

Synthese perfluoralkylierter mucinanaloger Glycolipopeptide zur multivalenten Antigenpräsentation

Dissertation zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

Im Promotionsfach Organische Chemie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften

der Johannes Gutenberg-Universität


in Mainz

Jérôme Schoenhentz

geboren in Zweibrücken

Mainz, im Mai 2012

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Mai 2012

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit
von Oktober 2008 bis Mai 2012
am Institut für Organische Chemie
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
unter Anleitung von 
angefertigt.

„Man kann einen Abgrund nicht in zwei Sprüngen überqueren.

Man muss den mutigen Sprung mit einem Mal tun.“

Václav Havel

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Krebs	1
1.2	Humane Mucine	2
1.3	Immuntherapie durch tumorassoziierte Kohlenhydratantigene	5
1.4	Die Zusammensetzung der Plasmamembran	8
1.5	Die physikochemischen Eigenschaften fluororganischer Verbindungen	9
1.6	Perfluorverbindungen als Pharmaka	11
2	Zielsetzung und Syntheseplanung	15
2.1	Zielsetzung	15
2.2	Syntheseplanung	17
3	Allgemeiner Teil	19
3.1	Synthese perfluorierter Membranankersysteme	19
3.2	Synthese des Triethylenglycolspacers	31
3.3	Synthese der T _N - und ST _N -Antigenbausteine	32
3.4	Synthese von (Glyco)Lipopeptiden des Mucins MUC1	42
3.5	Untersuchungen der Lipidschichten	62
3.6	Immunologische Evaluierung der synthetischen Glycolipopeptide	73
4	Zusammenfassung	81
5	Experimenteller Teil	89
5.1	Allgemeines und Messgeräte	89
5.2	Allgemeine Versuchsvorschriften	95
5.3	Synthese perfluorierter Membranankersysteme	97
5.4	Synthese des Triethylenglycolspacers	143
5.5	Synthese der T _N - und ST _N -Antigene	148
5.6	Synthese der (Glyco)Peptidkonjugate	165
	Literaturverzeichnis	185
	Spektroskopischer Anhang	II

Abkürzungsverzeichnis

[α]	Spezifischer Drehwert	DODAMA	2-(2-(2-(Dioctadecylamino)-2-oxoethoxy)acetoxymethacrylsäureethylester
absol.	absolut		
Ac	Acetyl		
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid	DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
AcOH	Essigsäure	DMAP	4-Dimethylaminopyridin
AFM	Rasterkraftmikroskopie	DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
AIBN	<i>N,N</i> -Azobisisobutyronitril	EE	Essigsäureethylester
Ala, A	Alanin	ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Äquiv.	äquatorial		
Äquiv.	Äquivalente	ESI-MS	Electrospray Ionisation Mass Spectrometry
Ar	Aryl		
Arg, R	Arginin	Et	Ethyl-
Asp, D	Asparaginsäure	et al.	et alii
AS	Aminosäure	EtOH	Ethanol
ax.	axial	Fmoc	<i>N</i> -9-H-Fluoren-9-yl-methoxy-carbonyl
BAM	Brewsterwinkel-Mikroskopie		
ber.	berechnet	Gal	D-Galactose
Bn	Benzyl	GalNac	<i>N</i> -Acetyl-D-galactosamin
Boc	tert-Butyloxycarbonyl	Glu, E	Glutamin
BSA	Bovine Serum Albumin (Rinderserumalbumin)	Gly, G	Glycin
c	Konzentration	HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorphosphat
CH	Cyclohexan		
COSY	<i>Correlated Spectroscopy</i>	HBTU	<i>O</i> -(1H-Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorphosphat
δ	chemische Verschiebung		
d	Tag		
DC	Dünnschichtchromatographie	His, H	Histidin
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid	HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer</i>	HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
dest.	destilliert	HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
dhb	2,5-Dihydroxybenzoesäure	HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid		

HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Pmc	2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl
Hz	Hertz	Pro, P	Prolin
i.Hochvak	im Hochvakuum	ppm	<i>parts per million</i>
i. Vak.	im Vakuum	PPTS	Pyridinium- <i>para</i> -Toluolsulfonsäure
<i>i</i> PrOH	Isopropanol		
J	Kopplungskonstante	PyBOP	<i>O</i> -(1H-Benzotriazol-1-yl)-tri-pyrrolidinphosphonium-hexafluorphosphat
kat.	katalytisch		
konz.	konzentriert		
λ	Wellenlänge	quant.	quantitativ
Lys, K	Lysin	Raumtemp.	Raumtemperatur
M	Molarität	R _f	Retentionsfaktor
	Molare Masse	R _t	Retentionszeit
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation	RP	Reversed Phase
		Ser, S	Serin
mbar	Millibar	SG	Schutzgruppe
Me	Methyl-	SPPS	Festphasenpeptidsynthese
MeCN	Acetonitril	Su	Succinimidyl
MeOH	Methanol	TAA	tumorassoziiertes Anigen
min	Minuten	TBTU	<i>O</i> -(1H-Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-tetrafluorborat
MHz	Megahertz		
MS	Massenspektrometrie		
NaOMe	Natriummethanolat	tBu	tert-Butyl-
NeuNAC	<i>N</i> -Acetylneuraminsäure	tBuOH	tert-Butanol
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin	TL	Toluol
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidin	TTox	Tetanus-Toxin
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>	TFA	Trifluoressigsäure
OD	optische Dichte	THF	Tetrahydrofuran
OEG	Oligoethylenglycol	Thr, T	Threonin
OMs	Methansulfonat	TIS	Triisopropylsilan
OTf	Trifluormethansulfonat	TOF	<i>Time of Flight</i>
OTs	<i>para</i> -Toluolsulfonat	Trt	Trityl-
p	para	<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
p. a.	pro analysi	UV	Ultraviolett
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl-	Val, V	Valin
Ph	Phenyl-		

1 Einleitung

1.1 Krebs

Krebs verursacht weltweit den Tod von 7.6 Millionen Menschen jedes Jahr. Die Krankheiten des Kreislaufsystems und bösartige Neubildungen sind im Jahr 2008 für mehr als zwei Drittel der Sterbefälle in Deutschland verantwortlich. Diese beiden Haupttodesursachen haben eine ungleiche Verteilung unter Berücksichtigung des Lebensalters. Im Lebensalter über 65 Jahre verstarben über 92% der Männer und Frauen an Kreislaferkrankungen. Dagegen sind die Krebserkrankungen bei jungen Menschen und Menschen mittleren Alters die häufigsten Todesursachen. Bei Männern treten meist der Lungen- und Bronchialkrebs, sowie der Prostata und Darmkrebs auf, wohingegen bei Frauen der Brustkrebs die Liste der Todesfälle anführt.^[1] Insgesamt ist jedoch die Sterberate seit den 80er Jahren für die Kreislauf- und Tumorerkrankungen rückläufig, was nicht zuletzt auf eine bessere Früherkennung und auf gezielte Therapien zurückzuführen ist.^[2]

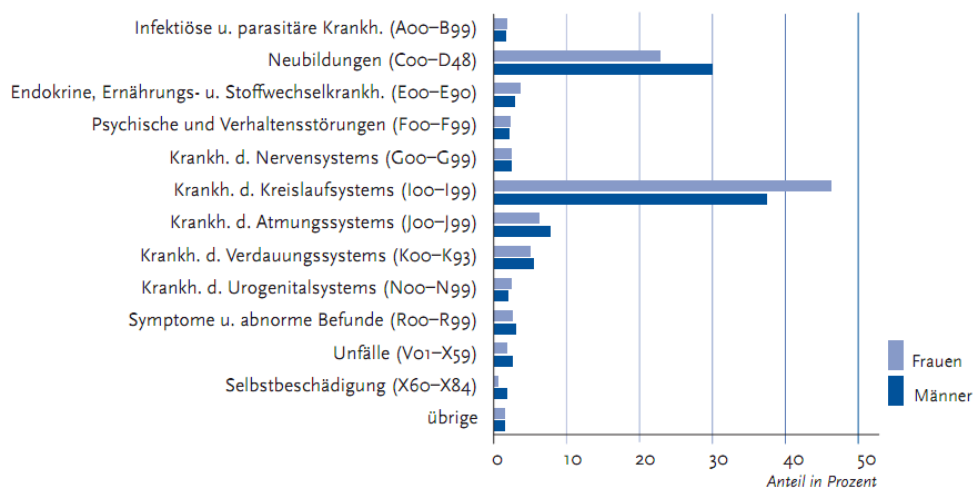


Abb. 1.1: wichtigste Todesursachen der insgesamt 858 768 Verstorbenen nach Geschlecht unterteilt (Deutschland 2008 nach ICD-10; Quelle: Statistisches Bundesamt, Todesursachenstatistik)

Um Krebs in einer effektiven Weise bekämpfen zu können, sollte selektiv nur das tumoröse Gewebe behandelt werden. Die Behandlung dieser bösartigen Neubildungen wird heutzutage medizinisch durch die Resektion, sowie die Strahlen-^[3] und Chemotherapie^[4] realisiert. Allgemeine präventive Maßnahmen bestehen hauptsächlich in der Vermeidung der Exposition karzinogener Stoffe und einer ungesunden Lebensweise. Aus medizinischer Sicht gibt es nur wenige spezifische Präventivmaßnahmen, wie beispielsweise der Chemoprävention des Prostatakarzinoms^[5] und des Mammakarzinoms^[6]. Die operative Entfernung des Gewebes bei Brustkrebs,^{[7] [8]} bei Ovarialkarzinomen^[9] oder bei Prostatakrebs^[10] ist hingegen bei diesen bösartigen Neubildungen derzeit die zuverlässigste Behandlungsmethode. Für alle Krebsarten ist eine Früherkennung generell mit guten Heilungschancen verbunden.

Ein vielversprechender Ansatz zur selektiven Bekämpfung von Tumoren stellt die Entwicklung neuartiger Tumorstoffe dar.^[11] Herkömmliche Behandlungsmethoden schwächen das Immunsystem in erheblichem Maße, so wird beispielsweise bei Patienten mit einer Chemotherapie eine verminderte Anzahl an T-Zellen registriert.^[12] Die Vakzinierung könnte in Kombination mit gängigen Tumorbehandlungen eingesetzt werden, um weitere Neubildungen zu unterdrücken. So würden frei zirkulierende Metastasen durch das Immunsystem erkannt und selektiv bekämpft werden. Jedoch muss das Immunsystem fähig sein zwischen gesunden und malignen Zellen zu unterscheiden. Die Differenzierung kann z.B. anhand der exprimierten Kohlenhydratmuster von Oberflächenproteinen erfolgen, die sich in tumorösen stark von denen auf der Normalzelle unterscheiden. Der Erfolg einer solchen Immuntherapie ist dabei sowohl von der selektiven Erkennung der Krebszellen durch das Immunsystem, als auch von der Art und Stärke der initiierten Immunantwort abhängig.

1.2 Humane Mucine

Mucine sind hochgradig glycosylierte epitheliale Glycoproteine mit einem Kohlenhydratanteil von mehr als 50 Gewichtsprozenten.^[13] Die verschiedenen Polypeptidstränge der Mucine sind aus *tandem repeat*-Einheiten aufgebaut und unterscheiden sich jeweils in der Anzahl, der Länge und der Abfolge der Aminosäuren (Tabelle 1.1). Das threonin- und serinreiche Peptidrückgrat dieser Proteine ist durch die langen und stark verzweigten vielfach aciden *O*-Glycanseitenketten gegen äußere Einflüsse

abgeschirmt. So dient diese viskoelektrische, gelartige Oligosaccharidschicht an der epithelialen Zelloberfläche ihrem physikochemischen Schutz. Neben dieser Zellschutzfunktion sind Mucine auch an Oberflächenprozessen wie der β -Catenin vermittelten Zell-Zelladhäsion beteiligt. Die heutzutage bekannten Mucin Spezies können in zwei Gruppen unterteilt werden: zum einen in die sekretorisch exprimierten Mucine (wie z. B. MUC2, MUC5AC, MUC5B und MUC6) und zum anderen in die membrangebundenen Mucine wie MUC1, MUC3, MUC4 und MUC12, bei denen ein hydrophober Teil als transmembrane Domäne für die feste Verankerung in der Lipiddoppelschicht sorgt.^[14] Die cytoplasmatische Domäne dieser transmembranen Proteine ist für die Übertragung extrazellulärer Signale in die Zelle verantwortlich und spielt somit eine wichtige Rolle in der Signaltransduktion.^[15]

Mucin-Spezies	Tandem Repeats (Anzahl)	Vorkommen
MUC1	AHGVTSAPDTRPAPGSTAPP (20)	Milchdrüse
MUC2	PTTTPITTTTVPPTPTGTQT (23)	Darmtrakt
MUC3	HSTPSFTSSITTTETTS (17)	Darmtrakt
MUC4	TSSASTGHATPLPVD (16)	Bronchialtrakt
MUC5AC	TTSAPTTS (8)	Bronchialtrakt
MUC5B	irreguläre repeats bestehend aus 29 Aminosäuren	Bronchialtrakt
MUC6	169 Aminosäurerepeats (169)	Magen
MUC7	TTAAPPTPSATTPAPPSSSAPPE (23)	Speicheldrüse

Tabelle 1.1: Auswahl einiger humaner Mucine mit tandem repeat Einheit und Vorkommen im Körper.^[16]

Das MUC1 stellt ein besonders interessantes Zielmolekül für die Tumorummuntherapie dar, da sich bei diesem Glycoprotein der Glycosylierungsgrad in gesunden und pathogenen Zellen erheblich voneinander unterscheidet. So spielt das MUC1 eine wichtige Rolle bei der Tumorbildung indem es u.a. die Metastasierungskaskade der Tumore initiiert.^[17] Pathogene Zellen verlieren durch die MUC1-Überexpression ihre Polarität, und zeigen eine deutlich veränderte Oberflächentopologie. Die Zelloberfläche wird sterisch und elektronisch abgeschirmt, wodurch E-Cadherin^[18] und Integrin^[19]-unterstützte Zell-Zell-Kontakte nicht auftreten und ein Loslösen aus dem Zellverband mit anschließender Wanderung maligner Zellen möglich wird. Die Resistenz mucinexprimierender tumoröser

Zellen gegenüber Killerzellen und cytotoxischen T-Zellen ist ebenfalls auf die abschirmenden Eigenschaften der MUC1-Schicht zurückzuführen.^[20] Durch die Überexpression der Mucine auf bösartigen Zellen stellt das MUC1 mit den tumorassoziierten Epitopen als Tumormarker auf kranken epithelialen Zellen einen vielversprechenden Ansatzpunkt für die Tumorbekämpfung dar.^{[21] [22] [23]} Die für eine Immuntherapie relevanten Epithelzellen mit MUC1 Glycoproteinen finden sich im Mammagewebe, sowie in der Prostata, dem Pankreas, der Leber, dem Darmtrakt und der Niere.^{[25] [26]}

Das Mucin MUC1 besteht aus 25 bis 125 mucincharakteristischen Wiederholungseinheiten (*variable number of tandem repeats, VNTR*). Diese *tandem repeats* bestehen ihrerseits jeweils aus 20 Aminosäuren der Sequenz PDTRPAPGSTAPPAHGV TSA mit fünf potentiellen *O*-Glycosylierungsstellen an Threonin und Serin. Auf gesunden Zellen ist ein Teil dieser möglichen *O*-Glycosylierungsstellen mit langen und stark verzweigten Oligosaccharidketten belegt, während bei Tumorzellen die Oligosaccharidketten kurz und kaum verzweigt sind.^[24] Die *O*-glycosidisch verknüpften Kohlenhydratseitenketten der Mucine sind im Wesentlichen auf acht Core-Strukturen (vgl. Tabelle 1.2) zurückzuführen. Der erste Baustein der Glycanseitenketten stellt das Galactosamin dar, welches α -glycosidisch mit dem Peptidrückgrat verbunden ist. Diese Grundstruktur aus D-GalNAc- α (1-*O*)-Ser/Thr wird als T_N-Antigen bezeichnet und ist das Basiselement der TF-, ST_N- und ST-Antigene.^[27] In tumorösen Zellen treten diese Glycane auf Grund einer den Tumor begleitenden, verminderten Glucosamintransferaseaktivität (β -1,6-GlcNAc-Transferase) bei gleichzeitiger Überexpression von α -2,3- und α -2,6-Sialyltransferasen in verkürzter und sialylierter Form auf. Diese Verkürzung der abschirmenden Seitenketten führt zur partiellen Freilegung des Peptidrückgrats, so dass z.B. das immundominante Peptidmotiv PDTRP für Antikörper frei zugänglich wird.^{[28] [29]} Da eine eindeutige Unterscheidung zwischen gesunden und malignen Zellen durch die verkürzten und sialylierten Glycosylierungsmuster des Mucins MUC1 stattfinden kann, werden MUC1-Partialstrukturen als Leitstrukturen in der Immuntherapie eingesetzt, um selektiv tumoröse Zellen zu bekämpfen.

Core 1	β Gal-(1,3)- α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser
Core 2	β Gal-(1,3)-[β GlcNAc-(1,6)-] α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser
Core 3	β GlcNAc-(1,3)- α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser
Core 4	β GlcNAc-(1,3)-[β GlcNAc-(1,6)-] α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser
Core 5	α GalNAc-(1,3)- α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser
Core 6	β GlcNAc-(1,6)- α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser
Core 7	α GalNAc-(1,3)- α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser
Core 8	α Gal-(1,3)- α GalNAc- <i>O</i> -Thr/Ser

Tabelle 1.2: Core-Strukturen der *O*-Glycane.^[27]

1.3 Immuntherapie durch tumorassoziierte Kohlenhydratantigene

Um Autoimmunreaktionen zu unterbinden und eine selektive, tumorspezifische Antikörperproduktion zu erzielen, muss das Immunsystem in der Lage sein, maligne Zellen in Gegenwart gesunder Zellen zu erkennen und zu bekämpfen. Die Erkennung maligner Zellen ist jedoch durch die immunsuppressiven Mechanismen des Tumors gehemmt. Als Unterscheidung- und Erkennungsmerkmal der tumorösen Zellen können die verkürzten Glycane und das daraus resultierende, freizugängliche Peptidepitop PDTRP des Mucins MUC1 dienen.^[30] In Abb. 1.2 sind die Unterschiede zwischen den MUC1-Strukturen normaler und tumoröser Zellen verdeutlicht.

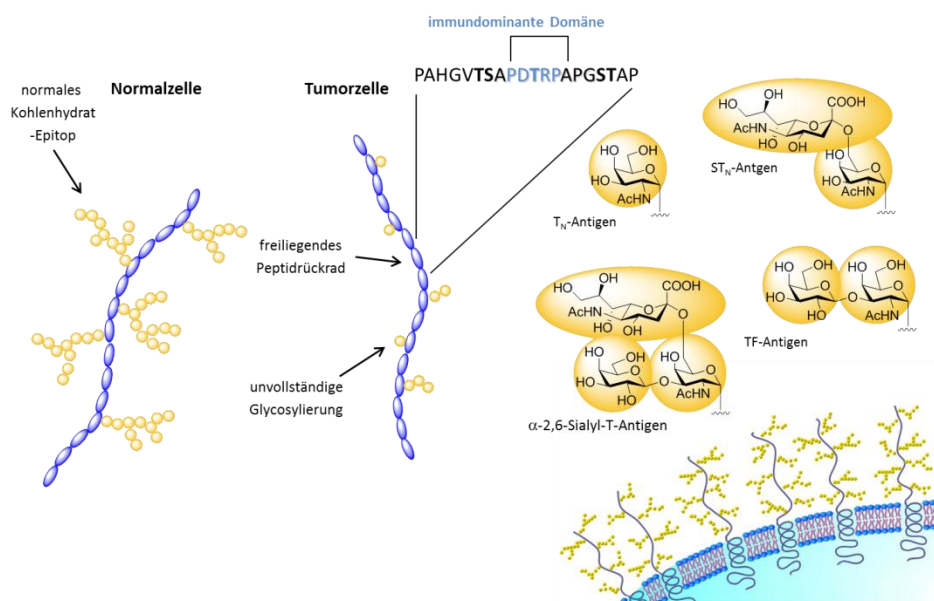


Abb. 1.2: Unterschied der Kohlenhydratseitenketten einer normalen und einer tumorösen Zelle.

Zur Erzeugung einer Immunantwort muss die Toleranz des Immunsystems gegenüber malignen Zellen reduziert werden. Hierzu können synthetisch hergestellte, tumorassoziierte Glycopeptide des MUC1-Typs dienen. Diese Glycopeptide bestehen aus der vollständigen *tandem repeat*-Sequenz und *O*-glycosidisch gebundenen Glycanseitenketten mit T_N-, TF-, Sialyl-T_N- und Sialyl-T-Antigenstrukturen (Abb. 1.2).^[31]^[32] Die Kombination aus Kohlenhydratantigen und immundominanter Peptidsequenz in einem Vakzin induziert eine selektive Aktivierung von cytotoxischen T-Zellen und vermittelt die Produktion von Antikörpern durch B-Lymphozyten. Da natürlich isolierte Mucine stets in mikroheterogener Form vorkommen, ist der synthetische Zugang zu Vakzinkandidaten notwendig. Eine Immunisierung mit nicht exakt definierten Strukturen würde in einer Autoimmunreaktion enden.

Die schwache Immunantwort von niedermolekularen Haptenen kann durch den Einsatz eines immunogenen Carrier-Proteins^[33] verstärkt werden. Jüngste Studien im Arbeitskreis *Kunz* zeigten, dass der Einsatz von Carrier-Proteinen wie z.B. des Tetanus-Toxoids zu wirksamen Vakzinen führt, die in ähnlicher Form auch für einen Einsatz im menschlichen Organismus infrage kämen.^[34] Ein weiterer Ansatz zur Verbesserung der Immunantwort besteht in einer multivalenten Präsentation der Haptene. Eine solche Multivalenz der Antigene in lateral angereicherten Domänen könnte beispielsweise durch die Phasenseparation perfluoralkylierter Membrananker in einer Lipidmatrix aus Kohlenwasserstoffen induziert werden. *Gege* und *Schmidt* untersuchten bereits das Segregationsverhalten von komplexen Kohlenhydratepitopen (Sialyl-Lewis^X-Antigen) mit perfluoralkylierten Membranankersystemen. Dabei gelang es die Größe und Verteilung der Domänen zu steuern und eine verstärkte Wechselwirkung der Glycolipide in der dynamischen Adhäsion von Ovarialzellen zu erzielen.^[35]

In einer Vielzahl aktueller Arbeiten wurde die Induktion von spezifischen Antikörpern gegen tumorassoziierte MUC1-Strukturen durch vollsynthetische Antitumorvakzine untersucht. Dabei wurden neben immunogenen Carrierproteinen auch Toll-like Rezeptoren wie Pam₃Cys mit entsprechenden tumorassoziierten B-Zell-Epitopen kombiniert. *Toyukuni* und Mitarbeiter synthetisierten z.B. ein Vakzin mit einer dimeren Präsentation des T_N-Antigens unter Verwendung des Toll-like Rezeptor Pam₃Cys und konnten damit im Mausmodell spezifische Antikörper induzieren.^[36] ^[37] Ein weiteres Beispiel für die multivalente Präsentation tumorassoziiierter Antigene wurde von *Geraci* und Mitarbeitern auf der Basis von Calixerenen entwickelt.^[38] Das T_N-Antigen wurde in diesem Fall als *S*-Glycosid viermal an das Calix[4]arengerüst angebunden und mit Pam₃Cys verbrückt. Bei

der Immunisierung mit diesem supramolekularen Vakzin konnte eine gesteigerte Antikörperproduktion verzeichnet werden, was auf die Mehrfachpräsentation zurückgeführt wurde. In Arbeiten von *Dumy* wurden T_N-Antigene auf einem cyclischen nicht-immunogenen Decapeptid aus Prolin, Glycin und Lysin multivalent an dessen Oberfläche präsentiert.^{[39] [40]} *Kunz* und Mitarbeiter konnten bei Dendrimeren mit einem Lysin-Kern und einer MUC1-Glycopeptiden-Schale^[41] eine starke Immunreaktion ohne den Einsatz eines Carrier-Proteins induzieren. Vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse scheint der Einsatz einer multivalenten Präsentation von Antigenen aufgrund der verstärkten und selektiveren Immunantwort für die Vakzinentwicklung besonders lohnend.

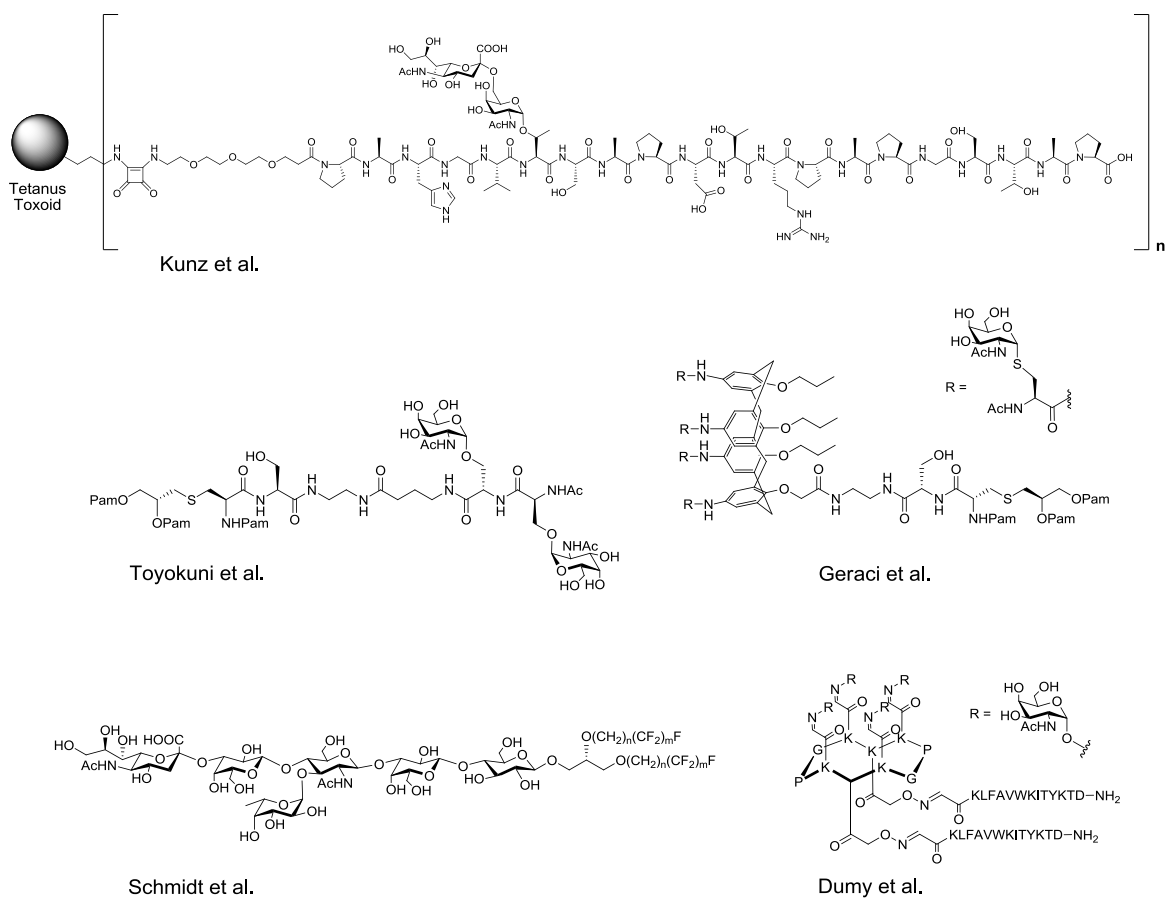


Abb. 1.3: Synthetische Tumorkvakzine mit multivalenter Präsentation.

1.4 Die Zusammensetzung der Plasmamembran

Im Jahr 1972 wurde von *Singer* und *Nicolson* das „*fluid mosaic*“ Modell^[42] der Plasmamembran postuliert, wonach die Plasmamembran aus einer zweidimensionalen Phospholipiddoppelschicht besteht in der die Proteine frei beweglich sind. Diese Sichtweise auf die Organisation der Plasmamembran hat sich jedoch in letzter Zeit stark verändert. Heutzutage hat sich die Ansicht durchgesetzt, dass die Proteine und Lipide keine uneingeschränkte Mobilität in der Membranmatrix besitzen, sondern am Aufbau der Membran durch die Ausbildung von diskreten Domänen beteiligt sind. Das Vorhandensein solcher heterogener Mikrodomänen („*lipid rafts*“), die mit Glycosphingolipiden, Gangliosiden und Cholesterin angereichert sind, führt zu einer verminderten lateralen Diffusion innerhalb der Domäne bei zeitgleicher hoher lateraler Mobilität der *rafts* in der Membran.^{[43] [44]} Der Dichteunterschied in der Membran ist auf die Ausrichtung der Fettsäureketten der Phospholipide und die damit verbundene dichtere Packung sowie die Anreicherung von Cholesterin zurückzuführen.^[45] In Abb. 1.4 ist schematisch eine solche Membrandoppelschicht mit *lipid rafts* dargestellt.^[46]

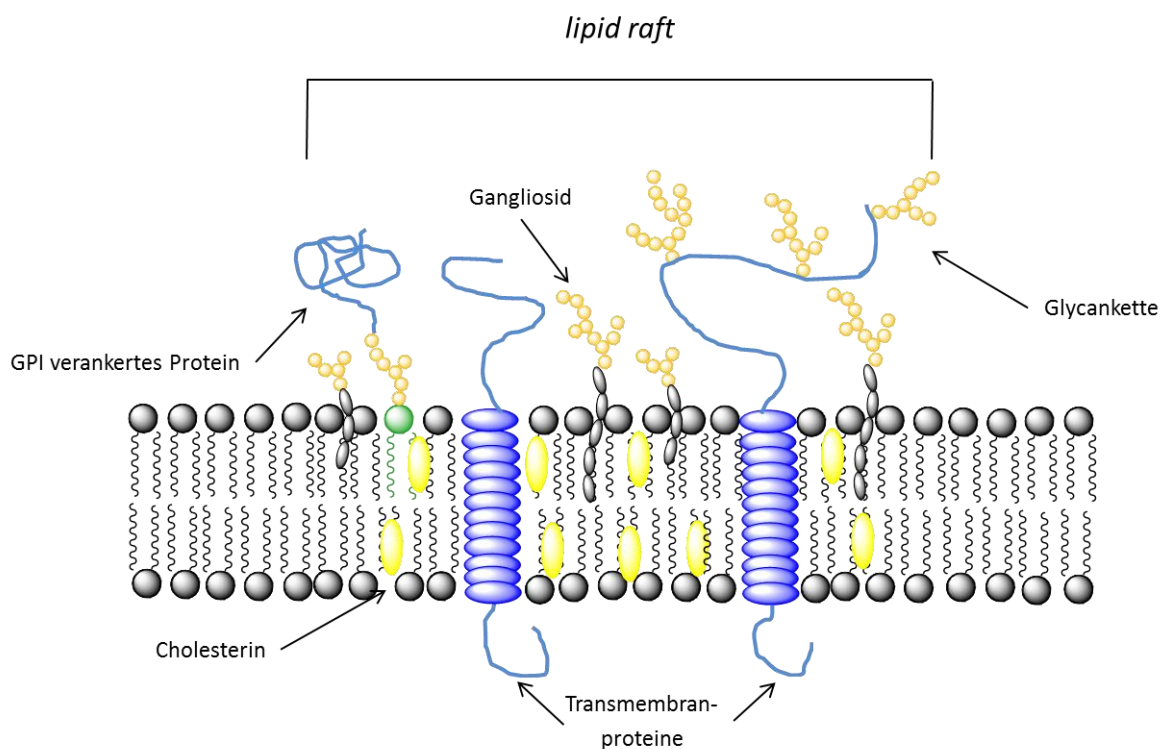


Abb. 1.4: Schematische Darstellung von lipid rafts in der Zellmembran.^[46]

Die Konzentration von Erkennungsstrukturen innerhalb eines kleinen Bereichs wie den *lipid rafts* ist für viele zelluläre Prozesse, wie die Signaltransduktion^[47], die pathogene Invasion^[48], die zelluläre Sekretion^[49] sowie die Immunantwort^[50] verantwortlich. Diese zellulären Prozesse können zu schnelleren und stärkeren Zell-Zell-Interaktionen führen. Die Kontrolle der Größe und lateralen Ausdehnung ist für die Beeinflussung und Erforschung der Funktionen essentiell. Im inaktiven Zustand weisen die *rafts* z.B. eine geringere laterale Ausdehnung auf, die jedoch bei äußerer Aktivierung zur Clusterbildung und somit zur Vergrößerung der Domänen führt, was letztlich erst die Wechselwirkung mit den Proteinen ermöglicht. Das Vorhandensein der *lipid rafts* in natürlichen und nicht-natürlichen Membranen konnte wissenschaftlich nachgewiesen werden, wobei der Prozess der Phasenseparation bislang noch nicht vollständig aufgeklärt werden konnte.^{[51] [52] [53] [54]}

Um die komplexen Prozesse an der Membranoberfläche auf der molekularen Ebene erschließen zu können, ist ein vollsynthetischer Zugang zu geeigneten, clusterbildenden Lipiden erforderlich. Unter Verwendung geeigneter Lipidmischungen könnten dann beispielsweise in künstlich hergestellten lateralen Lipidschichten komplexe Prozesse wie die Antikörper-Antigenerkennung untersucht werden. Komplexe Kopfgruppen in Form von immunstimulierender (Glyco)Lipopeptide^[55] oder der Einsatz von amphiphilen Perfluorglykokonjugaten^[35] könnten dabei zur Ausbildung *raft*-ähnlicher Domänen führen.

1.5 Die physikochemischen Eigenschaften fluororganischer Verbindungen

Fluor ist das elektronegativste Element ($EN = 4.0$), weshalb es besondere chemische und physikalische Eigenschaften aufweist. Fluor besitzt eine hohe Ionisierungsenergie und eine sehr geringe Polarisierbarkeit. Mit einem van-der-Waals-Radius von 1.47 \AA ist es nur unwesentlich größer als ein Wasserstoffatom (1.20 \AA), weshalb Fluoratome häufig als Ersatz für Wasserstoff-Atome bzw. Hydroxylgruppen (1.40 \AA) in Moleküle eingebaut werden (Wasserstoff- und Hydroxylgruppenmimik).^[56] Der selektive Einbau von Fluoratomen in biologisch relevante Moleküle übt dabei häufig einen stabilisierenden Einfluss aus, ohne eine konformelle Veränderungen der Moleküle zu bewirken.^[57] Neben der Substitution einzelner F-Atome können auch Fluorketten an Moleküle addiert werden,

was jedoch zu drastischen Änderungen der physikochemischen Eigenschaften dieser Verbindungen führt. So sind Perfluoralkylketten voluminöser als ihre Wasserstoff-Pendants, was sich in einem Kettenquerschnitt von 30 \AA^2 im Vergleich zu 20 \AA^2 bemerkbar macht. Für den lateralen Flächenanspruch gilt: $1 \text{ CF}_2 \approx 1.5 \text{ CH}_2$ ^[58] und der durchschnittliche Raumanpruch von CF_2 - und CF_3 -Gruppe beträgt 38 \AA^3 und 92 \AA^3 im Vergleich zu den Methylen- und Methylgruppen als Wasserstoffanaloge mit 27 \AA^3 und 54 \AA^3 . Da Fluor etwas größer ist als Wasserstoff herrschen stärkere repulsive Kräfte in der Kette, weshalb die gauche/trans-Energie von 2.0 kJ mol^{-1} für Alkane auf 4.6 kJ mol^{-1} für Perfluorkohlenstoffe ansteigt.^[59] Um die repulsive Wechselwirkung benachbarter Fluoratome zu minimieren, bilden Perfluoralkyle deshalb eine starre helikale Konformation aus (Abb. 1.5).^[60]

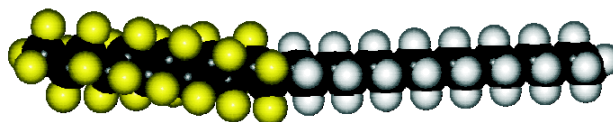


Abb. 1.5: Kalottenmodell des Perfluoralkanmoleküls F12H16. Die helikale Perfluorkette (links) und die Alkylkette (rechts).

Strukturelement	Querschnitt [\AA^2]	Volumen [\AA^3]	gauche/trans-Energie [kJ mol^{-1}]
F-Alkyl	30	$\text{CF}_2 = 38$, $\text{CF}_3 = 92$	4.6
H-Alkyl	20	$\text{CH}_2 = 27$, $\text{CF}_3 = 54$	2.0

Tabelle 1.3: Vergleich des Raumanpruchs von H- und F-Alkylen.

Die C-F-Bindung ist die stärkste Einfachbindung der Organischen Chemie (485 kJ mol^{-1}). Im Vergleich dazu besitzen Bindungen wie z.B. die C-H- (411 kJ mol^{-1} bei $25 \text{ }^\circ\text{C}$), C-N- (305 kJ mol^{-1}) und C-Halogen-Bindungen (C-Cl 327 kJ mol^{-1} ; C-Br 285 kJ mol^{-1} ; C-I 213 kJ mol^{-1}) eine geringere Bindungsenergie. Die Ursache dieser starken Bindungsverhältnisse liegt in der effektiven Überlappung der Fluor-Orbitale mit denen des Kohlenstoffs. Eine weitere Substitution am Kohlenstoff durch Fluoratome führt zu einer nochmals gesteigerten Bindungsenergie von 531 kJ mol^{-1} für die terminalen Bindungen der

CF₃-Gruppe. Diese starken Bindungsenergien in Fluorkohlenstoffen sind die Ursache für die außerordentlich hohe thermische, chemische und metabolische Stabilität, die durch die abschirmende Elektronendichte der Fluoratome noch zusätzlich verstärkt wird. Die geringe Polarisierbarkeit der F-Atome führt zudem nur zu schwachen van-der-Waals-Wechselwirkungen der Perfluoralkylketten untereinander, weshalb diese Verbindungen niedrige Siedepunkte und hohe Dampfdrücke besitzen (Tabelle 1.4).

Eigenschaft		C ₆ F ₁₄	F ₃ (CF ₂) ₂ (CH ₂) ₂ CH ₃	C ₆ H ₁₄
Siedepunkt	K _p [°C]	57	64	69
Verdampfungsenthalpie	ΔH _v [kcal mol ⁻¹]	6.7	7.9	6.9
kritische Temperatur	T _c [°C]	174	200	235
Dichte	d ²⁵ [g m ⁻³]	1.672	1.265	0.655
Viskosität	η ²⁵ [cP]	0.66	0.48	0.29
Oberflächenspannung	γ ²⁵ [dyn cm ⁻¹]	11.4	14.3	17.9
Dielektrizitätskonstante	ε	1.69	5.99	1.89

Tabelle 1.4: Vergleich der physikalischen Eigenschaften von Perfluoralkylen.^[61]

Die starken intramolekularen und die geringen intermolekularen Wechselwirkungen vereinen zwei augenscheinlich konträre Eigenschaften, denn Perfluorkohlenstoffe sind gleichzeitig hydrophob und lipophob. Diese Eigenschaften ermöglichen eine Phasenseparation der F-Alkyle in einer Alkylipidmatrix und somit die Bildung mikrostrukturierter Domänen. Die Untersuchung solcher Domänen in lateral ausgedehnten Lipidschichten oder in einer dreidimensionalen supramolekularen Anordnung wie Vesikeln oder Mizellen ist Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten.^{[62] [63]}

1.6 Perfluorverbindungen als Pharmaka

Eine Fülle neuartiger perfluorierter Verbindungen mit pharmakologischer Anwendung und biologischen Eigenschaften sind bekannt.^{[64] [65]} Die polaren Kopfgruppen der Amphiphile stammen meist aus natürlichen Verbindungen, wie Polyolen^[68], Kohlenhydraten^[67],

Aminosäuren und Peptiden^[69], Phosphoramiden, verschiedenen Phospholipiden und ebenso Telomeren verbunden mit unterschiedlichen Spacermolekülen^[66] (Abb. 1.6). Die akute Toxizität durch das Einbringen der Fluorketten ist offensichtlich nicht erhöht. So liegt z.B. die letale Dosis (LD₅₀) der Telomere auf TRIS-Basis und F-alkylierter Phosphatidylcholine bei Mäusen bei mehreren Gramm pro Kilogramm Körpergewicht.^[70]

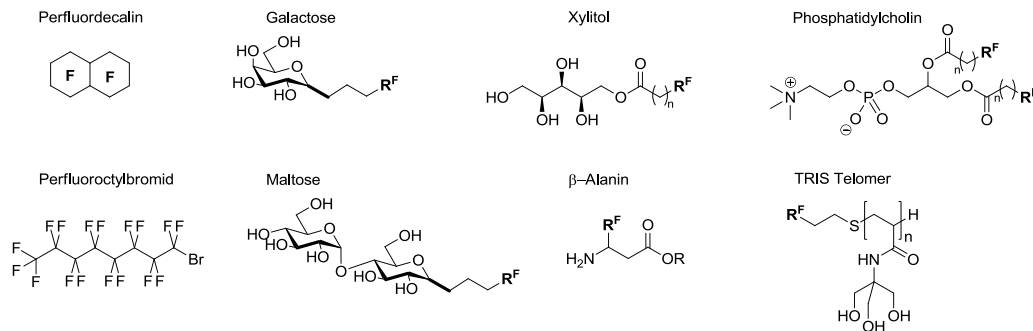


Abb. 1.6: Auswahl einiger biomedizinisch und pharmazeutisch anwendbarer Perfluorverbindungen.

Als Blutersatzmittel wird neben Perfluorodecalin auch Perfluoroctan verwendet, wobei letzteres in die klinischen Tests der Phase II/III zur Behandlung des Acute Respiratory Distress Syndroms (ARDS) oder „Atemnot-Syndrom“ eingesetzt wird. Dieses Syndrom ist durch eine hohe Sterberate charakterisiert und besitzt momentan noch recht geringe Heilungschancen. Die Behandlung erfolgt durch Gabe des Perfluoralkyls in die Lunge des Patienten. Im Vergleich zur Beatmung mit einem Gas vermindert die Flüssigkeitsatmung die alveolare Oberflächenspannung, was zu einem gesteigerten Lungenvolumen und somit zur besseren Versorgung der Lunge mit Sauerstoff führt.^{[71] [72] [73]}

Polare Kohlenhydratkopfgruppen stellen attraktive Zielstrukturen dar, die den Komponenten der natürlichen Membran ähnlich sind. Die spezifische Erkennung von Kohlenhydraten durch Membranlektine löst eine Vielzahl biochemischer Reaktionen aus.^{[74] [75] [76]} Einige kohlenhydratbasierende Amphiphile wie z.B. das Muramyl-Dipeptid steigern die Antikörperproduktion und können als Immunomodulatoren dienen.^[77] Das Lewis^y-Oligosaccharid wurde als vielversprechendes Tumorstoff untersucht^[78] und perfluoralkylierte Laminarin-Oligosaccharide zeigen eine gesteigerte anti-HIV Wirkung^[79]. Solche Amphiphile werden ebenfalls als Emulgatoren verwendet oder in supramolekularen Strukturen zur Selbstaggregation eingeführt.^{[80] [81]} Kolloidale Systeme mit hochgradig fluorierten Teilen haben ein beträchtliches Potential in der Biomedizin.^[70]

Einige dieser Perfluoralkylverbindungen sind in fortgeschrittenen Phasen der klinischen Evaluierung als injizierbare Sauerstofftransporter^[82] zur Flüssigatmung^{[83] [84]} oder werden als Kontrastmittel für die Ultraschalldiagnostic eingesetzt.^{[85] [86] [87] [88]}

Die Pharmakokinetik und Toxizität fluorierter Tenside ist immer noch nicht vollständig geklärt. Die verfügbaren Daten zeigen jedoch, dass das Einführen perfluorierter Ketten in Pharmaka nicht zwangsläufig deren akute Toxizität steigert. Untersuchungen zu LD₅₀-Werte in Mäusen ergaben Werte von z. B. 7.7 g kg⁻¹ bei intravenöser Applikation eines perfluorierten Phosphatidylcholins. Untersuchungen bezüglich der Zytotoxizität von Perfluoralkylen zeigte, dass es bei Kettenlängen bis zu dreizehn Kohlenstoffatomen nicht zur Einlagerung in Membranen kommt und diese deshalb als unbedenklich gelten. Erst ab Kettenlängen von C₁₄ und C₁₇ kann eine Wechselwirkung mit der Lipidmembran stattfinden und somit die Toxizität der Verbindungen erhöhen.^{[90] [91]}

Weitere Studien zur Verteilung im Organismus wurden mit polymerem TRIS^[92] durchgeführt (Abb. 1.6). Hierbei wurde Ratten eine Dosis von 100 mg kg⁻¹ ¹⁴C-markiertem TRIS-Telomer intravenös verabreicht. Die Verbindung wurde bei späteren Untersuchungen, bis auf das Gehirn, in allen Organen gefunden. Die Ausscheidung erfolgte hauptsächlich über den Urin und in geringen Mengen über die Lunge. Perfluorierte Aminosäuren stellen ebenfalls einen interessanten Ansatzpunkt dar, denn diese können in hochkomplexe Peptide eingebaut und für biologische Untersuchungen herangezogen werden.^[93]

Alle diese Beispiele zeigen das große Potential perfluorierter Verbindungen zur Anwendung in der Medizin. Durch ihre einzigartigen biophysikalischen Eigenschaften und der geringen Toxizität könnten diese Verbindungen neue Anwendungen, Diagnostiken und Behandlungen verschiedenster Krankheitsbilder ermöglichen.

2 Zielsetzung und Syntheseplanung

2.1 Zielsetzung

Die multivalente Präsentation tumor-assoziiierter Antigene auf der Vakzinoberfläche kann zu einer gesteigerten Immunantwort führen. Damit keine gesunden Zellen in Mitleidenschaft gezogen werden, muss die Immunreaktion gezielt tumoröse Zellen adressieren. Die Selektivität kann jedoch nur durch die synthetische Herstellung antigener Strukturen erreicht werden, da die Mikroheterogenität von Glycoproteinen aus Zellisolaten deren Einsatz in Vakzinierungen verbietet.

Im Rahmen dieser Arbeit sollen perfluorierte Glycolipopeptide auf synthetischem Wege für die Tumormimmuntherapie hergestellt werden (Abb. 2.1). Durch die Entmischungstendenz der Fluorketten in einer Alkylipidmatrix sollten diese in einem geeigneten Membranmodell partiell konzentriert und hinsichtlich ihrer Eignung für den Einsatz in liposomalen Vakzinen untersucht werden.

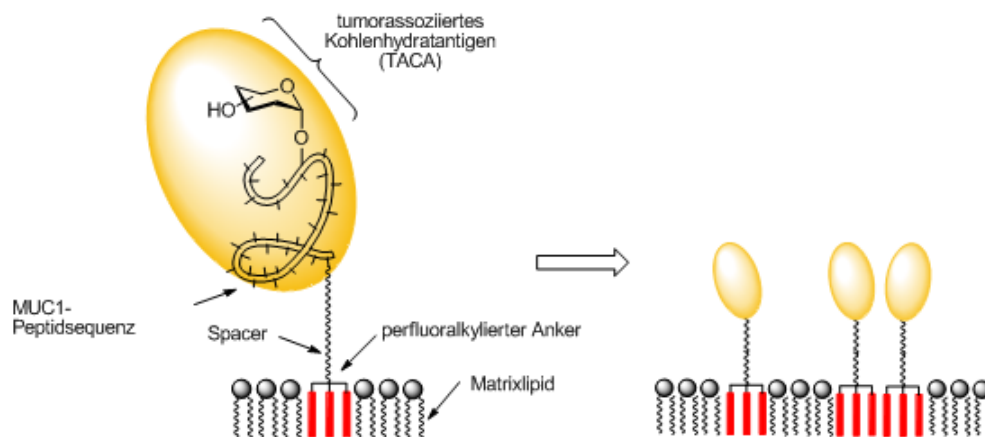


Abb. 2.1: Schematische Darstellung der multivalenten Präsentation der Glycolipopeptide.

Hierzu werden zuerst verschieden perfluorierte Membranankersysteme auf Basis von Tris(hydroxymethyl)aminomethan synthetisiert. Als synthetische Lipidanker kommen

Verbindungen, die bis zu drei Perfluoralkylketten tragen in Frage, wobei letztere in der Kettenlänge von C_8F_{17} , C_6F_{13} bis C_4F_9 variieren. Die dreifach perfluoralkylierten Membrananker werden möglicherweise eine starke Separationstendenz in einer Alkylmatrix zeigen, was jedoch auch zur Destabilisierung der zweiphasigen Membran führen kann. Aus diesem Grund sollten auch kürzere Perfluoralkylketten eingebaut und hinsichtlich des Mischungsverhaltens, der Größenausdehnung der Fluordomänen und der Membranstabilität untersucht werden. Eine weitere Möglichkeit der Membranstabilisierung besteht in der Synthese gemischter Ankersysteme, die gleichzeitig mit Alkyl- als auch in der Perfluoralkyllipiden wechselwirken und damit die Membran vernetzen. Solche lipophilen/lipophoben Systeme können wichtige Einblicke bei der Beeinflussung der Ausdehnung und Zusammensetzung der Antigendomänen liefern und stellen deshalb einen vielversprechenden Ansatzpunkt dar.

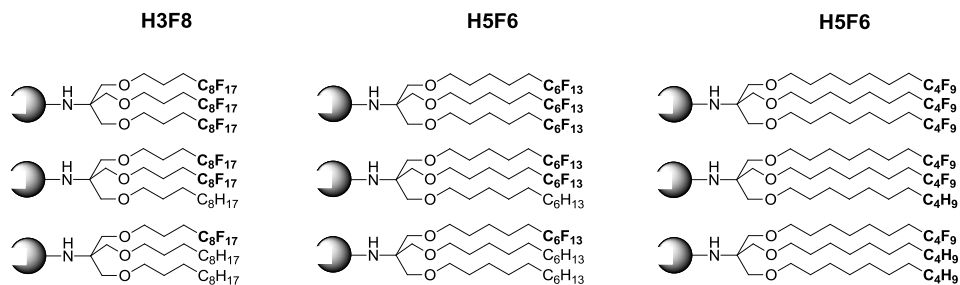


Abb. 2.2: Darstellung der variierten Perfluormembranankersysteme.

Die in Abb. 2.2 dargestellten perfluorierte Ankersysteme sollen an die, aus zwanzig Aminosäuren aufgebaute *tandem repeat*-Sequenz des Mucins MUC1 angebunden werden und dadurch eine Clusterbildung zu Antigendomänen an der Membranoberfläche induzieren. Es sollen verschiedene perfluoralkylierte Glycolipopeptide synthetisiert werden, die tumorassoziierte Kohlenhydrat-Antigene tragen, wobei die immundominante PDTRP-Domäne stets unglycosyliert bleibt. Die Verknüpfung zwischen Glycopeptid und Perfluoralkylanker erfolgt über einen nicht-immunogenen Abstandshalter, so dass die Epitope besser präsentiert werden (Abb. 2.3).

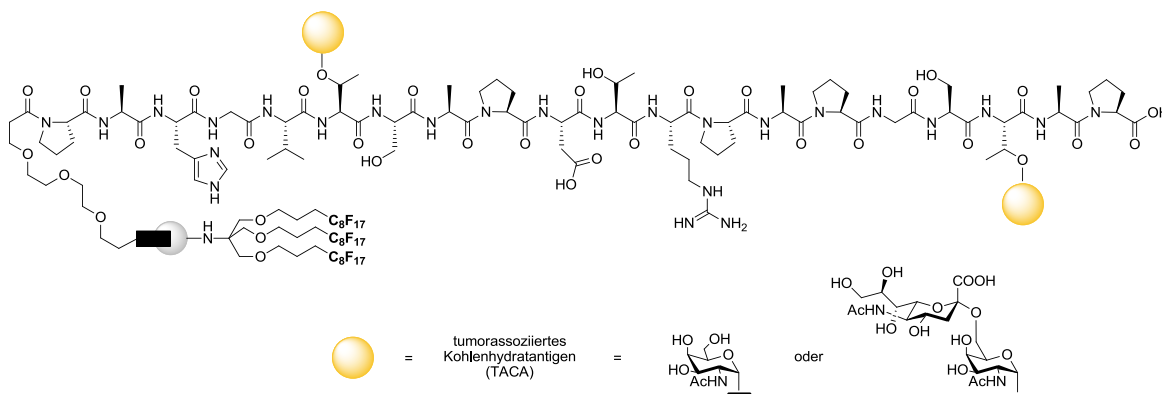


Abb. 2.3: Vollsynthetisches perfluoriertes Glycolipopeptid des Mucins MUC1.

Die vollsynthetisch dargestellten Amphiphile sollen zuerst am Langmuir Blogett-Trog untersucht werden, um eine möglichst stabile Membranzusammensetzung zu finden. Durch diese Erkenntnisse könnten in lateral ausgedehnten Bereichen oder auch supramolekularen Systemen, wie Mizellen oder Liposome, Antigen/Antikörper-Wechselwirkung untersucht werden. Als Biosensor kann hier die Quarzmikrowaage dienen, wodurch eine Quantifizierung dieser Antigen-Antikörper Interaktion erfolgen könnte. In immunologischen Tests, wie dem ELISA-Experiment, soll der Einfluss der Perfluoralkylketten auf das immunogene Glycopeptid untersucht werden, um geeignete Vakzinkandidaten zu identifizieren.

2.2 Syntheseplanung

Die Grundlage zur Darstellung der Amphiphile bildet eine modulare Synthesestrategie. Die hydrophoben perfluoralkylierten Membranankersysteme sollen *N*-terminal an das Peptid angebunden werden. Zwischen (Glyco)Peptid und Ankersystem wird durch einen Polyethylenglycolspacer eine räumliche Distanz geschaffen, um die eine Beeinflussung der immunogenen Erkennungsstruktur mit dem Ankersystem zu vermeiden. Durch diese Strategie ist eine größtmögliche Flexibilität in der Synthese gewährleistet und der Einbau der verschiedenen perfluorierter und gemischt perfluorierter Ankersysteme kann direkt am Harz erfolgen (Abb. 2.4).

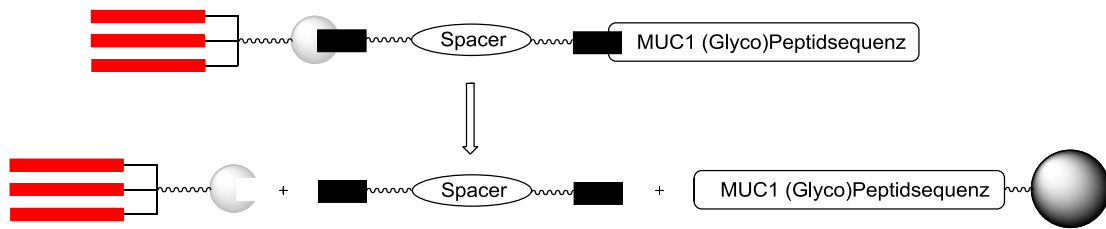


Abb. 2.4: Schematische Darstellung des modularen Aufbaus der (Glyco)Lipopeptide.

Auf der Basis des biokompatiblen Tris(hydroxymethyl)aminomethans sollen die gemischt perfluorierten/alkylierten Membranankersysteme hergestellt werden. Dazu wird die Aminofunktion im ersten Schritt der Synthese zum Azid blockiert bevor anschließend zwei der drei Hydroxyfunktionen geschützt werden, um eine gezielte Substitution an der verbleibenden Alkoholfunktion zu erlauben. Eine Alkenylierung des Alkohols öffnet den Weg zu den einfach perfluoralkylierten Membranankern, wohingegen die Alkylierung der Hydroxyfunktion zu den Membranankern mit zwei Perfluoralkylketten führt.

Auf Grund der bekannten Löslichkeitsprobleme von Perfluorverbindungen soll die Einführung der F-Ketten erst zu einem relativ späten Zeitpunkt der Synthese erfolgen. Deshalb werden zunächst nach Abspaltung der Diolschutzgruppe die Alkene bzw. Alkane aufgebaut. Anschließende Perfluoralkylierung und Reduktion führt zum einfach, zweifach und dreifach pefluoralkylierten Amin, welches im letzten Schritt der Synthesesequenz zur freien Säure für die Festphasenpeptidsynthese umgesetzt werden soll (Abb. 2.5).

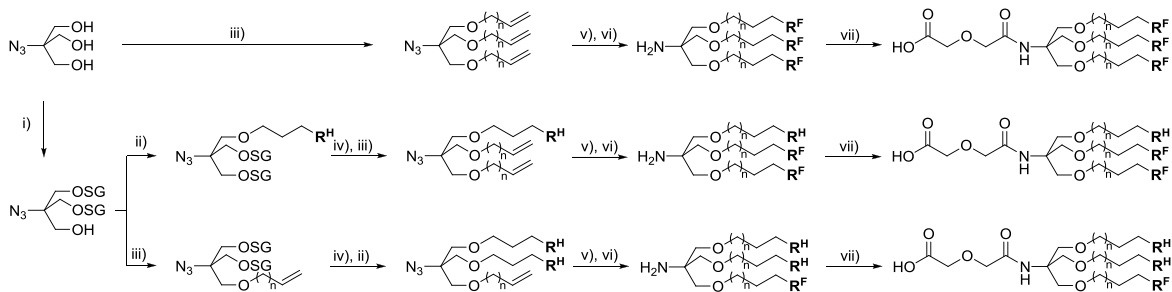


Abb. 2.5: Übersicht der gemischt perfluorierten Membranankersysteme: i) Blockierung; ii) Alkylierung; iii) Alkenylierung; iv) Deblockierung; v) Perfluoralkylierung; vi) Reduktion; vii) Carboxylierung.

3 Allgemeiner Teil

3.1 Synthese perfluoralkylierter Membranankersysteme

Um eine Phasenseparation in einer Alkylmatrix zu induzieren, wird in diesem Kapitel die Syntheseroute von Membranankersystemen mit unterschiedlichem Fluorierungsgrad auf der Basis des Tris(hydroxymethyl)aminomethans (TRIS) beschrieben. Der Ausgangspunkt für die Synthese der Systeme mit bis zu drei Perfluoralkylketten bildet eine von *Kaplánek*^[94] 2007 entwickelte Syntheseroute.

Ausgehend von dem primären Amin **1** mit drei freien Hydroxyfunktionen wird im ersten Schritt die Aminogruppe durch Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc_2O) in einer Ausbeute von 98% blockiert. Anschließend werden durch Zugabe von Allylbromid und Kaliumhydroxid als Base alle freien Hydroxyfunktionen gleichzeitig in $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktionen zum perallylierten Produkt **3** umgesetzt, das mit einer Ausbeute von 73% erhalten wird.

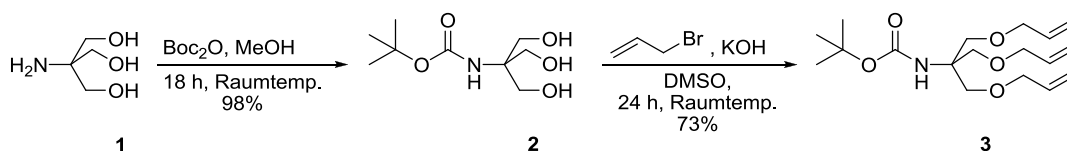


Abb. 3.1: Synthese des Boc-geschützten Allylderivats 3.

Um die Perfluoralkylketten anzubinden, wird häufig auf die radikalische Addition von F-Alkylidiodiden an ungesättigte Verbindungen zurückgegriffen. Die Addition an ein terminales Olefin resultiert in der Bildung einer 1-F-Alkyl-2-Iod-Bindung, die anschließend durch Eliminierung von Iodwasserstoff oder Hydrogenolyse der C-I-Bindung weiter reduziert wird.^{[95][96][97]} Die Addition verläuft in der Regel sehr gut mit elektronenreichen π -Systemen wie den Olefinen, die dann mit den elektrophilen Perfluoralkylradikalen reagieren.

Als Initiatoren werden unter anderem Organoborane, hauptsächlich Triethylboran, eingesetzt. Diese Borane bilden in Gegenwart von Sauerstoff Alkylradikale, die zum Start der Reaktionskaskade führen. Der Vorteil der Initiation der Radikalreaktion durch Triethylboran liegt in der Reaktionsführung bei moderaten Temperaturen. Im Vergleich zu z. B. AIBN (*N,N*-Azobisisobutyronitril) können so eine Vielzahl thermisch instabiler Verbindungen radikalisch umgesetzt werden.^{[98] [99] [100]}

Im ersten Schritt des Mechanismus erfolgt der Angriff des Sauerstoffatoms am Bor, woraufhin ein Ethylradikal abgespalten wird. Dieses kann dann mit dem Perfluoriodid zu dem reaktiveren Perfluorradikal reagieren. Durch radikalische Addition an die Doppelbindung entsteht nach der Reaktion mit einem weiteren Äquivalent Perfluoriodid, das durch die C-C-Knüpfung verlängerte Iodperfluorprodukt.

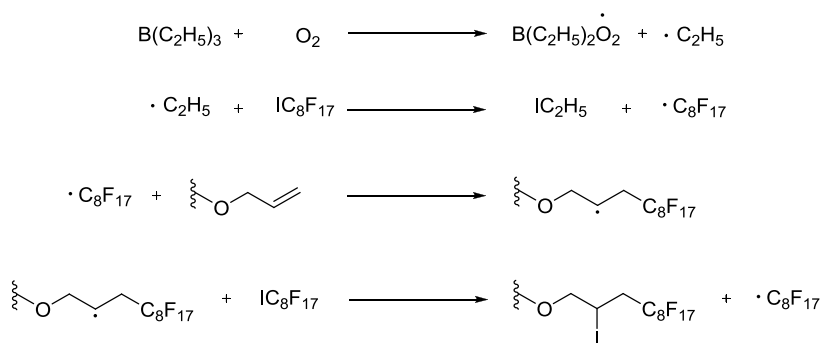


Abb. 3.2: Mechanismus der radikalischen Perfluoralkylierung initiiert durch Triethylboran.

Die Allylverbindung **3** wird zur radikalischen Perfluoralkylierung mit Perfluorooctyliodid unter Kühlung vorgelegt, bevor bei 0 °C eine Lösung von Triethylboran in Hexan zugegeben und unter Luftsauerstoff gerührt wird.^[101] Das dreifach iodperfluoralkylierte Addukt **4** wird nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 60% isoliert.

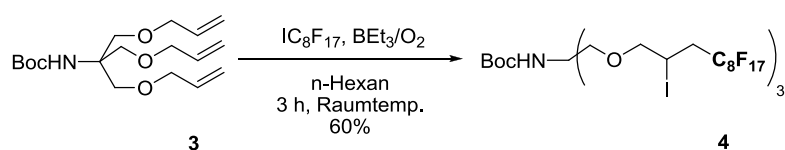


Abb. 3.3: Perfluoralkylierung zur Iodperfluorverbindung **4**.

Die Dehalogenierung kann durch Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle unter Zusatz von Natriumacetat erfolgen, worauf die saure Deblockierung des *N*-Terminus mit Trifluoressigsäure folgt. Das dreifach perfluorierte Amin **6** kann durch diese Reaktionssequenz in einer Ausbeute von 96% über zwei Stufen erhalten werden.

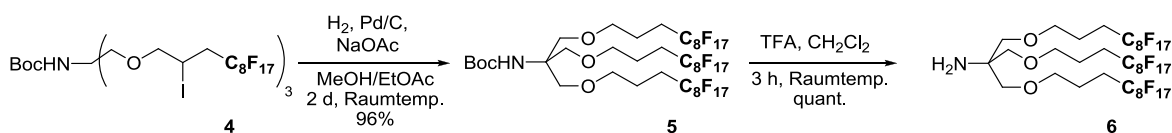


Abb. 3.4: Umsetzung zum dreifach perfluorierten Amin **6**.

Da in der Festphasenpeptidsynthese der perfluoralkylierte Membrananker *N*-terminal über die Aktivestermethode nach der *Fmoc*-Strategie angebunden werden soll, muss das Amin im Folgenden in eine Carboxylfunktion umgewandelt werden. Dies erfolgt am besten durch Reaktion mit Diglycolsäureanhydrid, da die alternative Umsetzung einer entsprechenden freien Disäure zu Produktgemischen führen würde bzw. weitere synthetische Schritte erforderlich wären. Unter Ringöffnung des Anhydrids bildet sich das Perfluorkonjugat **7** mit einer Ausbeute von 80%.^[102] Verbindung **7** kann dann in einer Festphasenpeptidsynthese nach Aktivierung der Carboxylfunktion direkt an den *N*-Terminus des Glycopeptids gekuppelt werden.

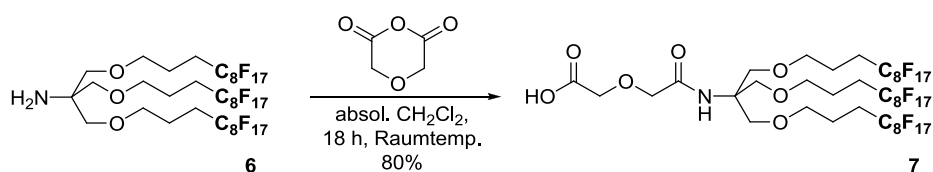


Abb. 3.5: Synthese des Bausteins **7** für die Peptidsynthese.

Synthese gemischt perfluoralkylierter/alkylierter Membranankersysteme

Perfluorverbindungen weisen häufig ein zu ihren Alkylanaloga abweichendes Aggregationsverhalten auf. Die Perfluorlipide zeigen beispielsweise eine begrenzte Mischbarkeit in Alkylipiden,^{[103] [104] [105] [106] [107] [108]} wodurch Phasenseparationen auftreten bzw. gezielt gesteuert werden können.^[109] Die Verwendung reiner perfluorierter und reiner alkylierter Lipide kann sich jedoch nachteilig auf die Stabilität der Membran auswirken, da die durch Segregation gebildeten Phasen zu einer instabilen, zweigeteilten Membran führen können. Deshalb sollen im Rahmen dieses Kapitels Systeme mit nur einer bzw. zwei Perfluoralkylketten hergestellt werden, um so eine verbesserte Mischbarkeit der F-Ankersysteme in der Alkylmatrix zu gewährleisten und dadurch deren Stabilität zu steigern. Neben den Effekten der Phasenseparation und der verbesserten Stabilität von Membranen führt der Ersatz der Fluorketten durch Alkylketten zur Senkung der charakteristischen Übergangstemperatur.^[109] Dadurch ist es möglich, thermisch instabile, biologisch aktive Substanzen in die Membranen von Vesikeln oder Liposomen zu integrieren. Neben dem Austauschen vorhandener Perfluoralkylketten kann die Senkung der Übergangstemperatur auch durch die Kürzung der CF-Kette(n) bei gleichzeitiger Verlängerung der alkylierten Kette erfolgen. Demnach sollten unter Beibehaltung der Kettenlänge von elf Kohlenstoffatomen verschiedene Membranankersysteme mit unterschiedlichen hydrophoben Gliedern synthetisiert werden. In Abb. 3.6 sind die hier zu synthetisierenden gemischten teilfluorierten Membrananker mit den (H3)(F8)-, (H5)(F6)- und (H7)(F4)-Ketten schematisch dargestellt.

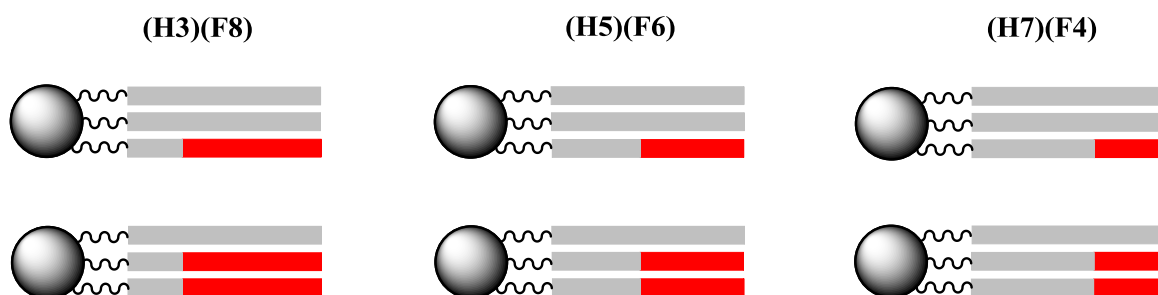


Abb. 3.6: Schematische Darstellung der gemischten Membranankersysteme mit (H3)(F8)-, (H5)(F6)- und (H7)(F4)-Gliedern (CF-Kette rot, CH-Kette grau).

Deren Herstellung sollte erneut in Anlehnung an die Synthese von *Kaplánek*^[94] erfolgen. Hierzu mussten nach vorheriger Blockierung des Amins mit der *Boc*-Schutzgruppe zwei

der drei Hydroxyfunktionen geschützt werden. Die Anforderungen an die Schutzgruppe umfassen auf der einen Seite eine ausreichende Stabilität gegenüber Basen wie z. B. Kaliumhydroxid, welches in der Alkenylierung eingesetzt wird, und auf der anderen Seite muss das Diol in Gegenwart der säurelabilen *Boc*-Schutzgruppe deblockierbar bleiben. Somit fiel die Wahl auf ein Isopropyliden-Acetal als Diolschutzgruppe, welches unter milden sauren Bedingungen spaltbar ist.

In einer Eintopfsynthese nach *Hidenori*^[110] konnte sowohl die *tert*-Butoxycarbonylierung als auch die Acetalisierung von Tris(hydroxymethyl)aminomethan **1** in einem Schritt mit einer Ausbeute von 71% zum teilblockierten Alkohol **8** erfolgen.

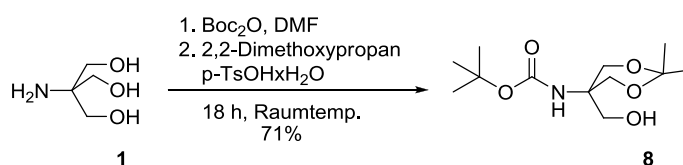


Abb. 3.7: Blockierung nach *Hidenori*.^[110]

Alle weiteren Versuche den Alkohol **8** zu allylieren bzw. zu alkylieren schlugen jedoch fehl. So konnte das charakteristische Signal der *tert*-Butylgruppe in keinem der erhaltenen NMR-Spektren detektiert werden. Dies entsprach nicht der Erwartung, da unter basischen Reaktionsbedingungen normalerweise keine Abspaltung der *Boc*-Schutzgruppe erfolgen sollte. Im Massenspektrum wurde jedoch ein Massenpeak identifiziert, der die gesuchte Masse abzüglich *tert*-Butanol lieferte, so dass die Vermutung nahe lag, dass es zu einem intramolekularen Ringschluss unter Bildung des Oxazolidinons **10** gekommen war (vgl. Abb. 3.8).

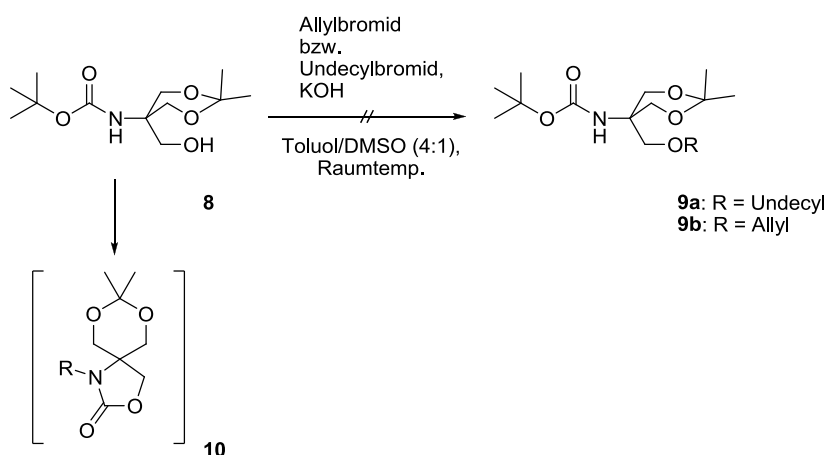
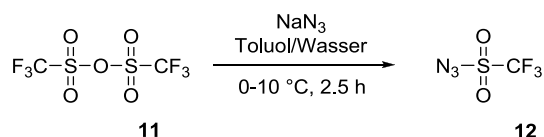


Abb. 3.8: Syntheseversuch der Verbindung **9a,b**.

Aus diesem Grund musste eine Variation der *N*-terminalen Blockierung erfolgen, die eine solche intramolekulare Ringbildung unterdrückt. Die Maskierung des Amins als Azid durch Diazotransfer-Reaktion wurde als eine solche erfolgsversprechende Variante identifiziert, die zudem den Vorteil bot, dass eine Freisetzung des Amins unter simultaner Hydrogenolyse der CI-Bindung erreicht werden kann, wodurch ein weiterer Syntheseschritt zur Schutzgruppenmanipulation entfällt.

Als Diazotransferreagenzien kommen Verbindungen wie *tert*-Butylnitrit (tBuONO) in Gegenwart von Azidotrimethylsilan (TMSN₃)^[111], Iodazid^[112], Imidazol-1-sulfonylazide^[113] und Trifluormethansulfonylazid (Triflylazid)^[114] in Frage. Einige dieser angeführten Reagenzien bilden dabei gefährliche Intermediate, wie z.B. Triflylazid (TfN₃), welches auf Grund seiner Explosivität nur in geringen Mengen in Lösung gehandhabt werden sollte. Außerdem wird Triflylazid meist in einem Zweiphasensystem aus Dichlormethan/Wasser hergestellt. Unter diesen Reaktionsbedingungen kann eine nucleophile Substitution des Azids an Dichlormethan zum Azidochlormethan oder aber auch zum explosiven Diazidomethan führen. Um die Bildung gefährlicher Azidochlormethan- und Diazidomethan- Nebenprodukte zu vermeiden wird eine Methode von Titz^[114] angewendet, bei der das Triflylazid **12** in Toluol als inertem Lösungsmittel hergestellt wird. Unter Verwendung eines zweiphasigen Systems aus Toluol/Wasser wird Natriumazid auf 0 °C gekühlt, bevor langsam Trifluormethansulfonsäureanhydrid zugegeben wird. Nach Trennung der beiden Phasen kann die toluolische Lösung in der Diazotransferreaktion eingesetzt werden (Abb. 3.9).

Abb. 3.9: Herstellung des Diazotransferreagenzes TfN₃.

Die Zugabe dieser Lösung erfolgt bei Raumtemperatur in einer Lösungsmittelmischung aus Toluol und Wasser bzw. Methanol zur Homogenisierung des Zweiphasensystems. Hierbei ist eine dünnschichtchromatographische Kontrolle erforderlich, da die jeweils eingesetzte Lösung unterschiedliche Konzentrationen des Diazotransferreagenzes

aufweisen kann. Nach 24-stündigem starkem Rühren bei Raumtemperatur kann das Diazotransferprodukt **13** in einer Ausbeute von 68% in kristalliner Form erhalten werden.

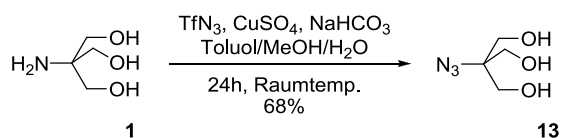


Abb. 3.10: Diazotransfer zum Azid **13**.

Der Diazotransfer mittels Triflylazid in Toluol ist aus folgenden Gründen problematisch: erstens verbietet der hohe Anschaffungspreis (*SigmaAldrich*, Januar 2012 Trifluormethansulfonsäureanhydrid purum $\geq 98\%$, 25 mL, 225,50 EUR) des zu verwendenden Trifluormethansulfonsäureanhydrids einen Umsatz im größeren Maßstab und zweitens besitzt die resultierende Triflylazid-Lösung immer unterschiedliche Konzentrationen an Diazotransferreagenz, weshalb diese stets in hohem Überschuss hergestellt und eingesetzt wird, was sich oft auf die Reproduzierbarkeit der Reaktion nachteilig auswirkt.

Infolgedessen wird das Imidazol-1-sulfonylazid **14** als Diazotransferreagenz nach *Goddard*^[113] eingesetzt. Diese Methode erlaubt eine günstigere und reproduzierbare Reaktionsführung mit Imidazol, Sulfurylchlorid und Natriumazid als Ausgangsstoffe. Das Imidazol-1-sulfonylazid **14** kann in einer Eintopfsynthese dargestellt und als wägbares Hydrochlorid der Reaktionsmischung zugesetzt werden.

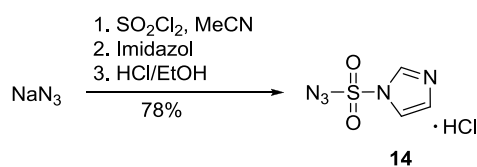


Abb. 3.11: Herstellung des Diazotransferreagenzes **14**.

Unter Verwendung des Diazotransferreagenzes **14** kann Tris(hydroxymethyl)aminomethan **1** mit Kupfer(II)sulfat und Natriumhydrogencarbonat in einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Wasser in 24 Stunden dargestellt werden. Im Vergleich zur Verwendung

von Triflylazid kann sowohl die Ausbeute auf 87% als auch die Ansatzgröße auf 25 g des Amins gesteigert werden.

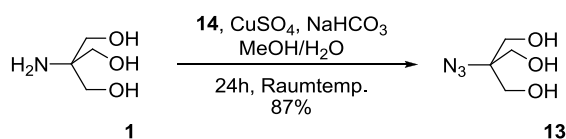


Abb. 3.12: Diazotransfer nach Goddard.^[113]

Ein weiterer Vorteil bei der Verwendung der Azide liegt in deren größeren Anwendungsbreite, denn diese könnten direkt in Folgereaktionen wie der Staudinger-Reaktion^[115] oder der 1,3-dipolaren Cycloaddition an Alkine zu 1,2,3-Triazolen nach Huisgen^[116] umgesetzt werden und demzufolge ein erweitertes Produktspektrum liefern.

Synthese von Membranankersystemen mit einer Perfluoralkylkette

Im ersten Schritt der Synthesesequenz zu den gemischten Membranankersystemen wird das Triol **13** mit 2,2-Dimethoxypropan und katalytischen Mengen an *para*-Toluolsulfonsäure umgesetzt. Das Acetonid **15** führt nun bei Einsatz der Bromalkene **a** (Allylbromid), **b** (Pentenylbromid) und **c** (Heptenylbromid) zu den verschiedenen, um jeweils eine Ethyleinheit verlängerten, Olefinen **16a-c**. Die Bromide werden hierzu mit dem Alkohol **15** in Dimethylsulfoxid gelöst und mit Kaliumhydroxid als Base versetzt, wobei die Bromatome substituiert werden und die jeweiligen Alkene **16a-c** resultieren. Nach säulenchromatographischer Reinigung können das Allylderivat **16a**, das Pentenylderivat **16b** sowie das Heptenylderivat **16c** in Ausbeuten von 90%, 69% und 77% isoliert werden.^[94]

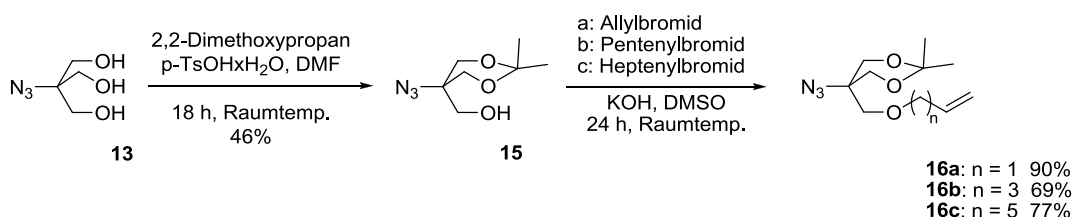
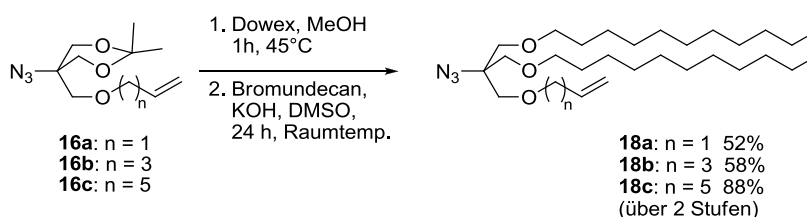


Abb. 3.13: Synthesesequenz vom Triol **13** zum einfach alkenylierten Acetonid **16a-c**.

Um die Probleme der Reinigung und Löslichkeit von perfluorierten Verbindungen zu umgehen, wird der Einbau der Perfluoralkylketten jedoch nicht auf dieser frühen Stufe der Synthese durchgeführt. Folglich wird das Acetal **16a-c** acidolytisch mit dem sauren Ionentauscher Dowex[®], gespalten und anschließend zu den zweifach alkylierten Verbindungen **18a-c**, die als Vorstufen der Perfluorierung dienen, umgesetzt.^{[68] [117]}

Abb. 3.14: Spaltung des Acetonids **16a-c** und Alkylierung zur Vorstufe der Perfluorierung **18a-c**.

Einen Schlüsselschritt der Synthese stellt die Perfluoralkylierung der Allylderivate **18a-c** dar. Hierzu werden die Olefine **18a-c** in Hexan mit Perfluorooctyliodid **a**, Perfluorhexyliodid **b** und Perfluorbutyliodid **c** versetzt, bevor langsam Triethylboran bei 0 °C zugetropft wird. Luftsauerstoff initiiert die radikalische Kettenreaktion, welche letztlich zu den Perfluoriodiden **19a-c** führt. Diese können nach säulenchromatographischer Reinigung in guten Ausbeuten von über 80% isoliert werden.^[101]

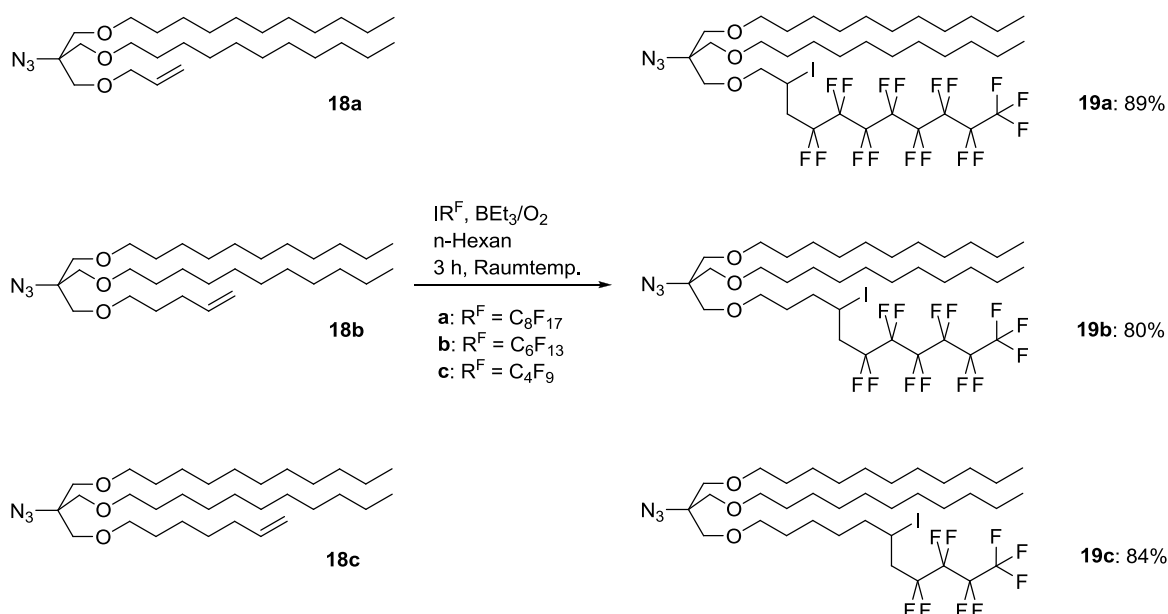


Abb. 3.15: Perfluorierung der einfach alkenylierten Verbindungen zu **19a-c**.

Zur simultanen Spaltung der Kohlenstoff-Iod-Bindung und Reduktion der Azidfunktion werden die perfluorierten Verbindungen **19a-c** unter Wasserstoffatmosphäre mit Palladium auf Aktivkohle umgesetzt.^[94] Um die gemischt perfluoralkylierten Membranankersysteme anschließend in der Festphasenpeptidsynthese einsetzen zu können, erfolgt noch eine Umwandlung des Amins zur Carbonsäure unter Einsatz des bereits gezeigten cyclischen Anhydrids der Diglycolsäure.^[102] Auf diesem Weg können die Festphasenpeptidbausteine **44a-c** in sehr guten Ausbeuten von 91%, 88% und 85% über diese beiden Stufen erhalten werden.

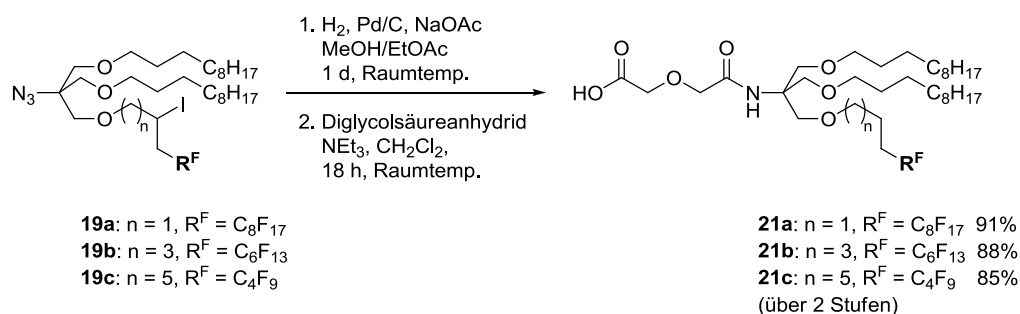


Abb. 3.16: Umsetzung zu den Festphasenpeptidbausteinen **21a-c**.

Synthese von Membranankersystemen mit zwei Perfluoralkylketten

Zur Synthese der zweifach perfluoralkylierten Verbindungen wird die Folge aus Alkenylierung und Alkylierung umgekehrt. Die Substitution mit Bromundecan zum alkylierten Azid **45** erfolgt in 82% Ausbeute.^[68] Durch eine säurevermittelte Acetalspaltung mit Dowex[®] wird das Diol **23** in einer Ausbeute von 99% nach säulenchromatographischer Reinigung für den Einbau der beiden Perfluoralkylketten hergestellt.^[117]

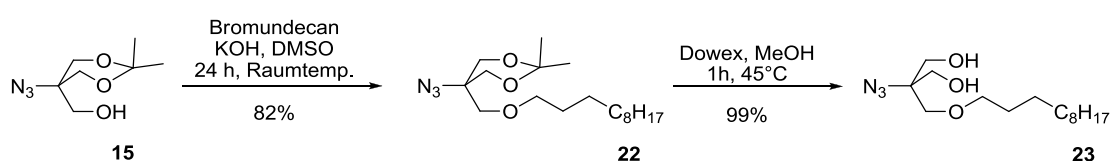
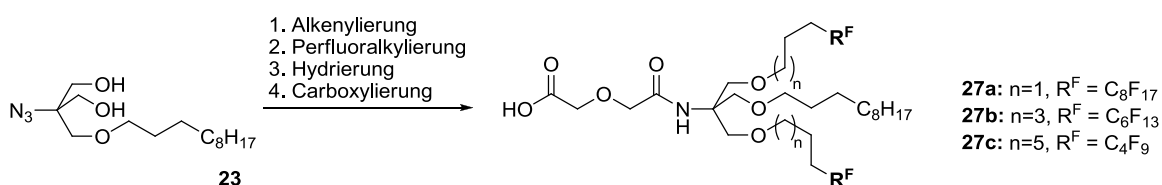


Abb. 3.17: Syntheseroute zum Alkyldiol **23**.

In Tab. 3.1 sind die Ausbeuten der linearen Syntheserouten für alle hergestellten zweifach perfluoralkylierten Festphasenpeptidbausteine angeführt. Die Synthesesequenz beinhaltet die Alkenylierung des Diols **23**,^[94] gefolgt von der Perfluoralkylierung^[101], der Hydrierung^[94] und der Umsetzung zur Säure^[102] **27a-c**. Es können überwiegend gute bis sehr gute Ausbeuten auf diesem Syntheseweg erzielt werden. Hervorzuheben sind die sehr guten Ausbeuten der einstufigen Umsetzung unter simultaner Spaltung der C-I-Bindung und Reduktion zum Amin, die in allen drei Fällen nahezu quantitativ verlief.

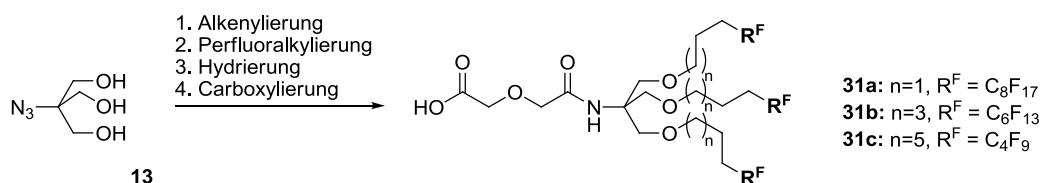


R ^F	C ₈ F ₁₇ n = 1	C ₆ F ₁₃ n = 3	C ₄ F ₉ n = 5
Alkenylierung	24a: 67%	24b: 83%	24c: 58%
Perfluorierung	25a: 89%	25b: 88%	25c: 87%
Hydrierung	26a: quant.	26b: 99%	26c: 98%
Carbonsäure	27a: 89%	27b: 85%	27c: 89%

Tab. 3.1: Ausbeuten der zweifach perfluoralkylierten Verbindungen.

Synthese von Membranankersystemen mit drei Perfluoralkylketten

Neben den gemischten Alkyl/Perfluoralkylankern können unter Verwendung der zuvor erläuterten Synthesestrategie auch die dreifach perfluoralkylierten Systeme mit C_8F_{17} -, C_6F_{13} - und C_4F_9 -Ketten erhalten werden (Tab. 3.2). Im Vergleich zu der originalen Syntheseroute nach *Kaplánek*^[94] können hierbei die peralkenylierten Verbindungen **28a-c** in besseren Ausbeuten erhalten werden. Da die Azide **29a-c** ebenfalls simultan bei der Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle zu den Aminen **30a-c** reduziert werden, ist eine zusätzliche Schutzgruppenmanipulation nicht mehr notwendig. Dadurch reduziert sich die Gesamtanzahl der Synthesestufen von sechs auf fünf im Vergleich zur Verwendung der *Boc*-Schutzgruppe.



R^F	C_8F_{17} n = 1	C_6F_{13} n = 3	C_4F_9 n = 5
Alkenylierung	28a: 98%	28b: 93%	28c: 96%
Perfluorierung	29a: 58%	29b: 81%	29c: 67%
Hydrierung	30a: 76%	30b: 98%	30c: 91%
Carbonsäure	31a: 80%	31b: 91%	31c: 81%

Tab. 3.2: Ausbeuten der dreifach perfluorierten Verbindungen.

Zusammenfassend konnte unter Einsatz der Azidfunktion als Aminoschutzgruppe eine robuste Synthesestrategie für die Herstellung von unterschiedlichen perfluoralkylierten Membranankersystemen auf der Basis von Tris(hydroxymethyl)aminomethan entwickelt werden, die als Festphasenpeptidbausteine mit einer, zwei bzw. drei unterschiedlich langen Perfluoralkylketten ($-C_8F_{17}$, $-C_6F_{13}$, $-C_4F_9$) zur Verfügung stehen. In Abb. 3.18 sind die hergestellten Bausteine nochmals schematisch aufgeführt.

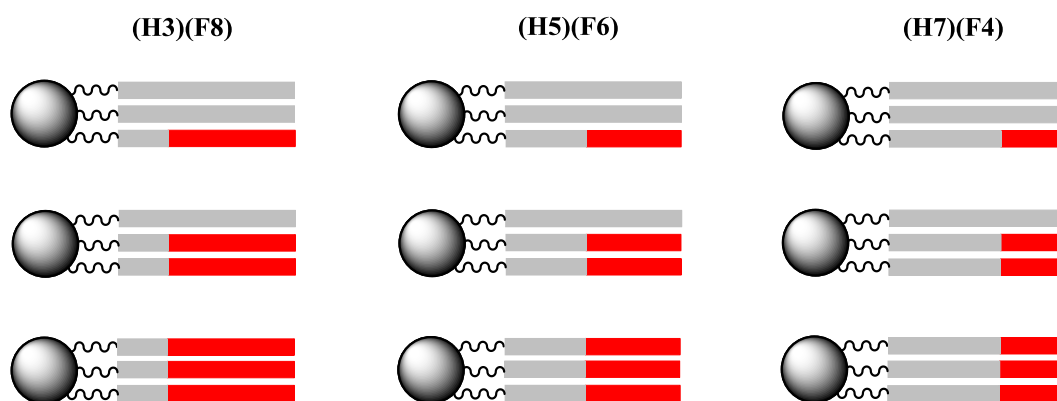


Abb. 3.18: Schematische Darstellung der synthetisierten Ankersysteme.

3.2 Synthese des Triethylenglycolspacers

Der Triethylenglycolspacer soll in den (Glyco)-Peptidkonjugaten als Abstandshalter zwischen der Aminosäuresequenz und dem hydrophoben Membrananker dienen, damit die ursprüngliche Konformation des Glycopeptidpitops stets erhalten bleibt und zugleich eine ausreichende Löslichkeit in wässrigen Medien gegeben ist. Das Spacermolekül wird als *Fmoc*-Aminosäuremimetikum in der Festphasenpeptidsynthese eingesetzt und erlaubt einen einfachen Einbau in die Glycopeptidkonjugate.^{[32] [118] [119]}

Im ersten Schritt der Synthese wird der spätere *C*-Terminus eingeführt, indem Triethylenglycol **33** und Acrylsäure-*tert*-butylester **32** in einer Hetero-Michael-Reaktion mit einer Ausbeute von 89% umgesetzt werden. Anschließend erfolgt der Aufbau des *N*-Terminus. Die Hydroxyfunktion wird mesyliert um deren Austrittstendenz zu erhöhen. In Gegenwart von Natriumazid erfolgt dann die nucleophile Substitution zum Azid **35**, welches nach Reduktion mit Raney-Nickel und *N*-terminaler Blockierung mit der *Fmoc*-Schutzgruppe das vollständig geschützte Aminosäuremimetikum **37** in einer Ausbeute von 68% über diese beiden Stufen ergibt. Finale *tert*-Butyl-Deblockierung liefert quantitativ den Festphasenpeptidbaustein **38**.

