

## 2. Synthesen der Amphiphile

Steife Membranlandschaften mit funktionalisierbaren Nanometerlücken sind als Modellsysteme für enzymatische Spalten von Interesse.

Eine bewährte Methode zum Aufbau von Membranlücken beginnt mit der statistischen Adsorption von Porphyrinen auf Goldoberflächen. Anschließend bilden Amphiphile mit Thiolkopfgruppen durch Synkinese (Synthese nichtkovalenter Verbindungen) die Membran.

Die Adsorption erfolgt über Schwefel-Gold Bindungen. Die Amphiphile lagern sich um die bereits adsorbierten Porphyrine an, so dass nanometergroße Poren entstehen. Die Steifheit der Membran wird in der Natur durch Proteinaggregate realisiert. Dieses bewährte Prinzip wird bei der Synthese von Bolaamphiphilen (Amphiphile mit zwei polaren Kopfgruppen) übernommen.

Um steife Membranen zu erzeugen sind zwei Amidfunktionen pro Amphiphil nötig, welche Wasserstoffbrückenbindungen zu den benachbarten Amphiphilen ausbilden. Es hat sich herausgestellt, dass eine einzige Amidfunktion nicht ausreicht, um die Impermeabilität einer Membran zu gewährleisten. Bei einer geraden Zahl von Methylengruppen ordnen sich Amphiphile zu rigiden kristallinen Monoschichten, die undurchlässig sind, da beide Amidfunktionen räumlich so zueinander liegen, dass sie zwei Wasserstoffbrücken mit den jeweiligen Nachbarn ausbilden können (Gerade/Ungerade Effekte). Diese Bedingungen sind bereits bei synthetischen Membransystemen realisiert worden.

Nun sollten die Bolaamphiphile zusätzlich funktionelle Gruppen aufweisen, die ermöglichen, dass weitere Porphyrine ionisch oder kovalent in klar definierten Abständen in den Membranlücken gebunden werden können.

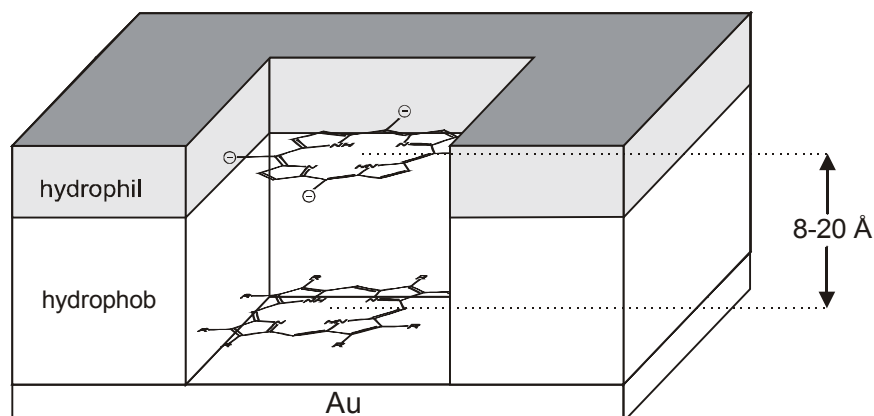


Abbildung 1 : Modell einer Membran-Nanopore mit zwei eingelagerten Porphyrinen.

Daraufhin sollte durch Anregung eines Porphyrins Ladungstrennung induziert werden. Das am Boden der Lücke befindliche Porphyrin hat durch seine (im Vergleich zu einem weiter oben gelagerten Porphyrin) stärker hydrophobe Umgebung ein leicht abweichendes Redoxpotential. Somit könnten auch identische Porphyrine verwendet werden.

Die neue Funktionalität sollte durch Einführung von Mehrfachbindungen erreicht werden. Diese können durch Oxidation zu Hydroxy- oder Carbonylfunktionen umgewandelt werden, oder es können durch Bildung einer Schiff'schen Base Stickstofffunktionen eingeführt werden. Positive oder negative Ladungen der funktionellen Gruppen ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$ ) könnten Ionenbindungen zu geladenen Porphyrinen eingehen und diese dadurch in bestimmten Höhen (von ca. 10 nm) fixieren.

Die Formstabilität der steifen Membranen gewährleistet, dass durch milde Reagenzien ausschließlich die Mehrfachbindungen der Amphiphile, welche an die Membranlücke angrenzen, funktionalisiert werden können, während die im Inneren befindlichen Amphiphile inert sind.

Es wurden Vorversuche zur Hydrophilisierung von Mehrfachbindungen in Amphiphilen zu Hydroxy- oder Carbonylgruppen durchgeführt, welche auf synthetische Membransysteme übertragen werden können. Da die synthetischen Membranlücken Modelle für biologische Systeme darstellen, war die Bandbreite der möglichen Oxidationsmethoden durch folgende Randbedingungen eingeschränkt :

Es können nur Oxidationsmethoden angewendet werden, die in wässrigem Medium durchführbar sind.

Die Reaktionsbedingungen müssen mild genug sein, um die hauptsächlich über Wasserstoffbrücken und hydrophobe Wechselwirkungen stabilisierten Membranen nicht zu zerstören.

Als Funktionalisierungsmethode für Alkene wurde die Dihydroxylierung mit Osmiumtetroxid (nach Minato, Yamamoto und Tsuji)<sup>1</sup> an Elaidinsäure durchgeführt.<sup>2</sup> Bei dieser *syn*-Addition erfolgt der Angriff beider Sauerstoffatome von der gleichen Seite. Zu einer 4 % wässrigen Osmiumtetroxidlösung wurden Kaliumhexacyanoferrat-III, Kaliumcarbonat und die vorher deprotonierte Elaidinsäure zugegeben. Die Lösung hatte einen pH-Wert = 10. Es wurde ein Lösungsmittelgemisch aus 1:2 t-Butanol/Wasser eingesetzt, um die unterschiedlichen Edukte ausreichend gut lösen zu können. Die Reaktionslösung färbte sich sofort nach Zugabe des Alkens braun. Nach einstündiger Reaktionszeit bei 40°C, wurde Natriumsulfit zugegeben. Es bildete sich ein Natrium-Osmiumsulfid Komplex. Nach Extraktion und Trocknung wurde das Produkt **(1)** in einer Ausbeute von 48,6 % (0,12 g) als hellgelbes Pulver erhalten. Das zugegebene Kaliumhexacyanoferrat-III sollte laut Literatur als Oxidationsmittel für das im Verlaufe der Redoxreaktion gebildete Osmiumdioxid fungieren, und das katalytisch zugesetzte Osmiumtetroxid regenerieren. Es stellte sich jedoch heraus, dass die Ausbeute bei katalytischen Mengen von Osmiumtetroxid extrem gering war, weshalb es letztlich doch äquimolar eingesetzt werden musste. Das <sup>1</sup>H-NMR Spektrum zeigt eindeutig, dass die Signale der Doppelbindungsprotonen des Edukts (s, 5,5 ppm) nach der Reaktion nicht mehr vorhanden sind und statt dessen ein Hydroxygruppensignal bei 4,1 ppm erscheint.

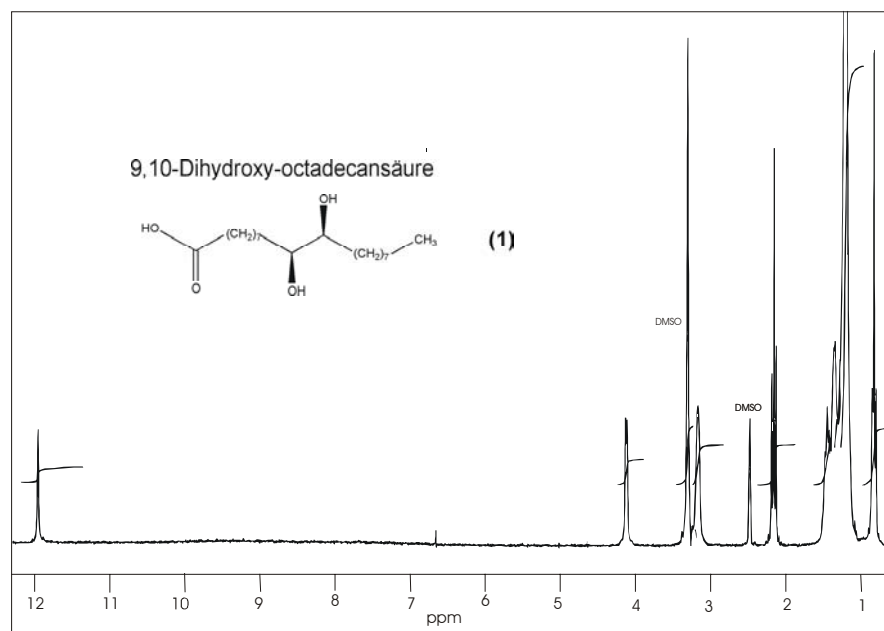


Abbildung 2: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 9,10-Dihydroxy-octadecansäure (1)

<sup>1</sup> Minato, M., Yamamoto, K., Tsuji, J., J. Org. Chem., **1990**, 55, 766

<sup>2</sup> Kwong, Sorato, C., Ogino, Y., Chen, H., Sharpless, B., Tetr. Lett. **1990**, 31, 2999

Eine Funktionalisierungsmethode für Alkine in wässriger Lösung wurde bei der Umsetzung von 3-Nonin-1-ol zu der Carbonylverbindung 3-Nonanon-1-ol (**2**) angewendet. Alkine reagieren mit dem lichtempfindlichen Tetrachlorogold(III)-säure Trihydrat über die jeweiligen Enole zu den entsprechenden Monocarbonylverbindungen.<sup>3,4</sup> Im Gegensatz zu analogen Palladium(II) katalysierten Reaktionen erhält man hier auch bei einfachen nicht aktivierten Alkinen Umsetzungen, welche unter Palladiumkatalyse nicht stattfinden würden. Es besteht die Möglichkeit der Bildung von Chlorvinylen und Vinylethern als Nebenprodukte (maximal zu 5 %) beschrieben. Die Reaktion von 3-Nonin-1-ol, welches in wässriger Lösung mit Tetrachlorogold(III)-säure Trihydrat zu 3-Nonanon-1-ol umgesetzt wurde, verlief ohne die Bildung dieser Nebenprodukte. Das Alkin wurde hierbei in dreißig-fachem Überschuß eingesetzt. Die Löslichkeit des Tetrachlorogold(III)-säure Trihydrats in Wasser war bei Raumtemperatur mäßig (die Literaturvorschrift gab Methanol als Lösungsmittel an), bei 70°C Reaktionstemperatur aber ausreichend gut. Nach einstündiger Reaktionszeit und folgender Reinigung durch Säulenchromatographie (Fließmittel Petrolether/Ethylacetat 2:1,5) erhielt man das Produkt in einer Ausbeute von 50,6 % (0,1 g). Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum verschieben sich die der Dreifachbindung benachbarten Methylengruppen (m, 2,2 ppm und 2,4 ppm) zugunsten eines Triplettts bei 1,9 ppm und zwei Triplettts bei 2,4 ppm und 2,6 ppm, welche durch die zur gebildeten Carbonylgruppe benachbarten Methylengruppen entstehen.

