# Boronolektine auf Basis von Adamantan zur Erkennung von Kohlenhydraten

## Boronolectins Based on Adamantane Scaffolds for the Recognition of Carbohydrates

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

**Dorith Claes** 

vorgelegt dem Fachbereich Chemie der Universität Hamburg

Hamburg 2013

- 1. Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Maison
- 2. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier

Tag der Disputation: 6. Dezember 2013

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2009 bis September 2012 am Institut für Organische Cheme der Justus-Liebig-Universität in Gießen und von Oktober 2012 bis April 2013 am Institut für Pharmazie der Universität Hamburg in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wolfgang Maison angefertigt. I know where I am and I know where I am going.\*

\*nach Saul Roseman

im Original: They "know" where they are, and they "know" where they are going.

J. Biol. Chem. 2001, 276, 41527

Für meine Familie

#### Danksagung

Ich möchte Herrn Prof. Dr. Wolfgang Maison für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die Möglichkeit der Forschung an einem interessanten Thema und alle fachliche, wohlwollende Unterstützung danken.

Prof. Dr. Chris Meier danke ich für die bereitwillige Übernahme des Zweitgutachtens.

Ich möchte Miriam Wendland und meinem "Borvater" Falk Wienhold danken, die mich daran erinnert haben, dass es neben der Chemie im Labor noch eine interessante Chemie in der Küche gibt. Ich habe die Zeit mit euch sehr genossen! Tolle Arbeitskollegen hatte ich in Faiza Khalil, Heike Thomanek, Sevgi Arampatzi, Elisa Franzmann, Aljona Rickert und Christian Küchenthal mit denen ich weinen, lachen und reden konnte. Danke für die schöne, lustige Labor- und Arbeitszeit. Ich möchte Max Nüllen und Ella Kriemen danken, deren Fachwissen einfach faszinierend ist und die immer bereit waren, dieses zu teilen. Ich möchte auch Carsten Fleck, Verena Weidmann, Franziska Klitsche und Julian Ramcke danken, die mit ihrem Lachen und ihrer Hilfsbereitschaft meinen Alltag ergänzt haben.

Helfende Hände hatte ich in Sebastian Sommer, Markus Zimmer, Natascha Kempf, Claudia Wackendorff und allen OC II- und ISP Studenten, die mich mit "frischen" Edukten versorgt haben. Danke!

Besonders erwähnen und danken möchte ich "meinen" Bachelorstudenten: Tim-Daniel Stumpf, Pegah Khameghir, Joanna Malkusch und Malte Holzapfel, ohne die ich das ein oder andere Thema selbst hätte bearbeiten oder die ein oder andere Säule selbst hätte machen müssen! Danke für Euren Einsatz, Eure Fragen und Euer Lachen! Ihr habt mir gezeigt, dass ich noch am Anfang bin. Malte Holzapfel möchte ich zusätzlich für die Hilfe bei den – wirklich – letzten Syntheseschritten danken und für die Bereitschaft, über mein Erwarten hinaus Interesse, Ausdauer und Energie in ein super interessantes Thema zu stecken.

Weiter möchte ich den einzelnen Arbeitsgruppen Göttlichs, Schreiners, Schindlers und Lemckes danken, die immer für eine kleine Abwechslung bereit waren und wenn Not an Chemikalien war, immer bereitwillig ausgeholfen haben. Elisabeth Memmel aus der AG Seibel in Würzburg möchte ich für die angenehme Kooperationsarbeit danken. Danke, dass du nicht so schnell aufgegeben hast und bereit warst, auf meine verrückten, kurzfristigen Ideen einzugehen!

Ich möchte den Analytik Teams in Gießen und Hamburg für alle Messungen der NMR-, IR-, MS-Spektren und CHN-Analysen danken.

Ein ganz besonderer Dank geht an Dr. Erwin Röcker, der für fast alle Massenspektrometer- und HPLC Probleme eine Antwort parat hatte und bereit war, diese Probleme gemeinsam mit mir (selbst aus der Ferne) zu beheben und mir so manche technische Feinheit zu zeigen.

Ebenfalls möchte ich mich herzlich bei Dr. Maria Trusch bedanken, mit der ich "fachsimplen", träumen oder mal kurz abschalten konnte.

Mathias Schaffrath möchte ich danken, der mir bei HPLC-Problemen tatkräftig zur Seite stand. Ich wünsche dir Durchahltevermögen, Gelingen und Freude bei Deiner Arbeit!

Ein weiterer Dank geht an meine neuen Arbeitskollegen, die mich in den letzten Monaten immer wieder netterweise gefragt haben, ob ich denn immer noch mitten im Sommer an meiner Arbeit schreiben müsse und mich dann frühzeitig nach Hause geschickt und Verständnis für meine seltene Freizeit gezeigt haben. Ich hoffe, ich kann Euch jetzt etwas mehr von Eurer Hilfe und Freundlichkeit zurückgeben!

Da ich in keiner Weise gegenüber deutscher oder englischer Rechtschreibung und Grammatik gefeit bin, danke ich meinen fleißigen Korrekturlesern für Ihre Zeit und Mühe: Falk, Sevgi, Ella, Heike, Faiza, Cornelius, Michelle, Valli und Papa.

Es gibt einige Leute, die bereit waren, mich aufzumuntern, mir einen Abstand zur Forschung zu geben und mich immer zum Essen einzuladen. Aus diesem Grund möchte ich Valli, Doris und Matthias, dem Dannat-Clan und den Mauschs danken. Eure Freundschaften sind etwas ganz Wertvolles!

Der größte Dank gehört meiner Familie – meinen Eltern und Geschwistern, meiner Schwägerin und meinem Schwager und vor allem meinen wilden "Neftchen". Ihr erduldet alle meine Launen und schafft es immer, dass ich am Ende des Tunnels das Blau des ewigen Himmels sehe! Ihr ermutigt mich, korrigiert mich, tröstet mich, stärkt mich – und das ist einfach das Schöne an unserer Familie! Danke, dass ihr mein Leben so viel lebens- und liebenswerter macht! Ich freu mich auf das nächste Wiedersehen – wo auch immer das sein wird!

### Inhaltsverzeichnis

Vorbemerkungi				
Ał	Abkürzungsverzeichnisii			
1.	Einl	eitur	וg	1
	1.1.	.1. Kohlenhydrate – komplexe Biomoleküle		1
1.2.		Die Glycocalyx		3
	1.3.	Nat	ürliche Kohlenhydratbinder: Lektine	6
	1.3.	1.	Bindungsmechanismen der Lektine	8
	1.3.	2.	Natürliche Erkennungsprozesse auf Basis multivalenter Rezeptoren	9
	1.4.	Koh	lenhydrate in der Wirkstoffchemie	. 13
2.	Ken	ntnis	sstand	. 15
	2.1.	Bek	annte Konzepte zur Kohlenhydraterkennung	. 15
	2.1.	1.	Der nichtkovalente Ansatz	. 15
	2.1.	2.	Der kovalente Ansatz	. 19
	2.1.3.		Verbesserung des kovalenten Ansatzes	. 20
	2.2.	Synt	these funktionalisierter Boronsäuren als Boronolektine	. 22
	2.3.	Eval	luierung der Bindungseigenschaften	. 23
	2.4.	Bor	onsäurederivate und ihre Diolerkennung – verschiedene Nutzen	. 25
	2.5.	Des	ymmetrierungsreaktionen mit Hilfe von Borinsäuren	. 25
3.	Auf	gabe	nstellung und Zielsetzung	. 27
	3.1.	Dar	stellung des Grundgerüstes	. 27
	3.2.	Koh	lenhydratrezeptoren	. 28
	3.3.	Fun	ktionalisierung	. 29
	3.4.	Assa	ау	. 29
4.	Res	ultat	e und Diskussion Teil 1: Darstellung und Evaluierung von Boronolektinen	. 30
	4.1.	Dars	stellung der Grundgerüste	. 30
	4.2.	Dar	stellung der Kohlenhydratrezeptoren	. 33
	4.2.	1.	Optimierung der Synthese des Benzoboroxolderivates 54	. 35
	4.2.	2.	Einführen des Alkinlinkers	. 36

	2	4.2.	3.	Entschützung des Benzoboroxols 63	8
	4.3	5.	Synt	hese des Kohlenhydratrezeptors 27 40	C
	2	4.3.	1.	Trennung der Enantiomere des Boroxolalkins 27 45	5
	4.4	<b>.</b>	Dars	stellung der Modellverbindung 29 49	9
	4.5	5.	Dars	stellung der Kupplungsprodukte 49	Э
	2 1	4.5. flexi	1.1. ible <i>A</i>	Kupplung der Bromphenol-Derivate 86 an Adamantancarbonsäuren und desser	n D
	2	4.5.	2.	Kupplung von Benzoboroxolderivaten an Adamantancarbonsäuren	1
	4	4.5.	3.	Kupplung eines Azidolinkers an Adamantanderivate	3
	4.6	<b>.</b>	1,3-	Huisgen-Cycloaddition	6
	4	4.6.	1.	Synthese der Benzoboroxoltriazolderivate	6
	4	4.6.	2.	Synthese der Bromtriazolderivate	D
	4.7		Rein	igung der multivalenten Adamantanboronsäuren60	D
	4.8	3.	Wei	tere Funktionalisierung der Boronolektine62	2
	4	4.8.	1.	Konjugation an kleine Peptideinheiten	3
	4	4.8.	2.	Weitere Funktionalisierung der Boronolektine – Fluoreszenzmarkierung	7
	4.9	).	Fluo	reszenzassay	Э
	4	4.9.	1.1.	Qualitative Bindungseigenschaften der Boronsäuren an verschiedene Zucker . 69	9
	4	4.9.	2.	Quantitative Bestimmung der Bindungsaffinitäten	4
5.	I	Resi	ultate	e und Diskussion Teil 2: Boroxolalkin 27 zur Desymmetrierung von meso-Diolen 80	C
6.	2	Zusa	amm	enfassung	5
	6.1		Dars	stellung multivalenter Boronsäurederivate 8	5
	6.2		Kata	lytische Acylierung von Diolen	6
7.	9	Sum	nmar	y8 <sup>-</sup>	7
	7.1		Synt	hesis of Multivalent Boronic Acid Derivates8	7
	7.2		Cata	lytic Acylation of Diols	8
8.	Ausblick		Э		
9.	I	Expo	erime	enteller Teil	0
	9.1		Arbe	eitstechnik	0
	ç	9.1.	1.	Peptidsynthese	D

9.1.2.	Mikrowellenreaktor	90
9.1.3.	Kohlenhydratassays	91
9.2. Rei	nigung	91
9.2.1.	Säulenchromatographie	91
9.2.2.	HPLC	91
9.3. Ana	alytik	92
9.3.1.	NMR-Spektroskopie	92
9.3.2.	Elementaranalyse	93
9.3.3.	Massenspektrometrie	93
9.3.4.	Röntgenstrukturanalyse	93
9.4. Allg	gemeine Arbeitsvorschriften	93
9.5. Syn	ithesen	98
9.5.1.	Darstellung der Rezeptoren	98
9.5.2.	Darstellung der Grundgerüste	104
9.5.3.	Darstellung des Azidolinkers	110
9.5.4.	Darstellung der Kupplungsprodukte	111
9.5.5.	Azidolinkerkupplungsprodukte	115
9.5.6.	Darstellung der Brom-Modellverbindungen	127
9.6. D	Durchführung des Fluoreszenzassays	152
9.6.1.1.	Qualitative Bestimmung der Bindungseigenschaften an verschiedene Zuc	ker 152:
9.6.2.	Quantitative Bestimmung der Bindungseigenschaften	152
9.7. Acy	/lierungsreaktionen von Diolen	153
10. Anhar	ng	159
10.1. R	Röntgenkristallstrukturdaten	159
10.2. N	NMR und LC-MS Spektren	168
10.3.	Gefahrstoffverzeichnis	231
11. Litera	tur	239

#### Vorbemerkung

Diese Doktorarbeit beinhaltet die Ergebnisse mehrerer Bachelorarbeiten, die unter meiner Aufsicht geschrieben wurden.

Aus diesem Grund sind Teile der Ergebnisse bereits in folgenden Bachelorarbeiten zu finden:

• Tim-Daniel Stumpf

"Optimierung der Synthese von Boronsäurederivaten zur multivalenten Kohlenhydraterkennung", Gießen **2010**.

• Pegah Khameghir

"Synthese einer modularen Phenylboronsäure zur katalytischen regio- und stereoselektiven Acylierung von Diolen", Gießen **2011**.

Joanna Malkusch

"Synthese modularer Phenylboronsäuren zur katalytischen Acylierung von Diolen", Hamburg **2012**.

• Malte Holzapfel

"Synthese divalenter Derivate der Phenylboronsäure", Hamburg **2013**.

Des Weiteren wurden die Kohlenhydratassays in Kooperation mit Elisabeth Memmel aus der AG Prof. Jürgen Seibel in Würzburg durchgeführt. Somit werden die Ergebnisse der Kohlenhydratassays voraussichtlich auch in ihrer Doktorarbeit veröffentlicht werden.

## Abkürzungsverzeichnis

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
abs	absolutiert
aq	aqueous
Äq	Äquivalent
BPC	base peak chromatogram
arom	aromatisch
Asc	Ascorbat
ARS	Alizarin red sodium
Вос	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
br	breit
BA	Boronsäure (boronic acid)
ber	berechnet
ConA	Concanavalin A
CD	Circulardichroismus
CRD	carbohydrate recognition domain
d	Dublett
d	Tage (days)
DAD	diode array detector
DEA	Diethanolamin
dd	Dublett vom Dublett
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDC·HCI	N-Ethyl-N'(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid Hydrochlorid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESI	electrospray ionisation

FA	Ameisensäure
FE	Flächeneinheit
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
gef	gefunden
ges	gesättigt
h	Stunden (hour)
HATU	1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]- pyridinium-3-oxid-hexafluorophosphat
HBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazolyl)-1,1,3,3-Tetramethyluroniumhexafluorophosphat
Hib	Haemophilus influenzae Typ b
HIV	Humabes Immundefizienz-Virus
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometer
ID	Innendurchmesser
lgG	Immunglobulin G
IR	Infrarot
konz	konzentriert
LC-MS	liquid chromatography – mass spectrometry
m	Multiplett
MBP	Mannose bindendes Protein
MeCN	Acetonitril
min	Minuten
MW	Mikrowelle (microwave)
MS	mass spectrometry
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NMP	<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon
NMR	nuclear magnetic resonance
PBS	Phosphate Buffered Saline

# iv Abkürzungsverzeichnis

PBST	Phosphate Buffered Saline Tween
PE	Petrolether
PSMA	Prostataspezifisches Membranantigen
ppm	parts per million
$R_f$	Retentionsfaktor
RP	reversed phase
RT/rt	Raumtemperatur (roomtemperature)
q	Quartett
quant	quantitativ
S	Singulett
SAP	human serum amyloid P
t	Triplett
t	Zeit (time)
TACA	Tumorassoziierte Antigene (Tumor-associated carbohydrate antigens)
TBTA	Tris(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
TFA	Trifluoressigsäure
TF-Antigen	Thomsen-Friedenreich-Antigen
THF	Tetrahydrofuran
TIPS	Triisopropylsilan
TMS	Trimethylsilyl
TOF	time of flight
t <sub>R</sub>	Retentionszeit
TTFAQ	anthraquinodimethane-type- $\pi$ -extended tetrathiafulvalene
UV	Ultraviolett
UV-Vis	Ultriaviolett-visible

#### 1. Einleitung

Braune Augen, blonde Haare, 1.80 m groß, Diabetiker, Blutgruppe "O", an Influenza erkrankt – dies sind nur wenige Punkte, die eine Person beschreiben und wesentlich mehr gehört eigentlich dazu. Welche Mechanismen und Strukturen entscheiden aber über all diese charakteristischen Merkmale? Und wie definiert die Natur Blutgruppe "O", "A", "B" oder "AB"?

Auf eine geeignete Weise muss die Natur nicht nur die Informationen über Aussehen, Größe und Blutgruppe, also das Genom, sondern ständig eine Masse weiterer Prozesse, die im Körper ablaufen (wie z.B. eine Immunantwort auf eine bakterielle Infektion) verschlüsseln, entschlüsseln und weitergeben können. Dies sind komplexe, aber äußerst präzise ablaufende Prozesse, die die Natur handhaben muss – aber wie macht sie das?

#### 1.1. Kohlenhydrate – komplexe Biomoleküle

Kohlenhydrate sind eine faszinierende, komplexe aber schwer erfassbare Klasse der Biomoleküle. Lange Zeit war man der Meinung, dass Kohlenhydrate in lebenden Organismen lediglich in Form von Energiespeichern (z.B. Stärke oder Glykogen) und als Gerüstsubstanzen (z.B. Chitin oder Cellulose) eine wichtige Rolle spielten.<sup>1</sup> Dabei wurde jedoch übersehen, dass Kohlenhydrate ein integraler, ubiquitärer Bestandteil des Lebens sind und eine Schlüsselrolle bei zellulären Erkennungsprozessen auf Zelloberflächen spielen (**Abbildung 1-1**).<sup>2,3</sup>



**Abbildung 1-1:** Verschiedene Aufgaben, die Zucker in Organismen innehaben: Energiespeicher (a),<sup>i</sup> Gerüstsubstanz (b),<sup>i</sup> Informationsträger (c – Zelladhäsionsprozesse).<sup>4</sup>

Aber warum werden Kohlenhydrate als Informationsträger genutzt – gibt es dafür nicht das Genom? Im Gegensatz zu den übrigen Bausteinen der großen Biomolekülklassen (Aminosäuren

<sup>&</sup>lt;sup>i</sup> Grafiknachweis: D. Claes

und Nukleotide) besitzen Kohlenhydrate die Möglichkeit, Informationen derart zu verschlüsseln, dass sie mit hoher Spezifität dekodiert werden können. Dabei werden Fehlinterpretationen so gut wie ausgeschlossen. Gleichzeitig ermöglicht die Verschlüsselung mit Kohlenhydraten die Darstellung eines immensen Pools, über den die Informationsflut gehandhabt werden kann. Weiter ist die Informationsdichte sehr hoch, was gleichzeitig den Verbrauch der Energie zur Bildung des Informationsgehaltes minimiert.<sup>5</sup> So ermöglichen einige wenige Grundbausteine die Vielzahl an möglichen Informationsträgern. Betrachtet man beispielsweise ein Trisaccharid, basierend auf acht Monosaccharidbausteinen, ergeben sich 720.896 mögliche lineare und verzweigte Kombinationen (siehe **Gleichung 1-1**).

