b) G. H. Müller, A. Lang, D. R. Seithel, H. Waldmann, *Chem. Eur. J.* **1999**, *4*, 2513; c) C. J. Wheeler, R. Croteau, *Archives of Biochemistry and Biophysics* **1986**, *248*, 429; d) T. W. RANDOLPH, D. S. CLARK, H. W. Banch, J. M. PRAUSNITZ, *Science* **1988**, *239*, 387; e) T. W. RANDOLPH, H. W. Blanch, J. M. PRAUSNITZ, C. R. Wilke, *Biotechnology Letters* **1985**, *7*, 325; f) J. Grunwald, B. Wirz, M. P. Scollar, A. M. Klibanov, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6732; g) M. Paravidino, M. J. Sorgedragar, R. V. A. Orru, U. Hanefeld, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 7596; h) S. Karboune, A. Archelas, J. C. Baratti, *Process Biochemistry* **2010**, *45*, 210.
- [196] S. Simon, S. Obwald, J. Roos, H. Gröger, *Zeitschrift für Naturforschung B* **2012**, 1123.
- [197] M. Nechab, N. Azzi, N. Vanthuyne, M. Bertrand, S. Gastaldi, G. Gil, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6918.
- [198] F. Balkenhohl, K. Ditrich, B. Hauer, W. Ladner, *J. Prakt. Chem.* **1997**, *339*, 381.
- [199] M. Cammenberg, K. Hult, S. Park, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1745.
- [200] I. I. Gill, J. Das, R. N. Patel, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1330.
- [201] F. Uthoff, *Bachelorarbeit* **2012**.
- [202] K. Ditrich, *Synthesis* **2008**, *2008*, 2283.
- [203] J. J. de Vlieger, A. P. G. Kieboom, H. van Bekkum, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1389.
- [204] C. W. Curtis, J. L. Pellegrino, *Energy Fuels* **1989**, *3*, 160.
- [205] R. Köster, W. Schüßler, M. Yalpani, *Chem. Ber.* **1989**, *122*, 677.
- [206] M. Amiel-Levy, S. Hoz, *Chemistry – A European Journal* **2010**, *16*, 805.
- [207] M. E. Burin, A. A. Logunov, V. I. Faerman, M. N. Bochkarev, *Russian Chemical Bulletin* **2011**, *60*, 1591.
- [208] A. Menzek, A. Altundas, D. Gültekin, *Journal of Chemical Research* **2003**, *2003*, 752.
- [209] A. J. Birch, *J. Chem. Soc.* **1944**, 430.

- [210] Gerhart Jander, Karl Friedrich Jahr, Gerhard Schulze, Jürgen Simon, *Maßanalyse. Theorie und Praxis der Titrationsen mit chemischen und physikalischen Indikationen*, 16. Aufl., Walter de Gruyter, Berlin, **2003**.
- [211] Joseph Hornback, *Organic Chemistry*, 2. Aufl., Cengage Learning, **2005**.
- [212] M. Güney, A. Coşkun, F. Topal, A. Daştan, I. Gülçin, C. T. Supuran, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2014**, *22*, 3537.
- [213] D. R. Vutukuri, P. Bharathi, Z. Yu, K. Rajasekaran, M.-H. Tran, S. Thayumanavan, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1146.
- [214] W. Wu, J. G. Verkade, *ARKIVOC* **2004**, 88.
- [215] B. M. Cochran, *Synlett* **2016**, *27*, 245.
- [216] K. Sato, M. Aoki, R. Noyori, *Science* **1998**, *281*, 1646.
- [217] D. D. Davis. D. R. Kemp (Hrsg.) *Kirk- Othmer Encyclopedia of Chemistry and Technology*, Wiley, New York, **1991**.
- [218] Christina Harms, *Bachelorarbeit*, Universität Bielefeld, Bielefeld, **2016**.
- [219] a) Jie Jack Li, *Name Reactions*, 3. Aufl., Springer, Heidelberg, **2006**; b) Michael B. Smith, Jerry March, *March's Advanced Organic Chemistry*, 6. Aufl., John Wiley & Sons, Inc, New Jersey, **2007**; c) Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, Peter Wothers, *Organic Chemistry*, 1. Aufl., Oxford University Press Inc., Oxford, **2000**.