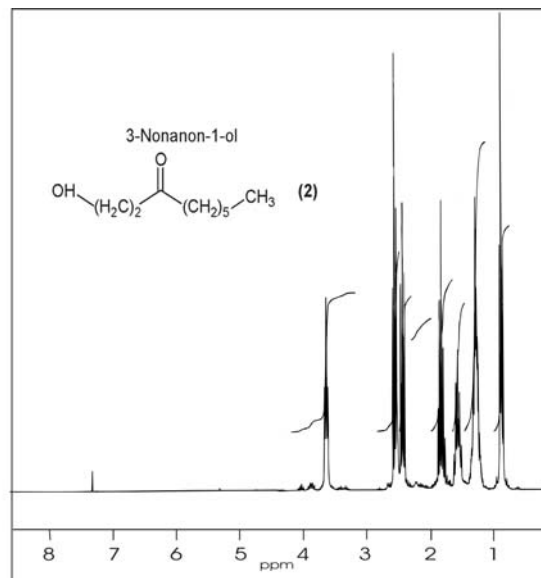


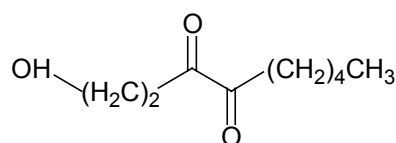
Abbildung 3: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 3-Nonanol-1-ol (**2**)

<sup>3</sup> Fukada, Y., Utimoto, K., J. Org. Chem. **1991**, 56, 3729

<sup>4</sup> Norman, R. O. C., Parr, W. J. E., Thomas, C. B., J. Chem. Soc. Perk. Trans. **1976**, 1983

Alkine können auch in Dicarbonylverbindungen überführt werden. Für die Umsetzung von 3-Nonin-1-ol zu Nonan-3,4-dion-1-ol (**3**) wurde Rutheniumdioxid als Reagens verwendet<sup>5</sup>. Um Rutheniumdioxid in situ in Rutheniumtetroxid zu überführen, das dann mit dem Alkin zu einer Dicarbonylverbindung reagiert, verwendet man 10 % wässrige Natriumperjodatlösung oder Natriumhypochloritlösung. Das im Verlauf der Oxidation zurückgebildete Rutheniumdioxid wird durch den Überschuss an Natriumperjodat wieder zum Rutheniumtetroxid oxidiert. Das 3-Nonin-1-ol wurde in Tetrachlorkohlenstoff gelöst und zu der wässrigen Lösung aus Natriumperjodat und Rutheniumtetroxid zugegeben. Die Reaktion wurde bei 0°C durchgeführt. Nach der Oxidation des Alkins hatte die Reaktionlösung eine gelbliche Färbung angenommen. Nach Aufarbeitung und Reinigung wurde das Produkt in 49 % (0,18 g) Ausbeute erhalten.

Im <sup>13</sup>C-NMR Spektrum belegt ein Signal bei 197 ppm die Existenz der Carbonylkohlenstoffe. Im <sup>1</sup>H-NMR Spektrum treten die Signale der den Carbonylgruppen benachbarten Methylengruppen bei 2,75 ppm auf.



Nonan-3,4-dion-1-ol (**3**)

Die Oxymerkurierung-Demerkurierungsreaktion bietet die Möglichkeit einer Hydratisierung von Alkenen in wässrigem Medium. Unter milden Reaktionsbedingungen und kurzen Reaktionszeiten wird das Markovnikov Produkt gebildet.<sup>6,7</sup> Für die Reaktion von Trans-4-decenol mit Quecksilberdiacetat zu 4-Hydroxydecanol (**4**) wurde ein Lösungsmittelgemisch aus Wasser und Tetrahydrofuran im Verhältnis 1,5:1 verwendet. Dies erwies sich als notwendig, da sich zwar das Quecksilberacetat gut in Wasser löste, das Alken hingegen nur in organischen Lösungsmitteln. Tetrahydrofuran wurde als inertes Lösungsmittel gewählt, dass mit Wasser gut mischbar ist. Zu dem in Wasser/Tetrahydrofuran-Lösung vorgelegten Quecksilberdiacetat wurde das Alken zugegeben und kurz gerührt. Die stark exotherme Reaktion wurde unter Wasserbadkühlung durchgeführt. Die anfangs gelbliche Lösung wurde farblos. Die als Zwischenstufe entstandene Hydroxyorgano-Quecksilberacetat-Verbindung

<sup>5</sup>Caputo, J.A., Fuchs, R., Tetr. Lett. **1971**, 47, 2941

<sup>6</sup>Brown, H.C., Geoghegan, JR., P.J., J. Am. Chem. Soc. **1967**, 89, 1522

<sup>7</sup>Brown, H.C., Geoghegan, JR., P.J., J. Org. Chem. **1970**, 35, 1844

(Essigsäure entstand als Nebenprodukt) wurde in alkalischer Lösung, in der sie als Hydroxid löslich war, mit Natriumborhydrid reduziert (Demerkurierung). Nach Extraktion zeigt sich auf der Dünnschichtplatte nur ein einzelner Fleck (Fließmittel Petrolether/ Ethylacetat 4:2). Man erhielt das monohydroxylierte Produkt (**4**) in 61 % (0,7 g) Ausbeute. Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum erkennt man, dass das Signal für die Doppelbindungsprotonen des Edukts bei 5,4 ppm vollständig verschwunden ist, und statt dessen ein neues Signal für Protonen in Nachbarstellung zu einer Hydroxygruppe bei 3,7 ppm auftritt.

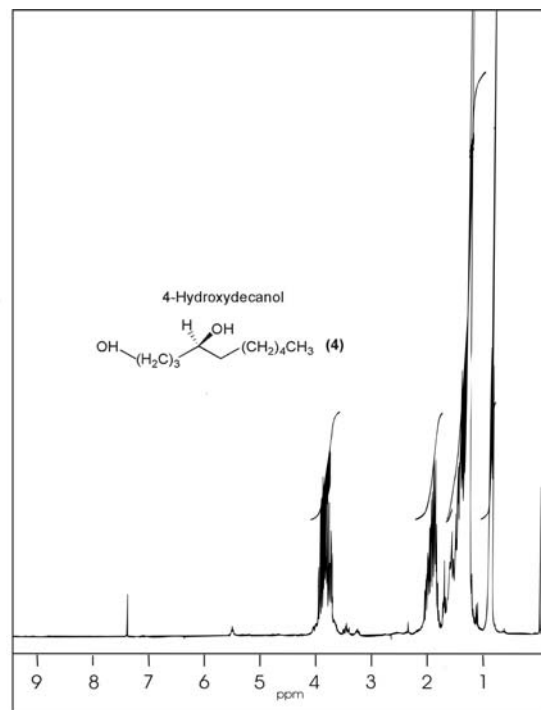


Abbildung 4:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 4-Hydroxydecanol (**4**)

Die beschriebenen Reaktionen zur Hydrophilisierung von Mehrfachbindungen könnten prinzipiell auf Systeme mit hydrophoben Membranlücken übertragen werden.

Die Reaktionen wurden in kleinen Ansätzen im 0,1 g bis 2 g Maßstab durchgeführt, da für die Funktionalisierung der Membransysteme nur minimale Mengen erforderlich sind.

Die Funktionalisierungsreaktionen sollten unter der Berücksichtigung der Analogie zu biologischen Systemen im wässrigen Medium durchgeführt werden. Die schlechte Löslichkeit der organischen Edukte in Wasser war ein generelles Problem bei den beschriebenen Reaktionen. Allein die Umsetzung von 3-Nonin-ol mit Tetrachlorogold(III)-säure zur Carbonylverbindung 3-Nonanon-1-ol (**2**) konnte in rein wässriger Lösung in Ausbeuten von

50 % durchgeführt werden. Daher wäre diese Reaktion am besten geeignet, um auf die Membransysteme übertragen zu werden. Alle anderen Reaktionen mussten mit Lösungsmittelgemischen durchgeführt werden, da sich die ungesättigten Ausgangsverbindungen nicht ausreichend gut in Wasser lösen ließen.

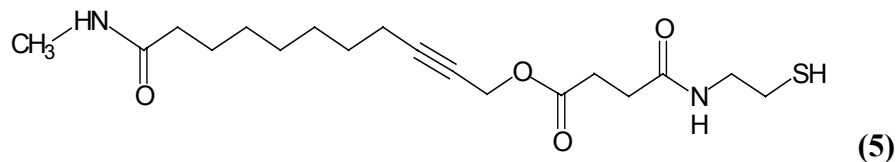
Für die Funktionalisierung der Membranlücken wurde schließlich die Reaktion von Natriumhypobromid an Alkenen eingesetzt. Die Umsetzung zu dem entsprechenden Bromalkohol gelang an den Membranlücken quantitativ. Da Natriumhypobromid ein starkes Oxidationsmittel ist, mußte in hoher Verdünnung und mit kurzen Reaktionszeiten gearbeitet werden. Unter dem Gesichtspunkt eines am Boden der Membranlücke eingelagerten Porphyrins besteht die Gefahr der Oxidation durch das aggressive Reagens. Als Alternative hierfür könnte dann die Oxymyrcurierung mit Quecksilberacetat eingesetzt werden, da dieses weniger reaktiv ist. Die mit geringerer Ausbeute einhergehende Dihydroxylierung mit Osmiumtetroxid bietet hingegen die Möglichkeit der Darstellung eines hydrophilen "Kranzes" aus stereospezifisch *syn*-addierten Hydroxygruppen im Inneren der Membranlücke.