**Gleichung 1-1:** Berechnung möglicher Isomere eines Oligosaccharids. Die große Kombinationsmöglichkeit ergibt sich durch die zwei möglichen Ringgrößen (Furanose und Pyranose), die Auswahl an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Konfiguration und den verschiedenen Verknüpfungspunkten (z.B.  $\alpha$ -1,2- oder  $\alpha$ -1,4-glycosidische Bindung).<sup>6</sup>

 $\underbrace{E^{n} \cdot 2^{n} \cdot 2^{n} \cdot 4^{n-1}}_{lineare} + \underbrace{E^{n} \cdot 2^{n} \cdot 2^{n} \cdot 2^{n} \cdot 2^{n} \cdot 2^{n-2}}_{verzweigte} = Anzahl möglicher Konformationen Kombinationsmöglichkeiten}$ E = Anzahl Monosaccharide, n = Oligosaccharidlänge, r = Ringgröße, a = anomerer Kohlenstoff

Im Gegensatz dazu stehen 8000 (=  $20^3$ ) Kombinationsmöglichkeiten für die Verknüpfung dreier Aminosäuren aus den 20 nativen Aminosäuren und nur 64 (=  $4^3$ ) Kombinationen für die Verknüpfung von Nucleotiden zur Verfügung.



**Abbildung 1-2:** Verknüpfungsstellen der einzelnen Biomolekülklassen: Nucleotide werden über Phosphate bzw. Hydroxygruppen verknüpft; Aminosäuren werden über Amin- und Carbonsäuregruppen miteinander verknüpft; Kohlenhydrate werden über ihre Hydroxygruppen verknüpft.

Der Grund für diese geringe Anzahl an Isomeren liegt darin, dass sowohl bei Aminosäuren als auch bei Nucleotiden nur zwei Verknüpfungsstellen zu finden sind, während Saccharide mehrere Hydroxygruppen besitzen, die glycosidisch miteinander verknüpft werden können, **Abbildung 1-2**.<sup>6,ii</sup>

Die Anzahl an bekannten biologischen und chemischen Befehlen innerhalb eines lebenden Organismus ist größer als die Menge berechneter, möglicher Molekularstrukturen, die mit Hilfe von Proteinen dargestellt werden können. Somit können nicht alle Befehlssignale über Protein-Strukturen verschlüsselt werden.<sup>7</sup> Erst die große Anzahl an möglichen Isomeren bei dem Aufbau von Kohlenhydraten bietet genau diese Möglichkeit – die Codierung einer Vielzahl von Signalkaskaden, durch die die Kommunikation innerhalb eines Körpers funktioniert. Und somit ist es verständlich, dass auf der Oberfläche von Zellen Kohlenhydrate als Informationsträger für die Kommunikation mit der Außenwelt zu finden sind. Aufgrund ihrer Strukturvielfalt kann eine Menge verschiedener Informationen verschlüsselt und in Form von Befehlen weitergegeben werden. Dabei werden Informationen sowohl zwischen körpereigenen, als auch körperfremden Systemen ausgetauscht. Diese Kohlenhydratschicht wird Glycocalyx genannt. Liegt die Glycocalyx in einer veränderten Form vor oder fehlt gar, kommt es zu Kommunikationsproblemen. Wie die Glycocalyx aufgebaut ist und welche besonderen Eigenschaften sie besitzt, soll im Folgenden näher gezeigt werden.

#### 1.2. Die Glycocalyx

Alle Zellen sind von der sogenannten Glycocalyx umgeben (**Abbildung 1-3**).<sup>8</sup> Dies ist eine hauptsächlich aus Kohlenhydraten bestehende Schicht.



**Abbildung 1-3:** TEM Aufnahmen der Glycocalyx einer Aorta-Endothelzelle eines Rindes. Die Fixierung erfolgte mittels *"rapid freezing/freeze substitution"* und die Anfärbung mit Osmiumtetroxid. Aus diesen Aufnahmen ergab sich (je nach Zelltyp) eine Glycocalyxschichtdicke bis zu 11 μm. A: Asterixe (\*) markieren abluminale Glycocalyx. B: Die Glycocalyx in der Nähe der Zellmembran. C: Äußerstes Ende der Glycocalyx, das in den extrazellulären Raum zeigt.<sup>9</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>ii</sup> Dabei sei erwähnt, dass in dieser Berechnung die Möglichkeit der Modifikation nicht beachtet wird, was die Strukturanzahl weiter vergrößert. So können Zucker über Phosphate, Phosphonate, Acylgruppen, Alkylether, Sulfate u.a. weiter modifiziert werden. Dies gilt auch für Modifikationen von Peptiden und Nucleinsäuren.

An dem Aufbau der Glycocalyx sind nur wenige verschiedene Kohlenhydrate (Glucose, Galactose, Mannose, Fucose, Xylose, *N*-Acetylglucosamin, *N*-Acetylgalactosamin) sowie einige Sialinsäuren (Derivate der Neuraminsäure) beteiligt.<sup>4,10</sup> Die Fixierung der Glycocalyx auf der Zelloberfläche erfolgt über Glycokonjugate (Glycolipde und Glycoproteine): Hier werden Kohlenhydrate kovalent an Lipide bzw. Proteine gebunden.<sup>iii</sup> An die Glycocalyx assoziieren andere kohlenhydratreiche Moleküle, die in einem dynamischen Gleichgewicht mit dem Plasma stehen und eine zweite Schicht (*"endothelial surface layer"*) um die Zelle bilden.<sup>11;iv</sup> Wir sind sozusagen eingekleidet mit Oligosacchariden, die von Glycosyltransferasen aufgebaut und danach von Glycosylasen *"*zurechtgeschnitten" werden (**Abbildung 1-4**).



**Abbildung 1-4:** Schematische Darstellung der Zelloberfläche: Auf die Doppelmembran werden über kovalente Bindungen Kohlenhydrate gebunden. Außerdem befinden sich auf der Zellmembran verschiedene Proteine, wie z.B. Integrine.

Die Verknüpfung der Monosaccharide führt zu einem charakteristischen Glycosylierungsmuster. Hierbei variiert diese Struktur nach Zelltyp, Differenzierungsgrad und der Aktivität der Glycosylasen.<sup>14</sup> Neben dem Glycosylierungsmuster ist auch die Schichtdicke der Glycocalyx variabel. Hier unterscheiden sich, je nach Messmethode und Zellart, die größtenteils *in vitro* bestimmten Schichtdicken der Glycocalyx sehr. Erwartet werden Schichtdicken um die 140 nm.<sup>15</sup> *Ebong* beobachtete jedoch Schichtdicken von 11 µm auf einer Aorta-Endothelzelle, die von einem Rind stammte.<sup>9</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>III</sup> Unterschieden wird bei den Glycokonjugatstrukturen zwischen *N*- und *O*-Glycoproteinen. Für eine *O*glycosidische Bindung werden Hydroxygruppen aus der Seitenkette von Serin oder Threonin mit den Sacchariden verknüpft. Bei *N*-Glycoproteinen erfolgt die Bindung über einen Asparaginrest.

<sup>&</sup>lt;sup>iv</sup> Die Aufgabe dieser zusätzlichen Schicht ist noch unklar. Eine Möglichkeit ist ein erster Schutz für die Glycocalyx sowie Aufgaben während verschiedener Adhäsionsprozesse.<sup>12, 13</sup>

Die Glycocalyx ist eine Schicht, die einen ständigen Veränderungsprozess durchläuft. Sie wird regelmäßig erneuert, kann schnell auf äußere Einflüsse reagieren und sich ihnen anpassen (z.B. bei einer mikrobiellen Infektion). Damit dient sie der Kommunikation mit der Außenwelt.<sup>16-18</sup>

Modifikationen der Glycocalyx sind häufig, aber nicht immer, ein Indiz für Krankheiten. Somit kann die Unterscheidung pathogener und gesunder Zellen möglich sein. Bei der Erkennung von pathogenen Zellen, aber auch bei der Weitergabe von Informationen durch gesunde Zellen spielen sowohl die Schichtdicke, als auch das abgeänderte Glycosylierungsmuster eine entscheidende Rolle.

Interessante Beispiele einer sich unterscheidenden Glycocalyx in gesunden Zellen sind die einzelnen Blutgruppen. So findet sich auf der Zelloberfläche von Erythrozyten eine bestimmte Kohlenhydratsequenz (GalNAc-Gal-Fuc). Damit wird die Blutgruppe "O" definiert. Eine weitere glycosidische Verknüpfung der Galactose mit antigenen Saccharidstrukturen führt zu den übrigen Blutgruppen "A" und "B". Dabei enthält die Blutgruppe "A" ein *N*-Acetylgalactosamin (GalNAc-Gal[GalNAc]-Fuc), während sich in der Blutgruppe "B" lediglich eine Galactose findet (GalNAc-Gal[Gal]-Fuc). Fehlen die entsprechenden Antigene, bildet der Körper Antikörper aus, die sich im Blutplasma befinden. Dadurch kann es bei Blutinfusionen der falschen Blutgruppe zu einer Verklumpung des Blutes kommen, indem die Antikörper an die mit antigenen Saccharidstrukturen modifizierten Erythrozyten binden.<sup>3</sup>

Im Gegensatz zu gesunden Zellen ist die Glycocalyx von Diabetes I-Patienten verändert. Sie besitzt eine geringere Dicke, was zu kardiovaskulären Komplikationen und zu einer veränderten Permeabilität der Zellschicht führt.<sup>19-21</sup>

Eine Mutation körpereigener Zellen führt ebenfalls zu einem veränderten Glycosylierungsmuster und kennzeichnet z. B. Krebszellen. Dabei zeigt sich häufig, dass krebsspezifische Glycane<sup>v</sup> auf der Zelloberfläche carcinogenen Gewebes stärker als auf normalen Zellen exprimiert werden.<sup>22</sup> Man nennt diese speziellen Glycane auch "Tumorassoziierte Antigene" (TACA)".<sup>23</sup> Auffällig ist hier, dass das modifizierte Gycosylierungsmuster eine erhöhte Expression *N*-verknüpfter Glycane besitzt.<sup>24</sup> In Kombination mit einer erhöhten Konzentration der Sialyltransferase wird auch der Grad der möglichen Sialylierung vergrößert:<sup>22</sup> Sialylsäure Lewis A (sLe<sup>a</sup>) (**1**, **Abbildung 1-5**), Sialylsäure Lewis X (sLe<sup>X</sup>) (**2**, **Abbildung 1-5**), Sialylsäure Lewis Y, Sialyl-2-6- $\alpha$ -*N*acetylgalactosamin (sTn), Globohexaosylceramid oder Polysialylsäure sind Glycane, die vornehmlich überexprimiert auf cancerogenem Gewebe zu finden sind.<sup>25-28</sup> Findet sich in Organismen eine Expression von sLe<sup>x</sup> enthaltenden Mucinen,<sup>vi</sup> kann dies auf eine Tumorbildung in der Prostata, der Bauchspeicheldrüse, der Lunge, der Brust oder dem Dickdarm hindeuten.<sup>29-32</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>v</sup> Glycane sind Oligo- oder Polysaccharide

<sup>&</sup>lt;sup>vi</sup> Mucine sind Glycoproteine, die *O*-glycosidisch verknüpft sind.



**Abbildung 1-5:** Beispiele für Tetrasaccharide, hier Sialylsäuren sLe<sup>a</sup> (1) und sLe<sup>x</sup> (2), aus deren Expression auf Zelloberflächen Rückschlüsse auf carcinogenes Gewebe gezogen werden können.

Auch wenn in vielen Fällen noch unklar ist, welchen Einfluss und Nutzen die veränderte Glycocalyx für das Tumorwachstum besitzt,<sup>22,24,33-35</sup> bieten sich aufgrund der charakteristischen Struktur "Glycotope"<sup>vii</sup> als Wirkstofftargets in der Medizinischen Chemie an.<sup>14,36</sup> Die Entwicklung von Kohlenhydratsensoren ist das Ziel vieler Forschungsarbeiten, da die selektive Unterscheidung und Erkennung pathogener bzw. gesunder Zellen für die Therapie und die Diagnostik einer ganzen Reihe verschiedener Erkrankungen von großer Wichtigkeit ist. Dabei zeigten sich bereits einige wegweisende Schritte.

#### 1.3. Natürliche Kohlenhydratbinder: Lektine

Aufgrund der hohen Komplexität der Kohlenhydrate ist deren Erkennung eine Herausforderung. Trotzdem ist es der Natur möglich, Kohlenhydrate mit guten Selektivitäten zu erkennen. Die natürliche Kohlenhydraterkennung erfolgt z.B. über Lektine (**Abbildung 1-6**).



**Abbildung 1-6:** Lektine der drei verschiedenen Klassen nach der Einteilung von *Lis*<sup>37</sup>: *Simple* (ConA<sup>38</sup>), *Mosaic* (Hemagglutinin<sup>39</sup>) und *Macromolecular Assembly (E. coli* FimH (*fimbrial adhesive protein*)<sup>40</sup>).

<sup>&</sup>lt;sup>vii</sup> Glycotope sind Kohlenhydratepitope.

Lektine sind kohlenhydratbindende Proteine, die keine eigene enzymatische Aktivität besitzen und im Gegensatz zu Antikörpern nicht die Produkte von Immunantworten sind.<sup>41,42</sup> Sie sind in der Lage, komplexe Kohlenhydratstrukturen - ohne diese zu modifizieren - zu erkennen und zu unterscheiden.<sup>37</sup> Weiter vermitteln sie vielfältige zelluläre Erkennungsprozesse und sind in immobilisierter Form auf allen Zelltypen, Bakterien und Viren zu finden.<sup>37</sup> Zudem bilden lösliche Lektine, wie das Mannosebindende Protein (MBP),43 eine erste Verteidigungslinie des Immunsystems innerhalb des Komplementsystems,<sup>44</sup> indem sie Glycotope auf Pathogenen erkennen.<sup>45</sup> Bei Menschen, deren MBP durch eine Mutation verändert wurde, kommt es zu einer Immunodefizienz. Pathogene Mikroorganismen bewirken eine erhöhte Infektionsrate. Die Gefahr einer Erkrankung ist besonders für Kinder, deren adaptives oder spezifisches Immunsystem noch nicht vollständig ausgeprägt ist und die lediglich das angeborene oder unspezifische Immunsystem für die eigene Körperabwehr besitzen, hoch. Auch Menschen, deren Abwehrsystem z.B. durch eine HIV-Infektion oder eine Chemotherapie geschädigt ist, sind besonders gefährdet. Sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen mit einem schwachen Immunsystem benötigt der Körper eine längere Zeit, Pathogene zu erkennen und eine Immunantwort durch die Produktion von Antikörpern zu senden.<sup>46,47</sup>

Lektine werden aufgrund ihrer Affinität für ein bestimmtes Monosaccharid unterschieden: Es die Mannose, gibt Lektine, bevorzugt an N-Acetylglucosamine, Galactose/ N-Acetylgalactosamine, Fucose bzw. Sialylsäure binden. Häufig sind diese Zucker vornehmlich auf der Oberfläche von eukariotischen Zellen zu finden.<sup>37</sup> Eine Ausnahme bildet das Lektin "human serum amyloid P component" (SAP), welches an 4,6-O-(1-carboxyethylidene)-B-D-Galactopyranosid bindet und in Algen, marinen Schwämmen oder Hefen gefunden werden konnte.<sup>37,48</sup> Eine zusätzliche Einteilung schaffen Lis und Shannon: Spricht man von "Simple", "Mosaic" (oder "Multidomain") und "Macromolecular Assemblies", handelt es sich um unterschiedliche, innerhalb einer Gruppe charakteristische strukturelle Merkmale der Lektine (wobei an dieser Stelle eingeräumt werden muss, dass es auch Überschneidungen in den einzelnen Gruppen gibt).

Die Klasse der *"Simple Lectins"* umfasst die Proteine, die bei kleinem Molekulargewicht (um die 40 kDa) nur eine geringe Anzahl an Protein-Untereinheiten besitzen. Die Galektine, die Galactose erkennen, gehören zu dieser Untergruppe und finden sich in Tieren, während die meisten anderen Lektine dieser Gruppe in Pflanzen zu finden sind. *"Mosaic Lectins"* sind eine Gruppe Lektine, die sowohl in verschiedenen Organismen (Viren, Tiere) vorkommen als auch verschiedene Molekulargewichte und Untereinheiten aufweisen. Manche dieser Lektine sind monovalent und erst durch eine Clusterung auf der Zelloberfläche kommt es zu einer multivalenten Anordnung. Die Lektine, die zur Klasse der *"Macromolecular Assemblies"* gehören, finden sich in Bakterien. Es handelt sich normalerweise um organellenartige Proteine mit ein

oder mehreren Kohlenhydrat erkennenden Domänen (*"carbohydrate recognition domain"* – CRD), die auf den Organellen sitzen.<sup>37</sup>

#### **1.3.1.** Bindungsmechanismen der Lektine

Kohlenhydrate besitzen aufgrund ihrer verschieden angeordneten Hydroxygruppen eine große Heterogenität. Kleinste Unterschiede müssen erkannt werden. Der Erkennungsprozess wird dadurch erschwert, dass das Blutplasma ein wässriges System ist. Lektine als Rezeptoren müssen in der Lage sein, Hydroxygruppen aus Kohlenhydraten von denen aus dem Blutplasma unterscheiden zu können und somit an den eigentlichen Liganden, also Kohlenhydrate, zu binden.<sup>49</sup> Zusätzlich können Kohlenhydrate in wässriger Umgebung verschiedene Konformationen annehmen. Unter Umständen ist jedoch nur eine einzige Konformation für die Wechselwirkung mit einem Rezeptor entscheidend.