- [220] H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghänel, J. Faust, M. Fischer, F. Gentz, K. Gewalt, R. Gluch, R. Mayer et al., *Organikum*, 22. Aufl., WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, **2004**.
- [221] R. D. Clark, C. H. Heathcock, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 636.
- [222] W. Taylor, *J. Chem. Soc.* **1937**, 304.
- [223] Toshimasa Tanaka, Katsumi Yonemoto, Yasufumi Nakai, Gaku Yamamoto, Michinori Oki, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1988**, *61*, 3239.
- [224] P. Maillet, L. Bertin, T. Guyon, F. Thompson, J.-M. Ruxer, F. Pilorge, D. Benard, H. Minoux, C. Carrez, WO2006123061 A2, **2006**.
- [225] T. Noguchi, M. Sekine, Y. Yokoo, S. Jung, N. Imai, *Chem. Lett.* **2013**, *42*, 580.
- [226] Y.-X. Cheng, X. Luo, M. Tomaszewski, WO2007126362 (A1), **2007**.
- [227] N. K. Bhattacharyya, Satadru Jha, Sangeeta Jha, Tshering Yangden Bhutia and Gita Adhikary, *International Journal of Chemistry and Applications* **2012**, *4*, 295.
- [228] a) S. I. Stephan Enthaler, *Chemistry – An Asian Journal* **2012**, 169; b) S. Enthaler, M. Weidauer, *Catalysis Letters* **2011**, *141*, 1079; c) S. Zhou, D. Addis, S. Das, K. Junge, M. Beller, *Chem. Commun.* **2009**, 4883; d) S. Sueoka, T. Mitsudome, T. Mizugaki, K. Jitsukawa, K. Kaneda, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8243; e) P. A. Clarke, N. F. Hepfinger, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 3249; f) S. Zhou, K. Junge, D. Addis, S. Das, M. Beller, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2461.

- [229] a) Z. Shahsavari-Fard, A. R. Sardarian, *Journal of the Iranian Chemical Society* **2011**, 8, 204; b) S. S. Mahajan, A. Mahalakshmi, *Indian Journal of Chemistry* **2006**, Vol. 45B, 1299; c) C.-W. Kuo, J.-L. Zhu, J.-D. Wu, C.-M. Chu, C.-F. Yao, K.-S. Shia, *Chem. Commun.* **2007**, 301.
- [230] A. Michaelis, H. Siebert, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1893**, 274, 312.
- [231] M. D. Wittman, B. Balasubramanian, K. Stoffan, U. Velaparthi, P. Liu, S. Krishnanathan, J. Carboni, A. Li, A. Greer, R. Attar et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, 17, 974.
- [232] P. Maetz, M. Rodriguez, *Tetrahedron Letters* **1997**, 38, 4221.
- [233] G. A. Olah, S. C. Narang, G. F. Salem, *Synthesis* **1980**, 1980, 657.
- [234] A. R. Surrey, *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, 65, 2471.
- [235] R. B. Perni, G. W. Gribble, *Organic Preparations and Procedures International* **1983**, 15, 297.
- [236] a) B. B. Corson, R. W. Scott, C.E. Vose, *Organic Syntheses* **1930**, 10, 66; b) C. Gerhardt, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1858**, 108, 214.
- [237] J. Dumas, F. Malaguti, F. LeBlanc, *Annali di Chimica* **1847**, 64, 332.
- [238] F. Campagna, A. Carotti, G. Casini, *Tetrahedron Letters* **1977**, 18, 1813.
- [239] Albert A. Carr, Robert A. Farr, DE3031892 A1, **1980**.
- [240] S. A. Savage, G. S. Jones, S. Kolotuchin, S. A. Ramrattan, T. Vu, R. E. Waltermire, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, 13, 1169.
- [241] M. Castaldi, M. Baratella, I. G. Menegotto, G. Castaldi, G. B. Giovenzana, *Tetrahedron Letters* **2017**, 58, 3426.
- [242] Ludger Ernst, *¹³C-NMR Spektroskopie Eine Einführung*, 1. Aufl., Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt, **1980**.
- [243] A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 3849.
- [244] Rama P. Tripathi, Shyam S. Verma, Jyoti Pandey and Vinod K. Tiwari, *Current Organic Chemistry* **2008**, 12, 1093.
