

UNIVERSITE DE NEUCHÂTEL  
FACULTE DES SCIENCES

**ETUDES BIOMIMÉTIQUES  
ET BIOSYNTHÉTIQUES DU MÉCANISME DE LA  
PORPHOBILINOGENE SYNTHASE**

Thèse  
présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel  
pour l'obtention du grade de docteur ès Science  
par

**THOMAS ENGELOCH**

de Reinach BL  
Chimiste diplômé de l'Université de Bâle

Mai 1998

# IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

**Biomimetische und Biosynthetische Studien zum  
Mechanismus der Porphobilinogen Synthase**

de M. Thomas Engeloch

---

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL

FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de  
Neuchâtel sur le rapport des membres du jury,

MM. R. Neier (directeur de thèse), R. Tabacchi,  
T. Kaden (Bâle) et A. Hädener (Bâle)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 30 septembre 1998

Le doyen:

*F. Stoeckli*  
F. Stoeckli

# Lebenslauf

Geburtsdatum: 11. Oktober 1967

Heimatort: Reinach BL / Wattenwil BE

Eltern: Fritz Engeloeh und Erika Engeloeh-Erni

Schulbildung: Primarschule Reinach BL (1974–79)  
Sekundarschule Reinach BL (1979–83)  
Gymnasium Münchenstein BL mit Matura Typus D (Italienisch) (1983–86).

Chemie-Studium an der Universität Basel (1987–93).

Diplomarbeit in der Gruppe von Prof. Dr. Ch. Tamm unter der Leitung von PD Dr. P. Strazewski und PD Dr. A. Hädener: " Biosynthese von  $^{15}\text{N}$ -markiertem Guanosin und Inosin ". (Sommersemester 92).

Doktorarbeit in der Gruppe von Prof. Reinhard Neier an der Universität Neuchâtel: " Biomimetische und biosynthetische Studien der Porphobilinogen-Synthase.

Assistenzstelle bei Prof. Dr. Reinhard Neier an der Universität Neuchâtel (1994–98).

soutenance de thèse: 23. Juni 1998

présentation publique: 29. Oktober 1998

**Meinen Eltern und Caroline  
in Dankbarkeit**

Diese Arbeit entstand in der Zeit von März 1994 bis März 1998 am Institut de Chimie de l'Université de Neuchâtel unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Reinhard Neier.

Ich danke Reinhard Neier herzlich für das angenehme Arbeitsklima in unserer Gruppe, die interessanten fachlichen und persönlichen Diskussionen und die Freiheit, die er mir während meiner Doktorarbeit gewährte.

Ich danke den Mitgliedern der Doktorprüfungskommission, Herrn Prof. Dr. Thomas Kaden (Universität Basel), Herrn PD Dr. Alfons Hädener (Universität Basel) und Herrn Prof. Dr. Raffaele Tabacchi (Universität Neuchâtel) für ihre Bereitschaft, diese Arbeit zu begutachten.

Vielen Dank an Dr. Cécile Pasquier für die Zeit, die sie für Literatur-Recherchen und Computerbetreuung reserviert hat.

Für die Ausführung analytischer Arbeiten danke ich Dr. Claude Saturnin, Heinz Bursian, Dr. Christiane Bobillier, Christine Poliart und Guy-Marie Dubin.

Einen besonderen Dank gilt meinen Arbeitskollegen Alain Greppi, André Chaperon, Andreas Franz, Caroline Jarret, Elena Cires, Frédéric Stauffer, Jörg Velker, Klaus Neuschütz, Matthias Henz, Jean-Mary Simone, Maurus Marty, Pavel Bobal, Pierre-Yves Musard und Thomas Thyran für die schöne Zeit, die wir miteinander verbracht haben.

Ich möchte allen Studenten (Ali Neffati, Michel Pfenninger, Alexis Domjan, Shakir Cati), die in unserer Gruppe im Rahmen des fortgeschrittenen organischen Praktikums an dieser Doktorarbeit mitgearbeitet haben, herzlich danken.

Vielen Dank an Ali Nefatti für den Beitrag seiner Diplomarbeit "Synthèse d' $\alpha$ -acétoénamines à partir d'isoxazoles".

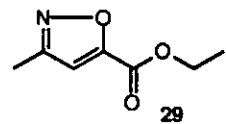
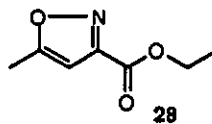
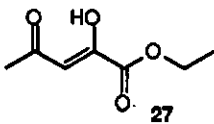
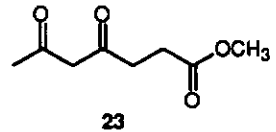
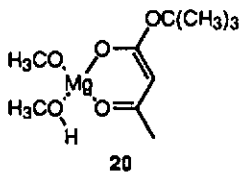
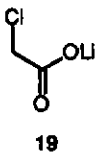
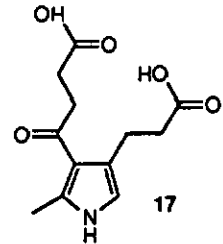
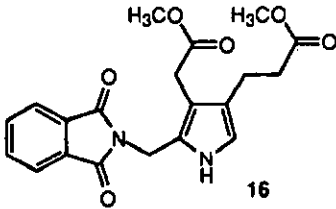
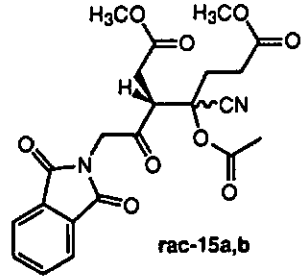
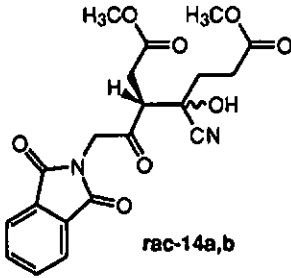
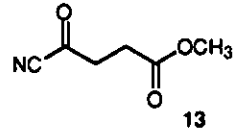
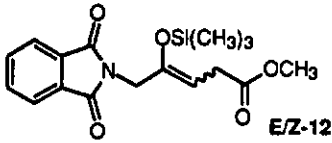
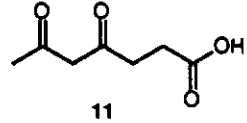
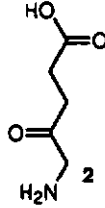
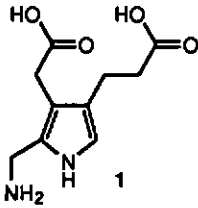
Ich danke Gaël Milet, den ich im Rahmen seines dritten Laboranten-Lehrjahres in unserer Gruppe betreuen durfte, für seinen guten Einsatz.

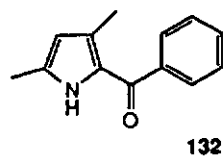
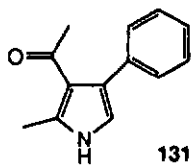
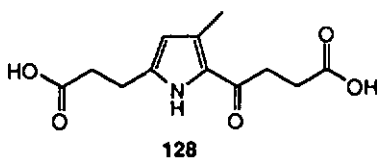
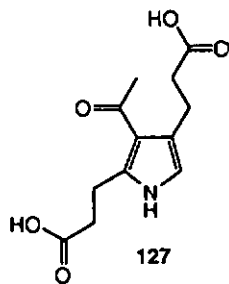
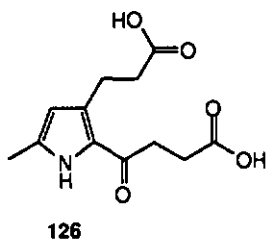
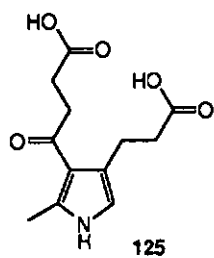
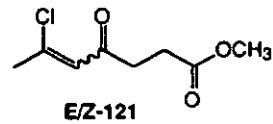
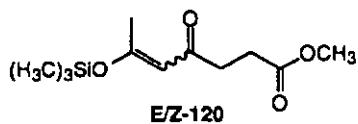
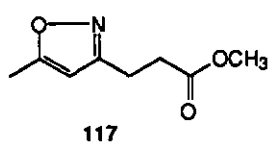
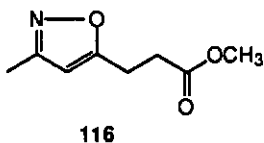
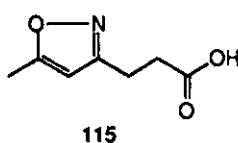
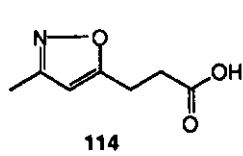
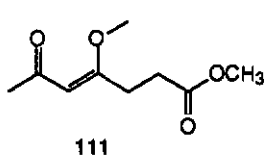
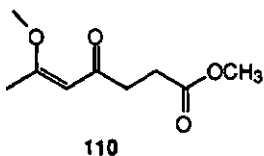
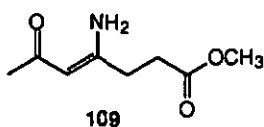
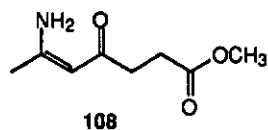
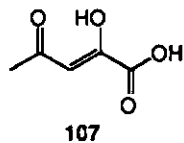
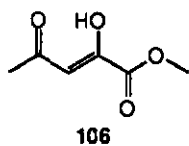
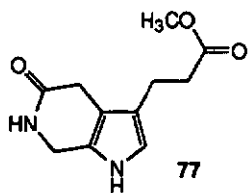
Besten Dank auch dem Schweizer *Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung*, der diese Arbeit unterstützte.

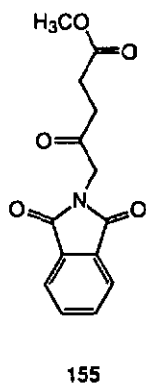
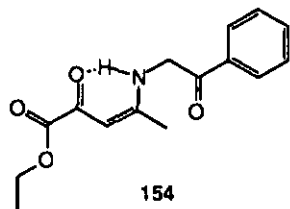
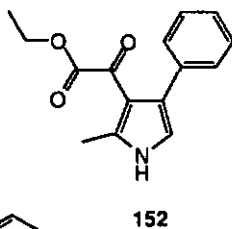
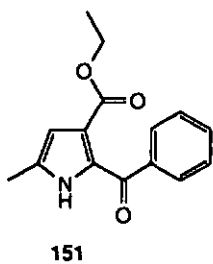
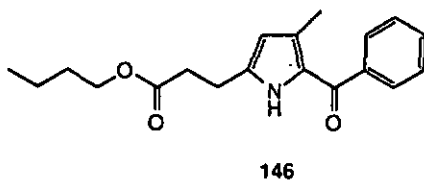
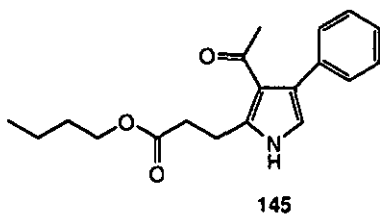
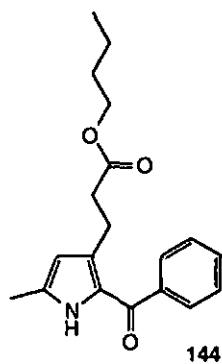
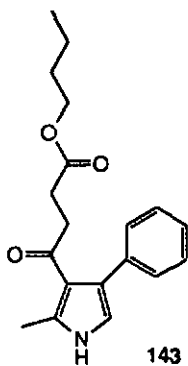
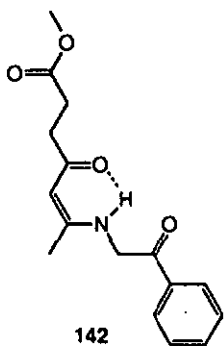
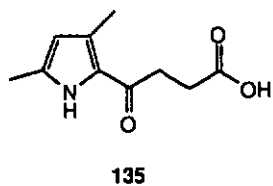
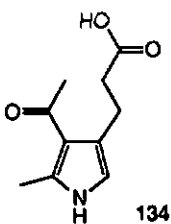
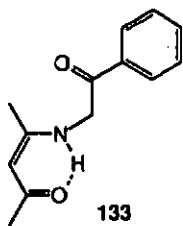
## Abkürzungen

A-side	Essigsäureseitenkette von PBG
A-site	Bindungsstelle der PBGS an die Essigsäureseitenkette von PBG
ALA	5-Aminolävulinsäure
ALAD	5-Aminolävulinsäure Dehydratase
APT	engl.: Attached proton test
COSY	engl.: $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -Homonuclear shift-correlated 2D NMR
DC	Dünnschichtchromatographie
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
Et	Ethyl
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
GC	Gaschromatographie
HETCOR	engl.: $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -Heteronuclear shift-correlated 2D-NMR
HMDS	Hexamethyldisilazan
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MS	Massenspektroskopie
NMR	Magnetische Kernresonanz (engl.: Nuclear Magnetic Resonance)
NOE	Kern-Querhauser Effekt (engl.: Nuclear Magnetic Resonance)
P-side	Propionsäureseitenkette von PBG
A-site	Bindungsstelle der PBGS an die Propionsäureseitenkette von PBG
PBG	Porphobilinogen
PBGS	Porphobilinogen-Synthase
Ph	Phenyl
rac.	Racemisches Gemisch ( $\pm$ )
RT	Raumtemperatur
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran
TMEDA	N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylendiamin
TMS-Cl	Trimethylsilylchlorid
TMS-I	Trimethylsilyljodid

# Strukturen wichtiger synthetisierter Moleküle







# INHALTSVERZEICHNIS

## THEORETISCHER TEIL

<b>1.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	Zusammenfassung .....	1
1.2	Résumé .....	3
1.3	Summary .....	5
<b>2.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
2.1	Porphobilinogen – ein zentrales Zwischenprodukt der Tetrapyrrolynsynthese .....	7
2.2	Das Enzym Porphobilinogen-Synthase (PBGs) .....	10
2.2.1	Allgemeines .....	10
2.2.2	Mechanismus der PBG-Biosynthese .....	11
2.3	Vergleich der Mechanismen von <i>Jordan</i> und <i>Shemin</i> .....	13
2.3.1	Mechanismus nach <i>Shemin</i> .....	13
2.3.2	Mechanismus nach <i>Jordan</i> .....	15
2.4	Tyrosinämie/Inhibition der PBGS .....	16
2.5	Biomimetik .....	18
<b>3.</b>	<b>PROBLEMSTELLUNG .....</b>	<b>19</b>
3.1	Im Allgemeinen .....	19
3.2	Im Speziellen .....	21
3.2.1	Synthese von Zwischenproduktanalogen nach <i>Shemin</i> und <i>Jordan</i> .....	21
3.2.2	Synthese von Produktanalogen .....	21
3.2.3	Biomimetische PBG-Synthese .....	22
<b>4.</b>	<b>THEORETISCHE GRUNDLAGEN .....</b>	<b>23</b>
4.1	Inhibition der PBGS durch 4,6-Dioxoheptansäure .....	23
4.2	Die Chemie von 1,3-Diketonverbindungen .....	26
4.2.1	Synthese von 1,3-Diketonverbindungen .....	26
4.2.2	Synthese von $\beta$ -Ketoenaminen .....	27
4.2.3	Synthese von Isoxazolen .....	28
4.2.4	Synthese von $\beta$ -Ketoenaminen aus Isoxazolen .....	29
4.2.5	Sauerstoffalkylierungsreaktionen von 1,3-Diketo- nen .....	30
4.2.6	Synthese von $\alpha,\beta$ -ungesättigten $\beta$ -Chlorketonen .....	31

4.2.7	Silylierung von $\beta$ -Diketonen .....	32
4.3	Pyrrolsynthesen .....	33
4.3.1	Die <i>Hantz'sche</i> Pyrrolsynthese .....	33
4.3.2	Die <i>Knorr'sche</i> Pyrrolsynthese .....	34
4.3.3	Aldolreaktion mit Enaminen .....	34
4.3.4	Pyrrolsynthese mittels Michael-Addition .....	36
4.3.5	Die gerichtete, gekreuzte Aldol-Kondensation (Crossed aldol) als Vorstufe der Pyrrolsynthese .....	36
4.3.6	Die <i>Mukaiyama</i> -Reaktion als Vorstufe der Pyrrol- synthese .....	39
4.3.7	Reduktion der Aminofunktion und Zyklisierung zum Pyrrol .....	41
4.4	Reaktivität von Pyrrolen .....	42
4.4.1	Reaktivität des Porphobilinogens .....	42
4.4.2	Entschützen von PBG-Derivaten .....	44
4.5	PBG-Synthesen .....	47
4.5.1	Bekannte PBG-Synthesen im Vergleich .....	47
4.5.2	PBG-Synthese nach <i>MacDonald</i> .....	48
4.5.3	PBG-Synthese nach <i>Plieninger</i> und <i>Evans</i> .....	49
4.5.4	PBG-Synthese nach <i>Anderson</i> .....	50
4.5.5	PBG-Synthese nach <i>Frydman</i> und <i>Rapoport</i> .....	51
4.5.6	PBG-Synthese nach <i>Ganem</i> .....	52
4.5.7	PBG-Synthese nach <i>Adamczyk</i> und <i>Reddy</i> .....	53
5.	DISKUSSION DER RESULTATE .....	54
5.1	Inhibitionsresultate von 1,3-Diketonen und deren Deri- vaten .....	54
5.2	Synthese von 1,3-Diketonverbindungen und deren Deri- vaten .....	59
5.2.1	Synthese von 4,6-Dioxoheptansäure (11) .....	59
5.2.2	Synthese von 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) .....	60
5.2.3	Synthese von 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) .....	61
5.2.4	Synthese von 2,4-Dioxopentansäure (107) .....	61
5.2.5	Synthese von 6-Amino-4-oxo-5-heptensäure- methylester (108) .....	63
5.2.6	Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2- methoxycarbonylethyl)isoxazol (116) / 5-Methyl-3- (2-methoxycarbonylethyl)isoxazol (117) .....	64

5.2.7	Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2-carboxyethyl)isoxazol (114) / 5-Methyl-3-(2-carboxyethyl)isoxazol (115).....	65
5.2.8	Synthese des Gemisches aus 5-Methyl-3-ethoxycarbonylisoxazol (28)/3-Methyl-5-ethoxycarbonylisoxazol (29).....	66
5.2.9	Synthese von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazol (118).....	67
5.2.10	Synthese von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methylisoxazol (119).....	68
5.2.11	Synthese von 4-Amino-6-oxo-4-heptensäuremethylester (109).....	68
5.2.12	Synthese von 6-Methoxy-4-oxo-5-heptensäuremethylester (110)/ 4-Methoxy-6-oxo-4-heptensäuremethylester (111).....	70
5.2.13	Synthese von (E/Z)-4-Oxo-6-oxotrimethylsilyl-5-heptensäuremethylester (E / Z-120).....	71
5.2.14	Synthese von (E/Z)-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (E / Z-121).....	72
5.3	Synthese von Pyrrolen .....	73
5.3.1	Pyrrolsynthesen aus 1,3-Diketonen und $\alpha$ -Aminoketonen .....	73
5.3.2	Synthese von 3-Acetyl-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (131)/3,5-Dimethyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (132).....	76
5.3.3	Synthese von 3-Acetyl-4-(2-carboxyethyl)-2-methyl-pyrrol (134) / 2-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (135).....	79
5.3.4	Synthese von 3-Acetyl-4-(2-butoxycarbonylethyl)-2-methyl-pyrrol (136), 2-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (137).....	80
5.3.5	Synthese von 3-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (138), 3-(2-Carboxyethyl)-5-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (139), 3-Acetyl-2-(2-Carboxy-ethyl)-4-phenyl-pyrrol (140), 5-(2-Carboxyethyl)-3-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (141).....	81
5.3.6	Synthese von 3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (143), 3-(2-butoxycarbonylethyl)-5-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (144), 3-Acetyl-2-(2-butoxy-carbonylethyl)-4-	

	phenyl-pyrrol (145), 5-(2-Butoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (146) .....	84
5.3.7	Synthese von 4-(2-Carboxyethyl)-3-(3-carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (125), 3-(2-Carboxyethyl)-2-(3-carboxy-1-oxopropyl)-5-methyl-pyrrol (126), 3-Acetyl-2,4-di(2-carboxyethyl)-pyrrol (127), 5-(2-Carboxyethyl)-2-(3-carboxy-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (128) .....	85
5.3.8	Synthese von 4-(2-Butoxycarbonylethyl)-3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (147), 3-(2-Butoxycarbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxo-propyl)-5-methyl-pyrrol (148), 3-Acetyl-2,4-di(2-butoxycarbonylethyl)-pyrrol (149), 5-(2-Butoxycarbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (150) .....	86
5.3.9	Verseifung der <i>n</i> -Butylester 147 - 150 .....	88
5.3.10	Synthese von 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) / 3-(2-Ethoxycarbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152) .....	89
5.4	Synthese von Porphobilinogen .....	92
5.4.1	Synthese von (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) und (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-4-ensäuremethylester (E/Z-156) .....	92
5.4.2	Synthese des 4-Cyano-4-oxo-butansäuremethylesters (13) .....	93
5.4.3	Synthese der rac-4-Cyano-4-hydroxy-5-(methoxycarbonylmethyl)-7-(N-phthalimido)-6-oxo-heptansäuremethylester (rac-14a,b) .....	93
5.4.4	Synthese der rac-4-O-Acetyl-4-cyano-5-(methoxycarbonylmethyl)-6-oxo-7-(N-phthalimido)-heptansäuremethylester (rac-15a,b) .....	98
5.4.5	Reduktion des geschützten Cyanhydrins rac-15a .....	99
5.4.6	Entschützungsversuche zum freien Porphobilinogen (1) .....	99

## 6. RESULTATE UND SCHLUSSFOLGERUNGEN ..... 102

## EXPERIMENTELLER TEIL

<b>7.</b>	<b>ALLGEMEINES</b> .....	<b>104</b>
7.1	Analytische Methoden und Geräte .....	104
7.1.1	Chromatographie .....	104
7.1.2	Infrarot-Spektroskopie (IR) .....	104
7.1.3	NMR-Spektroskopie .....	105
7.1.4	Massenspektroskopie (MS) .....	105
7.1.5	Elementaranalysen (EA) .....	105
7.1.6	Schmelzpunkte (Smp) .....	106
7.1.7	Glasapparaturen, Kühl- und Heizsysteme .....	106
7.1.8	Hockdruckhydrierungen .....	106
7.2	Lösungsmittel .....	106
7.2.1	Standardlösungsmittel .....	106
7.2.2	Trockene Lösungsmittel .....	107
7.3	Chemikalien und Gase .....	107
<b>8.</b>	<b>SYNTHESEN</b> .....	<b>110</b>
8.1	Synthese von 1,3-Diketonverbindungen und deren Derivaten .....	110
8.1.1	5-(N-Phthalimido)lävulinsäuremethylester (155) .....	110
8.1.2	5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) .....	112
8.1.3	4,6-Dioxoheptansäure (11) .....	113
8.1.4	4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) .....	115
8.1.5	2,4-Dioxopentansäureethylester (27) .....	117
8.1.6	2,4-Dioxopentansäure (107) .....	119
8.1.7	6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethylester (108) .....	120
8.1.8	Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2- methoxycarbonylethyl)isoxazol (116) / 5-Methyl-3- (2-methoxycarbonylethyl)isoxazol (117) .....	121
8.1.9	Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2- carboxyethyl)isoxazol (114) / 5-Methyl-3-(2- carboxyethyl)isoxazol (115) .....	122
8.1.10	Synthese des Gemisches aus 5-Methyl-3-ethoxy- carbonylisoxazol (28)/3-Methyl-5-ethoxycarbonyl- isoxazol (29) .....	124
8.1.11	3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethyl- silylisoxazol (118) .....	125

8.1.12	3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methylisoxazol (119).....	126
8.1.13	4-Amino-6-oxo-4-heptensäuremethylester (109).....	128
8.1.14	6-Methoxy-4-oxo-5-heptensäuremethylester (110)/ 4-Methoxy-6-oxo-4-heptensäuremethylester (111).....	129
8.1.15	(E/Z)-4-oxo-6-oxymethylsilyl-5-heptensäure- methylester (E/Z-120).....	131
8.1.16	(E/Z)-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (E/Z-121).....	133
8.2	Synthese von Pyrrol .....	135
8.2.1	3-Acetyl-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (131) / 3,5-Di- methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (132).....	135
8.2.2	3-Acetyl-4-(2-carboxyethyl)-2-methyl-pyrrol (134) / 2-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (135).....	137
8.2.3	3-Acetyl-4-(2-butoxycarbonylethyl)-2-methyl- pyrrol (136), 2-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)- 3,5-dimethyl-pyrrol (137):.....	139
8.2.4	3-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl- pyrrol (138), 3-(2-Carboxyethyl)-5-methyl-2- phenylcarbonyl-pyrrol (139), 3-Acetyl-2-(2- Carboxyethyl)-4-phenyl-pyrrol (140), 5-(2- Carboxyethyl)-3-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (141).....	142
8.2.5	3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-4- phenyl-pyrrol (143), 3-(2-butoxy-carbonylethyl)-5- methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (144), 3-Acetyl-2- (2-butoxy-carbonylethyl)-4-phenyl-pyrrol (145), 5- (2-Butoxycarbonylethyl)-3-methyl-2- phenylcarbonyl-pyrrol (146). .....	143
8.2.6	4-(2-Carboxyethyl)-3-(3-carboxy-1-oxopropyl)-2- methyl-pyrrol (125), 3-(2-Carboxyethyl)-2-(3- carboxy-1-oxopropyl)-5-methyl-pyrrol (126), 3- Acetyl-2,4-di(2-carboxyethyl)-pyrrol (127), 5-(2- Carboxyethyl)-2-(3-carboxy-1-oxopropyl)-3- methyl-pyrrol (128).....	148
8.2.7	4-(2-Butoxycarbonylethyl)-3-(3-Butoxycarbonyl-1- oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (147), 3-(2-Butoxy- carbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-	

5-methyl-pyrrol (148), 3-Acetyl-2,4-di(2-butoxy-carbonylethyl)-pyrrol (149), 5-(2-Butoxycarbonyl-ethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (150).....	149
8.2.8 Verseifung der <i>n</i> -Butylester 147 - 150 .....	155
8.2.9 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) / 3-(2-Ethoxy-carbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152) .....	156
8.2.10 4-N-Phenacylamino-2-oxo-3,4-pentensäure-ethylester (154) .....	160
8.2.11 (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) und (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-4-ensäuremethylester (E/Z-156) .....	162
8.2.12 4-Cyano-4-oxo-butansäuremethylester (13).....	163
8.2.13 rac-4-Cyano-4-hydroxy-5-(methoxycarbonylmethyl)-7-(N-phthalimido)-6-oxo-heptansäuremethylester (14a,b) .....	164
8.2.14 4-O-Acetyl-4-cyano-5-(methoxycarbonylmethyl)-6-oxo-7-(N-phthalimido)-heptan-säuremethylester (rac-15a,b).....	167
<b>9. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>170</b>

# 1. ZUSAMMENFASSUNG

## 1.1 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit biosynthetischen und biomimetischen Studien zum PBGS-Mechanismus nach *Shemin* (Abbildung a).

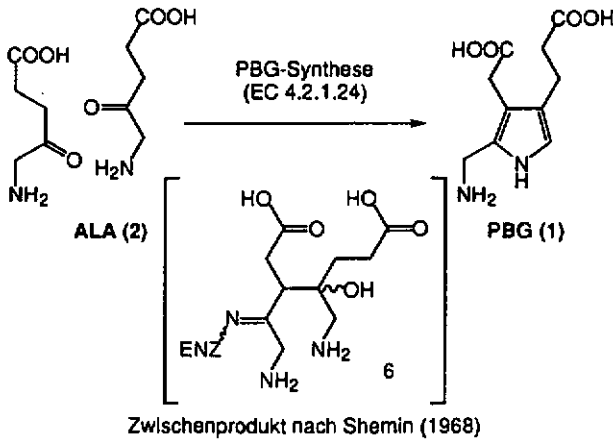


Abbildung a: Von *Shemin* postuliertes Zwischenprodukt 6 des PBGS-Enzymmechanismus (1968).

Einerseits wurden diverse Substrat-, Zwischenprodukt- und Produktanaloga synthetisiert und auf deren Inhibitionswirkung untersucht. Andererseits wurde an der Optimierung der von unserer Gruppe erarbeiteten biomimetischen PBGS-Synthese gearbeitet (Abbildung b).

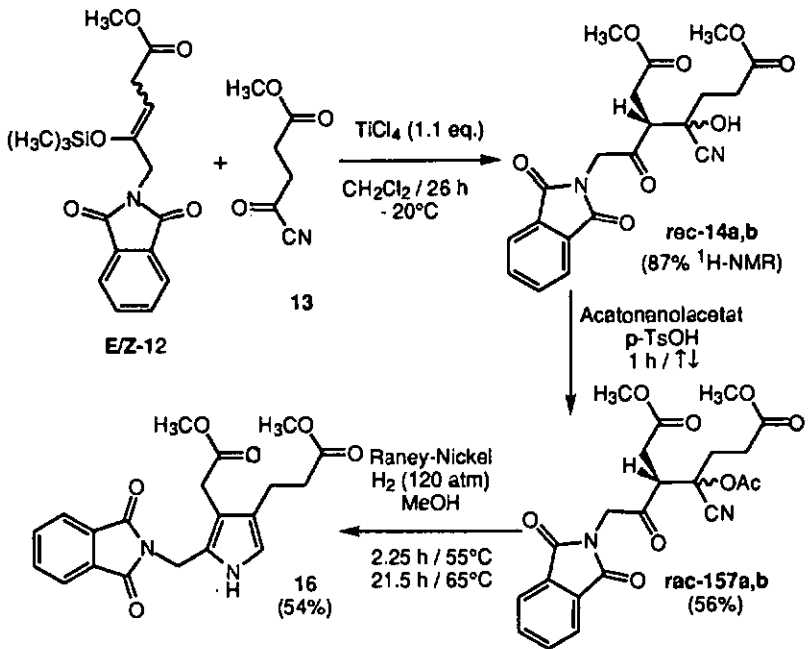


Abbildung b: Synthese des geschützten PBG-Derivats **16** ausgehend vom Silylenolether **E/Z-12** und dem Acylcyanid **13**.

Es galt im besonderen die heikle *Mukaiyama*-Aldolreaktion zum **rac-14a,b** zu optimieren und den geschützten PBG-Vorläufer **16** ins freie PBG (**1**) zu überführen.

1.2 **Résumé**

Le travail présenté traite des études biosynthétique et biomimétique portant sur le mécanisme de la PBGS proposé par *Shemin* (figure a).

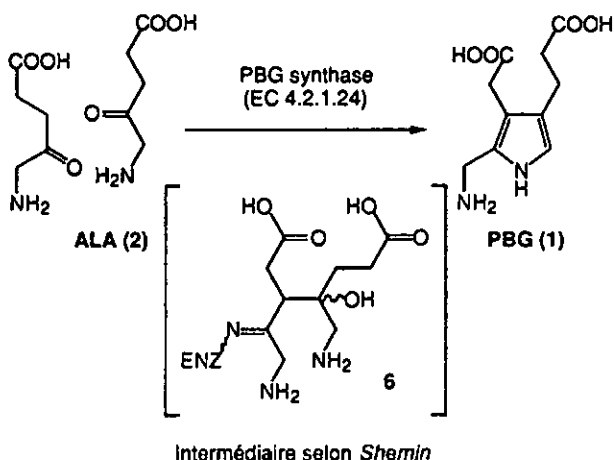


figure a: Intermédiaire 6 du mécanisme enzymatique proposé par *Shemin* (1968).

Des analogues de substrat, d'intermédiaire et de produit ont été d'une part synthétisés et leurs activités inhibitrices ont été estimées. D'autre part, la synthèse biomimétique du PBG (1), déjà entreprise précédemment dans notre groupe, a été optimisée (figure b).

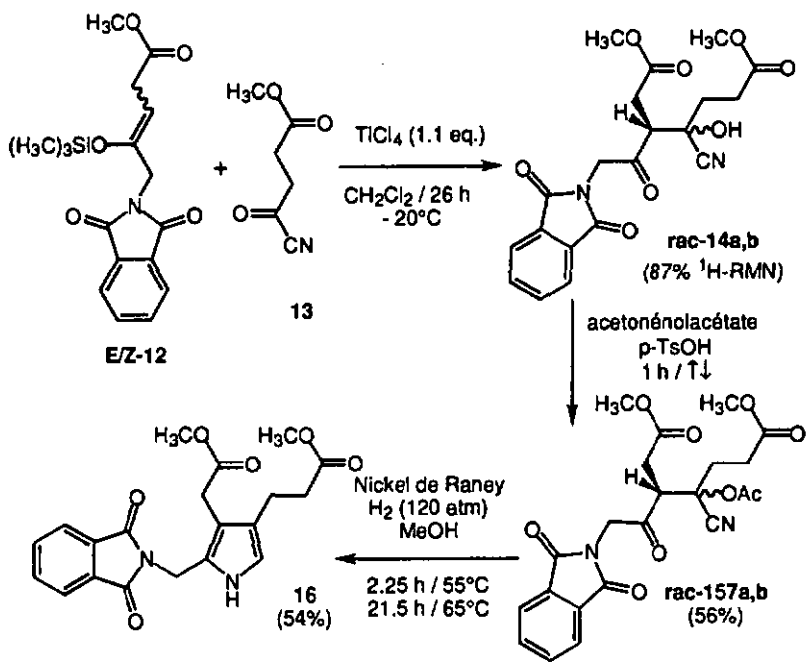


Abbildung b: Synthèse du dérivé protégé du PBG 16 à partir du silylénolether E/Z-12 et du cyanure d'acyle 13.

Il s'agissait, en particulier, d'améliorer la réaction aldolique délicate de type *Mukaiyama* donnant le rac-14a,b et d'effectuer la déprotection du précurseur 16 pour obtenir le PBG (1).

1.3 **Summary**

This present work describes biosynthetic und biomimetic studies about the PBGS mechanism based on the proposal of *Shemin* (figure a).

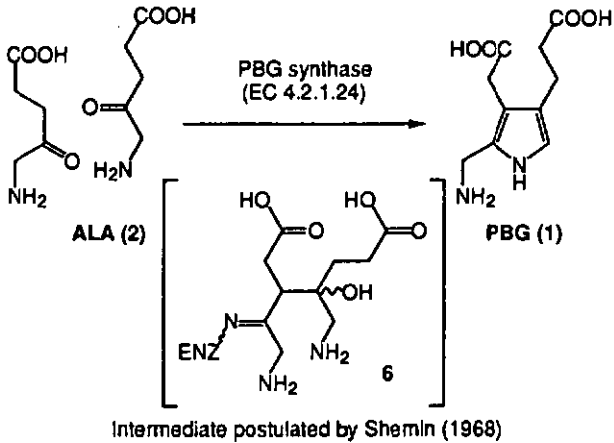


figure a: Postulated intermediate 6 of the PBGS mechanism by *Shemin* (1968).

On the one side, analogs of the substrate, the intermediate and the product were synthesized and their inhibition was tested. On the other side, the optimization of the biomimetic PBG synthesis of our group was investigated (figure b).

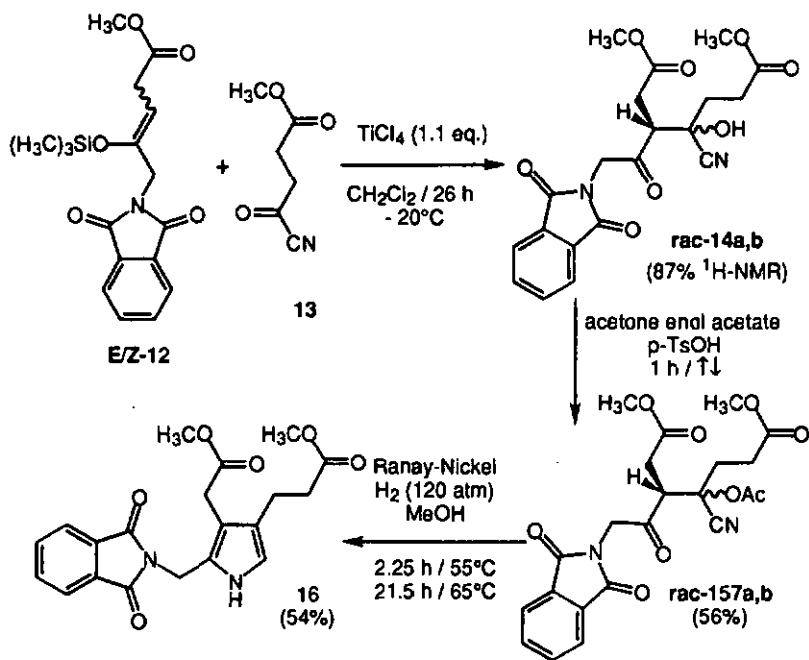


figure b: Synthesis of the protected PBG derivative 16 starting from silyl enol ether E/Z-12 and the acyl cyanide 13.

Especially the delicate *Mukaiyama* aldol reaction to obtain rac-14a,b was improved and the deprotection of the PBG precursor 16 to PBG (1) was investigated.

## 2. EINLEITUNG

### 2.1 Porphobilinogen - ein zentrales Zwischenprodukt der Tetrapyrrolsynthese

Porphobilinogen (1) (Abbildung 1), allgemein abgekürzt als PBG, ist ein äusserst reaktionsfreudiges, "nicht-stabilisiertes" Trialkylpyrrol, welches bereits in leicht saurem Milieu augenblicklich mit allen verfügbaren Elektrophilen reagiert. Es kann dabei ebenfalls polymerisieren und durch die nachfolgende Oxidation an der Luft zum "Pyrrol-schwarz" [1,2] reagieren.

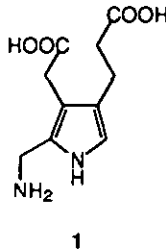


Abbildung 1: Porphobilinogen (1) - ein hochreaktives Pyrrol.

In den fünfziger Jahren dieses Jahrhunderts konnte von mehreren Arbeitsgruppen bewiesen werden, dass die Biosynthese aller Tetrapyrrole über den allgemeinen Vorläufer PBG verläuft [3,4]. Gleichzeitig konnte auch gezeigt werden, dass PBG (1) seinerseits aus 2 Molekülen 5-Aminolävulinsäure (2), abgekürzt ALA, entsteht (Abbildung 2).

Bemerkung: In der vorliegenden Arbeit sind sämtliche Strukturformeln in deren neutralen Form dargestellt. Diese Vereinfachung dient zur vereinheitlichten Darstellung der unter physiologischen Bedingungen unterschiedlich protonierten Moleküle.

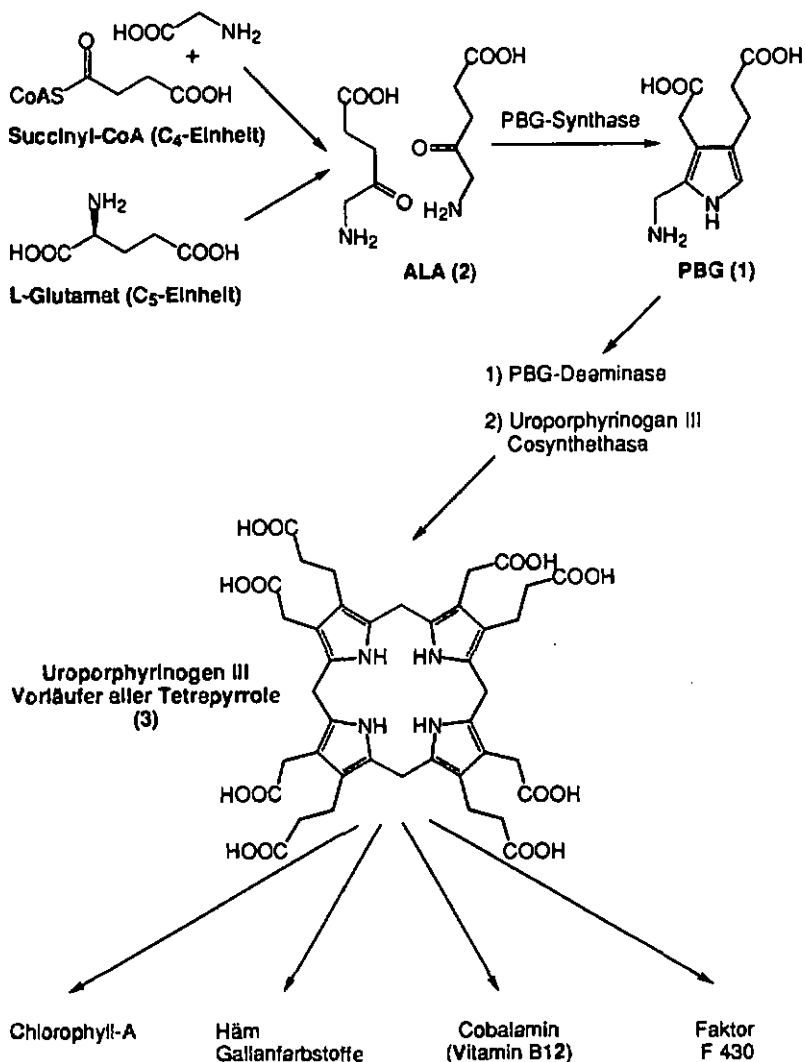
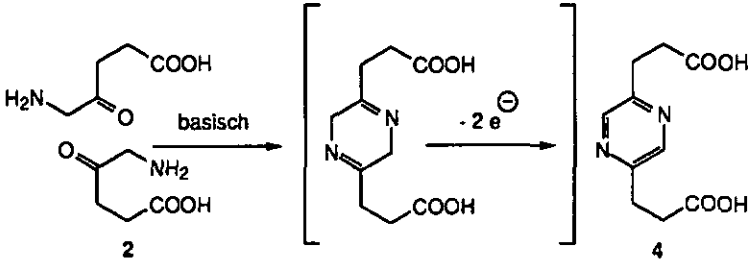


Abbildung 2: Biosynthese von Uroporphyrinogen III (3), der allgemeine Vorläufer der Tetrapyrrole Chlorophyll-A, Häm, Cytochrom P450, Cobalamin, Gallenfarbstoffe.

1953 gelang es *Dresel und Falk* [5] ein Enzym zu isolieren, das ALA (2) in PBG (1) umwandeln konnte. Dieses Enzym wurde als 5-Aminolävulinäuredehydratase (ALAD) und später auch als Porphobilinogensynthase (PBGs) bezeichnet (EC 4.2.1.24).

Interessanterweise entsteht im Gegensatz zur enzymatischen Kondensation von zwei Molekülen ALA (2), unter chemischen Bedingungen im basischen Milieu nicht PBG (1), sondern 2,5-Dipropionsäure-pyrazin (4) als Hauptprodukt (nach Oxidation mittels Luftsauerstoff) [6] (vergl. Abbildung 3).



Frank und Stratmann

Abbildung 3: Dimerisierung von ALA (2) unter basischen Bedingungen [6].

Die Reaktivität der ALA (2) wird dabei durch die unterschiedliche Azidität der Protonen am C(3) resp. C(5) in wässriger Lösung bestimmt. Einen guten Einblick in die Enolisierbarkeit der Carbonylfunktion (Selektivität) von 2 liefern Deuterierungsexperimente von *Jaffe* [7].

Tetrapyrrole spielen in vielen biologischen Prozessen eine wichtige Rolle. A. R. *Battersby* bezeichnete diese Verbindungen deshalb auch als "Pigments of Life" [8,9]. Der wichtigste Vertreter dieser Stoffklasse ist das Chlorophyll (Umwandlung von absorbierter Lichtenergie in Redox-Energie), welches aufgrund seiner geschätzten jährlichen Weltproduktion von mehr als 10<sup>10</sup> Tonnen [10,11] sicher eine Sonderstellung einnimmt. Zusätzlich spielen Tetrapyrrole eine wichtige Rolle bei Transportprozessen, wie beispielsweise als Cofaktor für den Transport von Sauerstoff und Kohlendioxid im Blut (Haemoglobin).

## 2.2 Das Enzym Porphobilinogensynthase (PBGS)

### 2.2.1 Allgemeines

In der Natur ist die PBGS ein sehr weit verbreitetes Enzym. Es kann aus Tieren, Pflanzen und auch aus Bakterien isoliert werden [12,13]. Die Masse des Enzyms liegt im Bereich von 280 kDa. Es besteht aus acht identischen, kubisch angeordneten Untereinheiten von ca. 37 kDa [14]. Eine einzelne Untereinheit ist katalytisch nicht aktiv - im Gegensatz zum Dimer, Tetramer und natürlich dem Octamer [15,16]. Aus Pflanzen isolierte PBGS können auch als Hexamere existieren [17].

Die Aminosäuresequenzen der PBGS verschiedenster Herkunft (Sequenzierung der DNA) weisen grosse Ähnlichkeiten zwischen den verschiedenen untersuchten Enzymen auf [18]. Es zeigt sich im besonderen, dass jeweils ein Lysin in der active site aller bisher untersuchten Enzyme anzutreffen ist.

Die aus tierischen Zellen, Hefe und *E. coli* isolierten PBGS benötigen für deren maximale Aktivität  $Zn^{2+}$ -Ionen [19]. In der PBGS von Pflanzen sind diese  $Zn^{2+}$ -Ionen teilweise durch  $Mg^{2+}$  oder  $Mn^{2+}$  ersetzt [20,21]. Ein Teil der bekannten Enzyme verliert durch Zugabe von EDTA die katalytischen Eigenschaften [22]; dies lässt auf eine Anwesenheit von  $Zn^{2+}$  in der katalytisch aktiven Zone, dem sog. Zinkfinger [19], schliessen. Dieser ist bei aus Pflanzen isolierten PBGS nicht vorhanden.

Die PBGS katalysiert die Kondensation von zwei ALA-Molekülen zum Porphobilinogen (1). Es wird allgemein angenommen, dass ähnlich einer Knorr'schen Pyrrolsynthese folgende chemische Schritte durch das Enzym gesteuert werden:

- Iminbildung (C-N Verknüpfung)
- Aldol-Reaktion (C-C Verknüpfung)
- Abspaltung von  $H_2O$
- Aromatisierung (Deprotonierung)

Zur Abklärung des Reaktionsmechanismus ist die Reihenfolge dieser Teilschritte von grossem Interesse. Im gleichen Kontext drängen sich die Fragen der Abfolge der Substraterkennung (zuerst A- oder P-Seitenkette des Substrats (Abbildung 4)) und der effektiven katalytischen Steuerung (welche

Reaktionsschritte sind in der enzymatischen Reaktion geschwindigkeitsbestimmend?) auf.

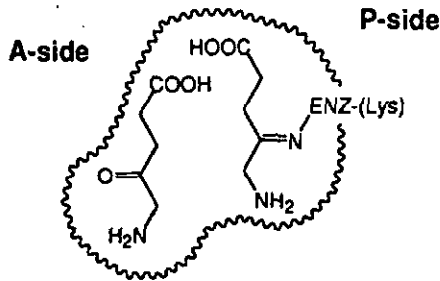


Abbildung 4: Schematische Darstellung der active site der PBGS .

### 2.2.2 Mechanismus der PBG-Biosynthese

Obwohl schon viel auf dem Gebiet der Aufklärung des PBGS-Enzymmechanismus geforscht wurde, konnte bis heute noch keine Reaktionssequenz experimentell restlos bestätigt (bzw. widerlegt) werden.

Trotzdem lässt sich eine Reihe von durchgeführten Experimenten auflisten, die zu einem besseren Verständnis des Mechanismus beigetragen haben. Die letzte Gewissheit wird allerdings vermutlich erst eine Röntgenstrukturanalyse des "aktiven" Enzyms bringen können. Aufgrund der Labilität der PBGS-Kristalle im Synchrotronstrahl und der Strukturveränderungen bei der Kristallisation von Metallderivaten blieben diese Versuche bis heute erfolglos.

Die folgenden Experimente helfen, mögliche Hypothesen über den Mechanismus der PBGS aufzustellen:

- *Shemin* bewies, dass ALA (2) im aktiven Zentrum über eine Schiff'sche Base an die PBGS gebunden wird. Radioaktives Substrat desaktivierte in Gegenwart von  $\text{NaBH}_4$  das Enzym; 2 wurde irreversibel an der PBGS fixiert [23,24].
- Anhand von puls-labelling Experimenten (100 ms) zeigte *Jordan* [25] einwandfrei, dass das erste Substratmolekül an der P-site als Schiff'sche Base gebunden wird. Je nach Vorbehandlung mit  $^{14}\text{C}(5)$ -ALA oder normalem Substrat wurde die Radioaktivität überwiegend an der Aminomethyl-Seitenkette (A-side) oder an C(2) des Pyrrolrings (P-side) eingebaut.
- Die Dissoziationskonstante von ALA für PBGS isoliert aus Rinderleber beträgt für die P-site  $3.8 \mu\text{M}$  und für die A-site  $242 \mu\text{M}$  [26].

- Freie Thiolgruppen sind entscheidend für die Aktivität des Enzyms. Bei der Zugabe von Iodacetat oder Iodacetamid (1 eq. pro Untereinheit) [27] verliert das ganze Enzym seine katalytische Aktivität. Die Fähigkeit,  $Zn^{2+}$  zu binden, scheint direkt von freien Thiolgruppen abhängig zu sein [28].
- *Jaffe* untersuchte die verschiedenen  $Zn^{2+}$ -Affinitäten der PBGS (zwei Dissoziationskonstanten:  $K_1 \leq 0.1 \mu M$ ;  $K_2 = 5.1 \mu M$ ) [26,29].
- 5-Chlorlävulinsäure (5-CLA) (5) wird irreversibel von der A-site gebunden (Suizidinhibitor) [30,31].

*Jaffe* konnte zeigen, dass das stark gebundene  $Zn^{2+}$  für die katalytische Aktivität der PBGS entscheidend ist [26]. Dieses scheint in der A-site zu liegen, denn die katalytisch inaktive, mit 5-CLA (5) modifizierte PBGS besitzt nur ein  $K = 5.0 \mu M$ . Damit ist in der A-site fast zwangsläufig ein stark gebundenes  $Zn^{2+}$ -Ion für die Katalyse vorhanden [26]!

- Das Enzym kann mittels Methanthiosulfonat vor der irreversiblen Alkylierung durch 5-CLA (5) geschützt werden. Dies impliziert, dass sowohl Methanthiosulfonat (bindet an die A-site) als auch 5-CLA (5) mit demselben Cystein der active site reagieren [26].
- Modifizierung von PBGS mit 5-CLA, ALA und  $NaBH_4$  zeigte in Elektrophorese-Untersuchungen kein cross-linking-Produkt (dargestellt in Abbildung 5).

Durch NMR-Studien, bei welchen modifizierte PBGS (5-CLA) mit  $[4-^{13}C]$  und  $[^{15}N]$ ALA umgesetzt wurde, konnten ebenfalls kein Kopplungsprodukt nachgewiesen werden (Abbildung 5).

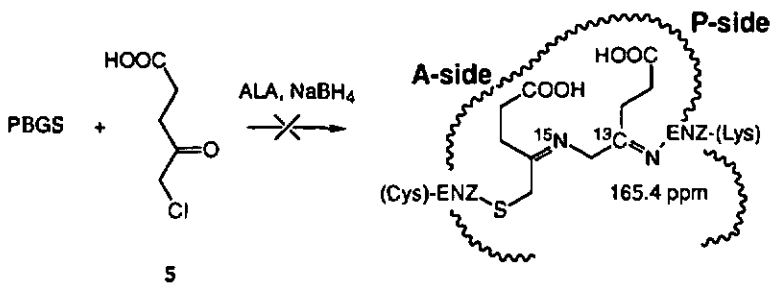


Abbildung 5: Alkylierung der A-site von PBGS mit 5-CLA und Reduktion der ausgebildeten Schiff'schen Base ( $NaBH_4$ ) ergibt kein cross-linking zwischen 5-CLA und ALA.

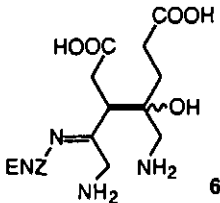
Die gemessenen NMR-Spektren zeigten zwar ein Signal bei 165.4 ppm (bekannte Iminbildung mit PBGS-Linienbreite 100 Hz), doch Anzeichen für eine weitere Schiff'sche Base zwischen 5-CLA (A-side) und dem gebundenen Substratmolekül (P-site) wurde nicht gefunden ( $\sim 353 \text{ ppm} \sim R-NH_3^+$ ) [26].

- Die Aromatisierung zum PBG (1) (Abstraktion des (pro-R) - Protons im letzten Reaktionsschritt), verläuft vermutlich enzymkatalysiert. *Akhtar* und *Abbud* konnten, ausgehend von  $^3\text{H}$ -markiertem Glycin, enzymatisch synthetisierte [5S- $^3\text{H}$ ]-ALA erhalten [32]. Diese wurde durch die PBGS selektiv in ein zweifach mit Tritium markiertes PBG überführt.

### 2.3 Vergleich der Mechanismen von *Jordan* und *Shemin*

In der Literatur wurden bis heute zwei grundsätzlich verschiedene Mechanismen vorgeschlagen. Der erste Vorschlag kam von *Shemin* im Jahre 1968 [24], der zweite von *Jordan* im Jahre 1980 [33]. Beide formulieren verschiedene Zwischenprodukte, die durch die unterschiedliche Reihenfolge der (C-C)- resp. der (C-N)-Bindungsknüpfung zustande kommen (Abbildung 6).

*Shemin*: zuerst (C-C)-Verknüpfung:



*Jordan*: zuerst (C-N)-Verknüpfung:

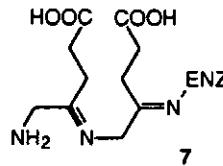
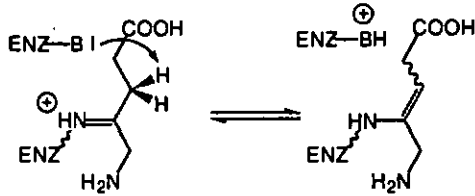


Abbildung 6: Unterschiedliche Zwischenprodukte nach *Shemin* und *Jordan* nach der ersten Bindungsknüpfung.

#### 2.3.1 Mechanismus nach *Shemin*

*Shemin* schlug in Analogie zu bekannten Aldolase-Mechanismen den in Abbildung 7 dargestellten Mechanismus vor. Er ging davon aus, dass in einem vorgelagerten Gleichgewicht zuerst das "chemisch unvorteilhaftere" Enamin gebildet wird (vermutlich durch eine nahe am C(3) positionierte Base). Dieses kondensiert mit der Ketogruppe des zweiten Substratmoleküls (P-side) in einer Aldolreaktion zum Zwischenprodukt 6. Nach der (C-C)-Verknüpfung erfolgt die  $\text{H}_2\text{O}$ -Abspaltung zum ungesättigten Ketimin. Durch intramolekulare Bildung eines Aminals mit der Schiff'schen Base der A-side wird der 5-Ring geschlossen. Als letzter Schritt erfolgt die Aromatisierung zum Porphobilinogen (1) (Abbildung 7).

Vorgelegerte, selektive Enamin-Bildung:



Aldol-Kopplung (C-C Verknüpfung), Zyklisierung zum Imin und Aromatisierung:

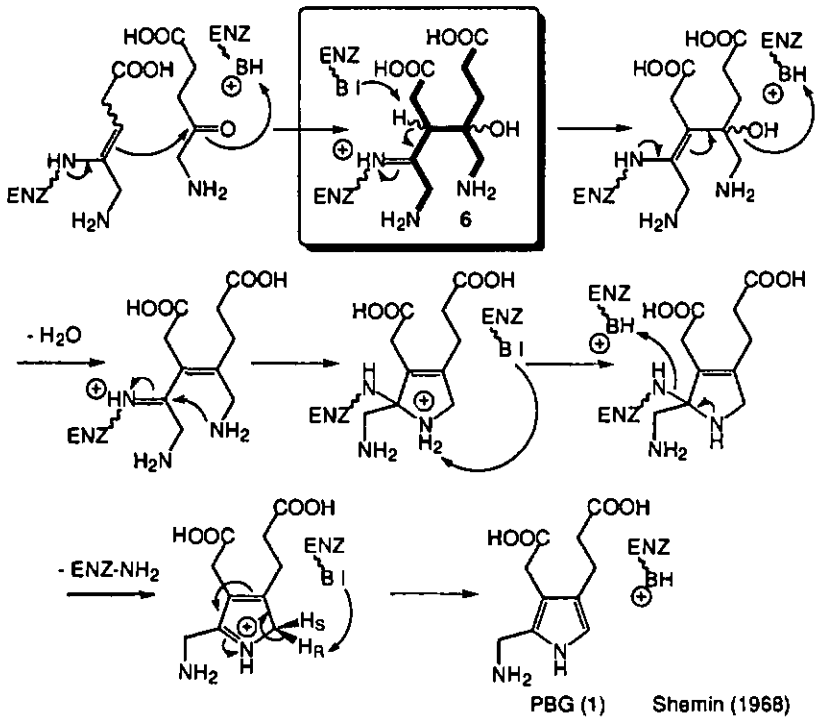


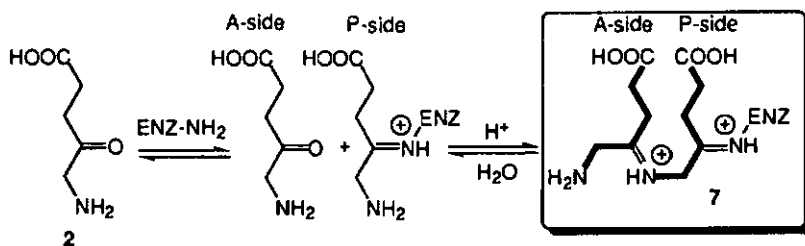
Abbildung 7: Vorgeschlagener PBGS-Mechanismus nach Shemin (1968).

