

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN  
TUM SCHOOL OF NATURAL SCIENCES

Entwicklung neuer Kontrastmittel für zerstörungsfreie 3D  
 $\mu$ CT von Weichgewebe sowie  
Verfahren zu elektrochemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten  
Fluorierungsreaktionen

Jaroslav Pawel Marciniszyn

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Natural Sciences der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Prof. Dr. Hubert A. Gasteiger

Prüfer der Dissertation

1. Prof. Dr. Tanja Gulder

2. apl. Prof. Dr. Wolfgang Eisenreich

Die Dissertation wurde am 27.07.2022 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die TUM School of Natural Sciences am 29.09.2022 angenommen.



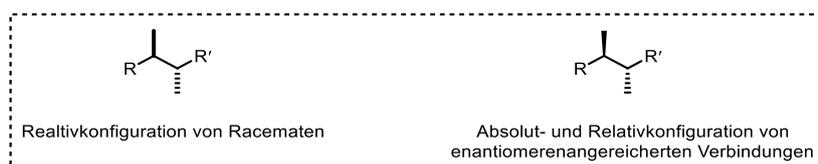
Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Dezember 2016 bis August 2020 unter Leitung von Frau Prof. Dr. Tanja Gulder an der Technischen Universität München angefertigt.

Teile der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit waren bereits Gegenstand folgender Publikation:

M. Busse,\* J. P. Marcinišzyn,\* S. Ferstl, M. A. Kimm, F. Pfeiffer, T. Gulder; 3D-Non-destructive Imaging through Heavy-Metal Eosin Salt Contrast Agents; *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 4561-4566.

\* Geteilte Erstautorschaft.

In dieser Arbeit werden Relativkonfigurationen von Racematen durch fette und gestrichelte Balken sowie Absolut- und Relativkonfigurationen enantiomerenreiner oder enantiomerenangereicherter Verbindungen durch fette oder gestrichelte Keilformen dargestellt.





## **Danksagung**

Vor allem möchte ich mich bei Prof. Dr. Tanja Gulder für die herzliche Aufnahme im Arbeitskreis, die zahlreichen Anregungen, ausführlichen Ratschläge und das große Engagement während der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meiner Mentorin Dr. Madleen Busse für die Hilfsbereitschaft und die großartige Unterstützung bei CT-Analysen.

Bei Prof. Gasteiger und seiner Arbeitsgruppe bedanke ich mich herzlich für die Unterstützung bei Impedanzanalysen sowie die wertvollen Tipps beim Aufbau von elektrochemischen Zellen.

Weiterhin danke ich dem Arbeitskreis AK Gulder für die herzliche Aufnahme in die Gruppe und die freundliche Arbeitsatmosphäre. Die Feierabende mit Steffi, Qingqi, Chrissi, Gabbo und Pierre im Kaffeeraum bleiben unvergesslich!

Bei meinen Forschungspraktikanten und Studenten Aoife, Aleksandar, Carla, Christoph, Daniel, Derya, Gloria, Johanna, Lukas R., Lukas S. und Sandra bedanke ich mich für ihren Beitrag zu dieser Arbeit und die produktive Zeit im Labor.

Der größte Dank gilt meiner Verlobten Celina Hartung, die mir immer und in jeder Hinsicht zur Seite stand. Ihre Unterstützung trug zu einem erfolgreichen Abschluss dieser Arbeit bei.



*Für Celina*

*„Überall geht ein früheres Ahnen dem späteren Wissen voraus.“*

*Alexander von Humboldt*

# Inhaltsverzeichnis

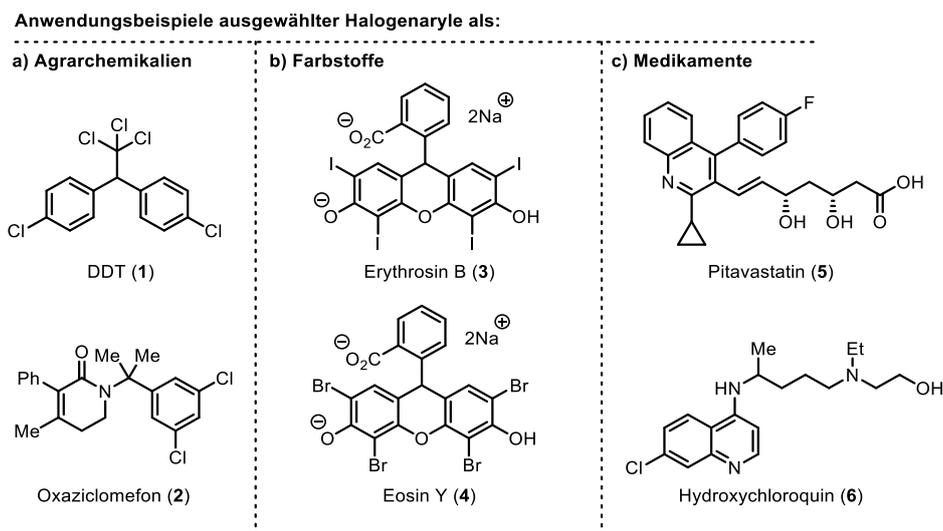
<b>I. Theoretischer Hintergrund</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Kenntnisstand</b> .....	<b>6</b>
2.1. Kontrastmittelbasierte Computertomographie (CT) .....	6
2.2. $\lambda^3$ - <i>F</i> -Iodan-vermittelte elektrochemische Fluorierungsreaktionen .....	13
2.3. Asymmetrische $\alpha$ -Oxygenierungen von Ketonen mittels hypervalenter Iodane .....	21
<b>3. Motivation und Zielsetzung</b> .....	<b>27</b>
<b>II. Ergebnisse und Diskussion</b> .....	<b>32</b>
<b>1. Entwicklung neuer Kontrastmittel für zerstörungsfreie 3D <math>\mu</math>-CT von Weichgewebe</b>	<b>32</b>
<b>2. Elektrochemische <math>\lambda^3</math>-<i>F</i>-Iodan-vermittelte Fluorierungen von Styrolen</b> .....	<b>39</b>
<b>3. Zusammenfassung und Ausblick</b> .....	<b>58</b>
<b>4. Summary and Perspectives</b> .....	<b>64</b>
<b>III. Experimenteller Teil</b> .....	<b>70</b>
<b>1. Allgemeine Methoden</b> .....	<b>70</b>
1.1. Vorbemerkung .....	70
1.2. Lösungsmittel .....	70
1.3. Analytische Methoden und verwendete Geräte.....	70
<b>2. Synthesevorschriften und analytische Daten</b> .....	<b>73</b>
2.1 Allgemeine Vorschriften (AV).....	73
2.2 Analytische Daten .....	74
2.3 CV-Messungen.....	97
<b>3. Ergänzende Informationen</b> .....	<b>100</b>
<b>IV. Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>129</b>
<b>V. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>132</b>

<b>VI. Anhang</b> .....	<b>138</b>
<b>1. Erlaubnis von John Wiley and Sons / Chemistry – A European Journal</b> .....	<b>138</b>
<b>2. Eidesstattliche Erklärung</b> .....	<b>142</b>

## I. Theoretischer Hintergrund

### 1. Einleitung

Die Chemie der aromatischen Verbindungen erlebte in den 1970er-Jahren ein Comeback, das sich seitdem kontinuierlich fortsetzt. Im Forschungsfeld der organischen Synthese widmeten Forscher ihre Interessen den Verknüpfungsreaktionen zwischen Halogenarylen und Kohlenstoffatomen mit  $sp^2$ - und  $sp$ -hybridisierten Atomzentren, um selektiv C-C-Bindungen herzustellen.<sup>[1]</sup> Somit gelten die Kreuzkupplungsreaktionen als eines der beliebtesten Hilfsmittel der modernen Synthesechemie und eignen sich zur Herstellung von Pharmazeutika,<sup>[2]</sup> Agrarchemikalien,<sup>[3]</sup> sowie Farbstoffen,<sup>[4]</sup> sowohl in kleinem Maßstab für Forschungszwecke als auch im Tonnenmaßstab für die Industrie.<sup>[5]</sup> Unterschiedlich substituierte Arylhalogenide zählen seitdem zu den bekanntesten Zwischenprodukten in der synthetischen Chemie und dienen zur Herstellung sowohl einfacher Moleküle als auch komplexer Naturstoffe.<sup>[6]</sup> Ihre vergleichsweise einfache Synthese, hohe Stabilität, sowie vielfältige Einsatzmöglichkeiten führten zur raschen Verbreitung in der Industrie und in der Forschung. Prominente Beispiele der industriellen und medizinischen Anwendungen als Agrarchemikalien, Farbstoffe und Medikamente sind in Abbildung 1 dargestellt.



**Abbildung 1:** Strukturen relevanter Halogenaryle als: a) Agrarchemikalien: DDT (1), Oxaziclomeron (2); b) Farbstoffe: Erythrosin B (3), Eosin Y (4); c) Medikamente: Pitavastatin (5) und Hydroxychloroquin (6).

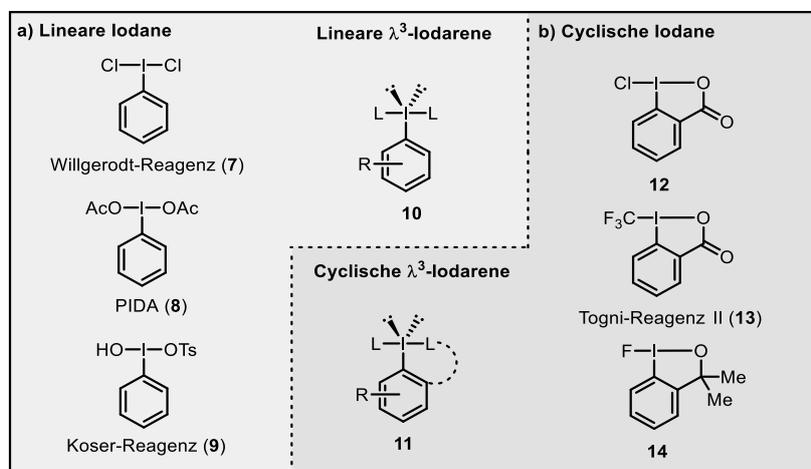
Das seit den 1970er-Jahren verbotene Pestizid Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT, 1) wurde weltweit als Kontakt- und Fraßgift in der Agrarwirtschaft eingesetzt<sup>[7]</sup> und das Herbizid

Oxaziclomefon (**2**) wird aktuell beim Reisanbau zur Bekämpfung von Ungräsern und Unkräutern eingesetzt (Abbildung 1a).<sup>[8]</sup> Das DDT (**1**) wurde dabei in solch hohem Ausmaß verwendet, dass es noch heutzutage in der Atmosphäre,<sup>[9]</sup> in Gewässern,<sup>[10]</sup> im Boden,<sup>[11]</sup> in Mikroorganismen<sup>[12]</sup>, in Pflanzen<sup>[13]</sup> und schließlich in biologischem Weichgewebe<sup>[14]</sup> nachweisbar ist.<sup>[15]</sup> DDT (**1**) zählt somit zu der Gruppe der persistenten organischen Schadstoffe (POP, engl. *persistent organic pollutants*).<sup>[16]</sup> Darüber hinaus wurde im Laufe der Zeit festgestellt, dass bestimmte Metabolite von DDT (**1**) eine starke Hormonreaktion bei Greifvögeln verursachten, sodass es zu erheblichen Bestandseinbrüchen dieser Vogelart kam.<sup>[17]</sup> Angesichts der hohen Toxizität und potentiellen Kanzerogenität wurde die Verwendung von DDT (**1**) durch das Stockholmer Übereinkommen über POP vom 22. Mai 2004 weltweit verboten und darf nur als Zwischenprodukt in der synthetischen Chemie verwendet werden.<sup>[18]</sup> Das große Risiko für biologische Organismen besteht dabei in einer erhöhten Akkumulation dieses Stoffes in Fettgewebe, welche aus der hohen Lipophilie der Halogensubstituenten resultiert (DDT (**1**)-logKow = 6.36).<sup>[19]</sup> Als allgemeine Antwort auf die unerwünschten Veränderungen der Umwelt, die durch Nutzung toxischer Chemikalien zustande kamen, entstand Ende der 90er der Begriff der grünen Chemie.<sup>[20]</sup> Dieser bedeutet, dass ausschließlich moderne Technologien, Synthesewege mit hoher Atomökonomie, sowie Stoffe genutzt werden sollten, welche die Umwelt nicht gefährden und den produzierten Abfall minimal halten.

Aktuelle Anwendungsbeispiele aus der Lebensmittel- und Medizinindustrie zeigen, dass unsere Gesellschaft als Verbraucher durch einen nachhaltigen und verantwortungsvollen Umgang mit Halogenarylen weiterhin von dieser einzigartigen Stoffklasse profitieren kann. So werden beispielsweise die Xanthenfarbstoffe Erythrosin B (**3**) und Eosin Y (**4**) als Färbemittel in der Lebensmittelindustrie,<sup>[19]</sup> Medizin und Biologie<sup>[21]</sup> eingesetzt. Der unter der Bezeichnung E127 in der EU nach der EU-Verordnung Nr. 1129/2011 zugelassene rosarote Lebensmittelfarbstoff Erythrosin B (**3**) wird zur Färbung von Cocktaillkirschen und Bigarreaux-Kirschen verwendet.<sup>[22]</sup> Verdünnte wässrige Eosin Y (**4**)-Lösungen werden wiederum zum Färben von Zellen in der Histologie während der Hämatoxylin-Eosin-Färbung herangezogen, wobei bestimmte Zellenbestandteile wie z.B. Zytoplasma rötlich angefärbt werden und somit eine optische Untersuchung unter einem Lichtmikroskop ermöglicht wird.<sup>[23]</sup> Dank der ausgeprägten biologischen Aktivitäten der Halogenaryle nehmen sie darüber hinaus eine besondere Stellung in der Humanmedizin ein, wodurch sie aus unserem Alltag nicht mehr wegzudenken sind.<sup>[24]</sup> Das Medikament Pitavastatin (**5**) gehört zu der Wirkstoffgruppe der Statine<sup>[25]</sup> und wird zur

Senkung der Cholesterin- und Triglyceridwerte bei Behandlung von Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko herangezogen.<sup>[26]</sup> Darüber hinaus gibt es zahlreiche Antibiotika, die zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten eingesetzt werden, welche durch Bakterien, Pilze und Viren verursacht werden und nach wie vor eine große Gefahr für die globale Gesundheit darstellen. Das Hydroxychloroquin (**6**) wurde erfolgreich zur Bekämpfung von Malaria eingesetzt und stand 2020 als Medikament zur Behandlung von SARS-CoV-2-Infektionen zur Debatte.<sup>[27]</sup>

Neben den bedeutsamsten Einsätzen verschiedener Arylhalogenide im Feld der Kreuzkopplungen erfuhr in den letzten Jahren die Chemie der hypervalenten  $\lambda^3$ -Iodane mit den allgemeinen Strukturformeln **10** und **11** einen starken Entwicklungsschub (Abbildung 2, mittig).<sup>[28]</sup> Diese besonders milden Oxidationsmittel weckten rasch die Interessen der Forscher im Bereich der organischen Synthesechemie.<sup>[29]</sup> Die Reaktivität sowie Bindungsverhältnisse der hypervalenten  $\lambda^3$ -Iodane werden anhand der Molekülorbitaltheorie (MO-Theorie) als 3-Zentren-4-Elektronen-Bindung (3c-4e) beschrieben, wobei die charakteristische T-förmige Geometrie der  $\lambda^3$ -Iodane **7-14** durch eine  $sp^3d$ -Hybridisierung des Iodatoms bedingt ist.<sup>[30]</sup>



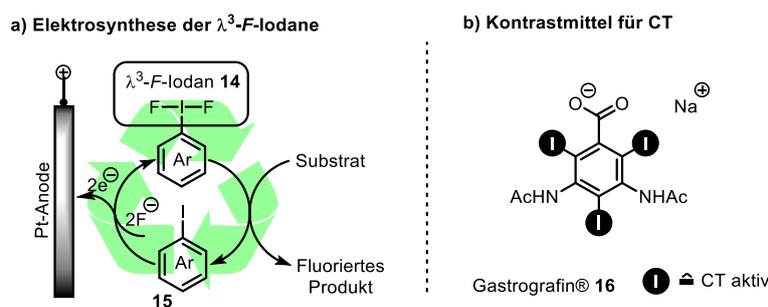
**Abbildung 2:** Strukturen ausgewählter  $\lambda^3$ -Iodane: a) lineare Iodane **7-9**; b) cyclische Iodane **12-14** und deren allgemeine Strukturen **10** und **11**.

Nachdem Willgerodt *et al.* 1885 erstmals über die Verbindung Iodbenzoldichlorid (**7**) berichtete, entstand anschließend eine Vielfalt ähnlicher Verbindungen, wobei das Diacetoxyiodbenzol (**8**, PIDA) und Koser-Reagenz (**9**) die wahrscheinlich prominentesten Beispiele sind (Abbildung 2a). PIDA **8** wird bevorzugt als ein mildes und selektives Oxidationsmittel verwendet<sup>[31]</sup> und das Koser-Reagenz (**9**) wird beispielsweise für

$\alpha$ -Oxygenierungsreaktionen von Carbonylverbindungen<sup>[32]</sup> oder Ditosylierungen von Alkenen und Alkinen angewandt.<sup>[33]</sup> Im Gegensatz zu den hochreaktiven und in der Handhabung sowie Herstellung anspruchsvollen linearen Iodanen **7-9** stellen die später entwickelten cyclischen hypervalenten Iodverbindungen (**12-14**, Abbildung 2b) mit der allgemeinen Struktur **11** eine weiterentwickelte Generation der  $\lambda^3$ -Iodane dar, wobei diese eine höhere chemische Stabilität und somit leichtere Handhabung aufweisen.<sup>[34]</sup> Das chloresubstituierte Iodreagenz **12** erwies sich als ein praktisches und effizientes Chlorierungsmittel.<sup>[35]</sup> Das Togni-Reagenz (**13**) der zweiten Generation gilt als leicht handhabbares und luftstabiles Trifluoromethylierungsreagenz und eignet sich unter anderem für *p*-C-H-Funktionalisierung von Phenylamino- und Acetamidosubstituierten Paracyclophan-Derivaten,<sup>[36]</sup> zur Herstellung von Trifluormethylether ausgehend von Alkoholen,<sup>[37]</sup> sowie zu Additionen einer CF<sub>3</sub>-Gruppe an terminale Olefine.<sup>[38]</sup> Das ebenso gegenüber Luft und Feuchtigkeit stabile  $\lambda^3$ -F-Iodan **14** eignet sich darüber hinaus als Fluorierungsreagenz in elektrophilen Fluorierungsreaktionen.<sup>[39]</sup> Forscher erkannten somit rasch das große Potential der hypervalenten Iod-Reagenzien, da sie eine ähnliche Reaktivität wie die den toxischen und instabilen Übergangsmetallreagenzien (Hg(II)-, Tl(II)- und Pb(IV)-Derivaten) aufweisen<sup>[40]</sup> Im Gegensatz dazu sind hypervalente Iodverbindungen umweltfreundlicher, leichter handzuhaben und effizienter.<sup>[41]</sup> Mittels hypervalenter Halogenaromaten lassen sich außer C-C-Bindungen auch C-X (X = N, O, S)-Bindungen herstellen, sowie aufwendigere chemische Reaktionen, wie beispielsweise elektrochemische Fluorierungen,<sup>[40a, 42]</sup> und asymmetrische  $\alpha$ -Oxygenierungen durchführen.<sup>[42i, 43]</sup>

Trotz des enormen Fortschrittes und somit stets wachsenden Verständnisses zur Entwicklung neuer Synthesemethoden sowie Strukturklassen in der organischen Synthesechemie besteht die Notwendigkeit diese weiter zu erforschen und zu optimieren. Die Entwicklung nachhaltiger Synthesesequenzen spielt in der modernen Forschung und bei der Entstehung neuer Produktionsverfahren eine immer wichtigere Rolle, da unsere Ressourcen und damit verbundene Rohstoffe nicht unendlich sind und deshalb rational und effizient eingesetzt werden müssen. Obwohl der Einsatz bestimmter aromatischer Verbindungen einige Gefahren und Schwierigkeiten mit sich bringt, wie am Beispiel des Einsatzes der Agrarchemikalie DDT (**1**) verdeutlicht wurde, finden Arylhalogenide aufgrund ihrer einzigartigen Eigenschaften weiterhin Anwendung in Bereichen der Forschung und Entwicklung,<sup>[44]</sup> der pharmazeutischen Industrie,<sup>[45]</sup> der Agrarchemie<sup>[46]</sup> und der Medizin.<sup>[47]</sup> Ein Beispiel hierfür ist in Abbildung 3a dargestellt, wobei es sich hier um das Prinzip einer direkten, elektrochemischen Fluorierungsreaktion mittels des  $\lambda^3$ -F-Iodanes **14** handelt, welches durch eine *in-situ* Oxidation

des Aryliodids **15** an einer Pt-Anode hergestellt wurde.<sup>[42e, 42j]</sup> Diese elektrochemische Umsetzung zeichnet sich durch eine hohe Atomökonomie sowie einen umweltfreundlichen Umgang mit Ressourcen aus.<sup>[42i]</sup> Dies verdeutlicht die Wichtigkeit zur weiteren Erforschung neuer elektrochemischer und katalytischer Einsätze hypervalenter Iodverbindungen, da solche Umsetzungen sonst oft mit Anwendung überschüssiger Reagenzien und komplexer Synthesesequenzen verbunden sind. Ein weiteres Beispiel für eine sinnvolle Anwendung von Arylhalogeniden ist in Abbildung 3b dargestellt. Das Iodaryl **16** (Gastrografin<sup>®</sup>, Fa. Bayer Vital) wird in der diagnostischen Computertomographie (CT) bei *in-vivo* Routineuntersuchungen des Urin- und Magen-Darm-Trakts bei Menschen als Kontrastmittel (KM) eingesetzt.<sup>[47a]</sup> Der hohe Anteil an Halogenatomen bei KM **16** garantiert dabei eine hohe Röntgenstrahlabsorption und die chemische Stabilität der Halogen-Aryl-Bindung sorgt für eine geringe Toxizität.<sup>[48]</sup>



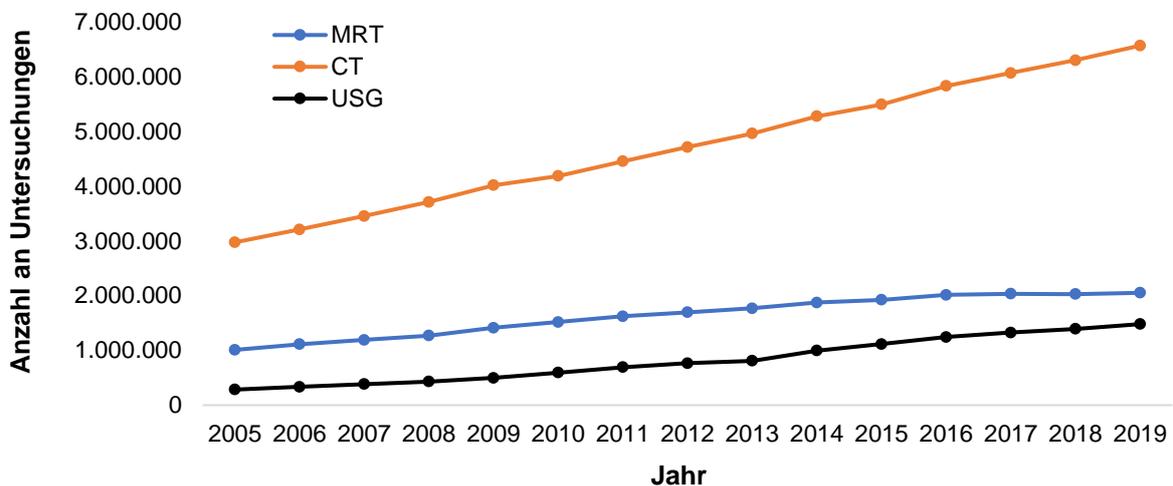
**Abbildung 3:** Moderne Anwendungen der Arylhalogenide **15-16** als: a) Mediator in einer elektrochemischen Fluorierungsreaktion durch eine *in-situ* Oxidation von *p*-Iodtoluol (**15**) an einer Pt-Anode; b) *in-vivo* CT-KM Gastrografin<sup>®</sup> (**16**).

Aus diesen Gründen beschäftigt sich diese Arbeit mit der Entwicklung neuer Kontrastmittel für CT zur Untersuchung von Weichgewebe auf Basis von halogenierten Farbstoffen sowie der Entwicklung neuer Verfahren für elektrochemische  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelte Fluorierungsreaktionen, welche sich durch eine hohe Atomökonomie sowie einen umweltfreundlichen Umgang mit Ressourcen auszeichnen.

## 2. Kenntnisstand

### 2.1. Kontrastmittelbasierte Computertomographie (CT)

Als G. N. Hounsfield in den 1970er-Jahren den ersten medizinischen CT-Scan durchführte, konnte er nicht erahnen, dass er bereits sieben Jahre später für seinen Beitrag zur Erforschung der medizinischen Bildgebungsverfahren mit einem Nobelpreis für Physiologie und Medizin ausgezeichnet wird.<sup>[49]</sup> Der erste medizinische CT-Scanner<sup>[50]</sup> der Firma *EMI Central Research Laboratories* wurde im Atkinson Morley Hospital in Wimbledon, England, installiert, wobei der erste medizinische CT-Scan das menschliche Gehirn darstellte.<sup>[51]</sup> Trotz der geringen Auflösung weckte dieses innovative und zerstörungsfreie bildgebende Verfahren das Interesse der Forscher und Mediziner auf der ganzen Welt.<sup>[52]</sup> Die moderne Definition von CT beschreibt eine röntgenbasierte Technik zur rechnergestützten Bearbeitung überlagerungsfreier Schnittbilder, wobei die Bilderfassung, die Rekonstruktion, die Visualisierung sowie die Quantifizierung der Datensätze in Einzelschritten erfolgen.<sup>[53]</sup> Mittlerweile zählt CT zu den wichtigsten zerstörungsfreien bildgebenden Verfahren in der Medizintechnik (Diagramm 1).<sup>[54]</sup>

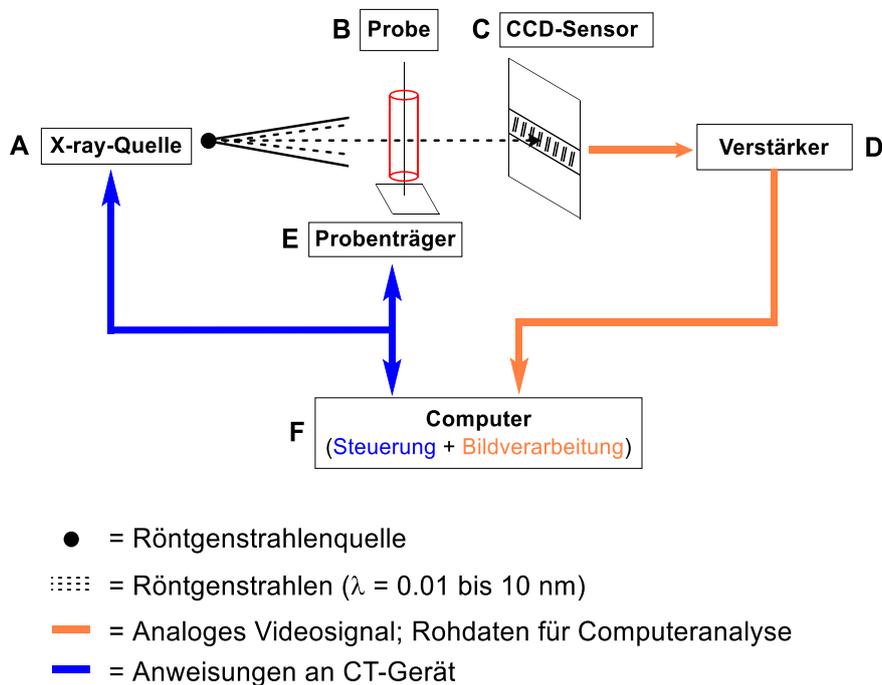


**Diagramm 1:** Anzahl an durchgeführten Untersuchungen im Feld der bildgebenden Diagnostik (MRT, CT und USG) in deutschen Krankenhäusern in den Jahren 2005-2019.

CT stellt laut der Deutschen Gesundheitsberichterstattung neben der Magnet-Resonanztomographie (MRT) und der Ultraschalluntersuchung (USG) als nicht-optisches, nicht-invasives Verfahren eine der am öftesten durchgeführten bildgebenden Methoden in deutschen

Krankenhäusern in den Jahren 2005-2019 dar. Die Anzahl an durchgeführten CT-Untersuchungen ist im Vergleich zu MRT und USG am stärksten über die Jahre angestiegen, wobei MRT und USG ein Plateau erreichten. Zu den wichtigsten Vorteilen der modernen CT-Analyse gehören eine schnelle Durchführung und eine einfache Auswertung der Ergebnisse in Form zweidimensionaler Bilder, welche Informationen über die dreidimensionale Morphologie des untersuchten Objekts beinhalten.<sup>[55]</sup> Als zerstörungsfreie Methode liefert CT somit präzise, dreidimensionale Informationen unter Verwendung harmloser Röntgenstrahlendosen, was zu ihrer raschen Verbreitung in der medizinischen *in-* und *ex-vivo* Diagnostik führte.<sup>[56]</sup>

Bei *ex-vivo* Untersuchungen von Weichgewebe stellt CT ein alternatives, nicht invasives Bildgebungsverfahren zur klassischen Histologie dar, wobei es eine detailgetreue Darstellung der Probe erlaubt und wichtige dreidimensionale Volumeninformationen liefert.<sup>[57]</sup> Anders als bei herkömmlichen CT-Anlagen, sind bei der  $\mu$ CT die Röntgenquelle (A) und der Detektor (C) ortsfest, wobei die Probe (B) mit einer konstanten Geschwindigkeit rotiert wird, um eine hohe Homogenität der CT-Schnittbilder zu gewährleisten (Abbildung 4).<sup>[58]</sup>



**Abbildung 4:** Vereinfachter Aufbau eines  $\mu$ CT-Scanners: A: Röntgenstrahlenquelle (Bsp. Mikrofokusröntgenröhre, Synchrotron); B: rotierende Probe; C: CCD-Sensor; D: Verstärker; E: Probenträger; F: Computereinheit.

Dabei passieren die Röntgenstrahlen die Probe (B) unmittelbar nach der Entstehung, wobei sie durch die meist inhomogene Zusammensetzung der Probe unterschiedlich abgeschwächt

werden. Die abgeschwächten Strahlen gelangen dann zum Detektor (CCD, engl. *charge-coupled device*, C) und werden anschließend mittels Verstärker (D) zu einem analogen Videosignal verarbeitet. Diese Rohdaten werden am Ende durch eine Computereinheit (F) in einem komplexen mathematischen Verfahren zu einer Bild- bzw. Volumenrekonstruktion verarbeitet. Das Entstehen von mehreren zweidimensionalen Absorptionsprofilen erlaubt eine Unterscheidung zwischen Bereichen mit schwacher und starker Röntgenabsorption. Dies ist gleichzeitig der Hauptunterschied zu den standardisierten radiologischen Verfahren, bei denen verschiedene Absorptionsbereiche innerhalb einer Probe letztendlich auf einem Bild gleich dargestellt werden. Im Gegensatz zu klinischen Computertomographen enthalten die auch in der ex-vivo Histologie verwendeten  $\mu$ CT-Systeme eine Mikrofokusröntgenröhre oder eine Synchrotronstrahlung als Röntgenstrahlenquelle (A). Konventionelle Röntgenröhren werden aufgrund der zu hohen Fokusgröße nicht verwendet werden, was in einer deutlich verbesserten Auflösung der  $\mu$ CT-Scanner resultiert. Während medizinische CT-Scanner Schnittbilder mit einer Auflösung im Millimeterbereich liefern, können die  $\mu$ CT-Scanner eine deutlich höhere Auflösung im Mikrometerbereich erreichen.<sup>[53]</sup> Heutzutage wird  $\mu$ CT im Medizinbereich routinemäßig für Untersuchungen von Implantaten<sup>[59]</sup> sowie Knochen-<sup>[60]</sup> und Knorpelgewebe<sup>[61]</sup> herangezogen, wobei zuverlässige Analysen von biologischem Weichgewebe meist nur unter Verwendung von Kontrastmitteln (KM) möglich sind.<sup>[62]</sup> Auch im nicht-medizinischen Bereich findet  $\mu$ CT eine breite Anwendung.<sup>[63]</sup> So wird sie zur Untersuchung von morphologischen Merkmalen von diversen Werkstoffen sowie Werkzeugen wie z.B.: Porosität,<sup>[64]</sup> Dichte<sup>[65]</sup> und Partikelgröße<sup>[66]</sup> verwendet.

Wegen ihrer hohen Dichte und einem hohen Anteil an Calcium weisen Knochen im Allgemeinen einen hohen Röntgenabsorptionskoeffizienten  $\mu$  auf (Gleichung 1) und können somit problemlos mittels röntgenbasierter CT abgebildet werden. Neben der Dichte führt eine hohe Ordnungszahl  $Z$  der Atome, aus denen die Probe besteht, zur Erhöhung des Röntgenabsorptionskoeffizienten  $\mu$  um den Faktor  $= Z^4$ . Im Gegensatz dazu, besitzt das Weichgewebe weder schwere Elemente (Hauptbestandteile:  $C, H, N, S$ ) noch eine hohe Dichte und zeigt deswegen einen niedrigen Röntgenabsorptionskoeffizienten  $\mu$  (Gleichung 1).

$$\mu = \frac{\rho Z^4}{AE^3}$$

$\mu$  = Absorptionskoeffizient    A = Atommasse

$\rho$  = Dichte                            E = Energie der Röntgenstrahlen

Z = Ordnungszahl

**Gleichung 1:** Zusammenhang des Röntgenabsorptionskoeffizienten  $\mu$  von: Dichte  $\rho$ , Ordnungszahl Z, Atommasse A und Energie der Röntgenstrahlen E.

Die Fähigkeit eines Stoffes Röntgenstrahlen zu absorbieren, wird in Hounsfield-Einheit ausgedrückt (HU, engl. *Hounsfield unit*).<sup>[63b]</sup> Auf der HU-Skala markiert das Wasser den Nullpunkt mit 0 HU und die Luft den Tiefpunkt mit -1000 HU, wobei Weichgewebe auf der Skala zwischen 30 und 100 HU liegt.<sup>[47a]</sup> Tabelle 1 ist eine Übersicht der typischen Werte auf der HU-Skala für Weichgewebe zu entnehmen.<sup>[67]</sup> Eine Unterscheidung zwischen diversen Gewebetypen auf der HU-Skala ist ab 30 HU möglich, wobei die Werte von unterschiedlichen Gewebearten im menschlichen Körper oft keine Unterscheidung ermöglichen, weil sie in einem ähnlichen Bereich auf der HU-Skala zu finden sind. Eine Ausnahme bilden Knochen mit 1000 HU, welche wegen ihrer hohen Dichte und des hohen Ca-Anteils eine starke Abschwächung der Röntgenstrahlen ermöglichen.

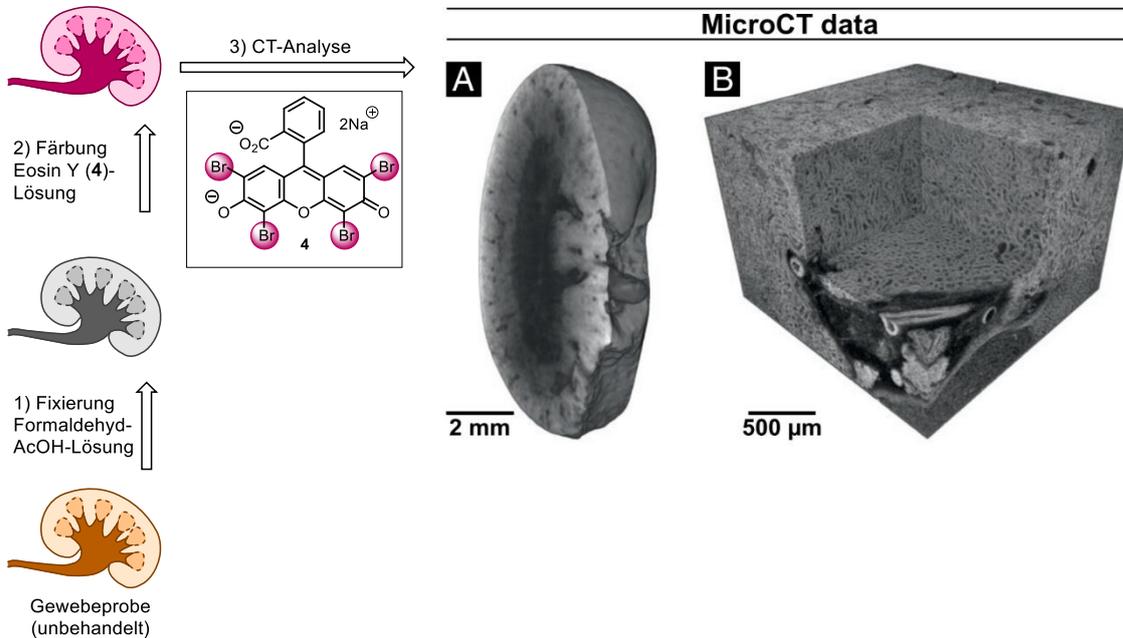
**Tabelle 1:** Übersicht über die Fähigkeit verschiedener Gewebearten Röntgenstrahlung zu absorbieren.

Gewebeart	HU-Wert
Lunge	-500 bis -900
Fett	-80 bis -120
Niere	25 bis 40
Pankreas	30 bis 50
Muskel	40 bis 50
Leber	50 bis 65
Blut	50 bis 60
Knochen	40 bis 1000

Aus diesem Grund ist eine Untersuchung von Weichgewebe jeglicher Art mittels CT immer mit dem Einsatz eines KM verbunden, welches eine Abschwächung der Röntgenstrahlen im Vergleich zur Umgebung der Probe während der CT-Messung ermöglicht.<sup>[68]</sup> Dies führt

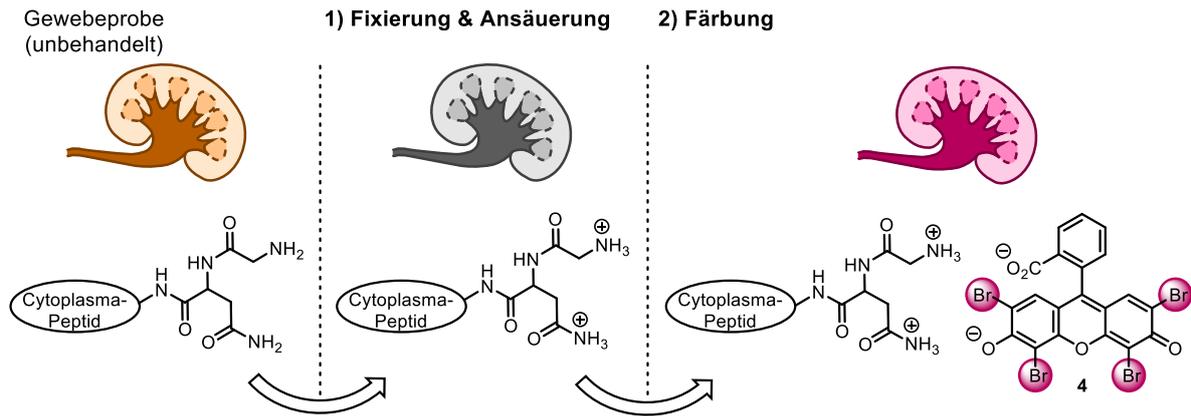
schließlich dazu, dass der Detektor zwischen den Bereichen unterschiedliche Werte für die Abschwächung der Röntgenstrahlen nach dem Passieren der Probe registriert. Nach der anschließenden Bildrekonstruktion am Computer, entstehen optische Unterschiede zwischen den Bereichen mit und ohne KM, welche anschließend mit bloßem Auge analysiert werden können. Die Suche nach geeigneten Substanzen, die als KM dienen können, ist oft schwierig, weil aufgrund der geringen Sensitivität der CT große Mengen an KM nötig sind, um ein auswertbares Bild zu erhalten.<sup>[69]</sup> Während bei der Entwicklung innovativer *ex-vivo* KM eine hohe Anzahl an Atomen mit hohen Ordnungszahlen am wichtigsten ist, stellt bei der Suche nach neuen *in-vivo* KM die Toxizität den entscheidenden Parameter dar.<sup>[70]</sup> Im Allgemeinen müssen CT-KM eine ausgeprägte Bindungsaffinität zu diversen Arten von biologischem Weichgewebe aufweisen, um eine homogene Verteilung des KM innerhalb der Proben zu garantieren.<sup>[71]</sup> Osmium(VIII)-tetroxid gehört zu den meistuntersuchten *ex-vivo* KM für  $\mu$ CT.<sup>[72]</sup> Die hohe Energie der K-Schale des Osmiums (73.9 keV) verbunden mit dessen hoher Atomzahl ( $Z = 76$ ) sowie die exzellente Bindungsaffinität zum Weichgewebe macht diese Verbindung zum Färbemittel der Wahl, da der resultierende Kontrast hoch ist und die erhaltenen CT-Bilder eine hohe Auflösung aufweisen. Zu den Nachteilen von  $\text{OsO}_4$  als KM gehören vor allem die hohe Toxizität und die dadurch erschwerte Handhabung.<sup>[73]</sup> Alternativ wird oft PTA (Wolframatophosphorsäure, engl. *phosphotungstic acid*) als *ex-vivo*-KM für Weichgewebe verwendet. Die hohe Ordnungszahl des Wolframs ( $Z = 74$ ) und die hohe Molmasse (2880.2 g/mol) führen zu einer starken Erhöhung der Röntgenabsorption, sodass bereits bei geringen Konzentrationen von PTA eine erfolgreiche  $\mu$ CT-Untersuchung von Weichgewebe möglich ist.<sup>[74]</sup> Die Limitierung von PTA liegt in der sehr langsamen Penetration des Weichgewebes, sodass die Proben meist nur bis zu wenigen Millimetern unter der Oberfläche gefärbt sind. Darüber hinaus sind als  $\mu$ CT-KM wässrige und alkoholische Iodlösungen weit verbreitet.<sup>[70]</sup> Sie sind vergleichsweise einfach in der Handhabung und nicht toxisch. Metscher *et al.* zeigte in seiner Studie, dass Iodlösungen unabhängig von verwendeten Fixativen zum Färben von Weichgewebe jeglicher Art geeignet sind.<sup>[62a]</sup> Sie durchdringen die Probe tief und garantieren einen scharfen und hohen Kontrast. Der Nachteil von Iodlösungen ist die Gefahr einer Überfärbung, weil die Penetration oft zu schnell und zu stark und somit unkontrollierbar abläuft. Eines haben PTA- und Iod-basierte KM allerdings gemeinsam: ihre hohe Osmolalität verursacht im Färbeprozess ein signifikantes Schrumpfen des Weichgewebes, was wiederum zu Fehlern in der Interpretation der CT-Bilder führen kann.<sup>[74]</sup> Busse *et al.* zeigte 2018, dass der Xanthenfarbstoff Eosin Y (**4**) hervorragend als ein Zytoplasma-spezifisches *ex-*

*vivo* KM zur Untersuchung von Nierengewebe mittels  $\mu$ CT angewandt werden kann (Abbildung 5).<sup>[75]</sup>



**Abbildung 5:** Die CT-Analyse der Mausniere in drei Schritten nach Busse *et al.*<sup>[75]</sup>: 1) unbehandelte Gewebeprobe wird mittels Formaldehyd-Essigsäure-Lösung fixiert, 2) mit gesättigter Eosin Y-Färbelösung (**4**,  $c = 300 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) behandelt und anschließend 3) mittels CT analysiert, A) ganzes Nieren-Organ, B) 3D- $\mu$ CT-Ausschnitt nach Busse *et al.*<sup>[75]</sup>

Der Erfolg des Färbeprotokolls nach Busse *et al.* mittels Eosin Y (**4**) als KM basiert auf einer ionischen Bindung zu N-haltigen Seitenketten der Cytoplasma-Proteine (Abbildung 6). In diesem zweistufigen Färbeprotokoll wird die unbehandelte Gewebeprobe zuerst einem Fixierungsprozess unterzogen, dann mit der konzentrierten Eosin Y (**4**) Färbelösung behandelt und anschließend mittels CT analysiert. Ausschlaggebend war die Zugabe von Essigsäure, was zur Protonierung der basischen Gruppen der Proteinseitenketten im fixierten Gewebe führte und so die gleichmäßige Verteilung des KM **4** ermöglichte. Das ionisch gebundene KM führte schließlich zur Erhöhung des resultierenden Kontrastes und ermöglichte so eine Visualisierung der Gewebeproben mittels  $\mu$ CT. Um einen ausreichenden Kontrast zu erzielen, musste der Färbeschritt allerdings mit hohen Konzentrationen an KM **4** ( $c = 300 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) angewandt werden, wobei es sich hier um die maximale Wasserlöslichkeit von Eosin Y (**4**) handelt.<sup>[75]</sup>



**Abbildung 6:** Das Färbeprotokoll für Weichgewebeproben in zwei Schritten: 1) Fixierung und Ansäuerung des Gewebes mittels Formaldehyd-Essigsäure-Lösung. Durch den Zusatz von Essigsäure werden die Seitenketten der Cytoplasma-Proteine protoniert, wodurch eine ionische Bindung zu Eosin Y (4) Molekülen ermöglicht wird, 2) Färbung mit Cytoplasmaspezifischem Kontrastmittel Eosin Y (4).<sup>[75]</sup>

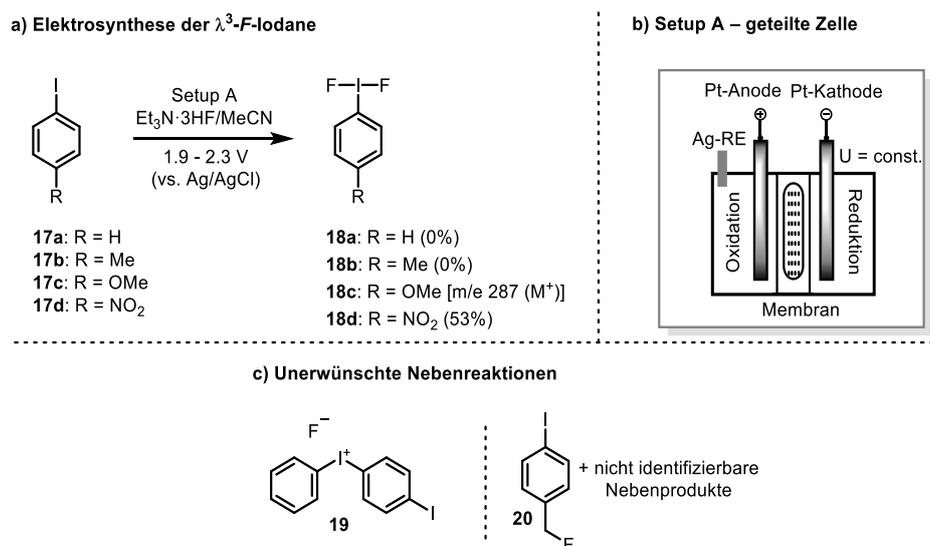
Aufgrund der überwiegenden Massenanteile an Brom (42%) besitzt Eosin Y (4) die richtigen Eigenschaften eines organischen Moleküls, um als KM für röntgenbasierte CT Anwendung zu finden. Der Grund hierfür ist die Erhöhung des Röntgenabsorptionskoeffizienten  $\mu$ , welcher direkt proportional zur Ordnungszahl  $Z$  ist (Gleichung 1). Die in Hinblick auf die Hauptbestandteile ( $Z_{\text{H}} = 1$ ,  $Z_{\text{C}} = 6$ ,  $Z_{\text{N}} = 7$ ,  $Z_{\text{O}} = 8$ ,  $Z_{\text{S}} = 16$ ) des biologischen Weichgewebes vergleichsweise hohe Atomzahl des Broms ( $Z_{\text{Br}} = 35$ ) erhöht die Absorption der Röntgenstrahlung und somit den CT-Kontrast deutlich. Auf der HU-Skala werden damit Unterschiede zwischen der untersuchten Gewebeprobe und der Umgebung von deutlich mehr als 30 HU erzielt (Tabelle 1). Eosin Y (4) gehört zur Klasse der ionischen, monomeren KM. Es ist außerdem nicht toxisch und besitzt keine biologische Aktivität.<sup>[76]</sup> Die Wechselwirkungen mit diversen Gewebearten sind ausschließlich ionischer Natur, weswegen es zu keinen morphologischen Veränderungen des untersuchten Gewebes bei der Färbung mit Eosin Y (4) kommt. Die Anwesenheit einer freien Carbonsäure ermöglicht eine ionische Wechselwirkung mit den Seitenketten der Proteine und somit eine homogene Verteilung des KM innerhalb der Probe. Die erwünschte Kompatibilität zur klassischen Histologie ist ebenfalls gegeben, da Eosin Y (4) bereits als gängiger Farbstoff bei der Vorbereitung von Dauerpräparaten in der Histologie verwendet wird.

### 2.2. $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelte elektrochemische Fluorierungsreaktionen

Die Entwicklung nachhaltiger Syntheseverfahren spielt in der modernen Forschung und bei der Entstehung neuer Produktionsverfahren eine immer wichtigere Rolle.  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelte Reaktionen liefern dabei moderne Synthesewerkzeuge zu selektiven und katalytischen Umsetzungen, die sonst oft mit der Anwendung von Reagenzien in überstöchiometrischen Mengen und komplexen Synthesesequenzen verbunden sind. Anhand von ausgewählten Beispielen elektrochemischer und katalytischer Einsätze hypervalenter Iodverbindungen soll deren stets steigende Bedeutung in der organischen Synthese verdeutlicht werden.

