



TECHNISCHE
UNIVERSITÄT
WIEN

Vienna University of Technology

DIPLOMARBEIT

Regioselektive *O*-Glucuronidierung des *Fusarientoxins* Deoxynivalenol

Durchgeführt am

Institut für Angewandte Synthesechemie

der Technischen Universität Wien

unter der Anleitung von

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

und

Univ.Ass. Dipl.-Ing. Dr.techn. Ernst **Horkel** &

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

durch

Philipp Fruhmann

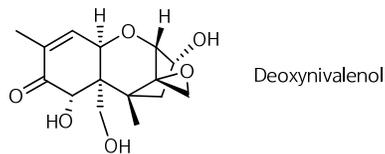
Matr. Nr.: 0326995

Hauptstraße 21, A-7032 Sigleß

Wien, am 08. Feber 2010

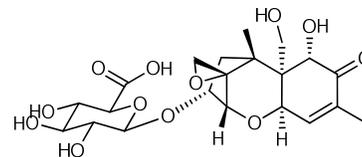
Kurzfassung

Deoxynivalenol (DON) ist ein Mycotoxin (Pilzgift), das von verschiedenen Gattungen der Fusarienfamilie gebildet wird. Aufgrund der Stabilität des Toxins und dessen Teratogenität ist das Interesse an diesem Mycotoxin in den letzten Jahren erheblich gestiegen.



Vor allem im Bereich der Agrarbiotechnologie wird versucht, durch neue Technologien die verursachten Schäden zu verringern. DON ist mittlerweile gut untersucht, und Grenzwerte sowie Messmethoden für dessen Nachweis vorhanden. Allerdings können auch die beim Stoffwechsel entstehenden Konjugate mit Glucuronsäure (zur Steigerung der Wasserlöslichkeit) eine Wirkung auf den Wirtsorganismus haben. Darüber hinaus können die gebildeten Glykokonjugate ausgeschieden und an der Oberfläche angereichert werden, wobei diese nicht durch herkömmliche Tests erfasst werden. Aus diesem Grund ist es von großem Interesse, diese Substanzen quantifizieren und deren Wirkung abschätzen zu können. Das hauptsächliche Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Synthese der beiden in der Natur auftretenden Glucuronide von DON, DON-3- β -D-glucuronid bzw. DON-15- β -D-

glucuronid. Anders als eine enzymatische Reaktion, die im Rahmen des Stoffwechsels auftritt, stellt eine synthetische Glucuronidierungsreaktion eine wesentlich schwierigere Aufgabe dar, da es abhängig von der Art des Zielmoleküls eine Vielzahl an verschiedenen Reaktionsmöglichkeiten gibt. Da DON kaum verfügbar ist und dessen Anschaffung üblicherweise mit immensen Kosten verbunden ist, war es notwendig die Methoden an geeigneten Modellverbindungen zu testen. Dazu wurde eine Reihe von einfachen Modellen synthetisiert und verschiedenen Glucuronidierungsmethoden unterzogen.



Die dabei gewonnenen Erkenntnisse wurden anschließend bei der Glucuronidierung von DON eingesetzt, wobei beide geschützten Glucuronide in guten Ausbeuten erhalten wurden. Eine Isolierung von DON-15-glucuronid gelang nach der Abspaltung der Schutzgruppen aufgrund einer Weiterreaktion des Endproduktes nicht, jedoch konnte DON-3- β -D-glucuronid stereoselektiv und in zufriedenstellenden Ausbeuten isoliert werden.

Danksagung

Mein größter Dank gilt meinen Eltern *Renate* und *Franz*, die immer hinter mir standen, mich nach Kräften unterstützt und mir stets alles ermöglicht haben. Ihr habt immer versucht mir alles zu bieten und mir das Gefühl gegeben dass ich mich immer auf euch verlassen kann - **DANKE**

Weiters möchte ich meinem Bruder *Klaus* danken. Dafür, dass ich weiß dass er immer für mich da ist und dafür, dass er mir immer wieder interessante Ansichten zu teils banalen Alltagssituationen liefert, die mich zum Nachdenken anregen.

Ein besonderer Dank gilt meiner Freundin *Katharina Koch*, die es oft nicht ganz einfach mit mir hat, aber mich immer wieder aufbaut und unterstützt Danke auch für die viele Geduld wenn es auf der Uni „mal wieder länger dauert“.

Herrn Prof. Fröhlich möchte ich sehr herzlich für die Möglichkeit dieser Diplomarbeit und dem damit entgegengebrachten Vertrauen danken. Damit verbunden möchte ich auch für die ermöglichte Teilnahme an einigen Tagungen und an den mir zugestandenen Freiraum danken.

Ernst Horkel und ¹³*Christian Hametner* möchte ich vielmals für die Betreuung und Unterstützung während der Arbeit danken. Damit verbunden auch für die Geduld beim oftmaligen Verbessern von diversen Postern, Abstracts und nicht zuletzt dieser Arbeit. ¹³*Christian Hametner* möchte ich im speziellen noch für die Aufnahme von NMR-Spektren aller Art und deren Erklärung danken.

Schlussendlich möchte ich noch allen Studien und Arbeitskollegen danken, die meinen Tag immer wieder sehr unterhaltsam und abwechslungsreich werden lassen. Um diese namentlich zu Nennen: *Hannes Mikula, Sebastian Gurtner, Daniel (the marvellous chemist) Lumpi, Brigitte Holzer, Patrick Knaack, Johannes Bintinger, Michael Fink, Max Haider, Thomas Fischer, Michaela Helmel, Liz Lehner, Konstanze Seidler, Fabian Istel, Alexander Lutz, Lisa Recnik, Ursula Bösch, Ewa Dadal, Martin Pieler* und *Andreas Rausch*.

Ich hoffe dass ich mit euch allen noch viele weitere Jahre teilen darf!

Verwendete Abkürzungen

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

Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AcOH	Essigsäure
AgOTf	Silbertriflat
Bz	Benzoyl
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DIAD	Azodicarbonsäurediisopropylester
DON	Deoxynivalenol
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Ethylacetat
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol
G-Akzeptor	Glucuronyl-Akzeptor
G-Donor	Glucuronyl-Donor
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC/MS	Liquid Chromatography/Massenspektrometrie
MeOH	Methanol
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PE	Petrolether
RT	Raumtemperatur
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMSOTf	Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester
Tos-Cl	Tosylchlorid

Allgemeine Anmerkungen

Kennzeichnung der im Text beschriebenen Substanzen

In der Literatur bekannte Verbindungen sind mit arabischen Ziffern versehen. Im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte, jedoch in der chemischen Literatur noch nicht beschriebene 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 Literatur nicht beschriebenen Verbindungen erfolgt nach dem Reglement der Chemical Abstracts. Davon ausgenommene oder literaturbekannte Verbindungen sowie Reagenzien werden teilweise durch vereinfachte Bezeichnungsweisen, Trivial- oder Handelsnamen beschrieben.

A. Formelschemata	- 1 -
A.1. Synthese der Modellverbindungen	- 2 -
A.1.1. cis-2-Methoxycyclopentanol	- 2 -
A.1.2. Cyclopentylmethanol und Cyclopentylethanol	- 2 -
A.1.3. Tetrahydropyran-3-yl-methanol	- 3 -
A.1.4. 2-Phenyl-1,3,2-dioxaborinan	- 3 -
A.1.5. Hexahydro-2-phenyl-4H-1,3,2-benzodioxaborinan	- 3 -
A.2. Synthese der Glucuronyl-Donoren	- 4 -
A.3. Glucuronidierung	- 5 -
A.3.1. Modellglucuronide	- 5 -
A.3.2. DON-Glucuronide	- 6 -
A.4. Schützung von DON	- 7 -
B. Allgemeiner Teil	- 8 -
B.1. Mycotoxine	- 9 -
B.2. Deoxynivalenol	- 11 -
B.3. Glucuronide	- 12 -
B.3.1. Vorkommen und Bedeutung	- 12 -
B.3.2. Synthese von Glucuroniden	- 15 -
B.4. Ziele der Arbeit	- 17 -
C. Spezieller Teil	- 19 -
C.1. Synthese der Modellverbindungen	- 20 -
C.1.1. cis-2-Methoxycyclopentanol	- 22 -
C.1.2. Tetrahydropyran-3-yl-methanol	- 24 -
C.1.3. 3-Hydroxy-4-methoxycyclopentylethanol	- 25 -
C.1.4. Cylopentylmethanol/Cyclopentylethanol	- 26 -
C.2. Glucuronyldonoren	- 28 -
Synthese der verwendeten Glucuronyldonoren	- 29 -
C.3. Mechanistische Grundlagen	- 31 -
C.3.1. Stereoselektivität der Glucuronidierung – der anchimere Effekt	- 32 -
C.4. Methodik der Glucuronidierung	- 34 -
C.4.1. Königs-Knorr-Methode	- 34 -
C.4.2. Trichloracetimidat-Methode	- 35 -
C.4.3. Lewis-Säure Methode	- 36 -
C.4.4. Iodozucker-Methode	- 37 -
C.5. Glucuronidierung der Modellverbindungen	- 38 -

Inhaltsverzeichnis

C.5.1.	Königs-Knorr Methode	- 38 -
C.5.2.	Trichloracetimidat-Methode	- 39 -
C.5.3.	Hydrolyse der Schutzgruppen	- 40 -
C.6.	Synthese von DON-3-glucuronid und DON-15-glucuronid	- 41 -
C.6.1.	Limitierungen von Deoxynivalenol	- 41 -
C.6.2.	Synthese der geschützten Glucuronide	- 42 -
C.6.3.	Entschützung von DON-3-glucuronid und DON-15-glucuronid	- 43 -
C.7.	Regioselektiver Ansatz	- 45 -
C.7.1.	Schützungsmodelle	- 45 -
C.7.2.	Testen der Boronsäure-Schutzgruppe	- 47 -
C.7.3.	Regioselektiver Syntheseversuch	- 48 -
D.	Spektroskopischer Teil	- 49 -
D.1.	Allgemeines	- 50 -
D.2.	Acetylgeschützte DON-glucuronide	- 51 -
D.3.	Isolierte Orthoester	- 52 -
D.4.	DON-3-Glucuronid	- 53 -
E.	Experimenteller Teil	- 54 -
E.1.	Allgemeines	- 55 -
E.2.	Chromatographische Methoden	- 55 -
E.2.1.	Dünnschichtchromatographie	- 55 -
E.2.2.	Säulenchromatographie	- 56 -
E.2.3.	Präparative HPLC	- 57 -
E.3.	Physikalische Analysenmethoden	- 57 -
E.3.1.	GC/MS Messungen	- 57 -
E.3.2.	NMR-Spektroskopie	- 57 -
E.4.	Synthese von cis-2-Methoxycyclopentanol	- 58 -
E.4.1.	Cyclopentenoxid (2)	- 58 -
E.4.2.	trans-2-Methoxycyclopentanol (3)	- 59 -
E.4.3.	cis-2-Methoxycyclopentyl-4-nitrobenzoesäureester (XII)	- 60 -
E.4.4.	cis-2-Methoxycyclopentanol (5)	- 61 -
E.5.	Synthese von Tetrahydropyran-3-yl-methanol	- 62 -
E.5.1.	5,6-Dihydro-2H-pyran-3-carboxaldehyd (6)	- 62 -
E.5.2.	5,6-Dihydro-2H-pyranyl-3-methanol (7)	- 63 -
E.5.3.	Tetrahydropyranyl-3-carboxaldehyd (8)	- 64 -
E.5.4.	Tetrahydropyran-3-yl-methanol (9)	- 64 -
E.6.	Synthese von Cyclopentylmethanol	- 66 -
E.6.1.	Cyclopentylcarbonsäureethylester (12)	- 66 -
E.6.2.	Cyclopentylmethanol (13)	- 67 -

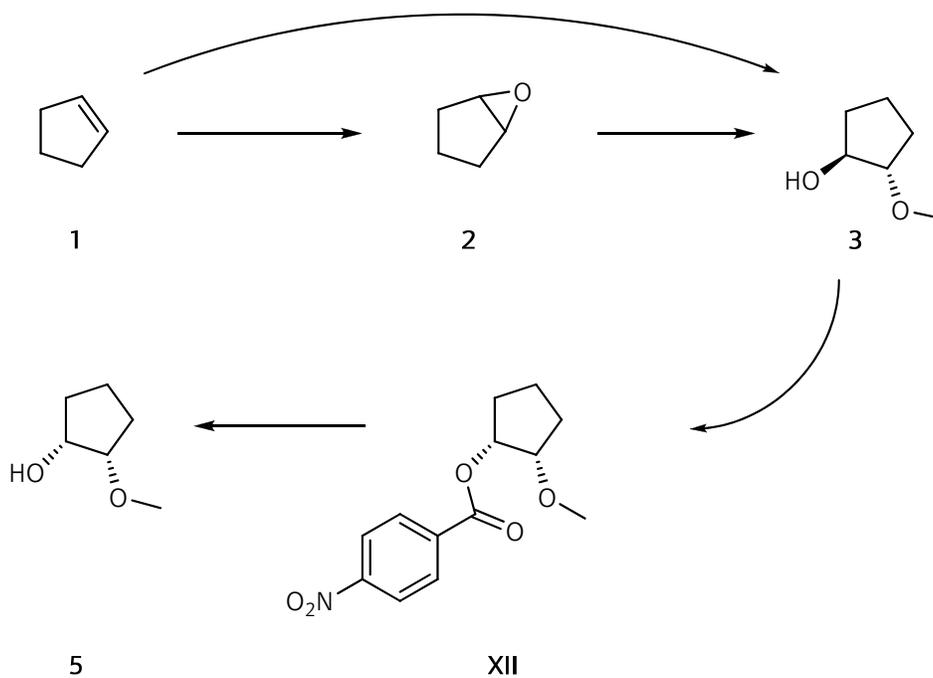
Inhaltsverzeichnis

E.7.	Synthese von Cyclopentylethanol	- 68 -
E.7.1.	Cyclopentylethylsäureethylester (15)	- 68 -
E.7.2.	Cyclopentylethanol (16)	- 69 -
E.8.	Synthese von 2-Phenyl-1,3,2-dioxaborinan	- 70 -
E.9.	Synthese von Hexahydro-2-phenyl-4H-1,3,2-benzodioxaborinan	- 71 -
E.9.1.	2-Oxocyclohexancarbonsäuremethylester (20)	- 71 -
E.9.2.	2-Hydroxycyclohexancarbonsäuremethylester (21)	- 72 -
E.9.3.	cis-2-Hydroxycyclohexylmethanol (22)	- 73 -
E.9.4.	Hexahydro-2-phenyl-4H-1,3,2-benzodioxaborinan (XIII)	- 74 -
E.10.	Synthese der acetylgeschützten Glucuronyl-Donoren	- 75 -
E.10.1.	1,2,3,4-Tetra- <i>O</i> -acetyl-D-glucuronsäuremethylester (26)	- 75 -
E.10.2.	1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri- <i>O</i> -acetyl- α -D-glucuronsäuremethylester (27)	- 76 -
E.11.	Synthese der benzoylgeschützten Glucuronyl-Donoren	- 77 -
E.11.1.	1,2,3,4-Tetra- <i>O</i> -benzoyl-D-glucuronsäuremethylester (28)	- 77 -
E.11.2.	1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri- <i>O</i> -benzoyl- α -D-glucuronsäuremethylester (29)	- 79 -
E.11.3.	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzoyl-D-glucuronsäuremethylester (30)	- 80 -
E.11.4.	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzoyl-1- <i>O</i> -trichloracetimidoyl- α -D-glucuronsäuremethylester (31)	- 81 -
E.12.	Synthese der benzoylgeschützten Glucuronide	- 82 -
E.12.1.	Synthese nach Königs-Knorr (KK)	- 82 -
E.12.2.	Synthese über Trichloracetimidate (TAI)	- 82 -
E.12.3.	Cyclopentanol- β -D-methyl-tri- <i>O</i> -benzoylglucuronid (I)	- 84 -
E.12.4.	Cyclopentylmethanol- β -D-methyl-tri- <i>O</i> -benzoylglucuronid (II)	- 85 -
E.12.5.	Cyclopentylethanol- β -D-methyl-tri- <i>O</i> -benzoylglucuronid (III)	- 86 -
E.12.6.	cis-2-Methoxycyclopentanol- β -D-methyl-tri- <i>O</i> -benzoylglucuronid (IV)	- 87 -
E.12.7.	Tetrahydropyran-3-yl-methanol- β -D-methyl-tri- <i>O</i> -benzoylglucuronid (V)	- 88 -
E.13.	Synthese der geschützten DON-glucuronide	- 89 -
E.14.	Synthese von DON-3-glucuronid	- 91 -
E.	Literaturverzeichnis	- 92 -

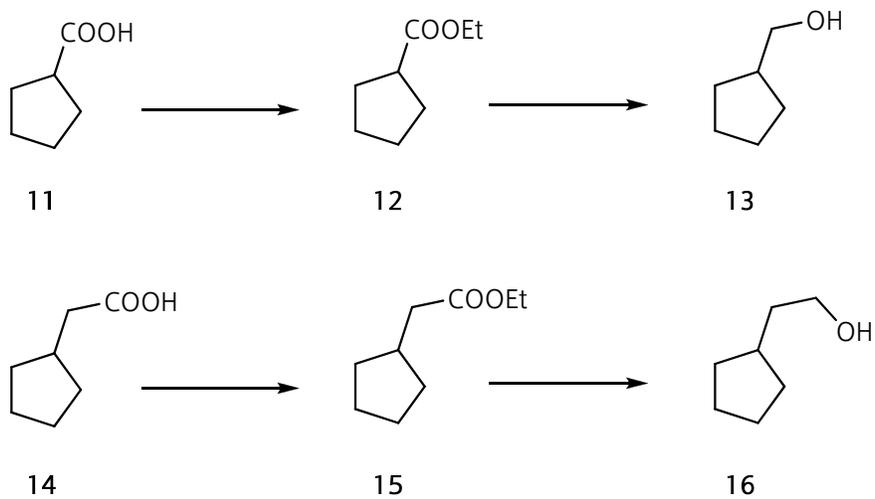
A. Formelschemata

A.1. Synthese der Modellverbindungen

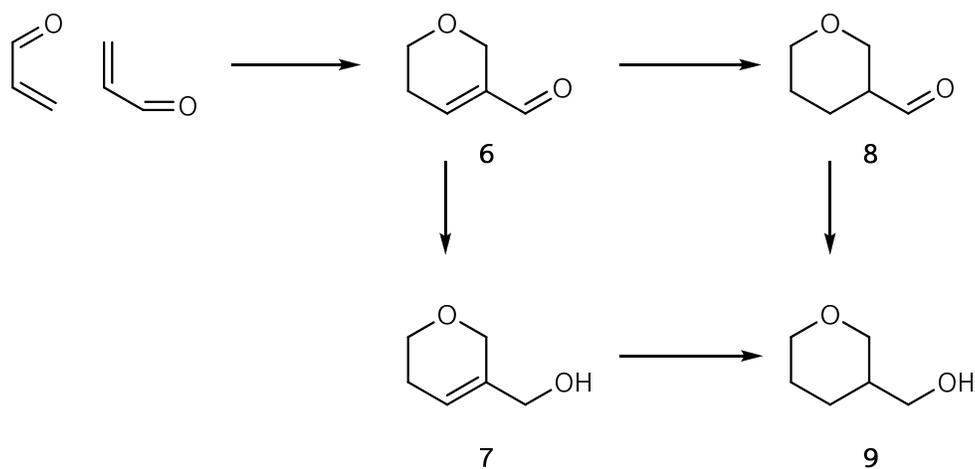
A.1.1. cis-2-Methoxycyclopentanol



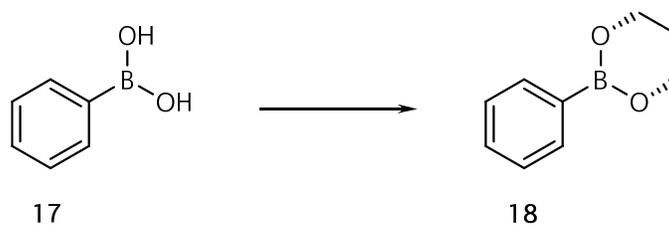
A.1.2. Cyclopentylmethanol und Cyclopentylethanol



