

**Enantioselektive Erkennung von Kationen und
Monosacchariden mit synthetischen Cyclopeptiden aus
Prolin und 3-Aminobenzoessäurederivaten**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf



vorgelegt von

Guido Heinrichs

aus Leverkusen

Düsseldorf, 2004

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. M. Braun
Korreferent: Prof. Dr. S. Kubik

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Dezember 2004

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. M. Braun im Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie II der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf in der Zeit von April 2001 bis August 2004 angefertigt.

Herrn Prof. Dr. G. Wulff und Herrn Prof. Dr. H. Ritter möchte ich herzlich für die freundliche Aufnahme in ihre Arbeitskreise und ihre Unterstützung danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Stefan Kubik für das sehr interessante Thema, seine hervorragende Betreuung und für die vielen hilfreichen Anregungen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich möchte meinen Kollegen Dr. Joachim Bitta, Dr. Karsten Knorr, Dr. Thomas Grawe, Dr. Marco Emgenbroich, Dr. SooWhan Choi, Dr. Noëlle Wrubbel, Christopher Steffens, Sabine Stüwe, Carsten Reyheller, Oliver Kretschmann, Sarah Schmitz, Alenka Dimec, Heike Klisa Patrick Casper, Carsten Koopmans und Andrea Krlej sehr für die kollegiale und produktive Arbeitsatmosphäre danken.

Daniela Kubik danke ich für die tatkräftige Unterstützung bei den Synthesen.

Herzlichen Dank an Herrn P. Behm, Frau M. Beuer, Herrn P. Tommes und Herrn R. Bürgel für die bereitwillige und zuverlässige Aufnahme zahlreicher Massen- und NMR-Spektren. Ich danke Frau Dr. Edrada-Ebel für die Durchführung der HPLC Messungen und Herrn Marc Schellenträger für die Aufnahme diverser ESI-Massenspektren.

Außerdem danke ich Herrn Prof. J. Lacour von der Universität Genf für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und seine Gastfreundschaft. Herrn Laurent Vial danke ich für die tatkräftige Unterstützung während dieses Forschungsaufenthalts.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Heinrichs, G.; Vial, L.; Lacour, J.; Kubik, S. *Chem. Comm.* **2003**, 1252.

Für Nina

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Theoretischer Teil	
2.1 Aufgabenstellung	19
2.2 Synthesen	
2.2.1 Cyclische Hexapeptide zur chiralen Kationenerkennung	23
2.2.2 Quaternäre Ammoniumsalze	29
2.2.3 Cyclische Peptide basierend auf 5-Aminoisophthalsäure	33
2.2.4 Cyclische Peptide basierend auf Diaminbenzoesäure	44
2.3 Enantioselektive Kationenerkennung	
2.3.1 Prinzipien der chiralen Erkennung	59
2.3.2 Eigene Untersuchungen	63
2.4 Enantioselektive Kohlenhydraterkennung	
2.4.1 Bekannte Rezeptoren	83
2.4.2 Eigene Untersuchungen	85
3. Zusammenfassung	101
4. Experimenteller Teil	
4.1 Apparatives	105
4.2 Chemikalien und Lösungsmittel	106
4.3 Wirt-Gast-Experimente	109
4.4 Allgemeine Arbeitsweisen	112
4.5 Synthesen quaternärer Ammoniumsalze	114
4.6 Synthesen verschiedener Boronsäurepinakolesterderivate	118
4.7 Synthese eines Cyclopeptids basierend auf 5-Aminoisophthalsäure	126
4.8 Synthese eines Cyclopeptids basierend auf Diaminbenzoesäure	132
5. Literaturverzeichnis	152

Verwendete Abkürzungen

AIS	5-Aminoisophthalsäure
AllBr	3-Brom-1-propen (Allylbromid)
Ar	Aromat
Bn	Benzyl
BnBr	Benzylbromid
BINOL	1,1'-Binaphthalen-2,2'-diol
BINPHAT	BINOL- <i>bis</i> -tetrachlorocatechol-phosphat
Boc₂O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
BTMA	<i>n</i> -Butyltrimethylammonium
DAB	3,5-Diaminobenzoessäure
DC	Dünnschichtchromatographie
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EI	Elektronen-Ionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
EtOH	Ethanol
IR	Infrarot
Fmoc	Fluorenylmethyloxycarbonyl
HOAc	Essigsäure
HMPT	Hexamethylphosphorsäuretriamid
KPG[®]	kalibriertes Präzisionsglas
MS	Massenspektrometrie
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PETMA	<i>N,N,N'</i> -Trimethylphenylethylammonium
PB	Phenylboronsäure
Pik	Pikrat
Pin	Pinakol
ppm	parts per million
Pro	L-Prolin
PyCloP	Chlorotripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
RP	Reverse Phase
RT	Retentionszeit
Sdp	Siedepunkt
Smp	Schmelzpunkt
tBu	<i>tert</i> -Butyl
TBTU	O-(1-Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-tetrafluoroborat
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TRISPHAT	<i>Tris</i> -tetrachlorocatechol-phosphat
UV	Ultraviolett
Z	Benzyloxycarbonyl

„Die Wissenschaftler bemühen sich,
das Unmögliche möglich zu machen.
Die Politiker bemühen sich oft,
das Mögliche unmöglich zu machen.“

*Bertrand Russell (1872-1970),
brit. Philosoph u. Mathematiker*

1 Einleitung

Der Begriff *Symmetrie* ist in vielen Bereichen des täglichen Lebens und der Wissenschaft von großer Bedeutung und findet seine Herkunft im griechischen $\sigma\upsilon\mu\mu\epsilon\tau\rho\iota\alpha$. Übersetzt bedeutet dies soviel wie *Gleichmaß* oder *Gleichmäßigkeit*. Im weitesten Sinne versteht man somit unter Symmetrie alles, was sich regelmäßig wiederholt, wie zum Beispiel der Zyklus der Jahreszeiten.^[1] Eine speziellere Definition bezeichnet ein Objekt als symmetrisch, wenn es einer Operation unterworfen werden kann, ohne es zu ändern.^[2] Diese Operation kann entweder eine Verschiebung, eine Drehung, eine Spiegelung oder eine Drehspiegelung sein.

Symmetrische Formen spielen sowohl in verschiedenen Bereichen der Kunst, insbesondere der ornamentalen Kunst,^[3] als auch in der Architektur eine zentrale Rolle. In Abb. 1.1 und 1.2 verdeutlichen die Fassade der berühmten Pariser Kirche Notre Dame und das Muster der Flügel eines Schmetterlings die Ästhetik symmetrischer künstlicher und natürlicher Strukturen.^[4]



Abb.1.1: Fassade von Notre Dame, Paris.

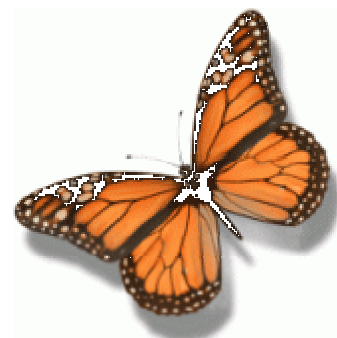


Abb.1.2 Schmetterling.

Unter den Naturwissenschaftlern interessieren sich Mineralogen für die Symmetrie von Kristallen. Im 4. Jahrhundert v. Chr. beschrieb zum Beispiel der Ägypter Theophrastos die regelmäßige Form von Granatkristallen.^[5] Im Laufe der Zeit beschäftigten sich viele Wissenschaftler mit der äußeren Form von Kristallen, es fehlte jedoch eine Methode, um den inneren Bau experimentell untersuchen zu können. 1912 entdeckte unter anderem der Physiker Max von Laue die Beugung von Röntgenstrahlen am dreidimensionalen Kristallgitter und bewies damit die periodische Anordnung der Atome in einer Kristallstruktur.^[6] Die Entdeckung der Röntgenbeugung wird als eine der bedeutendsten in der Geschichte der Wissenschaft angesehen.^[5]

Einige Jahre zuvor, 1848, machte der französische Chemiker Louis Pasteur eine erstaunliche Beobachtung. Er betrachtete die Kristalle eines Natrium-Ammonium-Salzes der Traubensäure unter dem Mikroskop und stellte fest, daß zwei Typen von Kristallen vorlagen, die er manuell voneinander trennen konnte.^[7] Diese verhielten sich wie Bild und Spiegelbild zueinander. Diese Eigenschaft bezeichnet man auch als Chiralität (*cheir*, griechisch: Hand, Händigkeit), da sich die Hände eines Menschen ebenfalls wie Bild und Spiegelbild zueinander verhalten.

Zu dieser Zeit wusste man bereits, daß es Moleküle gibt, die die Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes um einen bestimmten Betrag nach links oder rechts drehen können, man wusste jedoch nichts über die Ursachen dieses Phänomens.

Nachdem Pasteur die Kristalle voneinander getrennt hatte, löste er sie in Wasser und bestimmte deren Drehwert mit einem Polarimeter. Die Lösung einer Kristallsorte drehte die Schwingungsebene des linear polarisierten Lichts um 12° nach rechts, die andere Lösung drehte sie um den gleichen Betrag nach links. Aus diesen Beobachtungen folgte Pasteur, daß nicht nur die Kristalle, sondern auch die darin enthaltenen Moleküle selbst chiral sein müssen. Dies führte wiederum zum Schluß, daß die Bindungen am Kohlenstoff tetraedrisch ausgerichtet sein müssen, da Chiralität mit einem quadratisch-planar substituierten Kohlenstoff nicht zu erklären ist.^[7]

Chirale Verbindungen, deren Bild und Spiegelbild nicht deckungsgleich sind, werden auch als Enantiomere (*enantios*, griechisch: entgegengesetzt) bezeichnet. Es handelt sich hierbei um Stereoisomere, die dieselben physikalischen Eigenschaften, wie zum Beispiel Schmelz- bzw. Siedepunkt oder Dichte, besitzen und sich nur in ihren chiroptischen Eigenschaften unterscheiden.

Moleküle sind immer dann chiral, wenn sie weder eine Symmetrieebene noch ein Symmetriezentrum besitzen, d.h. ihnen eine Drehspiegelachse fehlt und sich Bild und Spiegelbild nicht zur Deckung bringen lassen. Die Chiralität eines Moleküls kann zum Beispiel durch ein asymmetrisch substituiertes Kohlenstoffatom hervorgerufen werden. Bei dieser sogenannten Zentrochiralität enthält das Molekül mindestens ein Kohlenstoffatom mit vier unterschiedlichen Substituenten. In Abb.1.3 sind als Beispiele die beiden Enantiomeren (R)- und (S)-Phenylethylamin dargestellt.

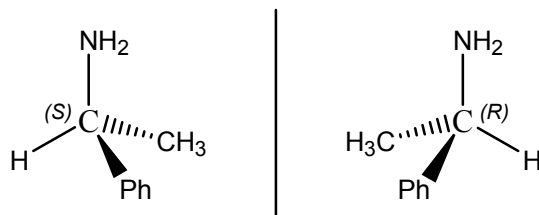


Abb.1.3: Strukturen der beiden Enantiomere (R)- und (S)-Phenylethylamin.

Phenylethylamin zählt ebenso wie Serotonin zu den biogenen Aminen, die im Körper durch enzymatische Decarboxylierung der entsprechenden Aminosäuren entstehen. Das biogene Amin Histamin (Abbauprodukt von Histidin) löst Allergien aus und führt bei zu hoher Konzentration zu Übelkeit, Atemnot, Hautreizungen, Herzklopfen, Kopfschmerzen sowie zu Veränderungen des Blutdrucks.^[8]

Eine weitaus wichtigere Bedeutung haben α -Aminosäuren als Monomere zum Aufbau von Biopolymeren, den Proteinen. Diese haben im menschlichen Körper die unterschiedlichsten Aufgaben, wie zum Beispiel als Transportsysteme für Sauerstoff oder als Enzyme, d.h. als Katalysatoren biorelevanter Reaktionen. Von den 22 natürlichen Aminosäuren^[9] sind bis auf Glycin (R=H) alle chiral.

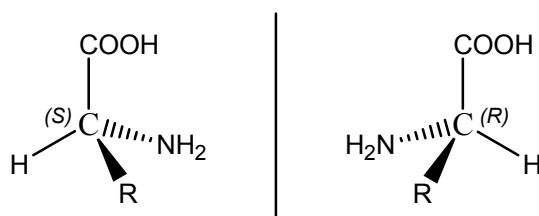


Abb.1.4: Allgemeine Struktur einer substituierten α -Aminocarbonsäure in der (R)- und in der (S)-Konfiguration.

Neben der von Cahn, Ingold und Prelog eingeführten (R)/(S)-Nomenklatur zur Bezeichnung von stereogenen Elementen ist für Aminosäuren wie auch für Kohlenhydrate nach wie vor die D,L Nomenklatur gebräuchlich. Hierfür wurde 2,3-Dihydroxypropanal (Glycerinaldehyd) als Bezugssubstanz gewählt und das linksdrehende Enantiomer als L-Glycerinaldehyd (L von lateinisch: *laevus*, links) und das rechtsdrehende als D-Glycerinaldehyd (D von lateinisch: *dexter*, rechts) bezeichnet.

Interessanterweise kommen in der Natur fast nur L-Aminosäuren und D-Kohlenhydrate vor. Für die Ursache dieser Homochiralität werden verschiedene Theorien diskutiert. Die biotische Theorie besagt, daß aus den Racematen (äquimolares Verhältnis (R)- und (S)-Enantiomer) im Laufe der Evolution nur jeweils ein Enantiomer ausgewählt wurde. Die abiotische Theorie geht davon aus, daß die Moleküle schon vor der Entstehung des Lebens homochiral waren. Unterstützt wird diese Theorie durch Befunde aus der Elementarteilchenphysik. So konnte man zum Beispiel nachweisen, daß beim β -Zerfall 30% mehr links- als rechts-händige Positronen entstehen. Die Energiedifferenz, die durch diese Paritätsverletzung hervorgerufen wird, ist zwar gering, aber immerhin messbar.^[10]

Eine anderes Experiment, das die abiotische Theorie untermauert, wurde von Geert Rikken und Ernst Raupach im französischen Grenoble durchgeführt.^[11] Sie untersuchten den lichtinduzierten Zerfall eines racemischen Cr(III)tris-Oxalat-Komplexes in einem Magnetfeld und beobachteten, daß ein Enantiomer unpolarisiertes Licht stärker absorbiert und dadurch häufiger zerfällt als das andere. Diese Enantioselektivität durch ein Magnetfeld wurde bereits 1983 von Wagnière vorhergesagt.^[12]

Eine sehr aktuelle Theorie zur Entstehung der Homochiralität wurde vor kurzem von Sandra Pizzarello und Arthur L. Weber im Wissenschaftsmagazin Science veröffentlicht.^[13] Sie untersuchten die Katalyse der Kohlenhydratsynthese in Anwesenheit von (R)- und (S)-Isovalin und entdeckten, daß D-Threose mit einem Enantiomerenüberschuß von 10% gebildet wird. Die Aminosäure Isovalin ist hierbei besonders interessant, da sie im Gegensatz zu den anderen Aminosäuren im wässrigen Medium nicht racemisiert.^[14] Da Isovalin auf einigen Meteoriten gefunden wurde, gehen die beiden amerikanischen Wissenschaftler davon aus, daß diese Verbindung einen Einfluß auf die präbiotische Zuckersynthese gehabt haben könnte.

Obwohl sich zwei Enantiomere strukturell so ähnlich sind und sich auch in ihren physikalischen Eigenschaften kaum unterscheiden, können die Unterschiede in ihrer biologischen Wirksamkeit enorm sein. Der Duftstoff Carvon zum Beispiel riecht in der (R)-(-)-Form nach Minze, in der (S)-(+)-Form nach Kümmel.^[7]

Ein anderes, trauriges Beispiel für die unterschiedliche Wirkung zweier Enantiomere ist das unter dem Handelsnamen Contergan bekannte Beruhigungsmittel Thalidomid,^[15] das im Oktober 1957 auf den Markt kam und auch gegen Übelkeit in der Schwangerschaft eingesetzt wurde. Kurz nach der Einführung dieses Medikaments kamen Kinder mit verstümmelten Gliedmaßen zur Welt. Heute weiß man, daß nur (-)-Thalidomid für erholsamen Schlaf sorgt, während das enantiomere (+)-Thalidomid Gewebe und Blutgefäße am Wachstum hindert und somit zur Schädigung der Embryonen von schwangeren Frauen führt. Vier Jahre nach seiner Einführung wurde Contergan daher wieder vom Markt genommen.^[7]

Chirale Geruchsstoffe und Medikamente, deren Enantiomere völlig unterschiedliche Wirkungen zeigen, werden häufig von spezifischen Enzymen gebunden und umgesetzt. Diese Enzyme sind größtenteils aus L-Aminosäuren aufgebaut und besitzen daher im aktiven Zentrum einen Hohlraum, der in der Lage ist, zwischen zwei Enantiomeren zu unterscheiden. Zum Beispiel katalysiert das Enzym Lactatdehydrogenase nur die Oxidation der (+)-Milchsäure zu Brenztraubensäure, nicht aber die der enantiomeren (-)-Milchsäure.^[7]

Dieses Prinzip wurde 1894 von Emil Fischer als *Schlüssel-Schloß-Prinzip*^[16] beschrieben und 1958 von Daniel E. Koshland durch das dynamischere Modell des *induced fit*^[17-19] verfeinert. Demnach verändert sich das aktive Zentrum erst bei der Bindung des Substrats so, daß Hohlraum und Substrat strukturell komplementär sind.

Zwei Teildisziplinen der Chemie, die sich mit der Entwicklung von Modellen für solche biologischen Vorgänge beschäftigen, sind die bioorganische und die supramolekulare Chemie. Die bioorganische Chemie befindet sich im Grenzbereich zwischen Biochemie und organischer Chemie und versucht mit den Methoden dieser beiden Disziplinen natürliche, biologische Systeme zu verstehen und vielleicht sogar zu verbessern.^[20] Die supramolekulare Chemie, die aus der Chemie der Clathrat-Einschlußverbindungen hervorgegangen ist, entwickelte sich im Laufe der Jahre ebenfalls immer mehr in Richtung der Imitation biologischer Prozesse.^[21]

Abb. 1.5 verdeutlicht den Zusammenhang zwischen molekularer Synthese und supramolekularen Systemen. Während die traditionelle synthetische Chemie eher niedermolekulare Systeme durch gezielte Verknüpfung kovalenter Bindungen aufbaut, entstehen bei der supramolekularen Chemie komplexe Molekülaggregate durch definierte nicht-kovalente Wechselwirkungen niedermolekularer Verbindungen. Ein entscheidendes Grundmotiv der supramolekularen Chemie ist zum Beispiel die Entwicklung geeigneter Verbindungen, die in der Lage sind, ein anderes, meist kleineres, Molekül selektiv zu binden.

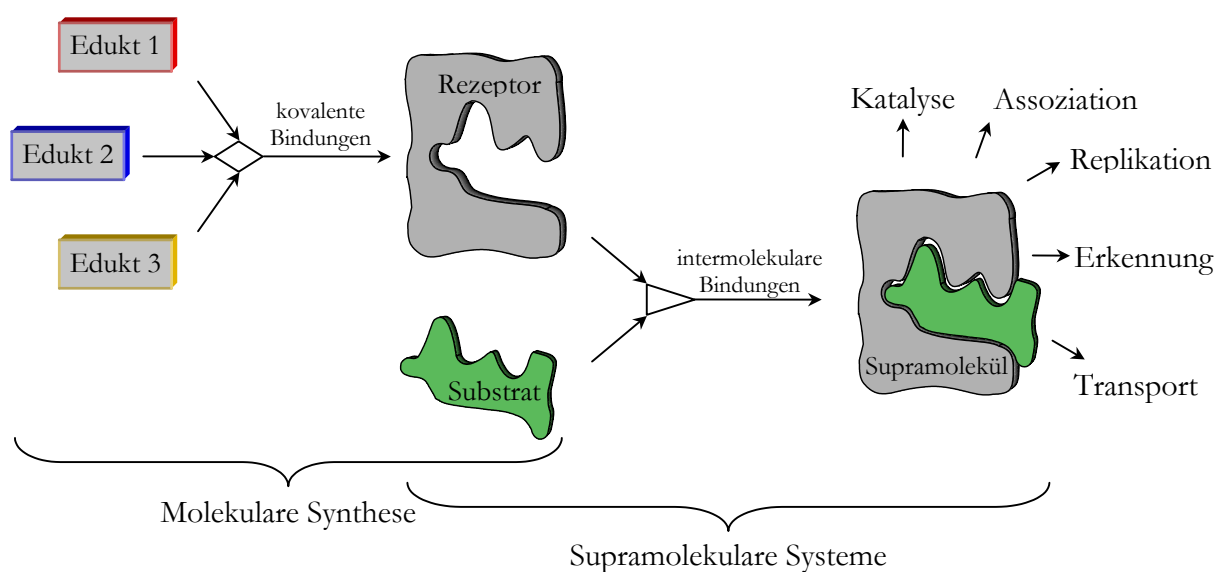


Abb.1.5: Zusammenhang zwischen molekularer Synthese und supramolekularen Systemen.

Das dabei gebildete Supramolekül bzw. der Komplex wird durch unterschiedliche intermolekulare, nicht-kovalente Wechselwirkungen zusammengehalten.^[21, 22] Dies können Wasserstoffbrücken, Kation- π -, π - π -, Anion- π -, van-der-Waals-, hydrophobe-, charge-transfer- oder elektrostatische Wechselwirkungen sein. In den Anfängen der supramolekularen Chemie bezeichnete man das Molekül, welches ein anderes bindet, als Wirt und das gebundene Molekül als Gast. Heute spricht man jedoch seltener von einer Wirt-Gast-Beziehung, sondern meist von der Wechselwirkung eines synthetischen Rezeptors mit einem Substrat.

Der Begriff Rezeptor entstammt eigentlich der Biologie und Medizin und wird dort anders verstanden. In der Medizin sind Rezeptoren Sensoren, die dem Gehirn Informationen über Veränderungen der Umwelt liefern. In der Molekularbiologie werden Moleküle als Rezeptoren bezeichnet, die in Zellmembranen eingebettet sind und durch Bindung eines Signalstoffs, zum Beispiel eines Hormons, auf der einen Seite der Membran Informationen auf die andere Seite der Membran weiterleiten oder durch Öffnung eines Ionenkanals das Membranpotential ändern.^[8]

Ein Ziel der supramolekularen Chemie ist die Entwicklung künstlicher Rezeptoren, die die beiden Enantiomere chiraler Verbindungen unterschiedlich stark binden. Voraussetzung dafür ist, daß der Rezeptor selbst chiral ist.

In der Natur findet sich ein sehr gutes Beispiel für chirale makrocyclische Verbindungen, die sogenannten Cyclodextrine, die als Rezeptoren fungieren können. Diese Verbindungen entstehen beim enzymatischen Abbau von Stärke. Die wichtigsten Vertreter enthalten entweder sechs, sieben oder acht D-Glucopyranose Untereinheiten im Ring, die 1,4- α -glycosidisch miteinander verknüpft sind. Je nach Anzahl der Untereinheiten unterscheidet man α , β oder γ -Cyclodextrin. In Abb. 1.6 ist α -Cyclodextrin mit sechs D-Glucopyranose Untereinheiten dargestellt.

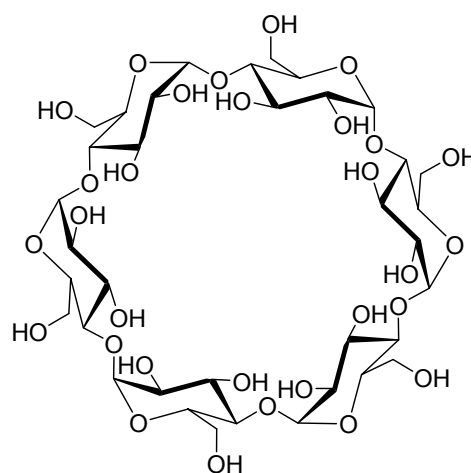


Abb.1.6: α -Cyclodextrin.

Der Hohlraum des Cyclodextrins wird durch enantiomerenreine D-Glucopyranose-untereinheiten begrenzt. Dadurch können mit racemischen Substraten diastereomere Einschlußverbindungen gebildet werden, die sich energetisch unterscheiden. Je größer dieser Energieunterschied ist, desto besser ist die Enantioselektivität bei der Komplexbildung.

Cramer und Dietsche berichteten 1959 zum ersten Mal von einer Racematspaltung eines chiralen Substrats mit Cyclodextrin.^[23] Es folgten zahlreiche weitere Untersuchungen diastereomerer Cyclodextrinkomplexe, insbesondere interessierte man sich für den Mechanismus der enantioselektiven Erkennung.^[24, 25]

Häufig lässt sich die Stereoselektivität natürlicher Rezeptoren durch das Dreipunkt-Interaktionskonzept erklären.^[10] Ein gutes Beispiel für dieses Modell liefert die Komplexierung des Hormons Noradrenalin mit einem adrenergen Rezeptor. Die Substratbindung des (R)-Enantiomers erfolgt über drei, die des (S)-Enantiomers nur über zwei Substituenten (Abb.1.7).

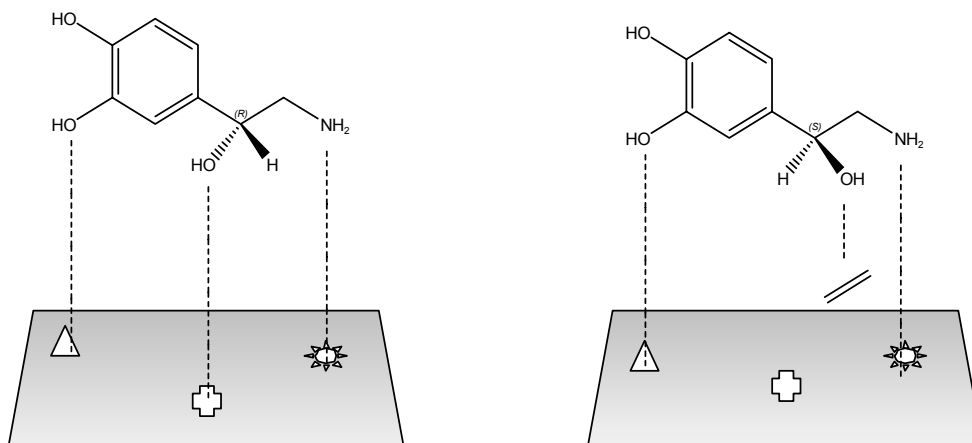


Abb.1.7: Dreipunkt-Interaktionsmodell des Noradrenalins mit einem adrenergen Rezeptor.

Ein anderes Beispiel wurde 1969 von Shallenberger in der Zeitschrift Nature veröffentlicht.^[26] Er beobachtete, daß Aminosäuren, deren Seitenketten R länger als Ethyl sind, sich im Geschmack unterscheiden. Zum Beispiel schmeckt D-Leucin süß, L-Leucin jedoch nicht. Ein Modell, das dies erklärt, beruht auf der Annahme, daß eine sterische Hinderung im aktiven Zentrum des entsprechenden Geschmacksrezeptors die Bindung des L-Enantiomers verhindert, die Bindung des D-Enantiomers jedoch nicht (Abb. 1.8).

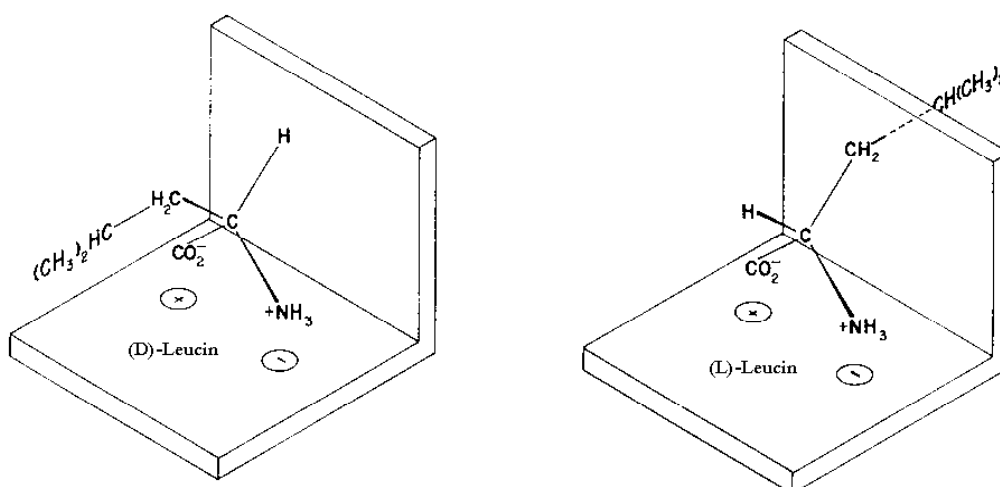


Abb.1.8: Modell für die Wechselwirkung von D- und L-Leucin mit einem Rezeptor der Geschmacksknospen.

Eines der ersten synthetischen, chiralen Wirtmoleküle wurde 1973 von Cram vorgestellt.^[27] Dieser C₂-symmetrische Kronenether (Abb. 1.9) extrahiert das (*S*)-Enantiomer des 1-Phenylethylammoniumkations besser aus einer wässrigen Phase als das (*R*)-Enantiomer.^[28]

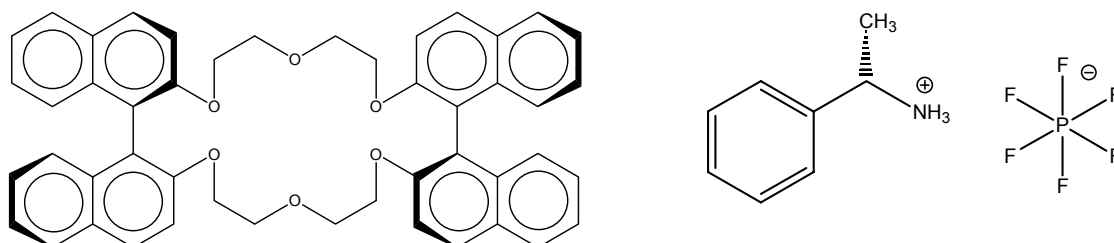


Abb.1.9: Struktur des Rezeptors (*R,R*)-Bis(binaphtho)-22-Krone-6 und des untersuchten Gastes (*S*)-1-Phenylethylammonium Hexafluorophosphat.

In den darauffolgenden Jahren wurde eine Reihe weiterer, modifizierter Kronenether synthetisiert. Cram konnte zeigen, daß auch die Ammoniumsalze von Aminosäuren, wie zum Beispiel Tryptophan-perchlorat oder Phenylglycin-perchlorat, enantioselektiv gebunden werden können.^[29-31]

Neben den Kronenethern wurden noch andere künstliche Rezeptoren entwickelt, die kationische Gäste enantioselektiv erkennen. Calixarene^[32] binden beispielsweise quaternäre Ammoniumionen über Kation- π -Wechselwirkungen. Vor kurzem wurde ein Homoazacalix[4]aren vorgestellt, das am Stickstoff mit verschiedenen natürlichen Aminosäuren funktionalisiert wurde und somit in der Nähe des Hohlraums ein Chiralitätszentrum enthält.^[33] Dieser synthetische Rezeptor wurde mit α -Methylbenzyltrimethylammonium-iodid als Gast auf seine Fähigkeit zur chiralen Erkennung

getestet und für die beiden Enantiomere dieses Substrats wurden unterschiedliche Bindungskonstanten ermittelt.

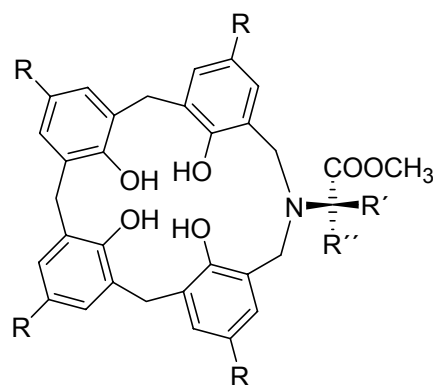


Abb.1.10: Struktur eines chiralen Homoazacalix[4]arens.

Neben Aminosäuren und biogenen Aminen sind Kohlenhydrate ebenfalls wichtige chirale Naturstoffe, wobei das wichtigste Beispiel wohl die D-Glucose ist, die in monomerer Form im Stoffwechsel als Energielieferant eine wichtige Funktion besitzt. In polymerer Form kommt Glucose im Pflanzenreich in Form von Cellulose als Gerüstsubstanz und im pflanzlichen bzw. tierischen Stoffwechsel in Form von Stärke bzw. Glycogen als Energiespeicher vor. Die Konzentration der D-Glucose im Blut, der sogenannte Blutzuckerspiegel, wird durch Insulin, ein Hormon der Bauchspeicheldrüse, geregelt. Es wird vermutet, daß die für den Glucosetransport zuständigen Proteine in zellinternen Membranvesikeln, die nach der Stimulation durch Insulin mit der Plasmamembran fusionieren, gespeichert sind.^[34] Der Mechanismus des anschließenden Glucosetransports ist noch nicht vollständig verstanden^[35] und man versucht daher in der supramolekularen Chemie, Kohlenhydratrezeptoren zu entwickeln, um solche Bindungs- und Transportmechanismen besser verstehen zu können.

Natürliche Systeme, die Monosaccharide binden, enthalten im aktiven Zentrum Aminosäuren, deren Seitenketten Wasserstoffbrücken zu den Hydroxylgruppen des Substrats ausbilden können.^[36-42] Häufig übernehmen Wassermoleküle bei diesen Wasserstoffbrückenbindungen eine überbrückende Funktion (Abb. 1.11).^[37, 43, 44]

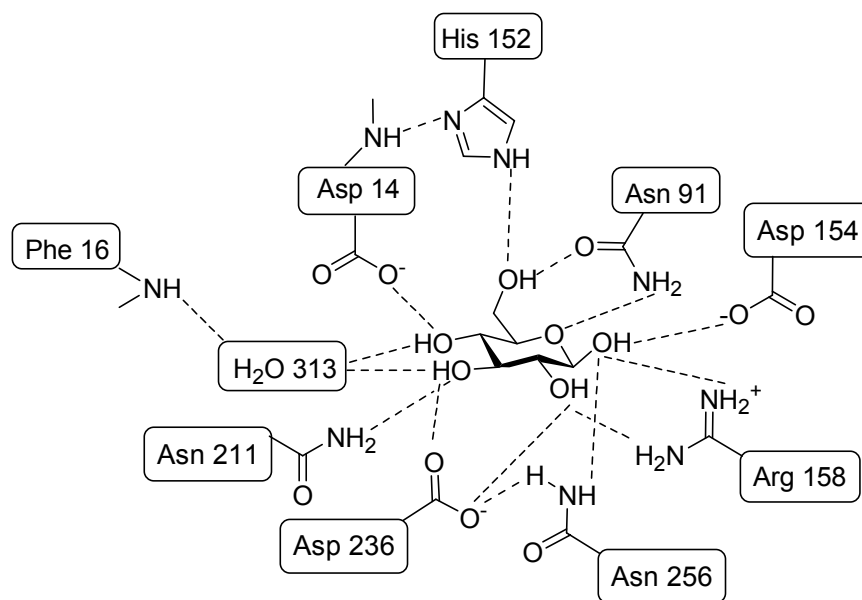


Abb.1.11: Intermolekulare Wasserstoffbrücken im Komplex zwischen D-Glucose und dem „D-Galactose-bindenden Protein“.

Bei der Entwicklung künstlicher Kohlenhydratrezeptoren versucht man, solche Netzwerke aus Wasserstoffbrückenbindungen zu imitieren. Ein gut untersuchtes Beispiel ist in Abb. 1.12 zu sehen. Es handelt sich um ein von Aoyama 1988 vorgestelltes Resorcinaren, das in einer einstufigen Synthese aus Resorcin und Dodecanal hergestellt wurde.^[45] Dieser Rezeptor kann z.B. D-Ribose komplexieren und aus einer wässrigen Lösung in eine CCl₄-Phase extrahieren. Dabei werden spezifisch angeordnete Wasserstoffbrücken zwischen Rezeptor und Substrat sowie CH- π -Wechselwirkungen zwischen den CH-

Gruppen der Ribose und den aromatischen Bausteinen des Resorcinarens gebildet.^[46]

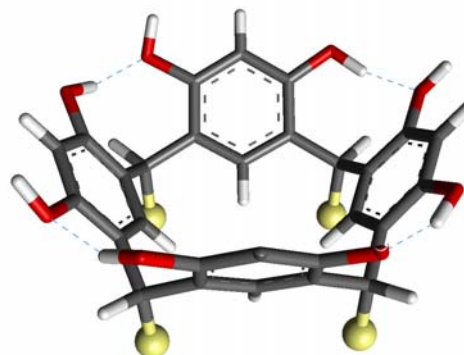


Abb. 1.12: Resorcinaren von Aoyama. Die gelben Kugeln stehen für den Rest $n\text{-C}_{11}\text{H}_{23}$, die blauen, gestrichelten Linien sind Wasserstoffbrücken.

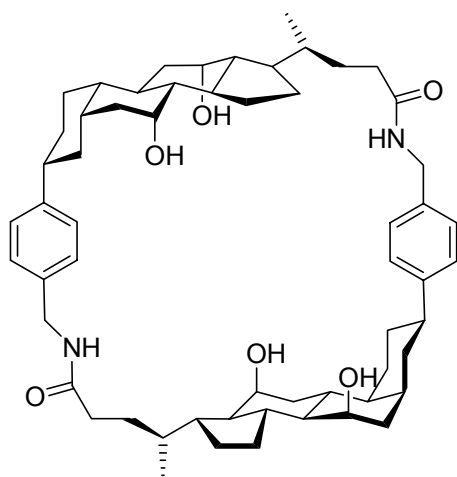


Abb.1.13: Struktur eines Cholaphans.

Von Bonar-Law wurden makrocyclische Verbindungen auf Steroidbasis, sogenannte Cholaphane, entwickelt, die ebenfalls Kohlenhydrate in einem unpolaren Lösungsmittel wie Chloroform binden.^[47-49] Für das in Abb. 1.13 dargestellte Cholaphan konnte beispielsweise gezeigt werden, daß die Enantiomere der beiden anomeren Octylglucoside unterschiedlich stark gebunden werden.^[50]

Von Still wurde ein makrotricyclischer Rezeptor entwickelt, der ebenfalls Monosaccharide in Chloroform enantioselektiv bindet.^[51]

Obwohl bis heute viele Rezeptoren synthetisiert und auf ihre Eignung zur Kohlenhydraterkennung getestet wurden, zeigte sich meist, daß eine Substraterkennung nur in unpolaren organischen Lösungsmitteln, wie Chloroform, gelingt. Diederich konnte immerhin zeigen, daß ein von ihm entwickeltes cyclisches Trisphosphat der in Abb. 1.14 dargestellten Struktur Octylglucoside in Acetonitril, also einem polarerem Lösungsmittel als Chloroform, bindet.^[52]

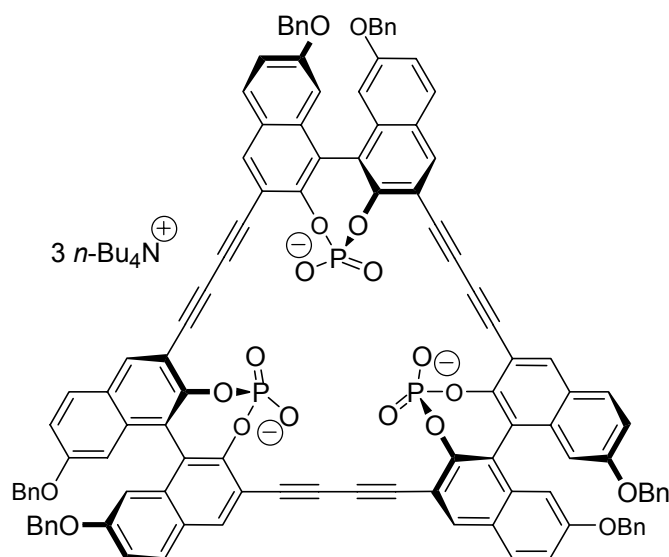
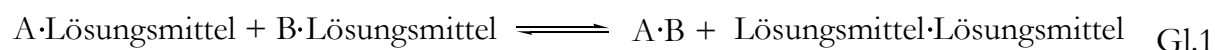


Abb.1.14: Ein von Diederich entwickeltes Trisphosphat bindet Octylglucoside in Acetonitril.

Ein wichtiges Ziel der supramolekularen Chemie ist jedoch die Entwicklung künstlicher Rezeptoren für Kohlenhydrate, die in wäßrigen Lösungsmitteln wirksam sind. Dabei besteht aber das grundlegende Problem, daß sowohl die Bindungsstellen des Rezeptors als auch die Hydroxygruppen eines Monosaccharidmoleküls in Wasser sehr gut solvatisiert sind. Dadurch kann der mögliche Energiegewinn einer Komplexbildung zwischen Rezeptor und Substrat meist nicht den Energiebetrag kompensieren, der für die Desolvatisierung beider Bindungspartner notwendig ist. In Gleichung 1 ist allgemein die Bildung eines 1:1 Komplexes beschrieben.^[53]



Aufgrund des großen Überschusses an Lösungsmittelmolekülen liegt das Gleichgewicht dieser Komplexbildung in der Regel weit auf der linken Seite und es bedarf entweder einer starken Wechselwirkung zwischen A und B (intrinsische Bindung) oder einer

schwachen Wechselwirkung zwischen A und/oder B und dem Lösungsmittel im Vergleich zur Wechselwirkung zwischen den Lösungsmittelmolekülen (solvophobe Bindung), um dieses Gleichgewicht auf die rechte Seite zu verlagern.

Bei der Erkennung polarer Moleküle in unpolaren Lösungsmitteln dominiert die intrinsische Wechselwirkung (Beispiel: Kohlenhydratbindung in Chloroform), bei der Erkennung unpolarer Moleküle in Wasser dominiert die hydrophobe (Beispiel: Styrol-Cyclodextrinkomplex in Wasser). Bei einer Kohlenhydraterkennung in Wasser müssen beide Arten der Wechselwirkung in Betracht gezogen werden und es liegt nahe, Rezeptoren zu entwickeln, die sowohl die intrinsische als auch die hydrophobe Wechselwirkung ausnutzen.

In den letzten Jahren wurden sowohl Cyclodextrine^[54-57] als auch Resorcinarene^[58, 59] (Abb. 1.15) auf ihre Fähigkeit, Monosaccharide in Wasser zu binden, untersucht, die ermittelten Bindungskonstanten sind aber für beide Systeme äußerst gering ($K < 150 \text{ M}^{-1}$).

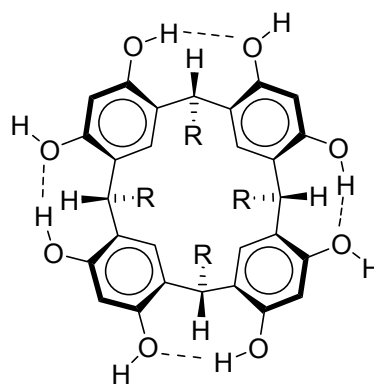
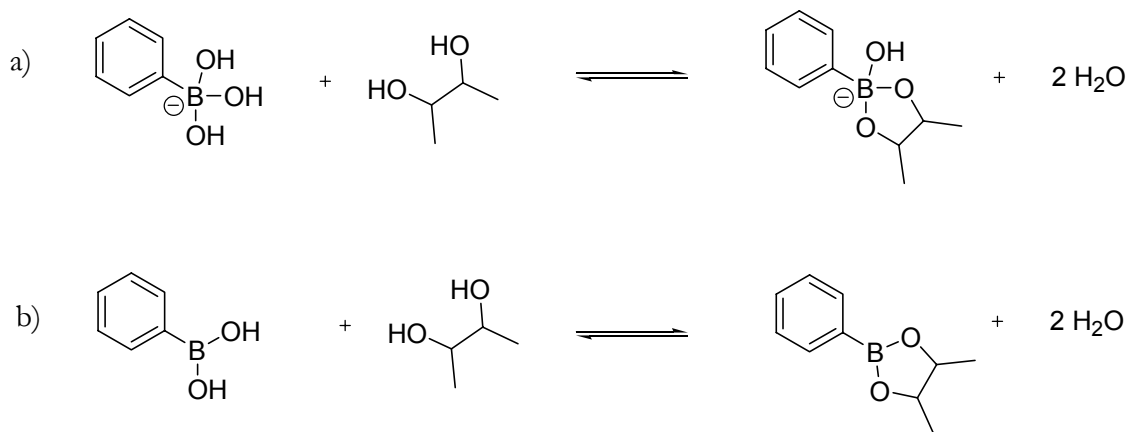


Abb.1.15: Struktur eines Resorcinarens.

2001 wurden von Schmidtchen verschiedene porphyrinhaltige Cryptanden vorgestellt, die sowohl mit Mono- als auch mit Di- und Trisacchariden in Wasser, das 5% Methanol enthält, sehr stabile Komplexe bilden.^[60] Dies ist eines der wenigen Beispiele eines Rezeptors, der in wässrigen Lösungsmitteln Kohlenhydrate durch nicht-kovalente Wechselwirkungen bindet.

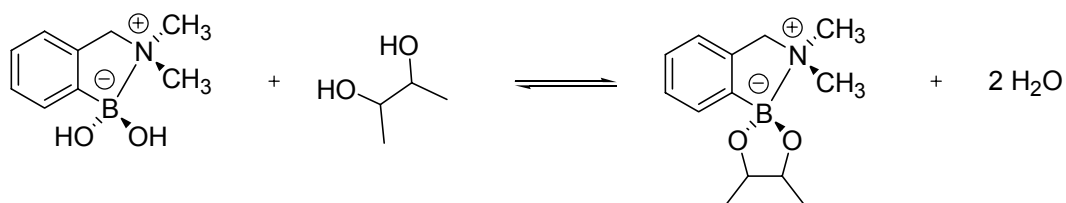
Neben nicht-kovalenten können auch kovalente Wechselwirkungen zur reversiblen Bindung von Kohlenhydraten in Lösung ausgenutzt werden. So bilden aromatische Boronsäuren mit Diolen in wässriger Lösung cyclische 5- oder 6-gliedrige Boronsäureester.^[61-63] Diese Wechselwirkung machten sich bereits 1970 Gilham^[64] und 1982 Wulff^[65] bei der Synthese geprägter Polymere zu Nutze.

Der Mechanismus dieser Veresterung ist in Schema 1.1 gezeigt. Danach reagieren Boronsäuren in alkalischer Lösung mit Diolen zu basischen Estern mit tetrahedral koordiniertem Boratom. Bei niedrigerem pH-Wert werden nur neutrale Ester gebildet, die in wäßriger Lösung wieder sehr leicht hydrolysieren.



Schema 1.1: a) Bildung eines basischen Boronsäureesters in alkalischer Lösung, b) Bildung eines neutralen Boronsäureesters, der leicht hydrolysiert.

Wulff nutzte diese Art der Wechselwirkung in boronsäurehaltigen Polymeren, die als stationäre Phase bei einer chemoselektiven Affinitätschromatographie eingesetzt werden können. Der Nachteil dieses Systems besteht allerdings darin, daß eine Gleichgewichtseinstellung nur unter basischen Bedingungen, unter denen sich labile Verbindungen oft zersetzen, schnell genug ist. Abhilfe schaffte die Verwendung einer Boronsäure mit strategisch platziertem Stickstoffatom, dessen freies Elektronenpaar an das benachbarte Boratom koordiniert und dadurch dessen Elektronenlücke schließt.^[66] Auf diese Weise wird auch bei neutralem pH-Wert ein basischer Boronsäureester mit tetrahedral koordiniertem Boratom gebildet (Schema 1.2). Diese Art der intramolekularen Katalyse ermöglicht daher auch eine schnelle, reversible Bildung von Boronsäureestern bei pH=7.



Schema 1.2: Bildung eines basischen Boronsäureesters in neutraler Lösung.

Dieses Konzept nutzte Shinkai 1991 zur Entwicklung eines niedermolekularen Rezeptors für Kohlenhydrate auf Basis von Boronsäuren. So zeigte er, daß im CD-Spektrum eines Gemisches aus D-Glucose und 2,2'-Dimethoxydiphenylmethan-5,5'-diboronsäure eine scharfe Bande bei 275 nm auftritt, obwohl die freie Diboronsäure achiral ist und Glucose bei dieser Wellenlänge nicht absorbiert.^[67] Im Spektrum einer Mischung aus D-Glucose und 4-Methoxyphenylboronsäure ist darüber hinaus keine CD-Bande sichtbar. Daraus schloß Shinkai, daß 2,2'-Dimethoxydiphenylmethan-5,5'-diboronsäure einen strukturell definierten Komplex mit D-Glucose bildet.

Da in den Spektren der Gemische anderer Mono- und Disaccharide mit diesem Rezeptor keine CD-Bande sichtbar ist, liegt es nahe, daß sowohl die cis-1,2-Diol als auch die trans-4-OH, 5-CH₂OH- Gruppierung in der D-Glucose für die Komplexbildung notwendig sind. Shinkai postulierte daraufhin die in Abb. 1.16 dargestellte Struktur als wahrscheinlichste Komplexstruktur.

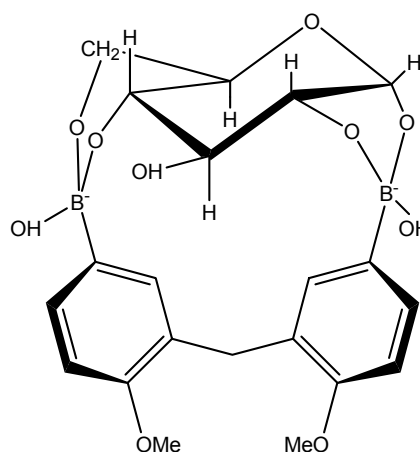


Abb.1.16: Struktur eines 1:1 Komplexes einer Diboronsäure mit α -D-Glucopyranose.

1992 wurde von Yoon und Czarnik der erste Fluoreszenzsensor auf Boronsäurebasis vorgestellt. Die in Abbildung 1.17 dargestellte Anthracenboronsäure zeigte jedoch bei Kohlenhydratzugabe nur geringe Änderungen der Fluoreszenzintensität.^[68] Eine entscheidende Verbesserung gelang mit der Entwicklung von Rezeptoren, die sich den bereits in Schema 1.2 dargestellten Nachbargruppeneffekt eines Stickstoffatoms zu Nutze machen.^[69-81] Ein gutes Beispiel für einen solchen Rezeptor ist in Abb. 1.18 dargestellt.

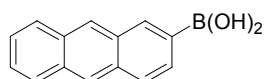


Abb. 1.17: Struktur von Anthracenboronsäure.

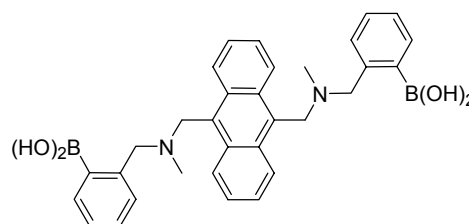


Abb. 1.18: Struktur eines Anthracendiboronsäurederivats.

Ein weiterer Vorteil solcher Systeme ist, daß die Aminogruppe die Fluoreszenz der Anthracenuntereinheit durch den sogenannten photoinduzierten Elektronentransfer (PET) quencht.^[82, 83] Der Mechanismus des PET ist in Abbildung 1.19 schematisch für einen beliebigen Rezeptor mit Fluoreszenzlabel dargestellt.

Dabei kommt es zu einer Elektronenübertragung vom Stickstoffatom auf das elektronisch angeregte Fluoreszenzlabel und die Rückkehr in den Grundzustand erfolgt nicht mehr durch Lichtemission, sondern beispielsweise durch thermische Prozesse (Abb. 1.18). Werden von der Rezeptoruntereinheit Substratmoleküle gebunden, ändert sich entweder das Reduktions-/Oxidationspotential oder die Konformation der elektronenliefernden Spezies und die Deaktivierung des elektronisch angeregten Zustands erfolgt dann durch Lichtemission bzw. Fluoreszenz.

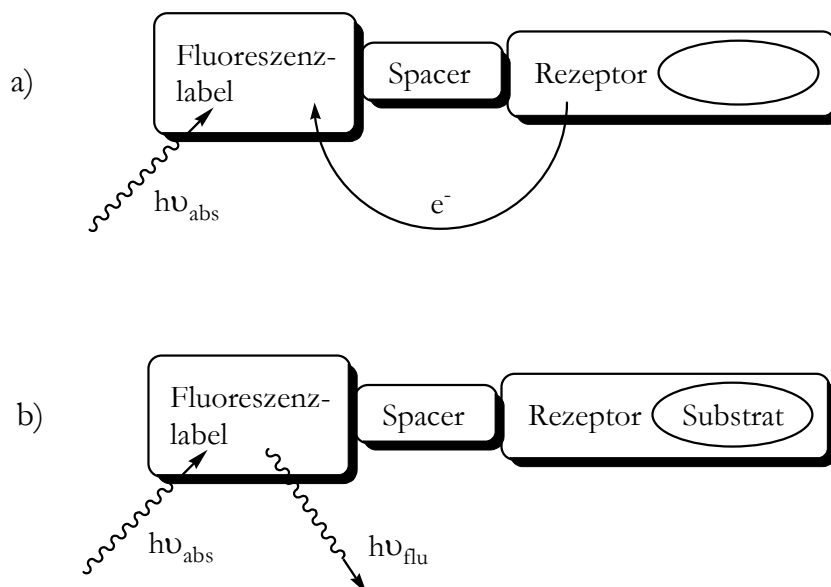
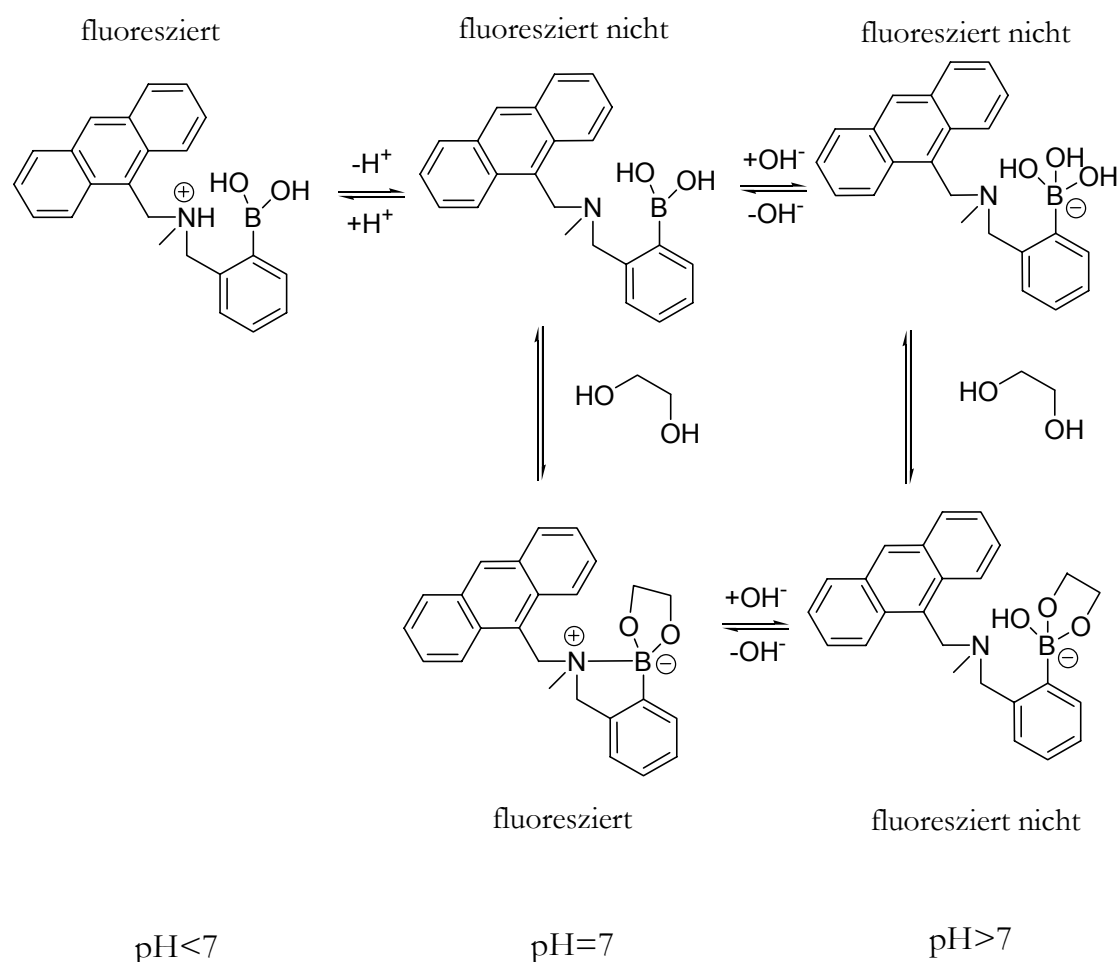


Abb. 1.19: a) Schematische Darstellung des photoinduzierten Elektronentransfers in einem Fluoreszenzsensor, b) Schematische Darstellung der Lichtemission nach der Bindung eines Substrates in einem Fluoreszenzsensor.

In Schema 1.3 wird der Einfluß des pH-Wertes auf die Fluoreszenz eines Anthracenboronsäurederivats erläutert. In saurer Lösung, d.h. bei niedrigem pH-Wert, ist das Stickstoffatom protoniert und es kann bei einer Anregung durch elektromagnetische Strahlung kein Elektronentransfer vom Stickstoff auf das Fluoreszenzlabel stattfinden. Der PET ist aufgehoben und das Molekül fluoresziert.

In alkalischer Lösung bildet sich ein Boronat, das Stickstoffatom kann im Falle einer Anregung Elektronen auf das Fluoreszenzlabel übertragen und somit die Fluoreszenz der Anthracenuntereinheit quenchen. Gibt man ein Diol oder ein Monosaccharid zu der Lösung, ändert sich die Elektronenverteilung am Stickstoffatom nicht und das Molekül fluoresziert auch weiterhin nicht. Daher kann ein solcher PET-Sensor in alkalischen Lösungsmitteln nicht zum Einsatz kommen.

Bei neutralem pH-Wert kann ein Elektron vom „freien Rezeptor“ auf die Anthracenuntereinheit übertragen werden und die Fluoreszenz wird gequencht. Im Falle der Kohlenhydratbindung kommt es zwischen dem Elektronenpaar des Stickstoffatoms und dem Boratom zu einer Wechselwirkung und der PET wird aufgehoben. Daher macht sich in neutraler Lösung die Komplexbildung durch Zunahme der Fluoreszenzintensität bemerkbar.^[69, 71, 72, 84]



Schema 1.3: Einfluß des pH-Wertes und der Bindung eines Monosaccharids auf die Fluoreszenz eines Anthracenboronsäurederivats.

In meiner Arbeit möchte ich ebenfalls Rezeptoren für Kohlenhydrate in wässrigen Lösungsmitteln entwickeln und untersuchen. In unserer Arbeitsgruppe beschäftigen wir uns mit cyclischen Peptiden, die alternierend aus natürlichen α -Aminosäuren und aromatischen γ -Aminosäuren aufgebaut sind. Diese ähneln strukturell sowohl Cyclopeptiden, die nur α -Aminosäuren enthalten (Abb. 1.19 links), als auch den Calixarenen (Abb. 1.19 rechts).