Die Geschichte der Elektrochemie reicht bis ins 18te Jahrhundert zurück, als der Physiker Alessandro Volta die erste Batterie entwickelte, welche einen konstanten elektrischen Strom produziert hat.<sup>[77]</sup> Die ersten erfolgreichen Experimente zur Anwendung dieses Prinzips in der organischen Synthese erfolgten im selben Jahrhundert durch Faraday *et al.*, der durch seine Studien entdeckte, dass während der Elektrolyse von Natriumacetat Ethan gebildet wird.<sup>[78]</sup> Basierend auf seiner Entdeckung entstand in den darauffolgenden Jahrzehnten die moderne organische Elektrosynthese, welche die Synthese und Umwandlung von organischen Molekülen mithilfe elektrischen Stroms ermöglichte.<sup>[79]</sup> Durch die Arbeiten von Kolbe *et al.* und Baizer *et al.* bei der Firma *Monsanto* in den 1960er-Jahren gewann die organische Elektrosynthese an Bedeutung für die chemische Industrie.<sup>[80]</sup> Organische Elektrosynthese ist stets mit einer heterogenen Aktivierung organischer Moleküle an der Oberfläche einer Elektrode verbunden, wobei entweder aus den HOMO-Orbitalen (engl. *highest occupied molecular orbital*) Elektronen entzogen werden (Oxidation) oder Elektronen in die LUMO-Orbitale (engl. *lowest unoccupied molecular orbital*) hinzugefügt werden (Reduktion). Diese Prozesse können durch eine Veränderung der Stromstärke kontrolliert werden, wobei sie meistens parallel zueinander ablaufen. Dies führt oft zu konkurrierenden Redoxreaktionen und somit zu weniger selektiven Umsetzungen. Allerdings ist die elektrochemische Synthese angesichts der hohen Atomökonomie sowie des umweltfreundlichen Umgangs mit Ressourcen unter den modernen Synthesemethoden unschlagbar und sollte mit großer Achtsamkeit weiterentwickelt und optimiert werden. Auf dem Gebiet der elektrochemischen Generierung hypervalenter  $\lambda^3$ -F-Iodane gehören Herausforderungen, wie die Wahl der richtigen Reaktionsbedingungen, z.B. das Lösungsmittel, Konzentrationen der angesetzten Stoffe sowie Elektrolyte, der pH-Wert, die Stromstärke und die Reaktionstemperatur, bei der Entwicklung neuer elektrochemischer Synthesesequenzen zum Alltag. Darüber hinaus spielt der Aufbau und

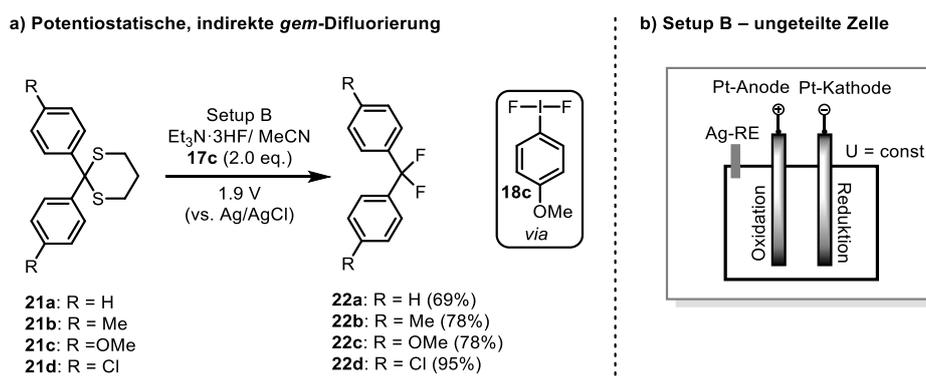
die Geometrie der elektrolytischen Zelle, das Material aus dem die Elektroden (Kathode, Anode und Referenzelektrode) aufgebaut sind und letztendlich der verwendete Elektrolyt eine große Rolle.  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelte elektrochemische Fluorierungen haben ihren Ursprung in den 1990er-Jahren. Die Pionierarbeiten von Fuchigami *et al.* legten die Grundlagen für elektrochemische Generierungen der  $\lambda^3$ -F-Iodane **18a-18d** unter potentiostatischen Bedingungen (Schema 1a).<sup>[42f]</sup> Die Studie lieferte erste Erkenntnisse über die anodische Oxidation der Aryliodide **17a-17d** in Anwesenheit der HF-Quelle  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ -Komplex.



**Schema 1:** a) Elektrosynthese der  $\lambda^3$ -F-Iodane **18a-18d** in Anwesenheit von  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ , b) Setup A – geteilte Zelle mit Membran und SSCE-Referenzelektrode (Ag-RE), c) Unerwünschte Nebenreaktionen: Bildung des Iodoniumsalzes **19** und Fluorierung der Methylgruppe **20**.

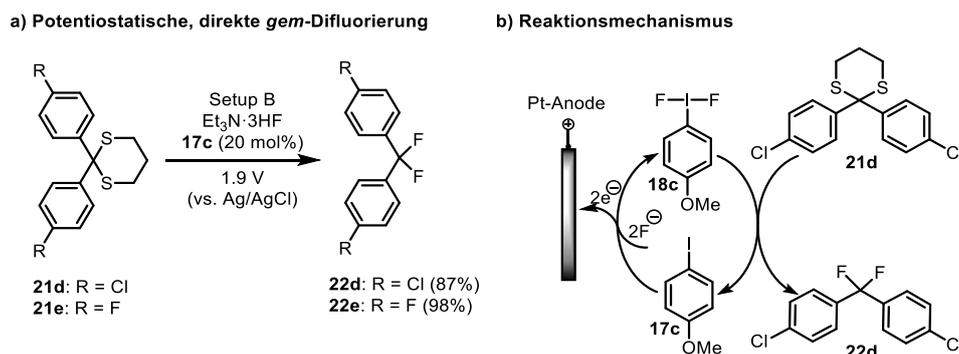
Die Autoren untersuchten dabei den elektronischen Einfluss der Substituenten in der *p*-Position der Aryliodide **17a-17d**, wobei eine Isolierung des difluorierten Produktes nur im Fall des elektronenarmen *p*-Iodnitrobenzols (**18d**) möglich war. Bei Iodbenzol (**17a**) wurde eine Bildung des Diaryliodoniums **19** beobachtet und bei *p*-Iodtoluol (**17b**) fand eine unerwünschte Fluorierung der Methylgruppe zum Produkt **20** statt, wobei die Reaktion insgesamt zu einem Gemisch von unidentifizierbaren Produkten stattfand (Schema 1c). Im Gegensatz dazu konnte die hypervalente Spezies **18c** lediglich mittels Massenspektrometrie in der Reaktionslösung nachgewiesen werden. Für die Umsetzungen der Aryliodide **17a-17d** wurde das Prinzip der geteilten, elektrochemischen Zelle verwendet, bei welcher Kathoden- und Anodenraum durch eine Anionenaustauschmembran voneinander getrennt werden (Schema 1b). Dadurch konnte die unerwünschte Reduktion der *in-situ* gebildeten  $\lambda^3$ -F-Iodane an der Pt-Kathode verhindert werden. Anschließend wechselten die Autoren zum Prinzip der ungeteilten Zelle, bei welchem

sich die Anode und Kathode mit allen Reaktionsteilnehmern in einem Raum befinden (Schema 2b).<sup>[42c]</sup> Mit dieser Methode wurde das  $\lambda^3$ -F-Iodan **18c** mittelbar nachgewiesen, indem die Dithioketale **21a-21d** in einer potentiostatischen, indirekten *gem*-Fluorierungsreaktion zu den difluorierten Produkten **22a-22d** umgesetzt werden konnten (Schema 2a). Bei einer elektrochemischen, ungeteilten Zelle wird zwischen der direkten und indirekten Fluorierung unterschieden (Schema 2b). Wichtig ist dabei der Zeitpunkt der Zugabe des Substrates, wobei dieses im Fall einer indirekten Methode erst nach beendeter Elektrolyse des Mediators zugegeben wird, um ungewünschte Redoxreaktionen zu vermeiden. Diese Methode wird bei Substraten mit niedrigeren Oxidationspotentialen als Mediatoren angewandt, wobei diese in mindestens stöchiometrischen Mengen eingesetzt werden müssen, um einen vollständigen Umsatz zu erreichen. Der Vorteil einer direkten Elektrolyse dagegen ist der potenzielle Einsatz katalytischer Mengen an Mediatoren, wobei ausschließlich Substrate mit höheren Oxidationspotentialen als die der Mediatoren eingesetzt werden können, um deren unerwünschte Nebenreaktionen zu vermeiden.



**Schema 2:** a) Potentiostatische, indirekte *gem*-Difluorierung der Dithioketale **21a-21d** mit *p*-Iodanisol (**17c**) als Mediator b) Setup B – ungeteilte Zelle mit Ag-Referenzelektrode (Ag-RE) für potentiostatische Elektrosynthese.

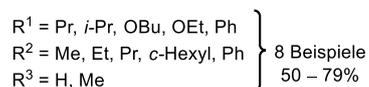
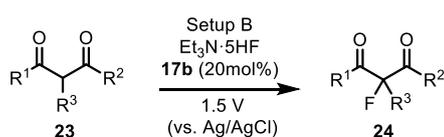
Im Zuge dessen ist es Fuchigami *et al.* gelungen, katalytische Mengen (5-20 mol%) des *p*-Iodanisols (**17c**) als Mediator zu verwenden, um die Fluorierungsreaktion der Dithioketale **21d** und **21e** und die Oxidation des Mediators **17c** unter milden elektrochemischen Bedingungen zu ermöglichen (Schema 3a). Hierbei wurden die difluorierten Produkte **22d** und **22e**, gekoppelt an die katalytische Generierung des Iodans **18c**, gebildet (Schema 3b).



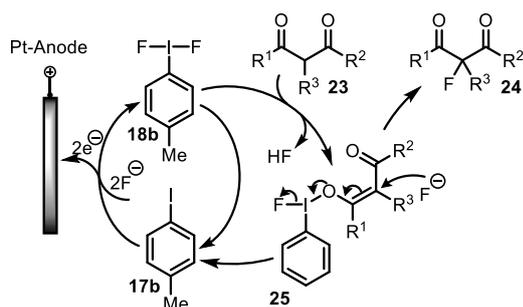
**Schema 3:** a) *Gem*-Difluorierung der Dithioketale **21d** und **21e** mit katalytischen Mengen an *p*-Iodanisol (**17c**) im Setup B, b) Reaktionsmechanismus.

Da die Suche nach milden Elektrolysebedingungen im Fokus stand, fand Hara *et al.* in den späten 90er-Jahren heraus, dass die Verwendung des frisch hergestellten  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 5\text{HF}$  anstelle von  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$  als Fluoridquelle den Einsatz von *p*-Iodtoluol (**17b**) als Mediator ebenso ermöglichte.<sup>[42j]</sup> Der Vorteil der Verwendung des  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 5\text{HF}$  liegt in der Erhöhung der HF-Konzentration in der Reaktionslösung und somit der Steigerung des pH-Werts. Dies konnte anhand einer milden Methode (1.5 V vs. SSCE) zur elektrochemischen Fluorierung der  $\beta$ -Dicarbonyle **23** demonstriert werden (Schema 4a). Der Mechanismus sollte dabei aus vier Reaktionsschritten bestehen, wobei das *in-situ* gebildete  $\lambda^3$ -*F*-Iodan **18b** zuerst mit der Enolform des Substrats **23** die hypervalente  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-Spezies **25** bildet, welche anschließend durch einen nukleophilen Angriff des Fluorids zu monofluorierten, unterschiedlich substituierten  $\beta$ -Dicarbonylen **24** umgesetzt wird (Schema 4b). Dies stellt ein weiteres Beispiel einer elektrochemischen, direkten Fluorierungsreaktion dar, die an eine elektrochemische *in-situ* Oxidation eines Aryliodids als Mediator gekoppelt wurde. Herausragend war dabei die hohe Toleranz diverser funktioneller Gruppen wie beispielsweise Butyl- und Phenylester, was auf besonders milde Redoxbedingungen hinwies. Insgesamt konnten mit dieser Methode acht komplexe Substrate in hohen Ausbeuten (50-79%) mittels katalytischer Mengen (20 mol%) des Mediators **17b** umgesetzt werden.

## a) Potentiostatische, direkte Monofluorierung

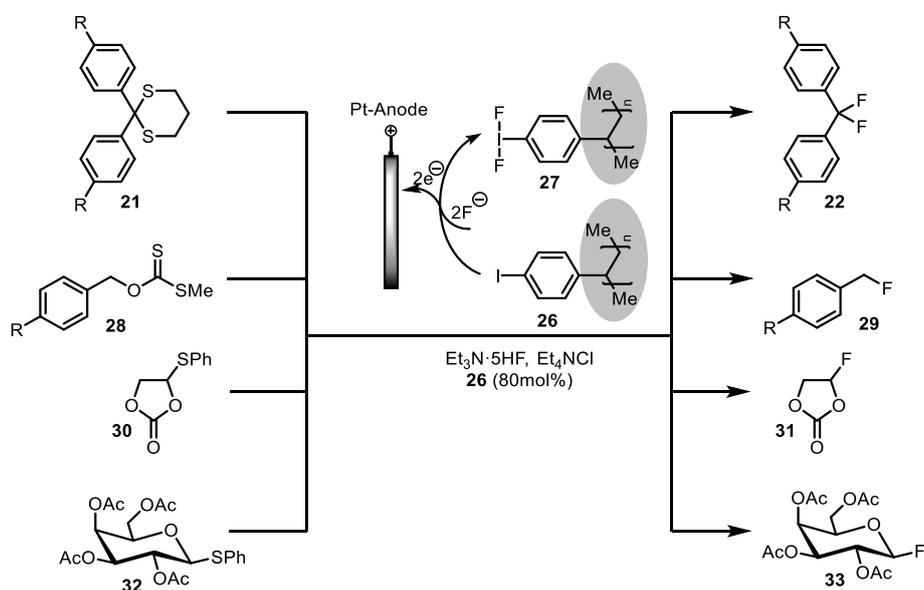


## b) Reaktionsmechanismus



**Schema 4:** a) Direkte Difluorierung der Dicarbonylverbindungen **23** mit *p*-Iodtoluol (**17b**, 20 mol%) im Setup B, b) Reaktionsmechanismus.

Mit diesen Vorarbeiten wurden die Grundlagen zu elektrochemischen Fluorierungsreaktionen geschaffen, die eine Verwendung der Aryliodide **17b** und **17c** als Mediatoren vorsehen. Fuchigami *et al.* setzte anschließend die Suche nach optimalen Bedingungen für solche Reaktionen fort und legte den Fokus auf die Modifizierung der Mediatoren (Schema 5). So zeigte er 2010, dass auch die Verwendung von Iodbenzol **17a** als Mediator für eine anodische Fluorierung möglich ist, wobei dieses an eine Polystyrol-Matrix **26** gebunden wurde.<sup>[81]</sup>

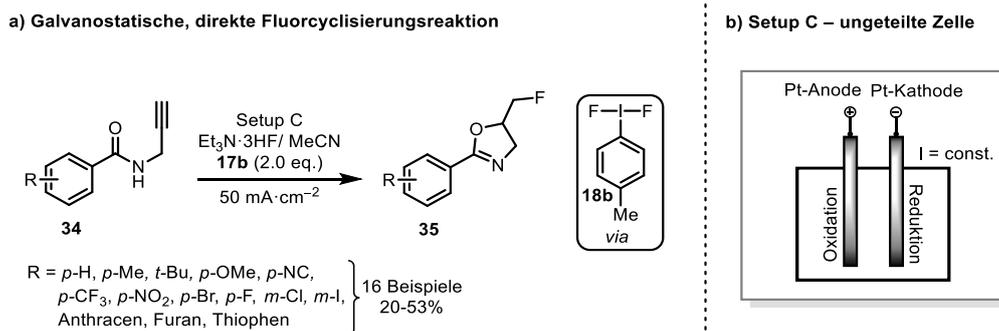


**Schema 5:** Polymer-unterstützte elektrochemische Fluordesulfonierung von **21**, **28**, **30** und **32**.

Dadurch wurde die Bildung des Iodoniumsalzes **19** unterdrückt und das wiederverwendbare  $\lambda^3$ -*F*-Iodan **27** konnte zur Fluorierung von Dithioketalen **21**, Xanthogenaten **28**, Ethylencarbonat-Derivaten **30** und Zucker-Derivaten **32** verwendet werden. Trotz des enormen Fortschrittes von Fuchigami *et al.* bei der Entwicklung neuer  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelter

Fluorierungsreaktionen ist es erwähnenswert, dass sich seine modernen Methoden ausschließlich auf Organoschwefelverbindungen begrenzen und somit in dem Anwendungsspektrum auf oxidative Fluordesulfonierungen limitiert sind.

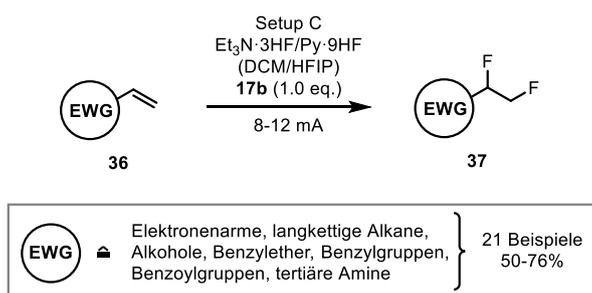
Anodische Fluorierungen wurden parallel zu den nasschemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-basierten Fluorierungsreaktionen entwickelt. Im Gegensatz zu elektrochemischen Fluorierungsreaktionen bieten diese bereits effiziente Methoden für selektive Fluorierungsreaktionen.<sup>[39, 43b-d]</sup> Im Allgemeinen ist beim Aufbau von C-X (X = C, F, N, O, S)-Bindungen die Chemie der hypervalenten Iodane durch ihre breite Palette an Reaktionssequenzen unersetzbar. Allerdings sind diese Reaktionen oft mit Einsatz von überstöchiometrischen Mengen an Oxidationsmitteln verbunden. Dadurch werden vor allem die Atomökonomie und die Effizienz der Systeme im Vergleich zur Elektrosynthese drastisch gesenkt. Aus diesem Grund ist es sinnvoll moderne elektrochemische  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelte Synthesemethoden zu entwickeln, welche milde und leicht steuerbare Redoxsysteme darstellen. Dies kann am Beispiel der von Waldvogel *et al.* 2019 veröffentlichten Methode zur Elektrosynthese der 5-Fluoromethyl-2-oxazole **35** gezeigt werden (Schema 6a).<sup>[42h]</sup> Hierbei wurde eine einstufige Synthesemethode präsentiert, die ausgehend von Alkinen **34** *via* das *p*-Iodtoluol (**17b**) als Mediator selektiv zu Fluoroxazolen **35** führte. Diese Methode soll eine grüne und atomeffiziente Alternativsynthese zu den oxidativen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-Fluorocyclisierungsreaktionen von Gilmour<sup>[82]</sup> und Saito<sup>[83]</sup> darstellen, bei welchen im klassischen Sinne mit stöchiometrischen Mengen an Oxidationsmitteln gearbeitet wird. Obwohl bei der Methode von Waldvogel überstöchiometrische Mengen (2.0 Äquiv.) an Mediator verwendet wurden, wurden zusätzlich zur elektrischen Spannung keine Redoxreagenzien benötigt und das Aryliodid **17b** konnte nach der Reaktion reisoliert werden. Das Setup C ist das Beispiel für eine galvanostatische, direkte Elektrosynthese, weil es zur selben Zeit mit Mediator und Substrat, ohne Referenzelektrode, und unter konstanter Stromstärke betrieben wird (Setup C, Schema 6b).



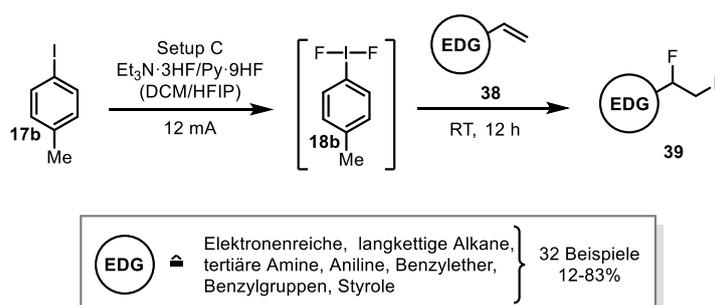
**Schema 6:** a) Galvanostatische, direkte Fluorocyclisierung der Alkyne **34** mit *p*-Iodtoluol (**17b**, 2.0 eq.) als Mediator, b) Setup C: ungeteilte Zelle für galvanostatische Elektrosynthese.

Motiviert durch die Arbeiten zu Umsetzungen in nasschemischen, oxidativen,  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-basierten Fluorierungsreaktionen von Gilmour,<sup>[43e, 82]</sup> Jacobsen,<sup>[43c, 43d]</sup> Lal<sup>[84]</sup> und Yoneda<sup>[85]</sup> entstand eine der aktuellsten Publikationen aus dem Forschungsfeld der elektrochemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktionen. Lennox *et al.* veröffentlichte 2020 eine elektrochemische Methode zu *vic*-Fluorierungen elektronenarmer und elektronenreicher Alkene mittels *p*-Iodtoluol (**17b**) als Mediator (Schema 7).<sup>[86]</sup> Die Herausforderung lag dabei in der Umsetzung elektronenreicher, nicht aktivierter Doppelbindungen. Für die elektronenarmen Substrate, wie beispielsweise Allylarene, langkettige Alkene, Allylether, sowie Allylamine wurde das Prinzip der galvanostatischen, direkten Elektrosynthese in Anwesenheit von  $\text{NEt}_3\cdot 3\text{HF}$ -Pyridin·9HF-Gemischen angewandt. Aufgrund der höheren Oxidationspotentiale der elektronenarmen Substrate **26** war es in 21 Fällen möglich die *vic*-difluorierten Produkte **27** in hohen Ausbeuten 50-76% zu erhalten (Schema 7a). Aufgrund der niedrigeren Oxidationspotentiale der elektronenreichen Substrate **28**, welche in geringen Stabilitäten resultierten, griff Lennox zum Prinzip der indirekten Elektrolyse, wodurch die Nebenreaktionen der Alkene **28** unterbunden werden konnten und somit 32 difluorierte *vic*-Produkte **29** in moderaten bis hohen Ausbeuten 12-83% isoliert wurden (Schema 7b). Ohne Zweifel ist dies bislang einer der größten Beiträge zur Untersuchung der Substratbreite bei elektrochemischen Fluorierungsreaktionen mittels hypervalenter Iodane als Mediatoren.

## a) Galvanostatische, direkte *vic*-Fluorierung



## b) Galvanostatische, indirekte *vic*-Fluorierung

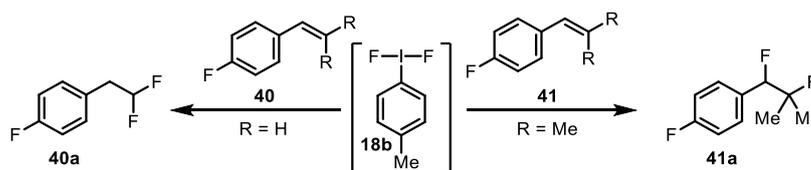


**Schema 7:** a) Galvanostatische, direkte *vic*-Difluorierung elektronenarmer Alkene **36** mit *p*-Iodtoluol (**17b**) als Mediator, b) Galvanostatische, indirekte *vic*-Difluorierung elektronenreicher Alkene **38** mit *ex-situ* generiertem Iodan (**18b**).

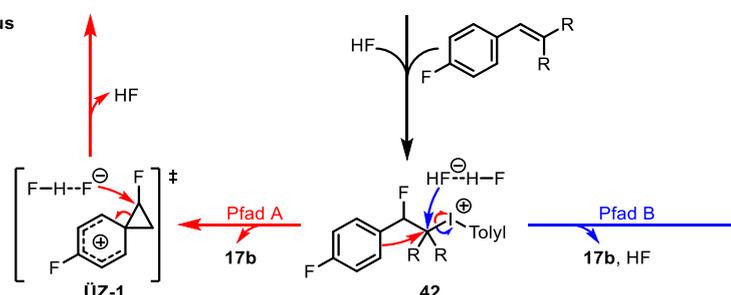
Einige mechanistische Aspekte dieser Umsetzungen bleiben jedoch ungeklärt. Auffallend waren die Erkenntnisse über die indirekte Fluorierung der Styrole **40** und **41**, wobei es anscheinend abhängig vom Substitutionsgrad der Doppelbindung zu *vic*- oder *gem*-Fluorierungsreaktionen kam (Schema 7a). Die Gruppe um Lennox verwies demnach auf die Arbeiten von Gilmour,<sup>[43b]</sup> Jacobsen,<sup>[43d]</sup> und Szabó *et al.*,<sup>[87]</sup> bei denen es sich allerdings um die Chemoselektivität der nasschemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-basierten Systeme handelt. Demzufolge entsteht das *gem*-Fluorierungsprodukt in einem Mechanismus, in dem es nach einem Arylshift zur Bildung des Übergangszustandes **ÜZ-1** kommt, welcher dann nach einer nukleophilen Ringöffnung durch ein Fluoridion zum *gem*-Produkt **40a** führt (Schema 8b, Pfad A). Das *vic*-Produkt **41a** soll im Gegensatz dazu nach der Bildung des Intermediates **27** direkt zum fluorierten Produkt umgesetzt werden (Schema 8b, Pfad B). Gilmour *et al.* zeigte jedoch in seiner Studie zu *gem/vic*-Fluorierung unter Verwendung von Amin·HF-Reagenzien die Wichtigkeit der Brønsted-Acidität bei solchen Umsetzungen, wobei deren Chemoselektivität als Funktion des Amin·HF-Verhältnisses (Amin: Pyridin, Triethylamin) beschrieben werden kann.<sup>[88]</sup> Eine ähnliche Abhängigkeit wurde bereits früher durch Cotter *et al.* gezeigt.<sup>[89]</sup> In seinen Studien bewies er den direkten Einfluss von Essigsäure auf die Aktivierung von

Iodbenzoldichlorid **7**. Dadurch bietet sich die Chance, den Mechanismus der Umsetzungen von energiearmen und energiereichen, substituierten Styrolderivaten tiefer zu untersuchen, um so elektrochemische *gem*-Fluorierungsreaktionen mittels Amin·HF-Reagenzien (Amin·HF: Et<sub>3</sub>N·3HF, Et<sub>3</sub>N·5HF, Py·HF) an Doppelbindungen selektiv durchführen zu können.

## a) Chemoselektivität *vic/gem*-Fluorierungen



## b) Mechanismus



**Schema 8:** a) Chemoselektivität der galvanostatischen, indirekten Difluorierungsreaktion der Styrole **40** und **41** mit *p*-Iodtoluol (**17b**) als Mediator, b) Reaktionsmechanismus.

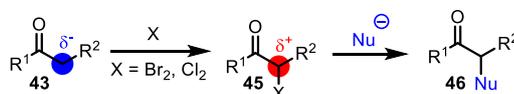
## 2.3. Asymmetrische $\alpha$ -Oxygenierungen von Ketonen mittels hypervalenter Iodane

Der enantioselektive Aufbau von C-C-Bindungen und C-X (X = N, O, S) in  $\alpha$ -Position von Ketonen **43** ermöglicht Zugang zu Strukturen, die in Naturprodukten, Pharmazeutika und Agrarchemikalien weit verbreitet sind.<sup>[90]</sup> Herkömmliche Methoden zur Herstellung solcher Bindungen beruhen auf der Kombination von Ketonen **43**, die aufgrund deren intrinsischer Polarität in der  $\alpha$ -Position eine kovalente Bindung mit Elektrophilen (E) eingehen (Schema 9a).

### a) Intrinsische Reaktivität von Ketonen **43** in $\alpha$ -Position

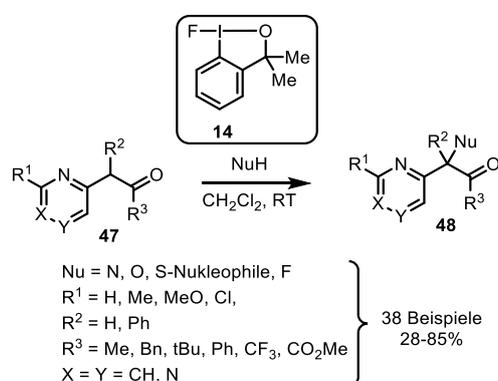


### b) Prinzip der Umpolung von Ketonen **43**



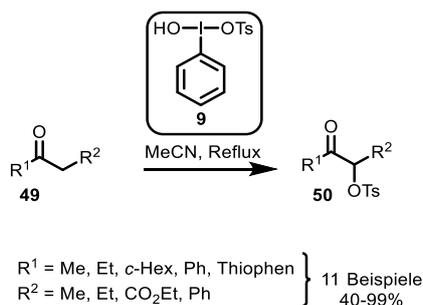
**Schema 9:** a) Reaktivität der  $\alpha$ -Position von Ketonen **43** mit Elektrophilen (E) aufgrund ihrer intrinsischer Polarität; b) Prinzip der Umpolung von Ketonen **43**.

Reaktionen mit heteroatomaren Elektrophilen erfordern dabei spezielle Reagenzien, bei denen das typischerweise nucleophile Heteroatom durch Änderung der Oxidationsstufe elektrophile Eigenschaften erhält. Die resultierenden Produkte erfordern in der Regel postsynthetische Umwandlungen, um die gewünschte Funktionalität der Endprodukte herzustellen. Eine Möglichkeit, diese Herausforderungen umzugehen bietet die von Corey und Seebach entwickelte Umpolungs-Methode, welche zuerst durch eine Umkehr der gewohnten Reaktivität des Acyl-Kohlenstoffs in Aldehyden beschrieben wurde und so deren Reaktion mit Elektrophilen ermöglichte, um einen Zugang zu 1,2-Diketonen und  $\alpha$ -Hydroxyketonen zu erhalten.<sup>[91]</sup> Im Fall der Ketone **43** wird die Umpolung meistens mittels  $\text{Br}_2$  und  $\text{Cl}_2$  in mehreren Reaktionsschritten erreicht. Zuerst reagiert das Halogenatom mit dem Keton **43** zum  $\alpha$ -substituierten Produkt **45**, welches dank der umgekehrten Polarität des  $\alpha$ -C-Atoms anschließend mit einem beliebigen Nukleophil (Nu) zum gewünschten  $\alpha$ -Nu-substituierten Produkt **46** führt (Nu = N, O, S, Schema 9b).<sup>[92]</sup> Eine von Gulder *et al.* 2020 präsentierte Methode zur oxidativen  $\alpha$ -Funktionalisierung von Pyridylketonen **47** durch externe Nucleophile nutzt dieses Prinzip und liefert mittels hypervalenten F-Iodans **17** die  $\alpha$ -funktionalisierte Verbindungen **48** in herausragenden Regioselektivitäten und guten Ausbeuten (Schema 10).<sup>[93]</sup>



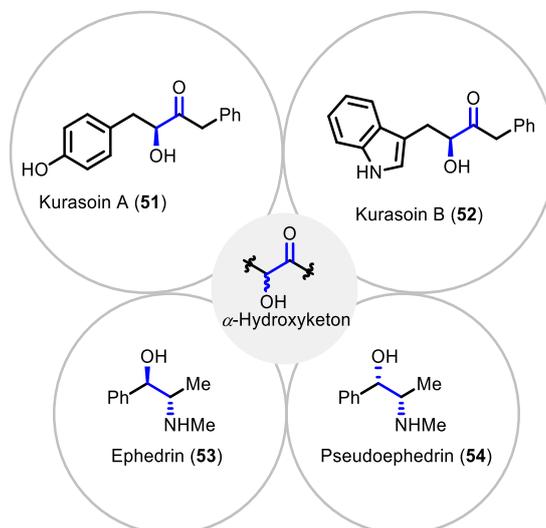
**Schema 10:** Oxidative Umpolung von Ketonen **47** mit Iodreagenz **14** nach Gulder *et al.*<sup>[93]</sup>

Eine der ersten bedeutsamen Umsetzungen von hypervalenten Iod-Reagenzien in  $\alpha$ -Oxygenierungsreaktionen von Carbonylverbindungen gelang der Gruppe um Koser *et al.* im Jahr 1982 mittels des Koser-Reagenzes **9** (Schema 11).<sup>[32]</sup> Bei dieser Umsetzung handelte es sich um eine Tosylierungsreaktion von Ketonen **49**, welche zu den  $\alpha$ -tosylierten Produkten **50** in hohen Ausbeuten führte.



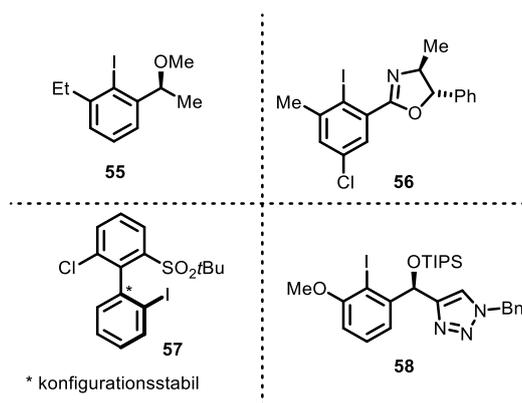
**Schema 11:**  $\alpha$ -Tosylierung von Ketonen **49** mittels Koser-Reagenz (**9**).

Die  $\alpha$ -tosylierten Ketone **50** stellen eine wichtige Gruppe als Synthesebausteine für diverse Wirkstoffe dar. Dies kann anhand von einigen chemischen Strukturen relevanter Arzneimittel demonstriert werden (Abbildung 7). Dazu gehören beispielsweise die Farnesyltransferase-Inhibitoren Kurasoin A und B (**51** und **52**)<sup>[94]</sup> und die Alkaloide Ephedrin (**53**) und Pseudoephedrin (**54**),<sup>[95]</sup> wobei deren Strukturen von der allgemeinen Formel der  $\alpha$ -Hydroxyketone abgeleitet werden können, weshalb deren asymmetrische Synthese eine noch wichtigere Rolle spielt.<sup>[96]</sup>



**Abbildung 7:** Chemische Strukturen ausgewählter Arzneimittel **51-54**, deren Strukturen von der allgemeinen Formel der  $\alpha$ -Hydroxyketone (zentrisch) abgeleitet werden können.

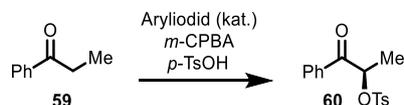
Dadurch war die Motivation zur Entwicklung asymmetrischer  $\alpha$ -Oxygenierungsreaktionen groß und so folgten diverse Protokolle unter Verwendung verschiedener Aryliodide **55-58**, um eine enantioselektive  $\alpha$ -Tosylierungsreaktion von Ketonen zu realisieren (Abbildung 8).<sup>[97]</sup>



**Abbildung 8:** Chemische Strukturen der Aryliodide **55-58**, die als Katalysatoren für enantioselektive  $\alpha$ -Tosylierungen von Propiophenon **59** dienen.

Der Durchbruch auf dem Gebiet gelang der Gruppe um Wirth, welche die erste asymmetrische  $\alpha$ -Tosylierung von Propiophenon (**59**) mittels katalytischer Mengen an Aryliodid **55** in hohen Ausbeuten und einem signifikanten Enantiomerenüberschuss (*ee*) von 25% etablieren konnte (Tabelle 2, Eintrag 1).<sup>[97a]</sup>

**Tabelle 2:** Entwicklung der asymmetrischen  $\alpha$ -Tosylierungen von Propiophenon (**59**) mittels hypervalenter Iod-Chemie.

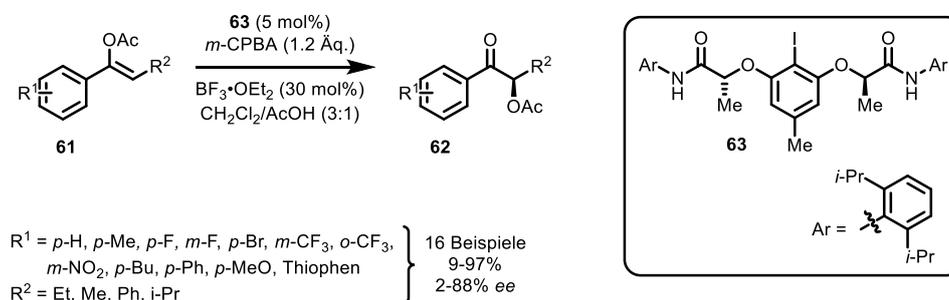


Eintrag	Aryliodid (mol%)	Ausbeute [%]	<i>ee</i> [%]
1 <sup>[97a]</sup>	<b>55</b> (10)	78	25
2 <sup>[97c]</sup>	<b>56</b> (10)	80	48
3 <sup>[97b]</sup>	<b>57</b> (10)	75	67
4 <sup>[97d]</sup>	<b>58</b> (10)	90	88

Später gelang Legault *et al.* eine Steigerung der Enantioselektivität auf 48% unter Verwendung des Aryliodids **56**. Dessen Struktur kann von der Gruppe der Iodaryloxazoline abgeleitet werden (Eintrag 2).<sup>[97c]</sup> Eine bedeutsame Verbesserung der Enantioselektivität gelang schließlich durch Anwendung des C2-asymmetrischen Aryliodids **57** und führte zu einem *ee*-Wert von 67% (Eintrag 3).<sup>[97b]</sup> Der höchste *ee*-Wert von 88% konnte anschließend durch die Gruppe um Nachtsheim erreicht werden (Eintrag 4).<sup>[97d]</sup> Hierfür wurde als Katalysator das Triazol-substituierte Aryliodid **58** verwendet. Die Reaktionen wurden mit Einsatz von

katalytischen Mengen der Aryliodide und mit Zusatz von stöchiometrischen Mengen an *m*-CPBA als Oxidationsmittel durchgeführt, um die  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-Katalyse zu ermöglichen. Als Quelle für das nukleophile Tosylat wurde *p*-Toluolsulfonsäure verwendet.

Obwohl die  $\alpha$ -Tosylierungsreaktion eine der meist erforschten  $\alpha$ -Oxygenierungsreaktionen von Ketonen mittels  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-Katalyse darstellt, sind  $\alpha$ -Acetoxylierungen bereits früher beschrieben worden. Die Gruppe um Imamura beschrieb bereits 1978 zum ersten Mal eine  $\alpha$ -Acetoxylierung von substituierten Acetophenonen und  $\beta$ -Diketonen mittels Phenylididdiacetat und Schwefelsäure.<sup>[98]</sup> Miyamoto *et al.* fand später heraus, dass diese Reaktion auch katalytisch erfolgen kann.<sup>[99]</sup> Nach langer Zeit ohne Fortschritte auf diesem Gebiet gelang es schließlich der Gruppe um Wirth mittels katalytischer Mengen (5 mol%) an Aryliodid **63** in 16 Fällen eine asymmetrische  $\alpha$ -Acetoxylierung von **61** zu enantiomerangereicherten Verbindungen **62** zu erreichen (Schema 12).<sup>[100]</sup> Im Gegensatz zu den asymmetrischen  $\alpha$ -Tosylierungen von Nachtsheim<sup>[97d]</sup> wurden hierbei statt einfachen Ketonen die acetylierten Enoether **61** als Substrate eingesetzt, um die Enantioselektivität zusätzlich zu erhöhen.



**Schema 12:** Enantioselektive  $\alpha$ -Acetoxylierung der Enoether **61**.

Die Herausforderungen dieser Umsetzungen werden unter Betrachtung des komplexen Reaktionsmechanismus deutlich (Abbildung 9). Hierbei erfolgt die Bildung der hypervalenten Spezies **65** *in-situ* unter Verwendung stöchiometrischer Mengen an *m*-CPBA als Oxidationsmittel sowie Essigsäure als Quelle für das nukleophile Acetat. Unterstützt wird die Reaktion durch Zugabe von Bortrifluorid, einer Lewis-Säure, deren Funktion die Aktivierung der hypervalenten Iod-Spezies **65** ist. Durch diese Aktivierung wird die Reaktion mit Edukt **61** ermöglicht, wobei eine Bindung zwischen dem Iod- und dem  $\alpha$ -C-Atom von **66** entsteht. Dieser Schritt ist für die hohe Enantioselektivität ausschlaggebend, da dank der kurzen Distanz

zwischen dem Stereozentrum des chiralen Aryliodids **64** und dem  $\alpha$ -C-Atom des Substrats **61** eine Stereokontrolle erzeugt werden kann. Das gebildete Intermediat **66** reagiert anschließend in einer  $S_N2$  Reaktion unter Retention des gebildeten Stereozentrum zum Produkt **62** und Aryliodid **64**.

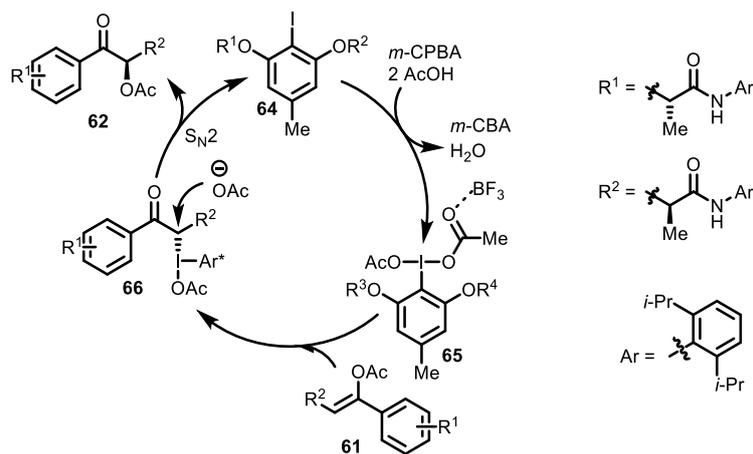
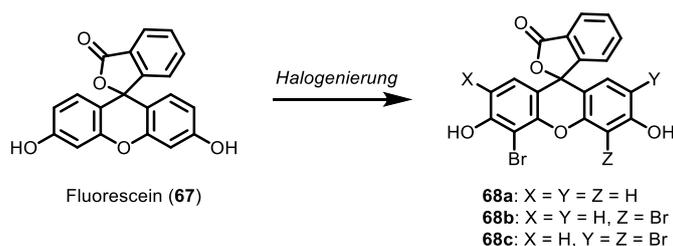


Abbildung 9: Vorgeschlagener Mechanismus für die Iod-katalysierte  $\alpha$ -Acetoxylierung von Enolaten **61** nach Wirth *et al.*<sup>[100]</sup>

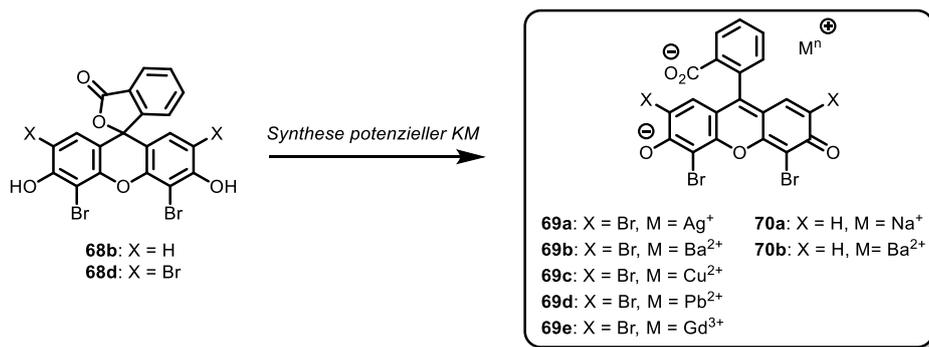
### 3. Motivation und Zielsetzung

Mit der  $\mu$ CT-Methode ist es möglich, *ex-vivo* Untersuchungen kleiner Weichgewebeprobe durchzuführen, sodass deren Morphologie vergleichbar gut mit der klassischen Histologie dargestellt werden kann.<sup>[75]</sup> Der Versuchsaufbau von Busse *et al.*<sup>[75]</sup> soll als Modellaufbau für diesen Teil der vorliegenden Doktorarbeit dienen, wobei der Fokus auf der Erforschung neuer KM liegen soll. Xanthenfarbstoffe, wie das Eosin Y (**4**) sind in der Histologie bereits weit verbreitet. Sie werden beispielsweise zum spezifischen Färben von Blutzellen, Proteinen und Zellkernen verwendet und gelten in der Histologie als Färbepreparate der Wahl.<sup>[101]</sup> Aufgrund der hohen Massenanteile an Brom von 42% besitzt Eosin Y (**4**) ideale Voraussetzungen, um als KM für  $\mu$ CT-Analysen von Weichgewebeprobe zu dienen. Der Grund hierfür ist die signifikante Erhöhung des Röntgenabsorptionskoeffizienten  $\mu$ , welcher direkt proportional zur hohen Atomzahl des Broms ist (Gleichung 1). Die in Hinblick auf die Hauptbestandteile ( $Z_H = 1$ ,  $Z_C = 6$ ,  $Z_N = 7$ ,  $Z_O = 8$ ,  $Z_S = 16$ ) des biologischen Weichgewebes vergleichsweise hohe Atomzahl des Broms ( $Z_{Br} = 35$ ) erhöht die Absorption der Röntgenstrahlung und somit den gegebenen CT-Kontrast innerhalb der gefärbten Probe deutlich. Auf der HU-Skala werden somit Unterschiede zwischen der untersuchten Gewebeprobe und der Umgebung von deutlich mehr als 30 HU erzielt (Tabelle 1). Allerdings erhöht die hohe Anzahl der Halogenatome die Lipophilie eines organischen Moleküls und senkt somit dessen Wasserlöslichkeit, wodurch eine homogene Färbung einer Probe und somit eine artefaktenfreie CT-Analyse kaum möglich ist, da die Qualität des erzielten Kontrastes nicht ausreichend ist.<sup>[75, 102]</sup> Hierzu sollten im Rahmen dieser Arbeit ausgehend von Fluorescein **67** die mono-, di- und tribromierte-Xanthenfarbstoffe **68a-68b** synthetisiert und charakterisiert werden (Schema 13a). Im weiteren Schritt sollten die di- und tetrabromierten Schwermetallkomplexe **69a-69e**, **70a** und **70b** (Ag, Ba, Cu, Gd, Pb) synthetisiert und charakterisiert werden (Schema 13b). Die Verwendung von Schwermetallen soll eine zusätzliche Erhöhung der Röntgenabsorption garantieren. Außerdem soll die Wasserlöslichkeit der neuen Farbstoffe untersucht und optimiert werden, um effiziente Färbeprotokolle entwickeln zu können. Mittels Bestimmung der Wasser-*n*-Octanol-Verteilungskoeffizienten ( $\log P$ ) soll zusätzlich die Lipophilie der synthetisierten Verbindungen bestimmt und mit den kommerziellen Färbereagenzien verglichen werden.

## a) Synthese von Mono-, Di-, Tribromfluorescein 68a-68c



## b) Synthese von Schwermetallkomplexen 69a-69e, 70a und 70b



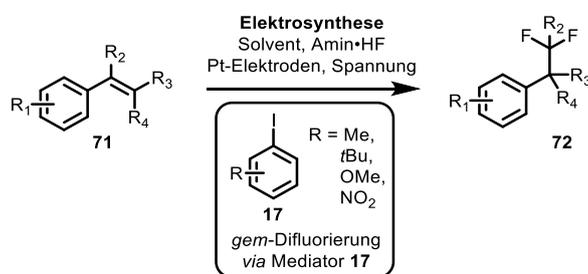
**Schema 13:** a) Halogenierung von Fluorescein **67** zu den entsprechenden mono-, di-, tri- und tetrabromierten Derivaten **68a-68c**; b) geplante Synthese potenzieller KM **69a-69e**, **70a** und **70b**, die im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert, charakterisiert und als KM zur Untersuchung von Truthahnier- und Truthahnleberfragmenten mittels  $\mu$ CT getestet werden sollen.

Zusammenfassend ergeben sich für diesen Teil der Doktorarbeit folgende Ziele:

- Synthese, Isolierung und Charakterisierung der neuen Xanthenfarbstoffe **68a-68c** sowie der Schwermetallkomplexe **69a-69e**, **70a** und **70b**,
- Bestimmung der physikochemischen Parameter, z.B. der Hydrophilie der neuen Verbindungen **68a-68c** in Hinblick auf den Halogenierungsgrad,
- $\mu$ CT-Untersuchungen von Modellproben in Form von Leber- und Nierengewebe mit Verbindungen **69a-69e**, **70a** und **70b** als *ex-vivo* KM.

Der zweite Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Erforschung und der Entwicklung neuer Verfahren zu elektrochemischen  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktionen von unterschiedlich substituierten Styrolen **71** (Schema 14). Trotz des großen Fortschrittes und somit stets wachsender Anzahl an neuen und robusten elektrochemischen Fluorierungsmethoden existieren immer noch Limitierungen, weshalb weitere Optimierungen notwendig sind. Einige Probleme beziehen sich auf die Wahl des richtigen Mediators, welcher für die Durchführung der gewünschten Reaktion ausschlaggebend ist. Im Idealfall sollten die Oxidationspotentiale der Substrate deutlich höher als die der Mediatoren liegen, um einerseits

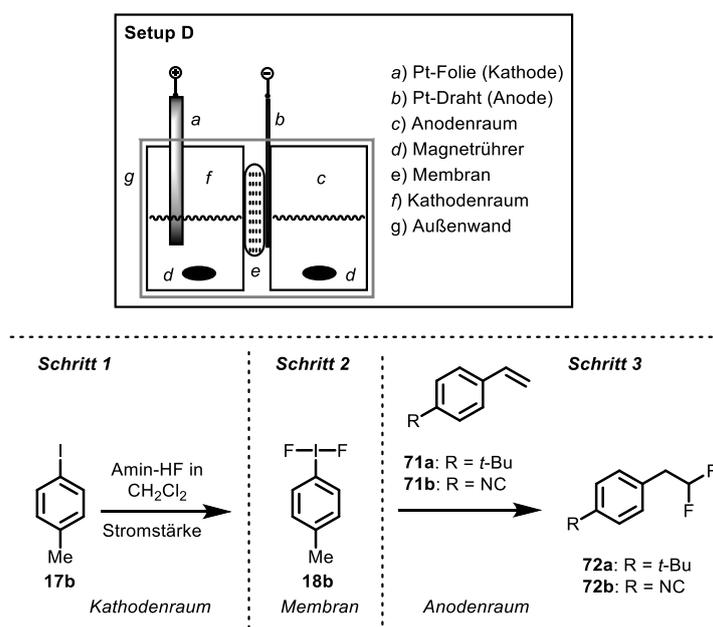
eine effiziente Generierung der  $\lambda^3$ -*F*-Iodane zu gewährleisten und zum anderen unerwünschte Redoxreaktionen zu vermeiden. Weitere Herausforderungen entstehen in Verbindung mit der Verwendung ionischer Flüssigkeiten auf Basis von Amin·HF-Verbindungen (Amin·HF: Et<sub>3</sub>N·3HF, Et<sub>3</sub>N·5HF, Py·HF) als Elektrolyte und Reagenzien, weil diese durch ihre hohe Reaktivität und sehr hohe Toxizität eine erschwerte Handhabung aufweisen. Ein allgemeiner Nachteil dieses Verfahrens besteht in der niedrigen Toleranz für leicht oxidierbare Substrate, welche den stark oxidativen und harschen Reaktionsbedingungen sowie der Verwendung elektrischer Spannung zwischen zwei Elektroden (Kathode und Anode) ausgesetzt sind. In diesem Teil der Arbeit sollen im Rahmen eines Gemeinschaftsprojektes<sup>[103]</sup> im Arbeitskreis von Prof. T. Gulder Optimierungen der elektrochemischen *gem*-Difluorierung von Styrolen **71** vorgenommen werden, wobei die Ergebnisse aus der Dissertation von C. Brunner als Grundlage für die Optimierungsversuche dienen sollen.<sup>[104]</sup> Das Ziel ist es, die optimalen Bedingungen für die selektive Umsetzung der unterschiedlich substituierten Styrole **71** zu *gem*-difluorierten Produkten **72** in elektrochemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktionen mit verschiedenen Iodbenzolderivaten **17** als Mediatoren zu eruieren (Schema 14). Dies soll anhand der Optimierung folgender Parameter erfolgen: i) Stromstärke, ii) Amin·HF-Quelle (Et<sub>3</sub>N·3HF, Py·HF und Et<sub>3</sub>N/Py·HF-Mischungen), iii) Lösungsmittel.