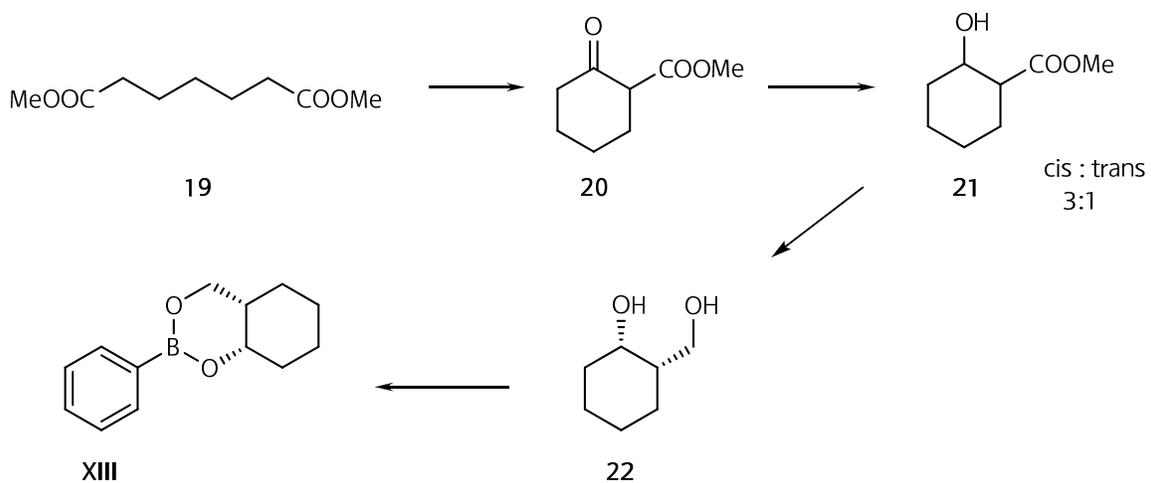
A.1.3. Tetrahydropyran-3-yl-methanol



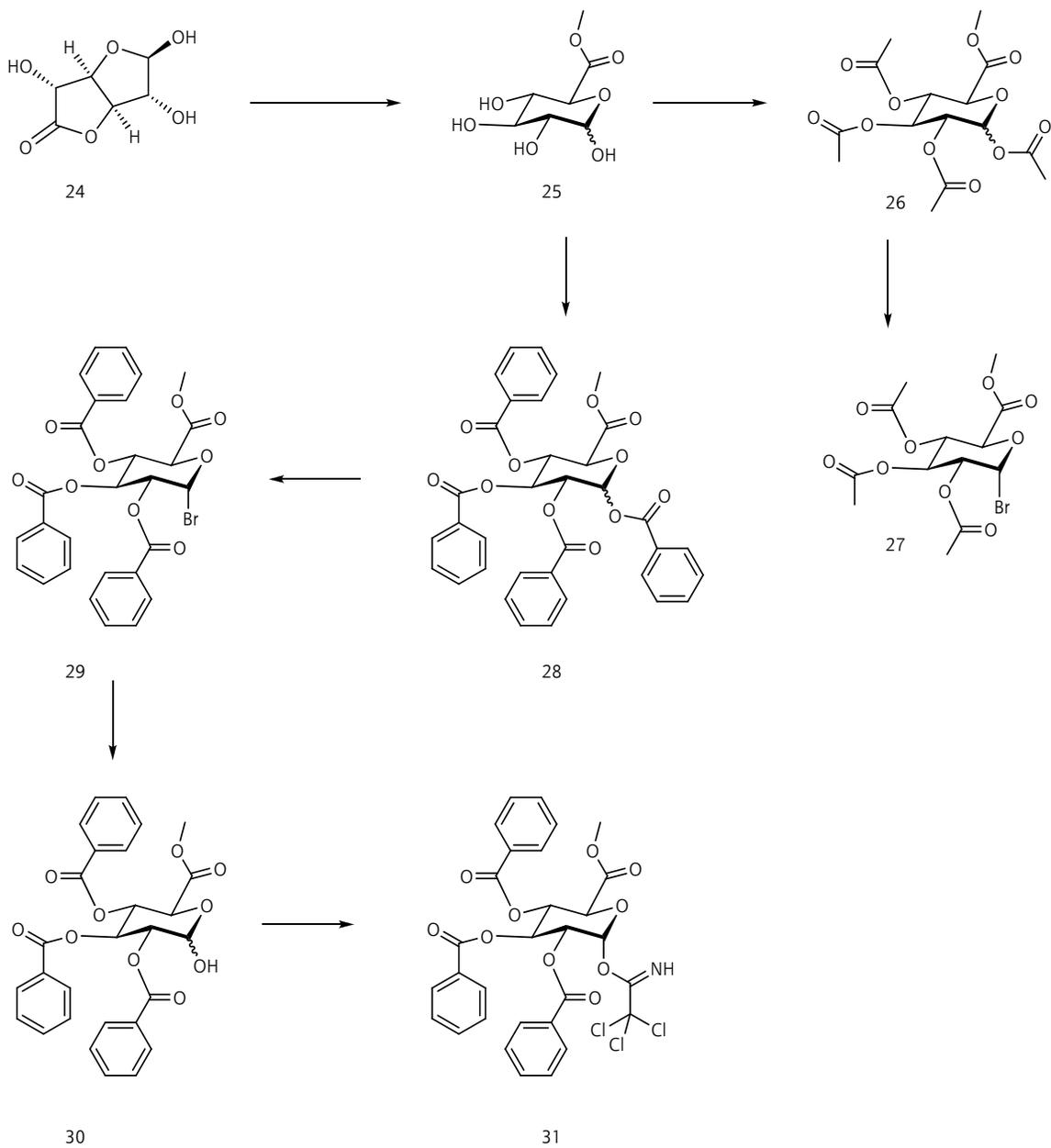
A.1.4. 2-Phenyl-1,3,2-dioxaborinan



A.1.5. Hexahydro-2-phenyl-4H-1,3,2-benzodioxaborinan

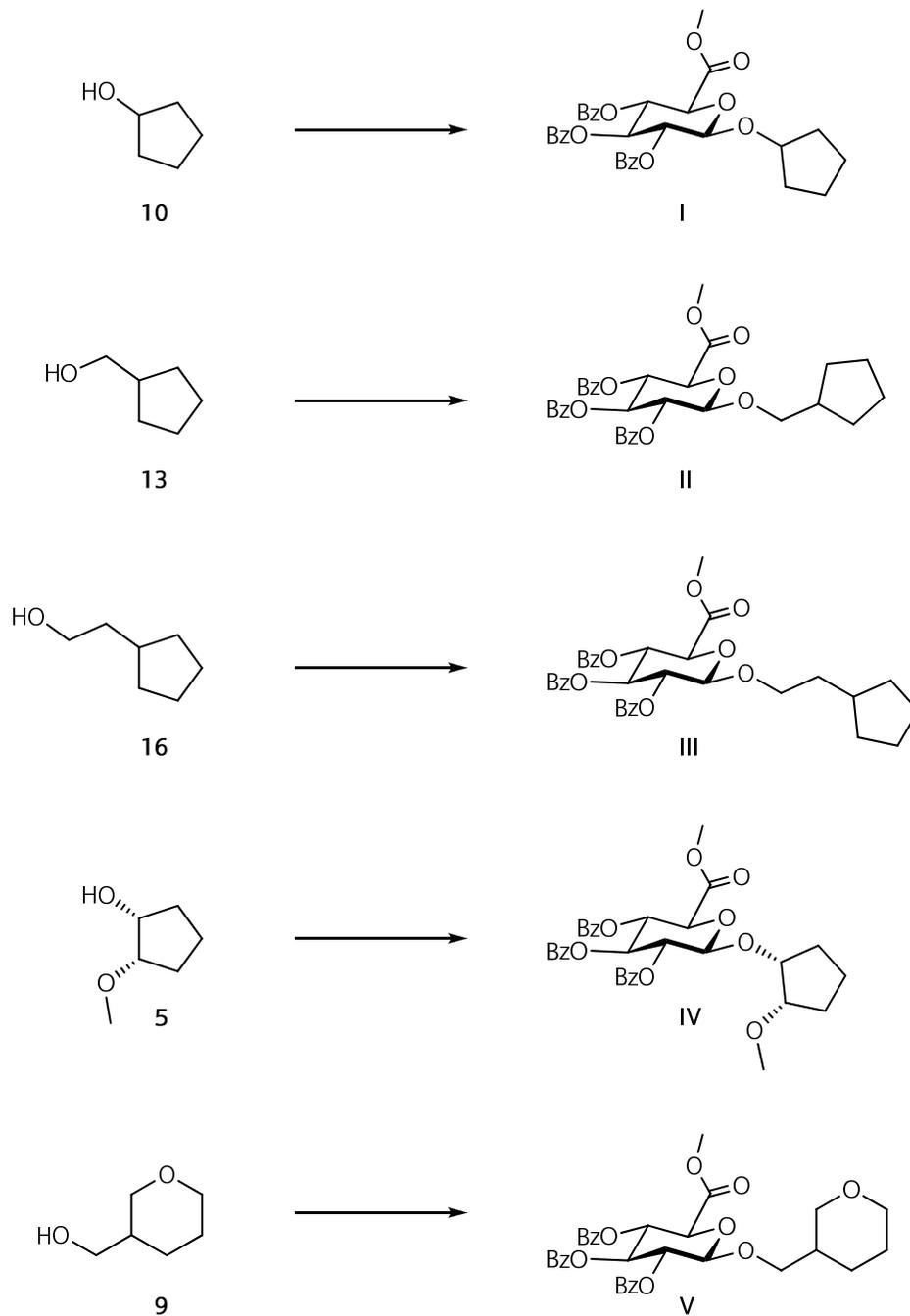


A.2. Synthese der Glucuronyl-Donoren

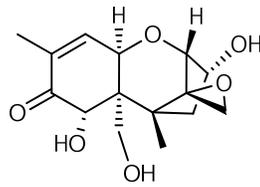


A.3. Glucuronidierung

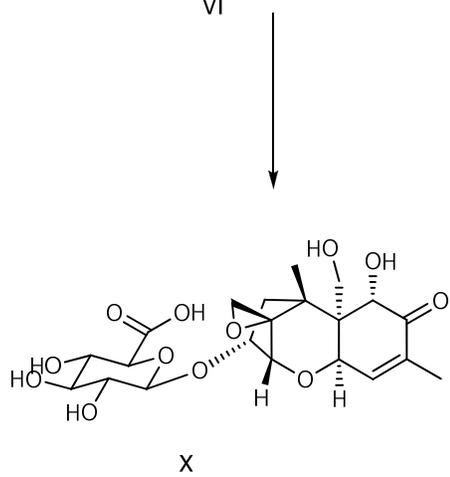
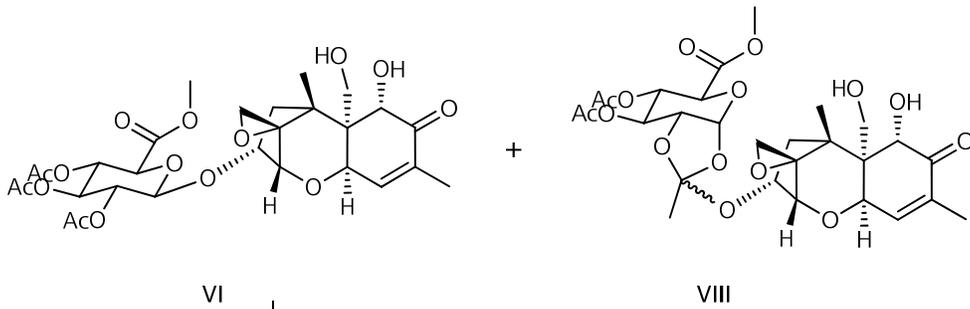
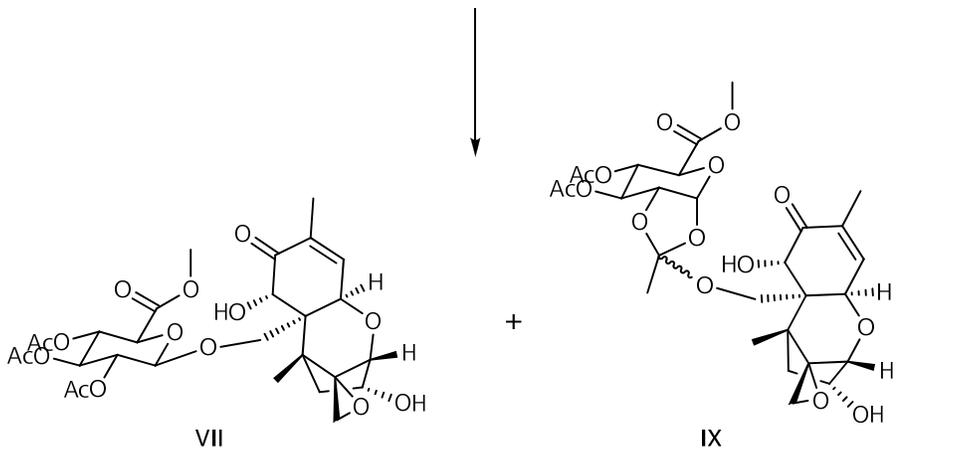
A.3.1. Modellglucuronide



A.3.2.DON-Glucuronide

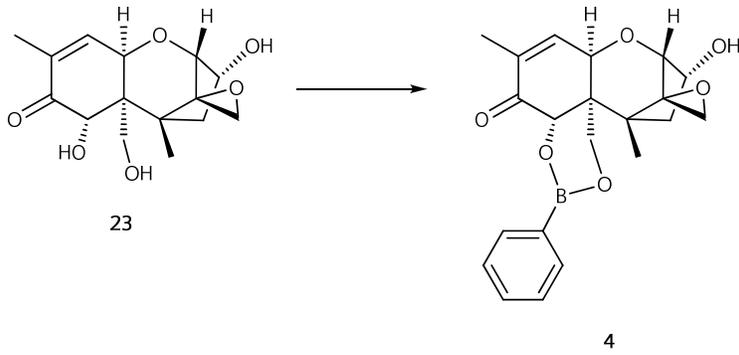


32



X

A.4. Schützung von DON



B. Allgemeiner Teil

B.1. Mycotoxine

Mycotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte aus Schimmelpilzen, die bei Wirbeltieren bereits in geringsten Mengen giftig wirken. Bei der Entdeckung der Mycotoxine zu Beginn der 1940er wurden diese zuerst als Antibiotika eingestuft, kamen allerdings aufgrund ihrer geringen Differenz zwischen toxischer und therapeutischer Dosis nie zum Einsatz. Es sind ca. 200 verschiedene Toxine bekannt, die von über 300 Schimmelpilzarten produziert werden, wobei die Produktion eines Toxins meist von mehreren Stämmen erfolgt.

Da die meisten Mycotoxine relativ unempfindlich gegenüber Hitze und Säurebehandlung sind, zersetzen sie sich nur langsam bzw. überstehen eine Vielzahl an Prozessen (z.B. Backen) und können somit leicht in die Nahrungskette gelangen. Die Bildung von Mycotoxinen unterliegt einer hohen regionalen sowie saisonalen Schwankungsbreite und ist unter anderem vom Nährstoffangebot, Feuchtigkeitsgehalt in der Umgebung und pH-Wert abhängig.



Abbildung B-1: mit *Fusarium* befallener Maiskolben

Diese Tatsache verhindert eine generelle Abschätzung des Kontaminationsgrades bezüglich Mycotoxinen in der Praxis. Die hauptsächliche Bedrohung für den Menschen umfasst den Bereich der Lebensmittel, da alle Lebensmittel, die in irgendeiner Form Schimmelbefall aufweisen, mit Mycotoxinen kontaminiert sein können. Bei der Kontamination selbst unterscheidet man generell zwischen drei Varianten:

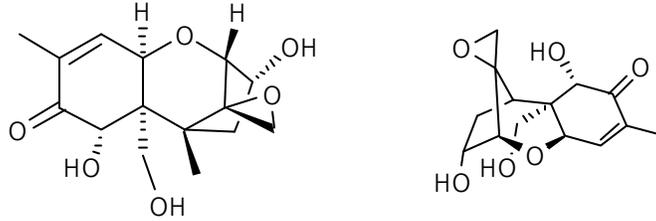
- Primärkontamination
Das Getreide wurde bereits am Feld von Schimmelpilzen befallen (z.B. Mutterkorn auf Roggen, Weizen, Gerste)
- Sekundärkontamination
Das Getreide wurde während der Lagerung befallen (z.B. *Aspergillus* oder *Penicillium spp.*)
- Carry over
Nutztiere nehmen kontaminierte Lebensmittel auf und geben die enthaltenen Gifte über eine Anreicherung in deren Produkten weiter (z.B. Milch, Eier, Fleisch)

Schätzungen der WHO zufolge enthalten ca. 25 % der weltweit produzierten Nahrungsmittel Mycotoxine. Eine besondere wichtige Rolle spielen dabei die Fusarientoxine Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZON), welche überwiegend in Zerealien (besonders Mais und Weizen) zu finden sind. Nicht minder wichtig ist weiters ein Befall von Aflatoxin, der hauptsächlich bei landwirtschaftlichen Produkten (Pistazien, Erdnüssen) aus tropischen und subtropischen Gebieten auftritt. Die Mycotoxine werden hinsichtlich Ihrer Grundstruktur in folgende Gruppen unterteilt:

- Aflatoxine
- Alternaria-Toxine
- Fumonisine
- Trichothecene (wie z.B. Deoxynivalenol)
- Mutterkornalkaloide
- Ochratoxine

B.2. Deoxynivalenol

Deoxynivalenol (auch bekannt als Vomitoxin) ist ein Mycotoxin, das von verschiedenen Pilzen der Gattung *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. graminearum*) gebildet wird und so wie der Pilz hauptsächlich auf befallenem Getreide (Weizen, Gerste, Hafer) auftritt.



Schema B-1: Deoxynivalenol

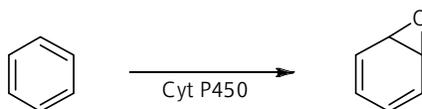
Deoxynivalenol ist eine weiße kristalline Substanz, die sehr beständig gegenüber einer Reihe von Bedingungen ist. So werden beispielsweise Temperaturen $> 120\text{ °C}$ im wässrigen Medium benötigt, um einen Teilabbau zu erreichen. Ebenso können auch Backprozesse ohne vollständigen Abbau überstanden werden. Werden akut toxische Dosen aufgenommen, so führt dies zu Übelkeit und Erbrechen, weswegen es auch als gastrointestinaler Reizstoff gilt. Weiters ist Deoxynivalenol ein Hemmstoff bei der Proteinsynthese, weshalb bei Nutztieren eine Wachstumsverzögerung sowie eine Beeinträchtigung des Immunsystems beobachtet werden kann.

B.3. Glucuronide

B.3.1. Vorkommen und Bedeutung

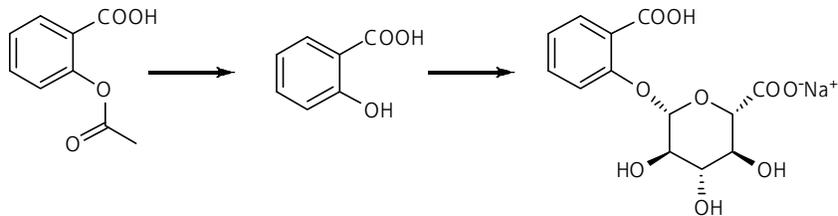
Bei Glucuroniden handelt es sich um Stoffwechselprodukte, welche im Zuge des natürlichen Entgiftungsprozesses des Körpers gebildet werden. Dabei werden schwer ausscheidbare bzw. sehr lipophile Substanzen zu sehr hydrophilen Konjugaten modifiziert, welche einfach und schnell ausgeschieden werden können.

Prinzipiell unterscheidet man bei den körpereigenen Entgiftungsmechanismen zwischen Phase-I-Metabolismus und Phase-II-Metabolismus. In Phase-I kommt es hauptsächlich zu Modifikationen des Fremdstoffes, um die Wasserlöslichkeit zu steigern und so eine schnelle Ausscheidung zu ermöglichen. Die bekannteste Enzymfamilie in Phase-I ist jene des Cytochroms P450, wobei hier hauptsächlich Hydroxylierungsreaktionen stattfinden. Wurde die Wasserlöslichkeit dadurch bereits so stark gesteigert, dass ein problemloses Ausscheiden möglich ist, so erfolgt dies auf dem direkten Weg und es kommt erst gar nicht zu Phase-II-Modifikationen.



Schema B-2: Phase-I-Metabolismus am Beispiel von Benzen

Entstehen nun im Zuge des Phase-I-Metabolismus reaktive Substanzen, die vom Organismus aufgrund einer noch immer zu geringen Wasserlöslichkeit nicht ausgeschieden werden können, so werden diese nun in Phase-II zu noch hydrophileren Konjugaten umgesetzt.



Schema B-3: Phase-II-Metabolismus am Beispiel von Aspirin

Die Konjugation wird notwendig, da in Phase-I eine Reihe reaktiver Moleküle entstehen, die potentiell Proteine, DNA oder andere Zellstrukturen schädigen können. Funktionelle Gruppen, die zu Konjugaten umgesetzt werden können, sind z.B. Hydroxy- oder Carboxygruppen sowie Epoxide und Halogenide. Diese Gruppen werden dann abhängig von der Substanz hauptsächlich mit Monosacchariden (z.B. Glucuronsäure), Aminosäuren, Sulfat, Glutathion und noch einigen anderen Reaktionspartnern zu Konjugaten umgesetzt. Je nach Art der funktionellen Gruppe erfolgt die Kopplung über dafür verantwortliche Enzyme. Diese werden im Wesentlichen in fünf Gruppen unterteilt:

- Glucuronosyl-Transferasen
- Glutathion-S-Transferasen
- N-Acetyltransferasen
- Sulfotransferasen
- Methyltransferasen

Damit eine Konjugation möglich ist, muss allerdings einer der beiden beteiligten Reaktionspartner in aktivierter Form vorliegen. Im Fall von Glucuroniden beispielsweise wäre der aktivierte Reaktionspartner der UDP-Glucuronosyltransferase-Komplex.

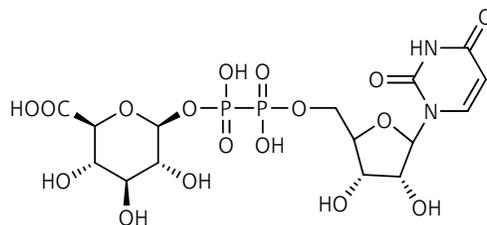
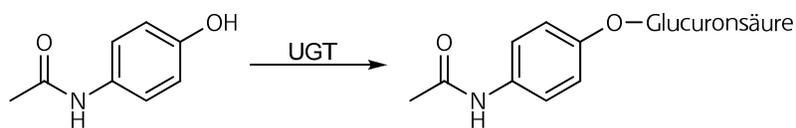


Abbildung B-2: UDP-Glucuronsäure

Bei der Glucuronidierung selbst wird die aktivierte Glucuronsäure auf ein Substrat mit nucleophilen Gruppen übertragen. Je nach Substratgruppe unterscheidet man bei den entstehenden Produkten zwischen O-, N- oder S-Glucuroniden. Die dabei entstehenden Glucuronide sind fast immer biologisch inaktiv und werden relativ schnell ausgeschieden. Über diese Konjugationsreaktionen werden viele Medikamente wie z.B. Paracetamol, Phenylbutazon oder Thyroxin, sowie körpereigene Stoffe wie z.B. Steroidhormone, Gallensäuren oder fettlösliche Vitamine modifiziert und über die Nieren ausgeschieden.

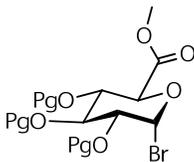
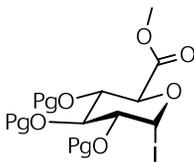
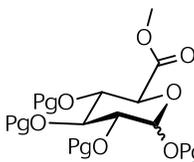
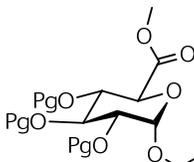


Schema B-4: Transfer von Glucuronsäure auf Paracetamol durch UDP-Glucuronosyltransferasen (UGT)

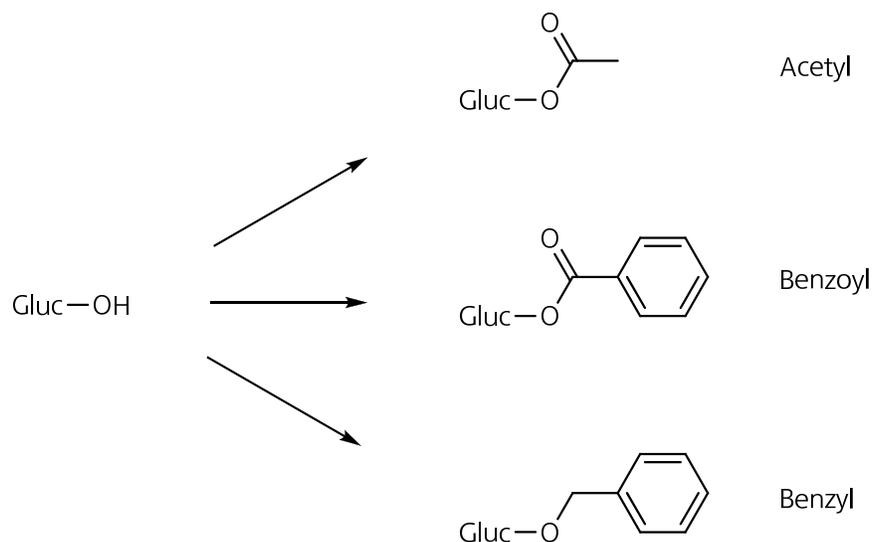
Einige dieser Glucuronide zählen auch zur Gruppe der „maskierten Mycotoxine“ welche in den letzten Jahren verstärktes Interesse erregt haben. Diese treten auf, wenn eine mit Mycotoxinen kontaminierte Pflanze beginnt, diese über Konjugation auszuschleiden. Die dabei entstehenden Konjugate verbleiben in dieser Form auf der Pflanze und werden bei der Bestimmung des Gehaltes an Mycotoxin nicht erfasst. Gelangen diese Substanzen nun in den Organismus, so wird das Konjugat gespalten und das Mycotoxin wieder freigesetzt. Gerade im Fall von Deoxynivalenol finden sich bis zu 50 % des Toxins als DON-3-Glucosid auf der Pflanze wieder, wobei etwaige Anteile an DON-3-Glucuronid aufgrund mangelnder Referenzsubstanzen nicht berücksichtigt wurden. Diese Fakten liefern auch die Erklärung, warum die entsprechenden Glucoside/Glucuronide der Mycotoxine einen so hohen wissenschaftlichen Stellenwert besitzen.

B.3.2. Synthese von Glucuroniden

Bei der Synthese von Glucuroniden werden in den meisten Fällen ein Glucuronyl-Donor und ein entsprechender Glucuronyl-Akzeptor in Anwesenheit einer Aktivatorspezies miteinander umgesetzt. Wie auch bei den natürlich entstehenden Glucuroniden erfolgt die Unterteilung nach der funktionellen Gruppe, an der die Bindung geknüpft wurde, wobei ebenfalls nur S-, O- oder N-Glucuronide entstehen können. Als Donormoleküle können eine Vielzahl von verschieden geschützten und aktivierten Glucuronsäurederivaten verwendet werden. Je nach Art der Aktivierung wurden unterschiedliche Varianten entwickelt, wobei die angeführte Tabelle einen kurzen Überblick über die wichtigsten Methoden und deren Reagenzien liefert: (Pg = protective group)

Methoden	Glucuronyl-Donor	Aktivatoren
Königs-Knorr		Ag_2O , Ag_2CO_3 , AgOTf , CdCO_3 , $\text{Hg}(\text{CN})_2$, HgBr_2/HgO
Iodo-Zucker		NIS, Iod, TMSOTf
Lewis-Säure		SnCl_4 , TMSOTf
Trichloracetimidat		TMSOTf, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Als Hydroxy-Schutzgruppen (Pg) werden in den meisten Fällen Ester (Benzoyl, Acetyl, etc...), aber auch Ether (Benzyl) verwendet. Die Schützung der Glucuronsäure selbst erfolgt in den meisten in der Literatur beschriebenen Fällen als Methylester.



Schema B-5: mögliche Schutzgruppen

Da in der Natur ausschließlich β -Glucuronide vorkommen, sind auch die synthetischen Methoden darauf ausgelegt, möglichst selektiv die β -Form der entsprechenden Glucuronide zu liefern. Allerdings muss angemerkt werden, dass aufgrund der Vielzahl an Parametern (Lösungsmittel, Temperatur, gewählte Methode, Aktivator, etc...) keine Universalmethode verfügbar ist, die alle Bedürfnisse erfüllt. Aus diesem Grund muss die Methodik sorgsam gewählt und entsprechend der jeweiligen Problemstellung angepasst werden. Dazu gehört auch die Wahl der Entschützungsbedingungen, was sich oftmals schwierig gestaltet, wenn das Zielmolekül selbst Esterfunktionalitäten aufweist.

B.4. Ziele der Arbeit

Das Primärziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese aller *O*-Glucuronide von Deoxynivalenol (DON), die im Stoffwechsel auftreten können. Da das Zielmolekül 3 OH-Funktionalitäten aufweist, sind in der Theorie 3 Glucuronide, 3 Diglucuronide, sowie ein Triglucuronid möglich.

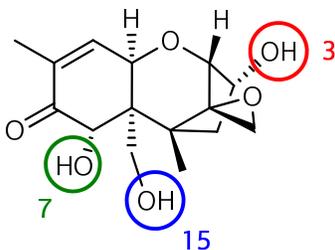


Abbildung B-3: Mögliche Gruppen zur Glucuronidbildung

Allerdings wurden in der Natur bis jetzt nur Monoglucuronide gefunden. Dabei handelt es sich um DON-3- β -D-glucuronid sowie DON-15- β -D-glucuronid. DON-7- β -D-glucuronid wurde bislang noch nicht nachgewiesen.

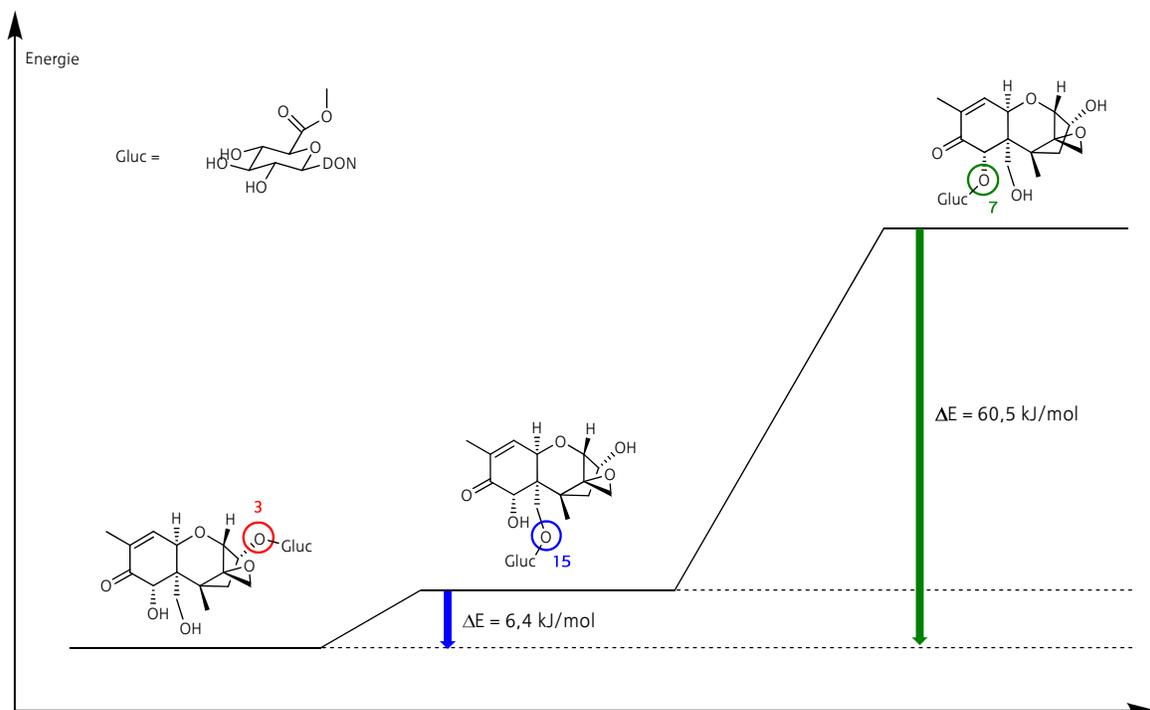


Abbildung B-4: Reaktivitätsunterschiede der verschiedenen Hydroxygruppen

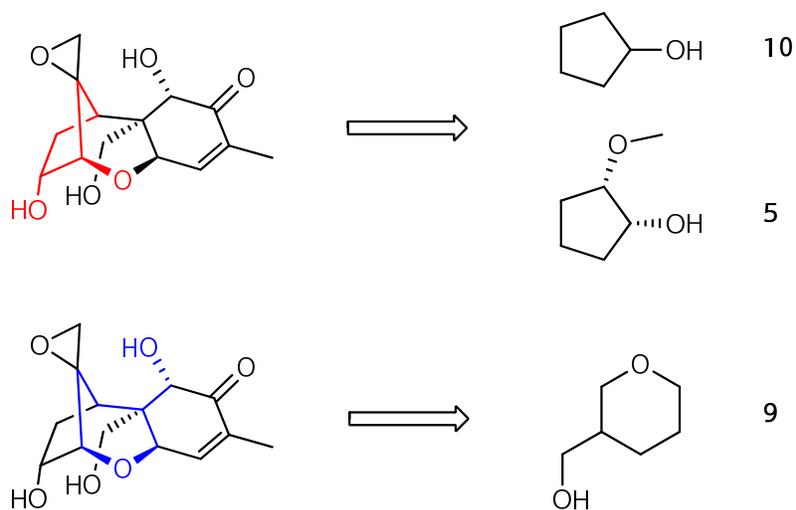
Diese Tatsache kann auf die Reaktivität der betreffenden Hydroxygruppen zurückgeführt werden, da die Positionen 15 und 3 wesentlich reaktiver hinsichtlich einer Glucuronidierung als die Position 7 sind. Eine vereinfachte theoretische Modellierung^[1] des Problems lieferte dabei die in der Grafik ersichtlichen Reaktivitätsunterschiede. Dabei wurden die Energieinhalte der jeweiligen entstehenden DON-Glucuronide berechnet, wobei ein vereinfachter DON-Grundkörper verwendet wurde. Der Übersicht halber ist in der Graphik allerdings DON eingezeichnet und die entsprechende Hydroxygruppe markiert. Dabei ist ersichtlich, dass der Energieinhalt des Produkt mit der Verknüpfung am 7-OH um 60.5 kJ/mol höher als jenes des 3-OH Produktes ist. Das bedeutet dass die Stabilität dieses Produktes um ein Vielfaches geringer ist, als die beiden an Position 3 bzw. 15 verknüpften Produkte.

