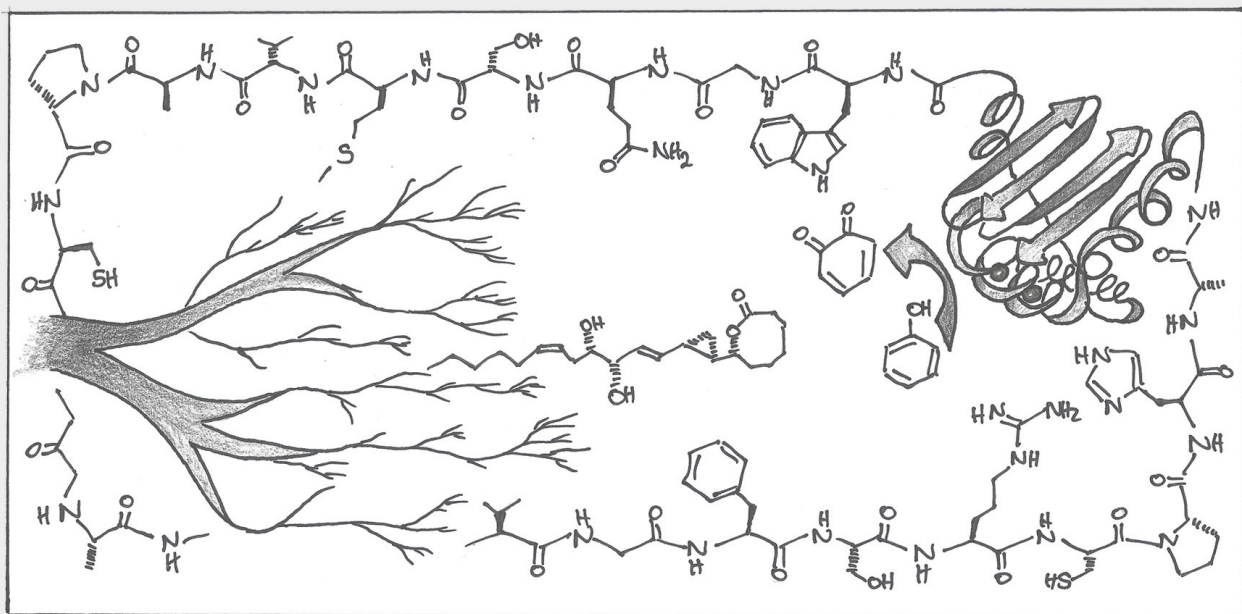


Oxidoreduktasen für die Bereitstellung von Schlüsselbausteinen der Natur- und Wirkstoffsynthese

Roxanne Krug



Forschungszentrum Jülich GmbH
Institut für Bio- und Geowissenschaften
IBOC – Bioorganische Chemie

Oxidoreduktasen für die Bereitstellung von Schlüsselbausteinen der Natur- und Wirkstoffsynthese

Roxanne Krug

Bioorganische Chemie an der Heinrich-Heine-Universität
im Forschungszentrum Jülich

Band 39

ISBN 978-3-95806-454-6

INHALTSVERZEICHNIS

1	Abkürzungsverzeichnis	1
2	Kurzfassung	3
3	abstract	4
4	Einleitung	5
5	Aufgabenstellung Naturstoffsynthese	8
6	Kenntnisstand Marine Oxylipine.....	10
6.1	Einleitung: Marine Oxylipine	10
6.2	Biosynthese der Constano- und Solandelactone.....	11
6.3	Fokus: Constano- und Solandelactone.....	13
6.3.1	Herangehensweisen zu Totalsynthese der Constanolactone A-G	14
6.3.2	Herangehensweisen zur Totalsynthese der Solandelactone A-H	17
7	Eigene Ergebnisse & Diskussion Totalsynthese.....	22
7.1	Allgemeiner Retrosyntheseansatz für das Solandelacton I	22
7.2	Synthesestrategie für das Solandelacton I	23
7.2.1	Synthese des Cyclopropyllactons	23
7.2.2	Synthese der enantiomeren Phosphonsäureester	25
7.2.3	Variabilität nach der <i>Horner-Wadsworth-Emmons</i> Reaktion	27
7.2.4	Vergleich der Diastereomere und Identifizierung des Naturstoffes	29
8	Zusammenfassung Naturstoffsynthese.....	34
9	Ausblick: Totalsynthese Constanolacton G.....	36
9.1.1	Untersuchungen zur Synthese der Westhälfte des Constanolactons G.....	37
9.1.2	Untersuchungen zur Osthälfte des Constanolactons G.....	39
9.1.3	Alternative Herangehensweise zur Synthese des Cyclopropyllactons	49
9.1.4	Alternative Herangehensweise zur Synthese des Phosphonsäureesters	51
10	Aufgabenstellung Biokatalyse.....	54
11	Kenntnisstand Biokatalyse	56
11.1	Laccasen.....	56
11.1.1	Kurzer Einblick in Funktion, Struktur und Mechanismus	56