**Schema 14:** Geplante elektrochemische  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelte Fluorierungsreaktion von Styrolen **71** zu *gem*-Produkten **72**.<sup>[103]</sup>

Da die Arbeitsgruppe von Prof. T. Gulder aktiv an der Erforschung neuer elektrochemischer Prozesse beteiligt ist und das technische Knowhow verbunden mit dem aktuellen Kenntnisstand besitzt, entstand die Idee auch das Methodenspektrum der elektrochemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktionen von Styrolen **71** durch das Prinzip der geteilten Zelle zu erweitern. Das Ziel ist es dabei, eine moderne geteilte Zelle mit einer Membran aus oxidationsbeständigen Werkstoffen zu konstruieren, um die räumliche Trennung zu gewährleisten und so eine hohe Selektivität der *gem*-Difluorierungsreaktion auch bei oxidationsinstabilen Substraten zu erreichen. Eine schematische Darstellung des für diese

Doktorarbeit geplanten Setups D für die Fluorierungsreaktion der Modellsubstrate **71a** und **71b** ist in Abbildung 10 dargestellt. Dabei soll das Setup D aus drei Hauptelementen bestehen: i) Anodenraum, ii) Kathodenraum und iii) Membran. Die Reaktionsräume sowie alle verwendeten Bauteile müssen dabei aus säure- und oxidationsbeständigen Werkstoffen bestehen. Zusammenfassend soll eine optimale Membran für eine geteilte elektrochemische Zelle folgende Eigenschaften aufweisen: i) einfacher Ionentransport, um eine ausreichende Leitfähigkeit zu erreichen, ii) geringer Lösungsmittelaustausch sowie Undurchlässigkeit für ungeladene Moleküle, um Verdünnungen zwischen Kathoden- und Anodenraum zu vermeiden.



**Abbildung 10:** Schematische Darstellung des für diese Arbeit geplanten geteilten Setup D (oben) und die geplante Fluorierungsreaktion der Styrole **71a** und **71b** (unten).

Die gesamte Fluorierungsreaktion der Modellsubstrate **71a** und **71b**, die im Setup D realisiert werden soll, läuft schrittweise ab und startet mit der elektrochemischen Oxidation des Mediators **17b** auf der Membran (Schritt 1) mittels eines Pt-Drahts zum  $\lambda^3$ -F-Iodan **18b**, welches anschließend durch die Membran in den Kathodenraum gelangt (Schritt 2), wo es mit Styrolen **71a** und **71b** reagiert (Schritt 3). Die gewünschten Produkte **72a** und **72b** befinden sich nach beendeter Reaktion im Kathodenraum, wodurch sie zusätzlich vor weiteren Reaktionen an der Anode geschützt werden.

Zusammenfassend ergeben sich für diesen Teil der Doktorarbeit folgende Ziele:

- Optimierung der Reaktionsbedingungen bei elektrochemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten *gem*-Difluorierungen von Styrolen **71a** und **71b** unter galvanostatischen Bedingungen in ungeteiltem Setup C mittels galvanostatischer Versuche in Amin·HF-Lösungen (Amin·HF: Et<sub>3</sub>N·3HF, Et<sub>3</sub>N·5HF, Py·9HF) als Elektrolyt und HF-Quelle,
- Erweiterung des Methodenspektrums durch Entwicklung eines neuen Setups für galvanostatische  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelte Fluorierungsreaktionen, wobei der Kathoden- und Anodenraum durch eine für das  $\lambda^3$ -*F*-Iodan **18b** durchlässige Membran getrennt sind,
- Entwicklung eines elektrochemischen Verfahrens für selektive Difluorierungen der unterschiedlich substituierten Styrole **71a** und **71b** mittels Mediator **17b** im geteilten Setup D.

## II. Ergebnisse und Diskussion

### 1. Entwicklung neuer Kontrastmittel für zerstörungsfreie 3D $\mu$ -CT von Weichgewebe

M. Busse,\* J. P. Marcinişzyn,\* S. Ferstl, M. A. Kimm, F. Pfeiffer, T. Gulder; 3D-Non-destructive Imaging through Heavy-Metal Eosin Salt Contrast Agents; *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 4561-4566.<sup>[105]</sup>

Da zuverlässige  $\mu$ CT-Analysen von biologischem Weichgewebe meist nur unter Verwendung von KM möglich sind,<sup>[62]</sup> so kann  $\mu$ CT im Medizinbereich nur zu routinemäßigen Untersuchungen von Implantaten<sup>[59]</sup> sowie Knochen-<sup>[60]</sup> und Knorpelgewebe<sup>[61]</sup> herangezogen werden. Durch diese Limitierung steigt das Interesse an der Entwicklung neuer KM, welche zerstörungsfreie und hochwertige 3D Informationen von biologischen Weichgewebeproben mittels  $\mu$ CT-Analysen liefern. Der Durchbruch bei der Verwendung von Xanthenfarbstoffen als KM für  $\mu$ CT gelang Busse *et al.* 2018, wobei das kommerziell erhältliche Eosin Y (**4**) verwendet wurde, um einen ausreichenden Kontrast zu erzielen.<sup>[75]</sup> Die Limitierung dieser Methode lag in der Verwendung hoher Eosin-Y (**4**) Konzentrationen ( $c = 300 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), wobei es sich hier um die maximale Wasserlöslichkeit des Farbstoffes **4** handelt. Somit war eine beliebige Steigerung des Kontrastes bei CT-Untersuchungen ausgeschlossen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde dazu ein neues Färbeprotokoll mit Dibromfluorescein-Barium-Salz **70b** als KM entwickelt und erfolgreich zur Untersuchung von Leber- und Nierengewebe angewandt. Dank der verbesserten Wasserlöslichkeit des neuen Farbstoffes **70b** war dieser als KM für  $\mu$ CT bereits in deutlich niedrigeren Konzentrationen ( $c = 45 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) effizienter als Eosin Y (**4**). Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Syntheseprotokoll zur Bromierung von Fluorescein **67** erlaubte außerdem eine einfache und selektive Herstellung von mono- di-, tribromierten Fluoresceinderivaten **68a-68c** mittels *N*-Bromsuccinimid (NBS) in guten Ausbeuten (31-63%) und hoher Reinheit. Eine anschließende Behandlung von Di- und Tetrabromfluoresceinderivate **68b** und **68d** mit entsprechenden Metallhydroxiden oder Metallacetaten liefert Metallkomplexe **69a-69e**, **70da** und **70b** als potenzielle KM für Weichgewebe, von den sich das Dibromfluorescein-Bariumsalz **70b** als am effektivsten als Färbemittel zur diagnostischen Untersuchung von Weichgewebeproben mittels  $\mu$ CT-Analyse erwies. Darüber hinaus ist das mittels Dibromfluorescein-Bariumsalz **70b** entwickelte Färbeprotokoll kompatibel mit der histologischen Hämatoxylin-Eosin-Färbung und somit geeignet als ergänzendes Färbemittel zu den klassischen histologischen Färbemethoden.

## Organic Chemistry

# 3D-Non-destructive Imaging through Heavy-Metal Eosin Salt Contrast Agents

Madleen Busse,<sup>\*,[a]</sup> Jaroslaw P. Marcinişzyn,<sup>\*,[b]</sup> Simone Ferstl,<sup>[a]</sup> Melanie A. Kimm,<sup>[c]</sup>  
 Franz Pfeiffer,<sup>[a, c]</sup> and Tanja Gulder,<sup>\*,[b, d]</sup>

**Abstract:** Conventional histology is a destructive technique based on the evaluation of 2D slices of a 3D biopsy. By using 3D X-ray histology these obstacles can be overcome, but their application is still restricted due to the inherently low attenuation properties of soft tissue. In order to solve this problem, the tissue can be stained before X-ray computed tomography imaging (CT) to enhance the soft tissue X-ray contrast. Evaluation of brominated fluorescein salts revealed a mutual influence of the number of bromine atoms and the cations applied on the achieved contrast enhancement. The dibromo fluorescein barium salt turned out to be the ideal X-ray contrast agent, allowing for 3D imaging and subsequent complementing counterstaining applying standard histological techniques.

Medical diagnosis providing microscopic information on (sub-)cellular level is currently realized through conventional 2D histopathology, which is mainly based on light microscopy techniques. In combination with a large diversity of dyes and stain-

ing methods that have been developed over time various specific biological structures can be individually targeted. However, the current techniques are limited to the staining of only thin (2–20 µm) 2D microscopic slides that originate from a 3D biopsy sample. As the demand to extend biological and medical investigations to three dimensions has grown significantly over the last decade, several approaches for 3D imaging have been developed.<sup>[1]</sup> Beyond serial-sectioning based approaches, these imaging methods include confocal and light sheet laser-scanning microscopy<sup>[2]</sup> and block-face imaging (episcopic microscopy).<sup>[3,4]</sup> Even though these methods have improved considerably over the years, they still require salt correction and registration steps, and the resulting reconstructions are often incomplete or do not represent the 3D structure of the imaged sample in a reliable way.

To overcome these limitations, X-ray microscopic computed tomography (µCT)<sup>[5]</sup> and nanoscopic CT (nanoCT)<sup>[5a,6]</sup> imaging have proven to provide valuable 3D information of biological samples in a fast, convenient, and non-destructive way (Figure 1 A). Here, non-destructive refers to the ability of X-ray CT to investigate biological samples using a multiscale approach ranging from whole organisms over whole organs to pieces of organs of animals without the need to embed or destruct the biological material. As a result, a 3D data set is received, which allows for virtually extracting any desired slice under any arbitrary angle throughout the entire volume (as an example see the video in the Supporting Information).

X-ray CT devices can be found at large synchrotron facilities<sup>[7]</sup> but also in a laboratory environment<sup>[6b, d, e, 8]</sup> capable of providing resolutions comparable to conventional 2D histology. Because of the intrinsically low attenuation properties of soft tissue at hard X-ray energies, the use of stains bearing high atomic number elements is inevitable in order to reach sufficient contrast (Figure 1 B, C). Nonetheless, there is currently very limited availability of easy-to-handle X-ray staining agents that are (i) speedily penetrating the tissue without creating artefacts, (ii) targeting a specific biological morphology by staining the probe homogeneously and completely, and (iii) at the same time suitable for large and dense tissue samples. In addition, staining procedures need to be introduced that are fully compatible with standard histology and thus allow further investigations of the region of interest (ROI) by the histologist, if necessary. First attempts to develop such dyes as X-ray contrast agents included modifications of elemental iodine I<sub>2</sub> for whole organ morphology<sup>[9]</sup> and eosin Y disodium salt (**2a**) to target specifically the cell cytoplasm.<sup>[5a,6d]</sup> Eosin Y is a versatile,

[a] Dr. M. Busse,<sup>\*</sup> S. Ferstl, Prof. Dr. F. Pfeiffer  
 Department of Physics and Munich School of BioEngineering  
 Technical University Munich  
 85748 Garching (Germany)  
 E-mail: madleen.busse@tum.de

[b] J. P. Marcinişzyn,<sup>\*</sup> Prof. Dr. T. Gulder  
 Department of Chemistry and Catalysis Research Center (CRC)  
 Technical University Munich  
 85748 Garching (Germany)

[c] M. A. Kimm, Prof. Dr. F. Pfeiffer  
 Department of Diagnostic and Interventional Radiology  
 Klinikum Rechts der Isar  
 Technical University Munich  
 81675 Munich (Germany)

[d] Prof. Dr. T. Gulder  
 Institute of Organic Chemistry  
 Leipzig University  
 04103 Leipzig (Germany)  
 E-mail: tanja.gulder@uni-leipzig.de

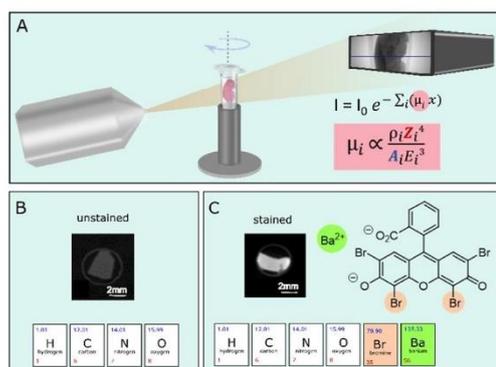
[\*] These authors contributed equally to this work.

 Supporting information and the ORCID identification number(s) for the author(s) of this article can be found under:  
 <https://doi.org/10.1002/chem.202005203>.

 © 2020 The Authors. Published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

Reprinted with permission from M. Busse, J. P. Marcinişzyn, S. Ferstl, M. A. Kimm, F. Pfeiffer, T. Gulder; 3D-Non-destructive Imaging through Heavy-Metal Eosin Salt Contrast Agents; *Chem. Eur. J.* 2021, 27, 4561–4566. Copyright 2021 John Wiley and Sons.

<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chem.202005203>



**Figure 1.** (A) Schematic representation of a  $\mu$ CT setup showing the X-ray source on the left and the detector on the right. In the middle is a rotation stage holding the soft-tissue sample. The Lambert-Beer law describes the reduction of the X-ray intensity by passing through a material. Here the linear absorption coefficient  $\mu_i$ , which is unique for each material, is directly proportional to the atomic number  $Z$  to the power of 4.<sup>[12]</sup> (B) Unstained soft tissue is mainly made of hydrogen (H), carbon (C), oxygen (O), and nitrogen atoms (N), which consist of low atomic numbers resulting in an inherent low contrast for soft tissue seen on the CT slice. (C) Stained tissue on the other hand has accumulated contrast agent that holds elements of high atomic number  $Z$  (see stained CT slice). The contrast agent used here was dibromo fluorescein **9c** (see chemical structure) holding two bromine atoms ( $Z_{\text{Br}} = 35$ , highlighted in apricot) and a barium atom ( $Z_{\text{Ba}} = 56$ , highlighted in green).

non-toxic compound<sup>[10,11]</sup> and readily available as the disodium salt **2a** (Scheme 1), but its contrast enhancement is limited despite the four covalently bound bromine atoms ( $Z = 35$ ). Best results for soft-tissue visualization employing **2a** are achieved only by using very high concentrations of **2a** (30% w/v) and cannot be further enhanced because of its limited water solubility (300 mg mL<sup>-1</sup>).<sup>[5a]</sup>

Based on recent reports on **2a** as contrast agent for  $\mu$ CT,<sup>[5a,6d,e]</sup> we investigated the possibility to further improve



**Scheme 1.** A) Synthesis of eosin Y salts **2** and B) macroscopic investigations of stained tissue. The tissue samples were pre-treated with a 4% formaldehyde solution and 0.5 mL glacial acetic acid. Staining was performed using a 31.9 mM aq. solution of eosin Y salt **2a** or **2c–2e**. For each condition, an individual number of three turkey liver pieces ( $\approx 27$  mm<sup>2</sup>) was stained to ensure reproducibility; one of these pieces was investigated macroscopically.

the contrast within the soft tissue by using heavy-metal eosin Y salts **2b–2f**. Because of the high  $Z$  value of heavy metals (Figure 1C), their implementation should allow to lower the concentration of contrast agent needed to reach a suitable contrast enhancement comparable to that of **2a**. As water solubility might be impaired by the involvement of heavy metal atoms, we furthermore investigated the influence of the bromine atoms at the fluorescein core in **2** in response to solubility in aqueous media, tissue penetration, staining properties, and contrast enhancement, in order to implement a new “gold standard” for  $\mu$ CT of biopsy samples.

The heavy metal-eosin Y salts **2b–2f** were synthesized by treating the lactone form of eosin Y (**1**) with the corresponding metal hydroxide and metal acetate, respectively (Scheme 1A and Supporting Information, chapter 2). The salts **2b–2f** were obtained as homogenous solids after recrystallization in 12–51% yield.

In a preliminary solubility study, all eosin Y salts **2b–2f** showed a significantly lowered maximum concentration in water when compared to the disodium compound **2a** (see the Supporting Information, chapter 4). The Ag<sup>I</sup> salt **2b** as well as the Gd<sup>III</sup> salt **2f** did not meet the sensitivity threshold needed for  $\mu$ CT measurements ( $< 10$  mg mL<sup>-1</sup>) and were thus not further investigated. The other compounds **2c–2e** were then studied with regard to their staining properties.

The use of X-ray contrast agents to stain *ex vivo* biological samples often suffers from a spatially and temporally anisotropic stain penetration into soft tissue, leading to an artificial contrast gradient between the surface and the sample core. We thus chose turkey liver samples as soft tissue test pieces for staining as liver tissue is one of the densest soft tissues present in both birds and mammals. If the liver tissue can be completely and homogeneously stained within a reasonable time frame the dye should be capable of successfully staining other tissue types as well. Cuboidal turkey liver pieces of approximately 3 mm edge length were therefore treated in triplicates with 31.9 mM aqueous solutions of each dye **2c–2e**, whereby the maximum water solubility of the barium-eosin Y salt (**2c**) was used as the concentration of the staining agents. Macroscopic investigations showed the best results using the Ba<sup>II</sup> eosin Y salt **2c** with respect to uniform staining. In addition, no physical deformation of the tissue cubes, such as shrinking, was visible. An inhomogeneous and incomplete staining was observed for the samples treated with the Cu<sup>II</sup> **2d** and Pb<sup>II</sup> salts **2e**<sup>[13]</sup> even after an incubation time of 144 h (see Scheme 1B and Supporting Information, chapter 8). To allow for an X-ray contrast agent to enhance the soft-tissue contrast, the standard histological staining protocol had to be tailored towards X-ray  $\mu$ CT by means of pH adjustment of the tissue prior to staining, increasing the incubation times and the concentration of the contrast agent. As such acidification of the tissue sample prior to staining turned out to be crucial for **2a** and **2c**. The enhanced accumulation of both **2a** and **2c** in the cell cytoplasm can be explained by increased ionic interactions between the contrast agent and basic protein residues that are protonated at acidic pH values.<sup>[5a]</sup> Under these conditions, a macroscopically complete and homogeneous staining for the

barium-eosin Y salt (**2c**) was achieved after incubation of the tissue for 72 h, while the tissue samples treated with **2a** suffered from inhomogeneities (see the Supporting Information, chapter 8).

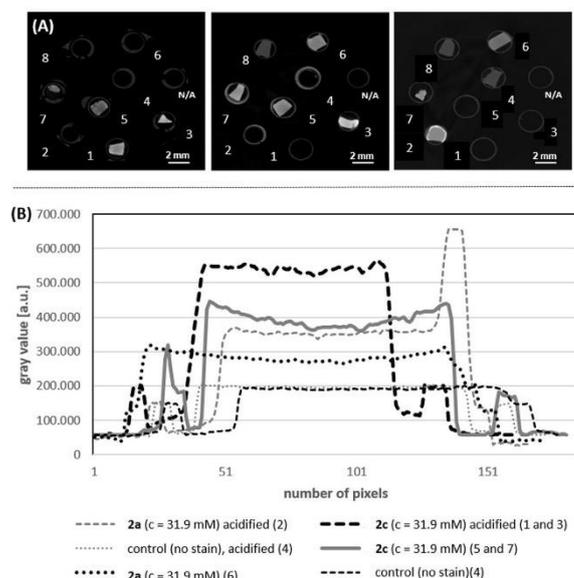
In order to study the contrast enhancement of the barium-eosin Y salt (**2c**) in comparison to the eosin Y disodium salt (**2a**) in more detail, CT measurements at a  $\mu$ CT system were performed for the tissue samples incubated for 72 h under different conditions. The obtained  $\mu$ CT data were analyzed and evaluated for (i) completeness of staining, (ii) presence of diffusion rings, (iii) contrast enhancement, (iv) appearance of CT artifacts as streaks, and (v) homogeneity of the staining.

The barium-eosin Y-treated samples (1 and 3), which have been acidified during fixation, offered a complete and homogeneous staining of the soft-tissue samples, as indicated by the CT slices (Figure 2A) and the constant plateau seen in the line plot (Figure 2B). This result clearly confirms the macroscopic observations (see Scheme 1B and Supporting Information, chapter 8) and shows the reliability and reproducibility of the staining method using **2c** as the dye. In addition, these probes (**2c**, acidified) displayed a significantly higher gray value (Figure 2B) when compared to the equimolar eosin Y disodium-stained samples 2 and 6 and the non-acidified

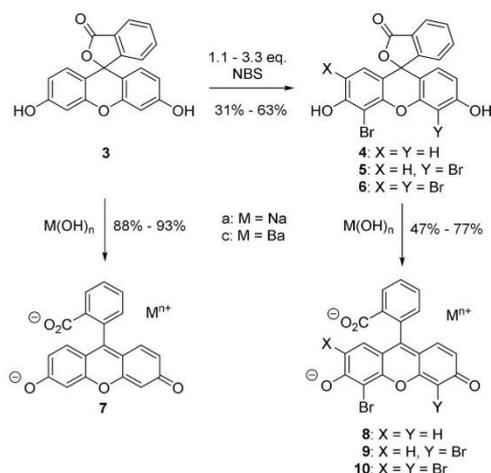
barium-eosin Y samples 5 and 7. As the gray values represent a measure for contrast enhancement (the higher the gray value the better the attenuation contrast), this refers to a significantly increased contrast of the acidified liver samples stained with **2c** compared to **2a** and thus demonstrates the impact of the heavy metal cation. This effect, however, was only observed for the barium-eosin Y salt **2c** while other Ba salts containing low atomic number elements, such as  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  or  $\text{Ba}(\text{OAc})_2$ , failed as specific staining agents. These negative control experiments show nicely the mutual influence of the organic anion eosinate Y and the heavy-metal barium cation for cytoplasm interaction and contrast enhancement. Besides this, the variations in the line plots of the acidified eosin Y disodium samples (2 and 6) as well as the non-acidified barium-eosin Y samples (5 and 7) seen at the beginning or end of the plateau, clearly indicate the formation of a diffusion ring, indicative of an incomplete and inhomogeneous staining of the soft tissue sample.

Encouraged by the results obtained above using the barium eosin Y staining agent (**2c**), we further explored a possible contrast enhancement by raising the water solubility of the barium eosinates. We thus developed a directed synthesis to selectively brominate the xanthene core in **3** to obtain the mono-, di-, and tri-brominated fluorescein derivatives **4–6** (Scheme 2). Treatment of **3–6** with NaOH or  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  afforded after recrystallization the corresponding sodium and barium salts **2** and **7–10**. To get a first hint at the hydrophilicity of these compounds, we determined the logP values of the lactones **1** and **3–6** as well as of the acid salts **2**, **7**, and **9** (Supporting Information, chapter 3). Here, an explicit correlation of the number of Br atoms and the partition coefficient was revealed, in particular for the barium fluoresceins **2c** and **7c–10c**.

Because of the significantly lowered lipophilicity of the dibromo barium fluoresceinate **9c** in comparison to the eosin Y salt **2c** in combination with its straightforward synthesis, the dibromo fluorescein **9c** was evaluated in more detail. In a second staining experiment the influence of the halogenation degree on the fluorescein core was studied with respect to contrast enhancement using  $\mu$ CT. Since the first staining experiment proved already a better performance of the barium-eosin Y salt (**2c**) compared to the eosin Y disodium salt (**2a**), we decided to exclude **2a** from the current study. In line with the results described for **2c** before (see Figure 2), the soft-tissue samples being acidified during fixation or prior to staining with **2c** and **9c**, respectively, displayed a better contrast enhancement compared to the non-acidified samples (for details see the Supporting Information, chapter 10). The dibromo barium fluorescein derivative (**9c**) performed better than **2c** when the maximum concentration of each compound in water was applied ( $c = 45 \text{ mg mL}^{-1}$  [ $c = 72.0 \text{ mM}$ ] for **9c**;  $c = 25 \text{ mg mL}^{-1}$  [ $c = 31.9 \text{ mM}$ ] for **2c**) offering a homogeneous staining of the



**Figure 2.** (A) Representative  $\mu$ CT slices of the equimolar stained turkey liver pieces (incubation time 72 h) and (B) the corresponding line plots. 1: **2c** ( $c = 31.9 \text{ mM}$ ), acidified; 2: **2a** ( $c = 31.9 \text{ mM}$ ), acidified; 3: **2c** ( $c = 31.9 \text{ mM}$ ), acidified; 4: control sample (no staining agent was applied), acidified; 5: **2c** ( $c = 31.9 \text{ mM}$ ); 6: **2a** ( $c = 31.9 \text{ mM}$ ); 7: **2c** ( $c = 31.9 \text{ mM}$ ); 8: control sample (no staining agent was applied). Parameters of the  $\mu$ CT setup (V|tome|x, Phönix X-ray/ GE) used for the measurement:  $U = 50 \text{ kV}$ ;  $I = 110 \text{ }\mu\text{A}$ ; exposure time: 2 s; pixel size:  $40 \text{ }\mu\text{m}$ . The  $\mu$ CT slices were chosen so that all investigated samples are visible as they are mounted in different positions within the sample holder. The gray values were normalized to the sample holder, which was the same for all stained samples (0.5 mL Eppendorf tube).



**Scheme 2.** Selective bromination of fluorescein (**3**) and preparation of the corresponding sodium **7a–10a** and barium salts **7c–10c**.

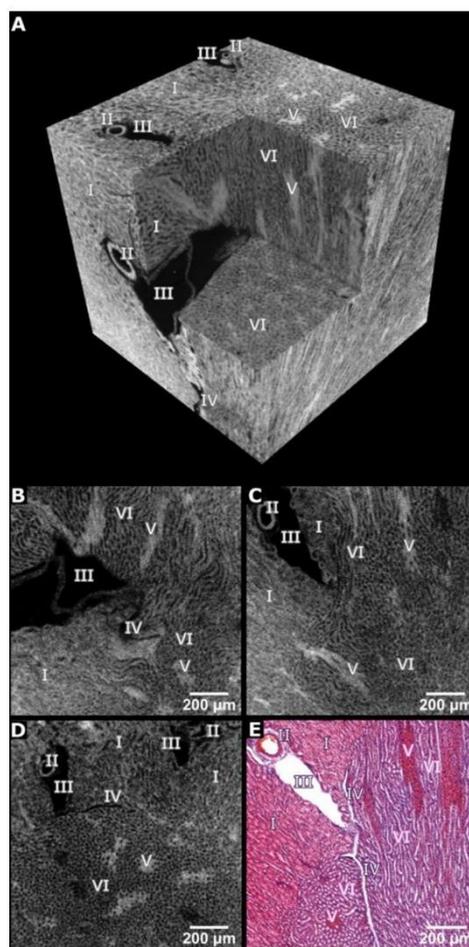
whole tissue sample (see the Supporting Information, chapter 9, Figure S3). The increased contrast for **9c** can be explained by its enhanced water solubility of the dibromo compound **9c**. Overall, the barium xanthene derivatives **2c** and **9c** showed much better contrast enhancement compared to the sodium analogues **2a** and **9a** at such low concentrations.

To allow for comparison with the histological results and to showcase the compatibility of the developed barium fluorescein staining protocol with standard histological methods, the cell nucleus-specific staining with the counter stain Mayr's hematoxylin was applied to the histological microscopic slide after staining with **2c** and  $\mu$ CT measurements. As expected, the cell cytoplasm still appeared pinkish (see the Supporting Information, chapter 12, Figure S4A) and the cell nuclei were highlighted purple in color (see the Supporting Information, chapter 12, Figure S4B). The barium dibromo fluoresceinate salt **9c**, staining of the cell cytoplasm, as well as the additional Mayr's hematoxylin counterstain (H-stain) were therefore not disturbed by each other and thus standard histological slides (see the Supporting Information, chapter 12, Figure S4A, B) were obtained following standard histological H-staining procedures. The resulting images were of high quality and suitable to undergo further histological analysis, which contributes to the practicality of our method and significantly enhances the sample availability.

After the in-depth evaluation on the ability of the barium salts **2c** and **9c** to act as X-ray CT tracers, we wanted to compare the staining quality of our newly developed dye **9c** to the recently introduced X-ray stain **2a**.<sup>[5a]</sup> Therefore, we applied the dibromo fluorescein barium salt (**9c**) to mouse kidney-tissue pieces ( $\approx 5$  mm edge length). The mouse kidney with its different tissue types offers various biological structures at multiple scales. After the acquisition of an overview scan, a volume of interest (VOI) was chosen and measured with high

resolution as a local tomography (see the Supporting Information, video). The ability to obtain high-resolution 3D data with isotropic resolutions of desired VOIs while keeping the soft-tissue sample intact is a unique feature of  $\mu$ CT that cannot be found among other microscopy techniques such as most light or electron microscopy techniques.

Our results are displayed in Figure 3 and confirm homogeneous staining throughout the sample without diffusion arti-



**Figure 3.** High-resolution  $\mu$ CT data of the cortex and outer medulla region of a mouse kidney after application of the dibromo fluorescein barium salt (**9c**). (A) Representative  $\mu$ CT volume of  $1.20 \text{ mm} \times 1.20 \text{ mm} \times 1.20 \text{ mm}$  (effective voxel size  $\approx 3.3 \mu\text{m}$ ). (B–D) Individual  $\mu$ CT slices derived from the orthogonal planes through the volume shown in (A). (E) Representative X-ray barium eosin Y-stained histological microscopic slide. The cell nuclei were counter stained with Mayr's sour hematoxylin. Legend: I proximal convoluted tubules, II: artery, III: vein, IV: capillary, V: medullary rays, and VI: loop of Henle.

facts. The perspective view of a representative volume in Figure 3A highlights the 3D arrangement of inner structures and connectivity between different tissue types. The provided contrast enabled the visualization of relevant anatomical structures within this volume of interest, the cortex and outer medulla region such as convoluted tubules, vessels, or medulla rays. Representative individual 2D  $\mu$ CT slices derived from the orthogonal planes of the volume in Figure 3A are displayed in Figure 3B–D. The validation of the  $\mu$ CT results was performed through histological analysis. The representative histological light microscopy image shown in Figure 3E was obtained from the very same dibromo fluorescein barium salt (**9c**) stained mouse kidney tissue piece seen in Figure 3A. Here, the obtained histological section was counterstained with the standard histological procedure according to Mayr's sour hematoxylin to stain the cell nuclei, which were not targeted by the cytoplasm selective **9c**. This resulted in a typical H&E-stained histological section, which corresponds very well with the  $\mu$ CT slice shown in Figure 3C.

Different gray values within the sample display varying concentrations of contrast agent accumulated in the soft tissue, that is, the higher the protonated protein/peptide content in the cytoplasm the more contrast agent can interact with these structures and the higher the contrast. This can be seen in the perspective view of a representative virtual volume in Figure 3A and the individual CT slices in Figure 3B–D, for example, labelled structures such as V appear very bright and III being black meaning no accumulation of contrast agent. The CT results are very well reflected in the histological slide where the structures V appear very pink indicating a high concentration of the contrast agent **9c**, while II and III being white highlight the absence of contrast agent. Thus, the staining results and image quality compare very well with the respective results obtained with the eosin Y disodium salt (**2a**).<sup>[5a]</sup> A clear advantage is seen here in the enormous reduction of the contrast agent used to stain the biopsy samples from  $300 \text{ mg mL}^{-1}$  for **2a** to  $45 \text{ mg mL}^{-1}$  for **9c**. Even though the color of the dibromo fluorescein barium salt (**9c**) shifted to orange-pink when compared to the eosin Y disodium salt (**2a**), the pathologists observed no problems to perform their histological analysis. Thus, the new X-ray stain dibromo fluorescein barium salt (**9c**) proved superior and is thus suitable for  $\mu$ CT even at low concentrations.

To conclude, the improved solubility of **9c** in water was crucial to obtain this new X-ray staining agent that allows to non-destructively and selectively visualize the cell cytoplasm of biological and medical soft-tissue samples in three dimensions. The application of the staining protocol to turkey liver and mouse kidney tissue pieces underlines the reliability of the protocol and emphasizes the use for different tissue types. The ability to counterstain the biopsy samples using standard histological methods paves the way for establishing a convenient 3D X-ray histology approach as a complementary tool for future histological analysis. This will offer access to additional information and support histologists where 2D imaging is facing its boundaries and thus meeting the demands to provide answers to advanced medical questions, which will bene-

fit from targeted staining of specific biological structures as well as non-destructive 3D imaging techniques.

### Acknowledgements

This work was funded by the Emmy-Noether (DFG, GU 1134-3) and Heisenberg (DFG, GU 1134-4) program of the German Research Foundation (DFG) to T.G. M.B. thanks the European Union Horizon 2020 research and innovation program under the Marie Skłodowska-Curie Grant Agreement No. H2020-MSCA-IF-2015-703745-CONSALT. Open access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

**Keywords:** dyes · eosin Y · fluorescein · microCT · stain

- [1] a) A. Andreasen, A. Drewes, *J. Neurosci. Methods* **1992**, *45*, 199–207; b) M. S. Braverman, I. M. Braverman, *J. Invest. Dermatol.* **1986**, *86*, 290–294; c) E. P. Meyer, V. J. Domanico, *J. Neurosci. Methods* **1988**, *26*, 129–132; d) J. Streicher, J. W. Weninger, G. B. Müller, *Anat. Rec.* **1997**, *248*, 583–602.
- [2] a) P. Davidovits, M. D. Egger, *Nature* **1969**, *223*, 831; b) B. Matsumoto, *Cell Biological Applications of Confocal Microscopy*, Vol. 70, Academic Press, San Diego, **2002**; c) H. Morales-Navarrete, F. Segovia-Miranda, P. Klukowski, K. Meyer, H. Nonaka, G. Marsico, M. Chernykh, A. Kalaidzidis, M. Zerial, Y. Kalaidzidis, *eLife* **2015**, *4*, e11214; d) J. K. Stevens, R. M. Linda, E. T. Judy in *Three-Dimensional Confocal Microscopy: Volume Investigation of Biological Specimens*, Vol. 1, Academic Press, San Diego, **1994**; e) J. C. Stockert, A. Blazquez-Castro in *Fluorescence Microscopy in Life Sciences*, Bentham Science Publishers, **2017**; f) M. Girkin, M. T. Carvalho, *J. Opt.* **2018**, *20*, 053002.
- [3] a) J. V. M. Rosenthal, D. Walker, M. Bennett, T. J. Mohun, *Birth Defects Res. C* **2004**, *72*, 213–223; b) J. W. Weninger, S. Meng, J. Streicher, G. B. Müller, *Anat. Embryol.* **1998**, *197*, 341–348.
- [4] W. Denk, H. Hortsman, *PLoS Biol.* **2004**, *2*, e329.
- [5] a) M. Busse, M. Müller, M. A. Kimm, S. Ferstl, S. Allner, K. Achterhold, J. Herzen, F. Pfeiffer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, 2293–2298; b) N. S. Jeffery, R. S. Stephenson, J. A. Gallagher, P. Cox, *J. Biomech. Eng.* **2011**, *44*, 189–192; c) B. D. Metscher, *Dev. Dyn.* **2009**, *238*, 632–640; d) B. D. Metscher, *BMC Physiol.* **2009**, *9*, 11; e) R. Mizutani, Y. Suzuki, *Micron* **2012**, *43*, 104–115; f) M. Senter-Zapata, K. Patel, P. A. Bautista, M. Griffin, J. Michaelson, Y. Yagi, *Pathobiology* **2016**, *83*, 140–147; g) T. Shearer, R. S. Bradley, L. A. Hidalgo-Bastida, M. J. Sherratt, S. H. Cartmell, *J. Cell Sci.* **2016**, *129*, 2483–2492; h) M. Virta, I. Hannula, K. Tamminen, K. Lindfors, A. Kaukinen, J. Popp, P. Taavela, P. Saavalainen, J. Hiltunen, J. Hyttinen, K. Kurppa, *Sci. Rep.* **2016**, *10*, 13164.
- [6] a) G. Kerckhofs, J. Sainz, M. Maréchal, M. Wevers, T. Van de Putte, L. S. Geris, J. Chrooten, *Cartilage* **2014**, *5*, 55–65; b) M. Müller, I. d. S. Oliveira, S. Allner, S. Ferstl, P. Bidola, K. Mechlem, A. Fehringer, L. Hehn, M. Dierolf, K. Achterhold, B. Gleich, J. U. Hammel, H. Jahn, G. Mayer, F. Pfeiffer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2017**, *114*, 12378–12383; c) L. A. Walton, R. S. Radley, P. J. Withers, V. L. Ewton, R. E. Watson, C. Austin, M. J. Sherratt, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 10074; d) S. Ferstl, M. Busse, M. Müller, M. A. Kimm, E. Drecoll, T. Bürkner, S. Allner, M. Dierolf, D. Pfeiffer, E. J. Rummeny, W. Weichert, F. Pfeiffer, *IEEE Trans. Med. Imaging* **2019**, *39*, 1494–1500; e) M. Müller, M. A. Kimm, S. Ferstl, S. Allner, K. Achterhold, J. Herzen, F. Pfeiffer, M. Busse, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 17855.
- [7] a) W. Chao, B. D. Harteneck, J. A. Liddle, E. H. Anderson, D. T. Attwood, *Nature* **2005**, *435*, 1210–1213; b) R. Falcone, C. Jacobsen, J. Kirz, S. Marchesini, D. Shapiro, J. Spence, *Contemporary Physics* **2011**, *52*, 293–318; c) J. C. Kirz, *J. Phys. Conf. Ser.* **2009**, *186*, 012001.

- [8] a) <http://bruker-microct.com/products/2211.htm>; b) <https://www.gemc.dev/files/geit-31344en-nano-tom-m-0517.pdf>; c) <http://www.xradia.com/zeiss-xradia520versa/>; d) <http://www.xradia.com/zeiss-xradia-810-ultra/>.
- [9] J. Martins de Souza e Silva, I. Zanette, P. B. Noel, M. B. Cardoso, M. A. Kimm, F. Pfeiffer, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 14088.
- [10] An overview on the use of eosin dyes in organic synthesis can be found in a) D. P. Hari, B. König, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 6688–6699; b) N. A. Romero, D. A. Nicewicz, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 10075–10166; c) V. Srivastava, P. P. Singh, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 31377–31392.
- [11] An overview on eosin dyes used for protein staining can be found in a) H. Y. Hong, G. S. Yoo, J. K. Choi, *Anal. Lett.* **1999**, *32*, 2427–2442; b) M. E. Selsted, H. W. Becker, *Anal. Biochem.* **1986**, *155*, 270–274.
- [12] P. Russo, *Handbook of X-ray Imaging: Physics and Technology* (Medical Physics and Biomedical Engineering), Taylor & Francis Inc., New York, **2018**.
- [13] For the synthesis and characterization of the Pb<sup>II</sup> eosin Y salt (**2e**) see C. Anselmi, D. Capitani, A. Tintaru, B. Doherty, A. Sgamellotti, C. Miliani, *Dyes Pigm.* **2017**, *140*, 297–311.

---

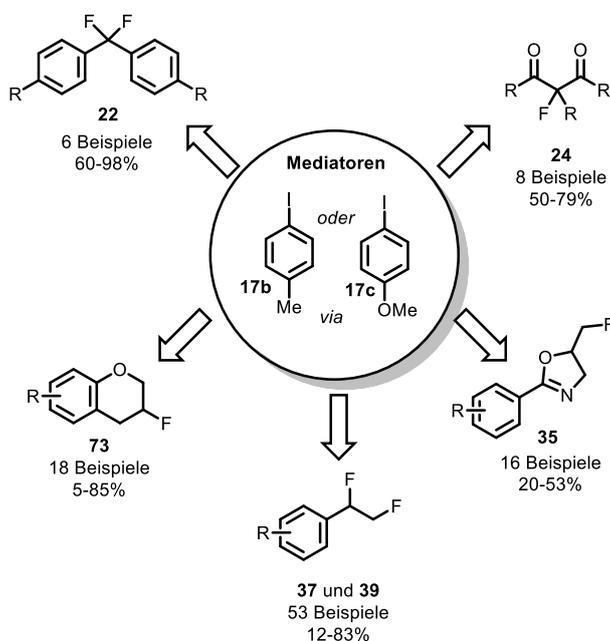
Manuscript received: December 4, 2020

Accepted manuscript online: December 10, 2020

Version of record online: February 5, 2021

## 2. Elektrochemische $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelte Fluorierungen von Styrolen

In den Publikationen von Fuchigami *et al.* über die ersten erfolgreichen *gem*-Difluorierungen der Dithioketale **21** mittels  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelten elektrochemischen Fluorierungsreaktionen in Amin·HF-Mischungen (Amin·HF: Et<sub>3</sub>N·3HF, Et<sub>3</sub>N·5HF) wurde das Prinzip der geteilten elektrochemischen Zelle verwendet (Schema 1b).<sup>[42e, 42f]</sup> Dadurch konnte die unerwünschte Reduktion der gebildeten  $\lambda^3$ -F-Iodane **18a-18d** an der Pt-Kathode sowie die unkontrollierte Oxidation der Substrate an der Anode verhindert werden. Die Entwicklung moderner elektrochemischer Setups in der organischen Synthese hat sich allerdings aufgrund ihres einfacheren Aufbaus und der leichteren Handhabung in Richtung des Prinzips der ungeteilten Zelle gewendet (Schema 2b). Zu den  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelten elektrochemischen Fluorierungsreaktionen wurden in der Literatur zahlreiche Meilensteine beschrieben, welche sich mit der Verwendung der Aryliodide **17b** und **17c** als Mediatoren sowie Amin·HF-Mischungen als Elektrolyte in elektrochemischen Fluorierungen beschäftigen. Damit lassen sich elektrochemische Reaktionen wie z.B.: Monofluorierungen,<sup>[42f]</sup> *gem*-Difluorierungen,<sup>[42c, 42e, 42f]</sup> *vic*-Difluorierungen,<sup>[42j]</sup> sowie Fluorocyclisierungen<sup>[42h, 106]</sup> durchführen. So gelang es fluorierte Produkte **22**, **24**, **35**, **37**, **39** und **73** zu erhalten (Abbildung 11, links).



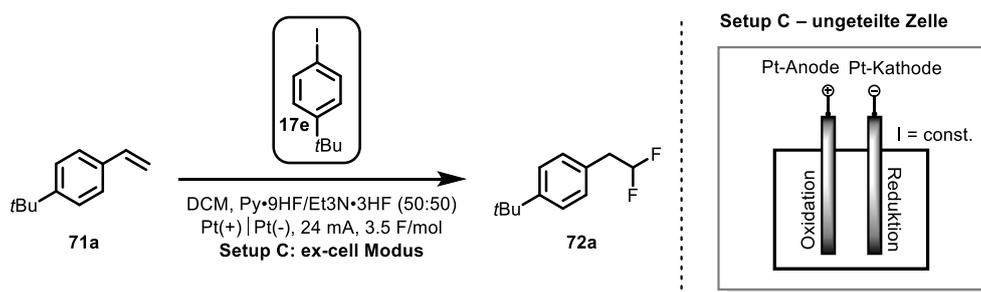
**Abbildung 11:** Beispiele für galvano- und potentiostatische elektrochemische Fluorierungen und Fluorocyclisierungen.

Hierbei erwiesen sich die vergleichsweise niedrigen Oxidationspotentiale von *p*-Tolyliodid (**17b**) und *p*-Iodanisol (**17c**) (1.5 und 1.7 V vs. SSCE)<sup>[42c]</sup> als Vorteil, weil es somit möglich war, diverse Substrate wie beispielsweise Dithioketale **21**,  $\beta$ -Dicarbonyle **23** und Alkine **34** schonend elektrochemisch in einer  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktion umzusetzen. Bei der Methodenentwicklung zu elektrochemischen  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten *gem*-Difluorierungen von Styrolen **71a** und **71b** stellt die konkurrierende *vic*-Fluorierungsreaktion (siehe Mechanismus der *vic*- vs. *gem*-Difluorierung, Schema 8b) eine der größten Herausforderungen dar. Die Cyclovoltammetrie-Messungen zeigten (CV-Messungen; für Cyclovoltammogramme 2.3 CV-Messungen), dass die Oxidationspotentiale der ausgewählten Modellsubstrate **71a** und **71b** (3.01 V und 3.79 V vs. SSCE) deutlich über dem Niveau der Mediatoren **17b** und **17c** (2.56 V und 2.76 V vs. SSCE) liegen, wodurch eine effektive Generierung der  $\lambda^3$ -*F*-Iodane **18b** und **18c** ohne die unerwünschte anodische Oxidation der Substrate **71a** und **71b** möglich sein sollte. Die CV-Messungen zeigten außerdem, dass das elektronenreiche Styrol **71a** (3.01 V vs. SSCE) ein niedrigeres Oxidationspotential als das elektronenarme **71b** (3.79 V vs. SSCE) aufweist, wodurch es deutlich oxidationsinstabiler ist und sich deshalb für die Umsetzung in einer indirekten Elektrolyse (*ex-cell* Modus) gut eignen sollte. Das oxidationsstabilere Styrol **71b** sollte dabei ohne dessen unerwünschte Oxidation an der Anode in einer direkten Elektrolyse (*in-cell* Modus) umgesetzt werden können.

Die Optimierungsversuche zur *gem*-Difluorierung der elektronenreichen Styrole **71a** (*ex-cell* Modus) und der elektronenarmen Styrole **71b** (*in-cell* Modus) wurden im Rahmen eines Gemeinschaftsprojekts in der Arbeitsgruppe Prof. Tanja Gulder als Teil dieser Doktorarbeit durchgeführt. Dabei wurde eine robuste elektrochemische Synthesesequenz entwickelt, welche eine effiziente Herstellung von *gem*-difluorierten Produkten **72** ermöglicht, wobei elektronenreiche Styrole wie das *t*-Butylstyrol (**71a**) sowie elektronenarme Styrole wie das *p*-Cyanostyrol (**71b**) als Modellsubstrate verwendet wurden. Amin-HF-Mischungen (Amin: Et<sub>3</sub>N und Py) dienten dabei als Elektrolyt und HF-Quelle und *t*-Butyliodbenzol (**17e**) als Mediator. Die Elektrosynthese erfolgte im ungeteilten Setup C unter galvanostatischen Bedingungen. Im Rahmen der Optimierungen wurde zuerst der Einfluss des Verhältnisses von Et<sub>3</sub>·HF zu Py·HF auf die Fluorierung von Styrol **71a** untersucht (Tabelle 3).

## II. Ergebnisse und Diskussion

**Tabelle 3:** Untersuchung des optimalen Amin-HF-Verhältnisses.



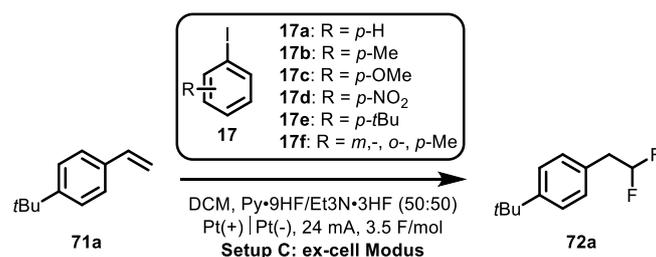
Eintrag	Py·HF (mL)	Et <sub>3</sub> N·3HF (mL)	Ausbeute <sup>a</sup> <b>72a</b> [%]
1	-	0.4	< 5
2	0.1	0.3	50
3	0.2	0.2	74
4	0.3	0.1	41
5	0.4	-	25

<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard.

Die ausschließliche Verwendung von Et<sub>3</sub>N·HF resultierte in geringen Ausbeuten < 5% an *gem*-Produkt **72a** (Tabelle 3, Eintrag 1). Dies könnte durch die vergleichsweise niedrigere Leitfähigkeitswerte der Et<sub>3</sub>N·3HF erklärt werden (Tabelle 12, Einträge 2 und 3). Dies kann zu einem höheren Potential während der Elektrolyse führen, wodurch es zu unerwünschten Redoxreaktionen und somit zur Bildung diverser Nebenprodukte kommen kann. Eine schrittweise Erhöhung des Anteils von Py·HF in der Reaktionslösung ergab einen deutlichen Anstieg der Ausbeute auf 50% bei einem Volumenverhältnis Py·HF/Et<sub>3</sub>N·3HF von 25:75 (Tabelle 3, Eintrag 2) und auf 74% bei einem Volumenverhältnis von 50:50 (Tabelle 3, Eintrag 3). Eine weitere Steigerung der Menge an Py·HF brachte allerdings keine Verbesserung der Ausbeute in dieser Reaktion (Tabelle 3, Einträge 4 und 5). Somit ergab sich das Verhältnis Py·HF/Et<sub>3</sub>N·HF von 50:50 als optimal für die Umsetzung des Styrols **71a** zu *gem*-Produkt **72a** (Tabelle 3, Eintrag 3).

Um die Ausbeute von 74% an *gem*-Produkt **72a** zu erhöhen, wurden als nächstes die unterschiedlich substituierten Iodbenzolderivate **17** als Mediatoren getestet (Tabelle 4, Einträge 1-5). Darüber hinaus wurden auch die Mengen an *t*-Butyliodbenzol (**17e**) variiert, um den Einfluss auf die Ausbeute des *gem*-difluorierten Produkts **72a** zu untersuchen (Tabelle 4, Einträge 6-10).