Die prinzipiellen Möglichkeiten zur Synthese entsprechender Glycokonjugate wurden bereits kurz erörtert, allerdings gibt es keine Pauschalanleitung, um die die entsprechenden Alkohole schnell umzusetzen. Viele in der Literatur beschriebene Synthesen arbeiten mit einem Überschuss an entsprechendem Glucuronyl-Akzeptor (OH-Gruppe). Diese Methoden kommen für die beschriebenen Zielmoleküle allerdings nicht in Frage, da die Verfügbarkeit des Mycotoxins sehr eingeschränkt ist bzw. die Anschaffung mit erheblichen Kosten (> 80 €/mg^[2]) einher geht. Aus diesem Grund war es notwendig, einige Vorversuche an Modellverbindungen vorzunehmen, um die Methoden hinsichtlich Ihrer Eignung zu testen bzw. die Reaktivitäten der beiden Hydroxygruppen relativ zueinander einschätzen zu können. Aus diesem Grund wurden aus dem Zielmolekül einige einfache Bruchstücke abstrahiert, welche zur genaueren Untersuchung der Methodik synthetisiert und getestet wurden. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sollten anschließend zur Optimierung der Synthese der beiden DON-Glucuronide verwendet werden.

C. Spezieller Teil

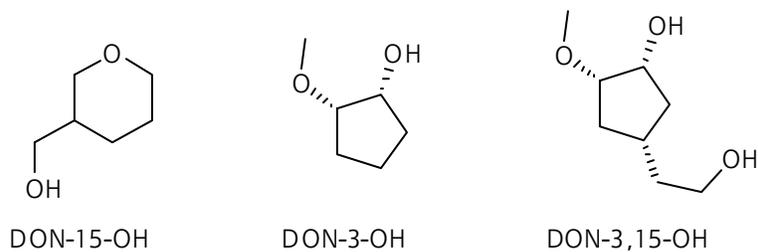
C.1. Synthese der Modellverbindungen

Die primär ausgewählten Modellverbindungen basieren auf einem Pyran- bzw. Cyclopentanol-Grundgerüst, welches jedoch verschiedene Substitutionsmuster aufweist.



Schema C-1: Auswahl des Grundgerüsts

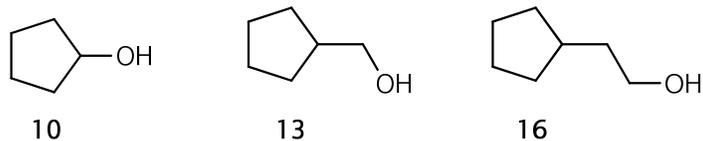
Wesentlich bei der Auswahl der Modelle war jedoch die cis-Funktionalisierung des Cyclopentanol-Grundgerüsts, um die räumlichen Aspekte der Hydroxygruppe in 3-Position zu berücksichtigen, da diese neben dem Sauerstoffatom des Pyransystems lokalisiert ist und somit sterisch gehinderter als in Cyclopentanol ist.



Schema C-2: ausgewählte Modellverbindungen

Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Synthese und Isolierung von Cyclopentenoxid, welches als Zwischenprodukt der Cyclopentanolserie benötigt

wird, wurde die Modellserie im späteren Verlauf um einige Substanzen erweitert (siehe Schema C-3).

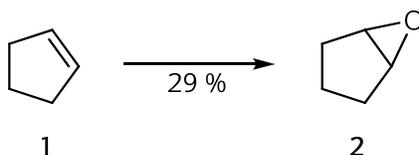


Schema C-3: weitere Modellverbindungen

Ziel dabei war es wie bei den bereits ausgewählten Verbindungen, die Reaktivitätsunterschiede der Modelle zu untersuchen, allerdings wurde in diesem Fall die Seitenkettenlänge variiert, um die Reaktivitätsunterschiede zwischen primären und sekundären Hydroxygruppen zu untersuchen. Deren Reaktivität sollte Aufschlüsse über den Einfluss der Nähe des reaktiven Zentrums (-OH) zu einem räumlich größeren Rest liefern. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse wurden in Relation zu cis-2-Methoxycyclopentanol gesetzt, um weitere Aufschlüsse über die Geschwindigkeit der Glucuronidierung an der 3-OH bzw. 15-OH Position abschätzen zu können.

C.1.1. cis-2-Methoxycyclopentanol

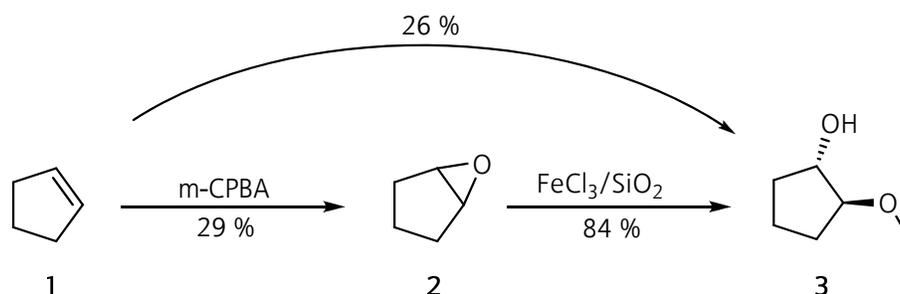
Die Synthese von cis-2-Methoxycyclopentanol basierte auf der Epoxidierung von Cyclopenten, sowie einer anschließenden nucleophilen Ringöffnung um das entsprechende trans-Produkt zu isolieren. Dieses wurde im weiteren Verlauf über eine Mitsunobu-Reaktion zum cis-Ester der p-Nitrobenzoesäure umgesetzt, welcher im letzten Schritt gespalten wurde um das gewünschte Endprodukt zu erhalten. Zwar wurde bei der Synthese Cyclopentenoxid als Startmaterial angedacht, dies wurde jedoch aufgrund der hohen Anschaffungskosten zugunsten von Cyclopenten verworfen. Die Epoxidierung desselben gestaltete sich allerdings wesentlich schwieriger als erwartet bzw. in der Literatur erwähnt wurde, da das Ausgangsmaterial mit einem Siedepunkt von 44 °C relativ leicht flüchtig ist sowie das Endprodukt aufgrund seiner Reaktivität sehr schwer isolierbar ist.



Schema C-4: Epoxidierung von Cyclopentanol

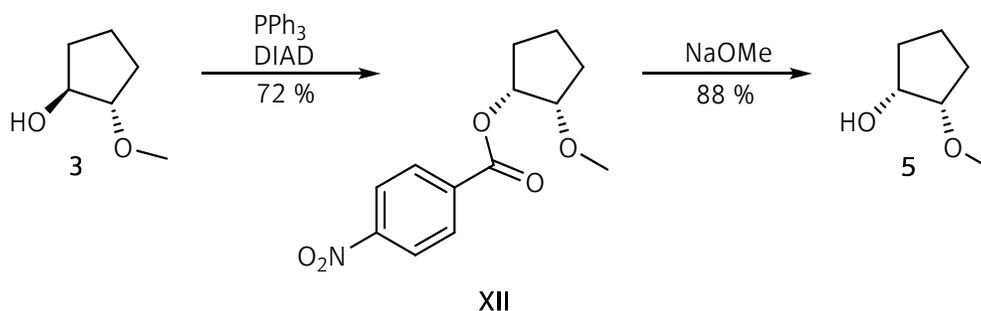
Nach einer Vielzahl an Optimierungsversuchen mit m-CPBA^[3], t-BuOOH und H₂O₂/Na₂WO₄/H₂WO₄^[4] lieferte die Methode mit m-CPBA die besten Ergebnisse bezüglich des Umsetzungsgrades. Eine Isolierung war allerdings in den meisten Fällen nicht oder nur in sehr geringen Ausbeuten möglich. Jede Methode für sich wurde unterschiedlichen Aufarbeitungsbedingungen unterworfen, wobei mit NaOH, NaHCO₃ sowie NaHSO₃ Lösungen gearbeitet wurde. Die Destillation im letzten Schritt wurde bei verminderten Druck und 40 °C durchgeführt, um die Bedingungen so mild wie möglich zu gestalten. In den meisten Fällen kam es trotzdem bei der Destillation zu einer spontanen Nebenreaktion, wobei das Produkt vollständig zu einer weißen zähflüssigen Masse umgesetzt wurde. Konnte Produkt isoliert werden, so lag die beste erzielte Ausbeute bei 29 %. Um das Problem der Aufreinigung zu minimieren, wurde in weiteren Versuchen die

organische Phase der Reaktionslösung nur mehr eingengt und in dieser Form für den nächsten Schritt verwendet. Diese erfolgte mit $\text{FeCl}_3/\text{SiO}_2$ und MeOH ^[5]. Diese Variante lieferte eine reproduzierbare Gesamtausbeute von 26 % für die ersten beiden Schritte, was annehmbar war.



Schema C-5: Isolierung von Cyclopentenoxid bzw. one pot Synthese

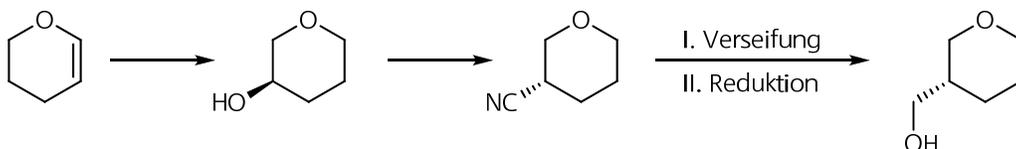
Die direkte Umsetzung des Cyclopentenoxids zum trans-2-Methoxycyclopentanol wurde über FeCl_3 auf Kieselgel durchgeführt und mit 84 % Ausbeute realisiert. Die anschließende Inversion des Stereozentrums (der Hydroxygruppe) wurde anfangs über Tosylierung des Alkohols^[6] und Inversion über Natriumnitrit in DMSO ^[7] und DMF ^[8], sowie über NH_4OAc ^[9] versucht, wobei kein Produkt nachgewiesen werden konnte. Aus diesem Grund wurde dieser Schritt über eine Mitsunobu-Reaktion^[10] in passablen Ausbeuten realisiert. Das dabei erhaltene Enantiomerenpaar wurde direkt verwendet, da zwei Versuche zur Enantiomerentrennung über Camphersulfonylchlorid scheiterten.



Schema C-6: Inversion der Konfiguration

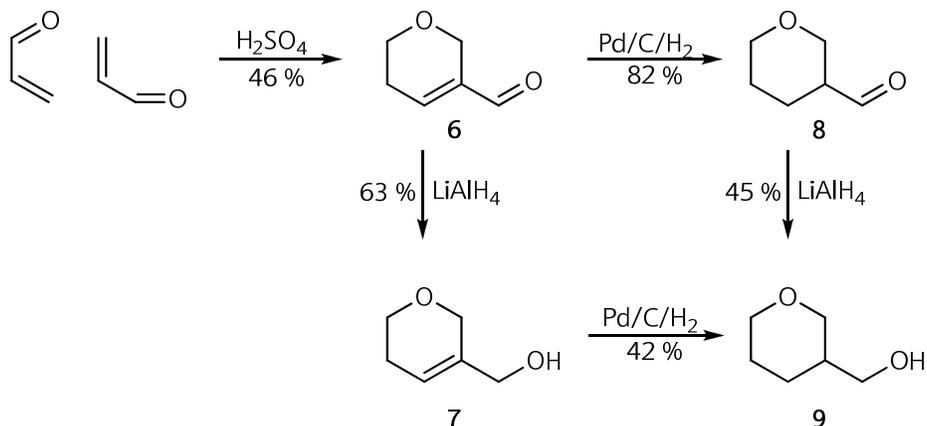
C.1.2. Tetrahydropyran-3-yl-methanol

Die Synthese dieser Modellverbindung wurde zuerst über eine enantioselective Hydroborierung mittels Diisopinocampheylboran versucht. Anschließend sollte eine Inversion des Stereozentrums über Tosylierung und nucleophilen Angriff von CN^- erfolgen. Als limitierender Faktor bei diesem Ansatz stellte sich der erste Schritt (Schema C-7) heraus.



Schema C-7: Angedachtes Syntheschema

Aufgrund des präparativen Aufwandes bei der Herstellung der Boranspezies sowie der geringen erreichten Ausbeute bei der Hydroborierung wurde der enantioselective Ansatz verworfen und weiterer Folge der in Schema C-8 gezeigte Syntheseweg gewählt.

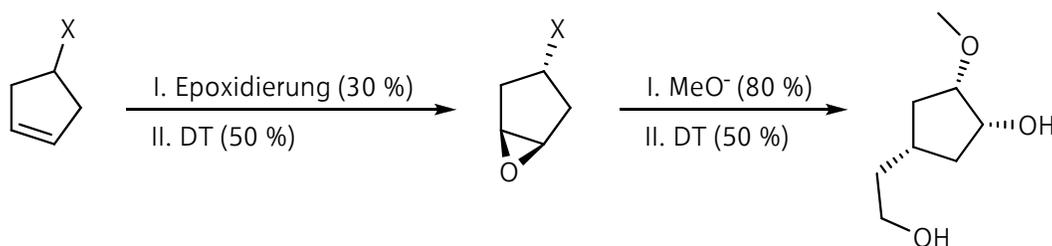


Schema C-8: Syntheserouten zu Tetrahydropyran-3-ylmethanol

Startschritt war dabei eine Hetero-Diels-Alder Reaktion^[11]. Der dabei entstehende konjugierte Aldehyd wurde in weiterer Folge mit LiAlH_4 reduziert und hydriert. Da die erreichten Ausbeuten relativ gering waren, wurden die beiden Reaktionsschritte vertauscht, wodurch beide Einzelsynthesen sowie der Gesamtschritt bessere Ausbeuten lieferten.

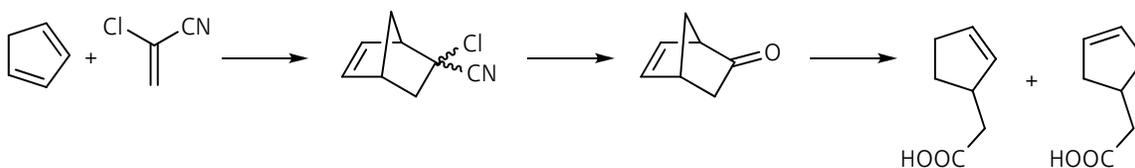
C.1.3.3-Hydroxy-4-methoxycyclopentylethanol

Um das in Schema C-9 gezeigte Modellmolekül zu synthetisieren, wurden mehrere Strategien versucht, wobei stets ein 4-funktionalisiertes Cyclopentenderivat als Zwischenprodukt auftritt, welchem auch das Hauptinteresse gilt. Die Synthese eines solchen gestaltete sich als relativ schwierig, da ein erster Ansatz über Metathese aufgrund der vielen Folgeschritte bzw. doppelter Diastereomerentrennung als unpraktikabel gewertet wurde. Grund dafür war, dass der spätere Epoxidierungsschritt mit ca. 30 % Produkt veranschlagt wurde, sowie bei einer doppelten Stereomerentrennung in den Nachfolgeschritten maximal 25 % an gewünschtem Produkt gebildet wird.



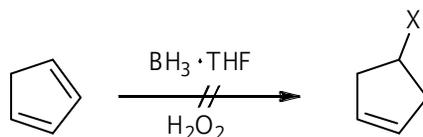
Schema C-9: Synthesestrategie mit den beiden Diastereomerentrennungen (DT)

Als Alternative zur Metathese wurde versucht, die Funktionalisierung über Spaltung von 5-Norbornen-2-on herzustellen. Dabei wurde allerdings festgestellt, dass sich die beiden entstehenden Produkte (siehe Schema C-10) als nicht trennbar erwiesen, weswegen auch diese Route verworfen wurde.



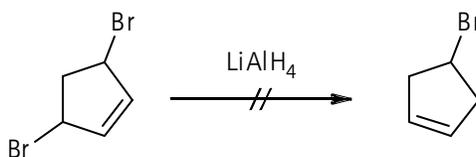
Schema C-10: Syntheseroute über Spaltung von 5-Norbornen-2-on

Bei der Hydroborierung von Cyclopentadien zum 3-Cyclopentenol war es auch nach mehreren Ansätzen nicht möglich das gewünschte Produkt zu erhalten.



Schema C-11: Hydroborierung von Cyclopentadien

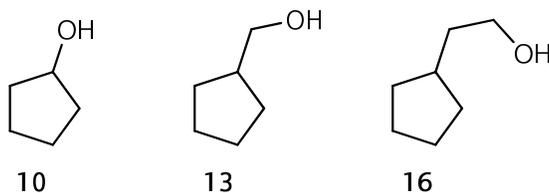
Eine in der Literatur beschriebene Reduktion mit LiAlH_4 von 3,5-Dibromcyclopenten zum entsprechenden 4-Bromcyclopenten wurde aufgrund massiver Sicherheitsbedenken^[12] verworfen.



Schema C-12: Reduktion von 3,5-Dibromcyclopenten

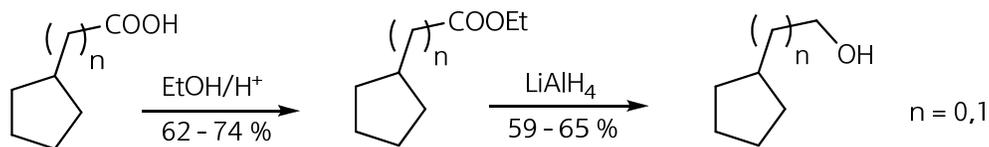
C.1.4. Cyclopentylmethanol/Cyclopentylethanol

Um dennoch über adäquate Modellverbindungen verfügen zu können, wurden drei Strukturen mit Cyclopentylgrundkörper (Abb. C-13) und entsprechender Hydroxyfunktionalisierung gewählt, um die Änderung der Reaktivität in Abhängigkeit des Abstandes von einem sperrigeren Rest (= Cyclopentyl) zu untersuchen.



Schema C-13: Cyclopentanol (10), Cyclopentylmethanol (13) und Cyclopentylethanol (16)

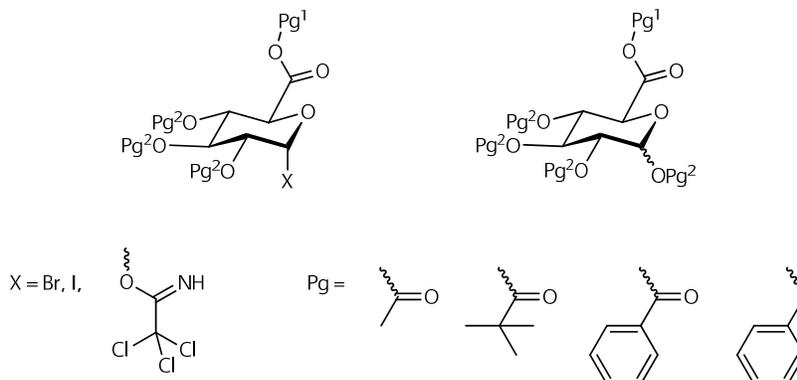
Die Synthese von Cyclopentylmethanol bzw. Cyclopentylethanol wurde anfangs über die direkte Reduktion der entsprechenden Säuren mit LiAlH_4 versucht, wobei keine Umsetzung erreicht wurde. Aus diesem Grund wurde der Umweg über die entsprechenden Ethylester gewählt, welcher nach Reduktion zu den entsprechenden Endprodukten in moderaten Ausbeuten führte.



Schema C-14: Reduktion der Säuren über deren Ester

C.2. Glucuronyldonoren

Wie bereits erwähnt wurde, gibt es eine Vielzahl an verschiedenen Parametern, die bei der Glucuronidierung zu beachten sind bzw. an die Bedürfnisse der Problemstellung angepasst werden können. Allen voran unterscheiden sich die Methoden hinsichtlich der eingesetzten Glucuronyldonoren sowie der gewählten Aktivatoren.

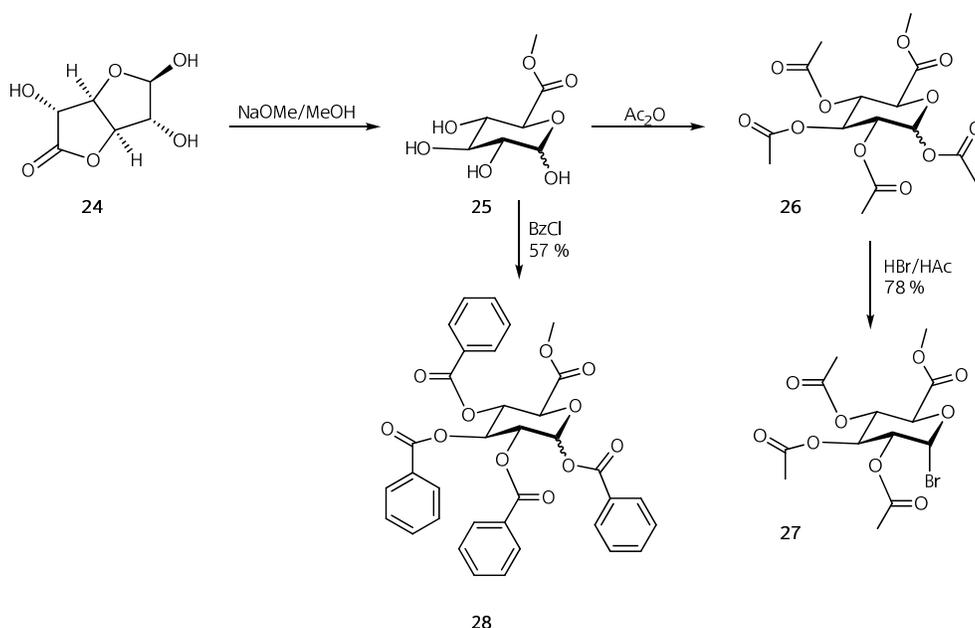


Schema C-15: Grundstruktur geschützter Glucuronyldonoren (oben), mögliche Abgangsgruppen (links) und mögliche Schutzgruppen (rechts)

Schema C-15 führt die am häufigsten verwendeten Glucuronyl-Donoren an, dabei handelt es sich stets um Glucuronsäure, die entsprechend geschützt ist. Die Säurefunktionalität wird in der Literatur fast ausschließlich als Methylester geschützt, während die Hydroxy-Gruppen in den meisten Fällen als Ester geschützt werden, da diese die Bildung des β -Produktes forcieren. Dabei handelt es sich vorwiegend um Acetate, Pivaloate sowie Benzoate. Die Abgangsgruppe X wird abhängig von der Methodik modifiziert, wobei Brom, Iod und Trichloracetimidat am häufigsten verwendet werden. Da keine der gewählten Modellsubstanzen über chromophore Gruppen verfügt, wurden für die Screenings benzoylgeschützte Glucuronyldonoren verwendet, um eine Detektion über UV zu ermöglichen. Des Weiteren waren diese Verbindungen interessant, da es in unserer Arbeitsgruppe bereits Erfahrungen mit acetyl- bzw. pivalylgeschützten Donoren gab, jedoch keine Versuche mit benzoylgeschützten durchgeführt wurden.

Synthese der verwendeten Glucuronyldonoren

Aufgrund der Vielzahl an bereits in der Literatur beschriebenen Donoren sind alle Syntheseschritte bereits bekannt und gut in der Literatur beschrieben. Die Synthesen der entsprechenden Glucuronsäure-Derivate wurden ausgehend von (+)-D-Glucofuranurono-6,3-lacton durchgeführt. Die Reaktion zum 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranuronsäuremethylester^[13] verläuft über den D-Glucopyranuronsäuremethylester, welcher durch Rühren des Lactons in abs. MeOH katalysiert durch NaOMe erhalten wurde.

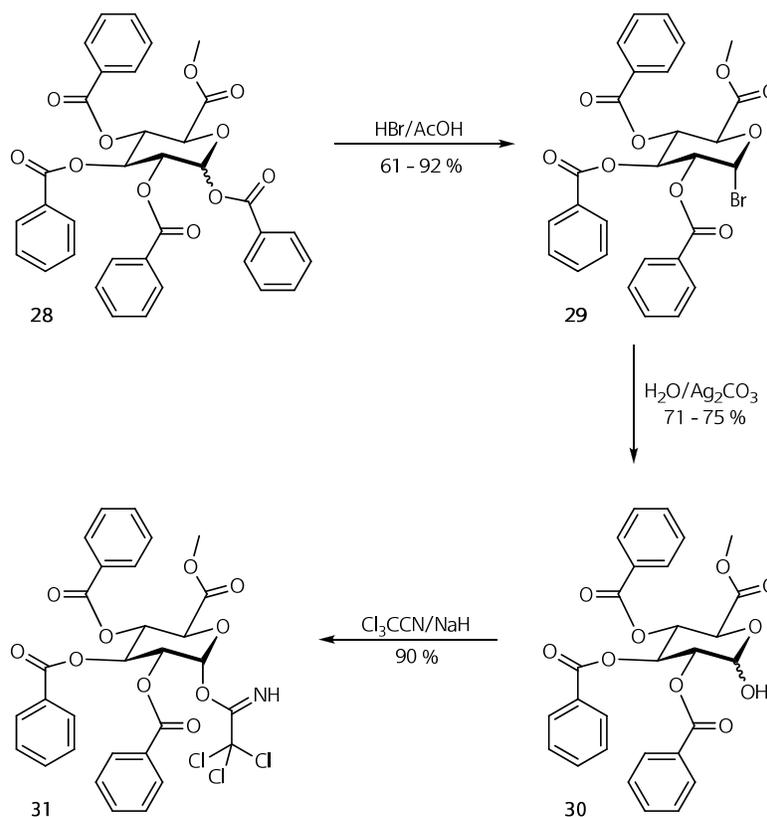


Schema C-16: Syntheseroute zum tetrabenzoylgeschützten Donor (28) bzw. zum triacetylgeschützten Bromozucker (27).