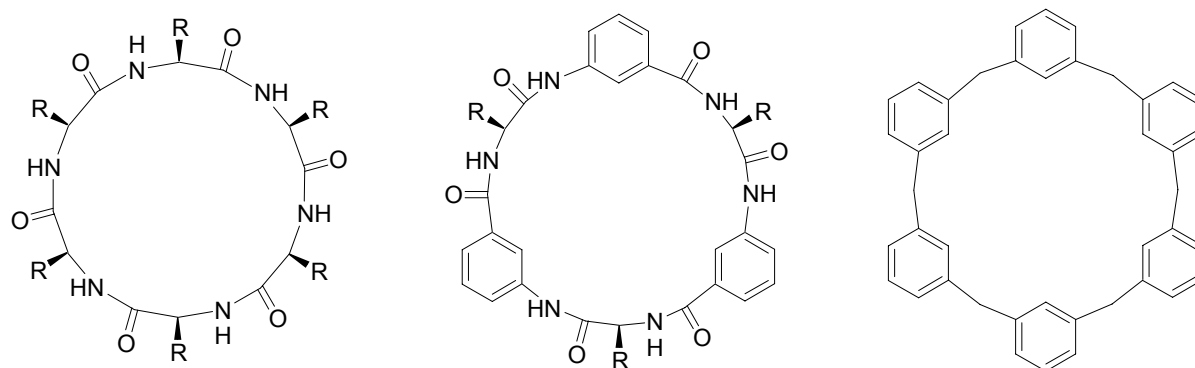


Abb.1.19: Vergleich zwischen einem Makrocyclus aus α -Aminosäuren (links), dem Grundgerüst der Calix[6]arene (rechts) und einem Hybrid dieser beiden Verbindungen (Mitte).

Die aromatischen Untereinheiten des cyclischen Peptides (Abb.1.19 Mitte) spannen einen definierten Hohlraum auf und können so funktionalisiert werden, daß auch größere, neutrale Gastmoleküle, wie zum Beispiel Kohlenhydrate, gebunden werden. Derartige Untersuchungen wurden bereits von Bitta erfolgreich durchgeführt.^[85] In Analogie zu diesen Arbeiten möchte ich neue Cyclopeptide mit aromatischen Boronsäuren synthetisieren.

Von Calixarenen ist schon lange bekannt, daß sie positiv geladene Ionen über Kation- π -Wechselwirkungen binden können.^[86, 87] Vor einigen Jahren konnte Kubik zeigen, daß ein cyclisches Hexapeptid aus L-Prolin und 3-Aminobenzoesäure ebenfalls quaternäre Ammoniumionen bindet.^[88-92] In meiner Arbeit möchte ich, neben der Entwicklung neuer Kohlenhydratrezeptoren, außerdem zeigen, daß diese Cyclopeptide chirale Kationen auch enantioselektiv binden können.

2 Theoretischer Teil

2.1 Aufgabenstellung

Cyclische Hexapeptide, die alternierend aus einer natürlichen Aminosäure und der nicht-natürlichen 3-Aminobenzoesäure aufgebaut sind, wurden schon vor Beginn meiner Arbeit von Kubik synthetisiert und im Hinblick auf ihre Kationenaffinität untersucht.^[88] Der entscheidende Durchbruch gelang mit dem Einbau von L-Prolin in das peptidische Grundgerüst,^[90] was zu einer signifikanten Steigerung der Assoziationskonstante des 1:1-Komplexes von **1a** (Abb. 2.1) mit dem *n*-Butyltrimethylammoniumkation (BTMA⁺) gegenüber der des Komplexes eines Cyclopeptids mit Glutaminsäure- anstelle von Prolin-untereinheiten führte.

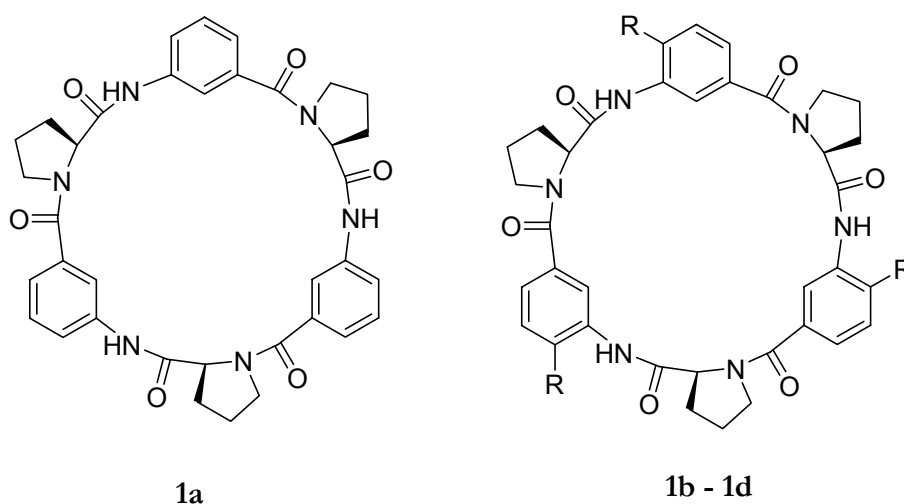


Abb. 2.1: Grundstruktur (**1a**) und Strukturen funktionalisierter, cyclischer Hexapeptide (**1b**: R=OCH₃, **1c**: R=COOCH₃, **1d**: R=COOBn) auf der Basis von L-Prolin und 3-Aminobenzoesäure.

Eine weitere Verbesserung der Kationenaffinität konnte mit den beiden substituierten Cyclopeptiden **1b** (R = OCH₃) und **1c** (R = COOCH₃) erreicht werden.^[91, 92] Die Untersuchungen zur enantioselektiven Erkennung von chiralen, quaternären Ammoniumionen sollten daher mit diesen Rezeptoren durchgeführt werden. Bei der Wahl des Kations entschied ich mich für das quaternäre Ammoniumion von 1-Phenylethylamin, da diese Verbindung als freies Amin sowohl enantiomerenrein als auch racemisch, kommerziell erhältlich ist und im menschlichen Körper eine große Rolle spielt.

Ein anderes Cyclopeptid **1d** mit der in Abb. 2.1 dargestellten Struktur könnte für die chirale Kationenerkennung ebenfalls interessant sein und wurde vor kurzem von Bitta synthetisiert.^[93] Die drei zusätzlichen Benzylesterseitengruppen führen möglicherweise zu einer Verstärkung der Kation- π -Wechselwirkung zwischen Substrat und Rezeptor und zu einer Erhöhung der Enantioselektivität. Daher sollten die Bindungseigenschaften dieses Peptids ebenfalls getestet werden.

Ein anderer Aspekt der Kationenkomplexierung mit synthetischen Rezeptoren in unpolaren Lösungsmitteln ist der Einfluß des Anions auf die Komplexstabilität, der sowohl in unserer Arbeitsgruppe^[92] als auch von Roelens^[94] am Beispiel der Cyclophane und von Böhmer^[95] am Beispiel der Calixarene nachgewiesen wurde. So wurde gefunden, daß die Bindungskonstanten für die Komplexe zwischen Kation und Rezeptor mit steigender Polarisierbarkeit des Anions größer werden. Dabei wurden die höchsten Bindungskonstanten häufig in Gegenwart von Pikratanionen ermittelt. In Bezug auf die chirale Erkennung könnte man vermuten, daß das Anion nicht nur einen Einfluß auf die Größe der Bindungskonstanten, sondern auch auf die Enantioselektivität hat, was ich im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls testen wollte. Dazu sollten auch die von Lacour^[96-99] vor kurzem entwickelten lipophilen BINPHAT- und TRISPHAT-Anionen eingesetzt werden (Abb. 2.2). Vorteil dieser Anionen ist, daß sie chiral sind und man daher auch einen Einfluß ihrer absoluten Konfiguration auf Komplexstabilität und Enantioselektivität untersuchen kann.

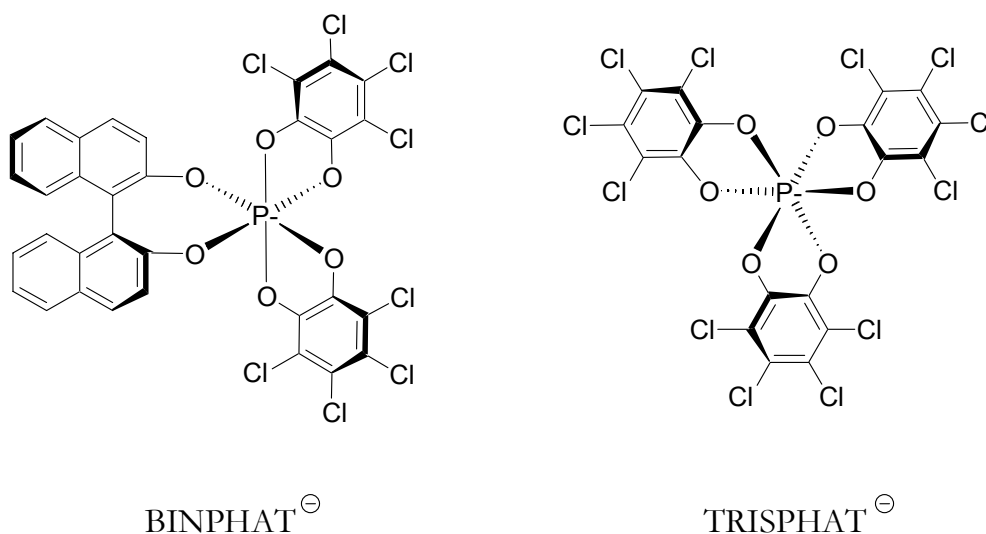


Abb. 2.2: Strukturen der chiralen BINPHAT- und TRISPHAT-Anionen.

Im ersten Teil dieser Arbeit habe ich dementsprechend die Komplexbildung des chiralen *N,N,N*-Trimethylphenylethylammoniumkations in Gegenwart verschiedener Anionen durch die Cyclopeptide **1a** – **1d** studiert.

Das Ziel des zweiten Teils meiner Arbeit war die Synthese eines neuen Cyclopeptids, das Kohlenhydrate in wässrigen Lösungsmitteln bindet. Die prinzipielle Eignung cyclischer Hexapeptide zur Kohlenhydraterkennung konnte von Bitta bereits demonstriert werden. Er verwendete Cyclopeptide basierend auf 5-Aminoisophthalsäure und funktionalisierte diese in 5-Position mit Asparagin- und Glutaminsäurederivaten.^[85] So erhielt er die drei Rezeptoren **2a**, **2b** und **3**, die mit Monosaccharidderivaten in Chloroform wechselwirken (Abb. 2.3).

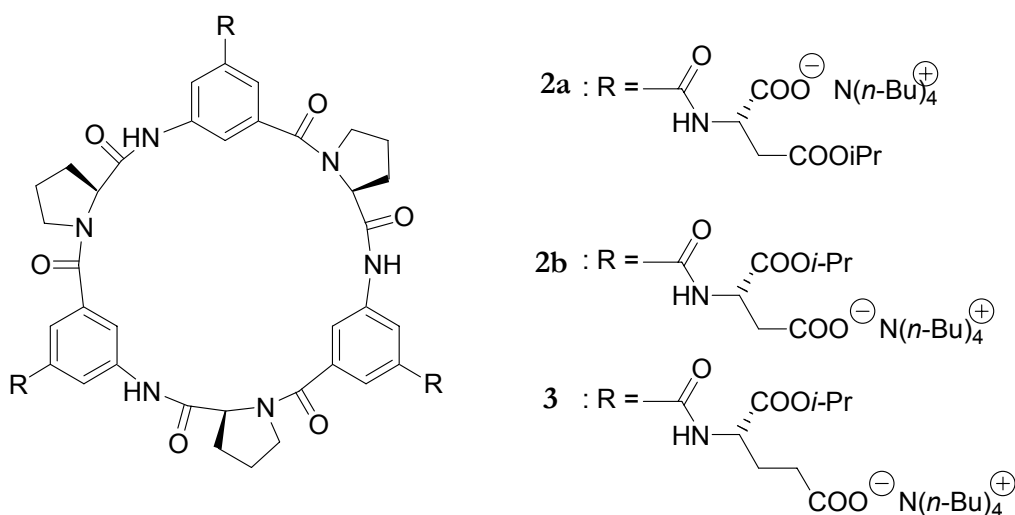


Abb. 2.3: Strukturen cyclischer Hexapeptide **2a**, **2b** und **3** mit einer Affinität für Kohlenhydrate.

Der Nachteil dieser Rezeptoren besteht allerdings darin, daß eine Substraterkennung in protischen Lösungsmitteln, wie zum Beispiel Methanol oder Wasser, nicht gelingt. Von Shinkai wurde dieses Problem durch die Entwicklung von Rezeptoren auf Basis aromatischer Boronsäuren gelöst.^[84]

Mein Ziel war dementsprechend die Synthese eines Cyclopeptids mit Boronsäureuntereinheiten und es stellte sich die Frage, ob zur Kohlenhydraterkennung ein cyclisches Hexapeptid notwendig ist oder ob man auch Rezeptoren auf Basis von cyclischen Tetrapeptiden verwenden kann.

Cyclische Tetrapeptide mit Prolin und 3-Aminobenzoesäureeinheiten wurden von Pohl erstmals synthetisiert.^[100] Ein cyclisches Tetrapeptid **4** mit aromatischen Boronsäuresubstituenten, das potentiell in der Lage sein könnte, Kohlenhydrate in wässriger Lösung zu binden, ist in Abb. 2.4 dargestellt.

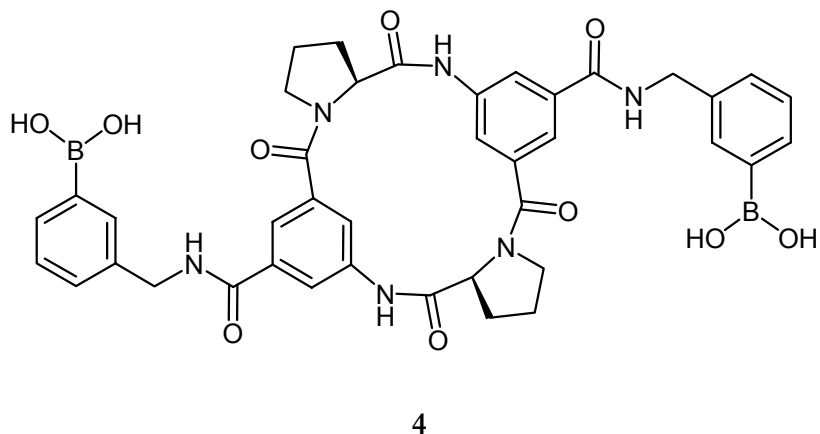


Abb. 2.4: Struktur eines auf 5-Aminoisophthalsäure und L-Prolin basierenden, cyclischen Tetrapeptids **4** mit aromatischen Boronsäureuntereinheiten.

Das Cyclopeptid mit der in Abb. 2.4 dargestellten Struktur stellt in diesem Zusammenhang meine erste Zielverbindung für Untersuchungen zur Kohlenhydraterkennung dar.

2.2 Synthesen

2.2.1 Cyclische Hexapeptide zur chiralen Kationenerkennung

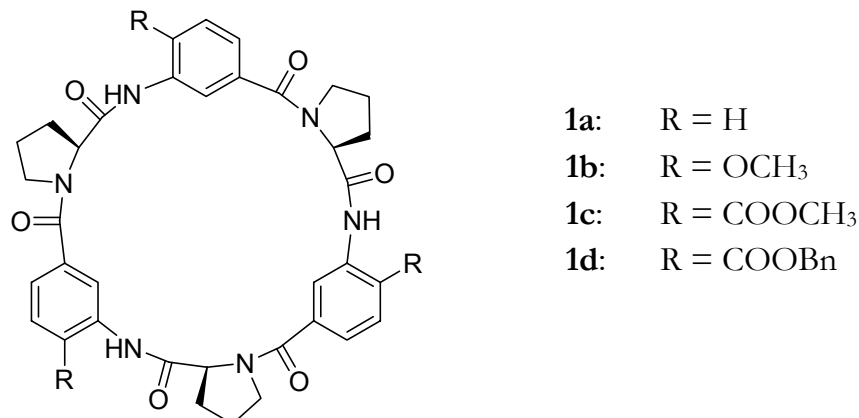
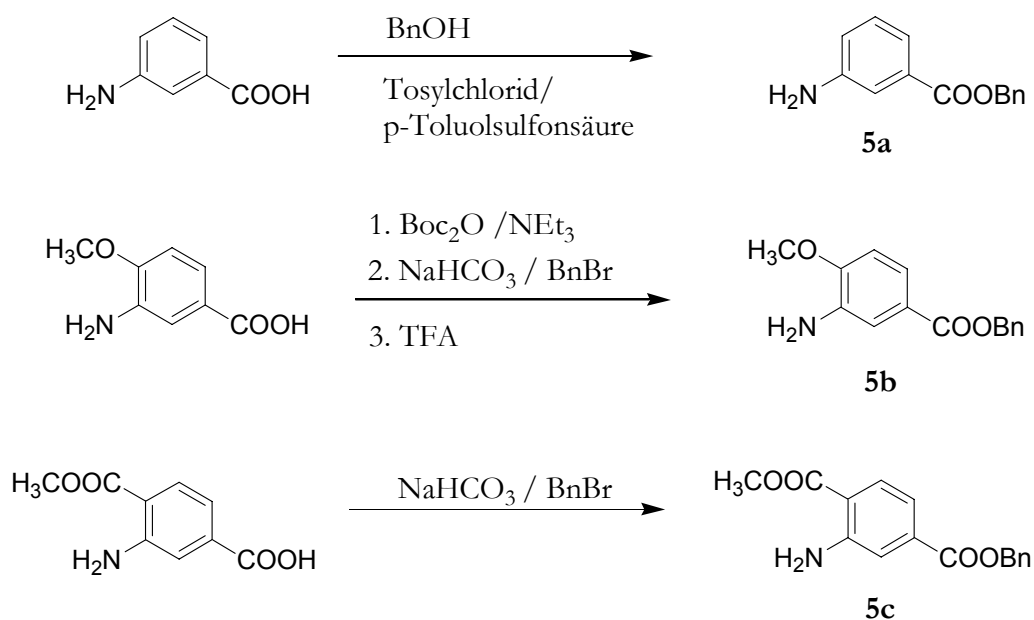


Abb. 2.5: Struktur der vier cyclischen Hexapeptide **1a-1d**.

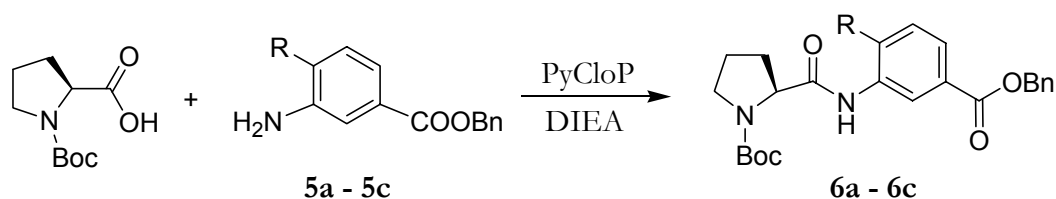
Die Synthese der cyclischen Hexapeptide **1a**, **1b** und **1c** erfolgte ausgehend von kommerziell erhältlichen 3-Aminobenzoesäurederivaten, die zunächst gemäß Schema 2.1 in die entsprechenden Benzylester überführt wurden.^[58]



Schema 2.1: Synthese der Benzylester **5a-5c** der 3-Aminobenzoesäurederivate.

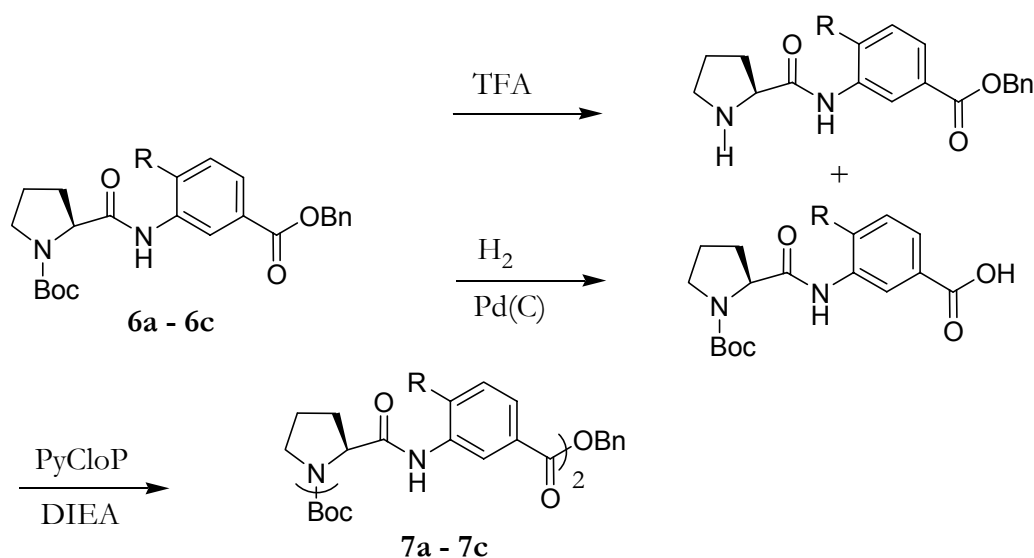
3-Aminobenzoesäure wurde nach der Methode von Arai und Maramatsu^[101] und 1-Aminomethylterephthalat mit Benzylbromid in den entsprechenden Benzylester **5a** bzw. **5c** überführt. 3-Amino-4-methoxybenzoesäure wurde über den Umweg des Boc-geschützten Derivats unter analogen Bedingungen verestert. Der an der Aminogruppe ungeschützte Benzylester **5b** wurde durch Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure (TFA) erhalten.

Aus den aromatischen Benzylestern konnten anschließend durch Umsetzung mit Boc-L-Prolin und Chlorotripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyCloP) als Kuppelungsreagenz gemäß Schema 2.2 die entsprechenden Dipeptide **6a** - **6c** erhalten werden.^[91]



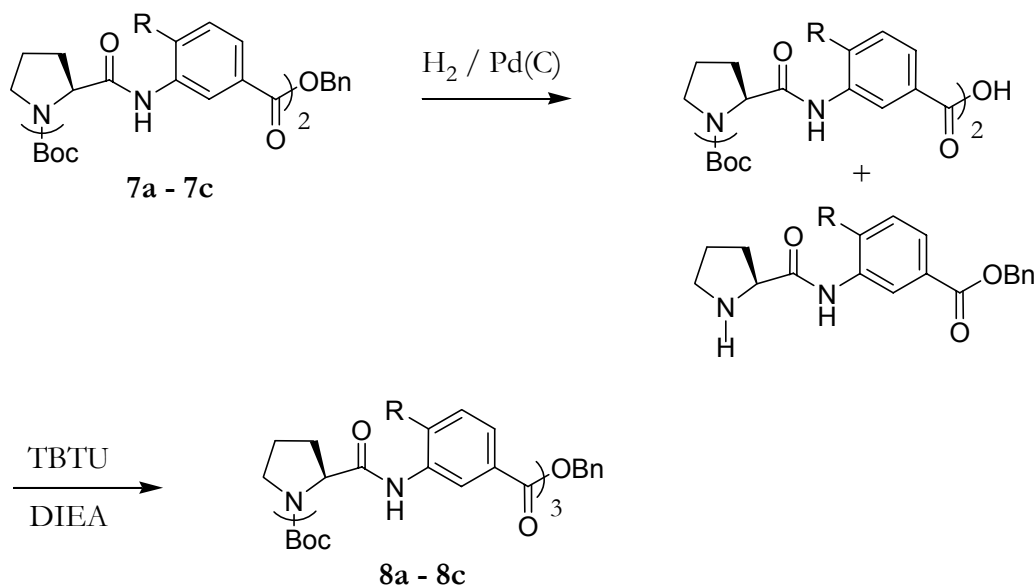
Schema 2.2: Synthese der Dipeptide **6a** (R=H), **6b** (R=OCH₃) und **6c** (R=COOCH₃).

Die Dipeptide **6a**, **6b** und **6c** wurden mit Trifluoressigsäure Boc-entschützt bzw. mit Hilfe einer palladiumkatalysierten Hydrierung zur freien Carbonsäure umgesetzt. Die entschützten Derivate wurden wiederum mit PyCloP zu den entsprechenden Tetrapeptiden **7a**, **7b** und **7c** gekuppelt (Schema 2.3).



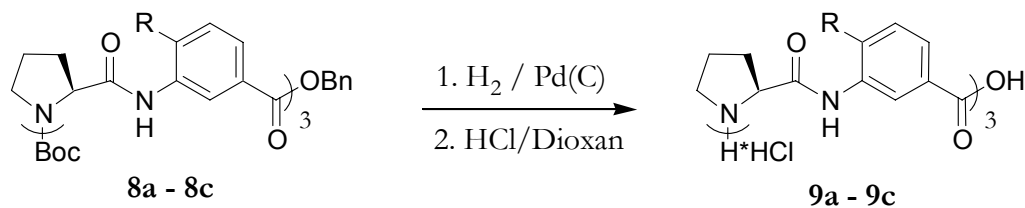
Schema 2.3: Synthese der Tetrapeptide **7a** (R=H), **7b** (R=OCH₃) und **7c** (R=COOCH₃).

Aus den linearen Tetrapeptidbenzylestern **7a**, **7b** und **7c** wurden durch Hydrierung die entsprechenden Carbonsäuren freigesetzt, die dann mit einer äquivalenten Menge Boc-entschütztem Dipeptid und O-(1-Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TBTU) als Kupplungsreagenz zu den linearen Hexapeptiden **8a**, **8b** und **8c** umgesetzt wurden (Schema 2.4).



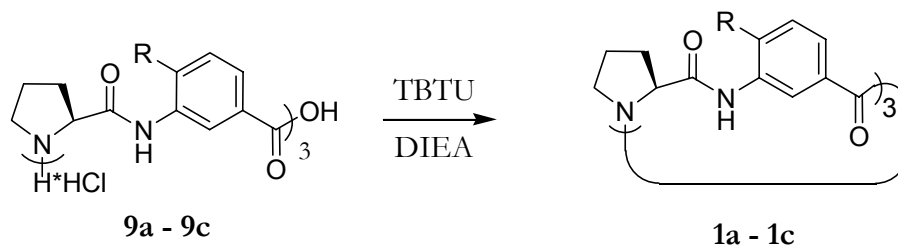
Schema 2.4: Synthese der Hexapeptide **8a** (R=H), **8b** (R=OCH₃) und **8c** (R=COOCH₃).

Die linearen Hexapeptide **8a**, **8b** und **8c** wurden dann zunächst hydriert und anschließend gemäß Schema 2.5 mit Salzsäure in trockenem Dioxan zu den vollständig entschützten Hexapeptiden **9a**, **9b** und **9c** umgesetzt.



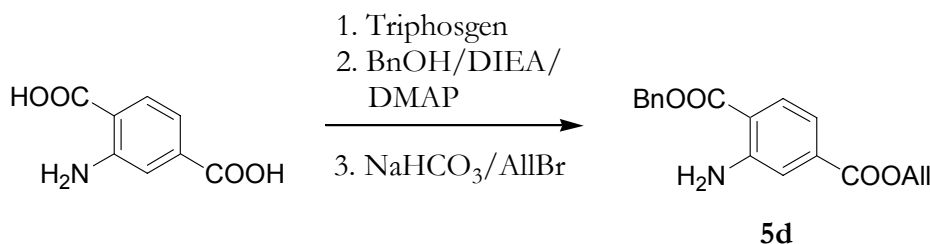
Schema 2.5: Synthese der vollständig entschützten Hexapeptide **9a** (R=H), **9b** (R=OCH₃) und **9c** (R=COOCH₃).

Diese Verbindungen wurden im letzten Schritt gemäß Schema 2.6 jeweils in hochverdünnter Lösung mit dem Kupplungsreagenz TBTU zu den Produkten **1a** – **1c** cyclisiert.



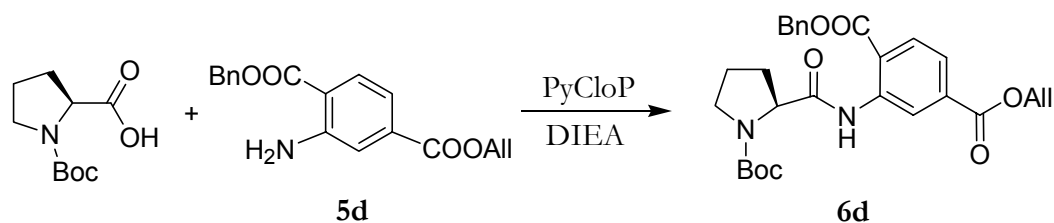
Schema 2.6: Synthese der cyclischen Hexapeptide **1a** (R=H), **1b** (R=OCH₃) und **1c** (R=COOCH₃).

Die Synthese des Cyclopeptids **1d** erfolgte nach einer Vorschrift von J. Bitta ausgehend von Aminoterephthalsäure.^[93] Diese aromatische Dicarbonsäure reagierte zunächst mit Tri-phosgen zu einem cyclischen Anhydrid, das anschließend mit Benzylalkohol ringöffnend verestert wurde. Im nächsten Schritt konnte durch Umsetzung mit Allylbromid ein Derivat der Aminoterephthalsäure **5d** mit zwei verschiedenen Carbonsäureschutzgruppen erhalten werden (Schema 2.7).



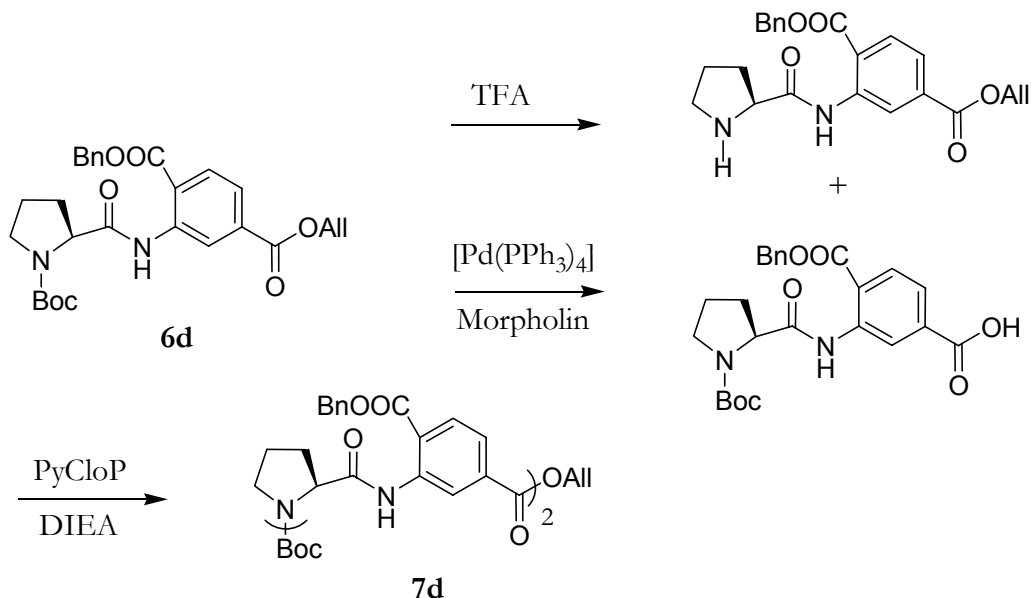
Schema 2.7: Synthese des Aminoterephthalsäurederivats **5d**.

Aus der anschließende Umsetzung des aromatischen Amins **5d** mit Boc-Prolin und PyCloP als Kupplungsreagenz wurde das Dipeptid **6d** gemäß Schema 2.8 erhalten.



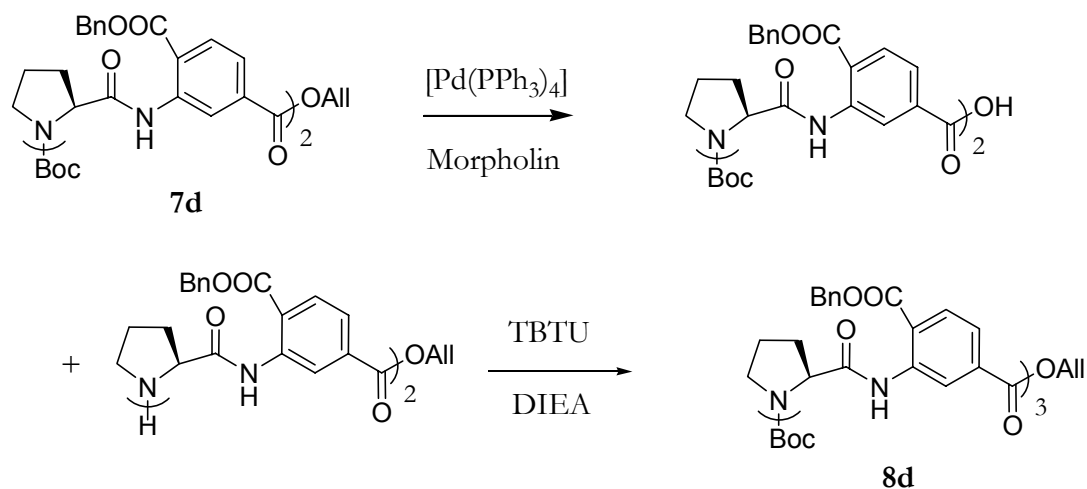
Schema 2.8: Synthese des Dipeptids **6d**.

Dipeptid **6d** wurde mit Trifluoressigsäure Boc-entschützt bzw. palladiumkatalysiert zur freien Carbonsäure umgesetzt. Die entschützten Dipeptide wurden wiederum mit PyCloP zum Tetrapeptid **7d** gekuppelt (Schema 2.9).



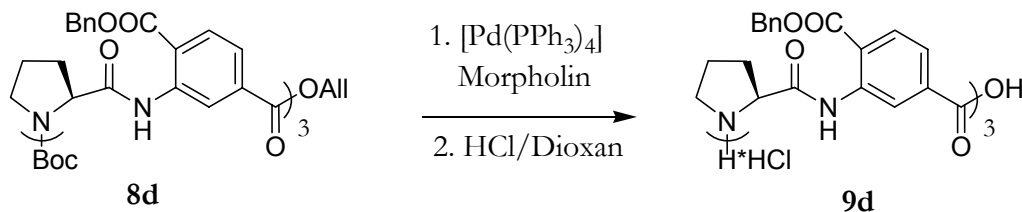
Schema 2.9: Synthese des Tetrapeptids **7d**.

Das lineare Tetrapeptid wurde gemäß Schema 2.10 mit Tetrakistriphenylphosphin-palladium(0) allylentschützt und die freigesetzte Carbonsäure mit Boc-entschütztem Dipeptid und TBTU als Kupplungsreagenz zum linearen Hexapeptid **8d** umgesetzt.



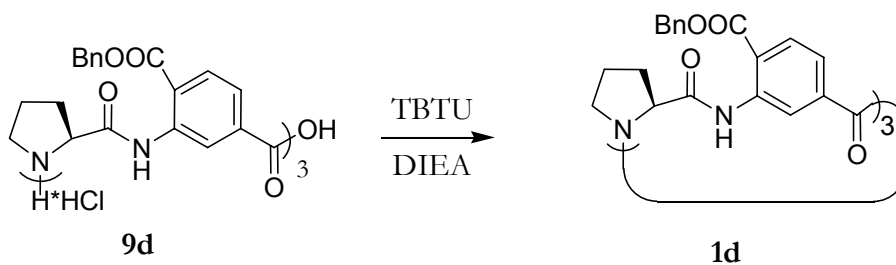
Schema 2.10: Synthese des Hexapeptids **8d**.

Hexapeptid **8d** wurde zunächst gemäß Schema 2.11 palladiumkatalysiert allylentschützt und anschließend mit Salzsäure in Dioxan zum vollständig entschützten Hexapeptid **9d** umgesetzt.



Schema 2.11: Synthese des vollständig entschützten Hexapeptids **9d**.

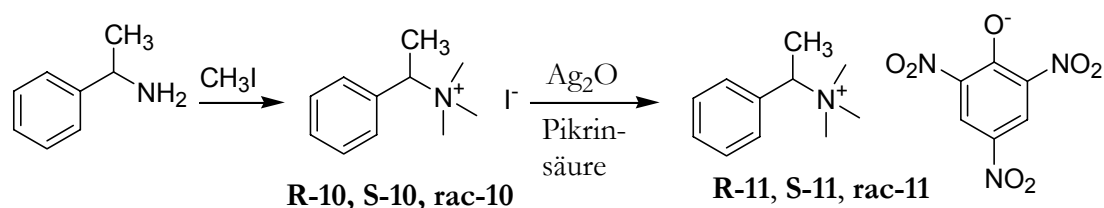
Das vollständig entschützte, lineare Hexapeptid **9d** wurde im letzten Schritt gemäß Schema 2.12 in hochverdünnter Lösung mit dem Kupplungsreagenz TBTU cyclisiert



Schema 2.12: Synthese des Cyclopeptids **1d**.

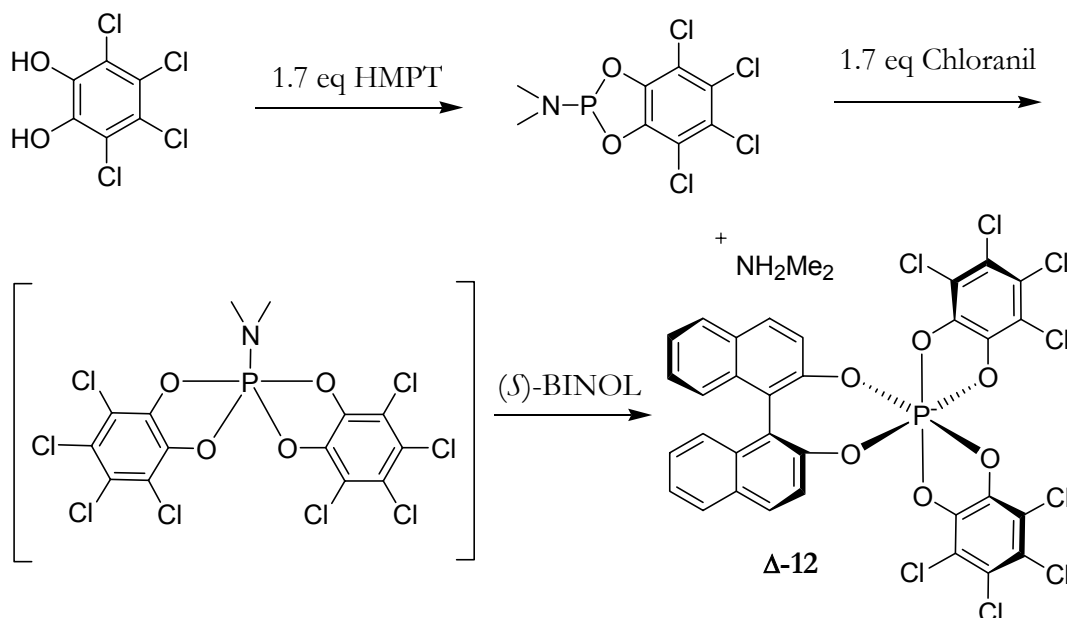
2.2.2 Synthesen quaternärer Ammoniumsalze

Die Synthese der *N,N,N*-Trimethylphenylethylammonium (PETMA)-Pikrate **R-11**, **S-11** und **rac-11** erfolgte gemäß Schema 2.13 durch erschöpfende Methylierung von kommerziell erhältlichem 1-Phenylethylamin zu PETMA-Iodid **10** und anschließender Umsetzung mit Silberoxid und Pikrinsäure. Die absolute Konfiguration des eingesetzten Eduktes bleibt während der Synthese erhalten und wird daher im Schema allgemein gehalten.



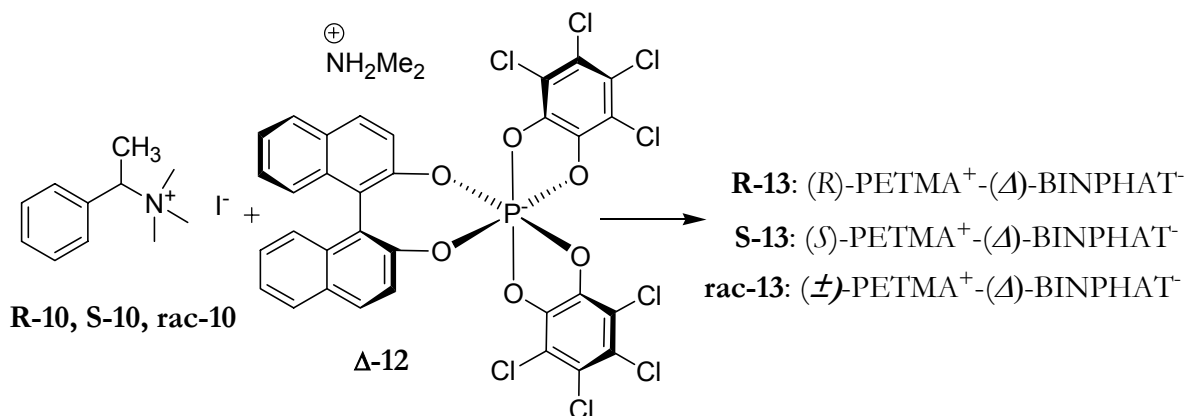
Schema 2.13: Synthese der Salze **R-11** ((*R*)-PETMA-Pikrat), **S-11** ((*S*)-PETMA-Pikrat) und **rac-11** ((±)-PETMA-Pikrat).

Die Synthesen der BINPHAT- und TRISPHAT-Salze des *N,N,N*-Trimethylphenylethylammoniumkations erfolgten ausgehend von Chloranil und Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPT) gemäß Schema 2.14.



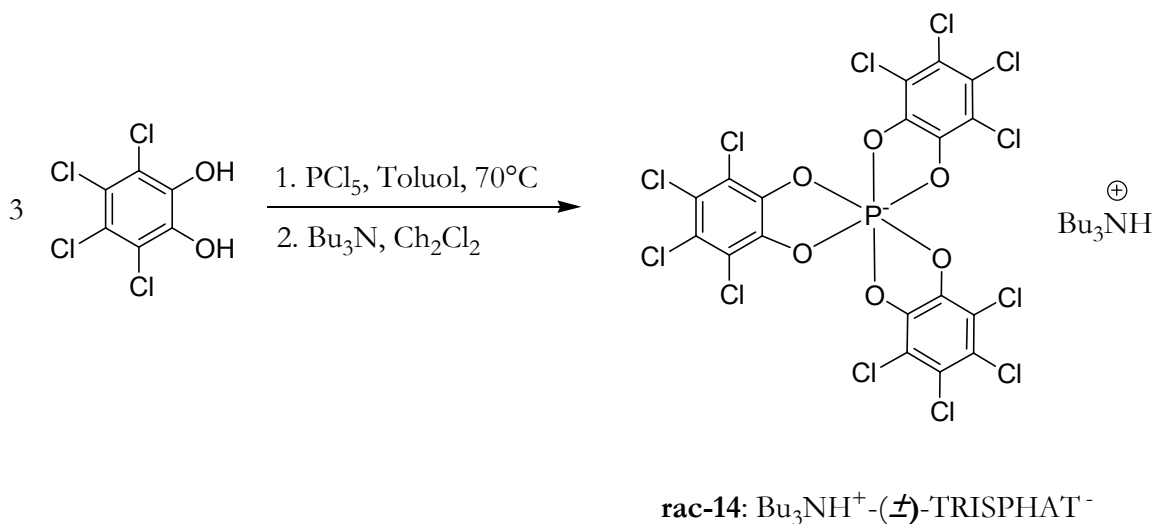
Schema 2.14: Synthese des Dimethylammoniumsalzes **Δ-12** (NH_2Me_2^+ - Δ -BINPHAT $^-$).

Die Synthese des Dimethylammoniumsalzes **Δ -12** konnte in einer Eintopfreaktion ausgehend von Tetrachlorcatechol durch Umsetzung mit Hexamethylphosphorsäuretriamid, Chloranil und (*S*)-BINOL realisiert werden (Schema 2.14).^[102] Die anschließende Reaktion dieses Salzes mit dem entsprechenden PETMA-Iodid **10** führte zu den gewünschten Produkten (*R*)-PETMA-(Δ)-BINPHAT **R-13**, (*S*)-PETMA-(Δ)-BINPHAT **S-13** und (\pm)-PETMA-(Δ)-BINPHAT **rac-13** (Schema 2.15).^[99]



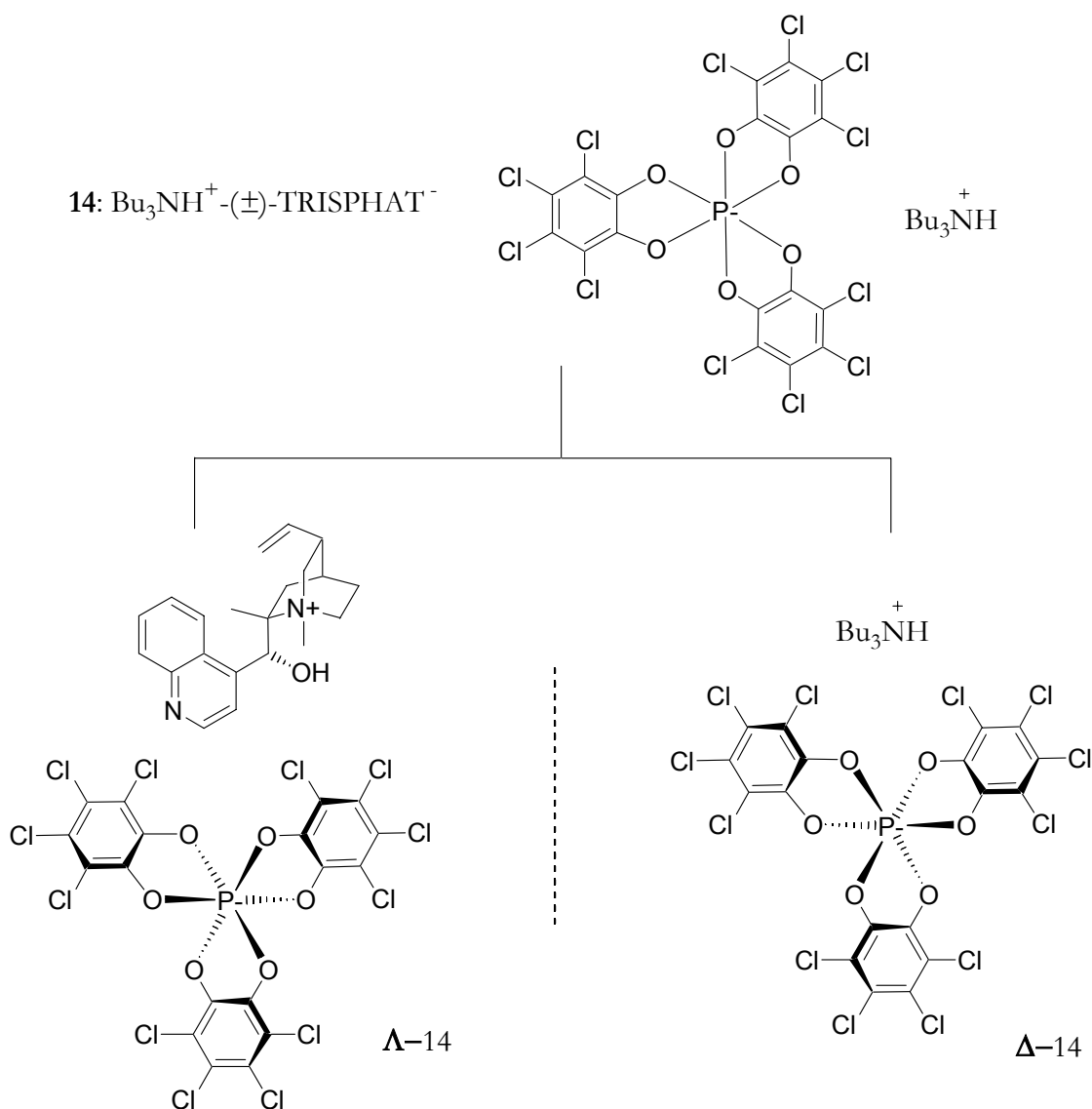
Schema 2.15: Synthese der PETMA-(Δ)-BINPHAT-Salze **R-13**, **S-13** und **rac-13**.

Ammonium-TRISPHAT-Salze können durch Reaktion von PCl_5 mit drei Äquivalenten Tetrachlorcatechol in heißem Toluol und anschließender Zugabe eines Amins dargestellt werden (Schema 2.16).^[97]



Schema 2.16: Synthese des Tributylammonium-(\pm)-TRISPHAT Salzes **14**.

Die Enantiomerentrennung des racemischen Tributylammonium-TRISPHAT-Salzes erfolgte im Anschluß durch Zugabe von 0,5 Äquivalenten Chinchonidin. Dabei fällt Chinchonidinium-(Λ)-TRISPHAT **Λ -14** mit 72% d.e. als weißer Feststoff aus und Tributylammonium-(Δ)-TRISPHAT **Δ -14** verbleibt in Lösung. Nach Entfernen des Lösungsmittels kann man dieses Salz isolieren. Umkristallisieren aus einem Dichlormethan/Chloroform Gemisch liefert **Δ -14** in einer Reinheit von 86% e.e. (Schema 2.17).^[96]



Schema 2.17: Synthese des Chinchonidinium-(Λ)-TRISPHAT Salzes **Λ -14** und des Tributylammonium-(Δ)-TRISPHAT Salzes **Δ -14**.

Die anschließende Umsetzung des entsprechenden PETMA-Iodids **R-10**, **S-10** oder **rac-10** mit einem der drei TRISPHAT-Salze **A-14**, **Δ -14** oder **rac-14** führte nach chromatographischer Reinigung zu neun verschiedenen PETMA-TRISPHAT Salzen:

R-15a: (R)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻

S-15a: (S)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻

rac-15a: (\pm)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻

R-15b: (R)-PETMA⁺-(\pm)-TRISPHAT⁻

S-15b: (S)-PETMA⁺-(\pm)-TRISPHAT⁻

rac-15b: (\pm)-PETMA⁺-(\pm)-TRISPHAT⁻

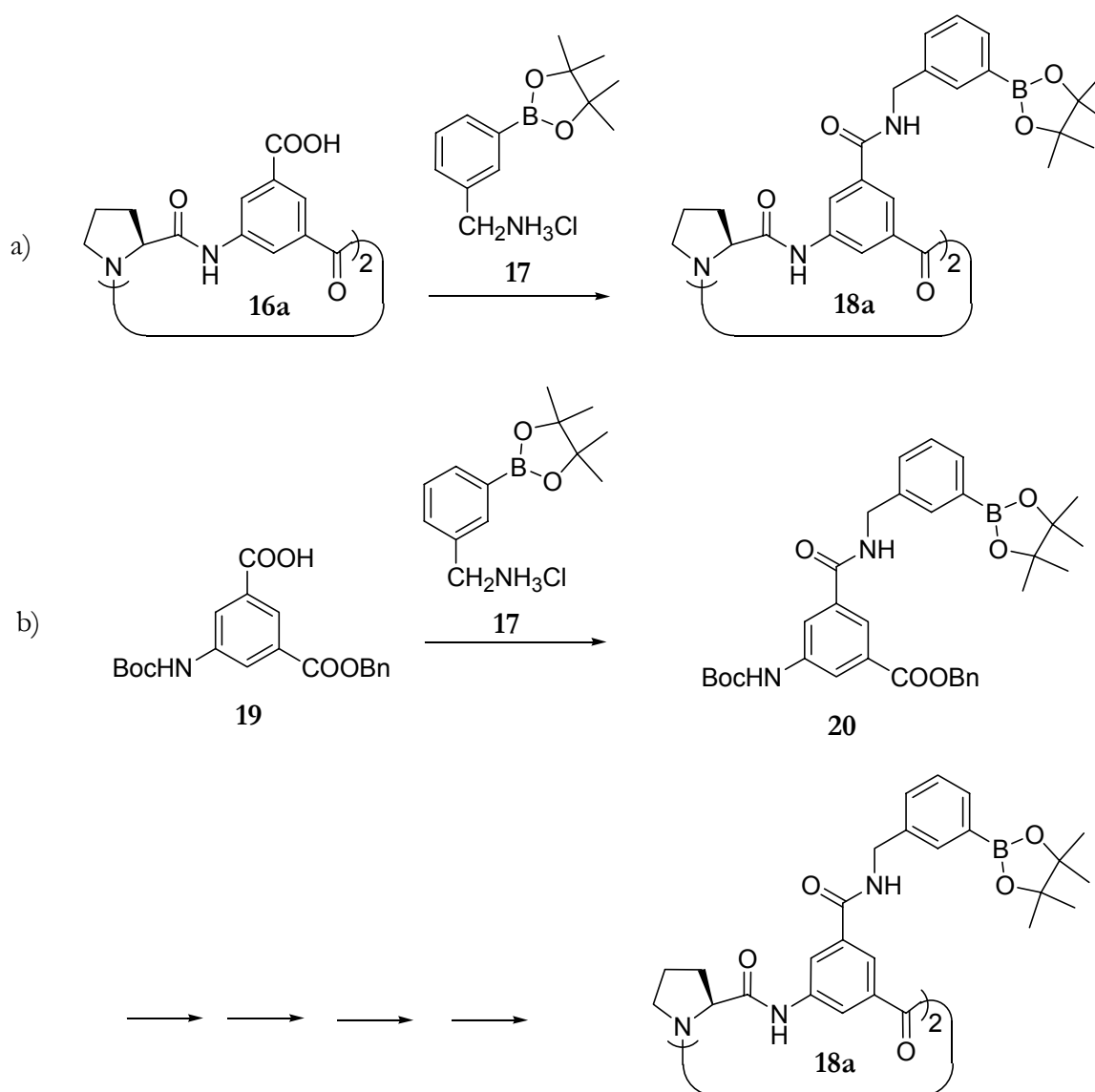
R-15c: (R)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻

S-15c: (S)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻

rac-15c: (\pm)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻

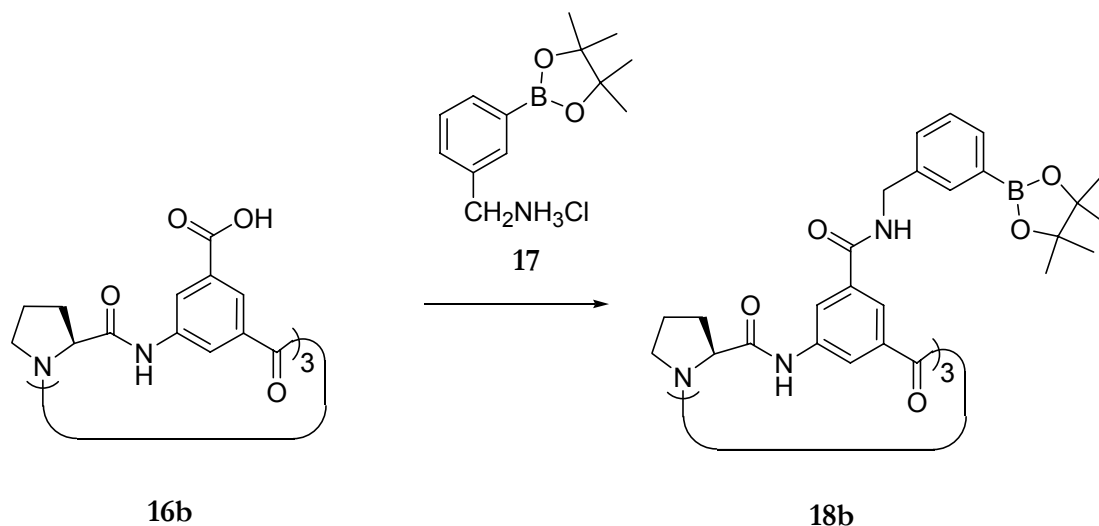
2.2.3 Cyclische Peptide basierend auf 5-Aminoisophthalsäure mit Boronsäuresubstituenten

Zu Beginn stellte sich die Frage, welcher Reaktionsweg für die Synthese des Cyclopeptids **4** der geeignetste ist. Die beiden alternativen Strategien sind die Synthese eines cyclischen Tetrapeptids **16a** mit zwei Carboxylgruppen und die Anbindung der Boronsäureuntereinheit **17** an diesen Grundkörper oder ein sequentieller Aufbau des Cyclopeptids aus Untereinheiten, die die Boronsäuregruppen bereits enthalten (Schema 2.18).



Schema 2.18: Zwei Synthesewege für Cyclopeptid **18a** aus dem Rezeptor **4** durch Abspaltung der Pinakol-ester erhalten werden kann.

In meiner Diplomarbeit konnte ich bereits zeigen, daß die Peptidkupplung einer cyclischen Tricarbonsäure **16b** mit der von mir entwickelten Aminoboronsäure **17** zum gewünschten Produkt **18b** gemäß Schema 2.19 nur sehr langsam verläuft und viele Produkte gebildet werden. Dies könnten neben dem gewünschten Produkt beispielsweise mono- und disubstituierte Verbindungen sein.^[103]



Schema 2.19: Peptidkupplung einer aromatischen, cyclischen Tricarbonsäure **16** mit einer Aminoboronsäure **17**.

Ich vermutete, daß ein ähnliches Problem auch bei der Synthese von **18a** nach Strategie a auftreten würde, und ich versuchte daher, den Rezeptor nach Strategie b zu synthetisieren. Allerdings muß man in diesem Fall bereits zu Beginn der Synthese festlegen, welchen Boronsäuresubstituenten das Produkt enthalten soll, was aber im vorliegenden Fall durch einige Vorüberlegungen zum Ausschluß diverser Derivate führt und ein geeigneter Kandidat zur Anknüpfung an Cyclopeptid **16a** schnell gefunden ist. Aliphatische Aminoboronsäuren kommen zum Beispiel nicht in Frage, da diese zu instabil sind.^[104, 105] Die einfachsten aromatischen Boronsäuren, die als Substituent für das Cyclopeptid in Frage kommen, sind Derivate des Anilins (Abb. 2.6).

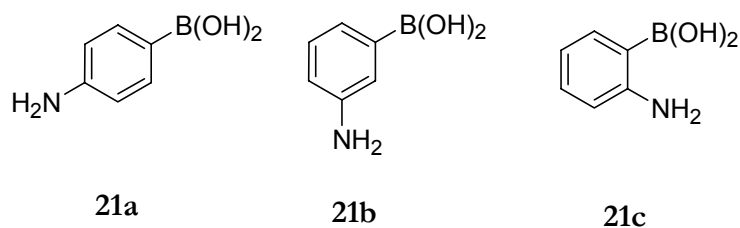


Abb. 2.6: Drei Isomere der Aminophenylboronsäure **21a**, **21b** und **21c**.

Diese Verbindungen sind jedoch ebenfalls ungünstig, da die Kupplung aromatischer Amine mit aromatischen Carbonsäuren in der Regel schwierig ist. Aliphatische Amine sind dagegen deutlich reaktiver, weswegen die drei isomeren Aminomethylphenylboronsäuren **22**, **23** und **24** als Substituenten für das Cyclopeptid **16a** gut geeignet sein sollten (Abb. 2.7). Eine Verlängerung der Kohlenhydratkette zwischen dem aromatischen System und der Aminogruppe sollte vermieden werden, da die Seitenarme der entsprechenden Rezeptoren dadurch zu flexibel wären.

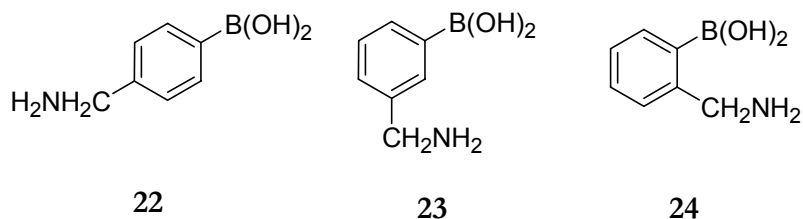


Abb. 2.7: Die drei Isomere der Aminomethylphenylboronsäure **22**, **23** und **24**.

Während meiner Diplomarbeit habe ich mit Hilfe des Programms HyperChem eine energieminierte Konformation des cyclischen Hexapeptids, das die metasubstituierte Aminoboronsäure **23** als Seitenarm trägt, berechnet. Die in Abb. 2.8 dargestellten Konformationen zeigen, daß die Boronsäuregruppen in Richtung des Hohlraums zeigen und somit die Bindung von Kohlenhydraten mit diesem Rezeptor möglich sein sollte.