- [245] a) N. Fleury-Brégeot, de la Fuente, Verónica, S. Castellón, C. Claver, *ChemCatChem* **2010**, 2, 1346; b) S. Gomez, J. A. Peters, T. Maschmeyer, *Adv. Synth. Catal* **2002**, 344, 1037.
- [246] A. F. Abdel-Magid, S. J. Mehrman, *Org. Process Res. Dev.* **2006**, 10, 971.
- [247] A. W. Ingersoll, *Organic Syntheses* **1937**, 17, 76.
- [248] Y. Nakamura, K. Kon, A. S. Touchy, K.-i. Shimizu, W. Ueda, *ChemCatChem* **2015**, 7, 921.
- [249] R. O. Hutchins, M. K. Hutchins, *Comprehensive Organic Synthesis. Reduction of C=N to CHNH by Metal Hydrides*, Pergamon Press, New York, **1991**.
- [250] a) John C. Robinson, H. R. Snyder, *Organic Syntheses* **1943**, 23, 71; b) B. S. Biggs, W. S. Bishop, *Organic Syntheses* **1947**, 27, 18.
- [251] a) J. M. Lalancette, J. R. Brindle, *Can. J. Chem.* **1971**, 49, 2990; b) J. M. Khurana, G. Kukreja, *Synthetic Communications* **2002**, 32, 1265; c) S. Laval, W. Dayoub, A. Favre-Reguillon, M.

- Berthod, P. Demonchaux, G. Mignani, M. Lemaire, *Tetrahedron Letters* **2009**, *50*, 7005; d) R. F. Nystrom, *Journal of the American Chemical Society* **1955**, *77*, 2544.
- [252] Gillen Kevin James, Gillespie Jonathan, Jamieson Craig, Maclean John Kinnaird Ferguson, Moir Elizabeth Margaret, Rankovic Zoran, WO2010115952 A1, **2010**.
- [253] H.-I. Chiu, Y.-C. Lin, C.-Y. Cheng, M.-C. Tsai, H.-C. Yu, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2001**, *9*, 383.
- [254] N. J. Turner, J. R. Winterman, R. McCague, J. S. Parratt, S. J. Taylor, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 1113.
- [255] a) S. Akai, K. Tanimoto, Y. Kanao, M. Egi, T. Yamamoto, Y. Kita, *Angew. Chem. Int. Ed* **2006**, *45*, 2592; b) C. Kim, J. Lee, J. Cho, Y. Oh, Y. K. Choi, E. Choi, J. Park, M.-J. Kim, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 2571; c) S. Y. Lee, J. M. Murphy, A. Ukai, G. C. Fu, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 15149; d) M. Päiviö, D. Mavrynsky, R. Leino, L. T. Kanerva, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 1452; e) T. H. Riermeier, P. Gross, A. Monsees, M. Hoff, H. Trauthwein, *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 3403; f) Y. Sato, Y. Kayaki, T. Ikariya, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3635; g) Y. Zhu, K.-L. Fow, G.-K. Chuah, S. Jaenicke, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 541; h) M. Egi, K. Sugiyama, M. Saneto, R. Hanada, K. Kato, S. Akai, *Angew. Chem. Int. Ed* **2013**, *52*, 3654.
- [256] J. Paetzold, J. E. Bäckvall, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17620.
- [257] a) M.-J. Kim, W.-H. Kim, K. Han, Y. K. Choi, J. Park, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1157; b) F. Poulhès, N. Vanthuyne, M. P. Bertrand, S. Gastaldi, G. Gil, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7281; c) M. T. Reetz, K. Schimossek, *CHIMIA International Journal for Chemistry* **1996**, *50*, 668; d) L. K. Thalen, D. Zhao, J.-B. Sortais, J. Paetzold, C. Hoben, J.-E. Bäckvall, *Chemistry - A European Journal* **2009**, *15*, 3403; e) A. N. Parvulescu, E. van der Eycken, P. A. Jacobs, D. E. de Vos, *Journal of Catalysis* **2008**, *255*, 206.
- [258] Y. K. Choi, M. J. Kim, Y. Ahn, M.-J. Kim, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4099.
- [259] S. Escoubet, S. Gastaldi, N. Vanthuyne, G. Gil, D. Siri, M. P. Bertrand, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 3242.