2.3.2 Mechanismus nach Jordan

Jordan hat aufgrund der von seiner Gruppe durchgeführten  $^{14}\text{C}$ -single-turnover Experimente [25,33] zwei verschiedene Mechanismen postuliert, die beide davon ausgehen, dass ALA zuerst an die P-site der PBGS bindet [25]. Die beiden Mechanismen werden hier als Jordan I und Jordan II bezeichnet.

Gemäss Jordan I (Abbildung 8) bildet ALA mit dem Enzym eine Schiff'sche Base an der P-side aus. Die freie Aminogruppe des resultierenden Enzym-Substrat Komplexes reagiert unter nukleophilem Angriff mit der Carbonylgruppe des zweiten Substrats. Schliesslich erfolgt unter Aldolreaktion der Ringschluss. Abschliessende Aromatisierung ergibt das PBG (1).

C-N Verknüpfung:



Aldolreaktion und Aromatisierung zum PBG (1):

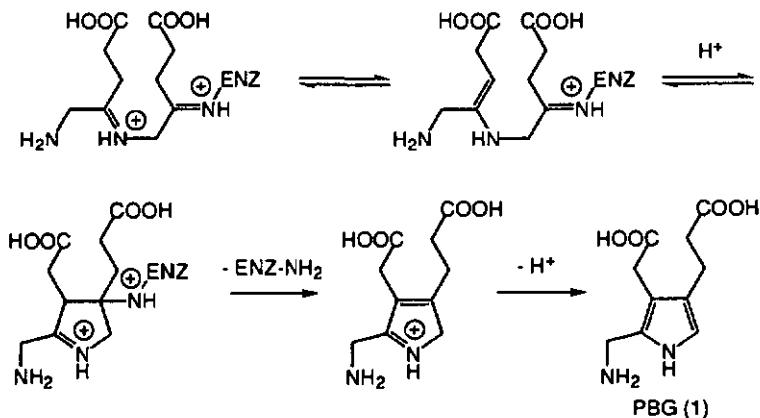
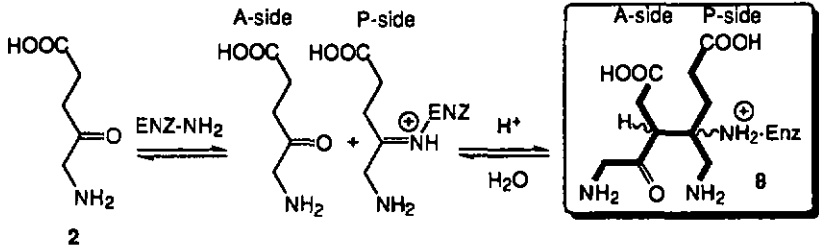


Abbildung 8: Mechanismus nach Jordan I.

Gemäss Jordan II [34] verläuft die Erkennung des ersten Substratmoleküls analog zum Jordan I Mechanismus, nämlich über die Bildung einer Schiff'schen Base an der P-Side. Entscheidend verschieden ist allerdings die Sequenz der folgenden Transformationen, denn beim zweiten Vorschlag von Jordan erfolgt zuerst die Aldolreaktion gefolgt von der Iminbildung (Abbildung 9).

C-C Verknüpfung:



C-N Verknüpfung und Aromatisierung zum PBG (1):

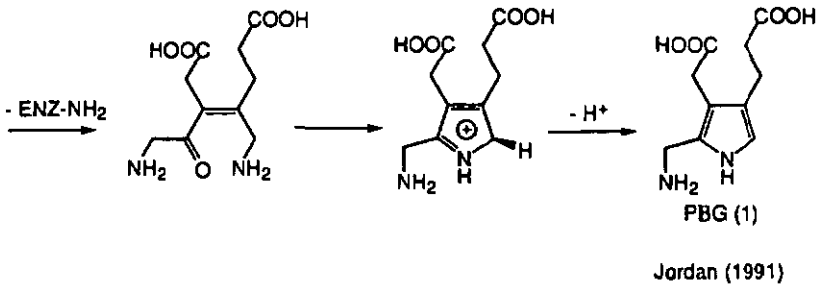


Abbildung 9: Mechanismus nach Jordan II.

## 2.4 Tyrosinämie/Inhibition der PBGS

Die Anwesenheit grösserer Konzentrationen von reaktiven Metaboliten in biologischen Systemen kann zu Störungen des Stoffwechsels führen. Dies trifft auch auf die beim Menschen auftretende Krankheit Tyrosinämie zu. Es handelt sich dabei um eine vererbare Krankheit, bei der die Betroffenen unter schwerwiegenden Fehlfunktionen der Leber und der Nieren leiden.

Die Ursachen dieser Krankheit liegen in der reduzierten Aktivität eines beim Tyrosin-Abbau beteiligten Enzyms (Fumaryl Acetoacetase, EC 3.7.1.2) (Abbildung 10) [35]. Die dadurch angereicherten Metabolite 9 und 10 führen schlussendlich zur Bildung der 4,6-Dioxoheptansäure (11), welche im Blut und im Urin der Patienten nachgewiesen werden kann.

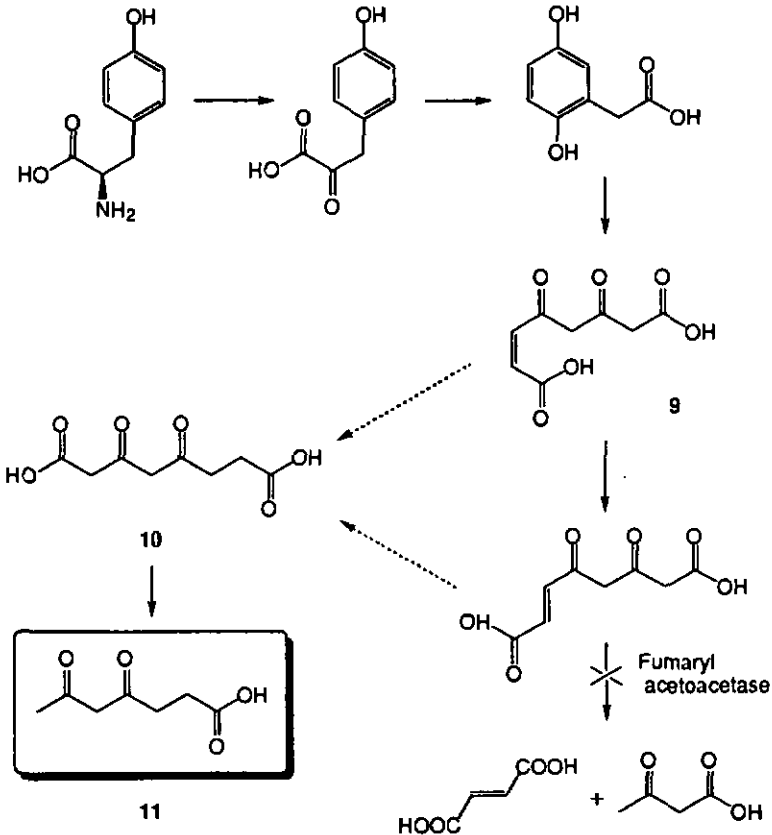


Abbildung 10: Anreicherung der 4,6-Dioxoheptansäure (11) aufgrund des gestörten Tyrosin-Abbaus.

Genauere Untersuchungen der neurologischen Störungen von Tyrosinämie-Patienten ergaben, dass dieselben Störungen auch bei Porphyrrie-Patienten (gestörte Häm-Biosynthese mit neuropathologischen und dermatologischen Störungen [36]) auftreten. Zusätzlich kann sich bei Tyrosinämie-Patienten eine Porphyrrie ausbilden. Somit liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei der 4,6-

Dioxoheptansäure (11) um einen potentiellen Inhibitor der PBGS handelt. Dafür spricht auch eine abnormale Ausscheidung von ALA bei Tyrosinämie-Patienten [35].

## 2.5 Biomimetik

Der Begriff Mimetik beschreibt die Kunst des Nachahmens. Nach C. F. Gebelein bedeutet Biomimetik das Nachahmen einer spezifischen biologischen Funktion. Das Ziel der Biomimetik ist es, biologisch nützliche Stoffe ohne Hilfe von lebenden Systemen zu synthetisieren [152].

Nach *Breslow* [37,38] ist die biomimetische Chemie ein Zweig der organischen Chemie, bei der ein enzymkatalysierter postulierter Biosynthese-Mechanismus durch eine Laborsynthese imitiert wird. Das Ziel der Biomimetik ist es, die organische Synthese einer Verbindung so weit zu verbessern, dass diese auf eine möglichst effiziente Art und Weise zugänglich wird. Konkret werden zur biomimetischen Synthese nicht einfach postulierte Biosynthesen imitiert, sondern es werden "Reagens-Substrat-Komplexe" verwendet, welche die Enzym-Substrat-Komplexe der Biosynthese imitieren.

*Breslow* entwickelte mehrere "Molekül-Substrat-Komplexe" und wandte sie mit Erfolg auf die Lösung einiger Selektivitätsprobleme in der organischen Chemie an. Bei der Auswahl eines solchen Systems trug er den Eigenschaften von Enzymen Rechnung:

- Biochemische Reaktionen verwenden Enzyme, um die Substrate zu fixieren und richtig zu orientieren. Biochemische Selektivität beruht normalerweise auf einer günstigen Anordnung (richtige Geometrie und Distanz) in der active site.
- Jede Selektivität ist das Resultat einer ausgewählten Reaktivität gewisser Substratregionen und/oder einer sterischen Hinderung, welche gewisse Angriffe verunmöglicht oder verschlechtert.

### 3. PROBLEMSTELLUNG

#### 3.1 Im Allgemeinen

Ein Projekt unserer Forschungsgruppe befasst sich mit der Aufklärung des Biosynthesemechanismus von PBG (1). Dazu werden Enzym-Inhibitionsstudien (PBGS) mit synthetisierten Substrat-, Zwischenprodukt-, und Produktanalogen durchgeführt.

Gleichzeitig versuchen wir eine möglichst kurze Synthese des Porphobilinogens (1) zu entwickeln. Dazu wird ein Syntheseweg ähnlich demjenigen der Biosynthese der "Pigments of Life" beschritten. Dies geschieht in der Ueberzeugung, dass es sich hier um den "kürzesten und auch potentesten" Zugang zu PBG und den Tetrapyrrolen handelt.

Als Synthesebasis unserer Arbeiten verwenden wir den von *Shemin* 1968 postulierten Mechanismus der PBGS (Kap. 2.3.1). Die von uns angestrebte chemische Synthese soll möglichst dem von *Shemin* postulierten PBGS-Enzymmechanismus folgen. Dies bedeutet, dass dieselben Reaktionen wie bei der enzymkatalysierten Transformation und das zentrale Zwischenprodukt 6 (vergl. Abbildung 11) in unserer biomimetischen Synthese verwendet werden.

**PBGS-Mechanismus nach *Shemin*:**

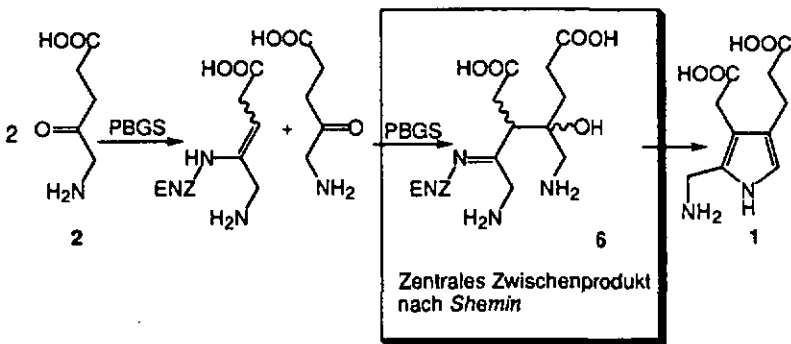


Abbildung 11: Der Vorschlag von *Shemin* als Basis unserer biomimetischen Synthese.

Der Mechanismus von *Shemin* wurde von uns als Basis für unsere Synthese gewählt, weil dabei der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, nämlich die C-C Verknüpfung, am Anfang der Synthesesequenz erfolgt. In diesem Zusammenhang stellen wir uns zusätzlich die Frage, ob es sich bei der PBGS um eine Aldolase handeln könnte.

A. *Chaperon* erarbeitete im Rahmen seiner Dissertation [103], aufbauend auf den Dissertationen von H. *Bertschy* [102] und A. *Meunier* [65] die in Abbildung 12 dargestellt biomimetische Synthese des geschützten PBG-Vorläufers 16. (Abbildung 12).

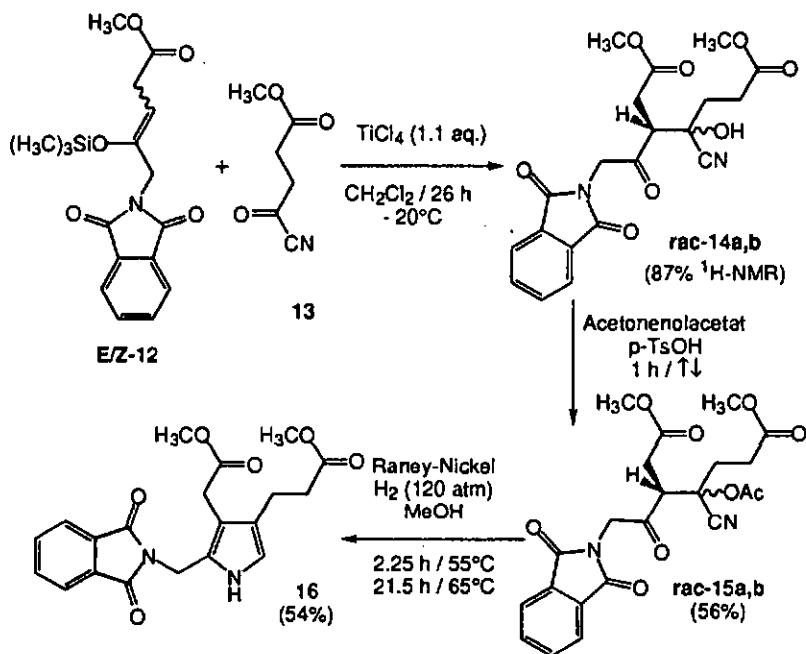


Abbildung 12: Synthese des geschützten PBG-Derivats **rac-14 a,b** ausgehend vom Silylenol ether **E/Z-12** und dem Acylcyanid **13** nach A. *Chaperon*.

Bei dieser Synthese wird der Silylenolether **12** mit dem Acylcyanid **13** in einer gerichteten Aldolreaktion vom Typ *Mukaiyama* zum Zwischenprodukt-analogen Cyanhydrin **rac-14a,b** umgesetzt (vergl. Abbildung 13). Nach dem Schützen mittels Acetylierung wird unter Reduktion zyklisiert, wodurch das geschützte PBG-Derivat **16** resultiert.

Da die Reproduzierbarkeit der *Mukaiyama* Reaktion unbefriedigend und die abschliessende Hydrolyse zum freien PBG (1) äusserst schwierig war, mussten Zusatzstudien über diesen eleganten Syntheseweg gemacht werden.

### 3.2 Im Speziellen

#### 3.2.1 Synthese von Zwischenproduktanalogen nach *Shemin* und *Jordan*

Nach unserer Arbeitshypothese erwarteten wir aufgrund der strukturellen Verwandtschaft der 4,6-Dioxoheptansäure (11) mit den von *Shemin* und *Jordan* postulierten Zwischenproduktanalogen vergleichbar ähnliche Inhibitionsresultate (Abbildung 13).

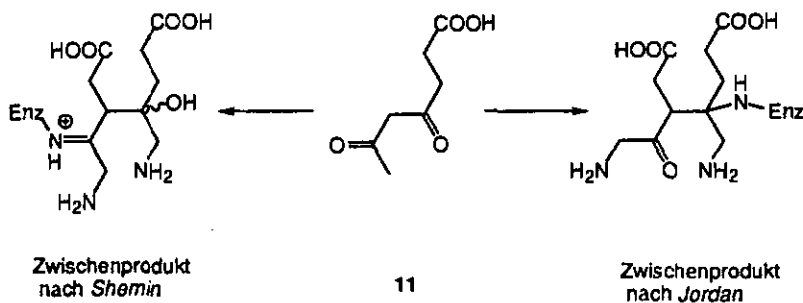


Abbildung 13: Strukturelle Ähnlichkeit der 4,6-Dioxoheptansäure (11) mit den Zwischenproduktanalogen nach *Shemin* und *Jordan*.

Unter dem gleichen Gesichtspunkt wurden diverse Derivate der 4,6-Dioxoheptansäure (11) synthetisiert. Mittels Inhibitionsstudien dieser Derivate erhoffen wir uns, Zusatzinformationen über den Mechanismus der PBG-Biosynthese zu gewinnen.

#### 3.2.2 Synthese von Produktanalogen

Neben Inhibitionsstudien der PBGS durch die 4,6-Dioxoheptansäure (11) existieren in der Literatur Aussagen über die Inhibitionswirkung des Kondensationsproduktes (17) aus 4,6-Dioxoheptansäure (11) und ALA (2) (Abbildung 14), die nicht eindeutig interpretierbar sind (Kap. 4.1).

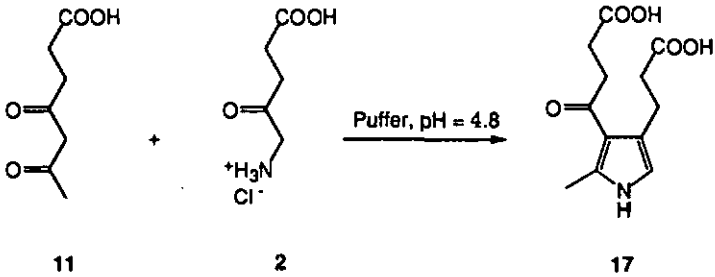


Abbildung 14: Kondensation der 4,6-Dioxoheptansäure (11) mit ALA (2) zum Pyrrol (17).

Wir interessieren uns deshalb für einen synthetischen Zugang zum Pyrrol (17). Im gleichen Rahmen sollen weitere verwandte Modellverbindungen synthetisiert und auf deren Inhibitionswirkung untersucht werden.

### 3.2.3 Biomimetische PBG-Synthese

Die problematische Reproduzierbarkeit der gerichteten *Mukaiyama* Aldolreaktion veranlassten uns, Zusatzstudien über die Reaktionsparameter (Trocknung der Lösungsmittel, Handhabung des  $TiCl_4$ ) zu machen. Aufgrund der Säurelabilität von PBG (1) suchten wir nach einer milden Entschützungsmethode des geschützten PBG-Derivates 16. Dazu schien uns die Verwendung einer enzymatischen Hydrolysereaktion ideal (Kap. 4.4.2) (Abbildung 15).

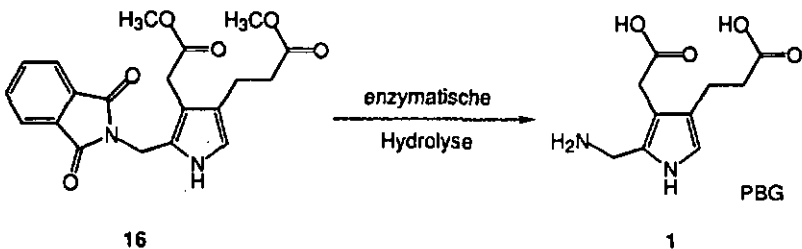


Abbildung 15: Entschützen des Phthalimido-PBG (16) zum PBG (1).

## 4. THEORETISCHE GRUNDLAGEN

### 4.1 Inhibition der PBGS durch 4,6-Dioxoheptansäure

*Lindblad et al.* [35] untersuchten in den siebziger Jahren den Urin von Patienten, die an vererbbarer Tyrosinämie litten (siehe Kap. 2.4). Dabei gelang es, die beiden abnormalen Abbauprodukte des Tyrosins, die 4,6-Dioxoheptansäure (11) und die 3,5-Dioxooktan-1,8-disäure (10) zu isolieren. Zusätzlich konnte ein hoher Gehalt von ausgeschiedener 5-Aminolävulinsäure (ALA) (2) und eine stark verminderte Aktivität (< 5 %) der Porphobilinogensynthase (PBGS) beobachtet werden. Diese Beobachtungen führten *Lindblad et al.* zur Annahme, dass die beiden 1,3-Diketone als Inhibitoren der PBGS wirken.

Diese Vermutung konnte wenig später von *P. Ebert* und seiner Gruppe bestätigt werden [39]. Sie untersuchten die Wirkungsweise der 4,6-Dioxoheptansäure (11) in Erythroleukämie-Zellen (*in vivo* und *in vitro*) im Hinblick auf die folgenden drei Punkte:

- a.) Inhibition der PBGS
- b.) Erniedrigung der Häm-Biosynthese
- c.) Wachstum der Erythroleukämie-Zellen

Es zeigte sich, dass bereits sehr kleine Konzentrationen ( $10^{-8}$ M) von 4,6-Dioxoheptansäure (11) zu einer messbaren Inhibition führen. Es konnte zusätzlich gezeigt werden, dass es sich in Rattenleberzellen um eine irreversible Inhibition handelt.

Durch die Inhibition der PBGS bewirkt die 4,6-Dioxoheptansäure (11) eine signifikante Verminderung der Hämoglobinmenge. Gleichzeitig resultiert eine Anreicherung von ALA (2). Langzeitstudien über sieben Tage zeigten, dass sich die Zellen nicht mehr regenerieren können. Die verminderte Hämmenge führte schliesslich zu einem verlangsamten Wachstum der Erythroleukämie-Zellen. Sank die Hämmenge unter 10 pmol / mg Protein, kam es zu einem raschen Absterben der Zellen.

Vergleichbare Beobachtungen wurden von *Meller* und *Gassman* gemacht [40]. Sie untersuchten die Inhibitionswirkung der 4,6-Dioxoheptansäure (11) auf

wachsende Gerstenpflanzen (*in vivo* und *in vitro*). Dazu isolierten sie die PBGS aus getrockneten Blättern nach einer Methode von *Nandi* und *Waygood*.

Es zeigte sich ebenfalls, dass die 4,6-Dioxoheptansäure (11) zu verminderter PBG-Biosynthese und zu einer Akkumulation von ALA (2) führte.

Detailliertere, quantitative Inhibitionsstudien (*in vivo* und *in vitro*) wurden durch *Brumm* und *Friedman* mit aufgereinigter PBGS, isoliert aus *Clostridium tetanomorphum*, durchgeführt [41]. In Abhängigkeit der Konzentration der 4,6-Dioxoheptansäure (11) wurden zwei unterschiedliche Inhibitionskonstanten  $K_i$  bestimmt. Diese Beobachtung führte zur Hypothese, dass in Abhängigkeit der Konzentrationen des Inhibitors relativ zu ALA zwei unterschiedliche Inhibitoren vorliegen müssen.

Bei Inhibitionsstudien, die mit hohen Konzentrationen von 4,6-Dioxoheptansäure (11) (5 mM,  $c(\text{ALA}) = 0.5 \text{ mM}$ ) in Anwesenheit von geringeren Mengen ALA (2) durchgeführt wurden, konnte eine kompetitive Inhibition ( $K_i = 400 \mu\text{M}$ ) beobachtet werden. Sinnvollerweise kommt dafür nur die 4,6-Dioxoheptansäure (11) als kompetitiver Inhibitor in Frage.

Wurden die Inhibitionsstudien mit hohen, vergleichbaren Konzentrationen von 11 und 2 durchgeführt, konnte eine deutlich stärkere kompetitive Inhibition festgestellt werden ( $K_i = 5 \mu\text{M}$ ). *Brumm* und *Friedman* schlagen deshalb das Knorr-artige Pyrrolkondensationsprodukt (17) (Abb. 16) aus 4,6-Dioxoheptansäure (11) und ALA (2) als zweiten deutlich stärkeren kompetitiven Inhibitor vor. Dieses Kondensationsprodukt wurde aus dem Reaktionsgemisch ohne Reinigung ausgefällt! Die Inhibitionsstudien wurden mit dem Gemisch durchgeführt. Diese Untersuchungen sind experimentell problematisch, da sowohl der Inhibitor als auch das PBG (1) mit dem Ehrlich-Reagens reagieren. Die Autoren geben in ihrer Publikation nicht an, wie diese störende Absorption korrigiert worden ist. Unsere Erfahrungen zeigen, dass bei solchen Reaktionen die Resultate extrem unreproduzierbar werden. Die Schlussfolgerungen von *Brumm* und *Friedman* sind deshalb mit äußerster Vorsicht zu betrachten.

*Brumm* und *Friedman* postulierten, dass die Inhibition durch das während der Reaktion gebildete Pyrrol 17 auf dessen strukturellen Ähnlichkeit mit dem Substrat beruht. Dieses Postulat basiert auf den beiden folgenden Beobachtungen:

- PBG zeigt keine Inhibition der PBGS isoliert aus *Clostridium tetanomorphum*,
- Viele substratanaloge PBGS-Inhibitoren besitzen eine Succinylgruppe als gemeinsames Strukturmerkmal (Abb. 16).

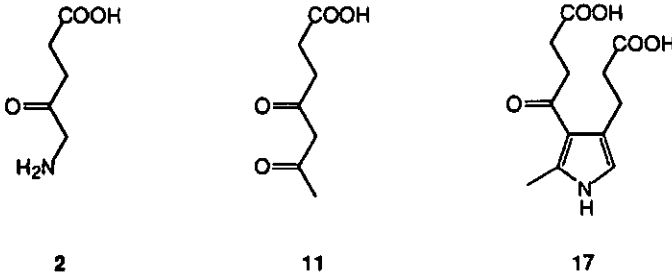


Abbildung 16: Strukturvergleich der beiden Inhibitoren (11, 17) mit dem Substrat (2) nach Brumm et al [41].

Diese vorangegangenen Arbeiten motivierten uns, verschiedene 1,3-Diketone und deren Derivate zu synthetisieren, um damit Inhibitionsstudien durchzuführen.

Gegen Ende dieser Dissertation (1997) wurden von Shoolingin-Jordan und seiner Gruppe aktuelle Inhibitionsstudien der 4,6-Dioxoheptansäure (11) publiziert [42]. Sie konnten zeigen, dass eine 4 mM 4,6-Dioxoheptansäurelösung zum vollständigen Aktivitätsverlust der PBGS aus *E. coli* und aus Erbsen (*Pisum sativum*) führte. Zusätzlich konnten sie mittels Elektronenspray-Massenspektroskopie den Enzym-Inhibitor-Komplex analysieren. Dazu mussten sie allerdings zuerst den Enzym-Inhibitor-Komplex reduzieren. Shoolingin-Jordan und seine Gruppe schlossen aus ihren Beobachtungen, dass die 4,6-Dioxoheptansäure (11) über eine Schiff'sche Base an ein Lysin der P-site der PBGS gebunden ist.

## 4.2 Die Chemie von 1,3-Diketonverbindungen

### 4.2.1 Synthese von 1,3-Diketonverbindungen

Die für diese Arbeit wichtige 4,6-Dioxoheptansäure (11) konnte über zwei verschiedene Synthesewege erhalten werden:

a.) Kondensation über das Dianion 18:

Das asymmetrische 1,3-Diketon (11) lässt sich selektiv aus dem Dianion von Acetylaceton (18) mittels nukleophiler Substitution der Halogenverbindung 19 herstellen [43] (Abb. 17).

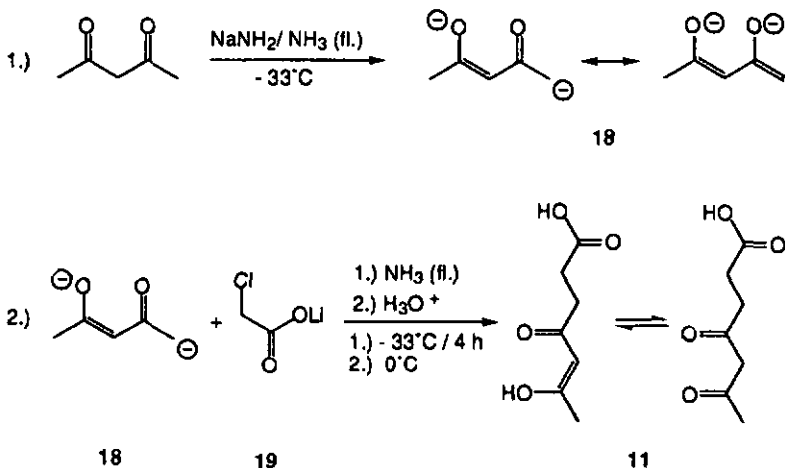


Abbildung 17: Synthese der 4,6-Dioxoheptansäure (11) über das Dianion 18.

Dabei wird das Dianion 18 *in situ* (2Aeq.  $\text{NaNH}_2$  in  $\text{NH}_3$ (fl.)) gebildet, mit dem Halogenderivat 19 zur Reaktion gebracht und schliesslich zum Produkt 11 hydrolisiert.

b.) Kondensation über den Mg-Komplex 20:

Der 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) kann selektiv aus dem Magnesium-enolat-Komplex von Acetessigsäure-tert.-butylester (20) und dem Säurehalogenid 21 synthetisiert werden. Durch die anschliessende Hydrolyse kann das Zwischenprodukt 22 isoliert werden, welches schliesslich unter Elimination

und anschliessender Decarboxylierung zum 1,3-Diketon 23 umgewandelt wird [44] (Abb. 18).

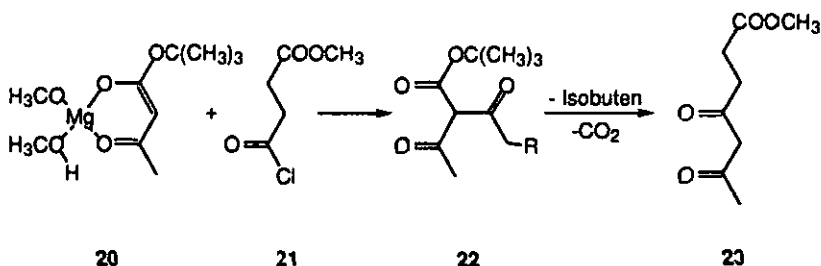


Abbildung 18: Synthese des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) über den Magnesiumkomplex 20.

Der 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) kann anschliessend zur 4,6-Dioxoheptansäure (11) hydrolysiert werden (Schweineleber-Esterase).

Ausgehend vom 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (11) wurden durch Kondensationsreaktionen verschiedene Inhibitoren synthetisiert. Die theoretischen Grundlagen dieser Synthesen sind in den folgenden Kapiteln beschrieben.

#### 4.2.2 Synthese von $\beta$ -Ketoenaminen

Gelin und Rouet [45] konnten zeigen, dass durch direktes Einleiten von Ammoniak in 4,6-Dioxoheptansäureethylester (24) selektiv der 6-Amino-4-oxo-5-heptensäureethylester (25) gebildet wird (Abbildung 19).

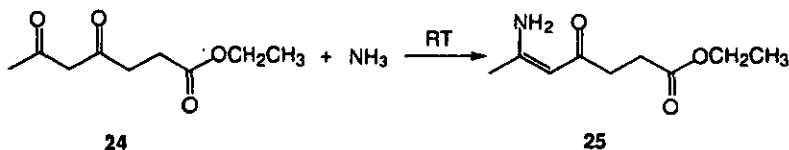


Abbildung 19: selektive Synthese des 6-Amino-4-oxo-5-heptensäureethylesters (25).

Die unterschiedliche Reaktivität der beiden Carbonylfunktionen führt offenbar zur selektiven Reaktion mit Ammoniak. Zur Einführung der Aminogruppe in die unreaktivere Position des 1,3-Diketons muss zuerst der entsprechende Isoxazolvorläufer selektiv synthetisiert werden (Kap. 4.2.3). Durch

anschliessende Reduktion kann schliesslich das gewünschte Produkt erhalten werden (Kap. 4.2.4).

#### 4.2.3 Synthese von Isoxazolen

Isoxazole können durch zyklische Kondensation aus 1,3-Diketonverbindungen mit Hydroxylamin hergestellt werden. Die Reaktion erfolgt über einen nukleophilen Angriff der Aminogruppe auf eine der beiden  $\beta$ -ständigen Carbonylfunktionen unter Ausbildung des Monoxims. Durch die folgende Zyklisierung und anschliessender Aromatisierung resultiert die Isoxazolbildung. Die Verwendung von Acetylaceton als 1,3-Diketonverbindung führt zur Bildung eines einzigen Isoxazols (26) (Abb. 20).

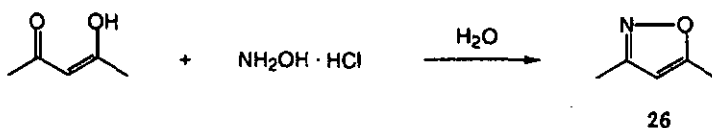


Abbildung 20: Isoxazolbildung (26) aus Acetylaceton und Hydroxylaminhydrochlorid.

Die Verwendung unsymmetrischer 1,3-Diketonverbindungen führt im allgemeinen zu Isomergemischen, deren Trennung oft recht problematisch ist. Durch asymmetrisches Einführen von elektronenziehenden Gruppen, pH-Variation und asymmetrischer sterischer Hinderung kann die Regioselektivität der Isoxazolbildung erhöht werden [46]. Ein Beispiel dafür stellt die Isoxazolbildung aus dem 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) mit Hydroxylamin dar (Abb. 21).

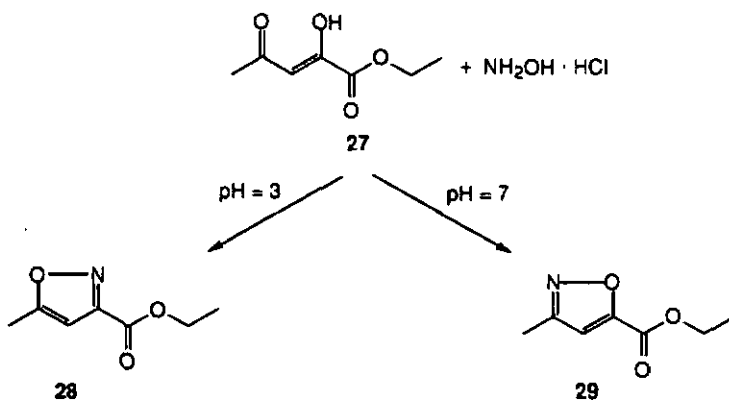


Abbildung 21: Regioselektive Isoxazolbildung (28, 29) in Abhängigkeit des pH-Werts.

Dannhardt *et al.* [46] konnten zeigen, dass die Regioselektivität der Isoxazolbildung aus 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) und Hydroxylamin stark vom pH-Wert der Reaktionslösung abhängt. Je tiefer der pH-Wert liegt, desto selektiver findet der Hydroxylamin-Angriff am C(2) statt, wodurch sich das Isoxazolisomere (28) bevorzugt bildet (Verhältnis 28 : 29 = 9 : 1 bei pH = 0). Nähert sich der pH-Wert hingegen neutralen Bedingungen, so lässt sich eine erhöhte Selektivität des Hydroxylamin-Angriffs am C(4) feststellen, wodurch bevorzugt das Isoxazolisomere (29) resultiert. Allgemein lässt sich sagen, dass die Selektivität eines nukleophilen Angriffs auf ein unsymmetrisches 1,3-Diketon stark von der unterschiedlichen Natur der Substituenten und dem pH-Wert der Reaktionslösung abhängt.

Eine selektive Isoxazol-Synthese wurde von Barco *et al.* [47] beschrieben. Dabei wird das gewünschte Isoxazolgerüst 32 mittels einer [3 + 2] Cycloaddition synthetisiert. Zur Cycloaddition vom Typ C-C + C-N-O wurde das Alkinderivat 30 (C-C-Komponente) mit dem *in situ* hergestellten Nitriloxidderivat 31 (C-N-O-Komponente) verwendet (Abb. 22).

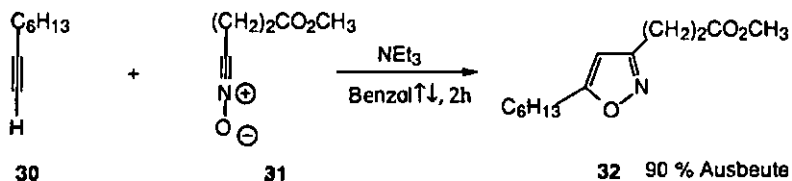


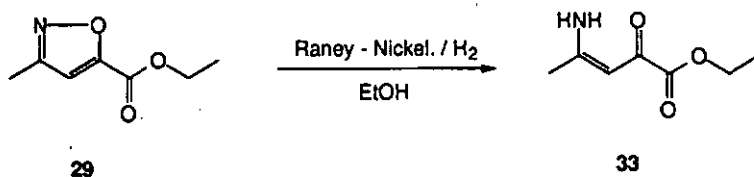
Abbildung 22: Regioselektive Isoxazolbildung (32) nach Barco *et al.*

Diese Synthesestrategie eignet sich gut zur selektiven Gewinnung von Isoxazolen, deren Substituenten sehr ähnlich sind.

#### 4.2.4 Synthese von $\beta$ -Ketoenaminen aus Isoxazolen

$\beta$ -Ketoenamine können aus den entsprechenden Isoxazolen durch Reduktion gewonnen werden. Diese Reduktion kann unter einer Wasserstoffatmosphäre (Normal- oder Ueberdruck) in Anwesenheit katalytischer Mengen von PtO<sub>2</sub> oder Raney-Nickel bei Raumtemperatur durchgeführt werden.

*d' Alcontres et al.* [48] überführten das Isoxazol 29 mittels Raney-Nickel und Wasserstoff ins entsprechende Ketoenamin 33 (Abb. 23).

Abbildung 23: Synthese des Ketoenamins 33 nach d'Alcontres *et al.*

Häufig liegen die aus einem 1,3-Diketon und Hydroxylamin synthetisierten Isoxazole als Isomerengemische vor (Kap. 4.2.3). Die durch die Hydrogenolyse resultierenden  $\beta$ -Ketoenamine sind in ihrer Polarität meist sehr ähnlich und damit mittels Säulenchromatographie nicht leicht trennbar. Daraus folgt, dass zur Gewinnung der einzelnen Isomeren deren Synthese möglichst selektiv durchgeführt werden muss.

Die einfachste Methode zur selektiven  $\beta$ -Ketoenamin-Synthese ist die Reaktion von Ammoniak mit der reaktiveren Carbonylfunktion eines  $\beta$ -Diketons (Kap. 4.2.2). Bei der Verwendung von  $\beta$ -Diketonen, deren Carbonylfunktionen eine sehr ähnliche Reaktivität besitzen, muss allerdings eine andere Strategie gewählt werden (z.B. selektives Schützen einer der beiden Carbonylfunktionen). Dies gilt ebenfalls für die Enaminbildung an der weniger reaktiven Carbonylfunktion.

Eine Möglichkeit die Aminofunktion in die unreaktivere Position einzuführen besteht darin, das entsprechende Isoxazol (Vorläufer) durch Cycloaddition selektiv zu synthetisieren (siehe Kap. 4.2.3). Durch anschließende Reduktion (Hydrierung) des Isoxazols kann dann das gewünschte  $\beta$ -Ketoenamin selektiv erhalten werden.

#### 4.2.5 Sauerstoffalkylierungsreaktionen von 1,3-Diketonen

1,3-Diketone können mit Orthoameisensäuretrimethylester in Anwesenheit katalytischer Mengen von *p*-Toluolsulfonsäure in die entsprechenden Methylenolether überführt werden.

*Takahashi et al.* [49] überführten das symmetrische 1,3-Diketon 34 mittels Orthoameisensäuretrimethylester in Methanol (säurekatalysiert) in den entsprechenden Enolether 35 (Abb. 24).

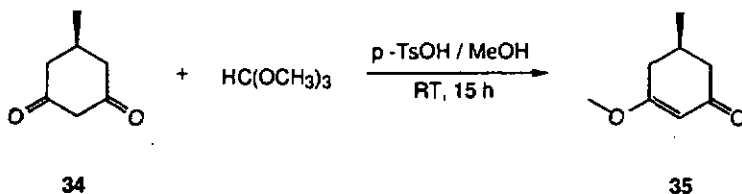


Abbildung 24: Synthese des Enolethers 35.

#### 4.2.6 Synthese von $\alpha,\beta$ -ungesättigten $\beta$ -Chlorketonen

Eine effiziente Synthese von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\beta$ -Chlorketonen (ausgehend von  $\beta$ -Diketonen) kann durch die Verwendung von 2 Äquivalenten Oxalylchlorid bei einer Reaktionstemperatur von 60–70 °C realisiert werden. Clark *et al.* [50,51] konnten mittels dieser Methode Ausbeuten von 70–90 % erzielen (Abb. 25).

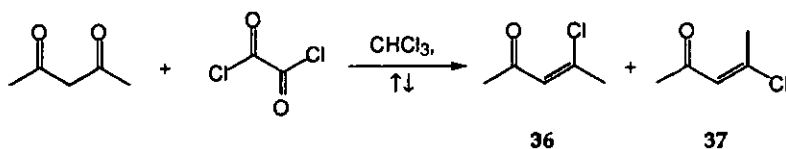


Abbildung 25: Synthese der Regioisomere 36, 37.

Die Verwendung von symmetrischen, azyklischen  $\beta$ -Diketonen führt zur Bildung der E-/Z-Diastereoisomeren 36 und 37.

Werden asymmetrische zyklische  $\beta$ -Diketone verwendet, resultieren 2 Regioisomere. Symmetrische, zyklische  $\beta$ -Diketonen ergeben ein einziges Produkt.

Eine weitere Synthesemethode von Sugita *et al.* [52] ermöglicht den Zugang zu den beiden regioisomeren  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\beta$ -Chlorketonen 39, 40 ausgehend von asymmetrischen zyklischen  $\beta$ -Diketonen 38 (Abbildung 26). Dabei wird das asymmetrische  $\beta$ -Diketon (R, R' = Alkylreste) in Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff mit 2 Äquivalenten Triphenylphosphin versetzt und bei 60 °C während 6 Stunden gerührt. Die Ausbeuten variieren dabei zwischen 27 und 100 %.

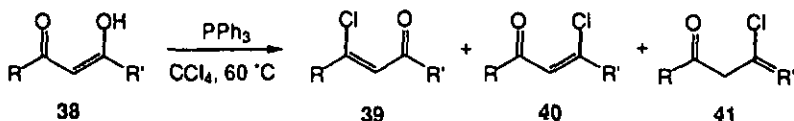


Abbildung 26: Synthese der Regioisomere 39, 40.

Bei der Verwendung von  $\beta$ -Diketonen, bei welchen R = Methyl und R' ein verzweigter Alkylrest ist, führen die verwendeten Reaktionsbedingungen zur Bildung von 39 und 40, welches allerdings beinahe vollständig zu 41 isomerisiert.

#### 4.2.7 Silylierung von $\beta$ -Diketonen

Die silylierten 1,3-Diketonverbindungen wurden nicht in Hinblick auf Inhibitionsstudien synthetisiert, sondern sollten auf ihre Anwendbarkeit zur Pyrrolsynthese getestet werden.

Aus der Literatur sind die folgenden Standard-Silylierungsmethoden bekannt: Verwendung einer starken Base/Trimethylchlorsilan [53,54]; tertiäre Amine/Trimethylchlorsilan [53,54]; Bis(trimethylsilyl)acetamid [55]; Triethylsilylthiobenzol [56]; Ethyltrimethylsilylacetat/Tetra-*n*-butylammoniumfluorid [57]; Trimethylsilyltrifluoromethansulfonat [58]. Obwohl  $\beta$ -Diketone im Gleichgewicht mit ihrer entsprechenden Enolform vorliegen und deshalb leicht silylierbar sein müssten, führt die Silylierung mittels Standardmethoden nur zu unbefriedigenden Resultaten. Im allgemeinen lässt sich sagen, dass bei der Verwendung der Standardmethoden die Ausbeuten schlecht sind, meistens findet sogar überhaupt keine Reaktion statt.

Nach Torkelson und Ainsworth [59] lassen sich 1,3-Dicarbonylverbindungen aber dennoch in sehr guten Ausbeuten (90–96%) in die entsprechenden Trimethylsilylether überführen. Bei dieser einfachen und relativ schnellen Reaktion wird die 1,3-Dicarbonylverbindung in Hexamethyldisilazan (HMDS) in Anwesenheit von katalytischen Mengen Imidazol während 1.5–2 Stunden rückflusiert.

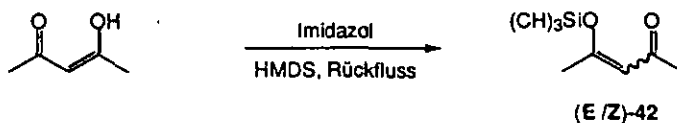


Abbildung 27: Synthese der Silylenoether (E / Z)-42.

Die Verwendung von zyklischen, symmetrischen bzw. asymmetrischen  $\beta$ -Diketonen führt zur Bildung eines einzigen Produkts. Werden hingegen azyklische, symmetrische bzw. asymmetrische  $\beta$ -Diketone verwendet, resultiert ein Gemisch der beiden Diastereoisomeren (E / Z)-42.

### 4.3 Pyrrolsynthesen

Neben der Synthese von Zwischenproduktanalogen nach *Shemin* (Kap. 3.2.1) wurden in dieser Arbeit auch produktanaloge Pyrrolderivate synthetisiert.

#### 4.3.1 Die *Hantz'sche* Pyrrolsynthese

Bei der *Hantz'schen* Pyrrolsynthese wird das  $\alpha$ -Haloketon 43 in wässriger Ammoniaklösung oder in Gegenwart eines primärenamins mit dem  $\beta$ -Ketoester 44 zum Pyrrol 47 kondensiert. Mittels dieser Synthese können tri-, resp. dialkylierte Pyrrole hergestellt werden, welche durch mindestens einen elektronenziehenden Substituenten stabilisiert sind (siehe Abbildung 28).

Der Mechanismus (Reaktion A) dieser Reaktion verläuft über eine nukleophile Substitution des Halogenids durch das deprotonierte Enolat des Diketons 44. Das resultierende 1,4-Diketon 45 zyklisiert anschliessend *Paal-Knorr*-artig zum Pyrrol 47. Dieser mechanistische Vorschlag wurde durch die Isolierung und Charakterisierung des Enaminketon-Zwischenproduktes 46 erhärtet [60].

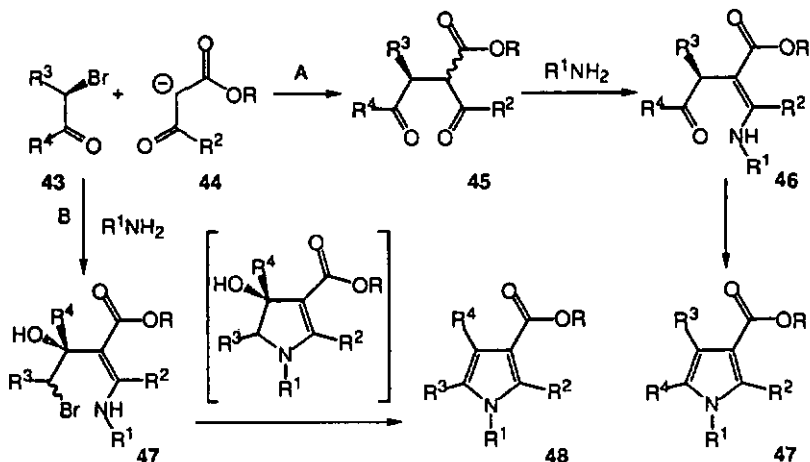


Abbildung 28: Beispiel einer *Hantz'schen* Pyrrolsynthese.

In gewissen Fällen kann das Produkt 48, entstanden durch das Vertauschen der Substituenten R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup>, beobachtet werden (Reaktion B). Dies deutet auf eine Addition des Enolats an die Carbonylgruppe des Haloketons zum Zwischenprodukt 47 hin [61].

#### 4.3.2 Die Knorr'sche Pyrrolsynthese

Die Knorr'sche Pyrrolsynthese ermöglicht durch ihre breite Variationsfähigkeit den Zugang zu einer grossen Vielfalt von substituierten Pyrrolen [1].

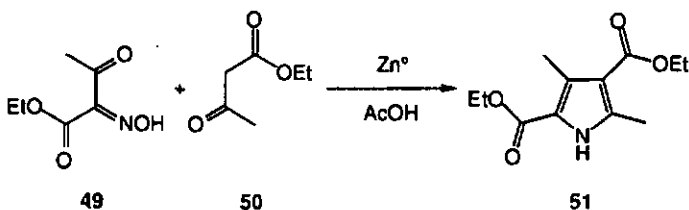


Abbildung 29: Synthese des Pyrrols 51 nach Knorr.

Bei der ursprünglichen Variante der Knorr'schen Pyrrolsynthese [62] wird die Kondensation eines  $\alpha$ -Aminoketons (z.B. *in situ* hergestellt aus dem Oxim 49) und einer 1,3-Dicarbonylverbindung (z.B. 50) in Eisessig bei 60–80°C eingesetzt. Da  $\alpha$ -Aminoketone zur Selbstkondensation zu Dihydropyrazinen neigen, wird die Aminoketon-Komponente normalerweise *in situ* hergestellt (Zinkstaub als Reduktionsmittel) (Abbildung 29).

Mittels Knorr'scher Pyrrolsynthese können keine Pyrrole hergestellt werden, die ausschliesslich Alkylsubstituenten tragen. Es ist ebenfalls schwierig, in vielen Fällen sogar unmöglich, Pyrrole, die in  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ - Position unsubstituiert sind, zu erhalten. Alkylpyrrole können allerdings durch aufwendige Seitenkettenmodifikationen synthetisiert werden (Beispiel: PBG-Synthese nach McDonald, Kap. 4.5.2)

#### 4.3.3 Aldolreaktion mit Enaminen

Zav'yalov *et al.* [63,64] gelang es, das Pyrrol 54 durch Dimerisierung von Acetamidoaceton (52) in Gegenwart von Morpholin (53) in guten Ausbeuten zu synthetisieren. (Abbildung 30).

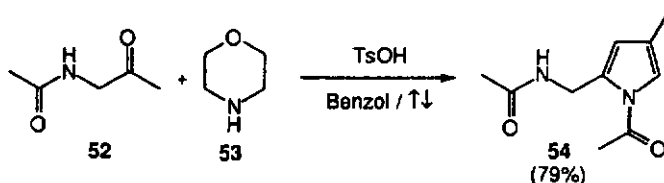


Abbildung 30: Synthese des Pyrrols 54 nach *Zav'yalov et al.*

In unserer Forschungsgruppe versuchte *A.Meunier* im Rahmen ihrer Dissertation [65] durch Verlängerung der Alkylseitengruppe PBG-ähnliche Modellverbindungen zu synthetisieren (Abbildung 31).

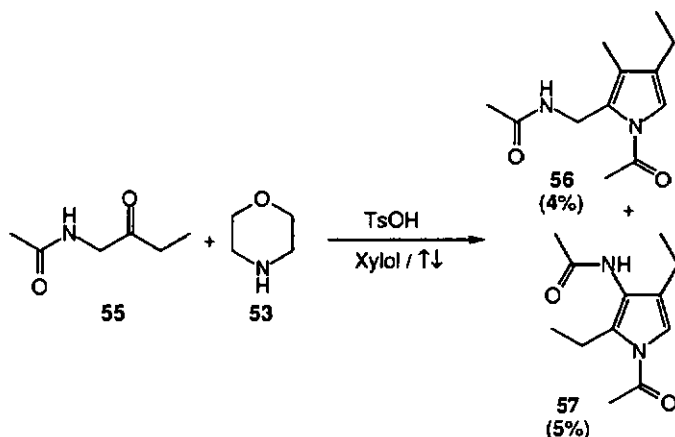


Abbildung 31: Enttäuschende Kopplungsergebnisse von *A.Meunier*.

Die erhaltenen Resultate waren in doppelter Hinsicht enttäuschend. Einerseits war durch die Verwendung des um eine Methylen-Gruppe verlängerten Acetamids 55 die von *Zav'yalov et al.* beobachtete Regioselektivität des gebildeten Enamins verloren gegangen. Als Folge davon wurden die zwei isomeren Pyrrole 56 und 57 gebildet (vergl. Abbildung 31). Andererseits waren die Ausbeuten der beiden Pyrrole zusammenschmolzen (4 bzw. 5 %).

Trotz dieser Resultate wurde die Anwendbarkeit von Morpholinaminen in einer "biomimetischen" Synthese überprüft. Dazu wurde in einem Selbstkopplungsversuch unter sauren Bedingungen Lävulinsäureester in Gegenwart von Morpholin (53) zur Reaktion gebracht. Es konnte in Ausbeuten von 85% dasjenige Kopplungsprodukt isoliert werden, welches vom weniger

hoch substituierten, reaktiveren Enamin ausgehend kondensiert worden war. Hingegen konnte beobachtet werden, dass unter thermodynamischen Reaktionsbedingungen das höher substituierte Enamin gebildet wurde. Dies bedeutet, dass unter den Kopplungsbedingungen, die für die Knüpfung von (C-C)-Bindungen nötig sind, das reaktivere Enamin im schnellen Gleichgewicht mit dem höher substituierten Enamin vorliegt [66].

Zusammenfassend treten also drei wesentliche Probleme auf, welche gegen die Verwendung von Morpholinenaminen zur Pyrrolsynthese sprechen: die geringe Regioselektivität der Enaminbildung, die Isomerisierung der Enamine und deren ungünstige Reaktivität.

#### 4.3.4 Pyrrolsynthese mittels Michael-Addition

Die von *Yoshikoshi et al.* [67] entwickelte Methode ermöglicht die Synthese von rein alkylsubstituierten Pyrrolen. Dabei wird durch Kondensation des Lithium-enolats 58 mit dem  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Nitroalken 59 das Zwischenprodukt 60 erhalten, welches durch Reduktion zum Pyrrol 61 umgesetzt wird (Abbildung 32).

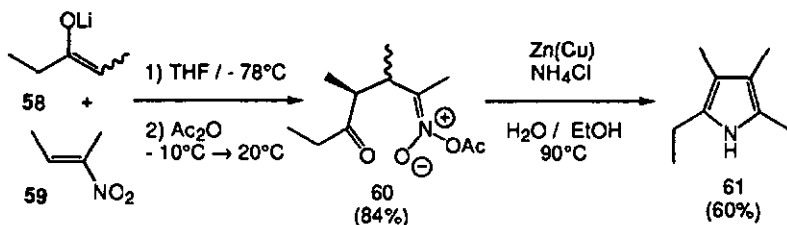


Abbildung 32: Synthese des Alkylpyrrols (61) nach *Yoshikoshi et al.* .

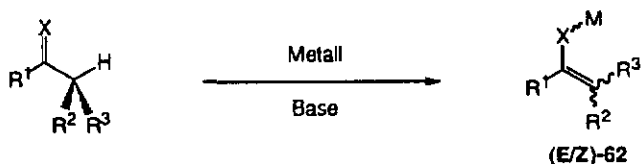
#### 4.3.5 Die gerichtete, gekreuzte Aldol-Kondensation (Crossed aldol) als Vorstufe der Pyrrolsynthese

Aldolkondensationen spielen bei natürlichen Prozessen wie beispielsweise bei der Vernetzung von Collagenfasern eine wichtige Rolle. Für die organische Synthese ist die Aldolreaktion eine der wichtigsten Methoden zur Knüpfung von (C-C)-Bindungen. Dabei wird ein C-Atom in  $\alpha$ -Stellung zu einem Aldehyd oder einem Keton mit einer Carbonylgruppe eines zweiten Aldehyds oder Ketons verbunden. Dadurch entsteht eine  $\beta$ -Hydroxycarbonylverbindung, die je nach Reaktionsbedingungen H<sub>2</sub>O abspalten kann. Als unerwünschte

Folgereaktion ist auch die Polykondensation der resultierenden Michael-Akzeptoren denkbar.