Für die Erkennungsprozesse besitzen Lektine zwei oder mehr kohlenhydratbindende Einheiten, die über verschiedene Wechselwirkungen erzeugt werden. Polare Reste des Proteins bilden mit mehreren Hydroxygruppen der Zuckerderivate Wasserstoffbrückenbindungen. Zu diesen Affinitäten kommen hydrophobe Wechselwirkungen zwischen CH-Gruppen des Zuckers und unpolaren Resten des Proteins.<sup>50-52</sup> Dabei zeigte sich, dass häufig aromatische Aminosäuren des Proteins an diesen Interaktionen beteiligt sind, was auf CH- $\pi$  Wechselwirkungen rückschließen lässt (**Abbildung 1-7**).<sup>53,54</sup> Je nach Bindung spielt auch die Gegenwart von Metallionen eine entscheidende Rolle. Ein besonderer Fall ist der Heparin-Antithrombin III- Komplex. Hier kommt es zu ionischen Bindungen zwischen einer positiv geladenen Bindungsstelle im Lektin mit einer negativen Ladung im Oligosaccharid (die Ladung wird durch eine Sulfatgruppe hervorgerufen).<sup>55</sup> Im Gegensatz zu anderen kohlenhydratbindenden Rezeptoren<sup>viii</sup> binden Lektine Kohlenhydrate tendenziell nicht innerhalb des Proteins, sondern lediglich an der äußeren Schicht des Proteins.<sup>50,56,57</sup>

Betrachtet man die Selektivitäten der Lektine für Monosaacharide, finden sich trotz einer generellen hohen Selektivität vieler Lektine auch einige, die eine Variation des C-2 in der Pyranoseform nicht unterscheiden (können). Andere können  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere oder die Pyranoseformen von Galactose bzw. Mannose nicht differenzieren, während wieder andere Lektine nur ein bestimmtes Anomer erkennen.<sup>37</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>viii</sup> Diese sind zum Beispiel Enzyme.



**Abbildung 1-7:** Wasserstoffbrückenbindungen zwischen einem Lektin aus *Galanthus nivalis* und Mannose. Dabei wechselwirken Hydroxygruppen aus den Kohlenhydraten mit Amino- oder Hydroxygruppen aus den Aminosäuren im Proteingerüst.<sup>58</sup>

Das eigentliche Problem der Erkennungsprozesse durch Lektine liegt jedoch in den schwachen Affinitäten zu Sacchariden, was auf die Bindungsmechanismen zurückzuführen ist. So liegt z.B. die Assoziationskonstante einer Sialinsäure an eine Hämagglutinin-Einheit bei  $K_a \leq 10^3 \text{ M}^{-1.59}$ Doch auch hier bleibt die Natur in ihrer Komplexität faszinierend, schafft sie es doch, die geringen monovalenten Wechselwirkungen durch wesentlich stärkere multivalente Wechselwirkungen zu ergänzen.

#### **1.3.2.** Natürliche Erkennungsprozesse auf Basis multivalenter Rezeptoren

Die Multimerisierung mehrerer Bindungsepitope, sowie die Erkennung mehrerer Kohlenhydrate im Zellkontext führen zu hohen Affinitäten und Spezifitäten. Kohlenhydrate werden im Folgenden als Liganden bezeichnet, während Lektine bzw. die späteren Lektinmimetika Rezeptoren genannt werden.<sup>59-62</sup>

Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen können über verschiedene Bindungsmechanismen erfolgen. Dabei wird zwischen mono- und multivalenten Wechselwirkungen unterschieden.

Wenn ein einwertiger Rezeptor mit einer Assoziationskonstante  $K_a$  an einen Liganden bindet, spricht man von einer monovalenten Wechselwirkung (**Abbildung 1-8 a**). Bindet nun ein mehrwertiger Rezeptor an mehrere einzelne Rezeptoren (**Abbildung 1-8 d**) und unterscheidet sich der beobachtete Wert von der Summe der einzelnen Wechselwirkungen, spricht man von einem multivalenten Effekt. Wird ein Wert erhalten, der der Summe der Einzelaktionen entspricht, handelt es sich lediglich um einen statistischen Effekt (**Abbildung 1-8 b**, allerdings ist hier nur die Bindung an einen Rezeptor gezeigt).<sup>63</sup> Weiter kann ein Ligand neben der eigentlichen Bindungsstelle eine weitere Bindungsstelle besitzen, die beide durch einen multivalenten Rezeptor besetzt werden können. Dies kann zu einer erhöhten Spezifität führen und ist z.B. bei Lektinen zu finden, die neben den eigentlichen Kohlenhydratwechselwirkungen Bindungen zwischen einer hydrophoben Bindungsstelle im Lektin und einer unpolaren funktionellen Gruppe innerhalb des Liganden ausbilden (**Abbildung 1-8 c**). Der Kontakt einer Bindungsstelle zwischen Ligand und Rezeptor kann zu einer Wanderung der Liganden auf der Zelloberfläche und einer Aggregation der Bindungsepitope führen, wodurch die Bindung verstärkt wird (**Abbildung 1-8** e).<sup>61</sup> Was bewirkt aber den multivalenten Effekt?



**Abbildung 1-8:** Erkennungsprozesse auf der Zelloberfläche a) monovalenter Rezeptor, b) zufällige Bindung eines multivalenten Rezeptoren; c) Bindung eines Rezeptors mit einer Nebenstelle; d) multivalenter Rezeptor; e) spontane Clusterbildung auf der Zelloberfläche hervorgerufen durch einen multivalenten Rezeptor

Die thermodynamischen Hintergründe multivalenter Bindungsmechanismen in ihrer ausführlichen Betrachtung können hier aufgrund ihrer Komplexität nicht im Detail, sondern lediglich in den wichtigsten Punkten betrachtet werden. Die eigentliche Multivalenz muss vom sogenannten Kooperativitätseffekt unterschieden werden. Dieser besagt, dass nach der Bindung eines Rezeptors die Affinität des Liganden für einen weiteren Rezeptor verschieden zu der des ersten Rezeptors ist.<sup>64-67</sup> Multivalenz benötigt nicht unbedingt einen kooperativen Effekt.<sup>68</sup> Im Folgenden soll deshalb nur auf mulitvalente Effekte eingegangen werden.

Thermodynamisch betrachtet ist die Entropiedifferenz der entscheidende Faktor bei multivalenten Bindungsaffinitäten. Die Entropie setzt sich aus der Translations-, Rotations-, Konformationsentropie und einer Entropie, die durch Umgebungswasser hervorgerufen wird, zusammen. Der Entropiebeitrag, der durch Umgebungswasser hervorgerufen wird, kann als konstant gesetzt werden. Das gilt nicht für die Rotations- und Translationsentropie, die zusammen betrachtet werden. Durch die Bindung an einen Rezeptor kommt es bei dem Liganden zu einem Entropieverlust (es gehen drei Freiheitsgrade verloren). In einer Näherung kann man davon ausgehen, dass der Entropieverlust für mono- oder polyvalente Liganden der gleiche ist. Entscheidend ist die Tatsache, dass es nach der Bindung eines Rezeptors bei einem

polyvalenten Liganden für die zweite Bindungsstelle nicht zu einem weiteren Verlust an Freiheitsgraden kommt, während bei monovalenten Liganden jeder Ligand erneut drei Freiheitsgrade verliert. Somit sind polyvalente Liganden entropisch begünstigt. Bei flexiblen Liganden kann es dazu kommen, dass der Verlust der Konformationsentropie größer ist als die Entropiebegünstigung (die durch die Translations- und Rotationsentropie hervorgerufen wird). In diesem Fall ist die Bindung entropisch nicht begünstigt.<sup>59</sup>

Ein weiterer Vorteil, den multivalente Rezeptoren aufweisen, ist eine Abnahme der Dissoziationsrate. Um den Liganden-Rezeptor-Komplex zu zerstören, müssen alle einzelnen Bindungen gleichzeitig gebrochen werden. Dies ist jedoch relativ unwahrscheinlich, so dass nach der Dissoziation einer Bindung die Nähe des Liganden zur Bindungsstelle eine erneute Bindung leichter ermöglicht. Somit spielt der kinetische Faktor bei multivalenten Bindungsprozessen eine wichtige Rolle.<sup>59,69</sup>

Rezeptor-Ligand-Erkennungsprozesse werden in hohem Maße von der Anordnung und Dichte der Glycotope auf Zelloberflächen gesteuert.<sup>57</sup> Dies ist z.B. bei der Phagozytose eines Bakteriums zu erkennen. Auf der Oberfläche eines Bakteriums binden IgG Antikörper an IgG-spezifische Antigene. Eine Makrophage kann an die Antikörper binden. Eine Phagozytose des Bakteriums kann jedoch nur erfolgen, wenn eine Makrophage an mindestens zwei Antikörper bindet (**Abbildung 1-9 a**). Die Anlagerung von *E. coli* an Epithelzellen in Harnwegen der Blase läuft durch eine heteromere Polyvalenz ab (**Abbildung 1-9 b**). Hier kann die Bindungsstärke und Selektivität dadurch erhöht werden, dass verschiedene Rezeptortypen, sowie verschiedene Ligandentypen an dem Bindungsprozess beteiligt sind. Eine erhöhte Spezifität wird dadurch gewährleistet, dass eine differentielle Regulierung der Rezeptortypen gegeben ist. Erst nachdem eine gewisse Anzahl Rezeptoren auf den Liganden der Zelloberfläche gebunden sind, kann ein zweiter Rezeptor an die entsprechenden Liganden binden. Im Falle von *E. coli* bindet in einem ersten Schritt das Protein G an ein P<sub>K</sub> Antigen, welches auf der Zelloberfläche von Epithelzellen im Harnweg zu finden ist. In einem nächsten Schritt binden Adhäsin G und F an ein Fibronectin, welches über RGD an Integrine auf der Zelloberfläche bindet.<sup>59</sup>



**Abbildung 1-9:** a) Ein weiteres Beispiel der Multivalenz bei Erkennung eines Pathogens durch eine Makrophage. Auf der Pathogenoberfläche sind IgG-spezifische Antigene exprimiert. IgG Antikörper binden an diese. Über eine zusätzliche Erkennungsdomäne ( $F_c$ ) erfolgt eine Bindung des Antikörpers an eine Makrophage. Diese umschließt das Pathogen und bewirkt dessen Phagozytose. Dies ist aber nur möglich, weil das IgG-Antigen in einer hohen Dichte auf der Oberfläche des Bakteriums präsentiert wird. Die Bindung eines einzelnen Antikörpers würde die Phagozytose nicht bewirken. b.) Heteromere Polyvalenz am Beispiel des *E.coli*, das sich an Epithelzellen anlagert. Dabei erfolgt die Anlagerung über Lektin-ähnliches G-Adhäsin, das an Antigene (mit einer Gal- $\alpha$ -1,4-Gal-Einheit) bindet. Zusätzlich erfolgt die Bindung über F-Adhäsin an Fibronectine, die ihrerseits durch multivalente Wechselwirkungen an Zelloberflächen binden.<sup>59</sup>

Des Weiteren spielt die Geometrie des Rezeptors bei den einzelnen Erkennungsprozessen eine sehr wichtige Rolle. Häufig findet man in natürlich vorkommenden Lektinen, wie z.B. dem MBP<sup>45</sup> oder dem Tetranectin,<sup>70</sup> eine tripodale Anordnung der Erkennungseinheiten (**Abbildung 1-10**). Bei multivalenten Wechselwirkungen muss die Geometrie des Rezeptors mit der Anordnung der Bindungsepitope übereinstimmen.



**Abbildung 1-10:** Die Lektine MBP<sup>45</sup> (links) und Tetranectin<sup>70</sup> (Mitte und rechts), die beide eine tripodale Anordnung der CRD sowie drei Bindungsstellen für Kohlenhydrate enthalten.

Kommt es nach der Bindung zu einer sterischen Spannung, kann der gebundene Ligand-Rezeptor-Komplex im Vergleich zu freien Liganden/Rezeptoren energetisch benachteiligt sein und sich das Gleichgewicht auf die Seite des ungebundenen Zustands verschieben (**Abbildung 1-11**).<sup>59</sup> Rigide Grundgerüste besitzen den Vorteil, dass ihre Rezeptoren eine Präorganisation besitzen und somit entropische Verluste bei der Knüpfung weiterer Bindungen verringert werden. Flexible, multivalente Rezeptoren hingegen können die Bindungstasche teilweise besser von dem Lösungsmittel abschirmen und die Enthalpie einzelner Wechselwirkungen optimieren.<sup>71,72</sup>



**Abbildung 1-11:** Ligand-Rezeptor-Komplex mit a) passender Geometrie des Rezeptors, die zu einer sterisch, nicht gespannten Bindung führt während in b) zu weit voneinander entfernte Bindungsstellen des Rezeptors oder in c) der falsche Epitopenabstand zu einer Spannung in dem Bindungskomplex führen.

#### 1.4. Kohlenhydrate in der Wirkstoffchemie

Neben veränderten, körpereigenen Zellen, die, wie in **"1.2 Die Glycocalyx**" beschrieben, häufig ein Krankheitsbild implizieren, finden sich spezifische Kohlenhydratepitope auch auf Bakterien, Viren und anderen Pathogenen. Auch wenn die Unterscheidung zwischen Pathogenen und körpereigenen Zellen nicht immer einfach ist, sind für verschiedene Krankheitsbilder spezifische Epitope bekannt, die für Wirkstoffe einen ersten Ansatzpunkt bieten.

Das Glycosylierungsmuster charakterisiert Spezies und Art des bakteriellen Pathogens. Kohlenhydratspezifische Antikörper des Immunsystems können diese Glycane erkennen und eine Immunantwort bewirken. Sie schützen somit den Körper. Menschen, denen diese Antikörper fehlen (z.B. ältere Menschen oder Kinder) besitzen ein erhöhtes Risiko, an einer Infektion zu erkranken. Eine Möglichkeit, die abweichenden Glycane als Zielstrukturen zu nutzen, bieten Impfstoffe auf Basis von Kohlenhydraten. Dazu werden die bakteriellen Glycane (entweder synthetisch hergestellt oder isoliert) injiziert, um die Bildung der Antikörper zu erhöhen. Hier sei als Beispiel Quimi-Hib (Heber Biotech) genannt, das als erster synthetischer, auf Kohlenhydraten basierender Impfstoff zugelassen und 2004 in das Impfprogramm Kubas übernommen wurde. Es zeigt eine 99.7%ige Erfolgsrate gegen das Pathogen *Haemophilus influenzae* Typ b (Hib), welches eine bakterielle Meningitis hervorruft.<sup>28,73</sup> Ähneln sich pathogene und körpereigene Glycane zu stark, kann es dazu kommen, dass der Körper die Pathogene nicht erkennen kann. Um hier dennoch eine Immunisierung zu ermöglichen, kann diese mit einer chemischen Modifikation der Pathogen-Glycane selbst durchgeführt werden. Hier besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, dass Pathogene über Kreuzreaktion von dem Wirt als körperfremd

identifiziert werden. Allerdings muss darauf geachtet werden, dass keine Autoimmunreaktion durch die Ähnlichkeit des Glycans hervorgerufen wird. Ein weiteres Problem, das sich bei bakteriellen Pathogenen findet, ist die Heterogenität der Glycane. Abhilfe schaffen *"multivalent conjugate vaccines"*, eine Mischung mehrerer Antigene (z.B. Prevnar von Wyeth/Pfizer).<sup>28</sup>

In der Krebstherapie bieten sich Antikörper als zusätzliche Behandlungsform an. So können nach einer Chemotherapie Glycane, die die Produktion von Antikörpern aktivieren, als therapeutischer Impfstoff genutzt werden. Die erhöhte Anzahl an Antikörpern kann die Antigene auf nicht zerstörten Krebszellen erkennen und letztlich beseitigen. An dieser Stelle bieten sich erneut TACA's als therapeutischer Impfstoff an, doch wird die Forschung an diesen Impfstoffen durch eine große Heterogenität sowie eine nur geringe Immunogenität der TACA's erschwert.<sup>74,75</sup> Neben der Impfstoffentwicklung können Glycanstrukturen auch Angriffspunkt für zielgerichtete Therapeutika bzw. Diagnostika sein.<sup>14</sup> Wie bereits erwähnt zeigen manche Krebsarten erhöhte Werte von Serummarkern und können ein Hinweis auf eine Krebserkrankung sein.<sup>ix</sup> Gibt es im Blut keine spezifischen Marker, müssen andere diagnostische Methoden (wie z.B. Gewebeproben) genutzt werden.<sup>14</sup>

Wie gezeigt werden konnte, ist die Erkennung von Kohlenhydraten bereits für die Natur, demzufolge aber in einem noch größeren Maße für die Synthetische und Medizinische Chemie, eine große Herausforderung. In der Erkennung von Kohlenhydraten mit synthetischen Lektinmimetika bzw. Wirkstoffen wird ein vielversprechender Nutzen gesehen, um in biologische Systeme zur Heilung oder zur Bekämpfung von Pathogenen eingreifen zu können. Deswegen stellen sich Naturwissenschaftler der Herausforderung, solche synthetischen Moleküle aufzubauen und auf ihre Bindungsaffinitäten hin zu testen.

<sup>&</sup>lt;sup>ix</sup> Ein Beispiel eines Serummarkers ist ein Antikörper für sLe<sup>a</sup>, der für Dickdarmkrebs charakteristisch ist.<sup>76</sup> Ein anderer Serummarker ist das Prostata-spezifische Antigen.<sup>77,78</sup>

#### 2. Kenntnisstand

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist die Erkennung von Kohlenhydraten für die Wirkstoffentwicklung von großem Interesse, jedoch mit synthetischen Molekülen schwer zu realisieren. Synthetische Ansätze zeigten bisher noch keinen durchbrechenden Erfolg, doch gibt es richtungsweisende und vielversprechende Ansätze, die im Folgenden kurz dargestellt werden sollen.<sup>79</sup>

#### 2.1. Bekannte Konzepte zur Kohlenhydraterkennung

Es finden sich einige synthetische Moleküle, die in der Lage sind, Kohlenhydrate in organischen Lösungsmitteln zu erkennen und zu binden, jedoch sieht deren Erkennung in polaren, wässrigen Medien anders aus und ist ein noch immer weitgehend ungelöstes Problem.<sup>58</sup> Dies liegt daran, dass Kohlenhydrate überwiegend über Wasserstoffbrückenbindungen an den Liganden binden. Dies funktioniert aber nur, wenn keine anderen Hydroxygruppen gegenwärtig sind und eine Camouflage gegenüber den Kohlenhydrat-Hydroxygruppen bilden (**Abbildung 2-1**). In der Forschung haben sich nichtsdestotrotz vor allem zwei Konzepte zur Erkennung von Kohlenhydraten (im wässrigen Medium) herauskristallisiert: ein nichtkovalenter und ein kovalenter Ansatz.