- [260] a) B. P. Roberts, T. M. Smits, *Tetrahedron Letters* **2001**, *42*, 137; b) B. P. Roberts, T. M. Smits, *Tetrahedron Letters* **2001**, *42*, 3663; c) Y. Cai, H.-S. Dang, B. P. Roberts, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 2449; d) H.-S. Dang, B. P. Roberts, J. Sekhon, T. M. Smits, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1330; e) H.-S. Dang, B. P. Roberts, D. A. Tocher, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 4073; f) H.-S. Dang, B. P. Roberts, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 67; g) H.-S. Dang, B. P. Roberts, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 1161.
- [261] S. Gastaldi, S. Escoubet, N. Vanthuyne, G. Gil, M. P. Bertrand, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 837.
- [262] K. Ditrich, DE19606124 A1, **1996**.
- [263] H. Riechers, J. Simon, A. Höhn, A. Kramer, F. Funke, W. Siegel, C. Nübling, US6049007, **2000**.
- [264] H. Riechers, J. Simon, A. Höhn, A. Kramer, F. Funke, W. Siegel, C. Nübling, DE19852282 A1, **2000**.

- [265] H. Riechers, J. Simon, A. Höhn, A. Kramer, F. Funke, W. Siegel, C. Nübling, WO0047546 A1, **2000**.
- [266] V. Zimmermann, M. Beller, U. Kragl, *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 622.
- [267] Dario Duwe, *Bachelorarbeit*, Universität Bielefeld, Bielefeld, **2017**.
- [268] I. Kaljurand, A. Kütt, L. Sooväli, T. Rodima, V. Mäemets, I. Leito, I. A. Koppel, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1019.
- [269] R. Schwesinger, H. Schlemper, *Angewandte Chemie* **1987**, *99*, 1212.
- [270] R. Schwesinger, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1990**, *38*, 1214.
- [271] A. Pace, P. Pierro, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 4337.
- [272] J. Boström, A. Hogner, A. Llinàs, E. Wellner, A. T. Plowright, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1817.
- [273] Ziga Jakopin and Marija Sollner Dolenc, *Current Organic Chemistry* **2008**, *12*, 850.
- [274] a) G.-B. Liang, D. D. Feng, *Tetrahedron Letters* **1996**, *37*, 6627; b) T. L. Deegan, T. J. Nitz, D. Cebzanov, D. E. Pufko, J. A. Porco, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 209; c) Alan R. Katritzky, Aleksandr A. Shestopalov, Kazuyuki Suzuki, *ARKIVOC* **2005**, *2005*, 36.
- [275] W. Wu, L. Ma, L. Zhang, Y. Lu, F. Guo, Q. Zheng, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1527.
- [276] a) M. Kmetič, B. Stanovnik, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2009**, *34*, 1705; b) J. E. Johnson, D. Nwoko, M. Hotema, N. Sanchez, R. Alderman, V. Lynch, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1996**, *33*, 1583; c) Srivastava R.M., de Morais† Lecia P. F., Catanho Maria T. J. A., de Souza Grace M. L., Seabra G.M., Simas Alfredo M., Rodrigues Marcos A. L., *Heterocyclic Communications* **2000**, *6*, 41; d) R. M. Srivastava, A. de Almeida Lima, O. S. Viana, da Costa Silva, Marcelo J, M. T. Catanho, de Morais, José Otamar F, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2003**, *11*, 1821.
- [277] a) J. Kaffy, R. Pontikis, D. Carrez, A. Croisy, C. Monneret, J.-C. Florent, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14*, 4067; b) R. Neidlein, S. Li, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1996**, *33*, 1943; c) R. Neidlein, W. Kramer, S. Li, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2009**, *35*, 161; d) D. N. Nicolaidis, K. C. Fylaktakidou, K. E. Litinas, D. Hadjipavlou-Litina, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1996**, *33*, 967; e) A. H. Moustafa, *Synthesis* **2003**, *2003*, 837.
- [278] a) P. Quadrelli, A. G. Invernizzi, M. Falzoni, P. Caramella, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 1787; b) S. Buscemi, A. Pace, N. Vivona, *Tetrahedron Letters* **2000**, *41*, 7977; c) J. Suwiński, K. Świerczek, P. Wagner, M. Kubicki, T. Borowiak, J. Stowikowska, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2009**, *40*, 523; d) Y.-X. Zhang, K. Sasaki, T. Hirota, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2009**, *36*, 787.