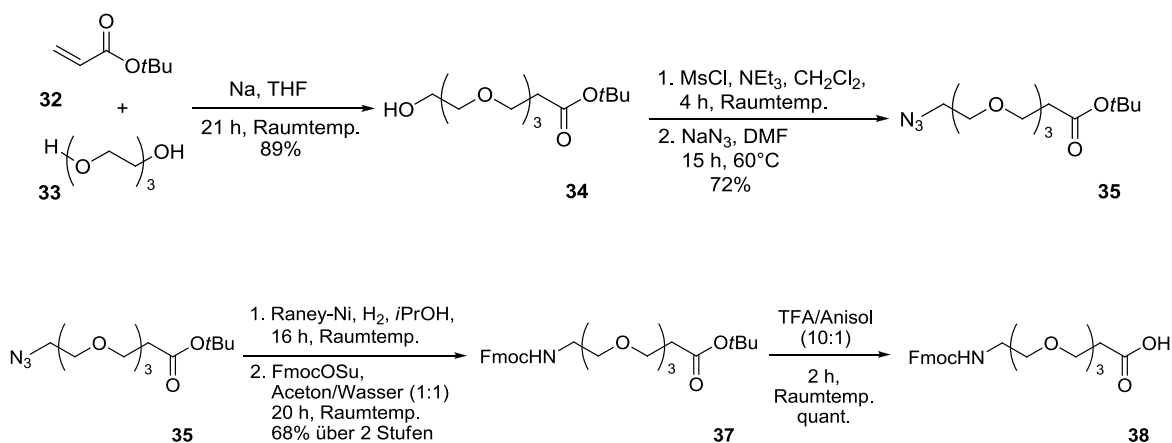


Abb. 3.19: Synthese des Triethylglycolspacers **38**.

3.3 Synthese der T_N - und ST_N -Antigenbausteine

Der Galactosaminteil der Antigenbausteine wird ausgehend von D-Galactose **39** synthetisiert.^[120] Hierzu wird diese in einer Eintopfreaktion \u00fcber zwei Stufen zum α -Galactosylbromid^[121] umgesetzt. Im ersten Schritt erfolgt zun\u00e4chst die Peracetylierung mit Essigs\u00e4ureanhydrid und Perchlors\u00e4ure. Die anschließende Bromierung wird durch Zugabe von Bromwasserstoffs\u00e4ure in Eisessig bewirkt. Durch den anomeren Effekt wird dabei die Bildung des α -Galactosylbromid **41** beg\u00fcnstigt, welches in 83%iger Ausbeute \u00fcber diese beiden Stufen gewonnen werden kann.

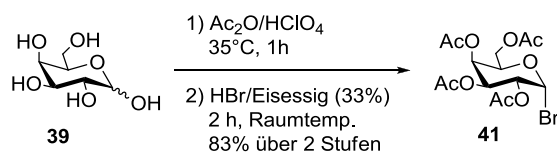


Abb. 3.20: Synthesesequenz zur Darstellung des α -Galactosylbromids **41**.

Die selektive Bildung des α -Bromids **41** erfolgt durch Protonierung der Acetyl-schutzgruppe in der anomeren Position und Abspaltung von Essigs\u00e4ure. Das gebildete

Oxocarbeniumion kann nun nucleophil durch das Bromidion angegriffen werden und es resultiert das gewünschte Galactosylbromid.

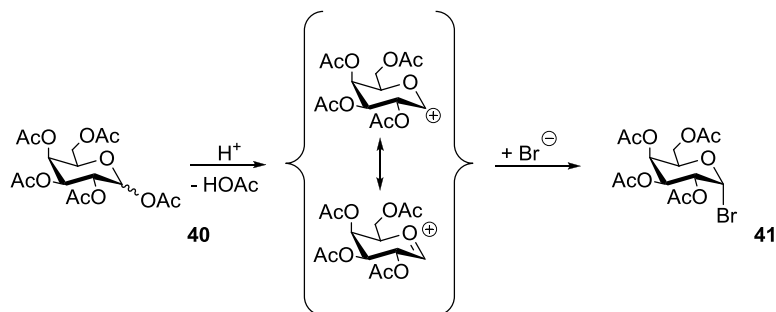


Abb. 3.21: Bildung des α -Galactosylbromids **2** über ein Oxocarbeniumion.

Da die äquatoriale Position im Vergleich zur axialen Position in cyclischen Kohlenhydraten sterisch weniger gehindert ist, erfolgt der Angriff eines Nucleophils gewöhnlich von der β -Seite des anomeren Zentrums. Bei Kohlenhydraten mit elektronegativen Substituenten in der anomeren Position bildet sich entgegen dieser Erwartung bevorzugt das α -konfigurierte Substitutionsprodukt.

Diese Beobachtung wird als anomerer Effekt bezeichnet und ist auf Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen den anomeren benachbarten Substituenten zurückzuführen. Der im cyclischen Kohlenhydrat befindliche Sauerstoff bildet mit den beiden freien Elektronenpaaren einen Dipol aus, der mit dem Dipol längs des anomeren Kohlenstoffs und dessen polarisierter Bindung zum elektronenziehenden Substituenten in Wechselwirkung steht. In der α -Position tritt eine günstige gegenseitige Aufhebung der partiellen Dipolmomente ein, die die Bildung der axial bromierten Acetylgalactose **2** begünstigt. Befindet sich der Bromsubstituent in äquatorialer Position resultiert eine ungünstige Verstärkung der partiellen Dipolmomente (Abb. 3.22a).^[122]

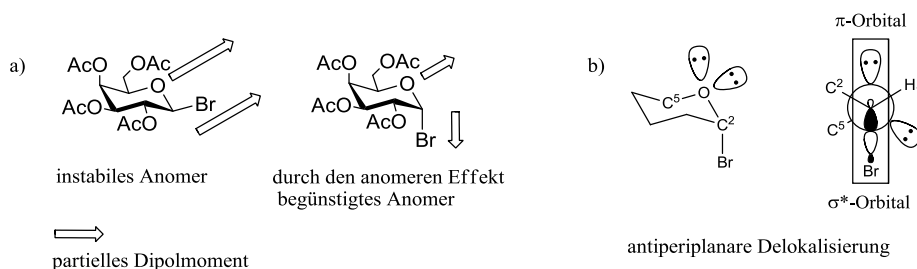


Abb. 3.22: Der anomeren Effekt a) beteiligte Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und b) Molekülorbital-Wechselwirkungen.^[122]

Eine weitere Möglichkeit der Erklärung des anomeren Effekts liefert die Betrachtung der wechselwirkenden Molekülorbitale. Das π -Molekülorbital des freien Elektronenpaars des Sauerstoffs kann die Elektronendichte in das periplanar angeordnete antindende σ^* -Orbital der C-Br-Bindung delokalisieren. Diese günstige Delokalisierung der nicht bindenden Elektronen ist nur in einer axialen Position des Substituenten möglich und führt deshalb zum α -Bromid **41**.

Die nachfolgende Umsetzung zum 3,4,6-Tri-*O*-acetylgalactal **3** (Abb. 3.23) unter Eliminierung des Bromid-Ions und der Acetoxygruppe an C2 wurde durch aktiviertes, gepulvertes Zink in Ethylacetat durchgeführt.^[121] Das in einer Ausbeute von 72% resultierende Galactal **42** kann nach säulenchromatographischer Reinigung in der nächsten Stufe einer Azidonitratisierung nach Lemieux^[123] unterworfen werden.

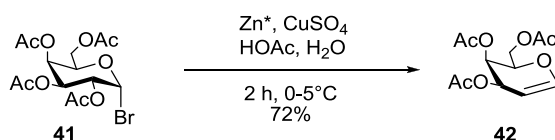


Abb. 3.23: Darstellung des 3,4,6-Tri-*O*-acetylgalactal **42**.

Um eine biologische Aktivität zu gewährleisten, muss der Galactosamin-Baustein, wie in natürlichen Zellen, α -glycosidisch mit den Aminosäuren Serin bzw. Threonin verknüpft werden. Auf synthetischem Wege ist es deshalb notwendig die Acetamidfunktion so zu maskieren, dass eine α -selektive Glycosylierung erreicht werden kann. Im Gegensatz zur Acetamidfunktion, die einen β -dirigierenden Nachbargruppeneffekt ausübt, ist dies mit einer Azidgruppe möglich. Diese lässt sich relativ leicht einbauen, ist nicht nachbargruppenaktiv und erlaubt eine rasche Umwandlung in das gewünschte *N*-Acetylamid. Eine etablierte Methode zur Einführung einer Azidfunktion stellt die Azidonitratisierung nach Lemieux^[123] dar. Hierbei werden eine Nitratfunktion in der 1-Position und eine Azidfunktion in der 2-Position mittels Cerammoniumnitrat und Natriumazid in absolutem Acetonitril eingeführt. Als Produkt wird das anomere 2-Azido-2-desoxygalactosylnitrat **4** mit einer Ausbeute von 42% erhalten.

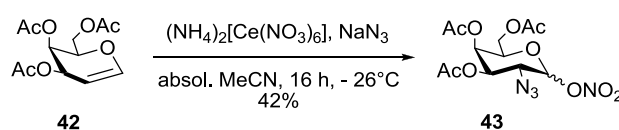


Abb. 3.24: Synthese des Azidonitrats **43** nach Lemieux.^[123]

Nach Lemieux^[124] erfolgt die Initiierung der Azidonitratisierung durch die Reduktion von Cer(IV) zu Cer(III) und die Oxidation des Azid-Anions zum Radikal. Dieses Azidradikal koordiniert an die Doppelbindung des Galactals **42**, welches durch ein weiteres Cer(IV)-Kation unter Bildung des Oxocarbeniumions oxidiert wird. Durch den nucleophilen Angriff des Nitrat-Anions auf das anomere Zentrum bildet sich das 2-Azido-2-desoxygalactosylnitrat **43** als Mischung der Anomere (Abb. 3.25).

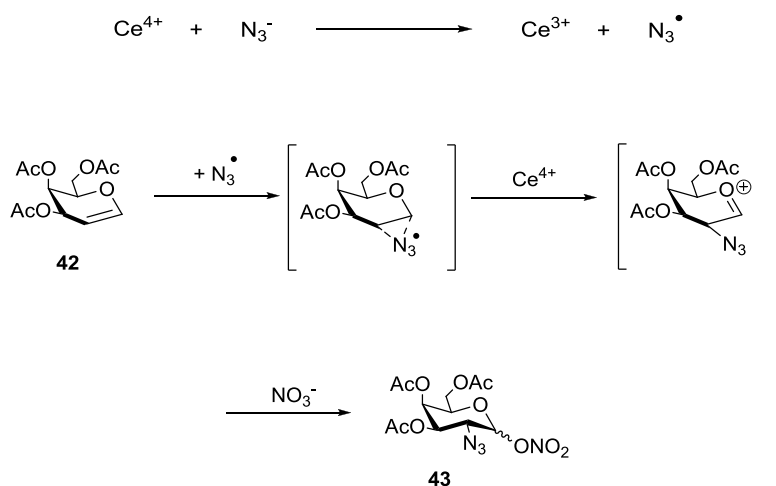


Abb. 3.25: Möglicher Mechanismus der Azidonitratisierungsreaktion nach Lemieux.^[124]

Zur Darstellung des Galactosyldonors wird das Azidonitrat mit Lithiumbromid in absolutem Acetonitril umgesetzt. Das gewünschte α -Azidobromid **44** kann nach säulenchromatographischer Reinigung in 75%iger Ausbeute isoliert werden und als Donor in der Glycosylierungsreaktion fungieren.

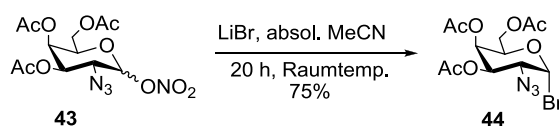


Abb. 3.26: Synthesesequenz zur Darstellung des Galactosyldonors **44**.

Als Galactosylakzeptor dient L-Threonin **45** in orthogonal geschützter Form. Hierzu wird im ersten Schritt die Aminofunktion mit der basenlabilen *Fmoc*-Schutzgruppe, die durch *N*-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-succinimidylcarbonat (*Fmoc*-OSu) eingeführt wird quantitativ blockiert.^[125] Im zweiten Schritt wird die Carboxylfunktion mit *tert*-Butanol verestert. Diese Umsetzung geschieht Cu(I)-katalysiert unter Verwendung von *N,N'*-

Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) zur Aktivierung.^{[126] [127]} Hierbei muss eine permanente dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle durchgeführt werden, um die Blockierung der β -Hydroxyfunktion als *tert*-Butylether zu vermeiden. Es kann somit der orthogonal blockierte Galactosylakzeptor *Fmoc*-Thr(OH)-*Ot*Bu **47** mit einer Ausbeute von 63% über zwei Stufen erhalten werden (Abb. 3.27).

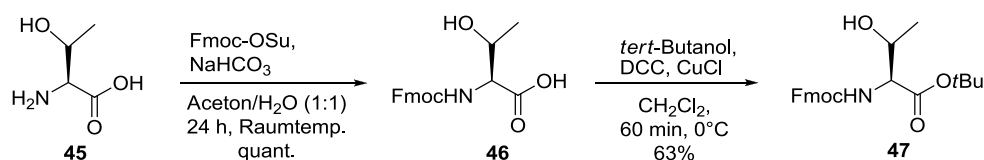


Abb. 3.27: Blockierung des C- und N-Terminus des Galactosylakzeptors **47**.

Die Glycosylierung des zuvor beschriebenen Donors mit dem Threoninakzeptormolekül **47** wird nach einer von *Paulsen* entwickelten Variante der *Koenigs-Knorr*-Glycosylierung durchgeführt.^{[128] [129]} Dabei erfolgt die Aktivierung des Donors mit wasserfreiem Silbercarbonat und Silberperchlorat in einem Lösungsmittelgemisch aus absolutem Toluol und absolutem Dichlormethan im Verhältnis 1:1. Auf Grund des fehlenden Nachbargruppeneffekts der Azidgruppe sowie des anomeren Effekts kann mit hoher Selektivität und einer Ausbeute von 48% das gewünschte α -Galactosid **48** isoliert werden.^{[130] [131]} Im anschließenden säulenchromatographischen Reinigungsschritt können Anteile des β -Anomers jedoch nicht vollständig abgetrennt werden, weshalb das Produktgemisch erst nach weiterer Umsetzung, d.h. auf der Stufe des Acetamids **49** getrennt wird.

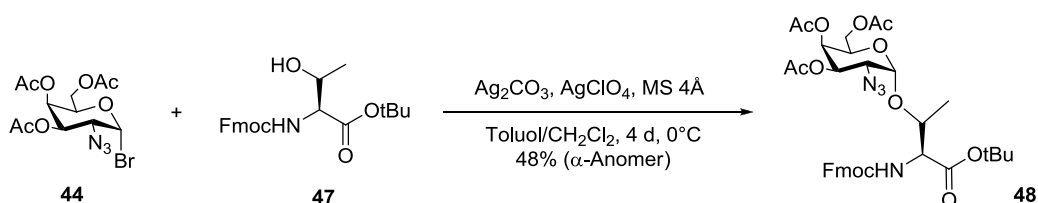


Abb. 3.28: Glycosylierung des Glycosyldonor **44** mit dem Glycosylakzeptors **47**.

Die Reduktion und Acetylierung der 2-Position zur Acetamidoglycosylaminosäure **49** erfolgt mittels aktiviertem Zink in einer Lösungsmittelmischung aus Tetrahydrofuran,

Acetanhydrid und Essigsäure (3:2:1) binnen 90 Minuten bei Raumtemperatur und liefert das gewünschte Produkt in 84% Ausbeute.^[132]

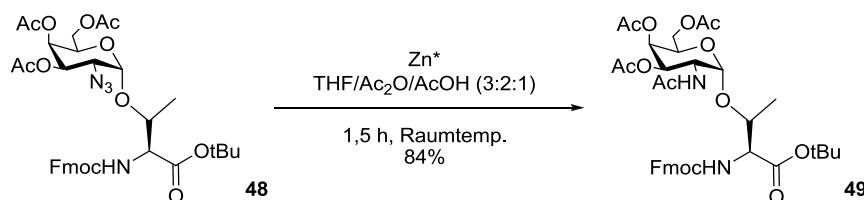


Abb. 3.29: Zink vermittelte Reduktion und Acetylierung zur Acetamidoglycosylaminosäure **49**.

Mit der Verbindung **10** ist ein wichtiger Grundbaustein der tumorassoziierten Kohlenhydratantigene hergestellt worden. Im Folgenden kann dieser nach acidolytischer Deblockierung der Carboxylfunktion in der Festphasenpeptidsynthese eingesetzt werden oder durch Deacetylierung als Ausgangsstoff für den Aufbau weiterer komplexer Kohlenhydratantigene dienen. Zur Spaltung des *tert*-Butylesters wird **49** mit Trifluoressigsäure und Anisol als Kationenfänger in 94%iger Ausbeute zur freien Säure umgesetzt.

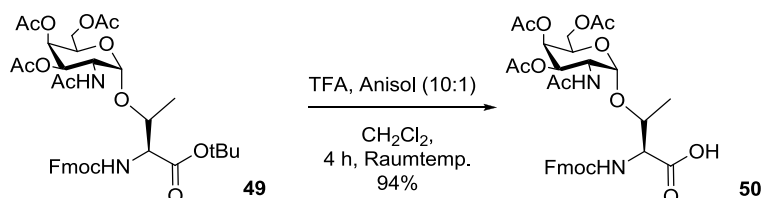


Abb. 3.30: Deblockierung der Carboxylfunktion zum Festphasenpeptidbaustein **50**.

Zur Sialylierung des tumorassoziierten Grundbausteins **49** in 6-Position muss dieser in einen geeigneten Galactosylakzeptor umgewandelt werden. Durch Umesterung nach Zemplén^[133] werden die Acetylenschutzgruppen selektiv mittels katalytischen Mengen an Natriummethanolat in Methanol bei einem pH-Wert von 8.5 in 3-, 4-, und 6-Position verseift. Auf Grund der Basenzugabe erfolgt die teilweise Abspaltung der *Fmoc*-Schutzgruppe, welche direkt im Anschluss durch Zugabe von *Fmoc*-OSu in Acetonitril wieder eingeführt wird.^{[134] [135] [136] [137]} Somit kann die reaktivste 6-Position als Akzeptor dienen und den Sialyl-T_N-Antigen-Baustein^[130] liefern (Abb. 3.31).

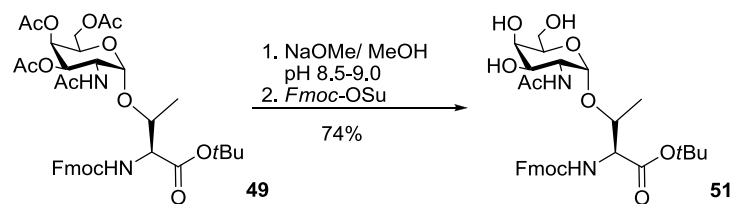


Abb. 3.31: Deacetylierung zum Galactosylakzeptor **51** nach Zemplén^[133].

Der Sialyldonor wird ausgehend von *N*-Acetyl-D-neuraminsäure **52** beginnend mit der Acetylierung in einer Mischung aus Acetanhydrid in Pyridin in 87%iger Ausbeute geschützt. Anschließende Umsetzung zum Benzylester in einer Cäsiumcarbonat vermittelten nucleophilen Substitution gelingt in 75% und führt zum vollständig geschützten Neuraminsäurederivat **54**.^[138]

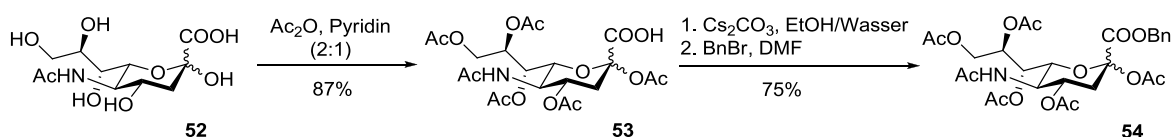


Abb. 3.32: Vollständige Blockierung der *N*-Acetyl-D-neuraminsäure **52**.

Im weiteren Verlauf der Synthesesequenz wird der vollständig blockierte Baustein **54** mit Acetylchlorid und katalytischen Mengen an Wasser umgesetzt. Hierbei bildet sich *in situ* Chlorwasserstoff unter Freisetzung von Chloridionen, welche die Acetoxifunktion des Neuraminsäure-Derivats ersetzen. Das Chlor-Derivat **55** kann ohne vorherige Reinigung durch Kaliummethylxanthogenat zum Sialyldonor **56** umgesetzt werden. Die Reaktionssequenz ausgehend von **54** führt in einer Ausbeute von 52% über diese beiden Stufen zum Xanthogenat **56**.^[139]

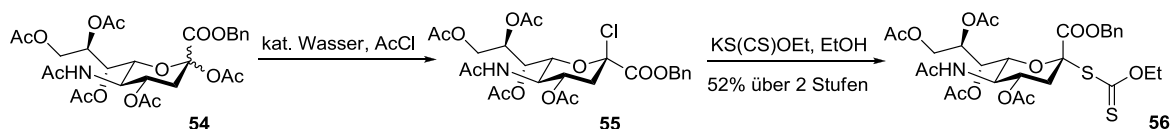


Abb. 3.33: Umsetzung zum Xanthogenat **56**.

Die Aktivierung des Donors **56** zur Sialylierung erfolgt durch *in situ* generiertes Methylsulfonyltriflat unter Verwendung einer frisch hergestellten Lösung aus Methylsulfonylbromid und Silbertriflat. Dabei greift das Thiocarbonat-Schwefelatom das Schwefelatom des Methylsulfonyltriflats unter Bildung einer Disulfidbrücke an, wodurch Triflat abgespalten wird. Die aktive Spezies, das Sialyktion **57**, entsteht dann nach Abspaltung der Xanthogenatfunktion.^{[140] [141]}

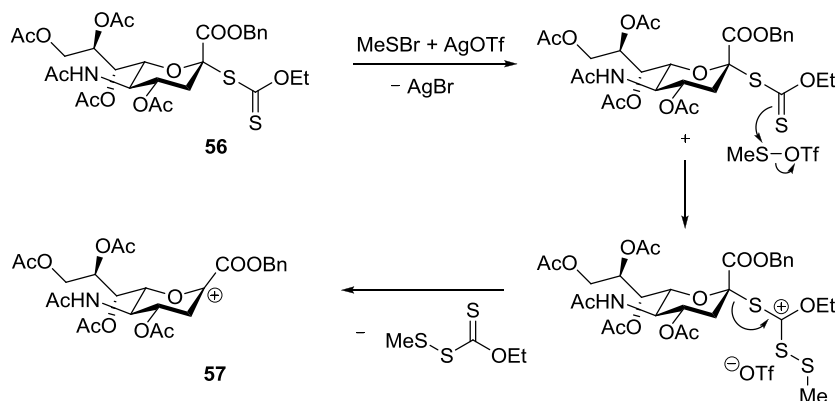


Abb. 3.34: Aktivierung des Sialinsäuredonors **56**.

Das Oxocarbeniumion **57** kann neben der erwünschten regio- und stereoselektiven Sialylierungsreaktion an der 6-Position des Galactosylakzeptors auch in einer unerwünschten Eliminierung reagieren. Durch den elektronenziehenden Effekt der Carboxylfunktion ist das Glycosyktion destabilisiert, weshalb eine 2,3-Eliminierung leicht stattfindet und das Glycal **58** als Nebenprodukt erhalten wird. Folglich werden in diesen Glycosylierungsreaktionen meist hohe Überschüsse (hier 2.5 Äquivalente) der Donoren eingesetzt.

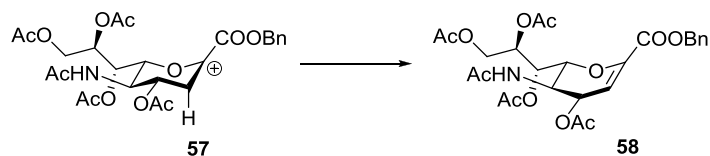


Abb. 3.35: Unerwünschte Eliminierung zum Glycal **58**.

Die geeignete Wahl des Lösungsmittels und der Temperatur kann die Stereoselektivität der Sialylierungsreaktion steuern.^{[142] [143]} Durch den Einsatz von Acetonitril als Lösungsmittel

steht die Nitrilgruppe im koordinativen Gleichgewicht mit der axialen und äquatorialen Position des Sialylkations (Nitrileffekt, Abb. 3.36).^[144] Dieses Gleichgewicht verschiebt sich bei tiefen Temperaturen auf die Seite der axialen β -Nitrilium-Koordination, wohingegen bei höheren Temperaturen die äquatoriale α -Position koordiniert wird.^[142] Durch die axiale Koordination des Nitrilium-Addukts kann der Alkohol (Akzeptor) stereoselektiv nur von der α -Seite angreifen, weshalb die Sialylierungen bei tiefen Temperaturen unter kinetischer Kontrolle das α -Glycosid liefern. Auf der anderen Seite bildet sich bei höheren Temperaturen das äquatorial koordinierte Sialosid, was hier zum unerwünschten β -konfigurierten Sialylierungsprodukt führt.

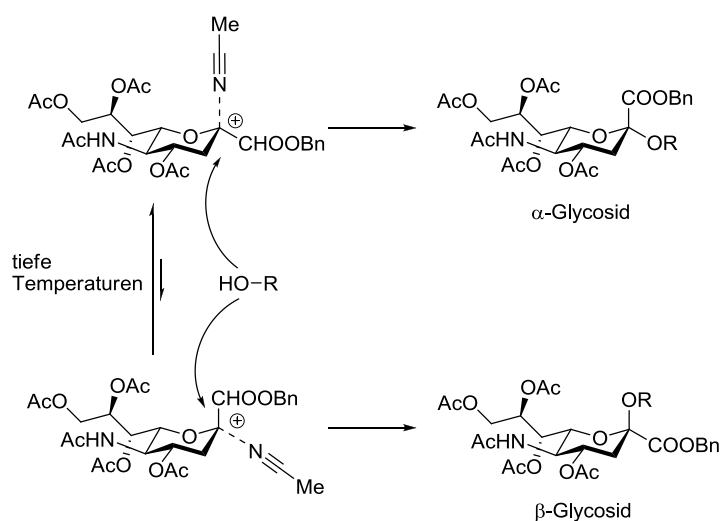


Abb. 3.36: Nitrileffekt.

Die Sialylierungsreaktion zwischen dem Galactosylakzeptor **51** und dem in 2.5-fachen Überschuss vorliegenden Sialinsäuredonor **56** wird bei einer Temperatur von $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ in einem Lösungsmittelgemisch bestehend aus zwei Teilen Acetonitril und einem Teil Dichlormethan durchgeführt. Hierzu werden die beiden Ausgangsstoffe unter wasserfreien Bedingungen gelöst und mit Silbertriflat versetzt, bevor die frisch hergestellte Methylsulfenylbromid-Lösung langsam zugetropft wird. Nach der Aufarbeitung und der säulenchromatographischen Abtrennung des Glycals bzw. geringen Anteilen des β -Glycosids kann auf diesem Weg das α -Glycosid **59** mit einer Ausbeute von 68% isoliert werden.

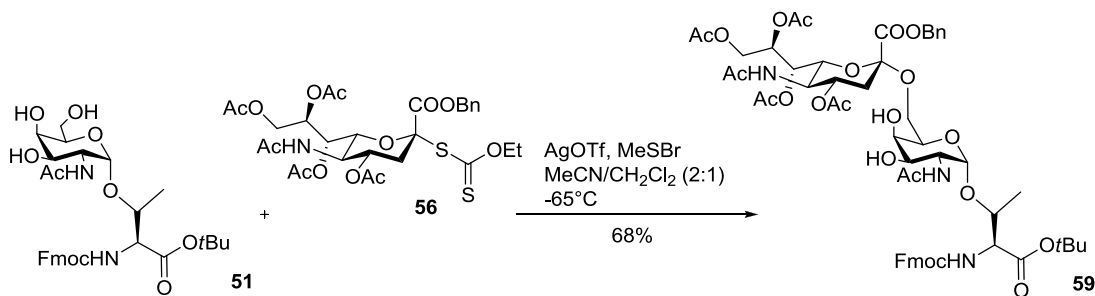


Abb. 3.37: Sialylierung zum ST_N -Antigen **59**.

Um einen geeigneten, d.h. ausreichend stabilen Baustein für die Festphasenpeptidsynthese zu erhalten, müssen im Folgenden zunächst die freien Hydroxyfunktionen in 3- und 4-Position des Galactosamins acetyliert werden. Dazu wird eine Mischung aus Acetanhydrid in Pyridin unter Zugabe katalytischer Mengen an 4-(*N,N*-Dimethylamino)pyridin (DMAP) verwendet.^[145] Nach anschließender saurer Spaltung des *tert*-Butylesters mit Trifluoressigsäure und 9% Anisol als Kationenscavenger wird der ST_N -Festphasenbaustein schließlich in 61% über diese beiden Stufen erhalten.

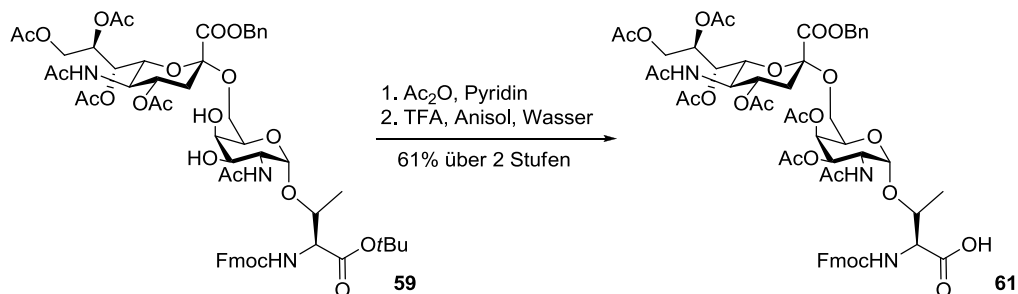


Abb. 3.38: Umsetzung zum ST_N -Baustein **61** für die Festphasenpeptidsynthese.

3.4 Synthese von (Glyco)Lipopeptiden des Mucins MUC1

Konzept der Festphasenpeptidsynthese

Die Synthese natürlicher Peptide und Glycopeptide mit definierter Struktur ist aus mehreren Gründen notwendig. So lassen sich solche Verbindungen auf Grund des Auftretens mikroheterogener Strukturen nicht aus der Natur isolieren und folglich auch nicht für Struktur-Wirkungs-Studien heranziehen. Auch der Einbau nicht-natürlicher Aminosäuren, D-Aminosäuren oder derivatisierter Aminosäuren in das Peptidrückrat kann nur durch synthetische Modifikation erfolgen. Des Weiteren besteht ein erhebliches Interesse an diesen Verbindungen, die als Vakzine eingesetzt und daher in größeren Mengen bereitgestellt werden sollen. Diese Anforderungen können nur mithilfe der chemischen Synthese erfüllt werden, die es erlaubt, aus exakt definierten Strukturen in reproduzierbaren Mengen bereitzustellen.

Peptide und Glycopeptide werden heutzutage hauptsächlich an der festen Phase synthetisiert. Diese Methode der Festphasenpeptidsynthese wurde von Merrifield^{[146] [147]} 1963 entwickelt und 1984 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Der Vorteil dieser Methode besteht in der heterogenen Reaktionsführung unter Verwendung eines unlöslichen, mechanisch stabilen und chemisch inerten Polymers.^{[148] [149]} Gebräuchlich ist Divinylbenzol (1-2%) verzweigtes Polystyrol als auch TentaGel[®]-Polystyrolharz mit Polyethylenglycolketten.^[150] Das Quellverhalten des Polymerharzes beeinflusst deutlich den Verlauf der Synthese, weshalb bevorzugt Dichlormethan, Dimethylformamid, *N*-Methylpyrrolidon und Tetrahydrofuran als gut quellende Lösungsmittel eingesetzt werden.^{[151] [152] [153]} Die porösen Polymerkügelchen werden mit funktionellen Einheiten, den Anker, für den Aufbau der Peptidkette versehen. Dabei ist das Peptid kovalent über eine Amidbindung an der Oberfläche des Harzes immobilisiert und bleibt während den Filtrationsprozessen am Harz fixiert. Dadurch können Reagenzien in der flüssigen Phase ebenso wie Nebenprodukte gewegewaschen werden, bevor das (Glyco)Peptid durch z.B. Trifluoressigsäure von der festen Phase abgespalten wird. Das generelle Prinzip der Festphasenpeptidsynthese beruht auf dem Durchlaufen repetitiver Zyklen aus Kuppelungs-, Wasch- und Deblockierungsschritten. Der freie *N*-Terminus, der an das Harz gebundenen Aminosäure wird dabei im Kupplungsschritt zunächst mit einer weiteren aktivierten *N*-terminal blockierten Aminosäure gekuppelt. Diese als letztes gekuppelte Aminosäure wird

dann deblockiert und über den freigelegten *N*-Terminus an den eine weitere Einheit gekuppelt. Der Vorteil dieser Methode beruht auf der Möglichkeit große Überschüsse (in der Regel 10 Äquiv.) an Edukten bzw. Reagenzien einzusetzen, und diese nach erfolgter Reaktion durch einfaches Waschen des Harzes zu entfernen. Es kommen zwei Schutzgruppenverfahren standardmäßig in der Festphasenpeptidsynthese zum Einsatz. Das *Boc*-Verfahren^{[154] [155]} setzt die säurelabile *tert*-Butyloxycarbonyl(*Boc*)-Gruppe^{[156] [157]} zur temporären Blockierung des *N*-Terminus ein. Jedoch besitzt diese Methode den Nachteil der Instabilität von Seitenkettenschutzgruppen polyfunktioneller Aminosäuren und Peptide gegenüber aciden Bedingungen.^[158] Stattdessen hat sich die *Fmoc*-Strategie^{[159] [160]} etabliert, in der die basenlabile Fluorenylmethoxycarbonyl (*Fmoc*)-Gruppe als temporäre Aminosäureschutzgruppe in Gegenwart saurer spaltbarer Seitenkettenschutzgruppen zum Einsatz kommt. Als letzter Schritt der Festphasenpeptidsynthese wird die Abspaltung des Peptids vom Polymerträger durch den Bruch der Bindung zwischen dem *C*-Terminus der Startaminosäure und dem Ankermolekül durchgeführt. Das gelöste Peptid kann nun durch mehrfaches Waschen des Harzes isoliert werden (Vgl. Abb. 3.39).

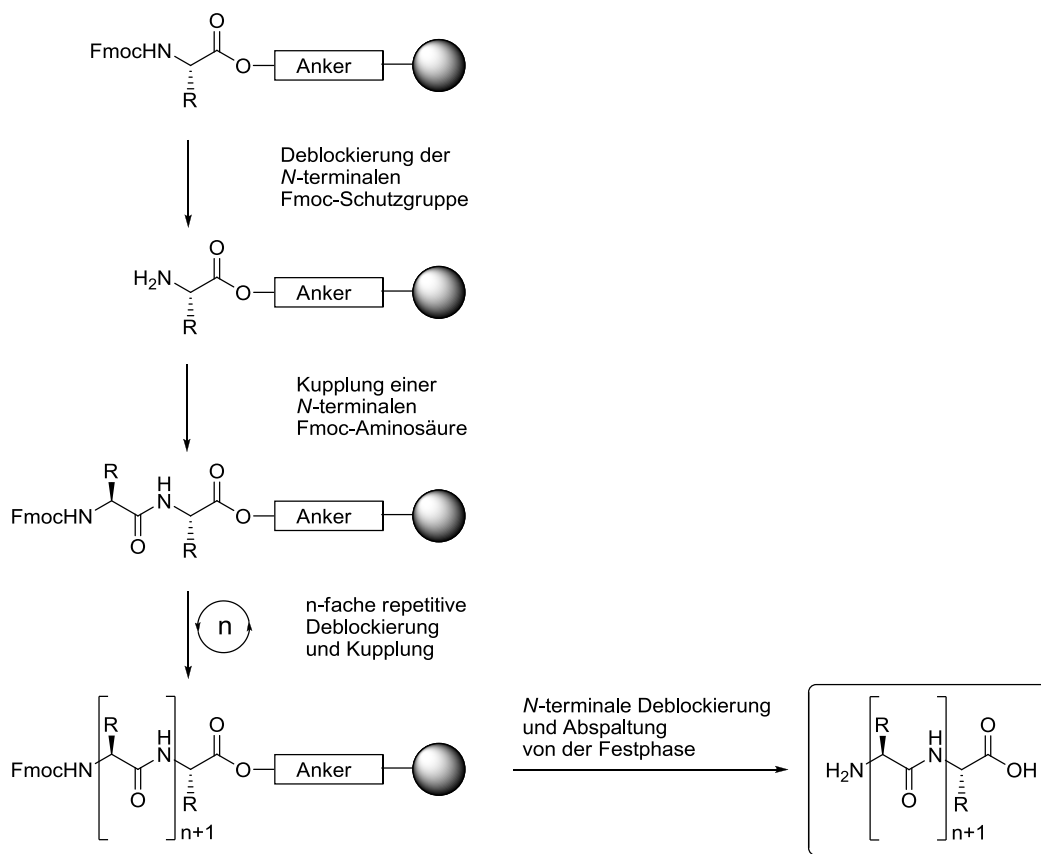


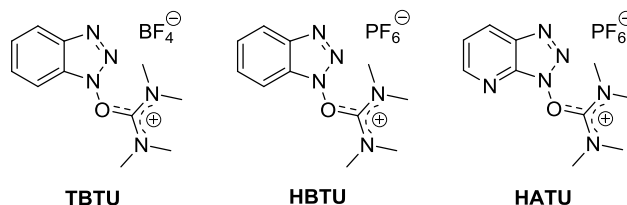
Abb. 3.39: Allgemeines Prinzip der *Fmoc*-Festphasenpeptidsynthese.

Diese einfache Reaktionsführung aus Kupplungs- und Waschschrritten bei multiplen Reaktionsschritten erlaubt die Automatisierung und macht die Festphasenpeptidsynthese zu einer robusten und zuverlässigen Synthesetechnik.

Kupplungsreagenzien in der Festphasenpeptidsynthese

Zur Bildung einer Amidbindung wird in modernen Peptidsynthesen die Carboxylfunktion der Aminosäure *in situ* zum Reaktivester unter Verwendung von Kupplungsreagenzien wie Phosphoniumsalze (z.B. Benzotriazole-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphat, PyBOP)^[161] oder den Uroniumsalzen HATU^{[162] [163]}, HBTU^{[164] [165]} und TBTU^[166] umgesetzt. Die C-terminal aktivierten Aminosäurederivate können durch diese Aktivierermethode nahezu racemisierungsfrei und unter milden Bedingungen gekuppelt werden.

Uroniumsalze (O-Form):



Guanidiniumsalze (N-Form):

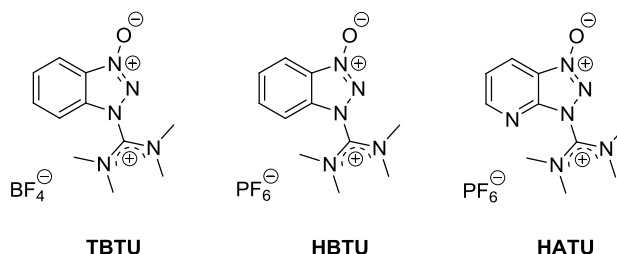


Abb. 3.40: Moderne Kupplungsreagenzien in der Festphasenpeptidsynthese:
 HATU: O-(1H-7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyl-uronium-hexafluorophosphat
 HBTU: O-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyl-uronium-hexafluorophosphat
 TBTU: O-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat.

Die genannten Kupplungsreagenzien haben in der modernen Festphasenpeptidsynthese die Verwendung von Säureanhydriden, -aziden und -halogeniden weitestgehend abgelöst und die damit verbundenen Probleme hinsichtlich der Stabilität und Racemisierungsneigung beseitigt. Ebenso haben diese neuen Reagenzien Vorteile gegenüber Carbodiimiden wie z.B. Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)^[167], Diisopropylcarbodiimid (DIC) und dem wasserlöslichen N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (EDC), bei denen häufig anstelle der gewünschten Amidbindung^[168] eine unerwünschte Acylwanderung^[169] beobachtet werden. Dies und die Bildung unlöslichen Harnstoffs, der im Reinigungsschritt nur schwer abzutrennen ist, sind die limitierenden Faktoren der Peptidkupplung mit Hilfe von Carbodiimide.

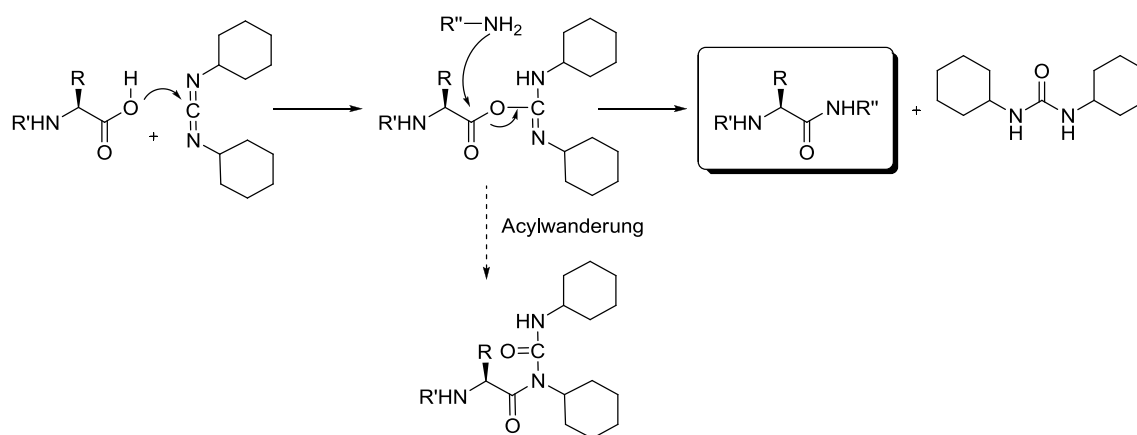


Abb. 3.41: Bildung der Amidbindung mit DCC und unerwünschte Acylwanderung.

Die Kupplungsreagenzien wie HATU, HBTU und TBTU haben sich insbesondere aufgrund ihrer höheren Reaktivität und der Unterdrückung von Racemisierungen durch Zugabe von Additiven wie 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt),^[170] 7-Aza-1-hydroxybenzotriazol (HOAt)^[171] etabliert (Abb. 3.42). Im Folgenden wird nun näher auf den Mechanismus unter Verwendung des Kupplungssystems aus HATU/HOAt und DIPEA als Base eingegangen.

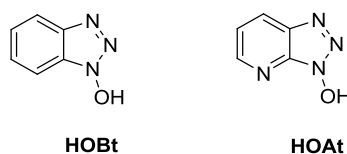


Abb. 3.42: Struktur von HOBt und HOAt.

Im ersten Schritt der Amidbindungsbildung wird die Carboxylfunktion unter Zusatz einer sterisch anspruchsvollen Base (z.B. DIPEA, *Hünigs Base*) deprotoniert, um Racemisierung zu vermeiden. Es folgt der Angriff des Carboxylats unter Ausbildung des reaktiven *O*-Acyl-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-Intermediats. Dieses reagiert mit HOAt zum eigentlichen Aktivester, der unter Zusatz der Aminkomponente zum Säureamid reagiert. Der zuerst gebildete *O*-Isoacylharnstoff ist reaktiver als der HOAt-Ester, trotzdem laufen die Kupplungen noch sehr schnell ab und eine Stabilität über längeren Zeitraum in Lösung ist garantiert, was sich vor allem auf sterisch anspruchsvolle Kupplungen günstig auswirkt. Im Vergleich zu HOBt ist HOAt die stärkere Säure ($pK_s \approx 3.28$ vs. 4.60), was die Austrittstendenz im Schritt der Aminkupplung erhöht. Zusätzlich bewirkt HOAt eine Vorkoordination der zu kuppelnden Aminosäure über den Stickstoff im Pyridinteil von HOAt, wodurch eine Racemisierung vermieden wird. Mit diesem System aus HATU/HOAt und Basen wie z.B. DIPEA oder NMM können sterisch sehr anspruchsvolle Kupplungen wie die von komplexen tumorassoziierten Antigenen in guten Ausbeuten durchgeführt werden.

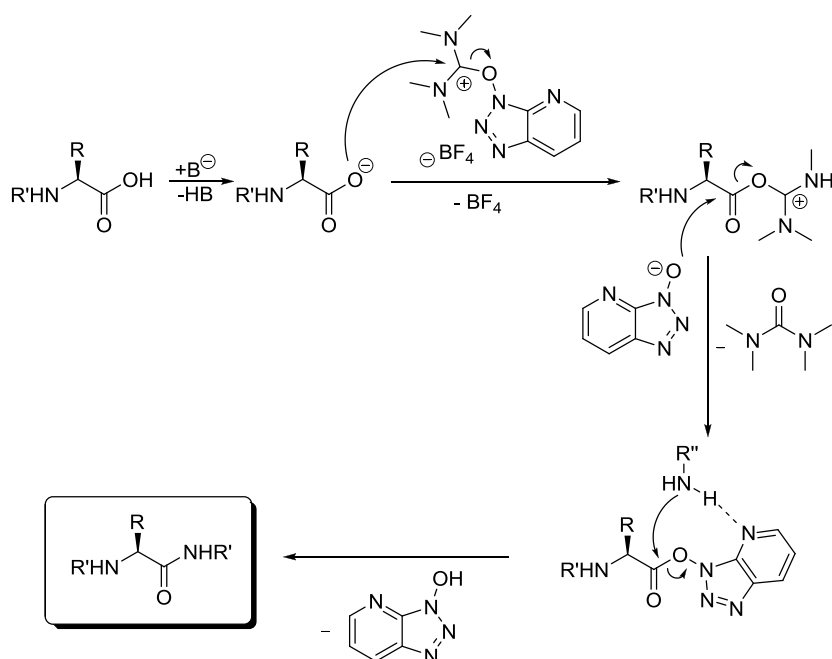


Abb. 3.43: Mechanismus zur Aktivierung mit HATU/HOAt und DIPEA.

Um die Kupplung eines weiteren Aminosäurebaustein zu ermöglichen, muss die Abspaltung der basenlabilen *Fmoc*-Schutzgruppe erfolgen. Hierbei findet häufig ein Gemisch aus Piperidin in Dimethylformamid Anwendung.^[172] Die Aminbase spaltet das

Wassertoffatom in 9-Position der *Fmoc*-Schutzgruppe ab, wodurch sich das Dibenzofulven-Piperidin-Addukt bildet, welches zur Kontrolle des Kupplungsschrittes photometrisch detektiert werden kann.

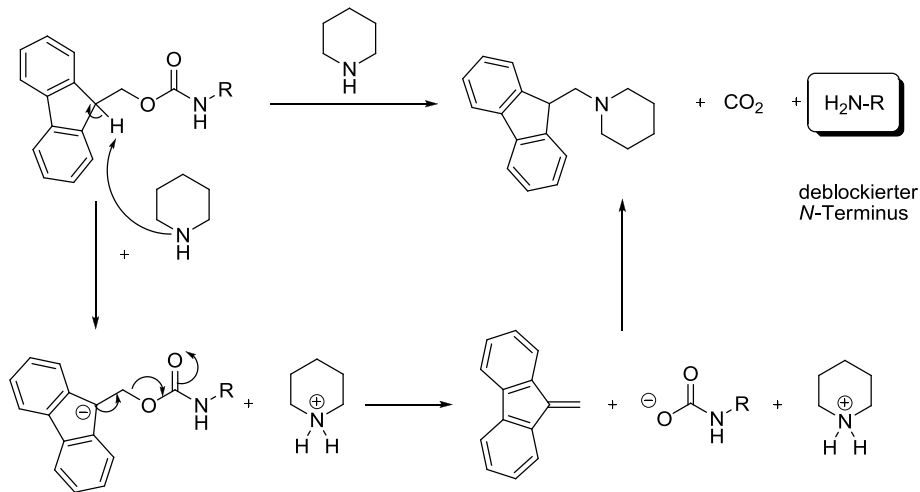


Abb. 3.44: Mechanismus der Fmoc-Deblockierung.

Nebenreaktionen in der Festphasenpeptidsynthese

Beim Aufbau von Peptiden mit einer Vielzahl von Reaktionsschritten (Aktivierung, Kupplung, Deblockierung) pro eingebaute Aminosäure müssen Nebenreaktionen weitestgehend unterdrückt werden, um den kompletten Aufbau der Sequenz zu ermöglichen. Vor allem frühe Nebenreaktionen wie die Diketopiperazinbildung (Abb. 3.45) sind zu vermeiden. Das freie Amin kann besonders bei Dipeptiden anstelle der gewünschten Kupplung mit der nächsten Aminosäure zur unerwünschten Diketopiperazinbildung führen. Dieses cyclische Nebenprodukt bildet sich durch intramolekulare Aminolyse unter Abspaltung vom Trägermaterial und führt zum Abbruch der Peptidsynthese (Abb. 3.45).^{[173] [174]}

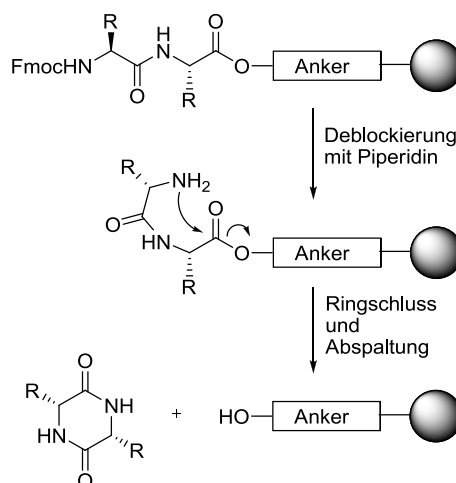


Abb. 3.45: Diketopiperazinbildung.

Zur Unterdrückung dieser Nebenreaktion wird zumeist eine sterisch anspruchsvolle Trityl-Ankergruppe verwendet, die sich auch in der Synthese mucinaler (Glyco)Peptide als wirkungsvoll erwiesen hat.^{[175] [176] [177]}

Nicht nur das Peptidrückrat kann Nebenreaktionen eingehen, sondern auch die sekundären Funktionalitäten der Aminosäuren in den Seitenketten. Die Asparaginsäure geht sowohl in freier als auch in geschützter Form im Basischen wie im Sauren eine Aspartimidumlagerung ein (Abb. 3.46). Die Entstehung des Aspartimids läuft unter basenkatalysierter Protonenabstraktion und anschließendem nucleophilen Angriff an den Carbonylsauerstoff ab. Im Verlauf der Synthese an der festen Phase kann diese Umlagerung sowohl bei der *Fmoc*-Abspaltung, als auch bei der Kupplung erfolgen.^[178] Es konnte gezeigt werden, dass bei sterisch weniger anspruchsvollen Carboxylschutzgruppen wie der Allylschutzgruppe eine weitaus größere Tendenz zur Aspartimidbildung besteht, als z.B. bei *tert*-Butyl- oder Tritylestern.^[179] Unter sauren Bedingungen kann jedoch diese Umlagerung wieder rückgängig gemacht werden, wobei dann neben dem Peptid das Isopeptid resultiert (Abb. 3.46).

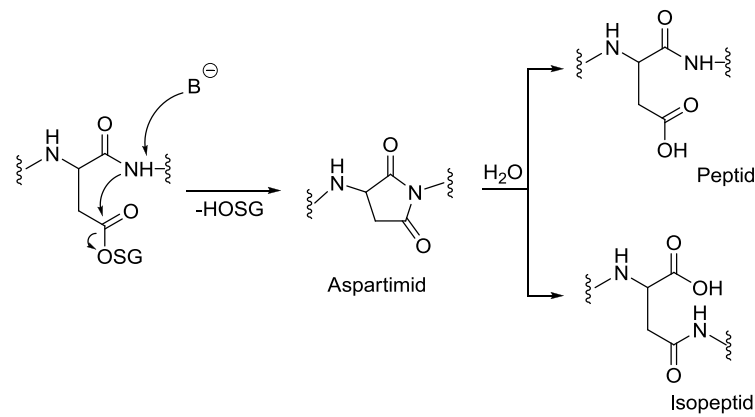


Abb. 3.46: Aspartimidumlagerung.

Nach der Diketopiperazinbildung und der Aspartimid-Umlagerung stellt die Ornithin- und δ -Lactambildung in Arginin eine weitere Möglichkeit der Nebenreaktionen dar. Bei der Kupplung mit aktivierten Carboxylfunktionen kann das nucleophile Amin in der Seitenkette unter Bildung eines Ornithinderivats acyliert werden. Des Weiteren kann der zur Kupplung von Arginin gebildete Aktivester intramolekular zum δ -Lactam reagieren, wodurch ebenfalls ein Fortschreiten der Peptidsynthese unterbunden wird.

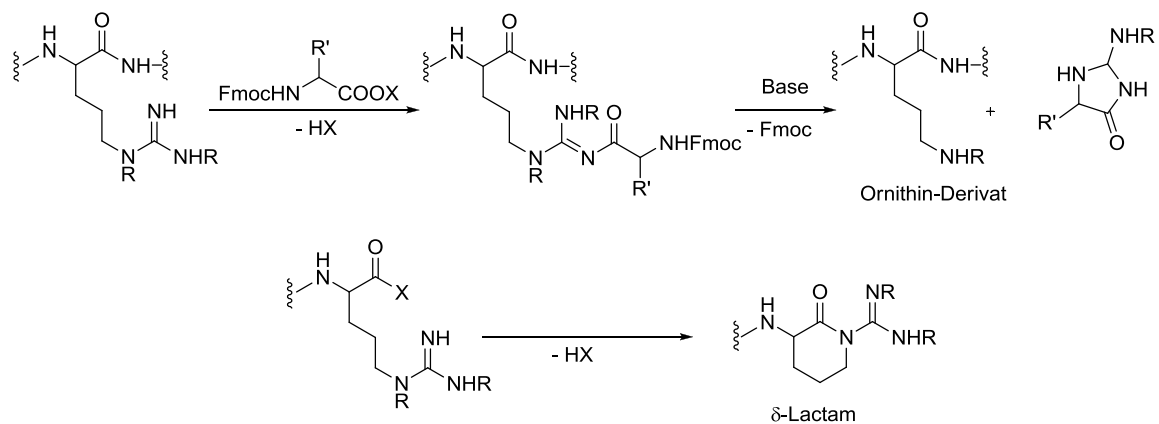


Abb. 3.47: Ornithin-Bildung in argininhaltigen Peptiden und δ -Lactambildung aktivierter Arginine.

Bei Einsatz von Sulfonylschutzgruppen, wie der acidolytisch spaltbaren 2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl-Gruppe (*Pmc*-SG) und der 2,2,4,6,7-Pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl-Gruppe (*Pbf*-SG), können diese Nebenreaktionen allerdings durch Herabsetzen der Nucleophilie der Guanidino-Gruppe zurückgedrängt werden.^[180]

Allgemeines Protokoll der Festphasen(glyco)peptidsynthese

Die automatisierte Herstellung der (Glyco)Peptide erfolgt in einem Peptidsynthesizer unter Einsatz der *Fmoc*-Strategie. Als feste Phase kommen Tentagel-Harze zum Einsatz, die eine *Fmoc*-Aminosäure-Vorbeladung aufweisen. Um ungünstige Wechselwirkungen zwischen den wachsenden Peptidketten zu minimieren, werden Harze mit einer Beladungsdichte von 0.20-0.23 mmol/g verwendet. Die Seitenketten der Aminosäuren sind mit acidolytisch spaltbaren Schutzgruppen orthogonal zum *N*-Terminus blockiert, so dass Nebenreaktionen weitgehend unterdrückt werden. Zum Schutz der Hydroxyfunktionen in Serin und Threonin sind diese mit sauer spaltbaren *tert*-Butylgruppen als Ester oder Ether versehen. Demgegenüber trägt die Guanidino-Funktion des Arginin-Bausteins eine ebenfalls sauer spaltbare 2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl-Gruppe (*Pbf*-SG), während Histidin mit der sterisch anspruchsvollen Trityl-Schutzgruppe blockiert wird (Abb. 3.48). Diese Schutzgruppen können simultan zur acidolytischen Spaltung des (Glyco)Peptids vom Polymerträger entfernt werden. Die verbleibenden Schutzgruppen der Glycanseitenkette können anschließend am freien (Glyco)Peptid gespalten werden.

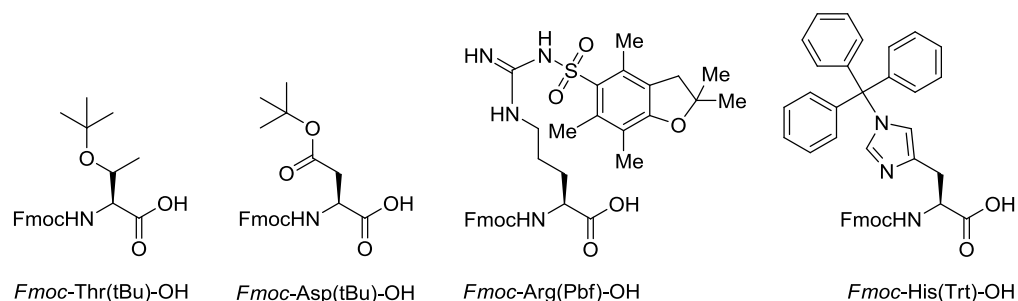


Abb. 3.48: Seitenketten Schutzgruppen von Threonin, Asparaginsäure, Arginin und Histidin.

Die Aminosäuresequenz wird durch repetitive Anbindung von *Fmoc*-Aminosäure-Derivaten im Peptidsynthesizer vollautomatisiert aufgebaut. Wie in Abb. 3.39 beschrieben, besteht jeder Schritt der Synthese aus drei grundlegenden Reaktionsarten: der Deblockierung des *N*-Terminus, der 20-30 minütigen Kupplung des aktivierten *Fmoc*-Aminosäurebausteins in zehnfachem Überschuss (1mmol) mit den Kupplungsreagenzien HBTU, HOBt und 2 mmol Diisopropylamin (*Hünigs* Base) und dem Capping-Schritt, in dem alle nicht gekuppelten Peptidstränge mit Acetanhydrid, *Hünigs* Base und HOBt zur Vermeidung von Fehlsequenzen, acetyliert werden. Die tumorassoziierten Antigen-

Bausteine werden halbautomatisch durch manuelle Aktivierung mit HATU, HOAt und *N*-Methylmorpholin als Base vorbereitet, in den Syntheseautomaten eingesetzt und binnen einer Reaktionsdauer bis zu acht Stunden gekuppelt. Nach dem Aufbau der Aminosäuresequenz erfolgt der Einbau des *Fmoc*-Triethylenglycolspacers unter den standardisierten Bedingungen der Aminosäurekupplung mit ebenfalls verlängerter Reaktionszeit von bis zu acht Stunden. Nach der finalen *Fmoc*-Deblockierung wird das Harz in einen *Merrifield*-Reaktor überführt, in Dichlormethan gequollen und mit dem aktivierten, perfluoralkylierten Ankersystem (0.2 mmol, 2.0 Äquiv. Ankersäure, HATU, HOAt und *Hünigs* Base) über einen Zeitraum von insgesamt drei Tagen gekuppelt. Die manuelle Kupplung ist notwendig, da die perfluoralkylierten Bausteine eine geringe Löslichkeit aufweisen. Anschließend erfolgt die Umsetzung mit dem Capping-Reagenz, um mögliche Probleme bei der Reinigung durch das Auftreten von Fehlsequenzen zu vermeiden. Letztlich werden alle säurelabilen Seitenkettenschutzgruppen des (Glyco)Peptids mit Trifluoressigsäure, Triisopropylsilan und Wasser (10:1:1) deblockiert und das Peptid vom Träger gespalten. Es befinden sich zu diesem späten Zeitpunkt der Synthese nur noch die Schutzgruppen auf der Glycanseitenkette, die im letzten Schritt basisch gespalten werden müssen.

Synthese eines perfluorierten amphiphilen Nonapeptids

Um die Kupplungsbedingungen zur Anbindung des perfluorierten Ankers zu testen und zu optimieren, wird ein verkürztes Nonapeptid aus der MUC1-*tandem-repeat*-Sequenz ausgewählt. Das amphiphile Peptid sollte entsprechend einer im Arbeitskreis *Kunz* entwickelten linearen Synthesestrategie dargestellt werden.^{[182] [183] [184] [134, 185]}

Hierzu wird ein Tentagel Harz mit der Beladung 0.22 mmol/g verwendet, welches eine säurelabile, sterisch anspruchsvolle Trityl-Anker-Einheit trägt und mit *Fmoc*-blockiertem Prolin beladen ist. Im ersten vollautomatisierten Schritt wird die *Fmoc*-Schutzgruppe mit 20% Piperidin in *N*-Methylpyrrolidon abgespalten. Anschließend folgten die vollautomatisierten iterativen Kupplungen der *Fmoc*-Aminosäuren unter Standardbedingungen, jeweils gefolgt von Capping-Schritten, in deren Verlauf die restlichen freien Amingruppen mit Acetanhydrid und katalytischen Mengen HOBt acetyliert werden. Die Anbindung des Spacermoleküls **38**, weicht lediglich in der Kupplungsdauer (acht Stunden) vom herkömmlichen Protokoll ab. Der perfluoralkylierte Anker **31a** wird manuell im *Merrifield*-Reaktor durch einen mit HATU/HOAt aktivierten Säureester gekuppelt. Die Schwierigkeiten der Anbindung dieser Systeme mit drei verhältnismäßig langen Fluoralkylketten resultieren aus der geringen Löslichkeit dieser Verbindungen in den zur Amidbildung typischerweise eingesetzten Lösungsmitteln wie z.B. Dimethylformamid oder *N*-Methylpyrrolidon. Erst der Einsatz von Lösungsmittelgemischen führt zum gewünschten Ergebnis. So kann diese Kupplung in einem ternären Lösungsmittelgemisch aus Chloroform, Dimethylformamid und Dioxan vollzogen werden. Dadurch kann der perfluorierte Anker erstmals in ein Nonapeptid **62** der *tandem-repeat*-Sequenz des Mucins MUC1 integriert werden (Abb. 3.49).

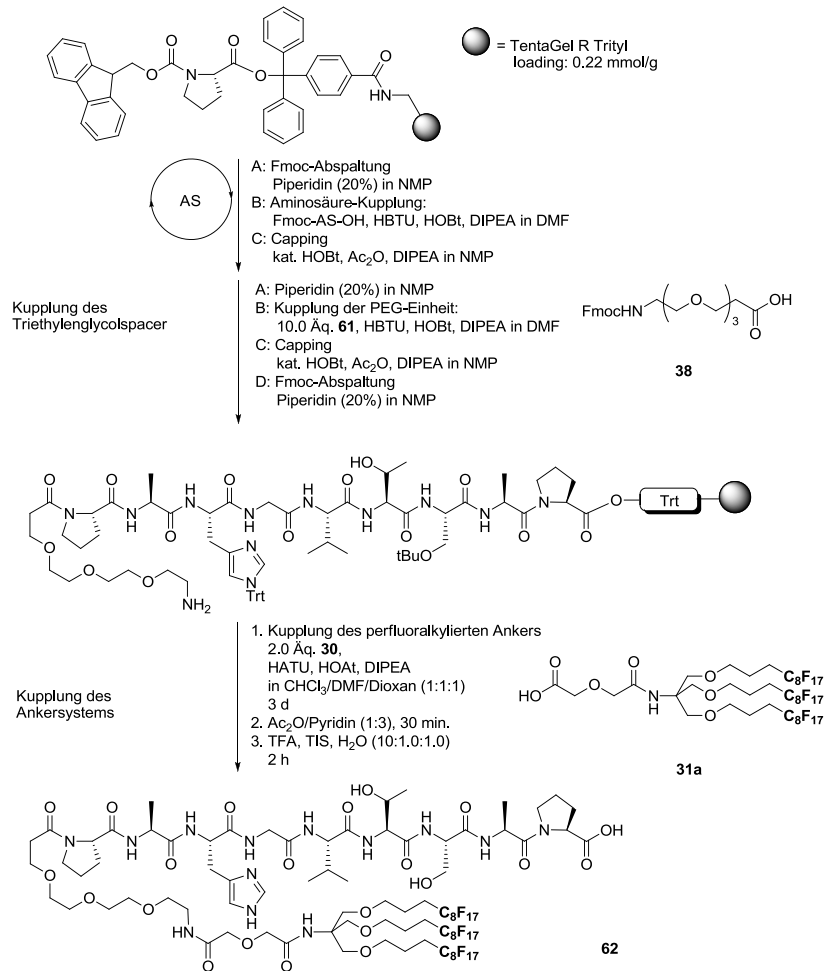


Abb. 3.49: Synthese des Modellpeptids **62** aus der tandem-repeat-Domäne von MUC1.

Die Abtrennung von Fehlsequenzen und nicht flüchtigen Schutzgruppen zur Reinigung des Peptids, stellt bei solch komplexen Strukturen wie z.B. **62** eine Herausforderung dar. Typischerweise werden Peptidgemische mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt, obwohl dieses Verfahren sicherlich zeit-, geräte- und lösungsmittelintensiv ist und häufig bei fluorigen Verbindungen aufgrund der niedrigen Trennfaktoren keine ausreichenden Trennungen liefert. Zudem führt die schlechte Löslichkeit bzw. hohe Aggregationstendenz dieser Verbindungen meist zu signifikanten Substanzverlusten.

Demgegenüber macht sich die von Curran^[186] entwickelte fluorige Festphasenextraktion (*Fluorous Solid Phase Extraction*, F-SPE) die speziellen Eigenschaften fluoriger Verbindungen, wie die Lipophobie und Hydrophobie zunutze (Abb. 3.50). Als feste Phase kommt ein Perfluorooctylethylsilyl-Kieselgel (Si(CH₂)₂C₈F₁₇) zum Einsatz, mit dessen Hilfe sich schnell und einfach alle fluorierten Verbindungen von den nicht-fluorierten Verbindungen abtrennen lassen. Diese fest-flüssig Extraktion ist im eigentlichen Sinne

eine Filtrationsmethode, die die Wechselwirkungen der stationären Phase mit den Fluorketten, idealerweise C_8F_{17} -Ketten, ausnutzt und in drei Schritten erfolgt: als erstes erfolgt die Beladung des Kieselgels mit dem Rohprodukt in möglichst wenig organischem Lösungsmittel. Die fluorophobe Elution mit wässrigen Gemischen aus Methanol, Acetonitril und Dimethylformamid findet im zweiten Schritt statt, wobei alle unfluorierten Substanzen vom Kieselgel gewaschen werden und nur fluorierte Verbindungen zurück bleiben. Drittens folgt die fluorophile Waschung der festen Phase mit z. B. Methanol oder Tetrahydrofuran, wodurch alle fluorigen Verbindungen eluiert werden. Schließlich kann das fluorierte Kieselgel mit Aceton regeneriert und mehrmals wiederverwendet werden.^[187]

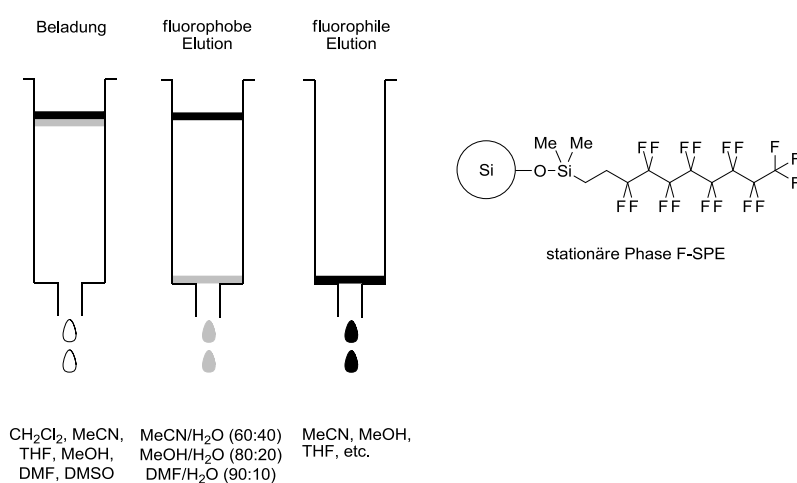


Abb. 3.50: Schematische Darstellung der Fluorigen Festphasenextraktion.^[187]

Die Reinigung von Nonapeptid **62** durch F-SPE wird abweichend vom Standardprotokoll durchgeführt. Da sich das Peptid in den gängigen Lösungsmitteln zur Beladung nicht löst, wird das perfluorierte Amphiphil mit einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol/Wasser (80:20) auf das F-Kieselgel aufgetragen. Nach fluorophober Spülung mit Methanol/Wasser (80:20) kann **62** durch fluorophile Elution mit Methanol und 0.1% Trifluoressigsäure von der F-SPE-Säule gespült und nach Lyophilisation charakterisiert werden. Exemplarisch sind hier das ^{19}F -NMR-Spektrum und das analytischen HPLC-Chromatogramm angeführt. Letzteres zeigt ausschließlich ein Produktsignal bei einer Retentionszeit von 31.3 Minuten, dem die Resonanzsignale im ^{19}F -NMR eindeutig zugeordnet werden können. (Abb. 3.51).

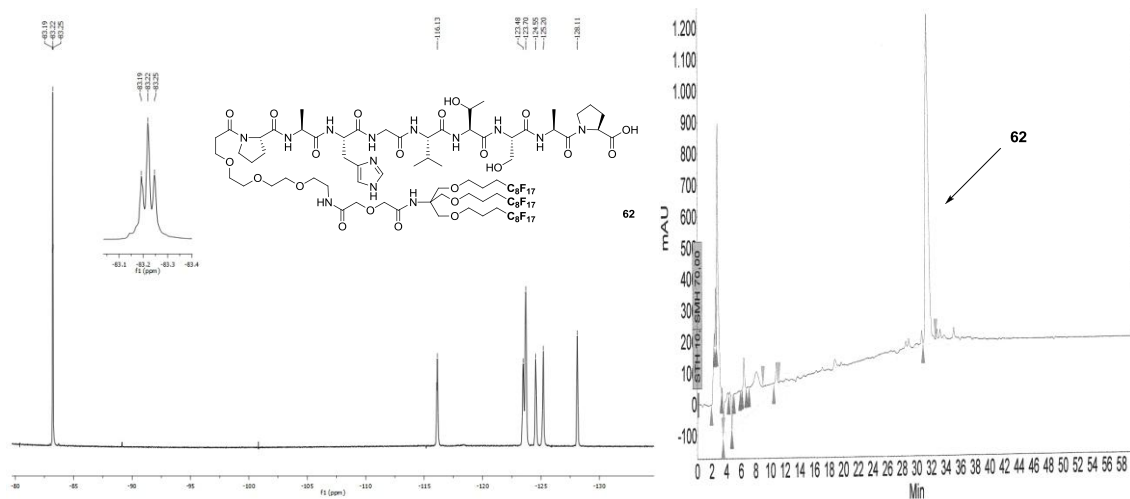


Abb. 3.51: ^{19}F NMR (links) und analytisches RP-HPLC Chromatogramm (rechts) von Nonapeptid **62** nach Reinigung mit F-SPE.

Synthese von perfluorierten amphiphilen Glycopeptiden

Mit Hilfe der zuvor beschriebenen Methode zur Anbindung perfluoralkylierter Ankersysteme an Peptide werden im Folgenden drei amphiphile Glycopeptide synthetisiert. Die Wahl des Glycosylierungsmusters geht auf Arbeiten von Kunz^[188] und Mitarbeiter zurück. Sie untersuchten die Antikörperbildung in Mäusen, die mit MUC1-Glycopeptid-Protein-Konjugaten als Vakzine immunisiert wurden. Dabei stellte sich heraus, dass schon eine Anbindung von einfachen Zuckerbausteinen, wie dem T_N-Antigen in der immundominanten PDTRP-Domäne des Mucins MUC1, die Immunogenität herabsetzt. Hingegen kann eine spezifische humorale Immunantwort durch die Konstruktion eines vollsynthetischen Vakzins erzeugt werden, welches die komplette *tandem-repeat*-Sequenz des MUC1 besitzt und an den Stellen Thr6 und/oder Thr18 mit Kohlenhydratantigenen wie dem Sialyl-T_N-Antigen und/oder dem T_N-Antigen glycosyliert ist. Analog zu diesen Glycopeptidkonjugaten sollen drei perfluoralkylierte Glycotenside synthetisiert werden, in denen sich das tumorassoziierte T_N Antigen an Thr18 und/oder Thr6 befindet. Die immundominante PDTRP-Domäne soll dabei ebenfalls unglycosyliert bleiben und über einen nicht-immunogenen Spacer mit dem perfluorierten Anker verbunden werden.

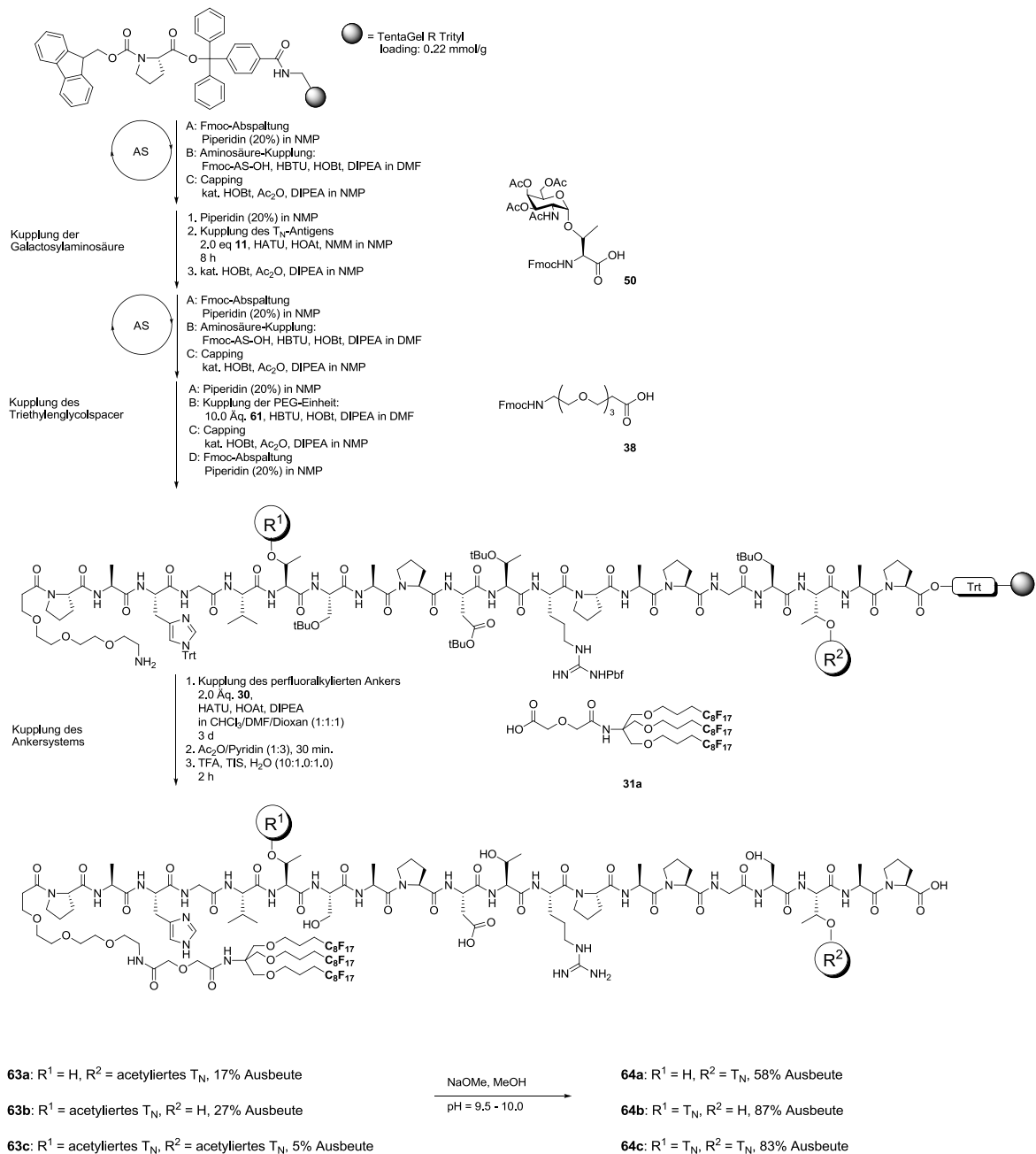


Abb. 3.52: Festphasenpeptidsynthese der amphiphilen Glycopeptide **64a-c**.

Als Bausteine zur vollautomatisierten Festphasenpeptidsynthese dienen *Fmoc*-Aminosäuren, welche nach der standardisierten *Fmoc*-Strategie eingeführt werden. Hierzu wird das *Fmoc*-Prolin-funktionalisierte Trityl-Harz^{[189] [190] [191]} deblockiert und anschließend repetitiv die gewünschten ersten Aminosäurebausteine gekuppelt, bevor der Galactosamin-Baustein **50** eingebaut wird. Das sterisch anspruchsvolle tumorassoziierte T_N-Antigen wird in acetylierter Form halbautomatisch mit den reaktiveren Kupplungsreagenzien HATU/HOAt und *N*-Methylmorpholin (NMM) in *N*-

Methylpyrrolidon (NMP) aktiviert und über einen Zeitraum von insgesamt acht Stunden in die Peptidkette eingebaut.^[191] Nach *Fmoc*-Deblockierung durch Piperidin in NMP werden die folgenden beiden Aminosäuren an Ser17 und Gly16 und/oder an Val5 und Gly4 doppelt gekuppelt, um eine möglichst gute Anbindung an den *N*-Terminus des Zuckerbausteins zu erzielen. Die restlichen Aminosäuren werden in gewohnter Weise gekuppelt bevor der *Fmoc*-Triethylenglycolspacer^[32] **38** als weiterer Baustein unter verlängerter Reaktionszeit angebunden wird. Der Perfluoralkylanker terminiert die Peptidsequenz und wird manuell im *Merrifield*-Glasreaktor in einer Lösungsmittelmischung aus Chloroform/ Dimethylformamid/Dioxan mit den Kupplungsreagenzien HATU/HOAt und DIPEA als Base umgesetzt. Anschließend saure Abspaltung vom Träger mit Trifluoressigsäure/Triisopropylsilan/Wasser führt zu den mono- und diglycosylierten Glycolipopeptiden **63a-c**, die nach fluoriger Festphasenextraktion mit Methanol und 0.1% Trifluoressigsäure in Ausbeuten von 17%, 27% und 5% isoliert werden. Zuletzt wird mit katalytischen Mengen an Natriummethanolat in Methanol bei einem pH-Wert von 9.5-10.0 deacetyliert und die Glycotenside **64a-c** durch F-SPE gereinigt. Die monoglycosylierten Amphiphile können in Ausbeuten von 58% und 87% erhalten werden und das diglycosylierte Konjugat in 83%. Die Amphiphile werden mit RP-HPLC, HR-ESI und MALDI-TOF Massenspektrometrie (Abb. 3.54) sowie ¹H-, ¹³C-, ¹⁹F-NMR-Spektroskopie analysiert. Die charakteristischen Protonensignale des perfluorierten Ankers sind im ¹H-NMR bei einer Verschiebung von 4.05 und 4.01 ppm für die beiden Methyleneinheiten OCH₂CO und OCH₂CONH als zwei benachbarte Singulets leicht zuzuordnen.

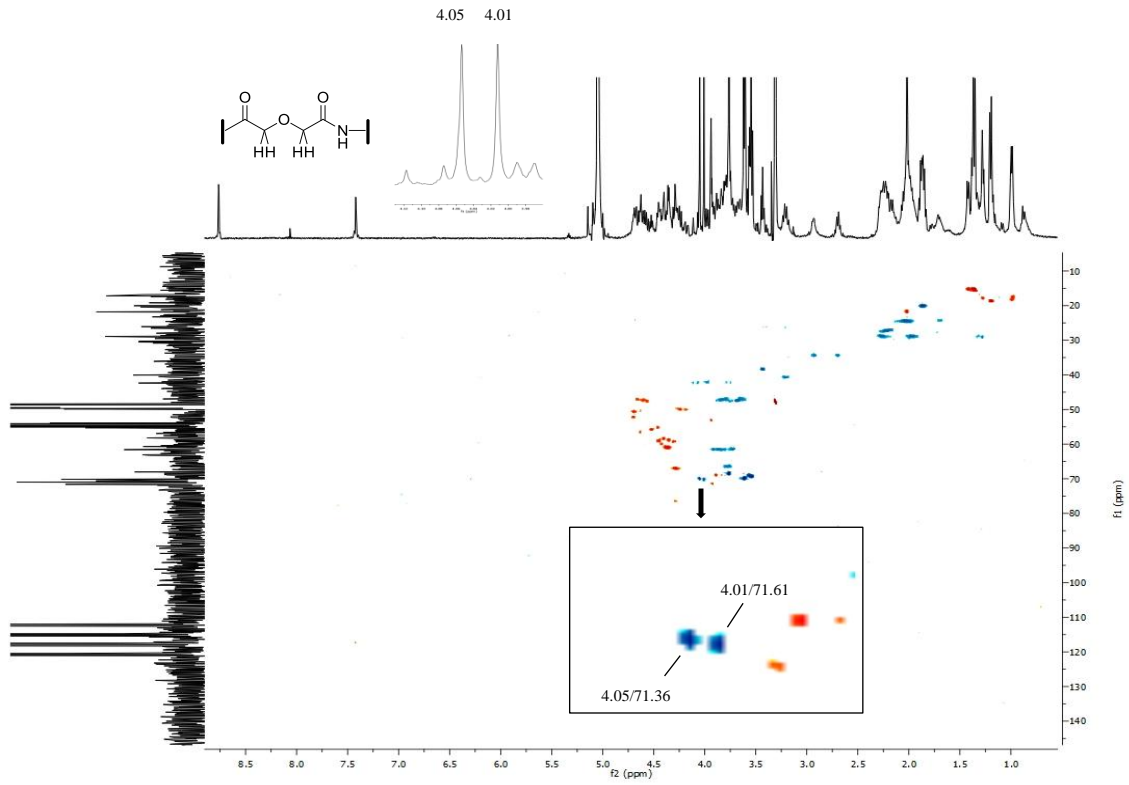


Abb. 3.53: HSQC-NMR (400 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%)) Spektrum von **64b**.

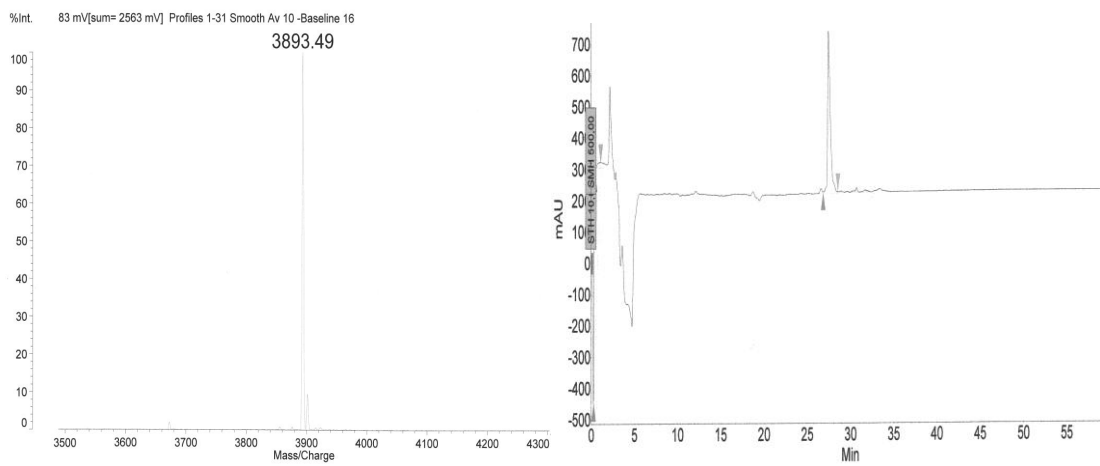


Abb. 3.54: MALDI-TOF Massenspektrum (links) und RP-HPLC Chromatogramm (rechts) von **64b** nach F-SPE..

Zur Stabilisierung der Membranen und zur Herabsetzung der Phasenübergangstemperatur werden nach dem Syntheschema in Abb. 3.55 gemischt perfluorierte/alkylierte Membranankersysteme an die glycosylierte MUC1-Sequenz angebunden.

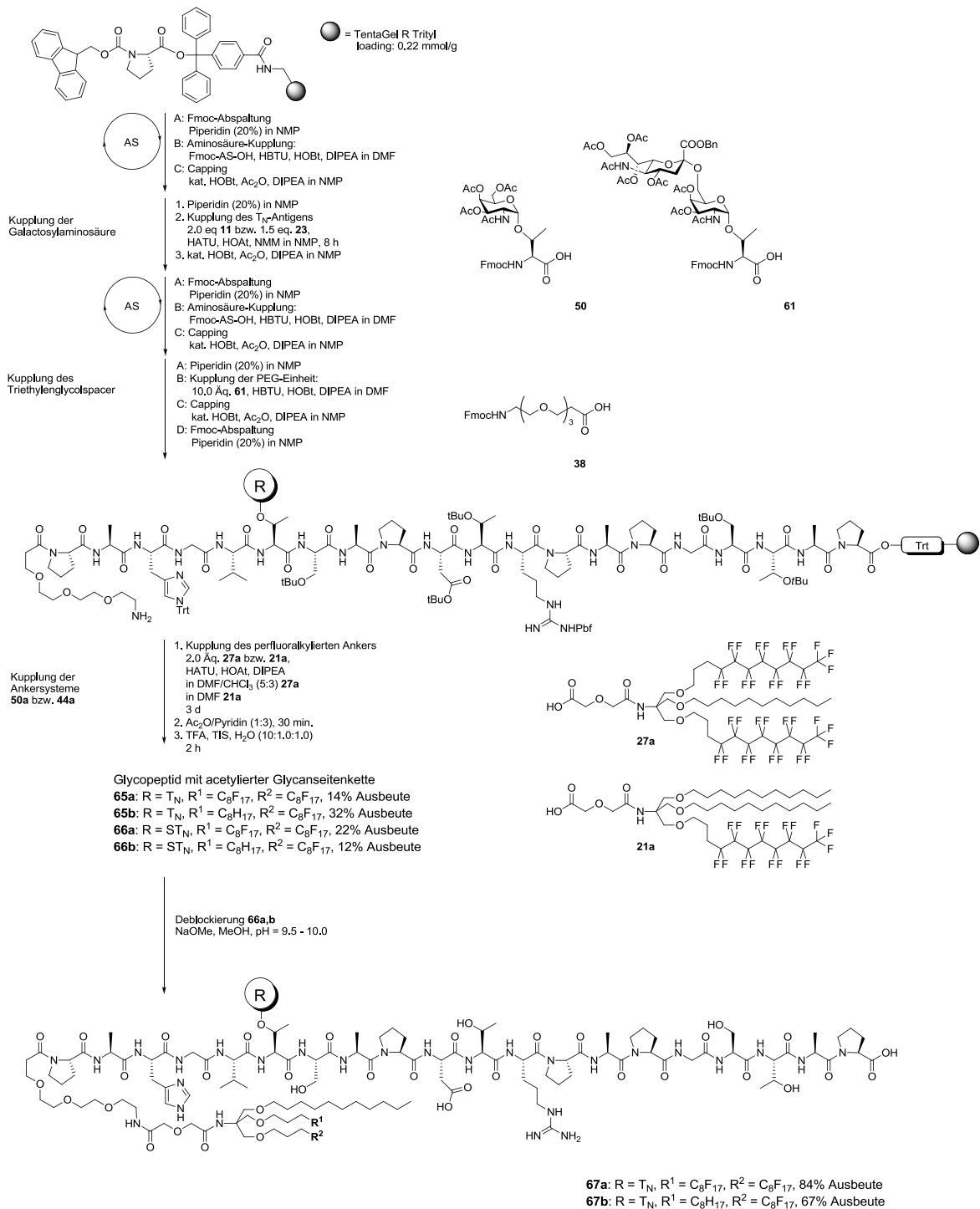


Abb. 3.55: Synthese der gemischt perfluorierten Glycolipopeptide.

Das mit Fmoc-Pro vorbeladene TentaGel R-Trityl-Harz dient in der Synthese der gemischt perfluorierten Amphiphile als polymerer Träger. Die Aminosäuren der MUC1-Sequenzen werden durch das standardisierte *Fmoc*-Protokoll gekuppelt. Die Antigen-Bausteine **50** (2.0 Äquiv. bzgl. der Beladung des Harzes) und **61** (1.5 Äquiv. bzgl. der Beladung des Harzes) werden erneut bis zu den Glycosylaminosäure-Bausteinen unter Verwendung von HATU/HOAt und *N*-Methylmorpholin als Base in *N*-Methylpyrrolidon zur Amidbindung umgesetzt. Die beiden folgenden Aminosäuren (*Fmoc*-Val und *Fmoc*-Ala) werden doppelt gekuppelt, bevor die restlichen drei Aminosäuren und der Triethylglycolspacer nach dem Standardprotokoll angefügt werden. Im letzten Schritt des Sequenzaufbaus werden die zweifach und einfach perfluoralkylierten Anker angebunden. Dabei muss eine Variation des Lösungsmittels erfolgen, um die Löslichkeit der Perfluorverbindungen **27a** und **21a** zu gewährleisten. Das Ankersystem mit zwei Perfluorocetylketten **27a** wird schließlich in einer Lösungsmittelzusammensetzung aus Dimethylformamid/Chloroform im Verhältnis 5:3 gekuppelt, wohingegen der Perfluorocetylanker mit nur einer F-Kette in reinem Dimethylformamid löslich ist. Beide Ankersysteme werden mit HATU/HOAt und Diisopropylethylamin als Base aktiviert. Auf diesem Wege können die komplexen Glycolipoptide mit peracetyliertem T_N-Antigen **65a** und **65b** in Ausbeuten von 14% und 32% und jene mit vollständig blockiertem ST_N-Antigen **66a** und **66b** in Ausbeuten von 22% und 12% nach fluoriger Festphasenextraktion gewonnen werden.

Die Isolation dieser gemischt perfluorierten Konjugate durch fluorige Festphasenextraktion kann nicht nach dem zuvor entwickelten Verfahren bewerkstelligt werden. Auf Grund des abnehmenden perfluorierten Anteils in den Ankersystemen von **66a** zu **66b** werden diese Amphiphile schon bei der fluorophoben Elution mit Methanol/Wasser (80:20) von dem F-Kieselgel gewaschen. Um dies zu vermeiden wird der Anteil an Methanol sukzessive verringert und die Fraktionen werden durch analytische HPLC überwacht. Falls in der fluorophoben Elution Produktpeaks zu identifizieren sind, wird die Menge an Methanol nochmals verringert, um eine verfrühte Elution der F-Konjugate zu vermeiden. Dagegen wird bei Produktgemischen in der fluorophilen Elution die Menge an Methanol erhöht um organische Verunreinigungen zuvor zu entfernen. Nach dieser Optimierung lassen sich letztendlich für die F-SPE folgenden Lösungsmittelgemische als geeignet identifizieren: 70:30 Methanol/Wasser für **66a** und 50:50 Methanol/Wasser für **66b**.

Im letzten Schritt der Synthese werden die Glycanseitenketten deblockiert. Hierzu werden die Glycopeptide mit katalytischen Mengen an Natriummethanolat in Methanol unter Zemplén^[133] Bedingungen umgesetzt. Die gemischt perfluorierten T_N-Konjugate **67a** und

67b können so in Ausbeuten von 14% und 32% synthetisiert werden. Im Gegensatz dazu können die Schutzgruppen der sialylierten Konjugate **66a** und **66b** nicht entfernt werden. Der Versuch der simultanen Deblockierung des Benzylesters und der *O*-Acetylschutzgruppen mit wässriger Natriumhydroxid-Lösung bei einem pH-Wert von 11.5 führte nur zur Rückgewinnung des Edukts. Die Versuche durch hydrogenolytische Spaltung des Benzylesters und anschließende Umesterung nach Zemplén^[133] verliefen ebenfalls nicht erfolgreich und führten nicht zum gewünschten Produkt.

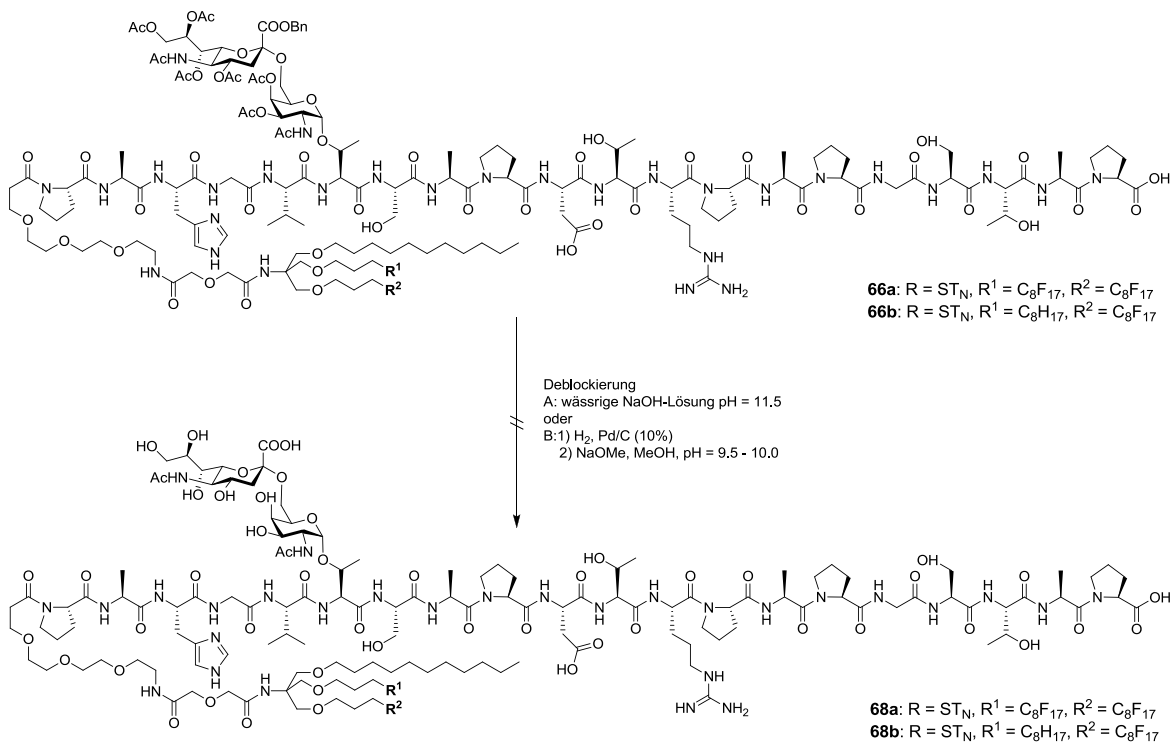


Abb. 3.56: Versuch zur Deblockierung der sialylierten Konjugate **66a** und **66b**.