Die klassische Aldolreaktion (protisches LM, Base) ist ein erstklassiges, synthetisches Werkzeug, wenn es gilt, zwei identische Aldehyde, symmetrisch substituierte Ketone oder ein Keton mit einem Aldehyd zu koppeln. Sollen, wie für unsere geplante PBG-Synthese notwendig, zwei verschieden substituierte Ketone durch eine Aldolreaktion (Beispiel einer gekreuzten Aldolreaktion) selektiv verknüpft werden, so entsteht in den meisten Fällen ein unbrauchbares Produktgemisch. Zudem stellt die Reversibilität der Aldolreaktion unter protischen Reaktionsbedingungen einen grossen synthetischen Nachteil dar.

Das Einführen irreversibler Reaktionsbedingungen (aprotisch) und die gerichtete Deprotonierung des Nukleophils (siehe Abbildung 33) erlauben es, die Reaktion selektiv auf die Produktseite zu verschieben. Diese als gerichtete Aldolreaktion bezeichnete Methode ermöglicht ein breites präparatives Anwendungsspektrum und ist dadurch für die organische Synthese von grossem Interesse.



X = O, NR  
M (Metall) = Li, Mg, Zn, B, Al, Si, Sn, Zr, etc.

Abbildung 33: Regioselektive Enolatbildung.

Die regioselektive Enolatbildung kann durch die Wahl der verwendeten Base, des Lösungsmittels und der Temperatur gesteuert werden.

Bei der gerichteten Aldolreaktion werden regioselektiv vorgebildete Enolate (E/Z-62) oder Enamine mit Carbonylverbindungen 63 oder deren Derivaten umgesetzt (vergl. Abbildung 34).

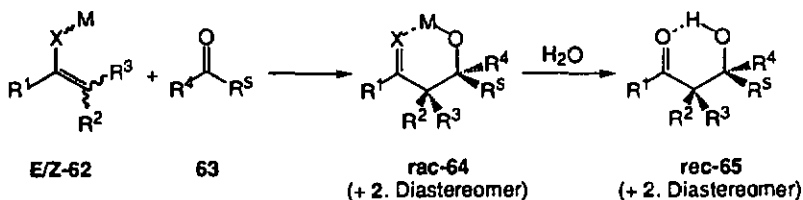


Abbildung 34: Die gerichtete Aldolreaktion.

Die Reaktion verläuft vermutlich über einen metallverbrückten sechsgliedrigen Ubergangszustand.

Es gibt viele Metalle, die katalytisch aktiv sind, und in der Tat ist eine Fülle von Literatur darüber vorhanden. *Mukaiyama* fasste diese 1982 [68] und 1990 [69] übersichtlich in Buchkapiteln zusammen. Sie geben zusätzlich einen guten Einblick über unzählige Varianten und verwendete Reaktionsbedingungen.

*A. Chaperon* erwähnt in seiner Dissertation, dass neben Lithium [70-72], Bor [69,73-77], Aluminium [78,79], Magnesium [80], Zinn [69,81-84], Zink [85,86], Zirkon [87], Titan [88-90], Rhodium [91-93], Ruthenium [93] und Bismuthenolaten [94-96] auch Lithiumsalze von Enaminen, Hydrazonen und Oximen als Enolkomponenten [88] zum Einsatz kamen.

Das E/Z-Isomerenverhältnis der Enolkomponente (62) bestimmt das resultierende Diastereoisomeren-Verhältnis der Produkte [68]. Daraus folgt, dass die gerichtete Aldolreaktion, durch Verwendung der reinen Enolkomponente, diastereoselektiv durchgeführt werden kann (siehe Abbildung 35).

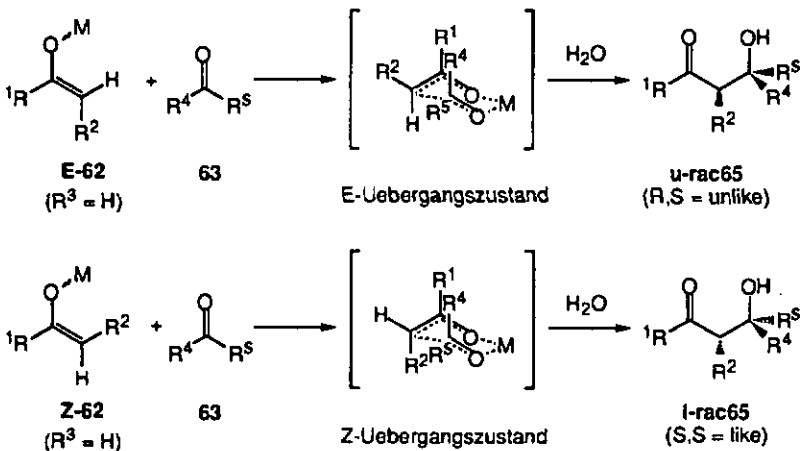


Abbildung 35: Diastereomere Ubergangszustände von metallkatalysierten Aldolreaktionen nach Zimmermann- Traxler.

Die gerichtete Aldolkondensation kann zusätzlich zur Diastereoselektivität auch enantioselektiv durchgeführt werden. Dazu werden vor allem die leicht zugänglichen, chiralen Borenolate verwendet.

## 4.3.6 Die Mukaiyama Reaktion als Vorstufe der Pyrrolsynthese

*Mukaiyama et al.* [97] entdeckten in den frühen 80er Jahren, dass Silylenolether in Gegenwart von  $\text{TiCl}_4$  mit Carbonylverbindungen aldolartig zum Titansalz des Kopplungsprodukts reagieren.

Die hohe Affinität des Titanions zum Sauerstoff und der daraus resultierenden starken Aktivierung von Carbonylgruppen ermöglichen saubere Kopplungsreaktionen bei tiefen Temperaturen. Bereits bei  $-78^\circ\text{C}$  lassen sich Aldehyde in Gegenwart von äquimolaren Mengen  $\text{TiCl}_4$  in guten Ausbeuten mit Silylenolethern kondensieren [97]. Im gleichen Temperaturbereich lassen sich auch Orthoester [98], Ketale [97], und Acylcyanide [99], die für unsere Arbeit von besonderem Interesse sind, umsetzen. Im Prinzip können an Stelle von Silylenolethern auch gewöhnliche Enolether unter analogen Bedingungen, allerdings bei etwas höheren Temperaturen, verwendet werden [100]. Aldolreaktionen von Silylenolethern mit Ketonen finden hingegen erst ab Temperaturen von mindestens  $0^\circ\text{C}$  statt (Abbildung 36).

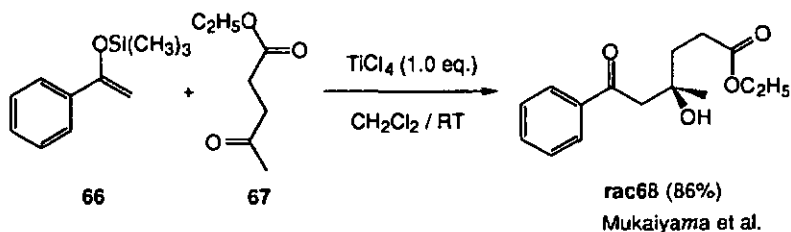


Abbildung 36: Aldolreaktion des Silylenolether von Methylphenylketon (66) mit Laevulin-säureethylester (67) nach *Mukaiyama*.

Die besten Resultate erzielten *Mukaiyama et al.* durch die Verwendung äquimolarer Mengen  $\text{TiCl}_4$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei tiefen Temperaturen [101]. Andere Lewis-säuren wie  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{BCl}_3$ ,  $\text{ZnCl}_2$  und Bortrifluoretherat als Katalysatoren führten zu deutlich schlechteren Resultaten.

*Hugo Bertschy* verwendete die *Mukaiyama* Reaktion im Rahmen seiner Dissertation [102] zur Synthese einer breiten Palette von Azido-Pyrrolvorläufern. Die besten Resultate konnten durch das Verwenden von 6 bzw. 8 Äquivalenten  $\text{TiCl}_4$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei  $-78^\circ\text{C}$  erreicht werden (Abbildung 37).

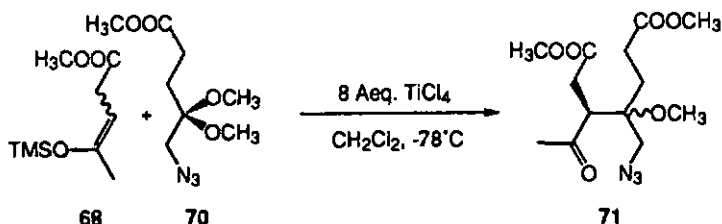


Abbildung 37: Mukaiyama Reaktion des Pyrrrolvorläufers 71 aus dem Silylenol ether 69 und dem Azidoacetal 70.

André Chaperon hingegen konnte in seiner Dissertation [103] zeigen, dass zur optimalen Kopplung des Silylenol ethers E/Z-12 mit dem Acylcyanid 13 1.1 Äquivalente TiCl<sub>4</sub> ausreichen (Abbildung 38).

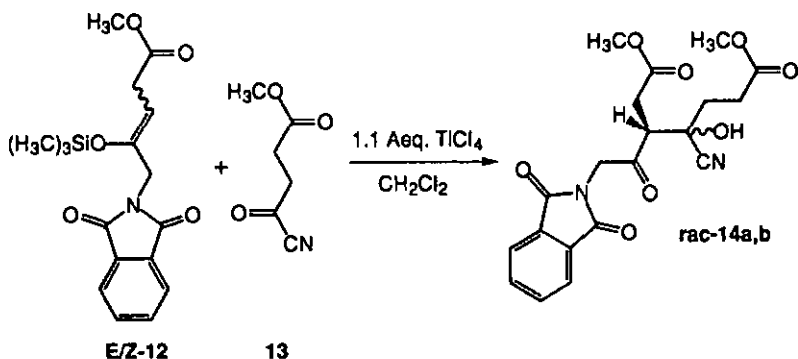


Abbildung 38: Mukaiyama -Reaktion zum Pyrrrolvorläufers rac - 14a,b aus dem Silylenol ether E/Z-12 und dem Acylcyanid 13.

Wichtig zu erwähnen bleibt, dass Aldol - Reaktionen auch durch verschiedene Lewisäuren, welche Trimethylsilylgruppen enthalten (Trimethylsilyltriflat (TMSOTf) [104,105], Trimethyliodsilan (TMSI) [106], Tris-(diethylamino) sulphonium-di-fluortrimethylsilikonat (TAS<sup>+</sup> Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>F<sub>2</sub><sup>-</sup>) [107], Trimethylsilylbortetratrilat (TMSB(OTf)<sub>4</sub>) [108]) katalysiert werden können.

Mechanistisch verläuft die Reaktion vermutlich über die Silylierung und Aktivierung der Carbonylfunktion [104,109].

4.3.7 Reduktion der Aminofunktion und Zyklisierung zum Pyrrol

H. Bertschy gelang es im Rahmen seiner Dissertation [102], eine Reihe von Alkylpyrrolen ausgehend von Azido-Pyrrolvorläufern zu synthetisieren. Dabei wurde die Azidogruppe hydrogenolytisch mittels Pd auf Aktivkohle reduziert (Abbildung 39).

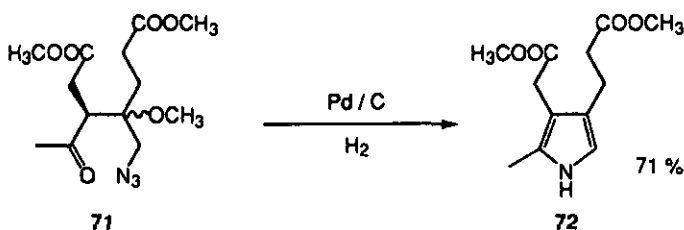


Abbildung 39: Hydrogenolyse des Pyrrolvorläufers (71) zum Pyrrol (72).

Problematischer gestaltete sich der reduktive Ringschluss des PBG - Vorläufers (*rac*-14). Erst nach aufwendigem Optimieren konnte A. Chaperon das geschützte PBG-Derivat (16) mit einer Ausbeute von 54 % isolieren. Das durch die *Mukaiyama* Reaktion erhaltene Cyanhydrin (*rac*-14a,b) musste vor der reduktiven Hydrierung durch Acetylierung stabilisiert werden. Das geschützte Cyanhydrinderivat (*rac*-15a,b) konnte schliesslich in Gegenwart von MeOH / Raney-Nickel erfolgreich hydriert und zyklisiert werden (Abbildung 40).

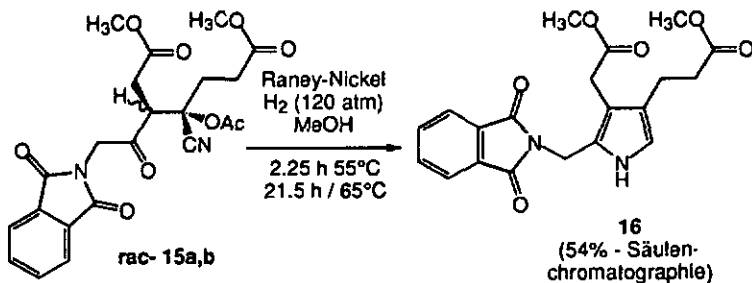


Abbildung 40: Optimierte Reaktionsbedingungen zur Hydrierung von *rac*-15a,b zum geschützten PBG-Derivat 16.

#### 4.4 Reaktivität von Pyrrolen

##### 4.4.1 Reaktivität des Porphobilinogens

Porphobilinogen (1) ist aufgrund seiner freien  $\alpha$ -Position und dem Fehlen elektronenziehender Substituenten luft- und säureempfindlich (elektrophile Substitution, siehe Kap. 4.3.1). Die Luftempfindlichkeit des Pyrrols und insbesondere seiner  $\alpha$ -unsubstituierter Alkylderivate, zu denen natürlich auch das Porphobilinogen (1) gehört, ist wohlbekannt [110]. Besonders in Gegenwart von starken Basen findet rasche Oxidation mit molekularem Sauerstoff statt, unter Bildung dunkelfarbiger Oxidationsprodukte [2], dem sogenannten Pyrrolschwarz [1].

Die grosse Reaktivität des Porphobilinogens (1) gegenüber vielen Elektrophilen macht dessen Synthese und Isolierung heikel. Aus strategischen, resp. taktischen Gründen empfiehlt es sich, die freie  $\alpha$ -Position zu schützen. Diese Schutzgruppe kann anschliessend möglichst spät in der Synthesesequenz wieder entfernt werden. Der Pyrrolring wird dadurch lange gegen unerwünschte  $\alpha$ -Substitution geschützt und die Elektronendichte im Pyrrolring durch den elektronenziehenden Substituenten erniedrigt.

Die Anfälligkeit der  $\alpha$ -Pyrrolringposition bezüglich elektrophiler Substitution wurde ebenfalls von A. Chaperon beobachtet. Bei der Reduktion des Cyanhydrins rac-14a,b wurde unter reduktiven Bedingungen (Raney-Nickel/ $H_2$  (110 atm)/ $Ac_2O$ ) zuerst das erwartete, geschützte Porphobilinogen 16 gebildet. In Gegenwart des Elektrophils  $Ac_2O$  und gebildetem AcOH trat jedoch vollständige Substitution der freien  $\alpha$ -Position ein. Es konnte das entsprechende acetylierte PBG-Derivat 73 in 21% Ausbeute direkt durch Kristallisation erhalten werden (Abbildung 41).

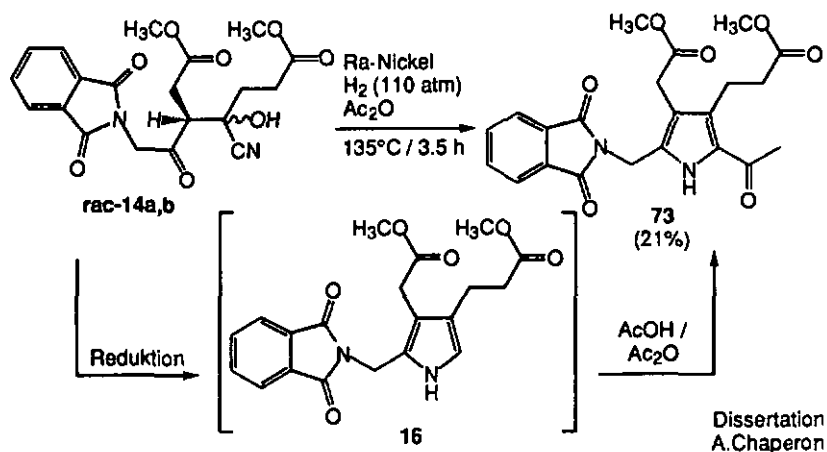


Abbildung 41: Folgereaktion bei der Hydrogenolyse des PBG-Vorläufers *rac*-14a,b.

Anderson *et al.* [111] und Battersby entwickelten eine weitere Methode zur Vermeidung unerwünschter Reaktionen an der freien  $\alpha$ -Pyrrolringposition. Dabei wird die Elektronendichte am Pyrrolring durch die Verwendung von elektronegativen Schutzgruppen wie N-Sulfonsäurederivate oder N-Benzoyl verringert, wodurch der Pyrrolring stabilisiert wird.

Unter leicht sauren Bedingungen kondensiert das Porphobilinogen (1) in Abwesenheit anderer Elektrophile mit sich selbst und bildet Uroporphyrinogen (I - IV) [112]. Als elektrophile Spezies tritt dabei ein intermediär gebildete Azafulven 74 auf, welches durch ein zweites PBG-Molekül zum Dipyrrylmethan 75 abgefangen wird. Durch Addition von zwei weiteren PBG-Molekülen entsteht ein Tetramer, welches intramolekular zum Uroporphyrin I (76) zyklisieren kann. In der interessanten Abhandlung von Ott und Treibs [112] wird beschrieben, dass chemisch (in Abwesenheit von Enzymen) ein Gemisch von vier Tetrapyrrolen gebildet wird. Dabei wird allerdings das Uroporphyrinogen I bevorzugt gebildet (Abbildung 42).

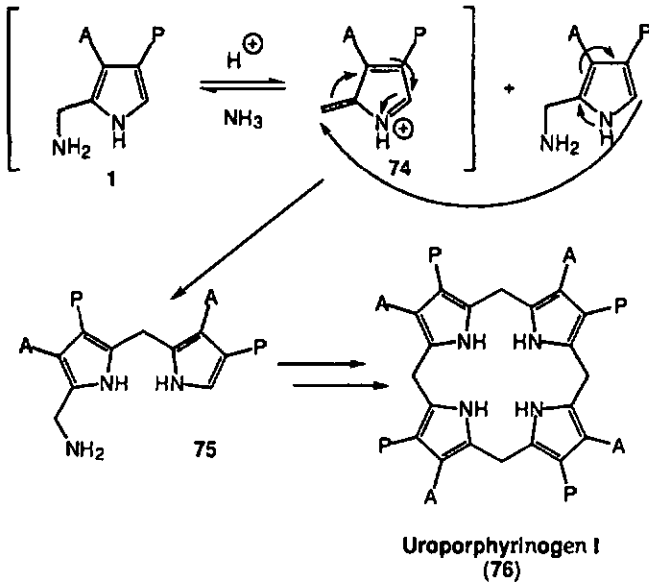


Abbildung 42: Chemische Tetrameridisierung von PBG (1) zum Uroporphyrinogen I (76).

#### 4.4.2 Entschützen von PBG-Derivaten

Aufgrund der Säurelabilität von PBG-Derivaten kommt die Verwendung saurer Hydrolysebedingungen nicht in Frage. Für unser Projekt muss somit eine basische Entschützungsmethode [5,113-115] (und darin zitierte Referenzen) angewendet oder entwickelt werden.

A. Gossauer [1] bewertet das PBG-Lactamderivat 77, aufgrund seiner geringen Neigung zur Polymerisation, als Schlüsselverbindung der PBG-Totalsynthese. In der Literatur [1,116] sind häufig Synthesen beschrieben, die über dieses Lactamderivat 77 verlaufen, welches sich leicht unter basischen Bedingungen zum PBG (1) öffnen lässt (Abbildung 43).

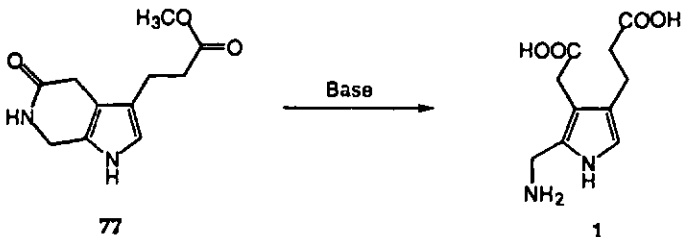


Abbildung 43: Basisches Entschützen des PBG-Lactams 77.

Für unser Projekt von grossem Interesse ist die PBG-Synthese von *Kenner* [117]. Unsere geplante Synthese erzeugt dasselbe vollständig geschützte Phthalimido-PBG 16, welches von *Kenner* [117] erfolgreich über zwei Stufen in total 42% ins Porphobilinogen überführt werden konnte (vergl. Abbildung 44).

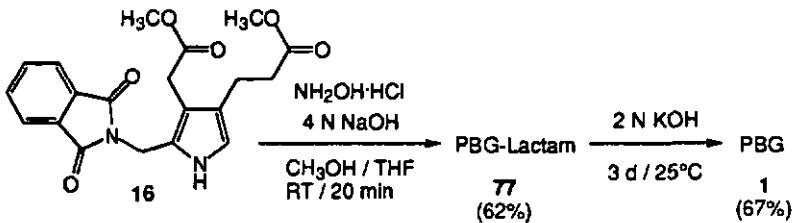


Abbildung 44: Entschützen des Phthalimido-PBG (16) nach *Kenner* .

*Kenner* verwendete für die Entfernung der Phthalimidoschutzgruppe neben Hydroxylamin auch N-Methylhydrazin/Tributylamin in Methanol unter Rückfluss. Unter diesen Reaktionsbedingungen erhielt er nach Kristallisation des PBG-Lactams aus Methanol eine Ausbeute von 65%.

Eine interessante Entschützungsvariante der Phthalimidogruppe mittels enzymatischer basischer Hydrolyse wurde von *M. J. Zmijewski et al.* ausgearbeitet [118]. Das Gen der dazu verwendeten Phthalylamidase wurde ursprünglich aus *Xanthobacter agilis* isoliert, geklont und in *Streptomyces lividans* überexprimiert. Dieses Enzym überführt die Phthalimidgruppe unter milden wässrigen Bedingungen selektiv ins freie Amin. Nach *M. J. Zmijewski et al.* [119] lässt sich die maximale Hydrolyseaktivität des Enzyms in einem wässrigen  $200\text{ mM KH}_2\text{PO}_4 / \text{K}_2\text{HPO}_4$  Puffer ( $\text{pH} = 8$ ) bei  $30^\circ\text{C}$  beobachten. Unter diesen Bedingungen hydrolysiert die eine der beiden Imidbindungen des Phthalimidderivates 78 spontan auch in Abwesenheit des Enzyms zum Phthalamidsäureanion 79 (Abbildung 45).

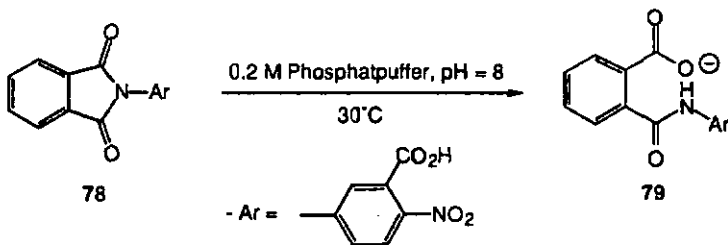


Abbildung 45: Spontane Hydrolyse zum Phthalamidsäureanion 79.

Die weitere Hydrolyse des resultierenden Phthalamidsäureanions **79** zum Phthalsäureedianion **80** und zum freien Amin **81** verläuft hingegen enzymkatalysiert (Abbildung 46).

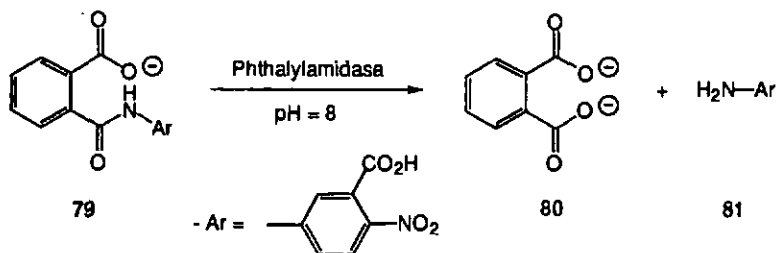


Abbildung 46: Enzymkatalysierte Hydrolyse zum Phthalsäureedianion **80** und zum freien Amin **81**.

Untersuchungen der Substratspezifität beschränken sich auf aromatische Aminderivate, welche mit Phthalsäurederivaten amidartig verbunden sind. Studien zur Verträglichkeit von organischen Lösungsmitteln zeigen, dass die Aktivität des Enzyms in Anwesenheit von 20% Acetonitril, 10% DMF und 1%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  vollständig erhalten bleibt (Aktivität > 95%). Eine gering verminderte Aktivität (90%) des Enzyms lässt sich in Anwesenheit von 5% THF, 20% Heptan und 1% Toluol feststellen.

Aus der Literatur sind weitere zweistufige Phthalimid-Entschützungsverfahren bekannt [5]. Dabei wird die Phthalimidogruppe zunächst alkalisch rasch zur Phthalamidsäure hydrolysiert. Aus eigener Erfahrung und in Einklang mit der Literatur verläuft dieser Schritt sehr schnell [120]. Für die Freisetzung zum Amin werden anschliessend jedoch meistens relativ starke Mineralsäuren verwendet [5]. Aufgrund der Säurelabilität von PBG kann diese Entschützungsvariante nicht verwendet werden, denn ansonsten könnten so gleichzeitig alle Schutzgruppen, d. h. auch die beiden Methylester der Ethoxy- und Propionseitenketten des PBG-Derivats **16** in einem Reaktionsschritt entfernt werden.

*Putochin* [5,77] berichtete dazu jedoch das Gegenteil. Gemäss ihm gelingt das vollständige Entfernen der Phthalimidoschutzgruppe in konzentrierter KOH-Lösung unter Rückfluss. Die entschützten Amine wurden destillativ entfernt und lieferten gemäss *Putochin* reinere Reaktionsprodukte als die im allgemeinen häufig verwendete "saure" Variante. Vollständiges Entfernen der

Phthalsäure gelang *Kremer* ebenfalls mit KOH [121]; *Slotta* und *Tschesche* verwendeten  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  [115].

Als letzte Variante stellt vermutlich die Hydrazinolyse die Methode der Wahl dar. Wird Hydrazin (als Hydrat erhältlich) als Reagens verwendet, so muss die Reaktionslösung anschliessend in wässriger Säure rückflusiert werden [122,123]. Unter Verwendung von Methylhydrazin [124] resp. auch Phenylhydrazin [125], fällt diese zweite, saure Behandlungsstufe weg, denn das entstehende Phthalhydrazid bildet keinen Komplex mit dem entschützten Amin.

## 4.5 PBG - Synthesen

### 4.5.1 Bekannte PBG-Synthesen im Vergleich

Das von unserer Gruppe entwickelte biomimetische Synthesekonzept unterscheidet sich grundsätzlich von den übrigen publizierten PBG-Synthesen. Im Rahmen unseres Projektes soll einerseits eine möglichst kurze PBG-Synthese erarbeitet werden, die andererseits einen Beitrag zur Aufklärung des PBGS-Enzymmechanismus liefern könnte. Zur Synthese werden daher zwei vollständig funktionalisierte C(5)-Untereinheiten verwendet, welche bereits alle Strukturmerkmale des geschützten Zwischenproduktes 16 enthalten. Abschliessendes Zyklisieren und Entfernen der Schutzgruppen führt dann zum PBG (1).

Die in der Literatur beschriebenen Synthesen zeigen ein ganz anderes Bild. Hier geht es allein um den synthetischen Zugang zum Porphobilinogen. Obwohl es nahezu  $10^3$  mal teurer als Gold ist, existieren nur einige wenige synthetische Zugänge. Seit einem Reviewartikel von *Frydman* aus dem Jahre 1979 [126] sind nur wenige neue Resultate hinzugekommen. Es sind heute sieben fundamental verschiedene Synthesewege bekannt, die sich in den gewählten Strategien unterscheiden. Die folgende Zusammenfassung reflektiert die in einem kürzlich erschienenen Reviewartikel [127] erwähnten PBG - Synthesen:

4.5.2 PBG-Synthese nach MacDonald

PBG (1) wurde zum ersten Mal von *MacDonald* mittels klassischer *Knorr'scher* Pyrrolsynthese hergestellt [116,128]. Der Pyrrolring wird dabei durch Kondensation von zwei dafür geeigneten C(2)-Untereinheiten gebildet (Abbildung 47).

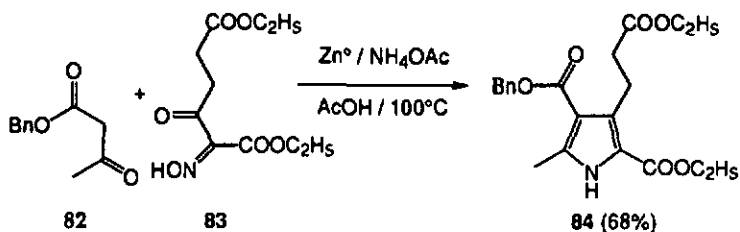


Abbildung 47: Knorr'sche Pyrrolsynthese des PBG-Vorläufers 84 nach *MacDonald*.

Das tetrasubstituierte Pyrrol 84 kann ausgehend vom  $\alpha$ -Oximo- $\beta$ -keto-adipinsäurediethylester (83) und Benzyl-acetoacetat (82), unter reduktiven Bedingungen (Zn<sup>0</sup>/ AcOH), in einer Ausbeute von 68% erhalten werden. Bis zum PBG (1) müssen danach allerdings neun zusätzliche Stufen (Seitenkettenmodifikationen) durchgeführt werden.

Eine erste Abwandlung dieser Route beschrieben *Treibs* und *Ott* [112]. *Kenner* [72,129] entwickelte eine effizientere Variante der Synthese von *MacDonald*, welche bis heute seine Anwendung findet.

*Kenner* verwendete als 1,3-Dicarbonyl-Komponente das reaktivere, symmetrische Acetonacetat, welches durch Kondensation mit  $\alpha$ -Oximo- $\beta$ -keto-adipinsäuredibenzylester (85) das Pyrrol 86 ergab. Dieser PBG-Vorläufer besitzt bereits das vollständige Kohlenstoffgerüst des Porphobilinogens (1).

Die durch Thallium(III) katalysierte, oxidative Umlagerung ergab das Zwischenprodukt 87 mit vollständig funktionalisierten A- und P-Seitenketten. Die Oxidation durch Bleitetraacetat, gefolgt von einer nukleophilen Substitution, führte zum Zwischenprodukt 89. Als heikle Reaktionsstufe muss die Entfernung der Benzylesterschutzgruppe bezeichnet werden. Zum Abfangen des intermediär entstehenden Benzylkations wurde Anisol als Lösungsmittel verwendet. Dadurch kann ein nukleophiler Angriff des Benzylkations auf das  $\alpha$ -freie, noch geschützte PBG-Derivat 90 verhindert werden. Das

anschliessende Entfernen der Phthalimidoschutzgruppe erfolgte mit Hydroxylamin. Unter Zugabe von Base wurde das relativ stabile PBG-Lactam (XX) erhalten; dieses konnte in wässriger KOH zum Porphobilinogen (77) hydrolysiert werden (Abbildung 48).

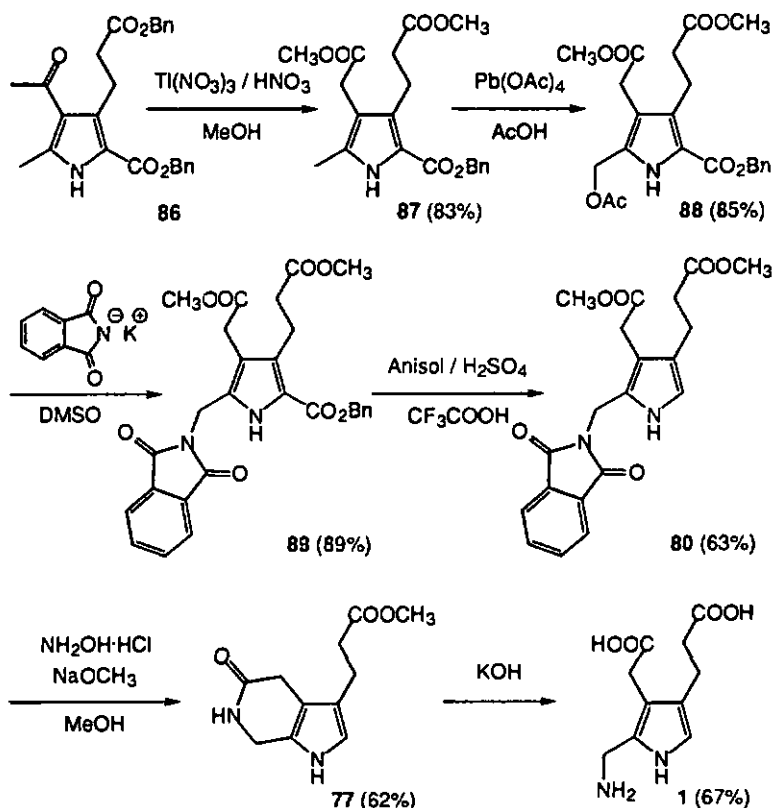


Abbildung 48: PBG-Synthese nach MacDonald - modifiziert nach Kenner

#### 4.5.3 PBG-Synthese nach Plieninger und Evans

Der grösste Vorteil der von Plieninger [130] und Evans [131] entwickelten PBG-Synthesen liegt darin, dass die empfindliche Pyrrolstruktur erst am Ende der Synthesesequenz gebildet wird. Zuvor wird ein funktionalisiertes Kohlenstoffgerüst synthetisiert, welches anschliessend mit einer (C-N)-Einheit zum Pyrrolring kondensiert werden kann. Für die letzten Transformationen wird die von MacDonald erarbeitete Strategie der funktionellen Gruppenumwandlung verwendet (Abbildung 49).

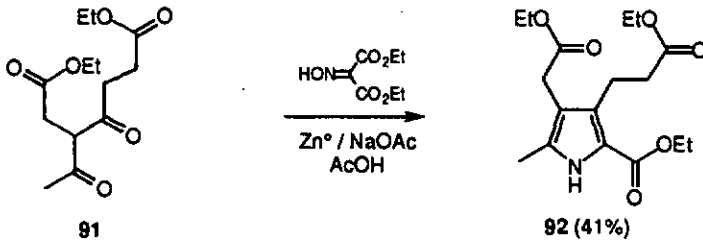


Abbildung 49: Ringschluss zum Pyrrol nach Plieninger .

Das funktionalisierte Kohlenstoffgerüst **91** wurde von *Plieninger* ausgehend von Acetylaceton in drei Stufen synthetisiert. Dieses Zwischenprodukt wurde anschliessend durch die *Kleinspehn*-Version der *Knorr*'schen Pyrrolsynthese mit 2-Hydroximino-malonsäurediethylester in einer Ausbeute von 41% zum PBG-Vorläufer **92** kondensiert.

Einen effizienteren Zugang zum Zwischenprodukt **91** konnte mittels *Mukaijama*-Aldolreaktion realisiert werden [5].

#### 4.5.4 PBG-Synthese nach Anderson

*Anderson* [111] und seine Mitarbeiter starteten vom unsubstituiertem Pyrrol aus und führten anschliessend sukzessive die Seitengruppen ein. Dazu wurde unsubstituiertes Pyrrol mittels zweifacher Acylierung (*Vilsmeier-Haak* gefolgt von *Friedel-Crafts*) und anschliessender Reduktion (1. Pd auf C, 2. Raney-Nickel) in die Schlüsselverbindung **93** überführt (40 % Ausbeute). Dieses zentrale Zwischenprodukt wurde über drei Reaktionsschritte in das funktionalisierte Pyrrolderivat **94** umgewandelt, welches nach 5 weiteren Reaktionsschritten das PBG-Lactam **77** ergab (Abbildung 50).

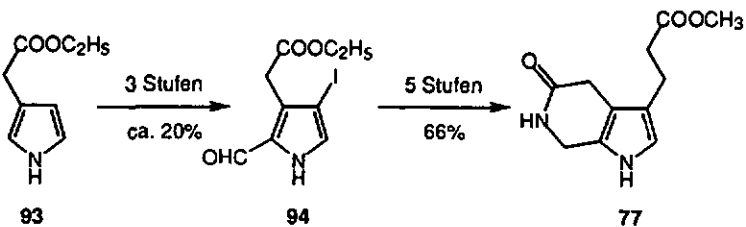


Abbildung 50: Schematischer Ueberblick über die PBG-Synthese nach *Anderson et al.*

4.5.5 PBG-Synthese nach Frydman und Rapoport

Frydman und Rapoport [132] wählten eine völlig neue Strategie ausgehend von einem Pyridinderivat, welches sie in zwei Stufen zum Pyridonderivat **95** umwandelten. Durch weitere Transformationen konnte nach 5 Reaktionsschritten ein Azaindolderivat (ähnlich wie **98**), welches eine strukturelle Verwandtschaft mit dem PBG-Lactam **77** aufweist, erhalten werden (Abbildung 51).

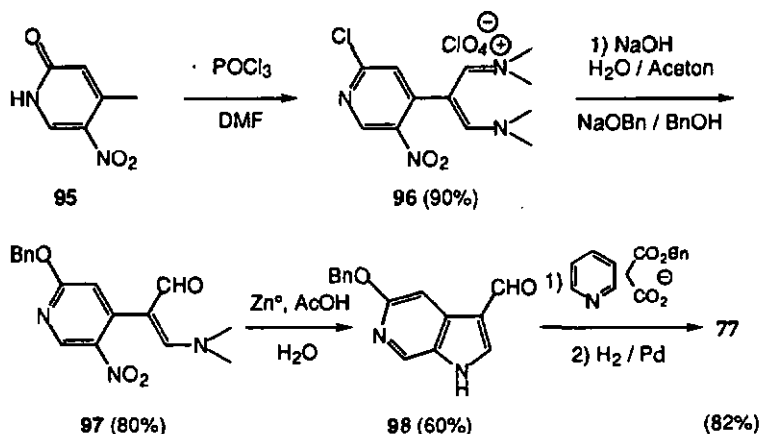


Abbildung 51: Nach Battersby et al. [133,134]) modifizierte PBG-Synthese von Frydman und Rapoport.

Eine modifizierte, effizientere Variante publizierte Battersby 1973 [133,134]. Als Startmaterial diente ihm das substituierte Pyridon **95**. Mittels  $\text{POCl}_3/\text{DMF}$  (Vilsmeier-Haak) wurden zwei C-Atome des späteren Pyrrolrings eingeführt; gleichzeitig wurde der Pyridonring chloriert. Die schrittweise Hydrolyse des Immoniumsalzes **96** durch NaOH in  $\text{H}_2\text{O}/\text{Aceton}$  und das Umsetzen in Natriumbenzyloxid/Benzylalkohol ergab den Vorläufer **97**. Durch die Reduktion mittels  $\text{Zn}^0$  in Essigsäure resultierte das zentrale Azaindol **98**. Die Indolseitenkette wurde durch eine Knoevenagel Kondensation von **98** mit Malonsäuremonobenzylester um zwei C-Atome verlängert. Im letzten Reaktionsschritt erfolgte die hydrogenolytische Entfernung der beiden Benzylschutzgruppen (Pd auf Kohle). Gleichzeitig wurde der aromatische Ring reduziert und es entstand in 82% Ausbeute das Porphobilinogenlactam **77**.

4.5.6 PBG-Synthese nach Ganem

Ganem verwendete für seine PBG-Synthese ein von *van Leusen's* Gruppe entwickeltes Konzept [135,136]. Die Addition von TosMIC auf den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ester **99** ergab das  $\beta,\beta'$ -disubstituierte Pyrrol **100**. Durch *Vilsmeier-Haack*-Formylierung wurde der  $\alpha$ -Substituent eingeführt und weiter modifiziert, wodurch das Lactampyrrol **101** entstand. In einer letzten Sequenz wurde die Propionsäure-Seitenkette eingeführt, wodurch das Lactampyrrol **77** resultierte (Abbildung 52).

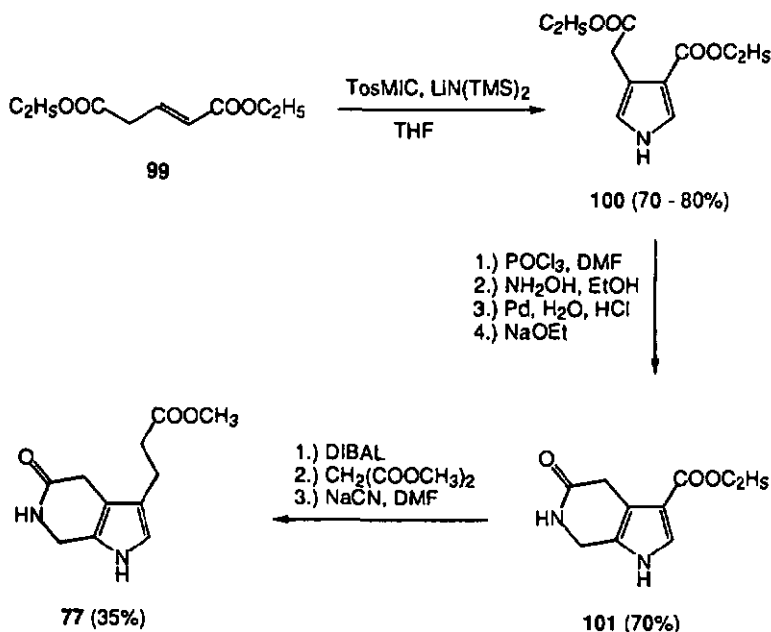


Abbildung 52: PBG-Synthese nach Ganem [137].

Unter optimierten Bedingungen wurde Diethylglutaconat mit dem Lithiumsalz von TosMIC zur Reaktion gebracht, wodurch das 3,4-disubstituierte Pyrrol **100** mit einer Ausbeute von 70–80 % resultierte.

Zur Einführung des fehlenden  $\alpha$ -Substituenten wurde formyliert und anschliessend ins Oxim überführt. Nach Hydrogenolyse und basischem Aufarbeiten konnte das Lactam **101** in 83 % Ausbeute erhalten werden. Zur Einführung der Propionsäure-Seitenkette wurde mit DIBAL reduziert. Die resultierende Hydroxygruppe konnte ohne zusätzliche Aktivierung substituiert

werden. Dazu wurde in Anwesenheit von Natriumdihydrogenphosphat in DMF erhitzt und der resultierende Diester hydrolysiert und decarboxyliert. Der resultierende Lactamester **77** ist ein gut bekanntes Zwischenprodukt der PBG-Synthese.

#### 4.5.7 PBG-Synthese nach Adamczyk und Reddy

Die von Adamczyk und Reddy [138,139] beschriebene Synthese verwendet eine 1,3-dipolare Cycloaddition zur Pyrrolbildung (Abbildung 53).

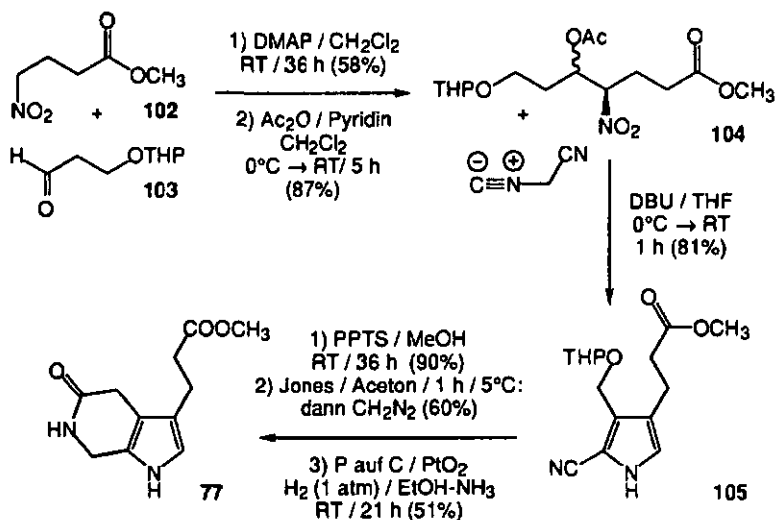


Abbildung 53: Dipolare Cycloaddition nach Adamczyk und Reddy [137].

Ausgehend von der  $\alpha$ -Acetoxynitro-Verbindung **104**, die durch eine Henry-Reaktion aus dem  $\gamma$ -Nitroester **102** und dem geschützten Hydroxyaldehyd **103** zugänglich ist, wurde in Gegenwart von DBU bei RT das pyrrolische Zwischenprodukt **105** gebildet. Dieses konnte in drei Stufen ins PBG-Lactam **77** überführt werden. Zuerst wurde durch Pyridinium-4-toluolsulfonat (PPTS) die Tetrahydro-pyranschutzgruppe (THP) entfernt, anschliessend mit Jones-Reagens zur freien Säure oxidiert und *in situ* mit Diazomethan verestert. Unter basischen Bedingungen gelang danach die katalytische Reduktion der aromatischen Cyanofunktion zum Amin, welches *in situ* zu **77** zyklisierte. Dieser Vorläufer wurde nach Kenner [117] zum freien Porphobilinogen umgesetzt. Gemäss Adamczyk und Reddy [139] gelang es, **1** durch Reinigung mittels reversed-Phase HPLC in 55% Ausbeute (ausgehend von **77**) zu erhalten.

## 5. DISKUSSION DER RESULTATE

### 5.1 Inhibitionsresultate von 1,3-Diketonen und deren Derivaten

M. Henz testete im Rahmen seiner Dissertation [140] eine Reihe von 1,3-Diketonen auf deren Inhibitionswirkung der PBGS. Er konnte dabei zeigen, dass die 4,6-Dioxoheptansäure (11) der mit Abstand beste Inhibitor dieser Verbindungsklasse ist ( $K_i = 1.4 \mu\text{M}$ ). Die Inhibitionsstudien ergaben eine unkompetitive oder gemischte Inhibition. Daraus schloss er, dass der Inhibitor ausschliesslich über eine Schiff'sche Base an die P-Side (unkompetitiv), oder sowohl an die P-Side als auch an die A-Side (gemischt) bindet (Abbildung 54).

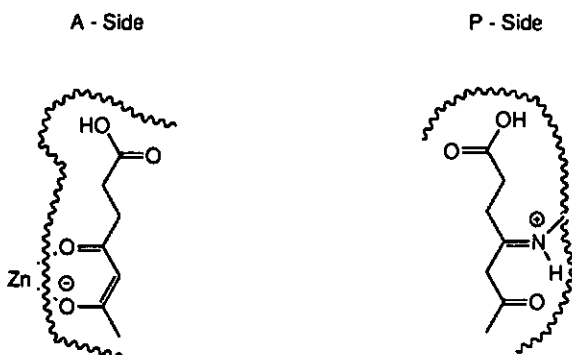


Abbildung 54: Unkompetitive bzw. gemischte Inhibition der 4,6-Dioxoheptansäure (11).

Die gemischte Inhibition kann im Prinzip auf zwei Arten zustande kommen. Entweder inhibiert je ein Molekül 4,6-Dioxoheptansäure (11) sowohl die A- als auch die P-Side, oder die beiden aktiven Seiten werden gleichzeitig von nur einem Inhibitormolekül inhibiert.

Anhand dieser Resultate konnten wir allerdings keine Aussage über unsere ursprüngliche Arbeitshypothese machen. Danach erwarteten wir aufgrund der strukturellen Verwandtschaft der 4,6-Dioxoheptansäure (11) mit den von *Shemin* und *Jordan* postulierten Zwischenproduktanalogen eine Zwischenproduktähnliche Inhibition (Abbildung 55).

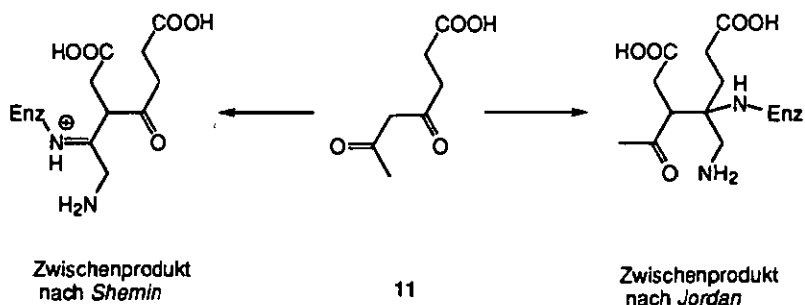
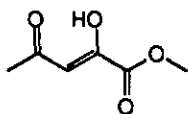


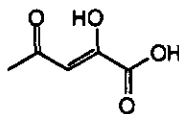
Abbildung 55: Strukturelle Ähnlichkeit der 4,6-Dioxoheptansäure (11) mit den Zwischenproduktanalogen nach *Shemin* und *Jordan*.

*M. Henz* konnte ebenfalls zeigen, dass der 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) rund 200 mal schwächer inhibiert als die entsprechende Säure 11. Es handelt sich dabei ebenfalls um eine unkompetitive Inhibition mit  $K_j = 319 \mu\text{M}$ .

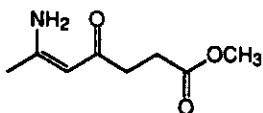
*C. Jarret* [141] führte im Rahmen ihrer Dissertation eine Reihe von Inhibitionstests mit verschiedenen Derivaten des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) durch. Zusätzlich untersuchte sie den 2,4-Dioxopentansäuremethylester (106) und die 2,4-Dioxopentansäure (107), deren Kohlenstoffgerüst um zwei Methylengruppen kürzer als dasjenige der 4,6-Dioxoheptansäure ist (Abbildung 56).



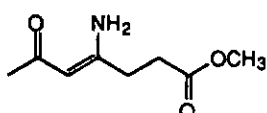
106



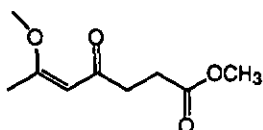
107



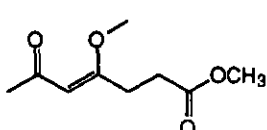
108



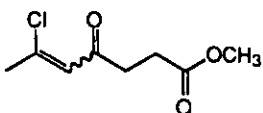
109



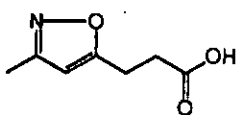
110



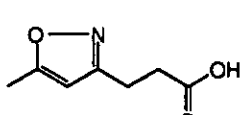
111



112, 113



114



115

Abbildung 56: Von C. Jarret getestete Inhibitoren.

Die erhaltenen Inhibitionsresultate sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst :

Inhibitor	$K_i$ ( $\mu\text{M}$ )	Inhibitionstyp, Bemerkungen
106	1700	unkompetitiv
107	260	unkompetitiv
108	-	Pyrrrolbildung mit ALA
109	-	slow-binder
110, 111	-	partielle Hydrolyse, deutlich schlechterer Inhibitor als 23
112, 113	-	keine eindeutige Aussage möglich, unbekanntes UV-Signal
114, 115	-	Aktivator

Diese Resultate wurden folgendermassen interpretiert:

- Die beiden Inhibitoren 106 und 107 zeigen in Analogie zur 4,6-Dioxoheptansäure (11) und deren Methylester 23 ebenfalls eine unkompetitive Inhibition. Der direkte Vergleich der beiden Säuren ergibt allerdings eine rund 200 mal stärkere Inhibition der 4,6-Dioxoheptansäure (11) (in Analogie inhibiert der 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) rund 5 mal besser als der Pyruvatmethylester 106). Aus diesen Resultaten schlossen wir, dass eine optimale Inhibition signifikant von der Länge der Alkylkette abhängt. In diesem Zusammenhang wäre es interessant zu untersuchen, welchen Einfluss weitere Variationen der Alkylkettenlänge auf die Inhibitionsresultate haben.

Der Vergleich der Inhibitionswerte der beide Säuren bzw. Ester mit Acetylaceton ( $K_i = 4610 \mu\text{M}$ ) zeigen zusätzlich, dass die Carboxylfunktion einen wesentlichen Beitrag zur Inhibition leistet.

- Inhibitionsuntersuchungen des 6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethylesters (108) führten zu einer Ueberproduktion von Ehrlich-aktiven Pyrrolen. Dieses Phänomen wurde mittels  $^1\text{H}$ -NMR - Studien genauer analysiert. Dazu wurden äquimolare Mengen des Inhibitors 108 mit 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) in deuteriertem Phosphatpuffer vorgelegt. Bereits nach zehn Minuten Reaktionszeit bei RT konnte die Bildung eines Pyrrols festgestellt werden (Signal bei 6.48 ppm). Die weitere Verfolgung der Reaktion ergab, dass nach 15 Stunden beide Reaktanden vollständig zum Pyrrol reagiert hatten. Die

genauere Untersuchung der Spektren (Vergleich mit den Spektren der Pyrrole (125 - 128) ergab, dass sich aus dem Inhibitor 108 und dem 5-Aminolävulinäurehydrochlorid (2) das Pyrrol 127 gebildet hatte (Abbildung 57).

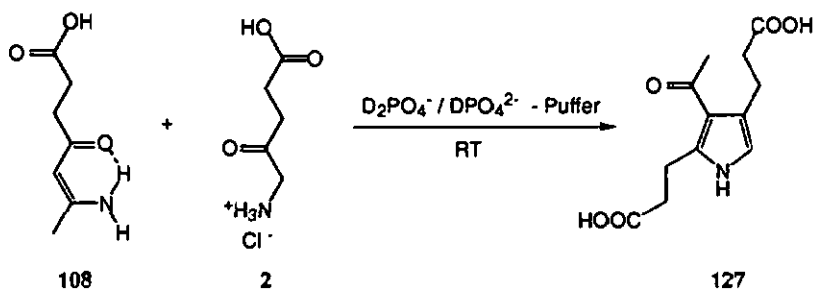


Abbildung 57: Bildung des Pyrrols 127 aus ALA (2) und 108.

Die Pyrrolbildung erfolgt vermutlich über einen *Knorr*-artigen nukleophilen Angriff am C(4) des Inhibitors 108.

- Aufgrund der relativ grossen Hydrolysentendenz der beiden Enolether (110, 111) waren bei Inhibitionsstudien 15–20% des Hydrolysenprodukts (4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23)) anwesend. Die Tatsache, dass trotz der partiellen Anwesenheit dieses sehr guten Inhibitors nur eine wesentlich schwächere Inhibition festgestellt werden konnte, lässt vermuten, dass diese beiden Inhibitoren deutlich schwächer inhibieren als ihr Hydrolyseprodukt 23.

5.2 Synthese von 1,3-Diketonverbindungen und deren Derivate5.2.1 Synthese von 4,6-Dioxoheptansäure (11). [43]

Zur Synthese des Lithiumsalzes von Chloressigsäure (19) (Abbildung 58) wurde käufliche Chloressigsäure mit LiH in trockenem THF umgesetzt. Nach dem Abfiltrieren und mehrmaligem Waschen mit trockenem Ether, konnte das Produkt nach dem Trocknen am HV mit einer Ausbeute von 95% isoliert werden.

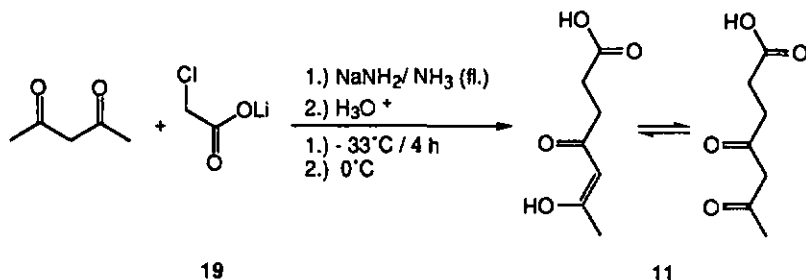


Abbildung 58: Synthese der 4,6-Dioxoheptansäure (11).

Das Lithiumsalz von Chloressigsäure (19) wurde mit käuflichem Acetylaceton zur 4,6-Dioxoheptansäure (11) umgesetzt. Dazu wurde Acetylaceton mittels NaNH<sub>2</sub> in flüssigem NH<sub>3</sub> ins Dianion überführt. Das *in situ* gebildete Dianion reagierte durch nukleophile Substitution mit dem Lithiumsalz von Chloressigsäure (19) zum Lithiumsalz der 4,6-Dioxoheptansäure. Nach anschließender Hydrolyse und Extraktion mit Ether konnte nach dem Eindampfen, Umkristallisieren in CHCl<sub>3</sub>/CCl<sub>4</sub> und Trocknen am HV die 4,6-Dioxoheptansäure (11) in 71% Ausbeute isoliert werden.

