



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
WIEN

VIENNA  
UNIVERSITY OF  
TECHNOLOGY

## MASTERARBEIT

Regioselektive O-Glucuronidierung untersucht am Beispiel des  
*Fusarium* Mycotoxins Zearalenon

ausgeführt am

**Institut für Angewandte Synthesechemie**

der Technischen Universität Wien

unter der Anleitung von

Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Johannes **Fröhlich**

und

Ass.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Christian **Hametner**

durch

**Mikula Hannes**

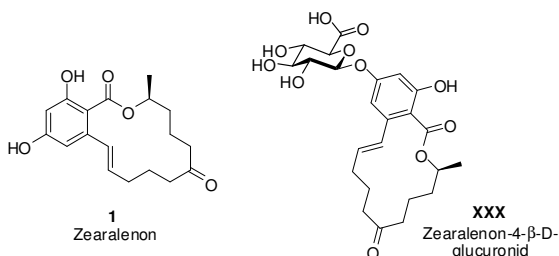
Matr. Nr.: 0325131

Badstraße 10, A-2413 Edelstal

Wien, am 31. März 2008

## KURZFASSUNG

Zearalenon ist ein Pilzgift (Mykotoxin), das von *Fusarium sp.* gebildet wird. Aufgrund der östrogenen Wirkung des Mykotoxins und des Vorkommens in diversen Getreidesorten (Mais, Weizen, usw.) stieg das Interesse an dieser Substanz in den letzten Jahren enorm.



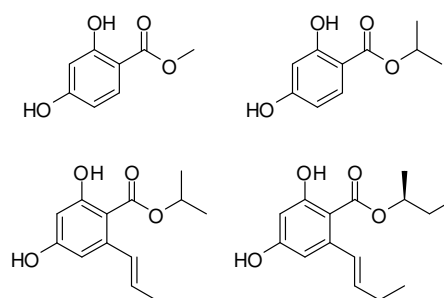
Vor allem im Bereich der Agrarbiotechnologie wird versucht, durch neue Technologien die durch Kontamination mit *Fusarium sp.* verursachten Schäden (im Moment in Milliarden \$ Höhe) zu verringern.

Aufgrund des Vorkommens von Zearalenon in Futtermitteln sind Stoffwechselprodukte dieses Toxins, welche im Metabolismus des jeweiligen Nutztieres entstehen, ebenfalls von erhöhtem Interesse, da eine zusätzliche Erhöhung der Wirkung durch Konjugat-Bildung (Phase II Detoxifikation) nicht ausgeschlossen werden kann. Ein mögliches und aufgrund von analytischen Studien vermutetes vorkommendes Konjugat ist Zearalenon-4-β-D-glucuronid. Dabei handelt es sich um ein Produkt, das bei der Glucuronidierung (Verknüpfung mit Glucuronsäure zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit) des Mykotoxins entsteht.

Um das Vorkommen dieser Substanz bestätigen und quantifizieren zu können (LC/MS<sup>n</sup>-Analytik), wurde diese Verbindung als Referenzmaterial benötigt. Das Ziel dieser Arbeit war daher die Synthese von Zearalenon-4-β-D-glucuronid.

Anders als eine enzymatische Reaktion im Rahmen des Stoffwechsels, stellt die (meist

von der Glycosylierung abgeleitete) chemische „Alternative“ der Glucuronidierung eine schwierige, schwer einzuschätzende Methode dar. In der Literatur sind mehrere Verfahren beschrieben, allerdings noch ohne die Kenntnis welche Methode für bestimmte Substrate am besten geeignet ist. Ausbeuten im Bereich von 10 – 20 % stellen daher keine Seltenheit dar. Da die (für diese Arbeit) verfügbare Menge an Mykotoxin sehr gering war (etwa 200 mg), wurden unterschiedlichste Methoden der Glucuronidierung an zuvor synthetisierten Modellverbindungen getestet, und so eine vielversprechende Variante für die Glucuronidierung von Zearalenon ermittelt.



Modellverbindungen für Zearalenon

Weiters wurde, auch unterstützt durch theoretische Modellierungen (DFT-Berechnungen), eine regioselektive Methode für die Synthese solcher Glucuronide erarbeitet, um den Gebrauch von Schutzgruppen (am Mykotoxin) und den damit verbundenen Verlust an Startmaterial während der Einführung und Abspaltung dieser zu vermeiden. Mithilfe der entwickelten Methode konnte die Glucuronidierung an Zearalenon in guter Ausbeute mit exzellenter Stereo- und Regioselektivität durchgeführt und in weiterer Folge die Zielsubstanz Zearalenon-4-β-D-glucuronid synthetisiert werden.

*Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr. Johannes Fröhlich* danke ich für die Möglichkeit, diese Masterarbeit in seiner Forschungsgruppe durchführen zu können und vor allem für den zugestandenen Freiraum, der es mir ermöglichte, viele meiner Ideen in dieses interessante Thema einbringen zu können. Vielen Dank für die großartige Unterstützung in jeder Hinsicht während des letzten Jahres.

*Ass.Prof. Dipl.-Ing. Dr. Christian Hametner* gilt mein besonderer Dank. Als Betreuer meiner Arbeit war er in guten wie in schlechten Zeiten immer mit wertvollen Ratschlägen zur Stelle. Vom ersten NMR-Spektrum bis zur letzten Korrektur – Vielen Dank!

*Univ.Ass. Dipl.-Ing. Dr. Ernst Horkel* danke ich für viele entscheidende Ideen, die mich immer ein Stück weiter brachten, seine Geduld als Laborkollegen und vor allem den vielen heiteren Stunden des letzten Jahres.

*Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr. Rudolf Krska, Univ.Ass. Dipl.-Ing. Dr. Rainer Schuhmacher* und *Mag. Dr. Franz Berthiller* vom Interuniversitären Department für Agrarbiotechnologie (IFA-Tulln), sowie *Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr. Gerhard Adam* von der Universität für Bodenkultur Wien danke ich für die gute Zusammenarbeit und die Möglichkeit meine Arbeit unterstützt durch diese Kooperation durchführen zu können.

Bei meinen Labor- und Institutskollegen *Philipp Fruhmann, Daniel Lumpi, Michael Fink, Christian Braunschier* und *Markus Adelwöhrer* möchte ich mich für das tolle Arbeitsklima und deren Unterstützung in jeder Hinsicht bedanken.

*Fr. Sabine Stiedry, Hr. Franz Kreiml, Fr. Elzbieta Jorde, Hr. Florian Untersteiner, Fr. Isolde Hisch, Hr. Fred Einöder* und vor allem *Fr. Theresia Ebner*, die sehr viel Geduld mit mir und meinen Sonderwünschen hatte, danke ich für die vielen, oft unsichtbaren Dinge, ohne die der Laborbetrieb nicht möglich wäre.

Meiner ehemaligen Chemie-Lehrerin *Verena Pickem* danke ich vielmals für die ersten interessanten „chemischen“ Momente meines Lebens und die tolle Entscheidungshilfe bei der Wahl meiner darauffolgenden Ausbildung.

*Meinen Eltern* möchte ich auf diesem Weg von ganzem Herzen für die letzten 25 Jahre danken. Sie waren immer für mich da und ohne ihre permanente Unterstützung, wäre vieles und vor allem mein Studium, sowie diese Arbeit erst gar nicht möglich gewesen.

*Meiner Schwester* und oft ersten Anlaufstation danke für die vielen Ratschläge und Weisheiten, die mir als jüngerer Bruder so oft weitergeholfen haben.

*Meinen Schwiegereltern* „in spe“ danke ich für die unzähligen Stunden, die sie für mich und meine Familie da gewesen sind. Ohne „Oma und Opa aus Scheibbs“ wäre vieles während dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

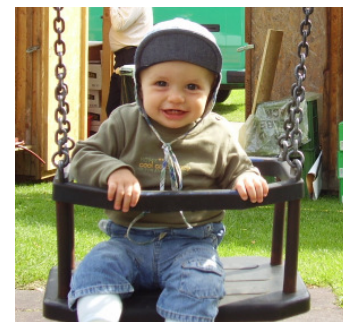
Meinem Schwager „in spe“ *Robert* und meinem Freund *Philipp* danke ich vor allem auch dafür, dass sie die letzten Jahre immer die richtige Musik in mein Leben gebracht haben.

Bei der „philosophischen“ Seite meiner Familie, meiner Schwägerin „in spe“ *Christina* möchte ich mich vor allem für ihre außergewöhnliche Art und Weise, mit der sie es immer wieder schafft, einem das Wesentliche vor Augen zu halten, bedanken.

Auch bei *meiner Großmutter* möchte ich mich von ganzem Herzen bedanken. Die Zeit, die sie für mich da gewesen ist, ist unbezahlbar und unvergesslich. Vielen herzlichen Dank für all die Stunden, Tage, Monate und Jahre.

Meinen Studienkollegen *Michael „X13“ Fink, Philipp „Fru“ Fruhmann, Sebastian „Jacky“ Gurtner, Patrick „Brain“ Knaack, Sylvia „Lys“ Lehner, Fabian „Wachtmeister“ Istel, Alexander „der Burgherr“ Lutz, Andreas „Andi“ Rausch, Konstanze „Konzi“ Seidler, Ursula „Ursi“ Bösch, Ewa „Eva“ Dadal*, meinem langjährigen WG-Kollegen *Martin „DSM“ Pieler* und allen anderen danke ich für eine unglaubliche Zeit und den tollen Zusammenhalt.

*Meiner kleinen Familie, Michaela und Yanis* danke ich von ganzem Herzen für die beste Unterstützung, die ich mir vorstellen kann. Ihr seid die Sonne und das Licht in meinem Leben. Danke, dass ihr immer für mich da seid!



## Abkürzungen

Neben gebräuchlichen Abkürzungen der deutschen Sprache sowie den chemischen Elementsymbolen werden unten angeführte Kurzformen verwendet. Einmalig vorkommende Akronyme sind üblicherweise bei ihrer Verwendung erklärt.

Ac <sub>2</sub> O	Essigsäureanhydrid
AcOH	Essigsäure
AlMe <sub>3</sub>	Trimethylaluminium
Bn	Benzyl, Phenylmethyl
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
BuLi	Butyllithium
DCM	Dichlormethan
DCE	1,2-Dichlorethan
DMAP	4-(N,N-Dimethylamino)pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDCI	N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid Hydrochlorid
Et <sub>2</sub> NH	Diethylamin
Et <sub>2</sub> O	Diethylether
EtOAc	Essigsäureethylester
EtOH	Ethanol
MeOH	Methanol
G-Akzeptor	Glucuronyl-Akzeptor
G-Donor	Glucuronyl-Donor
GC/MS	Gaschromatographie / Massenspektrometrie
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC/MS	Liquid Chromatography / Massenspektrometrie
MEM	2-Methoxyethoxymethyl
NIS	N-Iodsuccinimid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PE	Petrolether, Siedebereich 45 – 60 °C
Piv	Pivaloyl
TBDMS	tert-Butyldimethylsilyl, Dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyl
THF	Tetrahydrofuran
TMEDA	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin, 1,2-Bis(dimethylamino)ethan
TMS-I	Trimethylsilyliodid
TMSOTf	Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester
Tos-Cl	Tosylchlorid, p-Toluolsulfonsäurechlorid

## **Allgemeine Anmerkungen**

### Kennzeichnung der im Text beschriebenen Substanzen

In der Literatur bereits beschriebene Verbindungen sind mit arabischen Ziffern versehen. Im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte, jedoch in der chemischen Literatur noch nicht vorkommende Verbindungen sind mit römischen Ziffern gekennzeichnet.

### Verweise auf Literaturzitate

Diese sind innerhalb des Textes durch arabische Ziffern in eckigen Klammern hervorgehoben.

### Nomenklatur

Die Nomenklatur von in der chemischen Literatur nicht beschriebenen Verbindungen erfolgt nach dem Reglement der Chemical Abstracts. Davon ausgenommene oder literaturbekannte Verbindungen sowie Reagenzien werden teilweise durch vereinfachende Bezeichnungsweisen, Trivial- oder Handelsnamen beschrieben.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>A) FORMELSCHEMATA</b>	<b>- 1 -</b>
<b>A.1 GLUCURONYL-DONOREN (GLUCURONSÄURE-DERIVATE)</b>	<b>- 2 -</b>
A.1.1 ACETYL-GESCHÜTZTE GLUCURONYL-DONOREN	- 2 -
A.1.2 PIVALOYL-GESCHÜTZTE GLUCURONYL-DONOREN	- 2 -
<b>A.2 2,4-DIHYDROXYBENZoesÄUREMETHYL- UND ISOPROPYLESTER</b>	<b>- 3 -</b>
<b>A.3 2,4-DIHYDROXY-6-(1E-PROPENYL)BENZoesÄUREISOPROPYLESTER</b>	<b>- 3 -</b>
A.3.1 SYNTHESE VIA METHYLSCHUTZGRUPPEN	- 3 -
A.3.2 SYNTHESE VIA TBDMS-SCHUTZGRUPPEN	- 4 -
<b>A.4 6-(1E-BUTENYL)-2,4-DIHYDROXYBENZoesÄURE-(S)-2-BUTYLESTER</b>	<b>- 5 -</b>
<b>A.5 GLUCURONIDIERUNG</b>	<b>- 6 -</b>
<b>A.6 GLUCURONIDE (HYDROLYSE)</b>	<b>- 7 -</b>
<b>A.7 ZEARALENON-4-<math>\beta</math>-D-GLUCURONID</b>	<b>- 8 -</b>
<b>B) ALLGEMEINER TEIL</b>	<b>- 9 -</b>
<b>B.1 PHASE II METABOLISMUS</b>	<b>- 10 -</b>
<b>B.2 SYNTHESE VON GLUCURONIDEN – DIE GLUCURONIDIERUNG</b>	<b>- 11 -</b>
<b>B.3 <i>FUSARIUM</i> MYKOTOXINE - ZEARALENON</b>	<b>- 12 -</b>
<b>B.4 PROBLEMSTELLUNG</b>	<b>- 14 -</b>
<b>C) SPEZIELLER TEIL</b>	<b>- 16 -</b>
<b>C.1 GLUCURONYL-DONOREN</b>	<b>- 17 -</b>
C.1.1 ALLGEMEINES	- 17 -
C.1.2 ACETYL-GESCHÜTZTE G-DONOREN	- 17 -
C.1.3 PIVALOYL-GESCHÜTZTE G-DONOREN	- 19 -
<b>C.2 SYNTHESE DER MODELLVERBINDUNGEN</b>	<b>- 22 -</b>
C.2.1 2,4-DIHYDROXYBENZoesÄUREMETHYL- UND ISOPROPYLESTER	- 22 -
C.2.2 2,4-DIHYDROXY-6-(1E-PROPENYL)BENZoesÄUREISOPROPYLESTER	- 24 -
C.2.2.1 Synthese via Methylschutzgruppen	- 25 -
C.2.2.2 Synthese via TBDMS-Schutzgruppen	- 30 -
C.2.3 6-(1E-BUTENYL)-2,4-DIHYDROXYBENZoesÄURE-(S)-2-BUTYLESTER	- 38 -
C.2.3.1 Allgemeines und retrosynthetischer Ansatz	- 38 -
C.2.3.2 Ortho-dirigierte Lithiierung und Wittig-Schlosser-Synthese	- 39 -

<b>C.3 O-GLUCURONIDIERUNG – SCREENING UND OPTIMIERUNG</b>	<b>- 43 -</b>
C.3.1 ALLGEMEINES UND ÜBERSICHT	- 43 -
C.3.2 REGIOSELEKTIVITÄT DER GLUCURONIDIERUNG	- 45 -
C.3.2.1 Mechanistische Überlegungen	- 45 -
C.3.2.2 Theoretische Modellierung	- 46 -
C.3.3 DER ANCHIMERE EFFEKT – STEREOSELEKTIVITÄT DER GLUCURONIDIERUNG	- 49 -
C.3.4 LEWIS-SÄURE-METHODE	- 50 -
C.3.4.1 Allgemeines	- 50 -
C.3.4.2 Vorversuche	- 51 -
C.3.5 KÖNIGS-KNORR-METHODE	- 52 -
C.3.5.1 Allgemeines	- 52 -
C.3.5.2 Vorversuche	- 52 -
C.3.5.3 Optimierung	- 54 -
C.3.6 IODOZUCKER-METHODE	- 56 -
C.3.6.1 Allgemeines	- 56 -
C.3.6.2 Vorversuche	- 56 -
C.3.6.3 Optimierung	- 57 -
C.3.7 TRICHLORACETIMIDAT-METHODE	- 58 -
C.3.7.1 Allgemeines	- 58 -
C.3.7.2 Vorversuche	- 58 -
C.3.7.3 Optimierung	- 59 -
C.3.8 OPTIMIERTE METHODE	- 60 -
C.3.9 HYDROLYSE DER ACETYL- BZW. PIVALOYL-SCHUTZGRUPPEN	- 61 -
<b>C.4 SYNTHESE VON ZEARALENON-4-<math>\beta</math>-D-GLUCURONID</b>	<b>- 63 -</b>
C.4.1 SYNTHESE DER GESCHÜTZTEN ZEARALENON- $\beta$ -D-GLUCURONIDE	- 63 -
C.4.2 SYNTHESE VON ZEARALENON-4- $\beta$ -D-GLUCURONID	- 65 -
<b><u>D) SPEKTROSKOPISCHER TEIL</u></b>	<b><u>- 66 -</u></b>
<b>D.1 ALLGEMEINES</b>	<b>- 67 -</b>
<b>D.2 ZEARALENON UND MODELLVERBINDUNGEN</b>	<b>- 68 -</b>
<b>D.3 ACETYL-GESCHÜTZTE GLUCURONIDE</b>	<b>- 69 -</b>
<b>D.4 PIVALOYL-GESCHÜTZTE GLUCURONIDE</b>	<b>- 70 -</b>
<b>D.5 GLUCURONIDE</b>	<b>- 71 -</b>



<b>E) EXPERIMENTELLER TEIL</b>	<b>- 72 -</b>
<b>E.1 ALLGEMEINE ANMERKUNGEN</b>	<b>- 73 -</b>
<b>E.2 CHROMATOGRAPHISCHE METHODEN</b>	<b>- 73 -</b>
E.2.1 DÜNNESCHICHTCHROMATOGRAPHIE	- 73 -
E.2.2 SÄULENCHROMATOGRAPHIE	- 73 -
E.2.3 PRÄPARATIVE HPLC	- 74 -
<b>E.3 PHYSIKALISCHE ANALYSEMETHODEN</b>	<b>- 74 -</b>
E.3.1 GC/MS MESSUNGEN	- 74 -
E.3.2 NMR-SPEKTROSKOPIE	- 74 -
<b>E.4 SYNTHESE UND CHARAKTERISIERUNG DER SUBSTANZEN</b>	<b>- 75 -</b>
E.4.1 ACETYL-GESCHÜTZTE GLUCURONYL-DONOREN	- 75 -
1,2,3,4-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucuronsäuremethylester (4)	- 75 -
1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucuronsäuremethylester (5)	- 76 -
2,3,4-Tri-O-acetyl-D-glucuronsäuremethylester (6)	- 77 -
2,3,4-Tri-O-acetyl-1-O-trichloracetimidoyl- $\alpha$ -D-glucuronsäuremethylester (7)	- 78 -
E.4.2 PIVALOYL-GESCHÜTZTE GLUCURONYL-DONOREN	- 79 -
1,2,3,4-Tetra-O-pivaloyl- $\beta$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (8)	- 79 -
1-Deoxy-1-iodo-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (9)	- 80 -
1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (10)	- 81 -
2,3,4-Tri-O-pivaloyl-D-glucopyranuronsäuremethylester (11)	- 82 -
1-O-Trichloracetimidoyl-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucuronsäuremethylester (12)	- 83 -
E.4.3 SYNTHESE VON 2,4-DIHYDROXYBENZoesÄUREMETHYL- (14) UND ISOPROPYLESTER (II)	- 84 -
2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester (14)	- 84 -
2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäuremethylester (15)	- 85 -
2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäure (16)	- 85 -
2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäureisopropylester (I)	- 86 -
2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (II)	- 87 -
E.4.4 SYNTHESE VON 2,4-DIHYDROXY-6-(1E-PROPENYL)BENZoesÄUREISOPROPYLESTER VIA METHYLSCHUTZGRUPPEN	- 88 -
2,4-Dimethoxybenzoesäuremethylester (17)	- 88 -
2,4-Dimethoxybenzoesäure (18)	- 89 -
N,N-Diethyl-2,4-dimethoxybenzamid (19)	- 90 -
N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(2-propenyl)benzamid (20)	- 91 -
Bis(acetonitril)palladium(II)chlorid	- 92 -
N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzamid (III)	- 92 -
2,4-Dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzoesäure (22)	- 93 -
2,4-Dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (IV)	- 94 -
2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (V)	- 95 -

E.4.5 SYNTHESE VON 2,4-DIHYDROXY-6-(1E-PROPENYL)BENZoesÄUREISOPROPYLESTER VIA TBDMS-SCHUTZGRUPPEN	- 96 -
2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzoesäuremethylester ( <b>23</b> )	- 96 -
N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzamide	- 97 -
N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-6-(2-propenyl)benzamide	- 98 -
N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-6-(1E-propenyl)benzamide	- 100 -
2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäuremethylester ( <b>XI</b> )	- 101 -
2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester ( <b>V</b> )	- 102 -
E.4.6 6-(1E-BUTENYL)-2,4-DIHYDROXYBENZoesÄURE-2S-BUTYLESTER	- 103 -
6-(1E-Butenyl)-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid ( <b>XIII</b> )	- 105 -
6-(1E-Butenyl)-2,4-bis((2-methoxyethoxy)methoxy)benzoesäuremethylester ( <b>XVI</b> )	- 107 -
6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-(S)-2-butylester ( <b>XIX</b> )	- 109 -
E.4.7 GLUCURONIDIERUNG - METHODEN	- 111 -
E.4.8 GLUCURONIDIERUNG – SUBSTANZEN, CHARAKTERISIERUNG	- 112 -
E.4.9 HYDROLYSE DER SCHUTZGRUPPEN	- 118 -
E.4.9.1 Acetyl-Schutzgruppen	- 118 -
E.4.9.2 Pivaloyl-Schutzgruppen	- 120 -

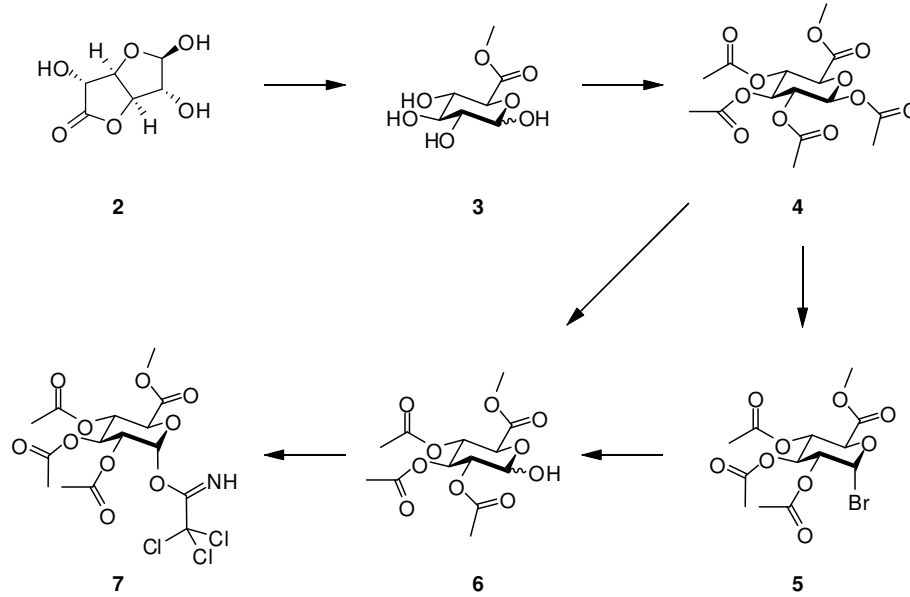
**F) LITERATURVERZEICHNIS**

**I**

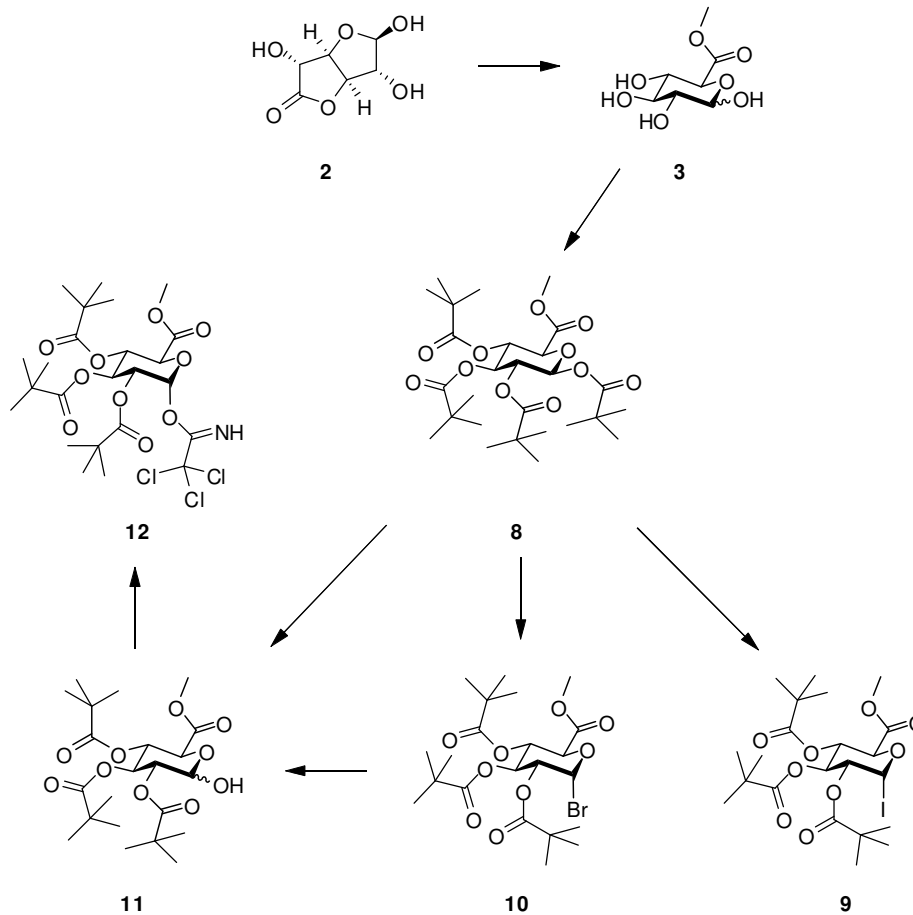
## **A) Formelschemata**

## A.1 Glucuronyl-Donoren (Glucuronsäure-Derivate)

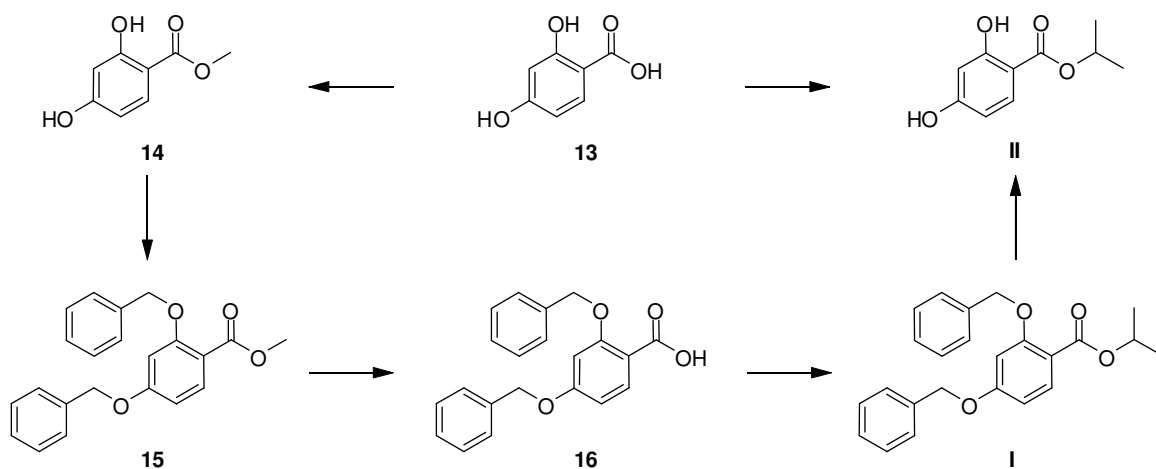
### A.1.1 Acetyl-geschützte Glucuronyl-Donoren



### A.1.2 Pivaloyl-geschützte Glucuronyl-Donoren

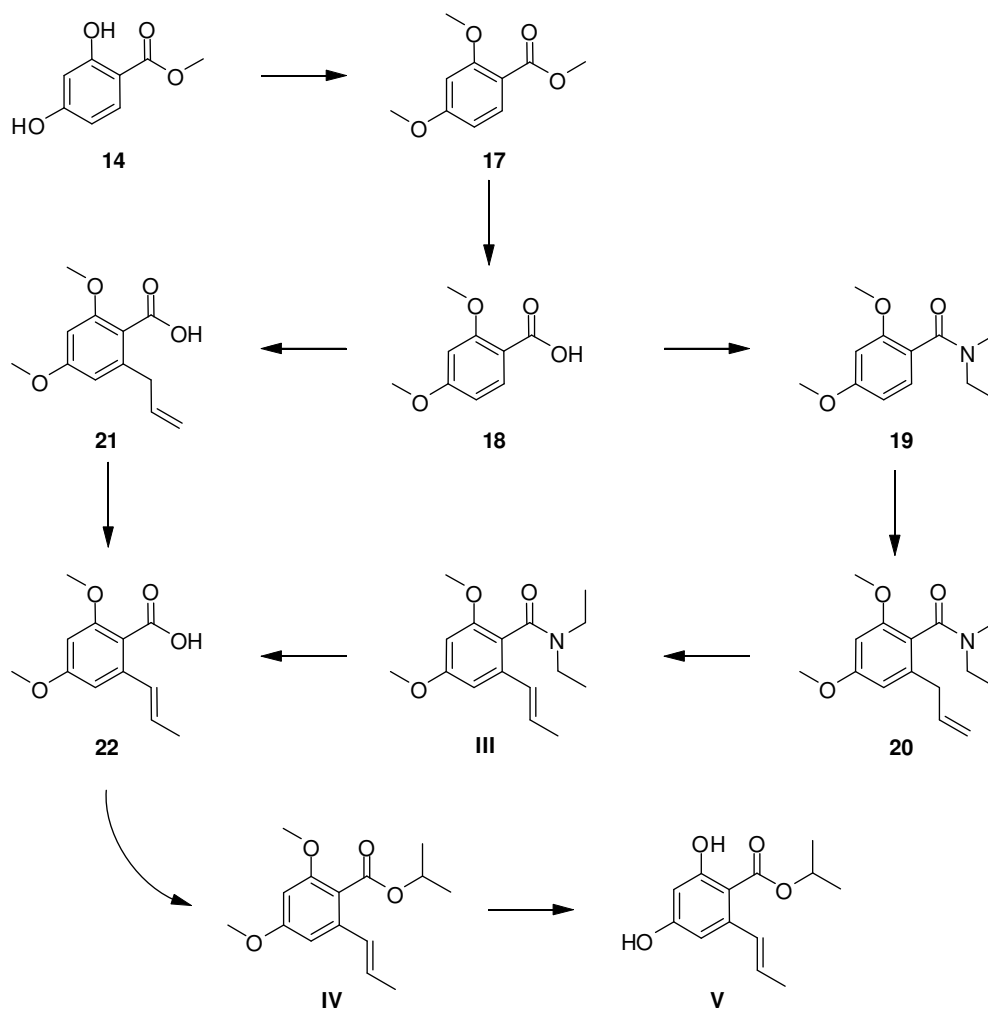


## A.2 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethyl- und isopropylester

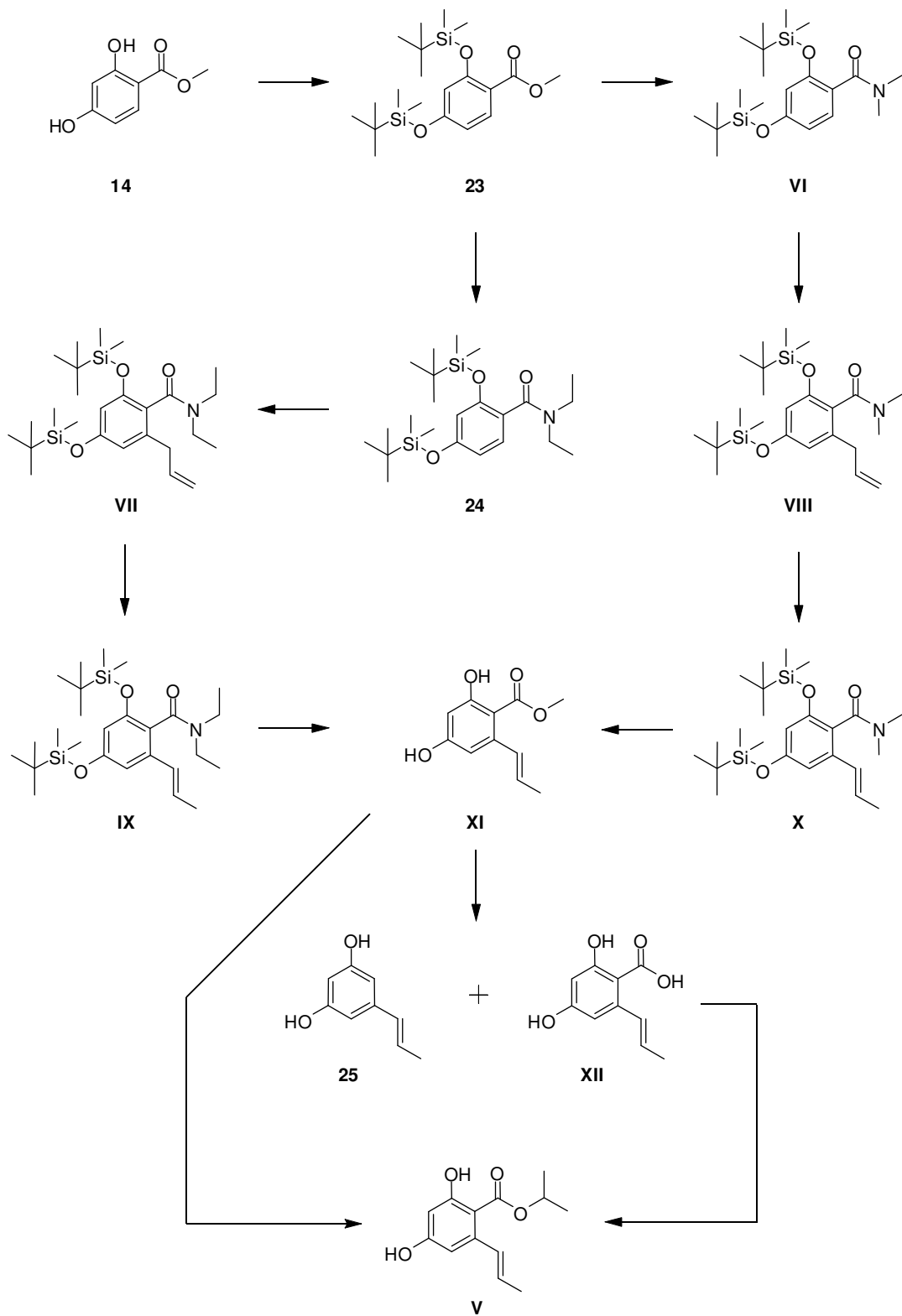


## A.3 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester

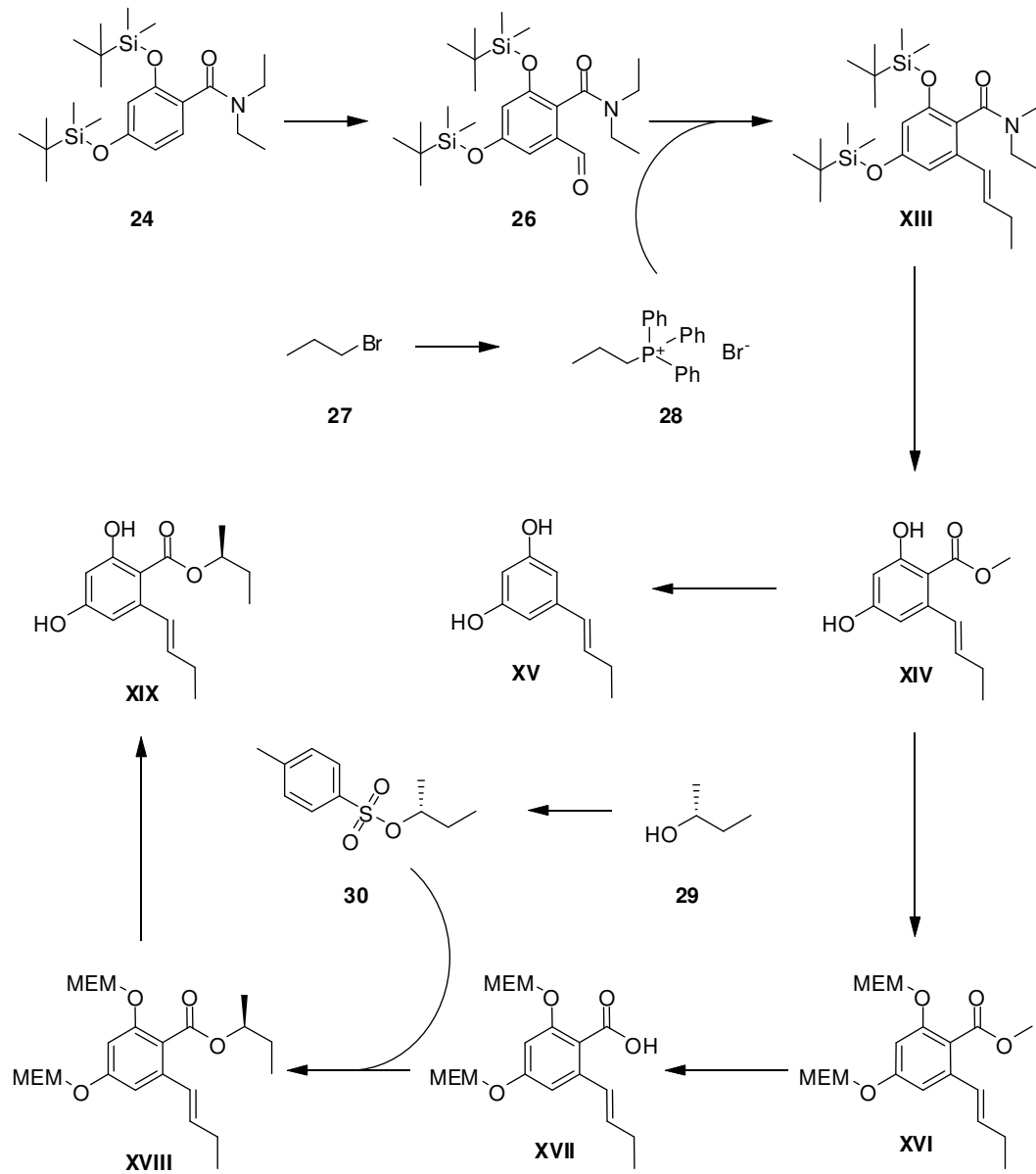
### A.3.1 Synthese via Methylschutzgruppen



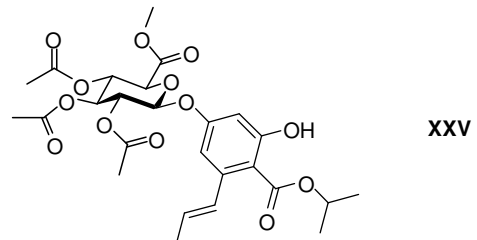
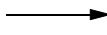
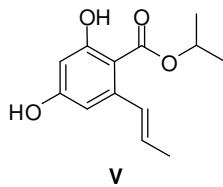
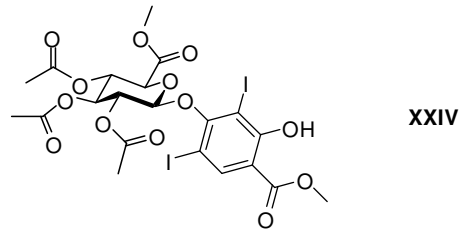
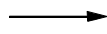
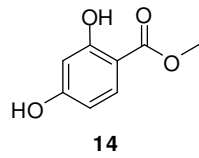
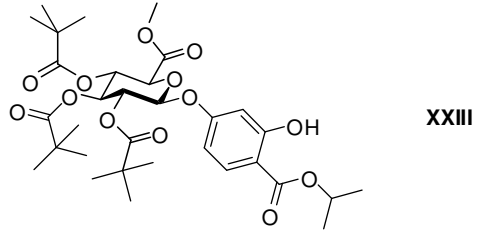
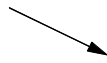
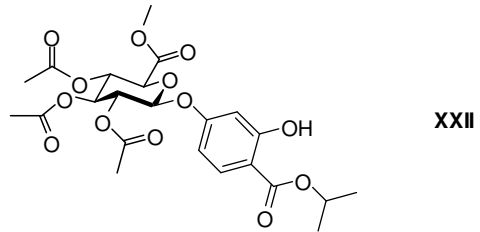
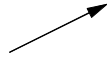
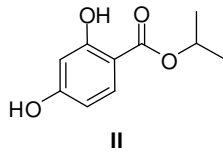
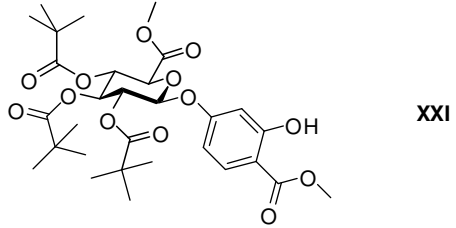
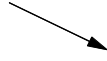
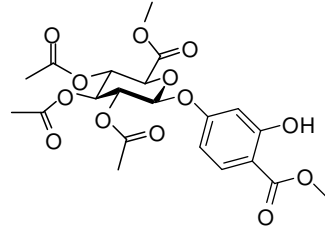
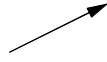
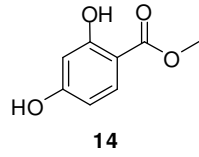
## A.3.2 Synthese via TBDMS-Schutzgruppen



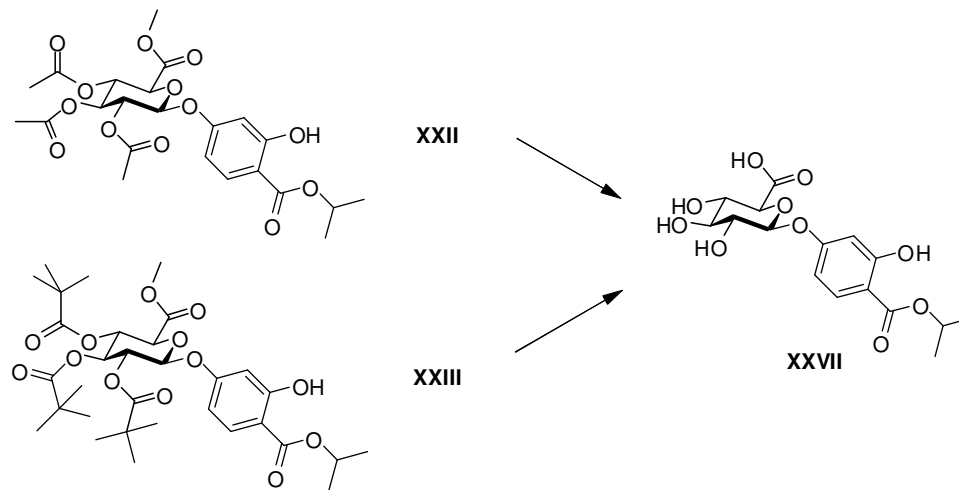
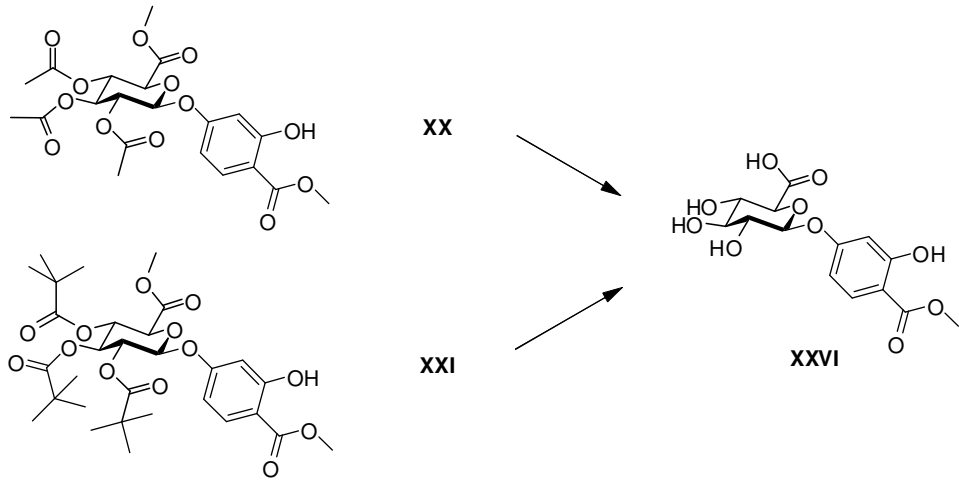
## A.4 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-(S)-2-butylester

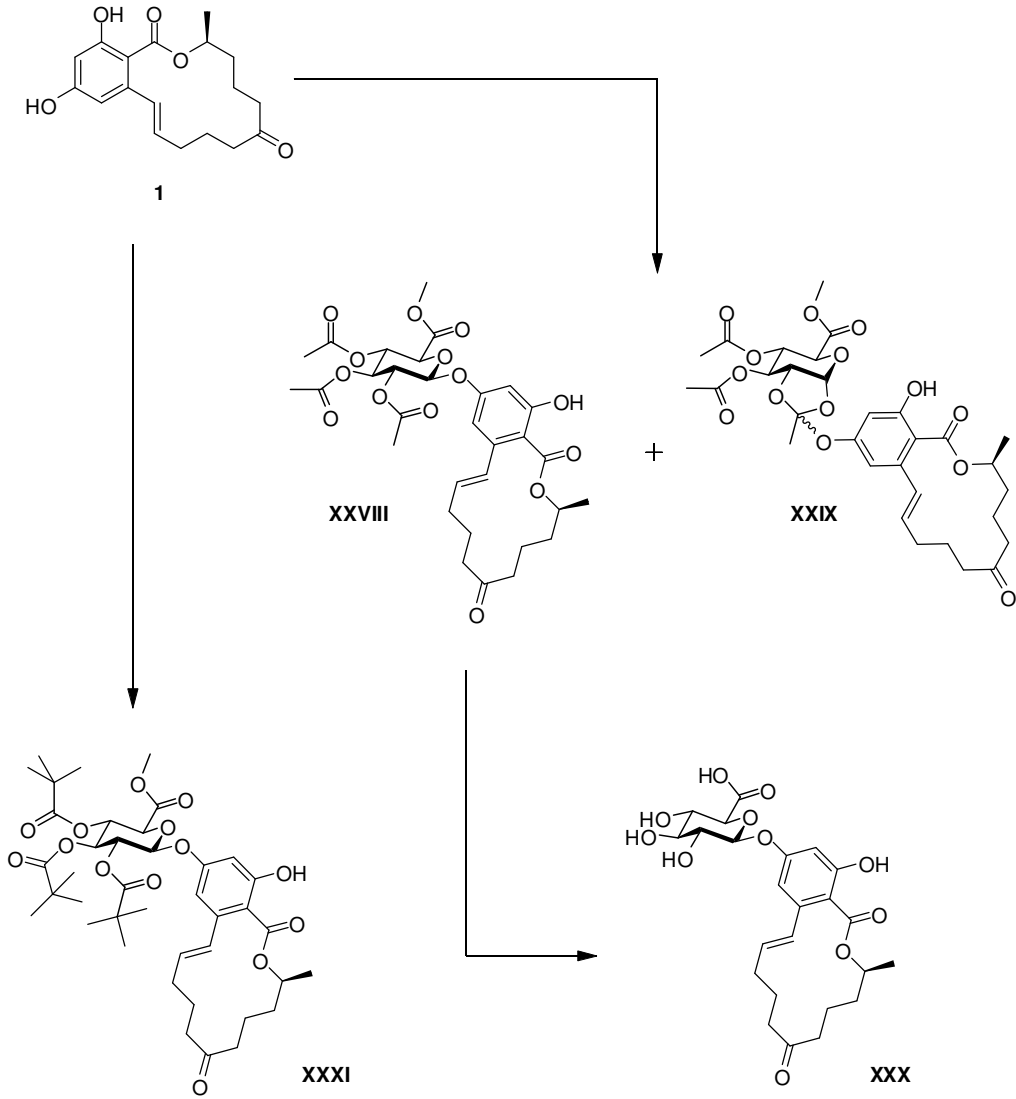


## A.5 Glucuronidierung





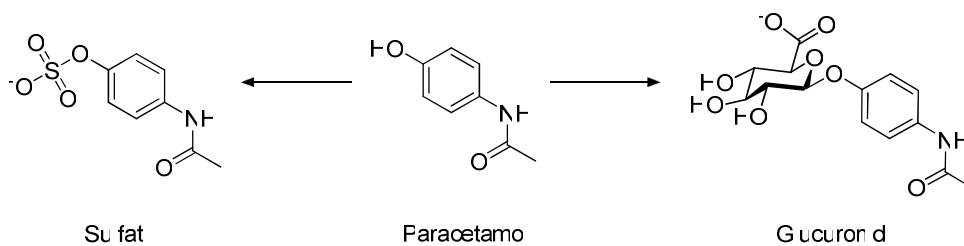
**A.6 Glucuronide (Hydrolyse)**

**A.7 Zearalenon-4-β-D-glucuronid**

## **B) Allgemeiner Teil**

## B.1 Phase II Metabolismus

Unter Metabolismus versteht man grundsätzlich die biochemische Modifikation oder den Abbau von Substanzen, üblicherweise durch spezielle enzymatische Systeme. Handelt es sich dabei um körperfremde Stoffe (Xenobiotika), spricht man von Fremdstoffmetabolismus, Detoxifikation oder xenobiotischem Metabolismus. Dieser lässt sich in zwei unterschiedliche Phasen einteilen. Im Phase I Metabolismus werden Substanzen vorwiegend oxidiert, reduziert oder hydrolysiert. Wird dadurch eine erhöhte Polarität bzw. Wasserlöslichkeit erreicht, kann der funktionalisierte Fremdstoff ausgeschieden werden. Meistens kommt es jedoch im Phase II Metabolismus durch Konjugatbildung zu einer weiteren Erhöhung der Wasserlöslichkeit. Beispiele hierfür sind Reaktionen zu Glucuroniden, Sulfaten (Schema B-1) oder Glutathion-Konjugaten. Dies ist vor allem dann von hoher Bedeutung, wenn im Zuge der Funktionalisierung in Phase I reaktive Produkte entstehen.