3.5 Untersuchungen der Lipidschichten

Langmuir-Blodgett-Trog

Die Entmischungsstudien der lateral ausgedehnten Lipidschichten wurden von P. Scheibe im Arbeitskreis Zentel in einem Langmuir-Blodgett-Trog durchgeführt.^[192] Hierzu werden die in einem organischen Lösungsmittel aufgenommene Amphiphile auf einer Subphase aus Reinstwasser oder einer Pufferlösung im lateral komprimierbaren Trog gespreitet. Nach Verdunsten oder Abtauchen des organischen Lösungsmittels in der Subphase resultiert eine monomolekulare Molekülschicht, bei der sich die Lipide wie folgt ausrichten: die polaren Kopfgruppen zeigen in die Richtung der wässriger Phase, während der lipophile Teil zur Gasphase zeigt.

Mit Hilfe der so hergestellten Lipidschicht lässt sich dann der Lateraldruck in Abhängigkeit von der Fläche bestimmen. Die Langmuir-Isothermen beschreiben die Abhängigkeit des Drucks als Funktion der Fläche pro Molekül, wenn eine laterale Kompression bei konstanter Temperatur auf die gespreitete Lipidmonolage wirkt. Dadurch lassen sich Aussagen über das Phasenverhalten in lateral ausgedehnten Lipidschichten treffen. In Abb. 3.57 ist eine durch Kompression der Monoschicht aufgenommene Isotherme mit den charakteristischen Lipidausrichtungen schematisch dargestellt.

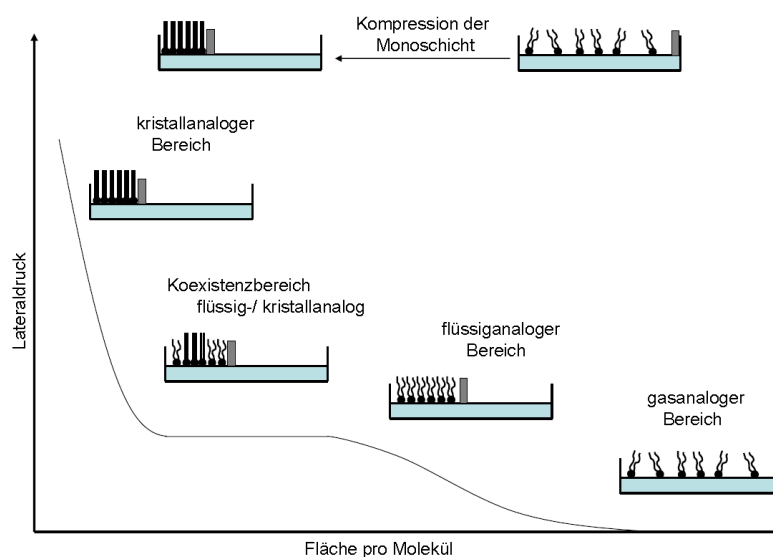


Abb. 3.57: Schematische Darstellung der Langmuir-Isotherme im Schub-Flächen Diagramm.^[193]

Bei geringen Drücken und ausgedehnter Fläche findet eine geringe Interaktion der Moleküle statt. In Analogie zum Fall des idealen Gases bezeichnet man diesen Bereich daher als gasanalogen Bereich. Durch laterale Kompression wird die Fläche, die der Lipidschicht zur Verfügung steht verkleinert und es treten zunehmend intermolekulare Wechselwirkungen auf, wobei noch keine Ordnung innerhalb der Lipide existiert. Dieser flüssiganaloge Bereich wird weiter komprimiert und geht in einen Koexistenzbereich aus flüssiger und kristalliner Phase über, der idealerweise durch einen konstanten Lateraldruck charakterisiert ist. Durch weitere Minimierung der Fläche steigt der Druck stetig an, was auf die Ausbildung eines rigiden kristallanalogen Bereichs zurückzuführen ist. Wird die Kompression fortgesetzt, so führt dies zum Kollaps der Lipidmonoschicht und es kann der charakteristische Kollaspunkt detektiert werden. Am Kollaspunkt liegen die Lipide kristallanalogen Bereich als dichteste Packung vor und es lässt sich eine Aussage über deren minimalen, lateralen Flächenbedarf treffen. Neben der Aufnahme von Isothermen zur Charakterisierung der einzelnen Phasen an der Wasser-Luft-Grenzfläche können die Monoschichten in situ durch Brewsterwinkel-Mikroskopie (*brewster angle microscopy*, BAM) bei entsprechenden Drücken abgebildet werden.^[194] Eine weitere Methode zur Visualisierung der Lipidmonoschichten stellt die Rasterkraftmikroskopie (*atomic force microscopy*, AFM) dar.^[195] Hierzu müssen die Monoschichten bei konstantem Druck (Transfer- bzw. Übertragsdruck) auf ein geeignetes Trägermaterial übertragen werden (vgl. Abb. 3.58).

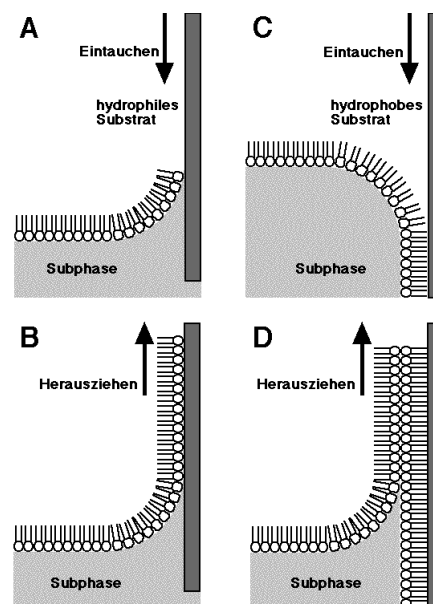


Abb. 3.58: Schematische Darstellung des Langmuir-Blodgett-Übertrags: (A) Beim Eintauchen eines hydrophilen Substrates wird kein Film übertragen. (B) Beim Herausziehen desselben Substrates resultiert eine Monoschicht. (C) Übertrag einer Monoschicht auf ein hydrophobes Substrat durch Eintauchen. (D) Beim Herausziehen desselben Substrates resultiert eine zweite Monoschicht.^[196]

Durch senkrechtetes Eintauchen eines hydrophilen Substrats (z. B. Glimmer) bis in die wässrige Subphase (Abb. 3.58 A) adsorbieren die hydrophilen Kopfgruppen am Träger und es kann so ein exaktes Abbild der lipiden Monoschicht übertragen werden, um mikroskopische Untersuchungen durchzuführen. Wie in Abb. 3.58 C und D dargestellt, ist es ebenso möglich mit dieser Technik auch mehrere Lipidschichten auf das Substrat zu übertragen, allerdings wurden im Rahmen dieser Arbeit von P. Scheibe nur Monoschichtübertrage am Rasterkraftmikroskop untersucht.

Schub-Flächen-Diagramme

Im ersten Schritt der Untersuchungen am Langmuir-Blodgett-Trog, durch P. Scheibe aus dem Arbeitskreis *Zentel*, wird das Phasenseparationsverhalten eines polymerisierbaren und zwei perfluoralkylierter Lipide charakterisiert werden. Hierzu kommt neben DODAMA^[193] **70** der perfluorierte TRIS-Membrananker mit einem *N*-terminalen Polyethylenglycospacer **69** als Kopfgruppe bzw. das entsprechende Glycolipopeptid **64a**, das eine *tandem repeat*-Einheit des Mucins MUC1 als Kopfgruppe trägt zum Einsatz. In Abb. 3.59 sind die Isothermen der reinen Lipide dargestellt.

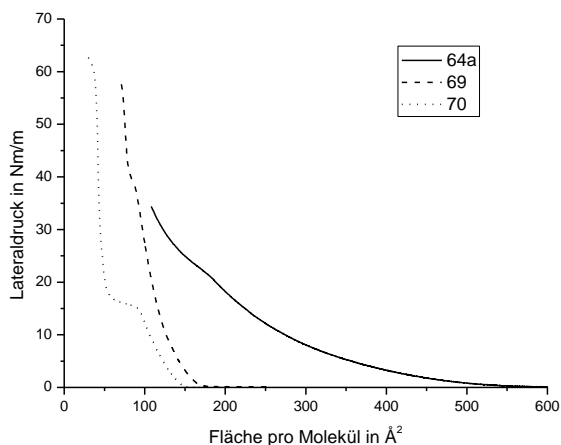
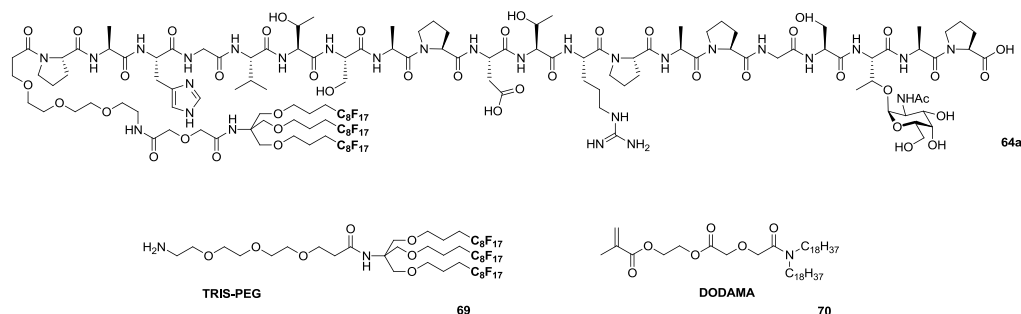


Abb. 3.59: Druck-Fläche Isotherme der reinen Lipide bei 25 °C.

Die flüssiganaloge Phase des polymersisierbaren Dioctadecans **70** liegt zwischen 150 \AA^2 und 90 \AA^2 . Bei diesem Druck beginnt der Koexistenzbereich, indem die ersten kristallanalogen Domänen aus einer flüssiganalogen Matrix entstehen. Bei einem Flächenbedarf von ca. 55 \AA^2 und einem Druck von 17 Nm/m geht die Isotherme in einen kristallanalogen Bereich über und steigt bei weiterer Kompression sehr stark an. Die Monoschicht kollabiert am Kollapsunkt von 60 Nm/m und einem Flächenanspruch pro Molekül von ca. 40 \AA^2 , was einem mittleren Raumanpruch zweier Alkylketten entspricht.^{[197] [198]}

Die flüssiganaloge Phase des TRIS-PEG **69**^[197] tritt bei einem lateralen Druck von ca. 170 \AA^2 ein und erreicht ein Plateau mit Phasenübergang bei einem Flächenbedarf von 90 \AA^2 . Die Monoschicht des reinen **69** kollabiert bei einem Druck von 58 \AA^2 was in diesem Fall einem Flächenbedarf von 90 \AA^2 pro Molekül entspricht. Der laterale Raumanpruch steht somit in guter Übereinstimmung mit dem erwarteten Flächenbedarf für drei Perfluorketten von etwa 30 \AA^2 pro Kette.^{[199] [200] [201]} Durch weiter laterale Kompression kommt es jedoch vorerst nicht zum erwarteten Kollaps der Schicht, vielmehr es ist eine weitere Minimierung bis zu einem Druck von 72 \AA^2 möglich. Eine Erklärung hierfür könnte die repulsiven Fluor-Fluor-Wechselwirkungen liefern, denn dadurch bildet sich in der Fluoralkylkette eine helikale Konformation aus, die im Gegensatz zur *all-trans* Konformation der CH-Ketten eine deutlich dichtere Packung zulässt.^{[202] [60]}

Die laterale Kompression des Glycolipids **64a** beginnt mit einer ausgedehnten flüssiganalogen Phase bei einem lateralen Flächenbedarf von 560 \AA^2 pro Molekül. Der hohe Flächenbedarf und die ausgedehnte flüssig analoge Phase sind durch die raumfüllende Kopfgruppe begründet. Die Größe der hydrophilen Kopfgruppe führt zur Wechselwirkung der Moleküle untereinander und somit zu einem frühen und ausgedehnten flüssig analogen Bereich. Bei einem Flächenbedarf von 175 \AA^2 befindet sich der Koexistenzbereich. Der Kollapsunkt tritt bei einer mittleren Fläche von 110 \AA^2 und einem Druck von ca. 44 Nm/m ein. Die Stabilitäten der gebildeten Monoschichten zeigen, dass **69** und **70** mit kleineren Kopfgruppen stabilere Schichten bilden und mit Lipid **64a** eine instabilere Monoschicht resultiert. Um daher die tumorassoziierten Antigene in stabile Membranen einzubinden, müssten diese Erkennungsstrukturen in binären oder ternären Mischungen aus perfluoralkylierten und alkylierten Lipiden eingesetzt werden.

Um erste Einblicke in das Phasenseparationsverhalten dieser Lipide zu bekommen werden binäre Mischungen aus TRIS-PEG als Perfluoralkylkomponente und polymerisierbarem DODAMA als Alkylkomponente untersucht. In Abb. 3.60 sind die resultierenden

Isothermen bei 25 °C unter sukzessivem Zusatz von ca. 10 mol% **69** zu **70** dargestellt (Mischungen aus 89%, 69%, 55%, 33% und 21% TRIS-PEG werden hier wegen der Übersichtlichkeit nicht angeführt, jedoch für die Abhängigkeit nach *Gains* (Abb. 3.61) berücksichtigt).

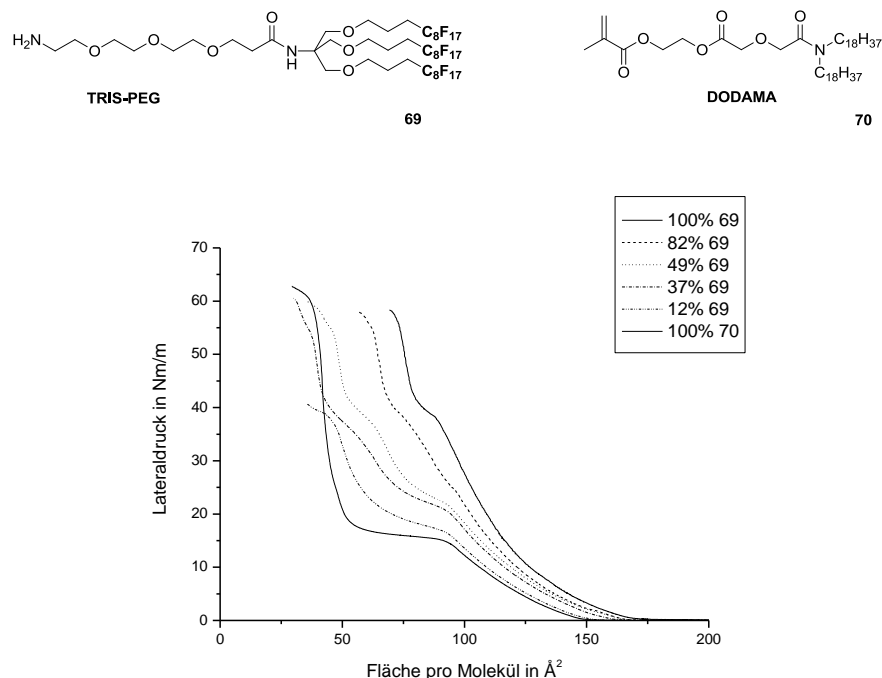


Abb. 3.60: Druck-Fläche Isotherme der binären Mischungen aus TRIS-PEG und DODAMA bei 25 °C

Die binären Mischungen zeigen einen charakteristischen Verlauf der Isothermen. Der mittlere Flächenbedarf der Lipidmischungen steigt mit zunehmendem Anteil der perfluorierten Verbindung an, da eine perfluorierte Kette ungefähr das 1.5-fache der Fläche einer Alkylkette einnimmt. Das charakteristische Plateau von Lipid **70** findet sich in allen Lipidmischungen wieder und ist ein erster Hinweis auf eine partielle Mischbarkeit der alkylierten und perfluoralkylierten Lipide.

Die Mischbarkeit der beiden Komponenten kann nun näher durch die Änderung des Flächenbedarfs pro Molekül in Abhängigkeit von der Mischungszusammensetzung untersucht werden. Folgen die Werte einem linearen Zusammenhang, und damit dem Additivgesetz nach *Gains*,^{[203] [204] [205]} handelt es sich um perfekt gemischte bzw. entmischte Lipidzusammensetzungen. In Abb. 3.61 ist der Molenbruch von **69** gegen den Flächenbedarf aufgetragen.

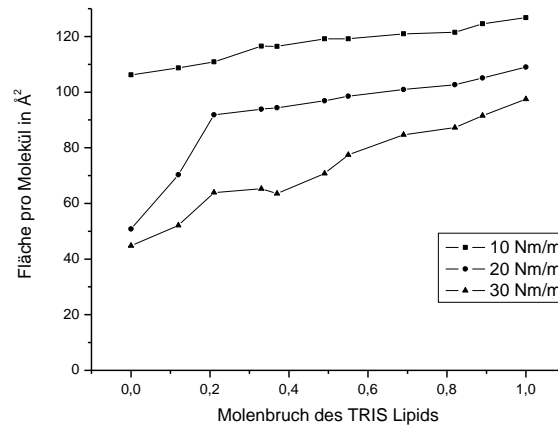


Abb. 3.61: Anwendung des Additivgesetzes für die binären Mischungen aus **69** und **70**.

Im Bereich der flüssiganalogen Phase bei geringen Drücken (10 Nm/m) und höheren Drücken (30 Nm/m) im überwiegend kristallanalogen Bereich kann eine gute Übereinstimmung mit dem linearen Verlauf des Additivgesetzes festgestellt werden. Somit ist die Mischung aus **69** und **70** vollständig gemischt bzw. entmischt. Im Koexistenzbereich der flüssig- und kristallanalogen Phase bei einem Druck von 20 Nm/m kann eine starke Abweichung vom linearen Verlauf verzeichnet werden. Bei ca. 20 mol% **69** tritt eine starke Abweichung vom linearen Verlauf ein, was auf ein partielles Mischen der beiden Lipide hindeutet. Es kann festgehalten werden, dass die Verwendung eines binären Systems aus Lipid **69** und Lipid **70** zu einer partiellen Mischbarkeit in der flüssiganalogen Phase führt, was sich günstig auf die Bildung von kleinen Domänen in der Lipidmatrix auswirkt.

Eine Stabilisierung der Monoschicht aus einem binären System von **DODAMA** und **64a** konnte nicht realisiert werden und folglich wird eine ternäre Lipidmischung untersucht. Durch dieses ternäre System kann das perfluorierte MUC1-Amphiphil **64a** in einer Matrix aus perfluorierten Lipid **69** verdünnt werden. Die Entmischung und die daraus resultierende lokale Konzentration der tumorassoziierten Antigene werden dann durch ein drittes Alkyl lipid bewerkstelligt. Im Falle der ternären Mischung aus 88% des polymerisierbaren **DODAMA 70**, 10% des perfluorierten **69** und 2% des Glycolipids **64a** wird eine Isotherme erhalten, die erwartungsgemäß in etwa der der binären Mischung aus **69** und **70** entspricht und einen breiten flüssiganalogen Bereich aufweist. In Abb. 3.62 ist die Isotherme der ternären Mischung mit den Brewster-Winkel Aufnahmen der entsprechenden Lateraldrücke dargestellt. Die Kristallisation von **DODAMA** beginnt bei

einem Druck von 13 mN/m und wächst mit weiterer lateraler Kompression an. Bei einem Druck von 20 mN/m liegt die mittlere Größe der sternförmigen kristallinen Bereiche bei ca. 50 μm , was vergleichbar mit der binären Mischung aus **69** und **70** ist. Die rasterkraftmikroskopischen Bilder zeigen diesen Bereich bei 20 mN/m noch etwas detaillierter und auch hier kann eine vergleichbare Feinstruktur der kristallinen Bereiche mit denen der binären Mischung gefunden werden.^[197]

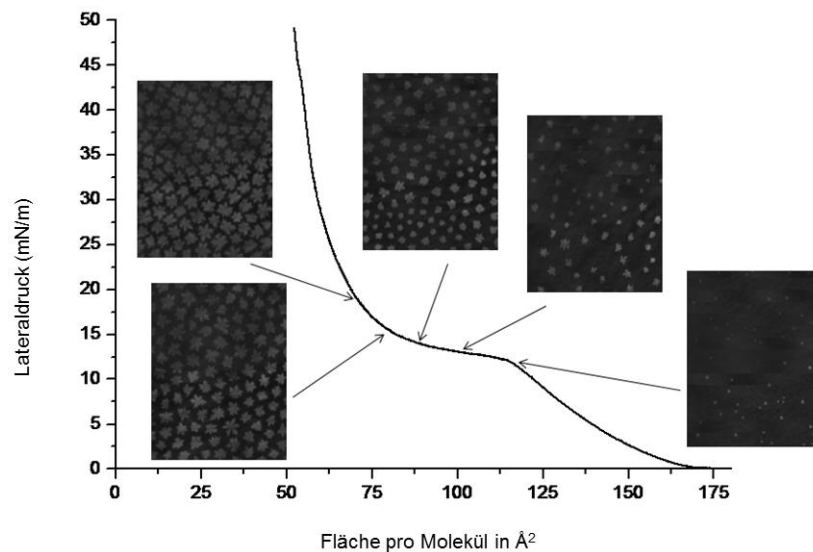


Abb. 3.62: Druck-Fläche Isotherme der ternären Mischung der 70/69/64a (88%, 10% und 2%) bei 25 °C. Die erhaltenen BAM Bild (500 × 400 μm) wurden bei durch Pfeilen markierten Lateraldrücken aufgenommen (Abb. zur Verfügung gestellt von P. Scheibe).

Für geringe Konzentrationen der F-Lipide kann sowohl in der binären als auch in der ternären Mischung ein vergleichbares Kristallisationsverhalten gefunden werden. Somit können die Antigenomänen nicht nur durch den Lateraldruck sondern auch durch die Variation der Mischungszusammensetzung kontrolliert werden. Es stellt sich nun die Frage, ob das Glycolipid in der ternären Mischung eine Antigen-Antikörper-Wechselwirkung erlaubt und ob diese Wechselwirkungen spezifisch sind. Aus diesem Grund werden QCM-Experimente^[206] durchgeführt.

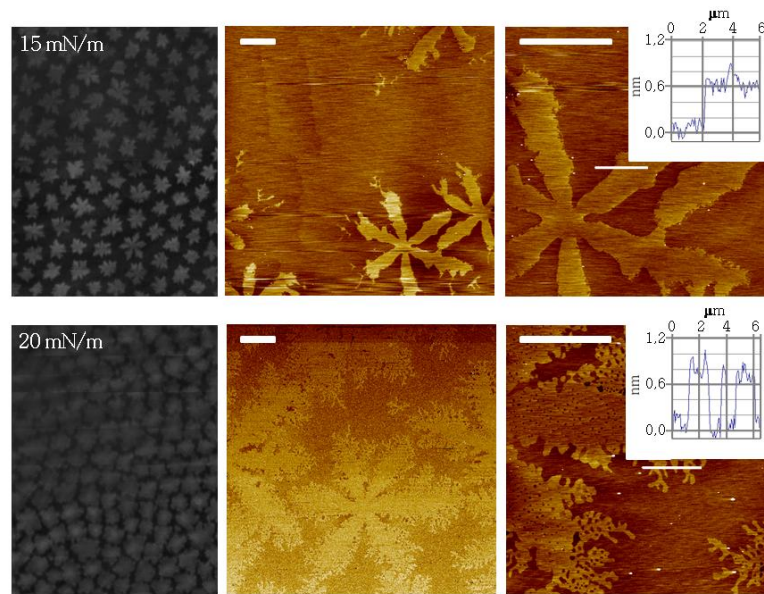


Abb. 3.63: Vergleich der BAM und AFM Aufnahmen der ternären Mischung der 1/2/64b (88%, 10% und 2%) durch Übertrag auf einen Mica-Objekträger bei 15 und 20 mN/m (weiße Balken entsprechen einer Länge von 10 μm).

Quarzmikrowaage

Die Quarzmikrowaage ermöglicht die Untersuchung von Bindungsereignissen an Oberflächen und findet immer häufiger Anwendung als Biosensor. Die Massenänderung, die durch Grenzflächenprozesse zwischen mobiler und immobilisierter Phase auftritt kann mit der Quarzmikrowaage detektiert werden, weshalb diese Technik bei der Erforschung von Adsorptionsprozessen an Oberflächen eine wichtige Rolle einnimmt.^[207] Die Mikrowaage wird z.B. als Immunosensor^[208] verwendet oder kann zur Untersuchung der Oberflächenadsorption supramolekularer Aggregate wie z.B. Vesikel oder Liposome dienen.^[209]

Die Quarzmikrowaage beruht auf dem Piezoelektrischen Effekt, denn durch die Verformung bestimmter Kristalle kommt es zur Ausbildung einer detektierbaren elektrischen Ladung an deren Oberfläche. Bei der QCM-Technik wird der reziproke Piezoelektrische Effekt genutzt und durch Anlegen einer äußeren Wechselspannung der Quarzkristall zum resonanten Schwingen angeregt. Wirken nun äußere Einflüsse auf den Resonator, so wird die Eigenschwingung des oszillierenden Kristalls gedämpft und die Frequenzänderung detektiert.^[210]

Im Rahmen dieser Arbeit wurden, in Teamarbeit mit P. Scheibe aus dem Arbeitskreis Zentel, Untersuchungen bezüglich der Wechselwirkung von amphiphilen Glycopeptiden des Mucins MUC1 mit spezifischen Antikörpern (SM3)^{[211] [212]} durchgeführt.

Zur Herstellung der Vesikellösung werden die Lipide 88% **70**, 10% **69** und 2% **64a** in Chloroform/Methanol gelöst und ein Lipidfilm durch Entfernung des Lösungsmittels erzeugt. Nach der Zugabe einer Pufferlösung wird die Lipidschicht oberhalb der Phasenübergangstemperatur gequollen. Anschließendes Vortexen und Sonifizieren führt zur wässrigen Vesikellösung. Um die Vesikel an der Oberfläche des goldbedampften Quarzkristalls zu adsorbieren, wird dieser mit einem Perfluorthiol (Abb. 3.64) funktionalisiert. Dadurch erfolgt nach der Einspülen der Vesikellösung eine Adhäsion und damit verbunden die Abflachung der Vesikel an der Oberfläche, worauf diese aufbrechen und eine Monolipidschicht ausbilden, die zu Antikörperstudien herangezogen werden kann (Abb. 3.64).^{[213] [214]}

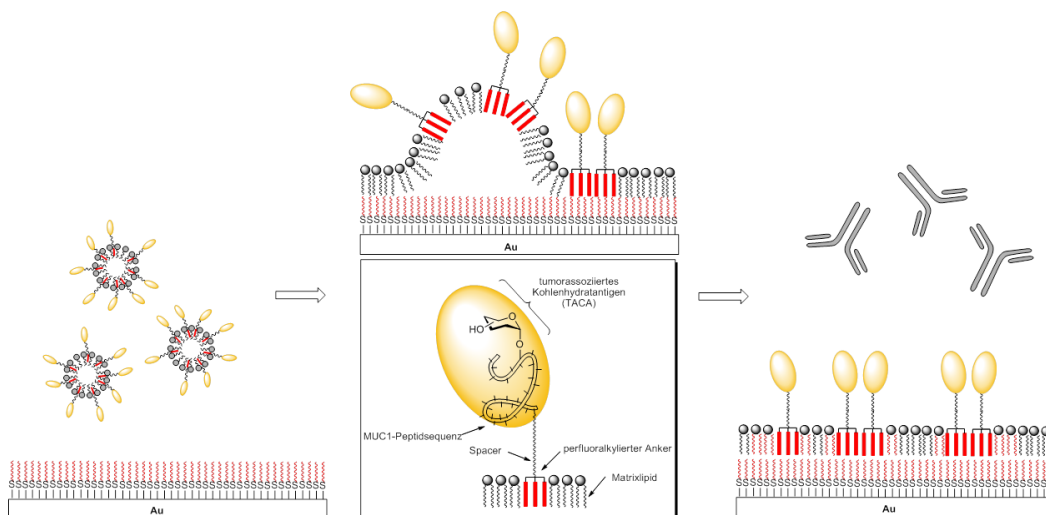


Abb. 3.64: Schematische Darstellung zur Aufbringung der Monoschicht der ternären Vesikellösung aus **70/69/64a** auf den F-funktionalisierten Quarzkristall.

Um eine ungewollte Wechselwirkung der Antikörper mit dem perfluorierten Matrixlipid^[197] **69** auszuschließen wird zuerst eine Vesikellösung mit reinem TRIS-PEG Lipid hergestellt und in der Messzelle untersucht. Sobald der Quarzkristall mit Eigenfrequenz schwingt erfolgt die Zugabe der Vesikellösungen wodurch eine Frequenzänderung eintritt, die auf die Anlagerung der F-Lipide zurückzuführen ist. Alle nicht-angelagerten Lipide werden mit Pufferlösung aus der Messzelle gespült. Nach Equilibrierung des Systems erfolgt das Einspülen des käuflich erwerblichen monoklonalen SM3-Antikörpers in die Durchflussmesszelle. Wie in Abb. 3.65 zu erkennen ist findet nach der Zugabe des Antikörpers keine Frequenzabnahme und somit keine Anlagerung des

Antikörpers an **69** statt. Auf Grund dieser Negativkontrolle kann eine ungewollte Wechselwirkung mit dem Matrixlipid und dem Antikörper ausgeschlossen werden. Somit kann festgehalten werden, dass im Falle des Matrixlipids keinerlei unspezifische Wechselwirkungen stattfinden und dadurch die Verwendung dieser Verbindung als Perfluormatrix für das amphiphile Glycolipopeptid **64a** möglich ist.

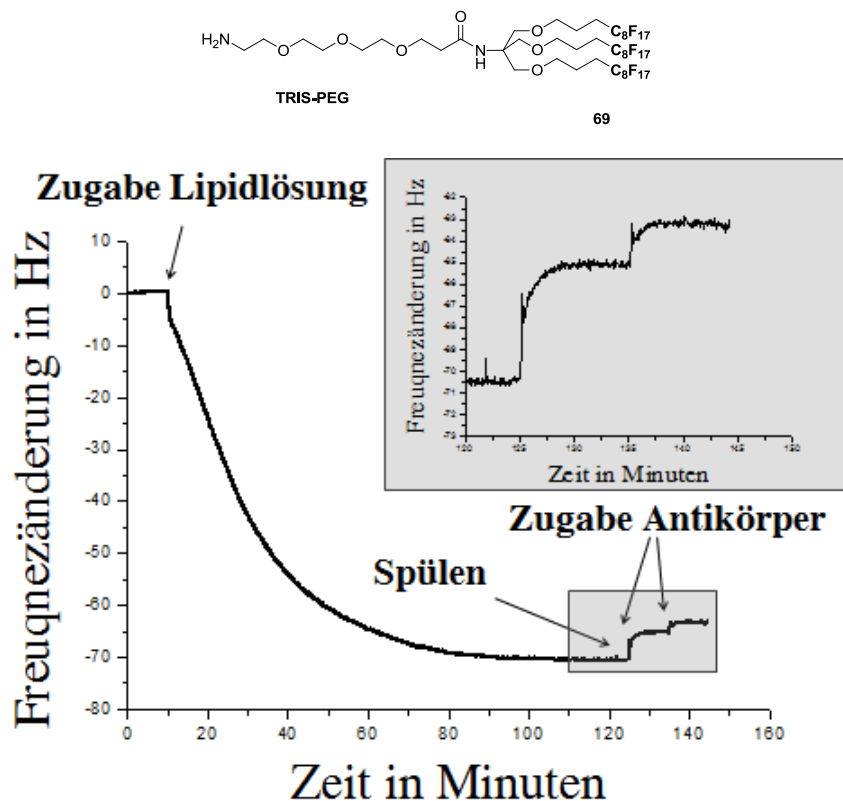


Abb. 3.65: QCM-Messung des perfluorierten Matrixlipids **69**.^[215]

In Abb. 3.66 sind die Ergebnisse der Untersuchung der ternären Mischung aus 43.1% **70**, 52.4% **69** und 4.5% **64a** angeführt. Nach der Zugabe der Lipidlösung kommt es zu einer Frequenzabnahme von ca. 87.5 Hz, die aus der Anlagerung der Monolipidschicht resultiert. Sobald die Frequenz konstant ist, werden nicht gebundenen Lipide mit einer Pufferlösung aus der Messzelle gespült, bevor der Antikörper zugegeben wird. Durch die Anbindung der Antikörper ist wiederum eine Frequenzabnahme von ca. 11.5 Hz detektierbar. Abschließendes Spülen zeigt, dass eine effektive Antikörperanbindung stattgefunden haben muss, denn die Frequenz bleibt nahezu konstant und steigt nicht wieder an.

Diese Ergebnisse lassen auf eine Messung der spezifischen Antigen-Antikörper-Wechselwirkung schließen und ermöglichen so auch eine Quantifizierung dieser Wechselwirkungen mit der QCM-Technik.

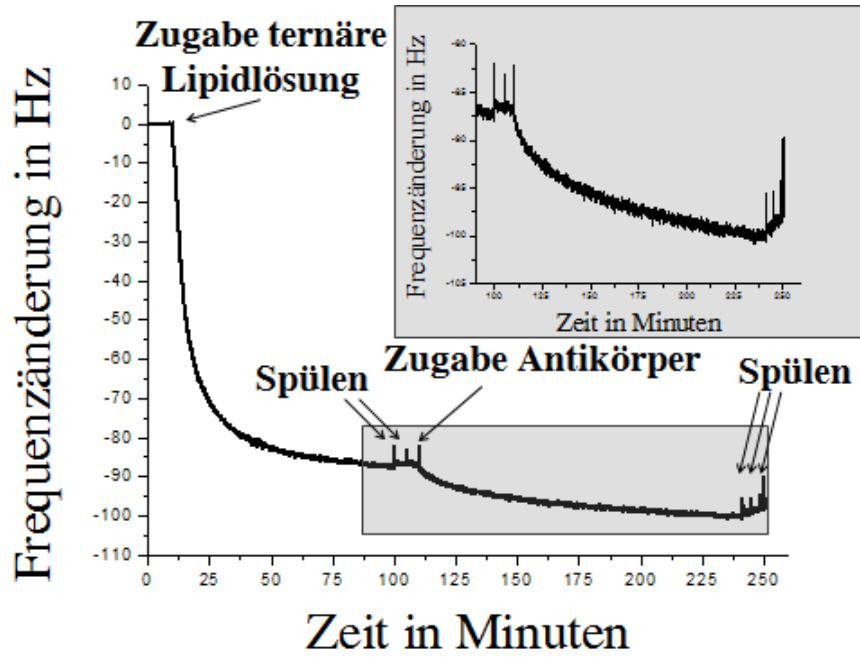
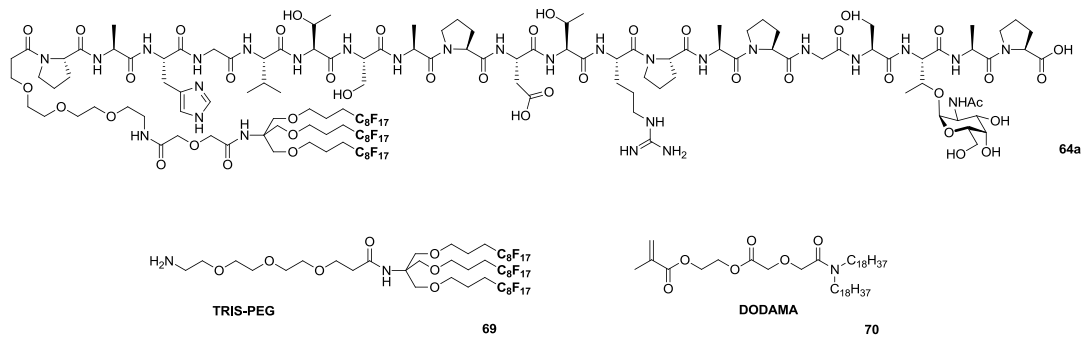


Abb. 3.66: QCM-Messung der ternären Mischung aus 70/69/64a.^[215]

3.6 Immunologische Evaluierung der synthetischen Glycolipopeptide

Zum Nachweise der Selektivität von Antigen-Antikörper Wechselwirkungen wird das Immunoassay-Verfahren ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*, ELSIA) verwendet, welches von *S. Wagner* in der Arbeitsgruppe *Schmitt* am Institut der Immunologie der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz durchgeführt wurde. Die perfluoralkylierten Glycolipopeptide können in Analogie zu BSA- oder TTox-Konjugaten^{[183] [188] [216] [217] [218]} nach einstündiger Inkubation in wässriger Lösung auf Polystyrol-Mikrotiterplatten immobilisiert werden. Anschließend werden die Primärantikörper, die aus Immunisierungen von Mäusen stammen, zugegeben. Diese binden selektiv an die perfluoralkylierten Antigen-Konjugate und können über weitere Antikörper, den Sekundärantikörpern, visualisiert werden. Dazu wird ein biotinylierter Sekundärantikörper zugegeben, der selektiv an die Maus-Primärantikörper bindet. Der biotinylierte Anti-Maus-Antikörper kann anschließend durch Zugabe eines Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Konjugats (SA-HPO) nachgewiesen werden. Hierbei wird der farblose Redoxindikator ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)) zum stabilen, grün gefärbten Radikalkation oxidiert und kann somit photometrisch bei einer charakteristischen Wellenlänge von 414 nm detektiert werden (Abb. 3.67). Die Auswertung des ELISA-Experiments erfolgt durch die Absorptionsmessung in Abhängigkeit von der Verdünnung des Serums und liefert Informationen bezüglich der Wechselwirkung zwischen synthetischem Vakzin und dem Maus-Antikörper.

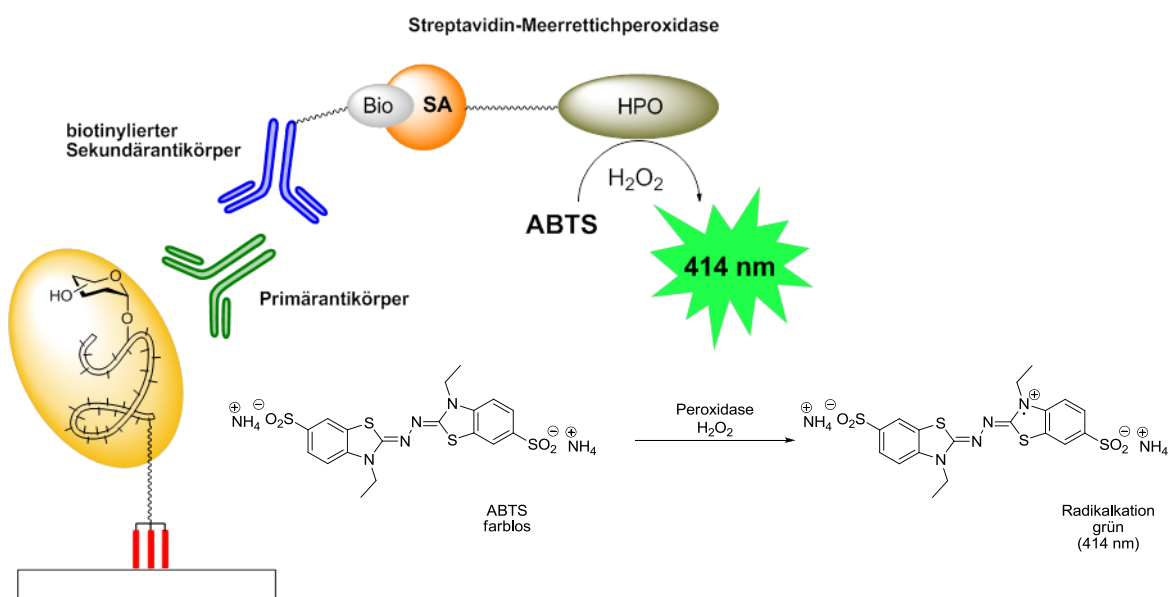


Abb. 3.67: Schematische Darstellung des ELISA-Tests mit perfluoralkylierten Glycolipopeptiden.

Die perfluoralkylierten Glycoamphiphile **64a-c** werden auf die Erkennung durch MUC1-spezifische Antikörper in ELISAs getestet, wobei ein Balb/c-Maus Antikörperserum aus der Immunisierung mit dem strukturähnlichen Vakzin ${}^6\text{TF-MUC1TTox}^{[219]}$ aus der Arbeitsgruppe *Kunz* eingesetzt wird. Die induzierten Antikörper des Serums sind nicht nur in der Lage das immunisierte Vakzinmotiv zu erkennen und eignen sich daher auch zur Untersuchung mucinanaloger Glycopeptide mit abweichendem Glycosylierungsmuster.^[219] Die mit den Glycolipopeptiden **64a-c** beschichtete Mikrotiterplatte werden mit dem Mausserum inkubiert und anschließend die Antigen-Antikörper Wechselwirkung visualisiert. Die daraus resultierende optische Dichte als Funktion der Verdünnung erlaubt Aussagen über die Bindungsaffinitäten der Primärantikörper.

Wie im ELISA-Test in Abb. 3.68 zu erkennen ist, werden alle hier untersuchten perfluoralkylierten Verbindungen **64a-c** durch die Antikörper des Serums erkannt. Die Verbindung **64a** mit T_N -Antigen an Threonin 18 und die diglycosylierte Verbindung **64c** zeigen eine geringere Affinität zu den Serumantikörper im Vergleich zu **64b**. Die Verbindung **64b** (T_N -Antigen in 6-Position) zeigt die stärkste Wechselwirkung mit den Serumantikörpern, welche durch das strukturähnliche Vakzin ${}^6\text{TF-MUC1TTox}^{[219]}$ induziert wurden. Dies ist als positiv zu bewerten, da trotz Anbindung perfluoralkylierter Ankersysteme an mucinanaloge Glycolipopeptide, diese in ihrer Selektivität bezüglich der Glycanseitenketten untersuchen werden können.

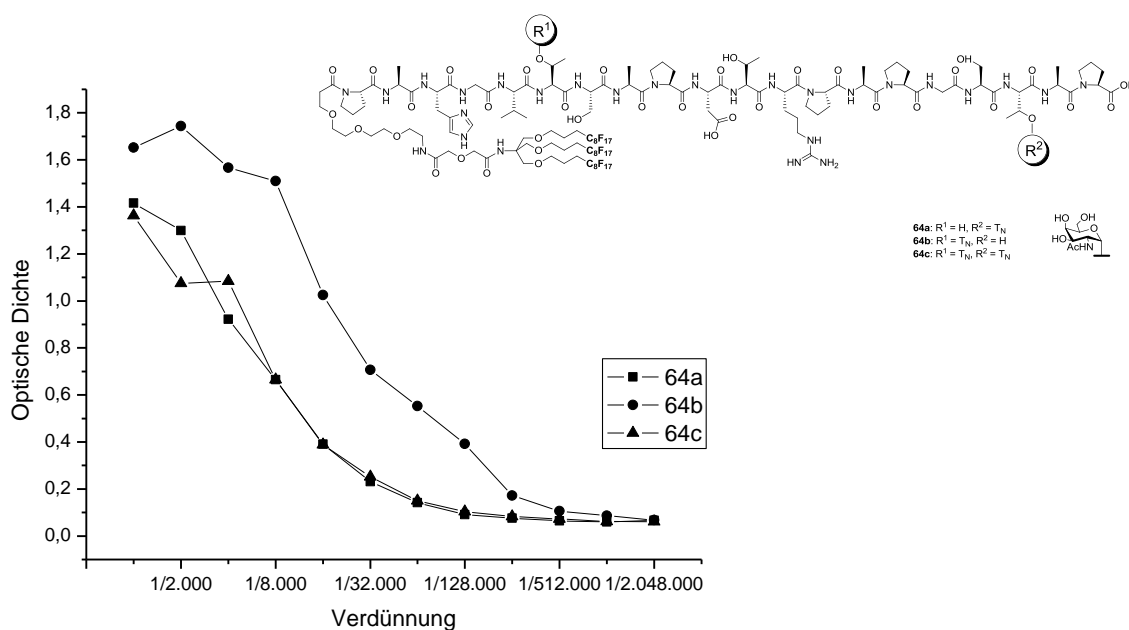


Abb. 3.68: ELISA der Glycolipopeptide **64a-c** mit Antiseren aus der Immunisierung mit TT_{ox}-Vakzin.^[219]

In weiteren ELISA-Tests wird Verbindung **64b** mit dem kommerziell erhältlichen monoclonalen SM3-Antikörper^{[211] [212]} inkubiert. Dieser Antikörper stammt aus einer Immunisierung mit teilweise glycosylierten Mucinen der menschlichen Milch. Die Bindung erfolgt hauptsächlich an die immundominante nicht-glycosylierte PDTRP-Region der *tandem-repeat* Einheit des Mucins MUC1 unter Toleranz kurzer Glycanseitenketten. In Abb. 3.69 ist die dazugehörige Verdünnungsreihe abgebildet. Auch durch die Verwendung des SM3-Antikörpers kann eine Anbindung an das perfluoralkylierte Glycopeptid **64b** nachgewiesen werden (vgl. Kapitel QCM). Folglich bewirkt der Perfluoralkylanker keine negative Beeinflussung des Peptidepitops, wodurch die Erkennung gehindert werden würde.

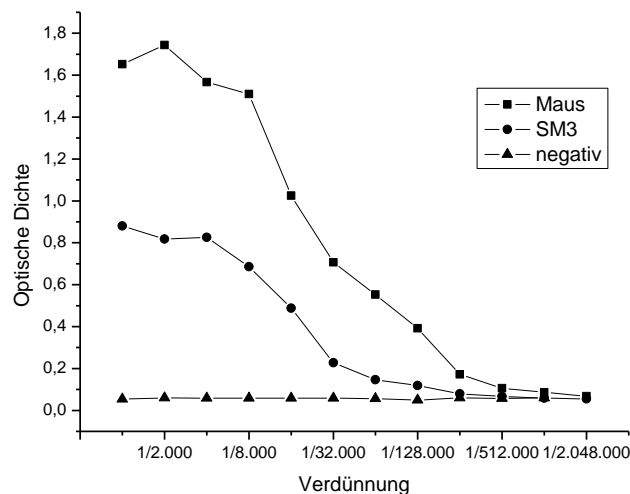


Abb. 3.69: ELISA des Glycolipoide **64b** unter Verwendung der Antikörper aus der Immunisierung mit ⁶TF-MUC1TTox^[219] und des SM3-Antikörpers.

Um eine Aussage darüber treffen zu können, ob die perfluoralkylierten Verbindungen als Vakzin dienen können, wurden diese in Immunisierungsstudien durch *S. Wagner* und *B. Gerlitzki* in der Arbeitsgruppe *Schmitt* am Institut der Immunologie der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz untersucht. Hierfür wurden drei weibliche Balb/c Wildtyp-Mäuse mit dem perfluoralkylierten Glycoamphiphil **64b** und dem kompletten Freund'schen Adjuvans (CFA) immunisiert. Jeweils im Abstand von 21 Tagen erfolgte die Auffrischung der Impfung durch Injektion mit dem inkompletten Freund'schen Adjuvans (IFA). Die Blutentnahme fand fünf Tage nach der zweiten Immunisierung statt und die Analyse des Serums erfolgt durch ELISA-Test.

Hierzu wird das perfluorierte Konjugat **64b** auf einer Mikrotiterplatte immobilisiert und mit den Seren aus Maus 1-3 inkubiert. Eine Antikörperanbindung kann für alle Seren der

drei Mäuse nachgewiesen werden, wobei Maus 2 die höchste Affinität zeigt. Allerdings weisen die Antikörper aller Seren geringere Affinitäten im Vergleich zu bereits publizierten BSA- oder TTox-Konjugaten auf.^{[188] [216] [217] [218]}

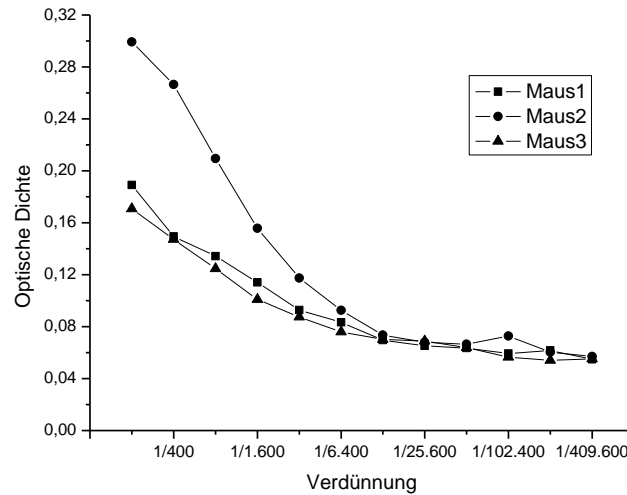


Abb. 3.70: ELISA-Test der Antiseren von Maus 1-3.

Die fluoreszenzaktivierte Durchflusszytometrie (*fluorescence activated cell sorting*, FACS[®])^[220] ist eine weitere Methode in der Immunologie um Bindungsaffinitäten von Antikörper nach Inkubation mit Tumorzellen zu analysieren. Die fluoreszenzmarkierte Zellen werden in einem Flüssigkeitsstrom an einem Laserstrahl vorbeigeleitet und sowohl das Streulicht als auch die Fluoreszenz detektiert. Die detektierte Photonenemission des Fluoreszenzmarkers erlaubt quantitative Aussagen über eine Vielzahl analytischer Werte und die Selektion markierter Zellen.^[221]

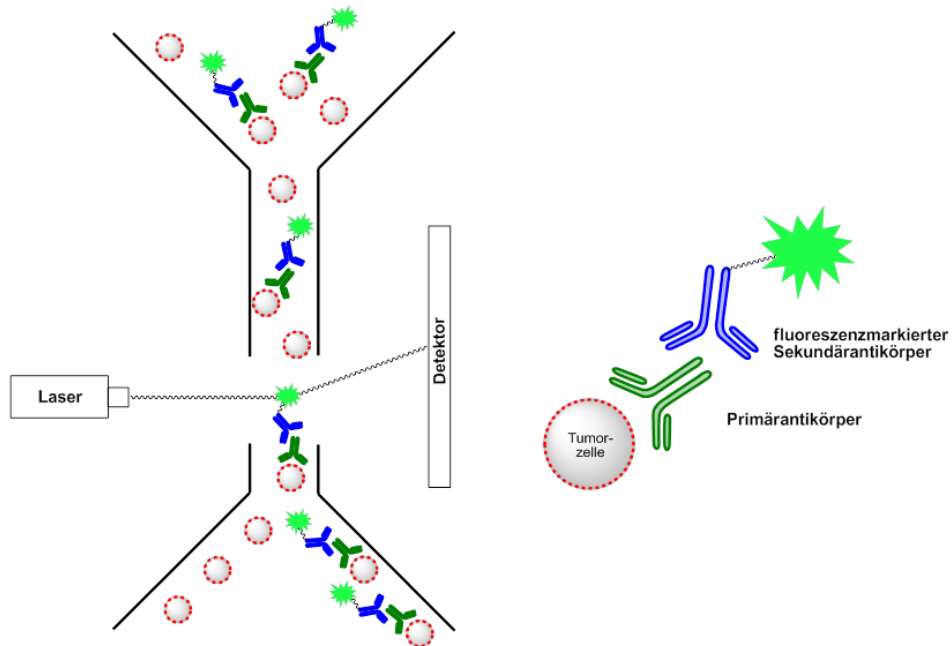


Abb. 3.71: Schematische Darstellung der FACS-Analyse.

Alle FACS-Analysen der vorliegenden Arbeit wurden von *B. Gerlitzki* am Institut für Immunologie der Johannes Gutenberg Universität in Mainz durchgeführt. Um eine Bindung der Serumantikörper aus der Immunisierung mit **64b** nachzuweisen und zu quantifizieren werden MCF-7 Brusttumorzelllinien^[222] mit FACS analysiert.^[219] Hierbei werden die Primärantikörper der Antiseren mit der Tumorzelle inkubiert und anschließend durch Zugabe eines mit AlexaFluor 488 fluoreszenzmarkierten Sekundärantikörpers aus der Ziege markiert, wodurch das Auszählen im Rahmen der FACS-Analyse ermöglicht wird. In Abb. 3.72 sind die Negativ- und Positivkontrolle der Zellzählung dargestellt. Im linken Diagramm, der Negativkontrolle, ist die Fluoreszenzaufnahme der unbehandelten Zellen zu erkennen, die eine Verschiebung zu geringen Fluoreszenzintensitäten aufweist. Die Positivkontrolle, bei der die Tumorzelle mit kommerziell erhältlichen SM3-Antikörper inkubiert wurde, zeigt dagegen eine Verschiebung des Maximas zu erhöhten Fluoreszenzwerten.

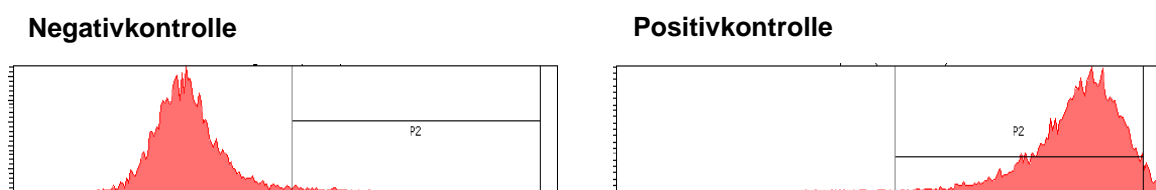


Abb. 3.72: Negativ-(links) und Positivkontrolle mit SM3-Primärantikörper (rechts) der FACS-Analyse der MCF-7 Tumorzelllinie.

Die Ergebnisse der FACS-Analyse aus der Immunisierung mit **64b** sind in Abb. 3.73 angeführt. Die Tumorzellen wurden mit einer Verdünnung von 1/1000 mit den Antisera der drei Mäuse inkubiert, fluoreszenzmarkiert und sortiert. In allen Fällen ist ein Rechts-Shift und somit eine Bindung der Antikörper aus den Seren an die Tumorzellen zu beobachten. Die Analyse zeigt jedoch auch, dass die Serenantikörper, aus der Immunisierung mit **64b**, nur mäßig an die MCF-Zellen binden. Die spezifische Tumorzellbindung ist für die Inkubation mit dem Serum von Maus 1 am stärksten. Es ist festzuhalten, dass durch die Immunisierung mit nicht-natürlichen perfluoralkylierten Glycolipopeptiden des Mucintyps MUC1 Antikörper induziert werden können, die selektiv an Tumorzellen binden.

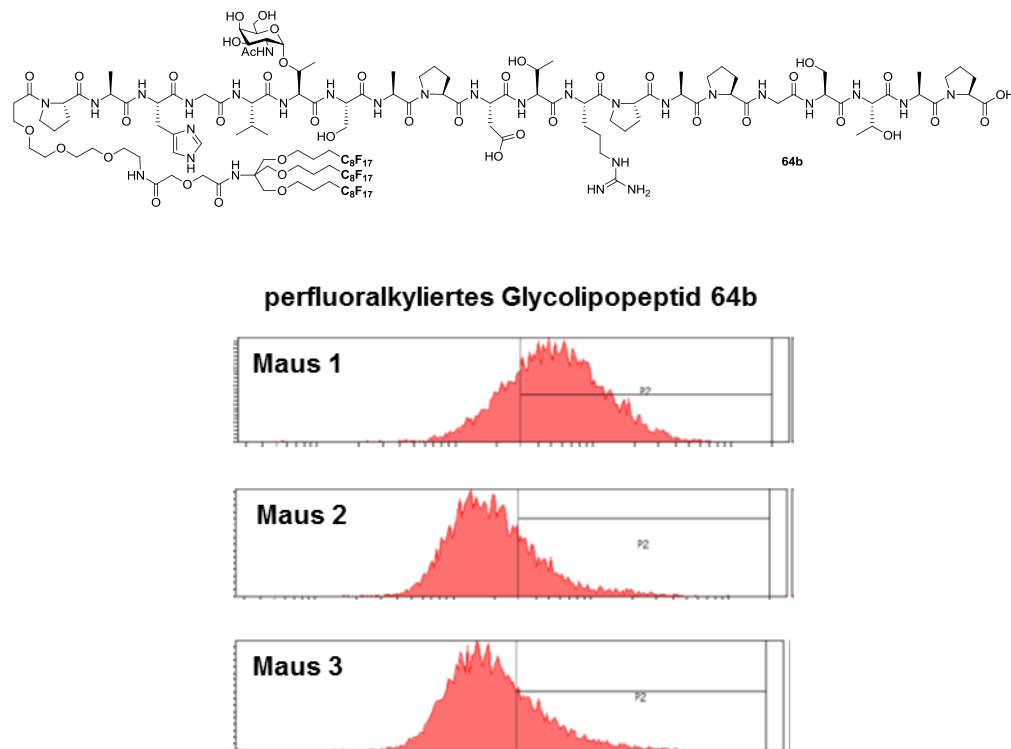


Abb. 3.73: FACS-Analyse des Glycolipopeptids mit der MCF-7 Tumorzelllinie.

Die gebildeten Antikörper müssen eine MHCII-Klasse restringierte Immunantwort mit Aktivierung antigenspezifischer T-Zellen induzieren, um als Impfstoff wirksam zu sein. Durch die Bildung von Antikörpern der Klasse des IgG-Typs kann das Komplementsystem aktiviert werden und nach Opsonisierung können Fremdzellen von phagozytierenden Zellen des Immunsystems aufgenommen und eliminiert werden. Aus diesem Grund wurden die Antikörper aus der Seren aus Maus 1-3 auf die Isotypen im ELISA-Test untersucht. Die Mikrotiterplatten wurden mit dem BSA-Konjugat (MUC1(20)Thr⁶-6'F-T-

BSA von *S. Wagner*) beschichtet und mit dem Serum der Mäuse 1-3 inkubiert. Nach der Zugabe der für den entsprechenden Isotypen spezifischen Sekundärantikörper kann die Bindung photometrisch bestimmt werden. In Abb. 3.74 ist die Isotypbestimmung für Maus 1 exemplarisch angeführt, da in allen Experimenten nahezu identische Ergebnisse erhalten wurden.

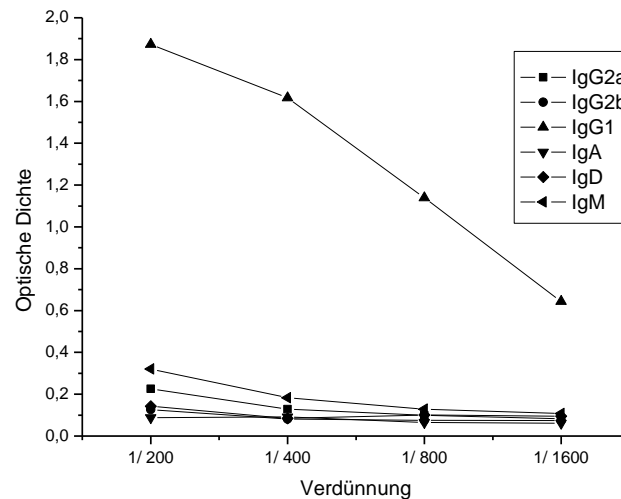


Abb. 3.74: Isotypbestimmung aus dem Serum von Maus 1.

Im ELISA-Test kann eindeutig Produktion von Antikörpern des IgG₁-Typs nachgewiesen werden. Die Immunantwort muss also über die Aktivierung antigenspezifischer T_H-Zellen erfolgt sein und deutet auf die Bildung eines immunologischen Gedächtnisses hin. Andere Isotypen wie beispielsweise IgG_{2a,b} wurden nicht gefunden.

Die Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen zeigen, dass trotz des Einbaus von perfluoralkylierten Membranankersystemen in mucinanaloge Glycopeptide deren Selektivität bezüglich der Glycanseitenketten als auch der Peptidpitope erhalten bleibt. Die perfluoralkylierten Verbindungen induzieren tumorzellenspezifische Antikörper im Mausmodell, deren Isotypbestimmung auf die Bildung eines immunologischen Gedächtnisses hindeutet. Dies sind interessante Ergebnisse in Bezug auf die Entwicklung tumorselektiver Vakzine, jedoch sind die Immunantworten noch zu schwach. Diese deutlich schwächere Immunantwort der perfluoralkylierten Konjugate könnte z.B. durch eine multivalente Präsentation an der Oberfläche von Liposomen überwunden werden, was Gegenstand zukünftiger Forschungsarbeiten sein wird.

4 Zusammenfassung

Die multivalente Anordnung von Bindungs epitopen an Zelloberflächen beeinflusst in positiver Weise die Aktivierung des Immunsystems. Deshalb ist die Nachbildung *raft*-ähnlicher Domänen in künstlichen Membranen von großem Interesse. Um die Wechselwirkungen segregierter Bereiche zu untersuchen, können entmischte Lipidsysteme aus perfluoralkylierten und alkylierten Amphiphilen in lateral ausgedehnten Schichten genutzt werden. Das Entmischungsbestreben von Fluorkohlenstoffen und Kohlenwasserstoffen stellt eine einfache und robuste Methode dar, um ausgeprägte funktionelle Mikrodomänen in Membranen zu erhalten. Damit besteht die Möglichkeit neuartige perfluoralkylierte Glycolipopeptide zur Erzeugung multivalenter Antigenbereiche zu untersuchen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten solche perfluoralkylierte Glycolipopeptide erstmalig synthetisiert und als Vakzinkandidaten untersucht werden. Neben dreifach perfluoralkylierten Ankersystemen konnten auch zweifach und einfach funktionalisierte Verbindungen auf der Basis von Tris(hydroxymethyl)aminomethan dargestellt werden. Ausgehend von diesem Grundbaustein wurden in einer Reaktionsfolge von jeweils acht Stufen sechs gemischt alkylierte und perfluoralkylierte Amphiphile mit C₄F₉-, C₆F₁₃- und C₈F₁₇-Ketten synthetisiert und als Festphasenpeptidbausteine bereitgestellt. Die dreifach perfluoralkylierten Systeme wurden in einer verkürzten Synthesesequenz von jeweils fünf Stufen mit der gleichen Anzahl und Länge an F-Ketten synthetisiert. Die fluorierten Ketten konnten unter Verwendung von Triethylboran als Initiator der Radikalreaktion in sehr guten Ausbeuten eingeführt werden (Abb. 4.1).

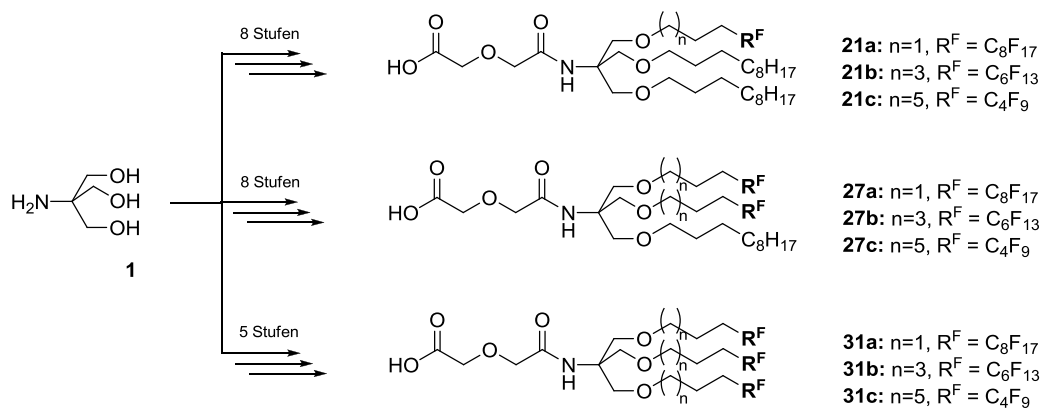


Abb. 4.1: Darstellung der einfach, zweifach und dreifach perfluorierten Ankersysteme.

Die tumor-assoziierten Kohlenhydratantigene wurden entsprechend literaturbekannten Verfahren als Festphasenpeptidbausteine bereitgestellt. Ausgehend von D-Galactose konnten diese Erkennungsstrukturen in neun Stufen zum T_N-Grundbaustein und acht weiteren Stufen α -selektiv zum ST_N-Antigen umgesetzt werden.

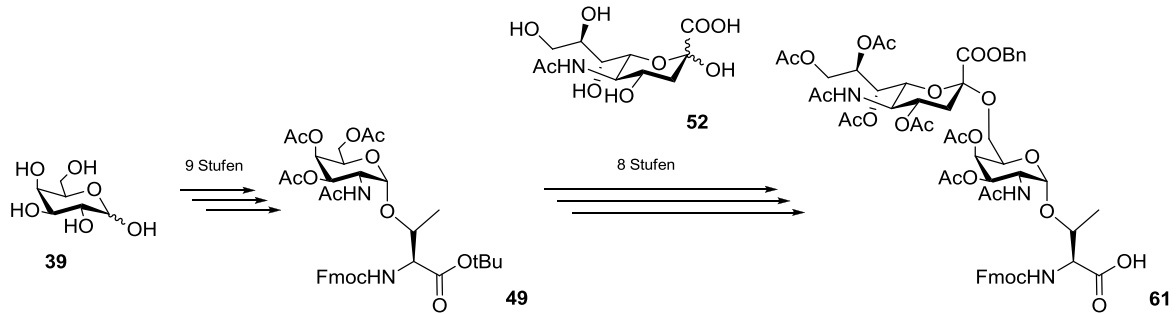


Abb. 4.2: Synthese der tumorassoziierten Kohlenhydratantigene.

Die tumor-assoziierten Kohlenhydratbausteine konnten durch die Festphasenpeptidsynthese in die vollständige *tandem-repeat* Sequenz des Mucins MUC1 eingebaut werden. Das vollsynthetische Vakzin ist an Position Thr6 und/oder Thr18 mit Kohlenhydratantigenen mono- bzw. diglycosyliert. In der immundominanten PDTRP-Domäne bleibt das Glycopeptid unglycosyliert und wird über einen nicht-immunogenen Abstandshalter mit dem dreifach perfluorierten Anker kovalent verbrückt. Die Reinigung dieser komplexen Amphiphile erfolgte durch fluoridge Festphasenextraktion und führte nach vollständiger Schutzgruppenentfernung zu den perfluorierten Glycolipopeptiden **64a-c**.

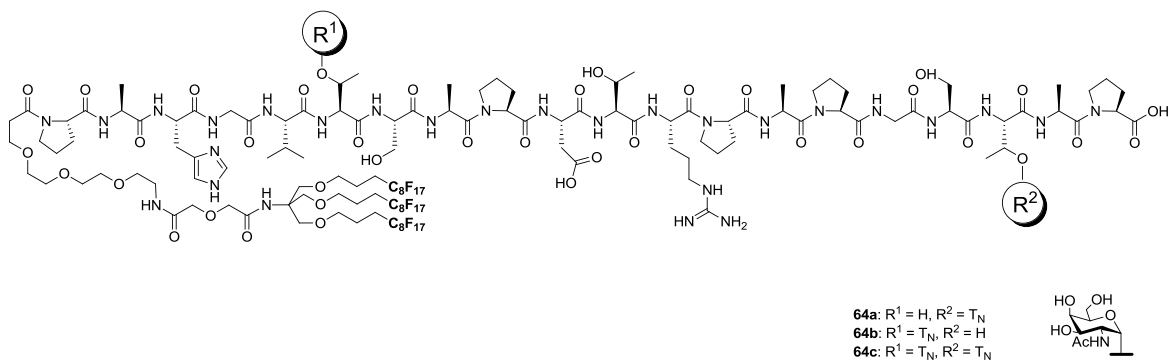


Abb. 4.3: Dreifach perfluorierte Glycolipopeptide des Mucins MUC1.

Die gemischten perfluoralkylierte/alkylierte Membranankersysteme wurden ebenfalls an die glycosylierte MUC1-Sequenz angebunden. Hierzu wurde die Aminosäuresequenz vollautomatisch aufgebaut und nach Anbindung des Triethylenglycol-Spacers manuell gekuppelt. Dabei war die Wahl des geeigneten Lösungsmittels, wie bei den dreifach perfluorierten Konjugaten, von großer Bedeutung. Das Ankersystem mit zwei Perfluorocetylketten **50a** wurde schließlich in einer Lösungsmittelzusammensetzung aus Dimethylformamid/Chloroform im Verhältnis 5:3 gekuppelt, wohingegen der Perfluorocetylanker mit nur einer F-Kette in reinem Dimethylformamid löslich war. Auf diesem Wege konnten die komplexen peracetylierten Glycolipoide mit T_N-Antigen **65a** und **65b** und jene mit vollständig blockiertem ST_N-Antigen **66a** und **66b** nach fluoriger Festphasenextraktion gewonnen werden.

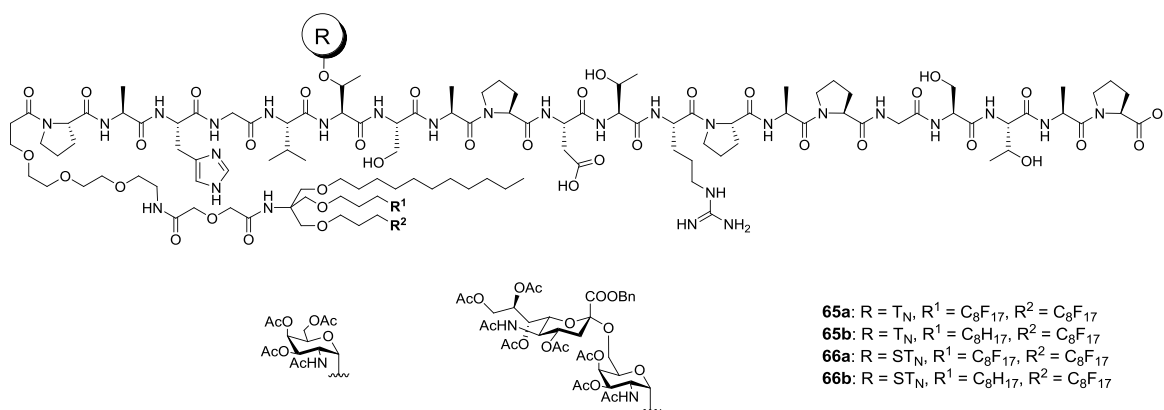


Abb. 4.4: Seitenkettenblockierte perfluorierte/alkylierte Glycolipoide des Mucins MUC1.

Die Schutzgruppen der sialylierten Konjugate **66a** und **66b** konnten nicht entfernt werden. Der Versuch der simultanen Deblockierung des Benzylesters und der *O*-Acetyle in wässriger Natriumhydroxid-Lösung führte lediglich zur Rückgewinnung des Edukts. Die Versuche durch hydrogenolytische Spaltung des Benzylesters und anschließende Umesterung das gewünschte Produkt zu erhalten verliefen ebenfalls nicht erfolgreich. Im Gegensatz dazu konnten die Acetylschutzgruppen der Glycanseitenketten für die T_N-Glycolipide gespalten und die vollständig deblockierten Konjugate **67a** und **67b** mit Galactosylseitenkette synthetisiert werden (Abb. 4.5).

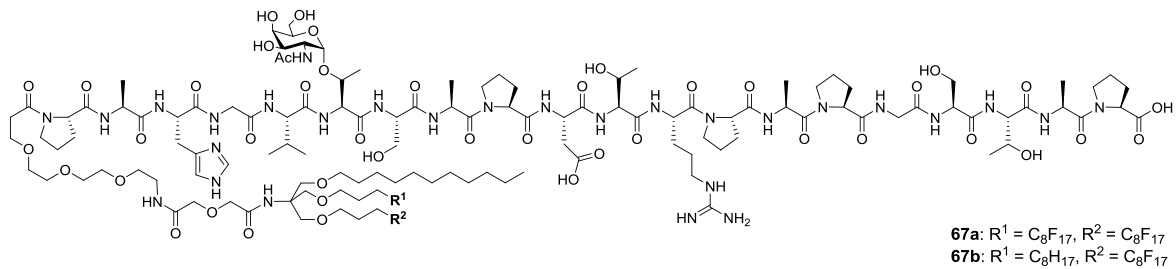


Abb. 4.5: Perfluorierte/alkylierte Glycolipopeptide des Mucins MUC1.

Die Entmischungstudien der lateral ausgedehnten Lipidschichten wurden durch *P. Scheibe* in einem Langmuir-Blodgett-Trog durchgeführt. Die Isothermen der reinen Mischungen aus perfluoralkylierten Amphiphilen wiesen instabile Lipidmonoschichten auf. Erste Untersuchungen mit weniger komplexen Kopfgruppen zeigten zudem eine partielle Mischbarkeit von alkylierten Lipiden und den hergestellten perfluoralkylierten Lipiden. Da bei diesen Versuchen dennoch instabile Membranen beobachtet wurden, sollten die MUC1-Amphiphile in einer ternären Mischung aus TRIS-PEG **69**, DODAMA **70** und der Erkennungsstruktur zum Einsatz kommen. In dieser Mischung konnte die Größe der Antigenomänen durch die Mischungszusammensetzung kontrolliert werden. Die Spezifität der Antigen-Antikörper-Wechselwirkungen wurde an der Quarzmikrowaage untersucht, wobei spezifische Wechselwirkungen zwischen den Antigenen an der Oberfläche der Lipidschicht und einem zugesetzten monoklonalen, MUC1-spezifischen Antikörper (SM3) nachgewiesen werden konnten.

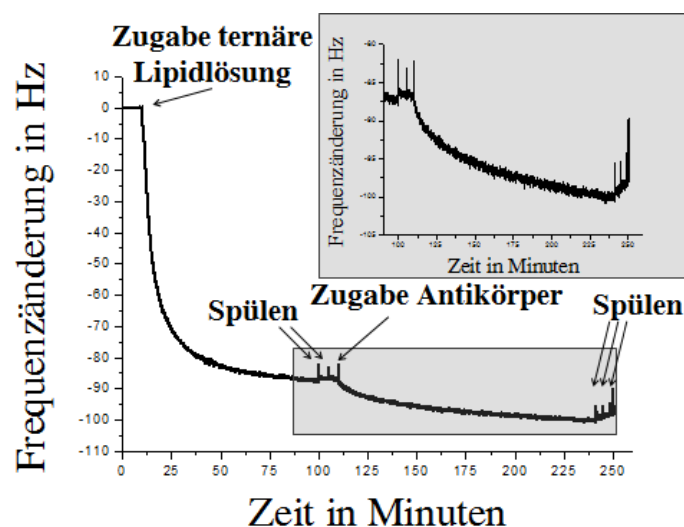


Abb. 4.6: QCM-Messung der ternären Mischung aus **70/69/64a**.^[215]

Zur immunologischen Evaluierung wurden die perfluoralkylierten Glycoamphiphile **64a-c** in ELISA-Experimenten mit Antikörpern eines Vakzins ${}^6\text{TF-MUC1TTox}^{[219]}$ mit gleichem Glycosylierungsmuster untersucht. Der Vergleich der Verbindungen **64a-c** zeigte eine unterschiedlich starke, jedoch selektive Erkennung aller drei perfluoralkylierten Glycolipopeptide. Die Verbindung **64b** mit T_N -Antigen in 6-Position wies die höchste Affinität zu den Antikörpern des Serums aus der Immunisierung mit dem strukturähnlichen Vakzin auf. Das Glycoamphiphil **64b** zeigte ebenfalls eine selektive Bindung nach Inkubation mit dem kommerziell erhältlichen monoklonalen SM3-Antikörper. Somit lassen sich trotz Anbindung perfluoralkylierter Ankersysteme komplexe Glycolipopeptide in ihrer Selektivität bezüglich der Glycanseitenketten und des Peptidpitops immunologisch untersuchen. Die perfluoralkylierten Glycolipopeptide könnten damit als Bestandteil liposomaler Krebsvakzine dienen oder zum Nachweis tumorspezifischer Antikörper in ELISA-Experimenten und Microarrays eingesetzt werden.

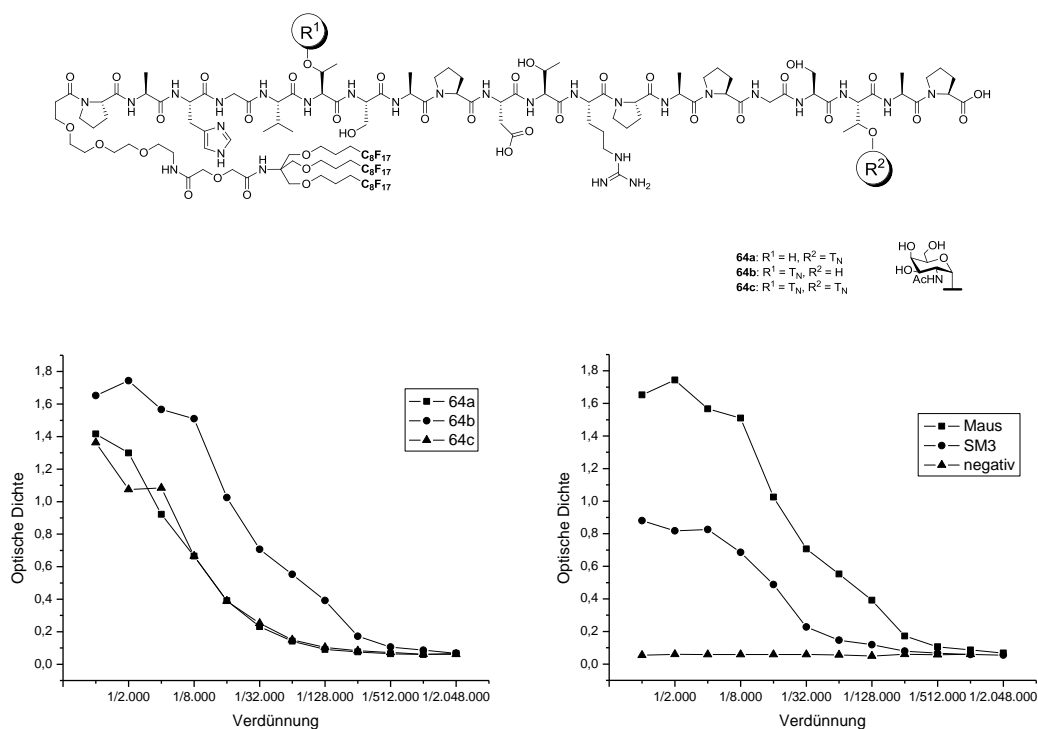


Abb. 4.7: ELISA der Glycolipopeptide **64a-c** mit Antiseren aus der Immunisierung mit ${}^6\text{TF-MUC1TTox}^{[219]}$ (links) und ELISA des Glycolipopeptids **64b** unter Verwendung der Antikörper aus der Immunisierung mit ${}^6\text{TF-MUC1TTox}^{[219]}$ und des SM3-Antikörpers (rechts).

Um zu entscheiden, ob die perfluoralkylierten Glycolipopeptide als Vakzine dienen können, wurden diese in Immunisierungsstudien untersucht. Hierzu wurden drei Wildtyp-Mäuse mit dem perfluoralkylierten Glycoamphiphil immunisiert und nach der

Blutentnahme die Antikörper des Serums in ELISA-Tests analysiert. Die Auswertung ergab, dass alle Seren spezifische Antikörper aufwiesen, jedoch die Bindungsaffinitäten im Vergleich zu bekannten BSA- oder TTox-Konjugaten gering ausfielen.^{[188] [216] [217] [218]}

Zusätzlich zum Nachweis MUC1-spezifischer Antikörper in den Seren der Mäuse sollte deren Bindungsaffinität zu Tumorzellen untersucht werden. Hierzu wurde die FACS-Messung verwendet, wobei die Serenantikörper der immunisierten Mäuse mit der MCF-7 Brusttumorzelllinie inkubiert und analysiert wurden. Es zeigte sich, dass in den Seren der drei Mäusen tumorspezifische Antikörper zu finden sind. Somit lassen sich durch die Immunisierung mit nicht-natürlichen perfluoralkylierten Glycolipopeptiden des Mucins MUC1 tumorspezifische Antikörper im Mausmodell induzieren.

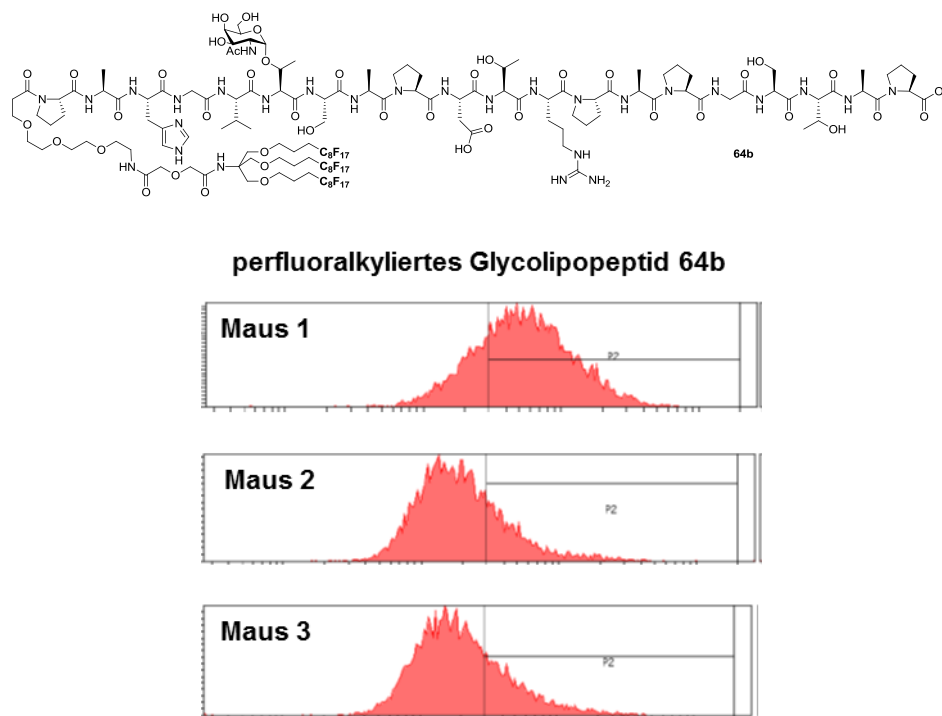


Abb. 4.8: FACS-Analyse des Glycolipopeptids **64c** mit der MCF-7 Tumorzelllinie.

Zusammenfassend konnten im Rahmen dieser Arbeit neuartige perfluoralkylierte Membranankersysteme und perfluoralkylierte Glycolipopeptide synthetisiert und immunologisch evaluiert werden. In allen hier untersuchten perfluoralkylierten Glycolipopeptiden konnte eine spezifische Wechselwirkung mit Antikörpern in ELISA-Experimenten nachgewiesen werden. Die Immunisierungen von Mäusen zeigten, dass durch diese nicht-natürlichen Verbindungen tumorspezifische Antikörper induziert werden konnten. In Bezug auf die Entwicklung effektiver anti-tumor Vakzine sind die

Bindungsaffinitäten der gebildeten Antikörper jedoch zu gering. Diese schwachen Bindungsaffinitäten könnten in künftigen Forschungsarbeiten durch die multivalente Präsentation der perfluoralkylierten Antigene in liposomalen Vakzinen verstärkt werden.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines und Messgeräte

Lösungsmittel:

Alle Lösungsmittel wurden in der Qualität *pro analysi* (p.a.) bezogen und vor Gebrauch destilliert. Absolute Lösungsmittel wurden durch Trocknen nach literaturbekannten Verfahren^[223] und anschließender Destillation gewonnen.

Dünnschichtchromatographie:

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen wurden mit Kieselgel 60 F245 beschichteten Aluminium-Fertigplatten der *Fa. Merck* (Darmstadt) angefertigt. Die Detektion der Verbindungen erfolgte mit Hilfe folgender Methoden:

- Fluoreszenzlöschung nach Anregung mit UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$).
- Ninhydrin-Reagenz (1.5 g Ninhydrin, 15 mL Eisessig in 500 mL Methanol).
- Seebach-Reagenz (1.0 g Cer(IV)-sulfat-tetrahydrat, 2.5 g Molybdätophosphorsäure in 94 mL dest. Wasser und 6 mL konz. Schwefelsäure).
- Zuckerreagenz (1:1 Mischung aus 0.2%iger ethanolischer *m*-Methoxyphenol-Lösung und 2 M ethanolischer Schwefelsäure).
- 1%ige Kaliumpermanganat-Lösung.

Nach Eintauchen der Chromatogramme in die entsprechende Lösung, wurden diese mit einem Heißluftfön entwickelt.

Säulenchromatographie.^[224]

Für die Flashchromatographie unter erhöhtem Druck (0.2-0.4 mbar) wurde Kieselgel mit einer Partikelgröße von 0.032-0.063 nm der Firma *Acros Organics* (Geel, Belgien) eingesetzt. Das Laufmittel wurde in der Regel durch Redestillation der Eluate anderer Chromatographien zurück gewonnen. Durch Zusatz polarer oder unpolarer Komponente wurde das Lösungsmittelgemisch so eingestellt, dass sich für die Trennung der Reaktionsgemische ein optimaler R_F -Wert ergab.

Fluorous Solid Phase Extraction.^[225]

Die Technik der *Fluorous Solid Phase Extraction (F-SPE)* ist ein schnelles Elutionsverfahren und dient zur Separation von fluorierten und nicht-fluorierten Bestandteilen einer Reaktionsmischung. In dieser Arbeit wurde das Kieselgel 60 C₈-Umkehrphase der Firmen *Sigma-Aldrich* (St. Louis, USA) und *Fluorous Technologies* (Pittsburgh, USA) eingesetzt. Die stationäre Phase ist mit Perfluorooctylethylsilylgruppen (Si(CH₃)₂CH₂CH₂C₈F₁₇) funktionalisiert und hat eine Partikelgröße von 0.035-0.070 nm. Nach dem Auftragen des zuvor in wenig Lösungsmittel aufgenommenen Rohprodukts erfolgte im ersten Schritt nach der Konditionierung die fluorophobe Elution mit Methanol/Wasser (80:20 oder 70:30) als Elutionsmittel. Im zweiten Schritt wurden die fluorierten Verbindungen durch Methanol (Methanol+0.1% Trifluoressigsäure für Peptide) eluiert. Nach dem Spülen der stationären Perfluorooctylethylsilyl-Phase mit Aceton wurde diese mehrfach wiederverwendet. Die Trennung erfolgte in handelsüblichen Spritzen, die mit den jeweils angegebenen Mengen an perfluoriertem Kieselgel gefüllt wurden.

Allgemeine Vorgehensweise: Separation von 100-300 mg Rohprodukt in 0.2 ml Dichlormethan gelöst, 2 g Perfluorooctylethylsilyl-Kieselgel.

1. Waschen: Waschen der unbenutzten Perfluorooctylethylsilyl-Phase mit 1 ml DMF.
2. Konditionierung: Spülen mit 6 ml 80:20 MeOH/H₂O.
3. Beladen: Rohprodukt wird in 0.2 ml Dichlormethan gelöst und vollständig auf dem Kieselgel adsorbiert

4. Fluorophobe Elution: Spülen mit 8 ml 80:20 MeOH/H₂O, um die organischen Bestandteile zu eluieren.
5. Fluorophile Elution: Spülen mit 8 ml MeOH, um die fluorhaltigen Verbindungen zu eluieren.
6. Regeneration: Waschen mit 10 ml Aceton oder THF.

RP-HPLC^[226]

Analytische RP-HPLC wurde mit einer *Jasco*-HPLC-Pumpe (PU-2080 Plus), einer ternären *Jasco*-Gradienteneinheit (LG-2080-02) und einem *Jasco*-3-Wege-Entgaser (DG-2080-53) sowie einem *Jasco*-Diodenarraydetektor (MD-2010 Plus) durchgeführt (Firma *Jasco*, Easton, USA).

Für die Reinigung im analytischen Maßstab wurden folgende Säulen mit einer Flussrate von 1.0 mL/min verwendet:

- *Luna PFP* 5 µm, 250 × 4.6 mm, der Firma *Phenomenex* (Torrance, USA).
- *Jupiter C18* 5 µm, 250 × 4.6 mm, der Firma *Phenomenex* (Torrance, USA).

Semipräparative RP-HPLC wurden mit Hilfe zweier *Jasco* Gradientenpumpen (PU-2087Plus) und einem variablen Wellenlängendetektor.

Für die Reinigung im semipräparativen Maßstab wurde folgende Säule mit einer Flussrate von 20 mL/min benutzt:

- *Luna PFP* 5 µm, 250 × 20 mm, der Firma *Phenomenex* (Torrance, USA).

Zur Elution für die analytische und semipräparative HPLC dienten Gemische aus Acetonitril/Wasser oder Methanol/Wasser mit einem Zusatz von 0.1% Trifluoressigsäure, falls erforderlich. Acetonitril (HPLC-grade) und Methanol (HPLC-grade) wurden bei der Firma *Fisher Scientific* (Schwerte) oder *Sigma Aldrich* (St. Louis, USA) erworben. Das HPLC-Wasser wurde einer Simplicity185-Anlage der Firma *Millipore* (Billerica, USA) entnommen. Die jeweiligen Gradienten sowie die Wellenlänge, bei der die Detektion erfolgte, sind bei den entsprechenden Verbindungen angegeben.

Festphasenpeptidsynthese:

Die Synthesen der Peptide und Glycopeptide wurden vollautomatisch an der festen Phase eines Perkin-Elmer ABI 433A-Peptidsynthesizers der Firma *Applied Biosystems* (Foster City, USA) durchgeführt. Zur Synthesekontrolle diente ein externer Perkin-Elmer Series 200 UV/Vis-Detektor der Firma *Applied Biosystems*. Die Trägerpolymere stammten von der Firma *Calbiochem-Novabiochem AG* (Läufelingen, Schweiz) und der Firma *Rapp Polymere GmbH* (Tübingen) unter Verwendung der Aminosäurebausteine von *Orpegen Pharma* (Heidelberg) und *Calbiochem-Novabiochem AG* (Läufelingen, Schweiz). In den repetitiven Reaktionsschritten erfolgte zuerst die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung (3×2.5 min) des Trägers mit einer 20%igen Piperidinlösung in *N*-Methylpyrrolidin (NMP). Die UV-Detektion, des bei der Abspaltung gebildeten Dibenzofulven-Piperidin-Addukts, erfolgte bei einer Wellenlänge von $\lambda = 301$ nm. Die Aminosäurekupplungen wurden mit 1 mmol des Aminosäurebausteins, unter vorheriger Aktivierung mit 1 mmol HBTU, 1 mmol 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) und 2 mmol *N*-Ethyldiisopropylamin (DIPEA) in *N,N'*-Dimethylformamid, unter starkem Schütteln durch die Vortexeinheit (20-30 min) durchgeführt. Nach jeder Kupplung wurden nicht-umgesetzte Aminogruppen fünf Minuten durch Acetylierung mit einer Lösung aus 0.5 M Acetanhydrid, 0.125 M DIPEA und 0.015 M HOBt in NMP (Capping-Reagenz) terminiert. Das Polymerharz wurde nach jedem Syntheseschritt mit NMP gespült und nach Abschluss der Synthese mit Dichlormethan gewaschen

Massenspektrometrie:

Die Massenspektren wurden mit folgenden Geräten aufgenommen:

- ESI-Massenspektren wurden mit einem *Micromass* LCT-Spektrometer der Firma *Micromass* (Manchester, England) gemessen.
- Hochaufgelöste HR-ESI-TOF-Spektren wurden mit einem *Micromass* (Manchester, England) Q-TOF Ultima Spektrometer aufgenommen.
- MALDI-TOF-Massenspektren wurden mit einem *Bruker* Time-of-flight-Spektrometer (*Bruker*: Billerica, USA) aufgenommen. Als Matrix diente 2,5-Dihydroxybenzoesäure (dhb, 17 mg/mL in Wasser/Acetonitril 1:1, + 0.1% TFA).

Die molekularen Massen in runden Klammern beziehen sich auf die natürliche Isotopenverteilung, Molmassen in eckigen Klammern hingegen auf die exakten Massen der Isotope.

Drehwerte:

Die spezifischen Drehwerte wurden mit einem *Perkin-Elmer* (Massachusetts, USA) Polarimeter 241 bei den Wellenlängen $\lambda = 546$ nm und $\lambda = 578$ nm in einer 10 cm langen Polarimeterzelle gemessen und auf die Natrium-D-Linie ($\lambda = 589.5$ nm) extrapoliert. Das Lösungsmittel, die Temperatur und die Konzentration (in g/100 mL), wurden für die einzelnen Verbindungen vermerkt.

NMR-Spektroskopie:

Die ^1H -, ^{13}C - und ^{19}F -NMR-Spektren wurden an folgenden Geräten der Firma *Bruker* (Bremen) aufgenommen:

- *Bruker* WT-300: 300 MHz- ^1H -NMR und 75.5 MHz- ^{13}C -NMR
- *Bruker* AM-400: 400 MHz- ^1H -NMR, 100.6 MHz- ^{13}C -NMR
sowie 376.4 MHz- ^{19}F -NMR

Die angegebenen Werte der chemischen Verschiebungen δ (in ppm) beziehen sich auf das Signal des verwendeten deuterierten Lösungsmittels.^[227] Die Zuordnung der Protonen- und Kohlenstoffsignale erfolgte unter Verwendung von COSY-, HSQC- und HMBC-Experimenten, soweit angegeben. Die Atome der Aminosäuren wurden durch indizierte griechische Buchstaben markiert.

Für die Multiplizitäten der Signale gilt:

s_b	breites Singulett
d	Dublett
dd	Dublett vom Dublett
ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
t	Triplet
td	Triplet vom Dublett
q	Quartett
m	Multiplet

Folgende Reste wurden in den NMR-Daten abgekürzt:

<i>All</i>	Allyl-Rest
<i>Pen</i>	Pentyl-Rest
<i>Hep</i>	Heptyl-Rest

Die Kohlenstoffatome der Perfluoralkylketten mit direkter Bindung zu Fluoratomen sind durch die C-F-Kopplungen in ^{13}C -NMR-Spektren nicht detektierbar und werden in den jeweiligen analytischen Daten nicht angeführt.

5.2 Allgemeine Versuchsvorschriften

AV1: Alkylierung und Alkenylierung^{[94] [68]}

Eine Lösung des Alkohols und des Bromalkens bzw. des Bromalkans in trockenem Dimethylsulfoxid wurde in mehreren Portionen mit gepulvertem Kaliumhydroxid unter starkem Rühren versetzt. Nach 24-stündigem Rühren unter Argon bei Raumtemperatur wurde mit Eiswasser versetzt und viermal mit Toluol extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt.

AV2: Spaltung des Acetonids^[117]

Das Isopropyliden-blockierte Derivat wird in Methanol gelöst und mit 2.00 g/mmol Dowex[®] versetzt. Nach einer Stunde Rühren bei 45 °C am Rotationsverdampfer (DC-Kontrolle) wurde der Ionentauscher abgesaugt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt.

AV3: Perfluoralkylierung^[101]

Das Alkenylderivat und das Perfluoriodid wurden in *n*-Hexan gelöst und unter Lichtausschluss auf 0 °C gekühlt. Es folgte die Zugabe von Triethylboran (1M in Hexan). Nach zehnminütigem Rühren bei 0 °C wurde die Kühlung entfernt und es wurde weitere zwei Stunden mit offenem Deckel gerührt. Das Lösungsmittel wurde dann evaporiert und der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und dreimal mit einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt.