Im Folgenden soll die Synthese der Amphiphile, welche als Grundbausteine der Membran dienen sollen, vorgestellt werden.

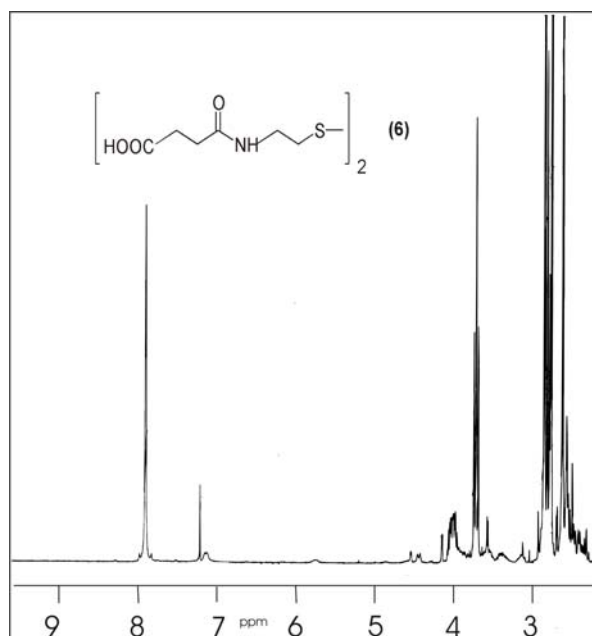
Bei dem Zielmolekül handelt es sich um ein Alkin-Bolaamphiphil mit einer endständigen Thiolgruppe welche auf eine Goldoberfläche von Elektroden oder Kolloidpartikeln binden kann. Zusätzlich soll das Bolaamphiphil mindestens zwei Amidfunktionen enthalten, welche die Membran durch Wasserstoffbrücken versteifen. Zusätzlich bewirken die hydrophoben Wechselwirkungen der langen Alkylketten die vollkommene Aggregation der Amphiphile im wässrigen Medium.

Das Bolaamphiphil sollte eine Dreifachbindung aufweisen, die sich in einem Abstand von ca. 10 Å von der primären Thiolgruppe befinden soll. Dieser Abstand gewährleistet, dass ein Elektronentransfer zwischen einem auf der Goldoberfläche am Boden der Membranlücke absorbierten Porphyrin und einem zweiten in Höhe der funktionalisierten Mehrfachbindungen fixierten Porphyrinat möglich wäre, die Rückreaktion aber extrem verlangsamt ablaufen würde.

Zielmolekül: [N-{2-[2-(3-Carboxypropionylamino)-ethyl]disulfanyl}-ethyl]-bernsteinsäure (5)



Die Synthese wurde analog der von J. Schneider zur Thioamphiphildarstellung verwendeten Methode geplant, welche auf der Synthese eines symmetrischen Disulfits beruht. Cysteamin Hydrochlorid wurde mit Bernsteinsäureanhydrid in absolutem Chloroform unter Zugabe von Cyclohexylcarbodiimid amidiert. Nach einstündiger Reaktionsdauer bei 50°C, dem Abfiltrieren des Dicyclohexylurethan Niederschlags und dem Abziehen des Lösungsmittels erhielt man die Verbindung (6) als hellgelbes Öl.



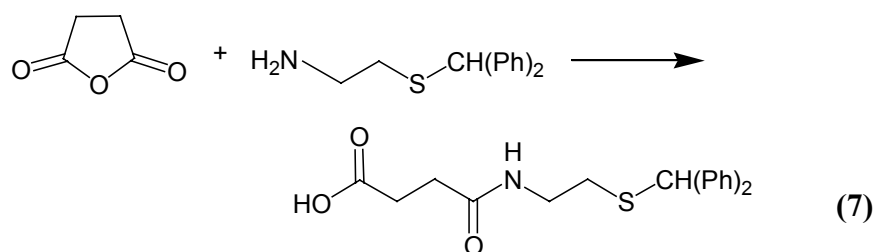
**Abbildung 5:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von N-{2-[2-(3-Carboxy-propionylamino)-ethyl]disulfanyl}-ethyl}-bernsteinsäure



Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum können die Signale der den Stickstoffatomen benachbarten Methylengruppen bei 3,8 ppm, die der sich zwischen den Carbonylfunktionen befindenden Methylengruppen bei 2,6 ppm, und die der dem Schwefel benachbarten Methylengruppen bei 2,9 ppm jeweils als Multipllett gefunden werden.

Die Disulfidbindung wird erst beim Auftragen auf Gold reduktiv gespalten. Es resultieren zwei identische Amphiphile mit Thiolendgruppe, welche direkt auf der Goldunterfläche binden. Durch diese Vorgehensweise könnte man elegant auf die Einführung einer Thiolschutzgruppe verzichten.

Da die Disulfid-Amphiphile mit zunehmender Kettenlänge schnell sehr schwer löslich wurden, war die Durchführung der weiteren Reaktionsschritte erschwert. Deshalb wurde das Disulfid durch ein geschützten Thiol ersetzt.



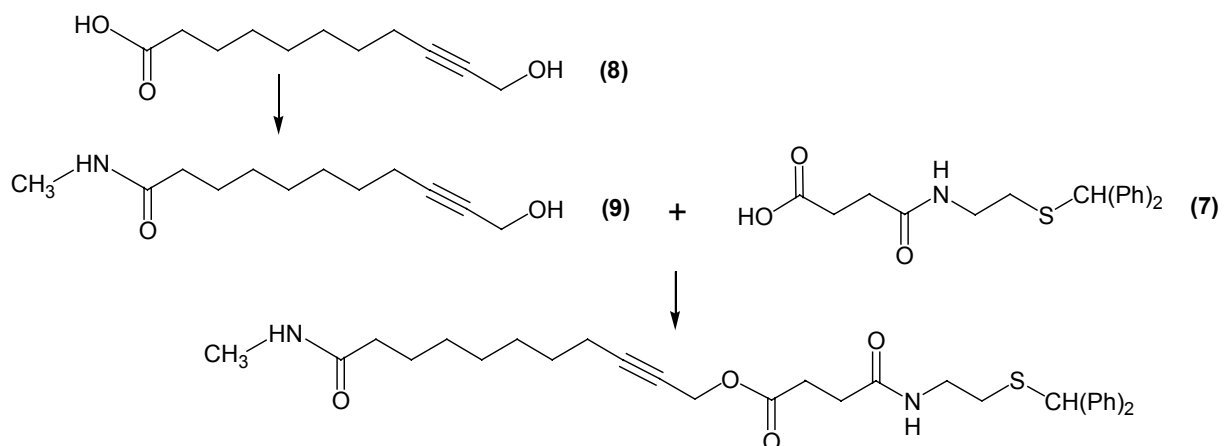
N- (Ethylen -2-Benzhydrylsulfanyl)-bernsteinsäure

Der geschützte Thioether Aminoethyldiphenylmethylthiol wurde in Methylenchlorid mit Bernsteinsäureanhydrid und Triethylamin bei Raumtemperatur zum entsprechenden Amid umgesetzt. Nach einstündiger Reaktionszeit und Ausschütteln der Reaktionslösung mit Natriumhydrogencarbonatlösung erhielt man das ölige Produkt in einer Ausbeute von 82 %. Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum ist das Quartett der Methylengruppe (3,4 ppm) in Nachbarschaft zum Stickstoff zu sehen, sowie die drei Triplets der Methylengruppe am Schwefel (5,1 ppm) und der zwei Methylengruppen zwischen den Carbonylfunktionen (2,6 ppm und 2,7 ppm).

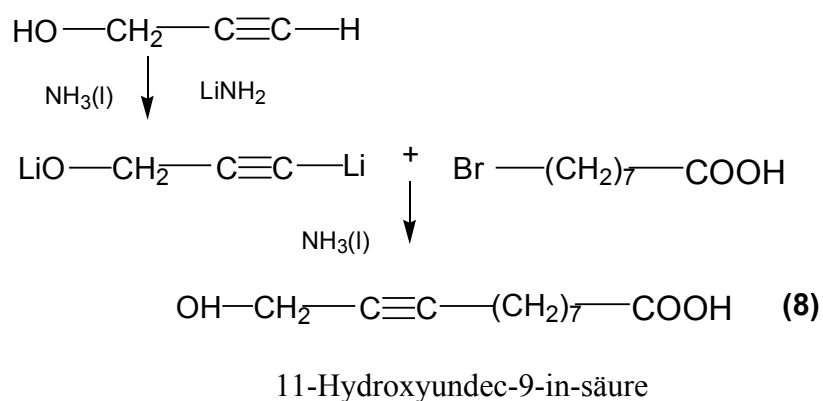


Abbildung 6:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von N-(Ethylen-2-Benzhydrylsulfanyl)-bernsteinsäure (7)

Die zweite Komponente (8) des Amphiphils, welche die Dreifachbindung enthält, wurde separat dargestellt, um anschließend über eine Esterfunktion mit der Thiolkomponente verknüpft zu werden.