**Tabelle 4:** Screeningsversuche zu den verschiedenen Iodbenzolderivaten **17** als Mediatoren.



Eintrag	R	17 (Äquiv.)	Ausbeute <sup>a</sup> [%]
1	<i>p</i> -Me	<b>17b</b> (1.2)	76 <sup>b</sup>
2	<i>p</i> -H	<b>17a</b> (1.2)	56
3	<i>p</i> -NO <sub>2</sub>	<b>17d</b> (1.2)	23
4	<i>p</i> -OMe	<b>17c</b> (1.2)	< 5
5	<i>m</i> -, <i>o</i> -, <i>p</i> -Me	<b>17f</b> (1.2)	37
6	<i>p</i> - <i>t</i> Bu	<b>17e</b> (1.2)	74
7	<i>p</i> - <i>t</i> Bu	<b>17e</b> (1.0)	9
8	<i>p</i> - <i>t</i> Bu	<b>17e</b> (1.5)	64
9	<i>p</i> - <i>t</i> Bu	<b>17e</b> (2.0)	70

<sup>a</sup>ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard;

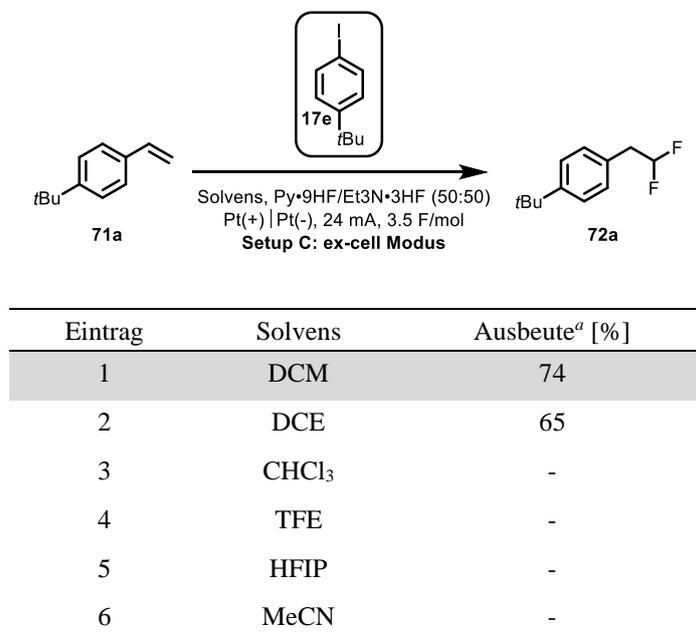
<sup>b</sup>Produkt verunreinigt mit Oxidationsprodukten **20** des Mediators **17b**.

Trotz der leicht höheren NMR-Ausbeute von 76% mit Iodtoluol (**17b**) als Mediator (Tabelle 4, Eintrag 1) im Vergleich zu *t*-Butyliodbenzol (**17e**) (74%, Tabelle 4, Eintrag 6) war im Fall von Iodtoluol (**17b**) die Abtrennung des fluorierten Nebenproduktes (**20**, Schema 1) nicht möglich, weshalb insgesamt eine höhere Ausbeute mit *t*-Butyliodbenzol (**17e**) erreicht wurde. Iodbenzol (**17a**) zeigte keine Verbesserung der Ausbeute (56%, Tabelle 4, Eintrag 2), was möglicherweise auf die unerwünschte Reaktion des Mediators **17a** zum Iodoniumsalz **19** zurückzuführen ist (Schema 1c). Im Fall des elektronenreichen Iodanisols (**17c**) wurden lediglich Spuren an *gem*-difluoriertem Produkt **72a** gefunden was auf eine mögliche oxidative Zersetzung des Mediators **17c** hindeutet (Tabelle 4, Eintrag 4). Eine anschließende Veränderung der verwendeten Mengen des *t*-Butyliodbenzol (**17e**) als Mediator führte insgesamt zu keiner Verbesserung der Ausbeute. Im Vergleich zu den 74% Ausbeute mit 1.2 Äquiv. des Mediators **17e** (Tabelle 4, Eintrag 6) wurde mit 1.0 Äquiv. (Tabelle 4, Eintrag 7) eine um 10% niedrigere Ausbeute erhalten. Eine weitere Steigerung der Menge des Mediators **17e** brachte keine Verbesserung der Ausbeute (Tabelle 4, Einträge 8 und 9)

## II. Ergebnisse und Diskussion

Mit den festgelegten optimalen Bedingungen wurde weiterhin versucht die Gesamtausbeute bei der Umsetzung von Styrol **71a** zum *gem*-Produkt **72a** wurden verschiedene Lösungsmittel getestet (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Screeningsversuche zur Wahl des optimalen Lösungsmittels.

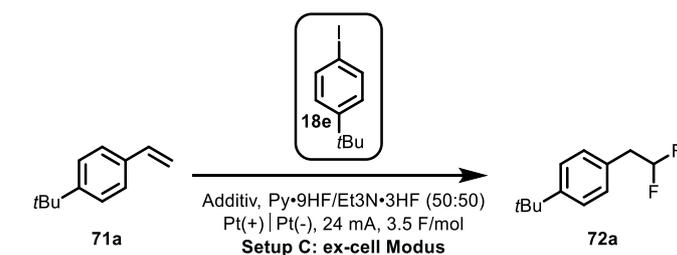


<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard.

Hierzu wurden zuerst verschiedene chlorierte Lösungsmittel 1,2-Dichlormethan (DCM), 1,2-Dichlorethan (DCE) und Chloroform verwendet (Tabelle 5, Einträge 1-3). Mit DCE konnte die zweithöchste Ausbeute von 65% erreicht werden, wobei mit DCM die höchste Ausbeute erreicht wurde. Mit Chloroform als Lösungsmittel fand die Umsetzung des Styrols **71a** zum fluorierten Produkt **72a** nicht statt. In Anbetracht der stabilisierenden Eigenschaften von fluorierten Lösungsmitteln auf  $\lambda^3$ -F-Iodane bei elektrochemischen Fluorierungen<sup>[42a]</sup> wurden die Lösungsmittel 1,1,1-Trifluorethanol (TFE) und 1,1,1,2,2,2-Hexafluorisopropanol (HFIP) ausgetestet. Unerwarteterweise führte dies ebenso zu keiner Bildung von *gem*-Produkt **72a** (Tabelle 5, Einträge 4 und 5). In Acetonitril fand ebenso keine Reaktion statt (Tabelle 5, Eintrag 6).

Als letztes wurden verschiedene Additive wie HFIP, Ethylenglykol (EG), 1,2-Dimethoxyethan (DME) und Polyethylenglykol (PEG 200) getestet (Tabelle 6). Diese können sich bekanntlich durch die Stabilisierung der elektrochemisch generierter  $\lambda^3$ -F-Iodane bei Fluorierungsreaktionen positiv auf die Ausbeute auswirken.<sup>[42a]</sup>

**Tabelle 6:** Screeningsversuche zu möglichen Additiven.

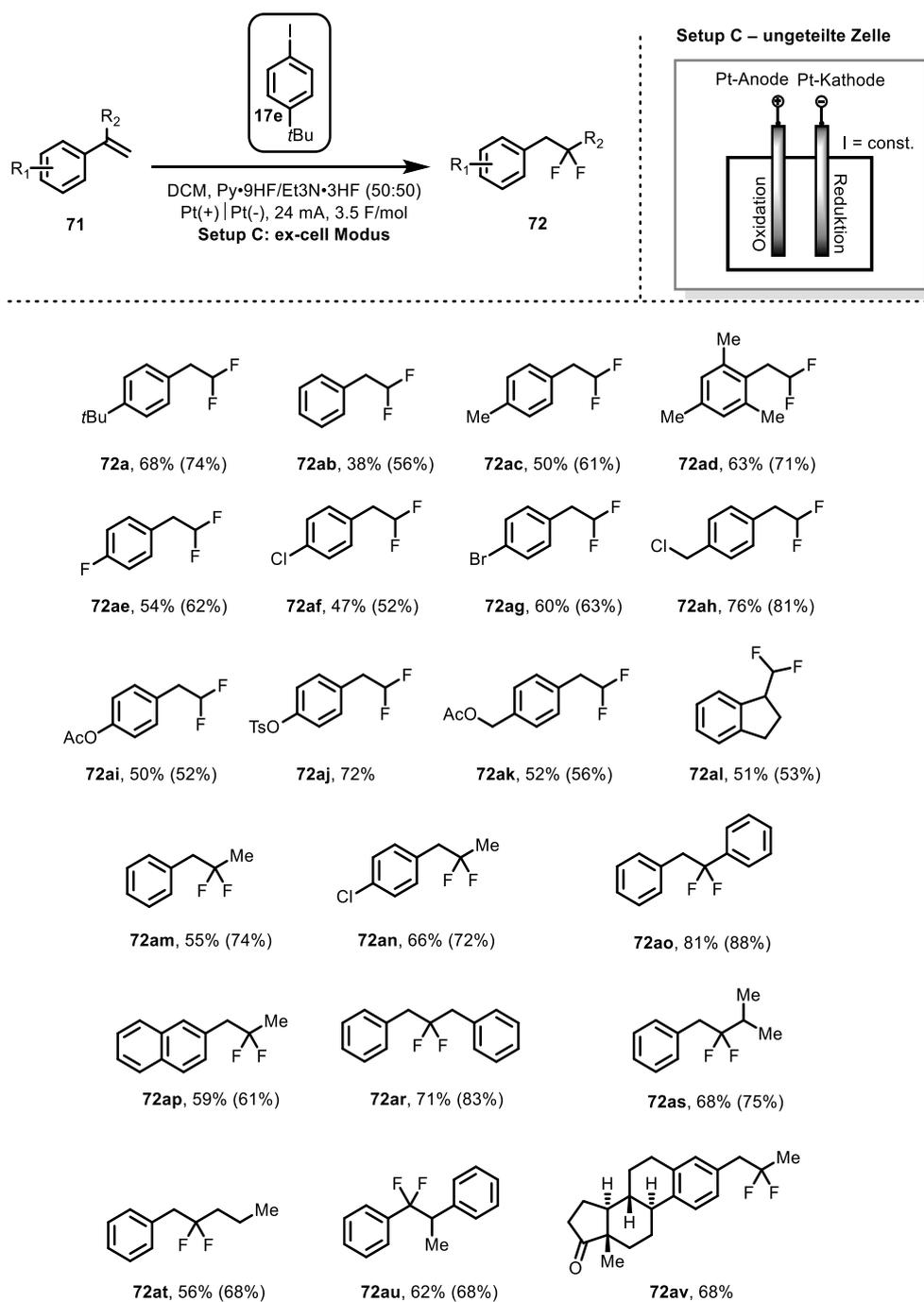


Eintrag	Additiv (5 vol%)	Ausbeute <sup>a</sup> [%]
1	-	74
2	HFIP	65
3	EG	< 5
4	DME	< 5
5	PEG 200	< 5

<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard.

Während bei Verwendung von 5 vol% HFIP in der Reaktion eine geringere Ausbeute von 65% erreicht wurde (Tabelle 6, Eintrag 2), wurden im Fall von Ether EG, PEG 200 und DME lediglich Spuren von dem *gem*-Produkt **72a** gefunden (Tabelle 6, Einträge 3-5). Somit wurde im weiteren Verlauf auf Zusatz von Additiven verzichtet und mit der höchsten Ausbeute von 74% fortgefahren (Tabelle 6, Eintrag 1).

Mit den optimierten Bedingungen wurde darauffolgend die Substratbreite untersucht (Schema 17). Da es sich dabei um leicht oxidierbare, elektronenreiche Substrate **71a** und **71ab-71av** handelt, wurden die elektrolytischen Umsetzungen indirekt durchgeführt, wobei die Styrole **71a** und **71ab-71av** erst nach beendeter Elektrolyse des Mediators **17e** zugegeben worden sind, um deren ungewünschte anodische Oxidation zu vermeiden.

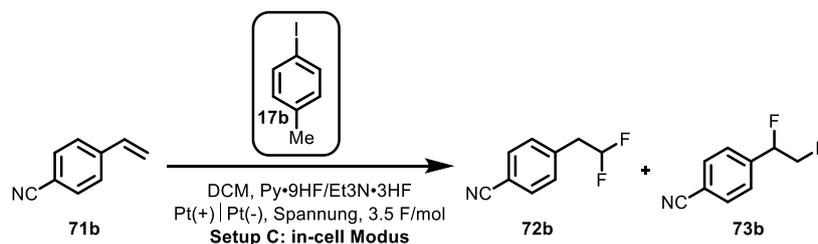


**Schema 17:** Substratbreite der neuen Methode zur elektrochemischen *gem*-Difluorierung elektronenreicher Styrole **71**. NMR-Ausbeuten sind in Klammern angegeben.

Unter den optimierten Bedingungen wurde nun die Substratbreite der neu etablierten Methode untersucht. Dazu wurden insgesamt 21 unterschiedliche elektronenreiche Styrole **71** umgesetzt, wobei Ausbeuten von 38% bis 81% erreicht wurden. Als einfache Substituenten wurden beispielsweise Alkylreste in der *p*-, *m*- und *o*-Position wie bei *gem*-Produkten **72ab-72ad** (56%-74%), Halogensubstituenten (*F*, *Cl* und *Br*) in der *p*-Position, sowie gemischte Substituenten akzeptiert und konnten zu den *gem*-Produkten **72ae-72ah** in guten Ausbeuten (47%-76%)

umgesetzt werden. Bei Sauerstoffsubstituenten wie z.B. Acetoxy- oder Tosylgruppen bei Styrolen **72ai-72ak** wurden ebenso gute Ausbeuten (50%-72%) erzielt und die Substratbreite zusätzlich erweitert. Styrole **72am-72au** mit Alkyl- sowie Aromatsubstituenten in der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Position wurden ebenfalls in guten Ausbeuten von 55% bis 81% umgesetzt. Bei dem Naphthalenderivat Dialin **71al** konnte das Produkt **72al** hergestellt werden, welches nach einer Ringkontraktion und Fluorierung in 51% Ausbeute hergestellt wurde. Die etablierte Methode wurde anschließend auf ihre Anwendbarkeit bezüglich strukturell komplexer Substrate überprüft. Dazu wurde das komplexe Estronderivat **72av** in guter Ausbeute von 62% umgesetzt. Die Limitierung der etablierten *ex-cell* Methode zur elektrochemischen *gem*-Difluorierung der Styrole **71** wurde erreicht, als elektronenärmere Substrate wie beispielsweise *p*-Cyanostyrol **71b** umgesetzt wurden. Statt des gewünschten *gem*-difluorierten Produkts **72b** wurde lediglich die Bildung des *gem*-Produkts **74b** beobachtet (nach dem Mechanismus: Schema 8, Pfad B). Die durchgeführten CV-Messungen (für Cyclovoltammogramme siehe: 2.2 Analytische Daten) zeigten darüber hinaus, dass das elektronenarme Styrol **71b** (3.01 V vs. SSCE) höheren Oxidationspotential als das elektronenreiche **71a** (3.79 V vs. SSCE) besitzt, wodurch es oxidationsstabiler ist und sich deshalb für die Umsetzung in einer direkten Elektrolyse (*in-cell* Modus) besser eignet, wobei alle Komponenten (Elektrolyt, Mediator und Substrat) gleich zu Beginn der Elektrosynthese zugegeben werden. Um die Ausbeute an *gem*-Produkt **72b** zu erhöhen, wurden als erstes die elektrische Spannung (Tabelle 7, Einträge 1-3) sowie das Verhältnis zwischen verschiedenen Amin HF-Komplexen (Tabelle 7, Eintrag 4) untersucht.

**Tabelle 7:** Screening der optimalen elektrischen Spannung sowie des Amin-HF-Verhältnisses.



Eintrag	Py·HF [mL]	Et <sub>3</sub> N·3HF [mL]	Spannung [mV]	Ausbeute <sup>a</sup> <b>72b</b> , <b>73b</b> [%]
1	0.2	0.2	24	Spuren/21
2	0.2	0.2	12	Spuren/32
3	0.2	0.2	6	Spuren/19
4	0.4	-	12	18/31

<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard.

## II. Ergebnisse und Diskussion

Eine stufenweise Senkung der elektrischen Spannung von 24 mA auf 6 mA brachte keine Verbesserung der Selektivität der *gem*-Fluorierung von Styrol **71b**, wobei nur Spuren an *gem*-Produkt **72b** im Gegensatz zu 19%-32% an *vic*-Produkt **73b** erhalten wurden (Tabelle 7, Einträge 1-3). Eine Steigerung der Ausbeute an gewünschtem Produkt **72b** auf 18% wurde erst bei Verwendung von reinem Py·HF ohne Zusatz von Et<sub>3</sub>N·3HF als Elektrolyt und HF-Quelle erreicht (Tabelle 7, Eintrag 4).

Zur Verbesserung der Ausbeute an *gem*-Produkt **72b** der Elektrosynthese wurden weitere Optimierungen der Reaktionsbedingungen vorgenommen, wie z.B. Trocknung und Entgasung des Lösungsmittels sowie Arbeiten unter Ar-Schutzgasatmosphäre, um die unerwünschten Oxidationsreaktionen zu vermeiden und die Ausbeute zu erhöhen (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Optimierung der Reaktionsbedingungen: Lösungsmittel und Schutzgas.

DCM, Py·9HF/Et<sub>3</sub>N·3HF  
Pt(+) | Pt(-), 24 mA, 3.5 F/mol  
Setup C: in-cell Modus

Eintrag	DCM	Umgebung	Ausbeute <sup>a</sup> <b>72b, 73b</b> [%]
1	destilliert	Luft	18, 31
2	destilliert	Ar	18, 26
3	getrocknet, entgast	Luft	27, 28
4	getrocknet, entgast	Ar	47, 45

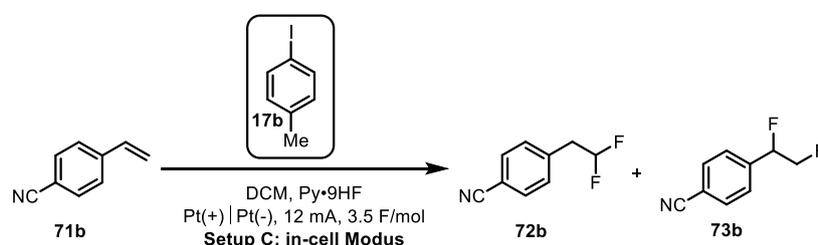
<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard.

Alleiniger Austausch der Reaktionsatmosphäre von Luft- Ar-Atmosphäre brachte hinsichtlich der *gem*-Fluorierung keine Verbesserung der Ausbeute und führte sogar zur Senkung der gesamten Ausbeute der elektrochemischen Fluorierung (Tabelle 8, Einträge 1 und 2). Erst durch Vorbehandlungen des Lösungsmittels DCM wurde eine leichte Steigerung der Ausbeute bei beiden *vic*- und *gem*-Produkten erreicht (Tabelle 8, Eintrag 3). Ein anschließender Austausch der Reaktionsatmosphäre von Luft zu Ar-Atmosphäre brachte eine signifikante Erhöhung der Ausbeute am *gem*-Produkt **72b**, wobei dieses zum ersten Mal als Hauptprodukt gebildet wurde (Tabelle 8, Eintrag 4).

## II. Ergebnisse und Diskussion

Des Weiteren wurden Versuche mit erhöhten Mengen an Mediator **17b** und Elektrolyten Py·HF durchgeführt (Tabelle 9, Einträge 1-8)

**Tabelle 9:** Untersuchung des optimalen Amin-HF-Mediator-Verhältnisses.



Eintrag	<i>p</i> -Toll <b>17b</b> [Äquiv.]	DCM [mL]	Py·HF [mA]	Ausbeute <sup>a</sup> <b>72b</b> , <b>73b</b> [%]
1	1.2	3.6	0.4	47, 45
2	1.5	3.6	0.4	43, 30
3	2.0	3.6	0.4	37, 13
4	1.2	2.4	1.6	55, 8
5	1.2	2.0	2.0	56, 1
6	0.6	2.0	2.0	46, 38
7	0.2	2.0	2.0	11, 55
8	-	2.0	2.0	-, 67

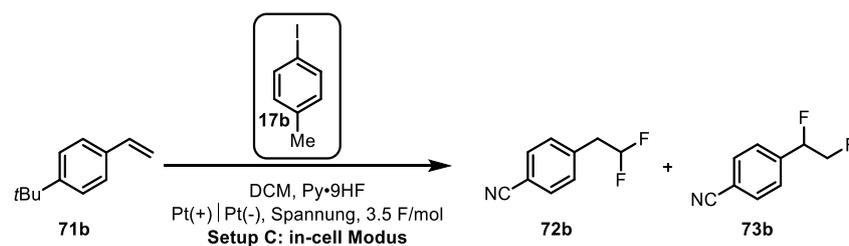
<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard.

Eine stufenweise Erhöhung der Menge des Mediators **17b** von 1.2 Äquiv. auf 2.0 Äquiv. führte nicht zur erwünschten Steigerung der Ausbeute (Tabelle 9, Einträge 1-3), sondern führte insgesamt zur Verschlechterung der gesamten Fluorierungsausbeute. Auf der anderen Seite führten geringere Mengen an Mediator **17b** wie z.B. 0.6 Äquiv bzw. 0.2 Äquiv. ebenso zu geringeren Ausbeuten von 46% bzw. 11% an *gem*-Produkt **72b** (Tabelle 9, Einträge 6 und 7). Ein Versuch, die Fluorierung von Styrol **71b** ohne Mediator **17b** durchzuführen, scheiterte und *vic*-Produkt **73b** resultierte als Hauptprodukt. Zu einer Erhöhung der Ausbeute von 47% auf 56% führte schließlich die Erhöhung der Menge an Py·HF-Reagenz (Tabelle 9, Einträge 4 und 5).

Anschließend wurden Versuche bei reduzierter Spannung durchgeführt, um die Reaktionsbedingungen noch schonender zu gestalten und somit die Ausbeute zu erhöhen (Tabelle 10).

## II. Ergebnisse und Diskussion

**Tabelle 10:** Untersuchung zur optimalen elektrischen Spannung.



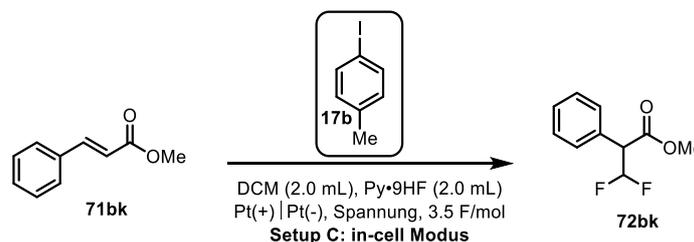
Eintrag	Spannung [mA]	Ausbeute <sup>a</sup> 72b, 73b [%]
1	12	56, 1
2	10	60, 2
3	8	56, 3

<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard.

Demnach gelang es die Ausbeute an *gem*-Produkt **72b** von 56% bei einer Spannung von 12 mA auf 60% bei 10 mA zu erhöhen (Tabelle 10, Einträge 1 und 2). Eine weitere Senkung der elektrischen Spannung auf 8 mA verringerte allerdings die Ausbeute auf 56% (Tabelle 10, Eintrag 3).

Mit den optimierten Bedingungen wurde als letzter Optimierungsschritt die Reaktion von Zimtsäuremethylester **71bk** zum *gem*-Produkt **72bk** auf katalytische Weise untersucht (Tabelle 11).

**Tabelle 11:** Versuche zur katalytischen Umsetzung des Zimtsäuremethylesters **71bk** zum *gem*-Produkt **72bk**.

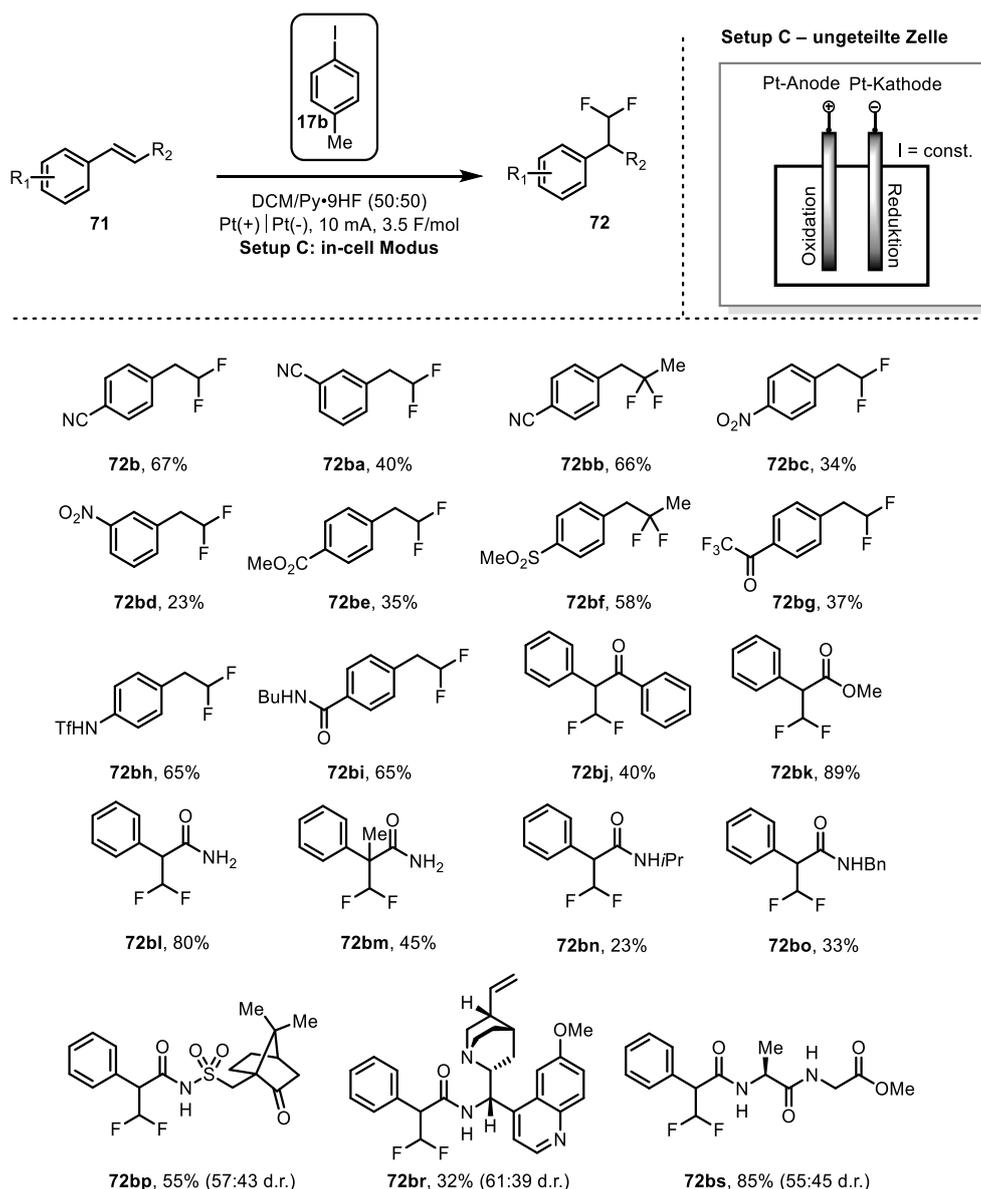


Eintrag	17b (Äquiv.)	Spannung (mA)	Ausbeute <sup>a</sup> 72bk [%]
1	1.2	10	90
2	0.2	8	80
3	0.1	8	67
4	-	8	-

<sup>a</sup> ermittelt mittels NMR-Spektroskopie mit Ethylfluoracetat als internen Standard

So konnte mittels katalytischer Menge (0.2 Äquiv.) an Mediator **17b** das *gem*-Produkt **72bk** in hoher Ausbeute von 80% synthetisiert werden. Mit 10 mol% des Mediators **17b** sank die Ausbeute allerdings auf 67% (Tabelle 11, Eintrag 3). Die Reaktion scheiterte, wenn kein Mediator **17b** verwendet wurde (Tabelle 11, Eintrag 4), was zusätzlich die entscheidende Rolle des Mediators bei der Reaktion verdeutlicht.

Nach beendeter Optimierung der Reaktionsbedingungen der elektrochemischen *gem*-Difluorierung der elektronenarmen Styrole am Beispiel des *p*-Cyanostyrol **71b** wurde die potenzielle Substratbreite dieser Methode untersucht (Schema 18). So wurden unter den optimierten *in-cell* Bedingungen (1.2 Äquiv. Mediator **17b**, 10 mA Stromstärke, Py-HF als Elektrolyt und HF-Quelle, absolutes Lösungsmittel und Ar-Schutzgasatmosphäre) 19 unterschiedlich substituierten elektronenarmen Styrole **71** zu den *gem*-difluorierten Produkten **72** umgesetzt. Dabei wurden einfach substituierte Produkte **72ba-72bd** mit Cyano- bzw. Nitrogruppe in *p*- bzw. *m*-Position in moderaten bis guten Ausbeuten von 23% bis 67% umgesetzt. Auch diverse elektronenziehende Sauerstoffsubstituenten wie z.B. CO<sub>2</sub>Me, SO<sub>2</sub>Me und COCF<sub>3</sub> wie bei *gem*-Produkten **72be-72bg** erlaubten gute Ausbeuten von 35% bis 58%. Hohe Ausbeuten (65%-89%) resultierten bei Phenyl- und Stickstoffsubstituierten Produkten **72bh-72bk**. Darüber hinaus konnte eine Palette an unterschiedlich substituierten Zimtsäureamidderivaten **72bl-72bo** in moderaten bis guten Ausbeuten (23%-80%) erhalten werden. Auch komplexe Zimtsäureamidderivate wie z.B. Chinin- und Campherderivat konnten erfolgreich zu *gem*-Produkten **72bp** und **72br** umgesetzt werden. Die intakte Doppelbindung bei Chininderivat **72br** zeigt die milden Bedingungen dieser Methode. Besonders interessant war die Umsetzung des Dipeptides **71bs** in 85% Ausbeute zum *gem*-Produkt **71bs**

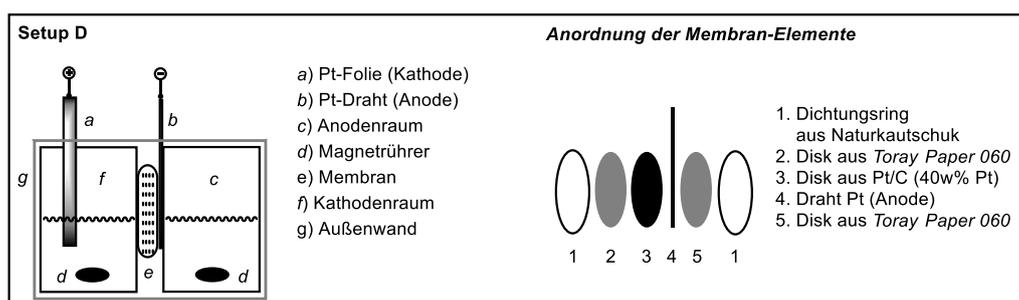


**Schema 18:** Substratbreite der neuen elektrochemischen Methode zur Synthese *gem*-Produkte **72b** und **72ba-72bs**.

Die Gefahr von unerwünschten Redoxreaktionen in ungeteilten Setups ist hoch und führt besonders bei chemisch- und oxidationsinstabilen Substraten zu Nebenprodukten. Um das Verfahren schonender für leicht oxidierbare Substrate zu gestalten, verwendete Fujigami *et al.* das Prinzip der geteilten, elektrochemischen Zelle, bei welcher durch eine Anionenaustauschermembran der Kathoden- und Anodenraum voneinander getrennt werden (Schema 1b).<sup>[42e]</sup> Allerdings sind die Literaturdaten zur Nachverfolgung der verwendeten Bauart und den Materialien, die zum Aufbau der Membran notwendig sind, nicht ausreichend beschrieben. Es wurde lediglich erwähnt, dass die Anionenaustauschermembran zwischen zwei Dichtungsrings aus Silikon befestigt wurde. Darüber hinaus spielen weitere Parameter wie: i) die Geometrie und Dimensionen der Zelle, ii) die verwendeten Materialien, iii) Aufbau und

Durchlässigkeit der Membran, sowie deren physikalische Parameter: i) Lösungsmittel, ii) Konzentrationen der angesetzten Stoffe sowie Elektrolyte, iii) der pH-Wert, iv) Stromstärke und v) die Reaktionstemperatur eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung neuer elektrochemischer Setups.

Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Reaktionssetup D stellt ein Beispiel einer geteilten elektrochemischen Zelle dar, in dem der Anoden- und Kathodenraum durch eine Membran voneinander getrennt sind, um die während der Elektrolyse ablaufenden Redoxreaktionen besser steuern zu können. Die separaten Zellen sind nach Vorbild von Waldvogel *et al.*<sup>[42g, 42h]</sup> aus PTFE aufgebaut. Eine der größten Herausforderungen hierbei war die richtige Zusammensetzung und Aufbau der Membran, weil diese nicht mit dem  $\lambda^3$ -F-Iodan **18b** reagieren sollte und zusätzlich für dessen ausreichenden Transport in den Kathodenraum sorgen sollte, um einen vollständigen Reaktionsumsatz zu erreichen. Darüber hinaus muss die Membran stabil gegenüber dem Elektrolyten Amin·HF sein. Eine schematische Darstellung des ungeteilten elektrochemischen Setups D ist in Abbildung 12 dargestellt. Dabei besteht dieses aus drei Hauptelementen: c) Anodenraum, f) Kathodenraum und e) Membran. Die komplexe Membran wurde aus mehreren aufeinander folgenden Schichten aufgebaut: 1) Dichtungsring aus Naturkautschuk, 2) Filz aus Carbonfaser-Schutzschicht (*Toray-Carbon-Paper 060*), 3) Pt/C-Disk mit 40w% Pt, 4) Pt-Draht (Anode), 5) Filz aus Carbonfaser-Schutzschicht (*Toray-Carbon-Paper 060*).



**Abbildung 12:** Eine Schematische Darstellung des in dieser Arbeit geplanten Setup D: a) Pt-Folie (Kathode), b) Pt-Draht (Anode), c) Anodenraum, d) Magnetrührer, e) Membran, f) Kathodenraum und g) Gehäuse aus PTFE.

Bevor Versuche zur Ermittlung der optimalen Reaktionsbedingungen für die Fluorierungsreaktionen im Setup D durchgeführt werden konnten, musste zuerst der Aufbau vorgenommen und die elektrochemische Zelle mittels Impedanzspektroskopie charakterisiert

werden. Da die Durchlässigkeit der Membran und der damit verbundene Transport des gebildeten  $\lambda^3$ -*F*-Iodans **18b** einer der entscheidendsten Aspekte bei der Entwicklung des Setup D war, wurde als erstes untersucht, ob es im neuen Setup D durch die Membran zu keiner Störung der elektrischen Leitfähigkeit  $\kappa$  kommt. Hierzu wurde Impedanzspektroskopie angewandt. Elektrische Leitfähigkeit wird als Fähigkeit einer Lösung, eines Metalls oder Gases – im Allgemeinen jeder Materie – elektrischen Strom zu leiten, beschrieben.<sup>[107]</sup> In einer Lösung wird der elektrische Strom durch Kationen und in Metallgefügen durch Elektronen geleitet. Einige Faktoren beeinflussen dabei die Fähigkeit zum Transport der elektrischen Ladung: i) Konzentration, ii) Mobilität der Ionen, iii) Valenz der Ionen und iv) die Temperatur des Elektrolyten. Alle Substanzen besitzen dabei einen Leitfähigkeitsgrad. Elektrolytlösungen werden hierbei in starke und schwache Elektrolyte unterteilt. Starke Elektrolyte sind Substanzen, die in Lösung nahezu vollständig dissoziiert vorliegen. Dazu gehören ionische Feststoffe und starke anorganische Säuren wie z.B. Salz- und Schwefelsäure. Im Gegensatz dazu gehört beispielsweise Essigsäure zu den schwachen Elektrolyten, weil sie in wässrigen Lösungen zum größten Teil in undissoziierter Form vorliegt.

Die für die  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelten elektrochemischen Fluorierungsreaktionen verwendeten Amin·HF-Lösungen dienten als Elektrolyte und HF-Quellen. Sie bestehen aus flüssigen Poly(hydrogenfluorid)-Komplexen organischer Amine und gehören zur Gruppe der ionischen Flüssigkeiten, welche dank ihrem stark ausgeprägten ionischen Charakter den elektrischen Strom leiten können.<sup>[108]</sup> Als Elektrolytlösungen wurden DCM/Amin·HF-Mischungen in verschiedenen Konzentrationen untersucht (Amin·HF: Et<sub>3</sub>N·5HF, Py·HF, Tabelle 12). Als Kalibrierlösung mit bekanntem  $\kappa$ -Wert diente eine 0.1 M KCl-Lösung (Tabelle 12, Eintrag 1). Anschließend wurde die Leitfähigkeit der potenziellen Reaktionslösungen untersucht, wobei im Fall von konzentrierter DCM/Py·HF-Lösung eine sehr hohe Leitfähigkeit gemessen wurde, was durch den hohen Anteil an Py·HF erklärt werden kann (Tabelle 12, Einträge 2 und 3). Der geringere  $\kappa$ -Wert des DCM/Py·HF/Et<sub>3</sub>N·3HF (90:5:5, v/v) Gemisches kann durch die hohe Verdünnung der Lösung erklärt werden. Eine Veränderung der Form der Anode von Pt-Folie zum Pt-Draht hatte keinen Einfluss auf die hohe Leitfähigkeit des DCM/Py·HF-Gemisches (Tabelle 12, Eintrag 4). Eine Integration der Membran A sowie Zugabe von Mediator **17b** führte ebenso zu keinen Störungen im Fluss des elektrischen Stroms und somit zu keiner signifikanten Veränderung des Leitfähigkeitswerts (Tabelle 12, Eintrag 5 und 6).

## II. Ergebnisse und Diskussion

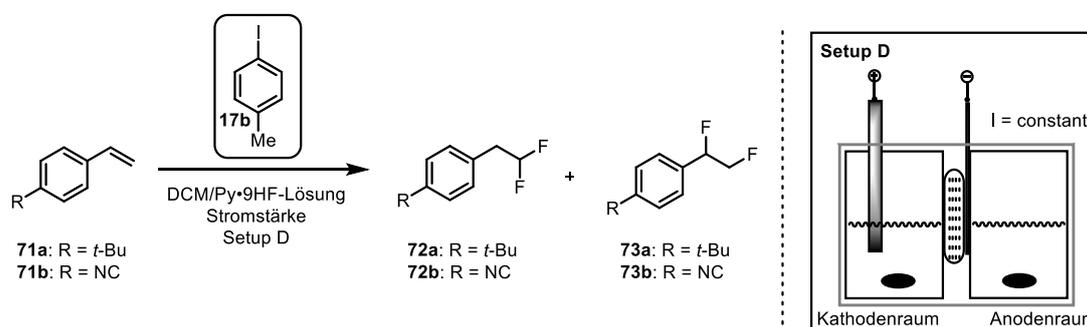
**Tabelle 12:** Leitfähigkeitsmessungen und der stufenweise Aufbau des geteilten Setup D.

Eintrag	Elektrolytlösung	$\kappa$ [S/cm]	Aufbaustufe
1	KCl (0.1 M)	$12.9 \times 10^{-3}$	1) Zellenkalibration; ohne Membran, Pt-Folien als Elektroden
2	DCM/Py·9HF (50:50)	$18.7 \times 10^{-2}$	2) Leitfähigkeitsmessung; ohne Membran A; Pt-Folien als Elektroden
3	DCM/ Py·9HF/Et <sub>3</sub> N·5HF (90:5:5)	$9.60 \times 10^{-3}$	3) Leitfähigkeitsmessung; ohne Membran, Pt-Folien als Elektroden
4	DCM/Py·9HF (50:50)	$14.7 \times 10^{-2}$	4) Leitfähigkeitsmessung; ohne Membran, Pt-Draht als Anode; Pt-Folie als Kathode
5	Kathoden-Raum: DCM/Py·9HF (50:50) Anoden-Raum: DCM	$88.0 \times 10^{-3}$	5) Zellenkalibration; mit Membran A, Pt-Draht als Anode; Pt-Folie als Kathode
6	Kathoden-Raum: DCM/Py·9HF (50:50) Anoden-Raum: DCM, <b>17b</b>	$24.3 \times 10^{-2}$	6) Zellenkalibration; mit Membran A, Pt-Draht als Anode; Pt-Folie als Kathode; Mediator <b>17b</b>

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurden als Modellsubstrate bei der Suche nach den optimalen Bedingungen für eine selektive *gem*-Fluorierung im geteilten Setup D die substituierten Styrole **71a** und **71b** verwendet. Als Mediator wurde das Tolyliodid **17b** benutzt. Tabelle 13 zeigt die Ergebnisse der Versuche unter verschiedenen Bedingungen. Hierbei wurden folgende Parameter untersucht: i) Stromstärke, ii) Amin·HF-Quelle und iii) Reaktionszeit. So fand bei Verwendung von reiner Py·HF-Lösung und einer Stromstärke von 8 mA ausschließlich die *vic*-Difluorierung zum Produkt **73b** statt (Tabelle 13, Eintrag 1). Eine Verdünnung der Reaktionslösung mit DCM (Amin·HF/DCM = 50:50, v/v) ergab bei gleicher Stromstärke eine Steigerung der Selektivität zum *gem*-difluorierten Produkt **72b** (Tabelle 13, Eintrag 2). Nach einer Erhöhung der Stromstärke auf 10 mA, um die Bildung des  $\lambda^3$ -F-Iodans **18b** zu steigern, wurde eine zusätzliche Erhöhung der Selektivität in Richtung der *gem*-Difluorierung erreicht und das gewünschte Produkt **72b** konnte in einem Überschuss von 65% elektrochemisch synthetisiert werden (Tabelle 13, Eintrag 3). Eine erneute Steigerung der Stromstärke auf 20 mA hatte keinen Einfluss auf die Ausbeute (Tabelle 13, Eintrag 4). Wenn das elektronenreiche *t*-Butylstyrol **71a** als Substrat verwendet wurde, lediglich Spuren an *gem*-Produkt **72a** konnten gefunden werden (Tabelle 13, Eintrag 5).

## II. Ergebnisse und Diskussion

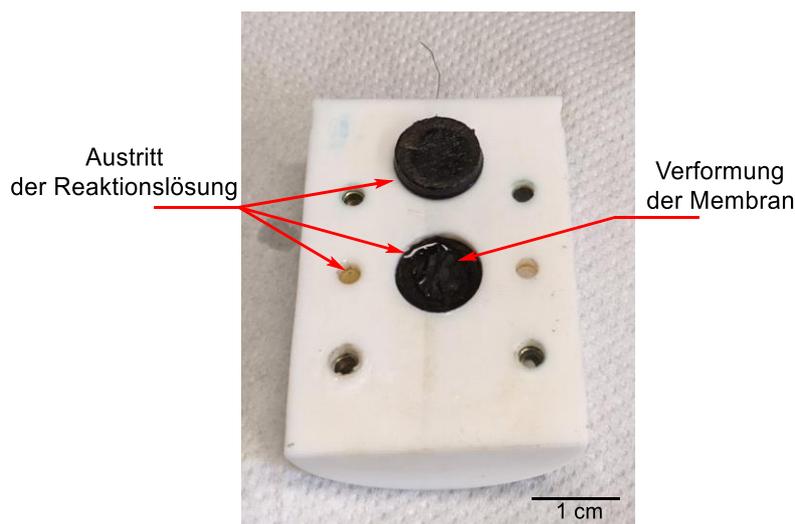
**Tabelle 13:** Versuche zu elektrochemischen Fluorierungsreaktionen der Styrole **71a** und **71b** im ungeteilten Setup D mit Mediator **17b**.



Eintrag	Anodenraum	Kathodenraum	Stromstärke [mA]	Umsatz [%]	<sup>1</sup> H-NMR Ausbeute [%]	<sup>1</sup> H-NMR Ratio <b>72:73</b>
1	<b>17b</b> in DCM	<b>71b</b> , Py·HF (5 mL)	8	82	34	1:99
2	<b>17b</b> in DCM	<b>71b</b> , Py·HF (2.50 mL), DCM (2.50 mL)	8	> 95	83	24:76
3	<b>17b</b> in DCM	<b>71b</b> , Py·HF (2.50 mL), DCM (2.50 mL)	10	88	46	65:35
4	<b>17b</b> in DCM	<b>71b</b> , Py·HF (2.50 mL), DCM (2.50 mL)	20	> 95	< 5	--
5	<b>17b</b> in DCM	<b>71a</b> , Py·HF (2.50 mL), DCM (2.50 mL)	10	> 95	< 5	--

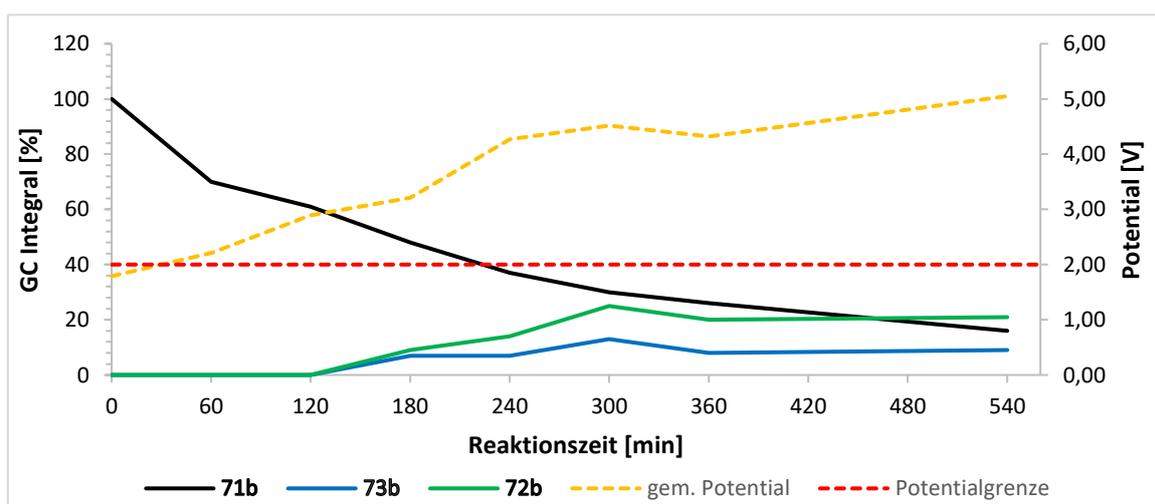
<sup>a</sup> unmittelbar vor Beginn der galvanostatischen Elektrosynthese wurde der Anodenraum mit Mediator **17b** (1.00 mmol) und DCM (5 mL) und der Kathodenraum mit Substrat **71a** oder **71b** (0.25 mmol) und dem entsprechenden Py·HF/DCM-Gemisch (Gesamtvolumen = 5 mL) bestückt; Elektrosynthese erfolgte bei gegebener Stromstärke bis ein Ladungstransfer von 3.50 F/mol erreicht wurde.

Allerdings wurde bei diesem Versuch festgestellt (Tabelle 13, Eintrag 3), dass die Dichtungen aus Naturkautschuk nicht genügend Stabilität gegenüber der Reaktionslösung besaßen und Anzeichen von Sprödigkeit zeigten. Dies hatte zur Folge, dass die Membran verformt wurde und das Setup D undicht wurde, was zum Verlust der Reaktionslösung führte (Abbildung 13).



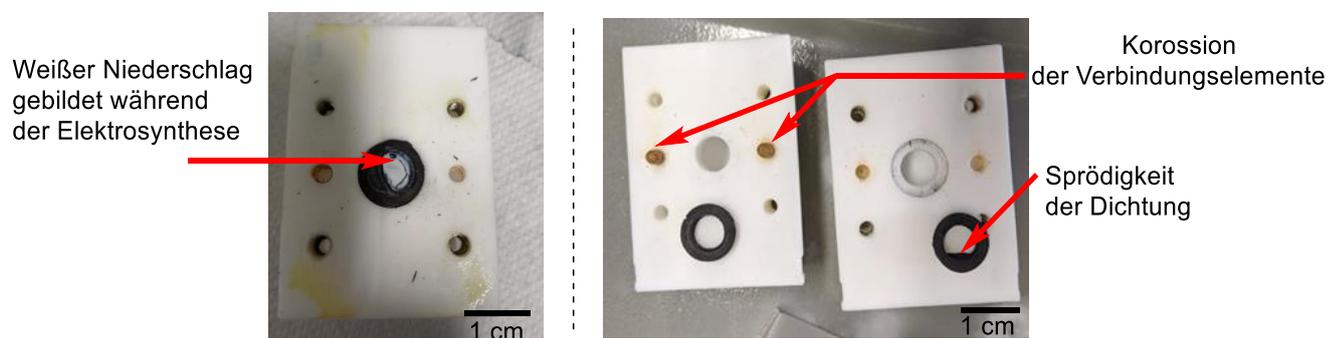
**Abbildung 13:** Anodenraum von Setup D nach elektrochemischer Umsetzung (Tabelle 5, Eintrag 3) von Styrol **70a**: rote Pfeile zeigen die Verformung der Membran und den Austritt der Reaktionslösung.

Demzufolge ist bei konstanter Stromstärke das Potential angestiegen, da die benetzte Oberfläche der Elektroden verringert wurde. So lag das Potential bei 10 mA zu Beginn der Reaktion deutlich unter der gesetzten Grenze von 2 V, wobei sich dieses bereits nach 3 h Reaktionszeit über 3 V befand (Diagramm 2). Dies führte zu unkontrollierten Reaktionen im Setup D, wodurch allgemein die niedrige  $^1\text{H-NMR}$ -Ausbeute an *gem*-**72b** und *vic*-Produkten **73b** erklärt werden kann (Tabelle 13, Eintrag 3).



**Diagramm 2:** Galvanostatische Elektrosynthese der *gem*-**72b** und *vic*-**73b** Produkte im Setup D in Abhängigkeit des während der Reaktion gemessenen Potentials.