AV4: Hydrierung und Deiodierung^[94]

Eine Suspension aus 700 mg/mmol Pd/C (10 %) in Ethylacetat wurde unter Wasserstoffatmosphäre vorgelegt (mehrfaches Ent- und Belüften). Anschließend wurde eine Lösung aus der Perfluoriodverbindung und Natriumacetat in einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol/Ethylacetat (1:1) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht unter Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde durch *Hyflo*[®] filtriert und der Filterkuchen wurde mit Methanol und Ethylacetat gewaschen. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt, der Rückstand wurde in Petrolether aufgenommen und die unlöslichen Bestandteile wurden durch Filtration abgetrennt. Das Filtrat wurde bis zur Trockene eingeeengt und ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

AV5: Carboxylierung^[102]

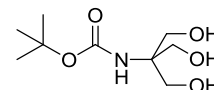
Zu einer eisgekühlten Lösung aus Diglycolsäureanhydrid in absol. Dichlormethan wurden nacheinander das Perfluoramin in absol. Dichlormethan und Triethylamin zugegeben. Nach dem Erwärmen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde dann mit einer 1N Salzsäure-Lösung und einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel i. Vak. verdampft. Die Isolation des Produkts erfolgte durch Flashchromatographie an Kieselgel.

5.3 Synthese perfluorierter Membranankersysteme

Synthese des Membranankersystems mit *Boc*-Schutzgruppe

N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-2-amino-2-(hydroxymethyl)propan-1,3-diol (**2**)^[94]

BocTRIS



Es wurden 6.06 g (50.0 mmol) Tris(hydroxymehtyl)aminomethan (TRIS) wurde in 180 mL Methanol gelöst. Anschließend wurde eine Lösung aus 11.1 mL (52.0 mmol, 1.04 Äquiv.) Di-*tert*-Butyldicarbonat in 40 mL Methanol über einen Zeitraum von 30 Minuten zugetropft. Die Reaktionslösung wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel und *tert*-Butanol wurden unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand wurde i. Hochvak. getrocknet. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

Ausbeute: 10.8 g (48.9 mmol, 98% d.Th.), farbloser Feststoff.

$R_f = 0.17$ (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1).

$C_9H_{19}NO_5$ (221.25 g mol⁻¹) [221.13].

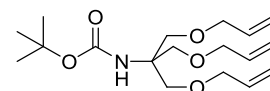
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.65 (s, 6H, CH₂O), 1.41 (s, 9H, CH₃(*t*Bu)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 157.9 (COO*t*Bu), 64.5 (Cq(*t*Bu)), 62.7, 62.6, 62.6 (3×CH₂O), 61.3 (Cq(TRIS)), 28.5 (3×CH₃(*t*Bu)).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[94]

N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-tris[(allyloxy)methyl]aminomethan (**3**)^[94]

BocTRIS(H3)₃



Ansatz: 2.01 g (9.04 mmol) **2**

4.7 mL (54.2 mmol, 6.0 Äquiv.) Allylbromid

3.04 g (54.2 mmol, 6.0 Äquiv.) Kaliumhydroxid

80 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 9:1)

Ausbeute: 2.25 g (6.59 mmol, 73% d. Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.56$ (Toluol/Ethylacetat 9:1).

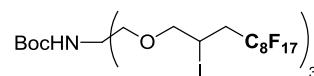
$C_{18}H_{31}NO_5$ ($341.44 \text{ g mol}^{-1}$) [341.22].

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 5.94-5.81 (m, 3H, $CH=CH_2$), 5.28-5.14 (m, 6H, $CH=CH_2$), 4.96 (s, 1H, NH), 3.99-3.97 (m, 6H, OCH_2), 3.69 (s, 6H, CH_2O), 1.41 (s, 9H, $CH_3(tBu)$).

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 154.8 ($COOtBu$), 134.8 ($CH=CH_2$), 116.7 ($CH=CH_2$), 80.0 ($C(tBu)$), 72.3 ($3 \times OCH_2CH=CH_2$), 69.1 ($3 \times CH_2O$), 58.5 ($Cq(TRIS)$), 28.3 ($3 \times CH_3(tBu)$).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[94]

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-tris[(2-iod-4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluorundecyloxy)methyl]aminomethan (4)^[94]**



BocTRIS(IH3F8)₃

Ansatz: 2.60 g (7.6 mmol) **3**

7.8 mL (29.7 mmol, 3.9 Äquiv.) Perfluorooctyliodid

0.46 mL (4.60 mmol, 0.6 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)

5 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 9.00 g (4.60 mmol, 60% d.Th.), farbloses Wachs.

$R_f = 0.50$ (Toluol).

$C_{42}H_{31}F_{51}I_3NO_5$ ($1979.33 \text{ g mol}^{-1}$) [1978.85].

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 4.94 (s, 1H, NH), 4.39-4.34 (m, 3H, CHI), 3.81 (s, 6H, CH_2O), 3.75-3.67 (m, 6H, OCH_2), 3.03-2.65 (m, 6H, CH_2R^F), 1.42 (s, 9H, $CH_3(tBu)$).

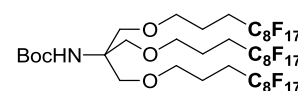
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 154.7 (COO*t*Bu), 98.1 (Cq(*t*Bu)), 75.7 ($3\times\text{OCH}_2$), 69.4 ($3\times\text{CH}_2\text{O}$), 58.8 (Cq(TRIS)), 37.8 (t, 3C, $\text{CH}_2\text{R}^{\text{F}}$, $J_{\text{H,F}} = 21.2$ Hz), 28.2 ($\text{CH}_3(\textit{t}\text{Bu})$), 14.5 ($3\times\text{CHI}$).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -81.2 (m, 9F, CF_3), -112.9 – (-115.1) (m, 6F), -122.0 (m, 6F), -122.3 (m, 12F), -123.2 (m, 6F), -124.0 (m, 6F), -126.6 (m, 6F).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[94]

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluor-undecyloxy)methyl]aminomethan (5)^[94]**

BocTRIS(H3F8)₃



Ansatz: 9.00 g (4.55 mmol) **4**
 3.00 g Pd/C (10 %)
 4.50 g (54.7 mmol, 12.0 Äquiv.) Natriumacetat
 120 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 7.00 g (4.40 mmol, 96% d.Th.), farbloses Wachs.

$\text{C}_{42}\text{H}_{34}\text{F}_{51}\text{NO}_5$ (1601.64 g mol⁻¹) [1601.16].

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4.84 (s, 1H, NH), 3.65 (s, 6H, CH_2O), 3.50 (t, 6H, OCH_2 , $J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz), 2.23-2.20 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{R}^{\text{F}}$), 1.90-1.80 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^{\text{F}}$), 1.42 (s, 9H, $\text{CH}_3(\textit{t}\text{Bu})$).

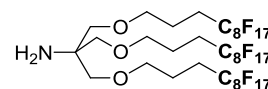
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 154.7 (COO*t*Bu), 79.2 (Cq(*t*Bu)), 69.7 ($3\times\text{OCH}_2$), 69.5 ($3\times\text{CH}_2\text{O}$), 58.3 (Cq(TRIS)), 28.2 ($3\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^{\text{F}}$), 27.7 (t, 3C, $\text{CH}_2\text{R}^{\text{F}}$, $J_{\text{H,F}} = 21.8$ Hz), 20.6, 20.6, 20.5 ($3\times\text{CH}_3(\textit{t}\text{Bu})$).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -81.3 (t, 9F, CF_3 , $J_{\text{F,F}} = 9.8$ Hz), -114.8 (m, 6F), -122.3 (m, 18F), -123.2 (m, 6F), -123.9 (m, 6F), -126.6 (m, 6F).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[94]

**Tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptafluorundecyloxy)methyl]-amino-
methan (6)^[94]**

TRIS(H3F8)₃



Das *Boc*-Derivat **5** (6.60 g, 4.2 mmol) wurde in 230 mL Dichlormethan gelöst und mit 15.0 mL Trifluoressigsäure versetzt. Nach dreistündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel i. Vak. eingeengt und mit Toluol kodestilliert. Der Rückstand wurde anschließend mit Ammoniumhydroxid versetzt und dreimal mit je 250 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit je 200 mL Wasser und einmal mit 200 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt.

Ausbeute: 6.02 g (4.00 mmol, 95% d.Th.), gelbes Wachs.

$C_{37}H_{26}F_{51}NO_5$ (1501.53 g mol⁻¹) [1501.11].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1501.99 ([M+H]⁺, ber.: 1502.12).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.49 (t, 6H, OCH₂, J_{H,H} = 6.0 Hz), 3.33 (s, 6H, CH₂O), 2.23-2.05 (m, 6H, CH₂R^F), 1.91-1.82 (m, 6H, CH₂CH₂R^F), 1.65 (sb, 1H, NH).

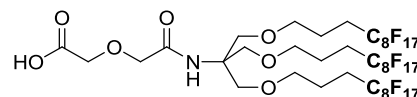
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.6 (3×CH₂O), 69.7 (3×OCH₂), 55.9 (C_q(TRIS)), 27.7 (t, 3C, CH₂R^F, J_{H,F} = 22.8 Hz), 20.6 (CH₂CH₂R^F).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.3 (t, 9F, CF₃, J_{F,F} = 9.8 Hz), -114.8 (m, 6F), -122.3 (m, 18F), -123.2 (m, 6F), -124.0 (m, 6F), -126.6 (m, 6F).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[94]

**N-((N-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-
heptafluorundecyloxy)methyl]aminomethan (7)**

HOCTRIS(H3F8)₃



Ansatz: 1.25 g (0.8 mmol) **6**

0.12 g (1.04 mmol, 1.3 Äquiv.) Diglycolsäureanhydrid

0.22 mL (1.60 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin

40 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 1.00 g (0.64 mmol, 80% d. Th.), farbloses Wachs.

$R_f = 0.58$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{30}F_{51}NO_7$ (1617.60 g mol⁻¹) [1617.12].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1640.22 ([M+Na]⁺, ber.: 1640.11), 3257.41 ([2M+Na]⁺, ber.: 3257.32).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.15 (s, 2H, OCH₂COOH), 3.98 (s, 2H, OCH₂CONH), 3.76 (s, 6H, CH₂O), 3.55 (t, 6H, OCH₂, J_{H,H} = 5.9 Hz), 2.34-2.16 (m, 6H, CH₂R^F), 1.91-1.81 (m, 6H, CH₂CH₂R^F).

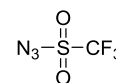
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 171.4 (C=O), 159.0 (C=O), 70.2 (CH₂C=O), 70.1 (CH₂C=O), 70.7 (3×CH₂O), 69.1 (OCH₂R^F), 61.1 (Cq(TRIS)), 28.7 (t, 1C, CH₂R^F, J_{H,F} = 22.9 Hz), 21.6 (CH₂CH₂R^F).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.0 (t, 9F, CF₃, J_{F,F} = 9.5 Hz), -114.5 (m, 6F), -122.0 (m, 18F), -122.9 (m, 6F), -123.6 (m, 6F), -126.3 (m, 6F).

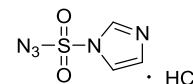
Diazotransfer

Trifluormethansulfonylazid (Triflylazid) – Lösung (12)^[114]

TfN₃



Zur Herstellung der Diazotransferlösung wurden 10.7 g (165 mmol, 4.0 Äquiv.) Natriumazid in 20 mL dest. Wasser gelöst und mit 20 mL Toluol versetzt. Das auf 0 °C gekühlte zweiphasige System wurde unter sehr starkem Rühren tropfenweise mit 13.7 mL (82.5 mmol, 2.0 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäureanhydrid versetzt und weitere 30 Minuten bei 0 °C gerührt. Danach wurde die Temperatur auf 10 °C erhöht und es wurde weitere zwei Stunden gerührt, bevor soviel einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugegeben wurde bis keine Gasentwicklung mehr feststellbar war. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde dreimal mit je 35 mL Toluol extrahiert. Die vereinigten toluolischen Phasen wurden zur Diazotransfer-Reaktion eingesetzt.

Imidazol-1-sulfonylazid-Hydrochlorid (14)^[113]**ImN₃·HCl**

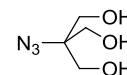
Zu einer eisgekühlten Suspension aus 32.5 g (500 mmol, 1.0 Äquiv.) Natriumazid in 500 mL Acetonitril (HPLC Grade) wurden langsam 40.5 mL (500 mmol, 1.0 Äquiv.) Sulfurylchlorid getropft und das Gemisch wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wurde die eiskalte Lösung portionsweise mit 65.0 g (950 mmol, 1.9 Äquiv.) Imidazol versetzt und weitere drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde mit 1000 mL Ethylacetat verdünnt, zweimal mit je 500 mL dest. Wasser und zweimal mit je 1000 mL einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Das Filtrat wurde unter starkem Rühren tropfenweise einer Lösung aus Salzsäure in Ethanol [tropfenweise Zugaben von 53.5 mL (750 mmol, 1.5 Äquiv.) Acetylchlorid zu 190.0 mL eiskaltem absol. Ethanol] zugesetzt. Es wurde mit Eis gekühlt, der farblose Niederschlag wurde abgesaugt und der Filterkuchen wurde dreimal mit je 250 mL Ethylacetat gewaschen.

Ausbeute: 79.6 g (380 mmol, 76% d.Th.), farblose Kristalle. Schmp.: 95 °C.

C₃H₄ClN₅O₂S (209.61 g mol⁻¹) [208.98].

¹H-NMR (300 MHz, D₂O), δ (ppm): 9.40 (m, 1H, H-2), 8.04-8.03 (m, 1H, H-5), 7.62-7.61 (m, 1H, H-4).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[113]

Tris(hydroxymethyl)azidomethan (13)^[114]**N₃TRIS**

Methode A: Diazotransfer mittels ImN₃·HCl (Analog der Vorschrift aus [114])

Eine Lösung aus 25.1 g (207 mmol) Tris(hydroxymethyl)aminomethan, 69.5 g (828 mmol, 4.0 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat und 2.05 g (8.28 mmol, 0.04 Äquiv.) Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat in 1000 mL Methanol und 155 mL dest. Wasser wurde mit 53.61 g (310.4 mmol, 1.5 Äquiv.) Imidazol-1-sulfonylazid-Hydrochlorid versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur stark gerührt. Der Fortschritt der Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert und der vollständige Reaktionsumsatz

schließlich durch den Farbwechsel von blau zu grün angezeigt. Die Reaktionslösung wurde i. Vak. eingengt durch *Hyflo*[®] filtriert und der Filterkuchen wurde mit 900 mL Ethylacetat und 450 mL Isopropanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde zur Entfernung der Kupferreste mittels Kieselgel-Filtrationssäule (Laufmittel: EE) gereinigt. Anschließende Umkristallisation aus Ethylacetat/Diethylether führt zum Diazotransferprodukt.

Ausbeute: 24.59 g (170 mmol, 87% d.Th.), farblose Kristalle, Schmp.: 57 °C. $R_f = 0.38$ (EE).

Methode B: Diazotransfer mittels TfN_3 (Analog der Vorschrift aus [113])

Es wurden 5.00 g (41.3 mmol) Tris(hydroxymethyl)aminomethan, 13.9 g (165 mmol, 4.0 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat und 0.41 g (1.7 mmol, 0.04 Äquiv.) Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat in 55 mL dest. Wasser gelöst und mit 100 mL der toluolischen Triflylazid-Stammlösung (s.o.) versetzt. Anschließend wurden dem Zweiphasensystem 350 mL Methanol zugegeben und es wurden 24 Stunden bei Raumtemperatur stark gerührt. Die Reaktionslösung wurde durch *Hyflo*[®] filtriert und der Filterkuchen wurde mit 300 mL Ethylacetat und 150 mL Isopropanol gewaschen. Das Lösemittel wurde i. Vak. entfernt, wobei die Temperatur stets unter 25 °C gehalten wurde. Der Rückstand wurde zur Entfernung der Kupferreste mittels einer Kieselgel-Filtrationssäule (Laufmittel: $CH_2Cl_2/MeOH$ 4:1) vorgereinigt. Anschließende Umkristallisation aus Ethylacetat/Diethylether führte zum Diazotransferprodukt.

Ausbeute: 4.11 g (27.9 mmol, 68% d.Th.), farblose Kristalle, Schmp.: 57-58 °C.

$R_f = 0.43$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_4H_9N_3O_3$ (147.13 g mol⁻¹) [147.06].

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 4.84 (t, 3H, J = 5.5 Hz, OH), 3.48 (d, 6H, J = 5.5 Hz, CH₂O).

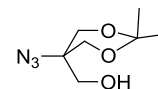
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 68.63 (Cq(TRIS)), 61.05 (3×CH₂O).

IR (KBr, cm⁻¹): 2105 (s, N₃), 3367 (br s, OH).

Synthese von Membranankersystemen mit einer Perfluoralkylkette

5-Azido-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl-methanol (**15**)^[110]

N₃TRIS(*i*Pr)



Analog der Vorschrift aus [228]

Es wurden 16.0 g (109 mmol) Tris(hydroxymethyl)azidomethan **13** in 120 mL Dimethylformamid gelöst und mit 16.2 mL (131 mmol, 1.2 Äquiv.) 2,2-Dimethoxypropan und 1.24 g (6.50 mmol, 0.06 Äquiv.) *para*-Toluolsulfonsäure versetzt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit 250 mL Diethylether verdünnt und dreimal mit je 100 mL einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie dreimal mit je 100 mL einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die etherische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 3:1).

Ausbeute: 9.45 g (50.5 mmol, 46% d.Th.), gelbes Öl. $R_f = 0.28$ (Toluol/Ethylacetat 3:1).

$C_7H_{13}N_3O_3$ (187.20 g mol⁻¹) [187.10].

ESI-MS (positiv), (m/z): 468.43 ([3M(NH₂)+H-2N₂-N₃]⁺, ber.: 468.30), 500.46 ([3M+Na-3N₂]⁺, ber.: 500.26).

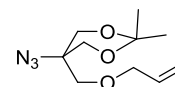
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.93 (m, 4H, CH₂O*i*Pr) 3.55 (s, 2H, CH₂OH), 1.46, 1.44 (s, 6H, CH₃(*i*Pr)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 99.08 (Cq(*i*Pr)), 64.48 (2×CH₂O*i*Pr), 64.06 (CH₂OH), 59.95 (Cq(TRIS)), 24.71, 21.79 (2×CH₃(*i*Pr)).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[110]

5-(Allyloxymethyl)-5-azido-2,2-dimethyl-1,3-dioxan (**16a**)

N₃TRIS(*i*Pr)(H3)



Ansatz: 4.50 g (24.0 mmol) **15**

3.2 mL (36.1 mmol, 1.5 Äquiv.) Allylbromid

2.03 g (36.1 mmol, 1.5 Äquiv.) Kaliumhydroxid

80 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 9:1)

Ausbeute: 4.93 g (21.7 mmol, 90% d. Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.58$ (Toluol/Ethylacetat 9:1).

$C_{10}H_{17}N_3O_3$ (227.26 g mol⁻¹) [227.13].

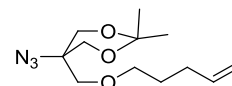
ESI-MS (positiv), (m/z): 371.21 ([M+H-N₃]⁺, ber.: 371.24).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.95-5.82 (m, 1H, CH=CH₂), 5.32-5.18 (m, 2H, CH=CH₂), 4.03-3.79 (m, 6H, CH₂CH=CH₂, 2×CH₂O*i*Pr), 3.47 (s, 2H, CH₂O*all*), 1.45, 1.44 (2×s, 6H, CH₃(*i*Pr)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 134.17 (CH=CH₂), 117.55 (CH=CH₂), 98.81 (Cq(*i*Pr)) 77.63 (CH₂CH=CH₂), 70.95 (CH₂O*all*), 64.37 (2×CH₂O*i*Pr), 58.77 (Cq(TRIS)), 24.15, 22.66 (2×CH₃(*i*Pr)).

5-Azido-2,2-dimethyl-5-((pent-4-enyloxy)methyl)-1,3-dioxan (16b)

N₃TRIS(*i*Pr)(H5)



Ansatz: 2.00 g (10.7 mmol) **15**

1.9 mL (16.0 mmol, 1.5 Äquiv.) 5-Bromopenten

0.90 g (16.0 mmol, 1.5 Äquiv.) Kaliumhydroxid

36 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 9:1)

Ausbeute: 1.89 g (7.41 mmol, 69% d. Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.38$ (Toluol).

$C_{12}H_{21}N_3O_3$ (255.31 g mol⁻¹) [255.16].

ESI-MS (positiv), (m/z): 532.25 ([2M+Na]⁺, ber.: 533.31).

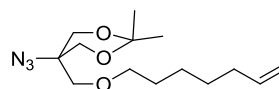
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.87-5.74 (m, 1H, CH=CH₂), 5.06-4.94 (m, 2H, CH=CH₂), 4.00-3.77 (m, 4H, CH₂O*i*Pr), 3.48-3.44 (m, 4H, CH₂O*Pen*, OCH₂*Pen*), 2.16-

2.08 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 1.72-1.63 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Pen}$), 1.45, 1.43 (2×s, 6H, $\text{CH}_3(i\text{Pr})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 138.12 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 115.26 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 72.49 (OCH_2Pen), 71.56 (CH_2OPen), 66.44 ($\text{Cq}(\text{TRIS})$), 64.45 ($2\times\text{CH}_2\text{OiPr}$), 30.33 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 28.81 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Pen}$), 24.16, 22.79 ($2\times\text{CH}_3(i\text{Pr})$).

5-(Heptenyloxymethyl)-5-azido-2,2-dimethyl-1,3-dioxan (16c)

$\text{N}_3\text{TRIS}(i\text{Pr})(\text{H7})$



Ansatz: 704 mg (3.76 mmol) **15**
 0.86 mL (5.65 mmol, 1.5 Äquiv.) 7-Bromhepten
 0.32 g (5.65 mmol, 1.5 Äquiv.) Kaliumhydroxid
 10 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 9:1)

Ausbeute: 820 mg (2.9 mmol, 77% d. Th.), farblose Flüssigkeit.

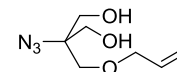
$R_f = 0.13$ (Toluol).

$\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$ (283.37 g mol⁻¹) [283.19].

ESI-MS (positiv), (m/z): 266.17 ($[\text{M}+\text{Na}-(i\text{Pr})]^+$, ber.: 266.15), 459.36 ($[\text{2M}+\text{H}-\text{N}_2-(2\times i\text{Pr})]^+$, ber.: 459.32), 495.35 ($[\text{2M}+\text{Na}-2\text{N}_2-\text{Allyl}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$, ber.: 495.34), 702.55 ($[\text{3M}+\text{H}-\text{N}_2-(3\times i\text{Pr})]^+$, ber.: 702.48).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 5.87-5.73 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.03-4.91 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.75 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{O}(i\text{Pr})$), 3.64 (s, 2H, CH_2OHep), 3.48 (t, 2H, $J_{\text{CH}_2\text{Hep, OCH}_2} = 6.5$ Hz, OCH_2Hep), 2.08-2.01 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 1.64-1.55 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Hep}$), 1.46-1.29 (m, 10H, $(\text{CH}_2)_2$, {1.45, 1.43} $2\times\text{CH}_3(i\text{Pr})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 139.01 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 114.65 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 72.60 (OCH_2Hep), 72.30 (CH_2OHep), 66.39 ($\text{Cq}(\text{TRIS})$), 64.56 ($2\times\text{CH}_2\text{OiPr}$), 33.82 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 29.51 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Hep}$), 28.79 (CH_2Hep), 25.64 (CH_2Hep), 24.26, 22.71 ($2\times\text{CH}_3(i\text{Pr})$).

2-(Allyloxymethyl)-2-azidopropan-1,3-diol (17a)**N₃TRIS(H3)****Ansatz:** (0.50 g, 2.2 mmol) **16a**4.40 g Dowex[®]

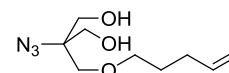
60 mL Methanol

Vorschrift: AV2^[117]**Reinigung:** Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 1:1)**Ausbeute:** 313.0 mg (1.7 mmol, 77% d. Th.), farbloses Öl. $R_f = 0.29$ (Toluol/Ethylacetat 1:1). $C_7H_{13}N_3O_3$ (187.20 g mol⁻¹) [187.10].

ESI-MS (positiv), (m/z): 160.10 ([M+H-N₂]⁺, ber.: 160.10), 319.18 ([2M+H-2N₂]⁺, ber.: 319.19), 341.16 ([2M+Na-2N₂]⁺, ber.: 341.17), 369.18 ([2M+Na-N₂]⁺, ber.: 369.18), 500.27 ([3M+Na-3N₂]⁺, ber.: 500.26), 506.28 ([3M+H-2N₂]⁺, ber.: 506.28), 534.28 ([3M+H-N₂]⁺, ber.: 534.29).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.95-5.82 (m, 1H, CH=CH₂), 5.33-5.20 (m, 2H, CH=CH₂), 4.04 (dt, 2H, J_{OCH₂,CH₂O} = 1.3, J_{CH, OCH₂} = 5.7 Hz, CH₂CH=CH₂), 3.76 (s_b, 2H, CH₂OH), 3.64 (s, 2H, CH₂OAll), 2.56 (s_b, 2H, OH).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 133.89 (CH=CH₂), 118.00 (CH=CH₂), 72.81 (CH₂CH=CH₂), 71.34 (CH₂OAll), 64.19 (2×CH₂OH).

2-Azido-2-((pent-4-enyloxy)methyl)propan-1,3-diol (17b)**N₃TRIS(H5)****Ansatz:** 1.89 g (8.79 mmol) **16b**17.6 g Dowex[®]

240 mL Methanol

Vorschrift: AV2^[117]**Reinigung:** Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 1:1)

Ausbeute: 1.40 g (6.5 mmol, 74% d.Th.), farbloses Öl.

$R_f = 0.29$ (Toluol/Ethylacetat 2:1).

$C_9H_{17}N_3O_3$ (215.15 g mol⁻¹) [215.13].

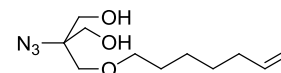
ESI-MS (positiv), (m/z): 403.26 ([2M+H-N₂]⁺, ber.: 403.26), 618.39 ([3M+H-N₂]⁺, ber.: 618.38).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.87-5.73 (m, 1H, CH=CH₂), 5.06-4.95 (m, 2H, CH=CH₂), 3.75-3.74 (m, 4H, CH₂OH), 3.63 (s, 2H, CH₂OPen), 3.49 (t, 2H, J_{CH₂Pen, OCH₂} = 6.4 Hz, OCH₂Pen), 2.52 (sb, 2H, OH), 2.16-2.08 (m, 2H, CH₂CH=CH₂), 1.73-1.64 (m, 2H, OCH₂CH₂).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 138.12 (CH=CH₂), 115.24 (CH=CH₂), 72.43 (OCH₂Pen), 71.55 (CH₂OPen), 66.45 (Cq(TRIS)), 64.32 (2×CH₂OH), 30.31 (CH₂CH=CH₂), 28.80 (OCH₂CH₂).

2-Azido-2-((hept-6-enyloxy)methyl)propan-1,3-diol (17c)

N₃TRIS(H7)



Ansatz: 0.82 g (2.90 mmol) **16c**

5.8 g Dowex[®]

80 mL Methanol

Vorschrift: AV2^[117]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 1:1)

Ausbeute: 0.64 g (2.63 mmol, 91% d. Th.), farbloses Öl.

$R_f = 0.48$ (Toluol/Ethylacetat 1:1).

$C_{11}H_{21}N_3O_3$ (243.30 g mol⁻¹) [243.16].

ESI-MS (positiv), (m/z): 266.14 ([M+Na]⁺, ber.: 266.15), 459.36 ([2M+H-N₂]⁺, ber.: 459.32), 702.48 ([3M+H-N₂]⁺, ber.: 702.48), 911.63 ([4M+H-(3×N₂)]⁺, ber.: 911.60).

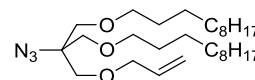
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.86-5.73 (m, 1H, CH=CH₂), 5.03-4.91 (m, 2H, CH=CH₂), 3.75-3.74 (m, 4H, CH₂OH), 3.64 (s, 2H, CH₂OHep), 3.48 (t, 2H, J_{CH₂Hep, OCH₂} =

6.5 Hz, OCH_2Hep), 2.33 (s_b, 2H, OH), 2.08-2.01 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 1.64-1.55 (m, 2H, CH_2Hep), 1.46-1.29 (m, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{Hep}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 139.02 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 114.64 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 72.58 (OCH_2Hep), 72.30 (CH_2OHep), 66.40 ($\text{Cq}(\text{TRIS})$), 64.50 ($2\times\text{CH}_2\text{OH}$), 33.82 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 29.50 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Hep}$), 28.76 (CH_2Hep), 25.63 (CH_2Hep).

1-(3-(Allyloxy)-2-azido-2-(undecyloxymethyl)propoxy)undecan (18a)

$\text{N}_3\text{TRIS}(\text{H11})_2(\text{H3})$



Ansatz: 0.65 g (3.47 mmol) **17a**
 3.1 mL (13.9 mmol, 4.0 Äquiv.) 1-Bromundecan
 0.78 g (13.9 mmol, 4.0 Äquiv.) Kaliumhydroxid
 15 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[68]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 1.16 g (2.34 mmol, 68% d. Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.73$ (Toluol).

$\text{C}_{29}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_3$ ($495.78 \text{ g mol}^{-1}$) [495.44].

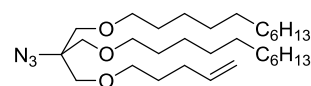
ESI-MS (positiv), (m/z): 468.43 ($[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$, ber.: 468.44), 957.85 ($[\text{2M}+\text{Na}-\text{2N}_2]^+$, ber.: 957.86).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 5.95-5.82 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.31-5.16 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.01 (dt, 2H, $J_{\text{OCH}_2,\text{CCH}_2\text{O}} = 1.5$, $J_{\text{CH},\text{OCH}_2} = 5.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.55 (s, 2H, CH_2OAll), 3.54 (s, 4H, CH_2OAlk), 3.44 (t, 4H, $J_{\text{CH}_2\text{Alk},\text{OCH}_2} = 6.5$ Hz, OCH_2Alk), 1.26 (m, 36H, $\text{CH}_2(\text{Alk})$), 0.88 (t, 6H, $J_{\text{H11},\text{H10}} = 6.7$ Hz, $\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 134.63 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 117.10 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 77.62 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 71.99 ($2\times\text{OCH}_2\text{Alk}$), 70.70 ($2\times\text{CH}_2\text{OAlk}$), 70.22 ($2\times\text{CH}_2\text{OAll}$), 66.08 ($\text{Cq}(\text{TRIS})$), 32.06 ($2\times\text{CH}_2(2)(\text{Alk})$), 29.78 ($6\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 29.69, 29.59, 29.50 ($6\text{C}\times\text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 26.19 ($2\times\text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 22.83 ($2\times\text{CH}_2(10)(\text{Alk})$), 14.26 ($2\times\text{CH}_3(\text{Alk})$).

1-(2-Azido-3-(pent-4-enyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)undecan (18b)

N_3 TRIS(H11)₂(H5)



Ansatz: 0.65 g (3.47 mmol) **17b**
 3.1 mL (13.88 mmol, 4.0 Äquiv.) 1-Bromundecan
 0.78 g (13.88 mmol, 4.0 Äquiv.) Kaliumhydroxid
 15 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[68]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 2.71 g (5.17 mmol, 79% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.11$ (Cyclohexan).

$C_{31}H_{61}N_3O_3$ (523.83 g mol⁻¹) [523.47].

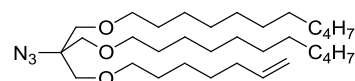
ESI-MS (positiv), (m/z): 546.47 ([M+Na]⁺, ber.: 546.46), 1069.95 ([2M+Na]⁺, ber.: 1069.93).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.88-5.75 (m, 1H, CH=CH₂), 5.06-4.93 (m, 2H, CH=CH₂), 3.53-3.52 (m, 6H, OCH₂), 3.48-3.41 (m, 6H, CH₂O), 2.16-2.08 (m, 2H, CH₂CH=CH₂), 1.71-1.62 (m, 2H, OCH₂CH₂Pen), 1.61-1.51 (m, 4H, OCH₂CH₂Alk), 1.25 (m, 32H, CH₂(Alk)), 0.88 (m, 6H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 138.45 (CH=CH₂), 114.95 (CH=CH₂), 72.06 (OCH₂Pen), 71.17 (CH₂OPen), 70.88 (2×OCH₂Alk), 70.77 (2×CH₂OAlk), 66.16 (Cq(TRIS)), 32.13 (2×CH₂(2)(Alk)), 30.40 (CH₂CH=CH₂), 29.85 (6×CH₂(Alk)), 29.77, 29.66, 29.57 (6×CH₂(Alk)), 28.97 (OCH₂CH₂Pen), 26.27 (2×CH₂(9)(Alk)), 22.90 (2×CH₂(10)(Alk)), 14.32 (2×CH₃(Alk)).

1-(2-Azido-3-(hept-6-enyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)undecan (18c)

N_3 TRIS(H11)₂(H7)



Ansatz: 0.64 g (2.63 mmol) **17c**
 2.3 mL (10.5 mmol, 4.0 Äquiv.) 1-Bromundecan
 0.6 g (10.5 mmol, 4.0 Äquiv.) Kaliumhydroxid

11 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[68]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 1.402 g (2.54 mmol, 97% d. Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.09$ (Ethylacetat).

$C_{33}H_{65}N_3O_3$ (551.89 g mol⁻¹) [551.50].

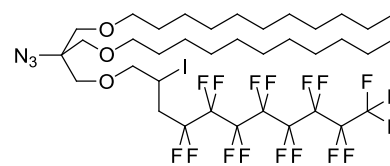
ESI-MS (positiv), (m/z): 524.50 ([M+H-N₂]⁺, ber.: 524.50), 574.49 ([M+Na]⁺, ber.: 574.49), 1125.99 ([2M+Na]⁺, ber.: 1125.99).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.87-5.74 (m, 1H, CH=CH₂), 5.03-4.91 (m, 2H, CH=CH₂), 3.52 (m, 6H, CH₂O), 3.46-3.36 (m, 6H, OCH₂, OCH₂Heptenyl), 2.08-2.01 (m, 2H, CH₂CH=CH₂), 1.62-1.51 (m, 6H, CH₂CH₂CH=CH₂, OCH₂CH₂Alk), 1.46-1.26 (m, 36H, CH₂(Pen), CH₂(Alk)), 0.88 (t, 6H, J_{H11,H10} = 6.7 Hz, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 139.15 (CH=CH₂), 114.51 (CH=CH₂), 72.06 (2×OCH₂Alk), 71.93 (OCH₂Hep), 70.85 (CH₂OHep), 70.79 (2×CH₂OAlk), 66.17 (Cq(TRIS)), 33.94 (OCH₂CH₂Hep), 32.13 (2×CH₂(2)(Alk)), 30.00 (CH₂CH=CH₂), 29.86 (6×CH₂(Alk)), 29.77, 29.67, 29.57 (6×CH₂(Alk)), 28.90 (CH₂CH₂CH=CH₂), 26.28 (2×CH₂(9)(Alk)), 25.77 (CH₂Hep), 22.90 (2×CH₂(10)(Alk)), 14.32 (2×CH₃(Alk)).

11-(2-Azido-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8-heptadecafluor-10-iodoundecan (19a)

N₃TRIS(H11)₂(IH3F8)



Ansatz: 1.00 g (2.02 mmol) **18a**

0.70 mL (2.63 mmol, 1.3 Äquiv.) Perfluorooctyliodid

0.40 mL (0.40 mmol, 0.2 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)

10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 1.87 g (1.80 mmol, 89% d. Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.71$ (Toluol)

$C_{37}H_{57}F_{17}IN_3O_3$ (1041.74 g mol⁻¹) [1041.32].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1064.22 ([M+Na]⁺, ber.: 1064.31), 2105.46 ([2M+Na]⁺, ber.: 2105.62).

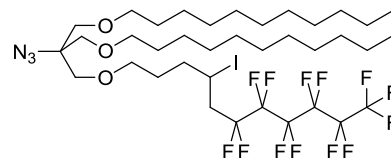
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.40-4.32 (m, 1H, CHI), 3.79-3.61 (m, 4H, CH₂OR^F, OCH₂R^F), 3.54-3.53 (m, 4H, CH₂OAlk), 3.15-2.60 (m, 2H, CH₂R^F), 1.60-1.51 (m, 4H, OCH₂Alk), 1.26 (m, 36H, CH₂(Alk)), 0.88 (m, 6H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 76.23 (OCH₂CHI), 72.07 (2×OCH₂Alk), 71.03 (CH₂OR^F), 70.61, 70.58 (2×CH₂OAlk), 66.02 (Cq(TRIS)), 37.73 (CH₂R^F), *Signal des Kohlenstoffs CHI im Spektrum nicht erkennbar*, 32.07 (2×CH₂(2)(Alk)), 29.79 (6×CH₂(Alk)), 29.69, 29.60, 29.50 (6×CH₂(Alk)), 26.21 (2×CH₂(9)(Alk)), 22.83 (2×CH₂(10)(Alk)), 14.24 (2×CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.09 (t, 3F, CF₃, J_{F,F} = 9.5 Hz), -113.98 (m, 2F), -122.22 (m, 6F), -123.03 (m, 2F), -123.9 (m, 2F), -126.42 (m, 2F).

11-(2-Azido-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6-tridecafluor-8-iodoundecan (19b)

N₃TRIS(H11)₂(IH5F6)



Ansatz: 1.00 g (1.91 mmol) **18b**
 0.54 mL (2.48 mmol, 1.3 Äquiv.) Perfluorhexyliodid
 0.38 mL (0.38 mmol, 0.2 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)
 10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Cyclohexan 1:1)

Ausbeute: 1.48 g (1.53 mmol, 80% d.Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.84$ (Toluol/Cyclohexan 1:1).

$C_{37}H_{61}F_{13}IN_3O_3$ (969.78 g mol⁻¹) [969.36].

ESI-MS (positiv), (m/z): 992.46 ([M+Na]⁺, ber.: 992.34), 1961.89 ([2M+Na]⁺, ber.: 1961.70).

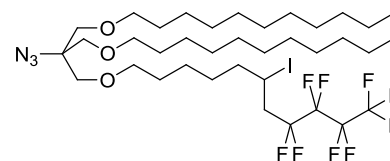
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4.41-4.32 (m, 1H, CHI), 3.52 (s, 2H, CH_2OR^F), 3.51 (m, 6H, CH_2O , OCH_2R^F), 3.43 (t, 4H, $J_{\text{CH}_2\text{Alk}, \text{OCH}_2} = 6.6$ Hz, OCH_2Alk), 3.04-2.68 (m, 2H, CH_2R^F), 1.95-1.65 (m, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{R}^F$), 1.58-1.51 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Alk}$), 1.26 (m, 32H, $\text{CH}_2(\text{Alk})$), 0.88 (m, 6H, $\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 72.08 ($2 \times \text{CH}_2\text{OAlk}$), 71.16 (CH_2OR^F), 70.73 ($2 \times \text{OCH}_2\text{Alk}$), 70.47 (OCH_2R^F), 66.12 (Cq(TRIS)), 41.91 (t, 1C, $J = 20.6$ Hz, CH_2R^F), 37.38 (CHI), 32.13 ($2 \times \text{CH}_2(2)(\text{Alk})$), 29.98 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{F}_6$), 29.86 ($6 \times \text{CH}_2(\text{Alk})$), 29.77, 29.67, 29.57 ($6 \times \text{CH}_2(\text{Alk})$), 26.27 ($2 \times \text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 22.90 ($2 \times \text{CH}_2(10)(\text{Alk})$), 20.58 (CH_2CHI), 14.32 ($2 \times \text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{19}\text{F-NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -84.2 (t, 3F, CF_3 , $J_{\text{F},\text{F}} = 10.1$ Hz), -115.9 (m, 4F), -124.7 (m, 2F), -125.7 (m, 2F), -126.5 (m, 2F).

13-(2-Azido-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4-nonafluor-6-iodotridecan (19c)

$\text{N}_3\text{TRIS}(\text{H11})_2(\text{IH7F4})$



Ansatz: 1.00 g (1.81 mmol) **18c**
 0.41 mL (0.82 mmol, 1.3 Äquiv.) Perfluorbutyliodid
 0.36 mL (0.36 mmol, 0.2 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)
 10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 1.37 g (1.53 mmol, 84% d. Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.55$ (Toluol/Cyclohexan 1:1).

$\text{C}_{37}\text{H}_{65}\text{F}_9\text{IN}_3\text{O}_3$ (897.82 g mol⁻¹) [897.39].

ESI-MS (positiv), (m/z): 920.49 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 920.38), 1817.96 ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1817.78).

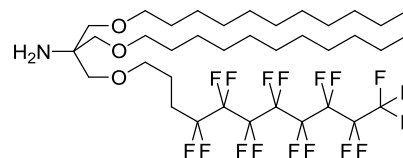
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4.37-4.28 (m, 1H, CHI), 3.53 (m, 6H, CH_2O), 3.48-3.36 (m, 6H, OCH_2), 3.00-2.69 (m, 2H, CH_2R^F), 1.85-1.76 (m, 2H, CH_2CHI), 1.62-1.39 (m, 10H, $(\text{CH}_2)_3\text{R}^F$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Alk}$), 1.26 (m, 32H, $\text{CH}_2(\text{Alk})$), 0.88 (m, 6H, $\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 72.08 ($2\times\text{OCH}_2\text{Alk}$), 71.69 (OCH_2R^F), 71.01 (CH_2OR^F), 70.77 ($2\times\text{CH}_2\text{OAlk}$), 66.18 ($\text{C}_q(\text{TRIS})$), 41.81 (t, 1C, $J = 20.9$ Hz, CH_2R^F), 40.47 (CHI), 32.13 ($2\times\text{CH}_2(2)(\text{Alk})$), 30.00 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{R}^F$), 29.86 ($6\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 29.78, 29.67, 29.57 ($6\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 26.42 ($(\text{CH}_2)\text{R}^F$), 26.28 ($2\times\text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 25.27 ($(\text{CH}_2)\text{R}^F$), 22.91 ($2\times\text{CH}_2(10)(\text{Alk})$), 20.80 ($(\text{CH}_2)\text{R}^F$), 14.32 ($2\times\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -81.4 (t, 3F, CF_3 , $J_{\text{F,F}} = 9.7$ Hz), -113.7 (m, 2F), -124.9 (m, 2F), -126.2 (m, 2F).

1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11,11-Heptafluoroundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-amin (20a)

TRIS(H11)₂(H3F8)



Ansatz: 827 mg (0.80 mmol) **19a**
 560 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 263 mg (3.20 mmol, 4.0 Äquiv.) Natriumacetat
 60 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 715 mg (0.80 mmol, quant.), braunes Wachs.

$\text{C}_{37}\text{H}_{60}\text{F}_{17}\text{NO}_3$ (889.85 g mol⁻¹) [889.4302].

ESI-MS (positiv), (m/z): 890.41 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 890.44), 1779.83 ($[\text{2M}+\text{H}]^+$, ber.: 1779.87).

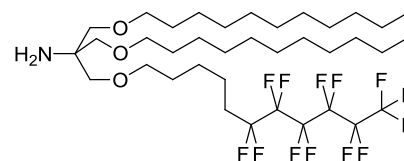
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 5.03 (s_b, 2H, NH_2), 3.58-3.54 (m, 4H, CH_2OR^F , OCH_2R^F), 3.51 (s, 4H, CH_2OAlk), 3.45 (t, 4H, $J_{\text{CH}_2\text{Alk}, \text{OCH}_2} = 6.7$ Hz, OCH_2Alk), 2.26-2.08 (m, 2H, CH_2R^F), 1.94-1.85 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{R}^F$), 1.57-1.53 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Alk}$), 1.25 (m, 32H, $\text{CH}_2(\text{Alk})$), 0.87 (m, 6H, $\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 72.03 ($2\times\text{OCH}_2\text{Alk}$), 70.32 (CH_2OR^F), 70.32 (OCH_2R^F), 70.16, 70.06 ($2\times\text{CH}_2\text{OAlk}$), 59.09 ($\text{C}_q(\text{TRIS})$), 32.05 ($2\times\text{CH}_2(2)(\text{Alk})$), 29.79 ($6\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 29.60, 29.50 ($6\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 27.97 (t, 2C, $J = 22.0$ Hz, CH_2R^F), 26.22 ($2\times\text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 22.81 ($2\times\text{CH}_2(10)(\text{Alk})$), 14.20 ($2\times\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -81.16 (t, 3F, CF_3 , $J_{\text{F,F}} = 9.9$ Hz), -114.60 (m, 2F), -122.19 (m, 6F), -123.09 (m, 2F), -123.69 (m, 2F), -126.48 (m, 2F).

1-(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Tridecafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-amin (20b)

TRIS(H11)₂(H5F6)



Ansatz: 1.41 g (1.45 mmol) **19b**
 1.05 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 0.47 g (5.80 mmol, 4.0 Äquiv.) Natriumacetat
 130 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 1.16 g (1.42 mmol, 98% d.Th.), braune Flüssigkeit.

$C_{37}H_{64}F_{13}NO_3$ (817.89 g mol⁻¹) [817.47].

ESI-MS (positiv), (m/z): 818.50 ([M+H]⁺, ber.: 818.48), 1635.99 ([2M+H]⁺, ber.: 1635.94).

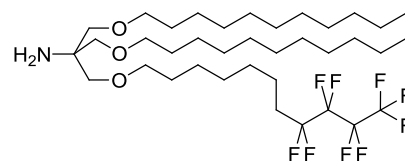
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.65-3.39 (m, 12H, CH₂OR^F, CH₂OAlk, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 2.15-1.98 (m, 2H, CH₂R^F), 1.65-1.44 (m, 10H, (CH₂)₃R^F, OCH₂CH₂Alk), 1.25 (m, 32H, CH₂(Alk)), 0.87 (t, 6H, J_{H11,H10} = 6.7 Hz, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.27 (OCH₂R^F), 71.70 (2×OCH₂Alk), 68.16 (OCH₂Alk), 67.97 (2×CH₂OR^F), Signal zum quartären Kohlenstoff im Spektrum nicht erkennbar, Signal der drei Kohlenstoffe zu CH₂R^F im Spektrum nicht erkennbar, 32.13 (2×CH₂(2)(Alk)), 31.03 ((CH₂)R^F), 29.91 (OCH₂CH₂R^F), 29.88, 29.86 (6×CH₂(Alk)), 29.75, 29.68, (4×CH₂(Alk)), 29.63 ((CH₂)R^F), 29.58 (2×CH₂(Alk)), 26.24 (2×CH₂(9)(Alk)), 22.89 (2×CH₂(10)(Alk)), 14.30 (2×CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.2 (m, 3F, CF₃), -114.7 (m, 2F), -122.3 (m, 2F), -123.3 (m, 2F), -123.9 (m, 2F), -126.5 (m, 2F).

1-(10,10,11,11,12,12,13,13,13-Nonafluortridecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyl-oxymethyl)propan-2-amin (20c)

TRIS(H11)₂(H7F4)



Ansatz: 1.31 g (1.46 mmol) **19c**
 1.05 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 0.48 g (5.84 mmol, 4.0 Äquiv.) Natriumacetat
 130 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 1.06 g (1.42 mmol, 97% d.Th.), braune Flüssigkeit.

$C_{37}H_{68}F_9NO_3$ (745.93 g mol⁻¹) [745.51].

ESI-MS (positiv), (m/z): 746.52 ([M+Na]⁺, ber.: 746.51).

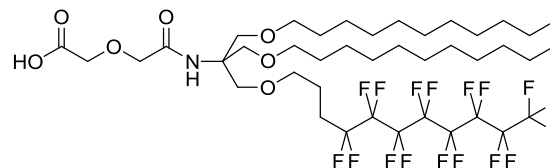
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.18 (s_b, 2H, NH₂), 3.51 (m, 4H, CH₂O), 3.47-3.43 (m, 6H, OCH₂), 3.38 (t, 2H, J_{CH₂Pen, OCH₂} = 6.7 Hz, OCH₂R^F), 2.14-1.95 (m, 2H, CH₂R^F), 1.58-1.56 (m, 8H, (CH₂)₄R^F), 1.35-1.25 (m, 38H, CH₂(Alk), (CH₂)R^F), 0.87 (m, 6H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.12 (2×OCH₂Alk), 71.95 (OCH₂R^F), 71.18 (CH₂OR^F), 70.13 (2×CH₂OAlk), 59.10 (C_q(TRIS)), 32.13 (2×CH₂(2)(Alk)), 30.96 (t, 1C, J = 22.0 Hz, CH₂R^F), 30.00 (OCH₂CH₂R^F), 29.89 (6×CH₂(Alk)), 29.73, 29.70 (4×CH₂(Alk)), 29.64 ((CH₂)₂R^F), 29.58 (2×CH₂(Alk)), 26.41 ((CH₂)R^F), 26.32, 26.30 (2×CH₂(9)(Alk)), 26.09 ((CH₂)R^F), 22.89 (2×CH₂(10)(Alk)), 20.28 ((CH₂)R^F), 14.30 (2×CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.4 (m, 3F, CF₃), -115.0 (m, 2F), -124.8 (m, 2F), -126.4 (m, 2F).

2-(2-(1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (21a)

HOOCTRIS(H11)₂(H3F8)



Ansatz: 500 mg (0.56 mmol) **20a**

84.5 mg (0.73 mmol, 1.3 Äquiv.) Diglycolsäureanhydrid

0.10 mL (73.9 mg, 2.0 Äquiv.) Triethylamin

20 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 512 mg (0.51 mmol, 91% d. Th.), gelbliches Öl.

$R_f = 0.59$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{64}F_{17}NO_7$ (1005.92 g mol⁻¹) [1005.44].

ESI-MS (positiv), (m/z): 918.50 ([M+H-COOHCH₂OCH₂]⁺, ber.: 918.43), 1028.47 ([M+Na]⁺, ber.: 1028.43), 1923.98 ([2M+H-COOHCH₂OCH₂]⁺, ber.: 1923.87), 2033.94 ([2M+Na]⁺, ber.: 2033.87).

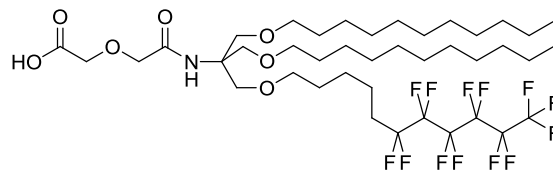
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.74 (s, 1H, NH), 4.17 (s, 2H, CH₂C=O), 4.05 (s, 2H, CH₂C=O), 3.76 (s, 2H, CH₂OR^F), 3.68 (s, 4H, CH₂OAlk), 3.50 (t, 2H, J_{CH₂R^F, OCH₂} = 5.9 Hz, OCH₂R^F), 3.41 (t, 4H, J_{CH₂Alk, OCH₂} = 6.6 Hz, OCH₂Alk), 2.23-2.05 (m, 2H, CH₂R^F), 1.89-1.80 (m, 2H, OCH₂CH₂R^F), 1.55-1.50 (m, 4H, OCH₂CH₂Alk), 1.25 (m, 32H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 6H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.49 (C=O), 169.56 (C=O), 71.77 (2×OCH₂Alk), 71.40 (CH₂C=O), 69.85 (CH₂C=O), 69.29 (CH₂OR^F), 69.07 (2×CH₂OAlk), 68.91 (OCH₂R^F), 60.13 (C_q(TRIS)), 32.06 (2×CH₂(2)(Alk)), 29.80 (6×CH₂(Alk)), 29.63, 29.50 (6×CH₂(Alk)), 27.99 (t, 2C, J = 22.1 Hz, CH₂R^F), 26.24 (2×CH₂(9)(Alk)), 22.82 (2×CH₂(10)(Alk)), 14.22 (2×CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.12 (t, 3F, CF₃, J_{F,F} = 9.94 Hz), -114.63 (m, 2F), -122.17 (m, 6F), -123.06 (m, 2F), -123.75 (m, 2F), -126.45 (m, 2F).

2-(2-Oxo-2-(1-(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)ethoxy)essigsäure (21b)

HOOC-TRIS(H11)₂(H5F6)



Ansatz: 600 mg (0.73 mmol) **20b**

110 mg (0.95 mmol, 1.3 Äquiv.) Diglycolsäureanhydrid

0.20 mL (1.46 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin

30 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 619 mg (0.66 mmol, 90% d. Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.62$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{68}F_{13}NO_7$ (933.96 g mol⁻¹) [933.48].

ESI-MS (positiv), (m/z): 846.54 ([M+H-COOHCH₂OCH₂]⁺, ber.: 846.47).

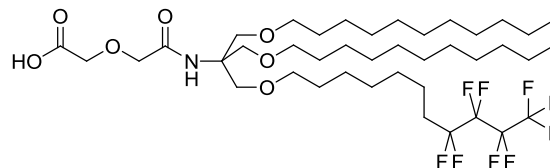
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.72 (s, 1H, NH), 4.17 (s, 2H, OCH₂C=O), 4.05 (s, 2H, CH₂C=O), 3.72 (s, 2H, CH₂OR^F), 3.69 (m, 4H, CH₂OAlk), 3.46-3.37 (m, 6H, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 2.16-1.96 (m, 2H, CH₂R^F), 1.67-1.39 (m, 10H, (CH₂)₃R^F, OCH₂CH₂Alk), 1.25 (m, 32H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 6H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.46 (C=O), 169.79 (C=O), 71.81 (2×CH₂OAlk), 71.42 (CH₂C=O), 71.26 (CH₂C=O), 69.23 (CH₂OR^F), 69.10 (3×OCH₂R^F, OCH₂Alk), 60.33 (Cq(TRIS)), 32.13 (2×CH₂(2)(Alk)), 31.02 (t, 1C, J = 22.6 Hz, CH₂R^F), 29.88, 29.86 (6×CH₂(Alk)), 29.71, 29.68, 29.57 (6×CH₂(Alk)), 29.34 ((CH₂)R^F), 26.31 (2×CH₂(9) (Alk)), 25.99 ((CH₂)R^F), 22.89 (2×CH₂(10)(Alk)), 20.20 (t, 1C, J = 3.6 Hz, CH₂CH₂R^F), 14.30 (2×CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.2 (t, 3F, CF₃, J_{F,F} = 9.9 Hz), -114.7 (m, 2F), -122.3 (m, 2F), -123.2 (m, 2F), -123.9 (m, 2F), -126.5 (m, 2F).

2-(2-(1-(8,8,9,9,10,10,11,11,11-Nonafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxy-methyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (21c)

HOOC-TRIS(H11)₂(H7F4)



Ansatz: 600 mg (0.80 mmol) **20c**

121 mg (1.04 mmol, 1.3 Äquiv.) Diglycolsäureanhydrid

0.22 mL (1.60 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin

30 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 600 mg (0.70 mmol, 88% d. Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.63$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{72}F_9NO_7$ (862.00 g mol⁻¹) [861.52].

ESI-MS (positiv), (m/z): 774.57 ([M+H-COOHCH₂OCH₂]⁺, ber.: 774.51), 862.56 ([M+H]⁺, ber.: 862.52), 1636.12 ([2M-COOHCH₂OCH₂+H]⁺, ber.: 1636.02), 1746.09 ([2M+Na]⁺, ber.: 1746.02).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.69 (s, 1H, NH), 4.17 (s, 2H, CH₂C=O), 4.06 (s, 2H, CH₂C=O), 3.71 (s, 2H, CH₂OR^F), 3.69 (m, 4H, CH₂OAlk), 3.43-3.37 (m, 6H, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 2.13-1.95 (m, 2H, CH₂R^F), 1.56-1.50 (m, 8H, (CH₂)₄R^F), 1.34-1.25 (m, 38H, CH₂(Alk), (CH₂)R^F), 0.87 (m, 6H, CH₃(Alk)).

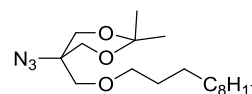
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.45 (C=O), 169.84 (C=O), 71.80 (2×CH₂OAlk), 71.61 (CH₂C=O), 71.43 (CH₂C=O), 69.15, 69.11 (4C, CH₂OR^F, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 60.36 (Cq(TRIS)), 32.13 (2×CH₂(2)(Alk)), 30.96 (t, 1C, J = 22.5 Hz, CH₂R^F), 29.88, 29.86 (6×CH₂(Alk)), 29.71 (2×CH₂(Alk)), 29.69 (2×CH₂(Alk)), 29.60 ((CH₂)R^F), 29.57 (2×CH₂(Alk)), 29.27, 29.26 (2×CH₂(Alk)), 26.32 (2×CH₂(9) (Alk)), 26.07 ((CH₂)₂R^F), 22.89 (2×CH₂(10) (Alk)), 20.25 (t, 1C, J = 3.7 Hz, CH₂CH₂R^F), 14.31 (2×CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.4 (m, CF₃), -115.0 (m, 2F), -124.9 (m, 2F), -126.4 (m, 2F).

Synthese von Membranankersystemen mit zwei Perfluoralkylketten

5-Azido-2,2-dimethyl-5-(undecyloxymethyl)-1,3-dioxan (22)

N_3 TRIS(*i*Pr)(H11)



Ansatz: 3.01 g (16.10 mmol) N_3 TRIS-*i*Pr **15**
 9.0 mL (40.25 mmol, 2.5 Äquiv.) 1-Bromundecan
 3.61 g (64.34 mmol, 4.0 Äquiv.) Kaliumhydroxid
 80 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[68]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Cyclohexan)

Ausbeute: 4.51 g (13.21 mmol, 82% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.24$ (TL).

$C_{18}H_{35}N_3O_3$ (341.49 g mol⁻¹) [341.27].

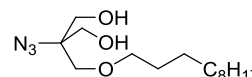
ESI-MS (positiv), (m/z): 364.25 ([M+Na]⁺, ber.: 364.26), 705.53 ([2M+Na]⁺, ber.: 705.53).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.01-3.77 (m, 4H, CH₂O*i*Pr), 3.44 (s, 2H, CH₂OAlk), 1.59-1.54 (m, 2H, OCH₂Alk), 1.45, 1.43 (2×s, 6H, CH₃(*i*Pr)), 1.26 (m, 18H, CH₂(Alk)), 0.88 (t, 3H, J_{H11,H10} = 6.7 Hz, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 98.77 (Cq(*i*Pr)), 72.14 (OCH₂Alk), 71.71 (CH₂OAlk), , 64.39 (2×CH₂OH), 58.81 (Cq(TRIS)), 32.05 (CH₂(2)(Alk)), 29.76, 29.74, 29.72, 29.61, 29.55, 29.48 (6×CH₂(Alk)), 26.13 (CH₂(9)(Alk)), 24.22 (CH₃(*i*Pr)), 22.83 (CH₂(10)(Alk)), 22.64 (CH₃(*i*Pr)), 14.26 (CH₃Alk).

2-Azido-2-(undecyloxymethyl)propan-1,3-diol (23)

N_3 TRIS(H11)



Ansatz: 6.56 g (19.2 mmol) **22**
 20.0 g Dowex[®]
 150 mL Methanol

Vorschrift: AV2^[117]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 2:1)

Ausbeute: 5.71 g (18.94 mmol, 99% d.Th.), farbloses Wachs.

$R_f = 0.29$ (Toluol/Ethylacetat 2:1).

$C_{15}H_{31}N_3O_3$ (301.42 g mol⁻¹) [301.24].

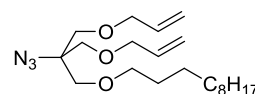
ESI-MS (positiv), (m/z): 324.21 ([M+Na]⁺, ber.: 324.23), 603.32 ([2M+H]⁺, ber.: 603.48).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.75 (m, 4H, CH₂OH), 3.64 (s, 2H, CH₂OAlk), 3.48 (t, 2H, J_{CH₂Alk, OCH₂} = 6.6 Hz, OCH₂Alk), 2.34 (s_b, CH₂OH), 1.63-1.53 (m, 2H, OCH₂CH₂Alk), 1.26 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.88 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.61 (OCH₂Alk), 72.39 (CH₂OAlk), 66.30 (Cq(TRIS)), 64.58 (2×CH₂OH), 32.05 (CH₂(2)(Alk)), 29.74, 29.69, 29.62, 29.53 29.47 (6×CH₂(Alk)), 26.12 (CH₂(9)(Alk)), 22.83 (CH₂(10)(Alk)), 14.26 (CH₃(Alk)).

1-(3-(Allyloxy)-2-(allyloxymethyl)-2-azidopropoxy)undecan (24a)

N₃TRIS(H3)₂(H11)



Ansatz: 2.00 g (6.64 mmol) **23**

2.31 mL (26.5 mmol, 4.0 Äquiv.) Allylbromid

1.49 g (26.5 mmol, 4.0 Äquiv.) Kaliumhydroxid

20 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 1.70 g (4.46 mmol, 67% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.43$ (Toluol).

$C_{21}H_{39}N_3O_3$ (381.55 g mol⁻¹) [381.30].

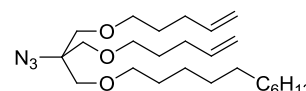
ESI-MS (positiv), (m/z): 679.56 ([2M+H-2N₃]⁺, ber.: 679.59).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.94-5.84 (m, 2H, CH=CH₂), 5.31-5.17 (m, 4H, CH=CH₂), 4.02 (dt, 2H, J_{OCH₂,CCH₂O} = 1.4, J_{CH, OCH₂} = 5.5 Hz, CH₂CH=CH₂), 3.57 (s, 2H, CH₂OAlk), 3.56 (s, 4H, CH₂OAlk), 3.44 (t, 6H, J_{CH₂Alk, OCH₂} = 6.6 Hz, OCH₂Alk), 1.58-1.52 (m, 2H, OCH₂Alk), 1.26 (m, 18H, CH₂(Alk)), 0.88 (t, 3H, J_{H11,H10} = 6.8 Hz, CH₃(Alk)).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 134.56 ($2\times\text{CH}=\text{CH}_2$), 117.17 ($2\times\text{CH}=\text{CH}_2$), 77.57 ($2\times\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 72.00 (OCH_2Alk), 70.68 (CH_2OAlk), 70.15 (CH_2OAlI), 66.09 ($\text{Cq}(\text{TRIS})$), 32.14 ($\text{CH}_2(2)(\text{Alk})$), 29.88 ($3\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 29.69, 29.59, 29.48 ($3\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 26.27 ($\text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 22.80 ($\text{CH}_2(10)(\text{Alk})$), 14.25 ($\text{CH}_3(\text{Alk})$).

1-(2-Azido-3-(pent-4-enyloxy)-2-((pent-4-enyloxy)methyl)propoxy)undecan (24b)

$\text{N}_3\text{TRIS}(\text{H5})_2(\text{H11})$



Ansatz: 1.64 g (5.44 mmol) **23**
 2.1 mL (17.4 mmol, 3.2 Äquiv.) 5-Bromo-1-penten
 0.98 g (17.4 mmol, 3.2 Äquiv.) Kaliumhydroxid
 13 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 1.98 g (4.53 mmol, 83% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

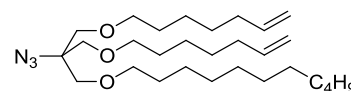
$R_f = 0.83$ (Toluol).

$\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_3$ ($437.66 \text{ g mol}^{-1}$) [437.36].

ESI-MS (positiv), (m/z): 410.36 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 410.36), 460.35 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 460.35), 847.73 ($[\text{2M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$, ber.: 847.73).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 5.88-5.75 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.06-4.94 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.52-3.51 (m, 6H, CH_2O), 3.48-3.41 (m, 6H, OCH_2), 2.15-2.08 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 1.71-1.62 (m, 4H, CH_2Pen), 1.60-1.51 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Alk}$), 1.26 (m, 16H, $\text{CH}_2(\text{Alk})$), 0.88 (m, 3H, $\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 138.45 ($2\times\text{CH}=\text{CH}_2$), 114.96 ($2\times\text{CH}=\text{CH}_2$), 72.07 ($2\times\text{OCH}_2\text{Pen}$), 71.19 ($2\times\text{CH}_2\text{OPen}$), 70.84 (OCH_2Alk), 70.76 (CH_2OAlk), 66.14 (CqTRIS), 32.12 ($\text{CH}_2(2)(\text{Alk})$), 30.39 ($2\times\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 29.84 ($3\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 29.76, 29.65, 29.56 ($3\times\text{CH}_2(\text{Alk})$), 28.97 ($2\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 26.26 ($2\times\text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 22.89 ($2\times\text{CH}_2(10)(\text{Alk})$), 14.33 ($2\times\text{CH}_3(\text{Alk})$).

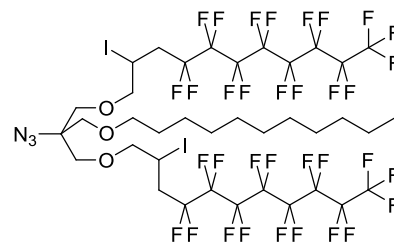
1-(2-Azido-3-(hept-6-enyloxy)-2-((hept-6-enyloxy)methyl)propoxy)undecan (24c)**N₃TRIS(H7)₂(H11)**

Ansatz: 0.57 g (1.88 mmol) **23**
 0.86 mL (5.64 mmol, 3.0 Äquiv.) 7-Bromo-1-hepten
 0.32 g (5.65 mmol, 3.0 Äquiv.) Kaliumhydroxid
 5.0 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]**Reinigung:** Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)**Ausbeute:** 0.53 g (1.07 mmol, 58% d. Th.), farblose Flüssigkeit. $R_f = 0.86$ (Toluol). $C_{29}H_{55}N_3O_3$ (493.77 g mol⁻¹) [493.42].**ESI-MS (positiv), (m/z):** 516.46 ([M+Na]⁺, ber.: 516.41), 1009.94 ([2M+Na]⁺, ber.: 1009.84).**¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm):** 5.87-5.74 (m, 2H, CH=CH₂), 5.03-4.91 (m, 4H, CH=CH₂), 3.52 (m, 6H, CH₂O), 3.46-3.41 (m, 6H, OCH₂, OCH₂Hep), 2.09-2.01 (m, 4H, CH₂CH=CH₂), 1.62-1.53 (m, 12H, CH₂(Hep)), 1.46-1.31 (m, 18H, CH₂(Alk)), 0.88 (m, 3H, CH₃(Alk)).**¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm):** 139.16 (2×CH=CH₂), 114.52 (2×CH=CH₂), 72.06 (2×OCH₂Hep), 71.93 (2×CH₂OHep), 70.83 (OCH₂Alk), 70.78 (CH₂OAlk), 66.17 (Cq(TRIS)), 33.94 (2×CH₂CH=CH₂), 32.13 (CH₂(2)(Alk)), 29.85 (3×CH₂(Alk)), 29.77, 29.66 (CH₂(Alk)), 29.61 (2×CH₂CH₂CH=CH₂), 29.57 (CH₂(Alk)), 28.89 (2×OCH₂CH₂Hep), 26.27 (CH₂(9)(Alk)), 25.77 (2×O(CH₂)₂CH₂Hep), 22.90 (CH₂(10)(Alk)), 14.32 (CH₃(Alk)).

11-(2-Azido-3-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptafluor-2-iodoundecyl-oxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8-heptafluor-10-iodoundecan (25a)

N₃TRIS(IH3F8)₂(H11)



Ansatz: 1.51 g (3.96 mmol) **24a**

2.72 mL (10.30 mmol, 2.6 Äquiv.) Perfluorooctyliodid

1.60 mL (1.60 mmol, 0.4 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)

10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol).

Ausbeute: 5.18 g (3.52 mmol, 89% d.Th.), hellgelbe viskose Flüssigkeit.

$R_f = 0.81$ (Toluol).

$C_{37}H_{39}F_{34}I_2N_3O_3$ (1473.48 g mol⁻¹) [1473.05].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1496.04 ([M+Na]⁺, ber.: 1496.04).

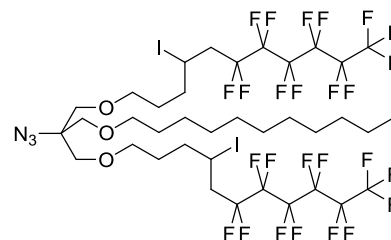
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.41-4.34 (m, 2H, CHI), 3.80-3.63 (m, 8H, CH₂OR^F, OCH₂R^F), 3.59-3.53 (m, 2H, CH₂OAlk), 3.45 (t, 2H, J_{CH₂Alk, OCH₂} = 6.6 Hz, OCH₂Alk), 3.09-2.95 (m, 2H, CH₂R^F), 2.79-2.64 (m, 2H, CH₂R^F), 1.60-1.53 (m, 2H, OCH₂Alk), 1.26 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.88 (t, 3H, J_{H11, H10} = 6.8 Hz, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 76.18, 76.17 (2×OCH₂CHI), 72.14 (OCH₂Alk), 70.82 (2×CH₂OR^F), 70.51 (CH₂OAlk), 65.96 (Cq(TRIS)), 37.84 (t, 2C, J = 21.3 Hz, CH₂R^F), 32.06 (CH₂(2)(Alk)), 29.78, 29.76, 29.67, 29.59, 29.50 (6×CH₂(Alk)), 26.21 (CH₂(9)(Alk)), 22.83 (CH₂(10)(Alk)), 14.21 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.22 (t, 6F, CF₃, J_{F,F} = 9.9 Hz), -113.08 (m, 8F, CH₂CF₂), -121.96 (m, 4F), -122.31 (m, 8F), -123.13 (m, 4F), -126.53 (m, 4F).

11-(2-Azido-3-(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluor-4-iodoundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6-tridecafluor-8-iodoundecan (25b)

N₃TRIS(IH₅F₆)₂(H₁₁)



Ansatz: 1.00 g (2.29 mmol) **24b**

2.72 mL (10.30 mmol, 2.6 Äquiv.) Perfluorhexyliodid

0.92 mL (0.92 mmol, 0.4 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)

10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Cyclohexan 1:1).

Ausbeute: 2.60 g (2.02 mmol, 88% d. Th.), gelbes Öl.

$R_f = 0.64$ (Toluol/Cyclohexan 1:1).

$C_{37}H_{47}F_{26}I_2N_3O_3$ (1329.55 g mol⁻¹) [1329.13].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1352.14 ([M+Na]⁺, ber.: 1352.12), 1368.12 ([M+K]⁺, ber.: 1368.09), 2681.28 ([2M+Na]⁺, ber.: 2681.25).

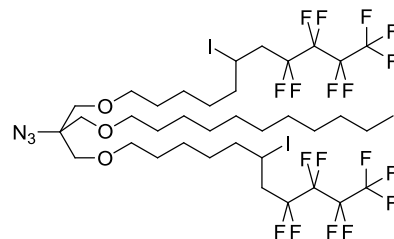
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.41-4.32 (m, 2H, CHI), 3.53 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.50 (m, 6H, CH₂O, OCH₂R^F), 3.43 (t, 2H, J_{CH₂Alk, OCH₂} = 6.6 Hz, OCH₂Alk), 3.04-2.68 (m, 4H, CH₂R^F), 1.95-1.79 (m, 4H, (CH₂)₂R^F), 1.74-1.65 (m, 2H, OCH₂CH₂Alk), 1.58-1.51 (m, 4H, (CH₂)₂R^F), 1.26 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.88 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.11 (OCH₂Alk), 71.08 (2×OCH₂R^F), 70.69 (CH₂OAlk), 70.49 (2×CH₂OR^F), 66.05 (Cq(TRIS)), 41.93 (t, 2C, J = 20.6 Hz, CH₂R^F), 37.35 (2×CHI), 32.13 (CH₂(2)(Alk)), 29.97 (2×OCH₂CH₂R^F), 29.85 (3×CH₂(Alk)), 29.75, 29.66, 29.57 (3×CH₂(Alk)), 26.25 (CH₂(9)(Alk)), 22.90 (CH₂(10)(Alk)), 20.54 (2×CH₂CHI), 14.30 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.2 (t, 6F, CF₃, J_{F,F} = 10.0 Hz), -113.6 (m, 4F), -122.2 (m, 4F), -123.2 (m, 4F), -124.0 (m, 4F), -126.5 (m, 4F).

11-(2-azido-3-(8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluor-6-iodoundecyloxy)-2-(undecyloxy-methyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4-nonafluor-6-iodoundecan (25c)

N₃TRIS(IH7F4)₂(H11)



Ansatz: 0.50 g (1.02 mmol) **24c**
 0.46 mL (2.65 mmol, 2.6 Äquiv.) Perfluorhexyliodid
 0.41 mL (0.41 mmol, 0.4 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)
 10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Cyclohexan 1:1).

Ausbeute: 1.05 g (0.89 mmol, 87% d. Th.), gelbes Öl.

$R_f = 0.64$ (Toluol/Cyclohexan 1:1).

$C_{37}H_{55}F_{18}I_2N_3O_3$ (1185.63 g mol⁻¹) [1185.20].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1096.31 ([M+K-HI]⁺, ber.: 1096.26), 1224.22 ([M+K]⁺, ber.: 1224.17), 2393.47 ([2M+Na]⁺, ber.: 2393.40).

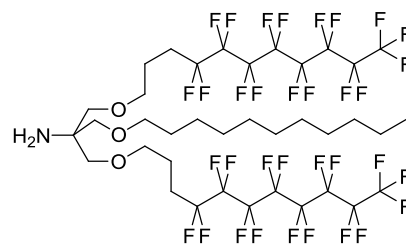
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.37-4.28 (m, 2H, CHI), 3.53 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.52 (s, 2H, CH₂O), 3.48-3.41 (m, 6H, OCH₂, OCH₂R^F), 3.02-2.67 (m, 4H, CH₂R^F), 1.89-1.71 (m, 4H, CH₂CHI), 1.62-1.39 (m, 14H, (CH₂)₆R^F, OCH₂CH₂Alk), 1.26 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.10 (OCH₂Alk), 71.70 (2×OCH₂R^F), 70.97 (2×CH₂OR^F), 70.76 (CH₂OAlk), 66.17 (Cq(TRIS)), 41.81 (t, 2C, J = 20.5 Hz, CH₂R^F), 40.45 (2×CHI), 32.13 (CH₂(2)(Alk)), 29.85 (3×CH₂(Alk)), 29.78, 29.67 (2×CH₂(Alk)), 29.62 (2×OCH₂CH₂R^F), 29.57 (CH₂(Alk)), 29.54 (2×(CH₂)R^F), 26.28 (CH₂(9)(Alk)), 25.26 (2×(CH₂)R^F), 22.90 (CH₂(10)(Alk)), 20.81 (2×CH₂CHI), 14.32 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.4 (m, 6F, CF₃), -114.4 (m, 4F), -124.9 (m, 4F), -126.3 (m, 4F).

1,3-Bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptafluorundecyloxy)-2-(undecyl-oxymethyl)propan-2-amin (26a)

TRIS(H3F8)₂(H11)



Ansatz: 2.00 g (1.36 mmol) **25a**

0.98 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)

0.89 mg (10.9 mmol, 8.0 Äquiv.) Natriumacetat

120 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 1.63 g (1.36 mmol, quant.), braunes Wachs.

$C_{37}H_{43}F_{34}NO_3$ (1195.69 g mol⁻¹) [1195.27].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1196.19 ([M+Na]⁺, ber.: 1196.28), 2391.51 ([2M+H]⁺, ber.: 2391.55).

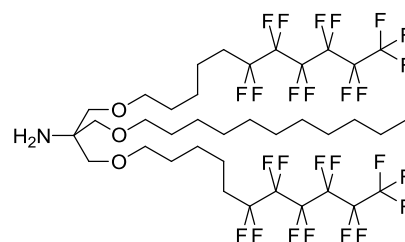
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.86 (s_b, 2H, NH₂), 3.68 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.63 (s, 2H, CH₂OAlk), 3.58 (t, 4H, J_{CH₂RF, OCH₂} = 6.1 Hz, OCH₂R^F), 3.47 (t, 2H, J_{CH₂Alk, OCH₂} = 6.7 Hz, OCH₂Alk), 2.26-2.09 (m, 4H, CH₂R^F), 1.97-1.88 (m, 4H, OCH₂CH₂R^F), 1.60-1.55 (m, 2H, OCH₂CH₂Alk), 1.25 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.22 (OCH₂Alk), 70.34 (2×CH₂OR^F), 69.02 (CH₂OAlk), 60.86 (C_q(TRIS)), 32.04 (CH₂(2)(Alk)), 29.77, 29.58, 29.56, 29.48 (6×CH₂(Alk)), 27.87 (t, 2C, J = 22.8 Hz, CH₂R^F), 26.16 (CH₂(9)(Alk)), 22.79 (CH₂(10)(Alk)), 14.15 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.31 (t, 6F, CF₃, J_{F,F} = 10.0 Hz), -114.68 (m, 4F), -122.34 (m, 12F), -123.24 (m, 4F), -123.77 (m, 4F), -126.63 (m, 4F).

1,3-Bis(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-amin (26b)

TRIS(H5F6)₂(H11)



Ansatz: 2.21 g (1.72 mmol) **25b**
 1.24 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 1.13 g (13.8 mmol, 8.0 Äquiv.) Natriumacetat
 150 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 1.80 g (1.71 mmol, 99% d. Th.), braunes Wachs.

$C_{37}H_{51}F_{26}NO_3$ (1051.76 g mol⁻¹) [1051.35].

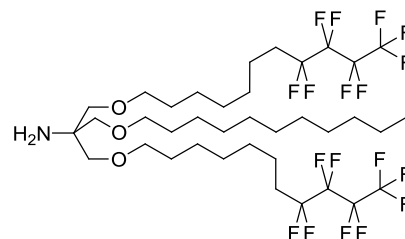
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.64 (sb, 4H, CH₂OR^F), 3.63 (sb, 2H, CH₂OAlk), 3.53-3.43 (m, 6H, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 2.16-1.98 (m, 4H, CH₂R^F), 1.69-1.55 (m, 10H, (CH₂)₅R^F), 1.50-1.40 (m, 4H, OCH₂CH₂Alk, (CH₂)R^F), 1.25 (m, 16H, (CH₂)₈Alk), 0.87 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.28 (OCH₂Alk), 71.71 (2×OCH₂R^F), 68.78 (2×CH₂OR^F), 68.63 (OCH₂Alk), 60.79 (C_qTRIS), 32.11 (CH₂(2)), 30.98 (t, 2C, J = 20.7 Hz, CH₂R^F), 29.84 (3×CH₂), 29.65, 29.63, 29.56 (3×CH₂), 29.33 (2×OCH₂CH₂R^F), 26.24 (CH₂(9)), 25.93 (2×(CH₂)R^F), 22.88 (CH₂(10)), 20.20 (t, 2C, J = 3.8 Hz, CH₂CH₂R^F), 14.26 (CH₃).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.2 (t, 6F, 2×CF₃, J_{F,F} = 10.0 Hz), -114.8 (m, 4F), -122.4 (m, 4F), -123.3 (m, 4F), -123.9 (m, 4F), -126.6 (m, 4F).

1,3-Bis(8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-amin (26c)

TRIS(H7F4)₂(H11)



Ansatz: 1.00 g (0.84 mmol) **25c**
 0.59 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 0.55 g (6.72 mmol, 8.0 Äquiv.) Natriumacetat

120 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 0.74 g (0.82 mmol, 98% d. Th.), braune Flüssigkeit.

$C_{37}H_{59}F_{18}NO_3$ (907.84 g mol⁻¹) [907.42].

ESI-MS (positiv), (m/z): 908.46 ([M+H]⁺, ber.: 908.43), 1815.91 ([2M+H]⁺, ber.: 1815.85).

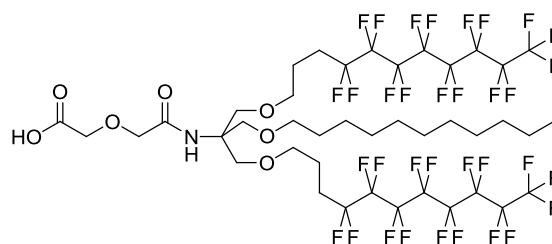
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.61-3.38 (m, 12H, CH₂OR^F, CH₂OAlk, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 2.13-1.95 (m, 4H, CH₂R^F), 1.59-1.57 (m, 10H, (CH₂)₄R^F, OCH₂CH₂Alk), 1.35 (m, 12H, (CH₂)₆R^F), 1.25 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 72.12 (CH₂OAlk), 71.94 (2×CH₂OR^F), 70.42 (2×OCH₂R^F), 70.36 (OCH₂Alk), 58.82 (C_q(TRIS)), 32.12 (CH₂(2)(Alk)), 30.94 (t, 2C, J = 20.4 Hz, CH₂R^F), 29.88, 29.86 (3×CH₂(Alk)), 29.74, 29.69 (2×CH₂(Alk)), 29.64 (2×CH₂R^F), 29.57 (CH₂(Alk)), 29.28 (4×CH₂R^F), 26.32 (CH₂(9)(Alk)), 26.08 (2×CH₂R^F), 22.88 (CH₂(10)(Alk)), 20.27 (t, 2C, J = 3.7 Hz, CH₂CH₂R^F), 14.30 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.5 (m, 6F, CF₃), -115.0 (m, 4F), -124.9 (m, 4F), -126.4 (m, 4F).

2-(2-(1,3-Bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (27a)

HOCTRIS(H3F8)₂(H11)



Ansatz: 600 mg (0.50 mmol) **26a**

76.0 mg (0.65 mmol, 1.3 Äq) Diglycolsäureanhydrid

0.14 mL (101 mg, 2.0 Äq) Triethylamin

20 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 587 mg (0.45 mmol, 89% d. Th.), gelbliches Öl.

$R_f = 0.59$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{47}F_{34}NO_7$ (1311.76 g mol⁻¹) [1311.28].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1312.23 ([M+H]⁺, ber.: 1312.29), 1350.51 ([M+K]⁺, ber.: 1350.24), 2535.48 ([2M+H-COOHCH₂OCH₂]⁺, ber.: 2535.55), 2661.62 ([2M+K]⁺, ber.: 2661.53).

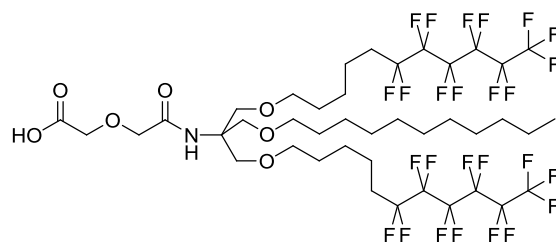
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.79 (s, 1H, NH), 4.16 (s, 2H, CH₂C=O), 4.03 (s, 2H, CH₂C=O), 3.74 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.68 (s, 2H, CH₂OAlk), 3.50 (t, 4H, J_{CH₂R^F, OCH₂} = 6.0 Hz, OCH₂R^F), 3.41 (t, 2H, J_{CH₂Alk, OCH₂} = 6.6 Hz, OCH₂Alk), 2.22-2.08 (m, 4H, CH₂R^F), 1.89-1.80 (m, 4H, OCH₂CH₂R^F), 1.55-1.50 (m, 2H, OCH₂CH₂Alk), 1.25 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.49 (C=O), 169.56 (C=O), 71.81 (OCH₂Alk), 71.40 (CH₂C=O), 69.85 (CH₂C=O), 69.29 (CH₂OR^F), 69.07 (CH₂OAlk), 68.68 (2×OCH₂R^F), 59.99 (C_q(TRIS)), 32.04 (CH₂(2)(Alk)), 29.79 (3×CH₂(Alk)), 29.60, 29.49 (3×CH₂(Alk)), 27.92 (t, 2C, J = 22.8 Hz, CH₂R^F), 26.21 (CH₂(9)(Alk)), 22.81 (CH₂(10)(Alk)), 14.19 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.19 (t, 6F, CF₃, J_{F,F} = 9.96 Hz), -114.71 (m, 4F), -122.24 (m, 12F), -123.13 (m, 4F), -123.83 (m, 4F), -126.52 (m, 4F).

2-(2-(1,3-Bis(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluoroundecyloxy)-2-(undecyloxy-methyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (27b)

HOCTRIS(H5F6)₂(H11)



Ansatz: 1.00 g (0.95 mmol) **26b**

0.14 g (1.24 mmol, 1.3 Äq) Diglycolsäureanhydrid

0.26 mL (1.90 mmol, 2.0 Äq) Triethylamin

40 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 0.95 mg (0.81 mmol, 85% d.Th.), farblose Flüssigkeit,

$R_f = 0.64$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{55}F_{26}NO_7$ (1167.84 g mol⁻¹) [1167.36].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1080.39 ([M-COOHCH₂OCH₂+H]⁺, ber.: 1080.35), 2247.74 ([2M-COOHCH₂OCH₂+H]⁺, ber.: 2247.70), 2357.70 ([2M+Na]⁺, ber.: 2357.70).

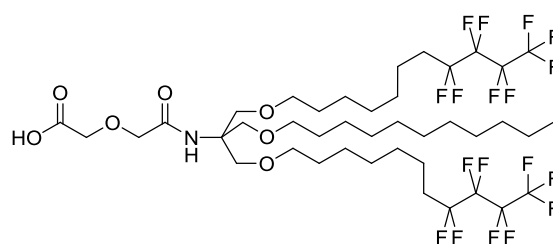
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.73 (s, 1H, NH), 4.17 (s, 2H, OCH₂C=O), 4.05 (s, 2H, OCH₂C=O), 3.71 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.68 (m, 4H, CH₂OAlk), 3.46-3.39 (m, 6H, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 2.14-1.96 (m, 4H, CH₂R^F), 1.67-1.50 (m, 8H, (CH₂)₄R^F), 1.46-1.36 (m, 4H, (CH₂)R^F), 1.25 (m, 18H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 3H, CH₃(Alk)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.43 (C=O), 169.70 (C=O), 71.82 (CH₂C=O), 71.38 (CH₂C=O), 71.26 (2×OCH₂R^F), 69.23 (2×CH₂OR^F), 69.11 (OCH₂Alk), 68.96 (CH₂OAlk), 60.26 (Cq(TRIS)), 32.11 (CH₂(2)(Alk)), 31.00 (t, 2C, J = 22.2 Hz, CH₂R^F), 29.87, 29.85 (3×CH₂(Alk)), 29.70, 29.67, 29.56 (3×CH₂(Alk)), 29.31 (2×(CH₂)R^F), 26.30 (CH₂(9)(Alk)), 25.98 (2×(CH₂)R^F), 22.88 (CH₂(10)(Alk)), 20.17 (t, 2C, J = 3.7 Hz, CH₂CH₂R^F), 14.27 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.2 (t, 6F, CF₃, J_{F,F} = 10.0 Hz), -114.8 (m, 4F), -122.3 (m, 4F), -123.3 (m, 4F), -123.9 (m, 4F), -126.5 (m, 4F).

2-(2-(1,3-Bis(8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)-propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (27c)

HOCTRIS(H7F4)₂(H11)



Ansatz: 500 mg (0.55 mmol) **26c**
 83.6 mg (0.72 mmol, 1.3 Äq) Diglycolsäureanhydrid
 0.15 mL (1.10 mmol, 2.0 Äq) Triethylamin
 30 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 501 mg (0.49 mmol, 89% d. Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.64$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{63}F_{18}NO_7$ (1023.91 g mol⁻¹) [1023.43].

ESI-MS (positiv), (m/z): 908.39 ([M-COOHCH₂OCH₂-CH₂CH₃+H]⁺, ber.: 908.39), 936.50 ([M-COOHCH₂OCH₂+H]⁺, ber.: 936.42), 996.52 ([M-CH₂CH₃+H]⁺, ber.: 996.41), 1931.94 ([2M-COOHCH₂OCH₂-CH₂CH₃+H]⁺, ber.: 1931.82).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.73 (s, 1H, NH), 4.17 (s, 2H, OCH₂C=O), 4.06 (s, 2H, CH₂C=O), 3.70 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.69 (m, 2H, CH₂OAlk), 3.44-3.39 (m, 6H, OCH₂R^F, OCH₂Alk), 2.13-1.95 (m, 4H, CH₂R^F), 1.61-1.52 (m, 10H, (CH₂)₄R^F, CH₂(Alk)), 1.34 (m, 14H, (CH₂)₆R^F, CH₂(Alk)), 1.25 (m, 16H, CH₂(Alk)), 0.87 (m, 3H, CH₃(Alk)).

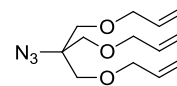
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.39 (C=O), 169.70 (C=O), 71.81 (CH₂C=O), 71.61 (2×CH₂OR^F), 71.44 (CH₂C=O), 69.14 (3×OCH₂R^F, OCH₂Alk), 60.32 (Cq(TRIS)), 32.12 (CH₂(2)(Alk)), 30.94 (t, 2C, J = 22.4 Hz, CH₂R^F), 29.87, 29.86 (3×CH₂(Alk)), 29.70 (CH₂(Alk)), 29.69 (CH₂(Alk)), 29.59 (2×(CH₂)R^F), 29.57 (CH₂(Alk)), 29.26, 29.24 (4C, (CH₂)₄R^F), 26.32 (CH₂(9)(Alk)), 26.06 (2×(CH₂)R^F), 22.89 (CH₂(10)(Alk)), 20.24 (t, 2C, J = 3.6 Hz, CH₂CH₂R^F), 14.29 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.0 (m, 6F, CF₃), -114.6 (m, 4F), -124.5 (m, 4F), -126.0 (m, 4F).

Synthese von Membranankersystemen mit drei Perfluoralkylketten

3-(3-(Allyloxy)-2-(allyloxymethyl)-2-azidopropoxy)prop-1-en (28a)

N_3 TRIS(H3)₃



Ansatz: 1.00 g (6.80 mmol) **13**
 3.55 mL (40.8 mmol, 6.0 Äq) Allylbromid
 2.29 g (40.8 mmol, 6.0 Äq) Kaliumhydroxid
 50 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 9:1)

Ausbeute: 1.82 g (6.66 mmol, 98% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.26$ (Toluol/Ethylacetat 9:1).

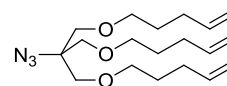
$C_{13}H_{21}N_3O_3$ (267.32 g mol⁻¹) [267.16].

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.93-5.83 (m, 3H, CH=CH₂), 5.30-5.16 (m, 6H, CH=CH₂), 4.02-4.00 (m, 6H, CH₂CH=CH₂), 3.58 (s, 6H, CH₂O).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 138.32 (3×CH=CH₂), 114.86 (3×CH=CH₂), 77.49 (3×OCH₂All), 70.56 (3×CH₂OAll), 66.44 (Cq(TRIS)).

5-(2-Azido-3-(pent-4-enyloxy)-2-((pent-4-enyloxy)methyl)propoxy)pent-1-en (28b)

N_3 TRIS(H5)₃



Ansatz: 0.50 g (3.40 mmol) **13**
 1.81 mL (15.3 mmol, 4.5 Äquiv.) 5-Bromo-1-penten
 0.86 g (15.3 mmol, 4.5 Äquiv.) Kaliumhydroxid
 10 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 1.26 g (3.16 mmol, 93% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.36$ (Toluol).

$C_{19}H_{33}N_3O_3$ ($351.48 \text{ g mol}^{-1}$) [351.25].

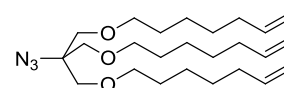
ESI-MS (positiv), (m/z): 675.51 ($[2M+H-N_2]^+$, ber.: 675.51).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 5.88-5.75 (m, 3H, $CH=CH_2$), 5.06-4.94 (m, 6H, $CH=CH_2$), 3.53 (s, 6H, CH_2O), 3.46 (t, 6H, OCH_2 , $J_{H,H} = 6.4 \text{ Hz}$), 2.16-2.08 (m, 6H, $CH_2CH=CH_2$), 1.72-1.62 (m, 6H, $CH_2CH_2CH=CH_2$).

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 138.45 ($3 \times CH=CH_2$), 114.97 ($3 \times CH=CH_2$), 71.20 ($3 \times OCH_2Pen$), 70.83 ($3 \times CH_2OPen$), 66.13 ($C_q(Tris)$), 30.39 ($3 \times CH_2CH=CH_2$), 28.97 ($3 \times CH_2CH_2CH=CH_2$).

7-(2-Azido-3-(hept-6-enyloxy)-2-((hept-6-enyloxy)methyl)propoxy)hept-1-en (28c)

$N_3TRIS(H7)_3$



Ansatz: 0.19 g (1.26 mmol) **13**

0.86 mL (5.65 mmol, 4.5 Äquiv.) 7-Bromo-1-hepten

0.32 g (5.65 mmol, 4.5 Äquiv.) Kaliumhydroxid

5 mL trockenes DMSO

Vorschrift: AV1^[94]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 0.53 mg (1.21 mmol, 96% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.54$ (Toluol).

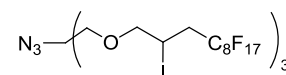
$C_{25}H_{45}N_3O_3$ ($435.64 \text{ g mol}^{-1}$) [435.35].

ESI-MS (positiv), (m/z): 458.34 ($[M+Na]^+$, ber.: 458.34), 843.69 ($[2M+H-N_2]^+$, ber.: 843.69).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 5.87-5.74 (m, 3H, $CH=CH_2$), 5.03-4.91 (m, 6H, $CH=CH_2$), 3.52 (s, 6H, CH_2O), 3.44 (t, 6H, $J_{CH_2Penteny}, OCH_2 = 6.5 \text{ Hz}$, OCH_2), 2.09-2.02 (m, 6H, $CH_2CH=CH_2$), 1.62-1.53 (m, 6H, $CH_2CH_2CH=CH_2$), 1.46-1.30 (m, 12H, $(CH_2)_2CH_2CH=CH_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 139.32 ($2\times\text{CH}=\text{CH}_2$), 114.61 ($2\times\text{CH}=\text{CH}_2$), 72.07 ($2\times\text{OCH}_2\text{Hep}$), 71.96 ($2\times\text{CH}_2\text{OHep}$), 66.12 (Cq(TRIS)), 33.89 ($2\times\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 29.51 ($2\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 28.88 ($2\times\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Hep}$), 25.79 ($2\times\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{Hep}$).

**11-(2-Azido-3-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluor-2-iodoundecyl-
oxy)-2-((4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluor-2-iodoundecyloxy)-
methyl)-propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8-heptadecafluor-10-iodoundecan
(29a)**



$\text{N}_3\text{TRIS}(\text{IH}_3\text{F}_8)_3$

Ansatz: 1.95 g (7.30 mmol) **28a**
7.53 mL (28.5 mmol, 3.9 Äquiv.) Perfluoroctyliodid
4.40 mL (4.40 mmol, 0.6 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)
10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol)

Ausbeute: 8.01 g (4.20 mmol, 58% d.Th.), farbloses Wachs.

$R_f = 0.45$ (Toluol).