**Abbildung 2-1:** In wässrigem Medium müssen Wassermoleküle von den Kohlenhydraten aus der Bindungstasche gedrängt werden. Die Wassermoleküle konkurrieren mit den Hydroxygruppen der Kohlenhydrate um die Bindungsstellen.<sup>80</sup>

#### 2.1.1. Der nichtkovalente Ansatz

Bei den nichtkovalenten Systemen handelt es sich häufig um biomimetische Ansätze, die in den Bereich der supramolekularen Chemie fallen. So kopieren diese die natürlichen Lektin-Kohlenhydratwechselwirkungen besser als der zweite Ansatz, bei dem es sich um kovalente Systeme handelt. Betrachtet man z.B. einen synthetischen Liganden **3** von *Davis*, werden die natürlichen Wasserstoffbrückenbindungen sowie die hydrohoben CH- $\pi$ -Wechselwirkungen gut imitiert (**Abbildung 2-2**).<sup>81,82</sup> Idealerweise ist ein Grundgerüst zur Kohlenhydraterkennung groß genug, um Kohlenhydrate einschließen zu können. Bei gleichzeitiger Rigidität muss gewährleistet sein, dass es nicht zu intramolekularen Wechselwirkungen kommt. Weiterhin müssen die hydrophilen und hydrophoben Gruppen im synthetischen Liganden richtig präsentiert werden.<sup>83,84</sup>



**Abbildung 2-2:** Disaccharidrezeptor **3** nach *Davis*: Die blau gekennzeichneten aromatischen Einheiten (*meta*-Terphenyle) dienen zur Erkennung der Saccharide aufgrund hydrophober Wechselwirkungen. Die rot gekennzeichneten Einheiten (Isophthalamide) dienen als "Säulen", um die aromatischen Einheiten auseinander zu halten. Gleichzeitig besitzen diese Platzhalter Peptidbindungen, um über Wasserstoffbrückenbindungen an die Hydroxygruppen der Saccharide zu binden bzw. zu koordinieren. Zusätzlich sind an ihnen Carboxylgruppen konjugiert (grün gefärbt), um die Wasserlöslichkeit des Moleküls zu gewährleisten (Abbildung mit Veränderungen<sup>80</sup>).<sup>49,81</sup>

Seit den 80er Jahren ist eine Vielzahl verschiedener Systeme entwickelt worden, die in der Lage sind, Zucker in organischen Lösungsmitteln zu erkennen. Dazu gehören unter anderem Sensoren auf Basis von Calixarenen,<sup>85,86</sup> Cholaphanen,<sup>87</sup> 2-Aminopyridin<sup>88</sup> oder Phosphaten bzw. Phosphonaten (**Abbildung 2-3**).<sup>89</sup> Auch die Cholsäure wurde benutzt, um ein steroides Dilacton zu synthetisieren,<sup>90</sup> das in Kombination mit Porphyrin in der Lage ist, Monosaccharide zu komplexieren. Hier zeigte sich eine Abhängigkeit der Bindungsaffinitäten an die Monosaccharide von der Art des Lösungsmittels. Zugabe von Wasser oder Methanol erhöhten die Bindungsaffinitäten. Hervorgerufen wurde dieses Phänomen vermutlich dadurch, dass die Bindungstasche des Liganden zu groß ist, Wasser als Abstandshalter fungiert und erst so eine akzeptable Bindung an den Zucker zu Stande kommt.<sup>91</sup> Generell ist es hilfreich, Systeme zu entwickeln, die eine einfache Variation des Abstandes der Bindungspartner ermöglichen. Dies gelang *He* mit metallorganischen, polyedrischen-Verbindungen, die in Gegenwart von Cer je nach Grundgerüst Selektivitäten für verschiedene Mono- und Disaccharide aufweisen.<sup>92</sup>

Doch eines zeigen alle diese Systeme: Ihre Fähigkeiten, Diol- respektive Saccharidstrukturen zu erkennen, funktioniert nicht bzw. sehr schlecht in wässrigen Systemen. Hinzu kommt, dass lediglich Mono- und Disaccharide erkannt werden, was die Anwendung für die Erkennung von Kohlenhydraten auf Zelloberflächen ausschließt, da hier vornehmlich Oligosaccharide zu finden sind.



**Abbildung 2-3:** Verschiedene synthetische Kohlenhydratbinder: Calixaren **4**, das in wässriger Lösung mit kleinen Assoziationskonstanten an Fucose bindet<sup>93</sup> (a); Cholaphanderivat **5** kann D- und L-Octyl-Glucoside mit nennenswerten Affinitäten in Chloroform unterscheiden<sup>87</sup> (b); *Anslyns* polyaromatischer Ligand **6**, der in Chloroform bevorzugt an 1,3/2-Triole bindet<sup>88</sup> (c).

Erste Messungen in wässriger Lösung erfolgten mit Cyclodextrin-<sup>94</sup> oder Calixarenderivaten.<sup>95</sup> Allerdings waren die Bindungskonstanten mit Sacchariden sehr gering ( $K_a = 100 \text{ M}^{-1}$ ).<sup>83</sup> Auch die Nutzung von Peptidgrundgerüsten zeigte keine verbesserten Bindungskonstanten an Zuckern  $(K_a < 10 \text{ M}^{-1})$ .<sup>96</sup> Der polycyclische 1,1'-Binaphthyl Ligand **7** zeigte in einem Wasser/Methanol-Gemisch (v/v 99.5:0.5) immerhin eine Bindungskonstante an D-(+)-Galactose von  $K_a = 950 \text{ M}^{-1}$ oder von  $K_a = 4550 \text{ M}^{-1}$  an D-(+)-Maltose (**Abbildung 2-4**).<sup>97</sup> Eine noch etwas höhere Bindungskonstante, allerdings unter basischen Bedingungen (pH 12.4), zeigten Ethylenamin-Liganden von Striegler, die in Gegenwart von Kupfer Monosaccharide von rund  $K_a = 5000 \text{ M}^{-1}$ komplexieren.<sup>84,98</sup> Ein von Král entwickeltes Porphyrinderivat 8 zeigte in wässrigem Medium (Wasser/Methanol v/v 95:5) eine höhere Bindungskonstante ( $K_a = 19700 \text{ M}^{-1}$  für D-Galactose). Allerdings ist hier verwunderlich, dass das Porphyrinderivat 8 einen Innendurchmesser von rund 24 Å und ein Monosaccharid von nur 8 Å hat (Abbildung 2-4).<sup>84,99,100</sup> Davis Käfigstrukturen schließen Kohlenhydrate komplett ein und zeigen vergleichbare Affinitäten wie Lektine, nämlich Selektivitäten bezüglich gewisser Saccharidgruppen und selbst nennenswerte Affinitäten zu Disacchariden in Wasser ( $K_a = 4500 \text{ M}^{-1}$  an Methyl- $\beta$ -D-cellobiose;  $K_a = 3340 \text{ M}^{-1}$  an D-Cellobiose) (Abbildung 2-2). So bindet 3 zwar an verschiedene äquatoriale Zucker, verliert aber an Selektivität gegenüber Disacchariden. Somit bleiben auch für diese Käfigstrukturen weitere Fragen offen.<sup>49,81</sup>



**Abbildung 2-4:** Králs cyclische Liganden, von denen **8** in wässrigen Systemen mit Bindungsaffinitäten von bis zu  $K_a = 19700 \text{ M}^{-1}$  an gewisse Kohlenhydrate binden.<sup>84,99,100</sup>

Im Gegensatz zu den bisher erwähnten Systemen gibt es auch Systeme, die auf einer tripodalen Grundstruktur basieren. Hier finden sich einige Arbeiten, die aus dreifach substituierten Phenylderivaten aufgebaut sind und mit verschiedenen Liganden konjugiert werden.<sup>101,102</sup> Die Anordnung dieser Systeme erfolgt häufig tripodal, allerdings ist die Symmetrie in den Fällen unterbrochen, in denen verschiedene Liganden-Einheiten an einem Phenylring vereint werden. Ein Beispiel sind Pyrrolderivate von *Roelens* (z.B. **9**, **Abbildung 2-5**), die funktionelle Gruppen für verschiedene Wechselwirkungen an Zucker enthalten.<sup>103-107</sup> *Mazik* stellte Systeme auf Basis von Pyridin- oder Pyrimidin-Grundgerüsten dar (z.B. **10**, **Abbildung 2-5**), mit deren Hilfe sowohl natürliche Wasserstoffbrückenbindungen, aber auch natürliche  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen imitiert werden können.<sup>108-110</sup> Es zeigten sich verschiedene Präferenzen, an einzelne Zucker zu binden. Doch wässrige Systeme bringen auch diese Liganden an ihre Grenzen. So werden Monosaccharide und kurze Oligosaccharide zwar gebunden, jedoch finden sich Selektivitäten und Affinitäten erneut nur in organischen Lösungsmitteln.<sup>49,82,111</sup>



Abbildung 2-5: Kohlenhydratbindende Verbindungen auf Basis tripodaler Systeme.<sup>106,112</sup>

Zusammenfassend kann man sagen, dass nichtkovalente Systeme nur mit wenigen Ausnahmen in wässrigen Lösungen mit nennenswerten Affinitäten an Kohlenhydrate binden.<sup>49,82,100,111,113</sup> In

aller Regel erfordern diese Lektinmimetika einen beträchtlichen synthetischen Aufwand.<sup>114</sup> Hinzu kommt, dass zwar Affinitäten an Mono- und Disaccharide beobachtet werden, jedoch nahezu keine zu Oligosacchariden.<sup>115</sup>

Für die erfolgreiche Synthese von Lektinmimetika sind jedoch zwei Punkte entscheidend:

- 1. Die Erkennung von Kohlenhydraten muss in Wasser erfolgen, um die Modellsysteme auf biologische Anwendungen im Blut übertragen zu können.
- 2. Oligosaccharide sollten von den Lektinmimetika erkannt werden, da auf Zelloberflächen keine Mono-, sondern Oligosaccharide zu finden sind.

#### 2.1.2. Der kovalente Ansatz

Im Gegensatz zu den Systemen, die in **"2.1.1 Der nichtkovalente Ansatz**" vorgestellt wurden, zeigen kovalent bindende Kohlenhydratbinder einen unnatürlichen Bindungsmechanismus. Die Erkennung der Kohlenhydrate erfolgt nicht über die Bildung von Wasserstoffbrücken sondern über die kovalente Bindung des Rezeptors an Hydroxygruppen der Saccharide. Auch wenn diese Bindungen nicht natürlich sind, ist in diesem Bereich die Nutzung von Boronsäuren ein vielversprechender Ansatz, um pathogenspezifische Glycostrukturen zu erkennen.<sup>116,117</sup>



**Abbildung 2-6:** Reversible kovalente Bindung zwischen Phenylboronsäuren (I, IV, VI) und Dioleinheiten II in Zuckern. Das Gleichgewicht liegt für die Boronsäure I bzw. IV lediglich bei hohem pH aufseiten des Dialkoxyboronatanions III bzw. V. Für Boronsäuren des Wulff-Typs VI liegt das Gleichgewicht auch bei nahezu neutralem pH aufseiten des Boronsäure-Zucker-Komplexes VII. Hier kommt es zu einer Wasserinsertion und nicht wie angenommen zu einer direkten NH-B-Bindung.<sup>118-120</sup>

Forschungen zeigten, dass auch recht einfache Phenylboronsäurederivate in wässriger Lösung an Kohlenhydrate binden.<sup>121-127</sup> Hierbei findet eine reversible Bindung zwischen Boronsäuren (I, IV, VI) und Diolen II statt (Abbildung 2-6). Dabei werden besonders *cis*-Diole gebunden, da in diesem Falle die Kohlenstoff-Sauerstoff-Bindung coplanar vorliegt. Bei *trans*-Diolen bewirkt eine

Drehung der trans-Diole in eine coplanare Position eine höhere Ringspannung sowie eine geringe Distanz zu den axialen Gruppen. Dies ist jedoch energetisch benachteiligt, weshalb coplanare cis-Diole bevorzugt gebunden werden.<sup>128</sup> Die Selektivitäten und Affinitäten der Phenylboronsäuren sind jedoch gering. Weiter stieß dieser Ansatz insofern an seine Grenzen, als dass das Gleichgewicht lediglich bei hohem pH auf Seiten des Dialkoxyboronatanions V liegt. Erst o-substituierte Phenylboronsäuren nach Wulff VI zeigten bei neutralem pH Wert, dass das Gleichgewicht in Richtung des Dialkoxyboronatanions VII verschoben werden kann. Möglich wird dies durch die stabilisierende Wirkung der in ortho-Position Donor-substituierten Phenylboronsäuren.<sup>129,130</sup> Die Selektivitäten und Affinitäten können durch Multimerisierung und räumliche Anordnung der Boronsäuren verändert bzw. weiter erhöht werden.<sup>116</sup> Doch auch diese Strukturen stoßen an ihre Grenzen. So zeigen sie manchmal eine geringe Wasserlöslichkeit,<sup>131</sup> binden lediglich an reduzierende Zucker<sup>132;x</sup> und sind somit für die Kohlenhydraterkennung auf Zelloberflächen (hier liegen hauptsächlich nichtreduzierende Oligosaccharide vor) ungeeignet. Zusätzlich binden Boronsäuren an Zucker, wenn sie in der Furanoseform vorliegen. Die Bindung von Boronsäuren an Zucker in Pyranoseform würde sterisch den Zuckerring spannen.<sup>121</sup> Doch erst die Bindung an Zucker in Pyranoseform würde einen diagnostischen Nutzen der Boronsäuren zur Zuckererkennung möglich machen, da Kohlenhydrate auf Zelloberflächen überwiegend in der Hexopyranoseform vorkommen.<sup>134</sup>

#### 2.1.3. Verbesserung des kovalenten Ansatzes

Im Gegensatz zu einfachen Phenylboronsäuren zeigten *Hall* und Mitarbeiter, dass vom Wulff-Typ abgeleitete *ortho*-Hydroxymethyl-substituierte Derivate der Phenylboronsäure (Benzoboroxole) an nichtreduzierende Zucker binden (**Abbildung 2-6**). In dieser Studie zeigte sich auch, dass die Wechselwirkungen zwischen Boronsäure und Zucker durch Konjugation hydrophober Gruppen an den *o*-Substituenten gesteigert werden kann.<sup>132</sup> Die Affinität und Selektivität der jeweiligen Systeme kann weiter über die Wahl des Grundgerüstes, dessen Geometrie und Multimerisierung beeinflusst werden. Bisher konnten mit oligomeren Boronsäuren, deren Grundgerüste aus Aromaten, Porphyrinen, Peptiden und Makrozyklen aufgebaut wurden (**Abbildung 2-7**),<sup>117,123</sup> Monosaccharide, <sup>135</sup> Oligosaccharide<sup>136</sup> und Glycoproteine<sup>137,138</sup> erkannt werden. Dabei wurde der Begriff "Boronolektine" eingeführt, der Lektinmimetika impliziert, allerdings eine unnatürliche, kovalente Bindung der Boronsäuren an Kohlenhydrate beinhaltet und somit die synthetischen Systeme von den natürlichen abgrenzt.<sup>139</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>\*</sup> Eine einzige Ausnahme konnte Wang beobachten. Hier zeigten sich für verschiedene Boronsäurederivate Bindungskonstanten an Mannitol und Sorbitol in einem Bereich von  $K_a < 120 \text{ M}^{-1.133}$


**Abbildung 2-7:** *Kubics* Boronsäure **11**, die bei hohem pH in Wasser/Methanol (1:1) an Glucose bindet,<sup>135</sup> *Anslyns* Boronsäuren **12** zur Erkennung von Heparin, einem Oligosaccharid. Diese Boronsäure ist der erste synthetische Rezeptor, der an ein Oligosaccharid bindet.<sup>136</sup>

Die stärkere Bindung der *o*-substituierten Boronsäurederivate an Kohlenhydrate wird anhand verschiedener Punkte erklärt, ist aber nicht vollständig erforscht. Ein wichtiger Aspekt in der Zuckererkennung spielt die Acidität des Rezeptors bzw. die des Boronsäureesters nach Bindung des Diols.<sup>140</sup> Tendenziell binden Rezeptoren mit einer höheren Acidität stärker an Saccharide, als weniger stark saure Rezeptoren. Doch es gibt auch Ausnahmen, wie die *o*-Dimethylaminomethylphenylboronsäure, die trotz ihres niedrigen p*K*<sub>S</sub>-Wertes von 6.7 keine Affinität an Glycopyranoside zeigt. Hieran wird deutlich, dass die Bindung von Boronsäuren an Saccharide wesentlich komplexer ist. Die Selektivitäten der einzelnen Boronsäuren sind durch energetische Zustände erklärbar. So werden bestimmte Zucker dann besonders gut gebunden, wenn ein energetisch günstigerer Zustand vorliegt. Der energetische Zustand wird häufig dadurch herabgesetzt, dass es nicht zu einer Spannung in den Zuckerringen kommt. Gleichzeitig darf es bei der Bindung nicht zu einer extremen Konformationsänderung des Zuckers kommen, um Enthalpieverluste<sup>141</sup> zu minimieren.<sup>127</sup>

Boronsäuren zeigen starke Selektivitäten bezüglich der Saccharidstruktur. So binden sie, wie schon zuvor erwähnt, stärker an Furanosen als an Pyranosen. Aber auch die Art des Diols beeinflusst die Bindungsstärke. Bevorzugt gebunden werden *cis*-1,2-Diole (**Abbildung 2-8**). Um die Selektivitäten und Affinitäten zu erhöhen, müssen somit zusätzliche Erkennungsmotive integriert und mit den Vorteilen der Boronsäuren kombiniert werden.