Das Tautomerenverhältnis zwischen der Keto- und der Enolform wurde mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie bestimmt. Es zeigt sich, dass im polaren Lösungsmittel die polarere Ketoform dominiert. Im apolaren Lösungsmittel hingegen liegt die 4,6-Dioxoheptansäure (11) bevorzugt in der Enolform vor. In D<sub>2</sub>O beträgt das Verhältnis der Keto- zur Enolform 5 : 1. In CDCl<sub>3</sub> dagegen dominiert die Enolform und das Verhältnis der Keto- zur Enolform beträgt 1 : 3.

Mittels <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie (HETCOR L.R.) konnte zusätzlich gezeigt werden, dass die C-C-Doppelbindung der Enolform selektiv zwischen dem C(5) und dem C(6) der 4,6-Dioxoheptansäure (11) ausgebildet wird

(Kopplung des Protonensignals von  $\text{H}_3\text{C}(7)$  mit dem  $^{13}\text{C}$ -Signal des enolischen  $\text{C}(6)$ ). Die Doppelbindung liegt aufgrund energetischer Überlegungen wahrscheinlich in der (Z)-Konfiguration vor. Die (Z)-Konfiguration wird nämlich durch die intramolekulare H-Brückenbildung zwischen dem enolischen H-Atom und der Ketogruppe über einen sechsgliedrigen Ring stabilisiert.

Ali Neffati gelang es im Praktikum des letzten Studienjahres, die 4,6-Dioxoheptansäure (11), ausgehend vom 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23), durch enzymatische Hydrolyse (Schweineleber-Esterase) zu erhalten [137]. Die in der Dissertation von R. Lüönd beschriebenen Hydrolyse- und Extraktionsbedingungen [142] ergaben die 4,6-Dioxoheptansäure (11) in 89% Ausbeute.

### 5.2.2 Synthese von 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23), [44]

Zur Synthese des Magnesiumkomplexes (20) (Abbildung 59) wurde Magnesiummethanolat mit käuflichem Acetessigsäure-tert.-butylester in Methanol umgesetzt. Nach dem Abfiltrieren und mehrmaligem Waschen mit trockenem Methanol konnte das Produkt nach dem Trocknen am HV mit einer Ausbeute von 98% isoliert werden.

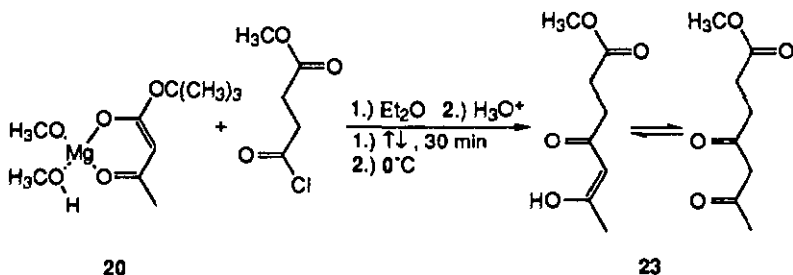


Abbildung 59: Synthese des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23).

In trockenem Ether wurde der Magnesiumkomplex (20) mit käuflichem Bernsteinsäuremonomethylesterchlorid zur Reaktion gebracht. Das Kondensationsprodukt wurde nach erfolgter Hydrolyse mit Ether extrahiert, getrocknet und einrotiert. Das isolierte Zwischenprodukt wurde mit p-Toluolsulfonsäure versetzt und unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre rückflusiert ( $T = 150^\circ\text{C}$ ). Dabei konnte die Bildung von Isobuten und  $\text{CO}_2$  beobachtet werden. Nach dem Abkühlen auf RT wurde das braune Öl in Ether aufgenommen und möglichst rasch mit eisgekühlter 2 M NaOH-Lösung extrahiert. Die basischen Extrakte wurden sofort zu eisgekühlter 1.8 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung gegeben. Nach

der Extraktion mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und dem Zurückwaschen mit  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, konnte nach dem Einrotieren und anschliessender Vakuumdestillation der 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) in 40% Ausbeute isoliert werden.

Bei später durchgeführten Synthesen des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) wurde das verlustreiche Extraktionsprozedere stark verkürzt. Nach dem Rückflussieren des Zwischenproduktes wurde das resultierende braune Oel in Ether aufgenommen und zur Entfernung der *p*-Toluolsulfonsäure einmal mit Wasser extrahiert. Die einrotierte getrocknete organische Phase wurde neu direkt destilliert. Die Ausbeuten konnten dadurch auf 79 % erhöht werden.

Das Tautomerenverhältnis zwischen der Keto- und der Enolform wurde mittels  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestimmt. Es zeigte sich in Analogie zur 4,6-Dioxoheptansäure, dass im apolaren Lösungsmittel die apolarere Enolform dominiert. In  $\text{CDCl}_3$  beträgt das Verhältnis der Keto- zur Enolform 1 : 3.

### 5.2.3 Synthese von 2,4-Dioxopentansäureethylester (27), [143]

In einer Lösung von Natriumethanolat in Ethanol wurde Aceton mit käuflichem Oxalsäure-diethylester umgesetzt (Abbildung 60).

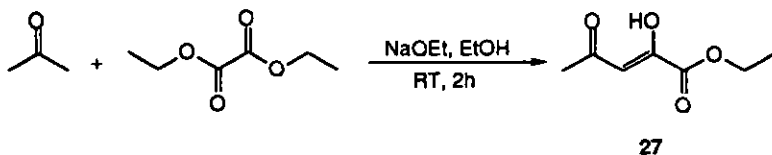


Abbildung 60: Synthese des 2,4-Dioxopentansäureethylesters (27).

Nach dem Abfiltrieren und Waschen mit absolutem Ethanol konnte das Natriumsalz des 2,4-Dioxopentansäureethylesters isoliert werden. Nach anschliessender Hydrolyse wurde mit Ether extrahiert, eingengt und getrocknet. Schliesslich konnte der 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) nach Kugelrohrdestillation in einer Ausbeute von 40% isoliert werden.

### 5.2.4 Synthese von 2,4-Dioxopentansäure (107)

Ausgehend vom 2,4-Dioxopentansäuremethylester (106) wurde die 2,4-Dioxopentansäure (107) durch enzymatische Hydrolyse (Schweineleber-Esterase) hergestellt (Abbildung 61).

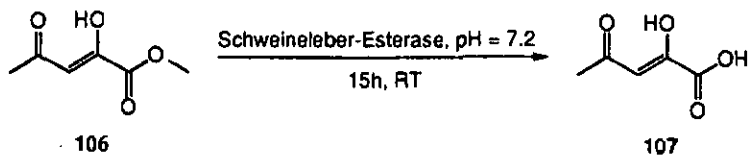


Abbildung 61: Enzymatische Hydrolyse des 2,4-Dioxopentansäuremethylesters (106).

Dazu wurde der 2,4-Dioxopentansäuremethylester (106) in einem Gemisch aus THF und Wasser (3 : 1) gelöst und langsam zu einer Phosphatpufferlösung des Enzyms zugegeben. Nach vollständig erfolgter Hydrolyse (15 h mittels DC) wurde die angesäuerte Reaktionslösung mit Ether kontinuierlich extrahiert. Schliesslich wurde der Etherextrakt getrocknet, abfiltriert und eingeeengt. Nach zweifachem Umkristallisieren aus  $\text{CHCl}_3$  /  $\text{CCl}_4$  (1 : 1), Abfiltrieren und Trocknen am HV konnten weissliche Kristalle der 2,4-Dioxopentansäure (107) in einer Ausbeute von 17 % isoliert werden.

Im Vergleich mit der enzymatischen Hydrolyse des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) fällt auf, dass die Ausbeuten der enzymatischen Hydrolyse des 2,4-Dioxopentansäuremethylesters (106) deutlich geringer ausfallen. Dafür ist vermutlich der unterschiedliche Abstand der polaren 1,3-Diketonfunktion zur Esterfunktion verantwortlich. Im Falle des 2,4-Dioxopentansäuremethylesters (106) ist die zu hydrolisierende Esterfunktion direkt mit der polaren 1,3-Diketonfunktion verknüpft. Die erhöhte Polarität der Esterfunktion bewirkt die Ausbildung zusätzlicher H-Brücken mit dem aktiven Zentrum des Enzyms, wodurch der Hydrolyseprozess behindert wird.

Basische Hydrolyseversuche des 2,4-Dioxopentansäuremethylesters (106) führten nicht zur gewünschten 2,4-Dioxopentansäure (107), sondern ergaben Aldolkopplungsprodukte der Ausgangsverbindung 106 (AB - System im  $^1\text{H}$ -NMR - Spektrum).

5.2.5 Synthese von 6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethylester (108), [45]

Beim direkten Einleiten von  $\text{NH}_3$  in den flüssigen 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) kommt es zur selektiven Bildung des 6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethylesters (108) (Abbildung 62).

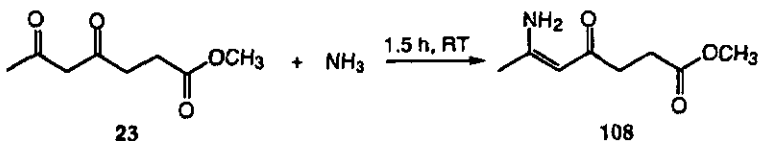


Abbildung 62: Synthese des 6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethylesters (108).

Nach anschliessen der direkter Säulenchromatographie konnte das Produkt in einer Ausbeute von 47 % isoliert werden.

Der Grund für den selektiven Angriff des nukleophilen  $\text{NH}_3$  dürfte in der unterschiedlichen Reaktivität der beiden Carbonylfunktionen des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) liegen. In erster Näherung kann die geringere sterische Hinderung am C(6) dessen erhöhte Reaktivität erklären.

Aufgrund des tautomeren Gleichgewichts zwischen der Keto- und der Enolform des Edukts 23, kann allerdings keine Aussage über die Natur des nukleophilen Angriffs am C(6) gemacht werden. Prinzipiell ist sowohl ein Angriff auf die Keto- als auch ein Michael-artiger Angriff auf die Enolform des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) denkbar.

$^1\text{H-NMR}$ -Untersuchungen zeigten, dass einer der beiden Aminwasserstoffe des 6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethylesters (108) eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zur Ketofunktion ausbildet ( $\delta > 7\text{ppm}$ ). Daraus folgt, dass die Doppelbindung des Moleküls (Z) - Konfiguration besitzt (siehe auch Kap. 5.2.11).

### 5.2.6 Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-isoxazol (116) / 5-Methyl-3-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-isoxazol (117), [144]

Zur Synthese des Isoxazolgemisches (116, 117) wurde der 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) in trockenem Methanol mit Hydroxylaminhydrochlorid versetzt und rückflusiert (Abbildung 63).

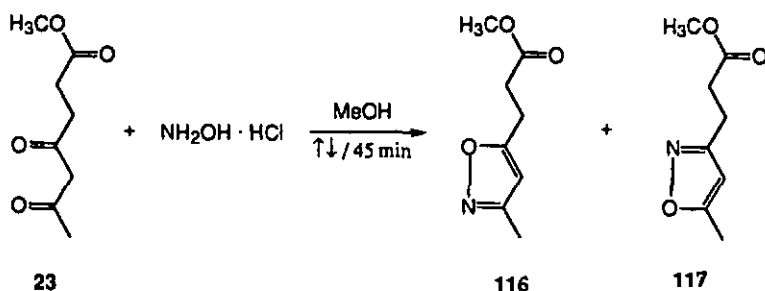


Abbildung 63: Synthese des Isoxazolgemisches (116, 117).

Nach dem Abfiltrieren, Trocknen des Filtrats und Einengen konnte das Produktgemisch (116, 117) mit einer Ausbeute von 97 % isoliert werden.

Im Gegensatz zum selektiven Angriff des NH<sub>3</sub> (Kap. 5.2.5), findet der Angriff des Hydroxylamins an beiden Carbonylfunktionen des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) statt. Das Verhältnis der beiden resultierenden Isomeren 116 und 117 von 4 : 1 wurde mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie bestimmt. Die Strukturzuordnung der einzelnen Isomere erfolgte anhand des HETCOR L.R.-Spektrums.

Die Auswertung der NMR - Daten zeigt, dass der Angriff des Hydroxylamins zwar nicht selektiv, aber trotzdem bevorzugt am reaktiveren C(6) des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) stattfindet.

Die Trennung der beiden Isomere war weder durch Destillation noch durch Säulenchromatographie möglich.

5.2.7 Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2-carboxyethyl)-isoxazol (114) / 5-Methyl-3-(2-carboxyethyl)-isoxazol (115), [144]

Zur Synthese des Isoxazolgemisches (114, 115) wurde die 4,6-Dioxoheptansäure (11) in Essigsäure mit Hydroxylaminhydrochlorid versetzt und rückflusiert (Abbildung 64).

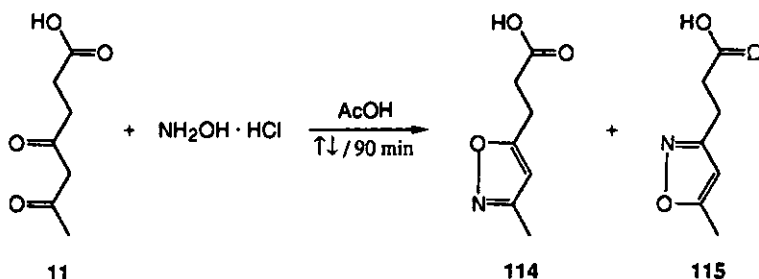


Abbildung 64: Synthese des Isoxazolgemisches (114, 115).

Nach dem Abfiltrieren und Einengen des Filtrats konnten nach zweifachem Umkristallisieren aus CHCl<sub>3</sub>/Pentan 1 : 1 weisse Kristalle des Produktgemisches (114, 115) mit einer Ausbeute von 67.5% isoliert werden.

Das Verhältnis der beiden resultierenden Isomere 114 und 115 von 3 : 1 wurde mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie bestimmt. Die Strukturzuordnung der einzelnen Isomere erfolgte anhand des HETCOR L.R.-Spektrums. Die Auswertung der NMR-Daten bestätigen die Zuordnungen der entsprechenden Methylester (116, 117) (Kap. 5.2.6).

Durch katalytische Hydrierung (H<sub>2</sub>, Raney-Nickel) des Isoxazol-Isomeren-gemisches wurde versucht, direkt zu den 1,3-Ketoenamensäuren zu gelangen. Sämtliche Versuche führten aber zur vollständigen Zersetzung der beiden Eduktisomeren (116, 117).

Die Trennung der beiden Isomere war weder durch Umkristallisation noch durch Säulenchromatographie möglich.

5.2.8 Synthese des Gemisches aus 5-Methyl-3-ethoxycarbonyl-isoxazol (28)/3-Methyl-5-ethoxycarbonyl-isoxazol (29), [145]

Zur Synthese des Isoxazolgemisches (28, 29) wurde der 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) in trockenem Ethanol mit Hydroxylaminhydrochlorid versetzt und rückflusiert (Abbildung 65).

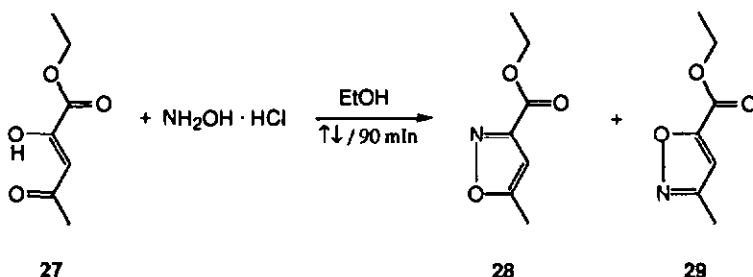


Abbildung 65: Synthese des Isoxazolgemisches (28, 29).

Die eingeeingte Reaktionslösung wurde in Wasser aufgenommen und dreimal mit Ether extrahiert. Nach dem Zurückwaschen, Trocknen und Einengen der organischen Phase konnte, nach abschliessender Kugelrohrdestillation, das Produktgemisch (28, 29) mit einer Ausbeute von 78.5% isoliert werden.

Analog zur Isoxazolbildung des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) (Kap. 5.2.6), bzw. der 4,6-Dioxoheptansäure (11) (Kap. 5.2.7), findet der Angriff des Hydroxylamins an beiden Carbonylfunktionen des 2,4-Dioxopentansäureethylesters (27) statt. Das Verhältnis der beiden resultierenden Isomere 28 und 29 von 7 : 1 wurde mittels  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestimmt. Die Strukturzuordnung der einzelnen Isomere erfolgte anhand des HETCOR L.R.-Spektrums. Die Auswertung der NMR-Daten zeigt, dass der Angriff des Hydroxylamins zwar nicht selektiv, aber stark bevorzugt am reaktiveren C(2) des 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) stattfindet. Diese Beobachtung steht mit der Literatur (Kap. 4.2.3) im Einklang, denn je saurer die Reaktionslösung, desto selektiver wird der Angriff auf die C(2)-Position des 2,4-Dioxopentansäureethylesters (27).

Die Trennung der beiden Isomere war weder durch Destillation noch durch Säulenchromatographie möglich.

5.2.9 Synthese von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazol (118)  
[47]

Das 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazol (118) wurde durch eine [3 + 2] Cycloaddition aus käuflichem Propargyltrimethylsilan und 4-Nitrobuttersäuremethylester in Anwesenheit von Phenylisocyanat und  $\text{NEt}_3$  in trockenem Toluol synthetisiert (Abbildung 66).

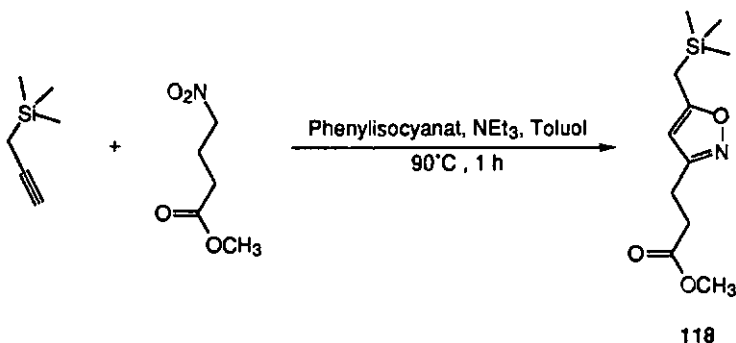


Abbildung 66: Synthese des 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazols (118).

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde der 4-Nitrobuttersäuremethylester in getrocknetem Toluol unter Rühren vorgelegt. Die auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlte Lösung wurde mit Propargyltrimethylsilan, dann mit Phenylisocyanat und schliesslich mit getrocknetem Triethylamin versetzt. Die resultierende Lösung wurde zuerst bei RT gerührt und anschliessend während einer Stunde auf  $90^\circ\text{C}$  erwärmt. Die resultierende gelbe Suspension wurde abfiltriert und eingeeengt. Nach Kugelrohr-Destillation konnte das 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazol (118) mit einer Ausbeute von 63,5% isoliert werden.

5.2.10 Synthese von 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyl-isoxazol (119), [146]

Die Hydrolyse (Desilylierung) des 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazols (118) ergibt das 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methylisoxazol (119) (Abbildung 67).

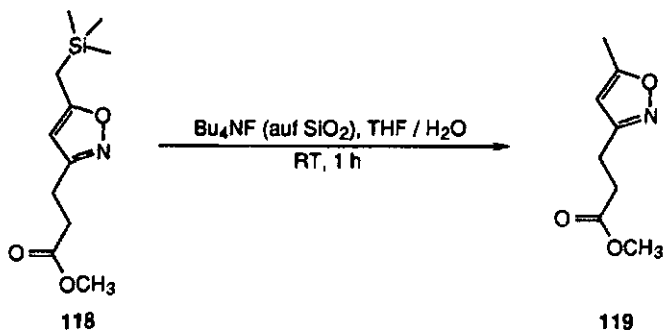


Abbildung 67: Synthese des 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methylisoxazols (119).

Das 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazol (118) wurde dazu in einem THF/H<sub>2</sub>O Gemisch in Anwesenheit von Tetrabutylammoniumfluorid während 1 h bei RT gerührt. Nach dem Abfiltrieren und Waschen mit H<sub>2</sub>O wurde dreimal mit CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit H<sub>2</sub>O zurückgewaschen, getrocknet, filtriert und eingengt. Nach Flash-Säulenchromatographie konnte das Produkt 119 mit einer Ausbeute von 76% isoliert werden.

5.2.11 Synthese von 4-Amino-6-oxo-4-heptensäuremethylester (109), [144]

Die katalytische Hydrierung des 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methylisoxazols (119) mittels eines Katalysatormischungs aus Raney-Nickel und PtO<sub>2</sub> ergab den 4-Amino-6-oxo-4-heptensäuremethylester (109) (Abbildung 68).

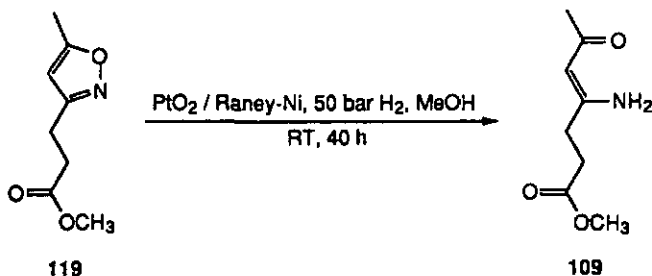


Abbildung 68 Synthese des 4-Amino-6-oxo-5-heptensäuremethylesters (109).

In einem ersten Schritt wurde das zur Hydrierung benötigte Katalysatoren-gemisch hergestellt und aktiviert. Dazu wurde die käufliche Raney-Nickel-Legierung mittels NaOH-Lösung versetzt und mehrere Male mit H<sub>2</sub>O und MeOH gewaschen. Nach der Zugabe des PtO<sub>2</sub> wurde dem resultierenden aktivierten Katalysatoren-gemisch eine methanolische Lösung des 3-(2-Methoxycarbonyl-5-methylisoxazol) zugefügt.

Unter einem Druck von 50 bar H<sub>2</sub> wurde während 40 h bei RT hydriert. Das über Celite abfiltrierte und mit Methanol gewaschene Rohprodukt wurde nach dem Einengen chromatographiert. Der 4-Amino-6-oxo-4-heptensäuremethylester (109) konnte schlussendlich mit einer Ausbeute von 25 % isoliert werden (die Nebenprodukte wurden nicht identifiziert).

Bei sämtlichen Hydrierungsversuchen, die mit nur einem der beiden Katalysatoren durchgeführt wurden, konnte keine Ringöffnung beobachtet werden. Nach durchgeführter Hydrierung (48-72h, 50°C, RT) wurde jeweils das Eduktisoxazol 119 zurückisoliert.

<sup>1</sup>H - NMR - Untersuchungen zeigten, dass einer der beiden Aminwasserstoffe des 4-Amino-6-oxo-4-heptensäuremethylesters (109) eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zur Ketofunktion ausbildet ( $\delta > 7$ ppm). Daraus folgt, dass die Doppelbindung des Moleküls (Z) - Konfiguration besitzt (siehe auch Kap. 5.2.5).

5.2.12 Synthese von 6-Methoxy-4-oxo-5-heptensäuremethylester (110)/ 4-Methoxy-6-oxo-4-heptensäuremethylester (111), [49]

Zur Synthese des Enolethergemisches (110, 111) wurde eine methanolische Lösung des 4,6-Dioxoheptensäuremethylesters (23) mit Orthoameisensäure-trimethylester, in Anwesenheit katalytischer Mengen von *p*-Toluolsulfonsäure, bei RT gerührt (Abbildung 69).

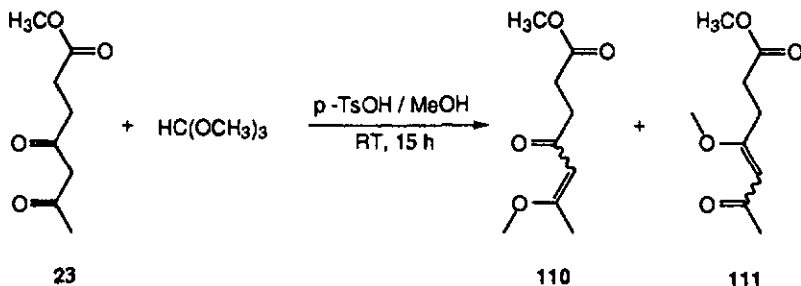


Abbildung 69: Synthese des Enolethergemisches (110, 111).

Nach erfolgter Reaktion wurde die Reaktionslösung mit einer NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Nach dem Zurückwaschen der organischen Phase mit Wasser, wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und vorsichtig bei RT eingeeengt (belüftet mit vorgetrocknetem N<sub>2</sub>). Nach abschliessender Flash-Säulenchromatografie konnten die beiden Isomeren (110, 111) mit einer Gesamtausbeute von 75% isoliert werden.

Beim Einengen der organischen Phasen wurde jeweils eine partielle Hydrolyse der isomeren Enolether (110, 111) beobachtet. Zusätzlich kam es bei Temperaturen ab ca. 30°C zu deren Isomerisierung. Durch das Zurückwaschen der organischen Phasen mit einer NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und anschliessendem Trocknen (MgSO<sub>4</sub>) und Einengen bei RT konnten diese Probleme deutlich reduziert werden. Das gleiche Verfahren wurde beim Koevaprieren mit CHCl<sub>3</sub> angewendet. Zusätzlich wurden sämtliche NMR-Lösungsmittel über aktiviertes Alox filtriert.

In NMR-Langzeitversuchen zeigte sich jedoch, dass die beiden isomeren Enolether auch in filtriertem CDCl<sub>3</sub> partiell hydrolysieren. Die gemessenen Werte der Elementaranalysen zeigten ebenfalls eine Abweichung von 0.8 bzw. 4.9% (C) von den theoretisch berechneten Werten.

Analog zur Isoxazolbildung der 1,3-Diketonverbindungen findet der Angriff des Nucleophils an beiden Carbonylfunktionen des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) statt. Das Verhältnis der beiden resultierenden Isomere 110 und 111 von 6 : 1 wurde mittels  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestimmt. Die Strukturzuordnung der einzelnen Isomere erfolgte anhand des HETCOR L.R.-Spektrums. Die Auswertung der NMR-Daten zeigt, dass der Angriff des Nucleophils zwar nicht selektiv, aber stark bevorzugt am reaktiveren C(6) des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) stattfindet.

$^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ - NMR-Untersuchungen zeigen, dass die beiden getrennten Regioisomere 110 und 111 jeweils als (E) - und (Z)-Diastereoisomerengemisch vorliegen. Aufgrund des Fehlens eines verbrückenden H-Atoms können sich die Enolether nicht über einen sechsgliedrigen Ring zum (Z)-Diastereoisomeren stabilisieren.

### 5.2.13 Synthese von (E/Z)-4-Oxo-6-oxyltrimethylsilyl-5-heptensäuremethylester (E / Z-120). [59]

Die Silylierungsreaktion des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (23) in HMDS führte in Anwesenheit katalytischer Mengen Imidazol zum (E/Z)-Diastereoisomerengemisch des 4-Oxo-6-oxyltrimethylsilyl-5-heptensäuremethylesters (E / Z-120) (Abbildung 70).

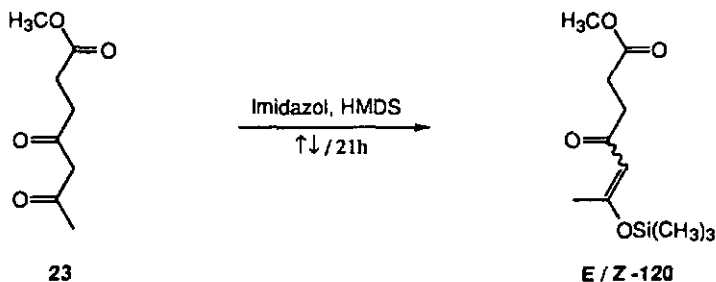


Abbildung 70: Synthese des (E/Z)-Silylenolethergemisches E / Z-120.

Das Reaktionsgemisch wurde unter einer Stickstoffatmosphäre während 21 h rückflusiert. Nach direkt anschließender Kugelrohrdestillation konnte das Produkt in einer Ausbeute von 95 % isoliert werden.

Im Gegensatz zur Isoxazol- und Enoletherbildung der 1,3-Diketonverbindungen, findet die Silylierung des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (**23**) unter den verwendeten Bedingungen ausschliesslich am Carbonylsauerstoff des C(6) statt.

Das Interesse am 4-Oxo-6-oxymethylsilyl-5-heptensäure-methylester (**120**) liegt in dessen Verwendung zur Pyrrolsynthese. Das Umsetzen mit Esterderivaten von ALA (**2**) könnte in organischen aprotischen Lösungsmitteln durchgeführt werden.

#### 5.2.14 Synthese von (E/Z)-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (E/Z-121), [147]

Zur Synthese des Diastereoisomerengemisches E/ Z-121 wurde eine Lösung des 4,6-Dioxoheptansäuremethylesters (**23**) mit Oxalylchlorid in Toluol bei 70 °C gerührt (Abbildung 71).

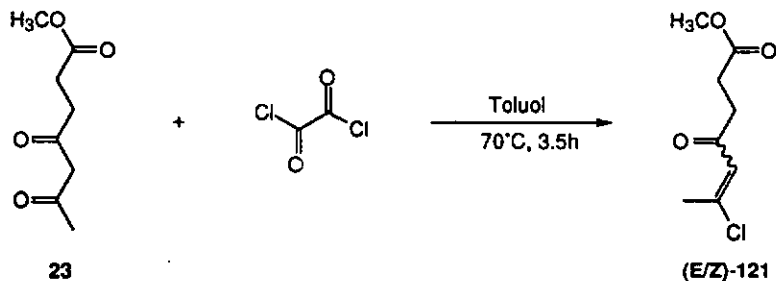


Abbildung 71: Synthese des (E/Z)-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (**121**).

Das Reaktionsgemisch wurde nach 3.5h Reaktionszeit direkt einrotiert und säulenchromatografiert. Die beiden getrennten Diastereoisomeren konnten in einer Gesamtausbeute von 30% isoliert werden.

Die Strukturzuordnung der getrennten Diastereoisomeren erfolgte mittels NMR-Spektroskopie (NOESY, HETCOR L.R.).

5.3 Synthese von Pyrrolen5.3.1 Pyrrolsynthesen aus 1,3 - Diketonen und  $\alpha$  - Aminoketonen, [148]

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine erweiterte Variante der *Knorr*'schen Pyrrolsynthese angewendet. Sie besteht darin,  $\alpha$ -Aminoketon-Salze direkt mit 1,3-Diketonen zu Pyrrolen umzusetzen [148]. Es konnten dadurch verschiedene Modellverbindungen synthetisiert werden.

Die wichtigste Anwendung dieser Methode ist die Kondensationsreaktion zwischen 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) und 4,6-Dioxoheptansäure (11) in einem 1 M AcOH/NaOAc-Puffer. Die Reaktion ergab ein Gemisch von vier isomeren Pyrrolen 125 - 128, die aufgrund ihrer Strukturmerkmale von grossem Interesse für die von uns durchgeführten Inhibitionsstudien sind (Abbildung 72).

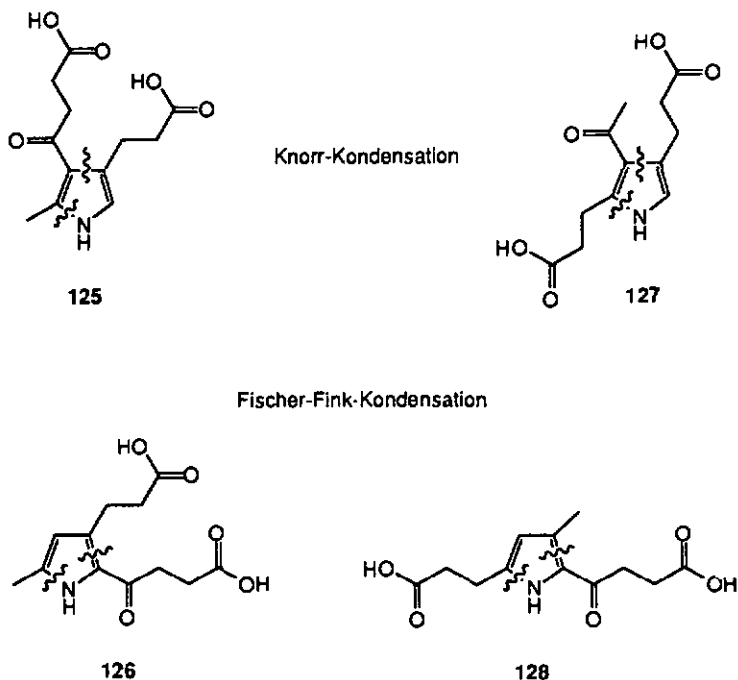


Abbildung 72: Isomere Pyrrole 125 - 128.

Prinzipiell entstehen zwei unterschiedliche Pyrroltypen:  $\alpha$ -bzw.  $\beta$ -freie Pyrrole. Daraus folgt, dass es zwei unterschiedliche Reaktionsmechanismen geben muss. Die Pyrrole 122 und 124 stellen formal die erwarteten "klassischen" *Knorr*'schen Kondensationsprodukte dar. Als Mechanismus wird allgemein der im Anschluss beschriebene Reaktionsweg angenommen (vergl. Abbildung 73).

Reaktionsmechanismus der *Knorr*'schen Pyrrole (vergl. Abbildung 73):

- Bildung des Imins 122.
- Tautomere Imin-Enamin-Gleichgewichtsbildung in Richtung des leicht enolisierbaren Diketons 11.
- Intramolekulare Cyclisierung des Enamins 123 und H<sub>2</sub>O-Abspaltung zu den pyrrolischen Produkten 125/127.

Die Bildung der Pyrrole 126 und 128 hingegen weichen im Enolisierungsschritt vom "klassischen" *Knorr*'schen Pyrrolsynthesemechanismus ab (vergl. Abbildung 73).

Reaktionsmechanismus der *Fischer-Fink*'schen Pyrrole (vergl. Abbildung 73):

- Bildung des Imins 122.
- Enolisierung auf der ALA-Seite zum Zwischenprodukt 123 und intramolekulare Aldolreaktion.
- H<sub>2</sub>O-Abspaltung zu den pyrrolischen Produkten 126/128.

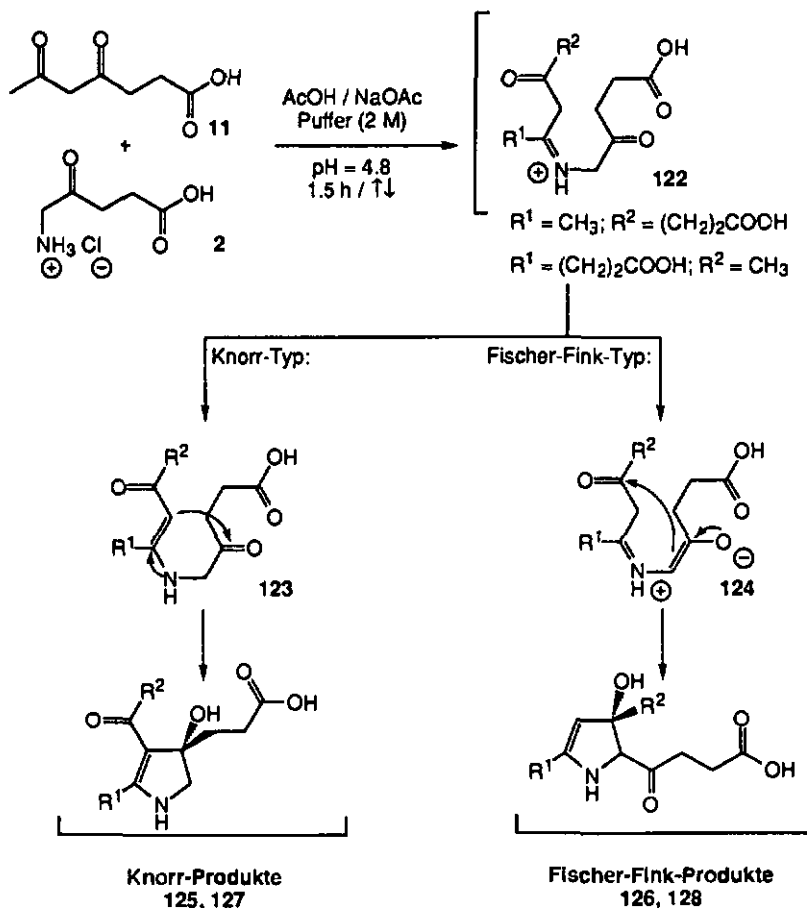


Abbildung 73 Pyrrolbildung nach Knorr und Fischer-Fink (Kleinspehn [149]).

Nach Kleinspehn [149] verläuft die Pyrrolbildung zwischen dem Aminomalonsäureester (129) und Acetylacetone nach demselben Mechanismus.

Der aus dem entsprechenden N-Oximvorläufer *in situ* reduzierte (Zn, AcOH) Aminomalonsäureester (129) wurde mit Acetylacetone in AcOH am Rückfluss zum Pyrrol 130 umgesetzt (Abbildung (74)).

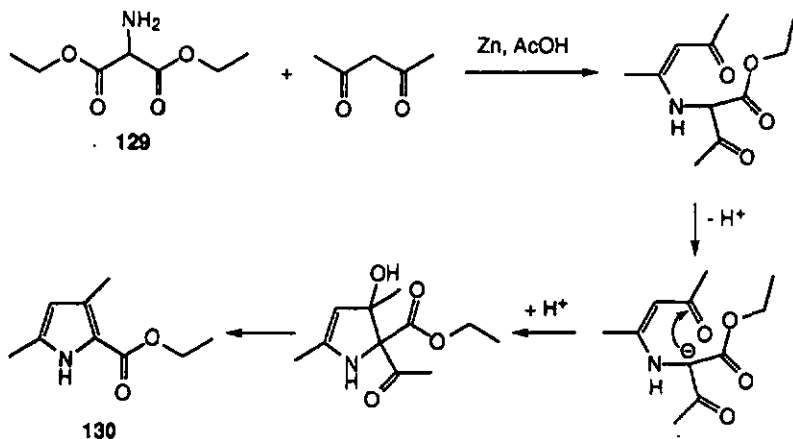


Abbildung 74: Pyrrolbildung nach *Kleinspehn* [149]).

*Kleinspehn* erhielt das Pyrrol 130 als einziges Produkt (kein Knorrprodukt!).

Im Normalfall stehen aber beide Produkte in direkter Konkurrenz, und je nach Reaktionsbedingungen kann der eine oder andere Reaktionspfad vorherrschen. Im allgemeinen zeigen jedoch meso-unsubstituierte 1,3-Dicarbonylverbindungen grössere Tendenz zum "normalen" Ringschluss, während Derivate mit einem Substituenten in der  $\alpha$ -Position zu beiden Carbonylgruppen eher zur Bildung des *Fischer-Fink*-Produktes neigen ([1] S. 210ff).

Zur Trennung wurden die Pyrrole in deren Butylesterderivate überführt.

### 5.3.2 Synthese von 3-Acetyl-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (131)/ 3,5-Dimethyl-2-phenyl-carbonyl-pyrrol (132), [150,151]

Die Synthese dieser beiden Modellverbindungen wurde ausgehend von Acetylaceton und Phenacylamin-hydrochlorid in verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt (Abbildung 75).

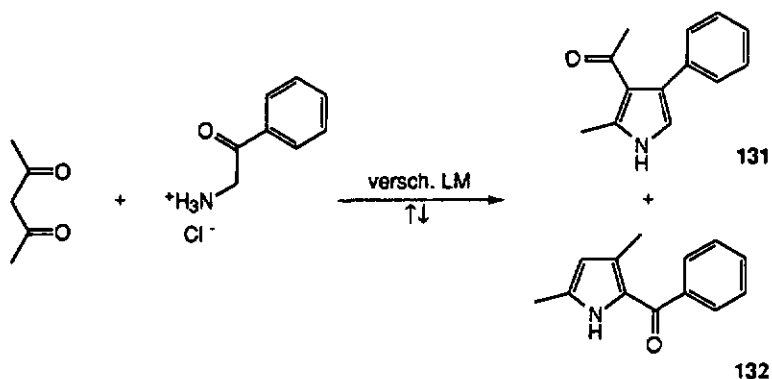


Abbildung 75: Synthese der Modellpyrrole 131, 132.

Die folgenden Lösungsmittel wurden zur Synthese verwendet:

- 1 M Essigsäure/Natriumacetat - Puffer
- Toluol in Anwesenheit von 1.1 Aeq.  $\text{NEt}_3$
- $\text{AcOEt}$  in Anwesenheit von 1.1 Aeq.  $\text{NEt}_3$
- HMDS

a.) Reaktion in 1 M Essigsäure/Natriumacetat - Puffer:

Die beiden käuflichen Edukte wurden im Puffer gelöst und während 30 min rückflusiert. Die resultierende Reaktionslösung wurde in den Kühlschrank gestellt, wodurch das Produkt in Form eines gelben Niederschlags ausfiel. Nach dem Abfiltrieren, Waschen und Trocknen am HV konnte das Produktgemisch mit einer Ausbeute von 75% isoliert werden. Das Verhältnis der beiden resultierenden Isomere 131 und 132 von 4 : 1 wurde mittels  $^1\text{H}$ -NMR- Spektroskopie bestimmt.

Durch Säulenchromatografie konnten die beiden isomeren Modellverbindungen schliesslich getrennt werden.

b.) Reaktion in Toluol:

Phenacylaminhydrochlorid wurde in Toluol vorgelegt und zuerst mit 1.1 Aeq Triethylamin und anschliessend mit Acetylaceton versetzt. Die anfänglich weissliche Suspension wurde während 2 h rückflusiert, wodurch sie sich gelb verfärbte. Nach dem Abkühlen im Kühlschrank wurde abfiltriert und mit Toluol nachgewaschen. Schliesslich wurde das Filtrat eingengt und während 2 h am HV getrocknet. Dadurch konnte das Produktgemisch mit einer Ausbeute

von 47 % isoliert werden. Durch die Kontrolle des abfiltrierten Triethylammoniumchlorids mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie, konnte ein Verlust an Produkt durch Ausfällen ausgeschlossen werden.

Das Verhältnis der beiden resultierenden Isomere **131** und **132** von 5 : 1 wurde mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie bestimmt.

Im Vergleich zur Reaktion im Essigsäure / Natriumacetat - Puffer ergibt die Reaktion in Toluol deutlich schlechtere Ausbeuten. Zusätzlich verkleinert sich auch der relative Anteil des Fischer-Fink-Produktes **132**.

c.) Reaktion in AcOEt:

Phenacylaminhydrochlorid wurde in AcOEt vorgelegt und zuerst mit 1.1 Äq Triethylamin und anschliessend mit Acetylaceton versetzt. Die anfänglich weissliche Suspension wurde während 2 h rückflusiert, wodurch sie sich orange verfärbte. Nach dem Abkühlen im Kühlschrank wurde abfiltriert und mit AcOEt nachgewaschen. Schliesslich wurde das Filtrat eingengt und während 2 h am HV getrocknet.

Aus NMR-Untersuchungen ( $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ ) des isolierten Zwischenproduktes folgt, dass die Reaktion in AcOEt nicht zur Pyrrolbildung führt, sondern vermutlich auf der Ketoenamin-Zwischenstufe **133** stehen bleibt (Abbildung 76).

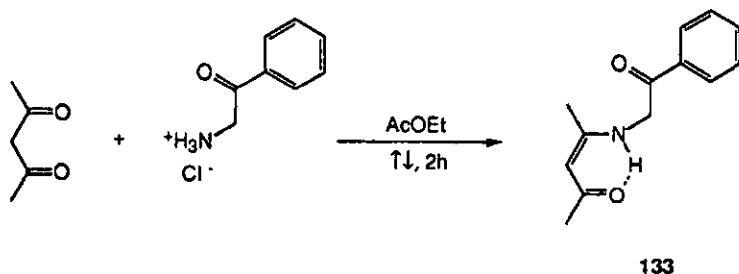


Abbildung 76: Synthese des Ketoenaminzwischenproduktes **133**.

Die Isolierung des Ketoenamins **133** erwies sich als problematisch. Durch Säulenchromatografie über Kieselgel resultierte die Zyklisierung zu Pyrrolen. Umkristallisationsversuche ergaben ebenfalls keine befriedigenden Resultate. In diversen Gemischen (AcOEt/Hex;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CHCl}_3$ ;  $\text{CHCl}_3/\text{CCl}_4$ ) bildeten sich bereits bei leichtem Erwärmen ebenfalls Pyrrole.

Vermutlich verhindert die Anwesenheit des  $\text{NEt}_3$  in der Reaktionslösung die Pyrrolbildung während der Reaktion. Nach dem Eindampfen und Trocknen

am HV liegt das Ketoenamin 133 basenfrei vor und kann somit in Anwesenheit kleinster Säuremengen relativ leicht zyklisieren.

#### d.) Reaktion in HMDS

Die Durchführung der Reaktion in HMDS führte nach zweistündigem Rückflussieren, anschliessendem Abfiltrieren, Einrotieren und Trocknen am HV ebenfalls zum Ketoenaminzwischenprodukt 133.

Im Vergleich zur Reaktion in AcOEt, entstehen bei der Verwendung von HMDS neben dem Ketoenamin 133 eine deutlich grössere Anzahl an Nebenprodukten (<sup>1</sup>H-NMR).

Die Verwendung weiterer Lösungsmittel (MeOH, EtOH, siehe Kap. 5.3.7) zeigt, dass die Pyrrolsynthese aus einem 1,3-Diketon mit einem α-Ketoamin bei weitem am besten in wässrigen, schwach sauren Lösungen verläuft.

#### 5.3.3 Synthese von 3-Acetyl-4-(2-carboxyethyl)-2-methyl-pyrrol (134) / 2-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (135), [148]

Zur Synthese der beiden isomeren Pyrrole (134, 135) wurde Acetylaceton mit 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) in einem 1 M Essigsäure/Natriumacetat-Puffer rückflussiert (Abbildung 77).

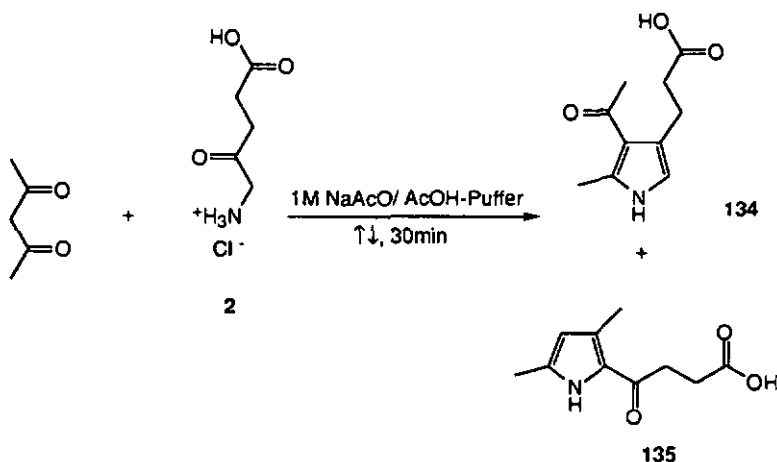


Abbildung 77: Synthese der isomeren Pyrrole 134, 135.

Die beiden Edukte wurden im Puffer gelöst und während 30 min rückflussiert. Die resultierende Reaktionslösung wurde in den Kühlschrank gestellt,

wodurch das Produkt in Form eines beigen, flockigen Niederschlags ausfiel. Nach dem Abfiltrieren, Waschen und Trocknen am HV konnte das Produktgemisch mit einer Ausbeute von 86.6% isoliert werden. Das Verhältnis der beiden resultierenden Isomere 134 und 135 von 20 : 1 wurde mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie bestimmt.

Die Trennung der beiden Isomeren war durch Säulenchromatografie nicht realisierbar. Hingegen konnten deren *n*-Butylesterderivate getrennt werden (Kap. 5.3.4).

### 5.3.4 Synthese von 3-Acetyl-4-(2-butoxycarbonylethyl)-2-methyl-pyrrol (136), 2-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (137), [148]

Zur Synthese der beiden *n*-butylierten isomeren Pyrrole (136, 137) wurde das Pyrrolgemisch 134, 135 in *n*-Butanol in Anwesenheit katalytischer Mengen von Säure ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) rückflusiert (Abbildung 78).

Die Strukturen der einzelnen Isomeren sind im experimentellen Teil dargestellt.

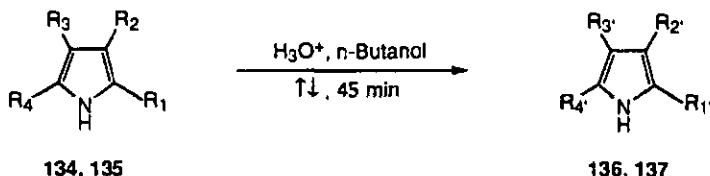


Abbildung 78: Synthese der isomeren *n*-Butyl-pyrrole 136, 137.

	$\text{R}_1$	$\text{R}_2$	$\text{R}_3$	$\text{R}_4$
134	H	$(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$
135	$\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CH}_3$	H	$\text{CH}_3$

	$\text{R}_1'$	$\text{R}_2'$	$\text{R}_3'$	$\text{R}_4'$
136	H	$\text{YCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$
137	$\text{XCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$	H	$\text{CH}_3$

$\text{X} = \text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2$ ;  $\text{Y} = (\text{CH}_2)_2$ .

Die isomeren Pyrrole (134, 135) wurden in *n*-Butanol gelöst, mit einigen Tropfen konzentrierter HCl-Lösung versetzt und während 45 min rückflusiert. Danach wurde die dunkelbraune Reaktionslösung in AcOEt aufgenommen

und zur Entfernung der Salzsäure zweimal mit H<sub>2</sub>O extrahiert. Nach dem Zurückextrahieren der wässrigen Phase wurden die organischen Phasen vereinigt, getrocknet, abfiltriert und eingengt. Nach dem Trocknen am HV resultierte das Produktgemisch (136, 137) mit einer Ausbeute von 94%.

Nach zweifacher Säulenchromatografie konnten die beiden getrennten Isomere 3-Acetyl-4-(2-butoxycarbonyl-ethyl)-2-methyl-pyrrol (136) und 2-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (137) isoliert werden.

Spätere Veresterungsreaktionen wurden in Anwesenheit von katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure (statt HCl) durchgeführt. Dabei kam es zu einer deutlich schwächeren Rotfärbung (Pyrrololigomerbildung) der Reaktionslösung.

5.3.5 Synthese von 3-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (138), 3-(2-Carboxyethyl)-5-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (139), 3-Acetyl-2-(2-Carboxyethyl)-4-phenyl-pyrrol (140), 5-(2-Carboxyethyl)-3-methyl-2-phenyl-carbonyl-pyrrol (141), [148]

Die Reaktion von 4,6- Dioxoheptansäure (11) mit käuflichem Phenacylaminhydrochlorid in 1 M Essigsäure/Natriumacetat-Puffer (Rückfluss) führte zur Bildung der vier isomeren Pyrrole (138 - 141) (Abbildung 79).

Die Strukturen der einzelnen Isomeren sind im experimentellen Teil dargestellt.

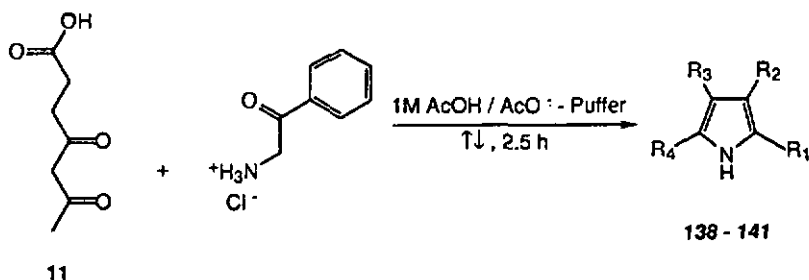


Abbildung 79: Synthese der 4 isomeren Pyrrole 138 - 141.

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
138	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
139	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
140	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
141	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

Die beiden Edukte wurden im Puffer gelöst und während 2.5 h rückflussiert. Die resultierende Reaktionslösung wurde auf RT abgekühlt und dreimal mit  $\text{CHCl}_3$  extrahiert. Nach dem Einengen und Trocknen am HV wurde eine klebrige Masse in quantitativer Ausbeute erhalten.

Die Auswertung des  $^1\text{H-NMR}$ -Rohspektrums ergab ein Verhältnis der *Knorr*-138, 140 zu den *Fischer-Fink*-Kondensationsprodukten 139, 141 von 5 : 1.

Die Trennung der vier Isomeren war durch Säulenchromatografie nicht realisierbar. Hingegen konnten deren *n*-Butylesterderivate getrennt werden (Kap. 5.3.6).

Eine Variante zur Bildung der Methylester bzw. der Zwischenprodukte der vier Pyrrole 138 - 141 kann ausgehend vom 4,6-Dioxiheptansäuremethylester (23) mit Phenacylaminhydrochlorid in organischen Lösungsmitteln in Anwesenheit von  $\text{NEt}_3$  realisiert werden.

a.) Reaktion in Toluol:

Analog zu den in Kap. 5.3.2 gemachten Beobachtungen zeigt sich auch hier, dass die Reaktion in Toluol deutlich weniger effizient als im Essigsäure / Natriumacetat - Puffer verläuft (kleinere Ausbeuten (30 - 50 %), längere Reaktionszeit (15 - 20 Std.)).

b.) Reaktion in AcOEt:

Analog zum Kap. 5.3.2 konnte auch hier die Bildung einer Ketoenamin-Zwischenstufe 142 beobachtet werden (Abbildung 80).

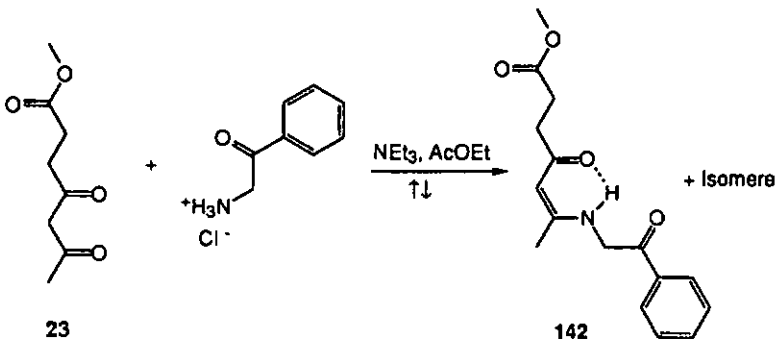


Abbildung 80: Synthese des Ketoenaminzwischenproduktes 142.

Die Isolierung des Ketoenamins 142 erwies sich allerdings als problematisch. Durch Säulenchromatografie über Kieselgel resultierte die Zyklisierung zu Pyrrolen. Umkristallisationsversuche ergaben ebenfalls keine befriedigenden Resultate. In diversen Gemischen (AcOEt/Hex; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CHCl<sub>3</sub>; CHCl<sub>3</sub>/CCl<sub>4</sub>) bildeten sich beim Erwärmen ebenfalls Pyrrole.

Vermutlich verhindert die Anwesenheit des NEt<sub>3</sub> in der Reaktionslösung die Pyrrolbildung während der Reaktion. Nach dem Eindampfen und Trocknen am HV liegt das Ketoamin 142 basenfrei vor und kann somit in Anwesenheit kleinster Säuremengen relativ leicht zyklisieren.

5.3.6 Synthese von 3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (143), 3-(2-butoxy-carbonylethyl)-5-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (144), 3-Acetyl-2-(2-butoxy-carbonylethyl)-4-phenyl-pyrrol (145), 5-(2-Butoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (146)

Zur Synthese der vier *n*-butylierten isomeren Pyrrole 143-146 wurde das Pyrrolgemisch 138-141 in *n*-Butanol in Anwesenheit katalytischer Mengen von *p*-TsOH rückflusiert (Abbildung 81).

Die Strukturen der einzelnen Isomeren sind im experimentellen Teil dargestellt.

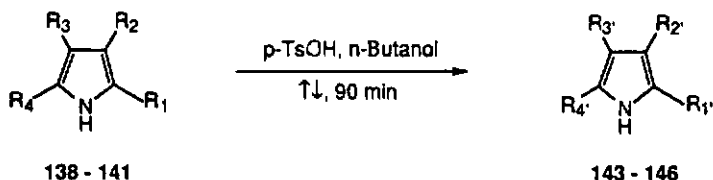


Abbildung 81: Synthese der isomeren *n*-Butyl-pyrrole (143-146).