- [279] A. Voros, Z. Mucsi, Z. Baan, G. Timari, I. Hermeicz, P. Mizsey, Z. Finta, *Organic & biomolecular chemistry* **2014**, *12*, 8036.
- [280] a) R. Sheng, S. Li, G. Lin, S. Shangguan, Y. Gu, N. Qiu, J. Cao, Q. He, B. Yang, Y. Hu, *RSC Adv* **2015**, *5*, 81817; b) J. Cai, H. Wei, K. H. Hong, X. Wu, M. Cao, X. Zong, L. Li, C. Sun, J. Chen, M. Ji, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *96*, 1; c) D. Flesch, M. Gabler, A. Lill, R.

- C. Gomez, R. Steri, G. Schneider, H. Stark, M. Schubert-Zsilavec, D. Merk, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2015**, *23*, 3490.
- [281] a) U. S. Chemical Safety and Hazard Investigation Board: Washington, DC **2002**, *The Explosion at Concept Sciences*; b) M. Reisch, *Chemical and Engineering News* **1999**, *77*, 11; c) Business Concentrates, *Chemical and Engineering News* **2000**, *78*, 15; d) Q. Wang, C. Wei, L. M. Pérez, W. J. Rogers, M. B. Hall, M. S. Mannan, *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 9262.
- [282] Nils Weißing, *Bachelorarbeit*, Universität Bielefeld, Bielefeld, **2016**.
- [283] G. Schmidt, M. H. Bolli, C. Lescop, S. Abele, *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 1637.
- [284] A. Vörös, Z. Baán, P. Mizsey, Z. Finta, *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 1717.
- [285] S. Chiou, H. J. Shine, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1989**, *26*, 125.
- [286] a) T. Senthamarai, K. Murugesan, J. Schneidewind, N. V. Kalevaru, W. Baumann, H. Neumann, P. C. J. Kamer, M. Beller, R. V. Jagadeesh, *Nature communications* **2018**, *9*, 4123; b) E. S. D. Enders (Hrsg.) *Science of Synthesis: Houben-Weyl methods of molecular transformation. Category 5: Compounds with One Saturated Carbon-Heteroatom Bond*, Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, **2009**.
- [287] R. A. Sheldon, *Green Chem* **2017**, *19*, 18.
- [288] a) Cornelius, Lyndon A. M., D. W. Combs, *Synthetic Communications* **1994**, *24*, 2777; b) B. Gómez-Lor, Ó. de Frutos, P. A. Ceballos, T. Granier, A. M. Echavarren, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001*, 2107.
- [289] Stadtreinigung Hamburg, "Gewerbliche Sonderabfälle", **2015**.
- [290] F. G. Mutti, T. Knaus, N. S. Scrutton, M. Breuer, N. J. Turner, *Science* **2015**, *349*, 1525.
- [291] F. Uthoff, A. Reimer, A. Liese, H. Gröger, *Sustainable Chemistry and Pharmacy* **2017**, *5*, 42.
- [292] Jana Löwe, Florian Uthoff, Christina Harms, Kai Donsbach, Harald Gröger, EP18167058.9, **2018**.
- [293] M. D. Truppo, H. Strotman, G. Hughes, *ChemCatChem* **2012**, *4*, 1071.
- [294] Y. Xie, H. Pan, X. Xiao, S. Li, Y. Shi, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8960.
- [295] G. Hou, F. Gosselin, W. Li, McWilliams, J. Christopher, Y. Sun, M. Weisel, P. D. O'Shea, C.-y. Chen, I. W. Davies, X. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9882.
- [296] J. Bálint, J. Schindler, G. Egri, M. Hanusz, K. Marthi, Z. Juvancz, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3401.
- [297] D. Guijarro, Ó. Pablo, M. Yus, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5265.
- [298] L. M. Klingensmith, K. A. Nadeau, G. A. Moniz, *Tetrahedron Letters* **2007**, *48*, 4589.
- [299] C. E. Paul, M. Rodríguez-Mata, E. Busto, I. Lavandera, V. Gotor-Fernández, V. Gotor, S. García-Cerrada, J. Mendiola, Ó. de Frutos, I. Collado, *Org. Process Res. Dev.* **2013**, *18*, 788.
- [300] X. Xiong, X. Xu, Y. Zhou, C. Weng, *Russ J Gen Chem* **2013**, *83*, 2402.