Die Standardsynthese zur Darstellung von  $\omega$ -Hydroxy-alkin-säuren verläuft über endständige Hydroxyalkine, welche mit  $\omega$ -Brom-carbonsäuren in flüssigem Ammoniak umgesetzt werden<sup>8,9</sup>. Das zugegebene Lithiumamid überführt das Alkin in ein 1-Lithium-1-Alkin. Beim Verwenden von Lithium-Alkiniden braucht die Carboxygruppe nicht geschützt zu werden. Es hat sich gezeigt, dass sich der Einsatz von Natrium-Alkiniden ungünstig auswirkt, da ein noch größerer Überschuss der Alkin Komponente eingesetzt werden muss, um vergleichbare Ausbeuten zu erzielen<sup>10,11</sup>. Propin-1-ol wurde mit Lithiumamid in flüssigem Ammoniak lithiiert und mit  $\omega$ -Bromoctansäure zu 11-Hydroxyundec-9-insäure (**8**) umgesetzt. Das lithiierte Alkin wurde in 10-fachem Überschuss vorgelegt. Der Ansatz wurde 8 h bei Rückflusstemperatur des Ammoniaks ( $-40^{\circ}\text{C}$ ) gerührt. Die Kühlung erfolgte unter Verwendung von Trockeneis. Das Halogenatom von Bromcarbonsäuren lässt sich allgemein leicht durch einen Alkin-1-yl Rest substituieren, wenn sich zwischen Halogenatom und Carboxygruppe mehrere gesättigte Kohlenstoffatome befinden. Flüssiger Ammoniak wurde aus Löslichkeitsgründen verwendet, außerdem ermöglichte sein niedriger Siedepunkt eine Rückflusstemperatur von nur knapp über  $-40^{\circ}\text{C}$ . Nach erfolgter Umsetzung ließ man den Ansatz über Nacht rühren, wobei er sich auf Raumtemperatur erwärmte und der Ammoniak aus dem Ansatz verdampfen konnte. Nach Hydrolyse mit 5 N Salzsäure und Extraktion erhielt man das erwünschte Produkt (**8**) als hellgelbes Pulver in einer Ausbeute von 24 %.



Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum findet man das Signal des Carboxylprotons bei 11,4 ppm, die Methylenprotonen, welche sich zwischen der Hydroxygruppe und der Dreifachbindung

<sup>8</sup> Ames, D.E., Covell, A.N., Goodburn, T.G., J.Chem.Soc. **1965**, 4373

<sup>9</sup> Ames, D.E., Covell, A.N., Goodburn, T.G., J.Chem.Soc. **1963**, 5889

<sup>10</sup> Ames, D.E., Covell, A.N., J.Chem.Soc. **1963**, 773

<sup>11</sup> Ames, D.E., Goodburn, T.G., Jevans, A.W., McGhie, J.F., J.Chem.Soc. **1968**, 268

befinden, erscheinen als Singulett bei 4,1 ppm. Die zur Dreifachbindung auf der Seite der Alkylkette  $\alpha$ -ständige Methylengruppe erscheint bei 2,4 ppm, die der Carboxylgruppe benachbarte  $\alpha$ -Methylengruppe bei 2,3 ppm, ihre  $\beta$ -ständige bei 1,7 ppm. Die übrigen Alkylprotonen erscheinen im Bereich von 1,1 ppm -1,6 ppm.

Der zweite Reaktionsschritt, die Umsetzung zum 11-Hydroxyundec-9-in-säuremethyramid (**9**), erfolgte über die Aktivierung der 11-Hydroxyundec-9-in-säure (**8**) mit Chlorameisensäureethylester unter Bildung eines gemischten Anhydrids<sup>12</sup>. Dieses wurde nicht isoliert, sondern direkt weiter zum Amid umgesetzt<sup>13,14</sup>.

Das Reaktionsgemisch von Alkylsäure (**8**) und Chlorameisensäureethylester in absolutem Chloroform musste während der gesamten Reaktionszeit auf 0°C gekühlt werden, da sonst die Gefahr der Zersetzung des gebildeten gemischten Anhydrids unter CO<sub>2</sub>-Abgabe zum Ethylester besteht. Das in Ethanol und Triethylamin gelöste und ebenfalls vorgekühlt Methylammoniumchlorid wurde daraufhin langsam zur Reaktionslösung zugetropft. Der Ansatz wurde weitere zwölf Stunden gerührt. Die Umsetzung erfolgte quantitativ. Das Rohprodukt wurde über Säulenchromatographie (Fließmittel: Chloroform/Acetonitril 8:2) gereinigt, woraufhin das Amid (**9**) in Form von weißen Kristallen erhalten wurde. Im <sup>1</sup>H-NMR Spektrum ist das Signal der Methylamidgruppe bei 2,7 ppm zu erkennen, welches aufgrund der Kopplung mit dem Proton am Stickstoff zu einem Dublett aufspaltet. Des Weiteren erscheint das Stickstoffproton als verbreitertes Singulett bei 6,8 ppm, während die Signale der  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -ständigen Methylengruppen zur Carboxylgruppe des Edukts nicht mehr auftreten.

---

<sup>12</sup>Schneider, J.A., Dissertation **1997**, FU-Berlin

<sup>13</sup>Bodansky, M., Bodansky, A., The practice of peptide synthesis, 2. Aufl., Springer Verlag Berlin Heidelberg, **1994**

<sup>14</sup>Mann, J., Davidson, R.S., Hobbs, J.B., Banthorpe, D.V., Harborne, J.B., Natural Products, Longman Scientific & Technical, **1994**

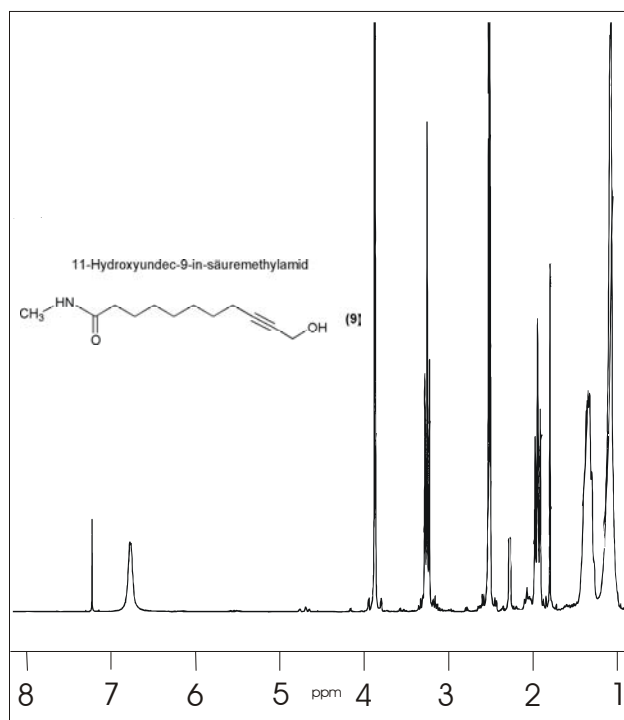


Abbildung 7:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 11-Hydroxyundec-9-in-säuremethylamid (9)

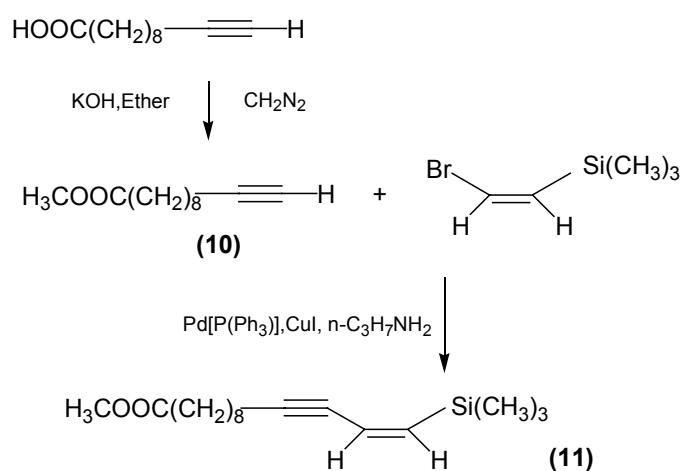
Die Verknüpfung der beiden Komponenten (7) und (9) zum Zielamphiphil in absolutem Methylenchlorid unter Zusatz von  $N'$ (3-Dimethylaminopropyl)- $N$ -ethyl-carbodiimid Hydrochlorid und 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) als Acylierungskatalysator gelang nicht<sup>15</sup>. Anfangs konnte nur Edukt isoliert werden. Die Reaktionsbedingungen wurden dahingehend variiert, dass Reaktionszeit sowie –temperatur erhöht wurden. Schliesslich gelang in geringen Mengen die Umsetzung zu einem Produktgemisch, welches durch Säulenchromatographie aber nicht gereinigt werden konnte (die Hauptfraktion beinhaltete das nicht umgesetzte Edukt). Das Massenspektrum enthielt ein ausgeprägtes Signal bei  $m/z$  569, was dem Molpeak plus zwei Sauerstoffatomen entsprechen würde.

Da eine Synthese für unsere Ziele nur sinnvoll ist, wenn die Bolaamphiphile im Grammaßstab dargestellt werden können, und die Ausbeuten der vorangegangenen Stufen relativ gering waren, wurde dieser Reaktionsweg durch eine vorteilhaftere Möglichkeit ersetzt.

Es wurde eine Synthese unter Einbeziehung der Sonogashira-Kupplung geplant. Der entscheidende Kupplungsschritt wurde vorab an einer Modellverbindung durchgeführt. Die Sonogashira-Kupplung, welche einen Spezialfall der Heck-Kupplung darstellt, ermöglicht die Verknüpfung von terminalen Alkinen mit Bromalkenen, Iodarenen oder Brompyridinen in Diethylamin in Gegenwart von Tetrakis-triphenylphosphin-palladium und Kupferiodid als

<sup>15</sup> Elbert,R.,Laschewsky,A.,Ringsdorf,H.,J.Am.Chem.Soc.,**1985**,107,4135

Katalysatoren. Allgemein spricht man von Sonogashira -Kupplung, wenn es sich um Pd<sup>0</sup>/ Cu<sup>I</sup> katalysierte Kupplungen von sp- und sp<sup>2</sup>- hybridisierten Kohlenstoffatomen handelt<sup>16,17,18</sup>. Die Verknüpfung verläuft unter milden Reaktionsbedingungen und kann bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Undecinsäuremethylester (**10**), der durch Umsetzung der Fettsäure mit Diazomethan (in situ erzeugt aus Diazald)<sup>19</sup>, in Ether und wässriger Kalium-hydroxydlösung quantitativ erhalten wurde, wurde mit 2-Bromvinyltrimethylsilan (Modellverbindung) in trockenem Toluol unter Zusatz von n-Propylamin und Tetrakis-triphenylphosphin-palladium zum *tert*-Butylsilanyl-tetradecadien-in-säuremethylester (**11**) umgesetzt<sup>20</sup>.