Abbildung 2-8: Abstufung der Bindungsaffinitäten von Boronsäuren an Diolmotive.

#### 2.2. Synthese funktionalisierter Boronsäuren als Boronolektine

Eine einfache Variante zur Synthese funktionalisierter Boronsäuren bietet die *Huisgen*-Cycloaddition ("Click-Reaktion"). Mit ihr gelang es sowohl *Shao* als auch *Wang*, Phenylboronsäuren strukturell so zu modifizieren, dass sie zur Oligosacchariderkennung genutzt werden können. So synthetisierte *Shao* Bisphenylboronsäuren **17**, die mit TTFAQ ein Elektrophor besitzen, das zur elektrochemischen Erkennung von Fructose genutzt werden kann (**Abbildung 2-9**).<sup>142</sup> *Wang* konnte zeigen, dass seine über Click-Chemie dargestellten Bisboronsäuren höhere Bindungsaffinitäten an Fructose aufwiesen als die entsprechenden Monoboronsäuren.<sup>143</sup> *Hall* kuppelte Benzoboroxole an ein Peptidgrundgerüst und zeigte, dass dieses Bisboroxol **18** (**Abbildung 2-9**) selektiv an das Disaccharid Gal-*6*-1,3-GalNAc bindet, welches ein Tumormarker für das Thomsen-Friedenreich-Antigen (TF-Antigen) ist. Zusätzlich zeigten Vergleichsstudien mit einem Blindliganden ebenfalls eine Bindung – wenn auch schwächer – an den Tumormarker. Daraus ist ersichtlich, dass die Bindung des Liganden an den Marker nicht nur über die Boronsäure, sondern auch weitere funktionelle Gruppen erfolgt.<sup>144</sup> Dies ist insofern von Bedeutung, als dass die CRD neben dem eigentlichen Rezeptor weitere Gruppen für eine größere Spezifität tragen kann.



**Abbildung 2-9:** *Shaos* Bisboronsäure **17** zur Erkennung von Fructose und *Halls* Bisbenzoboroxol **18** zur Erkennung des Disaccharids Gal-*8*-1,3-GalNAc.

Mit diesen verschiedenen Systemen sind erste Erkenntnisse in Bezug auf synthetische Kohlenhydratbinder geschaffen. Aufgrund der Komplexität dieses Themengebiets müssen allerdings einerseits die Bindungsmechanismen besser erforscht und andererseits die bestehenden Systeme weiter überdacht und adaptiert werden, um mit ihnen diagnostische und therapeutische Möglichkeiten zu schaffen.<sup>145</sup>

# 2.3. Evaluierung der Bindungseigenschaften

Um die Bindungsaffinitäten der Boronsäuren an einzelne Kohlenhydrate sensorisch überprüfen zu können, wurden eine Vielzahl an Detektionsmethoden veröffentlicht. Eine Möglichkeit bietet Circulardichroismus.<sup>125,146</sup> So zeigte sich beispielsweise für 2,2'-Dimethoxydiphenylmethan-5,5'-diboronsäure erst in Gegenwart verschiedener Zucker<sup>xi</sup> eine CD-aktive Bande.<sup>125</sup> Andere Möglichkeiten finden sich in Extraktionsverfahren,<sup>112,147,148</sup> pH-Titrationen<sup>122</sup> und NMR-Messungen.<sup>149</sup>

Eine große Bedeutung haben spektroskopische Methoden, bei denen aufgrund eines Chromophors UV-Vis-Spektren aufgenommen und Bindungskonstanten bestimmt werden können.<sup>150,151</sup> Auch Fluoreszenzmessungen bieten eine schnelle, einfache und gute Möglichkeit, Bindungskonstanten von Boronsäuren an Zucker zu bestimmen. Im Folgenden sollen zwei Konzepte, die auf Basis von fluoreszierenden Stoffen beruhen, kurz dargestellt werden.

Eine erste Möglichkeit, Bindungsaffinitäten mit Hilfe von Fluoreszenz zu bestimmen, bietet ein kompetitiver Verdrängungsansatz. So entwickelte Springsteen einen Fluoreszenzassay, bei dem eine kompetitive Bindung zwischen Boronsäuren, Alizarin Red S. (ARS, **19**) und Diolen stattfindet. Sobald die Boronsäure stärker an den Zucker bindet als an ARS, wird der fluoreszierende ARS-Boronsäurekomplex **19-I** aufgelöst und die Fluoreszenz nimmt ab (**Abbildung 2-10**). Konzentrationsreihen ergeben eine Veränderung der Fluoreszenzabnahme, und mit Hilfe der Benesi-Hildebrand-Methode können die entsprechenden Bindungskonstanten  $K_a$  bestimmt werden.<sup>152-154</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>xi</sup> Eine Bindung findet bevorzugt an Zucker mit einer *cis*-Diol-Einheit in 1,2-Stellung sowie einer *trans*-Stellung der 4-OH und 5-CH<sub>2</sub>OH-Gruppe statt.



**Abbildung 2-10:** Mechanismus des ARS-Assays nach Springsteen: In Alizarin Red S. wird die Fluoreszenz durch einen Protonentransfer der Phenolhydroxy-Gruppe auf die Ketoeinheit gequencht. Erst durch Bindung der Boronsäuren an ARS kann dieser Protonentransfer nicht länger erfolgen und es kommt zu einer Fluoreszenz. In Gegenwart von Zucker konkurrieren die Dioleinheiten des ARS und des Zuckers um die Boronsäuren. Ist deren Bindungsaffinität zu dem Zucker größer als zu ARS, wird der ARS-BA Komplex aufgelöst und es kommt erneut zu einer Abnahme der Fluoreszenz.

Eine andere Art, Bindungsaffinitäten zu bestimmen, bietet sich in der Fluoreszenzmarkierung der Boronsäuren selbst und den sich daraus ergebenden Absorptionen.<sup>126,155,156</sup> Um jedoch die benötigte Menge an Liganden zu verringern und einen hohen Durchsatz zu gewähren, bieten sich Microarrays an. Diese haben sich in den letzten Jahren für Screenings etabliert.<sup>157-159</sup> Sie ermöglichen, auf schnelle und einfache Art, aber vor allem mit geringen Substanzmengen, eine Vielzahl an Substraten zu überprüfen. Bisher wurden jedoch hauptsächlich qualitative, aber keine quantitativen Screenings durchgeführt. *Wong* entwickelte eine Methode zur Bestimmung von Bindungsaffinitäten, bei dem verschiedene Zucker auf einem Glaschip immobilisiert wurden. Diese wurden nun mit verschiedenen Konzentrationen eines Fluoreszenz-markierten Kohlenhydratbinders (hier: Lektine) inkubiert und die Fluoreszenzintensität ausgelesen. Durch eine Auftragung der Intensität gegen die Lektinkonzentration konnten mit Hilfe einer Langmuir-Isotherme Bindungskonstanten ermittelt werden (**Gleichung 2-1**), die ähnliche Werte aufweisen wie mit anderen Methoden bestimmte Bindungskonstanten.<sup>160,161</sup>

**Gleichung 2-1:** Langmuir-Isotherme mit deren Hilfe die Bindungsaffinität von Lektinen an Kohlenhydrate bestimmt werden kann.

$$F = \frac{F_{\max}[c]}{[c] + K_{D,surf}}$$

Bei all diesen verschiedenen Methoden sollte jedoch bedacht werden, dass Bindungskonstanten, die von unterschiedlichen Forschungsgruppen bzw. durch verschiedene Methoden ermittelt worden sind, sich nicht immer vergleichen lassen und ebensolche kritisch zu beachten sind.<sup>154</sup>

# 2.4. Boronsäurederivate und ihre Diolerkennung – verschiedene Nutzen

Abseits der Forschung von der spezifischen Zuckererkennung in wässrigen Systemen mit Hilfe von Boronsäuren finden diese auch in anderen Bereichen Verwendungszwecke – jedoch häufig im Zusammenhang mit ihrer Fähigkeit, an Diole zu binden. Hier seien nur wenige Bereiche erwähnt.

Ein interessantes Anwendungsgebiet ist die Verwendung von Boronsäurederivaten als stationäre Phase in der Chromatographie zur Reinigung von Biomolekülen, die ein oder mehrere *cis*-Diol-Motive enthalten.<sup>162,163</sup> Neben klassischen Kreuzkupplungsreaktionen wie z.B. Suzuki-Miyaura<sup>164</sup> kommen Boronsäuren noch in einer Anzahl weiterer Reaktionstypen zum Einsatz,<sup>165</sup> von denen hier nur einige genannt werden sollen: Diels-Alder Reaktionen,<sup>166</sup> Aldolreaktionen,<sup>167</sup> 1,3-Transposition von Allylalkoholen<sup>168</sup> oder der Epoxidöffnung.<sup>169</sup>

Borinsäuren, die ebenfalls in der Lage sind, an Diole zu binden, zeigen ebenfalls eine sehr interessante Anwendung: Sie sind in der Lage, Desymmetrierungsreaktionen zu katalysieren.

## 2.5. Desymmetrierungsreaktionen mit Hilfe von Borinsäuren

Enantiomerenreine Verbindungen spielen nicht nur in der synthetischen, sondern vor allem in der Medizinischen Chemie bzw. Pharmaindustrie<sup>170</sup> eine entscheidende Rolle: Aufgrund unterschiedlich physiologischer Wirkungen kann die medikamentöse Verabreichung eines racemischen Gemisches eine andere Wirkung zeigen, als die der einzelnen Enantiomere. Im Falle von Contergan sind diese Wirkfolgen gravierend gewesen,<sup>171</sup> wobei hingegen bei anderen Wirkstoffen ein kombinierter Wirkmechanismus gewollt sein kann. So wird beispielsweise das Herzmedikament Dobutamin als Racemat eingesetzt. Während das (+)-Enantiomer den  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptor aktiviert, wirkt das (-)-Enantiomer auf den  $\alpha_1$ -Rezeptor. Dieser hebt die Wirkung des  $\beta_2$ -Rezeptors auf, und die Kontraktivität der Herzmuskelzellen wird gesteigert.<sup>172</sup> Somit ist schon während der Synthese chiraler Verbindungen die Kontrolle der Stereochemie beziehungsweise die Trennung von Racematen entscheidend.

Meist werden Stereozentren während der Synthese neu aufgebaut. Chirale Hilfsreagenzien wie beispielsweise Organokatalysatoren bewirken eine enantioselektive Reaktion,<sup>173</sup> so dass ein Enantiomer im Überschuss gebildet wird und die meist aufwändige Reinigung eines racemischen Gemisches vermieden werden kann. Im Fall von *meso*-Verbindungen existieren die Stereozentren bereits, aufgrund der Spiegelachse ist das Molekül aber nicht chiral. Erst eine Desymmetrierung (beispielsweise eine Monoacylierung von *meso*-Diolen) erzeugt chirale Verbindungen. Läuft eine Desymmetrierung enantioselektiv ab, wird kein Racemat sondern eine enantiomerenreine (oder zumindest angereicherte) Verbindung geschaffen. Somit werden bevorzugt Katalysatoren eingesetzt, die Desymmetrierungen mit hohem Enantiomeren-

überschuss bewirken. Es gibt eine Reihe an Organokatalysatoren, die einen Acyltransfer mit hohen Enatioselektivitäten durchführen: DMAP-Analoga, 4-Aminopyridine, *N*-Alkylimidazole, Amidine, vicinale Diamine, Phosphine, Phosphinite und *N*-Heterocyclische Carbene.<sup>174</sup>

*Taylor* konnte zeigen, dass Borinsäuren selektiv *cis*-Diole gegenüber *trans*-Diolen bevorzugt acylieren (**Schema 2-1**). Da *Taylor* jedoch keine chiralen Borinsäuren eingesetzt hat, wurden racemische Gemische gebildet.<sup>175-177</sup> Interessant wäre hier, chirale Borin- beziehungsweise Boronsäuren auf ihre Fähigkeit der enantioselektiven Acylierung hin zu überprüfen.



**Schema 2-1:** *Taylors* Borinsäuren, die selektiv *cis*-Diole gegenüber *trans*-Diolen benzoylieren. Da *Taylor* keine chirale Borinsäure genutzt hat, bilden sich racemische Gemische der acylierten Diole.

## 3. Aufgabenstellung und Zielsetzung

Ziel dieser Doktorarbeit war die Synthese mono- und multivalenter Lektinmimetika. Die häufig in der Natur zu findende tripodale Erkennungseinheit des Rezeptors sollte imitiert, mit vielversprechenden Boroxol-Einheiten kombiniert und über die Einführung weiterer funktioneller Gruppen (kleine Peptide) bezüglich ihrer Bindungseigenschaften modifiziert werden (**Abbildung 3-1**).



Abbildung 3-1: Modulares System der Lektinmimetika auf Basis von Adamantan.

#### 3.1. Darstellung des Grundgerüstes

Die Basis der zu synthetisierenden Boronolektine sollte Adamantan bilden, das die Möglichkeit der tripodalen Anordnung und ergänzend dazu die Einführung eines Effektormoleküls ermöglicht.



Abbildung 3-2: Darstellung des modularen Grundgerüstes aus der Aminoadamantancarbonsäure 24.

Dazu sollten bereits bekannte Adamantanderivate weiter funktionalisiert werden, um eine Modularität des Systems zu schaffen: Einerseits sollte ein Azidolinker die Grundlage für bioorthogonale *Huisgen*-Cycloadditionen bilden. Andererseits sollten Carbonsäuren bzw. Amine vorhanden sein, über die weitere Peptidkupplungen die Addition komplexer Strukturen an das Grundgerüst ermöglichen würden (**Abbildung 3-2**).

#### 3.2. Kohlenhydratrezeptoren

Es konnte bisher gezeigt werden, dass Boroxole vielversprechende Rezeptoren bei der Erkennung von Kohlenhydraten sind. Um einen modularen Aufbau der Boronolektine mit der *Huisgen*-Cycloaddition zu ermöglichen, sollte die Benzoboroxoleinheit ein Alkin besitzen. Außerdem sollte ein Stereozentrum aufgebaut werden, um in späteren Versuchen zu überprüfen, inwieweit die Stereochemie Einfluss auf die Zuckererkennung nehmen kann. Die Enantiomere des bereits bekannten Boroxolalkins **27** sollten getrennt und die Reaktionsbedingungen für die *Huisgen*-Cycloaddition an das Adamantangrundgerüst optimiert werden (**Abbildung 3-3**).



**Abbildung 3-3:** Benzoboroxolderivat **27** sollte für 1,3-*Huisgen*-Cycloadditionsreaktionen genutzt und die Enantiomere getrennt werden.

Um zu überprüfen, ob die Boronsäure das entscheidende Merkmal bei der Zuckererkennung ist, sollten neben den Boronolektinen analoge Derivate **30** dargestellt werden, die statt der Boronsäuregruppe einen Bromsubstitutenten besitzen (**Abbildung 3-4**).



Abbildung 3-4: Modellverbindung, die statt der Boroxoleinheit einen Bromsubstituenten besitzen und daher als Negativkontrolle in Kohlenhydrat-Bindungs-Assays genutzt werden können.

## 3.3. Funktionalisierung

Mittels Peptidkupplungsreaktionen sollte an das Adamantangrundgerüst (I) einerseits ein Effektormolekül (Fluoreszenzmarker) geknüpft werden (II), mit dem die quali- und quantitative Bestimmung der Bindungsaffinitäten an Zucker detektiert werden sollten. Andererseits sollte eine zusätzliche kurze Peptidsequenz, analog zu natürlichen Lektinen, an das Adamantan konjugiert werden (III), um zu überprüfen, inwieweit Bindungsaffinitäten durch zusätzliche Gruppen beeinflusst werden (Abbildung 3-5).



Abbildung 3-5: Funktionalisierung der Azidoadamantanderivate.

# 3.4. Assay

Zum Schluss sollten die synthetisierten Boronolektine auf ihre Möglichkeit, an verschiedene Kohlenhydratstrukturen zu binden, überprüft werden. Dies sollte mittels Kohlenhydratassays getestet werden, bei denen einzelne Mono- und Disaccharide auf Glaschips immobilisiert werden (Abbildung 3-6). Zwar handelt es sich bei Zelloberflächen um Oligosaccharide, doch kann mit Hilfe dieses Assays die Kohlenhydratanordnung der äußersten Schicht auf Zelloberflächen imitiert und somit ein erster Blick in die Funktionalität der entwickelten Boronolektine gewonnen werden.



**Abbildung 3-6:** Kohlenhydratassays, bei denen auf Glaschips Zucker immobilisiert werden. In einem zweiten Schritt erfolgt die Inkubation mit den synthetisierten, mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierten Boronolektinen und anschließender Detektion der Bindungsaffinitäten.

# 4. Resultate und Diskussion Teil 1:

# Darstellung und Evaluierung von Boronolektinen

Der Resultateteil ist zweigeteilt: Zunächst sollen Boronsäuren als Lektinmimetika vorgestellt und in einem zweiten Teil deren Nutzen als Katalysator in enantioselektiven Desymmetrierungsreaktionen gezeigt werden.

# 4.1. Darstellung der Grundgerüste

Lektine bestehen aus zwei verschiedenen Bereichen: Eine Domäne, die für die Erkennung der Kohlenhydrate zuständig ist, sowie ein Effektorbereich, der zur Weitergabe von Informationen dient. In Kapitel "**2.1 Bekannte Konzepte zur Kohlenhydraterkennung**" wurden funktionelle Gruppen, die die CRD in synthetischen Lektinmimetika imitieren können, vorgestellt. Die Effektormoleküle richten sich nach Art des Anwendungszwecks. Somit bleibt als erste Frage die Wahl der Grundgerüste, an welche die CRD und der Effektor geknüpft werden können.

Wie bereits in **"1.3.2 Natürliche Erkennungsprozesse auf Basis multivalenter Rezeptoren**" gezeigt wurde, weisen Lektine häufig eine tripodale Anordnung der Erkennungseinheiten auf. Um diese zu imitieren, bietet sich Adamantan an. Adamantan besitzt vier Brückenkopfatome, die orthogonal substituiert werden können (Abbildung 4-1).