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
138	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
139	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
140	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
141	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
143	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
144	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
145	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
146	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>

X = C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; Y = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

Die isomeren Pyrrole 138-141 wurden in *n*-Butanol gelöst, mit einer katalytischen Menge von *p*-TsOH versetzt und während 90 min rückflusiert. Danach wurde die dunkelbraune Reaktionslösung in CHCl<sub>3</sub> aufgenommen und zur Entfernung der *p*-TsOH zweimal mit H<sub>2</sub>O extrahiert. Nach dem Zurückextrahieren der wässrigen Phase wurden die organischen Phasen ver-

einigt, getrocknet, abfiltriert und eingeengt. Nach dem Trocknen am HV resultierte das Produktgemisch 143-146 in quantitativer Ausbeute.

Nach zweifacher Säulenchromatografie konnten 143 und 146 getrennt mit einer Mischfraktion von 144 und 145 in einer Gesamtausbeute von 92.6 % isoliert werden.

5.3.7 Synthese von 4-(2-Carboxyethyl)-3-(3-carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (125), 3-(2-Carboxyethyl)-2-(3-carboxy-1-oxopropyl)-5-methyl-pyrrol (126), 3-Acetyl-2,4-di(2-carboxyethyl)-pyrrol (127), 5-(2-Carboxyethyl)-2-(3-carboxy-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (128)

Die Reaktion von 4,6- Dioxoheptansäure (11) mit 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) in 1 M Essigsäure / Natriumacetat - Puffer (Rückfluss) führte zur Bildung der vier isomeren Pyrrole 125-128 (Abbildung 82).

Die Strukturen der einzelnen Isomeren sind im experimentellen Teil dargestellt.

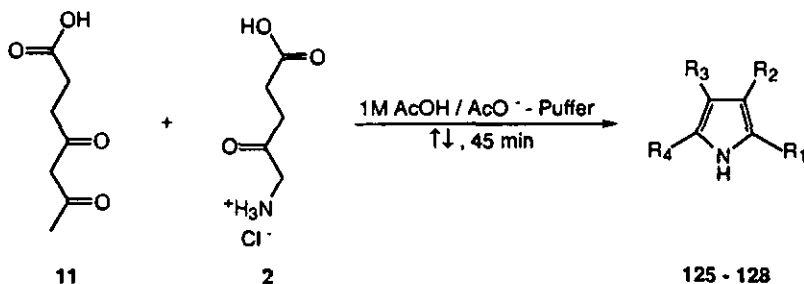


Abbildung 82: Synthese der isomeren Pyrrole (125 - 128).

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
125	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
126	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
127	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
128	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

Die beiden Edukte wurden im Puffer gelöst und während 45 min rückflussiert. Die Reaktionslösung wurde anschliessend mittels konz. HCl - Lösung auf pH = 1 gestellt und direkt sechsmal mit AcOEt extrahiert. Dabei bildete sich ein weisser Niederschlag in der wässrigen Phase, der sich während der ganzen Extraktion nicht mehr auflöste. Dieser Niederschlag wurde abfiltriert, mit

kaltem Wasser nachgewaschen und anschliessend während 2 Tagen am HV getrocknet. Es handelte sich dabei um reines 4-(2-Carboxyethyl)-3-(3-carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (125) in einer Ausbeute von 51.7%.

Die vereinigten AcOEt - Extrakte wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und eingeeengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht konnte das Isomeren-gemisch 125-128 mit einer Ausbeute von 49.7% isoliert werden.

Der Grund für die zu grosse Gesamtausbeute (101.4%) liegt in den hygros-kopischen Eigenschaften der Produkte.

Diese Methode der Abtrennung des 4-(2-Carboxyethyl)-3-(3-carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrols (125) bringt zwei Vorteile: Einerseits kann dadurch das Pyrrol 125 direkt sehr rein erhalten werden, andererseits wird die Trennung der *n* - Butylester der übrigen Isomere 126-128 erleichtert (Kap. 5.3.8), da bereits rund 50 % der Reaktionsmasse entfernt worden sind.

Die Tatsache, dass die freien Pyrrolsäurederivate 125-128 chromatographisch nicht direkt getrennt werden können, sondern dazu in ihre *n*-Butylester-derivate überführt werden müssen, motivierte uns, die Pyrrolsynthese direkt in Alkoholen (MeOH, EtOH) durchzuführen. Leider waren die Resultate sehr enttäuschend. Auch nach mehreren Stunden am Rückfluss konnten keine signifikanten Produktmengen festgestellt werden.

Versuche zur Verbesserung der relativen Ausbeuten der *Fischer-Fink*-Produkte 126, 128 in anderen Pufferlösungen (HCOOH/NaCOO; verschiedene Phosphatpuffer) scheiterten ebenfalls.

### 5.3.8 Synthese von 4-(2-Butoxycarbonylethyl)-3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (147), 3-(2-Butoxycarbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxo-propyl)-5-methyl-pyrrol (148), 3-Acetyl-2,4-di(2-butoxycarbonylethyl)-pyrrol (149), S-(2-Butoxycarbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (150)

Zur Synthese der vier *n*-butylierten isomeren Pyrrole 147-150 wurde das Pyrrolgemisch 12 -128 in *n*-Butanol in Anwesenheit katalytischer Mengen von *p*-TsOH rückflussiert (Abbildung 83).

Die Strukturen der einzelnen Isomeren sind im experimentellen Teil dargestellt.

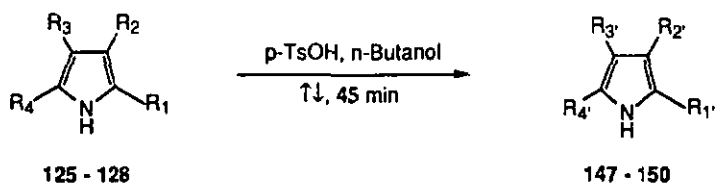


Abbildung 83: Synthese der isomeren n-Butyl-pyrrole 147-150.

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
125	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
126	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
127	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
128	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

	R <sub>1</sub> '	R <sub>2</sub> '	R <sub>3</sub> '	R <sub>4</sub> '
147	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
148	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
149	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
150	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>

X = C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; Y = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

Die isomeren Pyrrole 125-128 wurden in n-Butanol gelöst, mit einer katalytischen Menge von *p*-TsOH versetzt und während 45 min rückflussiert. Danach wurde die dunkelbraune Reaktionslösung in AcOEt aufgenommen und zur Entfernung der *p*-TsOH zweimal mit H<sub>2</sub>O extrahiert. Nach dem Zurückextrahieren der wässrigen Phase wurden die organischen Phasen vereinigt, getrocknet, abfiltriert und eingeeengt. Nach dem Trocknen am HV resultierte das Produktgemisch 147 - 150 in 72% Ausbeute.

Nach zweifacher Säulenchromatografie konnten die vier Isomeren mit einer Gesamtausbeute von 58.1 % isoliert werden.

5.3.9 Verseifung der *n*-Butylester 147-150

Zur Verseifung der vier *n*-butylierten isomeren Pyrrole 147-150 wurden die getrennten Pyrrole (Kap. 5.3.8) in einem NaOH/Dioxan Gemisch bei Raumtemperatur während 1.5 h gerührt (Abbildung 84).

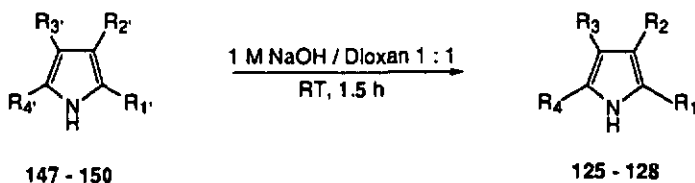


Abbildung 84: Verseifung der isomeren *n*-Butyl-pyrrole (147 - 150).

	R <sub>1</sub> '	R <sub>2</sub> '	R <sub>3</sub> '	R <sub>4</sub> '
147	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
148	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
149	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
150	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>

X = C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; Y = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
125	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
126	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
127	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
128	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

Die Reaktionen wurden zum Vermeiden einer Photooxidation unter Lichtausschluss durchgeführt. Nach erfolgter Hydrolyse wurde zweimal Hexan extrahiert und dann mittels konz. HCl-Lösung auf pH 2 gestellt. Schliesslich wurde dreimal mit AcOEt extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht resultierten die Produkte in quantitativer Ausbeute (> 100 %).

Der Grund für die zu grossen Ausbeuten liegt in den hygroskopischen Eigenschaften der Produkte. Dieselben Beobachtungen wurden von H. Bertschy im Rahmen seiner Dissertation [102] gemacht.

5.3.10 Synthese von 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) / 3-(2-Ethoxycarbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152), [148]

Zur Synthese der beiden Pyrrole 151, 152 ausgehend von 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) und Phenacylaminhydrochlorid wurden verschiedene Lösungsmittel getestet. Die besten Resultate konnten dabei in Toluol in Anwesenheit von 1 Aeq. HMDS erzielt werden (Abbildung 85).

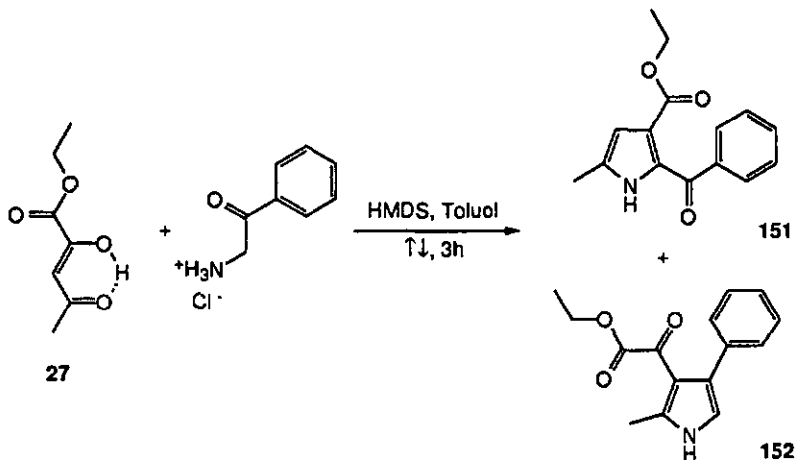


Abbildung 85: Synthese der Pyrrole 151, 152.

Die folgenden Lösungsmittel wurden aufgrund vorangegangener Pyrrolsynthesen verwendet:

- Toluol in Anwesenheit von 1 Aeq. HMDS
- 1 M Essigsäure / Natriumacetat - Puffer
- HMDS

a.) Reaktion in Toluol:

Phenacylaminhydrochlorid wurde in trockenem Toluol vorgelegt und zuerst mit HMDS und anschliessend mit einer Lösung von 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) in trockenem Toluol versetzt. Die anfänglich gelbliche Suspension wurde während 3 h rückflusiert, wodurch sie sich dunkelbraun verfärbte. Nach dem Abkühlen auf RT wurde direkt eingengt und chromatografiert. Dadurch konnte das 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) mit einer Ausbeute von 11.8 % und das 3-(2-Ethoxycarbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152) mit einer Ausbeute von

2.8 % isoliert werden. Zusätzlich konnten noch geringe Mengen von 2-N-Phenacylamino-4-oxo-2,3-pentensäureethylester (153) isoliert werden.

Bemerkung: Auffallend ist, dass bei der Anfärbung der Reaktionsprodukte mittels Ehrlich-Reagens die Farbreaktion deutlich langsamer verläuft. Sie setzt nicht sofort ein, sondern nimmt während mehreren Stunden an Intensität zu.

b.) Reaktion in 1 M Essigsäure/Natriumacetat - Puffer:

Die beiden Edukte wurden im Puffer rückflusiert. Die resultierende Lösung verfärbte sich nach wenigen Minuten nach dunkelrot - schwarz. Weil aber gemäss DC - Untersuchungen noch grosse Mengen an Edukt übrig waren, wurde die Reaktionsdauer auf 1 h ausgedehnt.

Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung auf pH = 2 angesäuert (HCl konz.), mit NaCl gesättigt und dreimal mit AcOEt extrahiert. Nach dem Trocknen, Abfiltrieren und Eindampfen der Reaktionslösung resultierten rund 10 % der erwarteten Masse. <sup>1</sup>H - NMR - Untersuchungen ergaben, dass davon rund 20 % 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) und 3-(2-Ethoxy-carbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152) waren.

Somit liegen die Ausbeuten deutlich tiefer als diejenigen der Reaktion in Toluol.

c.) Reaktion in HMDS

Die Durchführung der Reaktion in HMDS führte nach einstündigem Rückflussieren, anschließendem Abfiltrieren, Einrotieren und Chromatografieren zum 4-N-Phenacylamino-2-oxo-3,4-pentensäureethylester (154) (Abbildung 86).

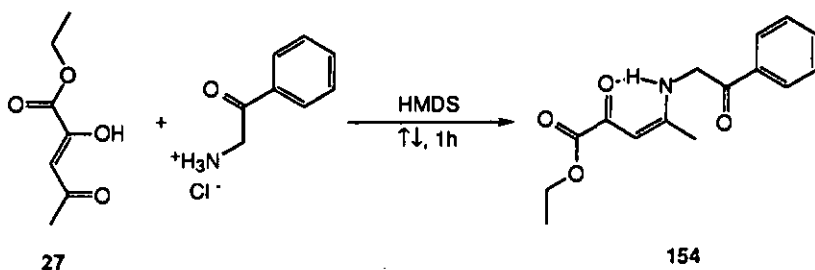


Abbildung 86: Synthese des Ketoenamins 154.

Uebereinstimmend mit den theoretischen Grundlagen (Kap. 4.2.3), findet der Angriff des Nukleophils im basischem Milieu selektiv an der 4 - Position des 2,4-Dioxopentensäureethylesters (27) statt.

Die erhöhte Stabilität (Chromatografierbarkeit) des Ketoaminzwischenproduktes kommt vermutlich durch die aktivierte Ketonfunktion (verstärkt e<sup>-</sup> -ziehend) zustande.

Sämtliche Reaktionen, die in Anwesenheit von NEt<sub>3</sub> statt HMDS durchgeführt wurden, führten zu fast vollständiger Dimerisierung des Edukts 27 (Aldolreaktion).

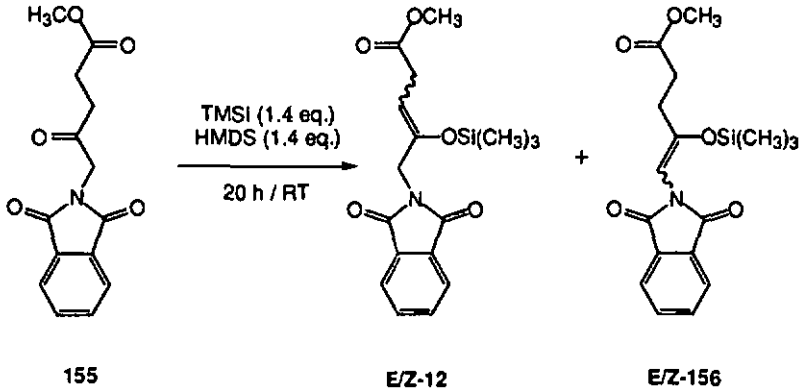
5.4 **Synthese von Porphobilinogen**5.4.1 **Synthese von (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) und (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-4-ensäuremethylester (E/Z-156), [103]**

Abbildung 87: Synthese der Silylenolether E/Z-12 und E/Z-156.

Der 5-(N-Phthalimido)-laevulinsäuremethylester (155) wurde in trockenem  $\text{CHCl}_3$  unter  $\text{N}_2$  vorgelegt und zur Silylierung zuerst mit 1.4 Äquivalenten HMDS und anschliessend mit 1.4 Äquivalenten TMSI versetzt. Nach 20 h Rühren bei RT wurde die Reaktionslösung am RV unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre eingengt und mit trockenem Hexan versetzt. Der gebildete weisse Niederschlag wurde unter Schutzgas über Celite abfiltriert, mit Hexan gewaschen und das Filtrat erneut am RV eingengt. Nach dem Trocknen am HV konnte das Produkt als zähflüssiges Oel in quantitativer Ausbeute isoliert werden. Dieses wurde ohne zusätzliche Reinigung für Aldolkopplungen eingesetzt.

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rohproduktes (vollständige Umsetzung) wies neben Spuren der Reaktanden und des Lösungsmittels (HMDS, TMSI, Hexan, etc.), auch geringste Spuren des unerwünschten Regioisomerenpaares E/Z-156 auf. Der Silylenolether 12 wurde dabei in einem E/Z-Verhältnis von 45 : 55 gebildet.

5.4.2 Synthese des 4-Cyano-4-oxo-butansäuremethylesters (13), [103]

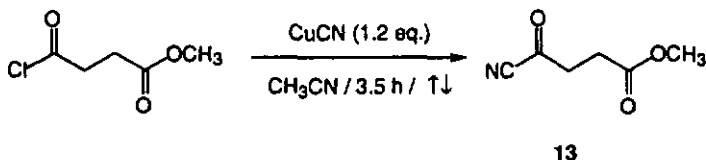


Abbildung 88: Synthese des 4-Cyano-4-oxobutansäuremethylesters (13).

Eine Suspension von käuflichem CuCN in CH<sub>3</sub>CN wurde bei RT mit käuflichem Bernsteinsäuremonomethylesterchlorid versetzt und während 3.5 h rückflussiert.

Die eingeeengte Reaktionslösung wurde mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt, worauf sich ein grauer Niederschlag bildete. Nach dem Abfiltrieren und Nachwaschen mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wurde das Filtrat über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Es bildete sich erneut ein grauer Niederschlag, der abfiltriert und mit wenig CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen wurde. Schliesslich wurde das Filtrat am RV eingeeengt. Nach HV-Destillation konnte der 4-Cyano-4-oxobutansäuremethylester (13) mit einer Ausbeute von 67% isoliert werden.

5.4.3 Synthese der rac-4-Cyano-4-hydroxy-5-(methoxycarbonylmethyl)-7-(N-phthalimido)-6-oxoheptansäuremethylester (rac-14a,b)

A. Chaperon konnte im Rahmen seiner Dissertation [103] zeigen, dass die Verwendung eines stark elektrophilen Acylcyanids (Acylcyanid - Variante nach Kraus und Shimagaki [151]) zur besten Aldolkopplungsreaktion führte (87 % - NMR - Ausbeute). Er verwendete dabei den regioselektiv gebildeten Silylenolether E/Z-12 und koppelte diesen unter Mukaiyama - Bedingungen mit dem Acylcyanid 13 (Abb. 89).

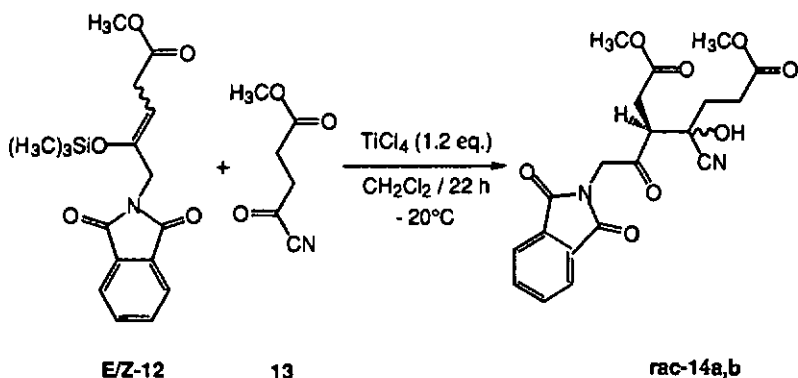


Abbildung 89: Synthese des Aldolprodukts *rac-14a,b* unter *Mukaiyama*-Bedingungen.

Zu Beginn glaubten wir, dass es sich bei der Bildung von *rac-14a,b* um eine diastereoselektive Aldolreaktion nach *Noyori* [142] handeln könnte. Im Rahmen dieser Arbeit konnte diese Hypothese widerlegt werden. Es gelang uns, mittels  $^1\text{H}$ -NMR Spektroskopie das zweite Diastereoisomere *rac-14a* zu identifizieren und damit zu zeigen, dass beide Kopplungsprodukte gebildet werden. Allerdings war dazu die Messung mit einem 400 MHz NMR - Gerät nötig. Routinespektren zur Reaktionskontrolle wurden von *A. Chaperon* jeweils mit einem 200 MHz NMR - Gerät durchgeführt. Das gemessene Spektrum zeigte im Bereich der Phthalimidomethylengruppe bei 4.87 ppm ein Singulett. Da die beiden Protonen der Phthalimidomethylengruppe diastereotop sind, wurde vorerst ausgeschlossen, dieses Signal dem zweiten möglichen Diastereoisomeren *rac-14a* zuzuordnen. Erst die Messung mit dem 400 MHz - Gerät erlaubte es, das Signal bei 4.87 ppm als ein leicht aufgespaltenes AB-System zu identifizieren. Somit liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei der entsprechenden Verbindung um das zweite Diastereoisomere handelt.

Da keiner der von uns angesetzten Kristallisationsversuche für eine Strukturbestimmung brauchbare Kristalle lieferte (kleine, farblose Kristallnester), können wir keine Zuordnung der relativen Konfigurationen der beiden Diastereoisomeren machen.

Ein Problem stellte die Reproduzierbarkeit dieser Aldolkopplungsreaktion dar. Während grosse Ansätze teilweise sehr gute Kopplungsausbeuten von über 80% lieferten, waren bei kleineren Mengen die Ausbeuten markant tiefer (10 - 40%).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde deshalb untersucht, welche Faktoren die Reaktion beeinflussen. Dabei wurden die folgenden Reaktionsparameter untersucht:

- a.) Trocknung der Lösungsmittel und der Reagenzien
- b.) Verunreinigungen der Edukte
- c.) Anzahl Äquivalente  $\text{TiCl}_4$
- d.) Reihenfolge und Geschwindigkeit der Zugabe
- e.) Temperatur, Lösungsmittelvariationen

a.) Das Standardlösungsmittel der Reaktion  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurde über  $\text{CaH}_2$  oder  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet. Dabei erwies sich  $\text{CaH}_2$  als ungeeignet, denn es wurde bei der Destillation des Lösungsmittels mitgerissen und gelangte dadurch in die Reaktionslösung. Somit wurde über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet. Bei späteren Versuchen zeigte sich allerdings, dass käufliches  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  direkt verwendet werden kann, ohne negativen Einfluss auf die Reaktion.

Die direkte Verwendung von käuflichem  $\text{TiCl}_4$  ergab hingegen signifikant schlechtere Umsätze. Wurde das  $\text{TiCl}_4$  allerdings zuerst über käufliches Polyvinylpyridin destilliert, verbesserten sich die Umsätze um rund 20 %. Rein optisch war eine deutlich geringere Rauchbildung ( $\text{HCl}$  und  $\text{TiO}_2$ ) zu beobachten.

b.) Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Spuren von TMSI in Gegenwart von HMDS, wie sie in grossen Ansätzen (25 mmol) zwangsläufig nach der Aufarbeitung des Silylenolethers **E/Z-12** noch im Produkt vorhanden sind, die Enolkomponente nicht zerstören. Wird hingegen zum Reaktionsgemisch in Abwesenheit einer Base (z.B. HMDS) TMSI zugegeben, so tritt schnelle Zersetzung der Enoletherkomponente auf.

Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass ein Gemisch von TMSI und HMDS (3 : 1) auch in Abwesenheit des  $\text{TiCl}_4$  die Aldolkopplungsreaktion ermöglicht (25 % Umsatz). Es resultierten dabei allerdings grosse Mengen an iodierten Nebenprodukten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Spuren von TMSI in Gegenwart von HMDS die Reaktion nicht negativ beeinflussen. Eine zusätzliche Menge an TMSI in Anwesenheit von HMDS führt allerdings nicht zu erhöhter Aldolkopplung, sondern zu vermehrter Nebenproduktbildung.

c.) Es zeigte sich in einer Reihe von Versuchen, dass die Verwendung von 1.2 bzw. 2.2 Aeq.  $\text{TiCl}_4$  keinen signifikanten Einfluss auf den Umsatz der Aldolreaktion hat. Interessanterweise konnte hingegen festgestellt werden, dass das Diastereoisomerenverhältnis *rac*-14a, *rac*-14b von der Anzahl zugegebener  $\text{TiCl}_4$  - Äquivalente abhängt. Generell lässt sich sagen, dass bei geringeren Mengen an  $\text{TiCl}_4$  ( $\approx 1 - 1.2$  Aeq.) bevorzugt das Diastereoisomere *rac*-14b, bei grösseren Mengen ( $\approx 2.2$  Aeq.) bevorzugt *rac*-14a gebildet wird (vergl. Tabelle im experimentellen Teil).

d.) Die Geschwindigkeit der Zugabe spielt keine grosse Rolle, solange die Temperatur der Reaktionslösung tief bleibt ( $T < -50$  °C).

Die Sequenz der Zugabe scheint hingegen einen Einfluss auf den Umsatz zu haben. Wird die von A. Chaperon ausgearbeitete Sequenz (1.  $\text{TiCl}_4$ , 2. Silylenoether E/Z-12 3. Acylcyanid 13) teilweise verändert (1.  $\text{TiCl}_4$ , 2. Acylcyanid 13 3. Silylenoether E/Z-12) lässt sich ein leicht verbesserter Umsatz (ca. 10 %) feststellen.

e.) In verschiedenen Ansätzen wurden Temperatur - und Lösungsmittelvariationen ( $\text{CHCl}_3$ , 1,2 - Dichlorethan) durchgeführt. Als ideale Reaktionstemperatur erwies sich dabei der Bereich um  $-20$ °C. Der Lösungsmiteleinfluss war sehr gering, deshalb wurde weiterhin  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  verwendet.

Unter Berücksichtigung der Punkte a.) - c.) und e.) resultierten die beiden folgenden allgemeinen Reaktionsvorschriften:

1.) Bevorzugte Bildung des Diastereoisomeren *rac*-14b (analoges Diastereoisomeres der Dissertation von A. Chaperon [103]:

Unter mechanischem Rühren wurde unter  $\text{H}_2\text{O}$  - Ausschluss eine Lösung von über Polyvinylpyridin destilliertem  $\text{TiCl}_4$  (1.2 Aeq.) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  vorgelegt und während 1 h auf ca.  $-70$ °C abgekühlt. Anschliessend wurde unter Rühren zuerst eine Lösung von (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und anschliessend eine Lösung von 4-Cyano-4-oxobutansäuremethylester (13) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  zugetropft. Die resultierende orange - gelbliche Suspension wurde während 22 h bei  $-20$ °C gerührt und der Reaktionsverlauf  $^1\text{H}$  - NMR - spektroskopisch (200 MHz) verfolgt (Auftreten der  $\text{H}_2\text{C}(5)$ -Signale der Aldolprodukte bei 4.87 ppm (singulettartig, Diastereoisomer *rac*-14a) und bei 4.94/4.71 (AB-System, Diastereoisomer *rac*-14b). Nach 22 h Reaktionszeit konnten rund 55 % NMR - Umsatz (Verhältnis *rac*-14a: *rac*-14b = 1 : 6) festgestellt werden. Schliesslich

wurde die Reaktion gestoppt und die kalte Reaktionslösung zu H<sub>2</sub>O gegeben. Die Extraktion erfolgte mit CHCl<sub>3</sub> und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und am RV zu einem rötlich braunen Oel eingengt, welches über Nacht im Kühlschrank erstarrte und direkt weiter verarbeitet wurde (Acetylierung).

Bevorzugte Bildung des Diastereoisomeren rac-14a:

Unter mechanischem Rühren wurde unter H<sub>2</sub>O - Ausschluss eine Lösung von über Polyvinylpyridin destilliertem TiCl<sub>4</sub> (2.2 Aeq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vorgelegt und während 1 h auf ca. -70°C abgekühlt. Anschliessend wurde unter schwachem Rühren zuerst eine Lösung von (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und dann in gleicher Weise eine Lösung von 4-Cyano-4-oxobutansäuremethylester (13) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zuge tropft. Die resultierende orange - gelbliche Suspension wurde während 22 h bei -20°C gerührt und der Reaktionsverlauf <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch (200 MHz) verfolgt (Auftreten der H<sub>2</sub>C(5)-Signale der Aldolprodukte bei 4.87 ppm (singulettartig, Diastereoisomer rac-14a) und bei 4.94/4.71 (AB-System, Diastereoisomer rac-14b)). Nach 17 bzw. 22 h Reaktionszeit konnten rund 60 % NMR - Umsatz (Verhältnis rac-14a: rac-14b = 3 : 2) festgestellt werden. Schliesslich wurde die Reaktion gestoppt und die kalte Reaktionslösung zu H<sub>2</sub>O gegeben. Die Extraktion erfolgte mit CHCl<sub>3</sub> und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und am RV zu einem rötlich braunen Oel eingengt, welches über Nacht im Kühlschrank erstarrte.

A. Chaperon konnte zeigen, dass die Kristallisation von rac-14b problematisch und nicht reproduzierbar war. Durch die aufwendige Kristallisation ging rund die Hälfte der Substanz verloren. Deshalb entschloss er sich, das rac-14b durch eine Schutzgruppe zu stabilisieren. Die geschützte Verbindung sollte anschliessend chromatographierbar sein. Basische Reaktionsbedingungen führten zur Elimination von HCN. Deshalb wurde eine saure Variante, die Transacetylierung [168] mittels Acetonenolacetat in Gegenwart von p-TsOH gewählt. Unter diesen Reaktionsbedingungen konnte das geschützte Cyanacetat rac-157a,b nach chromatographischer Reinigung über Kieselgel isoliert werden (Kap. 5.4.4).

5.4.4 Synthese der rac-4-O-Acetyl-4-cyano-5-(methoxycarbonylmethyl)-6-oxo-7-(N-phthalimido)-heptan-säuremethylester (rac-15a,b)

Das Cyanhydrin rac-14a,b wurde zur Stabilisierung (Chromatographierbarkeit) unter sauren Bedingungen in das acetylierte rac-15a,b überführt (Abb. 90).

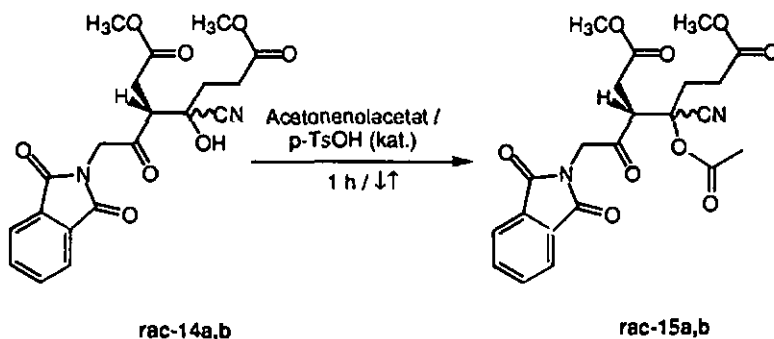


Abbildung 90: Einführen der Acetylschutzgruppe zum rac-15a,b.

Dazu wurde unter  $H_2O$ -Ausschluss eine Lösung von rac-14a,b (ca. 30 % NMR-Umsatz) in käuflichem Acetonenolacetat vorgelegt und mit p-TsOH- $H_2O$  als Katalysator versetzt. Anschliessend wurde während 1 h rückflussiert. Die Reaktionslösung wurde nach dem Abkühlen auf RT zu Wasser gegeben und dann dreimal mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $MgSO_4$  getrocknet, filtriert und am RV zu einem braunen Oel eingengt.

Nach zweifachem Chromatographieren konnten die beiden getrennten Diastereoisomeren rac-15a,b mit einer Ausbeute von ca. 35 % isoliert werden. Das Diastereoisomerenverhältnis der acetylierten rac-15a,b war identisch mit demjenigen der Aldolprodukte rac-14a,b.

Bei einem Grossansatz (40 % - NMR - Umsatz) konnten nach dem identischen Prozedere rund 50 % der beiden Diastereoisomeren rac-15a,b isoliert werden. Die relativ tiefen Ausbeuten (40 - 50 %; Dissertation A. Chaperon = 55 %) hängen vermutlich mit der problematischen Phasentrennung während der Extraktion zusammen. Die schlechte Phasentrennung führt vermutlich zu einem relativ grossen Verlust an Produkt. Entweder sollte die Anzahl der Extraktionen erhöht, oder kontinuierlich extrahiert werden.

5.4.5 Reduktion des geschützten Cyanhydrins rac-15a

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass auch das zweite geschützte Diastereoisomere rac-15a unter den von A. Chaperon [103] optimierten Reduktionsbedingungen ins geschützte PBG - Derivat 16 überführt werden konnte (Abbildung 91).

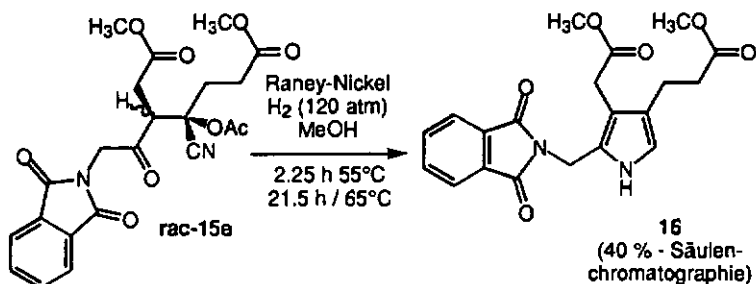


Abbildung 91: Hydrierung von rac-15a zum geschützten PBG-Derivat 16.

Die Reaktionskontrolle mittels DC bestätigte die selektive Bildung des geschützten PBG - Derivats 16 (ein einziger Fleck mit Ehrlichreagens). Nach Säulenchromatographie konnte das gewünschte Produkt in 40 % Ausbeute erhalten werden.

5.4.6 Entschützungsversuche zum freien Porphobilinogen (1)

Das vollständige Entschützen des PBG - Derivats 16 zum freien PBG (1) wurde auf zwei unterschiedlichen Wegen versucht:

1.) Gemäss *Putochin* [5,114] kann die Phthalimidoschutzgruppe rein basisch entfernt werden. A. Chaperon versuchte deshalb in Langzeitanätzen das entschützte Porphobilinogen direkt in einer Stufe zu erhalten. Dazu wurde das geschützte Phthalimido-PBG 16 in MeOH vorgelegt und mit 10 eq. NaOH einer 2.5 M NaOH-Stammlösung (MeOH/H<sub>2</sub>O 17 : 3) versetzt. Dieses Reaktionsgemisch wurde anschliessend im Dunkeln bei RT gerührt und der Verlauf der Reaktion mittels DC-Kontrolle (Ehrlich-Reagens) verfolgt. Ausgehend vom Phthalimido-PBG 16 wurde nach maximal 30 min Reaktionsdauer die Phthalimidoschutzgruppe quantitativ halbseitig geöffnet und dadurch das Phthalamsäurederivat 157 gebildet. Eine <sup>1</sup>H-NMR-Probe

zeigte, dass das entstandene Zwischenprodukt erstaunlich selektiv gebildet worden war (Abbildung 92).

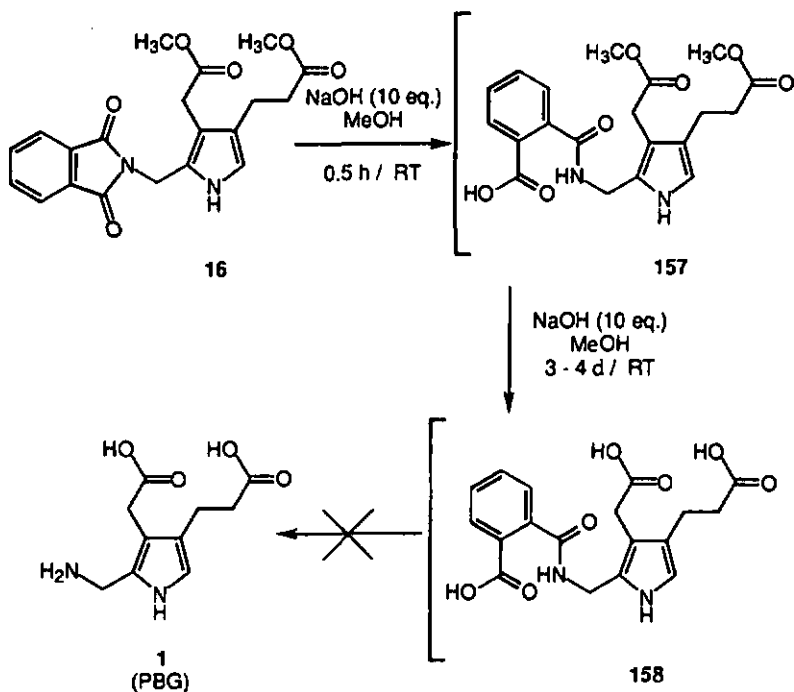


Abbildung 92: Basischer Entschützungsversuch von 16 zum Porphobilinogen (1) nach A. Chaperon.

Viel langsamer verlief hingegen die Verseifung zur freien Disäure 158 (3 - 4 Tage). Es wurde zusätzlich noch versucht, die basische Entschätzung am Rückfluss durchzuführen. Dabei erwies sich die Phthalimidoschutzgruppe aber erneut als erstaunlich stabil.

2.) Als zweite interessante Entschützungsvariante wurde versucht, die Phthalimidoschutzgruppe mittels enzymatischer, basischer Hydrolyse nach M. J. Zmijewski *et al.* [118] zu entfernen. Die dazu verwendete Phthalylamidase aus *Streptomyces lividans* wurde uns freundlicherweise von M. J. Zmijewski, dem ich an dieser Stelle herzlich danken möchte, zur Verfügung gestellt.

Die erhaltene Enzymprobe wurde in 8 Aliquote (je 0.2 ml 200 mM Phosphatpuffer ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  /  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , pH = 8)) unterteilt. Mittels UV - Messung wurde dann die Aktivität des Enzyms bestimmt. Dazu wurde die Modell-

verbindung 4-(2-Carboxy-N-benzoyl)amino-2-carboxy-nitrobenzol (79) (siehe Abbildung 46) mit einer Enzymprobe versetzt und die resultierende Hydrolyse im UV - Spektrometer bei 390 nm verfolgt. Daraus konnte für die spezifische Aktivität einen Wert von 5.9  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  Protein (5.7 nach M. J. Zmijewski ) bestimmt werden.

Die ersten enzymatischen Hydrolysereaktionen wurden mit der N-(2-Carboxybenzoyl)-5-amino-4-oxopentansäure (159) (hergestellt nach einer Vorschrift von R. Lüönd [142]) durchgeführt. Dabei konnte eine sehr langsame Hydrolyse beobachtet werden (schwach positiver Ninhydrin - Test). Es zeigte sich aber im weiteren Verlauf der Reaktion, dass auch nach 48 Stunden die Intensität nur sehr schwach zunahm. Dazu kam, dass die in MeOH gelöste DC - Probe des Edukts mit der Zeit ebenfalls einen schwach positiven Ninhydrin - Test ergab. Das bedeutet, dass eine geringe partielle Hydrolyse auch ohne Enzym ablaufen kann.

Anschliessend wurde ebenfalls versucht, das geschützte PBG - Derivat 16 enzymatisch zu hydrolysieren. Die Reaktion wurde mittels RP - Dünnschichtchromatographie (ausgearbeitete Bedingungen von M. Adamczyk et al. [138,139]: MeCN 0.1 %, HCO<sub>2</sub>H / H<sub>2</sub>O 1 : 9) im direkten Vergleich mit freiem PBG (1) verfolgt.

Leider resultierte auch in diesem Falle nur eine äusserst schwache Hydrolysereaktion. Auch nach 110 Std. Reaktionszeit konnte mittels Ehrlichreagens nur ein extrem schwacher produktähnlicher DC-Fleck detektiert werden.

## 6. RESULTATE UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

1. Die 1,3-Diketone 4,6-Dioxoheptansäure (11) und 2,4-Dioxopentansäure (107) und ihre korrespondierenden Methylester 23 und 106 inhibieren die PBGS aus *E. coli* auf unkompetitive Weise.
2. Die Anzahl der Methylengruppen zwischen der Diketon- und der Carboxylfunktion hat einen entscheidenden Einfluss auf die Inhibitionswirkung. 11 (enthält zwei Methylengruppen) inhibiert rund 200mal besser als 107 (enthält keine Methylengruppen zwischen der Diketon- und der Carboxylfunktion). In diesem Zusammenhang wäre es interessant zu untersuchen, welchen Einfluss weitere Variationen der Alkylkettenlänge auf die Inhibition haben.
3. Die 4,6-Dioxoheptansäure (11) ist der momentan beste unkompetitive Inhibitor der PBGS ( $K_i = 1.4 \mu\text{M}$ ). 11 ist im Vergleich zur Lävulinsäure ein rund 1500mal besserer Inhibitor. Zur weiteren Verbesserung der Inhibitionswirkung wäre es interessant, die Carboxylfunktion durch eine Nitrogruppe zu ersetzen, denn erfahrungsgemäss verbessern sich dadurch die Inhibitionsresultate.
4. Aufgrund der Keto-Enol-Tautomerie der 1,3-Diketone können wir keine genaue Aussage über die inhibierende Spezies (Diketon oder Enol) machen. In diesem Zusammenhang wäre es interessant, 1,3-Diketone zu testen, die nicht tautomerisieren können (Blockierung der mittelständigen Methylengruppe durch Fluoratome, sterisch anspruchsvolle Reste etc.).
5. Der 6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethylester (108) reagiert in wässriger Lösung ( $\text{pH} = 8$ ) rasch mit ALA (2) zum Pyrrol 127. Aufgrund der freien  $\alpha$ -Position von 127 kann keine Aussage über die Inhibition gemacht werden, denn das zur Detektion von PBG (1) verwendete Ehrlich - Reagens reagiert auch mit dem Inhibitor 127.
6. Die vier aus 4,6-Dioxoheptansäure (11) und ALA (2) synthetisierten Pyrrole 125-128 konnten bisher noch nicht als potentielle Produktanaloge getestet werden, weil der von uns verwendete Inhibitorstest nicht nur das PBG (1), sondern ebenfalls die Pyrrole 125-128 detektiert (Ehrlich - Reagens). Eine neue Detektionsmethode, die in unserer Gruppe bearbeitet wird, könnte dieses Problem lösen.
7. Die von A. Chaperon ausgearbeitete neue, kurze PBG-Synthese wurde optimiert. Entscheidende Verbesserungen brachte die Destillation des  $\text{TiCl}_4$  über Polyvinylpyridin. Dadurch konnte die  $\text{HCl}$ -Menge im Reaktionsgefäss reduziert und die Zersetzung der Edukte verringert werden.
8. Die Verwendung unterschiedlich vieler Äquivalente  $\text{TiCl}_4$  bei der Mukaiyama - Aldolreaktion führt zur Bildung der beiden Diastereoisomeren rac-14a,b.

9. Die enzymatische Hydrolyse des Phthalimido - geschützten PBG - Vorläufers **16** mittels einer Phthalylamidase aus *Streptomyces lividans* verläuft für synthetische Zwecke zu wenig effizient.
10. *Shemin's* Idee, dass es sich bei der PBGS um eine reine Aldolase handeln könnte, wird mit diesen Resultaten unterstützt.

## 7. ALLGEMEINES

### 7.1 Analytische Methoden und Geräte

#### 7.1.1 Chromatographie

Herstellung der Lösungsmittelgemische: Zuerst das polarere Lösungsmittel abmessen und mit dem apolareren auf das gewünschte Volumen auffüllen.

- Analytische Dünnschichtchromatographie (DC):

DC-Alufolien, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, (Schichtdicke 0.2 mm) mit Fluoreszenzindikator der Firma Merck, D-Darmstadt, oder DC-Alufolien, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, (Schichtdicke 0.25 mm) mit Fluoreszenzindikator der Firma Macherey-Nagel D-Düren. Als Sprühreagentien dienten Lösungen von KMnO<sub>4</sub>, Vanillin, Ninhydrin, Molybdänsäure oder das Ehrlich-Reagens. In Klammer ist die jeweils beobachtete Farbe des besprühten Produktes angegeben. Die durchschnittliche Laufweite der Lösungsmittelfront betrug ca. 8 cm.

- Säulenchromatographie - flash chromatography (FC):

Die in Klammer stehenden Angaben bedeuten: eingewogene Trockenmasse Kieselgel 60, Korngrösse 0.040 - 0.063 mm (230 - 400 mesh ASTM) für die Flash-Chromatographie der Firma Merck, D-Darmstadt. Die verwendeten Säulen entsprechen den üblichen Dimensionen von ca. 10 : 1 (Säulenhöhe/Durchmesser). Das Laufmittel ist im benutzten Volumenverhältnis angeführt. Alle Säulenchromatographien wurden bei erhöhtem Druck (p = 0.5 - 0.9 atm) durchgeführt.

- Präparative Schichtchromatographie (PSC):

PSC-Fertigplatten, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 20 x 20 cm Glasplatten der Firma Merck, D-Darmstadt. Die verwendete Schichtdicke ist jeweils in Klammer angegeben.

#### 7.1.2 Infrarot-Spektroskopie (IR)

Die Infrarot-Spektren wurden auf einem Gerät des Typs Perkin Elmer FT-IR Spektrometer 1720 X aufgenommen. Die Auflösung beträgt 10 cm<sup>-1</sup> zwischen 4000 und 2000 cm<sup>-1</sup> und 4 cm<sup>-1</sup> zwischen 2000 und 600 cm<sup>-1</sup>. Von kristallinen Substanzen wurden KBr-Pillen hergestellt, von Flüssigkeiten wurden Filme verwendet. Die Absorptionsbanden sind durch die Abkürzungen vs (sehr stark), s

(stark), m (mittel), w (schwach), vw (sehr schwach), br (breit) und sh (Schulter) charakterisiert und in Wellenzahlen ( $\text{cm}^{-1}$ ) angegeben.

### 7.1.3 NMR-Spektroskopie

Kernresonanz-Messungen (NMR) erfolgten auf einem Varian XL-200-Gemini [ $^1\text{H}$  (200 MHz) resp.  $^{13}\text{C}$  (50MHz)] oder einem Bruker AMX-400 [ $^1\text{H}$  (400 MHz) resp.  $^{13}\text{C}$  (100 MHz)].

In Klammer stehen jeweils die Messfrequenz, das verwendete Lösungsmittel (meistens  $\text{CDCl}_3$  99.8% (Deuterierungsgrad) der Firma CIL USA-Andover). Spezielle Experimente wie COSY, APT, HETCOR usw., falls sie für eine eindeutige Zuweisung von Signalen nötig waren, sind angeführt.

Die Angaben der chemischen Verschiebungen erfolgt in ppm bezüglich Tetramethylsilan und die Kopplungskonstanten  $J$  sind in Hz angegeben. Als interner Standard diente im  $^1\text{H}$ -NMR  $\text{CHCl}_3$  (7.26 ppm) und im  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\text{CDCl}_3$  (77.0 ppm).  $^{13}\text{C}$  Experimente wurden immer Breitband-entkoppelt. Die Multiplizitäten sind wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett und br = breit.

Die Resultate von NOE-Experimenten sind in Tabellen aufgelistet. Die Zunahme der Signalintensitäten entsprechen den Intensitätsdifferenzen zwischen eingestrahlem und normalem Spektrum.

### 7.1.4 Massenspektroskopie (MS)

Zur Messung diente ein Gerät der Marke Nermag RC 30-10 (EI: 70 eV;  $\text{Cl}^-$  ( $\text{NH}_4^+$ ) gemessen. In Klammern sind die einzelnen Intensitäten angegeben; der protonierte Molekülpeak ist zusätzlich mit  $[\text{M} + 1]^+$  resp.  $[\text{M} + 18]^+$  gekennzeichnet. Die Signale werden in  $m/e$  und in Prozenten zum Basispeak (100%) angegeben.

FAB-Spektren (fast atom bombardment) wurden auf einem Gerät der Marke Vacuum Generators Micromass 7070 E an der Universität Fribourg gemessen (6 kV Beschleunigungsspannung; Argon (8 kv, 1 mA), Matrix: o-Nitrobenzylalkohol (NBA)).

### 7.1.5 Elementaranalysen (EA)

Die CHN-Analysen führte in verdankungswerter Weise die Firma Ciba-Geigy SA (Abteilung Kunststoffe und Additive) in CH-1723 Marly durch.

### 7.1.6 Schmelzpunkte (Smp)

Gemessen mit einem Gerät der Marke Gallenkamp MFB-595.

### 7.1.7 Glasapparaturen, Kühl- und Heizsysteme

Apparaturen für Reaktionen unter  $N_2$ -Gas oder  $H_2O$ -Ausschluss wurden im Ofen über Nacht während mehreren Stunden bei mind.  $120^\circ C$  ausgeheizt, heiss zusammengebaut und im  $N_2$ -Gasstrom auf RT abgekühlt.

Tiefemperaturreaktionen ( $< -40^\circ C$ ) wurden in einem Kühlbad aus Aceton/ $CO_2$  (s) durchgeführt. Für Reaktionstemperaturen  $> -40^\circ C$  wurde ein Kryostat der Marke HAAKE F3 (Temperaturbereich  $-40^\circ C$  bis  $+80^\circ C$ ) verwendet.

Reaktionen bei Temperaturen bis  $150^\circ C$  wurden in einem Ölbad (magnetisches Rührwerk) mit Kontaktthermometer durchgeführt.

### 7.1.8 Hockdruckhydrierungen

Hydrierungen unter grossen Drucken erfolgten in einem 100 ml-Stahlautoklaven mit zylindrischen Glaseinsätzen. Die Temperatur wurde durch einen Laborboy mit Mantelheizung und magnetischem Rührwerk gewährleistet. Die in Klammer stehenden Werte entsprechen den Anfangsbedingungen; die angegebene Temperatur entspricht dem im Innern des Autoklaven gemessenen physikalischen Wert.

## 7.2 Lösungsmittel

### 7.2.1 Standardlösungsmittel

Standardlösungsmittel wurden für die Reaktionsaufarbeitung, Extraktionen, sowie für Chromatographien (DC, Säulen oder PSC) verwendet.

Lösungsmittel	im Text	Destillation über:
Aceton	Aceton	$K_2CO_3$
Chloroform	$CHCl_3$	$CaCl_2$
Dichlormethan	$CH_2Cl_2$	$CaCl_2$
Diethylether	Ether	$CaCl_2$
Essigsäureethylester	EtOAc	$K_2CO_3$

Ethanol	EtOH	CaO
Heptan	Hept	CaCl <sub>2</sub>
Hexan	Hex	CaCl <sub>2</sub>
Isopropanol	Isopropanol	CaO
Methanol	MeOH	CaO

### 7.2.2 Trockene Lösungsmittel

Für alle Reaktionen unter Schutzgas wurden trockene Lösungsmittel verwendet. Ausgehend von Standardlösungsmitteln wurden diese unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre über das angegebene Trocknungsmittel destilliert.

Lösungsmittel	im Text:	Trocknungsmittel
Acetonitril	CH <sub>3</sub> CN	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Chloroform	CHCl <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> oder CaH <sub>2</sub>
Dichlormethan	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> oder CaH <sub>2</sub>
Diethylether	Ether	LiAlH <sub>4</sub>
Dimethylformamid	DMF	Phthalsäureanhydrid
Heptan	Hept	Natrium
Hexan	Hex	Natrium
Methanol	MeOH	Magnesium
Tetrahydrofuran	THF	Kalium (Benzophenon)
Toluol	Toluol	Natrium

### 7.3 Chemikalien und Gase

Chemikalien	Abkürzung	Qualität
Acetessigsäure-tert.-butylester		purum (~97%)
Acetylaceton	Acac	Fluka puriss p.a.
Aktivkohle		Merck zur Analyse
Ammoniak	NH <sub>3</sub>	Carbagas techn.
Bernsteinsäuremethylesterchlorid		Fluka purum (~98%)
tert.-Butyldimethylsilylchlorid	tBDMsCl	Fluka purum (~97%)
Celite 535		Fluka (10 - 40 µm) Kieselgur
Chloressigsäure		Fluka puriss. (~99%)
p-Dimethylaminopyridin	DMAP	Fluka purum (~98%)
Dimethylformamid	DMF	Fluka purum (~99%)

## Experimenteller Teil

Dimethoxyethan	DME	Fluka purum (~99%)
2,4-Dioxo-pentansäureethylester		Avocado (98%)
2,4-Dioxo-pentansäuremethylester		Avocado (96%)
Essigsäureanhydrid	Ac <sub>2</sub> O	Fluka puriss p.a. ACS/ Merck p.a. (~99%)
Essigsäurechlorid	AcCl	Fluka puriss p.a.
1-Ethylpiperidin		Fluka purum (~98%)
Hexamethyldisilazan	HMDS	Fluka puriss (~99%)
Hydroxylamin-hydrochlorid		Fluka puriss p.a.
Imidazol		puriss p.a.
Kaliumphthalimid		Fluka purum (~99%)
Laevulinsäuremethylester		Fluka pract. (~98%)
Magnesium (Späne)	Mg <sup>°</sup>	Fluka purum (Späne)
Magnesiumsulfat (Dihydrat)	MgSO <sub>4</sub>	Siegfried Ph.Helv.VI
Methyliodid	CH <sub>3</sub> I	Fluka purum (~99%)
Natriumamid-Suspension	NaNH <sub>2</sub>	Fluka purum
Natriumcarbonat	NaCO <sub>3</sub>	Prochimie techn.
Natriumethylat	NaOEt	Fluka pract. (95%)
Natriumhydrid	NaH	Fluka pract. (55 - 60%)
Natriumhydroxid Plätzchen	NaOH	Fluka puriss p.a. ACS
Natriumhydrogencarbonat	NaHCO <sub>3</sub>	Prochimie Ph.Helv.VII
4-Nitro-buttersäure-methylester		Fluka tech. (~90%)
Orthoameisensäuretrimethylester		Fluka purum
Oxalsäurediethylester		Fluka purum
Oxalylchlorid		Fluka purum; dest. (~98%)
Phenacylamin-hydrochlorid		Fluka purum
Phenylisocyanat		Fluka puriss p.a.
Platinoxid Hydrat	PtO <sub>2</sub> aq.	Fluka puriss (~81%)
Propargyltrimethylsilan		Fluka pract. (~85%)
Raney-Nickel (Ni/Al-Leg. 1 : 1)		Fluka purum (50%)
Rh/C (10%)		Fluka puriss
Schwefelsäure	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Merck p.a. (konz.; 97%)
Stickstoff	N <sub>2</sub>	Carbagas techn.
Tetramethylammoniumfluorid		Fluka purum
Titantetrachlorid	TiCl <sub>4</sub>	Fluka pract. (~98%)
p-Toluolsulfonsäure Monohydrat	p-TsOH	Fluka puriss (~99%)
Triethylamin	TEA	Fluka purum (~98%)

Experimenteller Teil

Trifluormethansulfonsäure	TfOH	Fluka purum (~98%)
Trimethylorthoformiat		Fluka purum (~98%)
Trimethyliodsilan	TMSI	Fluka purum (~95%)
Trimethylsilyltriflat	TMSOTf	Fluka purum (~98%)
Triphenylphosphin	PPh <sub>3</sub>	Fluka puriss (~99%)
Wasser	H <sub>2</sub> O	bidest.
Wasserstoff	H <sub>2</sub>	Carbagas techn.
Zinkchlorid	ZnCl <sub>2</sub>	Fluka purum p.a. (~98%)
Zinn(II)chlorid wasserfrei	SnCl <sub>2</sub>	Fluka purum (~98%)
Zinn(II)trifluormethansulphonat	SnOTf <sub>2</sub>	hergestellt gemäss [120]



**Anmerkung:** Diese Variante der 5-(N-Phthalimido)lävulinsäuremethylester-Isolierung wurde entwickelt, weil es bei der direkten Extraktion der Reaktionslösung mit Methylenchlorid jeweils zu einer starken Emulsionsbildung kam, welche die Phasentrennung erschwerte. Zusätzlich konnten dadurch auch die Ausbeuten leicht verbessert werden.

$R_f$  (Hep / AcOEt 1 : 1): 0.41;  $R_f$  (Hep / AcOEt 3: 2): 0.34 (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

Smp.: 96.0 - 97.0°C.

IR (KBr): 3473vw, 3049vw, 3029vw, 2957w, 1776m, 1741s, 1730vs, 1718vs, 1615w, 1468m, 1447m, 1417s, 1388m, 1354m, 1314s, 1269m, 1200s, 1179m, 1103s, 1056w, 1017m, 993m, 972w, 925w, 906m, 796vw, 746m, 713s, 689vw, 605w.