Das 2-Bromvinyltrimethylsilan wurde in trockenem Toluol vorgelegt, welches gründlich entgast wurde. Der Palladiumkatalysator und n-Propylamin wurden zugegeben. Schließlich wurden in Toluol gelöster Undecinsäuremethylester (**10**) sowie Kupferiodid langsam zugetropft. Daraufhin färbte sich die Lösung rot-braun. Die Reaktion erfolgte innerhalb von 19 Stunden unter Argonatmosphäre bei 25°C. Der Triphenylphosphin-Katalysator konnte erst durch Säulenchromatographie (Fließmittel : Diethylether/Petrolether 1:1) vollständig von Produkt abgetrennt werden. Nach der Reinigung erhielt man das Produkt (**11**) in 30 % Ausbeute. Vermutlich ist beim Entgasen des Toluols ebenfalls ein Teil des 2-Bromvinyltrimethylsilans verdampft, da es einen Siedepunkt von nur 50°C hat und der Ansatz beim Entgasen nicht gekühlt wurde.

<sup>16</sup> Sonogashira, K., Thoda, Y., Hagihara, N., Tetr. Lett. **1975**, 4467

<sup>17</sup> Cassar, L., J. Organomet. Chem. **1975**, 93, 253

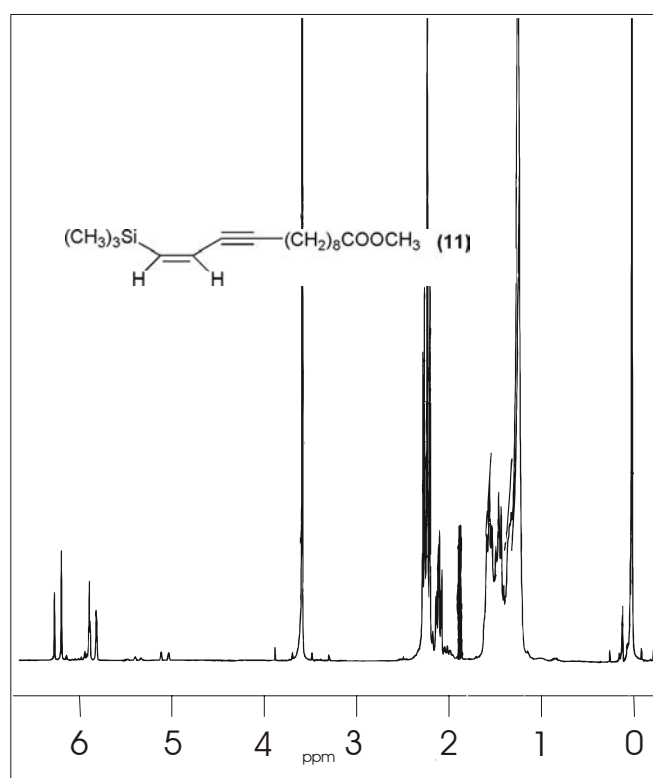
<sup>18</sup> Ratovelomana, V., Linstrumelle, G., Synth. Commun., **1981**, 11, 917

<sup>19</sup> Schneider, J.A., Dissertation **1997**, FU-Berlin

<sup>20</sup> Nicolaou, K.C., Ladduwahetty, T., Taffer, I.M., Zipkin, R.E., Synth. Commun. **1986**, 11, 344

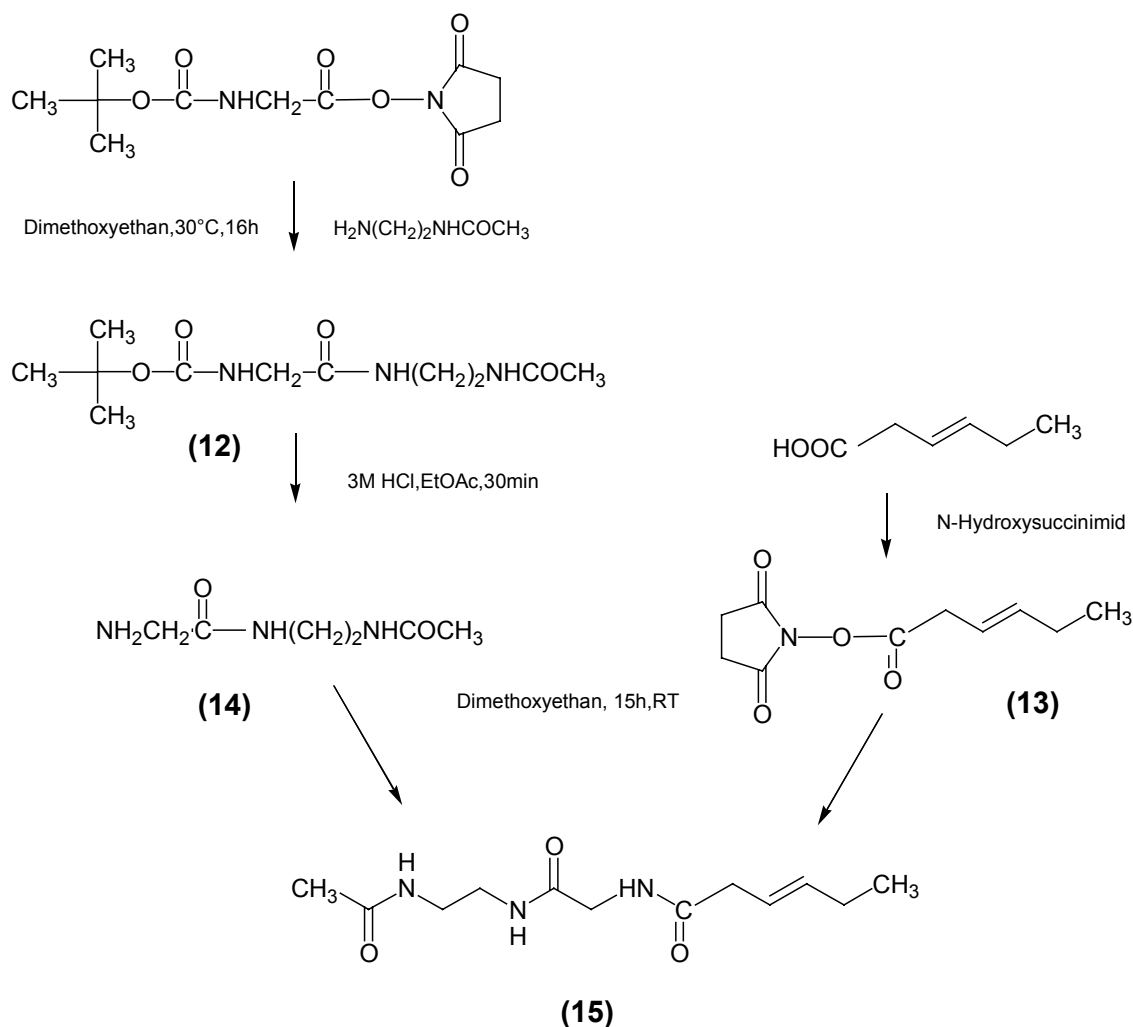
Der Triphenylphosphin-Katalysator war ohne Säulenchromatographie oder Umkristallisieren (hier nicht erfolgreich) nicht vollständig von Produkt abzutrennen.

Das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum zeigt deutlich das Singulett der Trimethylsilylgruppe bei 0 ppm, sechs Methylengruppen der Kette als Multipllett zwischen 1,1 ppm und 1,6 ppm, die zur Dreifachbindung  $\alpha$ -ständige Methylengruppe tritt bei 2,1 ppm auf. Die zur Estergruppe  $\alpha$ -ständige Methylengruppe erscheint bei 2,4 ppm. Die Methylestergruppe gibt ein charakteristisches Singulett bei 3,6 ppm. Die zwei Doppelbindungsprotonen findet man bei 5,9 ppm und 6,2 ppm.



**Abbildung 8:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von *tert*-Butylsilylanyl-tetradecadien-in-säuremethylester (11)

Da jedoch ein essentielles Edukt (*syn*-2-Bromacrylsäureester) der geplanten Synthese auf absehbare Zeit nicht lieferbar war, und die Synthese dieses Edukts als zu aufwendig erschien, wurde der Plan zugunsten einer einfacheren Synthese verworfen.

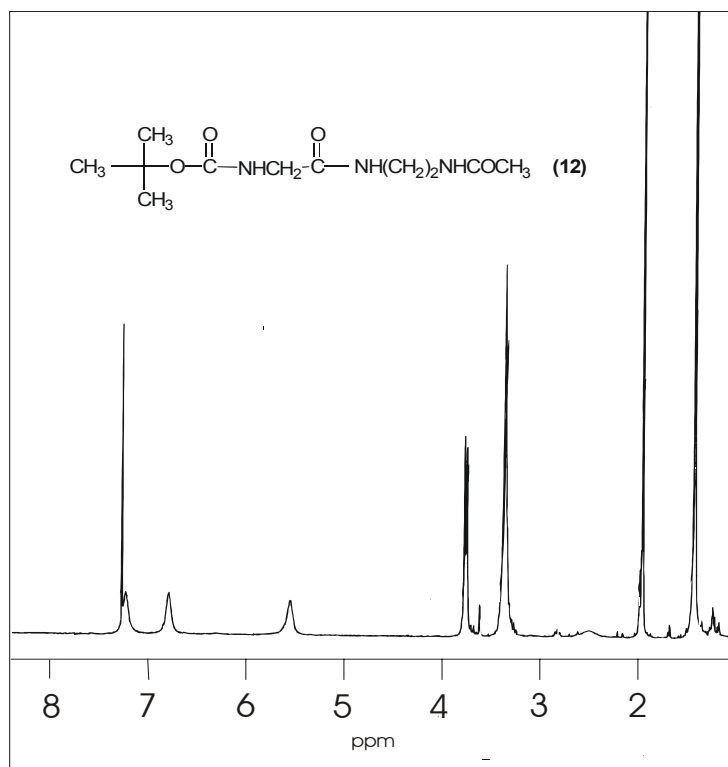


Der erste Kupplungsschritt wurde mit einem durch Boc-N-terminal-geschützten und durch einen Succinimidester aktiviertes Glycinderivat durchgeführt. Dieses wurde mit N-Acetylene-1,2-diamin in Dimethoxyethan zur Verbindung **(12)** umgesetzt<sup>21</sup>.