Die anschließende Acetylierung erfolgte über Essigsäureanhydrid, wobei das gebildete Produkt nicht aufgereinigt, sondern mit HBr/HAc (33%ig) direkt zu (27) umgesetzt wurde. Um zu (28)^[14] zu gelangen, wurde der Methylester mit Benzoylchlorid in Pyridin versetzt und anschließend säulenchromatographisch sowie über Umkristallisation gereinigt.

Die in Schema C-16 angeführten Ausbeuten beziehen sich auf die Schritte vom Lacton bis zum jeweiligen Produkt, da der Methylester bzw. das Tetraacetat nicht isoliert und aufgereinigt wurden. Die weitere Umsetzung zu (30) wurde

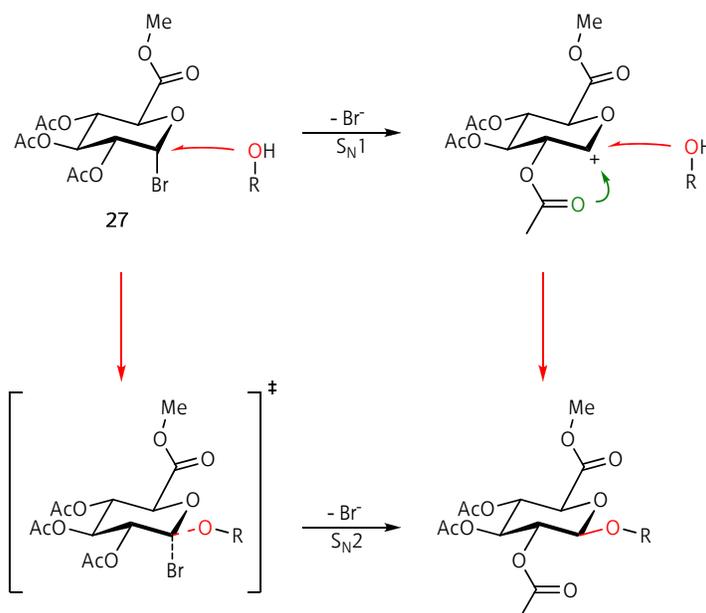
ausgehend von (29) durchgeführt, da die Ausbeuten besser und die Reaktionsführung einfacher als jene vom Tetrabenzoat aus war. Die Hydrolyse des Bromozuckers mit Silbercarbonat^[15] in abs. Aceton wurde mit Ausbeuten zwischen 71-75 % realisiert. Die Umsetzung zu (31) erfolgte anschließend über Umsetzung mit 0.2 equ. NaH in Anwesenheit von Trichloracetonitril^[16]. Der Vorteil der Methode lag in der kurzen Reaktionszeit von 15 Minuten bei einer Ausbeute von 90 %. Die Synthese ist in Schema C-17 nochmals zusammengefasst.



Schema C-17: Synthese des Trichloroacetimidat-G-Donors

C.3. Mechanistische Grundlagen

Prinzipiell handelt es sich bei der Glucuronidierung um eine nucleophile Substitution. Diese kann abhängig von der gewählten Methode und deren Parametern nach S_N1 bzw. nach S_N2 ablaufen. Die wichtigste Rolle spielt dabei die Wahl der Abgangsgruppe am Glucuronyl-Donor, sowie die Nucleophilie des Glucuronyl-Akzeptors.

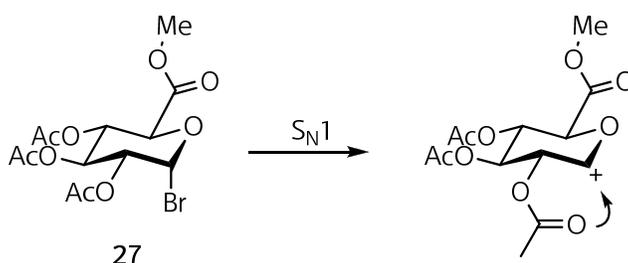


Schema C-20: Glucuronidierung nach S_N1 bzw. S_N2

Eine strikte Unterteilung nach S_N1 oder S_N2 ist in den meisten Fällen bei der Glucuronidierung nicht möglich (Ausnahme: Lewis-Säure-Methode), da abhängig von den Reaktionsbedingungen ein Mechanismus stärker oder schwächer bevorzugt wird. Generell wird eine Reaktion mit S_N1 Mechanismus allerdings bei Anwesenheit einer Carbonylschutzgruppe (vgl. anchimerer Effekt) begünstigt, da diese das intermediär auftretende Carbokation stabilisiert und die heterolytische Bindungsspaltung somit erleichtert wird. Eine Reaktion mit S_N2 -Mechanismus hingegen läuft bei einem Überschuss von Glucuronyl-Akzeptor bzw. sehr nucleophilem Glucuronyl-Akzeptor schneller ab.

C.3.1. Stereoselektivität der Glucuronidierung – der anchimere Effekt

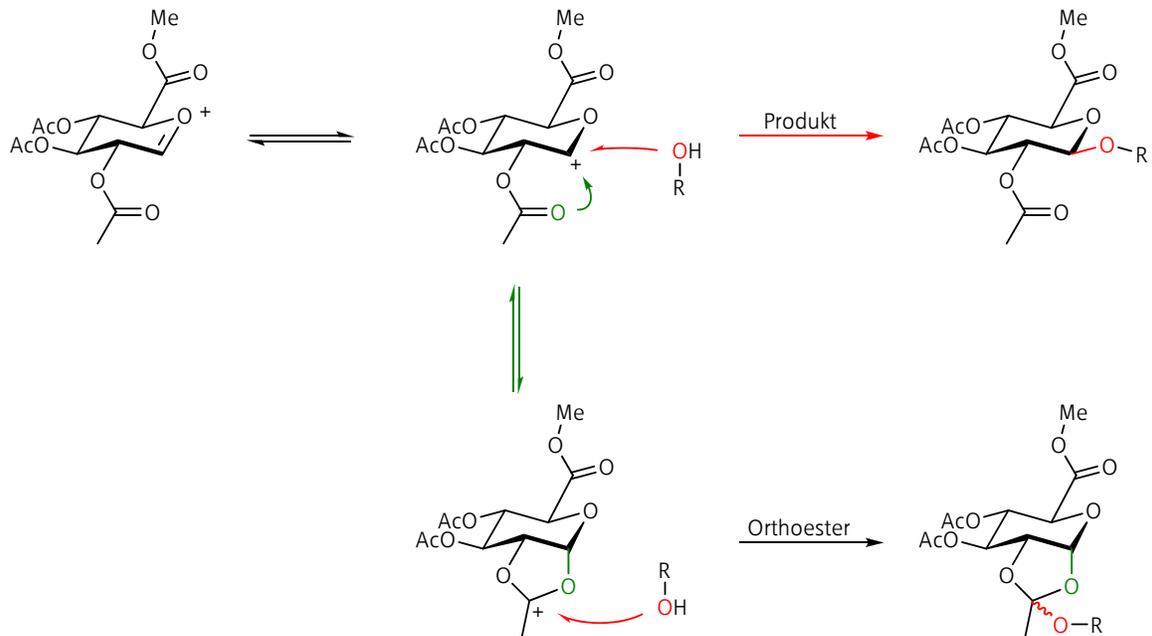
Wie bereits erwähnt wurde, liegt das Hauptaugenmerk bei der Synthese von Glucuroniden auf der jeweiligen β -Form, da in der Natur ausschließlich β -Glucuronide zu finden sind. Bei der synthetischen Darstellung von Glucuroniden kommt es jedoch zur Bildung von beiden Formen, wobei das Verhältnis von α/β bei der Verwendung von Esterschutzgruppen zugunsten der β -Form hin verschoben werden kann. Dies ist auf den sogenannten anchimeren Effekt zurückzuführen, wodurch der Diastereomerenüberschuss oft bei über 95 %^[17] liegt. Möglich wird dies aufgrund der Tatsache, dass das intermediär gebildete Carbokation am anomeren Zentrum in Wechselwirkung mit dem Carbonyl-Sauerstoffatom der verwendeten Schutzgruppe steht und die Angriffsseite zur Bildung von α -Anomeren damit sterisch gehindert ist.



Schema C-18: Bildung des Carbokations

Dadurch erfolgt der Angriff des Nucleophils am anomeren Zentrum fast ausschließlich aus der β -Richtung. Auch wenn dies einen enormen Vorteil bei der Synthese darstellt, so kommt es dafür leider in einer Nebenreaktion zur Bildung von unerwünschten Orthoestern. Diese können in der Praxis hinsichtlich ihrer Polarität dem Endprodukt sehr ähnlich sein und damit einige Trennprobleme mit sich bringen. Um die Bildung solcher Orthoester zu unterbinden, kann die sterisch anspruchsvollere Pivaloyl-Gruppe verwendet werden, wobei auch dabei die Bildung der entsprechenden Orthoestern nicht ausgeschlossen werden kann.

Mechanistisch gesehen liefert Schema C-19 einen Aufschluss über den Ablauf der Reaktion.



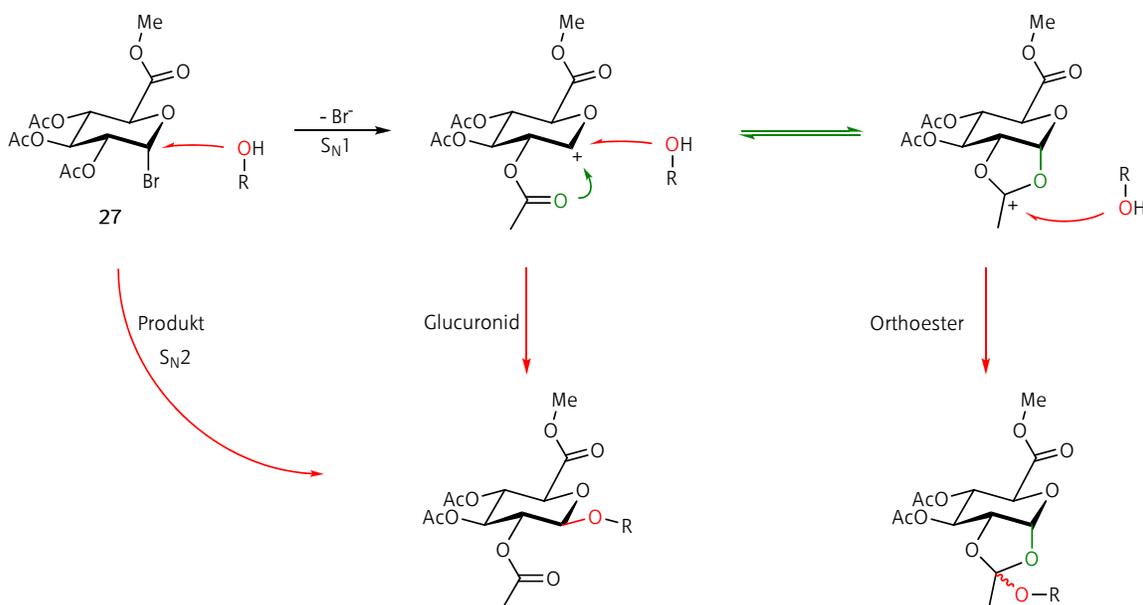
Schema C-19: Mechanismus der Glucuronidierung nach S_N1 und das damit verbundene Orthoesterproblem

Das gebildete Carbokation wird über den benachbarten Sauerstoff mesomeriestabilisiert und kann von einem Alkohol nucleophil angegriffen werden (rot) und so das gewünschte Produkt bilden. Allerdings ist ebenso die Bildung eines Orthoesters möglich, wobei zunächst der Angriff des benachbarten Carbonylsauerstoffs (grün) und anschließend jener des Alkohols erfolgt.

C.4. Methodik der Glucuronidierung

C.4.1. Königs-Knorr-Methode

Bei der Königs-Knorr-Methode wird ein entsprechend geschützter Bromozucker mit Metallsalzen (Ag_2CO_3 , Ag_2O , AgOTf , CdCO_3 , HgBr_2/HgO , HgCN , usw.) als Aktivator versetzt und mit den gewünschten Glucuronyl-Akzeptoren umgesetzt. Da die Abgangsgruppe für die Reaktion nicht zwingend abstrahiert werden muss, kann die Reaktion sowohl nach $\text{S}_{\text{N}}1$ als auch nach $\text{S}_{\text{N}}2$ ablaufen.

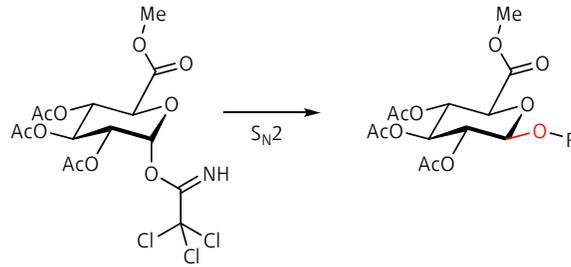


Schema C-21: Glucuronidierung nach Königs-Knorr

Eine Orthoesterbildung kann auch bei dieser Reaktion leider nicht ausgeschlossen werden. Bei der Methode nach Königs-Knorr handelt es sich um die Standardmethode für Glucuronidierungen, weshalb auch eine Vielzahl an verschiedenen Reaktionsbedingungen in der Literatur beschrieben sind. Hinsichtlich des Aktivators schwanken die in der Literatur beschriebenen Ausbeuten über einen sehr großen Bereich^[15], wobei die besten Ergebnisse bei der Verwendung diverser Silbersalze^{[1][15]} erreicht wurden.

C.4.2. Trichloracetimidat-Methode

Bei dieser Methode wird zuerst die Abgangsgruppe durch Zugabe von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ oder TMSOTf aktiviert und nach Zugabe des Glucuronyl-Akzeptors das entsprechende Glucuronid gebildet. Der Mechanismus verläuft dabei in den meisten Fällen nach $\text{S}_{\text{N}}2$.

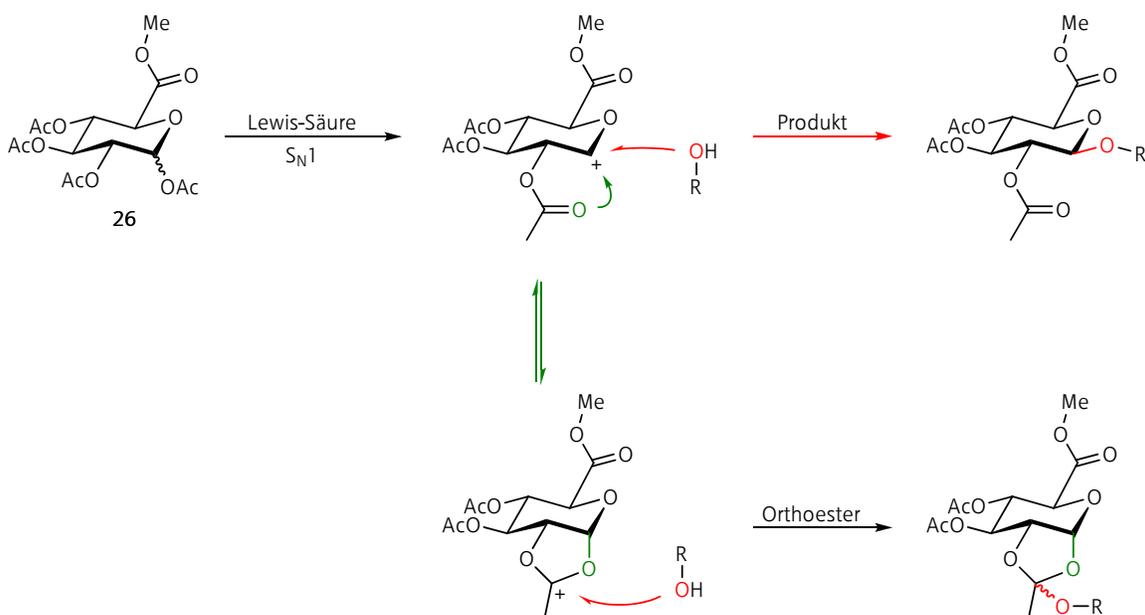


Schema C-22: Trichloracetimidat-Methode

Generell gibt es bei der Trichloracetimidat-Methode relativ wenig variable Parameter, wobei in der Literatur zwei verschiedene Varianten der Zugabe der beteiligten Reaktionspartner (normal und invers) beschrieben sind. In der Praxis konnte allerdings kein Unterschied zwischen den beiden Varianten festgestellt werden^[1]. Ein weiterer Vorteil bei dieser Methode ist dass im Allgemeinen^[1] so gut wie keine Orthoesterbildung auftritt.

C.4.3. Lewis-Säure Methode

Bei der Lewis-Säure Methode werden tetraacetylgeschützte Glucuronyldonoren verwendet, wobei die Esterfunktionalität am anomeren Zentrum durch Zugabe einer Lewis-Säure gespalten wird und dadurch die entsprechende Carbokationspezies generiert wird. Diese reagiert über einen S_N1 Mechanismus mit dem vorhandenen Glucuronyl-Akzeptor zum entsprechenden geschützten Glucuronid.

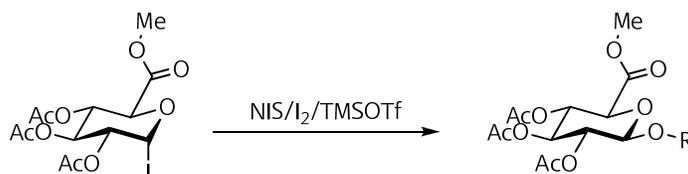


Schema C-23: Glucuronidierungsmechanismus bei der Lewis-Säuren-Methode

Als Lewis-Säuren werden in den meisten Fällen TMSOTf oder SnCl_4 eingesetzt, wobei der Glucuronyl-Akzeptor in diesem Fall über eine ausreichende Temperaturbeständigkeit verfügen muss. Generell spielt diese Methode eine eher geringere Rolle, da die Ausbeuten in den meisten Fällen relativ schlecht sind^[1]. Aus diesem Grund wurde auf die nähere Untersuchung dieser Methode verzichtet und der Fokus auf andere Methoden gelegt.

C.4.4. Iodozucker-Methode

Bei der Iodozucker-Methode fungiert ähnlich wie bei der Königs-Knorr Methode ein Halogenid als Abgangsgruppe. In diesem Fall wird jedoch der der geschützte Iodozucker eingesetzt und mit NIS und I_2 oder TMSOTf aktiviert. Weiters finden auch die Systeme $CuCl/I_2$ bzw. $FeCl_3/I_2$ Anwendung. Die Reaktion ist in der Literatur noch keinem Mechanismus zugeordnet worden.



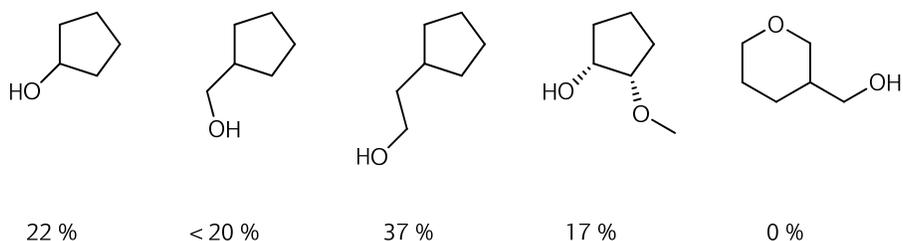
Schema C-24: Iodozucker-Methode

Aufgrund bereits vorhandener Erfahrungswerte^[1] zur Methodik, sowie der Tatsache dass sich sowohl α -Produkte, als auch einige andere Nebenprodukte bildeten, wurde von einer Optimierung dieser Methode abgesehen. Anstelle davon wurden weitere Untersuchungen über die vielversprechende Königs-Knorr und Trichloracetimidat-Methode durchgeführt.

C.5. Glucuronidierung der Modellverbindungen

C.5.1. Königs-Knorr Methode

Bei der Königs-Knorr Methode kommen wie bereits kurz erwähnt Silbersalze als Aktivatoren zum Einsatz. Die zwischen den einzelnen Salzen vorhandenen Reaktivitätsunterschiede sind als relativ gering einzustufen^[1], weswegen alle Königs-Knorr Versuche mit Ag_2CO_3 durchgeführt wurden. Als Lösungsmittel wurde in allen Fällen abs. DCM verwendet. Um die Wasserfreiheit gewährleisten zu können, wurden alle Reaktionen unter Schutzgasatmosphäre (Ar) sowie unter Zusatz von geriebenem Molsieb (3 Å) durchgeführt. Als Glucuronyldonormenge wurden jeweils zu Beginn 1.25 Äquivalente zugesetzt und nach festgestelltem Verbrauch (2 Tage) erneut 1.25 Äquivalente zugegeben. Schema C-25 gibt einen Überblick über die umgesetzten Substanzen sowie deren isolierten Ausbeute.

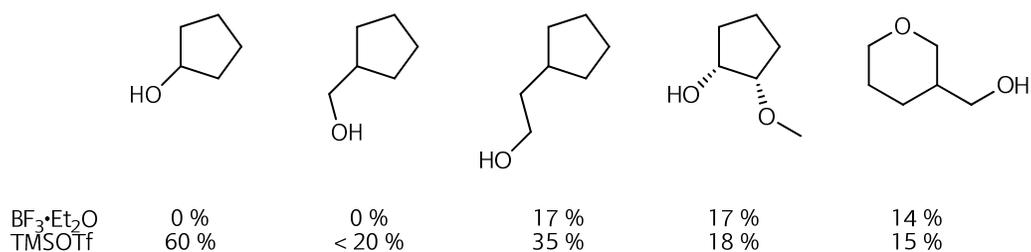


Schema C-25: umgesetzte Modellsubstanzen und die dabei erreichten Ausbeuten

Auch wenn die Ausbeuten teilweise recht niedrig sind, so lässt sich jedoch ein genereller Trend ableiten. Dabei wird ersichtlich, dass die primären Alkohole offensichtlich besser reagieren und höhere Ausbeuten als sekundäre liefern. Vergleicht man nun auch noch die Reaktivität von Cyclopentanol in Relation zum cis-Methoxycyclopentanol, so kann man gut erkennen dass die sterische Hinderung ebenfalls einen Einfluss auf die Glucuronidierung hat. Grob abgeschätzt ergibt sich ein Reaktivitätsverhältnis von 2.5:1 zwischen primären und sekundären Alkoholen.

C.5.2. Trichloracetimidat-Methode

Bei der praktischen Durchführung wurde in Anlehnung an [16] vorgegangen, wobei die Temperatur bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gehalten wurde, um eine möglichst hohe β -Selektivität zu gewährleisten. Des Weiteren wurde die Reaktion mit beiden Aktivatoren ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ sowie TMSOTf) durchgeführt, wobei die Ausbeuten bei der Verwendung von TMSOTf geringfügig besser waren. Die erhaltenen Ausbeuten sind in Schema C-26 angeführt.



Schema C-26: umgesetzte Modells-substanzen und die damit erreichten Ausbeuten

C.5.3. Hydrolyse der Schutzgruppen

Mindestens genauso wichtig wie die Glucuronidierung selbst ist die anschließende Hydrolyse der geschützten Glucuronide. Aufbauend auf den vorhandenen Erfahrungen^[1] wurden die Glucuronide des Cyclopentanols auf ihre Stabilität unter Hydrolysebedingungen getestet. Dabei stellten sich diverse Mischungen aus H₂O/MeOH/THF in Kombination mit KOH als sehr effektiv heraus.

	Entschützungsdauer	Stabilität
MeOH/KOH	↓ nimmt zu	↓ nimmt zu
THF/H ₂ O(1:1)/KOH		
THF/H ₂ O(4:1)/KOH		

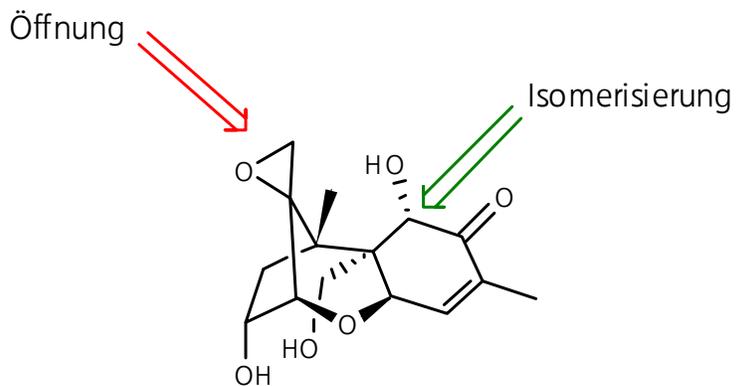
Schema C-27: Reaktivitätsverhältnisse bei der Entschützung

Bei der Entschützung der entsprechenden DON-Glucuronide wurden einige Vorversuche durchgeführt, wobei sich MeOH/KOH aufgrund der Spaltung der glycosidischen Bindung als unpraktikabel erwies. Aus diesem Grund wurden eine Mischung aus THF:H₂O im Verhältnis 4:1 verwendet.

C.6. Synthese von DON-3-glucuronid und DON-15-glucuronid

C.6.1. Limitierungen von Deoxynivalenol

Obwohl Deoxynivalenol in der Natur relativ beständig ist, so darf dessen Reaktivität nicht unterschätzt werden. Die vorhandene Epoxidgruppe verhält sich größtenteils relativ inert, steigt der pH-Wert allerdings über 8, so kommt es zur Öffnung des Ringes^[18].

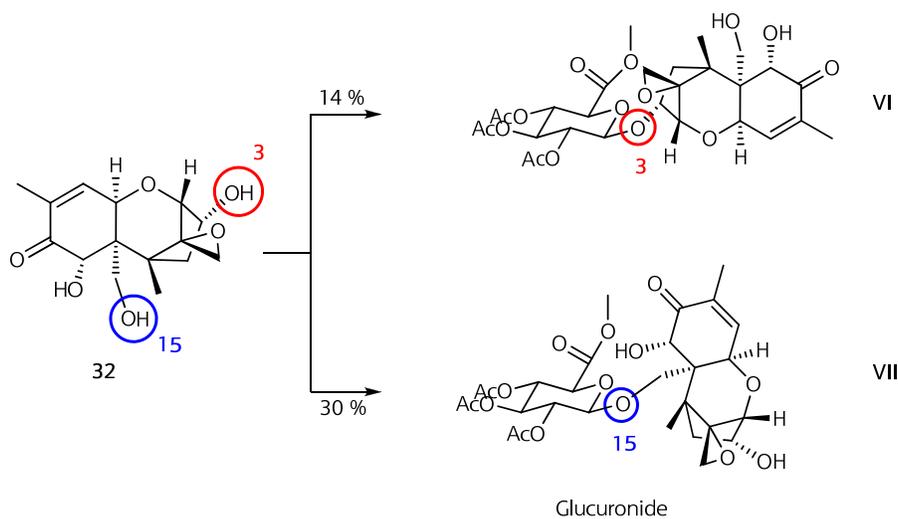


Schema C-28: Angriffspunkte von Deoxynivalenol

Des Weiteren kann es bei dem vorhandenen Acyloinsystem zu Isomerisierungen kommen, wodurch die Chiralität verloren geht und sich ein racemisches Gemisch hinsichtlich des entsprechenden Stereozentrums einstellt. Um all diesen Limitierungen entgegenzuwirken, wurde stets versucht, starke pH-Schwankungen sowie Überkonzentrationen zu vermeiden.