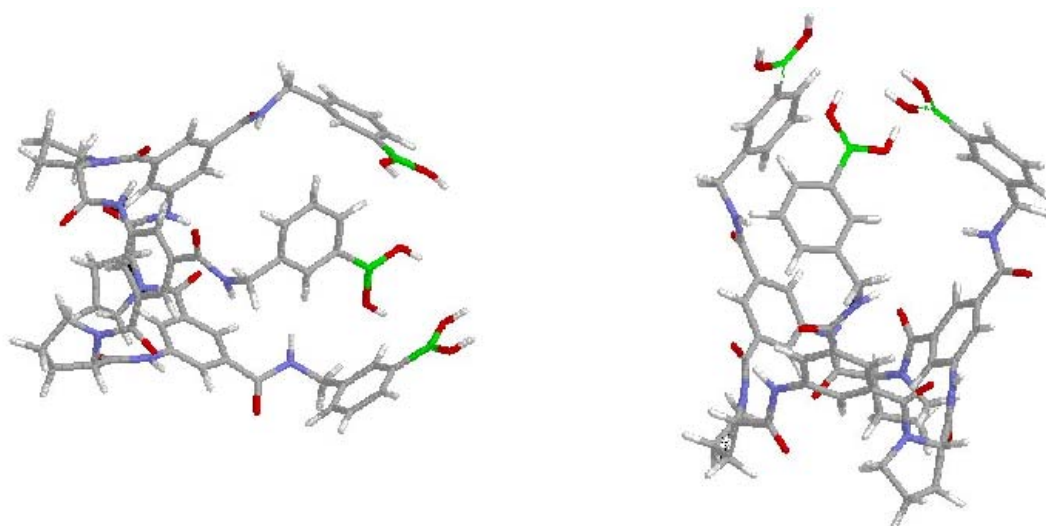
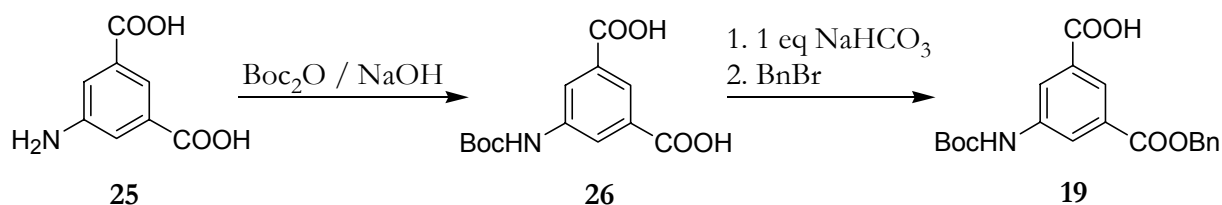


Abb. 2.8: Zwei mögliche Konformationen eines Cyclopeptids mit der Boronsäure **23** als Seitenarm, energieminiert mit der semi-empirischen SCF Methode PM3 (HyperChem 6.01).

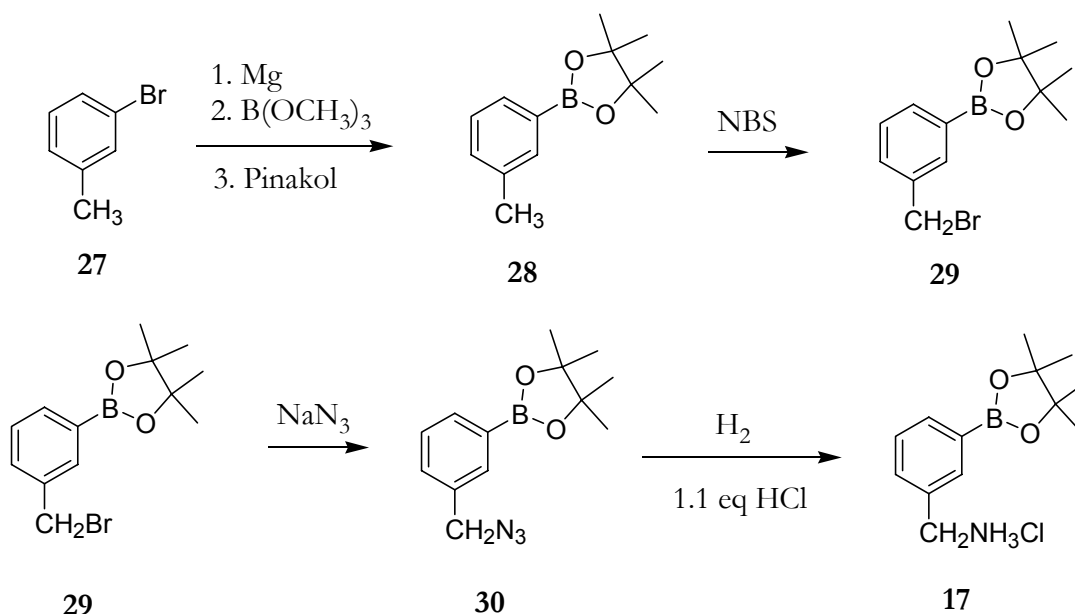
Möglicherweise wäre die orthosubstituierte Verbindung **24** günstiger, da in diesem Fall die Boronsäuregruppen weiter in den Hohlraum ragen würden. Bei der Synthese von **24** könnte es jedoch zu Problemen kommen, da die Wechselwirkung des freien Stickstoffelektronenpaares mit dem benachbarten Boratom die Nukleophilie dieses Stickstoffatoms stark reduziert.^[106, 107] Verbindung **22** kommt nicht in Frage, da hier die Boronsäuren zu weit aus dem Hohlraum herausragen würden. Diese Überlegungen zeigen, daß die Aminoboronsäure **23** der geeignetste Substituent für einen Kohlenhydratrezeptor auf Cyclopeptidbasis ist.

Vor der Amidknüpfung von **23** an 5-Aminoisophthalsäure mußte **25** zunächst in einer zweistufigen Synthese nach einer Vorschrift von J.Bitta sowohl Boc- als auch Benzylgeschützt werden (Schema 2.20).^[108]



Schema 2.20: Synthese der aromatischen Carbonsäure **19**.

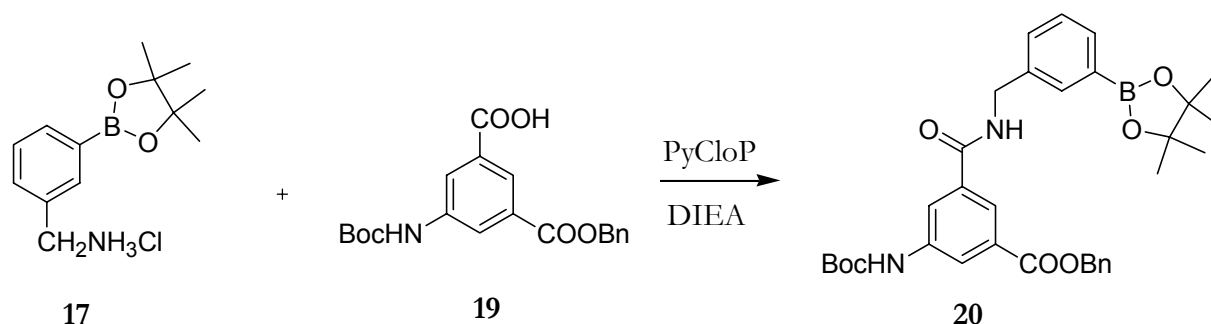
Die Synthese des 3-Aminomethylphenylboronsäurepinakolesters als Hydrochlorid **17** erfolgte nach einer Vorschrift aus meiner Diplomarbeit gemäß Schema 2.21.^[103]



Schema 2.21: Synthese des Hydrochlorids des 3-Aminomethylphenylboronsäurepinakolesters **17**.

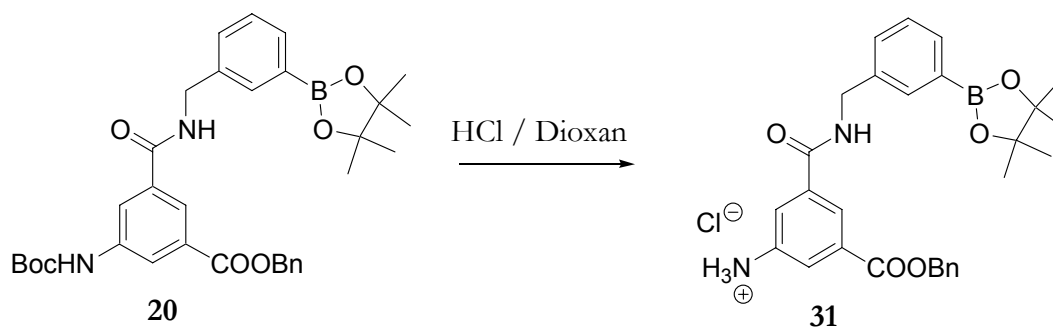
Ausgehend von kommerziell erhältlichem 3-Bromtoluol **27** wurde mit einer Grignard Reaktion^[109, 110] 3-Methylphenylboronsäure hergestellt, die im Folgeschritt als Pinakolester geschützt wurde.

Die so erhaltene Verbindung **28** wurde anschließend durch NBS-Bromierung^[109] und Umsetzung mit Natriumazid in das Azid **30** überführt. Hydrierung unter Zugabe von Salzsäure führte zum Hydrochlorid des 3-Aminomethylphenylboronsäurepinakolesters **17**. Die Kupplung der aromatischen Carbonsäure **19** mit der Aminoboronsäure **17** unter Verwendung von PyCloP als Kupplungsreagenz gemäß Schema 2.22 lieferte nach 24 Stunden Reaktionszeit 30% Produkt. Die Ausbeute konnte jedoch durch eine Verlängerung der Reaktionszeit auf zwei Wochen auf 77% gesteigert werden.



Schema 2.22: Kupplung der aromatischen Carbonsäure **19** mit der Aminoboronsäure **17**.

Verbindung **20** wurde nun durch Umsetzung mit Salzsäure in trockenem Dioxan gemäß Schema 2.23 Boc-entschützt.

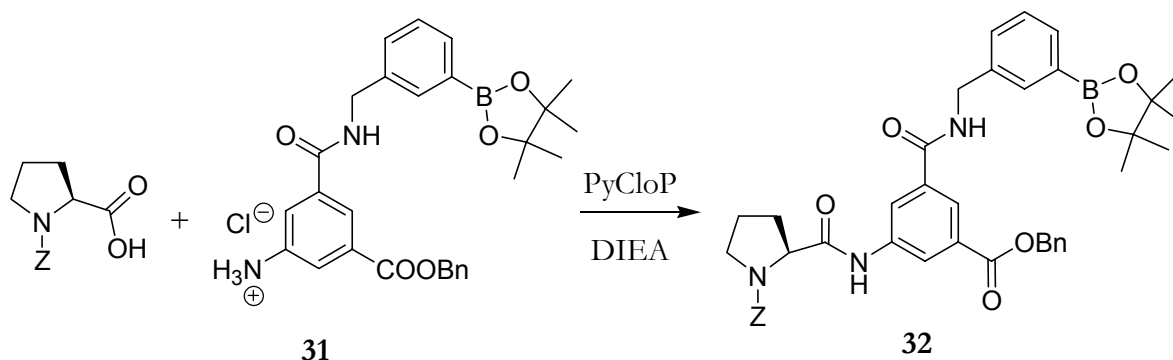


Schema 2.23: Abspaltung der Boc-Schutzgruppe unter Freisetzung des Hydrochlorids **31**.

Das Produkt **31** mußte nun mit einem N-geschützten Prolinderivat zu einem Dipeptid, mit dem anschließend eine Direktcyclisierung durchgeführt werden sollte, gekuppelt werden. Unter Direktcyclisierung verstehe ich in diesem Zusammenhang die von Pohl eingeführte Strategie, ein vollständig entschütztes Dipeptid direkt zum cyclischen Tetrapeptid umzusetzen.

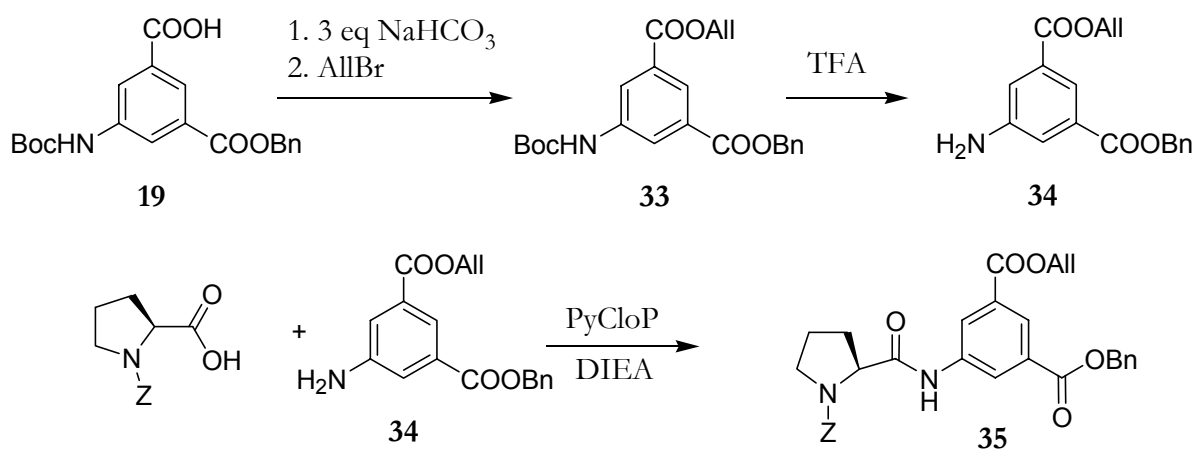
Dabei wird das Dipeptid unter den Bedingungen der Cyclisierung umgesetzt. In Lösung entsteht zunächst lineares Tetrapeptid, das jedoch nicht aufgearbeitet wird, da es direkt zum cyclischen Produkt weiterreagiert. Es bot sich die Verwendung von Z-Prolin an, da sich die Schutzgruppen am N- und C-terminalen Ende des entstehenden Dipeptids dann in einem Schritt hydrolytisch entfernen lassen.^[111]

Hydrochlorid **31** wurde also gemäß Schema 2.24 mit Z-Prolin und PyCloP als Kupplungsreagenz zum Dipeptid **32** gekuppelt.



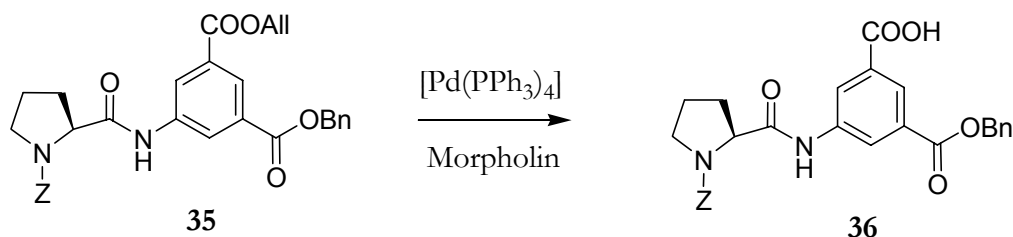
Schema 2.24: Synthese des Dipeptids **32**.

Die Ausbeute der Amidkupplung von **31** mit Z-Prolin war jedoch mit 30% äußerst gering. Eine ähnliche Beobachtung machte Bitta bei dem Versuch, ein strukturell ähnliches 3-Aminoisophthalsäurederivat mit Boc-Prolin und PyCloP zu kuppeln.^[93] Abhilfe schaffte in diesem Fall die Änderung der Reihenfolge, in der die drei Komponenten gekuppelt wurden. Daher verfolgte ich die gleiche Strategie und synthetisierte zunächst das Dipeptid **35** gemäß Schema 2.25.



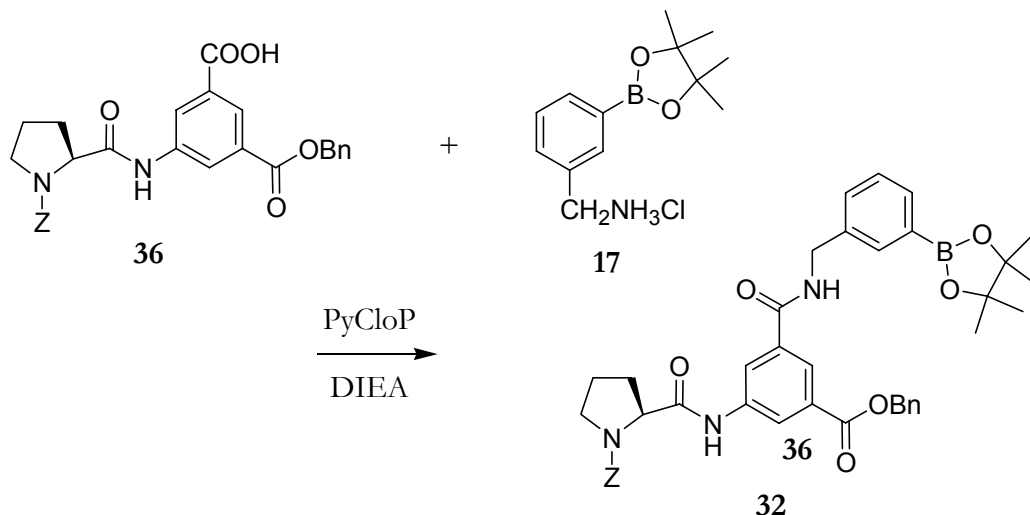
Schema 2.25: Synthese des Dipeptids **35**.

Die Synthese der aromatischen Carbonsäure **19** wurde bereits in Schema 2.20 beschrieben. Diese wurde mit 3-Brom-1-propen (Allylbromid) in den Allylester **33** überführt. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure wurde Verbindung **34** mit Z-Prolin unter Verwendung von PyCloP als Kupplungsreagenz zum Dipeptid **35** umgesetzt. Die Allylschutzgruppe wurde anschließend palladiumkatalysiert entfernt und so die freie Carbonsäure **36** freigesetzt (Schema 2.26).



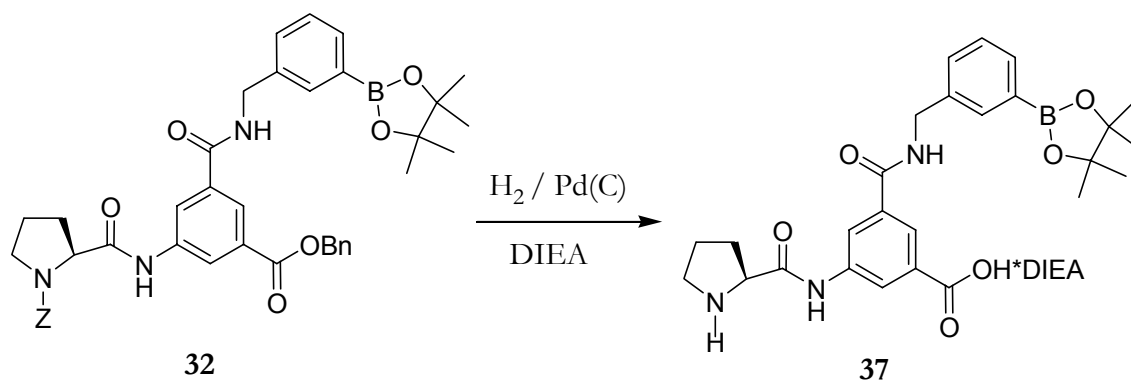
Schema 2.26: Synthese des Dipeptids **36**.

Die gebildete Carbonsäure **36** wurde nun gemäß Schema 2.27 mit der Aminoboronsäure **17** unter Verwendung von PyCloP als Kupplungsreagenz zum gewünschten Produkt **32** gekuppelt, welches auf diese Weise in guter Ausbeute und Reinheit erhalten werden konnte.



Schema 2.27: Synthese des Dipeptids **32**.

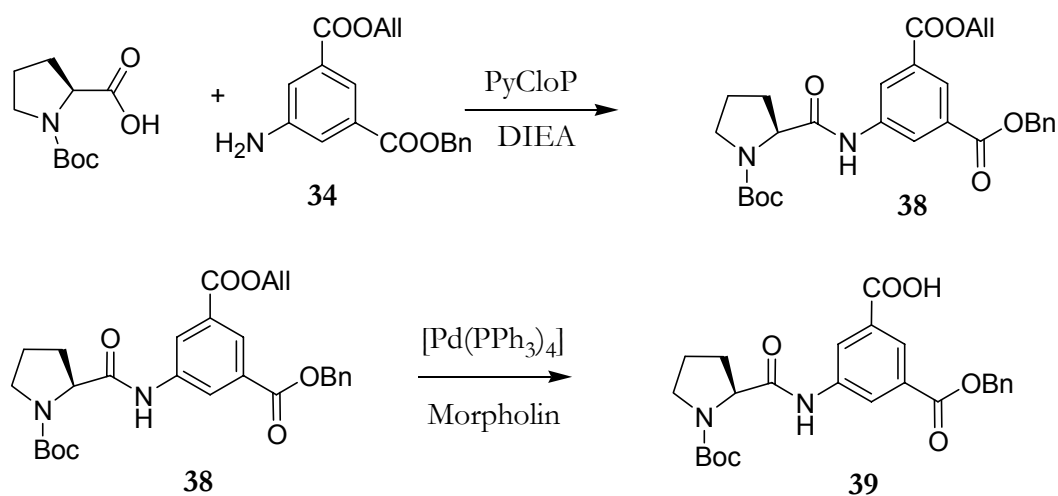
Die Schutzgruppen der Verbindung **32** wurden nun gemäß Schema 2.28 sowohl N- als auch C-terminal in einem Schritt hydrogenolytisch abgespalten. Die Reaktionslösung wurde außerdem mit 1,1 Äquivalenten *N,N*-Diisopropylethylamin (DIEA) versetzt, um zu verhindern, daß bei der Hydrierung das Zwitterion des Dipeptids **37** entsteht und ausfällt.



Schema 2.28: Synthese des vollständig entschützten Dipeptids **37**.

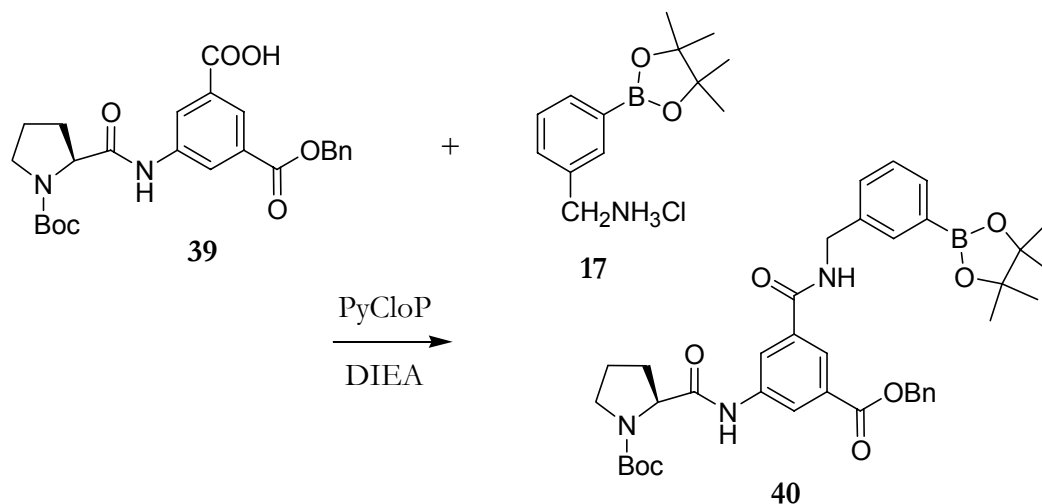
Die anschließende Direktcyclisierung habe ich nach einer Vorschrift von Pohl durchgeführt, indem ich Verbindung **37** über Nacht bei Raumtemperatur unter Verwendung von TBTU als Kupplungsreagenz rühren ließ.^[111] Am nächsten Tag konnte ich aber weder dünnschichtchromatographisch noch massenspektrometrisch die Bildung eines cyclischen Produktes nachweisen. Ein Grund hierfür könnte sein, daß die voluminösen Substituenten am Dipeptid **37** bei der Direktcyclisierung stören. Ich überlegte mir daher eine alternative Synthese, um an das cyclische Tetrapeptid **18a** zu gelangen.

Bei diesem Syntheseweg sollte die Cyclisierung ausgehend von einem bereits vorgebildeten linearen Tetrapeptid erfolgen. Hierzu benötigte ich ein Dipeptid analog zu Verbindung **32**, dessen N-Terminus eine Schutzgruppe trägt, die unter den Bedingungen der Benzylesterspaltung stabil ist. Die Boc-Schutzgruppe erfüllt dieses Kriterium und ich synthetisierte Dipeptid **39** gemäß Schema 2.29.



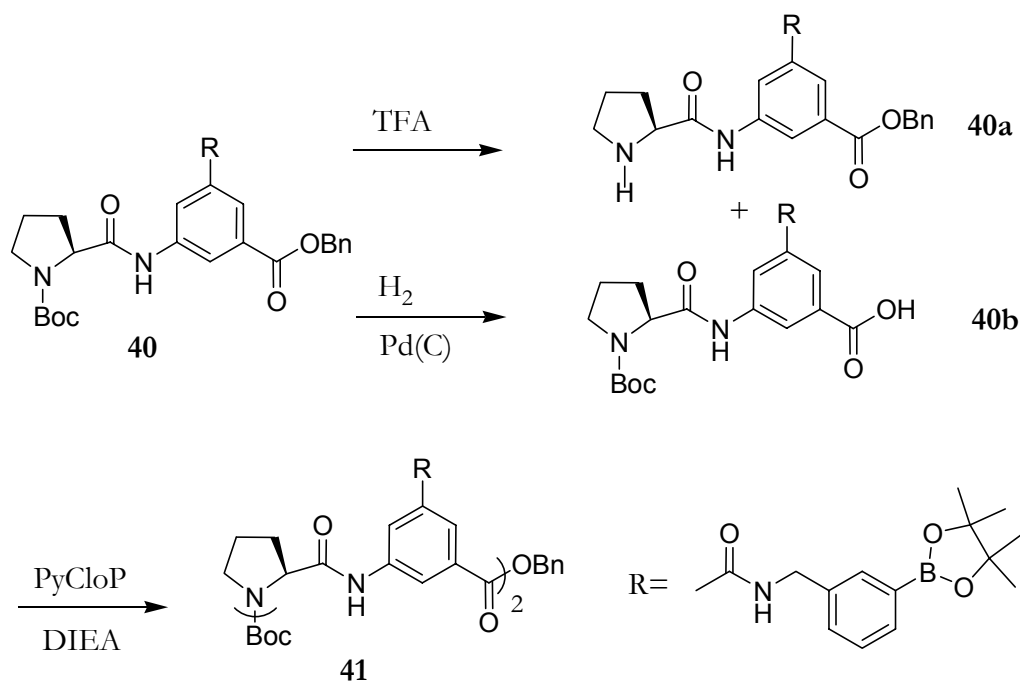
Schema 2.29: Synthese des Dipeptids **39**.

Die gebildete Carbonsäure **39** wurde nun gemäß Schema 2.30 mit der Aminoboronsäure **17** unter Verwendung von PyCloP als Kupplungsreagenz zum Dipeptid **40** gekuppelt.



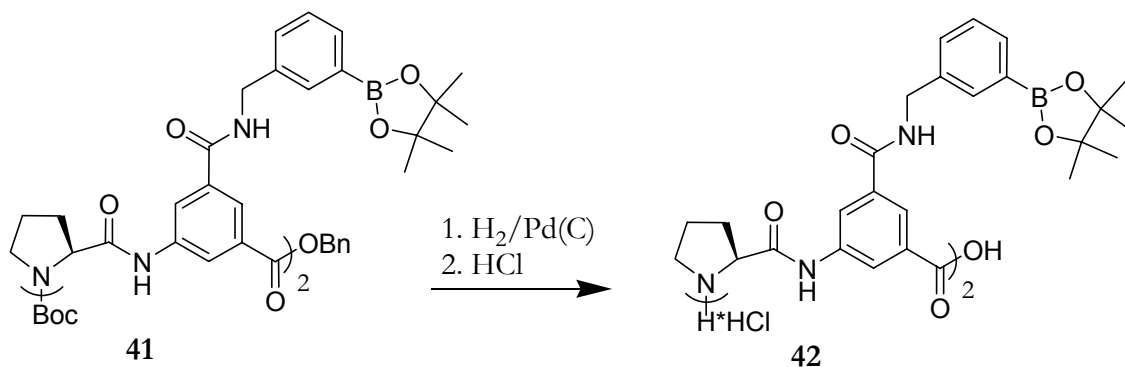
Schema 2.30: Synthese des Dipeptids **40**.

Ein Teil des erhaltenen Dipeptids wurde nun mit Trifluoressigsäure Boc-entschützt und eine äquivalente Menge mit Hilfe einer palladiumkatalysierten Hydrierung zur freien Carbonsäure umgesetzt. Die entschützten Dipeptide wurden anschließend mit PyCloP zum entsprechenden Tetrapeptid **41** gekuppelt (Schema 2.31).



Schema 2.31: Synthese des Tetrapeptids **41**.

Das lineare Tetrapeptid **41** wurde dann zunächst hydriert und anschließend gemäß Schema 2.32 mit 6N Salzsäure in trockenem Dioxan zum vollständig entschützten Tetrapeptid **42** umgesetzt.



Schema 2.32: Synthese des vollständig entschützten Tetrapeptids **42**.

Die anschließende Cyclisierung versuchte ich zunächst nach einer in unserem Arbeitskreis üblichen Methode unter Verwendung von TBTU als Kupplungsreagenz. Verbindung **42** wurde dabei zu einer 80°C heißen, hochverdünnten Lösung von TBTU in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) getropft. Wie auch schon beim Versuch der Direktcyclisierung konnte ich bei dieser Reaktion allerdings keine Produktbildung beobachten. Um auszuschließen, daß TBTU die Ursache für das Mißlingen dieser Reaktion ist, versuchte ich die Cyclisierung auch mit einem anderen Kupplungsreagenz. Da bekannt ist, daß Amidknüpfungen mit PyCloP in DMF unter Bildung von Nebenprodukten ablaufen,^[112] versuchte ich, die Reaktion in Chloroform durchzuführen, obwohl der niedrigere Siedepunkt im Vergleich zu DMF die Reaktionstemperatur auf 60°C limitierte. Auch bei diesem Versuch konnte ich keine Produktbildung beobachten, weswegen ich die Synthese des cyclischen Tetrapeptids **18a** an dieser Stelle einstellte.

Während der bisher durchgeführten synthetischen Arbeiten machte ich mir bereits Gedanken über mögliche alternative Strukturen eines Cyclopeptids mit Boronsäuresubstituenten. Die Strukturen zweier potentieller Rezeptoren **43** und **44** sind in Abb. 2.24 dargestellt.

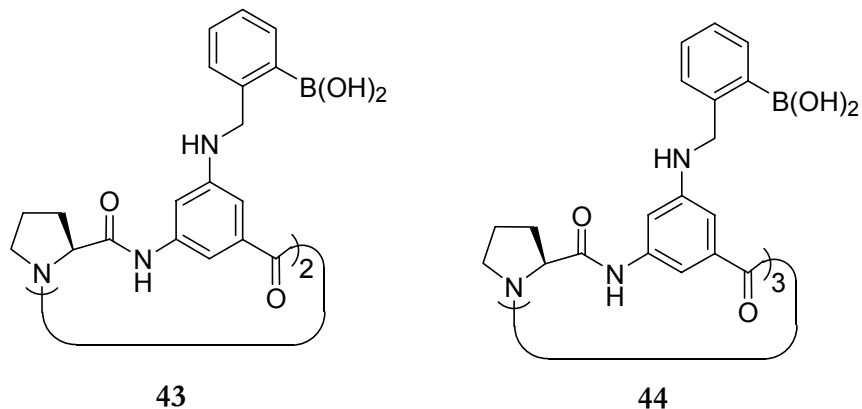


Abb. 2.13: Zwei mögliche Strukturen **43** und **44** boronsäurehaltiger Cyclopeptide.

Diese Cyclopeptide **43** und **44** ähneln strukturell sehr stark den von Shinkai beschriebenen Kohlenhydratrezeptoren. Der Stickstoff, der bei der Kohlenhydratbindung mit dem Boratom wechselwirken soll, ist jedoch Bestandteil eines aromatischen und nicht eines aliphatischen Amins. Shinkai konnte allerdings zeigen, daß auch mit solchen Systemen Monosaccharide bei neutralem pH-Wert in Wasser gebunden werden können. So sind zum Beispiel der Farbsensor **45** (Abb.2.14)^[113] und eine Reihe weiterer Diazofarbstoffe mit Boronsäuregruppen als Kohlenhydratrezeptoren beschrieben.^[114-117] Bei **46** handelt es sich um einen Fluoreszenzsensor, bei dem sich nicht nur die Intensität sondern auch die Wellenlänge des emittierten Lichts bei Substratbindung ändern (Abb. 2.14).^[118]

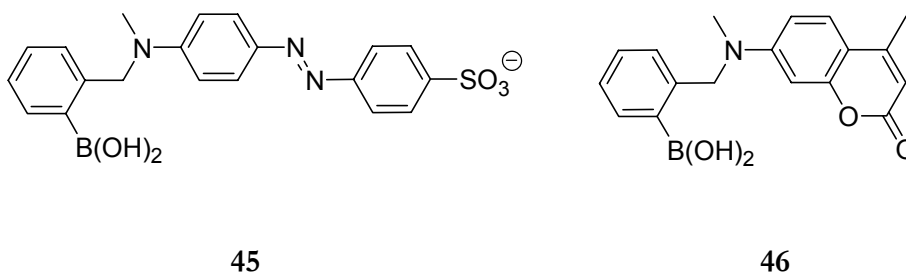
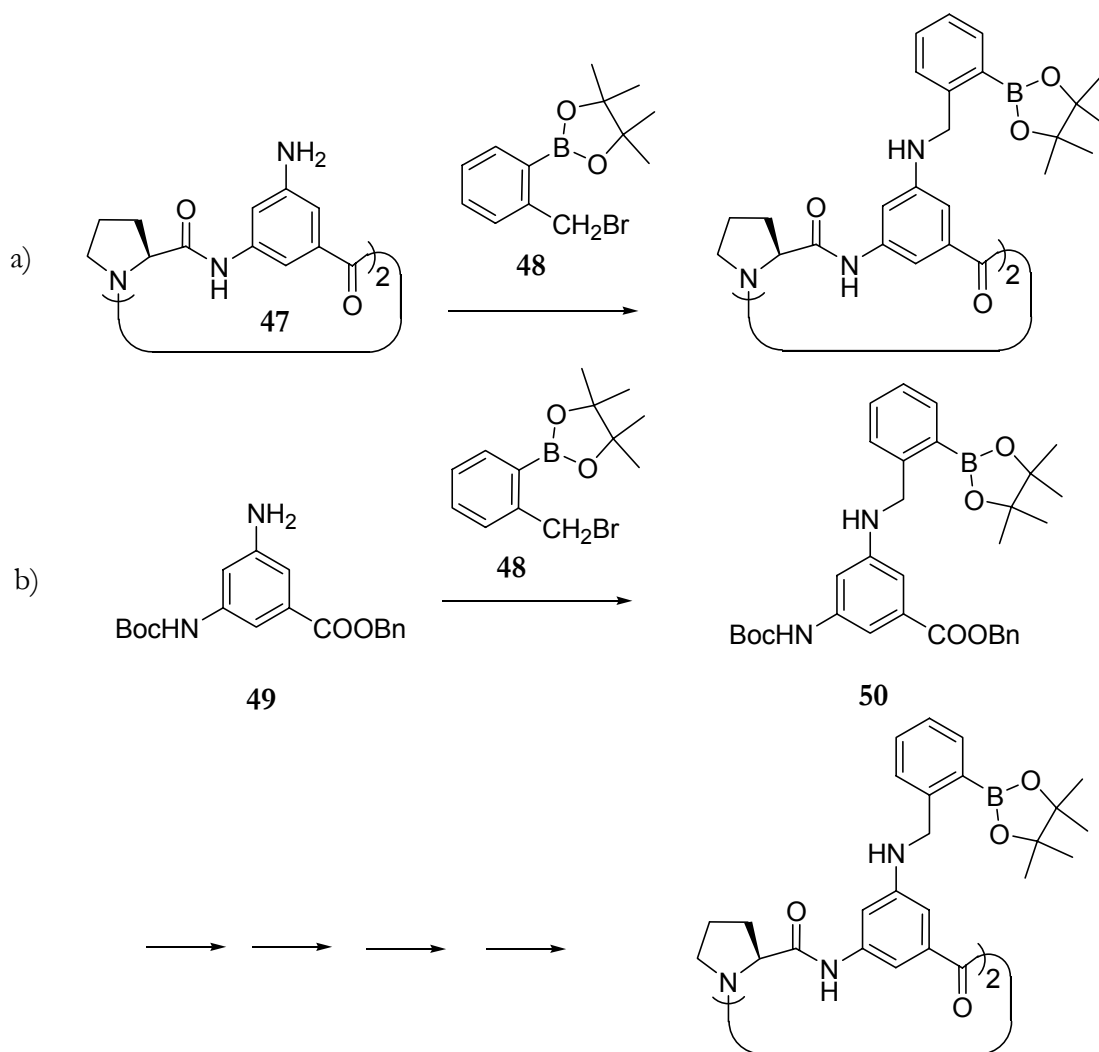


Abb. 2.14: Strukturen zweier Boronsäurerezeptoren **45** und **46**, bei denen die Boronsäureuntereinheit an ein aromatisches Amin geknüpft ist.

2.2.4 Cyclische Peptide basierend auf Diaminobenzoesäure mit Boronsäuresubstituenten

Es stellte sich nun die Frage, welcher Reaktionsweg für die Synthese des Cyclopeptids **43** der geeignetste ist. Ich entschied mich zunächst dafür, die Anbindung der Boronsäuresubstituenten an das aromatische Amin durch Alkylierung zu realisieren,^[119, 120] auch wenn dabei die potentielle Gefahr der Mehrfachalkylierung besteht.

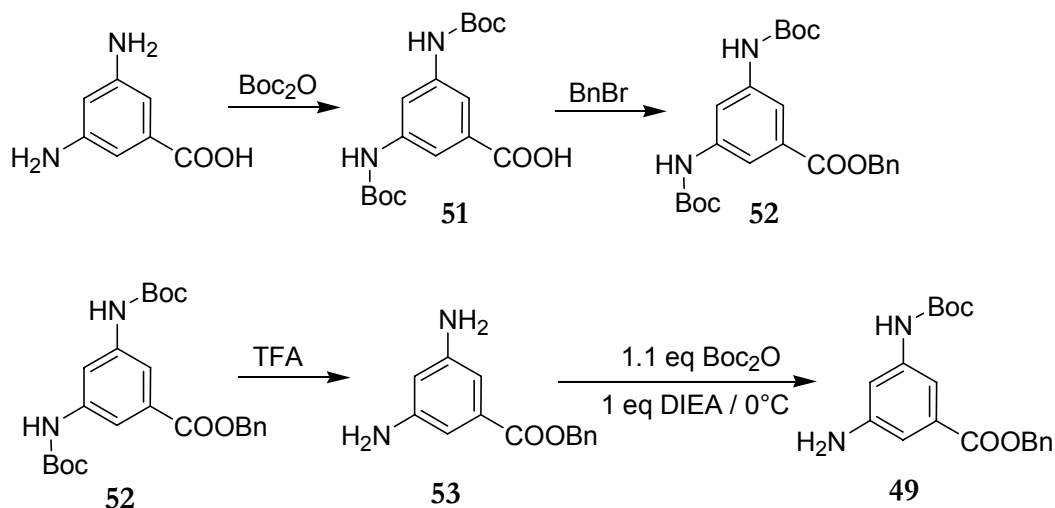
Wiederum hatte ich die Wahl, zuerst das von Pohl entwickelte Cyclopeptid **47** mit zwei Aminogruppen herzustellen und die beiden Boronsäureuntereinheiten **48** dann gleichzeitig anzuknüpfen oder die Alkylierung bereits zu Beginn der Synthese durchzuführen und das Cyclopeptid dann sequentiell aufzubauen (Schema 2.33).



Schema 2.33: Zwei mögliche Synthesestrategien, um ein Cyclopeptid basierend auf Diaminobenzoesäure mit Boronsäuresubstituenten herzustellen.

Ich vermutete, daß bei der in Schema 2.33a dargestellten Reaktion wahrscheinlich ein schwer zu trennendes Gemisch mono- und dialkylierter Produkte entstehen würde. Daher habe ich mich für den sequentiellen Syntheseweg entschieden, der mit der Herstellung des Diaminobenzoesäurederivats **50** beginnt.

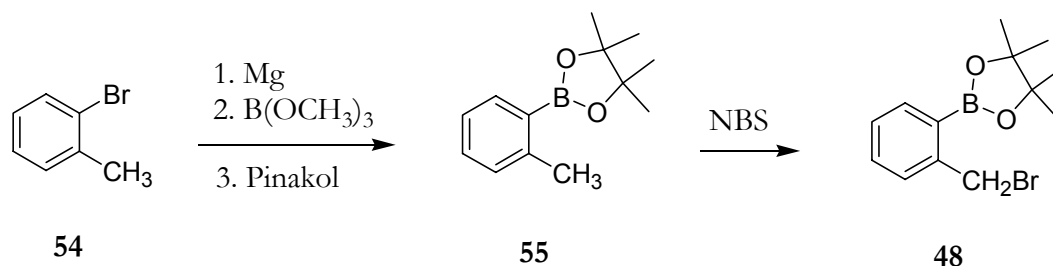
Pohl konnte in ihrer Dissertation zeigen, daß eine der beiden Aminogruppen der 3,5-Diaminobenzoesäure in guten Ausbeuten selektiv geschützt werden kann, so daß die andere Aminogruppe für weitere Funktionalisierungen zur Verfügung steht (Schema 2.34).^[111]



Schema 2.34: Darstellung der mono-Boc-geschützten 3,5-Diaminobenzoesäure **49**.

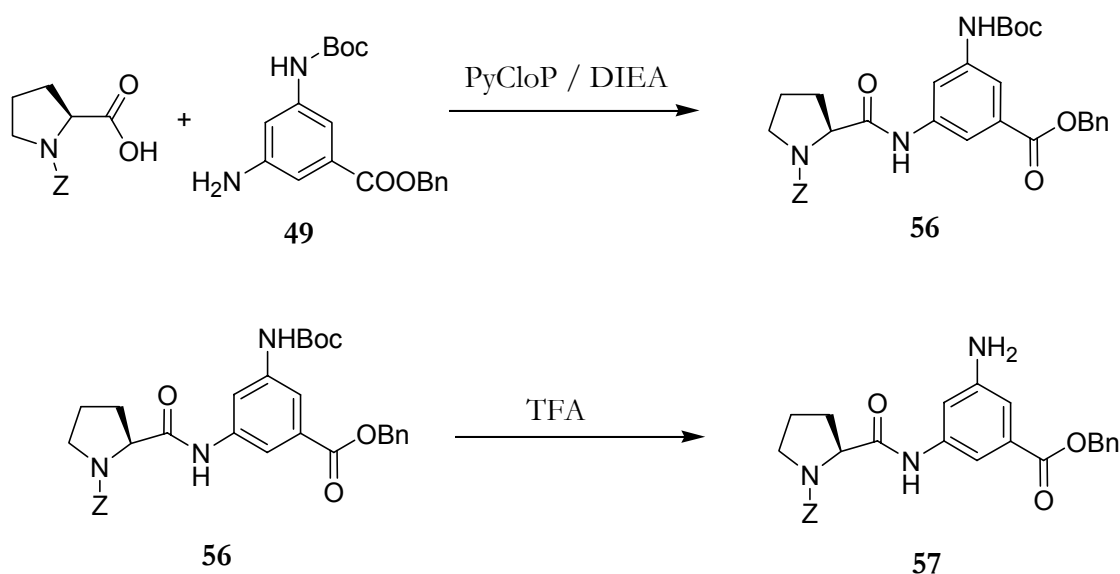
Die beiden Aminogruppen der 3,5-Diaminobenzoesäure werden zunächst mit überschüssigem Di-*tert.*-butyldicarbonat geschützt. Die Verbindung **51** wird dann zum Benzylester **52** umgesetzt, die beiden Boc-Schutzgruppen werden mit Trifluoressigsäure wieder abgespalten, und zu einer Lösung der entstandenen Verbindung **53** werden dann genau 1,1 Äquivalente Di-*tert.*-butyldicarbonat (Boc_2O) in der Kälte langsam zugetropft. Der dabei gebildete mono-Boc-Diaminobenzoesäurebenzylester **49** läßt sich säulenchromatographisch von ebenfalls gebildetem di-Boc-Diaminobenzoesäurebenzylester **52** und nicht umgesetztem Edukt **53** trennen.

Die Synthese des Halogenalkans **48** erfolgte ausgehend von kommerziell erhältlichem 2-Bromtoluol **54**. Mit Hilfe einer Grignard Reaktion,^[109, 110] anschließender Veresterung und NBS-Bromierung^[109] wurde der 2-Brommethylphenylboronsäurepinakolester **48** hergestellt (Schema 2.35).



Schema 2.35: Darstellung des 2-Brommethylphenylboronsäurepinakolesters **48**.

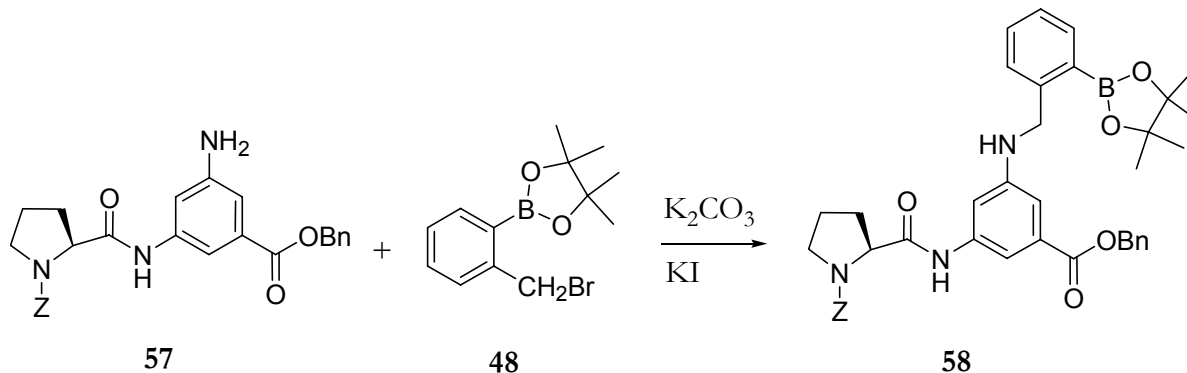
Anschließend wurde versucht, durch Umsetzung von **48** mit **49** gemäß Schema 2.33b die Verbindung **50** zu erhalten. Daraus resultierte jedoch ein Gemisch aus mono- und dialkyliertem Produkt. Auch durch eine systematische Variation der Laufmittelzusammensetzung ist es mir nicht gelungen, diese beiden Verbindungen chromatographisch zu trennen. Da ich vermutete, daß eine Trennung auf der Stufe des Dipeptids möglich sein könnte, versuchte ich auch die Alkylierung von **57**. Dieses Peptid wurde durch Amidkupplung von **49** mit Z-Prolin zu **56** und anschließender Behandlung mit Trifluoressigsäure gemäß Schema 2.36 erhalten.



Schema 2.36: Darstellung des Dipeptids **57**.

Zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang, daß diese Untersuchungen zu einem Zeitpunkt durchgeführt wurden, als die in Kapitel 2.2.3 dargestellten Ergebnisse zur Direktcyclisierung noch nicht vorlagen. Peptid **57** ist aufgrund der Kombination von Z- und Benzylesterschutzgruppe natürlich nicht für einen sequentiellen Aufbau des gewünschten Cyclopeptids geeignet.

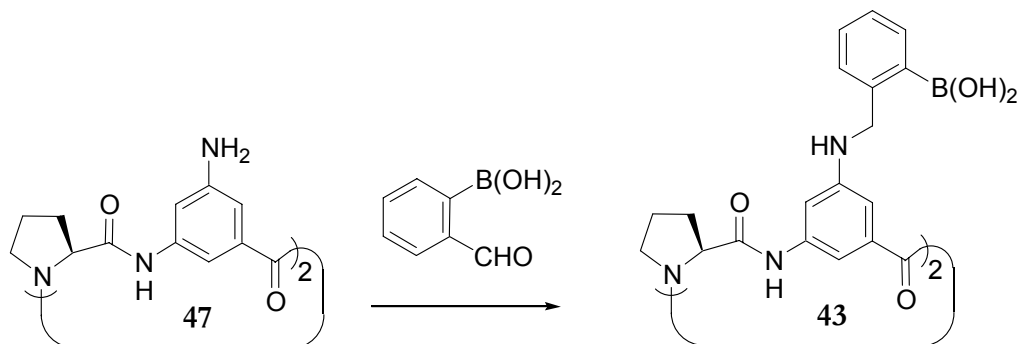
Die Alkylierung des Dipeptids **57** führte wie erwartet zu einem chromatographisch deutlich besser trennbaren Produktgemisch aus mono- und dialkyliertem Produkt als die von **49**. Leider konnte die Ausbeute an monoalkyliertem Produkt **58** jedoch nicht über 30% gesteigert werden (Schema 2.37).



Schema 2.37: Darstellung des Dipeptids **58**.

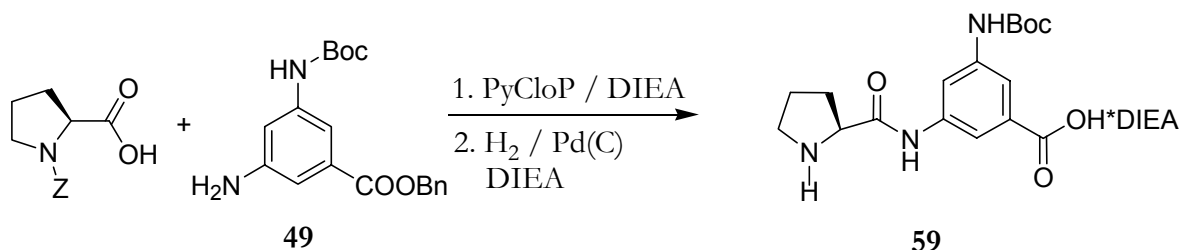
Im nächsten Schritt mußte **58** nun hydriert werden. Überraschenderweise erhielt ich bei dieser Reaktion jedoch nicht das gewünschte, vollständig entschützte Dipeptid sondern Verbindung **55**. Offensichtlich kommt es also unter den Bedingungen der Hydrierung auch zu einer Spaltung des Benzylamins. Dies ist insofern überraschend, als zur Hydrierung von Benzylaminen in der Regel aktivere Katalysatoren sowie höhere Drücke verwendet werden müssen.^[121] Letztlich bedeutet dieses Ergebnis aber, daß die gewählte Synthesestrategie zur Herstellung von **43** nicht geeignet ist. Abhilfe könnte die Einführung der Boronsäuresubstituenten auf der Stufe des cyclischen Tetrapeptids schaffen. Aus den erwähnten Gründen sind Alkylierungen dafür aber wenig geeignet. Jedoch würde eine reduktive Aminierung^[122] zur Bildung des Benzylamins eine interessante Alternative darstellen, da es dabei nicht zu Mehrfachreaktionen kommen kann.

Ich versuchte daher, das von Pohl bereits synthetisierte Cyclopeptid **47** mit der kommerziell erhältlichen 2-Formylphenylboronsäure unter typischen Bedingungen für reduktive Aminierungen gemäß Schema 2.38 umzusetzen.



Schema 2.38: Reduktive Aminierung zum Rezeptor **43**.

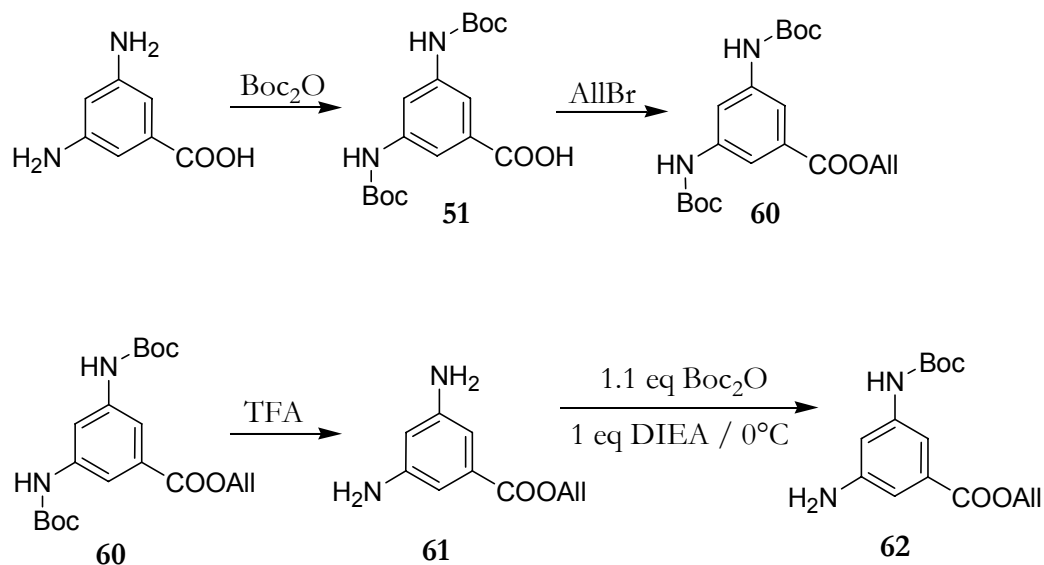
Hierfür habe ich zunächst **47** hergestellt. Die Synthese des dafür notwendigen mono-Boc-Diaminobenzoesäurebenzylesters **49** wurde bereits in Schema 2.34 beschrieben. Aus der Amidkupplung dieser Aminosäure mit Z-Prolin und der anschließenden palladiumkatalysierten Hydrierung erhielt ich das Dipeptid **59**, das sowohl am N-, als auch am C-terminalen Ende entschützt ist (Schema 2.39).



Schema 2.39: Synthese eines cyclischen Tetrapeptids **59** mit zwei Boc-geschützten Aminogruppen.

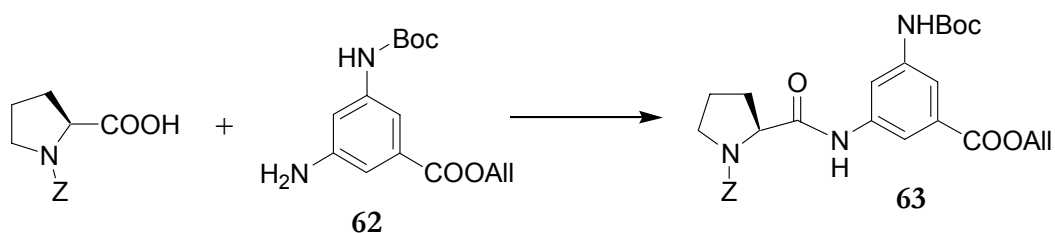
Anschließend habe ich **59** unter den von Pohl beschriebenen Bedingungen der Direktcyclisierung umgesetzt. Dabei bilden sich normalerweise neben dem Tetrapeptid auch geringe Mengen Hexa- und Octapeptid. Pohl konnte das Tetrapeptid mit einer Ausbeute von 40% isolieren. Mir ist es jedoch, auch nach mehreren Ansätzen, nicht gelungen, mehr als 10% cyclisches Tetrapeptid zu erhalten. Daher suchte ich nach einer Schutzgruppenstrategie, die es mir ermöglicht, **47** mit Hilfe einer sequentiellen Synthese herzustellen.

Hierfür benötigte ich ein Dipeptid, dessen terminale Carboxygruppe und Amino-
gruppen am Prolin und an der aromatischen Untereinheit mit Schutzgruppen versehen
sind, die unabhängig voneinander gespalten werden können. Dabei entschied ich mich für
die folgende Strategie: Ich synthetisierte zunächst ein Dipeptid mit einem Allylester am C-
terminalen Ende, einer Z-Schutzgruppe am N-terminalen und einer Boc-Schutzgruppe
am aromatischen Amin. Für dieses Dipeptid benötigte ich das allylester-geschützte Di-
aminobenzoessäurederivats **62**, das gemäß Schema 2.40 erhalten wurde.



Schema 2.40: Darstellung der mono-Boc-geschützten 3,5-Diaminobenzoessäure **62**.

Die beiden Aminogruppen der 3,5-Diaminobenzoessäure werden zunächst mit über-
schüssigem Di-*tert.*-butyldicarbonat geschützt und anschließend zum Allylester **60** umge-
setzt. Die Darstellung des mono-Boc-geschützten 3,5-Diaminobenzoessäureallylesters er-
folgt dann analog der Synthese des mono-Boc-geschützten 3,5-Diaminobenzoessäure-
benzylesters gemäß Schema 2.34. Das Produkt **62** wurde dann mit Z-Prolin und PyCloP
als Kupplungsreagenz zum Dipeptid **63** umgesetzt (Schema 2.41).



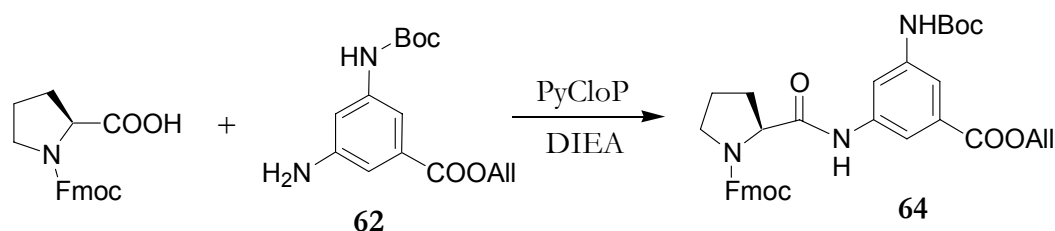
Schema 2.41: Synthese des Dipeptids **63**.

Das gebildete Dipeptid **63** kann nun selektiv zur freien Carbonsäure entschützt werden, eine selektive Abspaltung der N-terminalen Z-Schutzgruppe ist jedoch nicht möglich, da der Allylester zum *n*-Propylester reduziert werden würde. Daher benötigte ich zur Synthese des gewünschten Tetrapeptids ein weiteres Dipeptid, dessen N-terminale Aminogruppe so entschützt werden kann, daß der Allylester erhalten bleibt.

Zum Schutz der Aminogruppe habe ich bisher entweder Boc (*tert.*-Butyloxycarbonyl)^[123] oder Z (Benzyloxycarbonyl)^[124] verwendet. Der Vorteil dieser Schutzgruppen besteht darin, daß sich sowohl die für die Abspaltung benötigten Katalysatoren bzw. Reagenzien (HCl bzw. Pd(C)) als auch die Nebenprodukte (Isobuten bzw. Toluol und CO₂) sehr einfach entfernen lassen. Diese beiden Schutzgruppen sind aber für das notwendige Dipeptid ungeeignet. In der Festphasensynthese nach Merrifield^[125] wird die Aminogruppe häufig zum 9-Fluorenylmethylcarbammat umgesetzt. Diese Schutzgruppe läßt sich mit Piperidin^[126] leicht abspalten und gebildetes Dibenzofulven sowie überschüssiges Piperidin lassen sich dann einfach vom polymergebundenen Peptid abtrennen.

Führt man die Peptidsynthese jedoch in Lösung durch, ist die Verwendung der Fmoc-Schutzgruppe etwas problematischer, da sich das sekundäre Amin Piperidin, das im weiteren Verlauf der Synthese ebenfalls mit einer Carbonsäure reagieren kann, schlecht entfernen läßt. Eine saure Extraktion ist zum Beispiel ausgeschlossen, da dabei die Aminogruppe ebenfalls protoniert und in die wäßrige Phase überführt würde.