Das <sup>1</sup>H-NMR Spektrum in CDCl<sub>3</sub> zeigt, dass die bei 2,7 ppm liegenden Signale der Succinimidgruppe vollständig verschwunden sind. Die Boc-Schutzgruppe erscheint als Singulett bei 1,4 ppm, das Singulett der Acylgruppe erscheint bei 2,0 ppm, die Methylenprotonen der Ethylendiamin-Komponente erscheinen bei 3,3 ppm, ebenfalls als Singulett. Das Dublett der dritten Methylengruppe liegt bei 3,8 ppm. Alle NH-Signale sind als breite Singuletts bei 5,5 ppm, 6,7 ppm und 7,2 ppm zu finden.

<sup>21</sup> Anderson, G. W., Zimmerman, J. E., Callahan, F. M., J. Am. Chem. Soc. **1964**, 86, 1839





**Abbildung 9:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von [(2-Acetylamino-ethyl-carbamoyl)-methyl]-carbaminsäure-tert-butylester (**12**)

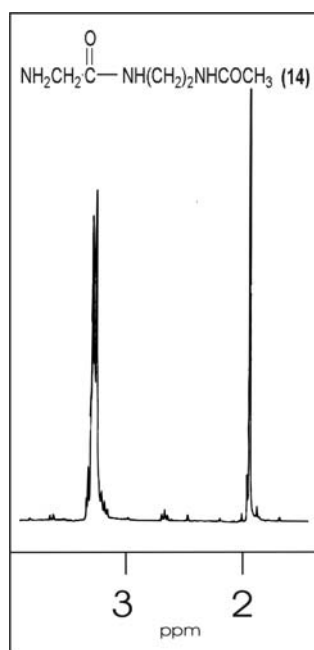
Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe von (**12**) durch 3 M Salzsäure in Ethylacetat abgespalten. Die Verwendung von Salzsäure hat gegenüber der gängigen Abspaltung mit Trifluoressigsäure<sup>22</sup> den Vorteil, dass sie für größere Maßstäbe kostengünstiger, weniger flüchtig ist und keine korrosive Wirkung hat<sup>23</sup>.

Um das entstehende Hydrochlorid der entschützten Aminogruppe in die freie Aminogruppe zu überführen, wurde ein Ionenaustauscher (Dowex 1X2) verwendet, da Zugabe einer Base zur Abspaltung der Acylschutzgruppe führen könnte, was vermieden werden sollte. Das einseitig entschützte Amin (**14**) wurde in einer Ausbeute von 60 % (0,04 g) erhalten.

Das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum, welches im Gegensatz zum Spektrum der vorherigen Stufe in  $\text{D}_2\text{O}$  aufgenommen wurde, zeigt die Signale der Acylgruppe unverändert bei 2,0 ppm und die der sechs Methylenprotonen, wobei sich alle bei 3,3 ppm überlagern (das Integral entspricht sechs Protonen). Das Signal der Boc-Protonen des Edukts ist vollständig verschwunden.

<sup>22</sup> Sakai, N., Ohfuné, Y., J. Am. Chem. Soc. **1992**, 114, 998

<sup>23</sup> Stahl, G. L., Walter, R., Smith, C. W., J. Org. Chem. **1978**, 43, 2285



**Abbildung 10:  $^1\text{H}$ -NMR- Spektrum von N-(2-Acetylamino-ethyl)-2-amino-acetamid (14)**

Als zweite Komponente für die Kopplung wurde Hexensäure verwendet. Diese wurde durch Umsetzung mit Hydroxysuccinimid in Methylenchlorid in den aktivierten Succinimidester (**13**) überführt<sup>24</sup>. Als Kopplungsreagens diente Dicyclohexylcarbodiimid.

Im  $^1\text{H}$ - NMR-Spektrum ist die endständige Methylgruppe als Triplet bei 0,9 ppm vertreten, die benachbarte Methylengruppe als Pentett bei 1,9 ppm, die zwei Doppelbindungsprotonen ergeben zwei getrennte Multipletts bei 5,4 ppm und 5,6 ppm. Die der Carbonylgruppe benachbarte Methylengruppe erzeugt ein Dublett bei 3,2 ppm.

Die Umsetzung der zwei Komponenten (**13**) und (**14**) erfolgte nach der gleichen Methode wie die Bildung des Boc-geschützten Acylamids (**12**)<sup>25</sup>. Die milchige Lösung wurde 10 min beschallt, um eine bessere Löslichkeit in Dimethoxyethan zu erzielen. Nach 15 Stunden rühren bei Raumtemperatur wurde das Dimethoxyethan abgezogen und der Rückstand in Chloroform aufgenommen. Während das Produkt gelöst blieb, fiel das abgespaltene N-Hydroxysuccinimid aus und konnte abfiltriert werden, restliches Succinimid konnte durch Ausschütteln mit Wasser entfernt werden. Nach Abziehen des Lösungsmittels und Trocknung resultierten 32 % (0,26 g) des Hexensäureamids (**15**).

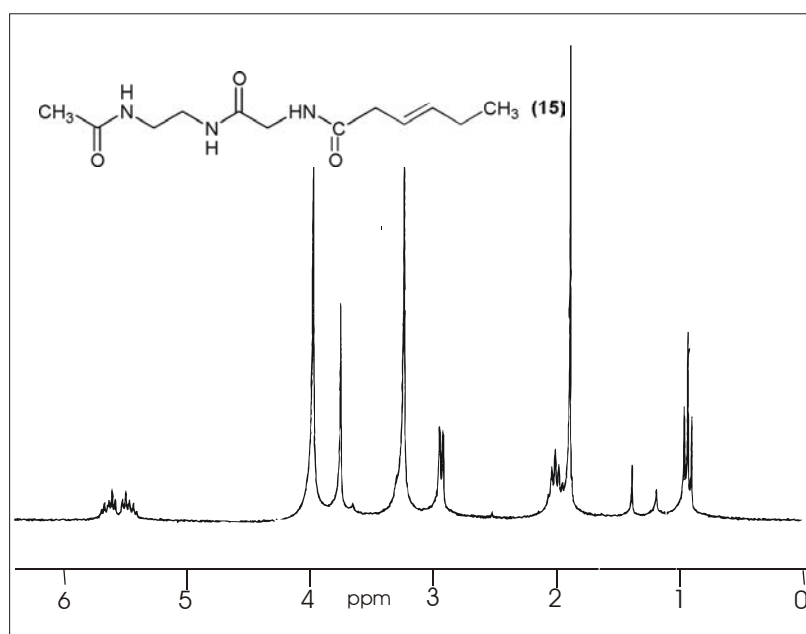
<sup>24</sup>Li, G., Koßmehl, G., Welzel, H. P., Engelmann, G., Hunnius, W. D., Plieth, W., Zhu, H., *Macromol. Chem. Phys.*, **1998**, 2255

<sup>25</sup>Anderson, G. W., Zimmerman, J. E., Callahan, F. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 1839

Das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum belegt die Abspaltung der aktivierenden Succinimidgruppe durch das vollständige Fehlen der entsprechenden Methylengruppensignale bei 2,6 ppm.

Die Methylengruppen des Diamins und die zwischen Carbonyl- und Aminofunktion befindlichen Methylengruppe spalten hier im Gegensatz zur Vorstufe wieder in zwei Singulets bei 3,7 ppm und 3,8 ppm im Integrationsverhältnis 1:2 auf.

Das Signal der zur Amidbindung benachbarten Methylengruppe bildet ein Dublett, das im Vergleich zum Succinimidester auf 2,8 ppm hochfeldverschoben erscheint. Alle weiteren, in den Eduktspektren vorhandenen Signale, findet man in Aufspaltung und Lage unverändert wieder.



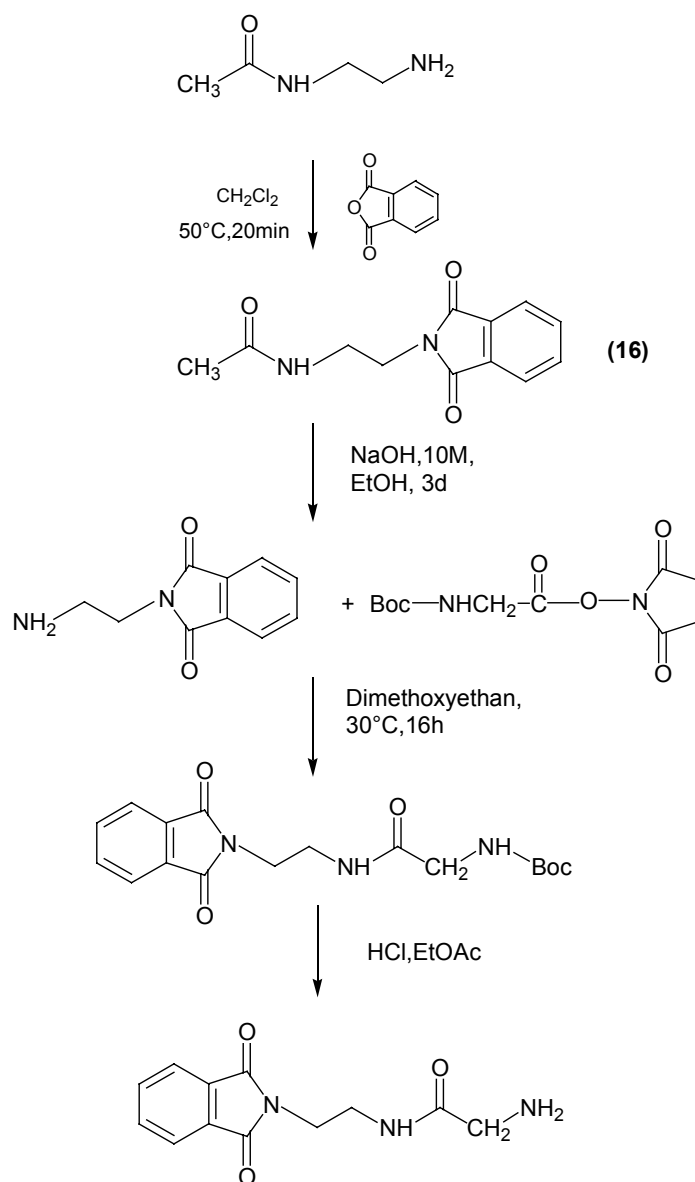
**Abbildung 11:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **Trans-Hex-3-ensäure[(2-acetylamino-ethylcarbamoyl)-methyl]-amid (15)**

Die in der nächsten Stufe geplante alkalische Acylschutzgruppenabspaltung, erwies sich als nicht praktikabel. Die in der Literaturvorschrift für die Abspaltung von Acylschutzgruppen angegebenen Reaktionsbedingungen<sup>26</sup>. (Umsetzung mit 10 N Natronlauge und dreitägiges Rühren bei Raumtemperatur) führten zusätzlich zu der Spaltung der Amidbindungen im Molekül. Wurde nur einen Tag lang mit 10 N Natronlauge gerührt, fand keine Acylgruppenabspaltung statt, es wurde das reine Edukt isoliert.