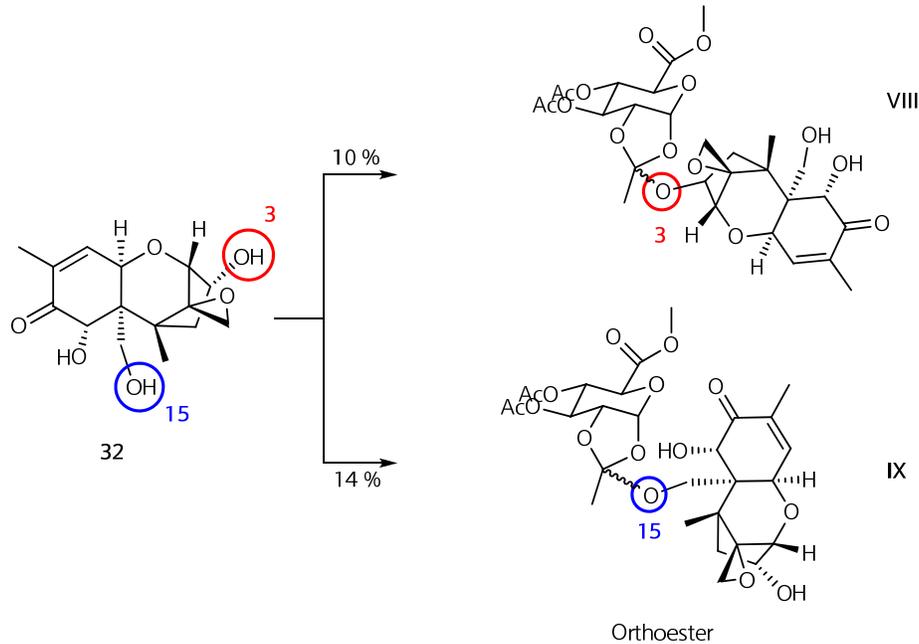
C.6.2. Synthese der geschützten Glucuronide

Um die gewünschten Glucuronide herzustellen, wurde die Königs-Knorr Methode gewählt, da die Reproduzierbarkeit bei dieser Methode besser war als bei der Trichloracetimidatmethode. Bei der Reaktion wurden 3 mal 1.5 Äquivalente Glucuronyl-Donor (acetylgeschützt) im Abstand von 2 Tagen zugesetzt und nach einer Woche aufgearbeitet. Dabei wurden die geschützten Glucuronide entsprechend Schema C-29 in moderaten Ausbeuten erhalten. Das Verhältnis von 15- zu 3-Glucuronid stimmte mit den Abschätzungen aus den Versuchen überein, auch die Gesamtausbeute (44 %) liegt in einem zufriedenstellenden Bereich.



Schema C-29: Synthese der acetylgeschützten DON-glucuronide

Neben den gewünschten Endprodukten wurden auch die beiden entstandenen Orthoester isoliert (siehe Schema C-30) und charakterisiert. Die Menge an gebildeten Orthoester war im Falle des 3-Glucuronids mit 10 % annähernd gleich der Ausbeute für das Glucuronid selbst, wogegen sich beim DON-15-glucuronid nur 14 % Orthoester bildeten. Dies ist relativ viel Nebenprodukt, allerdings gelang es die Komponenten über präparative. HPLC voneinander zu trennen.

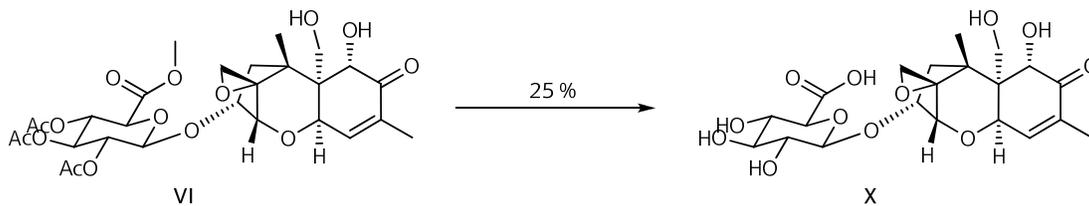


Schema C-30: isolierte Orthoester bei der Glucuronidierung von DON

C.6.3. Entschützung von DON-3-glucuronid und DON-15-glucuronid

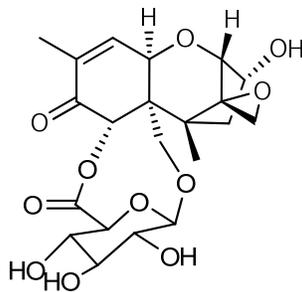
An einer geringen Menge DON-15-glucuronid wurde anschließend die Entschützung über MeOH/KOH versucht. Dabei wurden innerhalb von 30 Minuten zwar alle Schutzgruppen gespalten, allerdings war die glycosidische Bindung für diese Bedingungen nicht stabil genug, weswegen kein Produkt isoliert werden konnte. Nach einem kurzen Screening mit einigen Milligramm des geschützten Glucuronids wurde die Entschützung mit THF/H₂O (4:1)/KOH innerhalb von 2 h durchgeführt. Um den pH-Wert nicht zu radikal zu ändern und dem entstehenden Produkt zu schaden, wurde anstelle von Salzsäure mit Ionentauscher (IR-120H) neutralisiert. Sowohl das Screening als auch die Entschützung an sich wurden über DC bzw. LC/MS verfolgt.

DON-3-glucuronid konnte mit einer Ausbeute von 25 % isoliert werden, indem nach der Entschützung die Lösung neutralisiert und das vorhandene Glucuronid über SPE-Säulen abgetrennt wurde.



Schema C-31: Entschützung zum DON-3-Glucuronid

Zur Entschützung und Isolierung von DON-15-glucuronids wurden 3 Versuche durchgeführt, wobei in allen Fällen das ungeschützte Glucuronid in situ über LCMS nachgewiesen werden konnte. Allerdings kam es im Zuge der weiteren Aufreinigung zu einer Änderung der Struktur, welche bis zuletzt aufgrund der geringen Mengen nicht sicher geklärt werden konnte. Aufgrund der erhaltenen NMR-Daten wurde die in Schema C-32 gezeigte Struktur postuliert.



Schema C-32: vermutete Struktur des isolierten Produkts

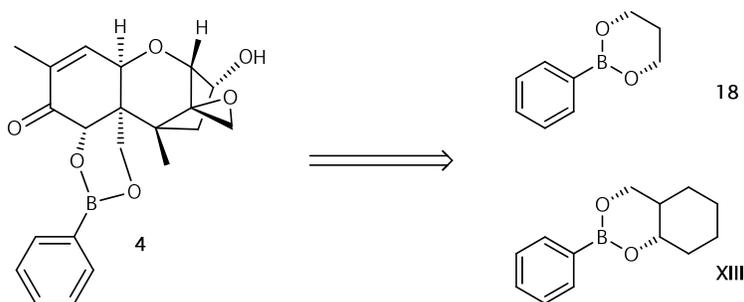
Bei der Überprüfung der Struktur über LCMS wurde jedoch kein diesem Produkt entsprechender Massenpeak gefunden. Da die vorhandenen geringen Mengen allerdings relativ instabil und ein Teilabbau der Probe bereits eingetreten war, konnten keine weiteren Untersuchungen zum Produkt durchgeführt werden.

C.7. Regioselektiver Ansatz

Aufgrund der Tatsache, dass DON-3-glucuronid von höherem Interesse als das entsprechende DON-15-glucuronid ist, wurde die selektive Schützung der Hydroxyfunktionalitäten in 7- und 15- Position versucht. Das Vorgehen sollte in Anlehnung an das einzige in der Literatur beschriebene Beispiel^[19] erfolgen. Die Schützung erfolgt dabei über Phenylboronsäure als Schutzgruppe. Die anschließend angedachte Glucuronidierung ist hingegen in der Literatur nicht beschrieben.

C.7.1. Schützungsmodelle

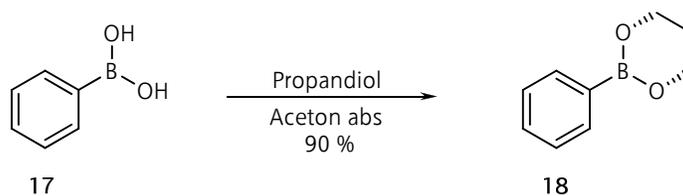
Um die Stabilität testen zu können, wurden auch für dieses System einfache phenylboronsäuregeschützte Modelle synthetisiert. Die gewählten Strukturen 18 bzw. XIII sollten primär dazu verwendet werden, um die Stabilität der entsprechenden geschützten Verbindungen bei den möglichen Glucuronidierungsbedingungen zu testen.



Schema C-33: Auswahl geeigneter Schützungsmodelle

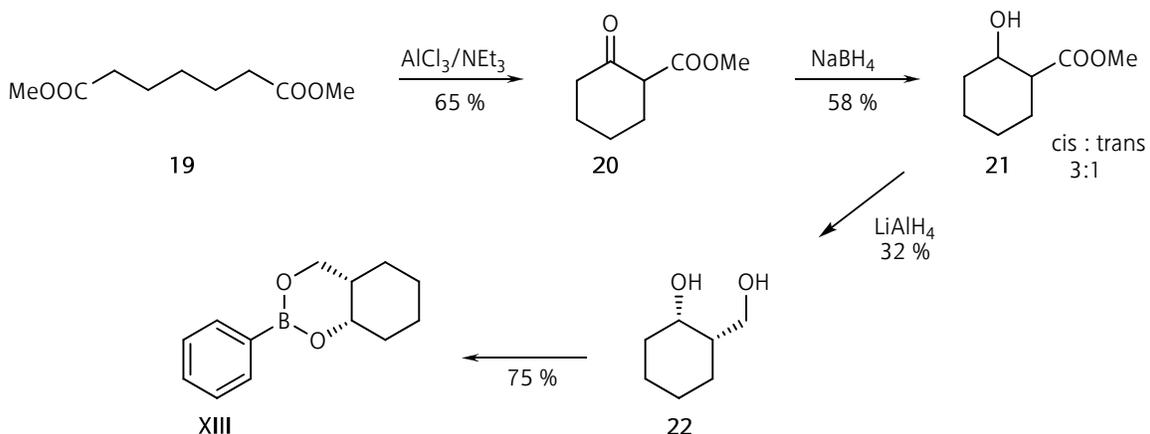
Verbindung 18 wurde lediglich synthetisiert, um einen ersten Vorversuch zu starten und um den Einsatz der Reaktion generell zu testen, da ein sehr hoher und reproduzierbarer Umsetzungsgrad Voraussetzung für eine Anwendung an Deoxynivalenol war. Da die Synthese von 18 zweimal mit Ausbeuten > 90 %

möglich war, wurde Modell XIII synthetisiert um die Abschirmung der Boronsäureestergruppe bei DON zu simulieren.



Schema C-34: Veresterung mit 1,3-Propandiol

Dafür wurde ausgehend von Dimethylpimelat eine Dieckmannkondensation^[20] durchgeführt. Für die anschließende Reduktion wurde versucht, eine möglichst hohe Ausbeute des cis-Produkts zu erhalten. Dies wurde über Reduktion^[21] mit NaBH₄ bei -40 °C in einem Verhältnis von 3:1 zugunsten des cis-Produktes erreicht.

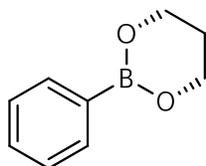


Schema C-35: Veresterung mit cis-Hydroxycyclohexylmethanol

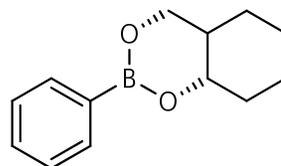
Die anschließende Reduktion zum gewünschten cis-konfigurierten Diol erfolgte über LiAlH₄ in mäßigen Ausbeuten. Der wichtigste Schritt ist in diesem Schema allerdings die Schützung der beiden Gruppen über den Borsäureester. Diese Reaktion konnte wie in der Literatur beschrieben, durch 4-stündiges Kochen in abs. Aceton in vernünftigen Ausbeuten realisiert werden.

C.7.2. Testen der Boronsäure-Schutzgruppe

Das Testen der gewählten Modellverbindungen für die Schützung der 7- und 15-Hydroxygruppe im Deoxynivalenol erfolgte bei exakt den gleichen Bedingungen wie bei der entsprechenden Glucuronidierung, lediglich der entsprechende Glucuronyl-Donor sowie Akzeptor wurden nicht zugesetzt.



18



XIII

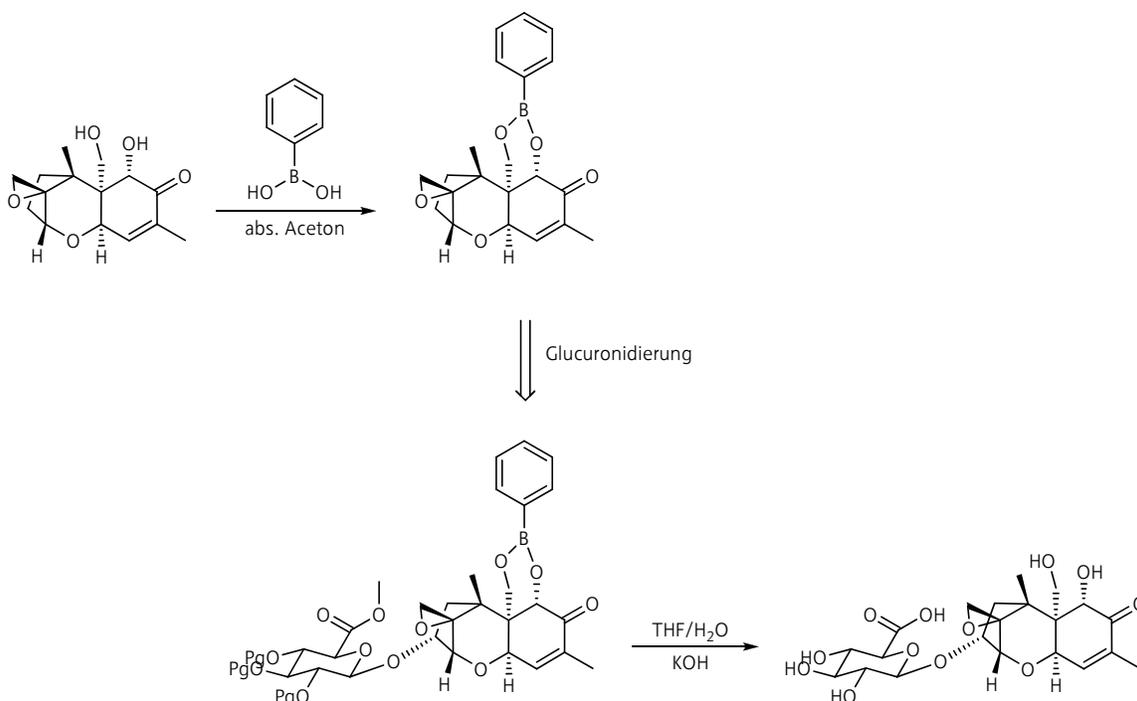
Königs-Knorr	Stabil	Stabil
BF ₃ •Et ₂ O	Stabil	Stabil
TMSOTf	Stabil	Stabil

Schema C-36: Stabilitätstest der beiden Schützungsmodelle

Die Kontrolle der Reaktionslösung erfolgte über GCMS, wobei während und nach der Reaktionsdauer jeweils ein Chromatogramm erhalten wurde, das exakt einen Peak mit einem m/z von 162 (18) bzw. 216 (XIII) aufwies. Überraschenderweise waren beide Ester stabil und zeigten keinerlei Zersetzungsprodukte. Aus diesem Grund wurde die regioselektive 3-Glucuronidierung an DON durch Schützung der 7- und 15- Position von Deoxynivalenol über Phenylboronsäure im Weiteren versucht.

C.7.3. Regioselektiver Syntheseversuch

Der erste Reaktionsschritt wurde mit geringem Überschuss von Phenylboronsäure in abs. Aceton- d_6 durchgeführt. Aufgrund der verwendeten Kleinstmengen wurde die Reaktion nicht gereinigt, sondern lediglich die Reaktionslösung in ein NMR Rohr gefüllt und die Umsetzung überprüft. Dabei war ersichtlich, dass das vorhandene Deoxynivalenol vollständig zum entsprechenden Ester umgesetzt worden war und noch geringe Spuren an freier Phenylboronsäure vorhanden waren. Die Glucuronidierung des vorhandenen Materials (ca. 20 mg) war allerdings nicht möglich, da in dieser Zeit die LC/MS am IFA Tulln außer Betrieb war und die vernünftige Überprüfung der Reaktionslösung über DC unmöglich war.



Schema C-37: Regioselektive Synthesemöglichkeit von DON-3-glucuronid

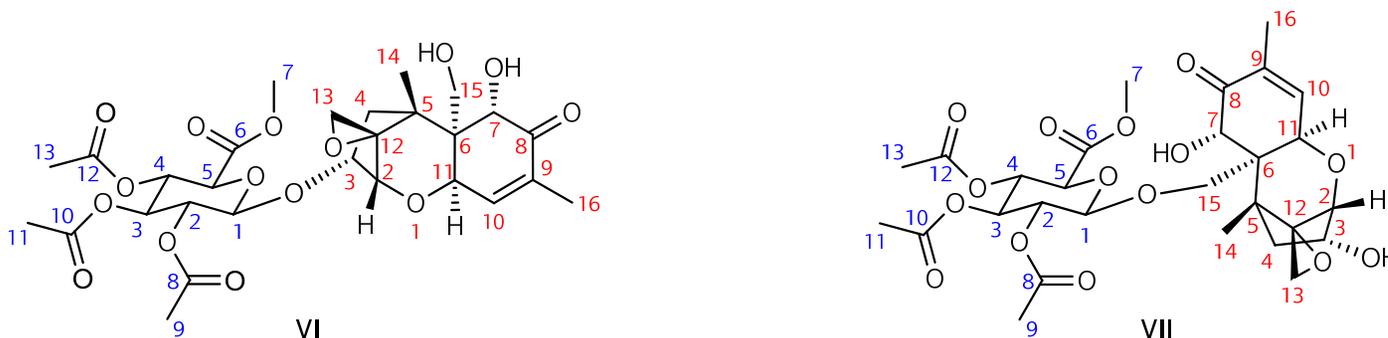
Dieser vielversprechende Weg wird weiter verfolgt werden, dies ist aus zeitlichen Gründen allerdings nicht mehr in dieser Arbeit enthalten.

D. Spektroskopischer Teil

D.1. Allgemeines

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

D.2. Acetylgeschützte DON-glucuronide


 Tabelle D-1: NMR-Daten [ppm] in Aceton-d₆. Die geschützten Glucuronide sind als **DON-Grundgerüst** und **Glucuronyl-Teil** angeführt.

¹ H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
VI	4.98	5.01	5.37	5.13	4.37	—	3.69	—	2.04*	—	1.98*	—	1.97*
VII	4.66	4.78	5.22	5.09	4.27	—	3.69	—	2.07	—	1.94	—	1.96

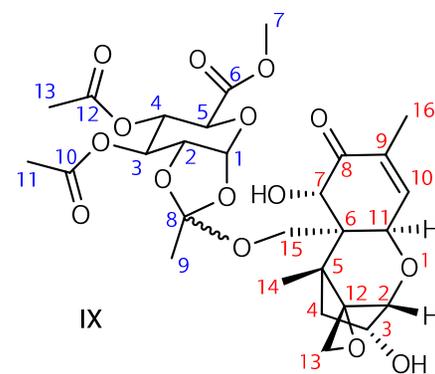
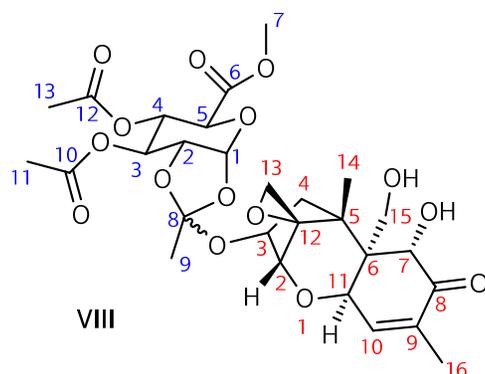
¹ H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
VI	—	3.65	4.50	2.78/1.95	—	—	4.80	—	—	6.53	4.80	—	3.10/3.05	1.11	3.89/3.56	1.80
VII	—	3.48	4.37	2.31/1.92	—	—	4.82	—	—	6.61	4.96	—	3.05/3.02	1.05	4.13/3.60	1.79

¹³ C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
VI	100.2	72.0	72.7	70.7	73.1	168.2	53.0	170.3*	20.8*	170.0*	20.6*	169.9*	20.6*
VII	101.4	72.1	73.0	70.2	72.9	168.3	53.1	170.1	21.0	170.3	20.6	170.0	20.5

¹³ C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
VI	—	81.1	75.6	42.1	46.7	52.8	75.8	200.8	136.0	139.6	70.3	66.3	48.0	14.6	61.7	15.3
VII	—	81.6	69.4	44.6	46.9	52.4	75.0	200.3	135.9	140.1	70.3	66.3	47.6	14.5	69.8	15.3

* = keine eindeutige Zuweisung möglich

D.3. Isolierte Orthoester


 Tabelle D-2: NMR-Daten [ppm] in Aceton-d₆. Die isolierten Orthoester sind als DON-Grundgerüst und Glucuronyl-Teil angeführt.

¹ H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
VIII	5.88	4.51	5.19	5.13	4.36	—	3.73	—	22.4	—	20.8	—	20.6
IX	5.80	4.29	5.14	5.10	4.35	—	3.73	—	22.3	—	20.7	—	20.7

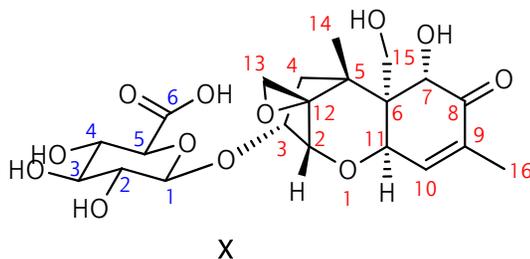
¹ H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
VIII	—	3.66	4.31	2.62/ _{1.95}	—	—	4.78	—	—	6.52	4.90	—	3.08/ _{3.05}	1.08	3.82/ _{3.64}	1.80
IX	—	3.48	4.37	2.29/ _{1.94}	—	—	4.80	—	—	6.59	4.93	—	3.05/ _{3.02}	1.05	3.73/ _{3.63}	1.81

¹³ C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
VIII	97.0	74.1	69.4	69.1	70.2	169.6	53.0	123.3	22.4	169.6*	20.7*	169.9*	20.7*
IX	96.7	74.4	68.9	68.7	70.6	169.6	52.9	123.0	22.3	169.5	20.7	170.0	20.7

¹³ C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
VIII	—	81.5	71.0	42.9	46.0	53.1	75.5	200.6	136.0	139.5	70.7	66.3	47.8	1.08	61.6	15.4
IX	—	81.6	69.4	44.7	46.8	52.2	74.8	200.3	135.7	140.0	70.9	66.4	47.6	1.05	6.21	15.4

* = keine eindeutige Zuweisung möglich

D.4. DON-3-Glucuronid


 Tabelle D-3: NMR-Daten [ppm] in Methanol-d₄. Das isolierten Glucuronid ist als **DON-Grundgerüst** und **Glucuronyl-Teil** angeführt.

¹ H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
VIII	4.48	3.31	3.41	3.56	3.83	—	—	—	—	—	—	—	—			
¹ H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
VIII	—	3.69	4.46	^{2.62} / _{1.98}	—	—	4.79	—	—	6.62	4.91	—	^{3.11} / _{3.08}	1.13	^{3.71} / _{3.69}	1.83
¹³ C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
VIII	104.2	74.8	77.7	73.2	76.8	172.5	—	—	—	—	—	—	—			
¹³ C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
VIII	—	82.2	77.2	42.2	46.9	53.8	76.0	201.8	137.2	139.7	71.7	66.8	48.5	14.9	62.1	15.5

E. Experimenteller Teil

E.1. Allgemeines

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Reagenzien von kommerziellen Anbietern bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Alle verwendeten Lösungsmittel wurden vor deren Verwendung destilliert. Absolutes DMF und Ethanol wurden über 4 Å Molekularsieb gelagert, absolutes Pyridin wurde durch Destillation über KOH erhalten. Die Lösungsmittel Toluol, Methanol, Dichlormethan, Diethylether und THF wurden in einer PURESOLV-Anlage von it - innovative technology inc. absolutiert. Natriumhydrid als 60 %ige Dispersion in Mineralöl wurde vor dem Gebrauch mit absolutem THF (unter Schutzgas) gewaschen und anschließend in reiner Form eingesetzt.

E.2. Chromatographische Methoden

E.2.1. Dünnschichtchromatographie

Alle Dünnschichtchromatographien wurden auf DC-Folien der Fa. Merck (Kieselgel 60 F₂₅₄) durchgeführt. Handelte es sich bei den untersuchten Substanzen um UV-inaktive Proben, so wurden diese über geeignete Färbelösungen sichtbar gemacht. Dabei kamen folgende Lösungen zum Einsatz:

Dip-Reagens (Allgemein)

13,2 g	Schwefelsäure konz.
10,0 g	Phosphormolybdat
0,8 g	Cer(IV)ammoniumnitrat
250 mL	Ethanol

Färbereagens für Zucker

25 mL	Eisessig
12,5 mL	Schwefelsäure konz.
1,25 mL	Anisaldehyd

215 mL MeOH

Vanillinreagens für Alkohole

2,5 g Vanillin

5 mL H₂SO₄ konz.

250 mL EtOH

E.2.2. Säulenchromatographie

Die säulenchromatographische Aufreinigung wurde händisch oder über ein *Buechi SepacoreTM 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 dabei verwendeten PP- bzw. Glassäulen wurden mit Kieselgel 60 (Si-OH, Merck, 40-63 µm) befüllt. Als Laufmittel wurden destillierte Lösungsmittel bzw. redestillierte Lösungsmittelgemische 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 *Agilent 1100 Series System* mit einem *Agilent Interface 39500E* durchgeführt. Als Trennsäulen kamen dabei folgende Säulen zum Einsatz:

- *Phenomenex Gemini (5 μm , RP-18, 100 Å)*
- *Phenomenex Luna (5 μm , C 18(2), 100 Å, 250 x 21 mm)*
- *Zorbax Eclipse XDB-C8 PrepHT (212 x 150 mm, 5 mm)*

Detektor war in allen Fällen ein UV/VIS-Detektor. Als Laufmittel wurden kommerziell erhältliche HPLC-Lösungsmittel verwendet.

