

**NEUE BIOAKTIVE NATURSTOFFE: STRUKTURAUFKLÄRUNG,
BIOSYNTHESE UND SYNTHESE**

SOWIE

**STEREOCHEMISCHE ANALYSE VON NATURSTOFFEN UND
SYNTHETISCHEN VERBINDUNGEN DURCH HPLC-CD**

Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Tobias Alexander Marius Gulder
aus Regensburg

Würzburg 2008

Eingereicht am: _____

bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter: _____

2. Gutachter: _____

der Dissertation

1. Prüfer: _____

2. Prüfer: _____

3. Prüfer: _____

des Öffentlichen Promotionskolloquiums

Tag des Öffentlichen Promotionskolloquiums: _____

Doktorurkunde ausgehändigt am: _____

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von März 2004 bis Februar 2008
am Institut für Organische Chemie der Universität Würzburg angefertigt

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. G. Bringmann danke ich für
die ständige Unterstützung bei der Durchführung der interdisziplinären Arbeiten,
die gewährten wissenschaftlichen Freiräume
und die exzellenten Arbeitsbedingungen.

Teile der im Rahmen dieser Arbeit erzielten Ergebnisse waren bereits Gegenstand von
Patenten^[247,248] und Publikationen^[107,130,131,153,184,193,211,244,245,289,315-319,335,336,340] sowie von
Posterpräsentationen und Vorträgen.

FÜR TANJA

"Es könnt' alles so einfach sein, isses aber nicht"

Die Fantastischen Vier (2007)

INHALTSVERZEICHNIS

ALLGEMEINER TEIL	1
1 Einleitung	1
2 Entwicklung von Wirkstoffen aus dem Meer – eine Einschätzung	6
3 Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese isoprenoider Naturstoffe	13
3.1 Online-Strukturaufklärung von Secohyperforin (40) aus <i>Hypericum perforatum</i>	13
3.2 Aufklärung der Stereostruktur und der Biosynthese isoprenoider Metabolite aus <i>Streptomyces cinnamomensis</i> DSM 1042	18
3.2.1 Isolierung und Verifizierung der Strukturen von FNQ I (41) und Endophenazin A (42)	19
3.2.2 Untersuchungen zur Biosynthese von FNQ I (41) und Endophenazin A (42)	21
4 Aufklärung der Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide	28
4.1 Vergleichende Biosynthese-Studie zur Polyketid-Faltung von Chrysophanol (53a) in Pro- und Eukaryonten	34
4.1.1 NMR-spektroskopische Analyse des Faltungsmodus von Chrysophanol (53a) im Pilz <i>Drechslera catenaria</i>	34
4.1.2 NMR-spektroskopische Analyse des Faltungsmodus von Chrysophanol (53a) im Blattkäfer <i>Galeruca tanacetii</i>	35
4.1.3 NMR-spektroskopische Analyse des Faltungsmodus von Chrysophanol (53a) im Bakterium <i>Nocardia Acta</i> 1057	37
4.1.4 Fazit aus der komparativen Biosynthese-Studie an Chrysophanol (53a)	39
4.2 Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide in <i>Streptomyces</i> AK-671	40
4.2.1 Isolierung und Charakterisierung der Sekundärstoffe aus AK-671	42
4.2.2 Studien zur Biosynthese von Prächrysophanol-8- <i>O</i> -Glucuronsäure (68b) und Chrysophanol-8- <i>O</i> -Glucuronsäure (53b) in AK-671	48
5 Gewinnung neuer Wirkstoffe aus marinen Organismen	52
5.1 Synthese des neuroprotektiven Pyrrol-Alkaloids Daminin (18)	52
5.2 Darstellung stark vereinfachter Derivate des Biofilm-Hemmstoffes Tajixanthonhydrat (16)	54
5.3 Untersuchungen zur Struktur, Biosynthese und Synthese des antileukämischen	

	Wirkstoffes Sorbicillacton A (17)	67
5.3.1	Untersuchungen zur Biosynthese von Sorbicillacton A (17)	69
5.3.2	Studien zur biomimetischen Totalsynthese von Sorbicillacton A (17)	83
5.3.3	Alternative Synthese-Routen zur Darstellung von Sorbicillacton A (17)	92
5.4	Isolierung und Charakterisierung neuer Macrolactame aus marinen Mikroorganismen	106
6	Stereochemische Analyse von Naturstoffen und synthetischen Verbindungen durch HPLC-CD-Kopplung	112
6.1	Stereochemische Analyse der Parvistemine A-D (277-280), neuer dimerer Phenylethylbenzochinone aus <i>Stemona parviflora</i> Wright	113
6.2	Stereochemische Untersuchung neuartiger axial-chiraler Quateraryle	118
6.3	Stereochemische Analyse neuartiger, intrinsisch axial-chiraler β,β -verknüpfte Bisporphyrine	121
6.4	<i>Meso versus C₁</i> : Stereochemische Analyse von axial-chiralen, konfigurativen jedoch semi-stabilen Bis[10]paracyclophanen	126
7	Zusammenfassung	131
8	Summary	138
	EXPERIMENTELLER TEIL	145
1	Allgemeines	145
1.1	Verwendete Apparaturen und Messgeräte	145
1.2	Chromatographische Methoden	147
1.3	Chemikalien	150
2	Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese isoprenoider Naturstoffe	150
2.1	Online-Strukturaufklärung von Secohyperforin (40) aus <i>Hypericum perforatum</i>	150
2.2	Aufklärung der Stereostruktur und der Biosynthese isoprenoider Metabolite aus <i>Streptomyces cinnamonensis</i> DSM 1042	152
2.2.1	Ausarbeitung einer Methode zur Isolierung von FNQ I (41) und Endophenazin A (42)	152
2.2.2	Isolierung von FNQ I (41) und Endophenazin A (42) aus den Fütterungsexperimenten	154

3	Aufklärung der Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide	157
3.1	Vergleichende Biosynthese-Studie zur Polyketid-Faltung von Chrysophanol (53a) in Pro- und Eukaryonten	157
3.2	Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide in <i>Streptomyces</i> AK-671	158
4	Gewinnung neuer Wirkstoffe aus marinen Organismen	165
4.1	Synthese des neuroprotektiven Pyrrol-Alkaloids Daminin (18)	165
4.2	Darstellung stark vereinfachter Derivate des Biofilm-Hemmstoffes Tajixanthonhydrat (16)	167
4.3	Untersuchungen zur Struktur, Biosynthese und Synthese des antileukämischen Wirkstoffes Sorbicilacton A (17)	202
4.4	Isolierung und Charakterisierung neuer Macrolactame aus marinen Mikroorganismen	240
5	Stereochemische Analyse von Naturstoffen und synthetischen Verbindungen durch HPLC-CD-Kopplung	242
5.1	Stereochemische Analyse der Parvistemine A-D (277-280), neuer Phenylethylbenzochinone aus <i>Stemona parviflora</i> Wright	242
5.2	Stereochemische Untersuchung neuartiger axial-chiraler Quarteraryle	242
5.3	Stereochemische Analyse neuartiger, intrinsisch axial chiraler β,β -verknüpfter Bisporphyrine	243
5.4	<i>Meso versus CI</i> : Stereochemische Analyse von axial-chiralen, konfigurativen jedoch semi-stabilen Bis[10]paracyclophanen	244
	LITERATUR	245

ALLGEMEINER TEIL

1 Einleitung

Seit Jahrtausenden verwenden Menschen Naturstoffe in Form von Extrakten aus Pflanzen und Tieren als Duft- und Farbstoffe, als wirksame Gifte, z.B. bei der Jagd, sowie zur Heilung von Krankheiten und zur Linderung von Schmerzen. Eines der frühesten schriftlichen Zeugnisse des Gebrauches von pflanzlichen Inhaltsstoffen in der Medizin stammt bereits aus dem 4. Jahrhundert vor Christus.^[1] Beschrieben wird dort die Anwendung von Extrakten aus der Weidenrinde als Schmerzmittel. Inzwischen ist bekannt, dass der pharmakologisch aktive Bestandteil dieses frühen Analgetikums das Salicin (**1**)^[2] ist, dessen besser verträgliches synthetisches Derivat, Acetylsalicylsäure (**2**), das bis heute meist verkaufte Schmerzmittel^[3] ist (Abb. 1). Die Ureinwohner Südamerikas nutzten in ähnlicher Weise die Inhaltsstoffe des Chinarindenbaumes zur Behandlung von fieberigen Infektionskrankheiten. Der in diesem Baum enthaltene Wirkstoff Chinin (**3**) wurde schließlich das erste – und lange Zeit wichtigste – Medikament gegen Malaria.^[4]

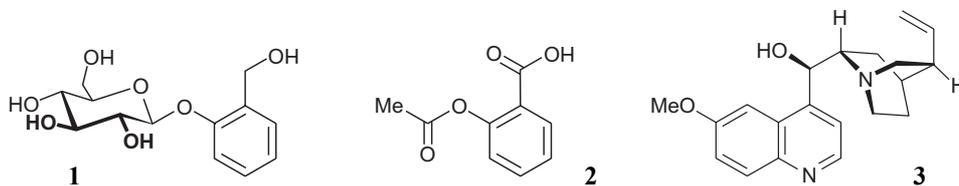


Abb. 1. Strukturen der medizinisch genutzten Naturstoffe und Naturstoff-Derivate Salicin (**1**), Acetylsalicylsäure (**2**) und Chinin (**3**).

Der traditionelle Gebrauch von verschiedensten Extrakten in der Medizin findet seine Fortsetzung in der Suche und Entwicklung von Arzneistoffen in Pharma-Unternehmen und universitären Forschungseinrichtungen. Die Entdeckung des antibiotischen Penicillins G (**4**, Abb. 2) aus *Penicillium notatum* durch A. Fleming,^[5] die Untersuchungen zur Wirksamkeit dieses β -Lactams durch Chain und Florey^[6,7] und die Kommerzialisierung von synthetischen Penicillinen revolutionierte schließlich die moderne Pharma-Industrie.^[8] Der Fokus lag nun auf der Untersuchung der Sekundärstoffe großer Stamm-Sammlungen terrestrischer Mikroorganismen (Pilze und Bakterien). Dies führte zur Entdeckung einer Vielzahl weiterer wichtiger

Leitstrukturen für moderne Medikamente, wie z.B. des antibiotischen Tetracyclins **5**,^[9] oder des antimykotischen Nystatins A₁ (**6**).^[10]

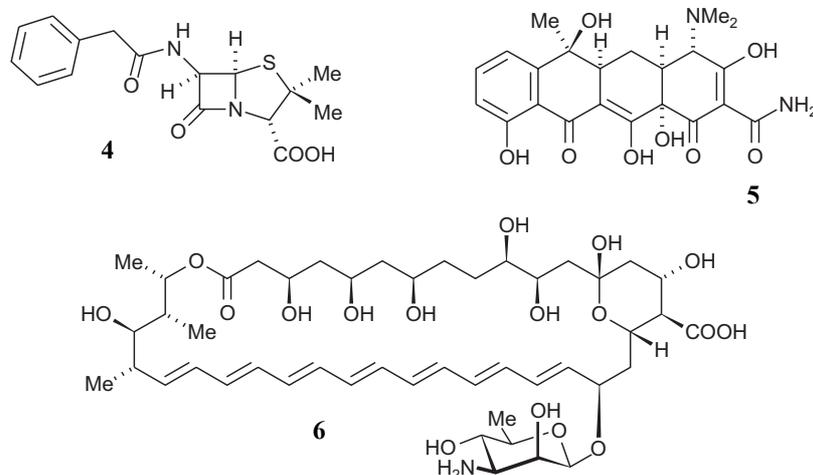


Abb. 2. Die antibiotischen Naturstoffe Penicillin G (**4**), Tetracyclin (**5**) und Nystatin A₁ (**6**).

Dieser große Erfolg bei der Anwendung biologisch aktiver Metabolite wird dokumentiert durch den hohen prozentualen Anteil natürlicher oder Naturstoff-abgeleiteter Wirkstoffe in der modernen Humanmedizin.^[11,12] Durchschnittlich kommen mehr als 50% aller in den letzten 25 Jahren zugelassenen Medikamente direkt aus der Natur, oder es sind Substanzen, die basierend auf der Struktur eines Naturstoffes entwickelt wurden.^[13] Im Bereich der Behandlung von Infektionskrankheiten und in der Krebstherapie ist diese Zahl zum Teil noch wesentlich höher. Dies ist umso erstaunlicher, wenn man berücksichtigt, dass in jüngster Zeit die Mehrzahl der großen Pharma-Unternehmen die Erforschung von Naturstoffen nahezu komplett zugunsten der kombinatorischen Chemie eingestellt haben, obwohl seit Einführung dieses neuen Ansatzes daraus nur eine einzige Substanz erfolgreich hervorging, nämlich das antitumorale Sorafenib (**7**, Abb. 3).^[14] Der Hauptgrund für die Abwendung der Pharma-Forschung vom klassischen Naturstoff-Screening trotz der Entdeckung extrem potenter Wirkstoffe auch in jüngster Zeit, wie z.B. des antiplasmodialen Artemisinin (**8**)^[15] oder des antibakteriellen Platensimycins (**9**),^[16,17] ist das immer größer werdende Problem der Mehrfachisolierung. Aufgrund der jahrzehntelangen intensiven Untersuchung terrestrischer Organismen sind inzwischen eine Vielzahl der daraus zum Teil mühevoll gewonnenen Sekundärstoffe bekannt oder nur einfache Derivate bereits beschriebener Strukturen.

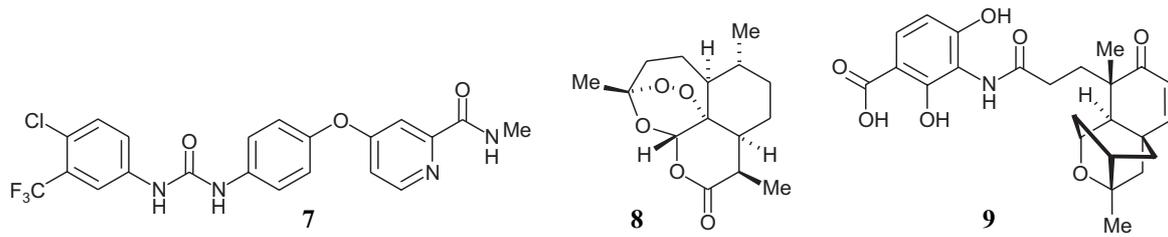


Abb. 3. Strukturen des antitumoralen Sorafenibs (Nexavar[®], 7), des antiplasmodialen Artemisinins (8) und des neuartigen antibakteriellen Platensimycins (9).

Ein Ansatz zur Lösung dieses Problems ist die Erforschung von Organismen aus bisher wenig untersuchten Lebensräumen. Die Entwicklung moderner Tauchgeräte in den sechziger Jahren führte zur Erschließung einer solchen nahezu unerschöpflichen Quelle interessanter Lebewesen, des marinen Habitats. Besonders interessant waren dabei zunächst vor allem sessile Makroorganismen wie Schwämme (Porifera), Mantel- (Tunikaten) oder Nesseltiere (Hydrozoen). Die sessile Lebensweise dieser Organismen musste im Laufe der Evolution zwangsläufig zur Entwicklung eines hochpotenten Arsenal an chemischen Abwehrstoffen führen, z.B. zum Schutz vor Fraßfeinden und Infektionen. Dies bestätigte sich durch die Isolierung einer großen Vielfalt biologisch stark aktiver Sekundärstoffe aus marinen Invertebraten, vor allem aus Schwämmen. Beispiele hierfür sind das antitumorale Halichondrin B (10) aus *Halichondria okadai*,^[18,19] das entzündungshemmende Palauolol (11)^[20] aus einem Schwamm der Gattung *Fascaplysinopsis* und das aus *Discodermia dissoluta* gewonnene Discodermolid (12, Abb. 4).^[21]

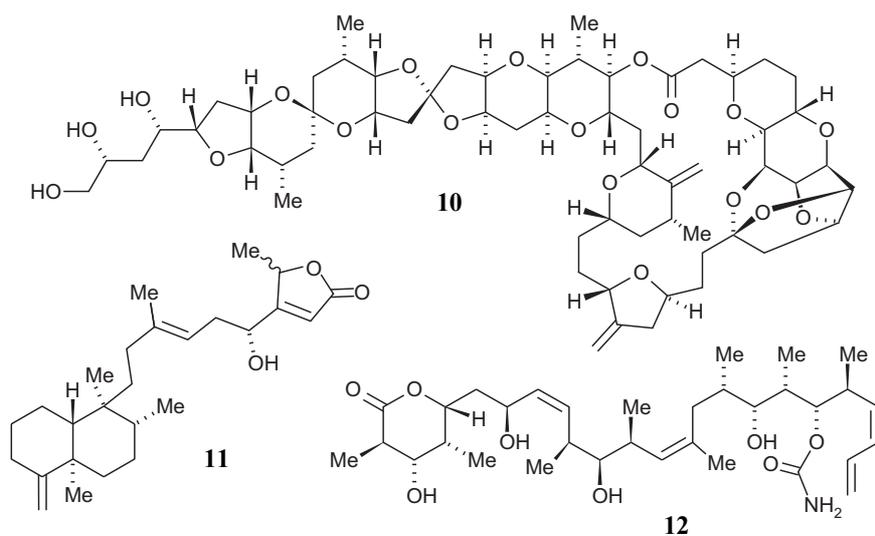


Abb. 4. Hochpotente Wirkstoffe aus marinen Schwämmen: Halichondrin B (10), Palauolol (11) und Discodermolid (12).

Ähnlich wie schon in der Vergangenheit bei der Erforschung terrestrischer Organismen rücken in den letzten Jahren auch bei der Untersuchung mariner Lebewesen die Mikroorganismen immer mehr in den Vordergrund des Forschungsinteresses, vor allem weil Pilze und Bakterien zum Teil im Labor kultivierbar sind und daher der Nachschub an Biomasse durch Fermentation gesichert werden kann. Auch aus dieser Naturstoffquelle wurden in den letzten Jahren bereits unzählige vielversprechende Substanzen gewonnen, wie etwa das cytotoxische Alkaloid Alteramid A (**13**),^[22] das antifungale Tanikolid (**14**)^[23] und das antivirale Halovir A (**15**, Abb. 5).^[24]

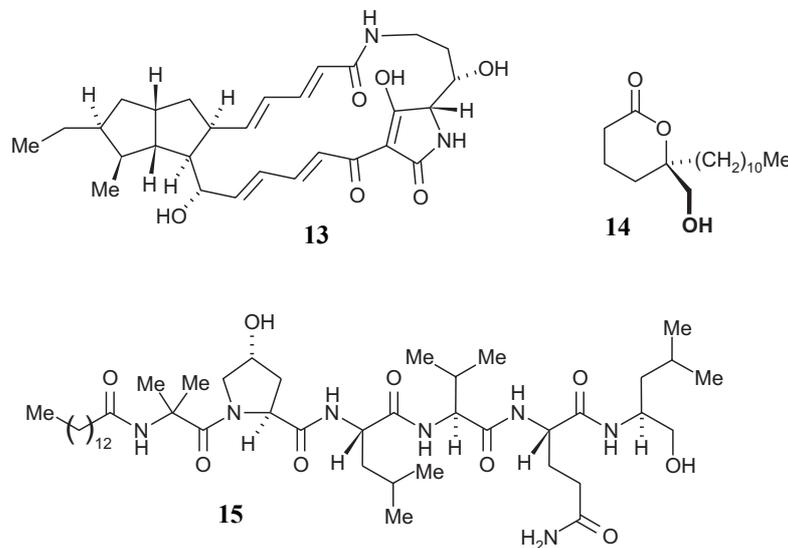


Abb. 5. Biologisch aktive Sekundärstoffe aus marinen Mikroorganismen: Alteramid A (**13**), Tanikolid (**14**) und Halovir A (**15**).

Die Gewinnung von neuartigen Sekundärstoffen aus natürlichen Quellen für die medizinische Anwendung ist ein Ziel, das auch in unserer Arbeitsgruppe, z.B. im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 630 ('Erkennung, Gewinnung und funktionelle Analyse von Wirkstoffen gegen Infektionskrankheiten') und des vom BMBF geförderten Verbundprojektes *BIOTECmarin* ('Nachhaltige Nutzung mariner Schwämme') verfolgt wird. Die Anwendung der in unserer Gruppe entwickelten 'analytischen Triade' HPLC-MS/MS-NMR-CD^[25,26] in Kombination mit quantenchemischen CD-Rechnungen^[27,28] erlaubt uns dabei die Bestimmung von Konstitution und räumlicher Struktur neuartiger Metabolite, zum Teil schon ausgehend von den Rohextrakten der Produzenten. So gelang uns in den letzten Jahren im Bereich der marinen Naturstoffe zum Beispiel die Entdeckung der Anti-Biofilm-Aktivität^[29] von Tajixanthonhydrat

(**16**)^[30,31] aus *Emericella varicolor* und die Isolierung und Charakterisierung des neuartigen antileukämischen Wirkstoffes^[32] Sorbicillacton A (**17**)^[33] aus einem *Penicillium-chrysogenum*-Isolat (Abb. 6). Zudem ist für uns nicht nur die Erkennung neuartiger Wirkstoffe von Interesse, sondern auch ein tiefer gehendes Verständnis von deren Biosynthese. Diese Untersuchungen sind eingebettet in das DFG-Schwerpunktprojekt 'Evolution metabolischer Diversität' (SPP 1152).

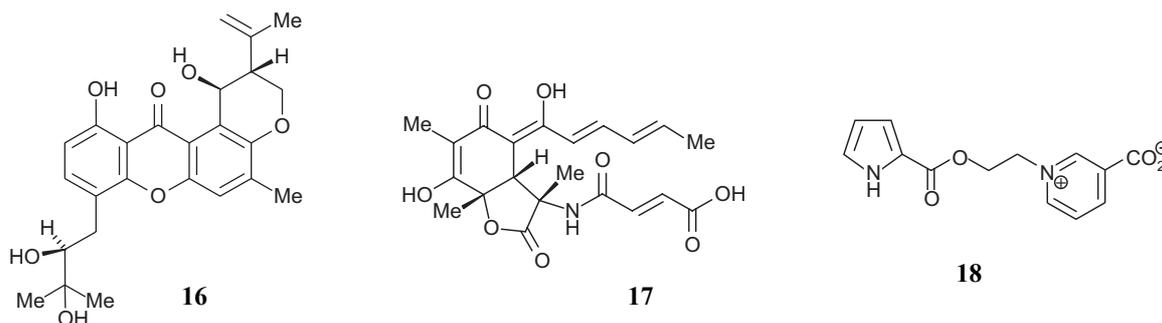


Abb. 6. Strukturen der in unserer Arbeitsgruppe identifizierten marinen Wirkstoffe Tajixanthonhydrat (**16**) und Sorbicillacton A (**17**) sowie des von Fattorusso *et al.* isolierten Daminins (**18**).

Die vorliegende Arbeit ist Teil der oben genannten interdisziplinären Projekte, deren Ziel die Gewinnung neuartiger Wirkstoffe und die Aufklärung von deren Biosynthese ist. Im einzelnen ergaben sich daraus für die vorliegende Arbeit folgende Aufgabenstellungen:

- Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese isoprenoider Naturstoffe,
- Aufklärung der Struktur und Biosynthese polyketidischer Sekundärstoffe,
- Isolierung und Charakterisierung biologisch aktiver Verbindungen aus marinen Mikroorganismen,
- Synthese strukturell vereinfachter Analoga des Biofilm-Hemmers **16**,
- Studien zur Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) und zu dessen Totalsynthese,
- Synthese des neuroprotektiven Pyrrol-Alkaloids Daminin (**18**),
- Aufklärung der Stereostruktur von Sekundärstoffen und synthetischen Verbindungen unter Anwendung von HPLC-CD, in Kombination mit quantenchemischen CD-Rechnungen in Kooperation mit theoretischen Chemikern aus unserem Arbeitskreis.

2 Entwicklung von Wirkstoffen aus dem Meer – eine Einschätzung

Die Untersuchung von Lebewesen aus dem Meer zur Gewinnung pharmakologisch interessanter Verbindungen hatte ihren Ursprung vor wenig mehr als 50 Jahren, als Bergmann und Feeney die Entdeckung der beiden ersten marinen Naturstoffe, Spongouridin (**19**) und Spongothymidin (**20**) aus dem Schwamm *Cryptetethia crypta*, berichteten (Abb. 7).^[34] Das große Potenzial mariner Organismen als Quelle neuer, medizinisch wichtiger Sekundärstoffe wurde jedoch erst mit der Isolierung zweier Prostaglandin-Derivate aus der karibischen Hornkoralle *Plexaura homomalla* durch Weinheimer und Spraggins^[35] wirklich erkannt. Den Arbeiten dieser frühen Pioniere folgend wurden bis heute schon mehr als 15.000 neue Naturstoffe aus marinen Quellen gewonnen.^[36] Allein in den letzten fünf Jahren wurden unzählige Metaboliten^[36-47] mit einer Vielzahl unterschiedlicher biologischer Aktivitäten identifiziert,^[48,49] vor allem solche mit cytotoxischen und antitumoralen Eigenschaften.^[50-52]

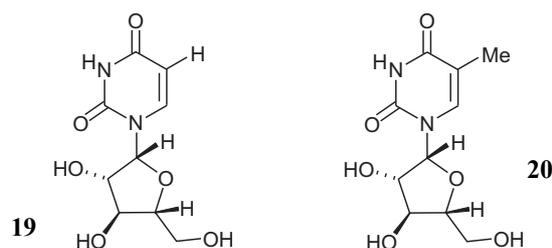


Abb. 7. Strukturen der Arabinosyl-Nucleotide **19** und **20** aus *Cryptetethia crypta*.

Trotz dieser großen Anzahl neuer potenzieller Wirkstoffe haben es bis heute aber nur wenige davon in die medizinische Anwendung geschafft. Dabei waren ausgerechnet die beiden ältesten marinen Naturstoffe, **19** und **20**, die Leitstrukturen für die Entwicklung der Virustatika Vidarabin (**21**), Cytarabin (**22**), und Acyclovir (**23**), des pharmakologisch aktiven Bestandteils des Blockbusters Zovirax[®] (Abb. 8). Auch das bis vor kurzem einzige andere Beispiel eines marinen Metaboliten in der Humanmedizin, das antibiotische Cephalosporin C (**24**) aus dem Pilz *Cephalosporium acremonium*,^[53] welches als semisynthetisches Derivat (Cephalotin sodium) breite Anwendung erfährt, wurde bereits in den 50er Jahren entdeckt. Erst 2006 folgte die Zulassung eines weiteren Wirkstoffes aus dem Meer, des ω -Conotoxins MVIIA (**25**, Ziconotide), eines Peptids aus 25 Aminosäuren, das aus dem Gift der Kegelschnecke *Conus magus* stammt.^[54] Das Toxin blockiert die Ca²⁺-Kanäle an den Synapsen im humanen Nervensystem, verhindert so

die Ausschüttung von Neurotransmittern^[55] und wirkt dadurch als hoch potentes Schmerzmittel, *ca.* 1000-fach stärker als Morphin.^[56]

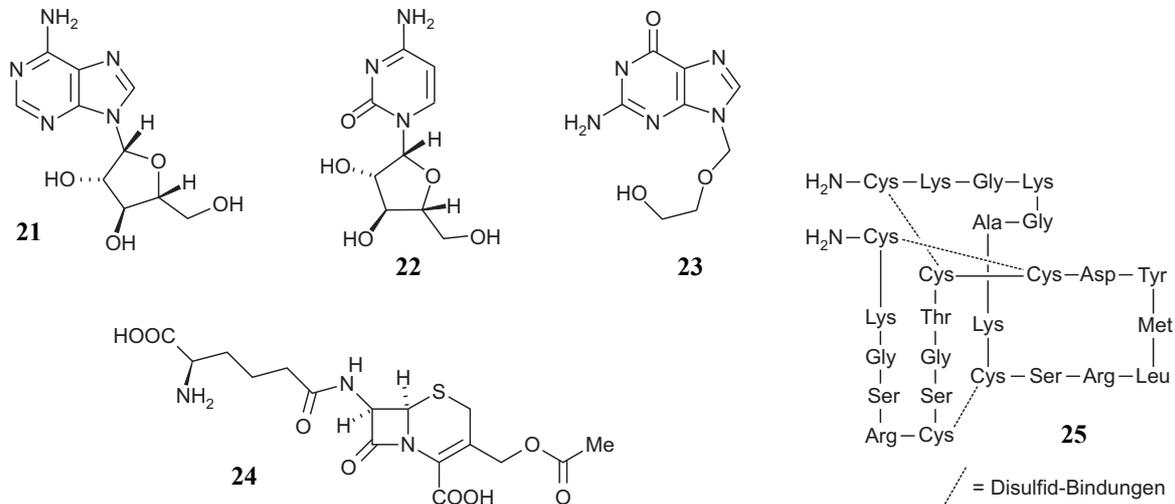


Abb. 8. Strukturen bislang zugelassener Medikamente marinen Ursprungs: die Virustatika Vidarabin (**21**), Cytarabin (**22**) und Acyclovir (**23**), das Antibiotikum Cephalosporin (**24**), und das Schmerzmittel ω -Conotoxin MVIIA (**25**).

Neben diesen bereits erfolgreich eingeführten Medikamenten sind einige marine Naturstoffe derzeit in der präklinischen^[57] oder klinischen^[56-60] Entwicklung (Tabelle 1). Die Ausbeute an neuen Medikamenten nach über 50 Jahren Forschung auf dem Gebiet der marinen Naturstoffchemie ist trotzdem sehr unbefriedigend. Doch woher kommt diese große Diskrepanz zwischen der Fülle neuer bioaktiver Metabolite und der geringen Anzahl zugelassener Wirkstoffe?

Das Hauptproblem ist ohne Zweifel die schwierige Bereitstellung ausreichender Mengen der Substanzen, die eine genaue Untersuchung im Rahmen präklinischer und klinischer Studien sehr arbeitsintensiv und die Produktion im Kilogramm-Maßstab für die medizinische Anwendung nahezu unmöglich macht. Die Produzenten aller in Tabelle 1 aufgeführten Sekundärstoffe sind nämlich marine Makroorganismen. Eine industrielle Gewinnung der Wirkstoffe aus natürlichen Ressourcen ist aufgrund des sehr beschränkten Vorkommens dieser Lebewesen und der oft extrem niedrigen Konzentration der pharmakologisch interessanten Verbindungen in den Produzenten weder ökonomisch lohnend noch ökologisch sinnvoll. Die chemische Totalsynthese

ist wegen der meist sehr komplexen Struktur der Substanzen und des damit verbundenen großen Aufwandes vorwiegend keine Alternative. Eine Ausnahme stellt hier wiederum das ω -Conotoxin MVIIA (**25**) dar, welches durch Festphasen-Peptidsynthese leicht in großen Mengen synthetisch darstellbar ist.^[61]

Tabelle 1. Auswahl mariner Naturstoffe in der klinischen Entwicklung.

Wirkstoff	Quelle	Anwendung	Klinische Phase
Aplidin (Depsipetid)	<i>Aplidium albicans</i> (Manteltier)	Onkologie	I/II
Bryostatin 1 (Polyketid)	<i>Bugula neritina</i> (Moostierchen)	Onkologie	II
Didemnin B (Depsipetid)	<i>Trididemnum solidum</i> (Manteltier)	Onkologie	II
Dolostatin 10 (Peptid)	<i>Dolabella auricularia</i> (Seehase)	Onkologie	II
Ecteinascidin 743 (Isochinolin)	<i>Ecteinascidia auricularia</i> (Manteltier)	Onkologie	II/III
Kahalalid F (Depsipetid)	<i>Elysia rufescens</i> (Meeresschnecke)	Onkologie	II
KRN 7000 (α -Galactosyl- ceramid)	<i>Agelas Mauritanus</i> (Schwamm)	Onkologie	I
LU 103793 (Peptid)	<i>Dolabella auricularia</i> (Seehase)	Onkologie	II
Squalamin-Lactat (Aminosteroid)	<i>Squalus acanthias</i> (Hai)	Onkologie	II
GTS-21 (Anabasein- Derivat)	<i>Amphiporus lactifloreus</i> (Schnurwurm)	M. Alzheimer, Schizophrenie	I
IPL 512602 (Steroid)	<i>Petrosia contignata</i> (Schwamm)	Entzündung, Asthma	I
Manoalid (Sesterterpen)	<i>Luffariella variabilis</i> (Schwamm)	Entzündung, Psoriasis	I
Methopterosin (Diterpen)	<i>Pseudopterogorgia Elisabethae</i> (Weichkoralle)	Entzündung, Wundheilung	I

Ein Ausweg aus dieser Situation könnte die gezielte Anzucht der Organismen in Produktionsanlagen (Marikultur) sein. Bislang existieren jedoch nur wenige wissenschaftliche Untersuchungen zur Durchführbarkeit und Rentabilität solcher Projekte. Studien zur Marikultur von Halichondrin B (**10**) zeigten, dass die Gewinnung der Verbindung durch Anzucht des Produzenten prinzipiell machbar ist,^[62] die Kosten für das fertige Medikament auf dem Markt jedoch viel zu hoch sein würden (*ca.* 12.000 € pro Patient im Jahr).^[63] Die weitere Entwicklung dieser ansonsten viel versprechenden Substanz wurde aufgrund des sehr unsicheren Nachschubes inzwischen eingestellt. Die Produktion von Ecteinascidin 743 (**26**) und Bryostatin 1 (**27**) in Freiwasser-Kulturen wurde hingegen nicht nur erfolgreich realisiert,^[64,65] sondern könnte wahrscheinlich auch ökonomisch lohnend durchgeführt werden (Abb. 9).^[64,65] Trotz dieser ersten Erfolge auf dem Gebiet der Marikultur zeigen sich pharmazeutische Unternehmen diesem Ansatz gegenüber jedoch weiterhin skeptisch. Der Aufbau der entsprechenden Infrastruktur würde große Kosten verursachen und die Produktion der Wirkstoffe selbst würde unweigerlich gefährdet durch viele nicht kontrollierbare Umwelteinflüsse, wie z.B. den Befall der Freiwasser-Kulturen durch Fraßfeinde oder pathogene Mikroorganismen, die Zerstörung der Plattformen durch Unwetter oder die Vernichtung der Produzenten durch lang anhaltende Wetterphänomene, wie z.B. El Niño.^[64]

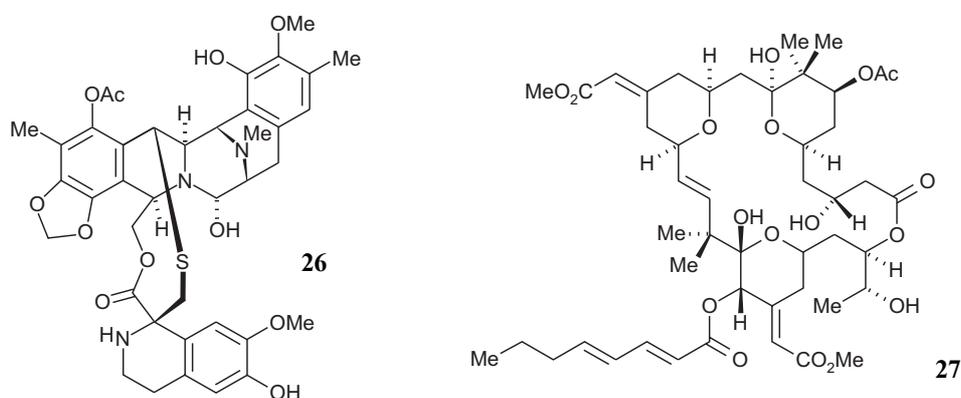


Abb. 9. Ecteinascidin 743 (**26**) und Bryostatin 1 (**27**): zwei komplexe marine Wirkstoffe in der klinischen Entwicklung im Bereich der Onkologie.

Doch es gibt Alternativen! Ein Lösungsansatz besteht in der Synthese von strukturell ähnlichen, aber vereinfachten Derivaten mit analogen oder sogar besseren biologischen Aktivitäten, als sie die Naturstoffe selbst besitzen. Dies gelang z.B. im Falle des Ecteinascidins

743 (**26**). Eine in synthetischen Studien von Corey *et al.* gewonnene Verbindung, das Phthalascidin PT650 (**28**, Abb. 10)^[66,67] ist genau so wirksam wie **26**, weist aber zudem eine größere Stabilität auf.^[59] Die Methode der Wahl zur Bereitstellung großer Mengen an **26** ist momentan aber die von der Firma PharmaMar entwickelte Partial-Synthese^[68] des authentischen Naturstoffes ausgehend von einem strukturell verwandten mikrobiellen Fermentationsprodukt, dem Cyanosafracin B (**29**) aus *Pseudomonas fluorescens*,^[69-71] einem terrestrischen Mikroorganismus.

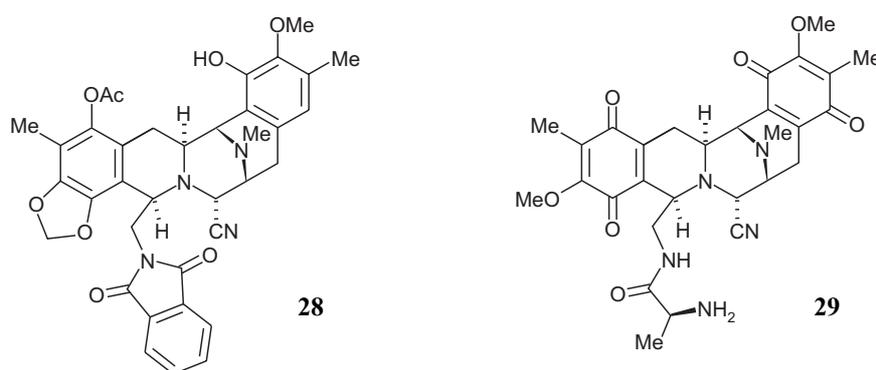


Abb. 10. Strukturen von PT650 (**28**) und Cyanosafracin B (**29**).

Das Beispiel Cyanosafracin B (**29**) lässt erahnen, dass eine direkte mikrobielle Gewinnung der gewünschten Substanzen allen anderen Produktionsansätzen überlegen wäre. Dies wird auch deutlich an der vermehrten Erforschung der Sekundärstoffe mariner Mikroorganismen.^[72-75] Doch selbst bei einigen Verbindungen, die ursprünglich aus Invertebraten isoliert wurden, ist der eigentliche biosynthetische Ursprung nicht sicher geklärt.^[60] Oft existieren sehr ähnliche – oder sogar identische – Sekundärstoffe in Mikroorganismen, die entweder in Symbiose mit den entsprechenden Invertebraten leben oder aber als deren Nahrung dienen könnten.^[76,77] Auch für Bryostatin 1 (**27**) wurde inzwischen ein potenzieller mikrobieller Produzent gefunden: In “*Candidatus Endobugula sertula*“,^[78] einem γ -Proteobakterium aus *Bugula neritina*, wurde durch molekulargenetische Methoden ein PKS-I-Cluster identifiziert, das die Biosynthese von **27** codieren könnte.^[79] Weitere starke Hinweise auf einen bakteriellen Produzenten waren zum einen die stark reduzierte Produktion von **27** nach Behandeln von *B. neritina* mit Antibiotika, zum anderen der Nachweis, dass nur solche *B.-neritina*-Individuen Bryostatin 1 (**27**) aufwiesen, die einen ganz bestimmten Stamm des Bakteriums enthielten.^[80] Eine Kultivierung des Endosymbionten zum endgültigen Beweis seiner Fähigkeit, **27** zu bilden, ist bisher allerdings

nicht gelungen. Leider stellt “*Candidatus Endobugula sertula*“ bezüglich der großen Schwierigkeiten bei der Anzucht keine Ausnahme dar. Hoch spezialisierte Mikroorganismen, wie z.B. Symbionten aus Invertebraten, sind bis heute generell kaum kultivierbar!

Die Anwendung mikrobieller Genetik zur Generierung kultivierbarer Produzenten verspricht die endgültige Lösung aller bisher beschriebenen Probleme. Nach Identifizierung eines Biosyntheseclusters, dessen Isolierung und Vervielfältigung, z.B. durch PCR-Techniken, und anschließender Klonierung und Expression des Gens in einem geeigneten, leicht kultivierbaren Mikroorganismus wären auch Metabolite nur schwer fermentierbarer Symbionten zugänglich.^[81] Dies konnte in den letzten Jahren durch Gen-Transfer zwischen untereinander jeweils verwandten Stämmen an einigen Beispielen gezeigt werden, z.B. bei der Klonierung des Biosynthese-Genes des Peptid-Antibiotikums Bacitracin von *Bacillus licheniformis* zu *Bacillus subtilis*,^[82] bei der heterologen Expression des Epothilon-Clusters aus dem Myxobakterium *Sorangium cellulosum* in *Myxococcus xanthus*^[83] oder bei der Produktion des Telomerase-Inhibitors Griseorhodin A.^[84] Doch auch der Austausch von Biosynthese-Genen nicht verwandter Stämme wurde bereits erfolgreich durchgeführt. So wurde z.B. die Produktion von Epothilon in das schnell wachsende Bakterium *Streptomyces coelicolor*^[85] und die Bildung des Aglycons von Erythromycin aus *Saccharopolyspora erythraea* in *E. coli* verlegt.^[86]

Clardy und Handelsman *et al.* zeigten, dass sogar eine gänzlich von der Kultivierbarkeit eines Organismus unabhängige heterologe Expression von “Umwelt-DNA“ (Metagenom), also ohne Informationen über den eigentlichen Träger der Erbinformation, möglich ist. Dies führte z.B. zur Entdeckung der neuen Antibiotika Violacein^[87] und Turbomycin.^[88] Das erste Beispiel einer erfolgreichen Klonierung eines Biosyntheseclusters aus dem Metagenom eines unkultivierbaren symbiotischen Bakteriums lieferten Piel *et al.*^[89,90] am Beispiel des Pederins.^[91,92] Die Anwendbarkeit dieser Techniken im Bereich der marinen Naturstoff-Forschung wurde kürzlich erstmals am Beispiel der Patellamide A (**30**) und C (**31**) demonstriert (Abb. 11).^[93] Dabei gelang aufgrund genetischer Daten die eindeutige Identifizierung des symbiotischen Cyanobakteriums *Prochloron didemni* als Produzent von **30** und **31** sowie der Transfer des Biosynthese-Clusters und dessen heterologe Expression in *E. coli*.

Diese neuartigen molekularbiologischen Methoden bieten nicht nur die Möglichkeit zur Produktion großer Mengen pharmakologisch interessanter Wirkstoffe, sondern erlauben schon durch minimale genetische Veränderungen der Biosynthese-Sequenz (Metabolic Engineering) die biotechnologische Darstellung von Derivaten zur Untersuchung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAR-Studien), wie z.B. kürzlich gezeigt am Genom von *Salinispora tropica* durch Generierung von **33**, dem Dehydroxy-Analogon des Naturstoffes Salinisporamid A (**32**).^[94]

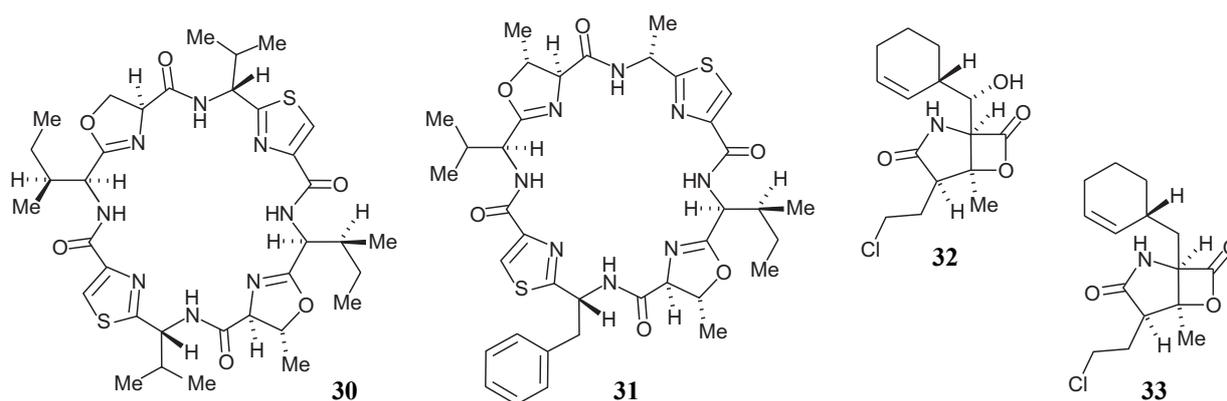


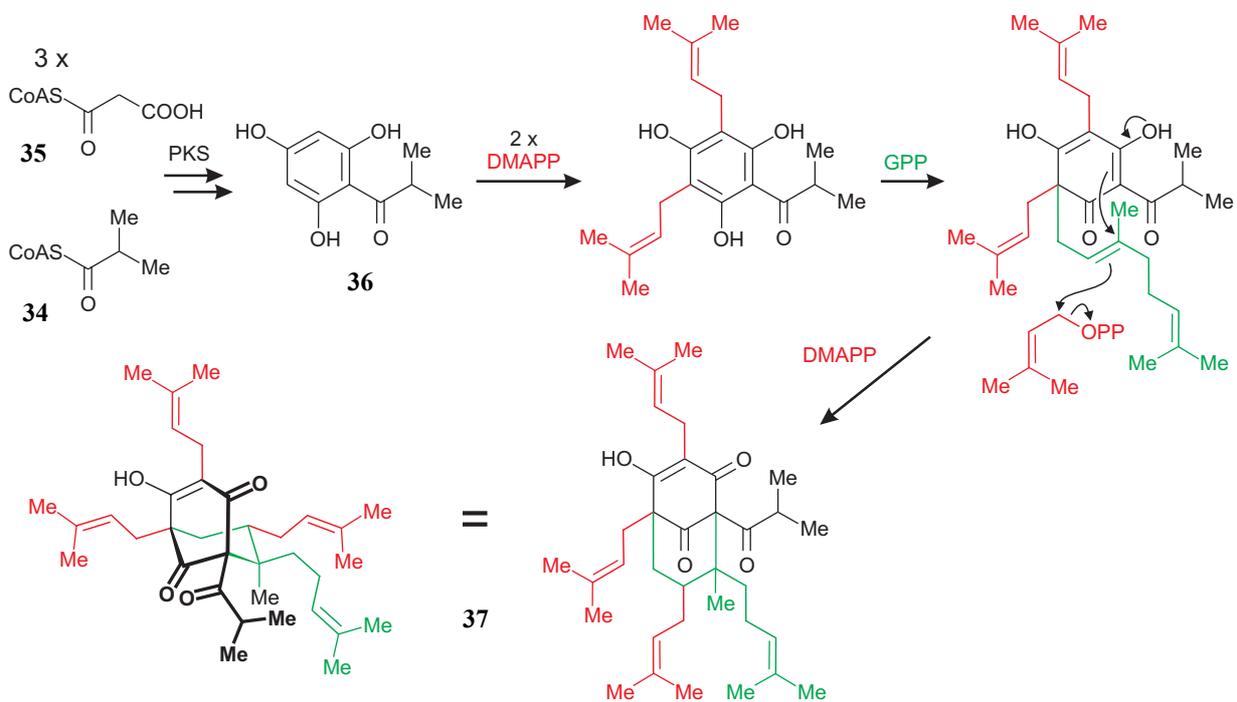
Abb. 11. Strukturen der Patellamide A (**30**) und C (**31**) sowie von Salinisporamid (**32**) und seinem Dehydroxy-Analogon **33**.

Die aufgezeigten Probleme und deren mögliche Lösungen machen deutlich, dass für eine verbesserte Entwicklung von marinen Wirkstoffen eine enge Zusammenarbeit verschiedenster naturwissenschaftlicher Arbeitsfelder nötig ist. Grundlegende Bedingung ist weiterhin die Isolierung und Strukturaufklärung neuartiger Verbindungen und die intensive Untersuchung derer Wirkspektren und -mechanismen. Das tiefe Verständnis der Biosynthese dieser Metabolite, erlangt z.B. durch Fütterungsexperimente mit Stabilisotopen-markierten Vorstufen, aber auch durch genetische Ansätze, kann entscheidende Erkenntnisse für die weitere Optimierung der Produzenten durch molekularbiologische Methoden, wie z.B. dem Metabolic Engineering, liefern. Komplementiert durch die klassische chemische (Total-)Synthese kann so die Gewinnung von neuen Medikamenten aus dem Meer in naher Zukunft wesentlich beschleunigt werden.

3 Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese isoprenoider Naturstoffe

3.1 Online-Strukturaufklärung von Secohyperforin (40) aus *Hypericum perforatum*

Hypericum perforatum (Johanniskraut) ist eine Heilpflanze, aus deren Blütenständen Präparate zur Behandlung von Depressionen hergestellt werden.^[95] Die medizinische Wirksamkeit dieser pflanzlichen Droge konnte in mehreren klinischen Studien eindeutig nachgewiesen werden^[96] und wird den in *H. perforatum* enthaltenen Sekundärstoffen aus den Naturstoff-Klassen der Flavenoide, der Hypericine und der Hyperforine zugeschrieben.^[97] Die am besten untersuchte Verbindung aus *H. perforatum* ist das polyprenylierte Acylphloroglycinol-Derivat Hyperforin (**37**),^[98,99] das neben der antidepressiven Wirkung auch antitumorale, antibakterielle und entzündungshemmende Aktivitäten aufweist.^[100] Die Biosynthese von **37** verläuft in zwei Schritten (Schema 1): Das Grundgerüst **36** der Substanz wird durch eine Isobutyrophenon-Synthase aus Isobutyryl-Coenzym-A (**34**) und drei Molekülen Malonyl-Coenzym-A (**35**) aufgebaut^[101] und anschließend mit fünf Isopren-Bausteinen (drei Einheiten DMAPP und ein Äquivalent GPP) aus dem Rohmer-Weg funktionalisiert.^[102]



Schema 1. Biosynthese von Hyperforin (**37**) aus dem Acylphloroglycinol **36**, drei DMAPP-Bausteinen (rot) und einer Einheit GPP (grün).^[100]

Innerhalb des SPP 1152 (Evolution metabolischer Diversität) wird in der Arbeitsgruppe (AG) unseres Kooperationspartners Prof. L. Beerhues (Institut für Pharmazeutische Biologie, TU Braunschweig) die Biosynthese der Hyperforine auf enzymatischer und genetischer Ebene untersucht. Dabei gelang kürzlich die Charakterisierung eines Fe^{2+} -abhängigen Enzyms, das die erste Prenylierung des zentralen Phloroglycinol-Bausteins in *H. calycinum* katalysiert.^[103]

Bei der HPLC-DAD-Analyse eines methanolischen Extraktes aus *H. perforatum*-Spross-Kulturen wurden in der AG Beerhues vier Verbindungen mit einem Hyperforin-typischem UV-Spektrum detektiert. Durch HPLC-MS-Messungen und Koelutionsexperimente mit authentischen Referenzmaterialien wurden drei der Verbindungen als bekannte Hyperforine erkannt: neben **37** wurden Adhyperforin (**38**) und Adsecohyperforin (**39**)^[104] identifiziert (Abb. 12).

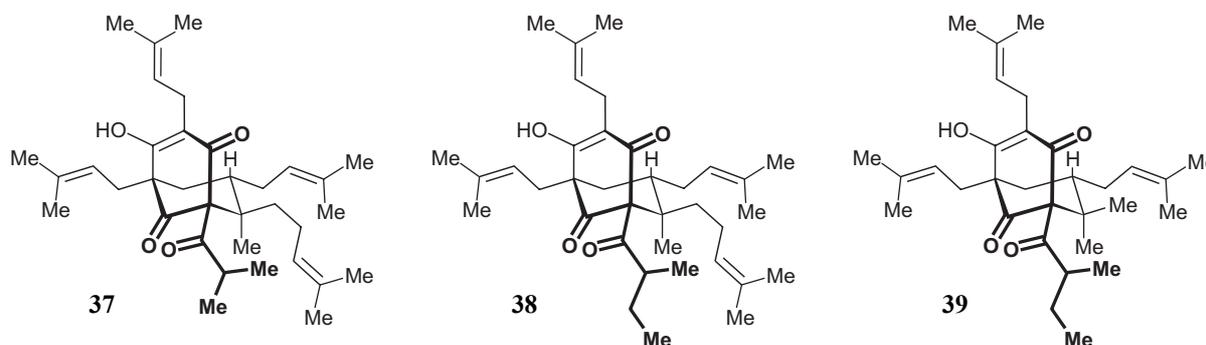


Abb. 12. Strukturen der in Spross-Kulturen von *H. perforatum* identifizierten Verbindungen: Hyperforin (**37**), Adhyperforin (**38**) und Adsecohyperforin (**39**).

Das vierte Derivat wies eine im Vergleich zu **37** um einen Prenylrest geringere Masse auf; die Aufklärung der Struktur war jedoch durch massenspektroskopische Untersuchungen allein nicht möglich und sollte deshalb in unserer Gruppe durchgeführt werden. Ausgangsmaterial waren methanolische Extrakte aus Spross-Kulturen von *H. perforatum*, die in Braunschweig hergestellt und in gekühlten Behältern nach Würzburg verschickt wurden. Die Analyse der Inhaltsstoffe mittels HPLC-MS/MS bestätigte das Fehlen einer Prenyl-Einheit in der unbekanntem Verbindung. Versuche, die Substanz durch präparative HPLC zu isolieren und durch klassische NMR-spektroskopische Methoden strukturell zu charakterisieren, schlugen aufgrund der in der Literatur für Hyperforine bereits beschriebenen Instabilität^[105,106] der Substanz gegenüber Licht und Sauerstoff fehl. Die Methode der Wahl zur Aufklärung der Konstitution der Verbindung war daher die HPLC-NMR-Analyse. Die Nutzung voll-deuterierter HPLC-Lösungsmittel erlaubte

eine Aufnahme der NMR-Spektren ganz ohne die normalerweise nötige Unterdrückung der Solvens-Protonen der Eluenten, und damit in Kombination mit der Verwendung eines Kryoprobenkopfes (5 mm DCH CryoProbe mit CryoFit, Bruker) eine wesentliche Verbesserung der Empfindlichkeit der Online-NMR-Experimente. So gelang es auch erstmals, erfolgreich Online-HMQC- und Online-HMBC-Messungen durchzuführen und somit die chemische Umgebung aller Protonen im Molekül vollständig zu bestimmen (Tabelle 2).^[107]

Tabelle 2. Online-NMR-Daten (¹H: 600 MHz; ¹³C 150 MHz) von Secohyperforin (**40**)

Position	¹ H	<i>J</i>	¹³ C	HMBC	NOESY
1			2		
2			2		
3			46.8		
4	1.49	<i>m</i>	43.8		14, 15
5	1.39 1.85 ¹	<i>m</i>	2		15
6			2		
7			2		
8			2		
9			2		
10			210.6 ³		
11	2.15	<i>br</i>	41.5 ³		12, 13
12	0.94	<i>d</i> (6.7)	21.6	10, 11, 13	11, 13
13	1.03	<i>d</i> (6.5)	20.9	10, 11, 12	11, 12
14	1.16	<i>s</i>	23.6	3, 4, 15	4, 15, 21, 25
15	0.93	<i>s</i>	16.0	3, 4, 14	4, 5, 14, 21, 25
21	2.07 ¹		27.5 ³		14, 15
22	4.96	<i>m</i>	123.6		24
23			133.8 ³		
24	1.64	<i>s</i>	25.7	22, 23, 25	22
25	1.53	<i>s</i>	17.7	22, 23, 24	14, 15
26	3.06	<i>d</i> (6.8)	22.2	32	27
27	5.04	<i>m</i>	121.8		27, 29
28			133.9 ³		
29	1.63	<i>s</i>	25.6	27, 28, 30	27
30	1.67	<i>s</i>	17.9	27, 28, 29	
31	2.40	<i>dd</i> (7.1, 14.9)	30.1		
	2.47	<i>br</i>	30.1		
32	4.93	<i>m</i>	120.6		32
33			134.4 ³		
34	1.61	<i>s</i>	25.8	32, 33, 35	34
35	1.63	<i>s</i>	18.0	32, 33, 34	

¹ Chemische Verschiebung wegen Signal-Überlappungen im ¹H-Spektrum dem Online-NOESY-Spektrum entnommen; ² Signal nicht detektiert; ³ Chemische Verschiebung aus dem Online-HMBC-Spektrum abgelesen.

Die Auswertung des Online- ^1H -Spektrums bestätigte bereits das Fehlen einer der C_5 -Seitenketten, da in der Region um *ca.* 5 ppm, also bei der typischen chemischen Verschiebung eines Protons an der Doppelbindung eines Prenyl-Bausteins, lediglich drei Signale erkennbar waren. Im Hochfeld des Spektrums waren die Singulets zweier jeweils an ein quaternäres C-Atom gebundener Methylgruppen, CH_3 -14 und CH_3 -15, zu finden, die im COSY-Spektrum eine starke Wechselwirkung zueinander aufwiesen. Dies deutete bereits darauf hin, dass Verbindung **40** an C-3 lediglich einen weiteren Methyl-Substituenten trägt, und nicht, wie im Hyperforin (**37**), eine prenylierte CH_2 -Einheit. Im NOESY-Spektrum von **40** waren Kreuz-Signale von CH_3 -14 und CH_3 -15 zu beiden diastereotopen Protonen an CH_2 -21 und zu CH_3 -25 zu sehen, also zu der CH_2 -Einheit und zu einer Methyl-Gruppe des benachbarten Prenyl-Restes. CH_3 -14 koppelte darüber hinaus noch mit CH-4. Die chemischen Verschiebungen aller Protonen-tragender Kohlenstoffatome wurden durch Aufnahme eines Online-HMQC-Spektrums ermittelt (Tabelle 2). Basierend auf diesen Zuordnungen konnte die Struktur von **40** durch zusätzliche Analyse von Online-HMBC-Wechselwirkungen vollständig aufgeklärt werden (Tabelle 2). Die Methylgruppen CH_3 -14 und CH_3 -15 koppelten jeweils mit C-3 und C-4 sowie miteinander, so dass sich für **40** die in Abb. 13 gezeigte Konstitution ergab.^[107]

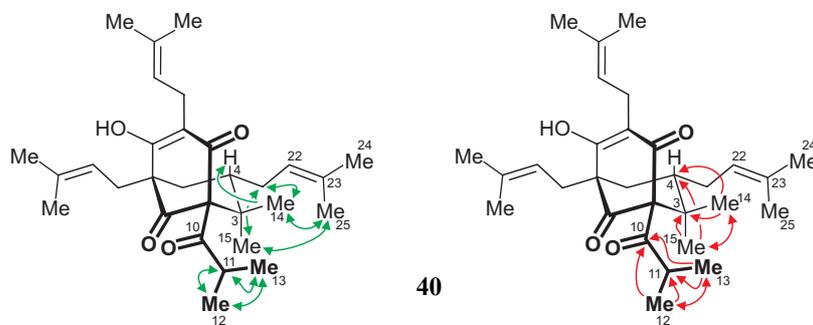


Abb. 13. Wichtige Online-NOESY- (grün) und Online-HMBC-Wechselwirkungen (rot) zur Aufklärung der Konstitution von Secohyperforin (**40**)

Bestätigt wurde die Struktur mittels Bestimmung der Positionen der beiden anderen Alkylsubstituierten Methylgruppen, CH_3 -12 und CH_3 -13, durch deren NOESY-Kreuzsignale zueinander und zu CH-11, durch deren HMBC-Interaktionen zu C-11 und C-10 sowie durch die Zuordnung aller Signale der weiteren C_5 -Seitenketten im Molekül (Tabelle 2).

Die relative und die absolute Konfiguration der Stereozentren in Hyperforin (**37**) aus *H. perforatum* wurden durch Röntgenstrukturanalyse des 3,5-Dinitrobenzoesäure-Esters^[108] bzw. des *para*-Bromobenzoessäure-Esters^[109] ermittelt und können aufgrund der analogen Biosynthese von Secohyperforin (**40**) für diese Substanz als identisch angenommen werden.

Die so charakterisierte Verbindung Secohyperforin (**40**) wurde bislang lediglich von Erdelmeier *et al.* in einem Tagungsbeitrag erwähnt,^[110] allerdings bis heute ohne jegliche Angabe spektraler Daten. Ein strukturell sehr ähnlicher Sekundärstoff, das Hyperforin, dem im Vergleich zu **37** nicht die C₅-Seitenkette an C-15, sondern die an C-4 fehlt, wurde kürzlich durch HPLC-SPE-NMR- und HPLC-MS-Experimente in Johanniskraut aus Griechenland entdeckt.^[111]

Im Rahmen der gemeinsamen Arbeiten wurde in der AG Beerhues das Verhalten der *H. perforatum*-Kulturen bei Behandlung mit unterschiedlichen Elicitoren und Phytohormonen untersucht. Auf der Ebene des Sekundärstoffwechsels konnte so gezeigt werden, dass bei Zugabe größerer Mengen 6-Benzylaminopurin (BAP) die Produktion von **37** angeregt wird, während die von **40** konstant bleibt. Bei Erhöhung der Konzentration von 1-Naphthyl-Essigsäure (NAA) im Medium wird hingegen die Bildung von **40** stimuliert, während die Menge an **37** stabil ist.^[107] Diese Änderung des Verhältnisses von **37** zu **40** bei Gabe von Phytohormonen bietet nicht nur die Möglichkeit zur gezielten Produktion eines der beiden Metabolite, sondern zeigt zudem, dass deren Bildung stark durch endogene Stimuli beeinflusst wird. Dies deutet darauf hin, dass Secohyperforin (**40**) nicht lediglich ein Nebenprodukt der Hyperforin-Biosynthese ist. Das diprenylierte Acylphloroglycinol **36** (Schema 1) kann demnach nicht nur selektiv mit einer Geranyl-Seitenkette, sondern je nach äußerem Einfluss auch mit einer Dimethylallyl-Einheit verknüpft werden. Derzeit laufen in der Gruppe von Prof. L. Beerhues daher biochemische Untersuchungen zum Nachweis von differentiell regulierten Prenyltransferasen, deren Substrat entweder DMAPP oder GPP sein kann.

3.2 Aufklärung der Stereostruktur und der Biosynthese isoprenoider Metabolite aus *Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042

In der AG von Prof. L. Heide (Institut für Pharmazeutische Biologie, Universität Tübingen), einem unserer Kooperationspartner innerhalb des SPPs 1152, werden Funktion und Evolution von Enzymen zur Prenylierung von Sekundärstoffen untersucht, z.B. anhand der Metaboliten des Bakterienstammes *Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042, einem Produzenten von Furanonaphthochinon I (FNQ I, **41**)^[112] und Endophenazin A (**42**, Abb. 14).^[113]

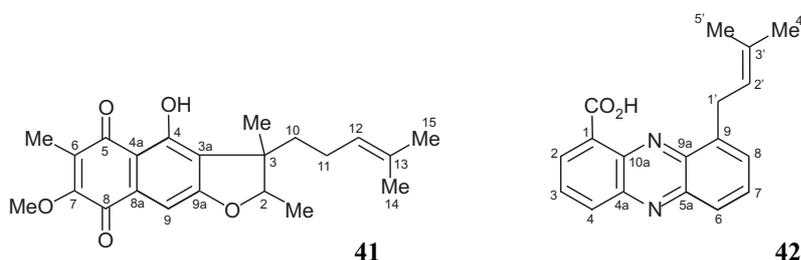


Abb. 14. Strukturen der Metaboliten Furanonaphthochinon I (**41**) und Endophenazin A (**42**) aus *Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042.

In Vorarbeiten von Heide *et al.* gelang die Klonierung und Sequenzierung eines zusammenhängenden 81.5 kb großen DNA-Abschnittes dieses Streptomyceten, welches das Gencluster zur Steuerung der Biosynthese beider Verbindungen, **41** und **42**, enthält. Überraschend war dabei, dass sich auf diesem Teil der DNA lediglich eines der sechs nötigen Gene zur Isopren-Biosynthese über den Mevalonat-Weg (MEV) befindet, welches wahrscheinlich eine Mevalonat-Kinase kodiert.^[114] Bei allen anderen bislang in der Literatur beschriebenen prenylierten Naturstoffen aus Actinomyceten, deren Prenyl-Einheiten über den MEV-Weg gebildet werden, wie z.B. Naphterpin,^[115] Furachinocin,^[116] Napyradiomycin,^[117] BE-40644^[118] und Terpentacin,^[119] finden sich die dafür nötigen Enzyme jeweils auf dem entsprechenden Biosynthese-Cluster in einem Operon. Diese sechs ORFs (**O**pen **R**eadin**G** **F**rames) – (a) HMG-CoA-Synthase, (b) HMG-CoA-Reduktase, (c) Mevalonat-Kinase, (d) Phosphomevalonat-Kinase, (e) Mevalonat-Diphosphat-Decarboxylase und (f) Typ-2-IPP-Isomerase – sind zudem in allen Literatur-Beispielen in der gleichen Reihenfolge (c-e-d-f-b-a) angeordnet und zeigen jeweils eine hohe Übereinstimmung (70%) innerhalb der Orthologen auf Ebene der Aminosäure-Sequenz.^[120-123] Daher stellte sich die Frage, ob die fehlenden fünf Gene des MEV-

Weges in *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042 im Laufe der Evolution verloren gingen und ob die C₅-Bausteine in diesem Organismus daher aus dem Methyl-D-Erythritol-4-Phosphat-Weg (MEP) stammen. Streptomyceten produzieren vor allem Terpene des Primärstoffwechsels über MEP, z.B. die Menachinone,^[124] aber auch die Prenyl-Bausteine einiger Sekundärmetaboliten, z.B. von Pentalenolacton,^[125] Carquinostatin B,^[126] Moenomycin A^[127] und von Novobiocin.^[128,129] In Kooperation mit der AG von Prof. L. Heide sollte daher die Biosynthese von **41** und **42** durch Fütterung geeigneter Stabilisotopen-markierter Vorstufen (AG Heide) sowie durch Isolierung und NMR-spektroskopische Analyse des Einbaumusters der Metaboliten in Zusammenarbeit mit Tanja Gulder aus unserem Arbeitskreis aufgeklärt werden.^[130]

3.2.1 Isolierung und Verifizierung der Strukturen von FNQ I (**41**) und Endophenazin A (**42**)

Grundlage für die Untersuchungen zur Biosynthese von FNQ I (**41**) und Endophenazin A (**42**) war die Etablierung einer Methode zur Isolierung der Verbindungen und die Überprüfung der publizierten Strukturen,^[112,113] zunächst mit Material aus Testfermentationen mit unmarkierten Precursoren. Die Extraktion der Bakterien-Zellen und die Aufarbeitung des Rohextraktes erfolgte bereits in der AG Heide. Die beiden Verbindungen, **41** und **42**, wurden dann in unserer Gruppe mittels präparativer HPLC unter Verwendung einer Symmetrie-C18-Säule (*Waters*, 300mm x 19mm) und eines Wasser/Acetonitril-Gradienten isoliert. Die Aufnahme und Auswertung der NMR-Spektren der so gewonnenen Reinsubstanzen zeigte die Richtigkeit der publizierten Strukturdaten. Lediglich die auf den HMQC- und HMBC-Wechselwirkungen unserer Spektren beruhenden Zuordnungen der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoff-Signale von C-4a und C-9 sowie von C-7 und C-9a waren im Vergleich zur Zuordnung von Sedmera *et al.*^[112] jeweils vertauscht. Die Richtigkeit der eigenen Ergebnisse und damit der Fehler in den Literaturdaten bestätigte sich durch Auswertung der Kopplungskonstanten in markiertem **41**.^[130]

Neben der Überprüfung der Konstitutionen der beiden Naturstoffe war auch die Aufklärung der in der Literatur noch unbekanntesten Absolutkonfiguration von FNQ I (**41**) für Untersuchungen der Stereoselektivität der Prenylierungs-Enzyme in der AG Heide von Interesse. Die Relativkonfiguration der Stereozentren wurde bereits durch Aufnahme eines NOESY-NMR-Spektrums eindeutig bestimmt. So ergab sich eine *trans*-Anordnung der beiden Methylgruppen

an C-2 und C-3. Damit war nur noch eine Unterscheidung zwischen den beiden Enantiomeren, (2*S*,3*S*)-**41** und (2*R*,3*R*)-**41**, nötig. Erreicht wurde dies durch Vergleich des experimentell gemessenen CD-Spektrums des Naturstoffes mit den von M. Reichert quantenchemisch berechneten CD-Kurven der beiden möglichen Stereoisomere (Abb. 15). Diese in unserer Gruppe etablierte und weiterentwickelte Methode wurde bereits mehrfach erfolgreich zur Aufklärung der Absolutkonfiguration anderer Naturstoffe angewandt.^[131] Im Fall von **41** wurden die Spektren von M. Reichert sowohl mittels TD-DFT (B3LYP/TZVP)^[132-134] als auch unter Verwendung von DFT/MRCI/SVP^[135] berechnet. Durch Vergleich der berechneten und der experimentellen CD-Kurven konnte mit beiden theoretischen Ansätzen eindeutig die (2*S*,3*S*)-Konfiguration von **41** ermittelt werden. Der DFT/MRCI/SVP-Ansatz lieferte eine nahezu perfekte Übereinstimmung der CD-Spektren über den gesamten Wellenlängen-Bereich hinweg.

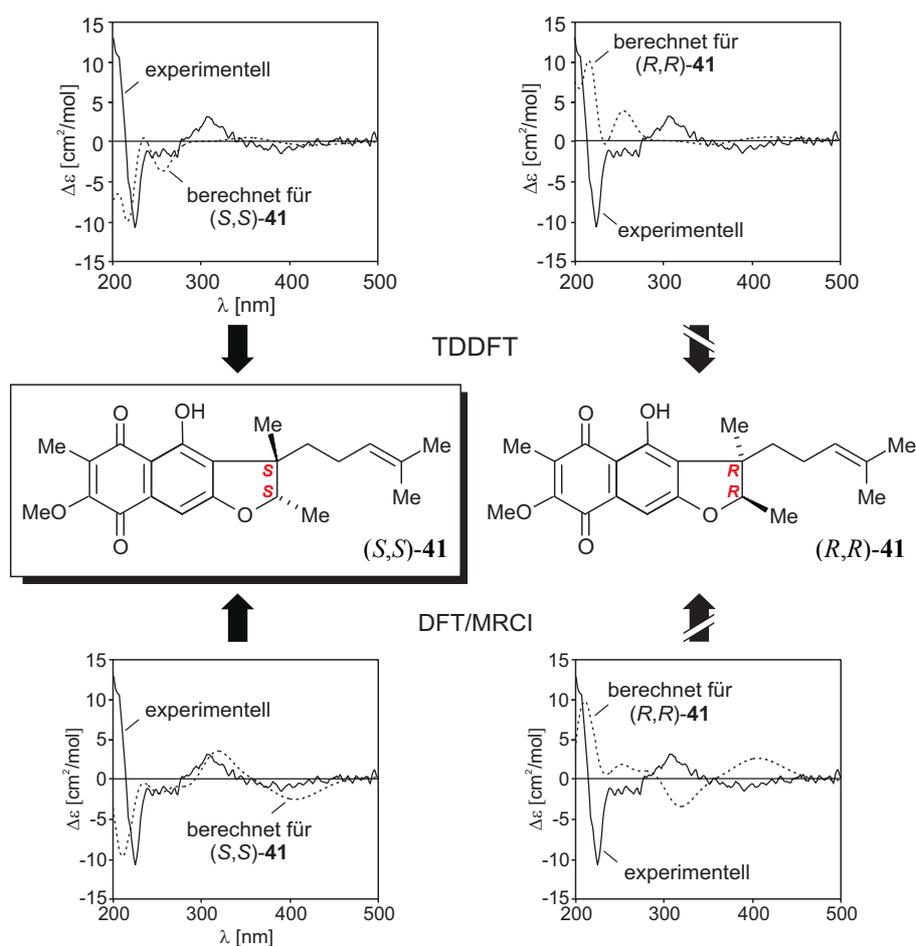
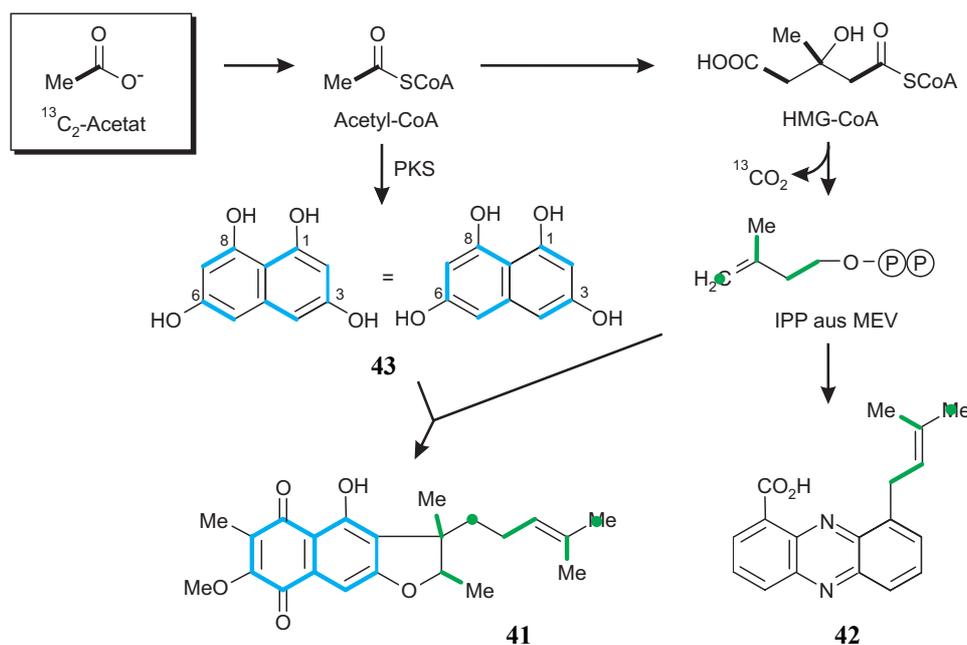


Abb. 15. Aufklärung der Absolutkonfiguration von FNQ I (**41**) durch Vergleich des experimentellen CD-Spektrums mit den durch quantenchemische CD-Rechnungen (M. Reichert) vorhergesagten Kurven (oben: B3LYP/TZVP, unten: DFT/MRCI/SVP).

3.2.2 Untersuchungen zur Biosynthese von FNQ I (41) und Endophenazin A (42)

Zur Aufklärung der Biosynthese des Polyketid-abgeleiteten Naphthochinon-Teils von FNQ I (41) und der Isopren-Bausteine von 41 und Endophenazin A (42) wurde zunächst $^{13}\text{C}_2$ -markiertes Acetat an Kulturen von *Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042 gefüttert.^[136] Als Vorstufe für den Polyketid-Teil von 41 ist, ähnlich wie bei der Biosynthese der Napradiomycine,^[117] der Furachinocine,^[116] des Naphterpins^[115] und von Skytalon,^[137,138] das symmetrische Pentaketid 1,3,6,8-Tetrahydroxynaphthalin (THN, 43), das Produkt der Typ-3-Polyketidsynthese Fmq6,^[114] sehr wahrscheinlich. Infolge dessen wäre nach Oxidation, Prenylierung sowie C- und O-Methylierung dieser Verbindung zum Naturstoff 41 eine vollständige Randomisierung des C_2 -Einbaumusters zu erwarten (Schema 2).^[115] Eine Markierung der Prenyl-Bausteine von 41 und 42 wäre bei Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat lediglich bei deren Aufbau über den Mevalonat-Weg zu beobachten.



Schema 2. Erwartetes Einbau-Muster in 41 und 42 nach Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat. ^{13}C -markierte Positionen sind dicker und in Farbe (grün = Mevalonat-Weg, blau = polyketidisch) eingezeichnet.

Die ^{13}C -NMR-spektroskopische Charakterisierung von Endophenazin A (42) aus der Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat ermöglichte die eindeutige Aufklärung des biosynthetischen Ursprungs der C_5 -Seitenkette (Abb. 16). Die starke Kopplung der Kerne an C-3' und C-5' ($^2J =$

42.2 Hz) und eine Wechselwirkung zwischen C-2' und C-1' ($^2J = 43.7$ Hz)^[139] standen im Einklang mit einer Biosynthese von IPP über den MEV-Weg. Überraschenderweise war neben der Interaktion von C-3' nach C-5' eine weitere – wenngleich wesentlich schwächere – Wechselwirkung zwischen C-3' und C-4' zu beobachten. Dies deutet auf den Einbau einer intakten C₂-Einheit auch in dieser Position hin und offenbart die nicht ganz perfekte Stereokontrolle der DMAPP-IPP-Isomerase beim Aufbau der Prenyl-Bausteine in *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042.^[130]

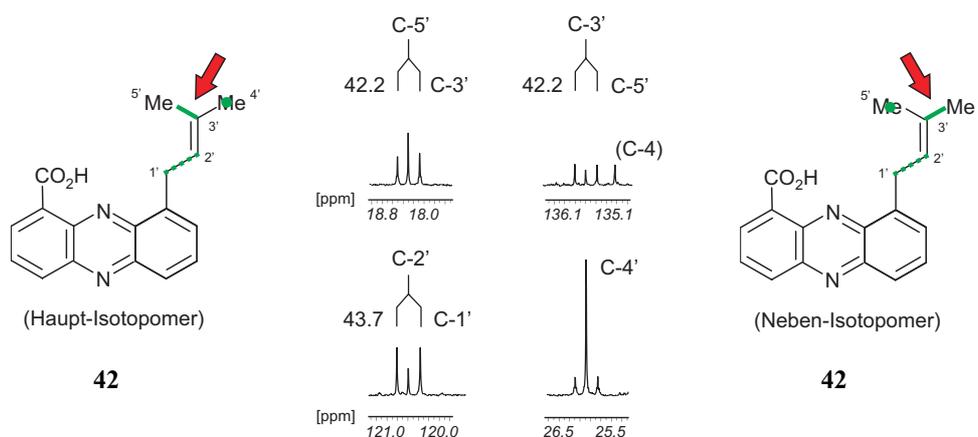


Abb. 16. Markierungsmuster der Prenyl-Seitenkette von Endophenazin A (**42**) nach Fütterung von ¹³C₂-Acetat an *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042. Die ¹³C-markierten Bausteine aus dem MEV-Weg sind grün gekennzeichnet.

Das nach Applikation von ¹³C₂-Acetat isolierte FNQ I (**41**) zeigte im ¹³C-NMR-Spektrum eine starke Markierung aller Kohlenstoffatome im Ring (ca. 5.4 % ¹³C-Atome). Jede Position wies dabei – wie erwartet – zwei gleich starke, direkte und voneinander unabhängige ¹³C-¹³C-Kopplungen auf, als Resultat von Interaktion zu jeweils zwei benachbarten ¹³C-Kernen. Dieses Kopplungsmuster entsteht durch eine Überlagerung der Signale der beiden möglichen Anordnungen der C₂-Einheiten in den zwei Isotopomeren von **41** (vgl. Schema 2) und beweist eindeutig die postulierte Desymmetrisierung eines spiegelsymmetrischen Biosynthese-Intermediates, wahrscheinlich 1,3,6,8-THN (**43**). Das Fehlen einer Markierung an der Methylgruppe an C-6 und an der Methoxyfunktion an C-7 zeigte zudem, dass diese Einheiten durch nachträgliche C- bzw. O-Methylierung an den zentralen Polyketid-Baustein angefügt werden (wahrscheinlich vermittelt durch die S-Adenosyl-Methionin-abhängigen

Methyltransferasen Fmq9 und Fmq27),^[114] ähnlich wie in der Biosynthese des strukturell verwandten Furachinocins.^[116]

Auch der isoprenoide Teil von FNQ I (**41**) wies im ¹³C-NMR-Spektrum eine deutliche ¹³C-Anreicherung auf. Durch Analyse der ²J-Kopplungskonstanten dieser Kohlenstoffatome gelang die Lokalisierung jeweils zweier intakter ¹³C₂-Bausteine und eines einzelnen ¹³C-Atoms in beiden C₅-Ketten (Abb. 17). Die ¹³C₂-Einheiten befinden sich demnach zwischen C-2/Me-2 (²J = 39.9 Hz) und C-3/Me-3 (²J = 35.3 Hz) sowie zwischen C-11/C-12 (²J = 43.9 Hz) und C-13/C-14 (²J = 42.2 Hz), die ¹³C-Singulets an C-10 und C-15. Der experimentell ermittelte Einbau von ¹³C₂-Acetat in **41** steht somit in vollem Einklang mit dem erwarteten Markierungsmuster bei der Bildung von IPP über den MEV-Weg.^[130]

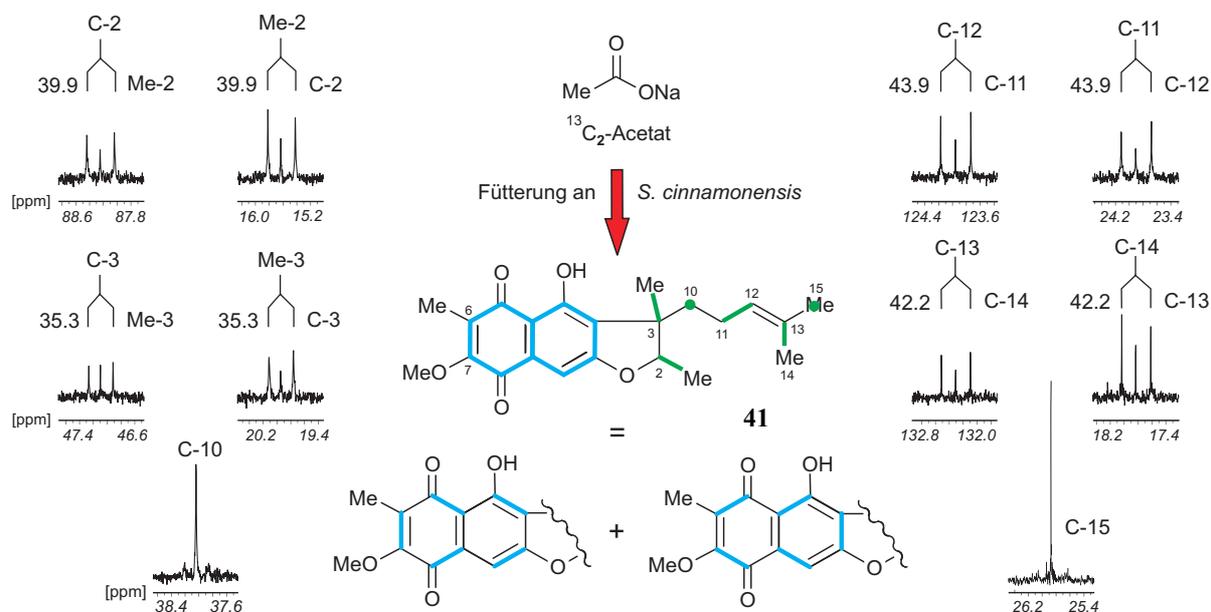


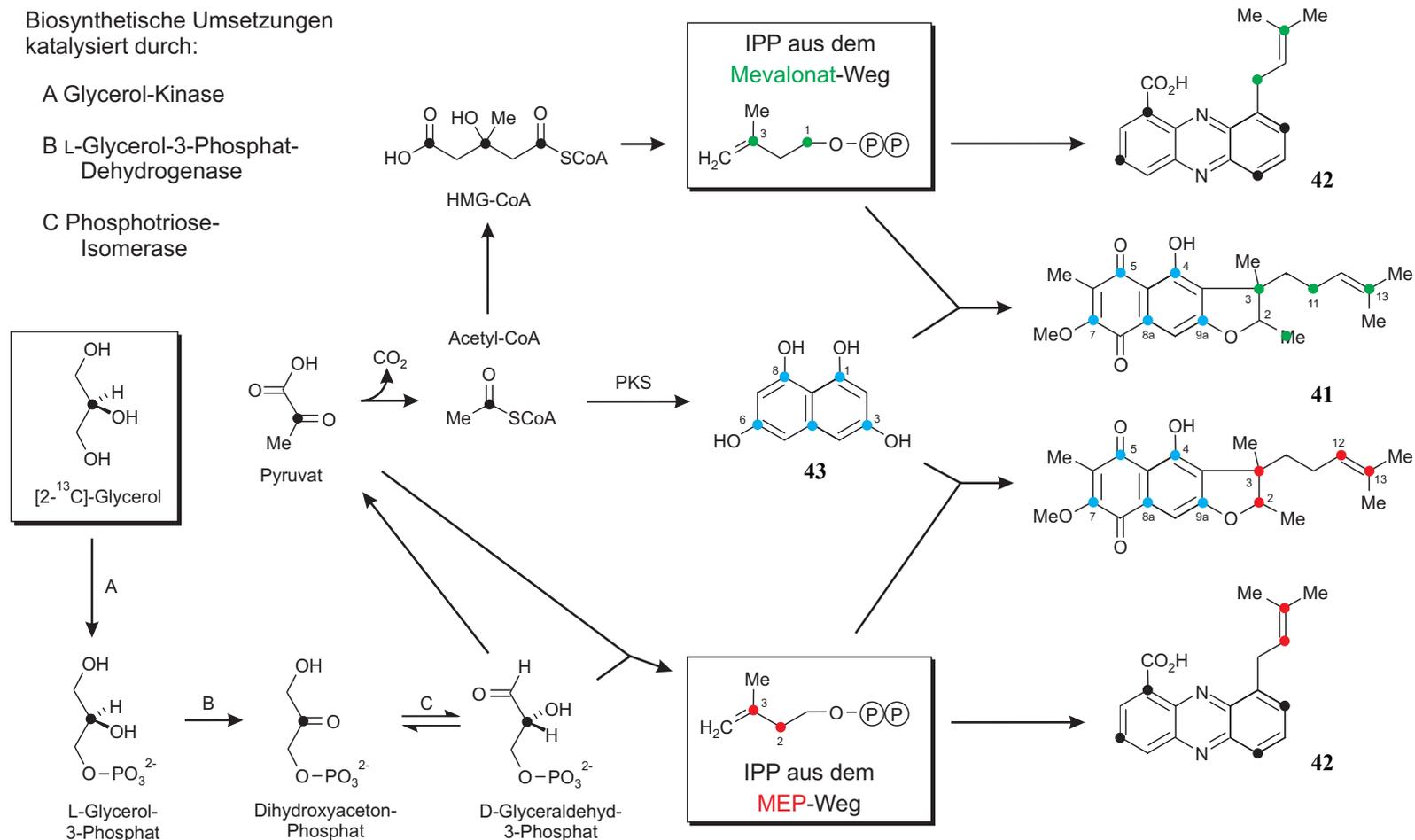
Abb. 17. Markierungsmuster von FNQ I (**41**) nach Fütterung von ¹³C₂-Acetat an *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042. ¹³C-markierte Bausteine sind farblich gekennzeichnet (grün = MEV-Weg, blau = polyketidisch).

Zur Überprüfung eines möglichen Beitrages des MEP-Weges zum Aufbau der Prenyl-Einheiten sollte zudem eine markierte Vorstufe appliziert werden, die je nach biosynthetischem Ursprung von IPP, entweder über MEV oder MEP, zu unterschiedlichen diskreten Markierungsmustern führt. In früheren Studien an Novobiocin wurde zu diesem Zweck 1-¹³C-D-

Glucose verwendet.^[128] Vorversuche mit unmarkierter Glucose zeigten jedoch, dass selbst bei Fütterung geringer Mengen des Zuckers die Sekundärstoff-Bildung stark reduziert wird. Da das von Sedmera *et al.* beschriebene Produktionsmedium für **41** und **42** Glycerol als Kohlenstoff-Quelle enthielt,^[112] wurde für die Fütterungsexperimente schließlich 2-¹³C-Glycerol verwendet. Die theoretisch möglichen Einbau-Muster bei Inkorporation der Markierung über MEV oder MEP sind in Schema 3 dargestellt.

2-¹³C-Glycerol kann demnach über L-Glycerol-3-Phosphat, Dihydroxyaceton-Phosphat und D-Glyceraldehyd-3-Phosphat in Pyruvat umgewandelt werden, welches, zusammen mit einem weiteren Äquivalent D-Glyceraldehyd-3-Phosphat, über den MEP-Weg an C-2 und C-3 markiertes IPP ergeben sollte. Alternativ könnte Pyruvat unter Decarboxylierung zu 1-¹³C-Acetyl-Coenzym-A umgesetzt werden. Durch Einbau dieses C₂-Bausteines in den polyketidischen Naphthochinon-Kern von **41** sollte sich dann eine ¹³C-Anreicherung an den Positionen C-4, C-5, C-7, C8a und C-9a ergeben. Eine biosynthetische Umsetzung des 1-¹³C-Acetyl-Coenzym-A über den MEV-Weg würde an C-1 und C-3 markiertes IPP liefern.

Die Analyse des ¹³C-NMR-Spektrums von **41** aus der Fütterung von 2-¹³C-Glycerol an *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042 zeigte erneut eine hohe ¹³C-Einbaurrate. Der acetogenine Naphthochinon-Teil des Moleküls wies die erwartete Markierung an C-4, C-5, C-7, C-8a und C-9a auf. Die beiden Kohlenstoff-Atome C-3 und C-13 aus dem isoprenoiden Teil von **41**, die sowohl über MEV als auch über MEP markiert werden sollten, waren am stärksten ¹³C-angereichert (*ca.* 9% ¹³C-Gehalt). Zudem wurde ein ¹³C-Einbau sowohl an den MEV-spezifischen Kohlenstoffen Me-2 und C-11 (*ca.* 6.5 %) als auch an den ausschließlich über den MEP-Weg markierbaren Positionen C-2 und C-12 (*ca.* 1.5 %) gefunden (Abb. 18).^[130]



Schema 3. Erwarteter ^{13}C -Einbau nach Fütterung von $2-^{13}\text{C}$ -Glycerol an *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042 in FNQ I (41) und Endophenazin A (42) über den MEV- und den MEP-Weg.^[140] ^{13}C -markierte Positionen sind dick und farblich gekennzeichnet (grün = MEV-Weg, rot = MEP-Weg, blau = polyketidisch).

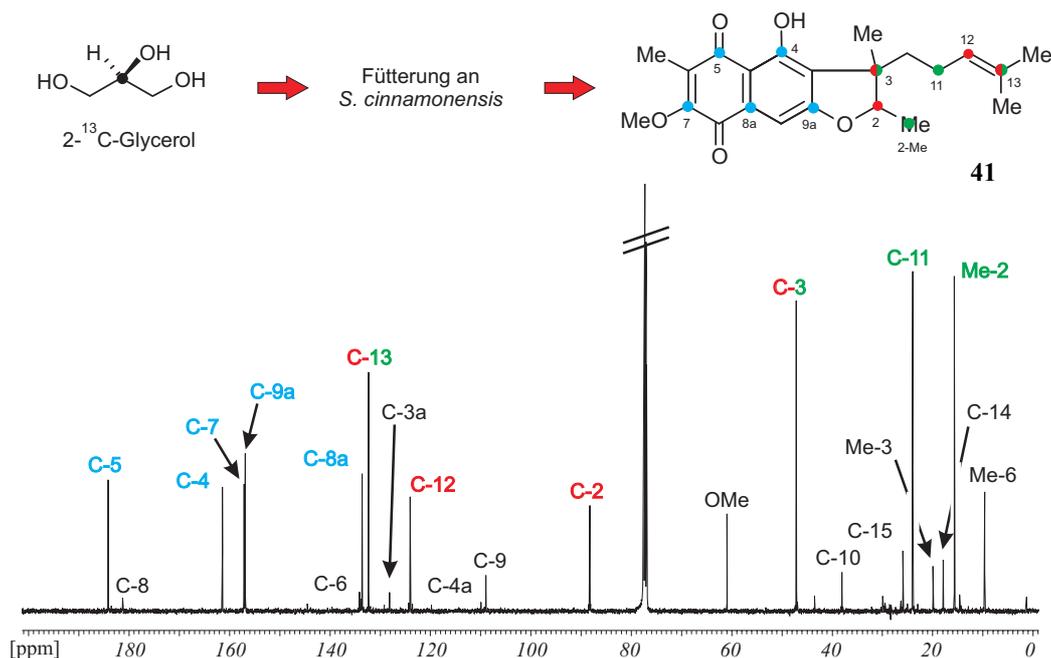


Abb. 18. ¹³C-NMR-Spektrum und Markierungsmuster von FNQ I (**41**) nach Fütterung von 2-¹³C-Glycerol an *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042. ¹³C-markierte Bausteine sind farblich gekennzeichnet (grün = MEV-Weg, rot = MEP-Weg, blau = polyketidisch).

Die Ergebnisse dieses zweiten Fütterungsexperiments beweisen eindeutig, dass die Biosynthese der C₅-Bausteine für den Sekundärstoffwechsel in *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042 vor allem über den MEV-Weg (ca. 80 % Beitrag), gleichzeitig aber auch über den MEP-Weg (ca. 20 %) verläuft. Eine simultane Verwendung dieser beiden Biosynthese-Wege zu IPP in Actinomyceten wurde in der Literatur bislang lediglich zweimal beschrieben. Seto *et al.* zeigten in diesen Publikationen, dass Menachinone des Primärstoffwechsels in Actinomyceten über MEP, gleichzeitig aber Sekundärstoffe der entsprechenden Organismen wie etwa Naphterpin aus *Streptomyces aeriouvifer*^[141] und BE-40644 aus *Actinoplanes sp.* A40644,^[118] vorwiegend mit IPP-Einheiten aus dem MEV-Weg aufgebaut werden. Die Gruppe schloss daraus, dass der MEP-Weg in einem frühen Stadium des Wachstums dieser Bakterien arbeitet, zu einem späteren Zeitpunkt hingegen, mit Beginn der Produktion von Sekundärmetaboliten, der MEP-Weg “abgeschaltet“ und ausschließlich der MEV-Weg aktiviert wird. Unsere Ergebnisse führten zu dem Schluss, dass in *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042 zumindest für einen bestimmten Zeitabschnitt beide Biosynthese-Routen gleichzeitig für den Sekundärstoffwechsel zur Verfügung stehen müssen. Damit gelang es erstmalig die Verwendung beider Wege zur

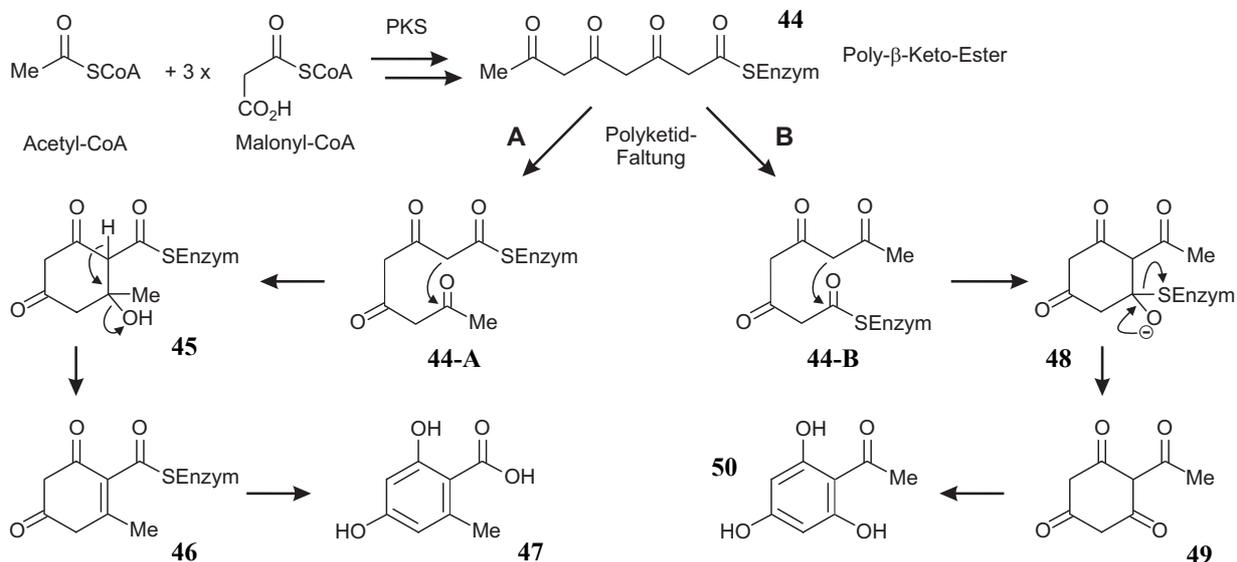
Produktion ein und desselben Metaboliten, **41**, zu beweisen *und* gleichzeitig deren jeweiligen prozentualen Anteile zu quantifizieren.^[130]

Wie unter 3.2.2 beschrieben, wies das Biosynthese-Gencluster für FNQ I (**41**) lediglich eines der sechs nötigen Gene (wahrscheinlich das der Mevalonat-Kinase) zur Biosynthese von IPP über den MEV-Weg auf.^[114] Die Resultate der Fütterungsstudien belegen jedoch eindeutig einen großen Anteil der MEV-Route an der Biosynthese der C₅-Einheiten (80 %). Dies steht somit in scharfem Kontrast zu allen bislang in der Literatur beschriebenen isoprenoiden Sekundärstoff-Clustern, in denen immer alle sechs Gene des MEV-Weges enthalten sind.^[120-123] Ein Screening von bakterieller DNA nach der stark konservierten HMG-CoA-Reduktase-Sequenz, wie es von Kuzuyama *et al.* als einfache Methode zum Auffinden von Biosynthese-Clustern isoprenoider Naturstoffe vorgeschlagen wurde,^[142] ist nach Kenntnis dieser neuen Ergebnisse daher nicht mehr ausreichend.

4 Aufklärung der Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide

Acetogenine Sekundärstoffe kommen in der Natur ubiquitär vor. Sie finden sich in Mikroorganismen (Bakterien, Pilzen, Algen, etc.) ebenso wie in höheren Lebewesen (Pflanzen und Tieren) und erfüllen dort unterschiedlichste Funktionen, wie z.B. als Pigmente in Pflanzen-Blüten oder als Antibiotika in Bakterien. Allen Vertretern dieser Naturstoffklasse gemein ist jedoch deren durch sog. Polyketid-Synthasen (PKS) katalysierte Biosynthese aus einfachsten Carbonsäure-Bausteinen des Primärstoffwechsels.^[140] Dabei wird zunächst eine Starter-Einheit, meist Acetyl-CoA, durch eine decarboxylative Claisen-Reaktion mit einem Malonyl-CoA-Derivat unter Ausbildung einer Aceto-Acetyl-CoA-Verbindung um eine C₂-Einheit verlängert. Dieser Mechanismus ist identisch mit dem der Kettenelongation in der Fettsäure-Biosynthese des Primärstoffwechsels.^[143] Die Selektivität bestimmter Polyketid-Synthasen für an C-2-funktionalisierte Malonsäure-Derivate (z.B. 2-Methylmalonat) liefert jedoch zusätzlich die Möglichkeit zur Biosynthese verzweigter Polyketide. Anders als beim Aufbau von Fetten, bei dem meist eine vollständige Reduktion des neu eingeführten C₂-Bausteines stattfindet (Ketosäure-Reduktion, Dehydratisierung, Hydrierung), kann die iterative Verlängerung einer Polyketid-Kohlenstoffkette zudem auch gänzlich ohne oder mit nur teilweiser Reduktion fortgesetzt werden. Dies führt zu der enormen strukturellen Diversität acetogener Kohlenstoff-Grundkörper. Aus nicht vollständig hydrierten Bausteinen entstehen so etwa Polyene, wie z.B. das Nystatin A₁ (**6**, Abb. 2).^[10] Nicht dehydratisierte Vorläufer können zu Polyethern umgesetzt werden, beispielsweise zu dem 1976 entdeckten marinen Giftstoff Maitotoxin^[144] (dem wohl größten organischen Biomolekül, welches nicht als Polymer vorliegt), dessen Struktur aufgrund seiner hohen Komplexität und Größe (Summenformel: C₁₆₄H₂₅₆O₆₈S₂Na₂, insgesamt 32 cyclische Ether unterschiedlicher Ringgröße, 98 Stereozentren) noch immer nicht sicher vollständig aufgeklärt werden konnte.^[145] Gänzlich unreduzierte, hoch reaktive Poly-β-Keto-Intermediate liefern schließlich aromatische Polyketide,^[146] wie z.B. die Tetracycline (**5**, Abb. 2).^[9] Die mögliche Modifikation der so erhaltenen Grundgerüste durch sog. 'Tailoring'- Enzyme,^[147] etwa durch Funktionalisierung von Heteroatomen (z.B. SAM-induzierte Methylierung, Anknüpfung von Zuckerresten), aber auch durch komplexere chemische Modifikationen (z.B. Epoxidierung, phenoloxidative Kupplung, Diels-Alder-Reaktionen), führt zu einer weiteren Potenzierung der strukturellen Vielfalt acetogener Metabolite.