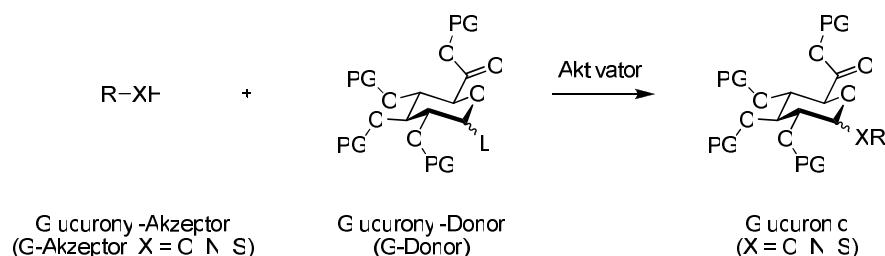
**Schema B-1:** Konjugatbildungen von Paracetamol als Beispiele für den Phase II Metabolismus

Für alle nachfolgenden Schritte, also Export der Fremdstoff-Konjugate aus der Zelle sowie der finale Export aus dem Organismus, wird immer häufiger der Begriff „Phase III Metabolismus“ verwendet.

Die ständig fortschreitende Untersuchung solcher Stoffwechselwege und die Tatsache, dass durch Konjugatbildung oft auch reaktive Verbindungen entstehen können, führt zu einem erhöhten Interesse an Produkten des Phase II Metabolismus, sowie an der Synthese derartiger Konjugate.

## B.2 Synthese von Glucuroniden – die Glucuronidierung

Als Glucuronidierung wird die meist durch einen Aktivator unterstützte Reaktion eines Glucuronyl-Donors (G-Donor) mit einem Glucuronyl-Akzeptor (G-Akzeptor, R-XH mit X = O, N, S) bezeichnet. Je nach Art des G-Akzeptors und des entsprechenden Produktes der Reaktion unterscheidet man zwischen O-, N- und S-Glucuroniden bzw. -Glucuronidierung (Schema B-2). Als G-Donoren werden unterschiedlich geschützte und aktivierte Glucuronsäurederivate verwendet. Die stereoselektive Synthese von  $\beta$ -Glucuroniden ist aufgrund des natürlichen Auftretens grundsätzlich von erhöhtem Interesse.



**Schema B-2:** Glucuronidierung (L = Abgangsgruppe, PG = Schutzgruppe, protective group)

Je nach Art der Aktivierung wurden unterschiedlichste Methoden entwickelt (Königs-Knorr, Iodozucker- oder Trichloracetimidat-Methoden, usw.), die vorerst meist für die Synthese von Glucosiden mit dementsprechenden Glucosyl-Donoren verwendet wurden. Als Hydroxyl-Schutzgruppen (PG) werden Ester (Acetate, Pivaloate, Benzoate), aber auch Ether (Benzylether) am häufigsten verwendet. Die Glucuronsäure selbst wird in der Literatur vorwiegend und fast ausschließlich als Methylester (PG' = Methyl) geschützt [1].

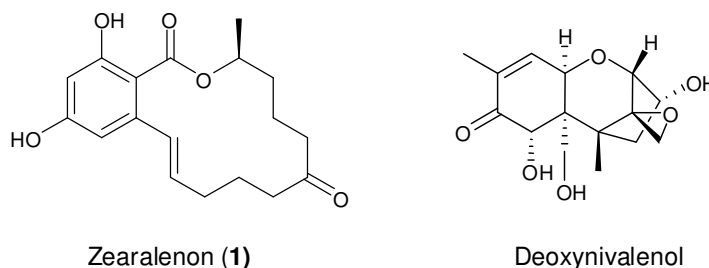
Hier sei weiters angemerkt, dass sich selbst bei der Verwendung des gleichen G-Donors aufgrund der unterschiedlichen Möglichkeiten der Aktivierung und Reaktionsführung noch immer unzählige Methoden für die Synthese des jeweiligen Glucuronids ergeben.

Die Hydrolyse der Esterschutzgruppen am Ende der Synthesesequenz ist oftmals problematischer als die Glucuronidierung selbst, vor allem wenn der G-Akzeptor empfindliche funktionelle Gruppen (z.B. Ester) beinhaltet.

### B.3 *Fusarium* Mykotoxine - Zearalenon

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, die bereits in geringen Konzentrationen toxisch auf Mensch, Tier und auch andere Mikroorganismen wirken. Sie wurden daher zu Beginn der 1940er Jahre bei ihrer Entdeckung als Antibiotika eingestuft, kamen aber aufgrund des geringen Abstandes zwischen therapeutischer und toxischer Dosis nie zum Einsatz. Mykotoxine werden definitionsgemäß auf sehr nährstoffreichen Substraten und nicht im Erdboden gebildet, daher zählen die besser bekannten Toxine der Giftpilze nicht zu dieser Klasse von Substanzen [2]. Der Begriff Mykotoxin wurde erstmals 1962 verwendet, als mit *Aspergillus flavus* kontaminierte Futtermittel zum Tod von etwa 100 000 Truthähnen führten („turkey X disease“). Nach Identifikation der Aflatoxine als Ursache begann der sogenannte „mycotoxin gold rush“ (Mykotoxin Goldrausch) und dauerte bis in die 1970er Jahre. In dieser Zeit beschäftigten sich unzählige Wissenschaftler mit diesem brisanten Thema [3].

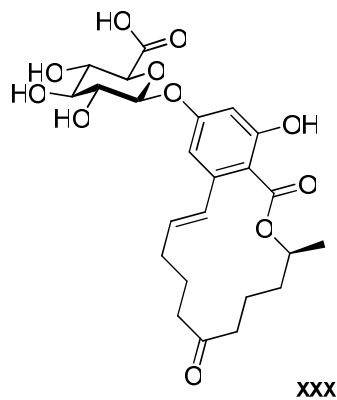
Neben den meist besser bekannten Mykotoxinen der Gattungen *Aspergillus* (Aflatoxine, Ochratoxin A), *Penicillium* (Patulin, Citrinin) und *Claviceps* (Ergot Alkaloide), sind auch Toxine der Gattung *Fusarium* von großem Interesse. Dazu zählen unter anderem Fumonisine, die Gruppe der Trichothecene (z.B. Deoxynivalenol) und Zearalenon (Schema B-3).



**Schema B-3:** Strukturen der *Fusarium* Mykotoxine Zearalenon (1) und Deoxynivalenol

Zearalenon (ZON) ist ein Sekundärmetabolit, der vor allem in *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) und *Fusarium culmorum* gebildet wird. Der Name resultiert aus einer Kombination von *G. zeae* und den strukturellen Eigenschaften Resorcyllsäurelacton („resorcylic acid lactone“), -en (Doppelbindung) und -on (Keton). Oft wird auch der weitere Trivialname „F-2“ verwendet. Zearalenon ist eine

weiße, kristalline Substanz mit derart hoher chemischer und thermischer Stabilität, dass der Gehalt in kontaminierten Lebensmittel weder durch Lagerung noch durch Zubereitung (Kochen, Backen) wesentlich verringert wird. Von Bedeutung sind Kontaminationen in diversen Getreidesorten (z.B. Mais und Weizen) und somit auch in Lebens- und Futtermitteln. Wiederholte Aufnahme über die Nahrung führt zu Hyperöstrogenismus. Diese Östrogenwirkung wird zudem durch den Metabolismus des Mykotoxins gesteigert. Durch Reduktion entsteht unter anderem  $\alpha$ -Zearalenol, welches noch um ein Vielfaches wirksamer ist. Die Toxizität von Zearalenon ist sehr gering ( $LD_{50}$  (Maus) > 2000 mg/kg), weshalb die Zuteilung zu den Mykotoxinen oft hinterfragt wird [3]. Gesetzliche Orientierungswerte, in Österreich im Bereich 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bis 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  [4], resultieren aufgrund der erhöhten Östrogenwirkung. Die Tatsache, dass Zearalenon häufig in Futtermitteln vorkommt, erhöht das Interesse an Stoffwechselprodukten, welche im jeweiligen Metabolismus des Nutztiers entstehen (können), wie zum Beispiel Zearalenon-4- $\beta$ ,D-glucuronid (Schema B-4).

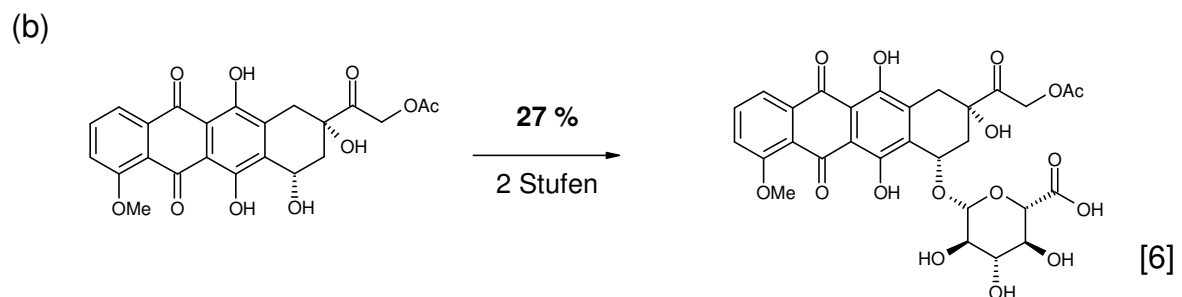
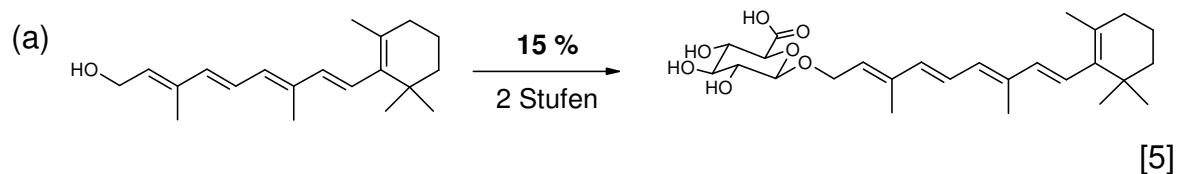


**Schema B-4:** Zearalenon-4- $\beta$ ,D-glucuronid

## B.4 Problemstellung

Vorrangiges Ziel dieser Arbeit war die Synthese von Zearalenon-4- $\beta$ ,D-glucuronid, da dieses als Referenzmaterial für die Identifizierung und Quantifizierung in biologischen Matrices durch LC/MS-Messungen benötigt wird.

Grundsätzlich handelt es sich bei der Glucuronidierung um keine „Standardmethode“, wie aus Schema B-5 gut ersichtlich ist. Geringe Ausbeuten, schlechte Selektivitäten und schwierige (meist chromatographische) Reinigungsverfahren erschweren die Synthese von O-Glucuroniden.



**Schema B-5:** Beispiele für die Synthese von O-Glucuroniden

Synthese (a) aus Schema B-5 zeigt die Herstellung des Glucuronids von trans-Retinol (1987, [5]). Durch Tausch des Aktivators (Silbertriflat anstelle von Silbercarbonat) konnte die Gesamtausbeute der Reaktion wenige Jahre später auf 42 % erhöht werden (1995, [7]). Eine Optimierung dieser Synthese war demnach durch Veränderung eines Parameters (Aktivator) möglich. Es lag daher nahe, auch im Zuge der Synthese von Zearalenon-4- $\beta$ ,D-glucuronid eine optimierte Methode (G-Donor, Aktivator, Lösungsmittel, Temperatur, usw.) zu entwickeln.

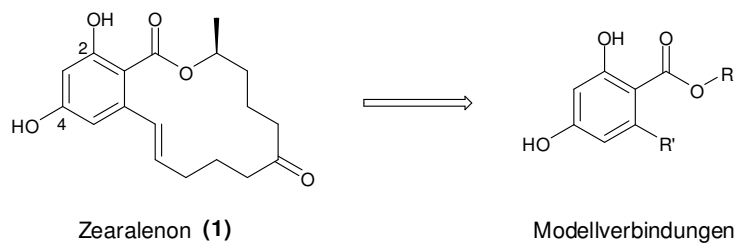
Aufgrund der geringen verfügbaren Menge an Mykotoxin wurde diese Optimierung an Modellverbindungen durchgeführt (Schema B-6). Da Zearalenon weiters 2 mögliche Glucuronyl-Akzeptoren beinhaltet (2-OH, 4-OH), sollte im Zuge dieser Optimierung zusätzlich eine regioselektive Methode erarbeitet werden, um



Schutzgruppentechniken und den damit verbundenen Verlust an Startmaterial (beim Einführen und Abspalten der jeweiligen Schutzgruppe) zu verhindern.

---

---



---

**Schema B-6:** Modellverbindungen für Zearalenon

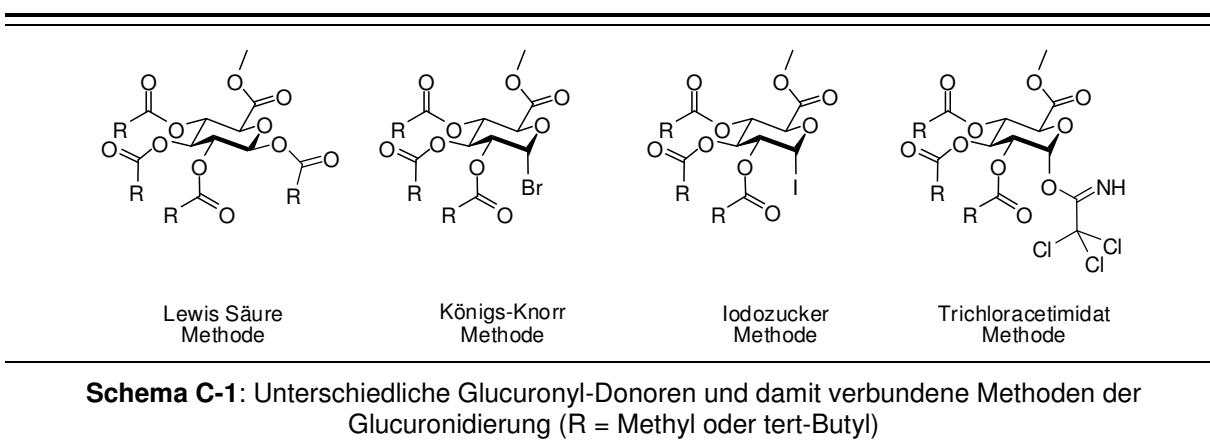
---

## **C) Spezieller Teil**

## C.1 Glucuronyl-Donoren

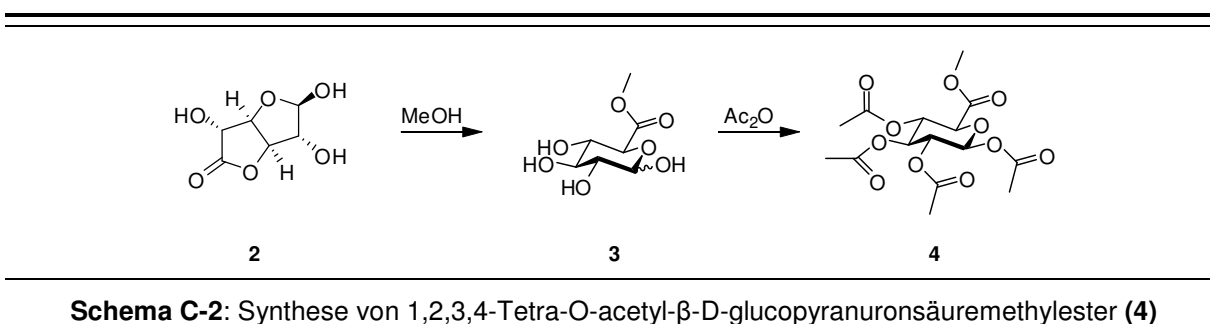
### C.1.1 Allgemeines

Wie bereits in Abschnitt B.2 erwähnt, wurden für die Synthese von Glucuroniden unterschiedlichste Methoden entwickelt, die sich vorwiegend aufgrund des verwendeten Glucuronyl-Donors und der Aktivierung dieses Precursors unterscheiden (Schema C-1).

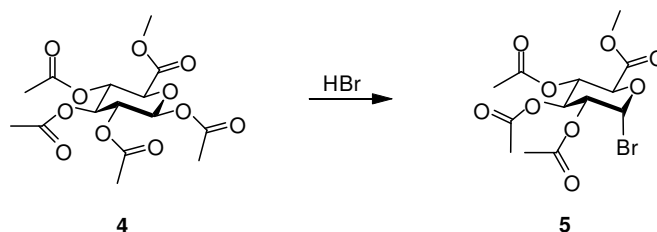


### C.1.2 Acetyl-geschützte G-Donoren

Die Synthesen dieser Glucuronsäure-Derivate sind allgemein literaturbekannt. Ausgehend von (+)-D-Glucofuranurono-6,3-lacton (**2**) wurde nach [8] 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**4**) hergestellt. Die Reaktion verläuft über D-Glucopyranuronsäuremethylester (**3**), welcher durch Rühren von (**2**) in Methanol katalysiert durch Natriummethylat erhalten wurde. Die Acetylierung erfolgte in Essigsäureanhydrid (Schema C-2) und lieferte das  $\beta$ -Anomer rein mit Ausbeuten von 41-52 % als weißen Feststoff. Durch Aufarbeiten der Lösung konnte zusätzlich ein Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer (im Verhältnis ~2:1) erhalten werden (30-44 %).

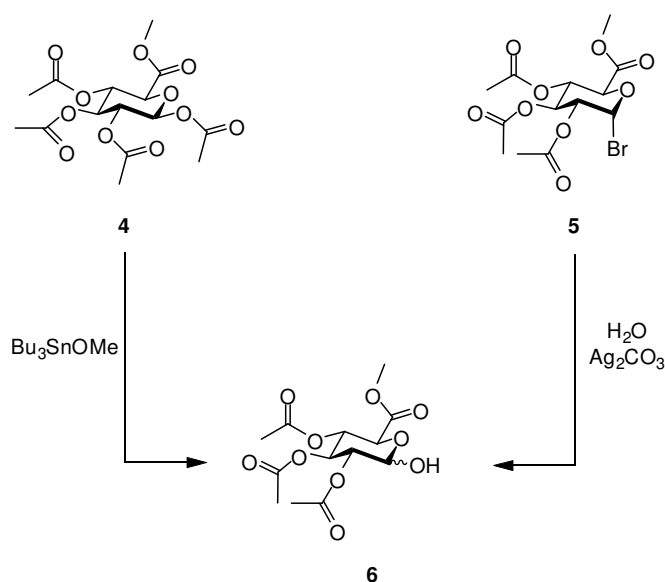


Die Umsetzung von **(4)** zu 1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäure-methylester **(5)** mit Bromwasserstoff in Eisessig mit Ausbeuten von 79-85 % wurde nach [8] durchgeführt (Schema C-3).



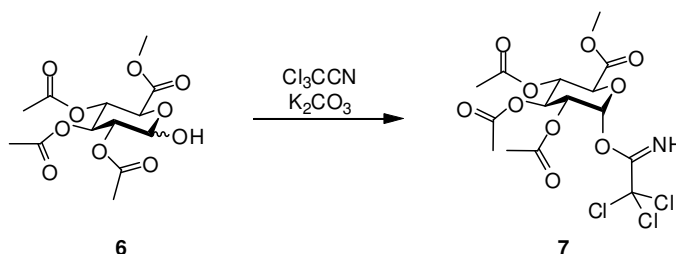
**Schema C-3:** 1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester **(5)**

2,3,4-Tri-O-acetyl-D-glucopyranuronsäuremethylester **(6)** konnte sowohl direkt ausgehend vom Tetraacetat **(4)** durch Umsetzung mit Tributylzinnmethylat ( $\text{Bu}_3\text{SnOMe}$ , 55 %) nach [9] als auch in hoher Ausbeute (91 %) durch Hydrolyse des Bromozuckers **(5)** (aktiviert durch Silbercarbonat) nach [10] erhalten werden (Schema C-4). Beide Varianten liefern ein Anomerengemisch ( $\alpha > \beta$ ) wobei letztere für wiederholte Synthesen von **(6)** aufgrund der wesentlich besseren Ausbeute bevorzugt wurde.



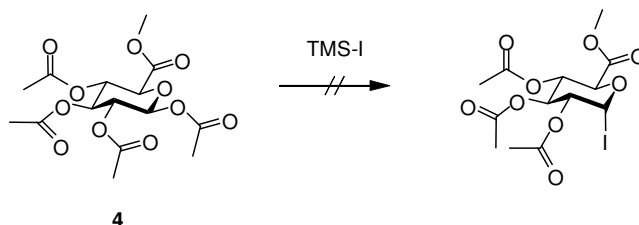
**Schema C-4:** Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-D-glucopyranuronsäuremethylester **(6)**

Durch Umsetzung mit Trichloracetonitril und Kaliumcarbonat nach [11] konnte aus dem 1-Hydroxyzucker **(6)** weiters 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-O-trichloracetimidoyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester **(7)** als G-Donor mit einer Ausbeute von 61 % hergestellt werden (Schema C-5).



**Schema C-5:** Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-O-trichloracetimidoyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester **(7)**

Beim Versuch der Synthese des in der Literatur noch nicht beschriebenen Iodozuckers 1-Deoxy-1-iodo-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester aus dem Tetraacetat **(4)** via Umsetzung mit Trimethylsilyliodid konnte kein Produkt erhalten werden.

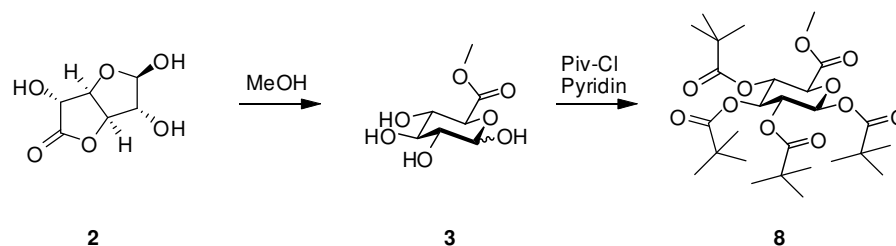


**Schema C-6:** Gescheiterter Syntheserversuch von 1-Deoxy-1-iodo-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester

### C.1.3 Pivaloyl-geschützte G-Donoren

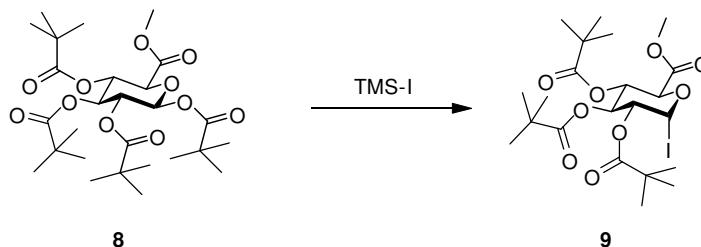
Die Synthese der Pivaloyl-geschützten G-Donoren erfolgte ident bzw. ähnlich zur Synthese der Acetyl-geschützten Analoga.

Ausgehend von (+)-D-Glucofuranurono-6,3-lacton **(2)** konnte über die Zwischenstufe D-Glucopyranuronsäuremethylester **(3)** das entsprechende Tetrapivaloat **(8)** nach [12] hergestellt werden (Schema C-7).



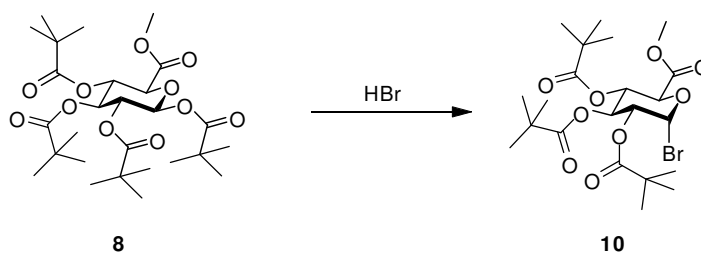
**Schema C-7:** Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-pivaloyl- $\beta$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**8**)

Im Unterschied zur Synthese des Tetraacetats (**4**) (Acetylierung mit Essigsäureanhydrid) war für die Acylierung mit Pivaloylchlorid (Piv-Cl) eine deutlich längere Reaktionszeit von mindestens 5 Tagen notwendig, um das Tetrapivaloat (**8**) in ausreichender Ausbeute (48 %) zu erhalten. Der entsprechende Iodozucker (**9**) konnte nach [13] durch Reaktion mit Trimethylsilyliodid mit einer Ausbeute von 88 % erhalten werden (Schema C-8). Im Gegensatz zu den Bromozuckern (Umkristallisation aus Ethanol), musste 1-Deoxy-1-iodo-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**9**) säulenchromatographisch gereinigt werden.



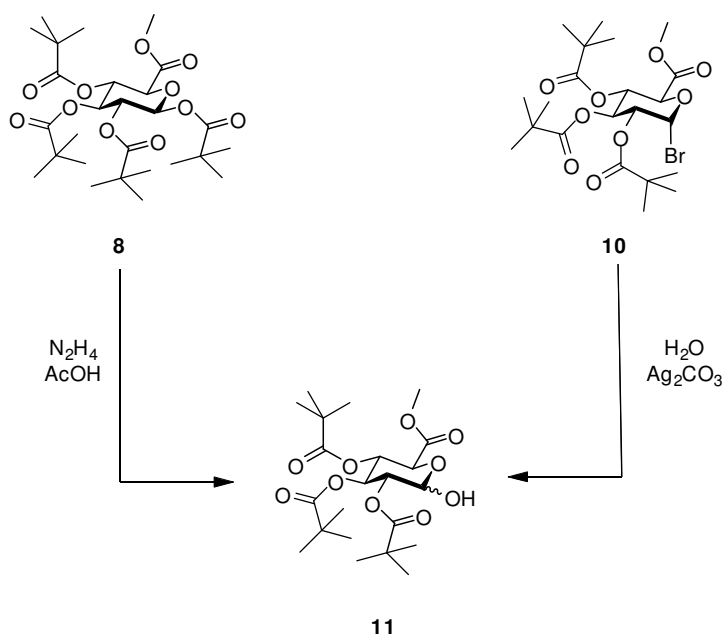
**Schema C-8:** 1-Deoxy-1-iodo-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**9**)

Die Umsetzung zum Pivaloyl-geschützten Bromozucker (**10**) erfolgte nach [12] und ähnlich zum acetylierten Analogon mit Bromwasserstoff in Eisessig (Schema C-9) mit einer Ausbeute von 65 %.



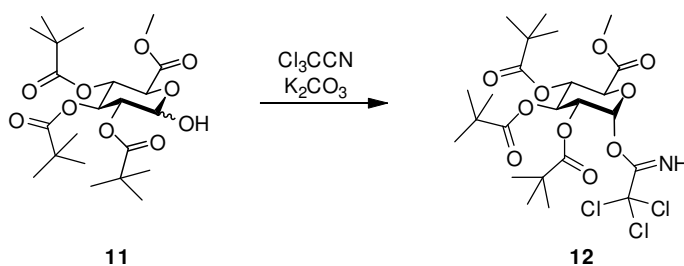
**Schema C-9:** 1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**10**)

Durch Silbercarbonat aktivierte Hydrolyse des Bromozuckers (**10**) nach [10] führte zu einem Anomerengemisch ( $\alpha > \beta$ ) des 1-Hydroxyzuckers 2,3,4-Tri-O-pivaloyl-D-glucopyranuronsäuremethylester (**11**) mit einer Ausbeute von 90 % (Schema C-10). Eine von Stachulski et al. 2005 vorgeschlagene Synthese ausgehend vom Tetrapivaloat mit Hydrazin Monohydrat und Essigsäure [13] lieferte (**11**) mit ebenfalls guter Ausbeute (63 %).



**Schema C-10:** Synthese von 2,3,4-Tri-O-pivaloyl-D-glucopyranuronsäuremethylester (**11**)

Die in [13] beschriebene Umsetzung des 1-Hydroxyzuckers (**11**) mit Trichloracetonitril und Kaliumcarbonat lieferte 1-O-Trichloracetimidoyl-2,3,4-tri-O-pivaloyl-1- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**12**) nach säulenchromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 83 % (Schema C-11).



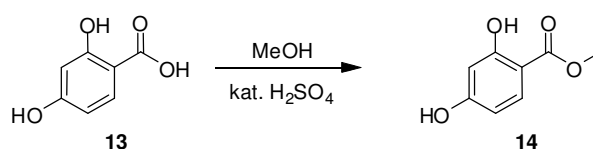
**Schema C-11:** Synthese von 1-O-Trichloracetimidoyl-2,3,4-tri-O-pivaloyl-1- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**12**)

## C.2 Synthese der Modellverbindungen

### C.2.1 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethyl- und isopropylester

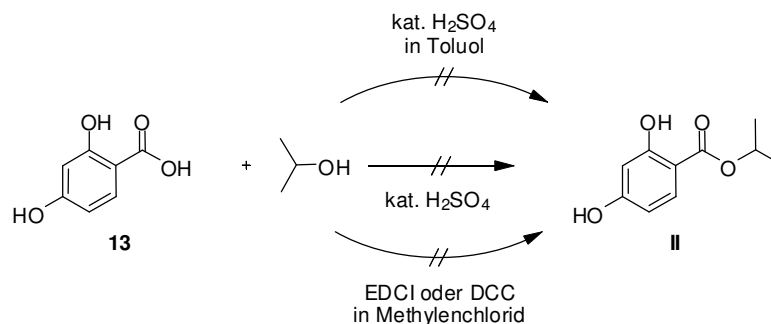
Ausgehend von Zearalenon lag die Wahl der beiden Modellverbindungen für eine Optimierung der O-Glucuronidierung nahe, vor allem auch da 2,4-Dihydroxybenzoesäure (**13**) als Edukt für die Synthese der beiden Verbindungen günstig kommerziell erhältlich ist.

2,4-Dihydroxybenzoesäuremethyl ester (**14**) wurde nach [14] durch Schwefelsäure katalysierte Veresterung von (**13**) in Methanol hergestellt (Schema C-12). Nach Umkristallisation aus Toluol konnten 89 % an (**14**) erhalten werden.



**Schema C-12:** 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethyl ester (**14**)

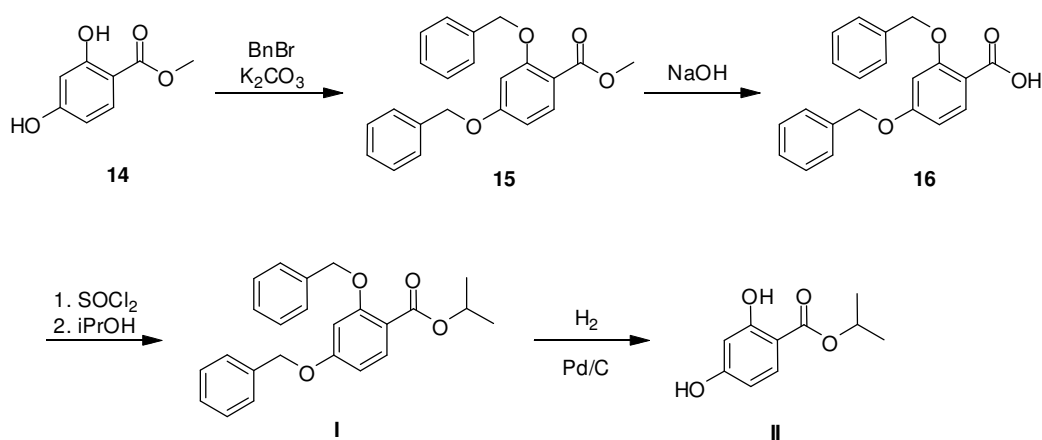
Der in der Literatur noch nicht beschriebene Isopropylester (**II**) konnte anfangs nicht direkt aus (**13**) synthetisiert werden. Der Versuch einer Schwefelsäure katalysierten Veresterung in Isopropanol schlug ebenso fehl wie die Synthese mittels Wasserabscheider mit Toluol als Schlepplmittel. Auch durch die Verwendung der Aktivierungsreagentien EDCI und DCC (Dicyclohexylcarbodiimid) konnte (**II**) nicht erhalten werden (Schema C-13).



**Schema C-13:** Fehlgeschlagene Versuche zur Synthese von 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (**II**)



Zur Synthese von **(II)** wurde daher vorerst eine Route via Benzylschutzgruppen entwickelt und verwendet. Ausgehend vom Methylester **(14)** wurde durch Reaktion mit Benzylbromid und Kaliumcarbonat in DMF nach [15] 2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäuremethylester **(15)** mit einer Ausbeute von 75 % hergestellt. Das Produkt konnte durch Hochvakuumdestillation gereinigt werden. Nach Hydrolyse von **(15)** in einer 1/1 Mischung von 1N NaOH und THF nach [15] konnte ohne zusätzliche Reinigung die Benzyl-geschützte Benzoesäure **(16)** in sehr guter Ausbeute (93 %) erhalten werden (Schema C-14).

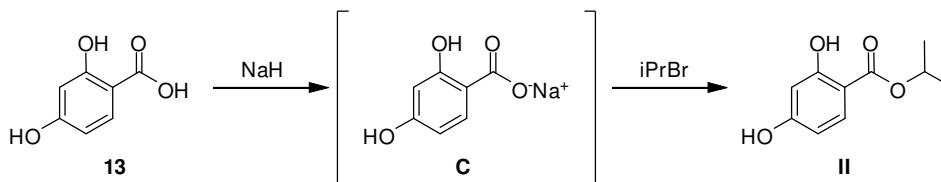


**Schema C-14:** Synthese von 2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäure (**16**) ausgehend von 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester (**14**) sowie weitere Umsetzung zu 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (**II**)

2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäureisopropylester (**I**) wurde aus **(16)** durch Reaktion mit Thionylchlorid und anschließender Umsetzung mit Isopropanol und Triethylamin als Säurefänger hergestellt (Schema C-14). Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte **(I)** mit einer Ausbeute von 81 % erhalten werden. Durch hydrierende Abspaltung der Benzylschutzgruppen katalysiert durch Pd/C in EtOAc wurde **(II)** mit einer Ausbeute von 88 % erhalten.

In weiterer Folge konnte zusätzlich eine direkte Synthese von **(II)** ausgehend von 2,4-Dihydroxybenzoesäure (**13**) entwickelt werden. Durch Deprotonierung mit einem Äquivalent Natriumhydrid in Dimethylformamid konnte gezielt das Carboxylat (**C**) erhalten werden, welches in weiterer Folge mit Isopropylbromid in einer S<sub>N</sub>2-Reaktion zu 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (**II**) umgesetzt wurde (Schema

C-15). Die zweite Modellverbindung für Zearalenon konnte auf diese Art und Weise mit einer Ausbeute von 74 % erhalten werden.

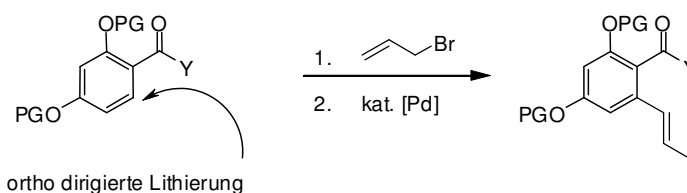


**Schema C-15:** Direkte Synthese von 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (II) aus der entsprechenden Säure (13)

### C.2.2 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester

Durch zusätzliche Substitution in Position 6 sollte eine „bessere“, das heißt Zearalenon besser simulierende Modellverbindung synthetisiert werden. An dieser sollte die erhaltene Methode aus der Optimierung der Glucuronidierung an den Modellverbindungen (14) und (II) bestätigt werden.

Schema C-16 zeigt die Strategie, diese Substitution praktisch umsetzen zu können. Eine ortho-dirigierende Lithiierung in Position 6 und anschließende Reaktion mit Allylbromid sollte nach Isomerisierung der Doppelbindung den notwendigen 1E-Propenyl-Substituenten liefern.



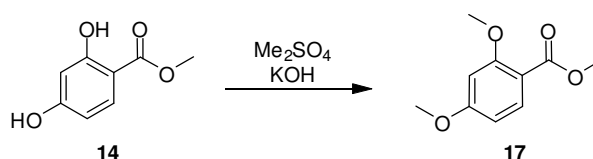
**Schema C-16:** Strategie für die Synthese von 6-(1E-Propenyl)-substituierten Systemen (PG = Schutzgruppe; Y = OH, NR<sub>2</sub> → ortho-dirigierende Gruppe)

Da Benzylether als Schutzgruppen, wie sie in C.2.1 für Synthese von 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (II) verwendet wurden, aufgrund der eigenen Reaktivität für eine Lithiierung nicht geeignet sind, wurde versucht die Lithiierung an Methyl- und später TBDMS-geschützten Substraten durchzuführen.

### C.2.2.1 Synthese via Methylschutzgruppen

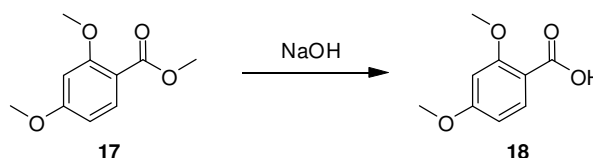
#### Synthese der Substrate sowie Ausführung der Lithierungen

2,4-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**17**) wurde ausgehend von 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester (**14**) synthetisiert. Die alternierende Zugabe von wässriger Kalilauge (10 % KOH) und Dimethylsulfat zu einer Lösung von (**14**) in Aceton ist in [16] beschrieben und lieferte das Produkt mit einer Ausbeute von 81 % (Schema C-17).



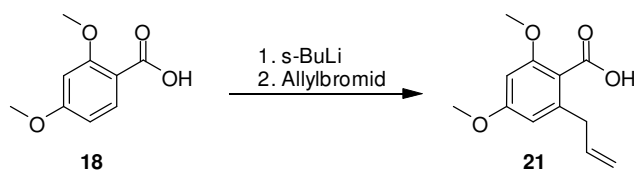
**Schema C-17:** Synthese von 2,4-Dimethoxybenzoesäuremethylester

Durch Hydrolyse des Methylesters (**17**) in einer 1/1 Mischung aus 1N NaOH und Methanol konnte 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**18**) mit einer Ausbeute von 88 % ohne zusätzliche Reinigung erhalten werden (Schema C-18).



**Schema C-18:** Hydrolyse des Methylesters (**17**) zu 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**18**)

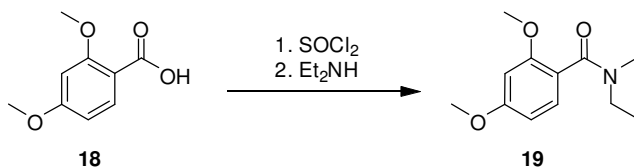
Für die Lithierung von (**18**) und anschließende Umsetzung mit Allylbromid zu 2,4-Dimethoxy-6-(2-propenyl)benzoesäure (**21**) wurde eine in [17] beschriebene Methode verwendet. Die Säure (**18**) wurde in THF bei -90 °C mit 2,2 Äquivalenten *s*-BuLi zuerst deprotoniert und durch den ortho-dirigierenden Effekt des entstandenen Carboxylats in Position 6 lithiiert. Die Zugabe von Allylbromid nach einer Reaktionszeit von etwa 2 Stunden, die anschließende Aufarbeitung und die säulenchromatographische Reinigung des Produkts lieferte (**21**) mit geringer Ausbeute von 44 % (Schema C-19).



**Schema C-19:** Lithiierung von 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**18**) mit s-BuLi zur Synthese von 2,4-Dimethoxy-6-(2-propenyl)benzoesäure (**21**)

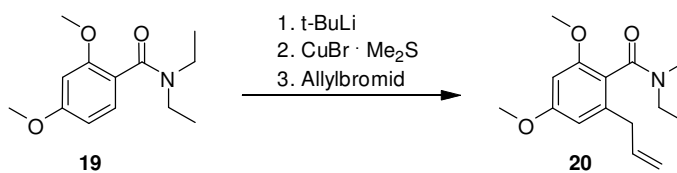
Die geringe Ausbeute lässt sich sowohl durch die schlechte Selektivität der Lithiierung bedingt durch den weiteren ortho-dirigierenden Effekt der beiden Methoxygruppen auf Position 3 als auch durch eine schlechte Gesamtausbeute der Lithiierung bedingt durch Löslichkeitsprobleme des gebildeten Carboxylats begründen. Durch Verwendung von t-BuLi anstelle von s-BuLi als Lithierungsreagens konnte diese nicht erhöht werden.