Diese Erkenntnis konnte durch einen Versuch mittels Erhöhung der Stromstärke bestätigt werden, weil es in diesem Fall zur Zersetzung des Substrates **71b** und lediglich Spuren an *gem*-**72b** und *vic*-Produkt **73b** kam (Tabelle 13, Eintrag 4). Als letztes wurde das elektronenreiche Styrol **70b** als Substrat verwendet, um das chemische Verhalten von leicht oxidierbaren Substraten im Setup D zu untersuchen. In diesem Fall führte die Elektrosynthese bei 10 mA Stromstärke zu einer Zersetzung des Substrates **71a** ohne Spuren an difluorierten Produkten **72a** oder **73a** zu erhalten. (Tabelle 13, Eintrag 5). Darüber hinaus wurde nach beendeter Reaktion ein weißer Niederschlag auf der Membran im Setup D beobachtet (Abbildung 14, links). Dies kann vermutlich auf die Bildung von Polystyrol zurückgeführt werden, wie bereits in der Publikation von Marquez *et al.* zur Bildung von Polystyrol auf Platinelektroden während einer galvanostatischen Elektrolyse in  $\text{CHCl}_3/n\text{-Bu}_4\text{NBF}_4$  beschrieben wurde.<sup>[109]</sup> Während der elektrochemischen Versuche zeigten außerdem die Verbindungselemente, die zum Festhalten vom Kathoden- und Anodenraum während der Elektrosynthese vorgesehen wurden, erste Anzeichen von Korrosion (Abbildung 14, rechts).



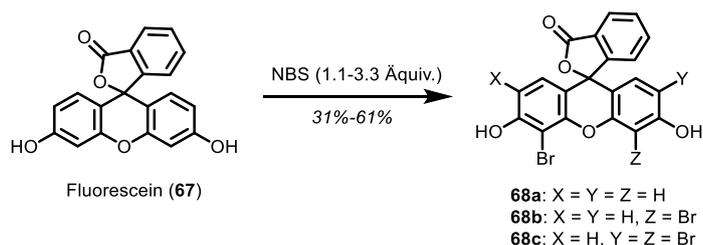
**Abbildung 14:** Anodenraum von Setup D nach elektrochemischer Umsetzung (Tabelle 5, Eintrag 5) vom Styrol **70b**: rote Pfeile zeigen den gebildeten weißen Niederschlag (links); Anoden und Kathodenraum von Setup D: rote Pfeile zeigen die Korrosion der Verbindungselemente sowie Sprödigkeit der Dichtungen (rechts).

Dies ist auf die Verwendung von hochkorrosiven HF-Lösungen in Verbindung mit (Edel)Stahl-Werkstoffen zurückzuführen. Im Falle einer Weiterentwicklung des Setup D sollte deshalb die Wahl des Werkstoffes zur Herstellung der Verbindungselemente so getroffen werden, dass dieser vollständig korrosionsbeständig in Verbindung mit HF-haltigen Stoffen ist, wie z.B. hochkristallines Polypropylen, PTFE oder Ni-Cu-Legierungen als Basiswerkstoff.

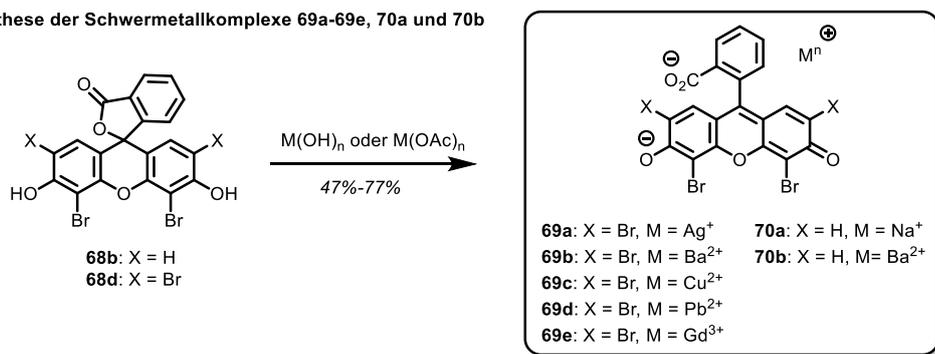
### 3. Zusammenfassung und Ausblick

Im Fokus des ersten Teils dieser Doktorarbeit stand die Entwicklung eines wasserlöslichen Kontrastmittels für Untersuchungen biologischen Weichgewebes unterschiedlicher Art mittels  $\mu$ CT im Vordergrund. Busse *et al.* zeigte 2018, dass der Xanthenfarbstoff Eosin Y (**4**) hervorragend als ein Zytoplasma-spezifisches *ex-vivo* KM zur Untersuchung von Nierengewebe mittels  $\mu$ CT angewandt werden kann (Abbildung 5).<sup>[75]</sup> Allerdings war aufgrund der limitierten Wasserlöslichkeit des Xanthenfarbstoffs **4** ( $300 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) ein ausreichender Kontrast nur mittels gesättigter Eosin Y-Lösungen erreichbar. Eine signifikante Steigerung des Kontrasts war deshalb nicht möglich. Um dieses Problem zu umgehen, wurden einige chemische Modifikationen des Xanthenfarbstoffs (**4**) durchgeführt, welche zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit führten und zugleich eine homogene Verteilung des neuen KM ermöglichten, wodurch ein ausreichender CT-Kontrast erzielt werden konnte. Das hierzu entwickelte Syntheseprotokoll zur Bromierung von Fluorescein (**72**) erlaubt eine einfache und selektive Herstellung von mono- di-, tribromierten Fluoresceinderivaten **68a-68c** mittels *N*-Bromsuccinimid (NBS) in guten Ausbeuten 31-63% (Abbildung 15a). Eine anschließende Behandlung der Di- und Tetrabromfluoresceinderivate **68b** und **68d** mit entsprechenden Metallhydroxiden oder Metallacetaten lieferte Metallkomplexe **69a-69e**, **70a** und **70b** als potenzielle KM für Weichgewebe (Abbildung 15b). Das Dibromfluorescein-Bariumsalz **70b** erwies sich dabei als am effektivsten als KM zur diagnostischen Untersuchung von Weichgewebeproben mittels CT-Analyse. Das neuartige KM Dibromofluorescein-Barium-Salz **70b** wurde erfolgreich zur Färbung von Leber- und Nierengewebe angewandt (Abbildung 15c). Die Untersuchungen zur pathologischen Relevanz des neu entwickelten Verfahrens zeigten, dass Dibromfluorescein-Bariumsalz **70b** als KM kompatibel mit der histologischen Hämatoxylin-Eosin-Färbung und somit geeignet als ergänzendes Färbemittel zu den klassischen histologischen Färbemethoden ist.<sup>[105]</sup> Weiterführend könnte die Möglichkeit zur Verwendung von iodierten Xanthenfarbstoffen als Kontrastmittel untersucht werden. Dank der höheren Atomzahl des Iods ( $Z = 53$ ) im Vergleich zum Brom ( $Z = 35$ ) könnte hier eine zusätzliche Steigerung des Kontrastes bei  $\mu$ CT erreicht werden. Hierfür eignet sich als Modellsubstrat der tetraiodierte Farbstoff Erythrosin B (**3**). Bei Betrachtung der Verbesserung der Eigenschaften zur Eignung des Dibrom-Xanthenfarbstoffs **70b** im Vergleich zu dessen Tetrabrom-Derivaten Eosin Y (**4**) könnte es vorteilhaft sein, auch Metallkomplexe der diiodierten Xanthenfarbstoffe herzustellen und als KM für  $\mu$ CT zu untersuchen.

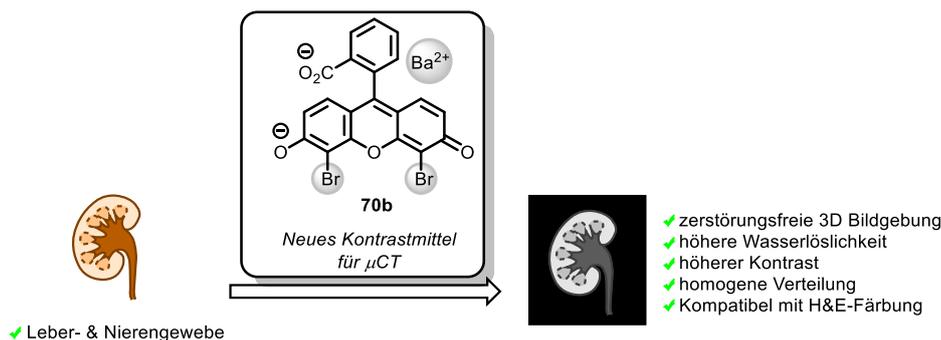
### a) Synthese der Mono-, Di-, Tri- und Tetrabromfluoresceinderivate 68a-68c



### b) Synthese der Schwermetallkomplexe 69a-69e, 70a und 70b



### c) Neues Kontrastmittel Dibromfluorescein Bariumsalz 70a

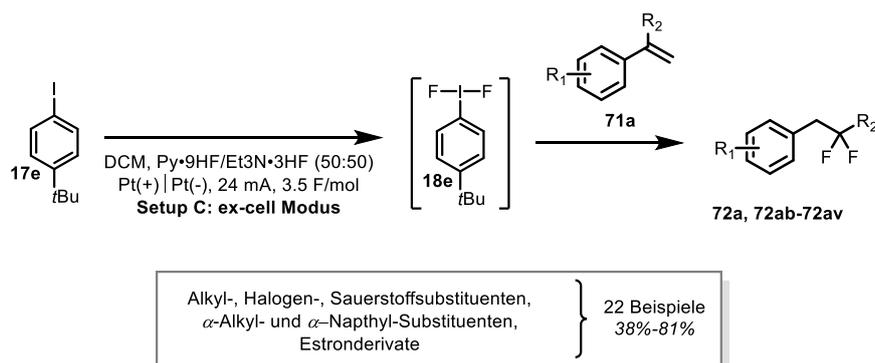


**Abbildung 15:** a) Erfolgreiche Synthese, Isolierung und Charakterisierung der bromierten Fluoresceinderivate **68a-68c**; b) Synthese der Schwermetallkomplexe **69a-69e**, **70a** und **70b**; c) Innovatives Kontrastmittel für μCT: Dibromfluorescein-Bariumsalz **70b**.<sup>[105]</sup>

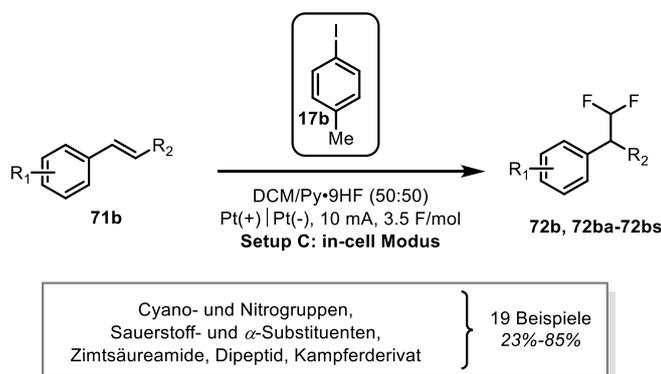
Der zweite Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Entwicklung neuer Verfahren zu elektrochemischen  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktionen von unterschiedlich substituierten Styrolen **71**. Trotz der zahlreichen in der Literatur beschriebenen Meilensteine, welche die Verwendung verschiedener Aryliodide als Mediatoren in elektrochemischen Fluorierungen wie z.B.: Monofluorierungen,<sup>[42f]</sup> *gem*-Difluorierungen,<sup>[42c, 42e, 42f]</sup> *vic*-Difluorierungen<sup>[42j]</sup> sowie Fluorocyclisierungen<sup>[42h, 106]</sup>, existiert immer noch eine Reihe an Schwierigkeiten und Limitierungen im Feld der elektrochemischen  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktionen, weshalb die Anzahl an neuen und robusten elektrochemischen Synthesemethoden begrenzt bleibt. Einige dieser Probleme beziehen sich auf die schwierige

Wahl des richtigen Mediators, welcher für die Durchführung der gewünschten Reaktion ausschlaggebend ist. Weitere Herausforderungen entstehen in Verbindung mit der Verwendung ionischer Flüssigkeiten auf Basis von Amin·HF-Verbindungen (Amin·HF: Et<sub>3</sub>N·3HF, Et<sub>3</sub>N·5HF, Py·HF), weil diese eine hohe Reaktivität, sehr hohe Toxizität und somit eine erschwerte Handhabung aufweisen. In Bezug auf Styrole **71** als Substrate in  $\lambda^3$ -F-Iodanvermittelten elektrochemischen Fluorierungsreaktionen muss zwischen elektronenreichen Substraten wie z.B. *t*-Butylstyrol **71a** und elektronenarmen Substraten wie das *p*-Cyanostyrol **71b** differenziert werden. In diesem Teil der Arbeit wurde eine selektive elektrochemische Methode zur Synthese von *gem*-difluorierten Produkte **72** entwickelt. Die Herausforderung bestand in den unterschiedlichen Reaktivitäten der Substrate **71a** und **71b**. Deshalb wurden die leicht oxidierbaren Styrole **71a** und **71ab-71av** indirekt im Setup C (*ex-cell* Modus) mit Py HF/Et<sub>3</sub>N HF als Elektrolyt und HF-Quelle, bei einer Stromstärke von 12 mA und mit *t*-Butyliodbenzol **17e** als Mediator umgesetzt und lieferten *vic*-difluorierte Produkte **72a** und **72ab-72av** in guten bis sehr guten Ausbeuten von 38% bis 81% (Abbildung Schema 19a). Die hohe Toleranz für funktionelle Gruppen (Alkylreste, Halogensubstituenten, Sauerstoffsubstituenten) dieses Verfahrens, hohe Selektivitäten sowie milde Reaktionsbedingungen verdeutlichen die Bedeutung der Methode für die Synthese von *gem*-difluorierten Produkten **72a** und **72ab-72av**. Für die elektronenarmen Styrole **71b** und **71ba-71bs** wurde das Prinzip der direkten geteilten Zelle verwendet: *in-cell* Modus mit Py HF als Elektrolyt und HF-Quelle, bei einer Stromstärke von 10 mA und mit Tolyliodid **17b** als Mediator. Die Umsetzung lieferte *gem*-difluorierte Produkte **72b** und **72ba-72bs** in guten Ausbeuten von 23% bis 85% (Schema 19b). Darüber hinaus gelang es mit der neu entwickelten Methode, das Zimtsäuremethylester (**71bk**) katalytisch mit 0.2 Äquiv. an Mediator **17b** in hoher Ausbeute von 80% zum *gem*-Produkt **72bk** umzusetzen (Schema 19c).

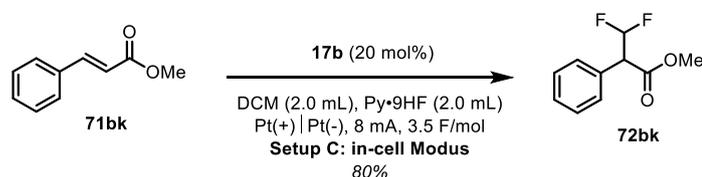
### a) Galvanostatische, indirekte *gem*-Difluorierung elektronreicher Styrole **71a**



### b) Galvanostatische, direkte *gem*-Difluorierung elektronarmer Styrole **71b**



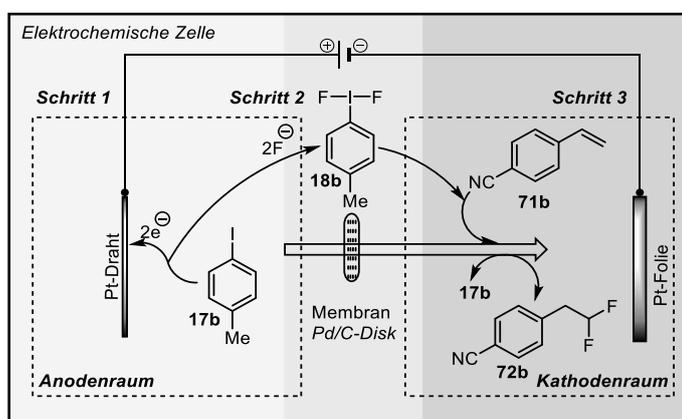
### b) Katalytische *gem*-Fluorierung von Zimtsäuremethylester **72bk**



**Schema 19:** Erfolgreich etablierte elektrochemische Synthese: a) der *gem*-Produkte **72a** und **72ab-72av**, b) der *gem*-Produkte **72b** und **72ba-72bs** und c) katalytische des Zimtsäuremethylesterderivatives **72bk**.<sup>[103]</sup>

Um das Problem der unerwünschten Oxidation der Substrate mit niedrigen Oxidationspotentialen wie z.B. Styrol **71a** zu umgehen, wurde anschließend im Rahmen der Methodenerweiterung ein geteiltes elektrochemisches Setup D für  $\lambda^3$ -*F*-Iodan-vermittelte Fluorierungsreaktionen entwickelt. Die Besonderheit des geteilten Setup D bestand in der räumlichen Trennung des Anoden- und Kathodenraums mittels einer Membran aus mehreren aufeinander folgenden Schichten (Abbildung 12). Das neue Setup D wurde mittels Impedanzspektroskopie charakterisiert. Die Ermittlung der Leitfähigkeitswerte ( $\kappa$ -Werte) verschiedener Amin·HF/DCM-Gemische im Setup D ergab, dass diese geeignet für den Einsatz in der elektrochemischen Synthese sind, weil sie für einen ausreichenden Ladungstransport

sorgen (Tabelle 4). Am geringsten fiel der  $\kappa$ -Wert mit  $9.60 \times 10^{-3}$  S/cm beim Gemisch DCM/Py·HF/Et<sub>3</sub>N·5HF (90:5:5, v/v), weil dieses die geringste Konzentration an Amin·HF-Spezies beinhaltet. Am höchsten mit  $24.3 \times 10^{-2}$  S/cm war der  $\kappa$ -Wert bei DCM/Py·9HF (50:50, v/v)-Gemisch, weshalb dies als Reaktionslösung weiter verwendet wurde. Bei den Versuchen zur elektrochemischen Fluorierung der Styrole **71a** und **71b** mit Tolyliodid (**17b**) als Mediator unter galvanostatischen Bedingungen wurde im Fall des elektronenarmen *p*-Cyanostyrol **71b** das gewünschte Produkt **72b** in einem Überschuss von 65% gebildet. Bei der Umsetzung des elektronenreicheren *t*-Butylstyrol **71a** wurde nach beendeter Elektrolyse lediglich die Zersetzung des Substrates festgestellt. Ein weißer Niederschlag auf der Membran gab Hinweise auf eine Polymerisation des Styrols **71a** als Nebenreaktion. Die aus der erfolgreichen Umsetzung des Styrols **71b** im Setup D abgeleitete Abfolge der Reaktionen ist in Abbildung 16 dargestellt. Die Prozesse müssten demnach schrittweise ablaufen und starten mit der elektrochemischen Oxidation des Mediators **17b** auf der Membran (Schritt 1) mittels eines Pt-Drahts zum  $\lambda^3$ -F-Iodan **18b**, welches anschließend durch die Membran in den Kathodenraum gelangt (Schritt 2), wo es mit dem Substrat **71b** reagiert (Schritt 3). Das gewünschte Produkt **72b** befindet sich nach beendeter Reaktion im Kathodenraum, wodurch es zusätzlich vor weiteren Reaktionen an der Anode geschützt wird.



**Abbildung 16:** Schematische Darstellung der elektrochemischen Zelle im Setup D und der schrittweise Ablauf der  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktion von Styrol **71a**.

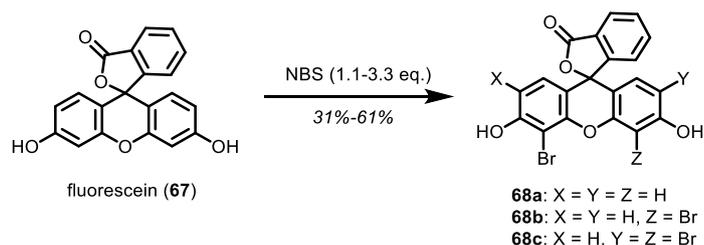
Um die elektrochemische Synthese und den Transport des der  $\lambda^3$ -F-Iodans **18b** durch die Membran im Setup D zukünftig zu optimieren, könnte im weiteren Entwicklungsschritt ein kleinerer Mediator als **17b** wie z.B. elementares Iod verwendet werden, um die Bildung des gewünschten *gem*-Produkts **72b** zu begünstigen. Darüber hinaus müssten einige Verbesserungen im Aufbau des ungeteilten Setup D vorgenommen werden. So kam es im Zuge

der galvanostatischen Umsetzungen (Tabelle 5, Eintrag 3) zu unkontrollierter Steigerung des Potentials innerhalb des Setup D (Diagramm 2). Dies konnte auf die Verluste der Reaktionslösung aufgrund von Undichtigkeiten im Setup D zurückgeführt werden, da die benetzte Oberfläche verringert wurde, was bei konstanter Stromstärke unmittelbar zur Steigerung des Potentials geführt hat. Hierbei wäre zusätzlich eine Temperaturkontrolle im Setup D wichtig, um weitere Verluste durch Verdampfen des Lösungsmittels zu verringern. Da es bei der Verwendung von hochkorrosiven HF-Lösungen in Verbindung mit (Edel)Stahlwerkstoffen zu Korrosion kam, wäre im Falle der Weiterentwicklung des Setup D eine Wahl des Werkstoffes zur Herstellung von Verbindungsschrauben so zu treffen, dass dieser komplett korrosionsbeständig in Verbindung mit HF-haltigen Stoffen ist, wie beispielsweise hochkristallines PP, PTFE oder Ni-Cu-Legierungen als Basiswerkstoff.

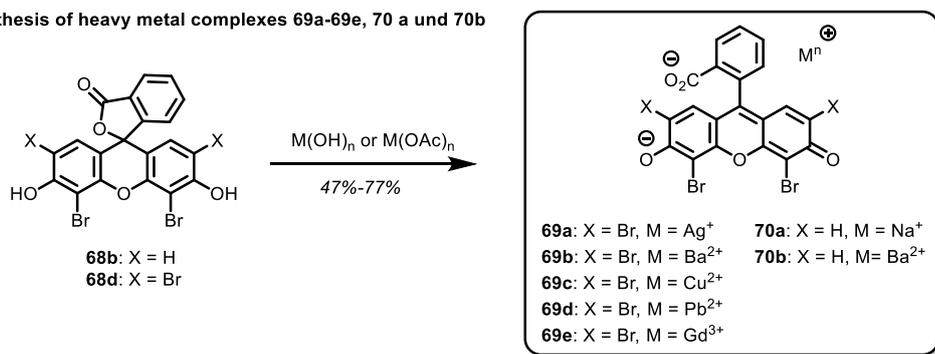
## 4. Summary and Perspectives

The focus of the first part of the present doctoral thesis laid on the development of a water-soluble contrast agent for examining various types of biological soft tissue using  $\mu$ CT. Busse *et al.* showed in 2018 that the xanthene dye eosin Y (**4**) can be used excellently as a cytoplasm-specific ex-vivo contrast agent for the investigation of kidney tissue by  $\mu$ CT.<sup>[105]</sup> However, due to the limited water solubility of the xanthene dye **4** ( $300 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), sufficient contrast could only be achieved using saturated eosin Y (**4**) solutions. A significant increase in contrast was therefore not possible. To avoid this problem, some chemical modifications of the xanthene dye (**4**) were carried out, which led to an increased water solubility and at the same time enabled a homogeneous distribution of the new contrast agent, which resulted in sufficient  $\mu$ CT contrast. The synthesis protocol developed for this purpose allows simple and selective bromination of fluorescein (**72**) delivering mono-, di- and tribrominated fluorescein derivatives **68a-68c** in good yields of 31-63% using *N*-bromosuccinimide (NBS) as brominating agent (Figure 1a). Subsequent treatment of the di- and tetrabromofluorescein derivatives **68b** and **68d** with the appropriate metal hydroxides or metal acetates yields metal complexes **69a-69e**, **70a**, and **70b** as potential soft-tissue contrast media (Figure 1b). The dibromofluorescein barium salt **70b** proved to be the most effective contrast agent for the diagnostic examination of soft tissue samples by  $\mu$ CT analysis. The novel contrast agent dibromofluorescein barium salt **70b** was successfully applied to stain liver and kidney tissue (Figure 1c). Investigations of the pathological relevance of the newly developed staining method showed that dibromofluorescein barium salt **70b** as a contrast agent is compatible with histological hematoxylin-eosin staining and is therefore suitable as a supplementary staining agent for classic histological staining methods.<sup>[105]</sup> Furthermore, the possibility of using iodinated xanthene dyes as contrast agent could be investigated. Because of the higher atomic number of iodine ( $Z = 53$ ) compared to bromine ( $Z = 35$ ), an additional increase in contrast could be achieved by  $\mu$ CT analysis of soft tissue samples. The commercially available xanthene dye erythrosin B (**3**) would be suitable as a model substrate for this purpose. When considering the improvement of the properties regarding the suitability of the dibromo-xanthene dye **70b** as contrast agent for  $\mu$ CT compared to its tetrabromo-derivative eosin Y (**4**), it might be advantageous to also prepare metal complexes of the diiodinated xanthene dyes and investigate them as contrast agent for  $\mu$ CT analysis of soft tissue.

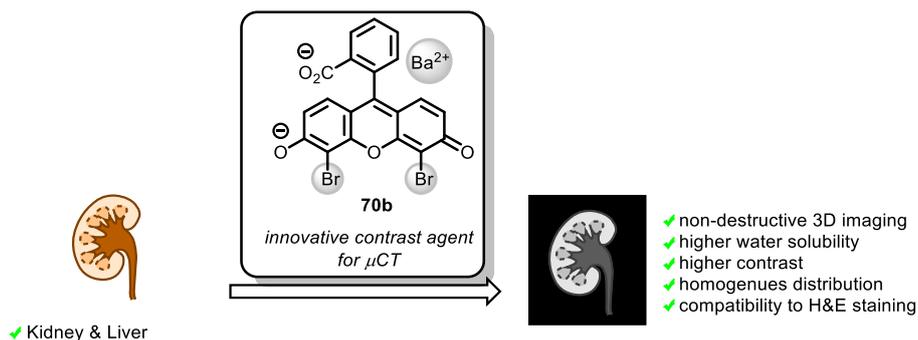
### a) Synthesis of mono-, di-, tri- and tetrabromofluorescein **68a-68c**



### b) Synthesis of heavy metal complexes **69a-69e**, **70a** und **70b**



### b) New contrast agent dibromofluorescein barium salt **70b**

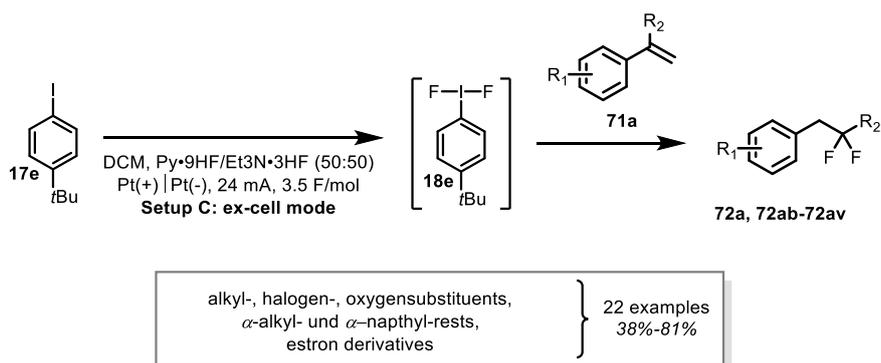


**Figure 1:** a) Successful synthesis, isolation, and characterization of the brominated fluorescein derivatives **68a-68c**; b) Synthesis of the heavy metal complexes **69a-69e**, **70a**, and **70b**; c) Innovative contrast agent for  $\mu$ CT: dibromofluorescein barium salt **70b**.<sup>[105]</sup>

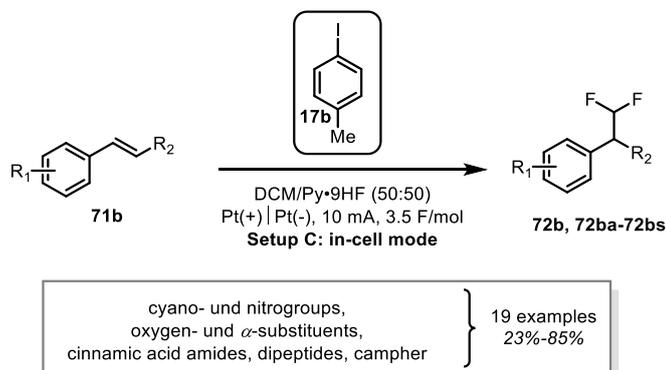
The second part of this work dealt with the development of new methods for electrochemical  $\lambda^3$ -F-iodane-mediated fluorination reactions of differently substituted styrenes **71**. Despite the numerous milestones described in the literature, which describe the use of different aryl iodides as mediators in electrochemical fluorinations such as: monofluorinations,<sup>[42f]</sup> *gem*-difluorinations,<sup>[42c, 42e, 42f]</sup> *vic*-difluorinations,<sup>[42j]</sup> and fluorocyclizations<sup>[42h]</sup> there is still a number of limitations in the field of electrochemical  $\lambda^3$ -F-iodane mediated fluorination reactions. Due to this fact the number of new and robust electrochemical synthetic methods remains limited. Some of these issues relate to the difficult choice of the right mediator, which is critical to achieve the desired electrochemical fluorination reaction. Further challenges arise

in connection with the use of the toxic and highly reactive ionic liquids based on amine·HF compounds (amine·HF: Et<sub>3</sub>N·3HF, Et<sub>3</sub>N·5HF, Py·HF). Regarding styrenes **71** as substrates in λ<sup>3</sup>-F-iodane-mediated electrochemical fluorination reactions, a distinction must be made between electron-rich substrates such as *t*-butylstyrene **71a** and electron-deficient substrates such as *p*-cyanostyrene **71b**. In this part of the present doctoral thesis a selective electrochemical method for the synthesis of *gem*-difluorinated products **72** was developed. The greatest challenge were the different reactivities of the substrates **71a** and **71b** due to their different electronic properties. Therefore, the oxidation unstable styrenes **71a** and **71ab-71av** were indirectly prepared in Setup C (ex-cell mode) with Py·HF/Et<sub>3</sub>N·HF as electrolyte and HF source, with electrical current of 12 mA, and with *t*-butyliodobenzene **17e** as mediator. Their conversion provided *gem*-difluorinated products **72a** and **72ab-72av** in good to excellent yields ranging from 38% to 81% (Scheme 1a). The high tolerance for functional groups (alkyl, halogen- and oxygen substituents), high selectivity and mild reaction conditions illustrate the importance of this method for the synthesis of *gem*-difluorinated products **72a** and **72ab-72av** in the synthetic community. For the more oxidation stable electron-deficient styrenes **71b** and **71ba-71bs** the direct electrochemical principle was used: in-cell mode with Py·HF as electrolyte and HF source, with electrical current of 10 mA and with *p*-iodotoluene **17b** as mediator. The reaction provided *gem*-difluorinated products **72b** and **72ba-72bs** in good yields ranging from 23% to 85% (Scheme 1b). Furthermore, methyl cinnamate (**71bk**) could be catalytically treated with 20 mol% of mediator **17b** to give the *gem*-product **72bk** in high yield of 80% (Scheme 1c).

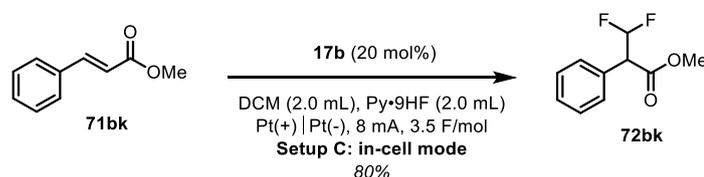
### a) Galvanostatic, ex-cell *gem*-difluorination of electron-rich styrenes **71a**



### b) Galvanostatic, in-cell *gem*-difluorination of electron-poor styrenes **71b**



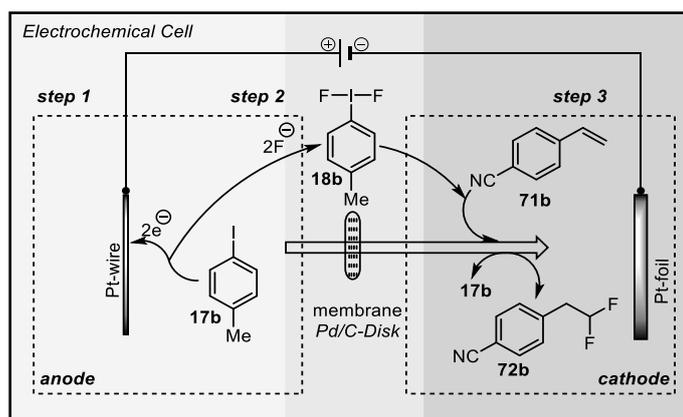
### b) Catalytic *gem*-difluorination of cinnamic of methyl cinnamate **71bk**



**Scheme 1:** Successfully established electrochemical synthesis: a) *gem*-products **72a** and **72ab-72av**, b) *gem*-products **72b** and **72ba-72bs**, and c) catalytic *gem*-difluorination of methyl cinnamate **71bk**.<sup>[103]</sup>

To avoid the problem of undesired oxidation of those substrates with lower oxidation potentials such as styrene **71a**, a divided electrochemical setup for  $\lambda^3$ -*F*-iodane-mediated fluorination reactions was developed as a part of the method extension. The special feature of the divided setup D was the spatial separation of the anode and cathode compartments by means of a membrane made up of several consecutive layers. First, the new setup D was characterized by impedance spectroscopy. The determination of the conductivity values ( $\kappa$ -values) of various amine·HF/DCM mixtures in Setup D showed that these are suitable for use in electrochemical synthesis because they ensure sufficient charge transport. The lowest  $\kappa$ -value with  $9.60 \times 10^{-3}$  S/cm was determined for the mixture DCM/Py·HF/Et<sub>3</sub>N·HF (90:5:5, v/v), because

the mixture had the lowest concentration of amine HF species, which are responsible for the charge transport in the reaction mixture during the electrosynthesis. The highest  $\kappa$ -value was measured as  $24.3 \times 10^{-2}$  S/cm for the DCM/Py 9HF (50:50, v/v) mixture. Due to this fact, DCM/Py 9HF (50:50, v/v) was further used as the electrolyte. In attempts to electrochemically fluorinate styrenes **71a** and **71b** with *p*-iodotoluene (**17b**) as a mediator under galvanostatic conditions, electron-deficient *p*-cyanostyrene **71b** provided the desired *gem*-product **72b** as major product in 65% yield. When the more electron-rich *t*-butylstyrene **71a** was converted, only decomposition of the substrate was observed after the electrolysis. A white precipitate on the membrane indicated polymerization of styrene **71a** as a side reaction. The sequence of reactions derived from the successful conversion of styrene **71b** in setup D is shown in figure 2. The processes would therefore have to run step by step and start with the electrochemical oxidation of the mediator **17b** on the membrane (step 1) by means of a Pt wire to the  $\lambda^3$ -*F*-iodane **18b**, which then passes through the membrane into the cathode room (step 2), where it reacts with the substrate **71b** (step 3) to the desired *gem*-product **72b**.



**Figure 2:** Schematic representation of the divided cell (Setup D) and the proposed stepwise mechanism of *gem*-difluorination of styrene **71b**.

To further optimize the electrochemical synthesis and to make the transport of the  $\lambda^3$ -*F*-iodane **18b** through the membrane in Setup D more efficient, a smaller mediator than **17b**, such as elemental iodine, could be used in the further development step to promote the formation of the desired *gem*-product **71a**. In addition, some improvements in the structure of the undivided setup D would be efficient. During the galvanostatic conversions in Setup D an uncontrolled increase in the potential could be observed. This could be attributed to the loss of the reaction solution due to leaks in Setup D, since the wetted surface of the electrodes was reduced, which immediately led to an increase in potential, causing uncontrolled redox reactions. Since

corrosion occurred when using highly oxidative HF solutions in connection with (stainless) steel parts, the material of the connecting screws would have to be selected in such a way that it would be completely corrosion-resistant in connection with substances containing HF, such as highly crystalline PP, PTFE or Ni-Cu alloys.

## III. Experimenteller Teil

### 1. Allgemeine Methoden

#### 1.1. Vorbemerkung

Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien wurden in zuvor im Vakuum ausgeheizten Glasgeräten unter einer Argon-Schutzgasatmosphäre durchgeführt. Die kommerziell erhältlichen Reagenzien wurden, wenn nicht anders vermerkt, ohne weitere Reinigung eingesetzt.

#### 1.2. Lösungsmittel

Die folgenden trockenen Lösungsmittel wurden verwendet:

Acetonitril: Acros Organics, Extra Dry, 99.9%, <0.005% Wasser

Methanol: *Sigma-Aldrich*, puriss., 95.8%, < 0.2% Wasser

Dichlormethan, Diethylether und Tetrahydrofuran wurden unter Argon-Schutzgasatmosphäre aus einer MB-SPS 800 Apparatur der Firma *Braun* entnommen.

Lösungsmittel (Aceton, Dichlormethan, Diethylether, Ethylacetat, Methanol) für Säulenchromatographie, Dünnschichtchromatographie, Umkristallisation und Extraktion wurden nach einmaliger Destillation verwendet und von der Materialausgabe der Technischen Universität München Fakultät Chemie bezogen.

#### 1.3. Analytische Methoden und verwendete Geräte

##### *Kernresonanzspektroskopie (NMR)*

Die Messungen von Kernresonanzspektren wurden an den Geräten AVHD-300 (300 MHz), AVHD-400 (400 MHz), AVHD-500 (500 MHz) und AVHD-500cr (500 MHz) der Firma *Bruker* bei 300 K durchgeführt. Die chemischen Verschiebungen  $\delta$  sind in ppm (parts per milion) angegeben und auf die Restprotonensignale des deuterierten Lösungsmittel kalibriert: Aceton:  $\delta(^1\text{H}) = 2.05$  ppm, Chloroform:  $\delta(^1\text{H}) = 7.26$  ppm, Methanol:  $\delta(^1\text{H}) = 4.87$  ppm) Folgende Abkürzungen wurden bei der Auswertung der Spektren für verschiedene Signalformen verwendet: s – Singulett, d – Dublett, t – Triplet. Die Kopplungskonstanten  $J$

stellen die Mittelwerte der experimentell gefundenen Kopplungsfrequenzen der jeweiligen Protonen dar.

#### *Dünnschichtchromatographie (DC) und Säulenchromatographie*

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Aluminium der Firma *Merck* (Basis Material: Aluminium, 0.25 mm Kieselgel 60 A, F-254) verwendet. Die Detektion erfolgte durch Fluoreszenzdetektion im UV-Licht der Wellenlänge 254 nm oder mit Hilfe der Anfärbereagenzien:

- Cerammoniummolybdatlösung (CAM, 4 g  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ , 116 g  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ , 100 mL konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 mL  $\text{H}_2\text{O}$ )
- Kaliumpermanganatlösung (3 g  $\text{KMnO}_4$ , 20 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 5 mL  $\text{NaOH}$  (5%), 300 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel der Firma *Merck* (230 – 400 mesh ASTM, Kieselgel 60, Korngröße 40 – 63  $\mu\text{m}$ ) verwendet. Das verwendete Eluentverhältnis für die säulenchromatographische Trennung und die Dünnschichtchromatographie sind den jeweiligen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### *Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)*

Massenspektrometrische Messungen sind an einem *Agilent 5973 Network Mass Selective Detector* mit vorgeschaltetem Gaschromatographen (*Agilent 6890* mit der Säule HP5 (30 m, 95% Dimethylpolysiloxan, 5% Diphenylpolysiloxan, Schichtdicke 25-50  $\mu\text{m}$ , Trägergas: He). Als Ionisierungsmethode wurde die Elektronensprayionisation (ESI) verwendet.

#### *Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)*

HPLC Analysen wurden an einem Chromaster Gerät der Firma *Hitachi* unter folgenden Bedingungen durchgeführt: 150 × 4 mm Eurospher II, 100 Å, 5  $\mu\text{m}$ , C18, RT, Fließgeschwindigkeit: 1.00 mL/min. Lösungsmittelverhältnisse sind den jeweiligen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### *Galvanostatische elektrochemische Reaktionen*

Die galvanostatischen Elektrosynthesen wurden mit dem Gleichrichter HMP4040 der Fa. *Rohde & Schwarz* durchgeführt. Das ungeteilte Setup C und das geteilte Setup D wurden aus PTFE nach Vorbild von Waldvogel *et al.* angefertigt. Die Impedanzmessungen wurden mit dem Potentiostat BioLogic SP-200 der Fa. *Biologic* durchgeführt. Als Elektroden wurden Pt-Folien (8 x 1 x 0.1 cm) und Pt-Draht (Länge: 8 cm, Durchmesser: 0.05 cm) der Fa. *Alfa Aeser* verwendet.

#### *Impedanzspektroskopie*

Elektroimpedanzspektroskopie wurde mittels BioLogic SP-200 Potentiostaten durchgeführt. Die Impedanzmessungen zur Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit wurden bei Raumtemperatur in einer symmetrischen PTFE-Zelle mit zwei Platinelektroden (Pt-Folie, Fläche: 10 mm x 70 mm, Abstand zwischen den Elektroden: 2,7 cm). Zunächst wurde die Zellkonstante ( $C_{Zelle}$ ) mit Literaturwerten einer 0,1 M KCl-Lösung berechnet (Gl. 2). Die elektrische Leitfähigkeit wurde dann aus den Widerstandswerten errechnet, die durch Impedanzspektroskopie von 10 ml frisch hergestellter Amin-HF-Lösungen (Gl. 3) gemessen wurden.

#### Bestimmung der Zellkonstante mit 0,1 M KCl-Lösung:

$$\begin{aligned} C_{Zelle} &= \kappa \times R \\ C_{Zelle} &= 2.43 \text{ cm}^{-1} \end{aligned} \quad (\text{Gl. 2})$$

$$\kappa = 12.9 \cdot 10^{-3} \text{ S cm}^{-1}$$

$$R = 188 \text{ } \Omega \text{ (ermittelter Wert)}$$

#### Bestimmung der Leitfähigkeit von Amin-HF-Lösungen:

Aus der ermittelten Zellkonstante  $C_{Zelle}$  und dem gemessenen Widerstand  $R$  wurden die Werte für die Leitfähigkeit  $\kappa$  der verschiedenen Elektrolyte nach Gl. 3 berechnet.

$$\kappa = \frac{C_{cell}}{R} \quad (\text{Gl. 3})$$

$$\kappa = \text{elektrische Leitfähigkeit}$$

$$R = \text{elektrischer Widerstand}$$

## 2. Synthesevorschriften und analytische Daten

### 2.1 Allgemeine Vorschriften (AV)

#### AV-1: *gem*-Difluorierung elektronenreicher Styrole **71a** und **71ab-71av** im Setup C

In eine ungeteilte PTFE-Zelle (Setup C) mit einer Platinanode ( $1 \times 1.2 \text{ cm}^2$ ) und einer Platinkathode ( $1 \times 1.2 \text{ cm}^2$ ) wird trockenes und entgastes DCM (3.6 mL), Py·9HF (0.2 mL) und Et<sub>3</sub>N·3HF (0.2 mL) vorgelegt und mit 4-*tert*-Butyliodbenzol (**17e**, 0.30 mmol, 1.2 Äquiv.) versetzt. Die Elektrolyse wird bei Raumtemperatur unter konstanter Stromstärke (24 mA) durchgeführt, bis eine Ladungsmenge von 3.5 F/mol erreicht wird. Nach beendeter Elektrolyse wird das Substrat **71a** (0.25 mmol, 1.0 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Umsatz (DC) gerührt. Das Reaktionsgemisch wird bei 0 °C in ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (50 mL) gegeben und mit DCM (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.

#### AV-2: *gem*-Difluorierung elektronenarmer Styrole **71b** und **71bb-71bs** Setup C

In eine ungeteilte PTFE-Zelle (Setup C) mit einer Platinanode ( $1 \times 1.2 \text{ cm}^2$ ) und einer Platinkathode ( $1 \times 1.2 \text{ cm}^2$ ) wird trockenes und entgastes DCM (2.0 mL) vorgelegt und mit *p*-Iodtoluol (**17b**, 0.30 mmol, 1.2 Äquiv.) versetzt. Das Substrat **71b** (0.25 mmol, 1.0 Äquiv.) und Py·HF (2.0 mL) wird zugegeben und die Elektrolyse wird bei Raumtemperatur unter konstantem Strom (10 mA) durchgeführt, bis eine Ladungsmenge von 3.5 F/mol erreicht wird. Das Reaktionsgemisch wird bei 0 °C in ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (50 mL) gegeben und mit DCM (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.

#### AV-3: Katalytische Umsetzung von Zimtsäuremethylester (**70a**) im ungeteilten Setup C

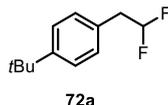
In eine ungeteilte PTFE-Zelle (Setup C) mit einer Platinanode ( $1 \times 1.2 \text{ cm}^2$ ) und einer Platinkathode ( $1 \times 1.2 \text{ cm}^2$ ) wird trockenes und entgastes DCM (2 mL) vorgelegt und mit 4-Iodtoluol (0.2-0.6 Äquiv.) versetzt. Das Substrat **70a** (0.25 mmol, 1.0 Äquiv.) und Py·HF (2 mL) wird zugegeben und die Elektrolyse wird bei Raumtemperatur unter konstantem Strom (10 mA) durchgeführt, bis eine Ladungsmenge von 3.5 F/mol erreicht wird. Das Reaktionsgemisch wird bei 0 °C in ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (50 mL) gegeben und mit DCM (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.

#### AV-4: Umsetzung der Styrole **71a** und **71b** im geteilten Setup D

In eine geteilte PTFE-Zelle (Setup D) wird im Kathodenraum trockenes und entgastes DCM (5 mL) vorgelegt und mit entsprechendem Substrat **70a** oder **70b** (0.25 mmol) versetzt. In den Anodenraum wird Py·9HF/DCM-Lösung (5 mL) und anschließend 4-Iodtoluol (1.20 Äquiv.) zugegeben und die Elektrolyse wird bei Raumtemperatur unter konstantem Strom (8-20 mA) durchgeführt, bis eine Ladungsmenge von 3.5 F/mol erreicht wird. Das Reaktionsgemisch wird bei 0 °C in ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (50 mL) gegeben und mit DCM (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird anschließend einer NMR-Analyse unterzogen.

## 2.2 Analytische Daten

### 1-(*tert*-Butyl)-4-(2,2-difluorethyl)benzol (**72a**)

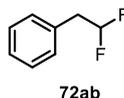


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71a** (40.1 mg, 250 μmol) das Produkt **72a** (33.7 mg, 170 μmol, 68%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.38$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.40 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.22 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.94 (tt,  $J = 56.7, 4.6$  Hz, 1H, CH), 3.14 (td,  $J = 17.4, 4.6$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.36 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.64 (dt,  $J = 56.8, 17.4$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  150.5, 129.6, 125.8, 116.9 (t,  $J = 241.3$  Hz), 40.56 (t,  $J = 21.8$  Hz), 34.63, 31.46 ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 198 (22) [M]<sup>+</sup>, 183 (100) [M-Me]<sup>+</sup>, 155 (38), 91 (9) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

#### (2,2-Difluorethyl)benzol (**72ab**)

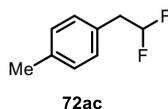


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ab** (26.0 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ab** (13.5 mg, 95.0  $\mu$ mol, 38%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.50$  (silica gel, pentane) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.51 – 7.23 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 5.93 (tt,  $J = 56.6, 4.6$  Hz, 1H, CH), 3.15 (td,  $J = 17.3, 4.6$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.81 (dt,  $J = 56.6, 17.3$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  132.6 (t,  $J = 5.9$  Hz), 129.9, 128.8, 127.6, 116.8 (t,  $J = 241.4$  Hz), 41.08 (t,  $J = 21.9$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 142 (33) [M]<sup>+</sup>, 91 (100) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

#### 1-(2,2-Difluorethyl)-4-methylbenzol (**72ac**)

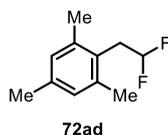


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ac** (29.4 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ac** (19.5 mg, 125  $\mu$ mol, 50%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.38$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.15 (s, 4H, H<sub>Ar</sub>), 5.90 (tt,  $J = 56.7, 4.6$  Hz, 1H, CH), 3.10 (td,  $J = 17.3, 4.6$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.86 (dt,  $J = 56.7, 17.2$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  137.3, 129.8, 129.5, 117.0 (t,  $J = 241.3$  Hz), 40.66 (t,  $J = 21.8$  Hz), 21.21 ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 156 (35) [M]<sup>+</sup>, 105 (100) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 91 (4) [M-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 77 (12) [Ph]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

#### 2-(2,2-Difluorethyl)-1,3,5-trimethylbenzol (**72ad**)

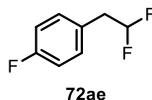


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ad** (36.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ad** (29.0 mg, 156  $\mu$ mol, 63%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.38$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.91 (s, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.91 (tt,  $J = 56.8, 4.8$  Hz, 1H, CH), 3.23 (td,  $J = 16.7, 4.8$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.34 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 2.29 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -113.28 (dt,  $J = 56.7, 16.9$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  137.6, 137.1, 129.4, 126.7 (t,  $J = 5.7$  Hz), 116.8 (t,  $J = 242.1$  Hz), 34.43 (t,  $J = 22.1$  Hz), 20.98, 20.42 ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 184 (32) [M]<sup>+</sup>, 133 (100) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 91 (9) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 77 (4) [Ph]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

### 1-(2,2-Difluorethyl)-4-fluorbenzol (72ae)

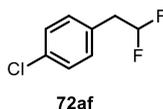


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ae** (30.5 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ae** (21.6 mg, 135  $\mu$ mol, 54%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.50$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.22 (dd,  $J = 8.4, 5.4$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.07 – 7.00 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.90 (tt,  $J = 56.5, 4.5$  Hz, 1H, CH), 3.11 (td,  $J = 17.4, 4.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -115.14 – -115.23 (m), -115.26 (dt,  $J = 56.9, 18.3$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  162.4 (d,  $J = 245.9$  Hz), 131.5 (d,  $J = 8.1$  Hz), 116.5, 115.7 (d,  $J = 21.4$  Hz), 40.22 (t,  $J = 22.1$  Hz), 31.26 (d,  $J = 7.5$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 160 (34) [M]<sup>+</sup>, 141 (3) [M-F]<sup>+</sup>, 109 (100) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

### 1-Chlor-4-(2,2-difluoroethyl)benzol (72af)

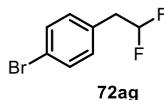


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71af** (34.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72af** (20.7 mg, 118  $\mu$ mol, 47%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.30$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.34 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.21 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.93 (tt,  $J = 56.4, 4.5$  Hz, 1H, CH), 3.14 (td,  $J = 17.3, 4.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -115.17 (dt,  $J = 56.5, 17.4$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  133.7, 131.3, 130.9 (t,  $J = 5.8$  Hz), 129.0, 128.5, 116.3 (t,  $J = 241.6$  Hz), 40.36 (t,  $J = 22.1$  Hz), 31.20 ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 178/176 (13/38) [M]<sup>+</sup>, 127/125 (37/100) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

**1-Brom-4-(2,2-difluorethyl)benzol (72ag)**

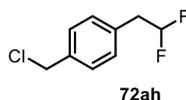


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ag** (45.8 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ag** (33.2 mg, 150  $\mu$ mol, 60%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.30$  (silica gel, pentane) [UV];  **$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.65 – 7.37 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.14 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 5.91 (tt,  $J = 56.4, 4.5$  Hz, 1H, CH), 3.10 (td,  $J = 17.3, 4.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ppm;  **$^{19}\text{F-NMR}$**  (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -115.13 (dtd,  $J = 56.3, 17.5, 3.1$  Hz) ppm;  **$^{13}\text{C NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  132.0, 131.7, 131.4 (t,  $J = 5.8$  Hz), 121.8, 116.2 (t,  $J = 241.5$  Hz), 40.39 (t,  $J = 22.1$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 222/220 (46/47)  $[\text{M}]^+$ , 171/169 (98/100)  $[\text{M}-\text{CHF}_2]^+$ , 90 (34)  $[\text{M}-\text{Br}-\text{CHF}_2]^+$ .