- [301] Frank Eldridge Lovering, Steven John Kirincich, Jean-baptiste Telliez, Lynn Resnick, Joan E. Sabalski, Annette L. Banker, John Butera, Iain McFadyen, WO2009012375 A2, **2007**.

- [302] M. J. Burk, Y. M. Wang, J. R. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5142.
- [303] X.-M. Zhou, J.-D. Huang, L.-B. Luo, C.-L. Zhang, Z. Zheng, X.-P. Hu, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 420.
- [304] T. Imamoto, T. Itoh, K. Yoshida, I. D. Gridnev, *Chemistry – An Asian Journal* **2008**, *3*, 1636.
- [305] I. D. Gridnev, M. Yasutake, N. Higashi, T. Imamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5268.
- [306] G. Li, J. C. Antilla, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1075.
- [307] R. J. Abraham, M. Canton, L. Griffiths, *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, 421.
- [308] R. J. Abraham, M. Mobli, R. J. Smith, *Magn. Reson. Chem.* **2003**, *41*, 26.
- [309] I. Schnapperelle, W. Hummel, H. Gröger, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 1073.
- [310] F. Ke, Z. Li, H. Xiang, X. Zhou, *Tetrahedron Letters* **2011**, *52*, 318.
- [311] C. M. Vanos, T. H. Lambert, *Angew. Chem. Int. Ed* **2011**, *50*, 12222.
- [312] K. J. Mickelsen, C. M. Tadj, K. R. Greenwood, C. C. Browder, *Synthetic Communications* **2011**, *42*, 186.
- [313] C. Guyon, M. Baron, M. Lemaire, F. Popowycz, E. Métay, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 2088.
- [314] A. D. Chowdhury, R. Ray, G. K. Lahiri, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5497.
- [315] G. Zhang, X. Han, Y. Luan, Y. Wang, X. Wen, C. Ding, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7908.
- [316] C. R. Smith, T. V. RajanBabu, *Advances in Green Chemistry* **2010**, *66*, 1102.
- [317] J. Ruan, X. Li, O. Saidi, J. Xiao, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2424.
- [318] a) S.-F. Hsu, B. Plietker, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 4242; b) H. Wang, L. Li, X.-F. Bai, J.-Y. Shang, K.-F. Yang, L.-W. Xu, *Adv. Synth. Catal* **2013**, *355*, 341.
- [319] W.-B. Pan, F.-R. Chang, L.-M. Wei, M.-J. Wu, Y.-C. Wu, *Tetrahedron Letters* **2003**, *44*, 331.
- [320] G.-Q. Chen, Z.-J. Xu, C.-Y. Zhou, C.-M. Che, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 10963.
- [321] H. Zhang, L. Fu, *Synthetic Communications* **2013**, *44*, 610.
- [322] H. C. Maytum, B. Tavassoli, Williams, Jonathan M. J., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4387.
- [323] a) J. Chiba, S. Iimura, Y. Yoneda, T. Watanabe, F. Muro, M. Tsubokawa, Y. Iigou, A. Satoh, G. Takayama, M. Yokoyama et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, *15*, 1679; b) Y. Wang, H. Zhao, Z. Hu, M. Kimura, Z. Zhiqiang, L. Peng, K. Hiratsuka, *Synthesis* **2011**, *2011*, 287.
- [324] H. L. Ngo, W. Lin, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1177.
- [325] S. M. Podhajsky, M. S. Sigman, *Organometallics* **2007**, *26*, 5680.
- [326] A. Dutta Chowdhury, G. Kumar Lahiri, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3448.
- [327] N. Yamamoto, Y. Obora, Y. Ishii, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2937.
- [328] E. Alacid, C. Nájera, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8191.
- [329] Castro, Luis C. Misal, D. Bézier, J.-B. Sortais, C. Darcel, *Adv. Synth. Catal* **2011**, *353*, 1279.
- [330] a) U. Azzena, L. Pilo, A. Sechi, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 12389; b) Z. Li, W. Zhu, J. Bao, X. Zou, *Synthetic Communications* **2013**, *44*, 1155.
- [331] N. S. Hatzakis, I. Smonou, *Bioorganic Chemistry* **2005**, *33*, 325.
- [332] Y.-D. Du, C.-W. Tse, Z.-J. Xu, Y. Liu, C.-M. Che, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 12669.