Biosynthetisch besonders interessant ist der Aufbau aromatischer Polyketide aus Poly- β -Keto-Estern. Die aufgrund der hohen Dichte von elektrophilen (Keto-Gruppen) und nucleophilen Positionen (Methylen-Einheiten jeweils zwischen zwei Carbonyl-Funktionen sowie die Sauerstoff-Funktionen selbst) extrem reaktiven Intermediate werden durch die an ihrer Bildung beteiligten PKS-Enzymkomplexe stabilisiert und hoch regioselektiven Cyclisierungsreaktionen unterworfen. Die Bedeutung der strikten Kontrolle der Regioselektivität dieser Folgereaktionen, induziert durch die so genannte Polyketid-Faltung, wird schon bei der Betrachtung zweier (von mehreren möglichen) Produkte des einfachsten Tetraketids **44** deutlich (Schema 4).^[140] Bei einer Faltung von **44** über Weg A zu **44-A**, mit anschließender Aldolkondensation über **45** zum cyclischen Keton **46**, entsteht nach Aromatisierung durch Enolisierung der verbliebenen Carbonyl-Funktionen und anschließender Abspaltung vom Enzym Orsellinsäure (**47**). Verläuft die Cyclisierung über das Intermediat **44-B**, also durch eine initiale Claisen-Reaktion über **48** unter Abspaltung vom Enzym zu Keton **49**, ergibt sich nach Aromatisierung durch Enolisierung jedoch Phloroacetophenon (**50**). Durch die selektive enzymatische Steuerung der Faltung wird also in der Natur eine weitere Möglichkeit zur strukturellen Diversifizierung selbst einfacher Poly- β -Keto-Ester, wie **44**, bereitgehalten.



Schema 4. Einfluß der enzymatischen Faltung eines Tetraketids (**44**) zu (**44**)-A oder (**44**)-B auf die Konstitution der PKS-Produkte **47** bzw. **50**.^[140]

Bemerkenswert ist dabei, dass bei mehrcyclischen aromatischen Polyketiden anscheinend immer eine vom Produzenten abhängige spezifische Faltung des zuerst cyclisierten Ringes

vorliegt. Im Jahr 2001 wurde daher von R. Thomas eine bislang allgemeingültige Regel zur Klassifizierung der Faltungsmodi solcher Verbindungen aus Bakterien, Pilzen und Pflanzen aufgestellt^[148] – basierend auf empirischen Daten von bis dato in der Literatur beschriebenen Ergebnissen aus Fütterungsexperimenten mit Stabilisotopen-markierten Vorstufen. In prokaryotischen Organismen (Bakterien) werden demzufolge nach dem Modus S (**S** von *Streptomyces*) im zuerst cyclisierten Ringsystem drei Malonyl-abgeleitete intakte C₂-Bausteine eingebaut, während in Eukaryoten (Pilzen und Pflanzen), nach dem Modus F (**F** von *Fungi*), dort lediglich zwei C₂-Einheiten zu finden sind. Diese Regel gilt bislang für alle publizierten, lediglich durch unterschiedliche Polyketid-Faltung entstehenden C₂-Einbaumuster acetogener Sekundärstoffe, auch bei strukturell sehr nahe verwandten Verbindungen aus unterschiedlichen biologischen Quellen, wie dem pilzlichen Metaboliten Hypomycetin (**51**)^[149] und dem bakteriellen Polyketomycin (**52**)^[150] die entsprechend ihres biosynthetischen Ursprungs sehr unterschiedlich aufgebaut werden: nach Modus F bzw. Modus S (Abb. 19).

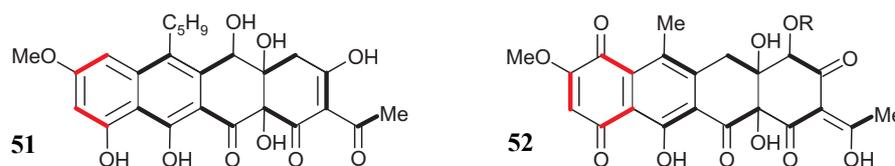
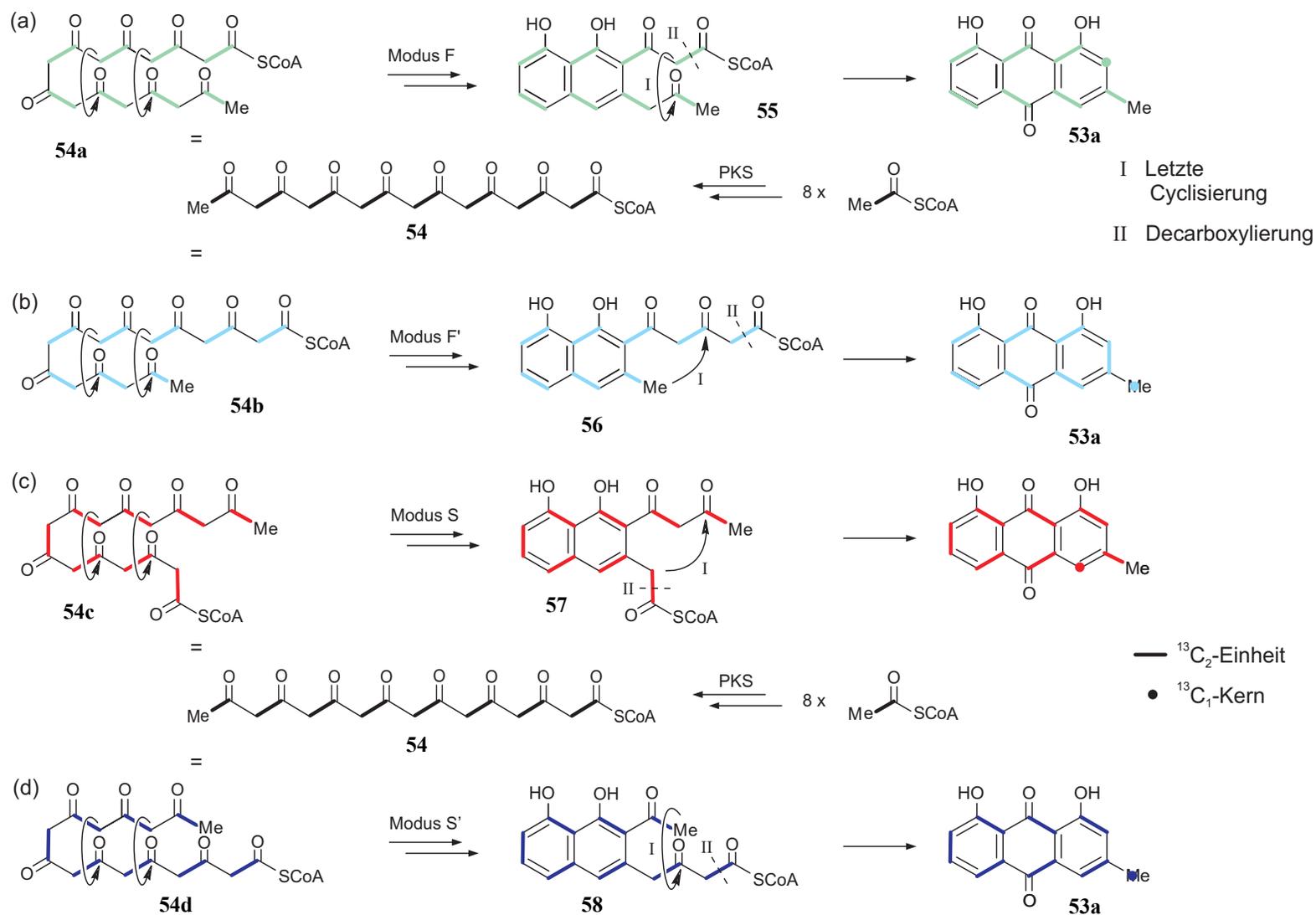


Abb. 19. Vergleich des C₂-Markierungsmusters strukturell sehr nahe verwandter Verbindungen: Modus-F-Faltung in Hypomycetin (**51**) aus *Hypomyces aurantius* und Modus-S-Faltung in Polyketomycin (**52**) aus *Streptomyces diastatochromogenes*. Der Rest R steht für ein 3,6-Dimethylsalicyloyl-Disaccharid.

Ein direkter Vergleich der Polyketid-Faltung ein und desselben Metaboliten aus beiden, strikt getrennten phylogenetischen Reichen, den *Prokaryota* und den *Eukaryota*, durch eine vergleichende Biosynthese-Studie existierte bislang allerdings nicht. Die Begründung dafür lag im Fehlen geeigneter Sekundärstoffe, die von Bakterien *und* Pilzen/Pflanzen gebildet werden. Lediglich sehr einfache symmetrische Polyketide, wie das THN (**43**), wurden sowohl in Bakterien,^[151] als auch in Pilzen^[152] nachgewiesen. Aufgrund der Symmetrie dieser Verbindung und der damit einhergehenden Randomisierung des C₂-Einbaumusters im fertigen Metaboliten ist eine Unterscheidung der Faltungsmodi (z.B. durch Fütterungsexperimente mit ¹³C₂-markierten Precursoren) bei deren Biosynthese in unterschiedlichen Organismen allerdings prinzipiell nicht möglich (vergleiche Kapitel 3.2.2).

Dies änderte sich mit der Entdeckung von Chrysophanol (**53a**) nach gezielter Suche in prokaryotischen Lebewesen durch Prof. H.-P. Fiedler (Universität Tübingen) in Zusammenarbeit mit unserer Gruppe in dem *Nocardia*-Stamm Acta 1057^[153] und parallel durch Fotso *et al.* in einem terrestrischen Streptomyces.^[154] Chrysophanol (**53a**) ist ein strukturell sehr einfaches, da (bis auf die Oxidation vom Anthron zum Anthrachinon) nicht durch 'Tailoring'-Enzyme nachträglich funktionalisiertes, tricyclisches Oktaketid, das in der Natur in verschiedensten eukaryotischen Organismen weit verbreitet ist. Es findet sich sowohl in einkeimblättrigen (Asphodelaceae) als auch in zweikeimblättrigen (Polygonaceae, Rhamnaceae) Pflanzen,^[155] in Laubflechten,^[156,157] in filamentösen Pilzen,^[158] und sogar in mehreren Blattkäferarten (Chrysomelidae; Unterfamilie Galerucinae).^[159-161] Allerdings ist der biosynthetische Ursprung in den Insekten (z.B. aus symbiotischen Mikroorganismen oder durch Aufnahme des Metaboliten über die Nahrung) nicht eindeutig geklärt. Mit der Identifizierung von **53a** in einem Bakterium eröffnete sich unserer Gruppe die Chance, erstmalig eine vergleichende Biosynthesestudie ein und desselben acetogeninen Sekundärstoffes aus Pro- und Eukaryonten durchzuführen.^[153]

Betrachtet man den möglichen biosynthetischen Aufbau des tricyclischen Ringsystems von Chrysophanol (**53a**) aus acht C₂-Bausteinen, so ist es denkbar, dass die hypothetische Vorstufe, die lineare Octaketidkette **54**, sogar über vier verschiedene Faltungen **54a-54d**, den oben beschriebenen Modi F und S und den bisher in der Literatur nicht diskutierten Modi F' und S', zum Endprodukt umgesetzt werden könnte (Schema 5). Auf jedem dieser Wege würde ausgehend von **54** zunächst jeweils ein konstitutionell individuell verschiedenes Intermediat **55-58** durchlaufen. Die durch die regioselektiven Cyclisierungsreaktionen der ersten beiden Ringe entstandene strukturelle Divergenz dieser bicyclischen Zwischenstufen **55-58** würde nach Aufbau des dritten aromatischen Systems durch biosynthetische Konvergenz zu der Struktur von **53a** wieder verloren gehen. Der zu **53a** jeweilig führende Faltungsmodus ist daher natürlich nicht mehr aus der Struktur des Naturstoffes zu ermitteln. Dafür nötig sind vielmehr Fütterungsexperimente mit geeigneten Stabilisotopen-markierten Vorstufen und die Analyse der gebildeten strukturell identischen, aber isotopomeren PKS-Produkte in den verschiedenen Organismen.



Schema 5. Die vier denkbaren Faltungsmodi – F (a) und F' (b) sowie S (c) und S'(d) – bei der Biosynthese von Chrysoanol (**53a**) ausgehend von einem linearen Oktaketid **63** über vier strukturell unterschiedliche bicyclische Intermediate **55-58**.

Vor Beginn der vorliegenden Arbeit waren in unserer Gruppe durch T.F. Noll (Bereitstellung der flüssigen Kalluskulturen der monokotyledonen Pflanze *Kniphofia uvaria* Hook,^[162] Applikation der markierten Vorstufe und Isolierung von **53a**) und durch M. Dreyer (Messung und Auswertung der NMR-Spektren) bereits Fütterungsstudien mit $^{13}\text{C}_2$ -Acetat zur Aufklärung des Faltungsmodus von Chrysophanol (**53a**) in Pflanzen durchgeführt worden. Dabei konnten eindeutig vier (von sieben) intakte $^{13}\text{C}_2$ -Bausteine in **53a** nachgewiesen und lokalisiert werden, nämlich zwischen C-3 und Me-3, C-4a und C-4, C-5 und C-6 sowie C-7 und C-8 (Abb. 20). Diese Ergebnisse bewiesen somit den Aufbau von **53a** in *Kniphofia uvaria* (Fackellilie) nach Modus F (Schema 5a).

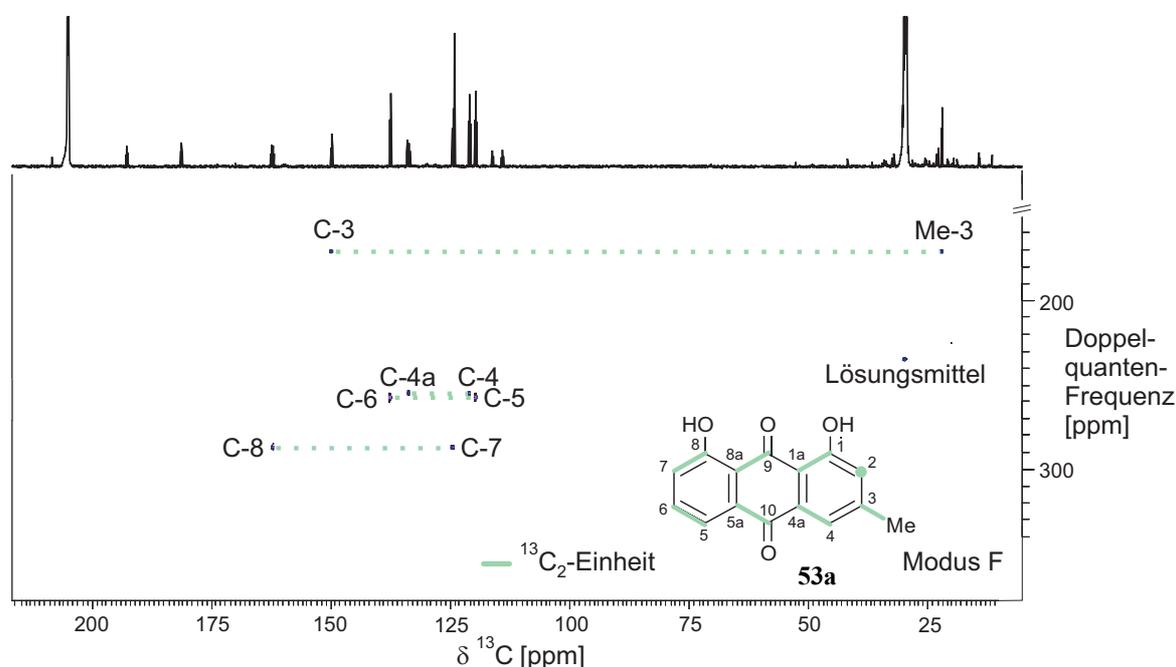


Abb. 20. 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum von **53a** aus Kalluskulturen von *Kniphofia uvaria* Hook nach Applikation von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat.

Nach den beiden einzigen früheren Untersuchungen zur Polyketid-Faltung in Pflanzen – dem Nachweis des Modus F in dikotyledonen Pflanzen, am Beispiel der Naphthylisochinolin-Alkaloide,^[163,164] ebenfalls in unserer Gruppe – war dies die bis dahin erste Studie zum Aufbau acetogener Metabolite in monokotyledonen Pflanzen.^[153] Inzwischen gelang unserem Arbeitskreis durch Aufklärung der Biosynthese des Phenylanthrachinons Knipholon aus

Kniphofia pumila anhand des Chrysophanol-Teils dieses Naturstoffs auch die Bestätigung des Modus F an einem weiteren Sekundärstoff einer einkeimblättrigen Pflanze.^[165]

4.1 Vergleichende Biosynthese-Studie zur Polyketid-Faltung von Chrysophanol (53a) in Pro- und Eukaryonten

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte nun nach Fütterungsexperimenten mit $^{13}\text{C}_2$ -Acetat (Durchführung durch T.F. Noll, zum Teil in Zusammenarbeit mit externen Partnern), das Faltungsmuster von Chrysophanol (**53a**) aus *Drechslera catenaria* (Pilz), aus dem oben genannten *Nocardia*-Stamm Acta 1057 (Bakterium, in Zusammenarbeit mit Prof. H.-P. Fielder) und aus *Galeruca tanacetii* (Blattkäfer, in Kooperation mit Prof. M. Hilker, TU Berlin) NMR-spektroskopisch aufgeklärt werden.^[153]

4.1.1 NMR-spektroskopische Analyse des Faltungmodus von Chrysophanol (53a) im Pilz *Drechslera catenaria*

Der Pilz *Drechslera catenaria*^[166] wurde von T.F. Noll nach einem extensiven Screening verschiedener in der Literatur beschriebener Chrysophanol-Bildner als zuverlässiger Produzent von **53a** etabliert.^[167] Die Applikation von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat (T.F. Noll) erfolgte ab dem fünften Tag nach Animpfen der Kulturen und wurde in Intervallen von sieben Tagen weitere viermal bis zu einer Endkonzentration von 200 mg/L fortgesetzt. Die Gewinnung von **53a** aus dieser Fermentation gelang nach erschöpfender Extraktion des Kulturmediums mit Ethylacetat und des Pilzmycels mit Aceton/Wasser (95:5) durch HPLC-Aufreinigung der vereinigten Rohextrakte an einer präparativen Säule. Insgesamt isolierte man so 3.6 mg reines Chrysophanol (**53a**).

Die Substanz wurde zunächst mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie zur Verifizierung eines ausreichenden Markierungsgrades vermessen und anschließend das Einbaumuster durch 2D-INADEQUATE-NMR^[168] analysiert. So waren bereits deutliche Korrelationen von sechs $^{13}\text{C}_2$ -Bausteinen nachweisbar (Abb. 21). Diese befanden sich zwischen C-1a und C-1, C-3 und Me-3, C-4a und C-4, C-5a und C-10, C-5 und C-6, sowie zwischen C-7 und C-8. Die fehlende Interaktion zwischen C-9 und C-8a war aufgrund des Vorhandensein des Signals von C-9 mit der korrekten Doppelquantenfrequenz für eine Kopplung C-9/C-8a im INADEQUATE-NMR-Spektrum und durch die identische Kopplungskonstante der Kohlenstoffatome dieser beiden

Positionen im ^{13}C -NMR-Spektrum ($^2J = 55 \text{ Hz}$) indirekt detektierbar. Einen weiteren Nachweis eines intakten C_2 -Bausteines zwischen C-9 und C-8a erhielt man durch ein SELINQUATE-NMR-Experiment.^[169] Nach Einstrahlung bei der Resonanzfrequenz von C-9 erfolgte ein selektiver Doppelquanten-Transfer der Anregung zu C-8a. Somit gelang für **53a** aus *Drechslera catenaria* die Lokalisierung aller $^{13}\text{C}_2$ -Bausteine und damit erstmalig der Beweis für die erwartete Modus-F-Polyketid-Faltung von Chrysophanol (**53a**) in Pilzen.^[153]

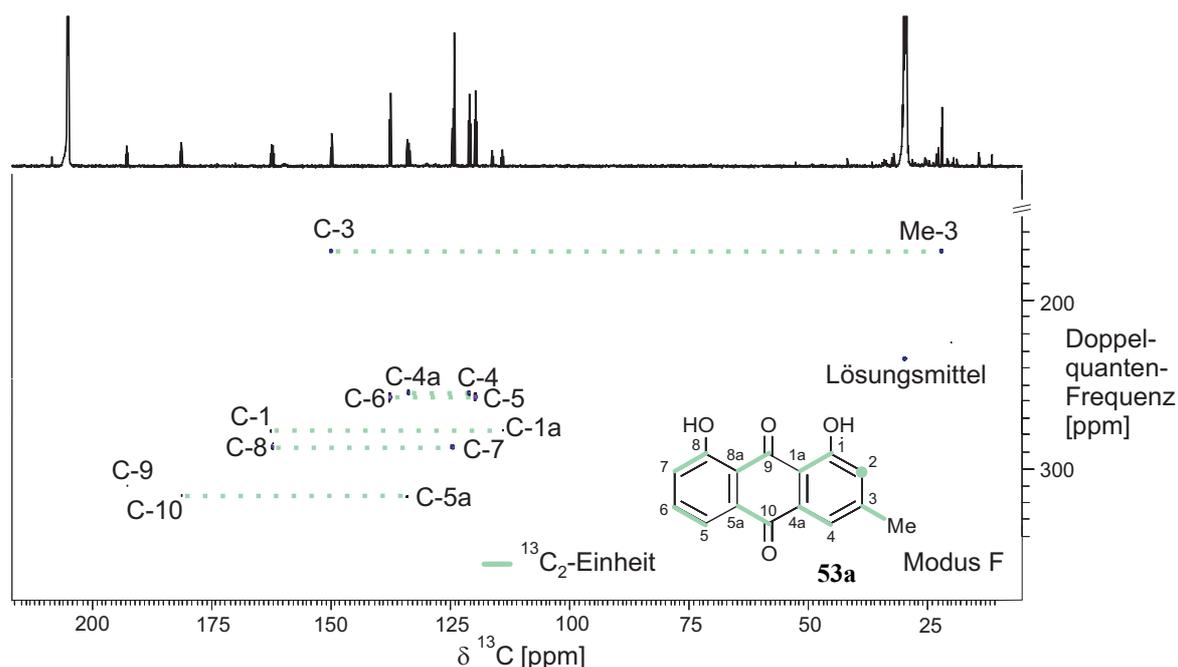


Abb. 21. 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum von **53a** aus *Drechslera catenaria* nach Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat.

4.1.2 NMR-spektroskopische Analyse des Faltungsmodus von Chrysophanol (**53a**) im Blattkäfer *Galeruca tanacetii*

Zur Aufklärung des Faltungsmodus bei der Biosynthese von **53a** in Insekten wurden von T.F. Noll in Kooperation mit M. Hilker *et al.* Fütterungsexperimente mit $^{13}\text{C}_2$ -Acetat an Larven des Blattkäfers *Galeruca tanacetii* durchgeführt, welcher in verschiedenen Entwicklungsstadien Chrysophanol (**53a**) enthält.^[160,161] Da dieser Käfer **53a** nicht über seine Nahrung aufnimmt,^[170] lag die Vermutung nahe, dass **53a** in *Galeruca tanacetii* entweder durch das Insekt selbst oder aber durch einen mikrobiellen Endosymbionten dargestellt wird. Letzteres scheint nicht wahrscheinlich, da bei Gabe verschiedener Fungizide oder Antibiotika die Produktion des

Naturstoffes nicht beeinflusst wurde.^[171] Die Applikation der markierten Vorstufe erfolgte täglich über einen Zeitraum von 14 Tagen durch Aufsprühen einer daraus erstellten wässrigen Lösung (2 mg/mL) auf die Futterpflanze (Chinakohl) von *ca.* 800 Larven. Nach Beendigung des Experiments wurden die Insekten in flüssigem Stickstoff abgetötet und anschließend gefriergetrocknet. Die trockenen Larven wurden im Mörser zerkleinert und mit Aceton/Wasser (95:5) extrahiert. Die Isolierung von Chrysophanol (**53a**) erfolgte erneut mittels präparativer HPLC (3.9 mg Reinsubstanz).

Nach Überprüfung der ^{13}C -Anreicherung des so gewonnenen **53a** mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie wurde durch 2D-INADEQUATE-NMR^[168] unter Verwendung eines ^{13}C -empfindlichen Kryoprobekopfes auch in *G. tanacetii* der Faltungsmodus F nachgewiesen. Ähnlich wie bei den Experimenten am pilzlichen System waren sechs Interaktionen direkt zu beobachten (Abb. 22). Auf eine zusätzliche Detektion der einzigen fehlenden Korrelation (zwischen C-1 und C-1a) wurde aufgrund des durch die Anordnung aller anderen $^{13}\text{C}_2$ -Bausteine bereits zweifelsfrei determinierten Markierungsmusters verzichtet.

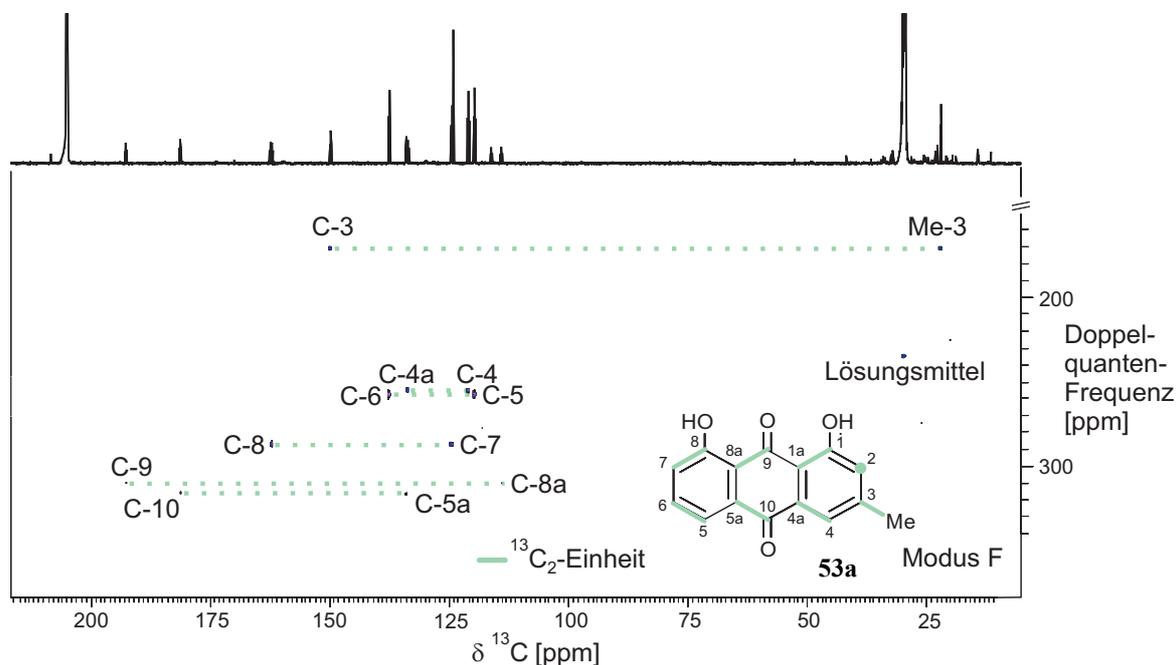


Abb. 22. 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum von **53a** aus *G. tanacetii* nach Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat.

4.1.3 NMR-spektroskopische Analyse des Faltungmodus von Chrysophanol (**53a**) im Bakterium *Nocardia Acta 1057*

Die Durchführung der Fütterungsexperimente mit $^{13}\text{C}_2$ -Acetat am *Nocardia*-Stamm Acta 1057 sowie die Isolierung des so produzierten Chrysophanols (**53a**) erfolgte an der Universität Tübingen in der Gruppe von H.-P. Fiedler. Dabei wurden 1.6 mg der Reinsubstanz gewonnen und zur Analyse nach Würzburg verschickt.

Der Nachweis des erfolgten Einbaus von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat in **53a** aus diesen Versuchen erfolgte zunächst erneut mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie. Das 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum^[168] dieser Probe zeigte im Vergleich zu den oben beschriebenen Experimenten ein substantiell unterschiedliches Markierungsmuster. Aufgrund des hohen Markierungsgrades gelang der direkte experimentelle Nachweis aller sieben intakten $^{13}\text{C}_2$ -Einheiten, nämlich zwischen C-1 und C-2, C-3 und Me-3, C-5a und C-5, C-6 und C-7, C-8 und C-8a, C-9 und C-1a sowie zwischen C-10 und C-4a (Abb. 23, rot).

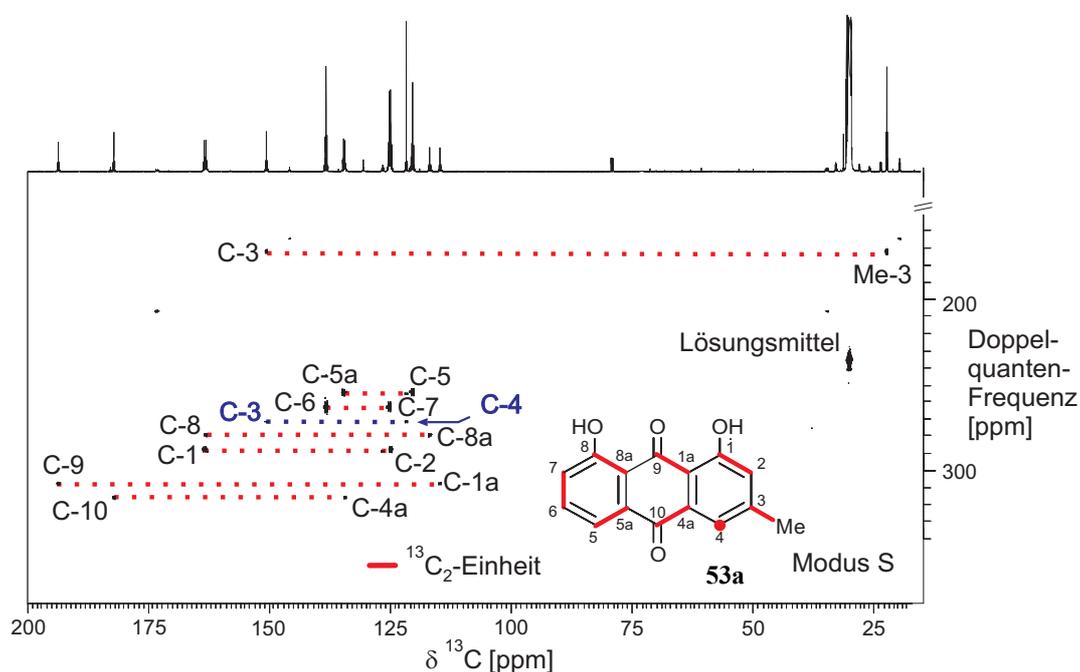


Abb. 23. 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum von **53a** aus *Nocardia Acta 1057* nach Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat.

Das so erhaltene Einbaumuster entsprach demnach voll dem für den Modus S – und damit für einen bakteriellen Produzenten erwarteten Faltungstyp (Schema 5c). Mit dessen Nachweis in Chrysophanol (**53a**) aus *Nocardia* Acta 1057 gelang erstmalig der experimentelle Nachweis unterschiedlicher Polyketidfaltungswege bei der Biosynthese eines aromatischen Polyketids in unterschiedlichen Organismen.

Interessant war zudem das Auftreten einer zusätzlichen – wenngleich wesentlich schwächeren – Interaktion zwischen C-3 und C-4 (Abb. 23, blau). Diese Wechselwirkung legte zunächst die Vermutung nahe, dass in *Nocardia* simultan zum Modus S auch ein Aufbau von **53a** nach Modus S', also über das bicyclische Intermediat **58** (Schema 5d), möglich ist. Eine genaue Analyse des Kopplungsmusters von C-4 im ^{13}C -NMR-Spektrum zeigt aber zudem eine schwache Interaktion dieses Kohlenstoffes mit C-4a. Dies würde indessen einer weiteren gleichzeitigen Markierung von **53a** im Bakterium nach Modus F und / oder F' entsprechen und ist daher eher unwahrscheinlich. Eine schlüssige Erklärung für das Auftreten dieses Phänomens ist aber in der Tatsache zu finden, dass bei Aufbau von **53a** nach Modus S das ^{13}C -Singulett an Position C-4 dem Starter-Molekül der Octaketid-Kette **54** entstammt. Die ^{13}C -Markierung von C-4 ist demnach die einzige in **53a**, die direkt aus der gefütterten Vorstufe, $^{13}\text{C}_2$ -Acetat, abgeleitet ist. Aus diesem Grund kann die Anreicherung dort wesentlich höher sein als an allen anderen Positionen (Startereffekt),^[172-174] wo die Verdünnung des Labels durch die nötige Biosynthese von Malonyl-CoA (aus $^{13}\text{C}_2$ -Acetat) und durch dessen zusätzliche Zufuhr aus endogenen Pools, und damit in unmarkierter Form, viel stärker ist. Die im Vergleich zu allen anderen detektierten Kopplungen zwischen jeweils zwei benachbarten ^{13}C -Atomen in **53a** viel schwächeren Interaktionen zwischen C-4 und C-3 sowie C-4 und C-4a sind daher durch eine Population an Chrysophanol-Molekülen erklärbar, die aufgrund des hohen Anreicherungsgrades an C-4 zufällig jeweils gleichzeitig an C-4 und C-3/Me-3 oder C-4 und C-4a/C-10 markiert sind (Abb. 24). Der simultane Ablauf von Modus S und S' bei der Biosynthese von **53a** in *Nocardia* Acta 1057 war dennoch auf Grundlage unserer Daten weder zu beweisen, noch auszuschließen.

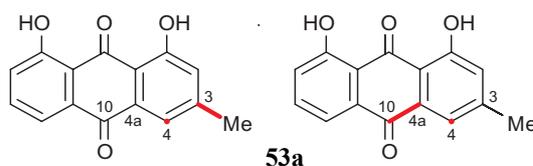


Abb. 24. Mögliche Erklärung für das zusätzliche Auftreten von Interaktionen zwischen C-4 und C-3 sowie C-4 und C-4a in **53a** aus *Nocardia* Acta 1057: teilweise gleichzeitige Markierung der jeweiligen Positionen aufgrund der hohen ^{13}C -Anreicherung an C-4 (Startereffekt).

4.1.4 Fazit aus der komparativen Biosynthese-Studie an Chrysophanol (**53a**)

Durch die vergleichende Untersuchung der Biosynthese von Chrysophanol (**53a**) gelang unserer Gruppe der erste experimentelle Beweis dafür, dass ein und dasselbe aromatische Polyketid Organismus-spezifisch über mindestens zwei Faltungsmodi, Modus F oder S, aufgebaut werden kann: in Pflanzen (*Kniphofia uvaria*) und Pilzen (*Drechslera catenaria*), also in Lebewesen mit Zellkern, wurde der erwartete Modus F nachgewiesen, während der Bakterienstamm (*Nocardia* Acta 1057) **53a** nach Modus S aufbaute.

Auch in Larven des Blattkäfers *Galeruca tanacetii* war es möglich eine Bildung von **53a** gemäß dem für eukaryotische Lebewesen typischen Biosynthese-Modus F zu zeigen. Dort stellt sich jedoch die Frage – wie immer im Falle von Sekundärstoffen aus Tieren, z.B. auch aus marinen Schwämmen (vgl. Kapitel 2) – nach dem biosynthetischen Ursprung der Substanz. Ein prokaryotischer (bakterieller) Endosymbiont kann wegen des in diesen Studien beobachteten Markierungsmusters der Substanz nun aber eindeutig ausgeschlossen werden. Die Tatsache, dass die Chrysophanol-Produktion auch bei Applikation von Fungiziden die *Galeruca tanacetii* nicht beeinträchtigt wird,^[171] deutet zudem stark darauf hin, dass der Käfer selbst zur Darstellung von **53a** fähig ist.^[175] Die dafür nötigen Biosynthese-Gene können aber trotzdem ursprünglich aus einem (pathogenen) Pilz stammen und im Laufe der Evolution durch horizontalen Gentransfer auf das Insekt übertragen worden sein.

Die Ergebnisse zeigen auf Metaboliten-Ebene deutlich, dass eine enge Verwandtschaft der an der Biosynthese von **53a** beteiligten Enzyme innerhalb der Eukaryoten bestehen muss, während größere strukturelle Unterschiede im Vergleich mit der prokaryotischen PKS zu erwarten sind. Die Untersuchung der Proteinstrukturen und genauen Funktion dieser Enzyme mit modernen

molekularbiologischen und genetischen Methoden ist daher aus evolutionsbiologischer Sicht ein äußerst lohnendes Ziel.

Der Nachweis einer zusätzlichen Interaktion zwischen den beiden ^{13}C -Atomen an den Positionen C-3 und C-4 im Falle der Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat an das Bakterium, und damit ein erster Hinweis auf die mögliche Existenz eines weiteren Faltungsmodus S' in der Biosynthese von **53a**, gab Anlass zu der im Folgenden beschriebenen – auf Vorarbeiten von Dr. A. Hamm basierenden – Untersuchung der Faltung aromatischer Polyketide in *Streptomyces* AK-671.

4.2 Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide in *Streptomyces* AK-671

Der alkalophile Bakterienstamm *Streptomyces* AK-671 wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. M. Goodfellow (Institute of Biology, University of Newcastle, UK) aus einer Bodenprobe eines Kiefernwaldes bei Hamsterley Forest, Durham County in Großbritannien, isoliert und an unseren Kooperationspartner Prof. H.-P. Fiedler zur Untersuchung des Sekundärstoffwechsels übermittelt. Im Rahmen eines bis vor einigen Jahren in unserer Arbeitsgruppe bearbeiteten BMBF-Projektes unter Leitung der BASF AG, welches die Entdeckung neuartiger Leitstrukturen aus Mikroorganismen für die Pharma- und Pflanzenschutz-Forschung zum Ziel hatte, waren in unserer Gruppe durch A. Hamm bereits vier Metabolite dieses Stammes strukturell aufgeklärt worden.^[176] Neben der Identifizierung der bereits bekannten Naturstoffe 3,8-Dihydroxy-1-methylantrachinon-2-carbonsäure (**59**, DMAC)^[177] und BSM1 (**60**)^[178] gelang A. Hamm die Charakterisierung eines bicyclischen Oktaketids **61a** und dessen glucuronidierten Derivats **61b** (Abb. 25).^[176]

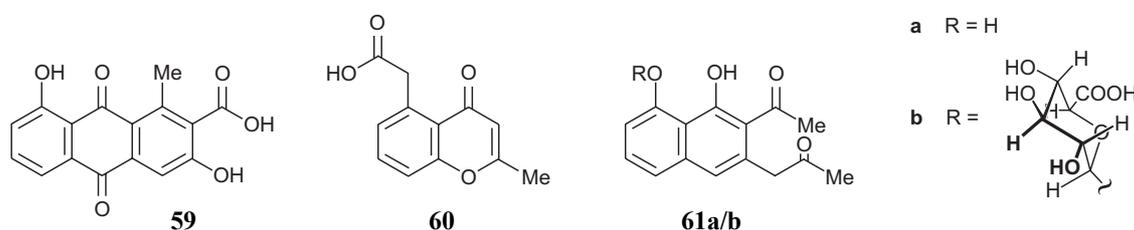
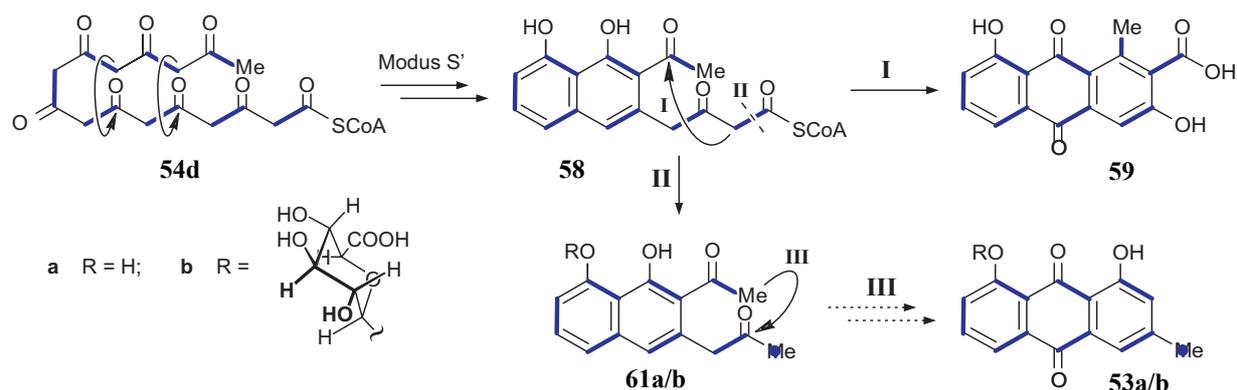


Abb. 25. Strukturen der in unserem Arbeitskreis bereits charakterisierten Metabolite **59-61** aus *Streptomyces* AK-671.

Von besonderem Interesse waren dabei die Strukturen der Diketone **61a** und **61b**. Das Aglycon **61a** ist nämlich eine mögliche biosynthetische Vorstufe aromatischer Anthrachinone und wurde in der Tat bereits von Harris *et al.*^[179,180] als Schlüssel-Intermediat in einer biomimetischen Totalsynthese von Chrysophanol (**53a**) erfolgreich eingesetzt. Franck *et al.* konnten schließlich nach Synthese von **61a** in ¹⁴C-markierter Form und dessen Fütterung an *Penicillium islandicum* die dann radioaktiv markierten (wenngleich nur mit sehr geringen Einbauraten) Anthrachinone Islandicin und Skyrin aus diesen Kulturansätzen isolieren und somit die Bedeutung von **61a** in der Anthrachinon-Biosynthese experimentell nachweisen.^[181] Unter Berücksichtigung der in unserem Arbeitskreis gewonnenen Erkenntnisse zur Biosynthese von **53a**^[153] sollten Anthrachinone in *P. islandicum* (also einem Pilz) nach Modus F gefaltet werden. Die Struktur von **61** steht auch im Einklang mit dem von uns für diesen Faltungsmodus postulierten bicyclischen Intermediat **55** und würde daraus durch einfache Decarboxylierung (Schema 5a) hervorgehen.

Ein Aufbau von **61** im Streptomyceten AK-671 nach Modus F ist aber natürlich äußerst unwahrscheinlich, zumal Verbindung **60** aufgrund ihrer Konstitution ausschließlich über einen in Bakterien zu erwartenden Modus S zugänglich ist. Eine Biosynthese von **61** über den Modus S, also über das Intermediat **57** (Schema 5c), ist aber wegen der konstitutionellen Unterschiede zwischen diesen Substanzen offensichtlich gar nicht möglich. Bei genauer Betrachtung der Strukturen von **59** und **61** fällt vielmehr auf, dass beide Substanzen ausgehend vom Bicyclus **58** – und somit über den von uns erstmals postulierten Modus S' (Schema 5d) – aufgebaut werden könnten. Fütterungsstudien mit ¹³C₂-Acetat führten schließlich zum in Schema 6 dargestellten ¹³C₂-Einbaumuster in **61**, welches in vollem Einklang mit einer Biosynthese der isolierten Substanzen nach Modus S' stand. Bei einer Cyclisierung des postulierten bicyclischen Intermediates **58** über Weg **I** und anschließender Abspaltung vom Enzym erklärt sich die Entstehung des aus dem Bakterium isolierten DMACs (**59**). Alternativ könnte über Weg **II** unter Decarboxylierung das Diketon **61** gebildet werden.



Schema 6. Markierungsmuster von **61** nach Applikation von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat an *Streptomyces* AK 671 und darauf basierendes postuliertes Biosynthese-Schema nach A. Hamm.^[176] **I**: Ort der Cyclisierung zu **59**, **II**: Decarboxylierung zu **61a/b**, **III**: mögliche Cyclisierung als initialer Schritt zur Bildung von **53a/b**.

Vor Beginn der vorliegenden Arbeit gab es allerdings keinerlei Hinweise darauf, dass *Streptomyces* AK-671 auch in der Lage ist, Chrysophanol (**53a**) zu bilden (etwa über Weg **III**, Schema 3). Der für die mögliche biosynthetische Vorstufe **61** von Chrysophanol (**53a**) bereits bewiesene Modus S', in Kombination mit den oben beschriebenen schwachen Hinweisen auf diesen Faltungstyp in **53a** aus *Nocardia* Acta 1052, ließen es nun aber besonders lohnenswert erscheinen, gezielt nach einem Bakterienstamm zu suchen, der diese beiden Verbindungen darstellt. Ziel war es daher, in Kooperation mit Prof. Fiedler einen bakteriellen Produzenten von **53a** und **61** zu finden. Dabei sollte zunächst das biosynthetische Potenzial des typischen OSMAC-Stammes (one strain many compounds)^[182,183] AK-671 durch Veränderung der Kultivierungsbedingungen voll ausgeschöpft werden.^[184]

4.2.1 Isolierung und Charakterisierung der Sekundärstoffe aus AK-671

Die Fermentation des Produzenten, die Aufarbeitung der Kulturen und die Gewinnung der Reinsubstanzen aus den Rohextrakten wurden zum überwiegenden Teil in der Arbeitsgruppe von Prof. H.-P. Fiedler vorgenommen. Die Aufklärung der Konstitutionen der so erhaltenen Sekundärstoffe AK-671-B, AK-671-I, AK-671-P, AK-671-O und AK-671-T wurde in Zusammenarbeit mit I. Kajahn durchgeführt.^[184]

Verbindung AK-671-B zeigte im HRESI-MS eine Masse von $m/z = 271.0601$ $[M+H]^+$. Daraus errechnete sich für die protonierte Verbindung eine Summenformel von $C_{15}H_{11}O_5$. Im 1H -NMR-Spektrum waren ein aromatisches ABC-Spinsystem (7.84, 7.68 und 7.32 ppm) und zwei jeweils an einen sp^2 -Kohlenstoff gebundene Methylgruppen (2.86 und 2.88 ppm) ohne Aufspaltung zu erkennen. Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren neben den Signalen für die beiden Methylgruppen (14.9 und 29.4 ppm) und den aromatischen CH-Funktionen (120.2, 136.6 und 124.6 ppm), die durch HMQC-Interaktionen eindeutig zugeordnet wurden, noch zehn weitere Kohlenstoffatome sichtbar: drei Ketogruppen (187.4, 186.1 und 162b.3 ppm), drei Hetero-Atom-substituierte sp^2 - (162.9, 161.9 und 148.9) und vier quartäre sp^2 -Kohlenstoffatome (135.8, 123.2, 118.6 und 116.9 ppm). Basierend auf der berechneten Summenformel konnte daher vom Vorhandensein einer OH-Funktion, dessen 1H -NMR-Signal aufgrund des Proton-Deuterium-Austauschs im verwendeten NMR-Lösungsmittel (MeOD) nicht detektierbar war, und eines cyclischen Ethers ausgegangen werden. Die Analyse der HMBC-Wechselwirkungen der beiden Methylgruppen und des ABC-Spinsystems führten zu den Teilstrukturen **62** und **63** (Abb. 26). Zum Erreichen der errechneten molekularen Zusammensetzung fehlten in diesen Fragmenten noch eine Ketofunktion und ein quartäres Kohlenstoffatom. Eine mögliche Gesamtstruktur war daher **64**. Nach Literaturrecherche zeigte sich, dass es sich dabei um die bereits bekannte Verbindung Bhimamycin B^[154] handeln würde. Durch Vergleich der publizierten spektroskopischen Daten mit den gemessenen belegte man eindeutig die Identität der isolierten Substanz **64** mit Bhimamycin B.

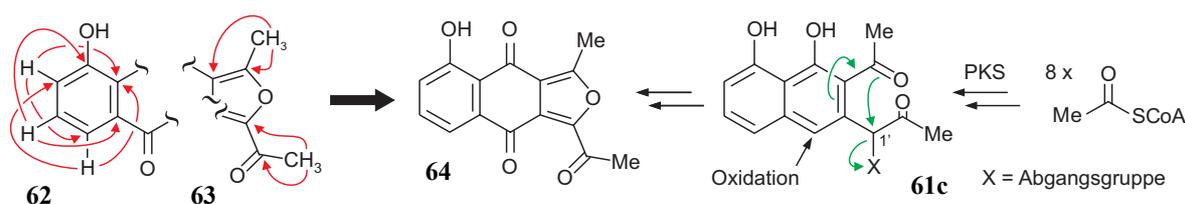


Abb. 26. Wichtige HMBC-Wechselwirkungen (rote Pfeile) zur Aufklärung der Teilstrukturen **62** und **63** (links) von Bhimamycin B (**64**) und mögliche Biosynthese von **64** (rechts) aus acht Acetat-Einheiten durch Cyclisierung (grüne Pfeile) eines Harris-Franck-Keton-Derivats **61c**.

Die Biosynthese von **64** wäre ausgehend von acht Acetat-Bausteinen über ein an C-1' mit einer Abgangsgruppe funktionalisiertes Derivat des Harris-Franck-Ketons **61c** zu erklären. Bhimamycin B (**64**) könnte somit ein lange bekanntes biosynthetisches Folgeprodukt des Harris-Franck-Ketons (**61a**) sein.

Substanz AK-671-I wies im HRESI-MS eine Masse von $m/z = 273.062b2$ $[M+H]^+$ auf (errechnete Summenformel $C_{15}H_{13}O_5$). Das 1H -NMR-Spektrum zeigte das gleiche ABC-Spinsystem wie in **64**, wies aber eine zusätzliche CH-Gruppe (Quartett) bei 5.46 ppm auf. Zudem war eine der beiden Methylgruppen zum Duplett aufgespalten. Somit lag die Vermutung nahe, dass es sich bei AK-671-I (**65**) um das an C-10 reduzierte Derivat von **64**, und damit um Bhimamycin A,^[154] handeln würde. Dies wurde durch die HMBC-Wechselwirkungen der CH-Funktion an C-10 und der aliphatischen Methylgruppe C-11 bestätigt (Abb. 27). Die räumliche Struktur von **65** wurde in der Originalpublikation jedoch nicht beschrieben und sollte daher durch CD-Spektroskopie in Kombination mit quantenchemischen CD-Rechnungen (TD-DFT, COSMO), durchgeführt durch Dr. T. Bruhn, bestimmt werden. Die Absolute Konfiguration wurde so eindeutig als *R* festgelegt.

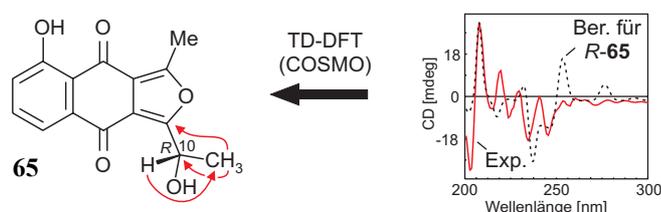


Abb. 27. Wichtige HMBC-Wechselwirkungen (rote Pfeile) zur Aufklärung der Konstitution von Bhimamycin A (**65**) sowie Aufklärung der Absolute Konfiguration mittels CD-Spektroskopie.

Die atomare Zusammensetzung des Sekundärstoffs AK-671-P bestimmte man durch HRESI-MS zu $C_{13}H_{10}O_5$. Auch im 1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung war ein ABC-Spinsystem aus drei aromatischen Protonen zu erkennen (7.74, 7.57 und 7.25 ppm). Zudem wurden Signale einer jeweils isolierten Methylen-Einheit (3.69 ppm) und einer Methylgruppe (2.22 ppm) sowie zweier chelatisierter OH-Gruppen (11.32 und 9.32 ppm) detektiert. Im ^{13}C -Spektrum der Substanz waren zudem drei Ketogruppen (203.7, 186.1 und 184.1 ppm), zwei Heteroatom-substituierte sp^2 -Kohlenstoffe (161.9 und 156.3 ppm) und drei quartäre sp^2 -Kohlenstoffatome (133.5, 130.3 und 114.6 ppm) zu finden. Die Aufklärung der Konstitution der Verbindung gelang durch Interpretation der HMBC-Wechselwirkungen. Wichtig für die Ermittlung der Verknüpfung der beiden Ringsysteme waren dabei vor allem die Interaktionen von H-6 mit C-4a und C-5, von H-7 mit C-4a, C-5 und C-8a, sowie von H-8 mit C-1 und C-4a (Abb. 28). Die Struktur des chinoiden Ringsystems und die Position der C_3 -Seitenkette sowie deren Aufbau waren durch die Wechselwirkungen der CH_2 -Gruppe an C-9 mit C-1, C-2, C-3 und C-10 sowie durch die

Korrelationen der Methylgruppe (C-11) mit C-9 und C-10 eindeutig festgelegt. Damit ergab sich für AK-671-P eindeutig die Struktur des in der Literatur bereits beschriebenen Juglomycins F (**66**).^[185]

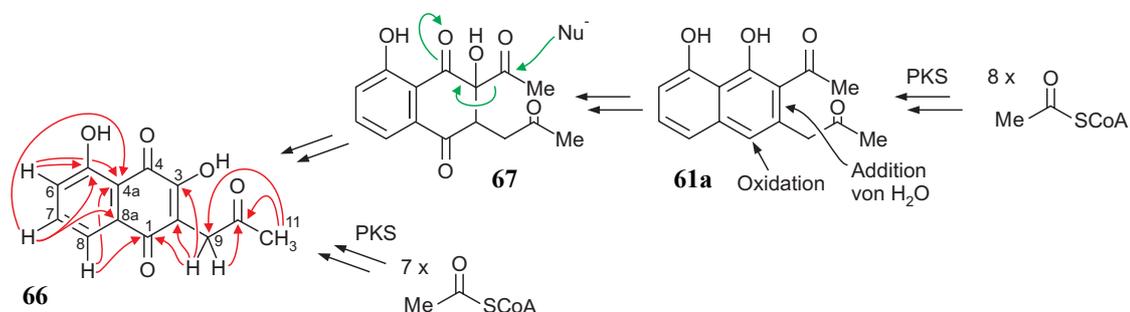


Abb. 28. Wichtige HMBC-Wechselwirkungen (rote Pfeile) zur Aufklärung der Struktur von Juglomycin F (**66**) aus AK-671 und Überlegungen zu dessen Biosynthese.

Wie schon im Fall des Bhimamycins (**64**) wäre als Vorstufe in der Biosynthese von Juglomycin F (**66**) erneut das Harris-Franck-Keton (**61a**) denkbar. Nach Oxidation zum Naphthochinon und Addition von Wasser würde aus **61a** Verbindung **67** entstehen, die wiederum über eine Retro-Claisen-Reaktion unter Abspaltung der Acetylgruppe mit anschließender Oxidation in **66** überführt werden könnte. Alternativ wäre die Bildung von Juglomycin F (**66**) auch aus sieben Acetat-Bausteinen vorstellbar.

Die Summenformel von Verbindung AK-671-O wurde mittels HRESI-MS (433.1159 [M-H]) in deprotonierter Form zu $C_{21}H_{21}O_{10}$ bestimmt. Im 1H -NMR-Spektrum war erneut ein ABC-Spinsystem dreier aromatischer Protonen zu finden (7.51, 7.40 und 7.23 ppm). Zudem waren die Signale eines weiteren aromatischen Protons (7.11 ppm), einer β -verknüpften Zucker-Einheit (5.02, 4.03, 3.72, 3.70 und 3.56 ppm), zweier diastereotoper aliphatischer Methylen-Einheiten (3.14 / 3.07 und 2.88 / 2.81 ppm) und einer aliphatischen Methylgruppe (1.40 ppm) zu erkennen. Im ^{13}C -Spektrum wurden zudem eine Ketogruppe (205.9 ppm), eine Säurefunktion (172.5 ppm), zwei Heteroatom-substituierte sp^2 - (158.6 und 165.1 ppm) und vier quartäre sp^2 -Kohlenstoffatome sowie das Signal eines aliphatischen tertiären Alkohols (71.4 ppm) beobachtet. Die Konstitution der Verbindung war durch die in Abb. 29 gezeigten HMBC-, COSY- und NOESY-Wechselwirkungen eindeutig festgelegt.

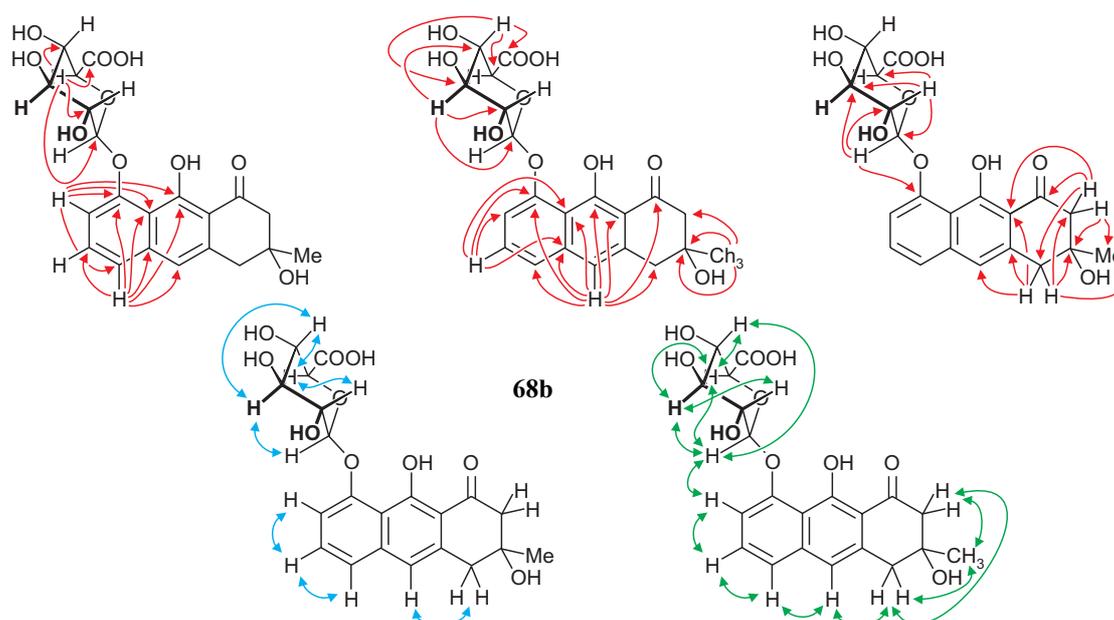
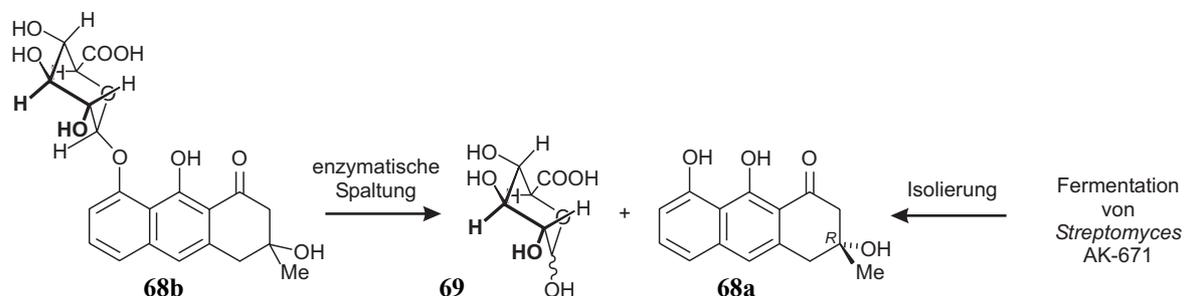


Abb. 29. Zur Aufklärung der Konstitution von **68b** genutzte HMBC- (rote Pfeile), COSY- (blaue Pfeile) und NOESY-Wechselwirkungen (grüne Pfeile).

Somit handelte es sich bei Verbindung **68b** um Prächrysofanol-8-*O*-Glucuronsäure, einen in der Literatur bislang nicht beschriebenen Naturstoff. Zur Aufklärung der Stereostruktur von **68** wurde die Glucuronsäure-Gruppe unter Verwendung einer β -Glycosidase aus Mandeln von **68b** abgespalten (Schema 7). So erhielt man das bereits bekannte Prächrysofanol (**68a**) in freier Form und den entsprechenden Zucker **69**. Die Messung der Drehwerte dieser beiden Verbindungen erlaubte schließlich die Zuordnung der Absolutkonfigurationen. Es zeigte sich, dass es sich bei dem Kohlenhydrat um D-Glucuronsäure (**69**)^[186] handeln muss. Das Aglycon **68a**, welches aus einem anderen Fermentationsansatz von AK-671 in sehr geringen Mengen auch direkt als Sekundärstoff isoliert wurde, wies einen Drehwert $[\alpha]_D^{20} = -43^\circ$ auf. Dies stand im Einklang mit den publizierten Daten für (*R*)-Prächrysofanol aus *Aloe graminicola*.^[187] Die Zuordnung der *R*-Konfiguration wurde in der Original-Publikation durch Vergleich eines experimentellen CD-Spektrums mit den CD-Kurven strukturell nahezu identischer Anthrachinon-Vorläufer wie Aloechryson,^[188] Aloesaponol I^[189] und Torosachryson^[190] vorgenommen. Die Aufklärung der Absolutkonfiguration dieser Sekundärstoffe wurde durch verschiedenste Methoden durchgeführt, z.B. durch Exciton-Chirality-Untersuchungen^[191] und durch Anwendung der erweiterten Benzoat-Chiralitäts-Regel passend funktionalisierter Derivate.^[192] Alle diese

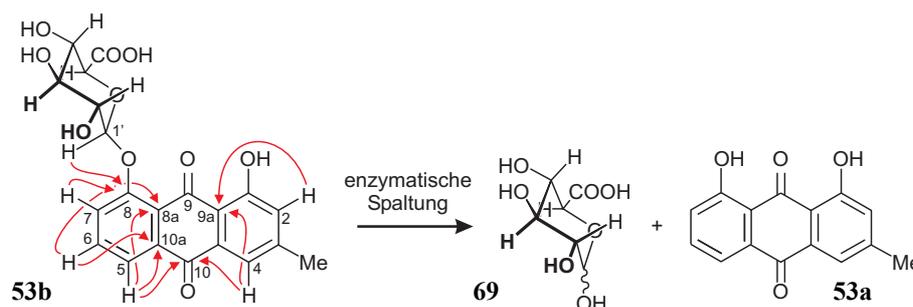
Methoden führten eindeutig zum selben Ergebnis, so dass für **68** aus AK-671 die *R*-Konfiguration als gesichert angenommen werden kann.



Schema 7. Gewinnung von **68a** durch enzymatische Spaltung von **68b** oder durch Isolierung aus AK-671.

Von besonderem Interesse war Verbindung AK-671-T, welche im HPLC-UV-Screening des Stammes AK-671 mit einem für Anthrachinone typischen UV-Spektrum auffiel. Aus der HRESI-MS von 451.0640 $[M-2H+Na]^+$ errechnete sich eine Summenformel von $C_{21}H_{16}O_{10}Na$. Im 1H -NMR-Spektrum dieses Sekundärstoffes war das in bislang allen Substanzen aus AK-671 vorhandene ABC-Spinsystem zu erkennen. Zudem beobachtete man erneut die Signale eines β -verknüpften Zucker-Restes (5.18, 4.05, 3.75, 3.69, 3.58 ppm) mit nahezu identischen chemischen Verschiebungen wie in **68**. Dies ließ darauf schließen, dass auch in AK-671-T eine über eine phenolische Alkohol-Gruppe gebundene Glucuronsäure-Einheit vorhanden war. Im Unterschied zu **68** waren in AK-671-T noch *zwei* weitere aromatische Singulett-Protonen (7.56 und 7.12 ppm) und *eine* an einen sp^2 -Kohlenstoff gebundene Methylgruppe (2.44 ppm) detektierbar. Das ^{13}C -NMR-Spektrum zeigte zudem zwei Ketogruppen (212.8 ppm und 183.8 ppm), zwei Heteroatom-substituierte sp^2 - (163.9 und 159.7 ppm) und fünf quartäre sp^2 -Kohlenstoffatome (149.7, 136.8, 134.1, 123.3 und 115.5 ppm). Auch ein Signal für die Carbonsäure-Gruppe des vermutlichen Glucuronsäure-Restes war zu erkennen (172.9 ppm). Die Gesamtstruktur der Verbindung **53b** wurde mit Hilfe von HMBC-Korrelationen der aromatischen Protonen und des anomeren Wasserstoffes erarbeitet (Schema 8). Besonders wichtig zur Aufklärung der Konstitution des westlichen Molekülteils waren dabei die Interaktionen von H-5 mit C-8a, C-10 und C-10a, von H-6 mit C-8a und C-10a, von H-7 zu C-8 und C-8a sowie vom anomeren Proton der Glucuronsäure zu C-8. Der Aufbau der östlichen Hälfte der Verbindung konnte aufgrund der HMBC-Wechselwirkungen von H-2 mit C-9a und von H-4 mit C-9a und C-10 ermittelt werden.

Somit handelte es sich bei AK-671-T um den neuen Sekundärstoff Chrysophanol-8-*O*-Glucuronsäure (**53b**). Die Absolutkonfiguration der nach enzymatischer Spaltung erhaltenen D-Glucuronsäure (**69**) wurde durch Bestimmung des Drehwerts überprüft. Zur weiteren Bestätigung der Struktur von **53b** wurde zudem die Identität des bei der Spaltung freigesetzten Aglycons durch Coelution mit authentischen Probe Chrysophanol (**53a**) verifiziert.



Schema 8. Wichtige HMBC-Interaktionen zur Aufklärung der Struktur von **53b** und dessen enzymatische Spaltung zu D-Glucuronsäure (**69**) und Chrysophanol (**53a**).

4.2.2 Studien zur Biosynthese von Prächrysophanol-8-*O*-Glucuronsäure (**68b**) und Chrysophanol-8-*O*-Glucuronsäure (**53b**) in AK-671

Mit der Entdeckung der beiden Metabolite **68** und **53b** in *Streptomyces* AK-671 eröffnete sich erstmalig die Möglichkeit, Studien zur Anthrachinon-Biosynthese in einem weiteren prokaryotischen Produzenten durchzuführen. Die Ergebnisse der Markierungsexperimente von A. Hamm zum möglichen biosynthetischen Vorläufer **61** dieser Verbindungen wiesen stark darauf hin, dass das Bakterium AK-671 im Laufe der Evolution sogar einen dritten Weg zum Chrysophanol (**53a**), nämlich den bislang von unserer Gruppe lediglich postulierten Modus S', entwickelt hat. Der erstmalige experimentelle Nachweis dieses Modus S' in Chrysophanol-Glucuronid (**53b**) und damit die Entdeckung einer dritten biosynthetischen Route zu Chrysophanol (**53a**) schien daher durchaus wahrscheinlich. In Zusammenarbeit mit der AG Fiedler sollte daher durch Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Acetat und Analyse des Einbaumusters der Polyketid-Faltungsmodus in den Verbindungen **68b** und **53b** untersucht werden. Die Applikation der Isotopen-markierten Vorstufe an den Stamm und die Isolierung der dabei gebildeten Sekundärstoffe wurden in Tübingen durchgeführt.

Von entscheidender Bedeutung für den erfolgreichen Einbau des markierten Substrates in **68b** und **53b** war dabei der Zeitpunkt von dessen Fütterung. Die in ersten Markierungsexperimenten verfolgte Strategie der Applikation von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat mit einsetzender Bildung der gewünschten Analyten **68b** und **53b** verlief mehrfach erfolglos. Eine Analyse des zeitlichen Verlaufes der Bildung der unterschiedlichen Sekundärstoffe in AK-671 ergab, dass zunächst das bicyclische Diketon **61a** gebildet wird (ab *ca.* 34 Stunden Kultivierung). Verbindung **61a** wird dann kontinuierlich in das *O*-glucuronidierte Derivat **61b** umgesetzt, zum Prächrysophanol-Glucuronid (**68b**) cyclisiert (bis *ca.* 70 Stunden Fermentation) und abschließend in Chrysophanol-Glucuronid (**53b**) überführt (96 bis 170 Stunden Anzucht). Durch Zugabe des Isotopen-markierten Acetats schon mit Beginn der Produktion des bicyclischen Intermediates **61** wurde schließlich auf Anhieb eine starke Markierung von **68b** und **53b** erreicht.^[193] Diese aus der Analyse der Dynamik des Sekundärstoffwechsels gewonnenen Erkenntnisse, gestützt durch die Ergebnisse der unterschiedlichen Markierungsversuche durch Applikation von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat an AK-671, deuteten stark auf eine enge biosynthetische Verwandtschaft der genannten Metaboliten hin.

Der Nachweis des erfolgten Einbaus von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat in **53b** aus den Markierungsexperimenten erfolgte zunächst mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie. Durch Aufnahme eines 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrums und Analyse des Einbaumusters waren alle sieben intakten $^{13}\text{C}_2$ -Einheiten, nämlich zwischen C-1 und C-2, C-3 und C-4, C4a und C10, C-5a und C-5, C-6 und C-7, C-8 und C-8a sowie zwischen C-9 und C-1a (Abb. 30) eindeutig lokalisierbar. Somit ergab sich für Chrysophanol-Glucuronid (**53b**) tatsächlich eine Biosynthese nach Modus S' und damit der erstmalige experimentelle Nachweis dieser Polyketidfaltung in einem tricyclischen aromatischen Polyketid.^[193]

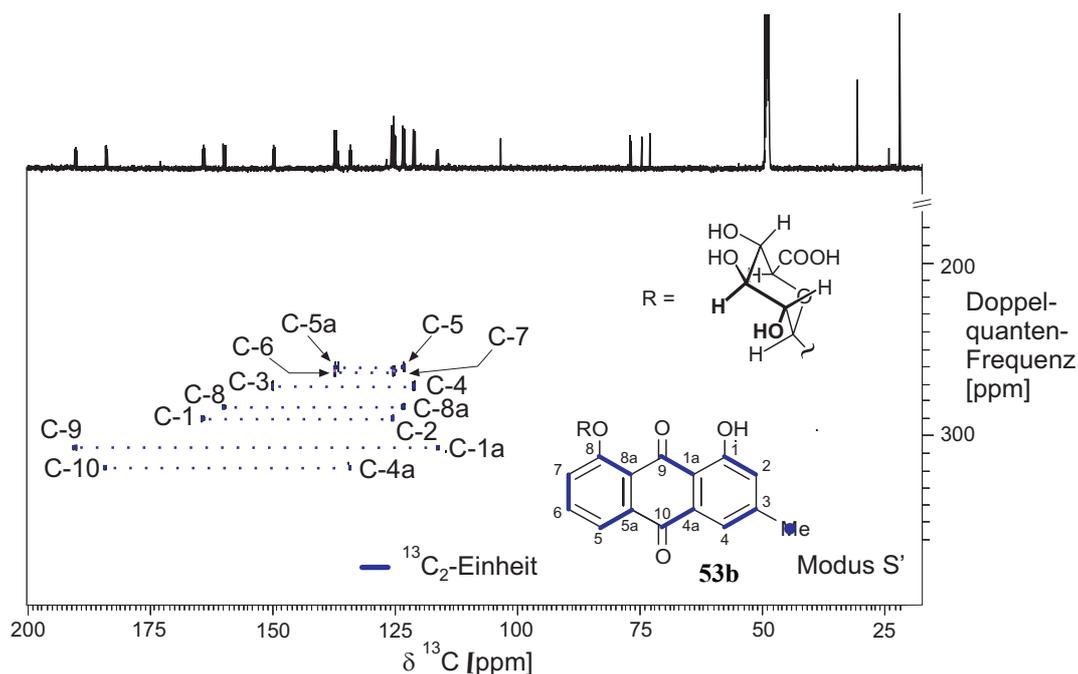
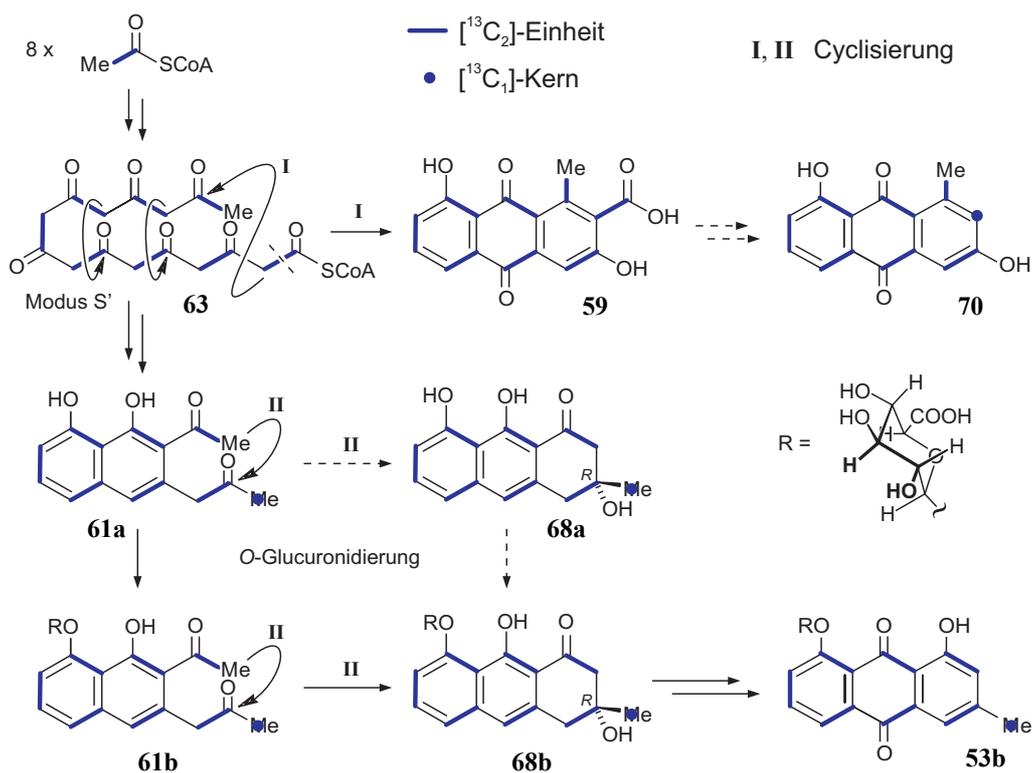


Abb. 30. 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum von **53b** aus *Streptomyces* AK-671 nach Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat.

Die Analyse des Markierungsmusters in Prächrysophanol-Glucuronid (**68b**) ergab auch für diesen Naturstoff eine Biosynthese nach Modus S'. Basierend auf diesen Resultaten der Fütterungsexperimente und des zeitlichen Verlaufs der Bildung der unterschiedlichen Sekundärstoffe konnte für die Anthrachinon-Biosynthese in AK-671 die in Schema 9 gezeigte Sequenz experimentell bewiesen werden. Damit gelang nicht nur die präzedenzlose Identifizierung eines bicyclischen Intermediates **61** der Anthrachinon-Biosynthese,^[184] sondern auch der Beweis eines dritten Polyketid-Faltungsmodus zum Chrysophanol (**53a**), hier in Form seines Glucuronids **53b**. Chrysophanol (**53a**) wurde somit als Prototyp für multiple Konvergenz in der Polyketid-Biosynthese etabliert.^[193]

Bemerkenswert war zudem, dass in Kulturen von AK-671 keinerlei Aloesaponarin II (**70**), nachweisbar war. Dies zeigt, dass DMAC (**59**) in diesem Streptomyceten nicht decarboxylativ in **70** überführt wird. Auch das Harris-Franck-Keton **61a** kann offensichtlich aufgrund der zu geringen Aktivierung nicht zu Aloesaponarin II (**70**) cyclisiert werden. Zudem waren in Kulturen von AK-671 lediglich geringe Spuren von freiem Prächrysophanol (**68a**) und kein freies Chrysophanol (**53a**) zu finden. Zur Cyclisierung des Substrats **61a** scheint demzufolge seine O-

Glucuronidierung zu **61b** essentiell zu sein. Verbindung **61b** wird dann hoch regioselektiv über Cyclisierungsreaktion **II** in Prächrysophanol- und schließlich in Chrysophanol-Glucuronid, **68b** bzw. **53b** überführt. Die genaue Rolle des Zuckerrestes in dieser neuartigen biosynthetischen Cyclisierung wird nun zusammen mit unseren Kooperationspartnern in zukünftigen molekularbiologischen Arbeiten eingehend untersucht werden.



Schema 9. Anthrachinon-Biosynthese in *Streptomyces* AK-671 nach Modus S'.

5 Gewinnung neuer Wirkstoffe aus marinen Organismen

5.1 Synthese des neuroprotektiven Pyrrol-Alkaloids Daminin (18)

Die Untersuchung mariner Makroorganismen als Quelle neuer bioaktiver Sekundärstoffe ist nach wie vor ein lohnendes Ziel. Als besonders interessant haben sich dabei vor allem Schwämme erwiesen. So findet man in Porifera beispielsweise strukturell diverse pharmakologisch interessante Pyrrol-Alkaloide.^[194] Der erste Vertreter dieser Naturstoffgruppe war das 1971 aus *Agelas oroides* isolierte Oroidin (**71**, Abb. 31), welches antimikrobielle Aktivität aufweist und zudem mit muscarinischen Acetylcholin-Rezeptoren in Membranen von Ratten-Hirnen wechselwirkt.^[195] Inzwischen wurden zahlreiche strukturell ähnliche Alkaloide z.B. aus Agelasidae^[196-204] und aus Hymeniacidonidae^[205,206] isoliert, die ein breites Spektrum interessanter biologischer Eigenschaften aufweisen, wie etwa antimuscarine,^[196] antiserotonergene^[202,205] und antihistaminische^[203,204] Aktivitäten. Die meisten dieser Verbindungen bestehen aus einer Pyrrol-2-carbonsäure, die über eine Amid-Bindung mit einem kurzen linearen aliphatischen Segment an einen weiteren Heterocyclus, meist ein Imidazol, gebunden ist. Die strukturelle Diversität dieser Substanzklasse wird durch die Bromierung verschiedener Positionen, meist an der Pyrrol-2-carbonsäure-Einheit, noch erweitert.

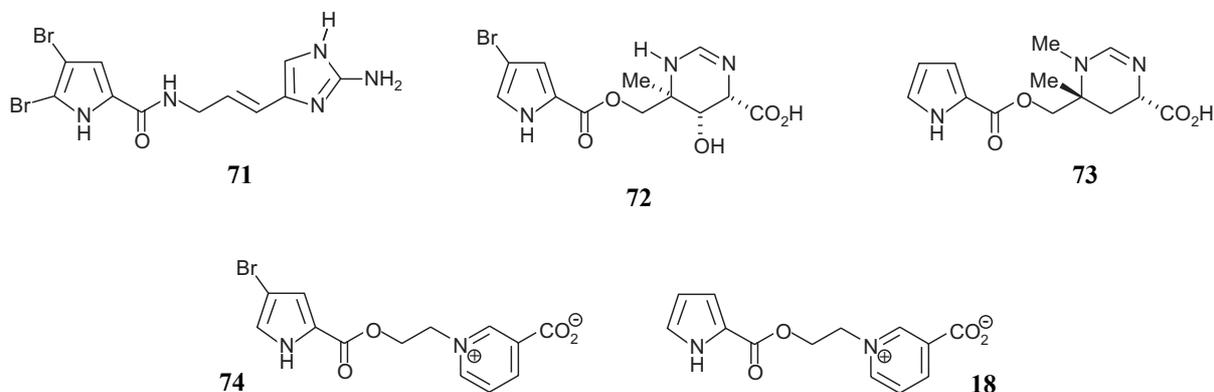
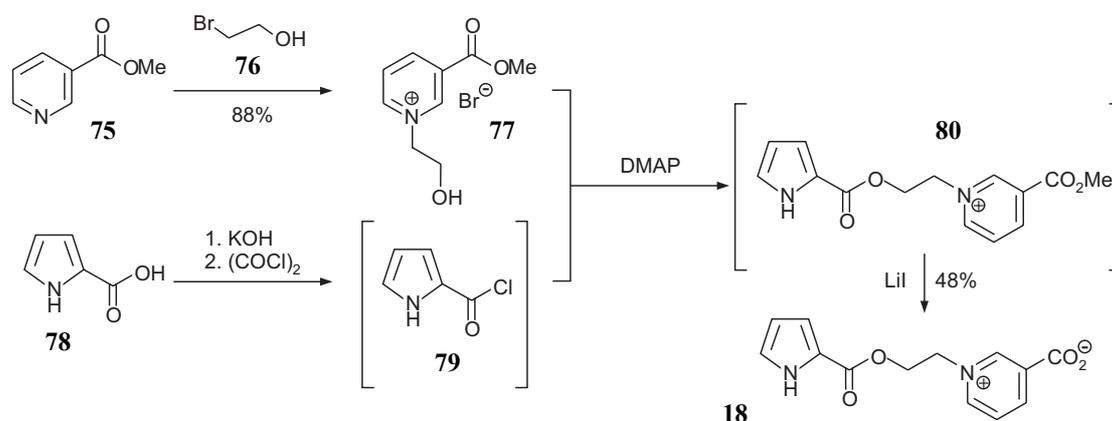


Abb. 31. Strukturen der marinen Pyrrol-Alkaloide Oroidin (**71**), Manzacidin B (**72**), Manzacidin D (**73**), Agelongin (**74**) und Daminin (**18**).

Eine interessante Unterklasse dieser Pyrrol-Alkaloide bilden die Manzacidine, wie z.B. Manzacidin B (**72**) aus *Hymeniacidon* sp.^[207,208] und Manzacidin D (**73**) aus *Astrosclera willeyana*,^[209] bei denen der sonst übliche Imidazol-Baustein durch ein 3,4,5,6-

Tetrahydropyrimidin-Gerüst ersetzt ist. Die Verknüpfung der Molekülteile erfolgt hier über eine Ester-Bindung, anstelle des sonst üblichen Amids. Im antiserotonergen Agelongin (**74**) aus *Agelar longissima*,^[210] in dem ebenfalls ein Ester vorliegt, sitzt anstelle des Tetrahydropyrimidins eine *N*-verknüpfte Nicotinsäure. Diese Verbindung liegt mit dem positiv geladenen quaternären Stickstoff der Nicotinsäure und der negativen Ladung des Carboxylats permanent als Zwitterion vor. In Arbeiten unseres Kooperationspartners Prof. E. Fattorusso (Università di Napoli) gelang die Isolierung des ersten Agelongin-Derivates, des nicht bromierten Daminins (**18**) aus *Axinella damicornis*.^[211] Erste Untersuchungen zur Wirksamkeit der Substanz in der AG von Prof. W.E.G. Müller (Universität Mainz) wiesen auf interessante neuroprotektive Eigenschaften hin. In unserer Gruppe sollte daher ein synthetischer Zugang zu **18** zur Gewinnung größerer Mengen der Verbindung für pharmakologische Untersuchungen erarbeitet werden.^[211]

Daminin (**18**) wurde in einer sehr kurzen Synthese direkt aus den käuflichen Edukten Nicotinsäure-Methylester (**75**), 2-Bromoethanol (**76**) und 2-Pyrrolcarbonsäure (**78**) dargestellt (Schema 10).^[211] Die Umsetzung von **75** mit **76** lieferte in guten Ausbeuten (88%) das gewünschte Salz **77**. Nach Aktivierung der Pyrrol-2-carbonsäure (**78**) durch *In-situ*-Darstellung des entsprechenden Säurechlorids **79** mit Oxalylchlorid wurde DMAP-katalysiert mit dem Pyridinium-Salz **77** verestert. Das daraus gewonnene Salz des Daminin-Methylesters **80** war nach einfachem Waschen mit Diethylether als Rohprodukt direkt zur Verseifung der Methylester-Funktion am elektronenarmen positiv geladenen Heterocyclus mit Lithiumiodid in Pyridin verwendbar. Man erhielt so reines Daminin (**18**) über zwei Stufen in 48proz. Ausbeute.^[211]

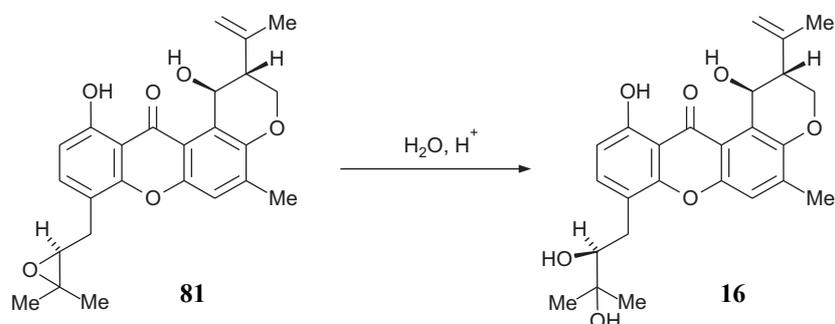


Schema 10. Effiziente Synthese des neuroprotektiven marinen Alkaloids Daminin (**18**).

Die Bioaktivität von **18** wurde anhand des synthetischen Materials in der AG Müller eingehend untersucht. Dabei wurde gezeigt, dass die Verbindung die durch unterschiedliche Neurotransmitter induzierte Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) in kortikalen Neuronalzellen von Ratten hemmt. So erhöhte sich zum Beispiel $[\text{Ca}^{2+}]_i$ nach Inkubation der Neuronen mit L-Glutaminsäure (200 μM) und CaCl_2 (2.4 mM) um 305%. Wurden die Zellen hingegen vor Zugabe des Neurotransmitters mit **18** vorinkubiert, konnte dieser Anstieg konzentrationsabhängig stark reduziert werden: bei Verwendung von 0.5 $\mu\text{g/mL}$ Daminin (**18**) betrug die Steigerung von $[\text{Ca}^{2+}]_i$ nach zehn Minuten Inkubation nur noch 58%, bei Zugabe von 3 $\mu\text{g/mL}$ sogar nur 25%. Eine starke Erhöhung von $[\text{Ca}^{2+}]_i$ verursacht starke neurodegenerative Schäden, wie z.B. die Zerstörung des Cytoskeletts und die unkontrollierte Aktivierung von Proteasen und Phospholipasen.^[212] Diese Prozesse können auch bei Patienten mit Erkrankungen des zentralen Nervensystems (z.B. Parkinson oder Alzheimer) beobachtet werden. Daminin (**18**) ist aufgrund seiner Fähigkeit zur Modulation des $[\text{Ca}^{2+}]_i$ eine potenzielle Leitstruktur zur Entwicklung von Medikamenten zur Behandlung solcher Krankheiten, zumal *in vitro* keinerlei Cytotoxizität der Substanz nachweisbar war.^[211]

5.2 Darstellung stark vereinfachter Derivate des Biofilm-Hemmstoffes Tajixanthonhydrat (**16**)

Im Rahmen seiner Dissertation beschäftigte sich G. Lang in unserer Gruppe mit der Charakterisierung von Sekundärstoffen aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen. Aus einem Pilz der Gattung *Emericella varicolor*, der aus dem Schwamm *Haliclona valliculata* isoliert worden war, gelang ihm die Gewinnung des Artefakts Tajixanthonhydrat (**16**),^[213] das während der Aufreinigung durch Hydrolyse der Epoxidgruppe des Naturstoffes Tajixanthon (**81**, Schema 11) entstanden war.^[30,31]



Schema 11. Hydrolyse der Epoxidgruppe von Tajixanthon (**81**) zum Tajixanthonhydrat (**16**).

In Untersuchungen zur Bioaktivität von **16** in der Arbeitsgruppe von PD Dr. Ute Hentschel (Institut für Molekulare Infektionsbiologie, Würzburg) gelang der Nachweis einer effektiven Inhibierung der Biofilm-Bildung von *Staphylococcus epidermidis* durch diese Substanz (Abb. 32).^[29] Bei einer Konzentration von 10 µg/mL wurde bereits eine 81proz. Verminderung des Biofilm-Wachstums beobachtet, die bei Zugabe von 80 µg/mL Tajixanthonhydrat (**16**) sogar bis auf 90% gesteigert werden konnte. Bemerkenswert war dabei, dass keine antibiotische Wirkung zu ermitteln war, sondern “lediglich“ das Anwachsen der Bakterien und die Ausbildung einer Biofilm-Polysaccharid-Matrix,^[214] welche die Bakterien u.a. vor Antibiotika schützt,^[215-217] verhindert wurde.^[29]

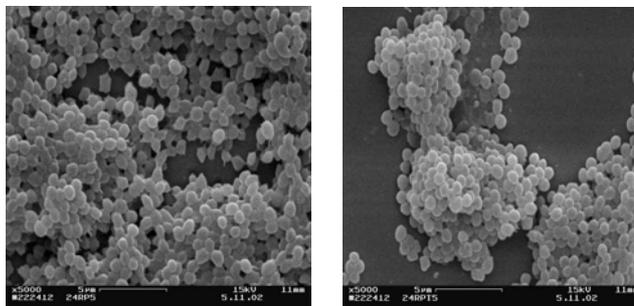


Abb. 32. *S.-epidermidis*-Biofilm nach 24 Stunden Inkubation ohne (links) und mit (rechts) 80 µg/mL Tajixanthonhydrat (**16**) (Scanning Electron Microscopy, AG Hentschel).

Bakterielle Biofilme, vor allem der beiden Erreger *S. aureus* und *S. epidermidis*, stellen in der modernen Medizin ein großes Problem dar.^[218] Sie können z.B. Katheter oder Implantate besiedeln^[219] und lösen bei den Patienten, kombiniert mit der wachsenden Resistenz der genannten Erreger,^[220,221] schwerste Infektionen aus.^[222] Die Entwicklung von Wirkstoffen, die den Prozess der Biofilm-Bildung inhibieren, ohne jedoch die Bakterien abzutöten und damit großen evolutionären Druck auf sie auszuüben, ist daher ein lohnendes Ziel. Bis zur Entdeckung von **16** gab es dennoch erst eine Substanz mit ähnlichen Eigenschaften, nämlich das Farnesol.^[223] Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten daher strukturell stark vereinfachte prenylierte Xanthon-Derivate synthetisch erschlossen und in Zusammenarbeit mit der AG Hentschel auf mögliche Inhibition der Biofilm-Bildung von *S. epidermidis* untersucht werden. Eine wichtige Information zum gezielten Design viel versprechender Xanthone mit ähnlichem Pharmakophor lieferten die Testergebnisse des ebenfalls von G. Lang isolierten Shamixanthons (**82**), welches bis auf die fehlende aliphatische Diol-Funktion strukturell identisch zu **16** war, jedoch keinerlei

Bioaktivität aufwies (Abb. 33).^[213] Ziel war es daher, zunächst eine Vielfalt strukturell diverser hydroxylierter Xanthon-Grundkörper mit Prenyleinheiten zu funktionalisieren, deren exocyclischen Doppelbindungen dann oxidativ zu den entsprechenden Diolen des Typs **83** umgesetzt werden sollten.

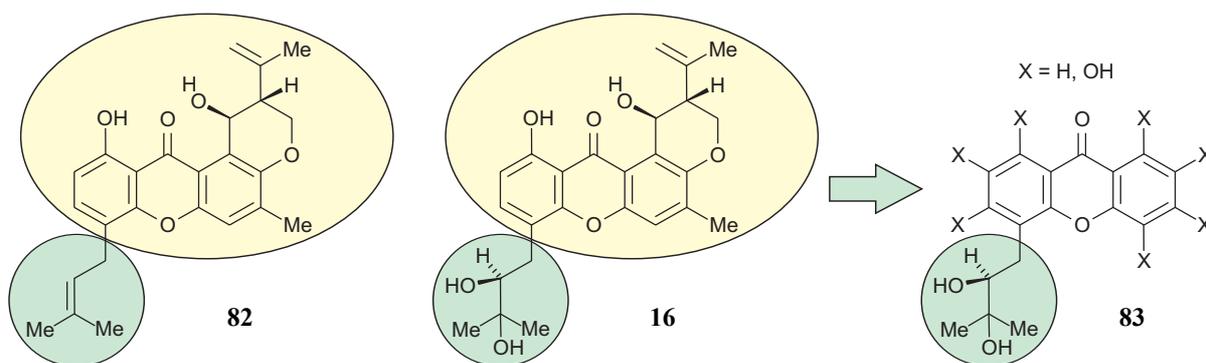
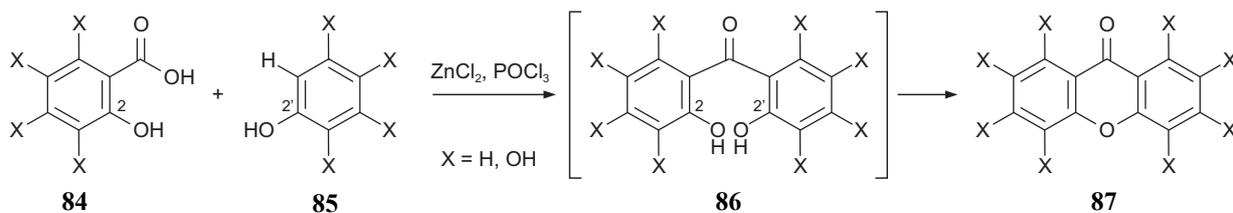


Abb. 33. Vergleich der Strukturen des in den Biofilm-Assays inaktiven Shamixanths (**82**) mit der potenten Grundstruktur Tajixanthonhydrat (**16**). Der Xanthon-Grundkörper (gelb hinterlegt) ist in den Verbindungen identisch. Wichtig für die pharmakologische Wirkung scheint somit vor allem der Oxidationsgrad der Prenyl-Seitenkette (grün hinterlegt). Für SAR-Studien sollten daher Derivate vom Typ **83** dargestellt werden.

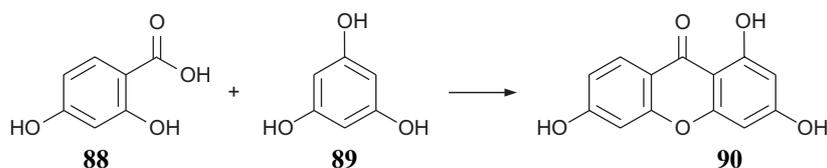
Das einfachste Verfahren zur Darstellung von Hydroxy-Xanthonen ist die Grover-, Shah- und Shah-Reaktion (GSS),^[224] bei der ein Salicylsäure-Derivat **84** mit einem Phenol **85** in Anwesenheit von ZnCl_2 und POCl_3 erhitzt und so direkt in das entsprechende Xanthon-Derivat **87** überführt wird (Schema 12). Dabei ist bei der Wahl der Reaktionspartner zu beachten, dass das während der Umsetzung intermediär entstehende Benzophenon **86** an C-2 oder/und an C-2' eine Hydroxygruppe tragen muss, um die Cyclisierung zum Xanthon **87** zu erlauben.^[225] Als Nebenprodukte dieser Reaktion entstehen evtl. mögliche Regioisomere (z.B. bei Verwendung unsymmetrischer Phenole als Kupplungspartner) sowie die entsprechenden polyhydroxylierten Benzophenone **86**.



Schema 12. Synthese von Xanthon-Derivaten wie **87** nach Grover, Shah und Shah.^[224]

Als Modellsystem zur Ermittlung optimaler Reaktionsparameter in der GSS-Reaktion wurde die im Arbeitskreis bereits vorhandene, käufliche 2,4-Dihydroxybenzoesäure (**88**) gewählt. Zur Vermeidung der Bildung regioisomerer Produkte verwendete man als Reaktionspartner zunächst Trihydroxybenzol (**89**). Erste Versuche unter den in der Originalliteratur angegebenen Bedingungen, also bei Verwendung von geschmolzenem ZnCl_2 in POCl_3 als Lösungsmittel, lieferten jedoch lediglich Spuren des gewünschten Produktes **90** (Tabelle 3A).^[224] Dies konnte auch durch Ersatz der Reagenzien durch Polyphosphorsäure und bei Durchführung der Reaktion unter Mikrowellen-Bestrahlung^[226] nicht verbessert werden (Tabelle 3B und 3C). Eine wesentliche Steigerung der Ausbeute des Xanthons **90** wurde durch 30min. Erhitzen von ZnCl_2 mit POCl_3 vor Zugabe der Kupplungspartner^[227] erreicht (Tabelle 3D). Der Austausch von $\text{ZnCl}_2/\text{POCl}_3$ durch 'Eaton's Reagenz'^[228,229] (P_2O_5 /Methansulfonsäure) führte schließlich zu einer weiterer Verdopplung der Ausbeute (Tabelle 3E).

Tabelle 3. Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Eintopfsynthese von **90**.

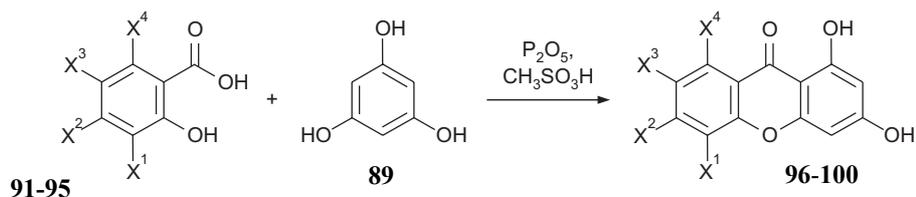


Eintrag	Reagenzien	Temperatur und Bedingungen	Ausbeute 90
A	$\text{ZnCl}_2/\text{POCl}_3$	80 °C	Spuren
B	Poly- H_3PO_4	80-140 °C	-
C	Poly- H_3PO_4	80-140 °C, Mikrowelle	-
D	$\text{ZnCl}_2/\text{POCl}_3$	80 °C, 30min. Erhitzen der Reagenzien vor Zugabe der Substrate, dann 120min. 80 °C	44%
E	P_2O_5 /Methansulfonsäure	80 °C, 30min. Erhitzen der Reagenzien vor Zugabe der Substrate, dann 120min. 80 °C	84%

Unter den optimierten Bedingungen wurden weitere kommerziell erhältliche Benzoesäurederivate, nämlich 2,3-Dihydroxybenzoesäure (**91**), 2,5-Dihydroxybenzoesäure (**92**), 2,6-Dihydroxybenzoesäure (**93**), 2,3,4-Trihydroxybenzoesäure (**94**) und 2,4,5-

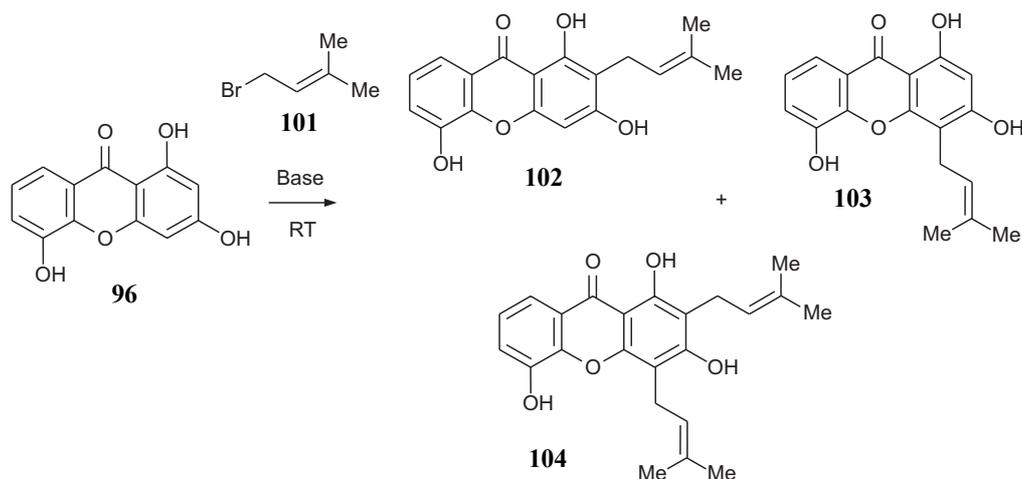
Trihydroxybenzoesäure (**95**), mit Trihydroxybenzol (**89**) zu den entsprechenden Polyhydroxy-Xanthonen **96-100** mit für die GSS-Reaktion guten bis sehr guten Ausbeuten (24%-68%) umgesetzt (Tabelle 4).

Tabelle 4. Synthese weiterer Hydroxy-Xanthone unter Verwendung von 'Eaton's Reagenz'.