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

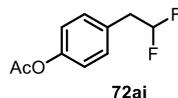
**1-Chlormethyl-4-(2,2-difluorethyl)benzol (72ah)**



Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ah** (38.2 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ah** (36.2 mg, 190  $\mu$ mol, 76%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.45$  ( $\text{SiO}_2$ , Pentan) [UV];  **$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.36 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.25 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 5.91 (tt,  $J = 56.5, 4.5, 0.9$  Hz, 1H, CH), 4.57 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.14 (td,  $J = 17.3, 4.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ppm;  **$^{19}\text{F-NMR}$**  (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -114.88 (dtd,  $J = 56.5, 17.4, 2.7$  Hz) ppm;  **$^{13}\text{C NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  136.9, 132.8 (t,  $J = 5.8$  Hz), 130.3, 129.0, 116.5 (t,  $J = 241.5$  Hz), 45.93, 40.66 (t,  $J = 22.1$  Hz) ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\text{max}} = 1392, 1267, 1108, 1030, 1020, 663\text{cm}^{-1}$ ; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 192/190 (9/25)  $[\text{M}]^+$ , 155 (100)  $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ , 104 (12)  $[\text{M}-\text{Cl}-\text{CH}_2\text{CF}_2]^+$ ; **HRMS** (EI) ber.  $\text{C}_9\text{H}_9\text{ClF}_2^+$   $[\text{M}]^+$  190.0361, gef. 190.0363.

**4-(2,2-difluorethyl)phenylacetat (72ai)**

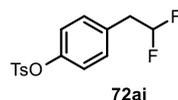


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ai** (40.5 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ai** (25.0 mg, 125  $\mu$ mol, 50%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.20$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 95:5) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.26 – 7.09 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.07 – 6.91 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.85 (tt,  $J = 56.5, 4.5$  Hz, 1H, CH), 3.07 (td,  $J = 17.3, 4.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.95 (dt,  $J = 56.5, 17.5$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.5, 150.2, 130.9, 130.1 (t,  $J = 6.0$  Hz), 121.9, 116.5 (t,  $J = 241.4$  Hz), 40.33 (t,  $J = 22.1$  Hz), 21.16 ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 200 (9) [M]<sup>+</sup>, 158 (64) [M-Ac], 107 (100) [M-Ac-CHF<sub>2</sub>], 77 (16) [Ph]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

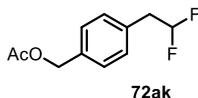
**1-(2,2-Difluorethyl)phenyl-4-methylbenzenesulfonat (72aj)**



Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71aj** (68.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72aj** (56.2 mg, 180  $\mu$ mol, 72%) als gelben Feststoff erhalten.

**Smp.** = 50 °C (CHCl<sub>3</sub>); **DC:**  $R_f = 0.30$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 95:5) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.70 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.31 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.17 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.95 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.88 (tt,  $J = 56.4, 4.5$  Hz, 1H, CH), 3.10 (td,  $J = 17.3, 4.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.45 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -115.14 (dt,  $J = 56.4, 17.3$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  149.1, 145.6, 132.5, 131.5 (t,  $J = 5.9$  Hz), 131.2, 129.9, 128.6, 122.7, 116.2 (t,  $J = 241.5$  Hz), 40.26 (t,  $J = 22.3$  Hz), 21.81 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 1367, 1151, 1020, 862, 795, 675; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 312 (34) [M]<sup>+</sup>, 155 (78) [Tos]<sup>+</sup>, 91 (100) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; **HRMS** (EI) ber. C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>F<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sup>+</sup> [M]<sup>+</sup> 312.0632, gef. 312.0618.

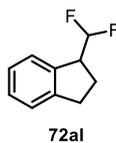
**1-(2,2-Difluorethyl)benzylacetat (72ak)**



Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ak** (44.1 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ak** (28.3 mg, 130  $\mu$ mol, 52%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f$  = 0.30 (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 90:10) [CAN]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.32 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H; H<sub>Ar</sub>), 7.24 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.90 (tt,  $J$  = 56.5, 4.6 Hz, 1H, CH), 5.08 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.12 (td,  $J$  = 17.3, 4.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.91 (dt,  $J$  = 56.5, 17.2 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.9, 135.4, 132.6 (t,  $J$  = 5.8 Hz), 130.1, 128.7, 116.6 (t,  $J$  = 241.4 Hz), 65.98, 40.67 (t,  $J$  = 22.0 Hz), 21.05 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 1758, 1510, 1370, 1190, 911; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 214 (39) [M]<sup>+</sup>, 172 (100) [M-Ac]<sup>+</sup>, 155 (64) [M-OAc]<sup>+</sup>, 107 (86) [M-Ac-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 91 (15) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 77 (18) [Ph]<sup>+</sup>; **HRMS** (ESI+) ber. C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>F<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 215.0878, gef. 215.0877.

**1-(Difluormethyl)-2,3-dihydro-1H-inden (72al)**



Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71al** (32.5 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72al** (21.4 mg, 128  $\mu$ mol, 51%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f$  = 0.50 (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [CAM]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.40 – 7.33 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.30 – 7.26 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.25 – 7.17 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.80 (td,  $J$  = 56.9, 5.5 Hz, 1H, CH), 3.61 (tdt,  $J$  = 14.3, 8.8, 5.7 Hz, 1H, CH), 3.10 – 2.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.31 (dtd,  $J$  = 13.4, 8.8, 6.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.18 – 2.04 (m, 1H, CH<sub>2</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -118.78 (ddd,  $J$  = 57.0, 38.8, 14.2 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  145.0, 139.0 – 138.8 (m), 128.0, 126.7, 125.5 (d,  $J$  = 1.6 Hz), 124.9, 118.3 (t,  $J$  = 242.6 Hz), 49.17 (t,  $J$  = 20.6 Hz), 31.52, 25.66

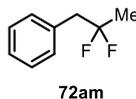
### III. Experimenteller Teil

---

– 25.41 (m) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 168 (34)  $[M]^+$ , 117 (100)  $[M-CHF_2]^+$ , 91 (11)  $[PhCH_2]^+$ .

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

#### (2,2-Difluorpropyl)benzol (**72am**)

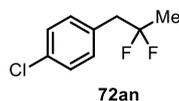


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71am** (29.5 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72am** (21.5 mg, 138  $\mu$ mol, 55%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f$  = 0.57 (silica gel, pentane) [UV];  **$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.38 – 7.19 (m, 5H,  $H_{Ar}$ ), 3.15 (t,  $J$  = 15.5 Hz, 2H,  $CH_2$ ), 1.54 (t,  $J$  = 18.4 Hz, 3H,  $CH_3$ ) ppm;  **$^{19}F$ -NMR** (376 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  -88.97 (dtd,  $J$  = 33.7, 18.3, 15.4 Hz, 2F) ppm;  **$^{13}C$  NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  133.9 (t,  $J$  = 5.1 Hz), 130.4, 128.6, 127.45, 123.6 (t,  $J$  = 239.5 Hz), 44.58 (t,  $J$  = 26.3 Hz), 22.96 (t,  $J$  = 27.5 Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 156 (45)  $[M]^+$ , 91 (100)  $[M-CF_2Me]^+$ , 65 (22)  $[CF_2Me]^+$ .

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

#### 1-Chlor-4-(2,2-Difluorpropyl)benzol (**72an**)



Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71an** (38.2 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72an** (31.5 mg, 165  $\mu$ mol, 66%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f$  = 0.40 (silica gel, pentane) [UV];  **$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.40 – 7.26 (m, 2H,  $H_{Ar}$ ), 7.20 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H,  $H_{Ar}$ ), 3.11 (t,  $J$  = 15.5 Hz, 2H,  $CH_2$ ), 1.54 (t,  $J$  = 18.3 Hz, 3H,  $CH_3$ ) ppm;

CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -89.41 (dtd, *J* = 33.8, 18.3, 15.5 Hz, 2F) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 133.5, 132.3 (t, *J* = 4.9 Hz), 131.7, 128.8, 123.2 (t, *J* = 239.6 Hz), 43.87 (t, *J* = 26.6 Hz), 23.00 (t, *J* = 27.5 Hz) ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 1494, 1391, 1091, 931, 775 cm<sup>-1</sup>; **MS** (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 192/190 (11/33) [M]<sup>+</sup>, 127/125 (42/100) [M-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; **HRMS** (EI) ber. C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>ClF<sub>2</sub><sup>+</sup> [M]<sup>+</sup> 190.0361, gef. 190.0360.

#### (1,1-Difluorethan-1,2-diyl)dibenzol (72ao)

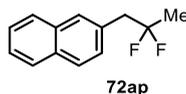


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ao** (45.1 mg, 250 μmol) das Produkt **72ao** (44.2 mg, 203 μmol, 81%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0.50 (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [CAM]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.40 – 7.29 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 7.26 – 7.19 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.13 – 7.05 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 3.39 (t, *J* = 15.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -94.86 (zt, *J* = 15.8 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 137.0 (t, *J* = 26.4 Hz), 132.8 (t, *J* = 4.1 Hz), 130.8, 129.8 (t, *J* = 2.0 Hz), 128.3 (d, *J* = 1.9 Hz), 127.4, 125.3 (t, *J* = 6.2 Hz), 122.1 (t, *J* = 244.1 Hz), 46.02 (t, *J* = 28.6 Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 218 (29) [M]<sup>+</sup>, 127 (100) [M-PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 91 (30) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[110]</sup>

#### 2-(2,2-Difluorpropyl)naphthalen (72ap)

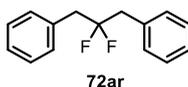


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ap** (42.1 mg, 250 μmol) das Produkt **72ap** (30.5 mg, 148 μmol, 59%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.52$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/DCM 90:10) [KMnO<sub>4</sub>]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.89 – 7.80 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.74 (s, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.55 – 7.46 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.42 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H, H<sub>Ar</sub>), 3.33 (t,  $J = 15.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.58 (t,  $J = 18.4$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -88.49 (dt,  $J = 18.7, 15.5$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  133.5, 132.7, 131.4, 129.3, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 126.2 (d,  $J = 25.5$  Hz), 123.8 (t,  $J = 239.7$  Hz), 44.70 (t,  $J = 26.4$  Hz), 23.04 (t,  $J = 27.5$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 206 [M]<sup>+</sup>, 141 [M-CF<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 115 [M-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[112]</sup>

#### (2,2-Difluorpropyl-1,3-diyl)dibenzol (**72ar**)

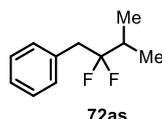


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71ar** (48.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72ar** (41.2 mg, 178  $\mu$ mol, 71%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.35$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [CAM]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.39 – 7.31 (m, 6H), 7.31 – 7.26 (m, 4H), 3.13 (td,  $J = 16.4, 2.2$  Hz, 4H) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  133.3 (t,  $J = 4.2$  Hz), 130.6, 128.5, 127.5, 123.2 (t,  $J = 243.7$  Hz), 42.55 (t,  $J = 25.6$  Hz) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -94.71 (p,  $J = 16.4$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 232 (60) [M]<sup>+</sup>, 212 (12) [M-HF]<sup>+</sup>, 141 (20) [M-PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 91 (100) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[112]</sup>

**(2,2-Difluor-3-methylbutyl)benzol (72as)**

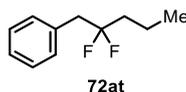


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71as** (36.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72as** (31.1 mg, 170  $\mu$ mol, 68%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.60$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.38 – 7.28 (m, 5H), 3.24 – 3.07 (m, 2H), 2.02 (tpd,  $J = 13.9, 7.0, 1.8$  Hz, 1H), 1.08 (dd,  $J = 6.8, 1.6$  Hz, 6H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -105.04 (q,  $J = 16.7$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  133.7 (t,  $J = 4.2$  Hz), 130.5, 128.5, 127.3, 125.6 (t,  $J = 244.6$  Hz), 40.59 (t,  $J = 26.3$  Hz), 33.79 (t,  $J = 24.4$  Hz), 15.96 (t,  $J = 5.0$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 184 (38) [M]<sup>+</sup>, 149 (3) [M-HF-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 91 (100) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 77 (5) [Ph]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[112]</sup>

**(2,2-Difluorpentyl)benzol (72at)**



Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71at** (40.1 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72at** (25.8 mg, 140  $\mu$ mol, 56%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.60$  (silica gel, pentane) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.38 – 7.27 (m, 5H), 3.15 (t,  $J = 16.1$  Hz, 2H), 1.83 – 1.67 (m, 2H), 1.65 – 1.51 (m, 2H), 0.95 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -96.48 (p,  $J = 16.4$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  133.8 (t,  $J = 4.9$  Hz), 130.4, 128.5, 127.4, 124.4 (t,  $J = 242.0$  Hz), 43.14 (t,  $J = 26.3$  Hz), 37.94 (t,  $J = 24.8$  Hz), 15.73 (t,  $J = 4.8$  Hz), 14.01 ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 184 (36) [M]<sup>+</sup>, 169 (5) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 91 (100) [PhCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 77 (4) [Ph]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[112]</sup>

**(1,1-Difluorpropyl-1.2-diyl)dibenzol (72au)**

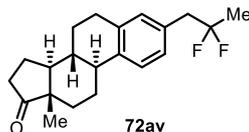


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71au** (48.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72au** (36.0 mg, 155  $\mu$ mol, 62%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.55$  (SiO<sub>2</sub>, Hexan/EtOAc 95:5) [CAM]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.38 – 7.33 (m, 1H), 7.31 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.26 – 7.22 (m, 5H), 7.16 – 7.11 (m, 2H), 3.51 – 3.39 (m, 1H), 1.45 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (471 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -100.07 (dd,  $J = 241.2, 13.2$  Hz), -101.91 (dd,  $J = 241.3, 15.6$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 138.8 (dd,  $J = 3.7, 2.4$  Hz), 136.4 (t,  $J = 26.9$  Hz), 129.5, 129.3, 128.1, 128.0, 127.4, 125.8 (t,  $J = 6.3$  Hz), 123.4 (t,  $J = 247.4$  Hz), 48.52 (t,  $J = 26.8$  Hz), 14.81 (t,  $J = 4.2$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 232 (14) [M]<sup>+</sup>, 127 (16), [M-PhCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 105 (100) [PhCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 77 (14) [Ph]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[112]</sup>

**(8R,9S,13S,14S)-3-(2,2-Difluorpropyl)-13-methyl-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-decahydro-17H-cyclopenta[a]phenanthren-17-on (72av)**

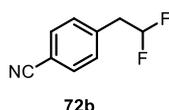


Gemäß AV-1 wurde unter Verwendung von **71av** (73.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72av** (51.5 mg, 155  $\mu$ mol, 62%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.40$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 90:10) [CAN]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.25 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.05 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 3.08 (t,  $J = 15.7$  Hz, 2H), 2.92 (dd,  $J = 9.0, 4.2$  Hz, 2H), 2.51 (dd,  $J = 18.7, 8.6$  Hz, 1H), 2.46 – 2.39 (m, 1H), 2.30 (td,  $J = 10.7, 4.2$  Hz, 1H), 2.20 – 2.12 (m, 1H), 2.12 – 1.93 (m, 3H), 1.71 – 1.38 (m, 8H), 1.35 – 1.24 (m, 1H), 0.92 (s, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -89.00 (dtd,  $J = 34.1, 18.3, 15.6$  Hz) ppm;

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  220.9, 138.9, 136.7, 131.2 (t,  $J = 4.9$  Hz), 131.0, 127.7, 125.5, 123.6 (t,  $J = 239.3$  Hz), 50.66, 48.10, 44.43, 44.02 (t,  $J = 26.2$  Hz), 38.25, 35.97, 31.73, 29.44, 26.61, 25.80, 23.04 (t,  $J = 27.5$  Hz), 21.71, 13.97 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\text{max}} = 2930, 1390, 1236, 1133, 1084, 735$   $\text{cm}^{-1}$ ; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 332 (100)  $[\text{M}]^+$ , 253 (33)  $[\text{M}-\text{CH}_2\text{CF}_2\text{CH}_3]^+$ ; **HRMS** (EI) ber.  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{O}^+$   $[\text{M}]^+$  332.1946, gef. 332.1946.

#### 4-(2,2-Difluorethyl)benzonitril (**72b**)

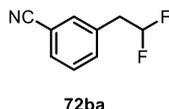


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71b** (32.3 mg, 250  $\mu\text{mol}$ ) das Produkt **72b** (28.0 mg, 168  $\mu\text{mol}$ , 67%) als gelben Feststoff erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.27$  ( $\text{SiO}_2$ , Pentan/EtOAc 93:7) [UV];  **$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.66 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.40 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 5.98 (tt,  $J = 56.1, 4.3$  Hz, 1H), 3.23 (td,  $J = 17.3, 4.3$  Hz, 2H) ppm;  **$^{19}\text{F}$ -NMR** (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -115.23 (dt,  $J = 56.2, 17.4$  Hz) ppm;  **$^{13}\text{C}$  NMR** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  137.8 (t,  $J = 5.4$  Hz), 132.5, 130.8, 118.6, 115.6 (t,  $J = 241.9$  Hz), 111.8, 40.88 (t,  $J = 22.3$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 167 (31)  $[\text{M}]^+$ , 116 (100)  $[\text{M}-\text{CHF}_2]^+$ .

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

#### 3-(2,2-Difluorethyl)benzonitril (**72ba**)



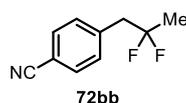
Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71ba** (32.3 mg, 250  $\mu\text{mol}$ ) das Produkt **72ba** (17.5 mg, 105  $\mu\text{mol}$ , 40%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.24$  ( $\text{SiO}_2$ , Pentan/EtOAc 93:7) [UV];  **$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.61 (dt,  $J = 7.3, 1.6$  Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.54 – 7.44 (m, 2H), 5.95 (tt,  $J = 56.1, 4.3$  Hz, 1H), 3.19 (td,  $J =$

17.4, 4.2 Hz, 2H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -115.49 (dt, *J* = 56.0, 17.4 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 134.55, 133.90 (t, *J* = 5.4 Hz), 133.6, 131.4, 129.7, 118.6, 115.7 (t, *J* = 241.9 Hz), 113.1, 40.42 (t, *J* = 22.3 Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 167 (30) [M]<sup>+</sup>, 116 (100) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

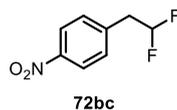
#### 4-(2,2-Difluorpropyl)benzotrifluorid (72bb)



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bb** (35.8 mg, 250 μmol) das Produkt **72bb** (29.9 mg, 165 μmol, 66%) als farbloses Öl mit 5% einer nicht abtrennbaren Verunreinigung erhalten.

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0.50 (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 95:5) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.62 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.38 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 3.20 (t, *J* = 15.5 Hz, 2H), 1.57 (t, *J* = 18.3 Hz, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -89.45 (dtd, *J* = 33.9, 18.5, 15.6 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 139.0 (t, *J* = 4.4 Hz), 132.3, 131.2, 122.7 (t, *J* = 240.2 Hz), 118.8, 111.6, 44.49 (t, *J* = 26.5 Hz), 23.27 (t, *J* = 27.3 Hz) ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 2230, 1612, 1393, 1232, 1338 882, 789 cm<sup>-1</sup>; **MS** (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 181 (49) [M]<sup>+</sup>, 116 (100) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 102 (1) [M-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. **HRMS** (ESI+) ber. C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>2</sub>N<sup>+</sup> [M]<sup>+</sup> 182.0776, gef. 182.0773.

#### 1-(2,2-Difluorethyl)-4-nitrobenzol (72bc)

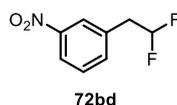


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bc** (37.3 mg, 250 μmol) das Produkt **72bc** (15.9 mg, 85.0 μmol, 34%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.67$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 80:20) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.24 – 8.17 (m, 2H), 7.44 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 5.99 (tt,  $J = 56.1, 4.3$  Hz, 1H), 3.27 (td,  $J = 17.3, 4.3$  Hz, 2H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -115.22 (dt,  $J = 55.9, 17.3$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  147.7, 139.7 (d,  $J = 5.4$  Hz), 131.0, 124.0, 119.4 – 110.8 (m), 40.67 (t,  $J = 22.3$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 187 (100) [M]<sup>+</sup>, 141 (30) [M-NO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 136 (33) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 101 (98) [M-NO<sub>2</sub>-2HF]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

#### 1-(2,2-Difluorethyl)-3-nitrobenzol (**72bd**)

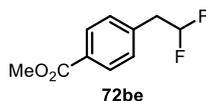


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bd** (37.3 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bd** (10.8 mg, 57.7  $\mu$ mol, 23%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.40$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 95:5) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.22 – 8.12 (m, 2H), 7.61 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.54 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.00 (tt,  $J = 56.1, 4.2$  Hz, 1H), 3.27 (td,  $J = 17.3, 4.3$  Hz, 2H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -115.56 (dt,  $J = 56.2, 17.3$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  136.2, 129.8, 125.0, 122.9, 115.6 (t,  $J = 241.9$  Hz), 40.48 (t,  $J = 22.4$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 187 (93) [M]<sup>+</sup>, 136 (62) [M-CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 101 (100) [M-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

### Methyl-4-(2,2-Difluorethyl)-benzoat (72be)

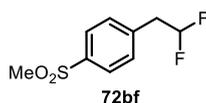


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71be** (40.5 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72be** (17.7 mg, 88.4  $\mu$ mol, 35%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.69$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 90:10) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.01 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.33 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 5.95 (tt,  $J = 56.3, 4.5$  Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.20 (td,  $J = 17.2, 4.5$  Hz, 2H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (471 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.87 (dt,  $J = 56.3, 17.4$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  166.9, 137.7 (d,  $J = 5.6$  Hz), 130.1, 130.0, 129.6, 116.2 (t,  $J = 241.8$  Hz), 52.32, 40.95 (t,  $J = 22.2$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 200 (30) [M]<sup>+</sup>, 169 (100) [M-OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 149 (9) [M-OCH<sub>3</sub>-HF]<sup>+</sup>, 141 (11) [M-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[112]</sup>

### 1-(2,2-Difluorethyl)-4-(methylsulfonyl)benzol (72bf)

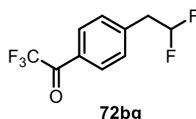


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bf** (45.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bf** (31.9 mg, 145  $\mu$ mol, 58%) als farblosen Feststoff erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.17$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 80:20) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.98 – 7.78 (m, 2H), 7.47 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 5.97 (tt,  $J = 56.1, 4.3$  Hz, 1H), 3.24 (td,  $J = 17.4, 4.3$  Hz, 2H), 3.05 (s, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -115.23 (dt,  $J = 56.0, 17.2$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  140.0, 138.7 (t,  $J = 5.4$  Hz), 131.1, 127.9, 115.7 (t,  $J = 241.9$  Hz), 44.60, 40.70 (t,  $J = 22.3$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 220 (64) [M]<sup>+</sup>, 205 (66) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 141 (100) [M-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 101 (76) [M-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>-2HF]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

**1-(4-(2,2-Difluorethyl)phenyl)-2,2,2-trifluorethan-1-on (72bg)**

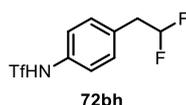


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bg** (43.0 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bg** (19.4 mg, 92.3  $\mu$ mol, 37%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.17$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 95:5) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.11 – 8.01 (m, 2H), 7.46 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 5.99 (tt,  $J = 56.0, 4.3$  Hz, 1H), 3.26 (td,  $J = 17.3, 4.3$  Hz, 2H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -71.52, -115.01 (dt,  $J = 56.3, 17.3$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  180.2 (q,  $J = 35.2$  Hz), 140.7 (t,  $J = 5.4$  Hz), 130.8, 130.6 (d,  $J = 2.2$  Hz), 129.4, 116.8 (q,  $J = 291.2$  Hz), 115.7 (t,  $J = 242.0$  Hz), 41.02 (t,  $J = 22.3$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 238 (4) [M]<sup>+</sup>, 169 (100) [M-CF<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 141 (14) [M-COCF<sub>3</sub>]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

**N-Butyl-4-(2,2-Difluorethyl)benzamid (72bh)**

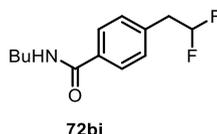


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bh** (95.2 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bh** (47.2 mg, 163  $\mu$ mol, 65%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.40$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 80:20) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.29 – 7.26 (m, 2H), 7.26 – 7.22 (m, 2H), 5.91 (tt,  $J = 56.4, 4.4$  Hz, 1H), 3.13 (td,  $J = 17.4, 4.5$  Hz, 2H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -75.36, -115.18 (dt,  $J = 56.6, 17.6$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  133.2, 132.1 (t,  $J = 5.7$  Hz), 131.3, 124.0, 121.5, 119.9 (q,  $J = 322.6$  Hz), 116.2 (t,  $J = 241.5$  Hz), 40.32 (t,  $J = 22.1$  Hz) ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max} = 3288, 1515, 1414, 1199, 1137, 1113, 1056, 1022, 941$  cm<sup>-1</sup>; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 289 (36) [M]<sup>+</sup>, 238 (14) [M-

$\text{CHF}_2^+$ , 156 (100)  $[\text{M-Tf}]^+$ . **HRMS** (ESI+) ber.  $\text{C}_9\text{H}_9\text{F}_5\text{NO}_2\text{S}^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  290.0269, gef. 290.0269.

#### ***N*-Butyl-4-(2,2-Difluorethyl)benzamid (72bi)**



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bi** (50.8 mg, 250  $\mu\text{mol}$ ) das Produkt **72bi** (39.3 mg, 163  $\mu\text{mol}$ , 65%) als farblosen Feststoff erhalten.

**Smp.** = 67 °C (EtOAc); **DC:**  $R_f$  = 0.18 (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 80:20) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.75 – 7.71 (m, 2H), 7.29 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 6.29 (br s, 1H), 5.92 (tt,  $J$  = 56.4, 4.5 Hz, 1H), 3.43 (td,  $J$  = 7.2, 5.7 Hz, 2H), 3.16 (td,  $J$  = 17.3, 4.4 Hz, 2H), 1.62 – 1.54 (m, 2H), 1.46 – 1.34 (m, 2H), 0.94 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.98 (dt,  $J$  = 56.5, 17.2 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  167.2, 135.8 (t,  $J$  = 5.7 Hz), 134.3, 130.1, 127.4, 116.2 (t,  $J$  = 241.6 Hz), 40.74 (t,  $J$  = 22.1 Hz), 39.94, 31.83, 20.26, 13.87 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\text{max}}$  = 3313, 2934, 1632, 1540, 1107, 1016, 842, 684  $\text{cm}^{-1}$ ; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 241 (9)  $[\text{M}]^+$ , 198 (20)  $[\text{M}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3]^+$ , 169 (100)  $[\text{M}-n\text{BuNH}]^+$ , 101 (15)  $[\text{M}-\text{CONH}n\text{Bu}-2\text{HF}]^+$ ; **HRMS** (ESI+) ber.  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{NO}^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  242.1351, gef. 242.1352.

#### **3,3-Difluor-1,2-diphenylpropan-1-on (72bj)**



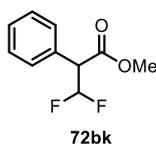
Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bj** (52.1 mg, 250  $\mu\text{mol}$ ) das Produkt **72bj** (18.5 mg, 100  $\mu\text{mol}$ , 40%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f$  = 0.56 (SiO<sub>2</sub>, Pentan/DCM 70/30) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.98 – 7.86 (m, 2H), 7.57 – 7.48 (m, 1H), 7.47 – 7.28 (m, 8H), 6.45 (ddd,  $J$  = 56.3, 55.0, 6.9 Hz, 1H), 4.97

(td,  $J = 10.2, 6.9$  Hz, 1H) ppm;  **$^{19}\text{F}$ -NMR** (471 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -115.97 (ddd,  $J = 280.8, 55.0, 10.1$  Hz), -126.45 (ddd,  $J = 280.8, 56.2, 10.2$  Hz) ppm;  **$^{13}\text{C}$  NMR** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  195.2 (d,  $J = 8.1$  Hz), 135.7 (d,  $J = 2.5$  Hz), 133.9, 131.7 (d,  $J = 8.1$  Hz), 129.5, 129.2, 129.0, 128.9, 128.8, 116.8 (dd,  $J = 243.7, 241.5$  Hz), 60.69 – 54.63 (m) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 246 (1)  $[\text{M}]^+$ , 225 (4)  $[\text{M}-\text{HF}]^+$ , 105 (100)  $[\text{Bz}]^+$ , 77 (38)  $[\text{Ph}]^+$ .

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

#### Methyl-3,3-Difluor-2-phenylpropionat (**72bk**)



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bk** (40.5 mg, 250  $\mu\text{mol}$ ) das Produkt **72bk** (44.5 mg, 223  $\mu\text{mol}$ , 89%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.65$  ( $\text{SiO}_2$ , Pentan/ $\text{Et}_2\text{O}$  90:10) [UV];  **$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.45 – 7.32 (m, 6H), 6.25 (td,  $J = 55.5, 6.8$  Hz, 1H), 4.03 (ddd,  $J = 11.9, 10.2, 6.8$  Hz, 1H), 3.75 (s, 3H) ppm;  **$^{13}\text{C}$  NMR** (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.3 (dd,  $J = 11.5, 1.9$  Hz), 131.2 (d,  $J = 7.6$  Hz), 129.2, 128.9, 128.9, 120.3 – 111.6 (m), 55.95 (t,  $J = 23.8$  Hz), 52.77 ppm;  **$^{19}\text{F}$ -NMR** (471 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -117.26 (ddd,  $J = 282.6, 55.3, 10.5$  Hz), -123.85 (ddd,  $J = 282.6, 55.7, 11.9$  Hz) ppm; **MS** (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 200 (86)  $[\text{M}]^+$ , 141 (87)  $[\text{M}-\text{CO}_2\text{Me}]^+$ , 122 (63)  $[\text{M}-\text{CO}_2\text{Me}-\text{F}]^+$ , 91 (100)  $[\text{M}-\text{CHF}_2-\text{CO}_2\text{Me}]^+$ .

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

### 3,3-Difluor-2-phenylpropanamid (72bl)

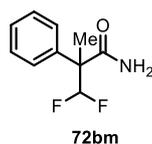


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bl** (36.8 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bl** (37.1 mg, 200  $\mu$ mol, 80%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.38$  (SiO<sub>2</sub>, DCM/Et<sub>2</sub>O 80:20) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.39 (d,  $J = 2.6$  Hz, 5H), 6.34 (td,  $J = 55.6, 5.4$  Hz, 1H), 6.12 – 5.99 (m, 1H), 5.69 (br s, 1H), 3.88 (ddd,  $J = 15.7, 10.4, 5.4$  Hz, 1H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (471 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -118.89 (ddd,  $J = 281.0, 55.3, 10.3$  Hz), -123.92 (ddd,  $J = 281.0, 55.9, 15.9$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.1, 129.4, 129.3, 129.0, 115.8 (t,  $J = 242.9$  Hz), 57.12 – 55.74 (m), 29.86 ppm; **MS** (ESI+) = 186 [M+H]<sup>+</sup>.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.<sup>[111]</sup>

### 3,3-Difluor-2-methyl-2-phenylpropionamid (72bm)



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bm** (40.3 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bm** (22.4 mg, 112  $\mu$ mol, 45%) als farbloses Öl erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.51$  (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 50:50) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.47 – 7.44 (m, 2H), 7.43 – 7.38 (m, 2H), 7.38 – 7.34 (m, 1H), 6.33 (t,  $J = 55.8$  Hz, 1H), 5.45 (br d,  $J = 26.2$  Hz, 2H), 1.74 (s, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** <sup>[113]</sup> (471 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -126.57 (d,  $J = 53.9$  Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  174.5, 136.3, 129.0, 128.6, 127.8, 117.4 (t,  $J = 246.7$  Hz), 54.56 (t,  $J = 20.5$  Hz), 18.10 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max} = 3395, 1658, 1618, 1113, 700, 665$  cm<sup>-1</sup>; **MS** (ESI+) = 200 [M+H]<sup>+</sup>; **HRMS** (ESI+) ber. C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>F<sub>2</sub>NO<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 200.0881, gef. 200.0884.

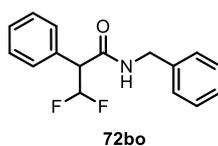
***N*-isopropyl-3,3-difluor-2-phenylpropanamid (72bn)**



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bn** (47.3 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bn** (13.1 mg, 57.5  $\mu$ mol, 23%) als gelben Feststoff erhalten.

**Smp.** = 69 °C (EtOAc); **DC:**  $R_f$  = 0.70 (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 75:25) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.43 – 7.34 (m, 5H), 6.35 (td,  $J$  = 55.8, 5.6 Hz, 1H), 5.37 (br s, 1H), 4.08 (dp,  $J$  = 8.0, 6.5 Hz, 1H), 3.75 (ddd,  $J$  = 15.6, 10.0, 5.6 Hz, 1H), 1.13 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H), 1.06 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -118.40 (ddd,  $J$  = 279.8, 55.8, 10.1 Hz), -124.08 (ddd,  $J$  = 279.7, 56.2, 15.5 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  167.3 (dd,  $J$  = 7.6, 3.5 Hz), 132.3 (d,  $J$  = 6.3 Hz), 129.3, 129.2, 128.7, 116.3 (t,  $J$  = 242.9 Hz), 57.15 (t,  $J$  = 22.5 Hz), 41.94, 29.85, 22.64, 22.49 ppm; **MS** (ESI+) = 228 [M+H]<sup>+</sup>; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 3274, 1640, 1555, 1118, 1051, 750, 698 cm<sup>-1</sup>; **MS** (ESI+) = 200.0 [M+H]<sup>+</sup>; **HRMS** (ESI+) ber. C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>NO<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 228.1194, gef. 228.1192.

***N*-benzyl-3,3-difluor-2-phenylpropanamid (72bo)**

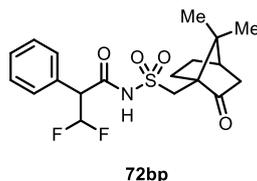


Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bo** (59.3 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bo** (22.7 mg, 82.5  $\mu$ mol, 33%) als gelbes Öl erhalten.

**DC:**  $R_f$  = 0.20 (SiO<sub>2</sub>, Pentan/EtOAc 75:25) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.44 – 7.35 (m, 5H), 7.33 – 7.15 (m, 4H), 7.15 – 6.94 (m, 1H), 6.40 (td,  $J$  = 55.8, 5.5 Hz, 1H), 5.93 (br s, 1H), 4.41 (pd,  $J$  = 14.6, 5.9 Hz, 2H), 3.85 (ddd,  $J$  = 15.5, 10.0, 5.6 Hz, 1H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -118.31 (dddd,  $J$  = 280.3, 55.1, 9.9, 2.8 Hz), -123.84 (dddd,  $J$  = 280.6, 56.3, 23.1, 15.6 Hz); **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  168.1 (dd,  $J$  = 7.6, 3.7 Hz), 137.6, 129.5

– 129.2 (m, 2C), 128.9, 127.8, 127.7, 116.2 (t,  $J = 243.1$  Hz), 115.8, 115.6, 57.12 (t,  $J = 22.7$  Hz), 43.79 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max} = 3299, 1648, 1430, 1060, 731, 696$   $\text{cm}^{-1}$ ; **MS** (ESI+) = 276  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; **HRMS** (ESI+) ber.  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{NO}^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  276.1194, gef. 276.1195.

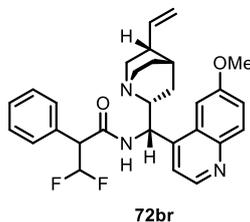
#### ***N*-(((7,7-dimethyl-2-oxobicyclo[2.2.1]heptan-1-yl)methyl)sulfonyl)-3,3-difluoro-2-phenylpropanamid (72bp)**



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bp** (90.4 mg, 250  $\mu\text{mol}$ ) das Produkt **72bp** (untrennbares Diastereomergemisch 57:43, 54.9 mg, 137  $\mu\text{mol}$ , 55%) als farblosen Feststoff erhalten.

**DC:**  $R_f = 0.22$  ( $\text{SiO}_2$ , Hexan/EtOAc 50/50) [CAM];  **$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , mixture of diastereomers)  $\delta$  7.43 – 7.32 (m, 5H), 6.33 (tdd,  $J = 55.3, 8.5, 5.7$  Hz, 1H), 2.41 – 2.30 (m, 1H), 2.27 – 2.13 (m, 1H), 2.11 (q,  $J = 4.5$  Hz, 1H), 2.07 – 1.96 (m, 1H), 1.90 (d,  $J = 18.7$  Hz, 1H), 1.76 (ddd,  $J = 14.0, 9.4, 4.6$  Hz, 1H), 1.41 (ddt,  $J = 13.1, 9.4, 3.9$  Hz, 1H), 1.01 (d,  $J = 19.1$  Hz, 3H), 0.84 (d,  $J = 24.1$  Hz, 3H) ppm;  **$^{19}\text{F-NMR}$**  (471 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -117.59 (ddd,  $J = 283.5, 54.9, 10.3$  Hz), -117.75 (ddd,  $J = 283.7, 54.8, 9.6$  Hz), -124.30 (ddd,  $J = 55.4, 48.6, 13.2$  Hz), -124.30 (ddd,  $J = 615.7, 55.6, 13.2$  Hz) ppm;  **$^{13}\text{C NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , mixture of diastereomers)  $\delta$  216.2, 215.5, 167.8 (dd,  $J = 8.5, 3.1$  Hz), 167.5 (dd,  $J = 9.0, 3.4$  Hz), 148.7, 137.3, 130.0 (t,  $J = 7.5$  Hz), 129.5, 129.5, 129.4, 124.3, 115.1 (t,  $J = 244.2$  Hz), 115.1 (t,  $J = 243.9$  Hz) 59.02, 58.96, 57.12 (t,  $J = 23.7$  Hz), 56.90 (t,  $J = 23.3$  Hz) 51.71, 51.59, 49.08, 48.74, 42.84, 42.83, 27.11, 27.07, 26.10, 19.86, 19.62, 19.53 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max} = 2963, 1717, 1456, 1351, 1230, 700$   $\text{cm}^{-1}$ ; **MS** (ESI+) = 400  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; **HRMS** (ESI+) ber.  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{NO}_4\text{S}^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  400.1389, gef. 400.1390.

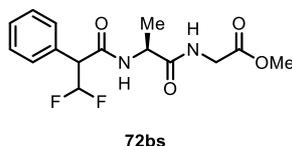
**3,3-Difluor-N-((S)-(6-methoxyquinolin-4-yl)((1S,2R,4S,5R)-5-vinylquinuclidin-2-yl)methyl)-2-phenylpropanamid (72br)**



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71br** (113.4 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72br** (39.3 mg, 79.9  $\mu$ mol, 32%) als farblosen Feststoff erhalten.

**Smp.** = 71 °C (EtOAc); **DC:**  $R_f$  = 0.27 (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/MeOH/NEt<sub>3</sub> 49/49/2) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.72 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 8.03 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.45 – 7.35 (m, 6H), 7.31 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 6.23 (td,  $J$  = 55.7, 5.6 Hz, 1H), 5.66 (dt,  $J$  = 17.4, 9.7 Hz, 1H), 5.02 – 4.87 (m, 2H), 4.01 – 3.83 (m, 3H), 3.87 (ddd,  $J$  = 15.7, 10.2, 5.6 Hz, 1H), 3.12 (dd,  $J$  = 13.9, 10.1 Hz, 1H), 3.06 – 2.74 (m, 1H), 2.63 – 2.46 (m, 2H), 2.25 (s, 1H), 1.97 – 1.88 (m, 1H), 1.73 – 1.63 (m, 1H), 1.62 – 1.51 (m, 2H), 1.46 – 1.37 (m, 1H), 1.34 (ddt,  $J$  = 14.2, 12.4, 3.8 Hz, 1H), 1.20 – 1.04 (m, 1H), 0.96 (dd,  $J$  = 13.8, 6.7 Hz, 1H) ppm; **<sup>19</sup>F-NMR** (471 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -118.43 (dd,  $J$  = 281.5, 56.8 Hz), -123.42 (ddd,  $J$  = 280.7, 55.6, 15.4 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  168.3, 158.4 – 157.6 (m), 156.8, 147.7, 144.9, 141.2, 132.06, 129.5, 129.0, 128.7, 121.7, 116.0 (t,  $J$  = 243.2 Hz), 114.9, 101.8, 56.73 (t,  $J$  = 22.2 Hz), 55.80, 55.73, 49.32, 40.74, 39.56, 34.09, 27.88, 27.33, 25.74, 25.09 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 2932, 1665, 1509, 1242, 1229, 1063, 731 cm<sup>-1</sup>; **MS** (ESI<sup>+</sup>) = 492 [M+H]<sup>+</sup>; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>) ber. C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 492.2457, gef. 492.2457.

**Methyl-(3,3-difluor-2-phenylpropanoyl)-L-alanylglycinat (72bs)**



Gemäß AV-2 wurde unter Verwendung von **71bs** (72.6 mg, 250  $\mu$ mol) das Produkt **72bs** (untrennbares Diastereomergemisch 55:45, 68.7 mg, 209  $\mu$ mol, 84%) als farblosen Feststoff erhalten.

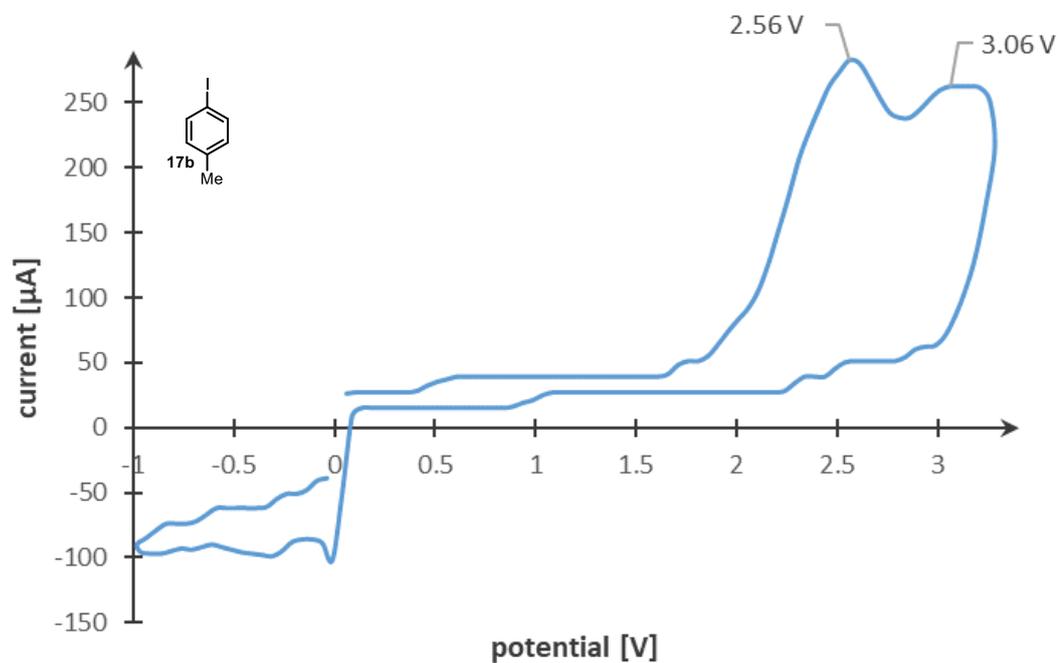
**Smp.** = 113 °C (MeOH); **DC:**  $R_f$  = 0.69 (SiO<sub>2</sub>, DCM/MeOH 9/1) [UV]; **<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7.43 (dt,  $J$  = 7.9, 2.0 Hz, 2H), 7.40 – 7.27 (m, 3H), 6.48 – 6.09 (m, 1H), 4.43 (dq,  $J$  = 21.4, 7.1 Hz, 1H), 4.06 (tt,  $J$  = 10.9, 6.6 Hz, 1H), 4.01 – 3.74 (m, 2H), 3.68 (d,  $J$  = 21.9 Hz, 3H), 1.37 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> *Haupt-Diastereomer*), 1.26 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> *Neben-Diastereomer*) ppm; *Haupt-Diastereomer:* **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  -119.15 (ddd,  $J$  = 125.5, 55.4, 10.5 Hz), -125.51 (ddd,  $J$  = 124.0, 56.2, 11.5 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  174.8, 171.4, 170.3 (d,  $J$  = 10.4 Hz), 134.1 (d,  $J$  = 8.7 Hz), 129.9, 129.8, 129.3, 118.0 (t,  $J$  = 241.7 Hz), 57.11 (t,  $J$  = 23.4 Hz), 52.55, 50.08, 41.74, 18.23 ppm; *Neben-Diastereomer:* **<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  -118.40 (ddd,  $J$  = 125.6, 55.4, 10.6 Hz), -126.26 (ddd,  $J$  = 124.1, 56.2, 11.5 Hz) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  175.05, 171.58, 170.54 (d,  $J$  = 9.8 Hz), 134.19 (d,  $J$  = 8.4 Hz), 129.88, 129.80, 129.35, 117.82 (t,  $J$  = 241.6 Hz), 57.11 (t,  $J$  = 23.4 Hz), 52.60, 50.17, 41.84, 17.94 ppm; **IR** (rein)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 3300, 1646, 1212, 1063, 700 cm<sup>-1</sup>; **MS** (ESI+) = 329 [M+H]<sup>+</sup>, **HRMS** (ESI+) ber. C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 329.1307, gef. 329.1310.

### 2.3 CV-Messungen

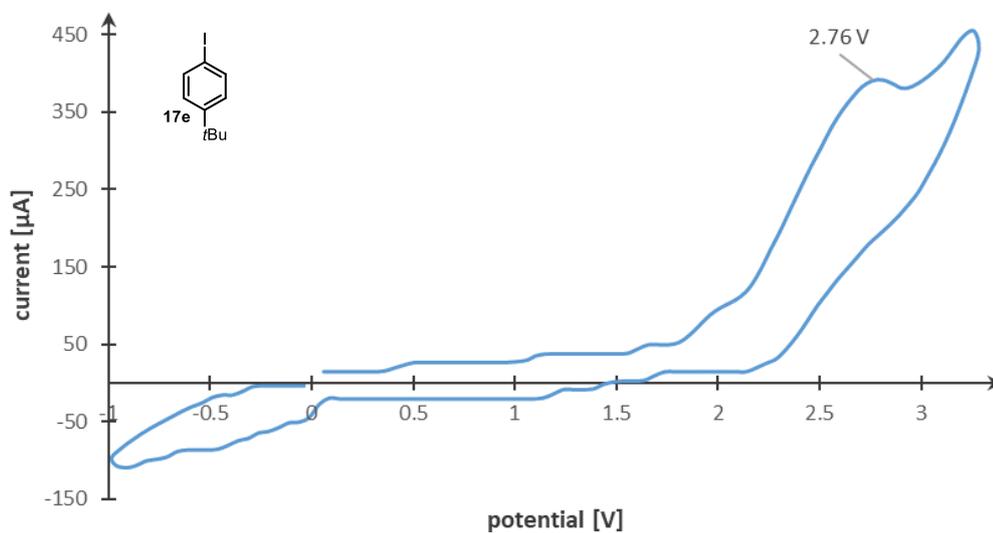
CV-Messungen wurden mit ElectraSyn 2.0 der Fa. IKA mit einer Arbeitselektrode aus Glaskohlenstoffscheibe, einer Gegenelektrode aus einer Metallplatte mit Platinbeschichtung (6 cm  $\times$  1 cm  $\times$  0,1 cm) und Silberdraht in einer wässrigen 3 M KCl-Lösung als eine SSCE-Referenzelektrode durchgeführt. Für die CV-Analyse wurde die jeweilige Verbindung (25.0 mmol, 1.0 Äquiv.) mit Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> (194 mg, 500  $\mu$ mol, 20 Äquiv.) in DCM (5 ml, 5 mM) gelöst

### III. Experimenteller Teil

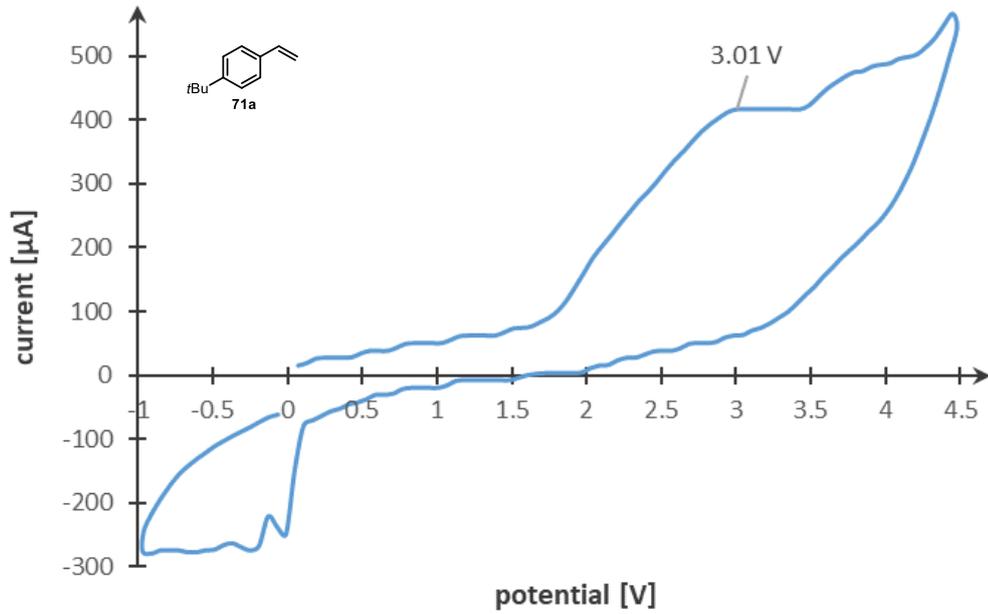
und mit den folgenden Parametern gemessen: Segment: 3; Initial V: 0.0; Direction: Rinsing; Upper V: 3.3/4.5; Lower V: -1,0; Final V: 0.0; Sweep [mVs<sup>-1</sup>]: 200.