E.3. Physikalische Analysenmethoden

E.3.1. GC/MS Messungen

GC/MS Messungen erfolgten auf einer *DSQ-II* GC/MS Kopplung von Thermo Finnigan mit einer BGB5 Säule ($l=30$ m, $d_i=0,25$ mm, 0,25 μm Schichtdicke) durchgeführt.

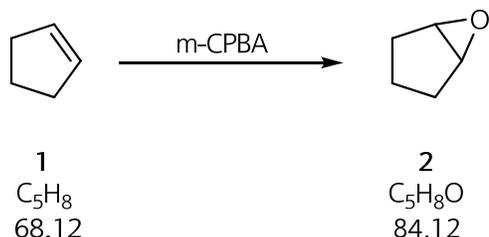
E.3.2. NMR-Spektroskopie

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 herangezogen. Die Multiplizitäten sind wie folgt ausgewiesen: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett, b = breites Signal.

Im Folgenden sind die genauen experimentellen Protokolle zur Synthese der einzelnen Substanzen sowie deren Charakterisierung angeführt. Die Aufarbeitung bei sämtlichen Synthesen mit Beteiligung von Zuckerderivaten wurde stets bei Temperaturen $< 35\text{ °C}$ durchgeführt, um eine möglichst schonende Aufreinigung zu garantieren.

E.4. Synthese von cis-2-Methoxycyclopentanol

E.4.1. Cyclopentenoxid (2)



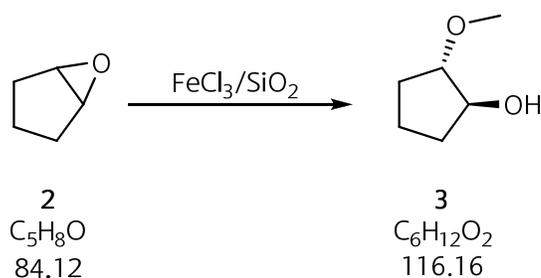
m-CPBA (9.9 g (80%ig), 46 mmol) wurde unter N_2 -Atmosphäre in 40 mL abs. DCM gelöst und die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt. Cyclopenten (**1**) (2.5 g, 37 mmol) wurde in 10 mL abs. DCM gelöst und langsam unter Rühren zugetropft und über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Anschließend wurde 100 mL 2.5 %ige NaOH-Lösung über ein Intervall von 15 Minuten unter starkem Rühren und Eiskühlung zugesetzt. Die Lösung wurde in einen Scheidetrichter überführt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase 3 mal mit je 20 mL DCM extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel schonend ($T < 30\text{ °C}$) am Rotavapor entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend durch Destillation über eine kurze Vigreuxkolonne gereinigt. Es wurden 0.895 g klare Flüssigkeit erhalten (29 % d.Th.).

$K_p = 54\text{-}55\text{ °C} / 200\text{ mbar}$

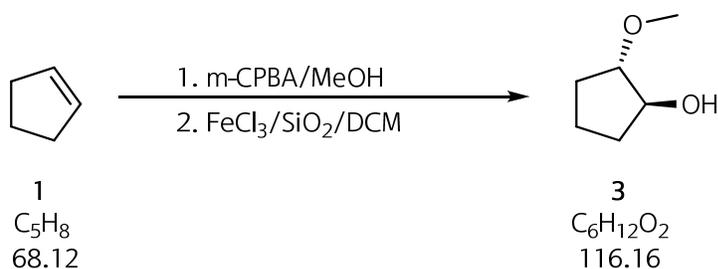
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.38$ (s, 2H), 1.94 (tt, $J = 8.2, 3.9\text{ Hz}$, 2H), 1.10 – 1.60 (m, 4H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 56.6$ (d, 2C), 26.8 (t, 2C), 18.0 (t, 1C) ppm

E.4.2. trans-2-Methoxycyclopentanol (3)



Variante A: In Anlehnung an [5]. Epoxid (**2**) (0.841 g, 10 mmol) wurde in 60 mL abs. MeOH gelöst, $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}/\text{SiO}_2$ (12%ig, 2.52 g, 1.0 mmol) unter Rühren zugesetzt und für 2 Stunden weitergerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotavapor entfernt, der Rückstand in 50 mL Et_2O aufgenommen und der Feststoff abfiltriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (40 g Säule, PE:EE = 2:1). Dabei wurden 0.975 g leicht gelbes Öl erhalten (84 % d.Th.).

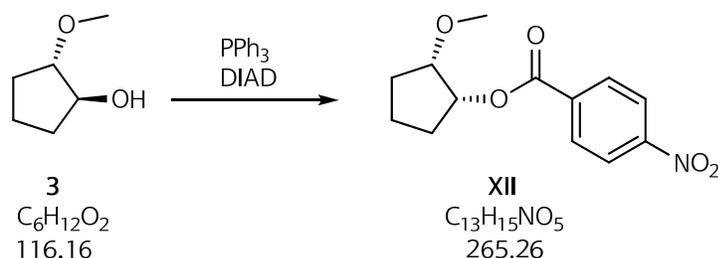


Variante B: m-CPBA (9.9 g (80%ig), 46 mmol) wurde unter N_2 -Atmosphäre in 40 mL abs. DCM gelöst und die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt. Cyclopenten (**1**) (2.5 g, 37 mmol) wurde in 10 mL abs. DCM gelöst und langsam unter Rühren zugetropft und über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung filtriert und am Rotavapor schonend ($T < 30 \text{ °C}$) auf ca. 10 mL eingengt. Die verbleibende Lösung wurde mit 100 mL abs. MeOH versetzt, $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}/\text{SiO}_2$ (12%ig, 11.6 g, 4.6 mmol) unter Rühren zugesetzt und für 2 Stunden weitergerührt. Die weitere Vorgehensweise erfolgte analog zur Variante A und lieferte 1.108 g leicht gelbes Öl (26 % d.Th. für 2 Schritte).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 3.89 (dt, J = 5.3, 4.1 Hz, 1H), 3.70 (b s, 1H), 3.39 (dt, J = 7.0, 3.4 Hz, 1H), 3.17 (s, 3H), 1.65 – 1.90 (m, 2 H), 1.26 – 1.60 (m, 4H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 88.4 (d, 1C), 76.4 (d, 1C), 56.4 (q, 1C), 32.0 (t, 1C), 28.8 (t, 1C), 20.4 (t, 1C) ppm

E.4.3. cis-2-Methoxycyclopentyl-4-nitrobenzoesäureester (XII)

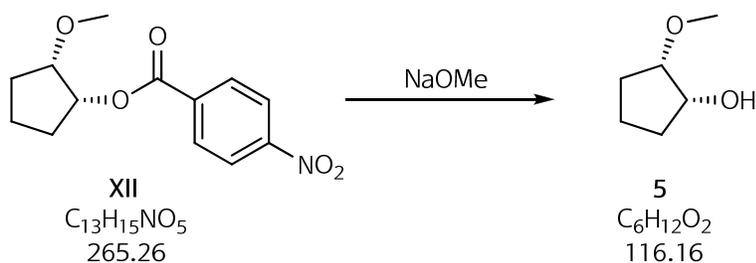


Vorgehen in Anlehnung an [10]. Verbindung **(3)** (10.0 g, 86 mmol) wurde mit p-Nitrobenzoesäure (16.61 g, 99 mmol), Triphenylphosphin (26.82 g, 99 mmol) und DIAD (20.02 g, 99 mmol) in 600 mL Toluol gelöst und die Mischung für 48 Stunden auf 100 °C gehalten. Danach wurde das Lösungsmittel am Rotavapor abrotiert und der Rückstand in wenig Ether aufgenommen. Dabei fiel Triphenylphosphinoxid aus, welches abfiltriert und nachgewaschen wurde. Die verbleibende Lösung wurde mit 50 g Kieselgel und 200 mL Ether versetzt. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittel wurde der Rückstand in eine Vorsäule gefüllt (90 g) und chromatographisch gereinigt (450 g Säule, PE:EE = 85:15). Nach dem Vereinen der Fraktionen wurde das Lösungsmittel abrotiert und 16.44 g gelbes sehr zähflüssiges Öl erhalten (72 % d.Th.).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 8.27 (dd, J = 6.8, 2.5 Hz, 2H), 8.20 (dd, J = 6.8, 2.5 Hz, 2H), 5.42 (dt, J = 5.1, 4.0 Hz, 1H), 3.81 (dt, J = 6.6, 4.3 Hz, 1H), 3.35 (s, 3 H), 1.55 – 2.10 (m, 6H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 164.2 (s, 1C), 150.3 (s, 1C), 135.9 (s, 1C), 130.7 (d, 2C), 123.3 (d, 2C), 82.3 (d, 1C), 75.6 (d, 1C), 57.4 (q, 1C), 28.4 (t, 1C), 28.0 (t, 1C), 19.0 (t, 1C) ppm

E.4.4. cis-2-Methoxycyclopentanol (5)



Ester (**XII**) (14.17 g, 53 mmol) wurde in 130 mL MeOH gelöst, mit NaOMe (0.040 g, 0.7 mmol) versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotavapor entfernt und das Rohprodukt destilliert. Es wurden 5.46 g farbloses klares Öl erhalten (88 % d.Th.).

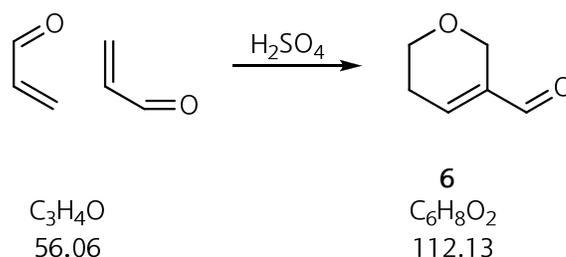
Kp = 90-93 °C/99 mbar

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 4.06 (dt, J = 8.3, 4.2 Hz, 1H), 3.57 (dt, J = 6.0, 5.3 Hz, 1H), 3.35 (s, 3H), 2.49 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 1.35 – 1.88 (m, 6H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 84.3 (d, 1C), 71.8 (d, 1C), 57.0 (q, 1C), 30.9 (t, 1C), 27.2 (t, 1C), 19.4 (t, 1C) ppm

E.5. Synthese von Tetrahydropyran-3-yl-methanol

E.5.1. 5,6-Dihydro-2H-pyran-3-carboxaldehyd (6)



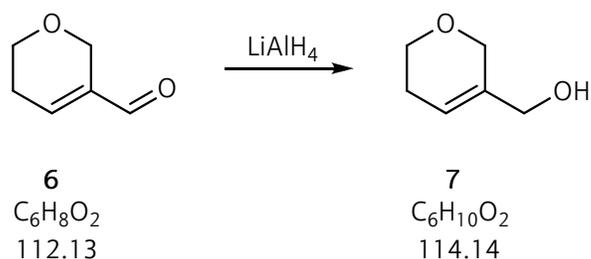
Vorgehen entsprechend [11]. Acrolein (78.13 g, 1.4 mol) wurde in 250 mL 1,1,2-Trichlorethan gelöst und mit konz. Schwefelsäure (22.5 g) und Wasser (350 g) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 6 Stunden auf Rückfluss erhitzt und anschließend die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde nochmals mit 150 mL 1,1,2-Trichlorethan extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotavapor entfernt. Die Destillation des Rohprodukts lieferte 35.9 g leicht gelbliches Öl (46 % d.Th.).

$K_p = 96\text{-}99\text{ }^\circ\text{C}/38\text{ mbar}$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.37$ (s, 1H), 6.91 (ddt, $J = 5.8, 2.0, 1.9$ Hz, 1H), 4.29 (dt, $J = 4.3, 1.3$ Hz, 2H), 3.77 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 2.42 (dtt, $J = 6.7, 2.3, 0.3$ Hz, 2H) ppm

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 191.6$ (d, 1C), 146.9 (d, 1C), 140.2 (s, 1C), 63.4 (t, 1C), 62.9 (t, 1C), 26.1 (t, 1C) ppm

E.5.2. 5,6-Dihydro-2H-pyran-3-ylmethanol (7)



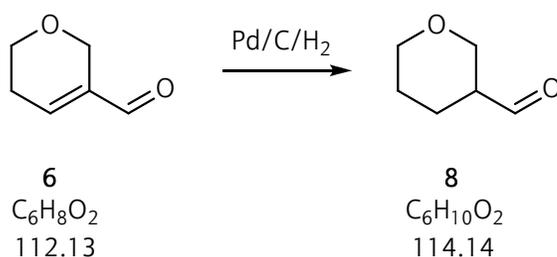
LiAlH₄ (1.69 g, 45 mmol) wurde in 100 mL abs Et₂O vorgelegt und eine Lösung von **(6)** (10.0 g, 89 mmol) in 50 mL abs. Et₂O langsam und unter Eiskühlung zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktion bei Raumtemperatur über Nacht weitergerührt. Anschließend wurden 100 mL 2 N HCl unter Kühlung zugesetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde noch 5 mal mit je 30 mL Et₂O extrahiert. Alle organischen Phasen wurden vereint, über Na₂SO₄ getrocknet und der Rückstand destilliert. Dabei wurden 6.45 g klares Öl erhalten (64 % d.Th.).

Kp = 103-107°C/16 mbar

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 5.81 (m, 1H), 4.15 (dd, J = 4.8, 2.5 Hz, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.75 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.82 (b s, 1H) ppm

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 137.0 (s, 1C), 120.5 (d, 1C), 65.9 (t, 1C), 64.2 (t, 1C), 63.9 (t, 1C), 24.9 (t, 1C) ppm

E.5.3. Tetrahydropyran-3-carboxaldehyd (8)



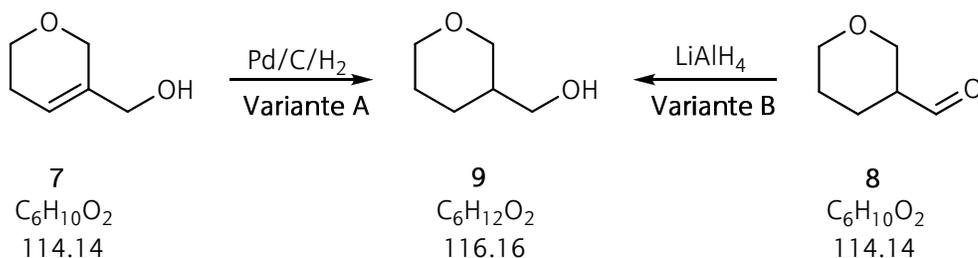
Aldehyd (**6**) (22.55 g, 0.2 mol) wurde in 225 mL abs. DCM gelöst, mit Pd/C (10%ig, 2.25 g) versetzt und für 6 Stunden bei 3 bar H₂ Überdruck hydriert. Nach Beenden der Reaktion wurde die Lösung über Hyflo filtriert, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand destilliert. Dabei wurden 18.84 g klares Öl erhalten (82 % d.Th.).

Kp = 50-52°C/10 mbar

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 9.69 (s, 1H), 3.95 (dd, J = 11.9, 3.7 Hz, 1H), 3.79 (dd, J = 11.6, 6.9 Hz, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.54 (ddd, J = 11.3, 7.4, 3.8 Hz, 1H), 2.46 (ddd, J = 11.3, 7.8, 3.9 Hz, 1H), 1.75-2.05 (m, 2H), 1.45-1.70 (m, 2H) ppm

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 203.0 (d, 1C), 68.2 (t, 1C), 66.9 (t, 1C), 48.0 (d, 1C), 24.1 (t, 1C), 22.9 (t, 1C) ppm

E.5.4. Tetrahydropyran-3-yl-methanol (9)



Variante A: Alkohol (**7**) (6.0 g, 53 mmol) wurde in 75 mL abs. DCM gelöst, mit Pd/C (10%ig, 0.65 g) versetzt und über Nacht bei 3 bar H₂ Überdruck hydriert. Nach Beenden der Reaktion wurde die Lösung über Hyflo filtriert, das Lösungsmittel

entfernt und der Rückstand destilliert. Dabei wurden 2.55 g farbloses Öl erhalten (42 % d.Th.).

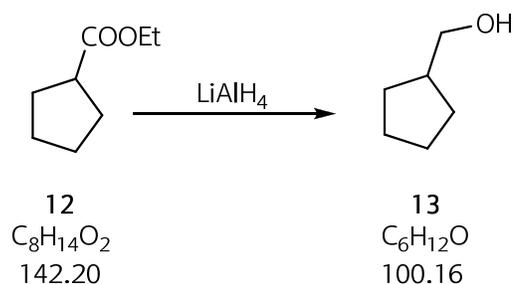
Kp = 85-90°C/8 mbar

Variante B: LiAlH₄ (0.91 g, 25 mmol) wurde in 30 mL abs. Et₂O suspendiert und unter Eiskühlung eine Lösung von **(8)** (2.5 g, 22 mmol) in 10 mL abs. Et₂O zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt und anschließend 50 mL 2 N HCl unter Kühlung tropfenweise zugesetzt. Danach wurde die Lösung 5 mal mit ca. 30 mL Et₂O extrahiert, getrocknet und das Lösungsmittel am Rotavapor entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE:EE = 6:1; 90 g Säule). Die Produktfraktionen wurden gesammelt und das Lösungsmittel entfernt, wobei 1.14 g schwach gelbliches Öl erhalten wurden (45 % d.Th.).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 5.81 (m, 1H), 4.15 (dd, J = 4.8, 2.5 Hz, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.75 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.82 (b s, 1H) ppm

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 88.4 (t, 1C), 76.6 (t, 1C), 56.8 (t, 1C), 32.0 (d, 1C), 28.8 (t, 1C), 20.4 (t, 1C) ppm

E.6.2. Cyclopentylmethanol (13)



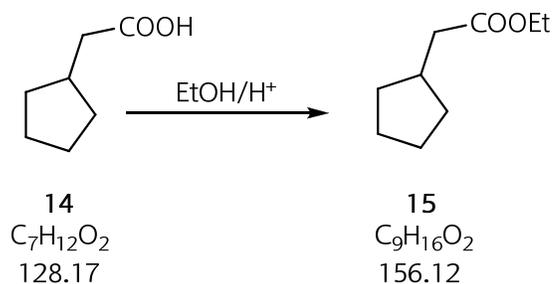
Ester (**12**) (10.0 g, 70 mmol) wurde in 25 mL abs. Et_2O gelöst und langsam unter Eiskühlung zu einer Suspension von $LiAlH_4$ (2.67 g, 70 mmol) in 70 mL abs. Et_2O zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde 24 h bei Raumtemperatur nachgerührt. Nachdem über DC-Kontrolle kein Edukt mehr festgestellt werden konnte, wurden unter Kühlung 50 mL 2 N HCl zugesetzt und anschließend die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde noch 3 mal mit je 30 mL Et_2O gewaschen, die vereinigten organischen Phasen getrocknet, das Lösungsmittel abrotiert und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (90 g Säule, PE:EE = 4:1). Dabei wurden 4.58 g farbloses Öl isoliert (65 % d.Th.).

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.50 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 1.95 – 2.20 (m, 2H), 1.65 – 1.85 (m, 2H), 1.47 – 1.65 (m, 4H), 1.10 – 1.32 (m, 2H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 66.9 (t, 1C), 41.9 (d, 1C), 29.1 (t, 2C), 25.3 (t, 2C) ppm

E.7. Synthese von Cyclopentylethanol

E.7.1. Cyclopentylethylsäureethylester (15)



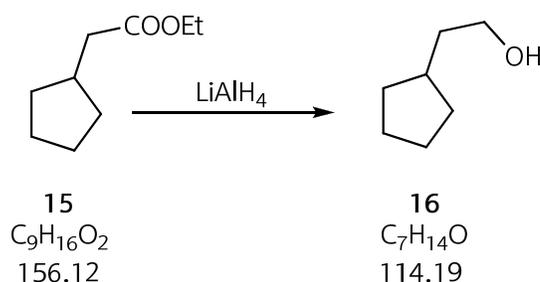
Säure (**14**) (15.0 g, 0.12 mol) wurde mit 70 mL EtOH und 1 mL konz. Schwefelsäure versetzt und über Nacht auf Rückfluß gehalten. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf ~ 25 g Eis gegossen und die wässrige Phase zwei mal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 25 mL Wasser, 25 mL ges. NaHCO₃-Lösung und nochmals mit 25 mL Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, einrotiert und destilliert. Dabei wurden 11.25 g klares Öl erhalten (62 % d.Th.).

K_p = 76-78°C/16 mbar

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 4.10 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.05 - 2.32 (m, 3H), 1.70 - 1.90 (m, 2H), 1.43 - 1.66 (m, 4H), 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.02 - 1.19 (m, 2H) ppm

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 173.0 (s, 1C), 59.8 (t, 1C), 40.3 (t, 1C), 36.4 (d, 1C), 32.3 (t, 2C), 24.8 (d, 2C), 14.1 (q, 1C) ppm

E.7.2. Cyclopentylethanol (16)

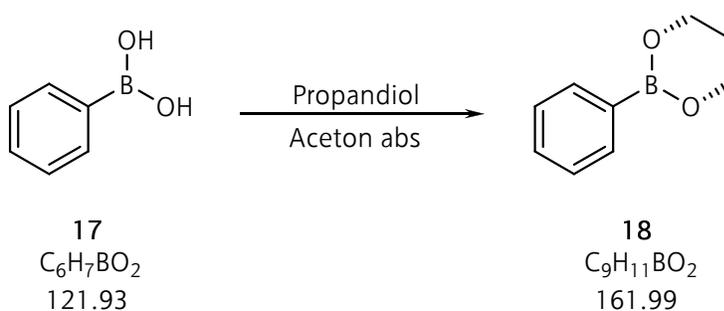


Ester (**15**) (6.0 g, 38 mmol) wurde in 15 mL abs. Et_2O gelöst und langsam unter Eiskühlung zu einer Suspension von $LiAlH_4$ (1.46 g, 38 mmol) in 30 mL abs. Et_2O zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde 24 h bei Raumtemperatur nachgerührt. Nachdem über DC-Kontrolle kein Edukt mehr festgestellt werden konnte, wurden unter Kühlung 30 mL 2 N HCl zugesetzt und anschließend die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde noch 3 mal mit je 20 mL Et_2O gewaschen, die vereinigten organischen Phasen getrocknet, das Lösungsmittel abrotiert und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (90 g Säule, PE:EE = 4:1). Dabei wurden 2.59 g farbloses Öl isoliert (59 % d.Th.).

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.64 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 1.68 – 1.91 (m, 3H), 1.41 – 1.65 (m, 7H), 0.98 – 1.23 (m, 2H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 62.3 (t, 1C), 39.0 (t, 1C), 36.5 (d, 1C), 32.6 (t, 2C), 25.0 (t, 2C) ppm

E.8. Synthese von 2-Phenyl-1,3,2-dioxaborinan



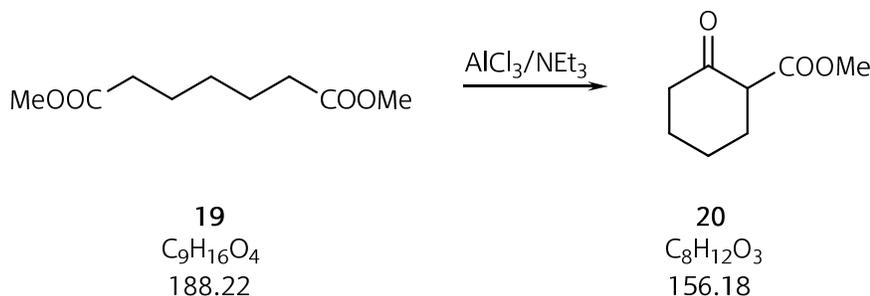
Vorgehen in Anlehnung an [19]. Boronsäure (**17**) (1.22 g, 10 mmol) wurde in 100 mL abs. Aceton gelöst und 50 g Molsieb (3 Å), sowie 1,3-Propandiol (0.63 g, 8 mmol) zugesetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 4 Stunden auf 80 °C gehalten und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Lösung wurde filtriert, eingengt und über Flash Chromatographie gereinigt (40 g Säule, PE:EE = 3:1). Nach dem Einrotieren der entsprechenden Produktfraktionen wurden 1.46 g zähes gelbliches Öl erhalten (90 % d.Th.).

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.69 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz, 2H), 7.18 – 7.38 (m, 3H), 4.06 (t, J = 5.5 Hz, 4H), 1.94 (q, J = 5.5 Hz, 2H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 155.1 (s, 1C), 133.6 (d, 2C), 130.6 (d, 1C), 127.6 (d, 2C), 62.0 (t, 2C), 27.4 (t, 1C) ppm

E.9. Synthese von Hexahydro-2-phenyl-4H-1,3,2-benzodioxaborinan

E.9.1. 2-Oxocyclohexancarbonsäuremethylester (20)



Vorgehen analog zu [20]. Diester (**19**) (20.0 g, 106 mmol) wurde in einer Mischung aus abs. DCM (240 mL) und NEt_3 (37 mL) gelöst und AlCl_3 (37.0 g, 276 mmol) zugesetzt. Nach 36 Stunden Rühren wurde kein Edukt mehr detektiert, die Reaktionsmischung auf 200 mL Eis / 2 N HCl Mischung gegossen und die organische Phase anschließend im Scheidetrichter abgetrennt. Die wässrige Phase wurde noch 5 mal mit ca. 100 mL DCM extrahiert und die organischen Phasen vereinigt. Diese wurden mit 50 mL gesättigter Oxalsäurelösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert, einrotiert und destilliert. Dabei wurden 10.72 g farbloses Öl isoliert (65 % d.Th.).