Carbonsäure	X ¹	X ²	X ³	X ⁴	Produkt	Ausbeute
2,3-Dihydroxybenzoesäure (91)	OH	H	H	H	96	56%
2,5-Dihydroxybenzoesäure (92)	H	H	OH	H	97	24%
2,6-Dihydroxybenzoesäure (93)	H	H	H	OH	98	27%
2,3,4-Trihydroxybenzoesäure (94)	OH	OH	H	H	99	74%
2,4,5-Trihydroxybenzoesäure (95)	H	OH	OH	H	100	68%

Die so dargestellten Polyhydroxyxanthone sollten nun mit Prenylresten funktionalisiert werden. Geplant war eine Alkylierung der Xanthone mit Prenylbromid (**101**) unter basischen Bedingungen, bei der in jeweils nur einem synthetischen Schritt verschiedene regioisomere Additionsprodukte zu erwarten waren. Dies sollte einen möglichst schnellen Zugang zu einer großen strukturellen Vielfalt prenylsubstituierter Xanthon-Derivate liefern (Schema 13). In der Literatur beschrieben war diese Reaktion bereits für das Trihydroxyxanthon **96**, entweder unter Verwendung einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung^[230] oder in einer wässrigen Kaliumhydroxid-Lösung als Lösungsmittel und Base.^[231] Die beschriebenen Ausbeuten der aus dieser Umsetzung gewonnenen Monoprenyl- und Diprenylxanthone **102-104** waren zwar alle niedrig (*ca.* 10%), für die geplante Generierung einer kleinen Substanzbibliothek für SAR-Studien aber dennoch akzeptabel.

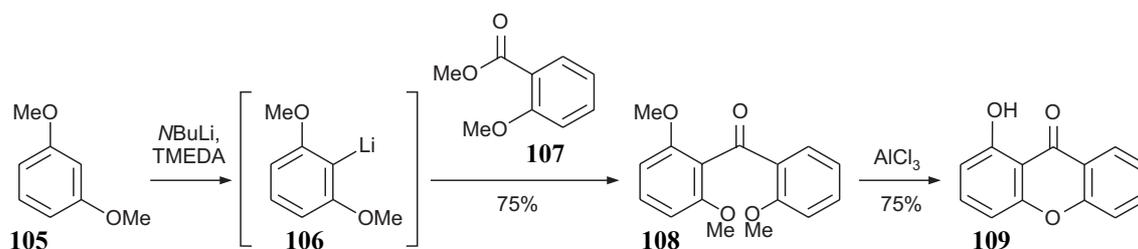


Schema 13. Funktionalisierung des Trihydroxyxanthons **96** zur Darstellung der Prenylxanthone **102-104** unter basischen Bedingungen.

Versuche zur Reproduktion der Literaturvorschriften machten jedoch schnell deutlich, dass das Erreichen der publizierten Ausbeuten (10-13%), auch bei Variation der Reaktionsbedingungen (Base, Reaktionszeit, Temperatur), nicht möglich und zudem die Aufreinigung der hoch komplexen Produktgemische äußerst arbeitsintensiv war. Lediglich bei Verwendung von frisch destilliertem Prenylbromid konnten geringe Mengen der gewünschten Monoprenyl-Xanthone **102** und **103** (jeweils *ca.* 5%) und des bisprenylierten Derivats **104** (*ca.* 3%) isoliert werden. Dünnschicht-chromatographische Analysen von Mikroansätzen dieser Funktionalisierungsreaktion zur Untersuchung ihrer Übertragbarkeit auf die Hydroxyxanthone **90** und **96-100** zeigten zudem, dass die genannten synthetischen Probleme auch in allen anderen Fällen zu erwarten waren. Man beschloss daher, auf eine alternative Route zur Darstellung von Xanthonen auszuweichen, die eine gezielte Funktionalisierung definierter Position der Grundkörper erlauben sollte.

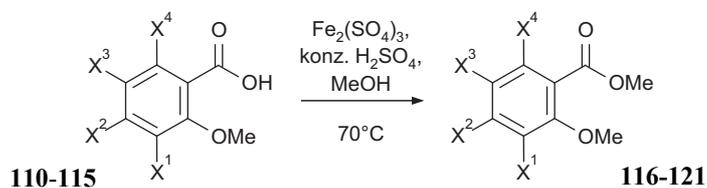
Die Methode der Wahl war schließlich die Kupplung von lithiierten Methoxy-substituierten Aromaten mit Polymethoxybenzoesäuremethylestern zu den entsprechenden Benzophenonen sowie deren selektive *O*-Demethylierung *ortho* zur Carbonylfunktion und abschließende Cyclisierung zu den Xanthonen. Als Grundlage für diese Arbeiten diente die in der Literatur beschriebene Darstellung von 1-Hydroxyxanthon (**109**),^[232] bei der im ersten Schritt 1,3-Dimethoxybenzol (**105**) in einer dirigierenden *ortho*-Metallierung (DOM)^[233] selektiv zwischen

den beiden Methoxygruppen zu **106** lithiiert, mit *ortho*-Methoxybenzoesäure-methylester (**107**) zum Benzophenon **108** umgesetzt, AlCl₃-vermittelt zum Xanthon **109** cyclisiert und abschließend *O*-demethyliert wurde (Schema 14). Die publizierten Ausbeuten waren dabei problemlos reproduzierbar (56% über zwei Stufen).



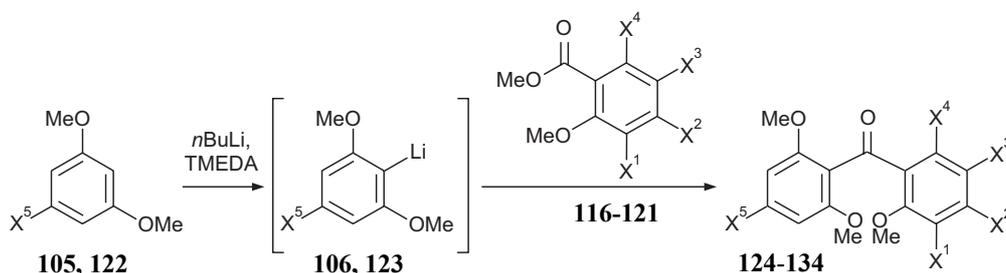
Schema 14. Darstellung von 1-Hydroxyxanthon (**109**) nach Charlton *et al.*^[232]

Zur Darstellung einer Auswahl unterschiedlicher Benzophenone mussten zunächst aus den käuflichen aromatischen Polymethoxy-Carbonsäuren 2,3-Dimethoxybenzoesäure (**110**), 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**111**), 2,5-Dimethoxybenzoesäure (**112**), 2,6-Dimethoxybenzoesäure (**113**), 2,3,4-Trimethoxybenzoesäure (**114**) und 2,4,5-Trimethoxybenzoesäure (**115**) die entsprechenden Methylester dargestellt werden. Dies gelang unter Fe₂(SO₄)₃/H₂SO₄-Katalyse in Methanol^[234] im Falle aller gewünschten Ester **116-121** in exzellenten Ausbeuten (Tabelle 5).

Tabelle 5. Synthese der Methylester **116-121**.

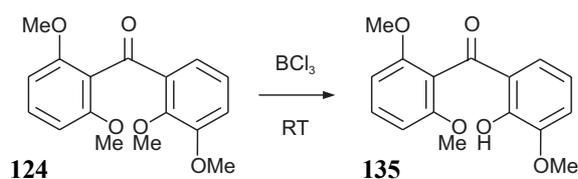
Substrat	X ¹	X ²	X ³	X ⁴	Produkt	Ausbeute
2,3-Dimethoxybenzoesäure (110)	OMe	H	H	H	116	96%
2,4-Dimethoxybenzoesäure (111)	H	OMe	H	H	117	93%
2,5-Dimethoxybenzoesäure (112)	H	H	OMe	H	118	95%
2,6-Dimethoxybenzoesäure (113)	H	H	H	OMe	119	88%
2,3,4-Trimethoxybenzoesäure (114)	OMe	OMe	H	H	120	99%
2,4,5-Trimethoxybenzoesäure (115)	H	OMe	OMe	H	121	94%

Die so gewonnenen aromatischen Methylester **116-121** sollten nun durch Umsetzung mit lithiiertem 1,3-Dimethoxybenzol (**106**) oder 1,3,5-Trimethoxybenzol (**123**) in die Polymethoxybenzophenone **124-134** überführt werden (Tabelle 6). Die Reaktionen mit **106** als Lithium-Spezies verliefen dabei mit ähnlichen Ausbeuten (*ca.* 70%), wie die Darstellung des literaturbekannten **109** (75%),^[232] während bei der Addition von **123** wesentlich geringere Produktanteile isoliert wurden (9-39%). Dies war in der schlechteren Lithiierung von 1,3,5-Trimethoxybenzol (**122**) begründet, die auch durch Verwendung stärkerer Lithierungsreagenzen, z.B. *sec*-BuLi oder *tert*-BuLi anstelle von *n*-BuLi, oder durch Variation des zugesetzten Komplexbildners, z.B. TMEDA *versus* Diisopropylamin, und dessen Konzentration nicht zu verbessern war. Durch längere Reaktionszeiten bei der Metallierungsreaktion, der Verwendung von frischem *n*-BuLi und der Zugabe größerer Mengen des lithiierten Aromaten **123** zu den Methylestern konnten die Ausbeuten jedoch auf ausreichende bis gute Werte (20-79%) gesteigert werden.

Tabelle 6. Synthese der Benzophenone **124-134**.


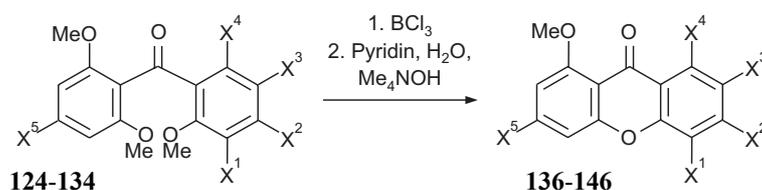
Methylester	Lithiumorganyl	X ¹	X ²	X ³	X ⁴	X ⁵	Produkt	Ausbeute
116	106	OMe	H	H	H	H	124	76%
117	106	H	OMe	H	H	H	125	67%
118	106	H	H	OMe	H	H	126	75%
120	106	OMe	OMe	H	H	H	127	71%
121	106	H	OMe	OMe	H	H	128	50%
116	123	OMe	H	H	H	OMe	129	21%
117	123	H	OMe	H	H	OMe	130	79%
118	123	H	H	OMe	H	OMe	131	36%
119	123	H	H	H	OMe	OMe	132	26%
120	123	OMe	OMe	H	H	OMe	133	20%
121	123	H	OMe	OMe	H	OMe	134	27%

Optimale Bedingungen zur selektiven *O*-Demethylierung in *ortho*-Position zur Carbonylgruppe der Benzophenone **124-134** wurden zunächst für Verbindung **124** erarbeitet. Dabei zeigte sich, dass die Verwendung des reaktiveren BCl_3 als Lewis-Säure dem Einsatz von AlCl_3 überlegen war.^[235] Man erhielt bereits bei Raumtemperatur mit annähernd stöchiometrischen Mengen BCl_3 (1.1 Äquivalente) in kurzen Reaktionszeiten das gewünschte mono-*O*-demethylierte Produkt **135** schon nach einfacher Extraktion des Reaktionsgemisches in reiner Form mit hohen Ausbeuten (94%, Schema 15).


 Schema 15. Selektive mono-*O*-Demethylierung des Benzophenons **124** zu Verbindung **135**.

Vergleichbare Resultate waren auch bei Übertragung der Reaktionsbedingungen auf die anderen Benzophenone **125-134** zu erzielen. Die nach der Extraktion der Reaktionsgemische gewonnenen mono-*O*-demethylierten Rohprodukte wurden ohne weitere Aufreinigung direkt einer basenkatalysierten Cyclisierung unter Eliminierung von Methanol^[231] zu den entsprechenden Polymethoxy-Xanthonen **136-146** unterzogen (Tabelle 4).

Tabelle 7. Synthese der Xanthone **136-146**.

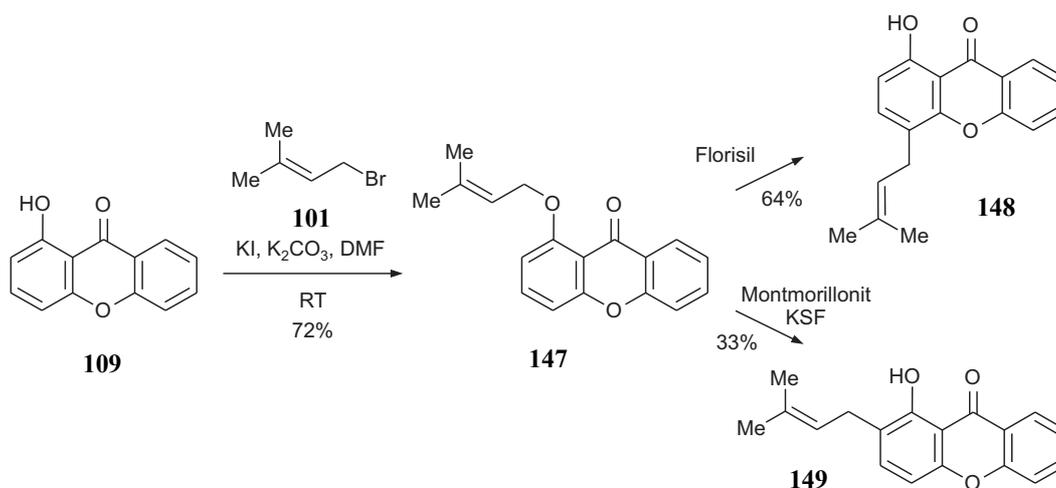


Benzophenon	X ¹	X ²	X ³	X ⁴	X ⁵	Produkt	Ausbeute über zwei Stufen
124	OMe	H	H	H	H	136	94%
125	H	OMe	H	H	H	137	89%
126	H	H	OMe	H	H	138	50%
127	OMe	OMe	H	H	H	139	82%
128	H	OMe	OMe	H	H	140	91%
129	OMe	H	H	H	OMe	141	89%
130	H	OMe	H	H	OMe	142	quant.
131	H	H	OMe	H	OMe	143	quant.
132	H	H	H	OMe	OMe	144	quant.
133	OMe	OMe	H	H	OMe	145	quant.
134	H	OMe	OMe	H	OMe	146	68%

Die Polymethoxy-Xanthone **136-146** sollten durch eine weitere selektive *O*-Demethylierung mit BCl₃ in *ortho*-Position zur Ketogruppe in die mono-Hydroxy-Derivate überführbar sein.^[235] Die neu generierte freie Alkoholfunktion wäre somit gezielt alkylierbar, in diesem Falle durch Umsetzung mit Prenylbromid unter basischen Bedingungen. Die *O*-Prenylfunktion sollte dann durch *ortho*- und *para*-gerichtete Umlagerungsreaktionen gezielt an unterschiedliche Positionen im jeweiligen Xanthon dirigierbar sein. Die Prenylxanthone liefern schließlich durch weitere Oxidationsreaktionen an der Prenyldoppelbindung die erwünschten höher oxygenierten Derivate.

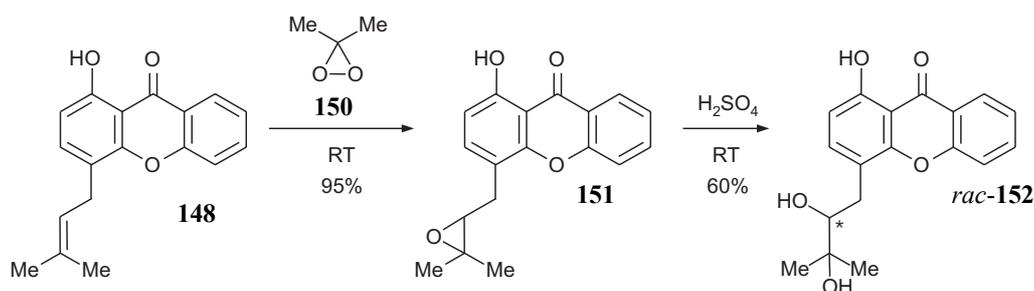
Diese geplanten Funktionalisierungs-, Umlagerungs- und Oxygenierungsreaktionen wurden zunächst an einem leicht verfügbaren und strukturell einfachen Modellsystem, dem 1-Hydroxyxanthon (**109**), erarbeitet.

Die *O*-Prenylierung von **109** zu Verbindung **147** führte man mit Prenylbromid (**101**) in DMF mit K₂CO₃ als Base durch (Schema 16).^[236] Bei Zugabe von KI zur Reaktionslösung, das durch Austausch des Halogenatoms am Prenylrest dessen Aktivität gegenüber nucleophilen Substitutionsreaktionen erhöht und damit als Katalysator wirkt, war die Reaktion unter sehr milden Bedingungen (Raumtemperatur) mit guter Ausbeute (72%) durchführbar. Für die geplante Umlagerung^[237] des *O*-gebundenen Prenylrestes in die *ortho*- und *para*-Position standen in der Literatur zwei Methoden zur Verfügung: Die Verwendung von Montmorillonit^[238] oder von Florisil^[239,240] als Katalysator. Diese Reaktionen wurden bislang allerdings lediglich zur Transformation einfacher prenylierter Phenole verwendet. Die Regioselektivität der Umlagerungen an Xanthonen war daher mangels Literaturpräzedenz an strukturell ähnlichen Systemen nicht vorhersagbar. Wichtig bei diesen Umsetzungen war die Verwendung apolarer Lösungsmittel, da die Reaktivität der Katalysatoren durch starke Wechselwirkungen mit polaren Solventien und die damit verbundene Desaktivierung der Katalysator-Oberfläche zu stark herabgesetzt worden wäre.^[238] Bei Verwendung von Montmorillonit in Toluol zur Umlagerung des Prenylrestes von **109** erhielt man bei kurzen Reaktionszeiten von *ca.* drei Stunden eine für diesen Reaktionstyp gute Ausbeute von 33% des *ortho*-Umlagerungsproduktes **149**. Das Hauptprodukt dieser Umlagerung entstand durch eine Rückreaktion unter *O*-Dealkylierung zum 1-Hydroxyxanthon (**109**), dessen Bildung auch bei Variation von Reaktionstemperatur und -dauer nicht vermindert werden konnte. Bei der Umsetzung von **109** mit Florisil in Toluol war eine leichte Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 50 °C nötig. Als Hauptprodukt dieser Umlagerung isolierte man das *para* zur Hydroxygruppe prenylierte Xanthon **148** in 64% Ausbeute. Die Montmorillonit- und Florisil-katalysierten Umlagerungen des Prenylrestes von **109** waren somit zur Darstellung der Regioisomeren *para*- bzw. *ortho*-substituierten Prenylxanthone **148** bzw. **149** komplementär verwendbar.



Schema 16. *O*-Prenylierung des Hydroxyxanthons **109** und regioselektive Umlagerung des Prenylrestes in die *para*- und *ortho*-Position mit Florisil bzw. Montmorillonit.

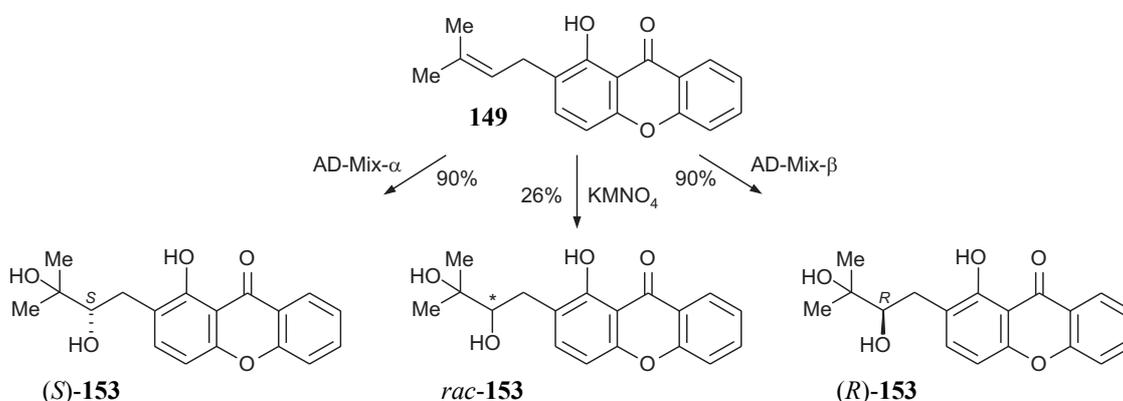
Zur Untersuchung möglicher Oxygenierungsreaktionen wurde zunächst das Prenylxanthon **148** mit Dimethyldioxiran (**150**), welches aus Aceton und Oxon dargestellt wurde,^[241] umgesetzt (Schema 17). Man erhielt so in 95%proz. Ausbeute das Epoxid **151**. Durch säurekatalysierte Öffnung von **151** mit H₂SO₄ in Dioxan war das Diol (*rac*)-**152** in 60% Ausbeute zugänglich. Verbindung (*rac*)-**152** trägt bereits den vermutlichen Pharmakophor (vgl. Abb. 33, Struktur **83**) am Xanthongrundgerüst.



Schema 17. Oxygenierung des Prenylxanthons **148**.

Bei der Epoxidierung des *ortho*-Prenylxanthons **149** mit Dimethyldioxiran (**150**) konnte jedoch kein stabiles Produkt isoliert werden. Dies lag an Nebenreaktionen der phenolischen OH-Gruppe mit der intermediär gebildeten Epoxidfunktion unter Ausbildung instabiler Zwischenprodukte. Für die Oxidation der Doppelbindung wählte man daher alternativ eine

KMnO₄-vermittelte Dihydroxylierung (Schema 18). Dabei wurde das Diol **153** zwar gebildet, war jedoch aufgrund der Instabilität der Substanz unter den Reaktionsbedingungen lediglich in mäßigen Ausbeuten von 26% isolierbar. Eine wesentliche Steigerung der Ausbeuten erzielte man schließlich durch Anwendung der asymmetrischen Dihydroxylierung nach Sharpless *et al.*^[242,243] Dabei konnte je nach Wahl des katalytischen Systems (AD-mix- α oder AD-mix- β) gezielt das (*S*)- oder das (*R*)-Enantiomer des erwünschten Diols **153** in sehr guten Ausbeuten (90%) und exzellenten Enantioselektivitäten (>98% ee) dargestellt werden. Die Möglichkeit zur enantioselektiven Darstellung ihrer beiden Stereoisomere bot zudem die Chance, die Bioaktivität der Substanz **153** in Abhängigkeit von der Absolutkonfiguration zu ermitteln.



Schema 18. Dihydroxylierung des Prenylxanthons **149**.

Alle im Rahmen der bislang beschriebenen Synthesen dargestellten Verbindungen wurden für Bioaktivitäts-Tests an unsere Kooperationspartner innerhalb des SFB 630 und an Prof. R. Brun (Schweizerisches Institut für Tropenmedizin, Basel) verschickt. Dabei stellte man keine erwähnenswerten antiprotozoischen oder antimikrobiellen Aktivitäten fest. Von besonderem Interesse war jedoch die Untersuchung einer möglichen Biofilm-Inhibition durch die Substanzen in der AG Hentschel, vor allem im Falle der Prenylxanthone **148-153**. Für **148-153** waren in der Tat zum Teil Biofilm-hemmende Effekte zu beobachten. Eine mikroskopische Untersuchung der Testlösungen zeigte jedoch, dass diese Xanthone unter den Testbedingungen auskristallisierten (Abb. 34): Die Verbindungen bildeten eine kristalline Schicht auf der Kunststoff-Innenwand der Testgefäße und verhinderten somit die Ausbildung eines bakteriellen Biofilms auf dieser Oberfläche. Dies galt auch für alle getesteten Benzophenon-Derivate, wie z.B. **129** (siehe Tabelle

6) sowie für sämtliche Xanthone, z.B. Polymethoxyxanthon **130** (siehe Tabelle 7) und das entsprechende voll *O*-demethylierte Polyhydroxyxanthon **90** (siehe Tabelle 3).



Abb. 34. Photographien der in der Testlösung des Biofilm-Assays gebildeten Kristalle der Verbindungen **129**, **130** und **90** unter dem Mikroskop (Fotos: AG Hentschel).

Eine erneute eingehende Untersuchung der Testdaten zu Tajixanthonhydrat (**18**) machte zudem deutlich, dass wahrscheinlich auch für die vormals festgestellte Hemmung des Biofilm-Wachstums durch diese Verbindung ein ähnlicher physikalischer Oberflächeneffekt im verwendeten Testsystem verantwortlich war. Aus diesem Grund wurde von der Synthese weiterer Tajixanthonhydrat-Derivate mit dem Ziel der Gewinnung *chemisch* aktiver Wirkstoffe abgesehen. In zukünftigen Arbeiten auf diesem Gebiet sollte genauer erforscht werden, ob es sich bei den beobachteten Effekten der getesteten Xanthon- und Benzophenon-Derivate um eine echte, spezifische Bioaktivität handelt oder ob die vermeintliche Wirksamkeit auf das Auskristallieren der Verbindungen im verwendeten Testsystem beschränkt ist. Im Falle einer wirklichen Aktivität könnte durch Fixierung der Xanthon-Derivate an geeigneten Oberflächen, z.B. an Kunststoffen über freie Hydroxy-Gruppen gebunden, eine gezielte Ausnutzung des beschriebenen physikalischen Effekts zur Biofilm-Inhibition erreicht werden.

5.3 Untersuchungen zu Struktur, Biosynthese und Synthese des antileukämischen Wirkstoffes Sorbicillacton A (17)

Eine weitere neuartige Verbindung, die von G. Lang während seiner Dissertation^[213] in unserer Gruppe isoliert und charakterisiert wurde, ist das strukturell bisher einzigartige Sorbicillacton A (**17**, Abb. 35), das erste Sorbicillin-abgeleitete Alkaloid.^[33,244] Die Substanz

wurde in einem *Penicillium-chrysogenum*-Stamm entdeckt, der wiederum in verschiedenen Schwämmen der Gattungen *Chondrosia* und *Ircinia* aus dem Mittelmeer zu finden ist.

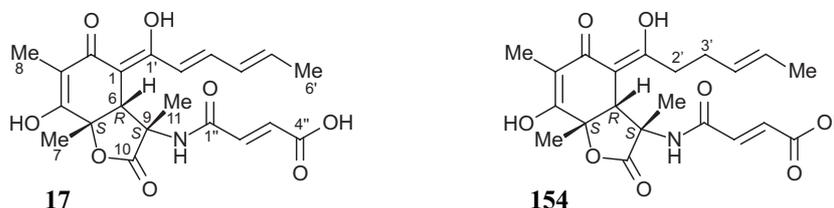


Abb. 35. Strukturen der neuartigen Sorbicillin-abgeleiteten marinen Naturstoffe Sorbicillacton A (**17**) und Sorbicillacton B (**154**).

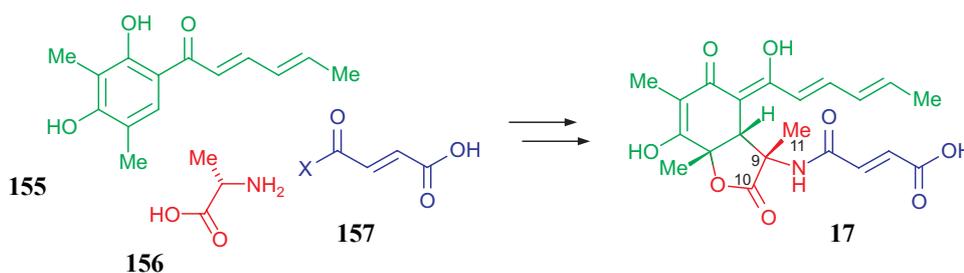
Erste Untersuchungen zur Bioaktivität von **17** in der AG Müller offenbarten viel versprechende antileukämische, antivirale und neuroprotektive Eigenschaften der Substanz.^[32] Zur eingehenden Untersuchung des biologischen Potenzials von **17** sollte daher in unserer Gruppe in Zusammenarbeit mit Prof. J. F. Imhoff (IFM Geomar, Kiel) ein Verfahren zur biotechnologischen Produktion des Wirkstoffes im Multi-Gramm-Maßstab entwickelt werden.^[245] Das größte Problem dabei war die Abtrennung des strukturell und damit chromatographisch nahezu identischen 2',3'-Dihydroderivates von **17**, Sorbicillacton B (**154**). Durch Anwendung verschiedener einfacher Extraktionsschritte, einer anschließenden flüssig-flüssig-chromatographischen Vorreinigung durch die neuartige Methode der FCPC (Fast Centrifugal Partition Chromatography)^[246] und eines abschließenden gelchromatographischen Schrittes an Sephadex LH-20 gelang in eigenen Arbeiten die Ausarbeitung eines effektiven Prozesses, der inzwischen zur Isolierung von ca. 100 g Sorbicillacton A (**17**) für weitergehende pharmakologische Untersuchungen erfolgreich angewandt wurde.^[245,247,248]

Neben einer biotechnologischen Variante zur Gewinnung größerer Mengen des potenziellen Krebswirkstoffes Sorbicillacton A (**17**) war auch dessen chemische Totalsynthese ein lohnendes Ziel. Dies würde nicht nur einen vom biologischen Produzenten unabhängigen Zugang zur Substanz selbst eröffnen und damit die mühsame und großtechnisch schwer realisierbare Abtrennung von Sorbicillacton B (**154**) ersparen, sondern im Verlaufe der Synthese gezielte synthetische Variationen einzelner Gruppen des Zielmoleküls für spätere Untersuchungen zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAR-Studien) und zum Wirkmechanismus der Substanz (z.B. durch Darstellung Fluoreszenz- und photoaffinitätsmarkierter Derivate) ermöglichen. Zur

Ausarbeitung einer biomimetischen Totalsynthese von Sorbicillacton A (**17**) war daher die Aufklärung der Biosynthese dieses strukturell neuartigen Wirkstoffes von großem Interesse. Zudem sollten die Erkenntnisse aus diesen Studien als Grundlage molekularbiologischer Untersuchungen der Arbeitsgruppe Piel (Universität Bonn), mit dem Ziel der Generierung eines optimierten Produzenten des Alkaloids **17**, dienen. Ziel war es daher, in Kooperation mit der AG Imhoff durch Applikation unterschiedlicher ^{13}C -markierter Vorstufen die Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) aufzuklären.^[244]

5.3.1 Untersuchungen zur Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**)

Betrachtet man die Struktur von **17**, so scheint dessen biosynthetischer Ursprung aus einem zweifach mittels S-Adenosylmethionin C-methylierten Hexaketid über Sorbicillin (**155**),^[249-251] aus der Aminosäure Alanin (**156**) und aus einem Fumarsäure-Baustein (**157**) sehr wahrscheinlich (Schema 19). Alternativ könnten die Kohlenstoffe C-9 und C-10 des Lactonringes von **17** aber auch aus einem weiteren C_2 -Baustein stammen, also wiederum aus Acetat/Malonat, mit anschließender SAM-induzierter Einführung der Methylgruppe C-11 an C-9. Zur eindeutigen Aufklärung der Biosynthese-Sequenz sollten daher in der AG Imhoff in separaten Ansätzen $^{13}\text{C}_2$ -Acetat, $^{13}\text{C}_3$ -Alanin und Methyl- ^{13}C -L-Methionin an den Produzenten verfüttert werden und in unserer Gruppe das Isotopen-angereicherte Sorbicillacton A (**17**) mittels präparativer HPLC isoliert und NMR-spektroskopisch analysiert werden.^[244]



Schema 19. Postulierte^[33] Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) aus Sorbicillin (**155**), Alanin (**156**) und einem Fumarsäure-Baustein (**157**).

Sorbicillacton A (**17**) aus den Fütterungsexperimenten mit $^{13}\text{C}_2$ -Acetat zeigte im ^{13}C -NMR-Spektrum eine starke Markierung der Kohlenstoffe im Sechsering und in der Sorbylseitenkette. Die Konnektivitäten der ^{13}C -Einheiten von **17** wurden durch 2D-INADEQUATE-NMR^[168]

ermittelt (Abb. 36). So konnten insgesamt sechs intakte $^{13}\text{C}_2$ -Bausteine an den Positionen C-1/C-2, C-3/C-4, C-5/C-6, C-1'/C-2', C-3'/C-4' und C-5'/C-6' detektiert werden.

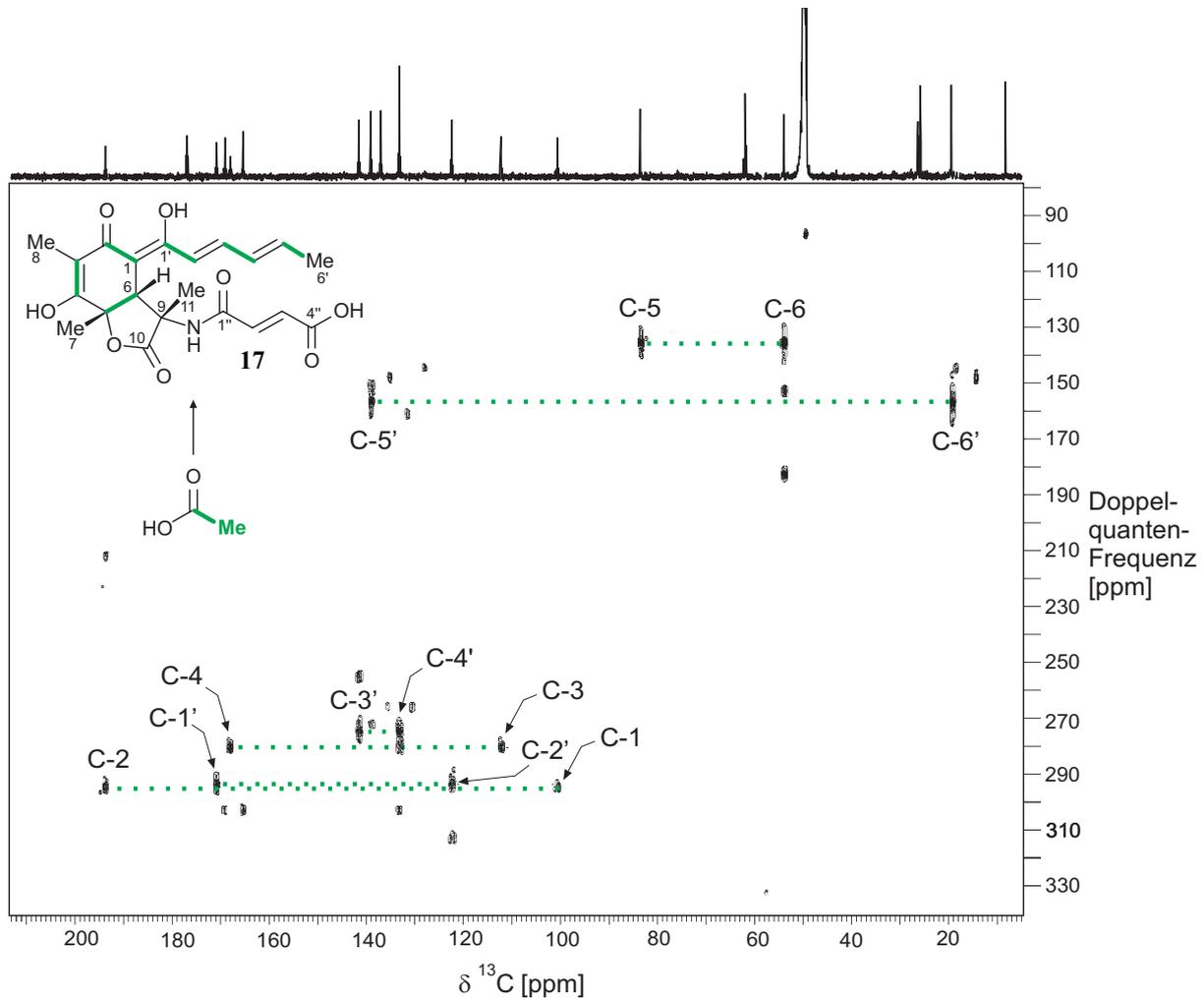
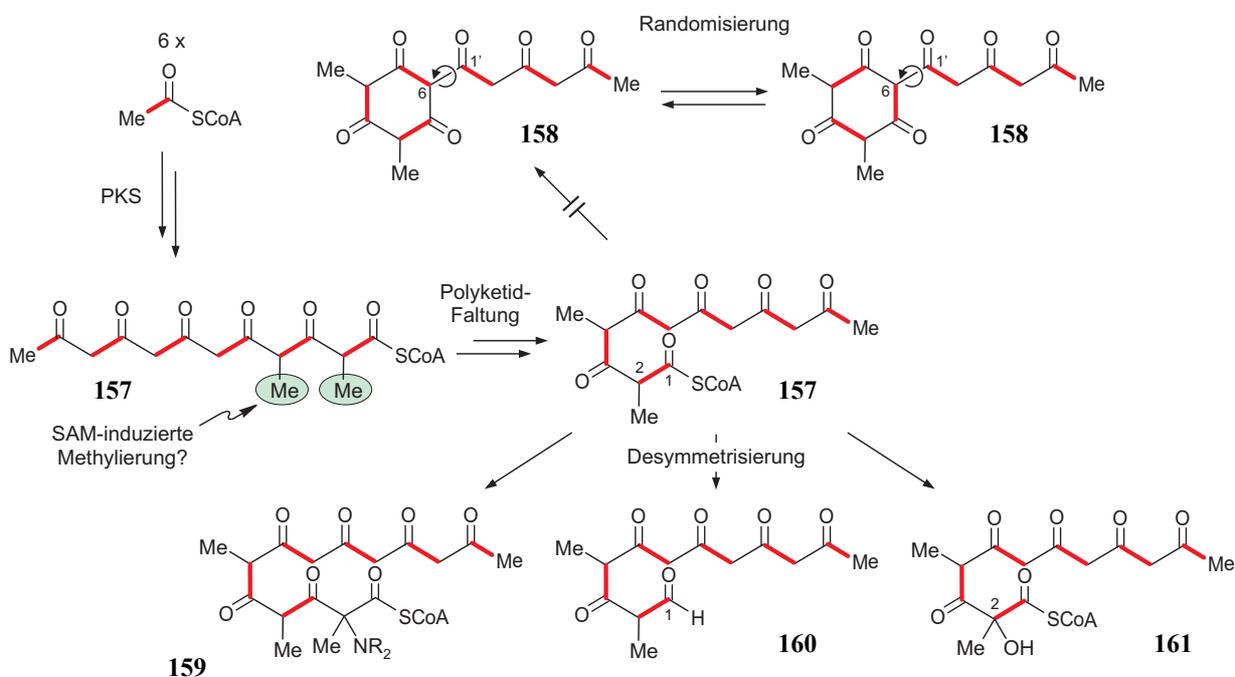


Abb. 36. 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum von Sorbicillacton A (**17**) aus den Fütterungsexperimenten mit $^{13}\text{C}_2$ -Acetat.

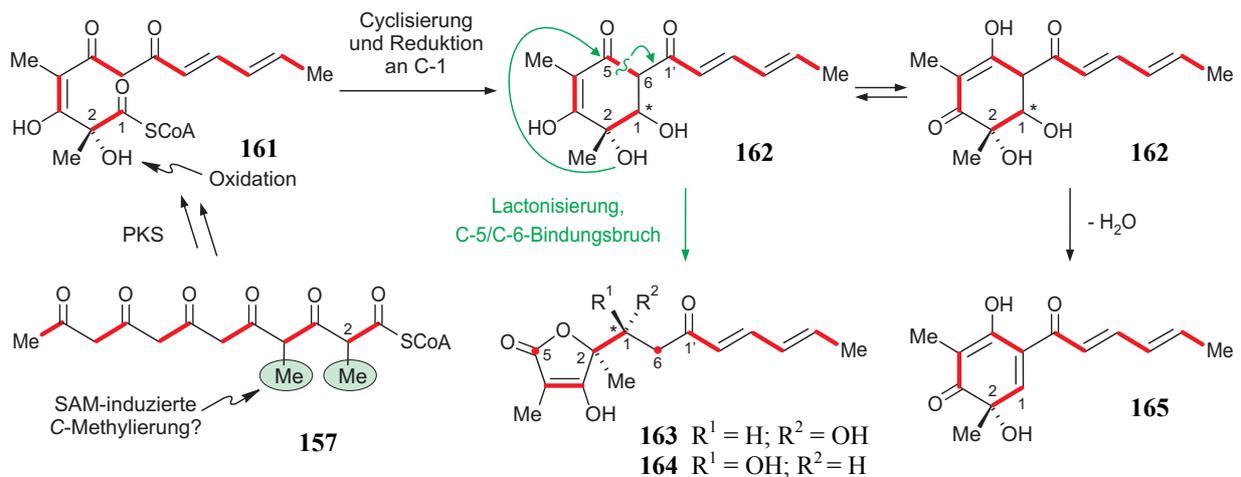
Die Ergebnisse dieses Experiments bestätigten somit frühere Studien zur Biosynthese des Hexaketids Sorbicillin (**155**) in *Trichoderma* sp. durch Abe *et al.*^[252,253] Besonders interessant war die Tatsache, dass für den Sechsring im Sorbicillacton A (**17**) ein diskretes $^{13}\text{C}_2$ -Markierungsmuster erkennbar war. Dies schloss ein symmetrisches Intermediat wie **158** in der Biosynthese des Polyketid-Grundkörpers von **17** aus, da sonst eine Randomisierung des Einbaumusters in **17** durch Rotation der Bindung zwischen C-6 und C-1' zu erwarten gewesen wäre (Schema 20, vergleiche auch Kapitel 3.2.2). Denkbare Symmetrie-aufhebende

Modifikationen wären hier zum Beispiel die Anbindung eines Alanin-Bausteines an **157** zu Verbindung **159**, eine Reduktion an C-1 zum Aldehyd **160** oder die Oxidation der Hexaketidkette an C-2 zum tertiären Alkohol **161**, jeweils vor Ausbildung des Ringsystems.^[253]



Schema 20. Auswahl möglicher biosynthetischer Umsetzungen zur Desymmetrisierung des Poly-β-Keto-Esters **157** vor dessen Cyclisierung.

Eine Funktionalisierung der offenkettigen Verbindung **157** zu **159** ist aber sehr unwahrscheinlich, da vom Produzentenstamm auch andere – stickstofffreie – Sorbicillin-abgeleitete Naturstoffe dargestellt werden und das diskrete ¹³C₂-Markierungsmuster auch in Sorbicillin (**155**) zu finden ist.^[253] Nach neuesten Untersuchungen zur Biosynthese von Epihydroxyvertinolid (**164**, Schema 21) ist zur Desymmetrisierung von **157** eine Kombination aus Oxidation an C-2 zu Alkohol **161** und Reduktion des Thioesters an C-1 mit Cyclisierung zum Diol **162**,^[254] oder auch in umgekehrter Reihenfolge (also zunächst Reduktion an C-1, danach Cyclisierung und Oxidation an C-2), anzunehmen. Verbindung **162** wäre ein mögliches Intermediat in der Biosynthese von Hydroxyvertinolid (**163**) sowie Epihydroxyvertinolid (**164**)^[254] und würde zudem eine Erklärung für die fehlende Randomisierung der C₂-Einheiten in Sorbicillin (**155**) und Sorbicillacton A (**17**) liefern.



Schema 21. Postulierte gemeinsame biosynthetische Route zu den Hexaketiden Hydroxyvertinolid (**163**), Epihydroxyvertinolid (**164**) und Sorbicillinol (**165**) nach Sugaya *et al.*^[254]

Demnach wäre das reaktive Sorbicillinol (**165**)^[255] biosynthetischer Vorläufer von Sorbicillin (**155**)^[253] und von Sorbicillacton A (**17**). Dies stünde weiterhin im Einklang mit Beobachtungen von Abe *et al.*, nach denen bei Kultivierung von *Trichoderma* sp. immer zunächst die Konzentration des hoch instabilen Sorbicillinols (**165**) stark ansteigt und erst danach Folgeprodukte, wie z.B. **155** gebildet werden.^[255] Da basierend auf diesen Erkenntnissen Sorbicillin (**155**) als Endprodukt einer Biosyntheseroute zu sehen ist, sollten in letzter Konsequenz Vertreter dieser Naturstoffklasse als Sorbicillinol-abgeleitet bezeichnet werden.

Zur Aufklärung des biosynthetischen Ursprungs der beiden Methylgruppen C-7 und C-8 von Sorbicillacton A (**17**) wurde Methyl-¹³C-L-Methionin an Kulturen des Produzenten verfüttert. Das ¹³C-NMR-Spektrum von **17** aus diesen Ansätzen zeigte eine starke ¹³C-Anreicherung an den Positionen C-7 und C-8 (Abb. 37). Im Vergleich zu den unmarkierten Methylsubstituenten C-6' und C-11' beobachtete man eine Erhöhung der Signalfäche um mehr als den Faktor 5. Somit war die postulierte S-Adenosyl-Methionin-induzierte C-Methylierung der Kohlenstoffatome C-2 und C-4 in Sorbicillacton A (**17**) eindeutig nachgewiesen.

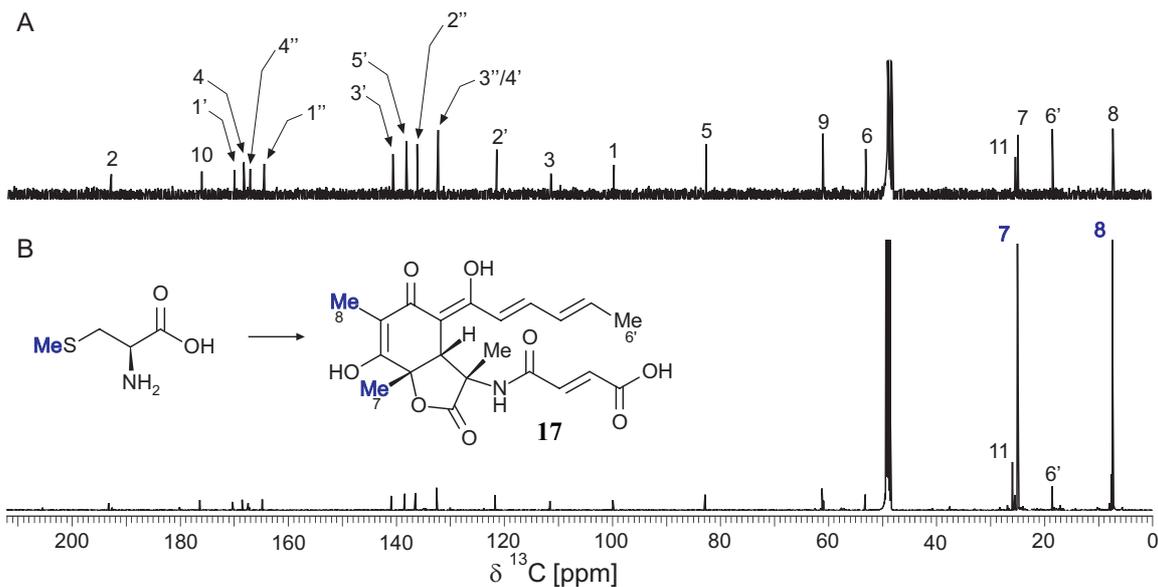


Abb. 37. Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren von unmarkiertem **17** (A) mit dem der isolierten Substanz aus der Fütterung von Methyl- ^{13}C -L-Methionin an Kulturen von *P. chrysogenum* (B).

Die Herkunft der beiden Kohlenstoffe C-9 und C-10 des Lactonrings sowie der Methylgruppe C-11 und des Stickstoffes im Molekül wurde durch Fütterung der postulierten Vorstufe Alanin in $^{13}\text{C}_3$ -markierter Form an Kulturen des Sorbicillacton-A-Produzenten untersucht. Der Einbau des Substrates in **17** aus diesen Ansätzen wurde mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie bestätigt. Dort war bereits ein starker Einbau an C-9, C-10 und C-11 sowie eine schwächere Inkorporation im Acetat-abgeleiteten Molekülteil zu erkennen. Zur genauen Lokalisierung der ^{13}C -angereicherten Positionen bediente man sich erneut der 2D-INADEQUATE-NMR-Technik.^[168] Im Spektrum von Sorbicillacton A (**17**) war in diesem Fall eine starke Wechselwirkung von C-10 zu C-9 und von C-9 zu C-11 zu beobachten (Abb. 38). Diese drei Kohlenstoff-Atome stammten also eindeutig aus einem intakten $^{13}\text{C}_3$ -Baustein, nämlich aus $^{13}\text{C}_3$ -Alanin. Zudem waren Interaktionen zwischen den Protonen-tragenden C_2 -Einheiten an C-5/C-6, C-3'/C-4' und C-5'/C-6' detektierbar. Dort resultiert die Anreicherung aus der durch Mechanismen des Primärstoffwechsels katalysierten Umsetzung von Alanin über Pyruvat zu Acetyl-CoA und dem damit verbundenen Transfer der Markierung in $^{13}\text{C}_2$ -angereicherte Acetat- und Malonat-Bausteine, die schließlich in der Biosynthese des PKS-Vorläufers von **17**, des Sorbicillinols (**165**), Verwendung finden können.

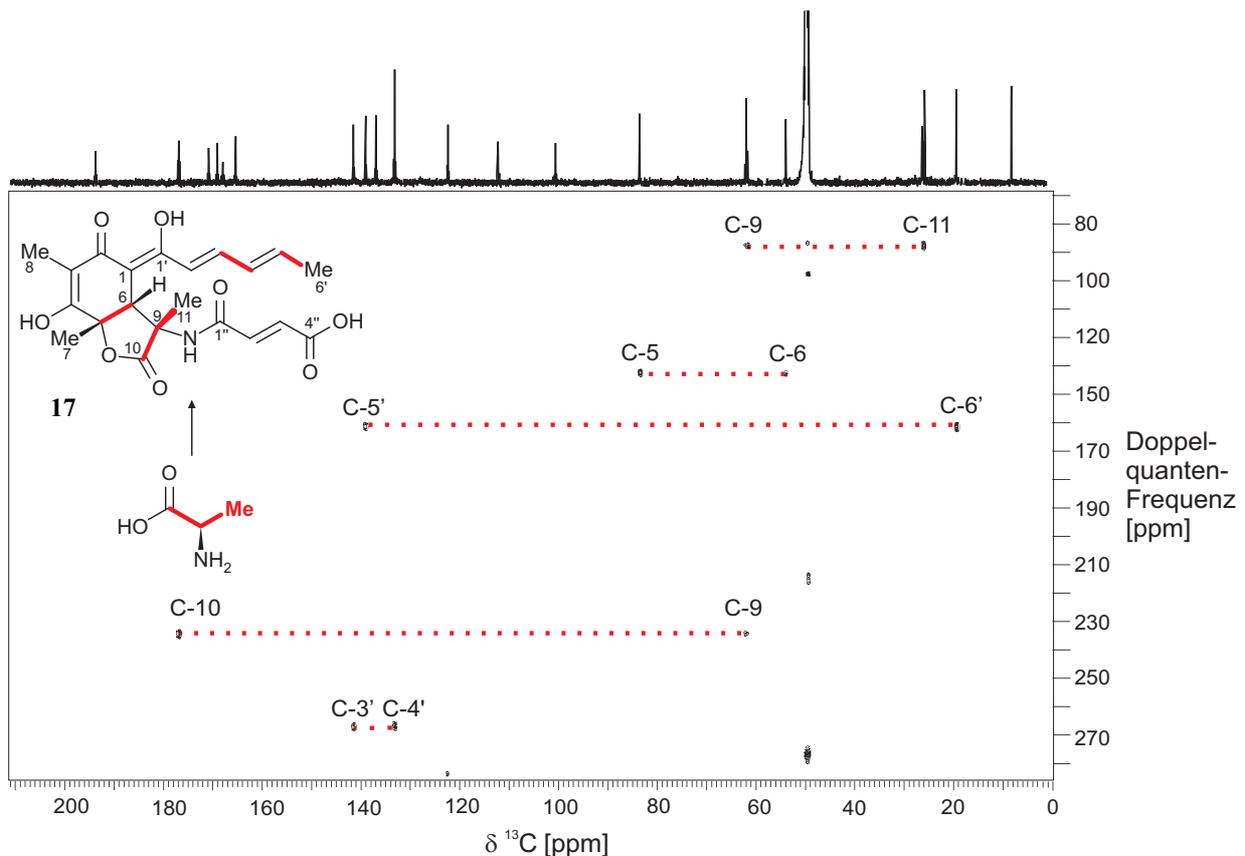
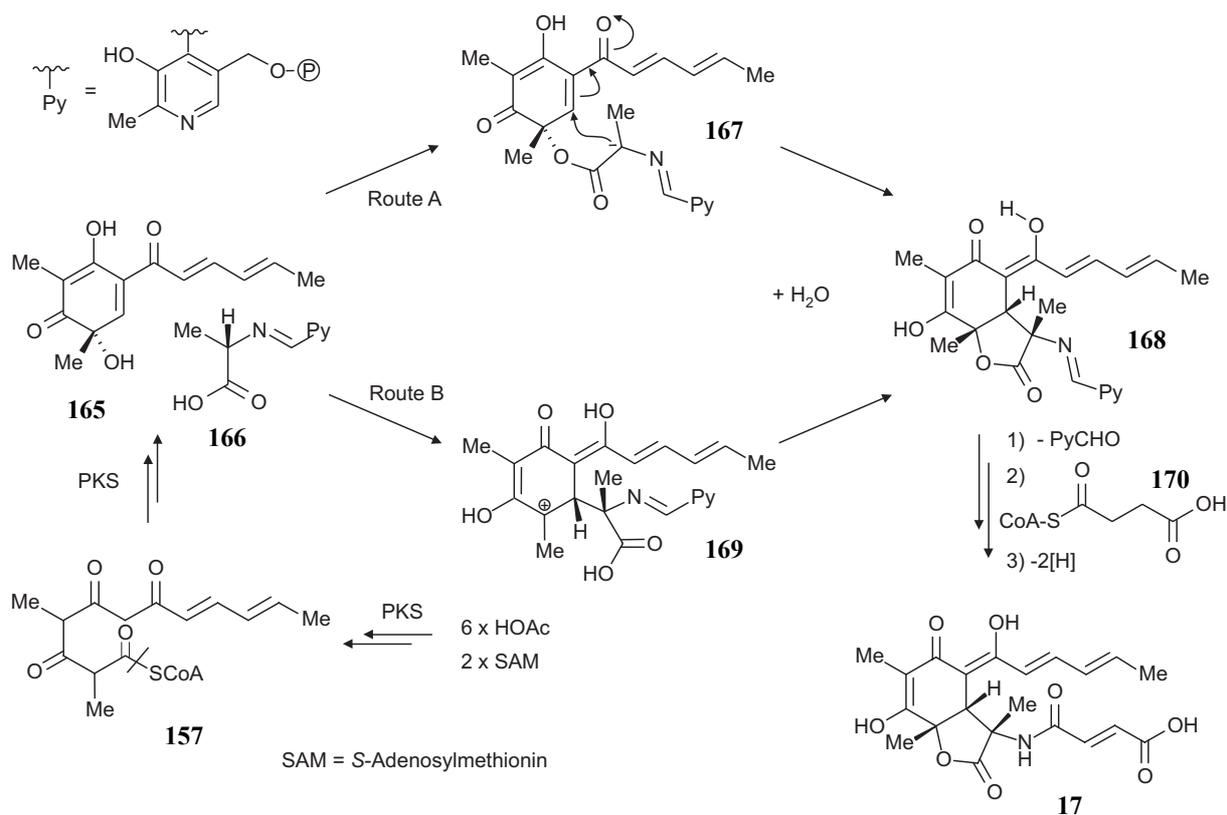


Abb. 38. 2D-INADEQUATE-NMR-Spektrum von Sorbicillacton A (**17**) aus den Fütterungs-experimenten mit $^{13}\text{C}_3$ -Alanin.

Der *N*-Fumarylrest in Sorbicillacton A (**17**) wies sowohl bei der Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat als auch bei der Applikation von $^{13}\text{C}_3$ -Alanin eine schwache und unregelmäßige Markierung (C-2'' > C-1'' > C-4'' > C-3'') auf. Dies deutete darauf hin, dass zumindest ein bestimmter Anteil an **17** mit einer Fumarsäure-Vorstufe *N*-alkyliert wurde, die nie symmetrische Zwischenstufen durchlaufen hatte, da sonst auch eine symmetrische Markierung dieses Molekülteils zu erwarten wäre. Denkbar wäre etwa die Anknüpfung von Succinyl-CoA an Sorbicillacton A (**17**) und dessen anschließende Dehydrierung zum Fumarylrest. Die Abschwächung der ^{13}C -Anreicherung liegt wohl in ihrem teilweisen Verlust bei der Biosynthese einer geeigneten unsymmetrischen Fumarsäure-Vorstufe – wahrscheinlich über den Citratcyclus^[140] – und in der zusätzlichen Verdünnung der Markierung über die zahlreichen 'endogenen pools' metabolischer Zwischenstufen begründet. Die auf dem unsymmetrischen Markierungsmuster des Fumarylrestes basierende Annahme, dass Fumarsäure selbst als Baustein in der Biosynthese von **17** nicht in

Frage kommt, wurde durch ihre Fütterung in $^{13}\text{C}_4$ -markierter Form überprüft. Tatsächlich konnte in diesen Experimenten keinerlei Einbau beobachtet werden. Dies könnte aber auch in der schlechten Bioverfügbarkeit des Substrates (z.B. schlechte Löslichkeit im Kulturmedium, ungenügende Zellpermeabilität) begründet sein und ist daher lediglich als weiterer Hinweis der beschriebenen Hypothese und nicht als deren endgültiger Beweis zu sehen.

Basierend auf den Ergebnissen der Fütterungsexperimente mit $^{13}\text{C}_2$ -Acetat, $^{13}\text{C}_3$ -Alanin und Methyl- ^{13}C -L-Methionin, lässt sich der Gesamtverlauf der Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) in *P. chrysogenum* wie folgt beschreiben (Schema 22): zunächst wird aus sechs $^{13}\text{C}_2$ -Bausteinen PKS-katalysiert ein Hexaketid aufgebaut, welches SAM-vermittelt zweifach zu **157** C-methyliert wird. Nach Desymmetrisierung dieses Intermediats **157** durch oxidative und reduktive Prozesse (vergleiche Schemata 20 und 21) und anschließende Cyclisierung entsteht Sorbicillinol (**165**). Diese hoch reaktive Zwischenstufe kann nun mit einem Alanin-Baustein, der wahrscheinlich mit Pyridoxalphosphat als Schiffssche Base **166** aktiviert ist, am tertiären Alkohol zu **167** verestert und durch intramolekulare Michael-Addition zum Lacton-System **168** cyclisiert werden (Route A). Alternativ wäre auch eine intermolekulare Michael-Addition zu **169** mit anschließendem Ringschluss zum Lacton **168** unter $\text{S}_{\text{N}}1$ -Bedingungen möglich (Route B). Obwohl beide Routen denkbar erscheinen, deutet die *cis*-Konfiguration des annelierten Fünfringes in **17** stark auf Route A hin, da dort diese Anordnung aufgrund der Vorfixierung der Alanin-Einheit im Ester **167** und der folgenden intramolekularen C,C-Bindungsknüpfung bereits eindeutig festgelegt wäre. Nach Abspaltung des *N*-Pyridoxalphosphats des Lactons **168**, Addition einer vermutlich aus dem Citratcyclus stammenden, unsymmetrischen Fumarsäure-Vorstufe, wie z.B. Succinyl-CoA **170** und deren Oxidation zum Fumarylrest wäre die Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) abgeschlossen.

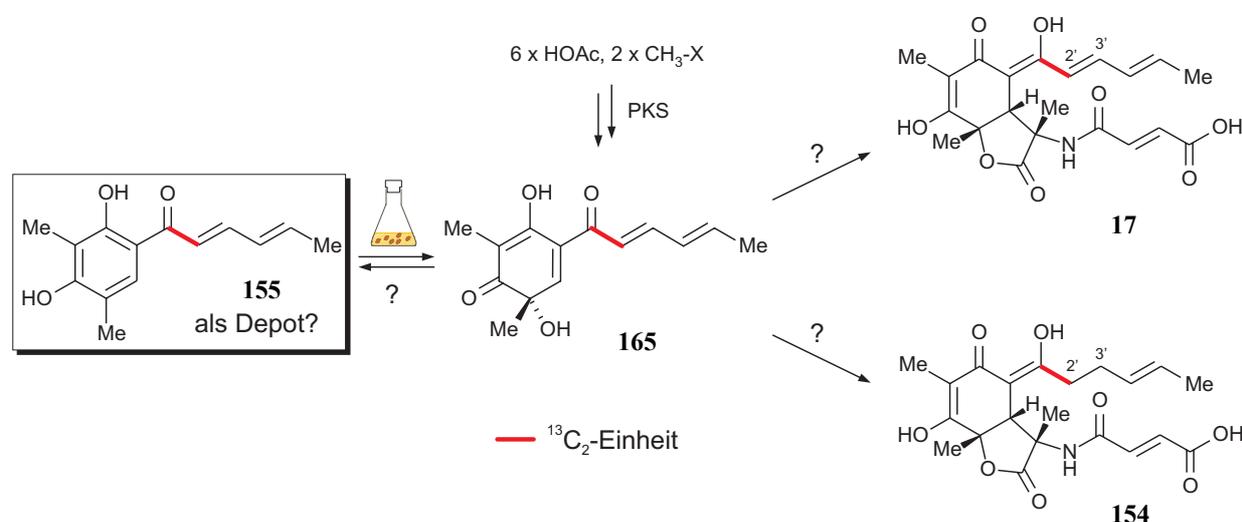


Schema 22. Mögliche biosynthetische Routen zum Sorbicillacton A (17).

Von besonderem Interesse war es nun, vor allem im Hinblick auf die in der AG Piel durchgeführten Arbeiten zur Verbesserung der Sorbicillacton-A-Produktion, den Zeitpunkt der unerwünschten Hydrierung der C-2'/C-3'-Doppelbindung und damit den Moment der Divergenz in den Biosynthesen von Sorbicillacton A (17) und B (154) experimentell zu untersuchen.

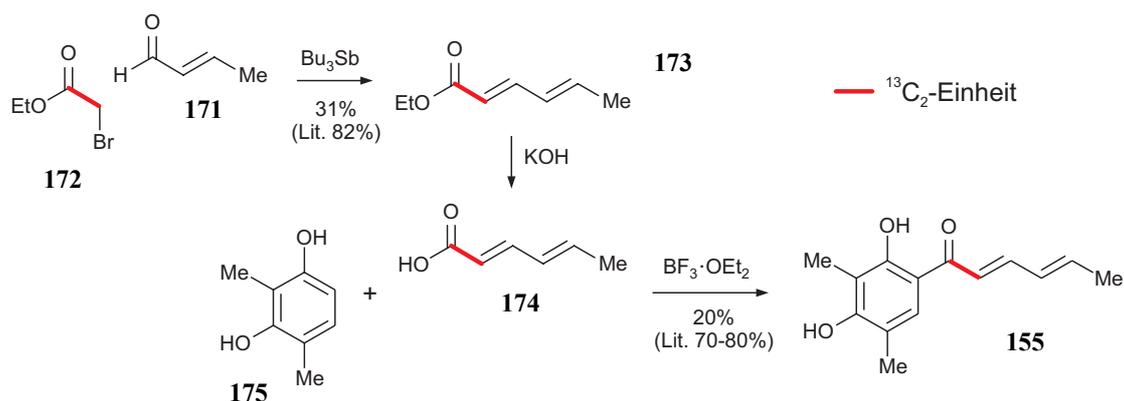
Durch Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Sorbicillin (155) an *P. chrysogenum* und Überprüfung eines möglichen Einbaus in 17 und 154 sollte gezeigt werden, ob die Reduktion der C-2'/C-3'-Doppelbindung früh oder spät in der Biosynthese der Naturstoffe stattfindet. Bei einem Einbau von $^{13}\text{C}_2$ -155 in beide Verbindungen, Sorbicillacton A (17) und B (154), würde die Hydrierung an C-2'/C-3' zu einem späten Zeitpunkt der Biosynthese durchgeführt, nämlich erst nach dem vollständigen Aufbau des Polyketid-Grundgerüsts (Schema 23). Würde die markierte Vorstufe 155 dagegen lediglich in 17 inkorporiert werden, und umgekehrt $^{13}\text{C}_2$ -2',3'-Dihydrosorbicillin nur in 155, wäre die Reduktion der Doppelbindung zur Entstehung von Sorbicillacton B (154) hingegen sehr früh zu erwarten, z.B. schon auf der Stufe eines noch linearen Poly- β -Ketoesters

wie **157** oder **161** (Schema 21). Grundvoraussetzung für einen Einbau von $^{13}\text{C}_2$ -Sorbicillin (**155**) in Sorbicillacton A (**17**) oder B (**154**) wäre zudem die Möglichkeit einer biosynthetischen oxidativen Dearomatisierung von **155** zum entsprechenden $^{13}\text{C}_2$ -markierten Sorbicillinol (**165**). Bei erfolgreichem Nachweis eines Einbaus des markierten Substrates **155** in **17** oder **154** könnte damit erstmalig bewiesen werden, dass Sorbicillin (**155**) in der Biosynthese vertinoider Naturstoffe eine große Rolle spielt und *in vivo* als stabile 'Lagersubstanz' des hochreaktiven Sorbicillinols (**165**) dient. Die Darstellung von $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Sorbicillin (**155**) und dessen Fütterung an *P. chrysogenum* erschien daher aus mehrfacher Sicht äußerst lohnenswert.



Schema 23. Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Sorbicillin (**155**) an *P. chrysogenum* zur Aufklärung des Zeitpunktes der unerwünschten Hydrierung der 2',3'-Doppelbindung in der Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) und B (**154**).

Erste Arbeiten zur Entwicklung einer Synthese-Route zur Darstellung von $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Sorbicillin (**155**) wurden in unserer Arbeitsgruppe von Dr. H. Tsuruta durchgeführt (Schema 24). In diesen Versuchen sollte aufbauend auf Ergebnissen von Huang *et al.*^[256,257] durch Tri-*n*-butylstibin-vermittelte Olefinierung von Crotonaldehyd (**171**) mit Bromessigsäureethylester (**172**) zunächst Sorbinsäureethylester (**173**) dargestellt und dieser *in situ* zur Sorbinsäure (**174**) verseift werden. In diesem Schritt wäre die Einführung eines $^{13}\text{C}_2$ -Bausteins unter Verwendung von kommerziell erhältlichem $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Bromessigsäureethylester (**172**) leicht möglich. Eine Lewis-Säure-katalysierte Friedel-Crafts-Acylierung von 2,4-Dimethylresorcinol (**175**)^[258] sollte schließlich $^{13}\text{C}_2$ -Sorbicillin (**155**) liefern.

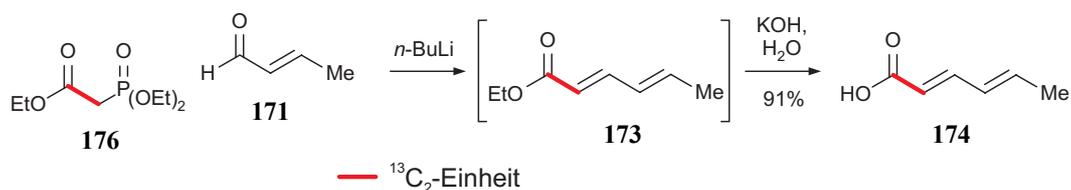


Schema 24. In unserer Arbeitsgruppe von Dr. H. Tsuruta entwickelte Syntheseroute zur Einführung einer $^{13}\text{C}_2$ -Markierung in Sorbicillin (**155**).

In der Originalliteratur^[256,257] verlief die von H. Tsuruta geplante Olefinierung von Crotonaldehyd (**171**) mit Bromessigsäureethylester (**172**) zum C_2 -verlängerten Produkt in guter Ausbeute von 84%. Bezüglich der Diastereoselektivität der Reaktion wurden jedoch keinerlei Angaben gemacht. Versuche von H. Tsuruta zeigten deutlich, dass das gewünschte Produkt-Diastereomer **173**, also mit *E*-Konfiguration an beiden Doppelbindungen, lediglich in geringer Ausbeute von höchstens 31% zugänglich war. Auch die in der Literatur bekannte Acylierung von 2,4-Dimethylresorcinol (**175**), beschrieben mit Ausbeuten von 70-80%,^[259] verlief mit wesentlich schlechteren Ausbeuten um 20%. Über beide Stufen erreichte H. Tsuruta damit eine Gesamtausbeute von lediglich *ca.* 6%. Dies war aufgrund der hohen Kosten der $^{13}\text{C}_2$ -angereicherten Vorstufe $^{13}\text{C}_2$ -Bromessigsäureethylester (**172**) nicht akzeptabel. Daher sollte eine alternative, effizientere Syntheseroute, möglichst auch unter Vermeidung von giftigen Antimon-Reagenzien, zur Gewinnung von $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Sorbicillin (**155**) erarbeitet werden.

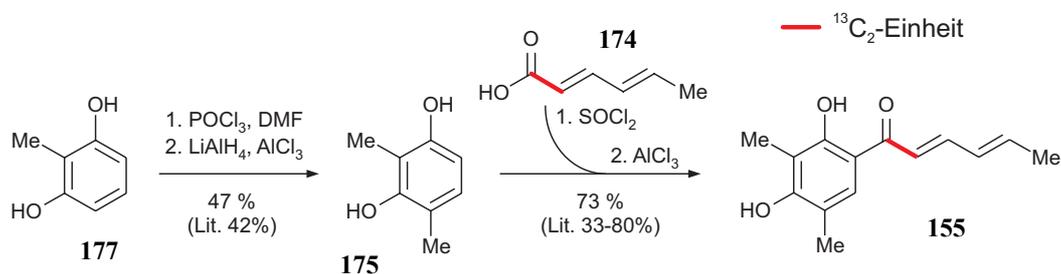
Zur geplanten *E*-selektiven Darstellung von Sorbinsäureethylester (**173**) war eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion (HWE-Reaktion),^[260,261] im vorliegenden Fall also eine Kondensation des Triethylphosphonoacetats **176** mit Crotonaldehyd (**171**), die Methode der Wahl (Schema 25). Von einer Darstellung des Phosphonoacetats **176** aus **172** über eine Arbusow-Reaktion^[262] wurde abgesehen, da für eine spätere Synthese mit ^{13}C -angereicherten Substraten **176** auch direkt in $^{13}\text{C}_2$ -markierter Form zu ähnlichen Preisen käuflich zu erwerben war. Zur Optimierung der Umsetzungen wurde zunächst unmarkiertes Material verwendet. Die Verknüpfung der beiden Bausteine **176** und **171** verlief bereits unter den initial gewählten

Bedingungen in Et₂O mit *n*-BuLi als Base optimal. Dünnschichtchromatographische Analysen mit Referenzmaterial des gewünschten Sorbinsäureethylesters (**173**), der durch Veresterung von käuflicher Sorbinsäure (**174**) mit Ethanol in unmarkierter Form über einen alternativen Weg sehr leicht zugänglich war, zeigten die quantitative Bildung des Produktes. Das Rohgemisch der Reaktion wurde daher direkt zur wässrig-basischen Verseifung des gebildeten Esters **173** verwendet. Man erhielt so ohne chromatographische oder destillative Aufreinigung reines **174** in nur einer Stufe in sehr guten Ausbeuten von 91%.



Schema 25. Darstellung von Sorbinsäure (**174**) durch HWE-Reaktion.

Die Synthese von 2,4-Dimethylresorcinol (**175**), also des aromatischen Teils von Sorbicillin (**155**), erfolgte in Anlehnung an literaturbekannte Vorschriften^[263] ausgehend von 2-Methylresorcinol (**177**) durch Formylierung und anschließende Reduktion der eingeführten Aldehyd-Funktion (Schema 26). Allerdings wurde dabei die in der Literatur verwendete Gattermann-Adams-Reaktion (Verwendung von Zn(CN)₂ und Einleitung von HCl-Gas!) durch eine Vilsmeier-Formylierung, und die Clemmensen-Reduktion (mit Zn/Hg!) durch eine LiAlH₄/AlCl₃-Reduktion ersetzt. Man erhielt so das gewünschte Resorcinol **175** im Vergleich zur Literatur (42%) in leicht gesteigerter 47proz. Ausbeute (Schema 26).



Schema 26. Synthese von Sorbicillin (**175**).

Zur Darstellung von Sorbicillin (**171**) durch Verknüpfung von 2,4-Dimethylresorcinol (**175**) mit Sorbinsäure (**174**) waren in der Literatur zwei Methoden bekannt, nämlich die Umsetzung eines *ortho*-Brommagnesium-Phenolat-Nucleophils^[264] aus **175** mit einem aktivierten Sorbinsäure-Derivat, oder – wie von H. Tsuruta bereits angewandt (Schema 24) – eine Friedel-Crafts-Acylierung von **175** mit **174** unter BF₃-Katalyse.^[265] Nicolaou *et al.* beschrieben in ihren Arbeiten zur biomimetischen Synthese von Bisorbicillinoiden bereits die Überlegenheit der zweiten Methode, vor allem bei größeren Reaktionsansätzen.^[258,259] In eigenen Versuchen erwiesen sich die publizierten Angaben zur Ausbeute bei der Synthese von Sorbicillin (**155**) nach der Brommagnesium-Phenolat-Variante (75%)^[264] zudem als nicht reproduzierbar. Allerdings erreichte man auch bei der BF₃-katalysierten Acylierung nicht zuverlässig die von Nicolaou *et al.* berichteten guten Ausbeuten von 70-80%,^[258,259] sondern lag zwischen diesen und den in der Originalpublikation angegebenen Werten (33%).^[265] Die Schwankungen in der isolierten Ausbeute an **155** aus diesen Ansätzen waren in der schwierigen Aufarbeitung und Aufreinigung des Reaktionsgemisches begründet. Dabei erwies sich die Hydrolyse des nach der Acylierung gebildeten, unerwartet stabilen Sorbicillin-BF₂-Komplexes in THF/H₂O/HCl als kritisch. Eine Durchführung der Reaktionen bei hohen Temperaturen mit langen Hydrolysezeiten führte zu einer Zersetzung des Reaktionsproduktes, während bei kürzeren Reaktionszeiten oder niedrigen Temperaturen keine vollständige Spaltung des Komplexes zu erreichen war. Die säulenchromatographische Trennung des Sorbicillin-BF₂-Komplexes vom freien Produkt **155** erwies sich aufgrund der ähnlichen Retentionszeiten zudem als sehr zeitaufwändig und schwierig. Aus diesem Grund wurde alternativ zu den beschriebenen Methoden eine Acylierung von 2,4-Dimethylresorcinol (**175**) mit Sorbinsäure (**174**), *in situ* aktiviert als Säurechlorid, und AlCl₃ als Lewis-Säure getestet, mit der man auf Anhieb zuverlässig gute Ausbeuten von 73% erzielte (Schema 26). Durch Anwendung der alternativen Route zur Synthese von ¹³C₂-markiertem Sorbicillin (**155**) erzielte man eine Verbesserung der Gesamtausbeute von 6% nach Dr. H. Tsuruta auf 66% bezogen auf das verwendete ¹³C-angereicherte Substrat **176**.

Die Fütterung von ¹³C₂-markiertem Sorbicillin (**155**) an *P. chrysogenum* wurde in enger Kooperation mit der AG Imhoff durchgeführt. Anfängliche Probleme mit der Löslichkeit des Substrates wurden durch geringfügige Anpassung des pH-Wertes (von neutral zum schwach Basischen) des Produktionsmediums gelöst. Die Kulturbedingungen zur Gewinnung von Sorbicillacton A (**17**) bei Fütterung von **155** an *P. chrysogenum* wurden in der AG Imhoff

zunächst mit unmarkiertem synthetischem Material aus unserer Gruppe optimiert. Eine verringerte Produktion von **17**, in einigen Fällen sogar ein unerklärliches komplettes Ausbleiben der Bildung des gewünschten Sekundärstoffs, war trotz intensiver Bemühungen jedoch nicht vollständig auszuschließen. Unabhängig vom Produktionsverhalten des Pilzes war in allen Testkulturen das applizierte $^{13}\text{C}_2$ -angereicherte Sorbicillin (**155**) vollständig metabolisiert. Lediglich aus einem der Ansätze aus den Fütterungsexperimenten war die Isolierung einer sehr kleinen Menge ($\ll 1$ mg) von vermeintlich markiertem Sorbicillacton A (**17**) möglich. Im ^{13}C -NMR-Spektrum dieser Substanz war im Bereich des C-1'-Kohlenstoffes der Sorbylseitenkette das bei einem erfolgreichen Einbau von $^{13}\text{C}_2$ -Sorbicillin (**155**) in **17** zu erwartende Triplett zu beobachten. Im Vergleich zur chemischen Verschiebung der entsprechenden Position im Referenzspektrum der unmarkierten Substanz (162.5 ppm) war dieses Signal jedoch leicht verschoben (165.1 ppm). Im Falle eines Einbaus von $^{13}\text{C}_2$ -Sorbicillin in **17** müsste des Weiteren eine Markierung an C-2' zu finden sein. Im ^{13}C -Spektrum war jedoch bei der entsprechenden chemischen Verschiebung kein Signal zu erkennen. Aufgrund der geringen Substanzmenge waren zudem nicht alle Kohlenstoffatome von Sorbicillacton A (**17**) zu finden. Die Auswertung dieser Ergebnisse ließ somit den eindeutigen Nachweis eines Einbaus von $^{13}\text{C}_2$ -Sorbicillin (**155**) in Sorbicillacton A (**17**) nicht zu. Bei einer weiteren Wiederholung des Experimentes mit Fütterung größerer Mengen des markierten Substrates an eine höhere Anzahl Kulturen blieb die Produktion des Sekundärstoffes **17** vollständig aus. Der Einbau von **155** kann basierend auf diesen Ergebnissen damit weder bewiesen noch ausgeschlossen werden. In zukünftigen Arbeiten sollte die Fütterung mit einer großen Anzahl unabhängig voneinander angeimpfter kleiner Einzelkulturen, anstelle weniger großer Kulturen, wiederholt werden. So könnte die Wahrscheinlichkeit der Produktion von Sorbicillacton A (**17**) – zumindest in einigen Kulturansätzen – erhöht werden.

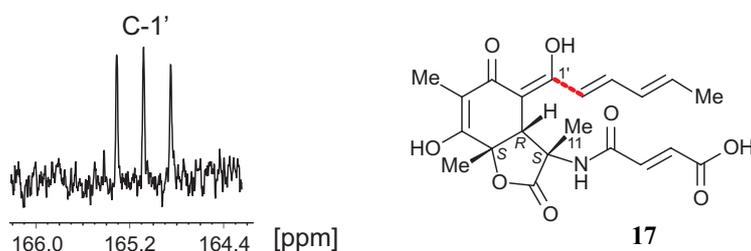


Abb. 39. Ausschnitt aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum von Sorbicillacton A (**17**) nach Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Sorbicillin (**155**).

Eine wichtige weitere Information zu möglichen biosynthetischen Vorläufern von Sorbicillacton A (**17**) und B (**154**) lieferten molekularbiologische Untersuchungen am Produzentenstamm in der Arbeitsgruppe von Prof. J. Piel (Universität Bonn). Analysen des vermutlichen Sorbicillacton-Genclusters in *P. chrysogenum* legten die Vermutung nahe, dass als Startermolekül des entsprechenden PKS-Clusters nicht Acetat, sondern Sorbinsäure (**174**) fungieren könnte.^[266] Damit würde sich evtl. die Möglichkeit eröffnen, durch Vorstufen-induzierte Fütterung, hier also durch Gabe größerer Mengen **174**, die Produktionsmenge der Sorbicillactone **17** und **154** zu erhöhen. Sollte zur Bildung von Sorbicillacton B (**154**) die unerwünschte Hydrierung der 2',3'-Doppelbindung bereits im Startermolekül des Sorbicillacton-PKS-Clusters nötig sein, die Biosynthese von **154** also direkt mit 2',3'-Dihydrosorbinsäure starten müssen, würde eine massive Fütterung von Sorbinsäure (**174**) im besten Fall sogar zu einem kompletten Einbruch der Sorbicillacton-B-Produktion führen und somit eine einfache Variante zur gezielten biotechnologischen Produktion von Sorbicillacton A (**17**) liefern.

Zur Untersuchung möglicher Auswirkungen bei Fütterung von Sorbinsäure (**174**) an *P. chrysogenum* wurde der AG Imhoff eine Charge der Substanz zur Verfütterung bereitgestellt. Anfängliche Bedenken, die in der Nahrungsmittelindustrie als Konservierungsmittel genutzte Säure **174** könnte sich als toxisch für den pilzlichen Produzenten herausstellen, erwiesen sich als unbegründet. Bei Applikation der Verbindung zeigte sich jedoch weder eine signifikante Erhöhung der Bildung von Sorbicillacton A (**17**) und B (**154**) noch eine Verschiebung des Produktionsverhältnisses zwischen **17** und **154**. Durch Fütterung von ¹³C₂-markierter Sorbinsäure (**174**) sollte daher abschließend überprüft werden, ob es sich bei dieser Substanz tatsächlich um das Startermolekül des Sorbicillacton-Genclusters handeln könnte. Die Verbindung wurde analog der Synthese von ¹³C₂-Sorbicillin dargestellt (Schema 25). Die Fütterung erfolgte erneut in der AG Imhoff, unter den für die Ansätze mit unmarkierter Sorbinsäure (**174**) erarbeiteten Bedingungen. Die aus diesen Ansätzen gewonnene Fermentationsbrühe wurde an unsere Arbeitsgruppe gesandt, wo durch Extraktion und anschließende HPLC-chromatographische Aufreinigung Sorbicillacton A (**17**) und B (**154**) isoliert wurden. Einen möglichen Einbau des ¹³C₂-Labels in diese Naturstoffe überprüfte man mittels ¹³C-NMR-Spektroskopie. In beiden Naturstoffen stellte man jedoch keinerlei Inkorporation von ¹³C₂-Einheiten fest.

Diese Beobachtungen bei Fütterung von Sorbinsäure (**174**) deuteten somit darauf hin, dass die Substanz selbst evtl. doch nicht als Startermolekül für die Sorbicillacton-A-Biosynthese dient. Möglich wäre natürlich auch, dass die Verbindung aufgrund zu hoher Polarität nicht durch die Zellmembranen des Produzenten drang und damit nicht als Substrat für die Biosynthese von **17** und **154** zur Verfügung stand. Dagegen sprach jedoch, dass weder mittels HPLC-MS noch durch HPLC-UV und Koelution mit authentischem Referenzmaterial Sorbinsäure (**174**) in den Kulturen und Extrakten nachzuweisen war. Die Substanz schien daher zwar durch den Pilz aufgenommen und metabolisiert, oder zur Energiegewinnung katabolisiert, jedoch nicht für die Biosynthese von **17** und **154** verwendet worden zu sein. Möglich wäre auch, dass Sorbinsäure (**174**) in ihrer freien Form keinen Eingang in die Sorbicillacton-Biosynthese fand. Gegebenenfalls wäre diese offene Frage in zukünftigen Arbeiten durch Synthese eines aktivierten Thioesters, z.B. **178** oder **179** (Abb. 40), und dessen Fütterung an *P. chrysogenum* zu klären. Ein möglicher katabolischer Abbau der Substrate könnte durch zeitgleiche Fütterung eines β -Oxidations-Inhibitors unterdrückt werden.^[266]

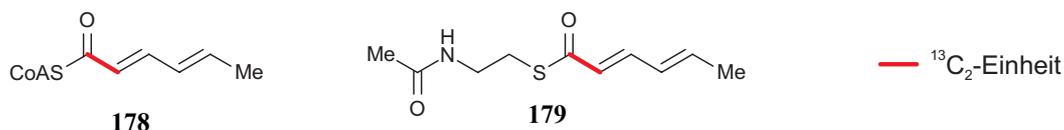
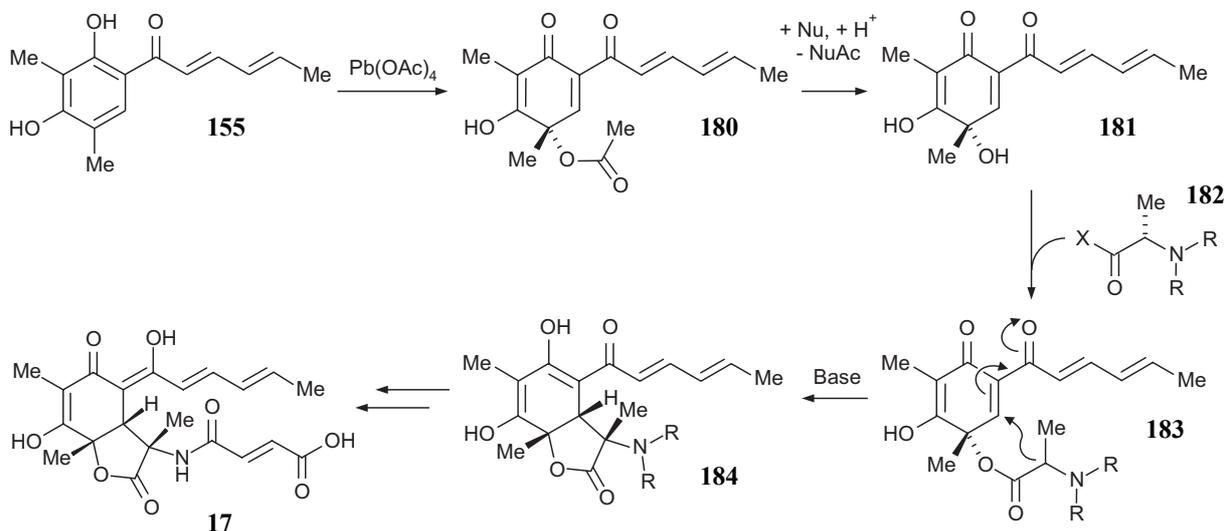


Abb. 40. Mögliche verbesserte Substrate für die Sorbicillacton-PKS: Thioester **178** und **179**.

5.3.2 Studien zur biomimetischen Totalsynthese von Sorbicillacton A (**17**)

Die gewonnenen Erkenntnisse zur Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) sollten nun zur Entwicklung einer ersten, biomimetischen Totalsynthese des Naturstoffes verwendet werden. Ausgehend von Sorbicillin (**155**) sollte dabei zunächst nach einer literaturbekannten Vorschrift^[258,259] durch Oxidation mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ racemisches *O*-Acetyl-Sorbicillinol (**180**) gewonnen werden (Schema 27). Nach milder Abspaltung des *O*-Acetyl-Restes – gegebenenfalls kombiniert mit einer kinetischen Racematspaltung zur selektiven Hydrolyse nur des gewünschten Enantiomers, z.B. durch Enzym-Katalyse – sollte die dann freie Hydroxyfunktion von **181** mit einem aktivierten Alanin-Derivat **182** zum Ester **183** umgesetzt und die Verbindung zum Lacton **184** cyclisiert werden. Durch Entschützen der *N*-Funktion der Alanin-Einheit und abschließende

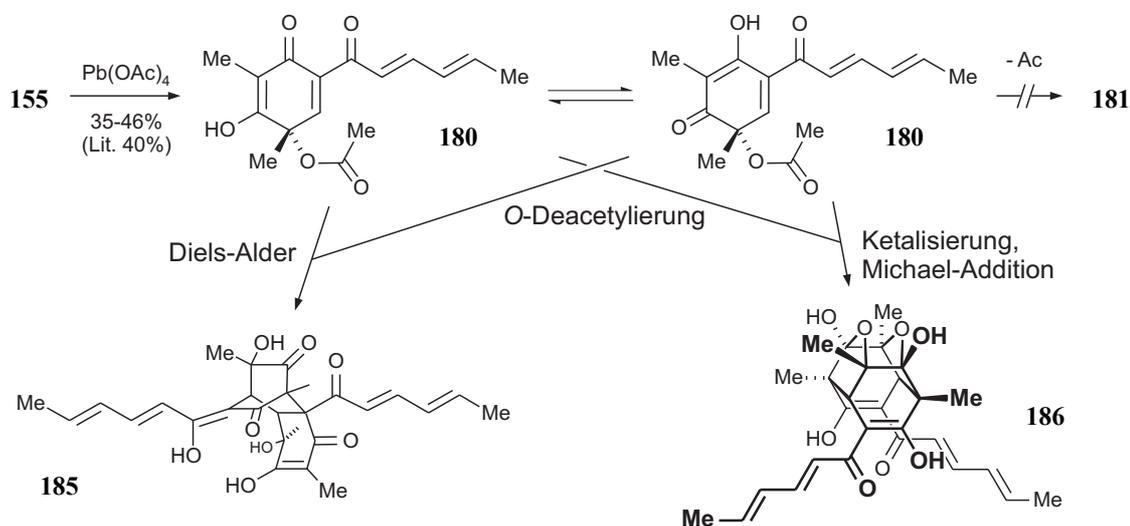
Funktionalisierung mit einem Fumarsäure-Baustein wäre die Totalsynthese in nur wenigen Schritten abgeschlossen.



Schema 27. Geplante biomimetische Totalsynthese von Sorbicillacton A (**17**); zur besseren Übersichtlichkeit sind hier und in den folgenden Schemata nur die gewünschten Stereoisomere gezeigt.

Die oxidative Dearomatisierung von Sorbicillin (**155**) mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ zu **180** erwies sich als sehr empfindliche Reaktion. Essentiell für das Erreichen reproduzierbarer Ausbeuten von 35-46% war dabei die Verwendung eines gas- und wasserfreien Lösungsmittelgemisches (CH_2Cl_2 /Essigsäure, 1:1) und trockener Reagenzien. Das verwendete Solvens wurde daher bei 0°C 30min. lang mit Argon entgast. Bei kürzerer Dauer der Entgasung war mit Ausbeuteverlust zu rechnen, während eine wesentlich längere Dauer aufgrund der Verflüchtigung des CH_2Cl_2 zum Einfrieren des Reaktionsgemisches führte. Das in den Umsetzungen verwendete Sorbicillin (**155**) und $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ wurde direkt vor der Reaktion im Hochvakuum mindestens eine Stunde lang getrocknet. Nach Zugabe des Oxidationsmittels zu der Reaktionslösung war das Einhalten der Reaktionstemperatur von 0°C und die Aufarbeitung der Reaktion nach *ca.* 30-45min. wichtig, auch bei nicht vollständigem Umsatz des Edukts **155**. Sowohl Variation von Reaktionszeit oder -temperatur, als auch der eingesetzten Menge an $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ führten zu verringerten Ausbeuten. Auch eine möglichst schnelle flash-chromatographische Aufreinigung des gewünschten Produktes **180** war aufgrund seiner Instabilität im Reaktionsgemisch von entscheidender Bedeutung.

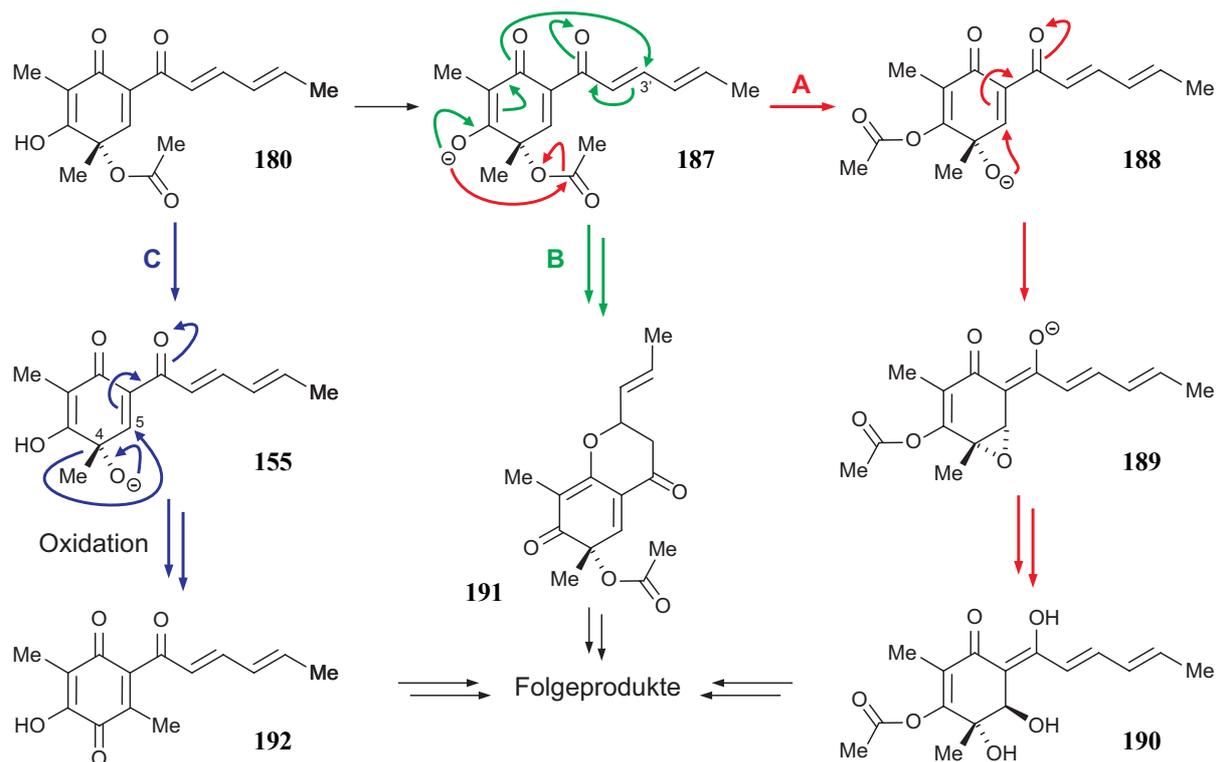
Mit dem so gewonnenen *O*-Acetyl-Sorbicillinol (**180**) wurde eine Vielzahl an Versuchen zur *O*-Deacetylierung durchgeführt. Dabei variierte man sowohl die eingesetzte Base (z.B. KOH, LiOH, CsOH, NaOMe), die verwendeten Lösungsmittel als auch Reaktionstemperaturen und Reaktionszeiten. Bei keinem dieser Ansätze war jedoch die Bildung des gewünschten Alkohols **181** (Schema 27) nachgeweisbar. Neben der Isolierung des Diels-Alder-Reaktionsproduktes Bisorbicillinol (**185**) – gebildet aus zwei Äquivalenten Sorbicillinol (**165**) – und des durch Michael-Addition und Ketalisierung entstehenden Dimers Trichodimerol (**186**, Schema 28),^[258,259] war bei den unterschiedlichen Ansätzen vor allem die Zersetzung des Eduktes **180** zu einem hoch komplexen Produktgemisch zu beobachten (Schema 29).



Schema 28. Aus Versuchen zur Abspaltung des *O*-Acetylrestes von **155** isolierte Produkte Bisorbicillinol (**185**) und Trichodimerol (**186**).

Nicolaou *et al.* postulierten in ihren Arbeiten zur biomimetischen Totalsynthese von Bisorbicillinoiden als unerwünschte Nebenreaktion die Bildung eines sehr labilen Diols **190**, die zur Zersetzung des *O*-Acetyl-Sorbicillinols (**180**) führte (Schema 29, Weg A, rot).^[258,259] Dabei erfolgt durch die zugesetzte Base zunächst eine *O*-Deprotonierung von **180** zum Chinolat (**187**), das durch Wanderung der Acyl-Gruppe zum Alkoxy-Anion (**188**) umlagern könnte. Eine intramolekulare Michael-Addition würde das Epoxid **189** liefern, welches durch wässrige Hydrolyse bei Aufarbeitung in das instabile Diol **190** überführt würde. Weitere denkbare Zersetzungsmechanismen wären z.B. die direkte Bildung eines intramolekularen Michael-Additionsproduktes durch Angriff der deprotonierten Alkohol-Gruppe des Chinolats (**187**) an C-3'

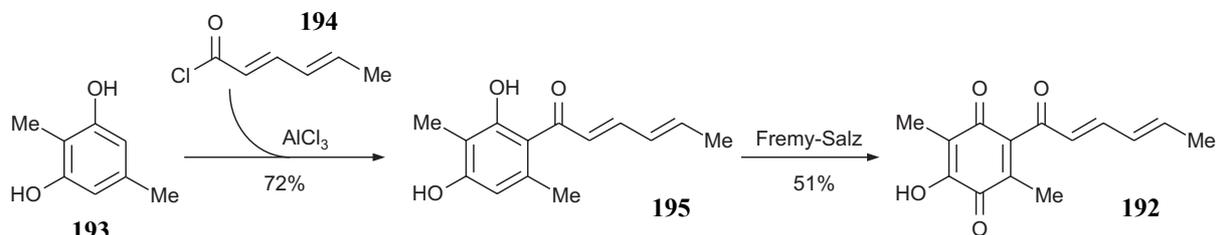
der Sorbylseitenkette zum cyclischen Ether **191** (Weg B, grün), oder eine *O*-Deacetylierung zu Sorbicillinol (**155**) mit anschließender Wanderung der Methylgruppe an C-4 zu C-5 unter Ausbildung des Chinons **192** (Weg C, blau). Alle genannten Produkte sind reaktive Substrate zum weiteren Abfang von *O*-Acetyl-Sorbicillinol (**180**) und führen so wahrscheinlich insgesamt zur beobachteten Zersetzung.



Schema 29. Auswahl möglicher Zersetzungsreaktionen bei der *O*-Deacetylierung von **180**.

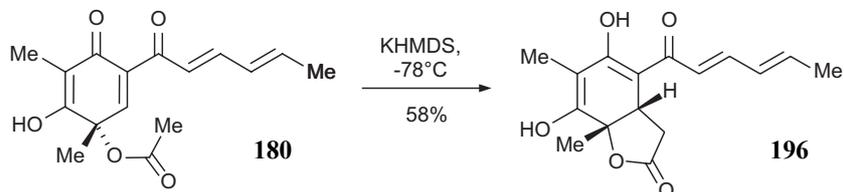
Bemerkenswert ist dabei, dass das Chinon **192** (Sorrentanon),^[267] ebenso wie der entsprechende reduzierte, aromatische Alkohol (Sohirnon B),^[268] bereits als Naturstoffe aus Pilzen der Gattung *Penicillium* bekannt sind. Die postulierte Umlagerungsreaktion taucht somit anscheinend auch in der Natur auf. Sorrentanon (**192**) wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit als Referenzmaterial zur Reaktionskontrolle der bereits beschriebenen Versuche zur *O*-Deacetylierung von **180** erstmalig synthetisch dargestellt. Durch Friedel-Crafts-Acylierung von kommerziell erhältlichem 2,5-Dimethylresorcinol (**193**) mit *in situ* erzeugtem Sorbinsäurechlorid (**194**) erhielt man Alkohol **195**, der durch Oxidation mit Fremy-Salz in Sorrentanon (**192**) überführt wurde (Gesamtausbeute 36%, Schema 30). Bei dünnschichtchromatographischen

Untersuchungen der Versuche zur Abspaltung der *O*-Acetylgruppe von **180** gelang in einigen Fällen der Nachweis von Spuren der Verbindung **192** in diesen Ansätzen.



Schema 30. Synthese von Sorrentanon (**192**).

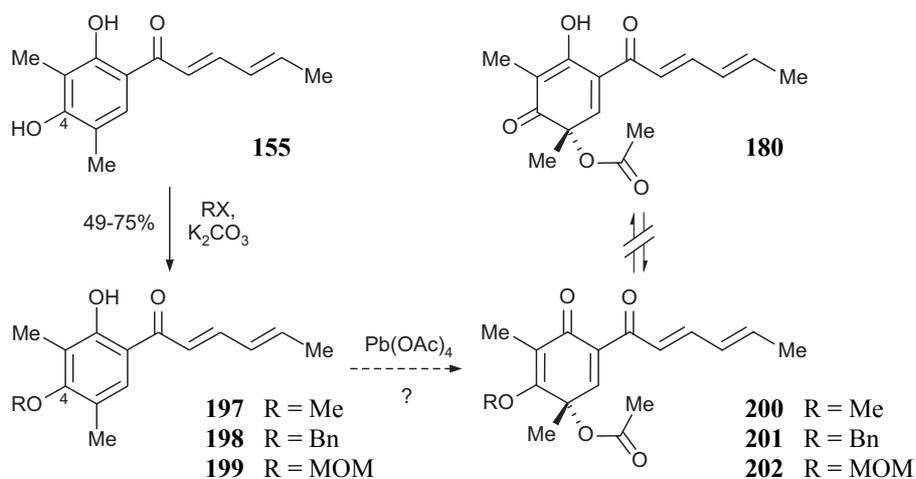
Bei alternativen Versuchen zur milden enzymatischen Abspaltung des *O*-Acetylrestes von **180**, z.B. mit Schweineleber-Esterase, blieb jegliche Reaktion des Substrates aus. Lediglich bei Behandlung von **180** mit drei Äquivalenten Kaliumhexamethyldisilazan (KHMDs) bei -78°C konnte überhaupt eine saubere Reaktion erreicht werden.^[258,259] Aus diesen Ansätzen isolierte man das literaturbekannte racemische Demethyl-Desamidofumaryl-Derivat **196** von Sorbicillacton A (**17**) in 58% Ausbeute (Schema 31).