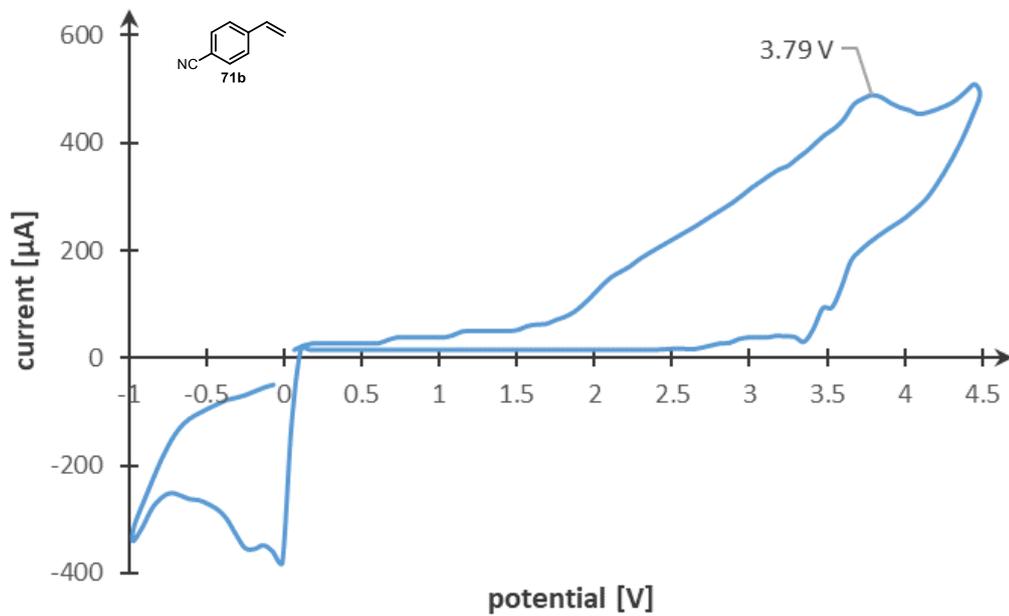
**Diagramm 3:** CV-Messung von *p*-Iodtoluol **17b**.



**Diagramm 4:** CV-Messung von *t*-Butyliodbenzol **17e**.



**Diagramm 5:** CV-Messung von *t*-Butylstyrol **71a**.



**Diagramm 6:** CV-Messung von *t*-Butylstyrol **71b**.

### 3. Ergänzende Informationen

# Chemistry–A European Journal

Supporting Information

## 3D-Non-destructive Imaging through Heavy-Metal Eosin Salt Contrast Agents

Madleen Busse<sup>+, \*<sup>[a]</sup></sup> Jaroslaw P. Marciniszyn<sup>+, <sup>[b]</sup></sup> Simone Ferstl,<sup>[a]</sup> Melanie A. Kimm,<sup>[c]</sup>  
Franz Pfeiffer,<sup>[a, c]</sup> and Tanja Gulder<sup>\*<sup>[b, d]</sup></sup>

#### Content

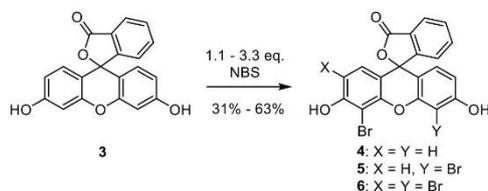
<b>1. General Information</b>	1
<b>2. Synthetic Procedures</b>	2
2.1 <i>Synthesis of Brominated Fluorescein Derivatives 4 - 6</i>	2
2.2 <i>Synthesis of Eosin y Heavy Metal Salts 2b - 2f</i>	4
2.3 <i>Synthesis of (Brominated) Fluorescein Salts 7 and 9</i>	6
<b>3. Determination of the Partition Coefficient logP</b>	9
<b>4. Maximum Solubility of Eosin y 2a - 2f and Dibromo Fluorescein Salts 9a and 9c</b>	10
<b>5. Animal Tissue Samples</b>	11
<b>6. Sample Screening</b>	11
<b>7. Staining Protocols</b>	12
7.1 <i>For Eosin y Disodium Salt (2a)</i>	12
7.2 <i>For Eosin y Barium Salt (2c)</i>	12
7.3 <i>For Dibromo Fluorescein Sodium Salt (9a)</i>	13
7.4 <i>For Dibromo Fluorescein Barium Salt (9c)</i>	13
<b>8. Macroscopic Imaging</b>	15
<b>9. Line Plot Analysis of Turkey Liver Tissue Samples treated with 2c and 9c</b>	16
<b>10. X-Ray <math>\mu</math>CT Imaging of Turkey Liver</b>	17
<b>11. High-Resolution <math>\mu</math>CT of Mouse Kidney</b>	17
<b>12. Histological Analysis of Turkey Liver Samples stained with 2c</b>	17
<b>13. NMR Spectra of Compounds 2, 4-7, and 9</b>	19
<b>14. Literature</b>	27

#### 1. General Information

Solvents used in reactions were p.A. grade. *N*-Bromosuccinimide (NBS) was purchased from Carbolution Chemicals and recrystallized from water. Fluorescein and Eosin y were purchased from Sigma-Aldrich, respectively, and used as received. Barium hydroxide octahydrate was purchased from Alfa Aesar. Other reagents were purchased at the highest commercial quality and used without further purification. Yields refer to chromatographically and spectroscopically ( $^1\text{H}$  NMR) homogeneous materials, unless otherwise stated. NMR spectra were recorded on Bruker AV500-cryo spectrometer. The spectra were calibrated using residual undeuterated solvent as an internal reference ( $^1\text{H}$  NMR: Acetone- $d_6$  at 2.05, DMSO- $d_6$  at 2.50 ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR: Acetone- $d_6$  at 29.84, DMSO- $d_6$  at 39.52 ppm). The following abbreviations were used to explain the multiplicities: s = singlet, d = doublet, t = triplet, dt = doublet of triplets, td = triplet of doublets, m = multiplet, br = broad. Melting points were measured on a Büchi 510 and are not calibrated. IR spectra were recorded on a JASCO FT-IR-4100 (ATR) and are reported in terms of frequency of absorption ( $\text{cm}^{-1}$ ). Mass spectrometry was conducted on a Thermo Scientific LTQ-FT ultra and ThermoFisher Scientific LTQ Orbitrap XL spectrometer (ESI HRMS). Combustion analysis was performed on a ELEMENTAR vario EL. High performance liquid chromatography (HPLC) analysis was performed on a HITACHI Chromaster employing the following conditions: 150 x 4 mm Eurospher II (KNAUER®), 100 Å, 5  $\mu\text{m}$ , C18, 25 °C, flow rate: 1.0 mL/min, water (+0.01% TFA)/ acetonitrile (+0.01% TFA), method: [water (A)/acetonitrile (B), gradient: 0 min 90% A, 35 min 100% B]. Medium pressure liquid chromatography (MPLC) purification was performed on a Reverelis X2 (GRACE®) employing the following conditions: flow rate: 40 mL/min, water (+0.01% TFA)/acetonitrile (+0.01% TFA), method: [water (A)/acetonitrile (B), gradient: 0-10 min 65% A, 25 min 100% B]. 13 x 3 cm Reverelis (GRACE®), 40  $\mu\text{m}$ , C18, 25 °C UV/Vis spectra were recorded on a BioTek® Eon spectrophotometer.

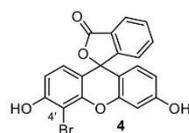
## 2. Synthetic Procedures

### 2.1 Synthesis of Brominated Fluorescein Derivatives 4 – 6



#### 4'-Bromofluorescein (4)

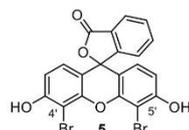
Fluorescein (**3**, 1.00 g, 3.01 mmol, 1.00 eq.) was suspended in abs. methanol (0.03 M) and the mixture was cooled to 0 °C. NBS (589 mg, 3.31 mmol, 1.10 eq.) was added in one portion and the resulting reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction was terminated by addition of NaOH (0.1 M, 3 mL) and methanol was subsequently removed in vacuo. The crude product was diluted with water until a clear solution was obtained and then filtered. The solution was then cooled to 0 °C and HCl (1 M) was added until reaching pH 2, causing precipitation of a red solid. The resulting suspension was stirred for 12 h at room temperature, filtered and washed with water (3 × 10 mL). The crude product was purified using MPLC to yield the monobrominated fluorescein **4** as an amorphous solid (396 mg, 0.96 mmol, 32%).



**m.p.** > 230 °C (MeCN); **HPLC**:  $t_R = 7.28$  min (RP-C<sub>18</sub>); **<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.9 (br, 1H, OH), 10.2 (br, 1H, OH), 8.00 (dt,  $J = 7.7, 1.0$  Hz, 1H), 7.80 (td,  $J = 7.5, 1.2$  Hz, 1H), 7.72 (td,  $J = 7.5, 1.0$  Hz, 1H), 7.31 (dt,  $J = 7.7, 1.2$  Hz, 1H), 6.74 (m, 2H), 6.58 (m, 3H) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  168.6, 159.7, 156.6, 152.3, 151.6, 148.7, 135.8, 130.3, 129.1, 127.6, 126.1, 124.7, 124.2, 113.3, 112.2, 111.0, 109.4, 102.3, 97.36, 82.82 ppm; **IR** (ATR)  $\tilde{\nu}_{\text{max}} = 3078, 1753, 1603, 1433, 1115, 1023, 760$  cm<sup>-1</sup>; **HRMS** (ESI) calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>BrO<sub>5</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 410.9863, found 410.9861.

#### 4', 5'-Dibromofluorescein (5)

Fluorescein (**3**, 1.00 g, 3.01 mmol, 1.00 eq.) was suspended in abs. methanol (0.03 M) and the mixture was cooled to 0 °C. NBS (1.18 g, 6.62 mmol, 2.20 eq.) was added in one portion and the resulting reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction was terminated by addition of NaOH (0.1 M, 3 mL) and methanol was subsequently removed in vacuo. The crude product was diluted with water until a clear solution was obtained and then filtered. The solution was then cooled to 0 °C and HCl (1 M) was added until reaching pH 2, causing precipitation of a red solid. The resulting suspension was stirred for 12 h at room temperature, filtered and washed with water (3 × 10 mL). The crude product was purified using MPLC to yield the dibrominated fluorescein **5** as an amorphous solid (929 mg, 1.90 mmol, 63%).

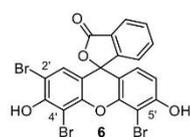


**m.p.** > 230 °C (MeCN); **HPLC:**  $t_R$  = 8.23 min (RP-C<sub>18</sub>); **<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) δ 9.61 (br, 2H, OH), 8.00 (dt,  $J$  = 7.6, 1.0 Hz, 1H), 7.83 (td,  $J$  = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 7.76 (td,  $J$  = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.43 (dt,  $J$  = 7.7, 0.9 Hz, 1H), 6.84 (d,  $J$  = 8.7, 2H), 6.69 (d,  $J$  = 8.8, 2H) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) δ 169.2, 157.4, 153.3, 150.1, 136.3, 131.1, 128.4, 127.6, 125.5, 125.2, 113.5, 113.0, 98.88, 83.28 ppm; **IR** (ATR)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 3077, 1657, 1574, 1497, 1455, 1241, 1112, 947, 764 cm<sup>-1</sup>; **HRMS** (ESI) calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>Br<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 488.8968, found 488.8964.

#### 2', 4',5'-Tribromofluorescein (6)

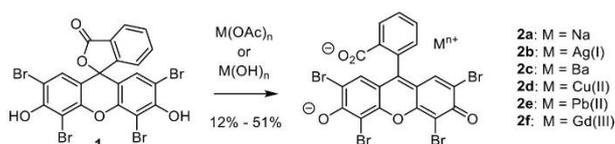
Fluorescein (**3**, 1.00 g, 3.01 mmol, 1.00 eq.) was suspended in abs. methanol (0.03 M) and the mixture was cooled to 0 °C. NBS (1.77 g, 9.93 mmol, 3.30 eq.) was added in one portion and the resulting reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction was terminated by addition of NaOH (0.1 M, 3 mL) and methanol was subsequently removed in vacuo. The crude product was diluted with water until a clear solution was obtained and then filtered. The solution was then cooled to 0 °C and HCl (1 M) was added until reaching pH 2, causing precipitation of a red solid. The resulting suspension was stirred for 12 h at room temperature, filtered and washed

with water (3 × 10 mL). The crude product was purified using MPLC to yield the tribrominated fluorescein **6** as an amorphous solid (529 mg, 0.93 mmol, 31%).



**m.p.** > 230 °C (MeCN); **HPLC**:  $t_R$  = 9.74 min (RP-C<sub>18</sub>); **<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.1 (br, 1H, OH), 10.8 (br, 1H, OH), 8.02 (d,  $J$  = 7.6, 1H), 7.82 (td,  $J$  = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 7.75 (td,  $J$  = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.43 (d,  $J$  = 7.6, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.79 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 6.60 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 168.3, 156.9, 153.2, 151.5, 148.4, 148.0, 136.0, 130.7, 129.8, 127.5, 125.9, 125.1, 124.3, 113.1, 113.0, 110.7, 106.9, 100.7, 97.55, 81.82 ppm; **IR** (ATR)  $\tilde{\nu}_{\max}$  = 3055, 1690, 1560, 1515, 1448, 1301, 970 cm<sup>-1</sup>; **HRMS** (ESI) calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> 566.8073, found 566.8067

#### 2.2 Synthesis of Eosin $\gamma$ Heavy Metal Salts **2b** – **2f**



##### Eosin $\gamma$ silver (I) salt (**2b**)

After sonication of a freshly prepared suspension of eosin  $\gamma$  (**1**, 2.00 g, 3.09 mmol, 1.00 eq.) in water (6.00 mM) for 10 min at room temperature, AgOAc (1.03 g, 6.18 mmol, 2.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. After stirring for 12 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the eosin  $\gamma$  silver (I) salt as a crystalline purple solid (852 mg, 989  $\mu$ mol, 32%).

##### Eosin $\gamma$ barium salt (**2c**)

After sonication of a freshly prepared suspension of eosin  $\gamma$  (**1**, 500 mg, 772  $\mu$ mol, 1.00 eq.) in water (6.00 mM) for 10 min at room temperature, Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O (244 mg, 772  $\mu$ mol, 1.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. The suspension deepened its

color immediately and turned into a clear solution over time. After stirring for 6 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the eosin y barium salt (**2c**) as a crystalline deep red solid (310 mg, 396  $\mu\text{mol}$ , 51%).



**m.p.** > 230 °C (H<sub>2</sub>O); **<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.18 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.66-7.55 (m, 2H), 7.23 (dd, *J* = 7.0, 1.9 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  171.3, 168.1, 156.1, 153.0, 139.2, 132.8, 130.5, 130.1, 129.4, 129.2, 128.9, 117.9, 109.7, 99.03 ppm; **IR** (ATR)  $\tilde{\nu}_{\text{max}}$  = 1545, 1406, 1340, 1018, 977, 927 cm<sup>-1</sup>; **Combustion analysis** (%) calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>6</sub>BaBr<sub>4</sub>O<sub>5</sub>·4H<sub>2</sub>O: C 28.09, H 1.65; found: C 27.77, H 1.58.

#### Eosin y copper(II) salt (**2d**)

After sonication of a freshly prepared suspension of eosin y (**1**, 1.00 g, 1.54 mmol, 1.00 eq.) in water (5.00 mM) for 10 min at room temperature, Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O (307 mg, 1.54 mmol, 1.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. The suspension deepened its color immediately. After stirring for 12 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the eosin y copper (II) salt (**2d**) as crystalline deep blue solid (412 mg, 581  $\mu\text{mol}$ , 38%).

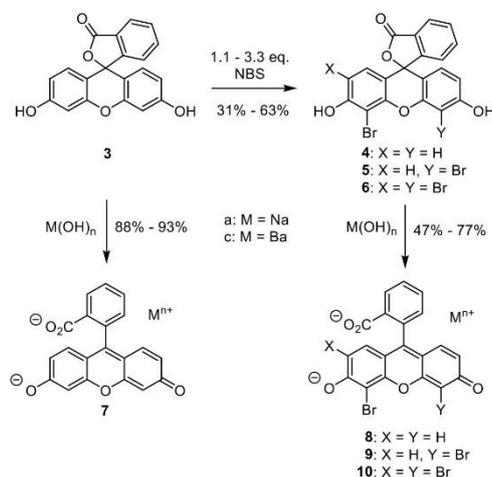
#### Eosin y lead(II) salt (**2e**)

After sonication of a freshly prepared suspension of eosin y (**1**, 2.00 g, 3.09 mmol, 1.00 eq.) in water (6.00 mM) for 10 min at room temperature, Pb(OAc)<sub>2</sub> (1.01 g, 3.09 mmol, 1.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. The suspension deepened its color immediately. After stirring for 12 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the eosin y lead (II) salt (**2e**)<sup>[1]</sup> as crystalline deep pink solid (422 mg, 495  $\mu\text{mol}$ , 16%).

#### Eosin y gadolinium (III) salt (**2f**)

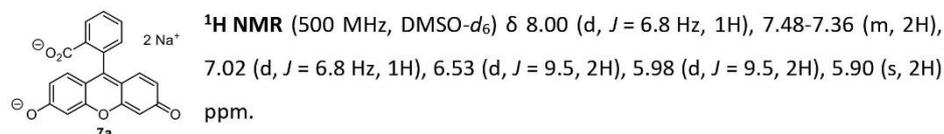
After sonication of a freshly prepared suspension of eosin y (**1**, 2.00 g, 3.09 mmol, 1.00 eq.) in water (6.00 mM) for 10 min at room temperature, Gd(OAc)<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O (726 mg, 2.06 mmol, 0.67 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. The suspension deepened its color immediately. After stirring for 12 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the eosin y gadolinium (III) salt (**2f**) as crystalline deep red solid (835 mg, 371 μmol, 12%).

#### 2.3 Synthesis of (Brominated) Fluorescein Salts **7** and **9**



#### Fluorescein disodium salt (**7a**)

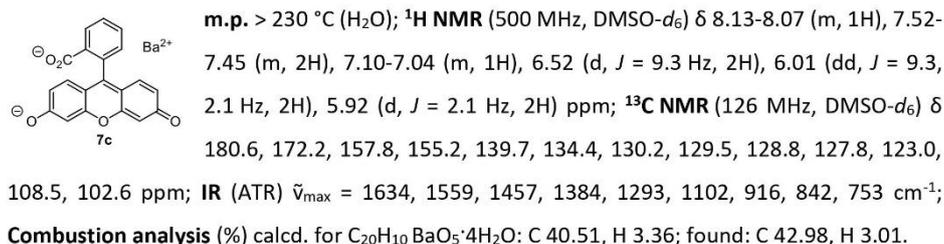
After sonication of a freshly prepared suspension of fluorescein (**3**, 442 mg, 1.33 mmol, 1.00 eq.) in water (5.00 mM) for 10 min at room temperature, NaOH (106 mg, 2.66 mmol, 2.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. After stirring for 6 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the fluorescein disodium salt (**7a**) as a crystalline red solid (440 mg, 1.17 mmol, 88%).



The spectroscopic and physical data was in accordance to that reported in the literature.<sup>[2]</sup>

#### Fluorescein barium salt (7c)

After sonication of a freshly prepared suspension of fluorescein (**3**, 442 mg, 1.33 mmol, 1.00 eq.) in water (5.10 mM) for 10 min at room temperature, Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O (420 mg, 1.33 mmol, 1.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. After stirring for 6 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the fluorescein barium salt (**7c**) as crystalline dark red solid (581 mg, 1.24 mmol, 93%).



#### 4', 5'-Dibromo fluorescein disodium salt (9a)

After sonication of a freshly prepared suspension of dibromo fluorescein (**5**, 243 mg, 496 μmol, 1.00 eq.) in water (3.00 mM) for 10 min at room temperature, NaOH (39.7 mg, 992 μmol, 2.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. After stirring for 6 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield

the dibromo fluorescein disodium salt (**9a**) as a dark red, crystalline solid (125 mg, 234  $\mu\text{mol}$ , 47%).



**m.p.** > 230 °C (H<sub>2</sub>O); **<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.11-8.06 (m, 1H), 7.53-7.42 (m, 2H), 7.15-7.06 (m, 1H), 6.60 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 6.23 (d, *J* = 9.3, 2H) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  174.3, 169.7, 156.6, 153.7, 140.3, 133.8, 130.3, 129.0, 128.4, 128.1, 122.0, 109.3, 99.79 ppm; **IR** (ATR)  $\tilde{\nu}_{\text{max}}$  = 1612, 1550, 1449, 1344, 1237, 974, 880, 844, 759, 713 cm<sup>-1</sup>; **Combustion analysis** (%) calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>8</sub>Br<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·3H<sub>2</sub>O: C 40.85, H 2.40; found: C 41.41, H 2.41.

#### 4', 5'-Dibromo fluorescein barium salt (**9c**)

After sonication of a freshly prepared suspension of dibromo fluorescein (**5**, 520 mg, 1.06 mmol, 1.00 eq.) in water (3.00 mM) for 10 min at room temperature, Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O (334 mg, 1.06 mmol, 1.00 eq.) was added to the suspension in one portion under vigorous stirring. After stirring for 6 h at room temperature the reaction mixture was filtered and the filtrate dried in vacuum to yield the dibromo fluorescein barium salt (**9c**) as crystalline dark red solid (512 mg, 819  $\mu\text{mol}$ , 77%).



**m.p.** > 230 °C (H<sub>2</sub>O); **<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.22-8.12 (m, 1H), 7.56-7.45 (m, 2H), 7.17-7.10 (m, 1H), 6.57 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H), 6.23 (d, *J* = 9.4, 2H) ppm; **<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  174.4, 171.9, 155.9, 153.7, 139.0, 134.0, 130.7, 129.3, 129.0, 128.3, 122.2, 109.3, 99.90 ppm; **IR** (ATR)  $\tilde{\nu}_{\text{max}}$  = 3244, 1540, 1407, 1337, 1017, 928, 648 cm<sup>-1</sup>; **Combustion analysis** (%) calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>8</sub>BaBr<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·4H<sub>2</sub>O: C 34.44, H 2.31; found: C 34.40, H 1.97.

### 3. Determination of the Partition Coefficient logP

1 mg of each compound was dissolved in 1 mL water and sonicated for 30 min. The resulting clear solution was mixed with 9 mL PBS buffer giving the stock solution. 2 mL of the stock solution was mixed with 100  $\mu$ L *n*-octanol, which was saturated with PBS buffer before use, and then shaken for 30 min at room temperature. After centrifugation for 15 min at 3000 rpm the *n*-octanol phase of each sample was analyzed by HPLC-UV. The compound concentrations  $W_1$  of the *n*-octanol phase were determined using the calibration curve prepared by a dilution series of the stock solution before. The integration of the area of the HPLC signals was done at 234 nm for each compound. The partition coefficient logP was calculated using the following equation.

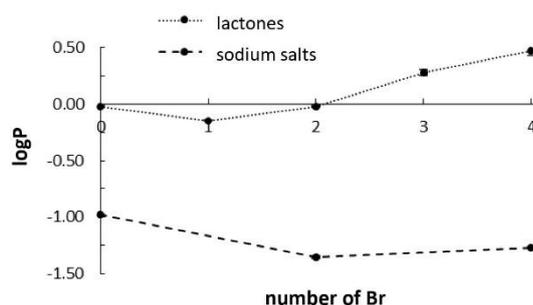
$$\log P = \log \frac{(W_0 - W_1)V_{aq}}{W_1V_{oct}}$$

$W_0$  = initial concentration of compounds **1**, **2a**, **3 – 6**, **7a** and **9a**.

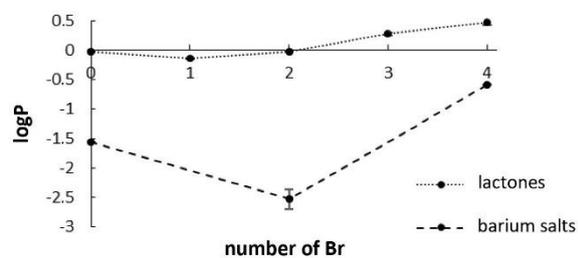
$W_1$  = concentration of compounds **1**, **2a**, **3 – 6**, **7a** and **9a** in *n*-octanol

$V_{aq}$  = volume of the aqueous phase

$V_{oct}$  = volume of the *n*-octanol phase



**Figure S1.** Partition coefficient (logP) of lactones **1**, **3 – 6** and disodium salts **2a**, **7a** and **9a**. The logP values were determined in triplicates.



**Figure S2.** Partition coefficient ( $\log P$ ) of the lactones **1** and **3–6** and the barium derivatives **2c**, **7c** and **9c**. The  $\log P$  values were determined in triplicates.

#### 4. Maximum Solubility of Eosin y **2a–2f** and Dibromo Fluorescein Salts **9a** and **9c**

compound	concentration [mg/mL]
Eosin y disodium salt ( <b>2a</b> ) <sup>[3]</sup>	300 mg/mL
Eosin y silver(I) salt ( <b>2b</b> )	< 10 mg/mL
Eosin y barium salt ( <b>2c</b> )	25 mg/mL
Eosin y copper(II) salt ( <b>2d</b> )	66 mg/mL
Eosin y lead(II) salt ( <b>2f</b> )	50 mg/mL
Eosin y gadolinium(III) salt ( <b>2f</b> )	< 10 mg/mL
Dibromo disodium salt ( <b>9a</b> )	549 mg/mL
Dibromo barium salt ( <b>9c</b> )	45 mg/mL

#### 5. Animal Tissue Samples

The fresh turkey livers were purchased from a butcher and fixated as described in the section below. All procedures were in accordance with relevant guidelines and regulations. All laboratories are inspected for accordance with the OECD principles of good laboratory practice. We prepared a turkey liver piece (ca. 27 mm<sup>3</sup>) using the final version of the eosin staining / barium-eosin staining procedure. The soft-tissue sample was then used to evaluate structural preservation and to assess stain quality, identify morphological structures, compare with conventional histological methods and evaluate for further histological staining.

#### 6. Sample Screening

Whole turkey livers were fixated and preserved under conditions described below. Cuboidal soft-tissue samples from turkey liver (1 mm edge length) were used for stain development and optimization. The small cuboidal tissue samples were cut with a scalpel (Aesculap). Temperature was controlled by placing samples in a refrigerator (4°C) or in ambient conditions of the laboratory. Incubations were done in sample holders with a flat bottom, which were replaced after each step but not after rinse or dehydration steps. For stain development and optimization several parameters such as fixative, concentration of fixative or staining agent, incubation time or pH of fixative or staining agents were tested. The stained soft-tissue samples were investigated on the phoenix vltomelx s 240 CT scanner with typical settings of 50kV peak voltage, 6.0W and with 1601 projections distributed over 360°. The low-resolution CT data were acquired with an exposure time of 1s per projection with an effective pixel size of ca. 30µm. The microCT data were reconstructed with the integrated phoenix datos x CT software and analyzed for (i) completeness of staining, (ii) appearance of diffusion rings, (iii) contrast enhancement, (iv) appearance of CT artifacts as streaks and (v) homogeneity of the staining.

## 7. Staining Protocols

### 7.1 For Eosin $\gamma$ Disodium Salt (**2a**)

The fixated turkey liver piece was acidified prior to use. Therefore, it was placed in a 50-mL Falcon Centrifuge Tube (neolab), which was filled with a fixative solution containing 9.5 mL of 4% (v/v) formaldehyde solution (FA, derived from a 37% acid free FA solution stabilized with ca. 10% methanol from Carl Roth; further dilution with DPBS without calcium and magnesium) and 0.5 glacial acetic acid (AA, Alfa Aesar). The sample was refrigerated for 24-72h and then washed with phosphate saline buffer solution for 1 h (DPBS without calcium and magnesium). The turkey liver was placed in the staining solution of **2a** ( $c = 31.9$  mM) in dist. water; Sigma-Aldrich, product number: E4382, stain certified by the Biological Stain Commission.). The soft-tissue sample was stained with 1 mL of staining solution for 24h (the soft-tissue sample was moving freely within the sample container). During the incubation time the soft-tissue sample was kept on a horizontal shaking plate allowing for a smooth rocking of 60 rpm. After staining, the soft-tissue sample was carefully removed from the sample container and excess of staining agent **2a** was softly patted with a cellulose tissue paper. The soft-tissue sample was stored in an Eppendorf tube above an ethanol vapor phase (the Eppendorf tube contained a few drops of 70% (v/v) ethanol at the bottom of the tube).

### 7.2 For Eosin $\gamma$ Barium Salt (**2c**)

The fixated turkey liver piece was acidified prior to use. Therefore, it was placed in a 50-mL Falcon Centrifuge Tube (neolab), which was filled with a fixative solution containing 9.5 mL of 4% (v/v) formaldehyde solution (FA, derived from a 37% acid free FA solution stabilized with ca. 10% methanol from Carl Roth; further dilution with DPBS without calcium and magnesium) and 0.5 glacial acetic acid (AA, Alfa Aesar). The sample was refrigerated for 24-72h and then washed with phosphate saline buffer solution for 1 h (DPBS without calcium and magnesium). The soft-tissue sample was transferred into a sample container with 1 mL of a staining solution comprising a barium-eosin  $\gamma$  salt (**2c**) in water (25 mg/mL;  $c = 31.9$  mM). The soft-tissue sample was stained for 72 h while placed on a shaker (horizontal shaking with 60 rpm). After staining with the staining

solution comprising **2c**, the turkey liver was removed, and the remaining staining solution **2c** was carefully padded off the soft-tissue sample with a cellulose tissue paper. The soft tissue sample was stored over 70 vol/vol-% ethanol vapor prior to CT measurement.

#### **7.3 For Dibromo Fluorescein Sodium Salt (9a)**

The fixated turkey liver piece was acidified prior to use. Therefore, it was placed in a 50-mL Falcon Centrifuge Tube (neolab), which was filled with a fixative solution containing 9.5 mL of 4% (v/v) formaldehyde solution (FA, derived from a 37% acid free FA solution stabilized with ca. 10% methanol from Carl Roth; further dilution with DPBS without calcium and magnesium) and 0.5 mL glacial acetic acid (AA, Alfa Aesar). The sample was refrigerated for 24-72h and then washed with phosphate saline buffer solution for 1 h (DPBS without calcium and magnesium). The soft-tissue sample was transferred into a sample container with 1 mL of a staining solution comprising the dibromo fluorescein sodium salt (**9a**) in water (45 mg/mL;  $c = 76.5$  mM). The soft-tissue sample was stained for 72 h while placed on a shaker (horizontal shaking with 60 rpm). After staining with the staining solution comprising **9a**, the turkey liver was removed, and the remaining staining solution **9a** was carefully padded off the soft-tissue sample with a cellulose tissue paper. The soft tissue sample was stored over 70 vol/vol-% ethanol vapor prior to CT measurement.

#### **7.4 For Dibromo Fluorescein Barium Salt (9c)**

The fixated turkey liver piece was acidified prior to use. Therefore, it was placed in a 50-mL Falcon Centrifuge Tube (neolab), which was filled with a fixative solution containing 9.5 mL of 4% (v/v) formaldehyde solution (FA, derived from a 37% acid free FA solution stabilized with ca. 10% methanol from Carl Roth; further dilution with DPBS without calcium and magnesium) and 0.5 mL glacial acetic acid (AA, Alfa Aesar). The sample was refrigerated for 24-72h and then washed with phosphate saline buffer solution for 1 h (DPBS without calcium and magnesium). The soft-tissue sample was transferred into a sample container with 1 mL of a staining solution comprising the dibromo fluorescein barium salt (**9c**) in water (45 mg/mL;  $c = 72.0$  mM). The soft-tissue sample

was stained for 72 h while placed on a shaker (horizontal shaking with 60 rpm). After staining with the staining solution comprising **9c**, the turkey liver was removed, and the remaining staining solution **9c** was carefully padded off the soft-tissue sample with a cellulose tissue paper. The soft tissue sample was stored over 70 vol/vol-% ethanol vapor prior to CT measurement.

### 8. Macroscopic Imaging of stained Turkey Liver Samples

Before the stained turkey liver pieces were investigated by  $\mu$ CT, a macroscopic investigation of the soft-tissue samples was performed by halving the stained specimen. The results are listed in Table S2.

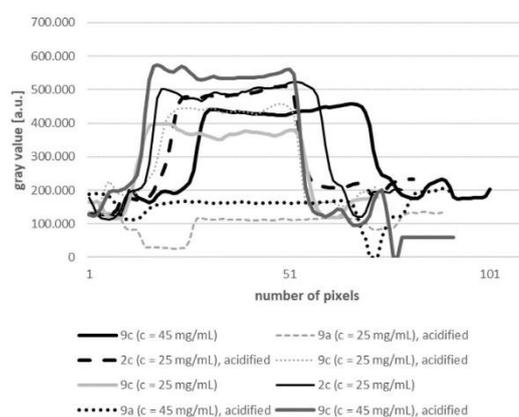
**Table S2.** Macroscopic investigation of the studied tissues stained under different conditions.

entry	Stain	acidified	Incubation time [h]	macroscopic image
1	2a	X	24	
2	2c	X	24	
3	2a		24	
4	2c		24	
5	2a	X	48	
6	2c	X	48	
7	2a		48	
8	2c		48	
9	2a	X	72	
10	2c	X	72	
11	2a		72	

12	<b>2c</b>		72	
13	<b>2d</b>	X	144	
14	<b>2e</b>	X	144	

The tissue samples were treated with a 4% formaldehyde solution and with or without 0.5 mL glacial acetic acid prior to staining. Staining was performed using a 31.9 mM aq. solution of eosin y salt **2a** or **2c – 2e**. For each condition, an individual number of three turkey liver pieces was stained to ensure reproducibility; one of these pieces was investigated macroscopically.

#### 9. Line Plot Analysis of Turkey Liver Tissue Samples treated with **2c** and **9c**



**Figure S3.** The line plots of the dibromo sodium **9a**, dibromo barium **9c** and tetrabromo barium fluorescein **2c** derivatives are displayed highlighting the influence of the different degree of halogenation of the xanthene core, aspect of acidification and concentrations on the contrast enhancement of the soft tissue sample.

#### **10. X-Ray $\mu$ CT Imaging of Turkey Liver**

The stained turkey liver pieces (acidified and non-acidified) as well as a control sample (fixated and acidified, but not stained) were transferred to a sample holder, which allows the anchorage of the soft-tissue pieces above 70 % (v/v) ethanol vapor. The X-ray microCT measurements were performed with the phoenix vltomex s 240 CT scanner. All shown images were acquired at 50kV peak voltage, 5.5W and with 1601 projections distributed over 360°. The low-resolution CT data were acquired with an exposure time of 2s per projection with an effective voxel size of *ca.* 40 $\mu$ m.

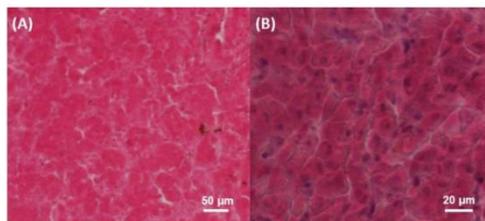
#### **11. High-Resolution $\mu$ CT of Mouse Kidney**

A stained mouse kidney piece of approximately 5 mm edge length (with the barium eosin y salt (9c) using the staining protocol described in section 7.4) was mounted to a sample holder above 70 % (v/v) ethanol vapor. The high-resolution  $\mu$ CT data was acquired with the Zeiss Xradia Versa 500 CT scanner using the following parameters: 50 kV peak Voltage, 3.5 W with 1601 projections distributed over 360° using the 0.39x objective. An exposure time of 10 s per projection was used with an effective voxel size of approximately 3.3  $\mu$ m. The integrated software, Scout and Scan 11.1.8043.19515, was used to reconstruct the data. The volume renderings of the  $\mu$ CT data shown in Figure 6 were processed with Avizo Fire 8.1 (ThermoFisher Scientific).

#### **12. Histological Analysis of Turkey Liver Samples stained with 2c**

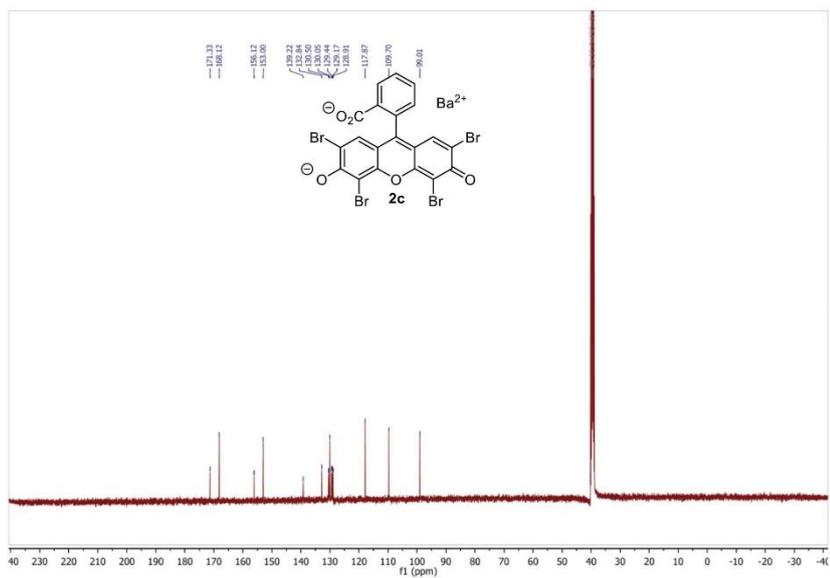
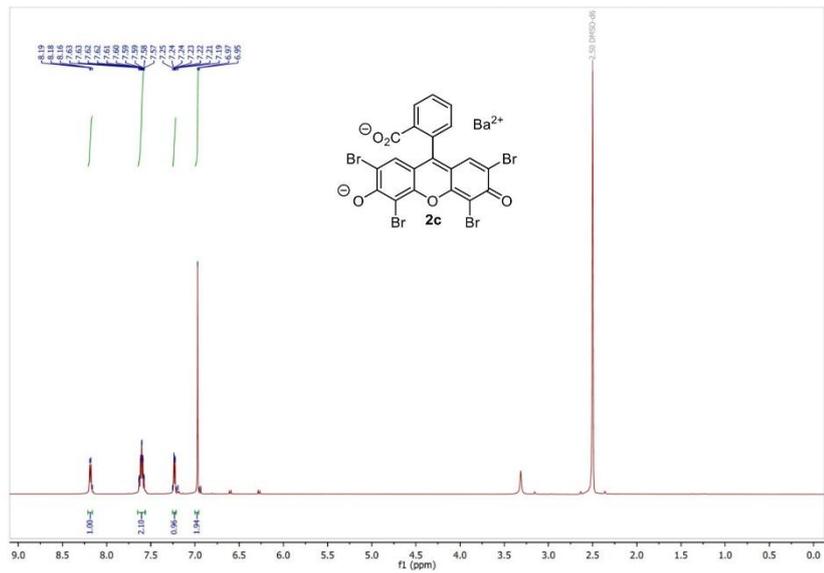
The stained turkey liver pieces were dehydrated and embedded in paraffin according to standard procedures prior to histological sectioning and further histochemical counter staining. The samples were dehydrated in 70% and 96% ethanol twice for one hour and cleared in xylol twice for one hour. Subsequently, the sample was incubated overnight in paraffin wax at 50°C to infiltrate the complete sample with wax, embedded in paraffin wax and sections of 7 $\mu$ m thickness were cut using a microtome (Leica). Sections were rehydrated and either directly embedded (Eukitt, Merck) or counterstained for 6min with Mayer's sour hematoxylin (Morphisto) according

to the manufacturer's protocol. Histological analysis was performed using an Axio Imager 2 microscope and AxioVision Software (Zeiss).



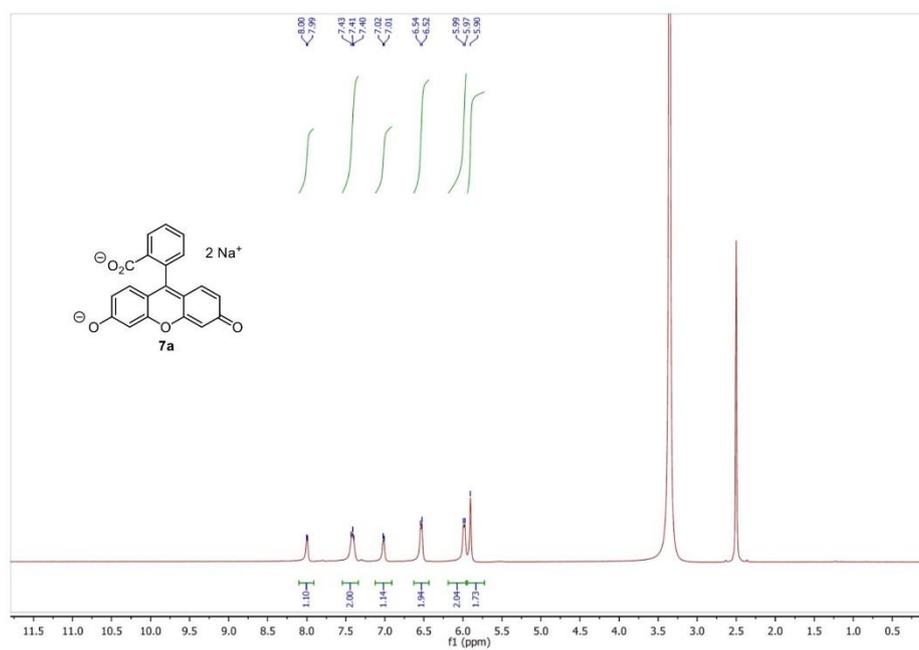
**Figure S4.** Histological microscopic slide obtained from a turkey liver stained with barium eosin y salt (**2c**) for 72 h ( $c = 25 \text{ mg/mL}$ ). The microscopic slide was directly obtained after staining and CT investigation. **(A)** No further treatments by the histologist were performed. **(B)** Hematoxylin was applied as counter stain to **2c**. All histological analyses were performed using an Axio Imager 2 microscope and AxioVision Software (Zeiss). Image in **(A)** was produced with 20x magnification. Image in **(B)** was produced with 40x magnification.