$K_p = 88 - 93^\circ\text{C}/9 \text{ mbar}$

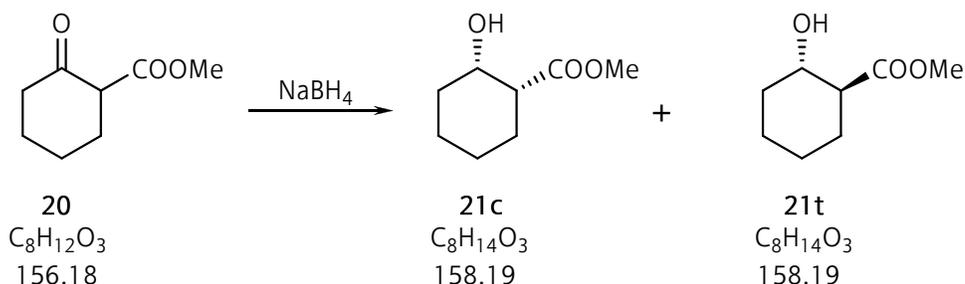
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 12.14$ (s, 1.5 Hz, 0.5H^*), 3.73 (s, 3H), 3.37 (m, 0.5H^*), 2.30 – 2.55 (m, 1H), 2.06 – 2.30 (m, 3H), 1.49 – 1.96 (m, 4H) ppm

* = 2 Signale aufgrund der auftretenden Keto-Enol-Tautomerie

$^{13}\text{C NMR}^*$ (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 206.1$ (s, 1C), 173.0 (s, 1C), 172.0 (s, 1C), 170.3 (s, 1C), 97.5 (t, 1C), 57.1 (d, 1C), 52.0 (d, 1C), 51.2 (d, 1C), 41.5 (t, 1C), 29.9 (t, 1C), 29.0 (t, 1C), 27.0 (t, 1C), 23.3 (t, 1C), 22.3 (t, 2C), 21.8 (t, 1C) ppm

* = 16 Signale aufgrund der auftretenden Keto-Enol-Tautomerie

E.9.2. 2-Hydroxycyclohexancarbonsäuremethylester (21)



Vorschrift entsprechend [21]. Eine Lösung von **(20)** (3.5 g, 22 mmol) in abs. MeOH (70 mL) wurde auf $-40\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und NaBH_4 (1.02 g, 27 mmol) zugesetzt. Die Reaktionsmischung wurde nach beendeter Zugabe für weitere 3 Stunden bei dieser Temperatur gehalten und anschließend mit 2 N AcOH neutralisiert. Der Rückstand wurde 4 mal mit je 70 mL EE extrahiert und die organische Phase anschließend mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Danach wurde die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel abrotiert und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (90 g Säule, PE:EE = 2:1). Dabei wurden 2.05 g cis-, sowie 0.88 g trans-Produkt in Form eines dickflüssigen Öls erhalten (cis: 58 % d.Th., trans: 25 % d.Th.).

cis-Produkt:

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 4.1 (dt, J = 4.6, 2.4 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H + b s, 1H), 2.46 (dt, J = 10.9, 3.2 Hz, 1H), 1.13 – 1.96 (m, 8H) ppm

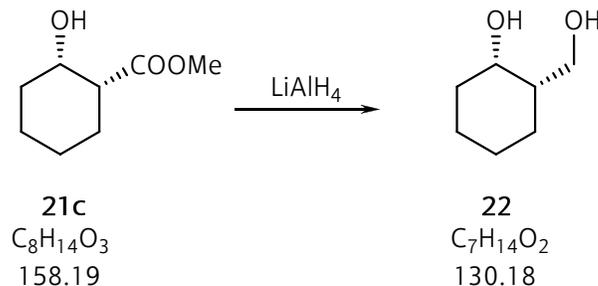
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 176.2 (s, 1C), 67.7 (d, 1C), 51.7 (q, 1C), 46.6 (d, 1C), 31.7 (t, 1C), 24.7 (t, 1C), 23.8 (t, 1C), 20.0 (t, 1C) ppm

trans-Produkt:

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 3.69 (s, 3H + m, 1H), 3.16 (b s, 1H), 2.65 (m, 1H), 2.01 (m, 2H), 1.69 (m, 2H), 1.26 (m, 4H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 175.7 (s, 1C), 70.9 (d, 1C), 51.8 (d, 1C), 51.2 (q, 1C), 33.7 (t, 1C), 28.1 (t, 1C), 25.0 (t, 1C), 24.3 (t, 1C) ppm

E.9.3. cis-2-Hydroxycyclohexylmethanol (22)

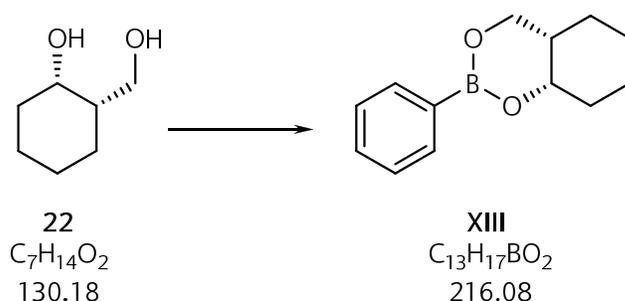


LiAlH₄ (264 mg, 7.0 mmol) wurde in 10 mL abs. Et₂O vorgelegt und (**21c**) (1.0 g, 6.3 mmol) in 5 mL abs. Et₂O langsam und bei 0 °C zugetropft. Anschließend wurde über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Danach wurden 15 mL 2 N HCl unter Kühlung zugesetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde 5 mal mit 25 mL EE extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert. Das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch gereinigt (40 g Säule, reines EE), wobei 280 mg zähes Öl isoliert werden konnten (34 % d.Th.).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 4.12 (m, 1H), 3.71 (m, 2H), 3.54 (b s, 2H), 1.14 – 1.85 (m, 9H) ppm

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 69.6 (d, 1C), 66.0 (t, 1C), 42.4 (d, 1C), 32.8 (t, 1C), 24.9 (t, 1C), 22.5 (t, 1C), 20.5 (t, 1C) ppm

E.9.4. Hexahydro-2-phenyl-4H-1,3,2-benzodioxaborinan (XIII)

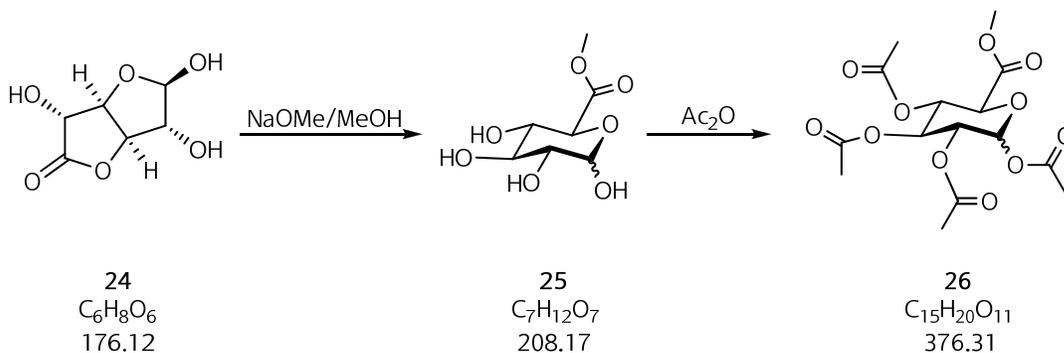


Vorgehen in Anlehnung an [19]. Diol (**22**) (139 mg, 1.1 mmol) wurde in 10 mL abs. Aceton gelöst und 10 g Molsieb (3 Å), sowie Phenylboronsäure (195 mg, 1.6 mmol) zugesetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 4 Stunden auf 80 °C gehalten und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Lösung wurde filtriert, eingeeignet und über Flash Chromatographie gereinigt (9 g Säule, PE:EE = 3:1). Nach dem Einrotieren der entsprechenden Produktfraktionen wurden 173.0 mg gelbliches Harz erhalten (75 % d.Th.).

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.84 (dd, J = 7.7, 1.7 Hz, 2H), 7.41 (m, 3H), 4.34 (dt, J = 5.2, 2.7 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 11.2, 3.7 Hz, 1H), 3.96 (dd, J = 11.2, 3.7 Hz, 1H), 1.88 – 2.06 (m, 2H), 1.25 – 1.75 (m, 7H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 133.8 (d, 2C), 130.5 (d, 1C), 127.5 (d, 2C), 69.8 (d, 1C), 66.3 (t, 1C), 36.2 (d, 1C), 31.8 (t, 1C), 24.2 (t, 1C), 23.9 (t, 1C), 20.4 (t, 1C) ppm

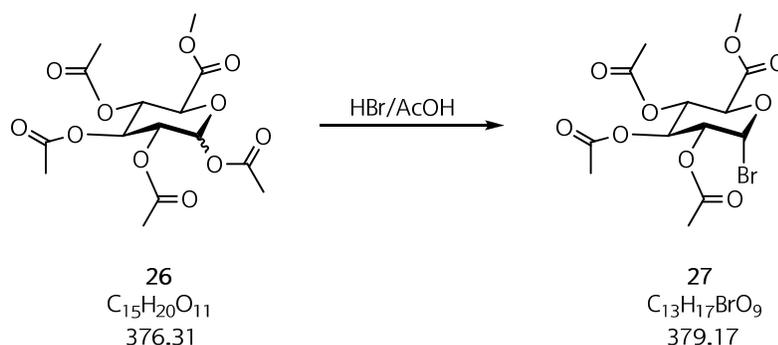
E.10. Synthese der acetylgeschützten Glucuronyl-Donoren

E.10.1. 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-D-glucuronsäuremethylester (**26**)

Vorgehen in Anlehnung an [15]. Lacton (**24**) (5.0 g, 28.4 mmol) wurde in ca. 30 mL MeOH suspendiert, mit 30 mg Natriummethanolat versetzt und für 2 h gerührt. Die dabei entstandene klare Lösung wurde abrotiert und der Rückstand in 50 mL Ac_2O aufgenommen. Nach Rühren über Nacht wurde eine klare Lösung erhalten, welche unter Kühlung tropfenweise mit 70 %iger Perchlorsäure $HClO_4$ (0.3 mL in 10 mL Ac_2O) versetzt wurde. Die trübe Reaktionsmischung wurde über Nacht weitergerührt, am nächsten Tag auf 0 °C gekühlt und über Nacht aufbewahrt. Durch anschließendes Filtrieren, Waschen mit EE und Trocknen wurden 5.3 g kristalliner Feststoff erhalten (49 % d.Th., β -Anomer). Durch Einengen der Lösung konnten nochmals 0.8 g Produkt isoliert werden, wobei dies eine Mischung aus α - und β -Anomer war, die nicht weiter verwendet wurde. Die angegebenen spektroskopischen Daten stammen vom β -Anomer.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 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, 6 H), 2.00 (s, 3H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 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

E.10.2. 1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -D-glucuronsäuremethylester (27)

Variante 1: Methode in Anlehnung an [15]. Tetraacetat (**26**) (4.74 g, 12.6 mmol) wurde in HBr (30 mL/30 % in AcOH) gelöst und über Nacht bei 4 °C aufbewahrt. Die Reaktionslösung wurde anschließend bis zur Trockene eingengt, der Rückstand in Chloroform (50 mL) gelöst, und mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel abrotiert und der Rückstand aus abs. EtOH (20 mL) umkristallisiert und im Vakuum getrocknet. Es wurden 3.75 g weißer kristalliner Feststoff (75 % d.Th.) erhalten.

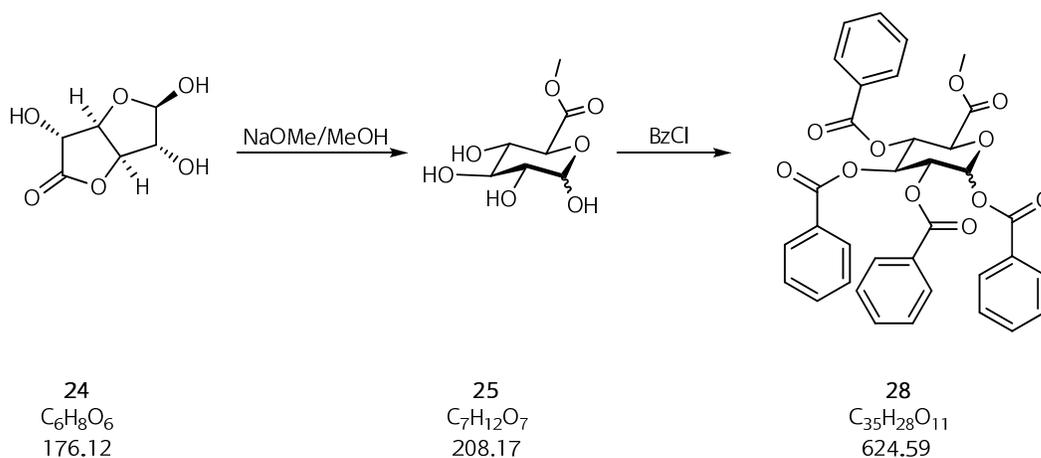
Variante 2: Ebenfalls in Anlehnung an [15]. Glucuronolacton (10.0 g, 56.8 mmol) wurde in 60 mL MeOH gelöst und 32 mg NaOH zugegeben. Die Reaktionslösung wurde nach dem vollständigen Lösen des Lactons (ca. 2 h) bis zur Trockene einrotiert und anschließend mit 70 mL Ac_2O versetzt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotavapor entfernt und 22 g HBr/AcOH (33 %ig) zugetropft und für 2 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotavapor entfernt und mit 90 mL HBr/AcOH (33 %ig) versetzt und für 8 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde abgezogen, der Rückstand in abs. EtOH gelöst und mit 1 Spatel Aktivkohle versetzt und über Hyflo filtriert. Die Lösung wurde auf ca. 30 mL eingengt und so das Produkt auskristallisiert. Ausbeute: 8.80 g weißer kristalliner Feststoff (39 % d. Th.).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 6.63 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 5.60 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 5.23 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 4.85 (dd, J = 9.9, 4.0 Hz, 1H), 4.57 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 3.75 (s, 3 H), 2.09 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 169.8 (s, 1C), 169.75 (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

E.11. Synthese der benzoylgeschützten Glucuronyl-Donoren

E.11.1. 1,2,3,4-Tetra-*O*-benzoyl-D-glucuronsäuremethylester (28)

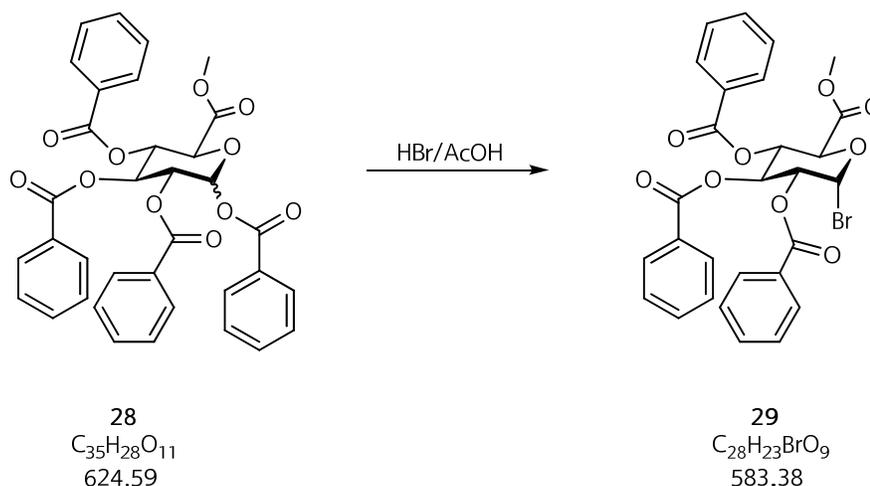


Vorgehen in Anlehnung an [16]. 132 mg zerriebene NaOH wurde in 250 mL abs. MeOH gelöst und (**24**) (26.4 g, 0.15 mol) in kleinen Portionen über einen Zeitraum von 1 h zugesetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung für weitere 2 h gerührt und anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wurde in 330 mL Pyridin gelöst und unter Eiskühlung tropfenweise mit 105.7 g (0.75 mol) Benzoylchlorid versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wurden 250 mL eiskaltes Wasser und 500 mL eiskaltes Dichlormethan zugesetzt. Die wässrige Phase wurde noch 3 mal mit 500 mL DCM gewaschen und die vereinigten organischen Extrakte nochmals mit kaltem Wasser und gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurden die Reaktionsmischung auf 90

g Kieselgel aufrotiert, in eine Vorsäule gefüllt und säulenchromatographisch gereinigt (450 g Hauptsäule, PE:EE = 4:1). Die Produktfraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel abrotiert. Ausbeute: 43.70 g weißes feines Pulver (47 % d. Th.)

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3 , β -Form): δ = 8.15 (dd, J = 8.3, 1.3 Hz, 2H), 7.83 – 8.03 (m, 6H), 7.28 – 7.72 (m, 12 H), 6.92 (d, 3.7 Hz, 1H), 6.32 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 5.77 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 5.70 (dd, J = 10.2, 3.7 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 10.0, 1H), 3.69 (s, 3H) ppm

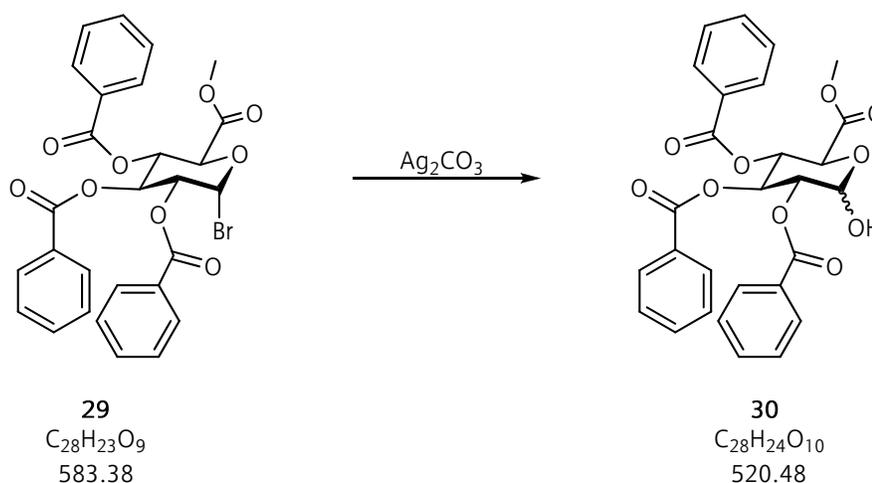
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3 , β -Form): δ = 167.2 (s, 1C), 165.7 (s, 1C), 165.3 (s, 1C), 165.2 (s, 1C), 164.1 (s, 1C), 134.0 (d, 1C), 133.6 (d, 1C), 133.5 (d, 1C), 133.4 (d, 1C), 130.1 (d, 2C), 129.9 (d, 2C), 129.8 (d, 2C), 129.7 (d, 2C), 128.8 (d, 2C), 128.6 – 128.7 (4 x s, 4C), 128.5 (d, 2C), 128.4 (d, 4C), 89.7 (d, 1C), 71.0 (d, 1C), 69.9 (d, 1C), 69.8 (d, 1C), 69.6 (d, 1C), 53.0 (q, 1C) ppm

E.11.2. 1-Brom-1-deoxy-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -D-glucuronsäuremethylester (29)

Vorgehen in Anlehnung an [16]. Tetrabenzoat (**28**) (12.9 g, 21 mmol) wurde in 80 mL HBr/AcOH (33 %ig) gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 0°C gebracht und in einem Scheidetrichter 2 x mit 200 mL eiskaltem DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 4 mal mit 200 mL eiskaltem Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das Endprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (450 g Säule, PE:EE = 84:16). Dabei wurden 11.63 g an weißem, sehr feinkristallinem Pulver erhalten (96 % d.Th.).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 7.27 – 8.15 (m, 15H), 6.90 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 6.28 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 5.74 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 5.36 (dd, *J* = 10.0, 3.9 Hz, 1H), 4.87 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H) ppm

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 166.8 (s, 1C), 165.4 (s, 1C), 165.2 (s, 1C), 165.1 (s, 1C), 133.8 (d, 1C), 133.7 (d, 1C), 133.5 (d, 1C), 130.1 (d, 2C), 129.9 (d, 2C), 129.8 (d, 2C), 128.7 (s, 1C), 128.6 (d, 2C), 128.5 (d, 2C), 128.4 (s, 1C), 128.3 (d, 2C), 128.2 (s, 1C), 85.7 (d, 1C), 72.5 (d, 1C), 71.0 (d, 1C), 69.8 (d, 1C), 69.0 (d, 1C), 53.1 (q, 1C) ppm

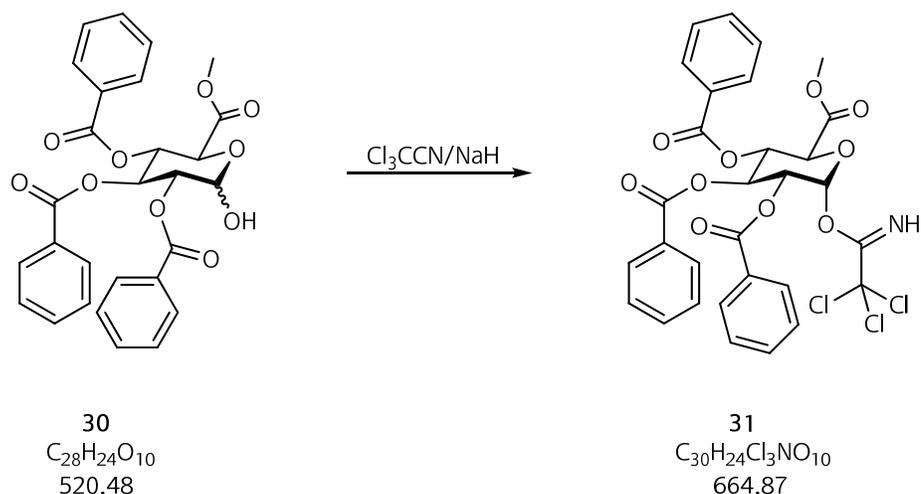
E.11.3. 2,3,4-Tri-*O*-benzoyl-D-glucuronsäuremethylester (30)

Vorgehen entsprechend [1]. Bromozucker (**29**) (3.0 g, 5.1 mmol) wurde in 25 mL abs. Aceton gelöst, Silbercarbonat (1.56 g, 5.7 mmol) und Wasser (93 mg, 5.14 mmol) zugesetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit 7 g Kieselgel versetzt, einrotiert und in eine 9 g Vorsäule gefüllt. Danach wurde das Produkt säulenchromatographisch gereinigt (90 g Säule, PE:EE = 7:3). Dabei wurden 2.0 g weißes feinpulvriges Produkt erhalten (75% d.Th.).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.90 – 8.02 (m, 6H), 7.32 – 7.66 (m, 9H), 6.26 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 5.87 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 5.67 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.35 (dd, J = 9.9, 3.4 Hz, 1H), 4.89 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 3.69 (s, 1H), 3.65 (s, 3H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 168.8 (s, 1C), 165.9 (s, 1C), 165.8 (s, 1C), 165.5 (s, 1C), 133.5 (d, 2C), 133.3 (d, 1C), 129.9 (d, 2C), 129.8 (d, 2C), 129.7 (d, 2C), 129.0 (s, 1C), 128.9 (s, 2C), 128.5 (s, 4C), 128.4 (s, 2C), 90.5 (d, 1C), 71.7 (d, 1C), 70.2 (d, 1C), 69.6 (d, 1C), 68.4 (d, 1C), 52.9 (q, 1C) ppm

E.11.4. 2,3,4-Tri-*O*-benzoyl-1-*O*-trichloracetimidoyl- α -D-glucuronsäuremethylester (**31**)



Vorgehen in Anlehnung an [16]. (**30**) (3.5 g, 6.7 mmol) wurde in ~ 70 mL abs. DCM gelöst und unter Ar-Atmosphäre 7 mL Trichloracetonitril (70 mmol) sowie NaH (113 mg, 4.7 mmol) zugegeben. Nach 15 Minuten wurde die Reaktion filtriert, das Lösungsmittel abrotiert und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (90 g Säule, PE:EE = 7:3). Dabei wurden 4.03 g weißer pulveriger Feststoff erhalten (90% d.Th.).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 8.68 (s, 1H), 7.85 – 8.02 (m, 6H), 7.30 – 7.60 (m, 9H), 6.91 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 6.29 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 5.76 (t, J = 10.0 Hz, 1H), 5.63 (dd, J = 10.2, 3.7 Hz, 1H), 4.77 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 167.9 (s, 1C), 166.3 (s, 1C), 165.9 (s, 2C), 160.2 (s, 1C), 134.7 (d, 2C), 134.5 (d, 1C), 130.6 (d, 2C), 130.5 (d, 4C), 129.8 – 129.9 (s, 4C), 129.6 (d, 4C), 129.5 (d, 2C), 93.7 (d, 1C), 71.9 (d, 1C), 71.2 (d, 1C), 70.7 (d, 1C), 70.6 (d, 1C), 53.4 (q, 1C) ppm

E.12. Synthese der benzoylgeschützten Glucuronide

E.12.1. Synthese nach Königs-Knorr (KK)

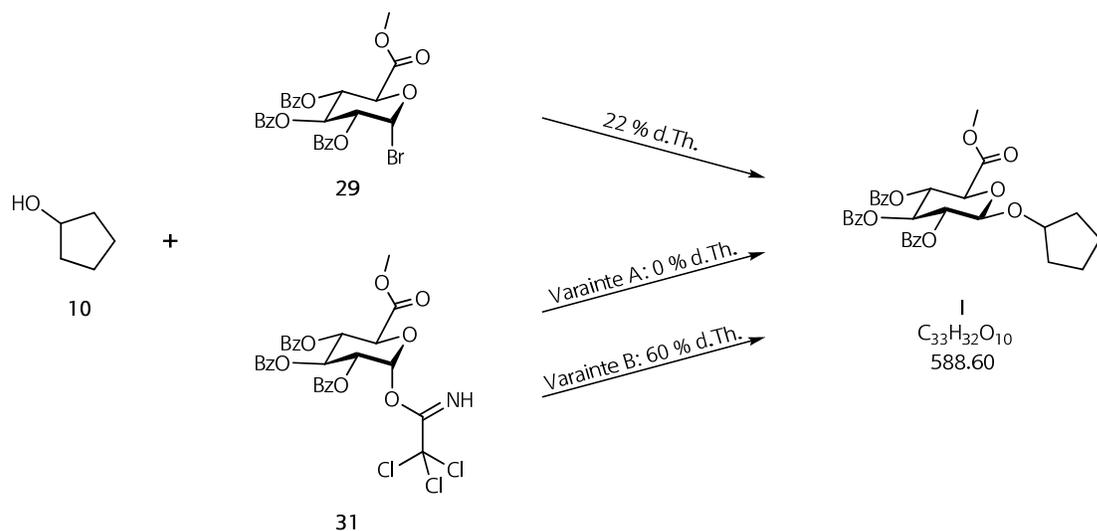
Die Vorgehensweise erfolgte in Anlehnung an [1]. Glucuronyl-Akzeptor (1.0 mmol) wurde in 4 mL abs. DCM gelöst, mit 500 mg geriebenem Molsieb (3 Å) versetzt und unter Schutzgas für 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde Ag_2CO_3 (1.25 eq, 0.63 mmol, 173 mg) und Glucuronyl-Donor (1.25 eq, 1.25 mmol, 729 mg) zugesetzt und die Reaktionslösung im Dunklen bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Verbrauch des Glucuronyl-Donors (**29**) (48 h) wurde erneut 1.25 eq zugesetzt und für weitere 48 h gerührt. Danach wurde die Reaktionslösung auf 7 g Kieselgel aufrotiert und in eine 9 g Vorsäule gefüllt. Die Aufreinigung der entsprechenden Glucuronide erfolgte auf säulenchromatographischem Weg (90 g Säule, PE:EE = 4:1).