Um die Gesamtausbeute der Lithiierung zu verbessern wurde ausgehend von 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**18**) das entsprechende Diethylamid (**19**) synthetisiert. Nach Umsetzung von (**18**) mit Thionylchlorid und anschließender Reaktion mit Diethylamin nach [18] sowie säulenchromatographischer Reinigung konnte (**19**) mit einer Ausbeute von 83 % erhalten werden (Schema C-20).



**Schema C-20:** Synthese von N,N-Diethyl-2,4-dimethoxybenzamid

Die Lithiierung des Diethylamids (**19**) und Umsetzung zu N,N-Diethyl-2,4-Dimethoxy-6-(2-propenyl)benzamid (**20**) erfolgte nach [19] mit t-BuLi und anschließender Transmetallierung mit CuBr · Me<sub>2</sub>S in THF sowie Zugabe von Allylbromid (Schema C-21). Die Ausbeute konnte im Vergleich zur Lithiierung der freien Säure (**18**) von 44 % auf 56 % gesteigert werden, die geringe Selektivität blieb allerdings auch hier ein Problem. Das Nebenprodukt mit allylsubstituierter 3-Position konnte per GC/MS nachgewiesen und im Vergleich zu (**20**) quantifiziert werden (23 % bei 56 % (**20**) und angenommener gleicher Ionisierungsausbeute). Um die Selektivität der Lithiierung zu erhöhen, wurden in weiterer Folge TBDMS-geschützte Substrate synthetisiert (siehe Abschnitt C.2.2.2).

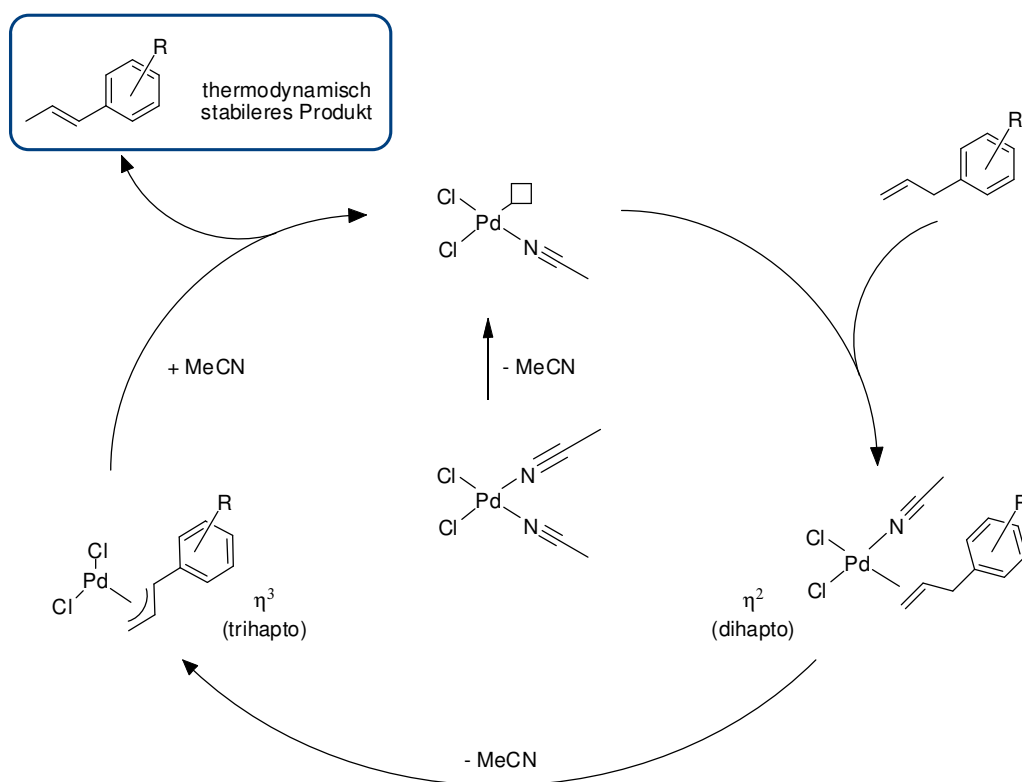


**Schema C-21:** Synthese von N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(2-propenyl)benzamid (**20**) durch Lithiierung von N,N-Diethyl-2,4-dimethoxybenzamid (**19**)

### Isomerisierung der allylsubstituierten Verbindungen

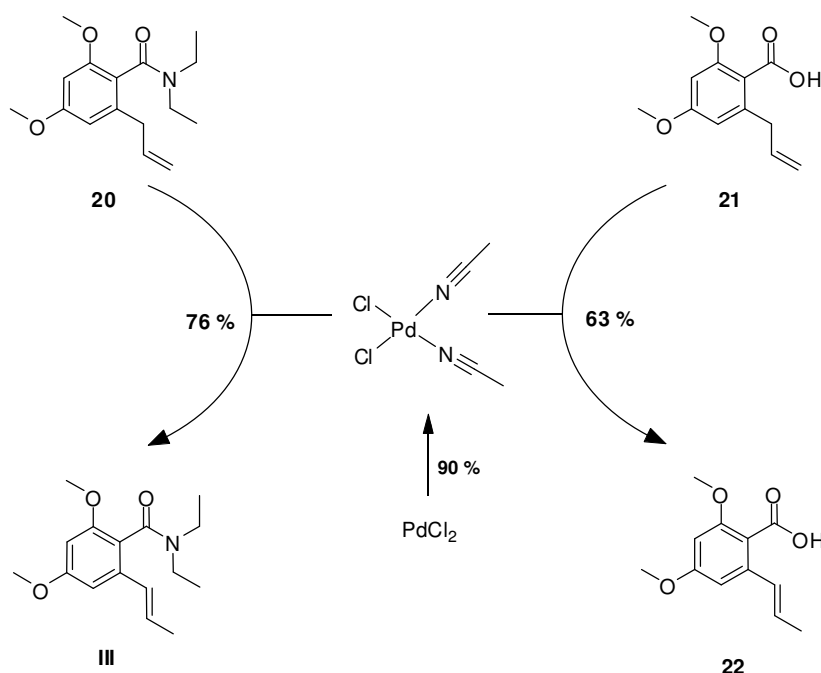
Die Isomerisierung der beiden durch ortho-dirigierte Lithiierung erhaltenen Produkte 2,4-Dimethoxy-6-(2-propenyl)benzoesäure und N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(2-propenyl)benzamid erfolgte katalytisch unter Verwendung von Bis(acetonitril)-palladium(II)chlorid.

Dem Mechanismus der Isomerisierung liegt die Reaktion einer  $\eta^2$ - zu einer  $\eta^3$ -koordinierten Palladiumspezies zu Grunde (Schema C-23). Es entsteht das thermodynamisch stabilere Produkt, in diesem Fall (aufgrund der höheren Konjugation) Verbindungen mit 1-Propenyl-Substituenten.



**Schema C-23:** Mechanismus der [Pd] katalysierten Doppelbindungsisomerisierung (□ = freie Koordinationsstelle)

Durch Umsetzung mit 10 mol% des Katalysators, welcher zuvor aus Palladium(II)chlorid hergestellt wurde, in Ethanol bei Raumtemperatur konnten beide Substrate in guten Ausbeuten isomerisiert werden (Schema C-22). Ein E/Z-Verhältnis von 12/1 wurde im Fall der Isomerisierung von N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(2-propenyl)benzamid (**20**) zu N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzamid per GC/MS ermittelt.



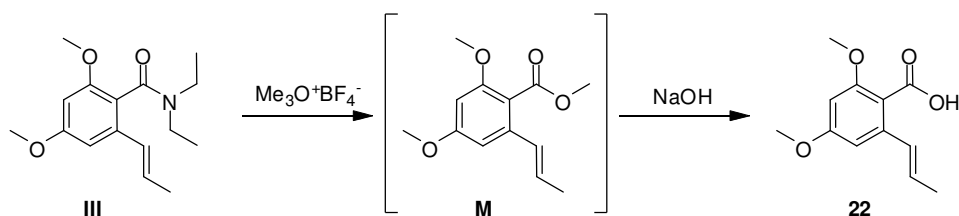
**Schema C-22:** [Pd] katalysierte Isomerisierung von N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(2-propenyl)benzamid (**20**) und 2,4-Dimethoxy-6-(2-propenyl)benzoesäure (**21**)

### Umsetzung der isomerisierten Verbindungen zu 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester

Durch Hydrolyse des Benzamids (**III**) sollte anschließend die Benzoesäure (**22**) erhalten werden. Nach mehreren erfolglosen Versuchen das Amid basisch zu hydrolysieren bzw. zu verseifen, wurde versucht das Produkt durch saure Hydrolyse zu erhalten, doch auch hier konnte keine Reaktion festgestellt werden. In beiden Fällen konnte nur unverbrauchtes Benzamid (**III**) rückgewonnen werden. Die Problematik der Hydrolyse von 2,6-disubstituierten Benzamiden wurde bereits auch von Reitz und Massey [20] beschrieben.

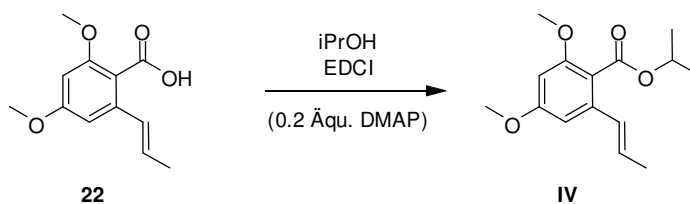
Durch Verwendung des Methylierungsreagens Trimethyloxoniumtetrafluoroborat (Me<sub>3</sub>OBF<sub>4</sub>) ähnlich zur beschriebenen Vorgehensweise in [21] und anschließende

basischer Verseifung mit NaOH konnte schlussendlich ausgehend von N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzamid (**III**) über den Umweg des Methylesters (**M**) die Benzoesäure (**22**) in guter Ausbeute (69 %) erhalten werden (Schema C-24).



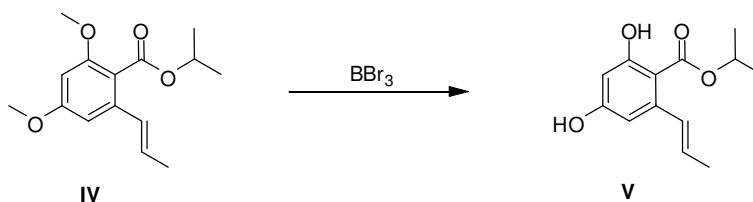
**Schema C-24:** Synthese von 2,4-Dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzoesäure (**22**) aus dem entsprechenden Diethylamid (**III**)

Ausgehend von (**22**) konnte anschließend durch Reaktion mit Isopropanol und EDCI 2,4-Dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (**IV**) mit einer Ausbeute von 83 % erhalten werden (Schema C-25).



**Schema C-25:** Veresterung der Benzoesäure (**22**) zu 2,4-Dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester

Zur Synthese der dritten Modellverbindung 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (**V**) wurden abschließend durch Reaktion mit  $\text{BBr}_3$  (als 1M Lösung in Methylenechlorid) die beiden Methylether analog zu [30] gespalten (Schema C-26) und das Produkt per Säulenchromatographie gereinigt (59 % Ausbeute).



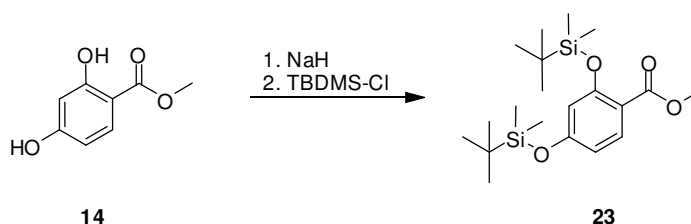
**Schema C-26:** Synthese von 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (**V**) durch Demethylierung von (**IV**) mit  $\text{BBr}_3$

### C.2.2.2 Synthese via TBDMS-Schutzgruppen

#### Synthese der TBDMS-geschützten Dialkylbenzamide

Die schlechten Selektivitäten bei der Lithiierung der Methyl-geschützten Substrate in Abschnitt C.2.2.1 begründeten die Synthese von TBDMS-geschützten Verbindungen, um Lithiierung in Position 3 durch größere sterische Behinderung zu verhindern.

Ausgehend von 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester (**14**) wurde 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzoesäuremethylester (**23**) hergestellt. Durch Deprotonierung mit Natriumhydrid und anschließender Umsetzung mit TBDMS-Cl nach [14] wurde das Produkt nahezu quantitativ (94 %) erhalten (Schema C-27).

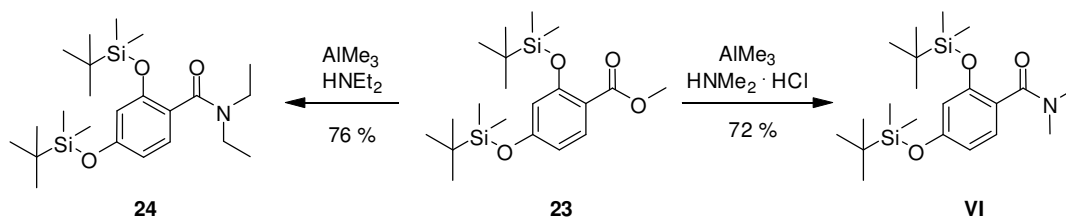


**Schema C-27:** Synthese von 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzoesäuremethylester (**23**)

Aufgrund des doch deutlichen Unterschiedes in der Ausbeute der Lithiierung zwischen 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**18**) und N,N-Diethyl-2,4-dimethoxybenzamid (**19**) wurde im Zuge der TBDMS-geschützten Substrate auf die Lithiierung und somit die Synthese von 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzoesäure verzichtet. Zusätzlich zur Synthese des entsprechenden TBDMS-geschützten Diethylamids wurde allerdings weiters das äquivalente Dimethylamid hergestellt, um die Ausbeute der Lithiierung in Position 6 durch geringere sterische Hinderung im Vergleich zum Diethylamid eventuell erhöhen zu können.

Die beiden Amide (**24**) und (**VI**) wurden ausgehend von 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzoesäuremethylester (**23**) durch Reaktion mit Trimethylaluminium und Diethylamin bzw. Dimethylamin-Hydrochlorid (Schema C-28) analog zur Synthese von Kalivretenos und Stille et al. [22], die diese Synthese interessanterweise für eine der ersten Totalsynthesen von Zearalenon verwendeten, in guten Ausbeuten erhalten.

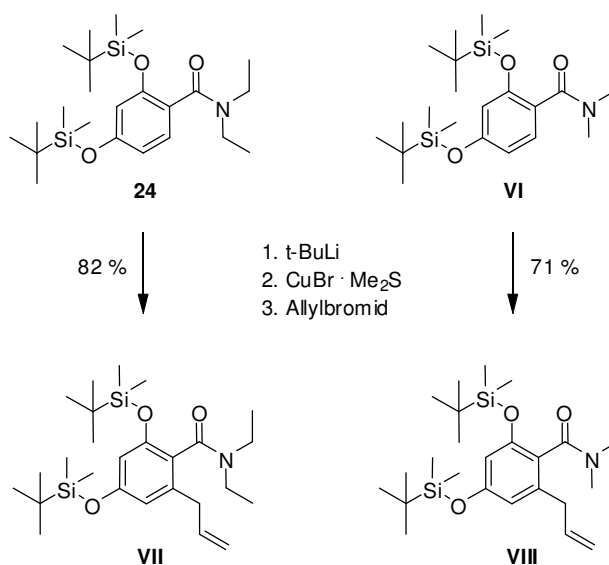




**Schema C-28:** Synthese der TBDMS-geschützten Amide (**24**) und (**VI**)

### Ortho-dirigierte Lithiierung und Transmetallierung

Die beiden Amide (**24**) und (**VI**) wurden analog zu [19] mit  $t\text{-BuLi}$  lithiiert, durch Zugabe von  $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$  transmetalliert und anschließend durch Zugabe von Allylbromid zu den entsprechenden 6-(2-propenyl)-substituierten Amiden (**VII**) und (**VIII**) umgesetzt (Schema C-29).



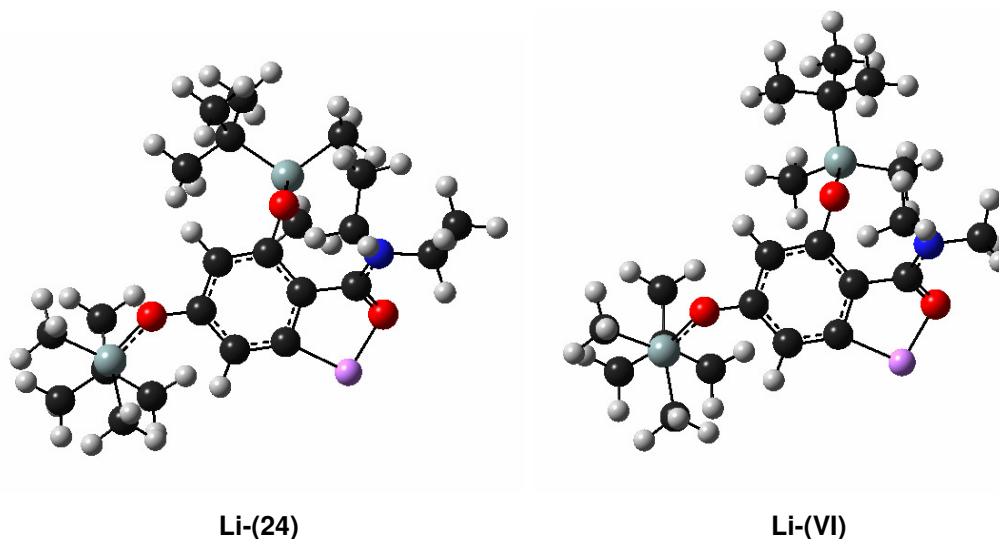
**Schema C-29:** Synthese von 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethyl-6-(2-propenyl)benzamid (**VII**) und 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-dimethyl-6-(2-propenyl)benzamid (**VIII**)

Das entsprechende allylsubstituierte Diethylamid konnte mit einer Ausbeute von 82 % und einer ausgezeichneten Selektivität (kein Nebenprodukt durch Lithiierung in Position 3 per GC/MS nachgewiesen) synthetisiert werden. Im Gegensatz zu den Erwartungen gelang eine weitere Verbesserung der Ausbeute bei der Lithiierung des Dimethylamids nicht. Durch GC/MS-Analyse konnte die schlechtere Selektivität der

Lithiierung im Vergleich zum Diethylamid als Ursache identifiziert werden (20 % an Position 3 substituiertes Nebenprodukt). Gab es anfangs keine Erklärung für dieses Ergebnis, so konnte später mithilfe von theoretischen Berechnungen bzw. Modellierungen ein mögliches Szenario aufgezeigt werden, welches die geringere Selektivität der Lithiierung des Dimethylamids, trotz Verwendung der gleichen Schutzgruppe (TBDMS) erklärt.

**Theoretische Modellierungen** wurden mithilfe der Software **GAUSSIAN 03** durchgeführt. Bei sämtlichen Berechnungen handelt es sich um **DFT**-Kalkulationen (Dichtefunktionaltheorie) unter Verwendung des Beckes 3-Parameter / Lee-Young-Parr Hybridfunktionals (**B3LYP**) und dem **Basissatz 6-31g\*\***.

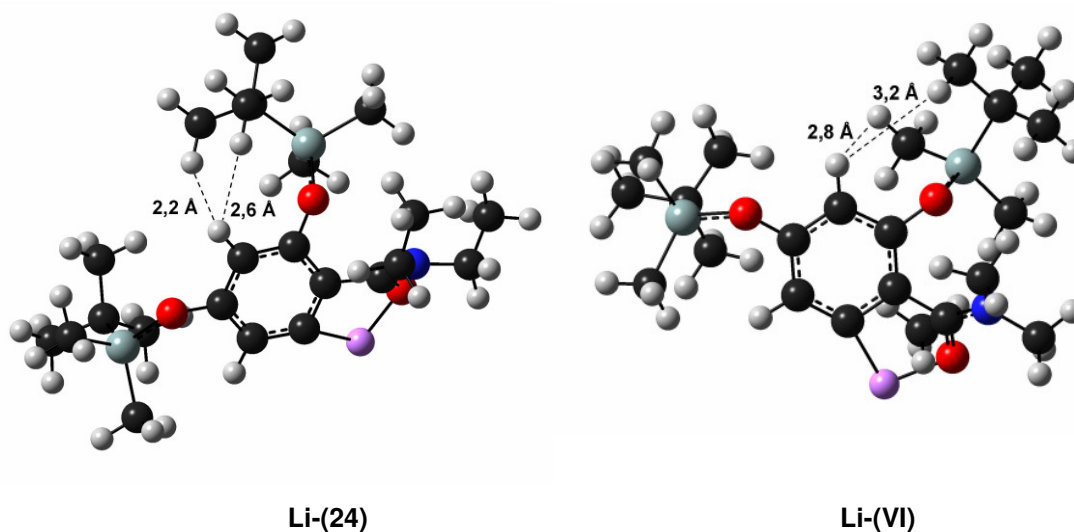
Berücksichtigt man, dass bei der Lithiierung in Position 6 das Sauerstoffatom der Carbonylfunktionalität des Amids die dirigierende Rolle spielt, so können mithilfe von DFT-Berechnungen geometrieoptimierte (d.h. energieminierte) Strukturen der bei der Lithiierung entstehenden Lithiumorganyle berechnet werden (Abbildung C-1).



**Abbildung C-1:** Geometrieoptimierte Strukturen der Lithiumorganyle ausgehend vom TBDMS-geschützten Diethylamid (**24**) bzw. Dimethylamid (**VI**)

Unter anderer Betrachtungsweise ist leicht zu erkennen, dass das Wasserstoffatom in Position 3 im Lithiumorganyl des Diethylamids wesentlich besser abgeschirmt wird, als im Falle des Dimethylamids. Dies ist aufgrund des größeren sterischen Aufwandes der beiden N-Ethylgruppen zu erklären, der sich auf die TBDMS-Gruppe

in Position 2 sozusagen „überträgt“. Abbildung C-2 zeigt eine andere Darstellung der beiden optimierten Strukturen, aus der dieser Sachverhalt leichter zu erkennen ist. Zusätzlich sind die Abstände von H-3 zu den nächsten Atomen der TBDMS-Gruppen eingezeichnet.



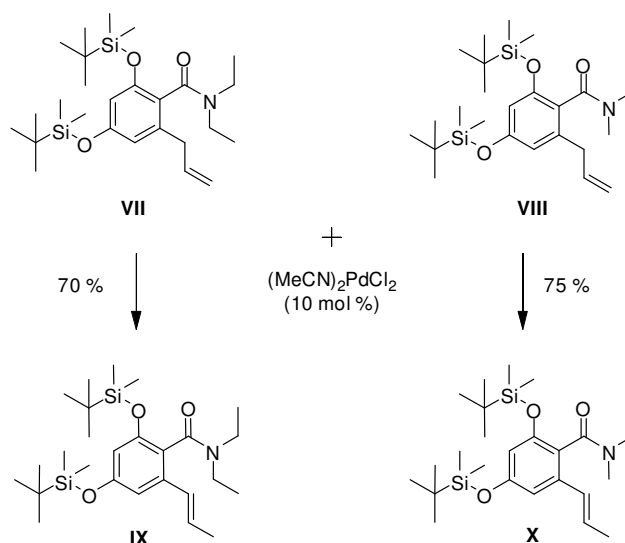
**Abbildung C-2:** Geometrieoptimierte Strukturen der Lithiumorganyle mit den jeweils kleinstmöglichen Abständen zwischen der TBDMS-Gruppe in Position 2 und dem Wasserstoffatom in Position 3 (links: Diethylamid **(24)** - 2,2 Å und 2,6 Å; rechts: Dimethylamid **(VI)** – 2,8 Å und 3,2 Å)

Da es sich bei den betrachteten Strukturen bereits um Lithiumorganyle handelt, kann der eben beschriebene Sachverhalt nur dann eine Auswirkung auf die Selektivität der Reaktion haben, wenn es zu intermolekularen Reaktionen (wie sie z.B. bei Halogenwanderungsreaktionen auftreten) und Austausch von Lithium- bzw. Wasserstoffatomen kommt. Es sei allerdings an dieser Stelle angemerkt, dass für derartige Reaktionen bis dato kein experimenteller Nachweis erhalten wurde bzw. erarbeitet werden konnte. Eine Betrachtung der nicht lithiierten Amide auf ähnliche Art und Weise liefert kein vergleichbares Ergebnis, vor allem da die Drehung um die Bindung zwischen C1 und dem Amidkohlenstoff nicht wie im Lithiumorganyl durch die dirigierende Eigenschaft des Carbonylsauerstoffs unterbunden wird.

Abschließend bleibt nur festzustellen, dass aufgrund praktischer wie auch theoretischer Ergebnisse eine Lithiierung an 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid **(IX)** aufgrund der höheren Ausbeute und besseren Selektivität zu bevorzugen ist.

### Isomerisierung der allylsubstituierten Verbindungen

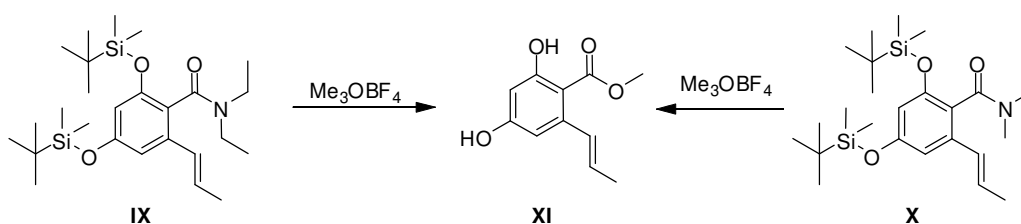
Die durch Lithiierung, Transmetallierung und anschließende Umsetzung mit Allylbromid erhaltenen 6-(2-propenyl)-substituierten Benzamide (**VII**) und (**VIII**) wurden anschließend durch katalytische Isomerisierung mit Bis(acetonitril)palladium(II)chlorid (siehe Abschnitt C.2.2.1) zu den entsprechenden N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-6-(1E-propenyl)benzamidinen (**IX**) und (**X**) umgesetzt (Schema C-30).



**Schema C-30:** Isomerisierung der allylsubstituierten Benzamide (**VII**) und (**VIII**) zu den N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-6-(1E-propenyl)benzamidinen (**IX**) [Alkyl = Ethyl] und (**X**) [Alkyl = Methyl]

### Umsetzung der isomerisierten Verbindungen zu 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester

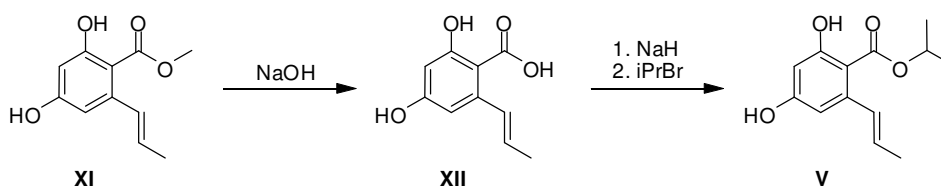
Durch Reaktion von (**IX**) und (**X**) mit Trimethyloxoniumtetrafluoroborat nach [21] konnte in beiden Fällen 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäuremethylester (**XI**) mit einer Ausbeute von 69 % erhalten werden (Schema C-31).



**Schema C-31:** Umsetzung der Benzamide (**IX**) und (**X**) mit dem Meerwein-Salz  $\text{Me}_3\text{OBF}_4$  zu 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäuremethylester (**XI**)

Der erhaltene Methylester (**XI**) wurde anschließend durch Zugabe von 1N NaOH zu einer methanolischen Lösung der Substanz bei 0°C und Erhitzen auf Rückfluß für 30 min weiter zur freien Säure umgesetzt (Schema C-32). Die wässrige Phase wurde mit 1N HCl auf pH 2 angesäuert und mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde weiters mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (5 %) extrahiert und die wässrige Phase anschließend mit 1N HCl erneut auf pH 2 gestellt.

Durch Extraktion mit EtOAc konnte die erhaltene Benzoesäure (**XII**) in ausreichender Reinheit für die darauffolgende Synthese erhalten werden. Durch Deprotonierung mit 1 Äquivalent Natriumhydrid wurde selektiv das Carboxylat generiert, welches durch Reaktion mit Isopropylbromid zu 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (**V**) umgesetzt wurde (Schema C-32).

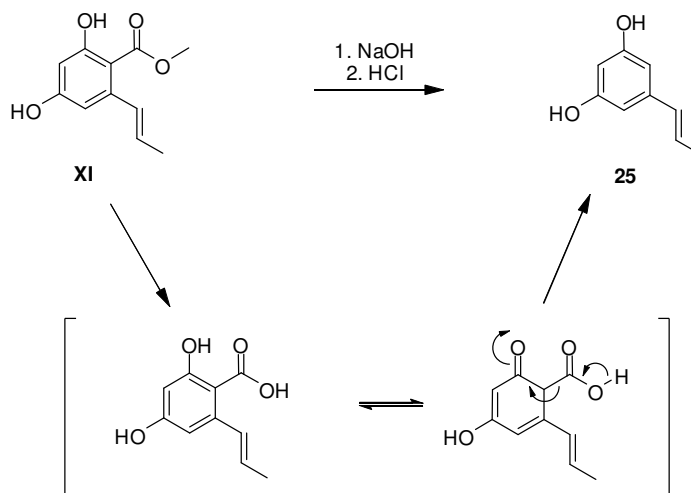


**Schema C-32:** 2-stufige Synthese von 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (**V**) ausgehend vom entsprechenden Methylester (**XI**)

Die Ausbeute der zweistufigen Synthese ist mit 34 % sehr gering, weshalb versucht wurde eventuelle Nebenprodukte beider Reaktionen aus den jeweiligen, während der Aufarbeitung erhaltenen Phasen zu isolieren. Als Hauptprodukt der Hydrolyse, also des ersten Schrittes konnte so die decarboxylierte Substanz 5-(1E-propenyl)resorcin (**25**)<sup>1</sup> identifiziert werden. Da bei der Hydrolyse von 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester (**14**) mit exakt der gleichen Vorgehensweise als Testreaktion nahezu quantitativ die entsprechende Säure (**13**) (2,4-Dihydroxybenzoesäure) erhalten wurde, muss das zusätzliche Vorhandensein des 1E-Propenyl-Substituenten in Position 6 demnach eine entscheidende Rolle bei dieser unerwünschten Nebenreaktion spielen. Ein möglicher Reaktionsmechanismus für die

<sup>1</sup> <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.43-6.35 (m, 2H), 6.31-6.05 (m, 3H), 5.25 (bs, 2H), 1.84 (d, J = 5.1 Hz, 3H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 156.9 (s, 2C), 140.9 (s, 1C), 130.6 (d, 1C), 127.0 (d, 1C), 105.8 (d, 2C), 101.6 (d, 1C), 18.6 (t, 1C) ppm

Decarboxylierung während der Zugabe von 1N HCl nach der Verseifung ist in Schema C-33 dargestellt.

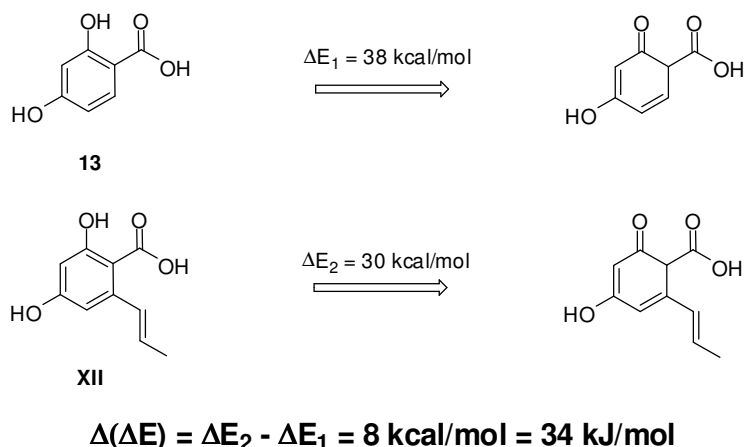


**Schema C-33:** Möglicher Mechanismus für die Decarboxylierung des Methylesters (**XI**)

Der Einfluss des 1E-Propenyl-Substituenten könnte beim entscheidenden Schritt, der Tautomerisierung, bei der die Aromatizität verloren geht, von Bedeutung sein. Aufgrund der zusätzlichen Konjugation könnte diese Tautomerisierung eventuell mit geringerer Aktivierungsenergie erfolgen. Diese Vermutung konnte mithilfe von theoretischen Berechnungen unterstützt werden.

Von den Edukten und Produkten der Tautomerisierung im Fall von 2,4-Dihydroxybenzoesäure (keine Decarboxylierung in der Praxis) und 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäure (Decarboxylierung) wurden geometrieoptimierte Strukturen sowie deren Energieinhalt errechnet (GAUSSIAN 03, DFT, B3LYP, 6-31g\*\*). Die Tautomerisierung verbunden mit Verlust der Aromatizität ist aufgrund der erhaltenen Ergebnisse eine stark endotherme Reaktion, weshalb aufgrund des Hammond-Postulats [23] ein Übergangszustand dieser Reaktion in seiner Struktur und Energie dem Produkt (nicht aromatisches Tautomer) ähnelt.

Durch Berechnung der Energiedifferenz aus Edukt und Produkt der Tautomerisierung kann so ein charakteristischer Wert für diese Reaktion erhalten werden. Die Differenz dieser Werte für beide modellierten Reaktionen sollte einen klaren Unterschied zeigen, um das Problem der Decarboxylierung beschreiben zu können. Schema C-34 zeigt die erhaltenen Ergebnisse.

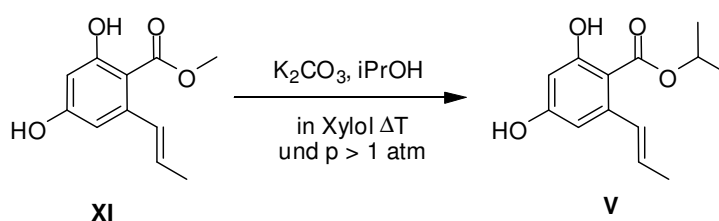


**Schema C-34:** Modellierung der Tautomerisierung von 2,4-Dihydroxybenzoesäure, sowie dem 6-(1E-propenyl)-substituierten Analogon

Ein Unterschied von 8 kcal/mol bzw. 34 kJ/mol zwischen den beiden Tautomerisierungen zu Gunsten des 6-(1E-Propenyl)-substituierten Substrats (**XII**) unterstützt die Theorie, dass die Aromatizität bei zusätzlicher Konjugation in (**XII**) einfacher aufgehoben werden kann als bei nichtsubstituierten Systemen.

Takeya et al. konnten auch bei der enzymatischen Esterspaltung des Makrolids Zearalenon eine spontane Decarboxylierung feststellen [31].

Um dieses Problem zu umgehen, konnte 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (**V**) durch Umesterung direkt aus dem entsprechenden Methylester (**XI**) erhalten werden. Erhitzen auf Rückfluß für 48h in einer Mischung aus Xylol und Isopropanol (1/1) in einem druckfesten und dichten Gefäß, katalysiert durch Zugabe von Kaliumcarbonat, lieferte (**V**) mit einer Ausbeute von 55 % (Schema C-35).



**Schema C-35:** Umesterung von 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäuremethylester (**XI**) zum entsprechenden Isopropylester (**V**)

## C.2.3 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-(S)-2-butylester

### C.2.3.1 Allgemeines und retrosynthetischer Ansatz

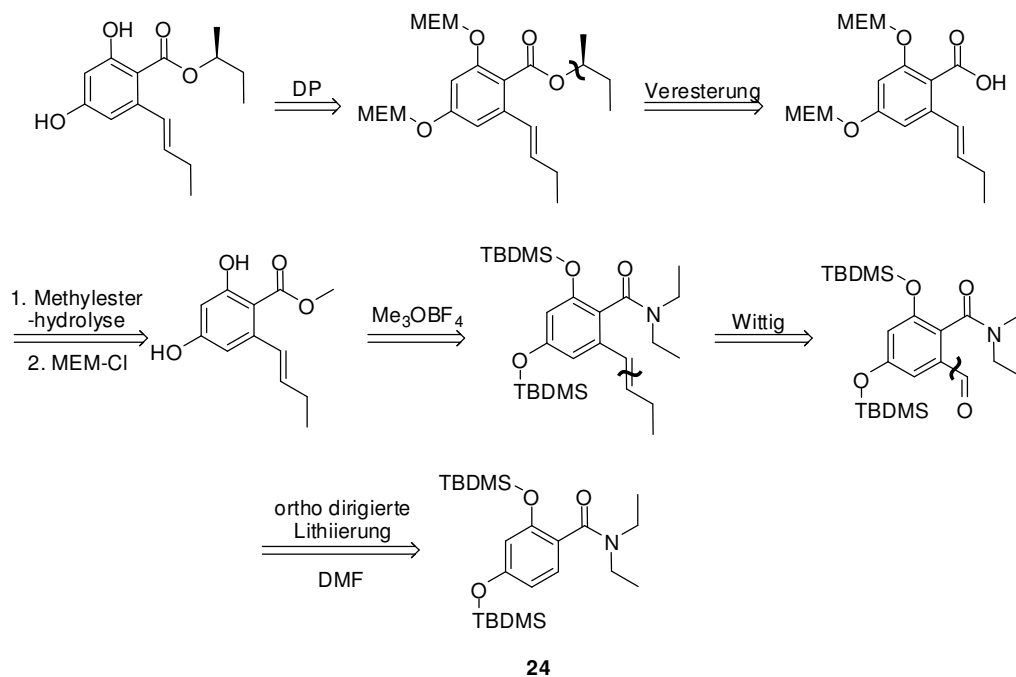
Die Synthese dieser Modellverbindung resultierte aus dem Interesse an einer noch besseren Beschreibung des Zearalenons aufgrund von erhaltenen Ergebnissen, welche im folgenden Abschnitt (C.3 O-Glucuronidierung) diskutiert werden.

Die Strategie zur Synthese dieser Modellverbindung ergab sich aus den Ergebnissen aus Abschnitt C.2.2. Der retrosynthetische Ansatz für die Synthese von 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-(S)-2-butylester ist in Schema C-36 ersichtlich. Als Ausgangsverbindung wurde die bereits synthetisierte Verbindung 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid (**24**) erhalten. Aufgrund der Ergebnisse aus C.2.2 ist dieses Substrat am besten für die ortho-dirigierte Lithiierung geeignet.

Der Umweg über MEM-Schutzgruppen ergab sich als sinnvoll, da die Hydrolyse von 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäuremethylester zur entsprechenden Benzoesäure aufgrund des in C.2.2 beschriebenen Problems mit der Decarboxylierung solcher Systeme als nicht sehr vielversprechend angesehen wurde.

Um das asymmetrische Zentrum stereoselektiv einführen zu können, sollte ausgehend von R-2-Butanol das Tosylat synthetisiert werden, welches in einer S<sub>N</sub>2-Reaktion mit dem entsprechenden Carboxylat unter Inversion zum (S)-2-Butylester reagieren sollte.



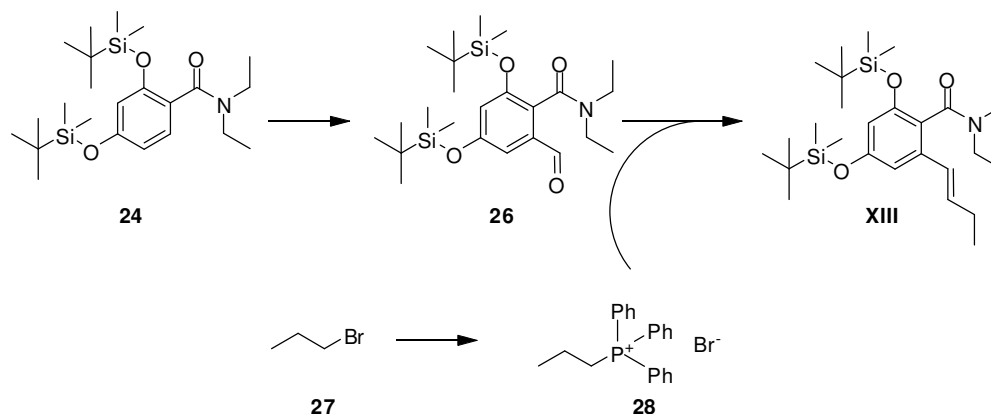


**Schema C-36:** Retrosynthetischer Ansatz für die Synthese von 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoessäure-(S)-2-butylester (DP = Deprotection, Abspaltung der MEM-Schutzgruppen)

### C.2.3.2 Ortho-dirigierte Lithiierung und Wittig-Schlosser-Synthese

Ausgehend von 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid (**24**) wurde durch Lithiierung mit t-BuLi und anschließende Umsetzung mit DMF analog zur Vorgehensweise in [24] (Schema C-37) nach säulenchromatographischer Reinigung 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethyl-6-formylbenzamid (**26**) mit einer Ausbeute von 73 % erhalten.

Durch eine Wittig-Schlosser-Synthese nach [25] unter Verwendung von zuvor hergestelltem Triphenylpropylphosphoniumbromid wurde 6-(1E-Butenyl)-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid (**XIII**) mit einer Ausbeute von 71 % erhalten (Schema C-37).



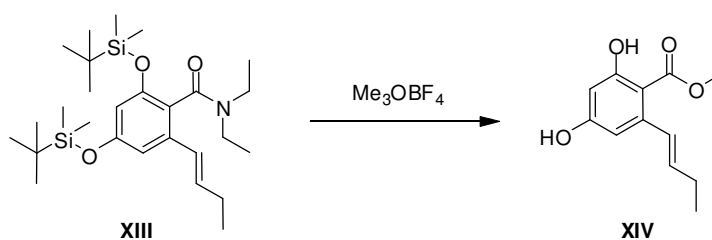
**Schema C-37:** Synthese von 6-(1E-Butenyl)-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid (**XIII**) durch ortho-dirigierte Lithiierung und anschließende Wittig-Schlosser-Reaktion

Die ursprünglich geplante Umsetzung von (**26**) mit (**28**) unter klassischen Wittig-Bedingungen (Deprotonieren des Phosphoniumsalzes mit *n*-BuLi und Umsetzung des Ylids/Ylens mit dem entsprechenden Aldehyd) führte zu einer ~1/1 Mischung an Z und E Isomer des Produktes (**XIII**).

Die Schlosser-Variante ist eine trans-selektive Modifikation der Wittig-Reaktion. Durch gezielte Synthese unter Verwendung von Phenyllithium und Lithiumbromid werden  $\alpha$ -lithiierte Betaine in situ erzeugt, welche im Zuge einer Gleichgewichtsreaktion vorwiegend E-konfigurierte Produkte liefern [25]. Mithilfe dieser Methode konnte das E/Z-Verhältnis auf 4/1 erhöht und die säulenchromatographische Trennung der beiden Produkte erleichtert werden. Die Aubeute an E Isomer betrug 71 %.

### Umsetzung mit $\text{Me}_3\text{OBF}_4$ und Einführung der MEM-Schutzgruppen

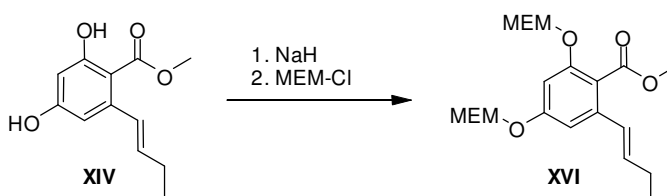
Durch erneute Verwendung von Trimethyloxoniumtetrafluoroborat konnte ausgehend von (**XIII**) mit einer Ausbeute von 70 % 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäuremethylester (**XIV**) erhalten werden (Schema C-38).



**Schema C-38:** Synthese von 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäuremethylester (**XIV**)

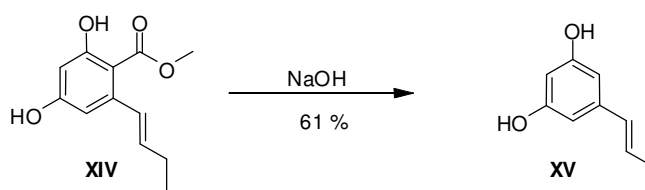
Hydrolyse des Methylesters (**XIV**) lieferte nur das decarboxylierte Produkt 5-(1E-Butenyl)resorcin (**XV**). Dieses Problem wurde daher durch die Verwendung von MEM-Schutzgruppen umgangen.

Durch Deprotonierung mit Natriumhydrid und Umsetzung mit MEM-Cl nach [22] konnte in weiterer Folge 6-(1E-Butenyl)-2,4-bis((2-methoxyethoxy)methoxy)benzoesäuremethylester (**XVI**) mit einer Ausbeute von 58 % synthetisiert werden (Schema C-39).



**Schema C-39:** Einführung der MEM-Schutzgruppen

Die Verwendung der Schutzgruppen konnte durch einen Hydrolyseversuch des Methylesters (**XIV**) mit NaOH (Zugabe bei 0 °C und Erhitzen auf Rückfluß für 30 Minuten) gerechtfertigt werden, da bei dieser Reaktion ausschließlich das decarboxylierte Produkt (**XV**) entstanden ist (Schema C-40).