$\text{C}_{37}\text{H}_{21}\text{F}_{51}\text{I}_3\text{N}_3\text{O}_3$ (1905.21 g mol⁻¹) [1904.79].

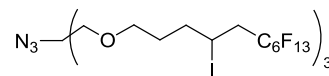
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4.43-4.34 (m, 3H, CHI), 3.80-3.66 (m, 12H, CH_2O , OCH_2), 3.10-2.64 (m, 6H, CH_2R^F).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 76.19 ($3\times\text{OCH}_2\text{CHI}$), 71.00 ($3\times\text{CH}_2\text{OR}^F$), 65.96 (Cq(TRIS)), 41.81 (t, 3C, $J = 22.1$ Hz, CH_2R^F), 37.52 ($3\times\text{CH}_2\text{I}$).

$^{19}\text{F-NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -81.17 (t, 9F, CF_3 , $J_{\text{F,F}} = 9.6$ Hz), -114.01 (m, 6F), -121.96 (m, 6F) -122.30 (m, 12F), -123.11 (m, 6F), -123.94 (m, 6F), -126.51 (m, 6F).

11-(2-Azido-3-(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluor-4-iodoundecyloxy)-2-((6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluor-4-iodoundecyloxy)methyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6-tridecafluor-8-iodoundecan (29b)

N₃TRIS(IH5F6)₃



Ansatz: 1.00 g (2.85 mmol) **28b**

2.40 mL (11.1 mmol, 3.9 Äquiv.) Perfluorhexyliodid

0.86 mL (0.86 mmol, 0.6 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)

10 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Cyclohexan 1:1)

Ausbeute: 3.90 g (2.31 mmol, 81% d.Th.), gelbes Öl.

$R_f = 0.61$ (Toluol/Cyclohexan 1:1).

$C_{37}H_{33}F_{39}I_3N_3O_3$ (1689.33 g mol⁻¹) [1688.90].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1711.95 ([M+Na]⁺, ber.: 1711.89), 3400.91 ([2M+Na]⁺, ber.: 3400.80).

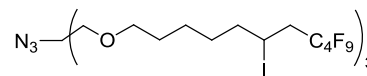
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.41-4.33 (m, 3H, CHI), 3.53 (s, 6H, CH₂O), 3.51-3.47 (m, 6H, OCH₂), 3.04-2.68 (m, 6H, CH₂R^F), 1.94-1.79 (m, 6H, (CH₂)₂R^F), 1.74-1.65 (m, 6H, (CH₂)₂R^F).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 71.00 (3×OCH₂R^F), 70.49 (3×CH₂OR^F), 65.97 (Cq(TRIS)), 41.92 (t, 2C, J = 21.1 Hz, CH₂R^F), 37.31, 37.28 (3×CHI), 29.95 (2×OCH₂CH₂R^F), 20.53 (2×CH₂CHI).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.2 (t, 9F, CF₃, J_{F,F} = 10.0 Hz), -113.6 (m, 6F), -122.2 (m, 6F), -123.3 (m, 6F), -124.0 (m, 6F), -126.5 (m, 6F).

11-(2-Azido-3-(8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluor-6-iodoundecyloxy)-2-((8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluor-6-iodoundecyloxy)methyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4-nonafluor-6-iodoundecan (29c)

N₃TRIS(IH7F4)₃



Ansatz: 0.50 g (1.15 mmol) **28c**
 0.77 mL (4.49 mmol, 3.9 Äquiv.) Perfluorbutyliodid
 0.35 mL (0.35 mmol, 0.6 Äquiv.) Triethylboran (1M in *n*-Hexan)
 5 mL *n*-Hexan

Vorschrift: AV3^[101]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Toluol/Ethylacetat 1:1)

Ausbeute: 1.13 g (0.77 mmol, 67% d.Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.49$ (Toluol/Ethylacetat 1:1).

$C_{37}H_{45}F_{27}I_3N_3O_3$ (1473.44 g mol⁻¹) [1473.02].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1496.07 ([M+H]⁺, ber.: 1496.01), 2969.12 ([2M+H]⁺, ber.: 2996.02).

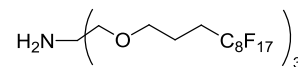
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 4.37-4.28 (m, 3H, CHI), 3.54 (s, 6H, CH₂O), 3.46 (t, 6H, J_{CH₂, OCH₂} = 6.3 Hz, OCH₂), 3.02-2.67 (m, 6H, CH₂R^F), 1.86-1.76 (m, 6H, CH₂CHI), 1.64-1.52 (m, 12H, (CH₂)₆R^F), 1.50-1.34 (m, 6H, (CH₂)₃R^F).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 71.72 (3×OCH₂R^F), 70.95 (3×CH₂OR^F), 66.17 (Cq(TRIS)), 41.81 (t, 3C, J = 20.6 Hz, CH₂R^F), 40.46 (3×CHI), 29.62 (3×OCH₂CH₂R^F), 29.54 (6×(CH₂)R^F), 25.26 (3×(CH₂)R^F), 20.82 (2×CH₂CHI).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.4 (t, 9F, CF₃, J_{F,F} = 9.7 Hz), -113.8 (m, 6F), -124.9 (m, 6F), -126.3 (m, 6F).

1,3-bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptafluorundecyloxy)-2-((4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptafluorundecyloxy)methyl)propan-2-amin (30a)

TRIS(H3F8)₃



Ansatz: 2.00 g (1.05 mmol) **29a**
 0.70 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 1.03 g (12.6 mmol, 12.0 Äquiv.) Natriumacetat
 90 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 1.20 g (0.80 mmol, 76% d.Th.), gelbes Wachs.

$C_{37}H_{26}F_{51}NO_3$ (1501.53 g mol⁻¹) [1501.53].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1501.99 ([M+H]⁺, ber.: 1502.12).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.49 (t, 6H, J_{H,H} = 6.0 Hz, OCH₂), 3.35 (s, 6H, CH₂O), 2.23-2.05 (m, 6H, CH₂R^F), 1.91-1.82 (m, 6H, CH₂CH₂R^F).

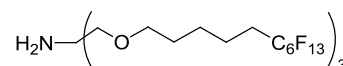
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 71.02 (3×OCH₂R^F), 69.95 (3×CH₂OR^F), 55.97 (Cq(TRIS)), 27.71 (t, 3C, J = 22.7 Hz, CH₂R^F), 20.60 (t, 3C, J = 4.1 Hz, CH₂CH₂R^F).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.46 (t, 9F, CF₃, J_{F,F} = 10.0 Hz), -114.97 (m, 6F), -122.35 (m, 6F), -122.55 (m, 12F), -123.34 (m, 6F), -124.08 (m, 6F), -126.75 (m, 6F).

1,3-bis(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Tridecafluorundecyloxy)-2-((6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)methyl)propan-2-

amin (30b)

TRIS(H5F6)₃



Ansatz: 2.00 g (1.18 mmol) **29b**
 0.83 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 1.16 g (14.2 mmol, 12.0 Äquiv.) Natriumacetat
 90 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 1.49 g (1.16 mmol, 98% d.Th.), braunes Wachs.

$C_{37}H_{38}F_{39}NO_3$ (1285.64 g mol⁻¹) [1285.22].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1286.20 ([M+H]⁺, ber.: 1286.23), 2571.48 ([2M+H]⁺, ber.: 2571.45).

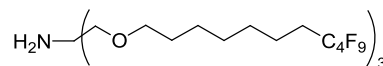
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.45-3.37 (m, 12H, CH₂OR^F, OCH₂R^F), 2.68 (sb, 2H, NH₂), 2.14-1.97 (m, 6H, CH₂R^F), 1.63-1.60 (m, 12H, (CH₂)₆R^F), 1.46-1.44 (m, 6H, (CH₂)₃R^F).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 71.36 (3×OCH₂R^F), Signal der drei Kohlenstoffe zu CH₂OR^F im Spektrum nicht erkennbar, Signal zum quartären Kohlenstoff im Spektrum nicht erkennbar, 31.02 (t, 3C, J = 22.6 Hz, CH₂R^F), 29.40 (3×OCH₂CH₂R^F), 26.03 (3×(CH₂)R^F), 20.19 (t, 3C, J = 3.4 Hz, CH₂CH₂R^F).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.3 (m, 9F, CF₃), -114.8 (m, 2F), -122.4 (m, 6F), -123.3 (m, 6F), -124.0 (m, 6F), -126.6 (m, 6F).

1,3-bis(8,8,9,9,10,10,11,11,11-Nonafluorundecyloxy)-2-((8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)methyl)propan-2-amin (30c)

TRIS(H7F4)₃



Ansatz: 1.00 g (0.68 mmol) **29c**
 0.48 g Palladium auf Aktivkohle (10 %)
 0.67 g (8.16 mmol, 12.0 Äquiv.) Natriumacetat
 45 mL Methanol/Ethylacetat (1:2)

Vorschrift: AV4^[94]

Ausbeute: 0.67 g (0.62 mmol, 91% d.Th.), braune Flüssigkeit.

$C_{37}H_{50}F_{27}NO_3$ (1069.75 g mol⁻¹) [1069.34].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1070.33 ([M+H]⁺, ber.: 1070.34), 2139.64 ([2M+H]⁺, ber.: 2139.68).

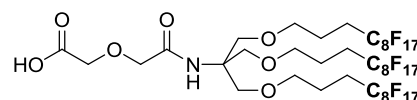
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.46-3.40 (m, 12H, CH₂OR^F, OCH₂R^F), 3.32 (sb, 2H, NH₂), 2.13-1.95 (m, 6H, CH₂R^F), 1.59-1.54 (m, 12H, (CH₂)₆R^F), 1.35 (m, 18H, (CH₂)₉R^F).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 71.79 ($6\times\text{CH}_2\text{OR}^F$, OCH_2R^F), 57.46 ($\text{C}_q(\text{TRIS})$), 30.94 (t, 2C, $J = 22.3$ Hz, CH_2R^F), 29.69 ($3\times(\text{CH}_2)_2\text{R}^F$), 29.28 ($6\times(\text{CH}_2)_4\text{R}^F$), 26.11 ($3\times(\text{CH}_2)_2\text{R}^F$), 20.25 (t, 3C, $J = 3.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^F$).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -81.5 (m, 9F, CF_3), -115.0 (m, 6F), -124.9 (m, 6F), -126.5 (m, 6F).

N-(*N*-3-2-oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)methyl]aminomethan (31a)

HOOCTRIS(**H3F8**)₃



Ansatz: 1.25 g (0.8 mmol) **30a**
 0.12 g (1.04 mmol, 1.3 Äquiv.) Diglycolsäureanhydrid
 0.22 mL (1.60 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin
 40 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 1.00 g (0.64 mmol, 80 % d. Th.), farbloses Wachs.

$R_f = 0.58$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$\text{C}_{33}\text{H}_{30}\text{F}_{51}\text{NO}_7$ (1617.60 g mol⁻¹) [1617.12].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1640.22 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1640.11), 3257.41 ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$, ber.: 3257.32).

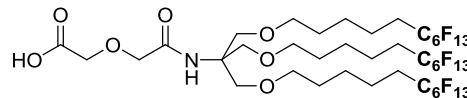
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4.15 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 3.98 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 3.76 (s, 6H, CH_2O), 3.55 (t, 6H, OCH_2R^F , $J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz), 2.34-2.16 (m, 6H, CH_2R^F), 1.91-1.81 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^F$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 171.4 ($\text{C}=\text{O}$), 159.0 ($\text{C}=\text{O}$), 70.2 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 70.1 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 70.7 ($3\times\text{CH}_2\text{O}$), 69.1 ($3\times\text{OCH}_2$), 61.1 ($\text{C}_q(\text{TRIS})$), 28.7 (t, CH_2R^F , $J_{\text{H,F}} = 22.9$ Hz), 21.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^F$).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3), δ (ppm): -81.0 (t, 9F, $3\times\text{CF}_3$, $J_{\text{F,F}} = 9.5$ Hz), -114.5 (m, 6F), -122.0 (m, 18F), -122.9 (m, 6F), -123.6 (m, 6F), -126.3 (m, 6F).

2-(2-(1,3-Bis(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)-2-((6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)methyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)-essigsäure (31b)

HOOCTRIS(H₅F₆)₃



Ansatz: 1.00 g (0.78 mmol) **30b**

0.12 g (1.01 mmol, 1.3 Äquiv.) Diglycolsäureanhydrid

0.28 mL (2.02 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin

30 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 1.00 g (0.71 mmol, 91% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.53$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{42}F_{39}NO_7$ (1401.71 g mol⁻¹) [1401.23].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1314.23 ([M-COOHCH₂OCH₂+H]⁺, ber.: 1314.23), 1440.20 ([M+K]⁺, ber.: 1440.20), 2841.55 ([2M+K]⁺, ber.: 2841.43)

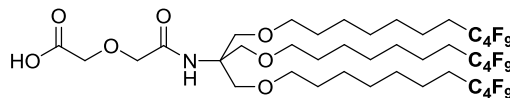
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.73 (s_b, 1H, NH), 4.16 (s, 2H, CH₂C=O), 4.04 (s, 2H, CH₂C=O), 3.70 (s, 6H, CH₂O), 3.43 (t, 6H, OCH₂, J_{H,H} = 6.2 Hz), 2.14-1.96 (m, 6H, CH₂R^F), 1.67-1.54 (m, 12H, (CH₂)₂R^F), 1.46-1.39 (m, 6H, (CH₂)R^F).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.49 (C=O), 169.63 (C=O), 71.34 (CH₂C=O), 71.27 (3×CH₂O), 69.22 (3×OCH₂), 68.82 (CH₂C=O), 60.20 (Cq(TRIS)), 30.97 (t, 1C, J = 22.7 Hz, CH₂R^F), 29.27 (3×(CH₂)R^F), 25.97 (3×(CH₂)R^F), 20.14 (t, 3C, J = 3.5 Hz, CH₂CH₂R^F).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -80.9 (t, 9F, CF₃, J_{F,F} = 10.0 Hz), -114.4 (m, 6F), -122.0 (m, 6F), -122.9 (m, 6F), -123.6 (m, 6F), -126.2 (m, 6F).

2-(2-(1,3-Bis(8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)-2-((8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)methyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (31c)

HOOCTRIS(H7F4)₃



Ansatz: 1.00 g (0.78 mmol) **30c**
 0.50 g (0.47 mmol, 1.3 Äquiv.) Diglycolsäureanhydrid
 0.17 mL (1.22 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin
 20 mL absol. Dichlormethan

Vorschrift: AV5^[102]

Reinigung: Flashchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 8:1)

Ausbeute: 0.46 g (0.38 mmol, 81% d.Th.), farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.59$ (Dichlormethan/Methanol 8:1).

$C_{41}H_{54}F_{27}NO_7$ (1185.83 g mol⁻¹) [1185.35].

ESI-MS (positiv), (m/z): 1098.43 ([M-COOHCH₂OCH₂+H]⁺, ber.: 1098.34), 2283.82 ([2M-COOHCH₂OCH₂+H]⁺, ber.: 2283.69), 2293.79 ([2M+Na]⁺, ber.: 2393.68)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.70 (sb, 1H, NH), 4.17 (s, 2H, OCH₂C=O), 4.06 (s, 2H, CH₂C=O), 3.70 (s, 6H, CH₂O), 3.41 (t, 6H, J_{H,H} = 6.5 Hz, OCH₂), 2.13-1.95 (m, 6H, CH₂R^F), 1.61-1.52 (m, 12H, (CH₂)₂R^F), 1.34 (m, 18H, (CH₂)₉R^F).

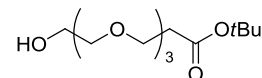
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.54 (C=O), 169.79 (C=O), 71.62 (3×CH₂O), 71.37 (CH₂C=O), 69.15 (3×OCH₂), 69.05 (CH₂C=O), 60.33 (Cq(TRIS)), 30.93 (t, 3C, J = 22.3 Hz, CH₂R^F), 29.59 (3×(CH₂)R^F), 29.24, 29.23 (6×(CH₂)R^F), 26.05 (3×(CH₂)R^F), 20.23 (t, 3C, J = 3.7 Hz, CH₂CH₂R^F).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃), δ (ppm): -81.1 (m, 9F, CF₃), -114.6 (m, 6F), -124.5 (m, 6F), -126.1 (m, 6F).

5.4 Synthese des Triethylenglycolspacers

12-Hydroxy-4,7,10-trioxa-dodecansäure-*tert*-butylester (34)^[119]

(HO-PEG-*Ot*Bu)



Es wurden 0.04 g (1.70 mmol, 0.03 Äquiv.) Natrium zu einer Lösung aus 25.0 mL (186 mmol, 2.8 Äquiv.) wasserfreiem Triethylenglycol in 100 mL absol. Tetrahydrofuran unter Argonatmosphäre zugesetzt. Nachdem das Natrium vollständig gelöst war wurden 9.6 ml (66.0 mmol) Acrylsäure-*tert*-butylester zugesetzt und die Reaktionslösung wurde 21 Stunden gerührt. Anschließend erfolgte die Neutralisation mit 1.6 mL einer 1N Salzsäure-Lösung. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und der Rückstand wurde in 70 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung aufgenommen und dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 50 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt.

Ausbeute: 16.41 g (59.0 mmol, 89% d.Th.), klare, farblose Flüssigkeit.

$R_f = 0.32$ (Ethylacetat).

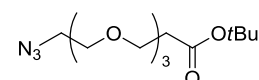
$C_{13}H_{26}O_6$ ($M = 278.34 \text{ g mol}^{-1}$) [278.17].

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 3.70-3.62 (m, 14H, CH_2O), 2.50 (t, 2H, $CH_2COOtBu$, $J_{CH_2,CH_2} = 6.5 \text{ Hz}$), 1.43 (s, 9H, $CH_3(tBu)$).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[119]

12-Azido-4,7,10-trioxa-dodecansäure-*tert*-butylester (35)^[32]

(N_3 -PEG-*Ot*Bu)



Eine Lösung aus 16.4 g (59.0 mmol) 12-Hydroxy-4,7,10-trioxa-dodecansäure-*tert*-butylester **34** in 25 mL absol. Dichlormethan wurde mit 20.2 mL (146 mmol, 2.5 Äquiv.) Triethylamin versetzt. Unter Eiskühlung wurden 9.4 mL (123 mmol, 2.1 Äquiv.) Mesylchlorid zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung über einen Zeitraum von vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das gebildete

Triethylaminhydrochlorid durch *Hyflo*[®] filtriert und der Filterkuchen mit 100 mL Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wurde zweimal mit jeweils 50 mL Eiswasser und einmal mit 20 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die Lösung wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck destilliert. Der erhaltene Rückstand wurde in 25 ml Dimethylformamid aufgenommen und mit 23.6 g (364 mmol, 6.2 Äquiv.) Natriumazid versetzt. Nach 15 Stunden rühren bei 60 °C wurde das Dimethylformamid i. Vak. entfernt und der Rückstand in 60 mL Wasser gelöst. Die wässrige Phase wurde viermal mit jeweils 50 mL Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Produkt wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel isoliert (Laufmittel: Cyclohexan/Ethylacetat 3:1).

Ausbeute: 12.8 g (42.3 mmol, 72% d.Th.), gelbe Flüssigkeit.

$R_f = 0.25$ (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1).

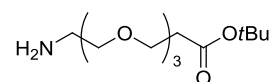
$C_{13}H_{25}N_3O_5$ (303.35 g mol⁻¹) [303.18].

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.76-3.62 (m, 12H, CH₂O), 3.38 (t, 2H, N₃CH₂, $J_{CH_2,CH_2} = 5.1$ Hz), 2.49 (t, 2H, CH₂COOtBu, $J_{CH_2,CH_2} = 6.6$ Hz), 1.44 (s, 9H, CH₃(tBu)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.9 (C=O Ester), 80.5 (C_q(tBu)), 70.7, 70.6, 70.6, 70.4 (CH₂O), 70.0 (N₃CH₂CH₂), 66.9 (CH₂CH₂COOtBu), 50.7 (N₃CH₂), 36.2 (CH₂COOtBu), 28.1 (CH₃(tBu)).

12-Amino-4,7,10-trioxa-decansäure-*tert*-butylester (36)^[32]

(H₂N-PEG-OtBu)



Eine Suspension aus 4.50 g einer Ni-Al-Legierung in 130 mL dest. Wasser wurde solange mit festem Natriumhydroxid versetzt, bis kein Schäumen mehr auftrat. Die Reaktionsmischung wurde anschließend 30 Minuten lang auf 70 °C erwärmt. Nach dem Dekantieren der überstehenden Lösung wurde der Raney-Nickel-Katalysator mit destilliertem Wasser neutral gewaschen und mehrmals mit Isopropanol gespült. Zum aktivierten Katalysator wurden 6.00 g (19.8 mmol) 12-Azido-4,7,10-trioxa-dodecansäure-*tert*-butylester **35** in 40 mL Isopropanol zugefügt. Durch wiederholtes Anlegen eines Vakuums und Belüften mit Wasserstoff wurde die Reaktionsmischung von Sauerstoff

befreit. Die Suspension wurde 16 Stunden unter Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Das Raney-Nickel wurde im Anschluss durch *Hyflo*[®] filtriert und das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das erhaltene Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt werden.

Rohausbeute: 5.50 g, gelbliches Öl.

$R_f = 0.12$ (Diethylether/Methanol, 1:1).

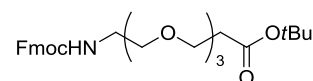
$C_{13}H_{27}NO_5$ (277.36 g mol⁻¹) [277.19].

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.72-3.62 (m, 12H, CH₂O), 3.38 (t, 2H, NH₂CH₂, $J_{CH_2,CH_2} = 5.0$ Hz), 2.49 (t, 2H, CH₂COOtBu, $J_{CH_2,CH_2} = 6.6$ Hz), 1.43 (s, 9H, CH₃(tBu)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.9 (C=O Ester), 80.5 (Cq(tBu)), 73.5 (NH₂CH₂CH₂), 70.7, 70.6, 70.6, 70.5 (CH₂O), 66.9 (CH₂CH₂COOtBu), 41.8 (NH₂CH₂), 36.2 (CH₂COOtBu), 28.1 (CH₃(tBu)).

N-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-amido-4,7,10-trioxadecansäure-*tert*-butylester (37)^[32]

(*Fmoc*-PEG-*OtBu*)



Es wurden 3.01 g (10.86 mmol) 12-Amino-4,7,10-trioxa-decansäure-*tert*-butylester **36** in 100 mL einer Mischung aus Aceton und Wasser (1:1) gelöst und mit 0.92 g (10.95 mmol, 1.0 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat versetzt. Unter Rühren erfolgte portionsweise Zugabe von 3.70 g (11.00 mmol, 1.0 Äq) Fmoc-OSu, worauf 20 Stunden bei Raumtemperatur stark gerührt wurde. Anschließend wurde die Lösung mit einer 2 N Salzsäure-Lösung auf pH = 6 angesäuert, wobei sich das Produkt als Öl ab schied. Die Entfernung des Acetons erfolgte i. Vak. und der verbleibende Rückstand wurde viermal mit jeweils 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit 300 mL einer 1N Salzsäure-Lösung und 150 mL Wasser gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt. (Laufmittel: Cyclohexan/Ethylacetat (2:1) → (1:1)).

Ausbeute: 3.69 g (7.39 mmol, 68 % d. Th.), gelbliches Öl.

$R_f = 0.17$ (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1).

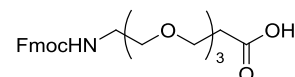
$C_{28}H_{37}NO_7$ (499.60 g mol⁻¹) [499.26].

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.76 (d, 2H, H4-, H5-Fmoc, $J_{H4,H3} = J_{H5,H6} = 7.5$ Hz), 7.60 (d, 2H, H1-, H8-, $J_{H1,H2} = J_{H8,H7} = 7.5$ Hz), 7.40 (t, 2H, H3-, H6-Fmoc, $J_{H3,H4} = J_{H3,H2} = J_{H6,H7} = J_{H6,H5} = 7.3$ Hz), 7.34-7.28 (m, 2H, H2-, H7-Fmoc), 5.40 (s_b, 1H, NH-Urethan), 4.40 (d, 2H, CH₂-Fmoc, $J_{CH2,H9} = 6.9$ Hz), 4.22 (t, 1H, H9-Fmoc, $J_{H9,CH2} = 6.8$ Hz), 3.71-3.55 (m, 12H, CH₂O), 3.42-3.37 (m, 2H, FmocHNCH₂), 2.49 (t, 2H, CH₂COOtBu, $J = 6.4$ Hz), 1.44 (s, 9H, CH₃(tBu)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.9 (C=O Ester), 144.0 (C1a-, C8a-Fmoc), 141.3 (C4a-, C5a-Fmoc), 127.6 (C3-, C6-Fmoc), 127.0 (C2-, C7-Fmoc), 125.1 (C1-, C8-Fmoc), 120.0 (C4-, C5-Fmoc), 80.5 (Cq(tBu)), 70.0 (FmocHNCH₂CH₂), 70.5, 70.5, 70.3, 70.3 (OCH₂), 66.9 (CH₂CH₂COOtBu), 47.2 (FmocHNCH₂), 28.1 (CH₃(tBu)).

N-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-amido-4,7,10-trioxadecansäure (38)^[32]

(Fmoc-PEG-OH)



Eine Lösung von 1.92 g (3.8 mmol) *N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-amido-4,7,10-trioxadecansäure-*tert*-butylester **37** in einer Mischung aus 15 mL Trifluoressigsäure und 1.5 mL Wasser wurde zwei Stunden gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit 15 mL Toluol verdünnt, i. Vak. eingengt und der erhaltene Rückstand dreimal mit je 15 mL Toluol und dreimal mit jeweils 10 mL Dichlormethan kodestilliert. Das Produkt wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Essigsäure 40:1:0.5). Zur Entfernung der Essigsäure aus dem Eluationsmittel wurde das Produkt viermal mit jeweils 25 mL Toluol und dreimal mit jeweils 25 mL Dichlormethan kodestilliert.

Ausbeute: 1.71 g (3.8 mmol, quant.), gelbes Öl.

$R_f = 0.15$ (Dichlormethan/Methanol/Essigsäure, 40:1:0.5).

$C_{24}H_{29}NO_7$ (443.49 g mol⁻¹) [443.19].

ESI-MS (positiv), (m/z): 444.12 ([M+H]⁺, ber.: 444.20); 466.15 ([M+Na]⁺, ber.: 466.18).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.77 (d, 2H, H4-, H5-Fmoc, $J_{H4,H3} = J_{H5,H6} = 7.5$ Hz), 7.60 (d, 2H, H1-, H8-Fmoc, $J_{H1,H2} = J_{H8,H7} = 7.2$ Hz), 7.42-7.29 (m, 4H, H2-, H3-, H6-, H7-Fmoc), 6.54 (s_b, 1H, -COOH), 5.40 (s_b, 1H, NH-Urethan), 4.40 (d, 2H, CH₂-Fmoc,

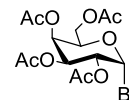
$J_{\text{CH}_2, \text{H}9} = 6.9 \text{ Hz}$), 4.22 (t, 1H, H9-Fmoc, $J_{\text{H}9, \text{CH}_2} = 6.8 \text{ Hz}$), 3.71-3.55 (m, 12H, CH_2O), 3.45-3.38 (m, 2H, FmocHNCH_2), 2.49 (t, 2H, CH_2COOH , $J = 6.4 \text{ Hz}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 173.9 (COOH), 162.8 (C=O, Urethan), 144.0 (C1a-, C8a-Fmoc), 141.3 (C4a-, C5a-Fmoc), 127.6 (C3-, C6-Fmoc), 127.0 (C2-, C7-Fmoc), 125.1 (C1-, C8-Fmoc), 119.9 (C4-, C5-Fmoc), 77.2 (FmocHNCH₂CH₂ (im Lösemittelsignal)), 70.5, 70.3, 70.2, 70.1 (OCH_2), 66.4 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 47.2 (FmocHNCH₂), 34.7 (CH_2COOH).

5.5 Synthese der T_N- und ST_N-Antigene

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromid (**41**)^[121]

(α Ac₄Gal-Br)



In 210 mL Essigsäureanhydrid wurde 0.50 g D-Galactose **39** vorgelegt und mit 1.25 mL Perchlorsäure versetzt. Anschließend wurden die restlichen 49.5 g (gesamt 50.0 g 278 mmol) Galactose so zugegeben, dass die Temperatur der Reaktionsmischung 30 bis 40 °C betrug. Es wurde weitere 60 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, dann wurden 230 mL einer 33%igen Bromwasserstofflösung in Eisessig zugegeben und weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan verdünnt und auf Eis gegossen, bevor mit festem Natriumhydrogensulfat neutralisiert wurde. Die neutrale Lösung wurde nun dreimal mit einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Ausbeute: 93.0 g (226 mmol, 81% d.Th.), braunes Öl.

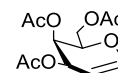
$[\alpha]_D^{23} = +174.3$ (c = 1.00, CHCl₃), Lit.^[229]: $[\alpha]_D^{25} = +210$ (c = 1.00, CHCl₃).

$R_f = 0.59$ (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1).

C₁₄H₁₉BrO₉ (M = 411.20 g mol⁻¹) [410.02].

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[229]

3,4,6-Tri-*O*-acetylgalactal (**42**)^[121]



Eine Mischung aus 400 mL Essigsäure und 550 mL Wasser wurde auf -18 °C gekühlt, bevor sie mit 150 g Zink und einer Kupfersulfatlösung (15.0 g in 75 mL Wasser) versetzt wurde. Nach Beginn der Wasserstoffentwicklung wurde innerhalb von 30 Minuten 93.0 g (226 mmol) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromid **41**, gelöst in 150 mL Dichlormethan, zugetropft. In einem Zeitraum von 100 Minuten wurde die Lösung langsam von 0° auf 5°C erwärmt. Die Reaktionslösung wurde durch Hyflo[®] filtriert und mit 200 mL Essigsäure/Wasser in einem Verhältnis von 1:1 nachgewaschen. Das Filtrat

wurde nach Phasentrennung dreimal mit Dichlormethan gewaschen, die vereinigten organischen Extrakte wurden zweimal mit jeweils 200 mL Eiswasser und anschließend weitere zwei Mal mit kalter ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die Trocknung erfolgte mit Magnesiumsulfat und anschließend wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/ Ethylacetat 2:1).

Ausbeute: 44.1 g (162.0 mmol, 72% d.Th.), leicht gelbes, viskoses Öl.

$[\alpha]_D^{23} = -19.9$ (c = 1.00, CHCl₃), Lit.^[121]: $[\alpha]_D^{23} = -19.7$ (c = 1.00, CHCl₃).

$R_f = 0.35$ (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1).

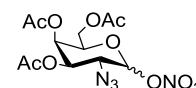
C₁₂H₁₆O₇ (M = 272.25 g mol⁻¹) [272.09].

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.45 (dd, 1H, H-1, J_{H1,H2} = 6.0 Hz, J_{H1,H3} = 1.2 Hz), 5.56-5.54 (m, 1H, H-3), 5.43-5.41 (m, 1H, H-4), 4.72 (ddd, 1H, H-2, J_{H1,H2} = 6.2 Hz, J_{H2,H3} = 1.3 Hz, J_{H2,H4} = 1.1 Hz), 4.30 (m, 1H, H-5), 4.26-4.19 (m, 2H, H-6_{a,b}), 2.12, 2.08, 2.02 (3×s, 9H, 3×CH₃(Ac)).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.2, 170.4, 170.0 (3×C=O(Ac)), 145.3 (C-1), 98.8 (C-2), 72.7 (C-5), 63.6, 63.8 (C-3, C-4), 61.8 (C-6), 20.5, 20.7, 20.7 (3×CH₃(Ac)).

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α/β -D-galactopyranosylnitrat (**43**)^[123]

(α/β Ac₃GalN₃-ONO₂)



Es wurden 9.77 g (35.9 mmol) 3,4,6-Tri-*O*-acetylgalactal **42** in 280 mL absol. Acetonitril gelöst und auf -30 bis -40 °C abgekühlt, bevor die Reaktionsmischung zügig unter Argonatmosphäre mit 62.0 g (113 mmol, 3.1 Äquiv.) trockenem Cerammoniumnitrat und 3.55 g (54.6 mmol, 1.5 Äquiv.) trockenem Natriumazid versetzt wurde. Die orangefarbene Lösung wurde für 16 Stunden im Tiefkühlschrank bei -26 °C gerührt. Die resultierende tiefgelbe Reaktionsmischung wurde mit 350 mL eisgekühltem Diethylether verdünnt, bevor das gleiche Volumen an Wasser hinzugefügt wurde. Die organischen Phasen wurden dreimal mit je 200 mL eisgekühltem dest. Wasser gewaschen und die Reextraktion der wässrigen Phase erfolgte zweimal mit je 50 mL Diethylether. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel i. Vak.

entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Ethylacetat 4:1).

Ausbeute: 5.63 g (15.0 mmol, 42% d.Th.), gelblicher Feststoff.

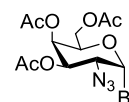
$R_f = 0.40$ (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1).

$C_{12}H_{16}N_4O_{10}$ ($M = 376.28 \text{ g mol}^{-1}$) [376.09].

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 6.33 (d, 1H, H-1 α , $J_{H1,H2} = 4.2$ Hz), 5.58 (d, 1H, H-1 β , $J_{H1,H2} = 8.8$ Hz), 5.50-5.49 (m, 1H, H-4 α), 5.39 (d, 1H, H-4 β , $J_{H3,H4} = 2.9$ Hz), 5.25 (dd, 1H, H-3 α , $J_{H3,H4} = 3.2$ Hz, $J_{H2,H3} = 11.3$ Hz), 4.95 (dd, 1H, H-3 β , $J_{H3,H4} = 3.2$ Hz, $J_{H2,H3} = 10.6$ Hz), 4.36 (t, 1H, H-5 α , $J_{H2,H3} = J_{H2,H4} = 6.0$ Hz), 4.15-4.09 (m, 6H, H-2 α , H-5 β , H-6 $a,b\alpha$, H-6 $a,b\beta$), 3.85 (dd, 1H, H-2 β , $J_{H1,H2} = 8.9$ Hz, $J_{H2,H3} = 10.6$ Hz), 2.17, 2.07, 2.04 (3 \times s, 18H, 6 \times CH₃(Ac)).

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosylbromid (**44**)^[123]

(α Ac₃GalN₃-Br)



Eine Suspension aus 6.40 g (73.7 mmol, 5.0 Äquiv.) Lithiumbromid in 60 mL absol. Acetonitril wurde unter Argonatmosphäre mit einer Lösung aus 5.60 g (14.9 mmol) 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α/β -D-galactopyranosylnitrat **43** in 60 mL absol. Acetonitril versetzt. Nach 20 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde eine gelbe Lösung erhalten, die mit 250 mL Dichlormethan verdünnt wurde. Die organischen Phasen wurden zweimal mit je 100 mL dest. Wasser gewaschen und die Reextraktion der wässrigen Phase erfolgte zweimal mit je 50 mL Dichlormethan. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Ethylacetat 2:1).

Ausbeute: 4.40 g (11.2 mmol, 75% d.Th.), hellbraunes Öl.

$[\alpha]_D^{23} = +162.7$ (1.00, $CHCl_3$), Lit.^[123]: $[\alpha]_D^{25} = +188.6$ (1.95, $CHCl_3$).

$R_f = 0.39$ (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1).

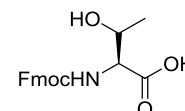
$C_{12}H_{16}BrN_3O_7$ ($M = 394.18 \text{ g mol}^{-1}$) [393.02].

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 6.46 (d, 1H, H-1, $J_{\text{H1,H2}} = 3.7$ Hz), 5.51 (m, 1H, H-4), 5.34 (dd, 1H, H-3, $J_{\text{H3,H4}} = 3.3$ Hz, $J_{\text{H2,H3}} = 10.7$ Hz), 4.48 (t, 1H, H-5, $J_{\text{H2,H3}} = J_{\text{H2,H4}} = 6.6$ Hz), 4.21-4.07 (m, 3H, H-2, H-6_{a,b}), 2.16, 2.06, 2.05 (3 \times s, 9H, $\text{CH}_3(\text{Ac})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , DEPT), δ (ppm): 170.3, 169.7, 169.5 (3 \times C=O(Ac)), 88.8 (C-1), 71.4 (C-5), 69.8 (C-3), 66.5 (C-4), 60.7 (C-6), 58.6 (C-2), 20.6, 20.5, 20.5 (3 \times CH_3).

***N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-L-threonin (46)^[125]**

(*Fmoc*-Thr-OH)



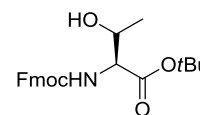
In 800 mL einer Aceton/Wasser-Mischung (1:1) wurden unter Rühren 10.0 g (84.0 mmol) L-Threonin und 7.10 g (84.5 mmol, 1.0 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat gelöst. Nach portionsweiser Zugabe von 28.4 g (84.2 mmol) *N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-succinimidylcarbonat (*Fmoc*-OSu) wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die klare Reaktionsmischung mit konz. Salzsäure auf pH = 2 angesäuert und das Aceton i. Vak. evaporiert. Der Rückstand wurde dreimal mit je 200 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit je 200 mL 1 N Salzsäure-Lösung und zweimal mit je 200 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die Reextraktion der wässrigen Phasen wurde zweimal mit je 50 mL Dichlormethan durchgeführt. Nach Trocknung der organischen Phase mit Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Ausbeute: 28.7 g (quant.), leicht gelblicher amorpher Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = -3.4$ (1.00, CHCl_3).

$\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ ($M = 341.36$ g mol⁻¹) [341.13].

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.69 (d, 2H, H-4-, H-5-Fmoc, $J_{\text{H3,H4}} = J_{\text{H5,H6}} = 7.4$ Hz), 7.56-7.53 (m, 2H, H-1-, H-8-Fmoc), 7.36-7.21 (m, 4H, H-2-, H-3-, H-6-, H-7-Fmoc), 6.02 (m, 1H, NH-Urethan), 4.44-4.32 (m, 4H, CH_2 -Fmoc, T ^{α} , T ^{β}), 4.14 (t, 1H, H-9-Fmoc, $J_{\text{H9,CH2}} = 7.1$ Hz), 1.21 (d, 3H, T ^{γ} , $J_{\text{T γ ,T β }} = 6.3$ Hz).

N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-*L*-threonin-*tert*-butylester (47)^[127]*(*Fmoc*-Thr-*OtBu*)**

Es wurden 82.4 g (399 mmol, 3.3 Äquiv.) *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, 38.5 g (519 mmol, 4.3 Äquiv.) *tert*-Butanol und 1.20 g wasserfreies Kupfer(I)chlorid miteinander vermischt. Nach vorherigem mehrmaligem Ent- und Belüften des Reaktionsgefäßes mit Inertgas wurde die Reaktionsmischung unter Argonatmosphäre und Lichtausschluss fünf Tage lang gerührt. Die dunkelgrüne Reaktionsmischung wurde dann unter Eiskühlung tropfenweise mit einer Lösung von 41.2 g (121 mmol) *Fmoc*-Thr-OH **46** in 150 mL absol. Dichlormethan binnen 90 Minuten versetzt. Nach Beendigung des Zutropfens wurde eine Stunde weiter gerührt und anschließend wieder auf 0 °C gekühlt, wobei farbloser, feinkristalliner Harnstoff ausfiel. Durch mehrfaches Absaugen und Einengen des Filtrats wurde der Harnstoff fast vollständig entfernt. Die so erhaltene organische Phase wurde dreimal mit je 200 mL einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und dreimal mit je 100 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch Flashchromatographie an Kieselgel im Laufmittelgemisch: Cyclohexan/Ethylacetat (4:1).

Ausbeute: 30.0 g (75.6 mmol, 63% d.Th.), farbloser kristalliner Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = -11.1$ (1.00, CHCl₃), Lit.^[230] $[\alpha]_D^{20} = -9.0$ (1.15, CHCl₃).

$R_f = 0.40$ (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1).

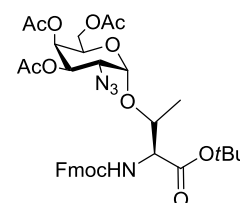
C₂₃H₂₇NO₅ (M = 397.46 g mol⁻¹) [397.19].

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.77 (d, 2H, H-4-, H-5-Fmoc, J_{H3,H4} = J_{H5,H6} = 7.5 Hz), 7.61 (d, 2H, H-1-, H-8-Fmoc, J_{H1,H2} = J_{H7,H8} = 7.0 Hz), 7.40 (t, 2H, H-3-, H-6-Fmoc, J_{H3,H2/H4} = J_{H3,H5/H6} = 7.3 Hz), 7.40 (t, 2H, H-2-, H-7-Fmoc, J_{H2,H1/H3} = J_{H7,H6/H8} = 7.3 Hz), 5.61 (d, 1H, NH-Urethan, J_{NH, Tα} = 8.4 Hz), 4.41 (d, 2H, CH₂-Fmoc, J_{H9,CH2} = 7.0 Hz), 4.31-4.22 (m, 3H, H-9-Fmoc, T^α, T^β), 1.49 (s, 9H, 3×CH₃(*t*Bu)), 1.25 (d, 3H, T^γ, J_{Tγ, Tβ} = 6.2 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.2 (C=O(Ester)), 156.7 (C=O(Urethan)), 143.9, 143.7 (C-1a, C-8a-Fmoc), 141.3 (C-4a-, C-5a-Fmoc), 127.7, 127.7 (C-3-, C-6-Fmoc), 127.1, 127.1 (C-2-, C-7-Fmoc), 125.1 (C-1-, C-8-Fmoc), 120.0 (C-4-, C-5-Fmoc), 82.7 (Cq(*t*Bu)), 67.2 (CH₂-Fmoc), 59.5 (T^α), 47.1 (C-9-Fmoc), 28.0, 28.0, 28.0 (CH₃(*t*Bu)), 19.9 (T^γ).

***N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy-*D*-galacto-pyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (48)^[131]**

(*Fmoc*-Thr(α Ac₃GalN₃)-OtBu)



Es wurden 2.92 g (7.35 mmol) *Fmoc*-Thr-OtBu **47** in 30 mL absol. Dichlormethan und 30 mL absol. Toluol gelöst und zu 8.00 g ausgeheiztem Molekularsieb (4 Å) gegeben und eine Stunde gerührt. Nach Kühlung auf 0 °C wurde unter Lichtausschluss 2.12 g (7.70 mmol, 1.1 Äquiv.) wasserfreies Silbercarbonat, sowie 0.29 g (1.40 mmol, 0.2 Äquiv.) Silberperchlorat zugegeben und weitere 45 Minuten bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 2.76 g (7.00 mmol) α Ac₃GalN₃-Br **44** in 50 mL absol. Toluol/ Dichlormethan (1:1) der Reaktionsmischung binnen 90 Minuten zugesetzt. Nach Beendigung des Zutropfens wurde das Eisbad entfernt und vier Tage bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit 100 mL Dichlormethan verdünnt und durch *Hyflo*[®] filtriert. Das Filtrat wurde zweimal mit je 50 mL einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zweimal mit je 50 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Anschließend wurden die wässrigen Phasen zweimal mit je 25 mL Dichlormethan reextrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flashchromatographie an Kieselgel im Laufmittelgemisch: Dichlormethan/Ethylacetat (10:1).

Ausbeute: α -Anomer 2.41 g (3.38 mmol, 48 % d.Th.), farbloser, amorpher Feststoff.

Es wurde noch eine Mischfraktion von 0.59 g aus α - und β -Anomer gewonnen, die in der nächsten Stufe eingesetzt wurde.

$[\alpha]_D^{23} = +67.9$ (1.00, CHCl₃), Lit.^[131] $[\alpha]_D^{20} = +65.8$ (1.00, CHCl₃).

$R_f = 0.39$ (Dichlormethan/Ethylacetat 10:1).

C₃₅H₄₂N₄O₁₂ (M = 710.73 g mol⁻¹) [710.28].

ESI-MS (positiv), (m/z): 733.2 ([M+Na]⁺, ber.: 733.3); 677.2 ([M+Na-C₄H₈]⁺, ber.: 677.6).

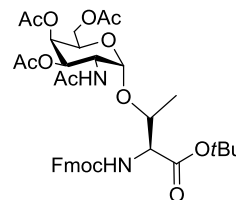
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.76 (d, 2H, H-4-, H-5-Fmoc, J_{H3,H4} = J_{H5,H6} = 7.4 Hz), 7.63 (d, 2H, H-1-, H-8-Fmoc, J_{H1,H2} = J_{H7,H8} = 7.2 Hz), 7.43-7.37 (m, 2H, H-2-, H-7-Fmoc), 7.35-7.29 (m, 2H, H-3-, H-6-Fmoc), 5.65 (d, 1H, NH-Urethan, J_{NH,T α} = 9.5 Hz), 5.47 (d, 1H, H-4, J_{H3,H4} = 2.7 Hz), 5.34 (dd, 1H, H-3, J_{H3,H4} = 3.4, J_{H2,H3} = 11.3 Hz), 5.11 (d, 1H, H-1, J_{H1,H2} = 3.8 Hz), 4.46-4.28 (m, 6H, H-5, H-6_{a,b}, H-9-Fmoc, T ^{α} , T ^{β}), 4.13-4.09

(m, 2H, CH₂-Fmoc), 3.64 (dd, 1H, H-2, $J_{H1,H2} = 3.6$ Hz, $J_{H2,H3} = 11.4$ Hz), 2.15 (s, 3H, CH₃(Ac)), 2.08, 2.05 (2s, 6H, 2×CH₃(Ac)), 1.51 (s, 9H, 3×CH₃(*t*Bu)), 1.35 (d, 3H, T^γ, $J_{T\gamma,T\beta} = 6.5$ Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.3, 170.0, 169.8 (3×C=O(Ac)), 169.2 (C=O(Ester)), 156.4 (C=O(Urethan)), 143.9, 143.8 (C-1a-, C-8a-Fmoc), 141.2 (C-4a-, C-5a-Fmoc), 127.7, 127.7 (C-3-, C-6-Fmoc), 127.1 (C-2-, C-7-Fmoc), 125.3 (C-1-, C-8-Fmoc), 120.0, 120.0 (C-4-, C-5-Fmoc), 99.2 (C-1), 82.9 (Cq(*t*Bu)), 76.4 (T^β), 68.0 (C-3), 67.5 (C-4, CH₂-Fmoc), 67.0 (C-5), 61.8 (C-6), 59.2 (T^α), 47.1 (C-2, C-9-Fmoc), 27.9 (CH₃(*t*Bu)), 23.2 (NHAc), 20.7, 20.6, 20.6 (3×CH₃(Ac)), 18.9 (T^γ).

***N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-*O*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (49)^[132]**

(*Fmoc*-Thr(α Ac₃GalNAc)-*Ot*Bu)



In 150 mL einer Mischung aus Tetrahydrofuran, Acetanhydrid und Essigsäure in einem Verhältnis von 3:2:1 wurden 2.36 g (3.30 mmol) *Fmoc*-Thr(α Ac₃GalN₃)-*Ot*Bu **48** gelöst. Im Folgenden wurden 4.30 g (65.7 mmol) Zn-Staub durch Aufschlämmen in 80 mL einer verdünnten Kupfersulfat-Lösung (2.50 g Kupfersulfat in 80 mL dest. Wasser) aktiviert, mit Wasser gewaschen und anschließend mit Diethylether getrocknet. Das aktivierte Zink wurde der Reaktionsmischung zugegeben und die Reaktionsmischung 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit 300 mL Tetrahydrofuran verdünnt und durch *Hyflo*[®] filtriert. Die destillative Entfernung des Lösungsmittels erfolgte unter reduziertem Druck. Der verbleibende Rückstand wurde viermal mit je 80 mL Toluol und zweimal mit je 80 mL Dichlormethan kodestilliert. Das Rohprodukt wurde in 350 mL Dichlormethan aufgenommen und dreimal mit je 80 mL einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung ausgeschüttelt. Nach Trocknung der organischen Phase mit Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung erfolgt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Ethylacetat 2:3).

Ausbeute: 2.02 g (2.78 mmol, 84% d.Th), farbloser amorpher Feststoff.

Nach analoger Reduktion der Mischfraktion aus α - und β -Anomer werden zusätzlich 305.4 mg (0.42 mmol) erhalten. Gesamtausbeute über zwei Stufen: 2.33 g (3.20 mmol, 46% d.Th.).

$[\alpha]_D^{23} = +60.4$ (1.00, CHCl_3), Lit.^[131]: $[\alpha]_D^{20} = +63.4$ (1.03, CHCl_3).

$R_f = 0.23$ (Cyclohexan/Ethylacetat 2:3).

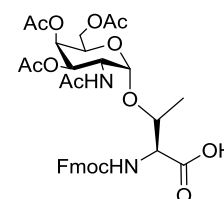
$\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{13}$ ($M = 726.77 \text{ g mol}^{-1}$) [726.30].

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.78 (d, 2H, H-4-, H-5-Fmoc, $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = J_{\text{H}_5,\text{H}_6} = 7.3$ Hz), 7.64 (d, 2H, H-1-, H-8-Fmoc, $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = J_{\text{H}_7,\text{H}_8} = 7.2$ Hz), 7.43-7.31 (m, 4H, H-2-, H-3-, H-6-, H-7-Fmoc), 5.98 (d, 1H, NH-Urethan, $J_{\text{NH},\text{T}\alpha} = 10.2$ Hz), 5.55 (d, 1H, NHAc), $J_{\text{NH},\text{H}_2} = 8.9$ Hz), 5.39 (d, 1H, H-4, $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 1.7$ Hz), 5.09 (dd, 1H, H-3, $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.1$ Hz, $J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 11.3$ Hz), 4.88 (d, 1H, H-1, $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 3.5$ Hz), 4.66-4.58 (m, 1H, H-2), 4.48-4.43 (m, 2H, CH_2 -Fmoc), 4.29-4.08 (m, 6H, H-5, H-6_{a,b}, H-9-Fmoc, T ^{α} , T ^{β}), 2.17 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{NHAc})$), 2.04 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{OAc})$), 2.00 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3(\text{OAc})$), 1.46 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3(t\text{Bu})$), 1.33 (d, 3H, T ^{γ} , $J_{\text{T}\beta,\text{T}\gamma} = 6.4$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 170.9 (C=O(NHAc)), 170.3, 170.3 ($3 \times \text{C}=\text{O}(\text{Ac})$), 170.0 (C=O(Ester)), 156.4 (C=O(Urethan)), 143.7, 143.7 (C-1a-, C-8a-Fmoc), 141.3 (C-4a-, C-5a-Fmoc), 127.8, 127.8 (C-3-, C-6-Fmoc), 127.1 (C-2-, C-7-Fmoc), 125.1, 125.0 (C-1-, C-8-Fmoc), 120.0, 120.0 (C-4-, C-5-Fmoc), 100.0 (C-1), 83.2 (Cq($t\text{Bu}$)), 77.2 (T ^{β}), 68.7 (C-3), 67.4 (C-4, C-5), 67.3 ($\text{CH}_2(\text{Fmoc})$), 62.1 (C-6), 58.9 (T ^{α}), 47.3, 47.2 (C-2, C-9-Fmoc), 28.1 ($\text{CH}_3(t\text{Bu})$), 23.2 ($\text{CH}_3(\text{NHAc})$), 20.7, 20.7, 20.6 ($3 \times \text{CH}_3(\text{OAc})$), 18.5 (T ^{γ}).

***N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin (50)^[231]**

(Fmoc-Thr($\alpha\text{Ac}_3\text{GalNAc}$)-OH)



Es wurden 1.50 g (2.06 mmol) *Fmoc*-Thr($\alpha\text{Ac}_3\text{GalNAc}$)-OtBu **49** in 40 mL Dichlormethan gelöst und anschließend mit 3.00 mL Anisol und 40 mL Trifluoressigsäure versetzt. Das Gemisch wurde zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bevor die Reaktionslösung mit 30 mL Toluol verdünnt und unter reduziertem Druck eingeeengt wurde. Der Rückstand wurde dreimal mit je 30 mL Toluol und dreimal mit jeweils 30 mL Dichlormethan kodestilliert und das Produkt wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Ethylacetat/Methanol, 2:1).

Ausbeute: 1.30 g (1.94 mmol, 94% d.Th.), farbloser, amorpher Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = +72.4$ (1.00, CHCl_3), Lit.^[232]: $[\alpha]_D^{20} = +76.0$ (1.00, CHCl_3).

$R_f = 0.32$ (Ethylacetat/Methanol, 2:1).

$\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{13}$ ($M = 670.66 \text{ g mol}^{-1}$) [670.24].

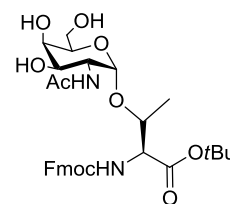
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 7.81 (m, 2H, H4-, H5-Fmoc), 7.68 (m, 2H, H1-, H8), 7.39-7.32 (m, 4H, H2-, H3-, H6-, H7-Fmoc), 6.17 (d, 1H, NH-Urethan, $J_{\text{NH},\text{T}\alpha} = 10.2$ Hz), 5.40 (d, 1H, H-4, $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.3$ Hz), 5.09 (dd, 1H, H-3, $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.3$ Hz, $J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 11.5$ Hz), 4.88 (1H, H-1, im Lösungsmittelsignal), 4.59-4.54 (m, 1H, H-2), 4.45-4.08 (m, 8H, CH_2 -Fmoc, H-5, H-6_{a,b}, H-9-Fmoc, T ^{α} , T ^{β}), 2.12 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{NHAc})$), 2.02 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{OAc})$), 1.96, 1.94 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3(\text{OAc})$), 1.23 (d, 3H, T ^{γ} , $J_{\text{T}\beta,\text{T}\gamma} = 6.4$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 171.3, 170.7, 170.3, 170.0 ($5 \times \text{C}=\text{O}$), 156.4 ($\text{C}=\text{O}(\text{Urethan})$), 143.8, 143.8 (C-1a-, C-8a-Fmoc), 141.5 (C-4a-, C-5a-Fmoc), 127.5, 127.4 (C-3-, C-6-Fmoc), 127.2 (C-2-, C-7-Fmoc), 125.1, 125.0 (C-1-, C-8-Fmoc), 120.0, 120.0 (C-4-, C-5-Fmoc), 100.1 (C-1), 83.2 (Cq(*t*Bu)), 77.3 (T ^{β}), 68.7 (C-3), 67.4 (C-4, C-5), 67.2 ($\text{CH}_2(\text{Fmoc})$), 62.2 (C-6), 59.0 (T ^{α}), 47.3, 47.2 (C-2, C-9-Fmoc), 23.2 ($\text{CH}_3(\text{NHAc})$), 20.8, 20.8, 20.6 ($3 \times \text{CH}_3(\text{OAc})$), 18.6 (T ^{γ}).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[232]

***N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (51)^[131]**

(Fmoc-Thr(α GalNAc)-OtBu)



Die Deacetylierung erfolgte unter ständiger pH-Wert Kontrolle durch tropfenweise Zugabe einer frisch hergestellten 1%-igen methanolischen Natriummethanolat-Lösung (0.5 g Na in 50 mL Methanol HPLC grade) zu einer Lösung aus 5.64 g (7.76 mmol) Fmoc-Thr(α Ac3GalNAc)-OtBu **49** in 100 mL Methanol (HPLC grade). Als ein pH-Wert von 8.5 erreicht war, wurde 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und der pH-Wert anfangs anhaltend kontrolliert und nachreguliert. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle) wurde mit wenig Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel kdestillativ mit Toluol i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in 150 mL Acetonitril aufgenommen und mit 0.65 g (1.93 mmol) Fmoc-OSu und 0.32 ml (1.93 mmol) Diisopropylethylamin versetzt. Nach

sechs stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Gemisch i. Vak. destillativ vom Lösungsmittel befreit. Das Produkt wurde durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Ethylacetat/Methanol, (20:1) → (10:1)) isoliert.

Ausbeute: 3.45 g (5.75 mmol, 74% d.Th.), farbloser, amorpher Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = + 30.8$ (1.00, CHCl₃), Lit.^[131]: $[\alpha]_D^{22} = + 40.2$ (1.00, CHCl₃).

$R_f = 0.11$ (Ethylacetat/Methanol, 20:1).

C₃₁H₄₀N₂O₁₀ (M = 600.66 g mol⁻¹) [600.27].

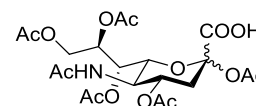
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.76 (d, 2H, H-4-, H-5-Fmoc, J_{H3,H4} = J_{H5,H6} = 7.46 Hz), 7.61 (d, 2H, H1-, H8-Fmoc, J_{H1,H2} = J_{H7,H8} = 7.38 Hz), 7.42-7.26 (m, 4H, H2-, H3-, H-6-, H-7-Fmoc), 6.89 (d, 1H, NHAc, J_{NH,H2} = 7.66 Hz), 5.77 (d, 1H, NH-Urethan, J_{NH,Tα} = 9.55 Hz), 4.87 (d, 1H, H1, J_{H1,H2} = 3.37 Hz), 4.49-4.37 (m, 2H, CH₂-Fmoc), 4.32-4.24 (m, 3H, H2, H9-Fmoc, T^β), 4.15-4.08 (m, 1H, T^α), 4.06 (sb, 1H, H4), 3.93-3.83 (m, 4H, H3-, H5-, H6a,b-Gal), 2.11 (s, 3H, CH₃(NHAc)), 1.45 (s, 9H, 3×CH₃(*t*Bu)), 1,30-1.28 (m, 3H, T^γ).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 173.99 (C=O(NHAc)), 171.11 (C=O(Ester)), 156.66 (C=O(Urethan)), 143.90, 143.81 (C-1a-, C-8a-Fmoc), 141.46 (C-4a-, C-5a-Fmoc), 127.94, 127.92 (C-3-, C-6-Fmoc), 127.23 (C-2-, C-7-Fmoc), 125.20, 125.15 (C-1-, C-8-Fmoc), 120.17, 120.16 (C-4-, C-5-Fmoc), 99.71 (C-1), 83.46 (Cq(*t*Bu)), 77.36 (T^β), 70.95, 70.11, 69.67 (C-3, C-4, C-5), 67.33 (CH₂(Fmoc)), 62.75 (C-6), 59.10 (T^α), 47.3, 47.2 (C-2, C-9-Fmoc), 51.00 (C-2), 47.32 (C-2, C-9-Fmoc), 28.20 (CH₃(*t*Bu)), 23.04 (CH₃(NHAc)), 19.01 (T^γ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[131]

5-Acetamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-3,5-dideoxy- α,β -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid (53)^[233]

(α,β Ac5NeuNAcCOOH)



Es wurden langsam 113 mL Acetanhydrid zu einer eisgekühlten Lösung aus 15.0 g (48.5 mmol) *N*-Acetylneuraminsäure in 225 mL Pyridin getropft. Nach sechsständigem Rühren bei Raumtemperatur erfolgte die Entfernung des Lösungsmittels unter reduziertem Druck. Der Rückstand wurde fünfmal mit Toluol gefolgt von dreimaligem Kodestillieren mit

Dichlormethan vom Acetylierungsgemisch befreit. Das Rohprodukt wurde ohne Reinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 21.8 g (42.0 mmol, 87% d.Th.), gelblicher, amorpher Feststoff.

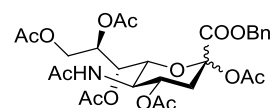
$R_f = 0.36$ (Dichlormethan/Ethylacetat 5:1).

$C_{21}H_{29}NO_{14}$ ($M = 519.45 \text{ g mol}^{-1}$) [519.16].

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[233]

Benzyl-5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-3,5-dideoxy- α,β -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid (54)^[233]

(α,β Ac5NeuNAcCOOBn)



Es wurden 21.8 g (42.0 mmol) der freien Säure **53** in 75 mL Ethanol gelöst und mit einer wässrigen Cäsiumcarbonatlösung (6.52 g, 20 mmol, 0.5 Äquiv. in 9.00 mL Wasser) versetzt. Nach Beendigung der Gasentwicklung wurde für weitere 30 Minuten gerührt und anschließend das Lösungsmittelgemisch kodestillativ mit Toluol i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in 130 mL Dimethylformamid aufgenommen und langsam mit 9.10 mL (76.0 mmol, 1.8 Äquiv.) Benzylbromid versetzt und 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach erfolgte die Entfernung des Lösungsmittels i. Hochvak.. Der Rückstand wurde in 500 mL Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit je 150 mL dest. Wasser und einmal mit 100 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde destillativ unter reduziertem Druck entfernt. Das Produkt wurde chromatographisch an Kieselgel im Laufmittelgemisch Cyclohexan/Ethylacetat (1:5) → (Ethylacetat) isoliert.

Ausbeute: 19.2 g (31.5 mmol, 75% d.Th.), farbloser, amorpher Feststoff.

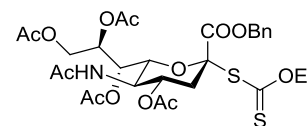
$R_f = 0.23$ (Ethylacetat).

$C_{28}H_{35}NO_{14}$ ($M = 609.58 \text{ g mol}^{-1}$) [609.21].

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[233]

***O*-Ethyl-*S*-[benzyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]dithiocarbonat (56)^[233]**

(α Ac₄NeuNAcCOOBnXan)



Es wurden 95.0 mL (31.7 mmol) Acetylchlorid auf 0 °C gekühlt und 19.2 g (31.5 mmol) α , β Ac₅NeuNAcCOOBn **54** darin gelöst. Zu der eiskalten Lösung wurden 18 Tropfen konz. Salzsäure zugegeben und drei Tage bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wurde das Acetylchlorid kodestillativ mit Toluol i. Vak. entfernt. Der erhaltene ölige Rückstand wurde direkt in 520 mL Ethanol (p.a.) gelöst und portionsweise mit 8.60 g (53.6 mmol, 1.7 Äquiv.) Kaliummethylxanthogenat versetzt. Nach zweitägigem Rühren unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur wurde die Mischung mit 800 mL Dichlormethan verdünnt, dreimal mit je 100 mL einer ges. Natriumhydrogensulfat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch Flashsäulenchromatographie an Kieselgel im Laufmittelgemisch Cyclohexan/Ethylacetat (1:4) → (Ethylacetat).

Ausbeute: 11.0 g (16.4 mmol, 52% d.Th. über zwei Stufen), farbloser, amorpher Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = +37.1$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.^[233]: $[\alpha]_D^{22} = +34.1$ ($c = 1.00$, CHCl₃).

$R_f = 0.23$ (Cyclohexan/Ethylacetat 1:4).

C₂₉H₃₇NO₁₃S₂ ($M = 671.73$ g mol⁻¹) [671.17].

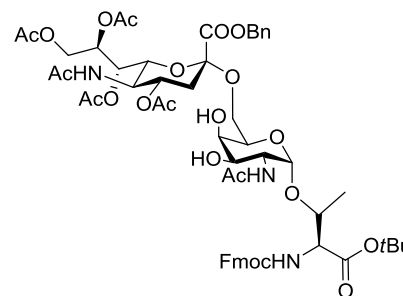
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.35 (m, 5H, H_{Ar}(Bn)), 5.39-5.23 (3H, H7'', H8'', NH Amid), 5.21 (s, 2H, CH₂(Bn)), 4.85 (td, 1H, H4'', $J_{H4''H3ax''} = 11.60$ Hz, $J_{H4''H3eq''} = 4.68$ Hz), 4.56 (dd, 1H, H6'', $J_{H6''H5''} = 10.77$ Hz, $J_{H6''H7''} = 1.94$ Hz), 4.47-3.98 (m, 5 H, H5'', H9a/b'', -OCH₂CH₃), 2.66 (dd, 1H, H3_{eq''}, $J_{H3eq''H3ax''} = 12.91$ Hz, $J_{H3eq''H4''} = 4.61$ Hz), 2.13-1.86 (m, 16H, 4x CH₃(Ac), CH₃(NHAc), H3_{ax''}), 1.26 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J_{CH_3CH_2} = 6.33$ Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 207.02 (C=S), 171.13, 170.68, 170.38, 170.36, 170.25 (C=O), 167.95 (C1''), 135.02 (C_{quart}(Bn)), 128.92, 128.84, 128.77, 128.15 (C(Bn)), 86.66 (C2''), 75.34, 70.72, 70.45, 68.89, 68.10, 67.89 (C4'', C6'', C7'', C8'', OCH₂(Bn), OCH₂CH₃), 62.15 (C9''), 49.39 (C5''), 37.27 (C3''), 23.33 (CH₃(NHAc)), 21.00, 20.94, 20.91, 20.89 (CH₃(Ac)), 13.16 (OCH₂CH₃).

***N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*O*-[2-acetamido-2-deoxy-6-*O*-[benzyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]- α -D-galactopyranosyl]-L-serin-*tert*-butylester (**59**)^[131]**

[233]

(*Fmoc*-Thr([α Ac₄NeuNAcCOOBn-(2→6)]- α GalNAc)-*O*tBu)



Methylsulfenylbromid-Lösung (1.6 M in 1,2-Dichlorethan):

Zu einer Lösung aus 1.06 mL (11.9 mmol) Dimethyldisulfid in 15 mL absol. 1,2-Dichlorethan werden 0.62 mL (24.2 mmol) Brom zugegeben und das Reaktionsgemisch unter Lichtausschluss und Argonatmosphäre 18 Stunden gerührt.

Glycosylierung:

Eine Lösung aus 2.04 g (3.39 mmol) *Fmoc*-Thr(α GalNAc)-*O*tBu **51** und 5.70 g (8.46 mmol, 2.5 Äquiv.) α Ac₄NeuNAcCOOBnXan **56** in 150 mL absol. Acetonitril/Dichlormethan (2:1) wurde in einen Kolben mit 12.0 g ausgeheiztem Molekularsieb (4 Å) gegeben und unter Schutzgasatmosphäre über Nacht gerührt. Anschließend wurden 2.20 g (8.56 mmol, 2.5 Äquiv.) trockenes Silbertriflat zugegeben, die Reaktionsmischung auf –65 °C gekühlt und innerhalb von 45 Minuten wurden 5.41 mL (8.66 mmol, 2.5 Äquiv.) einer eisgekühlten 1.6 M Lösung von Methylsulfenylbromid in 1,2-Dichlorethan (s.o.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde fünf Stunden bei –65 °C gerührt (DC-Kontrolle) und anschließend mit 1.20 mL (7.27 mmol) Diisopropylethylamin neutralisiert. Nach weiteren 15 Minuten bei –65 °C wurde die Kühlung entfernt und langsam auf 10 °C erwärmt. Im Folgenden wurde das Reaktionsgemisch mit 300 mL Dichlormethan verdünnt, durch *Hyflo*[®] filtriert und das gewünschte Produkt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Ethylacetat/Ethanol, 20:1 → 9:1) abgetrennt.

Ausbeute: 3.64 g (2.30 mmol, 68% d.Th.), farbloser, amorpher Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = +9.7$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.^[233]: $[\alpha]_D^{23} = +6.27$ ($c = 1.00$, CHCl₃).

$R_f = 0.40$ (Ethylacetat/Ethanol, 9:1).

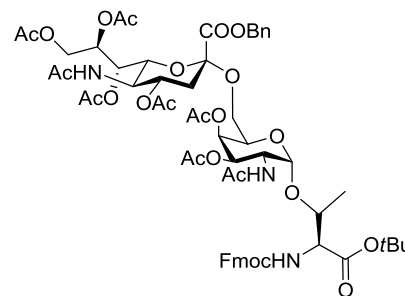
C₅₇H₇₁N₃O₂₂ ($M = 1150.18$ g mol⁻¹) [1149.45].

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.71 (d, 2H, H4-, H5-Fmoc, J_{H4,H3} = J_{H5,H6} = 7.3 Hz), 7.60 (d, 2H, H1-, H8-Fmoc, J_{H1,H2} = J_{H8,H7} = 7.2 Hz), 7.39-7.27 (m, 9H, H3-, H6-, H2-, H7-Fmoc, H_{Ar}(Bn)), 6.64 (d, 1H, NH(NHAc), J_{NH,H2} = 6.9 Hz), 5.55 (d, 1H, NH-Urethan, J_{NH,Tα} = 9.0 Hz), 5.37-5.24 (m, 2H, H7^{''}, H8^{''}), 5.28 (d, 1H, CH_{2a}(Bn), J_{H_a,b} = 12.1 Hz), 5.20 (d, 1H, CH_{2b}(Bn), J_{b,a} = 12.4 Hz), 4.89-4.79 (m, 1H, H4^{''}), 4.81 (d, 1H, H1, J_{H1,H2} = 2.9 Hz), 4.44 (d, 2H, CH₂-Fmoc, J_{CH₂,CH} = 7.0 Hz), 4.34 (dd, 1H, H9a^{''}, J_{H9a^{''},H9b^{''}} = 12.7 Hz, J_{H9a^{''},H8^{''}} = 2.1 Hz), 4.31-4.15 (m, 3H, CH-Fmoc, H2, Tα), 4.13-3.92 (m, 4H, Tβ, H5^{''}, H6^{''}, H9b^{''}), 3.90 (dd, 1H, H6a, J_{H6a,H6b} = 10.2 Hz, J_{H6a,H5} = 7.5 Hz), 3.73-3.65 (m, 3H, H5, H4, H3), 3.50 (dd, 1H, H6b, J_{H6b,H6a} = 10.3 Hz, J_{H6b,H5} = 4.0 Hz), 2.56 (dd, 1H, H3eq^{''}, J_{H3eq^{''},H3ax^{''}} = 12.7 Hz, J_{H3eq^{''},H4} = 4.5 Hz), 2.13, 2.12, 2.07, 2.03, 2.00, 1.88 (6×s, 6×3H, CH₃(Ac)), 2.00-1.93- (m, 1H, H3ax^{''}), 1.47 (s, 9H, CH₃(*t*Bu)), 1.24 (d, 3H, Tγ, J_{Tγ,Tβ} = 7.1 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 173.73, 173.53, 172.42, 171.98, 171.71, 171.49, 171.06, (8C, C=O), 168.81 (C1^{''}), 159.14 (C=O(Urethan)), 145.35, 145.11 (C-1a-, C-8a-Fmoc), 142.68 (C-4a-, C-5a-Fmoc), 136.66 (Cq(Bn)), 129.78, 129.69, 128.84, 128.22, 128.19 (9C, C-3-, C-6-, C-2-, C-7-Fmoc, C_{Ar}-Bn), 126.12, 126.02 (C-1-, C-8-Fmoc), 100.71 (C1), 100.03 (C2^{''}), 83.42 (Cq(*t*Bu)), 76.66 (T^β), 73.43 (C6^{''}), 71.26 (C3^{''}), 70.70 (C7^{''}, C5), 70.16 (C4^{''}), 69.98 (C4), 68.85, 68.72, 67.57 (CH₂-Fmoc, CH₂(Bn), C8^{''}), 65.50 (C6), 63.41 (C9^{''}), 60.81 (Tα), 50.79 (C2), 50.06 (C5^{''}), 48.63 (C9-Fmoc), 38.72 (C3^{''}), 28.36 (3×CH₃(*t*Bu)), 23.22, 22.68 (2×CH₃(NHAc)), 21.27, 20.86, 20.69, (4C, CH₃(Ac)), 19.75 (Tγ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[233]

***N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-*O*-(2-acetamido-3,4-di-*O*-acetyl-2-desoxy-6-*O*-(benzyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)-*on*at)- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (60)^[233]**
(Fmoc-Thr(α Ac₄NeuNAcCOOBn-(2→6)- α Ac₂GalNAc)-OtBu)



Es wurden 2.61 g (2.27 mmol) Fmoc-Thr([α Ac₄NeuNAcCOOBn-(2→6)]- α GalNAc)-OtBu **59** in 22 mL Pyridin gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 11 mL Acetanhydrid versetzt. Nach Zugabe von 26.0 mg DMAP wurde eine Stunde unter Eiskühlung gerührt, woraufhin langsam auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach 16 Stunden Rühren bei Raumtemperatur dieser Temperatur gerührt wurde. Das Gemisch wurde mit 200 mL Dichlormethan verdünnt und restliches Acetanhydrid durch Zugabe von wenig Eis hydrolysiert. Die organische Phase wurde viermal mit jeweils 250 mL einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 250 mL einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mehrfach sowohl mit Toluol als auch mit Dichlormethan kdestilliert und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Ethylacetat → Ethylacetat/Ethanol 9:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.79 g (1.45 mmol, 64% d.Th.), farbloser, amorpher Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = +29.6$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.^[233]: $[\alpha]_D^{23} = +28.0$ ($c = 1.00$, CHCl₃).

$R_f = 0.51$ (Ethylacetat/Ethanol, 20:1).

C₆₁H₇₅N₃O₂₄ ($M = 1234.25$ g mol⁻¹) [1233.45].

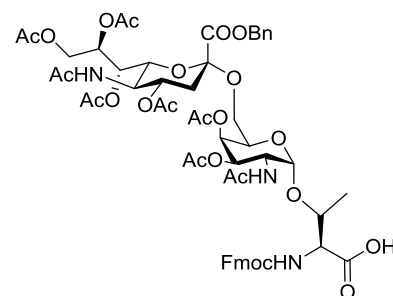
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.77 (d, 2H, H4-, H5-Fmoc, $J_{H4,H3} = J_{H5,H6} = 7.4$ Hz), 7.65 (d, 2H, H1-, H8-, $J_{H1,H2} = J_{H8,H7} = 6.8$ Hz), 7.42-7.30 (m, 9H, H2-, H3-, H6-, H7-Fmoc, 5xH_{Ar}(Bn)), 5.93 (d, 1H, NH-Fmoc, $J_{NH,T\alpha} = 10.0$ Hz), 5.59 (d, 1H, NH(GalNAc), $J_{NH,H2} = 9.1$ Hz), 5.31-5.23 (m, 3H, H7^{cc}, H8^{cc}, CH_{2a}(Bn)), 5.15-5.11 (m, 2H, H4, CH_{2b}(Bn)), 4.98 (dd, 1H, H3, $J_{H3,H2} = 11.1$ Hz, $J_{H3,H4} = 3.1$ Hz), 4.85 (m, 2H, H1), 4.59-4.45 (m, 4H, CH₂-Fmoc, H2, T β), 4.29-4.17 (m, 4H, H6^{cc}, H9a^{cc}, H9-Fmoc, T α), 4.08-3.93 (m, 3H, H5, H5^{cc}, H9b^{cc}), 3.80 (m, 1H, H6a), 3.10 (dd, 1H, H6b, $J_{H6b,H5} = 4.3$ Hz, $J_{H6b,H6a} = 10.5$ Hz), 2.55 (dd, 1H, H3eq^{cc}, $J_{H3eq^{cc},H3ax^{cc}} = 12.7$ Hz, $J_{H3eq^{cc},H4^{cc}} = 4.6$ Hz), 2.12, 2.05, 2.02,

1.98, 1.86 (5x s, 25H, CH₃(NHAc), CH₃(Ac), H3ax⁶), 1.45 (s, 9H, CH₃(*t*Bu)), 1.30 (d, 3H, T γ , J_{T γ ,T β} = 6.3 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 171.00, 170.77, 170.41, 170.34, 170.02, 169.85, (C=O), 167.55 (C1⁶), 156.76 (C=O-Urethan), 143.93 (C1a-, C8a-Fmoc), 141.53 (C4a-, C5a-Fmoc), 134.90 (Cq(Bn)), 129.26, 129.07, 128.89 (C(Bn)), 127.98 (C3-, C6-Fmoc), 127.32 (C2-, C7-Fmoc), 125.31, 125.29 (C1-, C8-Fmoc), 120.26, 120.23 (C4-, C5-Fmoc), 100.30 (C1), 98.78 (C2⁶), 83.28 (Cq(*t*Bu)), 77.43 (T β), 69.17, 69.10, 68.22, 68.08, 67.81, 67.51, 67.29 (C3, C4, C5, CH₂-Fmoc, CH₂(Bn), C4⁶, C6⁶, C7⁶, C8⁶), 64.10, 62.57 (C6, C9⁶), 59.35 (T α), 49.36 (C5⁶), 47.46, 47.41 (C2, C9-Fmoc), 37.83 (C3⁶), 28.30 (CH₃(*t*Bu)), 23.39, 21.22, 21.03, 20.92, 20.84 (CH₃(Ac)), 18.79 (T γ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[233]

***N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl-*O*-{2-acetamido-3,4-di-*O*-acetyl-2-desoxy-6-*O*-[benzyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy- α -glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]- α -*D*-galactopyranosyl}-*L*-threonin (61)^[233]**
(*Fmoc*-Thr(α Ac₄NeuNAcCOOBn-(2 \rightarrow 6)- α Ac₂GalNAc)-OH)



Es wurden 1.77 g (1.43 mmol) *Fmoc*-Thr(α Ac₄NeuNAcCOOBn-(2 \rightarrow 6)- α Ac₂GalNAc)-*Ot*Bu **60** in 30 mL Dichlormethan gelöst, mit 3.00 mL Anisol und 30 mL Trifluoressigsäure versetzt. Anschließend wurde das Gemisch zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bevor die Reaktionslösung mit 25 mL Toluol verdünnt und unter reduziertem Druck eingengt wurde. Der Rückstand wurde dreimal mit je 25 mL Toluol und dreimal mit jeweils 25 mL Dichlormethan kodestilliert und Produkt durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Ethylacetat/Methanol, 2:1).

Ausbeute: 1.60 g (1.36 mmol, 95% d.Th.), farbloser, amorpher Feststoff.

$[\alpha]_D^{23} = +35.4$ (c = 1.00, CHCl₃), Lit.^[233]: $[\alpha]_D^{22} = +29.1$ (c = 1.00, CHCl₃).

$R_f = 0.27$ (Ethylacetat/Methanol, 2:1)

C₅₇H₆₇N₃O₂₄ (M = 1178.15 g mol⁻¹) [1177.41].

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD), δ (ppm): 7.81-7.79 (m, 2H, H4-, H5-Fmoc), 7.71-7.65 (m, 2H, H1-, H8-Fmoc), 7.39-7.29 (m, 9H, H2-, H3-, H6-, H7-Fmoc, H_{Ar}(Bn)), 5.37-5.30 (m, 3H, H7", H8", CH_{2a}(Bn)), 5.20-5.16 (m, 2H, H4, CH_{2b}(Bn)), 5.02-4.97 (m, 1H, H3), 4.83-4.78 (m, 2H, H1, H4"), 4.61 (dd, 1H, CH_{2a}-Fmoc, J_{CH₂,H₉-Fmoc} = 6.2, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.46-4.38 (m, 2H, CH_{2b}-Fmoc, Tβ), 4.31-4.17 (m, 5H, H2, H6", H9a", H9-Fmoc, Tα), 4.09-3.94 (m, 3H, H5, H5", H9b"), 3.82-3.79 (m, 1H, H6a), 3.10 (dd, 1H, H6b, J_{H6b,H5} = 4.3 Hz, J_{H6b,H6a} = 10.2 Hz), 2.68 (dd, 1H, H3_{eq}", J_{H3_{eq}",H3_{ax}"} = 12.8 Hz, J_{H3_{eq}",H4"} = 4.9 Hz), 2.10, 2.09, 2.03, 1.99, 1.95, 1.83 (6x s, 25H, CH₃(NHAc), CH₃(OAc)), 1.18 (d, 3H, Tγ, J_{Tγ,Tβ} = 6.3 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD), δ (ppm): 174.20, 173.53, 172.32, 171.17, 171.89, 171.71, 171.57, 171.38 (C=O), 168.65 (C1^o), 159.07 (C=O(Urethan)), 145.46, 145.14 (C-1a-, C-8a-Fmoc), 142.72, 142.71 (C-4a-, C-5a-Fmoc), 136.59 (Cq(Bn)), 129.98, 129.86, 129.83 (C(Bn)), 128.84, 128.80 (C-3-, C-6-Fmoc), 128.23, 128.19 (C-2-, C-7-Fmoc), 126.16, 126.01 (C-1-, C-8-Fmoc), 100.01 (C1), 99.88 (C2^o), 83.42 (Cq(*t*Bu)), 77.56 (Tβ), 73.35, 70.63, 69.83, 69.15, 69.10, 68.94, 68.53, 67.53 (C3, C4, C5, C4^o, C6^o, C7^o, C8^o, CH₂-Fmoc, CH₂(Bn)), 65.10 (C6), 63.51 (C9^o), 60.85 (Tα), 49.99 (C2), 48.92 (C5^o), 38.87 (C3^o), 31.97 (3×CH₃(*t*Bu)), 22.97, 22.67 (2×CH₃(NHAc)), 20.91, 20.74, 20.71, 20.69 (4C, CH₃(OAc)), 19.40 (Tγ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.^[233]

5.6 Synthese der (Glyco)Peptidkonjugate

Allgemeine Versuchsvorschriften

AV6: Peptidsynthese

Die Synthese wurde mit einem Peptidsynthesizer von Applied Biosystems ABI 433A (nach Standardprogramm Fastmoc 0.1 mmol) durchgeführt. Als feste Phase wurde das mit Fmoc-Prolin vorbeladene *Fmoc-Pro-Trt-Tentagel S* Harz (455 mg, 0.10 mmol; Beladung: 0.22 mmol/g) der Firma Rapp Polymere eingesetzt. Die Kupplungen erfolgten mit den Aminosäuren: *Fmoc-Ala-OH*, *Fmoc-Arg(Pbf)-OH*, *Fmoc-Asp-OH*, *Fmoc-Gly-OH*, *Fmoc-His(Trt)-OH*, *Fmoc-Pro-OH*, *Fmoc-Ser(tBu)-OH*, *Fmoc-Thr(tBu)-OH* und *Fmoc-Val-OH*. In jedem Kupplungszyklus wurde die *N*-terminale *Fmoc*-Schutzgruppe mit einer Lösung aus Piperidin (20%) in NMP abgespalten (3×2.5 Minuten). Die Kupplung der Aminosäuren (1 mmol bzw. 10 Äquiv. bzgl. der Beladung des Harzes) fand mit HBTU (1 mmol), HOBt (1 mmol) und DIPEA (2 mmol) in DMF (20-30 Minuten Vortex) statt. Nach jedem Kupplungsschritt wurden nicht umgesetzte Aminogruppen durch eine Mischung aus Ac₂O (0.5 M), DIPEA (0.125 M) und HOBt (0.015 M) in NMP (10 Minuten Vortex) acetyliert (Capping-Schritt).

Die Kupplung des geschützten T_N-Bausteins **11** (134 mg, 0.20 mmol, 2.0 Äquiv. bzgl. der Beladung des Harzes) und des ST_N-Bausteins **23** (177 mg, 0.15 mmol, 1.5 Äquiv. bzgl. der Beladung des Harzes) wurde mit HATU (1.2 Äquiv. bzgl. der Glycosylaminosäure), HOAt (1.2 Äquiv.) und NMM (2.4 Äquiv.) durchgeführt (8 Stunden Vortex). Die beiden folgenden Aminosäuren wurden dann nach Standardbedingungen doppelt gekuppelt. Nach Anbindung der restlichen Aminosäuren erfolgt die Kupplung des Triethylenglycolspacers **61** (1 mmol, 10 Äquiv. bzgl. der Beladung des Harzes) mit HBTU (1 mmol), HOBt (1 mmol) und DIPEA (2 mmol) in DMF (20-30 Minuten Vortex) gefolgt von der Deblockierung des *N*-Terminus mit 20% Piperidin in NMP.

Die perfluoralkylierten Bausteine wurden manuell in einem *Merrifield*-Glasreaktor durch vorheriges, halbstündiges Quellen des Harzes mit Dichlormethan angebunden. Hierzu wurden die Perfluoralkyle in einer Mischung aus Dimethylformamid/Chloroform/Dioxan, Dimethylformamid/Chloroform bzw. Dimethylformamid gelöst, mit HATU (1.2 Äquiv.

bzgl. der Perfluoralkylverbindung), HOAt (1.2 Äquiv.) und DIPEA (2.4 Äquiv.) aktiviert und drei Tage bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Kupplungslösung wurde anschließend abgesaugt, mit DMF (5×10 mL) gewaschen und um verbleibende freie Amine zu acetylieren mit einer Mischung aus Acetanhydrid/Pyridin (1:3) umgesetzt. Nach zwei weiteren Waschschritten mit DMF (5×10 mL) und Dichlormethan (5×10 mL) wurde das Peptid durch zweistündiges schütteln mit Trifluoressigsäure (10 mL), Triisopropylsilan (1.0 mL) und Wasser (1.0 mL) vom Harz abgespalten und gleichzeitig die säurelabilen Schutzgruppen der Aminosäureseitenketten entfernt. Die Lösung wurde vom Harz filtriert und mit Trifluoressigsäure (5×10 mL) gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden i. Vak. eingengt und mit Toluol kodestilliert. Der Rückstand wurde durch F-SPE gereinigt und nach Entfernung des Lösungsmittels unter reduziertem Druck lyophilisiert.

AV7: Deacetylierung

Das Peptid wurde in 10 mL Methanol (HPLC grade) gelöst und mit einer frisch hergestellten Natriummethanolatlösung (0.25 g Na in 25 mL Methanol (HPLC grade)) tropfenweise versetzt bis ein pH von 9.5-10.0 erreicht wurde. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt und mit wenigen Tropfen Essigsäure neutralisiert. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand mit F-SPE gereinigt. Die Produktfraktion wurde unter reduziertem Druck eingengt und lyophilisiert.

R1 und R2: Reinigung durch F-SPE

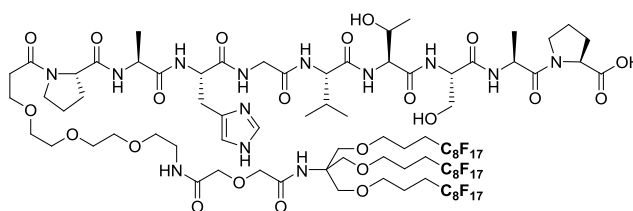
Zur fluorigen Festphasenextraktion (*Fluorous Solid Phase Extraction*, F-SPE) wurde fluoriertes Kieselgel als Festphase verwendet. Die Reinigung unterteilte sich in drei Schritte: als erstes erfolgte die Beladung des Kieselgels mit dem Rohprodukt in möglichst wenig organischem Lösungsmittel. Im zweiten Schritt erfolgte die fluorophobe Elution gefolgt von der fluorophilen Waschung. Schließlich wurde das fluorierte Kieselgel mit Aceton regeneriert.

- Methode R1:
Beladung: Dichloromethan, fluorophobe Elution: Methanol/Wasser (80:20),
fluorophile Elution: Aceton.
- Methode R2:
Beladung: Methanol/Wasser (80:20), fluorophobe Elution: Methanol/Wasser
(80:20), fluorophile Elution: Methanol+ 0.1% Trifluoracetat.
- Methode R3:
Beladung: Methanol/Wasser (70:30), fluorophobe Elution: Methanol/Wasser
(70:30), fluorophile Elution: Methanol+ 0.1% Trifluoracetat.
- Methode R4:
Beladung: Methanol/Wasser (50:50), fluorophobe Elution: Methanol/Wasser
(50:50), fluorophile Elution: Methanol+ 0.1% Trifluoracetat.

Synthese von (Glyco)lipopeptiden mit perfluoralkylierten Membranankern

***N*-((*N*-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolin (62)**

((F8)₃-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr-Ser-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R2

Ausbeute: 44 mg (17 μ mol), 17% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

Analytische RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 80:20 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 31.3$ min, $\lambda = 212$ nm.

$[\alpha]_D^{23} = -31.45$ ($c = 0.90$, MeOH/TFA (1%)).

$C_{86}H_{102}F_{51}N_{13}O_{22}$ (2638.72 g mol⁻¹) [2637.65].

HR-ESI-MS (positive, *m/z*): 2638.6433 ([M+H]⁺, ber.: 2638.6526).

ESI-MS (positive, *m/z*): 2638.65 ([M+H]⁺, ber.: 2638.65), 1320.41 ([M+2H]²⁺, ber.: 1319.83), 878.49 ([M+3H]³⁺, ber.: 880.22).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD/TFA-*d*₁(1%), COSY, HSQC), δ (ppm): 8.78 (d, 1H, H_E, J_{H_E, H_D} = 1.40 Hz), 7.43 (d, 1H, H_D, J_{H_D, H_E} = 0.90 Hz), 4.70-4.62 (m, 2H, H _{α} {4.68}, A_{2 α} {4.62, d, J_{A α , A β} = 7.02 Hz}), 4.46-4.38 (m, 3H, S_{1 α} {4.45}, V _{α} {4.43}, T_{1 α} {4.39}), 4.29-4.23 (m, 4H, P_{1-2 α} {4.26}, T_{1 β} {4.25}, A_{1 α} {4.25}), 4.05 (s, 2H, OCH₂CO), 4.01 (s, 2H, OCH₂CONH), 3.98 (s, 2H, G_{1,2 α}), 3.85-3.53 (m, 24H, S_{1 β} {3.84, 3.79}, P_{1-2 δ} {3.78, 3.72, 3.68, 3.65}, 3.76 {s, 6H, C-CH₂O}, CH₂O-Spacer {3.79, 3.78, 3.64, 3.63, 3.55, 3.55}, 3.54 {t, 6H, OCH₂CH₂CH₂R_F, J_{H,H} = 6.08 Hz}), 3.43 (t, 2H, CH₂NH-Spacer, J_{CH₂,CH₂} = 5.61 Hz), 3.21 (dd, 1H, H _{β a}, J_{H β ,H α} = 6.94 Hz, J_{H β a,H β b} = 15.46 Hz), H _{β a} {3.20}, 2.69 (t, 2H, CH₂CO-Spacer, J_{CH₂,CH₂} = 6.10 Hz), 2.30-2.14 (m, 7H, CH₂R_F {m, 2.30-2.19}, V _{β} {2.16}),

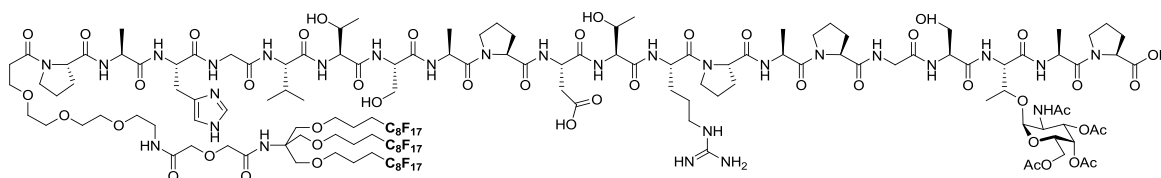
2.07-1.97 (m, 8H, P_{1-2γ} {2.02, 2.02}, P_{1-2β} {1.98, 1.98}), 1.90-1.83 (m, 6H, CH₂CH₂R_F), 1.36 (d, 2H, A_{1β}, J_{Aβ,Aα} = 7.25 Hz), 1.36 (d, 2H, A_{2β}, J_{Aβ,Aα} = 6.99 Hz), 1.19 (d, 3H, T_γ, J_{Tγ,Tβ} = 6.40 Hz), 0.99 (t, 6H, V_γ, J_{Vγ,Vβ} = 6.23 Hz).

¹³C NMR (400 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%), COSY, HSQC), δ (ppm): 175.59, 175.51, 175.45, 174.03, 173.55, 173.28, 172.73, 172.45, 172.40, 171.98, 171.95, 171.66 (C=O), 135.23 (H_{C2}), 129.46 (H_{C5}), 119.21 (H_{C4}), 71.85 (CH₂CO), 71.57 (COCH₂), 70.94 (OCH₂CH₂CH₂R_F), 70.13 (CCH₂O), 71.75, 71.64, 70.99, 70.98, 68.50, 68.13 (CH₂-Spacer), 68.49 (T_β), 63.17 (S_β), 62.23 (T_α), 61.36, 61.36 (P_{1-2α}), 60.33 (V_α), 56.93 (S_α), 53.93 (H_α), , 51.47 (A_{1α}), 48.90 (A_{2α}), 49.37, 49.33, 48.61, 48.38 (P_{1-2δ}), 43.69 (G_α), 40.06 (CH₂NH -Spacer), 31.77 (V_β), 31.00, 31.56 (P_{1-2β}), 28.87 (t, CH₂R_F, J_{H,F} = 21.97 Hz), 28.76 (CH₂CO-Spacer), , 28.10 (H_{βa}), 27.09 (H_{βb}), 26.04, 25.99 (P_{1-2γ}), 21.81 (CH₂CH₂R_F), 19.97 (T_γ), 20.04 (V_{γa}), 18.95 (V_{γb}), 17.24, 16.97 (A_{1-2β}).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%)), δ (ppm): -83.2 (t, 9F, CF₃, J_{F,F} = 9.5 Hz), -116.7 (m, 6F), -123.6 (m, 18F), -124.6 (m, 6F), -125.2 (m, 6F), -128.1 (m, 6F).

***N*-((*N*-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-*O*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (63a)**

((F8)₃-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr(α -Ac₃GalNAc)-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R2

Ausbeute: 63 mg (17 μ mol), 17% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

Analytische RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 80:20 → 100:0, 30 min,
 $R_t = 26.8$ min, $\lambda = 212$ nm.

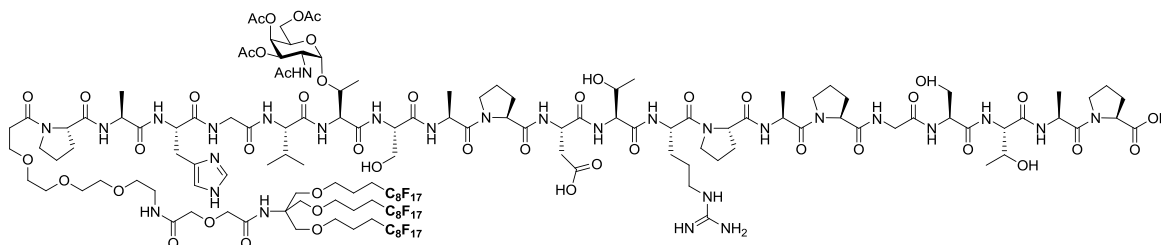
C₁₄₄H₁₉₁F₅₁N₂₈O₄₆ (4019.14 g mol⁻¹) [4017.27].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 2009.6433 ([M+2H]²⁺, ber.: 2009.6405).

MALDI-TOF-MS (dhh, positive, m/z): 4020.50 ([M+H]⁺, ber.: 4018.27).

N-((N-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (63b)

((F8)₃-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(α -Ac₃GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R2

Ausbeute: 110 mg (27 μ mol), 27% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

Analytische RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 80:20 → 100:0, 30 min,
 $R_t = 26.4$ min, $\lambda = 212$ nm.

$[\alpha]_D^{23} = -37.77$ (c = 1.00, MeOH/TFA (1%)).

C₁₄₄H₁₉₁F₅₁N₂₈O₄₆ (4019.14 g mol⁻¹) [4017.27].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 2009.6482 ([M+2H]²⁺, ber.: 2009.6405).