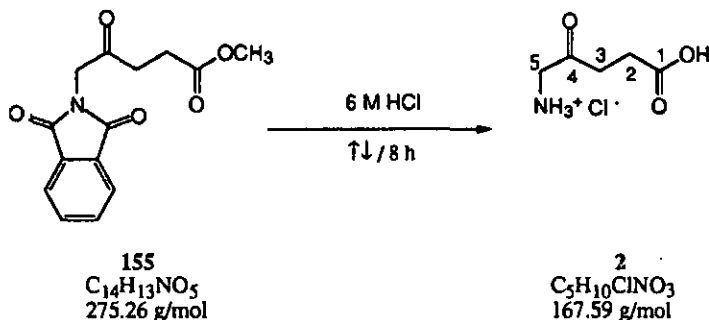
<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.90 - 7.86 (m, 2H, HC(5<sup>3</sup>, 5<sup>3</sup>)); 7.76 - 7.72 (m, 2H, HC(5<sup>4</sup>, 5<sup>4</sup>)); 4.56 (s, 2H, H<sub>2</sub>C(5)); 3.69 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 2.86 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 6.6, 2H, H<sub>2</sub>C(3)); 2.67 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 6.6, 2H, H<sub>2</sub>C(2)).

<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 200.6 (C(4)); 172.4 (C(1)); 167.4 (C(5<sup>1</sup>, 5<sup>1</sup>)); 134.0 (C(5<sup>4</sup>, 5<sup>4</sup>)); 131.8 (C(5<sup>2</sup>, 5<sup>2</sup>)); 123.3 (C(5<sup>3</sup>, 5<sup>3</sup>)); 51.8 (C(1<sup>1</sup>)); 46.3 (C(5)); 34.3 (C(3)); 27.4 (C(2)).

MS (EI): 275 (4, [M ]<sup>+</sup>), 244 (8, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 216 (15), 161 (14), 160 (59), 133 (11), 115 (100, [M - Phth=CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>), 104 (17), 87 (17), 77 (35), 76 (32), 59 (14), 55 (28).

C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub> (275.26): ber.: C 61.09, H 4.76, N 5.09;  
gef.: C 60.73, H 4.72, N 4.89.

8.1.2 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2)



In einem 500 ml Einhalskolben wurden 29.27 g (0.106 mol) 5-(N-Phthalimido)lävulinsäuremethylester (155) in 300 ml 6 M HCl-Lösung während 8 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsverlauf wurde mittels reversed phase-Dünnschichtchromatographie unter Anfärbung mit Ninhydrin verfolgt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, abfiltriert und das Filtrat mit zwei Spatelspitzen Aktivkohle versetzt. Die resultierende Suspension wurde während einer Stunde gerührt und anschliessend über Celite abfiltriert. Das braune Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingengt, am HV getrocknet und in 600 ml Ethanol/Ether 1:1 umkristallisiert. Nach dem Trocknen am HV resultierten 9.86 g (0.059 mol, 56%) weisses 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2).

Anmerkung: Das Umkristallisieren wurde statt in einem Methanol / Isopropanol-Gemisch in einem Ethanol/Ether-Gemisch durchgeführt, weil dadurch die Veresterung von 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid verhindert werden konnte.

$R_f$  (RP-18 F245S, Ninhydrin (gelber Fleck),  $\text{CH}_3\text{CN} / \text{H}_2\text{O}$  13:1): 0.45

Smp.: 147-148°C.

IR (KBr): 3430m, 3101s, 2988s, 2929s, 2884s, 1724s, 1560m, 1494m, 1429m, 1391m, 1353w, 1248w, 1211s, 1185s, 1142m, 1098m, 1056w, 997m, 971w, 952m, 862m, 620w, 488vw.

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $d_6$ -DMSO): 8.41 (s (br), 3H,  $\text{H}_3\text{N}^+$ ); 3.93 (s, 2H,  $\text{H}_2\text{C}(5)$ ); 2.75 (t,  $^3J = 6.4$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3)$ ); 2.48 (t,  $^3J = 6.4$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(2)$ ).



Anschliessend wurde die Argonatmosphäre (Ballon) durch eine trockene N<sub>2</sub>-Atmosphäre ersetzt (überleiten), und es wurden rund 250 ml über Natrium vorgetrockneter Ammoniak in den Reaktionskolben kondensiert. Aus dem Tropftrichter wurden dann während 30 min 10.21 g (0.102 mol) Acetylaceton, gelöst in 15 ml trockenem Ether, unter Rühren (Magnetrührer) zugegeben. Nach erfolgter Zugabe wurde das Kältebad entfernt und die Reaktionslösung während einer Stunde rückflusiert. Nach erneutem Abkühlen der Reaktionslösung ( $\approx$  -50°C) wurde der Tropftrichter durch einen Spezialtrichter mit Archimedesschraube für die Festkörperzugabe ersetzt, aus dem anschliessend 10.08 g (0.100 mol) Lithiumchloroessigsäure während 1 h zur Reaktionslösung zugegeben wurden. Das Kältebad wurde erneut entfernt und die Reaktion während 4 h rückflusiert.

Nach erfolgter Reaktion wurden 200 ml Ether langsam zum Reaktionsgemisch zugegeben, der Ammoniak bei Raumtemperatur während 2 h abgedampft und die resultierende Lösung während 5 min rückflusiert. Nach dem Abkühlen auf 0°C wurde zuerst mit rund 10 g Eis, dann mit einem Gemisch aus 40 g Eis und 30 ml konzentrierter HCl-Lösung, hydrolisiert.

Schliesslich wurde die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase drei Mal mit je 50 ml Ether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Es konnten 13.46 g (0.085 mol, 85%) gelbliches Rohprodukt isoliert werden. Nach Umkristallisieren in 50 ml CHCl<sub>3</sub> / CCl<sub>4</sub> 1 : 1 und Trocknen am HV über Nacht resultierten gesamthaft 11.24 g (0.071 mol, 71%) Produkt 11 unterschiedlicher Reinheit.

R<sub>f</sub> (AcOEt): 0.22; R<sub>f</sub> (MeOH / AcOEt 1 : 1): 0.31 (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

Smp.: 62-63°C.

IR (KBr): 3103s, 2937s, 2629m, 1696vs, 1648s, 1600s, 1446s, 1428s, 1411s, 1357s, 1328s, 1279m, 1248s, 1208s, 1139m, 1073m, 1015m, 912s, 809s, 774s, 654m, 623w, 566w, 529w, 509m, 486w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 9.9-8.9 (s (br), 1H, COOH); 5.51 (s, 1H, HC(5)); 3.62 (s, 2H, H<sub>2</sub>C(5')); 2.82-2.79 (triplettoid, 2H, H<sub>2</sub>C(2')); 2.70-2.61 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(2,3) + 2H, H<sub>2</sub>C(3')); 2.23 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7)); 2.02 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7)).

Verhältnis Diketon- : Enolform = 1 : 3.

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.52 (s, 1H, HC(5)); 3.63 (s, 2H, H<sub>2</sub>C(5')); 2.85-2.79 (triplettoid, 2H, H<sub>2</sub>C(2')); 2.71-2.60 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(2,3) + 2H, H<sub>2</sub>C(3')); 2.25 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7)); 2.04 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7)).

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, D<sub>2</sub>O): 5.52 (s, 1H, HC(5)); 3.64 (s, 2H, H<sub>2</sub>C(5')); 2.85-2.67 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(2,3) + 4H, H<sub>2</sub>C(2',3')); 2.25 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7)); 2.04 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7)).

Verhältnis Diketon- : Enolform = 5 : 1.

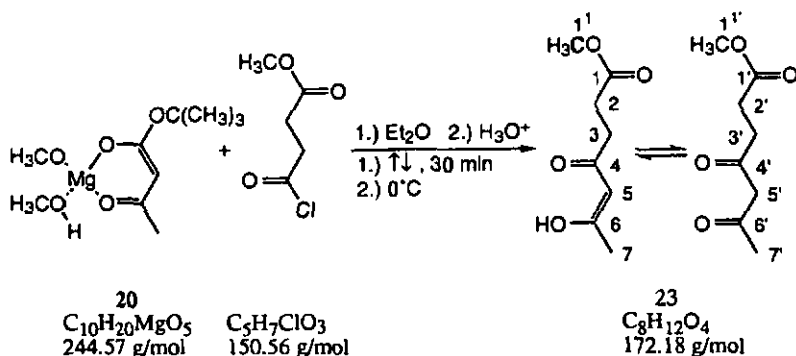
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 202.1 (C(4')); 202.0 (C(6')); 194.9 (C(4)); 187.3 (C(6)); 178.3 (C(1)); 178.2 (C(1')); 99.7 (C(5)); 57.8 (C(5')); 37.7 (C(2' oder 3')); 33.3 (C(3 oder 2)); 30.8 (C(7)); 28.6 (C(2 oder 3)); 27.7 (C(3' oder 2')); 23.6 (C(7)).

<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 202.3 (C(4')); 202.2 (C(6')); 195.0 (C(4)); 187.4 (C(6)); 178.6 (C(1)); 178.5 (C(1')); 99.8 (C(5)); 57.8 (C(5')); 37.8 (C(2' oder 3')); 33.4 (C(3 oder 2)); 30.9 (C(7)); 28.7 (C(2 oder 3)); 27.8 (C(3' oder 2')); 23.7 (C(7)).

MS (EI): 158 (6, [M]<sup>+</sup>), 140 (4, [M - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>), 125 (4), 85 (20), 73 (10), 70 (21), 61 (21), 45 (23), 43 (100).

C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> (158.15): ber.: C 53.16, H 6.37;  
gef.: C 53.23, H 6.35;

#### 8.1.4 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23)



### a.) Synthese des Magnesiumkomplexes (20):

In einem getrockneten 500 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler und Septum wurden 8.26 g (0.340 mol) Magnesium unter Argon vorgelegt. Mittels einer Spritze wurden unter Rühren vorsichtig 25 ml trockener Methanol und ein paar Tropfen  $\text{CCl}_4$  zum Magnesium zugegeben. Es liess sich sofort die Bildung von Wasserstoffgas beobachten, die durch leichtes Erwärmen mittels eines Wasserbades noch intensiver wurde. Es wurden nun zusätzlich rund 150 ml trockener Methanol langsam zum Reaktionsgemisch zugetropf, wodurch sich das Magnesium vollständig auflöste. Anschliessend wurden mittels einer Spritze 53.23 g (0.336 mol) Acetessigsäure-tert.-butylester während 10 min zur Lösung zugegeben, wobei sich eine milchige Trübung beobachten liess.

Schliesslich wurde während 1 h rückflussiert, abfiltriert, mit rund 70 ml trockenem Methanol gewaschen und über Nacht am HV getrocknet. Es konnten 80.71 g (0.330 mol, 98 %) weisses Produkt isoliert werden.

### b.) Synthese von 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23):

In einem getrockneten 500 ml Dreihalskolben mit mechanischem Rührer, aufgesetztem Kühler und Tropftrichter wurden unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre 78.23 g (0.320 mol) Magnesiumkomplex in 150 ml trockenem Ether aufsuspendiert. Zur weissen Suspension wurden anschliessend während 45 min 54.82 g (0.364 mol) Bernsteinsäure-monomethylesterchlorid zugetropf, wodurch ein Eindicken der Suspension resultierte. Schliesslich wurde während 30 min rückflussiert, dann mittels eines Eisbades auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlt und vorsichtig mit 100 ml eisgekühlter 2 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung angesäuert. Die resultierende wässrige Phase wurde abgetrennt und 3 Mal mit je 200 ml Ether extrahiert. Schliesslich wurden die organischen Phasen vereinigt, drei Mal mit je 100 ml Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Es konnten 87.97 g eines schwach gelbliches Oels isoliert werden.

Das isolierte Zwischenprodukt wurde anschliessend mit rund 0.4 g p-Toluolsulfonsäure versetzt und unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre während 30 min zum Rückfluss erhitzt ( $T = 150^\circ\text{C}$ ). Dabei konnte die Bildung von Isobuten und  $\text{CO}_2$  beobachtet werden. Nach dem Abkühlen auf RT wurde das braune Oel in 250 ml Ether aufgenommen und möglichst rasch drei Mal mit eisgekühlter 2 M  $\text{NaOH}$ -Lösung ( $V = 100\text{ml}, 50\text{ml}, 25\text{ml}$ ) extrahiert. Die basischen Extrakte wurden sofort zu 300 ml eisgekühlter 1.8 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung gegeben. Schliesslich wurde drei Mal mit je 200 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit verdünnter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über  $\text{MgSO}_4$  wurde abfiltriert, eingengt und vakuumdestilliert (65-

68 °C, 9 · 10<sup>-2</sup> mbar). Es konnten insgesamt 22.21 g (0.129 mol, 40 %) Produkt 23 isoliert werden.

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hep 1 : 1): 0.36; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

Sdp.: 65-68 °C bei 9 · 10<sup>-2</sup> mbar

IR (KBr): 3001vw, 2956w, 2850vw, 1739vs, 1709m, 1626m, 1439m, 1362m, 1322m, 1212m, 1172m, 1137m, 1095w, 996w, 882w, 471w.

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.52 (s, 1H, HC(5)); 3.68 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.67 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.63 (s, 2H, H<sub>2</sub>C(5')); 2.85-2.77 (triplettoid 2H, H<sub>2</sub>C(2')); 2.67-2.57 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(2,3) + 2H, H<sub>2</sub>C(3')); 2.24 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7')); 2.02 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(7)).

Verhältnis Diketon- : Enolform = 1 : 3.

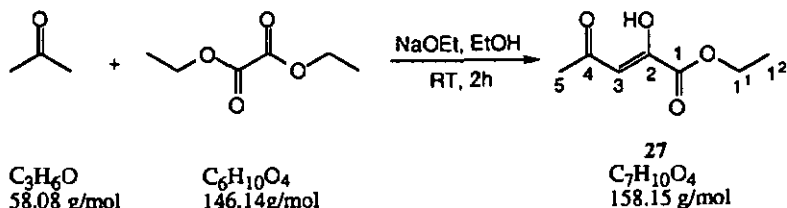
<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 202.1 (C(4')); 201.6 (C(6')); 194.9 (C(4)); 186.9 (C(6)); 172.6 (C(1,1')); 99.4 (C(5)); 57.4 (C(5')); 51.4 (C(1<sup>1</sup>,1<sup>1</sup>)); 37.6 (C(2' oder 3')); 33.3 (C(3 oder 2)); 30.4 (C(7')); 28.3 (C(2 oder 3)); 27.3 (C(3' oder 2')); 23.3 (C(7)).

MS (EI): 173 (5, [M + 1]<sup>+</sup>), 172 (29, [M]<sup>+</sup>), 157 (4, [M - CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 141 (18, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 140 (23), 125 (17), 115 (20), 99 (41), 85 (100), 70 (15), 69 (19), 61 (17), 59 (22), 55 (39), 45 (11), 43 (100).

C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> (172.18): ber.: C 55.81, H 7.02;

gef.: C 55.73, H 7.06;

### 8.1.5 2,4-Dioxopentansäureethylester (27)



In einem getrockneten 100 ml Sulfierkolben mit mechanischem Rührer, aufgesetztem Kühler und Septum wurde unter N<sub>2</sub>-Gegenstrom rund 1 g (40 mmol) Natrium portionenweise zu 20 ml absolutem Ethanol unter Rühren zugegeben. Anschliessend wurde ein Gemisch aus 2.00 g (13.7 mmol)

Oxalsäure-diethylester und 0.80 g Aceton (13.7 mmol) mittels einer Spritze zugetropft, wodurch sich eine dickflüssige Suspension bildete. Die gelbliche Suspension wurde während 2 h bei Raumtemperatur gerührt, anschliessend abfiltriert und mit wenig absolutem Ethanol gewaschen. Nach dem Trocknen am HV über Nacht resultierten 1.56 g (8.7 mmol, 64 %) eines gelblichen Festkörpers. Zur Hydrolyse wurden die 1.56 g Natriumsalz in 20 ml Eiswasser gelöst und dann unter Rühren mit eisgekühlter konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung auf pH = 0 (pH-Papier-Kontrolle) angesäuert. Schliesslich wurde drei Mal mit je 20 ml Ether extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und eingengt. Nach Kugelrohr-Destillation (120 °C, 30 mbar) konnten 0.87 g (5.5 mmol, 40 %) Produkt 27 isoliert werden.

R<sub>f</sub> (Hep / AcOEt 3: 1): 0.26; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

Sdp.: 120 °C bei 30 mbar

IR (KBr): 3476vw, 3112w, 2987m, 2942m, 2910w, 2878w, 1747s, 1641s, 1600s, 1468m, 1447m, 1422m, 1394m, 1370s, 1266vs, 1211s, 1120s, 1022s, 913m, 863m, 829m, 778s, 578m.

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6.36 (s, 1H, HC(3)); 4.35 (q, <sup>3</sup>J = 7.2, 2H, H<sub>2</sub>C(1<sup>1</sup>)); 2.25 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5)); 1.37 (t, <sup>3</sup>J = 7.2, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>2</sup>)).

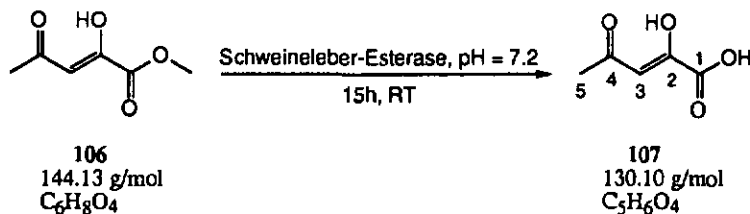
Die Integrale der Signale bei 4.35 und 1.37 ppm sind um 15% zu intensiv (Oxalsäurediethylester?)

<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 200.1 (C(4)); 166.9 (C(1 oder 2)); 162.0 (C(2 oder 1)); 102.1 (C(3)); 62.4 (C(1<sup>1</sup>)); 27.5 (C(5)); 14.0 (C(1<sup>2</sup>)).

Zusätzliche Signale bei 157.8, 63.0, 53.3 und 13.8.

MS (EI): 158 (4, [M]<sup>+</sup>), 86 (17), 85 (100, [M - COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 84 (21), 69 (9), 51 (9), 49 (28), 43 (32).

8.1.6 2,4-Dioxopentansäure (107)



In einem 50 ml Erlenmeyerkolben wurden mittels einer 100  $\mu\text{l}$  Spritze 50  $\mu\text{l}$  Schweineleber-Esterase Suspension zu einem Gemisch aus 25 ml  $\text{H}_2\text{O}$  und 5 ml 0.2 M Phosphatpuffer pipettiert. Anschliessend wurde unter Rühren eine Lösung von 0.77 g (5.34 mmol) 2,4-Dioxopentansäuremethyl ester (106), gelöst in einem Gemisch aus 15 ml THF und 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , zur Enzymlösung zugetropft. Durch pH-Statkontrolle (pH = 7.2) wurde mittels 10 % KOH-Lösung während 15 Std hydrolysiert.

Nach vollständig erfolgter Hydrolyse (DC-Kontrolle) wurde der pH der Reaktionslösung mittels einer 1M HCl-Lösung auf 1 gestellt. Anschliessend wurde die Reaktionslösung mit NaCl gesättigt und mittels Ether während 2 Tagen kontinuierlich extrahiert. Schliesslich wurde der Etherextrakt über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, abfiltriert und eingeengt. Nach zweifachem Umkristallisieren aus 5 ml  $\text{CHCl}_3$  /  $\text{CCl}_4$  1 : 1, Abfiltrieren und Trocknen am HV über Nacht, konnten 0.12 g (0.92 mmol, 17 %) Produkt 107 in Form weisslicher Kristalle isoliert werden.

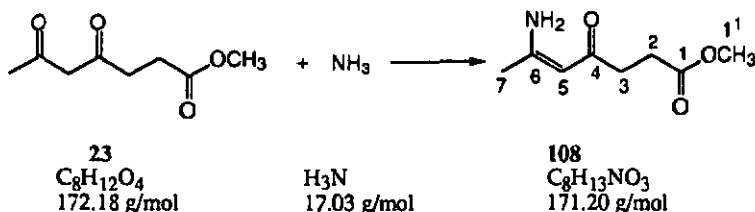
Smp.: 79°C

IR (KBr): 3112m, 2925m, 2611m, 1732s, 1640s, 1578s, 1412m, 1370m, 1310m, 1269s, 1227vs, 1125m, 1025m, 999m, 928m, 906m, 863w, 811m, 775m, 714m, 576s, 407m.

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 6.48 (s, 1H, HC(3)); 2.29 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(5)$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 198.3 (C(4)); 168.9 (C(1 oder 2)); 164.0 (C(2 oder 1)); 101.3 (C(3)); 26.7 (C(5)).

8.1.7 6-Amino-4-oxo-5-heptensäuremethyl ester (108)



In einem getrockneten 5 ml Zweihalskolben mit  $\text{CaCl}_2$ -Trockenrohr und Septum mit integriertem feinem Teflonschlauch wurden 0.51 g (3.0 mmol) 4,6-Dioxoheptensäuremethyl ester (23) vorgelegt. Bei RT wurde während 90 Minuten Ammoniak durch den Teflonschlauch ins flüssige Edukt eingeleitet. Dabei verfärbte sich die Reaktionslösung gelb und gleichzeitig bildete sich ein weisser, flockiger Niederschlag. Schliesslich wurde das Rohprodukt in 2-3 ml AcOEt/ Hex 1 : 1 gelöst und flash-chromatographiert (20 g  $\text{SiO}_2$ ; LM: AcOEt / Hex 1 : 1 (200 ml)). Es konnten 0.24 g (1.4 mmol, 47 %) Produkt 108 isoliert werden.

$R_f$  (AcOEt / Hex 1 : 1): 0.30; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit  $\text{KMnO}_4$ ).

Smp.: 32.5°C

IR (KBr): 3413m, 3197m, 2998w, 2953m, 2926w, 2848vw, 1737s, 1621s, 1532vs, 1438m, 1413m, 1355m, 1323m, 1278m, 1227m, 1171m, 1144s, 1023m, 992m, 878m, 846w, 747w.

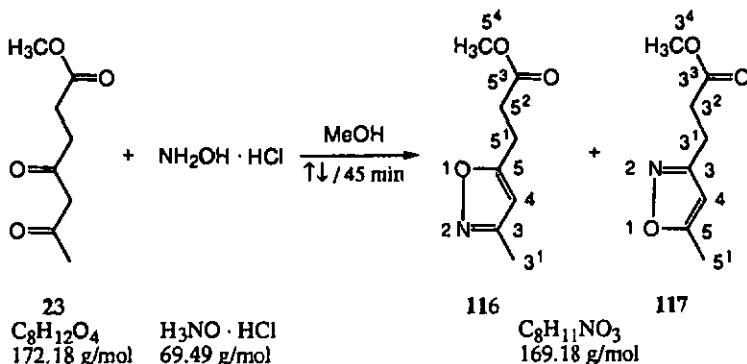
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; COSY): 9.55 (s (br), 1H,  $\text{H}_2\text{N}$  (verbrückt)); 5.07 (s (br), 1H,  $\text{H}_2\text{N}$  (unverbrückt)); 5.01 (s, 1H, HC(5)); 3.65 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(1^1)$ ); 2.63-2.55 (m, 4H,  $\text{H}_2\text{C}(2,3)$ ); 1.89 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(7)$ ).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., DEPT): 196.3 (C(4)); 173.9 (C(1)) 161.1 (C(6)); 94.8 (C(5)); 51.6 (C(1<sup>1</sup>)); 36.1 (C(3 oder 2)); 28.9 (C(2 oder 3)); 22.2 (C(7)).

MS (EI): 171 (22, [M]<sup>+</sup>), 140 (11, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 112 (5, [M - COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 84 (100, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 49 (17).

$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_3$  (171.20): ber.: C 56.07, H 7.67, N 8.18;  
gef.: C 55.98, H 7.54, N 8.14.

8.1.8 Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2-methoxycarbonylethyl)isoxazol (116) / 5-Methyl-3-(2-methoxycarbonylethyl)isoxazol (117)



In einem 50 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler und Septum wurden unter Stickstoffatmosphäre 4.23 g (24.57 mmol) 4,6-Dioxoheptansäuremethylester (23) in 20 ml trockenem Methanol (Fluka, über Molekularsieb) unter Rühren vorgelegt. Anschliessend wurden 5.30 g (76.27 mmol, 3.1 eq.) Hydroxylaminhydrochlorid zugegeben und die resultierende Lösung wurde während 45 Minuten rückflusiert. Nach dem Einengen am Rotationsverdampfer resultierte ein Gemisch aus einem blassgelben Oel und einem weissen Festkörper (Hydroxylaminhydrochlorid). Zur Entfernung des Festkörpers wurde das Gemisch mit 10 ml  $\text{CHCl}_3$  versetzt, worauf der unlösliche Festkörper abfiltriert werden konnte. Nach dem Einengen des Filtrats konnten 4.04 g (23.88 mmol, 97 %, Verhältnis 116 : 117 = 4 : 1) eines blassgelben Oels isoliert werden.

Bemerkung: Die Verbindungen 116, 117 sind mittels Dünnschichtchromatographie nicht detektierbar (nicht  $\text{UV}_{254}$ -aktiv, keine Färbung mit  $\text{KMnO}_4$ )

IR (KBr): 3131w, 3000w, 2955m, 2850w, 1741vs, 1608s, 1488w, 1439s, 1422s, 1368m, 1202s, 1168s, 1025w, 1006m, 998m, 893m, 805m, 758m, 701w.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; COSY, (116)): 5.82 (d,  $^4J = 0.25$ , 1H, HC(4)); 3.65 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(5^4)$ ); 2.99 (td,  $^3J = 7.4$ ,  $^4J = 0.65$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(5^1)$ ); 2.66 (t,  $^3J = 7.5$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(5^2)$ ); 2.20 (s, 3H, HC(3<sup>1</sup>)).

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; COSY, (117)): 5.81 (d,  $^4J = 0.85$ , 1H, HC(4)); 3.65 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(3^4)$ ); 2.90 (t,  $^3J = 7.5$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3^1)$ ); 2.66 (t,  $^3J = 7.5$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3^2)$ ); 2.32 (d,  $^4J = 0.85$ , 3H,  $\text{H}_3\text{C}(5^1)$ ).

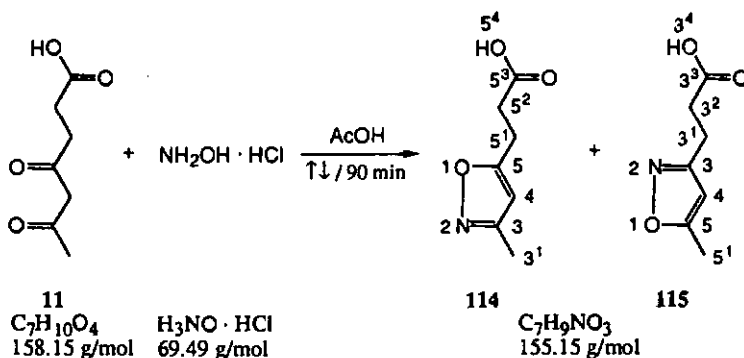
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., (116)): 172.1 (C( $5^3$ )); 170.9 (C( $5$ )); 159.7 (C( $3$ )); 101.8 (C( $4$ )); 51.7 (C( $5^4$ )); 31.4 (C( $5^2$ )); 21.9 (C( $5^1$ )); 11.2 (C( $3^1$ )).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., (117)): 172.7 (C( $3^3$ )); 169.2 (C( $5$ )); 162.4 (C( $3$ )); 101.2 (C( $4$ )); 51.6 (C( $3^4$ )); 31.9 (C( $3^2$ )); 21.4 (C( $3^1$ )); 12.0 (C( $5^1$ )).

MS (EI): 170 (29,  $\text{pK}_a$  (konj. Isoxazol) = 2), 169 (39,  $[\text{M}]^+$ ), 138 (36,  $[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$ ), 110 (100,  $[\text{M} - \text{COOCH}_3]^+$ ), 109 (54), 96 (16,  $[\text{M} - \text{CH}_2\text{COOCH}_3]^+$ ), 82 (57), 69 (12), 68 (28), 59 (27).

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$  (169.18): ber.: C 56.79, H 6.55, N 8.30;  
gef.: C 56.55, H 6.57, N 8.26.

8.1.9 Synthese des Gemisches aus 3-Methyl-5-(2-carboxyethyl)isoxazol (114) / 5-Methyl-3-(2-carboxyethyl)isoxazol (115)



In einem 25 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler und Septum wurden unter Stickstoffatmosphäre 0.64 g (4.0 mmol) 4,6-Dioxoheptansäure (11) in 10 ml Essigsäure unter Rühren vorgelegt. Anschliessend wurden 0.85 g (12.2 mmol) Hydroxylaminhydrochlorid zugegeben, und die resultierende Lösung wurde während 90 Minuten rückflusiert. Beim anschliessenden Abkühlen der

gelben Reaktionslösung fiel ein hellgelber Niederschlag aus. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingeeengt, wodurch ein gelbes Öl resultierte. Nach zweifachem Umkristallisieren aus 5-10 ml  $\text{CHCl}_3$  / Pentan 1 : 1, Abfiltrieren und Trocknen am HV über Nacht, konnten 0.42 g (2.7 mmol, 67.5 %, Verhältnis 114 : 115 = 3 : 1) Produkt in Form weisslicher Kristalle isoliert werden.

$R_f$  (MeOH): 0.15; (nicht  $\text{UV}_{254}$ -aktiv, gelblich mit Bromkresolgrün).

IR (KBr): 3404vw, 3134m, 3050m, 2996m, 2932m, 2667w, 2627w, 2545vw, 1695vs, 1603s, 1558w, 1520w, 1492w, 1478w, 1436s, 1415s, 1374m, 1359w, 1313m, 1259m, 1231s, 1216m, 1198m, 1177m, 1141w, 1067w, 1024w, 1003m, 936m, 883m, 832m, 782w, 676m, 604w, 528w, 492m.

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , (114)): 10.95 (s (br), 1H, COOH) 5.88 (s, 1H, HC(4)); 3.02 (t,  $^3J = 7.4$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(5^1)$ ); 2.74 (t,  $^3J = 7.4$ , 2H, HC(5 $^2$ )); 2.24 (s, 3H, HC(3 $^1$ )).

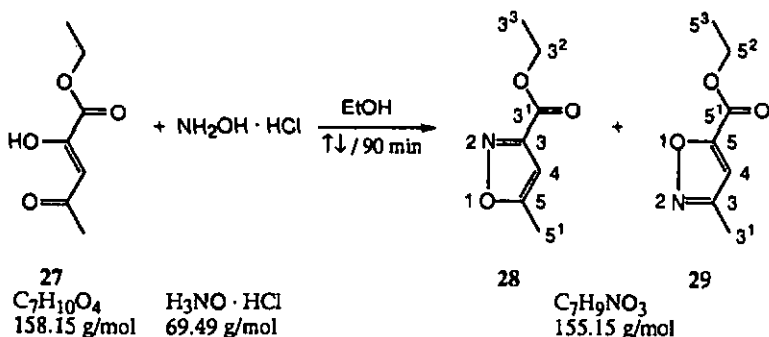
$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , (115)): 10.95 (s (br), 1H, COOH) 5.87 (s, 1H, HC(4)); 2.94 (triplettoid,  $^3J = 8.2$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3^1)$ ); 2.74 (t,  $^3J = 7.4$ , 2H, HC(3 $^2$ )); 2.36 (d,  $^4J = 0.9$ , 3H, HC(5 $^1$ )).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , (114)): 177.1 (C(5 $^3$ )); 170.8 (C(5)); 159.9 (C(3)); 102.1 (C(4)); 31.4 (C(5 $^2$ )); 21.7 (C(5 $^1$ )); 11.2 (C(3 $^1$ )).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , (115)): 177.8 (C(3 $^3$ )); 169.5 (C(5)); 162.3 (C(3)); 101.4 (C(4)); 32.0 (C(3 $^2$ )); 21.1 (C(3 $^1$ )); 12.1 (C(5 $^1$ )).

MS (EI): 156 (17, [M + 1] $^+$ ), 155 (45, [M] $^+$ ), 138 (10, [M - OH] $^+$ ), 137 (11, [M - H $_2$ O] $^+$ ), 111 (10, [M - CO $_2$ ] $^+$ ), 110 (100, [M - COOH] $^+$ ), 109 (56), 96 (24), 82 (83), 73 (23), 70 (16), 69 (12), 68 (43), 67 (13), 61 (17), 55 (89), 54 (47), 45 (34), 43 (85).

8.1.10 Synthese des Gemisches aus 5-Methyl-3-ethoxycarbonylisoxazol (28)/3-Methyl-5-ethoxycarbonylisoxazol (29)



In einem 250 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler und Tropftrichter wurden unter Stickstoffatmosphäre 5.01 g (31.7 mmol) 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) in 50 ml trockenem Ethanol (Fluka, über Molekularsieb) unter Rühren vorgelegt. Anschliessend wurden 6.60 g (95.0 mmol, 3.0 eq.) Hydroxylaminhydrochlorid gelöst in 100 ml trockenem Ethanol zugegeben, und die resultierende Lösung wurde während 90 Minuten rückflussiert. Die gelbliche Reaktionslösung wurde schliesslich einrotiert und mit rund 50 ml Wasser versetzt. Anschliessend wurde dreimal mit je 15 ml Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen dreimal mit je 15 ml gesättigter NaCl-Lösung und einmal mit 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>-Lösung zurückgewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und abfiltriert. Nach dem Einengen am Rotationsverdampfer und Kugelrohrdestillation (T = 40°C, p = 0.2 mbar) resultierten 3.87 g (24.9 mmol, 78.5 %, Verhältnis 28 : 29 = 7 : 1) leicht gelbliches Öl.

R<sub>f</sub> (Hex / AcOEt 2 : 1): 0.37; (UV<sub>254</sub>-aktiv, keine Anfärbung mit KMnO<sub>4</sub>).

IR (KBr): 3143w, 2986m, 2935m, 2876w, 1733s, 1601s, 1459s, 1422s, 1391m, 1365m, 1302m, 1271s, 1207s, 1102s, 1023s, 1007s, 996m, 920s, 862m, 834m, 780s, 666w, 639w, 627m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, (X1)): 6.36 (q, <sup>4</sup>J = 0.9, 1H, HC(4)); 4.38 (q, <sup>3</sup>J = 7.1, 1H, HC(3<sup>2</sup>)); 2.45 (d, <sup>4</sup>J = 0.9, 3H, H<sub>3</sub>C(5<sup>1</sup>)); 1.36 (t, <sup>3</sup>J = 7.1, 2H, HC(3<sup>3</sup>)).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, (X2)): 6.36 (q, <sup>4</sup>J = 0.9, 1H, HC(4)); 4.31 (q, <sup>3</sup>J = 7.2, 1H, HC(5<sup>2</sup>)); 2.33 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>1</sup>)); 1.33 (t, <sup>3</sup>J = 7.2, 2H, HC(5<sup>3</sup>)).



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; COSY): 5.63 (s, 1H, HC(4)); 3.68 (s, 1H, HC(3<sup>4</sup>)); 2.92 (triplettoid,  $^3J = 7.5$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3^1)$ ); 2.69 (triplettoid,  $^3J = 7.6$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3^2)$ ); 2.16 (d,  $^4J = 0.4$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(5^1)$ ); 0.05 (s, 9H, HC(5<sup>2</sup>)).

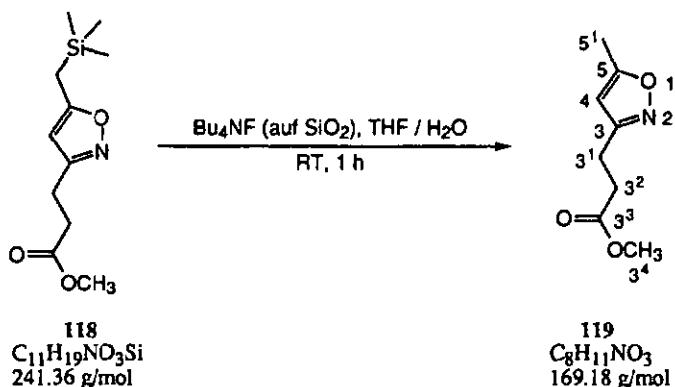
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R.): 172.8 (C(3<sup>3</sup>)); 172.3 (C(5)); 162.4 (C(3)); 99.0 (C(4)); 51.7 (3<sup>4</sup>); 32.2 (C(3<sup>2</sup>)); 21.6 (C(3<sup>1</sup>)); 17.8 (C(5<sup>1</sup>)); -1.8 (C(5<sup>2</sup>)).

MS (EI): 241 (5, [M]<sup>+</sup>), 210 (1, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 182 (8, [M - COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 168 (8, [M - Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> oder [M - CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 137 (11), 73 (100), 55 (14).

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{Si}$  (241.36): ber.: C 54.74, H 7.93, N 5.80;

gef.: C 54.59, H 7.83, N 5.97.

### 8.1.12 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methylisoxazol (119)



In einem 100 ml Einhalskolben wurden 5.50 g (6.05 mmol) Tetrabutylammoniumfluorid (auf Kieselgel, 1.1 mmol / g Harz) in einem Gemisch aus 60 ml THF und 10 ml H<sub>2</sub>O unter Rühren vorgelegt. Die resultierende Suspension wurde anschliessend mit 991 mg (4.11 mmol) 3-(2-Methoxycarbonylethyl)-5-methyltrimethylsilylisoxazol (118) versetzt und während 1 h bei RT gerührt. Schliesslich wurde abfiltriert, mit 40 ml H<sub>2</sub>O versetzt und dreimal mit je 50 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 50 ml H<sub>2</sub>O zurückgewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt, woraus 662 mg (3.91 mmol, 95 %) öliges Rohprodukt resultierten. Nach Flash-Säulenchromatographie von 229 mg (1.35 mmol) Rohprodukt (15 g SiO<sub>2</sub>; LM:

AcOEt / Hep 1 : 2 (100 ml)) konnten 182 mg (1.08 mmol, 76%) weisses Produkt **119** isoliert werden.

R<sub>f</sub> (Hep / AcOEt 2 : 1): nicht UV<sub>254</sub>-aktiv, keine Färbung mit KMnO<sub>4</sub>.

Smp.: 47.5 - 48.0°C

IR (KBr): 3135m, 2997w, 2956m, 2934m, 2855w, 1961w, 1735vs, 1693m, 1648w, 1610s, 1551m, 1484m, 1443s, 1426s, 1372s, 1315w, 1291s, 1235s, 1196s, 1170s, 1069m, 1016m, 986s, 887s, 817s, 759m, 698m, 647w, 613w, 486w.

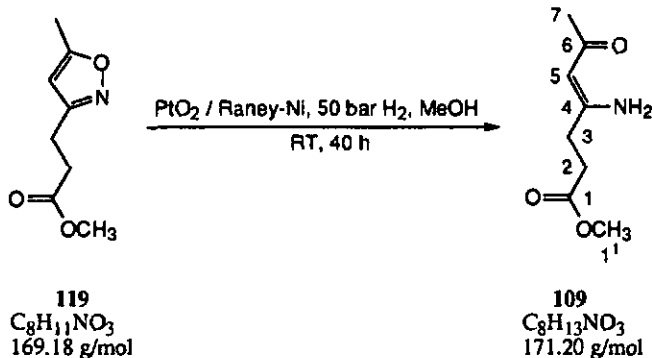
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.84 (d, <sup>4</sup>J = 0.8, 1H, HC(4)); 3.70 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>4</sup>)); 2.95 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.5, 2H, HC(3<sup>1</sup>)); 2.71 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.5, 2H, HC(3<sup>2</sup>)); 2.38 (d, <sup>4</sup>J = 0.8, 3H, HC(5<sup>1</sup>)).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R.): 172.8 (C(3<sup>3</sup>)); 169.4 (C(5)); 162.5 (C(3)); 101.4 (C(4)); 51.8 (3<sup>4</sup>); 32.1 (C(3<sup>2</sup>)); 21.5 (C(3<sup>1</sup>)); 12.2 (C(5<sup>1</sup>)).

MS (EI): 170 (15, [M + 1]<sup>+</sup>, pKa (konj. Isoxazol) = 2), 169 (61, [M]<sup>+</sup>), 138 (87, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 137 (47), 111 (11), 110 (100, [M - COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 109 (35), 96 (9, [M - CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 94 (25), 87 (14), 84 (21), 82 (14, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 68 (16), 59 (29), 55 (24), 43 (42).

C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (169.18): ber.: C 56.79, H 6.55, N 8.30;  
gef.: C 56.67, H 6.68, N 8.32.

8.1.13 4-Amino-6-oxo-4-heptensäuremethylester (109)



45 mg Raney-Nickel-Legierung wurden in einem Hydriereinsatz aus Glas mit 1M NaOH aktiviert und zuerst dreimal mit je 5 ml H<sub>2</sub>O, dann dreimal mit je 5 ml MeOH konditioniert. Anschliessend wurden zum aktivierten Katalysator 8 ml MeOH und dann 45 mg PtO<sub>2</sub> zugegeben. Unter Rühren folgte die Zugabe von 342 mg (2.02 mmol) 3-(2-Methyloxycarbonyl-ethyl)-5-methylisoxazol (119) gelöst in 2 ml MeOH.

Unter Rühren (900 U / min) wurde bei RT unter einem Druck von 50 bar während 40 h hydriert. Anschliessend wurde über Celite abfiltriert, mit 10 ml MeOH gewaschen und eingengt. Es resultierten 212 mg grünlich-braunes Oel. Nach flash-Säulenchromatographie (22 g SiO<sub>2</sub>; LM: AcOEt / Hep 3 : 2 (200 ml)) konnten 85 mg (0.50 mmol, 25 %) leicht gelbliches Oel isoliert werden.

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hep 3: 2): 0.29; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

IR (KBr): 3358m(br), 3181w, 2999vw, 2954vw, 1736s, 1619s, 1530vs, 1438m, 1361m, 1269m, 1200m, 1173m, 1056vw, 1023w, 992w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 9.60 (s (br), 1H, HN (verbrückt)); 5.59 (s (br), 1H, HN (unverbrückt)); 4.97 (s, 1H, HC(5)); 3.67 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 2.57 (t, <sup>3</sup>J = 7.1, 2H, H<sub>2</sub>C(2)); 2.39 (t, <sup>3</sup>J = 7.1, 2H, H<sub>2</sub>C(3)); 2.00 (s, 3H, HC(7)).

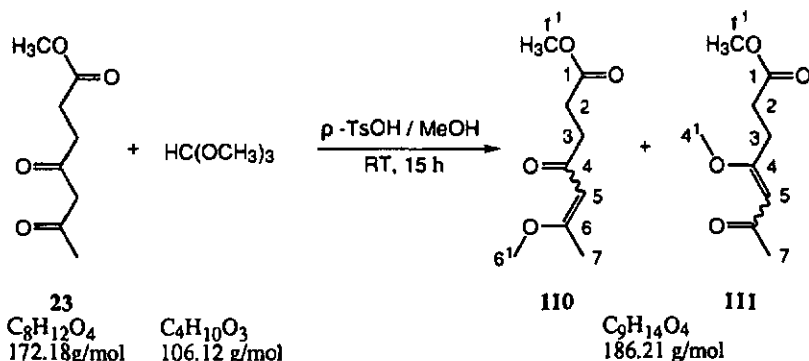
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 197.1 (C(6)); 173.2 (C(1)); 163.3 (C(4)); 94.6 (C(5)); 51.9 (C(1<sup>1</sup>)); 32.4 (C(2)); 30.8 (C(3)); 29.3 (C(7)).

MS (EI): 171 (6, [M]<sup>+</sup>), 156 (2, [M - CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>) 140 (1, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 124 (5, [M - OOCCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 112 (8, [M - COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 98 (4, [M - CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 86 (39), 84 (61, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 51 (34), 49 (100), 47 (17).

C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub> (171.20): ber.: C 56.12, H 7.67, N 8.18;

gef.: C 56.13, H 7.67, N 8.19.

8.1.14 6-Methoxy-4-oxo-5-heptensäuremethylester (110) / 4-Methoxy-6-oxo-4-heptensäuremethylester (111)



In einem 100 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Stickstoffballon und Septum wurden 4.45 g (25.8 mmol) 4,6-Dioxoheptensäuremethylester (23) in 40 ml Methanol vorgelegt. Anschliessend wurden zuerst mittels einer Spritze 2.89 g (27.2 mmol; 1.1 Aeq.) Orthoameisensäuretrimethylester, dann im Stickstoffgegenstrom 21 mg p-Toluolsulfonsäure zur Lösung zugegeben. Nach 15 h Stunden Rühren bei RT wurde die Reaktionslösung mit 50 ml 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> Lösung versetzt und dreimal mit je 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 50 ml H<sub>2</sub>O zurückgewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und vorsichtig bei RT eingengt (Belüften mit vorgetrocknetem N<sub>2</sub>). Es konnten 4.35 g (23.4 mmol; 91 %, Verhältnis 110 : 111 = 6 : 1) eines grünen Oels isoliert werden.

Nach Flash-Säulenchromatografie (200 g SiO<sub>2</sub>; LM: AcOEt / Hex 1 : 3 (1 l), AcOEt / Hex 2 : 3 (1 l)) konnten 1.98 g (10.6 mmol, 41 %) 6-Methoxy-4-oxo-5-heptensäuremethylester und 0.39 g (2.09 mmol, 8 %) 4-Methoxy-6-oxo-5-heptensäuremethylester isoliert werden. Es resultierten zusätzlich 1.27 g (6.82 mmol, 26 %, Verhältnis 110 : 111 = 8 : 1) Mischfraktion.

Anmerkung: Die vereinigten Fraktionen wurden vor dem Einengen jeweils mit 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> Lösung extrahiert, wodurch einerseits die Essigsäure und andererseits das Edukt entfernt wurden. Dadurch konnte die Zersetzung beim Einengen deutlich reduziert werden. Das gleiche Verfahren wurde beim Koevaprieren mit CHCl<sub>3</sub> angewendet. Zusätzlich wurden sämtliche NMR-Lösungsmittel über aktiviertes Alox filtriert.

6-Methoxy-4-oxo-5-heptensäuremethylester (110):

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 2): 0.28 ; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

IR (KBr): 3631vw, 3458vw, 3358vw, 2953m, 2844w, 1739vs, 1683s, 1589vs, 1439s, 1402s, 1368m, 1263s, 1213s, 1170s, 1112s, 1066s, 991w, 892m, 848w, 823m, 496vw, 489w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 5.44 (s, 1H, HC(5)); 3.65 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.62 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(6<sup>1</sup>)); 2.73 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(3)); 2.57 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(2)); 2.25 (s, 3H, HC(7)).

Zusätzliche Signale bei 3.64 (s); 3.17 (d); 2.80 (t); 2.53 (t); 1.33 (s). Vermutlich handelt es sich dabei um das andere Diastereoisomere.

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 196.6 (C(4)); 173.6 (C(1)); 173.0 (C(6)); 98.4 (C(5)); 55.3 (C(6<sup>1</sup>)); 51.6 (C(1<sup>1</sup>)); 38.5 (C(3)); 28.2 (C(2)); 19.7 (C(7)).

Zusätzliche Signale bei 206.0; 173.2; 99.7; 51.7; 49.7; 48.3; 28.8; 27.6; 21.5.

MS (EI): 186 (3, [M]<sup>+</sup>), 155 (4, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 115 (12), 99 (89, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 89 (14), 86 (66), 84 (100), 59 (22), 55 (17), 51 (31), 49 (76).

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> (186.21): ber.: C 58.05, H 7.59;  
gef.: C 53.11, H 7.26.

4-Methoxy-6-oxo-4-heptensäuremethylester (111):

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 2): 0.17 ; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

IR (KBr): 2953m, 2844w, 1739s, 1681s, 1588vs, 1439s, 1389m, 1358m, 1285m, 1261m, 1156s, 1112m, 1059m, 970m, 933m, 814w, 620m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 5.42 (s, 1H, HC(5)); 3.61 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.59 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(4<sup>1</sup>)); 3.01 (t, <sup>3</sup>J = 7.6, 2H, H<sub>2</sub>C(3)); 2.48 (t, <sup>3</sup>J = 7.6, 2H, H<sub>2</sub>C(2)); 2.12 (s, 3H, HC(7)).

Zusätzliche Signale bei 3.62 (s); 3.16 (s); 2.80 (t); 2.71 (s); 2.21 (s); 1.32 (s).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 196.4 (C(6)); 173.6 (C(4)); 173.0 (C(1)); 99.2 (C(5)); 55.5 (C(4<sup>1</sup>)); 51.5 (C(1<sup>1</sup>)); 31.9 (C(7)); 30.9 (C(2)); 27.9 (C(3)).

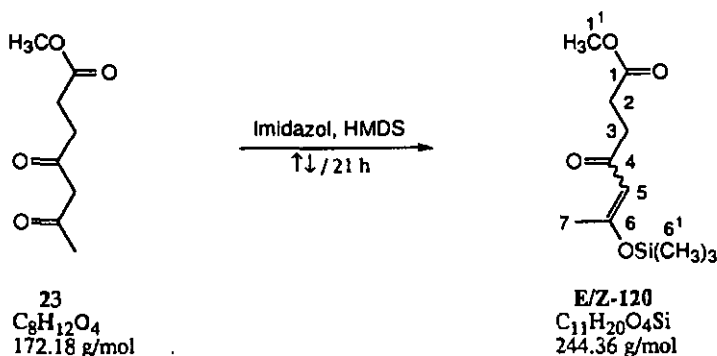
Zusätzliche Signale bei 206.0; 173.1; 99.7; 98.4; 51.6; 48.2; 38.5; 27.6; 21.5.

MS (EI): 186 (2, [M]<sup>+</sup>), 171 (1, [M - CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 155 (1, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 143 (2, [M - COCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 127 (5, [M - COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 113 (12, [M - CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 111 (10), 99 (11, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 86 (67), 84 (100), 51 (28).

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> (186.21): ber.: C 58.05, H 7.59;

gef.: C 57.21, H 7.50.

8.1.15 (E/Z)-4-Oxo-6-oxyltrimethylsilyl-5-heptensäuremethylester (E/Z-120)



In einem 25 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler und Septum wurden unter Stickstoffatmosphäre 3.62 g (21.0 mmol) 4,6-Dioxoheptensäuremethylester (23) in 15 ml HMDS vorgelegt. Anschliessend wurden im Stickstoffgegenstrom 172 mg Imidazol (2.53 mmol) zur Lösung zugegeben und unter Rühren während 21 h rückflusiert. Nach direkter Kugelrohrdestillation (T = 100°C, p = 4 · 10<sup>-2</sup> mbar) resultierten 4.88 g (20.0 mmol, 95 %) leicht gelbliches Öl.

IR (KBr): 2958m, 2853vw, 1742vs, 1683m, 1596s, 1438m, 1368m, 1256s, 1212m, 1171m, 1104m, 1034m, 994vw, 958w, 920w, 848s, 759w.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; COSY, (E-120))\*: 5.54 (s, 1H, HC(5)); 3.65 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(1^1)$ ); 2.68 (triplettoid, 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3)$ ); 2.55 (triplettoid, 2H,  $\text{H}_2\text{C}(2)$ ); 2.23 (s, 3H, HC(7)); 0.24 (s, 9H,  $\text{H}_3\text{C}(6^1)$ ).

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; COSY, (Z-120))\*: 5.49 (s, 1H, HC(5)); 3.64 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(1^1)$ ); 3.02 (t,  $^3J = 7.3$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3)$ ); 2.45 (t,  $^3J = 7.4$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(2)$ ); 2.09 (s, 3H, HC(7)); 0.29 (s, 9H,  $\text{H}_3\text{C}(6^1)$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., DEPT, (E-120))\*: 197.1 (C(4)); 173.6 (C(1)); 169.5 (C(6)); 107.3 (C(5)); 51.6 (C(1<sup>1</sup>)); 38.4 (C(3)); 28.1 (C(2)); 21.4 (C(7)); 0.2 (C(6<sup>1</sup>)).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., DEPT, (Z-120))\*: 196.8 (C(4)); 173.1 (C(1)); 170.2 (C(6)); 107.2 (C(5)); 51.7 (C(1<sup>1</sup>)); 38.4 (C(3)); 31.8 (C(7 oder 2)); 29.0 (C(2 oder 7)); -0.1 (C(6<sup>1</sup>)).

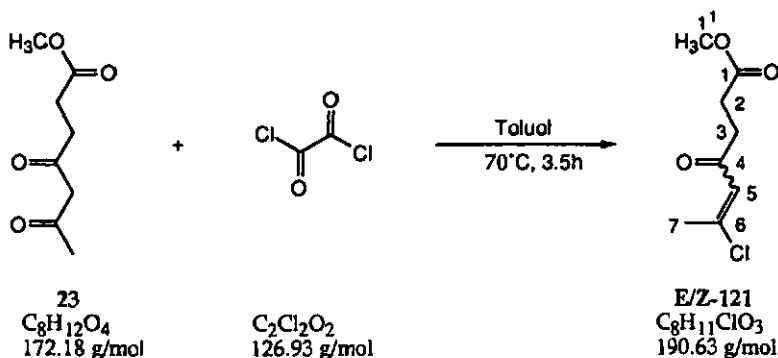
\* Die Zuordnung der NMR-Daten erfolgte in Analogie zum Isomerenmisch (E/Z-121).

MS (EI): 319 (14), 318 (28), 317 (100,  $[\text{M} + \text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$ ), 246 (11), 245 (58), 244 (16,  $[\text{M}]^+$ ), 229 (38,  $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ ), 213 (21,  $[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$ ), 199 (15,  $[\text{M} - 3 \text{CH}_3]^+$ ), 185 (5,  $[\text{M} - \text{COOCH}_3]^+$ ), 171 (13,  $[\text{M} - \text{CH}_2\text{COOCH}_3]^+$  oder  $[\text{M} - \text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$ ), 169 (36), 158 (11), 157 (79,  $[\text{M} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_3]^+$ ), 75 (12), 73 (52).

MS (DCI): 317 (100,  $[\text{M} + \text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$ ), 245 (100), 229 (17,  $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ ), 213 (6,  $[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$ ), 173 (19), 157 (28), 90 (5).

$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Si}$  (244.36): ber.: C 54.05, H 8.27;  
gef.: C 53.88, H 8.48.

8.1.16 (E/Z)-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (E/Z-121)



In einem 50 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler, Stickstoffballon und Septum wurden unter Rühren 2.47 g (14.3 mmol) 4,6-Dioxoheptensäuremethylester (23) in 20 ml über Natrium getrocknetem Toluol vorgelegt. Dann wurde mittels einer Spritze 3.63 g (28.6 mmol; 2 Aeq.) Oxalylchlorid während 5 Minuten zur Lösung zugegeben und während 3.5 h Stunden bei 70°C gerührt. Nach direktem Einrotieren der hellbraunen Reaktionslösung am RV (T(Bad) = 30°C) und anschließender zweifacher flash-Säulenchromatografie (1. 80 g SiO<sub>2</sub>; LM: AcOEt / Hex 1 : 4 (1 l); 2. 10 g SiO<sub>2</sub>; LM: AcOEt / Hex 1 : 4 (200 ml)) konnten 350 mg (3.8 mmol, 27 %) E-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (E-121) und 71 mg (0.4 mmol, 3 %) Z-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (Z-121) isoliert werden.

(E)-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (E-121):

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.37 ; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

IR (KBr): 2998vw, 2955w, 2848vw, 1741s, 1698s, 1610s, 1438m, 1424m, 1376m, 1357m, 1309w, 1262m, 1211m, 1171m, 1122m, 1083m, 1055w, 1027vw, 992w, 956vw, 859m, 727w, 660w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, NOESY): 6.45 (q, <sup>4</sup>J = 1.1, 1H, HC(5)); 3.65 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 2.75 (t, <sup>3</sup>J = 6.5, 2H, H<sub>2</sub>C(3)); 2.57 (t, <sup>3</sup>J = 6.5, 2H, HC(2)); 2.52 (d, <sup>4</sup>J = 1.1, 3H, HC(7)).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 195.8 (C(4)); 173.0 (C(1)); 152.2 (C(6)); 125.1 (C(5)); 51.7 (C(1<sup>1</sup>)); 38.7 (C(3)); 27.6 (C(2)); 24.1 (C(7)).

MS (EI): 190 (2, [M - H]<sup>+</sup>), 160 (6, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> oder Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 158), 159 (11, [M - CH<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>), 158 (17), 116 (2, [M - CH<sub>3</sub>CClCH]<sup>+</sup>), 106 (2, Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 104), 105 (30, Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 103), 104 (5, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 103 (100), 70 (11).

MS (DCI): 193 (28, [M + 2]<sup>+</sup>), 192 (10), 191 (100, [M]<sup>+</sup>), 161 (7, Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 159), 160 (6, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> oder Isotopensignal von 158), 159 (25, [M - CH<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>), 158 (21), 105 (9, Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 103), 104 (13, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> oder Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 102), 103 (31), 102 (38).

C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>3</sub> (190.63): ber.: C 50.40, H 5.83;  
gef.: C 50.54, H 5.66.

Z-6-Chlor-4-oxo-5-heptensäuremethylester (Z-121):

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.22 ; (UV<sub>254</sub>-aktiv, gelblich-braun mit KMnO<sub>4</sub>).