<sup>26</sup> Fuhrhop, J.H., Koesling, V., Schönberger, G., Liebigs Ann. Chem. **1984**, 1634

Da sich die Acylschutzgruppe für diese Synthese als ungeeignet herausgestellt hatte, sollte für die Umsetzung mit dem Hexensäuresuccinimidester ein Amin mit einer brauchbareren Schutzgruppe synthetisiert werden.

Es wurde ausgehend vom einseitig geschützten Acetyldiamin, die Umsetzung zum Phtalimidester (**16**) und die weitere Umsetzung mit dem bereits vorhandenen Boc-geschützten Glycin-Succinimid geplant. Bei der im zweiten Schritt notwendigen Acylgruppenabspaltung waren keine Probleme erwartet, da der Phtalimidester recht stabil und unter den Reaktionsbedingungen nicht abspaltbar ist. Phtalimidester können mit vielfältigen Reagenzien darunter grossem Überschuss an Hydrazin, Butylamin, Hydroxylamin oder Natriumborhydrid bei Temperaturen zwischen 80°C -100°C abgespalten werden<sup>27</sup>.

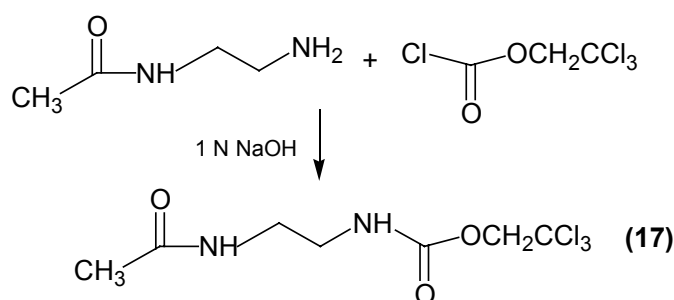


<sup>27</sup>Debenham, J., Rodebaugh, R., Fraser-Reid, B., Liebigs Ann./Recueil, 1997, 791

Die Darstellung des Phtalimid- geschützten N-Acetylethylenendiamins <sup>28</sup> erfolgte durch Umsetzung mit Phtalsäureanhydrid bei 50°C in Methylenchlorid unter Zugabe von Triethylamin. Im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Phtalimideestern kristallisierte das Produkt nicht in der Kälte aus, es wurde durch Extraktion gereinigt (Methylenchlorid/Wasser). Ohne Säulenchromatographie blieben allerdings Spuren von Triethylamin und den Edukten zurück. Im <sup>1</sup>H-NMR Spektrum sind die Acetylprotonen durch zwei getrennte Signale bei 2,6 ppm und 3,2 ppm repräsentiert, die Acylgruppe ist bei 1,9 ppm zu sehen, die Aromatensignale bei 7,5 ppm und das Stickstoffproton bei 7,3 ppm.

Auch nach Variation der Reaktionsbedingungen stiegen die Ausbeuten nicht über 15 %, zudem zeigte sich, dass die Acylgruppenabspaltung in diesem Fall unter den bereits beschriebenen Bedingungen (3d, 10 M NaOH, RT) nicht erfolgte. Somit wurde eine andere Schutzgruppe in Erwägung gezogen. Die 2,2,2-Trichloroethoxycarbonyl-Schutzgruppe (Troc) ist stabil gegenüber den moderat sauren Abspaltungsbedingungen<sup>29</sup> für Boc-Schutzgruppen, und kann reaktiv unter Verwendung von Zink und/oder Kupfer gespalten werden<sup>30,31,32</sup>.

Die Darstellung eines Troc-geschützten Amins wurde aufgrund der kostengünstigen Verfügbarkeit zuerst an N-Acetylethyldiamin durchgeführt, um nach gelungener und der Ausbeute gemäß lohnenswerter Umsetzung (91 % Ausbeute) die Bedingungen auf N-Boc-Ethyldiamin zu übertragen<sup>33</sup>.



<sup>28</sup> Lemieux, R. U., Takeda, T., Chung, B. Y., *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **1976**, 39, 90

<sup>29</sup> Chandrasekhar, B. P., Sunthankar, S. V., Telang, S. G., *Chem. Ind.*, **1975**, 18, 87

<sup>30</sup> Aggen, J. B., Humprey, J. M., Gauss, C. M., Huang, H. B., Nairn, A. C., Chamberlin, A. R., *Bioorg. Med. Chem.*, **1999**, 7, 54

<sup>31</sup> Baxter, E. W., Labaree, D., Ammon, H. L., Mariano, P. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 7682

<sup>32</sup> Zhu, T., Boons, G. J., *Tetrahed. Asym.*, **2000**, 11, 199

<sup>33</sup> Carson, J. F., *Synth. Comm.*, **1981**, 268

Die Reaktionen wurden in 1 N Natronlauge als Lösungsmittel und unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt.

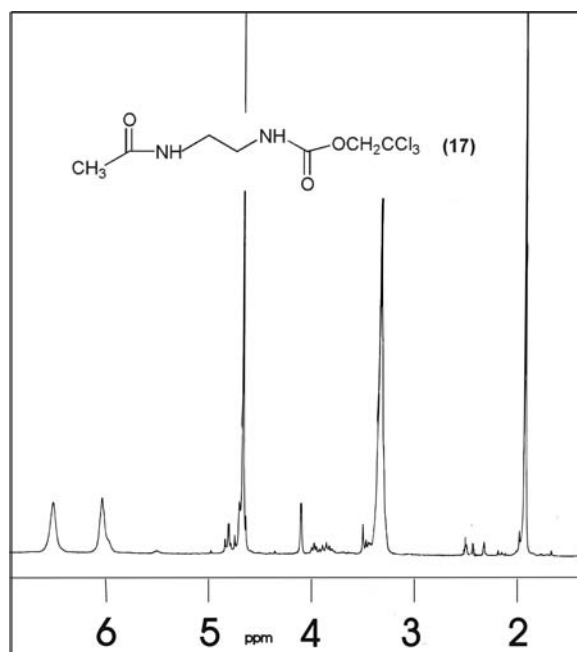
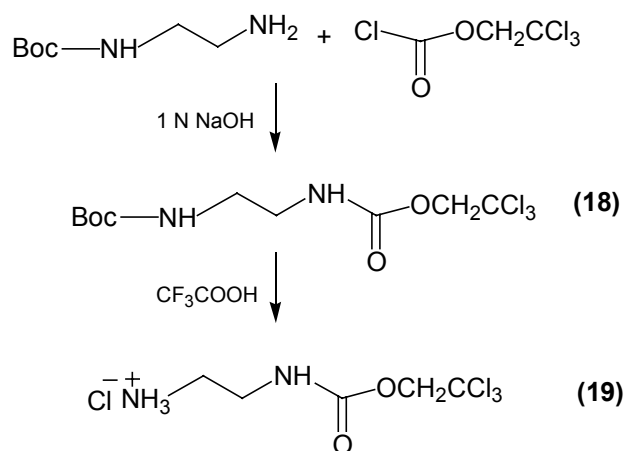


Abbildung 12: <sup>1</sup>H-NMR- Spektrum von (2-Acetylaminoethyl)-carbaminsäure-2,2,2-trichlorethylester (17)

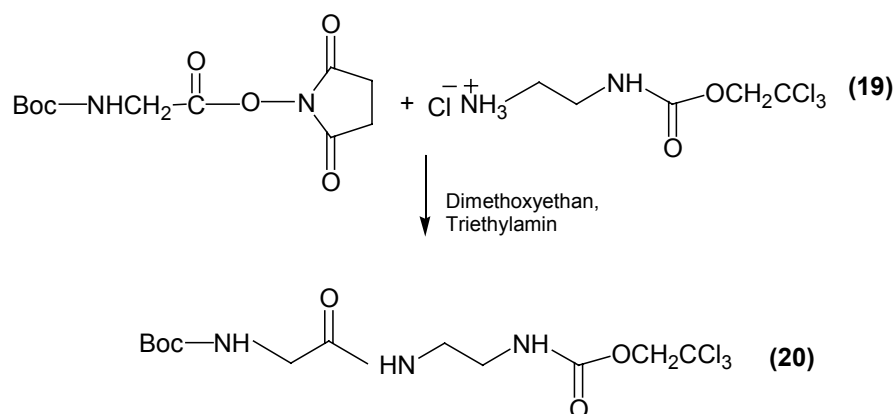
Im Folgenden wird speziell die Umsetzung mit N-Boc-Ethylendiamin beschrieben. Das Vorgehen mit N-Acetylethylendiamin war analog.