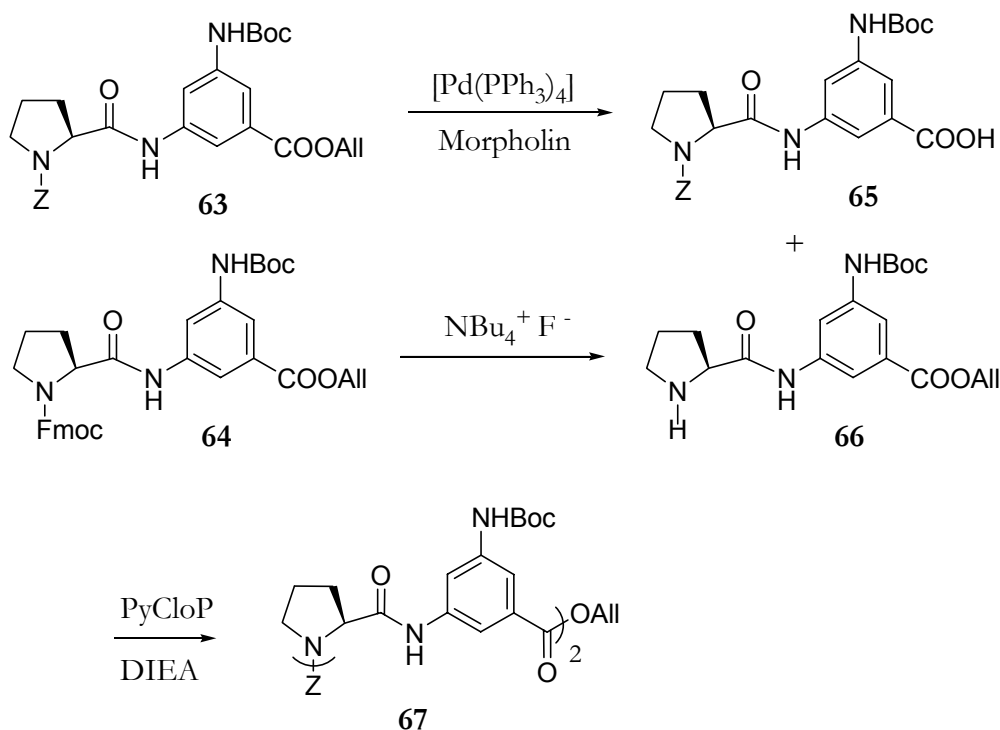
Die Fmoc-Schutzgruppe läßt sich allerdings nicht nur mit Piperidin sondern auch mit Tetrabutylammoniumfluorid^[127] abspalten, wobei überschüssiges Reagenz im weiteren Verlauf der Peptidsynthese möglicherweise nicht stört. Ich entschied mich daher, das Fmoc-geschützte Dipeptid **64** gemäß Schema 2.42 für den Aufbau von **47** herzustellen.



Schema 2.42: Synthese des Dipeptids **64**.

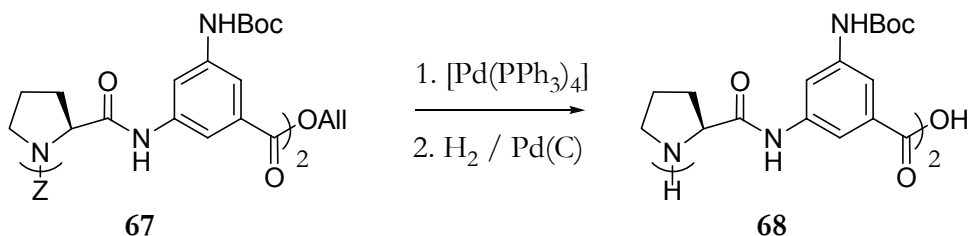
Damit stehen zwei Dipeptide **63** und **64** zur Verfügung, die insgesamt vier verschiedene Schutzgruppen enthalten. Peptid **63** läßt sich selektiv am C-terminalen Ende entschützen und **64** am N-terminalen. Auf diese Weise ist ein lineares Tetrapeptid zugänglich, dessen C- und N-terminalen Schutzgruppen sequentiell unter Erhalt der Schutzgruppe an den aromatischen Aminen abgespalten werden können und das so zum Aufbau des cyclischen Tetrapeptids **47** dienen kann. Im Prinzip erlaubt die von mir entwickelte Strategie auch die Synthese eines cyclischen Hexapeptids, so daß sie eine wichtige Alternative zur Direktcyclisierung darstellt.

Das Dipeptid **63** wurde also gemäß Schema 2.43 mit Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) und Morpholin zur Carbonsäure **65** umgesetzt. Dipeptid **64** wurde mit Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran entschützt. Ohne weitere Aufreinigung gelang die Kupplung dieser beiden Verbindungen allerdings nicht, da wahrscheinlich Fluorid bei der weiteren Peptidsynthese doch stört. Nach chromatographischer Reinigung des Amins **66** verlief die Reaktion mit PyCloP als Kupplungsreagenz gemäß Schema 2.43 aber erfolgreich, so daß das lineare Tetrapeptid **67** in guten Ausbeuten zugänglich war.



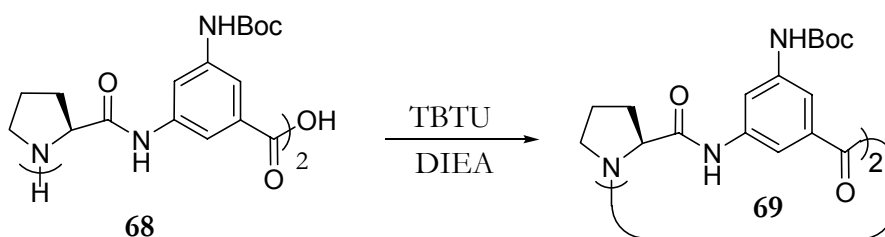
Schema 2.43: Synthese des linearen Tetrapeptids **67**.

Tetrapeptid **67** wurde nun zunächst gemäß Schema 2.44 mit Tetrakis(triphenyl-)phosphin palladium(0) und Morpholin zur freien Carbonsäure umgesetzt. Von dieser wurde dann hydrogenolytisch die Z-Schutzgruppe abgespalten und ich erhielt das vollständig entschützte lineare Tetrapeptid **68**.



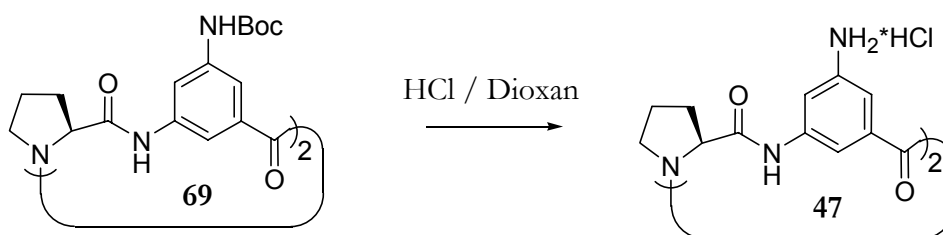
Schema 2.44: Synthese des vollständig entschützten Tetrapeptids **68**.

Dieses wurde dann mit dem Kupplungsreagenz TBTU in hoch verdünnter Lösung bei 80°C cyclisiert. Dabei erhielt ich Produkt **69** mit einer Ausbeute von 40%. Somit konnte ich erstmals Cyclopeptid **69** mit zwei Boc-geschützten aromatischen Aminogruppen auf sequentielltem Weg mit akzeptabler Ausbeute darstellen.



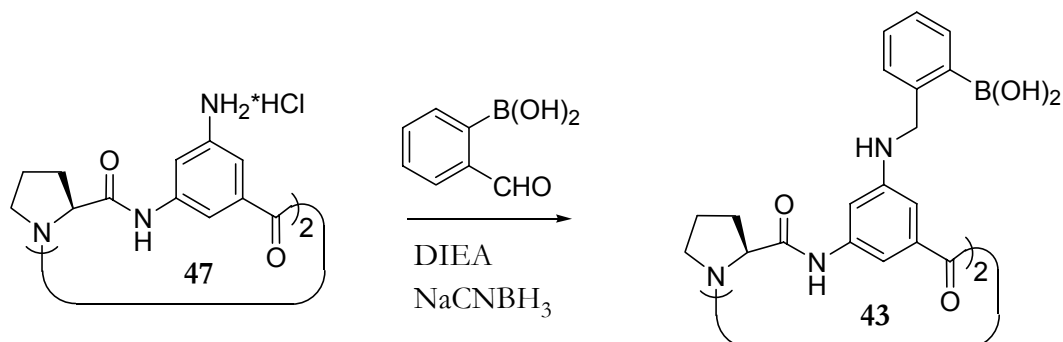
Schema 2.45: Synthese des cyclischen Tetrapeptids **47**.

Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppen mit HCl in Dioxan erhielt ich das Hydrochlorid des gewünschten cyclischen Produkts **47** (Schema 2.46).



Schema 2.46: Synthese des Cyclopeptids **47**.

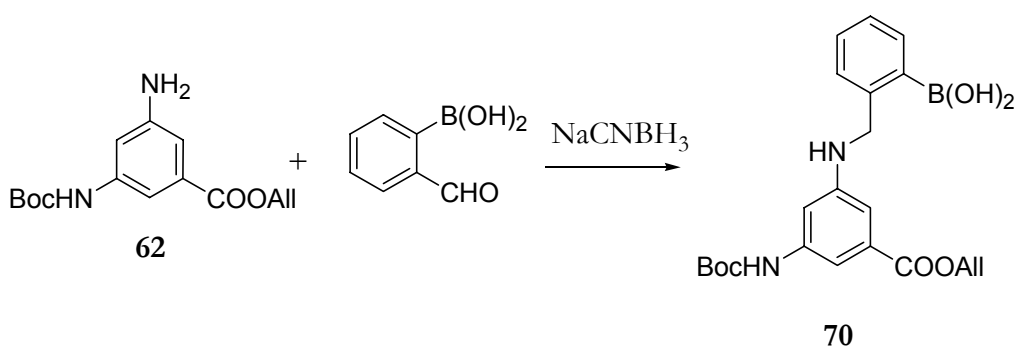
Anschließende Umsetzung von **47** mit 2-Formylphenylboronsäure und Natriumcyanoborhydrid gemäß Schema 2.47 lieferte allerdings ein Gemisch zweier Produkte, die sich säulenchromatographisch nicht voneinander trennen ließen.



Schema 2.47: Synthese des Rezeptors **43**.

Bei diesem Gemisch handelt es sich vermutlich um das gewünschte Produkt **43** und ein monosubstituiertes Nebenprodukt. Da auch die Verwendung eines größeren Überschusses Aldehyd keine Veränderung der Zusammensetzung des Reaktionsgemischs bewirkte, muß Cyclopeptid **43** wohl doch sequentiell aufgebaut werden.

Dafür muß zunächst wieder ein entsprechend substituiertes Diaminobenzoesäurederivat hergestellt werden. Hierzu wurde mono-Boc-Diaminobenzoesäureallylester **62** (Schema 2.40) mit 2-Formylphenylboronsäure und Natriumcyanoborhydrid in einer Eintopfreaktion gemäß Schema 2.48 umgesetzt.

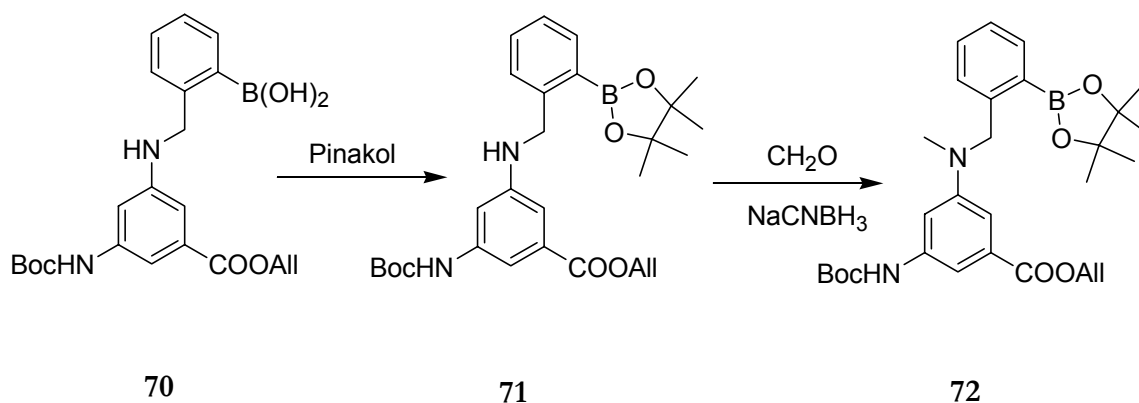


Schema 2.48: Synthese der Verbindung **70**.

Dann wurde die Boronsäure als Pinakolester geschützt, da diese Schutzgruppe unter den Bedingungen der Peptidsynthese stabil ist.

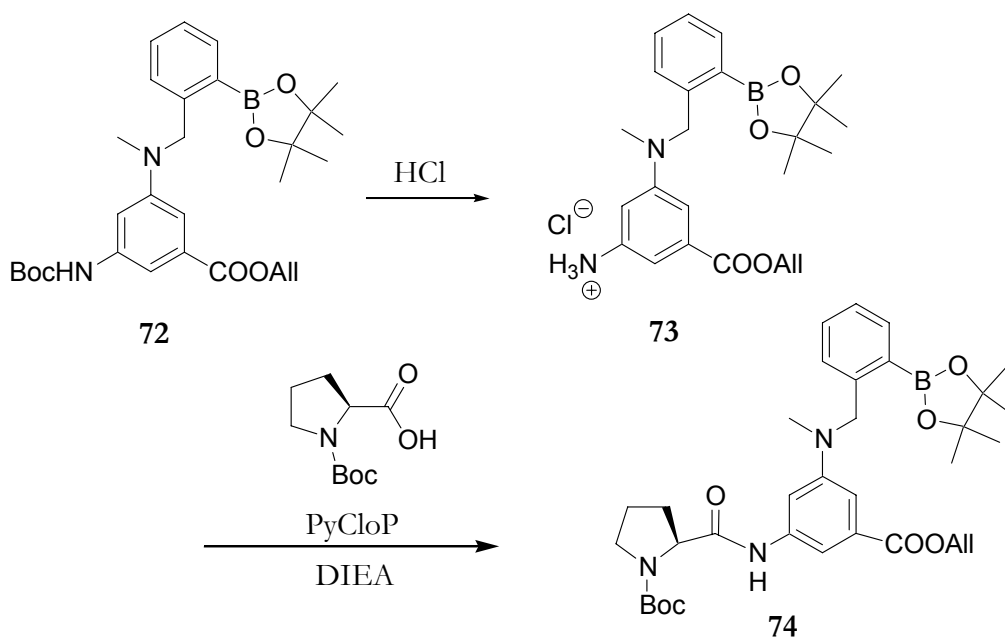
Außerdem erforderte diese Syntheseroute die Methylierung des sekundären Stickstoffatoms der Verbindung **70**, da sonst im weiteren Verlauf der Peptidsynthese mit Carbonsäuren unerwünschte Nebenprodukte gebildet werden können.

Dies wurde durch Umsetzung des Boronsäurepinakolesters **71** mit Formaldehyd und NaCNBH₃ unter Bildung von **72** erreicht (Schema 2.49).



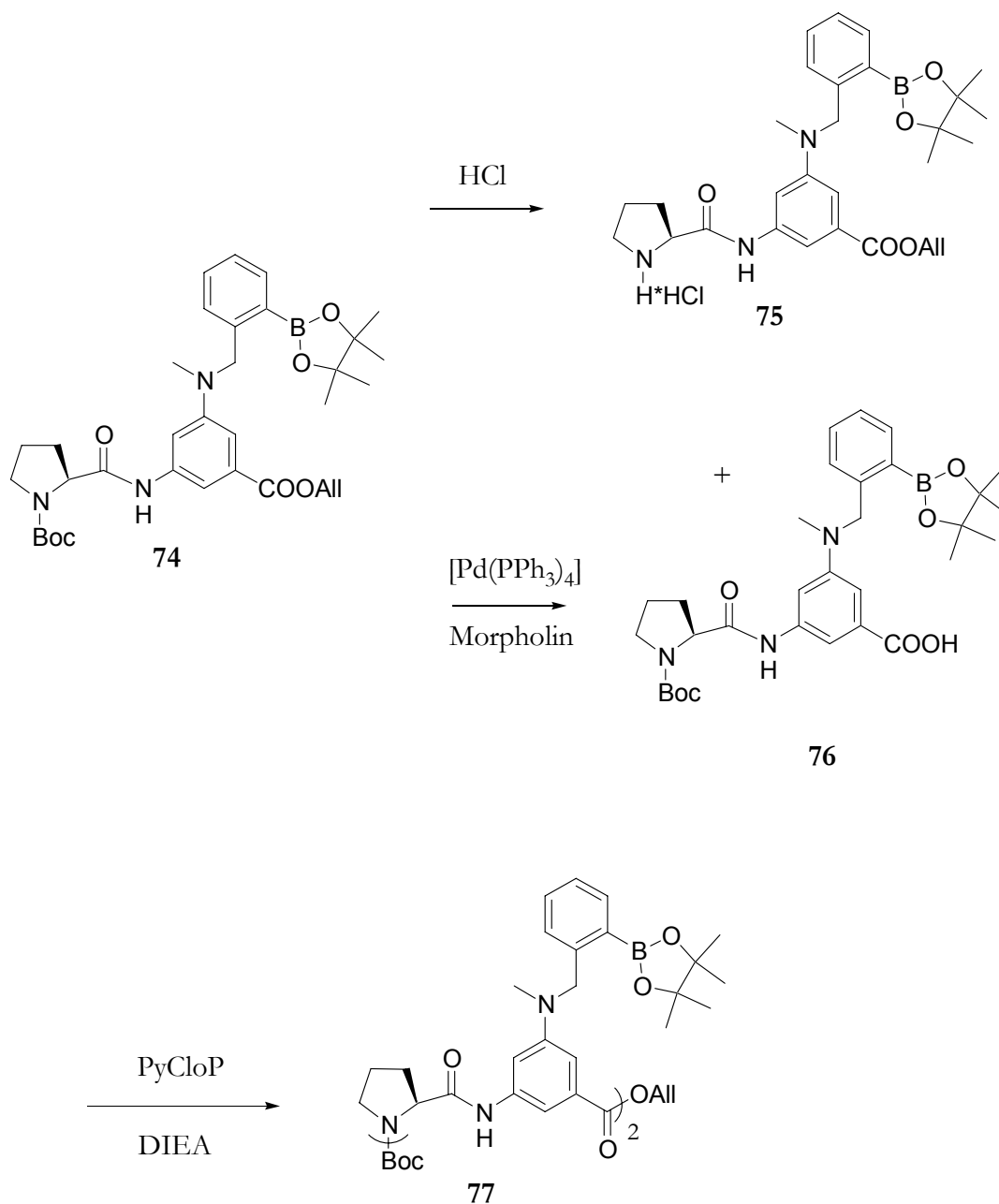
Schema 2.49: Darstellung des Boronsäurepinakolesters **72**.

Der Boronsäurepinakolester **72** wurde nun mit HCl in Dioxan Boc-entschützt und das freigesetzte Hydrochlorid **73** mit Boc-Prolin und PyCloP als Kupplungsreagenz gemäß Schema 2.50 zum Dipeptid **74** umgesetzt.



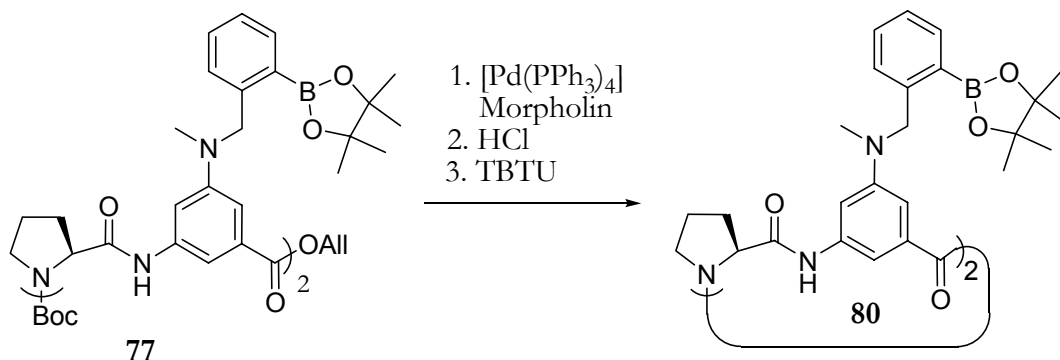
Schema 2.50: Synthese des Dipeptids **74**.

Ein Teil dieses Dipeptids wurde gemäß Schema 2.51 mit Salzsäure in Dioxan Boc-entschützt, ein äquivalenter Teil wurde palladiumkatalysiert mit Morpholin zur freien Carbonsäure umgesetzt. Nun konnten die beiden entschützten Dipeptide mit PyCloP als Kupplungsreagenz zum Tetrapeptid **77** umgesetzt werden.



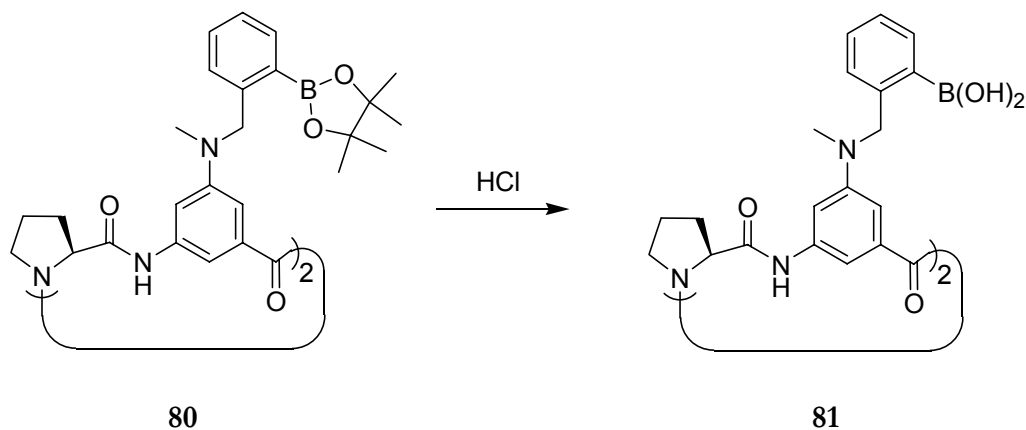
Schema 2.51: Synthese des Tetrapeptids **77**.

Das gebildete Tetrapeptid **77** wurde gemäß Schema 2.52 vollständig entschützt und mit TBTU cyclisiert. Diese Reaktion verlief mit 52% Ausbeute sehr zufriedenstellend. Somit konnte ich erstmals in dieser Arbeit ein boronsäurehaltiges Cyclopeptid **80** analysenrein herstellen.



Schema 2.52: Synthese des cyclischen Tetrapeptids **80**.

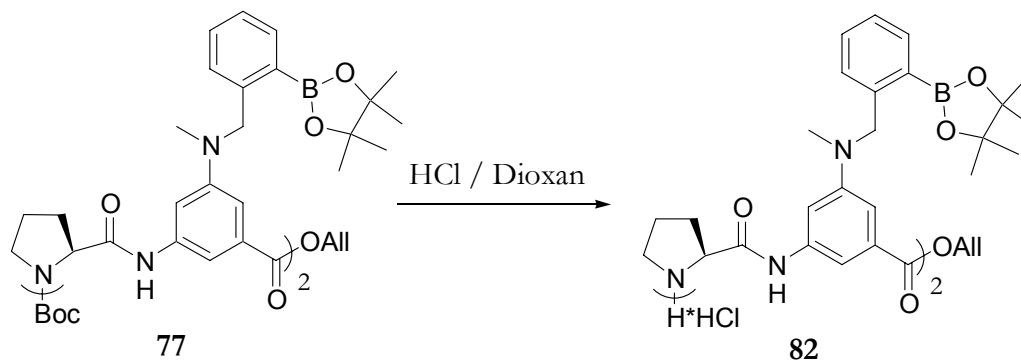
Im letzten Schritt der Synthese erfolgte die Abspaltung der Pinakolestergruppen in verdünnter Salzsäure und chromatographische Reinigung des Produkts (Schema 2.53).^[128]



Schema 2.53: Freisetzung der Diboronsäure **80**.

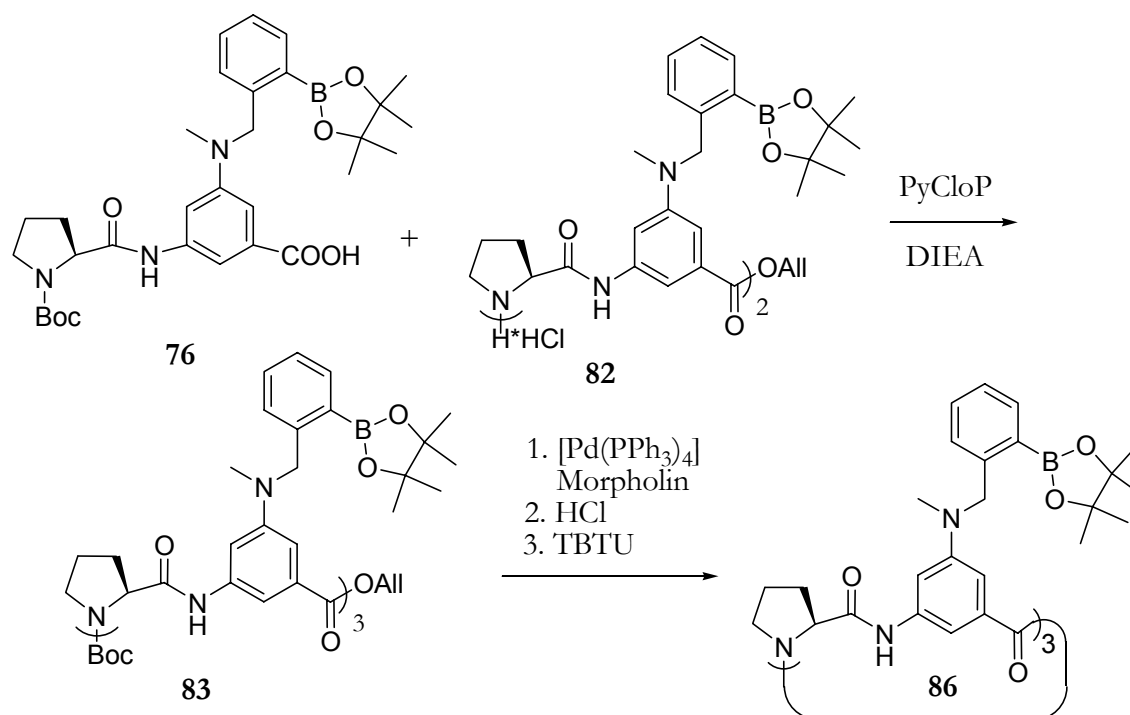
Diese Umsetzung erfolgte zwar leider nicht quantitativ, aber ich konnte immerhin 50% des Rezeptors **81** isolieren. Mir ist es also erstmals gelungen, ein cyclisches Tetrapeptid mit peripheren Boronsäuregruppen darzustellen. Die Eignung dieser Verbindung zur Kohlenhydraterkennung in wässriger Lösung habe ich eingehend untersucht. Diese Arbeiten sind in Kapitel 2.4 beschrieben.

Da die für **81** gewählte Synthesestrategie letztlich auch ein cyclisches Hexapeptid zugänglich macht, beschloß ich, auch diese Verbindung zu synthetisieren. Für diese Synthese benötigte ich das Boc-entschützte lineare Tetrapeptid **82**, das ich gemäß Schema 2.54 herstellte.



Schema 2.54: Synthese des Tetrapeptids **82**

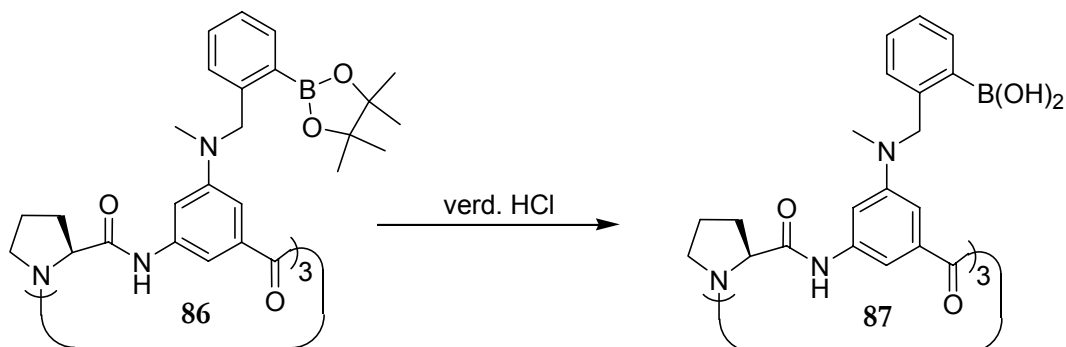
Die lineare Vorstufe des Hexapeptids erhielt ich gemäß Schema 2.55 durch Reaktion der Carbonsäure **76** mit dem Amin **82**. Anschließend erfolgte die N- und C-terminale Abspaltung der Schutzgruppen von **83** sowie Cyclisierung mit TBTU zu **86**.



Schema 2.54: Synthese des cyclischen Hexapeptids **86**.

Bei dieser Cyclisierung konnte zwar etwas weniger Produkt **86** isoliert werden als bei der des Tetrapeptids, die Ausbeute von 39% ist aber trotzdem zufriedenstellend. Damit ist es mir erstmals gelungen, auch ein cyclisches boronsäurehaltiges Hexapeptid zu synthetisieren.

Abspaltung der Boronsäurepinakolester im letzten Schritt mit verdünnter Salzsäure führte zum cyclischen Hexapeptid **87** mit drei Boronsäureseitengruppen (Schema 2.56).



Schema 2.56: Freisetzung der Triboronsäure **87**.

Mit den beiden Cyclopeptiden **81** und **87** konnte ich erstmals Strukturen realisieren, in denen Boronsäuresubstituenten um den Hohlraum eines Cyclopeptids angeordnet sind. Beide Peptide unterscheiden sich in ihrer Ringgröße und in der Anzahl der Bindungsstellen. Vorteilhaft könnte sein, daß die Methylaminogruppe durch intramolekulare Wechselwirkung mit dem Boratom der Boronsäure eine Veresterung mit Diolen bzw. Kohlenhydraten beschleunigt.

Die Verbindungen **81** und **87** stellen also neue potentielle Kohlenhydratrezeptoren dar, deren Bindungseigenschaften im Kapitel 2.4 ausführlich beschrieben sind.

2.3 Enantioselektive Kationenerkennung

2.3.1 Prinzipien der chiralen Erkennung

Die Entwicklung künstlicher Rezeptoren mit der Fähigkeit, eines der beiden Enantiomere eines Substrates selektiv zu binden, stellt eine große Herausforderung sowohl in der bioorganischen als auch in der supramolekularen Chemie dar. In den letzten Jahren wurde eine Reihe von makrocyclischen Verbindungen auf Basis von Cyclodextrinen,^[129-138] Kronenethern,^[139-152] Calixarenen^[33, 153-162] oder Cyclophanen^[163-176] entwickelt, die die beiden Enantiomere eines chiralen Substrats unterschiedlich stark binden.

Es zeigte sich, daß die Symmetrie dieser Wirte einen großen Einfluß auf ihre Enantioselektivität hat. 1985 wurde zum Beispiel von Löhr und Vögtle ein D_3 -symmetrischer Rezeptor entwickelt (Abb. 2.15), der, obwohl er chiral ist, die beiden Enantiomere eines Substrats gleich stark und daher nicht enantioselektiv bindet.^[31]

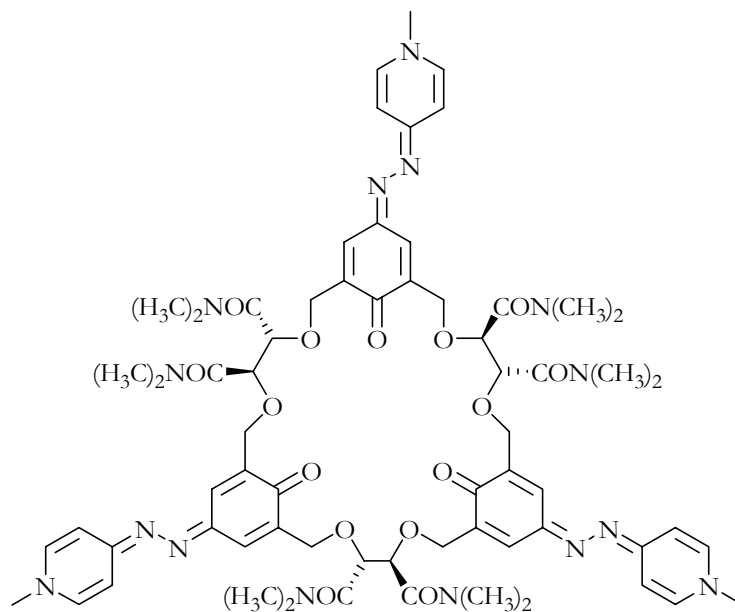


Abb. 2.15 Struktur einer chiralen azamerocyaninbaltigen Verbindung auf Kronenetherbasis.

Dieses Ergebnis hat Vögtle mit Hilfe einfacher Modellbilder, die in Abbildung 2.16 dargestellt sind, erklärt.

In der D_3 -symmetrischen Umgebung des Rezeptors macht es keinen Unterschied, ob das (*R*)- oder das (*S*)-Enantiomer eines Substrats gebunden wird, die Wechselwirkung zwischen den Substituenten des Rezeptors und denen des Gastes ist in beiden Fällen gleich.^[141] Bei C_1 -symmetrischen Rezeptoren kommt es je nach Konfiguration des Gastes zu unterschiedlichen Wechselwirkungen mit dem Rezeptor. Dieser geringe Unterschied macht sich allerdings bei der Enantioselektivität kaum bemerkbar.^[177] Abb. 2.16 zeigt, daß in C_2 -symmetrischen makrocyclischen Verbindungen sowohl der kleine als auch der mittelgroße Substituent mit den Substituenten des Rezeptors in Kontakt kommt. Daher kann bei Rezeptoren mit C_2 -Symmetrie häufig die beste Enantioselektivität beobachtet werden.

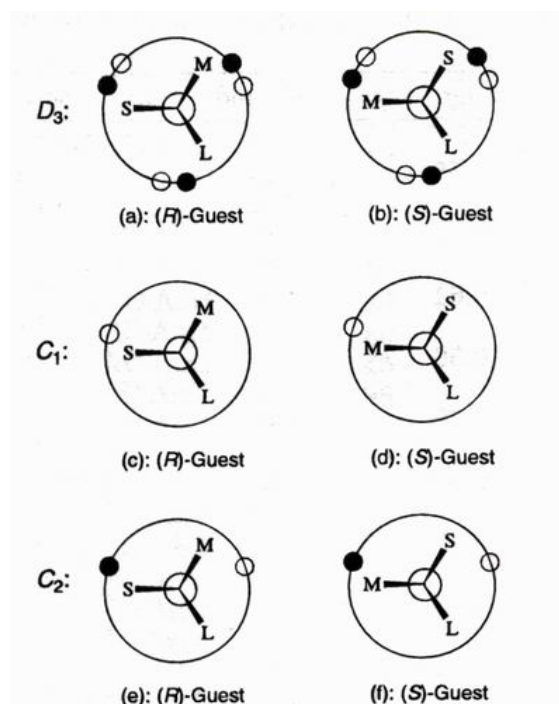


Abb. 2.16: Illustration der chiralen Erkennung eines Substrats mit einem C_1 -, C_2 - und D_3 -symmetrischen Rezeptor. ●: Substituenten über der Rezeptorebene; ○: Substituenten unter der Rezeptorebene.^[141]

In diesem Modell wird vorausgesetzt, daß Rezeptor und Substrat komplementär zueinander sind, so daß die Substituenten des Rezeptors für die chirale Erkennung eine Rolle spielen. Für D_2 -symmetrische Rezeptoren wurde ebenfalls eine hohe Enantioselektivität erwartet. Diese Vermutung konnte von Naemura und Still bestätigt werden.^[178-181]

Aufgrund der oben erwähnten Ergebnisse von Vögtle dachte man lange, daß C_3 - und D_3 -symmetrische makrocyclische Rezeptoren für die Erkennung chiraler Substrate der in Abb. 2.16 dargestellten Struktur, z.B. für Ammoniumionen, ungeeignet seien. Die wenigen Beispiele enantioselektiver C_3 -symmetrischer Rezeptoren binden dementsprechend strukturell völlig anders aufgebaute Gäste, wie z.B. Dipeptide.^[182-186] Entgegen dieser Annahme wurde jedoch 2002 von Kim und Ahn ein C_3 -symmetrischer Rezeptor, der chirale nicht quaternäre Ammoniumionen enantioselektiv bindet, vorgestellt.^[187]

Dieser in Abb. 2.17 dargestellte tripodale Oxazolinrezeptor extrahiert chirale Ammoniumionen α -arylsubstituierter Amine, wie zum Beispiel α -Phenylethylamin oder α -(1-Naphthyl)-ethylamin, enantioselektiv aus einer wässrigen in eine organische Phase. Im Unterschied dazu werden die Enantiomere des Alaninmethylesters in fast gleichen Mengen extrahiert.^[188]

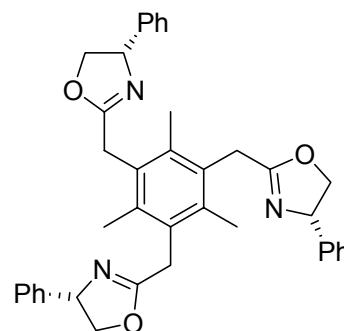


Abb. 2.17: Struktur eines tripodalen, chiralen Oxazolinrezeptors.

¹H-NMR Titrations bestätigten diese Extraktionsversuche. (*R*)-1-Phenylethylammoniumperchlorat wird in Chloroform mit einer Bindungskonstante von $K_a=19.400$ dreimal besser gebunden als das entsprechende (*S*)-Enantiomer. Die Fähigkeit dieses Rezeptors, trotz seiner C_3 -Symmetrie chirale Ammoniumionen enantioselektiv zu binden, wurde mit Hilfe des Modellbilds in Abb. 2.18 erklärt.

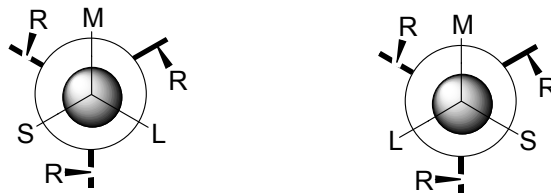


Abb. 2.18: Modellbilder der diastereomeren Komplexe zwischen dem Oxazolinrezeptor und chiralen primären Ammoniumionen.

Nach dem Modell von Vögtle wird nur die Wechselwirkung zwischen dem Substituenten des Rezeptors R und einem Substituenten des Gastes (S, M oder L) betrachtet (Zweipunktwechselwirkung). Diese ist im Falle eines C_3 -symmetrischen Rezeptors mit den beiden Enantiomeren eines chiralen Ammoniumions identisch.

Betrachtet man hingegen die Wechselwirkung zwischen dem Substituenten des Rezeptors R und zwei Substituenten des Gastes (Dreipunktwechselwirkung), so erkennt man in Abb. 2.18, daß sich diese für die beiden diastereomeren Komplexe durchaus unterscheidet.

Die größte sterische Hinderung tritt bei der Kombination L, M und R auf. Betrachtet man deren Wechselwirkung in den beiden Strukturen der Abb. 2.18, erkennt man, daß die sterische Abstoßung des Substituenten M in der rechten Struktur größer ist, da M mit dem Substituenten des Rezeptors R in direkten Kontakt kommt und sich auf dieser Seite des Rezeptors zusätzlich der größte Substituent L befindet. In der linken Struktur befindet sich auf dieser Seite des Rezeptors der kleinste Substituent S.

Demzufolge konnten Kim und Ahn für den in Abb. 2.18 links dargestellten Komplex die größere Bindungskonstante bestimmen und somit zeigen, daß auch C_3 -symmetrische Rezeptoren chirale Ammoniumionen enantioselektiv binden können.

Meine Untersuchungen in diesem Zusammenhang sind im folgenden Kapitel dargelegt.

2.3.2 Eigene Untersuchungen

Die ersten Untersuchungen zur enantioselektiven Kationenerkennung führte ich mit den in Abb. 2.19 dargestellten vier Rezeptoren **1a** - **1d** und den beiden Pikratsalzen des chiralen *N,N,N*-Trimethyl-1-phenylethylammoniumions (PETMA⁺) **R-11** und **S-11** als Gästen durch.

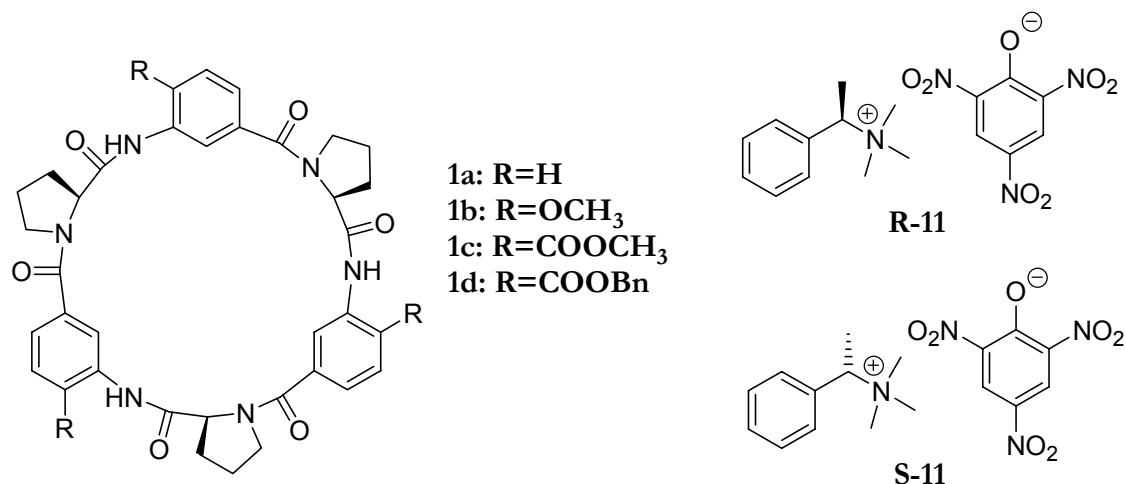


Abb. 2.19: Strukturen der drei cyclischen Hexapeptide **1a**, **1b**, **1c** und **1d** sowie der beiden Pikratsalze **R-11** und **S-11**.

Die wohl wichtigste Methode zur qualitativen und quantitativen Untersuchung von nicht-kovalenten Wechselwirkungen in der supramolekularen Chemie ist die NMR-Spektroskopie, da sich bei der Komplexbildung häufig die chemische Umgebung der Rezeptor- und/ oder Gastprotonen verändert und damit auch deren Resonanz im NMR-Spektrum. Somit kann diese Methode für nahezu alle synthetischen Rezeptorsysteme verwendet werden, die keine paramagnetischen Metallatome enthalten.

Um die Frage zu klären, ob die cyclischen Hexapeptide das PETMA⁺ Kation überhaupt binden, nahm ich ein ¹H-NMR Spektrum einer äquimolaren Mischung von **1b** und (±)-PETMA⁺-Pikrat in CDCl₃/0,1% d₆-DMSO auf. Dieses Spektrum verglich ich mit den Spektren der reinen Verbindungen im selben Lösungsmittel. Es zeigte sich, daß im Spektrum der Mischung die Signallagen des benzylichen Protons und der Trimethylprotonen deutlich zu höherem Feld verschoben sind (Abb. 2.20).

Dies ist ein typischer Effekt, der auch bei Komplexbildung achiraler Kationen mit **1b** beobachtet wurde^[92] und für eine Einlagerung des Kations in den Hohlraum des Cyclopeptids spricht. Dadurch geraten Protonen der Kationen in die Nähe der aromatischen Cyclopeptiduntereinheiten, was ihre Abschirmung erklärt. Darüber hinaus zeigen die Spektren in Abb. 2.20, daß das Komplexbildungsgleichgewicht im Vergleich zur NMR-Zeitskala schnell ist, da in den Spektren der Mischungen keine getrennten Signale für freie und ungebundene Kationen auftreten. Das Ausmaß der Änderung der chemischen Verschiebung $\Delta\delta$ bezogen auf das Signal der ungebundenen, freien Spezies (δ_0) ist dabei proportional zur Konzentration des Komplexes in der Mischung.

Ein weiteres wichtiges Ergebnis ist, daß die Signale der Gastprotonen nach Zugabe des Rezeptors **1b** in zwei Signalsätze aufspalten. Dies ist ein eindeutiger Hinweis auf die Bildung diastereomerer Komplexe. Ein Vergleich der Spektren äquimolarer Mischungen des Rezeptors **1b** mit den enantiomerenreinen Substraten **R-11** und **S-11** zeigt, daß die Protonen des (*R*)-Enantiomers durch die Komplexbildung die größeren Hochfeldshifts erfahren (Abb. 2.20).

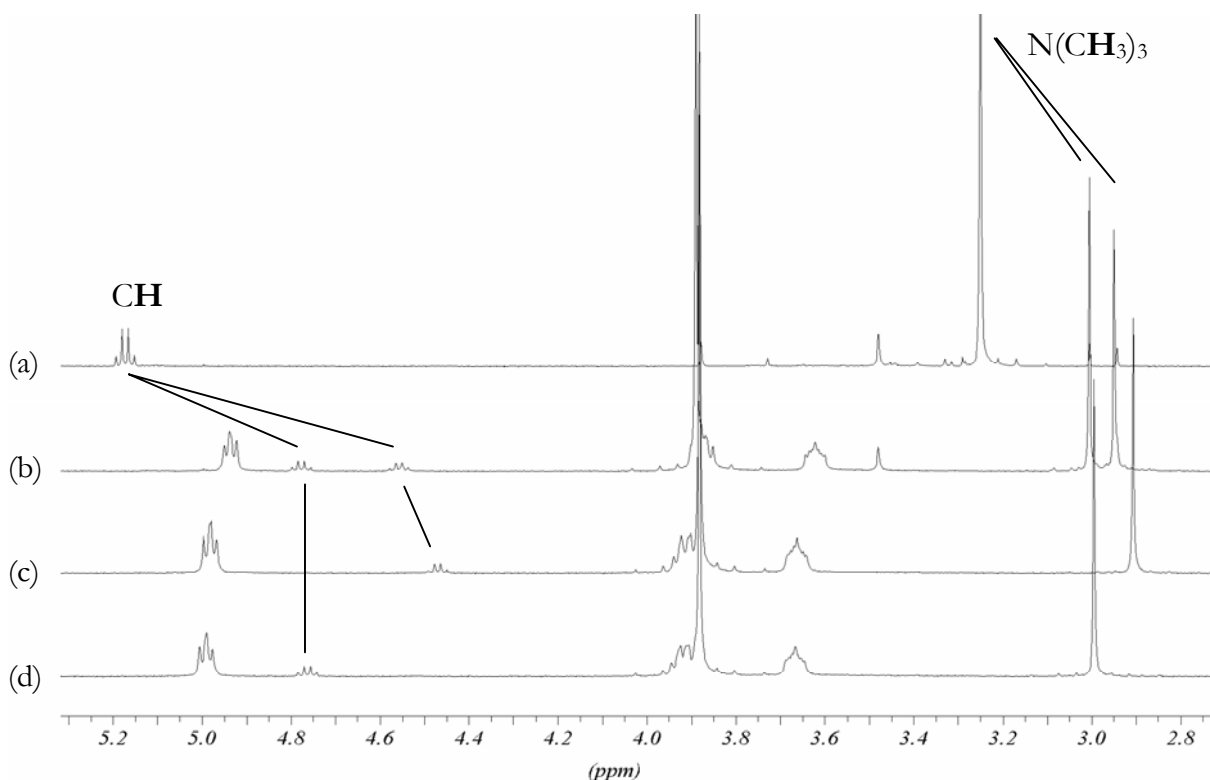


Abb. 2.20: ¹H-NMR Spektren von *rac*-**11** (a) und den Komplexen zwischen **1b** und *rac*-**11** (b), **R-11** (c) und **S-11** (d) in 0,1% d₆-DMSO/CDCl₃. Beobachtet wurden sowohl die CH, als auch die N(CH₃)₃ Protonen des Substrats.

Bevor die Assoziationskonstanten der Komplexe zwischen **1a** – **d** bestimmt werden können, muß zunächst die Komplexstöchiometrie bekannt sein. Diese kann mit Hilfe der Methode von Job,^[189, 190] welche von Blanda auf die NMR-Spektroskopie übertragen wurde,^[191] ermittelt werden.

Hierbei wird eine Reihe von Lösungen angesetzt, bei denen die Summe der Konzentrationen von Rezeptor und Substrat konstant gehalten, das Verhältnis der beiden Konzentrationen aber variiert werden. Dabei bietet sich an, den Molenbruch der beiden Verbindungen im Bereich von 0,0 bis 0,9 in Schritten von 0,1 zu verändern. Anschließend werden die NMR-Spektren der Lösungen aufgenommen. Wichtig ist, daß die beiden Verbindungen in dem gewählten Konzentrationsbereich keine Selbstassoziation aufweisen dürfen.

Allgemein gilt, daß die Konzentration des Komplexes dann am größten ist, wenn Rezeptor und Substrat in einem Verhältnis vorliegen, das der Stöchiometrie des gebildeten Komplexes entspricht. Diese Konzentration ist nicht direkt meßbar, Blanda konnte jedoch zeigen, daß die Komplexkonzentration bei schnellen Gleichgewichten dem Wert $\Delta\delta$ und, bei konstanter Gesamtkonzentration von Substrat und Rezeptor, auch dem Molenbruch der beobachteten Komponente proportional ist. Trägt man also das Produkt $\Delta\delta \cdot X$ gegen X auf, erhält man eine Kurve, die ein Maximum bei dem Molenbruch besitzt, der mit der Komplexstöchiometrie korreliert.

Stellvertretend bestimmte ich auf diese Weise die Komplexstöchiometrie für das Substrat (R)-PETMA⁺-Pikrat mit den beiden Cyclopeptiden **1b** und **1c**. Als Lösungsmittel verwendete ich wieder CDCl₃ mit 0,1% DMSO-d₆. Es ergab sich, daß die beiden Komplexe wie erwartet eine 1:1-Stöchiometrie besitzen (Abb. 2.21 und Abb. 2.22), welche auch für Komplexe dieser Cyclopeptide mit achiralen Kationen beobachtet wurde.^[92]

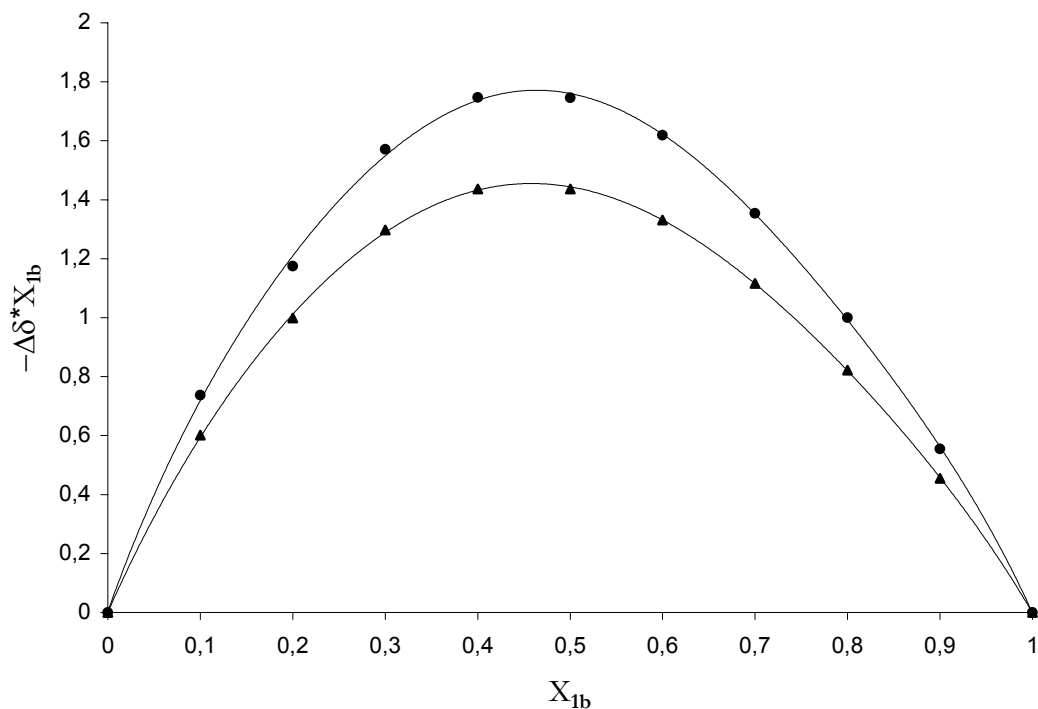


Abb. 2.21: Job-Plot des Komplexes aus **1b** und (R)-PETMA⁺-Pikrat in $CDCl_3/0,1\%$ DMSO- d_6 . Verfolgt wurden die Signale der $N(CH_3)_3$ Protonen (Dreiecke) und der CH_3 Protonen (Kreise). Beide Maxima liegen bei $X_{1b}=0,48$.

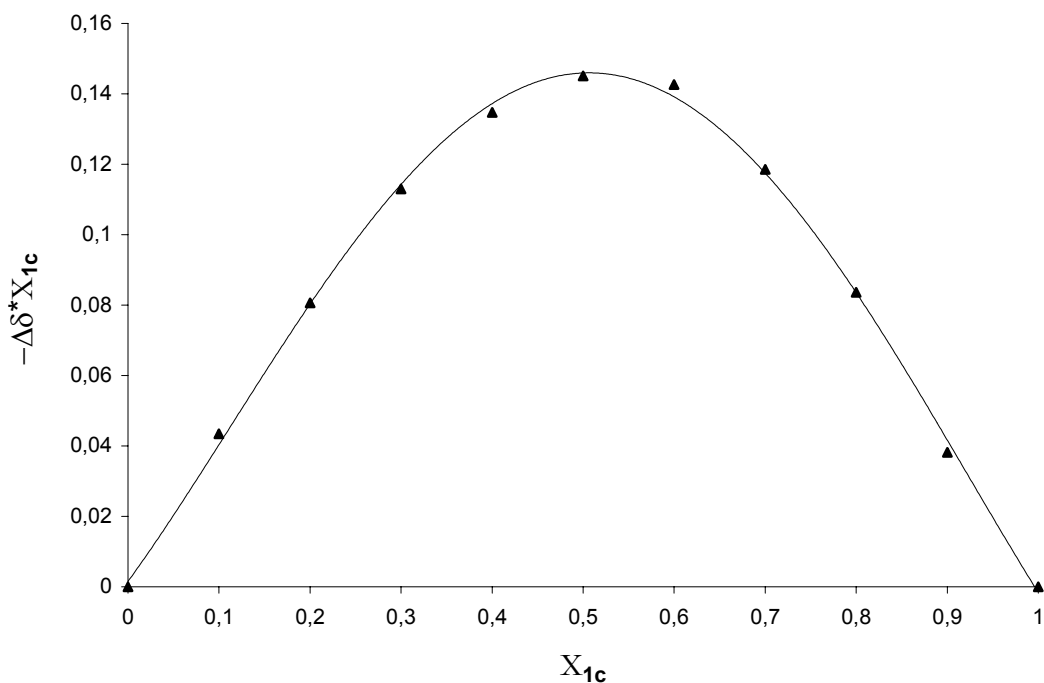


Abb. 2.22: Job-Plot des Komplexes aus **1c** und (R)-PETMA⁺-Pikrat in $CDCl_3/0,1\%$ DMSO- d_6 . Verfolgt wurde das Signal der $N(CH_3)_3$ Protonen. Das Maximum liegt bei $X_{1c}=0,51$.

Nun bestimmte ich mit Hilfe von Wirt-Gast-Titrationen die Stabilitätskonstanten der Komplexe der beiden Enantiomere (R)- und (S)-PETMA⁺-Pikrat mit den vier Cyclopeptiden **1a**, **1b**, **1c** und **1d**.

Bei dieser Methode werden zu konstanten Mengen der Verbindung, deren Signalshift verfolgt wird, steigende Mengen der anderen Komponente des Komplexes titriert. Trägt man dann die chemische Verschiebung eines geeigneten Signals im NMR-Spektrum in Abhängigkeit des Stoffmengenverhältnisses zwischen Substrat und Rezeptor auf, erhält man eine Sättigungskurve, aus der mit Hilfe einer nicht-linearen Regression die Assoziationskonstante berechnet werden kann. Aus dem Grenzwert der Sättigungskurve läßt sich die chemische Verschiebung des beobachteten Protons im Komplex berechnen. Die Konzentrationen und Stoffmengenverhältnisse sollten möglichst so gewählt werden, daß bei der Titration ein Sättigungsgrad von 75-80% erreicht wird.^[192]

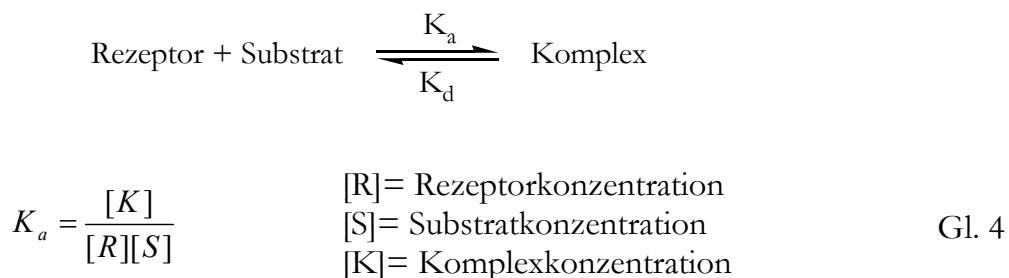
Die mathematischen Grundlagen dieses Verfahrens werden im Folgenden kurz zusammengefaßt. Der Zusammenhang zwischen der beobachteten chemischen Verschiebung δ und der chemischen Verschiebung eines Protons des freien Substrates δ_0 bzw. der chemischen Verschiebung dieses Protons im Komplex δ_{\max} in Abhängigkeit der Konzentrationen wird durch Gleichung 2 beschrieben.

$$\delta = \frac{[S]_0 - [K]}{[S]_0} \cdot \delta_0 + \frac{[K]}{[S]_0} \delta_{\max} \quad \begin{array}{l} [S]_0 = \text{Ausgangskonzentration Substrat} \\ [K] = \text{Komplekonzentration} \end{array} \quad \text{Gl. 2}$$

Gleichung 2 läßt sich in Gleichung 3 umformen.

$$\frac{\delta - \delta_0}{\delta_{\max} - \delta_0} = \frac{[K]}{[S]_0} \quad \text{Gl. 3}$$

Für den Fall einer 1:1 Stöchiometrie wird das Komplezierungsgleichgewicht durch das Massenwirkungsgesetz (Gl.4) beschrieben.



Die Konzentrationen der freien Gastverbindung [S] und die der freien Wirtverbindung [R] lassen sich gemäß Gleichung 5a und 5b aus den Einwaagekonzentrationen und [K] berechnen.

$$[R] = [R]_0 - [K] \quad \text{Gl. 5a}$$

$$[S] = [S]_0 - [K] \quad \text{Gl. 5b}$$

Durch Einsetzen dieser beiden Gleichungen in das Massenwirkungsgesetz erhält man ein quadratisches Gleichungssystem, das nach [K] aufgelöst, Gleichung 6 liefert.

$$[K] = \frac{[R]_0 + [S]_0 + K_a^{-1}}{2} - \sqrt{\frac{([R]_0 + [S]_0 + K_a^{-1})^2}{4} - [R]_0[S]_0} \quad \text{Gl. 6}$$

Gleichung 6 kann nun in Gleichung 3 eingesetzt werden. Der resultierende Ausdruck enthält als einzige Unbekannte K_a und δ_{\max} , die aus den Meßwerten der NMR-Titrationen mit Hilfe einer nicht-linearen Regression berechnet werden können.^[190, 192-194]

Stellvertretend sind in Abb. 2.23 die beobachteten Meßwerte (Punkte) und das Ergebnis der nicht-linearen Regression (Kurve) für die Titration von (R)-PETMA⁺-Pikrat mit dem Cyclopeptid **1a** dargestellt.