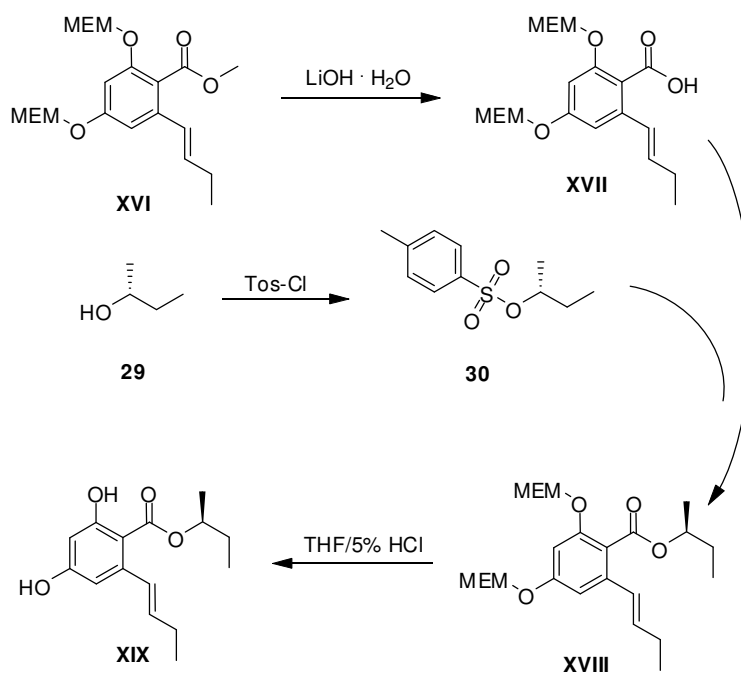


**Schema C-40:** Unerwünschte Decarboxylierung bei der Hydrolyse des Methylesters (**XIV**)

### Einführung des (S)-2-Butylesters und Abspaltung der Schutzgruppen

Durch Hydrolyse des MEM-geschützten Methylesters (**XVI**) mit Lithiumhydroxid-Monohydrat in einer Mischung aus THF, Methanol und Wasser im Verhältnis 2:1:1 konnte analog zur Vorgehensweise in [22] die MEM-geschützte Säure erhalten werden. Diese wurde ohne weitere Reinigung direkt mit DBU deprotoniert und mit –(R)-2-Butyltosylat (**30**), welches zuvor aus (R)-2-Butanol (**29**) und Tosylchlorid (Tos-Cl) nach [32] hergestellt wurde, versetzt. Der nach S<sub>N</sub>2-Reaktion erhaltene (S)-2-Butylester (**XVIII**) wurde direkt nach Aufarbeitung der Reaktionsmischung in einer 2:1

Mischung von THF und verdünnter Salzsäure (5 %) aufgenommen und 7 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Per GC/MS wurde die Abspaltung der MEM-Schutzgruppen verfolgt und so konnte schlussendlich 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-(S)-2-butylester (**XIX**) mit einer Ausbeute von 35 % (über 3 Stufen) erhalten werden (Schema C-41).

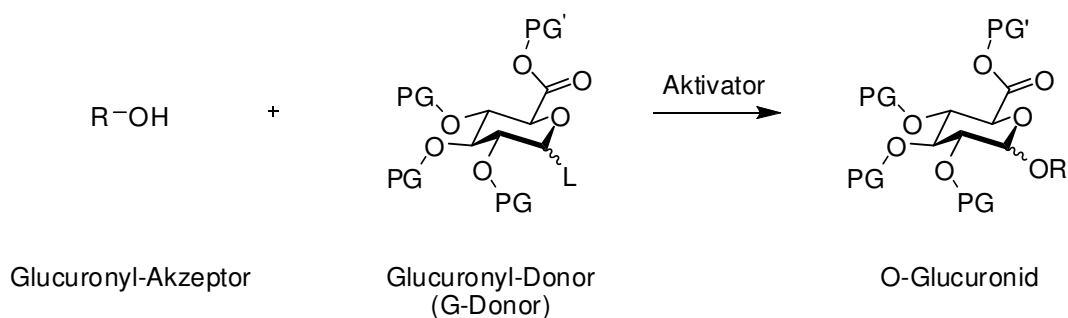


**Schema C-41:** Synthese des 2S-Butylesters (**XVIII**) und anschließende Abspaltung der MEM-Schutzgruppen zu 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-2S-butylester (**XIX**)

## C.3 O-Glucuronidierung – Screening und Optimierung

### C.3.1 Allgemeines und Übersicht

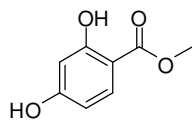
Bei der O-Glucuronidierung (in Folge kurz Glucuronidierung genannt) handelt es sich wie schon in Abschnitt B.2 erwähnt um die Reaktion eines Glucuronyl-Donors mit einem Glucuronyl-Akzeptor (Schema C-42).



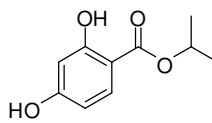
**Schema C-42:** O-Glucuronidierung (PG = Protective Group, Schutzgruppe; L = Abgangsgruppe)

Schema C-1 in Abschnitt C.1.1 zeigt eine Übersicht aller gängigen G-Donoren und die dazugehörige Methode. Im Rahmen dieser Arbeit wurden diese Methoden an den Verbindungen **(14)** und **(II)** stellvertretend für Zearalenon gescreent und wenn möglich optimiert. Die Methode der Wahl wurde anschließend an der genaueren Modellverbindung **(V)** im Hinblick auf die Glucuronidierung von Zearalenon getestet. Schema C-43 zeigt eine Übersicht aller Substanzen, die für das Screening und die Optimierung der einzelnen Methoden verwendet wurden.

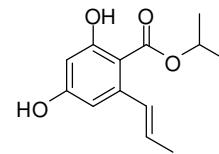
**Modellverbindungen  
(Glucuronyl-Akzeptoren)**



14

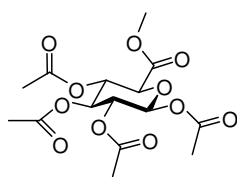


II

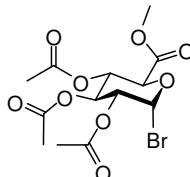


V

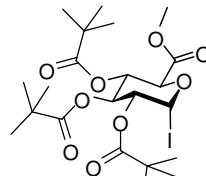
**Glucuronyl-Donoren**



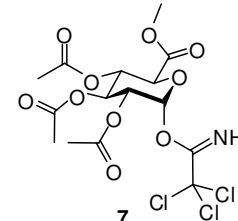
4



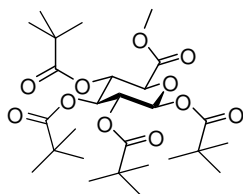
5



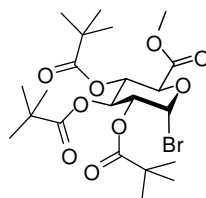
9



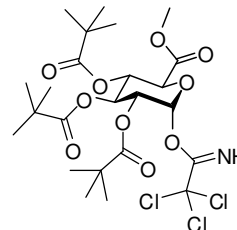
7



8



10



12

Lewis-Säure  
Methode

Königs-Knorr  
Methode

Iodozucker  
Methode

Trichloracetimidat  
Methode

**Schema C-43:** Alle für das Screening herangezogene G-Donoren und Modellverbindungen

Anhand des Screenings und der Optimierung sollte zusätzlich die Regioselektivität der einzelnen Methoden untersucht werden.

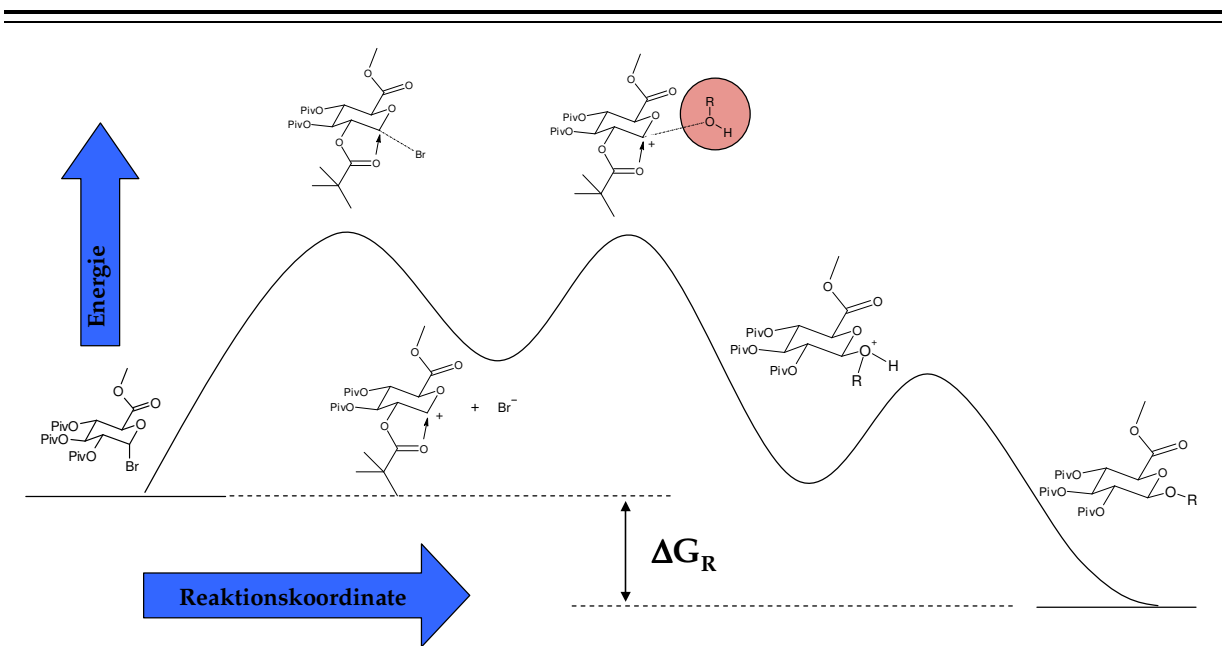
## C.3.2 Regioselektivität der Glucuronidierung

### C.3.2.1 Mechanistische Überlegungen

Grundsätzlich handelt es sich bei der Glucuronidierung um eine nucleophile Substitution, bei der die Abgangsgruppe am anomeren Zentrum des G-Donors je nach Methode variiert.

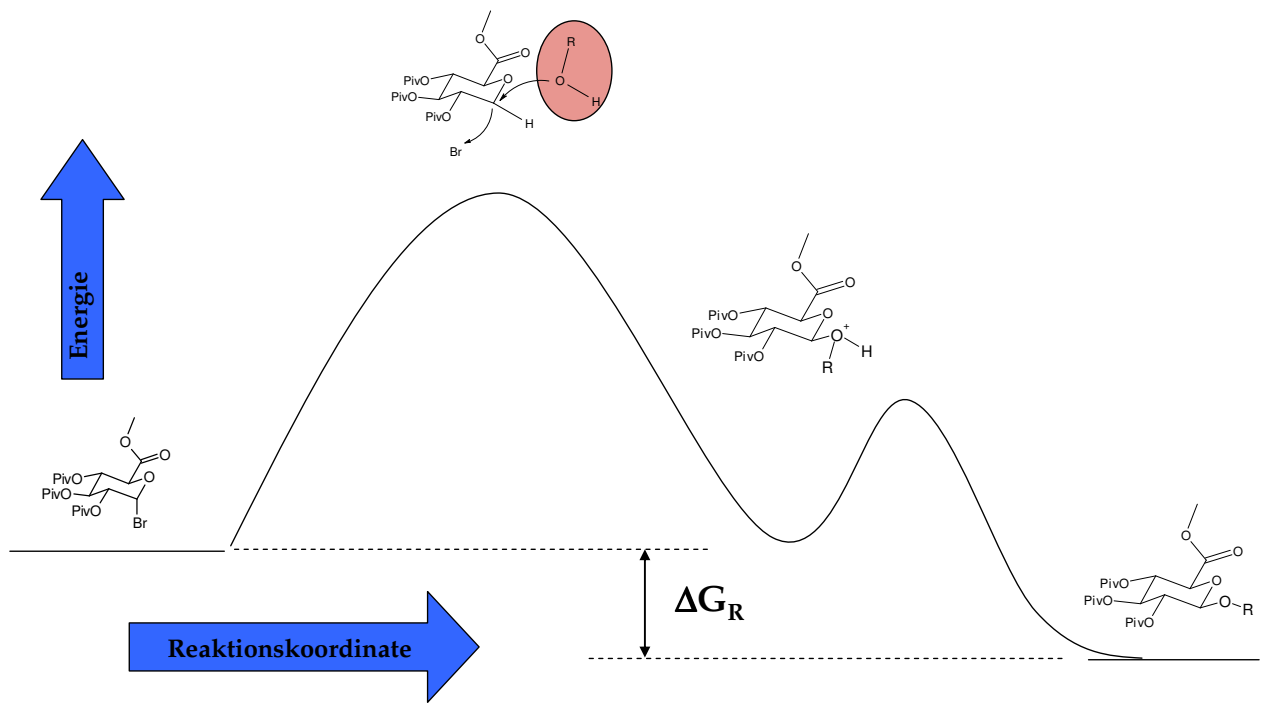
Die Unterscheidung zwischen unimolekularer und bimolekularer Substitution ist jedoch aufgrund unterschiedlichster experimenteller Ergebnisse [1] schwierig.

Die Abbildungen C-3 und C-4 zeigen vorgeschlagene Abläufe der Glucuronidierung mit  $S_N1$ - bzw.  $S_N2$ -Mechanismus anhand eines Pivaloyl-geschützten Bromozuckers.



**Abbildung C-3:** Ablauf der Glucuronidierung mit  $S_N1$ -Mechanismus ( $\Delta G_R$  = freie Reaktionsenthalpie)

Der entscheidende und auch geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei einem Ablauf mit  $S_N1$ -Mechanismus ist die Dissoziation der Abgangsgruppe vom Substrat. Diese wird, wie in Abbildung C-3 angedeutet, durch einen zusätzlichen Nachbargruppeneffekt der Pivaloylgruppe am Kohlenstoffatom C-2 unterstützt. Dieser auch als anchimer bezeichneter Effekt wird in Abschnitt C.3.3 näher betrachtet und beschrieben.



**Abbildung C-4:** Ablauf der Glucuronidierung mit  $S_N2$ -Mechanismus ( $\Delta G_R$  = freie Reaktionsenthalpie)

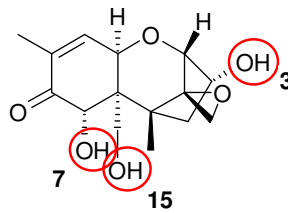
Bei einem Ablauf mit  $S_N2$ -Mechanismus hängt die Reaktionsgeschwindigkeit von den Konzentrationen des G-Donors und des Nucleophils (G-Akzeptor) ab. Mit zunehmender Nucleophilie des G-Akzeptors steigt die Wahrscheinlichkeit für einen Ablauf mit  $S_N2$ -Mechanismus.

Aufgrund der schlechteren Nucleophilie eines Phenols im Vergleich zu einem (primären oder sekundären) Alkohol wurde für die Synthese der Glucuronide ausgehend von den Modellsubstanzen (2,4-Dihydroxybenzoesäureester) und Zearalenon ein  $S_N1$ -Mechanismus angenommen.

### C.3.2.2 Theoretische Modellierung

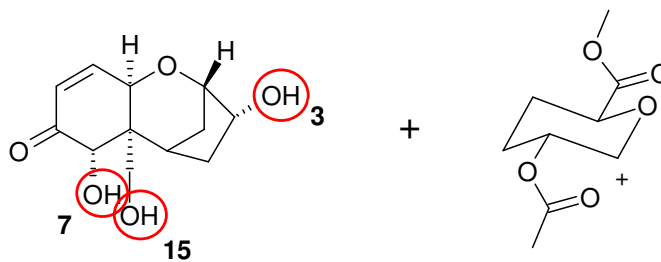
Um ein mögliches regioselektives Verhalten der Glucuronidierung an Zearalenon abschätzen zu können, wurden theoretische Methoden und das Mykotoxin Deoxynivalenol (DON) herangezogen. Deoxynivalenol besitzt 3 G-Akzeptoren (OH-Gruppen) für eine mögliche Reaktion (Schema C-44). Die 7-OH-Gruppe ist in der Literatur [28] als unreaktiv für viele Reaktionen bekannt, darunter auch nucleophilen Angriff.





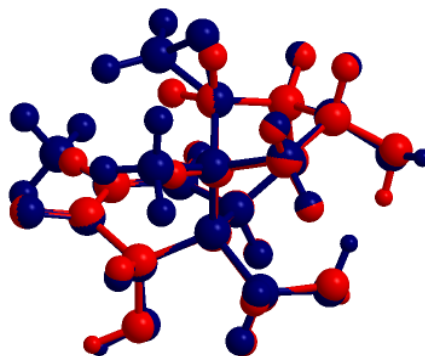
**Schema C-44:** Deoxynivalenol – 3 mögliche Glucuronyl-Akzeptoren

Es wurde nun versucht, auch auf theoretischem Weg durch Berechnung der geometrieoptimierten Strukturen der möglichen Produkte einer Glucuronidierung von Deoxynivalenol dieses Ergebnis zu erhalten. Um die Rechenzeit und den Aufwand entscheidend zu verringern, wurden nicht die exakten Strukturen von Deoxynivalenol und des G-Donors verwendet, sondern virtuelle Modellstrukturen für die Kupplung (Glucuronidierung) erstellt (Schema C-45).



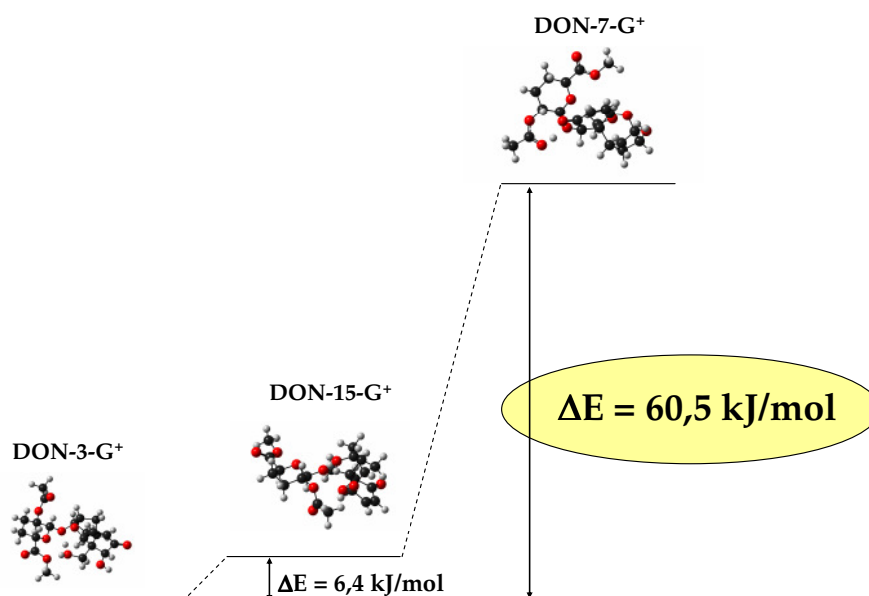
**Schema C-45:** Vereinfachte Strukturen für Deoxynivalenol und G-Donor

Durch „Structure Overlay“ Berechnungen kann der Unterschied vor allem zwischen der virtuellen Modellstruktur von Deoxynivalenol (DON) und dem Mykotoxin selbst als verschwindend gering dargestellt werden (Abbildung C-5).



**Abbildung C-5:** Structure Overlay von Deoxynivalenol (blau) und dem DON-Modell (rot)

Es wurden nun die geometrieoptimierten (und energieminierten) Strukturen der Produkte (formal Oxonium-Intermediate) dieser virtuellen Reaktion berechnet (Abbildung C-6).

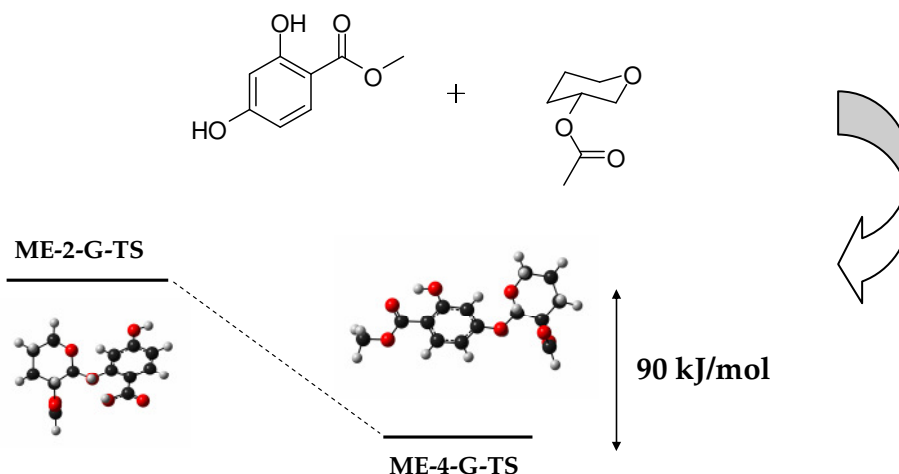


**Abbildung C-6:** Vergleich der Energiewerte der erhaltenen Strukturen für die unterschiedlichen Produkte (Oxoniumion-Intermediate) der Kupplung von DON-Modell und G-Donor-Modell

Der Energieinhalt eines möglichen Produktes, verknüpft am Sauerstoffatom O-7 liegt um 60,5 kJ/mol höher, das bedeutet dass die Stabilität dieses Produktes um ein Vielfaches geringer ist, als die beiden an Position 3 bzw. 15 verknüpften Produkte.

Diese Strategie wurde anschließend auch auf das Mykotoxin Zearalenon angewendet. Es wurden Strukturen der Produkte einer Kupplung von ZON (unverändert bzw. nicht vereinfacht) und des G-Donor-Modells berechnet. Die Energie des Oxoniumion-Intermediats verknüpft an Position 2 liegt um 148 kJ/mol niedriger als bei einer Verknüpfung in Position 4. Dieser doch hohe Unterschied und die ursprüngliche Erwartung einer bevorzugten Kupplung in Position 4 veranlasste die Berechnung und den Vergleich der tatsächlichen Produkte (durch zusätzliche Abstraktion eines Protons vom Oxoniumion-Intermediat). Diese Berechnungen ergaben eine um 35 kJ/mol niedrigere Energie für das in Position 4 gekuppelte Produkt. Es wurden also aufgrund diverser Berechnungen zwei unterschiedliche Aussagen erhalten. Um dieses Problem zu lösen, ist es nach zahlreichen Versuchen schlussendlich gelungen zwei Übergangszustände für die Reaktion eines sehr

vereinfachten G-Donor-Modells und einer Modellverbindung für Zearalenon zu berechnen. Die Ergebnisse sind in Abbildung C-7 dargestellt. Die Berechnung von Übergangszuständen liefert klarerweise aussagekräftigere Ergebnisse, jedoch ist ein unvergleichbar höherer Rechenaufwand nötig um diese zu erhalten.

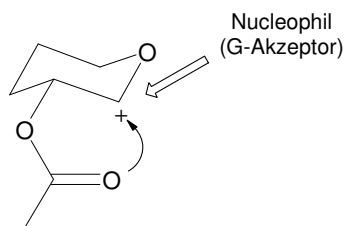


**Abbildung C-7:** Energieunterschied der beiden berechneten Übergangszustände (ME = 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester)

Aufgrund eines Unterschiedes von 90 kJ/mol zu Gunsten des in Position 4 verknüpften Produktes dürfte eine Glucuronidierung diverser Substrate nur in dieser Position stattfinden.

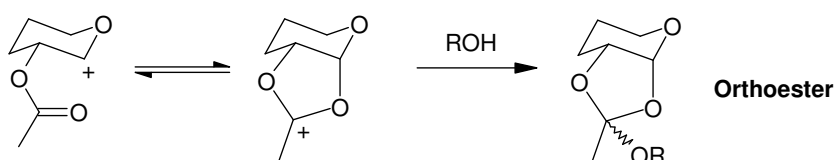
### C.3.3 Der anchimere Effekt – Stereoselektivität der Glucuronidierung

Wie schon in Abschnitt B.2 erwähnt, liegt größeres Interesse an der Synthese von  $\beta$ -Glucuroniden. Diese können dank eines anchimeren Effektes der Acetyl- bzw. Pivaloyl-Schutzgruppe am Kohlenstoffatom C-2 mit ausgezeichneten Selektivitäten synthetisiert werden (Schema C-46). Der Diastereomerenüberschuss (de, diastereomeric excess) liegt oft bei über 95 % [1]. Dies ist auch der Grund, warum als Schutzgruppen oft ausschließlich Acetyl- und Pivaloyl-Gruppen verwendet werden. Durch Stabilisierung der Carbokation-Spezies am anomeren Zentrum durch den Carbonyl-Sauerstoff der Schutzgruppe kann die  $\alpha$ -Position sozusagen blockiert werden, weshalb das Nucleophil bzw. der Glucuronyl-Akzeptor nur aus  $\beta$ -Richtung an das anomere Zentrum binden kann.



**Schema C-46:** Anchimerer Effekt zur stereoselektiven Synthese von  $\beta$ -Glucuroniden

Ein Nachteil dieses Nachbargruppeneffekts ist die Bildung von Orthoestern als Nebenprodukte (Schema C-47). Dies tritt meist bei der Verwendung der besser hydrolysierbaren Acetyl-Schutzgruppen auf, weshalb in diesen Fällen oft die sterisch anspruchsvollere Pivaloyl-Schutzgruppe verwendet wird.



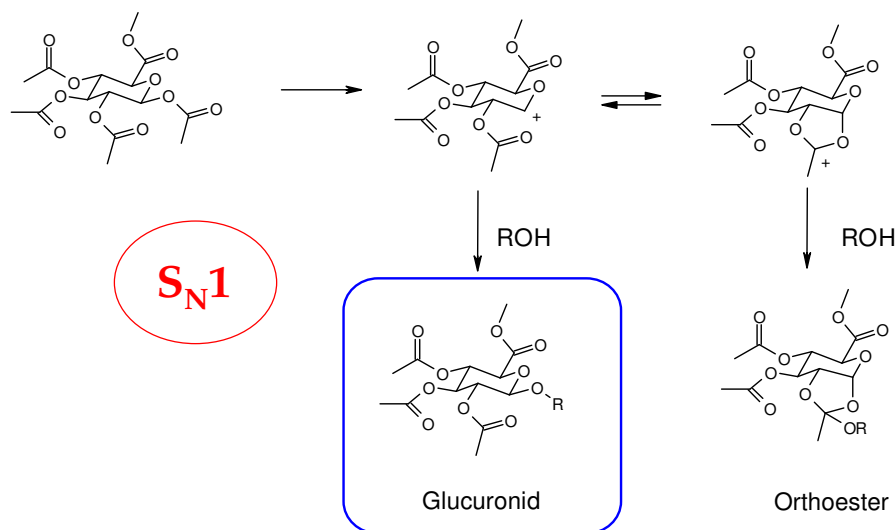
**Schema C-47:** Orthoester-Problem bei Acetyl-Schutzgruppen

## C.3.4 Lewis-Säure-Methode

### C.3.4.1 Allgemeines

Bei der Lewis-Säure-Methode werden tetraacetylierte bzw. tetrapivaloierete Glucuronyl-Donoren verwendet. Die Esterfunktionalität am anomeren Zentrum wird durch Zugabe einer Lewis-Säure (oft überäquimolar) aktiviert bzw. gespalten und dadurch eine Carbokation-Spezies erzeugt, welche im Anschluss mit dem jeweiligen Glucuronyl-Akzeptor das (geschützte) Glucuronid bildet (Schema C-48). Diese Reaktion läuft ausschließlich mit einem  $S_N1$ -Mechanismus ab. In Schema C-48 ist weiters erneut die Orthoester-Problematik aufgezeigt.

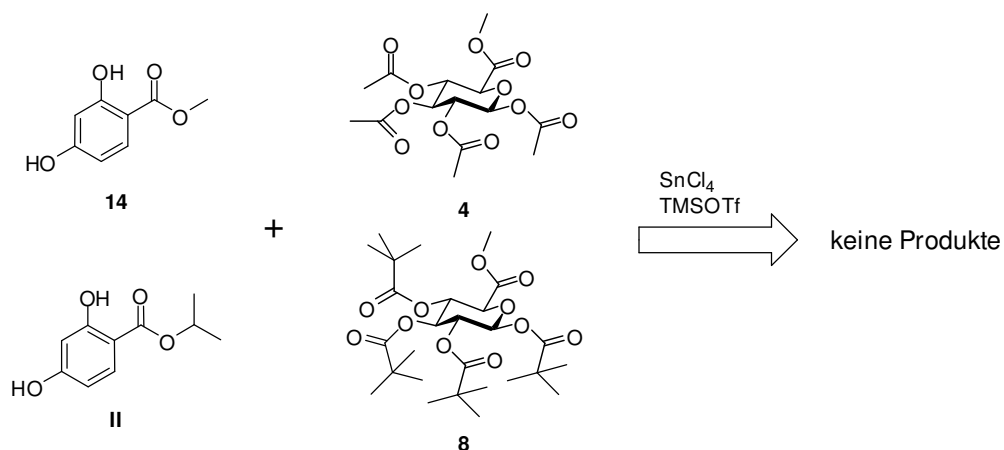
Als Lewis-Säuren werden vorwiegend Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester (TMSOTf) und Zinn(IV)chlorid ( $\text{SnCl}_4$ ) verwendet, doch auch Methoden in geschmolzenem Zinkchlorid wurden entwickelt, setzen allerdings eine sehr hohe Temperaturbeständigkeit des Glucuronyl-Akzeptors voraus.



Schema C-48: Lewis-Säure-Methode (inklusive Orthoester-Problem)

### C.3.4.2 Vorversuche

Ausgehend von den Modellverbindungen (**14**) und (**II**) sowie den G-Donoren (**4**) und (**8**) (Schema C-49) wurden mehrere Vorversuche analog zur Vorgehensweise in [26] mit den Lewis-Säuren  $\text{SnCl}_4$  und TMSOTf durchgeführt. Es konnte jedoch in keinem Fall ein Produkt isoliert oder nachgewiesen werden.



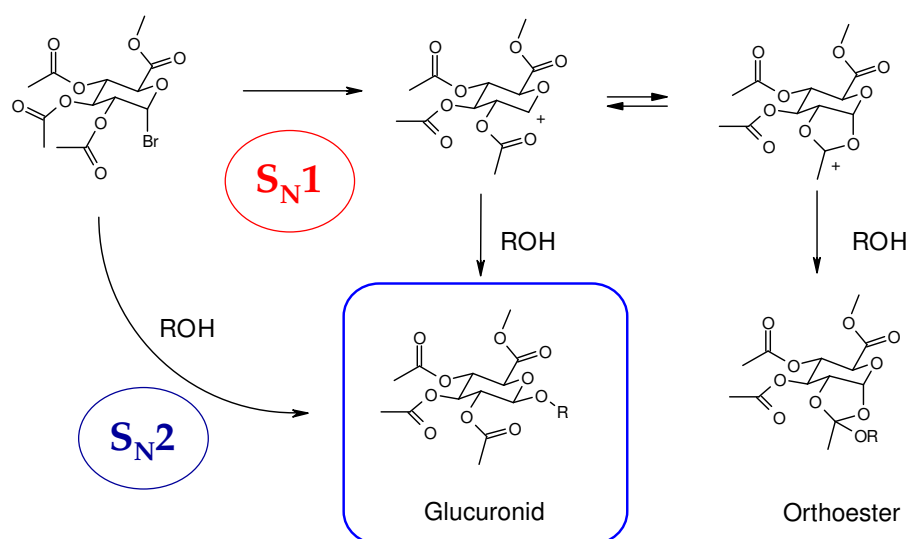
Schema C-49: Vorversuche zur Lewis-Säure-Methode

Eine Erhöhung der Menge an G-Donor von einem auf zwei Äquivalente brachte ebenfalls kein brauchbares Ergebnis, weshalb auf eine weitere „Optimierung“ verzichtet wurde.

## C.3.5 Königs-Knorr-Methode

### C.3.5.1 Allgemeines

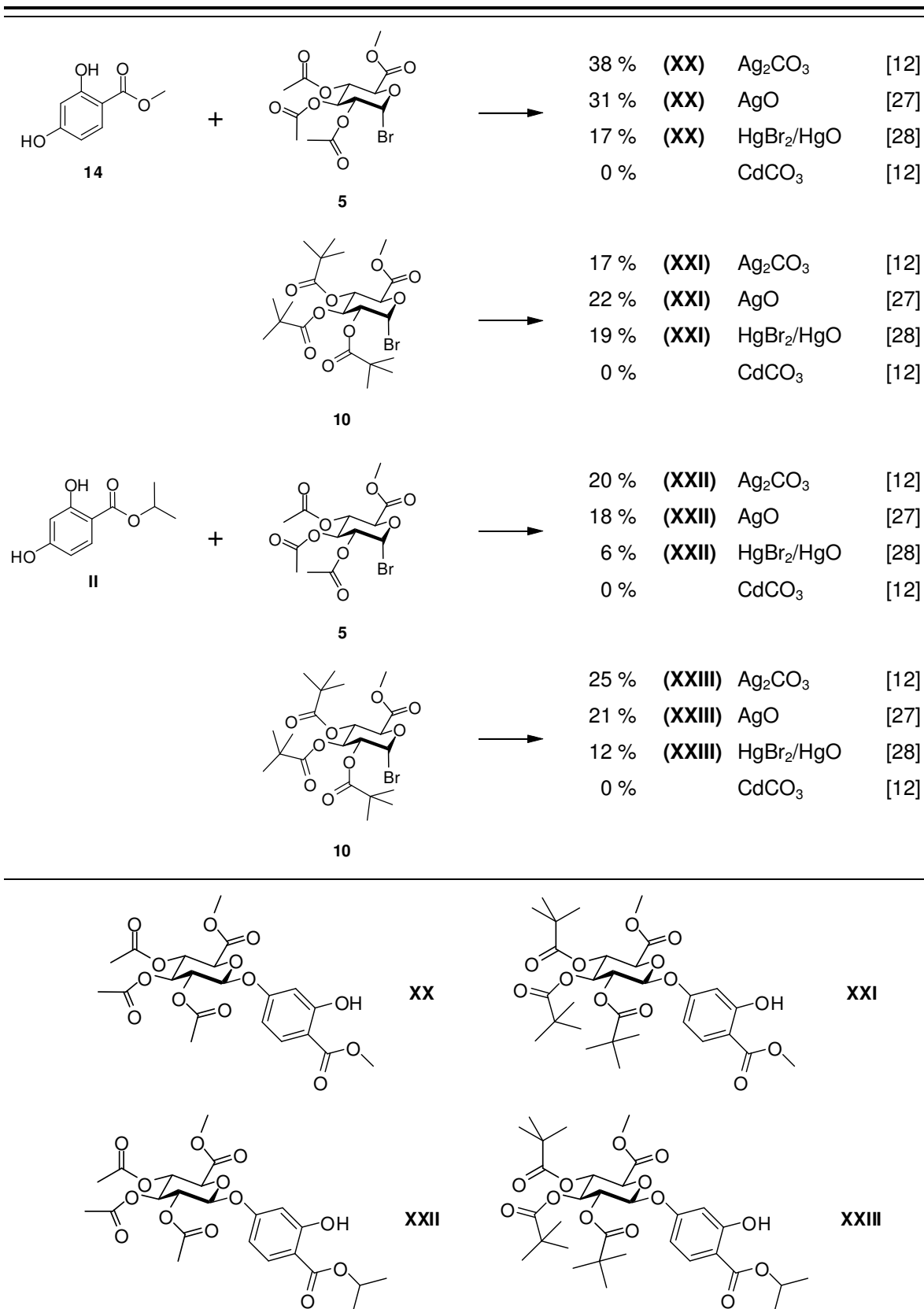
Bei der Königs-Knorr-Methode werden Bromozucker ((**5**) und (**10**)) durch Zugabe von Metallsalzen (Silbercarbonat, Silberoxid, Quecksilberoxid/Quecksilberbromid, Cadmiumcarbonat, usw.) aktiviert. Durch Reaktion mit dem Glucuronyl-Akzeptor wird das geschützte Glucuronid gebildet (Schema C-50). Eine Abstraktion von Bromid muss nicht zwangsläufig eintreten, weshalb  $S_N1$ - und  $S_N2$ -Mechanismus möglich sind [1].



Schema C-50: Königs-Knorr-Methode und Orthoester-Problematik bei  $S_N1$ -Mechanismus

### C.3.5.2 Vorversuche

Ausgehend von den Modellverbindungen (**14**) und (**II**) wurden mit den G-Donoren (**5**) und (**10**) (jeweils 1,4 Äquivalente) mehrere Vorversuche mit unterschiedlichen Aktivatoren durchgeführt. Schema C-51 zeigt die unterschiedlichen Vorversuche inklusive erhaltener Ausbeuten abhängig vom verwendeten Aktivator und Verweise auf die verwendeten Vorgehensweisen aus der Literatur. Sämtliche Synthesen erfolgten bei Raumtemperatur in Dichlorethan und unter Argon-Atmosphäre. Als Produkt wurde jeweils nur das in Position 4 verknüpfte  $\beta$ -Glucuronid erhalten.



Schema C-51: Vorversuche zur Königs-Knorr-Methode und erhaltene Produkte

Methoden unter Verwendung von Quecksilberbromid/Quecksilberoxid und Cadmiumcarbonat wurden aufgrund der schlechten Ergebnisse im Vergleich zu den Silbersalz verwendenden Methoden nicht weiter verwendet bzw. optimiert.

### **C.3.5.3 Optimierung**

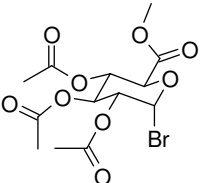
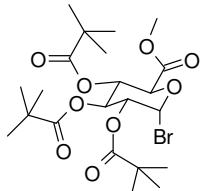
Aufgrund der Vorversuche in C.3.5.2 wurden Methoden mit Aktivierung durch Silbercarbonat oder Silberoxid für eine Optimierung in Betracht gezogen. Ein Unterschied zwischen einer Aktivierung mit Silbercarbonat und Silberoxid konnte nicht nachgewiesen werden, weshalb ab diesem Zeitpunkt nur noch Silbercarbonat (aufgrund der besseren Verfügbarkeit) verwendet wurde.

Im Zuge der Optimierung wurden mehrere Parameter (Menge an G-Donor, Lösungsmittel, Temperatur, Reaktionszeit) verändert, um die bestmögliche Methode zu erarbeiten. Tabelle C-1 enthält die Ergebnisse dieser Optimierung, als Produkt wurde auch hier in allen Fällen nur das in Position 4 verknüpfte  $\beta$ -Glucuronid erhalten.

Im Zuge der Optimierung konnte keine Verbesserung durch Wechsel des Lösungsmittels oder durch Erhöhung der Temperatur erreicht werden, meist ist die Ausbeute sogar gesunken. Jedoch konnte die optimale Menge an G-Donor ermittelt werden. Die besten Ergebnisse wurden durch dreimalige Zugabe von 1,5 Äquivalenten G-Donor in einem Zeitabstand von etwa 48h erreicht.



**Tabelle C-1:** Optimierung der Königs-Knorr-Methode (eingetragene Vorversuche sind durch einen Stern markiert)

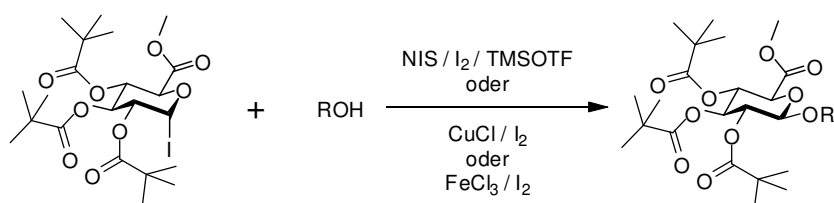
G-Donor	Äquivalente G-Donor	Aktivator	Lösungsmittel	T [°C]	t [h]	Ausbeute <sup>1)</sup>		
						G-Akzeptor: (I)	G-Akzeptor: (II)	
	1,4*	Ag <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DCE	20 °C	48h	38 %*	17 %*	
	2				72h	44 %	44 %	
	3				72h	62 %	64 %	
	2 x 1,5				120h	44 %	54 %	
	3 x 1,5				150h	70 %	65 %	
	4 x 1,5				200h	68 %	60 %	
	3 x 1,5			50 °C	110h	43 %	38 %	
	3 x 1,5			DCM	20 °C	135h	53 %	
	3 x 1,5			Acetonitril	20 °C	180h	42 %	
	3 x 1,5	Ag <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DCE	20 °C	150h	63 %	75 %	
	4 x 1,5				180h	66 %	72 %	
	3 x 1,5				DCM	150h	62 %	

<sup>1)</sup> Produkt je nach verwendetem G-Donor

## C.3.6 Iodozucker-Methode

### C.3.6.1 Allgemeines

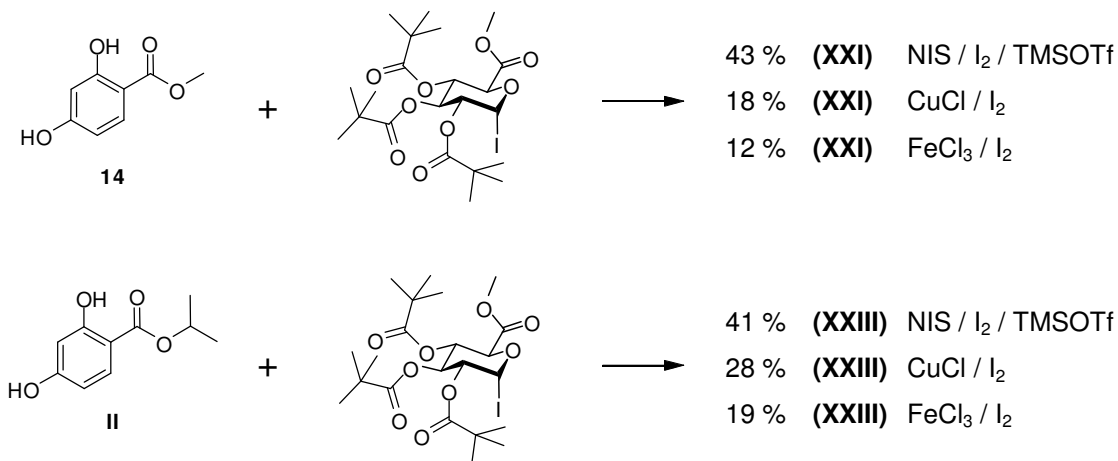
Die Aktivierung des Iodozuckers (**9**) in der von Stachulski et al. [13] entwickelten Methode erfolgt entweder durch NIS, Iod und TMSOTf als Aktivatoren oder durch die Systeme CuCl/I<sub>2</sub> bzw. FeCl<sub>3</sub>/I<sub>2</sub> (Schema C-52). Nachdem bislang kein Mechanismus für diese Aktivierung vorgeschlagen wurde, ist die Zuordnung zu einem konkreten Ablauf der Reaktion (S<sub>N</sub>1 oder S<sub>N</sub>2) schwierig.



**Schema C-52:** Iodozucker-Methode zur Synthese von Glucuroniden

### C.3.6.2 Vorversuche

Die Vorversuche wurden analog zur Vorgehensweise wie von Stachulski et al. [13] beschrieben durchgeführt. G-Akzeptor und G-Donor (1,5 Äquivalente) wurden in DCE mit Iod, NIS und nach einer Reaktionszeit von 5h mit TMSOTf versetzt. Es wurden erneut nur in Position 4 verknüpfte  $\beta$ -Glucuronide erhalten. Schema C-53 zeigt die erhaltenen Ergebnisse in Abhängigkeit zur verwendeten Aktivierungsvariante.



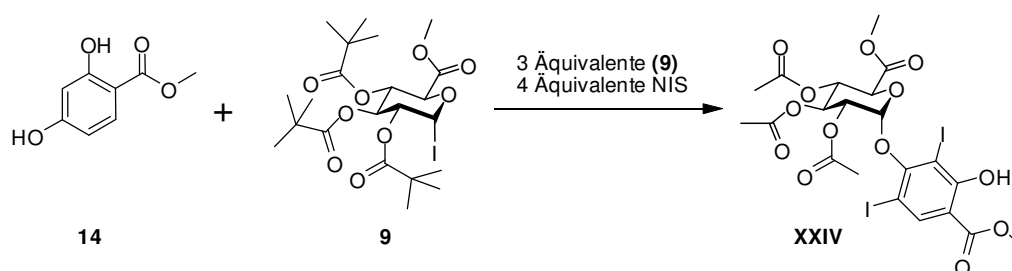
**Schema C-53:** Iodozucker-Methode zur Synthese von Glucuroniden

### C.3.6.3 Optimierung

Die CuCl oder FeCl<sub>3</sub> beinhaltende Methode, welche in den Vorversuchen geringere Ausbeuten als die NIS-Methode lieferte, konnte durch Verdoppelung der G-Donor Menge auf 3 Äquivalente auf 23 % (**XXI**) bzw. 35 % (**XXIII**) optimiert werden. Weitere Optimierungsversuche wurden aufgrund der geringen Ausbeuten nicht durchgeführt.