IR (KBr): 2996vw, 2956w, 2850vw, 1740vs, 1703m, 1669w, 1620m, 1440m, 1359m, 1326w, 1266w, 1214m, 1168m, 1129m, 1094w, 1028w, 996w, 853w, 658w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, NOESY): 6.30 (q, <sup>4</sup>J = 1.1, 1H, HC(5)); 3.66 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 2.92 (t, <sup>3</sup>J = 6.6, 2H, H<sub>2</sub>C(3)); 2.62 (t, <sup>3</sup>J = 6.6, 2H, HC(2)); 2.25 (d, <sup>4</sup>J = 1.1, 3H, HC(7)).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR 5. und L.R., DEPT): 196.0 (C(4)); 173.1 (C(1)); 143.5 (C(6)); 124.4 (C(5)); 51.7 (C(1<sup>1</sup>)); 38.3 (C(3)); 28.4 (C(7)); 27.7 (C(2)).

MS (EI): 191 (1, [M]<sup>+</sup>), 190 (1, [M - H]<sup>+</sup>), 160 (6, [M - OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> oder Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 158), 159 (13, [M - CH<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>), 158 (15), 115 (11), 106 (2, Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 104), 105 (26, Isotopensignal [M + 2]<sup>+</sup> von 103), 104 (3, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 103 (100), 75 (15), 59 (10), 55 (15).

C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>3</sub> (190.63): ber.: C 50.40, H 5.83;  
gef.: C 50.33, H 5.84.



Kühlschrank wurde abfiltriert und mit 5 ml Toluol nachgewaschen. Schliesslich wurde das Filtrat eingengt und während 2 h am HV getrocknet. Es konnten 0.47 g (2.36 mmol, 47 %) braunes Oel (Verhältnis 131 : 132 = 5 : 1) isoliert werden.

3-Acetyl-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (131):

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hep 1 : 3): 0.18 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens).

Smp.: 152.5°C

IR (KBr): 3519(br)vw (wahrscheinlich H<sub>2</sub>O), 3297s, 3113m, 3072m, 3023m, 2961m, 2925m, 2754w, 2552w, 1968vw, 1954w, 1900vw, 1884vw, 1765vw, 1619vs, 1521s, 1482s, 1467s, 1450s, 1438s, 1404s, 1390s, 1355m, 1331m, 1311m, 1293m, 1276m, 1238s, 1176w, 1159m, 1114m, 1105m, 1069m, 1063m, 1043m, 1031m, 1017w, 1001vw, 970s, 926s, 762s, 715m, 701s, 667w, 635m, 615m, 585w, 517s.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 9.12 (s (br) , 1H, HN(1)); 7.39-7.27 (m, 5H, HC(4<sup>2</sup>,4<sup>2'</sup>, 4<sup>3</sup>,4<sup>3'</sup>,4<sup>4</sup>)); 6.54 (d, <sup>3</sup>J = 2.4, 1H, HC(5)); 2.52 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>1</sup>); 2.07 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>2</sup>)).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 197.5 (C(3<sup>1</sup>)); 136.4 (C(4<sup>1</sup>)); 135.5 (C(2)); 129.4 (C(4<sup>3</sup>, 4<sup>3'</sup>)); 128.1 (C(4<sup>4</sup>)\*); 126.72 (C(4)); 126.66 (C(4<sup>2</sup>, 4<sup>2'</sup>)\*); 120.7 (C(3)); 115.5 (C(5)); 30.8 (C(3<sup>2</sup>)); 14.2 (C(2<sup>1</sup>)).

\* Zuordnung nach Pretsch (im Widerspruch mit den beobachteten Intensitäten)

MS (EI): 200 (7, [M + 1]<sup>+</sup>), 199 (39, [M]<sup>+</sup>), 184 (63, [M - CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 156 (8, [M - COCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 128 (10), 88 (10), 70 (26), 61 (30), 43 (100).

<b>C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO (199.25):</b>	ber.:	C 78.36,	H 6.59,	N 7.03;
	ber. (+ 0.15 Mol H <sub>2</sub> O):	C 77.31,	H 6.64,	N 6.94;
	gef.:	C 77.31,	H 6.64,	N 6.81.

3,5-Dimethyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (132):

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hep 1 : 3): 0.36 (UV<sub>254</sub>-aktiv, orange mit Ehrlich-Reagens).

Smp.: 118.5 - 119°C

IR (KBr): 3270s, 3129w, 3063w, 3028vw, 2970vw, 2950w, 2921m, 2862vw, 1594s, 1571s, 1498s, 1487s, 1448s, 1434s, 1381m, 1366s, 1295m, 1281s, 1176w, 1159w, 1138w, 1013w, 978w, 937m, 924s, 811m, 794m, 768w, 736s, 702s, 666m, 644w, 633w, 600m, 485w.

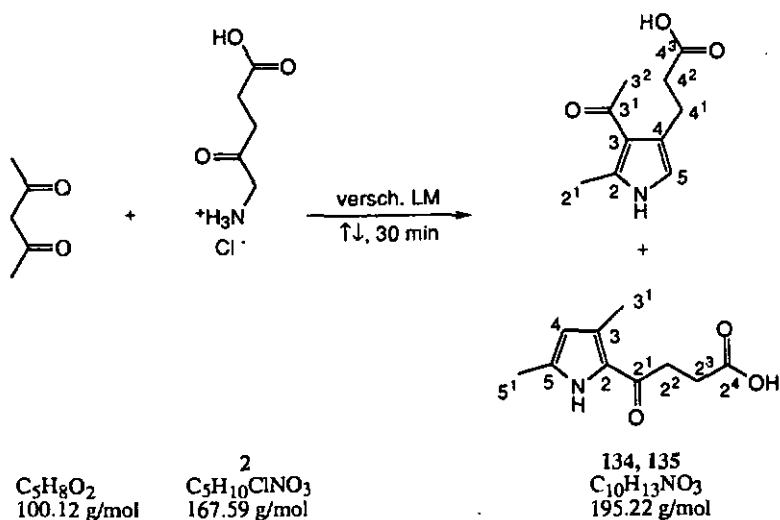
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 9.63 (s (br) , 1H, HN(1)); 7.65-7.62 (m, 2H, HC(2<sup>3</sup>, 2<sup>3'</sup>)); 7.52-7.42 (m, 3H, HC(2<sup>5</sup>, 2<sup>4</sup>, 2<sup>4'</sup>)); 5.87-5.86 (m, 1H, HC(4)); 2.29 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5<sup>1</sup>)); 1.92 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>1</sup>)).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 185.7 (C(2<sup>1</sup>)); 140.1 (C(2<sup>2</sup>)); 136.0 (C(5)); 130.8 (C(2 und 2<sup>5</sup>)); 128.2 (C(2<sup>4</sup>, 2<sup>4'</sup>)); 128.1; (C(2<sup>3</sup>, 2<sup>3'</sup>)); 127.7 (C(3)); 112.9 (C(4)); 14.0 (C(3<sup>1</sup>)); 13.1 (C(5<sup>1</sup>)).

MS (EI): 199 (12, [M]<sup>+</sup>), 198 (23, [M - H]<sup>+</sup>), 184 (2, [M - CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 122 (5, [M - C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>), 94 (2, [M - COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>), 88 (10), 73 (9), 70 (32), 61 (31), 45 (15), 43 (100).

C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO (199.25): ber.: C 78.36, H 6.59 N 7.03;  
gef.: C 78.33, H 6.70, N 6.90.

8.2.2 3-Acetyl-4-(2-carboxyethyl)-2-methyl-pyrrol (134) / 2-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (135)



a.) Reaktion in 1 M Essigsäure/Natriumacetat - Puffer:

In einem 50 ml Einhalskolben wurden unter Rühren 1.04 g (10.4 mmol) Acetylaceton und 1.68 g (10.0 mmol) 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) in 20 ml 1 M Essigsäure / Natriumacetat - Puffer gelöst, wodurch eine leicht bräunliche Lösung resultierte. Anschliessend wurde ein Kühler aufgesetzt und während 30 min rückflusiert. Danach wurde die Reaktionslösung in den Kühlschrank gestellt, worauf ein flockiger, beiger Niederschlag ausfiel. Nach dem Abfiltrieren wurde mit 1-2 ml Puffer nachgewaschen und am HV während 2h getrocknet, wodurch 1.69 g (8.66 mmol, 86.6 %, Verhältnis 134 : 135 = 20 : 1) Rohprodukt resultierten.

b.) Reaktion in AcOEt:

In einem 25 ml Zweihalskolben wurden unter Rühren 0.42 g (2.51 mmol) 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) in 9 ml AcOEt vorgelegt und zuerst mit 0.29 g (2.87 mmol, 1.2 eq.) Triethylamin und anschliessend mit 0.25 g (2.5 mmol) Acetylaceton versetzt. Die anfänglich beige Suspension wurde während 3 h rückflusiert, wodurch sie sich braun verfärbte. Die Reaktionssuspension wurde dann direkt einrotiert und mit 1.5 ml 1 M Essigsäure/Natriumacetat Puffer versetzt. Das Rohprodukt wurde schliesslich unter leichtem Erwärmen im Puffer gelöst. Die resultierende Lösung wurde über Nacht in den Tiefkühler gestellt, wodurch ein violetter Niederschlag ausfiel. Nach dem Abfiltrieren und Waschen mit wenig Chloroform, konnten nach einstündigem Trocknen am HV 67 mg (0.34 mmol, 14 %) eines violetten Festkörpers isoliert werden. Es zeigte sich, dass ausschliesslich das Knorrprodukt 134 gebildet worden war (<sup>1</sup>H-NMR).

3-Acetyl-4-(2-carboxyethyl)-2-methyl-pyrrol (134):

R<sub>f</sub> (AcOEt / MeOH 1 : 1): 0.46 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens).

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 6.41 (t, <sup>3</sup>J = 0.9, 1H, HC(5)); 2.95 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.5, 2H, HC(4<sup>1</sup>)); 2.54 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.8, 2H, HC(4<sup>2</sup>)); 2.48 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>1</sup>)); 2.41 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>2</sup>)).

<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 197.6 (C(3<sup>1</sup>)); 178.1 (C(4<sup>3</sup>)); 138.0 (C(2)); 125.9 (C(4)); 121.0 (C(3)); 116.2 (C(5)); 36.2 (C(4<sup>2</sup>)); 30.7 (C(3<sup>2</sup>)); 24.3 (C(4<sup>1</sup>)); 15.4 (C(2<sup>1</sup>)).

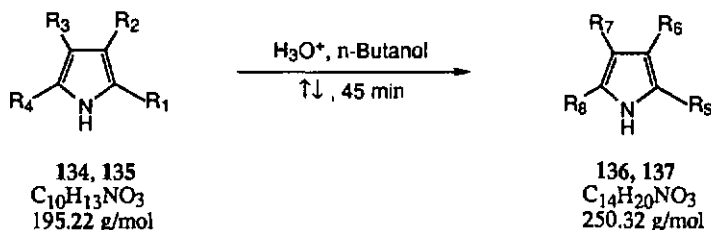
2-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (135):

$R_f$  (AcOEt / MeOH 1 : 1): 0.46 (UV<sub>254</sub>-aktiv, orange mit Ehrlich-Reagens).

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 5.81 (s, 1H, HC(4)); 3.02 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 6.6, 2H, HC(2<sup>1</sup>)); 2.64 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 6.9, 2H, HC(2<sup>3</sup>)); 2.33 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5<sup>1</sup>)); 2.22 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>1</sup>)).

<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 189.4 (C(2<sup>1</sup>)); 131.1 (C(3)); 113.4 (C(4)); 35.3 (C(2<sup>2</sup>)); 29.8 (C(2<sup>3</sup>)); 14.6 (C(5<sup>1</sup>)); 12.8 (C(3<sup>1</sup>)).

8.2.3 3-Acetyl-4-(2-butoxycarbonyl)ethyl)-2-methyl-pyrrol (136), 2-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (137)



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
134	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
135	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>

	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
136	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
137	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>

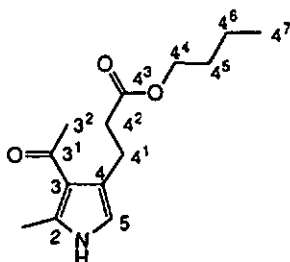
X = C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; Y = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

In einem 50 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler und Stickstoffballon wurden unter Rühren 1.48 g (7.58 mmol) fein zerriebenes Pyrrol-Isomerengemisch 134, 135 durch leichtes Erwärmen in 30 ml n-Butanol gelöst, wodurch eine rosarote Lösung resultierte. Anschliessend wurde die Lösung mit 10 Tropfen konzentrierter HCl - Lösung versetzt und während 45 min unter DC - Kontrolle rückflusiert. Danach wurde die dunkelbraune Reaktionslösung in 20 ml Essigsäureethylester gelöst und zur Entfernung der Salzsäure zweimal mit je 50 ml H<sub>2</sub>O extrahiert. Die wässrige Phase wurde einmal mit 20 ml Essig-

säureethylester zurückextrahiert. Schliesslich wurden die organischen Phasen vereinigt, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, abfiltriert und eingengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht resultierten 1.78 g (7.09 mmol, 94 %) eines braunen Festkörpers.

Nach zweifacher Säulenchromatografie (1.) 90 g  $\text{SiO}_2$ ; LM: AcOEt / Hex 1 : 3 (1.5 l); 2.) 10 g  $\text{SiO}_2$ , LM: AcOEt / Hex 1 : 4 (500 ml)) konnten 1.26 g (5.03 mmol, 71 %) 3-Acetyl-4-(2-butoxycarbonylethyl)-2-methyl-pyrrol (136) und 72 mg (0.29 mmol, 4 %) 2-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (137) isoliert werden.

3-Acetyl-4-(2-butoxycarbonylethyl)-2-methyl-pyrrol (136):



$R_f$  (AcOEt / Hex 1 : 3): 0.14 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens).

Smp.: 79.5 - 80.0°C.

IR (KBr): 3214m, 3150m, 3114m, 3073w, 2961m, 2932m, 2875w, 1732s, 1613vs, 1576m, 1520w, 1473s, 1448s, 1415s, 1381m, 1364m, 1333m, 1290m, 1259vw, 1239m, 1177s, 1152m, 1136m, 1071m, 1002w, 942m, 791w, 632w, 573w, 434w.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; COSY): 9.20 (s (br), 1H, HN(1)); 6.37 (d,  $^3J = 2.4$ , 1H, HC(5)); 4.03 (t,  $^3J = 6.7$ , 2H, HC(4<sup>4</sup>)); 3.00 (t,  $^3J = 7.5$ , 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>1</sup>)); 2.60 (t,  $^3J = 7.5$ , 2H, HC(4<sup>2</sup>)); 2.48 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>1</sup>)); 2.41 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>2</sup>)); 1.60-1.52 (m, 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>5</sup>)); 1.37-1.28 (tq,  $2 \times ^3J = 7.4$ , 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>6</sup>)); 0.89 (t,  $^3J = 7.4$ , 3H, H<sub>3</sub>C(4<sup>7</sup>)).

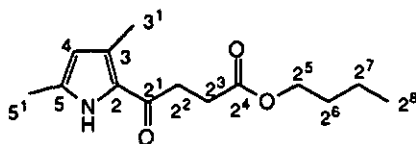
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., DEPT): 195.1(C(3<sup>1</sup>)); 173.8 (C(4<sup>3</sup>)); 135.7 (C(2)); 124.5 (C(4)); 120.2 (C(3)); 114.6 (C(5)); 64.1 (C(4<sup>4</sup>)); 34.9 (C(4<sup>2</sup>)); 30.7 (C(3<sup>2</sup>)); 30.6 (C(4<sup>5</sup>)); 22.9 (C(4<sup>1</sup>)); 19.0 (C(4<sup>6</sup>)); 15.4 (C(2<sup>1</sup>)); 13.6 (C(4<sup>7</sup>)).

MS (EI): 251 (8, [M]<sup>+</sup>), 208 (14, [M - COCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 178 (3, [M - OC<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>), 149 (12), 136 (16), 134 (12), 108 (8), 88 (11), 73 (10), 70 (31), 61 (35), 45 (19), 43 (100).

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> (251.32): ber.: C 66.89, H 8.44 N 5.57;

gef.: C 66.76, H 8.48 N 5.46.

2-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3,5-dimethyl-pyrrol (137):



R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.32 (UV<sub>254</sub>-aktiv, orange mit Ehrlich-Reagens).

Smp.: 115.5°C.

IR (KBr): 3278s, 3137w, 3093w, 2956w, 2931w, 2871w, 1735s, 1621s, 1569w, 1493m, 1471w, 1443m, 1411w, 1401w, 1379w, 1368m, 1316w, 1299w, 1267m, 1231m, 1212m, 1180w, 1169m, 1076w, 978w, 960w, 945w, 808m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 9.79 (s (br), 1H, HN(1)); 5.80 (m, 1H, HC(4)); 4.07 (t, <sup>3</sup>J = 6.70, 2H, HC(2<sup>5</sup>)); 3.03 (t, <sup>3</sup>J = 6.8, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>2</sup>)); 2.72 (t, <sup>3</sup>J = 6.8, 2H, HC(2<sup>3</sup>)); 2.35 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>1</sup>)); 2.24 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5<sup>1</sup>)); 1.65-1.51 (m, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>6</sup>)); 1.45-1.25 (tq, 2 x <sup>3</sup>J = 7.4, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>7</sup>)); 0.90 (t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>8</sup>)).

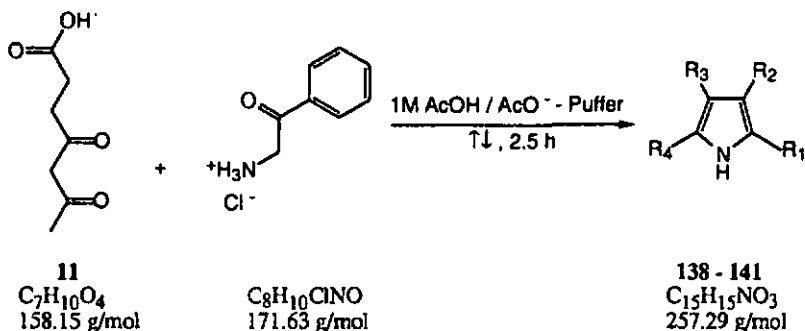
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 186.9 (C(2<sup>1</sup>)); 173.2 (C(2<sup>4</sup>)); 134.9 (C(5)); 128.6 (C(2 oder 3)); 128.0 (C(3 oder 2)); 112.5 (C(4)); 64.4 (C(2<sup>5</sup>)); 34.1 (C(2<sup>2</sup>)); 30.6 (C(2<sup>6</sup>)); 28.3 (C(2<sup>3</sup>)); 19.0 (C(2<sup>7</sup>)); 14.6 (C(3<sup>1</sup>)); 13.6 (C(2<sup>8</sup>)); 12.8 (C(5<sup>1</sup>)).

MS (EI): 251 (2, [M]<sup>+</sup>), 178 (2, [M - OC<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>), 150 (3, [M - CO<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>), 122 (10, [M - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>), 88 (9), 70 (28), 61 (29), 45 (13), 43 (100).

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> (251.32): ber.: C 66.89, H 8.44 N 5.57;

gef.: C 67.05, H 8.51 N 5.45.

8.2.4 3-(3-Carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (138), 3-(2-Carboxyethyl)-5-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (139), 3-Acetyl-2-(2-Carboxyethyl)-4-phenyl-pyrrol (140), 5-(2-Carboxyethyl)-3-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (141).

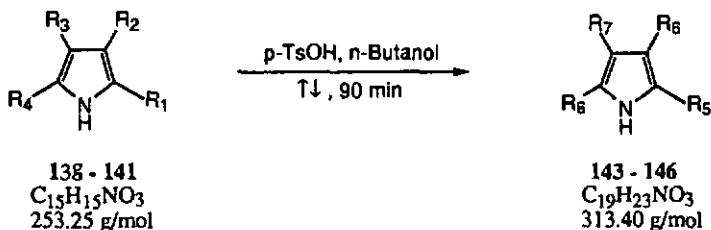


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>138</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
<b>139</b>	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
<b>140</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
<b>141</b>	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

a.) Reaktion in 1 M Essigsäure / Natriumacetat - Puffer:

In einem 100 ml Einhalskolben wurden unter Rühren 1.46 g (9.23 mmol) 4,6-Dioxoheptansäure (11) und 1.59 g (9.26 mmol) Phenacylaminhydrochlorid in 50 ml 1 M Essigsäure/Natriumacetat-Puffer gelöst, wobei bereits bei RT eine leichte Trübung einsetzte. Anschliessend wurde ein Kühler aufgesetzt und unter DC - Kontrolle während 2.5 h rückflusiert. Nach dem Abkühlen auf RT wurde dreimal mit je 30 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht resultierten 2.52 g (9.79 mmol, 106 %) einer orangen Oels. Das <sup>1</sup>H - NMR Rohspektrum zeigte die Bildung von 4 Pyrrolen (Verhältnis Knorr- (138, 140)/ Fischer-Finkprodukte (139, 141) = 3 : 1). Zusätzlich konnte die Anwesenheit von H<sub>2</sub>O festgestellt werden.

8.2.5 3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (143), 3-(2-butoxycarbonylethyl)-5-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (144), 3-Acetyl-2-(2-butoxycarbonylethyl)-4-phenyl-pyrrol (145), 5-(2-Butoxycarbonylethyl)-3-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (146).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
138	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
139	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
140	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
141	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

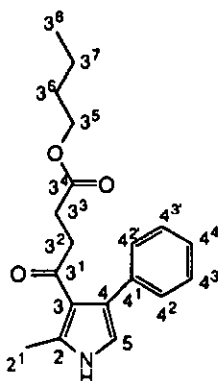
	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
143	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
144	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
145	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
146	C(O)C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>

X = C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; Y = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

In einem 250 ml Einhalskolben mit aufgesetztem Kühler und Stickstoffballon wurden unter Rühren 2.02 g (7.85 mmol) fein zerriebenes Pyrrol-Isomerengemisch 138 - 141 durch leichtes Erwärmen in 90 ml n-Butanol gelöst, wodurch eine hellbraune Lösung resultierte. Anschließend wurde die Lösung mit 127 mg (0.67 mmol) *p*-TsOH versetzt und während 90 min unter DC-Kontrolle rückflusiert. Die abgekühlte Reaktionslösung wurde in ca. 50 ml CHCl<sub>3</sub> aufgenommen und zur Entfernung der *p*-TsOH zweimal mit je 50 ml H<sub>2</sub>O extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden einmal mit 30 ml CHCl<sub>3</sub> zurückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht resultierten 2.48 g (7.91 mmol, 101 %) einer roten klebrigen Masse.

Nach zweifacher Säulenchromatografie (1.) 100 g SiO<sub>2</sub>, LM: AcOEt / Hex 1 : 4 (11); 2.) 40 g SiO<sub>2</sub>, LM: Et<sub>2</sub>O / Hex 2 : 1 (500 ml)) konnten 1.35 g (4.31 mmol, 54.5 %) (143), 45 mg (0.14 mmol, 1.8 %) (146) und 899 mg (2.87 mmol, 36.3 %) Mischfraktion von (144 und 145) isoliert werden.

3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (143):



R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.16 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens).

IR (KBr): 3314s, 3114vw, 3075vw, 3060vw, 3028w, 2960m, 2932m, 2873w, 1734vs, 1639s, 1604m, 1561w, 1526m, 1464s, 1449s, 1434vs, 1356m, 1220m, 1167s, 1122m, 1108w, 1071m, 1029w, 957w, 931w, 758m, 702m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.66 (s (br), 1H, HN(1)); 7.38-7.27 (m, 5H, HC(4<sup>2</sup>, 4<sup>2</sup>, 4<sup>3</sup>, 4<sup>3</sup>, 4<sup>4</sup>)); 6.50 (d, <sup>3</sup>J = 2.4, 1H, HC(5)); 4.01 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>5</sup>)); 2.65-2.61 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 6.5, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.52-2.49 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.5, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>3</sup>)); 2.47 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>1</sup>)); 1.58-1.51 (m, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>6</sup>)); 1.35 (tq, 2 x <sup>3</sup>J = 7.4, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>7</sup>)); 0.90 (t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>8</sup>)).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 197.0 (C(3<sup>1</sup>)); 173.4 (C(3<sup>4</sup>)); 136.5 (C(4<sup>1</sup>)); 135.3 (C(2)); 129.5 (C(4<sup>3</sup>, 4<sup>3</sup>)); 128.2 (C(4<sup>4</sup>)\*); 126.7 (C(4<sup>2</sup>, 4<sup>2</sup>)\*); 126.3 (C(4)); 120.0 (C(3)); 115.4 (C(5)); 64.3 (C(3<sup>5</sup>)); 37.1 (C(3<sup>2</sup>)); 30.6 (C(3<sup>6</sup>)); 28.7 (C(3<sup>3</sup>)); 19.0 (C(3<sup>7</sup>)); 14.2 (C(2<sup>1</sup>)); 13.7 (3<sup>8</sup>).

\* Zuordnung nach Pretsch (im Widerspruch mit den beobachteten Intensitäten)

MS (EI): 313 (21, [M]<sup>+</sup>), 240 (26, [M - O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 239 (18, [M - CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>), 185 (15), 184 (100, [M - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 156 (22, [M - CO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 128 (15), 115 (10), 101 (11), 92 (10).

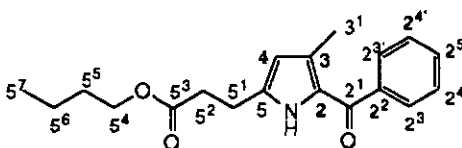
MS (DCI): 314 (100, [M + 1]<sup>+</sup>), 184 (9, [M - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>).

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> (313.40): ber.: C 72.82, H 7.41, N 4.47;

ber. (+ 0.63 Mol H<sub>2</sub>O): C 70.29, H 7.53, N 4.31;

gef.: C 70.29, H 7.32, N 4.41.

5-(2-butoxycarbonyl-ethyl)-3-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (146):



R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.31 (UV<sub>254</sub>-aktiv, orange mit Ehrlich-Reagens).

IR (KBr): 3439m, 3277s, 3087vw, 3052w, 2960m, 2931m, 2870w, 1723s, 1602s, 1574s, 1497m, 1487m, 1469m, 1449m, 1441m, 1416m, 1399m, 1372m, 1337m, 1316m, 1304m, 1276s, 1191vs, 1173s, 1080s, 1059s, 1016m, 981m, 937s, 804s, 735m, 699m, 461m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 9.32 (s (br), 1H, HN(1)); 7.65-7.62 (m, 2H, HC(2<sup>3</sup>, 2<sup>3</sup>)); 7.53-7.42 (m, 3H, HC(2<sup>5</sup>, 2<sup>4</sup>, 2<sup>4</sup>)); 5.89 (m, 1H, HC(4)); 4.11 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(5<sup>4</sup>)); 2.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.0, 2H, H<sub>2</sub>C(5<sup>1</sup>)); 2.66 (t, <sup>3</sup>J = 7.0, 2H, H<sub>2</sub>C(5<sup>2</sup>)); 2.00 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>1</sup>)); 1.65-1.57 (m, 2H, H<sub>2</sub>C(5<sup>5</sup>)); 1.35 (tq, 2 x <sup>3</sup>J = 7.5 2H, H<sub>2</sub>C(5<sup>6</sup>)); 0.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C(5<sup>7</sup>)).

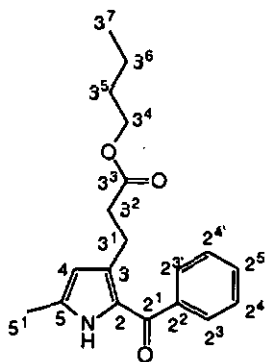
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 185.9 (C(2<sup>1</sup>)); 173.0 (C(5<sup>3</sup>)); 140.0 (C(2<sup>2</sup>)); 137.8 (C(5)); 130.9 (C(2<sup>5</sup>)); 130.1 (C(2)); 128.3 (C(2<sup>4</sup>)); 128.1 (C(2<sup>3</sup>)); 127.9 (C(3)); 112.1 (C(4)); 64.8 (C(5<sup>4</sup>)); 33.6 (C(5<sup>2</sup>)); 30.6 (C(5<sup>5</sup>)); 22.8 (C(5<sup>1</sup>)); 19.1 (C(5<sup>6</sup>)); 13.9 (C(3<sup>1</sup>)); 13.7 (C(5<sup>7</sup>)).

MS (EI): 314 (13, [M + 1]<sup>+</sup>), 313 (48, [M]<sup>+</sup>), 312 (22), 240 (11, [M - O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 238 (36), 213 (25), 212 (100, [M - COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 210 (22), 198 (41, [M - CH<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 196 (20), 184 (8, [M - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 134 (10), 120 (16), 106 (11), 105 (56), 92 (13), 77 (50), 43 (12).

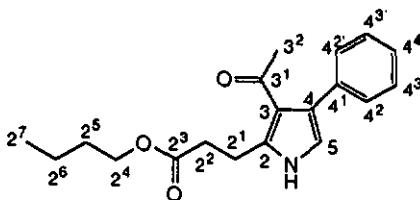
MS (DCI): 314 (32, [M + 1]<sup>+</sup>), 313 (100, [M]<sup>+</sup>), 312 (54), 256 (14), 238 (30), 213 (23), 212 (81), 210 (29), 198 (48, [M - CH<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 184 (12, [M - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 134 (12), 120 (13), 106 (14), 105 (47), 94 (18), 77 (64), 41 (17).

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> (313.40): ber.: C 72.82, H 7.41, N 4.47;  
 ber. (+ 0.26 Mol H<sub>2</sub>O): C 71.73, H 7.47, N 4.40;  
 gef.: C 71.73, H 7.82, N 4.39.

3-(2-butoxy-carbonylethyl)-5-methyl-2-phenylcarbonyl-pyrrol (144), 3-Acetyl-2-(2-butoxy-carbonylethyl)-4-phenyl-pyrrol (145)



144



145

R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.27 (UV<sub>254</sub>-aktiv, orange-violett mit Ehrlich-Reagens).

R<sub>f</sub> (Et<sub>2</sub>O / Hex 2 : 1): 0.40 (UV<sub>254</sub>-aktiv, orange-violett mit Ehrlich-Reagens).

**IR (KBr):** 3288m, 3061vw, 3026vw, 2960m, 2934m, 2872m, 2362vw, 1733vs, 1603s, 1573m, 1524m, 1495m, 1485m, 1456s, 1436s, 1375m, 1280s, 1239m, 1166m, 1118m, 1066w, 1029w, 999w, 953w, 758w, 739w, 702m.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, (144)):** 8.99 (s (br), 1H, HN(1)); 7.65-7.62 (m, 2H, HC(2<sup>3</sup>, 2<sup>3'</sup>)); 7.53-7.43 (m, 3H, HC(2<sup>5</sup>, 2<sup>4</sup>, 2<sup>4'</sup>)); 5.93 (m, 1H, HC(4)); 4.00 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>4</sup>)); 2.72 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.7, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>1</sup>)); 2.44 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.6, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.29 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5<sup>1</sup>)); 1.56-1.50 (m, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>5</sup>)); 1.41-1.23\* (m, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>6</sup>)); 0.90 (t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C((3<sup>7</sup>)).

\* Ueberlagerung der Signale von 144 und 145.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, (145)):** ca. 9.2 (s (br), 1H, NH); 7.38-7.27 (m, 5H, HC(4<sup>2</sup>, 4<sup>2'</sup>, 4<sup>3</sup>, 4<sup>3'</sup>, 4<sup>4</sup>)); 6.55 (d, <sup>3</sup>J = 2.4, 1H, HC(5)); 4.09 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>4</sup>)); 3.18 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 6.2, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>1</sup>)); 2.75 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 6.2, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>2</sup>)); 2.00 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>2</sup>)); 1.63-1.57 (m, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>5</sup>)); 1.41-1.23\* (m, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>6</sup>)); 0.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C((2<sup>7</sup>)).

\* Ueberlagerung der Signale von 144 und 145.

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT, (144)):** 185.5 (C(2<sup>1</sup>)); 173.0 (C(3<sup>3</sup>)); 140.0 (C(2<sup>2</sup>)); 135.3 (C(5)); 133.8 (C(2)); 131.0 (C(2<sup>5</sup>)); 128.4 (C(2<sup>4</sup>)); 127.9 (C(2<sup>3</sup>)); 127.1 (C(3)); 111.3 (C(4)); 64.2 (C(3<sup>4</sup>)); 35.0 (C(3<sup>2</sup>)); 30.6 (C(3<sup>5</sup>)); 22.9 (C(3<sup>1</sup>)); 19.1 (C(3<sup>6</sup>)); 13.7 (C(3<sup>7</sup>)); 13.2 (C(5<sup>1</sup>)).

Zuordnungen der pyrrolischen Signale in Analogie zu 131 und 132.

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT, (145)):** 197.5 (C(3<sup>1</sup>)); 175.0 (C(2<sup>3</sup>)); 137.6 (C(2)); 136.4 (C(4<sup>1</sup>)); 129.5 (C(4<sup>3</sup>, 4<sup>3'</sup>)); 128.2 (C(4<sup>4</sup>)\*); 126.7 (C(4<sup>2</sup>, 4<sup>2'</sup>)\*); 126.3 (C(4)); 120.8 (C(3)); 115.7 (C(5)); 64.2 (C(2<sup>4</sup>)); 33.6 (C(2<sup>2</sup>)); 30.9 (C(3<sup>2</sup>)); 30.6 (C(2<sup>5</sup>)); 22.0 (C(2<sup>1</sup>)); 19.1 (C(2<sup>6</sup>)); 13.7 (2<sup>7</sup>)).

\* Zuordnung nach Pretsch (im Widerspruch mit den beobachteten Intensitäten)

Zuordnungen der pyrrolischen Signale in Analogie zu 131 und 132.

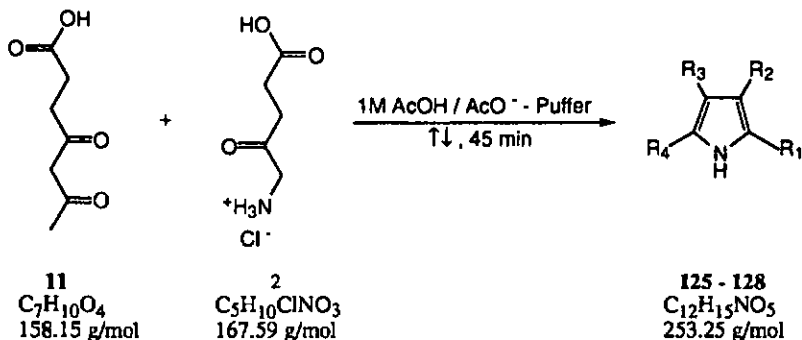
**MS (EI):** 314 (7, [M + 1]<sup>+</sup>), 313 (23, [M]<sup>+</sup>), 270 (38, [M - COCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 240 (9, [M - O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 212 (20, [M - COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 211 (22), 210 (19), 208 (12, [M

- COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>), 200 (10), 198 (42, [M - CH<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 197 (100), 196 (26), 183 (10), 182 (13), 170 (11), 168 (11), 105 (34), 77 (25), 43 (16).

MS (DCI): 315 (18), 314 (100, [M + 1]<sup>+</sup>), 313 (18, [M]<sup>+</sup>), 270 (28, [M - COCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 240 (20, [M - O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 212 (19, [M - COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 211 (17), 210 (16), 208 (12, [M - COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>), 198 (26, [M - CH<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 197 (53), 196 (17), 170 (11), 168 (11), 105 (22), 77 (13), 41 (10).

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> (313.40): ber.: C 72.82, H 7.41, N 4.47;  
ber. (+ 0.14 Mol H<sub>2</sub>O): C 72.24 H 7.42, N 4.43;  
gef.: C 72.24, H 7.11, N 4.19.

8.2.6 4-(2-Carboxyethyl)-3-(3-carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (125), 3-(2-Carboxyethyl)-2-(3-carboxy-1-oxopropyl)-5-methyl-pyrrol (126), 3-Acetyl-2,4-di(2-carboxyethyl)-pyrrol (127), 5-(2-Carboxyethyl)-2-(3-carboxy-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (128).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>125</b>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
<b>126</b>	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
<b>127</b>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
<b>128</b>	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

In einem 100 ml Einhalskolben wurden unter Rühren 2.61 g (16.5 mmol) 4,6-Dioxoheptansäure (11) und 2.82 g (16.8 mmol) 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid (2) in 50 ml 1 M Essigsäure / Natriumacetat-Puffer gelöst,

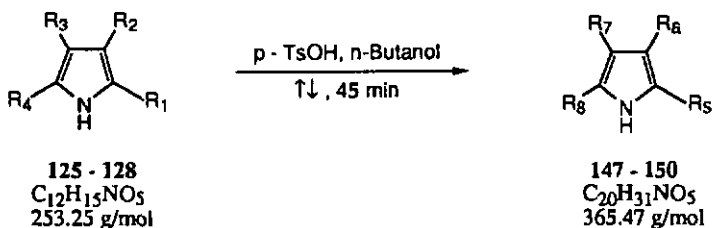
wodurch eine leicht gelbliche Lösung resultierte. Anschliessend wurde ein Kühler aufgesetzt und unter DC - Kontrolle während 45 min rückflusiert.

Die Reaktionslösung wurde anschliessend mittels konz. HCl - Lösung auf pH = 1 gestellt und direkt sechsmal mit je 100 ml AcOEt extrahiert. Dabei bildete sich ein weisser Niederschlag in der wässrigen Phase, der sich während der ganzen Extraktion nicht mehr auflöste. Dieser Niederschlag wurde abfiltriert, mit wenig kaltem Wasser nachgewaschen und anschliessend während 2 Tagen am HV getrocknet. Es konnten 2.16 g (8.53 mmol, 51.7 %) Produkt isoliert werden. <sup>1</sup>H - NMR Untersuchungen zeigten, dass es sich dabei um reines 4-(2-Carboxyethyl)-3-(3-carboxy-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (125) handelte.

Die vereinigten AcOEt - Extrakte wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und eingeeengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht konnten 2.08 g (8.21 mmol, 49.7 % Isomeregemisch (125 - 128) isoliert werden.

Der Grund für die zu grosse Gesamtausbeute (101.4 %) liegt in den hygroskopischen Eigenschaften der Produkte.

- 8.2.7 4-(2-Butoxycarbonylethyl)-3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol (147), 3-(2-Butoxy-carbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-5-methyl-pyrrol (148), 3-Acetyl-2,4-di(2-butoxycarbonylethyl)-pyrrol (149), 5-(2-Butoxycarbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (150).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
125	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>
126	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>
127	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	C(O)CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
128	C(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

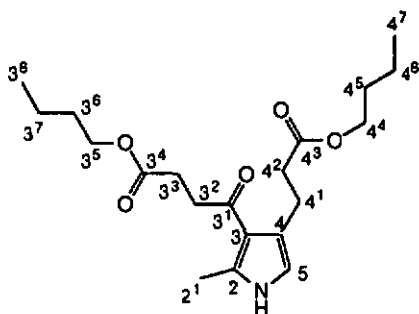
	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
147	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
148	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
149	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	C(O)CH <sub>3</sub>	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
150	XCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	YCO <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>

X = C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> ; Y = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

In einem 100 ml Zweihalskolben mit aufgesetztem Kühler und Stickstoffballon wurden unter Rühren 2.08 g (8.21 mmol) fein zerriebenes Pyrrol-Isomerengemisch 125-128 durch leichtes Erwärmen in 60 ml n-Butanol gelöst, wodurch eine hellbraune Lösung resultierte. Anschliessend wurde die Lösung mit 120 mg (mmol) *p*-Toluolsulfonsäure versetzt und während 45 min unter DC - Kontrolle rückflussiert. Die Reaktionslösung wurde nach dem Abkühlen auf RT mit ca. 100 ml AcOEt versetzt. Zur Entfernung der *p*-Toluolsulfonsäure wurde nun zweimal mit je 50 ml H<sub>2</sub>O extrahiert. Die wässrige Extraktionslösung wurde anschliessend zweimal mit je ca. 50 ml AcOEt zurückextrahiert. Schliesslich wurden die organischen Phasen vereinigt, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht resultierten 2.15 g (5.88 mmol, 72 %) eines rotbraunen Oels.

Nach zweifacher Säulenchromatographie (1.) 110 g SiO<sub>2</sub>, LM: AcOEt / Hex 1 : 3 (500 ml); 2.) ca. 10 g SiO<sub>2</sub>, LM: Et<sub>2</sub>O / Hex 1 : 3 (200 ml)) konnten 137 mg (0.37 mmol, 6.3 %) 147, 420 mg (1.15 mmol, 19.6 %) 149, 128 mg (0.35 mmol, 6.0 %) 148 und 59 mg (0.16 mmol, 2.7 %) 150 isoliert werden. Zusätzlich resultierten gesamthaft 506 mg (1.38 mmol, 23.5 %) Mischfraktionen, hauptsächlich Gemische aus 147 und 149.

4-(2-Butoxycarbonyl-ethyl)-3-(3-Butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-2-methyl-pyrrol  
(147)



$R_f$  (AcOEt / Hex 1 : 3): 0.13 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens).

IR (KBr): 3364s, 3316s, 3057vw, 3237w, 3122w, 2959s, 2935m, 2873m, 2847w, 1735vs, 1713s, 1638s, 1629vs, 1570w, 1518m, 1481m, 1466s, 1447s, 1417s, 1395m, 1363s, 1339m, 1324m, 1306m, 1284m, 1266m, 1251m, 1214s, 1175s, 1091w, 1070m, 1024w, 984m, 942m, 811m, 742m, 620m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 8.55 (s (br), 1H, HN(1)); 6.35 (m, 1H, HC(5)); 4.08 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>5</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 4.03 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>5</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 3.01 (t, <sup>3</sup>J = 6.6, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>2</sup>)); 3.02-2.99 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.6, 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>1</sup>)); 2.69 (t, <sup>3</sup>J = 6.6, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>3</sup>)); 2.59 (t, <sup>3</sup>J = 7.5, 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>2</sup>)); 2.48 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>1</sup>)); 1.64-1.53 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(3<sup>6</sup>, 4<sup>5</sup>)); 1.41-1.28 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(3<sup>7</sup>, 4<sup>6</sup>)); 0.91 (t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>8</sup> oder 4<sup>7</sup>)); 0.90 (t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>8</sup> oder 4<sup>7</sup>)).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 194.6 (C(3<sup>1</sup>)); 173.8 (C(4<sup>3</sup>)); 173.6 (C(3<sup>4</sup>)); 135.0 (C(2)); 124.6 (C(4)); 119.8 (C(3)); 114.5 (C(5)); 64.4 (C(3<sup>5</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 64.1 (C(3<sup>5</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 36.8 (C(3<sup>2</sup>)); 34.8 (C(4<sup>2</sup>)); 30.6 (C(3<sup>6</sup> und 4<sup>5</sup>)); 28.4 (C(3<sup>3</sup>)); 23.0 (C(4<sup>1</sup>)); 19.1 (C(3<sup>7</sup> und 4<sup>6</sup>)); 15.7 (C(2<sup>1</sup>)); 13.7 (3<sup>8</sup> und 4<sup>7</sup>).

Zuordnung analog 134.

MS (EI): 366 (12, [M + 1]<sup>+</sup>), 365 (41, [M]<sup>+</sup>), 292 (30, [M - O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 291 (24, [M - CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>), 236 (13, [M - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 209 (30), 208 (100, [M - CO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 194 (21), 190 (24), 189 (14), 166 (11),



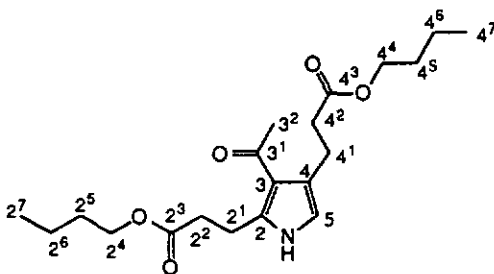
$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., DEPT): 186.9 (C(2<sup>1</sup>)); 173.1 (C(2<sup>4</sup>)); 173.0 (C(3<sup>3</sup>)); 134.6 (C(5)); 131.3 (C(2 oder 3)); 127.4 (C(3 oder 2)); 110.4 (C(4)); 64.4 (C(3<sup>4</sup> oder 2<sup>5</sup>)); 64.3 (C(3<sup>4</sup> oder 2<sup>5</sup>)); 34.8 (C(3<sup>2</sup>)); 34.0 (C(2<sup>2</sup>)); 30.6 (C(3<sup>5</sup> und 2<sup>6</sup>)); 28.2 (C(2<sup>3</sup>)); 23.3 (C(3<sup>1</sup>)); 19.1 (C(3<sup>6</sup> und 2<sup>7</sup>)); 13.6 (C(3<sup>7</sup> und 2<sup>8</sup>)); 13.0 (5<sup>1</sup>)).

MS (EI): 366 (11, [M + 1]<sup>+</sup>), 365 (32, [M]<sup>+</sup>), 292 (21, [M - O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 291 (9, [M - CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>), 236 (5, [M - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 209 (21), 208 (100, [M - CO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 190 (28), 166 (13), 162 (15), 148 (14), 138 (19), 136 (26), 134 (31), 120 (23), 108 (14), 106 (11), 101 (31), 94 (11), 43 (22).

$\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_5$  (365.47): ber.: C 65.73, H 8.55 N 3.83;

gef.: C 65.45, H 8.45 N 3.76.

3-Acetyl-2,4-di(2-butoxycarbonylethyl)-pyrrol (149)



$R_f$  (AcOEt / Hex 1 : 3): 0.21 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens).

IR (KBr): 3443w, 3367m, 3278m, 3115w, 2958s, 2933m, 2872m, 1732vs, 1641m, 1621s, 1568m, 1515vw, 1465s, 1422s, 1400m, 1376s, 1336m, 1305m, 1277m, 1260m, 1216m, 1176s, 1084w, 1076w, 1050w, 1032w, 1017w, 1002w, 969w, 942m, 794w, 615w.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 9.00 (s (br), 1H, HN(1)); 6.38 (m, 1H, HC(5)); 4.06 (t,  $^3J = 6.7$ , 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>4</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 4.05 (t,  $^3J = 6.7$ , 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>4</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 3.16 (triplettoid,  $^3J = 6.4$ , 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>1</sup>)); 3.00 (t,  $^3J = 7.7$ , 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>1</sup>)); 2.66 (triplettoid,  $^3J = 6.4$ , 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>2</sup>)); 2.60 (triplettoid,  $^3J = 7.6$ , 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>2</sup>)); 2.43 (s, 3H,

H<sub>3</sub>C(3<sup>2</sup>); 1.62-1.53 (m, 4H, H<sub>2</sub>C (2<sup>5</sup>, 4<sup>5</sup>)); 1.39-1.28 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(2<sup>6</sup>, 4<sup>6</sup>); 0.90 (2 · t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>7</sup> oder 4<sup>7</sup>)).

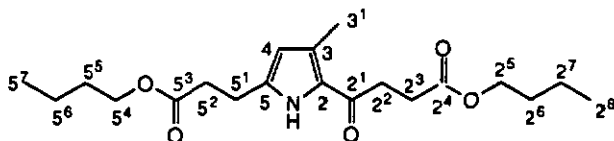
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R.): 195.2 (C(3<sup>1</sup>)); 174.3 (C(2<sup>3</sup>)); 173.3 (C(4<sup>3</sup>)); 138.3 (C(2)); 123.2 (C(4)); 120.1 (C(3)); 114.7 (C(5)); 64.7 (C(2<sup>4</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 64.2 (C(2<sup>4</sup> oder 4<sup>4</sup>)); 34.8 (C(4<sup>2</sup>)); 33.4 (C(2<sup>2</sup>)); 30.9 (C(3<sup>2</sup>)); 30.6 (C(2<sup>5</sup> oder 4<sup>5</sup>)); 30.5 (C(2<sup>5</sup> oder 4<sup>5</sup>)); 23.0 (C(4<sup>1</sup>)); 22.7 (C(2<sup>1</sup>)); 19.1 (C(2<sup>6</sup> oder 4<sup>6</sup>)); 19.0 (C(2<sup>6</sup> oder 4<sup>6</sup>)); 13.6 (2<sup>7</sup> und 4<sup>7</sup>)).

MS (EI): 366 (6, [M + 1]<sup>+</sup>), 365 (21, [M]<sup>+</sup>), 323 (20), 322 (100, [M - COCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 292 (3, [M - O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 250 (15), 148 (18), 134 (11).

C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>5</sub> (365.47): ber.: C 65.73, H 8.55 N 3.83;

gef.: C 65.43, H 8.63 N 3.86.

5-(2-Butoxycarbonylethyl)-2-(3-butoxycarbonyl-1-oxopropyl)-3-methyl-pyrrol (150)



R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 3): 0.32 (UV<sub>254</sub>-aktiv, orange mit Ehrlich-Reagens).

IR (KBr): 3354w, 3279w, 2958m, 2934m, 2872w, 1733s, 1634m, 1569w, 1495m, 1471m, 1455w, 1435w, 1420m, 1395m, 1374m, 1330m, 1310w, 1271m, 1239m, 1225m, 1190s, 1167s, 1087w, 1072w, 1014w, 1000vw, 977w, 947w, 803m, 725w.

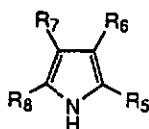
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 9.28 (s (br), 1H, HN(1)); 5.84 (d, <sup>3</sup>J = 2.9, 1H, HC(4)); 4.10 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>5</sup> oder 5<sup>4</sup>)); 4.09 (t, <sup>3</sup>J = 6.7, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>5</sup> oder 5<sup>4</sup>)); 3.02 (t, <sup>3</sup>J = 6.8, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>2</sup>)); 2.87 (t, <sup>3</sup>J = 7.1, 2H, H<sub>2</sub>C(5<sup>1</sup>)); 2.72 (t, <sup>3</sup>J = 6.8, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>3</sup>)); 2.61 (triplettoid, <sup>3</sup>J = 7.1, 2H, H<sub>2</sub>C(5<sup>2</sup>)); 2.36 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>1</sup>)); 1.65-1.56 (m, 4H, H<sub>2</sub>C (2<sup>6</sup> und 5<sup>5</sup>)); 1.42-1.24 (m, 4H, H<sub>2</sub>C(2<sup>7</sup> und 5<sup>6</sup>)); 0.92 (2 · t, <sup>3</sup>J = 7.4, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>8</sup> und 5<sup>7</sup>)).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R.): 187.2 ( $\text{C}(2^1)$ ); 173.2 ( $\text{C}(2^4)$ ); 172.9 ( $\text{C}(5^3)$ ); 136.8 ( $\text{C}(5)$ ); 128.3 ( $\text{C}(3)$ ); 127.8 ( $\text{C}(2)$ ); 111.8 ( $\text{C}(4)$ ); 64.7 ( $\text{C}(2^5$  oder  $5^4)$ ); 64.5 ( $\text{C}(2^5$  oder  $5^4)$ ); 34.3 ( $\text{C}(2^2)$ ); 33.6 ( $\text{C}(5^2)$ ); 30.6 ( $\text{C}(2^6$  und  $5^5)$ ); 28.2 ( $\text{C}(2^3)$ ); 22.7 ( $\text{C}(5^1)$ ); 19.1 ( $\text{C}((2^7$  und  $5^6)$ ); 14.5 ( $3^1$ ); 13.7 ( $\text{C}((2^8$  und  $5^7)$ ).

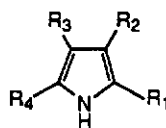
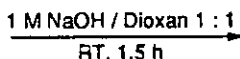
MS (EI): 366 (8,  $[\text{M} + 1]^+$ ), 365 (28,  $[\text{M}]^+$ ), 292 (16,  $[\text{M} - \text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3]^+$ ), 291 (9,  $[\text{M} - \text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}]^+$ ), 264 (10,  $[\text{M} - \text{COO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3]^+$ ), 236 (20,  $[\text{M} - (\text{CH}_2)_2\text{COO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3]^+$ ), 209 (11), 208 (65,  $[\text{M} - \text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{COO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3]^+$ ), 190 (38), 176 (10), 162 (37), 148 (12), 134 (16), 120 (10), 106 (10), 101 (16), 88 (11), 86 (61), 84 (94), 49 (100).

$\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_5$  (365.47): ber.: C 65.73, H 8.55, N 3.83;  
 ber. (+ 0.16 Mol  $\text{H}_2\text{O}$ ): C 65.22, H 8.57, N 3.80;  
 gef.: C 65.22, H 8.57, N 3.72.

8.2.8 Verseifung der n - Butylester 147 - 150



147 - 150  
 $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_5$   
 365.47 g/mol



125 - 128  
 $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_5$   
 253.25 g/mol

	$\text{R}_5$	$\text{R}_6$	$\text{R}_7$	$\text{R}_8$
147	H	$\text{YCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$\text{XCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$
148	$\text{XCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$\text{YCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	H	$\text{CH}_3$
149	H	$\text{YCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$	$\text{YCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$
150	$\text{XCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$	H	$\text{YCO}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$

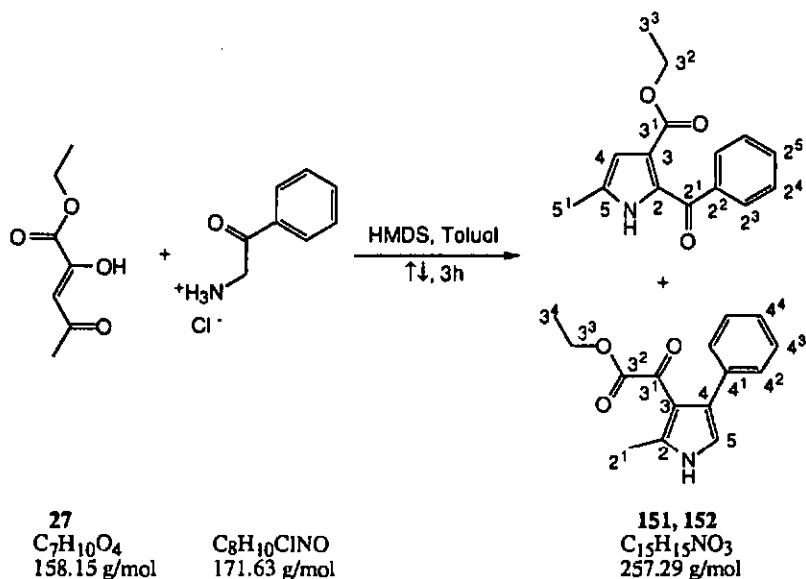
X =  $\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2$ ; Y =  $(\text{CH}_2)_2$ .

	$\text{R}_1$	$\text{R}_2$	$\text{R}_3$	$\text{R}_4$
125	H	$(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CH}_3$
126	$\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	H	$\text{CH}_3$
127	H	$(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$	$(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$
128	$\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CH}_3$	H	$(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$

allgemeine Verseifungsvorschrift.

In einem 25 ml Einhalskolben wurden unter Rühren 81 mg (0.22 mmol) Pyrrol-n-butylester (hier 149) in 10 ml eines 1 M NaOH/Dioxan 1 : 1 Gemisches gelöst. Anschliessend wurde unter Lichtausschluss während 1.5 h bei RT gerührt. Danach wurde die Reaktionslösung zuerst zweimal mit je 10 ml Hexan extrahiert und dann mittels konz. HCl-Lösung auf pH 2 gestellt. Schliesslich wurde dreimal mit je 10 ml AcOEt extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Nach dem Trocknen am HV über Nacht resultierten 58 mg (0.23 mmol, 104.5 %) Produkt (127).

8.2.9 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) / 3-(2-Ethoxycarbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152)



In einem 50 ml Zueihalskolben mit Septum, Kühler und Stickstoffballon wurden unter Rühren 1.64 g (9.55 mmol) Phenylaminhydrochlorid in 15 ml über Na/K getrocknetem Toluol vorgelegt und zuerst mit 2.0 ml (9.59 mmol) HMDS und anschliessend mit einer Lösung von 1.51 g (9.55mmol) 2,4-Dioxopentansäureethylester (27) in 5 ml trockenem Toluol versetzt. Die anfänglich gelbliche Suspension wurde während 3 h rückflussiert, wodurch sie sich dunkelbraun verfärbte. Nach dem Abkühlen auf RT wurde direkt am

Rotationsverdampfer eingengt. Es konnten 3.12 g (12.13 mmol, 127 %) eines schwarzer Festkörpers isoliert werden.