MALDI-TOF-MS (dhh, positive, m/z): 4019.66 ([M+H]⁺, ber.: 4018.27).

ESI-MS (positive, m/z): 2009.44 ($[M+2H]^{2+}$, ber.: 2009.64), 1340.33 ($[M+3H]^{3+}$, ber.: 1340.10).

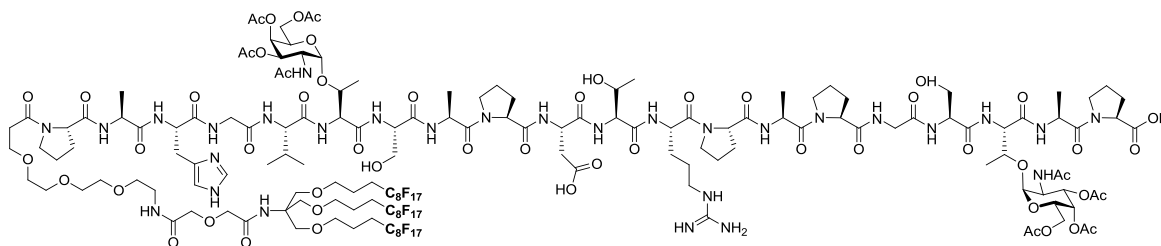
1H NMR (400 MHz, $CD_3OD/TFA-d_1(1\%)$, COSY, HSQC), δ (ppm): 8.79 (d, 1H, H_ϵ , $J_{H\delta, H\epsilon} = 1.34$ Hz), 7.44 (d, 1H, H_δ , $J_{H\delta, H\epsilon} = 0.90$ Hz), 5.36 (d, 1H, H-4, $J_{H3, H4} = 2.62$ Hz), 5.08 (dd, 1H, H-3, $J_{H3, H4} = 3.21$, $J_{H3, H2} = 11.38$ Hz), 5.11 (d, 1H, H1, $J_{H1, H2} = 3.69$ Hz), 4.72-4.20 (m, 29H, H_α {4.70}, R_α {4.68}, D_α {4.62}, $T_{Tn\alpha}$ {4.65}, $A_{3\alpha}$ {4.60}, $A_{2\alpha}$ {4.59}, $A_{4\alpha}$ {4.56}, $S_{1\alpha}$ {4.52}, $S_{2\alpha}$ {4.46}, $P_{1-5\alpha}$ {4.45, 4.41, 4.37, 4.36, 4.34}, $T_{1\alpha}$ {4.35}, $T_{2\alpha}$ {4.34}, V_α {4.41}, $T_{Tn\beta}$ {4.32}, $T_{2\beta}$ {4.29}, $T_{1\beta}$ {4.27}, $A_{1\alpha}$ {4.25}), H2 {4.38}, CH_2O -Spacer {4.11, 4.06, 4.02, 3.97}, 4.05 (s, 2H, OCH_2CO), 4.01 (s, 2H, OCH_2CONH), 3.97-3.53 (m, 22H, $G_{1,2\alpha}$ {3.79, 3.74}, $S_{1,2\beta}$ {3.90, 3.80}, H5 {4.05}, $P_{1-5\delta}$ {3.83, 3.80, 3.68, 3.65, 3.63}), 3.76 (s, 6H, C- CH_2O), CH_2O -Spacer {3.67, 3.63}, H6a,b {4.09}, H4 {4.27}, $H_{\beta b}$ {3.39}), 3.55 (t, 6H, $OCH_2CH_2CH_2R_F$, $J_{H,H} = 6.03$ Hz), 3.43 (t, 2H, CH_2NH -Spacer, $J_{CH_2, CH_2} = 5.60$ Hz), 3.21 (dd, 1H, $H_{\beta a}$, $J_{H\beta, H\alpha} = 7.66$ Hz, $J_{H\beta a, H\beta b} = 15.41$ Hz), R_δ {3.21}), $D_{\beta a}$ {2.92}, 2.69 (dd, $D_{\beta b}$, $J_{D\beta, D\alpha} = 6.01$ Hz, $J_{D\beta a, D\beta b} = 11.92$ Hz), 2.29-2.18 (m, 8H, CH_2R_F {2.27, 2.22, 2.18}, CH_2CO -Spacer {2.22}, V_β {2.13}), $P_{1-5\gamma}$ {2.13-2.02}, $P_{1-5\beta}$ {2.27-1.92}), CH_3Ac {2.14, 2.00, 1.93}, CH_3AcNH {s, 2.00}, 1.90-1.83 (m, 6H, $CH_2CH_2R_F$), $R_{\beta a}$ {1.87}, $R_{\beta b}$ {1.73}, R_γ {1.69}), 1.44-1.35 (m, 12H, {1.42, d, $A_{4\beta}$, $J_{A\beta, A\alpha} = 7.04$ Hz}, $A_{1-3\beta}$ {1.37, 1.36, 1.36}), $T_{Tn\gamma}$ {1.28}, $T_{2\gamma}$ {1.28}, $T_{1\gamma}$ {1.20}, 1.00 (d, 3H, $V_{\gamma a}$, $J_{V\gamma, V\beta} = 6.61$ Hz), 0.99 (d, 3H, $V_{\gamma b}$, $J_{V\beta, V\gamma} = 6.73$ Hz).

^{13}C NMR (400 MHz, $CD_3OD/TFA-d_1(1\%)$, COSY, HSQC), δ (ppm): 175.47, 175.41, 175.31, 174.71, 174.68, 174.53, 174.42, 174.25, 174.41, 173.87, 173.79, 173.68, 173.49, 173.34, 173.18, 173.09, 172.79, 172.69, 172.40, 172.37, 172.30, 172.20, 172.08, 171.96, 171.91 (C=O, C=O-Acetyl), 157.93 ($CONHR_F$), 156.57 (C=NH), 134.63 (H_{C2}), 129.16 (H_{C5}), 118.98 (H_{C4}), 100.85 (C1), 79.11 ($T_{Tn*\beta}$), 100.85 (C1), 71.73 ($COCH_2$), 71.50 (CH_2CO), 70.81 ($OCH_2CH_2CH_2R_F$), 70.45 (C3), 69.10 (C4), 70.02 (CCH_2O), 68.40 ($T_{1,2\beta}$), 70.68 (C5), 43.87, 43.76, 43.55, 43.54 (CH_2 -Spacer), 63.55 (C6), 62.19 ($C_{quart-TRIS}$), 61.39 (V_α), 60.30 ($T_{1,2\alpha}$), 62.59, 62.54, 62.49, 62.49 ($P_{1-5\alpha}$), 57.98 ($T_{Tn*\alpha}$), 57.22 ($S_{1\alpha}$), 56.54 ($S_{2\alpha}$), 63.27, 63.16 ($S_{1\beta}$, $S_{2\beta}$), 53.66 (H_α), 52.11 (R_α), 48.62 (D_α), 48.89 (C2), 51.30 ($A_{1\alpha}$), 48.87, 48.72, 48.61 ($A_{2-4\alpha}$), 49.01, 48.95, 48.81, 48.51, 48.46 ($P_{1-5\delta}$), 48.95, 48.46 (CH_2 -Spacer), 43.87, 43.81 ($G_{1,2\alpha}$), 42.15 (R_δ), 39.92 (CH_2NH -Spacer), 35.92 ($D_{\beta b}$), 35.86 ($D_{\beta a}$), 31.59 (V_β), 30.57, 30.55, 30.48, 30.31 ($P_{1-5\beta}$), 28.76 (t, CH_2R_F , $J_{H,F} = 21.85$ Hz), 29.04, 29.03 ($R_{\beta a, b}$), 28.76 (CH_2CO -Spacer), 28.00 ($H_{\beta a}$), 27.88 ($H_{\beta b}$), 26.23, 26.15, 26.00, 25.98 ($P_{1-5\gamma}$), 25.74 (R_γ), 23.24 (CH_3-AcNH), 21.66 ($CH_2CH_2R_F$), 19.31 ($T_{2\gamma}$), 20.20 ($T_{1\gamma}$), 19.74 ($V_{\gamma a}$), 19.31 ($T_{Tn*\gamma}$), 19.01 ($V_{\gamma b}$), 17.02, 16.90, 16.66, 16.66 ($A_{1-4\beta}$).

^{19}F NMR (376.5 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{TFA}-d_1(1\%)$), δ (ppm): -82.1 (m, 9F, CF_3), -114.7 (m, 6F), -122.5 (m, 18F), -123.5 (m, 6F), -123.9 (m, 6F), -127.0 (m, 6F).

***N*-((*N*-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl--*O*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-*O*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (63c)**

((F8)₃-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val--Thr(α -Ac₃GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr(α -Ac₃GalNAc)-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R2

Ausbeute: 22 mg (5 μmol), 5% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

Analytische RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/ H_2O + 0.1% TFA, 80:20 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 27.4$ min, $\lambda = 212$ nm.

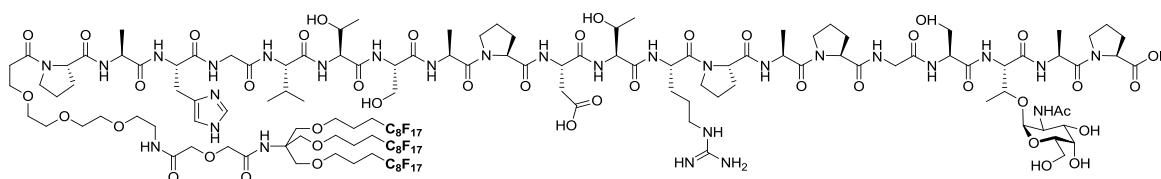
$\text{C}_{158}\text{H}_{210}\text{F}_{51}\text{N}_{29}\text{O}_{54}$ (4348.44 g mol^{-1}) [4346.38].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 2174.1917 ($[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$, ber.: 2174.1960).

MALDI-TOF-MS (dhh, positive, m/z): 4348.28 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 4347.38).

ESI-MS (positive, m/z): 2174.23 ($[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$, ber.: 2174.20), 1457.18 ($[\text{M}+\text{Na}+2\text{H}]^{3+}$, ber.: 1457.13).

***N*-((*N*-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-deca-fluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (64a)**
((F8)₃-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr(α -GalNAc)-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV7

Reinigung: R2

Ansatz: 30 mg (7.5 μ mol) **63a**.

Ausbeute: 17 mg (4.4 μ mol), 58%, farbloser, amorpher Feststoff.

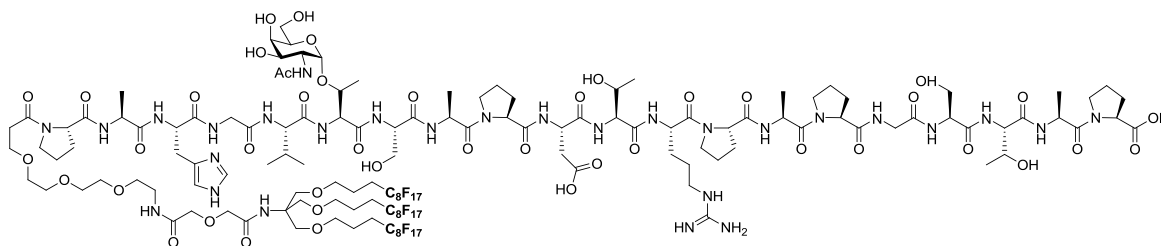
Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 80:20 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 26.6$ min, $\lambda = 212$ nm.

C₁₃₈H₁₈₅F₅₁N₂₈O₄₃ (3893.03 g mol⁻¹) [3891.23].

HR-ESI-MS (positive, *m/z*): 1968.6061 ([M+2Na]²⁺, ber.: 1968.6066).

MALDI-TOF-MS (dhh, positive, *m/z*): 3892.82 ([M+H]⁺, ber.: 3892.24).

***N*-((*N*-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (64b)**
((F8)₃-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(α -GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV7

Reinigung: R2

Ansatz: 39 mg (9.7 μmol) **63b**.

Ausbeute: 33 mg (8.5 μmol), 87%, farbloser, amorpher Feststoff.

Analytische RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 80:20 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 27.5$ min, $\lambda = 212$ nm.

$[\alpha]_D^{23} = -31.58$ ($c = 1.00$, MeOH/TFA (1%)).

$\text{C}_{138}\text{H}_{185}\text{F}_{51}\text{N}_{28}\text{O}_{43}$ (3893.03 g mol^{-1}) [3891.23].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 1946.6218 ($[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$, ber.: 1946.6246).

ESI-MS (positive, m/z): 1957.60 ($[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$, ber.: 1957.62), 1313.07 ($[\text{M}+\text{Na}+2\text{H}]^{3+}$, ber.: 1312.74), 990.56 ($[\text{M}+3\text{Na}+\text{H}]^{4+}$, ber.: 990.30).

MALDI-TOF-MS (dhh, positive, m/z): 3893.49 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 3891.23).

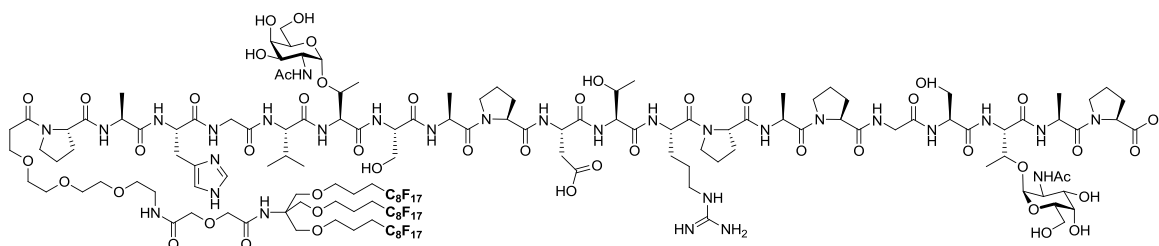
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD/TFA-}d_1(1\%)$, COSY, HSQC), δ (ppm): 8.76 (d, 1H, H_e, J_{H_e, H_{\delta}} = 1.38 Hz), 7.43 {H_{\delta}}, 5.03 {H1}, 4.71-4.21 (m, 21H, H_{\alpha} {4.70}, R_{\alpha} {4.70}, D_{\alpha} {4.63}, T_{Tn\alpha} {4.63}, A_{3\alpha} {4.61}, A_{2\alpha} {4.59}, A_{4\alpha} {4.57}, S_{1\alpha} {4.52}, S_{2\alpha} {4.46}, P_{1-5\alpha} {4.45, 4.42, 4.40, 4.36, 4.31}, T_{1\alpha} {4.36}, T_{2\alpha} {4.31}, V_{\alpha} {4.42}, T_{Tn\beta} {4.29}, T_{2\beta} {4.29}, T_{1\beta} {4.28}, A_{1\alpha} {4.24}), 4.18 (dd, 1H, H₂, J_{H₂, H₁} = 3.75 Hz, J_{H₂, H₃} = 10.91 Hz), 4.05 (s, 2H, OCH₂CO), 4.01 (s, 2H, OCH₂CONH), 3.99-3.40 (m, 30H, S_{1,2\beta} {3.94, 3.94}, CH₂O-Spacer {3.92, 3.87, 3.85, 3.81}, H₅ {3.89}, P_{1-5\delta} {3.89, 3.85, 3.81, 3.76, 3.74}), H₃ {3.84}, G_{1,2\alpha} {3.79, 3.75}, 3.76 (s, 6H, C-CH₂O), CH₂O-Spacer {3.63, 3.61}, H_{6a,b} {3.73}, H₄ {3.62}, H_{\beta b} {3.40}), 3.55 (t, 6H, OCH₂CH₂CH₂R_F, J_{H,H} = 6.02 Hz), 3.44 (t, 2H, CH₂NH-Spacer, J_{CH₂, CH₂} = 5.64 Hz), 3.21 (dd, 1H, H_{\beta a}, J_{H_{\beta}, H_{\alpha}} = 7.20 Hz, J_{H_{\beta a}, H_{\beta b}} = 14.75 Hz), R_{\delta} {3.21}), D_{\beta a} {2.93}, D_{\beta b} {2.69}, 2.29 -2.12 (m, 8H, CH₂R_F {2.27, 2.26, 2.21}, CH₂CO-Spacer {2.22}, V_{\beta} {2.15}), P_{1-5\gamma} {2.14-1.99}, P_{1-5\beta} {2.02-1.93}), CH₃AcNH {s, 2.02}, 1.90-1.83 (m, 6H, CH₂CH₂R_F), R_{\beta a,b} {1.72}, R_{\gamma} {1.69}), 1.43 -1.33 (m, 12H, A_{1-4\beta} {1.42, 1.41, 1.36, 1.36}), 1.27 (d, 3H, T_{Tn\gamma}, J_{T\gamma, T\beta} = 6.04 Hz), T_{2\gamma} {1.20}, 1.20 (d, 6H, T_{1\gamma}, J_{T\gamma, T\beta} = 6.54 Hz), 1.00 (d, 3H, V_{\gamma a}, J_{V\gamma, V\beta} = 6.70 Hz), 0.99 (d, 3H, V_{\gamma b}, J_{V\beta, V\gamma} = 6.62 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD/TFA-}d_1(1\%)$, COSY, HSQC), δ (ppm): 176.48, 176.38, 176.27, 175.64, 175.52, 175.10, 174.50, 174.40, 174.33, 173.99, 173.79, 173.41, 173.31, 173.01, 172.58, 172.27, 172.19, 172.14, 171.96, 171.66, 171.31, 171.22, 171.12, 170.69, 170.58 (C=O, C=O-Acetyl), 158.06 (CONHR_F), 156.51 (C=NH), 135.19 (H_{C2}), 129.20 (H_{C5}), 118.74 (H_{C4}), 100.40 (C1), 77.86 (T_{Tn*}β), 71.61 (COCH₂), 71.36 (CH₂CO), 70.68 (OCH₂CH₂CH₂R_F), 70.33 (C3), 69.93 (C4), 69.89 (CCH₂O), 68.56 (T_{1β}), 68.40 (T_{2β}), 70.34 (C5), 63.00, 62.98, 62.95, 62.95 (CH₂-Spacer), 62.90 (C6), 61.91 (C_qTRIS), 61.39 (V_α), 60.65 (T_{2α}), 60.38, 60.27, 60.51, 59.82 (P_{1-5α}), 60.27 (T_{1α}), 57.91 (T_{Tn*}α), 57.17 (S_{1α}), 56.64 (S_{2α}), 54.58, 54.37 (S_{1β}, S_{2β}), 53.57 (H_α), 52.12 (R_α), 51.79 (D_α), 51.44 (C2), 51.37 (A_{1α}), 49.06, 48.70, 48.67 (A_{2-4α}), 49.03, 48.90, 48.83, 48.65, 48.47 (P_{1-5δ}), 48.69, 48.54 (CH₂-Spacer), 43.62, 43.60 (G_{1,2α}), 42.08 (R_δ), 39.72 (CH₂NH -Spacer), 35.83 (D_{βb}), 35.74 (D_{βa}), 31.24 (V_β), 30.36, 30.28, 30.23 (P_{1-5β}), 30.30 (CH₂R_F), 29.08 (R_{βa,b}), 28.63 (CH₂CO-Spacer), 27.70 (H_{βa}), 27.66 (H_{βb}), 26.07, 25.98, 25.87, 25.83 (P_{1-5γ}), 25.66 (R_γ), 23.16 (CH₃-AcNH), 21.51 (CH₂CH₂R_F), 20.10 (T_{2γ}), 20.01 (T_{1γ}), 19.67 (V_{γa}), 19.30 (T_{Tn*}γ), 18.90 (V_{γb}), 16.85, 16.76, 16.62, 16.62 (A_{1-4β}).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, $\text{CD}_3\text{OD/TFA-}d_1(1\%)$), δ (ppm): -84.1 (m, 9F, CF₃), -117.1 (m, 6F), -124.5 (m, 18F), -125.5 (m, 6F), -126.1 (m, 6F), -129.0 (m, 6F).

***N*-((*N*-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl--*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-*O*-(2-acetamido-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (64c)**

((F8)₃-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val--Thr(α -GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr(α -GalNAc)-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV7

Reinigung: R2

Ansatz: 10 mg (2.3 μmol) **63c**.

Ausbeute: 8 mg (1.9 μmol), 83%, farbloser, amorpher Feststoff.

Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 80:20 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 26.2$ min, $\lambda = 212$ nm).

C₁₄₆H₁₉₈F₅₁N₂₉O₄₈ (4096.22 g mol⁻¹) [4094.31].

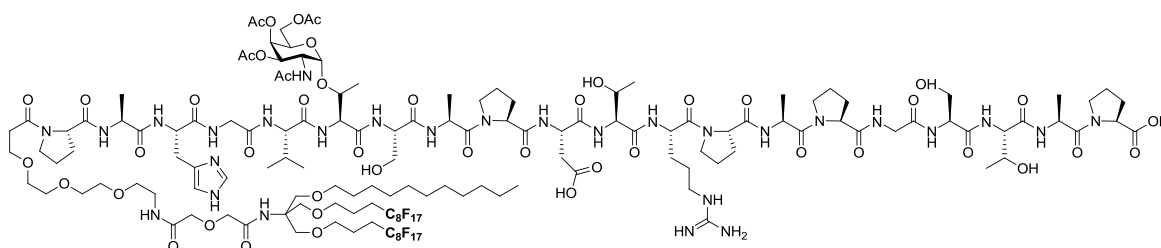
HR-ESI-MS (positive, m/z): 2059.1594 ([M+H+Na]²⁺, ber.: 2059.1553).

MALDI-TOF-MS (dhh, positive, m/z): 4099.23 ([M+H]⁺, ber.: 4094.31).

Synthese von (Glyco)lipopeptiden mit gemischten Membranankern

2-(2-(1,3-Bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (65a)

((F8)₂-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(α -Ac₃GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R3

Ausbeute: 52 mg (14 μmol), 14% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 70:30 → 100:0, 30 min, $R_t = 29.0$ min, $\lambda = 212$ nm).

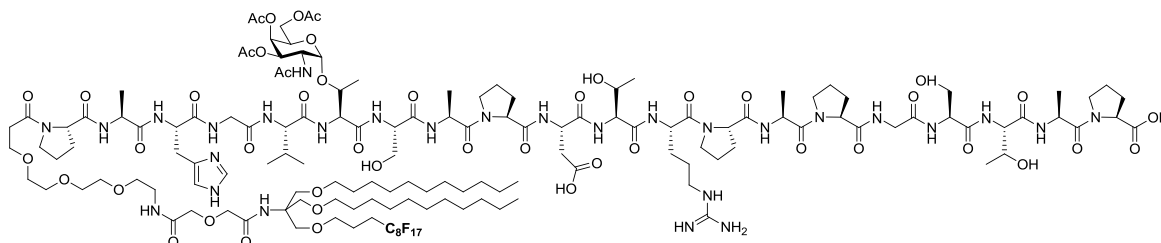
C₁₄₄H₂₀₈F₃₄N₂₈O₄₆ (3713.30 g mol⁻¹) [3711.43].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 1856.7236 ([M+2H]²⁺, ber.: 1856.7205).

ESI-MS (positive, m/z): 1856.66 ([M+2H]²⁺, ber.: 1856.72), 1245.82 ([M+Na+2H]³⁺, ber.: 1245.48).

2-(2-(1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptadecafluoroundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (65b)

(F8-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(α -Ac₃GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R4

Ausbeute: 110 mg (32 μ mol), 32% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 70:30 → 100:0, 30 min, $R_t = 27.7$ min, $\lambda = 212$ nm).

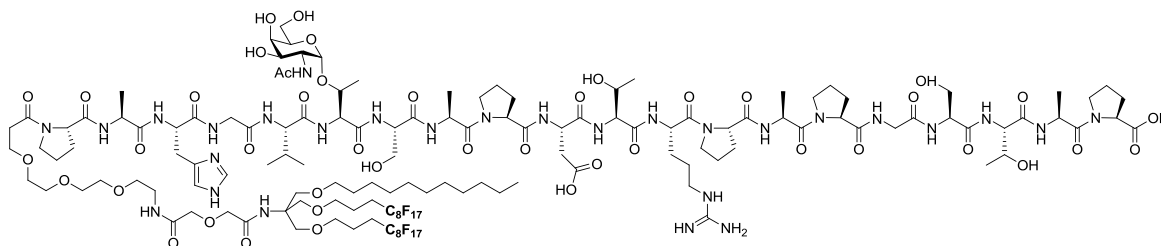
C₁₄₄H₂₂₅F₁₇N₂₈O₄₆ (3407.46 g mol⁻¹) [3405.59].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 1703.7979 ([M+2H]²⁺, ber.: 1703.8006).

ESI-MS (positive, m/z): 1704.40 ([M+2H]²⁺, ber.: 1704.30), 1143.97 ([M+Na+2H]³⁺, ber.: 1143.86).

2-(2-(1,3-Bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-O-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (67a)

((F8)₂-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(α -GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV7

Reinigung: R3

Ansatz: 52 mg (14.0 μ mol) **XX**.

Ausbeute: 42 mg (11.7 μ mol), 84%, farbloser, amorpher Feststoff.

Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 70:30 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 28.0$ min, $\lambda = 212$ nm).

C₁₃₈H₂₀₂F₃₄N₂₈O₄₃ (3587.19 g mol⁻¹) [3585.39].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 1793.7008 ([M+2H]²⁺, ber.: 1793.7047).

ESI-MS (positive, m/z): 1794.26 ([M+2H]²⁺, ber.: 1794.21), 1203.84 ([M+Na+2H]³⁺, ber.: 1203.80).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%), COSY, HSQC), δ (ppm): 8.80 {H _{ϵ} }, 7.44 {H _{δ} }, 5.02 {H1}, 4.73-4.22 (m, 21H, H _{α} {4.70}, R _{α} {4.68}, D _{α} {4.62}, T_{Tn α} {4.63}, A_{2-4 α} {4.66, 4.58, 4.57}, S_{1 α} {4.52}, S_{2 α} {4.45}, P_{1-5 α} {4.44, 4.40, 4.39, 4.35}, T_{1 α} {4.35}, T_{2 α} {4.31}, V _{α} {4.35}, T_{Tn β} {4.27}, T_{2 β} {4.27}, T_{1 β} {4.27}, A_{1 α} {4.24}), 4.17 (dd, 1H, H₂, J_{H₂,H₁} = 3.4 Hz, J_{H₂,H₃} = 10.8 Hz), 4.05 (s, 2H, CH₂C=O), 4.01 (s, 2H, CH₂C=O), 3.98-3.53 (m, 30H, S_{1,2 β} {3.95, 3.90}, CH₂O(Spacer) {3.86, 3.83, 3.80, 3.72}, H₅ {3.91}, P_{1-5 δ} {3.84, 3.78, 3.68, 3.67, 3.65}), H₃ {3.88}, G_{1,2 α} {3.80, 3.75}, 3.75 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.71 (s, 2H, CH₂OAlk), CH₂O(Spacer) {3.52, 3.50}, H_{6a,b} {3.76}, H₄ {3.62}, H _{β b} {3.39}), 3.54 (t, 4H, OCH₂R^F, J_{H,H} = 6.7 Hz), 3.45-3.42 (m, 4H, OCH₂Alk, CH₂NH(Spacer)), 3.21 (m, 1H, H _{β a}), R _{δ} {3.20}), D _{β a} {2.92}, D _{β b} {2.69}, 2.31 -2.18 (m, 6H, CH₂R^F {2.20}, CH₂CO(Spacer)

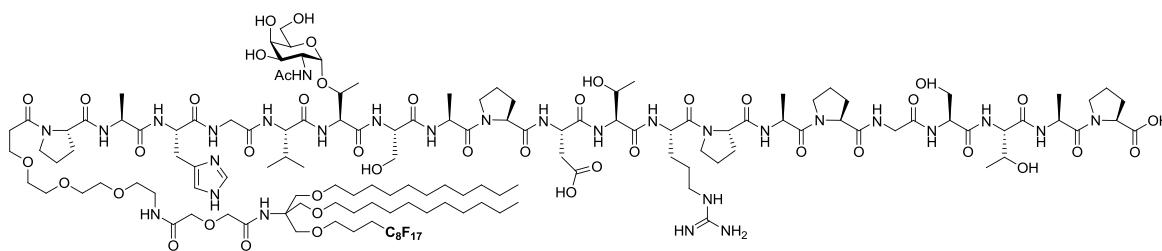
{2.26}, V_{β} {2.13}), $P_{1-5\gamma}$ {2.14-2.03}, $P_{1-5\beta}$ {1.98-1.92}), CH_3AcNH {s, 2.01}, 1.90-1.83 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}_F$), $R_{\beta a,b}$ {1.71}, R_{γ} {1.69}, 1.58-1.52 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Alk}$), $A_{1-4\beta}$ {1.42, 1.40, 1.36, 1.36}), $\text{CH}_2(\text{Alk})$ {1.33, 1.28}, $T_{\text{Tn}\gamma}$ {1.27}, $T_{2\gamma}$ {1.19}, 1.19 (d, 6H, $T_{1\gamma}$, $J_{T\gamma,T\beta} = 6.4$ Hz), 0.99 { $V_{\gamma a}$, $V_{\gamma b}$ }, 0.89 (m, 3H, $\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD/TFA-}d_1(1\%)$, COSY, HSQC), δ (ppm): 176.40, 176.29, 175.58, 175.47, 175.41, 174.72, 174.45, 174.30, 174.24, 173.98, 173.88, 173.84, 173.61, 173.20, 173.17, 172.90, 172.88, 172.64, 172.49, 172.25, 172.21, 172.19, 172.02, 171.99, 171.89, 171.53, (C=O, C=O(Acetyl)), 160.48 (CONHR_F), 158.89 (C=NH), 135.23 (H_{C2}), 129.57 (H_{C5}), 118.49 (H_{C4}), 100.36 (C1), 77.76 ($T_{\text{Tn}*\beta}$), 72.83 (C4), 72.39 (OCH_2Alk), 71.47 ($\text{CH}_2\text{C=O}$), 71.32 ($\text{CH}_2\text{C=O}$), 70.44 (OCH_2R^F), 70.22 (C3), 69.75 (CH_2OR^F), 69.65 (CH_2OAlk), 68.27 ($T_{1\beta}$, $T_{2\beta}$), 72.75 (C5), 62.92, 62.92, 62.89, 62.76 ($\text{CH}_2(\text{Spacer})$), 60.38 (C6), 60.03 (Cq(TRIS)), 62.23 (V_{α}), 60.65 ($T_{2\alpha}$), 60.44, 60.14, 59.92, 59.75 ($P_{1-5\alpha}$), 60.37 ($T_{1\alpha}$), 57.76 ($T_{\text{Tn}*\alpha}$), 56.96 ($S_{1\alpha}$), 56.49 ($S_{2\alpha}$), 62.88, 62.74 ($S_{1\beta}$, $S_{2\beta}$), 53.76 (H_{α}), 51.87 (R_{α}), 51.79 (D_{α}), 51.23 (C2), 51.18 ($A_{1\alpha}$), 48.93, 48.74, 48.38 ($A_{2-4\alpha}$), 48.79, 48.58, 48.52, 48.35, 48.33 ($P_{1-5\delta}$), 48.06, 48.00 ($\text{CH}_2(\text{Spacer})$), 43.55, 43.52 ($G_{1,2\alpha}$), 42.00 (R_{δ}), 39.78 ($\text{CH}_2\text{NH}(\text{Spacer})$), 35.80 ($D_{\beta b}$), 35.64 ($D_{\beta a}$), 32.95, 32.89, 30.30, 30.26 ($\text{CH}_2(\text{Alk})$), 31.41 (V_{β}), 30.47, 30.36, 30.18 ($P_{1-5\beta}$), 30.19 ($\text{CH}_2\text{CO}(\text{Spacer})$), 29.19 ($R_{\beta a,b}$), 28.36 (CH_2R^F), 27.72 ($H_{\beta a}$), 27.70 ($H_{\beta b}$), 27.14 ($\text{CH}_2(9)(\text{Alk})$), 26.17, 26.14, 25.92, 25.87 ($P_{1-5\gamma}$), 25.72 (R_{γ}), 23.18 (CH_3AcNH), 21.59 (OCH_2R^F), 20.09 ($T_{2\gamma}$), 20.07 ($T_{1\gamma}$), 19.83 ($V_{\gamma a}$), 19.30 ($V_{\gamma b}$), 19.20 ($T_{\text{Tn}*\gamma}$), 16.84, 16.78, 16.74 ($A_{2-4\beta}$), 16.63 ($A_{1\beta}$), 23.56 ($\text{CH}_2(10)(\text{Alk})$), 14.19 ($\text{CH}_3(\text{Alk})$).

$^{19}\text{F NMR}$ (376.5 MHz, $\text{CD}_3\text{OD/TFA-}d_1(1\%)$), δ (ppm): -84.1 (m, 6F, CF_3), -116.9 (m, 4F), -124.4 (m, 12F), -125.5 (m, 4F), -126.3 (m, 4F), -128.9 (m, 4F).

2-(2-(1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptadecafluoroundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-O-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (66b)

(F8-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(α -GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV7

Reinigung: R4

Ansatz: 56 mg (16.4 μmol) **XX**.

Ausbeute: 36 mg (11.0 μmol), 77%, farbloser, amorpher Feststoff.

Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 70:30 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 26.5$ min, $\lambda = 212$ nm).

$\text{C}_{138}\text{H}_{219}\text{F}_{17}\text{N}_{28}\text{O}_{43}$ (3281.35 g mol⁻¹) [3279.55].

HR-ESI-MS (positive, m/z): 1640.7850 ([M+2H]²⁺, ber.: 1640.7848).

ESI-MS (positive, m/z): 1641.29 ([M+2H]²⁺, ber.: 1641.29), 1101.87 ([M+Na+2H]³⁺, ber.: 1101.85).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%), COSY, HSQC), δ (ppm): 8.80 {H _{ϵ} }, 7.43 {H _{δ} }, 5.03 {H₁}, 4.73-4.22 (m, 21H, H _{α} {4.71}, R _{α} {4.69}, D _{α} {4.62}, T_{Tn α} {4.63}, A_{2-4 α} {4.65, 4.60, 4.58}, S_{1 α} {4.52}, S_{2 α} {4.45}, P_{1-5 α} {4.44, 4.41, 4.40, 4.32}, T_{1 α} {4.36}, T_{2 α} {4.31}, V _{α} {4.35}, T_{Tn β} {4.27}, T_{2 β} {4.27}, T_{1 β} {4.28}, A_{1 α} {4.24}), 4.18 (dd, 1H, H₂, J_{H₂,H₁} = 3.6 Hz, J_{H₂,H₃} = 10.9 Hz), 4.06 (s, 2H, CH₂C=O), 4.01 (s, 2H, CH₂C=O), 3.98-3.53 (m, 30H, S_{1,2 β} {3.98, 3.90}, CH₂O(Spacer) {3.91, 3.86, 3.83, 3.81}, H₅ {3.92}, P_{1-5 δ} {3.85, 3.85, 3.79, 3.74, 3.66}), H₃ {3.88}, G_{1,2 α} {3.80, 3.75}, 3.75 (s, 4H, CH₂OR^F), 3.70 (s, 2H, CH₂OAlk), CH₂O(Spacer) {3.52, 3.50}, H_{6a,b} {3.72}, H₄ {3.62}, H _{β b} {3.39}), 3.54 (m, 4H, OCH₂R^F), 3.45-3.42 (m, 4H, OCH₂Alk {3.44}, CH₂NH(Spacer) {3.43}), 3.21 (m, 1H, H _{β a}), R _{δ} {3.21}), D _{β a} {2.92}, D _{β b} {2.69}, 2.31-2.18 (m, 6H, CH₂R^F {2.20}, CH₂CO(Spacer) {2.26}, V _{β} {2.13}), P_{1-5 γ} {2.14-2.03}, P_{1-5 β} {1.98-1.92}), CH₃AcNH {s, 2.02}, 1.90-1.84 (m, 4H, CH₂CH₂R^F), R _{β a,b} {1.76, 1.71}, R _{γ} {1.70}, 1.58-1.52 (m, 2H, OCH₂CH₂Alk), A_{1 β} {1.41}, A_{2-4 β} {1.36, 1.36}), CH₂(Alk) {1.29, 1.28}, T_{Tn γ} {1.26}, T_{2 γ} {1.19}, 1.19 (d, 6H, T_{1 γ} , J_{T γ ,T β} = 6.4 Hz), 0.99 {V _{γ a}, V _{γ b}}, 0.89 (t, 3H, CH₃(Alk), J_{H,H} = 6.8 Hz).

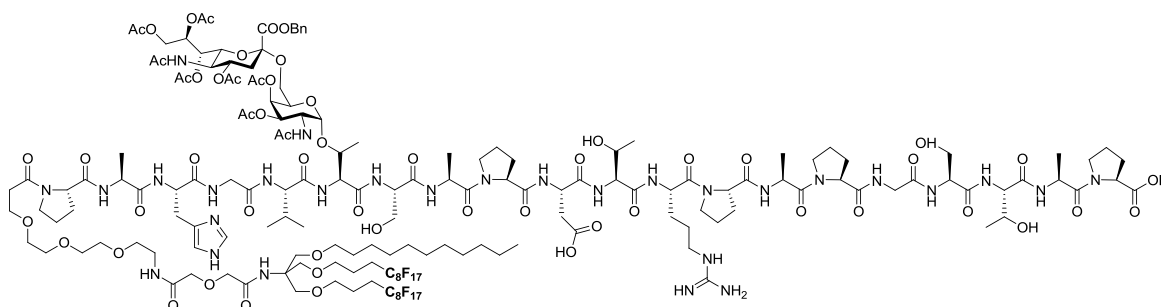
¹³C-NMR (400 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%), COSY, HSQC), δ (ppm): 176.40, 176.29, 175.58, 175.47, 175.41, 174.72, 174.45, 174.30, 174.24, 173.98, 173.88, 173.84, 173.61,

173.20, 173.17, 172.90, 172.88, 172.64, 172.49, 172.25, 172.21, 172.19, 172.02, 171.99, 171.89, 171.53 (C=O, C=O(Acetyl)), 160.35 (CONHR_F), 158.69 (C=NH), 135.22 (H_{C2}), 129.03 (H_{C5}), 118.47 (H_{C4}), 100.33 (C1), 77.73 (T_{Tn*β}), 72.82 (C4), 72.41 (OCH₂Alk), 71.52 (CH₂C=O), 71.32 (CH₂C=O), 70.39 (OCH₂R^F), 70.25 (C3), 69.75 (CH₂OR^F), 69.65 (CH₂OAlk), 68.30, 68.23 (T_{1β}, T_{2β}), 72.72 (C5), 62.95, 62.90, 62.90 (CH₂(Spacer)), 62.74 (C6), 62.86, 62.65 (S_{1β}, S_{2β}), 60.06 (Cq(TRIS)), 62.35 (V_α), 60.48 (T_{2α}), 61.40, 60.48, 60.48, 59.74 (P_{1-5α}), 60.13 (T_{1α}), 57.74 (T_{Tn*α}), 57.03 (S_{1α}), 56.48 (S_{2α}), 53.54 (H_α), 51.92 (R_α), 51.75 (D_α), 51.32 (C2), 51.25 (A_{1α}), 48.99, 48.67, 48.52 (A_{2-4α}), 48.59, 48.48, 48.46, 48.37 (P_{1-5δ}), 47.87, 47.82 (CH₂(Spacer)), 43.57, 43.54 (G_{1,2α}), 42.00 (R_δ), 39.78 (CH₂NH(Spacer)), 35.81 (D_{βb}), 35.64 (D_{βa}), 32.97, 30.62 (CH₂(Alk)), 31.35 (V_β), 30.38, 30.36, 30.31 (P_{1-5β}), 30.14 (CH₂CO(Spacer)), 29.14, 29.06 (R_{βa,b}), 28.49 (CH₂R^F), 27.77 (H_{βa}), 27.68 (H_{βb}), 27.19 (CH₂(9)(Alk)), 26.15, 26.09, 26.02, 25.96, 25.88 (P_{1-5γ}), 25.67 (R_γ), 23.17 (CH₃AcNH), 21.67 (OCH₂R^F), 20.08 (T_{2γ}), 20.06 (T_{1γ}), 19.90 (V_{γa}), 19.31 (V_{γb}), 19.28 (T_{Tn*γ}), 17.05, 16.86, 16.76 (A_{2-4β}), 16.66 (A_{1β}), 23.55 (CH₂(10)(Alk)), 14.27 (CH₃(Alk)).

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%)), δ (ppm): -84.2 (m, 6F, CF₃), -116.8 (m, 4F), -124.2 (m, 12F), -125.5 (m, 4F), -126.3 (m, 4F), -128.8 (m, 4F).

2-(2-(1,3-Bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptafluoroundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-4,7,10-trioxadodecanylamido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-O-(2-acetamido-3,4-di-O-acetyl-2-desoxy-6-O-[benzyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-α-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-α-D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (65a)

((F8)₂-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(αAc₄NeuNAcCOOBn-(2→6)-αAc₂GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R2

Ausbeute: 93 mg (22 μmol), 22% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

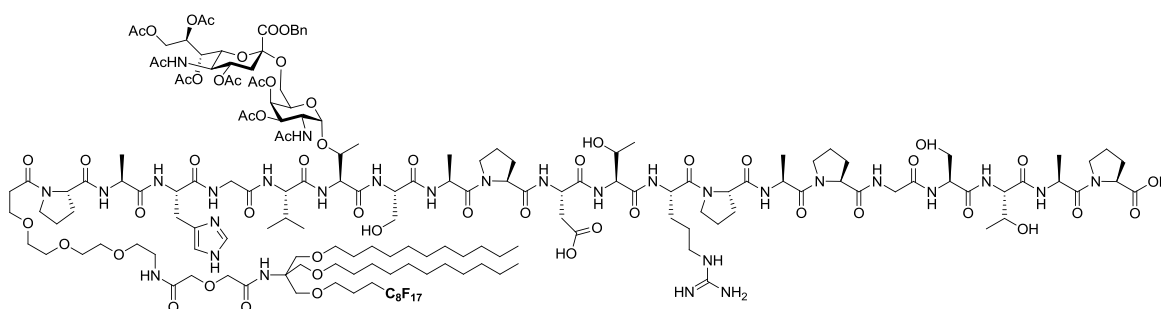
Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 70:30 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 18.8$ min, $\lambda = 212$ nm).

$\text{C}_{168}\text{H}_{237}\text{F}_{34}\text{N}_{29}\text{O}_{57}$ (4220.79 g mol⁻¹) [4218.60].

ESI-MS (positive, m/z): 2110.86 ([M+2H]²⁺, ber.: 2110.81), 1415.26 ([M+Na+2H]³⁺, ber.: 1414.87).

2-(2-(1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-O-(2-acetamido-3,4-di-O-acetyl-2-desoxy-6-O-[benzyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]- α -D-galacto-pyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (65a)

(F8-TRIS-PEG-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr(α Ac₄NeuNAcCOOBn-(2 \rightarrow 6)- α Ac₂GalNAc)-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser-Thr-Ala-Pro-OH)



Vorschrift: AV6

Reinigung: R2

Ausbeute: 45 mg (12 μmol), 12% (bezogen auf die Beladung des Harzes), farbloser amorpher Feststoff.

Analytical RP-HPLC (Luna PFP): MeOH/H₂O + 0.1% TFA, 70:30 → 100:0, 30 min, $R_t = 27.6$ min, $\lambda = 212$ nm).

C₁₆₈H₂₅₄F₁₇N₂₉O₅₇ (3914.95 g mol⁻¹) [3912.76].

ESI-MS (positive, m/z): 1957.94 ([M+2H]²⁺, ber.: 1957.89), 1313.32 ([M+Na+2H]³⁺, ber.: 1312.92).

Literaturverzeichnis

- [1] Homepage der World Health Organization, p. <http://www.who.int/en/>.
- [2] Homepage des Statistischen Bundesamts, pp. <http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Statis-tiken/Gesundheit/Todesursachen/Aktuell,templateId=renderPrint.psml>.
- [3] S. T. Uh, S. M. Lee, H. T. Kim, Y. T. Chung, Y. H. Kim, C. S. Park, S. J. Huh, H. B. Lee, *Chest* **1994**, *105*, 132-137.
- [4] C. G. Clemente, M. G. Mihm, R. Bufalino, S. Zurrada, P. Collini, N. Cascinelli, *Cancer* **1996**, *77*, 1303-1310.
- [5] P. Hammerer, M. Graefen, T. Steuber, H. Huland, *Der Urologe A* **2000**, *39*, 304-308.
- [6] M. W. Beckmann, M. Untch, T. Rabe, K. D. Schulz, H. G. Bender, *Der Gynäkologe* **1999**, *32*, 150-157.
- [7] H. Meijers-Heijboer, B. van Geel, W. L. J. van Putten, S. C. Henzen-Logmans, C. Seynaeve, M. B. E. Menke-Pluymers, C. C. M. Bartels, L. C. Verhoog, A. M. W. van den Ouweland, M. F. Niermeijer, C. T. M. Brekelmans, J. G. M. Klijn, *N. Engl. J. Med.* **2001**, *345*, 159-164.
- [8] L. C. Hartmann, D. J. Schaid, J. E. Woods, T. P. Crotty, J. L. Myers, P. G. Arnold, P. M. Petty, T. A. Sellers, J. L. Johnson, S. K. McDonnell, M. H. Frost, C. S. Grant, V. V. Michels, R. B. Jenkins, *N. Engl. J. Med.* **1999**, *340*, 77-84.
- [9] J. Prat, A. Ribe, A. Gallardo, *Human Pathology* **2005**, *36*, 861-870.
- [10] D. G. Bostwick, H. B. Burke, D. Djakiew, S. Euling, S.-M. Ho, J. Landolph, H. Morrison, B. Sonawane, T. Shifflett, D. J. Waters, B. Timms, *Cancer* **2004**, *101*, 2371-2490.
- [11] E. F. Solomayer, M. Feuerer, L. H. Bai, V. Umansky, P. Beckhove, G. C. Meyberg, G. Bastert, V. Schirmacher, I. J. Diel, *Clin. Cancer Res.* **2003**, *9*, 174-180.
- [12] M. Tagawa, K. Kawamura, O. Shimozato, G. Ma, Q. Li, N. Suzuki, H. Shimada, T. Ochiai, *Cancer Immunol. Immunother.* **2006**, *55*, 1420-1425.
- [13] T. Z. Ju, R. P. Aryal, C. J. Stowell, R. D. Cummings, *J. Cell Biol.* **2008**, *182*, 531-542.
- [14] G. J. Strous, J. Dekker, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1992**, *27*, 57-92.
- [15] P. Pandey, S. Kharbanda, D. Kufe, *Cancer Res.* **1995**, *55*, 4000-4003.
- [16] F. G. Hanisch, S. Muller, *Glycobiology* **2000**, *10*, 439-449.
- [17] J. Hilkens, M. J. L. Ligtenberg, H. L. Vos, S. V. Litvinov, *Trends Biochem.Sci.* **1992**, *17*, 359-363.
- [18] J. Wesseling, S. W. vanderValk, J. Hilkens, *Mol. Biol. Cell* **1996**, *7*, 565-577.
- [19] J. Wesseling, S. W. Vandervalk, H. L. Vos, A. Sonnenberg, J. Hilkens, *J. Cell Biol.* **1995**, *129*, 255-265.
- [20] A. P. Sherblom, C. E. Moody, *Cancer Res.* **1986**, *46*, 4543-4546.
- [21] J. L. Magnani, Z. Steplewski, H. Koprowski, V. Ginsburg, *Cancer Res.* **1983**, *43*, 5489-5492.
- [22] J. Hilkens, F. Buijs, J. Hilgers, P. Hageman, J. Calafat, A. Sonnenberg, M. Vandervalk, *Int. J. Cancer* **1984**, *34*, 197-206.
- [23] J. Burchell, S. Gendler, J. Taylorpapadimitriou, A. Girling, A. Lewis, R. Millis, D. Lamport, *Cancer Res.* **1987**, *47*, 5476-5482.
- [24] D. M. Swallow, S. Gendler, B. Griffiths, G. Corney, J. Taylorpapadimitriou, M. E. Bramwell, *Nature* **1987**, *328*, 82-84.
- [25] J. R. Gum, *Biochem. Soc. Trans.* **1995**, *23*, 795-799.
- [26] I. Carlstedt, J. R. Davies, *Biochem. Soc. Trans.* **1997**, *25*, 214-219.

- [27] F.-G. Hanisch, J. Peter-Katalinic, H. Egge, U. Dabrowski, G. Uhlenbruck, *Glycoconjugate J.* **1990**, *7*, 525-543.
- [28] Y. S. Kim, J. Gum, I. Brockhausen, *Glycoconjugate J.* **1996**, *13*, 693-707.
- [29] Y. J. Kim, A. Varki, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 569-576.
- [30] T. Pfitzner, S. Barth, A. Engert, *Der Onkologe* **2000**, *6*, S31-S35.
- [31] H. Kunz, S. Birnbach, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **1986**, *25*, 360-362.
- [32] S. Keil, C. Claus, W. Dippold, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2001**, *40*, 366-369.
- [33] S. J. Danishefsky, J. R. Allen, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2000**, *39*, 836-863.
- [34] A. Kaiser, N. Gaidzik, U. Westerlind, D. Kowalczyk, A. Hobel, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew Chem Int Edit* **2009**, *48*, 7551-7555.
- [35] C. Gege, M. F. Schneider, G. Schumacher, L. Limozin, U. Rothe, G. Bendas, M. Tanaka, R. R. Schmidt, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 216-224.
- [36] T. Toyokuni, B. Dean, S. P. Cai, D. Boivin, S. Hakomori, A. K. Singhal, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 395-396.
- [37] F. Y. Dupradeau, M. R. Stroud, D. Boivin, L. S. Li, S. Hakomori, A. K. Singhal, T. Toyokuni, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1813-1818.
- [38] C. Geraci, G. M. L. Consoli, E. Galante, E. Bousquet, M. Pappalardo, A. Spadaro, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 751-758.
- [39] P. Dumy, I. M. Eggleston, S. Cervigni, U. Sila, X. Sun, M. Mutter, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1255-1258.
- [40] S. Grigalevicius, S. Chierici, O. Renaudet, R. Lo-Man, E. Deriaud, C. Leclerc, P. Dumy, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1149-1159.
- [41] S. Keil, A. Kaiser, F. Syed, H. Kunz, *Synthesis-Stuttgart* **2009**, 1355-1369.
- [42] S. J. Singer, G. L. Nicolson, *Science* **1972**, *175*, 720-&.
- [43] K. Simons, G. Vanmeer, *Biochemistry* **1988**, *27*, 6197-6202.
- [44] J. Kwik, S. Boyle, D. Fooksman, L. Margolis, M. P. Sheetz, M. Edidin, *Proc. of the Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 13964-13969.
- [45] L. J. Pike, *Journal of Lipid Research* **2003**, *44*, 655-667.
- [46] F. Malchiodi-Albedi, S. Paradisi, A. Matteucci, C. Frank, M. Diociaiuti, *International Journal of Alzheimer's Disease* **2011**, *2011*.
- [47] K. Simons, D. Toomre, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2000**, *1*, 31-39.
- [48] S. Manes, G. del Real, C. Martinez-A, *Nature Reviews Immunology* **2003**, *3*, 557-568.
- [49] M. Kirkham, R. G. Parton, *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* **2005**, *1745*, 273-286.
- [50] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Current Opinion in Chemical Biology* **2000**, *4*, 696-703.
- [51] M. Edidin, *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* **2003**, *32*, 257-283.
- [52] A. Kusumi, I. Koyama-Honda, K. Suzuki, *Traffic* **2004**, *5*, 213-230.
- [53] S. Munro, *Cell* **2003**, *115*, 377-388.
- [54] K. Simons, E. Ikonen, *Nature* **1997**, *387*, 569-572.
- [55] B. P. Dolan, T. P. Phelan, D. Ilkovitch, L. Qi, W. F. Wade, T. M. Laufer, S. Ostrand-Rosenberg, *J. Immunol.* **2004**, *172*, 907-914.
- [56] A. Bondi, *J. Phys. Chem.* **1964**, *68*, 441.
- [57] P. Jeschke, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 570-589.
- [58] V. M. Sadtler, F. Giulieri, M. P. Krafft, J. G. Riess, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1952-1956.
- [59] P. J. Flory, *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, Interscience Publications, New York, **1969**.

- [60] C. W. Bunn, E. R. Howells, *Nature* **1954**, *174*, 549-551.
- [61] P. Kirsch, *Modern Fluoroorganic Chemistry: Synthesis, Reactivity, Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [62] J. G. Riess, *Curr. Opin. Coll. Interf. Sci.* **2009**, *14*, 294-304.
- [63] C. Der Mardirossian, M. P. Krafft, T. Gulik-Krzywicki, M. le Maire, F. Lederer, *Biochimie* **1998**, *80*, 531-541.
- [64] J. G. Riess, C. Arlen, J. Greiner, M. Leblanc, A. Manfredi, S. Pace, C. Varescon, L. Zarif, *Biomater. Artif. Cell Artif Organs* **1988**, *16*, 421-430.
- [65] J. G. Riess, M. P. Krafft, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1529-1539.
- [66] J. G. Riess, *J. Drug Target.* **1994**, *2*, 455-468.
- [67] J. G. Riess, J. Greiner, *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 147-168.
- [68] E. Rogalska, R. Bilewicz, T. Brigaud, C. E. Moujahid, G. Foulard, C. Portella, M.-J. Stébé, *Chem. Phys. Lipids* **2000**, *105*, 71-91.
- [69] M. S. Özer, C. Gérardin-Charbonnier, S. Thiébaud, L. Rodehüser, C. Selve, *Amino Acids* **1999**, *16*, 381-389.
- [70] M. P. Krafft, J. G. Riess, *Biochimie* **1998**, *80*, 489-514.
- [71] M. R. Wolfson, J. S. Greenspan, K. S. Deoras, S. D. Rubenstein, T. H. Shaffer, *J. Appl. Physiol.* **1992**, *72*, 1024-1031.
- [72] B. P. Fuhrman, L. J. Hernan, A. T. Rotta, *New Horiz.-Sci. Pract. Acute Med.* **1999**, *7*, 433-439.
- [73] M. R. Wolfson, J. S. Greenspan, T. H. Shaffer, *Pediatrics* **1996**, *97*, 449-455.
- [74] R. U. Lemieux, *Chem. Soc. Rev.* **1989**, *18*, 347-374.
- [75] M. N. Jones, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1994**, *13*, 215-249.
- [76] P. D. Stahl, R. A. B. Ezekowitz, *Curr. Opin. Immunol.* **1998**, *10*, 50-55.
- [77] P. Lefrancier, E. Lederer, *Pure Appl. Chem.* **1987**, *59*, 449-454.
- [78] V. Kudryashov, H. M. Kim, G. Ragupathi, S. J. Danishefsky, P. O. Livingston, K. O. Lloyd, *Cancer Immunol. Immunother.* **1998**, *45*, 281-286.
- [79] K. Katsuraya, H. Nakashima, N. Yamamoto, T. Uryu, *Carbohydr. Res.* **1999**, *315*, 234-242.
- [80] F. Giulieri, F. Guillod, J. Greiner, M. P. Krafft, J. G. Riess, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1335-1339.
- [81] R. J. H. Hafkamp, M. C. Feiters, R. J. M. Nolte, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 412-426.
- [82] D. Mandracchia, A. P. Piccionello, G. Pitarresi, A. Pace, S. Buscemi, G. Giammona, *Macromol. Biosci.* **2007**, *7*, 836-845.
- [83] C. L. Leach, J. S. Greenspan, S. D. Rubenstein, T. H. Shaffer, M. R. Wolfson, J. C. Jackson, R. DeLemos, B. P. Fuhrman, *N. Engl. J. Med.* **1996**, *335*, 761-767.
- [84] M. R. Wolfson, J. S. Greenspan, T. H. Shaffer, *Pediatr. Pulmonol.* **1998**, *26*, 42-63.
- [85] E. G. Schutt, T. J. Pelura, R. M. Hopkins, *Acad. Radiol.* **1996**, *3*, S188-S190.
- [86] F. Forsberg, D. A. Merton, J. B. Liu, L. Needleman, B. B. Goldberg, *Ultrasonics* **1998**, *36*, 695-701.
- [87] N. Reznik, R. Williams, P. N. Burns, *Ultrasound in Medicine and Biology* **2011**, *37*, 1271-1279.
- [88] E. Pisani, N. Tsapis, B. Galaz, M. Santin, R. Berti, N. Taulier, E. Kurtisovski, O. Lucidarme, M. Ourevitch, B. T. Doan, J. C. Beloeil, B. Gillet, W. Urbach, S. L. Bridal, E. Fattal, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 2963-2971.
- [89] T. L. Hwang, Y. K. Lin, C. H. Chi, T. H. Huang, J. Y. Fang, *J. Pharm. Sci.* **2009**, *98*, 3735-3747.
- [90] M. P. Krafft, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *47*, 209-228.
- [91] J. G. Riess, M. P. Krafft, *Chem. Phys. Lipids* **1995**, *75*, 1-14.
- [92] J. C. Maurizis, M. Azim, M. Rapp, B. Pucci, A. Pavia, J. C. Madelmont, A. Veyre, *Xenobiotica* **1994**, *24*, 535-541.

- [93] J. G. Riess, *New J. Chem.* **1995**, *19*, 891-909.
- [94] R. Kaplanek, T. Briza, M. Havlik, P. Martasek, V. Kral, *J. Fluorine Chem.* **2007**, *128*, 179-183.
- [95] N. O. Brace, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3033-&.
- [96] G. B. Rong, R. Keese, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5615-5616.
- [97] W. Y. Huang, *J. Fluor. Chem.* **1992**, *58*, 1-8.
- [98] K. Miura, Y. Ichinose, K. Nozaki, K. Fugami, K. Oshima, K. Utimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 143-147.
- [99] C. Ollivier, P. Renaud, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3415-3434.
- [100] L. Liu, X. Wang, C. Li, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 361-363.
- [101] G. Foulard, T. Brigaud, C. Portella, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 6187-6200.
- [102] D. Janczewski, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, C. Hill, C. Allignol, M. T. Duchesne, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 490-495.
- [103] P. Mukerjee, A. Y. S. Yang, *J. Phys. Chem.* **1976**, *80*, 1388-1390.
- [104] K. J. Mysels, *J. Colloid Interface Sci.* **1978**, *66*, 331-334.
- [105] P. Mukerjee, K. J. Mysels, *Adv. Chem. Ser.* **1975**, 239-252.
- [106] N. Funasaki, S. Hada, *Chem. Lett.* **1979**, 717-718.
- [107] N. Funasaki, S. Hada, *J. Phys. Chem.* **1980**, *84*, 736-744.
- [108] K. Shinoda, T. Nomura, *J. Phys. Chem.* **1980**, *84*, 365-369.
- [109] T. Kunitake, N. Higashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 692-696.
- [110] H. Ooi, N. Ishibashi, Y. Iwabuchi, J. Ishihara, S. Hatakeyama, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7765-7768.
- [111] K. Barral, A. D. Moorhouse, J. E. Moses, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809-1811.
- [112] L. Marinescu, J. Thinggaard, I. B. Thomsen, M. Bols, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9453-9455.
- [113] E. D. Goddard-Borger, R. V. Stick, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797-3800.
- [114] A. Titz, Z. Radic, O. Schwardt, B. Ernst, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2383-2385.
- [115] H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646.
- [116] R. Huisgen *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357-396.
- [117] L. Eisai Co., *Vol. US2007/10542 A1*, Japan, **2007**.
- [118] O. Seitz, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **1995**, *34*, 803-805.
- [119] O. Seitz, H. Kunz, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 813-826.
- [120] B. Liebe, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 629-631.
- [121] A. P. Kozikowski, J. Lee, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 863-870.
- [122] T. K. Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry Vol. 2 ed*, Wiley-VCH, Weinheim.
- [123] R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 1244-1251.
- [124] R. Lemieux, R. M. Ratcliffe, in *Deutsche Patentanmeldung, Vol. AZ: P 2816340.8*, **1978**.
- [125] A. Paquet, *Can. J. Chem.-Rev. Can. Chim.* **1982**, *60*, 976-980.
- [126] H. Kunz, in *Preparative Carbohydrate Chemistry* (Ed.: S. Hanessian), Marcel Dekker Publ., New York, **1997**, pp. 265-281.
- [127] M. Schultz, H. Kunz, *Tetrahedron-Asymmetr* **1993**, *4*, 1205-1220.
- [128] H. Paulsen, J.-P. Hölck, *Carbohydr. Res.* **1982**, *109*, 89-107.
- [129] W. Koenigs, E. Knorr, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1901**, *34*, 957-981.
- [130] B. Liebe, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8777-8778.
- [131] B. Liebe, H. Kunz, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1473-1482.
- [132] E. Meinjohanns, M. Meldal, A. Schleyer, H. Paulsen, K. Bock, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1996**, 985-993.

- [133] G. Zemplén, A. Kunz, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* **1923**, 56, 1705-1710.
- [134] a) S. Dziadek, H. Kunz, *Synlett* **2003**, 1623-1626. b) S. Dziadek, D. Kowalczyk, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2005**, 44, 7624-7630. c) S. Dziadek, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2005**.
- [135] a) T. Becker, A. Kaiser, H. Kunz, *Synthesis-Stuttgart* **2009**, 1113-1122. b) T. Becker, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2006**.
- [136] a) S. Wittrock, T. Becker, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2007**, 46, 5226-5230. b) S. Wittrock, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2006**.
- [137] a) A. Kuhn, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2007**, 46, 454-458. b) A. Kuhn, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2005**.
- [138] J. C. Lee, Y. S. Oh, S. H. Cho, J. D. Lee, *Org. Prep. Proced. Int.* **1996**, 28, 480-483.
- [139] A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, 187, 35-42.
- [140] F. Dasgupta, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1988**, 177, c13-c17.
- [141] P. J. Garegg, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, 52, 179-205.
- [142] H. Lönn, K. Stenvall, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 115-116.
- [143] O. Kanie, M. Kiso, A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.* **1988**, 7, 501-506.
- [144] R. R. Schmidt, M. Behrendt, A. Toepfer, *Synlett* **1990**, 694-696.
- [145] B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, 90, 556-557.
- [146] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- [147] R. B. Merrifield, *Angew. Chem.* **1985**, 97, 801-812.
- [148] M. Meldal, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 3077-3080.
- [149] E. Bayer, W. Rapp, *Vol. 3* (Eds.: V. W., B. E., O. Y.A., I. V.I.), de Gruyter, Berlin, **1986**, pp. 3-8.
- [150] P. M. S. Hilaire, M. Meldal, *Combinatorial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [151] J. C. Spetzler, V. Westphal, J. R. Winther, M. Meldal, *J. Pept. Sci.* **1998**, 4, 128-137.
- [152] M. Meldal, I. Svendsen, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1995**, 1591-1596.
- [153] M. Meldal, I. Svendsen, K. Breddam, F. I. Auzanneau, *Proc. of the Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 3314-3318.
- [154] J. P. Tam, W. F. Heath, R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 6442-6455.
- [155] W. F. Heath, J. P. Tam, R. B. Merrifield, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1986**, 28, 498-507.
- [156] F. C. McKay, N. F. Albertson, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4686-4690.
- [157] G. W. Anderson, A. C. McGregor, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 6180-6183.
- [158] A. J. Mort, D. T. A. Lamport, *Anal. Biochem.* **1977**, 82, 289-309.
- [159] C.-D. Chang, J. Meienhofer, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1978**, 11, 246-249.
- [160] C.-D. Chang, M. Waki, M. Ahmad, J. Meienhofer, E. O. Lundell, J. D. Haug, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1980**, 15, 59-66.
- [161] J. Coste, D. Lenguyen, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 205-208.
- [162] L. A. Carpino, A. Elfaham, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 2279-2282.
- [163] L. A. Carpino, A. Elfaham, C. A. Minor, F. Albericio, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1994**, 201-203.
- [164] V. Dourtoglou, B. Gross, V. Lambropoulou, C. Zioudrou, *Synthesis-Stuttgart* **1984**, 572-574.
- [165] V. Dourtoglou, J. C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 1269-1272.
- [166] R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillissen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1927-1930.
- [167] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1067-1068.

- [168] J. C. Sheehan, G. L. Boshart, P. A. Cruickshank, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 2525-&.
- [169] M. Smith, J. G. Moffatt, H. G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6204-6212.
- [170] W. Konig, R. Geiger, *Chem. Ber.-Recl.* **1970**, *103*, 788.
- [171] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.
- [172] B. Ferrari, A. A. Pavia, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 1939-1944.
- [173] M. Rothe, J. Mazanek, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **1972**, *11*, 293-&.
- [174] M. Rothe, J. Mazanek, *Annalen Der Chemie-Justus Liebig* **1974**, 439-459.
- [175] F. Guillier, D. Orain, M. Bradley, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2091-2157.
- [176] T. M. Fyles, C. C. Leznoff, *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 935-942.
- [177] J. M. J. Frechet, K. E. Haque, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 3055-3056.
- [178] R. Dolling, M. Beyermann, J. Haenel, F. Kernchen, E. Krause, P. Franke, M. Brudel, M. Bienert, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1994**, 853-854.
- [179] J. Offer, M. Quibell, T. Johnson, *J. Chem. Soc. Perk. T. 1* **1996**, 175-182.
- [180] R. Ramage, J. Green, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2287-2290.
- [181] J. Green, O. M. Ogunjobi, R. Ramage, A. S. J. Stewart, S. McCurdy, R. Noble, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4341-4344.
- [182] S. Dziadek, H. Kunz, *Synlett* **2003**, *2003*, 1623,1626.
- [183] S. Dziadek, D. Kowalczyk, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7798-7803.
- [184] S. Dziadek, H. Kunz, *Chem. Rec.* **2004**, *3*, 308-321.
- [185] A. Kaiser, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2009**.
- [186] D. P. Curran, S. Hadida, M. He, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6714-6715.
- [187] W. Zhang, D. P. Curran, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11837-11865.
- [188] U. Westerlind, A. Hobel, N. Gaidzik, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2008**, *47*, 7551-7556.
- [189] C. Brocke, H. Kunz, *Synlett* **2003**, 2052-2056.
- [190] C. Brocke, H. Kunz, *Synthesis-Stuttgart* **2004**, 525-542.
- [191] S. Dziadek, C. Brocke, H. Kunz, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4150-4162.
- [192] M. C. Petty, *Langmuir-Blodgett films: An introduction* Cambridge University Press, Cambridge, **1996**.
- [193] P. Scheibe, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2007**.
- [194] M. Dietmar, *Curr. Opin. Coll. Int. Sci.* **1998**, *3*, 137-142.
- [195] J. A. Derose, R. M. Leblanc, *Surf. Sci. Rep.* **1995**, *22*, 73-126.
- [196] B. P. Skript zum Versuch Filmwaage, München, **2008**.
- [197] P. Scheibe, J. Schoenhentz, T. Platen, A. Hoffmann-Röder, R. Zentel, *Langmuir* **2010**, *26*, 18246-18255.
- [198] H. Muller, R. Zentel, A. Janshoff, M. Janke, *Langmuir* **2006**, *22*, 11034-11040.
- [199] J. G. Riess, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2004**.
- [200] M. Broniatowski, N. Vila-Romeu, M. Nieto-Suarez, P. Dynarowicz-Latka, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 12787-12794.
- [201] M. P. Krafft, J. G. Riess, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 1714-1792.
- [202] P. L. Nostro, S. H. Chen, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 6535-6540.
- [203] A. W. Adamson, A. P. Gast, *Physical Chemistry of Surfaces*, John Wiley & Sons, New York, **1997**.
- [204] M. Haro, B. Giner, C. Lafuente, M. C. Lopez, F. M. Royo, P. Cea, *Langmuir* **2005**, *21*, 2796-2803.
- [205] A. Villares, S. Martin, I. Giner, J. Diaz, D. P. Lydon, P. J. Low, P. Cea, *Soft Matter* **2008**, *4*, 1508-1514.
- [206] M. Seitz, E. Ter-Ovanesyan, M. Hausch, C. K. Park, J. A. Zasadzinski, R. Zentel, J. N. Israelachvili, *Langmuir* **2000**, *16*, 6067-6070.
- [207] D. A. Buttry, M. D. Ward, *Chem Rev* **1992**, *92*, 1355-1379.
- [208] C. K. O'Sullivan, G. G. Guilbault, *Biosensors & Bioelectronics* **1999**, *14*, 663-670.

- [209] A. Janshoff, H. J. Galla, C. Steinem, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2000**, *39*, 4004-4032.
- [210] G. Sauerbrey, *Zeitschrift Fur Physik* **1959**, *155*, 206-222.
- [211] J. Burchell, S. Gendler, J. Taylor-Papadimitriou, A. Girling, A. Lewis, R. Millis, D. Lampion, *Cancer Research* **1987**, *47*, 5476-5482.
- [212] J. Burchell, J. Taylorpapadimitriou, M. Boshell, S. Gendler, T. Duhig, *Int. J. Cancer* **1989**, *44*, 691-696.
- [213] T. H. Anderson, Y. J. Min, K. L. Weirich, H. B. Zeng, D. Fygenon, J. N. Israelachvili, *Langmuir* **2009**, *25*, 6997-7005.
- [214] M. P. Mingeot-Leclercq, M. Deleu, R. Brasseur, Y. F. Dufrene, *Nature Protocols* **2008**, *3*, 1654-1659.
- [215] P. Scheibe, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2011**.
- [216] A. Hoffmann-Röder, A. Kaiser, S. Wagner, N. Gaidzik, D. Kowalczyk, U. Westerlind, B. Gerlitzki, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8676-8681. A. Hoffmann-Roder, A. Kaiser, S. Wagner, N. Gaidzik, D. Kowalczyk, U. Westerlind, B. Gerlitzki, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2010**, *49*, 8498-8503.
- [217] A. Kaiser, N. Gaidzik, T. Becker, C. Menge, K. Groh, H. Cai, Y. M. Li, B. Gerlitzki, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2010**, *49*, 3688-3692.
- [218] N. Gaidzik, A. Kaiser, D. Kowalczyk, U. Westerlind, B. Gerlitzki, H. P. Sinn, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2011**, *50*, 9977-9981.
- [219] A. Hoffmann-Röder, A. Kaiser, S. Wagner, N. Gaidzik, D. Kowalczyk, U. Westerlind, B. Gerlitzki, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8676-8681. A. Hoffmann-Roder, A. Kaiser, S. Wagner, N. Gaidzik, D. Kowalczyk, U. Westerlind, B. Gerlitzki, E. Schmitt, H. Kunz, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **2010**, *49*, 8498-8503.
- [220] W. A. Bonner, R. G. Sweet, H. R. Hulett, Herzenbe.La, *Rev. Sci. Instrum.* **1972**, *43*, 404-&.
- [221] G. Nebe-von-Caron, P. J. Stephens, C. J. Hewitt, J. R. Powell, R. A. Badley, *J. Microbiol. Methods* **2000**, *42*, 97-114.
- [222] J. Russo, H. D. Soule, C. McGrath, M. A. Rich, *J. Natl. Cancer Inst.* **1976**, *56*, 279-282.
- [223] D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals, Vol. 4th*, Elsevier **1996**.
- [224] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.
- [225] D. P. Curran, *Synlett* **2001**, 1488-1496.
- [226] G. Szepesi, *How to Use Reversed-Phase HPLC* Wiley-VCH, Weinheim, **1992**.
- [227] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.
- [228] M. Majewski, D. M. Gleave, P. Nowak, *Can. J. Chem.-Rev. Can. Chim.* **1995**, *73*, 1616-1626.
- [229] Z. Y. Zhang, G. Magnusson, *Carbohydr. Res.* **1996**, *295*, 41-55.
- [230] D. Baeckström, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 11503-11509.
- [231] C. Brocke, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2000**.
- [232] A. Kaiser, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2009**.
- [233] S. Keil, Johannes Gutenberg-Universität (Mainz), **2000**.

Spektroskopischer Anhang

Membranankersysteme mit einer Perfluoralkylkette

5-Azido-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl-methanol (15) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	V
5-(Allyloxymethyl)-5-azido-2,2-dimethyl-1,3-dioxan (16a) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	VI
5-Azido-2,2-dimethyl-5-((pent-4-enyloxy)methyl)-1,3-dioxan (16b) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	VII
5-(Heptenyloxymethyl)-5-azido-2,2-dimethyl-1,3-dioxan (16c) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	VIII
2-(Allyloxymethyl)-2-azidopropan-1,3-diol (17a) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	IX
2-Azido-2-((pent-4-enyloxy)methyl)propan-1,3-diol (17b) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	X
2-Azido-2-((hept-6-enyloxy)methyl)propan-1,3-diol (17c) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	XI
1-(3-(Allyloxy)-2-azido-2-(undecyloxymethyl)propoxy)undecan (18a) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	XII
1-(2-Azido-3-(pent-4-enyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)undecan (18b) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	XIII
1-(2-Azido-3-(hept-6-enyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)undecan (18c) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$	XIV
11-(2-Azido-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6, 7,7,8,8-heptadecafluor-10-iodoundecan (19a) $^1\text{H}, ^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}$	XV
11-(2-Azido-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6- tridecafluor-8-iodoundecan (19b)	

^1H , ^{13}C , ^{19}F	XVI
13-(2-Azido-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propoxy)-1,1,1,2,2,3,3,4,4-nonafluor-6-iodotridecan (19c)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XVII
1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptadecafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-amin (20a)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XIX
1-(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Tridecafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-amin (20b)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XX
1-(10,10,11,11,12,12,13,13,13-Nonafluortridecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-amin (20c)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XXII
2-(2-(1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptadecafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (21a)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XXIII
2-(2-Oxo-2-(1-(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)ethoxy)essigsäure (21b)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XXV
2-(2-(1-(8,8,9,9,10,10,11,11,11-Nonafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (21c)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XXVI

Membranankersysteme mit zwei Perfluoralkylketten

2-(2-(1,3-Bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (27a)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XXVIII
2-(2-(1,3-Bis(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (27b)	
^1H , ^{13}C , ^{19}F	XXIX

2-(2-(1,3-Bis(8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (**27c**)

^1H , ^{13}C , ^{19}F

XXXI

Membranankersysteme mit drei Perfluoralkylketten

N-((*N*-3-2-oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-hepta-decafluor-undecyloxy)methyl]aminomethan (**31a**)

^1H , ^{13}C , ^{19}F

XXXII

2-(2-(1,3-Bis(6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)-2-((6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-tridecafluorundecyloxy)methyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)-essigsäure (**31b**)

^1H , ^{13}C , ^{19}F

XXXIII

2-(2-(1,3-Bis(8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)-2-((8,8,9,9,10,10,11,11,11-nonafluorundecyloxy)methyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)essigsäure (**31c**)

^1H , ^{13}C , ^{19}F

XXXIV

(Glyco)Lipopeptide mit perfluoralkylierten Membranankern

N-((*N*-3-2-Oxoethoxy)-2-oxopropanyl)-tris[(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluor-undecyloxy)-methyl]aminomethan)-amido-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (**64b**)

¹H, ¹³C, HSQC, ¹⁹F, RP-HPLC, MALDI-TOF

XXXV

2-(2-(1,3-Bis(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluorundecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (**67a**)

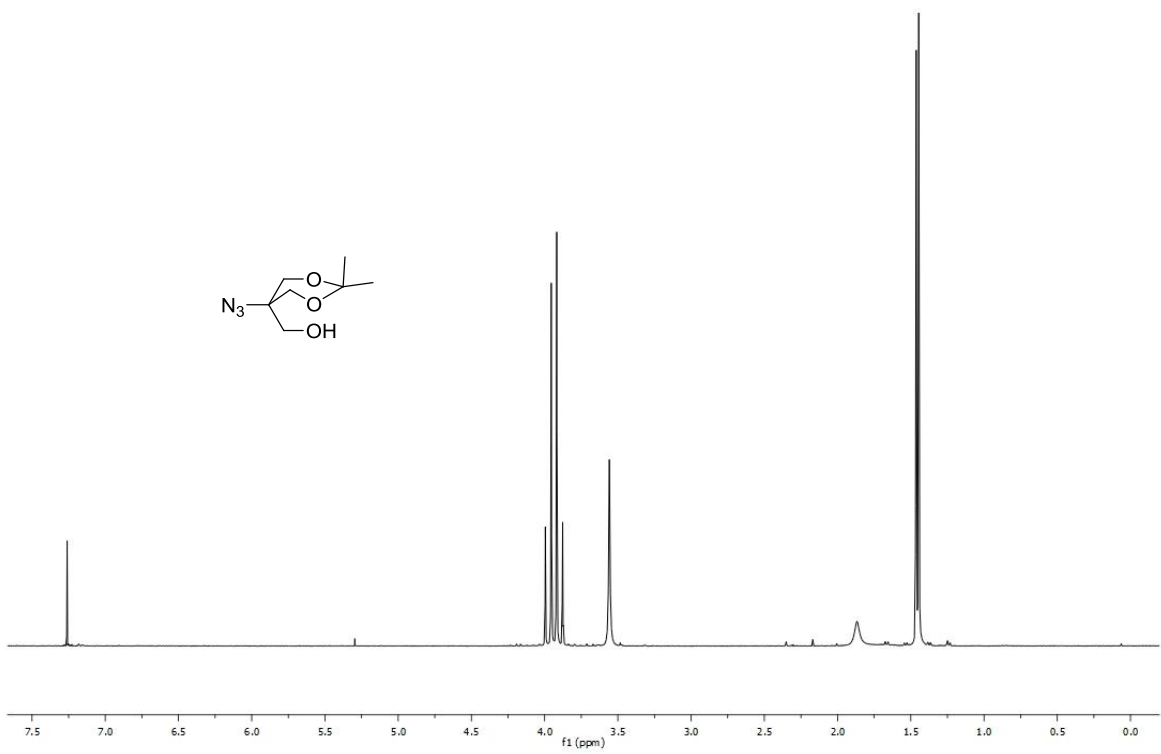
¹H, ¹³C, HSQC, ¹⁹F

XXXVIII

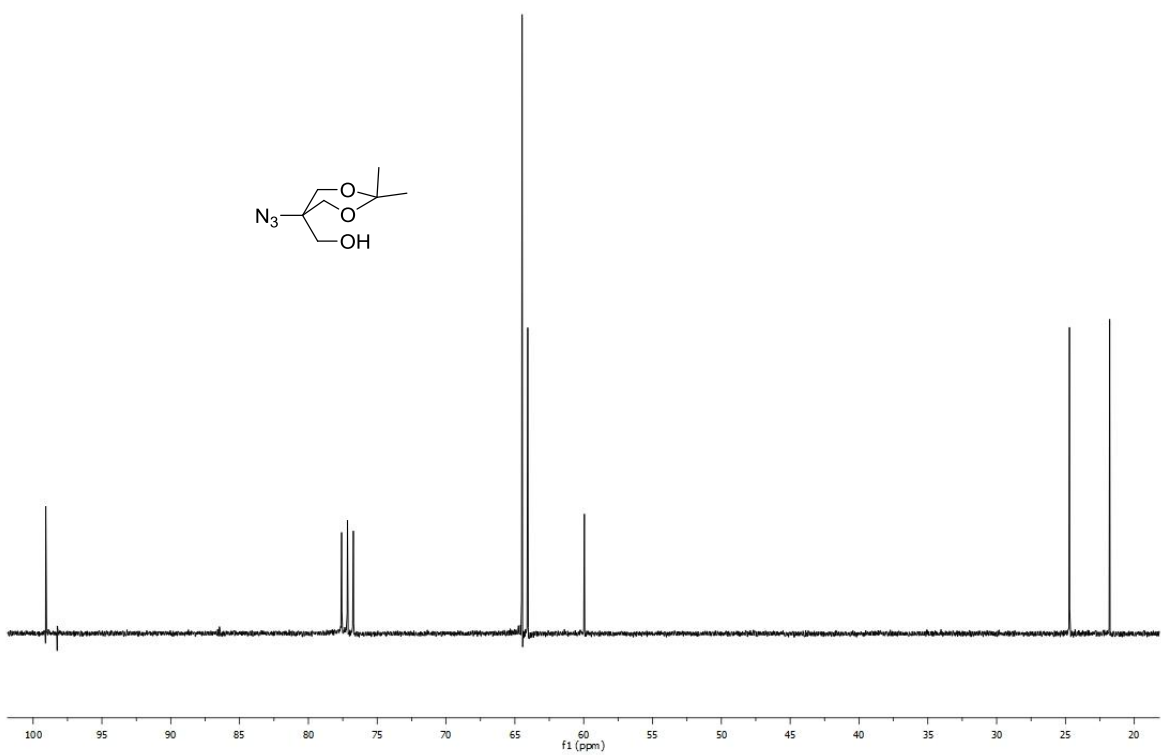
2-(2-(1-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-Heptadecafluorundecyloxy)-3-(undecyloxy)-2-(undecyloxymethyl)propan-2-ylamino)-2-oxoethoxy)acetat-amido-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolin (**66b**)

¹H, ¹³C, HSQC, ¹⁹F

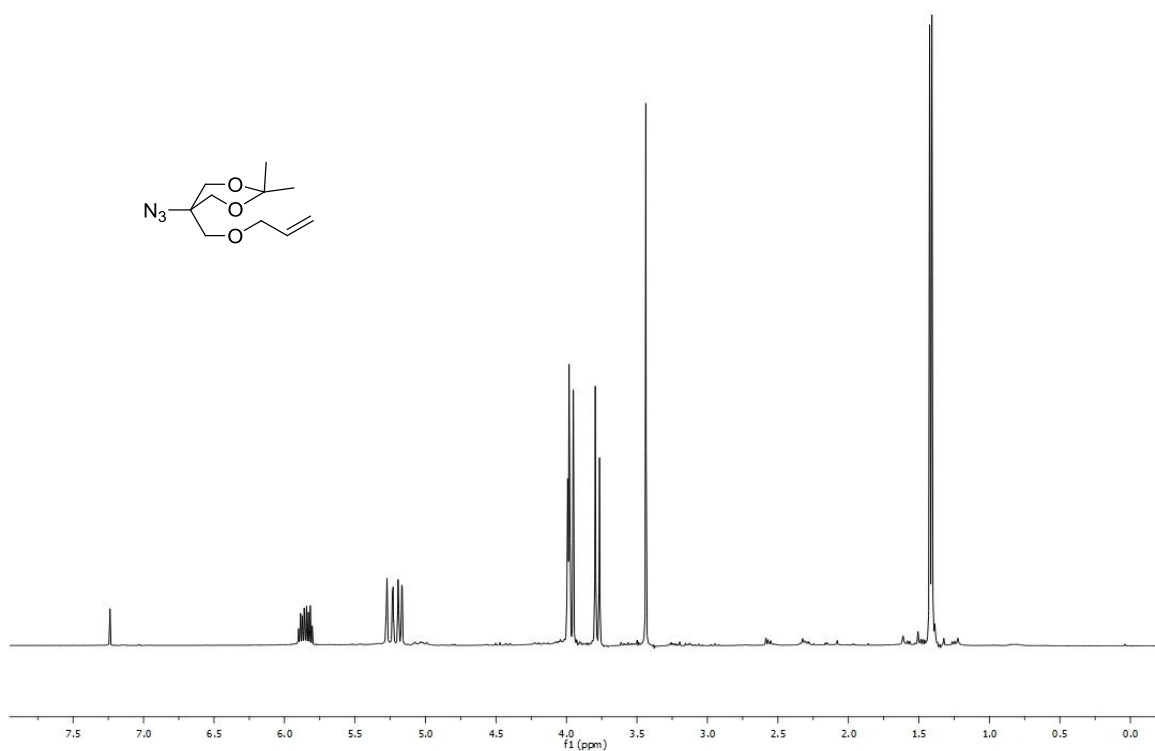
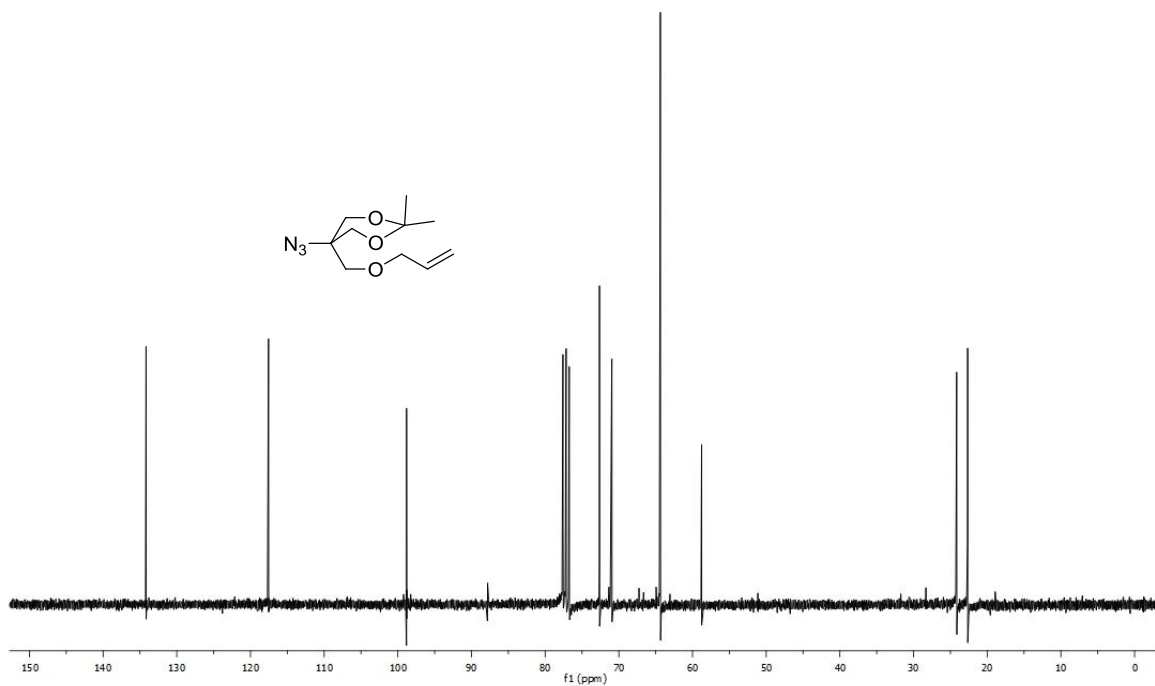
XL

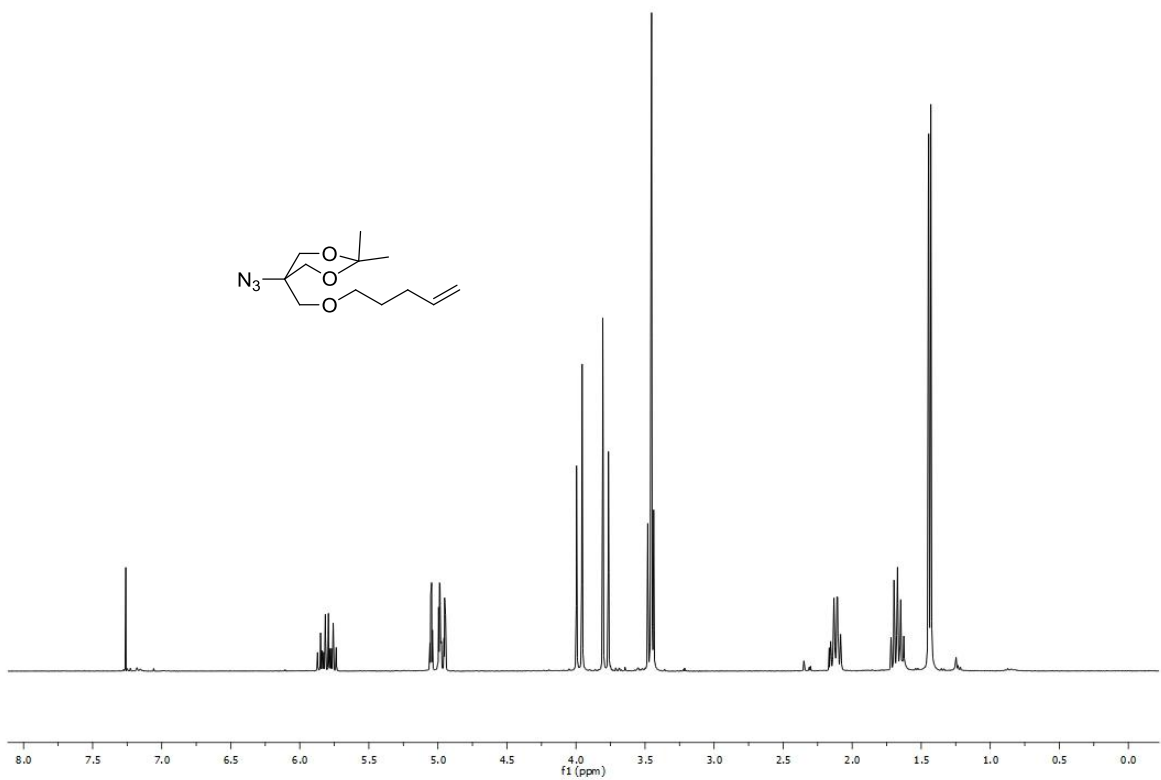


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

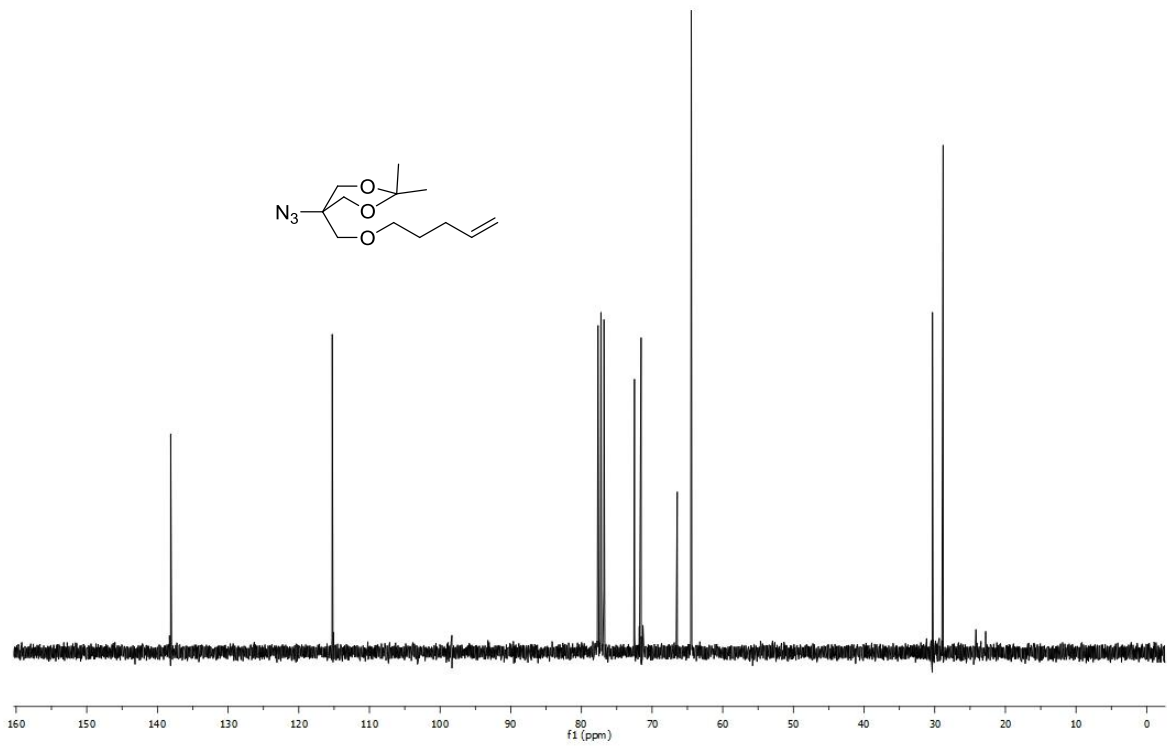


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

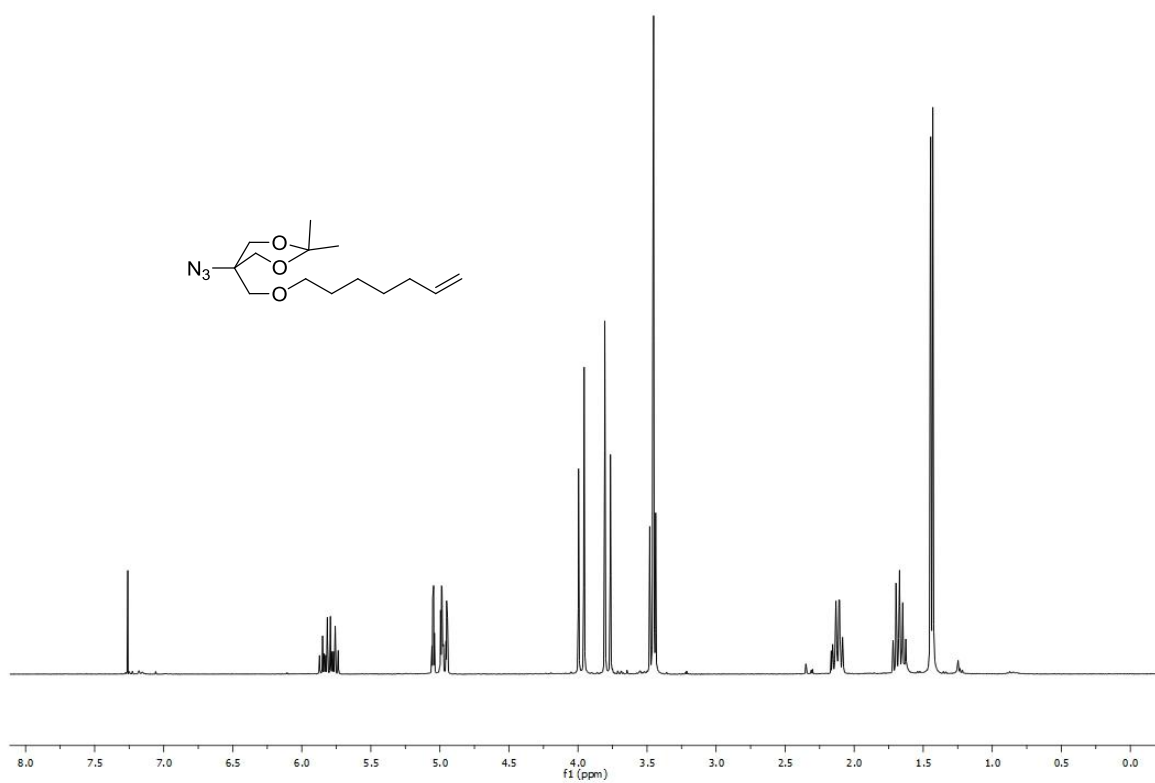
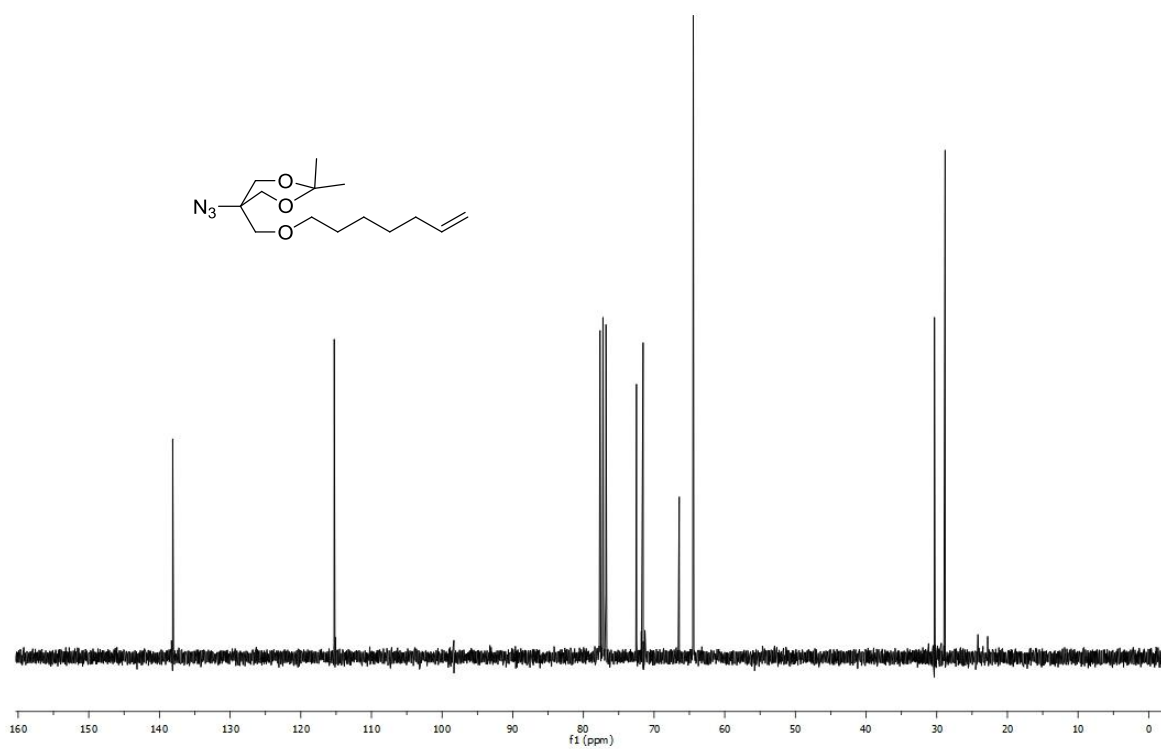
 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