Die Ausbeute der Reaktion mit NIS, Iod und TMSOTf als Aktivatoren konnte durch Verwendung von 2 Äquivalenten Iodozucker (**9**) auf 49 % (**XXI**) bzw. 53 % (**XXIII**) erhöht werden.

Das Potential dieser bereits vielversprechenden Methode (Ausbeuten um die 50 % bei nur 2 Äquivalenten G-Donor) konnte nicht weiter genutzt werden, denn bei Erhöhung der Menge an G-Donor und damit verbunden NIS wurden zusätzlich zum Produkt iodierte Nebenprodukte erhalten. Bei einer Reaktion von 3 Äquivalenten G-Donor und 4 Äquivalenten NIS mit (**14**) wurde ausschließlich das diiodierte Glucuronid (**XXIV**) erhalten (Schema C-54). Dies ist auch das einzige im Rahmen dieser Arbeit isolierte  $\alpha$ -Glucuronid. Eine Erhöhung der G-Donor Menge ohne gleichzeitige Zugabe von mehr NIS führte zu keiner Verbesserung der Ausbeute.



**Schema C-54:** Bildung von Iodierten Produkten durch NIS am Beispiel des geschützten  $\alpha$ -Glucuronids (**XXIV**)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, d<sub>6</sub>-Aceton):  $\delta$  = 11.84 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 5.65 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 5.48 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.20 (t, J = 10.2 Hz, 1H), 4.86 (dd, J = 10.2, 3.5 Hz, 1H), 4.58 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 1.17 (s, 9H), 1.15 (s, 9H), 1.15 (s, 9H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, d<sub>6</sub>-Aceton):  $\delta$  = 176.8 (s, 1C), 176.4 (s, 1C), 176.0 (s, 1C), 168.8 (s, 1C), 168.1 (s, 1C), 162.5 (s, 1C), 161.2 (s, 1C), 139.9 (d, 1C), 107.4 (s, 1C), 89.9 (d, 1C), 74.3 (s, 1C), 71.1 (d, 1C), 70.5 (s, 1C), 69.6 (d, 1C), 69.0 (d, 1C), 68.0 (d, 1C), 52.4 (q, 1C), 51.9 (q, 1C), 38.4 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 26.6 (q, 1C), 26.4 (q, 1C), 26.4 (q, 1C) ppm

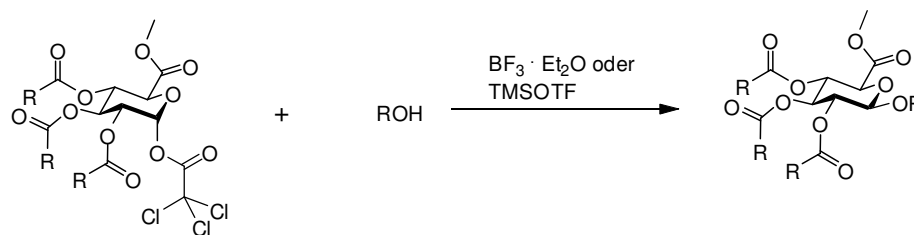
Verglichen mit der Königs-Knorr-Methode konnten mit dieser Methode höhere Ausbeuten bei geringer Menge an G-Donor erhalten werden, die maximal mögliche Ausbeute liegt allerdings darunter.

### C.3.7 Trichloracetimidat-Methode

#### C.3.7.1 Allgemeines

Die von Schmidt für die Synthese von Glucosiden entwickelte Methode [56] wird seit der Synthese der dementsprechenden Glucuronyl-Donoren auch immer häufiger für Glucuronid-Synthesen verwendet [1].

Nach Aktivierung der Trichloracetimidoyl-Abgangsgruppe und Zugabe des Glucuronyl-Akzeptors entsteht (meist in einer  $S_N2$ -Reaktion) das jeweilige Glucuronid (Schema C-55).

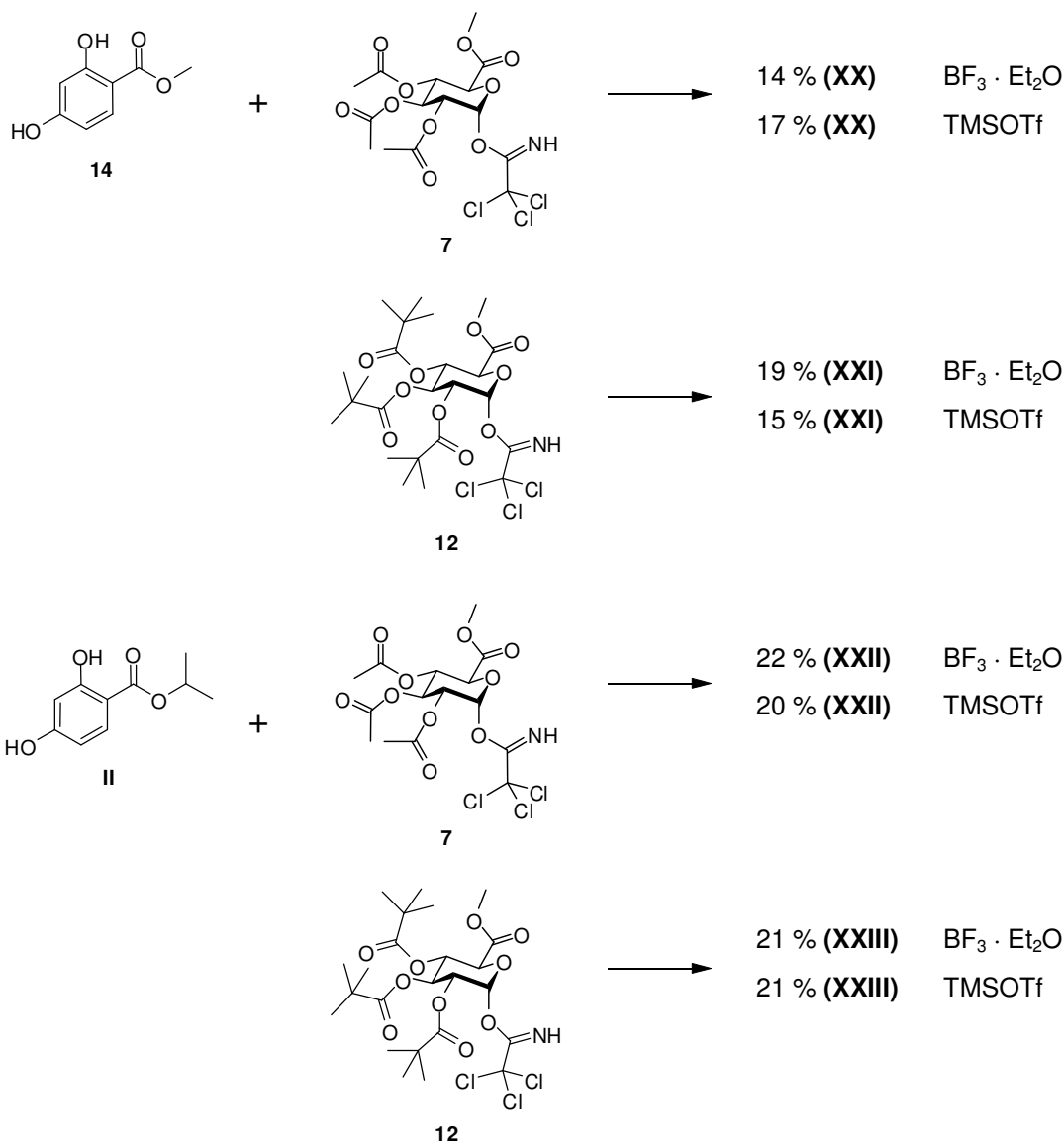


**Schema C-55:** Trichloracetimidat-Methode der Glucuronidierung

#### C.3.7.2 Vorversuche

Analog zu den Vorversuchen der bisherigen Methoden wurde eine „Standardmethode“ aus der Literatur [13] verwendet. Stachulski et al. beschreiben darin 2 unterschiedliche praktische Ausführungen („normal“ und „invers“), jedoch konnte kein Unterschied bei den entsprechenden Vorversuchen festgestellt werden. Aufgrund der einfacheren Vorgehensweise wurde anschließend nur noch die als „normal procedure“ bezeichnete Variante (1,2 Äquivalente G-Donor, DCE, TMSOTf, 0 °C) verwendet. Die Ergebnisse dieser Vorversuche sind in Schema C-56 ersichtlich.

Es wurden letztendlich auch bei dieser Methode nur 4- $\beta$ -Glucuronide erhalten.



**Schema C-56:** Vorversuche zur Trichloracetimidat-Methode

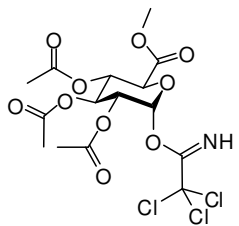
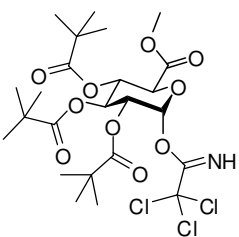
### C.3.7.3 Optimierung

Die Optimierung dieser Methode gestaltete sich sehr einfach, da es im Gegensatz zur Königs-Knorr-Methode nur sehr wenige variable Parameter gibt. Das Temperaturprofil sowie DCE als Lösungsmittel wurden nicht verändert. Ebenso spielt der Aktivator bzw. die Lewis-Säure ( $\text{TMSOTf}$  oder  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) keine entscheidende Rolle. Es wurde demnach nur versucht die Ausbeute durch Erhöhung der G-Donor Menge zu verbessern.

Bei 1,5 Äquivalenten (anstelle von 1,2) konnte noch eine deutliche Verbesserung der Ausbeute festgestellt werden, während bei einer weiteren Erhöhung um 1 Äquivalent

nur noch eine kleine Verbesserung erreicht werden konnte. Die erhaltenen Daten sind in Tabelle C-2 ersichtlich.

**Tabelle C-2:** Optimierung der Trichloracetimidat-Methode; LM = DCE; Aktivator = TMSOTf

G-Donor	G-Donor Äquivalente	Ausbeute	
		G-Akzeptor (14)	G-Akzeptor (II)
	1,2	14 % <b>(XX)</b>	22 % <b>(XXII)</b>
	1,5	33 % <b>(XX)</b>	46 % <b>(XXII)</b>
	2,5	48 % <b>(XX)</b>	49 % <b>(XXII)</b>
	1,2	19 % <b>(XXI)</b>	21 % <b>(XXIII)</b>
	1,5	53 % <b>(XXI)</b>	48 % <b>(XXIII)</b>
	2,5	61 % <b>(XXI)</b>	52 % <b>(XXIII)</b>

Verglichen mit der Königs-Knorr-Methode konnte auch hier keine höhere Ausbeute erreicht werden.

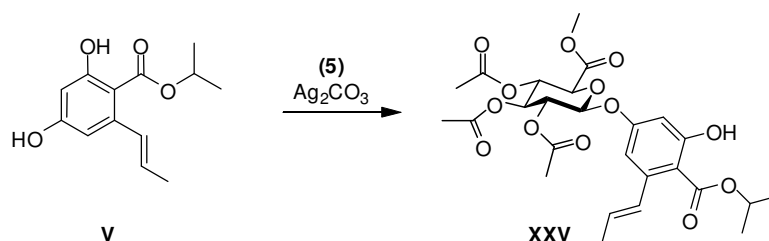
### C.3.8 Optimierte Methode

Als optimierte Vorgehensweise wurde eine Königs-Knorr-Methode ermittelt, deren Parameter in Tabelle C-3 ersichtlich sind.

**Tabelle C-3:** Optimierte Königs-Knorr Methode

G-Donor	<b>(5)</b> bzw. <b>(10)</b>
G-Donor Menge	3 x 1,5 Äquivalente
Lösungsmittel	1,2-Dichlorethan
Temperatur	20 – 25 °C
Reaktionszeit	etwa 150 Stunden

Als abschließender Versuch wurde das Glucuronid von 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (**V**) mit exakt dieser Methode unter Verwendung des G-Donors (**5**) synthetisiert (Schema C57).



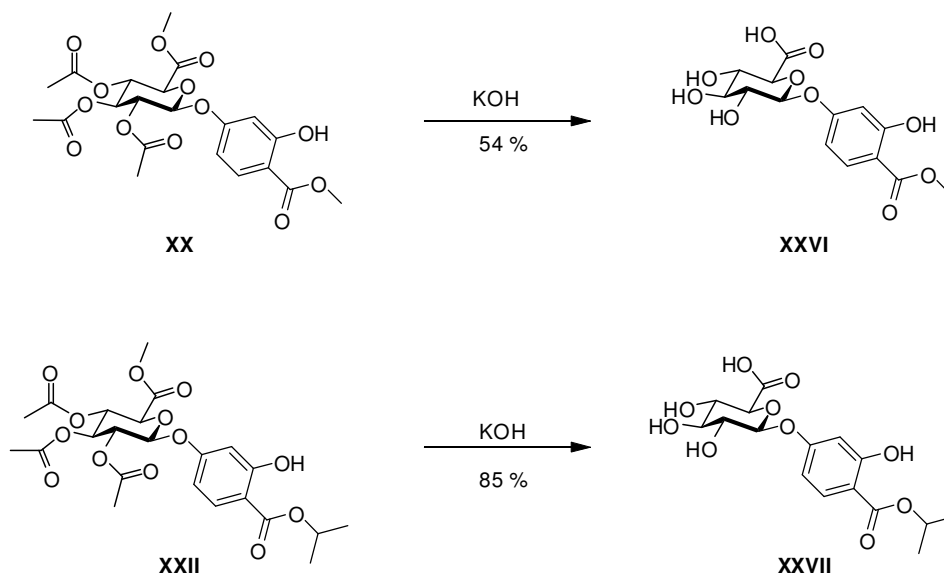
**Schema C-57:** Synthese von 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester-4- $\beta$ -D-methyl-2',3',4'-tri-O-acetyl-glucuronid (**XXV**)

Der Acetyl-geschützte Bromozucker wurde aus Gründen der besseren Hydrolyse der Schutzgruppen gewählt (siehe Abschnitt C.3.9). Das erwartete Produkt (**XXV**) konnte mit einer Ausbeute von 59 % erhalten werden.

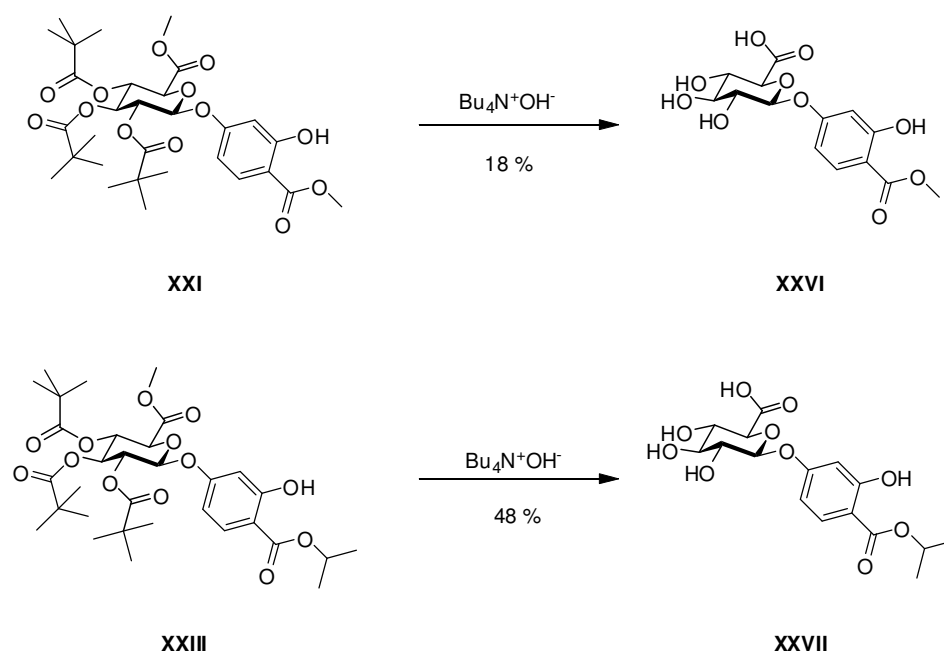
### C.3.9 Hydrolyse der Acetyl- bzw. Pivaloyl-Schutzgruppen

In der Literatur sind unzählige Probleme mit der Hydrolyse der Schutzgruppen (mit Ausnahme des Methylrests der Glucuronsäure) beschrieben. Tatsächlich gestaltete sich die Abspaltung der Acetyl- und Pivaloylgruppen auch in dieser Arbeit als schwierig.

Nach mehreren fehlgeschlagenen Versuchen mit unterschiedlichen Reagenzien ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ) und Lösungsmitteln (Wasser, Methanol und Ethanol) konnten die Acetyl-Schutzgruppen (inkl. des Methylglucuronats) der Verbindungen (**XX**) und (**XXII**) in einer Mischung aus THF und Wasser (4/1) durch Zugabe von  $\text{KOH}$  (10 Äquivalente) in 4 Stunden bei Raumtemperatur gespalten und die entschützten Glucuronide nach Reinigung durch präparative HPLC mit guten Ausbeuten erhalten werden (Schema C-58). Die geringere Ausbeute an (**XXVI**) ist durch die erhöhte Instabilität des Benzoesäuremethylester begründet.

**Schema C-58:** Hydrolyse der Acetyl-Schutzgruppen von **(XX)** und **(XXII)**

Die Pivaloyl-Schutzgruppen (inklusive des Methylglucuronats) der Verbindungen **(XXI)** und **(XXIII)** konnten durch Anwendung einer von Stachulski et al. beschriebenen Methode [13] mit wässriger Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung gespalten werden (Schema C-59). Die lange Reaktionszeit von mindestens 7 Tagen und die geringen erhaltenen Ausbeuten stellen allerdings einen klaren Nachteil zu Synthesen dar, welche Acetyl-Schutzgruppen verwenden.

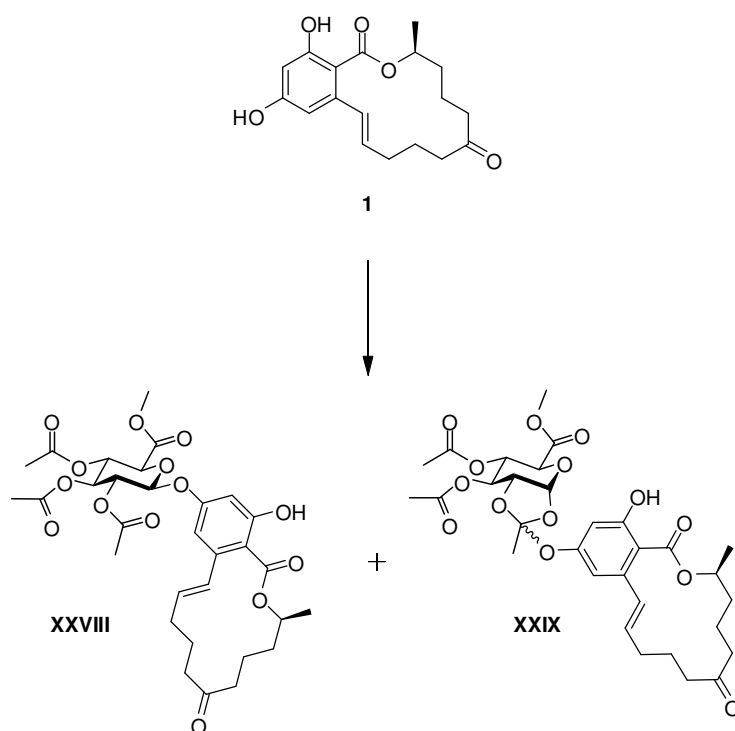
**Schema C-59:** Hydrolyse der Pivaloyl-Schutzgruppen von **(XXI)** und **(XXIII)**



## C.4 Synthese von Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronid

### C.4.1 Synthese der geschützten Zearalenon- $\beta$ -D-glucuronide

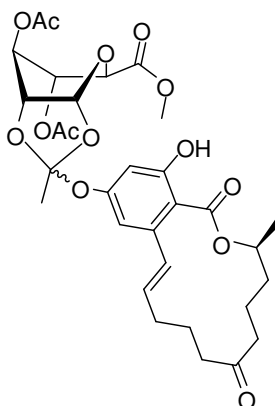
Unter Anwendung der durch Optimierung erhaltenen Methode (siehe Tabelle C-3 in Abschnitt C.3.8) wurde Zearalenon-4- $\beta$ -D-methyl-2',3',4'-tri-O-acetyl-glucuronid (**XXVIII**) hergestellt. Die niedrige Ausbeute von 45 % resultiert aus der Bildung des Orthoesters (**XXIX**) als Nebenprodukt (etwa 13 %<sup>1</sup>) der Reaktion (Schema C-60).



**Schema C-60:** Synthese des Acetyl-geschützten Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronids (**XXVIII**) und Bildung des Orthoesters (**XXIX**)

Die Struktur des Orthoesters konnte mithilfe von 2D-NMR-Spektroskopie geklärt werden. Weiters wurde eine atypische Wannenkonformation festgestellt. Die korrekte Struktur und Konformation des Orthoesters ist in Schema C-61 ersichtlich.

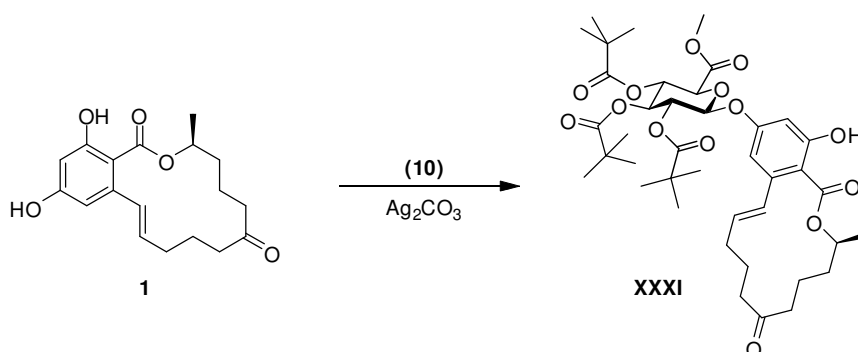
<sup>1</sup> Die ungefähre Abschätzung der Menge an Orthoester erfolgte aus dem Chromatogramm der präparativen HPLC-Trennung.



**Schema C-61:** Exakte Struktur bzw. Konformation des Orthoesters (**XXIX**)

Da bei keiner vergleichbaren Reaktion der Modellverbindungen ein entsprechender Orthoester als Nebenprodukt isoliert werden konnte, wurde die Modellverbindung 2,4-Dihydroxy-6-(1E-butenyl)benzoesäure-2S-butylester (**XIX**) wie in Abschnitt C.2.3 beschrieben synthetisiert. Mithilfe dieser sterisch anspruchsvolleren und Zearalenon besser simulierenden Verbindung kann das Orthoesterproblem genauer untersucht werden. Diese Thematik ist allerdings nicht mehr Inhalt dieser Arbeit.

Um diese Problematik auch auf die Verwendung von Acetyl-Schutzgruppen zurückführen zu können, wurde mittels optimierter Königs-Knorr-Synthese (Abschnitt C.3.8) unter der Verwendung des Pivaloyl-geschützten Bromozuckers (**10**) das entsprechende Pivaloyl-geschützte Zearalenon- $\beta$ -D-glucuronid synthetisiert (Schema C-62).



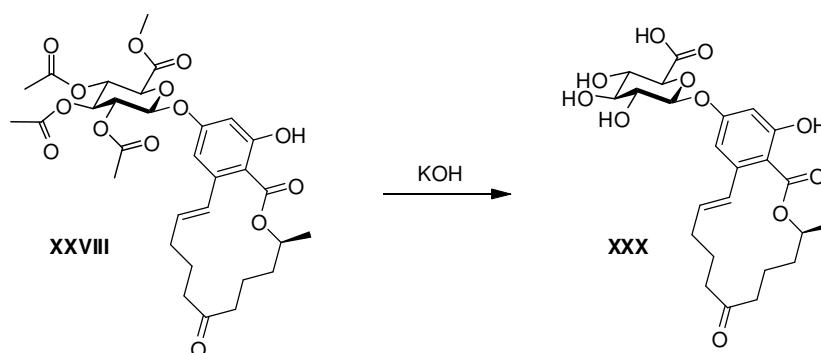
**Schema C-62:** Synthese des Pivaloyl-geschützten Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronids (**XXXI**)

Das Produkt (**XXXI**) konnte mit einer Ausbeute von 67 % erhalten werden. Der entsprechende Orthoester als Nebenprodukt wurde weder isoliert noch nachgewiesen.

Die Tatsache, dass durch Verwendung von Pivaloyl- anstelle von Acetyl-Schutzgruppen das Orthoesterproblem oft unterbunden werden kann, konnte auch hier im Zuge dieser Arbeit bestätigt werden.

#### C.4.2 Synthese von Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronid

Durch Hydrolyse der Acetyl-Schutzgruppen und des Methylesters der Glucuronsäure von Zearalenon-4- $\beta$ -D-methyl-2',3',4'-tri-O-acetyl-glucuronid (**XXVIII**) nach der in Abschnitt C.3.9 beschriebenen Methode (KOH) konnte Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronid (**XXX**) mit einer Ausbeute von 78 % erhalten werden (Schema C-63).



Schema C-63: Synthese von Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronid (**XXX**)

## **D) Spektroskopischer Teil**

## D.1 Allgemeines

Im folgenden Abschnitt wird eine Auswahl an Daten der NMR-spektroskopischen Messungen der Modellverbindungen sowie der geschützten und entschützten Glucuronide angeführt. Mithilfe von 2D-NMR-Spektroskopie konnten bis auf wenige Ausnahmen sämtliche Signale ( $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ ) exakt zugeordnet werden.

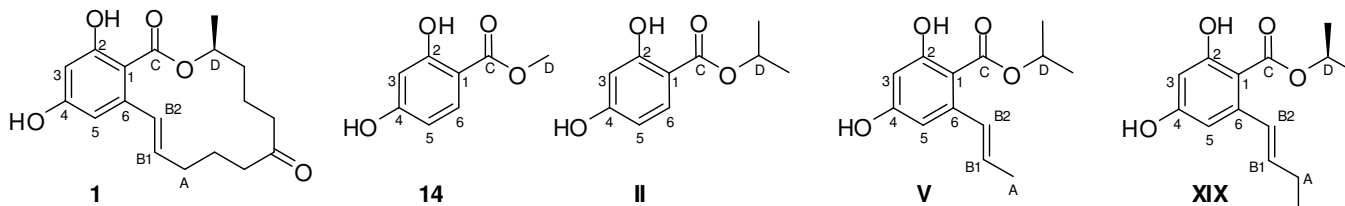


---

**Abbildung D-1: Avance DRX-400 Fouriertransform-Spektrometer**

---

## D.2 Zearalenon und Modellverbindungen


**Tabelle D-1:**  $^1\text{H-NMR}$ -Daten [ppm] von Zearalenon (**1**) und der Modellverbindungen (**14**), (**II**), (**V**) und (**XIX**) in  $\text{CDCl}_3$ 

	2-OH	3	5	6	A	B1	B2	D
<b>1</b>	12,10	6,40	6,46	-	2,20 + 2,40	5,69	7,02	5,00
<b>14</b>	11,01	6,41	6,38	7,73	-	-	-	3,91
<b>II</b>	11,31	6,43	6,40	7,73	-	-	-	5,24
<b>V</b>	11,74	6,32	6,38	-	1,85	5,79	6,94	5,25
<b>XIX</b>	11,83	6,34	6,41	-	2,24	5,94	6,98	5,16

**Tabelle D-2:**  $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten [ppm] von Zearalenon (**1**) und der Modellverbindungen (**14**), (**II**), (**V**) und (**XIX**) in  $\text{CDCl}_3$ 

	1	2	3	4	5	6	A	B1	B2	C	D
<b>1</b>	103,6	165,2	102,4	161,0	108,6	143,9	31,0	132,3	133,2	171,4	73,4
<b>14</b>	106,0	163,7	103,3	162,3	108,2	132,1	-	-	-	170,6	52,3
<b>II</b>	106,3	163,3	103,0	162,0	107,9	132,0	-	-	-	169,7	69,3
<b>V</b>	104,8	164,8	102,3	160,4	108,4	144,6	22,2	132,5	127,3	171,0	69,7
<b>XIX</b>	104,7	164,9	102,1	160,0	108,2	144,5	26,1	134,2	130,2	171,0	74,0

## D.3 Acetyl-geschützte Glucuronide

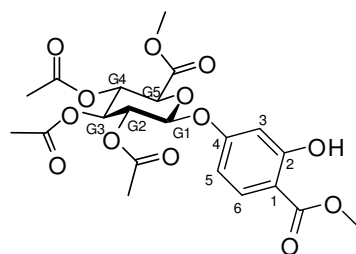
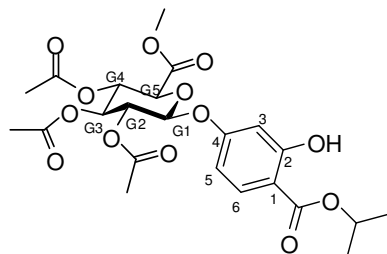
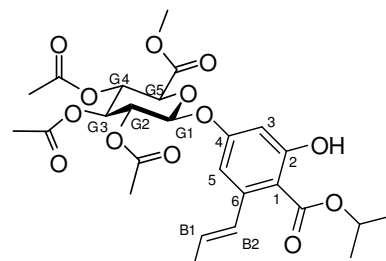
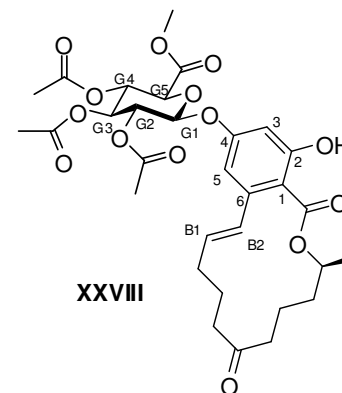

**XX**

**XXII**

**XXV**

**XXVIII**

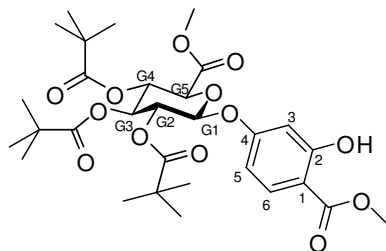
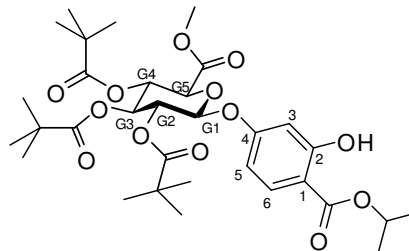
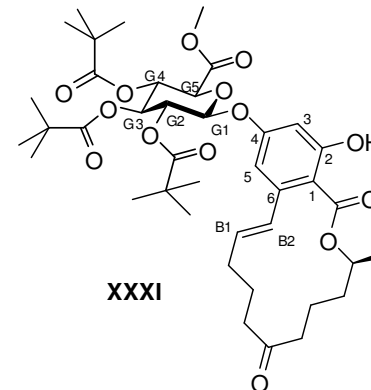
 Tabelle D-3:  $^1\text{H-NMR}$ -Daten [ppm] der Acetyl-geschützten Glucuronide (**XX**), (**XXII**), (**XXV**) und (**XXVIII**) in  $d_6$ -Aceton

	2-OH	3	5	B1	B2	G1	G2	G3	G4	G5
<b>XX</b>	10,92	6,62	6,61	-	-	5,69	5,23	5,46	5,22	4,67
<b>XXII</b>	11,07	6,61	6,60	-	-	5,68	5,23	5,46	5,22	4,67
<b>XXV</b>	11,38	6,54	6,61	6,00	6,99	5,72	5,25	5,48	5,25	4,69
<b>XXVIII</b>	11,85	6,57	6,65	5,82	7,05	5,75	5,25	5,48	5,26	4,70

 Tabelle D-4:  $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten [ppm] der Acetyl-geschützten Glucuronide (**XX**), (**XXII**), (**XXV**) und (**XXVIII**) in  $d_6$ -Aceton

	1	2	3	4	5	6	B1	B2	G1	G2	G3	G4	G5
<b>XX</b>	107,4	163,4	103,5	162,4	108,5	131,6	-	-	97,2	70,7	71,5	69,2	72,0
<b>XXII</b>	107,9	163,5	103,5	162,3	108,5	131,5	-	-	97,2	70,7	71,5	69,2	72,0
<b>XXV</b>	106,9	163,7	102,3	160,5	108,2	143,5	127,6	131,6	97,1	70,7	71,5	69,2	72,0
<b>XXVIII</b>	106,0	164,7	102,6	160,7	108,6	143,5	133,3	132,3	97,0	70,7	71,6	69,2	72,0

## D.4 Pivaloyl-geschützte Glucuronide


**XXI**

**XXIII**

**XXXI**
**Tabelle D-5:**  $^1\text{H-NMR}$ -Daten [ppm] der Pivaloyl-geschützten Glucuronide (**XXI**), (**XXIII**) und (**XXXI**) in  $d_6$ -Aceton

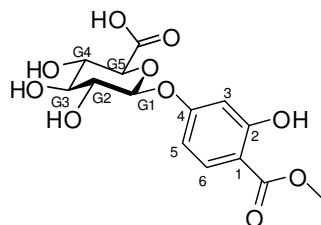
	2-OH	3	5	B1	B2	G1	G2	G3	G4	G5
<b>XXI</b>	10,96	6,67	6,64	-	-	5,76	5,32	5,58	5,30	4,76
<b>XXIII</b>	11,08	6,63	6,60	-	-	5,73	5,29	5,55	5,27	4,73
<b>XXXI</b>	11,85	6,58	6,65	5,78	7,05	5,78	5,31	5,57	5,32	4,75

**Tabelle D-6:**  $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten [ppm] der Pivaloyl-geschützten Glucuronide (**XXI**), (**XXIII**) und (**XXXI**) in  $d_6$ -Aceton

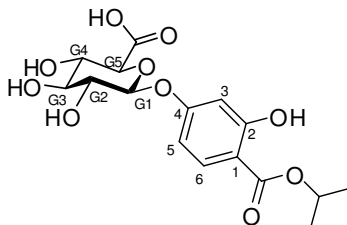
	1	2	3	4	5	6	B1	B2	G1	G2	G3	G4	G5
<b>XXI</b>	107,5	163,4	103,4	162,5	108,4	131,6	-	-	97,5	70,5	71,3	69,2	72,2
<b>XXIII</b>	107,9	163,6	103,3	162,4	108,3	131,6	-	-	97,5	70,5	71,3	69,2	72,2
<b>XXXI</b>	106,1	164,7	102,6	160,8	108,4	143,6	133,2	132,4	97,5	70,5	71,4	69,1	72,2



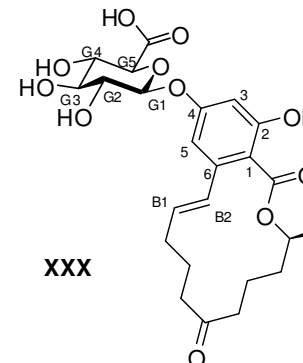
## D.5 Glucuronide



XXVI



XXVII



XXX

Tabelle D-7:  $^1\text{H-NMR}$ -Daten [ppm] der Glucuronide (XXVI), (XXVII) und (XXX) in  $\text{d}_6$ -Aceton

	2-OH	3	5	B1	B2	G1	G2	G3	G4	G5
XXVI	10,92	6,66	6,65	-	-	5,28	3,59	3,66	3,75	4,23
XXVII	11,07	6,65	6,64	-	-	5,27	3,58	3,65	3,75	4,22
XXX	11,87	6,57	6,68	5,81	7,06	5,28	3,57	3,65	3,75	4,21

Tabelle D-8:  $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten [ppm] der Glucuronide (XXVI), (XXVII) und (XXX) in  $\text{d}_6$ -Aceton

	1	2	3	4	5	6	B1	B2	G1	G2	G3	G4	G5
XXVI	106,7	163,2 *	103,4	163,3*	108,6	131,3	-	-	100,0	73,2	76,0	71,5	75,1
XXVII	107,1	163,5	103,4	163,2	108,5	131,3	-	-	100,0	73,3	76,1	71,6	75,1
XXX	105,1	164,9	102,7	161,7	108,8	143,3	133,0	132,6	100,0	73,3	76,2	71,6	75,1

\* nicht eindeutig zu unterscheidende bzw. zuordenbare Signale

## **E) Experimenteller Teil**

## E.1 Allgemeine Anmerkungen

Falls nichts Gegenteiliges vermerkt ist, wurden alle Reagenzien von kommerziellen Anbietern ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Alle Lösungsmittel wurden vor deren Verwendung destilliert. Absolutes N,N'-Dimethylformamid (Acros) und absolutes Ethanol (Merck) wurden über Molekularsieb 4 Å gelagert. Absolutes Aceton wurde durch Destillation über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, absolutes Pyridin durch Destillation über KOH erhalten. Die Lösungsmittel Toluol, Methanol, Dichlormethan, Diethylether und Tetrahydrofuran wurden in einer *PURESOLV*-Anlage von *it – innovative technology inc.* absolutiert. Die kommerziell erhältlichen Lithierungsreagenzien s-BuLi und t-BuLi wurden ohne weitere Gehaltsbestimmungen unter Verwendung des deklarierten Wertes eingesetzt. Natriumhydrid als 60 %ige Dispersion in Mineralöl wurde vor dem Gebrauch mit absolutem THF gewaschen und anschließend in reiner Form eingesetzt.

## E.2 Chromatographische Methoden

### E.2.1 Dünnschichtchromatographie

Dünnschichtchromatographie wurde auf DC-Alufolien (Merck, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) durchgeführt.

### E.2.2 Säulenchromatographie

Säulenchromatographische Aufreinigung wurde grundsätzlich auf einem *Büchi Sepacore™ Flash System* mit folgenden Komponenten durchgeführt:

- Pump-System: 2 x Büchi Pump Module C-605  
Büchi Pump Manager C-615
- Detektor: Büchi UV Photometer C-635
- Fraktionssammler: Büchi Fraction Collector C-660

Die dazugehörigen PP- bzw. Glas-Kartuschen wurden mit Kieselgel 60 (Si-OH, Merck, 40-63 µm) befüllt.

Als Laufmittel wurden destillierte Lösungsmittel verwendet. Die Zusammensetzung der jeweiligen mobilen Phase sowie die verwendete Menge an Kieselgel ist bei der jeweiligen Synthese angeführt.

### **E.2.3 Präparative HPLC**

Präparative HPLC-Trennungen wurden auf einem *SHIMADZU LC-8A Preparative Liquid Chromatograph* auf Normalphase (Si-OH) bzw. Umkehrphase (RP-18) mit UV/VIS-Detektor durchgeführt. Als Laufmittel wurden kommerziell erhältliche HPLC-Lösungsmittel verwendet.

## **E.3 Physikalische Analysemethoden**

### **E.3.1 GC/MS Messungen**

GC/MS Messungen erfolgten auf einer GC/MS Kopplung von Thermo Finnigan; Gaschromatograph: GC 8000 Top mit einer BGB5 Säule ( $l=30$  m,  $d_i=0,32$  mm,  $1 \mu\text{m}$  Schichtdicke); Massenspektrometer: Voyager Quadrupol (Elektronenstoßionisation)

### **E.3.2 NMR-Spektroskopie**

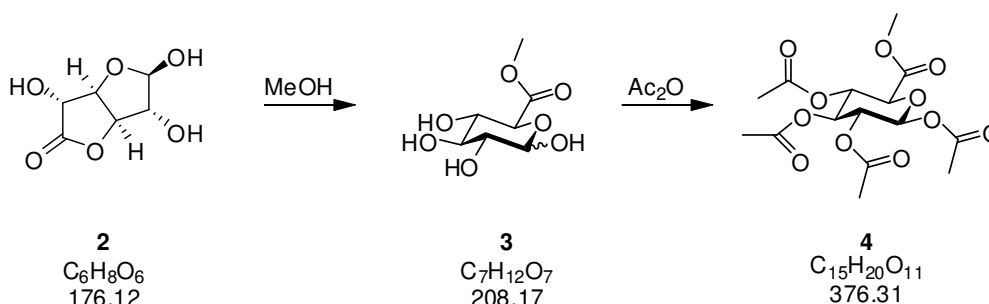
NMR-Spektren wurden auf einem Bruker DPX-200 bzw. Avance DRX-400 Fouriertransform-Spektrometer gemessen. Die Verschiebungen sind auf Tetramethylsilan referenziert und in ppm angegeben. Zur Kalibrierung wurden die Lösungsmittelsignale [29] herangezogen. Die Multiplizitäten sind wie folgt ausgewiesen: s=Singulett, d=Dublett, t=Triplett, q=Quartett, m=Multipllett, b=breites Signal.

## E.4 Synthese und Charakterisierung der Substanzen

Im Folgenden sind die genauen experimentellen Protokolle zur Synthese der einzelnen Substanzen sowie deren Charakterisierung angeführt. Sämtliche Synthesen mit Ausnahme jener in wässrigen Medien wurden unter Argon-Atmosphäre ausgeführt.

### E.4.1 Acetyl-geschützte Glucuronyl-Donoren

#### 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucuronsäuremethylester (**4**)



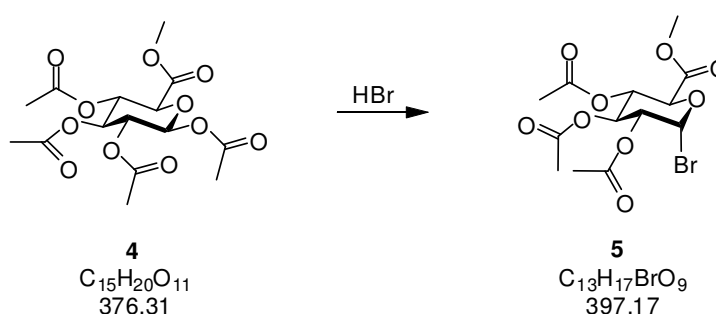
Vorgehen entsprechend [8]. (+)-D-Glucofuranurono-6,3-lacton (**2**) (5 g, 28.4 mmol) wurde in Methanol (30 ml) suspendiert, mit Natriummethylat (~30 mg) versetzt und bei 20 °C so lange gerührt bis eine klare Lösung erhalten wurde (etwa 100 min). Methanol wurde anschließend bei 30 °C abdestilliert und der Rückstand (**3**) in Ac<sub>2</sub>O (40 ml) aufgenommen. Nach Rühren über Nacht bei 20 °C wurde eine nahezu klare Lösung erhalten, welche unter Kühlung mit Perchlorsäure HClO<sub>4</sub> (0.3 ml in 10 ml Ac<sub>2</sub>O) tropfenweise versetzt wurde (T < 25 °C). Die trübe Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 20 °C gerührt und nach Zugabe von Perchlorsäure (0.05 ml, unverdünnt) eine weitere Nacht bei 4 °C aufbewahrt. Durch Filtration, Waschen mit Et<sub>2</sub>O und Trocknen in vacuo (20 °C, 3 mbar) konnte eine erste Fraktion Produkt (5.6 g weißer kristalliner Feststoff (**4**), 52 %,  $\beta$ -Anomer) erhalten werden. Das Filtrat wurde weiters auf Eis (100 g) gegossen, mit NaHCO<sub>3</sub> neutralisiert und mit Chloroform (3 x 250 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde durch Umkristallisation aus je einmal Isopropanol und Ethanol (jeweils 50 ml) gereinigt (Fraktion 2, 3.5 g weißes Pulver  $\alpha,\beta$ -**4**), 33 %,

$\alpha/\beta = \sim 2/1$ ). Für weitere Reaktionen wurde ausschließlich anomenreines Produkt aus Fraktion 1 verwendet.

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 5.74$  (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 5.36 - 5.04 (m, 3H), 4.16 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.01 (s, 6H), 2.00 (s, 3H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 170.0$  (s, 1C), 169.6 (s, 1C), 169.3 (s, 1C), 169.0 (s, 1C), 166.9 (s, 1C), 91.5 (d, 1C), 73.1 (d, 1C), 71.9 (d, 1C), 70.3 (d, 1C), 69.0 (d, 1C), 53.2 (q, 1C), 20.9 (q, 1C), 20.71 (q, 1C), 20.68 (q, 1C), 20.6 (q, 1C) ppm

### 1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucuronsäuremethylester (**5**)

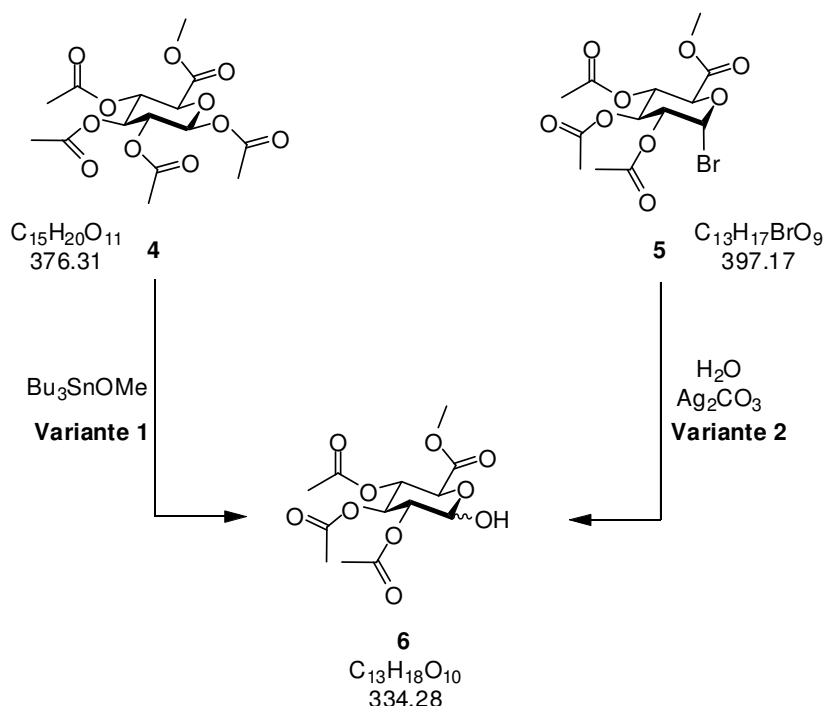


Vorgehen entsprechend [8]. Tetraacetat (**4**) (11.3 g, 30 mmol) wurde in HBr (50 ml, 30 % in AcOH) gelöst und über Nacht bei 4 °C aufbewahrt. Die Reaktionslösung wurde am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeengt, der Rückstand in Chloroform (100 ml) gelöst und mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung sowie Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand aus absolutem Ethanol (30 ml) umkristallisiert sowie in vacuo (20 °C, 3 mbar) getrocknet. Es wurden 10.1 g weißer, kristalliner Feststoff (**5**) erhalten (85 %).