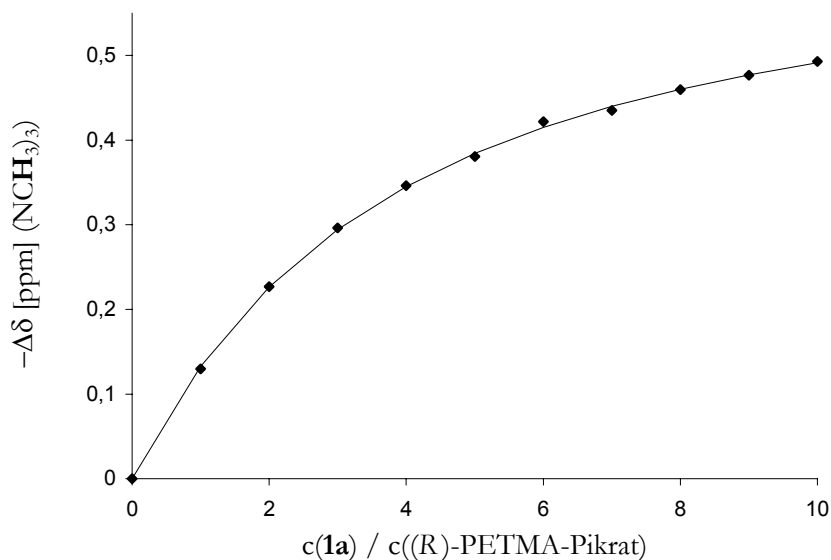


Abb. 2.23: Ergebnis der Wirt-Gast-Titration von **1a** mit (R)-PETMA⁺-Pikrat in $CDCl_3/0,1\%$ DMSO- d_6 . Interner Standard: TMS. Punkte: Meßwerte, Linie: Ergebnis der nicht-linearen Regression. Beobachtet wurde die chemische Verschiebung der $N(CH_3)_3$ -Protonen des Substrats.

In Tabelle 2.1 sind die Ergebnisse der Titrationsen aller Cyclopeptide **1a** - **1d** mit den beiden Enantiomeren des *N,N,N*-Trimethyl-1-phenylethylammoniumpikrats **R-11** und **S-11** zusammengefasst. Dabei wurde der Diastereomerenüberschuß *de* mit Hilfe von Gleichung 7 berechnet.

$$de = \frac{K_a(R) - K_a(S)}{K_a(R) + K_a(S)} \cdot 100\% \quad \text{Gl. 7}$$

Rezeptor	Gast	K_a	$\Delta\delta_{\max}$	$\Delta\Delta G$	$k_{\text{calcd.}}$	k_{exp}	<i>de</i>
1a	R-11	1580	0,66	0,43	1,19	1,12	8
	S-11	1330	0,66				
1b	R-11	1550	0,65	1,01	1,50	1,41	21
	S-11	1030	0,67				
1c	R-11	4550	0,54	0,99	1,49	1,41	20
	S-11	3050	0,54				
1d	R-11	3620	0,55	0,34	1,15	n.e.	7
	S-11	3150	0,56				

Tab. 2.1: Stabilitätskonstanten der Komplexe zwischen den Cyclopeptiden **1a-1d** und PETMA-Pikrat; $T=298\text{K}$; K_a =Assoziationskonstante in M^{-1} , Fehler <15%; $\Delta\delta_{\max}$ =maximaler Shift des Signals von $N(\text{CH}_3)_3$ in ppm; $\Delta\Delta G$ in kJ mol^{-1} ; *de*= diastereomerer Überschuss in %; k_{exp} , k_{calcd} = experimentell bestimmtes bzw. berechnetes Verhältnis der Assoziationskonstanten $K_a(\text{R})/K_a(\text{S})$; n.e. = nicht ermittelt.

Berechnet man aus den so ermittelten Daten das Verhältnis der Assoziationskonstanten $k_{\text{calcd}}=K_a(\text{R})/K_a(\text{S})$, erhält man ein Maß für die Enantioselektivität des jeweiligen Rezeptors. Ein Problem dieses Verfahrens besteht allerdings darin, daß man für die aus den NMR-Titrationsen ermittelten Stabilitätskonstanten einen Fehler von bis zu 15% berücksichtigen muß. Unterscheiden sich die gemessenen Bindungskonstanten der diastereomeren Komplexe also nicht deutlich, kann die auf diese Weise berechnete Enantioselektivität möglicherweise sehr ungenau sein.

Eine Möglichkeit, die berechnete Enantioselektivität experimentell abzusichern, besteht in der direkten Bestimmung von $K_a(\text{R})/K_a(\text{S})$ mit Hilfe einer kompetitiven NMR-Titration. Dabei wird das Racemat eines Substrats mit einem chiralen Rezeptor titriert. Unterscheidet sich durch den Einfluß der Komplexierung die Resonanz der Gastprotonen beider Enantiomere, wie in dem von mir untersuchten System, kann während einer Titration der Shift zweier Signale verfolgt werden.

Man erhält ein Paar von Sättigungskurven, aus denen das Verhältnis der Stabilitätskonstanten der beiden Komplexe direkt berechnet werden kann. Die mathematischen Grundlagen dieses Verfahrens werden im folgenden kurz zusammengefaßt.

Die relativen Konzentrationen der im Gleichgewicht vorliegenden Komplexe können durch die Verschiebung der Protonenresonanzen beider Gäste im ^1H -NMR Spektrum analog zu Gleichung 3 gemäß Gleichung 8a und 8b bestimmt werden. $\delta_{0(1)}$ und $\delta_{0(2)}$ sind die chemischen Verschiebungen der unkomplexierten Substrate, $\delta_{\max(1)}$ und $\delta_{\max(2)}$ die Resonanz der Gastprotonen der beiden Substrate im Komplex.

$$\frac{\delta_{(1)} - \delta_{0(1)}}{\delta_{\max(1)} - \delta_{0(1)}} = \frac{[K_1]}{[S_1]_0} \quad \frac{\delta_{(2)} - \delta_{0(2)}}{\delta_{\max(2)} - \delta_{0(2)}} = \frac{[K_2]}{[S_2]_0} \quad \text{Gl. 8a/8b}$$

Zwei konkurrierende Komplexierungsgleichgewichte zwischen einem Rezeptor und zwei Substraten werden durch folgende Reaktionsgleichungen beschrieben.



Die beiden Assoziationskonstanten K_{a1} und K_{a2} von K_1 und K_2 ergeben sich nach dem Massenwirkungsgesetz dementsprechend gemäß Gleichung 9a bzw. 9b. Ihr Verhältnis K_{a1}/K_{a2} ist von der Konzentration des freien Rezeptors $[\text{R}]$ unabhängig (Gl. 10).

$$K_{a1} = \frac{[K_1]}{[R][S_1]} \quad K_{a2} = \frac{[K_2]}{[R][S_2]} \quad \frac{K_{a1}}{K_{a2}} = \frac{[K_1] \cdot [S_2]}{[K_2] \cdot [S_1]} \quad \text{Gl. 9a/9b/10}$$

Setzt man in Gleichung 10 die Massenbilanzen, die sich analog zu Gleichung 5b berechnen lassen, für beide Substrate ein, erhält man einen Ausdruck (Gl. 11), der als Variablen das Verhältnis der Bindungskonstanten K_{a1}/K_{a2} und die beiden Werte für δ_{\max} enthält.^[195, 196]

$$\frac{K_{a1}}{K_{a2}} = \frac{(\delta_{(1)} - \delta_{0(1)}) \cdot (\delta_{\max(2)} - \delta_{(2)})}{(\delta_{(2)} - \delta_{0(2)}) \cdot (\delta_{\max(1)} - \delta_{(1)})} \quad \text{Gl. 11}$$

Aus den Meßdaten können im Prinzip durch Kurvenanpassung alle drei Parameter ermittelt werden. Genauer ist es jedoch, zumindest einen Wert für δ_{\max} (z.B. $\delta_{\max(1)}$) mit Hilfe einer NMR-Titration zu bestimmen, bei der nur ein Substrat verwendet wird.

Die beiden restlichen Parameter können dann durch eine nicht-lineare Regression berechnet werden. Dazu wird Gleichung 11 nach $\delta_{(1)}$ zu Gleichung 12 aufgelöst und durch ein iteratives Verfahren K_{a1}/K_{a2} und $\delta_{\max(2)}$ solange variiert, bis die berechneten Werte für $\delta_{(1)}$ mit den gemessenen am besten übereinstimmen.

$$\delta_{(1)} = \frac{\frac{K_{a1}}{K_{a2}}(\delta_{(2)} - \delta_{0(2)})\delta_{\max(1)} + (\delta_{\max(2)} - \delta_{(2)})\delta_{0(1)}}{\frac{K_{a1}}{K_{a2}}(\delta_{(2)} - \delta_{0(2)}) + \delta_{\max(2)} - \delta_{(2)}} \quad \text{Gl. 12}$$

Zur Veranschaulichung des Titrationsverlaufs sind in Abbildung 2.24 ein Stack-Plot aller zu einer kompetitiven Titration gehörenden NMR-Spektren und die daraus erhaltenen Titrationskurven dargestellt. Die Zuordnung der beiden Enantiomere zu diesen Kurven erfolgte bereits anhand Abbildung 2.20.

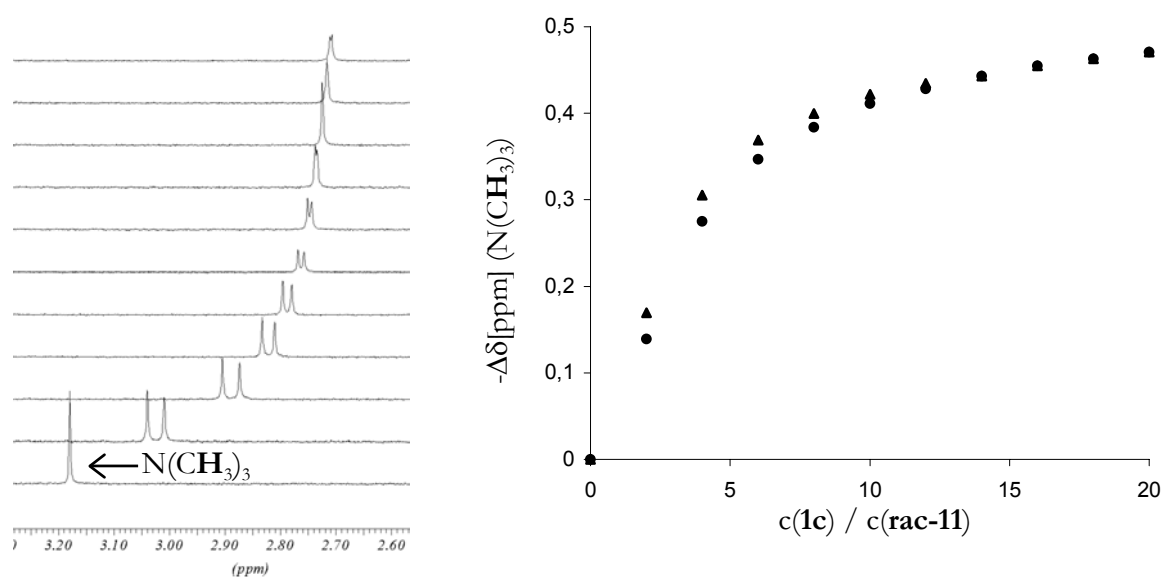


Abb. 2.24: Kompetitive Wirt-Gast-Titration von **1c** mit (\pm)-PETMA⁺-Pikrat in CDCl₃/0,1% DMSO-d₆. Interner Standard: TMS. Links: Stack-plot der NMR-Spektren, rechts: daraus gewonnene Titrationskurven, Dreiecke: **R-11**, Punkte: **S-11**. Beobachtet wurde die chemische Verschiebung der N(CH₃)₃-Protonen des Substrats.

Die bei diesen kompetitiven NMR-Titrations erhaltenen Ergebnisse sind ebenfalls in Tabelle 2.1 zusammengefasst. Wie man sieht, stimmen die berechneten Werte k_{calcd} mit den experimentell ermittelten k_{exp} sehr gut überein.

Man kann daher davon ausgehen, daß die aus diesen Untersuchungen resultierenden Selektivitäten die Affinität der Peptide **1a-1c** für die beiden PETMA⁺ Enantiomere verläßlich widerspiegeln.

Abbildung 2.24 zeigt, daß die Sättigungskurven der kompetitiven NMR-Titrationskurven der konventionellen stark ähneln. Auch hier kann man davon ausgehen, daß die stärker gekrümmte Kurve einem stabileren Komplex zuzuordnen ist. Ein Versuch, die einzelnen Sättigungskurven der kompetitiven Titration mit demselben Verfahren auszuwerten, das für die Einzeltitrationskurven verwendet wurde, zeigte erstaunlicherweise, daß weitgehend identische Stabilitätskonstanten resultieren (Tabelle 2.2).

Rezeptor	Gast	K_a	$\Delta\delta_{\max}$	k_{calcd}	K_a (kompet.)	$\Delta\delta_{\max}$	k_{calcd}
1a	R-11	1580	0,66	1,19	1300	0,66	1,21
	S-11	1330	0,66		1070	0,66	
1b	R-11	1550	0,65	1,50	1560	0,66	1,53
	S-11	1030	0,67		1010	0,70	
1c	R-11	4550	0,54	1,49	4500	0,53	1,47
	S-11	3050	0,54		3070	0,56	

Tab. 2.2: Stabilitätskonstanten der Komplexe zwischen den Cyclopeptiden **1a-1c** und PETMA-Pikrat; $T=298\text{K}$; K_a =Assoziationskonstante in M^{-1} ; $\Delta\delta_{\max}$ =maximaler Shift des Signals von $N(\text{CH}_3)_3$, in ppm; k_{calcd} =berechnetes Verhältnis der Assoziationskonstanten $K_a(\text{R})/K_a(\text{S})$.

Dies ist insbesondere auch deshalb verwunderlich, da für die Auswertung die Gesamtkonzentrationen des Substrats und nicht die Konzentration der einzelnen Enantiomere, welche nur halb so hoch ist, verwendet wurden. Eine Erklärung für die gute Übereinstimmung der Daten liefert aber folgende mathematische Betrachtung.

Bei geringer Enantioselektivität ist die Konzentration der beiden Komplexe $[K_1]$ und $[K_2]$ praktisch gleich groß. Zusätzlich sind die Ausgangskonzentrationen der beiden Substrate $[S_1]_0$ und $[S_2]_0$ ebenfalls gleich groß. Damit erhält man für die beiden konkurrierenden Reaktionen im Gleichgewicht folgende Massenbilanzen.

$$[\text{R}] = [\text{R}]_0 - [\text{K}_1] - [\text{K}_2] \quad \text{Gl. 13a}$$

$$[\text{S}_1] = [\text{S}]_0 / 2 - [\text{K}_1] \quad \text{Gl. 13b}$$

$$[\text{S}_2] = [\text{S}]_0 / 2 - [\text{K}_2] \quad \text{Gl. 13c}$$

Setzt man nun $[K_1]=[K_2]=2[K]$, erhält man durch Einsetzen von 13a-c in die Gleichungen 9a und 9b folgende Gleichungen 14a und 14b.

$$K_{a1} = \frac{[K]}{([R]_0 - [K])([S]_0 - [K])} \quad K_{a2} = \frac{[K]}{([R]_0 - [K])([S]_0 - [K])} \quad \text{Gl. 14a/14b}$$

Beide entsprechen den Massenwirkungsgesetzen eines einzelnen Komplexbildungsgleichgewichts. Das zweite Gleichgewicht ist darin berücksichtigt, hat aber aufgrund der geringen Enantioselektivität der Rezeptoren auf das Ergebnis nur einen geringen Einfluß.

Auch wenn diese Vorgehensweise Stabilitätskonstanten liefert, die mit größeren Fehlern behaftet sind als die der Einzeltitrationen, stellt sie doch eine schnelle und einfache Methode dar, absolute Bindungskonstanten aus einer kompetitiven Titration zu ermitteln. Voraussetzung ist allerdings, daß die Enantioselektivität des Rezeptors nicht zu hoch ist, und daß die Ausgangskonzentrationen der beiden Substrate identisch sind, was bei Verwendung des Racemats einer chiralen Verbindung der Fall ist.

Zu den Ergebnissen in Tabelle 2.1 läßt sich sagen, daß alle untersuchten Cyclopeptide das (*R*)-Enantiomer von PETMA⁺ besser als das (*S*)-Enantiomer binden. Dabei ist die Enantioselektivität der beiden substituierten Cyclopeptide **1b** und **1c** höher als die des unsubstituierten Cyclopeptids **1a**. Eine Erklärung hierfür verdeutlichen die 3D-Strukturen dieser drei Cyclopeptide in Abb. 2.25.

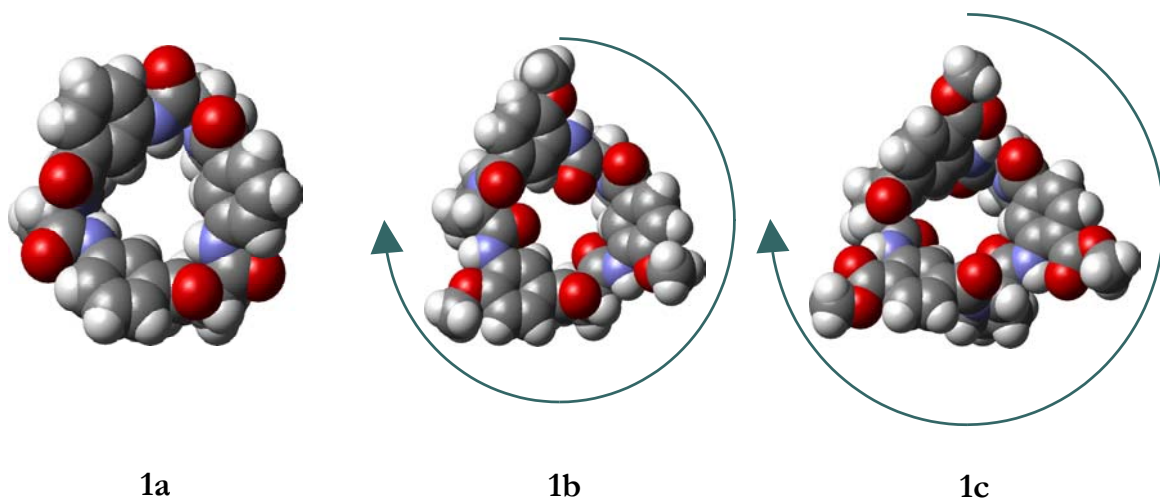


Abb. 2.25: 3D-Strukturen der drei Cyclopeptide **1a**, **1b** und **1c**.

Bei allen Cyclopeptiden erfolgt die Komplexbildung durch Einlagerung des Kations in den schalenförmigen Hohlraum. Die asymmetrisch substituierten Kohlenstoffatome der L-Prolinuntereinheiten, die für die Chiralität der Cyclopeptide unter anderem verantwortlich sind, sind allerdings recht weit von diesem Hohlraum entfernt. Die 3D-Struktur von Cyclopeptid **1a** in Abb. 2.25 verdeutlicht, daß der Hohlraum recht symmetrisch ist. In **1b** und **1c** sind die Substituenten des Cyclopeptids in unmittelbarer Nähe des Hohlraums angeordnet. Es ist daher anzunehmen, daß sie die Komplexgeometrie und damit einhergehend die Enantioselektivität der Rezeptoren durch sterische Faktoren direkt beeinflussen können.

Vergleicht man die Kationenaffinität der Rezeptoren **1c** und **1d** miteinander, so stellt man fest, daß die zusätzlichen aromatischen Substituenten in **1d** keine Erhöhung der Komplexstabilität bewirken. Tatsächlich ist die Kationenaffinität von **1d** sogar geringer als die von **1c**. Eine kooperative Verstärkung der Kationenbindung durch zusätzliche Kation- π -Wechselwirkungen kann also ausgeschlossen werden. Der sterische Anspruch der Benzylester scheint bei der Komplexbildung eher zu stören. Letztendlich zeigen diese Ergebnisse eindeutig, daß alle vier Cyclopeptide das chirale quaternäre Ammoniumion PETMA⁺ enantioselektiv binden können.

Im nächsten Schritt untersuchte ich nun den Einfluß des Gegenions sowohl auf die Größenordnung der Assoziationskonstanten, als auch auf die Enantioselektivität. Diese Untersuchungen habe ich auf Cyclopeptid **1b** beschränkt. Als Gegenion verwendete ich zunächst das von Lacour entwickelte phosphorhaltige, lipophile Anion BINPHAT⁻. In enantiomerenreiner Form bildet dieses Anion mit chiralen, quaternären Ammoniumionen, wie zum Beispiel PETMA⁺, diastereomere Salze, wobei sich die Resonanz der Kationenprotonen im NMR für beide Enantiomere des Kations deutlich unterscheidet. Dies ermöglicht den Einsatz von BINPHAT⁻ als chirales Shiftreagenz in der NMR-Spektroskopie.^[99]

Die Verwendung von PETMA⁺ BINPHAT⁻ Salzen in NMR-Titrationen mit den von mir untersuchten Cyclopeptiden führte jedoch zu nicht auswertbaren Ergebnissen, da das Signal der Trimethylammoniumprotonen in den verschiedenen Spektren sowohl zu höherem als auch zu niedrigerem Feld verschoben war. Da sich die Lösungen außerdem über Nacht gelb färbten, muß man annehmen, daß sich das BINPHAT⁻ Anion in Lösung zersetzt und eine Verwendung dieses Anions in dem von mir untersuchten System ausgeschlossen ist. Ich entschied mich daher, die Untersuchungen in Gegenwart der ebenfalls von Lacour entwickelten TRISPHAT⁻ Anionen durchzuführen, da diese in Lösung deutlich stabiler sind.

Tatsächlich erhielt ich während einer Titration von PETMA^+ TRISPHAT $^-$ Salzen mit **1b** gut auswertbare NMR-Spektren, die eine Bestimmung der Stabilitätskonstante der gebildeten Komplexe nach dem üblichen Verfahren erlaubten. Ich habe dementsprechend alle Salze **R/S-15c**, **R/S-15b** und **R/S-15a** mit **1b** titriert. Als Beispiel sind in Abb. 2.26 die NMR-Spektren und die Sättigungskurve der Titration von **1b** mit **R-15a** abgebildet. Zur Veranschaulichung sind in Abb. 2.27 zusätzlich die Strukturen dieser beiden Verbindungen dargestellt.

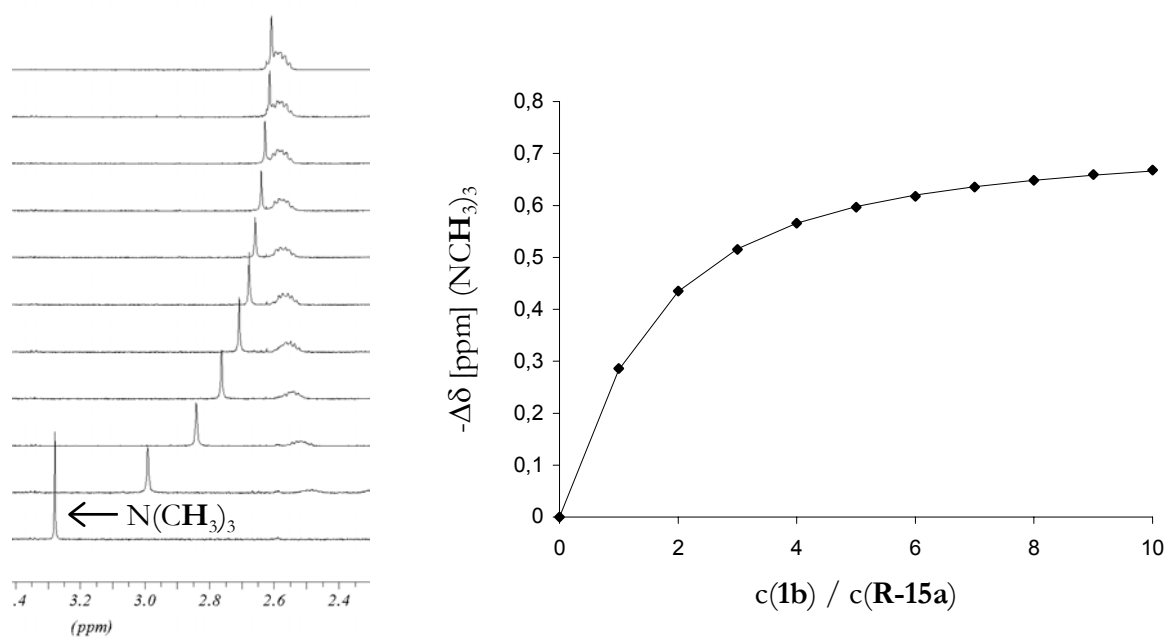


Abb. 2.26: Wirt-Gast-Titration von **1b** mit (R) -PETMA $^+$ - (Δ) -TRISPHAT $^-$ in $\text{CDCl}_3/0,1\%$ DMSO- d_6 . Interner Standard: TMS. Links: Stack-plot der NMR-Spektren, rechts: daraus gewonnene Titrationskurve. Beobachtet wurde die chemische Verschiebung der $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ -Protonen des Substrats.

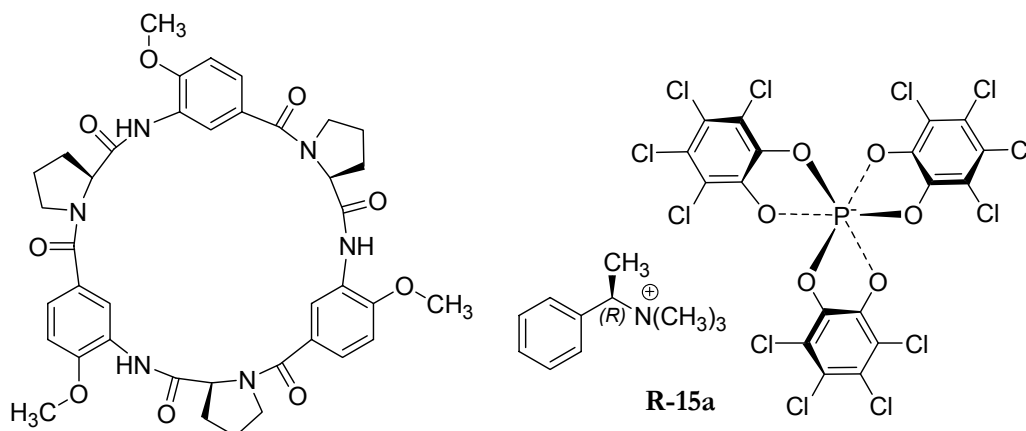


Abb. 2.27: Strukturen des Cyclopeptids **1b** und des PETMA $^+$ TRISPHAT $^-$ Salzes **R-15a**.

Tabelle 2.3 enthält die Ergebnisse aller Titrationsen.

Gast	K_a	$\Delta\delta_{\max}$	$\Delta\Delta G$	$k_{\text{calcd.}}$	k_{exp}	de
R-15c	2900	0,69	0,82	1,39	1,35	16
S-15c	2080	0,71				
R-15b	4410	0,69	0,98	1,49	1,52	20
S-15b	2980	0,71				
R-15a	5070	0,74	1,60	1,90	1,69	31
S-15a	2660	0,80				

Tab. 2.3: Stabilitätskonstanten der Komplexe zwischen dem Cyclopeptid **1b** und PETMA-TRISPHAT Salzen. $T=298\text{K}$; K_a =Assoziationskonstante in M^{-1} , Fehler $<15\%$; $\Delta\delta_{\max}$ =maximaler Shift des Signals von $N(\text{CH}_3)_3$ in ppm; $\Delta\Delta G$ in kJ mol^{-1} ; de= diastereomerer Überschuss in %; k_{exp} , k_{calcd} = experimentell bestimmtes bzw. berechnetes Verhältnis der Assoziationskonstanten $K_a(\text{R})/K_a(\text{S})$.

Wie erwartet sind die Bindungskonstanten aller Komplexe in Gegenwart von TRISPHAT größer als in Gegenwart von Pikrat. Hierfür kann nach Untersuchungen von Roelens zum Einfluß von Anionen auf die Kationenaffinität künstlicher Rezeptoren die geringere Ladungsdichte des lipophilen TRISPHAT Anions verantwortlich gemacht werden.^[94, 95]

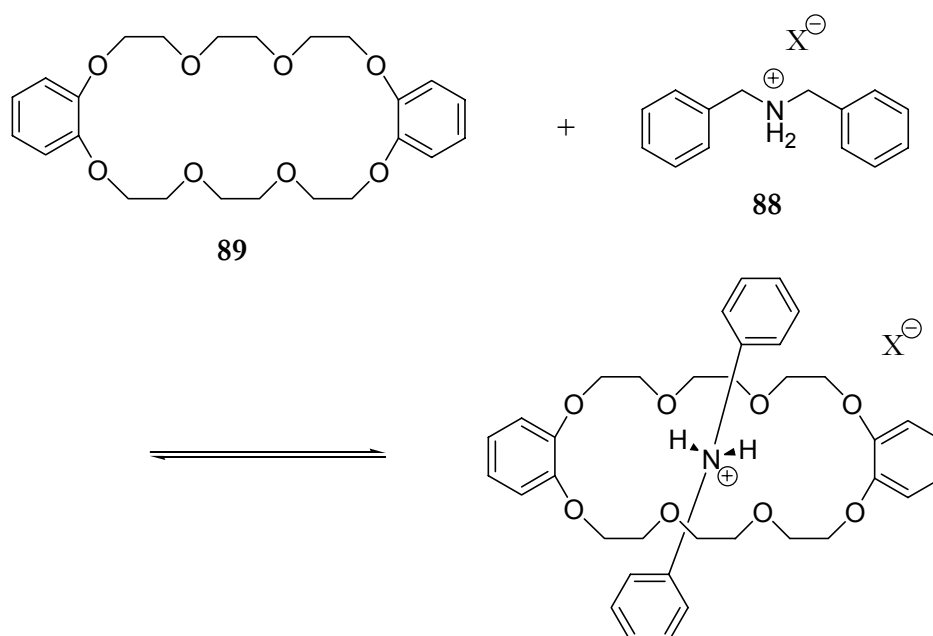
Zusätzlich erkennt man, daß die Konfiguration des Anions sowohl auf die Komplexstabilität als auch auf die Enantioselektivität einen deutlichen Einfluß hat. Dabei sind die Komplexe in Gegenwart von (Δ)-TRISPHAT tendenziell stabiler als in Gegenwart von (Λ)-TRISPHAT. Darüber hinaus ist auch die Enantioselektivität der Kationenerkennung in Gegenwart von (Δ)-TRISPHAT größer als in Gegenwart von (Λ)-TRISPHAT. Racemisches TRISPHAT nimmt eine Zwischenstellung ein, wobei sich hierfür die Enantioselektivität der Kationenkomplexierung von der in Gegenwart achiraler Pikratanionen bestimmten nicht unterscheidet.

Wie kann man den beobachteten Anioneneffekt auf die Kationenbindung von **1b** erklären? Zur Beantwortung dieser Frage muß man zunächst unterscheiden, ob die TRISPHAT-Salze in Chloroform, dem für die NMR-Titrationsen verwendeten Lösungsmittel, dissoziieren oder nicht.

Nimmt man an, daß die Salze in Chloroform undissoziiert vorliegen, wird vom Rezeptor bei der Komplexbildung das gesamte Ionenpaar gebunden. Da die Komplexe von **1b** mit **R-15c**, **S-15c**, **R-15a** und **S-15a** diastereomer zueinander sind, sollten sie unterschiedlich stabil sein, was auch beobachtet wird.

Kommt es in Lösung allerdings zu einer Dissoziation des Salzes, wird das System komplizierter, da bei der Beschreibung der Komplexbildung ein vorgelagertes Dissoziationsgleichgewicht des Salzes berücksichtigt werden muß.

Die Wechselwirkung zwischen ungeladenen Wirrmolekülen und ionischen Gastmolekülen wurde vor kurzem eingehend von Gibson untersucht. Gibson zeigte, daß Dissoziationsgleichgewichte von Salzen einen erheblichen Einfluß auf die Bestimmung von Stabilitätskonstanten mit NMR-Titrationen haben können. Ein Beispiel hierfür ist die Komplexbildung zwischen einem Dibenzylammoniumsalz **88** und Dibenzo-24-Krone-8 **89** gemäß Schema 2.57.^[197]



Schema 2.57: Komplexbildung zwischen Dibenzo-24-Krone-8 **89** und dem Dibenzylammoniumsalz **88**; X =Trifluoracetat (TFA).

In diesem System ist die durch NMR-Titration bestimmte Bindungskonstante sowohl von der Rezeptor- als auch von der Salzkonzentration abhängig. Um diese Konzentrationsabhängigkeit zu erklären, berücksichtigt Gibson ein vorgelagertes Dissoziationsgleichgewicht des Salzes gemäß Gleichung 15 (K_{ipd} =Dissoziationskonstante des Ionenpaares).



Die eigentliche Stabilitätskonstante des Komplexes beschreibt nur die Komplexbildung des Kations. Bei den NMR-Titrations wird allerdings die in Lösung vorhandene Kationenkonzentration mit der Gesamtkonzentration des Salzes gleichgesetzt, was nach Gleichung 15 offensichtlich nicht zulässig ist. Gibson entwickelte dementsprechend einen mathematischen Formalismus, mit dem man aus NMR-Titrations sowohl die Dissoziationskonstante eines Salzes als auch die wahre Stabilitätskonstante des Kationenkompleses ermitteln kann. Ob bei der Bestimmung von Stabilitätskonstanten der Komplexe zwischen geladenen Gästen und ungeladenen Rezeptoren eine vorgelagerte Salzdissoziation berücksichtigt werden muß, ergibt sich nach Gibson aus der Konzentrationsabhängigkeit der bestimmten Stabilitätskonstanten. Sind diese bei verschiedenen Konzentrationen von Wirt und Gast unterschiedlich, muß man eine Salzdissoziation berücksichtigen, im anderen Fall nicht.

Ich habe dementsprechend die Konzentrationsabhängigkeit der Assoziationskonstanten der Komplexe zwischen **1b** und den in Tab. 2.3 genannten TRISPHAT-Salzen untersucht. Hierfür habe ich gemäß Gleichung 16 K_a an jedem Punkt einer NMR-Titration berechnet.^[198]

$$K_a = (\Delta\delta / \Delta\delta_{\max}) / [1 - (\Delta\delta / \Delta\delta_{\max})] \{ [\mathbf{1b}]_0 - (\Delta\delta / \Delta\delta_{\max}) [\mathbf{R-15a}]_0 \} \quad \text{Gl. 16}$$

Als Beispiel ist in Tabelle 2.4 das Ergebnis für die Titration von **R-15a** mit **1b** gezeigt.

$[\mathbf{1b}]_0$ (mM)	$[\mathbf{R-15a}]_0$ (mM)	$\Delta\delta$ (ppm)	$\Delta\delta / \Delta\delta_{\max}$	K_a (M^{-1})
0.20	0.20	0.286	0.389	5140
0.40	0.20	0.435	0.588	5050
0.60	0.20	0.515	0.696	4970
0.80	0.20	0.566	0.765	5030
1.00	0.20	0.597	0.806	4970
1.20	0.20	0.618	0.835	4890
1.40	0.20	0.635	0.859	4950
1.60	0.20	0.648	0.876	4970
1.80	0.20	0.660	0.892	5070
2.00	0.20	0.668	0.903	5090

Tab. 2.4: Stabilitätskonstanten des Komplexes zwischen dem Cyclopeptid **1b** und **R-15a** in Abhängigkeit von der Rezeptorausgangskonzentration. $T=298K$; K_a =Assoziationskonstante in M^{-1} ; $\Delta\delta$ = Shift des Signals von $N(\text{CH}_3)_3$ in ppm; $\Delta\delta_{\max}$ = maximaler Shift des Signals von $N(\text{CH}_3)_3$ in ppm.

Dabei ist $[\mathbf{1b}]_0$ die Ausgangskonzentration des Rezeptors, $[\mathbf{R-15a}]_0$ die Ausgangskonzentration des Substrats, $\Delta\delta$ die beobachtete und $\Delta\delta_{\max}$ die maximale chemische Verschiebung der Trimethylammoniumprotonen.

Tabelle 2.4 zeigt eindeutig, daß die so ermittelten Assoziationskonstanten an jedem Punkt der Titration fast identisch und somit nicht von der Ausgangskonzentration des Substrats abhängig sind. Daher ist es sehr unwahrscheinlich, daß bei der Komplexbildung ein vorgelagertes Dissoziationsgleichgewicht berücksichtigt werden muß.

Diese Annahme wird durch drei weitere unabhängige Experimente bekräftigt. Erstens zeigte eine Verdünnungsreihe von **R-15a** im Konzentrationsbereich von 2 bis 0,02 mM, daß in 0,1% DMSO-d₆/CDCl₃ das Signal der Trimethylammoniumprotonen in allen beobachteten NMR-Spektren praktisch die gleiche chemische Verschiebung aufweist. Dies demonstriert, daß in diesem Konzentrationsbereich dieselbe Spezies in Lösung vorliegt.

Zweitens hängen die Ergebnisse der NMR-Titrations nicht davon ab, ob die Substrat- oder die Rezeptorkonzentration variiert werden. Verfolgt man zum Beispiel während einer Titration, bei der die Konzentration von **1b** konstant gehalten und die von **R-15a** verändert wird, das Signal der H_α-Protonen des Cyclopeptids, erhält man die in Abb. 2.28 dargestellte Sättigungskurve.

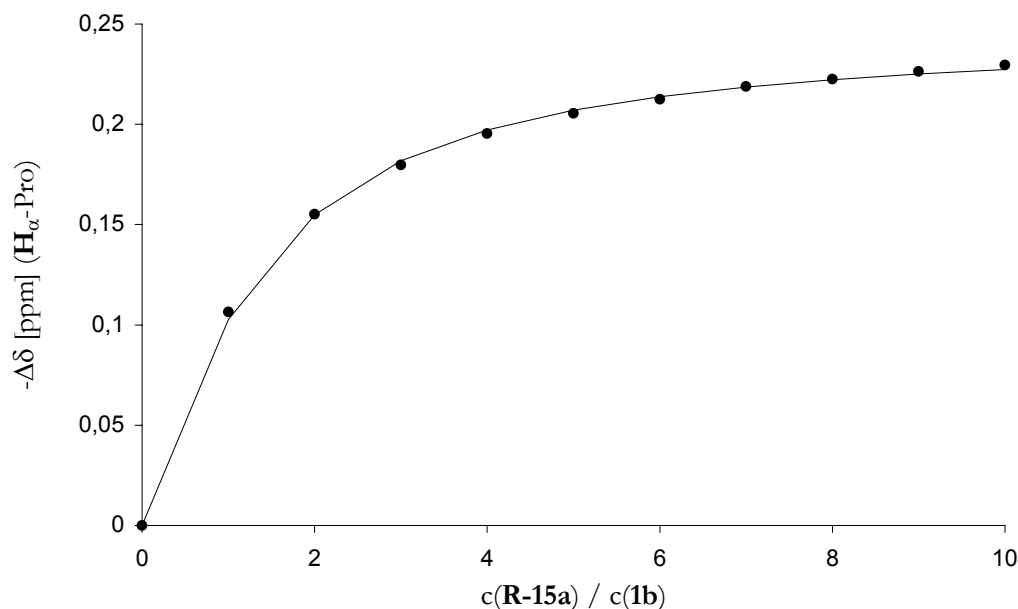


Abb. 2.28: Ergebnis der Wirt-Gast-Titration von (R)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻ mit **1b** in CDCl₃/0,1% DMSO-d₆. Interner Standard: TMS. Punkte: Meßwerte, Linie: Ergebnis der nicht-linearen Regression. Beobachtet wurde die chemische Verschiebung der H_α-Protonen des Rezeptors.

Die aus dieser Kurve durch nicht-lineare Regression ermittelte Assoziationskonstante beträgt 4800 M^{-1} . Dieser Wert stimmt sehr gut mit der Bindungskonstante von 5070 M^{-1} überein, die ich aus der umgekehrten Vorgehensweise erhalten habe (Tab. 2.3).

Berücksichtigt man drittens die Diffusions-NMR Untersuchungen von Lacour,^[199] die zeigen, daß TRISPHAT-Salze in Chloroform vollständig aggregiert vorliegen, kann man davon ausgehen, daß quaternäre Ammonium-TRISPHAT Salze in dem gewählten Konzentrationsbereich und Lösungsmittelgemisch von **1b** als Ionenpaare gebunden werden.

Die Tatsache, daß Komplexe, die sich nur in der Konfiguration des Anions unterscheiden, unterschiedlich stabil sind, zeigt also, daß das Anion, obwohl es nicht direkt vom Rezeptor gebunden wird, indirekt als Bestandteil des Ionenpaars Einfluß auf die Komplexstruktur nimmt. Nach der Interpretation von Roelens können Anionen durch Ladungsverschiebung im Kation, welche durch das Anion im engen Ionenpaar verursacht wird, einen Einfluß auf die Wechselwirkung eines künstlichen Rezeptors mit Kationen nehmen.^[94] Dabei ist die Ladungsumverteilung umso größer, je höher die Ladungsdichte des Anions ist, da dadurch eine höhere Ladungsdichte an der Kontaktstelle zwischen Anion und Kation zu erwarten ist. An der Kontaktstelle zwischen Kation und Rezeptor ist dagegen die positive Ladungsdichte herabgesetzt, was die Wechselwirkung schwächt. Da es sich bei den Salzen **R-15a** und **R-15c** um Diastereomere handelt, könnte auch hier die Ladungsverteilung im Kation unterschiedlich sein. Berücksichtigt man aber die geringe Ladungsdichte im TRISPHAT-Anion, ist es unwahrscheinlich, daß dieser Effekt einen Unterschied in den Stabilitätskonstanten der beiden Komplexe um einen Faktor von fast zwei erklärt. Sehr viel plausibler ist, daß sterische Effekte des Anions die Komplexstabilität beeinflussen. Offensichtlich erlaubt die Struktur des Ionenpaars **R-15a** eine enge Wechselwirkung zwischen dem Kation und **1b**, während sterische Wechselwirkungen zwischen **1b** und dem Λ -konfigurierten TRISPHAT Anion die Bindung des entsprechenden Kations schwächen.

Dies würde gleichzeitig bedeuten, daß die TRISPHAT Anionen im Komplex in unmittelbarer Nähe zum Cyclopeptid angeordnet sind. Leider geben die $^1\text{H-NMR}$ Spektren darüber keine direkte Auskunft, da TRISPHAT Anionen keine Protonen besitzen. Der Hochfeldshift des Signals der Pikratanionen bei Komplexbildung der Salze (R)-PETMA⁺ Pikrat **R-11** und (S)-PETMA⁺ Pikrat **S-11** zeigt aber, daß sich dieses Anion im Komplex sehr wahrscheinlich tatsächlich in der Nähe der aromatischen Untereinheiten des Cyclopeptids befindet.

Diese Interpretation steht im Einklang mit Befunden zur Komplexbildung von Pikrat-salzen mit Calixarenen^[95] und Kronenethern mit aromatischen Untereinheiten.^[200]

Um zu untersuchen, ob man einen ähnlichen Effekt auch bei der Komplexbildung von Salzen beobachtet, die Anionen enthalten, welche TRISPHAT Anionen strukturell ähneln, jedoch Protonen enthalten, habe ich auch die Komplexbildung des Salzes **R-91** mit **1b** NMR-spektroskopisch verfolgt. Bei diesem Salz handelt es sich um ein Gemisch aus (R)-PETMA-(R,R, Δ)-HYPHAT **R-90a** und (R)-PETMA-(R,R, Λ)-HYPHAT **R-90b** (d.e.=40%), weshalb die benzylicchen Protonen des Anions diastereomer zueinander und ihre chemischen Verschiebungen im ¹H-NMR unterschiedlich sind.^[201]

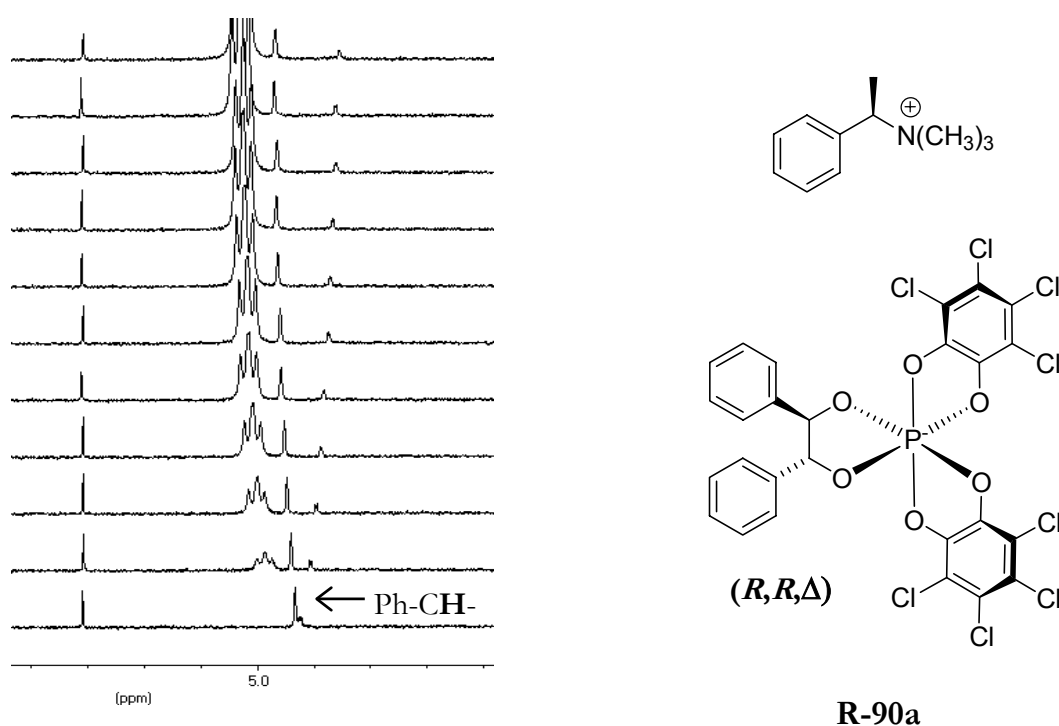


Abb. 2.29: Stack Plot einer Titration des Salzes **R-91** mit dem Cyclopeptid **1b**.

In Abbildung 2.29 ist der Teil des ¹H-NMR Spektrums abgebildet, in dem der Einfluß der Wechselwirkung von **1b** mit **R-91** auf die Resonanz der benzylicchen Protonen des Anions zu erkennen ist. Wie man sieht, shiftet mit zunehmender Cyclopeptidkonzentration das Signal des überwiegenden HYPHAT Diastereomers zu tiefem Feld, während das Signal des anderen Diastereomers zu hohem Feld verschoben wird.

Dies zeigt zweierlei: Zum einen gelangen die HYPHAT Anionen im Komplex tatsächlich in unmittelbare Nähe des Cyclopeptids. Darüber hinaus zeigt das Ergebnis aber auch eindeutig, daß sich die Struktur der beiden gebildeten Komplexe unterscheiden muß, denn in einem Komplex befinden sich die benzyllischen Protonen des Anions in einer mehr entschirmenden Umgebung, während die Protonen im anderen Komplex mehr abgeschirmt werden. Offensichtlich kann die Struktur eines Anions, auch wenn es nicht direkt von einem Rezeptor gebunden wird, die Struktur und Stabilität des gebildeten Komplexes deutlich beeinflussen.

Dieses Ergebnis demonstriert dementsprechend einen wichtigen Aspekt des Effekts von Anionen auf die Kationenaffinität künstlicher Rezeptoren, der bisher wenig beachtet wurde. In den meisten Untersuchungen wurde der Anioneneffekt eher auf elektronische als auf sterische Effekte der Anionen zurückgeführt.^[94, 95]

Interessanterweise ist das untersuchte System darüber hinaus ein ungewöhnliches Beispiel für eine matched/mismatched Situation bei der Bildung supramolekularer Aggregate. Die Komplexierung von **R-15a** durch **1b** stellt in diesem Zusammenhang den matched Fall dar, da der gebildete Komplex am stabilsten ist. Eine Inversion der Konfiguration des Anions oder Kations führt zu weniger stabilen Komplexen, d.h. die Wechselwirkung ist mismatched. Der am wenigsten stabile Komplex wird aber gebildet, wenn man die Konfiguration des Anions und des Kations invertiert.

2.4 Enantioselektive Kohlenhydraterkennung

2.4.1 Bekannte Rezeptoren

Eine Reihe von chiralen künstlichen Rezeptoren zur enantioselektiven Erkennung von Kohlenhydraten ist bekannt. Dabei muß man zwischen solchen unterscheiden, die ihre Substrate mit Hilfe von nicht-kovalenten Wechselwirkungen binden^[53] und solchen, die Boronsäuresubstituenten für die Substratbindung ausnutzen.

Da ich mich in meiner Arbeit nur mit dem zweiten Typ von Rezeptoren beschäftigt habe, stelle ich an dieser Stelle nur Beispiele für chirale boronsäurehaltige Rezeptoren vor. So wurde von Shinkai der in Abb. 2.30 dargestellte Rezeptor **92** entwickelt und im Hinblick auf seine Kohlenhydrataffinität in wäßrigen Lösungsmitteln untersucht.^[73]

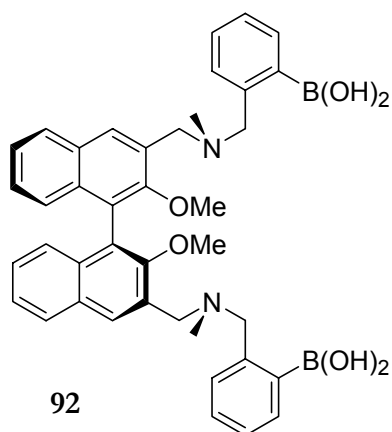


Abb. 2.30: Struktur eines chiralen Kohlenhydratrezeptors **92** auf Boronsäurebasis.

Monosaccharid	D K_a	L K_a
Fructose	10.000	3.160
Glucose	2.000	1.260

Tab. 2.5: Stabilitätskonstanten des Komplexes zwischen Rezeptor **92** und Fructose bzw. Glucose in Abhängigkeit von der Substratkonfiguration. K_a in M^{-1} .

Mit Fluoreszenztitrationen ermittelte Shinkai die Stabilität der Komplexe zwischen **92** und den Enantiomeren der Fructose und Glucose. In beiden Fällen wurde das D-Enantiomer besser gebunden als das L-Enantiomer (Tab. 2.5), wobei die Enantioselektivität für Fructose deutlich höher war als für Glucose.

Mit der Synthese eines rigideren Boronsäurerezeptors versuchte Shinkai, die Enantioselektivität zu erhöhen. Der in Abb. 2.31 dargestellte Rezeptor **93** war aber nur für das Substrat Xylose enantioselektiv. Die Enantiomere anderer Monosaccharide wurden mit fast identischen Assoziationskonstanten gebunden.^[202]

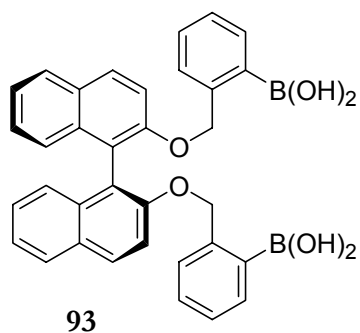


Abb. 2.31: Struktur des chiralen Kohlenhydratrezeptors **93** auf Boronsäurebasis.

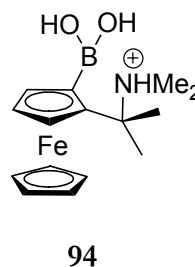


Abb. 2.32: Struktur eines chiralen Kohlenhydratrezeptors **94** auf Ferrocenbasis.

Ein weiterer von Shinkai entwickelter Rezeptor, der Monosaccharide enantioselektiv bindet, basiert auf einem boronsäurehaltigem Ferrocen (Abb. 2.32). Die Stabilitätskonstanten zwischen **94** und einigen Kohlenhydratderivaten ermittelte Shinkai elektrochemisch. Die Enantioselektivität wurde mit dem (*R*)- und (*S*)-Enantiomer von **94** untersucht und es zeigte sich, daß diese für D-Sorbitol am größten ist ($D/L = 1,4$).^[203]

Als letztes Beispiel seien noch die ebenfalls von Shinkai entwickelten Salen-Co(II) Komplexe **95** und **96** erwähnt (Abb. 2.33). Mit CD-spektroskopischen Untersuchungen konnte zum Beispiel für Xylose eine Enantioselektivität von $L/D=1,7$ beobachtet werden.

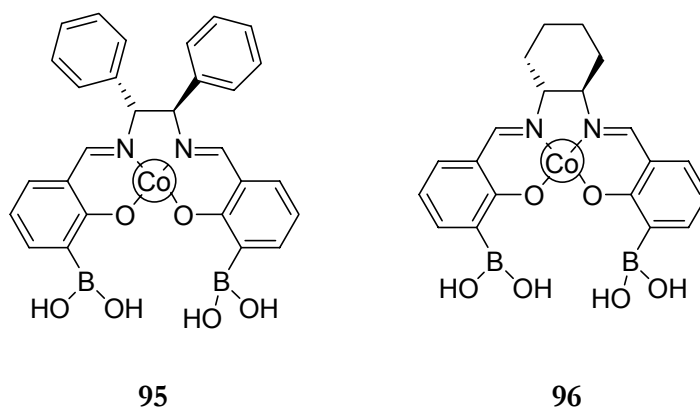


Abb. 2.33: Strukturen der chiralen Salen-Co(II) Komplexe **95** und **96**.

Im folgenden Kapitel fasse ich meine Ergebnisse zur enantioselektiven Kohlenhydraterkennung mit den von mir synthetisierten boronsäurehaltigen Cyclopeptiden zusammen.

2.4.2 Eigene Untersuchungen

Um die Frage zu klären, ob das cyclische Tetrapeptid **81** (Abb. 2.34) mit Monosacchariden überhaupt eine Wechselwirkung eingeht, nahm ich zunächst $^1\text{H-NMR}$ Spektren des reinen Peptids und von Mischungen aus **81** und steigender Menge D-Glucose auf (Abb. 2.35). Als Lösungsmittel wählte ich $\text{D}_2\text{O}/\text{MeOD}$ 1:1. Um sicher zu gehen, daß der Komplex gebildet wird, stellte ich die Lösungen mit NaOD auf $\text{pD}=11,7$ ein. Diese Bedingungen haben sich bereits in einigen anderen Fällen für die Untersuchung der Wechselwirkung zwischen boronsäurehaltigen Rezeptoren und Kohlenhydraten bewährt.^[67, 204, 205]

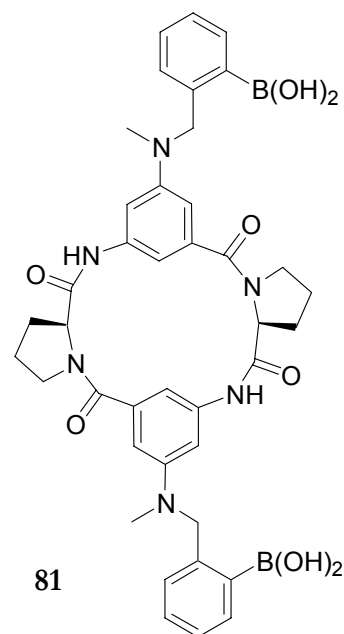


Abb. 2.34: Struktur des Rezeptors **81**.

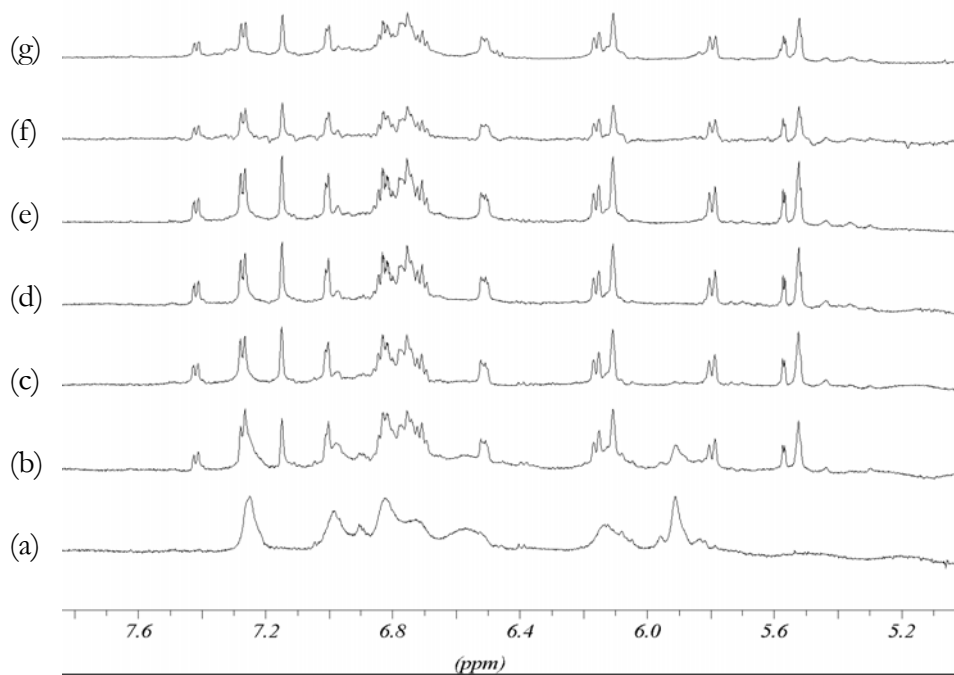


Abb. 2.34: $^1\text{H-NMR}$ Spektren von **81** (1 mM, a) und Mischungen zwischen **81** (1 mM) und D-Glucose (0,5 mM, b; 1 mM, c; 2 mM, d; 5 mM, e; 10 mM, f und 25 mM, g) in $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$ ($\text{pD}=11,7$).

Im NMR Spektrum des reinen Cyclopeptids sind nur breite Signale zu erkennen. Nach Zugabe eines halben Äquivalents D-Glucose treten im Resonanzbereich aromatischer Protonen zwischen 5,5 und 5,6 ppm, bei 5,8 ppm, bei 7,15 ppm und bei 7,4 ppm neue Signale auf, die einem Komplex mit dem Monosaccharid zugeordnet werden können, da D-Glucose selbst keine aromatischen Protonen besitzt. Ein Signal des reinen Rezeptors bei 5,9 ppm nimmt in der Intensität ab und die restlichen Cyclopeptidsignale werden schärfer.

Im Spektrum einer Lösung, die eine äquimolare Mischung von **81** und D-Glucose enthält, verschwindet das Signal bei 5,9 ppm vollständig. Die neu hinzugekommenen Signale ändern weder ihre Lage noch ihre Intensität. Eine Erhöhung der Glucosekonzentration führt selbst bei 25-fachem Überschuß nicht zu einer weiteren Änderung des NMR-Spektrums, was als Hinweis auf die Bildung eines stabilen 1:1 Komplexes gewertet werden kann.

Spektrum b in Abb. 2.35 zeigt, daß das Gleichgewicht der Komplexbildung zwischen **81** und Glucose langsam auf der NMR-Zeitskala ist. Komplexstöchiometrie und – stabilität solcher langsamen Gleichgewichte können prinzipiell ebenfalls NMR-spektroskopisch quantifiziert werden. Dazu müssen nur Signale des freien Gasts oder Rezeptors und entsprechende Signale des Komplexes integriert werden, um das Verhältnis von Komplex und unkomplexierten Bestandteilen in Lösung zu ermitteln. Voraussetzung ist aber, daß im Spektrum geeignete scharfe und von anderen Signalen gut separierte Peaks vorhanden sind, die zur Auswertung herangezogen werden können. Dies ist in dem von mir untersuchten System aber nicht gegeben, weswegen die NMR-Spektroskopie in diesem Fall keine geeignete Methode zur Bestimmung der Komplexstöchiometrie und - stabilität darstellt.