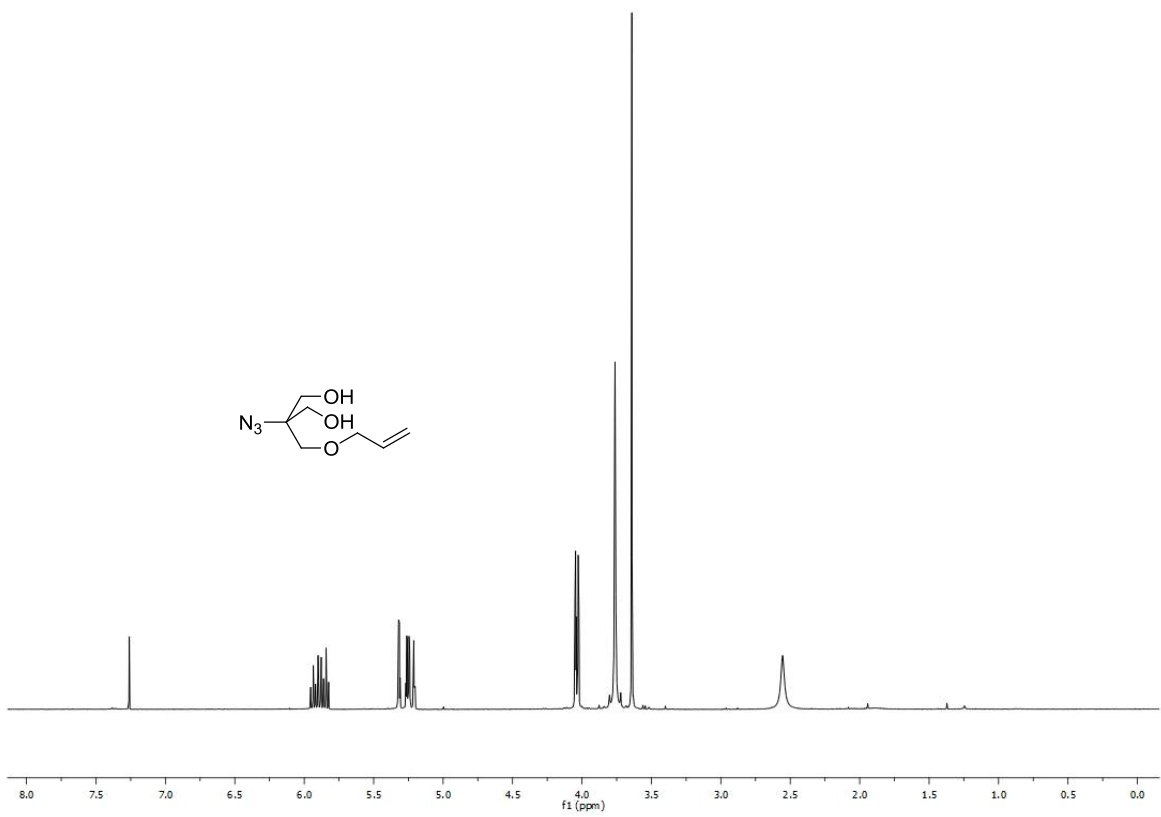


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

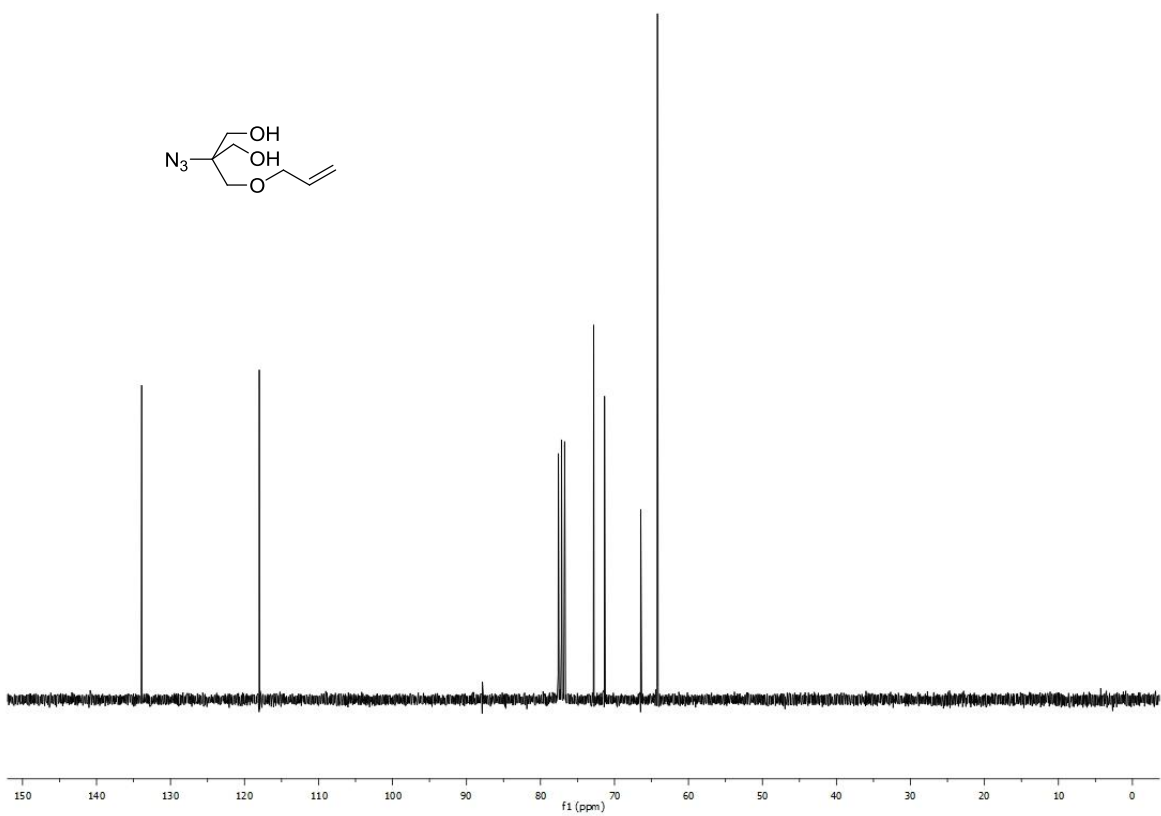


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

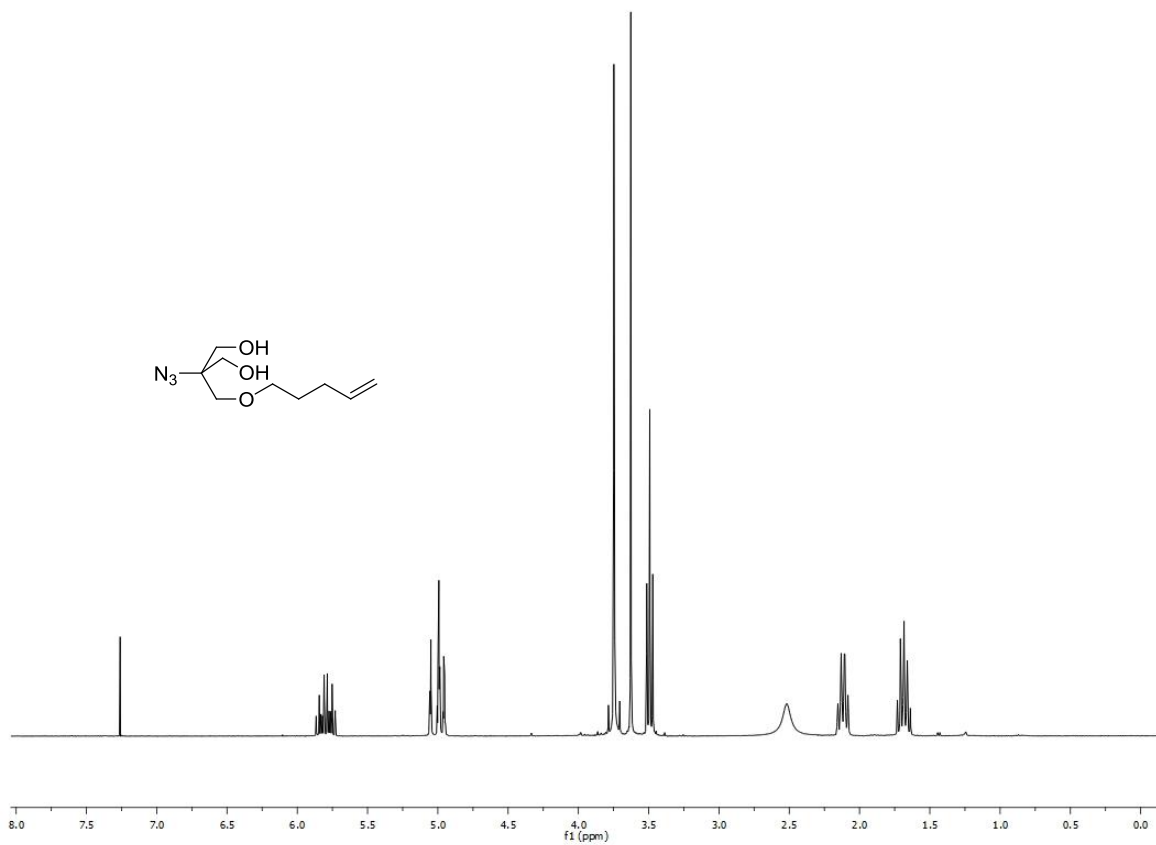
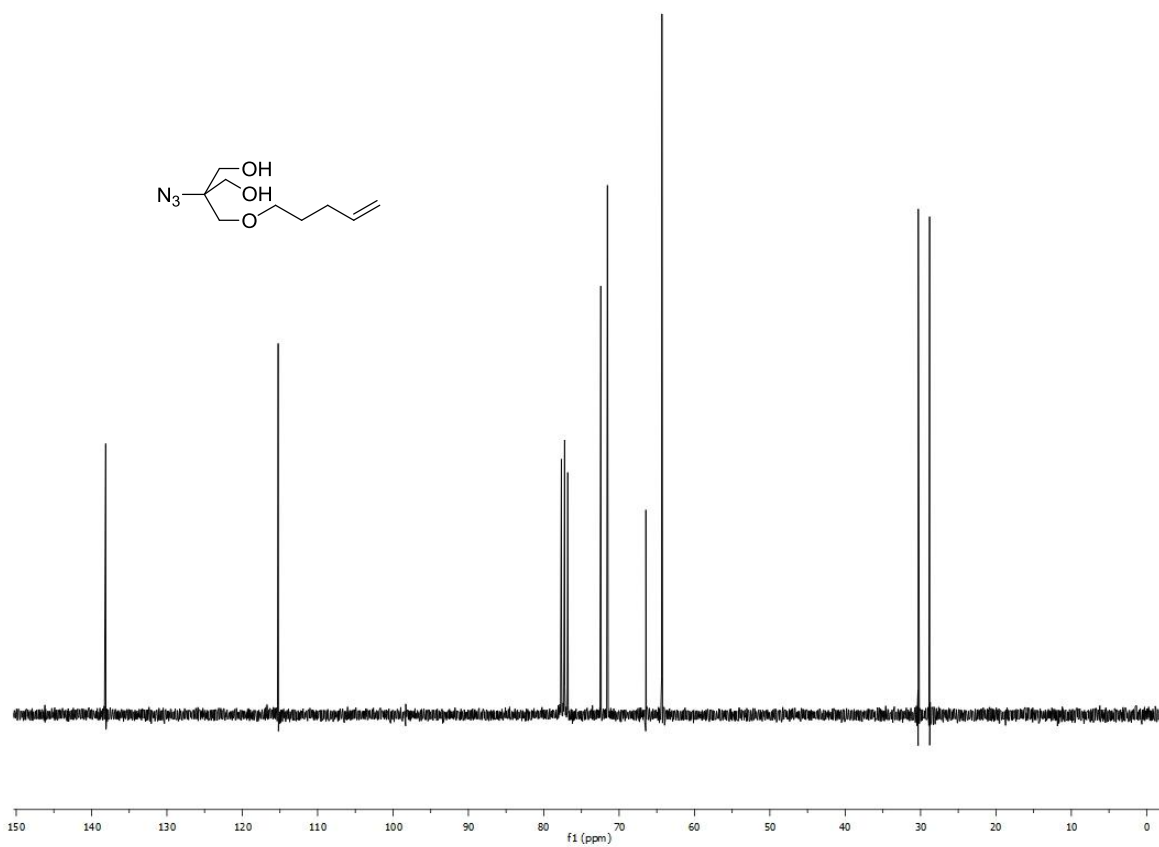
 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

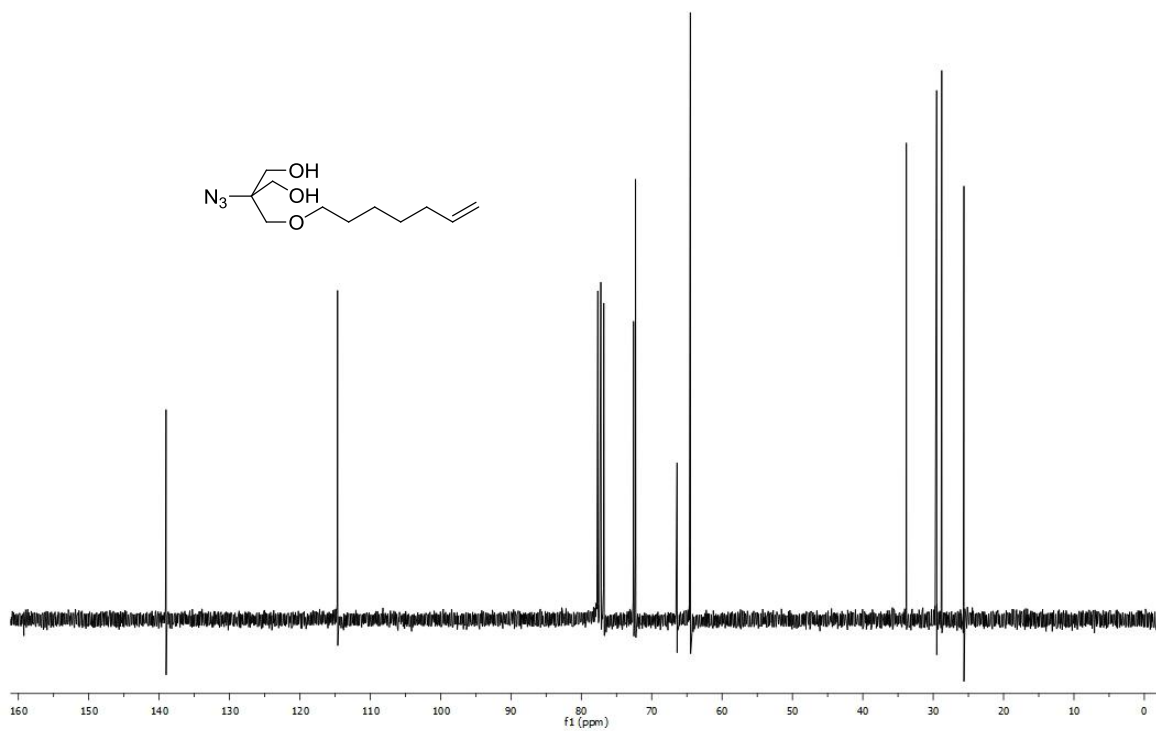
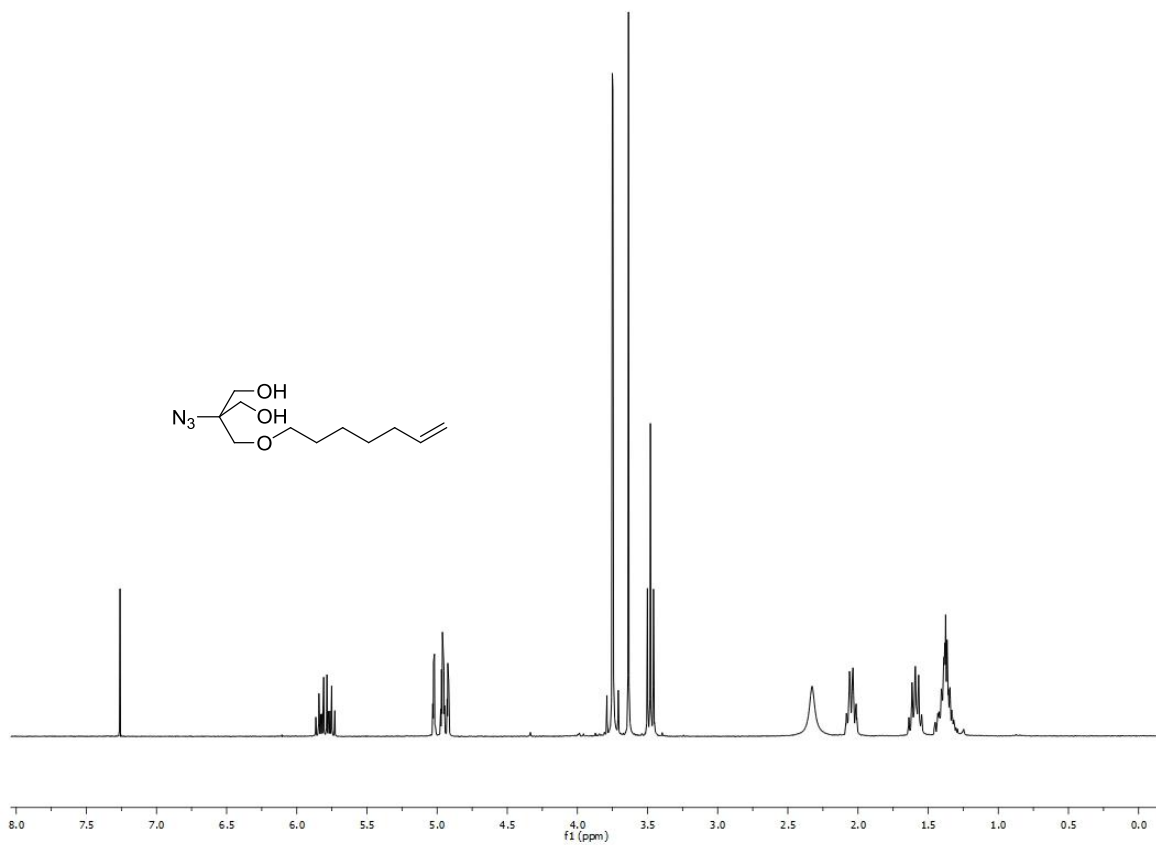


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

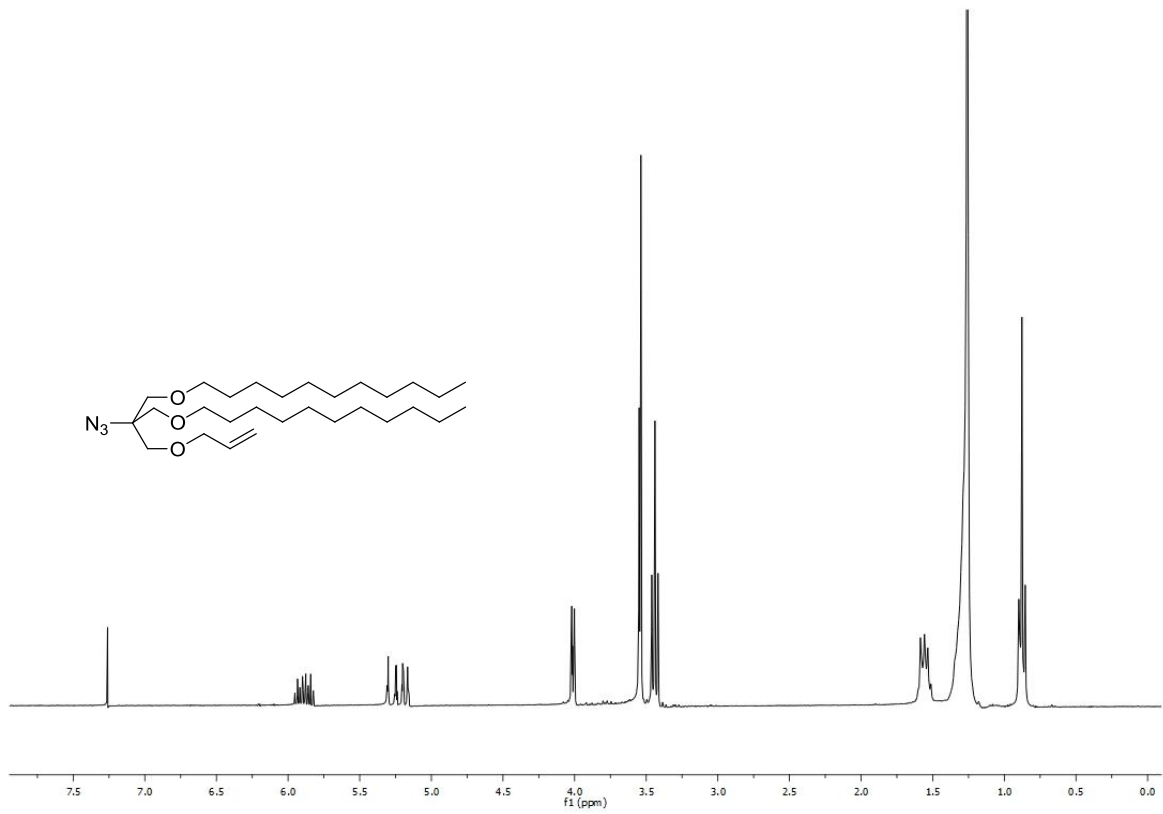


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

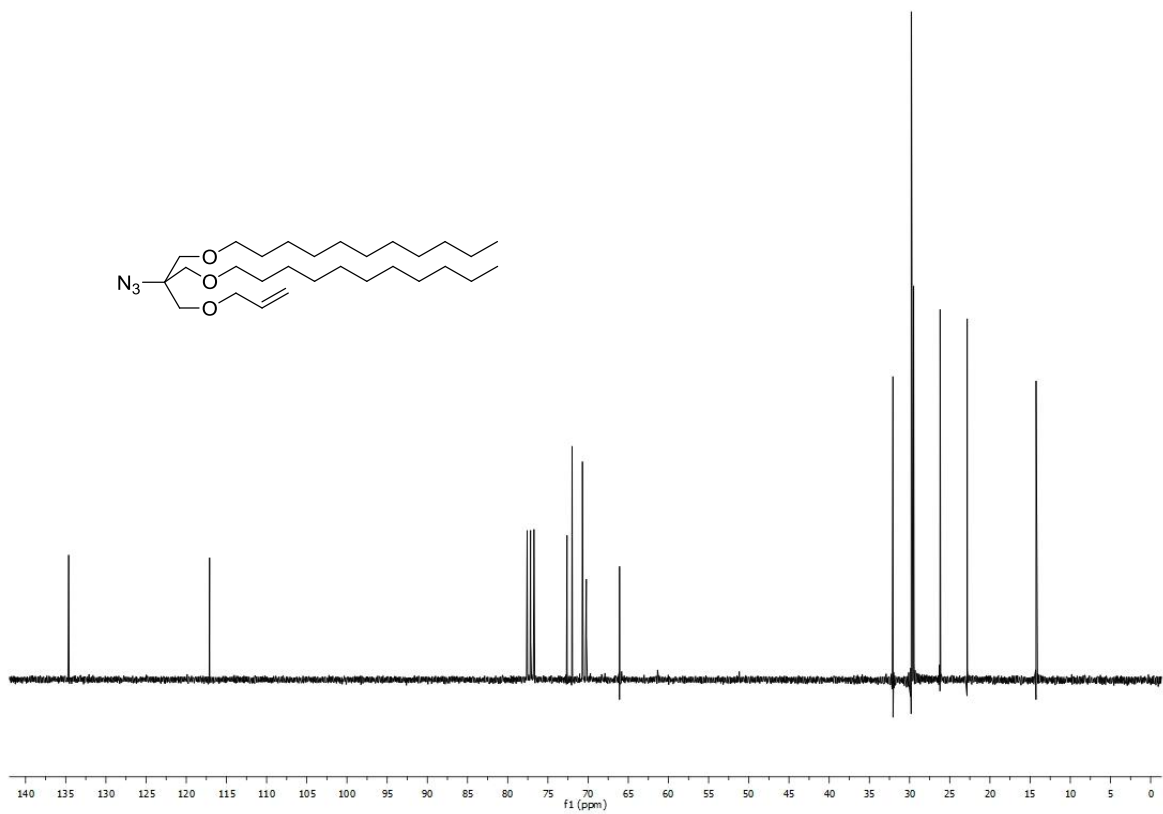
 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)



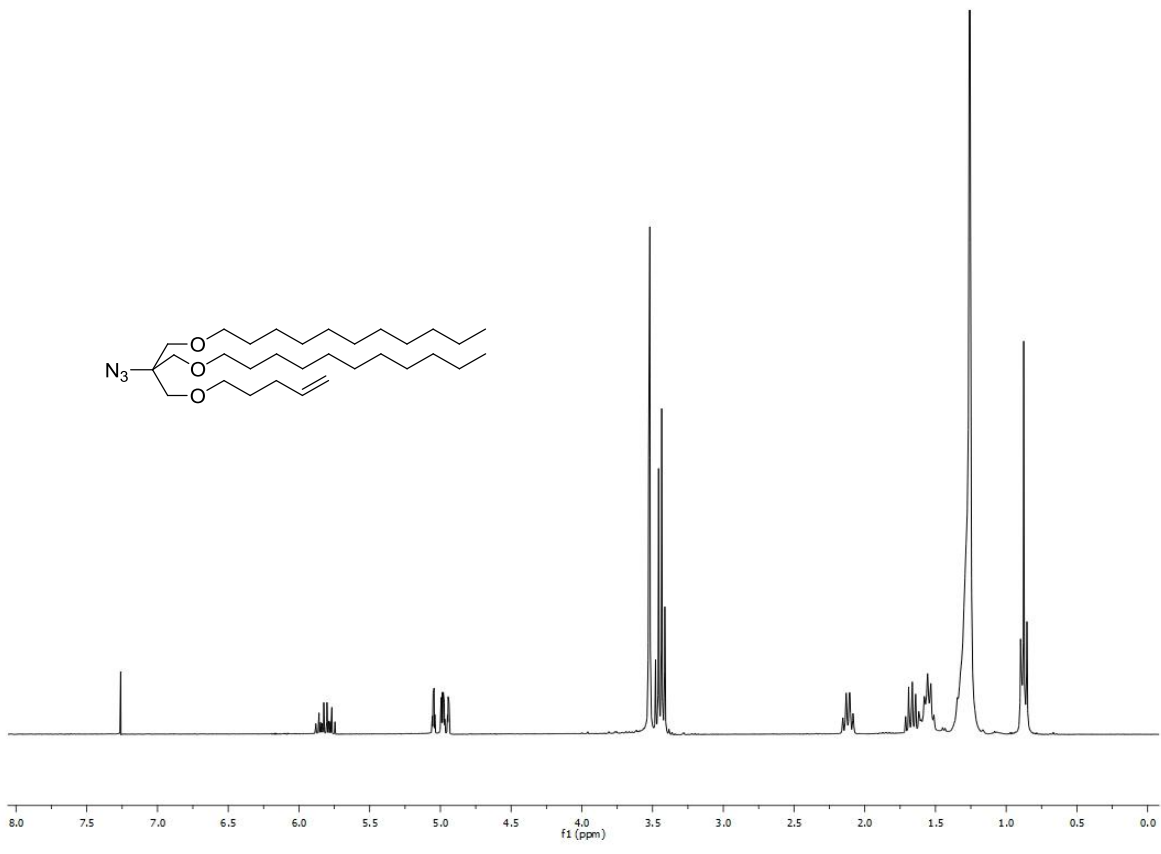
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)



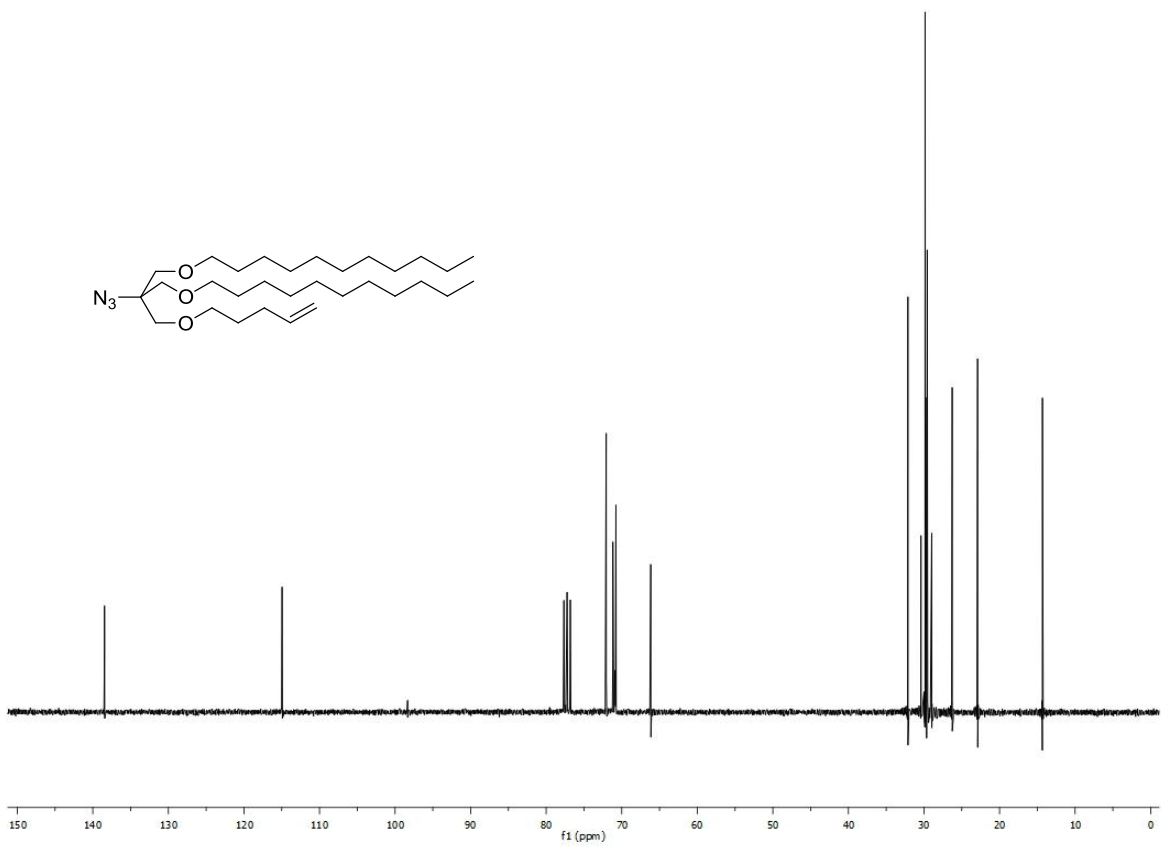
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)



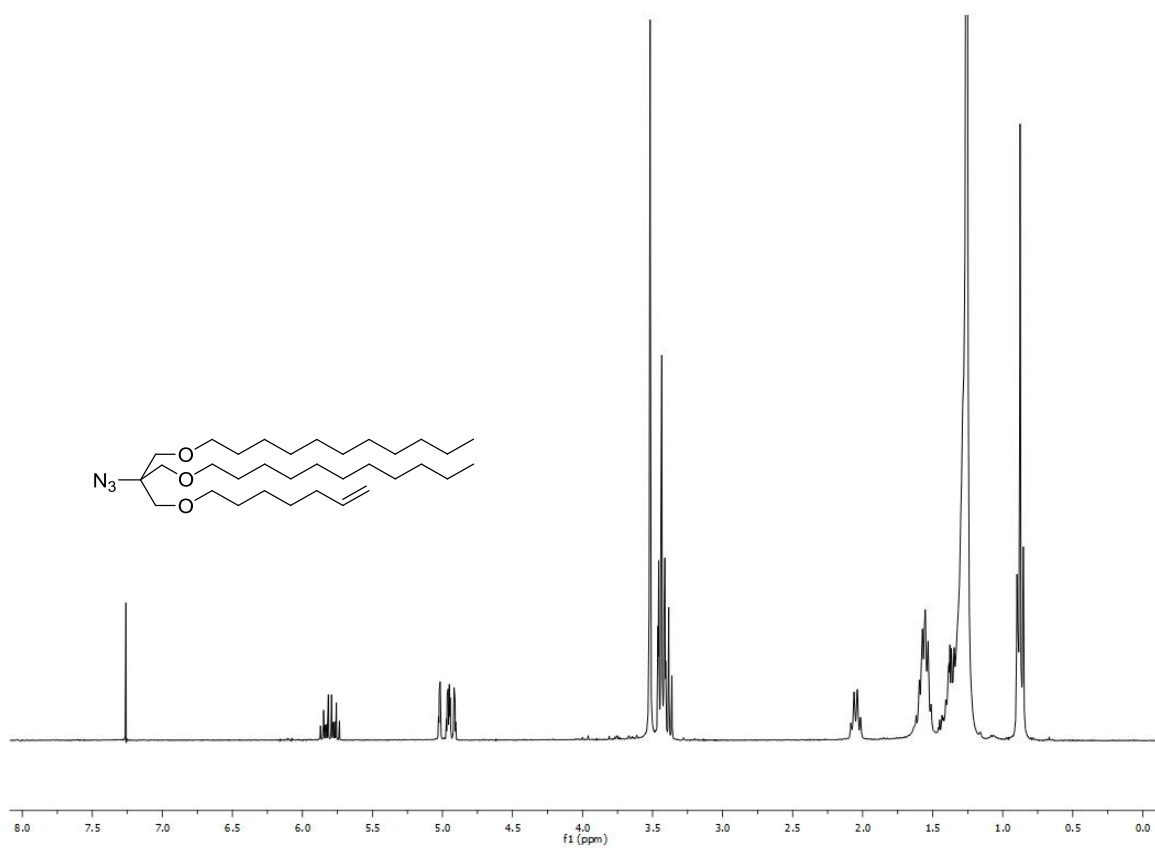
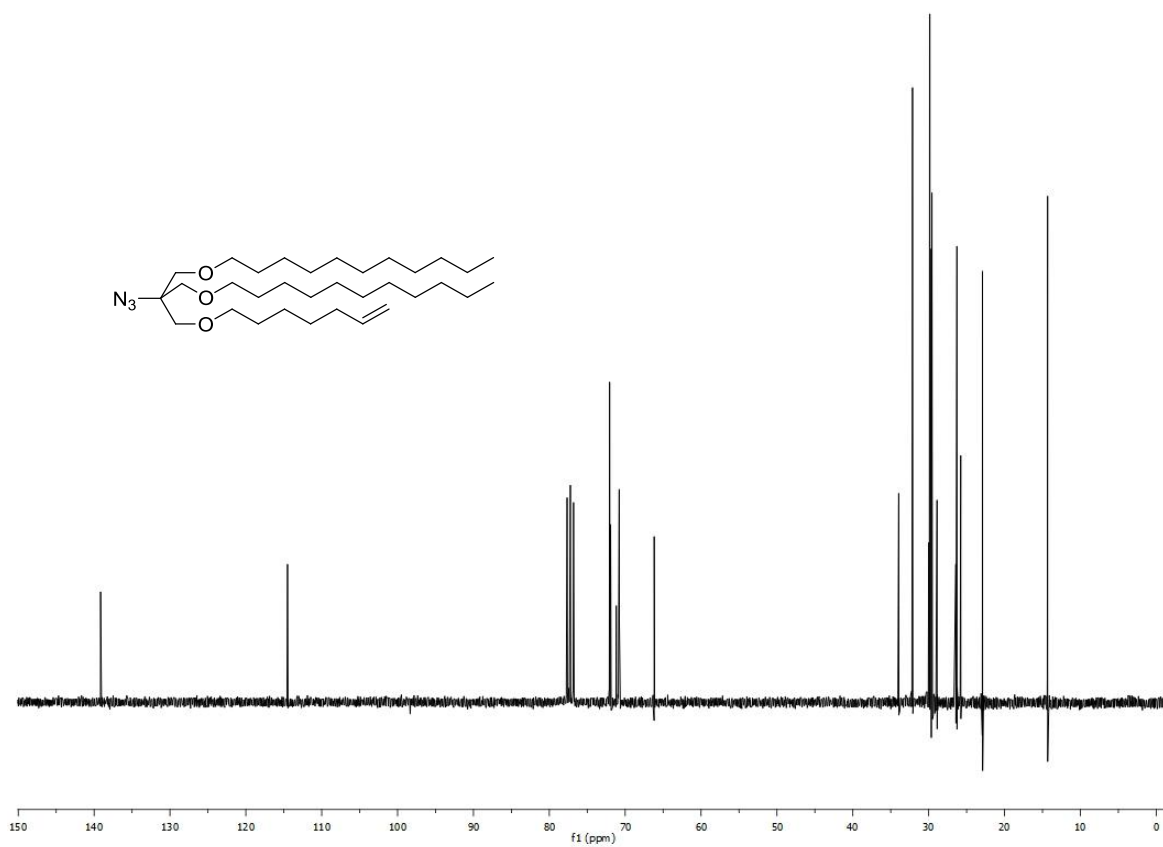
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)

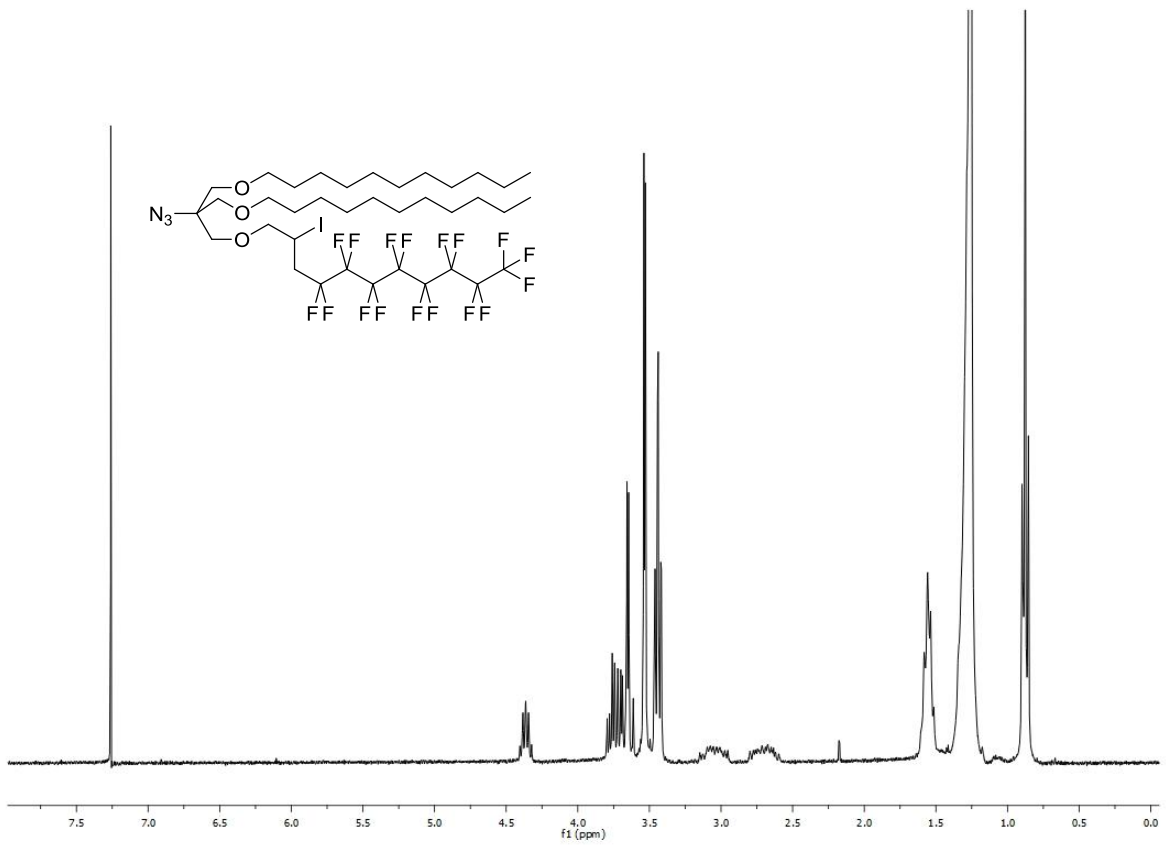


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

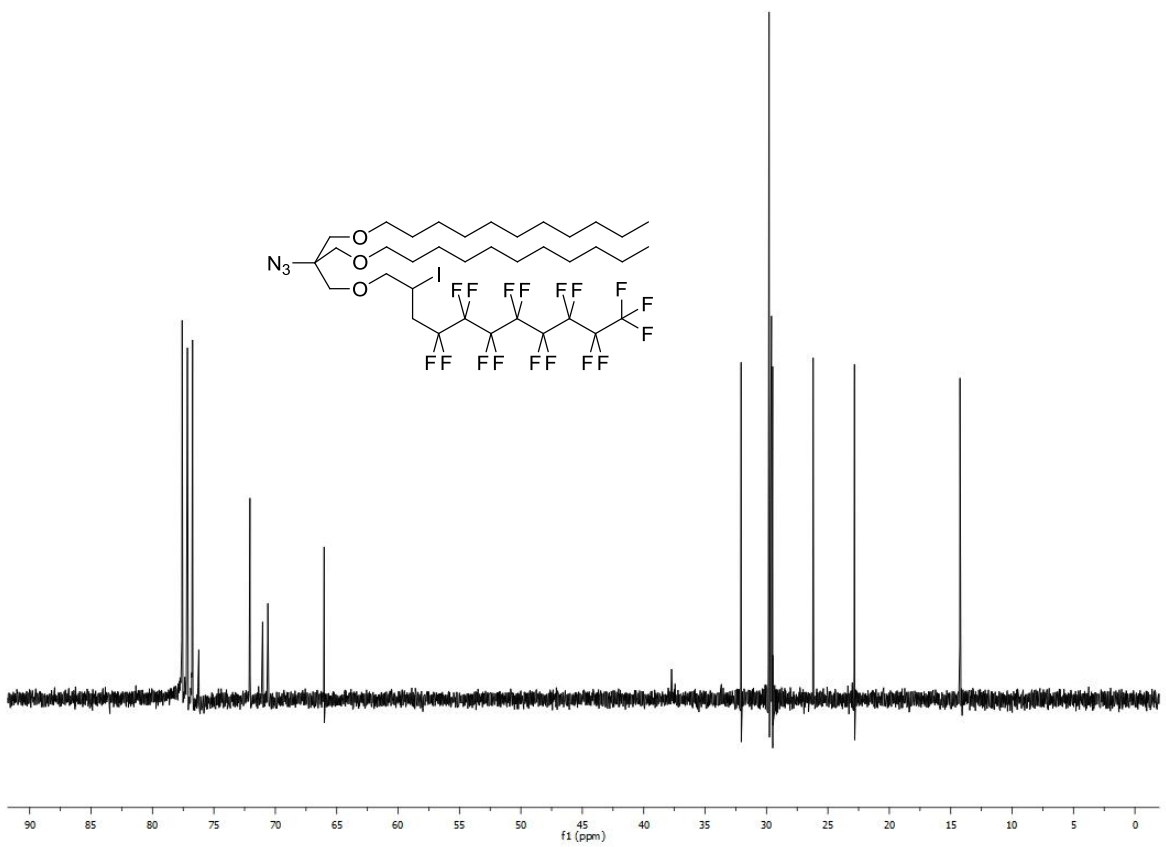


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

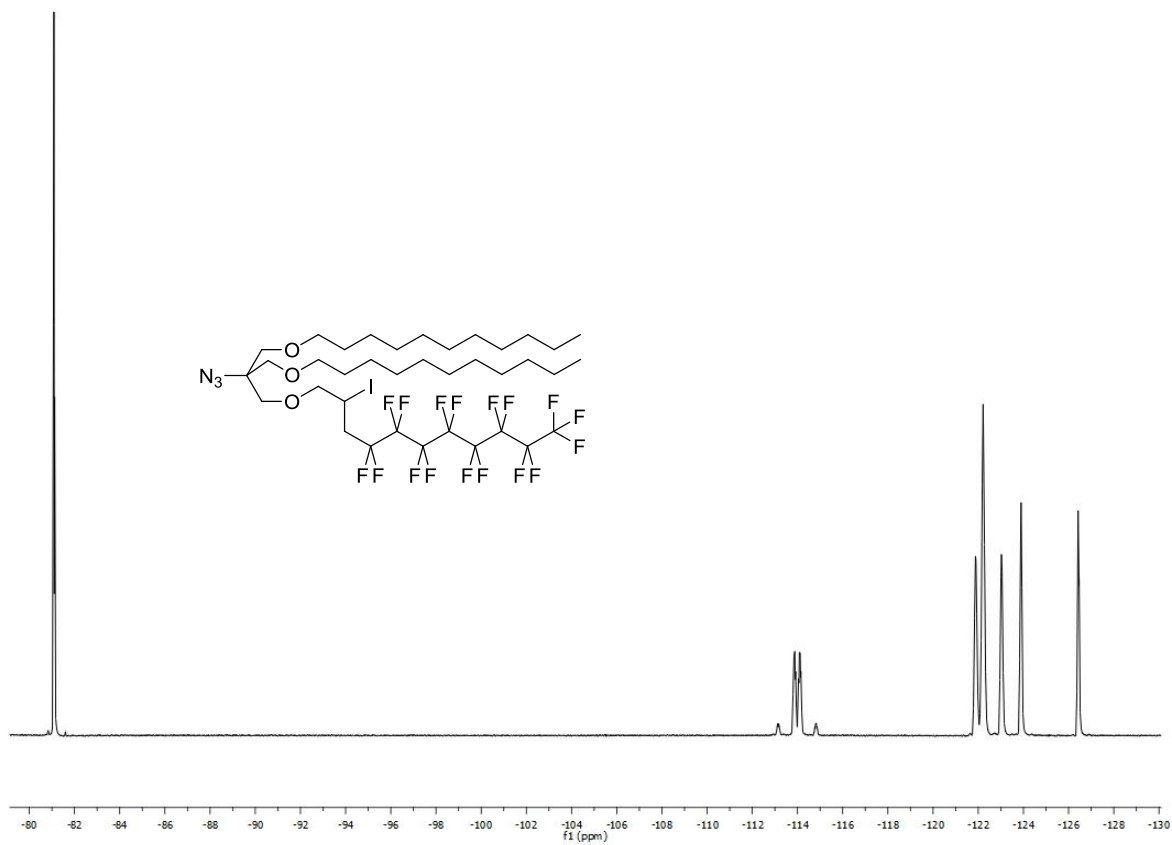
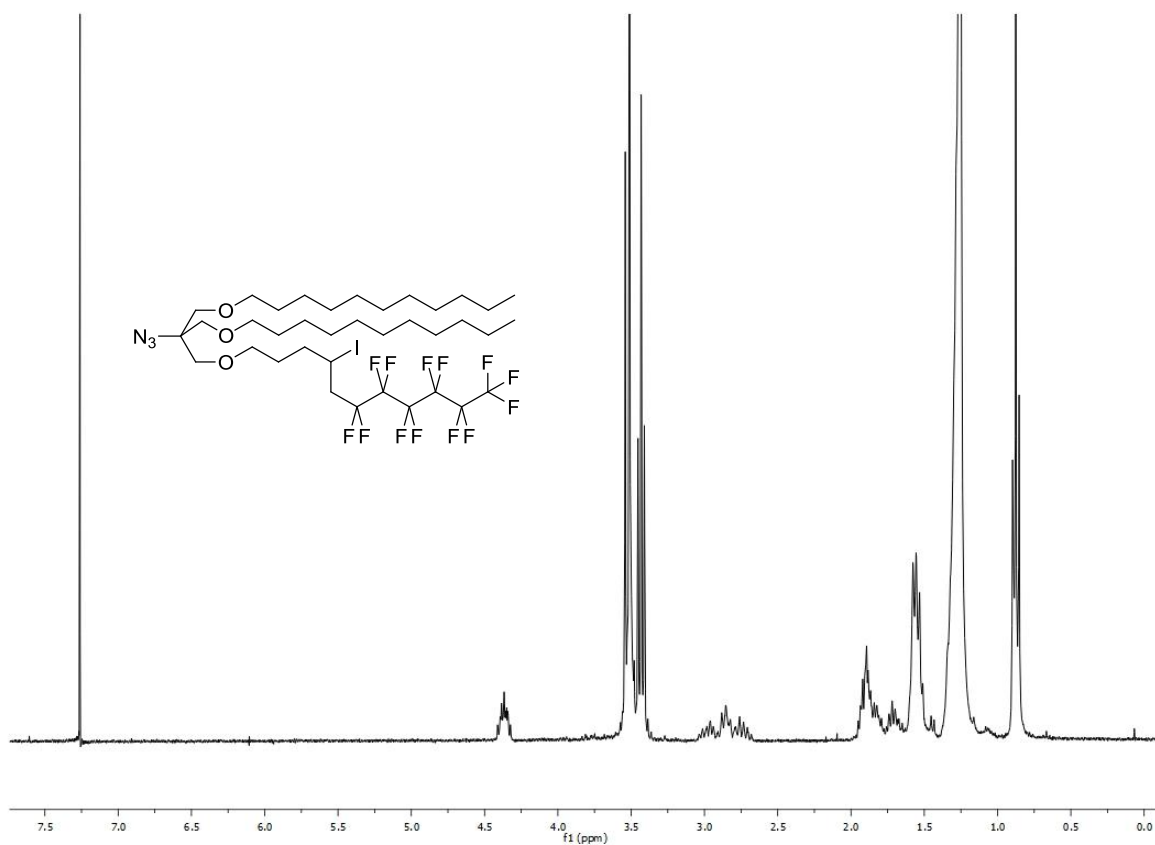
 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

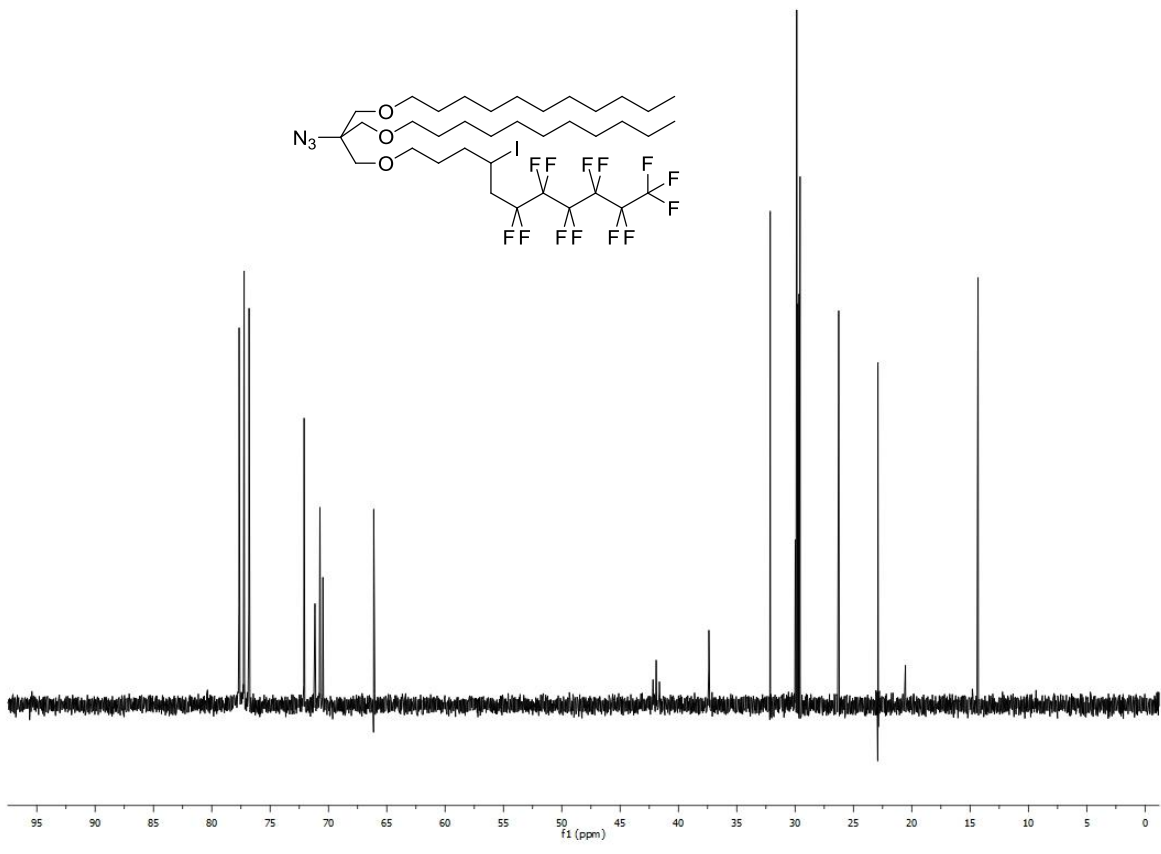


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

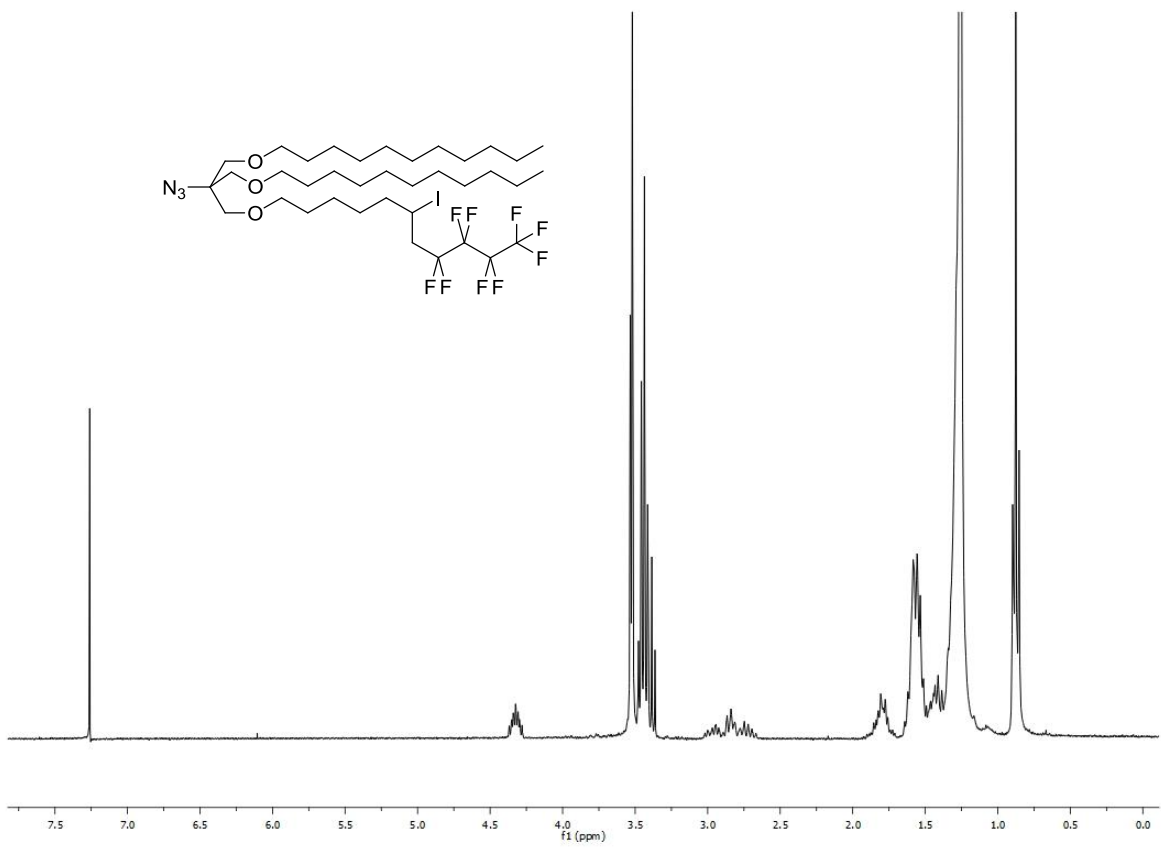


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

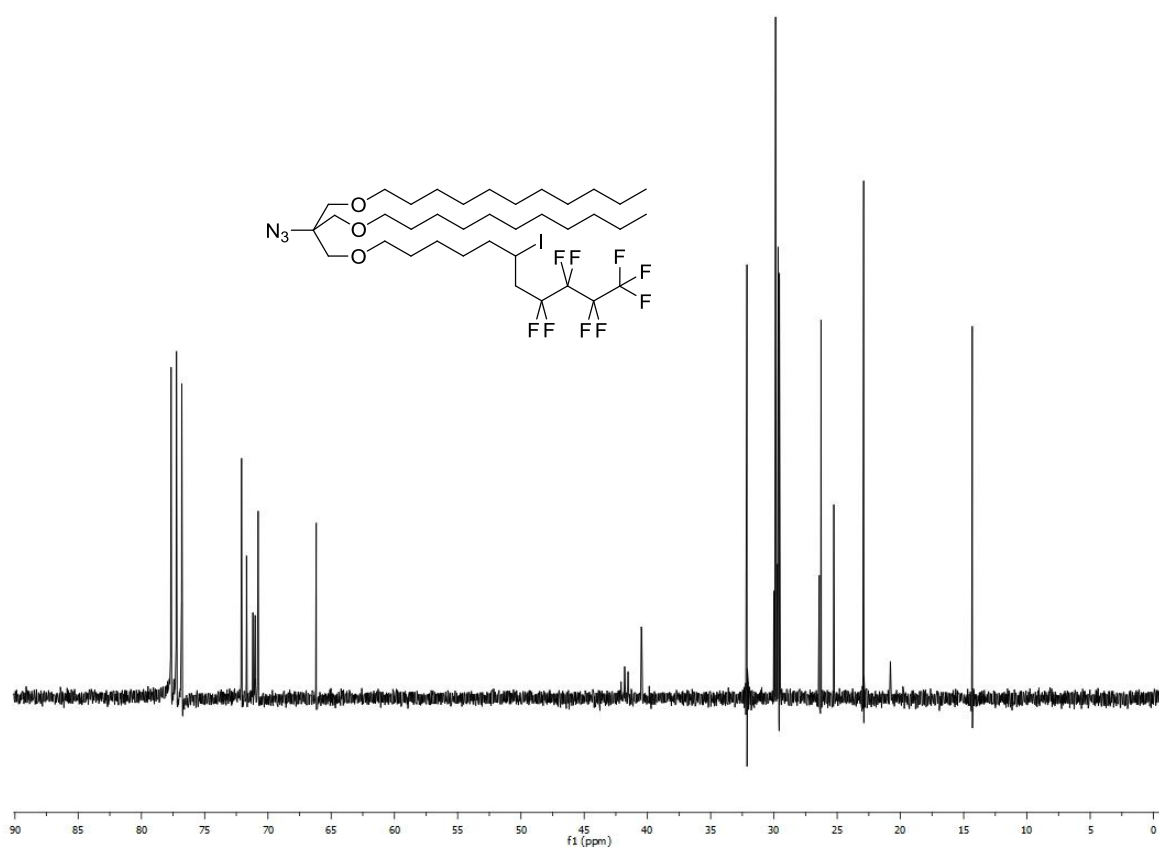
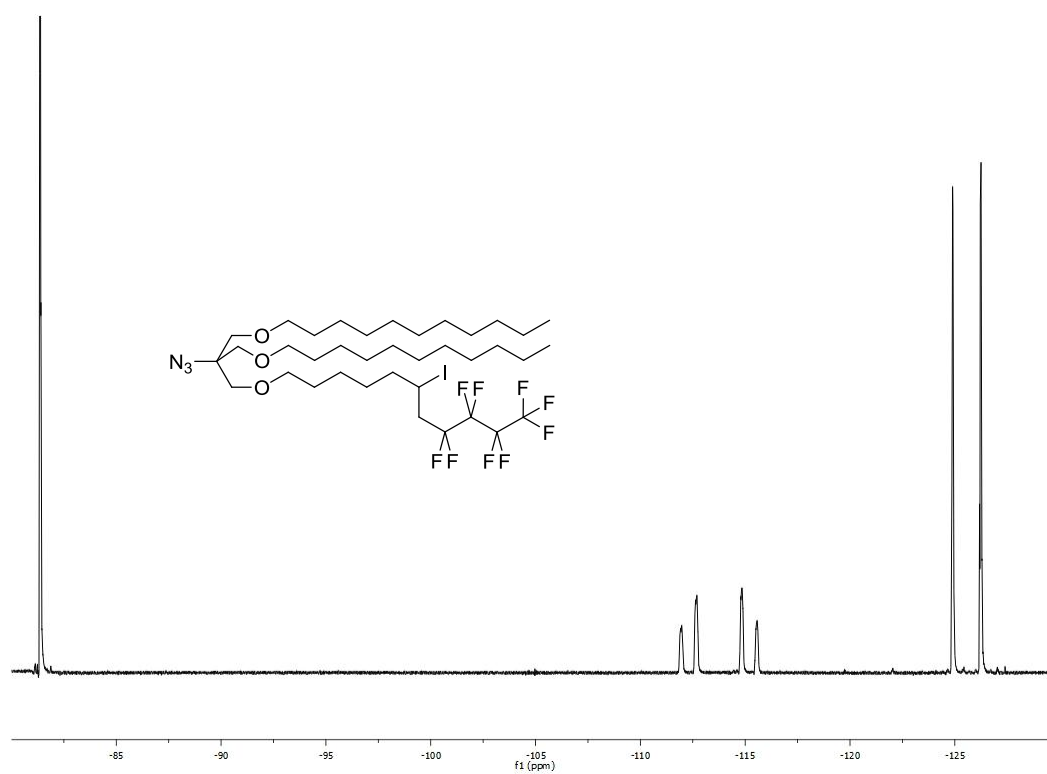
 ^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3) ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3)

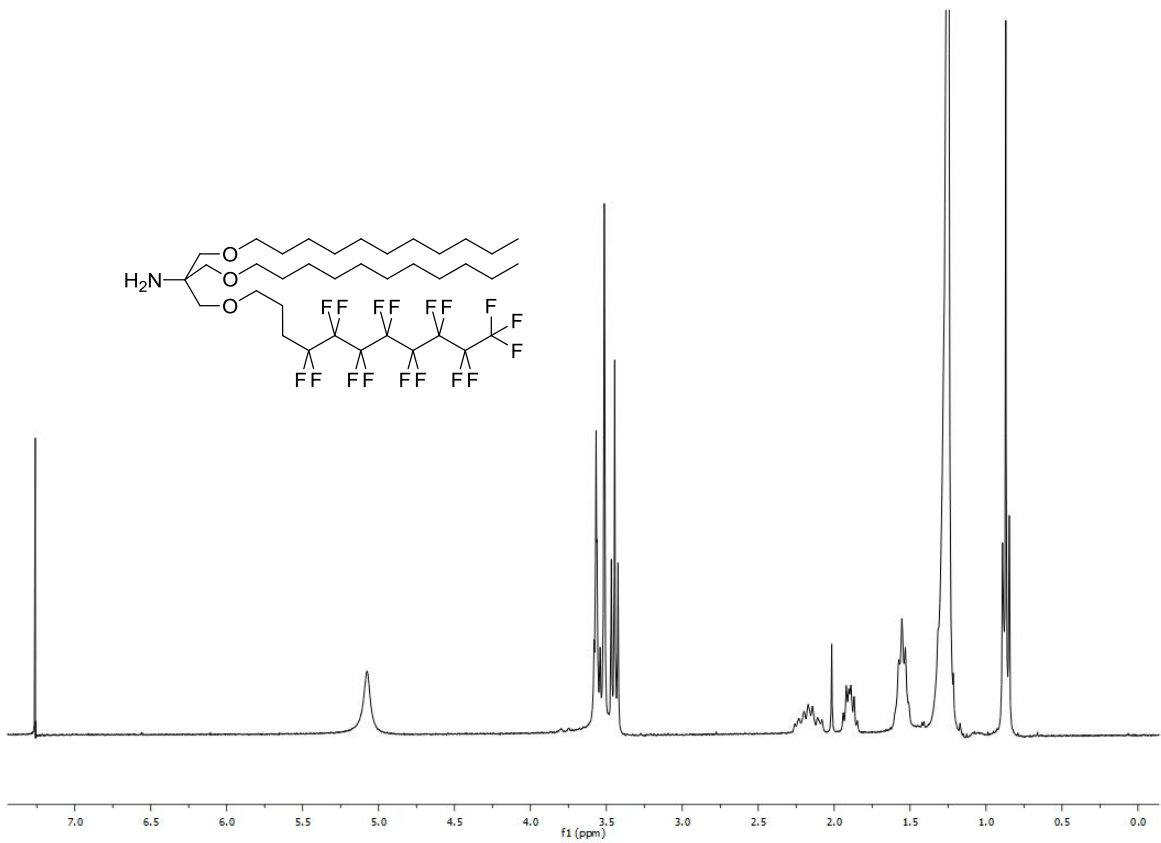


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

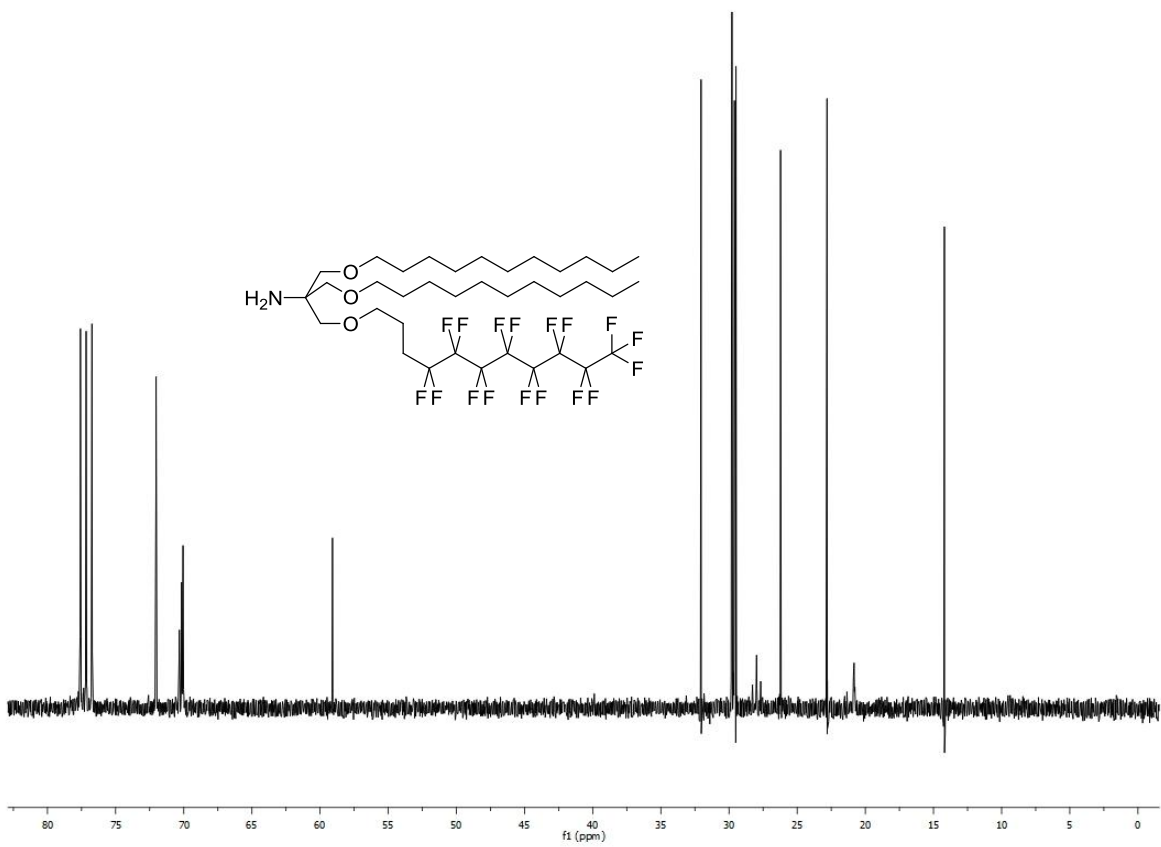


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

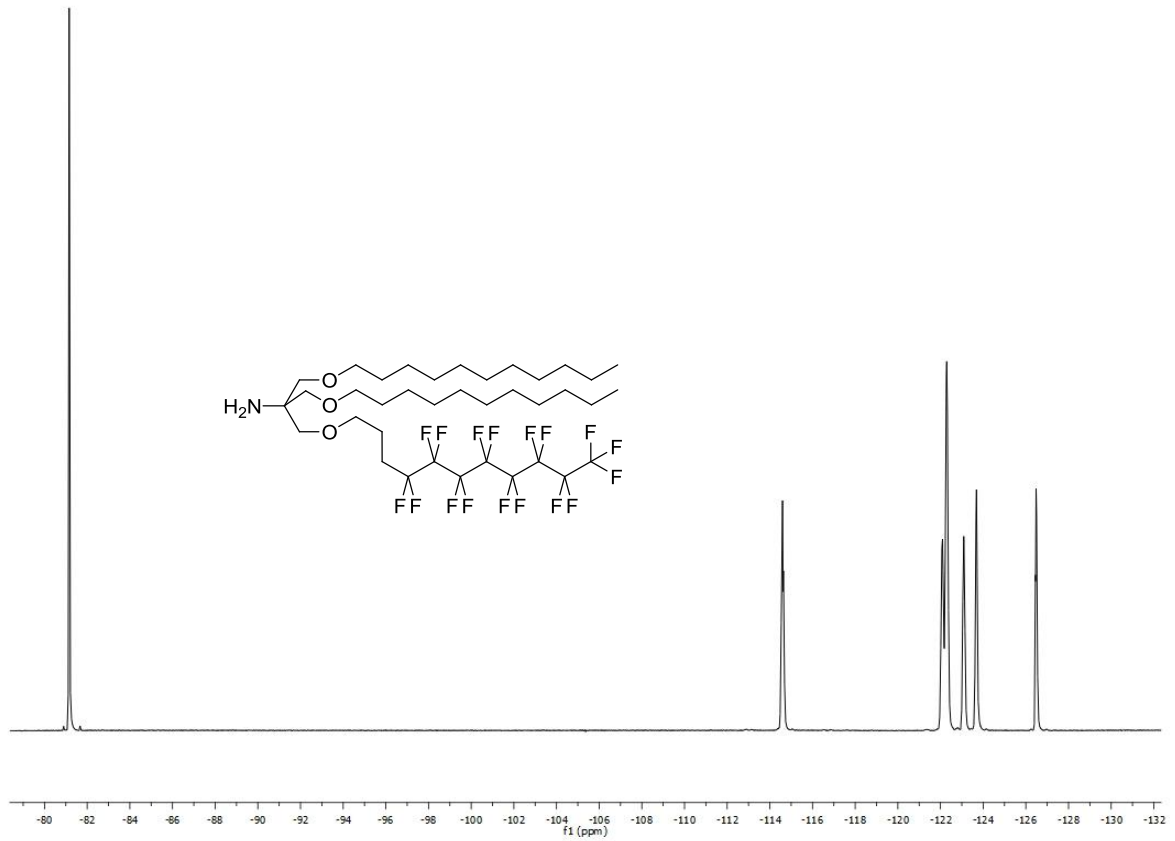
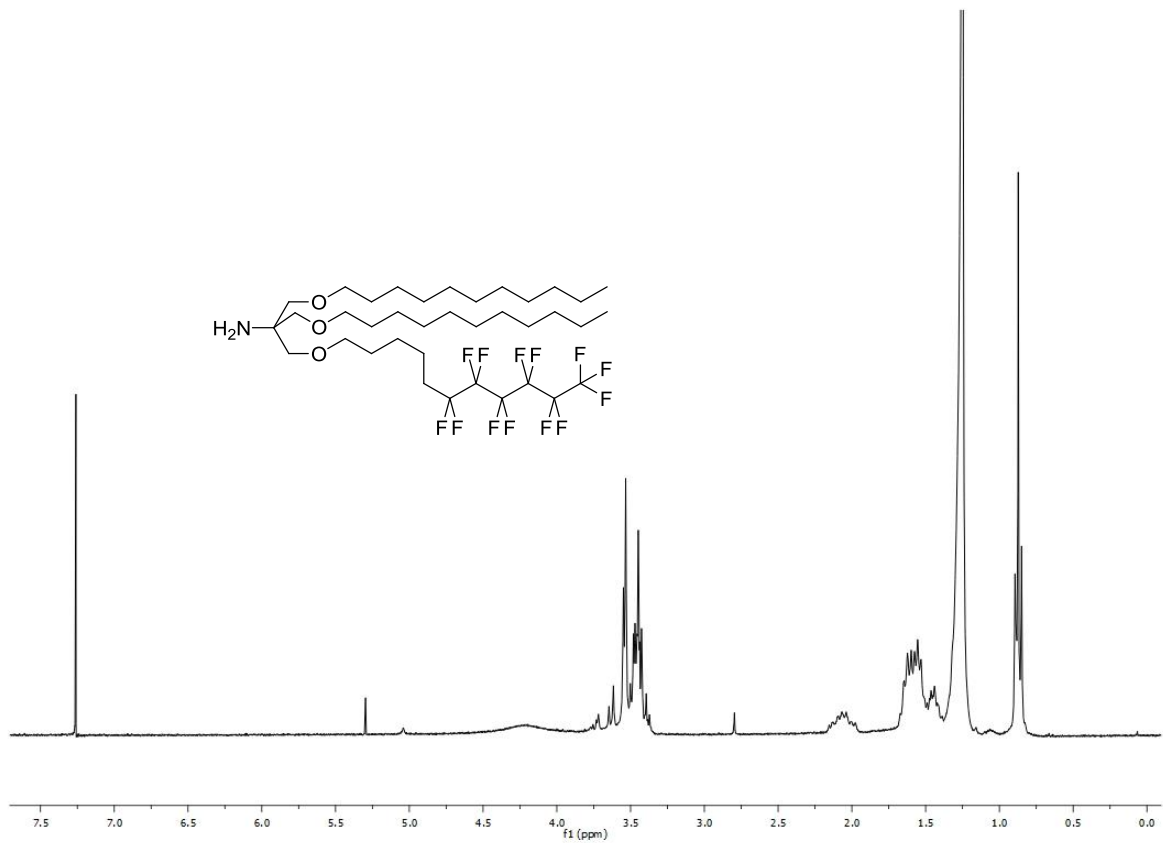
 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) $^{19}\text{F-NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3)

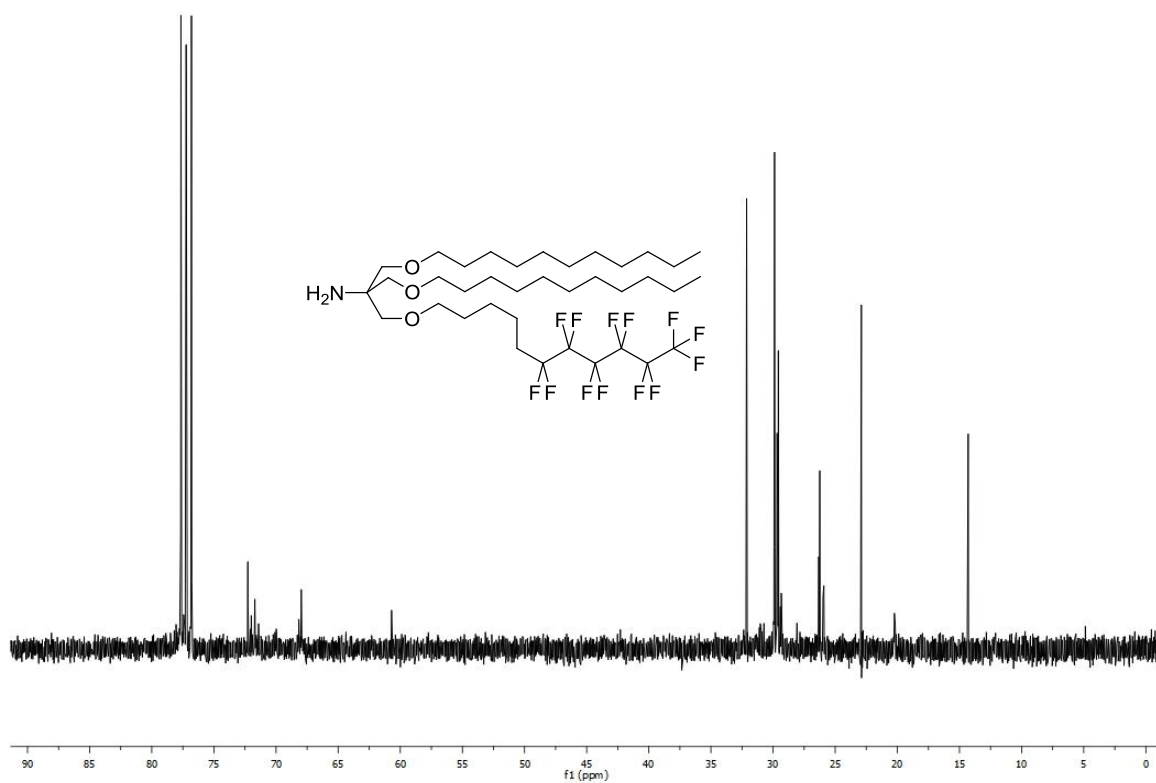


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

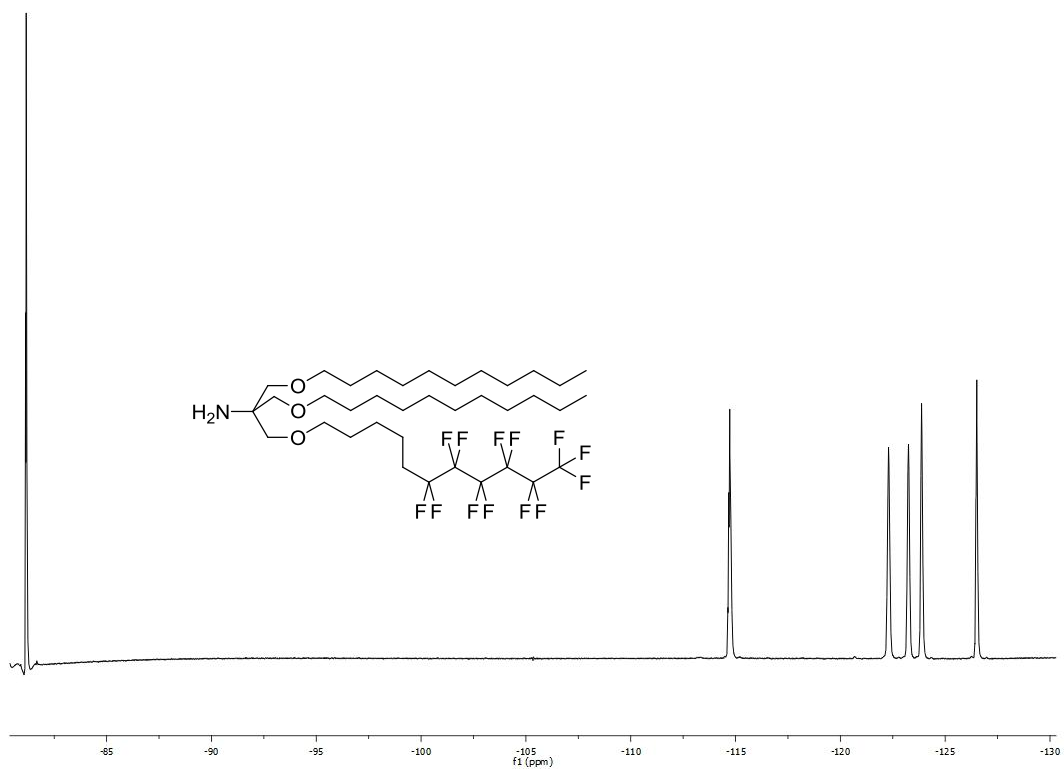


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

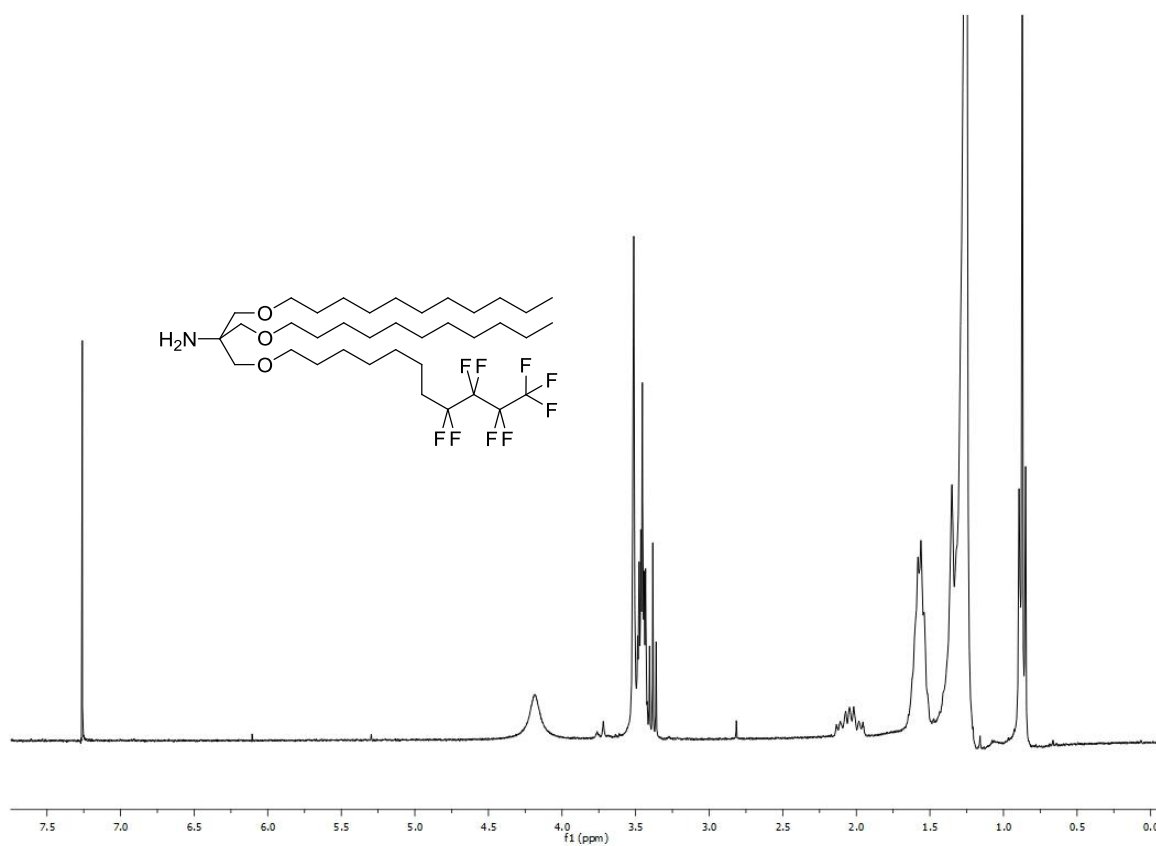
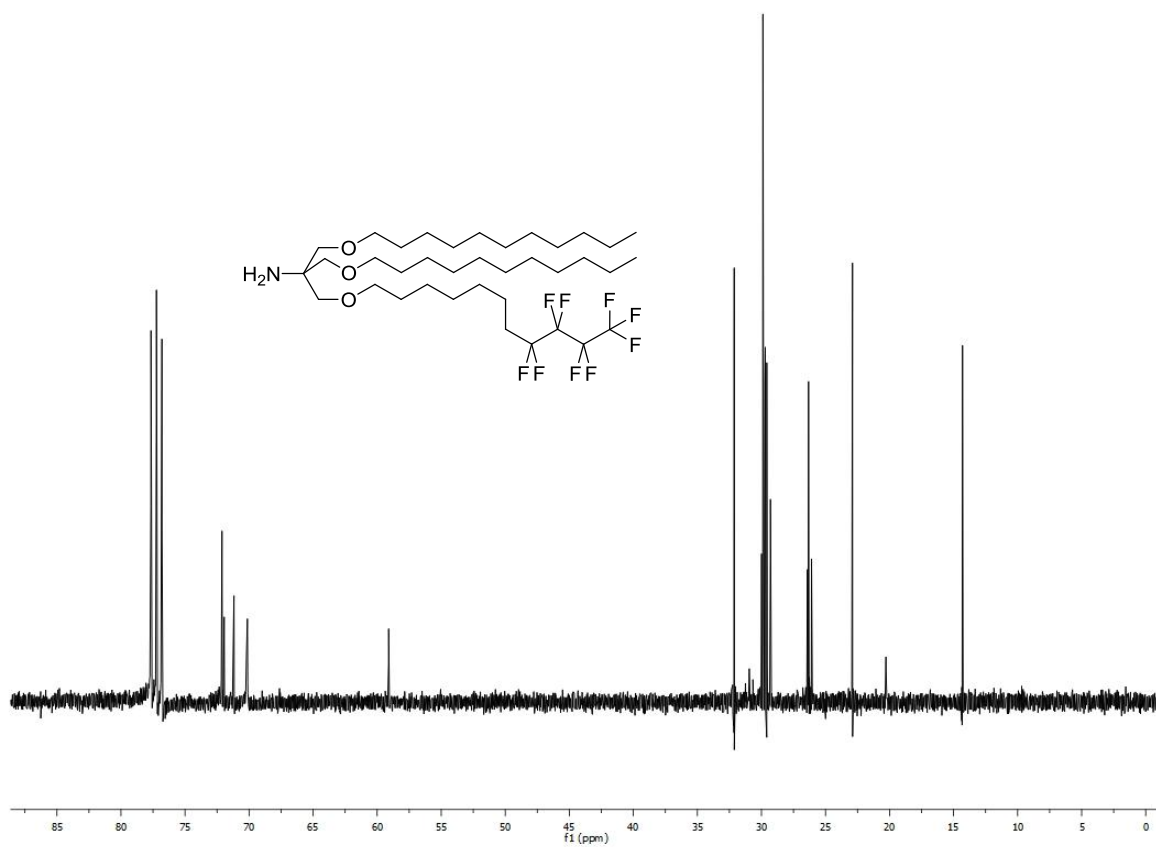
 ^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3) ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3)

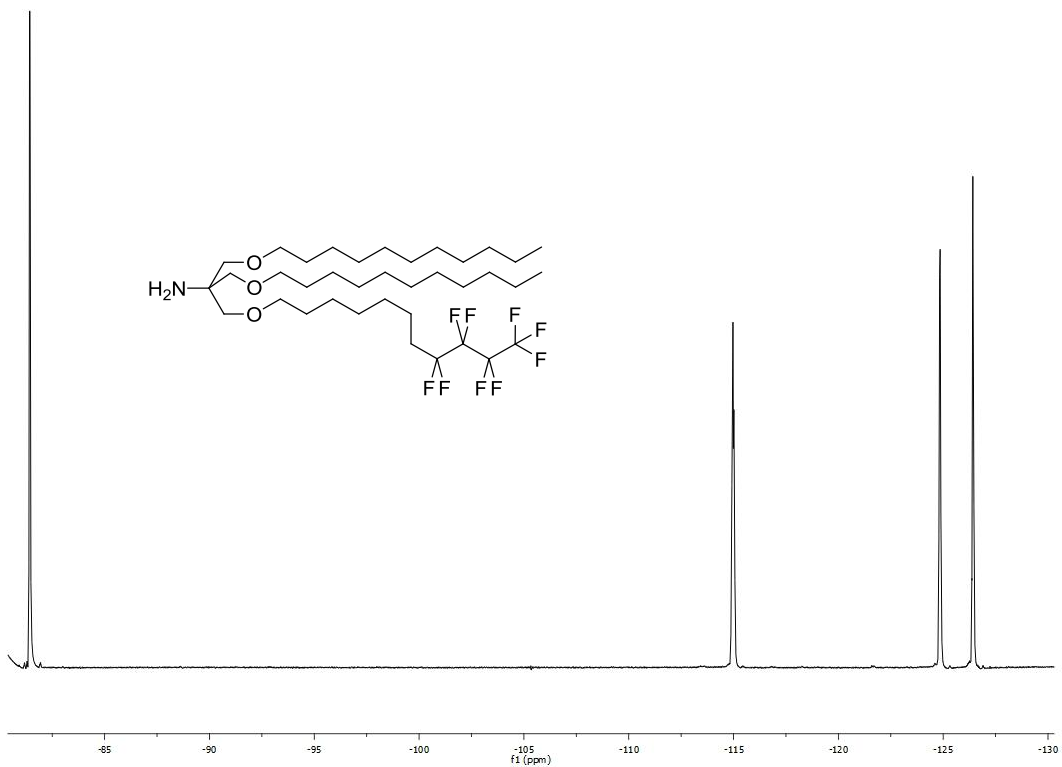


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

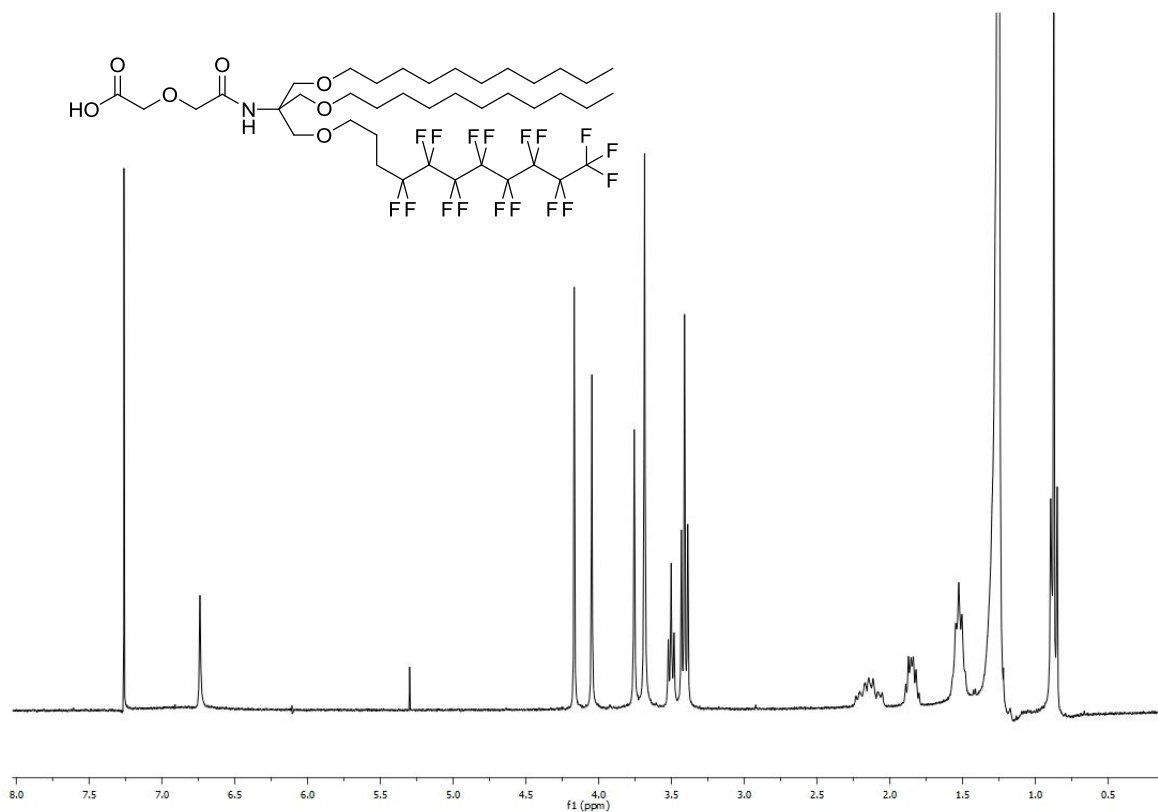


$^{19}\text{F-NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3)