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6.62$  (d,  $J = 4.1$  Hz, 1H), 5.58 (t,  $J = 9.8$  Hz, 1H), 5.21 (t,  $J = 9.9$  Hz, 1H), 4.83 (dd,  $J = 10.0, 4.1$  Hz, 1H), 4.55 (d,  $J = 10.0$  Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.02 (s, 3H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 169.80$  (s, 1C), 169.78 (s, 1C), 169.6 (s, 1C), 166.8 (s, 1C), 85.5 (d, 1C), 72.2 (d, 1C), 70.4 (d, 1C), 69.4 (d, 1C), 68.6 (d, 1C), 53.3 (q, 1C), 20.7 (q, 2C), 20.6 (q, 1C) ppm

## 2,3,4-Tri-O-acetyl-D-glucuronsäuremethylester (**6**)



### Variante 1

Vorgehen in Anlehnung an [9].  $Bu_3SnOMe$  (3.21 g, 10 mmol, 1.0 eq.) wurde bei 20 °C langsam zu einer Lösung des Tetraacetats (**4**) (3.76 g, 10 mmol, 1 eq.) in DCE (25 ml) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 3h auf Rückfluß erhitzt und anschließend am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt. Das Produkt wurde durch Reinigung per Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 3/1, 90 g Kieselgel) erhalten (1.83 g weißes Pulver, 55%).

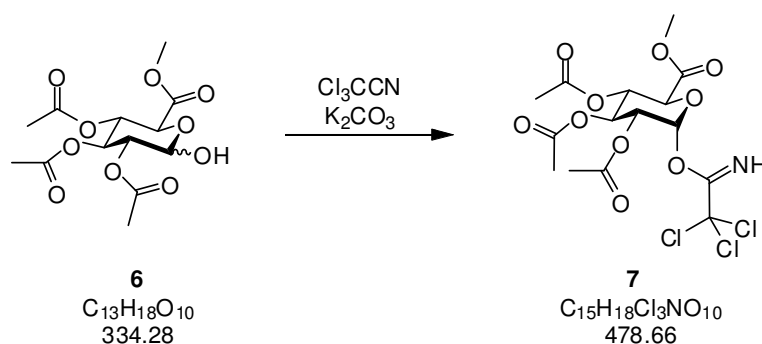
### Variante 2

Vorgehen entsprechend [10]. Bromozucker (**5**) (8.0 g, 20 mmol, 1.0 eq.) wurde in absolutem Aceton (50 ml) gelöst und mit Wasser (0.36 g, 20 mmol, 1.0 eq.) versetzt. Nach Zugabe von  $Ag_2CO_3$  (6.0 g, 22 mmol, 1.1 eq.) wurde die Reaktionsmischung 16 Stunden bei 20 °C gerührt, anschließend über Celite filtriert, der Feststoff mit Aceton gewaschen und das gesammelte Filtrat eingengt. Der erhaltene Rückstand wurde in vacuo (20 °C, 3 mbar) getrocknet. Es wurden 6.1 g (**6**) als gelbliches Harz erhalten (91 %).

$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\alpha$ -(**6**):  $\delta$  = 5.56 (t,  $J$  = 9.8 Hz, 1H), 5.53 (d,  $J$  = 3.5 Hz, 1H), 5.17 (t,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 4.89 (dd,  $J$  = 10.1, 3.7 Hz, 1H), 4.58 (d,  $J$  = 10.2 Hz,

1H), 3.73 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.023 (s, 3H), 2.018 (s, 3H) ppm;  **$\beta$ -(6)**:  $\delta$  = 5.29 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.21 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 4.91 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.10 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.023 (s, 3H), 2.018 (s, 3H) ppm  
 $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  **$\alpha$ -(6)**:  $\delta$  = 170.4 (s, 1C), 170.2 (s, 1C), 169.9 (s, 1C), 168.6 (s, 1C), 90.4 (d, 1C), 70.9 (d, 1C), 69.7 (d, 1C), 69.2 (d, 1C), 68.2 (d, 1C), 53.1 (q, 1C), 20.9 (q, 2C), 20.7 (q, 1C) ppm;  **$\beta$ -(6)**:  $\delta$  = 170.8 (s, 1C), 170.2 (s, 1C), 169.8 (s, 1C), 167.8 (s, 1C), 95.7 (d, 1C), 73.1 (d, 1C), 72.8 (d, 1C), 71.7 (d, 1C), 69.6 (d, 1C), 53.2 (q, 1C), 20.9 (q, 1C), 20.8 (q, 1C), 20.7 (q, 1C) ppm

### 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-O-trichloracetimidoyl- $\alpha$ -D-glucuronsäuremethylester (7)



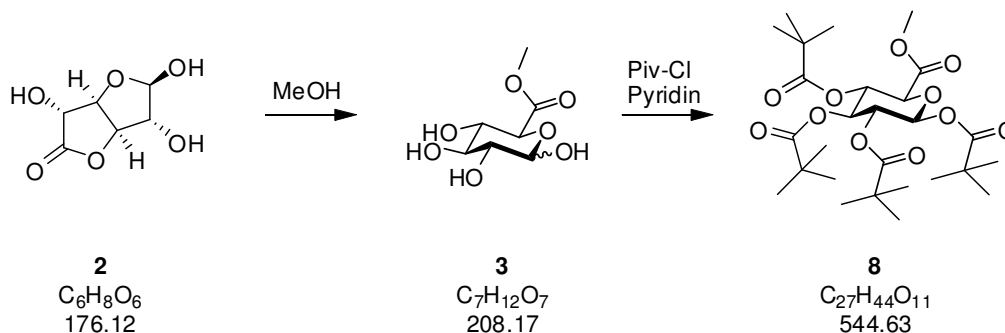
Vorgehen in Anlehnung an [11]. 1-Hydroxyzucker (**6**) (1.5 g, 4.5 mmol, 1.0 eq.) wurde in absolutem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) gelöst, mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.94 g, 6.8 mmol, 1.5 eq.) sowie Molekularsieb (MS 3 Å, 0.5 g) versetzt und anschließend 30 Minuten bei 0 °C gerührt. Nach Zugabe von Trichloracetonitril (1.95 g, 13.5 mmol, 3 eq.), gelöst in 5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurde 5h bei 0 °C weitergerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das Filtrat mit Natriumpyrosulfit-Lösung (2 x 25 ml, 5 % in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde eingeeengt und das Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 5/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 1.3 g (**7**) als weißes Pulver erhalten (61 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 9.59 (s, 1H), 6.63 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.62 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 5.26 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 5.20 (dd, J = 10.1, 3.7 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.00 (s, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 170.4 (s, 1C), 170.2 (s, 1C), 170.0 (s, 1C), 167.8 (s, 1C), 160.3 (s, 1C), 93.5 (d, 1C), 87.7 (s, 1C), 71.5 (d, 1C), 70.3 (d, 1C), 69.9 (d, 1C), 69.6 (d, 1C), 53.2 (q, 1C), 20.6 (q, 1C), 20.5 (q, 1C), 20.4 (q, 1C) ppm



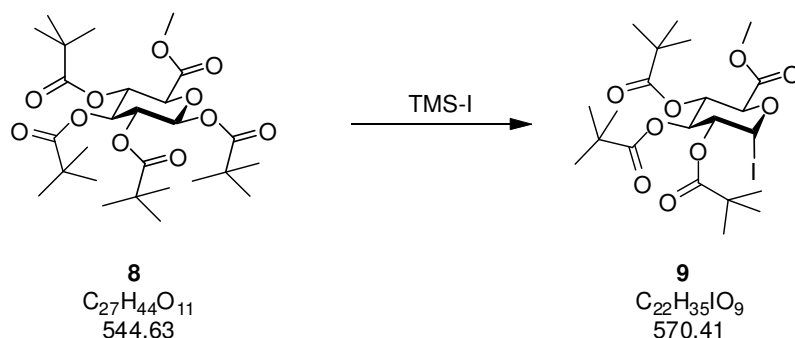
## E.4.2 Pivaloyl-geschützte Glucuronyl-Donoren

1,2,3,4-Tetra-O-pivaloyl- $\beta$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (**8**)

Vorgehen entsprechend [12]. Glucuronolacton (**2**) (17.6 g, 100 mmol, 1 eq.) wurde in abs. MeOH (100 ml) suspendiert, mit Natriummethylat (~0.2 g) versetzt und 2h bei 20 °C gerührt. MeOH wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand in Chloroform (120 ml) und Pyridin (70 ml) gelöst. Nach langsamer, tropfenweiser Zugabe von Piv-Cl (75 ml,  $\rho = 0.98$  g/ml, 610 mmol, 6.1 eq.) bei einer Temperatur kleiner als 50 °C wurde 7 Tage bei 20 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt und der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O (5 x 200 ml) überschichtet, gut durchmischt und abdekantiert/abfiltriert. Die vereinigten Et<sub>2</sub>O-Phasen wurden mit 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (200 ml), gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (200 ml) und Wasser (2 x 200 ml) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde aus absolutem Ethanol (400 ml) umkristallisiert. Es wurden 28.0 g (**8**) als blassbrauner Feststoff erhalten (51 %).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 5.76$  (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.41 (t, J = 9.3 Hz, 1H), 5.31 - 5.16 (m, 2H), 4.16 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 1.16 (s, 9H), 1.11 (s, 9H), 1.09 (s, 18H) ppm

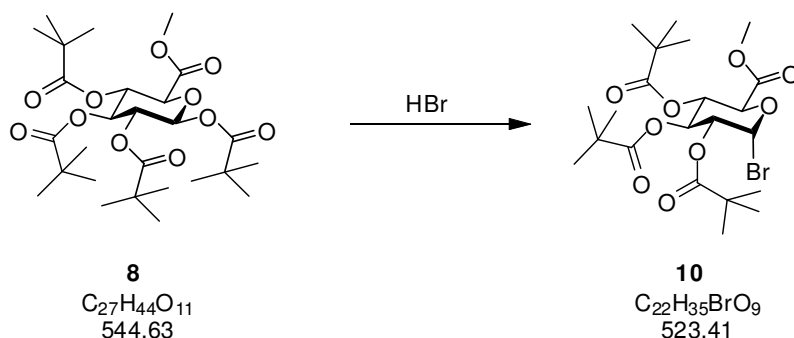
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 177.0$  (s, 1C), 176.7 (s, 1C), 176.5 (s, 1C), 176.3 (s, 1C), 167.0 (s, 1C), 91.7 (d, 1H), 73.3 (d, 1C), 71.7 (d, 1C), 69.9 (d, 1C), 69.3 (d, 1C), 52.9 (q, 1C), 38.9 (s, 1C), 38.8 (s, 3C), 27.21 (q, 3C), 27.19 (q, 3C), 27.1 (q, 3C), 27.0 (q, 3C) ppm

**1-Deoxy-1-iodo-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (9)**

Vorgehen in Anlehnung an [13]. Tetrapivaloat (**8**) (5.44 g, 10 mmol, 1 eq.) und TMS-I (3.15 g, 15 mmol, 1.5 eq.) wurden in abs. MeCN (15 ml) für 3h auf 50 °C erwärmt. Nach Abkühlung auf 20 °C wurde mit EtOAc (50 ml) verdünnt und mit gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung (100 ml), 5%iger Natriumpyrosulfit-Lösung (100 ml) sowie Wasser (100 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $Na_2SO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 5/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 5.0 g (**9**) als weißes Pulver erhalten (88 %).

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 6.98 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 5.58 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.28 (t, J = 10.1 Hz, 1H), 4.34 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 4.25 (dd, J = 9.7, 4.4 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 1.17 (s, 9H), 1.15 (s, 9H), 1.11 (s, 9H) ppm

$^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 177.0 (s, 1C), 176.8 (s, 1C), 176.7 (s, 1C), 166.8 (s, 1C), 75.2 (d, 1C), 71.5 (d, 1C), 70.6 (d, 1C), 70.1 (d, 1C), 68.0 (d, 1C), 53.2 (q, 1C), 38.91 (s, 1C), 38.86 (s, 1C), 38.7 (s, 1C), 27.3 (q, 6 C), 27.2 (q, 3C) ppm

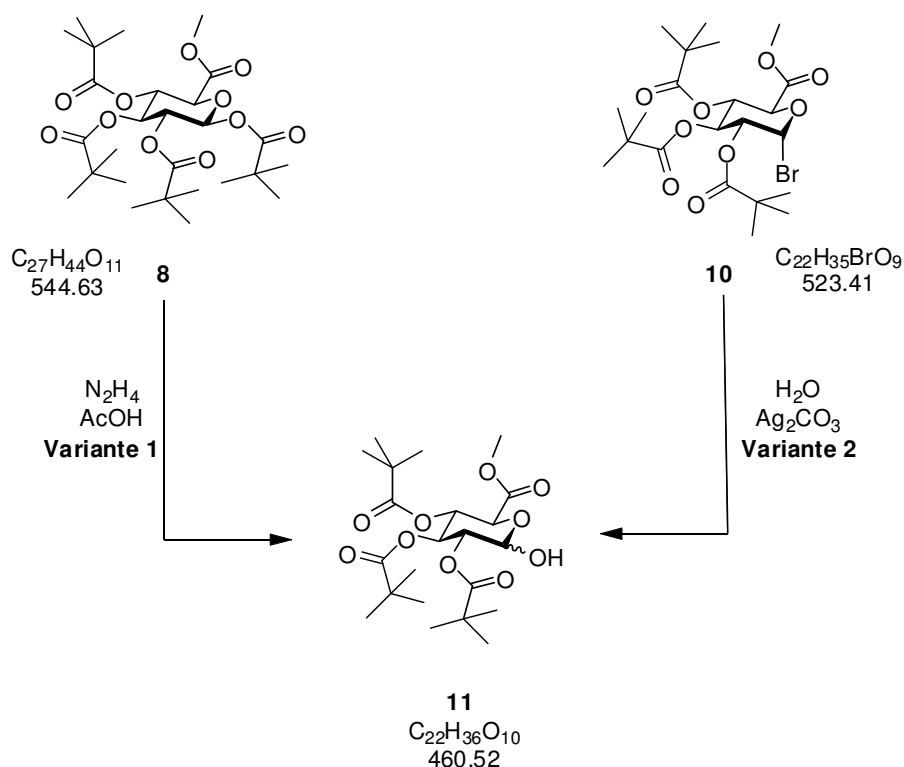
**1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucopyranuronsäuremethylester (10)**

Vorgehen in Anlehnung an [12]. Tetrapivaloat (**8**) (14.8 g, 27.2 mmol) wurde in abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) gelöst und bei 0 °C unter kräftigem Rühren mit HBr (30 % in AcOH, 33 ml) tropfenweise versetzt. Nach Rühren für 24h bei 20 °C wurde die Reaktionsmischung am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeeengt, der Rückstand in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml) gelöst und mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (150 ml) sowie Wasser (200 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Nach Umkristallisation aus Ethanol (80 ml) wurden 9.2 g (**10**) als gelblich-weißes Pulver erhalten (65 %).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 6.64 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 5.67 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 5.26 (t, J = 10.1 Hz, 1H), 4.84 (dd, J = 9.9, 4.1 Hz, 1H), 4.57 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 1.17 (s, 9H), 1.15 (s, 9H), 1.12 (s, 9H) ppm

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 177.3 (s, 1C), 176.82 (s, 1C), 176.79 (s, 1C), 167.0 (s, 1C), 85.8 (d, 1C), 72.5 (d, 1C), 70.6 (d, 1C), 69.0 (d, 1C), 68.4 (d, 1C), 53.2 (q, 1C), 38.96 (s, 1C), 38.93 (s, 1C), 38.8 (s, 1C), 27.3 (q, 3C), 27.2 (q, 3C), 27.1 (q, 3C) ppm

## 2,3,4-Tri-O-pivaloyl-D-glucopyranuronsäuremethylester (11)



### Variante 1

Vorgehen in Anlehnung an [13]. Tetrapivaloat (**8**) (4.4 g, 8 mmol, 1 eq.) wurde in abs. DMF (35 ml) gelöst, auf -12 °C gekühlt, mit AcOH (0.68 g, 11.3 mmol, 1.4 eq.) und Hydrazin-monohydrat (0.57 g, 11.3 mmol, 1.4 eq.) versetzt. Nach Erwärmen auf 20 °C wurde die Reaktionsmischung 96 h bei dieser Temperatur gerührt und nach Zugabe von 5%iger Zitronensäurelösung (50 ml) mit EtOAc (3 x 50 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden mit Wasser (100 ml) und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 2/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 2.35 g (**11**) als weißer Feststoff erhalten (63 %).

### Variante 2

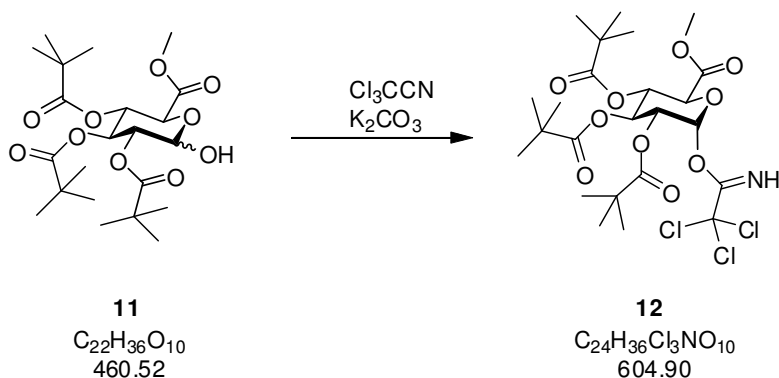
Vorgehen analog zu [10]. Bromozucker (**10**) (2.6 g, 5 mmol, 1 eq.) wurde in abs. Aceton (25 ml) gelöst und mit Wasser (90 mg, 5 mmol, 1 eq.) sowie Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.5 g, 5.5 mmol, 1.1 eq.) versetzt. Nach Rühren der Reaktionsmischung über Nacht wurde über Celite filtriert, mit warmem Aceton nachgewaschen und das gesammelte Filtrat

am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 2/1, 40 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 2.06 g (**11**) als weißes Pulver erhalten (90 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\alpha$ -(**11**):  $\delta$  = 5.66 (t,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 5.54 (d,  $J$  = 3.7 Hz, 1H), 5.19 (t,  $J$  = 10.3 Hz, 1H), 4.86 (dd,  $J$  = 10.3, 3.7 Hz, 1H), 4.58 (d,  $J$  = 10.3, 1H), 3.71 (s, 3H), 1.16 (s, 9H), 1.14 (s, 9H), 1.12 (s, 9H) ppm;  $\beta$ -(**11**):  $\delta$  = 5.41 (t,  $J$  = 9.3 Hz, 1H), 5.23 (t,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 4.96 (t,  $J$  = 9.3 Hz, 1H), 4.78 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 4.11 (d,  $J$  = 9.9 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 1.14 (s, 9H), 1.13 (s, 9H), 1.11 (s, 9H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\alpha$ -(**11**):  $\delta$  = 177.8 (s, 1C), 177.1 (s, 1C), 177.0 (s, 1C), 168.8 (s, 1C), 90.3 (d, 1C), 71.1 (d, 1C), 69.5 (d, 1C), 68.9 (d, 1C), 68.3 (d, 1C), 53.0 (q, 1C), 38.9 (s, 3C), 27.4 (q, 3C), 27.3 (q, 3C), 27.2 (q, 3C) ppm;  $\beta$ -(**11**):  $\delta$  = 177.2 (s, 1C), 177.1 (s, 1C), 176.9 (s, 1C), 167.7 (s, 1C), 96.1 (d, 1C), 73.1 (d, 1C), 73.0 (d, 1C), 71.1 (d, 1C), 69.5 (d, 1C), 53.1 (q, 1C), 39.1 (s, 3C), 27.3 (q, 3C), 27.25 (q, 3C), 27.21 (q, 3C) ppm

### 1-O-Trichloracetimidoyl-2,3,4-tri-O-pivaloyl- $\alpha$ -D-glucuronsäuremethylester (**12**)



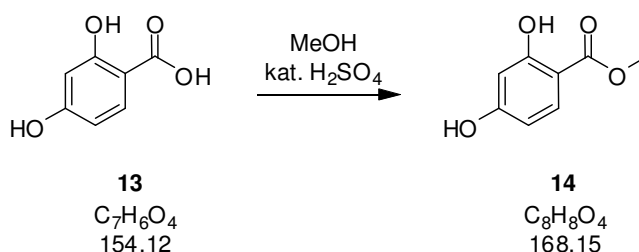
Vorgehen in Anlehnung an [13]. 1-Hydroxyzucker (**11**) (1.38 g, 3 mmol, 1 eq.) wurde in abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 ml) gelöst, mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (2.90 g, 21 mmol, 7 eq.) und  $\text{Cl}_3\text{CCN}$  (3.03 g, 21 mmol, 7 eq.) versetzt und anschließend 24h bei 20 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (15 % EtOAc in PE, 40 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 1.50 g (**12**) als weißes Pulver erhalten (83 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 8.72 (s, 1H), 6.66 (d,  $J$  = 3.7 Hz, 1H), 5.71 (t,  $J$  = 9.9 Hz, 1H), 5.31 (t,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 5.20 (dd,  $J$  = 10.1, 3.6 Hz, 1H), 4.49 (d,  $J$  = 10.2 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 1.16 (s, 9H), 1.13 (s, 9H), 1.12 (s, 9H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 177.4 (s, 1C), 177.1 (s, 1C), 177.0 (s, 1C), 167.6 (s, 1C), 160.7 (s, 1C), 92.8 (d, 1C), 90.9 (s, 1C), 71.0 (d, 1C), 69.7 (d, 1C), 69.0 (d, 1C), 68.8 (d, 1C), 53.2 (q, 1C), 39.1 (s, 3C), 27.4 (q, 3C), 27.34 (q, 3C), 27.28 (q, 3C) ppm

### E.4.3 Synthese von 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethyl- (14) und isopropylester (II)

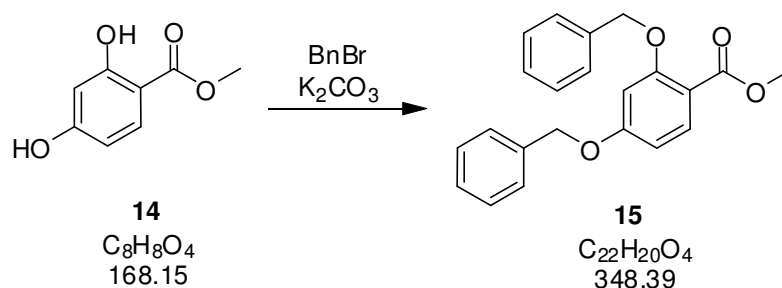
#### 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester (14)



Vorgehen in Anlehnung an [14]. 2,4-Dihydroxybenzoesäure (**13**) (20 g, 130 mmol) wurde in MeOH (200 ml) gelöst und nach Zugabe von konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 ml) für 96 h auf Rückfluß erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde anschließend am Rotationsverdampfer auf etwa 50 ml eingeeengt, mit Wasser (200 ml) verdünnt und mit  $\text{CHCl}_3$  (3 x 150 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (100 ml) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt konnte durch Umkristallisation aus Toluol (200 ml) gereinigt werden. Es wurden 19.4 g (**14**) als weißer Feststoff erhalten (89 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 11.02 (bs, 1H), 7.73 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 6.33 - 6.44 (m, 2H), 5.79 (bs, 1H), 3.91 (s, 3H) ppm

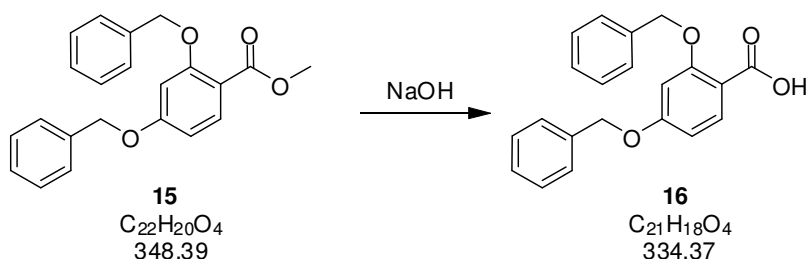
$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170.6 (s, 1C), 163.7 (s, 1C), 162.2 (s, 1C), 132.2 (d, 1C), 108.1 (d, 1C), 106.1 (s, 1C), 103.3 (d, 1C), 52.3 (q, 1C) ppm

**2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäuremethylester (15)**

Vorgehen in Anlehnung an [15]. Methylester (**14**) (5 g, 30 mmol, 1 eq.) wurde in abs. DMF (100 ml) gelöst, mit Benzylbromid (12.8 g, 75 mmol, 2.5 eq.) und  $K_2CO_3$  (20.73 g, 150 mmol, 5 eq.) versetzt und anschließend 48 h bei 20 °C gerührt. Die Suspension wurde filtriert, mit EtOAc (200 ml) verdünnt und mit gesättigter NaCl-Lösung (2 x 200 ml) gewaschen. Die Lösung wurde über  $Na_2SO_4$  getrocknet, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt durch Kugelrohrdestillation (0.5 mbar, ~230 °C) gereinigt. Es wurden 7.8 g (**15**) als weißes Pulver erhalten (75 %).

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 7.75 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.42 - 7.10 (m, 10H), 6.51 - 6.41 (m, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.93 (s, 2H), 3.74 (s, 3H) ppm

$^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 166.3 (s, 1C), 163.3 (s, 1C), 160.3 (s, 1C), 136.8 (s, 1C), 136.3 (s, 1C), 134.0 (d, 1C), 128.8 (d, 2C), 128.7 (d, 2C), 128.4 (d, 1C), 127.9 (d, 1C), 127.7 (d, 2C), 126.9 (d, 2C), 113.2 (s, 1C), 106.1 (d, 1C), 101.5 (d, 1C), 70.6 (t, 1C), 70.3 (t, 1C), 51.8 (q, 1C) ppm

**2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäure (16)**

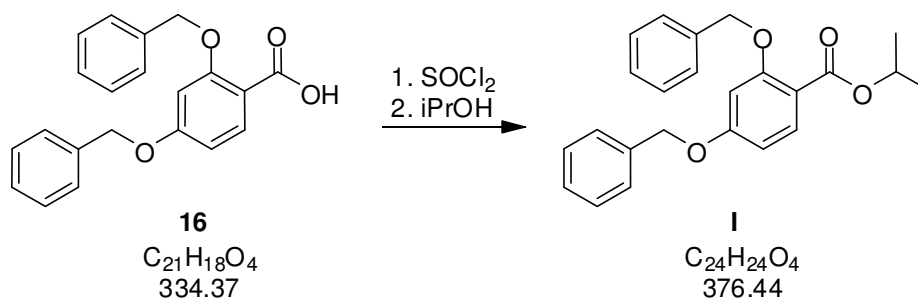
Vorgehen in Anlehnung an [15]. Der Dibenzyl-geschützte Methylester (**15**) (3.48 g, 10 mmol) wurde in THF (100 ml) gelöst, mit 1N NaOH-Lösung (100 ml) versetzt und über Nacht auf Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wurde am Rotationsverdampfer

auf etwa 50 ml eingeeengt, mit 100 ml Wasser verdünnt und mit konzentrierter Salzsäure (40 ml) versetzt. Die erhaltene Suspension wurde mit Et<sub>2</sub>O (3 x 100 ml) extrahiert, die gesammelten organischen Phasen mit Wasser gewaschen und nach Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Es wurden 3.10 g (**16**) als weißer Feststoff erhalten (93 %).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.16 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.47 - 7.32 (m, 10H), 6.75 - 6.65 (m, 2H), 5.21 (s, 2H), 5.12 (s, 2H) ppm

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 165.8 (s, 1C), 164.2 (s, 1C), 159.0 (s, 1C), 135.9 (s, 1C), 135.5 (d, 1C), 134.5 (s, 1C), 129.2 (d, 2C), 129.1 (d, 1C), 128.9 (d, 2C), 128.5 (d, 1C), 127.9 (d, 2C), 127.7 (d, 2C), 111.0 (s, 1C), 107.9 (d, 1C), 100.8 (d, 1C), 72.1 (t, 1C), 70.5 (t, 1C) ppm

### 2,4-Bis(phenylmethoxy)benzoesäureisopropylester (**I**)



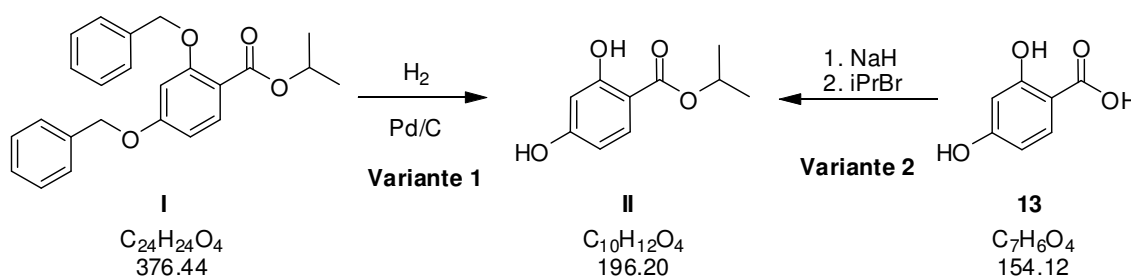
Benzoessäure (**16**) (1.67 g, 5 mmol, 1 eq.) wurde in abs. Toluol (20 ml) gelöst und tropfenweise mit Thionylchlorid (5.95 g, 50 mmol, 10 eq.) versetzt. Nach Erhitzen für 2h auf Rückfluß wurde die Reaktionslösung am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeeengt und der Rückstand in abs. Toluol (20 ml) gelöst. Nach Kühlen auf 0 °C wurde Triethylamin (1.01 g, 10 mmol, 2 eq.) zugegeben und Isopropanol (0.60 g, 10 mmol, 2 eq.) langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 20 °C gerührt und anschließend mit 30 ml Wasser verdünnt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige mit Et<sub>2</sub>O (2 x 50 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, sowie über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 10/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 1,52 g (**I**) als farbloses Öl erhalten (81 %).



$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.84 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 1H), 7.54 - 7.29 (m, 10H), 6.63 - 6.54 (m, 2H), 5.23 (sept.,  $J$  = 6.3 Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 1.30 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 165.7 (s, 1C), 163.1 (s, 1C), 160.2 (s, 1C), 136.8 (s, 1C), 134.5 (s, 1C), 133.9 (d, 1C), 128.9 (d, 2C), 128.7 (d, 2C), 128.4 (d, 1C), 128.0 (d, 1C), 127.7 (d, 2C), 127.3 (d, 2C), 114.0 (s, 1C), 106.1 (d, 1C), 101.6 (d, 1C), 70.8 (t, 1C), 70.4 (t, 1C), 67.9 (d, 1C), 22.2 (q, 2C) ppm

### 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester (II)



#### Variante 1

Der Benzyl-geschützte Isopropylester (**I**) (0.75 g, 2 mmol, 1 eq.) wurde in EtOAc gelöst (5 ml), mit 10 % Pd/C (0.2 g) versetzt und bei 20 °C in einer Wasserstoffatmosphäre ( $p = 1$  atm) für 15 h gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert, das Filtrat am Rotationsverdampfer eingeeengt und das Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 9/1, 40 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 0.343 g (**II**) als farbloses Harz erhalten (87 %).

#### Variante 2

Benzoessäure (**13**) (5 g, 32.4 mmol, 1 eq.) wurde in abs. DMF (200 ml) suspendiert und unter heftigem Rühren portionsweise mit NaH (0.78 g, 32.4 mmol, 1 eq.) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 30 min wurde Isopropylbromid (4.39 g, 35.7 mmol, 1.1 eq.) zugetropft und die Reaktionsmischung für 24h auf 80 °C erwärmt. Das Lösungsmittel wurde anschließend möglichst vollständig am Rotationsverdampfer abdestilliert, der Rückstand in  $\text{CHCl}_3$  (200 ml) aufgenommen, mit 1N HCl (200 ml) sowie Wasser (100 ml) gewaschen und die Lösung über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer

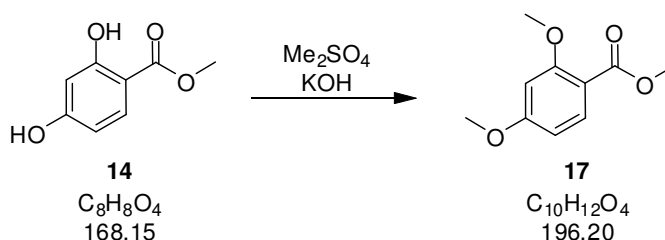
abdestilliert und das Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 9/1, 2 x 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 4.7 g (**II**) als gelbliches Harz erhalten (74 %), welches nach längerem Stehen einen gelblich-weißen Feststoff ergab.

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 11.27 (s, 1H), 7.73 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 6.44 - 6.34 (m, 2H), 5.24 (sept.,  $J$  = 6.3 Hz, 1H), 1.37 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 6H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 169.9 (s, 1C), 163.5 (s, 1C), 162.2 (s, 1C), 132, 2 (d, 1C), 108.1 (d, 1C), 106.5 (s, 1C), 103.2 (d, 1C), 69.3 (d, 1C), 22.1 (q, 2C) ppm

#### E.4.4 Synthese von 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester via Methylschutzgruppen

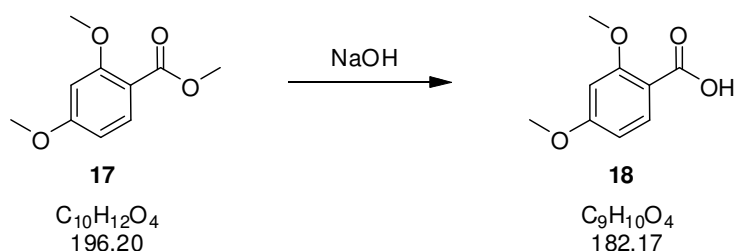
##### 2,4-Dimethoxybenzoesäuremethylester (**17**)



Vorgehen in Anlehnung an [16]. Methylester (**14**) (8.4 g, 50 mmol) wurde in Aceton (150 ml) gelöst und mit wässriger KOH (10 %) bis zum Erreichen eines pH-Werts von über 10 versetzt. Nach der Zugabe von Dimethylsulfat (20 ml) wurde für 5 h auf Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert, der Rückstand in  $\text{Et}_2\text{O}$  (50 ml) aufgenommen, mit Wasser (2 x 50 ml) gewaschen sowie über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 4/1, 220 g Kieselgel, Glaskartusche) gereinigt. Es konnten 7.9 g (**17**) als farblose Flüssigkeit erhalten werden (81 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.84 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H), 6.50 - 6.45 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 3H) ppm

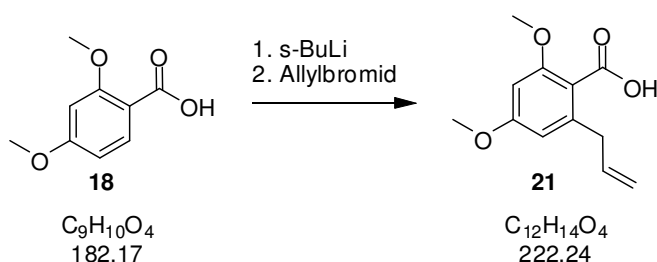
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 166.3 (s, 1C), 164.4 (s, 1C), 161.5 (s, 1C), 134 (d, 1C), 112.5 (s, 1C), 104.7 (d, 1C), 99.1 (d, 1C), 56.1 (q, 1C), 55.6 (q, 1C), 51.9 (q, 1C) ppm

**2,4-Dimethoxybenzoesäure (18)**

Methylester (**17**) (3.92 g, 20 mmol) wurde in einer Mischung aus MeOH (100 ml) und 1N NaOH (100 ml) gelöst und für 5h auf Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wurde anschließend am Rotationsverdampfer auf etwa 50 ml eingengt und durch Zugabe von 6N HCl auf pH 2 gestellt. Das Produkt wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und in vacuo (50 °C, 3 mbar) getrocknet. Es wurden 3.20 g (**18**) als weißes Pulver erhalten (88 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 12.16 (bs, 1H), 7.71 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 6.61 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 6.56 (dd,  $J$  = 8.4, 2.3 Hz, 1H), 3.81 (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 166.5 (s, 1C), 163.7 (s, 1C), 160.8 (s, 1C), 133.3 (d, 1C), 112.7 (s, 1C), 105.2 (d, 1C), 98.9 (d, 1C), 55.8 (q, 1C), 55.5 (q, 1C) ppm

**2,4-Dimethoxy-6-(2-propenyl)benzoesäure (21)**

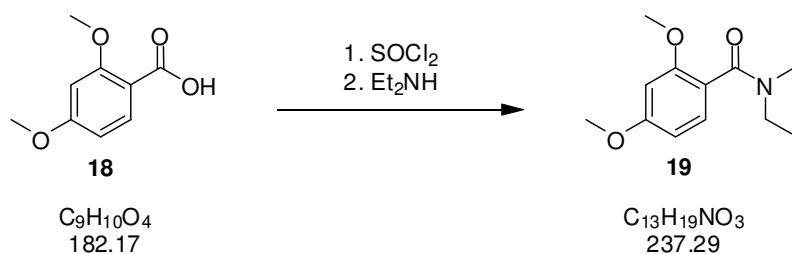
Vorgehen in Anlehnung an [17]. TMEDA (2.56 g, 22 mmol, 2.2 eq.) wurde in abs. THF (10 ml) gelöst und bei -90 °C langsam tropfenweise mit s-BuLi (16.9 ml, 22 mmol, 2.2 eq., 1.3 M in Cyclohexan) versetzt. Nach Rühren für 30 min wurde eine Lösung von 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**18**) (1.82 g, 10 mmol, 1 eq.) in abs. THF (15 ml) innerhalb von 25 min zugetropft ( $T < -70$  °C) und 2h bei -80 °C gerührt. Die nahezu klare, intensiv orange gefärbte Lösung wurde anschließend tropfenweise mit

Allylbromid (5.0 g, 41 mmol, 4.1 eq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde unter intensivem Rühren langsam auf 0 °C erwärmt und vorsichtig mit Wasser (100 ml) versetzt bzw. verdünnt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit Et<sub>2</sub>O (2 x 50 ml) gewaschen und mit 6N HCl auf pH 2 gestellt. Nach Extraktion mit Methylenechlorid (3 x 100 ml) wurden die gesammelten organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 3/1 mit 1 Vol.% AcOH, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 0.98 g (**21**) als blassbrauner Feststoff erhalten (44 %).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO): δ = 12.7 (bs, 1H), 6.48 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.37 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.88 (ddt, J = 16.9, 10.1, 6.8 Hz, 1H), 5.15 - 4.95 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.30 (d, J = 6.7 Hz, 2H) ppm

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO): δ = 168.6 (s, 1C), 160.6 (s, 1C), 157.3 (s, 1C), 138.6 (s, 1C), 136.6 (d, 1C), 117.6 (s, 1C), 116.2 (t, 1C), 106.0 (d, 1C), 96.4 (d, 1C), 55.7 (q, 1C), 55.3 (q, 1C), 37.2 (t, 1C) ppm

### N,N-Diethyl-2,4-dimethoxybenzamid (**19**)



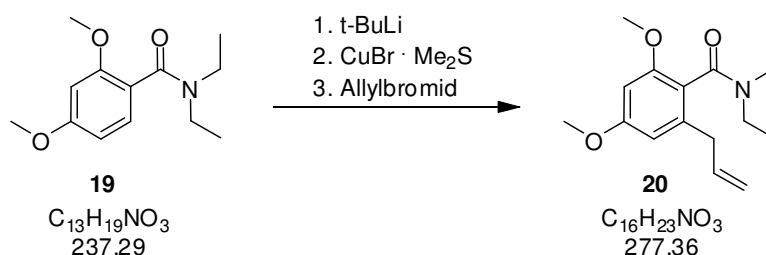
Vorgehen in Anlehnung an [18]. 2,4-Dimethoxybenzoesäure (**18**) (1.82 g, 10 mmol, 1 eq.) wurde in Thionylchlorid (20 ml) gelöst und für 3 h auf Rückfluß erhitzt. Nach Einengen der Reaktionsmischung am Rotationsverdampfer wurde der Rückstand in 20 ml abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst, auf 0 °C gekühlt und langsam mit einer Lösung von Diethylamin (2.19 g, 30 mmol, 3 eq.) in 10 ml abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Nach Rühren bei 20 °C für 15 h wurde die Reaktionslösung mit 50 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> verdünnt und mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2 x 100 ml) sowie mit Wasser (100 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch

(PE/EtOAc = 9/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 1.97 g (**19**) als gelbliches Öl erhalten (83 %).

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.11 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 6.52 - 6.42 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.55 (q,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 3.15 (q,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 1.22 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 1.02 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 168.7 (s, 1C), 161.1 (s, 1C), 156.4 (s, 1C), 128.2 (d, 1C), 119.7 (s, 1C), 104.5 (d, 1C), 98.5 (d, 1C), 55.4 (q, 1C), 55.3 (q, 1C), 42.8 (t, 1C), 38.8 (t, 1C), 13.9 (q, 1C), 12.9 (q, 1C) ppm

### N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(2-propenyl)benzamid (**20**)

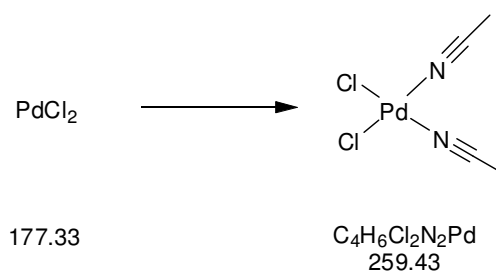


Vorgehen in Anlehnung an [19]. Amid (**19**) (0.95 g, 4 mmol, 1 eq.) wurde in abs. THF (10 ml) gelöst und bei  $-80$  °C langsam mit t-BuLi (5.9 ml, 10 mmol, 2.5 eq., 1.7 M in Pentan) versetzt. Nach Rühren für 2 h bei  $-75$  °C wurde  $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$  (1.64 g, 8 mmol, 2 eq.) zugegeben und die Reaktionslösung innerhalb 1 h auf  $-10$  °C erwärmt und 30 min bei dieser Temperatur weiter gerührt. Nach erneutem Abkühlen auf  $-80$  °C wurde Allylbromid (0.97 g, 8 mmol, 2 eq.) langsam zugetropft und eine weitere Stunde unter Erwärmung auf  $20$  °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde über Kieselgel filtriert und der Feststoff mit EtOAc nachgewaschen. Die gesammelten organischen Phasen wurden mit Wasser extrahiert, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 4/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es konnten 0.62 g (**20**) als farblose ölige Flüssigkeit erhalten werden (56 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.36 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 6.32 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 5.91 (ddt,  $J$  = 17.0, 10.0, 6.9 Hz, 1H), 5.12 - 5.02 (m, 2H), 3.82 - 3.72 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.45 - 3.25 (m, 3H), 3.20 - 3.00 (m, 2H), 1.23 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 1.02 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 168.3$  (s, 1C), 160.8 (s, 1C), 156.8 (s, 1C), 139.1 (s, 1C), 136.6 (d, 1C), 119.4 (s, 1C), 116.6 (t, 1C), 105.8 (d, 1C), 96.6 (d, 1C), 55.7 (q, 1C), 55.6 (q, 1C), 42.9 (t, 1C), 38.7 (t, 1C), 37.5 (t, 1C), 14.0 (q, 1C), 13.0 (q, 1C) ppm

### Bis(acetonitril)palladium(II)chlorid

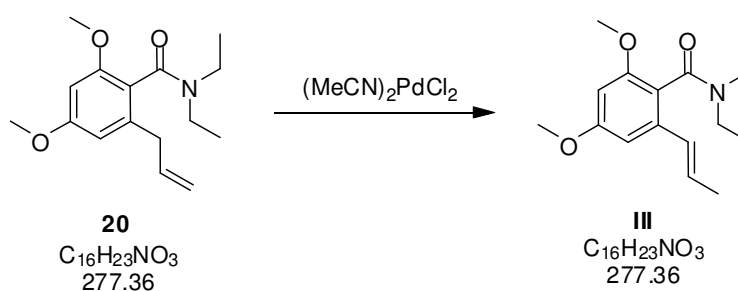


$\text{PdCl}_2$  (0.266 g, 1.5 mmol) wurde mit Acetonitril (7 ml) 24h bei 20 °C gerührt. Der gelbe Feststoff wurde abfiltriert und mehrmals mit PE gewaschen sowie in vacuo (50 °C, 3 mbar) getrocknet. Es wurden 0.35 g  $(\text{MeCN})_2\text{PdCl}_2$  erhalten (90 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta = 2.07$  (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta = 118.1$  (s, 2C), 1.2 (q, 2C) ppm

### N,N-Diethyl-2,4-dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzamid (III)

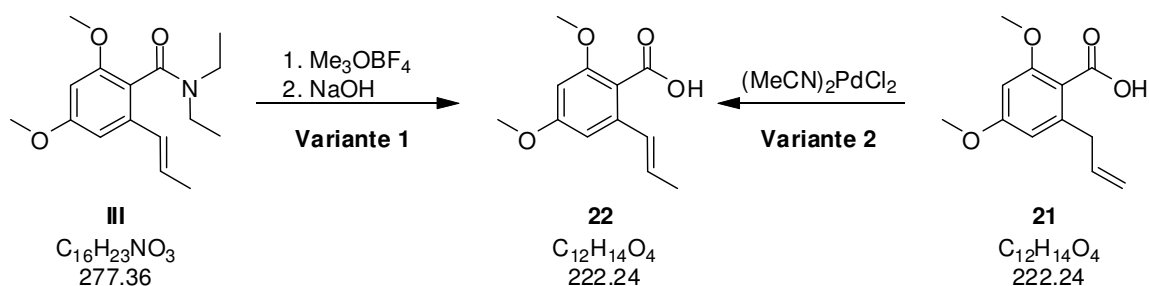


Amid (**20**) (277 mg, 1 mmol, 1 eq.) wurde in abs. Ethanol (5 ml) gelöst und mit  $(\text{MeCN})_2\text{PdCl}_2$  (26 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq.) versetzt. Nach Rühren für 48 h bei 20 °C wurde die Reaktionslösung über Celite filtriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 5/1, 40 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 211 mg (**III**) als farbloses Harz erhalten (76 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.57 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 6.29 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 6.28 (dq,  $J$  = 15.6, 1.1 Hz, 1H), 6.18 (dq,  $J$  = 15.5, 6.3 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.76 - 3.65 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.46 - 3.36 (m, 1H), 3.05 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 1.80 (dd,  $J$  = 6,3, 1.3 Hz, 3H), 1.21 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3 H), 0.95 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 168.2 (s, 1C), 160.6 (s, 1C), 156.8 (s, 1C), 136.6 (s, 1C), 128.5 (d, 1C), 127.8 (d, 1C), 118.3 (s, 1C), 101.1 (d, 1C), 97.3 (d, 1C), 55.6 (q, 1C), 55.4 (q, 1C), 42.7 (t, 1C), 38.8 (t, 1C), 18.7 (q, 1C), 13.8 (q, 1C), 12.8 (q, 1C) ppm

### 2,4-Dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzoesäure (**22**)



#### Variante 1

Diethylamid (**III**) (139 mg, 0.5 mmol, 1 eq.) wurde in abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) gelöst, mit  $\text{Me}_3\text{OBF}_4$  (104 mg, 0.7 mmol, 1.4 eq.) versetzt und 12 h bei 20 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand wurde in einer Mischung aus MeOH (10 ml) und 1N NaOH (10 ml) aufgenommen und für 5 h auf Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wurde anschließend auf etwa 5 ml eingeeengt, mit Wasser (20 ml) verdünnt und mit EtOAc (3 x 50 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt konnte säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 4/1 mit 1 Vol.% AcOH, 40 g Kieselgel) gereinigt werden. Es wurden 77 mg (**22**) als weißer Feststoff erhalten (69 %).