- [333] S. Baader, D. M. Ohlmann, L. J. Gooßen, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 9807.
- [334] F. J. Fañanás, M. Álvarez-Pérez, F. Rodríguez, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 5938.
- [335] I. Kim, C. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed* **2013**, *52*, 10023.
- [336] D. Nepak, S. Darbha, *Catalysis Communications* **2015**, *58*, 149.
- [337] a) D. T. Genna, G. H. Posner, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5358; b) A. Sinha, Wahidur Rahaman, S. M., M. Sarkar, B. Saha, P. Daw, J. K. Bera, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 11114; c) A. Bonetti, F. Clerici, F. Foschi, D. Nava, S. Pellegrino, M. Penso, R. Soave, M. L. Gelmi, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 3203; d) V. Polshettiwar, R. S. Varma, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 37.
- [338] L. Sun, G. Peng, H. Niu, Q. Wang, C. Li, *Synthesis* **2008**, *2008*, 3919.
- [339] G. A. Molander, K. M. Traister, T. Barcellos, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 4123.
- [340] D. F. Taber, C. G. Nelson, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8973.
- [341] L. Mahendar, G. Satyanarayana, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 2059.
- [342] A. S. Jones, J. F. Paliga, M. D. Greenhalgh, J. M. Quibell, A. Steven, S. P. Thomas, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 5964.
- [343] D. P. DeCosta, A. K. Bennett, J. A. Pincock, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3785.
- [344] R. W. Hartmann, H. Buchborn, G. Kranzfelder, H. Schoenenberger, A. E. Bogden, *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 1192.
- [345] T. Pesnot, M. C. Gershater, J. M. Ward, H. C. Hailes, *Adv. Synth. Catal* **2012**, *354*, 2997.
- [346] a) A. Srikrishna, R. Viswajanani, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 3339; b) M. A. Tandiyary, Y. Masui, M. Onaka, *Synlett* **2014**, *25*, 2639.
- [347] National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, "Spectral Database for Organic Compounds, SDBS".
- [348] W. Wang, J. Wang, H. Li, *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44*, 1369.
- [349] Y. Akbaba, A. Akincioğlu, H. Göçer, S. Göksu, İ. Gülçin, C. T. Supuran, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2014**, *29*, 35.
- [350] L. Dong, S. Aleem, C. A. Fink, *Tetrahedron Letters* **2010**, *51*, 5210.
- [351] F. Genrich, G. Harms, E. Schaumann, M. Gjika, G. Adiwidjaja, *Recent Advances in Organosilicon Chemistry directed towards Organic Synthesis* **2009**, *65*, 5577.
- [352] T. Krumm, K. Bandemer, W. Boland, *FEBS letters* **1995**, *377*, 523.
- [353] P. Tang, T. Furuya, T. Ritter, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12150.
- [354] C. Sun, P. Qu, F. Li, *Catal. Sci. Technol.* **2014**, *4*, 988.
- [355] Pretsch, E., Bühlmann, P., Badertscher, M., *Structure Determination of Organic Compounds*, Springer Berlin Heidelberg, **2009**.
- [356] S. Enthaler, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 9316.
- [357] Y.-H. Li, X.-L. Liu, Z.-T. Yu, Z.-S. Li, S.-C. Yan, G.-H. Chen, Z.-G. Zou, *Dalton Trans* **2016**, *45*, 12400.

-
- [358] C. Fang, M. Li, X. Hu, W. Mo, B. Hu, N. Sun, L. Jin, Z. Shen, *Adv. Synth. Catal.* **2016**, 358, 1157.
- [359] G. Maestri, T. Cañeque, N. Della Ca', E. Derat, M. Catellani, G. P. Chiusoli, M. Malacria, *Org. Lett.* **2016**, 18, 6108.
- [360] C.-C. Lin, T.-H. Hsieh, P.-Y. Liao, Z.-Y. Liao, C.-W. Chang, Y.-C. Shih, W.-H. Yeh, T.-C. Chien, *Org. Lett.* **2014**, 16, 892.
- [361] H. Yu, S. Ru, Y. Zhai, G. Dai, S. Han, Y. Wei, *ChemCatChem* **2018**, 27, 279.

12. Anhang

Tabelle 40: Datengrundlage für die Berechnung der relativen Preise in Kapitel 8.4.