11.1.2	Anwendungen der Laccase in der organischen Synthese zur Herstellung von Naturstoffbausteinen	59
11.2	Tyrosinasen	65
11.2.1	Struktur und Mechanismus	65
11.2.2	Biologische Funktion: Melanogenese	69
11.2.3	Exkurs: Anwendungen von Kupfer-Komplexen – strukturelle Imitation von Tyrosinasen.....	72
12	Eigene Ergebnisse & Diskussion Biokatalyse	76
12.1	Oxidoreduktase-vermittelte Arylierungsreaktionen	76
12.1.1	Herstellung der Substrate	76
12.1.2	Initiale Untersuchungen zur Laccase-vermittelten Arylierung unter Verwendung von Hydrochinon und Catechol	80
12.1.3	Untersuchungen zum Einfluss von Organokatalysatoren auf die Arylierungssequenz.....	85
12.1.4	Etablierung der Tyrosinase aus <i>A. oryzae</i>	96
12.1.5	Tyrosinase-vermittelte Arylierung	98
12.1.6	Exkurs: Arylierungsprodukte als ‚priming‘-Substrate	104
13	Zusammenfassung & Ausblick Biokatalyse	106
14	Erweiterter Ausblick der Biokatalyse	110
14.1	Möglichkeiten der Tyrosinase-vermittelten Reaktion	110
14.2	Möglichkeiten der Laccase-vermittelten Reaktion	112
14.2.1	Arylierung von Indolen	112
14.2.2	Synthese bizyklischer Lactame	113
15	Experimentalteil.....	116
15.1	Chemische Methoden	116
15.2	Biologische Methoden.....	117
15.2.1	Vektoren	117
15.2.2	Stämme	118
15.2.3	Allgemeine Informationen	118
15.2.4	Alkoholdehydrogenase aus <i>Thermoanaerobacter sp.</i> (ADH _r).....	118

15.2.5	Laccase aus <i>Streptomyces sviveus</i> (Ssl1)	119
15.2.6	Tyrosinase aus <i>Aspergillus oryzae</i>	119
15.3	Analytik aus den Projekten der Naturstoffsynthese	123
15.3.1	Projekt: Solandelacton I (1I)	123
15.3.2	Projekt: Constanolacton G (2G).....	149
15.4	Analytik aus den Projekten der Biokatalyse	167
16	Danksagung	195
17	Formelregister	198
18	Anhang	202
18.1	Plasmidkarte	202
18.2	Eigenanteil der publizierten Manuskripte	205
19	Literaturverzeichnis	207

Bioorganische Chemie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf im Forschungszentrum Jülich

Herausgegeben von Jörg Pietruszka

Die Erforschung und Synthese von Naturstoffen bzw. Naturstoffbausteinen ist ein fester Bestandteil der heutigen organischen und bioorganischen Chemie. Das Potential dieser Verbindungen liegt nicht nur in ihrer möglichen Anwendung als neue, alternative Pharmazeutika, zudem dienen sie auch als Target von Methodenentwicklungen. Neben der klassischen chemischen Synthese rückt auch die Biokatalyse zunehmend in den Fokus der organischen Chemie. Die beiden Bereiche der Totalsynthese sowie Biokatalyse bilden die Grundlage der vorliegenden Arbeit.

Ein Themenschwerpunkt beschäftigte sich mit der Totalsynthese des marinen Oxylipins Solandelacton I. Dabei galt es die bis *dato* unbekannte Konfiguration der zwei benachbarten Hydroxyfunktionalitäten-tragenden Zentren (C-13 und C-14) des Naturstoffes herauszufinden. Dazu wurden alle vier möglichen Diastereomere des potenziellen Naturstoffes über eine konvergente Syntheseroute hergestellt und anhand der Vergleiche mit der publizierten Analytik die korrekte Struktur identifiziert. Für das verwandte Oxylipin Constanolacton G, dessen Struktur zwar bekannt, aber Totalsynthese noch nicht publiziert wurde, sollte analog zum Solandelacton I in ähnlicher Strategie und vergleichbaren Bausteinen eine Syntheseroute etabliert werden.

Ein zweiter Themenschwerpunkt befasste sich mit der Anwendung von Kupfer-haltigen Oxidoreduktasen in der organischen Synthese. Dabei wurden sowohl Laccasen in Kombination mit Organokatalysatoren in einer Oxidations-Arylierungs-Sequenz verwendet, als auch die Tyrosinase aus *A. oryzae* auf ihre Anwendbarkeit in der organischen Synthese hin untersucht. Die Arbeiten resultierten in einer Bandbreite von Arylierungsprodukten sowie in Erkenntnissen bezüglich Limitierungen des Substratspektrums und -akzeptanz der Enzyme.