Im Laufe der Untersuchungen zeigte sich jedoch, daß **81** fluoresziert.^[206, 207] Falls die Wechselwirkung von **81** mit Glucose zu einer Veränderung des Fluoreszenzspektrums führt, könnte die Fluoreszenzspektroskopie zur Bestimmung von Stabilitätskonstanten herangezogen werden.

Um dies zu untersuchen, stellte ich eine 50µM Cyclopeptidlösung in Methanol/Wasser 1:1 (pH=11,7) her und nahm das Fluoreszenzspektrum dieser Lösung auf. Die Anregungswellenlänge, bei der die Intensität der Emissionsbande bei 480 nm am größten ist, beträgt 290 nm. Zugabe von D-Glucose zu dieser Lösung bewirkte eine Abnahme der Fluoreszenzintensität auf die Hälfte des ursprünglichen Werts. Dieser Vorgang dauert allerdings ungefähr zwei Stunden, was ein erster Hinweis darauf ist, daß die Komplexbildung trotz basischer Katalyse langsam verläuft.

Führt man den gleichen Versuch in neutralem Wasser durch, beobachtet man überhaupt keine Abnahme der Intensität. Offensichtlich ist also der erhoffte Nachbargruppeneffekt der Stickstoffatome im Cyclopeptid **81** nicht wirksam und eine Komplexbildung in neutralem Wasser nicht möglich. Ein Grund hierfür könnte sein, daß die Nukleophilie der aromatischen Stickstoffatome in **81** doch zu gering ist, um die Veresterung der Boronsäure zu katalysieren.

Daher wurden alle weiteren Untersuchungen zur Komplexbildung von Monosacchariden mit dem Rezeptor **81** in alkalischer Lösung bei pH=11,7 durchgeführt.

Zur Ermittlung der für die fluoreszenzspektroskopische Untersuchung der Wechselwirkung von **81** mit Monosacchariden notwendigen Parameter untersuchte ich zunächst die Kinetik der Komplexbildung zwischen **81** und D-Glucose. Dazu mischte ich eine 10 μM Rezeptorlösung mit einer 100 μM Monosaccharidlösung im Verhältnis 1:1 und verfolgte die Fluoreszenzintensität I_F mit der Zeit. Das Ergebnis dieser Messung ist in Abb. 2.36 dargestellt.

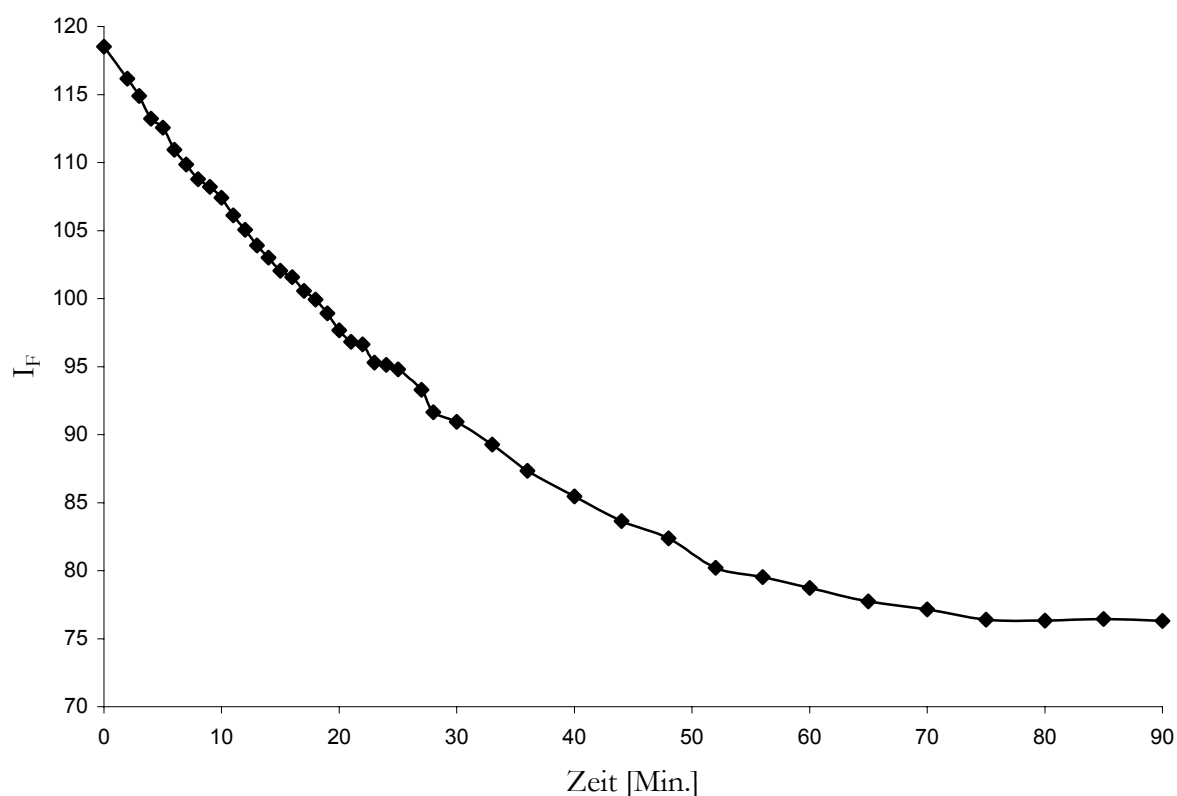


Abb. 2.36: Abnahme der Fluoreszenzintensität während der Komplexbildung zwischen **81** und D-Glucose.

Diese Kurve zeigt, daß sich das Gleichgewicht der Komplexbildung in diesem Fall nach 90 Minuten eingestellt hat. Eine Veränderung der Ausgangskonzentrationen von Wirt und/oder Gast hat natürlich einen Einfluß auf diesen Zeitraum. So stellt sich in konzentrierteren Lösungen das Gleichgewicht schneller ein. Um jedoch sicher zu gehen, daß sich in allen Proben einer Fluoreszenztitration bei der Messung das Gleichgewicht vollständig eingestellt hat, entschied ich mich dazu, die Proben vor Aufnahme der Spektren zwei Stunden äquilibrieren zu lassen.

Als nächstes muß geklärt werden, welche Zusammensetzung die gebildeten Komplexe aus **81** und zum Beispiel D-Glucose besitzen. Auch ohne Anbindung an ein Cyclopeptid oder eine andere makrocyclische Grundstruktur werden Boronsäuren unter geeigneten Bedingungen immer mit Boronsäuren wechselwirken. Die Bildung eines 2:1 Komplexes, in dem zwei Glucosemoleküle an die beiden Boronsäurereste von **81** gebunden sind, ist also immer zu erwarten. Nur wenn beide Boronsäuren kooperativ mit einem Monosaccharidmolekül wechselwirken, also 1:1 Komplexe gebildet werden, kann man davon ausgehen, daß die Struktur des Tetrapeptids einen Einfluß auf die Komplexstabilität hat. Darüber hinaus kann die Anordnung der Boronsäurereste von **81** die Substratselektivität und die Chiralität des Rezeptors möglicherweise auch die Enantioselektivität beeinflussen.

Daher mußte ich zunächst überprüfen, welche Stöchiometrie die Kohlenhydratkomplexe von **81** besitzen.

Die Ermittlung der Komplexstöchiometrie nach der Methode von Job ist mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen problematisch, da sowohl die Veränderung der Rezeptorkonzentration als auch die der Komplexkonzentration Einfluß auf die Spektren haben. Im Unterschied dazu ist die Signallage der Protonen in der NMR-Spektroskopie weitgehend konzentrationsunabhängig. Durch die überlagerten Effekte kann der Fehler bei der Bestimmung der Komplexstöchiometrie mit Hilfe der Fluoreszenzspektroskopie sehr groß sein.

Eine alternative Methode, um die Stöchiometrie eines Komplexes zu ermitteln, ist die Massenspektrometrie. Bei Verwendung milder Ionisationsverfahren, wie der Electrospray Ionisation (ESI), kann diese Methode sogar die Untersuchung der Stöchiometrie nichtkovalent aggregierter Komplexe gestatten, was z.B. von Kubik erfolgreich für die Anionenkomplexierung mit Cyclopeptiden gezeigt werden konnte.^[208, 209]

Da es sich bei der Kohlenhydratbindung mit Boronsäuren um kovalente Wechselwirkungen handelt, ist es sehr wahrscheinlich, daß die gebildeten Aggregate ebenfalls massenspektrometrisch nachgewiesen werden können und aus ihrer Masse auf die Komplexstöchiometrie geschlossen werden kann.

Um die Stöchiometrien der Komplexe zwischen verschiedenen Monosacchariden und Rezeptor **81** zu ermitteln, nahm ich also ESI-Massenspektren mit 40-fachem Überschuß Monosaccharid auf. Als Lösungsmittel wählte ich Methanol/Wasser 1:1, wobei der pH-Wert des Wassers mit Natronlauge auf pH=11,7 eingestellt wurde. Der hohe Überschuß des Gastes wurde gewählt, um sicher zu gehen, daß 1:1 und 2:1 Komplexe in Lösung nebeneinander vorliegen. Findet man in einem Spektrum also nur einen 2:1 Komplex, kann man annehmen, daß der 1:1 Komplex zwar gebildet werden kann, dieser jedoch instabil ist und leicht in einen 2:1 Komplex übergeht. Andererseits zeigt ein Spektrum, in dem trotz des hohen Gastüberschusses vorwiegend ein 1:1 Komplex nachgewiesen werden kann, daß dieser eine hohe Stabilität besitzt.

In Abb. 2.37 ist das erhaltene Massenspektrum der Komplexbildung zwischen **81** und D-Glucose dargestellt (negativer Modus).

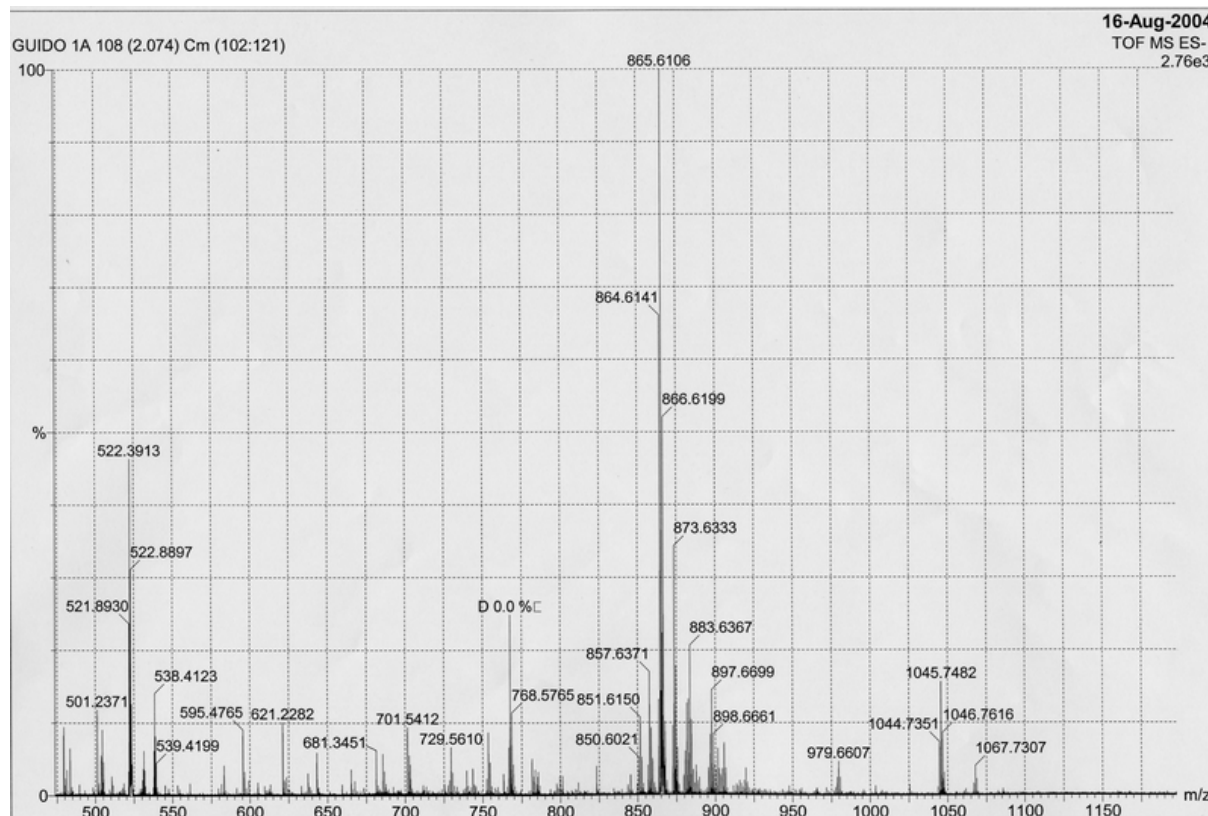


Abb. 2.37: ESI-Massenspektrum von **81** und 40-fachem Überschuß D-Glucose.

In diesem Spektrum ist das Signal bei $m/z=865,6$ das intensivste. Es entspricht der Masse eines 1:1-Komplexes zwischen **81** und D-Glucose [**81**·D-Glucose- H^+].

Die Signale bei $m/z=522,4$ und bei $m/z=1045,7$ können einem 2:1-Komplex zugeordnet werden, wobei die geringere Masse der eines zweifach negativ geladenen 2:1-Komplexes entspricht [**81**·(D-Glucose) $_2$ - $2H^+$].

Unter Berücksichtigung des 40-fachen Überschusses D-Glucose gegenüber Rezeptor **81** in der verwendeten Probe kann man also schließen, daß die Bildung eines 1:1-Komplexes in diesem System im Vergleich zum 2:1-Komplex bevorzugt ist. Da **81** also offensichtlich in der Lage ist, unter kooperativer Wirkung beider Boronsäuregruppen D-Glucose zu binden, versuchte ich, eine mögliche Struktur dieses Komplexes mit Hilfe von Molecular Modeling zu berechnen. Dabei habe ich angenommen, daß ähnlich wie in dem von Shinkai beschriebenen Rezeptor 2,2'-Dimethoxydiphenylmethan-5,5'-diboronsäure die Bindung der Boronsäure an die 1- und 2-Hydroxygruppe und an die 4- und 6-Hydroxygruppe der Glucose erfolgt, die hierfür in der α -Form vorliegt.^[67, 204, 210]

Das Ergebnis der Berechnung ist in Abb. 2.38 dargestellt.

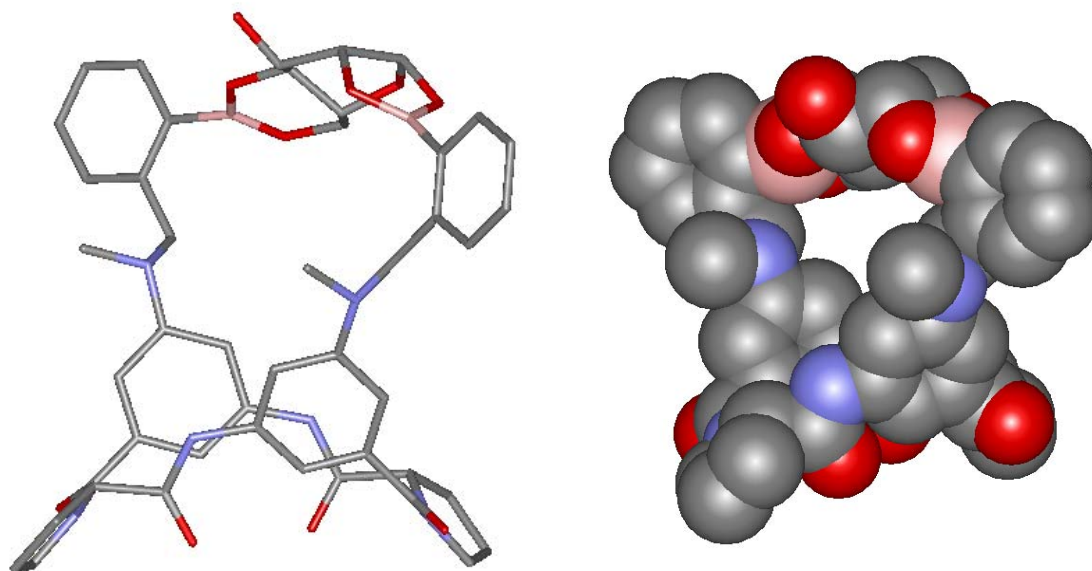


Abb. 2.38: Struktur eines 1:1-Komplexes zwischen **81** und D-Glucose in zwei verschiedenen Darstellungsweisen, links: Stick, rechts: CPK (Modell von Corey, Pauling und Koltun), energieminiert mit der semiempirischen Methode AM1^[211] (HyperChem 7.01). Zur besseren Übersicht wurden die Wasserstoffatome weglassen.

Als Konformation wurde für das Tetrapeptid das Ergebnis der Kristallstrukturanalyse eines cyclischen Tetrapeptids aus L-Prolin und 3-Aminobenzoessäureuntereinheiten zugrundegelegt.^[100]

Abbildung 2.38 zeigt, daß die α -Form der D-Glucose in der $4C_1$ -Konformation ohne starke Verzerrung durch das Cyclopeptid gebunden werden kann. Obwohl dies kein Strukturbeweis des Komplexes ist, kann man aus der berechneten Struktur doch ableiten, daß Geometrie und Hohlraumdimension von **81** die Bindung des Monosaccharids gestatten.

Um zu überprüfen, inwieweit **81** auch mit anderen Kohlenhydraten wechselwirkt, nahm ich ESI-Massenspektren von Lösungen des Rezeptors **81** mit verschiedenen Gästen unter analogen Bedingungen auf. In jedem Fall wurde ein 40-facher Überschuß des zugesetzten Monosaccharids gewählt.

In Abbildung 2.39 ist das Massenspektrum einer Lösung von **81** mit L-Glucose dargestellt. Dieses Spektrum zeigt, daß in Lösung zwar etwas mehr 2:1-Komplex vorliegt, das Signal des 1:1-Komplexes ist aber immer noch das intensivste. Daher kann man hier ebenfalls davon ausgehen, daß dieser Komplex bevorzugt gebildet wird.

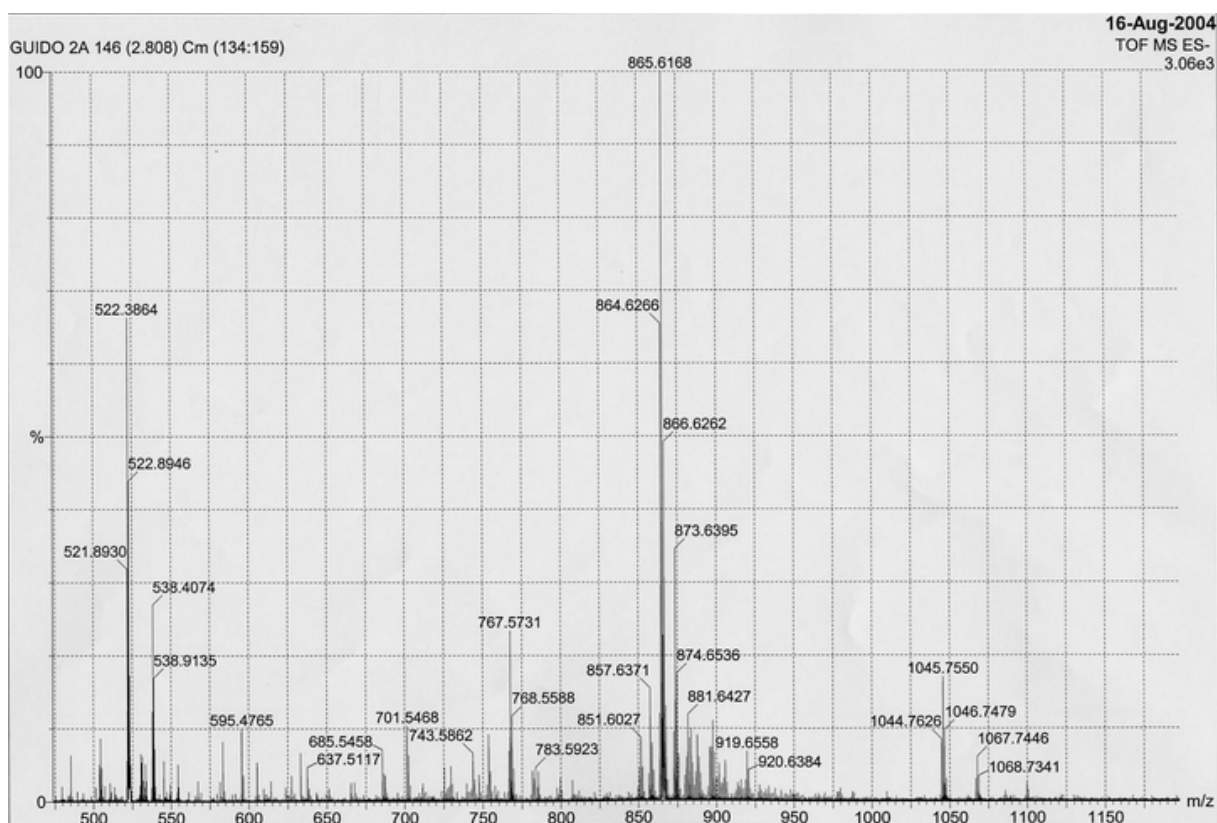


Abb. 2.39: ESI-Massenspektrum von **81** und 40-fachem Überschuß L-Glucose.

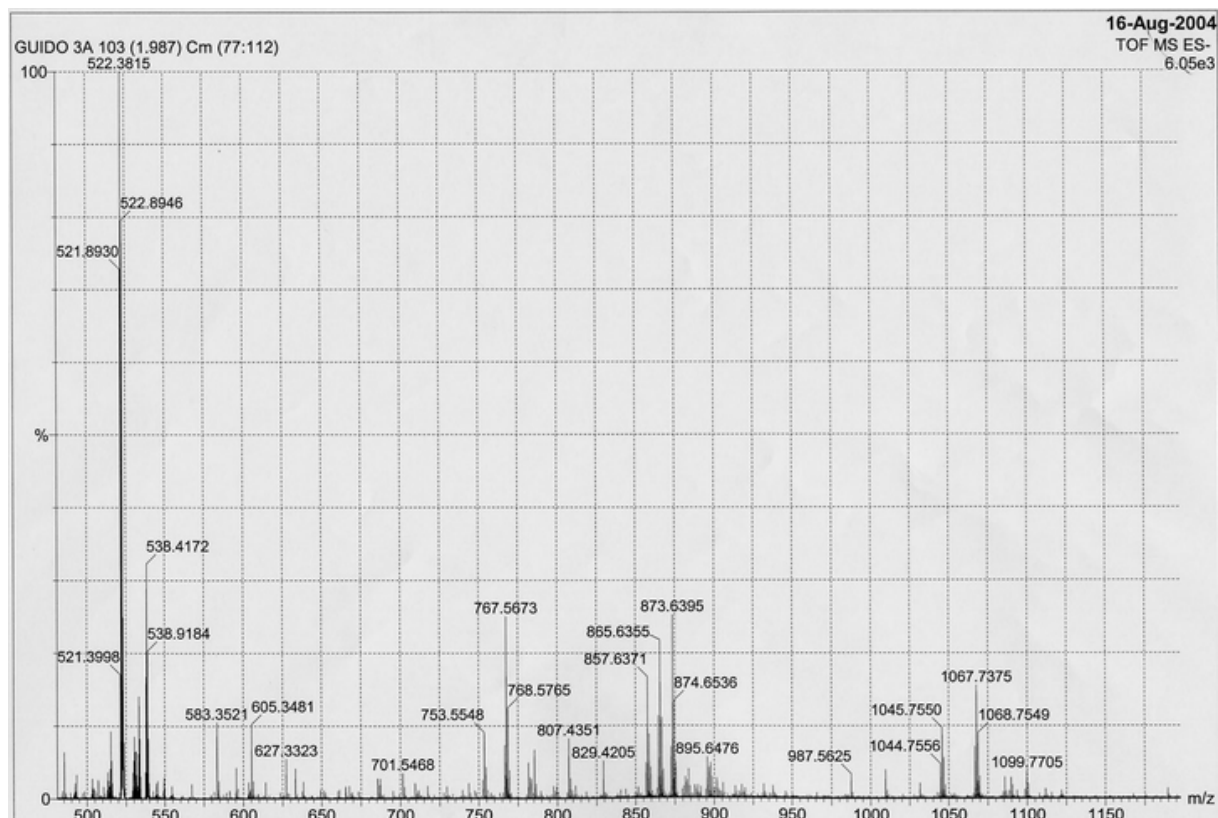


Abb. 2.40: ESI-Massenspektrum von **81** und 40-fachem Überschuss D-Galactose.

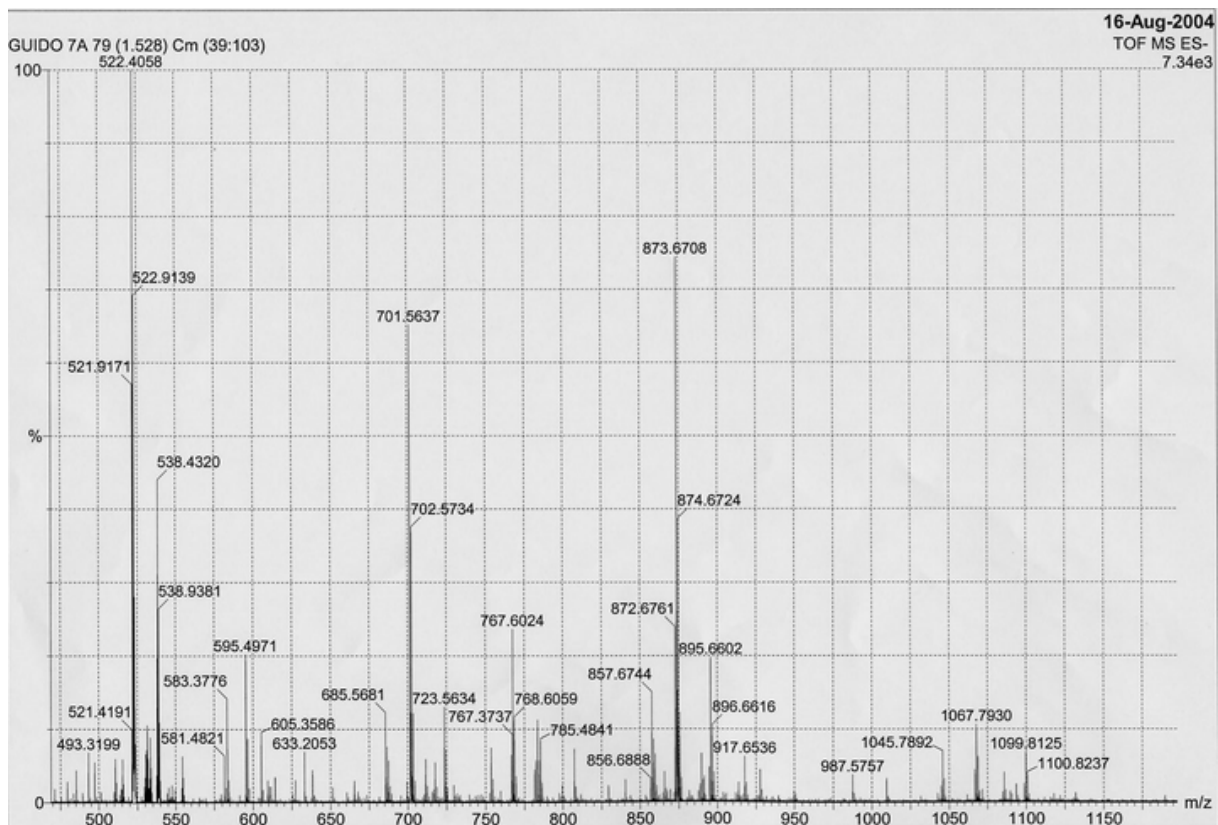
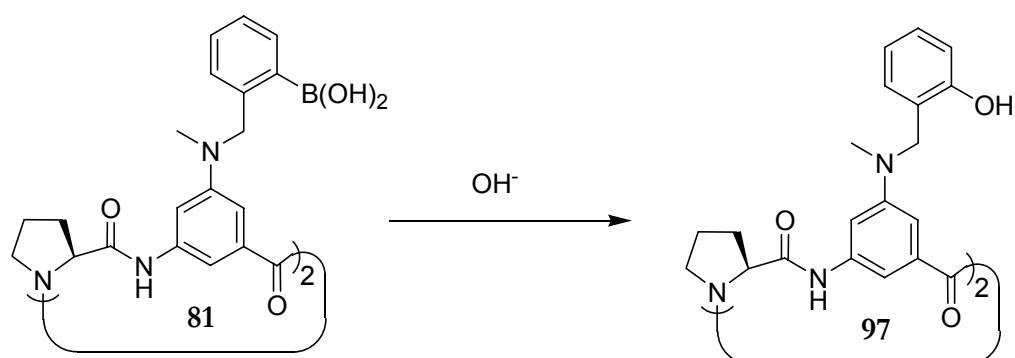


Abb. 2.41: ESI-Massenspektrum von **81** und 40-fachem Überschuss D-Fructose.

Bei Verwendung von D-Galactose als Substrat erhält man dagegen ein vollkommen anderes Massenspektrum (Abb. 2.40). Darin ist deutlich zu erkennen, daß der 2:1-Komplex in den größten Mengen vorliegt. Ein ähnliches Ergebnis erhielt ich auch mit den Substraten D-Mannose und D-Allose. Dies kann als Hinweis darauf gewertet werden, daß diese Monosaccharide von **81** nicht gut unter kooperativer Wirkung beider Boronsäuren gebunden werden können.

Bei der Komplexbildung zwischen Rezeptor **81** und der Ketohehexose D-Fructose konnte ich im Massenspektrum neben dem 2:1-Komplex auch ein Abbauprodukt des Rezeptors identifizieren (Abb. 2.41).

Das entsprechende Signal bei $m/z=701,6$ kann einem Diphenol **97** zugeordnet werden, das durch nucleophile Substitution der Boronsäuregruppen im alkalischen Medium gemäß Schema 2.58 entstanden sein muß.



Schema 2.58: Bildung des Abbauprodukts **97** durch Substitution der Boronsäuregruppen.

Dieses Ergebnis ist überraschend, da bei den von Shinkai beschriebenen Boronsäure-rezeptoren, die nur im alkalischen Medium wirksam sind, eine derartige Abbaureaktion bisher nicht beschrieben wurde. Möglicherweise ist bei diesen Rezeptoren die Komplexbildung schneller, so daß die Gefahr der Abbaureaktion geringer ist, oder die Komplexe sind stabiler, wodurch der Abbau des Rezeptors ebenfalls verhindert wird. Eine letzte Erklärung wäre, daß der Abbau der Rezeptoren vor allem bei wenig stabilen Komplexen in Lösung ebenfalls stattfindet. Da man aber die Lösungen nie massenspektrometrisch untersucht hat, wurde er nie beobachtet.

Eine Bildung signifikanter Mengen des Abbauprodukts **97** beobachtete ich auch mit den Substraten D-Xylose und D-Ribose. Man kann daher davon ausgehen, daß Komplexe zwischen dem Cyclopeptid und diesen Monosacchariden so instabil sind, daß **81** im Gleichgewicht größtenteils frei vorliegt und dadurch dem Angriff von OH⁻ ausgesetzt ist, was zu einer erheblichen Bildung des Diphenolderivats **97** führt.

Zusammenfassend zeigen diese Untersuchungen, daß D-Glucose und L-Glucose mit **81** vorwiegend 1:1 Komplexe bilden. Mit D-Galactose, D-Mannose und D-Allose werden, obwohl prinzipiell 1:1 Komplexe möglich sind, in deutlichem Umfang 2:1 Komplexe gebildet. Die 1:1 Komplexe dieser Monosaccharide mit **81** sind dementsprechend sicher instabiler als die von Glucose. In der dritten Gruppe, bestehend aus D-Fructose, D-Xylose und D-Ribose, kommt es in alkalischer Lösung in erheblichem Umfang zu einem Abbau des Rezeptors, was andeutet, daß die Komplexe von **81** mit diesen Monosacchariden die am wenigsten stabilen sind.

Im dritten Schritt der Untersuchungen versuchte ich nun, die Stabilität der Komplexe von **81** mit Monosacchariden, insbesondere der 1:1 Komplexe mit Glucose, quantitativ zu bestimmen. Dazu habe ich die Abnahme der Fluoreszenzintensität einer Lösung von **81** bei Zugabe eines geeigneten Substrats ausgenutzt. Ähnlich wie bei einer NMR Titration, korreliert nach Gleichung 17 die beobachtete Fluoreszenzintensität I mit der Konzentration des Komplexes $[K]$. Dabei ist I_0 die Fluoreszenzintensität der reinen Rezeptorlösung und I_K die der reinen Komplexlösung. Wie bei NMR-Titrationsen ist $[K]$ und I_K unbekannt.

$$I = \frac{[R]_0 - [K]}{[R]_0} \times I_0 + \frac{[K]}{[R]_0} I_K \quad \begin{array}{l} [R]_0 = \text{Ausgangskonzentration Rezeptor} \\ [K] = \text{Komplekonzentration} \end{array} \quad \text{Gl. 17}$$

Gleichung 17 läßt sich in Gleichung 18 umformen.

$$\frac{I - I_0}{I_K - I_0} = \frac{[K]}{[R]_0} \quad \text{Gl. 18}$$

Diese Gleichung läßt sich mit Hilfe des Massenwirkungsgesetzes und den entsprechenden Massenbilanzen analog zur NMR-Titration so umformen, daß nur noch die Assoziationskonstante K_a und I_K in einer Funktion übrigbleiben. Die Auswertung der Meßwerte erfolgt dann ebenfalls mit Hilfe einer nicht-linearen Regression, und man erhält die Werte für I_K und für die Assoziationskonstante K_a .

In Abb. 2.42 sind alle Fluoreszenzspektren einer Titration von **81** mit D-Glucose dargestellt. Als Lösungsmittel verwendete ich Methanol/Wasser 1:1 (pH= 11,7).

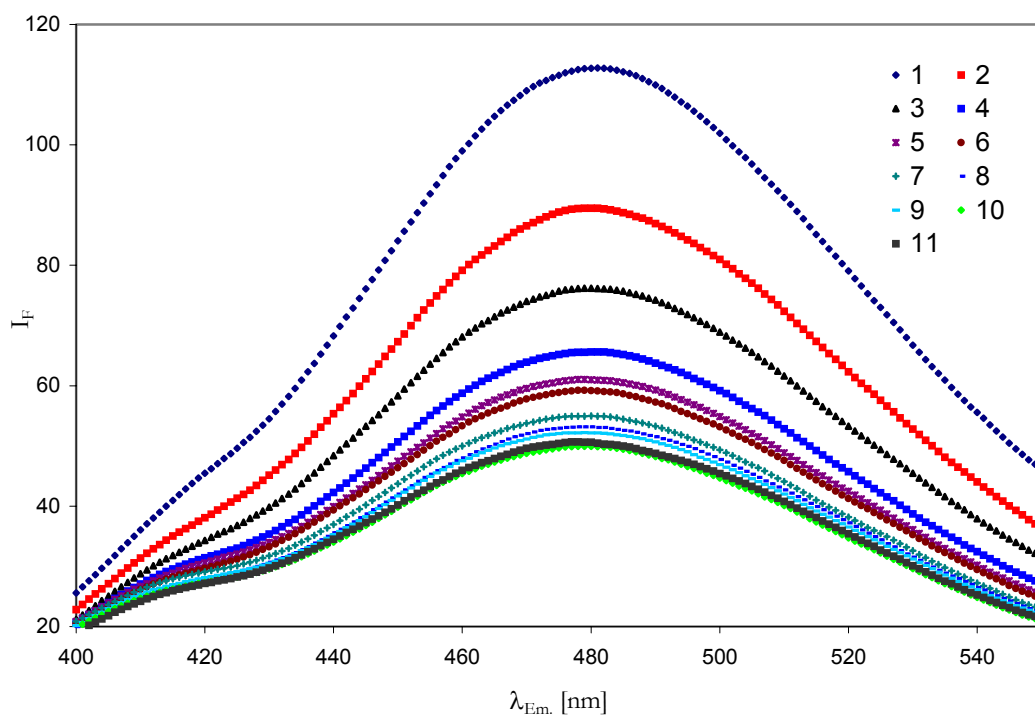


Abb. 2.42: Fluoreszenzspektren, die ich während einer Titration von D-Glucose mit **81** erhalten habe. 1 ist das Spektrum des reinen Rezeptors, 2-11 sind die Spektren der Gemische aus D-Glucose und **81** mit ansteigender Menge Kohlenhydrat (4-40 Äquivalente).

Aus diesen Fluoreszenzspektren bestimmte ich nun jeweils die Intensität bei $\lambda_{max}=480$ nm und erstellte eine Titrationskurve. Diese ähnelt der bei den NMR Titrationen erhaltenen Sättigungskurve. Dementsprechend kann die Stabilitätskonstante analog berechnet werden. Die aus den Titrationen von **81** mit D- und L-Glucose erhaltenen Sättigungskurven sind in Abb. 2.43 dargestellt.

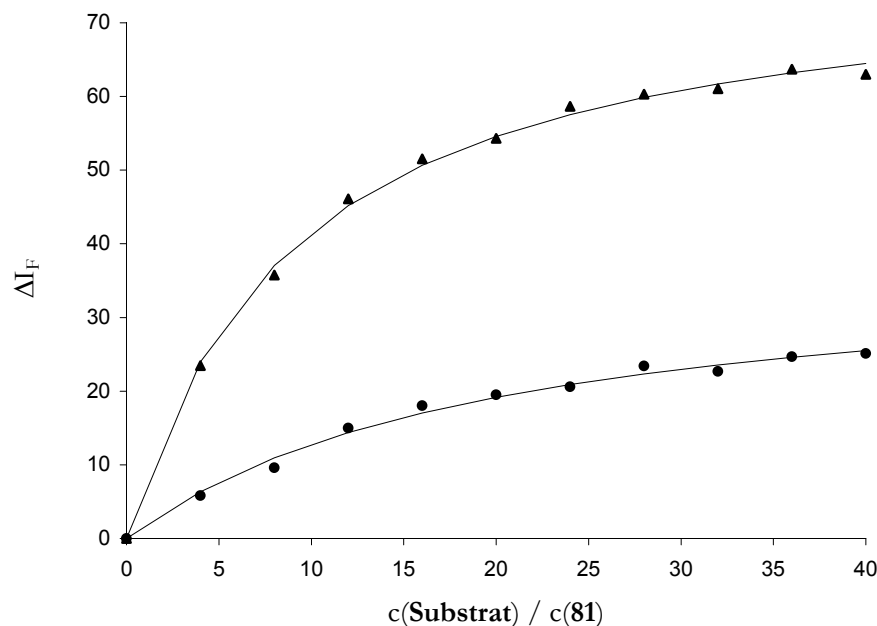


Abb. 2.43: Ergebnis der Fluoreszenztitration von D- und L-Glucose mit Rezeptor **81** in Methanol/Wasser (pH=11,7) 1:1. Dreiecke: Meßwerte für D-Glucose, Kreise: Meßwerte für L-Glucose, Linien: Ergebnisse der nicht-linearen Regressionen. Beobachtet wurde die Fluoreszenzintensität bei $\lambda_{Em.}=480$ nm.

Um den Fehler der Messungen zu verringern, führte ich jede Titration dreimal durch und konnte so die in Tabelle 2.6 angegebenen Bindungskonstanten erhalten.

Substrat	K_{a1}	K_{a2}	K_{a3}	$K_{gemittelt}$	Fehler
D-Glucose	24.000	25.500	25.000	24.800	3,1 %
L-Glucose	10.500	13.600	11.500	11.900	13,3%

Tab. 2.6: Stabilitätskonstanten der Komplexe zwischen **81** und D- bzw. L-Glucose in Methanol/Wasser (pH=11,7). K_a =Bindungskonstante in M^{-1} . Fehler der nicht-linearen Regression <15%.

Die durch Fluoreszenztitrationen bestimmten Bindungskonstanten sind somit gut reproduzierbar. Als Maß für die Enantioselektivität der Komplexbildung dient - wie auch schon bei der Kationenerkennung - das Verhältnis der beiden Assoziationskonstanten $k=K_a(D)/K_a(L)=2,1$. Dieser Wert zeigt, daß der Rezeptor **81** D-Glucose etwas mehr als doppelt so gut bindet wie L-Glucose. Die Enantioselektivität ist also recht hoch. Sie ist für Glucose vergleichbar mit der Enantioselektivität, des von Shinkai beschriebenen Rezeptors **92**. Dieser zeigt allerdings eine noch höhere Enantioselektivität bei der Fructosebindung.

Für den ebenfalls von Shinkai synthetisierten chiralen Boronsäurerezeptor **93** konnte mit dem Substrat Mannose gar keine und mit den Substraten Glucose, Galactose und Mannose nur eine geringe Enantioselektivität bestimmt werden. L-Fructose und L-Talose werden ungefähr doppelt so gut gebunden wie ihre Enantiomere. Die höchste Enantioselektivität zeigte **93** allerdings mit Xylose, deren L-Enantiomer 8-fach besser gebunden wird als das D-Enantiomer.

Untersuchungen mit den Enantiomeren des ferrocenhaltigen Boronsäurerezeptors **94** zeigten, daß D-Glucose von beiden gleich gut und daher nicht enantioselektiv gebunden wird. Sorbitol wird hingegen mit einer Enantioselektivität von $k=1,4$ gebunden. Mit diesem Substrat konnte Shinkai zeigen, daß die Bindungskonstante des Komplexes zwischen (-)-**94** und D-Sorbitol mit der des Komplexes zwischen (+)-**94** und L-Sorbitol identisch ist. Für den umgekehrten Fall gilt natürlich das gleiche. Dieses Ergebnis zeigt, daß das verwendete elektrochemische Verfahren zur Bestimmung von Assoziationskonstanten zuverlässig ist.

Obwohl **98** nicht in die Reihe chiraler Boronsäurerezeptoren paßt, sei dieser trotzdem erwähnt, da **98** eine erstaunlich hohe Enantioselektivität für das Substrat Octyl- β -glucopyranosid aufweist. Das D-Enantiomer wird in Chloroform fast viermal besser gebunden als das entsprechende L-Enantiomer.^[51]

Eine so hohe Enantioselektivität für ein Glucosederivat konnte meines Wissens bisher mit keinem anderen Rezeptor erreicht werden.

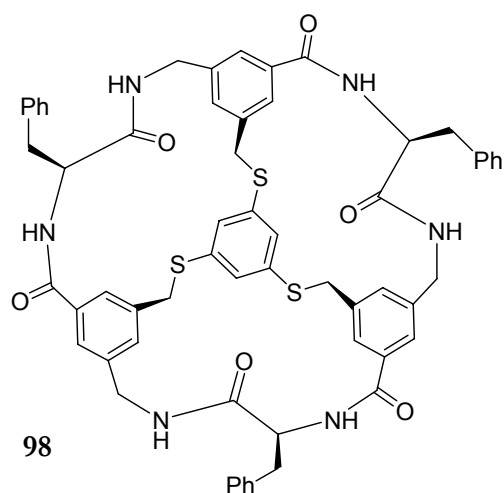


Abb. 2.44: Struktur der von Still entwickelten makrotricyclischen „Schüssel“ **98**.

Zusätzlich zu den Fluoreszenztitrationen mit Glucose führte ich auch Titrations mit Monosacchariden als Gästen durch, die laut ESI-Massenspektrometrie bevorzugt 2:1 Komplexe mit **81** bilden oder signifikant schlechter gebunden werden als Glucose. In keinem Fall führte diese Titration zu auswertbaren Sättigungskurven. Entweder beobachtete ich einen fast linearen Abfall der Fluoreszenzintensität bei Gastzugabe oder die Werte streuten sehr stark.

Beide Ergebnisse zeigen, daß von den verwendeten Zuckern nur D- und L-Glucose stabile 1:1 Komplexe mit **81** bilden. Dies demonstriert die hohe Substratspezifität des Rezeptors. Ein analoger Rezeptor, der die nicht natürliche L-Glucose mit höherer Affinität bindet, sollte durch Austausch der L-Prolinuntereinheiten von **81** durch D-Prolinuntereinheiten zugänglich sein.

Im folgenden fasse ich meine Ergebnisse zur Untersuchung der Wechselwirkung des in Abb. 2.45 dargestellten Rezeptors **87** mit Monosacchariden zusammen.

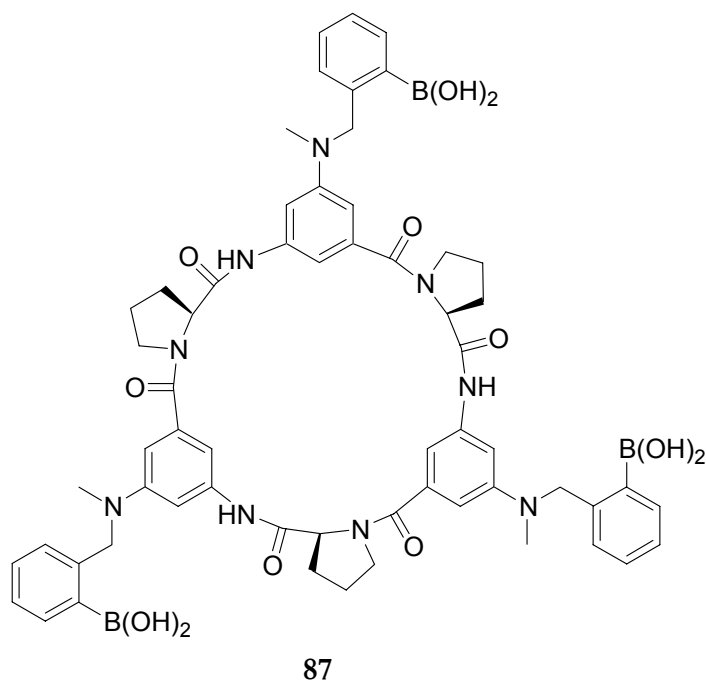


Abb. 2.45: Struktur des Rezeptors **87**.

Leider konnte ich während meiner Arbeit nur geringe Mengen dieser Verbindung analysenrein isolieren und ich beschränkte mich daher auf eine massenspektrometrische Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Rezeptor **87** und verschiedenen Monosacchariden.

Analog zu den Messungen mit **81** stellte ich wieder Lösungen von Gemischen aus **87** und 40-fachem Überschuß des entsprechenden Substrats her.

Das Spektrum eines Gemisches aus **87** und D-Glucose ist in Abb. 2.46 dargestellt.

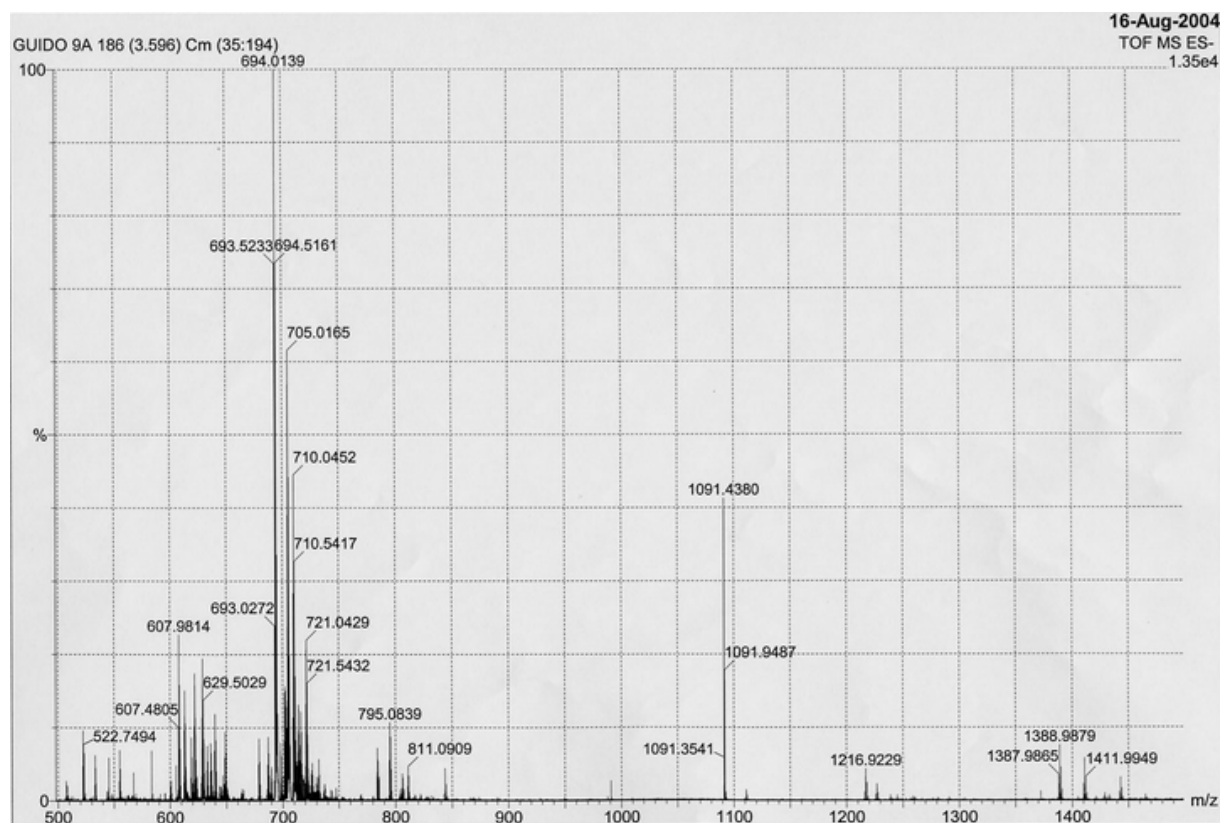


Abb. 2.46: ESI-Massenspektrum von **87** und 40-fachem Überschuss D-Glucose.

Die Signale bei $m/z=1389,0$ und bei $m/z=694,0$ können einem Komplex zwischen einem Rezeptormolekül **87** und zwei D-Glucosemolekülen [$\mathbf{87} \cdot (\text{Glucose})_2 \cdot \text{H}^+$] zugeordnet werden, wobei das intensivere Signal einem zweifach negativ geladenen Aggregat entspricht. Ein Signal für einen 1:1 Komplex aus **87** und Glucose ist im Spektrum nicht zu erkennen. Möglicherweise sind die Bindungsstellen entlang des größeren Hohlraums im Vergleich zu **81** zu weit voneinander entfernt und können somit nicht zu einer kooperativen Bindung eines einzigen Glucosemoleküls beitragen. Rezeptor **87** könnte allerdings für die Einlagerung größerer Kohlenhydratmoleküle, wie zum Beispiel Disaccharide, geeignet sein. Untersuchungen in dieser Richtung habe ich im Rahmen meiner Arbeit aber nicht durchgeführt.

Das Signal bei $m/z=1091,4$ im in Abb. 2.46 dargestellten Massenspektrum konnte ich dem in Abb. 2.47 dargestellten Abbauprodukt **99** des Rezeptors **87** zuordnen. Es kann genau wie das Zersetzungsprodukt **97** durch Substitution einer Boronsäuregruppe des Rezeptors **87** gebildet werden.

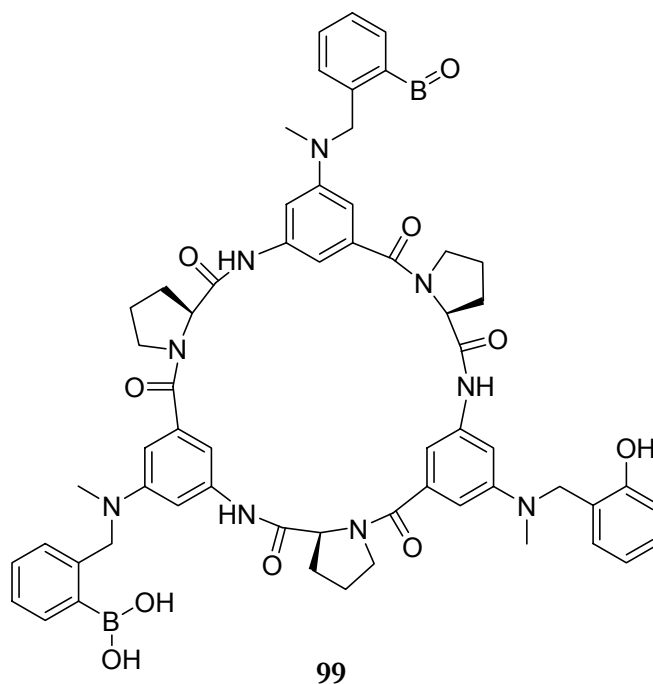


Abb. 2.47: Struktur des Zersetzungsprodukts **99**.

Hinweise auf die Bildung definierter 1:1 Komplexe erhielt ich auch nicht aus den Massenspektren von Lösungen mit anderen Monosacchariden wie L-Glucose oder D-Galactose, weswegen ich keine weiteren Untersuchungen mit diesem Rezeptor durchführte.

3 Zusammenfassung und Ausblick

In unserer Arbeitsgruppe entwickeln wir makrocyclische Peptide, die als synthetische Rezeptoren in der supramolekularen Chemie dienen.^[89] Ein Ziel meiner Arbeit war es, die Cyclopeptide **1a** – **1d**, die in alternierender Sequenz aus der natürlichen α -Aminosäure L-Prolin und Derivaten der nicht-natürlichen 3-Aminobenzoesäure aufgebaut sind, im Hinblick auf ihre Wechselwirkung mit chiralen, quaternären Ammoniumionen zu untersuchen.

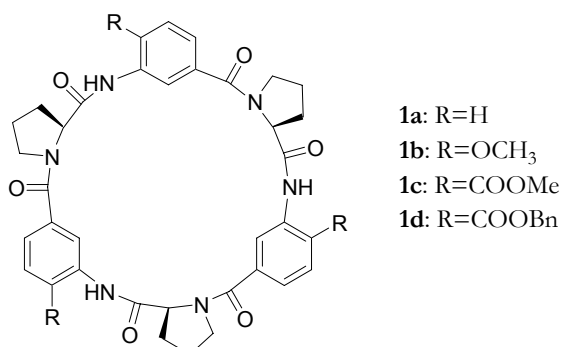


Abb. 3.1: Strukturen der cyclischen Hexapeptide **1a** – **1d**.

Ich konnte zeigen, daß das (*R*)-Enantiomer des *N,N,N*-Trimethylphenylethylammoniums PETMA⁺ von allen untersuchten Cyclopeptiden besser gebunden wird als das (*S*)-Enantiomer. In Chloroform und in Gegenwart des Anions Pikrat betragen die Diastereomenüberschüsse (d.e.) der Komplexe von **1b** und **1c** etwa 20%, die der Komplexe von **1a** und **1d** etwa 8%. Das Verhältnis der ermittelten Assoziationskonstanten, die sich im Bereich von 1000 M⁻¹ bis 4600 M⁻¹ bewegen, konnte mit Hilfe einer kompetitiven Titration unter Verwendung des Racemats von PETMA⁺ experimentell bestätigt werden.

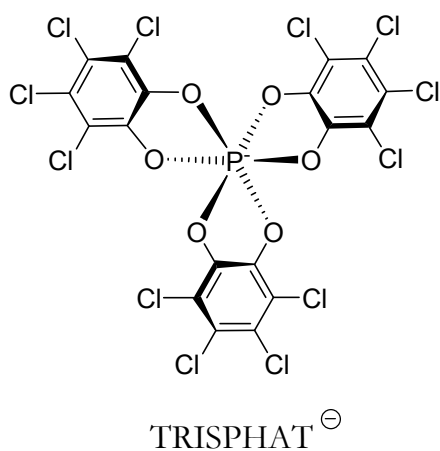


Abb. 3.2: Struktur des TRISPHAT-Anions.

Um den Einfluß des Anions auf die Kationenaffinität der Cyclopeptide zu untersuchen, verwendete ich neben dem Pikratsalz von PETMA⁺ auch Salze mit chiralen BINPHAT und TRISPHAT (Abb. 3.2) Anionen. Es zeigte sich, daß TRISPHAT-Salze in Chloroform in Gegenwart der Cyclopeptide stabiler sind als BINPHAT-Salze und daher für quantitative Untersuchungen besser geeignet sind.

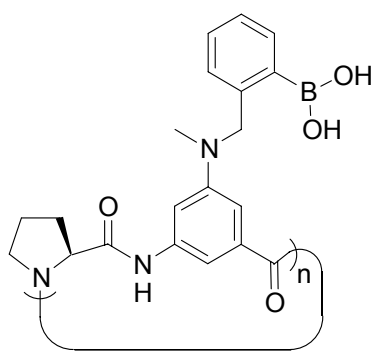
Ich konnte zeigen, daß PETMA⁺ in Gegenwart von TRISPHAT mit dem Cyclopeptid **1b** stabilere Komplexe bildet als in Gegenwart von Pikratanionen. Hierfür ist die geringere Ladungsdichte des lipophilen TRISPHAT verantwortlich.

Außerdem zeigten meine Untersuchungen, daß die absolute Konfiguration von TRISPHAT einen großen Einfluß auf die Enantioselektivität der Kationenbindung hat. Verwendet man zum Beispiel racemisches TRISPHAT, unterscheidet sich der Diastereomerenüberschuß bei der Komplexbildung von (R)- und (S)-PETMA⁺ kaum von dem in Gegenwart von Pikrat bestimmten. In Gegenwart von (Λ)-TRISPHAT beobachtet man dagegen eine geringere Enantioselektivität (d.e.=16%) und in Gegenwart von (Δ)-TRISPHAT eine deutlich höhere (d.e.=31%).

Durch systematische Analyse der Komplexgleichgewichte konnte ich diesen Effekt auf die Bildung von Komplexen zwischen dem Cyclopeptid und undissoziierten Salzen zurückführen. Da in diesem Fall Komplexe des Cyclopeptids mit (R)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻, (S)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT⁻, (R)-PETMA⁺-(Λ)-TRISPHAT⁻ bzw. (S)-PETMA⁺-(Λ)-TRISPHAT⁻ diastereomer zueinander sind, ist ihre unterschiedliche Stabilität plausibel. Das von mir untersuchte System stellt darüber hinaus ein ungewöhnliches Beispiel für eine matched/mismatched Situation bei der Bildung supramolekularer Aggregate dar. Dabei entspricht das am besten gebundene Salz (R)-PETMA⁺-(Δ)-TRISPHAT dem matched Fall. Inversion der Konfiguration von Anion oder Kation bzw. von beiden Ionen führt zu einer Verringerung der Komplexstabilität. Die entsprechenden Salze sind also mismatched Gäste.

Ein weiteres Ziel meiner Arbeit war die Synthese eines neuen cyclischen Peptids, das Kohlenhydrate in Wasser bindet. Bitta konnte die prinzipielle Eignung von Cyclopeptiden mit Aminosäureseitenketten zur Kohlenhydraterkennung bereits nachweisen, allerdings sind diese Rezeptoren nur in unpolaren Lösungsmitteln für die Kohlenhydraterkennung geeignet.^[85] Von Boronsäuren weiß man, daß diese in wäßrigen Lösungsmitteln mit Diolen und Monosacchariden reversibel cyclische Ester bilden. Diese Fähigkeit wurde von Shinkai erfolgreich zur Synthese von Kohlenhydratrezeptoren genutzt.^[84]

Ich versuchte nun, dieses Konzept auf die in unserer Arbeitsgruppe untersuchten Cyclopeptide zu übertragen. Dazu synthetisierte ich das cyclische Tetrapeptid **81** und das cyclische Hexapeptid **87** (Abb. 3.3).



81: n=2

87: n=3

Abb. 3.3: Strukturen boronsäurehaltiger Rezeptoren **81** und **87** auf Cyclopeptidbasis.

Normalerweise ist das Gleichgewicht der Bildung von Boronsäureestern aus Boronsäuren und Diolen nur im Basischen (pH 10-12) so schnell, daß es für die reversible Bindung von Monosacchariden mit synthetischen Boronsäurerezeptoren ausgenutzt werden kann. Wulff konnte allerdings vor einigen Jahren zeigen, daß ein strategisch platziertes Stickstoffatom in Nachbarschaft zum Boratom die Veresterung durch intramolekulare Katalyse beschleunigt.^[65] Rezeptoren, die dieses Strukturmerkmal enthalten, sind daher auch bei neutralem pH-Wert zur Kohlenhydraterkennung geeignet.