	mmol	g	mL	Preis/Kaufmasse [€]	Preis/g [€] kommerziell	Preis/g [€] bei eigener Herstellung	Preis/mol [€]	Berücksichtigte Ausbeute
Naphthalinreduktion								
Naphthalin 56	1000	128.17	110.30	89.719	0.7		853.00	
Natrium	3000	120	123.71	4948.45	40		23.36	
t-BuOH	3000	222.36	284.71	22.23	0.04		0	75%
Et ₂ O	6.51	553.61	416.25	8.32	0.02		8.32	
Kaliumtertbutylat	200	22.4			0.02			
Ringöffnung								
1,2-Dihydronaphthalin 55	999	130.05	130.45	2341.07	18	6.49	853.00	
Kaliumpermanganat	3696.3	584.12	216.34	23.36	0.04		23.36	
Wasser	925	16650	16650				0	
Dichlormethan	6.518456376	553.61	416.25	8.32	0.02		8.32	75%
Natriumhydroxid	6993	279.69	131.31	11.18	0.04		11.18	
konz. Salzsäure	7092.9	bei konz. HCl	591.07	8.86	0.015		8.86	
3-(2-Carboxyphenyl)propionsäure 106	998.04	193.80	-	19380.05	100	4.619666603	1205.08	50%
Schwefelsäure	162.68	15955.8	8700	378.95	0.02		378.95	

	mmol	g	mL	Preis/Kaufmasse [€]	Preis/g [€] kommerziell	Preis/g [€] bei eigener Herstellung	Preis/mol [€]	Berücksichtigte Ausbeute
Wasser		14500		19759.00			3168.07	
4-Carboxy-1-indanon 107	999.03	176	127.4 43	29920	170	7.24	3168.07	
Chlorameisensäureethylester	1498.55	162.62	142.6 1	19.61	0.12		19.61	
THF	54257.10	3912.48	4400	165	0.0375		165	80%
Triethylamin	1498.55	151.63	209.0 1	0.004	0.00002276		0.004	
Ammoniak konz. In Wasser	64591.89	4400	4400	29.92	0.0068		29.92	
4-Amido-1-indanon 114	1000.85	175.32	155.1 5	159549.34	910	8.49	4231.85	
Phosphorpentoxid	1000.85	142.08	61.77	4.26	0.03		4.26	
Toluol		570.05	657.5	9.20	0.014		9.20	90%
Cyanurchlorid	250.21	46.14	24.03	3.55	0.077		3.55	
DMF		657.5	657.5	9.66	0.0147		9.66	
4-Cyano-1-Indanon 31	999.4	157.07	127.7 0	31415.13	200	9.65	4728.87	
Hydroxylaminhydrochlorid	1499.1	104.17	62.37	31.25	0.3		31.25	
Ethanol		2630	2630	26.3	0.01		26.3	
4-Cyano-1-Ketoximindan 154	1000.92	172.21		174854.69	1015.30	9.14	4939.00	450 mmol
Zink	5004.6	327.25		6.16	0.01		6.16	
Essigsäure		2634	2634	70.09	0.02		70.09	
4-Cyano-1-Aminoindan <i>rac</i> - 51	999.9	158.18	135.2 0	39546.04	250	10.43	15196.22	
Ethylmethoxyacetat	999.9	118.11	117.2 9	39.36	0.33		39.36	95% beide enantiomere
Isopropylmethoxyacetat	999.9	132.14	137.7 9				0	

	mmol	g	mL	Preis/Kaufmasse [€]	Preis/g [€] kommerziell	Preis/g [€] bei eigener Herstellung	Preis/mol [€]	Berücksichtigte Ausbeute
CAL-B		39.99		863.91	21.6		863.91	
Toluol		19221.45	16665	233.31	0.01		233.31	
<i>(R)</i> -4-Cyano-1-methoxyacetamid 105	1000	230.11		57527.5	250	12.11	18097.30	
Hydrazin Hydrat	32920.49	2060	2000	50	0.025		50	95%
Ethanol		3946.5	5000	50	0.01		50	
<i>(R)</i> -4-Cyano-1-aminoindan 51	1000	158.2	135.2 1	39550	250	18.25	19155.05	
4-Cyano-1-indanon 31	100	15.71	12.77	3143.4	200	9.65	473.17	90%
DBU	100	15.22	14.95	8.76	0.57		8.76	