Schema 31. Cyclisierung von *O*-Acetyl-Sorbicillinol (**180**) zu Lacton **196**.

Aufgrund der genannten Probleme bei der *O*-Deacetylierung von **180** sollte durch möglichst geringfügige chemische Veränderungen am Sorbicillin (**155**) eine höhere Stabilität des entsprechenden Produktes nach oxidativer Dearomatisierung erreicht werden, um so die Hydrolyse des *O*-Acylrestes und damit die Darstellung eines sekundären Alkohols wie **181** (Schema 27) zu ermöglichen. Betrachtet man die in den bisher beschriebenen Versuchen beobachteten Reaktionsprodukte und die postulierten Mechanismen zur Zersetzung von **180**, so fällt auf, dass meist die an C-4 sitzende freie Hydroxygruppe eine entscheidende Rolle spielt. Bei der Ausbildung der dimeren Produkte **185** und **186** ist eine Reaktion zweier Moleküle

Sorbicillinol (**181**) in den beiden möglichen tautomeren Formen nötig (Schema 28). Auch zur Umlagerung des Acetylrestes von **180** und zur Ausbildung eines cyclischen Ethers wie **191** ist das Vorhandensein einer freien Hydroxygruppe an C-4 grundlegende Voraussetzung (Schema 29). Durch Schützen dieser Alkoholfunktion schon im Sorbicillin (**155**) sollte es also möglich sein, nach Oxidation mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ sowohl die gewünschte tautomere Form des Produktes vom Typ **200-202** 'einzufrieren', als auch Zersetzungsreaktionen mit Beteiligung des vormals freien, nucleophilen Sauerstoffes zu verhindern (Schema 32).

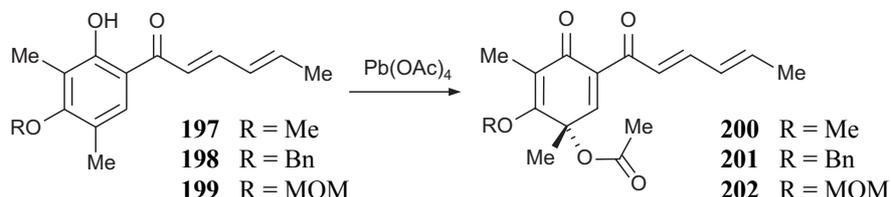


Schema 32. Darstellung von *O*-alkylierten Derivaten von Sorbicillin (**155**) und geplante Oxidation zu **200-202**.

Die Alkylierung der 4-Hydroxygruppe von **155** zu den geschützten Alkoholen **197-199** gelang bei RT mit MeI, BnBr und MOMCl in 49-75% Ausbeute mit K_2CO_3 als Base in Aceton. Neben dem jeweilig gewünschten Produkt wurde aus diesen Reaktionen das Edukt **155** re-isoliert. Auf Erhöhung von Reaktionszeit, der Temperatur oder der Menge an Alkylhalogenid wurde wegen der dann beobachteten Zweifach-Alkylierung von **155** verzichtet.

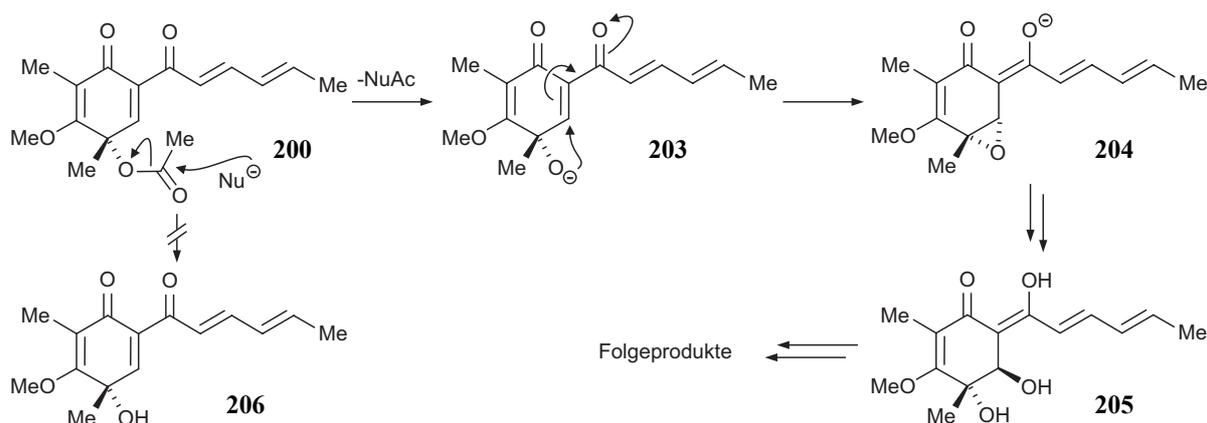
Die oxidative Dearomatisierung der Alkohole **197-199** mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ wurde unter den für ungeschütztes Sorbicillin (**155**) ausgearbeiteten Bedingungen durchgeführt. Für das *O*-methylierte Derivat **197** und das *O*-benzylierte Sorbicillin **198** gelang die Oxidation so in sehr guten 67% bzw. 77% Ausbeute (Schema 33). Das im Falle des *O*-MOM-geschützten Alkohols **199** gebildete Derivat **202** erwies sich als sehr instabil und war nur in geringen Mengen isolierbar. Die *O*-methylierte Verbindung **197** war somit ausgehend von **155** am besten verfügbar (48% über

zwei Stufen) und wurde daher als Modellsubstanz zur Untersuchung möglicher *O*-Deacetylierungsreaktionen verwendet.



Schema 33. Oxidative Dearomatisierung *O*-alkylierter Sorbicillin-Derivate **197-199**.

Zur Hydrolyse des Acetylrestes von **200** wurden, wie schon bei den Versuchen zur Spaltung des *O*-Acetyl-Sorbicillinols (**180**), verschiedene Bedingungen getestet (z.B. unter Verwendung von KOH, LiOH, CsOH oder NaOMe als Base). Es zeigte sich, dass trotz der Schützung der Sauerstoff-Funktion an C-4 in allen Ansätzen eine Zersetzung des Eduktes **200** eintrat. Eine Erklärung für die fortwährende Instabilität der Reaktionsintermediate wäre erneut die mögliche Bildung eines labilen Diols **205**, lediglich ohne eine initiale Wanderung der Acetyl-Gruppe (vgl. Schema 29), sondern induziert durch deren einfache Abspaltung zu **203** (Schema 34). Durch die Fixierung der Doppelbindungspositionen im Sechsring von **200** aufgrund der *O*-Methylschutzgruppe ist die Reaktivität des zweifach aktivierten Michael-Systems von **203** mit der des *O*-acetylierten Analogons **188** (Schema 29) vergleichbar, und ähnliche Abbaureaktionen über ein Epoxid **204** zum Diol **205** daher sehr wahrscheinlich.



Schema 34. Möglicher Mechanismus zur Zersetzung von **197**.

Auch im Falle von **200** erreichte man mit enzymatischen Ansätzen zur Spaltung des *O*-Acetylrestes keinerlei Reaktion des Substrates. Versuche zur *O*-Deacetylierung unter Lewis-sauren Bedingungen (z.B. mit BF_3) oder durch Einsatz von Metallhydriden (z.B. NaH), führten wiederum zur vollständigen Zersetzung des Acetats **200**. Aus diesem Grund wählte man schließlich die sehr milde, vollständig unter neutralen Bedingungen ablaufende Hydrolyse von Acetestern mit NaCN .^[269] Dünnschichtchromatographische Analysen des Reaktionsgemisches wiesen einen sauberen Umsatz des Eduktes **200** zu nur einem Produkt mit einer für den gewünschten Alkohol **206** auch zu erwartenden erhöhten Polarität auf. Das nach der Isolierung der Substanz aufgenommene ^1H -NMR-Spektrum war jedoch nicht im Einklang mit der Struktur von **206**. Neben den vier typischen Signalen der Protonen der Sorbylseitenkette war das Signal einer stark Tieffeld-verschobenen Hydroxy-Funktion (12.77 ppm) sowie einer Methoxy- (3.73 ppm) und dreier Methylgruppen (2.44, 2.21 und 1.90 ppm) zu erkennen. Somit fehlte im ^1H -NMR-Spektrum des isolierten Produkts nicht nur die Acetyl-Gruppe, sondern auch das im gewünschten Produkt **206** an C-6 befindliche aromatische Proton. Die aus der HRESI-MS von 272.1281 $[\text{M}+\text{H}]^+$ errechnete Summenformel von $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_3$ machte deutlich, dass im Verlauf der Reaktion ein aus dem Cyano-Nucleophil stammender Stickstoff inkorporiert worden sein musste. Das Vorhandensein einer intakten Sorbyl-Seitenkette im Produkt wurde mittels COSY-NMR-Spektroskopie bestätigt. Die Aufklärung der Gesamtstruktur der Verbindung gelang durch Analyse der HMBC-Wechselwirkungen. Die wichtigsten Interaktionen dabei waren die der Hydroxygruppe mit C-1, C-2 und C-3, der Methylgruppe an C-3 zu C-2, C-3 und C-4, der Methoxygruppe zu C-4 sowie der Methylgruppe an C-5 zu C-4 und C-5 (Abb. 41). Die so ermittelte Gesamtstruktur des Nitrils **207** stand auch im Einklang mit allen beobachteten chemischen Verschiebungen.

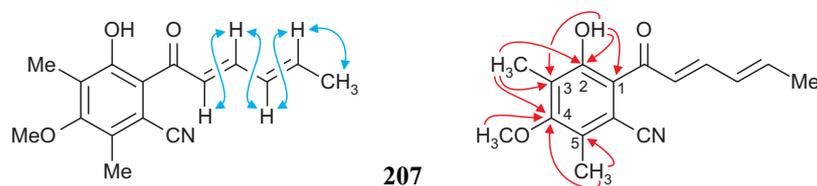
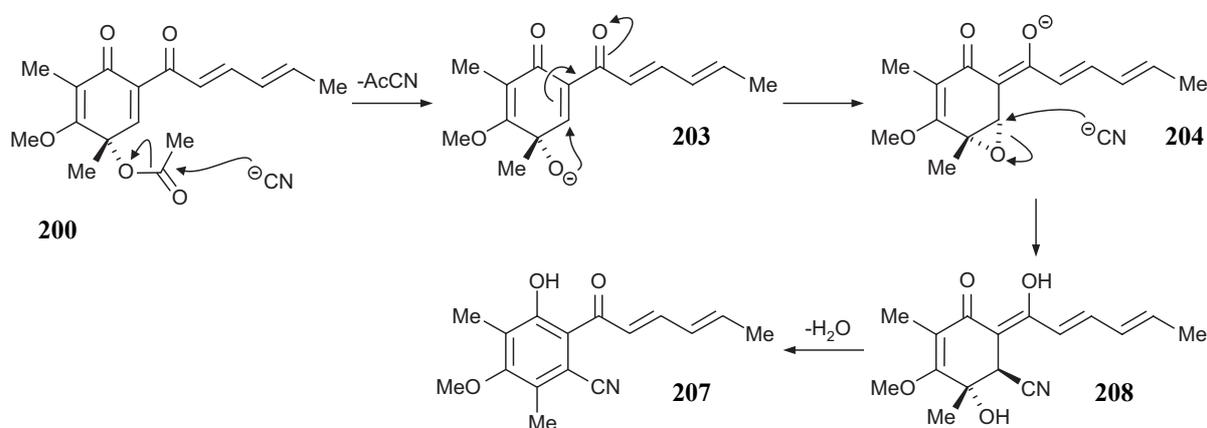


Abb. 41. Wichtige COSY- (blau) und HMBC-Wechselwirkungen (rot) zur Aufklärung der Struktur des Reaktionsproduktes **207** aus der Cyanid-induzierten Hydrolyse von **200**.

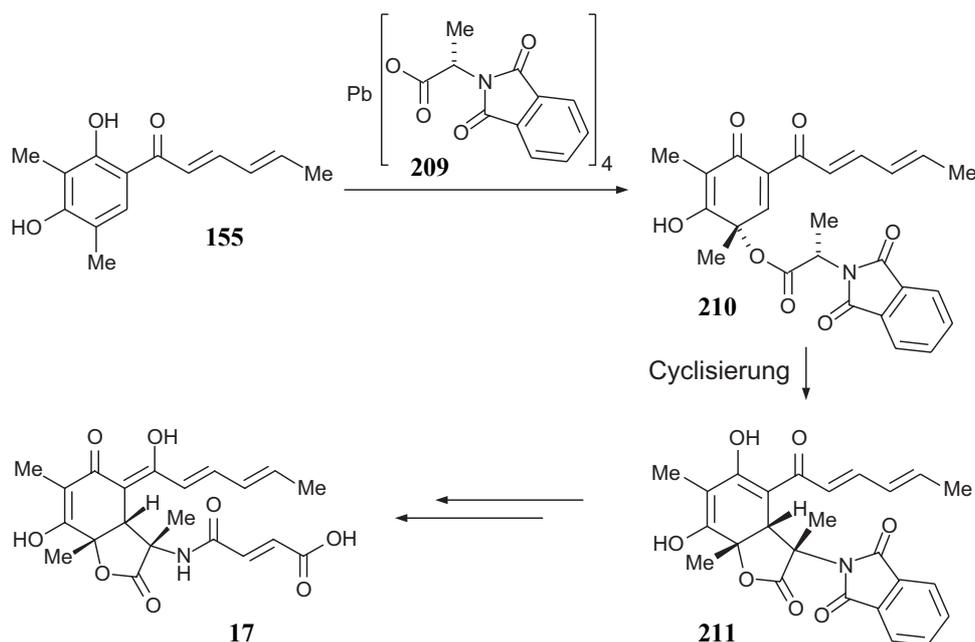
Die Bildung von **207** verläuft in den ersten Schritten wohl analog zu dem in Schema 34 postulierten Mechanismus der Zersetzung von **200**. Zunächst entsteht durch Hydrolyse des *O*-Acetylrestes von **200** nach nucleophilem Angriff des Cyanid-Ions das Alkoholat **203**, das zum Epoxid **204** cyclisiert. Nach Öffnung von **204** durch Addition eines weiteren Cyanid-Nucleophils entsteht der tertiäre Alkohol **208**, der unter Abspaltung von Wasser zum beobachteten Produkt **207** aromatisiert (Schema 35). Die Bildung von **207** beweist die hohe Reaktivität des doppelt aktivierten Michael-Systems im Acetat **203** und zeigt, dass die zuvor beobachtete Zersetzung sehr wahrscheinlich dem postulierten Mechanismus folgt. Gleichzeitig wird deutlich, dass eine Isolierung und vor allem synthetische Nutzung des Alkohols **206** (Schema 34) zur Synthese von Sorbicillacton A (**17**) wohl kaum realisierbar sein dürfte. Selbst wenn eine Gewinnung des gewünschten Produktes **206** unter äußerst milden, neutralen Bedingungen möglich wäre, müsste im folgenden Reaktionsschritt an die Hydroxy-Gruppe ein Alanin-Derivat **182** gebunden werden. Die dafür nötige *O*-Deprotonierung würde aber aufgrund der hohen intramolekularen Reaktivität des Alkoholats **203** immer zur Bildung des Epoxids **204** und den damit verbundenen Folgereaktionen führen.



Schema 35. Möglicher Mechanismus zur Bildung von **207**.

Aufgrund der beobachteten Instabilität von Alkoholaten wie **203** wurde deutlich, dass die Durchführung der geplanten biomimetischen Synthese von **17** durch Umesterung von Verbindungen wie **200** nicht möglich ist. Ein Ausweg aus diesem Problem könnte die direkte oxidative Einführung eines Alanin-Bausteines sein. Dafür nötig wäre die Darstellung eines geeigneten *N*-geschützten Bleitetra-Alaninats vom Typ **209** und dessen Reaktion mit **155**

(Schema 36), oder mit einem *O*-alkylierten Derivat wie **197-199**. Auf diesem Weg sollte unmittelbar Ester **210** zugänglich sein, der nach Cyclisierung zum entsprechenden Lacton **211**, Abspaltung der *N*-Schutzgruppen und Addition eines Fumaryl-Bausteins direkt in Sorbicillacton A (**17**) überführbar sein sollte. Dies ist Teil einer laufenden Diplomarbeit^[270] und wurde daher im Rahmen der vorliegenden Dissertation nicht weiter untersucht. Synthetische Arbeiten zu alternativen, weniger biomimetisch orientierten Ansätzen zur Darstellung von **17** werden im Folgenden beschrieben.



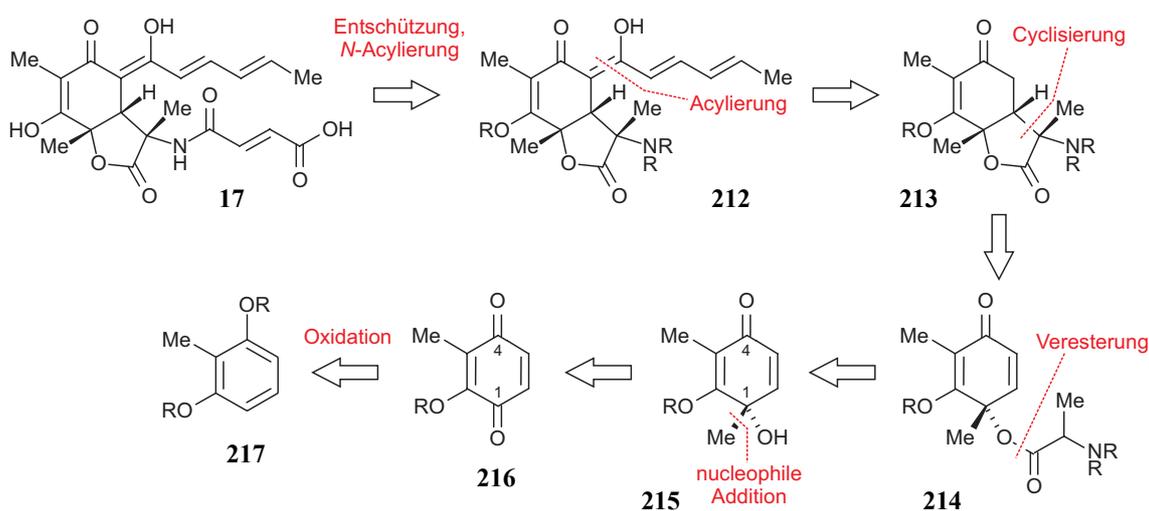
Schema 36. Denkbare alternative Route zur Darstellung von Sorbicillacton A (**17**) durch oxidative Dearomatisierung von Sorbicillin (**155**) mit einem neuartigen Bleitetra-Alaninat (**209**).

5.3.3 Alternative Syntheserouten zur Darstellung von Sorbicillacton A (**17**)

Die Erfahrungen aus den Versuchen zur biomimetischen Totalsynthese von **17** bezüglich der Instabilität der intermediär gebildeten Alkoholate vom Typ **203** machten deutlich, dass die Reaktivität des doppelt aktivierten Michael-Systems gegenüber nucleophilen Angriffen zum späten Aufbau einer Esterbindung mit einem Alanin-Derivat zu Verbindungen wie **210** (Schema 36) aufgrund der konkurrierenden intramolekularen Cyclisierung zu Epoxiden wie **204** sehr hinderlich ist. Daher sollte nun eine Methode gefunden werden, bei der zum Zeitpunkt der

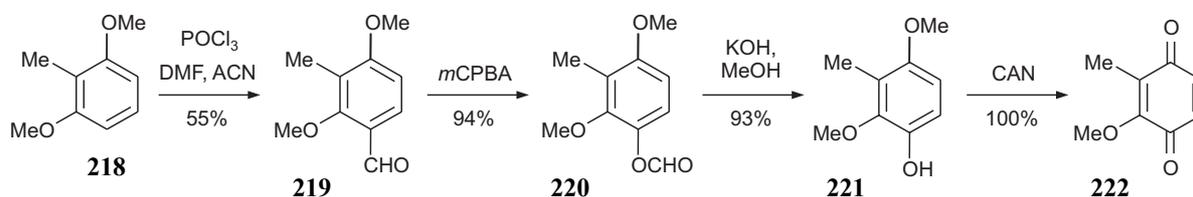
Konstruktion eines für die Totalsynthese von Sorbicillacton A (**17**) geeigneten Esters wie **214** ein weniger reaktives Michael-System im Molekül vorliegt (Schema 37). Geplant war zudem, die Sorbinsäure-Seitenkette erst möglichst spät in die Synthese einzubringen, da auch dieses α,β -ungesättigte System selbst Auslöser unerwünschter Nebenreaktionen sein könnte (vgl. Schema 29, **191**).

Retrosynthetisch betrachtet könnte beim Aufbau des Alkaloids **17** erst direkt vor der finalen *N*- und *O*-Entschützung sowie *N*-Funktionalisierung von **212** die Acylierung des schon fertigen bicyclischen Ringsystems **213** durchgeführt werden (Schema 37). Durch *C,C*-Bindungsbruch erhält man Ester **214**, welcher durch *O*-Acylierung eines tertiären Alkohols **215** mit einem aktivierten Alanin-Ester vom Typ **182** zugänglich sein sollte. In **215** wäre das Michael-System lediglich schwach durch den vinylogenen Carbonsäureester aktiviert und die Gefahr einer unerwünschten intramolekularen Cyclisierung der Substanz zu einem Epoxid-Derivat daher stark reduziert. Der Alkohol **215** sollte durch metallorganische Addition eines Methyl-Nucleophils an das Chinon **216** zugänglich sein. Aufgrund der erhöhten Elektrophilie der Carbonylgruppe an C-1 im Vergleich zur Keto-Gruppe C-4 des vinylogenen Esters in **214**, sollte diese auch mit hoher Regioselektivität durchführbar sein. Verbindung **216** wäre in wenigen Stufen ausgehend von einem passend *O*-geschützten 2-Methylresorcinol-Derivat **217** zugänglich.



Schema 37. Retrosynthetische Überlegungen zur Darstellung von Sorbicillacton A (**17**) mit später Einführung der Sorbylseitenkette.

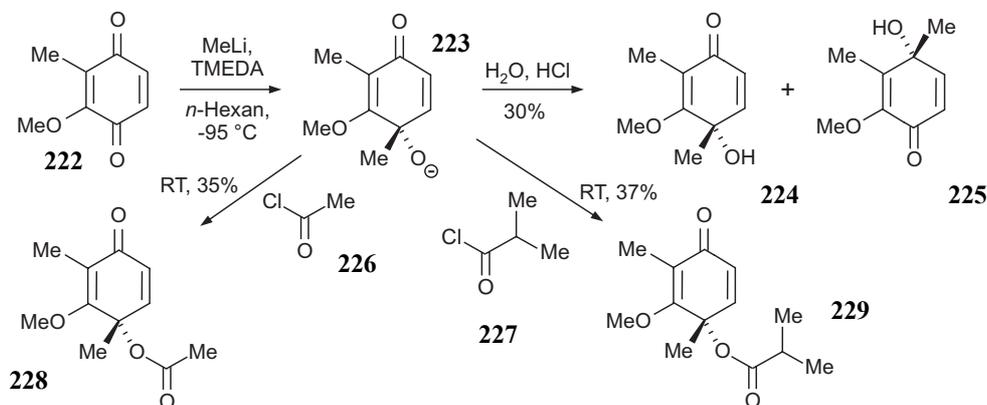
Als erstes Modellsystem zur Untersuchung der Stabilität von Alkoholen des Typs **215** wählte man die schnell zugängliche Verbindung **222** mit einer robusten Methyl-Schutzgruppe (Schema 38). Ausgehend von 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) erhielt man nach Vilsmeier-Formylierung den Aldehyd **219** in 55% Ausbeute. Oxidation mit *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*CPBA)^[271] führte zum labilen Formiat **220**, welches durch methanolische KOH zum Phenol **221** hydrolysiert wurde (87% Ausbeute über beide Stufen). Oxidative *O*-Demethylierung mit Cerammoniumnitrat (CAN)^[271] lieferte in quantitativer Ausbeute das gewünschte Chinon **222**. Anfängliche Schwankungen in der isolierten Ausbeute (60-100%) waren bei dieser Stufe in der Flüchtigkeit des Produkts **222** begründet, das beim schnellen Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer aufgrund seines niedrigen Dampfdruckes zum Teil mit abdestilliert wurde.



Schema 38. Synthese des Chinons **222**.

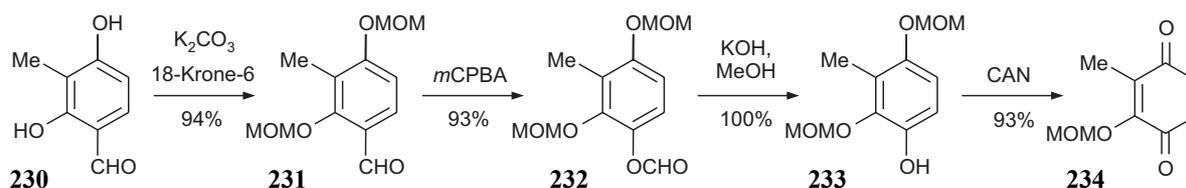
Das Chinon **222** sollte nun durch selektive Addition eines Methyl-Nucleophils zum tertiären Alkohol **224** umgesetzt werden. Erste Versuche mit MeMgBr in THF bei $-90\text{ }^\circ\text{C}$ führten unerwartet zu einem 2:1-Gemisch aus dem gewünschten 1,4-Additionsprodukt **224** und dem regioisomeren 1,2-Produkt **225** (Schema 39). Durch eine wesentliche Steigerung der Reaktionstemperatur auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gelang es, das Produktverhältnis stark zugunsten des benötigten Alkohols **224** (*ca.* 5:1) zu verschieben. Die besten Ergebnisse erzielte man schließlich bei Verwendung des harten MeLi mit TMEDA in einem aprotischen, unpolaren Lösungsmittel (Hexan), erneut bei tiefen Temperaturen ($-95\text{ }^\circ\text{C}$). Auf diese Weise wurden lediglich Spuren des unerwünschten Regioisomers **225** gebildet. Trotz einer relativ sauberen Reaktion des Edukts **222** zum Alkohol **224** waren jedoch auch aus diesen Ansätzen lediglich 30% Produkt isolierbar. Dünnschichtchromatographische Analysen machten deutlich, dass sich **224** bei der säulenchromatographischen Aufreinigung zum Teil zersetzte. Aus diesem Grund entschied man sich, nach beendeter metallorganischer Additionsreaktion nicht wässrig aufzuarbeiten und so den Alkohol **224** zu isolieren, sondern zu versuchen, das intermediär entstehende Alkoholat **223** direkt mit Acylhalogeniden abzufangen. Als Modell-Acylgruppen zur anschließenden

Untersuchung der Cyclisierungsreaktionen wählte man Acetylchlorid (**226**) und Isobuttersäurechlorid (**227**). Mit beiden Säurechloriden gelang der Abfang des Alkoholats **223** zu den Estern **228** (35% Ausbeute) bzw. **229** (37% Ausbeute).



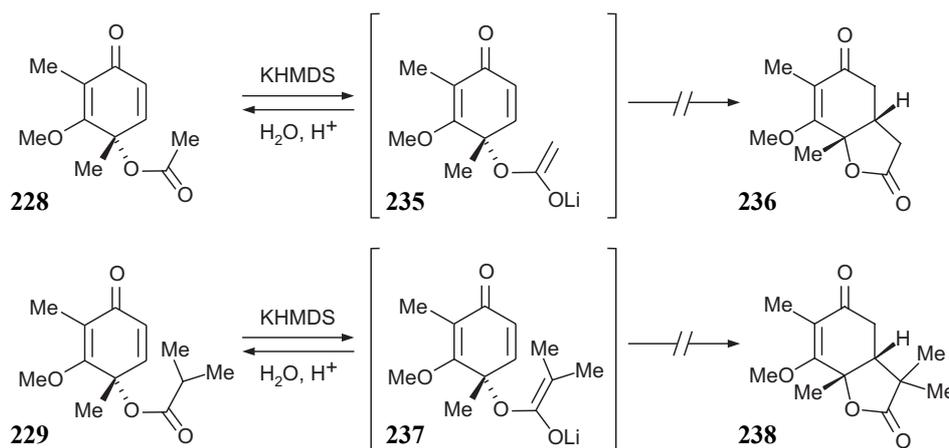
Schema 39. Darstellung des tertiären Alkohols **224** und der Ester **228** und **229**.

Aufgrund der unerwarteten Probleme bei der Regioselektivität der Additionsreaktionen wurde parallel zur Optimierung der Reaktionsführung für das Chinon **222** dessen *O*-MOM-geschütztes Analogon **234** dargestellt (Schema 40). Wegen des chelatisierenden Effektes der *O*-MOM-Schutzgruppe in *ortho*-Position zum Carbonyl-C-1 war für dieses Substrat – wie auch bei DOM-Reaktionen zu beobachten – eine wesentlich verbesserte Regioselektivität beim nucleophilen Angriff eines Metallorganyls zu erwarten. Ausgehend von 2-Methyl-4-formylresorcinol (**230**), welches zur Darstellung von Sorbicillin (**155**) bereits in größeren Mengen vorhanden war (vgl. Schema 26), wurde zum Aldehyd **231** doppelt *O*-MOM-geschützt^[272] und anschließend analog zur Synthese des Chinons **219** mit *m*CPBA^[271] zum Formiat **232** oxidiert, mittels methanolischer KOH der Alkohol **233** hydrolytisch freigesetzt und im letzten Schritt CAN-induziert^[271] oxidativ *O*-dealkyliert. Man erhielt so über vier Stufen in sehr guten 81% Gesamtausbeute das *O*-MOM-geschützte Chinon **234**. Bei Verwendung der Verbindung **234** als Substrat zur Addition eines Methyl-Nucleophils unter den zuvor für Modell **222** erarbeiteten Bedingungen (Schema 38) erfolgte jedoch dessen schnelle Zersetzung. Diese Beobachtung stand auch im Einklang mit der bereits festgestellten Instabilität des strukturell sehr ähnlichen Reaktionsproduktes **202** (Schema 33) aus der oxidativen Dearomatisierung von *O*-MOM-geschütztem Sorbicillin **199** mit Pb(OAc)₄.



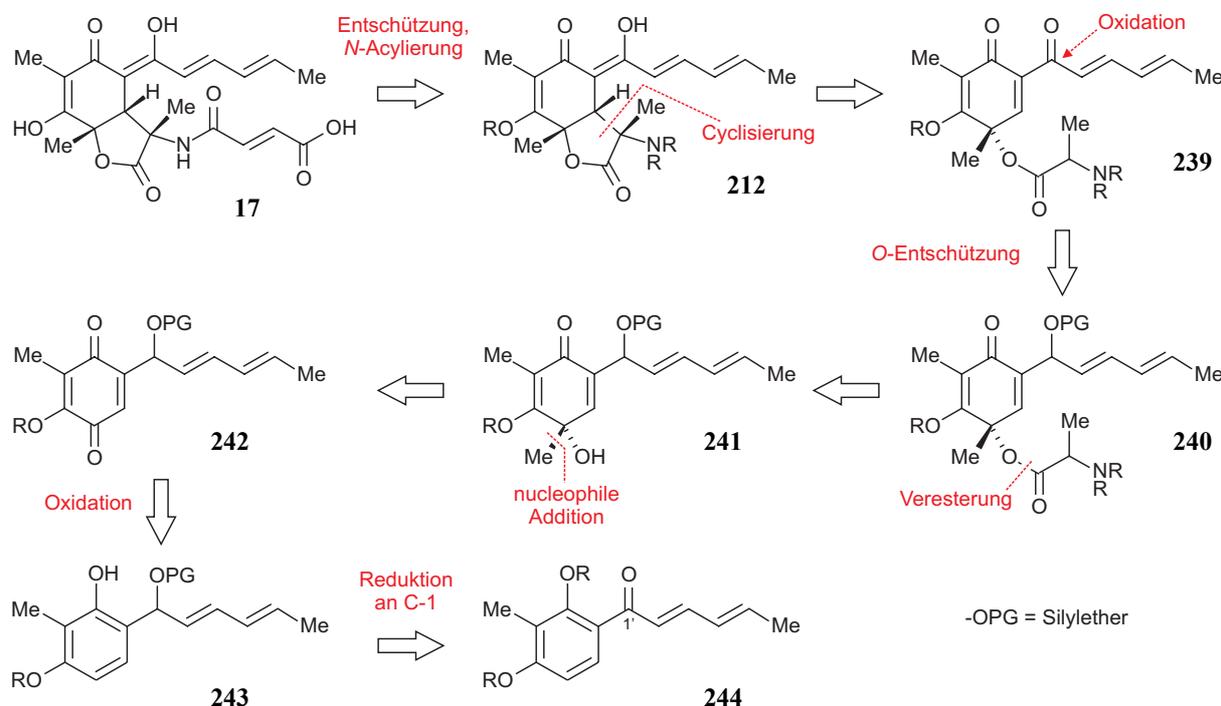
Schema 40. Darstellung des *O*-MOM-geschützten Chinon-Derivats **234**.

Die *O*-Methyl-geschützten Ester **228** und **229** sollten nun zu den entsprechenden Lactonen **236** bzw. **238** cyclisiert werden (Schema 41). Erste Versuche wurden mit der beim Ringschluss von *O*-Acetyl-Sorbicillinol (**180**) erfolgreich eingesetzten Base KHMDS durchgeführt (Schema 31). Bei Zugabe von KHMDS wurde zwar eine Veränderung der Färbung der Reaktionslösungen von gelb nach orange, vermutlich aufgrund der Bildung der entsprechenden Lithiumenolate **235** und **237**, beobachtet, es ließ sich jedoch keinerlei Ringschlussreaktion zu **236** und **238** erreichen. Dies war auch durch Variationen der Base (NaHMDS, NaOH, NaH, KH, NaOMe, *n*-BuLi) und der Reaktionstemperatur (-78 °C bis Rückfluss) in verschiedenen Lösungsmitteln nicht zu erzielen: Bei niedrigen Temperaturen wurde keinerlei Reaktion beobachtet, während bei höheren Temperaturen eine Zersetzung der Edukte auftrat. Offensichtlich reichte die (im Vergleich zur vorne versuchten biomimetischen Synthese) einfache Aktivierung des Michael-Akzeptors in **228** und **229** für eine erfolgreiche Ausbildung der 5-Ring-Lactone **236** und **238** in diesen Systemen nicht mehr aus.



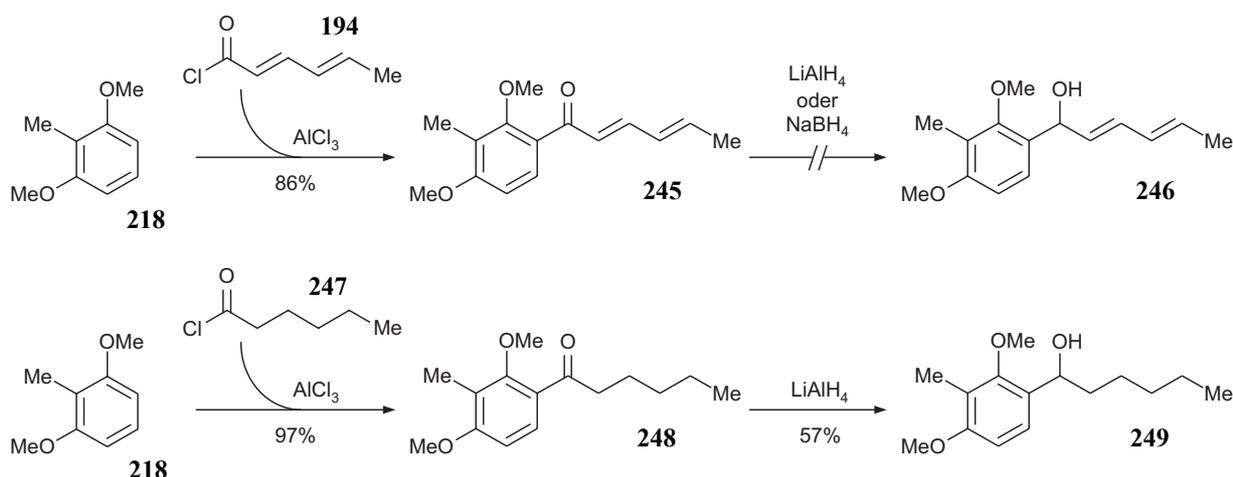
Schema 41. Versuche zur Cyclisierung der Ester **228** und **229** zu den entsprechenden Lactonen **236** und **238** mit KHMDS.

Die Experimente zur Cyclisierung der Ester **228** und **229** machten deutlich, dass für den Ringschluss zu 5-Ring-Lactonen eine doppelte Aktivierung des Michael-Systems nötig sein wird, während aus den Versuchen des biomimetischen Ansatzes zur Gewinnung tertiärer Alkohole, wie **206** (Schema 34), klar ersichtlich war, dass eben diese hohe Reaktivität nicht toleriert wird. In einer neuen synthetischen Route zum Sorbicillacton A (**17**) sollten daher Wege untersucht werden, bei denen zum Zeitpunkt der Generierung eines tertiären Alkohols – und bei dessen Veresterung mit einem Alanin-Derivat – die Elektrophilie des Michael-Akzeptors herabgesetzt ist, für die anschließende Cyclisierung hingegen neu installiert wird. Eine Möglichkeit wäre dabei, das Lacton **212** durch Ringschluss des Diketons **239** zu generieren (Schema 42). Verbindung **239** wäre durch *O*-Entschützung und Oxidation des Silylethers **240** zugänglich, welcher wiederum durch metallorganische Addition eines Methyl-Nucleophils an das Chinon **242** und anschließende *O*-Acylierung des tertiären Alkohols **241** mit einem Alanin-Baustein **182** zugänglich sein sollte. Verbindung **242** wäre ausgehend vom Keton **244** durch Reduktion an C-1' und *O*-Silylierung der erhaltenen Alkoholfunktion über den Silylether **243** mit anschließender oxidativen Dearomatisierung darstellbar.



Schema 42. Retrosynthetische Überlegungen zur Darstellung von Sorbicillacton A (**17**) mit zusätzlicher Aktivierung des Michael-Systems durch die Carbonylgruppe der authentischen Seitenkette.

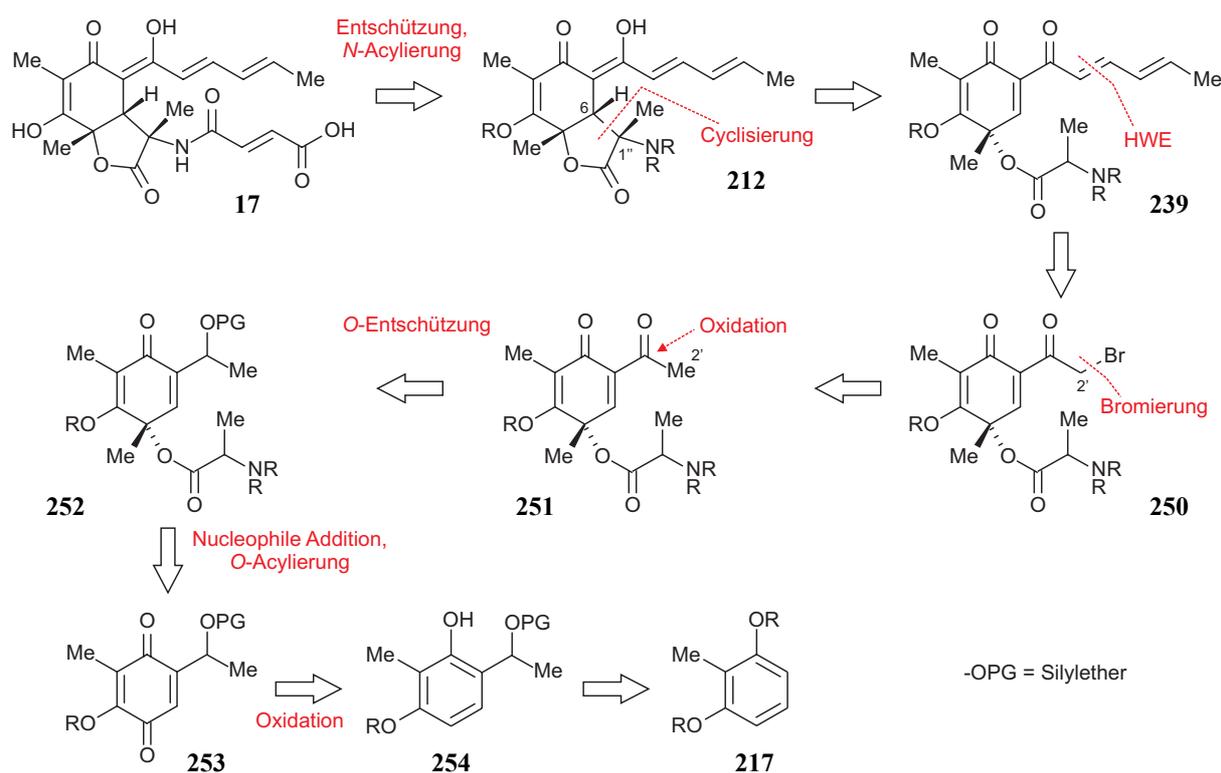
Problematisch schien bei dieser Syntheseroute bereits die Reduktion an C-1' eines Phenols wie **244**, bei der als Produkt ein wahrscheinlich sehr leicht zersetzlicher – weil sowohl benzylicher als auch allylischer – sekundärer Alkohol **246** entstehen würde (Schema 42). Als schnell zugängliches Modellssubstrat zur Untersuchung dieses vermutlich kritischen Schrittes in der Totalsynthese von **17** sollte der Di-*O*-Methylether **245** dienen, der ausgehend von 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) durch Acylierung mit Sorbinsäurechlorid (**194**) in nur einer Stufe mit einer Ausbeute von 86% erhältlich war. Bei Reduktion von **245** war dünnschichtchromatographisch zunächst eine saubere Reaktion vom Edukt zu einem polareren Produkt, wahrscheinlich dem gewünschten Alkohol **246**, zu beobachten. Trotz intensiver Bemühungen war es jedoch nicht möglich, **246** ohne dessen vollständigen Zerfall aus der Reaktionslösung zu isolieren.



Schema 43. Versuche zur Gewinnung des benötigten sekundären Alkohols **246** und des in der Seitenkette vollständig gesättigten Derivats **249**.

Das in der Seitenkette vollständig gesättigte Derivat **248**, hingegen, das aus 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) durch Acylierung mit Capronsäurechlorid (**247**) in exzellenten 97% Ausbeute zugänglich war, war mit LiAlH_4 in 57% Ausbeute in den Benzylalkohol **249** überführbar. Die im Vergleich dazu stark erhöhte Instabilität des benötigten sekundären Alkohols **246** war somit eindeutig auf das zusätzliche α,β -Doppelbindungssystem zurückzuführen. Die in Schema 42 angedachte Synthese des Alkaloids **17**, bei der über viele Stufen eben diese Funktionalität erhalten bleiben müsste, wenn auch in Form eines *O*-Silyl geschützten Alkohols, war aus diesem Grund so nicht durchführbar.

In einem alternativen Ansatz war daher geplant, die destabilisierende, α,β -ungesättigte Seitenkette erst direkt vor dem Ringschluss zum Lacton, also sehr viel später in der Synthese, einzuführen. Wie schon in der in Schema 42 gezeigten Retrosynthese wäre der letzte Schritt vor der finalen *N*- und *O*-Entschützung sowie *N*-Funktionalisierung von **212** erneut die Cyclisierung eines Diketons **239** (Schema 44). Die α,β -ungesättigte Seitenkette in **239** sollte durch eine HWE-Reaktion des bromierten Diketons **250**, dargestellt aus **251** durch selektive Bromierung in α -Position zur Ketogruppe an C-2', mit Crotonaldehyd (**171**) verfügbar sein. Das Keton **251** wäre durch *O*-Entschützung und Oxidation aus dem Silylether **252** zugänglich. Analog zu den Überlegungen in Schema 42 sollte **252** ausgehend vom Chinon **253** nach Addition eines Methyl-Nucleophils und Veresterung des intermediär entstehenden Alkohols mit einem Alanin-Derivat **182** zu gewinnen sein. Das Chinon **253** könnte durch oxidative Dearomatisierung des Phenols **254**, das in wenigen Stufen aus einem *O*-geschützten 2-Methylresorcinol-Derivat **217** darzustellen ist, generiert werden.



Schema 44. Retrosynthetische Überlegungen zur Darstellung von Sorbicillacton A (**17**) mit zusätzlicher Aktivierung des Michael-Systems durch eine Acetylgruppe und später Einführung der authentischen α,β -ungesättigten Seitenkette.

Diese Syntheseroute bietet zudem die Chance, durch enantioselektive Darstellung des Silylethers **254** und Verwendung einer sterischen anspruchsvollen *O*-Schutzgruppe das durch die metallorganische Additionsreaktion an **253** neu generierte Stereozentrum in **252** gezielt aufzubauen. Sollte dies gelingen, wäre aufgrund der Vorfixierung der Estergruppe in **239** auch ein stereoselektiver Verlauf beim Aufbau des bei der Cyclisierung zu **212** entstehenden Stereozentrums an C-6 zu erwarten. Lediglich die Konfiguration an C-1'' des Lactonringes von **212** wäre nicht direkt zu beeinflussen, da die Stereoinformation an dieser Position der Vorstufe **239** durch die zur Cyclisierung nötigen Enolisierung verloren ginge. In der Kristallstruktur des Naturstoffes Sorbicillacton A (**17**, Abb. 42)^[273] ist zu erkennen, dass die im Molekül befindlichen Seitenketten in der in **17** vorliegenden Konfiguration in verschiedene Raumrichtungen zeigen. Vertauscht man die Positionen der Methyl- und der Fumaryl-Einheit an C-1'', führt dies dagegen zu einer stärkeren sterischen Wechselwirkung der Sorbyl- mit der Fumaryl-Seitenkette, da diese dann in dieselbe Raumrichtung weisen. Bei Cyclisierung von **239** zu **212** wäre daher die Entstehung des erwünschten Stereoisomers, mit der in Abb. 42 gezeigten räumlichen Anordnung der Reste an C-1'', aus sterischen Gründen sehr wahrscheinlich. Somit könnte die vorgestellte Synthesestrategie durch stereoselektiven Aufbau nur eines asymmetrischen Zentrums und intramolekularen Chiralitätstransfer bei der Konstruktion aller anderen Stereozentren einen direkten Zugang zu optisch reinem Sorbicillacton A (**17**) liefern.

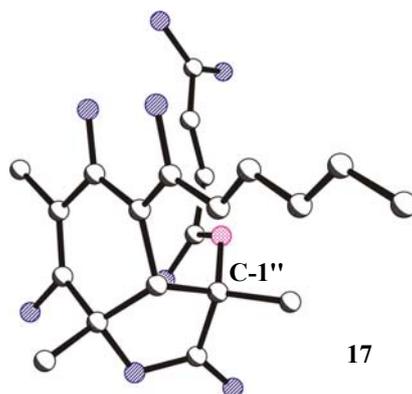
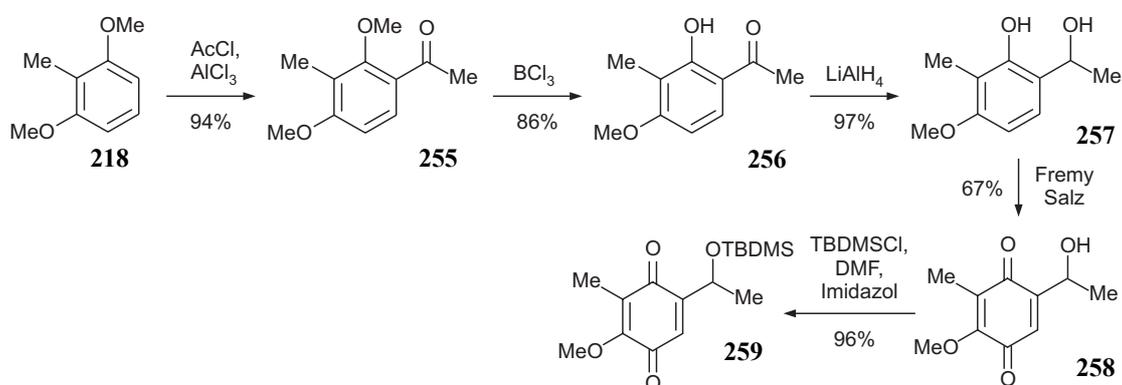


Abb. 42. Struktur von Sorbicillacton A (**17**) im Kristall.

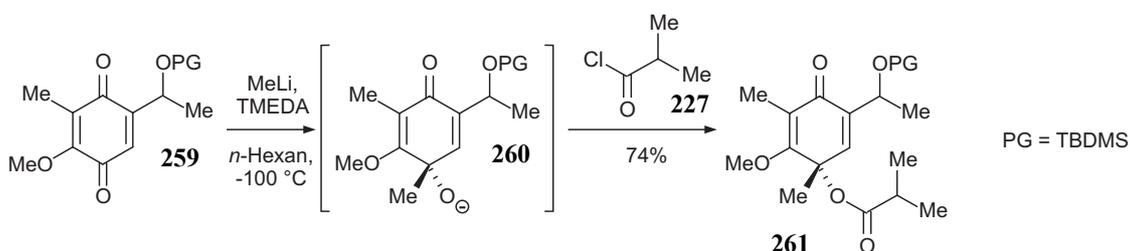
Als Ausgangsmaterial für diese Route wählte man 2,6-Dimethoxytoluol (**218**). Die Verbindung wurde zunächst mittels Friedel-Crafts-Acylierung unter Verwendung von AlCl_3 als Lewis-Säure quantitativ in das Acetophenon **255** überführt (Schema 45).^[274] Selektive *O*-

Demethylierung mit BCl_3 in *ortho*-Position zur Acetylgruppe^[235] lieferte das gewünschte *O*-entschützte Phenol **256** (Ausbeute 86%). Die Ketogruppe des Phenols **256** wurde mit LiAlH_4 in sehr guten 97% Ausbeute reduziert. Der so gewonnene labile benzyliche Alkohol **257** (racemisch) wurde einer oxidativen Dearomatisierung mit Frey's Salz^[275] unter Ausbildung des Chinons **258** unterzogen. Wichtig für das Erreichen guter Ausbeuten von 67% an **258** war dessen schnelle flashchromatographische Aufreinigung. Durch Umsetzung einer sehr konzentrierten Lösung von **258** in DMF mit *t*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) und Imidazol als Base^[276] erhielt man in exzellenter Ausbeute (96%) den gewünschten Silylether **259**.



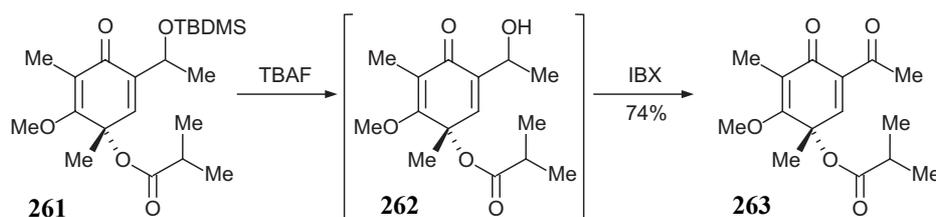
Schema 45. Darstellung des *O*-Silyl-geschützten Chinons **259**.

Umsetzung von Verbindung **259** mit MeLi und TMEDA in Hexan bei $-100\text{ }^\circ\text{C}$ lieferte intermediär das Alkoholat **260**, das aufgrund der Erfahrungen mit der Instabilität des Alkohols **224** (Schema 39) nicht isoliert, sondern direkt mit einem passenden Carbonsäurechlorid abgefangen wurde (Schema 46). Als Modellsystem für die weiteren Umsetzungen wählte man erneut Isobuttersäurechlorid (**227**). Man erhielt so in 74% Ausbeute den Ester **261**.



Schema 46. Metallorganische Addition von Methyl-Nucleophilen an **259** zur Darstellung des Modellsystems **261**.

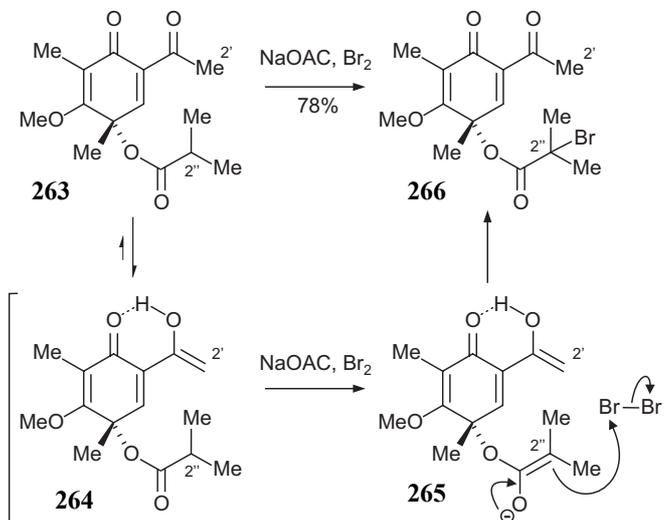
Ester **261** diente zur Ausarbeitung optimierter Reaktionsbedingungen zur Abspaltung der *O*-Silylschutzgruppe und zur anschließenden Oxidation des freigesetzten Alkohols **262** zum Keton **263** (Schema 47). Die *O*-Entschützung zu Verbindung **262** verlief unter Verwendung großer Überschüsse *t*-Butylammoniumfluorid (TBAF)^[276] bei Raumtemperatur laut dünnschichtchromatographischer Analyse quantitativ. Da bei Versuchen zur Isolierung von **262** dessen Zersetzung beobachtet wurde, sollte die folgende Oxidation direkt mit dem Rohprodukt aus der *O*-Desilylierung durchgeführt werden. Versuche zur Oxidation mit CrO₃ oder mit Pyridiniumchlorchromat (PCC)^[277] verliefen mit nur unbefriedigenden Ausbeuten von 32-44%. Der Grund dafür war in der starken Adsorption des gewünschten Reaktionsproduktes durch das Oxidationsmittel und den damit verbundenen Substanzverlusten zu finden. Durch Verwendung des alternativen Oxidationsmittels *ortho*-Iodoxybenzoesäure (IBX)^[278] erzielte man auf Anhieb eine 72proz. Ausbeute über zwei Stufen und erhielt nach Filtration des Reaktionsgemisches und Säulenfiltration problemlos das reine Keton **263**.



Schema 47. *O*-Desilylierung von **261** und *in-situ*-Oxidation zum gewünschten Keton **263**.

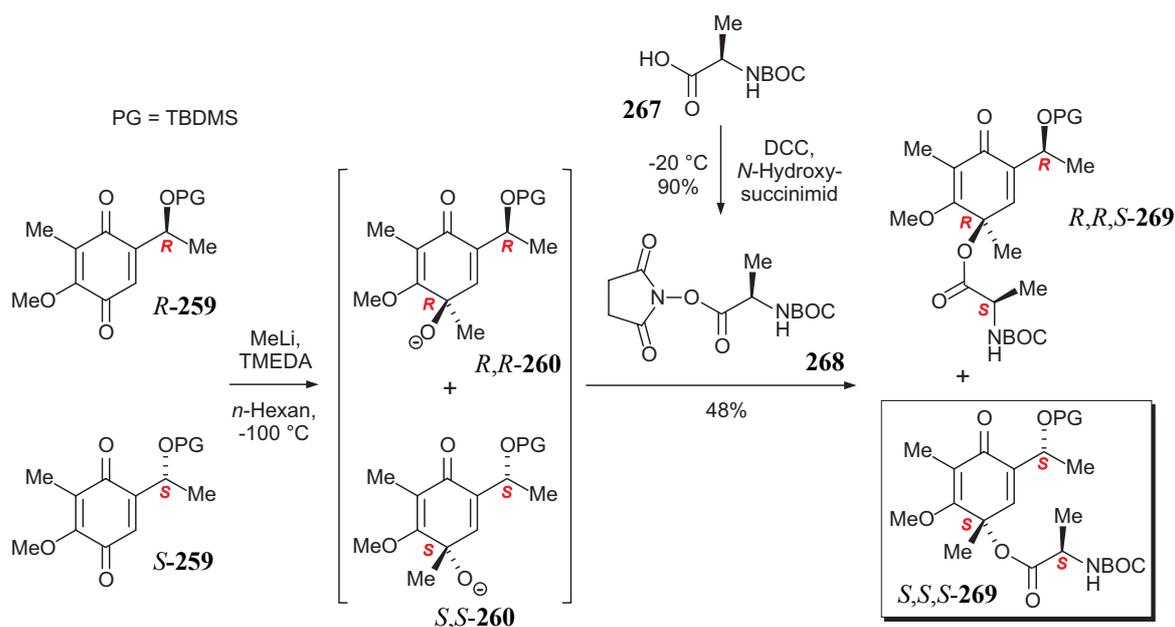
Verbindung **263** sollte im Folgenden an C-2' der Seitenkette selektiv bromiert werden. Zu diesem Zweck wurde eine Vielzahl unterschiedlicher Bromierungsreagenzien verwendet (z.B. Br₂, 5,5-Dibrombarbitursäure). Die höchsten Ausbeuten an bromiertem Produkt erhielt man unter Verwendung von *N*-Bromsuccinimid (NBS) in Gegenwart von Ammoniumacetat. NMR-Spektroskopische Analysen des Reaktionsproduktes zeigten jedoch, dass der Bromsubstituent nicht an C-2', sondern unerwartet an C-2'' des Isobutyratrestes eingeführt wurde (Schema 48). Grund für die Bildung des unerwünschten Bromids **266** ist wohl das Vorliegen einer starken H-Brückenbindung des Wasserstoffatoms der Enolform **264** des Ketons **263**, die zu einer herabgesetzten Acidität des entsprechenden Protons der Hydroxygruppe des Enols und damit zu einer Verminderung der Nucleophilie des Kohlenstoffs C-2' führt. Im vorliegenden Fall ist daher

offensichtlich sogar die Reaktivität des vermeintlich weniger nucleophilen Esterenolats **265** wesentlich größer.



Schema 48. Bromierung des Ketons **263**.

Aufgrund dieser Probleme bei der regioselektiven Halogenierung des Ketons **263** entschloss man sich für die weiteren Untersuchungen, auf die Verwendung von Modellsubstanzen zu verzichten und eine Optimierung dieser Stufe sowie aller Folgereaktionen mit den authentischen Bausteinen durchzuführen. Durch die verminderte Acidität des α -Protons im dann anstelle des Isobutyrate zu verwendenden Alanin-Rest wäre die unerwünschte Bromierung an C-2'' sehr unwahrscheinlich. Das nach Addition von MeLi an das Chinon **259** gebildete Alkoholat **260** wurde aus diesem Grund direkt mit einem aktivierten Alanin-Derivat abgefangen (Schema 49). Zu diesem Zweck stellte man ausgehend von *N*-BOC-Alanin (**267**) den enantiomerenreinen Aktivester **268** in guter 90proz. Ausbeute dar.^[279] Nach Zugabe von **268** zum Alkoholat **260** bildeten sich zwei konstitutionell identische Ester **269** – statt der maximal vier denkbaren stereoisomeren Produkte.

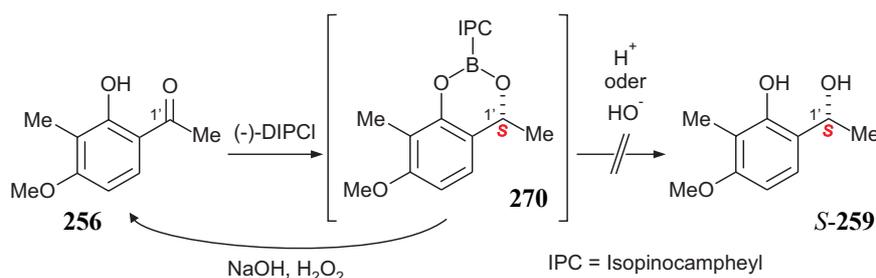


Schema 49. Darstellung der beiden *N*-BOC-Alanineester *R,R,S-269* und *S,S,S-269*.

Die Addition des Methyl-Nucleophils an **259** verlief somit, wie erhofft, vollständig diastereoselektiv. Wahrscheinlich erfolgte dabei der Angriff des metallorganischen Reagenzes aus sterischen Gründen jeweils von der der *O*-TBDMS-Gruppe abgewandten Seite des Moleküls. Das dabei entstehende Racemat der enantiomeren Alkoholate *R,R-260* und *S,S-260* wurde dann durch Abfang mit dem optisch reinen Aktivester des *N*-BOC-Alanins **268** in die diastereomeren Produkte *R,R,S-269* und *S,S,S-269* überführt. Durch Verwendung von enantiomerenreinem *S*-konfigurierten Chinon **259** bei der metallorganischen Additionsreaktion müsste somit über das Alkoholat *S,S-260* die stereoselektive Darstellung des gewünschten Produkts *S,S,S-269* möglich sein.

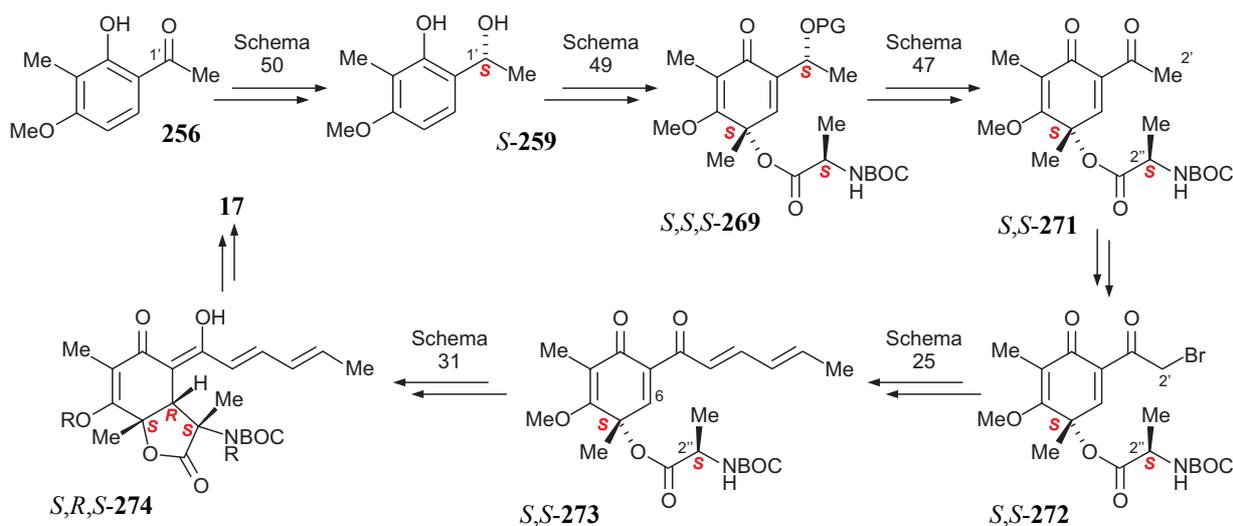
Aus diesem Grund sollten nun unterschiedliche Methoden zur stereoselektiven Reduktion von C-1' des Acetophenons **256** untersucht werden (Schema 50). Versuche zur Umsetzungen des Substrates mit Corey's CBS-Boran-System^[280] verliefen jedoch ohne jegliche Reaktion. Grund hierfür war die verminderte Reaktivität der Ketogruppe in **256**, die mit der freien Hydroxygruppe des Aromaten in Konjugation steht und daher basierend auf dem Vinylogie-Prinzip lediglich die Reaktivität einer Carbonsäuregruppe aufweist. Für solche Systeme existiert in der Literatur eine Methode zur enantioselektiven Reduktion, bei der als chirales Reduktionsmittel

Chloridiisopinocampheylboran (DIP-Chlorid)^[281] verwendet wird. Bei Anwendung dieser Methodik auf Verbindung **256** isolierte man Produkt **270**, das laut ¹H-NMR zwar an C-1' reduziert war, jedoch gleichzeitig noch das chirale Boran an der neu gebildeten Alkoholgruppe aufwies. Eine hydrolytische Abspaltung dieses Restes unter milden sauren oder basischen Bedingungen war nicht möglich. Die in der Literatur beschriebene oxidative *O*-Deborylierung führte direkt zur Re-oxidation von **270**, also zum Edukt **256** der Reaktion.



Schema 50. Versuche zur stereoselektiven Reduktion des Acetophenons **256** mit DIP-Chlorid.^[281]

Das enantiomerenreine Chinon *S*-**259** war auf diesem Weg somit nicht zugänglich. In zukünftigen Arbeiten sollte daher versucht werden, die enantioselektive Reduktion an C-1' durch Enzymkatalyse zu erzielen oder die Konstruktion dieses Stereozentrums bereits bei der Verknüpfung von 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) mit der Seitenkette, z.B. mittels asymmetrischer Aldol-Reaktion,^[282] anzugehen (Schema 51). Mit *S*-**259** sollte es dann möglich sein, den gewünschten Ester *S,S,S*-**269** stereokontrolliert darzustellen (vgl. Schema 49). Ausgehend von *S,S,S*-**269** wären die bereits optimierten Bedingungen der *O*-Desilylierung und Oxidation der Seitenkette (vgl. Schema 47) anwendbar. Das daraus entstehende Keton *S,S*-**271** müsste dann regioselektiv an C-2' bromiert werden. Dies sollte aufgrund der im Vergleich zu C-2'' der Estergruppe wesentlich höheren Reaktivität dieser Position problemlos gelingen. Zur Installation der Sorbylseitenkette wäre dann die bei der Synthese von ¹³C₂-markiertem Sorbicillin bereits erfolgreich etablierte HWE-Reaktion mit Crotonaldehyd (**171**) auf das Bromid *S,S*-**272** anwendbar und würde Verbindung *S,S*-**273** liefern (vgl. Schema 25). Die anschließende Cyclisierung zu *S,R,S*-**274** wäre analog zu den bereits für Sorbicillinol-Acetat **180** erarbeiteten Bedingungen mit KHMDS möglich (vgl. Schema 31).



Schema 51. Auf den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit basierender Synthesepfad zur ersten Totalsynthese von Sorbicillacton A (17)

Die erste, zudem stereoselektive Totalsynthese von Sorbicillacton A (17) sollte demnach ausgehend von der im Laufe der vorliegenden Arbeit bereits dargestellten Vorstufe S,S,S-269 und basierend auf den anhand von Modellsystemen geleisteten Vorarbeiten zur weiteren Funktionalisierung dieser Substanz in wenigen Stufen abzuschließen sein. Dies ist Gegenstand laufender Untersuchungen in unserem Arbeitskreis.

5.4 Isolierung und Charakterisierung neuer Macrolactame aus marinen Mikroorganismen

Mikroorganismen aus dem marinen Lebensraum spielen eine immer wichtigere Rolle bei der Suche nach neuen, bioaktiven Naturstoffen.^[73,283] Von besonderem Interesse ist dabei vor allem die Untersuchung hoch spezialisierter, zum Beispiel Schwamm-assoziierten Bakterien, die aufgrund ihrer schweren Kultivierbarkeit bislang nur wenig erforscht wurden. Porifera beherbergen eine Fülle unterschiedlicher Bakterien, die zum Teil bis zu 60% der Schwamm-Biomasse stellen können.^[284] Die Zusammensetzung dieser mikrobiellen Lebensgemeinschaften unterscheidet sich dabei stark von der des Umgebungswassers^[285] und wird zum Teil bei der Reproduktion der Organismen zwischen den Generationen übertragen.^[286] Selbst die Entdeckung neuer, bisher nur in Schwämmen vorkommender bakterieller und archaealer Phyla (*Poribacteria*^[287] bzw. *Crenarchaeota*^[288]) in taxonomisch verschiedenen Porifera aus unterschiedlichsten geographischen Regionen ist in den letzten Jahren gelungen.

In der Arbeitsgruppe unserer Kooperationspartnerin PD Dr. U. Hentschel (Institut für molekulare Infektionsbiologie, Universität Würzburg) wurden verschiedene bisher unbekannt marine Bakterien aus Schwämmen isoliert, erfolgreich kultiviert und taxonomisch beschrieben.^[289,290] So gelang etwa durch pheno- und genotypische Analyse des Stammes SPE 10-1 aus einer Probe des marinen Schwammes *Haliclona* sp., die bei Cebu auf den Phillipinen gesammelt worden war, die Entdeckung eines neuen marinen Actinomyceten, *Saccharopolyspora cebuensis* sp. nov.^[290] Der Stamm SPE 10-1 war ausschließlich in salzhaltigen Medien kultivierbar und ist somit der erste obligat-marine Vertreter der Gattung *Saccharopolyspora*. Die Analyse der von SPE 10-1 gebildeten Sekundärstoffe erschien daher sehr vielversprechend. Die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen wurden in enger Kooperation mit S.M. Pimentel-Elardo aus der Arbeitsgruppe Hentschel durchgeführt.

Die HPLC-DAD-Analyse des Extraktes aus einer Fermentation von SPE 10-1 offenbarte die Produktion zweier relativ polarer Hauptmetabolite mit zueinander nahezu identischen UV-Spektren. Beide Substanzen wiesen ein starkes UV-Maximum bei 215 nm auf. Zudem war bei Peak 1 ein Maximum bei 291 nm zu erkennen, das im UV-Spektrum von Peak 2 leicht zu höheren Wellenlängen (303 nm) verschoben war. Die Massen der beiden Verbindungen wurden zunächst mittels HPLC-ESI-MS zu m/z 346.3 ($[M+H]^+$) bestimmt. Die atomare Zusammensetzung dieser Sekundärstoffe schien basierend auf diesen Ergebnissen identisch zu sein. Die Massenzahl von 346 u im protonierten Zustand wies zudem auf das Vorhandensein einer ungeradzahligen Menge an Stickstoff-Atomen im Molekül hin. Diese Annahmen wurden durch Aufnahme der HR-ESI-MS-Spektren der isolierten Verbindungen bestätigt: Für beide Substanzen ließ sich basierend auf dem Messergebnis (368.1478, $[M+Na]^+$) eine Summenformel von $C_{19}H_{23}NNaO_5$ berechnen.

Im 1H -NMR-Spektrum von Peak 1 waren insgesamt 13 Signale zu erkennen: neben drei Dubletts aliphatischer Methylgruppen (1.00, 1.19 und 1.21 ppm) und einem Singulett einer an einem sp^2 -Kohlenstoff gebundenen Methylgruppe (1.86 ppm), waren die Signale von fünf aliphatischen CH-Funktionen (1.82, 3.19, 3.43, 4.27 und 4.38 ppm), drei sp^2 -gebundenen Wasserstoffatomen (4.98, 6.65, 7.02) und eines Heteroatom-gebundenen Protons (7.88 ppm) zu sehen. Die zwei aus der errechneten Summenformel verbleibenden Wasserstoffe mussten daher mit weiteren Heteroatomen verknüpft sein.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von Peak 1 wies die erwarteten 19 Signale auf, darunter die der vier Methylgruppen (16.6, 16.7, 17.8 und 19.3 ppm), die der fünf aliphatischen CH-Einheiten (42.4, 46.2, 48.2, 70.9 und 87.4 ppm) und die der sp^2 -gebundenen CH-Funktionen (111.1, 114.0 und 124.7). Zudem waren die Signale von drei sp^2 -Kohlenstoffen (131.0, 140.5 und 140.9 ppm), zwei Sauerstoff-substituierten sp^2 -Kohlenstoffen (142.7 und 154.4 ppm), von einer Ester-, Säure- oder Amidgruppe (173.9 ppm) sowie einer Ketofunktion (207.1 ppm) detektierbar.

Zur Aufklärung der Konstitution der Verbindung wurden 2D-NMR-Experimente durchgeführt. Die Zuordnung der Kohlenstoffatome zu den entsprechenden Signalen im ^1H -NMR-Spektrum erzielte man mittels HMQC-NMR-Spektren. Durch Analyse der COSY- (Abb. 43, links) und HMBC-Wechselwirkungen (Abb. 43, mitte) der nicht-aromatischen CH- und Methylgruppen ließen sich drei Partialstrukturen **275-A** bis **275-C** erarbeiten. Die Verknüpfung dieser Molekülteile untereinander zu **275-D** war aus zusätzlichen Signalen im HMBC-Spektrum abzuleiten. Entscheidend hierfür waren die Kopplungen von H-3 zu C-4 und Me-4, von Me-4 zu C-3 und C-7, von H-5 zu C-3 und C-7, von H-6 und Me-6 zu C-7 sowie von H-8 und Me-8 zu C-7 und C-9 (Abb. 43, rechts). Zwischen C-4 und C-5 lag eine Doppelbindung vor. Die Geometrie dieser sp^2 - sp^2 -Bindung war mit den beschriebenen NMR-Daten noch nicht festzulegen.

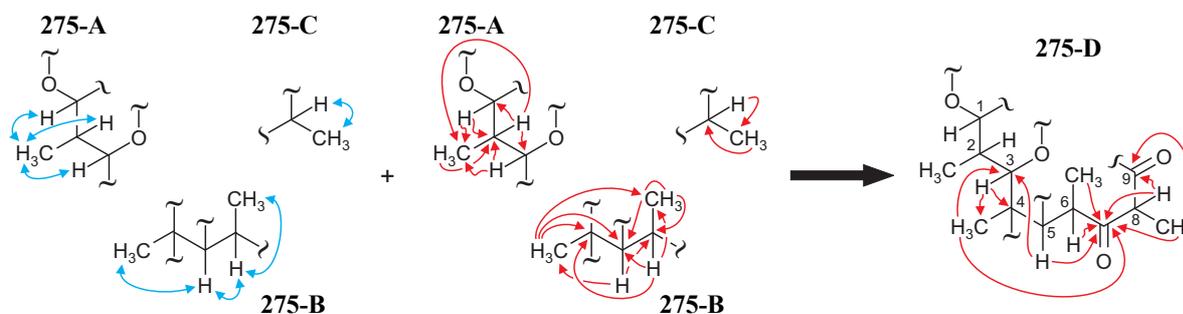


Abb. 43. COSY- (links, blaue Pfeile) und HMBC-Wechselwirkungen (mitte, rote Pfeile) der Partialstrukturen **275-A-275-C** sowie HMBC-Interaktionen (rechts, rote Pfeile) dieser Teilfragmente untereinander in **275-D**.

Basierend auf der Kopplungskonstante von 2.8 Hz war anzunehmen, dass die beiden Protonen bei 6.65 und 7.02 ppm zueinander in *meta*-Position eines Aromaten gebunden waren. HMBC-Interaktionen zwischen H-13 und C-11, C-14 und C-15 sowie zwischen H-15 und C-10, C-11, C-13 und C-14 ließen eindeutig auf Partialstruktur **275-E** schließen (Abb. 44). Weitere

HMBC-Wechselwirkungen des Protons an C-1 mit C-11, C-12 und C-13, von H-13 mit C-1 sowie von H-3 mit C-11 führten zu der in **275-F** gezeigten Konstitution.

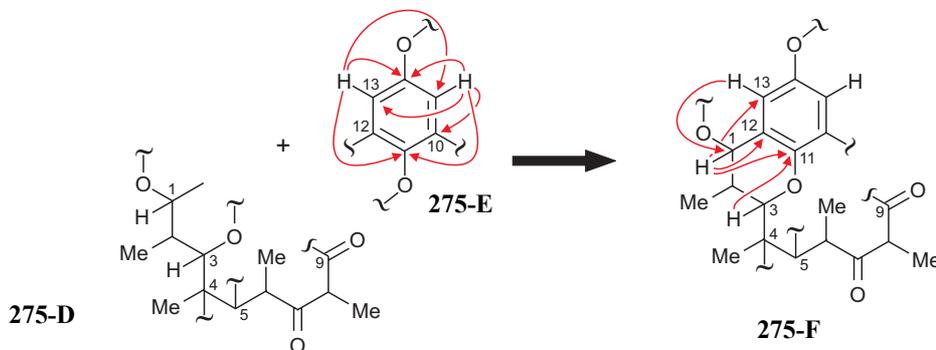


Abb. 44. Teilstruktur des aromatischen Rings **275-E** und dessen Verknüpfung mit **275-D** zu **275-F** basierend auf HMBC-Wechselwirkungen (rote Pfeile).

Die Berechnung der Differenz der tatsächlichen Masse von Peak 1 mit dem theoretischen Molekulargewicht von **275-F** machte deutlich, dass formal lediglich 'NH₃' fehlte. Demzufolge befand sich an C-1 ein aliphatischer Alkohol, an C-14 eine aromatische Hydroxygruppe und zwischen den Kohlenstoffatomen C-9 und C-10 eine Amid-Funktion (Abb. 45). Die so ermittelte Struktur **275-G** stand auch im Einklang mit allen beobachteten chemischen Verschiebungen. Das breite Singulett bei 7.88 ppm im ¹H-NMR-Spektrum der Substanz, das in den 2D-Spektren keinerlei Wechselwirkungen zu anderen Atomen aufwies, stammte vom am Stickstoff gebundenen Wasserstoffatom. Peak 1 aus SPE 10-1 wurde somit die in der Literatur noch unbekannte Konstitution **275-G** zugeordnet. Lediglich die Konfiguration der Doppelbindung zwischen C-4 und C-5 musste noch ermittelt werden.

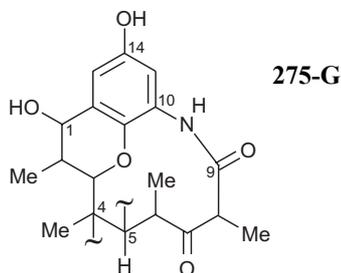


Abb. 45. Vorläufige Gesamtstruktur **275-G** von Peak 1 aus SPE 10-1.

Die NMR-spektroskopische Analyse von Peak 2 aus SPE 10-1 zeigte schnell, dass diese Verbindung die gleiche Konstitution wie Peak 1 aufwies. Die beobachteten COSY- und HMBC-Wechselwirkungen waren praktisch identisch mit den Interaktionen in **275-G**. Bei den beiden Substanzen aus SPE 10-1 handelte es sich somit um zwei strukturell neuartige, diastereomere Produkte.

Die Aufklärung der Konfiguration der Doppelbindung zwischen C-4 und C-5 in diesen beiden Substanzen sowie der relativen räumlichen Anordnung der Substituenten in den Molekülen sollte mittels NOESY-NMR-Spektroskopie erreicht werden. Auffallend war dabei zunächst, dass im NOESY-Spektrum von Peak 1 keinerlei Wechselwirkung der Methylgruppe an C-4 mit dem Wasserstoffatom an C-5 zu beobachten war, während bei Peak 2 zwischen diesen beiden Gruppen eine intensive Kreuzkopplung auftrat. Dies ließ darauf schließen, dass die C-4/C-5-Doppelbindung in **275** (Peak 1) *trans*-, in **276** (Peak 2) hingegen *cis*-konfiguriert war. NOESY-Interaktionen im Spektrum des ersten Peaks von H-1 mit Me-2, von Me-2 mit H-3, und von Me-4 mit H-6 sowie zwischen H-5 und H-2 und zwischen H-5, Me-6 und H-8 waren mit der in Abb. 46 (a) gezeigten relativen Konfiguration der genannten Gruppen zu erklären. Die beobachteten großen Kopplungskonstanten zwischen H-1 und H-2 (10.1 Hz), H-2 und H-3 (8.5 Hz) sowie zwischen H-5 und H-6 (9.8 Hz) standen ebenfalls im Einklang mit dieser räumlichen Anordnung der Substituenten. Eine genauere Zuordnung der relativen Konfiguration in **276** war hingegen aufgrund der Vielzahl unspezifischer NOESY-Wechselwirkungen nicht möglich (Abb. 46b).

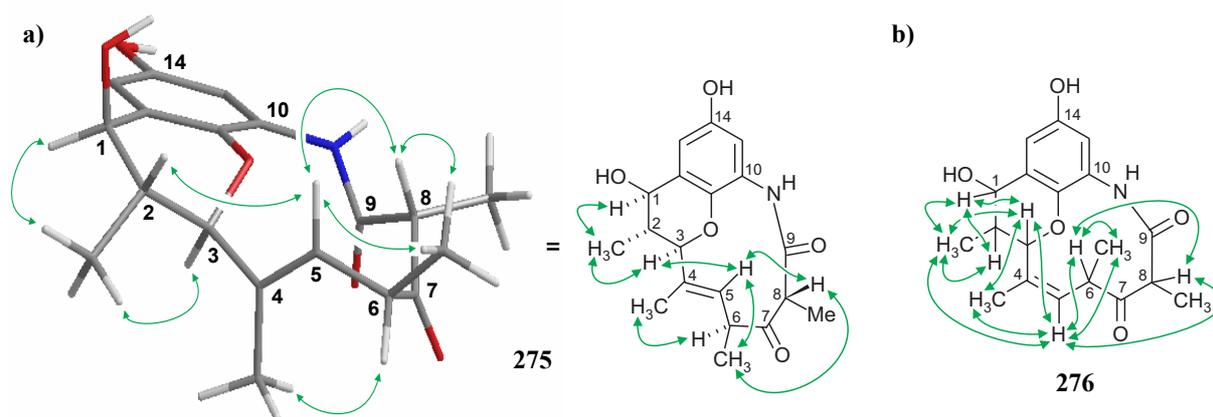


Abb. 46. NOESY-Wechselwirkungen (grüne Pfeile) in **275** (a) und **276** (b).

Zur Aufklärung der absoluten Konfigurationen von **275** und **276** sollten die beiden Naturstoffe mit einem Schweratom-tragenden Substituenten funktionalisiert, kristallisiert und röntgenkristallographisch untersucht werden. Geplant war hierzu die *O*-Acylierung der aciden phenolischen Hydroxygruppe an C-14 der Verbindungen mit einem geeigneten Benzoessäurederivat, wie z.B. Bromnitrobenzoessäurechlorid. Zu diesem Zweck sollten durch Fermentation des mikrobiellen Produzenten in einer 10-L-Kultur ausreichende Mengen der Naturstoffe **275** und **276** gewonnen werden. Die geplante biotechnologische Produktion erwies sich jedoch aufgrund von Problemen mit der Sekundärstoffbildung von SPE 10-1 zunächst als sehr schwierig. S.M. Pimentel-Elardo gelang es jedoch nach intensiven Bemühungen, kurz vor Fertigstellung der vorliegenden Arbeit, erneut eine stabile Produktion der beiden Macrolactame zu induzieren. Aus einem ersten Kulturansatz waren so jeweils *ca.* 10 mg von **275** und **276** in reiner Form isolierbar. Die isolierte Substanz wird in momentan laufenden Arbeiten in den AGs Hentschel und Bringmann zur Ermittlung des biologischen Potenzials bzw. zur röntgenkristallographischen Aufklärung der Absolutkonfigurationen verwendet.

6 Stereochemische Analyse von Naturstoffen und synthetischen Verbindungen durch HPLC-CD-Kopplung

Die Entdeckung von Naturstoffen mit neuartigen Strukturen und interessanten Bioaktivitäten aus Extrakten unterschiedlicher Organismen wird aufgrund der langjährigen Forschung auf diesem Gebiet und der damit verbundenen, immer häufiger auftretenden, zeitraubenden Mehrfach-Isolierung bereits bekannter Substanzen stetig schwieriger. Die Kopplung von Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) mit modernen spektroskopischen Methoden bietet einen Ausweg aus dieser Situation: Durch Kopplung von HPLC mit NMR-Spektrometern (HPLC-NMR)^[291-294] oder mit Tandem-Massenspektrometern (HPLC-MS/MS)^[293,295] gelingt inzwischen nicht nur die schnelle Identifizierung bekannter Sekundärstoffe, sondern mit minimalem Substanzbedarf sogar die Aufklärung der Konstitution und der relativen Konfiguration selbst neuer Naturstoffe direkt aus dem Extrakt, wie im Rahmen der vorliegenden Arbeit z.B. im Fall der strukturellen Charakterisierung des Secohyperforins (**40**) gezeigt (Kapitel 3.1).^[107]

Sogar die Aufklärung der Absolutkonfiguration chiraler Verbindungen ist inzwischen durch Online-Analysemethoden möglich. Zu diesem Zweck wurde in unserer Gruppe – erstmalig in der Naturstoffforschung – eine Kopplung von HPLC mit einem Circular dichroismus-Spektrometer (CD) etabliert.^[26,131,296] Das der CD-Spektroskopie zugrunde liegende Messprinzip ist die Detektion des Absorptionsunterschiedes eines Analyten zwischen links- und rechtszirkular polarisiertem Licht des UV-Bereichs. Einzige Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieser Art der Spektroskopie zur stereochemischen Analyse einer Verbindung ist daher das Vorhandensein eines Chromophors mit räumlicher Nähe zum stereogenen Element. Zueinander enantiomere Verbindungen liefern dabei exakt spiegelbildliche CD-Spektren. Durch Vergleich experimenteller CD-Kurven mit denen von strukturell ähnlichen Verbindungen bekannter Absolutkonfiguration oder durch Anwendung semi-empirischer Methoden, wie z.B. der sog. Oktanden-Regel,^[297,298] kann dann die Absolutkonfiguration einer Verbindung zugeordnet werden. Alternativ kann die Absolutkonfiguration einer chiralen Substanz mittels CD-Spektroskopie auch durch ECD-Methoden (electronic circular dichroism),^[299-302] z.B. unter Verwendung von Metalloporphyrinen als chiralen Reportergruppen,^[303,304] oder durch Derivatisierung eines Analyten als Dibenzoat,^[305] ermittelt werden. Die Methode der Wahl zur

stereochemischen Charakterisierung strukturell völlig neuartiger Verbindungen, für die keinerlei Vergleichswerte existieren, ist jedoch die quantenchemische Berechnung der CD-Spektren einer Substanz und der Vergleich mit den entsprechenden experimentellen Kurven.^[306] Diese Methodik ist im Bereich der Offline-Analyse chiraler Substanzen bereits weit verbreitet.^[307-314] In der Kombination mit Online-CD-Spektroskopie bietet sich die einmalige Chance der vollen stereochemischen Charakterisierung neuartiger chiraler Moleküle direkt aus den jeweiligen Extrakten oder Reaktionsgemischen, oft auch im Falle konfigurativer oder chemisch labiler Verbindungen, die durch Offline-Methoden nicht oder nur schwer untersuchbar wären.^[131] Dies wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit in Kooperation mit den Mitarbeitern unserer computerchemischen Abteilung für eine Vielzahl chiraler Naturstoffe^[315] und synthetischer Produkte^[316-319] realisiert und wird im Folgenden beschrieben.

6.1 Stereochemische Analyse der Parvistemine A-D (277-280), neuer dimerer Phenylethylbenzochinone aus *Stemona parviflora* Wright

Die in der Hainan-Provinz (China) heimische Pflanze *Stemona parviflora* Wright wurde in der traditionellen chinesischen Medizin zur Behandlung von Erkrankungen der Atemwege, wie z.B. Lungentuberkulose und Bronchitis,^[320] genutzt, fand aber auch Verwendung bei der Bekämpfung von Schädlinginsekten.^[321] Die biologische Wirksamkeit der Extrakte von *S. parviflora* wurde vor allem den darin enthaltenen Alkaloiden zugeschrieben.^[322] Im Rahmen eines Screening-Programms zur Gewinnung bioaktiver Sekundärstoffe wurden von unserem Kooperationspartner Prof. Y. Ye (Shanghai Institute of Materia Medica, China) aus dieser Pflanze vier neuartige Metabolite, die Parvistemine A-D (**277-280**, Abb. 47), isoliert und unter Anwendung massen- und NMR-spektroskopischer Verfahren konstitutionell aufgeklärt.^[315] Dabei zeigte sich, dass alle Parvistemine aus jeweils zwei Phenylethylbenzochinon-Einheiten bestehen, die über eine zentrale Achse verbunden sind. Die Parvistemine A-C (**277-279**) sind dabei dimere Verbindungen aus zwei identischen Molekülhälften, während die Biaryl-artige Achse im Parvistemin D (**280**) zwei konstitutionell unterschiedliche Bausteine miteinander verknüpft.

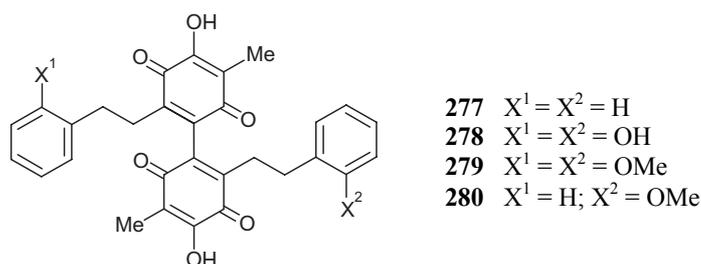
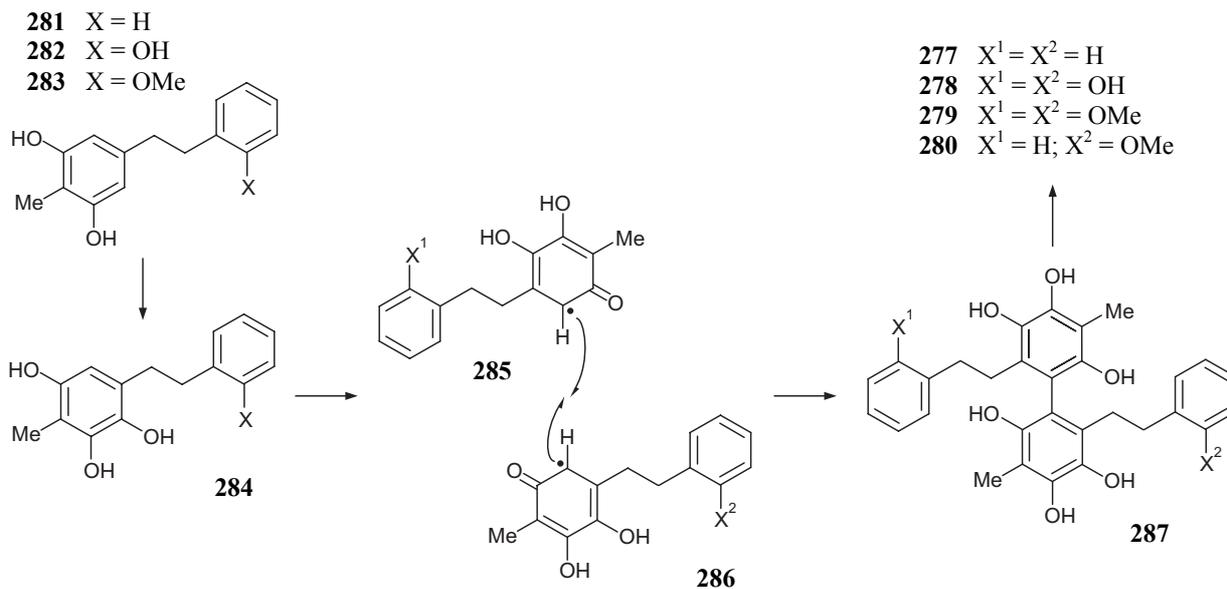


Abb. 47. Strukturen der Parvistemine A-D (**277-280**).

Obwohl in allen Parvisteminen jeweils vier Substituenten in *ortho*-Position zur zentralen Achse sitzen, diese daher rotationsgehindert – und damit ein stereogenes Element – sein sollte, wurden **277-280** als optisch inaktive Substanzen isoliert.^[315] Die Parvistemine schienen also von *S. parviflora* als racemische Gemische produziert worden zu sein. Das Vorkommen von chiralen Metaboliten in skalemischer oder, wie im Falle der Parvistemine, sogar in racemischer Form, ist vor allem im Bereich axial-chiraler Naturstoffe ein bekanntes Phänomen.^[323-325] Die fehlende Stereoselektivität bei der Bildung solcher Sekundärstoffe lässt sich durch eine nur schwache, oder gänzlich fehlende enzymatische Beteiligung bei der Biosynthese erklären. So wäre die Entstehung der Parvistemine A-D (**277-280**) etwa durch Oxygenierung der aus *S. parviflora* bekannten Stilbostemine B-D (**281-283**) zu Verbindungen vom Typ **284**, phenoloxidative (Hetero-)Dimerisierung der daraus zugänglichen Radikale **285** und **286** und abschließende oxidative Dearomatisierung des gebildeten Dimers **287** denkbar. Die mögliche Existenz eines freien, nicht stark Enzym-gebundenen Radikals **285**, welches seinen Reaktionspartner **286** nicht-stereoselektiv von beiden Seiten angreifen würde, könnte somit für die Entstehung der Naturstoffe in racemischer Form verantwortlich sein. Ebenfalls denkbar wäre, dass die Biosynthese der Parvistemine A-D (**277-280**) zunächst stereoselektiv verläuft, intermediär aber dann Dimere entstehen, bei denen die Rotationsbarriere um die Biaryl-Achse durch Ausbildung einer Doppelbindung zwischen den Ringsystemen dramatisch reduziert und damit eine Racemisierung ermöglicht wird.



Schema 52. Mögliche Biosynthese der Parvistemine A-D (**277-280**).

Zur stereochemischen Untersuchung dieser Verbindungen sollte eine Methode zur Trennung der Atrop-Enantiomere an chiraler Phase entwickelt werden. Durch Online-CD-Spektroskopie in Kombination mit quantenchemischen CD-Rechnungen von M. Reichert aus unserem Arbeitskreis sollten die Metabolite schließlich stereochemisch charakterisiert werden. Die Optimierung der Bedingungen zur Auftrennung der Enantiomere mittels HPLC an chiraler Phase führte man zunächst für Parvistemin A (**277**) durch. Die besten Resultate erzielte man mit einer Chiralcel-OD-H-Säule der Firma Daicel. Ungewöhnlich war dabei, dass durch eine Steigerung der Temperatur des chromatographischen Systems auf 55 °C sowohl die Qualität der Trennung verbessert als auch die Elutions-Geschwindigkeit von **277** erhöht wurde. Als optimale Laufmittelzusammensetzung erwies sich eine Mischung aus *n*-Hexan und Isopropanol im Verhältnis 97.5:2.5. Man erzielte so in nur *ca.* 18 min Laufzeit eine Bodentrennung der Atrop-Enantiomere von **277** (Abb. 48a). Durch Online-CD-Analyse wurde verifiziert, dass die beobachteten HPLC-UV-Signale tatsächlich Enantiomeren von **277** zuzuordnen sind (zu sehen am umgekehrten Vorzeichen der CD-Signale, Abb. 48b). Eine Integration der Flächen unter den HPLC-UV-Peaks ergab ein Verhältnis von 1:1 und bestätigte somit das Vorliegen einer racemischen Mischung von **277**.

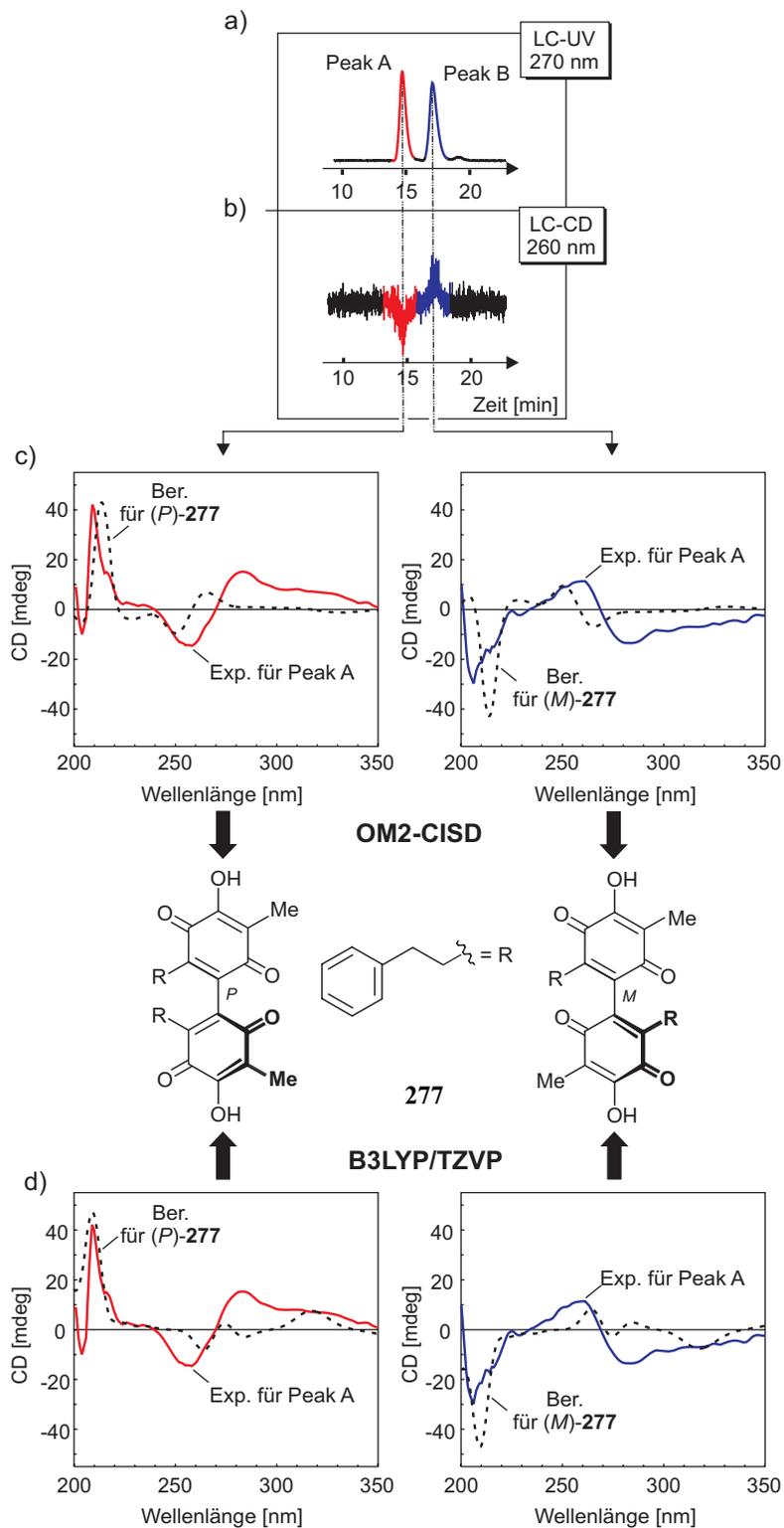


Abb. 48 Aufklärung der Absolutkonfiguration von Parvistemin A (277) durch HPLC-CD und quantenchemische CD-Rechnungen (M. Reichert).

Die Aufnahme der vollen CD-Spektren der beiden Stereoisomere erfolgte im Stopped-flow-Modus. Ein Vergleich der experimentellen CD-Kurven mit den von M. Reichert mittels OM2-CISD (Abb. 48c) und durch einen TDDFT-Ansatz (B3LYP/TZVP) errechneten Spektren (Abb. 48d), erlaubte schließlich die eindeutige Zuordnung der Axialkonfiguration des schnelleren Enantiomers von **277** als *P* und des langsameren als *M*.^[315]

Die für **277** entwickelte HPLC-Methode wurde nun zur stereochemischen Analyse der Parvistemine B-D (**278-280**) individuell für jede Substanz optimiert. Die Trennung der Atrop-Enantiomere von Parvistemin B (**278**) und C (**279**) verlief mit *n*-Hexan und Isopropanol im Verhältnis 95:5 optimal, während für Parvistemin D (**280**) ein Verhältnis von 90:10 die besten Resultate lieferte. In allen Fällen wurde das chromatographische System auf 40 °C temperiert. So gelang auch für die Verbindungen **278-280** eine Bodentrennung der jeweiligen Enantiomere. Wie schon bei **277** ermittelte man den racemischen Charakter dieser Metabolite durch Integration der HPLC-UV-Signale. Ein Vergleich der aufgenommenen HPLC-CD-Spektren der jeweils schneller eluierenden Stereoisomere von **277-280** zeigte wie erwartet deren große Ähnlichkeit zueinander (Abb. 49) und erlaubte somit ihre stereochemische Zuordnung als *P*-konfiguriert.