Die von mir hergestellten Rezeptoren **81** und **87** enthalten beide in geeignetem Abstand von den Boronsäuregruppen Aminstickstoffatome. Ich erhoffte mir davon, daß eine Wechselwirkung der Rezeptoren mit Kohlenhydraten auch bei pH 7 möglich sein sollte. Leider stellte sich heraus, daß im Neutralen keine Komplexbildung stattfindet. Möglicherweise verringert die Konjugation der Aminstickstoffe in **81** und **87** mit dem benachbarten aromatischen System ihre Nucleophilie so stark, daß die freien Elektronenpaare für eine Wechselwirkung mit den Boratomen nicht zur Verfügung stehen. Bei pH 11,7 konnte ich allerdings eine Wechselwirkung beider Rezeptoren mit Kohlenhydraten nachweisen.

Mit Hilfe der ESI-Massenspektrometrie zeigte ich, daß Rezeptor **81** sowohl mit D-, als auch mit L-Glucose in Methanol/Wasser 1:1 bevorzugt 1:1-Komplexe bildet. Mit anderen Monosacchariden werden entweder vorwiegend 2:1-Komplexe gebildet oder die Wechselwirkung ist so schwach, daß es in größerem Umfang zur Bildung eines Abbauprodukts des Rezeptors kommt, in dem Boronsäuregruppen durch Hydroxygruppen substituiert sind.

Die Assoziationskonstanten der Glucosekomplexe von **81** bestimmte ich mit Fluoreszenztitrationen. Dabei ergab sich, daß D-Glucose mit $K_a=25.000$ ungefähr doppelt so gut gebunden wird wie L-Glucose.

Obwohl es aufgrund unterschiedlicher Untersuchungsmethoden und Lösungsmittel schwierig ist die erhaltenen Werte mit denen aus der Literatur zu vergleichen, wurde meines Wissens für die Bindung von Glucose mit einem synthetischen Boronsäurerezeptor noch keine höhere Assoziationskonstante ermittelt. Diese lagen entweder in der gleichen Größenordnung oder waren häufig sogar niedriger. Die Enantioselektivität, mit der der Rezeptor **81** Glucose bindet, ist vergleichbar mit der, die für den von Shinkai beschriebenen chiralen Kohlenhydratrezeptor **92** bestimmt wurde. Da **81** allerdings von allen untersuchten Kohlenhydraten nur mit Glucose stabile 1:1 Komplexe bildet, scheint die Substratelektivität sehr viel höher. Damit konnte ich erstmals einen Kohlenhydratrezeptor auf Basis von Cyclopeptiden realisieren, der Monosaccharide in wäßriger Lösung mit hoher Affinität, guter Enantioselektivität und überraschend hoher Substratelektivität bindet.

Für das von mir entwickelte cyclische Hexapeptid **87** zeigte ich wiederum mit Hilfe der ESI-Massenspektrometrie, daß Monosaccharide wie D-Glucose, L-Glucose oder D-Galactose mit diesem Rezeptor bevorzugt 2:1-Komplexe bilden. Man kann daher annehmen, daß aufgrund der Größe des Hohlraums von **87** eine Komplexierung von Disacchariden möglich sein könnte. Solche Untersuchungen sollen Bestandteil zukünftiger Arbeiten sein.

Daneben kann man in Zukunft versuchen, die Bindungseigenschaften von **81** weiter zu verbessern. Der größte Nachteil dieses Rezeptors besteht sicher darin, daß er Kohlenhydrate nur im Basischen bindet. In Abb. 3.4 ist die Struktur einer Verbindung **100** dargestellt, die diesen Nachteil möglicherweise nicht mehr besitzt. Rezeptor **100** besitzt in Nachbarschaft zu den Boratomen aliphatische Stickstoffatome, die die Veresterung der Boronsäuren mit Diolen effektiver katalysieren sollten als die aromatischen Stickstoffatome.

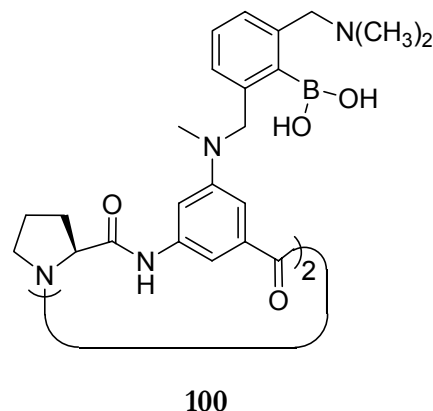


Abb. 3.4: Struktur eines potentiellen Rezeptors, der auch in neutralem Wasser Monosaccharide bindet.

Eine Synthese von **100** muß noch ausgearbeitet werden. Meine Arbeiten zeigen aber schon jetzt eindeutig, daß Cyclopeptide vielversprechende Grundstrukturen für die Herstellung neuer enantioselektiver Rezeptoren sind.

4 Experimenteller Teil

4.1 Apparatives

¹ H-NMR-Spektroskopie	Bruker Avance DRX 200 (200 MHz) Varian VXR 300 (300 MHz) Bruker Avance DRX 500 (500 MHz)
¹³ C-NMR-Spektroskopie	Bruker Avance DRX 500 (125 MHz) Varian VXR 300 (75 MHz)
³¹ P-NMR-Spektroskopie	Bruker Avance DRX 200 (81 MHz)
IR-Spektroskopie	Bruker Vektor 22 FT-IR
Fluoreszenzspektroskopie	JASCO FP-6200 Spektrofluorometer
C,H,N-Elementaranalyse	Institut für Pharmazeutische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Massenspektrometrie	CI (NH ₃): Finnigan INCOS 50 FAB: Varian MAT 8200 ESI: Bruker Esquire 3000
Polarimeter	Perkin Elmer 241 MC digital, d = 10 cm
Schmelzpunktbestimmung	Büchi 510, Büchi Melting Point B-545
Säulenchromatographie	Kieselgel 60 (230-400 Mesh ASTM) von Merck
Dünnschichtchromatographie	Kieselgel 60 F ₂₅₄ auf Aluminiumfolie (Merck) RP-18 F ₂₅₄ auf Glasträger (Merck)
Dosierung	Hamilton, gasdichte Spritzen Infors AG, Perfusor Precidor HAT

4.2 Chemikalien und Lösungsmittel

Acros:	Brom, p.a. 1-Phenylethylamin, 99% Natriumazid, 99% Magnesium Späne Phosphorpentoxid, 98%
Aldrich:	3,5-Diaminobenzoessäure, z.S. DIEA Kaliumhexafluorophosphat
Bachem:	O-(1-Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyl- uroniumtetrafluoroborat
Degussa:	Aktivkohle, gekörnt 0,5-2,5 mm
Euriso-top:	Chloroform-d ₁ , 99,8 atom-% D D ₂ O, 99,9 atom-% D DMSO-d ₆ , 99,9 atom-% D
Fluka:	Celite® FilterCel Kaliumhydrogensulfat Natriumcyanoborhydrid, purum Palladium auf Aktivkohle (10%) Pinakol, wasserfrei 2-Propanol, p.a. Trifluoressigsäure Trimethylborat, z.S.
ICN Biomedicals GmbH:	Kieselgel Silica 32-63, 60Å
Janssen Chimica:	3-Bromtoluol, z.S.
J.T. Baker:	Natriumchlorid Ethanol, p.a.

EXPERIMENTELLER TEIL

KMF Laborchemie:	Natronlauge, 1N
Lancaster:	2-Formylphenylboronsäure
Merck:	5-Aminoisophthalsäure, z.S. Benzylbromid, z.S. Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat, z.S. 2-Bromtoluol, z.S. 3-Brom-1-propen, z.S. DMF, p.A. Methyliodid, z.S. Morpholin, z.S. Natriumcarbonat, wasserfrei p.A. Natriumhydrogencarbonat, wasserfrei Pikrinsäure, reinst Pyrrolidin, z.S. Salzsäure, rauchend (37%), p.A. Salzsäure, 1N Silber(I)-oxid, z.S.
Messer-Griesheim	Argon 5.0 Stickstoff 5.0 Wasserstoff 5.0
Novabiochem:	Boc-Prolin Z-Prolin Fmoc-Prolin
Riedel-de-Haën:	Natriumcarbonat, wasserfrei Phosphoroxidchlorid Triethylamin, z.S.

Das Kupplungsreagenz PyCloP wurde nach einer Vorschrift von Coste, Frérot und Jovin hergestellt.^[212, 213]

Die drei cyclischen Hexapeptide **1a**, **1b** und **1c** wurden nach einer Vorschrift von Kubik synthetisiert.^[92]

Das cyclische Hexapeptid **1d**, die Aminosäure Boc-5-AIS(OAll)-OBn (**33**) sowie das Dipeptid Boc-Pro-5-AIS(OH)-OBn (**39**) wurden nach einer Vorschrift von Bitta dargestellt.^[93]

Die Aminosäure Boc-DAB-OAll (**62**) sowie das Dipeptid Z-Pro-DAB-OBn (**56**) wurden nach einer Vorschrift von Pohl dargestellt.^[111]

Sämtliche BINPHAT-, TRISPHAT- und HYPHAT-Salze wurden von L.Vial an der Universität Genf hergestellt.^[214]

Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destillativ gereinigt, bei Bedarf nach den literaturbekannten Standardmethoden^[215] getrocknet und durch zweistündiges Einleiten von Stickstoff 5.0 entgast.

4.3 Wirt-Gast-Experimente

4.3.1 NMR-Spektroskopie

Alle Komplexierungsversuche wurden am Bruker DRX 500 (500 MHz) NMR-Spektrometer durchgeführt.

Wirt-Gast-Titrationsen [190, 194]

Zwei Stammlösungen wurden für jede NMR-Titration angesetzt, eine mit dem jeweiligen Gast (2 mM) in $\text{CDCl}_3/1\%$ DMSO- d_6 , die andere mit dem zugehörigen Wirt (2,5 mM) in CDCl_3 . Insgesamt wurden 11 NMR-Proben vorbereitet, indem eine größer werdende Menge Wirtlösung (0-800 μl in Schritten von 80 μl) zu jeweils 100 μl Gastlösung gegeben wurde. Alle Proben wurden auf ein Volumen von 1 ml mit reinem CDCl_3 aufgefüllt.

Zur Auswertung wurde stets das Signal der Trimethylammoniumprotonen herangezogen. Die Bestimmung der Stabilitätskonstanten aus den $\Delta\delta_{\text{max}}$ -Werten erfolgte durch nicht-lineare Regression mit dem PC-Programm Sigma-Plot 4.0.

Job-Plots [189-191]

Es wurden äquimolare Lösungen von Wirt und Gast (1mM) in $\text{CDCl}_3/1\%$ DMSO- d_6 angesetzt. Damit wurden 10 Proben vorbereitet, indem kleiner werdende Volumina der Gastlösung (1 ml bis 100 μl in Schritten von 100 μl) mit der Wirtlösung auf jeweils 1 ml aufgefüllt wurden. Die Gesamtkonzentration von Wirt und Gast war somit konstant, nur der Molenbruch des Gastes variierte bei Aufnahme der NMR-Spektren von $X=1$ bis $X=0,1$ (Methode der kontinuierlichen Variation).

Zur Auswertung wurde das Signal der Trimethylammoniumprotonen herangezogen. Trägt man das Produkt $\Delta\delta \cdot X$ gegen den Molenbruch auf, erhält man eine Kurve, die ein Maximum bei dem Molenbruch besitzt, der mit der Komplexstöchiometrie korreliert.

4.3.2 ESI-Massenspektrometrie

Um die Komplexierung der Monosaccharide mit Hilfe der ESI-Massenspektrometrie zu untersuchen, wurden 100 μl einer Rezeptorlösung (1mM) und 400 μl einer Substratlösung (10 mM) gemischt und nach zwei Stunden in ein ESI-Massenspektrometer injiziert. Als Lösungsmittel wählte ich Methanol/Wasser 1:1, wobei der pH-Wert des Wassers mit Natronlauge auf pH=11,7 eingestellt wurde.

4.3.3 Fluoreszenztitrationen

Zwei Stammlösungen wurden für jede Fluoreszenztitration angesetzt. Eine mit dem jeweiligen Gast (0,6 mM), die andere mit dem Cyclopeptid **81** (10 μM). Als Lösungsmittel wählte ich Methanol/Wasser 1:1, wobei der pH-Wert des Wassers mit Natronlauge auf pH=11,7 eingestellt wurde. Insgesamt wurden 11 Proben vorbereitet, indem eine größer werdende Menge Gastlösung (0-1 ml in Schritten von 100 μl) zu jeweils 1,5 ml Wirtlösung gegeben wurde. Alle Proben wurde auf ein Volumen von 3 ml mit reinem Lösungsmittel aufgefüllt.

Nach zwei Stunden wurde von jeder Probe über drei Minuten alle fünf Sekunden die Fluoreszenzintensität bei $\lambda_{\text{Em.}}=480$ nm gemessen. Dabei wurden folgende Geräteeinstellungen berücksichtigt:

Aufnahme der Fluoreszenzspektren (Spectrum Measurement)

Anregungswellenlänge (λ_{Exc}):	285 nm
Excitation Band Width:	5 nm
Emission Band Width:	5 nm
Response:	Auto
Speed:	250 nm/Min.
Sensibility:	high

Aufnahme der Zeitabhängigkeit (Time Course Measurement)

Anregungswellenlänge (λ_{Exc}):	285 nm
Emissionswellenlänge (λ_{Em}):	480 nm
Excitation Band Width:	5 nm
Emission Band Width:	5 nm
Response:	Auto
Time:	180 sec
Sensibility:	high
Data pitch:	5 sec

Von den so erhaltenen Meßwerten wurden die Mittelwerte berechnet und zur Bestimmung der Stabilitätskonstanten durch nicht-lineare Regression mit dem PC-Programm Sigma Plot 4.0 herangezogen.

4.4 Allgemeine Arbeitsweisen

Abspalten der Boc-Schutzgruppe

Trifluoressigsäure. Methode I:

Das Boc-geschützte Peptid oder die Aminosäure wurde in 10 ml trockenem CH_2Cl_2 gelöst und mit einem Eisbad abgekühlt. Dann wurden 10 ml TFA langsam zugetropft und noch 1,5 h in der Kälte rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Essigsäureethylester aufgenommen und dreimal mit Na_2CO_3 -Lösung (10%) sowie dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO_4 getrocknet, mit 1,1 Äquivalenten konz. HCl versetzt und im Vakuum zur Trockene eingengt. Das Produkt wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

HCl in Dioxan. Methode II:

Das Boc-geschützte Peptid oder die Aminosäure wurde in trockenem 1,4-Dioxan (20 ml/mmol) gelöst oder suspendiert. Die Lösung wurde im Eisbad abgekühlt und tropfenweise mit einer 6N Lösung von HCl in trockenem 1,4-Dioxan (40 ml/mmol) versetzt. Nach 2 h Rühren in der Kälte wurden das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Diethylether gerührt. Das Produkt wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Abspalten der Allylschutzgruppe

Methode III:

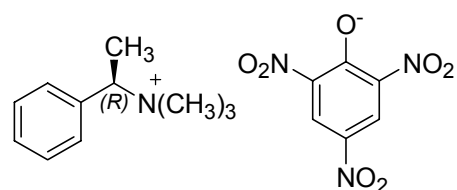
Der Ester wurde in einen Schlenkkolben eingewogen, dreimal sekuriert und danach in getrocknetem und entgastem THF gelöst (20 ml/mmol). Der Katalysator $[\text{Pd}(\text{Ph}_3)_4]$ (10 mg) und frisch destilliertes Morpholin (2 Äquivalente) wurden im Schutzgasgegenstrom zu der Lösung gegeben. Es wurde solange Katalysator nachdosiert, bis die DC-Kontrolle vollständigen Umsatz zeigte. Man ließ noch 30 Minuten rühren und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wurde in Essigsäureethylester gelöst und die organische Phase dreimal mit 3% KHSO_4 -Lösung und dreimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung mit MgSO_4 konnten das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand im Ölpumpenvakuum getrocknet werden.

Abspalten der Benzyl- bzw. Z-Schutzgruppe**Methode IV:**

Die geschützte Verbindung wurde in Methanol (50 ml/mmol) gelöst und nach Zugabe von 100 mg Pd/C (10%) unter Normaldruck für 2 h in einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Es wurde solange Katalysator nachdosiert, bis die DC-Kontrolle vollständigen Umsatz zeigte. Anschließend wurden der Katalysator über Celite abfiltriert und das Filtrat zur Trockene eingeeengt. Den Rückstand trocknete man anschließend im Ölpumpenvakuum.

4.5 Synthesen von quaternären Ammoniumsalzen

Darstellung von (R)-PETMA-Pikrat (R-11)



584 mg (2 mmol) (R)-PETMA-Iodid,^[216] 255 mg (1,1 mmol) Silber(I)-oxid und 504 mg (2,2 mmol) getrocknete Pikrinsäure wurden zwei Stunden in 40 ml Methanol/Wasser 1:1 gerührt. Ausgefallenes Silberiodid wurde anschließend abfiltriert, das Filtrat auf die Hälfte des Volumens eingengt, erneut filtriert und zur Trockene eingengt.

Der erhaltene Feststoff wurde aus Essigsäureethylester umkristallisiert. Das Produkt kristallisierte über Nacht in der Kälte, wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 370 mg (47 % d. Th.)

Smp.: 149-151°C

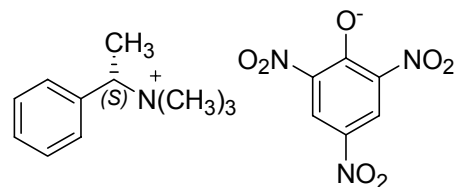
$[\alpha]_D^{25}$: + 15,4°, DMF

$^1\text{H-NMR}$: [500 MHz, d_6 -DMSO] δ [ppm] 1,72 (d, 3H, $^3J_{\text{H}}=6,9$ Hz, -**CH**₃); 2,98 (s, 9H, N(**CH**₃)₃); 4,77 (q, 1H, $^3J_{\text{H}}=6,9$ Hz, -Bn**H**); 7,47-7,62 (m, 5H, Ar-**H**); 8,60 (s, 2H, Pik-**H**)

$^{13}\text{C-NMR}$: [125 MHz, d_6 -DMSO] δ [ppm] 15,5 (-**C**H₃); 51,5 (-N(**C**H₃)₃); 73,6 (Bn-**C**); 126,2 (Pik-**C1**, **C3**, **C5**); 129,8 + 131,2 + 134,4 (Ar-**C2-C6**); 142,8 (Ar-**C1**); 161,8 (Pik-**C2**, **C4**, **C6**)

IR (KBr): 3044(w), 1643(ss), 1557(s), 1499(m), 1460(m), 1437(m), 1364(m), 1334(s), 1309(s), 1266(s), 1161(w), 1072(w), 907(w), 842(w), 775(w), 745(w), 708(m), 543(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 52,04	H: 5,14	N: 14,28	C ₁₇ H ₂₀ N ₃ O ₇
	gef.:	C: 51,97	H: 5,20	N: 14,14	M=392,43 g/mol

Darstellung von (S)-PETMA-Pikrat (S-11)


584 mg (2 mmol) (S)-PETMA-Iodid,^[216] 255 mg (1,1 mmol) Silber(I)-oxid und 504 mg (2,2 mmol) getrocknete Pikrinsäure wurden zwei Stunden in 40 ml Methanol/Wasser 1:1 gerührt. Ausgefallenes Silberiodid wurde anschließend abfiltriert, das Filtrat auf die Hälfte des Volumens eingengt, erneut filtriert und zur Trockene eingengt.

Der Rückstand wurde aus Essigsäureethylester umkristallisiert. Das Produkt kristallisierte über Nacht in der Kälte, wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 395 mg (50 % d. Th.)

Smp.: 147-149°C

$[\alpha]_D^{25}$: -13,1°, DMF

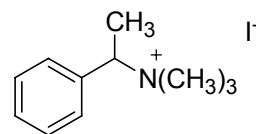
$^1\text{H-NMR}$: [500 MHz, d_6 -DMSO] δ [ppm] 1,72 (d, 3H, $^3J_{\text{H}}=6,9$ Hz, -**CH**₃); 2,98(s, 9H, N(**CH**₃)₃); 4,76 (q, 1H, $^3J_{\text{H}}=6,9$ Hz, -Bn**H**); 7,46-7,62 (m, 5H, Ar-**H**); 8,59 (s, 2H, Pik-**H**)

$^{13}\text{C-NMR}$: [125 MHz, d_6 -DMSO] δ [ppm] 15,5 (-**C**H₃); 51,5 (-N(**C**H₃)₃); 73,6 (Bn-**C**); 126,2 (Pik-**C1, C3, C5**); 129,8 + 131,2 + 134,5 (Ar-**C2-C6**); 142,8 (Ar-**C1**); 161,8 (Pik-**C2, C4, C6**)

IR(KBR): 3449(ss), 1719(w), 1638(m), 1560(m), 1509(w), 1459(w), 1438(w), 1364(w), 1332(m), 1266(m), 708(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 52,04	H: 5,14	N: 14,28	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_7$
	gef.:	C: 51,98	H: 5,17	N: 14,03	M=392,43 g/mol

Darstellung von (±)PETMA-Iodid (rac-10)



2,42 g (20 mmol) 1-Phenylethylamin, 7,5 ml (120 mmol) Methyljodid und 6,7 g (80 mmol) NaHCO₃ wurden über Nacht in 30 ml trockenem Methanol zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde filtriert und das Filtrat zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in 200 ml Methylenchlorid aufgenommen und erneut filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 4,05 g (70 % d. Th.)

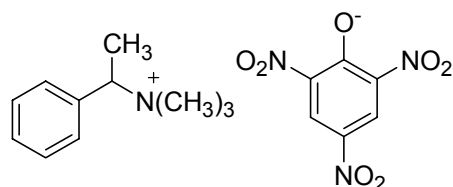
Smp.: 150-155°C

¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 1,71 (d, 3H, ³J_H=6,9 Hz, -CH₃); 2,99 (s, 9H, -N(CH₃)₃); 4,82 (q, 1H, ³J_H=6,9 Hz, -BnH); 7,46-7,55 (m, 3H, Ar-H); 7,58-7,66 (m, 2H, Ar-H)

¹³C-NMR: [125 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 15,6 (-CH₃); 51,5 (-N(CH₃)₃); 73,4 (Bn-C); 129,8 + 131,2 (Ar-C₂-C₆); 134,4 (Ar-C₁)

IR(KBr): 3442(ss), 3002(s), 1719(w), 1638(m), 1560(w), 1543(w), 1476(m), 1459(m), 1414(m), 1288(w), 1246(w), 1208(m), 1060(w), 1035(w), 1009(w), 957(m), 845(m), 779(m), 716(s), 541(w)

Darstellung von (±)-PETMA-Pikrat (rac-11)



584 mg (2 mmol) **rac-10**, 255 mg (1,1 mmol) Silber(I)-oxid und 504 mg (2,2 mmol) getrocknete Pikrinsäure wurden zwei Stunden in 40 ml Methanol/Wasser 1:1 gerührt. Ausgefallenes Silberiodid wurde anschließend abfiltriert, das Filtrat auf die Hälfte des Volumens eingengt, erneut filtriert und zur Trockene eingengt.

Der Rückstand wurde aus Essigsäureethylester umkristallisiert. Das Produkt kristallisierte über Nacht in der Kälte, wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 380 mg (48 % d. Th.)

Smp.: 148-150°C

¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 1,72 (d, 3H, ³J_H=6,9 Hz, -**CH**₃); 2,98(s, 9H, N(**CH**₃)₃); 4,76 (q, 1H, ³J_H=6,9 Hz, -Bn**H**); 7,46-7,63 (m, 5H, Ar-**H**); 8,59 (s, 2H, Pik-**H**)

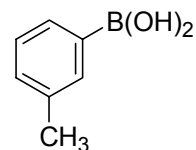
¹³C-NMR: [125 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 15,5 (-**C**H₃); 51,5 (-N(**C**H₃)₃); 73,6 (Bn-**C**); 126,2 (Pik-**C1**, **C3**, **C5**); 129,8 + 131,2 + 134,5 (Ar-**C2-C6**); 142,8 (Ar-**C1**); 161,8 (Pik-**C2**, **C4**, **C6**)

IR(KBR): 1643(ss), 1558(m), 1498(m), 1437(m), 1364(m), 1331(s), 1308(s), 1264(s), 1160(w), 1072(w), 905(w), 843(w), 775(w), 744(w), 710(m), 543(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 52,04	H: 5,14	N: 14,28	C ₁₇ H ₂₀ N ₃ O ₇
	gef.:	C: 51,91	H: 5,15	N: 14,01	M=392,43 g/mol

4.6 Synthese von Boronsäurepinakolestern

Darstellung von 3-Methylphenylboronsäure^[109, 110]



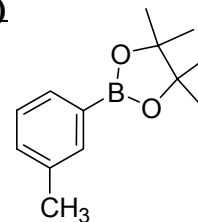
In einem sekurierten und mit Argon gespülten 500 ml-Dreihalskolben wurden 13,00 g (0,54 mol) Magnesiumspäne vorgelegt. 83,75 g (0,49 mol) 3-Bromtoluol wurden in 200 ml trockenem THF gelöst und eine geringe Menge dieser Lösung zu dem Magnesium getropft. Nach Zugabe von 1 ml Dibromethan wurde die 3-Bromtoluol-Lösung so zuge- tropft, daß die Reaktionslösung ständig siedete.

Nach beendeter Zugabe wurde noch zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt und das Reaktionsgemisch anschließend zu einer auf ca. -65°C gekühlten Lösung von 56,10 g (0,54 mol) Trimethylborat in 200 ml trockenem THF getropft (KPG-Rührer). Es war darauf zu achten, daß die Temperatur der Reaktionslösung nicht über -50°C anstieg.

Nach dem Zutropfen wurde noch zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter Eiskühlung mit 75 ml Wasser hydrolysiert. Es wurde mit 10%-iger Schwefelsäure auf $\text{pH}=2$ angesäuert, erneut mit 75 ml Wasser versetzt, die Phasen im Scheidetrichter getrennt und die wäßrige Phase dreimal mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit Natriumcarbonat- lösung neutral gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockene eingengt.

Der Rückstand wurde in heißem Wasser unter Zugabe von Aktivkohle gelöst. Die klare Lösung wurde über Celite filtriert. In der Kälte kristallisierte über Nacht ein weißer Feststoff aus. Dieser wurde abfiltriert und über Phosphorpentoxid im Vakuum bei 60°C zwei Tage getrocknet.

Ausbeute: 28,00 g (49 %)

Darstellung von 3-Methylphenylboronsäurepinakolester (28)

27,40 g (78 mmol) 3-Methylphenylboronsäure wurden mit 27,66 g (234 mmol) wasserfreiem Pinakol in 120 ml trockenem Toluol am Wasserabscheider so lange erhitzt, bis sich kein Wasser mehr bildete. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert.

Ausbeute: 47,60 g (93 %)

Sdp.: 75°C / 0,04 mbar

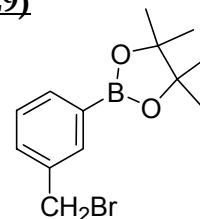
Smp.: 35°C

MS (EI): M⁺ bei m/z = 218, Intensität = 30 %

¹H-NMR: (200 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 1,28 (s, 12 H, Pin-**H**); 2,30 (s, 3 H **CH**₃); 7,21-7,52 (m, 4 H, Ar-**H**)

IR(KBR): [cm⁻¹] 3449(w), 2982(m), 1607(w), 1583(m), 1420(m), 1357(ss), 1321(m), 1268(m), 1209(m), 1142(s), 1081(m), 963(m), 886(w), 850(m), 795(w), 774(w), 712(m), 664(m), 499(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 71,69 %	H: 8,79 %	C ₁₃ H ₁₉ BO ₂
	gef.:	C: 71,59 %	H: 8,97 %	M=218,10 g/mol

Darstellung von 3-Brommethylphenylboronsäurepinakolester (29)

47,50 g (218 mmol) **28**, 42,72 g (240 mmol) *N*-Bromsuccinimid und 1-2 Tropfen Brom wurden in 220 ml Tetrachlorkohlenstoff suspendiert und mit einer UV-Lampe bestrahlt. Das entstandene Succinimid wurde abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde aus Petrolether umkristallisiert.

Ausbeute: 58,60 g (82 %)

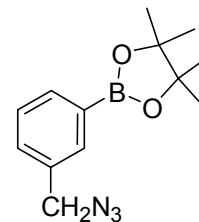
Smp.: 92°C

MS (EI): M-H⁺ bei m/z = 296, Intensität = 5 %

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 1,29 (s, 12 H, Pin-**H**); 4,72 (s, 2 H, **CH**₂); 7,37 (t, 1 H, ³J_H = 7,5 Hz, Ar-**H**₅); 7,56 (dt, 1H, ³J_H = 7,5 Hz, ⁴J_H = 1,4 Hz, Ar-**H**₄); 7,60 (d, 1 H, ³J_H = 7,5 Hz, Ar-**H**₆); 7,75 (s, 1 H, Ar-**H**₂)

IR(KBR): [cm⁻¹] 2978(s), 1700(w), 1604(m), 1580(w), 1488(m), 1425(m), 1386 (s), 1360(ss), 1324(s), 1273(m), 1209(m), 1167(w), 1112(s), 1096(m), 1074(m), 964(m), 919(w), 852(m), 809(m), 701(s), 675(m), 610(m), 580(w), 556(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 52,57 %	H: 6,11 %	C ₁₃ H ₁₈ BrBO ₂
	gef.:	C: 52,41 %	H: 5,90 %	M=297,00 g/mol

Darstellung 3-Azidomethylphenylboronsäurepinakolester (30)

8,91 g (30 mmol **29** und 4,88 g (75 mmol) Natriumazid wurden in 300 ml DMF, p.a. gelöst und bei 60°C über Nacht gerührt. Das DMF wurde abkondensiert und der Rückstand über eine Kieselgelsäule chromatographisch (Laufmittel: Hexan/Essigester 6:1) gereinigt.

Ausbeute: 6,53 g (84 %)

Smp.: Öl

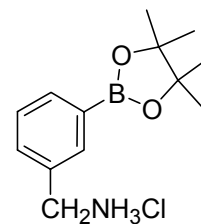
MS (EI): M⁺ bei m/z = 259, Intensität = 30 %

¹H-NMR: (200 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 1,30 (s, 12 H, Pin-**H**); 4,48 (s, 2 H, **CH**₂); 7,39-7,72 (m, 4 H, Ar-**H**)

IR (Film): [cm⁻¹] 2980(m), 2932(m), 2098(s), 1608(m), 1584(w), 1488(m), 1430(s), 1362(ss), 1339(s), 1273(s), 1205(m), 1145(s), 1103(m), 1080(m), 964(m), 903(w), 852(m), 803(m), 779(m), 708(s), 662(m), 580(m), 473(m)

C, H, N:
ber.: C: 60,26 % H: 7,00 % N: 16,22 % C₁₃H₁₈BN₃O₂
gef.: C: 60,09 % H: 6,91 % N: 16,50 % M=259,12 g/mol

Darstellung von 3-Aminomethylphenylboronsäure-pinakolester-Hydrochlorid (17)



2,60 g (10 mmol) **30** wurden zu einer Lösung von 1,09 g (11 mmol) konzentrierter (37%) Salzsäure in 300 ml Methanol gegeben. Es wurden 150 mg Pd/C(10%) zugegeben und über Nacht unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck hydriert. Die Reaktionslösung wurde über Celite filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde aus Toluol umkristallisiert.

Ausbeute: 2,20 g (81%)

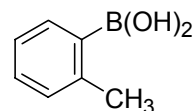
Smp.: 170-172 °C

MS (EI): M⁺-HCl bei m/z = 233, Intensität = 85 %

¹H-NMR: (200 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 1,30 (s, 12 H, Pin-**H**); 4,01 (s, 2 H, **CH**₂); 7,42 (t, 1 H, ³J_H = 7,5 Hz, Ar-**H**₅); 7,65 (2·d, 2 H, ³J_H = 7,5 Hz, Ar-**H**₄+Ar-**H**₆); 7,79 (s, 1 H, Ar-**H**₂); 8,44 (s, 3 H, **NH**₃Cl)

IR(KBR): [cm⁻¹] 3424(m), 2979(s), 1655(w), 1610(m), 1561(w), 1491(w), 1437(m), 1358(ss), 1327(m), 1309(m), 1272(m), 1212(m), 1145(m), 1113(w), 1088(w), 964(w), 850(w), 709(m), 681(w), 586(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 57,92 %	H: 7,85 %	N: 5,20 %	C ₁₃ H ₂₁ BClNO ₂
	gef.:	C: 58,12 %	H: 7,89 %	N: 4,93 %	M=269,58 g/mol

Darstellung von 2-Methylphenylboronsäure^[109, 110]

In einem sekurierten und mit Argon gespülten 250 ml-Dreihalskolben wurden 5,59 g (0,23 mol) Magnesiumspäne vorgelegt. 35,74 g (0,21 mol) 2-Bromtoluol wurden in 80 ml trockenem THF gelöst und eine geringe Menge dieser Lösung zu dem Magnesium getropft. Nach Zugabe von 1 ml Dibrommethan wurde die 2-Bromtoluol-Lösung so zuge-
tropft, daß die Reaktionslösung ständig siedete.

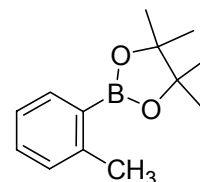
Nach beendeter Zugabe wurde noch zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt und das Reaktionsgemisch anschließend zu einer auf ca. -65°C gekühlten Lösung von 23,92 g (0,23 mol) Trimethylborat in 80 ml trockenem THF getropft (KPG-Rührer). Es war darauf zu achten, daß die Temperatur der Reaktionslösung nicht über -50°C anstieg.

Nach dem Zutropfen wurde noch zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter Eiskühlung mit 75 ml Wasser hydrolysiert. Es wurde mit 10%-iger Schwefelsäure auf $\text{pH}=2$ angesäuert, erneut mit 75 ml Wasser versetzt, die Phasen im Scheidetrichter getrennt und die wäßrige Phase dreimal mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit Natriumcarbonat-lösung neutral gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockene eingengt.

Der Rückstand wurde in heißem Wasser unter Zugabe von Aktivkohle gelöst. Die klare Lösung wurde über Celite filtriert. In der Kälte kristallisierte über Nacht ein weißer Feststoff aus. Dieser wurde abfiltriert und über Phosphorpentoxid im Vakuum bei 60°C zwei Tage getrocknet.

Ausbeute: 16,21 g (56 %)

Darstellung von 2-Methylphenylboronsäurepinakolester (55)



5,90 g (50 mmol) 2-Methylphenylboronsäure wurden mit 5,90 g (50 mmol) wasserfreiem Pinakol in 100 ml trockenem Toluol am Wasserabscheider so lange erhitzt, bis sich kein Wasser mehr bildete. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert.

Ausbeute: 8,57 g (79 %)

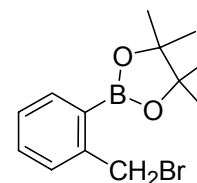
Sdp.: 80°C / 0,5 mbar

MS (EI): M⁺ bei m/z = 218, Intensität = 34 %
M-Pinakol-H₂O+H⁺ bei m/z = 119, Intensität = 100%

¹H-NMR: (200 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 1,29 (s, 12 H, Pin-**H**); 2,30 (s, 3 H, **CH**₃); 7,14-7,20 (m, 2 H, Ar-**H**); 7,28-7,39 (m, 1H, Ar-**H**); 7,61 (d, 1H, ³J_H=7,5Hz, Ar-**H**)

IR(KBR): [cm⁻¹] 3067(m), 3018(m), 2927(m), 2359(w), 1600(s), 1568(m), 1485(m), 1441(s), 1346(ss), 1301(ss), 1253(s), 1200(m), 1164(m), 1125(m), 1067(m), 1044(m), 817(w), 738(ss), 689(s), 603(s), 535(m), 487(w), 431(w)

<u>C, H, N</u> :	ber.:	C: 71,59 %	H: 8,78 %	C ₁₃ H ₁₉ BO ₂
	gef.:	C: 71,17 %	H: 8,78 %	M=218,10 g/mol

Darstellung von 2-Brommethylphenylboronsäurepinakolester (48)

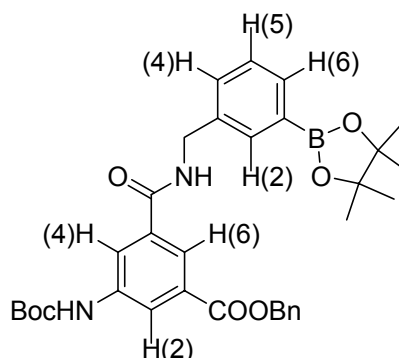
5,45 g (25 mmol) **56**, 4,67 g (26,3 mmol) *N*-Bromsuccinimid und 1-2 Tropfen Brom wurden in 30 ml Tetrachlorkohlenstoff suspendiert und mit einer UV-Lampe bestrahlt. Das entstandene Succinimid wurde abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 5,83 g (78 %)

Das Rohprodukt enthielt ca. 60% des monobromierten und 30% des dibromierten Produktes (Integration $^1\text{H-NMR}$, δ [ppm] 4,95 (Ar-CH $\underline{\text{H}}$ ₂Br); 5,60 (Ar-CH $\underline{\text{H}}$ Br₂); 2,45 (Ar-CH $\underline{\text{H}}$ ₃). Es ließ sich weder destillativ noch säulenchromatographisch weiter reinigen und wurde daher in diesem Reinheitsgrad weiter eingesetzt.

4.7 Synthese eines Cyclopeptids basierend auf 5-Aminoisophthalsäure mit Boronsäureuntereinheiten

Darstellung von 20



3,6 g (9,7 mmol) Boc-5-AIS(OH)-OBn (**19**), 3,93 g (14,5 mmol) **17** und 6,13 g (14,5 mmol) PyCloP wurden in 200 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Es wurden 7,0 ml (39 mmol) DIEA zugetropft und zwei Wochen bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: n-Hexan/Essigsäureethylester 2:1, $R_f = 0,42$).

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 4,4 g (77% d. Theorie)

Smp.: 162-165°C

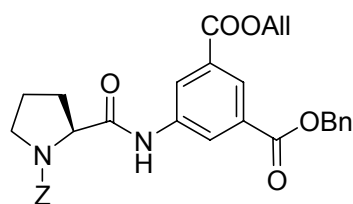
MS (EI): M^+ bei $m/z=586$, Intensität = 8%

$^1\text{H-NMR}$: [500 MHz, d_6 -DMSO] δ [ppm] 1,28 (s, 12H, Pinakol- CH_3); 1,48 (s, 9H, tBu- H); 4,45 (d, 2H, $^3J_{\text{H}}=5,7$ Hz, Bn- CH_2 -N); 5,38 (s, 2H, Bn- CH_2 -O); 7,31-7,42 (m, 7H, Ar- H); 7,56 (d, 1H, $^3J_{\text{H}}=7,6$ Hz, 3-AMPB- $\text{H}(6)$); 7,66 (s, 1H, 3-AMPB- $\text{H}(2)$); 8,08 (s, 1H, 5-AIS- $\text{H}(6)$); 8,25 (s, 2H, 5-AIS- $\text{H}(2)$ +5-AIS- $\text{H}(4)$); 9,25 (t, 1H, $^3J_{\text{H}}=5,7$ Hz, Bn-NH); 9,76 (s, 1H, NH)

IR: [cm^{-1}] 3352(m), 3275(m), 2973(m), 2926(w), 1727(w), 1711(s), 1647 (ss), 1607(m), 1555(s), 1454(m), 1428(m), 1367(s), 1355(s), 1333(s), 1262(ss), 1243(s), 1219(ss), 1158(ss), 1143(ss), 1115(s), 1077 (m), 1050(m), 963(m), 899(m), 868(w), 850(m), 811(w), 752(m), 695(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 67,58 %	H: 6,70 %	N: 4,78 %	C ₃₃ H ₃₉ BN ₂ O ₇
	ber.:	C: 66,56 %	H: 6,77 %	N: 4,70 %	C ₃₃ H ₃₉ BN ₂ O ₇ · 0,5 H ₂ O
	gef.:	C: 66,62 %	H: 6,63 %	N: 4,39 %	
		C ₃₃ H ₃₉ BN ₂ O ₇		M=586,50 g/mol	
		C ₃₃ H ₃₉ BN ₂ O ₇ · 0,5 H ₂ O		M=595,51 g/mol	

Darstellung des Dipeptids
Z-Pro-5-AIS(OAll)-OBn (35)



Entschützung: Vor der Peptidknüpfung wurden 2,1 g (5,0 mmol) Boc-5-AIS(O-All)-OBn (**33**) an der Boc-geschützten Aminogruppe nach Methode I entschützt.

Ausbeute: 1,56 g (100%)

Peptidkupplung: 1,56 g (5 mmol) 5-AIS(OAll)-OBn (**34**), 1,87 g (7,5 mmol) Z-Prolin und 3,16 g (7,5 mmol) PyCloP wurden in 100 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Es wurden 2,6 ml (15 mmol) DIEA zugegeben und die Lösung über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel: n-Hexan/Ethylacetat 1:1, R_f=0,48) gereinigt.

Die sauberen Produktfraktionen wurden zur Trockene eingedunstet und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2,6 g (96% d. Theorie)

Smp.: > 250°C

[α]_D²⁵: -70,6°, c=1, Chloroform

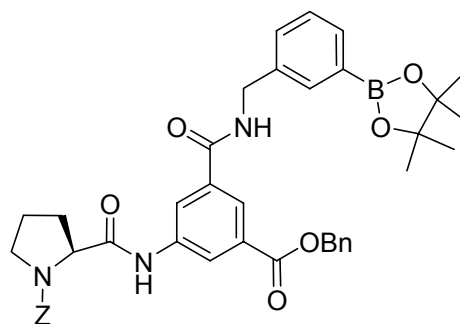
MS: M+Na⁺ bei m/z=565, Intensität=1500 a.u. (MALDI-TOF)

¹H-NMR: [200 MHz, d₆-DMSO, 100°C] δ[ppm] 1,78-2,08 (m, 3H, Pro-**H**_β+Pro-**H**_γ); 2,13-2,35 (m, 1H, Pro-**H**_β); 3,38-3,66 (m, 2H, Pro-**H**_δ); 4,37 (dd, ³J_{H ac}=4,0Hz, ³J_{H aa}=8,3Hz, Pro-**H**_α); 4,78 (dt, 2H, ³J_H=5,5Hz, ⁴J_H=1,5Hz, **CH**₂CH=CH₂); 4,94-5,15 (m, 2H, Z-**CH**₂); 5,29 (dd, 1H, ³J_H=10,5Hz, ⁴J_H=1,5Hz, CH₂CH=CH₂, cis-H); 5,39 (dd, 1H, ³J_H=17,1Hz, ⁴J_H=1,5 Hz, CH₂CH=CH₂, trans-H); 5,40 (s, 2H, Bn-**CH**₂); 5,96-6,16 (m, 1H, CH₂CH=CH₂); 7,10-7,50 (m, 10H, Ar-**H**); 8,21 + 8,44 + 8,49 (3 dd, 3H, ⁴J_H=1,5 Hz, AIS-**H**); 10,13 (s, 1H, **NH**)

IR: [cm⁻¹] 3305(w), 3033(w), 2955(w), 2884(w), 1724(ss), 1677(s), 1606(m), 1560(m), 1498(w), 1454(s), 1425(s), 1359(m), 1334(m), 1231(ss), 1175(s), 1124(m), 986(m), 918(w), 756(m), 697(m), 484(w), 469(w), 455(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 68.62	H: 5.57	N: 5.16	C ₃₁ H ₃₀ N ₂ O ₇
	ber.:	C: 67,50	H: 5.66	N: 5.08	C ₃₁ H ₃₀ N ₂ O ₇ · 0,5 H ₂ O
	gef.:	C: 67.51	H: 5.85	N: 5.07	
		C ₃₁ H ₃₀ N ₂ O ₇			M=542,59 g/mol
		C ₃₁ H ₃₀ N ₂ O ₇ · 0,5 H ₂ O			M=551,60 g/mol

Darstellung des Dipeptids 32



Entschützung: Vor der Amidknüpfung wurden 2,75 g (5,0 mmol) Z-Pro-5-AIS(O-All)-OBn (**35**) an der allylveresterten Carboxylgruppe nach Methode III entschützt.

Ausbeute: 2,50 g (100%)

Amidknüpfung: 2,50 g (5,0 mmol) Z-Pro-5-AIS(OH)-Obn (**36**), 2,03 g (7,5 mmol) **17** und 3,16 g (7,5 mmol) PyCloP wurden in 100 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Es wurden 3,91 ml (22,5 mmol) DIEA zugetropft und zwei Wochen bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: n-Hexan/Essigsäureethylester 1:1, $R_f=0,45$).

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2,72 g (76% d. Theorie)

Smp.: 70-72°C

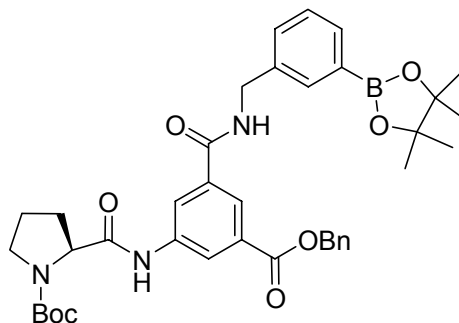
$[\alpha]_D^{25}$: -40,5°, c=2, Chloroform

MS (FAB): M+H⁺ bei m/z=718, Intensität = 43%
M+Na⁺ bei m/z=740, Intensität = 58%

¹H-NMR: [200 MHz, d₆-DMSO, 373K] δ [ppm] 1,31 (s, 12H, Pin-**H**); 1,79-2,09 (m, 3H, Pro-**H** _{β} + Pro-**H** _{γ}); 2,14-2,37 (m, 1H, Pro-**H** _{β}); 3,40-3,62 (m, 2H, Pro-**H** _{δ}); 4,40 (dd, 1H, ³J_{H ac}=4,0Hz, ³J_{H aa}=8,0Hz, Pro-**H** _{α}); 4,50 (d, 2H, ³J_H=6,0 Hz, Bn-**CH**₂-N); 5,41 (s, 2H, Bn-**CH**₂-O); 7,15-7,52 (m, 12H, Ar-**H**); 7,58 (dt, 1H, PB-**H**(**4**)); 7,70 (s, 1H, PB-**H**(**2**)); 8,17 (t, 1H, ⁴J_H=1,5Hz, 5-AIS-**H**(**4**)); 8,31-8,38 (m, 2H, 5-AIS-**H**(**2**) + 5-AIS-**H**(**6**)); 8,90 (t, 1H, ³J_H=5,7Hz, Bn-N**H**); 10,03 (s, 1H, N**H**)

IR(KBr): [cm⁻¹] 3316(m), 2978(m), 1702(s), 1603(m), 1560(s), 1453(s), 1426(s), 1358(s), 1261(s), 1179(s), 1143(s), 965(m), 900(m), 852(m), 802(m), 755(m), 697(m), 604(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 68,62	H: 6,18	N: 5,86	C ₄₁ H ₄₄ BN ₃ O ₈
	ber.:	C: 66,13	H: 6,36	N: 5,64	C ₄₁ H ₄₄ BN ₃ O ₈ · 1,5H ₂ O
	gef.:	C: 66,11	H: 6,77	N: 5,31	
		C ₄₁ H ₄₄ BN ₃ O ₈			M= 717,63 g/mol
		C ₄₁ H ₄₄ BN ₃ O ₈ · 1,5H ₂ O			M= 744,65 g/mol

Darstellung des Dipeptids 40

2,5 g (5,3 mmol) Boc-Pro-5-AIS(OH)-OBn (**39**), 2,2 g (8,0 mmol) **17** und 3,4 g (8,0 mmol) PyCloP wurden in 90 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Es wurden 4,2 ml (24,0 mmol) DIEA zugetropft und zwei Wochen bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: n-Hexan/Essigsäureethylester 2:3, $R_f=0,65$).

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2,9 g (83% d.Th.)

Smp.: Erweichen bei 80°C, Zersetzung bei 85°C

$[\alpha]_D^{25}$: -72,1°, c=2, Chloroform

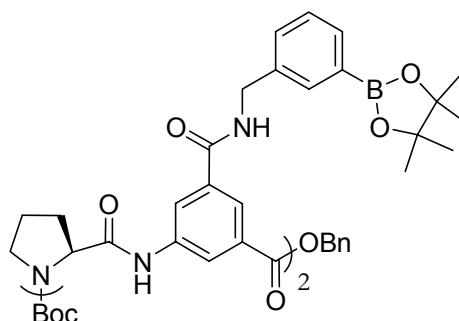
MS: M+H⁺-Boc bei m/z=584, I=2200 a.u. (MALDI-TOF)

¹H-NMR: [200 MHz, d₆-DMSO, 373K] δ [ppm] 1,31 (s, 12H, Pin-**H**); 1,36 (s, 9H, tBu-**H**); 1,75-2,03 (m, 3H, Pro-**H** _{β} + Pro-**H** _{γ}); 2,11-2,34 (m, 1H, Pro-**H** _{β}); 3,32-3,51 (m, 2H, Pro-**H** _{δ}); 4,27 (dd, 1H, ³J_{H ac}=4,3 Hz, ³J_{H aa}=8,0 Hz, Pro-**H** _{α}); 4,49 (d, 2H, ³J_H=6,0 Hz, Bn-**CH**₂-N); 5,40 (s, 2H, Bn-**CH**₂-O); 7,27-7,52 (m, 8H, Ar-**H**); 7,69 (s, 1H, Ar-**H**); 8,16 (t, 1H, ⁴J_H=1,7Hz, 5-AIS-**H**(**4**)); 8,33 (t, 1H, ⁴J_H=1,7Hz, 5-AIS-**H**(**2**)); 8,39 (t, 1H, ⁴J_H=1,7Hz, 5-AIS-**H**(**6**)); 8,90 (t, 1H, ³J_H=5,7 Hz, Bn-N**H**); 9,97 (s, 1H, N**H**)

IR(KBr): [cm⁻¹] 3311(m), 2979(s), 2363(w), 1663(ss), 1603(m), 1561(s), 1454(s), 1425(s), 1366(ss), 1259(s), 1144(s), 956(m), 887(w), 852(m), 757(m), 709(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 66,77 %	H: 6,78 %	N: 6,15 %	$C_{38}H_{46}BN_3O_8$
	ber.:	C: 65,05 %	H: 6,90 %	N: 5,99 %	$C_{38}H_{46}BN_3O_8 \cdot H_2O$
	gef.:	C: 66,62 %	H: 6,63 %	N: 4,39 %	
		$C_{38}H_{46}BN_3O_8$		M=683,60 g/mol	
		$C_{38}H_{46}BN_3O_8 \cdot H_2O$		M=701,61 g/mol	

Darstellung des Tetrapeptids 41



Entschützungen: Vor der Peptidkupplung wurden je 1,3 g (1,9 mmol) **40** an der Boc-geschützten Aminogruppe nach Methode I und an der allylveresterten Carboxylgruppe nach Methode III entschützt.

Ausbeuten: **40a:** 1,14 g (100%)
40b: 1,10 g (100%)

Peptidkupplung: 1,14 g (1,9 mmol) **40a**, 1,10 g (1,9 mmol) **40b** und 1,2 g (2,9 mmol) PyCloP wurden in 40 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach Zugabe von 1,3 ml (7,6 mmol) DIEA wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: Essigsäureethylester, $R_f=0,42$).

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

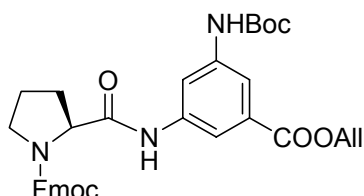
Ausbeute: 1,5 g (71% d.Th.)

MS (FAB): $M+H^+$ bei $m/z=1160$, Intensität = 42%
 $M+Na^+$ bei $m/z=1182$, Intensität = 11%

4.8 Synthese eines Cyclopeptids basierend auf Diaminobenzoesäure

4.8.1 Synthese des Tetrapeptids Z-[Pro-DAB(NHBoc)]₂-OAll (67)

Darstellung des Dipeptids 64



2,92 g (10 mmol) 5-Boc-DAB-OAll (**62**), 5,06 g (15 mmol) Fmoc-Prolin und 6,32 g (15 mmol) PyCloP wurden in 200 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Es wurden 5,2 ml (30 mmol) DIEA zugetropft und die Lösung über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel: n-Hexan/Ethylacetat 1:1, $R_f=0,42$) gereinigt.

Die sauberen Produktfraktionen wurden zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 5,85 g (95% d. Theorie)

Smp.: 110-112°C

$[\alpha]_D^{25}$: -69,0°, c=2, Chloroform

MS (FAB): M+H⁺ bei m/z=612, Intensität=28%
M+Na⁺ bei m/z=634, Intensität=77%

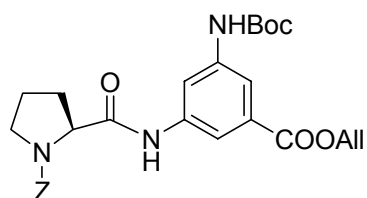
¹H-NMR: [200 MHz, d₆-DMSO, 100°C] δ [ppm] 1,48 (s, 9H, tBu); 1,77-2,06 (m, 3H, Pro-**H** _{β} +Pro-**H** _{γ}); 2,12-2,33 (m, 1H, Pro-**H** _{β}); 3,35-3,59 (m, 2H, Pro-**H** _{δ}); 4,14-4,23 (m, 1H, Fmoc-**CH**); 4,25-4,34 (m, 2H, Fmoc-**CH**₂); 4,39 (dd, ³J_{H ac}=3,5Hz, ³J_{H aa}=8,3Hz, Pro-**H** _{α}); 4,78 (dt, 2H, ³J_H=5,5Hz, ⁴J_H=1,5Hz, **CH**₂CH=CH₂); 5,24 (ddd, 1H, ³J_H=10,5Hz, ⁴J_H=1,3Hz, ²J_H=2,8Hz, CH₂CH=CH₂, cis-H); 5,36 (ddd, 1H, ³J_H=17,3Hz, ⁴J_H=1,5 Hz, ²J_H=3,3Hz,

CH₂CH=CH₂, trans-H); 5,90-6,14 (m, 1H, CH₂CH=CH₂); 7,15-7,41 (m, 4H, Fmoc-Ar-H); 7,60 (d, 2H, ³J_H=7,3Hz, Fmoc-Ar-H); 7,75 + 7,91 + 8,05 (3 dd, 3H, ⁴J_H=1,8 Hz, DAB-H); 7,79 (d, 2H, ³J_H=7,5 Hz, Fmoc-Ar-H); 9,16 (s, 1H, NH); 9,87 (s, 1H, NH-Boc)

IR (KBr): [cm⁻¹] 3317(m), 3069(w), 2978(m), 1702(s), 1609(s), 1545(s), 1452(s), 1424(s), 1366(s), 1230(s), 1160(s), 1120(s), 986(m), 879(m), 758(m), 741(m), 536(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 68.72	H: 6.10	N: 6.87
	gef.:	C: 68.53	H: 6.05	N: 6.57
		C ₃₅ H ₃₇ N ₃ O ₇		M=611,70 g/mol

Darstellung des Dipeptids 63



1,75 g (6 mmol) 5-Boc-DAB-OAll (**62**), 2,24 g (9 mmol) Z-Prolin und 3,8 g (9 mmol) PyCloP wurden in 120 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Es wurden 3,1 ml (18 mmol) DIEA zugetropft und die Lösung über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat 1:1, R_f=0,51) gereinigt.

Die sauberen Produktfraktionen wurden zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 3,1 g (99% d. Theorie)

Smp.: 92-95°C

[α]_D²⁵: -70,3°, c=2, Chloroform

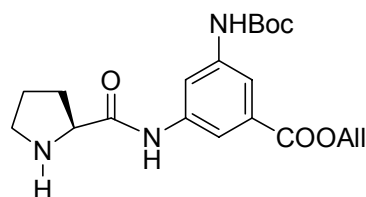
MS (FAB): M⁺ bei m/z=523, Intensität=24%
M+Na⁺ bei m/z=546, Intensität=27%

¹H-NMR: [200 MHz, d₆-DMSO, 100°C] δ[ppm] 1,51 (s, 9H, tBu); 1,79-2,07 (m, 3H, Pro-**H**_β+Pro-**H**_γ); 2,13-2,37 (m, 1H, Pro-**H**_β); 3,43-3,64 (m, 2H, Pro-**H**_δ); 4,40 (dd, ³J_{H ac}=3,5Hz, ³J_{H aa}=8,0Hz, Pro-**H**_α); 4,80 (dt, 2H, ³J_H=5,5Hz, ⁴J_H=1,5Hz, **CH**₂CH=CH₂); 5,07 (d, 2H, ³J_H=4,3 Hz, Bn-**CH**₂); 5,28 (ddd, 1H, ³J_H=10,5Hz, ⁴J_H=1,5Hz, CH₂CH=CH₂, cis-H); 5,41 (ddd, 1H, ³J_H=17,3Hz, ⁴J_H=1,5 Hz, CH₂CH=CH₂, trans-H); 5,92-6,19 (m, 1H, CH₂**CH**=CH₂); 7,12-7,44 (m, 5H, Bn-**H**); 7,78 + 7,90 + 8,05 (3 dd, 3H, ⁴J_H=1,8 Hz, DAB-**H**); 9,18 (s, 1H, **NH**); 9,87 (s, 1H, **NH**-Boc)

IR: [cm⁻¹] 3317(m), 3092(m), 2979(m), 1701(ss), 1609(s), 1545(s), 1453(s), 1424(s), 1365(s), 1229(s), 1160(ss), 1119(s), 985(m), 878(m), 771(m), 697(m)

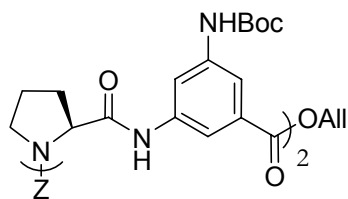
<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 64.23	H: 6.35	N: 8.03
	gef.:	C: 64.08	H: 6.32	N: 7.82
		C ₂₈ H ₃₃ N ₃ O ₇		M=523,59 g/mol

Darstellung des Dipeptids 66



700 mg (1,1 mmol) **64** wurden in 10 ml trockenem und entgastem THF gelöst. Nach Zugabe von 2 ml 1M Tetrabutylammoniumfluoridlösung in THF wurde die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Tag wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel: Aceton, R_f=0,57) gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden vereinigt und im Vakuum zur Trockene eingengt. Das Produkt wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet und ohne weitere Charakterisierung so eingesetzt.

Ausbeute: 480 mg (100%)

Darstellung des Tetrapeptids 67

Entschützung von 63: Vor der Peptidkupplung wurden 4,3 g (8,2 mmol) **63** an der allylveresterten Carboxylgruppe nach Methode III entschützt.

Ausbeute: 4,0 g (100%) **65**

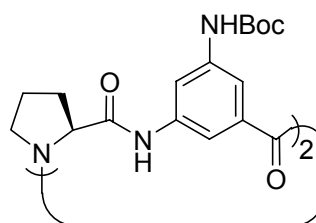
Peptidkupplung: 2,4 g (5,5 mmol) **65**, 2,4 g (5,5 mmol) **66** und 3,5 g (8,3 mmol) PyCloP wurden in 120 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Es wurden 3,8 ml (22,1 mmol) DIEA zugetropft und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt.

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel: Essigsäureethylester, $R_f=0,64$) gereinigt.

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 3,0 g (64% d.Th.)