**Abbildung 4-1:** Rigides Adamantan als Monomer **XI**, Dimer **XII**, Trimer **XIII** und das flexible, trimere Analogon **XIV**. An die Grundgerüste können zwei verschiedene Funktionalitäten konjugiert werden. Zusätzlich weisen die trimeren Grundgerüste eine tripodale Anordnung dreier Funktionalitäten auf.

Neben dem zwei- und dreifach substituierten Adamantan präsentiert das vierfach substituierte Adamantan bei drei identischen Substituenten deren tripodale Anordnung. Zusätzlich bietet der vierte Brückenkopf des Adamantangrundgerüsts die Möglichkeit zur Konjugation mit Effektormolekülen (zum Beispiel Kontrastmittel). In früheren Arbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass die Substitution des Brückenkopfatoms keinen Nachteil bezüglich der Bindungsaffinitäten zu Zelloberflächenepitopen bewirkt. Vielmehr konnte mit Einführung eines Effektormoleküls (GPI) erfolgreich das tumorspezifische Antigen PSMA markiert werden.<sup>178</sup>

Zusätzlich ist bekannt, dass Adamantan als Grundgerüst für verschiedene medizinische Anwendungen geeignet ist.<sup>179</sup>

Bei der Synthese des Grundgerüsts können verschiedene Elemente variiert werden. Neben der Möglichkeit einer flexiblen Präsentation der Kohlenhydratrezeptoren (**Abbildung 4-1, XIV**), können diese auch über ein rigides Adamantangrundgerüst fixiert werden (**Abbildung 4-1, XI, XII** und **XIII**). Neben diesen Grundgerüstvariationen ist es auch möglich, den Abstand der Kohlenhydratrezeptoren (B) bzw. den Abstand des Effektormoleküls (A) zu verändern.

Wie bereits in der Literatur bekannt, können die Tricarbonsäuren **38 (Schema 4-1)** und **24 (Schema 4-2)** in großem Maßstab dargestellt werden.<sup>180</sup> Außerdem konnte bereits gezeigt werden, dass verschiedene funktionelle Gruppen wie Amine, Carbonsäuren, Alkohole, Alkine und Azide an das Grundgerüst konjugiert werden können.<sup>181</sup>



Schema 4-1: Syntheseroute von 7-(N-Boc-3-Aminopropyl)-1,3,5-tricarboxyadamantan 38.182

Der Vorteil der Adamantancarbonsäurederivate liegt darin, dass die Möglichkeit besteht, mittels Standard-Peptidkupplungsverfahren weitere, komplexere Moleküle an das Grundgerüst zu konjugieren (z.B. Dopamin, Trisalkohole, Trisazide<sup>183,184</sup>). Gleichzeitig ist mit einem Amin als Kopffragment eine orthogonal zur Carbonsäure ansteuerbare funktionelle Gruppe vorhanden, was die Synthese vielfältiger Derivate vereinfacht.



Schema 4-2: Syntheseroute von 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan 24.<sup>180,181</sup>

Analog zu den Tricarbonsäuren ist auch die Synthese der Mono- und Dicarbonsäurederivate möglich (**Schema 4-3**), wie *Nadine Pannier* während ihrer Promotion zeigte.<sup>185</sup>



\*Dicyanoadamantan 45 entsteht als Nebenprodukt bei der Synthese des Trimers 39.

**Schema 4-3:** Syntheseroute von 1-(3-*tert*-Butoxycarbonylamino)-3-carboxyethyladamantan **50** und 1-(3-*tert*-Butoxycarbonylamino)-3,5-bis-(2-carboxyethyl)-adamantan **51**. Im Gegensatz zu der Synthese des Trimers wird bei der Synthese des Mono- und Dimers zunächst mittels Ritterreaktion das Kopffragment eingeführt und anschließend die Nitrilgruppe(n) und das Ritterprodukt in einer Stufe hydrolysiert. Daran schließt sich die Einführung der Schutzgruppe an.<sup>185,186</sup>

Eine Gemeinsamkeit zeigen alle drei Adamantanderivate: Das Einführen der *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe an der Aminofunktion in der 1-Position verläuft mit relativ schlechten Ausbeuten (um die 30%).

Die schlechten Ausbeuten bei der Einführung der Schutzgruppe können auf verschiedene Faktoren zurückzuführen sein. Einerseits ist das Kopffragment als tertiäres Amin sterisch gehindert. Zusätzlich erfolgt eine Extraktion des Boc-geschützten Produktes aus einer stark sauren Lösung, da ansonsten die Carbonsäureeinheit(en) deprotoniert vorliegen und eine Wasserlöslichkeit des Moleküls gewährleisten. Der niedrige pH-Wert von 1-3 könnte bewirken, dass ein Teil der tert-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe wieder abgespalten wird, da diese unter Bedingungen labil ist. Trotz der niedrigen Ausbeute während sauren der Schutzgruppeneinführung wurde die tert-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe beibehalten, um später orthogonal mit basenlabilen Schutzgruppen arbeiten zu können.

# 4.2. Darstellung der Kohlenhydratrezeptoren

Zunächst wurde als Kohlenhydratrezeptor ein Benzoboroxolderivat **54** verwendet, das über einen substituierten Aromaten (Aminofunktion) an das Grundgerüst (Adamantan) konjugiert werden sollte. Zusätzlich zu der Aminofunktion sollte ein Alkin in  $\gamma$ -Stellung zu dem Bor eingeführt werden, um über 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition die Verknüpfung mit weiteren kleinen Molekülen wie beispielsweise kurzen Peptidsequenzen zu ermöglichen (**Abbildung 4-2**).



Abbildung 4-2: Retrosynthese der Benzoboroxolderivate 54 und 56: Um Adamantancarbonsäuren mittels Standard-Peptidkupplung mit dem Benzoboroxol 54 und 56 zu funktionalisieren, enthalten beide Kohlenhydratrezeptoren neben der Benzoboroxoleinheit ein Amin für die Kupplung an das Adamantan. Zusätzlich zu diesen beiden Funktionalitäten besitzt Benzoboroxol 56 eine Alkinfunktionalität, um an weitere Einheiten, beispielsweise Peptidsequenzen, konjugiert zu werden.

Das Benzoboroxolderivat **54** wurde bereits in früheren Arbeiten von *Falk Wienhold* synthetisiert.<sup>187</sup> Die bekannte Route zur Darstellung des Benzoboroxols **54** startete mit 3-Hydroxybenzaldehyd **57**. Dabei fand zunächst eine Bromierung in *ortho*-Stellung zur Aldehydfunktion statt. Um die Bromierung an der 4-Position zu vermeiden, wurde nach einer in der Literatur bekannten Vorschrift gearbeitet, die lediglich das Regioisomer 2-Brom-5-Hydroxybenzaldheyd **58** und nicht das Regioisomer 4-Brom-3-Hydroxybenzaldehyd **59** lieferte.<sup>188</sup> Allerdings zeigte sich, dass je nach Ansatzgröße (120 mmol statt 16 mmol) auch das Regioisomer **59** 4-Brom-3-Hydroxybenzaldehyd gebildet wurde (**Schema 4-4**).



\* Das Regioisomer 4-Brom-3-Hydroxybenzaldehyd 59 wird bei Ansatzgrößen von 120 mmol gebildet.

Schema 4-4: Syntheseroute des Benzoboroxols 54. 187,188

Gefolgt von einer nucleophilen Substitution, einer Reduktion und der Einführung einer *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe konnte das Bromamin **53** aus dem Aldehyd **57** mit guten Ausbeuten aufgebaut werden. Doch erfolgte der entscheidende Schritt, die Einführung des Bors mittels Halogen-Metall-Austausch, nur mit einer moderaten Ausbeute (40%) bei gleichzeitig aufwändiger und empfindlicher Reaktion (**Schema 4-4**).<sup>187</sup> Somit sollte diese Syntheseroute zunächst optimiert werden.

#### 4.2.1. Optimierung der Synthese des Benzoboroxolderivates 54

Da ein Grund für die geringe Ausbeute in der Acidität der Hydroxyprotonen vermutet wurde, sollte diese durch eine Schutzgruppe herabgesetzt werden. Dazu wurde eine *tert*-Butyldimethyl-Schutzgruppe mit guten Ausbeuten (82%) an die freie Hydroxygruppe eingeführt. Mit dem geschützten Bromderivat **62** konnte die Rohausbeute des Halogen-Metall-Austausches auf 90% erhöht werden (**Schema 4-5**). Das Rohprodukt zeigte ein Verhältnis von Produkt **63**/deboroniertes Produkt **64** von 5:1. Der Versuch, die beiden Produkte säulenchromatographisch zu trennen, misslang. Auch eine chromatographische Reinigung über eine C8-Säule zur Trennung der Produkte konnte nicht erfolgreich durchgeführt werden. Stattdessen verschlechterte sich das Verhältnis von boroniertem Produkt **63**/deboroniertem Produkt **64** auf 2:1 und die Ausbeute auf 10%. Hieran ließ sich erkennen, dass die Reinigung des Benzoboroxols **63** problematisch ist. Die Wechselwirkungen mit den stationären Phasen (Kieselgel (PE/EtOAc) oder RP-8 (5% auf 95% MeCN in H<sub>2</sub>O)) durch die Boronsäure waren unter den Versuchsbedingungen vermutlich zu stark, um eine vollständige Elution des Boroxols **63** zu gewährleisten. Da das Rohprodukt nur einen geringen Anteil des deboronierten Nebenproduktes 64 aufwies, wurde mit diesem weitergearbeitet und auf eine Reinigung verzichtet.



Schema 4-5: Optimierte Syntheseroute des Benzoboroxols 63. Nach der chromatographischen Reinigung des Rohproduktes betrug die Ausbeute lediglich 10% und das Verhältnis von Produkt 63/deboroniertes Nebenprodukt 64 verschlechterte sich auf 2:1.

# 4.2.2. Einführen des Alkinlinkers

Um eine weitere, einfache Funktionalisierung des Benzoboroxols **63** zu gewährleisten, sollte neben einem Aminolinker ein Alkin an den Aldehyd **52** eingeführt werden. Mit diesem Alkin könnten an das Benzoboroxolderivat **56** mittels 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition weitere Funktionalitäten sowie kleine Moleküle (z.B. Peptide) konjugiert werden.

Das Alkin sollte, ausgehend von dem Cyanoaldehyd **52**, mittels einer Additionsreaktion eingeführt werden. Nach Deprotonierung des Trimethylsilylacetylens mit *n*-BuLi sollte ein nucleophiler Angriff an den Aldehyd erfolgen. Allerdings zeigten sich in den Rohprodukten nur Zersetzungsprodukte. Analoge Alkinadditionsreaktionen an 2-Brombenzaldehyd erfolgen generell quantitativ.<sup>189</sup> Somit schien der störende Faktor nicht die Reaktion, sondern das Substrat zu sein. Es wurde vermutet, dass die Nitrilgruppe unter den Reaktionsbedingungen nicht stabil ist und daher Zersetzungsprodukte entstehen (**Schema 4-6**).



Schema 4-6: Versuch zur Darstellung des Alkinlinkers 65.

Um die Alkin-Addition nicht in Gegenwart der Nitrilgruppe durchführen zu müssen, bieten sich zwei Alternativen an (Abbildung 4-3).



**Abbildung 4-3:** Retrosynthese zur Darstellung des Alkin-funktionalisierten Bromderivates **55**: Einerseits kann zuerst der Alkinlinker und in einem zweiten Schritt der Aminolinker eingeführt werden (Route A) oder zuerst der Aminolinker gefolgt von dem Alkinlinker (Route B). Beide Routen sind in der Hinsicht problematisch, dass die Reduktion der Nitrilgruppe nicht kompatibel mit der Alkinfunktionalität (Route A) oder der Aldehydfunktionalität (Route B) ist.

Einerseits könnte zuerst der Alkinlinker und anschließend der Aminolinker eingeführt werden. Allerdings müsste hier in Gegenwart eines Alkins die Cyanogruppe zu einem Amin reduziert werden. Da Alkine in Gegenwart von Boran oder anderen Reduktionsmitteln jedoch über eine Hydroborierung zu Alkenylboranen und bei anschließender Oxidation zu Ketonen bzw. Aldehyden reagieren, ist die Einführung des Aminolinkers vor Einführung des Alkins sinnvoller. Doch auch in Gegenwart des freien Aldehyds wäre die Reduktion des Nitrils nicht trivial. Somit ist der vielversprechendste Ansatz ein dritter: Der Aminolinker muss derart eingeführt werden, dass auf eine Reduktionsreaktion verzichtet werden kann.

Bisher wurde der Aminolinker über Bromacetonitril eingeführt. Die Nitrilgruppe konnte dann zum Amin reduziert werden. Eine Alternative zu Bromacetonitril stellt *tert*-Butyl-*N*-(2-bromethyl)carbamat dar. Damit wird direkt eine Aminofunktionalität integriert, wodurch kein zusätzlicher Reduktionsschritt nötig ist.<sup>190</sup> Ausgehend von 2-Brom-5-hydroxybenzaldehyd **58** ergab eine nucleophile Substitution mit 2-(Boc-amino)ethylbromid das geschützte Amin **69** mit guter Ausbeute von 71%. Anschließend erfolgte die Alkinaddition, die mit einer Ausbeute von 76% zufriedenstellend das Bromalkin **55** lieferte. Auch die Einführung der *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe an die Hydroxygruppe war mit einer Ausbeute von 94% erfolgreich (**Schema 4-7**).



Schema 4-7: Synthese des Bromalkins 69 ausgehend von 2-Brom-5-hydroxybenzaldehyd 58. Der erste Schritt ist die Einführung des Aminolinkers über 2-(Boc-amino)ethylbromid, gefolgt von einer Alkinaddition und anschließender TBDMS-Schützung der Hydroxygruppe.

Da jedoch mit dem Benzoboroxolderivat **63** die Entschützungsreaktion der *tert*-Butoxycarbonylsowie der *tert*-Butyldimethylsilylgruppe nicht erfolgreich war, wurde mit dem Alkinderivat **69** der Halogen-Metall-Austausch nicht weiter durchgeführt.

#### 4.2.3. Entschützung des Benzoboroxols 63

Nachdem die Synthese des Benzoboroxols **63** optimiert werden konnte, sollte nun dessen komplette Entschützung erfolgen. Mit der Funktionalität des freien Amins können im Anschluss Peptidkupplungen an Adamantancarbonsäurederivate erfolgen. *tert*-Butoxycarbonyl-Entschützungen laufen generell im sauren Milieu ab, Silylschutzgruppen können ebenfalls im Sauren oder mit Fluoriden abgespalten werden. Eine gleichzeitige Entschützung der beiden Schutzgruppen im Boenzobroxol **63** im sauren Milieu ergab jedoch neben dem Boroxolderivat **70** immer auch die deboronierte Verbindung **71** (Schema 4-8).



Schema 4-8: Syntheseschema der Entschützung des Benzoboroxols 63 und mögliche Reaktionsprodukte (gewünschtes Benzoboroxolderivat 70 und deboroniertes Zersetzungsprodukt 71).

Die Reaktion wurde mittels Massenspektrometrie kontrolliert. Bei den Entschützungsbedingungen (Trifluoressigsäure/Dichlormethan, v/v 1:9, 90 Minuten bei 0 °C), die für das Benzoboroxol **61** erfolgreich verwendet wurden, zeigte sich für das Benzoboroxol **63** lediglich das Zersetzungsprodukt **71** (**Tabelle 4-1 Nr. 1**). **Tabelle 4-1:** Lösungsmittel und Säureäquivalente zur Entschützung des Benzoboroxols **63** bei verschiedenen Temperaturen und Reaktionszeiten. Das Verhältnis des boronierten und deboronierten Produktes wurde aus ESI-MS- Messungen ermittelt.

	u <sup>+</sup> Ovella /		т	<i>t</i> [min]	Verhältnis nach MS –Spektrum	
Nr.	H -Quelle/ Lösungsmittel				Boroniert (70)	Deboroniert (71)
1	TFA/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1:9	0 °C	90	-	100%
2	TFA/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1:9	0 °C	60	33%	66%
3	TFA/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1:9	0 °C	35	33%	66%
4	TFA/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1:9	0 °C	15	33%	66%
5	TFA/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1:19	RT	a.	55%	45%
6	aq. HCl	1 M; 3 Äq.	RT	48 h	0% <sup>b.</sup>	<b>0%</b> <sup>b.</sup>
7	aq. HCl	2 м; Überschuß	RT	30	57%	43%
8	aq. HCl	2 м; Überschuß	RT	a.	74%	26%
9	HCI/MeOH	2 м; Überschuß	40 °C	5	50%	50%

<sup>a.</sup> Direkt zur Trockene eingeengt. <sup>b.</sup> Es wurde lediglich Edukt reisoliert.

Eine Verringerung der Reaktionsdauer zeigte zwar auch das gewünschte Benzoboroxol **70**, allerdings nur in einem Verhältnis von 1:2 im Vergleich zu dem Zersetzungsprodukt **71 (Tabelle 4-1 Nr. 2-4)**. Lediglich eine stark verdünnte TFA-Lösung zeigte bei direkter Einengung im Vakuum ein Verhältnis von ca. 1:1 der beiden Produkte (**Tabelle 4-1 Nr. 5**). Der Wechsel auf eine wässrige, salzsaure Lösung zeigte bei geringem Überschuss an Säure (3 Äq.) lediglich Edukt (**Tabelle 4-1 Nr. 6**). Erst eine höhere Salzsäure-Konzentration im Überschuss zeigte die entschützten Produkte **70** und **71 (Tabelle 4-1 Nr. 7** und **8**). Ein Wechsel des Lösungsmittels (Methanol/Salzsäure) und die Erhöhung der Temperatur lieferten nach kurzer Reaktionszeit (fünf Minuten) ebenfalls ein Produktgemisch der Verbindungen **70** und **71** im Verhältnis 1:1 (**Tabelle 4-1 Nr. 9**).