#### Variante 2

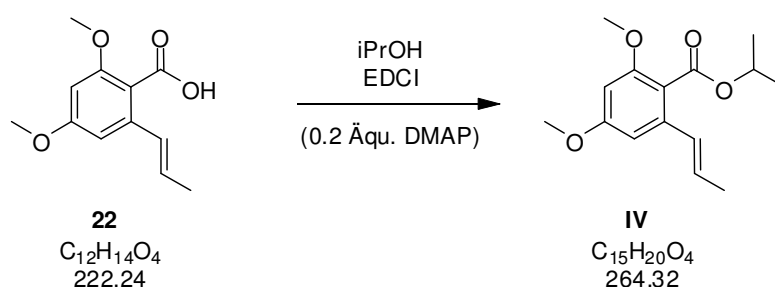
Benzoessäure (**21**) (222 mg, 1 mmol, 1 eq.) wurde in 5 ml abs. Ethanol gelöst und mit  $(\text{MeCN})_2\text{PdCl}_2$  (26 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq.) versetzt. Nach Rühren für 48 h bei 20 °C wurde die Reaktionslösung über Celite filtriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt durch Säulenchromatographie

(PE/EtOAc = 4/1 mit 1 Vol.% AcOH, 40 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 140 mg (**22**) als weißer Feststoff erhalten (63 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 6.69 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 6.49 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 6.45 - 6.25 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 1.85 - 1.80 (m, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 160.6 (s, 1C), 157.1 (s, 1C), 135.9 (s, 1C), 128.6 (d, 1C), 127.4 (d, 1C), 116.2 (s, 1C), 100.9 (d, 1C), 97.3 (d, 1C), 55.7 (q, 1C), 55.4 (q, 1C), 18.5 (q, 1C) ppm

### 2,4-Dimethoxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (**IV**)



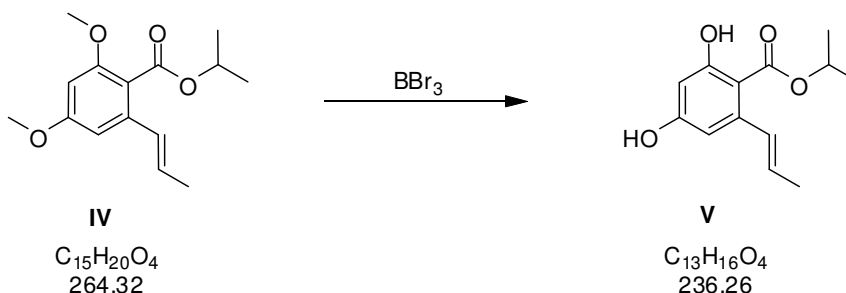
Benzoessäure (**22**) (70 mg, 0.3 mmol, 1 eq.) wurde in 15 ml abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und mit EDCI (63.3 mg, 0.33 mmol, 1.1 eq.), DMAP (7.3 mg, 0.06 mmol, 0.2 eq.) und Isopropanol (90.2 mg, 1.5 mmol, 5 eq.) versetzt und 24 h bei 20 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeeengt und direkt per Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 15/1) aufgereinigt. Es wurden 69 mg (**IV**) als farbloses Harz erhalten (83 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.56 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 6.40 (dq,  $J$  = 15.6, 1.1 Hz, 1H), 6.33 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 6.19 (dq,  $J$  = 15.5, 6.7 Hz, 1H), 5.29 (sept.,  $J$  = 6.3 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 1.85 (dd,  $J$  = 6.7, 1.5 Hz, 3H), 1.35 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 167.8 (s, 1C), 161.4 (s, 1C), 158.1 (s, 1C), 137.8 (s, 1C), 129.1 (d, 1C), 128.0 (d, 1C), 116.2 (s, 1C), 101.6 (d, 1C), 97.6 (d, 1C), 68.7 (d, 1C), 56.1 (q, 1C), 55.5 (q, 1C), 22.0 (q, 2C), 19.8 (q, 1C) ppm



## 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (V)



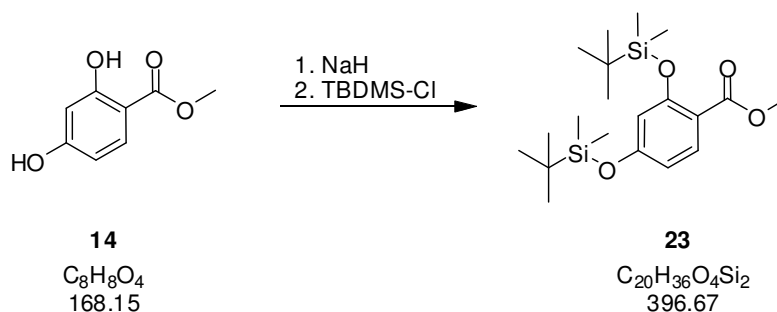
Vorgehen in Anlehnung an [30]. Isopropylester (**IV**) (53 mg, 0.2 mmol, 1 eq.) wurde in abs.  $CH_2Cl_2$  (5 ml) gelöst und bei  $-80\text{ }^\circ C$  mit  $BBr_3$  (0.42 ml, 0.42 mmol, 2.1 eq., 1M in  $CH_2Cl_2$ ) versetzt. Die Reaktionslösung wurde anschließend auf  $-15\text{ }^\circ C$  erwärmt und bei dieser Temperatur 48 h gerührt. Nach Zugabe von Eiswasser (10 ml) wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit  $CH_2Cl_2$  (2 x 20 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über  $Na_2SO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt konnte säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 7/1, 90 g Kieselgel) gereinigt werden. Es wurden 28 mg (**V**) als weißer Feststoff erhalten (59 %).

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 6.94 (dq, J = 15.5, 1.3 Hz, 1H), 6.37 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.32 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 5.86 (dq, J = 15.3, 6.6 Hz, 1H), 5.25 (sept., J = 6.2 Hz, 1H), 1.85 (dd, J = 6.6, 1.7 Hz, 3H), 1.39 (d, J = 6.1 Hz, 6H) ppm

$^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 171.0 (s, 1C), 164.8 (s, 1C), 160.4 (s, 1C), 144.6 (s, 1C), 132.5 (d, 1C), 127.3 (d, 1C), 108.4 (d, 1C), 104.2 (s, 1C), 102.2 (d, 1C), 69.7 (d, 1C), 22.2 (q, 2C), 18.6 (q, 1C) ppm

### E.4.5 Synthese von 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester via TBDMS-Schutzgruppen

#### 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzoesäuremethylester (**23**)

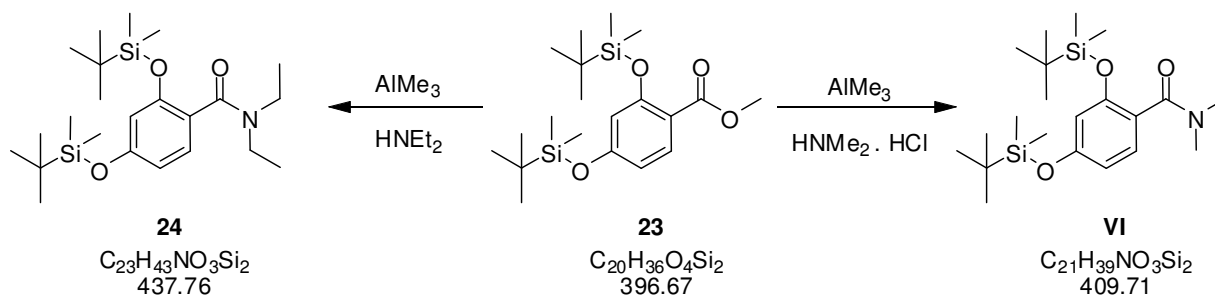


Methylester (**14**) (13.5 g, 80 mmol, 1 eq.) wurde in abs. THF (150 ml) gelöst und langsam zu einer auf 0 °C gekühlten Suspension von Natriumhydrid (4.5 g, 185 mmol, 2.3 eq.) in abs. THF (150 ml) getropft. Nach jeweils 1 h Rühren bei 0 °C und 20 °C wurde TBDMS-Cl (28.9 g, 192 mmol, 2.4 eq.) gelöst in THF (100 ml) zugegeben. Nach 1 h Rühren bei 20 °C wurde die Reaktionslösung mit Wasser (200 ml) verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et<sub>2</sub>O (2 x 200 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 25/1, 440 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 30.0 g (**23**) als farblose Flüssigkeit erhalten (94 %).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, d<sub>6</sub>-Aceton): δ = 7.72 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.57 (dd, J = 8.6, 2.4 Hz, 1H), 6.41 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 1.02 (s, 9H), 0.99 (s, 9H), 0.26 (s, 6H), 0.23 (s, 6H) ppm

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, d<sub>6</sub>-Aceton): δ = 166.7 (s, 1C), 161.0 (s, 1C), 157.9 (s, 1C), 134.0 (d, 1C), 117.1 (s, 1C), 114.3 (d, 1C), 113.4 (d, 1C), 51.8 (q, 1C), 26.2 (q, 3C), 26.0 (q, 3C), 19.0 (s, 1C), 18.9 (s, 1C), -4.4 (q, 4C) ppm

### N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)benzamide



#### Allgemeine Vorgehensweise

Vorgehen entsprechend [22].  $\text{AlMe}_3$  (40 ml, 80 mmol, 4 eq., 2M in Toluol) in abs. Toluol (80 ml) wurde auf  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt und mit Amin bzw. Amin-Hydrochlorid (80 mmol, 4 eq.) versetzt. Nach 10 min wurde auf  $20\text{ }^\circ\text{C}$  erwärmt und bei dieser Temperatur 50 min gerührt. Anschließend wurde Methylester (**23**) (7.93 g, 20 mmol, 1 eq.) gelöst in Toluol (20 ml) zugegeben und für 20 h auf Rückfluß erhitzt. Nachdem Lösung auf  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt wurde, wurde vorsichtig 3N HCl (120 ml) zugetropft. Die Phasen wurden anschließend getrennt, die organische Phase mit 3N HCl (2 x 50 ml) gewaschen sowie die wässrige Phase mit EtOAc (2 x 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt säulenchromatographisch gereinigt.

#### 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid (**24**)

Säulenchromatographie: PE/EtOAc = 3/2, 220 g Kieselgel

Es wurden 6.6 g (**24**) als gelbliches klares Öl erhalten (76 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.00$  (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H),  $6.49$  (dd,  $J = 8.2, 2.4$  Hz, 1H),  $6.27$  (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H),  $3.5 - 3.2$  (m, 2H),  $3.17 - 2.97$  (m, 2H),  $1.11$  (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H),  $1.00 - 0.91$  (m, 12H),  $0.90$  (s, 9H),  $0.19$  (s, 6H),  $0.17$  (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 167.6$  (s, 1C),  $155.9$  (s, 1C),  $151.5$  (s, 1C),  $128.3$  (d, 1C),  $123.2$  (s, 1C),  $113.1$  (d, 1C),  $110.5$  (d, 1C),  $42.2$  (t, 1C),  $38.5$  (t, 1C),  $25.4$  (q, 3C),  $25.3$  (q, 3C),  $17.9$  (s, 1C),  $17.7$  (s, 1C),  $13.9$  (q, 1C),  $13.0$  (q, 1C),  $-4.6$  (q, 4C) ppm

**2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-dimethylbenzamid (VI)**

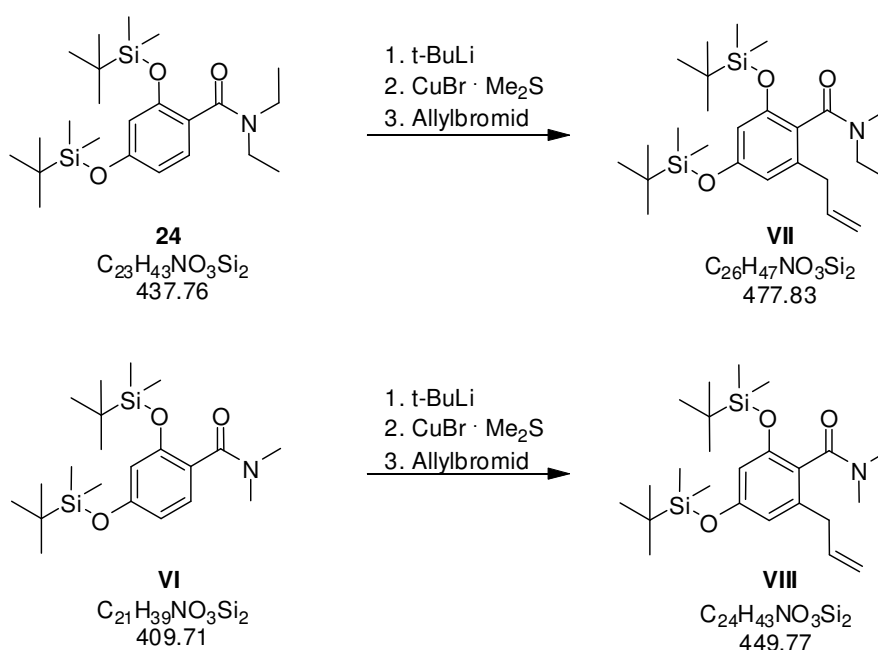
Säulenchromatographie: PE/EtOAc = 3/2, 220 g Kieselgel

Es wurden 5.9 g (VI) als weißes Pulver erhalten (72 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.13 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 6.48 (dd,  $J$  = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 6.28 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 3.04 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 0.96 (s, 9H), 0.94 (s, 9H), 0.18 (s, 6H), 0.17 (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 169.9 (s, 1C), 157.4 (s, 1C), 152.5 (s, 1C), 129.2 (d, 1C), 122.8 (s, 1C), 114.1 (d, 1C), 111.6 (d, 1C), 38.4 (q, 1C), 35.0 (q, 1C), 25.8 (q, 3C), 25.7 (q, 3C), 18.4 (s, 1C), 18.2 (s, 1C), -4.2 (q, 4C) ppm

**N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-6-(2-propenyl)benzamide**

**Allgemeine Vorgehensweise**

Vorgehen in Anlehnung an [19]. Amid (**24**) oder (**VI**) (5 mmol, 1 eq.) wurde in abs. THF (20 ml) gelöst und bei  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  tropfenweise mit t-BuLi (7.5 ml, 12.75 mmol, 2.55 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 1 h bei  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt und nach anschließender Zugabe von  $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$  (2.26 g, 11 mmol, 2.2 eq.) langsam auf  $-15\text{ }^\circ\text{C}$  erwärmt und 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde erneut auf  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt und mit Allylbromid (3.02 g, 25 mmol, 5 eq.) tropfenweise versetzt. Nach langsamem Erwärmen auf  $20\text{ }^\circ\text{C}$  wurde die Reaktionslösung über Celite filtriert, mit

EtOAc nachgewaschen, die vereinigten Filtrate mit Wasser gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das jeweilige Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 4/1, 90 g Kieselgel) gereinigt.

### **2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethyl-6-(2-propenyl)benzamid (VII)**

Ausgehend von 2.19 g (**24**) wurden 1.96 g (**VII**) als farbloses Harz erhalten (82 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.34 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.17 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.95 - 5.80 (m, 1H), 5.10 - 5.00 (m, 2H), 3.77 - 3.65 (m, 1H), 3.40 - 3.00 (m, 5H), 1.23 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.02 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (s, 9H), 0.94 (s, 9H), 0.22 (s, 3H), 0.19 (s, 3H), 0.17 (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 168.5 (s, 1C), 156.2 (s, 1C), 152.4 (s, 1C), 139.2 (s, 1C), 136.6 (d, 1C), 122.9 (s, 1C), 116.5 (t, 1C), 114.1 (d, 1C), 109.0 (d, 1C), 43.3 (t, 1C), 39.2 (t, 1C), 37.3 (t, 1C), 25.9 (q, 3C), 25.8 (q, 3C), 18.4 (s, 1C), 18.3 (s, 1C), 14.2 (q, 1C), 13.3 (q, 1C), -3.9 (q, 1C), -4.16 (q, 1C), -4.22 (q, 1C), -4.4 (q, 1C) ppm

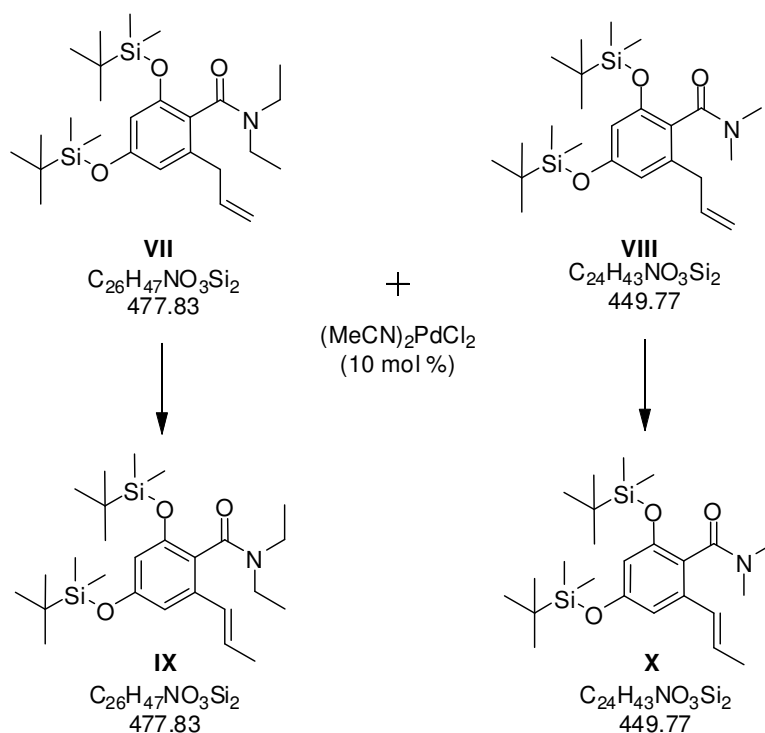
### **2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-dimethyl-6-(2-propenyl)benzamid (VIII)**

Ausgehend von 2.05 g (**VI**) wurden 1.60 g (**VIII**) als farbloses Harz erhalten (71 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.34 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.16 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 5.90 - 5.78 (m, 1H), 5.06 - 4.96 (m, 2H), 3.04 (s, 3H), 2.79 (s, 3H), 0.97 (s, 9H), 0.94 (s, 9H), 0.22 (s, 6H), 0.18 (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 169.3 (s, 1C), 156.5 (s, 1C), 152.5 (s, 1C), 139.5 (s, 1C), 136.8 (d, 1C), 122.5 (s, 1C), 116.1 (t, 1C), 114.7 (d, 1C), 108.8 (d, 1C), 38.1 (q, 1C), 37.7 (t, 1C), 34.6 (q, 1C), 25.9 (q, 3C), 25.7 (q, 3C), 18.5 (s, 1C), 18.2 (s, 1C), -3.9 (q, 1C), -4.16 (q, 1C), -4.20 (q, 1C), -4.40 (q, 1C) ppm

**N,N-Dialkyl-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-6-(1E-propenyl)benzamide**



**Allgemeine Vorgehensweise**

Amid (1 mmol, 1 eq.) wurde in abs. Ethanol (5 ml) gelöst und mit  $(MeCN)_2PdCl_2$  (26 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq.) versetzt. Nach Rühren für 48 h bei 20 °C wurde die Reaktionslösung über Celite filtriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 8/1, 90 g Kieselgel) gereinigt.

**2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethyl-6-(1E-propenyl)-benzamid (IX)**

Ausgehend von 477 mg (**VII**) wurden 334 mg (**IX**) als farbloses Harz erhalten (70 %).  
 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 6.58 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 6.25 (d,  $J$  = 15.8 Hz, 1H), 6.18 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 6.14 (dq,  $J$  = 15.5, 6.4 Hz, 1H), 3.76 - 3.65 (m, 1H), 3.40 - 3.30 (m, 1H), 3.17 - 2.97 (m, 2H), 1.81 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 1.24 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 1.00 - 0.90 (m, 21H), 0.21 (s, 3H), 0.19 (s, 3H), 0.18 (s, 6H) ppm  
 $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 168.4 (s, 1C), 156.1 (s, 1C), 152.5 (s, 1C), 137.1 (s, 1C), 128.3 (d, 1C), 128.0 (d, 1C), 121.8 (s, 1C), 109.9 (d, 1C), 109.7 (d, 1C), 43.2 (t, 1C), 39.3 (t, 1C), 25.9 (q, 3C), 25.8 (q, 3C), 18.8 (q, 1C), 18.4 (s, 1C), 18.3 (s, 1C), 14.1 (q, 1C), 13.3 (q, 1C), -3.9 (q, 1C), -4.1 (q, 1C), -4.2 (q, 1C), -4.4 (q, 1C) ppm

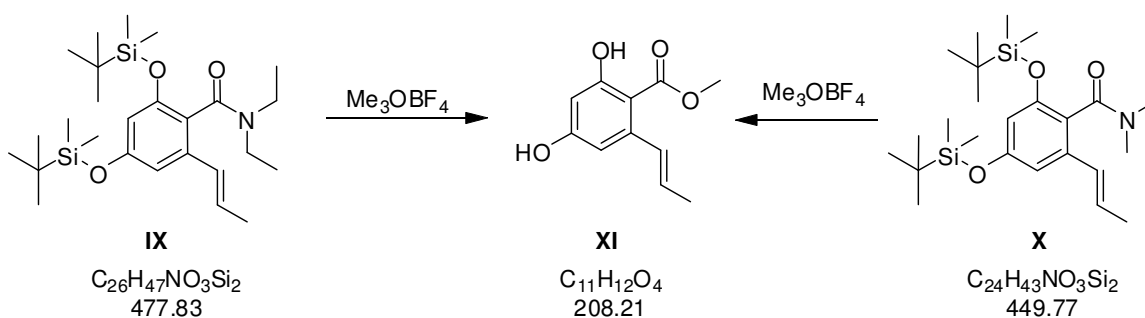
## 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-dimethyl-6-(1E-propenyl)-benzamid (X)

Ausgehend von 449 mg (**VIII**) wurden 319 mg (**X**) als farbloses Harz erhalten (71 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.60 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 6.26 (dq,  $J$  = 15.4, 1.1 Hz, 1H), 6.16 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 6.14 (dq,  $J$  = 15.5, 6.5 Hz, 1H), 3.07 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 1.82 (dd,  $J$  = 6.4, 1.5 Hz, 3H), 0.97 (s, 9H), 0.94 (s, 9H), 0.20 (s, 6H), 0.18 (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 169.2 (s, 1C), 156.4 (s, 1C), 152.5 (s, 1C), 137.2 (s, 1C), 128.4 (d, 1C), 127.9 (d, 1C), 121.4 (s, 1C), 110.0 (d, 1C), 109.5 (d, 1C), 37.9 (q, 1C), 34.7 (q, 1C), 25.8 (q, 3C), 25.7 (q, 3C), 18.8 (q, 1C), 18.4 (s, 1C), 18.1 (s, 1C), -4.0 (q, 1C), -4.17 (q, 1C), -4.21 (q, 1C), -4.34 (q, 1C) ppm

## 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäuremethylester (XI)



## Allgemeine Vorgehensweise

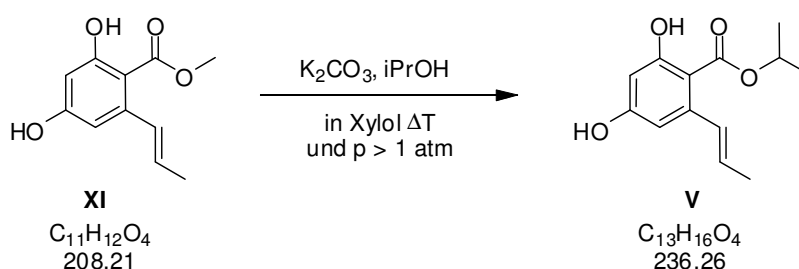
Isomerisiertes Amid (0.5 mmol, 1 eq.) wurde in abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) gelöst und mit  $\text{Me}_3\text{OBF}_4$  (104 mg, 0.7 mmol, 1.4 eq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 15 h bei 20 °C gerührt, anschließend bis zur Trockene eingeengt und in einer Mischung aus MeOH (2 ml) und gesättigter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung (2 ml) aufgenommen. Nach Rühren für 6 h bei 20 °C wurde  $\text{Et}_2\text{O}$  (20 ml) und Wasser (20 ml) zugegeben. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase wurde mit 1N HCl auf pH 2 gestellt und mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 x 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen bzw.  $\text{Et}_2\text{O}$ -Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt (**XI**) wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 8/1, 40 g Kieselgel) gereinigt.

**Ausgehend vom Diethylamid (IX) oder Dimethylamid (X)**

Ausgehend von 239 mg (IX) bzw. 225 mg (X) wurden jeweils 72 mg Produkt (XI) als weißer Feststoff erhalten (69 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 11.65 (s, 1H), 6.92 (dq,  $J$  = 15.4, 1.3 Hz, 1H), 6.41 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 6.33 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 5.92 (dq,  $J$  = 15.3, 6.6 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 1.86 (dd,  $J$  = 6.7, 1.8 Hz, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 172.0 (s, 1C), 164.7 (s, 1C), 160.7 (s, 1C), 144.4 (s, 1C), 131.9 (d, 1C), 128.3 (d, 1C), 108.5 (d, 1C), 104.1 (s, 1C), 102.3 (d, 1C), 52.3 (q, 1C), 18.8 (q, 1C) ppm

**2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester (V)**

Methylester (XI) (104 mg, 0.5 mmol) wurde in Xylol (4 ml, Isomerengemisch) und Isopropanol (4 ml) gelöst, mit einer Spatelspitze  $\text{K}_2\text{CO}_3$  versetzt und die Reaktionsmischung in einer verschlossenen, druckfesten Rollrandflasche 48 h auf etwa 150 °C (Ölbadtemperatur: 180 °C) erhitzt. Nach Zugabe von 10 ml 5%iger AcOH und 20 ml  $\text{Et}_2\text{O}$  wurden die Phasen getrennt, die organische Phase mit Wasser gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 10/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 65 mg (V) als weißer Feststoff erhalten (55 %).

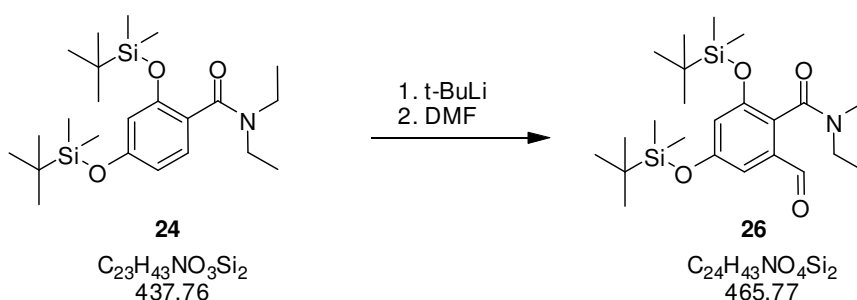
$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.94 (dq,  $J$  = 15.5, 1.3 Hz, 1H), 6.37 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 6.32 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 5.86 (dq,  $J$  = 15.3, 6.6 Hz, 1H), 5.25 (sept.,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 1.85 (dd,  $J$  = 6.6, 1.7 Hz, 3H), 1.39 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 6H) ppm



$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 171.0$  (s, 1C), 164.8 (s, 1C), 160.4 (s, 1C), 144.6 (s, 1C), 132.5 (d, 1C), 127.3 (d, 1C), 108.4 (d, 1C), 104.2 (s, 1C), 102.2 (d, 1C), 69.7 (d, 1C), 22.2 (q, 2C), 18.6 (q, 1C) ppm

#### E.4.6 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-2S-butylester

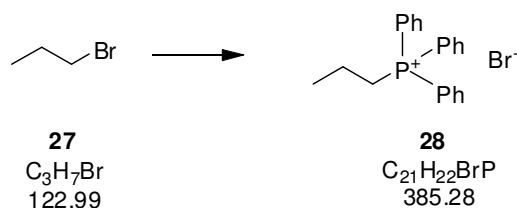
##### 2,4-Bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethyl-6-formylbenzamid (**26**)



Vorgehen in Anlehnung an [24]. Diethylamid (**24**) (438 mg, 1 mmol, 1 eq.) wurde in abs. THF (10 ml) gelöst und bei  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  tropfenweise mit t-BuLi (1.47 ml, 2.5 mmol, 2.5 eq., 1.7 M in Pentan) versetzt. Nach Rühren für 2 h bei einer Temperatur kleiner als  $-60\text{ }^\circ\text{C}$  wurde vorsichtig DMF (0.22 g, 3 mmol, 3 eq.) zugetropft. Nach Erwärmen auf  $0\text{ }^\circ\text{C}$  innerhalb von 2 h wurde gesättigte  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (20 ml) zugegeben und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 30 ml extrahiert). Die gesammelten organischen Phasen wurden mit gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 3/1 bis 2/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Die Ausbeute an formyliertem Produkt (**26**) betrug 340 mg (73 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 9.89$  (s, 1H), 7.00 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 6.56 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 3.78 - 3.65 (m, 1H), 3.47 - 3.33 (m, 1H), 3.22 - 3.03 (m, 2H), 1.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 1.01 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.98 (s, 9H), 0.97 (s, 9H), 0.25 (s, 6H), 0.22 (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):  $\delta = 190.6$  (d, 1C), 165.0 (s, 1C), 155.9 (s, 1C), 152.5 (s, 1C), 134.5 (s, 1C), 124.6 (s, 1C), 116.0 (d, 1C), 114.0 (d, 1C), 42.4 (t, 1C), 38.6 (t, 1C), 25.4 (q, 3C), 25.2 (q, 3C), 18.0 (s, 1C), 17.8 (s, 1C), 13.6 (q, 1C), 12.6 (q, 1C), -4.4 (q, 1C), -4.60 (q, 1C), -4.64 (q, 1C), -4.8 (q, 1C) ppm

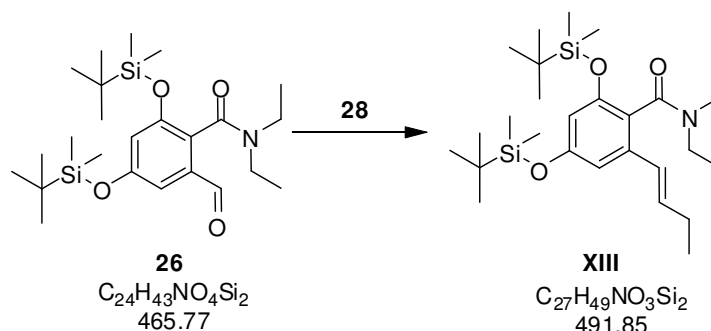
Triphenylpropylphosphoniumbromid (**28**)

1-Bromopropan (**27**) (6.15 g, 50 mmol, 1 eq.) und Triphenylphosphin (15.74 g, 60 mmol, 1.2 eq.) wurden in abs. Toluol (200 ml) gelöst und 72 h auf Rückfluß erhitzt. Der weiße Feststoff wurde abfiltriert, mit Toluol und PE gewaschen und in vacuo (50 °C, 3 mbar) getrocknet. Es wurden 13.5 g Phosphoniumsalz (**28**) erhalten (70 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.86 - 7.56 (m, 15H), 3.73 - 3.54 (m, 2H), 1.80 - 1.50 (m, 2H), 1.24 - 1.10 (m, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 135.1 ( $d_{\text{HD}_P}$ ,  $^4J_{\text{CP}} = 3.2$  Hz, 3C), 133.7 ( $d_{\text{HD}_P}$ ,  $^2J_{\text{CP}} = 9.9$  Hz, 6C), 130.6 ( $d_{\text{HD}_P}$ ,  $^3J_{\text{CP}} = 12.4$  Hz, 6C), 118.3 ( $s_{\text{HD}_P}$ ,  $^1J_{\text{CP}} = 84.4$  Hz, 3C), 24.5 ( $t_{\text{HD}_P}$ ,  $^1J_{\text{CP}} = 49.9$  Hz, 1C), 16.6 ( $t_{\text{HD}_P}$ ,  $^2J_{\text{CP}} = 4.5$  Hz, 1C), 15.4 ( $q_{\text{HD}_P}$ ,  $^3J_{\text{CP}} = 17.3$  Hz, 1C) ppm

**6-(1E-Butenyl)-2,4-bis(dimethyl(1,1-dimethylethyl)silyloxy)-N,N-diethylbenzamid (XIII)**

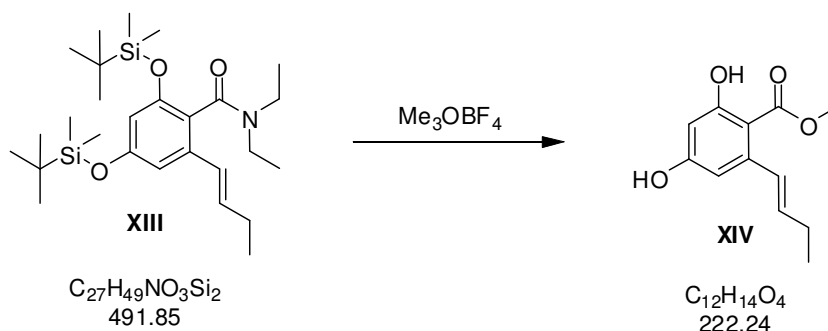


Vorgehen entsprechend [25]. Triphenylpropylphosphoniumbromid (**28**) (694 mg, 1.8 mmol, 1.2 eq.) und Lithiumbromid (312 mg, 3.6 mmol, 2.4 eq.) wurden in abs. THF (20 ml) gelöst bzw. suspendiert, die Reaktionsmischung auf  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und mit Phenyllithium (0.95 ml, 1.8 mmol, 1.2 eq., 1,9 M in Dibutylether) versetzt. Nach Erwärmen auf  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  für 30 min wurde erneut auf  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und (**26**) (700 mg, 1,5 mmol, 1 eq.) zugegeben. Nach 15 min wurde erneut Phenyllithium (0.95 ml, 1.8 mmol, 1.2 eq., 1,9 M in Dibutylether) zugegeben und die Reaktionsmischung jeweils 30 min bei  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  und  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Nach Zugabe von HCl (1.8 ml, 1.8 mmol, 1 M in  $\text{Et}_2\text{O}$ , 1.2 eq.) und Kalium-tert-butanolat (224 mg, 2 mmol, 1.3 eq.) wurde die Reaktionsmischung noch 1 h bei  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  weitergerührt. Die Reaktionslösung wurde anschließend auf Wasser ( $\sim 100\text{ ml}$ ) gegossen und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 100 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 5/1 bis 3/1) gereinigt. Es wurden 520 mg (**XIII**) als gelbliches Öl erhalten (71 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.60 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 6.25 - 6.15 (m, 3H), 3.87-3.63 (m, 1H), 3.40 - 3.20 (m, 1H), 3.16 - 3.00 (m, 2H), 2.25 - 2.07 (m, 2H), 1.24 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 1.03 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H), 1.00 - 0.90 (m, 21 H), 0.22 (s, 6H), 0.19 (s, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 168.5 (s, 1C), 156.1 (s, 1C), 152.5 (s, 1C), 137.1 (s, 1C), 135.1 (d, 1C), 125.8 (d, 1C), 122.0 (s, 1C), 109.9 (d, 1C), 109.7 (d, 1C), 43.2 (t, 1C), 39.4 (t, 1C), 26.3 (t, 1C), 25.9 (q, 3C), 25.8 (q, 3C), 18.4 (s, 1C), 18.3 (s, 1C), 14.1 (q, 1C), 13.5 (q, 1C), 13.3 (q, 1C), -3.8 (q, 1C), -4.1 (q, 1C), -4.2 (q, 1C), -4.4 (q, 1C) ppm

## 6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäuremethylester

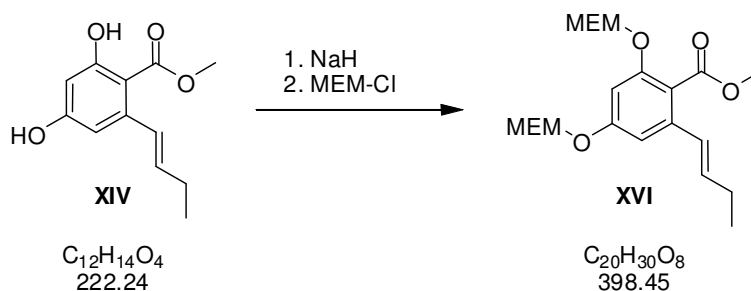


Vorgehen in Anlehnung an [21]. Benzamid (**XIII**) (492 mg, 1 mmol, 1 eq.) wurde in 10 ml abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst, mit  $\text{Me}_3\text{OBF}_4$  (207 mg, 1.4 mmol, 1.4 eq.) versetzt und 15 h bei 20 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde anschließend am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand in einer Mischung aus Methanol (3 ml) und gesättigter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung (3 ml) aufgenommen. Nach Rühren für 6 h wurden Wasser (20 ml) und  $\text{Et}_2\text{O}$  (40 ml) zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mittels 1N HCl auf pH 2 gestellt und erneut mit  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 6/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 155 mg (**XIV**) erhalten (70 %).

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 6.89 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 6.42 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 6.33 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 5.96 (dt,  $J$  = 15.5, 6.3 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 2.30 - 2.10 (m, 2H), 1.09 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 172.0 (s, 1C), 164.6 (s, 1C), 160.8 (s, 1C), 144.6 (s, 1C), 135.0 (d, 1C), 129.8 (d, 1C), 108.6 (d, 1C), 104.2 (s, 1C), 102.3 (d, 1C), 52.2 (q, 1C), 26.1 (t, 1C), 13.6 (q, 1C) ppm

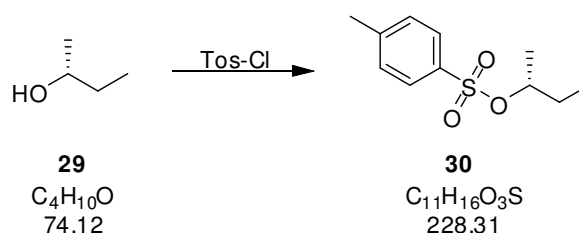
**6-(1E-Butenyl)-2,4-bis((2-methoxyethoxy)methoxy)benzoesäure-methylester (XVI)**



Vorgehen analog zu [22]. Methylester (**XIV**) (111 mg, 0.5 mmol, 1 eq.) gelöst in abs. THF (10 ml) wurde langsam zu einer auf 0 °C gekühlten Suspension von NaH (27 mg, 1.125 mmol, 2.25 eq.) in abs. THF (15 ml) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde anschließend 3 h bei 20 °C gerührt, erneut auf 0 °C gekühlt und mit MEM-Cl (140 mg, 1.125 mmol, 2.25 eq.) versetzt. Nach 2h wurde auf 20 °C erwärmt und bei dieser Temperatur 24 h gerührt. Nach Zugabe von Wasser (20 ml) wurde mit Et<sub>2</sub>O (3 x 30 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt konnte durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 4/1 bis 1/1, 40 g Kieselgel) gereinigt werden.. Es wurden 115 mg geschütztes Produkt (**XVI**) erhalten (58 %).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.86 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.20 (dt, J = 15.7, 5.6 Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.86 - 3.76 (m, 4H), 3.60 - 3.50 (m, 4H), 3.37 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.30 - 2.10 (m, 2H), 1.05 (t, J = 7.5 Hz, 3H) ppm

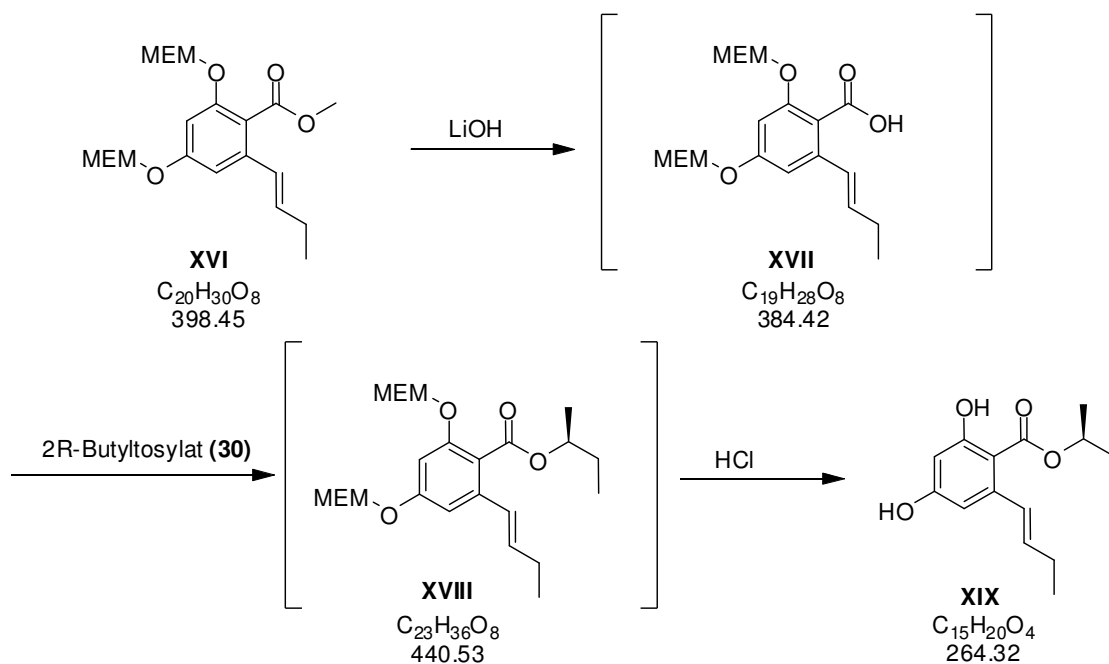
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 168.6 (s, 1C), 159.0 (s, 1C), 155.4 (s, 1C), 138.1 (s, 1C), 136.5 (d, 1C), 125.4 (d, 1C), 117.6 (s, 1C), 106.1 (d, 1C), 102.7 (d, 1C), 94.1 (t, 1C), 93.5 (t, 1C), 71.9 (t, 1C), 71.4 (t, 1C), 68.0 (t, 1C), 67.9 (t, 1C), 59.21 (q, 1C), 59.17 (q, 1C), 52.4 (q, 1C), 26.4 (t, 1C), 13.6 (q, 1C) ppm

**(R)-2-Butyltosylat (30)**

Vorgehen entsprechend [32]. (R)-2-Butanol (1.85 g, 25 mmol, 1 eq.) wurde in abs. Pyridin (20 ml) gelöst, auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit Tosylchlorid (6.20 g, 32.5 mmol) gelöst in abs. Pyridin (25 ml), versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage bei 20 °C gerührt, anschließend mit Et<sub>2</sub>O (3 x 100 ml) extrahiert und die gesammelten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen sowie über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abgezogen und das Produkt säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 4/1, 90 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 5.0 g des Tosylats (**30**) erhalten (88 %).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.76 (m, J = 8.2 Hz, 2H), 7.30 (m, J = 8.1 Hz, 2H), 4.52 (sext., J = 6.2 Hz, 1H), 2.41 (s, 3H), 1.64 - 1.46 (m, 2H), 1.21 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 0.78 (t, J = 7.4 Hz, 3H) ppm

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 144.5 (s, 1C), 134.6 (s, 1C), 129.8 (d, 2C), 127.8 (d, 2C), 81.9 (d, 1C), 29.5 (t, 1C), 21.7 (q, 1C), 20.4 (q, 1C), 9.4 (q, 1C) ppm

6-(1E-Butenyl)-2,4-dihydroxybenzoesäure-(S)-2-butylester (**XIX**)

Eine Lösung aus Methyl ester (**XVI**) (100 mg, 0.25 mmol, 1 eq.) und LiOH-H<sub>2</sub>O (105 mg, 2.5 mmol, 10 eq.) in einer 2:1:1 Mischung aus THF, Methanol und Wasser (4 ml) wurde für 72 h auf 70-75 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde auf 20 °C gekühlt und nach Zugabe von Et<sub>2</sub>O (20 ml) und Wasser (20 ml) die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit 1N HCl auf pH 3 angesäuert und mit Et<sub>2</sub>O (2 x 20 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Als Rohausbeute wurden 85 mg der Benzoesäure (**XVII**) (0.22 mmol, Rohausbeute: 88%) erhalten, welche ohne weitere Reinigung direkt für die Folgesynthese eingesetzt wurden.