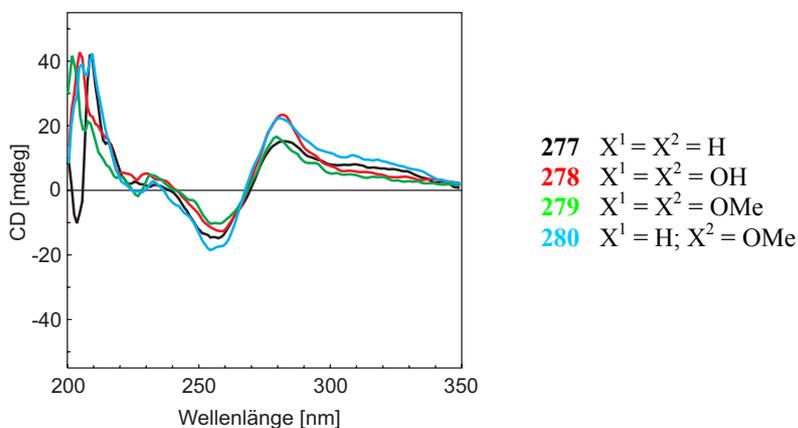


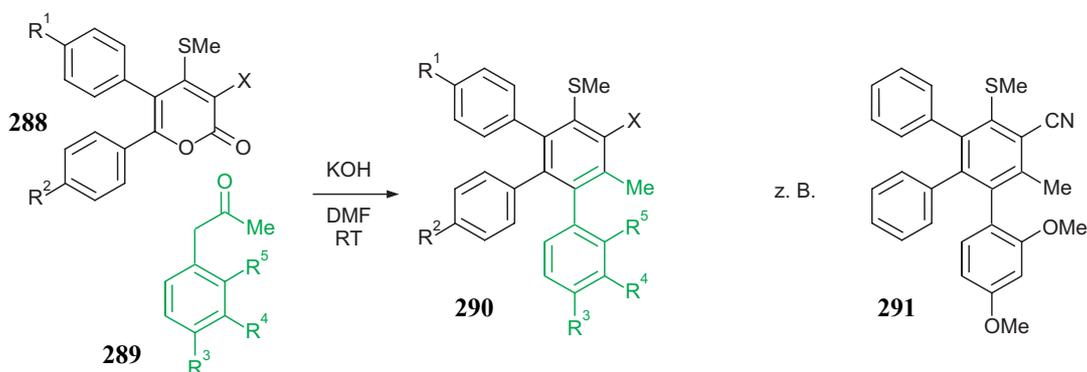
Abb. 49. Vergleich der CD-Spektren der schneller eluierenden Enantiomere der Parvistemine A-D (**277-280**).

Somit gelang die vollständige Online-Analyse und stereochemische Charakterisierung aller bislang bekannter Vertreter der neuartigen Substanzklasse der Bisphenylethylbenzophenone **277-280**.^[315]

6.2 Stereochemische Untersuchung neuartiger axial-chiraler Quateraryle

Axial-chirale Strukturen spielen eine große Rolle als chirale Liganden und Auxilliare in der asymmetrischen Synthese,^[326,327] als chirale Phasen in der Chromatographie,^[328] als wichtige Substrate in chiralen flüssig-kristallinen Materialien,^[329,330] als Reagenzien in der chiralen Erkennung^[331] und als Elemente in einer Vielzahl interessanter Naturstoffe,^[325] wie z.B. in den unter 6.1 gezeigten Parvisteminen (**277-280**),^[315] in Naphthylisochinolin-Alkaloiden,^[332] aber auch in strukturell hoch komplexen Wirkstoffen wie Vancomycin.^[333] Aufgrund der großen Bedeutung solcher axial-chiraler Verbindungen in verschiedensten Bereichen der Chemie wurden in der Vergangenheit unterschiedliche Methoden zum stereoselektiven Aufbau von Biaryl-Achsen etabliert.^[334,335] Das in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Lacton-Konzept^[334,336-340] bietet durch das Konzept der dynamisch-kinetische Racematspaltung konfigurationslabiler Biaryl-Lactone dabei als einziges dieser Verfahren die Möglichkeit einer späten Stereodivergenz.

Unser Kooperationspartner Dr. A. Goel (Central Drug Research Institute, Lucknow, Indien) entwickelte kürzlich eine effiziente Methode zur Synthese sterisch anspruchsvoller Quateraryle, bei der 5,6-Diaryl-2*H*-pyran-2-one **288** mit Phenylacetonen **289** unter basischen Bedingungen in nur einer Stufe direkt zu den entsprechenden Biarylen **290** umgesetzt werden.^[318] Die dabei entstehenden neuartigen Quateraryle wie **291** sollten in Würzburg durch die Entwicklung einer Methode zur Trennung der entsprechenden Atrop-Enantiomere an chiraler Phase und HPLC-CD in Kombination mit quantenchemischen CD-Rechnungen stereochemisch charakterisiert werden. Diese Arbeiten wurden exemplarisch für Verbindung **291** durchgeführt.



Schema 53. Eintopf-Synthese chiraler Quateraryle vom Typ **290** nach Goel *et al.*^[318]

Die Trennung der Enantiomere von **291** gestaltete sich sehr schwierig. Auf einer großen Anzahl unterschiedlicher chiraler Phasen (z.B. OD-RH, OD-J, OD) ließ sich zunächst keinerlei Trennung erreichen. Lediglich bei Verwendung einer Chiralcel-OD-H-Säule der Fa. Daicel bei niedrigen Temperaturen mit einem Laufmittel aus *n*-Hexan und Isopropanol im Verhältnis 99.5:0.5 erreichte man ein schwaches Splitting des beobachteten LC-UV-Peaks. Für eine Aufnahme von Online-CD-Spektren reichte diese Antrennung jedoch nicht aus. Eine weitere Verminderung der Temperatur des chromatographischen Systems zur Verbesserung der Trennleistung war aufgrund der damit verbundenen starken Erhöhung des Druckes am HPLC-System wegen der höheren Viskosität des kalten Laufmittels nicht möglich. Durch serielle Kopplung zweier identischer OD-H-Säulen gelang schließlich eine ausreichende Aufspaltung der Atrop-Enantiomere von **291** (Abb. 50a und b) und so die Aufnahme voller Online-CD-Kurven. Ein Vergleich der experimentell gemessenen CD-Spektren mit den von M. Reichert durch quantenchemische CD-Rechnungen ermittelten Kurven erlaubte schließlich die Zuordnung der Achsenkonfiguration des schnelleren Enantiomers von **291** als *M* und des langsameren als *P* (Abb. 50c und d).^[318]

Die exemplarisch für **291** entwickelte Methode zur Trennung chiraler Quateraryle vom Typ **290** kann in zukünftigen Arbeiten zur schnellen stereochemischen Charakterisierung von Vertretern dieser Substanzklasse verwendet werden und trägt somit entscheidend zum Wert der von Goel *et al.* entwickelten Synthese dieser Verbindungen bei.^[318]

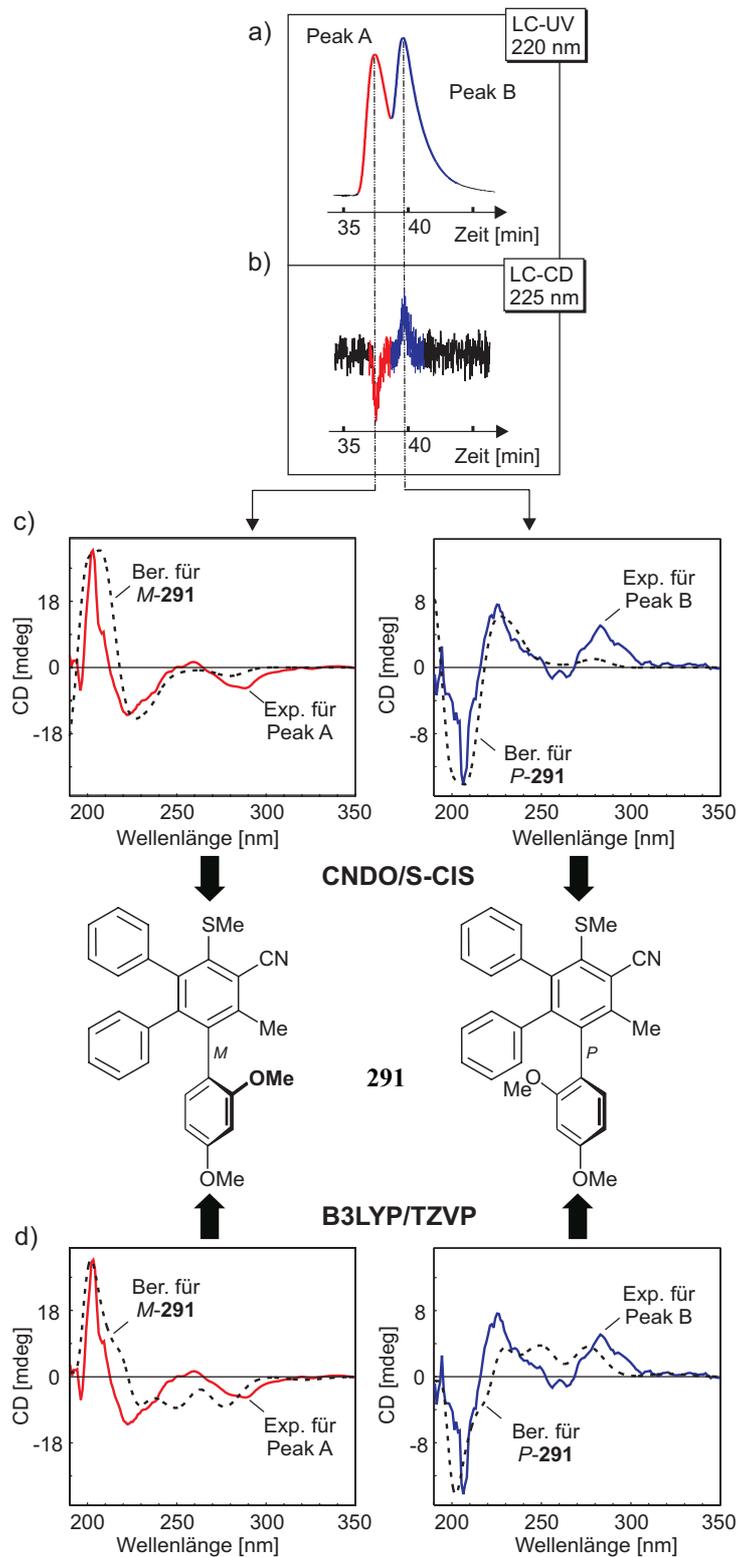


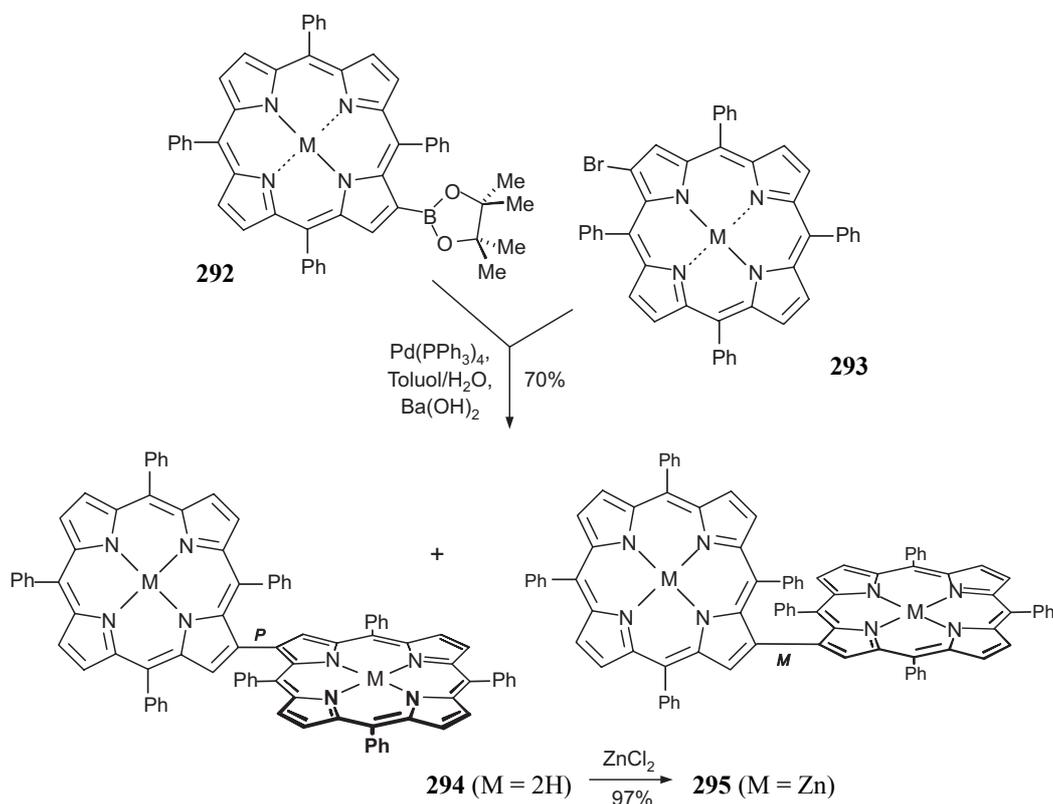
Abb. 50. Stereochemische Zuordnung der im Rahmen dieser Arbeit getrennten Atrop-Enantiomere des Quaternaryls **291** durch HPLC-CD-Kopplung (a,b) und quantenchemische CD-Rechnungen durch M. Reichert unter Anwendung semiempirischer Methoden (c) und von TDDFT (d).

6.3 Stereochemische Analyse neuartiger, intrinsisch axial-chiraler β,β -verknüpfter Bisporphyrine

Porphyrin-Systeme spielen in der heutigen chemischen Forschung in verschiedensten Bereichen eine große Rolle. Sie finden Verwendung als metallorganische Katalysatoren,^[341,342] als wirksame Substrate in der Medizin, z.B. bei der Bor-Neutroneneinfangtherapie (BNCT = boron neutron capture therapy)^[343] und in der photodynamischen Therapie (PDT = photodynamic therapy),^[344] im Bereich der Materialwissenschaften,^[345-347] oder bei der biomimetischen Gewinnung von Solarenergie.^[348] Chirale Porphyrine werden z.B. als Reportergruppen bei der Aufklärung von Absolutkonfigurationen organischer Moleküle genutzt.^[303,304] Die Chiralität literaturbekannter monomerer Porphyrine resultiert dabei meist aus stereogenen Zentren oder rotationsgehinderten, axial-chiralen Substituenten.^[349-352] Auch eine Verknüpfung zweier achiraler Porphyrin-Bausteine über einen chiralen Linker ist möglich.^[353-355]

Obwohl direkt verknüpfte dimere Porphyrine eine für Untersuchungen von Elektronen- und Energietransferprozessen interessante Struktur aufweisen,^[356,357] gibt es nur eine geringe Anzahl an möglicherweise chiralen Vertretern dieser Substanzklasse: nur wenige *meso-meso*^[358-360] und *meso- β* ^[361] verknüpfte Bisporphyrine wurden bislang dargestellt. Alle literaturbekannten β,β' -verknüpften Bisporphyrine weisen keinerlei *meso*-Substituenten^[362-364] auf und sind aus diesem Grund wahrscheinlich konfiguratив labil. Bis heute gelang es lediglich der Gruppe um Osuka, die optische Aktivität von drei direkt verknüpften Porphyrin-Dimeren zu beweisen. Zwei dieser Substanzen waren axial-chiral,^[365,366] während die dritte aufgrund zweifacher Verknüpfung helikale Chiralität aufwies.^[367] Alle diese Derivate haben jedoch gemein, dass ihre Chiralität nur aufgrund eines unsymmetrischen Substitutionsmusters zustande kommt, da die zentrale Bisporphyrin-Struktur selbst jeweils symmetrisch und damit achiral ist. Von besonderem Interesse wäre daher die Darstellung von dimeren Porphyrin-Derivaten mit direkter β,β' -Verknüpfung und sperrigen *meso*-Substituenten, die aufgrund der dann zu erwartenden Rotationsstabilität der Biaryl-Achse *per se* axial chiral wären. Eine solche intrinsische Chiralität wäre daher nicht mehr abhängig vom Substitutionsmuster der monomeren Einheiten. Die Synthese solcher intrinsisch axial-chiraler Bisporphyrine gelang erst kürzlich in unserer Gruppe (Schema 54).^[317] Das erste Derivat dieser neuartigen Substanzklasse wurde durch S. Rüdener unter Verwendung einer Pd-katalysierten Kreuzkupplung eines in β -Position bromierten

Porphyrins **293** mit einem an dieser Stelle borylierten Äquivalent **292** dargestellt.^[317] D. Götz gelang schließlich die Optimierung dieses synthetischen Zugangs zu unterschiedlich substituierten octa-*meso*-Aryl-Bisporphyrinen und damit die Darstellung einer ganzen Reihe von Derivaten.^[317,319]



Schema 54. Synthese β,β' -verknüpfter, intrinsisch axial-chiraler Bisporphyrine durch Pd-katalysierte Kreuzkupplung.

Zur stereochemischen Charakterisierung dieser Substanzklasse sollte eine Methode zur Trennung der Atrop-Enantiomere mittels HPLC an chiraler Phase etabliert werden, zunächst exemplarisch für **294**. Trotz intensiver Bemühungen an einer Vielzahl chiraler Phasen war eine Trennung des metallfreien Derivats **294** jedoch nicht möglich. Das Dimer **294** wurde daher von S. Rüdener durch Umsetzung mit ZnCl_2 in das vollständig metallierte Bisporphyrin **295** überführt, dessen Trennung an einer OD-H-Säule der Firma Daicel durch Herabsetzen von Temperatur des chromatographischen Systems (7°C) und Flussrate (0.3 mL/min) bei Verwendung von *n*-Hexan und Isopropanol als Laufmittel im Verhältnis 60:40 glückte (Abb. 51a,b). Nach Aufnahme von Online-CD-Spektren im Stopped-flow-Modus und Vergleich mit den von M. Reichert mittels

semiempirischen Verfahren (Abb. 51c) und TDDFT-Methoden (Abb. 51c) errechneten Kurven gelang die eindeutige Zuordnung der Konfiguration der Atrop-Enantiomere des Dimers **295**. Das chromatographisch schnellere Enantiomer wies *P*-Konfiguration auf, während das langsamer eluierende Stereoisomer *M*-konfiguriert war.^[317]

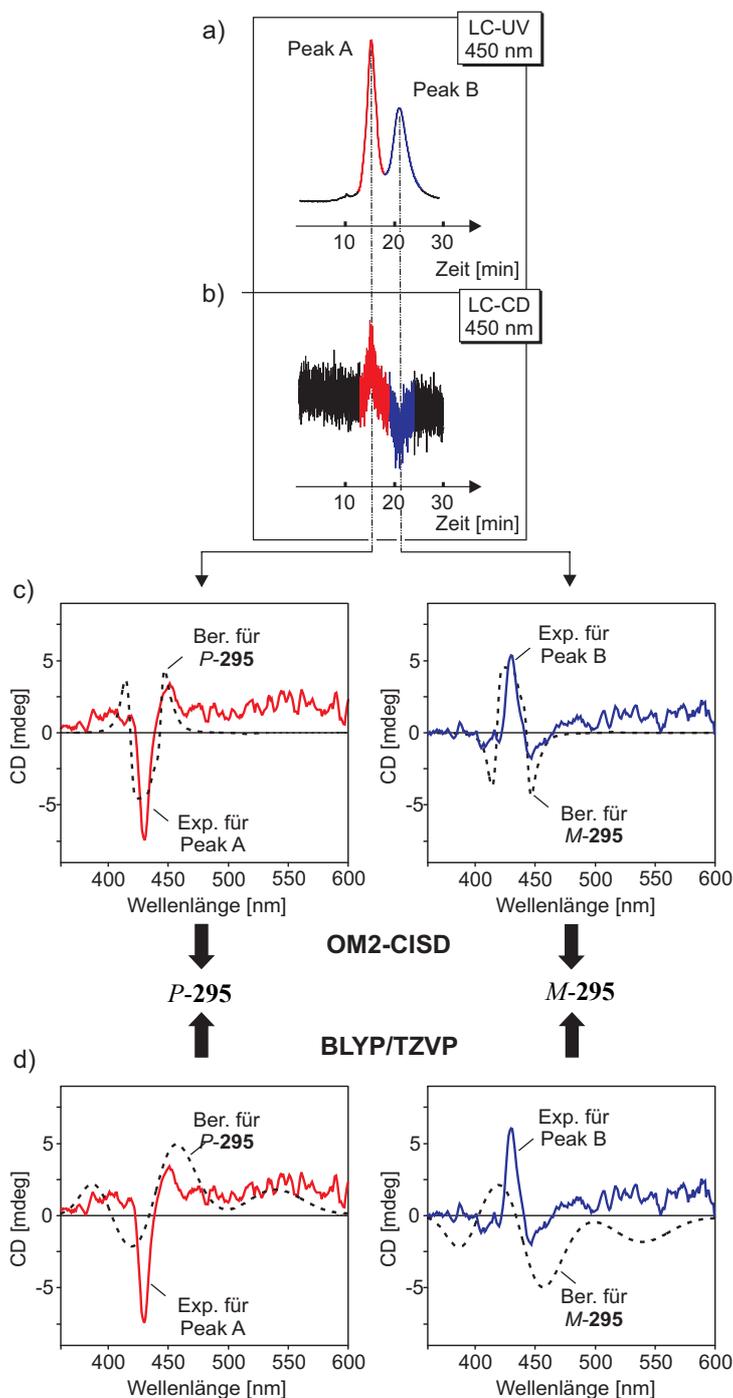


Abb. 51. Stereochemische Analyse der Atrop-Enantiomere des metallierten Bisporphyrins **295** durch HPLC-CD und quantenchemische CD-Rechnungen (M. Reichert).

Eine weitere Optimierung der Trennung von **295** wurde durch Verwendung einer Chirex-3010-Säule erreicht (Lösungsmittelsystem *n*-Hexan/CH₂Cl₂, 60:40, vgl. Abb. 52). So gelang schon bei Raumtemperatur eine Bodentrennung von **295**.

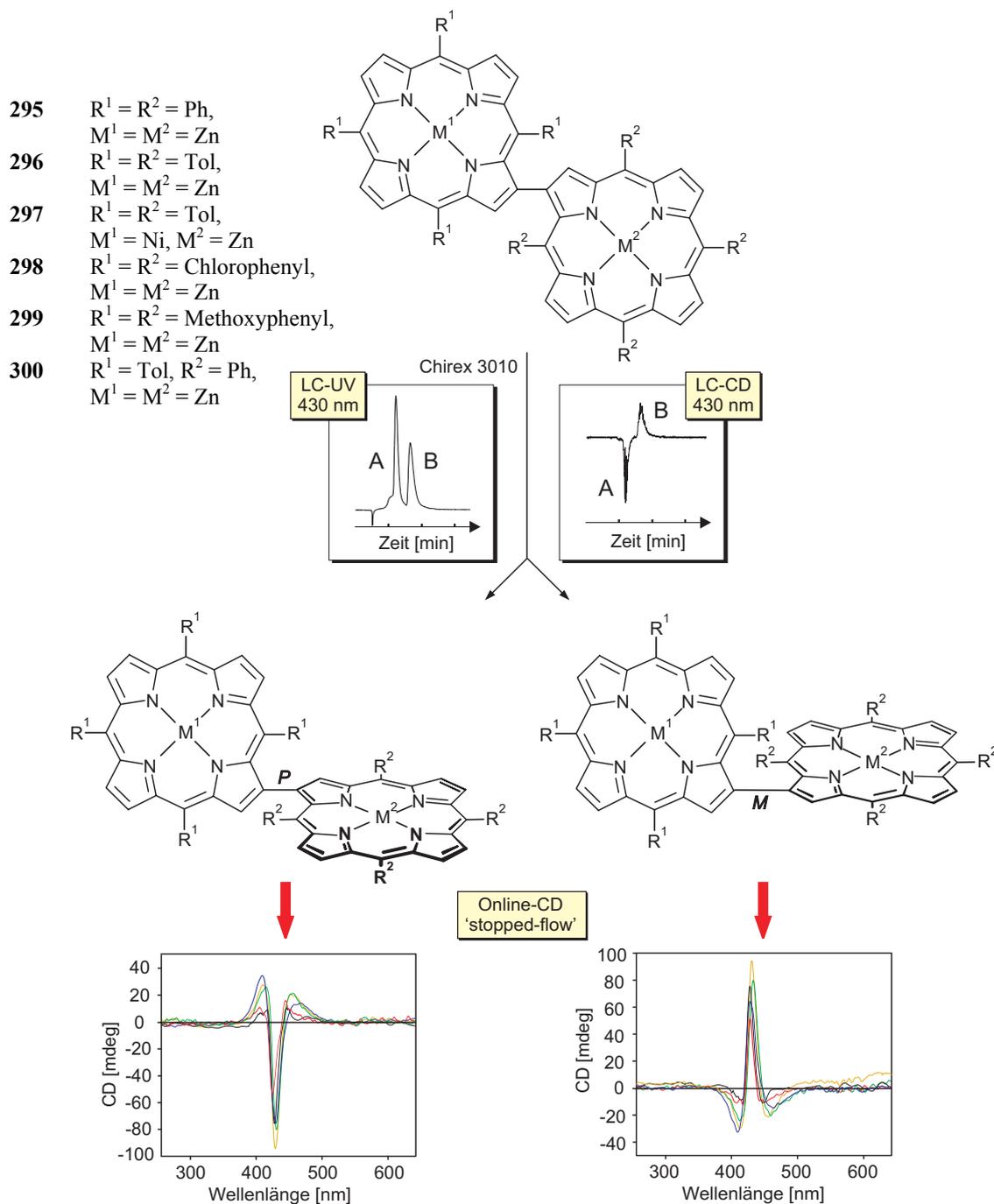


Abb. 52. Trennung der chiralen Bisporphyrine **295-300** an einer Chirex-3010-Säule bei Raumtemperatur und stereochemische Zuordnung der entsprechenden Atrop-Enantiomere mittels HPLC-CD.

Durch geringfügige Veränderung der Zusammensetzung des Elutionsmittels bei der Chromatographie glückte mit dieser Säule die Auflösung einer ganzen Reihe unterschiedlich substituierter, axial-chiraler Bisporphyrine, nämlich **296-300**.^[317,319] Diese Arbeiten wurden in enger Kooperation mit D. Götz durchgeführt, der die dimeren Porphyrine **296-300** auch synthetisiert hatte. Die breite Anwendbarkeit der so entwickelten Trennmethode wurde inzwischen in zusätzlichen Untersuchungen von D. Götz und T. Gehrke zur stereochemischen Analyse unterschiedlich metallierter Bisporphyrine gezeigt.^[319]

Zur Bestimmung der Rotationsstabilität der metallierten dimeren Bisporphyrine wurde unter Anwendung der für die stereochemische Analyse erarbeiteten Trennmethode in semi-präparativem Maßstab jeweils eine enantiomerenreine Probe des *P*- und *M*-konfigurierten octa-Tolyl-substituierten Derivats **296** isoliert. Die Charge des *P*-konfigurierten Stereoisomers wurde bei Raumtemperatur gelagert und in regelmäßigen Abständen mittels analytischer HPLC untersucht. Selbst nach 48 Stunden beobachtete man keine Bildung des *M*-Enantiomers. Basierend auf diesen Ergebnissen ist Verbindung **296** bei Raumtemperatur vollständig konfigurationsstabil.^[319]

Die exakte Rotationsbarriere der Racemisierung an der Achse von **296** sollte durch kinetische Studien mittels HPLC-UV-Analytik ermittelt werden (Abb. 53). Dazu wurde eine enantiomerenreine Probe des *M*-konfigurierten Enantiomers von **296** verwendet. Man beobachtete die Atrop-Enantiomerisierung bei drei verschiedenen Temperaturen (90 °C, 100 °C, 110 °C) und errechnete aus den gewonnenen Daten die entsprechenden Geschwindigkeitskonstanten. Durch Verwendung der Eyring-Gleichung gelang schließlich die Berechnung der freien Aktivierungsenergie der Rotation um die Achse von **296**. Der Wert $\Delta G_{\text{rot}}(\mathbf{296})^{\text{exp}}$ lag mit 114.9 kJ/mol im Bereich von bei Raumtemperatur vollständig konfigurationsstabilen Verbindungen und war zudem im Einklang mit den von M. Reichert durch semi-empirische Berechnungen erhaltenen Wert von $\Delta G_{\text{rot}}(\mathbf{296})^{\text{calc}} = 119$ kJ/mol. Die geringfügige Abweichung der theoretischen Aktivierungsenergie zur experimentell bestimmten liegt wohl in der Tatsache begründet, dass die Berechnungen lediglich auf semi-empirischem Niveau und in der Gasphase durchgeführt wurden.^[319]

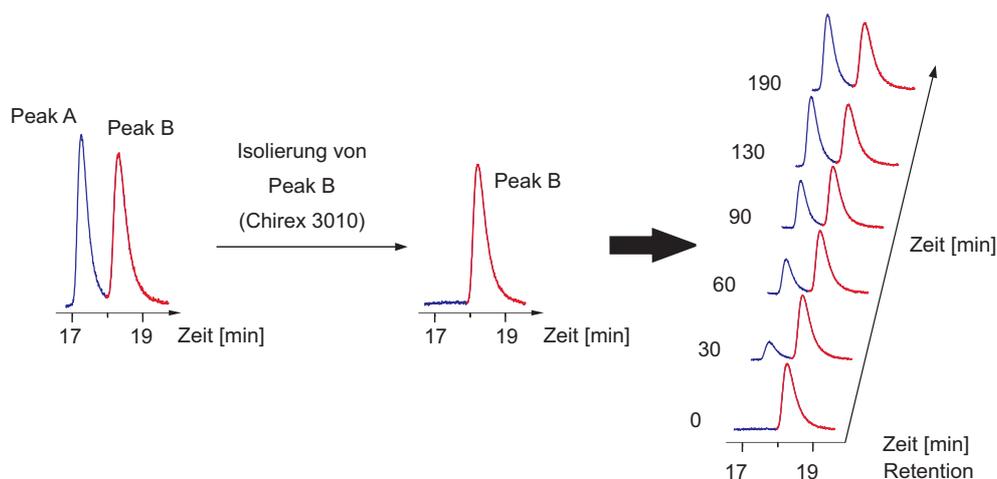


Abb. 53. Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten der Atrop-Enantiomerisierung von *M*-**296** durch thermische Equilibrierung in Toluol und HPLC-Analyse an chiraler Phase.

Zusammenfassend gelang somit durch die Entwicklung von Methoden zur Trennung einer Vielzahl unterschiedlich octa-*meso*-substituierter Atrop-Enantiomere chiraler β,β -verknüpfter Bisporphyrine **295-300** mittels HPLC-CD an chiraler Phase in enger Kooperation mit D. Götz deren vollständige stereochemische Charakterisierung sowie der experimentelle Beweis ihrer Rotationsstabilität bei Raumtemperatur und die exakte Bestimmung der Rotationsbarriere der Atrop-Enantiomerisierung von **296**.^[317,319]

6.4 *Meso* versus C_1 : Stereochemische Analyse von axial-chiralen, konfiguratív jedoch semi-stabilen Bis[10]paracyclophanen

Unter *meso*-Verbindungen versteht man konstitutionell symmetrische Moleküle mit paarweisen stereogenen Elementen zueinander gegensätzlicher Konfiguration, also mit zwei zueinander enantiomorphen Hälften.^[368] In den meisten Fällen besitzen diese Substanzen eine Konformation mit einer Symmetrie-Ebene oder einem Symmetrie-Zentrum.^[368] Aufgrund des schnellen Wechsels zwischen zueinander enantiomeren Konformationen sind *meso*-Verbindungen optisch inaktiv. So bevorzugt etwa *meso*-Weinsäure sowohl in Lösung^[369] als auch im kristallinen Zustand^[370] chirale Konformationen, die in Lösung aber aufgrund der niedrigen Rotationsbarriere um die zentrale C,C -Achse schnell ineinander übergehen.

In Kooperation mit Prof. W. Tochtermann (Institut für Organische Chemie, Universität Kiel) wurde das Bis[10]paracyclophan (-)-**301** (Abbildung 54) in enantiomerenreiner Form dargestellt und stereochemisch charakterisiert.^[371,372] Diese konstitutionell symmetrische Verbindung besitzt drei stereogene Elemente: zwei chirale Ebenen (p) sowie eine chirale Achse (a) und ist aufgrund der vierfach *ortho*-substituierten – und damit rotationsgehinderten – Biaryl-Achse optisch aktiv. Die Absolutkonfiguration der Substanz wurde mittels CD-Spektroskopie und quantenchemischen CD-Rechnungen in unserer Arbeitsgruppe als *pP,aP,pM* zugeordnet.^[371,372] Das Paracyclophan (-)-**301** ist also chiral, konfiguratativ stabil an der zentralen Achse, optisch aktiv und daher per Definition keine *meso*-Verbindung. Basierend auf diesen Vorarbeiten schien es daher lohnenswert, ein stereochemisch mobileres, weniger rotationsgehindertes Bis[10]paracyclophan zu synthetisieren und dessen dynamisches chiroptisches Verhalten unter Anwendung von HPLC-CD genauer zu charakterisieren. Zu diesem Zweck wurde in der AG Tochtermann das Bis[10]paracyclophan **302** synthetisiert, in dem die in (-)-**301** *ortho* zur Biaryl-Achse positionierten Methoxygruppen durch Wasserstoffe ersetzt sind.^[316]

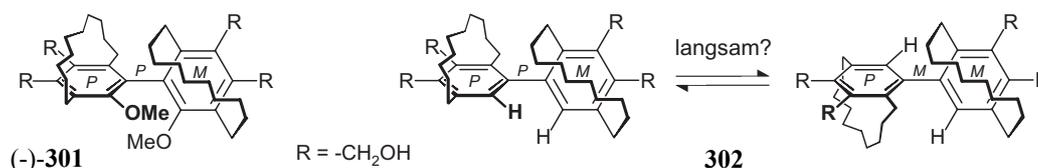


Abb. 54. Strukturen der untersuchten Bis[10]paracyclophane (-)-**301** und **302**.

Eine Methode zur Trennung von Bis[10]paracyclophanen mittels HPLC an chiraler Phase wurde zunächst mit einer racemischen Mischung von **301** erarbeitet. Da für diese Substanz bereits bekannt war, dass die Biaryl-Achse konfiguratativ stabil ist, konnte ein Scheitern der Trennung der Atrop-Enantiomere aufgrund einer evtl. zu niedrigen Rotationsbarriere, wie sie für **302** durchaus vorliegen könnte, ausgeschlossen werden. Unter Verwendung einer Daicel-Chiralcel-OD-RH-Säule bei leicht erhöhten Temperaturen (30 °C) und einem Lösungsmittelsystem aus Acetonitril und H₂O im Verhältnis 68:32 erzielte man eine zur Aufnahme von CD-Spektren ausreichende Auflösung (Abb. 55a). Durch Vergleich der so ermittelten CD-Kurven mit denen von reinem (-)-**301** war es möglich, dem schneller eluierenden Stereoisomer die *pP,aP,pM*-Konfiguration und dem langsameren die *pP,aM,pM*-Konfiguration zuzuordnen.^[316]

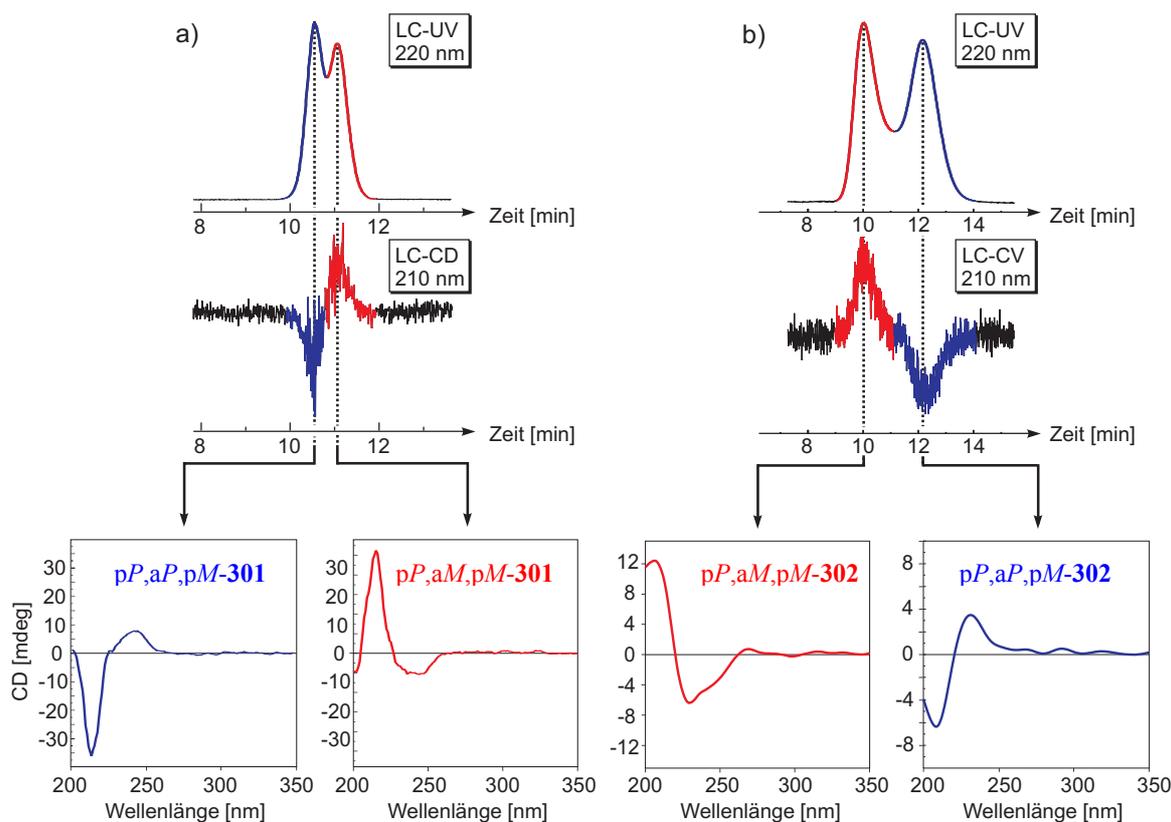


Abb. 55. Trennung racemischer Mischungen der Bis[10]paracyclophane **301** (a) und **302** (b) durch HPLC an einer Chiralcel-OD-RH-Säule. Die Atrop-Enantiomere mit *pP,aP,pM*-Konfiguration sind in blau, die mit *pP,aM,pM*-Konfiguration rot dargestellt.

Zur Trennung des an der Achse sterisch weniger anspruchsvoll substituierten Derivats **302** erwies sich die für **301** verwendete Temperatur von 30 °C als zu hoch. Grund hierfür ist wahrscheinlich ein schnelles Durchdrehen der Biaryl-Achse von **302** bei dieser Temperatur. Durch Kühlen des chromatographischen Systems auf 5 °C erreichte man schließlich eine gute Trennung der Atrop-Enantiomere von **302** (Abb. 55b). Zur Aufnahme der CD-Spektren im Stopped-flow-Modus war es aufgrund des relativ geringen CD-Effekts nötig, sowohl die Geschwindigkeit der CD-Messung zu erhöhen (1000 nm/min anstelle 500 nm/min), als auch das Intervall zwischen zwei Messpunkten zu vergrößern (2 nm anstelle 0.5 nm). Bei langsameren Messungen nahm der CD-Effekt der reinen Atrop-Enantiomere in der Messzelle aufgrund der durch die Rotation um die semi-stabile Biaryl-Achse eintretenden Racemisierung zu schnell ab. Trotz der großen strukturellen Ähnlichkeit von **301** und **302** waren basierend auf dem Vergleich der CD-Kurven dieser beiden Substanzen die Elutionsreihenfolgen der Stereoisomere umgekehrt

wie bei **301**. Im Falle des Bis[10]paracyclophans **302** war also das chromatographisch schnellere Atrop-Enantiomer pP,aM,pM -konfiguriert, während das langsamer eluierende Stereoisomer pP,aP,pM -Konfiguration aufwies.

Aufgrund dieses unerwarteten Wechsels in der Elutionsreihenfolge der Atrop-Enantiomere von **302** im Vergleich zu **301** überprüfte man die Zuordnung der Absolutkonfigurationen durch zusätzliche quantenchemische CD-Rechnungen, die in unserer Arbeitsgruppe von K. Maksimenka durchgeführt wurden. Durch diesen zweiten, unabhängigen Ansatz wurde die durch empirischen Vergleich ermittelte Konfigurationszuordnung eindeutig bestätigt (Abb. 56).^[316]

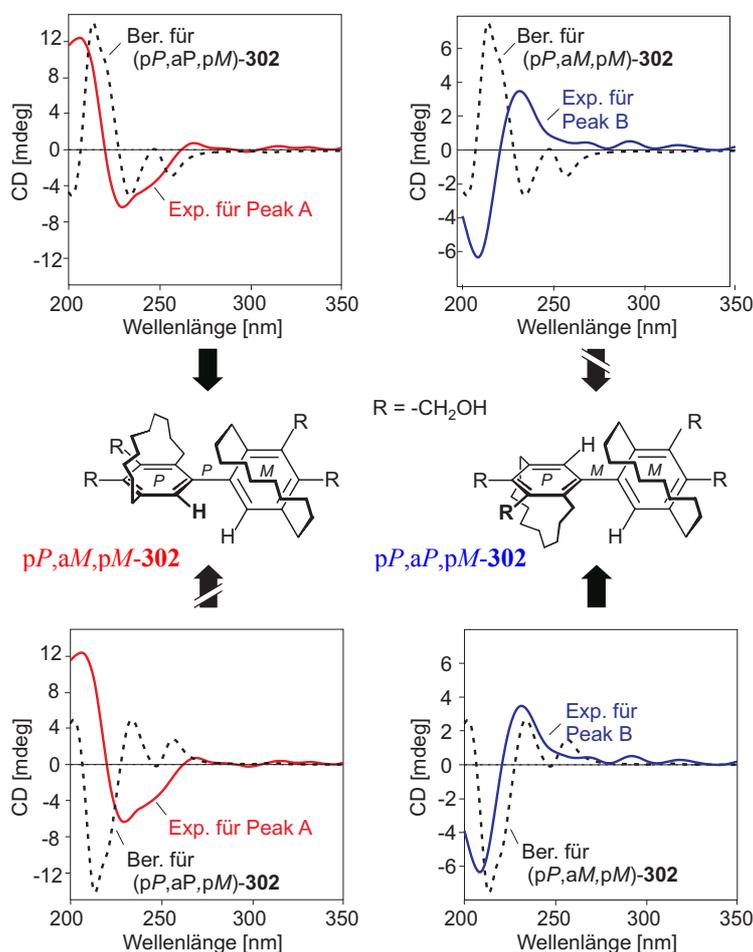


Abb. 56. Zuordnung der Absolutkonfiguration der beiden Atrop-Enantiomere von **302** durch Vergleich von quantenchemisch berechneten (AM1) CD-Spektren (K. Maksimenka) mit den experimentellen Kurven.

Die Halbwertszeit der Atrop-Enantiomerisierung von **302** wurde ebenfalls durch Online-CD-Spektroskopie bestimmt. Zu diesem Zweck wurde die für die Aufnahme eines CD-Spektrums benötigte Zeit durch Begrenzung des Messbereichs auf nur 30 nm (von 200 bis 230 nm) noch einmal dramatisch reduziert. Durch schnelle Messung dieser Ausschnitte aus dem CD-Spektrum war die Bestimmung von $t_{1/2}$ bei Raumtemperatur zu *ca.* 70 s möglich.

Zusammenfassend gelang durch Anwendung der HPLC-CD-Analytik auf das konfigurativ semi-stabile Bis[10]paracyclophan **302** die stereochemische Charakterisierung einer Substanz im Grenzbereich zwischen *meso* und C_1 . Aufgrund der niedrigen Rotationsbarriere an der Biaryl-Achse verhält sich **302** makroskopisch bei Raumtemperatur wie eine *meso*-Verbindung, ist also optisch inaktiv. Trotzdem ist es bei niedrigen Temperaturen möglich, die C_1 -symmetrischen und damit chiralen Atrop-Enantiomere zu trennen und deren Absolutkonfiguration zu ermitteln.^[316] Dieses Anwendungsbeispiel verdeutlicht somit eindrucksvoll den Wert der angewandten Kopplung von HPLC mit CD-Spektroskopie, vor allem bei der Untersuchung konfigurativ semi-stabiler Analyten.

7 Zusammenfassung

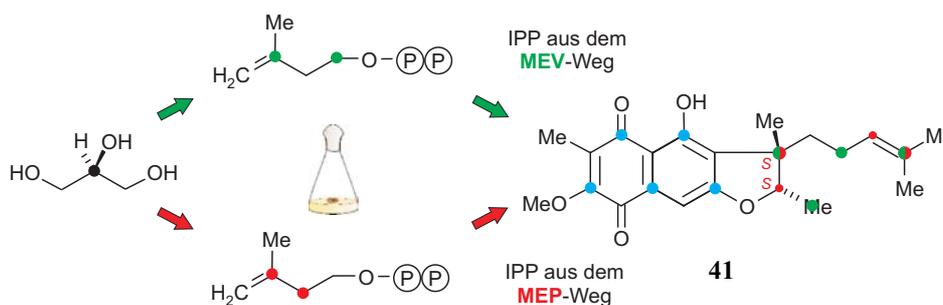
Die Natur entwickelte im Laufe der Evolution eine unvorstellbare Vielfalt an unterschiedlichsten Lebewesen. Viele diese Organismen besitzen die Fähigkeit, biologisch aktive Sekundärstoffe zu produzieren, die ihnen im täglichen Überlebenskampf einen Vorteil gegenüber ihren Konkurrenten bieten. Die Effizienz, mit der solche Naturstoffe in lebenden Organismen biosynthetisch dargestellt werden, wurde von der organisch-chemischen Synthese bislang nicht annähernd erreicht. Die Untersuchung von Biosynthese-Routen verspricht daher nicht nur die Entdeckung wissenschaftlich interessanter Phänomene, sondern bietet zudem die Chance, von der Natur zu lernen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen dabei deutlich, dass sowohl die genaue Analyse des Aufbaus bereits lange bekannter Metabolite, wie z.B. des Furanonaphthochinons I (**41**, FNQ I) oder des Chrysophanols (**53a**), als auch die Untersuchung der Biosynthese strukturell neuartiger Sekundärstoffe, wie etwa des Sorbicillactons A (**17**), von großem Interesse sein können. Die gewonnenen Informationen können dann zur optimierten biotechnologischen oder synthetischen Produktion viel versprechender bioaktiver Substanzen genutzt werden.

Auch die Gewinnung neuer Substanzen aus der Natur, z.B. als Leitstrukturen für die Pharmaforschung, ist ein lohnendes Ziel. Eine stete Verbesserung der Methoden zur Charakterisierung von Naturstoffen, z.B. unter Anwendung von Online-Analyse-Verfahren, hilft dabei, die gezielte Entdeckung noch unbekannter Metabolite schneller und einfacher zu gestalten. Für die Aufklärung der Konstitution von Substanzen nützlich ist hier vor allem die Kopplung von HPLC mit NMR und MS, wie beispielsweise im Rahmen der Identifizierung von Secohyperforin (**40**) und neuer mariner Macrolactame vom Typ **275** gezeigt. Die Kombination von HPLC mit CD bietet zudem die Chance zur effizienten Aufklärung der absoluten Stereostruktur chiraler Verbindungen direkt am Peak im Chromatogramm.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Isolierung, die biosynthetische und strukturelle Charakterisierung sowie die Produktion bioaktiver Sekundärstoffe unter Anwendung und Weiterentwicklung unterschiedlichster Konzepte und Methoden der Naturstoffchemie. Die vielfältigen Ergebnisse sind das Resultat von interdisziplinären Kooperationen innerhalb des SPP 1152 (DFG Schwerpunktprojekts 'Evolution metabolischer Diversität') und des vom BMBF geförderten Exzellenzzentrums *BIOTEC*marin ('Nachhaltige Nutzung mariner Schwämme').

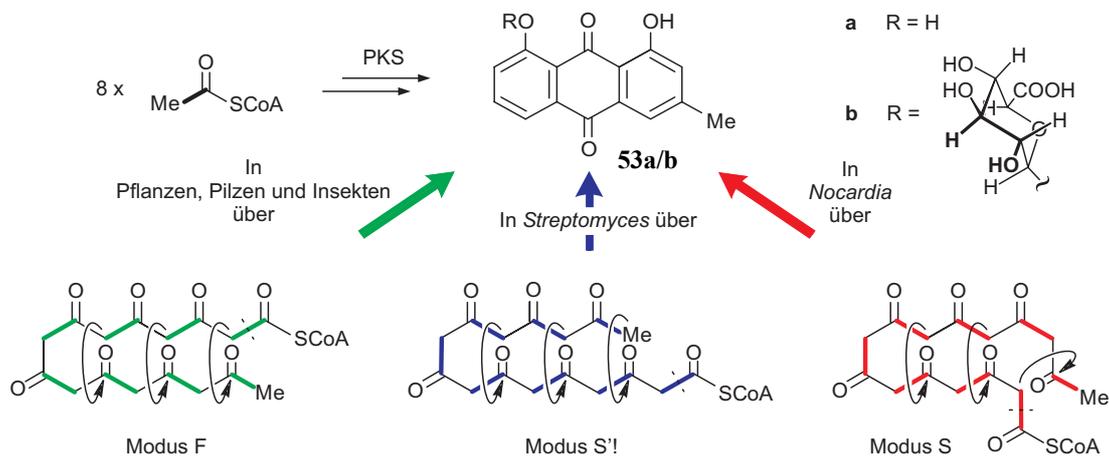
Im Einzelnen wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. L. Heide (Universität Tübingen) gelang die Aufklärung des biosynthetischen Ursprungs der Prenylbausteine des literaturbekannten bakteriellen Sekundärstoffs FNQ I (**41**). Durch Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat und 2- ^{13}C -Glycerol an den Produzenten dieser Verbindungen, *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042, war es erstmalig möglich, eine simultane Verwendung von IPP aus dem Mevalonat- (ca. 80% Beitrag) und aus dem MEP-Weg (ca. 20%) nachzuweisen *und* zu quantifizieren. Durch quantenchemische CD-Rechnungen und Vergleich des berechneten mit dem experimentellen CD-Spektrum von **41** wurde zudem die bislang unbekannte Absolutkonfiguration dieses Sekundärstoffes eindeutig als *S,S* bestimmt.

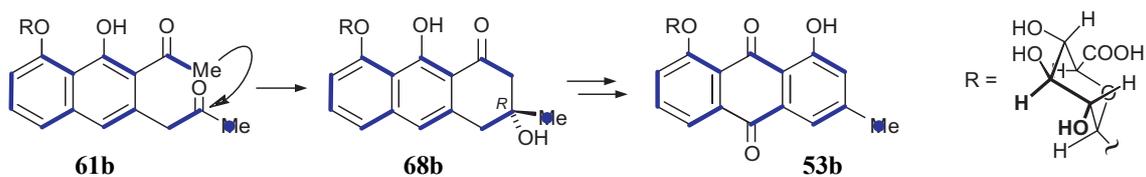


- In Zusammenarbeit mit den Arbeitsgruppen von Prof. M. Hilker (Freie Universität Berlin) und Prof. H.-P. Fiedler (Universität Tübingen) wurde die erste vergleichende Biosynthesestudie eines aromatischen Polyketids, Chrysophanol (**53a**), in unterschiedlichsten Organismen durchgeführt. So gelang der Beweis, dass **53a** in Eukaryoten (Pflanzen, Pilzen, Insekten) nach Modus F gefaltet wird, während in Prokaryoten (*Nocardia Acta* 1057) ein Aufbau nach Modus S stattfindet. Erste Hinweise im Rahmen der Fütterungsexperimente an *Nocardia Acta* 1057 auf die mögliche Existenz eines dritten, bislang gänzlich unbekanntem Faltungsmodus zu **53a** initiierten eine gezielte Suche nach weiteren potenziellen prokaryotischen Chrysophanol-Bildnern. So gelang in Kooperation mit H.-P. Fiedler *et al.* die Identifizierung von *Streptomyces* AK 671 als bakteriellem Produzenten von Chrysophanol (**53a**), hier in Form des Glucuronids **53b**. Die Biosynthese dieses neuen Naturstoffs verlief nach dem von uns postulierten, jedoch bis dahin nicht

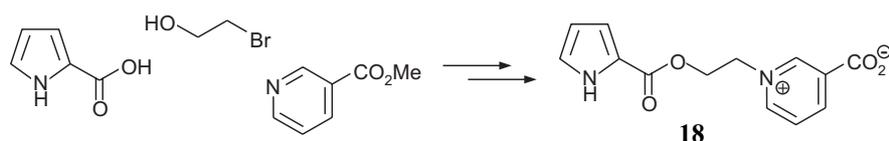
experimentell bewiesenen Modus S'. Chrysophanol (**53a**) wurde somit als erstes Beispiel für multiple biosynthetische Konvergenz im Bereich polyketidischer Naturstoffe etabliert. Insgesamt führen sogar drei unterschiedliche Biosyntheserouten zu ein und derselben Struktur!



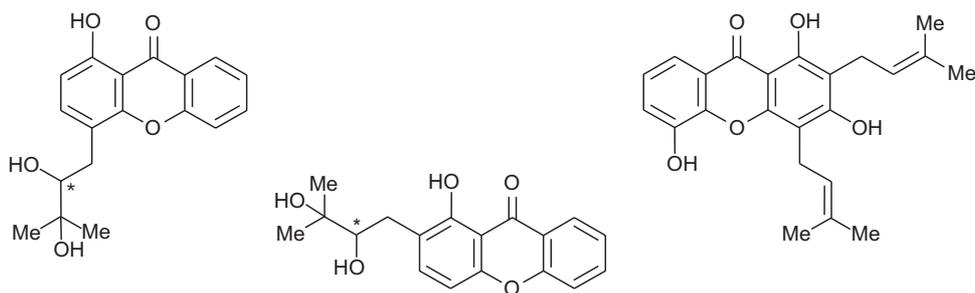
- Bei der Suche nach weiteren Chrysophanol-Produzenten gelang die strukturelle Charakterisierung einer Reihe neuer aromatischer Polyketide aus *Streptomyces* AK671, darunter Prächrysophanol- (**68b**) und Chrysophanol-Glucuronid (**53b**). Im Laufe der Fütterungsstudien zur Aufklärung der Biosynthese von **53b** wurde ein neuartiges bicyclisches Diketon, das sog. Harris-Franck-Keton (**61a**), als direkte biosynthetische Vorstufe von Chrysophanol in AK 671 nachgewiesen. Die Verbindung ist somit die erste als Naturstoff identifizierte bicyclische Vorstufe der Anthrachinon-Biosynthese. Bemerkenswert dabei ist, dass das Harris-Franck-Keton (**61a**) in Form seines Glucuronids **61b** trotz der fehlenden doppelten Aktivierung des an der Ausbildung des dritten aromatischen Rings beteiligten Kohlenstoffes zu **68b** cyclisiert, und schließlich in **53b** umgewandelt wird. Eine große Rolle bei dieser ungewöhnlichen biosynthetischen Umsetzung spielt wohl der *O*-glycosidisch gebundene Zucker-Rest.



- Für das neue, in der Arbeitsgruppe von Prof. E. Fattorusso (Università di Napoli, Italien) aus *Axinella damicornis* isolierte Pyrrol-Alkaloid Daminin (**18**), das in der Arbeitsgruppe von Prof. W.E.G. Müller (Universität Mainz) als potenzieller neuroprotektiver Wirkstoff erkannt wurde, wurde ein sehr kurzer synthetischer Zugang erarbeitet.

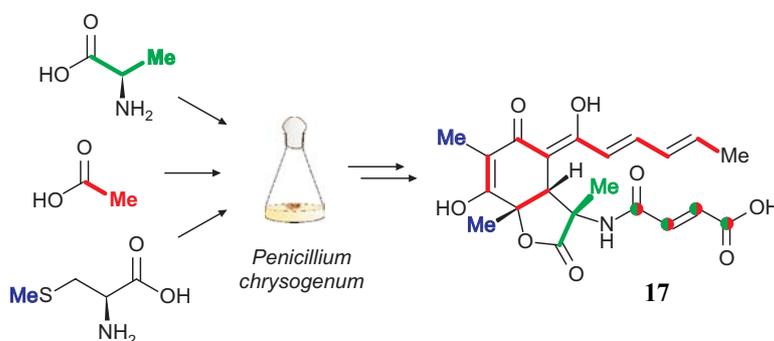


- Zur Darstellung potenziell Biofilm-hemmender Xanthon-Derivate wurden verschiedene Methoden etabliert. Die direkte Synthese polyhydroxylierter Xanthon-Derivate gelang mittels einer optimierten Grover-Shah-Shah-Reaktion. Durch Anwendung einer auf der Kondensation eines Lithiumorganyls mit einem Benzoessäureester basierenden Syntheseroute zur Darstellung von Benzophenonen sowie deren selektive *O*-Demethylierung und Cyclisierung zu den entsprechenden Polymethoxy-Xanthonen wurde ein alternativer Ansatz zur Gewinnung einer Vielzahl von Xanthon-Derivaten entwickelt. Des Weiteren wurden unterschiedliche Methoden zur selektiven *O*-Prenylierung, zur Umlagerung *O*-gebundener Prenylbausteine an verschiedene Positionen im Xanthon-Grundkörper und zur (stereoselektiven) Oxygenierung dieser Reste erarbeitet.

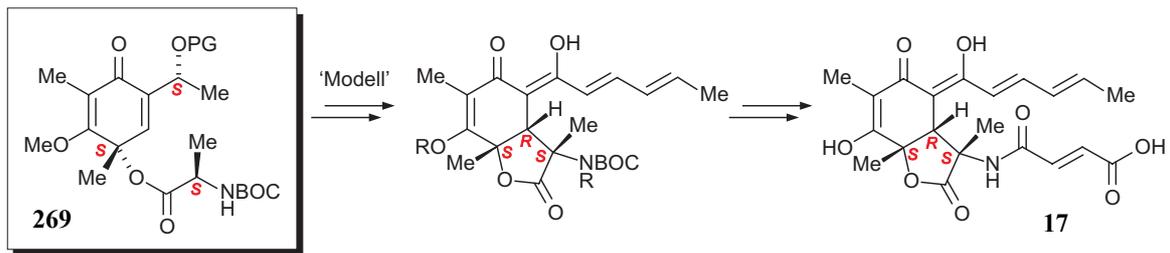


- Die Biosynthese des neuartigen antileukämischen Wirkstoffes Sorbicillacton A (**17**) wurde in enger Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. J. F. Imhof (IFM Geomar, Kiel) durch Applikation unterschiedlicher ^{13}C -markierter Vorstufen ($^{13}\text{C}_2$ -Acetat, ^{13}C -Methyl-Methionin, $^{13}\text{C}_3$ -Alanin), für die z.T. neue synthetische Zugänge

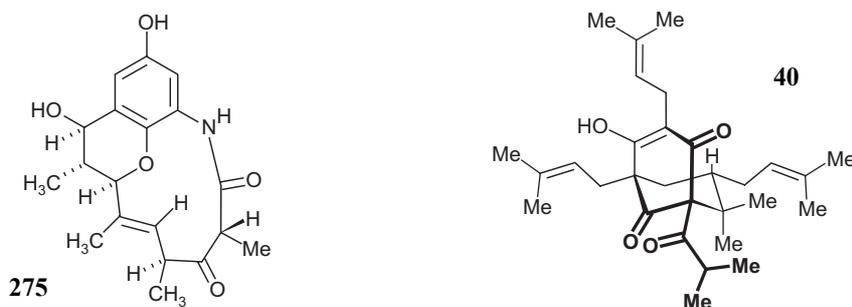
erschlossen werden mussten ($^{13}\text{C}_2$ -Sorbinsäure, $^{13}\text{C}_2$ -Sorbicillin), an *Penicillium chrysogenum* aufgeklärt. So gelang der eindeutige Beweis eines Einbaus von sechs Acetat-Einheiten in den Sorbicillin-abgeleiteten Molekülteil, eines intakten Alanin-Restes in den Lacton-Ring und zweier aus S-Adenosyl-Methionin stammender Methylgruppen. Bemerkenswert war hier vor allem der Nachweis eines diskreten Markierungsmusters im Sechsring von **17**. Diese Beobachtung schließt die Existenz einer im isocyclischen Ring symmetrischen Acetat-abgeleiteten Vorstufe in der Biosynthese von Sorbicillacton A (**17**) aus, da sonst zwingend eine Randomisierung der C_2 -Einheiten in diesem Molekülteil erfolgen müsste.



- Für eine vom biologischen System unabhängige Gewinnung von Sorbicillacton A (**17**) wurden unterschiedliche Routen zur synthetischen Darstellung der Verbindung untersucht. Neben einer biomimetischen Variante überprüfte man anhand von Modellsystemen auch diverse andere totalsynthetische Ansätze. So gelang etwa die Darstellung eines fortgeschrittenen Intermediates **269**, das bereits die wichtigsten Funktionalitäten des späteren Naturstoffs trägt. Die entwickelte Syntheseroute bietet die Chance eines vollständig stereoselektiven Aufbaus dieser Zwischenstufe. Die ausgehend von **269** zur Fertigstellung des Naturstoffes geplanten Umsetzungen wurden überwiegend bereits an Modellsystemen etabliert. Die im Laufe der vorliegenden Arbeit geleisteten Untersuchungen tragen somit entscheidend zur ersten stereoselektiven Totalsynthese von Sorbicillacton A (**17**) bei.

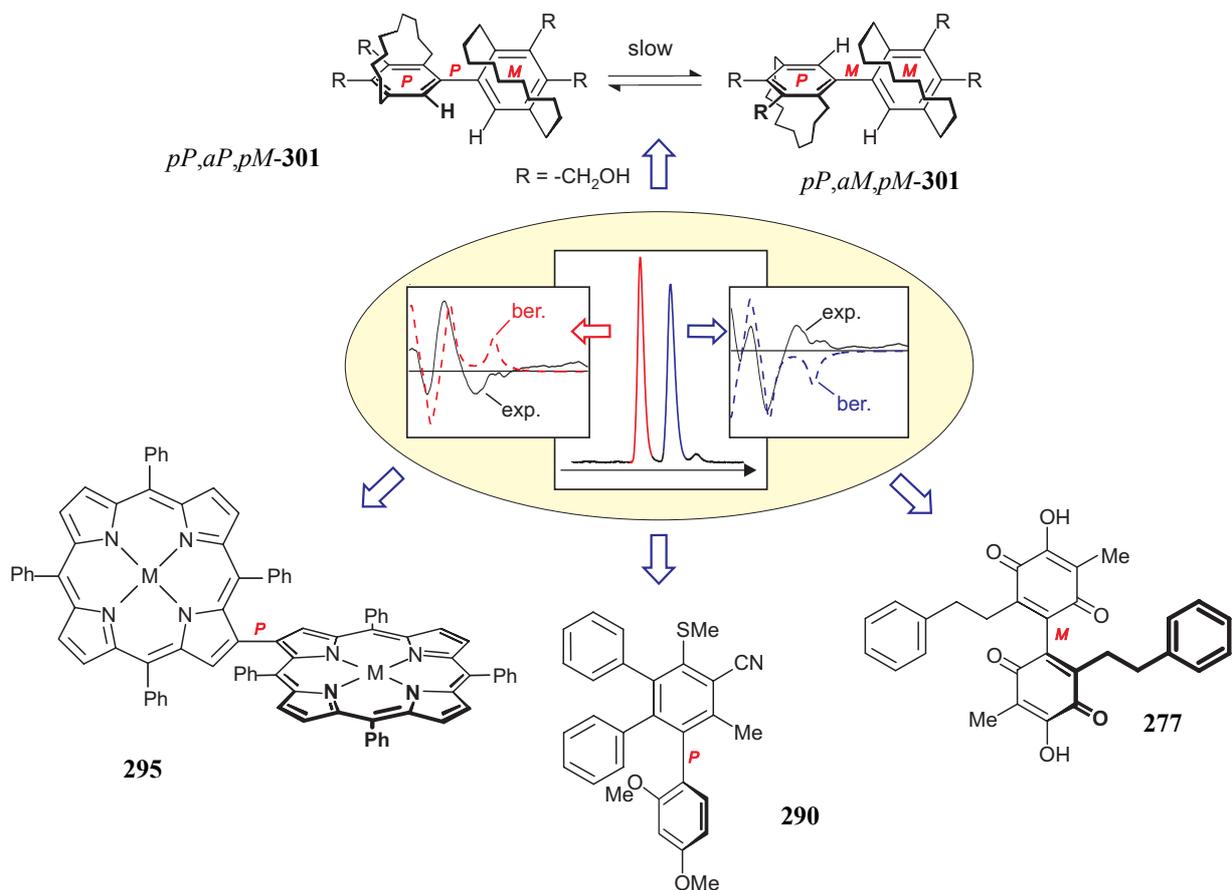


- In enger Kooperation mit der Arbeitsgruppe von PD Dr. U. Hentschel (Universität Würzburg) gelang die Isolierung und Charakterisierung strukturell neuartiger Macrolactame wie **275** aus einem bislang nicht beschriebenen marinen Bakterium. Das biologische Potenzial dieser Substanzklasse wird momentan in eingehenden Bioaktivitäts-Untersuchungen in der Gruppe von U. Hentschel erschlossen. Auch in Zusammenarbeit mit Prof. L. Beerhues (Universität Saarbrücken) glückte die Identifizierung eines bislang unbekanntes, potentiellen Wirkstoffes: Durch Anwendung von HPLC-MS/MS- und HPLC-NMR-Kopplung unter Verwendung eines Cryo-NMR-Probenkopfes gelang erstmalig die Aufnahme von Online-HSQC- und Online-HMBC-Spektren und so die Aufklärung der Konstitution des neuen, chemisch labilen Sekundärstoffes Secohyperforin (**40**) aus *Hypericum perforatum* ohne dessen Isolierung.



- Zur effizienten stereochemischen Charakterisierung einer Reihe von Naturstoffen und synthetischen Produkten wurden unterschiedliche Methoden für deren Trennung mittels HPLC an chiraler Phase und deren Analyse durch Online-CD-Spektroskopie entwickelt. So gelang, unterstützt durch quantenchemische CD-Rechnungen aus der computerchemischen Abteilung unseres Arbeitskreises, die Aufklärung der Absolutkonfiguration der strukturell neuartigen Parvistemine, wie z.B. **277** und axial chiraler Quateraryle des Typs **290** sowie die stereochemische Charakterisierung der

neuen Substanzklasse intrinsisch axial-chiraler Bisorphyrine wie **295**. Ferner durchgeführt wurden kinetische Untersuchungen zu deren Rotationsbarriere und die Analyse des chiroptischen Verhaltens konstitutionell symmetrischer, konfigurativer semi-stabiler Bis[10]paracyclophane wie **301**.



Zusammenfassend wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit wertvolle Beiträge zum Verständnis der Biosynthese von Naturstoffen in unterschiedlichen Organismen, zur organisch-chemischen Wirkstoff-Synthese sowie zur Analytik neuartiger Verbindungen geleistet. Die erzielten Ergebnisse bilden die Basis für eine Vielzahl zukünftiger Forschungsarbeiten unserer Arbeitsgruppe, wie etwa die Untersuchung von Struktur und Reaktivität der in der Chrysophanol-Biosynthese beteiligten Polyketid-Synthasen oder die erste Totalsynthese des antileukämischen Alkaloids Sorbicillacton A (**17**).

8 Summary

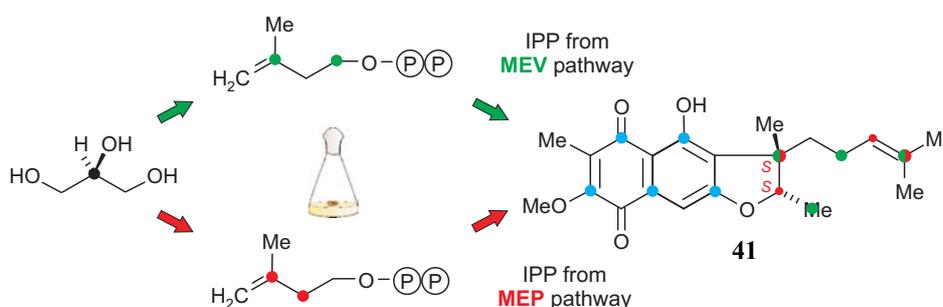
In the course of evolution nature has developed an unimaginable abundance of most diverse creatures. Most of these organisms produce biologically active secondary metabolites, which give them advantages over their competitors in their daily fight for survival. The efficiency of the biosynthesis of such natural products in living organisms has by far not been reached by organic-chemical synthesis. The investigation of biosynthetic routes therefore does not only promise to discover academically interesting phenomena, but additionally provides the chance to learn from nature. The results of the work presented here clearly show that both, the analysis of pathways to long-known metabolites, like, *e.g.*, furanonaphthoquinone I (**41**, FNQ I) or chrysophanol (**53a**), as well as investigations on the biosynthesis of structurally unprecedented, novel secondary metabolites, like, *e.g.*, sorbicillactone A (**17**), can be of particular interest. The information thus obtained can then be utilized for an optimized biotechnological or synthetic production of promising biologically active compounds.

The extraction of novel substances from natural sources, *e.g.*, as lead structures for pharmaceutical research, is likewise a rewarding goal. The continuous improvement of methods for the characterization of natural products, *e.g.*, by application of online analytical methods, helps to accelerate and to simplify the directed discovery of as yet unknown metabolites. To elucidate the constitutions of compounds, the hyphenation of HPLC with NMR and MS is of particular value, as it becomes obvious from the identification of secohyperforin (**40**) and of new marine macrolactams like **275**. The combination of HPLC and CD additionally offers the possibility to elucidate full absolute stereostructures of chiral compounds directly from the peak in the chromatogram.

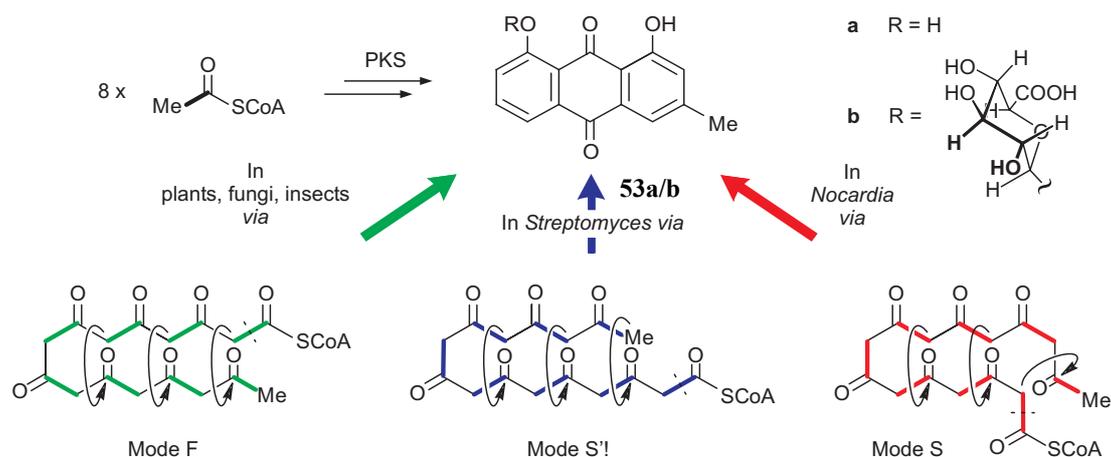
The aim of the present work was the isolation, characterization, and production of secondary metabolites by applying und further developing diverse concepts and methods of natural products chemistry. The versatile findings are the result of interdisciplinary cooperations within the SPP 1152 (DFG priority programme 'Evolution of Metabolic Diversity') and the BMBF-funded center of excellence *BIOTEC*marin ('Sustainable Use of Marine Sponges').

In detail, the following results were obtained:

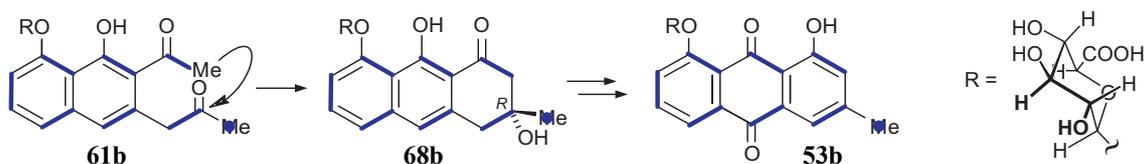
- In cooperation with the group of Prof. L. Heide (Universität Tübingen) the elucidation of the biosynthetic origin of the prenyl building blocks of the bacterial secondary metabolite FNQ I (**41**) was achieved. By feeding $^{13}\text{C}_2$ -acetate and 2- ^{13}C -glycerol to the producing organism of these compounds, *Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042, the simultaneous incorporation of IPP from the mevalonate (approx. 80% contribution) and from the MEP pathway (approx. 20%) into a single bacterial natural product was proven *and* quantified for the first time. By comparison of the experimental CD spectra of **41** with the CD curves quantum chemically calculated, the as yet unknown absolute configuration of this secondary metabolite was unambiguously elucidated.



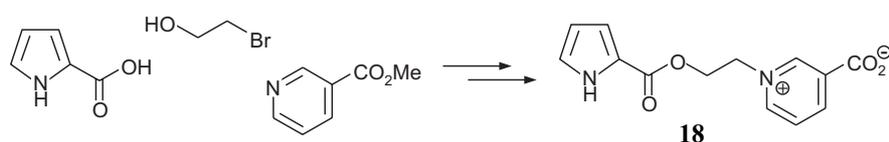
- In collaboration with the groups of Prof. M. Hilker (Freie Universität Berlin) and Prof. H.-P. Fiedler (Universität Tübingen), the first comparative biosynthetic study of a single aromatic polyketide, chrysophanol (**53a**), produced by diverse organisms was carried out. It was unambiguously shown that **53a** is mode-F folded in eukaryotes (plants, fungi, insects), while in prokaryotes (*Nocardia* Acta 1057) it was built up following mode S. First hints during the feeding experiment on *Nocardia* Acta 1057 towards the possible existence of a third, as yet unprecedented folding mode to **53a** initiated a directed search for further prokaryotic chrysophanol producers. In cooperation with H.-P. Fiedler *et al.* the identification of *Streptomyces* AK 671 as a bacterial producer of chrysophanol (**53a**), in this case in form of its glucuronide **53b**, was achieved. The biosynthesis of this new natural product followed our postulated, but as yet not experimentally proven mode S'. Chrysophanol (**53a**) was thus established as the first example of multiple convergence in the field of polyketidic natural products. Overall, even three different acetogenic biosynthetic routes lead to the same molecular structure!



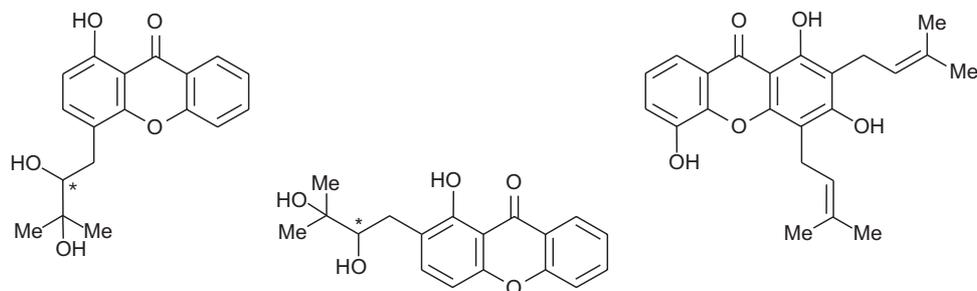
- During the quest for additional chrysophanol producers the structural characterization of a number of new aromatic polyketides from *Streptomyces* AK 671 succeeded, among them prechrysophanol (**68b**) and chrysophanol glucuronide (**53b**). In the course of the feeding experiments aiming at the elucidation of the biosynthesis of **53b**, a novel bicyclic diketone, the so-called 'Harris-Franck ketone' (**61a**), was proven to be a direct biosynthetic precursor of chrysophanol derived from AK 671. This compound is thus the first bicyclic precursor of anthraquinone biosynthesis that has been isolated as a natural product. Remarkably, the Harris-Franck ketone (**61a**), in the form of its glucuronide **61b**, is cyclized to give **68b** and finally **53b**, despite the lacking two-fold activation of the carbon atom involved in the formation of the third aromatic ring. The *O*-glucosidically bound sugar moiety plays a crucial role during this exceptional biochemical transformation.



- The new pyrrole alkaloid daminin (**18**), which was isolated from *Axinella damicornis* in the group of Prof. E. Fattorusso (Università di Napoli, Italy) and recognized as a potential neuroprotective agent in the group of Prof. W.E.G. Müller (Universität Mainz), was prepared by establishing an efficient and short synthetic approach.

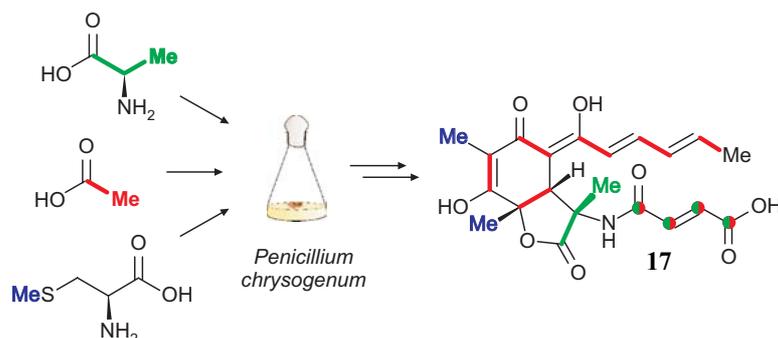


- Several methods for the preparation of potential biofilm inhibiting xanthone derivatives were developed. The direct synthesis of polyhydroxy-substituted xanthone derivatives was achieved following an optimized Grover-Shah-Shah reaction. By application of a synthetic route based on the condensation of lithiumorganyls with benzoic acid esters to give the respective benzophenons, followed by their regioselective *O*-demethylation and cyclization to the respective polymethoxy xanthenes, an alternative strategy for the production of a broad variety of xanthone derivatives was established. Furthermore, different protocols for the selective *O*-prenylation, rearrangement of the prenyl moiety into distinct positions of the generated xanthone core, and the (stereoselective) oxygenation of these residues were developed.

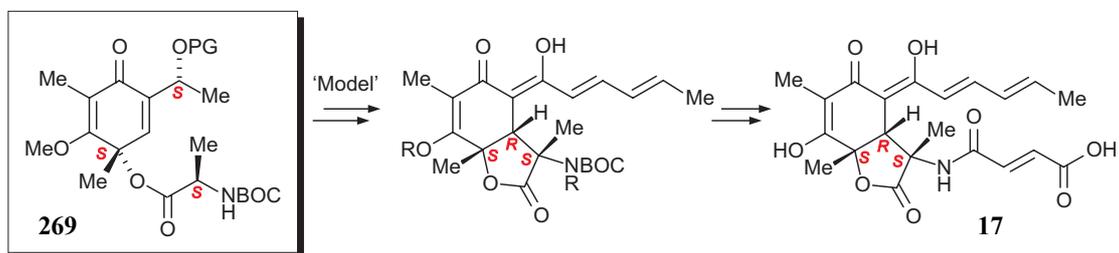


- The biosynthesis of the novel-type antileukemic agent sorbicillatone A (**17**) was established in a close cooperation with the group of Prof. J.F. Imhoff (IFM Geomar, Kiel) by application of different ^{13}C -labeled precursors ($^{13}\text{C}_2$ -acetate, ^{13}C -methyl methionine, $^{13}\text{C}_3$ -alanine) to *Penicillium chrysogenum*. For some of these precursors ($^{13}\text{C}_2$ -sorbic acid, $^{13}\text{C}_2$ -sorbicillin), new synthetic approaches had to be developed. Thus, the incorporation of six acetate units into the sorbicillin-derived molecular part, of an intact alanine residue into the lactone ring and of two S-adenosyl-methionine-derived methyl groups into **17**

was proven. Remarkably, a defined labeling pattern of the six-membered ring of **17** was detected. This observation excludes the existence of a symmetric acetate-derived precursor of the isocyclic ring in the biosynthesis of sorbicillactone A (**17**), as the feeding experiments should otherwise have clearly led to a scrambling of the C₂ units in this molecular portion.

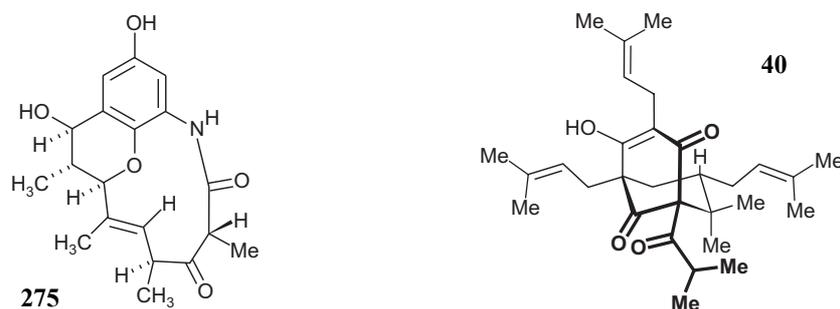


- For the production of sorbicillactone A (**17**) independent from the biological system, different routes for the synthetic preparation of this compound were investigated. Besides a biomimetic alternative, diverse total synthetic approaches were validated using model systems. Furthermore, the preparation of a late intermediate **269**, which already carries the most important functionalities of the natural product, was achieved. The synthetic route developed to generate **269** can be applied for a full stereoselective construction of this intermediate. The synthetic transformations still needed to finalize the synthesis of the natural product starting from **269** have predominantly been established for model compounds. The work presented here thus decisively contributes to the first, moreover stereoselective total synthesis of sorbicillactone A (**17**).

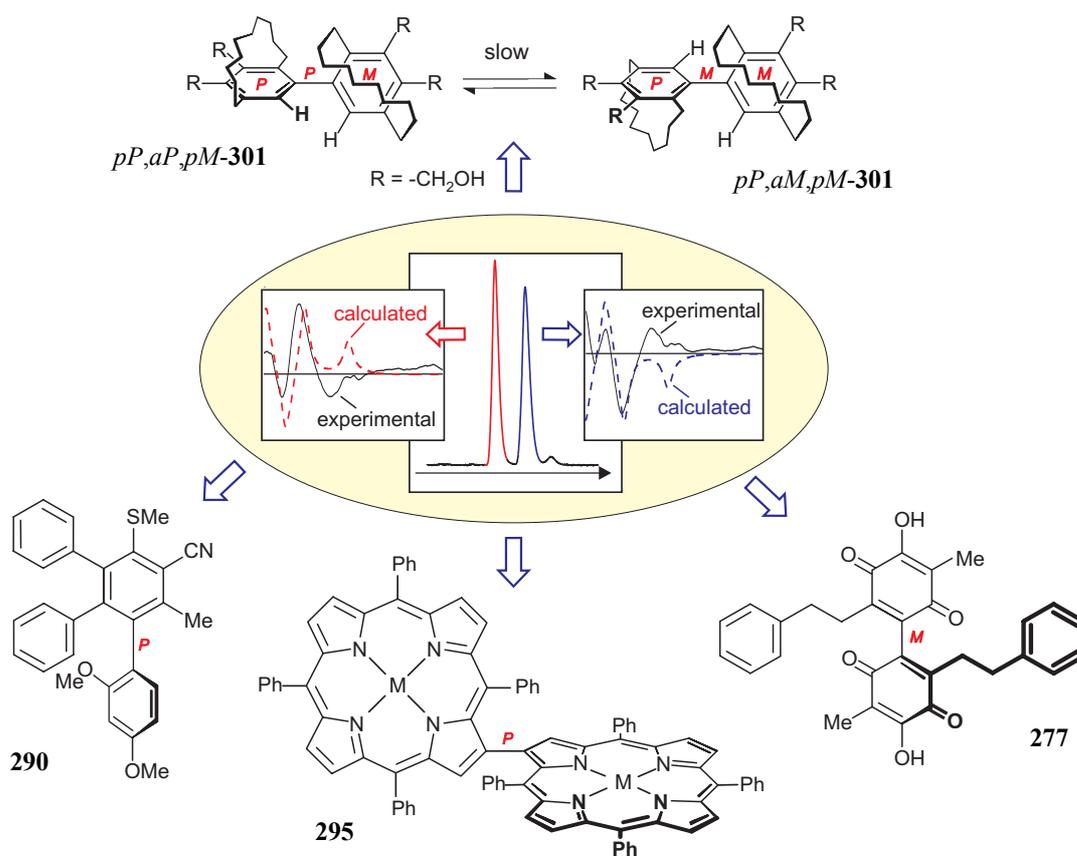


- In a close collaboration with the group of PD Dr. U. Hentschel (Universität Würzburg) the isolation and characterization of structurally unprecedented macrolactams, like, e.g., **275**, derived from an as yet unknown marine bacterium was achieved. The biological

potential of this class of compounds is currently investigated by in-depth bioactivity studies in the Hentschel group. In cooperation with Prof. L. Beerhues (Universität Saarbrücken) the identification of a likewise unknown potentially bioactive agent was achieved: by hyphenation of HPLC-MS/MS and HPLC-NMR using a NMR cryo probe it was for the first time possible to generate online-HSQC *and* online-HMBC spectra and thus to elucidate the full constitution of the new, chemically labile secondary metabolite secohyperforin (**40**) from *Hypericum perforatum* without isolation.



- For an efficient stereochemical characterization of a plethora of natural and synthetic products several methods for their separation by HPLC on a chiral phase and their analysis by online CD spectroscopy were developed. Supported by quantum chemical CD calculations carried out by the theoretical division of our research group, the absolute configurations of the structurally unprecedented parvistemins, *e.g.*, **277** and of axially chiral quateraryls **290**, the stereochemical characterization of the new class of intrinsially axially chiral bisporphyrins, like, *e.g.*, **295**, and kinetic studies on their rotational stability, and the analysis of the chiroptical behaviour of constitutionally symmetric, configurationally semi-stable bis[10]paracyclophanes, like, *e.g.*, **301**, was successfully accomplished.



In conclusion valuable contributions to the understanding of the biosyntheses of natural products in diverse organisms, to the organic-chemical synthesis of biologically active agents, and to the analysis of novel compounds have been achieved in the work presented here. The results obtained pave the way for a variety of future research projects of our group, like, *e.g.*, investigations on the structure and reactivity of polyketide synthases involved in the biosynthesis of chrysophanol or the first total synthesis of the antileukemic alkaloid sorbicillactone A (**17**).

EXPERIMENTELLER TEIL

1 Allgemeine Methoden

1.1 Verwendete Apparaturen und Messgeräte

Gefriertrocknung: Zur Trocknung wässriger Proben wurde das Gerät Alpha 1-4 der Fa. *Christ*, mit einer Vacuubrand-RD-8-Pumpe der Fa. *Brand* verwendet.

Zentrifugation: Es wurden die DUPont-Geräte Microspin 12S und Sorvall[®] RC-5B (Kendro Laboratory Products GmbH, Hanau) verwendet.

Homogenisator: Die Zerkleinerung von Biomaterial (z.B. Pilz- und Bakterienzellen) wurde mit einem ULTRA-TURRAX T25 (Janke & Kunkel GmbH & Co. KG IKA-Labortechnik, Deutschland) durchgeführt.

Schmelzpunkte (Schmp.): Die Schmelzpunkte wurden an einem Thermovar-Kofler-Heiztisch-Mikroskop der Fa. *Reichert-Jung/Leica-Microsystems AG* bestimmt. Die angegebenen Werte sind nicht korrigiert.

Ultraviolettspektren (UV): Die Messung der UV-Spektren wurde an einem CARY-50-Conc-UV-vis-Spektrophotometer der Fa. *Varian* in dem angegebenen Lösungsmittel bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Wellenlängen (λ) und Intensitäten ($\log \epsilon$) der Absorptionsmaxima sind angegeben.

Infrarotspektren (IR): Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte mit einem *Jasco-FT-410*-Spektrometer. $\tilde{\nu}$ bezeichnet die Wellenzahl. Die Intensitäten der Absorptionsbanden sind gekennzeichnet durch: s = stark, m = mittel, w = schwach und br = breit. Die IR-Spektren wurden bei Raumtemperatur und entweder mit Hilfe von Natriumchlorid-Platten, die mit einer Dichlormethan-Lösung des Analyten überzogen waren, oder mit einem KBr-Pressling, der die entsprechende Substanz enthielt, vermessen.

Kernresonanzspektren (¹H-NMR, ¹³C-NMR): Die ¹H-NMR-Spektren wurden an den Spektrometern Avance 250 und 400 sowie an einem DMX 600 (250, 400 und 600 MHz), die ¹³C-NMR-Spektren an den Spektrometern Avance 400 und DMX 600 (100 und 150 MHz) der Fa. *Bruker* bei Raumtemperatur aufgenommen. Bei den Messungen an dem DMX-600-Spektrometer wurde zum Teil ein ¹³C-empfindlicher Cryo-Probenkopf der Fa. *Bruker* verwendet. Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der δ -Skala angegeben und beziehen sich auf $\delta_{\text{TMS}} = 0$. Zur Kalibrierung der ¹H-NMR-Spektren dienen die Resonanzsignale der Restprotonen der verwendeten deuterierten Lösungsmittel als interner Standard [z.B. $\delta(\text{CDCl}_3) = 7.23$, $\delta(\text{MeOD}) = 3.31$, $\delta\text{-Aceton-d}_6 = 2.05$] und bei den ¹³C-NMR-Spektren die entsprechenden ¹³C-Resonanzsignale [$\delta(\text{CDCl}_3) = 77.23$, $\delta(\text{MeOD}) = 49.15$, $\delta\text{-Aceton-d}_6 = 29.8$]. Die Messung und Auswertung der Spektren erfolgte entweder mit der XWIN-NMR- oder der TopSpin-Software (beide Fa. *Bruker*). Die Signalmultiplizitäten sind wie folgt abgekürzt: Singulett = s, Dublett = d, doppeltes Dublett = dd, Triplett = t, doppeltes Triplett = dt, Quartett = q, doppeltes Quartett = dq, Quintett = qui, doppeltes Quintett = dqui, Septett = sep, Multiplett = m, zentriertes Multiplett = m_c . Die Angabe der Kopplungskonstanten J erfolgte in Hertz (Hz). Zur Aufnahme von HPLC-NMR-Spektren wurde ein inverser (¹H, ¹³C)-60- μ L-Durchflussprobenkopf mit z-Gradientenspule oder, bei gleichzeitiger Verwendung des oben genannten Cryo-Probenkopfes, ein Cryofit-Durchflusseinsatz benutzt (beide Fa. *Bruker*).

Massenspektren (MS): Elektronenstoß-Massenspektren (EI) und hochauflösende Elektronenstoß-Massenspektren (HREIMS) wurden mit dem Spektrometer *Finnigan* MAT-8200 bei einem Ionisationspotenzial von 70 eV aufgenommen. Die in Klammern gesetzten Zahlen geben die Intensität der entsprechenden Signale bezogen auf den Basispeak ($I = 100\%$) an. Die Messung der CI-, DCI- und FAB-Spektren erfolgte mit Hilfe des Geräts *Finnigan* MAT-90, unter Verwendung von *i*Butan, Methan oder Ammoniak als Ionisationsgas. Zur Aufnahme von Elektrosprayionisations-Massenspektren (ESIMS) wurde, sowohl in Kopplung mit der HPLC (HPLC-MS mit *Agilent*-1100-HPLC-System) als auch im stand-alone-Betrieb, entweder eine *Agilent* Ionenfalle 1100SL (Kapillarentemperatur: 350 °C; ESI-Spannung: 3.5 kV; N₂ als Hilfsgas) oder ein Time-of-Flight-Massendetektor (micrOTOF, *Bruker Daltonik*) verwendet.

Drehwerte: Zur Ermittlung der optischen Aktivitäten diente ein Polarimeter P-1020 der Fa. *Jasco*, wobei direkt bei der Natrium-D-Line ($\lambda = 589 \text{ nm}$) gemessen wurde. Die Angabe der ermittelten Drehwerte erfolgt in $^{\circ}$.

Circulardichroismus (CD): Offline-CD-Spektren wurden an einem J-715-Spektropolarimeter (Fa. *Jasco*) aufgenommen und mit der dazugehörigen *Jasco*-Software verarbeitet. Die Scangeschwindigkeit betrug (wenn nicht anders angegeben) 200 nm/min bei einer Bandbreite von 1 nm. Die differentiellen Absorptionskoeffizienten $\Delta\epsilon$ [cm^2/mol] bei einer bestimmten Wellenlänge λ [nm] wurden im angegebenen Lösungsmittel bestimmt. Von den gemessenen Spektren wurde zur Korrektur jeweils das entsprechende Lösungsmittelspektrum abgezogen.

1.2 Chromatographische Methoden

Dünnschichtchromatographie (DC): Für die Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel-Aluminiumfolien-60-F₂₅₄ mit einer Schichtdicke von 0.2 mm der Firma *Merck* verwendet. Die Detektion erfolgte je nach Anforderung durch Fluoreszenzlöschung bei 254 nm, durch Anregung der Eigenfluoreszenz bei 366 nm sowie durch Bedampfung mit Iod (reduzierende Verbindungen) oder durch Färbung mit Anisaldehyd-Lösung oder Dragendorff-Reagenz. Zum Anschärfen des Startflecks wurde reines Methanol verwendet.

Säulenchromatographie (SC): Als Säulenfüllmaterialien wurden das Adsorberharz XAD-20, Sephadex-LH20-Material (jeweils Fa. *Amersham*) sowie Kieselgel der Fa. *Merck* verwendet.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC): Die Analyse von Proben mittels HPLC wurde auf einer computergesteuerten Anlage der Firma *Jasco* durchgeführt (Entgasungseinheit DG-1580, Mischer LG-1580, Pumpe PU-1580, Säulenofen CO-1560, Probenwechsler AS-1555, Diodenarraydetektor MD-1510). Zusätzlich waren ein Fluoreszenzdetektor RF-67 der Fa. *Shimadzu* und ein Lichtstredetektor (ELSD) Sedex 75 der Fa. *Sedere* in Serie geschaltet. Zur Auswertung der Messergebnisse wurde das Borwin-Programmpaket der Fa. *Jasco* verwendet. Die verwendeten Lösungsmittelsysteme, Gradienten und Säulen sind in den entsprechenden Kapiteln detailliert dargestellt.

Präparative HPLC-Trennungen wurden entweder an einer Anlage bestehend aus einer *Waters-600E*-Pumpe, einem *Rheodyne-7125i*-Injektor und einem *Waters-996*-Diodenarraydetektor, oder an einem System der Fa. Jasco (zwei *PU-2087Plus*-Pumpen, Mischer, *Rheodyne-7125i*-Injektor, *MD-2010Plus-DAD*-Detektor) durchgeführt. Die Steuerung der Geräte und Auswertung der Chromatogramme erfolgte mittels PC, entweder mit der *Millenium*- (*Waters*) oder der *Borwin*-Software (*Jasco*). Die verwendeten Lösungsmittelsysteme, Gradienten und Säulen sind in den entsprechenden Kapiteln aufgeführt.

Die produkthaltigen Fraktionen aus der präparativen HPLC wurden vereinigt und der Acetonitrilanteil im Vakuum abgedampft. Zur Abtrennung der Trifluoressigsäure aus dem HPLC-Eluens wurde die Lösung anschließend durch eine mit Methanol und Wasser vorkonditionierte *RP-18*-Kartusche (*Merck*, mit 500 mg *RP-18*-Material) gesaugt. Nach Waschen mit etwas Wasser wurden die am Adsorbens gebundenen Substanzen mit Methanol eluiert. Alternativ wurden die nach Abdampfen des Acetonitrils gewonnenen wässrigen Phasen erschöpfend mit Dichlormethan extrahiert. Der so gewonnene organische Extrakt wurde mit MgSO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

HPLC-MS-Kopplung: Für HPLC-MS-Untersuchungen wurden die Massendetektoren (*Agilent-1100-SL*-Ionenfalle oder *Bruker-Daltonik-microTOF*) an ein *Agilent-1100-HPLC*-System angeschlossen. Die Steuerung der Systeme erfolgte entweder mit *ChemStation* (*Agilent*) oder *HyStar* (*Bruker*). Zur Vermessung der Proben wurden jeweils die entsprechenden Gradienten und Säulen aus der analytischen HPLC verwendet, allerdings, zur Vermeidung des störenden Trifluoroessigsäure-Massenpeaks, unter Austausch des 0.05proz. TFA-Puffers gegen 0.2proz. Ameisensäure (AS).

HPLC-NMR-Kopplung: Zur Kopplung eines der NMR-Durchflussprobenköpfe mit der HPLC-Anlage (*Agilent-1100*-Serie) wurde eine *Bruker-Peak-Sampling-Unit* mit 12 Speicherschleifen (*BPSU-12*) verwendet. Die Steuerung des Systems per PC erfolgte mittels der *HyStar*-Software (*Bruker*). Die NMR-Messungen wurden entweder mit der *XWIN-NMR*- oder der *TopSpin*-Software (beide Fa. *Bruker*) unter Verwendung von Standard-Pulsprogrammen, zum Teil mit WET-Lösungsmittelunterdrückung,^[373] und Automationsroutinen der Fa. *Bruker* durchgeführt.

Die verwendeten Lösungsmittelsysteme, Gradienten und Säulen sind in den entsprechenden Kapiteln detailliert dargestellt.

HPLC-CD-Kopplung: Das HPLC-System der Fa. *Jasco* bestand aus einer PU-1580-Pumpe, einem DG-2080-53-Entgaser und einem LG-980-02S-Gradientenmischer LG-980-02S ausgestattet mit einem *Rheodyne-7725i*-Injektionsventil, einem *Jetstream-2-Plus*-Säulenofen und einem UV-Detektor 7215 der Fa. *ERC*. Als CD-Detektor wurde ein J-715-Spektropolarimeter (*Jasco*) verwendet, das mit einer über ein Motorventil 7010 (Fa. *Besta*) geschalteten 5-mm-Standard-Flusszelle der Fa. *Jasco* betrieben wurde. Säulen, Lösungsmittelsysteme und UV-Messbereich wurden den Analyten entsprechend angepasst und sind in den jeweiligen Kapiteln detailliert beschrieben. Die Messung der Online-CD-Spektren erfolgte im Stopped-Flow-Modus mit drei Wiederholungen im angegebenen Wellenlängenbereich, mit einer Scangeschwindigkeit von 500 nm min^{-1} , einer Antwortzeit von 0.5 s und einer Bandbreite von 0.5 nm. Das aus diesen Messungen gemittelte Spektrum wurde durch Subtraktion des CD-Spektrums des jeweiligen Lösungsmittels basislinienkorrigiert und geglättet (mit einem Smoothing-Faktor von 5-9).

Fast Centrifugal Partition Chromatographie (FCPC): Für die Flüssig-Flüssig-Chromatographie wurde ein FCPC-System der Fa. *Kromaton*^[246] eingesetzt, welches je nach Menge der aufzureinigenden Substanz wahlweise mit einem 200-mL- oder einem 1-L-Rotor ausgestattet war. Die Zufuhr der Lösungsmittel erfolgte über eine P-400-Pumpe der Fa. *Latek*. Detektiert wurde mit einem Pro-Star-320-UV-Detektor (*Varian*) mit einer SuperPrep-Dualflusszelle (0.15 mm oder 4 mm). Die Probe wurde über ein 3725i-Ventil (*Rheodyne*) ausgestattet mit einer 20-mL-Stahlprobenschleife aufgegeben und die eluierten Fraktionen mit einem FC-I-Fraktionssammler (*Dynamax*) gesammelt.

Mitteldruck-Flüssigchromatographie (MPLC): Das System bestand aus einem *Rheodyne-5020*-Low-Pressure-Probenventil mit einer 10-mL-Probenschleife und einer *Knauer-Pumpe-64*. Die Trennungen erfolgten an Lobar-Fertigsäulen (25 x 310 mm; LiChroprep RP-18, 40-63 μm , Größe B) der Fa. *Merck* und an einer 6 m langen Sephadex-LH-20-Säule.

1.3 Chemikalien

Lösungsmittel: Wasser (H₂O) für die HPLC wurde über eine Milli-Q-Anlage der Fa. *Millipore* gereinigt und entionisiert. Acetonitril für die HPLC (MeCN, HPLC gradient grade), Methanol (MeOH, Uvasolv) und Ethanol (EtOH, Uvasolv) für UV, CD und Drehwertbestimmung sowie Trifluoressigsäure (TFA) wurden gekauft (Fa. *Sigma-Aldrich*) und ohne weitere Reinigung verwendet. Dichlormethan (CH₂Cl₂), Isopropanol (*iso*-PrOH), Diethylether (Et₂O), Ethylacetat (EtOAc) und *n*-Hexan wurden vor Verwendung destilliert. Die HPLC wurden die Laufmittel entweder durch vorheriges 15-minütiges Einleiten, durch permanenten Eintrag von Helium während der Messung, oder durch Verwendung von mechanischen Entgaser-Einheiten entgast.

Sonstige Chemikalien: Stabilisotopen-markierte Vorstufen wurden von den Firmen *Eurisotop* (Saarbrücken, Deutschland) und *Sigma-Aldrich* bezogen. Die für die Synthesen verwendeten Reagenzien wurden, soweit nicht anders angegeben, bei der Fa. *Sigma-Aldrich* gekauft.