Da das Verhältnis Benzoboroxol **70** zu Zersetzungsprodukt **71** auch unter nur schwach sauren Bedingungen und sehr kurzer Reaktionszeit nicht verbessert werden konnte, schien das Benzoboroxol **70** für weitere Reaktionsschritte zu instabil und somit für unsere Zwecke unpassend zu sein. Aus diesem Grund wurde nach einem anderen Benzoboroxolderivat gesucht, wie im folgenden Abschnitt "**4.3 Synthese des Kohlenhydratrezeptors 27**" beschrieben wird.

## 4.3. Synthese des Kohlenhydratrezeptors 27

Während seiner Promotionsforschung konnte *Falk Wienhold* ein Boroxolalkin **27** darstellen (**Schema 4-9**) und zeigen, dass dieses durch seine Alkinfunktion für 1,3-*Huisgen*-Cycloadditionsreaktionen geeignet ist.<sup>189</sup>



Schema 4-9: Mögliche Syntheserouten zur Darstellung des Boroxolalkins 27.<sup>189</sup>

Die Synthese des Boroxolalkins kann auf zweierlei Arten erfolgen. Einerseits kann von dem Bromalkin 73 ausgehend ein Halogen-Metall-Austausch erfolgen (Route A). Dieser verlief mit mäßigen Ausbeuten (37%). Doch auch der zweite Syntheseweg, ausgehend von 2-Formylphenylboronsäure 75, zeigte bei der Alkinadditionsreaktion nur eine Ausbeute von 34% (Route B). Somit ist dies zwar die synthetisch angenehmere Variante, doch zeigt sie keine wesentlich besseren Gesamtausbeuten (34% vs. 31%). Das eigentliche Problem dieser Syntheseroute war jedoch nicht die Deboronierung durch Zugabe des *n*-BuLi (zumindest nicht insofern, dass dieses nicht im Überschuss eingesetzt wird), sondern die säulenchromatographische Reinigung der Boronsäure 74. Aufgrund der starken Wechselwirkung der Boronsäure 74 mit der stationären Phase kam es zu einer stark verbreiterten Elution des Produktes. Zusätzlich wurde ein Teil der Boronsäure nicht von dem Säulenmaterial eluiert, was zu einem ersten Produktverlust führte. Zwar verläuft die TMS-Entschützung relativ gut, doch muss auch diese Stufe (Boroxolalkin 27) säulenchromatographisch gereinigt werden. Hierbei ist vor allem zu beachten, dass die Pinakolschutzgruppe noch nicht abgespalten wurde und während der säulenchromatograpischen Reinigung nur teilweise hydrolysierte. Dies wiederum führte zu einem Produktgemisch aus teilweise entschützter und teilweise geschützter Boronsäure.



Kristallstrukturanalyse 4-1: Struktur des noch TMS-geschützten Boroxolalkins 74.

Nach der basischen Entschützung der Trimethylsilyl-Gruppe wurde deshalb versucht, das Boroxolalkin **27** in Hexan auszufällen/umzukristallisieren. Dies würde die aufwändige säulenchromatographische Reinigung erleichtern. Dabei wurde allerdings kein reines Boroxolalkin **27** erhalten, sondern ein Gemisch des Boroxolalkins **27** mit Pinakol **76**. Im NMR zeigte sich je nach Lösungsmittel ein interessantes Phänomen. Während in Chloroform fünf verschiedene Signale im Bereich der benzylischen Hydroxygruppe zu sehen waren, zeigte sich in Methanol im gleichen Verschiebungsbereich nur eines (**Abbildung 4-4**).



**Abbildung 4-4:** NMR-Spektren eines Gemisches aus Boroxolalkin **27** und Pinakol **76** ( $\sim 0.5 \text{ Äq.}$ ) in MeOD- $d_4$  (a) und CDCl<sub>3</sub> (b). Nach der TMS-Entschützung konnte ein farbloser Feststoff aus Hexan gefällt werden. Dieser enthielt sowohl Boroxolalkin **27** als auch Pinakol **76**. Während das in Methanol aufgenommene Spektrum dieses Substanzgemisches lediglich ein sauberes Signal zeigt, befinden sich im Bereich der benzylischen Hydroxygruppe (5-6 ppm) in CDCl<sub>3</sub> mehrere Signale. Diese weisen auf Dimerbildungen hin, die lediglich in unpolaren Lösungsmitteln zu Stande kommen. Die relativen Intensitäten der Hoch- und Tieffeldsignale beider Spektren sind in etwa gleich.

Ursache war die mögliche Dimerbildung von Boronsäuren, die bei einfachen Phenylboronsäuren das erste Mal 1977 von *Rettig* berichtet wurde.<sup>191</sup> Doch auch *ortho*-substituierte Phenylderivate zeigen diese Dimerbildung.<sup>192-194</sup>

Unpolare Lösungsmittel wie Chloroform ermöglichen die Dimerbildung dieser Moleküle während polare Lösungsmittel wie Methanol die Wasserstoffbrückenbindungen aufbrechen. Damit wird in Gegenwart von Methanol die Dimerbildung verhindert und bei NMR-Messungen wird lediglich ein Signal erzeugt. Somit ergeben sich bei einem Produktgemisch aus der pinakolgeschützten Boronsäure **78** und dem entschützten Boroxolalkin **27** neben den jeweiligen Monomeren auch Dimere zwischen zwei entschützten Boronsäuren (**79**) sowie einer geschützten und einer entschützten Boronsäure (**80**, **Abbildung 4-5**). Auch denkbar ist die Ausbildung von *cis*- und *trans*-konfigurierten Dimeren, was die Betrachtung weiter verkompliziert. Nach der Reinigung der Boronsäure und anschließender schrittweiser Zugabe von Pinakol traten die Hauptsignale – freies Boroxolalkin **27** und pinakolgeschützte Boronsäure **78** – hervor (**Abbildung 4-6**).



Abbildung 4-5: Mögliche Dimere, die sich in Chloroform in Gegenwart von Pinakol bilden können.



**Abbildung 4-6:** Detailspektrum mit verschiedenen Äquivalenten an Pinakol und schrittweiser Zugabe (a. ursprünglicher Mix, b. reine BA, c. 0.11 Äq. Pinakol, d. 0.26 Äq. Pinakol, e. 0.4 Äq. Pinakol, f. 0.74 Äq. Pinakol, g. 1 Äq. Pinakol) gemessen in CDCl<sub>3</sub>. Freies Pinakol zeigt in CDCl<sub>3</sub> ein Singulett bei einer Verschiebung von 1.19 ppm.

Die übrigen Signale scheinen im Rauschen unterzugehen. Die fehlenden Dimer-Signale können dadurch erklärt werden, dass während der Pinakolschützung Wasser abgespalten wird. In Gegenwart von Wasser sollte die Dimerbildung ähnlich wie in Methanol unterdrückt werden. Auch dynamische Prozesse, die häufig im Zusammenhang mit Boronsäuren zu finden sind, könnten die fehlenden Signale erklären. Allerdings konnte die Dimerbildung in diesem Fall nicht abschließend geklärt werden. Auch eine massenspektrometrische Analyse konnte bei der Aufklärung nicht helfen, da auch hier die verwendeten polaren Lösungsmittel die Dimerbildung durch Wasserstoffbrückenbindungen (Kristallstrukturanalyse 4-2), was die Annahme von Dimerbildungen des Gemisches aus Boroxolalkin 27 und Pinakol 76 in Chloroform bekräftigt.



Kristallstrukturanalyse 4-2: Struktur des Boroxolalkins 27. Die Kristallstrukturanalyse wurde mit Enantiomer 1 durchgeführt (siehe 4.3.1 Trennung der Enantiomere des Boroxolalkins 27).

*Santos* konnte zeigen, dass eine alternative Route zur Pinakolentschützung von Boronsäuren durch eine Umesterung mit Diethanolamin und anschließender Hydrolyse sehr gute Ausbeuten liefert.<sup>195</sup> Analog zu der Methode von *Santos* wurde das Boroxolalkin **78** nach der TMS-Entschützung ohne vorherige Reinigung mit Diethanolamin umgeestert, anschließend hydrolysiert und säulenchromatographisch gereinigt. Im Gegensatz zur Pinakolgruppe wird die Diethanolamingruppe wesentlich leichter hydrolysiert. Dadurch konnte die Gesamtausbeute der Synthese des Boroxolalkins **27** auf 49% erhöht werden (**Schema 4-10**). Zusätzlich konnte die säulenchromatographische Reinigung vereinfacht werden, da durch das Fällen des Diethanolamin-Boroxolalkin-Komplexes **81** ein großer Anteil der Verunreinigungen entfernt werden konnte.



**Schema 4-10:** Verbesserte Syntheseroute des Boroxolalkins **27**. Allerdings zeigte sich hier häufig eine unvollständige Umesterung, die zu stark schwankenden Ausbeuten sowie Produktverlusten führte.

Allerdings verlief die Umesterung mit Diethanolamin häufig unvollständig. Hier musste die Umesterung mehrere Male durchgeführt werden, um den Ausbeuteverlust gering zu halten. Außerdem schwankten die Ausbeuten für dieses Reinigungsprocedere stark. Mögliche Ursachen liegen neben einer unvollständigen Umesterung in einer zu großen thermodynamischen Stabilität der Pinakol-Schutzgruppe. Auch der sterische Anspruch durch die Pinakol-Gruppe sowie die Hydroxygruppe in Nachbarschaft zu Bor könnten den Angriff von Diethanolamin erschweren. Somit sollte an dieser Stelle über alternative Schutzgruppen, die thermodynamisch labiler als Pinakol sind (beispielsweise Diisopropyltartrat), nachgedacht werden.<sup>196</sup> Eine Alternative wäre auch die, das freie Pinakol der Reaktionslösung zu entziehen, um die Gleichgewichtsreaktion in Richtung Diethanolamin-Komplex zu schieben.

## 4.3.1. Trennung der Enantiomere des Boroxolalkins 27

Die in Abschnitt "4.3 Synthese des Kohlenhydratrezeptors 27" beschriebene Alkinaddition an 2-Formylphenylboronsäure 75 liefert das Boroxolalkin 27 als racemisches Gemisch. Die Trennung der beiden Enantiomere wurde auf zwei Varianten versucht. Einerseits versuchte Joanna Malkusch während ihrer Bachelorarbeit eine Racematspaltung mit (S)-Diethanol-1phenylethylamin 84.<sup>xii</sup> Dazu wurde in einer einstufigen Synthese aus (S)-1-Phenylethylamin 82 mit Oxiran 83 (S)-Diethanol-1-phenylethylamin 84 dargestellt (Schema 4-11). Dabei wurde (im Gegensatz zu Literaturvorschriften<sup>197-199</sup>) mit Säurezusatz gearbeitet. Ohne Säurezugabe zeigte sich eine Polymerisation. Mit dem enantiomerenreinen Diol 84 konnte nun die Racematspaltung des Boroxolalkins 27 durchgeführt werden. Da sich (S)-Diethanol-1-phenylethylamin 84 in Ether löst, wurde in einem Pentan/THF-Gemisch (v/v 1:1) gearbeitet und das Boroxolalkin 27 gelöst. Beim Zutropfen von 0.5 Äq. (S)-Diethanol-1-phenylethylamin 84 zeigte sich zunächst, wie erwartet, dass ein farbloser Feststoff ausfiel. Abfiltrieren und anschließende Hydrolyse mit 0.1 M wässriger HCI-Lösung ergab das gewünschte Boroxolalkin 27. Allerdings zeigte die Überprüfung der Enantiomerenreinheit lediglich ein Enantiomerengemisch und keine Anreicherung eines Enantiomers. Da das Boroxolalkin 27 im Sauren epimerisiert, stellte sich die Frage, ob generell die kinetische Racematspaltung geklappt hat und erst die saure Hydrolyse eine erneute Racemisierung verursacht hat, oder bereits die kinetische Racematspaltung misslungen war. Aus diesem Grund wurde auf die saure Hydrolyse verzichtet und das Filtrat in Kieselgel/Etyhlacetat gerührt. Doch kam es hier überhaupt nicht zu einer Hydrolyse der Schutzgruppe. Die dritte Möglichkeit, eine säulenchromatographische Reinigung, bewirkte zwar die Hydrolyse des (S)-Diethanol-1-phenylethylamins 84, doch zeigte sich auch hier keine Anreicherung eines Enantiomers (Schema 4-11).

<sup>&</sup>lt;sup>xii</sup> Joanna Malkusch (Universität Hamburg, "Synthese modularer Phenylboronsäuren zur katalytischen Acylierung von Diolen", **2012**)



hier zeigt sich keine Racematspaltung, sondern ein racemisches Gemisch

Schema 4-11: Synthese des (S)-Diethanol-1-phenylethylamin 84 mit anschließender Racematspaltung.

Somit ist das Boroxolalkin **27** tendenziell in der Lage, an (*S*)-Diethanol-1-phenylethylamin **84** zu binden, doch scheint die kinetische Racematspaltung nicht möglich zu sein. Andere sterisch anspruchsvollere chirale Amine oder Alkohole wie z.B. Norephedrin könnten die Möglichkeit bieten, die kinetische Racematspaltung erfolgreich durchzuführen. Auch ein Lösungsmittelwechsel könnte einen Einfluss auf die kinetische Racematspaltung haben.

Eine zweite Variante, mit der die Enantiomere getrennt werden sollten, war die chromatographische Trennung mit einer chiralen, stationären Phase. Hier war die Trennung auf einer IB-Säule (Daicel Chiraltec, 2% *i*-PrOH in *n*-Hex) erfolgreich. Um größere Substanzmengen zu trennen, wurde ein sogenanntes *"stacked injection"*-Verfahren genutzt (**Abbildung 4-7**). Dazu wurden im Abstand von acht Minuten jeweils 10 mg Substanz aufgegeben und die Enantiomere erfolgreich voneinander getrennt. Allerdings war es nicht möglich festzustellen, welches Enantiomer welche Konfiguration besitzt.



**Abbildung 4-7:** Chromatogram des *"Stacked-injection"*-Verfahrens zur Trennung der beiden Enantiomere **27a** und **27b** auf einer Daicel Chiraltec IB (10x250 mm, 223 nm, 1% Methanol in Hexan, 2.5 mL/min). Alle acht Minuten wurden 10 mg Substanz aufgespritzt.

Um zu überprüfen, unter welchen Bedingungen die Enantiomere epimerisieren, wurden diese in einer sauren Lösung (10% Trifluoressigsäure in Hexan mit 4% Methanol) bei Raumtemperatur gerührt. Es zeigte sich, dass eine langsame, aber stetige Racemisierung stattfand (**Tabelle 4-2**, **Diagramm 4-1**). Dies zeigt, dass spätere *tert*-Butoxycarboxyl-Entschützungen ein Problem darstellen könnten, da sich bereits nach einer Reaktionszeit von einer Stunde der ee-Wert um mehr als 10% verschlechtert hat (typische Reaktionsbedingungen sind Dichlormethan/ Trifluoressigsäure im Verhältnis 9:1 oder 4:1 mit einer Reaktionszeit von 1-1.5 Stunden). Dahingegen zeigte sich bei leicht sauren Bedingungen (Hexan mit 1% Methanol und 0.1% Ameisensäure, zweiStunden Rühren bei Raumtemperatur) oder in einer basischen Lösung (15 Äq. Diisopropylethylamin in Acetonitril) keine Epimerisierung.

Zeit/h	Enantiomer 1/FE	Enantiomer 2/FE	ee-Wert/%
0	0.92	96.63	98.12
1	4.32	59.24	86.41
2	4.12	47.46	84.01
3.25	9.28	61.77	73.88
4	8.47	50.20	71.13
5	12.00	59.91	66.62
22	31.62	46.81	19.37
23	35.24	49.63	16.96
29	40.63	49.59	9.92

**Tabelle 4-2:** Bestimmung des Enantiomerenüberschusses bei Rühren in einer 10%igen TFA-Lösung bei Raumtemperatur. Der Enantiomerenüberschuss wurde mittels Chromatographie bestimmt (Boroxolalkin **27** (1 mg) in 1200 μL Hexan, 50 μL MeOH mit 130 μL TFA; HPLC Bedingungen: Daicel, IB, 1% Isopropanol in Hexan, 0.2 mL/min, 215 nm).



Diagramm 4-1: Racemisierungs-Test des Boroxolalkins 27 unter sauren Bedingungen (10% TFA).

Die Enantiomere des Boroxolalkins **27** konnten über eine chirale, stationäre Phase erfolgreich getrennt werden. Allerdings wurde nicht abschließend geklärt, welches Enantiomer welche Stereochemie trägt. Um den Aufwand dieser Trennung zu verringern, sollte überlegt werden, die Einführung des Alkins mit chiralen Hilfsreagenzien durchzuführen. Analoge Reaktionsvorschriften sind für Bromaldehyd bereits bekannt und könnten auf 2-Formylphenylboronsäure **75** übertragen werden.

Aufgrund der möglichen Epimerisierung sollte darauf geachtet werden, nach der Einführung der enantiomerenreinen Boronsäure auf weitere stark saure Reaktionsbedingungen zu verzichten, wohingegen leicht saure Bedingungen wie beispielsweise eine chromatographische Reinigung mit typischen Laufmitteln mit Säurezusatz kein Problem darstellen sollten.

## 4.4. Darstellung der Modellverbindung 29

Um später überprüfen zu können, dass wirklich die Boronsäureeinheit die Bindung an die Kohlenhydrate bewirkt, sollte auch eine Modellverbindung dargestellt werden. Diese sollte die gleichen Funktionalitäten, jedoch keine Boronsäure enthalten. Dabei erfolgte die Synthese des Bromalkins **29** analog zum Boroxolalkin **27**. Dabei wurde der erste Schritt, die Alkinaddition an 2-Brombenzaldehyd **72**, zum TMS-Bromalkin **73** schon von *Falk Wienhold* mit sehr guten Ausbeuten durchgeführt.<sup>187,189</sup> Die Entschützung der Trimethylsilyl-Schutzgruppe zum Bromalkin **29** resultierte mit guten Ausbeuten und im Gegensatz zu dem Boroxolalkin **27** erfolgte die säulenchromatographische Reinigung des Bromalkins ohne Probleme (**Schema 4-12**).<sup>xiii</sup> Auch hier wurde ein racemisches Enantiomerengemisch erhalten, das nicht getrennt wurde.