MS (FAB): $M+Na^+$ bei $mz=877$, Intensität = 35%

Darstellung des Cyclopeptids 69 ^[111]

Entschützung von 67: Vor der Peptidkupplung wurden 3,0 g (3,5 mmol) **67** an der allylveresterten Carboxylgruppe nach Methode III und an der Boc-geschützten Amino-Gruppe nach Methode IV entschützt.

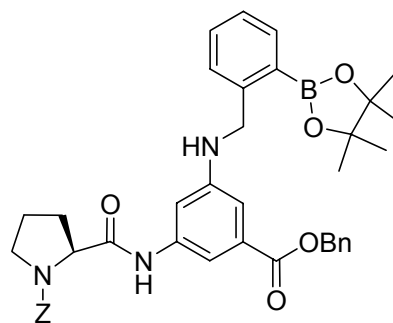
Ausbeute: 2,63 g (100%) **68**

Cyclisierung von 68: In einen 500 ml Dreihalskolben wurden 1,61 g (5 mmol) TBTU eingewogen und dreimal sekuriert. Es wurden 200 ml DMF, p.a. und 0,42 ml (2,5 mmol) DIEA zugegeben. Diese Lösung wurde mit einem bereits vorgeheizten Ölbad auf 80°C erwärmt. Anschließend wurden 0,81 g (1,0 mmol) vollständig entschütztes, lineares Tetrapeptid (**68**) in 40 ml DMF, p.a. suspendiert. Nach Zugabe von 1,05 ml (6,0 mmol) DIEA löste sich der Feststoff vollständig auf. Diese Lösung wurde durch ein Septum über vier Stunden mit einem Perfusor zur Lösung des Kupplungsreagenzes zugetropft. Es wurde soviel DIEA zugegeben, bis die Lösung einen pH von 9 erreichte, und noch eine Stunde bei 80°C weitergerührt.

Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel: Chloroform/Aceton 1:1, $R_f=0,42$) gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 280 mg (42 %)

4.8.2 Synthese des Rezeptors 81

Darstellung des Dipeptids 58

Entschützung von 56: Vor der Alkylierung wurden 1,5 g (2,6 mmol) **56** nach Methode I Boc-entschützt.

Ausbeute: 1,23 g (100%) **57**

Alkylierung: 1,23 g (2,6 mmol) **57**, 0,37 g (2,6 mmol) K_2CO_3 , 0,45 g (2,6 mmol) KI und 1,08 g (3,7 mmol) **48** wurden in 20 ml DMF suspendiert und über Nacht gerührt.

Das Reaktionsgemisch wurde in 100 ml Essigsäureethylester aufgenommen und dreimal mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Laufmittel: n-Hexan/Ethylacetat 2:1, $R_f=0,29$) gereinigt.

Die sauberen Produktfraktionen wurden zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,62 g (35% d. Theorie)

Smp.: 66-68°C

$[\alpha]_D^{25}$: -56,8°, c=2, Chloroform

MS (FAB): $[M^+]$ bei $m/z=689$, Intensität=100%
 $[M+Na^+]$ bei $m/z=714$, Intensität=9%

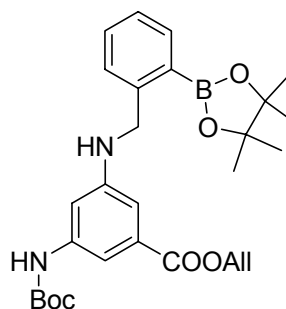
1H -NMR: [200 MHz, d_6 -DMSO, 100°C] δ [ppm] 1,78-2,05 (m, 3H, Pro-**H** _{β} +Pro-**H** _{γ});
 2,10-2,31 (m, 1H, Pro-**H** _{β}); 3,39-3,69 (m, 2H, Pro-**H** _{δ}); 4,37 (dd, 3J_H

$a_c=3,8\text{Hz}$, $^3J_{\text{H aa}}=8,1\text{Hz}$, Pro-**H α**); 4,52 (d, 2H, $^2J_{\text{H}}=5,3\text{Hz}$, Z-**CH $_2$**); 5,06 (d, 2H, $^3J_{\text{H}}=2,6\text{Hz}$, N-**CH $_2$**); 5,32 (s, 2H, Bn-**CH $_2$**); 5,98 (t, 1H, **NH**); 7,02 (m, 1H, Ar-**H**); 7,19-7,47 (m, 15H, Ar-**H**); 7,70 (m, 1H, AIS-**H**); 9,61 (s, 1H, **NH**)

IR: [cm^{-1}] 3394(m), 2978(m), 1701(s), 1613(s), 1560(s), 1457(s), 1349(ss), 1314(s), 1229(s), 1144(m), 1118(s), 963(m), 861(m), 768(m), 697(m), 660(m), 419(w)

C, H, N: ber.: C: 69.67 H: 6.43 N: 6.09 $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{BN}_3\text{O}_7$
ber.: C: 68.77 H: 6.49 N: 6.01 $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{BN}_3\text{O}_7 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$
gef.: C: 68.79 H: 6.72 N: 5.84
 $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{BN}_3\text{O}_7$ M=689,62 g/mol
 $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{BN}_3\text{O}_7 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$ M=698,62 g/mol

Darstellung von 71



5,4 g (18,5 mmol) 3-Amino-5-Boc-DAB-allylester **62** und 3,90 g (26,0 mmol) 2-Formylphenylboronsäure wurden in 100 ml Ethanol, dest. gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 2,9 g (45,0 mmol) NaCNBH_3 in 3 Portionen hinzugefügt.

Nach erfolgter Zugabe wurden 7 ml konzentrierte Essigsäure zugesetzt und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Am nächsten Tag wurden weitere 3 ml konz. Essigsäure zugegeben, erneut über Nacht gerührt und dann zur Trockene eingengt.

Man gab 2,2 g (18,5 mmol) wasserfreies Pinakol und 100 ml Toluol hinzu und erhitze am Wasserabscheider zum Sieden. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch überprüft (Laufmittel: n-Hexan/Essigester 6:1, $R_f=0,26$).

Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Die organische Phase wurde zunächst mit Wasser, dann dreimal mit 10%-iger Natriumcarbonatlösung und abschließend noch zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: n-Hexan/Essigester 6:1, $R_f=0,26$).

Man vereinigte die sauberen Fraktionen und entfernte das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Das Produkt trocknete man im Ölpumpenvakuum bei 50°C.

Ausbeute: 5,64 g (60% d. Theorie)

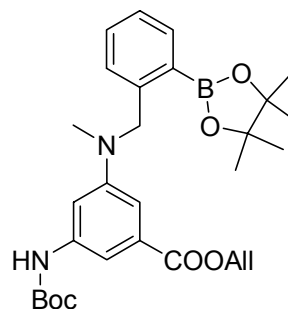
Smp.: 118-120°C

MS (EI): M^+ bei $m/z=508$, Intensität = 41%

$^1\text{H-NMR}$: [500 MHz, d_6 -DMSO] δ [ppm] 1,29 (s, 12H, pin); 1,45 (s, 9H, tBu); 4,47 (d, 2H, $^3J_{\text{H}}=6,0$ Hz, Bn-**CH**₂); 4,72 (dt, 2H, $^3J_{\text{H}}=5,4$ Hz, **CH**₂CH=CH₂); 5,24 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}}=12,0$ Hz, $^2J_{\text{H}}=1,6$ Hz, CH₂CH=**CH**₂, cis H); 5,34 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}}=17,0$ Hz, $^2J_{\text{H}}=1,6$ Hz, CH₂CH=**CH**₂, trans H); 5,94-6,04 (m, 1H, CH₂**CH**=CH₂); 6,40 (t, 1H, $^3J_{\text{H}}=5,7$ Hz, Bn-**NH**); 6,84 (t, 1H, $^4J_{\text{H}}=1,9$ Hz, Ar-**H**), 7,00 (s, 1H, Ar-**H**); 7,23 (td, 1H, $^3J_{\text{H}}=7,3$ Hz, $^4J_{\text{H}}=1,0$ Hz, Ar-**H**); 7,30-7,42 (m, 3H, Ar-**H**); 7,68 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}}=7,6$ Hz, $^2J_{\text{H}}=1,2$ Hz, Ar-**H**); 9,27 (s, 1H, **NH**)

IR: [cm^{-1}] 3396(s), 3344(m), 2976(m), 2929(w), 2362(w), 2339(w), 2160(w), 2024(w), 1975(w), 1731(s), 1703(ss), 1648(w), 1606(s), 1596(s), 1571(w), 1539(s), 1514(m), 1493(w), 1479(w), 1443(s), 1380(m), 1372(m), 1365(m), 1348(ss), 1302(s), 1271(m), 1259(m), 1223(ss), 1197(m), 1156(ss), 1142(ss), 1120(s), 1070(s), 1019(s), 992(m), 978(m), 961(m), 934(m), 860(m), 827(w), 807(w), 769(m), 679(m), 660(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 66,15 %	H: 7,34 %	N: 5,51 %
	gef.:	C: 65,89 %	H: 7,41 %	N: 5,35 %
		C ₂₈ H ₃₇ BN ₂ O ₆		M=508,43 g/mol

Darstellung von 72

4,0 g (7,0 mmol) **71** wurden in 50 ml Ethanol, dest. gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 6 ml (70,0 mmol) einer 37%-igen Formaldehydlösung zugetropft und anschließend 0,7 g (11,2 mmol) NaCNBH₃ in 3 Portionen hinzugefügt.

Nach erfolgter Zugabe wurden 4 ml konz. Essigsäure zugesetzt und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch überprüft (Laufmittel: n-Hexan/Essigester 6:1, R_f=0,32).

Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Die organische Phase wurde zunächst mit Wasser, dann dreimal mit 10%-iger Natriumcarbonatlösung und abschließend noch zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: n-Hexan/Essigester 6:1, R_f=0,32). Man vereinigte die sauberen Fraktionen und entfernte das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Das Produkt trocknete man im Ölpumpenvakuum bei 50°C.

Ausbeute: 3,58 g (98% d. Theorie)

Smp.: 148-150°C

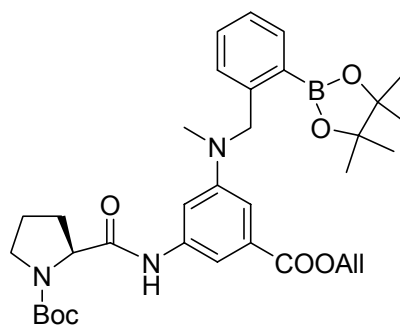
MS (EI): M⁺ bei m/z=522, Intensität = 48%

¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 1,30 (s, 12H, pin); 1,44 (s, 9H, tBu); 3,00 (s, 3H, NCH₃); 4,72 (dt, 2H, ³J_H=5,3 Hz, CH₂CH=CH₂); 4,77 (s, 2H, Bn-CH₂); 5,19 (dd, 1H, ³J_H=10,5Hz, ²J_H=1,7Hz, CH₂CH=CH₂, cis H); 5,28 (dd, 1H, ³J_H=17,3 Hz, ²J_H=1,7 Hz, CH₂CH=CH₂, trans H); 5,88-6,10 (m, 1H, CH₂CH=CH₂); 6,88 (s, 1H, Ar-H), 7,00 (d, 1H, ³J_H=7,3 Hz, Ar-H); 7,06 (s, 1H, Ar-H); 7,17-7,43 (m, 2H, Ar-H); 7,51 (s, 1H, Ar-H); 7,73 (dd, 1H, ³J_H=7,3 Hz, ⁴J_H=1,2 Hz, Ar-H); 9,31 (s, 1H, NH)

IR: [cm⁻¹] 3321(m), 2978(m), 2931(w), 2878(w), 2160(w), 1722(s), 1695(ss), 1646(w), 1606(m), 1589(m), 1543(s), 1490(m), 1447(s), 1424(w), 1380(s), 1369(s), 1345(ss), 1320(m), 1291(s), 1237(s), 1220(ss), 1197(m), 1156(ss), 1143(ss), 1115(s), 1070(m), 1037(m), 1029(m), 982(m), 962(w), 924(m), 858(m), 851(m), 831(w), 783(w), 765(m), 749(w), 729(w), 680(w), 659(w)

C, H, N: ber.: C: 66,67 % H: 7,52 % N: 5,36 %
 gef.: C: 66,40 % H: 7,42 % N: 5,32 %
 C₂₉H₃₉BN₂O₆ M=522,45 g/mol

Darstellung des Dipeptids 74



Entschützung: Vor der Peptidkupplung wurden 5,7 g (11,0 mmol) **72** nach Methode II Boc-entschützt.

Ausbeute: 5,0 g (100%) **73**

Peptidkupplung: 5,0 g (11,0 mmol) **73**, 3,6 g (16,5 mmol) Boc-Prolin und 7,0 g (16,5 mmol) PyCloP wurden in 220 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Es wurden 7,6 ml (44,0 mmol) DIEA zugetropft und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: n-Hexan/Essigester 2:1, R_f=0,42).

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum bei 50°C getrocknet.

Ausbeute: 4,3 g (64% d. Theorie)

Smp.: Erweichen bei 80°C, Zersetzung bei 95°C

[α]_D²⁵: -64,3°, c=2, Chloroform

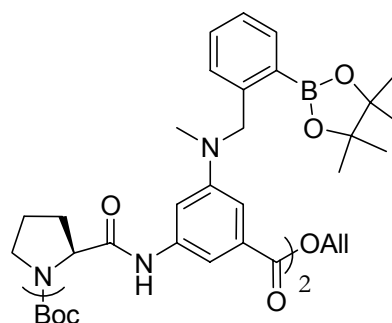
MS (EI): M⁺ bei m/z=619, Intensität = 52%

¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO, 373 K] δ [ppm] 1,30 (s, 12H, pin); 1,32 (s, 9H, tBu); 1,73-1,98 (m, 3H, Pro-**H** _{β} +Pro-**H** _{γ}); 2,05-2,23 (m, 1H, Pro-**H** _{β}); 2,94 (s, 3H, N**CH**₃); 3,26-3,48 (m, 2H, Pro-**H** _{δ}); 4,21 (dd, 1H, ³J_{H ac}=4,0 Hz, ³J_{H aa}=8,0 Hz, Pro-**H** _{α}); 4,70-4,77 (m, 4H, **CH**₂CH=CH₂ + Bn-**CH**₂); 5,22 (dd, 1H, ³J_H=10,6 Hz, ²J_H=1,5 Hz, CH₂CH=**CH**₂, cis H); 5,33 (dd, 1H, ³J_H=17,1 Hz, ²J_H=1,5 Hz, CH₂CH=**CH**₂, trans H); 5,86-6,13 (m, 1H, CH₂**CH**=CH₂); 7,02-7,41 (m, 5H, Ar-**H**); 7,57 (t, 1H, ⁴J_H=1,5 Hz, Ar-**H**); 7,71 (d, 1H, ⁴J_H=1,5 Hz, Ar-**H**); 9,57 (s, 1H, **NH**)

IR (KBr): [cm⁻¹] 3329(m), 2978(s), 1702(ss), 1612(ss), 1561(s), 1348(ss), 1229(s), 1164(s), 1118(s), 1067(s), 1039(s), 986(m), 931(m), 860(s), 768(s), 728(m), 677(m), 660(m), 539(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 65,91 %	H: 7,48 %	N: 6,78 %
	gef.:	C: 66,02 %	H: 7,65 %	N: 6,52 %
		C ₃₄ H ₄₆ BN ₃ O ₇	M=619,57 g/mol	

Darstellung des Tetrapeptids 77



Entschützungen: Vor der Peptidkupplung wurden je 2,0 g (3,3 mmol) **74** an der Boc-geschützten Aminogruppe nach Methode II (Ausbeute 1,8 g (100%)) und an der allylveresterten Carboxylgruppe nach Methode III (Ausbeute 1,9 g (100%)) entschützt.

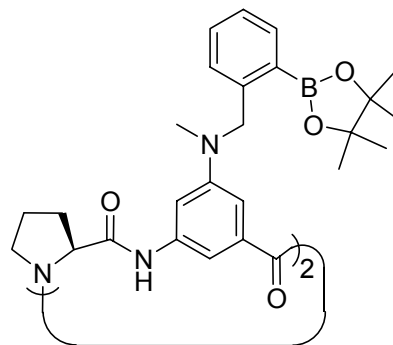
Peptidkupplung: 1,8 g (3,3 mmol) **75**, 1,9 g (3,3 mmol) **76** und 2,1 g (5,0 mmol) PyCloP wurden in 70 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach Zugabe von 2,3 ml (13,3 mmol) DIEA wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel : n-Hexan/ Essigsäureethylester 1:2, $R_f=0,36$) gereinigt.

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2,2 g (62%)

MS (FAB): $M+Na^+$ bei $m/z=1103$, Intensität=100%
 $M+Na^+$ -Boc bei $m/z=1003$, Intensität=65%

Darstellung des Cyclopeptids 80



Entschützungen: Vor der Cyclisierung wurden 2,2 g (2,0 mmol) **77** zunächst an der allylverestern Carboxylgruppe nach Methode III (Ausbeute 2,15 g (100%)) und anschließend an der Boc-geschützten Aminogruppe nach Methode II (Ausbeute 2,0 g (100%)) entschützt.

Cyclisierung: In einen 500 ml Dreihalskolben wurden 1,61 g (5 mmol) TBTU eingewogen und dreimal sekuriert. Es wurden 200 ml DMF, p.a. und 0,42 ml (2,5 mmol) DIEA zugegeben. Diese Lösung wurde mit einem bereits vorgeheizten Ölbad auf 80°C erwärmt. Anschließend wurden 0,98 g (1,0 mmol) vollständig entschütztes, lineares Tetrapeptid (**79**) in 40 ml DMF, p.a. suspendiert. Nach Zugabe von 1,05 ml (6,0 mmol) DIEA löste sich der Feststoff vollständig auf. Diese Lösung wurde durch ein Septum über vier Stunden mit einem Perfusor zur Lösung des Kupplungsreagenzes zugetropft.

Es wurde soviel DIEA zugegeben, bis die Lösung einen pH von 9 erreichte, und noch eine Stunde bei 80°C weitergerührt.

Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (1. Laufmittel: Chloroform/Aceton 1:1, $R_f=0,27$; 2. Laufmittel: Ethylacetat/2-Propanol 5:1, $R_f=0,46$) gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 480 mg (52 %)

Smp: Zersetzung bei 210°C

$[\alpha]_D^{25}$: -193,0° (c=1, DMF)

MS (FAB): M+H⁺ bei m/z=923, Intensität = 100 %

M+Na⁺ bei m/z=945, Intensität = 19 %

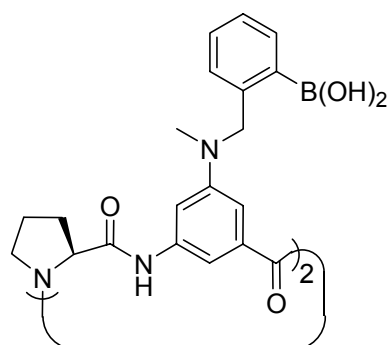
¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO] δ [ppm] 1,30 (s, 24H, Pinakol-**CH**₃); 1,74-1,97 (m, 6H, Pro-**H** _{β} +Pro-**H** _{γ}); 2,01-2,17 (m, 2H, Pro-**H** _{γ}); 2,96 (s, 3H, N-**CH**₃); 3,46-3,62 (m, 4H, Pro-**H** _{δ}); 3,85 (d, 2H, ³J_{Haa}=8,5 Hz, Pro-**H** _{α}); 4,63 (d, 2H, ²J_H=17,7 Hz, Bn-**CH**₂); 4,79 (d, 2H, ²J_H=17,7 Hz, Bn-**CH**₂); 6,07 (s, 2H, DAB-**H**₆); 6,29 (s, 2H, DAB-**H**₄); 7,03 (d, 2H, ³J_H=7,6Hz, PB-**H**₃); 7,24 (dd, 2H, ³J_H=7,3 Hz, PB-**H**₄); 7,28 (s, 2H, DAB-**H**₂); 7,40 (dd, 2H, ³J_H=7,6 Hz, PB-**H**₅); 7,72 (d, 2H, ³J_H=7,3 Hz, PB-**H**₆); 9,49 (s, 2H, **NH**)

¹³C-NMR: [125 MHz, d₆-DMSO] δ [ppm] 23,50 (Pro-**C** _{γ}); 25,6 (Pinakol-**C**₃); 32,13 (Pro-**C** _{β}); 39,45 (N-**C**₃); 47,51 (Pro-**C** _{δ}); 56,22 (Pro-**C** _{α}); 62,69 (Bn-**CH**₂); 84,54 (Pinakol-**CO**); 103,67 (DAB-**C**₄); 104,89 (DAB-**C**₆); 107,05 (DAB-**C**₂); 126,34+126,95 (PB-**C**₃,**C**₄,**C**₅,**C**₆); 132,25 (PB-**C**₁); 137,09 (PB-**C**₂); 139,81 (DAB-**C**₁); 145,92 (DAB-**C**₃); 150,59 (DAB-**C**₅); 170,74 (Aryl-**CO**); 172,43 (Pro-**CO**)

IR (KBr): [cm⁻¹] 3393(m), 2977(m), 1701(m), 1609(ss), 1449(s), 1417(m), 1381(m), 1347(s), 1318(m), 1213(m), 1144(m), 1113(m), 1067(w), 1040(w), 963(w), 859(m), 760(m), 661(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 67,69 %	H: 6,99 %	N: 9,11 %	$C_{52}H_{64}B_2N_6O_8$
	ber.:	C: 65,76 %	H: 7,11 %	N: 8,85 %	$C_{52}H_{64}B_2N_6O_8 \cdot 1,5 H_2O$
	gef.:	C: 65,88 %	H: 6,99 %	N: 8,88 %	
		$C_{52}H_{64}B_2N_6O_8$		M=922,74 g/mol	
		$C_{52}H_{64}B_2N_6O_8 \cdot 1,5 H_2O$		M=949,76 g/mol	

Darstellung des Rezeptors 81



200 mg (220 μ mol) **80** wurden in 220 ml Aceton/Wasser 4:1 gelöst, 22 ml 1 N Salzsäure hinzugefügt und bei Raumtemperatur 2 Tage gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand über eine RP-Säule (Laufmittel: Aceton/Wasser 2:3) gereinigt.

Hierzu wurde die RP-Säule zunächst auf Aceton/Wasser 1:10 konditioniert. Das Rohprodukt wurde in Aceton/Wasser 1:1 gelöst und auf die Säule aufgetragen. Das Laufmittel wurde nun auf Aceton/Wasser 1:5, dann auf 1:3 und abschließend auf 2:3 umgestellt. Mit diesem Laufmittel eluierte sauberes Produkt.

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und anschließend über Phosphorpentoxid im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 85 mg (51%)

Smp: Erweichen ab 175°C, Schmelzpunkt > 250°C

$[\alpha]_D^{25}$: -103,1° (c=1, DMF)

MS (ESI): M-2H₂O-H⁺ bei m/z=721.7, Intensität = 10⁵ a.u.

MS(FAB): M⁺-H₂O bei m/z=740, Intensität = 2

LC-MS: RT=30.76, ESI: M-2H₂O+H⁺ bei m/z=723.3, Intensität = 100 %

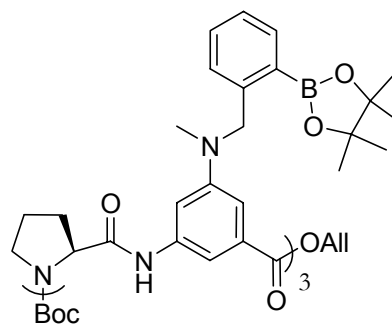
¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 1,79-1,97 (m, 6H, Pro-**H**_β+Pro-**H**_γ); 2,03-2,16 (m, 2H, Pro-**H**_γ); 2,89 (s, 6H, N-**CH**₃); 3,88 (d, 2H, ³J_{H aa}=7,7 Hz, Pro-**H**_α); 4,63 (d, 2H, ²J_H=17,7 Hz, Bn-**CH**₂); 6,14 (s, 2H, DAB-**H**₆); 6,32 (s, 2H, DAB-**H**₄); 6,96 (d, 2H, ³J_H=7,6Hz, PB-**H**₃); 7,20 (dd, 2H, ³J_H=7,6 Hz, PB-**H**₄); 7,25-7,33 (m, 4H, DAB-**H**₂+ PB-**H**₅); 7,54 (d, 2H, ³J_H=7,0 Hz, PB-**H**₆); 9,52 (s, 2H, **NH**)

¹³C-NMR: [125 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 23,59 (Pro-**C**_γ); 32,16 (Pro-C_β); 39,32 (N-**CH**₃); 47,57 (Pro-**C**_δ); 56,91 (Pro-**C**_α); 62,75 (Bn-**CH**₂); 104,16 (DAB-**C**₄); 105,34 (DAB-**C**₆); 107,26 (DAB-**C**₂); 125,95+126,67 (PB-**C**₃,**C**₄,**C**₅,**C**₆); 130,04 (PB-**C**₁); 134,89 (PB-**C**₂); 139,82 (DAB-**C**₁); 143,14 (DAB-**C**₃); 150,95 (DAB-**C**₅); 170,85 (Aryl-**CO**); 172,53 (Pro-**CO**)

IR (KBr): [cm⁻¹] 3301(m), 3220(m), 2977(w), 2877(w), 1678(w), 1595(ss), 1445(s), 1416(s), 1371(s), 1339(s), 1243(m), 1187(m), 1121(m), 1024(m), 988(w), 843(w), 758(m), 705(w), 656(w)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 63,34 %	H: 5,85 %	N: 11,08 %	C ₄₀ H ₄₄ B ₂ N ₆ O ₈
	ber.:	C: 58,48 %	H: 6,26 %	N: 10,23 %	C ₄₀ H ₄₄ B ₂ N ₆ O ₈ · 3,5 H ₂ O
	gef.:	C: 58,47 %	H: 6,05 %	N: 10,08 %	
		C ₄₀ H ₄₄ B ₂ N ₆ O ₈		M=758,34 g/mol	
		C ₄₀ H ₄₄ B ₂ N ₆ O ₈ · 3,5 H ₂ O		M= 821,48 g/mol	

4.8.3 Synthese des Rezeptors 87

Darstellung des Hexapeptids 83

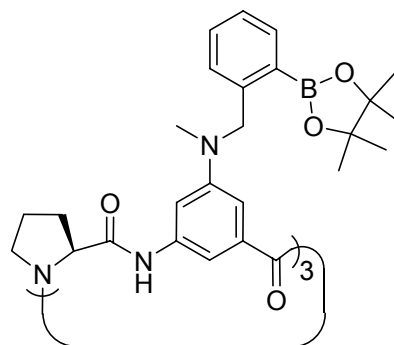
Entschützungen: Vor der Peptidkupplung wurden 2,7 g (2,5 mmol) **77** an der Boc-geschützten Aminogruppe nach Methode II (Ausbeute 2,5 g (100%)) und 2,5 g (4,0 mmol) **74** an der allylveresterten Carboxylgruppe nach Methode III (Ausbeute 1,9 g (100%)) entschützt.

Peptidkupplung: 2,5 g (2,5 mmol) **82**, 2,3 g (4,0 mmol) **76** und 1,6 g (3,8 mmol) PyCloP wurden in 60 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach Zugabe von 1,8 ml (10,1 mmol) DIEA wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Laufmittel: Chloroform/Aceton 4:1, $R_f=0,51$) gereinigt.

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,84 g (48%)

MS: M^+ bei $m/z=1541$, Intensität=3000 a.u. (MALDI-TOF)

Darstellung des Cyclopeptids 86

Entschützungen: Vor der Cyclisierung wurden zunächst 0,92 g (0,6 mmol) des linearen Hexapeptides **83** an der allylveresterten Carboxylgruppe nach Methode III und an der Boc-geschützten Aminogruppe nach Methode II entschützt.

Ausbeute: 0,90 g (100 %)

Cyclisierung: In einen 500 ml Dreihalskolben wurden 1,00 g (3 mmol) TBTU eingewogen und dreimal sekuriert. Es wurden 200 ml DMF, p.a. und 0,26 ml (1,5 mmol) DIEA zugegeben. Diese Lösung wurde mit einem bereits vorgeheizten Ölbad auf 80°C erwärmt. Anschließend wurden 0,90 g (0,6 mmol) vollständig entschütztes, lineares Hexapeptid (**85**) in 25 ml DMF, p.a. suspendiert. Nach Zugabe von 0,70 ml (3,6 mmol) DIEA löste sich der Feststoff vollständig auf. Diese Lösung wurde durch ein Septum über vier Stunden mit einem Perfusor zur Lösung des Kupplungsreagenzes zugetropft. Es wurde soviel DIEA zugegeben, bis die Lösung einen pH von 9 erreichte, und noch eine Stunde bei 80°C weitergerührt.

Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (1. Laufmittel: Chloroform/Aceton 2:1, $R_f=0,61$; 2. Laufmittel: Ethylacetat/2-Propanol 15:1, $R_f=0,64$) gereinigt. Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 320 mg (39 %)

Smp: Zersetzung bei 145°C

$[\alpha]_D^{25}$: +10,1° (c=1, DMF)

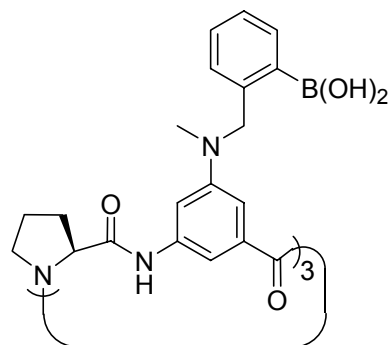
MS: M+H⁺ bei m/z=1384, Intensität = 3000 a.u. (MALDI-TOF)

¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 1,31 (s, 36H, Pinakol-**CH**₃); 1,68-1,79 (m, 3H, Pro-**H**_β); 1,82-1,97 (m, 6H, Pro-**H**_β+Pro-**H**_γ); 2,11-2,25 (m, 3H, Pro-**H**_γ); 3,00 (s, 3H, N-**CH**₃); 3,13-3,21 (m, 3H, Pro-**H**_δ); 4,53 (dd, 3H, ³J_{H ac}=4,1 Hz, ³J_{H aa}=7,9 Hz, Pro-**H**_α); 4,72 (d, 3H, ²J_H=17,7 Hz, Bn-**CH**₂); 4,80 (d, 3H, ²J_H=17,7 Hz, Bn-**CH**₂); 6,35 (s, 3H, DAB-**H**₆); 6,47 (s, 3H, DAB-**H**₄); 7,08 (d, 3H, ³J_H=7,6 Hz, PB-**H**₃); 7,24 (dd, 3H, ³J_H=7,6 Hz, PB-**H**₄); 7,40 (dd, 3H, ³J_H=7,3 Hz, PB-**H**₅); 7,64 (s, 3H, DAB-**H**₂); 7,72 (d, 3H, ³J_H=7,6 Hz, PB-**H**₆); 9,98 (s, 3H, **NH**)

¹³C-NMR: [125 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 25,6 (Pro-**C**_γ); 25,7 (Pinakol-**CH**₃); 30,35 (Pro-**C**_β); 39,48 (N-**CH**₃); 50,06 (Pro-**C**_δ); 56,34 (Pro-**C**_α); 60,61 (Bn-**CH**₂); 84,55 (Pinakol-**CO**); 103,52 (DAB-**C**₄); 105,28 (DAB-**C**₆); 107,54 (DAB-**C**₂); 126,51+126,93 (PB-**C**₃,**C**₄,**C**₅,**C**₆); 132,21 (PB-**C**₁); 136,92 (PB-**C**₂); 139,83 (DAB-**C**₁); 145,93 (DAB-**C**₃); 150,25 (DAB-**C**₅); 170,34 (Aryl-**CO**); 171,06 (Pro-**CO**)

IR (KBr): [cm⁻¹] 2976(m), 2367(w), 2345(w), 1774(m), 1734(m), 1718(m), 1686(s), 1638(s), 1603(s), 1560(s), 1543(s), 1508(m), 1474(m), 1458(s), 1348(ss), 1317(s), 1262(m), 1145(s), 1068(m), 1041(m), 860(m), 764(m), 660(m), 419(m)

<u>C, H, N:</u>	ber.:	C: 67,69 %	H: 6,99 %	N: 9,11 %	C ₇₈ H ₉₆ B ₃ N ₉ O ₁₂
	ber.:	C: 62,78 %	H: 7,30 %	N: 8,45 %	C ₇₈ H ₉₆ B ₃ N ₉ O ₁₂ · 6 H ₂ O
	gef.:	C: 63,03 %	H: 7,09 %	N: 8,24 %	
		C ₇₈ H ₉₆ B ₃ N ₉ O ₁₂		M=1384,12 g/mol	
		C ₇₈ H ₉₆ B ₃ N ₉ O ₁₂ · 6 H ₂ O		M=1492,22 g/mol	

Darstellung des Rezeptors 87

100 mg (72 μmol) **86** wurden in 80 ml Aceton/Wasser 4:1 gelöst, 8 ml 1 N Salzsäure hinzugefügt und bei Raumtemperatur 2 Tage gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand über eine RP-Säule (Laufmittel: Aceton/Wasser 1:1) gereinigt.

Hierzu wurde die RP-Säule zunächst auf Aceton/Wasser 1:10 konditioniert. Das Rohprodukt wurde in Aceton/Wasser 1:1 gelöst und auf die Säule aufgetragen. Das Laufmittel wurde nun auf Aceton/Wasser 1:5, dann auf 1:2 und abschließend auf 1:1 umgestellt. Mit diesem Laufmittel eluierte sauberes Produkt.

Die sauberen Fraktionen wurden zur Trockene eingengt und anschließend über Phosphorpentoxid im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 20 mg (25%)

Smp: Zersetzung bei 161°C

MS (ESI): M-1H₂O-H⁺ bei m/z=1118, Intensität = 17000 a.u.

LC-MS: RT=36.19, ESI: M-3H₂O+H⁺ bei m/z=1084, Intensität = 100 %

¹H-NMR: [500 MHz, d₆-DMSO] δ [ppm] 1,68-1,82 (m, 3H, Pro-**H_{\beta}**); 1,83-2,02 (m, 6H, Pro-**H_{\beta}**+Pro-**H_{\gamma}**); 2,13-2,27 (m, 3H, Pro-**H_{\gamma}**); 2,94 (s, 9H, N-**CH₃**); 4,48-4,59 (m, 3H, Pro-**H_{\alpha}**); 4,68 (d, 6H, ²J_H=17,0 Hz, Bn-**CH₂**); 6,41 (s, 3H, DAB-**H₆**); 6,53 (s, 3H, DAB-**H₄**); 7,02 (d, 3H, ³J_H=6,9Hz, PB-**H₃**); 7,19 (dd, 3H, ³J_H=7,0 Hz, PB-**H₄**); 7,26 (dd, 3H, PB-**H₅**); 7,54 (d, 3H, ³J_H=6,3 Hz, PB-**H₆**); 7,65 (s, 3H, DAB-**H₂**); 8,13 (s, 6H, **OH**); 9,52 (s, 3H, **NH**)

¹³C-NMR: [125 MHz, d₆-DMSO] δ[ppm] 25,40 (Pro-C_γ); 30,36 (Pro-C_β); 39,54 (N-CH₃); 50,13 (Pro-C_δ); 57,02 (Pro-C_α); 60,67 (Bn-CH₂); 104,04 (DAB-C4); 105,86 (DAB-C6); 107,90 (DAB-C2); 126,23+126,60 (PB-C3,C4,C5,C6); 129,91 (PB-C1); 134,76 (PB-C2); 139,79 (DAB-C1); 143,26 (DAB-C3); 150,61 (DAB-C5); 170,36 (Aryl-CO); 171,10 (Pro-CO)

IR (KBr): [cm⁻¹] 3448 (ss), 1685(m), 1610(m), 1509(w), 1458(m), 1203(m), 1084(m), 759(w)

C, H, N:

ber.:	C: 63,34 %	H: 5,85 %	N: 11,08 %	C ₆₀ H ₆₆ B ₃ N ₉ O ₁₂
ber.:	C: 58,27 %	H: 6,28 %	N: 10,19 %	C ₆₀ H ₆₆ B ₃ N ₉ O ₁₂ · 5,5 H ₂ O
gef.:	C: 58,60 %	H: 5,77 %	N: 9,65 %	
	C ₆₀ H ₆₆ B ₃ N ₉ O ₁₂		M=1137,67 g/mol	
	C ₆₀ H ₆₆ B ₃ N ₉ O ₁₂ · 5,5 H ₂ O		M=1236,75 g/mol	

5 Literaturverzeichnis

1. Walser, H. *Symmetrie*, Teubner, Stuttgart, **1998**.
2. Genz, H. *Symmetrie - Bauplan der Natur*, Piper, München, **1992**.
3. Flachsmeyer, J.; Feiste, U.; Manteuffel, K. *Mathematik und ornamentale Kunstformen*, Teubner, Leipzig, **1990**.
4. Wille, R. *Symmetrie in Geistes- und Naturwissenschaften*, Springer, Berlin, **1988**.
5. Evans, R.C. *Einführung in die Kristallchemie*, de Gruyter, Berlin, **1976**.
6. Buerger, M.J. *Kristallographie*, de Gruyter, Berlin, **1977**.
7. Vollhardt, K.P.C.; Schore, N.E. *Organische Chemie 2. Auflage*, VCH, Weinheim, **1995**.
8. Campbell, N.A. *Biologie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1997**.
9. Srinivasan, G.; James, C.M.; Krzycki, J.A. *Science* **2002**, 296, 1459-1462.
10. Roth, H.J.; Müller, C.E.; Folkers, G. *Stereochemie und Arzneistoffe*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1998**.
11. Rikken, G.; Raupach, E. *Nature* **2000**, 405, 932-935.
12. Wagniere, G.; Meier, A. *Experientia* **1983**, 39, 1090-1091.
13. Pizzarello, S.; Weber, A.L. *Science* **2004**, 303, 1151-1151.
14. Bada, J.L.; Miller, S.L. *Biosystems* **1987**, 20, 21-26.
15. Quack, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1989**, 28, 571-586.
16. Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985.
17. Alberts, B. *Molekularbiologie der Zelle 3. Auflage*, VCH, Weinheim, **1995**.
18. Koshland jr., D.E. *Evolution of Catalytic Function*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **1987**.
19. Darnell, J.; Lodish, H.; Baltimore, P. *Molecular Cell Biology Second Edition*, Scientific American Books, **1990**.
20. Furhop, J. *Bioorganische Chemie*, Thieme, Stuttgart, **1982**.
21. Vögtle, F. *Supramolekulare Chemie*, Teubner, Stuttgart, **1992**.
22. Lehn, J.M. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, **1995**.
23. Cramer, F.; Dietsche, W. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1959**, 92, 378-384.
24. Kano, K. *J. Phys. Org. Chem.* **1997**, 10, 286-291.
25. Pirkle, W.H.; Pochapsky, T.C. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 347-362.
26. Shallenberger, R.S.; Acree, T.E.; Lee, C.Y. *Nature* **1969**, 221, 555-556.
27. Kyba, E.P.; Siegel, M.G.; Sousa, L.R.; Sogah, G.D.; Cram, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 2691-2692.
28. Kyba, E.B.; Koga, J.; Sousa, L.R.; Siegel, M.G.; Cram, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 2692-2693.

29. Cram, D.J.; Cram, J.M. *Acc. Chem. Res.* **1978**, 11, 8-14.
30. Peacock, S.C.; Cram, D.J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, 282-284.
31. Löhr, H.-G.; Vögtle, F. *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18, 65-72.
32. Vicens, J.; Böhmer, V. *Calixarenes, A Versatile Class of Macrocyclic Compounds*, Kluwer, Dordrecht, **1991**.
33. Ito, K.; Noike, M.; Kida, A.; Ohba, Y. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 7519-7522.
34. Voet, D.; Voet, J.G. *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1992**.
35. Baldwin, S.A.; Lienhard, G.E. *Trends in Biochemical Sciences* **1981**, 6, 208-211.
36. Quijoch, F.A. *Pure & Appl. Chem.* **1989**, 61, 1293-1306.
37. Weis, W.I.; Drickamer, K. *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, 65, 441-473.
38. Lee, Y.C.; Lee, R.T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 321-327.
39. Elgavish, S.; Shaanan, B. *J. Mol. Biol.* **1998**, 277, 917-932.
40. Simanek, E.E.; McGarvey, G.J.; Jablonowski, J.A.; Wong, C.H. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 833-862.
41. Rosen, S.D.; Bertozzi, C.R. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **1994**, 6, 663-673.
42. Bradbrook, G.M.; Forshaw, J.R.; Perez, S. *Eur. J. Biochem.* **2000**, 267, 4545-4555.
43. Jeffrey, G.A.; Saenger, W. *Hydrogen Bonding in biological structures*, Springer, Berlin, **1994**.
44. Murrayrust, P.; Glusker, J.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 1018-1025.
45. Aoyama, Y.; Tanaka, Y.; Toi, H.; Ogoshi, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 634-635.
46. Kikuchi, Y.; Kato, Y.; Tanaka, Y.; Toi, H.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 1349-1354.
47. Bonar-Law, R.P.; Davis, A.P.; Dorgan, B.J. *Tetrahedron* **1993**, 49, 9855-9866.
48. Bonar-Law, R.P.; Davis, A.P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1050-1052.
49. Bonar-Law, R.P.; Davis, A.P. *Tetrahedron* **1993**, 49, 9829-9844.
50. Bhattarai, K.M.; Bonarlaw, R.P.; Davis, A.P.; Murray, B.A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 752-754.
51. Liu, R.P.; Still, W.C. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 2573-2576.
52. Droz, A.S.; Neidlein, U.; Anderson, S.; Seiler, P.; Diederich, F. *Helv. Chim. Act.* **2001**, 84, 2243-2289.
53. Davis, A.P.; Wareham, R.S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2979-2996.
54. Aoyama, Y.; Nagai, Y.; Otsuki, J.; Kobayashi, K.; Toi, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1992**, 31, 745-747.
55. De Namor, A.F.D.; Blackett, P.M.; Cabaleiro, M.C.; Alrawi, J.M.A. *Can. J. Chem.* **1994**, 90, 845-847.
56. Hirsch, W.; Muller, T.; Pizer, R.; Ricatto, P.J. *Can. J. Chem.* **1995**, 73, 12-15.

57. Eliseev, A.V.; Schneider, H.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 6081-6088.
58. Kobayashi, K.; Asakawa, Y.; Kato, Y.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10307-10313.
59. Yanagihara, R.; Aoyama, Y. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 9725-9728.
60. Kral, V.; Rusin, O.; Schmidtchen, F.P. *Org. Lett.* **2001**, 3, 873-876.
61. Fieser, F. *Reagents for Organic Synthesis*, 833, 1, **1967**.
62. Kuivila, H.G.; Keough, A.H.; Soboczenski, E.J. *J. Org. Chem.* **1954**, 19, 780-783.
63. Lorand, J.P.; Edwards, J.O. *J. Org. Chem.* **1959**, 24, 769-774.
64. Weith, H.L.; Wiebers, J.L.; Gilham, P.T. *Biochem.* **1970**, 9, 4396.
65. Wulff, G. *Pure & Appl. Chem.* **1982**, 54, 2093-2102.
66. Wulff, G.; Dederichs, W.; Grotstollen, R.; Jupe, C. *Affinity Chromatography And Related Techniques*, Elsevier, Amsterdam, **1982**.
67. Tsukagoshi, K.; Shinkai, S. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 4089-4091.
68. Yoon, J.; Czarnik, A.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 5874-5875.
69. James, T.D.; Sandanayake, K.; Iguchi, R.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 8982-8987.
70. James, T.D.; Sandanayake, K.; Shinkai, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 2207-2209.
71. James, T.D.; Sandanayake, K.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 477-478.
72. James, T.D.; Sandanayake, K.; Shinkai, S. *Supramol. Chem.* **1995**, 6, 141-157.
73. James, T.D.; Sandanayake, K.; Shinkai, S. *Nature* **1995**, 374, 345-347.
74. James, T.D.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1483-1485.
75. Sandanayake, K.; James, T.D.; Shinkai, S. *Chem. Lett.* **1995**, 503-504.
76. Matsumoto, H.; Ori, A.; Inokuchi, F.; Shinkai, S. *Chem. Lett.* **1996**, 301-302.
77. Shinmori, H.; Takeuchi, M.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1996**, 1-3.
78. Arimori, S.; Bell, M.L.; Oh, C.S.; Frimat, K.A.; James, T.D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **2002**, 803-808.
79. Arimori, S.; Bell, M.L.; Oh, C.S.; James, T.D. *Org. Lett.* **2002**, 4, 4249-4251.
80. Linnane, P.; James, T.D.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1997-1998.
81. Zhong, Z.L.; Anslyn, E.V. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 9014-9015.
82. Bissell, R.A.; Desilva, A.P.; Gunaratne, H.Q.N.; Lynch, P.L.M.; Maguire, G.E.M.; Sandanayake, K. *Chem. Soc. Rev.* **1992**, 21, 187-195.
83. Czarnik, A.W. *Acc. Chem. Res.* **1994**, 27, 302-308.
84. James, T.D.; Shinkai, S. *Top. Curr. Chem.* **2002**, 218, 159-200.
85. Bitta, J.; Kubik, S. *Org. Lett.* **2001**, 3, 2637-2640.

86. Böhmer, V. *Angew. Chem.* **1995**, 107, 785-818.
87. Gutsche, C.D. *Calixarenes*, RSC, London, **1998**.
88. Kubik, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 5846-5855.
89. Kubik, S.; Bitta, J.; Goddard, R.; Kubik, D.; Pohl, S. *Mat. Sci. Eng. C - Bio S* **2001**, 18, 125-133.
90. Kubik, S.; Goddard, R. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 9475-9486.
91. Kubik, S.; Goddard, R. *Chem. Comm.* **2000**, 633-634.
92. Kubik, S.; Goddard, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 311-322.
93. Bitta, J., Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2003**.
94. Bartoli, S.; Roelens, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8307-8315.
95. Böhmer, V.; Dalla Cort, A.; Mandolini, L. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 1900-1902.
96. Lacour, J.; Ginglinger, C.; Favarger, F.; Torche-Haldimann, S. *Chem. Comm.* **1997**, 2285-2286.
97. Lacour, J.; Ginglinger, C.; Grivet, C.; Bernardinelli, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, 36, 608-610.
98. Lacour, J.; Vial, L.; Bernardinelli, G. *Org. Lett.* **2002**, 4, 2309-2312.
99. Lacour, J.; Vial, L.; Herse, C. *Org. Lett.* **2002**, 4, 1351-1354.
100. Pohl, S.; Goddard, R.; Kubik, S. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 7555-7558.
101. Arai, I.; Muramatsu, I. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 121-123.
102. Lacour, J.; Londez, A.; Goujon-Ginglinger, C.; Buss, V.; Bernardinelli, G. *Org. Lett.* **2000**, 2, 4185-4188.
103. Heinrichs, G., Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2001**.
104. Dembitsky, V.M.; Srebnik, M. *Tetrahedron* **2003**, 59, 579-593.
105. Jagannathan, S.; Forsyth, T.P.; Kettner, C.A. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 6375-6380.
106. Hawkins, R.T.; Lennarz, W.J.; Snyder, H.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 3053-3059.
107. Hawkins, R.T.; Snyder, H.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 3863-3866.
108. Bitta, J., Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1999**.
109. Gladow, S., Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1994**.
110. Birnbrich, P., Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1991**.
111. Pohl, S., Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2002**.
112. Delarue, S.; Sergheraert, C. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 5487-5490.
113. Sandanayake, K.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 1083-1084.
114. Koumoto, K.; Shinkai, S. *Chem. Lett.* **2000**, 856-857.
115. Ward, C.J.; Patel, P.; James, T.D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **2002**, 462-470.
116. Ward, C.J.; Patel, P.; James, T.D. *Org. Lett.* **2002**, 4, 477-479.
117. Ward, C.J.; Patel, P.; Ashton, P.R.; James, T.D. *Chem. Comm.* **2000**, 229-230.

118. Sandanayake, K.; Imazu, S.; James, T.D.; Mikami, M.; Shinkai, S. *Chem. Lett.* **1995**, 139-140.
119. Takeuchi, K.; Bastian, J.A.; Gifford-Moore, D.S.; Harper, R.W.; Miller, S.C.; Mullaney, J.T.; Sall, D.J.; Smith, G.F.; Zhang, M.S.; Fisher, M.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 2347-2351.
120. Yamato, M.; Takeuchi, Y.; Ikeda, Y. *Heterocycles* **1987**, 26, 191-197.
121. Bernotas, R.C.; Cube, R.V. *Synth. Commun.* **1990**, 20, 1209-1212.
122. Yang, I.Y.; Slusher, R.M.; Broom, A.D.; Ueda, T.; Cheng, Y.C. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 2126-2132.
123. Bodanszky, M. *Principles of Peptide Chemistry*, Springer-Verlag, New York, **1984**.
124. Bergmann, M.; Zervas, L. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1932**, 65, 1192.
125. Merrifield, R.B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-&.
126. Udenfriend, S.; Meienhofer, J. *The Peptides*, Academic Press, New York, **1987**.
127. Ueki, M.; Amemiya, M. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6617-6620.
128. Draffin, S.P.; Duggan, P.J.; Duggan, S.A.M. *Org. Lett.* **2001**, 3, 917-920.
129. Rizzarelli, E.; Vecchio, G. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 188, 343-364.
130. Donze, C.; Rizzarelli, E.; Vecchio, G. *Supramol. Chem.* **1998**, 10, 33-42.
131. Liu, Y.; Han, B.H.; Li, B.; Zhang, Y.M.; Zhao, P.; Chen, Y.T.; Wada, T.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 1444-1454.
132. Liu, Y.; Bin, L.; Han, B.H.; Li, Y.M.; Chen, R.T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1997**, 1275-1278.
133. Galaverna, G.; Corradini, R.; Dossena, A.; Marchelli, R.; Vecchio, G. *Electrophoresis* **1997**, 18, 905-911.
134. Brown, S.E.; Coates, J.H.; Duckworth, P.A.; Lincoln, S.F.; Easton, C.J.; May, B.L. *J. Chem. Soc., Faraday Trans* **1993**, 89, 1035-1040.
135. Brown, S.E.; Coates, J.H.; Easton, C.J.; Lincoln, S.F. *J. Chem. Soc., Faraday Trans* **1994**, 90, 739-743.
136. Brown, S.E.; Coates, J.H.; Easton, C.J.; Vaneyk, S.J.; Lincoln, S.F.; May, B.L.; Stile, M.A.; Whalland, C.B.; Williams, M.L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 47-47.
137. Cucinotta, V.; Dalessandro, F.; Impellizzeri, G.; Vecchio, G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1743-1745.
138. Impellizzeri, G.; Maccarrone, G.; Rizzarelli, E.; Vecchio, G.; Corradini, R.; Marchelli, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, 30, 1348-1349.
139. Tsubaki, K.; Nuruzzaman, M.; Kusumoto, T.; Hayashi, N.; Bin-Gui, W.; Fuji, K. *Org. Lett.* **2001**, 3, 4071-4073.
140. Zhao, H.W.; Hua, W.T. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 2933-2938.

141. Zhang, X.X.; Bradshaw, J.S.; Izatt, R.M. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 3313-3361.
142. Ogasahara, K.; Hirose, K.; Tobe, Y.; Naemura, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1997**, 3227-3236.
143. Naemura, K.; Nishikawa, Y.; Fuji, J.; Hirose, K.; Tobe, Y. *Tetrahedron Asymm.* **1997**, 8, 873-882.
144. Naemura, K.; Ogasahara, K.; Hirose, K.; Tobe, Y. *Tetrahedron Asymm.* **1997**, 8, 19-22.
145. Naemura, K.; Ueno, K.; Takeuchi, S.; Tobe, Y.; Kaneda, T.; Sakata, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8475-8476.
146. Naemura, K.; Wakebe, T.; Hirose, K.; Tobe, Y. *Tetrahedron Asymm.* **1997**, 8, 2585-2595.
147. Habata, Y.; Bradshaw, J.S.; Zhang, X.X.; Izatt, R.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 7145-7146.
148. Webb, T.H.; Wilcox, C.S. *Chem. Soc. Rev.* **1993**, 22, 383-395.
149. Yamamoto, K.; Isoue, K.; Sakata, Y.; Kaneda, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 791-793.
150. Kaneda, T.; Hirose, K.; Misumi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 742-743.
151. Dearden, D.V.; Dejsupa, C.; Liang, Y.J.; Bradshaw, J.S.; Izatt, R.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 353-359.
152. Hellier, P.C.; Bradshaw, J.S.; Young, J.J.; Zhang, X.X.; Izatt, R.M. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 7270-7275.
153. He, Y.B.; Xiao, Y.J.; Meng, L.Z.; Zeng, Z.Y.; Wu, X.J.; Wu, C.T. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 6249-6253.
154. Guo, W.; Wang, J.; Wang, C.; He, J.Q.; He, X.W.; Cheng, J.P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 5665-5667.
155. Ishi-i, T.; Crego-Calama, M.; Timmerman, P.; Reinhoudt, D.N.; Shinkai, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1924.
156. Lynam, C.; Jennings, K.; Nolan, K.; Kane, P.; McKervey, M.A.; Diamond, D. *Anal. Chem.* **2002**, 74, 59-66.
157. Liu, F.; Lu, G.Y.; He, W.J.; Wang, Z.S.; Zhu, L.G. *Chin. J. Chem.* **2001**, 19, 317-320.
158. Lazzarotto, M.; Sansone, F.; Baldini, L.; Casnati, A.; Cozzini, P.; Ungaro, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 595-602.
159. Thibodeaux, S.J.; Pena, M.S.; Zhang, Y.; Shamsi, S.A.; Warner, I.M. *Chromatographia* **1999**, 49, 142-146.
160. Casnati, A.; Fabbì, M.; Pelizzi, N.; Pochini, A.; Sansone, F.; Ungaro, R.; DiModugno, E.; Tarzia, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 2699-2704.

161. Grady, T.; Harris, S.J.; Smyth, M.R.; Diamond, D.; Hailey, P. *Anal. Chem.* **1996**, 68, 3775-3782.
162. Kubo, Y.; Maeda, S.; Tokita, S.; Kubo, M. *Nature* **1996**, 382, 522-524.
163. Chen, G.Y.; Lean, J.T.; Alcalá, M.; Mallouk, T.E. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 3027-3034.
164. Rajakumar, P.; Srisailas, M. *Tetrahedron* **2001**, 57, 9749-9754.
165. Tanaka, A.; Fujiyoshi, S.; Motomura, K.; Hayashida, O.; Hisaeda, Y.; Murakami, Y. *Tetrahedron* **1998**, 54, 5187-5206.
166. Tanaka, A.; Shimada, S.; Hirohashi, T.; Hayashi, T.; Hisaeda, Y. *Chem. Lett.* **1998**, 1109-1110.
167. Gavin, J.A.; Garcia, M.E.; Benesi, A.J.; Mallouk, T.E. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7663-7669.
168. Takahashi, I.; Hirano, Y.; Arakawa, H.; Kitajima, H.; Hatanaka, M.; Isa, K.; Odashima, K.; Koga, K. *Heterocycles* **1997**, 46, 589-603.
169. Hayashida, O.; Tanaka, A.; Motomura, K.; Hisaeda, Y.; Murakami, Y. *Chem. Lett.* **1996**, 1057-1058.
170. Hayashida, O.; Tanaka, A.; Fujiyoshi, S.; Hisaeda, Y.; Murakami, Y. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1219-1222.
171. Hayashida, O.; Ono, K.; Hisaeda, Y.; Murakami, Y. *Tetrahedron* **1995**, 51, 8423-8436.
172. Garcia, M.E.; Gavin, J.A.; Deng, N.L.; Andrievsky, A.A.; Mallouk, T.E. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8313-8316.
173. Anderson, S.; Neidlein, U.; Gramlich, V.; Diederich, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 34, 1596-1600.
174. Murakami, Y.; Hayashida, O.; Nagai, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 2611-2612.
175. Penades, S.; Coteron, J.M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 683-684.
176. Webb, T.H.; Suh, H.S.; Wilcox, C.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8554-8555.
177. Naemura, K.; Tobe, Y.; Kaneda, T. *Coord. Chem. Rev.* **1996**, 148, 199-219.
178. Yoon, S.S.; Still, W.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 823-824.
179. Yoon, S.S.; Still, W.C. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 2117-2120.
180. Schneider, H.J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1993**, 32, 848-850.
181. Naemura, K.; Kanda, Y.; Iwasaka, H.; Chikamatsu, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, 60, 1789-1792.
182. McDonald, D.Q.; Still, W.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2073-2077.
183. Pieters, R.J.; Diederich, F. *Chem. Comm.* **1996**, 2255-2256.
184. Still, W.C. *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 155-163.

185. Hong, J.I.; Namgoong, S.K.; Bernardi, A.; Still, W.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 5111-5112.
186. Armstrong, A.; Still, W.C. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 4580-4582.
187. Kim, S.G.; Kim, K.H.; Jung, J.; Shin, S.K.; Ahn, K.H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 591-596.
188. Hunter, C.A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1993**, 32, 1584-1586.
189. Job, P. *Compet. Rend.* **1925**, 180, 928.
190. Connors, K.A. *Binding Constants, The Measurement of Molecular Complex Stability*, Wiley, New York, **1987**.
191. Blanda, M.T.; Horner, J.H.; Newcomb, M. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 4626-4636.
192. Fielding, L. *Tetrahedron* **2000**, 56, 6151-6170.
193. Die nicht-lineare Regression wurde mit dem Programm Sigma Plot 4.0 durchgeführt.
194. Macomber, R.S. *J. Chem. Ed.* **1992**, 69, 375-378.
195. Almaraz, M.; Martin, M.; Hernandez, J.V.; Caballero, M.C.; Moran, J.R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1811-1814.
196. Martin, M.; Raposo, C.; Almaraz, M.; Crego, M.; Caballero, C.; Grande, M.; Moran, J.R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, 35, 2386-2388.
197. Jones, J.W.; Gibson, H.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 7001-7004.
198. Huang, F.H.; Jones, J.W.; Slebodnick, C.; Gibson, H.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 14458-14464.
199. Martinez-Viviente, E.; Pregosin, P.S.; Vial, L.; Herse, C.; Lacour, J. *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 2912-2918.
200. Talanova, G.G.; Elkarim, N.S.A.; Talanov, V.S.; Hanes, R.E.; Hwang, H.S.; Bartsch, R.A.; Rogers, R.D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11281-11290.
201. Lacour, J.; Londez, A. *J. Organomet. Chem.* **2002**, 643, 392-403.
202. Takeuchi, M.; Yoda, S.; Imada, T.; Shinkai, S. *Tetrahedron* **1997**, 53, 8335-8348.
203. Ori, A.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1771-1772.
204. Shiomi, Y.; Saisho, M.; Tsukagoshi, K.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1993**, 2111-2117.
205. Deng, G.; James, T.D.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4567-4572.
206. Rotkiewicz, K.; Grellman, K.H.; Grabowski, Z.R. *Chem. Phys. Lett.* **1973**, 19, 315-318.
207. Dobkowski, J.; Michl, J.; Waluk, J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, 5, 1027-1031.
208. Kubik, S.; Kirchner, R.; Nolting, D.; Seidel, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12752-12760.

209. Otto, S.; Kubik, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 7804-7805.
210. Kondo, K.; Shiomi, Y.; Saisho, M.; Harada, T.; Shinkai, S. *Tetrahedron* **1992**, 48, 8239-8252.
211. Dewar, M.J.S.; Zoebisch, E.G.; Healy, E.F.; Stewart, J.J.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 3902-3909.
212. Coste, J.; Frerot, E.; Jouin, P. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 2437-2446.
213. Yvernault, T.; Yvernault, G.; Bollinger, J.C. *C.R. Acad. Sci.* **1978**, 287, 519-521.
214. Für die Bereitstellung dieser Substanzen sei L.Vial recht herzlich gedankt.
215. Schwetlick, K. *Organikum - Organisch chemisches Grundpraktikum*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1990**.
216. Für die Bereitstellung dieser Substanz sei S. Kubik recht herzlich gedankt.