

1	Einleitung	1
1.1	Zielsetzung der Arbeit	3
2	Allgemeiner Teil.....	5
2.1	Der Shikimat-Biosyntheseweg.....	5
2.1.1	Chorismat als Verzweigungspunkt in der Biosynthese.....	6
2.1.2	Von Chorismat abgeleitete funktionalisierte Cyclohexadiene	7
2.1.3	Biotechnologisch produzierte Synthesebausteine aus dem gemeinsamen Shikimat-Biosyntheseweg.....	9
2.2	Funktionalisierte Cyclohexadiendiole	11
2.2.1	Cyclohexadiendiole durch Biotransformation	11
2.2.2	Cyclohexadiendiole durch chemische Synthesen	15
2.2.3	Cyclohexadiendiole in der Natur- und Wirkstoffsynthese.....	19
2.3	Funktionalisierte Cyclohexadienaminoalkohole	26
2.3.1	Cyclohexadienaminoalkohole durch Biotransformation.....	26
2.3.2	Cyclohexadienaminoalkohole durch chemische Synthese.....	28
3	Spezieller Teil.....	33
3.1	Chemische Synthese von racemischen Referenzsubstanzen	33
3.1.1	Synthese von racemischem 2,3- <i>trans</i> -CHA	33
3.1.2	Synthetische Darstellung von racemischem 2,3- <i>trans</i> -CHD	35
3.1.3	Analyseverfahren zur Bestimmung von Cyclohexadienmetaboliten	38
3.2	Mikrobielle Darstellung von 2,3-<i>trans</i>-CHA.....	40
3.2.1	Mutation und Klonierung der <i>E. coli</i> Anthranilatsynthase TrpE	41
3.2.2	Klonierung des <i>E. coli</i> -Stammes F67 (LJ110- Δ trpE)	46
3.2.3	In vitro-Darstellung von ADIC	50
3.2.4	In vitro-Darstellung von 2,3- <i>trans</i> -CHA.....	51
3.2.5	In vivo-Produktion von 2,3- <i>trans</i> -CHA	54
3.3	Isolierung und Reinigung von mikrobiell gewonnenen Substanzen.....	57
3.3.1	Isolierung von 2,3- <i>trans</i> -CHD	57
3.3.2	Isolierung von Chorismat	60
3.3.3	Isolierung von 2,3- <i>trans</i> -CHA	61
3.4	Verwendung von funktionalisierten Cyclohexadienen als Synthesebausteine	64
3.4.1	Modifikation von 2,3- <i>trans</i> -CHD durch Veränderung und Einführung von funktionellen Gruppen.....	64
3.4.2	Verwendung von 2,3- <i>trans</i> -CHD in der Natur- und Wirkstoffsynthese	79

3.4.3	Verwendung von 2,3- <i>trans</i> -CHA in der organischen Synthese	84
3.4.4	Verwendung von 2,3- <i>trans</i> -CHA als Katalysator	88
4	Diskussion und Ausblick.....	91
4.1	Optimierung der Gewinnung von 2,3- <i>trans</i> -CHA.....	92
4.2	Verwendung von 2,3- <i>trans</i> -CHD und 2,3- <i>trans</i> -CHA in der Naturstoff und Wirkstoffsynthese.....	94
4.3	Verwendung 2,3- <i>trans</i> -CHA als β -Aminosäure	101
4.4	Verwendung als Katalysator	104
5	Experimenteller Teil.....	106
5.1	Molekularbiologische Arbeiten.....	106
5.1.1	Verwendete <i>E. coli</i> -Stämme und Plasmide	106
5.1.2	Verwendete Medien und Chemikalien	107
5.1.3	Allgemeine molekularbiologische Arbeitstechniken	108
5.1.4	Klonierung von F67 (Deletion von <i>trpE</i> im <i>E. coli</i> -Stamm LJ110).....	110
5.1.5	Klonierung von pC14.....	113
5.2	Untersuchungen zur mikrobiellen Produktion und Produktgewinnung	115
5.2.1	Allgemeine Arbeitstechniken.....	115
5.2.2	Verwendete Analytik.....	116
5.2.3	Untersuchungen zur Produktion von ADIC und 2,3- <i>trans</i> -CHA.....	117
5.2.4	Isolierung von Metaboliten aus Fermentationsüberständen von <i>E. coli</i>	118
5.3	Chemische Synthesen	123
5.3.1	Methoden und Materialien	123
5.3.2	Synthese von racemischem 2,3- <i>trans</i> -CHD	125
5.3.3	Synthese von racemischem 2,3- <i>trans</i> -CHA	130
5.3.4	Synthesen ausgehend von 2,3- <i>trans</i> -CHD (3).....	135
5.3.5	Synthesen ausgehend von 2,3- <i>trans</i> -CHA (2).....	154
5.3.6	Einsatz von 2,3- <i>trans</i> -CHA in der Katalyse.....	158
5.3.7	Röntgenkristallstrukturanalysen.....	159
6	Literaturverzeichnis	169