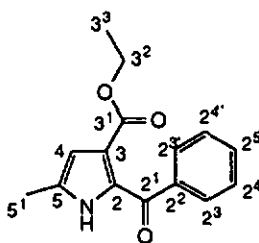
Nach direkt folgender Flash-Säulenchromatographie (95 g SiO<sub>2</sub>; LM: AcOEt / Hex 1 : 4 (700 ml)) konnten 292 mg (1.13 mmol, 11.8 %) 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) und 69 mg (0.27 mmol, 2.8 %) 3-(2-Ethoxycarbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152) isoliert werden. Zusätzlich konnten noch 51 mg 2-N-Phenacylamino-4-oxo-2,3-pentensäureethylester (153) isoliert werden.

Zur Reinigung wurde das 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151) in 10 ml CHCl<sub>3</sub> / CCl<sub>4</sub> (2 : 1) umkristallisiert. Nach dem Abfiltrieren und Trocknen am HV über Nacht resultierten 145 mg (0.56 mmol, 5.89 %) blassgelbes Produkt.

Versuche, das 3-(2-Ethoxycarbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152) ebenfalls durch Umkristallieren (CHCl<sub>3</sub> / CCl<sub>4</sub>; Et<sub>2</sub>O / Hex; AcOEt / Hex) zu reinigen, scheiterten. Das Pyrrol 152 wurde schliesslich säulenchromatographisch (Et<sub>2</sub>O / Hex 2 : 3) aufgereinigt, wodurch 66 mg (0.26 mmol, 2.7 %) eines braunen Oels isoliert werden konnten.

Bemerkung: Auffallend ist, dass bei der Anfärbung der Reaktionsprodukte mittels Ehrlich-Reagens die Farbreaktion deutlich langsamer verläuft. Sie setzt nicht sofort ein, sondern nimmt während mehreren Stunden an Intensität zu.

### 3-Ethoxycarbonyl-2-phenylcarbonyl-5-methyl-pyrrol (151)



R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.28 (UV<sub>254</sub>-aktiv, rot mit Ehrlich-Reagens (nach ca. 10 Std.)).

IR (KBr): 3239m, 3141m, 3105m, 3067m, 3056w, 2992m, 2964w, 2944w, 2902w, 1687s, 1619s, 1598m, 1575m, 1489s, 1472s, 1447s, 1432s, 1365m, 1345s, 1279s,

1268m, 1235vs, 1158w, 1115m, 1098m, 1079m, 1027w, 1015m, 1002w, 929m, 868w, 770m, 729s, 698m, 651m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, NOESY): 10.48 (s (br), 1H, HN(1)); 7.78-7.75 (m, 2H, HC(2<sup>3</sup>, 2<sup>3'</sup>)); 7.54-7.50 (m, 1H, HC(2<sup>5</sup>)); 7.44-7.40 (m, 2H, HC(2<sup>4</sup>, 2<sup>4'</sup>)); 6.44-6.43 (m, 1H, HC(4)); 3.71 (q, <sup>3</sup>J = 7.2, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.36 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5<sup>1</sup>)); 0.76 (t, <sup>3</sup>J = 7.2, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>3</sup>)).

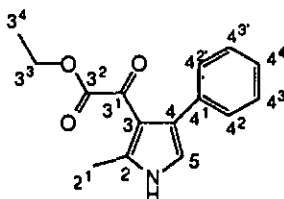
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 187.1 (C(2<sup>1</sup>)); 164.9 (C(3<sup>1</sup>)); 139.5 (C(2<sup>2</sup>)); 134.2 (C(5)); 132.1 (C(2<sup>5</sup>)); 129.1 (C(2 oder 3 und 2<sup>3</sup>, 2<sup>3'</sup>)); 128.1 (C(2<sup>4</sup>, 2<sup>4'</sup>)); 122.7 (C(3 oder 2)); 111.9 (C(4)); 60.4 (C(3<sup>2</sup>)); 13.4 (C(3<sup>3</sup>)); 12.8 (C(5<sup>1</sup>)).

MS (EI): 258 (15, [M + 1]<sup>+</sup>), 257 (28, [M]<sup>+</sup>), 212 (40, [M - OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 211 (53, [M - CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH]<sup>+</sup>), 210 (43), 184 (9, [M - COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 183 (15), 182 (11), 155 (13), 154 (11), 134 (22), 105 (35), 78 (24), 77 (100), 44 (11), 43 (11).

C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> (257.29): ber.: C 70.02, H 5.88 N 5.44;

gef.: C 69.76, H 6.02 N 5.34.

3-(2-Ethoxycarbonyl-methanoyl)-2-methyl-4-phenyl-pyrrol (152)



R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.09 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens (nach ca. 10 Std.)).).

R<sub>f</sub> (Et<sub>2</sub>O / Hex 3 : 2): 0.18 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens (nach ca. 10 Std.)).).

IR (KBr): 3424s, 3313m, 3134w, 2979w, 2935w, 1737s, 1627vs, 1604m, 1576w, 1563m, 1528m, 1491w, 1468m, 1441m, 1425m, 1388w, 1371m, 1293s, 1259m,

1223s, 1176vw, 1157vw, 1118w, 1103m, 1073w, 1027m, 970m, 948w, 750m, 705m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY, NOESY): 8.86 (s (br), 1H, HN(1)); 7.35-7.25 (m, 5H, HC(4<sup>2</sup>, 4<sup>2'</sup>, 4<sup>3</sup>, 4<sup>3'</sup>, 4<sup>4</sup>)); 6.60 (d, <sup>3</sup>J = 2.4, 1H, HC(5)); 3.65 (q, <sup>3</sup>J = 7.2, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>3</sup>)); 2.56 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(2<sup>1</sup>)); 1.02 (t, <sup>3</sup>J = 7.2, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>4</sup>)).

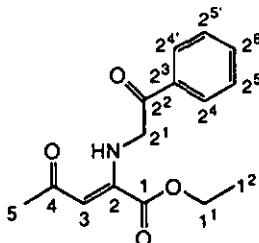
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 183.8 (C(3<sup>1</sup>)); 164.9 (C(3<sup>2</sup>)); 139.5 (C(2)); 134.8 (C(4<sup>1</sup>)); 129.0 (C(4<sup>3</sup>, 4<sup>3'</sup>)); 128.1 (C(4<sup>4</sup>)\*); 127.6 (C(4 oder 3)); 126.8 (C(4<sup>2</sup>, 4<sup>2'</sup>)\*); 115.6 (C(5)); 115.6 (C(3 oder 4)); 61.5 (C(3<sup>3</sup>)); 14.0 (C(2<sup>1</sup>)); 13.5 (C(3<sup>4</sup>)).

\* Zuordnung nach Pretsch (im Widerspruch mit den beobachteten Intensitäten)  
 MS (E1): 257 (9, [M]<sup>+</sup>), 184 (98, [M - COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 156 (10, [M - COCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 128 (13), 127 (12), 89 (10), 77 (15), 70 (9), 46 (13), 44 (100), 43 (10).

C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> (257.29): ber.: C 70.02, H 5.88 N 5.44;

gef.: C 69.72, H 6.00 N 5.30.

2-N-Phenacylamino-4-oxo-2,3-penten-säureethylester (153)



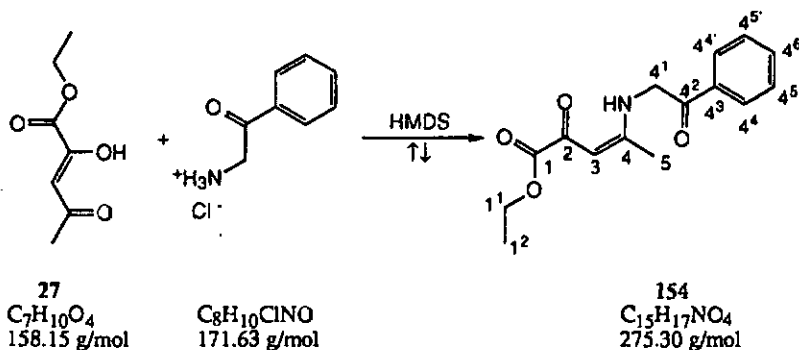
R<sub>f</sub> (AcOEt / Hex 1 : 4): 0.17 (UV<sub>254</sub>-aktiv, grün mit Ehrlich-Reagens (nach ca. 10 Std.)).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 10.54 (s (br), 1H, HN von C(2)); 7.94-7.91 (m, 2H, HC(2<sup>4</sup>, 2<sup>4'</sup>)); 7.61-7.56 (m, 1H, HC(2<sup>6</sup>)); 7.49-7.44 (m, 2H, HC(2<sup>5</sup>, 2<sup>5'</sup>)); 5.82 (s, 1H, HC(3)); 5.01 (d, <sup>3</sup>J = 5.6, 2H, H<sub>2</sub>C(2<sup>1</sup>)); 4.24 (q, <sup>3</sup>J = 7.1, 2H, H<sub>2</sub>C(1<sup>1</sup>)); 2.18 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5)); 1.30 (t, <sup>3</sup>J = 7.1, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>2</sup>)).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; HETCOR S. und L.R., DEPT): 198.6 (C(4)); 194.0 (C(2<sup>2</sup>)); 163.8 (C(1)); 149.1 (C(2)); 134.5 (C(2<sup>3</sup>)); 133.7 (C(2<sup>6</sup>)); 128.8 (C(2<sup>5</sup>, 2<sup>5'</sup>)); 127.7 (C(2<sup>4</sup>, 2<sup>4'</sup>)); 98.0 (C(3)); 61.9 (C(1<sup>1</sup>)); 50.8 (C(2<sup>1</sup>)); 29.9 (C(5)); 13.9 (C(1<sup>2</sup>)).

Die Strukturzuordnung erfolgte durch den Vergleich der Spektren des Isomeren 154.

#### 8.2.10 4-N-Phenacylamino-2-oxo-3,4-pentensäureethylester (154)

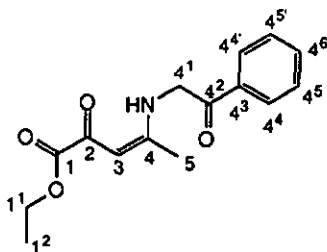


In einem 50 ml Zweihalskolben mit Septum, Kühler und Stickstoffballon wurden unter Rühren 1.71 g (9.96 mmol) Phenacylaminhydrochlorid in 20 ml HMDS vorgelegt und mit 1.57 g (9.92 mmol) 2,4-Dioxopentensäureethylester (27) versetzt. Die anfänglich gelbliche Suspension wurde während 3 h rückflusiert, wodurch sie sich dunkelbraun verfärbte. Nach dem Abkühlen auf RT wurde direkt am Rotationsverdampfer eingengt. Es konnten 3.57 g (12.97 mmol, 130 %) eines schwarzer Festkörpers isoliert werden.

Nach direkt folgender Flash-Säulenchromatographie (120 g  $\text{SiO}_2$ ; LM:  $\text{Et}_2\text{O}$  (600 ml)) konnten 660 mg (2.40 mmol, 24 %) Produkt (154) isoliert werden.

**Bemerkung:** Auffallend ist, dass bei der Anfärbung der Reaktionsprodukte mittels Ehrlich-Reagens die Farbreaktion deutlich langsamer verläuft. Sie setzt nicht sofort ein, sondern nimmt während mehreren Stunden an Intensität zu.

4-N-Phenacylamino-2-oxo-3,4-pentensäureethylester (154)



$R_f$  (Et<sub>2</sub>O): 0.18 (UV<sub>254</sub>-aktiv, violett mit Ehrlich-Reagens (nach ca. 10 Std.)).

IR (KBr): 3400(br)w, 3425(br)w, 3174w, 3062w, 3027w, 3001w, 2986w, 2936w, 2904w, 1730s, 1715m, 1689s, 1610s, 1583vs, 1525m, 1493w, 1466w, 1449m, 1425m, 1394w, 1371w, 1352m, 1341m, 1300m, 1255s, 1220vs, 1185w, 1143m, 1130m, 1115m, 1079w, 1017m, 1000m, 981m, 914w, 855w, 812w, 770m, 755m, 692m, 593w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; COSY): 11.70 (s (br), 1H, HN von C(4)); 7.97-7.94 (m, 2H, HC(4', 4'')); 7.66-7.61 (m, 1H, HC(4<sup>6</sup>)); 7.53-7.49 (m, 2H, HC(4<sup>5</sup>, 4<sup>5'</sup>)); 5.95 (s, 1H, HC(3)); 4.83 (d, <sup>3</sup>J = 5.4, 2H, H<sub>2</sub>C(4<sup>1</sup>)); 4.29 (q, <sup>3</sup>J = 7.1, 2H, H<sub>2</sub>C(1<sup>1</sup>)); 2.09 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(5)); 1.35 (t, <sup>3</sup>J = 7.1, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>2</sup>)).

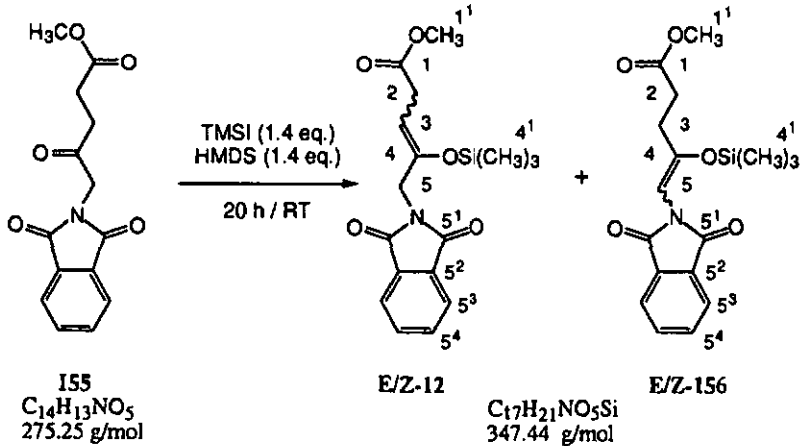
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; HETCOR S. und L.R., DEPT): 191.6 (C(4<sup>2</sup>)); 176.8 (C(2)); 167.6 (C(4)); 164.1 (C(1)); 134.2 (C(4<sup>3</sup> und 4<sup>6</sup>)); 129.0 (C(4<sup>5</sup>, 4<sup>5'</sup>)); 127.9 (C(4<sup>4</sup>, 4<sup>4'</sup>)); 94.4 (C(3)); 61.6 (C(1<sup>1</sup>)); 49.7 (C(4<sup>1</sup>)); 19.8 (C(5)); 14.1 (C(1<sup>2</sup>)).

MS (DCI): 277 (16, [M + 2]<sup>+</sup>), 276 (100, [M + 1]<sup>+</sup>), 230 (8, [M - OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 202 (21, [M - COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 158 (12), 105 (10), 96 (10).

C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub> (275.30): ber.: C 65.44, H 6.22 N 5.09;  
gef.: C 64.87, H 6.04 N 5.31.

Die Strukturzuordnung erfolgte durch den Vergleich der Spektren des Isomeren 153.

8.2.11 (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) und (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-4-ensäuremethylester (E/Z-156)



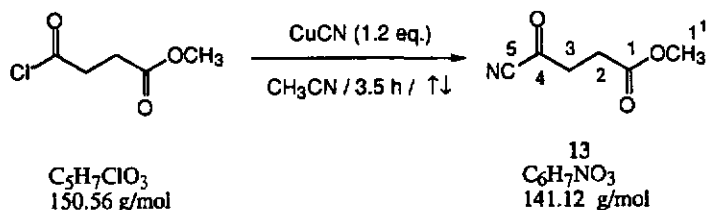
Unter  $\text{N}_2$  wurde in einem vorgetrockneten 250 ml Zweihalskolben eine Lösung von 9.94 g (36.1 mmol) 5-(N-Phthalimido)ävalinsäuremethylester (155) in 100 ml trockenem  $\text{CHCl}_3$  vorgelegt. Per Spritze wurde unter kräftigem Rühren bei RT 8.17 g (50.6 mmol, 1.4 eq.) HMDS und anschliessend langsam 10.1 g TMSI (50.5 mmol, 1.4 eq.) zugegeben. Nach 20 h Rühren bei RT wurde die Reaktionslösung am RV unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre auf etwa 30 ml eingengt und mit 100 ml trockenem Hexan versetzt. Der gebildete weisse Niederschlag wurde unter Schutzgas über Celite abfiltriert, mit 2 x 20 ml Hexan gewaschen und das Filtrat erneut am RV eingengt. Trocknen am HV während 2 h ergab 13.37 g (107% theor. Gewicht) eines hellbraunen, zähflüssigen Oels. Dieses wurde ohne zusätzliche Reinigung für Aldolkopplungen eingesetzt.

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Rohproduktes zeigte neben Signalen der Reaktanden und des Lösungsmittels (HMDS, TMSI, Hexan, etc.), auch kleinste Signale des unerwünschten Regioisomerenpaares (E/Z-156). Der Silylenolether (E/Z-12) wurde dabei in einem E/Z-Verhältnis von 45 : 55 gebildet. Die vollständige Charakterisierung wurde in der Dissertation von A. Chaperon. beschreiben [103].

**R<sub>f</sub>** (Hex / AcOEt 1 : 1): 0.65 (UV<sub>254</sub>-aktiv; hellgelb - reagiert augenblicklich beim Besprühen mit KMnO<sub>4</sub> - zersetzt sich mehrheitlich auf SiO<sub>2</sub>).

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): **E-Isomer**: 7.87 - 7.79 (m, 2H, HC(5<sup>3</sup>, 5<sup>3'</sup>)); 7.75 - 7.68 (m, 2H, HC(5<sup>4</sup>, 5<sup>4'</sup>)); 4.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.3, 1H, HC(3)); 4.28 (s, 2H, H<sub>2</sub>C(5)); 3.70 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.29 (d, <sup>3</sup>J = 7.7, 2H, H<sub>2</sub>C(2)); 0.08 (s, 9H, H<sub>3</sub>C(4<sup>1</sup>)). **Z-Isomer**: 7.87 - 7.79 (m, 2H, HC(5<sup>3</sup>, 5<sup>3'</sup>)); 7.75 - 7.68 (m, 2H, HC(5<sup>4</sup>, 5<sup>4'</sup>)); 4.89 (t, <sup>3</sup>J = 7.2, 1H, HC(3)); 4.20 (d, <sup>3</sup>J = 1.1, 2H, H<sub>2</sub>C(5)); 3.63 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.04 (d, <sup>3</sup>J = 7.4, 2H, H<sub>2</sub>C(2)); 0.23 (s, 9H, H<sub>3</sub>C(4<sup>1</sup>)).

#### 8.2.12 4-Cyano-4-oxobutansäuremethylester (13)



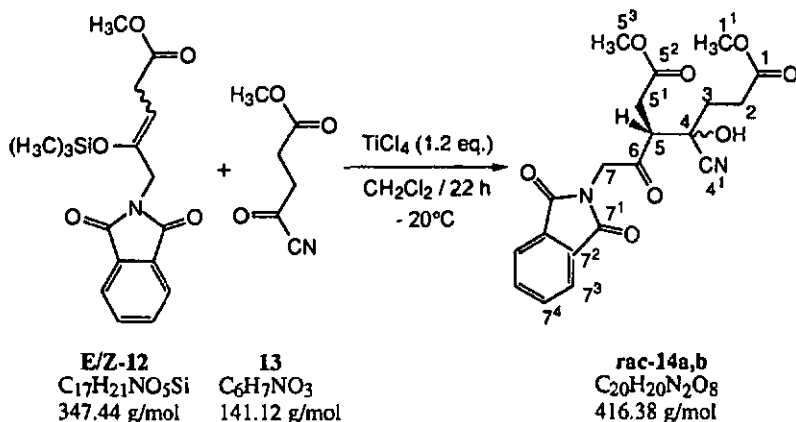
In einem 1000 ml trockenen 2-Halskolben mit aufgesetztem Kühler und Septum wurden unter N<sub>2</sub> - Atmosphäre 32.24 g (360 mmol, 1.2 eq.) CuCN in 700 ml CH<sub>3</sub>CN vorgelegt. Zur entstandenen Suspension wurde unter starkem Rühren bei RT 45.17 g (300 mmol) Bernsteinsäuremonomethylesterchlorid zugetropft. Anschliessend wurde das Reaktionsgemisch während 3.5 h rückflusiert (Oelbädtemperatur: 110°C).

Danach wurde die Reaktionslösung am RV auf ca. 50 ml eingengt und mit 200 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt, worauf sich ein grauer Niederschlag bildete. Nach dem Abfiltrieren und Nachwaschen mit 50 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wurde das Filtrat über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Es bildete sich erneut ein grauer Niederschlag, der abfiltriert und mit wenig CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen wurde. Schliesslich wurde das Filtrat am RV eingengt. Nach HV-Destillation (55°C/ 2·10<sup>-2</sup> mbar) konnten insgesamt 28.19 g (200 mmol, 67%) reiner 4-Cyano-4-oxobutansäuremethylester (**13**) isoliert werden.

Die vollständige Charakterisierung wurde in der Dissertation von A. Chaperon. beschreiben [103].

$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 3.72 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}(1^1)$ ); 3.07 (t,  $^3J = 6.3$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(3)$ );  
 2.74 (t,  $^3J = 6.4$ , 2H,  $\text{H}_2\text{C}(2)$ ).  
 $^{13}\text{C-NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 175.4 (C(4)); 171.4 (C(1)); 113.1 (C(5)); 52.4 (C(1 $^1$ ));  
 39.8 (C(3)); 27.1 (C(2)).

8.2.13 rac-4-Cyano-4-hydroxy-5-(methoxycarbonylmethyl)-7-(N-phthalimido)-6-oxoheptansäuremethylester (14a,b)



Bevorzugte Bildung des Diastereoisomeren rac-14b (analoges Diastereoisomeres der Dissertation von A. Chaperon [103]:

In einem trockenen 200 ml Sulfierkolben mit mechanischem Rührer, Septum und  $\text{N}_2$ -Ballon wurde unter  $\text{H}_2\text{O}$ -Ausschluss eine Lösung von 2 ml (3.46 g, 18.2 mmol, 1.2 eq.) über Polyvinylpyridin destilliertes  $\text{TiCl}_4$  in 30 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Fluka) vorgelegt und während 1 h auf ca.  $-70^\circ\text{C}$  abgekühlt. Anschliessend wurde während 20 min unter Rühren zuerst eine Lösung von 5.25 g (15.1 mmol) (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) in 20 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und dann während 10 min eine Lösung von 2.53 g (17.9 mmol, 1.2 eq.) 4-Cyano-4-oxo-butansäure-methylester (13) in 10 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  zugetropft. Die resultierende orange - gelbliche Suspension wurde während 22 h bei  $-20^\circ\text{C}$  gerührt und der Reaktionsverlauf  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch (200 MHz) verfolgt (Auftreten der  $\text{H}_2\text{C}(5)$ -Signale der Aldolprodukte bei 4.87 ppm (singulettartig, Diastereoisomer rac-14a) und bei 4.94/4.71 (AB-System, Diastereoisomer rac-14b). Nach 22 h Reaktionszeit konnten rund 55 % NMR -

Umsatz (Verhältnis rac-14a : rac-14b = 1 : 6) festgestellt werden. Schliesslich wurde die Reaktion gestoppt und die kalte Reaktionslösung zu 50 ml H<sub>2</sub>O gegeben. Die Extraktion erfolgte mit 3 x 50 ml CHCl<sub>3</sub>. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und am RV zu einem rötlich braunen Oel eingengt, welches über Nacht im Kühlschrank erstarrte und direkt weiter verarbeitet wurde (Acetylierung).

### Bevorzugte Bildung des Diastereoisomeren rac-14a:

In einem trockenen 300 ml Sulfierkolben mit mechanischem Rührer, Septum und N<sub>2</sub>-Ballon wurde unter H<sub>2</sub>O-Ausschluss eine Lösung von 6 ml (10.4 g, 54.7 mmol, 2.2 eq.) über Polyvinylpyridin destilliertes TiCl<sub>4</sub> in 50 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Fluka) vorgelegt und während 1 h auf ca. -70°C abgekühlt. Anschliessend wurde unter schwachem Rühren während 30 min zuerst eine Lösung von 8.50 g (24.5 mmol) (E/Z)-5-(N-phthalimido)-4-(trimethylsilyloxy)-pent-3-ensäuremethylester (E/Z-12) in 10 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und dann in gleicher Weise eine Lösung von 4.14 g (29.34 mmol, 1.2 eq.) 4-Cyano-4-oxo-butansäure-methylester (13) in 10 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zuge tropft. Die resultierende orange - gelbliche Suspension wurde während 22 h bei -20°C gerührt und der Reaktionsverlauf <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch (200 MHz) verfolgt (Auftreten der H<sub>2</sub>C(5)-Signale der Aldolprodukte bei 4.87 ppm (singulettartig, Diastereoisomer rac-14a) und bei 4.94/4.71 (AB-System, Diastereoisomer rac-14b)). Nach 17 bzw. 22 h Reaktionszeit konnten rund 60 % NMR - Umsatz (Verhältnis rac-14a : rac-14b = 3 : 2) festgestellt werden. Schliesslich wurde die Reaktion gestoppt und die kalte Reaktionslösung zu 100 ml H<sub>2</sub>O gegeben. Die Extraktion erfolgte mit 3 x 50 ml CHCl<sub>3</sub>. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und am RV zu einem rötlich braunen Oel (11.26 g) eingengt, welches über Nacht im Kühlschrank erstarrte.

### Schlussfolgerung:

Die Verwendung von 1.2 bzw. 2.2 Aeq. TiCl<sub>4</sub> scheint keinen signifikanten Einfluss auf die Ausbeute der Aldolreaktion zu haben. Allerdings scheint das Diastereoisomerenverhältnis abhängig von der zugegebenen Menge TiCl<sub>4</sub> zu sein.

### Diastereoisomer rac-14b:

Charakterisierung einer von A. Chapereon umkristallisierten Probe.

**R<sub>F</sub>** zersetzt sich auf SiO<sub>2</sub> unter HCN-Abspaltung.

**Smp.:** 124.8 - 126.5°C.

**IR (KBr):** 3363m, 2945w, 1775s, 1738s (sh), 1723vs, 1698vs, 1616vw, 1471w, 1438s (sh), 1422s, 1399s, 1375m, 1360m, 1338w, 1313m, 1307m (sh), 1287w, 1271w, 1217m, 1196s, 1177m, 1130m, 1090s, 1074w, 1052w (br), 1018vw, 994w, 975m, 959vw, 942m, 903w, 891w, 862vw, 791w, 727m, 717w, 703vw, 623w.

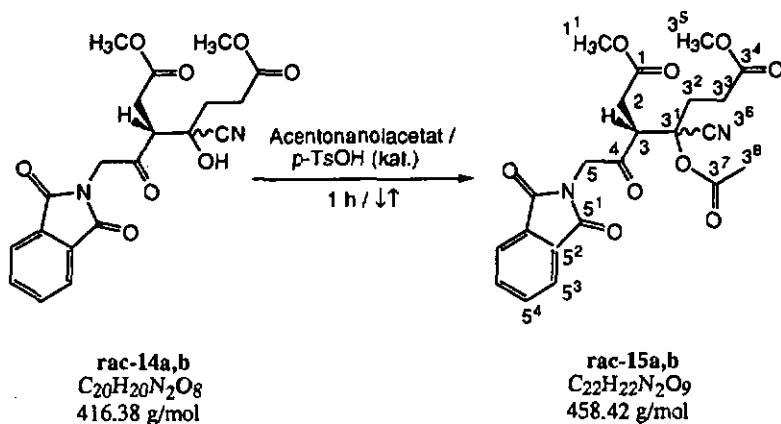
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>/HETCOR S. und L.R.):** 7.88 - 7.86 (m, 2H, HC(5<sup>3</sup>, 5<sup>3'</sup>)); 7.75 - 7.73 (m, 2H, HC(5<sup>4</sup>, 5<sup>4'</sup>)); 5.63 (s, 1H, HOC(3<sup>1</sup>)); 4.94 und 4.71 (2 x d, <sup>2</sup>J = 18.1, je 1H, H<sub>a</sub> resp. H<sub>b</sub>C(5)); 3.744 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>5</sup>)); 3.737 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.47 (dd, <sup>3</sup>J = 11.3, 2.9, 1H, HC(3)); 3.16 (dd, J = 17.4, 11.3, 1H, H<sub>a</sub>C(2)); 2.86 (dt, J = 17.6, 7.6, 1H, H<sub>a</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.76 (dd, J = 17.4, 2.9, 1H, H<sub>b</sub>C(2)); 2.73 (m, 1H, H<sub>b</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.20 (t, <sup>3</sup>J = 6.9, 1H, H<sub>2</sub>C(3<sup>3</sup>)).

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>/HETCOR S. und L.R.):** 202.6 (s, C(4)); 174.8 (s, C(3<sup>4</sup>)); 171.8 (s, C(1)); 168.4 (s, C(5<sup>1</sup>, 5<sup>1'</sup>)); 135.0 (d, C(5<sup>4</sup>, 5<sup>4'</sup>)); 132.6 (s, C(5<sup>2</sup>, 5<sup>2'</sup>)); 124.3 (d, C(5<sup>3</sup>, 5<sup>3'</sup>)); 118.5 (s, C(3<sup>6</sup>)); 72.9 (s, C(3<sup>1</sup>)); 53.2 (q, C(1<sup>1?</sup>)); 53.1 (q, C(3<sup>5?</sup>)); 53.1 (d, C(3)); 49.5 (t, C(5)); 34.1 (t, C(3<sup>3</sup>)); 33.7 (t, C(2)); 29.9 (t, C(3<sup>2</sup>)).

**MS (EI):** 229 (28), 197 (35), 169 (15), 160 (63), 115 (100, [P-Seitenkette]<sup>+</sup>), 104 (29), 87 (26), 77 (32), 59 (24), 55 (48).

**MS (DCI):** 408 (100, [M + 18 - CN]<sup>+</sup>), 391 (28, [M + 1 - CN]<sup>+</sup>), 246 (48), 229 (72), 214 (18), 197 (38), 160 (19), 115 (60), 100 (71).

**MS (FAB):** 439 (47, [M + Na]<sup>+</sup>), 417 (100, [M + 1]<sup>+</sup>), 412 (13), 399 (15), 390 (42, [M + 1 - CN]<sup>+</sup>), 385 (37), 367 (11), 358 (47), 353 (30), 326 (32), 298 (11), 244 (18), 216 (28).

8.2.14 4-O-Aceryl-4-cyano-5-(methoxycarbonylmethyl)-6-oxo-7-(N-phthalimido)-heptan-säuremethylester (rac-15a,b)


In einem 25 ml Einhalskolben mit Rückflusskühler und  $\text{N}_2$ -Ballon wurde unter  $\text{H}_2\text{O}$ -Ausschluss eine Lösung von 0.77 g Edukt (31 % Gehalt an Cyanhydrin, ca. 0.24 g, 0.58 mmol) in 5 ml Acetonolacetat (4.60 g, 45.9 mmol, 79 eq.) vorgelegt und mit 25 mg  $p\text{-TsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (0.13 mmol, ca. 0.22 eq.) als Katalysator versetzt. Anschliessend wurde während 1 h rückflusiert (langsame Verfärbung der Reaktionslösung nach dunkelbraungrau). Die Reaktionslösung wurde nach dem Abkühlen auf RT zu 50 ml Wasser gegeben und dann dreimal mit je 50 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und am RV zu einem braunen Oel (0.81 g) eingengt.

FC (100 g  $\text{SiO}_2$ ; LM: AcOEt/Hept 1 : 1 (700 ml)) ergab einerseits 228 mg eines Gemisches aus 5-(N-Phthalimido)lävulinsäuremethylester (155) und Diastereoisomer rac-15a im Verhältnis 2 : 1, andererseits 52 mg des Diastereoisomeren rac-15b (0.11 mmol, 20.1 %). Zusätzlich konnten Spuren weiterer, nicht charakterisierter Nebenprodukte isoliert werden. Eine zweite FC (40 g  $\text{SiO}_2$ ; LM: AcOEt/Hept 2 : 3 (400 ml)) der 228 mg des Gemisches aus 5-(N-Phthalimido)lävulinsäuremethylester und Diastereoisomer rac-15a ergab 42 mg (0.09 mmol, 16.5 %) reines Diastereoisomer rac-15a.

Bei einem Grossansatz (40 % - NMR - Umsatz) wurden 9.32 g (22.4 mmol) Rohprodukt in 35 ml Acetonolacetat mit 225 mg  $p\text{-Toluolsulfonsäure}$  versetzt und während einer Stunde unter einer Stickstoffatmosphäre rückflusiert. Die Reaktionslösung wurde nach dem Abkühlen auf RT zu 50 ml Wasser gegeben und dann dreimal mit je 50 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Die vereinigten organischen

Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und am RV zu einem braunen Öl (6.86 g, 15.0 mmol, 67%) eingengt.

FC (400 g  $\text{SiO}_2$ ; LM: AcOEt/Hept 2 : 3 (2 l)) ergab 1.78g (6.47 mmol, 43 %) 5-(N-Phthalimido)lävulinsäuremethylester (155), 1.15g (2.51 mmol, 17%) rac-15a und 0.62g (1.35 mmol, 9%) rac-15b. Zusätzlich konnten noch 0.69 g Mischfraktionen von rac-15a mit 5-(N-Phthalimido)lävulinsäuremethylester (155), bzw. von rac-15b mit einem Nebenprodukt (Elimination von HCN) isoliert werden. Vom Eliminatosprodukt (-HCN) konnten 0.58 g (1.34 mmol, 9%) isoliert werden.

Bemerkung: Die problematische Phasentrennung während der Extraktion führt vermutlich zu einem relativ grossen Verlust an Produkt. Entweder sollte die Extraktion mehr als nur dreimal oder sogar kontinuierlich durchgeführt werden.

#### Diastereoisomer rac-15a:

$R_f$  (AcOEt / Heptan 2 : 3): 0.26 (braun,  $\text{KMnO}_4$ ).

IR (KBr): 3451w (br), 2960w, 2934w, 1737s, 1724vs, 1469w, 1440m, 1417m, 1389m, 1372m, 1312m, 1211m, 1120w, 1089w, 1047w, 1020w, 990w, 963w, 938w, 910w, 898w, 735w, 714m.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$  / HETCOR S. und L.R.): 7.86 - 7.83 (m, 2H, HC(5<sup>3</sup>, 5<sup>3</sup>)); 7.76 - 7.72 (m, 2H, HC(5<sup>4</sup>, 5<sup>4</sup>)); 4.92 und 4.41 (2 x d,  $^2J = 18.5$ , je 1H, H<sub>a</sub> resp. H<sub>b</sub>C(5)); 4.33 (dd,  $^3J = 11.8, 2.8$ , 1H, HC(3)); 3.75 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.68 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>5</sup>)); 3.03 (dd,  $J = 17.0, 11.8$ , 1H, H<sub>b</sub>C(2)); 2.80 (dd,  $J = 17.0, 2.8$ , 1H, H<sub>a</sub>C(2)); 2.60 - 2.53 (m, 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.53 - 2.45 (m, 1H, H<sub>b</sub>C(3<sup>3</sup>)); 2.32 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>8</sup>)); 2.26 - 2.20 (m, 1H, H<sub>a</sub>C(3<sup>3</sup>)).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$  / HETCOR S. und L.R.): 199.9 (C(4)); 171.7 (C(4<sup>4</sup>)); 170.4 (C(1)); 169.3 (C(3<sup>7</sup>)); 167.3 (C(5<sup>1</sup>, 5<sup>1</sup>)); 134.2 (C(5<sup>4</sup>, 5<sup>4</sup>)); 131.9 (C(5<sup>2</sup>, 5<sup>2</sup>)); 123.5 (C(5<sup>3</sup>, 5<sup>3</sup>)); 115.4 (C(3<sup>6</sup>)); 74.7 (C(3<sup>1</sup>)); 52.6 (C(1<sup>1</sup>)); 52.0 (C(3<sup>5</sup>)); 48.8 (C(5)); 47.0 (C(3)); 33.5 (C(2)); 29.1 (C(3<sup>2</sup>)); 28.9 (C(3<sup>3</sup>)); 21.0 (C(3<sup>8</sup>)).

MS (DCI): 477 (28), 476 (100, [M + 18]<sup>+</sup>), 459 (23, [M + 1]<sup>+</sup>), 418 (25), 417 (12), 416 (23), 402 (20), 401 (57), 400 (29), 399 (95, [M - CH<sub>3</sub>COO]<sup>+</sup>), 367 (9), 276 (10), 254 (9), 160 (5).

$C_{22}H_{22}N_2O_9$  (458.42):

ber.: C 57.64, H 4.85, N 6.11;

gef.: C 56.91, H 5.22, N 5.37.

Diastereoisomer rac-15b:

Die Beschreibung dieser Verbindung stammt aus der Dissertation von A. Chaperon [103].

$R_f$  (AcOEt / Heptan 2 : 1): 0.32;  $R_f$  (Hep / AcOEt 1 : 1): 0.18 (UV<sub>254</sub>-aktiv, braun mit  $KMnO_4$ ).

IR (KBr): 3615w (sh), 3550w (sh), 3480w, 3005w, 2957m, 1778s (sh), 1735vs (sh), 1719vs, 1615w, 1469m, 1439s, 1417s, 1391s, 1371s, 1312m, 1266m, 1211s, 1179s (sh), 1132m, 1086m, 1049m, 1016m, 990w, 940m, 898w, 795vw, 724m (sh), 716s, 618vw.

$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$  / HETCOR S. und L.R.): 7.82 - 7.79 (m, 2H, HC(5<sup>3</sup>, 5<sup>3'</sup>)); 7.73 - 7.68 (m, 2H, HC(5<sup>4</sup>, 5<sup>4'</sup>)); 4.89 und 4.75 (2 x d,  $^2J = 18.3$ , je 1H, H<sub>a</sub> resp. H<sub>b</sub>C(5)); 3.87 (dd,  $^3J = 11.3, 3.2$ , 1H, HC(3)); 3.71 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(1<sup>1</sup>)); 3.67 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(3<sup>5</sup>)); 3.10 (dd,  $J = 17.3, 11.3$ , 1H, H<sub>a</sub>C(2)); 2.65 (dd,  $J = 17.3, 3.1$ , 1H, H<sub>a</sub>C(2)); 2.62 (m, 1H, H<sub>a</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.55 (triplettoid,  $J = 7.3$ , 2H, H<sub>2</sub>C(3<sup>3</sup>)); 2.33 (m, 1H, H<sub>b</sub>C(3<sup>2</sup>)); 2.22 (s, 3H, H<sub>3</sub>C(4<sup>3</sup>)).

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$  / HETCOR S. und L.R.): 200.4 (s, C(4)); 172.4 (s, C(3<sup>4</sup>)); 171.2 (s, C(1)); 168.9 (s, C(3<sup>7</sup>)); 167.9 (s, C(5<sup>1</sup>, 5<sup>1'</sup>)); 134.8 (d, C(5<sup>4</sup>, 5<sup>4'</sup>)); 132.6 (s, C(5<sup>2</sup>, 5<sup>2'</sup>)); 124.1 (d, C(5<sup>3</sup>, 5<sup>3'</sup>)); 115.6 (s, C(3<sup>6</sup>)); 74.7 (s, C(3<sup>1</sup>)); 53.2 (q, C(1<sup>1</sup>)); 52.7 (q, C(3<sup>5</sup>)); 49.5 (t, C(5)); 48.1 (d, C(3)); 33.0 (t, C(2)); 30.5 (t, C(3<sup>2</sup>)); 28.9 (t, C(3<sup>3</sup>)); 21.4 (q, C(3<sup>8</sup>)).

MS (DCI): 477 (18), 476 (100, [M + 18]<sup>+</sup>), 459 (10, [M + 1]<sup>+</sup>), 417 (17), 416 (43), 400 (21), 399 (68), 367 (12), 255 (17), 238 (13), 83 (16).

## 9. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. Gossauer, 'Die Chemie der Pyrrole', Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1974, p. 210.
- [2] W. Bartok, D.D. Rosenfeld, A. Schriesheim, *J.Org.Chem.* 1963, 28, 410.
- [3] J.E. Falk, E.I.B. Dresel, E. Rimington, *Nature* 1953, 172, 292.
- [4] A. Neuberger, J.J. Scott, *Nature* 1953, 172, 1093.
- [5] M.S. Gibson, R.W. Bradshaw, *Angew.Chem.* 1968, 80, 986.
- [6] B. Franck, H. Stratmann, *Heterocycles* 1981, 15, 919.
- [7] E.K. Jaffe, J.S. Rajagopalan, *Bioorg.Chem.* 1990, 18, 381.
- [8] A.R. Battersby, C.J.R. Fookes, G.W.J. Matcham, E. McDonald, *Nature* 1980, 285, 17.
- [9] A.R. Battersby, *Nat.Prod.Rep.* 1987, 4, 77.
- [10] G.A.F. Hendry, J.D. Houghton, S.B. Bronw, *New Phytol.* 1987, 107, 255.
- [11] P. Matile, *Chimia* 1987, 41, 376.
- [12] S. Granick, *Science* 1954, 120, 1105.
- [13] M.P. Schulman, *Fed.Am.Soc.Exp.Biol.* 1955, 14, 277.
- [14] P.M. Jordan and J.S. Seehra, in 'Methods in Enzymology', Chytil.F. and McCormick, Orlando 1986, p. 375.
- [15] D. Gurne, J. Chen, D. Shemin, *Proc.Nat.Acad.Sci.USA* 1977, 74, 1383.
- [16] D. Shemin, *J.Biochem.* 1976, 79, 37.
- [17] S. van Heyningen, D. Shemin, *Biochemistry* 1971, 10 (25), 4676.
- [18] R. Neier, in 'Advances in Nitrogen Heterocycles', JAI Press Inc., Greenwich, 1996, p. 35-146.
- [19] J.M. Berg, *Science* 1986, 232, 485.
- [20] Y. Shioi, M. Doi, *Plant and Cell Physiol.* 1988, 29 (5), 843.
- [21] W. Liedgens, R. Grützmann, H.A.W. Schneider, *Z.Naturforsch.B* 1980, 35, 958.
- [22] W.S. Rutter, *Fed.Proc.* 1964, 23, 1240.
- [23] D. Shemin, *Vitam.Horm.* 1968, 26, 357.
- [24] D.L. Nandi, D. Shemin, *J.Biol.Chem.* 1968, 243, 1236.
- [25] P.M. Jordan, P.N.B. Bibbs, *Biochem.J.* 1985, 227, 1015.
- [26] E.K. Jaffe, W.K. Abrams, H.X. Kaempfen, K.A. Harris, *Biochemistry* 1992, 31, 2113.
- [27] G.F. Barnard, R. Itoh, L. Hohberger, D. Shemin, *J.Biol.Chem.* 1977, 252, B965.
- [28] D.R. Bevan, P. Bodlaender, D. Shemin, *J.Biol.Chem.* 1980, 255 (5), 2030.

- [29] A.J. Dent, D. Beyersmann, C. Block, S.S. Hasnain, *Biochemistry* 1990, 29, 7822.
- [30] D. Appleton, F.J. Leeper, *J.Chem.Soc.Chem.Comm.* 1996, 303.
- [31] J.S. Seehra, P.M. Jordan, *Eur.J.Biochem.* 1981, 113, 435.
- [32] M.M. Abboud, M. Akhtar, *J.Chem.Soc.Chem.Comm.* 1976, 1007.
- [33] P.M. Jordan, J.S. Seehra, *J.Chem.Soc.Chem.Comm.* 1980, 240.
- [34] P.M. Jordan, in 'Biosynthesis of Tetrapyrrolo', ed. Elsevier, Amsterdam, 1991, p. I-66.
- [35] B. Lindblad, S. Lindstedt, G. Steen, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1977, 74, 4641.
- [36] N.A. McCarroll, *Anal. Chem.* 1995, 67, R 425.
- [37] R. Breslow, *Chem.Soc.Rev.* 1972, 1, 553.
- [38] R. Breslow, *Acc.Chem.Res.* 1980, 13, 170.
- [39] G. Dannhardt, W. Kiefer, G. Lambrecht, E. Mutschler, J. Schweiger, H. G. Striegel, *Eur.J.Med.Chem.* 1995, 30, 839.
- [40] E. Meller, M.L. Gassman, *Plant Physiol.* 1981, 67, 728.
- [41] P.J. Brumm, H.C. Friedmann, *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 1981, 102, 854.
- [42] K-M. Cheung, P. Spencer, M.P. Timko, F.M. Shoolingin-Jordan, *Biochemistry* 1997, 36, 1148.
- [43] R.O. Pendarvis, K.G. Hampton, *J.Org.Chem.* 1974, 39, 2289.
- [44] A.R. Battersby, C.J.R. Fookes, M.J. Meegan, E. McDonald, H.K.W. Wurziger, *J.Chem.Soc.Perk.T1* 1981, 2786.
- [45] S. Gelin, J. Rouet, *Bull.Soc. Chim.Fr.* 1971, 6, 2179.
- [46] G. Dannhardt, W. Kiefer, G. Lambrecht, E. Mutschler, J. Schweiger, H.G. Striegel, *Eur. J. Med. Chem.* 1995, 30, 839.
- [47] A. Barco, S. Benetti, G.P. Pollini, B. Veronesi, *Synth.Commun.* 1978, 8, 219.
- [48] G. d'Alcontres, *Gazz.Chim.Ital* 1950, 80, 441.
- [49] K. Takahashi, T. Tanaka, T. Suzuki, M. Hiramata, *Tetrahedron* 1994, 50, 1327.
- [50] R.D. Clark, C.H. Heathcock, *J.Org.Chem.* 1976, 41, 636.
- [51] R.D. Clark, C.H. Heathcock, *Synthesis* 1974, 47.
- [52] T. Sugita, H. Ito, A. Nakajima, M. Sunami, A. Kawakatsu, M. Suama, K. Ichikawa, *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 1987, 60, 721.
- [53] R. West, *J.Am.Chem.Soc.* 1958, 80, 3246.
- [54] H.O. House, L.J. Czuba, M. Gall, *J.Org.Chem.* 1969, 34, 2324.
- [55] J.F. Klebe, H. Finkbeimer, D-M. Withe, *J.Am.Chem.Soc.* 1966, 88, 3390.
- [56] I. Ojima, Y. Nagai, *J.Organomet.Chem.* 1973, 57, C42.
- [57] E. Nakaruma, D. Murotoshi, M. Shimizu, *J.Am.Chem.Soc.* 1976, 98, 2346.

- [58] G. Simchen, W. Kober, *Synthesis* 1976, 259.
- [59] S. Torkelson, C. Ainsworth, *Synthesis* 1976, 722.
- [60] M. Strell, F. Kreis, *Chem.Ber.* 1954, 87, 1011.
- [61] H. Kondo, D. Ohno, S. Irie, *J.Pharm.Soc.Jpn* 1937, 57, 504.
- [62] L. Knorr, H. Lange, *Chem.Ber.* 1902, 35, 2998.
- [63] S.I. Zav'yalov, N.I. Aranova, *Izv.Aka.Nauk.SSSR,Sr.Khim.* 1973, 2091.
- [64] S.I. Zav'yalov, N.I. Aranova, *Chem.Abstr.* 1974, 80, 32768.
- [65] A. Meunier, Dissertation, Universität Fribourg (CH), 1989.
- [66] P.W. Hickmott, *Tetrahedron* 1982, 38, 1975.
- [67] A. Yoshikoshi, B.Z.E. Awen, M. Migashita, *J.Chem.Soc.,Chem.Com-mun.* 1989, 841.
- [68] T.Mukaiyama, in 'Organic Synthesis', John Wiley & Sons, Inc, New-York, Vol.28, 1982, p.200.
- [69] T. Mukaiyama, in 'Challenges in Synthetic Organic Chemistry', Clarendon Press, Oxford, 1990, p. 177.
- [70] C.J. Kowalski, K.W. Fields, *J.Am.Chem.Soc.* 1982, 104, 1777.
- [71] F. Gaudemar-Bardonne, M. Gaudemar, *J.Organomet.Chem.* 1976, 104, 281.
- [72] G. Stork, G.A. Kraus, G.A. Garcia, *J.Org.Chem.* 1974, 39 (23), 3459.
- [73] I. Paterson, *Chem.Ind.* 1988, 390.
- [74] D.A. Evans, H.P. Ng, J.S. Clark, D.L. Rieger, *Tetrahedron* 1992, 48 (11), 2127.
- [75] T. Inoue, T. Mukaiyama, *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 1980, 53, 174.
- [76] C. Gennari, L. Colombo, G. Poli, *Tetrahedron Lett.* 1984, 25, 2279.
- [77] M. Braun, *Angew.Chem.* 1987, 99, 24.
- [78] M.B. Power, A.W. Apblett, S.G. Bott, J.L. Atwood, A.R. Barron, *Organo-metallics* 1990, 9, 2529.
- [79] Y. Tanabe, N. Ohno, *J.Org.Chem.* 1988, 53, 1560.
- [80] P. Fellmann, J.E. Dubois, *Tetrahedron* 1978, 34, 1349.
- [81] T. Mukaiyama, T. Yura, N. Iwasawa, *Chem.Lett.* 1985, 809.
- [82] R.M. Stevens, N. Iwasawa, T. Mukaiyama, *Chem.Lett.* 1982, 1459.
- [83] R.J. Batschelor, J.N.R. Ruddick, J.R. Sams, F. Aubke, *Inorg.Chem.* 1977, 16, 1414.
- [84] T. Mukaiyama, R.W. Stevens, N. Iwasawa, *Chem.Lett.* 1982, 353.
- [85] R.A. Auerbach, D.S. Crumrine, D.L. Ellison, H.O. House, *Org.Synth.* 1974, 54, 49.
- [86] T.A. Spencer, R.W. Britton, D.S. Watt, *J.Am.Chem.Soc.* 1967, 89, 5727.
- [87] D.A. Evans, L.R. McGea, *J.Am.Chem.Soc.* 1981, 103, 2876.
- [88] A. Treibs, H.G. Holm, *Liebigs Ann.Chem.* 1958, 614, 176.
- [89] M.T. Reetz, R. Peter, *Tetrahedron Lett.* 1981, 22, 4691.

- [90] D.A. Evans, D.L. Rieger, M.T. Bilodeau, F. Urpi, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1047.
- [91] S. Sato, I. Matsuda, Y. Izumi, *J. Organomet. Chem.* **1988**, *352*, 223.
- [92] T. Mukaiyama, T. Soga, H. Takenoshita, *Chem. Lett.* **1989**, 1273.
- [93] T.K. Hollis, W. Odenkirk, N.P. Robinson, J. Whelan, B. Bosnich, *Tetrahedron* **1993**, *49* (25), 5415.
- [94] H. Ohki, M. Wada, K. Akiba, *Tetrahedron* **1988**, *29* (37), 4719.
- [95] C. Le Roux, H.G. Iloughmane, J. Dubac, J. Jaud, P. Vignaux, *J. Org. Chem.* **1993**, *58* (7), 1835.
- [96] C. Le Roux, M. Marval, H. Gaspard-Iloughmane, M.E. Borredon, J. Dubac, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33* (8), 1053.
- [97] T. Mukaiyama, *Angew. Chem.* **1977**, *89*, 858.
- [98] T. Mukaiyama, M. Hayash, *Chem. Lett.* **1974**, 15.
- [99] G.A. Kraus, M. Shimagaki, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22* (13), 1171.
- [100] T. Mukaiyama, T. Izawa, K. Saigo, *Chem. Lett.* **1974**, 323.
- [101] T. Mukaiyama, K. Banno, K. Narasaka, *J. Am. Chem. Soc.* **(1974)** *96*, 7503.
- [102] H. Bertschy, Dissertation, Universität Fribourg (CH), 1991.
- [103] A. Chaperon, Dissertation, Université de Neuchâtel (CH), 1996.
- [104] S. Murata, M. Suzuki, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3248.
- [105] C. Mukai, S. Hashizume, K. Nagami, M. Hanaoka, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38* (6), 1509.
- [106] H. Sakurai, K. Sasaki, A. Hosomi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56*, 3195.
- [107] R. Noyori, I. Nishida, J. Sakata, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2106.
- [108] A.P. Davis, M. Jaspars, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 475.
- [109] E.M. Carreira, R.A. Singer, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35* (25), 4323.
- [110] R.H. Linnell, S. Umar, *Arch. Biochem. Biophys.* **1955**, *57*, 264.
- [111] B.J. Demopoulous, H.J. Anderson, C.E. Loader, K. Faber, *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 2415.
- [112] A. Treibs, W. Ott, *Liebigs Ann. Chem.* **1958**, *615*, 137.
- [113] H. Stetter, W. Böckmann, *Chem. Ber.* **1951**, *84* (9), 834.
- [114] N. Putochin, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1926**, *59*, 625.
- [115] K.H. Slotta, R. Tschesche, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, *62* (2), 1398.
- [116] A.H. Jackson, S.F. MacDonald, *Can. J. Chem.* **1957**, *35*, 715.
- [117] G.W. Kenner, J. Rimmer, K.M. Smith, J.F. Unsworth, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1977**, 332.
- [118] M.J. Zmijewski, B.S. Briggs, A.R. Thompson, I.G. Wright, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1621.

- [119] C.A. Costello, A.J. Kreuzman, M.J. Zmijewski, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7469.
- [120] J. Jenni, H. Kühne, B. Prijs, *Helv.Chim.Acta* **1962**, *45* (4), 1163.
- [121] C.B. Kremer, *J.Am.Chem.Soc.* **1939**, *61*, 1321.
- [122] E.E. van Tamelen, E.E. Smisssman, *J.Am.Chem.Soc.* **1953**, *75*, 2031.
- [123] Birkofer L., Hempel K, *Chem.Ber.* **1960**, *93*, 2282.
- [124] S.R. Lammert, S. Kukolja, *J.Am.Chem.Soc.* **1975**, *97*:19, 5582.
- [125] I. Schumann, R.A. Boissonas, *Helv.Chim.Acta* **1952**, *35* (7), 277.
- [126] Frydman, R.B., Frydman, B. and Valasinas, in 'The Porphyrins ', Academic Press, New York, 1979, Vol.4, p. 1-123.
- [127] P. Bobal, R. Neier, *Trends Org.Chem.* **1997**, *6*, 125.
- [128] S.F. MacDonald, *J.Chem.Soc.C* **1952**, 4176.
- [129] G.W. Kenner, K.M. Smith, J.F. Unsworth, *J.Chem.Soc.,Chem.Commun.* **1973**, 43.
- [130] H. Plieninger, P. Hess, J. Ruppert, *Chem.Ber.* **1968**, *101*, 240.
- [131] M. Jones, D.A. Evans, C. Froussios, *J.Chem.Soc.,Chem.Commun.* **1976**, 472.
- [132] B. Frydman, S. Reil, M.E. Despuy, H. Rapoport, *J.Am.Chem.Soc.* **1969**, *91*, 2338.
- [133] A.R. Battersby, E. McDonald, H.K.W. Wurziger, K.J. James, *J.Chem.Soc., Chem.Commun.* **1975**, 493.
- [134] A.R. Battersby, D.A. Evans, K.H. Gibson, E. McDonald, L. Nixon, *J.Chem. Soc.,Perkin Trans 1* **1973**, 1546.
- [135] C.Y. Deleon, B. Ganem, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7731.
- [136] C.Y. Deleon, B. Ganem, *J.Org.Chem.* **1996**, *61*, 8730.
- [137] C.J. Cowden, I.Patterson, *Org.Reactions.* **1997**, 51.
- [138] M. Adamczyk, R.E. Reddy, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 14689.
- [139] M. Adamczyk, R.E. Reddy, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 9121.
- [140] M. Henz, Dissertation, Université de Neuchâtel (CH), 1997.
- [141] C. Jarret, Thèse en cours, Université de Neuchâtel (CH), 1999.
- [142] R. Lüönd, Dissertation, Universität Fribourg (CH), 1991.
- [143] C.S. Marvel, E.E. Dreger, *Organic Synthesis* **1941**, *1*, 238.
- [144] P.G. Baraldi, F. Moroder, G.P. Pollini, D. Simoni, A. Barco, S. Benetti, *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* **1982**, 2983.
- [145] H. Yamanaka, M. Mizugaki, T. Sakamoto, M. Sagi, Y. Nakagawa, H. Takayama, M. Ishibashi, H. Miyazaki, *Chem.Pharm.Bull.* **1983**, *31*, 4549.
- [146] J. Otera, Y. Niibo, H. Nozaki, *J.Org.Chem.* **1989**, *54*, 5003.
- [147] P.A. Wender, A.W. White, F.E. McDonald, *Organic Synthesis* **1991**, *70*, 204.
- [148] A.R. Butler, S.D. George, *Tetrahedron* **1993**, *32*, 7017.
- [149] G.G. Kleinspehn, *J.Am.Chem.Soc.* **1955**, *77*, 1546.

[150] H. Fisher, H. Beyer, E. Zaucker, *Liebigs Ann.Chem.* 1931, 486, 55.

[151] P. Pfaeffli, C. Tamm, *Helv.Chim.Acta* 1969, 52, 1911.

[152] G.F. Gebelein, *Biomimetic Polymers*, 1990.