2 Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese isoprenoider Naturstoffe

2.1 Online-Strukturaufklärung von Secohyperforin (40) aus *Hypericum perforatum*

Spross-Kulturen von *H. perforatum* wurden in der AG Beerhues in Braunschweig nach einer literaturbekannten Methode etabliert^[374] und in einem modifizierten MS-Medium^[107] kultiviert. Zur Strukturaufklärung von Secohyperforin (**40**) wurde ein daraus hergestellter getrockneter methanolischer Extrakt nach Würzburg verschickt. Zur weiteren Analyse löste man 50 mg dieser Probe in 1 mL Methanol. Die so hergestellte Stammlösung wurde filtriert und online untersucht. Die Aufnahme von HPLC-MS/MS an der Agilent-1100-SL-Ionenfalle erfolgte nach Injektion von 10 µL der Stammlösung unter folgenden Bedingungen: Säule: Symmetry C₁₈ 4.6 x 200 mm (*Waters*); H₂O + 0.2% AS (A), MeCN + 0.2% AS, Fluss 0.8 mL/min, 0 min 50% B, 15 min 100% B, 35 min 100% B. Für die HPLC-NMR-Experimente wurden 100 µL der Stammlösung unter den gleichen Bedingungen, lediglich unter Verwendung vollständig deuterierter Laufmittel (D₂O und CD₃CN), chromatographisch getrennt. Die Retentionszeit von **40** betrug 19.6 min.

Secohyperforin (40)

LC-UV: λ_{\max} (nm) 271.

LC-MS (ESI, positiv): m/z 469 $[M+H]^+$.

LC-MS/MS (ESI, positiv, Mutter-Ion m/z 469): 413, 401, 345.

LC-MS (ESI, negativ): m/z 467 $[M-H]^-$.

LS-MS/MS (ESI, negativ, Mutter-Ion m/z 467): 398.

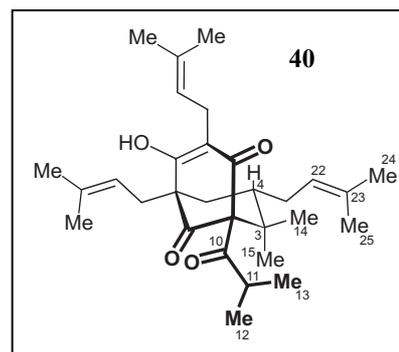


Tabelle 8. Online-NMR-Daten (^1H : 600 MHz; ^{13}C : 150 MHz) von Secohyperforin (**40**).

Position	^1H (ppm)	J (Hz)	^{13}C (ppm)	HMBC	NOESY
1			2		
2			2		
3			46.8		
4	1.49	<i>m</i>	43.8		14, 15
5	1.39 1.85 ¹	<i>m</i>	2		15
6			2		
7			2		
8			2		
9			2		
10			210.6 ³		
11	2.15	<i>br</i>	41.5 ³		12, 13
12	0.94	<i>d</i> (6.7)	21.6	10, 11, 13	11, 13
13	1.03	<i>d</i> (6.5)	20.9	10, 11, 12	11, 12
14	1.16	<i>s</i>	23.6	3, 4, 15	4, 15, 21, 25
15	0.93	<i>s</i>	16.0	3, 4, 14	4, 5, 14, 21, 25
21	2.07 ¹		27.5 ³		14, 15
22	4.96	<i>m</i>	123.6		24
23			133.8 ³		
24	1.64	<i>s</i>	25.7	22, 23, 25	22
25	1.53	<i>s</i>	17.7	22, 23, 24	14, 15
26	3.06	<i>d</i> (6.8)	22.2	32	27
27	5.04	<i>m</i>	121.8		27, 29
28			133.9 ³		
29	1.63	<i>s</i>	25.6	27, 28, 30	27
30	1.67	<i>s</i>	17.9	27, 28, 29	
31	2.40 2.47	<i>dd</i> (7.1, 14.9) <i>br</i>	30.1 30.1		
32	4.93	<i>m</i>	120.6		32
33			134.4 ³		
34	1.61	<i>s</i>	25.8	32, 33, 35	34
35	1.63	<i>s</i>	18.0	32, 33, 34	

¹ Die chemische Verschiebung wurde wegen Signal-Überlappungen im ^1H -Spektrum dem Online-NOESY-Spektrum entnommen; ² Signal nicht detektiert; ³ Chemische Verschiebung aus dem Online-HMBC-Spektrum abgelesen.

2.2 Aufklärung der Stereostruktur und der Biosynthese isoprenoider Metabolite aus *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042

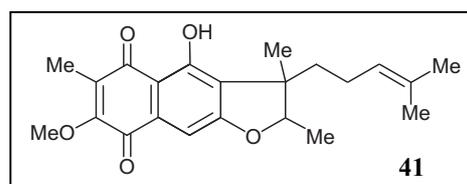
2.2.1 Ausarbeitung einer Methode zur Isolierung von FNQ I (41) und Endophenazine A (42)

S. cinnamomensis DSM 1042 wurde in der AG Heide in Tübingen in 50 mL eines YMG-Mediums bei 30 °C in einem Schüttelinkubator (190 rpm) für 48 Stunden angezogen. Jeweils 2.5 mL der Lösung dieser Vorkultur wurden zur Beimpfung von 20 x 50 mL Produktionsmedium bestehend aus Soja-Mehl (0.3%), NaCl (0.25%), CaCO₃ (0.15%), FeSO₄ x 7 H₂O (0.015%) und Glycerol (1%) in Leitungswasser bei pH 7 verwendet (Gesamtkulturvolumen 1 L). Die Fermentation erfolgte in einem Schüttelinkubator (190 rpm) bei 30 °C für 5 Tage.^[130]

Nach beendeter Kultivierung wurden die Zellen durch Zentrifugation (3500g, 10 min) vom Medium abgetrennt und mit 200 mL MeOH im Ultraschallbad 5 min extrahiert. Der Rohextrakt wurde mit 200 mL Acetat-Puffer (1 M, pH 4) verdünnt und mit 2 x 125 mL CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen wurden auf 100 mL Gesamtvolumen eingeeengt, mit jeweils 50 mL wässriger Essigsäure (0.1%) zweimal gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Gewinnung der Reinsubstanzen erfolgte mittels präparativer HPLC (Symmetry C₁₈ 19 x 300 mm (Waters); H₂O + 0.1% H₃PO₄ (A), MeCN + 0.1% H₃PO₄; Fluss 12 mL/min; 0 min 80% B, 10 min 100% B, 20 min 100% B). Man erhielt 5.1 mg **41** (R_t = 8.3 min) und 1.1 mg **42** (R_t = 10.2 min).

Furanonaphthochinon I (**41**)

Oranger Feststoff (5.1 mg).



Schmp.: >200 °C (MeOH); Lit.^[112] 288-290 °C (MeOH).

$[\alpha]_D^{20} = -126.8^\circ$ ($c = 0.1$; CHCl₃); Lit.^[112] -129.6° ($c = 0.1$; CHCl₃).

UV (MeOH): λ_{\max} (nm) 219, 263, 299, 411; Lit.^[112] 222, 252, 266, 301, 414 (MeOH).

LC-MS (ESI, positiv): m/z 371.5 [M+H]⁺, 763.4 [2M+Na]⁺.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.24$ (s, 3 H, Me-3), 1.42 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H, Me-2), 1.50 (s, 3 H, H-14), 1.62 (s, 3 H, H-15), 1.74 (m, 1 H, H-10), 1.81 (m, 1 H, H-11), 1.92 (m, 1 H, H-11), 1.94 (m, 1 H, H-10), 2.03 (s, 3 H, CH_3 -6), 3.96 (s, 3 H, OCH_3 -7), 4.82 (q, $J = 6.6$ Hz, 1 H, H-2), 5.03 (m, 1H, H-12), 6.46 (bs, 1 H, OH-4), 7.10 (s, 1 H, H-9) ppm.

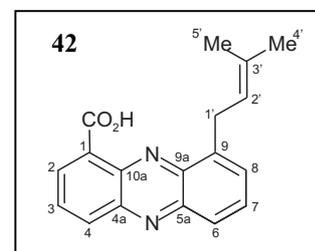
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.6$ (Me-6), 15.6 (Me-2), 17.8 (C-14), 19.9 (Me-3), 23.9 (C-11), 25.9 (C-15), 38.0 (C-10), 41.1 (C-3), 60.9 (OCH_3 -7), 88.3 (C-2), 109.0 (C-9), 109.9 (C-4a), 124.0 (C-12), 128.1 (C-3a), 132.3 (C-13), 133.6 (C-8a), 134.1 (C-6), 156.9 (C-9a), 157.1 (C-7), 161.4 (C-4), 181.3 (C-8), 184.2 (C-5) ppm.

Die physikalischen Daten und das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum stimmten gut mit denen aus der Literatur überein.^[112] Auch die chemischen Verschiebungen des $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrums entsprachen den Literatur-Daten; lediglich die Zuordnung der Kohlenstoff-Atome an C-4a und C-9 sowie von C-7 und C-9a schienen nach den Wechselwirkungen eigener HMQC- und HMBC-NMR-Spektren zu urteilen in der Originalpublikation vertauscht worden zu sein.^[112] Dies konnte durch die 2J -Kopplungskonstanten aus den Fütterungsexperimenten (siehe 2.2.2) verifiziert werden.

Endophenazin A (42)

Gelber Feststoff (1.1 mg).

Schmp.: >200 °C (MeOH); Lit.^[113] 204 °C (keine Angabe).



UV (MeOH): λ_{max} (nm) 207, 251, 371.

LC-MS (ESI, positiv): m/z 293.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 607.2 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.62$ (s, 6 H, Me-4' und Me-5'), 4.02 (d, $J = 7.0$ Hz, 2 H, H-1'), 5.44 (t, $J = 7.0$ Hz, 1 H, H-2'), 7.79 (dd, $J = 7.0, 1.5$ Hz, 1 H, H-8), 7.87 (dd, $J = 8.5, 7.0$ Hz, 1 H, H-7), 7.99 (dd, $J = 8.5, 7.5$ Hz, 1 H, H-3), 8.17 (dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 1 H, H-6), 8.50 (dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 1 H, H-4), 8.95 (dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1 H, H-2), 15.60 (br, 1 H, COOH-1).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 18.3$ (Me-5'), 26.0 (Me-4'), 30.1 (C-1'), 120.6 (C-2'), 125.2 (C-1), 128.3 (C-6), 130.4 (C-3), 131.8 (C-8), 132.0 (C-7), 135.1 (C-4), 135.7 (C-3'), 137.3 (C-2), 139.39 (C-10a), 139.42 (C-9a), 139.49 (C-9), 143.3 (C-4a), 144.8 (C-5a), 166.3 (COOH-1).

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[113]

2.2.2 Isolierung von FNQ I (41) und Endophenazin A (42) aus den Fütterungs-experimenten

Die Kultivierung von *S. cinnamomensis* erfolgte auch bei der Durchführung der Fütterungs-experimente unter den bei Punkt 2.2.1 beschriebenen Bedingungen. In zwei voneinander unabhängigen Fermentationen (jeweils 2 L Gesamtkulturvolumen) wurde den Kulturen $^{13}\text{C}_2$ -markiertes Acetat (1 g/L Endkonzentration) bzw. 2- ^{13}C -markiertes Glycerol (1 g/L) zugesetzt. Zur Isolierung der Reinstoffe mittels präparativer HPLC verwendete man die unter 2.2.1 genannte Methode. Aus der Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat wurden so 7.0 mg **41** und 1.0 mg **42** gewonnen. Nach Applikation von 2- ^{13}C -Glycerol erhielt man 6.0 mg **41** und 0.8 mg **42**. Die Menge an isoliertem Endophenazin A (**42**) aus der Fütterung von 2- ^{13}C -Glycerol reichte zur Bestimmung der ^{13}C -Anreicherung und des ^{13}C -Einbaumusters nicht aus.

Zur Berechnung der ^{13}C -Anreicherung der Metaboliten **41** und **42** aus der Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat errechnete man den Quotienten aus der Fläche der ^{13}C -Sateliten (entspricht dem Anteil der ^{13}C -markierten Substanz) und dem Integral des jeweiligen Zentralsignales (Tabelle 10, links; Tabelle 11). Der Markierungsgrad von **41** nach Applikation von 2- ^{13}C -Glycerol wurde durch Vergleich der ^{13}C -Integrale mit denen aus dem ^{13}C -Spektrum eines unmarkierten Standards **41** wie folgt bestimmt: Das Integral eines weder über den Mevalonat-, noch über den MEP-Weg markierten Kohlenstoff-Atomes, hier C-14, wurde sowohl im ^{13}C -Spektrum der unmarkierten Substanz, als auch in dem der ^{13}C -angereicherten Verbindung auf 1 gesetzt. Danach wurden die Flächen aller anderen Signale im NMR-Spektrum gemessen, und jeweils der Quotient aus dem Integral des Signals der markierten Verbindung (M) zu dem der unmarkierten Substanz (U) errechnet (Tabelle 9, links). Anschließend wurde ein weiteres unmarkiertes C-Atom als Standard gewählt, nämlich C-15, und die Prozedur für alle ^{13}C -Kerne wiederholt (Tabelle 9, Mitte). Aus

den daraus für jedes Kohlenstoff-Atom erhalten beiden Verhältniswerten Fläche(M) / Fläche(U) wurde jeweils ein Durchschnittswert = $([\text{Fläche(M)} + \text{Fläche(U)}] / 2)$ gebildet (Tabelle 2, rechts). Die daraus errechnete relative ^{13}C -Anreicherung wurde durch Multiplikation mit 1.1% (natürliche Häufigkeit von ^{13}C -Kernen) für jede Position jeweils in den absoluten ^{13}C -Markierungsgrad umgerechnet (Tabelle 9, rechts).

Tabelle 9. Berechnung der relativen ^{13}C -Anreicherung in **41** aus der 2- ^{13}C -Glycerol-Fütterung.

Position	Fläche (U) _{C14}	Fläche (M) _{C14}	(M / U) _{C14}	Fläche (U) _{C15}	Fläche (M) _{C15}	(M / U) _{C15}	Durchschnitt
2	1.23	2.73	2.22	0.84	2.09	2.49	2.35
Me-2	1.39	9.68	6.96	0.95	7.42	7.81	7.39
3	0.93	6.95	7.47	0.63	5.32	8.44	7.96
Me-3	1.27	1.45	1.14	0.87	1.11	1.28	1.21
3a	0.58	0.36	0.62	0.39	0.28	0.72	0.67
4	0.24	2.73	11.38	0.16	1.86	11.63	11.50
4a	0.38	0.23	0.61	0.26	0.17	0.65	0.63
5	0.47	3.5	7.45	0.33	2.68	8.12	7.62b
6	0.53	0.43	0.81	0.37	0.33	0.89	0.85
Me-6	1.24	2.59	2.09	0.85	1.99	2.34	2.21
7	0.35	3.46	9.89	0.24	2.65	11.04	10.46
OMe-7	1.03	2.19	2.13	0.7	1.68	2.40	2.26
8	0.29	0.37	1.28	0.2	0.28	1.40	1.34
8a	0.51	3.55	6.96	0.35	2.72	7.77	7.37
9	1.20	1.15	0.96	0.82	0.88	1.07	1.02
9a	0.68	6.15	9.04	0.46	4.71	10.24	9.64
10	1.31	1.16	0.89	0.9	0.89	0.99	0.94
11	1.55	9.33	6.02	1.06	7.14	6.74	6.38
12	1.21	2.67	2.21	0.82	2.05	2.50	2.35
13	0.47	4.49	9.55	0.32	3.44	10.75	10.15
14	1	1	1.00	0.68	0.77	1.13	1.07
15	1.46	1.31	0.90	1	1	1.00	0.95

Tabelle 10. Absoluter ^{13}C -Markierungsgrad von **41** aus den Fütterungsexperimenten.

Position	$^{13}\text{C}_2$ Acetat-Fütterung			2- ^{13}C -Glycerol-Fütterung	
	δ (ppm)	Anreicherung (%)	2J (zu C)	δ (ppm)	Anreicherung (%)
2	88.2	3.9 ²	39.9 (Me-2)	88.3	1.5
Me-2	15.6	3.9 ²	39.9 (2)	15.6	7.0
3	47.1	4.2 ²	35.3 (Me-3)	47.1	7.7
Me-3	19.9	4.2 ²	35.3 (3)	19.9	0.2
3a	128.1	¹	61.1 (4); 75.1 (9a)	128.1	-0.4
4	161.4	¹	61.1 (3a); 72.0 (4a)	161.4	11.6
4a	109.7	¹	59.1 (5); 72.0 (4)	109.9	-0.4
5	184.1	¹	51.9 (6); 59.1 (4a)	184.1	7.5
6	133.9	¹	51.9 (5); 74.3 (7)	134.1	-0.2
Me-6	9.6	-	-	9.6	1.3
7	157.0	¹	57.4 (8); 74.0 (6)	157.0	10.4
OMe-7	60.9	-	-	60.9	1.4
8	181.1	¹	57.4 (7); 54.2 (8a)	181.3	0.4
8a	133.6	¹	54.2 (8); 66.0 (9)	133.6	7.0
9	108.7	¹	64.0 (9a); 65.4 (8a)	108.9	0.0
9a	156.7	¹	63.7 (9); 75.1 (3a)	156.8	9.5
10	38.0	4.0	-	38.0	-0.1
11	23.9	4.1 ²	43.9	23.9	5.9
12	124.0	4.1 ²	43.9	124.0	1.5
13	132.3	3.8 ²	42.2	132.3	10.1
14	17.8	3.8 ²	42.2	17.8	0.1
15	25.9	4.1	-	25.9	-0.1

¹ Die durchschnittliche ^{13}C -Anreicherung der Kohlenstoffe des Polyketid-abgeleiteten Naphthochinon-Molekulteils betrug 4.3%. Die aufgrund der starken Anreicherung hohe Signalmultiplizität dieser Kerne verhinderte die genaue Bestimmung des Wertes für jede Position. ² Der durchschnittliche Markierungsgrad der beiden ^{13}C -Kerne jeweils eines intakten $^{13}\text{C}_2$ -Bausteins ist gezeigt

Tabelle 11. Absoluter ^{13}C -Markierungsgrad von **42** aus der $^{13}\text{C}_2$ -Acetat-Fütterung.

Position	Fütterung von $^{13}\text{C}_2$ -Acetat	
	δ (ppm)	Anreicherung (%)
1	125.2	-
1-COOH	166.3	-
2	137.3	-
3	130.4	-
4	135.1	-
4a	143.3	-
5a	144.8	-
6	128.3	-
7	132.0	-
8	131.8	-
9	139.49	-
9a	139.42	-
10a	139.39	-
1'	30.1	1
2'	120.6	3.9
3'	135.7	2.7
4'	26.0	2.2
5'	18.3	3.2

¹ Die ^{13}C -Anreicherung an C-1' konnte aufgrund einer Signalüberlappung mit einer Verunreinigung nicht gemessen werden.

3 Aufklärung der Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide

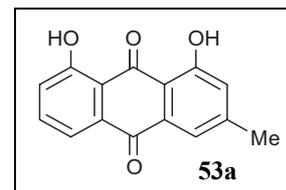
3.1 Vergleichende Biosynthese-Studie zur Polyketid-Faltung von Chrysophanol (**53a**) in Pro- und Eukaryonten

Die Fütterung des $^{13}\text{C}_2$ -markierten Natriumacetats an die verschiedenen biologischen Systeme wurde in unserer Arbeitsgruppe durch T.F. Noll durchgeführt. Im Falle des bakteriellen Produzenten in Kooperation mit Prof. H.-P. Fiedler (Universität Tübingen), bei den Insekten in Zusammenarbeit mit Prof. M. Hilker (TU Berlin).^[153] Chrysophanol (**53a**) wurde aus den unterschiedlichen biologischen Materialien durch Kaltextraktion mit 95:5 Aceton/H₂O gelöst. Der nach Entfernen des Lösungsmittels erhaltene Rohextrakt wurde in MeOH gelöst und durch Filtration über eine RP-18-Kartusche vorgereinigt. Die Isolierung der Reinsubstanz erfolgte mittels präparativer HPLC (Symmetry C₁₈ 19 x 300 mm (*Waters*); H₂O + 0.05% TFA (A),

MeCN + 0.05% TFA; Fluss 11 mL/min; 0 min 20% B, 20 min 55% B, 25 min 100% B, 30 min 100% B). Man erhielt so folgende Mengen an Chrysophanol (**53a**) aus den verschiedenen Versuchsansätzen: 3.6 mg aus *Drechslera catenaria* (0.45 g Rohextrakt), 3.9 mg aus *Galeruca tanacetii* (1.9 g Rohextrakt) und 1.6 mg aus *Nocardia Acta 1057*.

Gelber Feststoff.

Schmp.: 187-191 °C (Ethylacetat); Lit.^[154] 193 °C (Ethanol).



¹H-NMR (600 MHz, Aceton-d₆): δ = 2.45 (s, 3 H, Me), 7.05 (d, J = 0.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.23 (dd, J = 7.3, 1.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.62 (d, J = 1.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.65 (t, J = 7.32 Hz, 1 H, Ar-H), 7.80 (dd, J = 7.3, 1.0 Hz, 1 H, Ar-H), 11.97 (s, 1 H, OH), 12.08 (s, 1 H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[154]

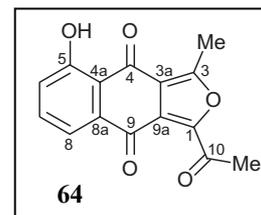
Die Positionen intakter ¹³C₂-Bausteine zur Aufklärung der Faltungsmodi von **62** aus den verschiedenen biologischen Systemen wurde mittels INADEQUATE- und SELINQUATE-NMR-Spektroskopie ermittelt (siehe Kapitel 4, Abb. 21-23).

3.2 Untersuchungen zur Struktur und Biosynthese aromatischer Polyketide in *Streptomyces* AK 671

Der Streptomycetenstamm AK-671 wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. M. Goodfellow (Institute of Biology, University of Newcastle) aus einer Bodenprobe eines Kiefernwaldes bei Hamsterley Forest, Durham County, UK isoliert und Prof. H.-P. Fielder zur Fermentation zur Verfügung gestellt. Die im folgenden gezeigten Verbindungen wurden, wenn nicht anders beschrieben, in der AG Fielder aus Kulturen des Actinomyceten-Stammes AK 671 mittels verschiedener Reinigungsschritte isoliert (z.B. Adsorption der Metabolite an Amberlite XAD-16, Verschiedene Flüssig-Flüssig-Extraktionen bei unterschiedlichen pH-Werten, Chromatographie an Sephadex LH-20 oder Toyopearl HW-40F sowie präparative HPLC an RP₁₈-Phasen). Die so gewonnenen Reinsubstanzen wurden nach Würzburg zur Strukturaufklärung geschickt.

Bhimamycin B (AK-671-S; 64):

Braun-oranger, amorpher Feststoff.

Tabelle 12. NMR-Daten (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz) von **64** in MeOD.

Position	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	HMBC	COSY (J in Hz)
1	161.9	-	-	-
3	148.9	-	-	-
3a	118.6	-	-	-
4	186.1	-	-	-
4a	116.9	-	-	-
5	162.9	-	-	-
6	124.6	7.32 <i>dd</i>	4a, 8	7 (8.2, 1.4)
7	136.6	7.68 <i>d</i>	5, 8a	6, 8 (8.1)
8	120.2	7.84 <i>dd</i>	4a, 6, 9	7 (7.8, 1.3)
8a	135.8	-	-	-
9	162b.3	-	-	-
9a	123.2	-	-	-
10	187.4	-	-	-
Me-3	14.9	2.88 <i>s</i>	1, 3a	-
Me-10	29.4	2.86 <i>s</i>	1, 10	10

MS (ESI positiv): $m/z = 293.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 271.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.HRESI-MS: m/z 271.0634 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (m/z 271.0601 $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet für $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_5$).Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[154]*Bhimamycin A (AK-671-I; 65):*

Brauner, amorpher Feststoff.

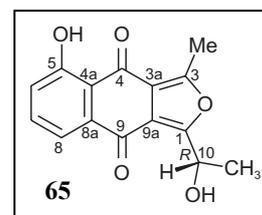
 $[\alpha]_D^{20} = +49.3^\circ$ ($c = 0.45$; CHCl_3); Lit.^[154] $+55.6^\circ$ ($c = 0.45$; CHCl_3).

Tabelle 13. NMR-Daten (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz) von **65** in MeOD.

Position	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	HMBC	COSY (J in Hz)
1	163.0	-	-	-
3	160.3	-	-	-
3a	118.2	-	-	-
4	188.1	-	-	-
4a	119.2	-	-	-
5	164.5	-	-	-
6	125.2	7.25 <i>dd</i>	4a, 8	7 (8.2, 1.4)
7	137.6	7.67 <i>d</i>	5, 8a	6, 8 (8.1)
8	120.2	7.74 <i>dd</i>	4a, 6, 9	7 (7.8, 1.3)
8a	137.6	-	-	-
9	181.2	-	-	-
9a	117.8	-	-	-
10	63.4	5.47 <i>q</i>	10-Me	10-Me (6.7)
3-Me	13.9	2.75 <i>s</i>	1, 3a	-
10-Me	21.4	1.55 <i>d</i>	1, 10	10 (6.7)

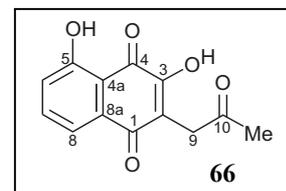
MS (ESI positiv): $m/z = 295.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 273.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 255.2 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$.

HRESI-MS: m/z 273.0782 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (m/z 273.0758 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_5$).

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[154]

Juglomycin F (AK-671-P; **66**):

Gelb-brauner, amorpher Feststoff.



Schmp.: 145 °C (EtOAc); Lit.^[185] 148 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$).

Tabelle 14. NMR-Daten (^1H : 600 MHz; ^{13}C : 150 MHz) von **66** in Aceton- d_6 .

Position	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	HMBC	COSY (J in Hz)
1	184.1	-	-	-
2	130.3	-	-	-
3	156.3	-	-	-
4	186.1	-	-	-
4a	114.6	-	-	-
5	161.9	-	-	-
6	123.9	7.25 <i>d</i>	4a, 5, 8	7 (8.1)
7	138.4	7.74 <i>t</i>	8a, 5, 4a	6, 8 (7.4)
8	120.4	7.57 <i>d</i>	1, 4a, 5, 6	7 (6.8)
8a	133.5	-	-	-
9	38.6	3.69 <i>s</i>	1, 2, 3, 10	-
10	203.7	-	-	-
11	31.7	2.22 <i>s</i>	9, 10	-
3-OH		9.93		
5-OH		11.32		

MS (ESI negativ): $m/z = 513.5$ $[\text{M}-2\text{H}+\text{Na}]^-$, 245.7 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

HRESI-MS: m/z 245.04566 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (m/z 245.04500 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{O}_5$).

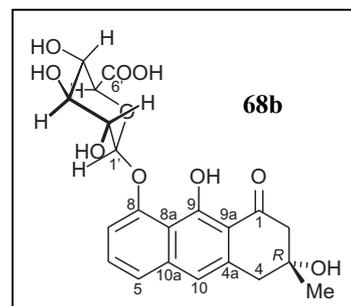
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[185]

Prächrysophanol-8-O- β -D-glucuronid (AK-671-O; 68b):

Oranger, amorpher Feststoff.

Schmp. 158 °C (MeOH).

$[\alpha]_D^{20} = -19.3^\circ$ ($c = 0.04$; MeOH).



UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 208$ (3.98), 210 (3.82), 221 (3.82), 259 (3.01), 289 (2.67), 404 (2.14) nm.

CD (MeOH): $\Delta\epsilon = 315$ (-0.4), 280 (+0.3), 255 (-3.1), 245 (-0.3), 220 (-2.7), 200 (+0.2).

Tabelle 15. NMR-Daten (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz) von **68b** in MeOD.

Position	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	HMBC	NOESY	COSY (J in Hz)
1	205.9	-	-	-	-
2	52.9	2.81 <i>d</i> 2.88 <i>d</i>	1, 3, 3-Me, 4, 9a 1, 3, 3-Me, 4, 9a	3-Me, 4 3-Me, 4	(15.9) (16.1)
3	71.4	-	-	-	-
4	44.2	3.14 <i>d</i> 3.07 <i>d</i>	2, 3, 3-Me, 4a, 9a, 10 2, 3, 3-Me, 4a, 9a, 10	2, 3-Me, 10 2, 3-Me, 10	10 (17.2) 10 (17.2)
4a	138.3	-	-	-	-
5	123.5	7.40 <i>d</i>	7, 8, 8a, 9, 10, 10a	6, 10	6 (7.6)
6	132.2	7.51 <i>,t</i>	7, 8, 8a, 10a	5, 7	5, 7 (8.0)
7	113.7	7.23 <i>d</i>	5, 8, 8a, 9	7, 1', 5'	6 (7.8)
8	158.6	-	-	-	-
8a	116.8	-	-	-	-
9	165.1	-	-	-	-
9a	112.8	-	-	-	-
10	119.5	7.11 <i>s</i>	1, 4, 5, 8, 8a, 9, 9a, 10a,	4, 5	4
10a	141.6				
1'	104.7	5.02 <i>d</i>	8, 2', 3'	7, 3', 4', 5'	2' (7.6)
2'	75.1	3.72 <i>t</i>	1', 3', 5'	3'	1', 3' (9.1, 7.9)
3'	77.0	3.56 <i>t</i>	1', 2', 4'	2', 5'	2', 4' (9.1)
4'	73.1	3.70 <i>t</i>	3', 5', 6'	1', 5'	3', 5' (9.9)
5'	77.1	4.03 <i>d</i>	1', 2', 4', 6'	3', 4'	4' (9.7)
6'	172.5	-	-	-	-
Me-3	22.1	1.40 <i>s</i>	2, 3, 4		

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3420$ (br), 2105 (w), 1643 (m), 1122 (m), 479 (s), 421 (s) cm^{-1} .

MS (ESI positiv): $m/z = 435.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRESI-MS: m/z 433.1159 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (m/z 433.1140 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{10}$).

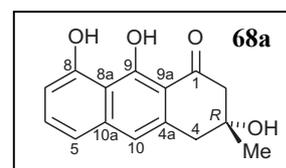
Enzymatische Hydrolyse von Prächrysophanol-8-O- β -D-glucuronid (**68b**)

1 mg der Verbindung **68b** wurden in einem Eppendorf-Cap in 1 mL Wasser gelöst und mit einer katalytischen Menge einer β -Glucuronidase aus Mandeln versetzt. Die Lösung wurde 24 h bei 25 °C inkubiert und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Man erhielt so aus der wässrigen Phase D-Glucuronsäure (**69**) und aus der organischen Phase das Aglycon **68a**, das mittels präparativer

HPLC (Symmetry C₁₈ 19 x 300 mm (*Waters*); H₂O + 0.05% TFA (A), MeCN + 0.05% TFA; Fluss 11 mL/min; 0 min 20% B, 20 min 55% B, 25 min 100% B, 30 min 100% B) isoliert wurde.

(R)-Prächrysophanol (**68a**):

Gelbe Kristalle.



Schmp.: 200 °C (Ethylacetat); Lit.^[187] 199-202 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -43.3^\circ$ ($c = 0.01$; MeOH); Lit.^[187] -45.0° ($c = 0.01$; MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, Aceton-d₆): $\delta = 1.32$ (s, 3 H, Me-3), 2.75 (d, $J = 17.3$ Hz, 1 H, CH₂-2), 2.82 (d, $J = 17.3$ Hz, 1 H, CH₂-4), 2.99 (d, $J = 17.3$ Hz, 1 H, CH₂-4), 3.05 (d, $J = 17.3$ Hz, 1 H, CH₂-2), 6.75 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, 1 H, H-7), 6.91 (s, 1 H, H-10), 7.04 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, 1 H, H-5), 7.37 (t, $J = 8.1$ Hz, 1 H, H-6), 9.60 (s, 1 H, OH-8), 15.99 (s, 1 H, OH-9) ppm.

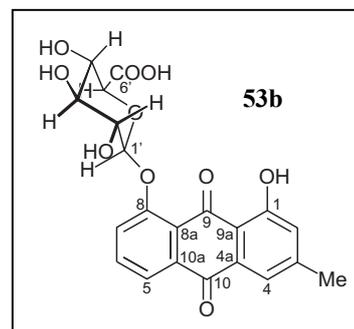
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[187]

Chrysophanol-8-O- β -D-glucuronid (AK 671-T; **53b**):

Gelber, amorpher Feststoff.

Schmp.: 164 °C (MeOH).

$[\alpha]_D^{20} = +47.2^\circ$ ($c = 0.04$; MeOH).



UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 218$ (3.83), 253 (3.73), 280 (3.43), 400 (3.20) nm.

CD (MeOH): $\Delta\epsilon = 320$ (+0.2), 250 (-0.5), 198 (-2.8).

Tabelle 16. NMR-Daten (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz) von **53b** in MeOD.

Position	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	HMBC	NOESY/ROESY	COSY (J in Hz)
1	163.9	-	-	-	-
2	125.5	7.12 <i>s</i>	3-Me, 4, 9a	3-Me	-
3	149.7	-	-	-	-
4	121.1	7.56 <i>s</i>	2, 9a, 10	3-Me	-
4a	134.1	-	-	-	-
5	123.3	8.00 <i>d</i>	6, 7, 8a, 10	6	6 (7.7)
6	137.1	7.80 <i>dd</i>	5, 8, 10a	5, 7	5 (7.7), 7 (8.3)
7	125.2	7.73 <i>d</i>	5, 6, 8, 8a	6	6 (8.3)
8	159.7	-	-	-	-
8a	123.3	-	-	-	-
9	212.8	-	-	-	-
9a	115.5	-	-	-	-
10	183.8	-	-	-	-
10a	136.8	-	-	-	-
1'	103.5	5.18 <i>d</i>	8, 3'	7, 3', 4', 5'	2' (7.6)
2'	74.7	3.75 <i>dd</i>	1', 3'	3'	1' (7.6), 3' (9.1)
3'	77.2	3.58 <i>dd</i>	2', 4'	2', 5'	2' (9.1), 4' (8.9)
4'	73.1	3.69 <i>dd</i>	5', 6'	1', 5'	3' (8.9), 5' (9.7)
5'	76.9	4.05 <i>d</i>	1', 3', 4', 6'	3', 4'	4' (9.7)
6'	172.9	-	-	-	-
3-Me	22.2	2.44 <i>s</i>	2, 3, 4	2, 4	-

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3434 (br), 1642 (m), 1206 (w), 449 (s), 437 (s), 422 (s), 405 (s) cm^{-1} .

HRESI-MS: m/z 451.0640 $[\text{M}-2\text{H}+\text{Na}]^-$ (m/z 451.0641 $[\text{M}-2\text{H}+\text{Na}]^-$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_{10}\text{Na}$).

Enzymatische Hydrolyse von Chrysophanol-8-O- β -D-glucuronid (**53b**)

Etwa 1 mg der Verbindung **53b** wurden in einem Eppendorf-Cap in 1 mL Wasser gelöst und mit einer katalytischen Menge einer β -Glucuronidase aus Mandeln versetzt. Die Lösung wurde 24 h bei 25 °C inkubiert und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Man erhielt so aus der wässrigen Phase D-Glucuronsäure (**69**) und aus der organischen Phase Chrysophanol **53a**, das mittels präparativer HPLC isoliert wurde. Die Identität der Substanz wurde durch Coelution mit einer authentischen Probe Chrysophanol (**53a**) verifiziert.

4 Gewinnung neuer Wirkstoffe aus marinen Organismen

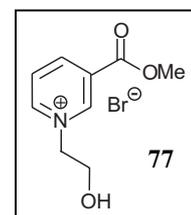
4.1 Synthese des neuroprotektiven Pyrrol-Alkaloids Daminin (18)

1-(2-Hydroxyethyl)-3-methoxycarbonylpyridiniumbromid (77)

Eine Lösung aus 1.00 g (7.29 mmol) Nicotinsäure-Methylester (75) und 5 mL (70.82 mmol) 2-Bromoethanol (76) in 7 mL Toluol wurde bei 120 °C für 2.5 h gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und Waschen des Rückstandes mit EtOAc (3 x 15 mL) kristallisierte man aus Acetonitril/Et₂O (2:1) um und erhielt so 1.17g (6.41 mmol) des Salzes 77.

Farblose Kristalle.

Ausbeute: 1.17g (6.41 mmol, 88%).



Schmp.: 108-109 °C (Acetonitril/Et₂O).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3410 (br), 3255 (br), 3034 (w), 3002 (w), 2929 (w), 1734 (s), 1637 (m), 1498 (w), 1472 (w), 1439 (m), 1356 (w), 1306 (s), 1198 (m), 1169 (s), 1130 (w), 1079 (m), 1066 (m), 983 (w), 943 (w), 888 (w), 861 (w), 840 (w), 755 (m), 691 (m), 535 (w), 476 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ = 4.07 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH₂), 4.09 (s, 3 H, Me), 4.89 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH₂), 8.31 (dd, J = 8.2, 6.1 Hz, 1 H, Ar-H), 9.12 (ddd, J = 8.2, 1.4, 1.4 Hz, 1 H, Ar-H), 9.25 (ddd, J = 6.1, 1.4, 1.4 Hz, 1 H, Ar-H), 9.57 (bs, 1 H, Ar-H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 57.0 (OMe), 64.3 (CH₂), 68.2 (CH₂), 132.1, 134.7, 149.6, 150.4, 152.2 (Ar-C), 166.1 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 182 (2) [M-Br]⁺, 106 (3), 94 (100), 81 (4), 44 (14).

FABMS: m/z 182.1 [M-Br]⁺, 445.1 [2M+HBr]⁺.

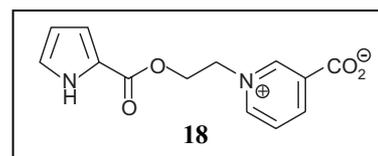
HRESI-MS: m/z 182.0813 [M-Br]⁺ (m/z 182.0812 [M-Br]⁺ ber. für C₉H₁₂NO₃).

Daminin (18)

Eine Suspension aus 230 mg (2.07 mmol) Kalium-2-pyrrolcarboxylat **78** und 0.25 mL (2.98 mmol) Oxalylchlorid in 5 mL abs. CH₂Cl₂ wurde unter Stickstoff bei RT gerührt. Nach 4 h wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in 5 mL abs. CH₂Cl₂ resuspendiert, mit 262 mg (1.43 mmol) von 1-(2-Hydroxyethyl)-3-methoxycarbonylpyridiniumbromid (**77**) sowie einer katalytischen Menge DMAP versetzt und weitere 16 h bei RT gerührt. Das Solvens wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Et₂O gewaschen und in 4 mL Pyridin gelöst. Nach Zugabe von 900 mg (6.72 mmol) LiI wurde die Lösung 3 h auf 100 °C erhitzt, das Lösungsmittels im Hochvakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Kieselgel, EtOAc/MeOH, 2:8) aufgereinigt. Nach Kristallisation aus EtOH/Et₂O (2:1) erhielt man 177 mg (0.68 mmol) reines Daminin (**18**).

Graue Kristalle.

Ausbeute: 177 mg (0.68 mmol, 48%).



Schmp.: 193 °C (EtOH/Et₂O, Zers.).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ = 4.77 (t, J = 4.9 Hz, 2 H, CH₂), 5.08 (t, J = 4.9 Hz, 2 H, CH₂), 6.20 (dd, J = 3.8, 2.5 Hz, 1 H, Ar-H), 6.89 (dd, J = 3.8, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.00 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 8.18 (dd, J = 8.0, 6.0, 1 H, Ar-H), 9.03 (dd, J = 8.0, 1.3, 1 H, Ar-H), 9.12 (dd, J = 6.2, 1.1, 1 H, Ar-H), 9.54 (brs, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[211]

4.2 Darstellung stark vereinfachter Derivate des Biofilm-Hemmstoffes Tajixanthonhydrat (16)

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Polyhydroxyxanthonen nach Grover, Shah und Shah unter Verwendung von $ZnCl_2/POCl_3$ (GSS-Methode-A) am Beispiel des 1,3,6-Trihydroxyxanthons (90)

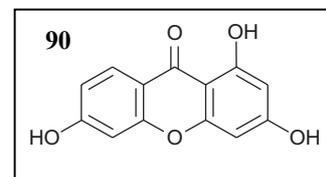
Eine Lösung aus 2.58 g (18.9 mmol) $ZnCl_2$ und 1.74 ml (18.9 mmol) $POCl_3$ wurde 30 min bei 80 °C unter Argon gerührt. Zu dieser Lösung gab man 370 mg (2.90 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol (**89**) und 450 mg (2.90 mmol) 2,4-Dihydroxybenzoesäure (**88**) und erhitzte weitere 2 h unter Rückfluss. Die Reaktionslösung wurde mit H_2O versetzt und mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) erhielt man 313 mg (1.28 mmol, 44%) der Verbindung **90**.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Polyhydroxyxanthonen nach Grover, Shah und Shah unter Verwendung von P_2O_5 /Methansulfonsäure (GSS-Methode-B) am Beispiel des 1,3,6-Trihydroxyxanthons (90)

Unter Argon wurden 540 mg (3.80 mmol) P_2O_5 in 5.00 mL Methansulfonsäure gelöst und 30 min refluxiert. Zu dieser Lösung gab man 370 mg (2.90 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol (**89**) sowie 450 mg (2.90 mmol) 2,4-Dihydroxybenzoesäure (**88**) und erhitzte weitere 2 h unter Rückfluss. Die Reaktionslösung wurde mit H_2O versetzt und mit EtOAc extrahiert. Die Aufarbeitung erfolgte analog zur GSS-Methode A. Man erhielt so 595 mg (2.44 mmol) des Xanthons **90**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 595 mg (2.44 mmol, 84%).



Schmp.: 332 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[224] 323-324 °C (H_2O /EtOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD): $\delta = 6.17$ (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, Ar-H), 6.32 (d, $J = 2.16$ Hz, 1 H, Ar-H), 6.78 (d, $J = 2.28$ Hz, 1 H, Ar-H), 6.86 (dd, $J = 8.84, 2.28$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.03 (d, $J = 8.84$ Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

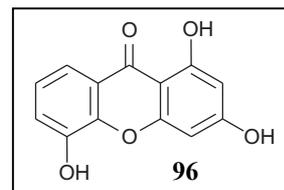
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[224,226]

1,3,5-Trihydroxyxanthon (96)

Verbindung **96** wurde nach GSS-Methode-B unter Verwendung von 661 mg (4.66 mmol) P_2O_5 , 410 mg (3.25 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol (**89**) und 500 mg (3.25 mmol) 2,3-Dihydroxybenzoesäure (**91**) in 5.6 mL Methansulfonsäure dargestellt. Man erhielt 444 mg (1.82 mmol) des gewünschten Produkts **96**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 444 mg (1.82 mmol, 56%).



Schmp.: 278 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[231] 274-276 °C (Aceton).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD): $\delta = 6.50$ (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, Ar-H), 6.77 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.50 (t, $J = 7.8$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.54 (d, $J = 7.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.97 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[231]

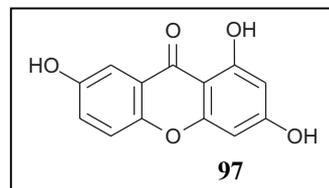
1,3,7-Trihydroxyxanthon (97)

Verbindung **97** wurde nach GSS-Methode-B unter Verwendung von 661 mg (4.66 mmol) P_2O_5 , 410 mg (3.25 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol (**89**) und 500 mg (3.25 mmol) 2,5-

Dihydroxybenzoesäure (**92**) in 5.6 mL Methansulfonsäure dargestellt. Man erhielt so 188 mg (0.77 mmol) des Xanthons **97**.

Gelber Feststoff.

Ausbeute: 188 mg (0.77 mmol, 24%).



Schmp.: 318 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[375] 318-319 °C (EtOAc/PE).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ = 6.18 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, Ar-H), 6.33 (d, J = 1.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.26 (dd, J = 9.1, 3.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.37 (d, J = 9.1 Hz, 1 H, Ar-H), 7.49 (d, J = 3.0 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

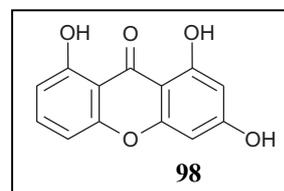
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[375]

1,3,8-Trihydroxyxanthon (**98**)

Verbindung **98** wurde nach GSS-Methode-B unter Verwendung von 661 mg (4.66 mmol) P₂O₅, 410 mg (3.25 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol (**89**) und 500 mg (3.25 mmol) 2,6-Dihydroxybenzoesäure (**93**) in 5.6 mL Methansulfonsäure dargestellt. Man erhielt so 214 mg (0.88 mmol) des Xanthons **98**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 214 mg (0.88 mmol, 27%).



Schmp.: 267 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[376] 259 °C (Benzol).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ = 6.21 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, Ar-H), 6.35 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, Ar-H), 6.75 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, Ar-H), 6.91 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar-H), 7.61 (t, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

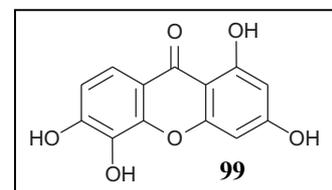
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[226,376]

1,3,5,6-Tetrahydroxyxanthon (99)

Verbindung **99** wurde nach GSS-Methode-B unter Verwendung von 590 mg (4.66 mmol) P₂O₅, 370 mg (2.94 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol (**89**) und 500 mg (2.94 mmol) 2,3,4-Trihydroxybenzoesäure (**94**) in 5.0 mL Methansulfonsäure dargestellt. Man erhielt so 146 mg (2.18 mmol) des Xanthons **99**.

Gelber Feststoff.

Ausbeute: 569 mg (2.18 mmol, 74%).



Schmp.: 352 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[377] 352-354 °C (EtOH/H₂O).

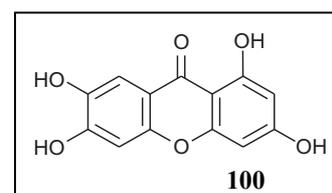
¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ = 6.17 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, Ar-H), 6.44 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, Ar-H), 6.88 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, Ar-H), 7.58 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[377,378]

1,3,6,7-Tetrahydroxyxanthon (100)

Verbindung **100** wurde nach GSS-Methode-B unter Verwendung von 590 mg (4.66 mmol) P₂O₅, 370 mg (2.94 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol (**89**) und 500 mg (2.94 mmol) 2,4,5-Trihydroxybenzoesäure (**95**) in 5.0 mL Methansulfonsäure dargestellt. Man erhielt so 146 mg (2.00 mmol) des Xanthons **99**.

Gelber Feststoff.



Ausbeute: 523 mg (2.00 mmol, 68%).

Schmp.: 311 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[379] 300 °C (keine Angabe).

¹H-NMR (400 MHz, MeOD): δ = 6.14 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, Ar-H), 6.31 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, Ar-H), 6.84 (s, 1 H, Ar-H), 7.41 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

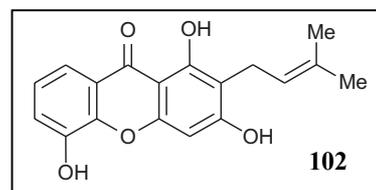
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[379,380]

Basen-induzierte Synthese der Prenylxanthone 102-104 aus 1,3,5-Trihydroxyxanthon (96)

Zu einer Lösung aus 300 mg (1.23 mmol) 1,3,5-Trihydroxyxanthon (**96**) in 15 mL einer 10proz. Kaliumhydroxid-Lösung tropfte man 0.21 mL (1.85 mmol) frisch destilliertes Prenylbromid (**101**) und rührte über Nacht (16 h) bei RT. Die Reaktionslösung wurde mit 10proz. HCl angesäuert, mit EtOAc extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und chromatographischer Aufreinigung des Rückstandes (Kieselgel, MeOH/CH₂Cl₂, 5:95) erhielt man 19 mg (62 μ mol) **102**, 19 mg (62 μ mol) **103** und 14 mg (37 μ mol) **104**.

1,3,5-Trihydroxy-3-prenylxanthon (102)

Gelber Feststoff.



Ausbeute: 19 mg (62 μ mol, 5%).

Schmp.: 156 °C (MeOH/CH₂Cl₂); Lit.^[231] 157-158 °C (keine Angabe).

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 1.66 (s, 3 H, Me), 1.82 (s, 3 H, Me), 3.41 (d, J = 7.6 Hz, 2 H, CH₂), 5.32 (t, J = 7.6 Hz, 1 H, CH), 6.61 (s, 1 H, Ar-H), 7.30 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.35 (dd,

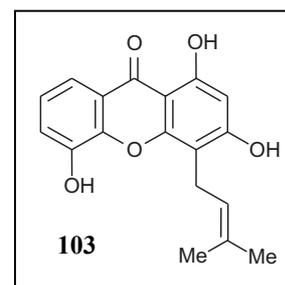
$J = 7.5, 2.1$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.71 (dd, $J = 7.6, 2.2$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.55 (s, 1 H, OH) 13.50 (s, 1 H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[231]

1,3,5-Trihydroxy-4-prenylxanthon (103)

Gelber Feststoff.

Ausbeute: 19 mg (62 μ mol, 5%).



Schmp.: 186 °C (MeOH/CH₂Cl₂); Lit.^[231] 188-190 °C (keine Angabe).

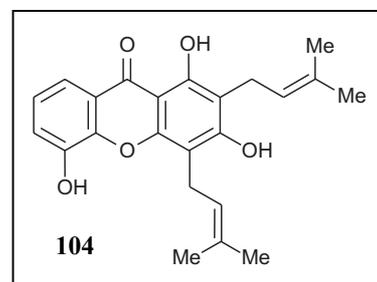
¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.66$ (s, 3 H, Me), 1.86 (s, 3 H, Me), 3.60 (d, $J = 7.5$ Hz, 2 H, CH₂), 5.42 (t, $J = 7.5$ Hz, 1 H, CH), 6.37 (s, 1 H, Ar-H), 7.27 (t, $J = 8.1$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.37 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.69 (dd, $J = 8.2, 1.6$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.50 (s, 1 H, OH), 13.01 (s, 1 H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[231]

1,3,5-Trihydroxy-2,4-diprenylxanthon (104)

Gelber Feststoff.

Ausbeute: 14 mg (37 μ mol, 3%).



Schmp.: 162 °C (MeOH/CH₂Cl₂); Lit.^[231] 161-162 °C (keine Angabe).

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ = 1.68 (s, 3 H, Me), 1.81 (s, 3 H, Me), 1.87 (s, 6 H, Me), 3.59-3.50 (m, 4 H, CH_2), 5.32-5.26 (m, 2 H, CH), 6.01 (s, 1 H, OH), 6.70 (s, 1 H, OH), 7.26 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.35 (dd, J = 7.6, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.81 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 1 H, Ar-H), 13.23 (s, 1 H, OH) ppm

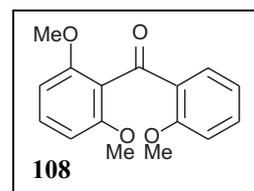
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[231]

2,2',6-Trimethoxybenzophenon (108)

Unter Argon wurden 2.60 mL (20.0 mmol) 1,3-Dimethoxybenzol (**105**) und 3.01 (20.0 mmol) TMEDA in 10 mL abs. THF bei 0 °C vorgelegt und unter Rühren langsam 13.1 mL (19.0 mmol) *n*-BuLi zugetropft. Nach weiteren 30 min bei RT tropfte man das Reaktionsgemisch zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung aus 3.02 mL (21.0 mmol) 2-Methoxybenzoesäuremethylester (**107**) in 10 mL abs. THF. Nach 3 h Rühren bei RT wurde die Reaktionslösung mit 1 N HCl versetzt und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen trocknete man über MgSO_4 . Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum kristallisierte man aus Benzol/ CH_2Cl_2 /PE (1:1:2) um und erhielt 4.07 g (14.98 mmol) des Benzophenons **108**.

Schwach rosa Feststoff.

Ausbeute: 4.07 g (14.98 mmol, 75%).



Schmp.: 126 °C (Benzol/ CH_2Cl_2 /PE).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD): δ = 3.67 (s, 6 H, OMe), 3.71 (s, 3 H, OMe), 6.54 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, Ar-H), 6.90-6.94 (m, 2 H, Ar-H), 7.25 (t, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.44 (ddd, J = 9.2, 7.3, 1.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.65 (dd, J = 8.1, 1.9 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

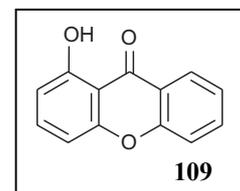
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[232]

l-Hydroxyxanthon (**109**)

Eine Lösung aus 1.46 g (5.36 mmol) 2,2',6-Trimethoxybenzophenon (**108**) in 12.0 mL Toluol wurde unter Argon mit 2.14 g (16.1 mmol) AlCl₃ versetzt und 5 h unter Rückfluss erhitzt. Man kühlte das Reaktionsgemisch im Eisbad ab, versetzte mit 1 N HCl und rührte weitere 60 min unter Rückfluss. Die Lösung wurde nach Abkühlen mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Den Rückstand reinigte man säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 2:1) auf. Nach Umkristallisation der produkthaltigen Fraktionen aus 2-Propanol erhielt man 0.86 g (4.04 mmol) des Xanthons **109**.

Schwach gelbe Kristalle.

Ausbeute: 0.86 g (4.04 mmol, 75%).



Schmp.: 143 °C (2-Propanol); Lit.^[232] 144-146 °C (2-Propanol).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 6.78 (dd, J = 8.2, 0.9 Hz, 1 H, Ar-H), 6.92 (dd, J = 8.5, 1.1 Hz, 1 H, Ar-H), 7.36 (t, J = 7.1 Hz, 1 H, Ar-H), 7.46 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.57 (t, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.73 (ddd, J = 8.6, 7.1, 1.6 Hz, 1 H, Ar-H), 8.26 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1 H, Ar-H). 12.62 (s, 1H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[232]

*Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Dimethoxybenzoesäuremethylestern aus den entsprechenden Carbonsäuren am Beispiel von 2,3-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**116**)*

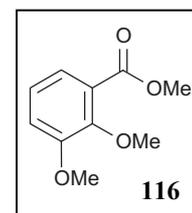
Unter Stickstoff wurden 1.00 g (5.49 mmol) 2,3-Dimethoxybenzoesäure (**110**) in 15 mL abs. MeOH gelöst und mit 5 Tropfen konz. H₂SO₄ sowie 50.0 mg (0.13 mmol) Fe₂(SO₄)₃ versetzt. Man refluxierte die Reaktionslösung für 16 h, entfernte das Lösungsmittel im Vakuum, nahm den Rückstand in H₂O auf und extrahierte mit Et₂O. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit

NaHCO₃ gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingengt. Man erhielt so 1.03 g (5.27 mmol) des gewünschten Produkts **116**.

Blassgelbe Kristalle.

Ausbeute: 1.03 g (5.27 mmol, 9&%).

Schmp.: 48 °C (Et₂O); Lit.^[381] 49-50 °C (PE).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.85 (s, 3 H, OMe), 3.87 (s, 3 H, OMe), 3.88 (s, 3 H, OMe), 7.05 (d, J = 9.4 Hz, 2 H, Ar-H), 7.29 (dd, J = 7.1, 2.3 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

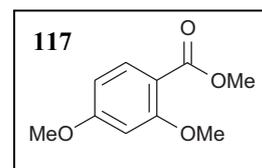
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[381]

2,4-Dimethoxybenzoesäuremethylester (117)

Die Synthese erfolgte analog zur allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Dimethoxybenzoesäuremethylestern aus 1.00 g (5.49 mmol) 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**119**). Man erhielt 1.00 g (5.10 mmol) des gewünschten Produktes **117**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 1.00 g (5.10 mmol, 93%).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.82 (s, 6 H, OMe), 3.86 (s, 3 H, OMe), 6.46 (m, 2 H, Ar-H), 7.82 (dd, J = 7.8, 1.2 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

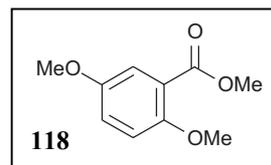
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[382]

2,5-Dimethoxybenzoesäuremethylester (118)

Die Synthese erfolgte analog zur allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Dimethoxybenzoesäuremethylestern aus 1.00 g (5.49 mmol) 2,5-Dimethoxybenzoesäure (**120**). Man erhielt 1.02 g (5.22 mmol) der Verbindung **118**.

Schwach gelbes Öl.

Ausbeute: 1.02 g (5.22 mmol, 95%).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.77$ (s, 3 H, OMe), 3.83 (s, 3 H, OMe), 3.87 (s, 3 H, OMe), 6.89 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H, Ar-H), 6.99 (dd, $J = 9.1, 3.2$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.31 (d, $J = 3.2$ Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

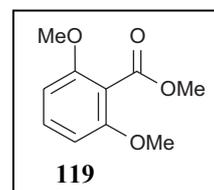
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[383]

2,6-Dimethoxybenzoesäuremethylester (119)

Die Synthese erfolgte analog zur allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Dimethoxybenzoesäuremethylestern aus 1.00 g (5.49 mmol) 2,6-Dimethoxybenzoesäure (**121**). Man erhielt 0.95 g (4.83 mmol) von Verbindung **119**.

Blassgelbe Kristalle.

Ausbeute: 0.95 g (4.83 mmol, 88%).



Schmp.: 93 °C (Et_2O); Lit.^[384] 93-93 °C (Et_2O)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.79$ (s, 6 H, OMe), 3.88 (s, 3 H, OMe), 6.53 (d, $J = 8.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.26 (t, $J = 8.5$ Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

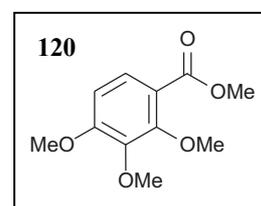
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[384]

2,3,4-Trimethoxybenzoesäuremethylester (120)

Die Synthese erfolgte analog zur allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Dimethoxybenzoesäuremethylestern aus 1.00 g (4.71 mmol) 2,3,4-Dimethoxybenzoesäure (**114**). Man erhielt 1.05 g (4.64 mmol) des Methylesters **120**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 1.05 g (4.64 mmol, 99%).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.84 (s, 3 H, OMe), 3.85 (s, 3 H, OMe), 3.87 (s, 3 H, OMe), 3.90 (s, 3 H, OMe), 6.67 (d, J = 8.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.57 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

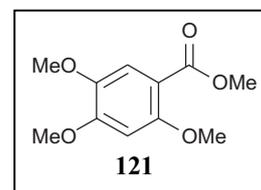
Die spektroskopischen Daten stimmen gut mit denen aus der Literatur überein.^[385]

2,4,5-Trimethoxybenzoesäuremethylester (121)

Die Synthese erfolgte analog zur allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Dimethoxybenzoesäuremethylestern aus 1.00 g (4.71 mmol) 2,4,5-Dimethoxybenzoesäure (**115**). Man erhielt 1.00 g (4.42 mmol) von Verbindung **121**.

Schwach oranger Feststoff.

Ausbeute: 1.00 g (4.42 mmol, 94%).



Schmp.: 92 °C (Et₂O); Lit.^[386] 90-91 °C (MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.84$ (s, 6 H, OMe), 3.87 (s, 3 H, OMe), 3.91 (s, 3 H, OMe), 6.50 (s, 1 H, Ar-H), 7.38 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[386]

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 1: Umsetzung von Benzoessäuremethylestern mit lithiiertem 1,3-Dimethoxybenzol 106

Unter Stickstoff wurden 1.2 mL (8.44 mmol) TMEDA und 5.4 mL (8.44 mmol) *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan) in 20 mL trockenem THF bei 0 °C vorgelegt. Zu dieser Lösung tropfte man 1.01 g (7.34 mmol) 1,3-Dimethoxybenzol (**105**). Nach 2 h Rühren bei 0 °C war die Bildung des metallierten Dimethoxybenzol-Derivates **106** abgeschlossen. Die so erhaltene Lösung wurde ohne weitere Aufarbeitung mit unterschiedlichen Benzoessäuremethylestern zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone verwendet. Hierzu legte man ein Äquivalent des entsprechenden Benzoessäure-Bausteins unter Stickstoff bei 0 °C in THF vor und tropfte 1.1-1.3 Äquivalente **106** in THF zu. Die Reaktionen waren nach *ca.* 2 h Stunden Rühren bei RT abgeschlossen. Man versetzte die Reaktionslösungen bei 0 °C vorsichtig mit 5proz. HCl, extrahierte die wässrige Phase erschöpfend mit CH_2Cl_2 , wusch die so erhaltenen vereinigten organischen Phasen mit NaHCO_3 , trocknete diese mit MgSO_4 und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Die gewünschten Polymethoxy-Benzophenone wurden säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) aus dem Rückstand isoliert.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 2: Umsetzung von Benzoessäuremethylestern mit lithiiertem 1,3,5-Trimethoxybenzol 123

Unter Stickstoff wurden 0.6 mL (4.22 mmol) TMEDA und 2.7 mL (4.22 mmol) *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan) in 5 mL trockenem THF bei 0 °C vorgelegt. Zu dieser Lösung tropfte man 616 mg (3.67 mmol) 1,3,5-Trimethoxybenzol (**122**). Nach 2 h Rühren bei RT war die Bildung des metallierten Trimethoxybenzol-Derivates **123** abgeschlossen. Die so erhaltene Lösung wurde ohne weitere Aufarbeitung mit unterschiedlichen Benzoessäuremethylestern zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone verwendet. Hierzu legte man ein Äquivalent des entsprechenden Benzoessäure-Bausteins unter Stickstoff bei 0 °C in THF vor und tropfte 1.2-1.4

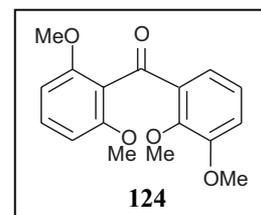
Äquivalente **123** in THF zu. Die Reaktionen waren nach *ca.* 2 h Stunden Rühren bei RT abgeschlossen. Man versetzte die Reaktionslösungen bei 0 °C vorsichtig mit 5proz. HCl, extrahierte die wässrige Phase erschöpfend mit CH₂Cl₂, wusch die so erhaltenen vereinigten organischen Phasen mit NaHCO₃, trocknete diese mit MgSO₄ und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Die gewünschten Polymethoxy-Benzophenone wurden säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) aus dem Rückstand isoliert.

2,2',3',6-Tetramethoxybenzophenon (**124**)

Die Synthese von **124** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 1. Aus der Umsetzung von 600 mg (3.06 mmol) 2,3-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**116**) erhielt man 700 mg (2.31 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelber Feststoff.

Ausbeute: 700 mg (2.31 mmol, 76%).



Schmp.: 110 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[387] 107 °C (Et₂O).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.53 (s, 3 H, OMe), 3.68 (s, 6 H, OMe), 3.83 (s, 3 H, OMe), 6.55 (d, J = 8.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.01-7.06 (m, 2 H, Ar-H), 7.24 (dd, J = 8.5, 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.30 (dd, J = 7.1, 2.4 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 56.2 (OMe), 56.3 (OMe), 61.2 (OMe), 104.3, 116.3, 121.6, 122.6, 123.7, 130.5, 134.1, 149.6, 153.4, 157.7 (Ar-C), 194.4 (C=O) ppm.

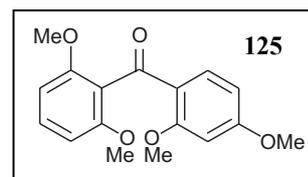
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[387]

2,2',4,6'-Tetramethoxybenzophenon (125)

Die Synthese von **125** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 1. Aus der Umsetzung von 600 mg (3.06 mmol) 2,4-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**117**) erhielt man 617 mg (2.04 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach orange Kristalle.

Ausbeute: 617 mg (2.04 mmol, 67%).



Schmp.: 130 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[388] 125.5-126.5 °C (PE).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.68 (s, 6 H, OMe), 3.71 (s, 3 H, OMe), 3.81 (s, 3 H, OMe), 6.41-6.44 (m, 2 H, Ar-H), 6.54 (d, J = 8.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.23 (dd, J = 8.3, 7.4 Hz, 1 H, Ar-H), 7.65 (dd, J = 8.5, 8.5 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 55.7 (OMe), 56.1 (OMe), 56.2 (OMe), 99.1, 104.3, 105.0, 121.4, 121.8, 130.0, 135.3, 157.3, 162.2, 164.9 (Ar-C), 192.6 (C=O) ppm.

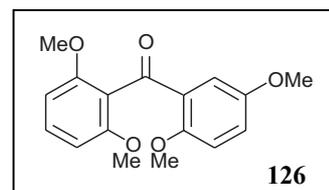
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[388]

2,2',5,6'-Tetramethoxybenzophenon (126)

Die Synthese von **126** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 1. Aus der Umsetzung von 600 mg (3.06 mmol) 2,5-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**118**) erhielt man 696 mg (2.30 mmol) des gewünschten Produkts.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 696 mg (2.30 mmol, 75%).



Schmp.: 97 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[389] 98 °C (EtOH).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.60 (s, 3 H, OMe), 3.75 (s, 6 H, OMe), 3.80 (s, 3 H, OMe), 6.4-7.4 (m, 6 H, Ar-H) ppm.

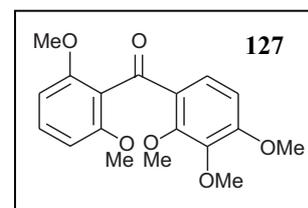
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[389]

2,2',3,4,6'-Pentamethoxybenzophenon (**127**)

Die Synthese von **127** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 1. Aus der Umsetzung von 600 mg (2.65 mmol) 2,3,4-Trimethoxybenzoesäuremethylester (**120**) erhielt man 613 mg (1.89 mmol) des gewünschten Produkts.

Brauner Feststoff.

Ausbeute: 613 mg (1.89 mmol, 71%).



Schmp.: 170 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3511 (br), 3034 (w), 2946 (w), 2843 (w), 1672 (s), 1590 (s), 1473 (s), 1435 (m), 1410 (m), 1290 (m), 1252 (s), 1111 (s), 1012 (w), 974 (m), 833 (w), 813 (w), 790 (w), 755 (w), 603 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.60 (s, 3 H, OMe), 3.67 (s, 6 H, OMe), 3.80 (s, 3 H, OMe), 3.85 (s, 3 H, OMe), 6.54 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, Ar-H), 6.64 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.23 (t, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar-H), 7.47 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 56.1 (OMe), 56.2 (OMe), 61.1 (OMe), 61.3 (Ar-C), 104.2, 106.7, 121.4, 126.4, 127.5, 130.2, 142.4, 155.0, 157.4, 158.7 (Ar-C), 192.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 332 (78) $[M]^+$, 315 (30), 301 (62), 271 (16), 195 (70), 181 (43), 165 (100), 151 (59), 138 (22), 122 (14), 107 (18), 91 (10), 84 (24), 71 (14), 57 (23), 43 (15).

HRESI-MS: m/z 333.1331 $[M+H]^+$ (m/z 333.1333 $[M+H]^+$ ber. für $C_{18}H_{21}O_6$).

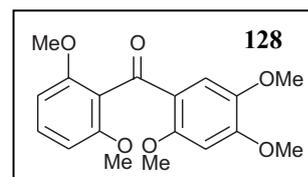
CHNS $C_{18}H_{20}O_6$ (322.35): ber. C 65.05, H 6.07; gef. C 64.43, H 6.21.

2,2',4,5,6'-Pentamethoxybenzophenon (**128**)

Die Synthese von **128** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 1. Aus der Umsetzung von 280 mg (1.24 mmol) 2,3,5-Trimethoxybenzoesäuremethylester (**121**) erhielt man 207 mg (0.62 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach orange Kristalle.

Ausbeute: 207 g (0.62 mmol, 50%).



Schmp.: 166-170 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3446 (br), 3115 (w), 3005 (w), 2935 (w), 2845 (w), 1638 (s), 1595 (s), 1515 (s), 1470 (s), 1435 (m), 1404 (m), 1360 (m), 1285 (s), 1272 (s), 1257 (s), 1216 (s), 1171 (w), 1109 (s), 1043 (m), 1025 (s), 1002 (w), 922 (w), 880 (w), 822 (w), 803 (m), 791 (m), 760 (m), 731 (w), 683 (w), 639 (m), 586 (w), 556 (w), 519 (w) cm^{-1} .

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.52 (s, 3 H, OMe), 3.68 (s, 6 H, OMe), 3.83 (s, 3 H, OMe), 3.89 (s, 3 H, OMe), 6.41 (s, 1 H, Ar-H), 6.54 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, Ar-H), 7.21 (t, J = 8.3, 1 H, Ar-H), 7.45 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD): δ = 56.19 (OMe), 56.23 (OMe), 56.5 (OMe), 57.3 (OMe), 98.1, 104.3, 113.7, 120.3, 122.7, 129.7, 143.5, 154.5, 156.7, 157.2 (Ar-C), 192.1 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 332 (100) $[M]^+$, 315 (26), 301 (15), 271 (6), 195 (35), 181 (15), 165 (47), 151 (17), 137 (5), 122 (7), 107 (10), 92 (3).

HRESI-MS: m/z 355.1155 $[M+Na]^+$ (m/z 355.1152 $[M+Na]^+$ ber. für $C_{18}H_{20}Na O_6$).

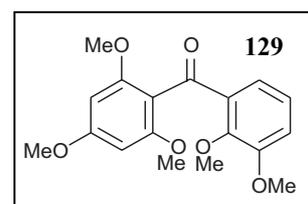
CHNS $C_{18}H_{20}O_6$ (322.35): ber. C 65.05, H 6.07; gef. C 64.60, H 6.03.

2,2',3,4',6'-Pentamethoxybenzophenon (129)

Die Synthese von **129** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 2. Aus der Umsetzung von 450 mg (2.29 mmol) 2,3-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**116**) erhielt man 160 mg (0.48 mmol) des gewünschten Produkts.

Braune Kristalle.

Ausbeute: 160 mg (0.48 mmol, 21%).



Schmp.: 147 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3437 (br), 3098 (w), 3004 (w), 2941 (m), 2843 (w), 1672 (s), 1608 (s), 1583 (s), 1466 (s), 1417 (s), 1339 (w), 1309 (s), 1266 (s), 1226 (s), 1204 (s), 1181 (m), 1156 (s), 1124 (s), 1096 (m), 1075 (m), 1051 (w), 1033 (w), 997 (s), 971 (s), 948 (w), 922 (w), 909 (w), 834 (m), 804 (s), 785 (m), 770 (m), 670 (w), 646 (w), 621 (w), 581 (w), 561 (w), 513 (w), 478 (w) cm^{-1} .

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.60 (s, 3 H, OMe), 3.65 (s, 6 H, OMe), 3.80 (s, 3 H, OMe), 3.83 (s, 3 H, OMe), 6.01 (s, 2 H, Ar-H), 6.97-7.03 (m, 2 H, Ar-H), 7.19 (dd, J = 7.3, 2.3 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD): δ = 55.6 (OMe), 56.1 (OMe), 56.2 (OMe), 61.5 (OMe), 90.1, 114.5, 115.7, 122.3, 123.6, 135.4, 149.1, 153.3, 159.2, 162.5 (Ar-C), 193.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 332 (51) $[M]^+$, 315 (14), 301 (25), 271 (6), 195 (100), 181 (31), 165 (17), 152 (11), 137 (11), 122 (7), 107 (6), 77 (8), 69 (3), 51 (3), 39 (2).

HRESI-MS: m/z 333.1333 $[M+H]^+$ (m/z 333.1333 $[M+H]^+$ ber. für $C_{18}H_{21}O_6$).

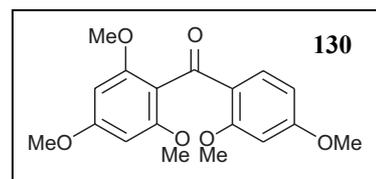
CHNS $C_{18}H_{20}O_6$ (322.35): ber. C 65.05, H 6.07; gef. C 64.49, H 6.28.

2,2',4,4',6'-Pentamethoxybenzophenon (130)

Die Synthese von **130** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 2. Aus der Umsetzung von 600 mg (3.06 mmol) 2,4-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**117**) erhielt man 799 mg (2.04 mmol) des gewünschten Produkts.

Beige Kristalle.

Ausbeute: 799 mg (2.04 mmol, 79%).



Schmp.: 139 °C (Acetonitril/Et₂O); Lit.^[390] 142 °C (MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.65 (s, 6 H, OMe), 3.72 (s, 3 H, OMe), 3.81 (s, 6 H, OMe), 6.10 (s, 2 H, Ar-H), 6.40-6.43 (m, 2 H, Ar-H), 7.62 (m, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[390]

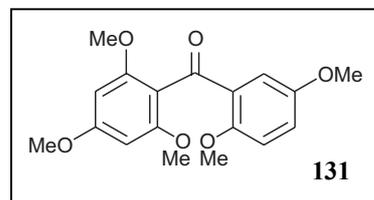
2,2',4,5',6'-Pentamethoxybenzophenon (131)

Die Synthese von **131** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 2. Aus der Umsetzung von 450 mg (2.29 mmol) 2,5-

Dimethoxybenzoesäuremethylester (**118**) erhielt man 274 mg (0.82 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach rosa Kristalle.

Ausbeute: 274 mg (0.82 mmol, 36%).



Schmp.: 130 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3446 (br), 2994 (m), 2971 (m), 2940 (m), 2839 (m), 1644 (s), 1603 (s), 1586 (s), 1492 (s), 1471 (s), 1459 (s), 1435 (m), 1409 (s), 1325 (s), 1278 (s), 1261 (m), 1244 (s), 1223 (s), 1207 (s), 1178 (m), 1161 (s), 1144 (s), 1128 (s), 1058 (m), 1045 (s), 981 (m), 946 (m), 871 (m), 846 (m), 826 (s), 806 (s), 785 (m), 755 (m), 730 (s), 682 (w), 637 (w), 625 (w), 609 (s), 558 (w), 502 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.61 (s, 3 H, OMe), 3.65 (s, 6 H, OMe), 3.75 (s, 3 H, OMe), 3.81 (s, 3 H, OMe), 6.10 (s, 2 H, Ar-H), 6.83 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H), 6.96 (dd, J = 9.0, 3.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.23 (d, J = 3.2 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 55.6 (OMe), 56.0 (OMe), 56.2 (OMe), 57.3 (OMe), 91.0, 114.7, 114.8, 115.8, 119.7, 130.3, 153.6, 154.1, 159.0, 162.3 (Ar-C), 193.3 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 332 (75) $[\text{M}]^+$, 315 (16), 301 (17), 271 (5), 195 (100), 181 (34), 168 (32), 152 (11), 137 (10), 135 (6), 107 (5), 77 (5), 63 (2), 53 (2), 39 (1).

HRESI-MS: m/z 333.1333 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (m/z 333.1333 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_6$).

CHNS $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6$ (276.32): ber. C 65.05, H 6.07; gef. C 65.12, H 6.39.

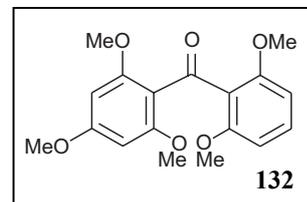
2,2',4,6,6'-Pentamethoxybenzophenon (**132**)

Die Synthese von **132** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 2. Aus der Umsetzung von 578 mg (2.95 mmol) 2,6-

Dimethoxybenzoesäuremethylester (**119**) erhielt man 252 mg (0.76 mmol) des gewünschten Produkts.

Farblose Kristalle.

Ausbeute: 252 mg (0.76 mmol, 26%).



Schmp.: 147-149 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[389] 150 °C (Benzol).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.61 (s, 6 H, OMe), 3.63 (s, 6 H, OMe), 3.78 (s, 3 H, OMe), 6.01 (s, 2 H, Ar-H), 6.45 (d, J = 9.1 Hz, 2 H, Ar-H), 7.18 (t, J = 9.1 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

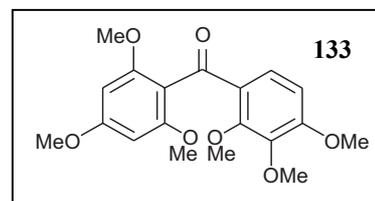
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[389]

2,2',3,4,4',6'-Hexamethoxybenzophenon (**133**)

Die Synthese von **133** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 2. Aus der Umsetzung von 586 mg (2.59 mmol) 2,3,4-Trimethoxybenzoesäuremethylester (**120**) erhielt man 188 mg (0.52 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach brauner Feststoff.

Ausbeute: 188 mg (0.52 mmol, 20%).



Schmp.: 136 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3447 (br), 3003 (m), 2973 (m), 2946 (m), 2843 (m), 1666 (s), 1588 (s), 1493 (m), 1460 (s), 1436 (m), 1412 (s), 1339 (m), 1286 (s), 1273 (s), 1232 (s), 1205 (s), 1189 (m), 1151 (s),

1123 (s), 1099 (s), 1059 (w), 1028 (m), 969 (m), 906 (w), 822 (m), 791 (m), 749 (w), 702 (w), 674 (w), 601 (w), 570 (w), 491 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.65 (s, 3 H, OMe), 3.66 (s, 6 H, OMe), 3.81 (s, 3 H, OMe), 3.82 (s, 3 H, OMe), 3.86 (s, 3 H, OMe), 6.10 (s, 2 H, Ar-H), 6.62 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H), 7.41 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 55.6 (OMe), 56.1 (OMe), 56.2 (OMe), 61.1 (OMe), 61.6 (OMe), 91.0, 106.7, 114.6, 127.2, 127.6, 142.5, 154.7, 157.3, 158.8, 162.2 (Ar-C), 192.3 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 362 (65) $[\text{M}]^+$, 345 (47), 331 (50), 317 (6), 301 (9), 195 (100), 181 (43), 168 (39), 151 (18), 137 (11), 109 (4), 94 (2), 77 (3), 69 (2).

HRESI-MS: m/z 385.1257 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 385.1258 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{NaO}_7$).

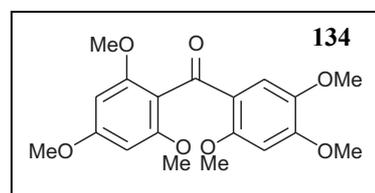
CHNS $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_7$ (362.37): ber. C 62.97, H 6.12; gef. C 62.80, H 5.92.

2,2',4,4',5,6'-Hexamethoxybenzophenon (**134**)

Die Synthese von **134** verlief analog der Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Benzophenone 2. Aus der Umsetzung von 586 mg (2.59 mmol) 2,4,5-Trimethoxybenzoesäuremethylester (**121**) erhielt man 258 mg (0.71 mmol) des gewünschten Produkts.

Brauner Feststoff.

Ausbeute: 258 mg (0.71 mmol, 27%).



Schmp.: 153 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[391] 120 °C (MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.57 (s, 3 H, OMe), 3.66 (s, 6 H, OMe), 3.81 (s, 3 H, OMe), 3.82 (s, 3 H, OMe), 3.89 (s, 3 H, O Me), 6.10 (s, 2 H, Ar-H), 6.41 (s, 1 H, Ar-H), 7.39 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

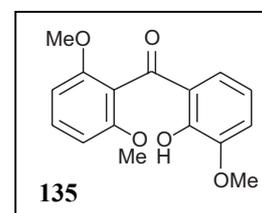
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[391]

2-Hydroxy-2',3,6'-Trimethoxybenzophenon (135)

Unter Argon wurden 600 mg (1.99 mmol) 2,2',3',6'-Tetramethoxybenzophenon (**124**) in 45 mL abs. CH_2Cl_2 vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Dazu tropfte man 2.8 mL (2.78 mmol) einer BCl_3 -Lösung (1 M in Hexan) und rührte 3 h bei 0 °C. Die Reaktionslösung wurde mit 5proz. HCl angesäuert und erschöpfend mit CH_2Cl_2 extrahiert. Nach Waschen der vereinigten organischen mit ges. NaHCO_3 -Lösung, Trocknen über MgSO_4 und Entfernen des Lösungsmittels erhielt man 539 mg (1.87 mmol) des gewünschten Produkts **135**.

Schwach brauner Feststoff.

Ausbeute: 539 mg (1.87 mmol, 94%).



Schmp.: 150 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[392] 146-148 °C (MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.71 (s, 6 H, OMe), 3.94 (s, 3 H, OMe), 6.62 (d, J = 8.5 Hz, 2 H, Ar-H), 6.72 (t, J = 8.1 Hz, 1 H, Ar-H), 6.94 (dd, J = 8.6, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.05 (dd, J = 7.8, 1.2 Hz, 1 H, Ar-H), 7.94 (t, J = 8.5 Hz, 1 H, Ar-H), 12.41 (s, 1 H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[392]

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung Polymethoxy-substituierter Xanthone durch selektive O-Demethylierung und Cyclisierung der entsprechenden Benzophenon-Vorläufer:

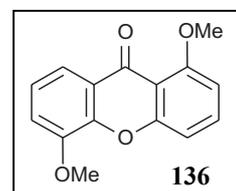
Unter Stickstoff wurde ein Äquivalent der Benzophenon-Vorstufe in abs. CH₂Cl₂ vorgelegt. Man kühlte die Lösung auf 0 °C und tropfte 1.1 Äquivalente einer 1 M Lösung aus BCl₃ in *n*-Hexan zu. Nach beendeter Zugabe wurde bis zur Vollständigkeit der Reaktion weitere 2 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit 5proz. HCl angesäuert und die wässrige Phase erschöpfend mit CH₂Cl₂ extrahiert. Nach Waschen der vereinigten organischen Phasen mit NaHCO₃ und deren Trocknung mit MgSO₄ entfernte man das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wurde in ein Gemisch aus H₂O/Pyridin (1:2) aufgenommen, mit einem großen Überschuss Tetramethylammoniumhydroxid (*ca.* 20 Äquivalente) versetzt und über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Nach Ansäuern der Reaktionslösung mit 5proz. HCl und erneuter erschöpfender Extraktion mit CH₂Cl₂ trocknete man die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhielt so die gewünschten Polymethoxy-Xanthone in reiner Form.

1,5-Dimethoxyxanthon (136)

Die Synthese von **136** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 600 mg (1.99 mmol) des Benzophenons **124** erhielt man so 479 mg (1.87 mmol) des gewünschten Produkts.

Farblose Kristalle.

Ausbeute: 479 mg (1.87 mmol, 94%).



Schmp.: 189 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[393] 190 °C (CHCl₃/2-Methylpentan).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.99 (s, 6 H, OMe), 6.78 (dd, *J* = 8.3, 0.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.15 (dd, *J* = 8.5, 1.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.16 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.23 (t, *J* = 8.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.58 (t, *J* = 8.4 Hz, 1 H, Ar-H), 7.85 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

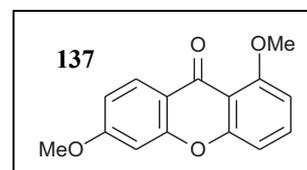
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[393,394]

1,6-Dimethoxyxanthon (137)

Die Synthese von **137** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 300 mg (0.99 mmol) des Benzophenons **125** erhielt man so 226 mg (0.88 mmol) des gewünschten Produkts.

Farblose Kristalle.

Ausbeute: 226 mg (0.88 mmol, 89%).



Schmp.: 184 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[395] 178-179 °C (CHCl₃/2-Methylpentan).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.89 (s, 3 H, OMe), 3.98 (s, 3 H, OMe), 6.76 (dd, J = 8.3, 0.6 Hz, 1 H, Ar-H), 6.79 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, Ar-H), 6.87 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1 H, Ar-H), 6.99 (dd, J = 8.5, 1 Hz, 1 H, Ar-H), 7.54 (t, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 8.18 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[395,396]

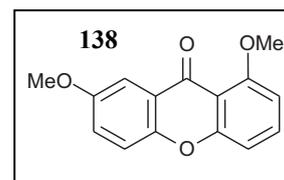
1,7-Dimethoxyxanthon (138)

Die Synthese von **138** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 600 mg (1.99 mmol) des Benzophenons **126** erhielt man so 255 mg (0.99 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelbe Nadeln.

Ausbeute: 255 mg (0.99 mmol, 50%).

Schmp.: 148 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[397] 148-149 °C (EtOH).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.87 (s, 3 H, OMe), 3.99 (s, 3 H, OMe), 6.75 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, Ar-H), 7.02 (dd, J = 8.5, 0.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.24 (dd, J = 9.1, 3.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.33 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H), 7.56 (t, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.67 (d, J = 3.0 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[397]

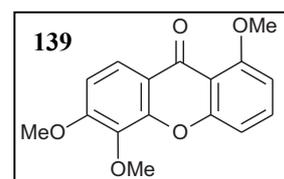
1,5,6-Trimethoxyxanthon (139)

Die Synthese von **139** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 500 mg (1.50 mmol) des Benzophenons **127** erhielt man so 357 mg (1.25 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelbe Nadeln.

Ausbeute: 357 mg (1.25 mmol, 82%).

Schmp.: 149 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[398] 148-150 °C (EtOH).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.88 (s, 3 H, OMe), 3.90 (s, 3 H, OMe), 3.98 (s, 3 H, OMe), 6.75 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, Ar-H), 6.78 (dd, J = 8.4, 1.0 Hz, 1 H, Ar-H), 6.87 (dd, J = 8.4, 1.0 Hz, 1 H, Ar-H), 6.99 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, Ar-H), 7.53 (t, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

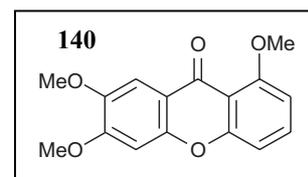
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[398]

1,6,7-Trimethoxyxanthon (140)

Die Synthese von **140** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 500 mg (1.50 mmol) des Benzophenons **128** erhielt man so 392 mg (1.37 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelbe Nadeln.

Ausbeute: 392 mg (1.37 mmol, 91%).



Schmp.: 188 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[397] 184-187 °C (EtOH).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.95 (s, 3 H, OMe), 3.97 (s, 3 H, OMe), 3.99 (s, 3 H, OMe), 6.76 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, Ar-H), 6.82 (s, 1 H, Ar-H), 7.00 (dd, J = 8.5, 0.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.53 (t, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.63 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

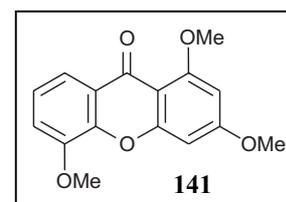
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[397]

1,3,5-Trimethoxyxanthon (141)

Die Synthese von **141** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 50 mg (0.15 mmol) des Benzophenons **13** erhielt man so 38 mg (0.13 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelbe Nadeln.

Ausbeute: 38 mg (0.13 mmol, 89%).



Schmp.: 227-228 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[231] 220-221 °C (EtOAc).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.88 (s, 3 H, OMe), 3.95 (s, 3 H, OMe), 3.99 (s, 3 H, OMe), 6.33 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.60 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.14 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.21 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.84 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

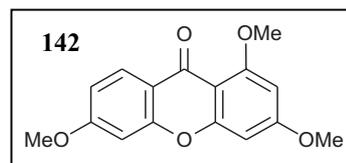
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[231]

1,3,6-Trimethoxyxanthon (142)

Die Synthese von **142** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 50 mg (0.15 mmol) des Benzophenons **130** erhielt man so 42 mg (0.15 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelbe Nadeln.

Ausbeute: 42 mg (0.15 mmol, 100%).



Schmp.: 150-158 °C (CH_2Cl_2); Lit.^[224] 155-156 °C (EtOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.83 (s, 3 H, OMe), 3.84 (s, 3 H, Me), 3.90 (s, 3 H, Me), 6.34 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.40 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.28 (dd, J = 9.1, 3.2 Hz, 1 H, Ar-H), 7.35 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H), 7.60 (d, J = 3.2 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

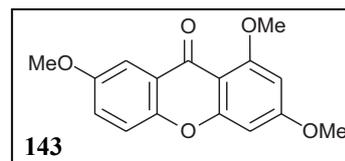
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[224,399]

1,3,7-Trimethoxyxanthon (143)

Die Synthese von **143** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 20 mg (0.06 mmol) des Benzophenons **131** erhielt man so 17 mg (0.06 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelbe Nadeln.

Ausbeute: 17 mg (0.06 mmol, 100%).



Schmp.: 170-174 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[224] 171-173 °C (MeOH/H₂O).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.87 (s, 3 H, OMe), 3.88 (s, 3 H, OMe), 3.95 (s, 3 H, OMe), 6.31 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.46 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, Ar-H), 6.75 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, Ar-H), 6.86 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1 H, Ar-H), 8.17 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

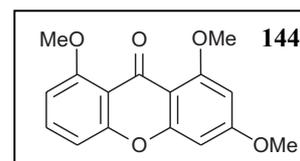
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[224,399]

1,3,8-Trimethoxyxanthon (144)

Die Synthese von **144** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 20 mg (0.06 mmol) des Benzophenons **132** erhielt man so 17 mg (0.06 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach braune Nadeln.

Ausbeute: 17 mg (0.06 mmol, 100%).



Schmp.: 183-184 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[376] 188-190 °C (Sublimation).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.86 (s, 3 H, OMe), 3.91 (s, 3 H, OMe), 3.94 (s, 3 H, OMe), 6.28 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.40 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.72 (dd, J = 8.3, 0.6 Hz, 1 H, Ar-H), 6.90 (dd, J = 8.3, 0.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.47 (t, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

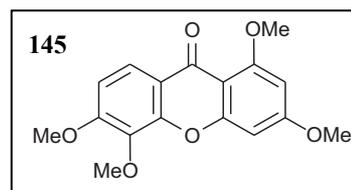
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[376,399]

1,3,5,6-Tetramethoxyxanthon (145)

Die Synthese von **145** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 52 mg (0.14 mmol) des Benzophenons **133** erhielt man so 44 mg (0.14 mmol) des gewünschten Produkts.

Farblose Kristalle.

Ausbeute: 44 mg (0.14 mmol, 100%).



Schmp.: 144-145 °C (CH_2Cl_2); Lit.^[377] 146-147 °C ($\text{Et}_2\text{O/PE}$).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.89 (s, 3 H, OMe), 3.94 (s, 3 H, OMe), 3.96 (s, 3 H, OMe), 3.98 (s, 3 H, OMe), 6.32 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, Ar-H), 6.57 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.92 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H), 8.00 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[377,396]

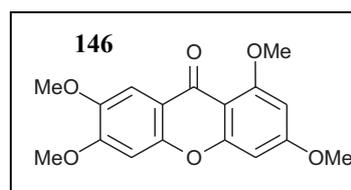
1,3,6,7-Tetramethoxyxanthon (146)

Die Synthese von **146** wurde analog zur Allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Polymethoxy-Xanthonen durchgeführt. Aus der Umsetzung von 160 mg (0.44 mmol) des Benzophenons **134** erhielt man so 94 mg (0.30 mmol) des gewünschten Produkts.

Schwach gelbe Nadeln.

Ausbeute: 94 mg (0.30 mmol, 68%).

Schmp.: 164-166 °C (CH₂Cl₂); Lit.^[397] 165-166 °C (EtOAc).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.87 (s, 3 H, OMe), 3.94 (s, 9 H, OMe), 6.31 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.43 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, Ar-H), 6.78 (s, 1 H, Ar-H), 7.62 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

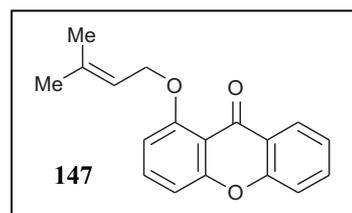
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[397]

1-(Prenyloxy)xanthon (147)

Eine Suspension aus 200 mg (0.94 mmol) 1-Hydroxyxanthon (**109**), 20 mg (0.12 mmol) KI, 560 mg (4.05 mmol) K₂CO₃ und 170 mg (1.14 mmol) Prenylbromid in 3 mL DMF wurde über Nacht bei RT gerührt. Man versetzte die Reaktionslösung mit H₂O und extrahierte die wässrige Phase mit Et₂O und CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Aus dem Rückstand isolierte man mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) 200 mg (0.71 mmol) des gewünschten Xanthons **147**.

Schwach gelbe Kristalle.

Ausbeute: 200 mg (0.71 mmol, 72%).



Schmp.: 103 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[400] 102-104 °C (Heptan).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.75 (s, 3 H, Me), 1.78 (s, 3 H, Me), 4.70 (d, J = 6.4 Hz, 2 H, CH₂), 5.59-5.62 (m, 1 H, CH), 6.76 (dd, J = 8.2, 0.8 Hz, 1 H, Ar-H), 7.00 (dd, J = 8.3, 0.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.29 (dt, J = 8.1, 1.1 Hz, 1 H, Ar-H), 7.37 (dd, J = 8.4, 0.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.53 (t, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.62 (dt, J = 8.1, 1.1 Hz, 1 H, Ar-H), 8.26 (dd, J = 8.4, 1.8 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[400]

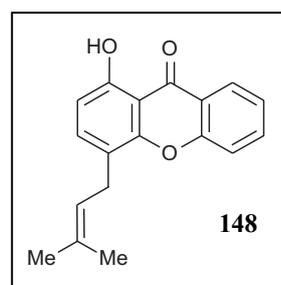
1-Hydroxy-4-prenylxanthon (148)

Eine Suspension aus 500 mg (1.78 mmol) 1-(Prenyloxy)xanthon (**149**) und 500 mg Florisil-Pulver in 5 mL Toluol wurde bei 50 °C für 14 h gerührt. Nach Filtration der Reaktionslösung und Einengen des Lösungsmittels im Vakuum reinigte man den verbleibenden Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Toluol/PE, 1:3) auf. Man erhielt so 320 mg (1.14 mmol) des Prenylxanthons **148**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 320 mg (1.14 mmol, 64%).

Schmp.: 128 °C (Toluol/PE).



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3432 (br), 3003 (m), 2962 (w), 2943 (w), 2933 (w), 2864 (w), 1609 (s), 1473 (m), 1459 (m), 1376 (m), 1307 (m), 1279 (m), 1238 (m), 1201 (w), 1154 (w), 1058 (s), 812 (w), 779 (w), 755 (s), 666 (w), 606 (w), 450 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.72 (s, 3 H, Me), 1.74 (d, J = 0.9 Hz, 3 H, Me), 3.37 (d, J = 7.2 Hz, 2 H, CH₂), 5.29-5.34 (m, 1 H, CH), 6.86 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.35 (dt, J = 8.1, 1

Hz, 1 H, Ar-H), 7.45 (t, $J = 8.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.71 (dt, $J = 8.6, 1.8$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.26 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, Ar-H), 12.88 (s, 1 H, OH) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD): $\delta = 18.0$ (Me), 26.0 (Me), 27.2 (CH_2), 106.4, 108.8, 118.0, 120.8, 122.0, 123.2, 124.0, 126.3, 133.6, 135.6, 137.1, 154.8, 156.5, 159.3 (Ar-C oder C=C), 182.8 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 280 (42) $[\text{M}]^+$, 265 (42), 237 (26), 225 (100), 212 (6), 125 (8), 77 (9), 41 (5).

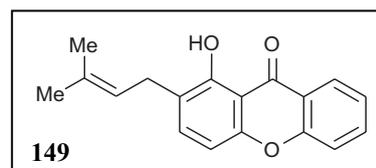
HRESI-MS: m/z 303.0993 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 303.0992 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NaO}_3$).

1-Hydroxy-2-prenylxanthon (149)

Eine Suspension aus 220 mg (0.78 mmol) 1-(Prenyloxy)xanthon (**149**) und 70 mg Montmorillonit in 5 mL Toluol wurde bei RT für 3 h gerührt. Nach Filtration der Reaktionslösung und Einengen des Lösungsmittels im Vakuum reinigte man den verbleibenden Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Toluol/PE, 1:3) auf. Man erhielt so 72 mg (0.26 mmol) des Prenylxanthons **149**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 72 mg (0.26 mmol, 33%).



Schmp.: 130 °C (Toluol/PE).

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3422$ (br), 2962 (w), 2945 (w), 2932 (w), 2864 (w), 1642 (s), 1609 (s), 1473 (s), 1459 (s), 1376 (m), 1307 (m), 1279 (m), 1238 (s), 1201 (w), 1154 (w), 1058 (s), 998 (w), 877 (w), 852 (w), 811 (m), 779 (m), 755 (s), 666 (w), 635 (w), 606 (m), 575 (w), 524 (w), 455 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.72$ (s, 3 H, Me), 1.74 (d, $J = 1$ Hz, 3 H, Me), 3.37 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H, CH_2), 5.29-5.34 (m, 1 H, CH), 6.86 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.35 (dt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.45 (t, $J = 8.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.71 (dt, $J = 8.6, 1.8$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.26 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1 H, Ar-H), 12.88 (s, 1 H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): $\delta = 18.0$ (Me), 26.0 (Me), 27.2 (CH_2), 106.4, 108.8, 118.0, 120.8, 121.9, 123.2, 124.0, 126.3, 133.6, 135.6, 137.1, 154.8, 156.5, 159.3 (Ar-C oder C=C), 182.8 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 280 (46) $[\text{M}]^+$, 265 (48) $[\text{M-Me}]^+$, 237 (40), 225 (100), 212 (8), 125 (8), 77 (13), 41 (6).

HRESI-MS: m/z 303.0991 $[\text{M+Na}]^+$ (m/z 303.0992 $[\text{M+Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NaO}_3$).

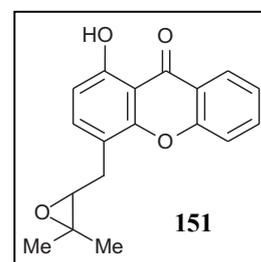
1-Hydroxy-4-((3,3-dimethyloxiran-2-yl)methyl)xanthon (151)

Zu einer Lösung aus 60 mg (0.21 mmol) 1-Hydroxy-4-prenylxanthon (**148**) in Aceton tropfte man bei RT eine Lösung aus Dimethyldioxiran in Aceton (hergestellt durch Umsetzung von Aceton mit Oxon)^[241] bis zum vollständigen Umsatz von **148**. Nach weiteren 15 min Rühren wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und 60 mg (0.20 mmol) des gewünschten Produkts **151** mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Toluol/PE, 1:3) isoliert.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 60 mg (0.20 mmol, 95%).

Schmp.: 105-109 °C (Toluol/PE).



IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3448$ (br), 2991 (w), 2982 (w), 2945 (w), 1650 (s), 1607 (s), 1481 (s), 1378 (m), 1282 (m), 1236 (s), 1119 (w), 1059 (w), 820 (w), 763 (w), 670 (w), 634 (w), 420 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.32$ (s, 3 H, Me), 1.45 (s, 3 H, Me), 3.00-3.12 (m, 3 H, CH), 6.77 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.39 (dt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.48-7.52 (m, 2 H, Ar-H), 7.75 (dt, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.27 (dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, 1 H, Ar-H), 12.59 (s, 1H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): $\delta = 19.3$ (Me), 25.0 (Me), 28.9 (CH_2), 59.1 (C-O), 63.7 (C-O), 109.2, 110.6, 115.9, 118.1, 120.8, 124.5, 126.3, 135.8, 137.8, 154.0, 156.3, 161.0 (Ar-C oder C=C), 182.7 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 296 (6) $[\text{M}]^+$, 253 (87), 238 (24), 225 (100), 181 (5), 105 (5), 77 (13), 57 (9), 43 (9).

HRESI-MS: m/z 319.0939 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 319.0941 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NaO}_4$).

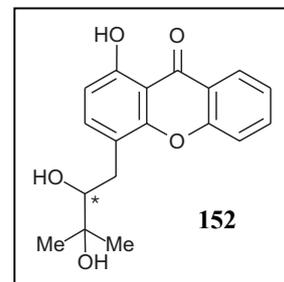
1-Hydroxy-4-(2,3-dihydroxy-3-methylbutyl)xanthon (152)

Eine Lösung aus 30 mg (0.10 mmol) 1-Hydroxy-4-((3,3-dimethyloxiran-2-yl)methyl)xanthon (**151**) in 5 mL Dioxan wurde mit 5 Tropfen 2 M H_2SO_4 versetzt und 30 min bei RT gerührt. Man versetzte die Reaktionslösung mit ges. NaHCO_3 -Lösung und extrahiert erschöpfend mit CH_2Cl_2 . Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und der verbleibende Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, MeOH/ CH_2Cl_2 , 1:20) aufgetrennt. Man isolierte so 19 mg (61 μmol) des gewünschten Diols **152**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 19 mg (61 μmol , 60%).

Schmp.: 146-153 $^\circ\text{C}$ (MeOH/ CH_2Cl_2).



IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3431$ (br), 2976 (w), 2943 (w), 2998 (w), 1645 (s), 1606 (s), 1482 (s), 1379 (m), 1281 (m), 1238 (s), 1082 (m), 769 (m), 630 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.34 (s, 3 H, Me), 1.39 (s, 3 H, Me), 2.67 (dd, J = 14.0, 10.4 Hz, 1 H, CH), 3.22 (dd, J = 14.0, 2.1 Hz, 1 H, CH), 3.73 (dd, J = 10.5, 2.3 Hz, 1 H, CH), 6.77 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, Ar-H), 7.37-7.44 (m, 2 H, Ar-H), 7.53 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, Ar-H), 7.74 (dt, J = 8.6, 1.8 Hz, 1 H, Ar-H), 8.27 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1 H, Ar-H), 12.55 (s, 1H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 23.7 (Me), 26.9 (Me), 32.3 (CH_2), 73.1 (C-O), 78.1 (C-O), 109.3, 110.5, 116.9, 117.9, 120.8, 124.5, 126.4, 135.8, 138.9, 154.1, 156.2, 161.0 (Ar-C oder C=C), 182.7 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 314 (15) $[\text{M}]^+$, 255 (10), 225 (100), 213 (29), 77 (6), 59 (13).

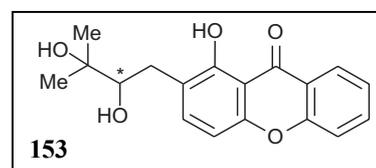
HRESI-MS: m/z 337.1053 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 337.1052 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{NaO}_5$).

1-Hydroxy-2-(2,3-dihydroxy-3-methylbutyl)xanthon (153)

Eine Lösung aus 31 mg (0.11 mmol) 1-Hydroxy-2-prenylxanthon (**149**), 15 mg (95 μmol) KMnO_4 und 15 mg (0.12 mmol) MgSO_4 in 2 mL CH_2Cl_2 , 2mL H_2O und 1 mL MeOH wurde bis zum Verschwinden der Färbung von KMnO_4 gerührt. Man filtrierte die Reaktionslösung und extrahierte das Filtrat erschöpfend mit CH_2Cl_2 . Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, MeOH/ CH_2Cl_2 , 1:20) lieferte 9 mg (29 μmol) des gewünschten Diols **153**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 9 mg (29 μmol , 26%).



Schmp.: 189-192 °C (MeOH/ CH_2Cl_2).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3313 (br), 2981 (w), 2975 (w), 2945 (w), 1643 (s), 1609 (s), 1588 (m), 1473 (s), 1447 (s), 1380 (m), 1310 (m), 1282 (m), 1241 (s), 1205 (m), 1149 (w), 1061 (s), 950 (w), 876 (w), 819 (m), 786 (m), 765 (m), 669 (w), 632 (w), 612 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.28$ (s, 3 H, Me), 1.31 (s, 3 H, Me), 2.71 (dd, $J = 14.0, 10.4$ Hz, 1 H, CH), 2.96 (dd, $J = 14.0, 2.2$ Hz, 1 H, CH), 3.67 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, CH), 6.92 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.38 (dt, $J = 8.0, 1.0$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.46 (dd, $J = 8.5, 0.6$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.53 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.77 (dt, $J = 8.7, 1.7$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.26 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1 H, Ar-H), 13.10 (s, 1H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): $\delta = 23.9$ (Me), 26.5 (Me), 32.1 (CH_2), 73.1 (C-O), 78.7 (C-O), 107.1, 108.8, 118.1, 120.7, 120.8, 124.3, 126.2, 135.9, 138.8, 155.3, 156.5, 159.5 (Ar-C oder C=C), 182.8 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 314 (3) $[\text{M}]^+$, 255 (84), 225 (100), 209 (5), 77 (8), 59 (9).

HRESI-MS: m/z 337.1045 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 337.1052 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{NaO}_5$).

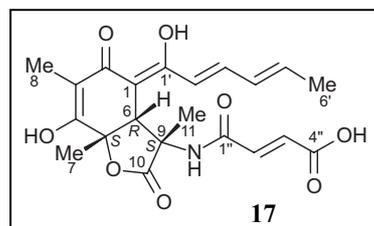
4.3 Untersuchungen zu Struktur, Biosynthese und Synthese des antileukämischen Wirkstoffes Sorbicillacton A (17)

Isolierung von Sorbicillacton A (17) aus den Fütterunsexperimenten

Sorbicillacton A (**17**) wurde aus allen Extrakten der Fütterungsexperimente mit ^{13}C -markierten Vorstufen nach folgender Vorschrift isoliert: Der aus Kiel angelieferte wässrige Extrakt wurde mit EtOAc bei pH 7 extrahiert und die so gewonnene organische Phase verworfen. Man säuerte die wässrige Phase mit konc. H_3PO_4 auf pH 3 an und extrahierte erschöpfend mit EtOAc. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H_2O gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Nach Aufnahme der Rohextrakte in MeOH und Filtration der entstehenden Lösungen isolierte man **17** mittels präparativer HPLC (Symmetry C_{18} 19 x 300 mm (Waters); $\text{H}_2\text{O} + 0.05\%$ TFA (A), MeCN + 0.05% TFA; Fluss 12 mL/min; 0 min 30% B, 30 min 70% B). Die Retentionszeit von Sorbicillacton A (**17**) betrug 17 min. Die vereinigten, Sorbicillacton A (**17**) enthaltenden Fraktionen wurden im Vakuum vom Acetonitril befreit und die verbleibende wässrige Lösung über eine RP-18-SPE-Kartusche filtriert. Sorbicillacton A (**17**) band dabei quantitativ am SPE-Material. Zur Entfernung von TFA-Resten aus der HPLC-

Chromatographie wusch man das gebundene **17** mit H₂O und eluierte mit MeOH. Man erhielt so nach Entfernen des Lösungsmittels folgende Mengen **17** als gelben Feststoff aus den verschiedenen Fütterungen:

¹³ C ₂ -Acetat-Fütterung:	2.73 mg
¹³ C ₃ -Alanin-Fütterung:	4.81 mg
¹³ Me-Methionin-Fütterung:	6.82 mg
¹³ C ₂ -Sorbicillin-Fütterung:	<<1mg
¹³ C ₂ -Sorbinsäure-Fütterung:	8.22 mg



NMR-Referenzdaten von Sorbicillacton A (**17**):

¹H-NMR (600 MHz, MeOD): δ = 1.50 (s, 3 H, Me-11), 1.55 (s, 3 H, Me-8), 1.62 (s, 3 H, Me-7), 1.85 (dd, J = 6.2, 1.2 Hz, 3 H, Me-6'), 3.66 (s, 1 H, H-1), 6.12 (m, 1 H, H-5'), 6.34 (ddd, J = 14.5, 11.0, 1.3 Hz, 1 H, H-4'), 6.46 (d, J = 14.7 Hz, 1 H, H-2'), 6.53 (d, J = 15.4 Hz, 1 H, H-3''), 6.79 (d, J = 15.4 Hz, 1 H, H-2''), 7.24 (dd, J = 14.7, 11.0 Hz, 1 H, H-3') ppm.

¹³C-NMR (150 MHz, THF-d₈): δ = 7.3 (C-8), 18.5 (C-6'), 25.0 (C-7), 26.0 (C-11), 53.0 (C-1), 60.0 (C-9), 81.0 (C-2), 99.6 (C-6), 110.9 (C-4), 121.7 (C-2'), 131.2 (C-3''), 132.0 (C-4'), 136.0 (C-2''), 136.9 (C-5'), 139.1 (C-3'), 162.5 (C-1'), 166.3 (C-4''), 166.5 (C-3), 169.7 (C-1'), 173.0 (C-10), 192.1 (C-5).

Die physikalischen und spektroskopischen Daten von Sorbicillacton A (**17**) aus den Fütterungsexperimenten stimmten mit denen einer authentischen Referenzsubstanz gut überein. Die Positionen des Einbaus der ¹³C-Markierung wurden durch ¹³C- und INADEQUATE-NMR-Spektroskopie ermittelt (siehe Kapitel 5.3, Abb. 36-38).

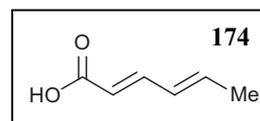
Sorbinsäure (**174**)

Unter Argon wurden 1.5 g (6.63 mmol) Triethylphosphonoacetat (**176**) in 36 mL abs. Et₂O vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Zu diesem Gemisch gab man 4.5 mL (7.29 mmol) einer *n*-

BuLi-Lösung (1.6 M in n-Hexan) und rührte 30 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nach Zugabe von 0.6 mL (7.29 mmol) Crotonaldehyd (**171**) entfernte man das Kältebad und rührte über Nacht. Die Reaktionslösung wurde mit ges. NH_4Cl -Lösung versetzt und erschöpfend mit Et_2O extrahiert. Nach Waschen und Trocknen (MgSO_4) der vereinigten organischen Phasen entfernte man das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wurde in 6 mL EtOH aufgenommen, mit 65 mL H_2O sowie 8.8 mL einer 2 M KOH-Lösung versetzt und 1 h unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit HCl angesäuert, mit Et_2O erschöpfend extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Man erhielt so 676 mg (6.03 mmol) der gewünschten Säure **174**. Die Synthese von $1,2\text{-}^{13}\text{C}_2\text{-174}$ verlief unter Verwendung von $1,2\text{-}^{13}\text{C}_2$ -markiertem Triethylphosphonoacetats analog.

Weißer Feststoff.

Ausbeute: 676 mg (6.03 mmol, 91%).



Schmp.: $134\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Et_2O); Lit.^[401] $131.5\text{-}133\text{ }^{\circ}\text{C}$ (keine Angabe).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.85$ (d, $J = 5.1$ Hz, 3 H, Me), 5.75 (d, $J = 15.4$ Hz, 1 H, CH), $6.13\text{-}6.24$ (m, 2 H, CH), $7.26\text{-}7.35$ (m, 1 H, CH) ppm.

NMR-Daten der $1,2\text{-}^{13}\text{C}_2$ -markierten Substanz **174**:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.85$ (d, $J = 5.1$ Hz, 3 H, Me), 5.74 (ddd, $J = 163.1, 15.4, 3.1$ Hz, 1 H, CH), $6.13\text{-}6.24$ (m, 2 H, CH), $7.26\text{-}7.35$ (m, 1 H, CH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 18.9$ (C-6), 118.0 (d, $J = 73.9$ Hz, C-2), 129.9 (C-4), 140.9 (C-5), 147.1 (C-3), 171.7 (d, $J = 73.5$ Hz, C-1) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[401]

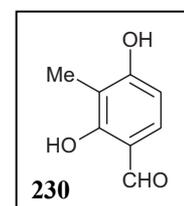
2,4-Dihydroxy-3-methylbenzaldehyd (230)

Unter Argon wurden 10.1 mL (131.5 mmol) DMF in 30 mL abs. Acetonitril vorgelegt und dazu eine Lösung aus 10.1 mL (110.2 mmol) POCl₃ in 10 mL abs. Acetonitril zugetropft. Nach 30 min Rühren bei RT kühlte man das Reaktionsgemisch auf 0 °C ab und tropfte innerhalb 1 h 12.0 g (96.7 mmol) 2-Methylresorcinol (**177**) gelöst in 30 mL abs. Acetonitril zu. Die Reaktion war nach 1 h Rühren bei RT beendet. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und aus H₂O umkristallisiert. Man erhielt so 8.83 g (58.0 mmol) des gewünschten Aldehyds **230**.

Weißer Kristalle.

Ausbeute: 8.83 g (58.0 mmol, 60%).

Schmp.: 147 °C (H₂O); Lit.^[402] 150-153 °C (H₂O).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.14 (s, 3 H, Me), 5.51 (s, 1 H, OH), 6.47 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H, Ar-H), 6.29 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H, Ar-H), 9.69 (s, 1 H, CHO), 11.67 (s, 1 H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[402]

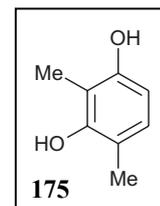
2,4-Dimethylresorcinol (175)

Unter Argon wurden 1.0 g (6.6 mmol) 2,4-Dihydroxy-3-methylbenzaldehyd (**230**) in 60 mL abs. THF vorgelegt, auf 0 °C gekühlt und spatelweise mit 2.2 g (16.5 mmol) AlCl₃ und 625 mg (16.5 mmol) LiAlH₄ versetzt. Man erhitzte die Reaktionslösung 3 h unter Rückfluss und ließ auf RT abkühlen. Nach Ansäuern mit 1 N HCl extrahierte man das Reaktionsgemisch erschöpfend mit Et₂O, Trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Säulenchromatographische Aufreinigung des Rückstands lieferte 710 mg (5.1 mmol) des gewünschten Resorcinols **175**.

Weißer Kristalle.

Ausbeute: 710 mg (5.1 mmol, 78%).

Schmp.: 108-110 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[263] 110 °C (Toluol/ButylOAc).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.08 (s, 3 H, Me), 2.10 (s, 3 H, Me), 4.54 (s, 1 H, OH), 4.59 (s, 1 H, OH), 6.25 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, Ar-H), 6.74 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

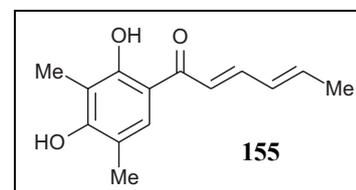
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[263]

Sorbicillin (155)

1.0 g (7.24 mmol) 2,4-Dimethylresorcinol (**175**) wurden unter Stickstoff in 40 mL abs. CH₂Cl₂ vorgelegt, auf 0 °C gekühlt und mit 0.84 mL (7.96 mmol) Sorbinsäurechlorid (**194**), dargestellt aus Sorbinsäure (**174**) durch Umsetzung mit SOCl₂, sowie 1.1 g (7.96 mmol) AlCl₃ versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT versetzte man die Reaktionslösung mit 5proz. HCl und extrahierte erschöpfend mit CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Den verbleibenden Rückstand reinigte man säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) auf und erhielt so 1.24 g (5.31 mmol) des gewünschten Produkts **155**. Die Synthese von 1,2-¹³C₂-**155** wurde unter Verwendung von 1,2-¹³C₂-markierter Sorbinsäure analog durchgeführt.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 1.24 g (5.31 mmol, 73 %).



Schmp.: 123 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[264] 123-125 °C (Benzol).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.89$ (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, Me), 2.16 (s, 3 H, Me), 2.20 (s, 3 H, Me), 5.22 (s, 1 H, OH), 6.20-6.40 (m, 2 H, CH), 6.92 (d, $J = 14.9$ Hz, 1 H, CH), 7.40-7.50 (m, 2 H, Ar-H und CH), 13.55 (s, 1 H, OH) ppm.

NMR-Daten der 1',2'- $^{13}\text{C}_2$ -markierten Substanz **155**:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.89$ (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, Me), 2.16 (s, 3 H, Me), 2.20 (s, 3 H, Me), 5.22 (s, 1 H, OH), 6.20-6.40 (m, 2 H, CH), 6.88 (ddd, $J = 157.1, 15.0, 5.7$ Hz, 1 H, CH), 7.40-7.50 (m, 2 H, Ar-H und CH), 13.55 (s, 1 H, OH) ppm.

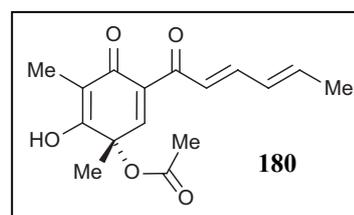
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.7$ (Me), 15.8 (Me), 19.1 (Me), 110.6, 114.6, 117.7 (Ar-C), 122.1 (d, $J = 57.5$ Hz, C-2'), 129.0, 130.8, 141.3, 144.8, 158.8, 162.8 (Ar-C oder C=C), 192.7 (d, $J = 57.5$ Hz, C-1') ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[264]

O-Acetylsorbicillinol (**180**)

20 mg (86 μmol) Sorbicillin (**155**) wurden *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet und in 2 mL abs. Essigsäure und 2 mL abs. CH_2Cl_2 aufgenommen. Diese Lösung entgaste man bei 0 °C für *ca.* 30 min durch Einleiten von Argon. Nach Zugabe von 38 mg (85 μmol) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, das vorher ebenfalls *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet wurde, rührte man 30-45 min bei 0 °C. Die Reaktionslösung wurde mit H_2O versetzt und mit EtOAc erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wusch man mit H_2O , ges. NaHCO_3 -Lösung und nochmals mit H_2O , trocknete über MgSO_4 und engte im Vakuum ein. Den verbleibenden Rückstand reinigte man flashchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) auf und erhielt so 11.5 mg (40 μmol) des gewünschten Produkts **180**.

Gelbe Kristalle.



Ausbeute: 11.5 mg (40 μ mol, 46%).

Schmp.: 149 °C (*n*-Hexan/EtOAc); Lit.^[259] 149-150 °C (*n*-Hexan/Et₂O).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.46 (s, 3 H, Me), 1.83 (s, 3 H, Me), 1.90 (d, J = 6.3 Hz, 3 H, Me), 2.11 (s, 3 H, Me), 6.24-6.39 (m, 1 H, CH), 6.62 (d, J = 14.8 Hz, 1 H, CH), 7.22 (s, 1 H, CH), 7.43 (dd, J = 14.8, 10.8 Hz, 2 H, CH), 11.79 (s, 1 H, OH) ppm.

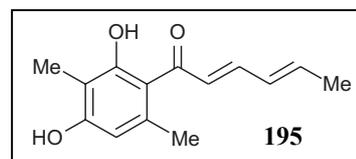
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[259]

(2*E*,4*E*)-1-(2,4-dihydroxy-3,6-dimethylphenyl)hexa-2,4-dien-1-on (**195**)

500 mg (3.62 mmol) 2,5-Dimethylresorcinol (**193**) wurden unter Stickstoff in 20 mL abs. CH₂Cl₂ vorgelegt, auf 0 °C gekühlt und mit 0.42 mL (3.98 mmol) Sorbinsäurechlorid (**194**) sowie 531 mg (3.98 mmol) AlCl₃ versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT versetzte man die Reaktionslösung mit 5proz. HCl und extrahierte erschöpfend mit CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Den verbleibenden Rückstand reinigte man säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) auf und erhielt so 610 mg (2.61 mmol) des gewünschten Produkts **195**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 610 mg (2.61 mmol, 72%).



Schmp.: 145-155 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3352 (br), 2980 (w), 2943 (w), 2882 (w), 1701 (w), 1603 (s), 1556 (m), 1409 (m), 1345 (m), 1312 (m), 1262 (s), 1209 (m), 1125 (s), 1091 (m), 1001 (s), 824 (m), 615 (m), 580 (m), 508 (w), 473 (w) cm⁻¹.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.87$ (d, $J = 5.3$ Hz, 3 H, Me), 2.07 (s, 3 H, Me), 2.43 (s, 3 H, Me), 5.00 (s, 1 H, OH), 6.18 (s, 1 H, Ar-H), 6.21-6.27 (m, 2 H, CH), 6.59 (d, $J = 14.9$ Hz, 1 H, CH), 7.30 (dd, $J = 13.8, 9.2$ Hz, 1 H, CH), 12.59 (s, 1 H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): $\delta = 7.7$ (Me), 19.1 (Me), 24.0 (Me), 108.0, 110.7, 116.6, 128.7, 130.7, 138.0, 141.2, 143.6, 158.4, 163.0 (Ar-C oder C=C), 196.0 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 232 (26) $[\text{M}]^+$, 217 (8) $[\text{M-Me}]^+$, 136 (5), 95 (100), 67 (26), 41 (14).

HRESI-MS: m/z 255.0988 $[\text{M+Na}]^+$ (m/z 255.0992 $[\text{M+Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{NaO}_3$).

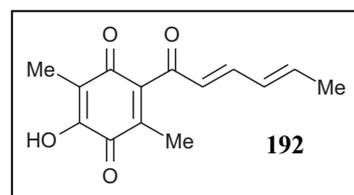
CHNS $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_3$ (232.27): ber. C 72.39, H 6.94; gef. C 72.40, H 7.09.

Sorrentanon (**192**)

15 mg (65 μmol) (2E,4E)-1-(2,4-dihydroxy-3,6-dimethylphenyl)hexa-2,4-dien-1-on (**195**) wurden in 2 mL Aceton vorgelegt und mit einer Lösung aus 63 mg (0.22 mmol) $(\text{KSO}_3)_2\text{NO}$ (Fremy's Salz) in 3 mL eines wässrigen KH_2PO_4 -Puffers (hergestellt durch Lösen von 2.31 g KH_2PO_4 in 300 mL H_2O) versetzt. Man rührte die Reaktionslösung 2 h bei RT, extrahierte erschöpfend mit CH_2Cl_2 , wusch die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung und Trocknete sie über MgSO_4 . Flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) des nach Entfernen des Lösungsmittels verbleibenden Rückstands lieferte 8.1 mg (33 μmol) des gewünschten Produkts **192**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 8.1 mg (33 μmol , 51%).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.86$ (d, $J = 5.3$ Hz, 3 H, Me), 1.92 (s, 3 H, Me), 1.93 (s, 3 H, Me), 6.16-6.28 (m, 3 H, CH), 6.89-6.92 (m, 1 H, CH) ppm.

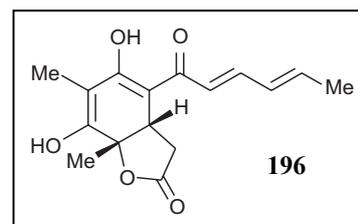
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[267]

1''-Demethyl-1''-Desamidofumarylsorbicillacton A (196)

Zu einer Lösung aus 10 mg (34 μ mol) *O*-Acetylsorbicillinol (**180**) in 1 mL abs. THF tropfte man bei -78 °C 221 μ L (0.10 mmol) einer KHMDS-Lösung (0.5 M in Toluol). Die Reaktionslösung wurde 30 min gerührt, mit 5proz. HCl angesäuert und auf RT erwärmt. Man extrahierte das Reaktionsgemisch mit CH₂Cl₂ erschöpfend, wusch die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung und trocknete sie über MgSO₄. Flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH, 20:1) des Rückstands ergab 5.7 mg (0.02 mmol) des gewünschten Lactons **196**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 5.7 mg (0.02 mmol, 58%).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.12 (s, 3 H, Me), 1.55 (d, J = 7.0 Hz, 3 H, Me), 1.92 (dd, J = 17.5, 12.2 Hz, 1 H, CH), 2.07 (s, 3 H, Me), 2.10 (dd, J = 17.5, 8.2 Hz, 1 H, CH), 2.79 (dd, J = 12.0, 8.2 Hz, 1 H, CH), 5.67 (m, 1 H, CH), 5.76 (d, J = 14.2 Hz, 1 H, CH), 6.21 (m, 1 H, CH), 7.51 (dd, J = 14.3, 10.8 Hz, 1 H, CH), 17.02 (s, 1 H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[259]

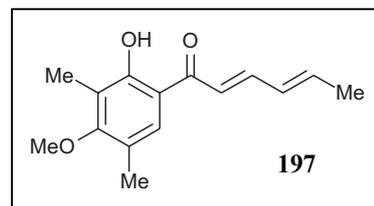
4-O-Methylsorbicillin (197)

Unter Argon wurden 250 mg (1.08 mmol) Sorbicillin (**155**) in 75 mL abs. Aceton vorgelegt und mit 386 mg (1.18 mmol) Cs₂CO₃ und 114 μ L (1.83 mmol) MeI versetzt. Nach Rühren über Nacht bei RT filtrierte man den Niederschlag ab, befreite das Filtrat vom Lösungsmittel und

isolierte aus dem Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 5:1) 190 mg (0.77 mmol) des gewünschten Produkts **197**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 190 mg (0.77 mmol, 71%).



Schmp.: 76-84 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3427 (br), 2983 (w), 2945 (w), 2921 (w), 1644 (s), 1568 (s), 1359 (s), 1279 (m), 1231 (m), 1188 (m), 1137 (s), 999 (s), 848 (m), 524 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.89 (d, J = 5.8 Hz, 3H, Me), 2.16 (s, 3H, Me), 2.22 (d, J = 0.5 Hz, 3H, Me), 3.73 (s, 1H, OMe), 6.24-6.37 (m, 2H, CH), 6.93 (d, J = 14.9 Hz, 1H, CH), 7.42-7.48 (m, 2H, CH), 13.22 (s, 1H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 11.4 (Me), 18.7 (Me), 21.6 (Me), 62.6 (OMe), 118.7, 122.3, 124.0, 124.6, 131.3, 133.2, 144.3, 147.8, 165.0, 165.9 (Ar-C oder C=C), 196.0 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 246 (99) $[\text{M}]^+$, 231 (100) $[\text{M-Me}]^+$, 205 (32), 189 (8), 179 (35), 150 (39), 136 (7), 115 (6), 108 (13), 95 (10), 91 (8).

HRESI-MS: m/z 247.1326 $[\text{M+H}]^+$ (m/z 247.1329 $[\text{M+H}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_3$).

CHNS $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (246.30): ber. C 73.15, H 7.37; gef. C 72.41, H 7.36.

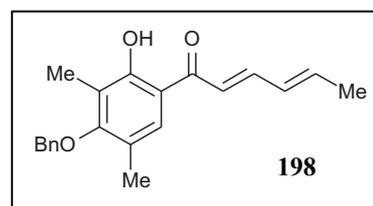
4-*O*-Benzylsorbicillin (**198**)

Unter Argon wurden 200 mg (0.86 mmol) Sorbicillin (**155**) in 60 mL abs. Aceton vorgelegt und mit 307 mg (0.94 mmol) Cs_2CO_3 und 0.15 mL (1.29 mmol) BnBr versetzt. Nach Rühren über Nacht bei RT filtrierte man den Niederschlag ab, befreite das Filtrat vom Lösungsmittel und

isolierte aus dem Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 5:1) 135 mg (0.42 mmol) des gewünschten Produkts **198**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 135 mg (0.42 mmol, 49%).



Schmp.: 76-84 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3421 (br), 2971 (m), 2924 (s), 2834 (w), 1731 (m), 1643 (s), 1455 (m), 1374 (m), 1229 (m), 1123 (s), 1072 (s), 1026 (s), 699 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.88 (d, J = 5.8 Hz, 3H, Me), 2.18 (s, 3H, Me), 2.22 (s, 3H, Me), 4.83 (s, 2H, OCH_2Bn), 6.25-6.38 (m, 2H, CH), 6.94 (d, J = 14.9 Hz, 1H, CH), 7.33-7.47 (m, 7H, CH), 13.24 (s, 1H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 9.3 (Me), 16.5 (Me), 19.2 (Me), 74.6 (CH_2), 116.4, 120.2, 121.8, 122.1, 128.1, 128.4, 128.8, 128.9, 130.8, 137.2, 141.9, 145.3, 162.2, 162.5 (Ar-C), 193.5 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 322 (28) $[\text{M}]^+$, 231 (5) $[\text{M-H-Benzyl}]^+$, 165 (3), 91 (100).

HRESI-MS: m/z 323.1642 $[\text{M+H}]^+$ (m/z 323.1642 $[\text{M+H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_3$).

CHNS $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_3$ (322.40): ber. C 78.23, H 6.88; gef. C 78.02, H 7.03.

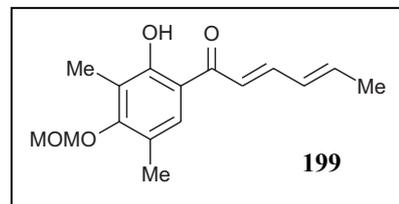
4-O-MOM-Sorbicillin (**199**)

Unter Argon wurden 1.0 g (4.28 mmol) Sorbicillin (**155**) in 40 mL abs. Aceton vorgelegt und mit 2.36 mg (17.12 mmol) K_2CO_3 und 1.3 mL (17.12 mmol) MOMCl versetzt. Nach Rühren über Nacht bei RT filtrierte man den Niederschlag ab, befreite das Filtrat vom Lösungsmittel und

isolierte aus dem Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 5:1) 887 mg (3.21 mmol) des gewünschten Produkts **197**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 887 mg (3.21 mmol, 75%).



Schmp.: 56-59 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3433 (br), 2993 (w), 2945 (w), 2841 (w), 1641 (s), 1565 (s), 1419 (m), 1359 (s), 1280 (m), 1229 (m), 1137 (s), 1055 (s), 1002 (s), 965 (s), 826 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.89 (d, J = 5.8 Hz, 3H, Me), 2.17 (s, 3H, Me), 2.24 (d, J = 0.5 Hz, 3H, Me), 3.58 (s, 1H, OMe), 4.99 (s, 1H, OCH_2O), 6.25-6.37 (m, 2H, CH), 6.93 (d, J = 14.9 Hz, 1H, CH), 7.42-7.48 (m, 2H, CH), 13.22 (s, 1H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 9.7 (Me), 17.0 (Me), 19.2 (Me), 57.9 (OMe), 99.4 (OCH_2O), 116.4, 120.0, 121.7, 122.0, 128.8, 130.8, 141.9, 145.4, 161.3, 162.3 (Ar-C oder C=C), 193.5 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 276 (100) $[\text{M}]^+$, 261 (23) $[\text{M-Me}]^+$, 231 (24) $[\text{M-CH}_3\text{OCH}_2]^+$, 203 (5), 177 (6), 165 (10), 136 (9), 95 (97), 91 (8).

HRESI-MS: m/z 299.1252 $[\text{M+Na}]^+$ (m/z 299.1254 $[\text{M+Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$).

CHNS $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_4$ (276.32): ber. C 69.54, H 7.30; gef. C 69.03, H 7.29.

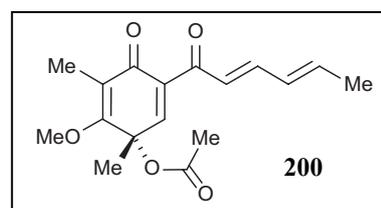
Oxidation von 4-O-Methylsorbicillin (197) mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ zu 200

20 mg (81 μmol) 4-*O*-Methylsorbicillin (**197**) wurden *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet und in 2 mL abs. Essigsäure und 2 mL abs. CH_2Cl_2 aufgenommen. Diese Lösung entgaste man bei 0

°C für *ca.* 30 min durch Einleiten von Argon. Nach Zugabe von 38 mg (85 μmol) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, das vorher ebenfalls *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet wurde, rührte man über Nacht bei 10 °C. Die Reaktionslösung wurde mit H_2O versetzt und mit CH_2Cl_2 erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wusch man mit H_2O , ges. NaHCO_3 -Lösung und nochmals mit H_2O , trocknete über MgSO_4 und engte im Vakuum ein. Den verbleibenden Rückstand reinigte man säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) auf und erhielt so 16.6 mg (54 μmol) des gewünschten Produkts **200**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 16.6 mg (54 μmol , 67%).



Schmp.: 135-140 °C (*n*-Hexan/EtOAc).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3458 (br), 2993 (w), 2999 (w), 2942 (w), 2908 (w), 1741 (s), 1678 (s), 1652 (s), 1575 (s), 1516 (s), 1375 (m), 1339 (m), 1270 (s), 1136 (m), 1071 (m), 1014 (m), 982 (m), 683 (w), 516 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.49 (s, 1 H, Me), 1.82 (d, J = 6.1 Hz, 3 H, Me), 2.00 (s, 3 H, Me), 2.13 (s, 3 H, Me), 3.88 (s, 3 H, OMe), 6.13-6.27 (m, 2 H, CH), 6.96 (d, J = 15.2 Hz, 1 H, CH), 7.28 (dd, J = 15.0, 10.4 Hz, 1 H, CH), 7.86 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 16.3 (Me), 19.1 (Me), 20.5 (Me), 24.0 (Me), 61.1 (OMe), 82.0 (C-O), 111.1, 127.1, 128.6, 131.2, 140.8, 144.1, 156.9, 168.4, 170.0 (Ar-C oder C=C), 188.0, 194.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 304 (19) $[\text{M}]^+$, 262 (23) $[\text{M-Ac}]^+$, 245 (17), 230 (12), 219 (42), 205 (23), 187 (18), 165 (40), 151 (40), 135 (12), 95 (59), 77 (12), 67 (23), 43 (100).

HRESI-MS: m/z 327.1195 $[\text{M+Na}]^+$ (m/z 327.1203 $[\text{M+Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NaO}_5$).

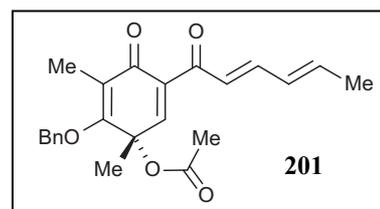
CHNS $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (304.34): ber. C 67.09, H 6.62; gef. C 66.55, H 6.73.

Oxidation von 4-O-Benzylsorbicillin (198) mit Pb(OAc)₄ zu 201

55 mg (0.17 mmol) 4-O-Benzylsorbicillin (**198**) wurden *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet und in 5 mL abs. Essigsäure und 5 mL abs. CH₂Cl₂ aufgenommen. Diese Lösung entgaste man bei 0 °C für *ca.* 30 min durch Einleiten von Argon. Nach Zugabe von 134 mg (0.30 mmol) Pb(OAc)₄, das vorher ebenfalls *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet wurde, rührte man 1.5 h bei 10 °C. Die Reaktionslösung wurde mit H₂O versetzt und mit CH₂Cl₂ erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wusch man mit H₂O, ges. NaHCO₃-Lösung und nochmals mit H₂O, trocknete über MgSO₄ und engte im Vakuum ein. Den verbleibenden Rückstand reinigte man säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) auf und erhielt so 50 mg (0.13 mmol) des gewünschten Produkts **201**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 50 mg (0.13 mmol, 77%).



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3443 (br), 3083 (w), 3047 (w), 2999 (w), 2983 (w), 2945 (w), 2863 (w), 1736 (s), 1682 (s), 1653 (s), 1575 (s), 15515 (s), 1478 (w), 1368 (m), 1345 (m), 1284 (s), 1248 (s), 1139 (s), 1078 (m), 1018 (m), 986 (m), 748 (m), 696 (m), 520 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.52 (s, 1 H, Me), 1.82 (d, *J* = 6.1 Hz, 3 H, Me), 1.85 (s, 3 H, Me), 2.06 (s, 3 H, Me), 4.88 (d, *J* = 11.4 Hz, 1 H, CH), 5.25 (d, *J* = 11.4 Hz, 1 H, CH), 6.12-6.27 (m, 2 H, CH), 6.96 (d, *J* = 15.0 Hz, 1 H, CH), 7.26-7.39 (m, 6 H, Ar-H und CH), 7.88 (s, 1 H, Ar-H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 16.7 (Me), 19.0 (Me), 20.3 (Me), 24.1 (Me), 75.4 (CH₂), 82.0 (C-O), 111.4, 127.1, 127.5, 128.6, 128.8, 128.9, 131.2, 136.4, 140.7, 144.1, 156.6, 168.2, 170.1 (Ar-C oder C=C), 187.9, 195.0 (C=O) ppm.

EI (70 eV) *m/z* (%): 289 (11) [M-Bn]⁺, 248 (5), 181 (9), 108 (18), 95 (100), 79 (20), 67 (32), 57 (17), 43 (88).

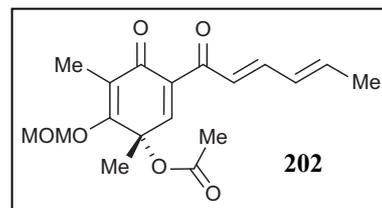
HRESI-MS: m/z 403.1517 $[M+Na]^+$ (m/z 403.1516 $[M+Na]^+$ ber. für $C_{23}H_{24}NaO_5$).

Oxidation von 4-O-MOM-Sorbicillin (199) mit $Pb(OAc)_4$ zu 202

50 mg (0.18 mmol) 4-O-MOM-Sorbicillin (**199**) wurden *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet und in 5 mL abs. Essigsäure und 5 mL abs. CH_2Cl_2 aufgenommen. Diese Lösung entgaste man bei 0 °C für *ca.* 30 min durch Einleiten von Argon. Nach Zugabe von 115 mg (0.26 mmol) $Pb(OAc)_4$, das vorher ebenfalls *ca.* 1 h im Hochvakuum getrocknet wurde, rührte man 2 h bei 10 °C. Die Reaktionslösung wurde mit H_2O versetzt und mit CH_2Cl_2 erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wusch man mit H_2O , ges. $NaHCO_3$ -Lösung und nochmals mit H_2O , trocknete über $MgSO_4$ und engte im Vakuum ein. Den verbleibenden Rückstand reinigte man säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/ $EtOAc$, 1:1) auf und erhielt so *ca.* 1 mg (3 μ mol) des gewünschten Produkts **202**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: *ca.* 1 mg (0.003 mmol, 2%).



1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57 (s, 3 H, Me), 1.82 (d, J = 5.3 Hz, 3 H, Me), 1.85 (s, 3 H, Me), 2.02 (s, 3 H, Me), 3.51 (s, 3 H, OMe), 4.92 (d, J = 5.7 Hz, 1 H, OCH_2O), 5.16 (d, J = 5.8 Hz, 1 H, OCH_2O), 6.15-6.26 (m, 2 H, CH), 5.51 (d, J = 15.9 Hz, 1 H, CH), 6.92 (s, 1 H, CH), 7.16-7.23 (m, 1 H, CH) ppm.

Verbindung **202** konnte aufgrund seiner Instabilität nicht vollständig charakterisiert werden.

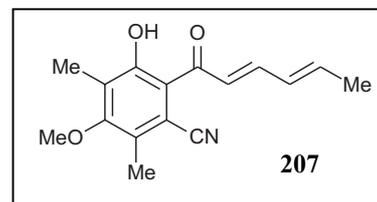
4-O-Methyl-6-Cyanosorbicillin (207)

Eine Lösung aus 5 mg (16.4 μ mol) 4-O-Methylsorbicillinolacetat (**200**) in 1 mL $EtOH$ wurde mit 1.2 mg (24.6 μ mol) $NaCN$ versetzt und 8 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der verbleibende Rückstand in Et_2O aufgenommen und mit H_2O und einer ges. $NaCl$ -

Lösung gewaschen. Man trocknete die organische Phase über MgSO_4 und engte sie im Vakuum ein. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc, 1:1) lieferte 3.1 mg des Produkts **207**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 3.1 mg (11.4 μmol , 69%).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.89 (d, J = 5.9 Hz, 3H, Me), 2.21 (s, 3H, Me), 2.44 (s, 3H, Me), 3.73 (s, 3H, OMe), 6.28-6.44 (m, 2H, CH), 7.27 (m, 1H, CH), 7.44-7.50 (m, 1H, CH), 12.77 (s, 1H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 9.8 (Me), 14.8 (Me), 19.3 (Me), 60.6 (OMe), 109.7, 117.6, 117.8, 125.1, 126.8, 130.0, 130.9, 143.5, 147.2, 161.7, 161.7 (Ar-C, C=C oder CN), 193.6 (C=O) ppm.

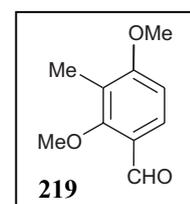
HRESI-MS: m/z 272.1285 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (m/z 272.1281 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_3$).

2,4-Dimethoxy-3-methylbenzaldehyd (**219**)

Unter Stickstoff legte man 3.4 mL (44.68 mmol) DMF in 10 mL abs. Acetonitril vor und tropfte langsam eine Lösung aus 3.4 mL (37.45 mmol) POCl_3 in 3 mL Acetonitril zu. Nach ca. 1 h trat eine Gelbfärbung des Reaktionsgemisches auf, das dann auf 0 °C gekühlt und mit 5.0 g (32.85 mmol) 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) versetzt wurde. Nach Rühren über Nacht bei 60 °C goß man die Reaktionslösung auf 250 mL Eiswasser und ließ über Nacht im Kühlschrank kristallisieren. Durch Filtration und Trocknung der verbleibenden Kristalle im Hochvakuum erhielt man 3.25 g (18.04 mmol) des gewünschten Produkts **219**.

Farblose Nadeln.

Ausbeute: 3.25 g (18.04 mmol, 55%).



Schmp.: 50 °C (H₂O); Lit.^[403] 47-49 °C (Et₂O).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.13 (s, 3 H, Me), 3.82 (s, 3 H, OMe), 3.87 (s, 3 H, OMe), 6.70 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, Ar-H), 7.70 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, Ar-H), 10.19 (s, 1 H, CHO) ppm.

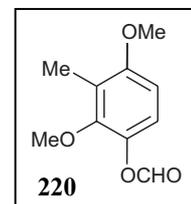
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[403,404]

2,4-Dimethoxy-3-methylphenylformiat (220)

4.0 g (22.21 mmol) 2,4-Dimethoxy-3-methylbenzaldehyd (**219**) wurden in 100 mL abs. CH₂Cl₂ vorgelegt, auf 0 °C gekühlt, mit 5.75 g (33.31 mmol) *m*CPBA versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Waschen der Reaktionslösung mit ges. K₂CO₃-Lösung trocknete man die organische Phase über MgSO₄ und entfernte das Lösungsmittel. Man isolierte so 4.10 g (20.90 mmol) des gewünschten Formiats **220**.

Brauner, amorpher Feststoff.

Ausbeute: 4.10 g (20.90 mmol, 94%).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.14 (s, 3 H, Me), 3.71 (s, 3 H, OMe), 3.79 (s, 3 H, OMe), 6.58 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H), 8.24 (s, 1 H, CHO) ppm.

Die Verbindung wurde aufgrund ihrer Instabilität nicht näher charakterisiert, sondern direkt zur Darstellung von 2,4-Dimethoxy-3-methylphenol (**221**) verwendet.

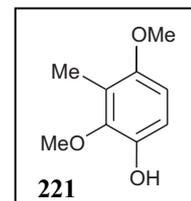
2,4-Dimethoxy-3-methylphenol (221)

1.5 g (7.65 mmol) 2,4-Dimethoxy-3-methylphenylformiat (**220**) löste man in 50 mL MeOH und gab bei 0 °C 644 mg (11.47 mmol) KOH zu. Die Reaktionslösung wurde 1 h bei 0 °C gerührt,

im Vakuum vom MeOH befreit, in Et₂O aufgenommen und mit HCl angesäuert. Man wusch die organische Phase mit H₂O und ges. NaCl-Lösung, trocknete über MgSO₄, und entfernte das Lösungsmittel. Man erhielt so 1.20 g (7.14 mmol) des gewünschten Alkohols **221**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 1.20 g (7.14 mmol, 93%).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.08 (s, 3 H, Me), 3.74 (s, 3 H, OMe), 3.75 (s, 3 H, OMe), 5.23 (s, 1 H, OH), 6.50 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H), 6.72 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H), 10.19 (s, 1 H, CHO) ppm.

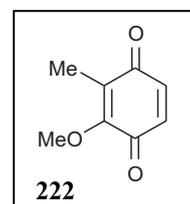
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[404]

2-Methoxy-3-methyl-1,4-benzochinon (222)

Man legte 100 mg (0.59 mmol) 2,4-Dimethoxy-3-methylphenol (**221**) in 7 mL Acetonitril vor und tropfte bei 0 °C langsam eine Lösung aus 489 mg (0.89 mmol) CAN in 7 mL H₂O zu. Nach 1.5 h Rühren bei 0 °C erfolgte Zugabe von H₂O und erschöpfende Extraktion mit CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H₂O, ges. NaHCO₃-Lösung, H₂O und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Man erhielt so 90 mg (0.59 mmol) des gewünschten Benzochinons **222**.

Gelbes Öl.

Ausbeute: 90 mg (0.59 mmol, 100%).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.91 (s, 3 H, Me), 3.98 (s, 3 H, OMe), 6.51 (d, J = 9.9 Hz, 1 H, CH), 6.64 (d, J = 10 Hz, 1 H, CH) ppm.

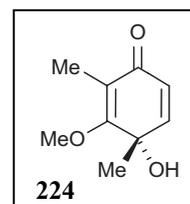
Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[271]

4-Hydroxy-3-methoxy-2,4-dimethylcyclohexa-2,5-dienon (224)

Unter Argon legte man 300 mg (1.97 mmol) 2-Methoxy-3-methyl-1,4-benzochinon (**222**) in 15 mL abs. *n*-Hexan vor und kühlte auf -95 °C. Nach Versetzen der Reaktionslösung mit 1.3 mL (2.10 mmol) einer MeLi-Lösung (1.6 M in Et₂O) wurde 60 min bei -95 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit 5proz. HCl angesäuert, erschöpfend mit CH₂Cl₂ extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Flashchromatographische Reinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) des Rückstands lieferte 99 mg (0.59 mmol) des gewünschten Produkts **224**.

Braunes Öl.

Ausbeute: 99 mg (0.59 mmol, 30%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3400 (br), 2980 (m), 2933 (m), 2855 (w), 1725 (w), 1663 (s), 1637 (s), 1609 (s), 1447 (m), 1376 (m), 1323 (m), 1297 (m), 1211 (m), 1154 (m), 1091 (m), 1024 (w), 986 (w), 911 (w), 828 (m), 732 (w), 665 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.49 (s, 3 H, Me), 1.87 (s, 3 H, Me), 3.99 (s, 3 H, OMe), 6.10 (d, *J* = 9.8 Hz, 1 H, CH), 6.64 (d, *J* = 9.8 Hz, 1 H, CH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 9.3 (Me), 26.7 (Me), 61.8 (OMe), 69.9 (C-O), 117.7, 126.7, 147.7, 171.4 (C=C), 188.4 (C=O) ppm.

EI (70 eV) *m/z* (%): 168 (60) [M]⁺, 153 (64) [M-Me]⁺, 136 (100) [M-CH₃OH]⁺, 125 (69), 108 (54), 93 (28), 79 (31), 65 (28), 55 (27), 43 (98).

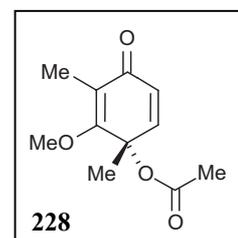
HRESI-MS: *m/z* 191.0682 [M+Na]⁺ (*m/z* 191.0679 [M+Na]⁺ ber. für C₉H₁₂NaO₃).

2-Methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienylacetat (228)

Unter Argon legte man 312 mg (2.05 mmol) 2-Methoxy-3-methyl-1,4-benzochinon (**222**) in 15 mL abs. *n*-Hexan vor und kühlte auf -95 °C. Nach Versetzen der Reaktionslösung mit 1.31 mL (2.12 mmol) einer MeLi-Lösung (1.6 M in Et₂O) 60 min bei -95 °C gerührt, 0.36 mL (6.36 mmol) Acetylchlorid (**226**) zugegeben und weitere 8 h bei RT gerührt. Nach Filtration des Reaktionsgemisches wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) 151 mg (0.72 mmol) des gewünschten Produkts **229** isoliert.

Braunes Öl.

Ausbeute: 151 mg (0.72 mmol, 35%).



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3434 (br), 2939 (w), 1764 (s), 1640 (w), 1482 (m), 1420 (w), 1370 (m), 1276 (w), 1194 (s), 1078 (m), 1026 (w), 916 (w), 892 (w), 817 (w), 473 (s) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.51 (s, 3 H, Me), 1.89 (s, 3 H, Me), 2.04 (s, 3 H, Me), 3.87 (s, 3 H, OMe), 6.18 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, CH), 6.57 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, CH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 9.7 (Me), 21.3 (Me), 25.7 (Me), 61.3 (OMe), 75.8 (C-O), 112.9, 127.7, 145.3 (C=C), 169.6, 170.5 (C=C oder C=O), 187.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) *m/z* (%): 210 (6) [M]⁺, 168 (100) [M-Ac]⁺, 153 (11) [M-Ac-Me]⁺, 136 (25), 125 (42), 108 (31), 91 (17), 77 (18), 65 (11), 53 (12), 43 (74), 39 (15).

HRESI-MS: *m/z* 211.0966 [M+H]⁺ (*m/z* 211.0965 [M+H]⁺ ber. für C₁₁H₁₅O₄).

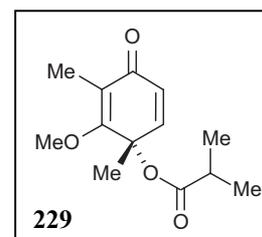
2-Methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienylisobutyrat (229)

Unter Argon legte man 322 mg (2.12 mmol) 2-Methoxy-3-methyl-1,4-benzochinon (**222**) in 15 mL abs. *n*-Hexan vor und kühlte auf -95 °C. Nach Versetzen der Reaktionslösung mit 1.31

mL (2.12 mmol) einer MeLi-Lösung (1.6 M in Et₂O) 60 min bei -95 °C gerührt, 0.66 mL (6.36 mmol) Isobuttersäurechlorid (**227**) zugegeben und weitere 8 h bei RT gerührt. Nach Filtration des Reaktionsgemisches wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und säulenchromatographisch (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) 186 mg (0.78 mmol) des gewünschten Produkts **229** isoliert.

Braunes Öl.

Ausbeute: 186 mg (0.78 mmol, 37%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2976 (m), 2937 (m), 2890 (w), 1741 (s), 1664 (s), 1612 (m), 1469 (w), 1387 (w), 1321 (w), 1262 (w), 1214 (m), 1153 (m), 1094 (m), 1057 (m), 989 (w), 890 (w), 825 (w), 728 (w), 665 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.14 (d, *J* = 6.1 Hz, 3 H, Me), 1.16 (d, *J* = 6.1 Hz, 3 H, Me), 1.51 (s, 3 H, Me), 1.89 (s, 3 H, Me), 3.85 (s, 3 H, OMe), 6.18 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, CH), 6.53 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, CH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 9.8 (Me), 19.1 (Me), 19.2 (Me), 25.7 (Me), 34.2 (CH), 61.3 (OMe), 75.5 (C-O), 117.8, 127.8, 145.4 (C=C), 170.9, 175.8 (C=C oder C=O), 187.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) *m/z* (%): 238 (6) [M]⁺, 168 (95) [M-C₄H₆O]⁺, 151 (28) [M-Butyrat]⁺, 138 (18), 123 (39), 107 (24), 91 (36), 71 (53), 91 (8), 53 (11), 43 (100).

HRESI-MS: *m/z* 261.1098 [M+Na]⁺ (*m/z* 261.1097 [M+Na]⁺ ber. für C₁₃H₁₈NaO₄).

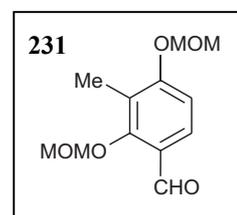
CHNS C₁₃H₁₈O₄ (238.30): ber. C 65.53, H 7.61; gef. C 65.01, H 7.91.

2,4-Bis(methoxymethoxy)-3-methylbenzaldehyd (231)

Unter Argon legte man 1.0 g (6.58 mmol) 2,4-Dihydroxy-3-methylbenzaldehyd (**230**), 4.5 g (32.89 mmol) K_2CO_3 und 0.88 g (3.29 mmol) 18-Krone-6 in 24 mL abs. Acetonitril vor und tropfte eine Lösung aus 2.5 mL (32.89 mmol) MOMCl in 10 mL Acetonitril bei RT über 30 min zu. Direkt nach beendeter Zugabe wurde der entstehende Niederschlag abfiltriert, die Reaktionslösung vom Lösungsmittel befreit, der verbleibende Rückstand in Et_2O aufgenommen und mit 1 N NaOH-Lösung gewaschen. Man trocknete die organische Phase über $MgSO_4$, entfernte im Vakuum vom Lösungsmittel und gewann so 1.49 g (6.20 mmol) des gewünschten Produkts **231**.

Farbloses Öl.

Ausbeute: 1.49 g (6.20 mmol, 94%).



IR (Film): $\tilde{\nu} = 2955$ (m), 2912 (m), 2830 (m), 2841 (w), 1744 (m), 1679 (s), 1594 (s), 1484 (s), 1452 (m), 1386 (m), 1311 (w), 1258 (s), 1157 (s), 1104 (s), 1054 (s), 993 (s), 945 (s), 861 (m), 816 (m), 781 (m), 761 (w), 700 (w), 665 (w) cm^{-1} .

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 2.18$ (s, 3 H, Me), 3.46 (s, 3 H, OMe), 3.57 (s, 3 H, OMe), 5.04 (s, 2 H, OCH_2O), 5.24 (s, 2 H, OCH_2O), 6.95 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.67 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, Ar-H), 10.16 (s, 1 H, CHO) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD): $\delta = 9.7$ (Me), 56.6 (OMe), 58.1 (OMe), 94.5 (OCH_2O), 101.3 (OCH_2O), 110.1, 121.3, 124.3, 128.3, 160.1, 161.6 (Ar-C), 189.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 240 (6) $[M]^+$, 45 (100).

HRESI-MS: m/z 263.0895 $[M+Na]^+$ (m/z 263.0990 $[M+Na]^+$ ber. für $C_{12}H_{16}NaO_5$).

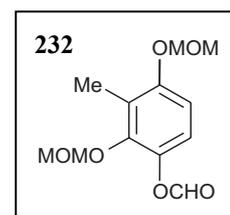
CHNS $C_{12}H_{16}O_5$ (240.25): ber. C 59.99, H 6.71; gef. C 59.47, H 6.70.

2,4-Bis(methoxymethoxy)-3-methylphenylformiat (232)

1.0 g (4.16 mmol) 2,4-Bis(methoxymethoxy)-3-methylbenzaldehyd (**231**) wurden in 25 mL abs. CH₂Cl₂ vorgelegt, auf 0 °C gekühlt, mit 5.75 g (8.5 mmol) *m*CPBA versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Waschen der Reaktionslösung mit ges. K₂CO₃-Lösung trocknete man die organische Phase über MgSO₄ und entfernte das Lösungsmittel. Man isolierte so 995 mg (3.88 mmol) des gewünschten Formiats **232**.

Brauner, amorpher Feststoff.

Ausbeute: 995 mg (3.88 mmol, 93%).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.19 (s, 3 H, Me), 3.45 (s, 3 H, OMe), 3.54 (s, 3 H, OMe), 4.97 (s, 2 H, OCH₂O), 5.15 (s, 2 H, OCH₂O), 6.84 (d, *J* = 9.0 Hz, 1 H, Ar-H), 6.87 (d, *J* = 9 Hz, 1 H, Ar-H), 8.22 (s, 1 H, CHO) ppm.

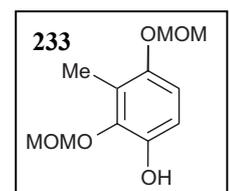
Die Verbindung wurde aufgrund ihrer Instabilität nicht näher charakterisiert, sondern direkt zur Darstellung von 2,4-Bis(methoxymethoxy)-3-methylphenol (**233**) verwendet.

2,4-Bis(methoxymethoxy)-3-methylphenol (233)

1.65 g (6.44 mmol) 2,4-Bis(methoxymethoxy)-3-methylphenylformiat (**232**) löste man in 50 mL MeOH und gab bei 0 °C 542 mg (9.66 mmol) KOH zu. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei 0 °C gerührt, im Vakuum vom MeOH befreit, in Et₂O aufgenommen und mit HCl angesäuert. Man wusch die organische Phase mit H₂O und ges. NaCl-Lösung, trocknete über MgSO₄, und entfernte das Lösungsmittel. Man erhielt so 1.47 g (6.44 mmol) des gewünschten Alkohols **233**.

Farbloses Öl.

Ausbeute: 1.47 g (6.44 mmol, 100%).



IR (Film): $\tilde{\nu} = 3374$ (br), 2952 (s), 2899 (s), 2828 (m), 2789 (w), 1727 (w), 1606 (w), 1488 (s), 1440 (s), 1403 (s), 1346 (m), 1287 (s), 1244 (s), 1208 (s), 1154 (s), 1050 (s), 1017 (s), 979 (s), 923 (s), 858 (w), 808 (m), 752 (w), 733 (m), 665 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.12$ (s, 3 H, Me), 3.46 (s, 3 H, OMe), 3.59 (s, 3 H, OMe), 4.98 (s, 2 H, OCH_2O), 5.07 (s, 2 H, OCH_2O), 6.72 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, CH), 7.76 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, CH), 6.80 (s, 1 H, OH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): $\delta = 10.0$ (Me), 56.2 (OMe), 57.5 (OMe), 95.9 (OCH_2O), 100.0 (OCH_2O), 112.4, 113.6, 121.7, 144.2, 145.0, 149.3 (Ar-C) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 228 (12) $[\text{M}]^+$, 170 (35) $[\text{M-Me}]^+$, 139 (100), 111 (34), 87 (16), 74 (39), 45 (98), 40 (24).

HRESI-MS: m/z 251.0894 $[\text{M+Na}]^+$ (m/z 251.0990 $[\text{M+Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NaO}_5$).

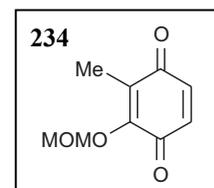
CHNS $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_5$ (246.10): ber. C 57.88, H 7.07; gef. C 57.87, H 6.72.

2-(Methoxymethoxy)-3-methyl-1,4-benzochinon (**234**)

Man legte 1.3 g (5.70 mmol) 2,4-Bis(methoxymethoxy)-3-methylphenol (**233**) in 65 mL Acetonitril vor und tropfte bei 0 °C langsam eine Lösung aus 6.3 g (11.40 mmol) CAN in 65 mL H_2O zu. Nach 1 h Rühren bei 0 °C erfolgte erschöpfende Extraktion mit EtOAc. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H_2O gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Man erhielt so 964 mg (5.29 mmol) des gewünschten Benzochinons **234**.

Braunes Öl.

Ausbeute: 964 mg (5.29 mmol, 93%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2973 (w), 2926 (w), 2845 (w), 1654 (s), 1599 (m), 1481 (w), 1441 (w), 1406 (w), 1378 (w), 1312 (m), 1261 (w), 1217 (w), 1198 (w), 1161 (m), 1077 (m), 1013 (m), 928 (m), 835 (m), 749 (w), 665 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.99 (s, 3 H, Me), 3.50 (s, 3 H, OMe), 5.29 (s, 2 H, OCH_2O), 6.60 (d, J = 10.1 Hz, 1 H, CH), 7.68 (d, J = 10.0 Hz, 1 H, CH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 9.1 (Me), 57.8 (OMe), 98.2 (OCH_2O), 131.0, 135.0, 136.7, 153.5 (Ar-C), 183.4, 188.3 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 182 (1) $[\text{M}]^+$, 138 (8), 122 (9), 45 (100).

HRESI-MS: m/z 205.0473 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 205.0471 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{NaO}_4$).

CHNS $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$ (246.10): ber. C 59.34, H 5.53; gef. C 59.30, H 5.67.

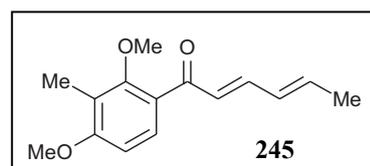
(2E,4E)1-(2,4-Dimethoxy-3-methylphenyl)hexa-2,4-dien-1-on (245)

Unter Argon legte man 50 mg (0.33 mmol) 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) in 2 mL abs. CH_2Cl_2 vor und kühlte auf 0 °C. Die Reaktionslösung wurde mit 48 mg (0.36 mmol) AlCl_3 und 38 μL (0.36 mmol) Sorbinsäurechlorid (**194**) versetzt und 60 min bei 0 °C gerührt. Nach Zugabe von 5proz. HCl extrahierte man erschöpfend mit CH_2Cl_2 , trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) lieferte 70 mg (0.28 mmol) des gewünschten Produkts **245**.

Gelbe Kristalle.

Ausbeute: 70 mg (0.28 mmol, 86%).

Schmp.: 49-56 °C (*n*-Hexan/EtOAc).



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3433 (br), 3001 (w), 2932 (w), 2848 (w), 1650 (m), 1592 (s), 1456 (m), 1405 (m), 1336 (m), 1265 (s), 1219 (m), 1181 (w), 1109 (s), 1055 (m), 1001 (m), 795 (m), 692 (w), 583 (w), 508 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.84 (d, J = 6.4 Hz, 3 H, Me), 2.13 (s, 3 H, Me), 3.65 (s, 3 H, OMe), 3.84 (s, 3 H, OMe), 6.10-6.30 (m, 2 H, CH), 6.65 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, Ar-H), 6.79 (dd, J = 15.3, 0.5 Hz, 1 H, CH), 7.25 (dd, J = 15.3, 10.6 Hz, 1 H, CH), 7.47 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 9.1 (Me), 19.2 (Me), 56.1 (OMe), 62.6 (OMe), 106.3, 120.4, 126.6, 128.2, 129.2, 131.1, 140.4, 144.2, 159.1, 161.9 (Ar-C oder C=C), 192.6 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 246 (100) $[\text{M}]^+$, 231 (68) $[\text{M-Me}]^+$, 217 (11), 203 (27), 191 (23), 179 (56), 164 (44), 152 (10), 136 (33), 121 (9), 108 (12), 91 (21), 77 (17), 67 (24), 55 (8), 41 (25).

HRESI-MS: m/z 269.1149 $[\text{M+Na}]^+$ (m/z 269.1148 $[\text{M+Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NaO}_3$).

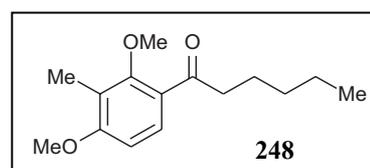
CHNS $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (246.30): ber. C 73.15, H 7.37; gef. C 72.50, H 7.42.

1-(2,4-Dimethoxy-3-methylphenyl)hexan-1-on (248)

Unter Argon legte man 1.0 g (6.57 mmol) 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) in 40 mL abs. CH_2Cl_2 vor und kühlte auf 0 °C. Die Reaktionslösung wurde mit 964 mg (7.23 mmol) AlCl_3 und 1.0 mL (7.23 mmol) Capronsäurechlorid (**247**) versetzt und 30 min bei RT gerührt. Nach Zugabe von 5proz. HCl extrahierte man erschöpfend mit CH_2Cl_2 , trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhielt so 1.6 g (6.39 mmol) des gewünschten Produkts **248**.

Farbloses Öl.

Ausbeute: 1.6 g (6.39 mmol, 97%).



IR (Film): $\tilde{\nu} = 2955$ (s), 2934 (s), 2870 (m), 1672 (s), 1591 (s), 1484 (m), 1458 (m), 1405 (m), 1359 (w), 1277 (s), 1252 (m), 1221 (m), 1194 (w), 1171 (w), 1111 (s), 1048 (w), 1022 (w), 1001 (w), 855 (w), 665 (w), 456 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.83$ - 0.87 (m, 3 H, Me), 1.26-1.31 (m, 4 H, CH_2), 1.61-1.65 (m, 2 H, CH_2), 2.12 (s, 3 H, Me), 2.90 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H, CH_2), 3.69 (s, 3 H, OMe), 3.81 (s, 3 H, OMe), 6.62 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, Ar-H), 7.46 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): $\delta = 9.0$ (Me), 14.1 (Me), 22.7 (CH_2), 24.6 (CH_2), 31.7 (CH_2), 42.5 (CH_2), 55.9 (OMe), 62.1 (OMe), 106.0, 120.4, 126.3, 128.6, 158.8, 161.8 (Ar-C), 202.6 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 250 (5) $[\text{M}]^+$, 194 (15) $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 179 (100) $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{11}]^+$, 136 (7), 91 (9), 77 (4).

HRESI-MS: m/z 273.1463 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 273.1461 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NaO}_3$).

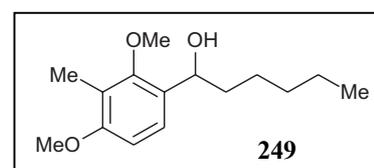
CHNS $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ (250.33): ber. C 71.97, H 8.86; gef. C 72.04, H 9.07.

1-(2,4-Dimethoxy-3-methylphenyl)hexan-1-ol (249)

Unter Argon legte man 500 mg (2.00 mmol) 1-(2,4-Dimethoxy-3-methylphenyl)hexan-1-on (**248**) in 30 mL abs. Et_2O vor und kühlte auf 0°C . Die Reaktionslösung wurde mit 151 mg (3.97 mmol) LiAlH_4 versetzt und 30 min bei RT gerührt. Nach Zugabe von 5proz. HCl extrahierte man erschöpfend mit CH_2Cl_2 , trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhielt so 287 mg (1.14 mmol) des gewünschten Produkts **249**.

Farblose Kristalle.

Ausbeute: 287 mg (1.14 mmol, 57%).



Schmp.: 39 °C (Et₂O).

IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3444 (br), 3052 (w), 2935 (s), 2859 (m), 1600 (s), 1488 (s), 1465 (s), 1416 (m), 1266 (s), 1212 (w), 1193 (w), 1166 (w), 1108 (s), 1025 (m), 1004 (m), 897 (w), 862 (w), 810 (m), 739 (s), 705 (s), 665 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.86 (m, 3 H, Me), 1.28-1.29 (m, 5 H, CH), 1.41-1.54 (m, 1 H, CH), 1.65-1.83 (m, 2 H, CH), 2.03 (bs, 1 H, OH), 3.73 (s, 3 H, OMe), 3.79 (s, 3 H, OMe), 4.85-4.89 (m, 1 H, CH), 6.62 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, Ar-H), 7.15 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, Ar-H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 9.4 (Me), 14.3 (Me), 22.8 (CH₂), 26.2 (CH₂), 32.0 (CH₂), 38.3 (CH₂), 55.8 (OMe), 61.5 (OMe), 69.6 (CH), 106.4, 119.7, 124.3, 130.0, 157.0, 158.3 (Ar-C) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 252 (4) [M]⁺, 181 (100) [M-C₅H₁₁]⁺, 151 (23) [M-2Me-C₅H₁₁]⁺, 91 (4), 77 (3), 43 (3).

HRESI-MS: m/z 275.1615 [M+Na]⁺ (m/z 275.1618 [M+Na]⁺ ber. für C₁₅H₂₄NaO₃).

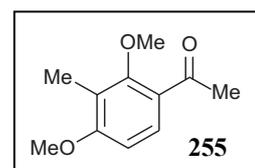
CHNS C₁₅H₂₄O₃ (252.35): ber. C 71.39, H 9.59; gef. C 71.49, H 9.68.

2,4-Dimethoxy-3-methylacetophenon (**255**)

Unter Argon legte man 3.0 g (19.71 mmol) 2,6-Dimethoxytoluol (**218**) in 90 mL abs. CH₂Cl₂ vor und versetzte diese Lösung bei 0 °C mit 2.89 g (21.68 mmol) AlCl₃ und 1.6 mL (21.68 mmol) Acetylchlorid. Nach 2 h Rühren bei 0 °C wurde mit 5proz. HCl angesäuert, mit CH₂Cl₂ erschöpfend extrahiert, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhielt so 3.6 g (18.56 mmol) des gewünschten Acetophenons **255**.

Farbloses Öl.

Ausbeute: 3.6 g (18.56 mmol, 94%).



$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ = 2.13 (s, 3 H, Me), 2.59 (s, 3 H, Me), 3.72 (s, 3 H, OMe), 3.84 (s, 3 H, OMe), 6.65 (d, J = 8.9 Hz, 1 H, Ar-H), 7.59 (d, J = 8.9 Hz, 1 H, CH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[271]

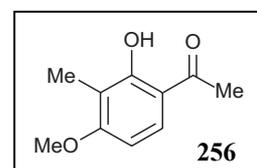
2-Hydroxy-4-methoxy-3-methylacetophenon (256)

Unter Argon wurden 10.0 g (51.55 mmol) 2,4-Dimethoxy-3-methylacetophenon (**255**) in 60 mL abs. CH_2Cl_2 vorgelegt, bei 0 °C mit 7.60 g (56.70 mmol) AlCl_3 versetzt und 2.5 h bei RT gerührt. Man säuerte die Reaktionslösung mit 5proz. HCl an, extrahierte erschöpfend mit CH_2Cl_2 , trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhielt so 8.0 g (44.44 mmol) des gewünschten Produkts **256**.

Farblose Nadeln.

Ausbeute: 8.0 g (44.44 mmol, 86%).

Schmp.: 84 °C (CH_2Cl_2); Lit.^[405] 83-84 °C (PE).



$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ = 2.06 (s, 3 H, Me), 2.54 (s, 3 H, Me), 3.86 (s, 3 H, OMe), 6.42 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H), 7.58 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, Ar-H), 12.73 (s, 1 H, OH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[406]

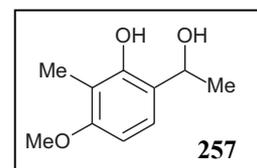
6-(1'-Hydroxyethyl)-3-methoxy-2-methylphenol (257)

Unter Argon wurden 1.0 g (5.55 mmol) 2-Hydroxy-4-methoxy-3-methylacetophenon (**256**) in 12 mL abs. Et_2O vorgelegt und 422 mg (11.10 mmol) LiAlH_4 bei 0 °C zugegeben. Nach 15 min

Rühren bei RT versetzte man das Reaktionsgemisch mit 5proz. HCl, extrahierte erschöpfend mit EtOAc und wusch die vereinigten organischen Phasen mit H₂O und ges. NaCl-Lösung. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Man isolierte so 985 mg (5.41 mmol) des gewünschten Produkts **257**.

Farbloses Öl.

Ausbeute: 985 mg (5.41 mmol, 97%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3367 (br), 3054 (s), 2977 (s), 2839 (m), 1732 (s), 1622 (s), 1594 (s), 1500 (s), 1467 (s), 1376 (s), 1265 (s), 1167 (s), 1113 (s), 1026 (m), 951 (w), 896 (w), 863 (w), 795 (s), 737 (s), 613 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.51 (d, J = 6.6 Hz, 3H, Me), 2.08 (s, 3H, Me), 2.79 (bs, 1H, OH), 3.77 (s, 3H, OMe), 4.93 (q, J = 6.6 Hz, 1H, CH), 6.33 (d, J = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 6.73 (d, J = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 8.07 (bs, 1H, OH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 8.1 (Me), 23.4 (Me), 55.8 (OMe), 71.6 (C-O), 101.9, 114.1, 121.3, 123.6, 154.4, 158.3 (Ar-C) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 182 (51) [M]⁺, 164 (100) [M-H₂O]⁺, 146 (21), 134 (37), 121 (19), 107 (13), 91 (20), 77 (20), 43 (22).

HRESI-MS: m/z 205.0838 [M+Na]⁺ (m/z 205.0835[M+Na]⁺ ber. für C₁₀H₁₄NaO₃).

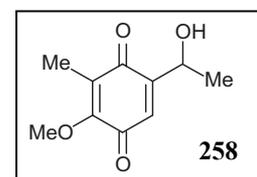
5-(1'-Hydroxyethyl)-2-methoxy-3-methylbenzoquinon (**258**)

1.0 g (5.49 mmol) 6-(1'-Hydroxyethyl)-3-methoxy-2-methylphenol (**257**) wurden in 150 mL Acetonitril vorgelegt und mit einer Lösung aus 5.1 g (19.03 mmol) (KSO₃)₂NO (Fremy's Salz) in 300 mL H₂O versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT säuerte man das Reaktionsgemisch mit 5proz. HCl an, extrahierte erschöpfend mit EtOAc und wusch die vereinigten organischen Phasen mit

H₂O und ges. NaCl-Lösung. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) lieferte 725 mg (3.70 mmol) des gewünschten Benzochinons **258**.

Braunes Öl.

Ausbeute: 725 mg (3.70 mmol, 67%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3055 (s), 2986 (m), 1651 (s), 1608 (m), 1421 (m), 1377 (w), 1320 (m), 1265 (s), 1211 (m), 1145 (m), 1018 (w), 986 (w), 938 (w), 897 (m), 874 (w), 738 (s) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.39 (d, *J* = 6.4 Hz, 3 H, Me), 1.91 (s, 3 H, Me), 4.00 (s, 3 H, OMe), 4.89 (dq, *J* = 6.5, 1.1 Hz, 1 H, CH), 6.52 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H, CH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = 8.8 (Me), 22.6 (Me), 61.1, 62.3 (OMe oder C-O), 128.9, 129.0, 150.4, 155.8 (Ar-C), 184.0, 188.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) *m/z* (%): 196 (38) [M]⁺, 181 (50) [M-Me]⁺, 167 (38), 153 (38), 139 (25), 125 (22), 107 (27), 97 (12), 91 (17), 83 (35), 67 (21), 55 (32), 43 (100).

HRESI-MS: *m/z* 219.0624 [M+Na]⁺ (*m/z* 219.0628 [M+Na]⁺ ber. für C₁₀H₁₂NaO₄).

CHNS C₁₀H₁₂O₄ (196.20): ber. C 61.22, H 6.16; gef. C 60.63, H 6.34.

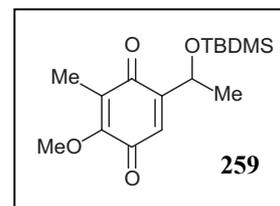
5-(1'-Tertbutyldimethylsilyloxyethyl)-3-methoxy-2-methylbenzochinon (**259**)

1.19 g (6.07 mmol) 5-(1'-Hydroxyethyl)-2-methoxy-3-methylbenzochinon (**258**) wurden in 1.3 mL DMF vorgelegt und bei RT mit 1.10 g (7.29 mmol) TBDMSCl und 1.03 g (15.18 mmol) Imidazol versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT gab man H₂O zur Reaktionslösung, extrahierte erschöpfend mit EtOAc, trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ und entfernte

das Lösungsmittel. Flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 1:1) lieferte 1.80 g (5.80 mmol) des gewünschten Produkts **259**.

Braunes Öl.

Ausbeute: 1.80 g (5.80 mmol, 96%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2954 (s), 2931 (s), 2887 (m), 2857 (s), 1668 (s), 1651 (s), 1608 (s), 1471 (m), 1463 (m), 1375 (m), 1362 (m), 1320 (s), 1251 (s), 1209 (s), 1177 (m), 1149 (s), 1117 (s), 1094 (m), 1061 (w), 1035 (m), 1006 (w), 989 (w), 970 (w), 938 (w), 909 (s), 833 (s), 970 (m), 797 (w), 779 (s), 681 (m), 665 (w), 607 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.00 (s, 3 H, Me), 0.05 (s, 3 H, Me), 0.88 (s, 9 H, Me), 1.28 (d, J = 6.3 Hz, 3 H, Me), 1.90 (s, 3 H, Me), 4.00 (s, 3 H, OMe), 4.83 (dq, J = 6.4, 1.6 Hz, 1 H, CH), 6.63 (d, J = 1.6 Hz, 1 H, CH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = -4.8 (Me), -4.7 (Me), 8.9 (Me), 18.3, 25.1, 26.0 (Me oder C-Si), 61.1 (CH oder OMe), 65.0 (CH oder OMe), 128.7, 129.1, 153.1, 155.7 (Ar-C), 184.3, 188.2 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 253 (100) $[\text{M}-(t\text{-Butyl})]^+$, 239 (15), 225 (20), 210 (10), 181 (38), 167 (5), 75 (32), 57 (13), 47 (5).

HRESI-MS: m/z 333.1497 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 333.1493 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{NaO}_4\text{Si}$).

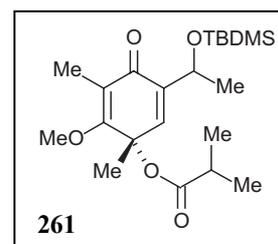
CHNS $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{Si}$ (310.46): ber. C 61.90, H 8.44; gef. C 61.58, H 8.55.

5-(1'-Tertbutyldimethylsilyloxyethyl)-2-methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienylisobutyrat (**261**)

Unter Argon legte man 0.48 mL (0.77 mmol) einer MeLi-Lösung (1.6 M in Et₂O) und 0.3 mL (1.84 mmol) TMEDA in 6 mL abs. Et₂O vor und rührte 30 min bei RT. 100 mg (0.31 mmol) 5-(1'-Tertbutyldimethylsilyloxyethyl)-3-methoxy-2-methylbenzochinon (**259**) wurden in 5.0 mL abs. Et₂O gelöst und auf -100 °C gekühlt. Dazu tropfte man die etherische Lösung aus MeLi und TMEDA, versetzte direkt nach beendeter Zugabe mit 0.1 mL (0.92 mmol) Isobuttersäurechlorid (**227**) und entfernte das Kühlbad. Die Reaktion war nach *ca.* 10 min beendet. Man säuerte das Reaktionsgemisch mit 5proz. HCl an, extrahierte erschöpfend mit EtOAc, trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ und entfernte das Lösungsmittel. Flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) lieferte 89 mg (5.80 mmol) des gewünschten Produkts **261**.

Hellgelbes Öl.

Ausbeute: 89 mg (0.23 mmol, 74%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2955 (s), 2931 (s), 2857 (m), 1742 (s), 1675 (w), 1626 (s), 1470 (w), 1387 (w), 1312 (w), 1255 (m), 1217 (w), 1154 (m), 1130 (s), 1100 (s), 1054 (s), 995 (w), 926 (m), 836 (s), 777 (m), 665 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = -0.01 (s, 3 H, Me), 0.02 (s, 3 H, Me), 0.86 (s, 9 H, Me), 1.21 (d, *J* = 6.3 Hz, 3 H, Me), 1.13 (d, *J* = 7.1 Hz, 3 H, Me), 1.14 (d, *J* = 7.1 Hz, 3 H, Me), 1.47 (s, 3 H, Me), 1.87 (s, 3 H, Me), 3.83 (s, 3 H, OMe), 4.81 (dq, *J* = 6.2, 1.4 Hz, 1 H, CH), 6.53 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H, CH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = -4.7 (Me), 9.7 (Me), 18.4, 19.1, 19.2, 23.4, 25.2, 26.0 (Me oder C-Si), 34.2 (CH), 61.1 (CH oder OMe), 65.5 (CH oder OMe), 75.2 (C-O), 117.4, 139.3 142.0 (C=C), 171.0, 175.5 (C=C oder C=O), 186.9 (C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 339 (7) $[M-(t\text{-Butyl})]^+$, 295 (18), 269 (30), 251 (11), 237 (15), 223 (24), 208 (23), 191 (13), 166 (32), 159 (34), 145 (13), 115 (27), 103 (26), 73 (100), 43 (40).

HRESI-MS: m/z 419.2234 $[M+Na]^+$ (m/z 419.2224 $[M+Na]^+$ ber. für $C_{21}H_{36}NaO_5Si$).

CHNS $C_{21}H_{36}O_5Si$ (396.59): ber. C 63.60, H 9.15; gef. C 64.21, H 9.10.

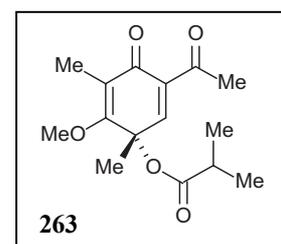
5-Acetyl-2-methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienylisobutyrat (263)

Unter Argon löste man 177 mg (0.45 mmol) 5-(1'-Tertbutyldimethylsilyloxyethyl)-2-methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienylisobutyrat (**261**) und 409 mg (1.56 mmol) TBAF in 20 mL abs. THF. Nach 3 h Rühren bei RT wurde die Reaktionslösung mit 5proz. HCl angesäuert und mit EtOAc erschöpfend extrahiert. Man wusch die vereinigten organischen Phasen mit ges. NH_4Cl - und ges. NaCl-Lösung, trocknete über $MgSO_4$ und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Der verbleibende Rückstand wurde in 7 mL abs. EtOAc aufgenommen, mit 189 mg (0.67 mmol) IBX versetzt und 1 h unter Rührfluss erhitzt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches auf RT filtrierte man den Niederschlag ab und trocknete das Filtrat im Vakuum. Flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) lieferte 90 mg (0.32 mmol) des gewünschten Ketons **263**.

Orange Kristalle.

Ausbeute: 90 mg (0.32 mmol, 72%).

Schmp.: 38-48 °C (*n*-Hexan/EtOAc).



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3448 (br), 2980 (m), 2938 (m), 2877 (w), 2853 (w), 1732 (s), 1693 (s), 1645 (s), 1603 (m), 1453 (m), 1412 (w), 1363 (s), 1314 (m), 1262 (s), 1214 (s), 1194 (S), 1153 (m), 1096 (s), 1054 (s), 983 (w), 924 (w), 904 (w), 891 (w), 856 (w), 808 (m), 776 (w), 722 (w), 658 (w), 609 (w), 551 (w), 504 (w), 433 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.11 (d, J = 7.1 Hz, 3 H, Me), 1.12 (d, J = 7.1 Hz, 3 H, Me), 1.49 (s, 3 H, Me), 1.88 (s, 3 H, Me), 2.45 (s, 3 H, Me), 2.52 (h, J = 7.1 Hz, 1 H, CH), 3.83 (s, 3 H, OMe), 7.06 (s, 1 H, CH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): δ = 9.9 (Me), 19.0 (Me), 19.1 (Me), 25.5 (Me), 31.1 (Me), 34.1 (CH), 61.4 (OMe), 75.1 (C-O), 117.7, 136.5, 150.0 (Ar-C), 170.6, 175.9, 185.4, 198.6 (Ar-C oder C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 280 (3) $[\text{M}]^+$, 238 (13) $[\text{M-Ac}]^+$, 210 (17) $[\text{M-(i-Butyrat)}]^+$, 168 (100) $[\text{M-Ac-(i-Butyrat)}]^+$, 153 (9), 71 (40), 43 (91).

HRESI-MS: m/z 303.1207 $[\text{M+Na}]^+$ (m/z 303.1203 $[\text{M+Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NaO}_5$).

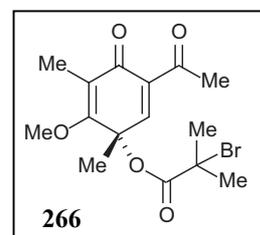
CHNS $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (280.32): ber. C 64.27, H 7.19; gef. C 63.84, H 7.39.

5-Acetyl-2-methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienyl-2-brom-2-methylpropanoat (266)

Unter Argon löste man 5 mg (17.8 μmol) 5-Acetyl-2-methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienylisobutyrat (**263**) in 1 mL abs. CCl_4 . Die Lösung wurde mit 3.32 mg (19.4 μmol) NBS und 0.12 mg (1.6 μmol) NH_4Ac versetzt und 8 h unter Rückfluss erhitzt. Man gab zur Reaktionslösung CH_2Cl_2 zu und wusch die entstehende organische Phase mit H_2O . Nach Trocknen über MgSO_4 und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum isolierte man durch flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) 2.3 mg (6.4 μmol) des Bromids **266**.

Hellgelbes Öl.

Ausbeute: 2.3 mg (6.4 μmol , 36%).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.60 (s, 3 H, Me), 1.91 (s, 3 H, Me), 1.93 (s, 3 H, Me), 1.94 (s, 3 H, Me), 2.51 (s, 3 H, Me), 3.92 (s, 3 H, OMe), 7.10 (s, 1 H, CH) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD): $\delta = 9.8$ (Me), 18.8 (Me), 25.0 (Me), 30.6 (Me), 30.9 (Me), 54.8 (C-Br), 61.4 (OMe), 76.3 (C-O), 117.3, 136.9, 148.2 (Ar-C), 169.8, 170.2, 185.0, 198.3 (Ar-C oder C=O) ppm.

HRESI-MS: m/z 381.0303 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (m/z 381.0308 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{BrNaO}_5$).

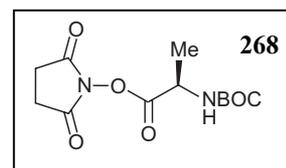
Die Verbindung konnte aufgrund ihrer Instabilität und der geringen Substanzmenge nicht näher charakterisiert werden.

N-BOC-*L*-Alanin-Hydroxysuccinat (**268**)

Unter Argon wurde zu einer Lösung aus 10.9 g (53.0 mmol) DCC in 100 mL abs. Acetonitril bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ eine Lösung aus 10.0 g (53.0 mmol) *N*-BOC-*L*-Alanin (**267**) und 6.2 g (53.0 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid in 100 mL abs. Acetonitril getropft. Man rührte die Reaktionslösung 2 h bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ und ließ sie anschließend ohne Rühren bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ über Nacht stehen. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Kristallisation aus Isopropanol lieferte 13.6 (47.7 mmol) des gewünschten Aktivesters **268**.

Weißer Nadeln.

Ausbeute: 13.6 g (47.7 mmol, 90%).



Schmp.: $164\text{--}168\text{ }^\circ\text{C}$ (Isopropanol); Lit.^[407] $166\text{--}197\text{ }^\circ\text{C}$ (Isopropanol).

$[\alpha]_D^{20} = -49.2\text{ }^\circ$ ($c = 2.0$; Dioxan); Lit.^[408] -49.0 ° ($c = 2.0$; Dioxan).

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.42$ (s, 9H, Me), 1.52 (d, $J = 7.4\text{ Hz}$, 3H, Me), 2.79 (s, 4H), 4.67 (bs, 1H, CH), 5.02 (bs, 1H, NH) ppm.

Die physikalischen und spektroskopischen Daten stimmten mit denen aus der Literatur überein.^[407,408]

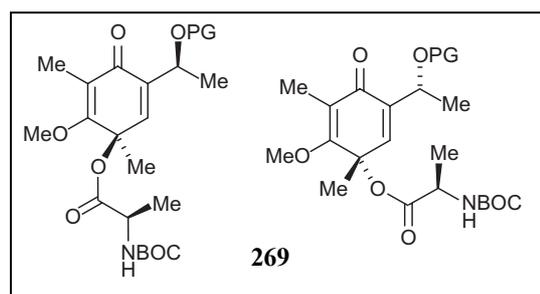
Tert-Butyl-1-((5-(1'-tertbutyldimethylsilyloxyethyl)-2-methoxy-1,3-dimethyl-4-oxocyclohexa-2,5-dienyloxy)carbonyl)ethylcarbamate **269**

Unter Argon legte man 2.88 mL (4.62 mmol) einer MeLi-Lösung (1.6 M in Et₂O) und 1.8 mL (11.0 mmol) TMEDA in 36 mL abs. Et₂O vor und rührte 30 min bei RT. 600 mg (1.86 mmol) 5-(1'-Tertbutyldimethylsilyloxyethyl)-3-methoxy-2-methylbenzochinon (**259**) wurden in 30.0 mL abs. Et₂O gelöst und auf -100 °C gekühlt. Dazu tropfte man die etherische Lösung aus MeLi und TMEDA, versetzte direkt nach beendeter Zugabe mit 1.66 g (5.7 mmol) *N*-BOC-*L*-Alanin-Hydroxysuccinat (**268**) und entfernte das Kühlbad. Die Reaktion war nach *ca.* 60 min beendet. Man säuerte das Reaktionsgemisch mit 5proz. HCl an, extrahierte erschöpfend mit EtOAc, trocknete die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ und entfernte das Lösungsmittel. Flashchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc, 3:1) lieferte 167 mg (0.33 mmol) von Verbindung A und 290 mg (0.58 mmol) von Verbindung B.

Verbindung A

Hellgelbes Öl.

Ausbeute: 167 mg (0.33 mmol, 18%).



IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3359 (br), 2955 (s), 2945 (w), 2931 (s), 2857 (m), 1718 (s), 1625 (s), 1516 (m), 1454 (m), 1366 (m), 1311 (m), 1253 (s), 1219 (m), 1167 (s), 1131 (m), 1100 (m), 1053 (s), 926 (w), 836 (m), 812 (w), 779 (m), 665 (w) cm⁻¹.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = -0.06 (s, 3H, Me), 0.00 (s, 3 H, Me), 0.83 (s, 9 H, Me), 1.24 (d, *J* = 6.2 Hz, 3 H, Me), 1.32 (d, *J* = 7.3 Hz, 3 H, Me), 1.38 (s, 9 H, Me), 1.51 (s, 3 H, Me), 1.86 (s, 3 H, Me), 3.83 (s, 3 H, OMe), 4.27 (m, 1 H, CH), 4.73 (dq, *J* = 6.2, 1.4 Hz, 1 H, CH), 4.86 (bs, *J* = 8.1 Hz, 1 H, NH), 6.55 (d, *J* = 0.9 Hz, 1 H, CH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD): δ = -5.0 (Me), -4.9 (Me), 9.8 (Me), 18.4, 18.6 (Me oder C-Si), 25.1 (Me), 25.7 (Me), 26.0 (Me), 28.4 (Me), 49.3 (C-N), 61.4, 65.5 (C-O oder OMe), 76.9 (C-O), 80.1 (C-O), 117.8 (C=C), 138.5 (CH), 142.8, 155.2, 170.4, 172.1, 187.0 (C=C oder C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 440 (7) $[M-{}^t\text{Bu}]^+$, 384 (5), 340 (26), 324 (12), 309 (20), 293 (9), 269 (58), 251 (51), 237 (46), 225 (33), 210 (13), 190 (47), 175 (14), 161 (16), 136 (28), 116 (11), 88 (26), 73 (87), 57 (100), 44 (62).

HRESI-MS: m/z 520.2708 $[M+\text{Na}]^+$ (m/z 520.2701 $[M+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{43}\text{NaO}_7\text{Si}$).

Verbindung B

Hellgelbes Öl.

Ausbeute: 290 mg (0.58 mmol, 31%).

IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3359 (br), 2955 (s), 2945 (w), 2931 (s), 2857 (m), 1718 (s), 1625 (s), 1516 (m), 1454 (m), 1366 (m), 1311 (m), 1253 (s), 1219 (m), 1167 (s), 1131 (m), 1100 (m), 1053 (s), 926 (w), 836 (m), 812 (w), 779 (m), 665 (w) cm^{-1} .

${}^1\text{H}$ -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.00 (s, 3H, Me), 0.02 (s, 3 H, Me), 0.88 (s, 9 H, Me), 1.30 (d, J = 6.3 Hz, 3 H, Me), 1.40 (d, J = 7.3 Hz, 3 H, Me), 1.45 (s, 9 H, Me), 1.92 (s, 3 H, Me), 2.06 (s, 3 H, Me), 3.89 (s, 3 H, OMe), 4.32 (m, 1 H, CH), 4.78 (dq, J = 6.3, 1.3 Hz, 1 H, CH), 4.98 (bd, J = 8.4 Hz, 1 H, NH), 6.68 (d, J = 1.4 Hz, 1 H, CH) ppm.

${}^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz, MeOD): δ = -5.0 (Me), -4.9 (Me), 9.9 (Me), 14.4, 18.5 (Me oder C-Si), 25.1 (Me), 25.5 (Me), 26.0 (Me), 28.5 (Me), 49.4 (C-N), 61.3, 65.5 (C-O oder OMe), 76.5 (C-O), 80.0 (C-O), 117.6 (C=C), 138.8 (CH), 142.6 (C=C), 155.1, 170.0, 171.4, 187.1 (C=C oder C=O) ppm.

EI (70 eV) m/z (%): 440 (7) $[M-{}^t\text{Bu}]^+$, 384 (5), 340 (37), 309 (10), 293 (6), 270 (12), 251 (39), 237 (36), 225 (38), 210 (7), 190 (23), 178 (22), 88 (17), 73 (47), 57 (100), 44 (52).

HRESI-MS: m/z 520.2704 $[M+\text{Na}]^+$ (m/z 520.2701 $[M+\text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{43}\text{NaO}_7\text{Si}$).

4.4 Isolierung und Charakterisierung neuer Macrolactame aus marinen Mikroorganismen

Der Stamm SPE 10-1 wurde zur Isolierung der Macrolactame in der AG Hentschel in einem Gesamtkultivolumen von 5 L kultiviert und die Kulturbrühe nach beendeter Fermentation erschöpfend mit EtOAc extrahiert. Der nach Trocknung der vereinigten organischen Phasen verbleibende Rückstand wurde direkt zur Isolierung der Verbindungen mittels präparativer HPLC (Chromolith SemiPrep RP18e 10 x 100 mm (Merck); H₂O + 0.05% TFA (A), MeCN + 0.05% TFA; Fluss 10 mL/min; 0 min 75% B, 10 min 75% B). Man erhielt so 5.1 mg **275** ($R_t = 2.5$ min) und 4.1 mg **276** ($R_t = 4.3$ min). verwendet.

Macrolactam **275**

Braunes Öl.

UV (MeCN/H₂O): $\lambda_{\max} = 215, 303$ nm.

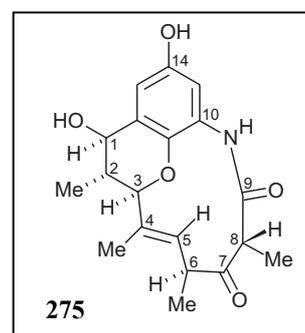


Tabelle 17. NMR-Daten (¹H: 400 MHz; ¹³C: 100 MHz) von **275** in Aceton-d₆.

Position	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	HMBC	COSY (<i>J</i> in Hz)	NOESY
1	70.9	4.38 <i>d</i>	2, Me-2, 3, 11, 12, 13	2 (10.1)	Me-2
2	42.4	1.82 <i>m</i>	1, Me-2, 3, 12	Me-2, 1, 3	5
Me-2	16.7	1.19 <i>d</i>	1, 2, 3	2 (6.6)	1, 3
3	87.4	4.27 <i>d</i>	2, Me-2, 4, Me-4, 5, 11	2 (8.5)	Me-2
4	140.5				
Me-4	19.3	1.86 <i>s</i>	3, 4, 5, Me-6, 7	5	6
5	124.7	4.98 <i>d</i>	3, Me-4, 6, 7	Me-4, 6 (9.8)	2, Me-6, 8
6	46.2	3.19 <i>m</i>	4, 5, Me-6, 7	Me-6, 5	Me-4
Me-6	17.8	1.00 <i>d</i>	5, 6, 7	6 (6.3)	5, 8
7	207.1				
8	48.2	3.43 <i>q</i>	7, Me-8, 9	Me-8 (6.8)	5, Me-6
Me-8	16.6	1.21 <i>d</i>	7, 8, 9	8 (6.8)	
9	173.9				
10	131.0				
11	142.7				
12	140.9				
13	111.1	7.02 <i>d</i>	1, 11, 14, 15	(2.8)	
14	154.4				
15	114.0	6.65 <i>d</i>	10, 11, 13, 14	(2.8)	
NH		7.88			

MS (ESI positiv): $m/z = 346.3$ $[M+H]^+$.

HRESI-MS: m/z 368.1478 $[M+Na]^+$ (m/z 368.1468 $[M+Na]^+$ berechnet für $C_{19}H_{23}NaNO_5$).

Macrolactam **276**

Braunes Öl.

UV (MeCN/H₂O): $\lambda_{max} = 215, 291$ nm.

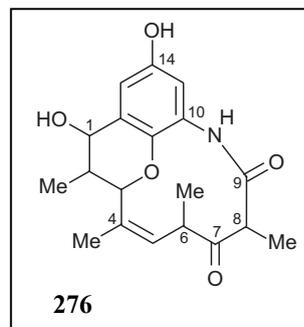


Tabelle 18. NMR-Daten (¹H: 400 MHz; ¹³C: 100 MHz) von **276** in Aceton-d₆.

Position	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	HMBC	COSY (<i>J</i> in Hz)	NOESY
1	70.8	4.36 <i>d</i>	2, Me-2, 3, 11, 12, 13	2 (10.1)	2, Me-2, 3
2	46.2	1.51 <i>m</i>	1, Me-2, 3, 12	Me-2, 1, 3	1, Me-2
Me-2	15.0	1.15 <i>d</i>	1, 2, 3	2 (6.6)	1, Me-2, Me-4, 5
3	86.2	4.24 <i>d</i>	2, Me-2, 4, Me-4, 5, 11	2 (10.0)	Me-2
4	145.4				
Me-4	19.8	2.02 <i>s</i>	3, 4, 5	5	3, 5
5	125.1	5.07 <i>d</i>	3, Me-4, 6, 7	Me-4, 6 (10.5)	Me-2, 3, Me-4, 6, Me-6, 8
6	48.3	3.34 <i>m</i>	4, 5, Me-6, 7	Me-6, 5	5, Me-6, 8
Me-6	16.9	0.99 <i>d</i>	5, 6, 7	6 (6.8)	5, 6
7	205.2				
8	55.6	3.97 <i>q</i>	7, Me-8, 9	Me-8 (6.7)	5, 6
Me-8	15.1	1.27 <i>d</i>	7, 8, 9	8 (6.7)	
9	173.3				
10	130.4				
11	139.5				
12	138.1				
13	107.3	6.76 <i>d</i>	1, 11, 14, 15	(2.8)	
14	153.4				
15	110.9	6.83 <i>d</i>	10, 11, 13, 14	(2.8)	
NH		8.61			

MS (ESI positiv): $m/z = 346.3$ $[M+H]^+$.

HRESI-MS: m/z 368.1478 $[M+Na]^+$ (m/z 368.1468 $[M+Na]^+$ berechnet für $C_{19}H_{23}NaNO_5$).

5 Stereochemische Analyse von Naturstoffen und synthetischen Verbindungen durch HPLC-CD-Kopplung

Die für die HPLC-CD-Kopplung genutzten Geräte sind unter Kapitel 1.2 der allgemeinen Methoden beschrieben. Die zu analysierenden Substanzen wurden im für die Trennung jeweils optimalen Eluentengemisch gelöst und vor Injektion in das chromatographische System durch Filtration von evtl. unlöslichen Bestandteilen befreit. Für die einzelnen Trennprobleme wurden folgende chirale Phasen und chromatographische Bedingungen angewandt.

5.1 Stereochemische Analyse der Parvistemine A-D (277-280), neuer Phenylethylbenzochinone aus *Stemona parviflora* Wright

Die Trennung aller Parvistemine erfolgte an einer Chiralcel-OD-H-Säule (5 μm , 4.6 x 250 mm) der *Fa. Daicel* bei einer konstanten Flussrate des Eluenten von 1.2 mL/min. Für die einzelnen Verbindungen wurden folgende chromatographische Bedingungen genutzt:

Parvistemin A (277):	Eluent: <i>n</i> -Hexan/Isopropanol, 97.5:2.5; T = 55 °C.
Parvistemin B (278):	Eluent: <i>n</i> -Hexan/Isopropanol, 90:10; T = 40 °C.
Parvistemin C (279):	Eluent: <i>n</i> -Hexan/Isopropanol, 90:10; T = 40 °C.
Parvistemin D (280):	Eluent: <i>n</i> -Hexan/Isopropanol, 95:5; T = 40 °C.

5.2 Stereochemische Untersuchung neuartiger axial-chiraler Quateraryle

Die Trennung des Quateraryls **291** erfolgte durch serielle Kopplung zweier Chiralcel-OD-H-Säulen (jeweils 5 μm , 4.6 x 250 mm) der *Fa. Daicel* bei einer konstanten Flussrate des Eluenten von 1.0 mL/min. Das chromatographische System wurde dabei auf 5 °C gekühlt. Als Eluenten verwendete man ein Lösungsmittelgemisch aus *n*-Hexan und Isopropanol im Verhältnis 99.5:0.5.

5.3 Stereochemische Analyse neuartiger, intrinsisch axial-chiraler β,β -verknüpfter Bisporphyrine

Die Trennung des Bisporphyrins **295** erfolgte an einer Chiralcel-OD-H-Säule (5 μm , 4.6 x 250 mm) der *Fa. Daicel* bei einer konstanten Flussrate des Eluenten (*n*-Hexan/Isopropanol, 60:40) von 0.3 mL/min und einer Temperatur von 7 °C. Eine Verbesserung der Trennung war durch Verwendung einer Chirex-3010-Säule der *Fa. Phenomenex* (5 μm , 4.6 x 250 mm) bei einem Fluss von 1 mL/min möglich. Das chromatographische System wurde dabei bei RT betrieben. Als Eluenten verwendete man ein Lösungsmittelgemisch aus *n*-Hexan und CH_2Cl_2 im Verhältnis 60:40. Die Trennung der Atrop-Enantiomere der Bisporphyrine **296-300** war mit Lösungsmittelgemischen aus *n*-Hexan und CH_2Cl_2 im Verhältnis von 70:30 bis 50:50 möglich. Zur Isolierung größerer Mengen optisch reinen Bisporphyrins **296** verwendete man eine semipräparative Chirex-3010-Säule der *Fa. Phenomenex* (5 μm , 250 x 10 mm, Fluss 5 mL/min) mit *n*-Hexan/Isopropanol (60:40) als Eluenten.