Das N-Boc-Ethylendiamin wurde vorgelegt und das in Natronlauge gelöste Trichloroethylchloroformiat langsam zutropft. Der Ansatz wurde währenddessen auf 0°C

gekühlt. Da die Reaktivität des Trichloroethylchloroformiats gegenüber Aminen nicht so groß ist, wurde es in zweifachem Überschuss zugegeben. Dabei entstand immer auch das Bis-trichloroethyl-carbonat als Nebenprodukt. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die wachsartige Verbindung **(18)** wurde durch Umkristallisation aus heißem Ethylacetat in einer Ausbeute von 60 % (1,26 g) gewonnen. Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum zeigen die Ethylendiamin Protonen ein gemeinsames Multiplett bei 3,4 ppm, die Trichloroethylgruppe erzeugt ein Singulett bei 4,7 ppm, die Boc-Gruppe ist als Singulett bei 1,4 ppm vertreten. Beide NH-Gruppen sind als verbreiterte Singulett bei 4,9 ppm und 5,6 ppm zu erkennen. Im Folgenden wurde die Boc-Gruppenabspaltung mit Trifluoressigsäure durchgeführt. Es resultierte das Hydrochlorid des Trichloroethylesters **(19)**, welches aus Diethylether als Salz ausfiel. Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum ist das Signal der Boc-Gruppe vollständig verschwunden, die Ethylendiamin Protonen sind in zwei getrennte Multipletts aufgespalten.

Die dargestellte Verbindung wurde nach der bewährten Methode in Dimethoxyethan unter Zusatz von Triethylamin mit dem Boc-Glycin-Succinimidester umgesetzt. Zur besseren Löslichkeit wurde der Ansatz kurz beschallt. Die Reaktion verlief bei Raumtemperatur. Nach Ausschütteln mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Trocknen erhielt man quantitativ das erwünschte Kopplungsprodukt **(20)**.



Das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum zeigt das Verschwinden der Succinimidprotonen (Reste des Signals sind noch erkennbar), welche beim Edukt bei 2,8 ppm zu finden waren. Die Ethylendiaminprotonen treten hier wieder als ein Multiplett bei 3,4 ppm auf. Die Methylenprotonen zwischen Stickstoff und Carbonylgruppe treten im Vergleich zum Edukt

bei 3,7 ppm als Dublett auf. Die Protonen in Nachbarschaft zur Trichlormethangruppe zeigen ebenfalls eine Verschiebung auf 4,6 ppm.

Alle drei NH-Protonen sind in  $\text{CDCl}_3$  als verbreiterte Singulets sichtbar, bei 5,4 ppm, 6,1 ppm, und 7,0 ppm.

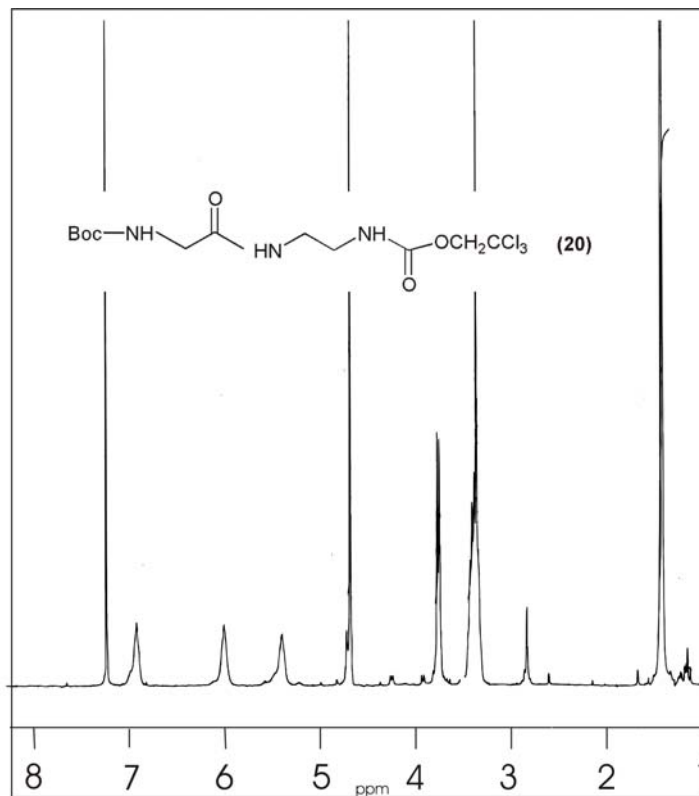
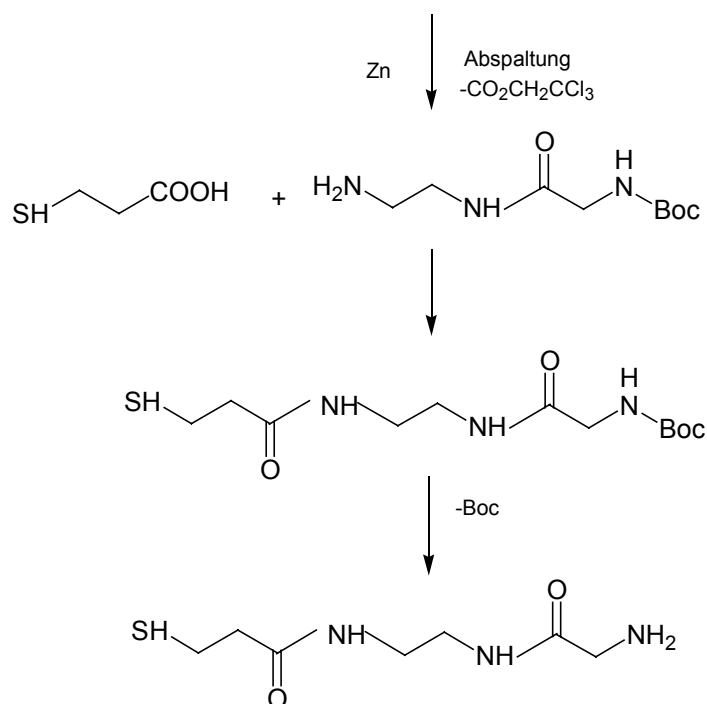


Abbildung 13:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von {[2-(2,2,2-Trichloroethoxycarbonyl-amino)-ethyl-carbamoyl]-methyl}-carbaminsäuretert-butyl-ester (20).



Des Weiteren war folgendes Vorgehen geplant :



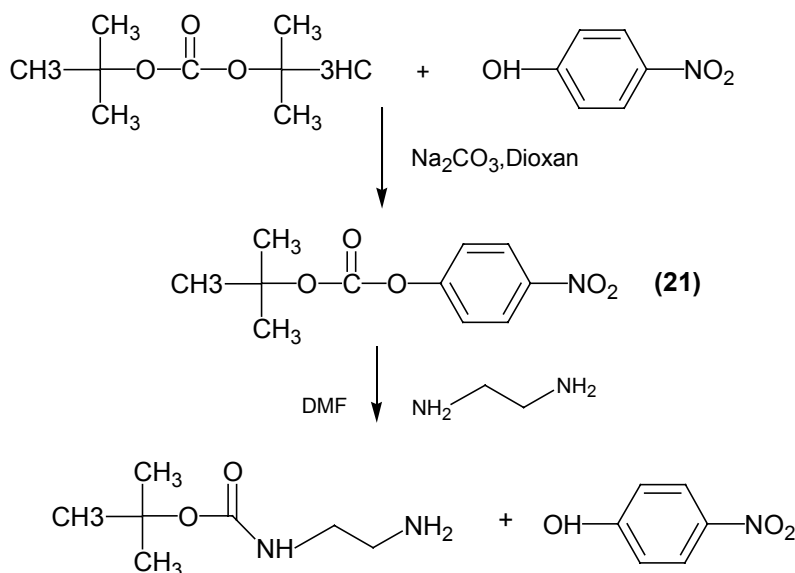
Das Abspalten der Troc-Schutzgruppe gestaltete sich jedoch schwierig. Es wurden mehrere Abspaltungsvorschriften angewendet. Die Abspaltung durch Reduktion des Trichlormethan-kohlenstoffs gelang schließlich mittels Zink. Es entstanden 1,1- Dichlorethen, Kohlendioxid und Zinkchlorid, sowie das freie Amin der eingesetzten Verbindung.

Aktiviertes Zinkpulver (es wurde in Königswasser von Oberflächenoxiden befreit) wurde unter Zugabe von Monokaliumphosphat in Tetrahydrofuran über Nacht gerührt. Das Zinkpulver wurde abfiltriert und mit Tetrahydrofuran gewaschen. Das Filtrat wurde mit verdünnter Salzsäure auf pH 1 gebracht, wobei das Hydrochlorid entstand. Es wurde dreimal mit Ether extrahiert, um restliches Edukt abzutrennen. Die wässrige Phase wurde mit Natriumhydrogencarbonat alkalisch gemacht, und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Es wurde wieder mit Salzsäure angesäuert und das Lösungsmittel wurde abrotiert. Das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum zeigt zwar, dass die Schutzgruppe nicht mehr vorhanden ist, aber es resultieren starke zusätzliche Signale, besonders im Bereich von 1,0 ppm – 2,0 ppm, und die restlichen Signale sind von zusätzlichen Multipletts überlagert. Dies lässt darauf schließen, dass es noch zu Nebenreaktionen gekommen ist, die Abspaltung demnach nicht erwartungsgemäß geklappt hat.

Es wurde auch die Variante mit Zinkstaub in Eisessig und Phosphatpuffer (Pufferlösung 1M Monokaliumphosphat-/Dinatriumphosphatlösung in 5 Äquiv.Tetrahydrofuran) versucht.<sup>34</sup>

Der pH-Wert wurde so zwischen pH 5 und pH 6 gehalten. Es wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum waren diesmal noch die Signale der Schutzgruppe zu sehen. Auch weitere Variationen ergaben keine zufriedenstellenden Abspaltung.

Daraufhin wurde Boc-4-Nitrophenylester als einseitig geschütztes Ethylendiamin verwendet. Die direkte Umsetzung des Ethylendiaminhydrochlorids mit Di-*tert*.-butylcarbonat verlief erfolglos, es wurde nur das Edukt isoliert.



Der Boc-Nitrophenylester wurde in Dioxan mit Di-*tert*-butylcarbonat umgesetzt. Nach einstündigen Rückflusskochen konnte die gewünschte Verbindung mit 80 % Ausbeute dargestellt werden.

Nachdem in der Arbeitsgruppe die Doppelbindung mittels Claisen Umlagerung in hoher Ausbeute eingeführt werden konnte, wurde der beschriebene Reaktionsweg nicht weiter verfolgt.

<sup>34</sup>Aggen,J.B.,Humprey,J.M.,Gauss,C.M.,Huang,H.B.,Nairn,A.C.,Chamberlin,A.R.,Bioorg.Med.Chem.,**1999**,7, 543