13. NMR Spectra of Compounds 2, 4-7, and 9

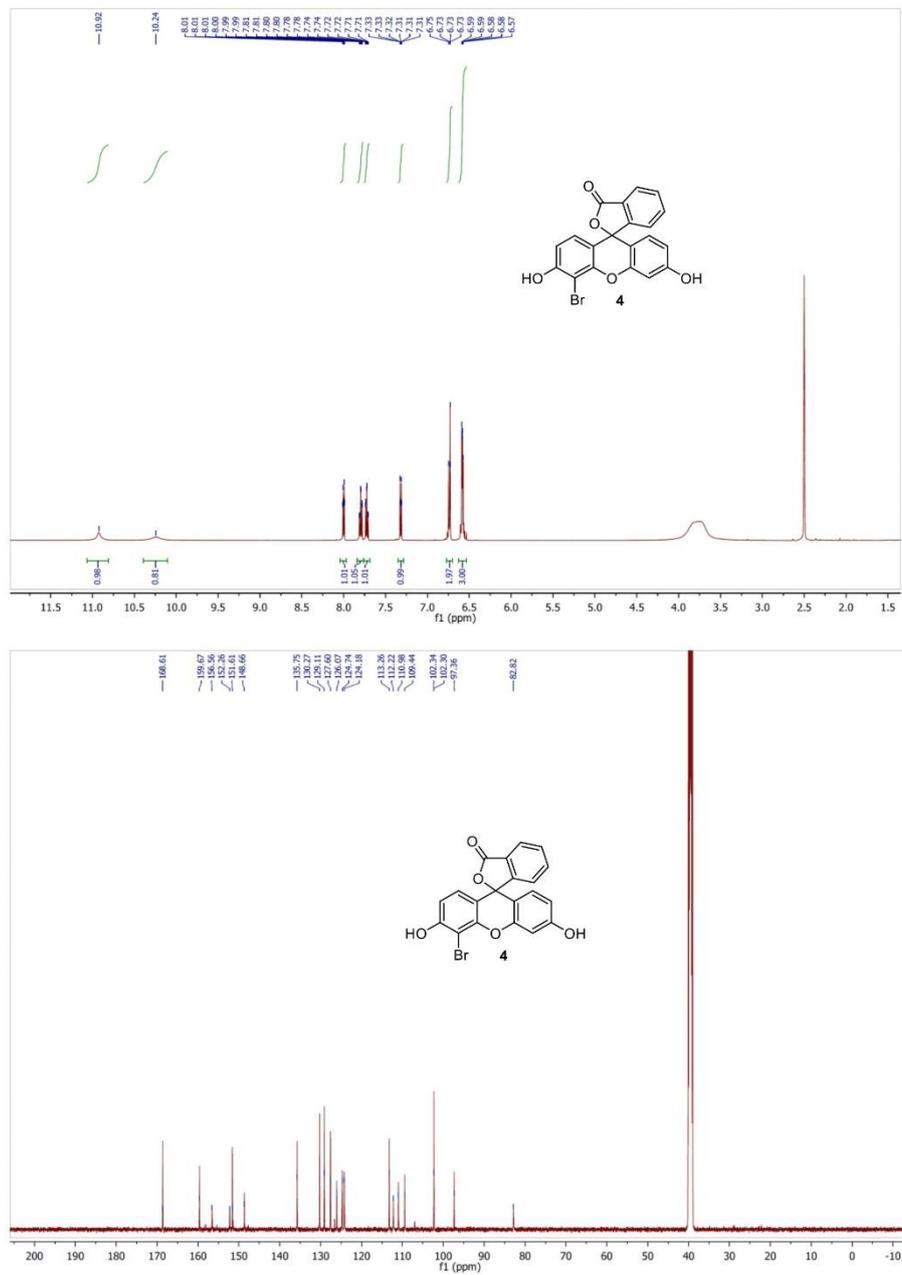


### III. Experimenteller Teil

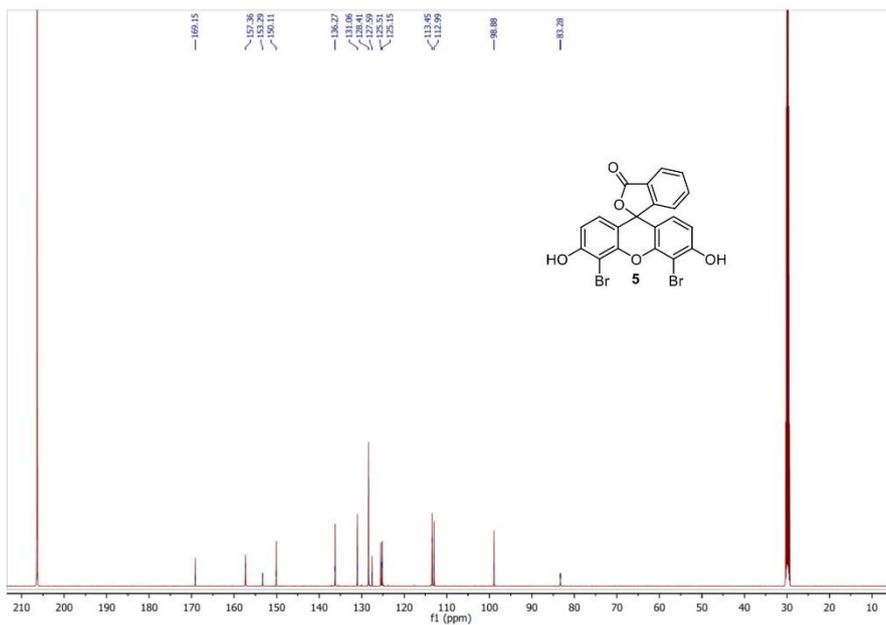
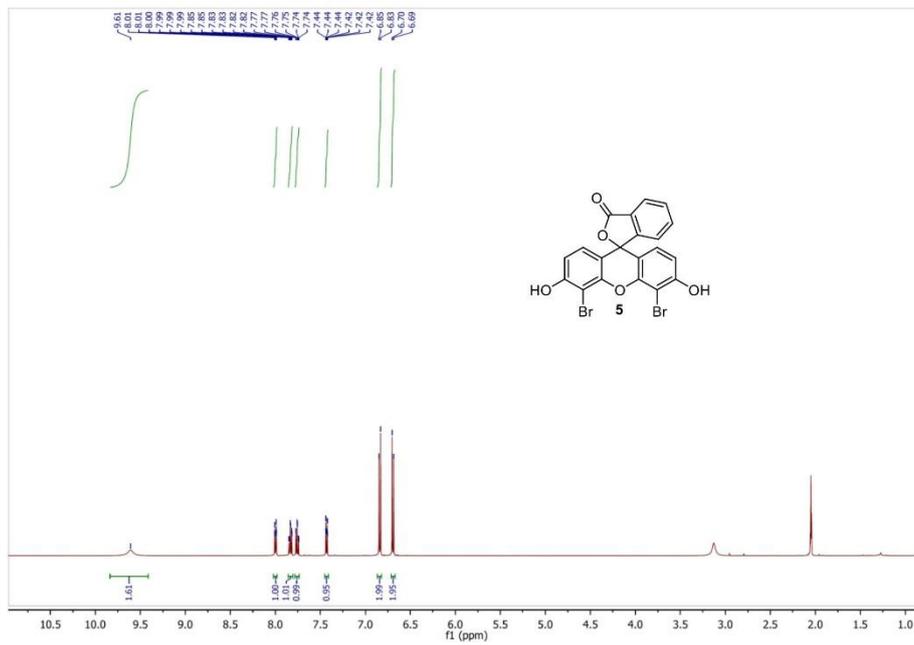
---



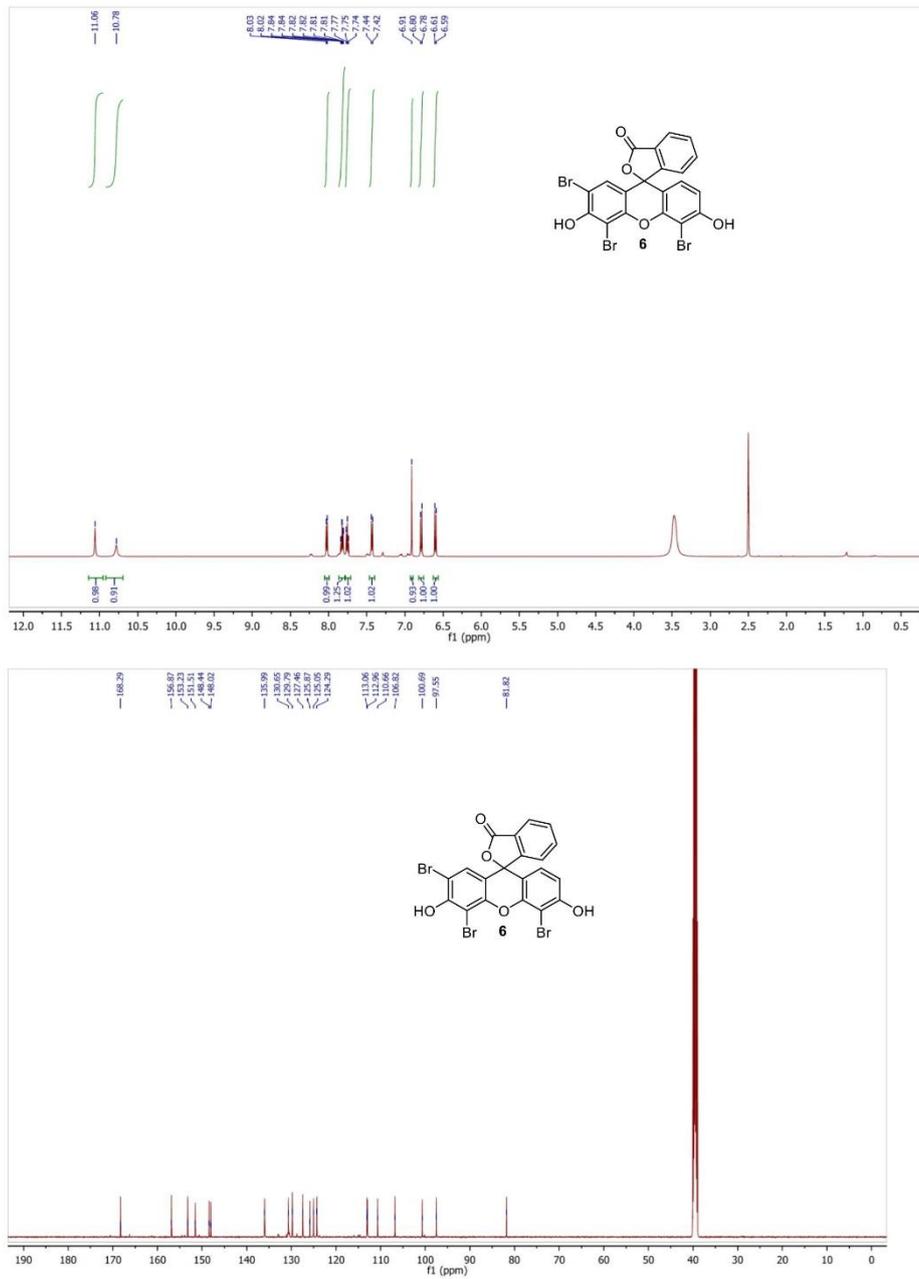
### III. Experimenteller Teil



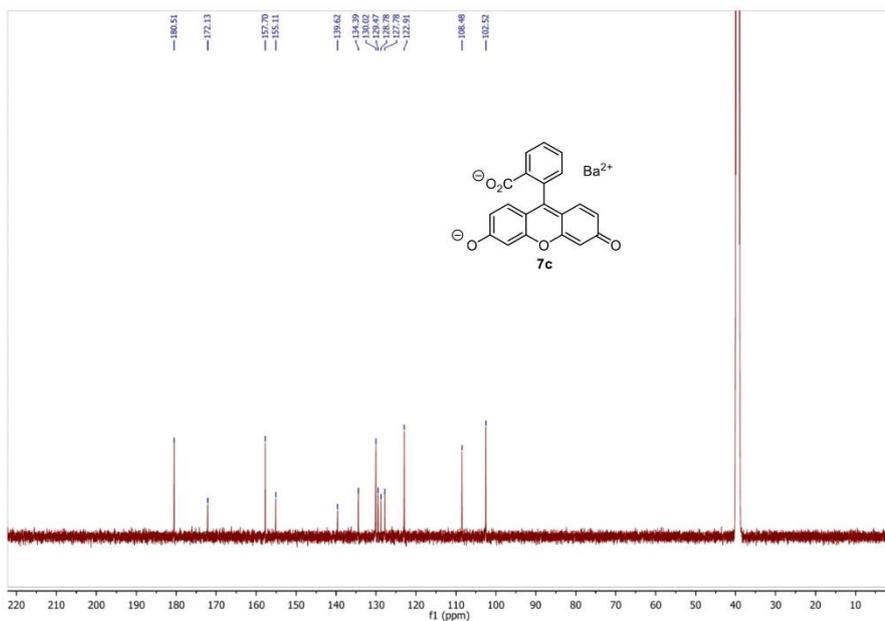
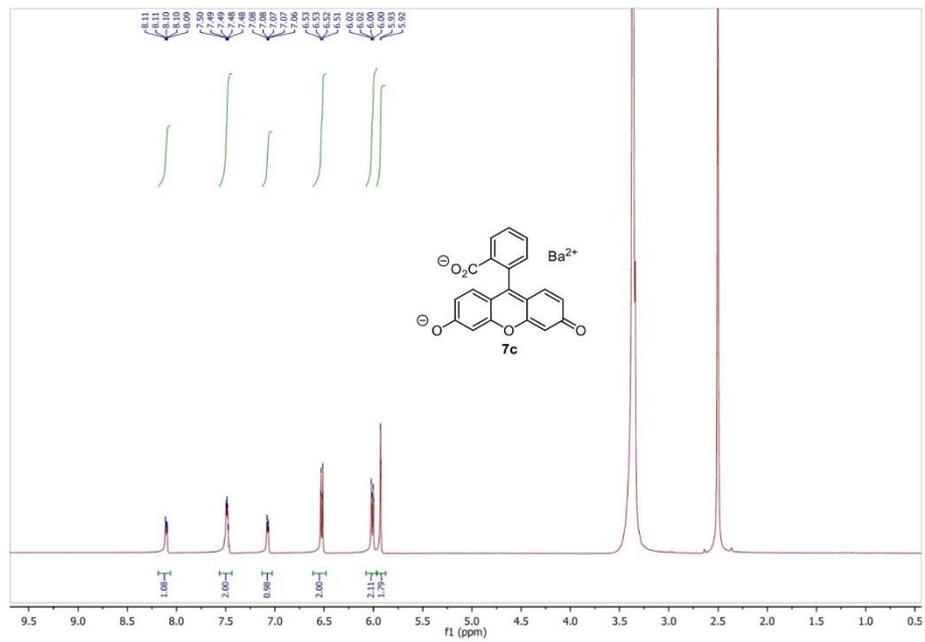
### III. Experimenteller Teil



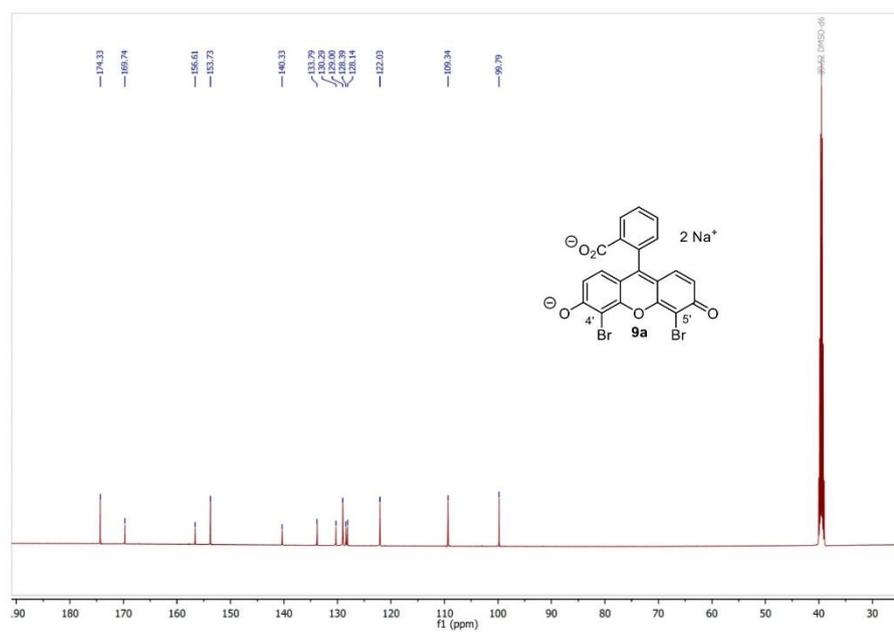
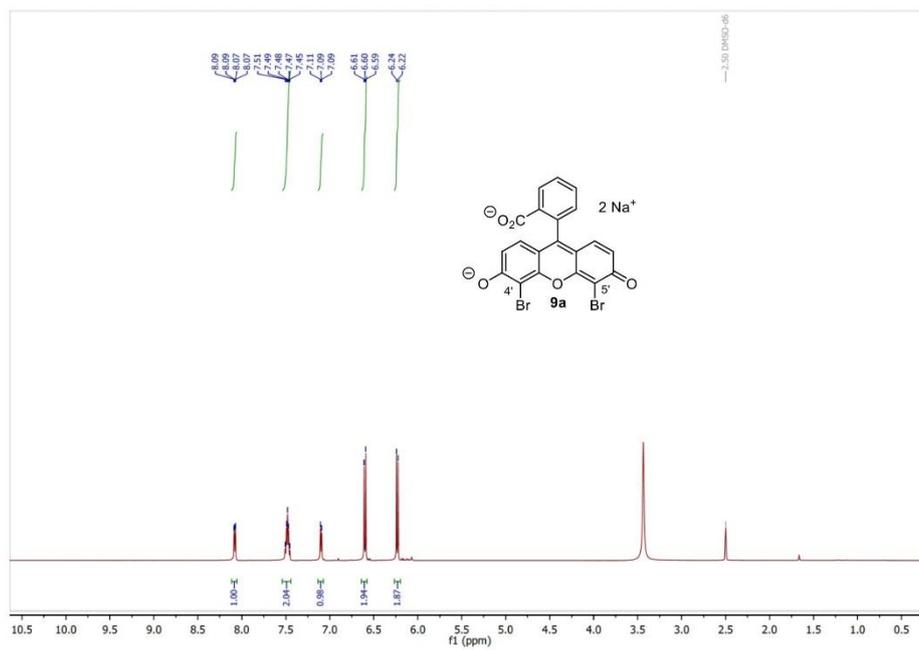
### III. Experimenteller Teil



### III. Experimenteller Teil

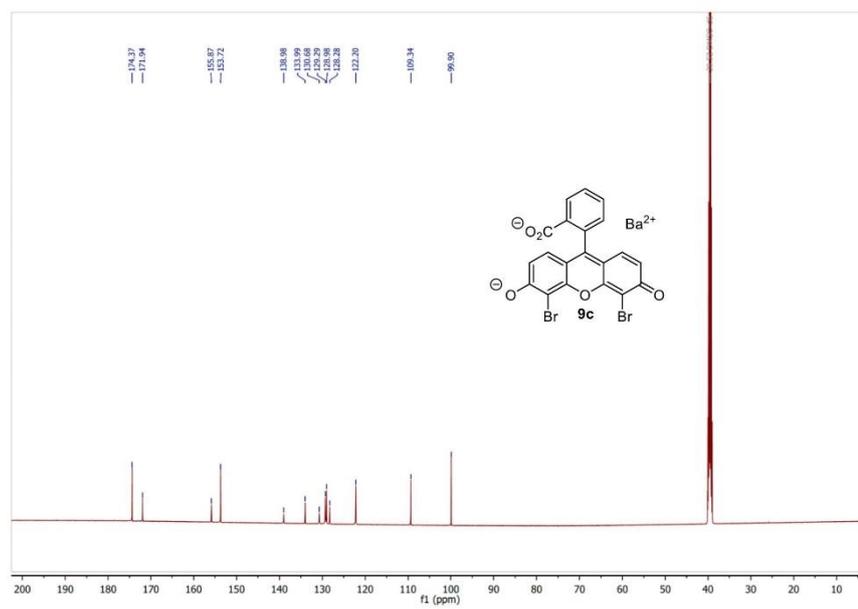
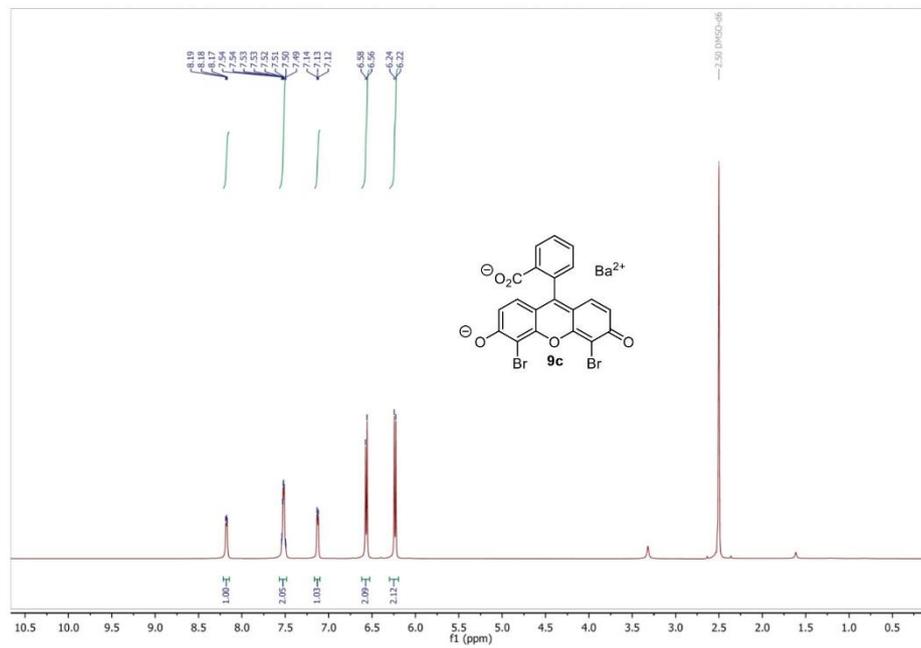


### III. Experimenteller Teil



25

### III. Experimenteller Teil



#### 11. Literature

- [1] C. Anselmi, D. Capitani, A. Tintaru, B. Doherty, A. Sgamellotti, C. Miliani, *Dyes Pigments* **2017**, *140*, 297-311.
- [2] Q. Xu, K.-A. Lee, S. Lee, K. M. Lee, W.-J. Lee, J. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 9944–9949.
- [3] M. Busse, M. Müller, M. A. Kimm, S. Ferstl, S. Allner, K. Achterhold, J. Herzen, F. Pfeiffer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, *115*, 2293-2298.

**IV. Abkürzungsverzeichnis**

A	Atommasse
Äquiv.	Äquivalent
Bu	Butyl
°C	Grad Celsius
CCD	ladungsgekoppeltes Bauteil (engl. <i>charge-coupled device</i> )
CPBA	Chlorperbenzoesäure
CT	Computertomographie
μCT	Mikro-Computertomographie
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
E	Energie der Röntgenstrahlen
<i>ee</i>	Enantiomerenüberschuss
engl.	Englisch
<i>et al.</i>	und andere (lat. <i>et alli</i> )
<i>gem</i>	<i>geminal</i>
grc.	Griechisch
h	Stunde
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-propanol
HOMO	engl. <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
HPLC	engl. <i>High performance liquid chromatography</i>
HU	Hounsfield-Einheit (engl. <i>Hounsfield unit</i> )
I	Stromstärke
IUPAC	engl. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
K	Kelvin
κ	elektrische Leitfähigkeit
KM	Kontrastmittel
log	Logarithmus
logKow	Wasser- <i>n</i> -Octanol-Verteilungskoeffizient
LUMO	engl. <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
M	Molar

#### IV. Abkürzungsverzeichnis

---

<i>m</i>	<i>meta</i>
Me	Methyl
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
MO	Molekülorbital
μL	Mikroliter
μmol	Mikromol
mL	Milligramm
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mol	Mol
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektroskopie
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
N/A	Nicht verfügbar (engl. <i>not available</i> )
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i>
<i>p</i>	<i>para</i>
PIDA	Diacetoxiodbenzol
POP	Persistente organische Schadstoffe (engl. <i>Persistent Organic Pollutants</i> )
ppm	engl. <i>parts per million</i>
PTA	Wolframatophosphorsäure (engl. <i>phosphotungstic acid</i> )
PTFE	Polytetrafluorethylen
<i>R</i>	Elektrischer Widerstand
ρ	Dichte
s	Singulett
sec.	Sekunde
SSCE	Silber-Silberchlorid-Elektrode
t	Triplett
U	Spannung
USG	Ultraschalluntersuchung
ÜZ	Übergangszustand
V	Volt
<i>vic</i>	<i>vicinal</i>
Z	Ordnungszahl

#### IV. Abkürzungsverzeichnis

---

$\mu$	Micro
$\mu$	Röntgenabsorptionskoeffizient

## V. Literaturverzeichnis

- [1] A. F. Littke, G. C. Fu, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4350-4386.
- [2] M. J. Buskes, M. Blanco, *Molecules* **2020**, *25*, 3493-3515.
- [3] P. Devendar, R.-Y. Qu, W.-M. Kang, G.-F. Yang, *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 8914-8934.
- [4] M.-S. Schiedel, C. A. Briehn, P. Bäuerle, *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653*, 200-208.
- [5] C. Torborg, M. Beller, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 3027-3043.
- [6] G. Evano, A. Nitelet, P. Thilmany, D. F. Dewez, *Frontiers in Chemistry* **2018**, *6*, 114-132.
- [7] J. Beard, *Sci. Total Environ.* **2006**, *355*, 78-89.
- [8] N. Olooney, S. C. Fry, *Ann. Bot.* **2005**, *96*, 1097-1107.
- [9] P. B. Kurt-Karakus, T. F. Bidleman, R. M. Staebler, K. C. Jones, *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 4578-4585.
- [10] a) G. E. Burdick, E. J. Harris, H. J. Dean, D. Colby, *Trans. Am. Fish. Soc.* **1964**, *93*, 127-136; b) *Pol. J. Environ. Stud.* **2009**, *18*, 467-474.
- [11] J. M. Ginsburg, *J. Agric. Food Chem.* **1955**, *3*, 322-325.
- [12] C. I. Chacko, J. L. Lockwood, *Can. J. Microbiol.* **1967**, *13*, 1123-1126.
- [13] A. Di Guardo, L. Nizzetto, A. Infantino, K. C. Jones, *Chemosphere* **2008**, *72*, 1497-1503.
- [14] a) V. Milun, D. Grgas, T. L. Dragičević, *Sci. Total Environ.* **2016**, *562*, 115-127; b) R. Gerber, N. J. Smit, J. H. J. Van Vuren, V. Wepener, *Sci. Total Environ.* **2016**, *550*, 522-533.
- [15] a) M. Ricking, J. Schwarzbauer, *Environ. Chem. Lett.* **2012**, *10*, 317-323; b) K. Jaga, C. Dharmani, *Int. J. Occup. Environ. Health.* **2003**, *16*, 7-20.
- [16] <https://echa.europa.eu> (abgerufen am 05.01.2022).
- [17] D. A. Ratcliffe, *Nature* **1967**, *215*, 208-210.
- [18] <https://www.bmu.de> (abgerufen am 05.01.2022).
- [19] S. W. Karickhoff, D. S. Brown, T. A. Scott, *Water Res.* **1979**, *13*, 241-248.
- [20] P. T. Anastas, T. C. Williamson, D. Hjeresen, J. J. Breen, *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 116-119.
- [21] C. Cooksey, *Biotech. Histochem.* **2021**, *96*, 401-407.
- [22] S. M. Derayea, D. M. Nagy, *Rev. Anal. Chem* **2018**, *37*, 20-34.
- [23] A. Schrödel, *BIUZ* **2012**, *42*, 153-153.

- [24] P. Arora, V. Arora, H. Lamba, D. Wadhwa, *Int. J. Pharm. Sci.* **2012**, *3*, 2947-2954.
- [25] B. Schäfer, *Chemie in unserer Zeit* **2010**, *44*, 344-364.
- [26] K. Kajinami, H. Mabuchi, Y. Saito, *Expert Opin. Investig. Drugs* **2000**, *9*, 2653-2661.
- [27] a) P. Colson, J.-M. Rolain, J.-C. Lagier, D. Raoult, *Int. J. Antimicrob. Agents.* **2020**, *105932*; b) I. Ben-Zvi, S. Kivity, P. Langevitz, Y. Shoenfeld, *Clin. Rev. Allergy. Immunol.* **2012**, *42*, 145-153.
- [28] A. Dahiya, A. K. Sahoo, N. Chakraborty, B. K. Patel, *Org. Biomol. Chem.* **2022**, 2005-2027.
- [29] V. V. Zhdankin, *Arkivoc* **2009**, *2009*, 1-62.
- [30] a) J. Musher, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, *8*, 54-68; b) N. W. Alcock, R. M. Countryman, S. Esperås, J. F. Sawyer, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1979**, 854-860.
- [31] a) L. Jiang, Y. Huang, Y. Yan, Y. Xie, *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 4149-4151; b) X. Sun, M. Yu, X. Mu, X. Liu, *J. Heterocycl. Chem.* **2021**, *58*, 2270-2279; c) H. Hara, T. Inoue, H. Nakamura, O. Hoshino, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6491-6494; d) W. Yu, Y. Du, K. Zhao, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2417-2420.
- [32] G. F. Koser, A. G. Relenyi, A. N. Kalos, R. H. Wettach, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2487-2489.
- [33] G. F. Koser, L. Rebrovic, R. H. Wettach, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4324-4326.
- [34] a) C. Willgerodt, *J. Prakt. Chem.* **1886**, *33*, 154-160; b) D. F. Banks, *Chem. Rev.* **1966**, *66*, 243-266; c) P. J. Stang, V. V. Zhdankin, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1123-1178.
- [35] M. Wang, Y. Zhang, T. Wang, J. Xiao, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 1976-1979.
- [36] Z. Hassan, E. Spuling, D. M. Knoll, S. Bräse, *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 2176-2190.
- [37] R. Koller, K. Stanek, D. Stolz, A. Togni, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4396-4400.
- [38] a) J. Charpentier, N. Früh, A. Togni, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 650-682; b) A. T. Parsons, T. D. Senecal, S. L. Buchwald, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 3001-3004.
- [39] a) C. Y. Legault, J. Prévost, *Acta Crystallogr. Sect. E: Struct. Rep. Online* **2012**, *68*, 1238-1248; b) V. Matoušek, E. Pietrasiak, R. Schwenk, A. Togni, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 6763-6768; c) G. C. Geary, E. G. Hope, K. Singh, A. M. Stuart, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9263-9265.
- [40] a) M. Sawaguchi, S. Ayuba, S. Hara, *Synthesis* **2002**, *2002*, 1802-1803; b) W. Carpenter, *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 2688-2689.
- [41] a) L. F. Silva, *Molecules* **2006**, *11*, 421-434; b) T. Dohi, Y. Kita, *Chem. Commun.* **2009**, 2073-2085; c) T. Wirth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3656-3665.

- [42] a) M. Elsherbini, T. Wirth, *Eur. J. Chem.* **2018**, *24*, 13399-13407; b) T. Fuchigami, T. Tajima, *J. Fluor.* **2005**, *126*, 181-187; c) T. Fujita, T. Fuchigami, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4725-4728; d) T. Fuchigami, S. Inagi, *Acc. Chem. Res.* **2020**, *53*, 322-334; e) T. Fuchigami, T. Fujita, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7190-7192; f) T. Fuchigami, T. Fujita, S. Higashiya, A. Konno, *J. Chin. Chem. Soc.* **1998**, *45*, 131-133; g) C. Gütz, B. Klöckner, S. R. Waldvogel, *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 26-32; h) J. D. Herszman, M. Berger, S. R. Waldvogel, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 7893-7896; i) A. Wiebe, T. Gieshoff, S. Möhle, S. R. Waldvogel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 5594-5619; j) S. Hara, T. Hatakeyama, S.-Q. Chen, N. Yoneda, *J. Fluor.* **1998**, *87*, 189-192.
- [43] a) J. r. m. C. Sarie, C. Thiehoff, R. J. Mudd, R. Gilmour, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 11792-11798; b) F. Scheidt, M. Schäfer, J. C. Sarie, R. Gilmour, *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 16669-16673; c) B. Zhou, M. K. Haj, E. N. Jacobsen, X.-S. Xue, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 15206-15218; d) S. M. Banik, J. W. Medley, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5000-5003; e) I. G. Molnár, R. Gilmour, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5004-5007; f) A. Yoshimura, V. V. Zhdankin, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 3328-3435; g) S. V. Kohlhepp, T. Gulder, *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 6270-6288.
- [44] R. Berger, G. Resnati, P. Metrangolo, J. Hulliger, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 3496-3508.
- [45] a) E. P. Gillis, K. J. Eastman, M. D. Hill, N. A. Meanwell, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 8315-8359; b) W. K. Hagmann, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4359-4369; c) J. Wang, M. Sánchez-Roselló, J. L. Aceña, H. Liu, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 2432-2506.
- [46] a) T. Fujiwara, D. O'Hagan, *J. Fluor.* **2014**, *167*, 16-29; b) P. Jeschke, *ChemBiochem* **2004**, *5*, 570-589.
- [47] a) H. Lusic, M. W. Grinstaff, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 1641-1666; b) C. Isanbor, D. O'Hagan, *J. Fluor.* **2006**, *127*, 303-319.
- [48] a) H.-Y. Hong, G.-S. Yoo, J.-K. Choi, *Anal. Lett.* **1999**, *32*, 2427-2442; b) A. H. Fischer, K. A. Jacobson, J. Rose, R. Zeller, *Cold Spring Harb. Protoc.* **2008**, *2008*, 4986; c) E. Schulte, D. Wittekind, *Anal. Quant. Cytopathol. Histopathol.* **1989**, *11*, 131-139; d) M. E. Selsted, H. W. Becker III, *Anal. Biochem.* **1986**, *155*, 270-274.
- [49] a) W. Bautz, W. Kalender, *Radiologe* **2005**, *45*, 350-355; b) C. Richmond, *BMJ-Brit. Med. J.* **2004**, *12*, 135-155.
- [50] G. N. Hounsfield, *Br. J. Radiol. Suppl.* **1973**, *46*, 1016-1022.
- [51] J. Ambrose, *Br. J. Radiol. Suppl.* **1973**, *46*, 1023-1047.
- [52] E. C. Beckmann, *Br. J. Radiol. Suppl.* **2006**, *79*, 5-8.

- [53] T. M. Buzug, in *Computertomographie (CT) in Medizintechnik: Verfahren – Systeme – Informationsverarbeitung* (Ed.: R. Kramme), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, **2011**, pp. 317-337.
- [54] [www.gbe-bund.de/gesundheitsberichterstattung](http://www.gbe-bund.de/gesundheitsberichterstattung) (abgerufen am 07.01.2022).
- [55] a) E. L. Ritman, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2011**, *13*, 531-552; b) S. J. Schambach, S. Bag, L. Schilling, M. A. Brockmann, *Methods* **2010**, *50*, 2-13; c) S. T. Ho, D. W. Hutmacher, *Biomaterials* **2006**, *27*, 1362-1376.
- [56] a) D. J. Brenner, E. J. Hall, *N. Engl. J. Med.* **2007**, *357*, 2277-2284; b) J. Giles, *Nature* **2004**, *431*, 391-391.
- [57] M. Funovics, *Radiologe* **2007**, *47*, 53-61.
- [58] a) U. Bonse, F. Busch, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1996**, *65*, 133-169; b) S. M. Jorgensen, O. Demirkaya, E. L. Ritman, *Am. J. Physiol.* **1998**, *275*, 1103-1114.
- [59] a) S. F. Fischerauer, T. Kraus, X. Wu, A. M. Weinberg, *Acta Biomater.* **2013**, *9*, 5411-5420; b) L.-M. Ren, T. Arahira, M. Todo, A. Myoui, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2012**, *23*, 463-472; c) A. Postnov, A. Zarowski, N. De Clerck, S. Peeters, *Acta Oto-Laryngol.* **2006**, *126*, 467-474.
- [60] a) P. F. M. Gielkens, J. Schortinghuis, J. R. de Jong, B. Stegenga, *Arch. Oral Biol.* **2008**, *53*, 558-566; b) F. Peyrin, *Osteoporos. Int.* **2011**, *22*, 2043-2048; c) F. Peyrin, P. Dong, A. Pacureanu, M. Langer, *Curr. Osteoporos. Rep.* **2014**, *12*, 465-474.
- [61] a) K. Jiao, J. Dai, M.-Q. Wang, X.-D. Liu, *Arch. Oral Biol.* **2010**, *55*, 155-163; b) S. D. Steppacher, M. S. Hanke, C. A. Zurmühle, M. Tannast, *J. Orthop. Surg. Res.* **2019**, *14*, 1-10; c) M. Cioffi, F. Boschetti, M. T. Raimondi, G. Dubini, *Biotechnol. Bioeng.* **2006**, *93*, 500-510.
- [62] a) B. D. Metscher, *Dev. Dyn.* **2009**, *238*, 632-640; b) E. L. Ritman, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2004**, *6*, 185-208; c) O. L. Katsamenis, M. Olding, J. A. Warner, L. Richeldi, *Am. J. Clin. Pathol.* **2019**, *189*, 1608-1620.
- [63] a) G. van Kaick, S. Delorme, *Eur. Radiol. Suppl.* **2005**, *15*, 74-81; b) L. Vásárhelyi, Z. Kónya, Á. Kukovecz, R. Vajtai, *Mater. Today Adv.* **2020**, *8*, 100084.
- [64] J. Lv, J. Zhao, L. Jiang, H. Mu, *J. Nat. Gas Sci. Eng.* **2020**, 103555.
- [65] A. Tanaka, T. Nakano, K. Ikehara, *Earth Planets Space* **2011**, *63*, 103-110.
- [66] C. L. Lin, J. Miller, *Powder Technol.* **2005**, *154*, 61-69.
- [67] W. Krause, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1999**, *37*, 159-173.
- [68] E. Descamps, A. Sochacka, B. De Kegel, D. Adriaens, *Belg. J. Zool.* **2014**, *144*, 20-40.
- [69] Y. W. Nielsen, H. S. Thomsen, *Acta Radiol.* **2021**, *62*, 1515-1524.

- [70] K. M. Hasebroock, N. J. Serkova, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2009**, *5*, 403-416.
- [71] L. Schöckel, G. Jost, P. Seidensticker, H. Pietsch, *Investig. Radiol.* **2020**, *55*, 592-597.
- [72] a) H. D. Litzlbauer, C. Neuhaeuser, A. Moell, W. S. Rau, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **2006**, *291*, 535-545; b) W. Ribí, T. J. Senden, A. Sakellariou, S. Zhang, *J. Neurosci. Methods* **2008**, *171*, 93-97.
- [73] B. D. Metscher, *BMC Physiol.* **2009**, *9*, 1-14.
- [74] S. de Bournonville, S. Vangrunderbeeck, G. Kerckhofs, *Contrast Media Mol. Imaging* **2019**, *2019*, 8617406.
- [75] M. Busse, M. Müller, M. A. Kimm, F. Pfeiffer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2018**, *115*, 2293-2298.
- [76] W. Hansen, R. Zwickey, J. Brouwer, O. Fitzhugh, *Food Cosmet. Toxicol.* **1973**, *11*, 527-534.
- [77] H. Lund, *J. Electrochem. Soc.* **2002**, *149*, 21-33.
- [78] D. Pletcher, *Electrochem. Commun.* **2018**, *88*, 1-4.
- [79] a) B. A. Frontana-Uribe, R. D. Little, J. G. Ibanez, R. Vasquez-Medrano, *Green Chemistry* **2010**, *12*, 2099-2119; b) J. Utley, *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 157-167; c) R. Francke, R. D. Little, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 2492-2521.
- [80] D. E. Blanco, M. A. Modestino, *Trends Chem.* **2019**, *1*, 8-10.
- [81] T. Sawamura, S. Kuribayashi, S. Inagi, T. Fuchigami, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 2757-2760.
- [82] F. Scheidt, C. Thiehoff, G. Yilmaz, R. Gilmour, *Beilstein J. Org. Chem.* **2018**, *14*, 1021-1027.
- [83] N. Asari, Y. Takemoto, Y. Shinomoto, A. Saito, *Asian J. Org. Chem.* **2016**, *5*, 1314-1317.
- [84] G. S. Lal, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2791-2796.
- [85] S. Hara, J. Nakahigashi, K. Ishi-i, N. Yoneda, *Synlett* **1998**, *1998*, 495-496.
- [86] S. Doobary, A. T. Sedikides, H. P. Caldora, A. J. J. Lennox, *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 1171-1176.
- [87] N. O. Ilchenko, B. O. Tasch, K. J. Szabó, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 12897-12901.
- [88] F. Scheidt, M. Schäfer, J. C. Sarie, R. Gilmour, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2018**, *57*, 16431-16435.
- [89] J. Cotter, L. Andrews, R. Keefer, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 793-797.
- [90] Z.-T. He, J. F. Hartwig, *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 177-183.

- [91] a) B.-T. GrÖBel, D. Seebach, *Synthesis* **1977**, 1977, 357-402; b) D. Seebach, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, 18, 239-258.
- [92] O. Miyata, T. Miyoshi, M. Ueda, *Arkivoc* **2013**, 2013, 60-81.
- [93] G. M. Kiefl, T. Gulder, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 20577-20582.
- [94] R. Uchida, K. Shiomi, J. Inokoshi, S. Omura, *J. Antibiot. Res.* **1996**, 49, 932-934.
- [95] P. Rabe, *Chem. Ber.* **1911**, 44, 824-827.
- [96] a) F. Magkos, S. A. Kavouras, *Sport Med.* **2004**, 34, 871-889; b) P. Hoyos, J.-V. Sinisterra, F. Molinari, P. Domínguez de María, *Acc. Chem. Res.* **2010**, 43, 288-299.
- [97] a) R. D. Richardson, T. K. Page, S. Altermann, T. Wirth, *Synlett* **2007**, 4, 538; b) G. Levitre, A. Dumoulin, P. Retailleau, G. Masson, *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 11877-11883; c) A.-A. Guilbault, B. Basdevant, V. Wanie, C. Y. Legault, *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 11283-11295; d) A. H. Abazid, B. J. Nachtsheim, *Angew. Chem.* **2020**, 132, 1495-1500.
- [98] M. Fujio, A. Moriyasu, T. Tatsuo, I. Juichi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1978**, 51, 335-336.
- [99] M. Ochiai, Y. Takeuchi, T. Katayama, K. Miyamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12244-12245.
- [100] T. Hokamp, T. Wirth, *Chemistry* **2020**, 26, 10417-10421.
- [101] M. Alam, T. S. Hsu, J. S. Dover, K. A. Arndt, *Lasers Surg. Med.* **2003**, 33, 30-39.
- [102] A. Priimagi, G. Cavallo, P. Metrangolo, G. Resnati, *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 2686-2695.
- [103] B. Liu, *Dissertation*, Technische Universität München (München).
- [104] C. Brunner, *Dissertation*, Technische Universität München (München), **2018**.
- [105] M. Busse, J. P. Marciszyn, S. Ferstl, T. Gulder, *Eur. J. Chem.* **2021**, 27, 4561-4566.
- [106] S. Doobary, D. L. Poole, A. J. J. Lennox, *J. Org. Chem.* **2021**, 86, 16095-16103.
- [107] N. Walton, *Desalination* **1989**, 72, 275-292.
- [108] G. A. Olah, T. Mathew, A. Goepfert, G. K. S. Prakash, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 5964-5969.
- [109] J. M. Ortega, S. Menolasina, O. P. de Márquez, J. Márquez, *Polymer* **1986**, 27, 1304-1306.
- [110] T. Kitamura, K. Muta, J. Oyamada, *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 10431-10436.
- [111] F. Scheidt, J. Neufeld, M. Schäfer, R. Gilmour, *Org. Lett.* **2018**, 20, 8073-8076.
- [112] N. O. Ilchenko, B. O. Tasch, K. J. Szabó, *Angew. Chem.* **2014**, 126, 13111-13115.
- [113] F. Huba, E. B. Yeager, G. A. Olah, *Electrochimica Acta* **1979**, 24, 489-494.

## VI. Anhang

## 1. Erlaubnis von John Wiley and Sons / Chemistry – A European Journal

31.03.22, 15:34

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-...>

This is a License Agreement between Jaroslaw Pawel Marciniszyn ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the CCC Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below.  
All payments must be made in full to CCC in accordance with the CCC Terms and Conditions below.

Order Date	31-Mar-2022	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1205946-1	Publisher	WILEY - V C H VERLAG
ISSN	0947-6539	Portion	GMBH & CO. KGAA Chapter/article

## LICENSED CONTENT

Publication Title	Chemistry : a European journal	Rightsholder	John Wiley & Sons - Books
Article Title	3D-Non-Destructive Imaging through Heavy Metal-Eosin Salt Contrast Agents	Publication Type	Journal
Author/Editor	GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER.	Start Page	4561
Date	01/01/1995	End Page	4566
Language	English, Multiple languages	Issue	14
Country	Germany	Volume	27

## REQUEST DETAILS

Portion Type	Chapter/article	Rights Requested	Main product and any product related to main product
Page range(s)	4561 - 4566	Distribution	Worldwide
Total number of pages	6	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Author of requested content	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR

## NEW WORK DETAILS

Title	3D-Non-destructive Imaging through Heavy-Metal Eosin Salt Contrast Agents	Institution name	Technische Universität München (TUM)
Instructor name	Tanja Gulder	Expected presentation date	2022-06-01

## ADDITIONAL DETAILS

The requesting person / organization to appear on the license	Jaroslaw Pawel Marciniszyn
---	----------------------------

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-e1bb39ad193f>

1/4

31.03.22, 15:34 <https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-...>

## REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Full article	Title of the article/chapter the portion is from	3D-Non-Destructive Imaging through Heavy Metal-Eosin Salt Contrast Agents
Editor of portion(s)	Busse, Madleen; Marciniszyn, Jaroslaw P.; Ferstl, Simone; Kimm, Melanie A.; Pfeiffer, Franz; Gulder, Tanja	Author of portion(s)	Busse, Madleen; Marciniszyn, Jaroslaw P.; Ferstl, Simone; Kimm, Melanie A.; Pfeiffer, Franz; Gulder, Tanja
Volume of serial or monograph	27	Publication date of portion	2021-03-08
Page or page range of portion	4561-4566		

## RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley material. This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process. In no instance may the total amount of Wiley Materials used in any Main Product, Compilation or Collective work comprise more than 5% (if figures/tables) or 15% (if full articles/chapters) of the (entirety of the) Main Product, Compilation or Collective Work. Some titles may be available under an Open Access license. It is the Licensors' responsibility to identify the type of Open Access license on which the requested material was published, and comply fully with the terms of that license for the type of use specified. Further details can be found on Wiley Online Library <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>.

## SPECIAL RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

© 2020 The Authors. Published by Wiley-VCH GmbH This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License\*, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

\*<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

## CCC Terms and Conditions

1. Description of Service; Defined Terms. This Republication License enables the User to obtain licenses for republication of one or more copyrighted works as described in detail on the relevant Order Confirmation (the "Work(s)"). Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") grants licenses through the Service on behalf of the rightsholder identified on the Order Confirmation (the "Rightsholder"). "Republication", as used herein, generally means the inclusion of a Work, in whole or in part, in a new work or works, also as described on the Order Confirmation. "User", as used herein, means the person or entity making such republication.
2. The terms set forth in the relevant Order Confirmation, and any terms set by the Rightsholder with respect to a particular Work, govern the terms of use of Works in connection with the Service. By using the Service, the person transacting for a republication license on behalf of the User represents and warrants that he/she/it (a) has been duly authorized by the User to accept, and hereby does accept, all such terms and conditions on behalf of User, and (b) shall inform User of all such terms and conditions. In the event such person is a "freelancer" or other third party independent of User and CCC, such party shall be deemed jointly a "User" for purposes of these terms and conditions. In any event, User shall be deemed to have accepted and agreed to all such terms and conditions if User republishes the Work in any fashion.
3. Scope of License; Limitations and Obligations.
  - 3.1. All Works and all rights therein, including copyright rights, remain the sole and exclusive property of the Rightsholder. The license created by the exchange of an Order Confirmation (and/or any invoice) and payment by User of the full amount set forth on that document includes only those rights expressly set forth in the Order Confirmation and in these terms and conditions, and conveys no other rights in the Work(s) to User. All rights not expressly granted are hereby reserved.
  - 3.2. General Payment Terms: You may pay by credit card or through an account with us payable at the end of

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-e1bb39ad193f>

2/4

31.03.22, 15:34

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-...>

the month. If you and we agree that you may establish a standing account with CCC, then the following terms apply: Remit Payment to: Copyright Clearance Center, 291 18 Network Place, Chicago, IL 60673-1291. Payments Due: Invoices are payable upon their delivery to you (or upon our notice to you that they are available to you for downloading). After 30 days, outstanding amounts will be subject to a service charge of 1-1/2% per month or, if less, the maximum rate allowed by applicable law. Unless otherwise specifically set forth in the Order Confirmation or in a separate written agreement signed by CCC, invoices are due and payable on "net 30" terms. While User may exercise the rights licensed immediately upon issuance of the Order Confirmation, the license is automatically revoked and is null and void, as if it had never been issued, if complete payment for the license is not received on a timely basis either from User directly or through a payment agent, such as a credit card company.

- 3.3. Unless otherwise provided in the Order Confirmation, any grant of rights to User (i) is "one-time" (including the editions and product family specified in the license), (ii) is non-exclusive and non-transferable and (iii) is subject to any and all limitations and restrictions (such as, but not limited to, limitations on duration of use or circulation) included in the Order Confirmation or invoice and/or in these terms and conditions. Upon completion of the licensed use, User shall either secure a new permission for further use of the Work(s) or immediately cease any new use of the Work(s) and shall render inaccessible (such as by deleting or by removing or severing links or other locators) any further copies of the Work (except for copies printed on paper in accordance with this license and still in User's stock at the end of such period).
- 3.4. In the event that the material for which a republication license is sought includes third party materials (such as photographs, illustrations, graphs, inserts and similar materials) which are identified in such material as having been used by permission, User is responsible for identifying, and seeking separate licenses (under this Service or otherwise) for, any of such third party materials; without a separate license, such third party materials may not be used.
- 3.5. Use of proper copyright notice for a Work is required as a condition of any license granted under the Service. Unless otherwise provided in the Order Confirmation, a proper copyright notice will read substantially as follows: "Republished with permission of [Rightsholder's name], from [Work's title, author, volume, edition number and year of copyright]; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc. " Such notice must be provided in a reasonably legible font size and must be placed either immediately adjacent to the Work as used (for example, as part of a by-line or footnote but not as a separate electronic link) or in the place where substantially all other credits or notices for the new work containing the republished Work are located. Failure to include the required notice results in loss to the Rightsholder and CCC, and the User shall be liable to pay liquidated damages for each such failure equal to twice the use fee specified in the Order Confirmation, in addition to the use fee itself and any other fees and charges specified.
- 3.6. User may only make alterations to the Work if and as expressly set forth in the Order Confirmation. No Work may be used in any way that is defamatory, violates the rights of third parties (including such third parties' rights of copyright, privacy, publicity, or other tangible or intangible property), or is otherwise illegal, sexually explicit or obscene. In addition, User may not conjoin a Work with any other material that may result in damage to the reputation of the Rightsholder. User agrees to inform CCC if it becomes aware of any infringement of any rights in a Work and to cooperate with any reasonable request of CCC or the Rightsholder in connection therewith.
4. Indemnity. User hereby indemnifies and agrees to defend the Rightsholder and CCC, and their respective employees and directors, against all claims, liability, damages, costs and expenses, including legal fees and expenses, arising out of any use of a Work beyond the scope of the rights granted herein, or any use of a Work which has been altered in any unauthorized way by User, including claims of defamation or infringement of rights of copyright, publicity, privacy or other tangible or intangible property.
5. Limitation of Liability. UNDER NO CIRCUMSTANCES WILL CCC OR THE RIGHTSHOLDER BE LIABLE FOR ANY DIRECT, INDIRECT, CONSEQUENTIAL OR INCIDENTAL DAMAGES (INCLUDING WITHOUT LIMITATION DAMAGES FOR LOSS OF BUSINESS PROFITS OR INFORMATION, OR FOR BUSINESS INTERRUPTION) ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE A WORK, EVEN IF ONE OF THEM HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. In any event, the total liability of the Rightsholder and CCC (including their respective employees and directors) shall not exceed the total amount actually paid by User for this license. User assumes full liability for the actions and omissions of its principals, employees, agents, affiliates, successors and assigns.
6. Limited Warranties. THE WORK(S) AND RIGHT(S) ARE PROVIDED "AS IS". CCC HAS THE RIGHT TO GRANT TO USER

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-e1bb39ad193f>

3/4

31.03.22, 15:34

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-...>

THE RIGHTS GRANTED IN THE ORDER CONFIRMATION DOCUMENT. CCC AND THE RIGHTSHOLDER DISCLAIM ALL OTHER WARRANTIES RELATING TO THE WORK(S) AND RIGHT(S), EITHER EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING WITHOUT LIMITATION IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. ADDITIONAL RIGHTS MAY BE REQUIRED TO USE ILLUSTRATIONS, GRAPHS, PHOTOGRAPHS, ABSTRACTS, INSERTS OR OTHER PORTIONS OF THE WORK (AS OPPOSED TO THE ENTIRE WORK) IN A MANNER CONTEMPLATED BY USER; USER UNDERSTANDS AND AGREES THAT NEITHER CCC NOR THE RIGHTSHOLDER MAY HAVE SUCH ADDITIONAL RIGHTS TO GRANT.

7. Effect of Breach. Any failure by User to pay any amount when due, or any use by User of a Work beyond the scope of the license set forth in the Order Confirmation and/or these terms and conditions, shall be a material breach of the license created by the Order Confirmation and these terms and conditions. Any breach not cured within 30 days of written notice thereof shall result in immediate termination of such license without further notice. Any unauthorized (but licensable) use of a Work that is terminated immediately upon notice thereof may be liquidated by payment of the Rightsholder's ordinary license price therefor; any unauthorized (and unlicensable) use that is not terminated immediately for any reason (including, for example, because materials containing the Work cannot reasonably be recalled) will be subject to all remedies available at law or in equity, but in no event to a payment of less than three times the Rightsholder's ordinary license price for the most closely analogous licensable use plus Rightsholder's and/or CCC's costs and expenses incurred in collecting such payment.

8. Miscellaneous.

8.1. User acknowledges that CCC may, from time to time, make changes or additions to the Service or to these terms and conditions, and CCC reserves the right to send notice to the User by electronic mail or otherwise for the purposes of notifying User of such changes or additions; provided that any such changes or additions shall not apply to permissions already secured and paid for.

8.2. Use of User-related information collected through the Service is governed by CCC's privacy policy, available online here: <https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/privacy-policy>

8.3. The licensing transaction described in the Order Confirmation is personal to User. Therefore, User may not assign or transfer to any other person (whether a natural person or an organization of any kind) the license created by the Order Confirmation and these terms and conditions or any rights granted hereunder; provided, however, that User may assign such license in its entirety on written notice to CCC in the event of a transfer of all or substantially all of User's rights in the new material which includes the Work(s) licensed under this Service.

8.4. No amendment or waiver of any terms is binding unless set forth in writing and signed by the parties. The Rightsholder and CCC hereby object to any terms contained in any writing prepared by the User or its principals, employees, agents or affiliates and purporting to govern or otherwise relate to the licensing transaction described in the Order Confirmation, which terms are in any way inconsistent with any terms set forth in the Order Confirmation and/or in these terms and conditions or CCC's standard operating procedures, whether such writing is prepared prior to, simultaneously with or subsequent to the Order Confirmation, and whether such writing appears on a copy of the Order Confirmation or in a separate instrument.

8.5. The licensing transaction described in the Order Confirmation document shall be governed by and construed under the law of the State of New York, USA, without regard to the principles thereof of conflicts of law. Any case, controversy, suit, action, or proceeding arising out of, in connection with, or related to such licensing transaction shall be brought, at CCC's sole discretion, in any federal or state court located in the County of New York, State of New York, USA, or in any federal or state court whose geographical jurisdiction covers the location of the Rightsholder set forth in the Order Confirmation. The parties expressly submit to the personal jurisdiction and venue of each such federal or state court. If you have any comments or questions about the Service or Copyright Clearance Center, please contact us at 978-750-8400 or send an e-mail to [support@copyright.com](mailto:support@copyright.com).

v 1.1

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/license/b83837f8-8273-4e42-9870-623bb35ca550/0b4ccbcd-a563-46fc-a475-e1bb39ad193f>

4/4

## 2. Eidesstattliche Erklärung

Die experimentellen Arbeiten zur vorliegenden Dissertation wurden von mir, Jaroslaw Pawel Marciniszyn, selbständig im Zeitraum von Dezember 2016 bis August 2020 an der Fakultät für Chemie, Arbeitskreis für Biomimetische Katalyse der Technischen Universität München durchgeführt.

Die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Entwicklung neuer Kontrastmittel für zerstörungsfreie 3D  $\mu$ -CT von Weichgewebe sowie Verfahren zur elektrochemischen  $\lambda^3$ -F-Iodan-vermittelten Fluorierungsreaktionen ” habe ich selbständig verfasst und mich außer der angegebenen Quellen keiner weiteren Hilfsmittel bedient.

Jaroslaw Marciniszyn