Zur Bestimmung der Rotationsbarriere von *M*-**296** wurden zunächst bei drei Temperaturen (363 K, 373 K, 383 K) die Geschwindigkeitskonstanten der Racemisierung bestimmt. Die Berechnung wurde mit Hilfe folgender Gleichung durchgeführt:

$$2kt = \ln \left(\frac{[M_0] - [M_{eq}]}{[M(t)] - [M_{eq}]} \right)$$

Dabei ist *k* die Geschwindigkeitskonstante, *t* der Zeitpunkt der Messung, M_0 die Konzentration des reinen *M*-Atrop-Enantiomers zum Zeitpunkt 0 ($M_0 = 100\%$), M_{eq} die Konzentration des *M*-Atrop-Enantiomers im Gleichgewicht ($M_{eq} = 50\%$) und $M(t)$ die Konzentration des *M*-Atrop-Enantiomers zum Zeitpunkt *t*. Die Konzentrationsänderung über die Zeit wurde mittels analytischer HPLC an einer Chirex-3010-Säule der *Fa. Phenomenex* (*n*-Hexan/ CH_2Cl_2 , 60:40) gemessen. Abbildung 57 gibt die so ermittelten Messwerte graphisch wieder.

Durch Anwendung der Eyring-Gleichung,

$$\ln \left(\frac{k}{T} \right) = \frac{-\Delta H^\ddagger}{RT} + \ln \left(\frac{k_b}{h} \right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R}$$

mit k gleich der bestimmten Geschwindigkeitskonstanten, T der absoluten Temperatur, R der idealen Gaskonstante, k_b der Boltzmannkonstante und h der Planckschen Konstante, war die Berechnung der Aktivierungsenthalpy (ΔH^\ddagger) und der Aktivierungsentrophy (ΔS^\ddagger) möglich. Die freie Aktivierungsenergie wurde aus diesen Parametern zu 114.9 kJ/mol bei $T = 25^\circ\text{C}$ bestimmt.

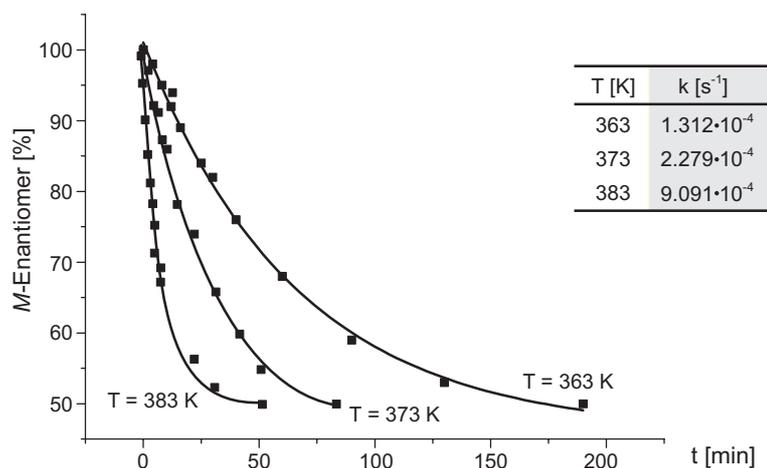


Abb. 57. Graphische Darstellung der Messwerte zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k der Atrop-Enantiomerisierung von **M-296** bei drei unterschiedlichen Temperaturen (363 K, 373 K und 383 K).

5.4 Meso versus C_1 : Stereochemische Analyse von axial-chiralen, konfiguratív jedoch semi-stabilen Bis[10]paracyclophanen

Die Bis[10]paracyclophane wurden an einer Chiralcel-OD-RH-Säule (5 μm , 4.6 x 250 mm) der *Fa. Daicel* getrennt. Als Eluenten verwendete man ein Gemisch aus Acetonitril und H_2O im Verhältnis 68:32 mit einer konstanten Flussrate von 0.8 mL/min. Das chromatographische System wurde bei der Trennung von **301** auf 30°C temperiert, während im Fall von **302** auf 5°C gekühlt werden musste. Zur Aufnahme der vollen CD-Spektren war eine Erhöhung der Scangeschwindigkeit des Spektrometers von 500 nm/min auf 1000 nm/min und die Vergrößerung der Bandbreite von 0.5 nm auf 2 nm nötig.

LITERATUR

- [1] Hippokrates von Kos, *Corpus hippocraticum*, 4. Jahrhundert vor Christus.
- [2] A. Buchner; Über das rigatellische Fiebermittel und über eine in der Weidenrinde entdeckte alkaloidische Substanz; *Rep. Pharm.* **1828**, *29*, 405-421.
- [3] N. Kuhnert; Hundert Jahre Aspirin; *Chem. Unserer Zeit* **1999**, *33*, 213-220.
- [4] T. S. Kaufmann, E. A. Rúveda; Die Jagd auf Chinin: Etappenerfolge und Gesamtsiege; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 876-907; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 854-885.
- [5] A. Fleming; The Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to Their use in Isolation of *B. influenzae*; *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, *10*, 226-236.
- [6] E. Chain, H. W. Florey, A. D. Gardner, N. G. Heatley, M. A. Jennings, J. Orr-Ewing, A. G. Sanders; Penicillin as a Chemotherapeutic Agent; *Lancet* **1940**, *2*, 226-228.
- [7] E. Chain, H. W. Florey; Penicillin; *Endeavour* **1944**, *3*, 3-14.
- [8] A. Chmiel; Pharmaceutical Biotechnology: Achievements of the Twentieth Century and Expectations for the Twenty-First Century; *Biotechnologia* **2002**, *4*, 56-78.
- [9] W. Dürckheimer; Tetracycline: Chemie, Biochemie und Struktur-Wirkungs-Beziehungen; *Angew. Chem.* **1975**, *87*, 751-764; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 721-734.
- [10] E. L. Hazen, R. Brown; Fungicidin, an Antibiotic Produced by a Soil Actinomycete; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1991**, *76*, 93-97.
- [11] G. M. Cragg, D. J. Newman, K. M. Snader; Natural Products in Drug Discovery and Development; *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 52-60.
- [12] D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader; Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002; *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022-1037.
- [13] D. J. Newman, G. M. Cragg; Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years; *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461-477.
- [14] M. S. Butler; The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 2141-2153.
- [15] H. Ziffer, R. J. Highet, D. L. Klayman; Artemisinin: an Endoperoxidic Antimalarial from *Artemisia annua*; *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1997**, *72*, 121-214.
- [16] J. Wang, S. M. Soisson, K. Young, W. Shoop, S. Kodali, A. Galgoci, R. Painter, G. Parthasarathy, Y. S. Tang, R. Cummings, S. Ha, K. Dorso, M. Motyl, H. Jayasuriya, J. Ondeyka, K. Herath, C. Zhang, L. Hernandez, J. Alloco, Á. Basilio, J. R. Tormo, O. Genilloud, F. Vicente, F. Pelaez, L. Colwell, S. H. Lee, B. Michael, T. Felcetto, C. Gill, L. L. Silver, J. D. Hermes, K. Bartizal, J. Barrett, D. Schmatz, J. W. Becker, B. Cully, S. B. Singh; Platensimycin is a Selective FabF Inhibitor with Potent Antibiotic Properties; *Nature* **2006**, *441*, 358-361.

- [17] D. Häbich, F. von Nussbaum; Platensimycin, a New Antibiotic and "Superbug Challenger" from Nature; *ChemMedChem* **2006**, *1*, 951-954.
- [18] Y. Hirata, D. Uemura; Halichondrins - Antitumor Polyether Macrolides from a Marine Sponge; *Pure Appl. Chem.* **1986**, *58*, 701-710.
- [19] J. B. Hart, R. E. Lill, S. J. H. Hickford, J. W. Blunt, M. H. G. Munro; The Halichondrins: Chemistry, Biology, Supply and Delivery; in *Drugs from the Sea* (Hrsg.: N. Fusetani), Karger, Basel, **2000**, S. 134-153.
- [20] E. W. Schmidt, D. J. Faulkner; Palauolol, a New Antiinflammatory Sesterterpene from the Sponge *Fascaplysinopsis* sp. from Palau; *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3951-3954.
- [21] S. P. Gunasekela, M. Gunasekela, R. E. Longley, G. K. Schulte; Discodermolide, a New Bioactive Polyhydroxylated Lactone from the Marine Sponge *Discoderma dissoluta*; *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4912-4915.
- [22] H. Shigemori, M. A. Bae, K. Yazawa, T. Sasaki, J. Kobayashi; Alteramide A, a New Tetracyclic Alkaloid from a Bacterium *Alteromona* sp. Associated with the Marine Sponge *Halichondria okadai*; *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4317-4320.
- [23] I. P. Singh, K. E. Milligan, W. H. Gerwick; Tanikolide, a Toxic Antifungal Lactone from the Marine Cyanobacterium *Lyngbya majuscula*; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1333-1335.
- [24] D. C. Rowley, S. Kelly, C. A. Kauffman, P. Jensen, W. Fenical; Halovirs A-E, New Antiviral Agents from a Marine-Derived Fungus of the Genus *Scytalidium*; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4263-4274.
- [25] G. Bringmann, M. Wohlfarth, H. Rischer, M. Heubes, W. Saeb, S. Diem, M. Herderich, J. Schlauer; A Photometric Screening Method for Dimeric Naphthylisoquinoline Alkaloids and Complete On-line Structural Elucidation of a Dimer in Crude Plant Extracts, by the LC-MS/LC-NMR/LC-CD Triad; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2571-2577.
- [26] G. Bringmann, G. Lang; Full Absolute Stereostructures of Natural Products Directly from Crude Extracts: the HPLC-MS/MS-NMR-CD 'Triad'; in *Marine Molecular Biotechnology* (Hrsg.: W. E. G. Müller), Springer, Berlin, **2003**, S. 89-116.
- [27] G. Bringmann, T. Gulder, M. Reichert, F. Meyer; Ancisheynine, the First *N,C*-Coupled Naphthylisoquinoline Alkaloid: Total Synthesis and Stereochemical Analysis; *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1037-1040.
- [28] G. Bringmann, I. Kajahn, M. Reichert, S. E. H. Pedersen, J. H. Faber, T. Gulder, R. Brun, S. B. Christensen, A. Ponte-Sucre, H. Moll, G. Heubl, V. Mudogo; Ancistrocladinium A and B, the First *N,C*-Coupled Naphthyldihydroisoquinoline Alkaloids, from a Congolese Ancistrocladus Species; *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9348-9356.
- [29] G. Bringmann, G. Lang, W. Ziebuhr, K. Ohlsen, W. E. G. Müller, U. Hentschel; Tajixanthonhydrat und Tajixanthonhydrat-Derivate, deren biologische Aktivitäten und deren Verwendung, DE 103 29 874.6, 2.7.2003.
- [30] K. Chexal, J. S. E. Holker, T. J. Simpson; Structures and Biosynthesis of Minor Metabolites from Variant Strains of *Aspergillus varicolor*; *J. Chem. Soc., Perkin I* **1975**, 549-554.

- [31] J. Malmstrom, C. Christophersen, A. F. Barrero, J. E. Oltra, J. Justicia, A. Rosales; Bioactive Metabolites from a Marine-Derived Strain of the Fungus *Emericella varicolor*; *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 364-367.
- [32] G. Bringmann, G. Lang, J. Mühlbacher, K. Schaumann, S. Steffens, W. E. G. Müller; Sorbicillacton A und Sorbicillacton-A-Derivate; Verfahren zu ihrer Herstellung, sie enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung; DE 102 38 257.3, PCT/EP03/07805, 2002.
- [33] G. Bringmann, G. Lang, J. Mühlbacher, K. Schaumann, S. Steffens, P. G. Rytik, U. Hentschel, J. Morschhäuser, W. E. G. Müller; Sorbicillactone A, a Structurally Unprecedented Bioactive Novel-Type Alkaloid from a Sponge-Derived Fungus; in *Marine Molecular Biotechnologie* (Hrsg.: W. E. G. Müller), Springer, Berlin, **2003**, S. 231-253.
- [34] W. Bergmann, R. J. Feeney; Contribution to the Study of Marine Sponges; *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 981-987.
- [35] A. J. Weinheimer, R. L. Spraggins; The Occurance of Two New Prostaglandin Derivatives (15-epi-PGA₂ and its Acetate, Methyl Ester) in the Gorgonian *Plexaura homomalla*; *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 5185-5188.
- [36] J. W. Blunt, B. R. Copp, W.-P. Hu, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep; Marine Natural Products; *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 31-86.
- [37] J. W. Blunt, B. R. Copp, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep; Marine Natural Products; *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 1-48.
- [38] J. W. Blunt, B. R. Copp, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep; Marine Natural Products; *Nat. Prod. Rep.* **2004**, *21*, 1-41.
- [39] J. W. Blunt, B. R. Copp, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep; Marine Natural Products; *Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22*, 15-61.
- [40] J. W. Blunt, B. R. Copp, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep; Marine Natural Products; *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 26-78.
- [41] R. A. Hill; Marine Natural Products; *Annu. Rep. Prog. Chem. B* **2003**, *99*, 183-207.
- [42] R. A. Hill; Marine Natural Products; *Annu. Rep. Prog. Chem. B* **2004**, *100*, 169-189.
- [43] R. A. Hill; Marine Natural Products; *Annu. Rep. Prog. Chem. B* **2005**, *101*, 124-136.
- [44] R. A. Hill; Marine Natural Products; *Annu. Rep. Prog. Chem. B* **2006**, *102*, 123-137.
- [45] D. J. Faulkner; Marine Natural Products; *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 1-49.
- [46] R. J. Capon; Marine Bioprospection - Trawling for Treasure and Pleasure; *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 633-645.
- [47] G. Blunden; Biologically Active Compounds from Marine Organisms; *Phytother. Res.* **2001**, *15*, 89-94.
- [48] N. Fusetani; Biofouling and Antifouling; *Nat. Prod. Rep.* **2004**, *21*, 94-104.

- [49] A. M. S. Mayer, M. T. Hamann; Marine Pharmacology in 2001-2002: Marine Compounds with Anthelmintic, Antibacterial, Anticoagulant, Antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antimalarial, Antiplatelet, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting the Cardiovascular, Immune and Nervous Systems and other Miscellaneous Mechanisms of Action; *Comp. Biochem. Physiol. C* **2005**, *140*, 265-286.
- [50] A. M. S. Mayer, K. R. Gustafson; Marine Pharmacology in 2001-2: Antitumour and Cytotoxic Compounds; *Eur. J. Canc.* **2004**, *40*, 2676-2704.
- [51] A. M. S. Mayer, K. R. Gustafson; Marine Pharmacology in 2003-2004: Anti-Tumour and Cytotoxic Compounds; *Eur. J. Canc.* **2006**, *42*, 2241-2270.
- [52] J. Jimeno, G. Faircloth, J. M. F. Sousa-Faro, P. Scheuer, K. Rinehart; New Marine Derived Anticancer Therapeutics - A Journey from the Sea to Clinical Trials; *Mar. Drugs* **2004**, *2*, 14-29.
- [53] G. G. F. Newton, E. P. Abraham; Cephalosporin C, a New Antibiotic Containing Sulphur and D-alpha-Aminoadipic Acids; *Nature* **1955**, *175*, 548.
- [54] B. M. Olivera; ω -Conotoxin MVIIA: From Marine Snail Venom to Analgesic Drug; in *Drugs from the Sea* (Hrsg.: N. Fusetani), Karger, Basel, **2000**, S. 74-85.
- [55] H. A. Arias; Marine Toxins Targeting Ion Channels; *Mar. Drugs* **2006**, *4*, 37-69.
- [56] A. Möritz; Medizin aus dem Meer; *Medizinische Monatsschrift für Pharmazeuten* **2007**, *30*, 103-107.
- [57] D. J. Newman, G. M. Cragg; Marine Natural Products and Related Compounds in Clinical and Advanced Preclinical Trials; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1216-1238.
- [58] A. Kijjoo, P. Sawangwong; Drugs and Cosmetics from the Sea; *Mar. Drugs* **2004**, *2*, 73-82.
- [59] B. Haefner; Drugs from the Deep: Marine Natural Products as Drug Candidates; *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 536-544.
- [60] P. Proksch, R. A. Edrada-Ebel, R. Ebel; Drugs from the Sea - Opportunities and Obstacles; *Mar. Drugs* **2003**, *1*, 5-17.
- [61] B. M. Olivera, L. J. Cruz, V. dos Santos, G. L. Cheminant, D. Griffin, R. Zeikus, J. M. McIntosh, R. Galyean, J. Varga, W. R. Gray, J. Rivier; Neuronal Calcium Channel Antagonists. Discrimination between Calcium Channel Subtypes Using ω -Conotoxins from *Conus magus* Venom; *Biochemistry* **1987**, *26*, 2086-2090.
- [62] M. H. G. Munro, J. W. Blunt, E. J. Dumdei, S. J. H. Hickford, R. E. Lill, S. Li, C. N. Battershill, A. R. Duckworth; The Discovery and Development of Marine Compounds with Pharmaceutical Potential; *J. Biotechnol.* **1999**, *70*, 15-25.
- [63] D. Sipkema, R. Osinga, W. Schatton, D. Mendola, J. Tramper, R. H. Wijfels; Large-Scale Production of Pharmaceuticals by Marine Sponges: Sea, Cell, or Synthesis?; *Biotechnol. Bioeng.* **2005**, *90*, 201-222.
- [64] D. Mendola; Aquacultural Production of Bryostatin 1 and Ecteinascidin 743; in *Drugs from the Sea* (Hrsg.: N. Fusetani), Karger, Basel, **2000**, S. 120-133.

- [65] D. Mendola; Aquaculture of Three Phyla of Marine Invertebrates to Yield Bioactive Metabolites: Process Developments and Economics; *Biomol. Eng.* **2003**, *20*, 441-458.
- [66] E. J. Martinez, T. Owa, S. L. Schreiber, E. J. Corey; Phthalascidin, a Synthetic Antitumor Agent with Potency and Mode of Action Comparable to Ecteinascidin 743; *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1999**, *96*, 3496-3501.
- [67] E. J. Martinez, E. J. Corey; Enantioselective Synthesis of Saframycin A and Evaluation of Antitumor Activity Relative to Ecteinascidin/Saframycin Hybrids; *Org. Lett.* **1999**, *1*, 75-78.
- [68] C. Cuevas, M. Pérez, M. J. Martín, J. L. Chicharro, C. Fernández-Rivas, M. Flores, A. Francesch, P. Gallego, M. Zarzuelo, F. d. I. Calle, J. García, C. Polanco, I. Rodríguez, I. Manzanares; Synthesis of Ecteinascidin ET-743 and Phthalascidin Pt-650 from Cyanosafraclin B; *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2545-2548.
- [69] Y. Ikeda, H. Idemoto, F. Hiyaroma, K. Yamamoto, K. Iwao, T. Asao, T. Munakta; Safracins, New Antitumor Antibiotics; *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1279-1283.
- [70] Y. Ikeda, H. Matsuki, T. Ogawa, T. Munakta; Safracins, New Antitumor Antibiotics; *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1284-1289.
- [71] Y. Ikeda, Y. Shimada, K. Honjo, T. Okumoto, T. Munakta; Saframycins, New Antitumor Antibiotics; *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1290-1294.
- [72] D. J. Faulkner, M. K. Harper, M. G. Haydood, C. E. Salomon, E. W. Schmidt; Symbiotic Bacteria in Sponges: Sources of Bioactive Substances; in *Drugs from the Sea* (Hrsg.: N. Fusetani), Karger, Basel, **2000**, S. 107-119.
- [73] P. R. Jensen, W. Fenical; Marine Microorganisms and Drug Discovery: Current Status and Future Potential; in *Drugs from the Sea* (Hrsg.: N. Fusetani), Karger, Basel, **2000**, S. 6-29.
- [74] W. Fenical, P. R. Jensen; Developing a New Resource for Drug Discovery: Marine Actinomycete Bacteria; *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 666-673.
- [75] L. T. Tan; Bioactive Natural Products from Marine Cyanobacteria for Drug Discovery; *Phytochemistry* **2007**, *68*, 954-979.
- [76] G. M. König, S. Kehraus, S. F. Seibert, A. Abdel-Lateff, D. Müller; Natural Products from Marine Organisms and Their Associated Microbes; *ChemBioChem* **2006**, *7*, 229-238.
- [77] P. Proksch, R. A. Edrada, R. Ebel; Drugs from the Seas - Current Status and Microbiological Implications; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *59*, 125-134.
- [78] M. G. Haygood, S. K. Davidson; Small-Subunit rRNA Genes and In Situ Hybridization with Oligonucleotides Specific for the Bacterial Symbionts in the Larvae of the Bryozoan *Bugula neritina* and Proposal of “*Candidatus Endobugula sertula*”; *Appl. Environ. Microbiol.* **1997**, *63*, 4612-4616.
- [79] S. K. Davidson, S. W. Allen, G. E. Lim, C. M. Anderson, M. G. Haygood; Evidence for the Biosynthesis of Bryostatins by the Bacterial Symbiont “*Candidatus Endobugula sertula*” of the Bryozoan *Bugula neritina*; *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, *67*, 4531-4537.

- [80] S. K. Davidson, M. G. Haygood; Identification of Sibling Species of the Bryozoan *Bugula neritina* that Produce Different Anticancer Bryostatins and Harbor Distinct Strains of the Bacterial Symbiont "*Candidatus* Endobugula sertula"; *Bull. Biol.* **1999**, *196*, 273-280.
- [81] J. L. Fortman, D. H. Sherman; Utilizing the Power of Microbial Genetics to Bridge the Gap Between the Promise and the Application of Marine Natural Products; *ChemBioChem* **2005**, *6*, 960-978.
- [82] K. Eppelmann, S. Doekel, M. A. Marahiel; Engineered Biosynthesis of the Peptide Antibiotic Bacitracin in the Surrogate Host *Bacillus subtilis*; *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 34824–34831.
- [83] B. Julien, S. Shah; Heterologous Expression of Epothilone Biosynthetic Genes in *Myxococcus xanthus*; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2772-2778.
- [84] A. Li, J. Piel; A Gene Cluster from a Marine Streptomyces Encoding the Biosynthesis of the Aromatic Spiroketal Polyketide Griseorhodin A; *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 1017-1026.
- [85] L. Tang, S. Shah, L. Chung, J. Carney, L. Katz, B. Julien; Cloning and Heterologous Expression of the Epothilone Gene Cluster; *Science* **2000**, *287*, 640-642.
- [86] B. A. Pfeifer, S. J. Admiraal, H. Gramajo, D. E. Cane, C. Koshla; Biosynthesis of Complex Polyketides in a Metabolically Engineered Strain of *E. coli*; *Science* **2001**, *291*, 1790-1792.
- [87] S. F. Bardy, C. J. Chao, J. Handelsmann, J. Clardy; Cloning and Heterologous Expression of a Natural Product Biosynthetic Gene Cluster from eDNA; *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1981-1984.
- [88] D. E. Gillespie, S. F. Bardy, A. D. Bettermann, N. P. Cianciotto, M. R. Liles, M. R. Rondon, J. Clardy, R. M. Goodman, J. Handelsman; Isolation of Antibiotics Turbomycin A and B from a Metagenomic Library of Soil Microbial DNA; *Appl. Environ. Microbiol.* **2002**, *68*, 4301-4306.
- [89] J. Piel; A Polyketide Synthase-Peptide Synthetase Gene Cluster from an Uncultured Bacterial Symbiont of *Paederus* Beetles; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 14002-14007.
- [90] J. Piel, G. Wen, M. Platzer, D. Hui; Unprecedented Diversity of Catalytic Domains in the First Four Modules of the Putative Pederin Polyketide Synthase; *ChemBioChem* **2004**, *5*, 93-98.
- [91] C. Cardani, D. Ghiringhelli, R. Mondelli, A. Quilico; The structure of Pederin; *Tetrahedron Lett.* **1965**, *6*, 2537-2545.
- [92] T. Matsumoto, M. Yanagiya, S. Maeno, S. Yasuda; A Revised Structure of Pederin; *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 6297-6300.
- [93] E. W. Schmidt, J. T. Nelson, D. A. Rasko, S. Sudek, J. A. Eisen, M. G. Haygood, J. Ravel; Patellamide A and C Biosynthesis by a Microcin-Like Pathway in *Prochloron didemni*, the Cyanobacterial Symbiont of *Lissoclinum patella*; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, *102*, 7315-7320.
- [94] A. S. Eustáquio, L. L. Beer, D. W. Udvary, R. Asolkar, W. Fenical, B. S. Moore; Biosynthesis and Bioengineering of the Anticancer Agent Salinosporamide A from the Marine Actinomycete *Salinispora tropica*; **2008**, eingereicht.
- [95] W. E. Müller; Current St. John's Wort Research from Mode of Action to Clinical Efficacy; *Pharmacol. Res.* **2003**, *47*, 101-109.

- [96] E. Whiskey, U. Werneke, D. Taylor; A Systematic Review and Meta-Analysis of *Hypericum perforatum* in Depression: a Comprehensive Clinical Review; *Int. Clin. Psychopharmacol.* **2001**, *16*, 239-252.
- [97] V. Butterweck; Mechanism of Action of St. John's Wort in Depression; *CNS Drugs* **2003**, *17*, 539-562.
- [98] N. S. Bystrov, B. K. Chernov, V. N. Dobrynin, M. N. Kolosov; The Structure of Hyperforin; *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 2791-2794.
- [99] N. S. Bystrov, S. R. Gupta, V. N. Dobrynin, M. N. Kolosov, B. K. Chernov; Structure of Hyperforin; *Bioorg. Khim.* **1978**, *4*, 948-955.
- [100] L. Beerhues; Hyperforin; *Phytochemistry* **2006**, *67*, 2201-2207.
- [101] P. Klingauf, T. Beuerle, A. Mellenthin, S. A. M. El-Moghazy, Z. Boubakir, L. Beerhues; Biosynthesis of the Hyperforin Skeleton in *Hypericum calycinum* Cell Cultures; *Phytochemistry* **2005**, *66*, 139-145.
- [102] P. Adam, D. Arigoni, A. Bacher, W. Eisenreich; Biosynthesis of Hyperforin in *Hypericum perforatum*; *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4786-4793.
- [103] Z. Boubakir, T. Beuerle, B. Liu, L. Beerhues; The First Prenylation Step in Hyperforin Biosynthesis; *Phytochemistry* **2005**, *66*, 51-57.
- [104] P. Maisenbacher, K. A. Kovar; Adhyperforin: A Homologue of Hyperforin from *Hypericum perforatum*; *Planta Med.* **1992**, *58*, 291-293.
- [105] P. Maisenbacher, K. A. Kover; Analysis and Stability of *Hyperici oleum*; *Planta Med.* **1992**, *58*, 351-354.
- [106] F. Liu, C. Pan, P. Drumm, C. Y. W. Ang; Liquid Chromatography Mass Spectrometry Studies of St. John's Wort Methanol Extraction: Active Constituents and Their Transformation; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *37*, 303-312.
- [107] A. Charchoglyan, A. Abrahamyan, I. Fujii, Z. Boubakir, T. A. M. Gulder, T. M. Kutchan, H. Vardapetyan, G. Bringmann, Y. Ebizuka, L. Beerhues; Differential Accumulation of Hyperforin and Secohyperforin in *Hypericum perforatum* Tissue Cultures; *Phytochemistry* **2007**, *68*, 2670-2677.
- [108] I. Brondz, T. Greibrokk, P. A. Groth, A. J. Aasen; The Relative Stereochemistry of Hyperforin – an Antibiotic from *Hypericum perforatum* L.; *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 1299-1300.
- [109] I. Brondz, T. Greibrokk, P. A. Groth, A. J. Aasen; The Absolute Configuration of Hyperforin, an Antibiotic from *Hypericum perforatum* L., Based on the Crystal Structure Determination of its p-Bromobenzoate Ester; *Acta Chem. Scand.* **1983**, *A37*, 263-265.
- [110] C. A. J. Erdelmeier, K. Klessing, S. Renzi, H. Hauer; New Hyperforin Analogues from *Hypericum perforatum* and a Stable Dicyclohexylammonium Salt of Hyperforin; in *2000 Years of Natural Products Research – Past, Present and Future, Book of Abstracts* (Hrsg.: T. Luijendijk, P. de Graaf, A. Remmelzwaal, R. Verpoorte), Leiden University, **1999**, S. 432.

- [111] E. C. Tatsis, S. Boeren, V. Exarchou, A. N. Troganis, J. Vervoort, I. P. Gerothanassis; Identification of the Major Constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS; *Phytochemistry* **2007**, *68*, 383-393.
- [112] P. Sedmera, S. Pospisil, J. Novak; New Furanonaphthoquinone from *Streptomyces cinnamomensis*; *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 870-872.
- [113] P. Krastel, A. Zeeck, K. Gebhardt, H.-P. Fiedler, J. Rheinheimer; Endophenazines A-D, New Phenazine Antibiotics from the Athropod Associated Endosymbiont *Streptomyces annulatus*; *J. Antibiot.* **2002**, *55*, 801-806.
- [114] Y. Haagen, K. Gluck, K. Fay, B. Kammerer, B. Gust, L. Heide; A Gene Cluster for Prenylated Naphthoquinone and Prenylated Phenazine Biosynthesis in *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042; *ChemBioChem* **2006**, *7*, 2016-2027.
- [115] K. Shin-Ya, K. Furihata, Y. Hayakawa, H. Seto; Biosynthetic Studies of Naphterpin, a Terpenoid Metabolite of Streptomyces; *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6025-6026.
- [116] S. Funayama, M. Ishibashi, K. Komiyama, S. Omura; Biosynthesis of Furaquinocins A and B; *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1132-1133.
- [117] K. Shiomi, H. Inuma, H. Naganawa, K. Isshiki, T. Takeuchi, H. Umezawa; Biosynthesis of Napyradiomycins; *J. Antibiot.* **1987**, *40*, 1740-1745.
- [118] H. Seto, N. Orihara, K. Furihata; Formation of BE-40644 by the Mevalonate and Nonmevalonate Pathways; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9497-9500.
- [119] K. Isshiki, T. Tamamura, T. Sawa, H. Naganawa, T. Takeuchi, H. Umezawa; Biosynthetic Studies of Terpentecin; *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1634-1635.
- [120] T. Kawasaki, T. Kuzuyama, K. Furihata, N. Itoh, H. Seto, T. Dairi; A Relationship between the Mevalonate Pathway and Isoprenoid Production in Actinomycetes; *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 957-966.
- [121] T. Kawasaki, Y. Hayashi, T. Kuzuyama, K. Furihata, N. Itoh, H. Seto, T. Dairi; Biosynthesis of a Natural Polyketide-Isoprenoid Hybrid Compound, Furaquinocin A: Identification and Heterologous Expression of the Gene Cluster; *J. Bacteriol.* **2006**, *188*, 1236-1244.
- [122] Y. Hamano, T. Dairi, M. Yamamoto, T. Kawasaki, K. Kaneda, T. Kuzuyama, N. Itoh, H. Seto; Cloning of a Gene Cluster Encoding Enzymes Responsible for the Mevalonate Pathway from a Terpenoid-Antibiotic-Producing *Streptomyces* Strain; *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2001**, *65*, 1627-1635.
- [123] M. Takagi, T. Kuzuyama, S. Takahashi, H. Seto; A Gene Cluster for the Mevalonate Pathway from *Streptomyces* sp. Strain CL190; *J. Bacteriol.* **2000**, *182*, 4153-4157.
- [124] T. Kuzuyama, H. Seto; Diversity of the Biosynthesis of the Isoprene Units; *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 171-183.
- [125] D. E. Cane, T. Rossi, J. P. Pachlatko; The Biosynthesis of Pentalenolactone; *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3639-3642.
- [126] N. Orihara, K. Furihata, H. Seto; Biosynthesis of Carquinostatin B via the Non-Mevalonate Pathway in *Streptomyces exfoliatus*; *J. Antibiot.* **1997**, *50*, 979-981.

- [127] K. Endler, U. Schuricht, L. Henning, P. Welzel, U. Holst, W. Aretz, D. Böttger, G. Huber; Exploratory Investigations into the Biosynthesis of the Antibiotic Moenomycin A; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 13-16.
- [128] S. M. Li, S. Henning, L. Heide; Biosynthesis of the Dimethylallyl Moiety of Novobiocin via a Non-Mevalonate Pathway; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2717-2720.
- [129] N. Orihara, T. Kuzuyama, S. Takahashi, K. Furihata, H. Seto; Biosynthesis of the Isoprenoid Side Chain of Novobiocin via the Non-Mevalonate Pathway in *Streptomyces niveus*; *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 676-678.
- [130] G. Bringmann, Y. Haagen, T. A. M. Gulder, T. Gulder, L. Heide; Biosynthesis of the Isoprenoid Moieties of Furanonaphthoquinone I and Endophenazine A in *Streptomyces cinnamomensis* DSM 1042; *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4198-4204.
- [131] G. Bringmann, T. A. M. Gulder, M. Reichert, T. Gulder; The Online Assignment of the Absolute Configuration of Natural Products: HPLC-CD in Combination with Quantum Chemical CD Calculations; *Chirality* **2008**, im Druck.
- [132] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr; Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density; *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785-789.
- [133] A. D. Becke; Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior; *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098-3100.
- [134] A. Schäfer, C. Huber, R. Ahlrichs; Fully Optimized Contracted Gaussian Basis Sets of Triple Zeta Valence Quality for Atoms Li to Kr; *J. Chem. Phys.* **1994**, *100*, 5829-5835.
- [135] G. Bringmann, K. Maksimenka, J. Mutanyatta-Comar, M. Knauer, T. Bruhn; The Absolute Axial Configurations of Knipholone and Knipholone Anthrone by TDDFT and DFT/MRCI CD Calculations: a Revision; *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9810-9824.
- [136] In Fermentationen mit unmarkiertem Acetat (1 g/L) konnte gezeigt werden, dass durch Fütterung dieser Vorstufe die Produktionsmenge der beiden Sekundärstoffe nicht beeinflusst wird.
- [137] H. Seto, H. Yonehara; The Cyclization Pattern of a Fungal Metabolite, Scytalone; *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 487-488.
- [138] U. Sankawa, H. Shimada, T. Sato, T. Kinoshita, K. Yamasaki; Biosynthesis of Scytalone; *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 483-486.
- [139] Die Kopplungskonstante konnte aufgrund von Signalüberlappungen von C-1' mit einer Verunreinigung der Probe lediglich an den Satelliten von C-2' abgelesen werden.
- [140] P. M. Dewick; *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*; Wiley & Sons, **2001**.
- [141] H. Seto, H. Watanabe, K. Furihata; Simultaneous Operation of the Mevalonate and Non-Mevalonate Pathways in the Biosynthesis of Isopentenyl Diphosphate in *Streptomyces aeriovivifer*; *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7979-7982.
- [142] T. Kuzuyama, S. Takahashi, T. Dairi, H. Seto; Detection of the Mevalonate Pathway in *Streptomyces* Species Using the 3-Hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase Gene; *J. Antibiot.* **2002**, *55*, 919-923.

- [143] D. A. Hopwood; Genetic Contributions to Understanding Polyketide Synthases; *Chem. Rev.* **1993**, *97*, 2465-2497.
- [144] T. Yasumoto, R. Bagnis, J. E. Randal, A. H. Banner; Toxicity of the Surgeonfish. II. Properties of the Principal Water-Soluble Toxin; *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **1976**, *37*, 724.
- [145] K. C. Nicolaou, M. O. Frederick; Zur Struktur des Maitotoxins; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5372-5376; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 5278-5282.
- [146] B. Shen; Aromatic Polyketide Biosynthesis; in *Topics in Current Chemistry: Biosynthesis* (Hrsg.: F. J. Leeper, J. C. Vederas), Springer-Verlag, Berlin, **2000**, S. 1-51.
- [147] U. Rix, C. Fischer, L. L. Remsing, J. Rohr; Modification of Post-PKS Tailoring Steps through Combinatorial Biosynthesis; *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 542-580.
- [148] R. Thomas; A Biosynthetic Classification of Fungal and Streptomyete Fused-Ring Aromatic Polyketides; *ChemBioChem* **2001**, *2*, 612-627.
- [149] J. Breinholt, G. W. Jensen, A. Kjaer, C. E. Olsen, C. N. Rosendahl; Hypomycetin - an Antifungal, Tetracyclic Metabolite from *Hypomyces aurantius*: Production, Structure and Biosynthesis; *Acta Chem. Scand.* **1997**, *51*, 855-860.
- [150] T. Paululat, A. Zeeck, J. M. Gutterer, H.-P. Fiedler; Biosynthesis of Polyketomycin Produced by *Streptomyces diastatochromogenes* Tu 6028; *J. Antibiot.* **1999**, *52*, 96-101.
- [151] N. Funo, O. Yasuo, I. Fujii, M. Shibuya, Y. Ebizuka, S. Horinouchi; A New Pathway for Polyketide Synthesis in Microorganisms; *Nature* **1999**, *400*, 897-899.
- [152] I. Fujii; in *Comprehensive Natural Product Chemistry* (Hrsg.: D. H. R. Barton, K. Nakanishi, U. Sankawa), Elsevier, Oxford, **1999**, S. 409.
- [153] G. Bringmann, T. F. Noll, T. A. M. Gulder, M. Grüne, M. Dreyer, C. Wilde, F. Pankewitz, M. Hilker, G. D. Payne, A. L. Jones, M. Goodfellow, H.-P. Fiedler; Different Polyketide Folding Modes Converge to an Identical Molecular Architecture; *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 429-433.
- [154] S. Fotso, R. P. Maskey, I. Gruen-Wollny, K.-P. Schulz, M. Munk, H. Laatsch; Bhinamycin A-E and Bhimanone: Isolation, Structure Elucidation and Biological Activity of Novel Quinone Antibiotics from a Terrestrial Streptomyete; *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 931-941.
- [155] R. H. Thomas; *Naturally Occuring Quinones VI*; Chapman & Hall, London, **1997**.
- [156] N. P. Mishchenko, L. S. Stepanenko, O. E. Krivoshchekova, O. B. Maksimov; Anthraquinones of the Lichen *Asahinea chrysantha*; *Khim. Prirod. Soedin.* **1980**, 160-165.
- [157] O. E. Krivoshchekova, L. S. Stepanenko, N. P. Mishchenko, V. A. Denisenko, O. B. Maksimov; Study of Lichens from the Parmeliaceae Family. II. Pigments; *Khim. Prirod. Soedin.* **1983**, 283-289.
- [158] R. H. Thomas; *Naturally Occuring Quinones III*; Chapman & Hall, London, **1987**.
- [159] D. F. Howard, D. W. Phillips, T. H. Jones, M. S. Blum; Anthraquinones and Anthrones: Occurrence and Defensive Function in a Chrysomelid Beetle; *Naturwissenschaften* **1982**, *69*, 91-92.

- [160] M. Hilker, U. Eschbach, K. Dettner; Occurrence of Anthraquinones in Eggs and Larvae of Several Galerucinae (Coleoptera: Chrysomelidae); *Naturwissenschaften* **1992**, *79*, 271-274.
- [161] M. Hilker, S. Schulz; Anthraquinones in Different Development Stages of *Galeruca Tanacetii* (Coleoptera: Chrysomelidae); *J. Chem. Ecol.* **1991**, *17*, 2323-2332.
- [162] G. Bringmann, T. F. Noll, H. Rischer; *In vitro* Germination and Establishment of Tissue Cultures of *Bulbine caulescens* and of Two *Kniphofia* Species (Asphodelaceae); *Plant Cell Rep.* **2002**, *21*, 171-173.
- [163] G. Bringmann, M. Wohlfarth, H. Rischer, M. Grüne, J. Schlauer; Ein neuer Biosyntheseweg zu Alkaloiden in Pflanzen: acetogenine Isochinoline; *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1523-1525; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 1464-1466.
- [164] G. Bringmann, M. Wohlfarth, H. Rischer, M. Rückert, J. Schlauer; The Polyketide Folding in the Biogenesis of Isoshinanolone and Plumbagin from *Ancistrocladus heyneanus* (Ancistrocladaceae); *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8445-8448.
- [165] G. Bringmann, T. F. Noll, T. Gulder, M. Dreyer, M. Grüne, D. Moskau; Polyketide Folding in Higher Plants: Biosynthesis of the Phenylanthraquinone Knipholone; *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3247-3252.
- [166] G. W. v. Eijk; Chrysophanol and Emodin from *Drechslera catenaria*; *Phytochemistry* **1974**, *13*, 650.
- [167] T. F. Noll; Aufklärung der Biosynthese und der Faltungsmodi aromatischer Polyketide in pflanzlichen Gewebekulturen, Mikroorganismen und Insekten sowie Strukturaufklärung von entsprechenden Biosynthese-Intermediaten mittels HPLC-MS, NMR und CD; Dissertation, Universität Würzburg, Würzburg, 2006.
- [168] J. Buddrus, H. Bauer; Bestimmung des Kohlenstoffgerüsts organischer Verbindungen durch Doppelquanten-Kohärenz-¹³C-NMR-Spektroskopie, die INADEQUATE-Pulsfolge; *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 642-659; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 625-642.
- [169] S. Berger; Selektives INADEQUATE, ein Abschied von 2D-NMR?; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1198-1199; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1196-1197.
- [170] Persönliche Mitteilung, Prof. M. Hilker, FU Berlin.
- [171] F. Pankewitz, A. Zöllmer, Y. Gräser, M. Hilker; Anthraquinones as Defensive Compounds in Eggs of Galerucini Leaf Beetles: Biosynthesis by the Beetles?; *Arch. Ins. Biochem. Physiol.* **2007**, *66*, 98-108.
- [172] T. J. Simpson; Biosynthesis of Deoxyherqueinone in *Penicillium herquei* from [¹³C]Acetate and [¹³C]Malonate. Assembly Pattern of Acetate into the Phenalenone Ring System; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, *7*, 258-260.
- [173] T. J. Simpson, J. S. E. Holker; ¹³C-NMR Studies on Griseofulvin Biosynthesis and Acetate Metabolism in *Penicillium patulum*; *Phytochemistry* **1977**, *16*, 229-233.
- [174] E. Bardshiri, T. J. Simpson; ¹³C and ²H Labelling Studies on the Biosynthesis of Scytalone in *Phialaphora lagerbergii*; *Tetrahedron* **1983**, *39*, 3539-3542.

- [175] F. Pankewitz, M. Hilker; Defensive Components in Insect Eggs: Are Anthraquinones Produced during Egg Development?; *J. Chem. Ecol.* **2006**, *32*, 2067-2072.
- [176] A. Hamm; Isolierung, Strukturaufklärung und Totalsynthese von Naturstoffen aus tropischen Heilpflanzen und Bodenorganismen; Dissertation, Universität Würzburg, Würzburg, 2003.
- [177] T. Taguchi, Y. Ebizuka, D. A. Hopwood, K. Ichinose; Identification of a Novel Shunt Product Produced by a Disruptant of the ActVI-ORFA Gene Involved in the Biosynthesis of Actinorhodin in *Streptomyces coelicolor* A3(2); *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5253-5256.
- [178] J. A. Kalaitzis, B. S. Moore; Heterologous Biosynthesis of Truncated Hexaketides Derived from the Actinorhodin Polyketide Synthase; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1419-1422.
- [179] T. M. Harris, A. D. Webb, C. M. Harris, P. J. Wittek, T. P. Murray; Biogenetic-type Syntheses of Emodin and Chrysophanol; *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 6065-6067.
- [180] T. M. Harris, C. M. Harris; Synthesis of Polyketide-Type Aromatic Natural Products by Biogenetically Modeled Routes; *Tetrahedron* **1977**, *33*, 2159-2185.
- [181] B. Franck, A. Stange; Nachweis einer bicyclischen Zwischenstufe der Anthrachinon-Biosynthese; *Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 2106-2116.
- [182] H.-J. Schiewe, A. Zeeck; Cineromycins, γ -Butyrolactones and Ansamycins by Analysis of the Secondary Metabolite Pattern Created by a Single Strain of *Streptomyces*; *J. Antibiot.* **1999**, *52*, 635-642.
- [183] H. B. Bode, B. Bethe, R. Höfs, A. Zeeck; Big Effects from Small Changes: Possible Ways to Explore Nature's Chemical Diversity; *ChemBioChem* **2002**, *3*, 619-627.
- [184] G. Bringmann, T. A. M. Gulder, I. Kajahn, A. Hamm, A. Dieter, H.-P. Fiedler; Metabolic Diversity of the *Actinomyces*-Strain AK-671, in Vorbereitung.
- [185] H. Lessmann, J. Krupa, H. Lackner, P. G. Jones; New juglomycins; *Z. Naturforsch., B* **1989**, *44*, 353-363.
- [186] F. C. Charalampous, C. Lyras; Conversion of Inositol to Glucuronic Acid by Rat Kidney Extracts; *J. Biol. Chem.* **1957**, *228*, 1-13.
- [187] A. Yenesew, J. A. Ogur, H. Duddeck; (*R*)-Prechrysophanol from *Aloe graminicola*; *Phytochemistry* **1993**, *34*, 1442-1444.
- [188] E. Dagne, I. Casser, W. Steglich; Aloechryson, a Dihydroanthracenone from *Aloe berhana*; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1791-1793.
- [189] A. Yagi, K. Makino, I. Nishioka; The Structures of Tetrahydroanthracene Derivatives and the Related Antraquinones; *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, *22*, 1159-1166.
- [190] M. Gill, A. Gimenez, A. G. Jhingran, A. F. Smrdel; Dihydroanthracenones from *Dermocybe splendida* and Related Fungi; *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2647-2650.
- [191] A. Yagi, K. Makino, I. Nishioka; The Structures of Tetrahydroanthracene Derivatives, Aloesaponol III and -IV; *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, *25*, 1764-1770.

- [192] M. Endo, H. Naoki; Antimicrobial and Antispasmodic Tetrahydroanthracenes from *Cassia singuena*; *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2449-2452.
- [193] G. Bringmann, T. A. M. Gulder, A. Hamm, A. Dieter, M. Goodfellow, H.-P. Fiedler; Multiple Convergence in Polyketide Biosynthesis: A Third Folding Mode to the Anthraquinone Chrysophanol via a Novel Bicyclic Diketone; *Angew. Chem.*, in Vorbereitung.
- [194] A. A. Mourabit, P. Potier; Sponge's Molecular Diversity Through the Ambivalent Reactivity of 2-Aminoimidazole: A Universal Chemical Pathway to the Oroidin-Based Pyrrole-Imidazole Alkaloids and Their Palau'amine Congeners; *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 237-243.
- [195] S. Forenza, L. Minale, R. Riccio, E. Fattorusso; New Bromo-Pyrrole Derivatives from the Sponge *Agelas oroides*; *J. Chem. Soc., Chem. Commun. D* **1971**, 1129.
- [196] R. Rosa, W. Silva, G. E. d. Motta, A. D. Rodríguez, J. J. Morales, M. Ortiz; Anti-Muscarinic Activity of a Family of C₁₁N₅ Compounds Isolated from *Agelas* Sponges; *Experientia* **1992**, *48*, 885-887.
- [197] F. Cafieri, E. Fattorusso, A. Mangoni, O. Tagliatela-Scafati; Clathramides, Unique Bromopyrrole Alkaloids from the Caribbean Sponge *Agelas clathrodes*; *Tetrahedron* **1996**, *52*, 13713-13720.
- [198] M. Tsuda, H. Uemoto, J. Kobayashi; Slagenins A -C, Novel Bromopyrrole Alkaloids from Marine Sponge *Agelas nakamurai*; *Tetrahedron Lett.* **1997**, *40*, 5709-5712.
- [199] H. Uemoto, M. Tsuda, J. Kobayashi; Mukanadins A-C, New Bromopyrrole Alkaloids from Marine Sponge *Agelas Nakamurai*; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1581-1583.
- [200] J. J. Morales, A. D. Rodríguez; The Structure of Clathrocin, a Novel Alkaloid Isolated from the Caribbean Sea Sponge *Agelas clathrodes*; *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 629-631.
- [201] F. Cafieri, R. Carnuccio, E. Fattorusso, O. Tagliatela-Scafati, T. Vallefucio; Anti-Histaminic Activity of Bromopyrrole Alkaloids Isolated from Caribbean *Agelas* Sponges; *Bio. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2283-2288.
- [202] H. Nakamura, Y. Ohizumi, J. Kobayashi, Y. Hirata; Keramadine, a Novel Antagonist of Serotonergic Receptors Isolated from the Okinawan Sea Sponge *Agelas* sp.; *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2475-2478.
- [203] F. Cafieri, E. Fattorusso, A. Mangoni, O. Tagliatela-Scafati; Dispacamides, Anti-Histamine Alkaloids from Caribbean *Agelas* Sponges; *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3587-3590.
- [204] E. Fattorusso, O. Tagliatela-Scafati; Two Novel Pyrrole-Imidazole Alkaloids from the Mediterranean Sponge *Agelas oroides*; *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9917-9922.
- [205] J. Kobayashi, Y. Ohizumi, H. Nakamura, Y. Hirata; A Novel Antagonist of Serotonergic Receptors, Hymenidin, Isolated from the Okinawan Marine Sponge *Hymeniacidon* sp.; *Experientia* **1986**, *42*, 1176-1177.
- [206] J. Kobayashi, K. Inaba, M. Tsuda; Tauroacidins A and B, New Bromopyrrole Alkaloids Possessing a Taurine Residue from *Hymeniacidon* Sponge; *Tetrahedron* **1997**, *53*, 16679-16682.

- [207] J. Kobayashi, F. Kanda, M. Ishibashi, H. Shigemori; Manzacidins A-C, Novel Tetrahydropyrimidine Alkaloids from the Okinawan Marine Sponge *Hymeniacidon* sp.; *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4574-4576.
- [208] T. Shinada, E. Ikebe, K. Oe, M. Kawasaki, Y. Ohfuné; Synthesis and Absolute Structure of Manzacidin B; *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1765-1767.
- [209] T. Jahn, G. M. König, A. D. Wright, G. Wörheide, J. Reitner; Manzacidin D: An Unprecedented Secondary Metabolite from the 'Living Fossil' Sponge *Astrosclera willeyana*; *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3883-3884.
- [210] F. Cafieri, E. Fattorusso, A. Mangoni, O. Taglialatela-Scafati, R. Carnuccio; A Novel Bromopyrrole Alkaloid from the Sponge *Agelas longissima* with Antiserotonergic Activity; *Bio. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 799-804.
- [211] A. Aiello, M. D'Esposito, E. Fattorusso, M. Menna, W. E. G. Mueller, S. Perovic-Ottstadt, H. Tsuruta, T. A. M. Gulder, G. Bringmann; Daminin, a Bioactive Pyrrole Alkaloid from the Mediterranean Sponge *Axinella damicornis*; *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7266-7270.
- [212] M. Arundine, M. Tymianski; Molecular Mechanism of Calcium-Dependent Neurodegeneration in Excitotoxicity; *Cell Calcium* **2003**, *34*, 325-337.
- [213] G. Lang; Isolierung und Charakterisierung neuer Naturstoffe aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen; Dissertation, Universität Würzburg, Würzburg, 2004.
- [214] I. Lasa; Towards the Identification of the Common Features of Bacterial Biofilm Development; *Int. Microbiol.* **2006**, *9*, 21-28.
- [215] K. K. Jefferson; What Drives Bacteria to Produce Biofilms?; *FEMS Microbiol. Lett.* **2004**, *236*, 163-173.
- [216] K. Lewis; Riddle of Biofilm Resistance; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 999-1007.
- [217] P. S. Stewart, J. W. Costerton; Antibiotic Resistance of Bacteria in Biofilms; *Lancet* **2001**, *358*, 135-138.
- [218] D. Lindsay, A. von Holy; Bacterial Biofilms within the Clinical Setting: What Healthcare Professionals Should Know; *J. Hosp. Inf.* **2006**, *64*, 313-325.
- [219] J. W. Costerton, L. Montanaro, C. R. Arciola; Biofilm in Implant Infections: Its Production and Regulation; *Int. J. Artif. Organs* **2005**, *28*, 1062-1068.
- [220] H. C. Neu; The Crisis in Antibiotic Resistance; *Science* **1992**, *257*, 1064-1073.
- [221] L. L. Silver, K. A. Bostian; Discovery and Development of New Antibiotics: The Problem of Antibiotic Resistance; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 377-383.
- [222] P. S. Stewart, J. W. Costerton, E. P. Greenberg; Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections; *Science* **1999**, *284*, 1318-1322.
- [223] M. Katsuyama, N. Akiyama, T. Ohno; Auxiliary Agent Containing Farnesol for Controlling Biofilm Formation, JP 2002284604, 10.3.2002.

- [224] P. K. Grover, G. D. Shah, R. C. Shah; A New Synthesis of Hydroxyxanthenes and Hydroxybenzophenones; *J. Chem. Soc.* **1955**, 3982-3985.
- [225] M. E. Sousa, M. M. M. Pinto; Synthesis of Xanthenes: An Overview; *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 2447-2479.
- [226] Y. Liu, L. Zou, L. Ma, W.-H. Chen, B. Wang, Z.-L. Xu; Synthesis and Pharmacological Activities of Xanthone Derivatives as α -Glucosidase Inhibitors; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 5683-5690.
- [227] M. K. Schwäbe, T. J. Moran, J. P. Whitten; Total Synthesis of Psorospermin; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 827-829.
- [228] P. E. Eaton, G. R. Carlson, J. T. Lee; Phosphorus Pentoxide-Methanesulfonic Acid. Convenient Alternative to Polyphosphoric Acid; *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 4071-4073.
- [229] S. Moreau, M. Varache-Lembège, S. Larrouture, D. Fall, A. Neveu, G. Deffieux, J. Vercauteren, A. Nuhrich; (2-Arylhyaazonomethyl)-Substituted Xanthenes as Antimycotics: Synthesis and Fungistatic Activity Against *Candida* Species *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 237-253.
- [230] S. M. Anand, A. C. Jain; Synthesis of 8-Deoxygartanin. Trapezifolixanthone and Related Xanthenes; *Aust. J. Chem.* **1974**, *27*, 1515-1520.
- [231] J.-J. Helesbeux, O. Duval, C. Dartiguelongue, D. Séraphin, J.-M. Oger, P. Richomme; Synthesis of 2-Hydroxy-3-methylbut-3-enyl Substituted Coumarins and Xanthenes as Natural Products. Application of the Schenck Ene Reaction of Singlet Oxygen with *ortho*-Prenylphenol Precursors; *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2293-2300.
- [232] J. L. Charlton, V. A. Sayeed, K. Koh, W. F. Lau, H. K. Lai, A. R. Bell; Synthesis and Herbicidal Activity of Xanthenes; *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 1719-1723.
- [233] V. Snieckus; Directed *ortho* Metalation. Tertiary Amide and O-Carbamate Directors in Synthetic Strategies for Polysubstituted Aromatics; *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 879-933.
- [234] Q.-H. Xu, W.-Y. Liu, B.-H. Chen, Y.-X. Ma; An Improved Method for the Esterification of Aromatic Acids with Ethanol and Methanol; *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 2113-2117.
- [235] F. M. Dean, J. Goodchild, L. E. Houghton, J. A. Martin, R. B. Morton, B. Parton, A. W. Price, N. Somvichien; Boron Trichloride as a Selective Demethylating Agent; *Tetrahedron Lett.* **1966**, *7*, 4153-4159.
- [236] G. S. R. Subba-Rao, S. Raghavan; Synthesis of 2,2-Dimethyl-12-[3-methylbut-2-enyl]-2H,6H-pyrano[3,2-b]xanthen-6-one; *J. Ind. Inst. Sci.* **2001**, *81*, 393-401.
- [237] E. D. Burling, A. Jefferson, F. Scheinmann; Claisen Rearrangements, Selective Demethylations, and Synthesis of Dihydroisjacareubin and Alvaxanthone Trimethyl Ether; *Tetrahedron* **1965**, *21*, 2653-2669.
- [238] W. G. Dauben, J. M. Cogen, V. Behar; Clay Catalyzed Rearrangement of Substituted Allyl Phenyl Ethers: Synthesis of *ortho*-Allyl Phenols, Chromans and Coumarans; *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3241-3244.

- [239] F. X. Talamás, D. B. Smith, A. Cervantes, F. Franco, S. T. Cutler, D. G. Loughhead, D. J. M. Jr., R. J. Weikert; The Florisil Catalyzed [1,3]-Sigmatropic Shift of Allyl Phenyl Ethers - An Entryway Into Novel Mycophenolic Acid Analogues; *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4725-4728.
- [240] J. J. Ramano, E. Casillas; A Short Synthesis of Morachalcone A; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2323-2326.
- [241] R. W. Murray, M. Singh; Synthesis of Epoxides Using Dimethyldioxirane: *trans*-Stilbene Oxide; *Org. Synth.* **1998**, *9*, 228-233.
- [242] E. N. Jacobsen, I. Markó, W. S. Mungall, G. Schröder, K. B. Sharpless; Asymmetric Dihydroxylation via Ligand-Accelerated Catalysis; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1968-1970.
- [243] H. C. Kolb, M. S. VanNieuwenhze, K. B. Sharpless; Catalytic Asymmetric Dihydroxylation; *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483-2547.
- [244] G. Bringmann, G. Lang, T. A. M. Gulder, H. Tsuruta, J. Mühlbacher, K. Maksimenka, S. Steffens, K. Schaumann, R. Stöhr, J. Wiese, J. F. Imhoff, S. Perovic-Ottstadt, O. Boreiko, W. E. G. Müller; The First Sorbicillinoid Alkaloids, the Antileukemic Sorbicillactones A and B, from a Sponge-Derived *Penicillium chrysogenum* Strain; *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7252-7265.
- [245] G. Bringmann, T. A. M. Gulder, G. Lang, S. Schmitt, R. Stöhr, J. Wiese, K. Nagel, J. F. Imhoff; Large-Scale Biotechnological Production of the Antileukemic Marine Natural Product Sorbicillactone A; *Mar. Drugs* **2007**, *5*, 23-30.
- [246] Für nähere Inforamtionen zur FCPC-Technologie siehe www.kromaton.com.
- [247] G. Bringmann, G. Lang, T. A. M. Gulder, K. Schaumann, S. Steffens, W. E. G. Müller, S. Petrovic-Ottstadt, J. F. Immhoff; Sorbifuranone, Sorbivineton, Sorbivinetol und Derivate dieser Verbindungen, Verfahren zu ihrer Herstellung, sie enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung, DE 10 2004 005 106 A1, 18.8.2005.
- [248] G. Bringmann, G. Lang, T. A. M. Gulder, K. Schaumann, W. E. G. Müller, S. Perovic-Ottstadt, R. Stöhr, J. Wiese, R. Schmaljohann, J. F. Imhoff; Method for Producing Sorbicillactone A, WO 2005/072711 A2, 11.8.2005.
- [249] D. J. Cram, M. Tishler; Isolation of Several Compounds from Clinical Penicillin; *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 4238-4239.
- [250] D. J. Cram, M. Tishler; The Structure of Sorbicillin, a Pigment Produced by the Mold *Penicillium notatum*; *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 4240-4243.
- [251] J. Smith, R. H. Thomas; The Structure of Sorbicillin: Hydrogen Bonding in *o*-Hydroxyaryl Alkenyl Ketones; *J. Chem. Soc.* **1960**, 346-349.
- [252] N. Abe, O. Sugimoto, T. Arakawa, K. Tanji, A. Hirota; Sorbicillinol, a Key Intermediate of Bisorbicillinoid Biosynthesis in *Trichoderma* sp. USF-2960; *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2001**, *65*, 2271-2279.
- [253] N. Abe, T. Arakawa, K. Yamamoto, A. Hirota; Biosynthesis of Bisorbicillinoid in *Trichoderma* sp. USF-2690; Evidence for the Biosynthetic Pathway, via Sorbicillinol, of Sorbicillin, Bisorbicillinol, and Bisorbicillinolide; *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*, 2090-2099.

- [254] K. Sugaya, H. Koshino, Y. Hongo, K. Yasunaga, J.-i. Onose, K. Yoshikawa, N. Abe; The Biosynthesis of Sorbicillinoids in *Trichoderma* sp. USF-2690: Prospect for Existence of a Common Precursor to Sorbicillinol and 5-Epihydroxyvertinolide, a New Sorbicillinoid Member; *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 654-657.
- [255] N. Abe, O. Sugimoto, K.-i. Tanji, A. Hirota; Identification of the quinol metabolite "sorbicillinol", a key intermediate postulated in bisorbicillinoid biosynthesis; *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12606-12607.
- [256] Y. Huang, Y. Shen, C. Chen; A Novel Olefination of Carbonyl Compounds with α -Bromoacetic Ester Mediated by Tri-n-Butylstibine; *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 2903-2904.
- [257] Y. Huang, C. Chen, Y. Shen; Reaction of α -Halogeno Carboxylic Derivatives with Carbonyl Compounds Promoted by Tributylstibine; *J. Organomet. Chem.* **1989**, *366*, 87-93.
- [258] K. C. Nicolaou, K. B. Simonsen, G. Vassilikogiannakis, P. S. Baran, V. P. Vidali, E. N. Pitsinos, E. A. Couladouros; Biomimetische Studien zu den Bisorbicillinoiden: Totalsynthese von Bisorbicillinol, Bisorbibutenolid und Trichodimerol; *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3762-3766; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 3555-3559.
- [259] K. C. Nicolaou, G. Vassilikogiannakis, K. B. Simonsen, P. S. Baran, Y.-L. Zhong, V. P. Vidali, E. N. Pitsinos, E. A. Couladouros; Biomimetic Total Synthesis of Bisorbicillinol, Bisorbibutenolide, Trichodimerol, and Designed Analogues of the Bisorbicillinoids; *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3071-3079.
- [260] L. Horner, H. Hoffmann, H. G. Wippel, G. Klahre; Phosphinoxyde als Olefinierungsreagenzien; *Chem. Ber.* **1959**, *92*, 2499-2505.
- [261] W. S. Wadsworth, W. D. Emmons; The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis; *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1733-1738.
- [262] A. K. Bhattacharya, G. Thyagarajan; Michaelis-Arbusov rearrangement; *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 415-430.
- [263] W. Baker, H. F. Bondy, J. F. W. McOmie, H. R. Tunnicliff; 2,4-Dimethylresorcinol; *J. Chem. Soc.* **1949**, 2834-2835.
- [264] F. Bigi, G. Casiraghi, G. Casnati, S. Marchesi, G. Sartori; One-Step *ortho*-Acylation of Phenols with α,β -Unsaturated Acyl Chlorides. Synthesis of 2'-Hydroxychalcones and Sorbicillin Analogues; *Tetrahedron* **1984**, *40*, 4081-4084.
- [265] J. F. W. McOmie, M. S. Tute; A New Synthesis of Clavatul and of Sorbicillin; *J. Chem. Soc.* **1958**, 3226-3227.
- [266] Persönliche Mitteilung von Prof. J. Piel, Universität Bonn.
- [267] R. F. Miller, S. Huang; Isolation and Structure of Sorrentanone: A New Tetrasubstituted Quinone from *Penicillium chrysogenum*; *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 520-521.
- [268] R. P. Maskey, I. Grün-Wollny, H. Laatsch; Sorbicillin Analogues and Related Dimeric Compounds from *Penicillium notatum*; *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 865-870.

- [269] K. Mori, M. Tominaga, T. Takigawa, M. Matsui; A Mild Transesterification Method; *Synthesis* **1973**, 790-791.
- [270] K. Schäffler; Isolierung und Synthese neuer mariner Naturstoffe aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen; Diplomarbeit, Universität Würzburg, Würzburg, 2008.
- [271] S. A. Siddiqi, T. J. Heckrodt; Access to Orthogonal Protected Phenols - Synthesis of Silylated Quinol; *Z. Naturforsch., B* **2003**, *58*, 328-331.
- [272] H. Konishi, T. Inoue, K. Kobayashi, O. Morikawa; Synthesis of 2-[(Arylthio)methyl] - and 2-[(Alkylthio)methyl]resorcinols; *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 227-234.
- [273] T. A. M. Gulder; Isolierung und Charakterisierung biologisch aktiver Naturstoffe aus marinen Mikroorganismen; Diplomarbeit, Universität Würzburg, Würzburg, 2004.
- [274] H.-R. Bjorsvik, G. Occhipinti, C. Gambarotti, L. Cerasino, V. R. Jensen; Synthesis of Methoxy-Substituted Phenols by Peracid Oxidation of the Aromatic Ring; *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7290-7296.
- [275] H.-J. Teuber, W. Rau; Über die Bildung von Chinonen aus einwertigen Phenolen; *Chem. Ber.* **1953**, *8*, 1036-1047.
- [276] E. J. Corey, A. Venkateswarlu; Protection of Hydroxyl Groups as *tert*-Butyldimethylsilyl Derivatives; *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.
- [277] E. J. Corey, J. W. Suggs; Pyridinium chlorochromate. Efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds; *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 2647-2650.
- [278] J. D. More, N. S. Finney; A Simple and Advantageous Protocol for the Oxidation of Alcohols with *o*-Iodoxybenzoic Acid (IBX); *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3001-3003.
- [279] E. A. A. Wallén, J. A. M. Christiaans, E. M. Jarho, M. M. Forsberg, J. I. Venäläinen, P. T. Männistö, J. Gunther; New Prolyl Oligopeptidase Inhibitors Developed from Dicarboxylic Acid Bis(L-prolyl-pyrrolidine) Amides; *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4543-4551.
- [280] E. J. Corey, R. K. Bakshi, S. Shibata, C.-P. Chen, V. K. Singh; A Stable and Easily Prepared Catalyst for the Enantioselective Reduction of Ketones. Application to Multistep Syntheses; *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7925-7926.
- [281] P. V. Ramachandran, B. Gong, H. C. Brown; A Remarkable Inversion in Configuration of the Product Alcohol from the Asymmetric Reduction of *ortho*-Hydroxyacetophenones with *B*-Chlorodiisopinocampheylboran; *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2141-2144.
- [282] C. Palomo, M. Oiarbide, J. M. Garcia; Current Progress in the Asymmetric Aldol Addition Reaction; *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 65-75.
- [283] J. Kobayashi, M. Ishibashi; Bioactive Metabolites of Symbiotic Marine Microorganisms; *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1753-1769.
- [284] U. Hentschel, K. M. Usher, M. W. Taylor; Marine Sponges as Microbial Fermenters; *FEMS Microbiol. Ecol.* **2006**, *55*, 167-177.

- [285] L. Grozdanov, U. Hentschel; An Environmental Genomics Perspective on the Diversity and Function of Marine Sponge-Associated Microbiota; *Curr. Opin. Microbiol.* **2007**, *10*, 215-220.
- [286] S. Schmitt, J. B. Weisz, N. Lindquist, U. Hentschel; Vertical Transmission of a Phylogenetically Complex Microbial Consortium in the Viviparous Sponge *Ircinia felix*; *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 2067-2078.
- [287] L. Fieseler, M. Horn, M. Wagner, U. Hentschel; Discovery of the Novel Candidate Phylum "Poribacteria" in Marine Sponges; *Appl. Environ. Microbiol.* **2004**, *70*, 3724-3732.
- [288] C. M. Creston, K. Y. Wu, T. F. Molinski, E. F. DeLong; A Psychrophilic Crenarchaeon Inhabits a Marine Sponge: *Cenarchaeum symbiosum* gen. nov., sp. nov.; *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1996**, *93*, 6241-6246.
- [289] M. Scheuermayer, T. A. M. Gulder, G. Bringman, U. Hentschel; *Rubritalea marina* gen. nov., sp. nov., a Marine Representative of the Phylum 'Verrucomicrobia', Isolated from a Sponge (Porifera); *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2006**, *56*, 2119-2124.
- [290] S. M. Pimentel-Elardo, L. P. Tiro, L. Grozdanov, U. Hentschel; *Saccharopolyspora cebuensis* sp. nov., a Novel Actinomycete Isolated from a Philippine Sponge (Porifera); *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2008**, im Druck.
- [291] J. C. Lindon, J. K. Nicholson, I. D. Wilson; Direct Coupling of Chromatographic Separations to NMR Spectroscopy; *Prog. NMR Spectrosc.* **1996**, *29*, 1-49.
- [292] J.-L. Wolfender, K. Hostettmann; LC/NMR in Natural Product Chemistry; *Curr. Org. Chem.* **1998**, *2*, 575-596.
- [293] B. Vogler, I. Klaiber, G. Roos, C. U. Walter, W. Hiller, P. Sandor, W. Kraus; Combination of LC-MS and LC-NMR as a Tool for the Structure Determination of Natural Products; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 175-178.
- [294] G. Bringmann, C. Günther, J. Schlauer, M. Rückert; HPLC-NMR Online Coupling Including the ROESY Technique: Direct Characterization of Naphthylisoquinoline Alkaloids in Crude Plant Extracts; *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 2805-2811.
- [295] G. Bringmann, M. Rückert, J. Schlauer, M. Herderich; Separation and Identification of Dimeric Naphthylisoquinoline Alkaloids by Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Ionization Mass Spectrometry; *J. Chromatogr. A* **1998**, *810*, 231-236.
- [296] G. Bringmann, K. Messer, M. Wohlfarth, J. Kraus, K. Dumbuya, M. Rückert; HPLC-CD On-Line Coupling in Combination with HPLC-NMR and HPLC-MS/MS for the Determination of the Full Absolute Stereostructure of New Metabolites in Plant Extracts; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 2678-2686.
- [297] D. A. Lightner, J. E. Gurst; *Organic Conformational Analysis and Stereochemistry from Circular Dichroism Spectroscopy*; Wiley-VCH, New York, **2000**.
- [298] D. A. Lightner; The Octant Rule; in *Circular Dichroism: Principles and Application* (Hrsg.: K. Nakanishi, N. Berova, R. W. Woody), VCH Publishers, New York, **2000**, S. 261-304.
- [299] N. Harada, K. Nakanishi; The Exciton Chirality Method and its Application to Configurational and Conformational Studies of Natural Products; *Acc. Chem. Res.* **1972**, *5*, 257-263.

- [300] N. Harada, K. Nakanishi; *Circular Dichroic Spectroscopy – Exciton Coupling in Organic Stereochemistry*; Oxford University Press, Oxford, **1983**.
- [301] N. Berova, K. Nakanishi; Exciton Chirality Method: Principles and Applications; in *Circular Dichroism: Principles and Applications* (Hrsg.: K. Nakanishi, N. Berova, R. W. Woody), VCH Publishers, New York, **2000**, S. 337-382.
- [302] N. Berova, L. D. Bari, G. Pescitelli; Application of Electronic Circular Dichroism in Configurational and Conformational Analysis of Organic Compounds; *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 914-931.
- [303] X. Huang, K. Nakanishi, N. Berova; Porphyrins and Metalloporphyrins: Versatile Circular Dichroic Reporter Groups for Structural Studies; *Chirality* **2000**, *12*, 237-255.
- [304] X. Huang, N. Fujioka, G. Pescitelli, F. E. Koehn, R. T. Williamson, K. Nakanishi, N. Berova; Absolute Configurational Assignment of Secondary Amines by CD-Sensitive Dimeric Zinc Porphyrin Host; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10320-10335.
- [305] N. Harada, K. Nakanishi; *Circular Dichroic Spectroscopy - Exciton Coupling in Organic Stereochemistry*; University Science Books, Mill Valley, CA, **1983**.
- [306] G. Bringmann, S. Busemann; The Quantum Chemical Calculation of CD Spectra: the Absolute Configuration of Chiral Compounds from Natural or Synthetic Origin; in *Natural Product Analysis* (Hrsg.: P. Schreier, M. Herderich, H. U. Humpf, W. Schwab), Vieweg, Braunschweig, **1998**, S. 195-212.
- [307] P. J. Stephens, D. M. McCann, F. J. Devlin, A. B. Smith; Determination of the Absolute Configuration of Natural Products via Density Functional Theory Calculations of Optical Rotation, Electronic Circular Dichroism, and Vibrational Circular Dichroism: The Cytotoxic Sesquiterpene Natural Products Quadrone, Suberosenone, Suberosanone, and Suberosenol A Acetate; *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1055-1064.
- [308] D. Enders, M. Milovanovic, E. Volishina, G. Raabe, J. Fleischhauer; First Asymmetric Synthesis and Determination of the Absolute Configuration of a Lignan Isolated from *Viola sebifera*; *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 1984-1990.
- [309] C. Diedrich, S. Grimme; Systematic Investigation of Modern Quantum Chemical Methods to Predict Electronic Circular Dichroism Spectra; *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 2524-2539.
- [310] J. Sandström; Determination of Absolute Configurations and Conformations of Organic Compounds by Theoretical Calculations of CD Spectra; *Chirality* **2000**, *12*, 162-171.
- [311] M. Kozłowski, E. C. Dugan, E. S. DiVirgillio, K. Maksimenka, G. Bringmann; Asymmetric Total Synthesis of Nigerone and *ent*-Nigerone: Enantioselective Oxidative Biaryl Coupling of Highly Hindered Naphthols; *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 583-594.
- [312] P. Osswald, M. Reichert, G. Bringmann, F. Würthner; Perylene Bisimide Atropisomers: Synthesis, Resolution, and Stereochemical Assignment; *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3403-3411.
- [313] G. Bringmann, H. Scharl, K. Maksimenka, K. Radacki, H. Braunschweig, P. Wich, C. Schmuck; Atropodiastereoselective Cleavage of Configurationally Unstable Biaryl Lactones with Amino Acid Esters; *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4349-4361.

- [314] K. Ishida, K. Maksimenka, K. Fritzsche, K. Scherlach, G. Bringmann, C. Hertweck; The Boat-Shaped Polyketide Resistoflavin Results from Re-Facial Central Hydroxylation of the Discoid Metabolite Resistomycin; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14619-14624.
- [315] X. Yang, T. A. M. Gulder, M. Reichert, C. Tang, C. Ke, Y. Ye, G. Bringmann; Parvistemins A-D, a New Type of Dimeric Phenylethyl Benzoquinones from *Stemona parviflora* Wright; *Tetrahedron* **2007**, *63*, 4688-4694.
- [316] G. Bringmann, T. A. M. Gulder, K. Maksimenka, D. Kuckling, W. Tochtermann; A Borderline Case Between *meso* and Stable C1: An Axially Chiral, yet Configurationally Semi-Stable Biphenyl with Two Oppositely Configured [10]Paracyclophane Portions; *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7241-7246.
- [317] G. Bringmann, S. Rüdener, D. C. G. Götz, T. A. M. Gulder, M. Reichert; Axially Chiral Directly β,β -Linked Bisporphyrins: Synthesis and Stereostructure; *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4743-4746.
- [318] A. Goel, F. V. Singh, V. Kumar, M. Reichert, T. A. M. Gulder, G. Bringmann; Synthesis, Optical Resolution, and Configurational Assignment of Novel Axially Chiral Quateraryls; *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7765-7768.
- [319] G. Bringmann, D. C. G. Götz, T. A. M. Gulder, T. H. Gehrke, S. Rüdener, T. Bruhn, A. Heckmann, C. Lambert; Bisporphyrins with Intrinsic Axial Chirality: Preparation, Stereochemical Investigations and Optical Properties; *J. Am. Chem. Soc.*, in Vorbereitung.
- [320] G. J. Xu, H. X. He, L. S. Xu, R. Y. Jin; *The Chinese Materia Medica (Zhonghua Bencao)*; Chinese Medicinal Science and Technology Publishing House, Beijing, China, **1996**.
- [321] K. Sakata, K. Aoki, C.-F. Chang, A. Sakurai, S. Tamura, S. Murakoshi; Stemospiroline, a New Insecticidal Alkaloid of *Stemona japonica* Miq., Isolation, Structural Determination and Activity; *Agric. Biol. Chem.* **1978**, *42*, 457-463.
- [322] R. A. Pilli, M. C. F. Oliveira; Recent Progress in the Chemistry of the *Stemona* Alkaloids; *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 117-127.
- [323] Q. B. Cass, E. Tiritan, S. A. Matlin, E. C. Freire; Gossypol Enantiomer Ratios in Cotton Seeds; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2655-2657.
- [324] G. Bringmann, S. Tasler, H. Endress, J. Kraus, K. Messer, M. Wohlfarth, W. Lobin; Murrastifoline-F: First Total Synthesis, Atropo-Enantiomer Resolution, and Stereoanalysis of an Axially Chiral *N,C*-Coupled Biaryl Alkaloid; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2703-2711.
- [325] G. Bringmann, C. Günther, M. Ochse, O. Schupp, S. Tasler; Biaryls in Nature: A Multi-Faceted Class of Stereochemically, Biosynthetically, and Pharmacologically Intriguing Secondary Metabolites; in *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* (Hrsg.: W. Herz, H. Falk, G. W. Kirby, R. E. Moore, C. Tamm), Springer, Wien, **2001**, S. 1-249.
- [326] N. Noyori; Chemical Multiplication of Chirality: Science and Applications; *Chem. Soc. Rev.* **1989**, *18*, 187-208.
- [327] M. McCarthy, P. J. Guiry; Axially Chiral Bidentate Ligands in Asymmetric Catalysis; *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3809-3844.

- [328] F. Mikes, G. Boshart; Resolution of Optical Isomers by High-Performance Liquid Chromatography: A Comparison of Two Selector-Selectand Systems; *J. Chromatogr. A* **1978**, *149*, 455-464.
- [329] K. Yamamura, S. Ono, I. Tabushi; New Liquid Crystals Having 4,4'-Biphenanthryl Core; *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1797-1798.
- [330] K. Yamamura, H. Ono, H. Ogoshi, H. Masuda, Y. Koruda; Chiral Liquid Crystal Mesogens. Synthesis and Determination of Absolute Configuration of Mesogens with 4,4'-Biphenanthryl Cores; *Synlett* **1989**, 18-19.
- [331] D. R. Spring, S. Krishnan, H. E. Blackwell, S. L. Schreiber; Diversity-Oriented Synthesis of Biaryl-Containing Medium Rings Using a One Bead/One Stock Solution Platform; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1354-1363.
- [332] G. Bringmann, F. Pokorny; The Naphthylisoquinoline Alkaloids; in *The Alkaloids* (Hrsg.: G. A. Cordell), Academic Press, New York, **1995**, S. 127-271.
- [333] G. M. Sheldrick, P. G. Jones, O. Kennard, D. H. Williams, G. A. Smith; Structure of Vancomycin and its Complex with Acetyl-D-Alanyl-D-Alanine; *Nature* **1978**, *271*, 223-225.
- [334] G. Bringmann, A. J. P. Mortimer, P. A. Keller, M. J. Gresser, J. Garner, M. Breuning; Atroposelective Synthesis of Axially Chiral Biaryl Compounds; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5384-5427.
- [335] G. Bringmann, T. Gulder, T. A. M. Gulder, M. Breuning; The Total Synthesis of Axially Chiral Biaryl Natural Products; *Chem. Rev.*, in Vorbereitung.
- [336] G. Bringmann, T. Gulder, T. A. M. Gulder; Asymmetric Synthesis of Biaryls by the 'Lactone Method'; in *Asymmetric Synthesis* (Hrsg.: M. Christmann, S. Bräse), Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 246-250.
- [337] G. Bringmann, S. Tasler, R.-M. Pfeifer, M. Breuning; The Directed Synthesis of Axially Chiral Ligands, Reagents, Catalysts, and Natural Products Through the 'Lactone Methodology'; *J. Organomet. Chem.* **2002**, *661*, 49-65.
- [338] G. Bringmann, M. Breuning, R.-M. Pfeifer, W. A. Schenk, K. Kamikawa, M. Uemura; The Lactone Concept - A Novel Approach to the Metal-Assisted Atroposelective Construction of Axially Chiral Biaryl Systems; *J. Organomet. Chem.* **2002**, *661*, 31-47.
- [339] G. Bringmann, D. Menche; Stereoselective Total Synthesis of Axially Chiral Natural Products via Biaryl Lactones; *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 615-624.
- [340] G. Bringmann, T. A. M. Gulder, T. Gulder; Asymmetric Synthesis of (*M*)-2-Hydroxymethyl-1(2-hydroxy-4,6-dimethylphenyl)naphthalene via a Configurationally Unstable Biaryl Lactone; *Org. Synth. (Addendum)* **2008**, im Druck.
- [341] D. Ostfeld, M. Tsutsui; Novel Metalloporphyrins. Syntheses and Implications; *Acc. Chem. Res.* **1974**, *7*, 52-58.
- [342] D. Mansuy; Activation of Alkanes : The Biomimetic Approach; *Coord. Chem. Rev.* **1993**, *125*, 129-141.

- [343] A. H. Soloway, W. Tjarks, B. A. Barnum, F.-G. Rong, R. F. Barth, I. M. Codogni, J. G. Wilson; The Chemistry of Neutron Capture Therapy; *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1515-1562.
- [344] R. Bonnett; Photosensitizers of the Porphyrin and Phthalocyanine Series for Photodynamic Therapy; *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 19-33.
- [345] K. Falk, M. Balanda, Z. Tomkowicz, F. Mascarenhas, J. Schilling, P. Klavins, W. Haase; Three-Dimensional Magnetic Ordering in Manganese(III)–Porphyrin–TCNE Complexes; *Polyhedron* **2001**, *20*, 1521-1524.
- [346] M. Balanda, K. Falk, K. Griesar, Z. Tomkowicz, W. Haase; Characterization of Magnetic Ordering in Porphyrin-Based Molecular Magnets [Mn(R)₄TPP][TCNE] (R=OC₁₂H₂₅, F, CN); *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, *205*, 14-26.
- [347] A. K. Burrell, M. R. Wasielewski; Porphyrin-Based Nanostructures: Routes to Molecular Electronics; *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2000**, *4*, 401-406.
- [348] D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore; Mimicking Photosynthetic Solar Energy Transduction; *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 40-48.
- [349] A. Caselli, E. Gallo, F. Ragaini, F. Ricatto, G. Abbiati, S. Cenini; Chiral Porphyrin Complexes of Cobalt(II) and Ruthenium(II) in Catalytic Cyclopropanation and Amination Reactions; *Inorg. Chim. Acta* **2006**, *359*, 2924-2932.
- [350] Y. Chen, G.-Y. Gao, P. Zhang; Palladium-Mediated Synthesis of Novel meso-Chiral Porphyrins: Cobalt-Catalyzed Cyclopropanation; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4965-4969.
- [351] G. Reginato, L. D. Bari, P. Salvadori, R. Guillard; Chiral Atropisomeric Metalloporphyrins in the Enantioselective Styrene Epoxidation; *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1165-1171.
- [352] T. Mizutani, T. Murakami, T. Kurahashi, H. Ogoshi; An Artificial Receptor for Dimethyl Aspartate; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 539-548.
- [353] T. Hayashi, T. Aya, M. Nonoguchi, T. Mizutani, Y. Hisaeda, S. Kitagawa, H. Ogoshi; Chiral Recognition and Chiral Sensing Using Zinc Porphyrin Dimers; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2803-2811.
- [354] T. Hayashi, M. Nonoguchi, T. Aya, H. Ogoshi; Molecular Recognition of α,ω -Diamines by Metalloporphyrin Dimer; *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1603-1606.
- [355] V. Flores, C. K. Nguyen, C. A. Sindelar, L. D. Vasquez, A. M. Shachter; Synthesis and Circular Dichroism of Tartrate-Linked Porphyrin Dimers; *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8633-8636.
- [356] D. Kim, A. Osuka; Directly Linked Porphyrin Arrays with Tunable Excitonic Interactions; *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 735-745.
- [357] T. K. Ahn, K. S. Kim, D. Y. Kim, S. B. Noh, N. Aratani, C. Ikeda, A. Osuka, D. Kim; Relationship between Two-Photon Absorption and the π -Conjugation Pathway in Porphyrin Arrays through Dihedral Angle Control; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1700-1704.
- [358] N. Aratani, A. Osuka; Synthesis of meso-meso Linked Hybrid Porphyrin Arrays by Pd-Catalyzed Cross-Coupling Reaction; *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4213-4216.

- [359] S. Hiroto, A. Osuka; meso-Alkyl-Substituted meso-meso Linked Diporphyrins and meso-Alkyl-Substituted meso-meso, β - β , β - β Triply Linked Diporphyrins; *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4054-4058.
- [360] L.-M. Jin, L. Chen, J.-J. Yin, C.-C. Guo, Q.-Y. Chen; A Facile and Potent Synthesis of meso,meso-Linked Porphyrin Arrays Using Iodine(III) Reagents; *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3994-4001.
- [361] T. Ogawa, N. Y. N. Yoshida, N. Ono, A. Osuka; Completely Regioselective Synthesis of Directly Linked meso,meso and meso, β Porphyrin Dimers by One-Pot Electrochemical Oxidation of Metalloporphyrins; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 176-179; *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 140-142.
- [362] J. B. Paine, D. Dolphin; Synthesis of Covalently-Linked Dimeric Porphyrins *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 1710-1712.
- [363] Y. Deng, C. K. Chang, D. G. Nocera; Facile Synthesis of β -Derivatized Porphyrins - Structural Characterization of a β - β -Bis-Porphyrin; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 1066-1068.
- [364] H. Uno, Y. Kitawaki, N. Ono; Novel Preparation of β , β -Connected Porphyrin Dimers; *Chem. Commun.* **2002**, 116-117.
- [365] N. Yoshida, A. Osuka; First Optical Resolution of meso-meso Linked Diporphyrin; *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9287-9291.
- [366] Y. Nakamura, I. Hwang, N. Aratani, T. K. Ahn, D. M. Ko, A. Takagi, T. Kawai, T. Matsumoto, D. Kim, A. Osuka; Directly meso-meso Linked Porphyrin Rings: Synthesis, Characterization, and Efficient Excitation Energy Hopping; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 236-246.
- [367] A. Tsuda, H. Furuta, A. Osuka; Syntheses, Structural Characterizations, and Optical and Electrochemical Properties of Directly Fused Diporphyrins; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10304-10321.
- [368] E. L. Eliel, S. H. Wilen, L. N. Mander; *Stereochemistry of Organic Compounds*; Wiley, New York, **1994**.
- [369] J. Asceno, V. M. S. Gil; The Conformations of Tartaric Acids in Aqueous Solution Studied by ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance; *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 1376-1397.
- [370] G. A. Bootsma, J. C. Schoone; Crystal Structures of Mesotartaric Acid; *Acta Crystallogr.* **1967**, *22*, 522-532.
- [371] W. Tochtermann, D. Kuckling, C. Meints, J. Kraus, G. Bringmann; Synthesis and Absolute Configuration of a Bi[10]paracyclophane with Two Chiral Planes and One Chiral Axis; *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 21-24.
- [372] W. Tochtermann, D. Kuckling, C. Meints, J. Kraus, G. Bringmann; Bridged Bioxepines and Bi[10]paracyclophanes - Synthesis and Absolute Configuration of a Bi[10]paracyclophane with Two Chiral Planes and One Chiral Axis; *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7791-7801.
- [373] R. J. Ogg, P. B. Kingsley, J. S. Taylor; WET, a T_1 - and B_1 -Insensitive Water-Suppression Method for *in vivo* ^1H NMR Spectroscopy; *J. Magn. Res., Ser. B* **1994**, *104*, 1-10.

- [374] A. B. Kirakosyan, H. R. Vardapetyan, A. G. Charchoglyan; Initiation of Callus and Suspension Cell Cultures of *Hypericum perforatum* L. for Obtaining Hypericin and Pseudohypericin; *Russ. J. Plant Physiol.* **2000**, *47*, 270-274.
- [375] M. Mondal, V. G. Puranik, N. P. Argade; Facile Synthesis of 1,3,7-Trihydroxyxanthone and Its Regioselective Coupling Reactions with Prenal: Simple and Efficient Access to Osajaxanthone and Nigrolineaxanthone; *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4992-4995.
- [376] J. E. Davies, D. Kirkaldy, J. C. Roberts; Sterigmatocystin, a Metabolite of *Aspergillus versicolor* (Vuillemin) Tiraboschi; *J. Chem. Soc.* **1960**, 2169-2174.
- [377] M. L. Wolfrom, F. Komotsky, G. Fränkel, J. H. Looker, E. E. Dickey, P. McWain, A. Thompson, P. M. Mundell, O. M. Windrath; The Structure of Macluraxanthone; *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 692-697.
- [378] E. J. Tisdale, I. Slobodov, E. A. Theodorakis; Biomimetic Total Synthesis of Forbesione and Desoxymorellin Utilizing a Tandem Claisen/Diels–Alder/Claisen Rearrangement; *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 4418-4422.
- [379] M. Hattori, Y.-Z. Shu, T. Tomimori, K. Kobashi, T. Namba; A Bacterial Cleavage of the C-Glycosyl Bond of Mangiferin and Bergenin; *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1289-1290.
- [380] L. P. Smirnova, V. I. Sheichenko, G. M. Tokhtabaeva; Study of the Chemical Composition of Alpizarin from Mango Leaves; *Pharm. Chem. J.* **2000**, *34*, 65-68.
- [381] J. J. D. Edwards, J. L. Cashaw; The Synthesis of 1,2-Dimethoxy-3-Isopropylbenzene; *J. Org. Chem.* **1955**, *20*, 847-849.
- [382] W. K. Anderson, T. L. Boehm, G. M. Makara, R. T. Swann; Synthesis and Modeling Studies with Monocyclic Analogues of Mycophenolic Acid; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 46-55.
- [383] F. Mazzini, E. Alpi, P. Salvadori, T. Netscher; First Synthesis of (8-²H₃)-(all-*rac*)- δ -Tocopherol; *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2840-2844.
- [384] U. Azzena, T. Denurra, G. Melloni, A. M. Piroddi; Regioselective Reductive Electrophilic Substitution of 1,2,3-Trimethoxybenzene and Its 5-Alkyl-Substituted Homologues; *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5386-5390.
- [385] G. Fötsch, E. Gründemann, S. Pfeifer, K. Hiller, D. Salzwedel; Structure of Leiocarposide; *Pharmazie* **1988**, *43*, 278-280.
- [386] K. A. Parker, D. M. Spero, K. A. Koziski; Evaluation of Some Preparations of Trialkoxyphthalic Acid Derivatives; *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 183-188.
- [387] H. D. Locksley, I. G. Murray; Biogenetic-Type Synthesis of Xanthenes from their Benzophenone Precursors; *J. Chem. Soc., C* **1970**, 392-396.
- [388] P. Fletcher, W. Marlow; Synthesis of Benzophenones: Anomalous Friedel-Crafts Reactions; *J. Chem. Soc., C* **1970**, 937-939.
- [389] G. P. Kalena, S. M. Jadhav, A. Banerji; DDQ/PbO₂: a Novel Oxidation System for Hindered Electron Rich Benzhydrols; *Molecules* **2000**, *5*, 240-244.

- [390] G. Lloyd, W. B. Whalley; Some Chlorinated Derivatives of Phloroglucinol; *J. Chem. Soc.* **1956**, 3209-3211.
- [391] P. J. Cotterill, F. Scheinmann; Structural and Synthetic Studies on Toxyloxanthone B; *J. Chem. Soc., Perkin I* **1980**, 2353-2357.
- [392] A. J. Quillinan, F. Scheinmann; Synthesis of the Natural 1,5-Dioxygenated Xanthenes, Dehydrocycloguanandin, Guanandin, Isoguanandin, and 5-Hydroxy-1-methoxyxanthone; *J. Chem. Soc., Perkin I* **1972**, 1382-1387.
- [393] R. A. Finnegan, J. K. Patel, P. L. Bachman; Some Simple Mono- and Dihydroxyxanthenes; *Tetrahedron Lett.* **1966**, 7, 6087-6092.
- [394] D. Barraclough, H. D. Locksley, F. Scheinmann, M. T. Magalhaes; Applications of Proton Magnetic Resonance Spectroscopy in the Structural Investigation of Xanthenes; *J. Chem. Soc., B* **1970**, 603-609.
- [395] R. A. Finnegan, J. K. Patel; The Isolation of Some Mono- and Di-hydroxyxanthenes. Observations on the Synthesis of 1,5-, 3,5-, 1,6-, and 1,7-Dihydroxyxanthone; *J. Chem. Soc., Perkin I* **1972**, 1896-1901.
- [396] C.-N. Lin, S.-S. Liou, F.-N. Ko, C.-M. Teng; Synthesis and Antiplatelet Effects of Mono- and Dioxygenated Xanthenes and Xanthonoxypropanolamine; *J. Pharm. Sci.* **1993**, 82, 11-16.
- [397] T. Fujita, D.-Y. Liu, S. Ueda, Y. Takeda; Xanthenes from *Polygala tenuifolia*; *Phytochemistry* **1992**, 31, 3997-4000.
- [398] R. Somanathan, M. U. S. Sultanbawa; Extractives of *Calophyllum calaba* L. and *Calophyllum bracteatum* Thw. (Guttiferae); *J. Chem. Soc., Perkin I* **1972**, 1935-1943.
- [399] R. K. Chaudhuri, F. Zymalkowski, A. W. Frahm; ¹³C NMR Spectroscopy of Polymethoxyxanthenes; *Tetrahedron* **1978**, 34, 1837-1840.
- [400] P. Helboe, P. Arends; Synthesis of Jacareubin, Isojacareubin and Some Hydroxyxanthenes with Allylic Substituents; *Arch. Pharm. Chemi Sci. Ed.* **1973**, 1, 69-75.
- [401] D. L. Reger, M. M. Habib; Carbon-13 NMR Investigation into the Interaction of Sodium Sorbate and Sorbic Acid with Various Micelle Forming Surfactants; *J. Phys. Chem.* **1980**, 84, 77-82.
- [402] D. T. Coxon, T. M. O'Neill, J. W. Mansfield, A. E. A. Porter; Identification of Three Hydroxyflavan Phytoalexins from Daffodil Bulbs; *Phytochemistry* **1980**, 19, 889-891.
- [403] D. Kaliakoudas, C. H. Eugster, P. Rüedi; Synthese von Plectranthonen, diterpenoiden Phenanthren-1,4-chinonen; *Helv. Chim. Act.* **1990**, 73, 48-62.
- [404] R. S. Coleman, F.-X. Felpin, W. Chen; Mitomycin Synthetic Studies: Stereocontrolled and Convergent Synthesis of a Fully Elaborated Aziridinomitosane; *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7309-7316.
- [405] H. Raistrick, R. Robinson, A. R. Todd; The Chemistry of Aspergillus Colouring Matters; *J. Chem. Soc.* **1937**, 80-88.

-
- [406] T. J. Heckrodt, J. Mulzer; Synthesis of a Diels–Alder Precursor for the Elisabethin A Skeleton; *Synthesis* **2002**, 1857-1866.
- [407] J. Pastuszek, J. H. Gardner, J. Singh, D. H. Rich; Improved Synthesis of [4-Alanine]chlamydocin: Cyclization Studies of Tetrapeptides Containing Five Alpha Substituents; *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2982-2987.
- [408] M. A. Bailén, R. Chinchilla, D. J. Dodsworth, C. Nájera; *O*-Succinimidyl-1,3-dimethyl-1,3-trimethylenuronium Salts as Efficient Reagents in Active Ester Synthesis; *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1661-1664.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Durchführung dieser Arbeit in der einen oder anderen Weise unterstützt haben. Ich danke ...

- ... meinen interdisziplinären Kooperationspartner, ohne die ein großer Teil dieser Arbeit gar nicht erst möglich gewesen wäre. Mein besonderer Dank gilt dabei meinen externen Partnern im Sorbi-Projekt (Dr. Jutta Wiese, Dr. Rüdiger Stöhr, Dr. Rolf Schmaljohann, Prof. Johannes Imhoff, Prof. Werner Müller, Marija Avramovic, Prof. Jörn Piel), den Kooperationen aus dem SPP 1152 (Dr. Yvonne Haagen, Prof. Lutz Heide, Dr. Zakia Boubakir, Prof. Ludger Beerhues) und meinen Würzburger Partnern im Rahmen des Kompetenzzentrums *BIOTEC*marin und des SFBs 630 (Dr. Matthias Scheuermayer, PD. Dr. Ute Hentschel). My special thank goes to Sheila Marie Pimentel-Elardo for a very nice and fruitful collaboration in the field of marine natural products isolation and structural elucidation. Für die wunderbare Zusammenarbeit im Bereich der acetogeninen Naturstoffe möchte ich mich insbesondere bei Prof. Hans-Peter Fiedler bedanken.
- ... allen Mitarbeitern aus der Arbeitsgruppe Bringmann, die durch ihre gute Zusammenarbeit wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Insbesondere gilt mein Dank Gerd, Steffi, Micha, Marion, Kristina (dem Sorbi-Team), Torsten, Inga, Michael D. (den acetogeninen Strukturaufklärern), Danny, Stefan (der Porphyrin-Kombo), Katja, Matthias, Torsten (den Rechnern) und Tanja (SFB und SPP lassen grüßen).
- ... meinen arbeitswilligen F-Praktikanten (Schute, Christian, Sebi und Magda) für ihre Beiträge zu dieser Arbeit, vor allem aber für eine witzige Zeit im Labor.
- ... Doris für die stets schnelle und unkomplizierte Hilfe bei allen Dingen des Alltags. Vor allem aber für unzählige nette/lustige/traurige/erregte Gespräche in ihrem Büro und für ihre immer freundliche und heitere Art, die einem so manchen tristen Labortag gleich viel schöner erscheinen ließ.

- ... den "Alten", die inzwischen schon lange nicht mehr in unserer Gruppe weilen, für viele hilfreiche Tipps gerade am Beginn meiner Diplomarbeit. Insbesondere bin ich meinen inzwischen langjährigen Freunden Gerd (meinem Vorgänger und Lehrmeister), Torsten (mein Polyketid-Partner), Michael D. (meinem Analytik-Lehrer) und Johan (meinem guten alten Mitbewohner) zu großem Dank verpflichtet.
- ... allen die durch ihre vielseitige Hilfe bei der Korrektur dieser Arbeit gerade in meinen letzten Tagen im AK Bringmann einen großen Beitrag geleistet haben. Vielen Dank Danny (für Deine stets umfangreichen, manchmal sehr kritischen, aber immer äußerst konstruktiven Verbesserungsvorschläge), Doris (für Deine Geduld bei der Durchsicht der Arbeit und das Auffinden vieler Fehler), Foxi (Deine Korrektur des Ex.Teils war weltklasse), Tanja (Du hattest selber eine Diss. zu schreiben und warst trotzdem immer auch bereit an meiner zu arbeiten) und Sebi (toll, eine Zahlenlücke ein paar Tage vor Abgabe).
- ... denjenigen im AK Bringmann, die nicht nur im Laboralltag wichtige und kompetente Ansprechpartner waren, sondern die ich inzwischen auch zu meinen guten Freunden zählen darf (hoffe ich). Vielen Dank für ein schöne Zeit in Würzburg Steffi, Inga, Micha, Danny, Franz, Foxi, Sebi, Christian, Irmi und nicht zu vergessen Grebi-Greb.
- ... insbesondere auch "meiner" wöchentlichen Kartenrunde Danny, Franz, Foxi, Sebi, Christian und allen die auch nur ab und zu mal dabei waren für Ihre Geselligkeit. Dieser eine Abend pro Woche hat viel zu meiner Entspannung beigetragen! Ich wünsche Euch allen viel Glück und hoffe Euch auch in Zukunft ab und zu mal wieder zu sehen.
- ... Danny, meinem oberpfälzischen Seelenverwandten. Du warst für mich während meiner Zeit im AK immer ein wahrer Freund mit dem man Blödsinn machen, aber auch wirklich wichtige Dinge bereden kann. Ich hoffe unsere Wege kreuzen sich schon sehr bald wieder und denke wir sollten bei der Gelegenheit dann auch mal unsere Eltern miteinander bekannt machen. Ich hege immer noch den Verdacht sie kennen sich schon länger ;-)

- ... Steffi für alles was sie in den letzten Jahren für mich gemacht hat. Ohne Dich wären viele der Ergebnisse dieser Arbeit nicht möglich gewesen. Du hast während all der Jahre immer Dein Bestes gegeben und warst mir nicht nur im Labor eine große Hilfe. Ich danke Dir für Dein Verständnis wenn ich mal wieder keine Zeit hatte und für Deine unschätzbare Hilfe gerade auch gegen Ende dieser Arbeit. Vielen Dank auch für die vielen Gespräche über alles Mögliche und für Deine Freundschaft. Hoffentlich bleiben wir in Kontakt, auch wenn – und vor allem während – ich jetzt kurz mal weg bin...
- ... meiner ganzen Familie möchte ich für die stete Unterstützung während meiner ganzen Ausbildung danken. Ich weiß es war gerade auch während der letzten Schuljahre nicht immer einfach mit mir, aber anscheinend hab ich die Kurve doch noch ganz ordentlich gekriegt. Ich hoffe ihr kommt uns am besten alle in San Diego besuchen (aber vielleicht auch nicht alle auf einmal ;-).
- ... meiner lieben Frau Tanja für die vielen Jahre die sie es nun schon mit mir aushält. Ich denke wer das gleichzeitige Schreiben von zwei Doktorarbeiten fast ohne Auseinandersetzung übersteht, muss füreinander geschaffen sein. Ich freue mich auf einen ganz neuen und spannenden Lebensabschnitt mit Dir in San Diego.