E.12.2. Synthese über Trichloracetimidate (TAI)

In Anlehnung an [1] und [16]. Glucuronyl-Akzeptor (0.5 mmol) wurde in 5 mL abs. DCM gelöst, mit 50 mg geriebenem Molsieb (3 Å) versetzt und unter Argon für eine Stunde bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Parallel dazu wurden auch die Glucuronyl-Donor-Lösung (0.75 mmol (**31**), 499 mg/5 mL DCM), sowie die benötigte $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ - (0.5 mmol, 71.0 mg/5 mL DCM) bzw. TMSOTf- (0.63 mmol, 139 mg/5 mL DCM) Aktivatorlösung hergestellt und ebenfalls mit 50 mg Molsieb (3 Å) bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ für eine Stunde gerührt. Die anschließende Glucuronidierung wurde mit 2 verschiedenen Aktivatoren durchgeführt:

Zu 1 mL Glucuronyl-Donor-Lösung (1.5 eq) wurde 1 mL Glucuronyl-Akzeptor-Lösung (1.0 eq) und 1 mL Aktivatorlösung (Variante **A**: $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -Lösung (0.2 eq), Variante **B**: TMSOTf (0.25 eq)) in einem Zeitraum von 15 Minuten tropfenweise zugegeben. Nach 2 h wurde mittels DC der Verbrauch des Edukts kontrolliert, die Reaktion mit 0.25 g NaHCO_3 versetzt und mit 17 mL eiskalter ges. NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die

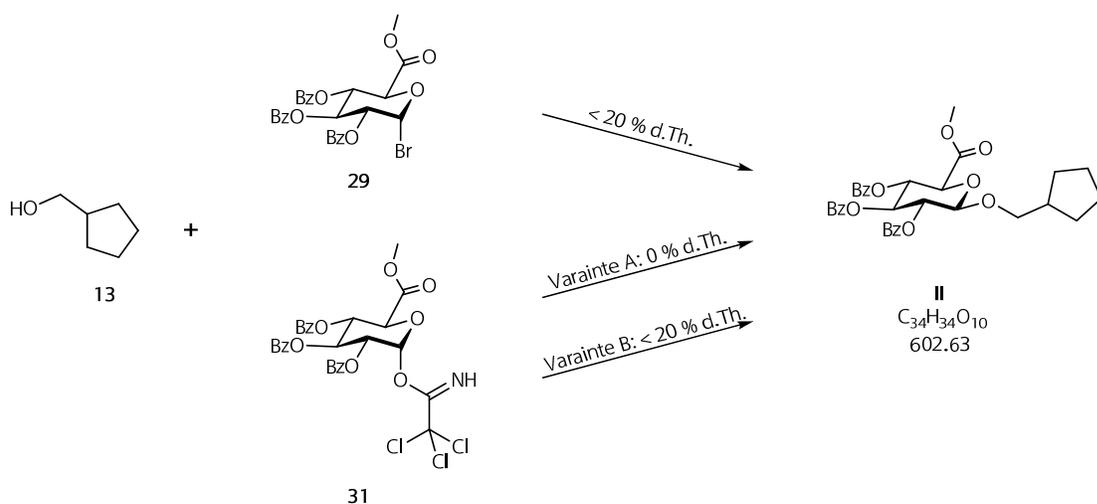
wässrige Phase wurde zweimal mit 15 mL EE gewaschen, die organischen Phasen vereinigt und auf 3 g Kieselgel aufrotiert. Die Aufreinigung der Produkte erfolgte auf säulenchromatographischem Wege (40 g Säule, PE:EE = 4:1).

E.12.3. Cyclopentanol- β -D-methyl-tri-*O*-benzoylglucuronid (I)


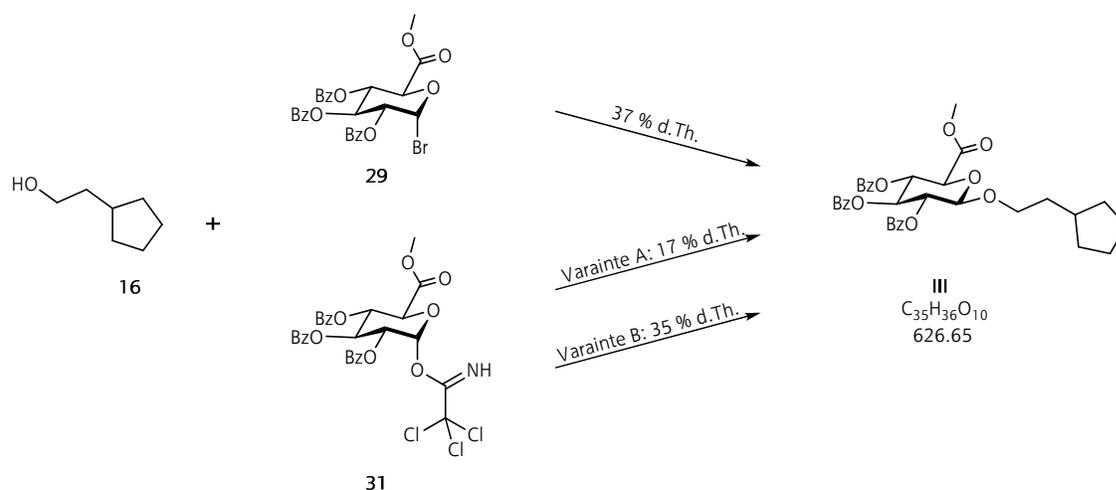
^1H NMR (200 MHz, Aceton- d_6): δ = 7.83 – 8.01 (m, 6H), 7.33 – 7.66 (m, 9H), 6.03 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 5.64 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 5.46 (dd, J = 9.5, 7.9 Hz, 1H), 5.25 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.70 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 4.42 (m, 1H), 3.65 (m, 3H), 1.27 – 1.80 (m, 8H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 167.5 (s, 1C), 165.7 (s, 1C), 165.2 (s, 1C), 164.9 (s, 1C), 133.4 (d, 1C), 133.3 (d, 1C), 133.2 (d, 1C), 129.8 (d, 2C), 129.7 (d, 2C), 129.6 (d, 2C), 129.3 (s, 1C), 128.9 (s, 1C), 128.8 (s, 1C), 128.5 (d, 2C), 128.4 (d, 2C), 128.3 (d, 2C), 99.7 (d, 1C), 81.6 (d, 1C), 73.0 (d, 1C), 72.2 (d, 1C), 71.8 (d, 1C), 70.2 (d, 1C), 54.9 (q, 1C), 33.1 (t, 1C), 31.9 (t, 1C), 23.3 (t, 1C), 23.0 (t, 1C) ppm

E.12.4. Cyclopentylmethanol- β -D-methyl-tri-*O*-benzoylglucuronid (II)



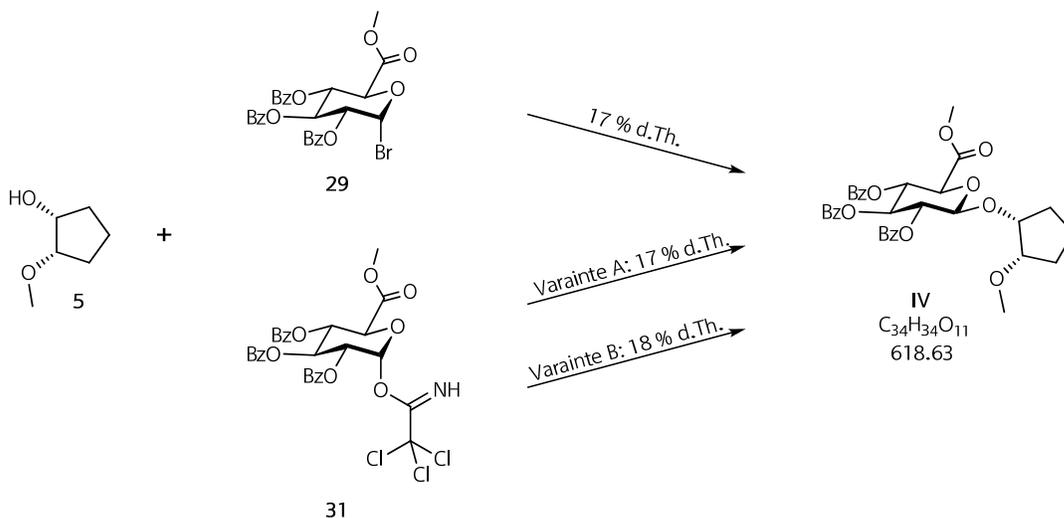
Die bei der Umsetzung mit Cyclopentylmethanol isolierte Menge an Produkt würde auf eine 20%ige Ausbeute hinauslaufen, allerdings war es in beiden Fällen nicht möglich eine optimale Auftrennung zu erhalten, wodurch eine Mischung des Produktes (ermittelt über die Kopplungskonstanten) mit Nebenprodukt in annähernd äquivalenten Verhältnissen auftrat.

E.12.5. Cyclopentylethanol- β -D-methyl-tri-*O*-benzoylglucuronid (III)

1H NMR (200 MHz, Aceton- d_6): δ = 7.83 – 8.02 (m, 6H), 7.33 – 7.67 (m, 9H), 6.04 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.65 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.52 (dd, J = 9.7, 7.9 Hz, 1H), 5.20 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.70 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 3.97 (dt, J = 10.0, 6.0 Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 1.37 – 1.82 (m, 8H), 1.15 – 1.34 (m, 2H), 0.85 – 1.07 (m, 2H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, Aceton- d_6): δ = 168.2 (s, 1C), 166.1 (s, 1C), 165.7 (s, 1C), 165.5 (s, 1C), 134.4 (d, 1C), 134.3 (d, 1C), 134.2 (d, 1C), 130.3 (d, 3C), 130.2 (d, 3C), 130.0 (s, 3C), 129.5 (d, 2C), 129.4 (d, 2C), 129.3 (d, 2C), 101.6 (d, 1C), 73.4 (d, 1C), 73.2 (d, 1C), 72.7 (d, 1C), 71.5 (d, 1C), 70.2 (t, 1C), 52.9 (q, 1C), 37.4 (t, 1C), 36.1 (d, 1C), 33.2 (d, 1C), 32.9 (d, 1C), 25.5 (d, 1C), 25.4 (d, 1C) ppm

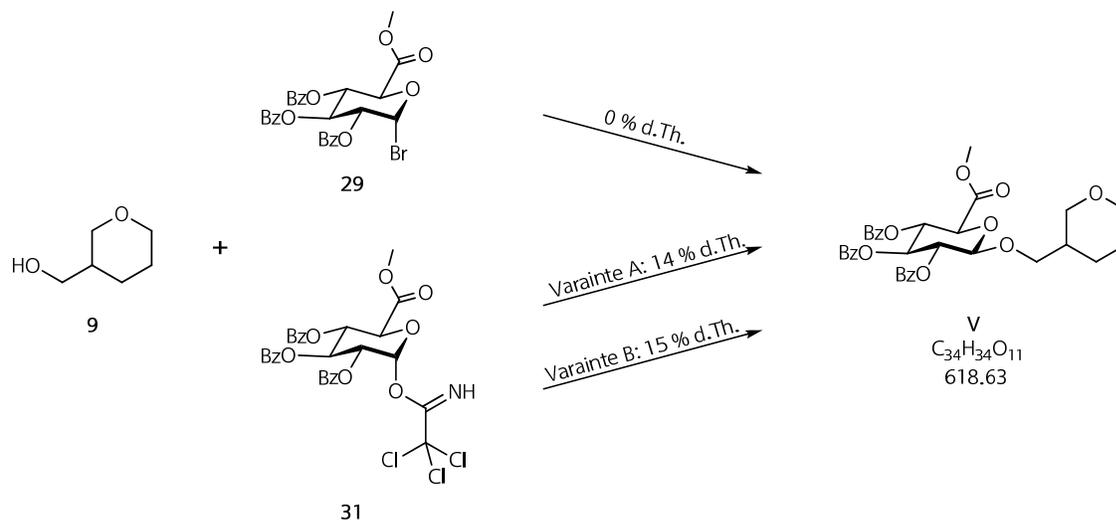
E.12.6. cis-2-Methoxycyclopentanol- β -D-methyl-tri-*O*-benzoylglucuronid (IV)



^1H NMR (200 MHz, Aceton- d_6): δ = 7.83 – 8.04 (m, 6H), 7.33 – 7.67 (m, 9H), 6.01 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.64 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.49 (dd, J = 9.4, 7.8 Hz, 1H), 5.39 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.70 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 4.27 (dt, J = 4.2, 4.0 Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.60 (dt, J = 5.1, 4.9 Hz, 1H), 3.09 (s, 3H), 1.37 – 1.84 (m, 6H) ppm

^{13}C NMR (50 MHz, Aceton- d_6): δ = 168.4 (s, 1C), 166.1 (s, 1C), 165.7 (s, 1C), 165.6 (s, 1C), 134.4 (d, 1C), 134.3 (d, 1C), 134.0 (d, 1C), 130.4 (d, 2C), 130.3 (d, 4C), 130.1 (s, 3C), 129.5 (d, 2C), 129.4 (d, 2C), 129.2 (d, 2C), 101.4 (d, 1C), 83.7 (d, 1C), 80.3 (d, 1C), 73.5 (d, 1C), 73.1 (d, 1C), 72.8 (d, 1C), 71.5 (d, 1C), 57.4 (q, 1C), 52.9 (q, 1C), 29.7 (t, 1C), 27.3 (t, 1C), 19.4 (t, 1C) ppm

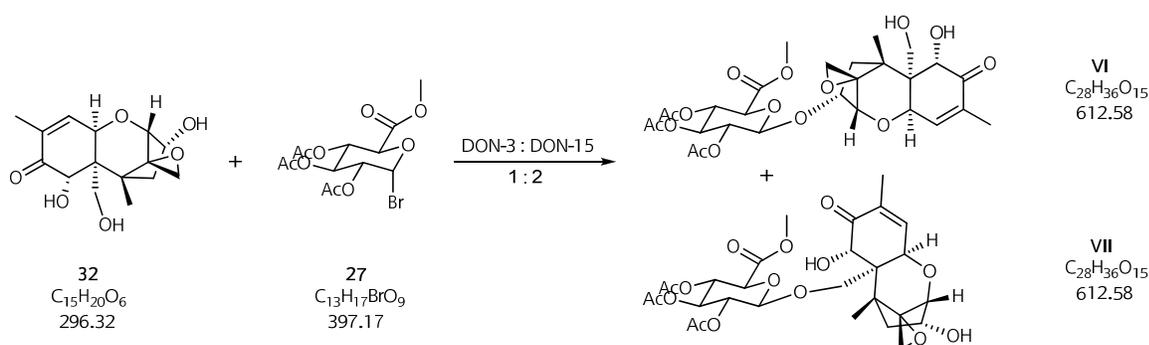
E.12.7. Tetrahydropyran-3-yl-methanol- β -D-methyl-tri-*O*-benzoylglucuronid (V)



¹H NMR (200 MHz, Aceton-d₆): δ = 7.71 – 7.92 (m, 6H), 7.14 – 7.48 (m, 9H), 6.21 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 5.75 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 5.64 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 5.27 (dd, J = 10.0, 3.3 Hz, 1H), 4.72 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.25 (dd, J = 10.0, 5.9 Hz, 1H), 4.15 (dd, J = 11.1, 7.6 Hz, 1H), 4.01 (ddd, J = 11.2, 3.7, 1.4 Hz, 1H), 3.87 (dt, J = 11.3, 3.8 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.40 – 3.52 (m, 1H), 3.34 (dd, 11.0, 9.3 Hz, 1H), 2.02 – 2.24 (m, 1H), 1.82 – 1.98 (m, 1H), 1.59 – 1.74 (tt, J = 8.0, 3.9 Hz, 2H), 1.30 – 1.50 (m, 1H) ppm

¹³C NMR (50 MHz, Aceton-d₆): δ = 168.2 (s, 1C), 166.3 (s, 1C), 165.8 (s, 1C), 165.6 (s, 1C), 133.6 (d, 1C), 133.4 (d, 1C), 133.2 (d, 1C), 130.1 (s, 1C), 130.0 (s, 1C), 129.9 (s, 1C), 129.5 – 129.7 (d, 6H), 128.7 (d, 2C), 128.6 (d, 2C), 126.5 (d, 2C), 102.7 (d, 1C), 72.7 (d, 1C), 70.8 (t, 1C), 70.6 (d, 1C), 69.9 (d, 1C), 68.8 (d, 1C), 68.6 (t, 1C), 66.3 (t, 1C), 53.1 (q, 1C), 35.9 (d, 1C), 26.4 (t, 1C), 25.2 (t, 1C) ppm

E.13. Synthese der geschützten DON-glucuronide



(32) (74.1 mg, 0.250 mmol) wurde in 8 mL abs. DCM gelöst, mit 250 mg geriebenem Molsieb (3 Å) versetzt und für 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde (27) (148.9 mg, 0.375 mmol) und Ag_2CO_3 (54.2 mg, 0.19 mmol) zugesetzt. Nach 48 und 96 h erfolgte eine neuerliche Zugabe von Ag_2CO_3 (jeweils 54.2 mg). Nach 144 h wurde mittels HPLC Kontrolle der vollständige Umsatz des Edukts detektiert, die Reaktionsmischung filtriert und einrotiert. Der Rückstand wurde anschließend säulenchromatographisch gereinigt (präparative. HPLC, Phenomenex Gemini Säule, 5 μ m, RP18, 100 Å, Gradient aus MeOH und Wasser). Die Gesamtausbeute hinsichtlich des glucuronidierten Produkts lag bei 44 % d.Th.

DON-3- β -D-methyl-tri-O-acetylglucuronid (20.6 mg, 14 % d.Th.).

1H NMR (400 MHz, Aceton- d_6): δ = 6.53 (dq, J = 6.0, 1.5 Hz, 1H), 5.38 (dt, J = 9.0, 1.0 Hz, 1H), 5.13 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 5.02 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 4.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 4.50 (dt, J = 10.7, 4.5 Hz, 1H), 4.37 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.01 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 3.97 (t, J = 4.5 Hz, 1H), 3.98 (ddd, J = 11.3, 4.5, 1.5 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.65 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 3.56 (ddd, J = 11.3, 4.5, 1.5 Hz, 1H), 3.10 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.05 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 2.77 (dd, J = 14.6, 4.1 Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.95 (dd, J = 14.6, 4.1 Hz, 1H), 1.81 (q, J = 0.7 Hz, 3H), 1.11 (s, 3H) ppm

^{13}C NMR (100 MHz, Aceton- d_6): δ = 200.8 (s, 1C), 170.3 (s, 1C), 170.0 (s, 1C), 169.9 (s, 1C), 168.2 (s, 1C), 139.6 (d, 1C), 136.0 (s, 1C), 100.2 (d, 1C), 81.1 (d, 1C), 75.8 (d,

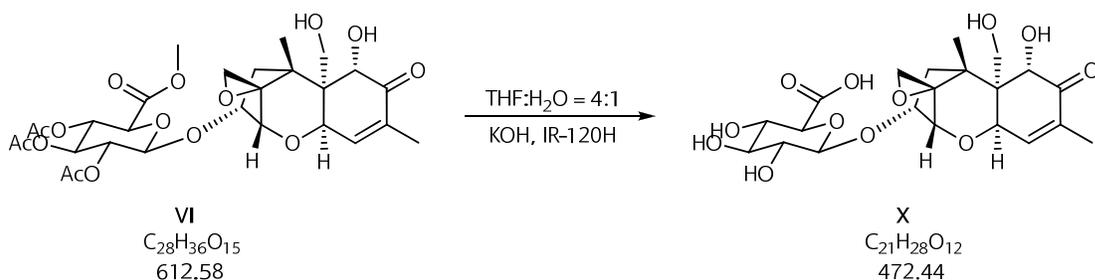
1C), 75.6 (d, 1C), 73.1 (d, 1C), 72.7 (d, 1C), 72.0 (d, 1C), 70.7 (d, 1C), 70.3 (s, 1C), 66.3 (s, 1C), 61.7 (t, 1C), 53.0 (q, 1C), 52.8 (s, 1C), 48.0 (t, 1C), 46.7 (s, 1C), 42.1 (t, 1C), 20.8 (q, 1C), 20.6 (q, 1C), 20.6 (q, 1C), 15.3 (q, 1C), 14.6 (q, 1C) ppm

DON-15- β -D-methyl-tri-*O*-acetylglucuronid (45.6 mg, 30 % d.Th.).

^1H NMR (400 MHz, Aceton- d_6): δ = 6.61 (dd, J = 5.7, 1.3 Hz, 1H), 5.22 (t, J = 9.4, Hz, 1H), 5.09 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.82 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 4.78 (dd, J = 9.1, 7.9 Hz, 1H), 4.66 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.37 (dt, J = 10.2, 4.7 Hz, 1H), 4.27 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.13 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 4.06 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.60 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 3.48 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.05 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.02 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 2.31 (dd, J = 14.6, 4.4 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.96 (s, 4H), 1.94 (s, 3H), 1.92 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 1.79 (s, 3H), 1.05 (s, 3H) ppm

^{13}C NMR (100 MHz, Aceton- d_6): δ = 200.3 (s, 1C), 170.3 (s, 1C), 170.1 (s, 1C), 170.0 (s, 1C), 168.3 (s, 1C), 140.1 (d, 1C), 135.9 (s, 1C), 101.4 (d, 1C), 81.6 (d, 1C), 75.0 (d, 1C), 73.0 (d, 1C), 72.9 (d, 1C), 72.1 (d, 1C), 70.3 (d, 1C), 70.2 (d, 1C), 69.8 (t, 1C), 69.4 (d, 1C), 66.3 (s, 1C), 53.1 (q, 1C), 52.4 (s, 1C), 47.6 (t, 1C), 46.9 (s, 1C), 44.6 (t, 1C), 21.0 (q, 1C), 20.6 (q, 1C), 20.5 (q, 1C), 15.3 (q, 1C), 14.5 (q, 1C) ppm

E.14. Synthese von DON-3-glucuronid



Acetylgeschütztes DON-3-Glucuronid (**VI**) (25.0 mg, 40.8 μ mol) wurde in 2 mL THF:H₂O = 4:1 gelöst und 23 mg KOH (408 μ mol) zugesetzt. Nach 30 min. wurde die Reaktion mit 215 mg IR-120H-Ionentauscher (1.9 meq/g, 408 μ mol) versetzt und für 5 Minuten gerührt. Anschließend wurde die Lösung filtriert, einrotiert und säulenchromatographisch gereinigt. (präparative. HPLC, Phenomenex Luna Säule, 5 μ m, C18(2), 100 Å , 250 x 21, Gradient aus MeOH (+0.1 % TFA) und Wasser (+0.1 % TFA). Dabei wurden 4.8 mg DON-3- β -D-glucuronid erhalten (25% d.Th.).

¹H NMR (400 MHz, MeOH-d₄): δ = 6.62 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.91 (d, J = 13.7 Hz, 1H), 4.79 (s, 1H), 4.48 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.46 (dt, J = 10.2, 4.2 Hz, 1H), 3.83 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 3.69 – 3.76 (m, 3H), 3.56 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 3.41 (t, J = 9.1 Hz, 1H), 3.31 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 3.11 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.08 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 2.62 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 1.98 (dd, J = 14.6, 10.8 Hz, 1H), 1.83 (s, 3H), 1.13 (s, 3H) ppm

¹³C NMR (100 MHz, MeOH-d₄): δ = 201.9 (s, 1C), 172.5 (s, 1C), 139.7 (d, 1C), 137.2 (s, 1C), 104.2 (d, 1C), 82.2 (d, 1C), 77.7 (d, 1C), 77.2 (d, 1C), 76.8 (d, 1C), 76.0 (d, 1C), 74.8 (d, 1C), 73.2 (d, 1C), 71.7 (d, 1C), 66.8 (s, 1C), 62.1 (t, 1C), 53.8 (s, 1C), 48.5 (t, 1C), 46.9 (s, 1C), 42.2 (t, 1C), 15.5 (q, 1C), 14.9 (q, 1C) ppm

F. Literaturverzeichnis

-
- [1] Mikula, H.; Diplomarbeit, TU Wien **2008**
- [2] Quelle: <http://www.sigmaaldrich.com>, 31.01.2010
- [3] Fringuelli, F.; Germani, R.; Pizzo, F.; Savelli, S.; *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 1427-1428
- [4] Maheswari, U.P.; de Hoog, P.; Hage, R.; Gamez, P.; Reedjik, J.; *Adv. Synth. Catal.*, **2005**, 347, 1759-1764
- [5] Iranpoor, N.; Tarran, T.; Movahedi, Z.; *Synthesis*, **1996**, (12), 1473-1476
- [6] Umemura, K.; Matsuyama, H.; Kamigata, N.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1990**, 63, 2593-2600
- [7] Chodounska, H.; Slavikova, B.; Kasal, A.; *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **1994**, 59 (2), 435-43
- [8] Radüchel, B.; *Synthesis*, **1980**, (4), 292-295
- [9] Mitsumori, S.; Zhang, H.; Cheong, P.H.-Y.; Houk, K.N.; Tanaka, F.; Carlos, F.B.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128 (4), 1040-1041
- [10] Callam, C.S.; Lowary, T.L.; *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (26), 8961-8972
- [11] Eckhardt, H.; Halbritter, K.; Goetz, N.; Heilen, G.; Ger. Offen DE 3307635, **1984**, *Chem. Abstr.*, 102:6202
- [12] Johnson, C.R.; Keiser, J.E.; *Tetrahedron Lett.*, **1964**, (45), 3327-3328
- [13] Bollenback, G.N.; Long, John W.; Benjamin, D.G.; Lindquist, J.A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 3310-3315
- [14] Coutant, C.; Jacquinet, J.-C.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 (1972-1999)*, **1995**, (12), 1573-81
- [15] Pravdic, N.; Keglevic, D.; *J. Chem. Soc.*, **1964**, 4633-4635
- [16] Schmidt, R.R.; Grundler, G.; *Synthesis*, **1981**, (11), 885-7
- [17] Stachulski, A.V.; Jenkins, G.N.; *Nat. Prod. Rep.*, **1998**, 15 (2), 173-186
- [18] Rychlik, Michael.; persönliche Korrespondenz, Mycotoxinworkshop **2008**
- [19] Savard, M.E.; Blackwell, B.A.; Greenhalgh, R.; *Can. J. Chem.*, **1987**, 65, 2254
- [20] Fraga, C.A.M.; Teixeira, L.H.P.; Menezes, C.M. de S.; Sant'Anna, C.M.R.; Ramos, M.R.; Maria da Conceicao, K.V.; de Aquino, N.; de Aquino Neto, F.R.; Barreiro, E.J.; *Tetrahedron*, **2004**, 60 (12), 2745-2755
- [21] Kanno, O.; Kawamoto, I.; *Tetrahedron*, **2000**, 56, 5639-5648