Benzoessäure (**XVII**) (85 mg, 0.22 mmol, 1 eq.) wurde in abs. DMF (20 ml) gelöst und nach Abkühlen auf 0 °C mit DBU (50 mg, 0.33 mmol, 1.5 eq.) versetzt. Nach Rühren für 1 h bei dieser Temperatur wurde (R)-2-Butyltosylat (100 mg, 0.44 mmol, 2 eq.) zugegeben und für 12 h auf 80 °C erhitzt. DMF wurde anschließend am Rotationsverdampfer möglichst gut entfernt. Der Rückstand wurde in Et<sub>2</sub>O (20 ml) aufgenommen und mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2 x 20 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Der Rückstand wurde in 5 ml einer 2/1-Mischung aus THF und 5 % HCl aufgenommen und 5 Tage lang bei 20 °C gerührt.

Anschließend wurde gesättigte NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (5 ml) zugegeben und mit Et<sub>2</sub>O (3 x 10 ml) extrahiert. Die vereinigten Et<sub>2</sub>O-Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (PE/EtOAc = 4/1, 40 g Kieselgel) gereinigt. Es wurden 23 mg **(XIX)** isoliert (40 % bezogen auf **(XVII)**, 35 % über 3 Stufen bzw. bezogen auf **(XVI)**).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 11.83 (s, 1H), 6.98 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 6.41 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.34 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 5.94 (dt, J = 15.3, 6.2 Hz, 1H), 5.16 (sext., J = 6.5 Hz, 1H), 2.30 - 2.18 (m, 2H), 1.85 - 1.65 (m, 2H), 1.38 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 1.12 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.00 (t, J = 7.5 Hz, 3H) ppm

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 171.0 (s, 1C), 164.9 (s, 1C), 160.0 (s, 1C), 144.5 (s, 1C), 134.2 (d, 1C), 130.2 (d, 1C), 108.2 (d, 1C), 104.7 (s, 1C), 102.1 (d, 1C), 74.0 (d, 1C), 28.9 (t, 1C), 26.1 (t, 1C), 19.6 (q, 1C), 13.4 (q, 1C), 9.7 (q, 1C) ppm



## E.4.7 Glucuronidierung - Methoden

Im folgenden sind die optimierten Vorgehensweisen der Königs-Knorr-, Iodozucker- und Trichloracetimidat-Methode bezogen auf 1 mmol Glucuronyl-Akzeptor angeführt. Im weiteren Verlauf wird auf diese Vorgehensweisen referenziert. Produkte der Glucuronidierungsreaktionen wurden ausnahmslos säulenchromatographisch (*Büchi Sepacore* bzw. *Shimadzu PHPLC*) gereinigt.

### A) Optimierte Königs-Knorr-Methode

Glucuronyl-Akzeptor (1 mmol, 1 eq.) und Glucuronyl-Donor **(5)** oder **(10)** (1.5 mmol, 1.5 eq.) wurden in abs. DCE (3 ml) gelöst und nach Zugabe von 0.5 g geriebenen Molekularsieb (3 Å) 30 min bei 20 °C gerührt. Anschließend wurde Silbercarbonat (414 mg, 1.5 mmol, 1.5 eq.) als Aktivator zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 48 h und 96 h wurden jeweils nochmals 1.5 eq. des G-Donors zugegeben. Die Gesamtzeit ergab sich aus der ständigen Reaktionskontrolle per Dünnschichtchromatographie. Die Suspension wurde abschließend filtriert und eingeeengt und das Produkt direkt durch Säulenchromatographie des Rückstandes erhalten.

### B) Optimierte Iodozucker-Methode (NIS-Aktivierung)

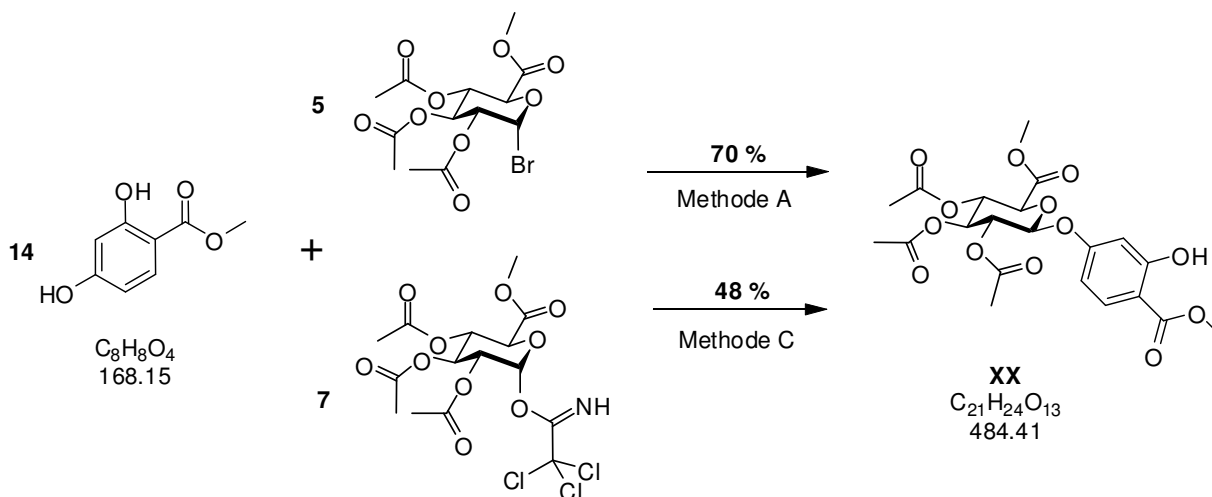
Glucuronyl-Akzeptor (1 mmol, 1 eq.) und Iodozucker **(9)** (2 mmol, 2 eq.) wurden in abs. DCE (10 ml) gelöst und nach Zugabe von 0.5 g Molekularsieb (3Å, zerrieben) 30 min bei 20 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde anschließend auf 0 °C gekühlt und mit NIS (450 mg, 2 mmol, 2 eq.) und I<sub>2</sub> (128 mg, 0.5 mmol, 0.5 eq.) versetzt. Nach Erwärmen auf 20 °C innerhalb von 2 h wurde die Lösung noch weitere 10 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung auf -10 °C wurde TMSOTf (0.1 ml) zugegeben und die Lösung erneut innerhalb von 2h auf 20 °C erwärmt und zusätzliche 5 h gerührt. Nach Zugabe von 10%iger Natriumpyrosulfit-Lösung (50 ml) wird mit EtOAc (3 x 50 ml) extrahiert und die gesammelten organischen Phasen mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand durch Säulenchromatographie weiter gereinigt.

### C) Optimierte Trichloracetimidat-Methode

Glucuronyl-Akzeptor (1 mmol, 1 eq.) wird in 5 ml abs. DCE gemeinsam mit 0.5 g Molekularsieb (3 Å, zerrieben) 1 h bei 20 °C gerührt. Anschließend wird eine Lösung des jeweiligen Imidat-G-Donors (**7**) oder (**12**) (2.5 mmol, 2.5 eq.) in abs. DCE (5 ml) zugetropft, 1 h bei 20 °C gerührt und die Reaktionsmischung auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TMSOTf (54 mg, 0.25 mmol, 0.25 eq.) wird 1 h bei 0 °C und 1 h bei 20 °C gerührt. Nach Zugabe von gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (etwa 20 ml) wird mit EtOAc extrahiert (3 x 30 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie weiter gereinigt.

### E.4.8 Glucuronidierung – Substanzen, Charakterisierung

#### 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester-4-β-D-methyl-tri-O-acetylglucuronid (XX)

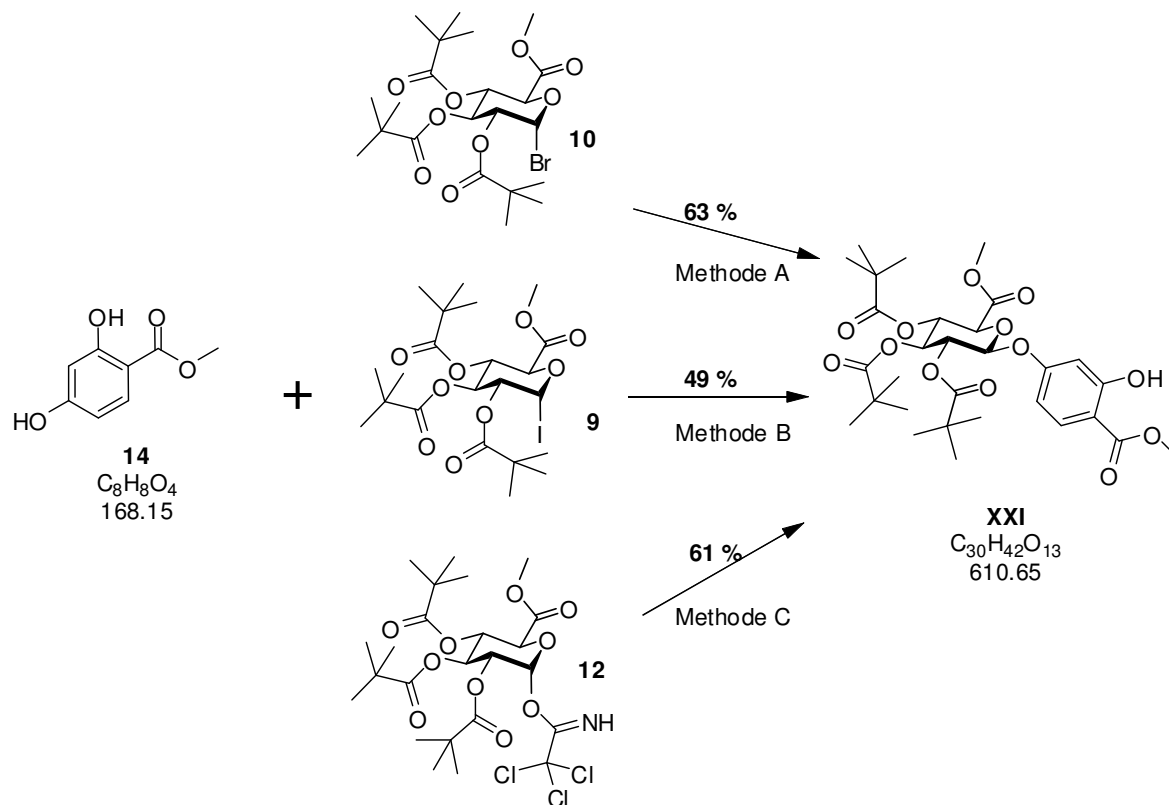


Produkt (**XX**) wurde durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 7/3) gereinigt.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, d<sub>6</sub>-Aceton): δ = 10.92 (s, 1H), 7.79 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.64 - 6.58 (m, 2H), 5.69 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.46 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 9.7, 7.7 Hz, 1H), 5.22 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 4.67 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.98 (s, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta = 170.0$  (s, 1C), 169.3 (s, 1C), 169.0 (s, 1C), 168.7 (s, 1C), 166.8 (s, 1C), 163.4 (s, 1C), 162.4 (s, 1C), 131.6 (d, 1C), 108.5 (d, 1C), 107.4 (s, 1C), 103.5 (d, 1C), 97.2 (d, 1C), 72.0 (d, 1C), 71.5 (d, 1C), 70.7 (d, 1C), 69.2 (d, 1C), 52.1 (q, 1C), 51.8 (q, 1C), 19.6 (q, 1C), 19.6 (q, 1C), 19.5 (q, 1C) ppm

**2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester-4- $\beta$ -D-methyl-tri-O-pivaloylglucuronid (XXI)**

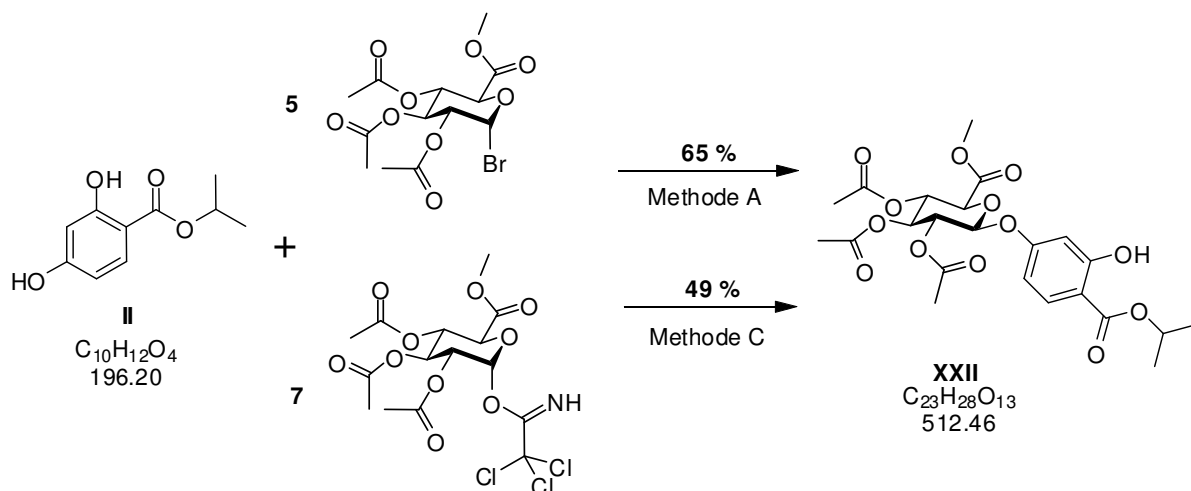


Produkt (**XXI**) wurde durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 4/1) gereinigt.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta = 10.96$  (s, 1H), 7.82 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 6.70 - 6.60 (m, 2H), 5.76 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 5.58 (t,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 5.32 (dd,  $J = 9.8, 8.0$  Hz, 1H), 5.30 (t,  $J = 9.8$  Hz, 1H), 4.76 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 1.17 (s, 9H), 1.15 (s, 9H), 1.13 (s, 9H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta = 176.4$  (s, 1C), 176.0 (s, 1C), 175.9 (s, 1C), 170.0 (s, 1C), 166.9 (s, 1C), 163.4 (s, 1C), 162.5 (s, 1C), 131.6 (d, 1C), 108.4 (d, 1C), 107.5 (s, 1C), 103.4 (d, 1C), 97.5 (d, 1C), 72.2 (d, 1C), 71.3 (d, 1C), 70.5 (d, 1C), 69.2 (d, 1C), 52.1 (q, 1C), 51.9 (q, 1C), 38.5 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 26.5 (q, 1C), 26.4 (q, 1C), 26.4 (q, 1C) ppm

**2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester-4-β-D-methyl-tri-O-acetylglucuronid  
(XXII)**

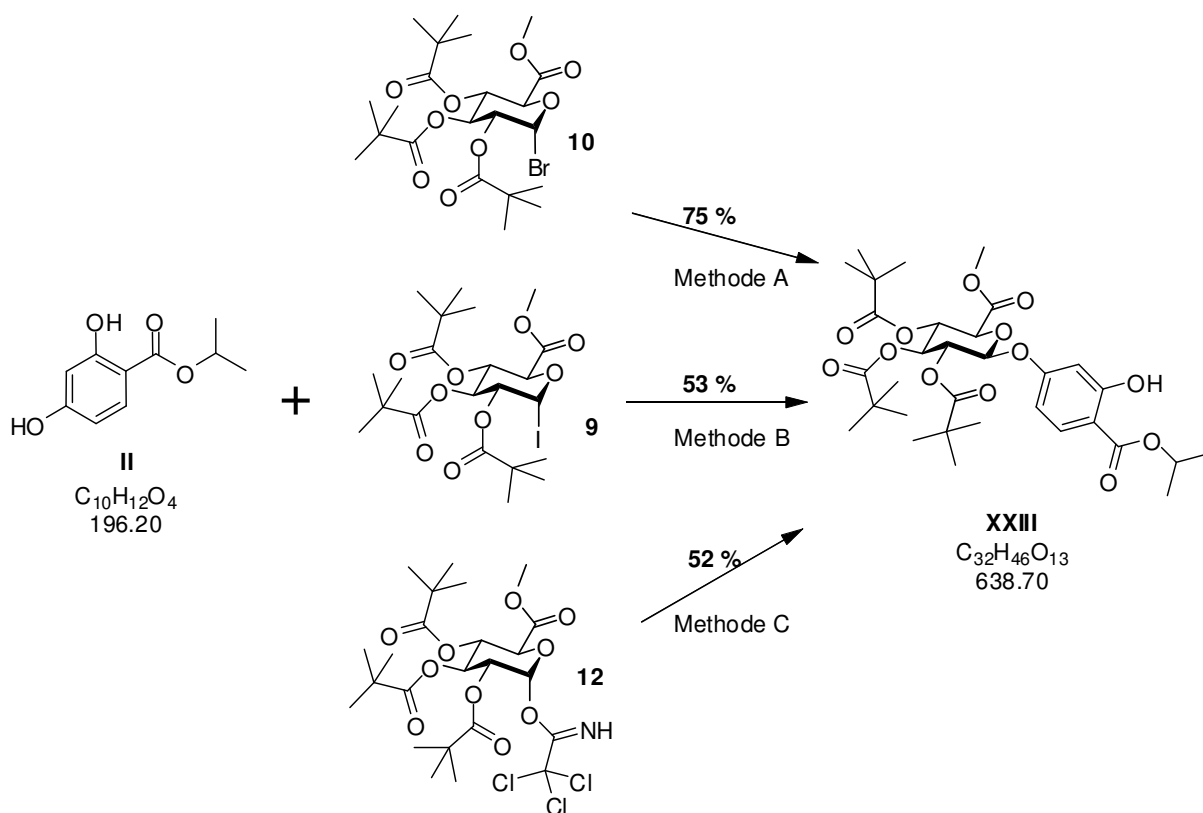


Produkt (**XXII**) wurde durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 7/3) gereinigt.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 11.07 (s, 1H), 7.79 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 6.63 - 6.57 (m, 2H), 5.68 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 5.46 (t,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 5.33 - 5.18 (m, 3H), 4.67 (d,  $J$  = 9.8 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.36 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 169.3 (s, 1C), 169.3 (s, 1C), 169.2 (s, 1C), 168.7 (s, 1C), 166.8 (s, 1C), 163.5 (s, 1C), 162.5 (s, 1C), 131.5 (d, 1C), 108.5 (d, 1C), 107.9 (s, 1C), 103.5 (d, 1C), 97.2 (d, 1C), 72.0 (d, 1C), 71.5 (d, 1C), 70.7 (d, 1C), 69.20 (d, 1C), 69.18 (d, 1C), 52.1 (q, 1C), 21.1 (q, 2C), 19.6 (q, 1C), 19.6 (q, 1C), 19.5 (q, 1C) ppm

**2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester-4-β-D-methyl-tri-O-pivaloylglucuronid  
(XXIII)**

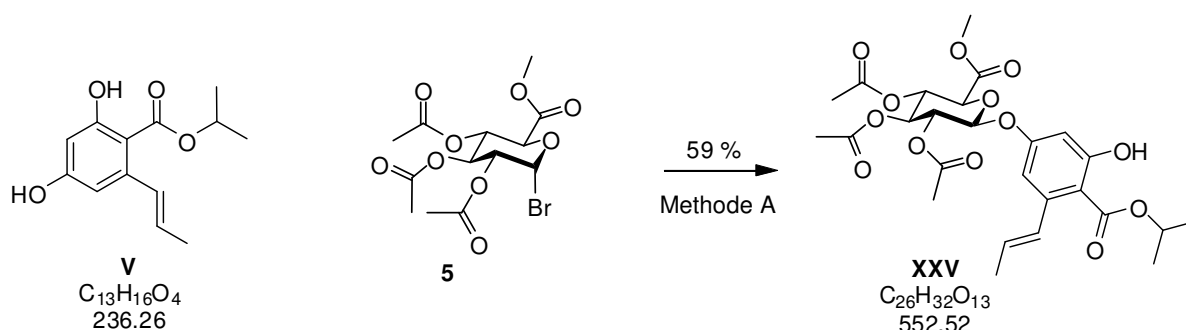


Produkt (**XXIII**) wurde durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 4/1) gereinigt.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 11.08 (s, 1H), 7.80 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H), 6.63 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 6.60 (dd,  $J$  = 8.7, 2.6 Hz, 1H), 5.73 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 5.55 (t,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 5.33 - 5.20 (m, 3H), 4.73 (d,  $J$  = 10.2 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 1.36 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 6H), 1.14 (s, 9H), 1.13 (s, 9H), 1.11 (s, 9H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 176.4 (s, 1C), 176.0 (s, 1C), 175.9 (s, 1C), 169.3 (s, 1C), 166.9 (s, 1C), 163.6 (s, 1C), 162.4 (s, 1C), 131.6 (d, 1C), 108.3 (d, 1C), 107.9 (s, 1C), 103.3 (d, 1C), 97.5 (d, 1C), 72.2 (d, 1C), 71.3 (d, 1C), 70.5 (d, 1C), 69.2 (d, 2C), 52.1 (q, 1C), 38.5 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 26.5 (q, 3C), 26.4 (q, 3C), 26.4 (q, 3C), 21.1 (q, 2C) ppm

### 2,4-Dihydroxy-6-(1E-propenyl)benzoesäureisopropylester-4-β-D-methyl-tri-O-acetylglucuronid (XXV)

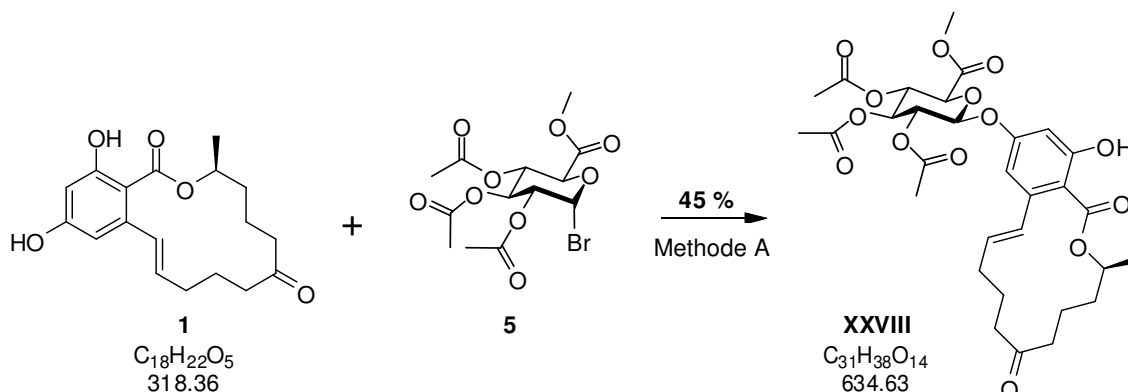


Produkt (**XXV**) wurde durch Säulenchromatographie (PE/EtOAc = 3/1) gereinigt.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, d<sub>6</sub>-Aceton): δ = 11.38 (s, 1H), 6.99 (dq, J = 15.5, 1.3 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.54 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.00 (dq, J = 15.5, 6.6 Hz, 1H), 5.72 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.48 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.33 - 5.20 (m, 3H), 4.69 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.88 (dd, J = 6.5, 1.7 Hz, 3H), 1.41 (d, J = 6.5 Hz, 6H) ppm

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, d<sub>6</sub>-Aceton): δ = 170.2 (s, 1C), 169.3 (s, 1C), 169.0 (s, 1C), 168.8 (s, 1C), 166.9 (s, 1C), 163.7 (s, 1C), 160.5 (s, 1C), 143.5 (s, 1C), 131.6 (d, 1C), 127.6 (d, 1C), 108.2 (d, 1C), 106.9 (s, 1C), 102.3 (d, 1C), 97.1 (d, 1C), 72.0 (d, 1C), 71.5 (d, 1C), 70.7 (d, 1C), 69.7 (d, 1C), 69.2 (d, 1C), 52.1 (q, 1C), 21.2 (q, 2C), 19.6 (q, 1C), 19.6 (q, 1C), 19.5 (q, 1C), 17.7 (q, 1C) ppm

### Zearalenon-4-β-D-methyl-tri-O-acetylglucuronid (XXVIII)



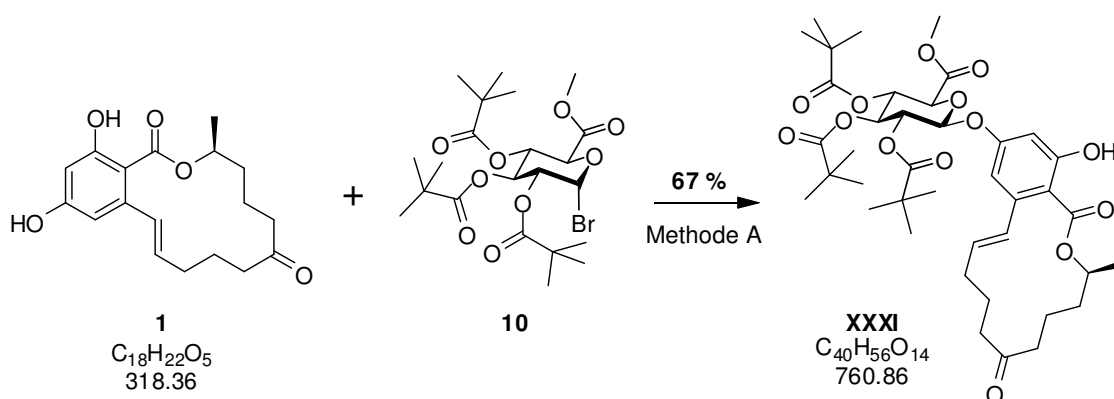
Vorgehen nach Methode A (1.5 ml abs. DCE).

Produkt **(XXVIII)** wurde auf der PHPLC-Anlage (Normalphase) gereinigt (n-Heptan/THF = 7/3). Ausgehend von 32 mg (0.1 mmol) Zearalenon (**1**) wurden 28 mg **(XXVIII)** als weißes Pulver erhalten (45 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 11.85 (s, 1H), 7.05 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 6.65 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 6.57 (d,  $J$  = 2.7 Hz, 1H), 5.82 (ddd,  $J$  = 15.1, 10.3, 4.5 Hz, 1H), 5.75 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 5.48 (t,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 5.26 (t,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 5.25 (dd,  $J$  = 9.6, 7.9 Hz, 1H), 5.05 (sext,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 4.70 (d,  $J$  = 9.9 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.87 - 2.76 (m, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 2.37 - 2.04 (m, 5H), 2.04 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.85 - 1.75 (m, 2H), 1.70 - 1.65 (m, 2H), 1.62 - 1.50 (m, 1H), 1.41 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 209.4 (s, 1C), 171.0 (s, 1C), 169.3 (s, 1C), 169.0 (s, 1C), 168.8 (s, 1C), 166.8 (s, 1C), 164.7 (s, 1C), 160.7 (s, 1C), 143.5 (s, 1C), 133.3 (d, 1C), 132.3 (d, 1C), 108.6 (d, 1C), 106.0 (s, 1C), 102.6 (d, 1C), 97.0 (d, 1C), 73.9 (d, 1C), 72.0 (d, 1C), 71.6 (d, 1C), 70.7 (d, 1C), 69.2 (d, 1C), 52.1 (q, 1C), 42.5 (t, 1C), 36.0 (t, 1C), 34.5 (t, 1C), 30.9 (t, 1C), 21.9 (t, 1C), 20.8 (t, 1C), 19.8 (q, 1C), 19.6 (q, 1C), 19.6 (q, 1C), 19.5 (q, 1C) ppm

### Zearalenon-4- $\beta$ -D-methyl-tri-O-pivaloylglucuronid (**XXXI**)



Vorgehen nach Methode A (1.5 ml abs. DCE).

Produkt **(XXXI)** wurde auf der PHPLC-Anlage (Normalphase) gereinigt (n-Heptan/THF = 85/15). Ausgehend von 32 mg (0.1 mmol) Zearalenon (**1**) wurden 51 mg **(XXXI)** als weißes Pulver erhalten (67 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 11.85 (s, 1H), 7.05 (d,  $J$  = 15.7 Hz, 1H), 6.65 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 6.58 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 5.78 (ddd,  $J$  = 14.9, 10.6, 4.3 Hz, 1H), 5.78

(d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 5.57 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 5.32 (d,  $J = 9.8$  Hz, 1H), 5.31 (dd,  $J = 9.7, 8.0$  Hz, 1H), 5.07 (sext.,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 4.75 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.87 - 2.76 (m, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 2.37 - 2.04 (m, 5H), 1.85 - 1.75 (m, 2H), 1.70 - 1.65 (m, 2H), 1.62 - 1.50 (m, 1H), 1.41 (d,  $J = 6.1$  Hz, 3H), 1.16 (s, 9H), 1.15 (s, 9H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{d}_6$ -Aceton):  $\delta = 209.4$  (s, 1C), 176.4 (s, 1C), 175.9 (s, 1C), 175.9 (s, 1C), 171.0 (s, 1C), 166.9 (s, 1C), 164.7 (s, 1C), 160.8 (s, 1C), 143.6 (s, 1C), 133.2 (d, 1C), 132.4 (d, 1C), 108.4 (d, 1C), 106.1 (s, 1C), 102.6 (d, 1C), 97.5 (d, 1C), 73.9 (d, 1C), 72.2 (d, 1C), 71.4 (d, 1C), 70.5 (d, 1C), 69.1 (d, 1C), 52.2 (q, 1C), 42.5 (t, 1C), 38.5 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 38.4 (s, 1C), 35.9 (t, 1C), 34.5 (t, 1C), 31.0 (t, 1C), 26.5 (q, 3C), 26.4 (q, 3C), 26.4 (q, 3C), 21.9 (t, 1C), 20.8 (t, 1C), 19.9 (q, 1C) ppm

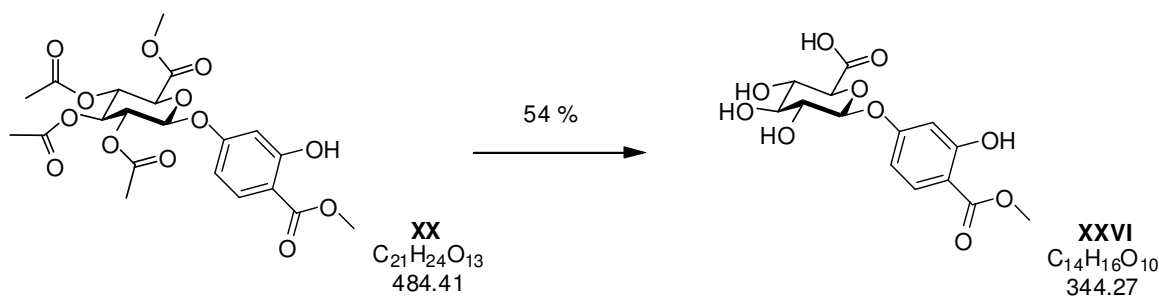
## E.4.9 Hydrolyse der Schutzgruppen

### E.4.9.1 Acetyl-Schutzgruppen

#### Allgemeine Vorgehensweise

Acetyl-geschütztes Glucuronid (1 mmol, 1 eq.) wurde in THF/Wasser = 4/1 (50 ml) gelöst, anschließend mit KOH (561 mg, 10 mmol, 10 eq.) versetzt und 4h bei 20 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 0.1 N HCl auf pH 3 gestellt und mit EtOAc mehrmals extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

#### 2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester-4- $\beta$ -D-glucuronid (XXVI)



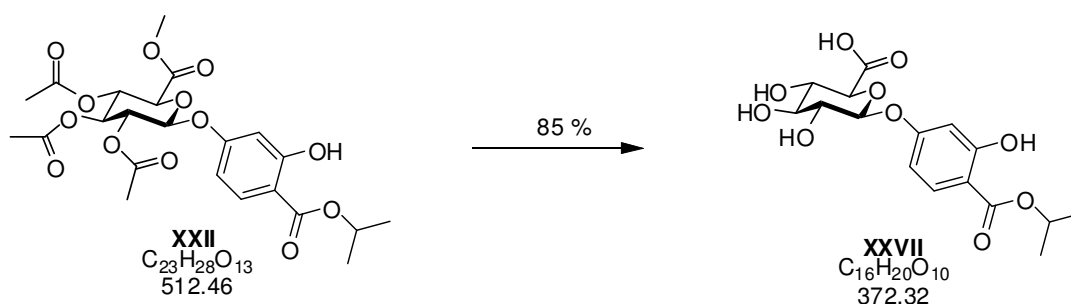
Das Produkt (**XXVI**) wurde mithilfe der PHPLC-Anlage (Umkehrphase) gereinigt (MeOH / 0,1 % TFA = 30 / 70).



$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 10.92 (s, 1H), 7.79 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H), 6.68 - 6.62 (m, 2H), 5.28 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 4.23 (d,  $J$  = 9.8 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.75 (t,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 3.66 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 3.59 (dd,  $J$  = 9.0, 7.4 Hz, 1H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 170.1 (s, 1C), 169.1 (s, 1C), 163.3 (s, 1C), 163.2 (s, 1C), 131.3 (d, 1C), 108.6 (d, 1C), 106.7 (s, 1C), 103.4 (d, 1C), 100.0 (d, 1C), 76.0 (d, 1C), 75.1 (d, 1C), 73.2 (d, 1C), 71.5 (d, 1C), 51.7 (q, 1C) ppm

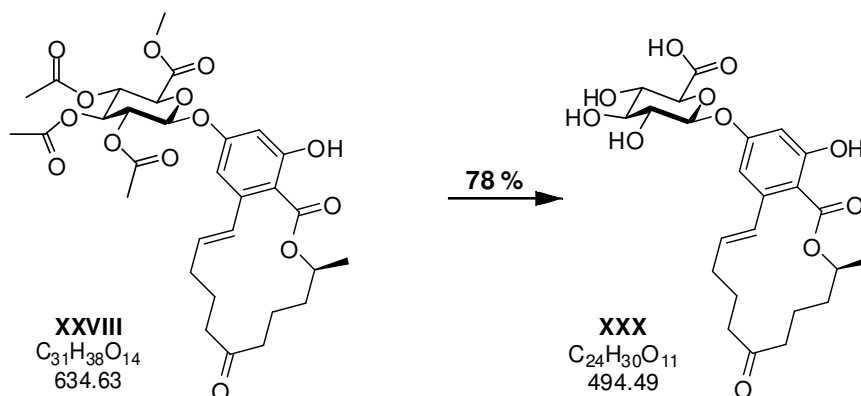
### 2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester-4- $\beta$ -D-glucuronid (XXVII)



Das Produkt (**XXVII**) wurde mithilfe der PHPLC-Anlage (Umkehrphase) gereinigt (MeOH / 0,1 % TFA = 40 / 60).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 11.07 (s, 1H), 7.80 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H), 6.67 - 6.60 (m, 2H), 5.30 - 5.20 (m, 2H), 4.22 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H), 3.75 (t,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 3.65 (t,  $J$  = 9.0 Hz, 1H), 3.58 (dd,  $J$  = 8.8, 7.6 Hz, 1H), 1.38 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 6H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 169.4 (s, 1C), 169.1 (s, 1C), 163.5 (s, 1C), 163.2 (s, 1C), 131.3 (d, 1C), 108.5 (d, 1C), 107.1 (s, 1C), 103.4 (d, 1C), 100.0 (d, 1C), 76.1 (d, 1C), 75.1 (d, 1C), 73.3 (d, 1C), 71.6 (d, 1C), 69.0 (d, 1C), 21.1 (q, 2C) ppm

Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronid (**XXX**)

Zearalenon-4- $\beta$ -D-glucuronid (**XXX**) wurde mithilfe der PHPLC-Anlage (Umkehrphase) gereinigt (MeOH / 0,1 % TFA = 50 / 50). Ausgehend von 28 mg (**XXVIII**) wurden 17 mg (**XXX**) als leicht gelbliches Pulver erhalten (78 %).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 11.87 (s, 1H), 7.06 (d,  $J$  = 15.7 Hz, 1H), 6.68 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 6.57 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 5.81 (ddd,  $J$  = 15.2, 10.4, 4.3 Hz, 1H), 5.28 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 5.05 (sext.,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 4.21 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 3.75 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 3.65 (t,  $J$  = 8.9 Hz, 1H), 3.61 – 3.54 (m, 1H), 2.87 - 2.76 (m, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 2.37 - 2.04 (m, 5H), 1.85 - 1.75 (m, 2H), 1.70 - 1.65 (m, 2H), 1.62 - 1.50 (m, 1H), 1.41 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 3H) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $d_6$ -Aceton):  $\delta$  = 209.5 (s, 1C), 171.2 (s, 1C), 169.6 (s, 1C), 164.9 (s, 1C), 161.7 (s, 1C), 143.3 (s, 1C), 133.0 (d, 1C), 132.6 (d, 1C), 108.8 (d, 1C), 105.1 (s, 1C), 102.7 (d, 1C), 100.0 (d, 1C), 76.2 (d, 1C), 75.1 (d, 1C), 73.8 (d, 1C), 73.3 (d, 1C), 71.6 (d, 1C), 42.5 (t, 1C), 36.0 (t, 1C), 34.5 (t, 1C), 30.9 (t, 1C), 21.9 (t, 1C), 20.8 (t, 1C), 19.9 (q, 1C) ppm

#### E.4.9.2 Pivaloyl-Schutzgruppen

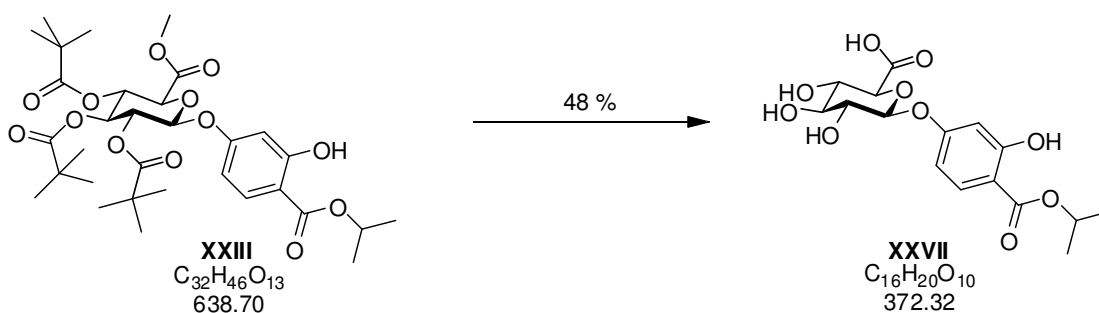
##### Allgemeine Vorgehensweise

Eine Suspension des Pivaloyl-geschützten Glucuronids (1 mmol, 1 eq.) in 2-Propanol (50 ml) wurde mit 20%iger Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung (Überschuss; ca. 8 ml für 1 mmol Glucuronid) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde insgesamt 10 Tage bei 20 °C gerührt. Die Lösung wurde mit 0.1N HCl auf pH 3 gestellt und mit EtOAc extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

**2,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester-4-β-D-glucuronid (XXVI)**

Das Produkt (**XXVI**) wurde mithilfe der PHPLC-Anlage (Umkehrphase) gereinigt (MeOH / 0,1 % TFA = 30 / 70).

NMR-Daten: siehe *Seite 119*

**2,4-Dihydroxybenzoesäureisopropylester-4-β-D-glucuronid (XXVII)**

Das Produkt (**XXVII**) wurde mithilfe der PHPLC-Anlage (Umkehrphase) gereinigt (MeOH / 0,1 % TFA = 40 / 60).

NMR-Daten: siehe *Seite 119*

## **F) Literaturverzeichnis**

- 1 Stachulski, A. V.; Jenkins, G. N.; *Nat. Prod. Rep.* **1998**, 15(2), 173-186
- 2 Römpp Chemielexikon, *Thieme* **2006**
- 3 Bennett, J. W.; Klich, M.; *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, 16(3), 497-516
- 4 *The EFSA Journal* **2004**, 89, 1-35
- 5 Barua, A. B.; Olson, J. A.; *Biochem. J.* **1987**, 244(1), 231-234
- 6 Rho, Y. S.; Kim, S. Y.; Kim, W.; Yun, Y. K.; Sin, H. S.; Yoo, D. J.; *Synth. Commun.* **2005**, 34(19), 3497-3511
- 7 Biesalski, H.-K.; Doepner, G.; Kunz, H.; Paust, J.; John, M.; *Liebigs Annalen* **1995**, (4), 717-20
- 8 Bollenback, G. N.; Long, John W.; Benjamin, D. G.; Lindquist, J. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 3310-3315
- 9 Nudelman, A.; Herzig, J.; Gottlieb, H. E.; Keinan, E.; Sterling, J.; *Carbohydr. Res.* **1987**, 162, 145-152
- 10 Pravdic, N.; Keglevic, D.; *J. Chem. Soc.* **1964**, 4633-4635
- 11 Nakajima, R.; Ono, M.; Aiso, S.; Akita, H.; *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, 53(6), 684-687
- 12 Vlahov, J.; Snatzke, G.; *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 570-574
- 13 Harding, J. R.; King, C. D.; Perrie, J. A.; Sinnott, D.; Stachulski, A. V.; *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1501-1507
- 14 Tatsuta, K.; Tanaka, Y.; Kojima, M.; Ikegami, H.; *Chem. Lett.* **2002**, (1), 14-15.
- 15 Guizzunti, G.; Brady, T. P.; Malhotra, V.; Theodorakis, E. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**; 128(13), 4190 - 4191
- 16 Lyman, R. L.; Livingston, A. L.; Bickoff, E. M.; Booth, A. N.; *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 756-758
- 17 Vintonyak, V. V.; Maier, M. E.; *Org. Lett.* **2007**, 9(4), 655-658
- 18 Brimble, M. A.; Flowers, C. L.; Hutchinson, J. K.; Robinson, J. E.; Sidford, M.; *Tetrahedron* **2005**, 61, 10036-10047
- 19 Kamila, S.; Mukherjee, C.; Mondal, S. S.; De, A.; *Tetrahedron* **2003**, 59, 1339-1348

- 20 Reitz, D. B.; Massey, S. M.; *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 1375-1379
- 21 Jiang, X.; Garcia-Fortanet, J.; De Brabander, J. K.; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11254-11255
- 22 Kalivretenos, A.; Stille, J. K.; Hegedus, L. S.; *J. Org. Chem.* **1991**, 56(8), 2883-2894
- 23 a) Hammond, G.S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 334-338  
b) Leffler, J. E.; *Science* **1953**, 117, 340-341
- 24 Nicolaou, K. C.; Lim, Y. H.; Piper, J. L.; Papageorgiou, C. D.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 4001-4013
- 25 Wang, Q.; Deredas, D.; Huynh, C.; Schlosser, M.; *Chem. Eur. J.* **2003**, 9(2), 570-574
- 26 Honma, K.; Nakazima, K.; Uematsu, T.; Hamada, A.; *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, 24(3), 394-399
- 27 Schmidt, R. R.; Kinzy, W.; *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, 50, 21.
- 28 Grove, J. F.; *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 3860-3862
- 29 Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A.; *J. Org. Chem.* **1997**, 62(21), 7512-7515
- 30 Wang, P.; Zhang, Z.; Yu, B.; *J. Org. Chem.* **2005**, 70(22), 8884-8889
- 31 Kakeya, H.; Takahashi-Ando, N.; Kimura, M.; Onose, R.; Yamaguchi, I.; Osada, H.; *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, 66(12), 2723-2726
- 32 Umemura, K.; Matsuyama, H.; Kamigata, N.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, 63, 2593-2600