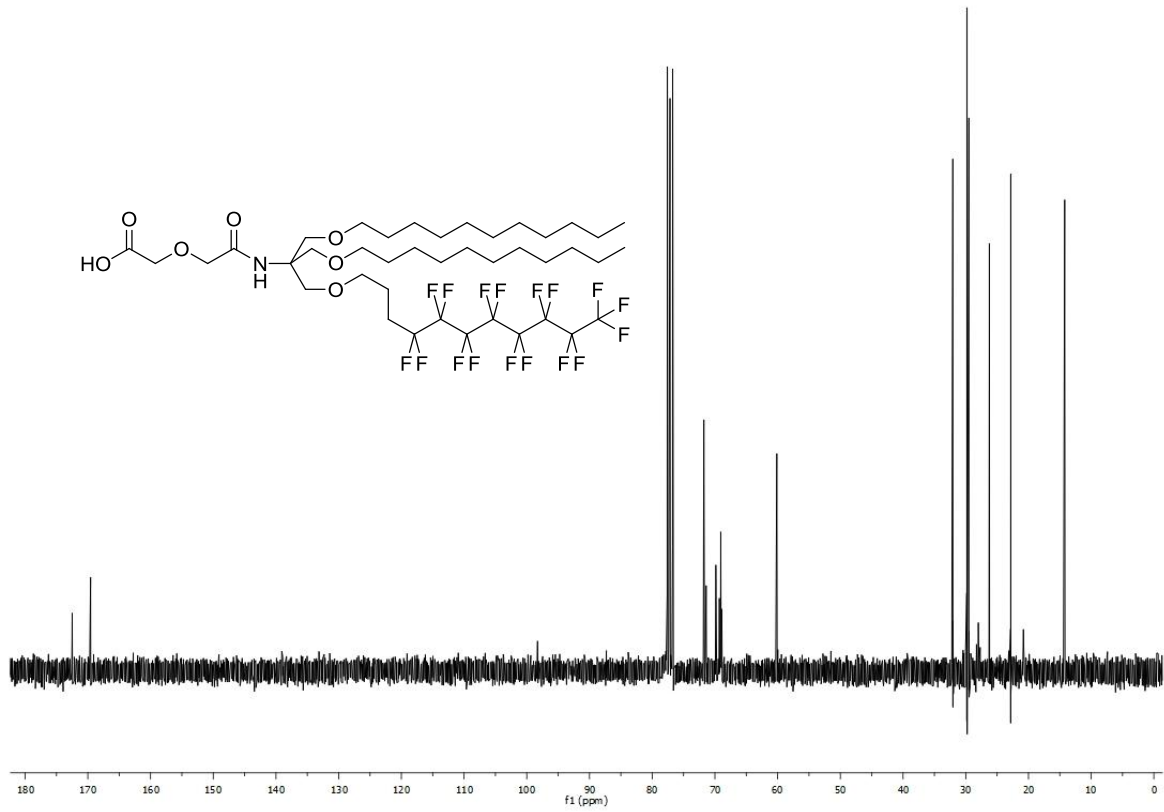
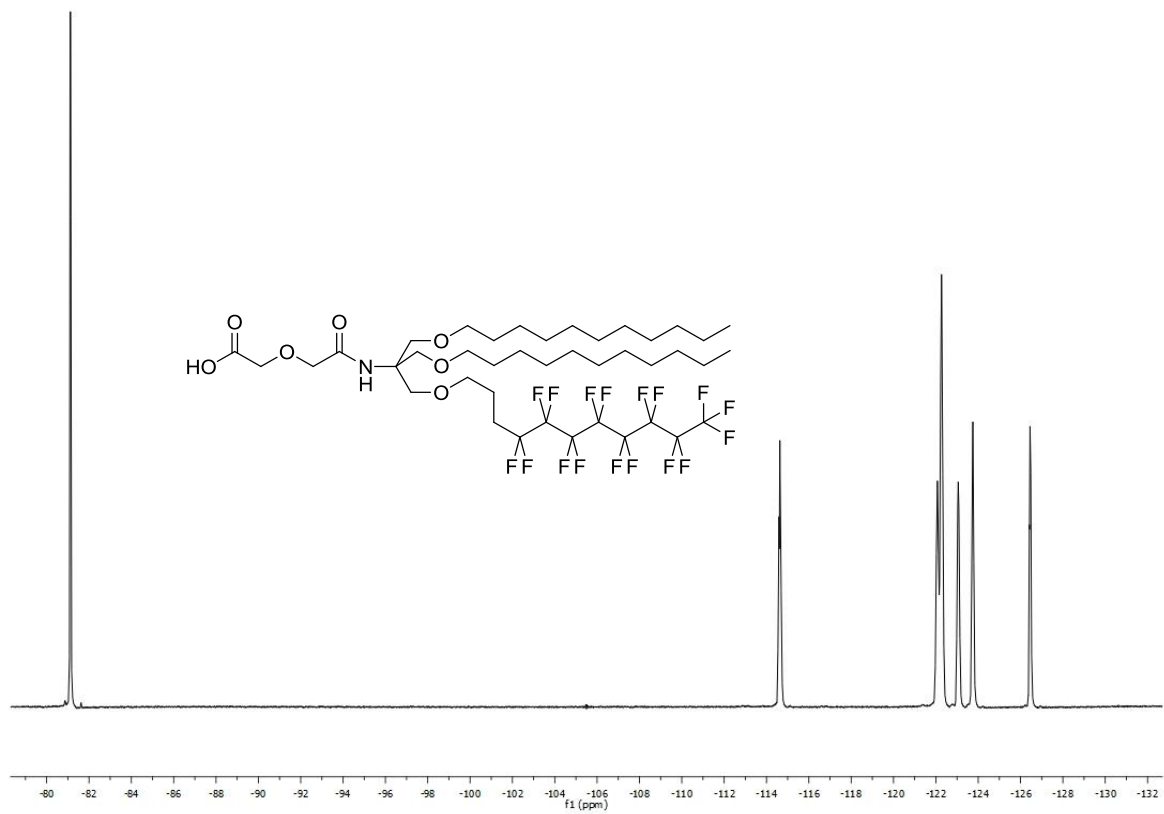
 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

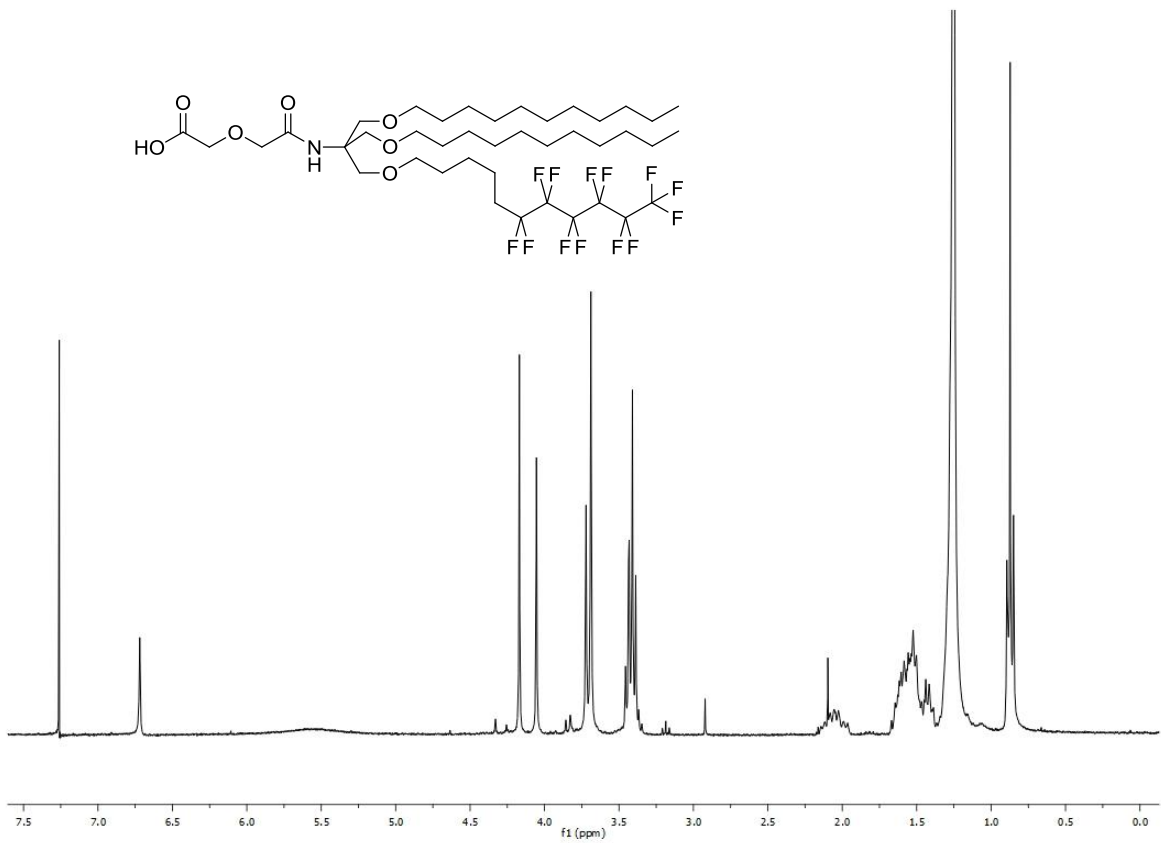


^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3)

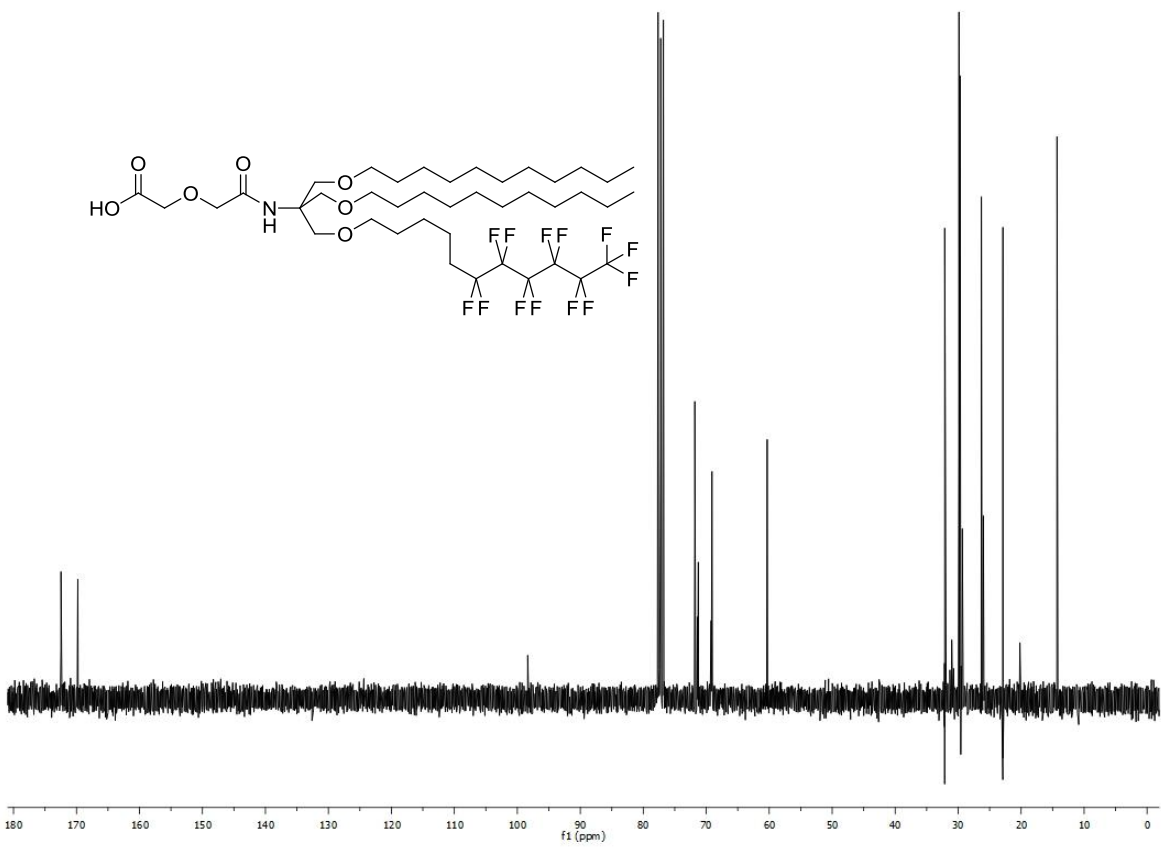


^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3)

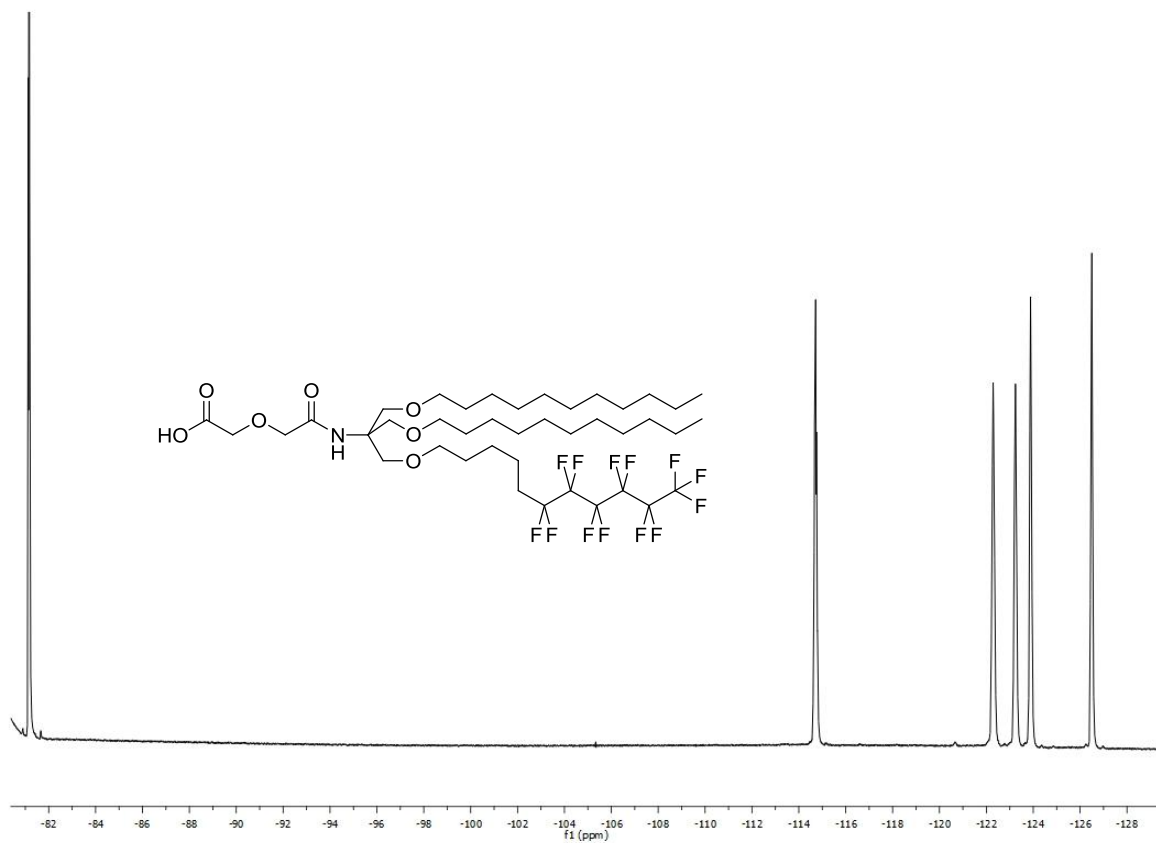
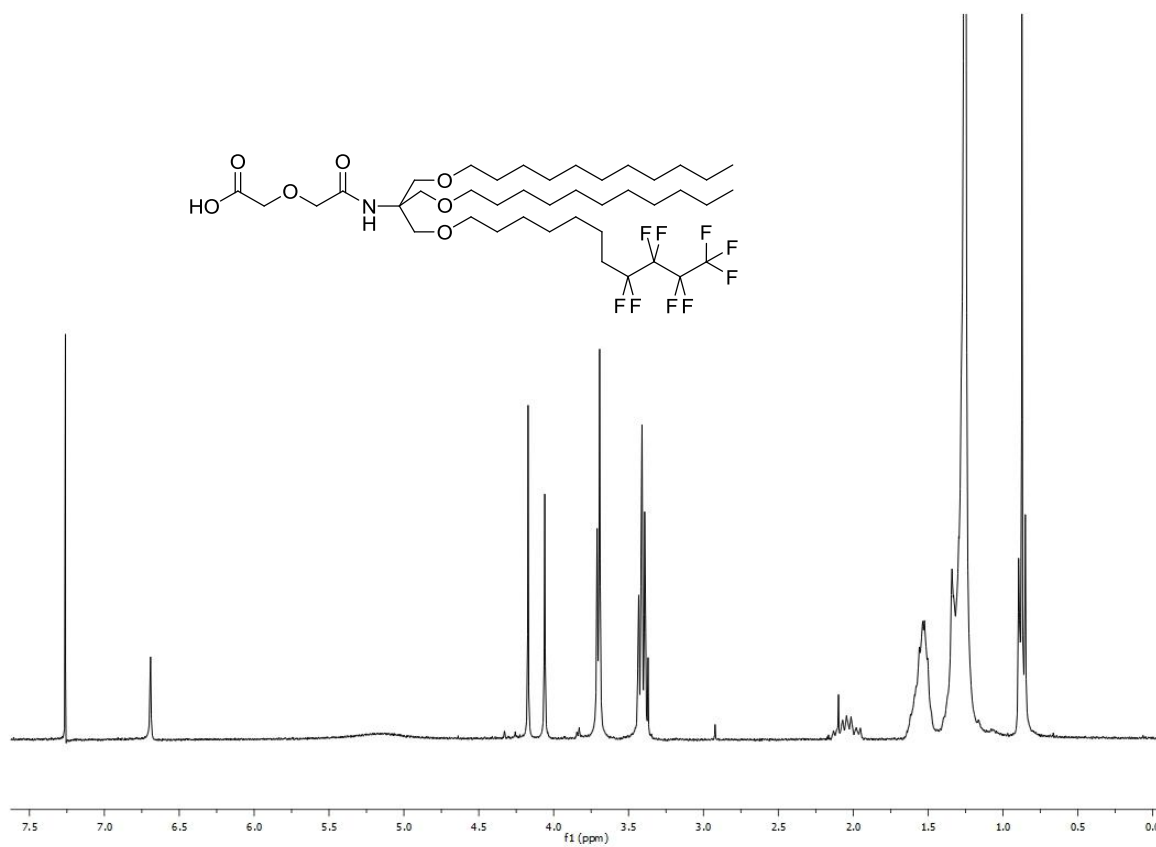
 ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) ^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3)

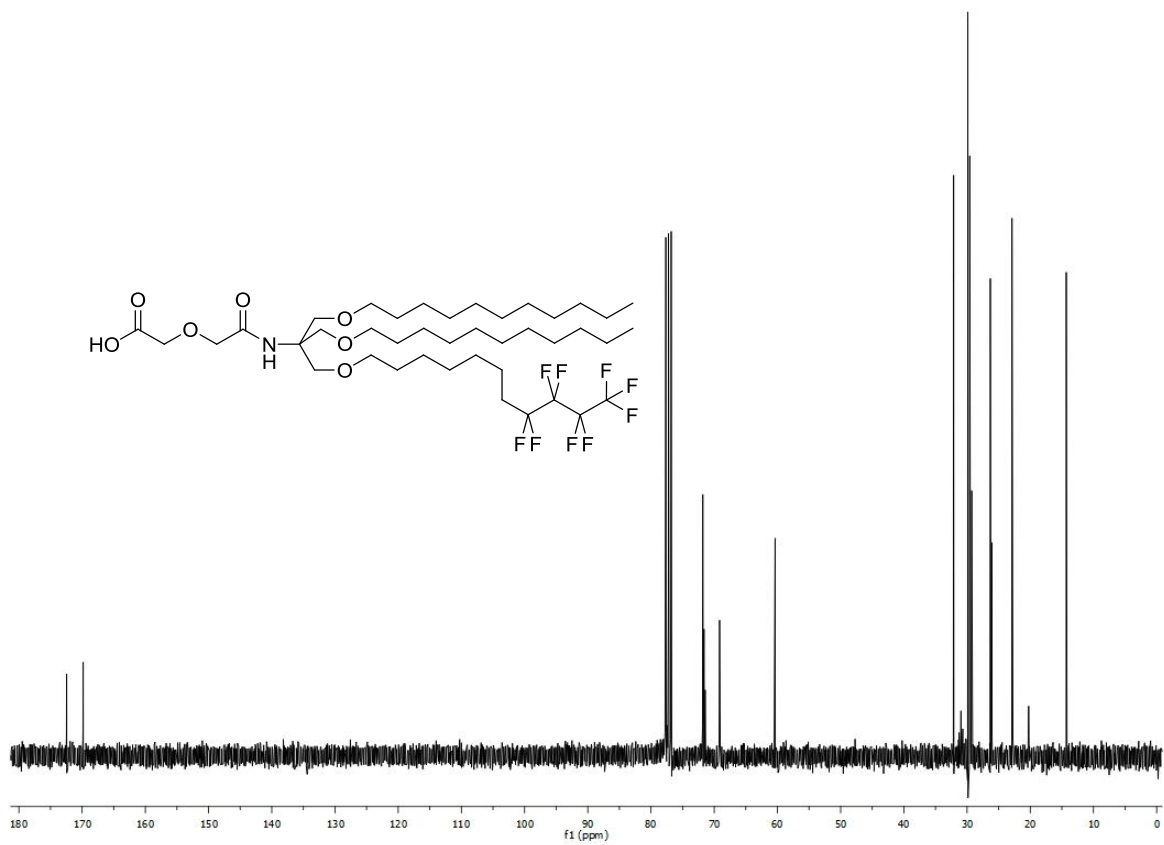


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)

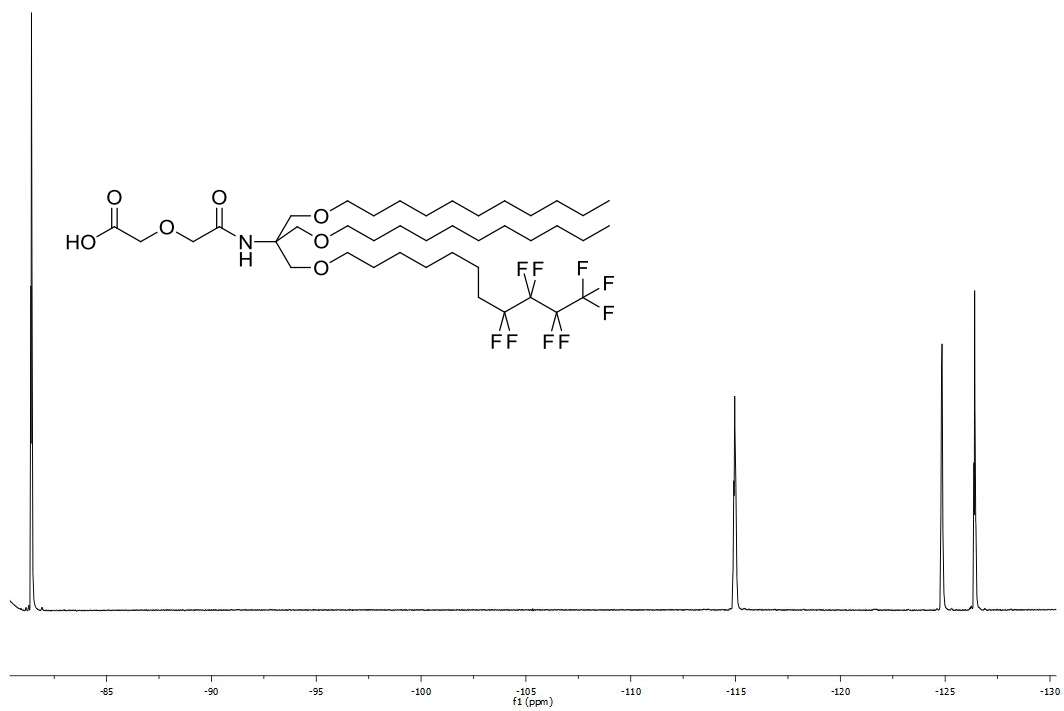


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

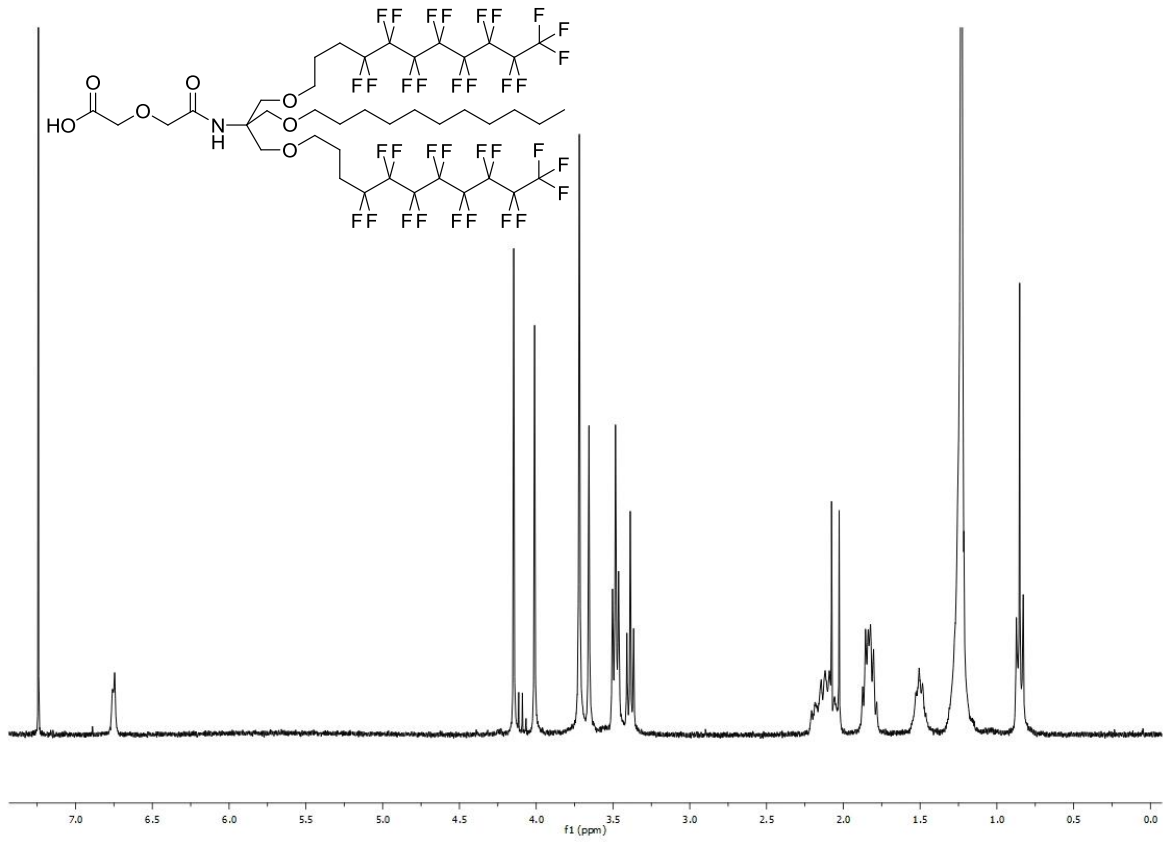
 ^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3) ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3)



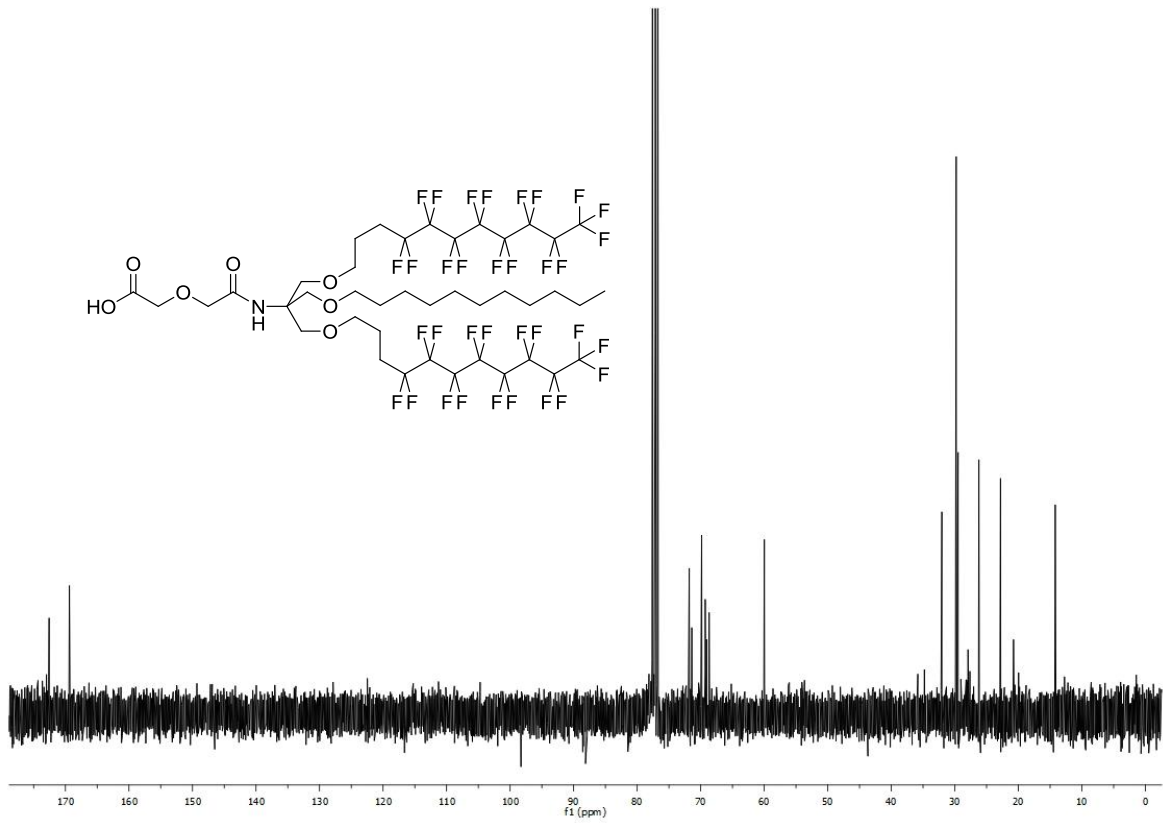
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)



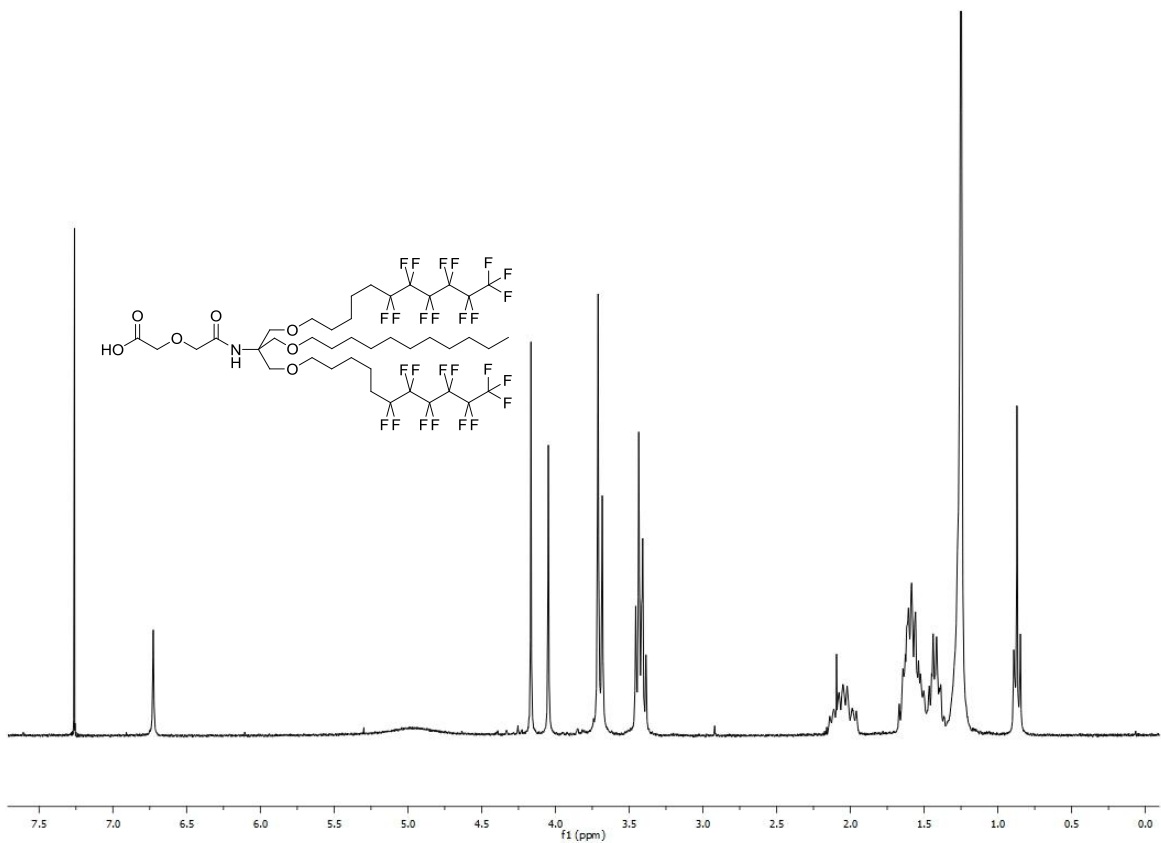
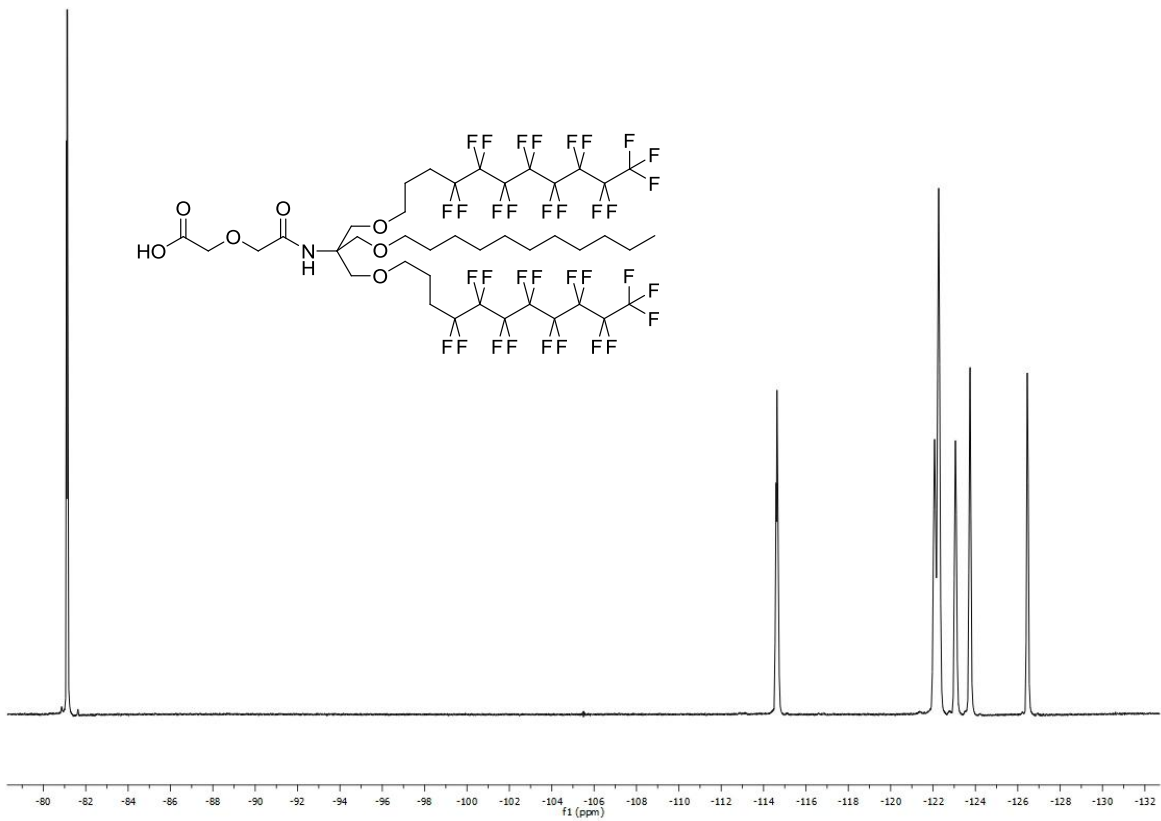
¹⁹F-NMR (376.5 MHz, CDCl₃)

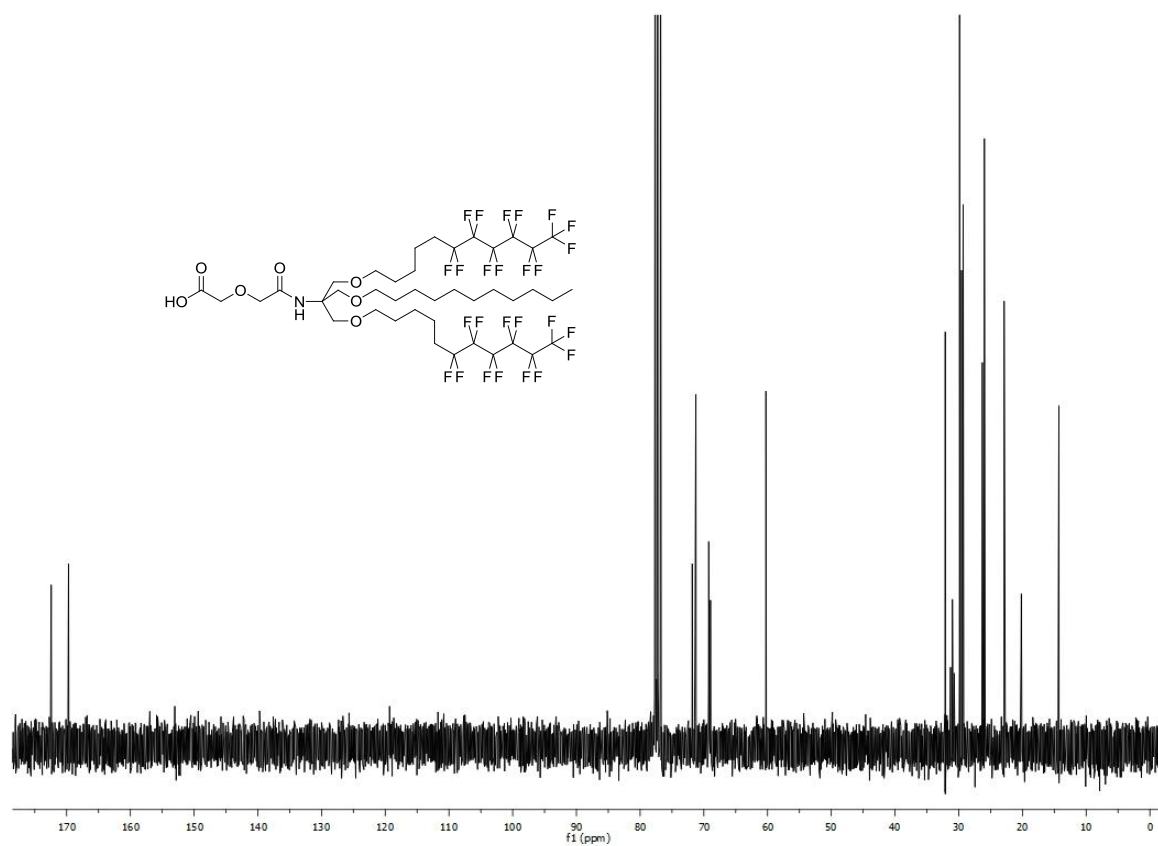
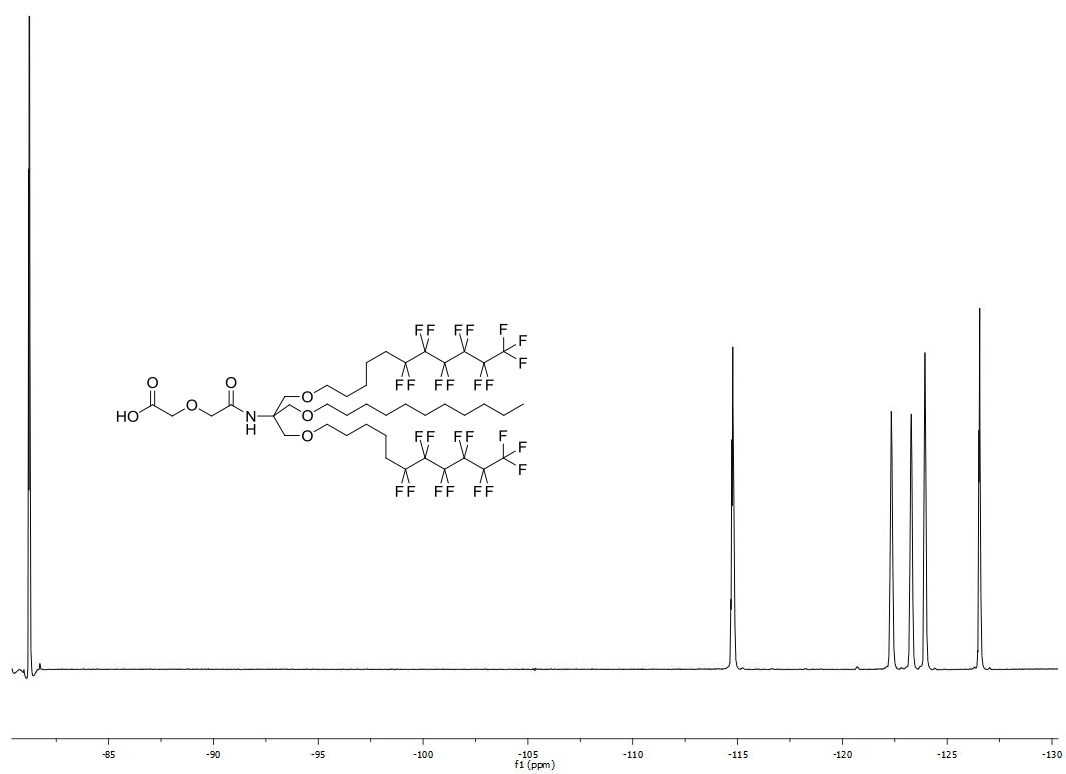


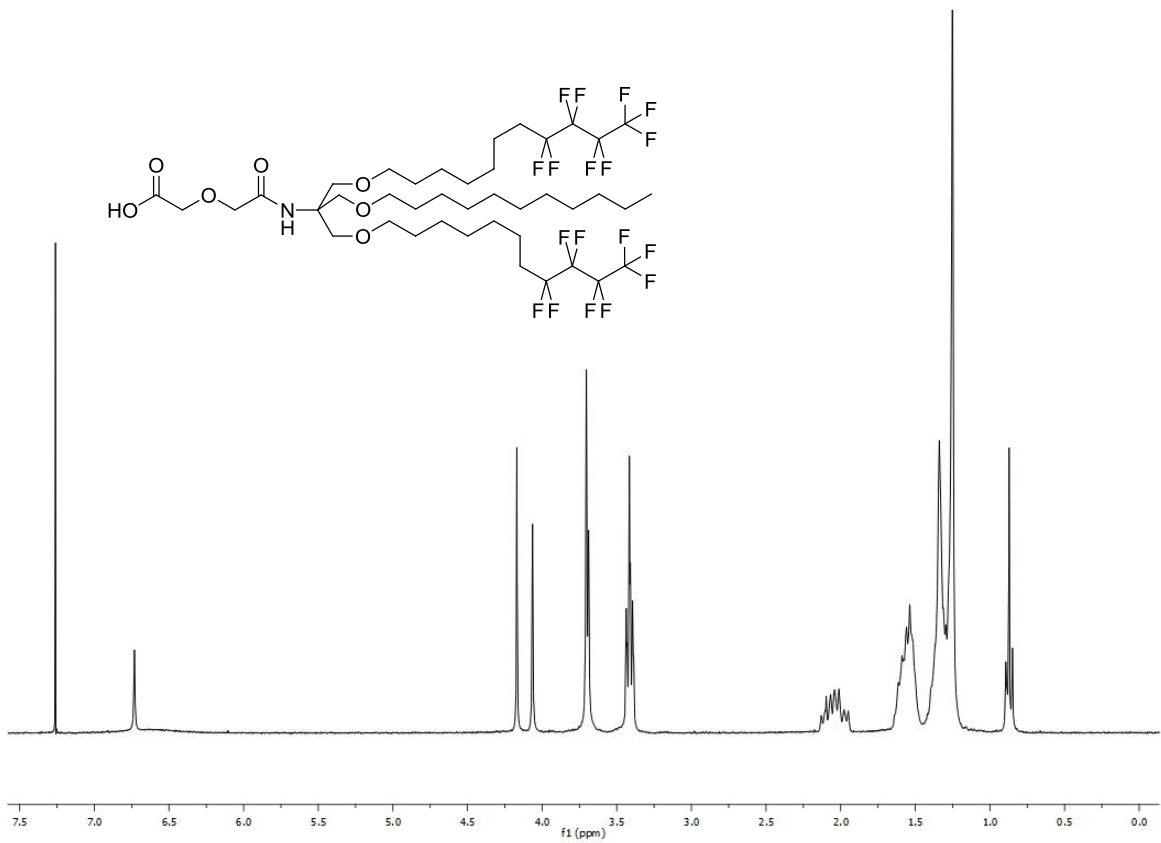
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)



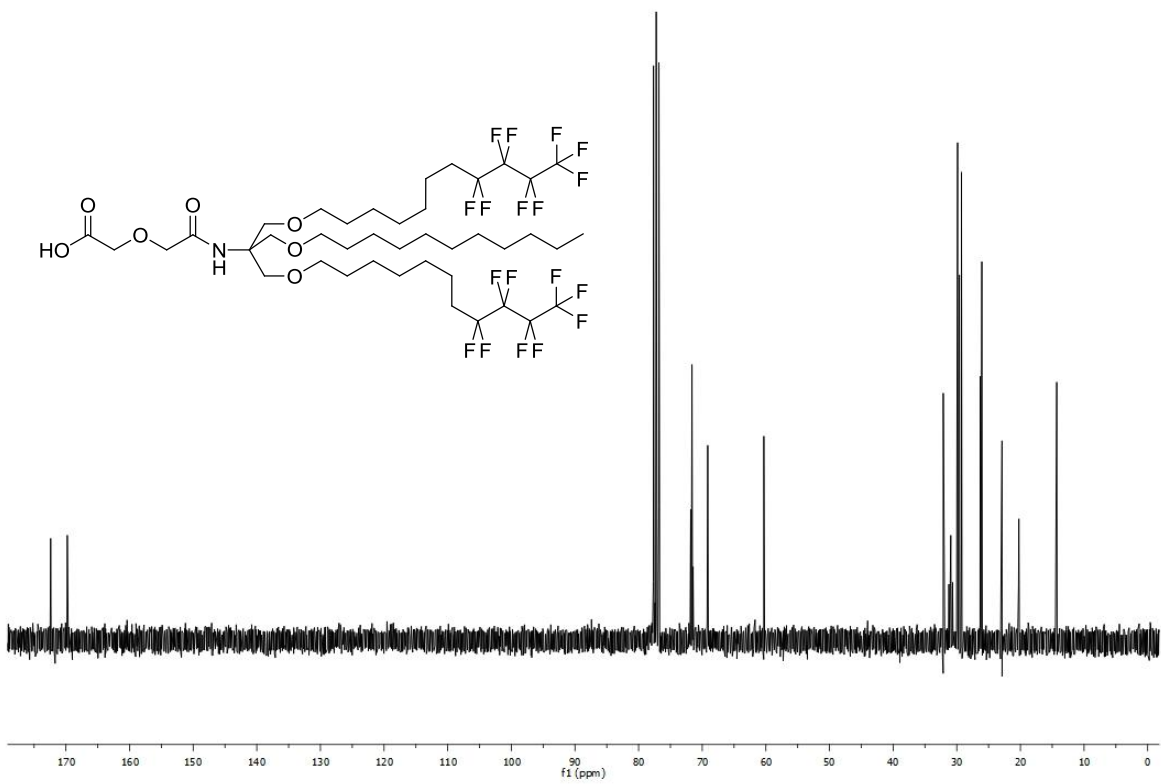
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)



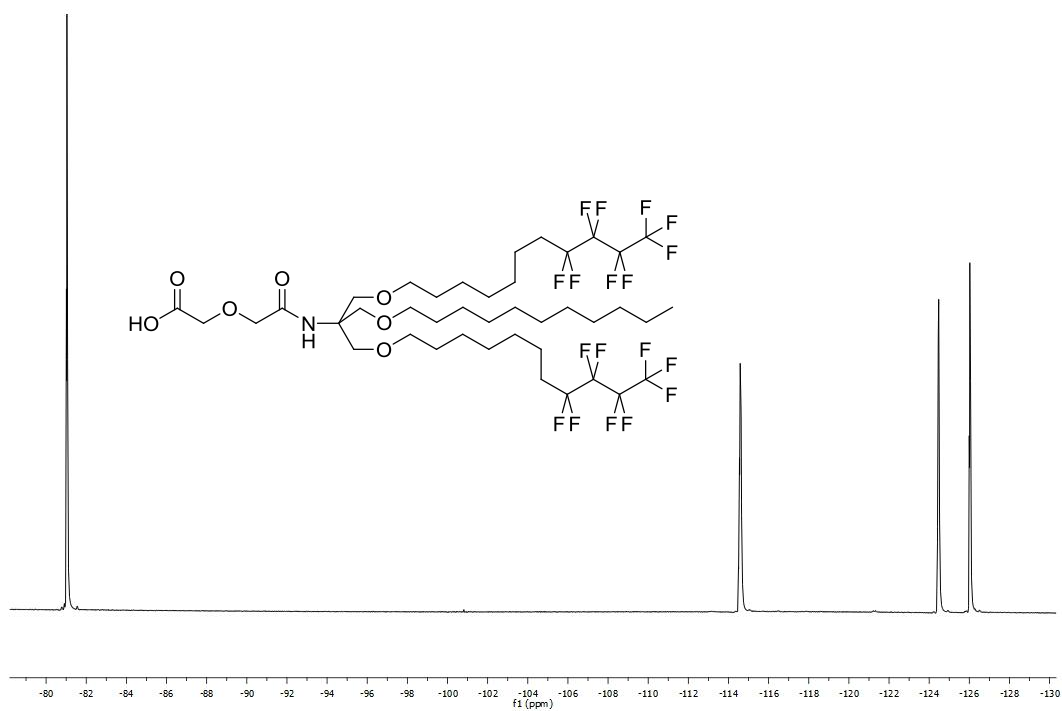
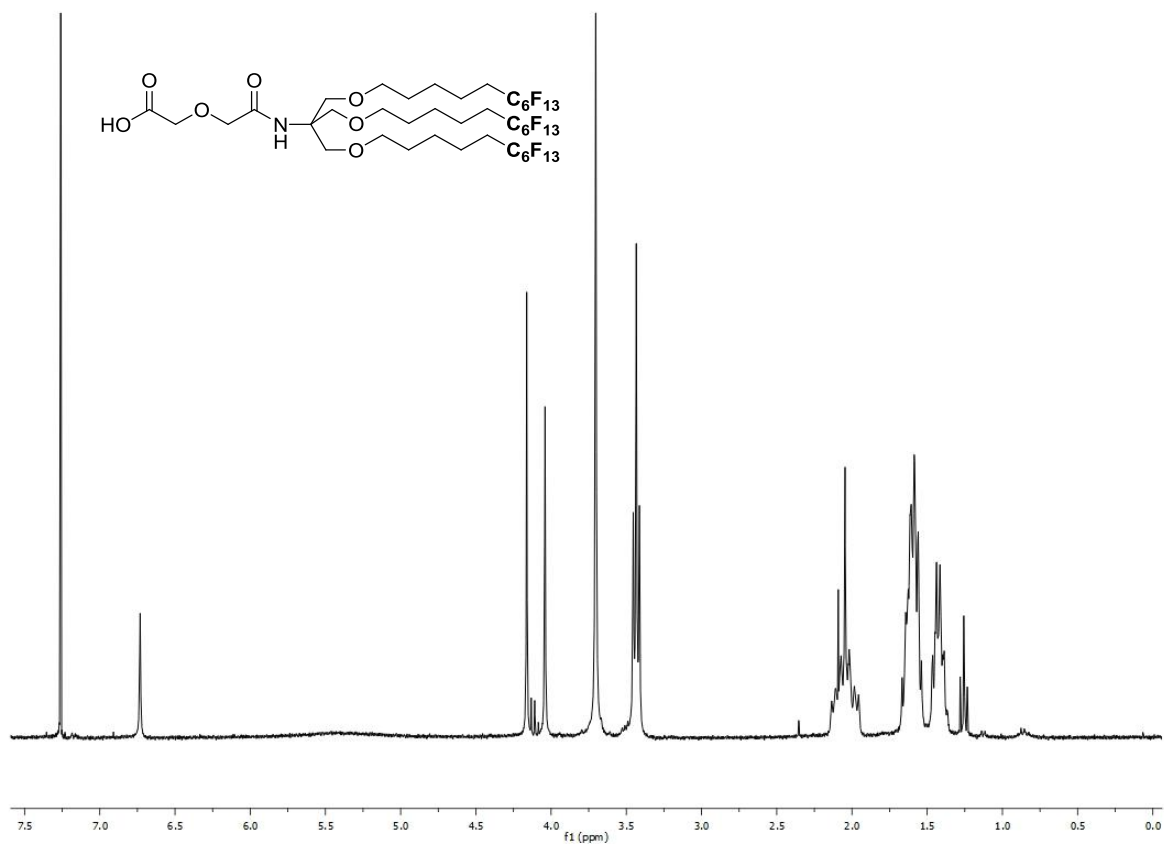
 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) $^{19}\text{F-NMR}$ (376.5 MHz, CDCl_3)

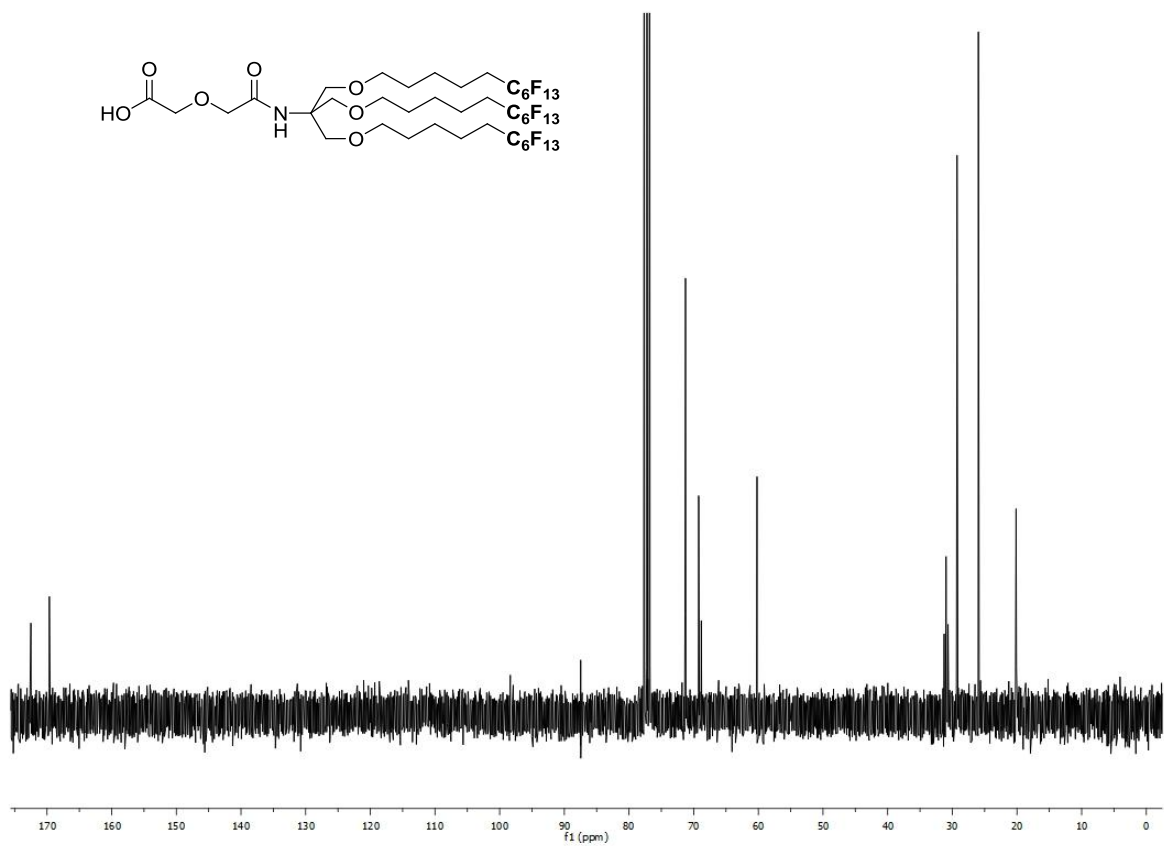


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3)



$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

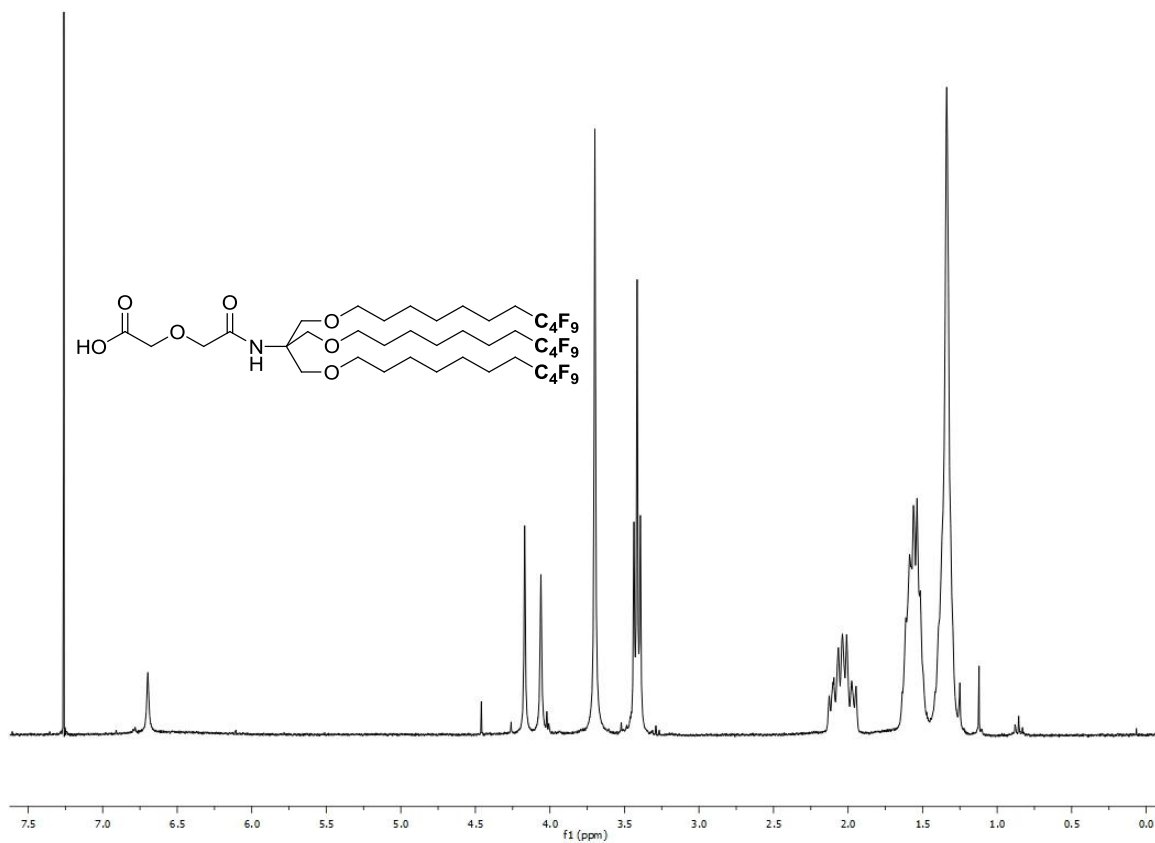
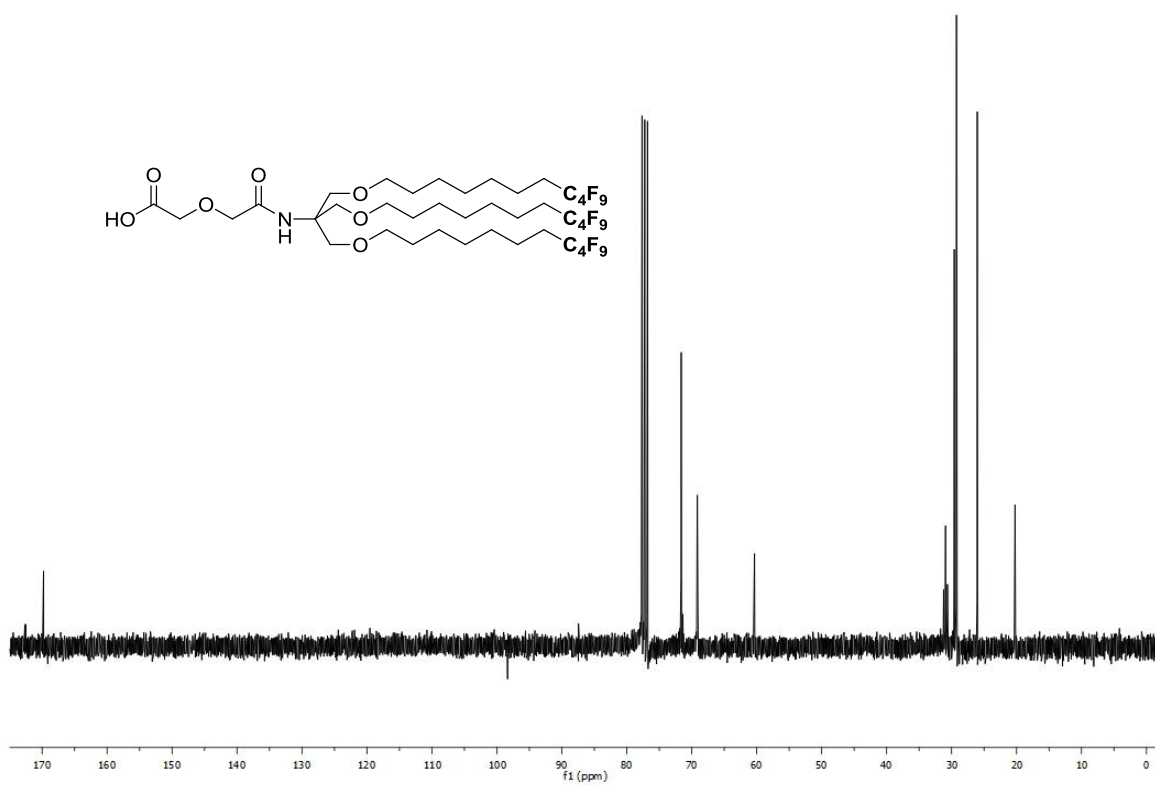
 ^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3) ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3)

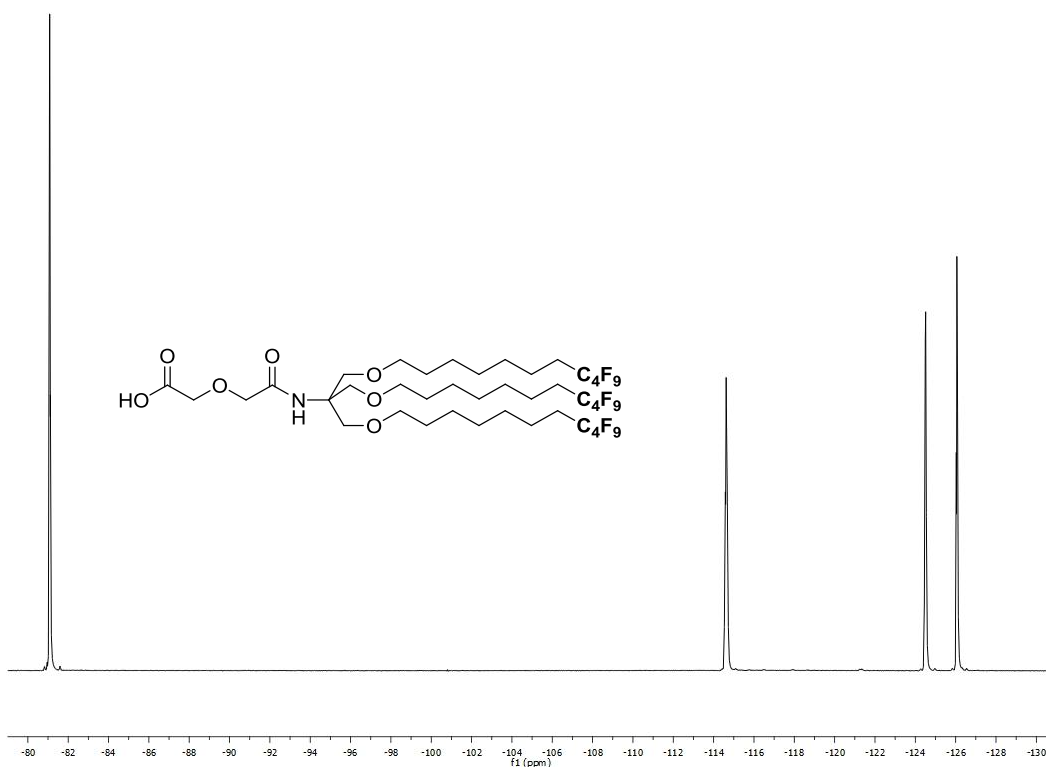


^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3)

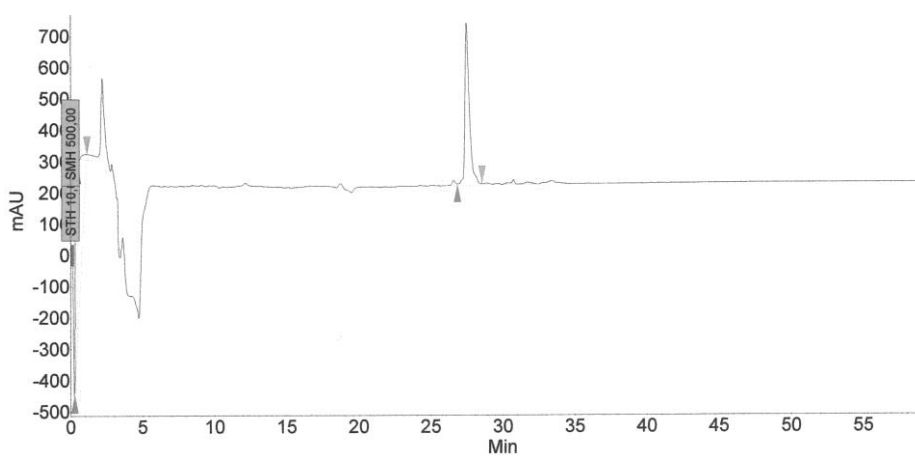
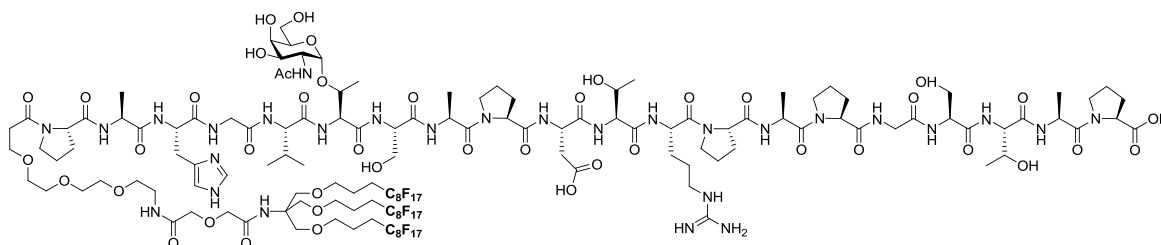


^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3)

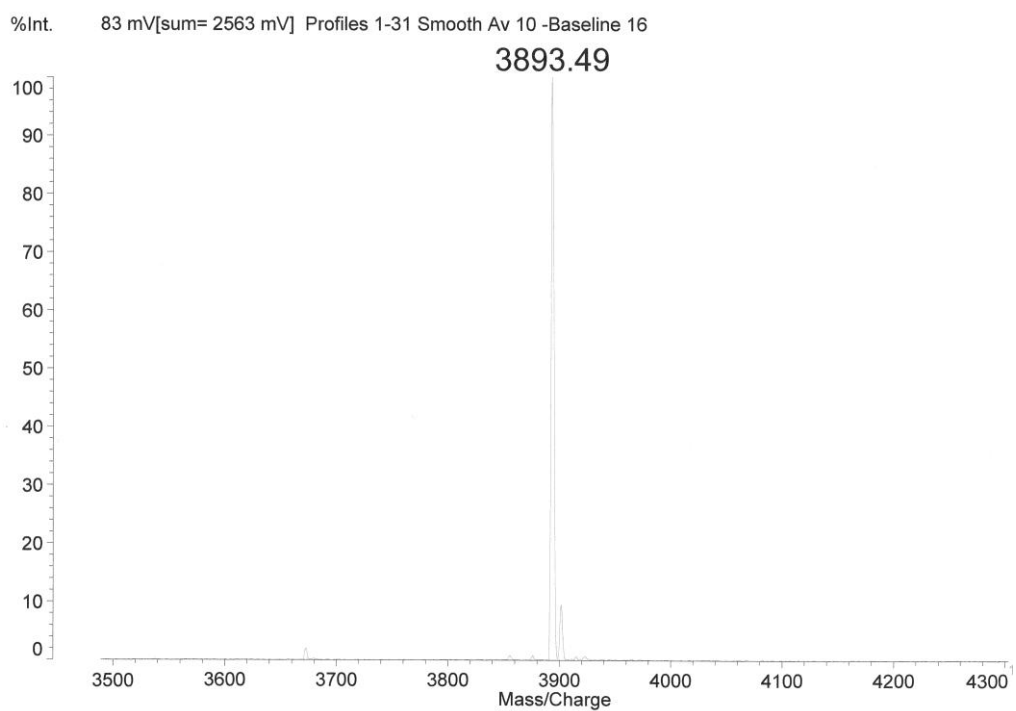
 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)



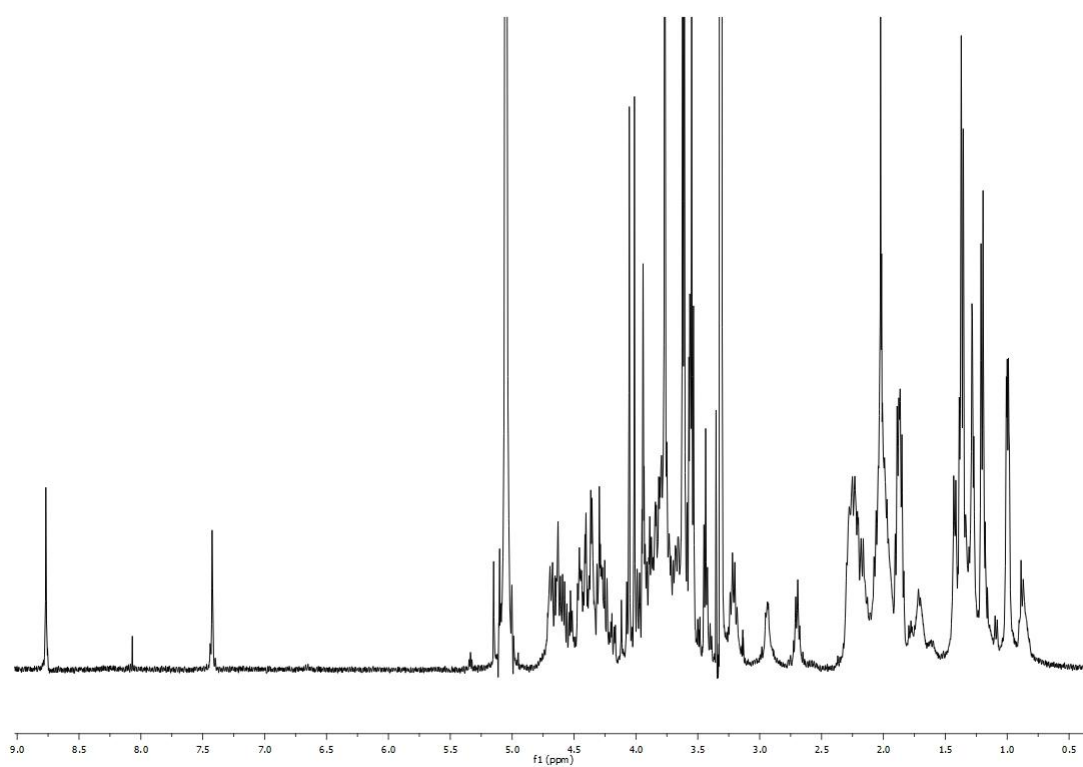
^{19}F -NMR (376.5 MHz, CDCl_3)



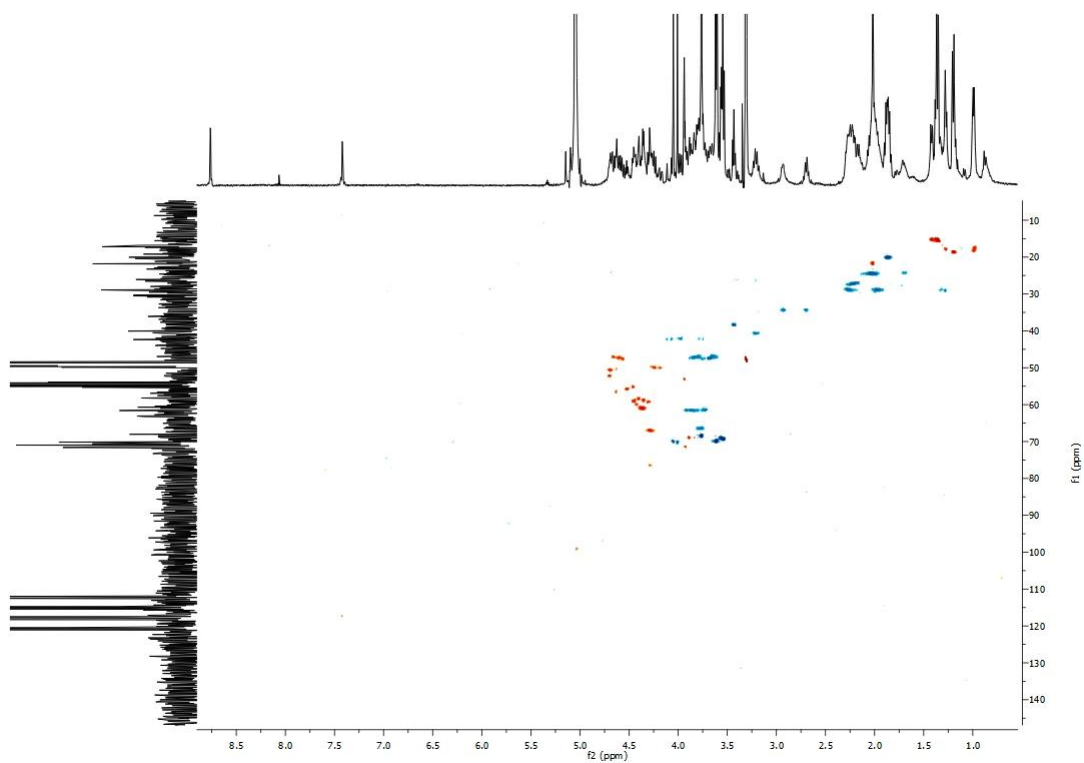
RP-HPLC ($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} + 0.1\% \text{TFA}$, 80:20 \rightarrow 100:0, 30 min, $R_t = 27.5$ min, $\lambda = 212$ nm)



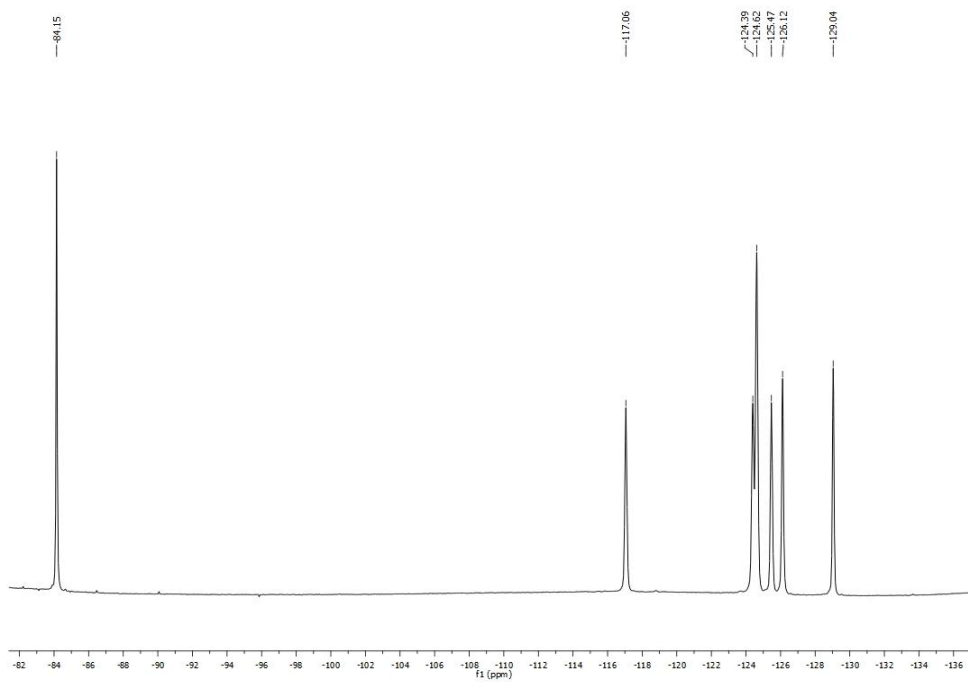
MALDI-TOF-MS (dhb, positive, m/z)



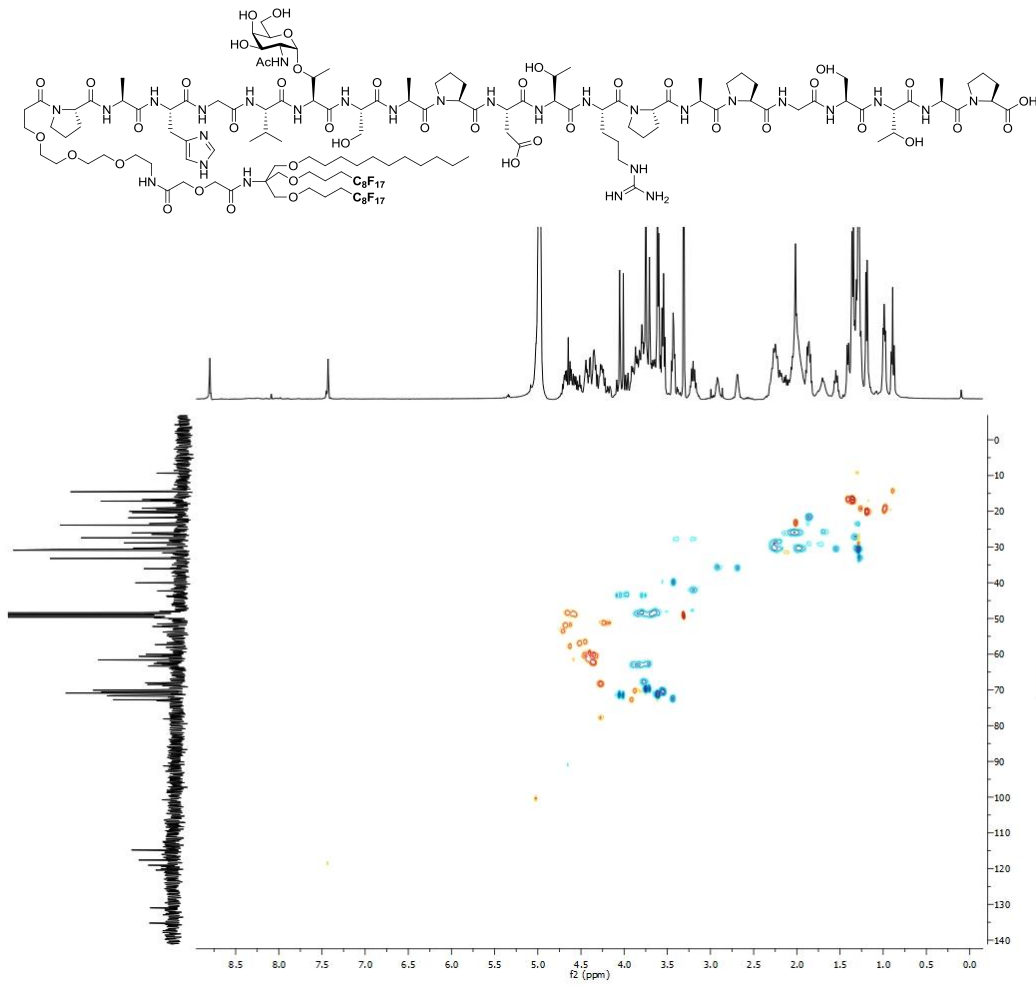
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD/TFA-d₁(1%))



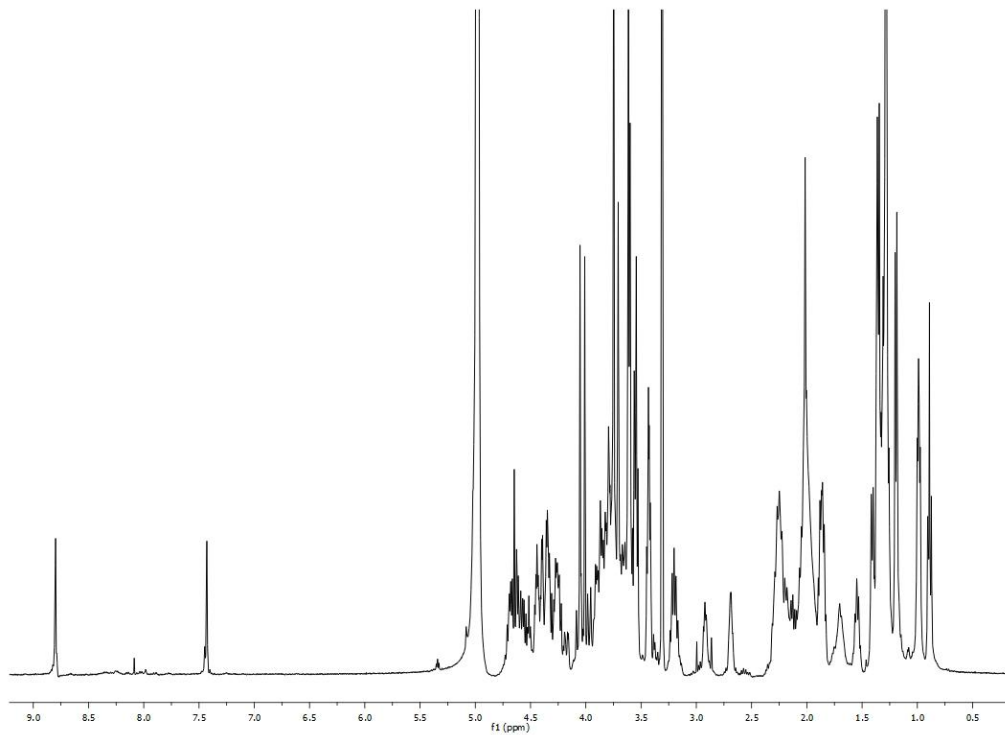
¹H-¹³C-HSQC NMR (CD₃OD/TFA-d₁(1%))



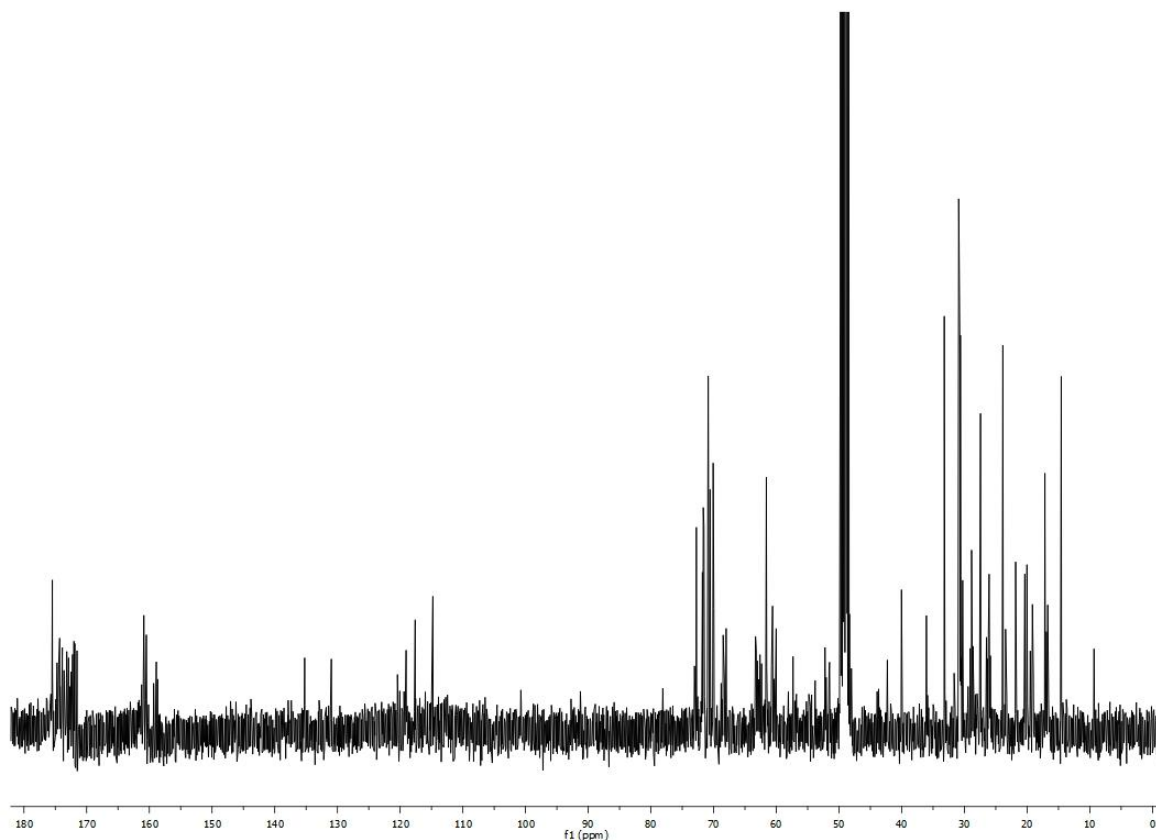
¹⁹F-NMR (376.5 MHz, CDCl₃)



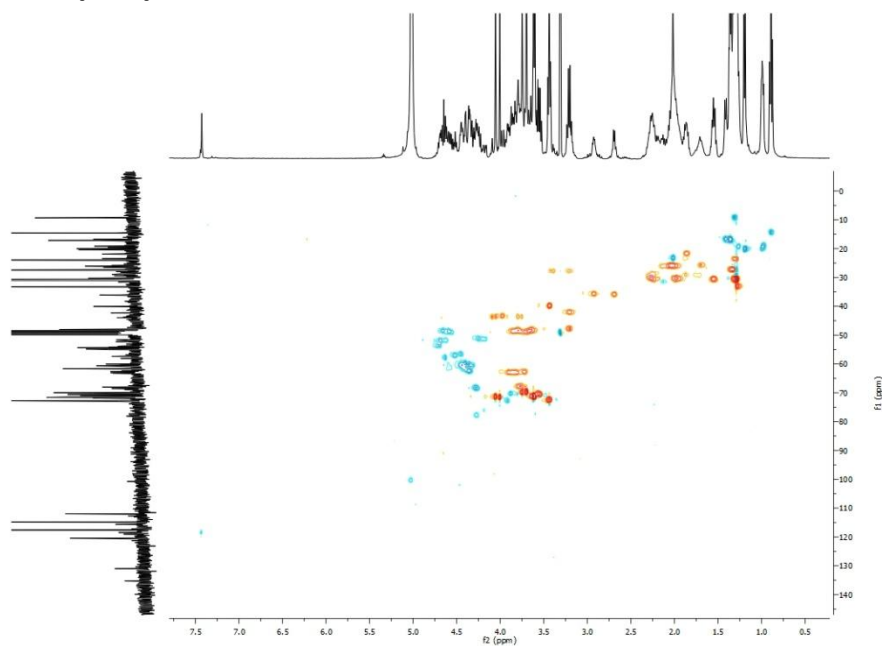
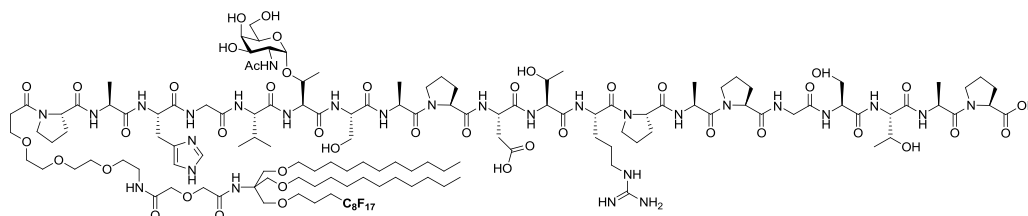
^1H - ^{13}C -HSQC NMR ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{TFA-d}_1(1\%)$)



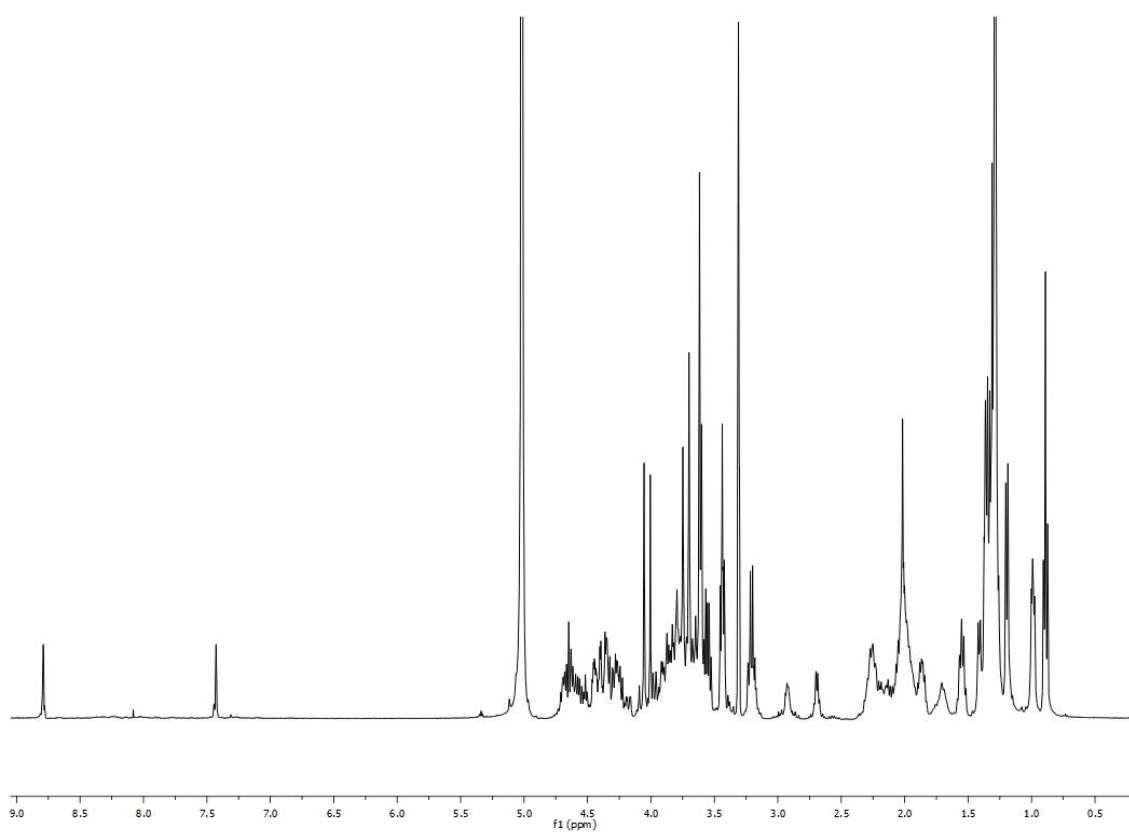
^1H NMR (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{TFA-d}_1(1\%)$)



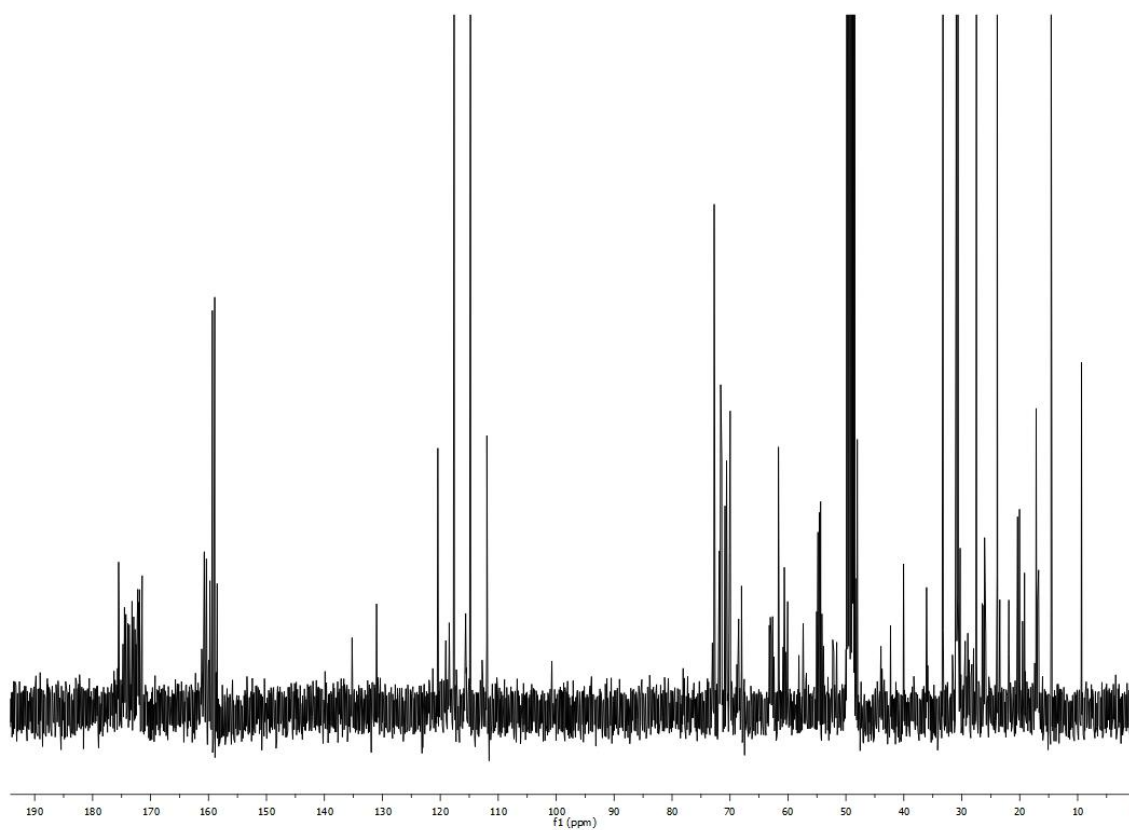
^{13}C NMR (100.6 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{TFA}-d_1(1\%)$)



$^1\text{H}-^{13}\text{C}$ -HSQC NMR ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{TFA}-d_1(1\%)$)



^1H NMR (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{TFA}-d_1(1\%)$)



^{13}C NMR (100.6 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{TFA}-d_1(1\%)$)