**Schema 4-12:** Syntheseroute zur Darstellung des Bromalkins **29**. Der erste Schritt ist eine Alkinaddition an den Aldehyd **72** gefolgt von einer TMS-Entschützung im basischen Milieu zum Bromalkin **29**.

## 4.5. Darstellung der Kupplungsprodukte

Es gibt eine Vielzahl an Peptidkupplungsprotokollen. Für Adamantancarbonsäuren sind einige Kupplungsbedingungen bekannt. Die Reinigung von Standard-Peptidkupplungsreaktionen erfolgt

x<sup>iii</sup> Die Synthese des Bromalkins **29** findet sich in der Bachelorarbeit von *Malte Holzapfel* (Universität Hamburg, "Synthese divalenter Derivate der Phenylboronsäure", **2013**).

mittels Säure-Base-Wäsche. Dadurch werden die einzelnen Kupplungsreagenzien aus dem Rohprodukt entfernt. Problematisch ist dieser Reinigungsschritt bei Substanzen, die im Basischen oder Sauren wasserlöslich sind (wie z.B. Boronsäuren).

# 4.5.1.1. Kupplung der Bromphenol-Derivate 86 an Adamantancarbonsäuren und dessen flexible Analoga

Erste Kupplungsversuche wurden mit der Carbonsäure **49** und der Tricarbonsäure **24** durchgeführt. Dabei wurde das Bromphenolderivat **86** an das Adamantangrundgerüst konjugiert. Die Kupplungsreaktionen verliefen mit guten Ausbeuten (je 63%) und die Rohprodukte konnten säulenchromatographisch gereinigt werden. Das flexible Grundgerüst **89** konnte von *Tim-Daniel Stumpf* während seiner Bachelorarbeit ebenfalls mit dem Bromphenolderivat **86**<sup>187</sup> konjugiert werden.<sup>xiv</sup> Allerdings verlaufen die Kupplungsreaktionen des flexiblen Grundgerüstes mit schlechteren Ausbeuten (35% bzw. 36%), als ihre rigiden Analoga (**Schema 4-13**).

Da später noch gezeigt wird, dass die Kupplungsausbeuten auch bei Adamantanderivaten teilweise stark schwanken, können die schlechten Kupplungsausbeuten für die flexiblen Analoga **91** und **92** damit erklärt werden, dass nicht genügend auf die Reaktionsbedingungen geachtet wurde und diese nicht ausreichend optimiert wurden. Generell sollten auch für die flexiblen Analoga **91** und **92** bessere Ausbeuten möglich sein.

<sup>&</sup>lt;sup>xiv</sup> *Tim-Daniel Stumpf*, Justus-Liebig-Universität Gießen, "Optimierung der Synthese von Boronsäurederivaten zur multivalenten Kohlenhydraterkennung", **2010**.



Schema 4-13: Darstellung der rigiden Aminoadamantantribromide 87 und 88 sowie der flexiblen Adamantan-Analoga 91 und 92.

Um die Ausbeuten weiter zu erhöhen, sollten reaktivere Kupplungsreagenzien aber auch höhere Reaktionstemperaturen getestet werden. Es wäre auch denkbar, dass eine erneute Zugabe des Amins nach einer gewissen Reaktionszeit höhere Ausbeuten liefern könnte.

Eine interessante Abwandlung der Kupplungsreaktion wäre die Durchführung der Synthese mit Hilfe von Mikrowellen. Hier könnten, analog zu der automatisierten Peptidsynthese, die Vorteile der Mikrowelle bessere Ausbeuten bewirken.

## 4.5.2. Kupplung von Benzoboroxolderivaten an Adamantancarbonsäuren

Nachdem die Peptidkupplungsreaktionen mit dem Bromphenolderivat **86** erfolgreich durchgeführt werden konnten, sollten diese nun auf die Kupplungsreaktionen mit dem Boroxol **54** übertragen werden. Wie zuvor erwähnt, wurden hier Probleme bei der Reinigung erwartet. So sind Benzoboroxole laut Literatur wasserlöslich,<sup>132</sup> was unter basischen Bedingungen noch verstärkt werden müsste. Somit sollte keine Säure-Base-Wäsche auf die Kupplungsprodukte der Phenylboronsäuren **54** angewendet werden, da eine trimere Boronsäure vermutlich eine hohe Wasserlöslichkeit aufweisen und somit nicht organisch extrahiert werden könnte. Dies wiederum würde bedeuten, dass alternative Reinigungsrouten der multivalenten Boronsäure zur Entfernung der Kupplungsreagenzien bzw. Edukte und Reagenzien nötig wären.

Mehrere Versuche, das Benzoboroxol **54** an die Adamantantricarbonsäure **24** zu kuppeln, misslangen (**Schema 4-14**). Weder Edukt noch Produkt konnten massenspektrometrisch

nachgewiesen werden und verschiedene Reinigungsmethoden wurden verworfen. Lediglich nach einer chromatographischen Reinigung des Rohproduktgemisches konnte nahezu sauberes Kupplungsprodukt **93** mit einer Ausbeute von 2% erhalten werden. Allerdings zeigten NMR-Messungen, dass dieses teilweise deboroniert vorlag. Inwieweit die Deboronierung während der Kupplungsreaktion oder der Reinigung stattfand, konnte nicht abschließend geklärt werden. Da es sich bei der Produktfraktion jedoch nur um eine geringe Substanzmenge handelte, scheint die Kupplung des Benzoboroxols **54** an die Adamantantricarbonsäure **24** nicht erfolgversprechend zu sein. Allerdings können auch die chromatographischen Bedingungen Ursache für die schlechte Ausbeute sein, da wie bei anderen Derivaten gezeigt werden konnte, Boronsäuren eine starke Wechselwirkung mit der stationären Phase aufweisen.



Schema 4-14: Kupplungsversuch des Boroxols 54 an die Adamantantricarbonsäure 24.

Auch Kupplungsversuche eines zweiten, weniger säurelabilen Boroxols **94** (Synthese siehe **"4.6** *1,3-Huisgen-Cycloaddition"*) an die Adamantantricarbonsäure misslangen. Das gewünschte dreifach gekuppelte Produkt **95** konnte massenspektrometrisch nicht nachgewiesen werden (Schema 4-15).



Schema 4-15: Kupplungsversuch des Boroxols 94 an die Adamantantricarbonsäure 24.

Betrachtet man die dreifache Kupplungsreaktion noch einmal, kommt man an einen Punkt, an dem sich verschiedene Probleme zeigen:

- Dreifachkupplungen am Adamantan-Grundgerüst laufen nicht immer vollständig ab. Daraus kann sich ein Produktgemisch aus vier verschiedenen Substanzen ergeben (Edukt, ein-, zwei- und dreifachgekuppeltes Adamantan).
- Die Boronsäure kann unter den Reaktionsbedingungen oder auch während der Reinigung deboronieren. Dies führt dazu, dass ein mehrfach gekuppeltes Derivat dennoch nur eine Boronsäureeinheit tragen kann, weil die andere(n) Einheit(en) deboroniert ist (sind).
- 3. Die Reinigung der Produkte ist schwierig. Kupplungsreagenzien können nicht basisch extrahiert werden. Auch ein von *Hall* entwickeltes *"phase-switching"* war nicht erfolgreich anzuwenden. Hier wird ein Substanzgemisch mit Boronsäuren in einer basischen Kohlenhydratlösung zunächst organisch gewaschen. Nach Einstellung eines sauren pH-Wertes sollte es möglich sein, die Boronsäuren zu extrahieren.<sup>200</sup>

## 4.5.3. Kupplung eines Azidolinkers an Adamantanderivate

Da der kritische Syntheseschritt zur Darstellung von Boronolektinen die Peptidkupplungsreaktion an das Adamantangrundgerüst zu sein schien, sollte in einem ersten Schritt das Adamantan mit einem Azid funktionalisiert werden, um eine 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition anzuschließen und mit dieser die Boronsäurefunktionalität einzuführen. In Vorarbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass die 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition erfolgreich mit dem Boroxolalkin **27** durchgeführt werden kann.<sup>187,189</sup>

Zunächst erfolgte die Kupplung des Azids **25a** als Rohprodukt aus der sauren *tert*-Butoxycarbonyl-Entschützung mit Dichlormethan/Trifluoressigsäure (v/v 4:1) an die Adamantancarbonsäure **96**. Dabei konnte das gewünschte Kupplungsprodukt **97** mit guter Ausbeute von 72% erhalten werden (**Schema 4-16**).



Schema 4-16: Kupplungsreaktion des Azids 25a an die Carbonsäure 96.

Allerdings konnte bei der Kupplungsreaktion mit der Tricarbonsäure **24** das gewünschte Kupplungsprodukt **26** nur mit einer Ausbeute von 23% erhalten werden. Die niedrige Ausbeute konnte über eine Nebenreaktion erklärt werden. So reagierte ein Viertel des Amins mit Trifluoressigsäure **25a** (**Schema 4-17**). Diese Kupplungsreaktion verläuft schneller als die

Kupplungsreaktion am Adamantangrundgerüst. Dies liegt vermutlich an dem größeren sterischen Anspruch des Adamantans.

Warum die Kupplungsreaktion einmal mit sehr guten und einmal mit sehr schlechten Ausbeuten ablief, kann auf eine ungenügende Koevaporierung der überschüssigen Trifluoressigsäure zurückzuführen sein. Der Überschuss an Trifluoressigsäure bewirkt die entsprechende Nebenreaktion.



Schema 4-17: Nebenreaktion bei einer Mehrfachkupplung mit dem Amin 25a als TFA Salz.

Um die Gefahr dieser Nebenreaktion zu umgehen, wurde bei weiteren Kupplungsreaktionen das Amin **25** nach der Entschützung in Dichlormethan/Trifluoressigsäure mit 0.1 M Salzsäure umgesalzen und als HCI-Salz in den Kupplungsreaktionen eingesetzt.

Die Dreifachkupplung mit Hydrochloridazid **25b** an die Tricarbonsäure **24** zeigte bereits etwas verbesserte Ausbeuten (30%). Diese konnten mit HATU als Kupplungsreagenz noch weiter erhöht werden (52%). Die Monokupplung an die Adamantancarbonsäure **50** verlief mit 71% vergleichbar gut wie die um eine Ethyleinheit verkürzte Adamantancarbonsäure **96**. Lediglich die Zweifachkupplung an Adamanandicarbonsäure **51** verlief mit 35% Ausbeute etwas schlechter als ihre einfach- und dreifachsubstituierten Analoga (**Schema 4-18**).



**Schema 4-18:** *tert*-Butoxycarbonyl-Entschützung des Azids **99**<sup>201</sup> mit anschließender Umsalzung gefolgt von Peptidkupplungsreaktionen mit den Adamantancarbonsäuren **50, 51** und **24**.

Auch das um eine Ethyleinheit verkürzte Grundgerüst **102** konnte synthetisiert werden. Aufgrund sterischer Hinderung konnte nur eine sehr schlechte Ausbeute von lediglich 13% erhalten werden (**Schema 4-19**).



Schema 4-19: Kupplungsreaktionen zwischen dem Carbonsäureadamantanderivat 38 und dem Azid 25b.

Um die Ausbeuten weiter zu erhöhen, sollten noch andere, aktivere Kupplungsreagenzien getestet werden. Für Systeme, die eine längere Linkereinheit erlauben, könnten diese durch verringerte sterische Ansprüche bessere Ausbeuten bewirken. Auch die Optimierung der Reaktionsbedingungen (z.B. eine mikrowellenbasierte Reaktion, andere Reagenzien-Verhältnisse, andere Temperaturen oder Reaktionszeiten) sollte eine Erhöhung der Ausbeute ermöglichen.



**Abbildung 4-8:** Die Azidoadamantane (hier wird als Beispiel das Triazid **26** gezeigt) besitzen drei funktionelle Gruppen zur weiteren, modularen Funktionalisierung: Einerseits besitzen die Azidoadamantane ein Azid zur Verknüpfung mit Alkinen. Weiterhin besitzen sie eine benzylgeschützte Carbonsäure, an die (nach einer basischen Entschützung) mittels Peptidkupplungsreaktionen weitere kleine Peptide geknüpft werden können. Orthogonal gegensätzlich ansteuerbar ist das *tert*-Butoxycarbonyl geschützte Amin, das nach einer sauren Entschützung an ein Effektormolekül (z.B. einen Farbstoff) konjugiert werden kann.

Die Azidoadamantane **100**, **101**, **26** und **102** besitzen nun drei orthogonal ansteuerbare funktionelle Gruppen (Abbildung 4-8): Einerseits kann das Amin am Adamantangrundgerüst zur Einführung eines Effektormoleküls genutzt werden. Neben diesem Effektormolekül können über die Carbonsäure-Einheiten durch Peptidkupplungsreaktionen weitere Moleküle, respektive Aminosäuren oder allgemein Amine, konjugiert werden. Die jedoch entscheidende funktionelle Gruppe ist das Azid. Dieses ermöglicht die bioorthogonale Reaktion mit Alkinderivaten unter Aufbau eines Triazolrings über eine kupferkatalysierte 1,3-Huisgen-Cycloaddition.

# 4.6. 1,3-Huisgen-Cycloaddition

# 4.6.1. Synthese der Benzoboroxoltriazolderivate

Mit den verschiedenen Azidoadamantanderivaten konnte nun die Einführung der Boroxolgruppe erfolgen. Dazu wurden verschiedene Bedingungen getestet. Bei allen zeigte sich ein prinzipielles Problem: 1,3-*Huisgen*-Cycloadditionen erfolgen kupferkatalysiert. Kupfer kann jedoch zwischen die Bor-Kohlenstoff-Bindung insertieren, was eine Deboronierung des Produktes bewirkt und nicht immer gewollt ist (**Abbildung 4-9**).<sup>202,203</sup> Bei multimeren Systemen ergibt sich daraus eine Vielzahl an möglichen Produkten, die aus unvollständigen Click-Reaktionen bzw. Deboronierungen entstehen können. Das ergibt – ungeachtet der sich dabei bildenden Diastereomere – ein äußerst komplexes Produktgemisch.


Abbildung 4-9: Schematische Darstellung der Synthese von Boroxoltriazolderivat XV mit einer kupferkatalysierten 1,3-Huisgen-Cycloaddition.

Aufgrund der möglichen Produktvielzahl wurde zunächst an einfachen Modellsystemen, den Aziden **99** und **105**, die Synthese optimiert (**Abbildung 4-10**).



**Abbildung 4-10:** Modellsystem zur 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition. Es wurden verschiedene Reaktionsbedingungen getestet: Entweder wurde bei Raumtemperatur gerührt oder eine Mikrowellensynthese durchgeführt (**Tabelle 4-3**).

Mit dem Boroxolalkin **27** konnten bereits erfolgreich 1,3-*Huisgen*-Cycloadditionsreaktionen nach einem modifizierten Protokoll durchgeführt werden. Dieses geht nicht von einer *in-situ*-Darstellung des Cu(I) aus Cu(II) mit Natriumascorbat aus, sondern startet mit Kupfer(I)-Bromid. Zur Erhöhung der Reaktivität und zur Stabilisierung des Cu(I) wurde ein Kupfer(I)-Ligand, Tris(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin (TBTA), zu der Reaktionslösung in *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O/DMF (1:1:3) gegeben.<sup>189</sup>

Das Azid **99** und das Boroxolalkin **27** reagierten jedoch mit TBTA und CuBr in Gegenwart von CsF, welches die Deboronierung von Boronsäuren verhindern soll,<sup>204</sup> nur in einer Ausbeute von 21% zu Triazolderivat **103**. Bei der erneuten Durchführung der Reaktion konnte lediglich das deboronierte Zersetzungsprodukt **104** erhalten werden (76%). Grund für diese Empfindlichkeit zur Zersetzung kann die lange Reaktionszeit, aber vor allem die Gegenwart von CsF sein. In einem nächsten Schritt wurde auf CsF verzichtet. Hier zeigte sich nach einer Reaktionszeit von vier Stunden zwar eine vollständige Umsetzung des Eduktes, indes zeigte sich, dass die Reaktion

unter diesen Bedingungen ebenfalls sehr empfindlich ist. Verunreinigungen im Edukt **27** oder im Lösungsmittel (insbesondere im DMF) können zur Deboronierung führen. Somit ist die Cycloadditions-Reaktion mit Cu(I) und TBTA mit einer Reaktionszeit von vier Stunden generell möglich, aber für komplexere Substrate nicht ideal.

Um die Reaktionszeit zu verkürzen, wurde die Cycloadditions-Reaktion mikrowellenbasiert durchgeführt. Die einzelnen Versuche zu verschiedenen Reaktionszeiten und -temperaturen wurden massenspektrometrisch überprüft und das Verhältnis an nicht umgesetztem Edukt, gewünschtem Produkt und deboroniertem Nebenprodukt bestimmt.

Der Versuch, mit Standardbedingungen (Kupfersulfat/Natriumascorbat) eine mikrowellenbasierte Cycloadditions-Reaktion durchzuführen, zeigte je nach Reaktionsdauer/-temperatur einen unterschiedlichen Grad der Deboronierung. Moderate Temperaturen (50 °C) und kurze Reaktionszeiten zeigten das gewünschte Produkt und kein deboroniertes Nebenprodukt (**Tabelle 4-3**: Eingang 1, 50 °C, 2 min). Allerdings war die unvollständige Reaktion nicht zufriedenstellend, da rund ein Drittel des Edukts nicht reagiert hatte. Eine Verlängerung der Reaktionszeit von zwei auf fünf Minuten sowie eine leicht höhere Temperatur (70 °C statt 50 °C) zeigte einen vollständigen Umsatz des Eduktes. Indes wurde auch die Bildung des deboronierten Cycloadditionsprodukts beobachtet (**Tabelle 4-3**: Eingang 2, 70 °C, 5 min). Eine Verlängerung der Reaktionszeit auf zehn Minuten erhöhte den Grad der Deboronierung auf ein Verhältnis von 6:1 zu 1:1 (**Tabelle 4-3**: Eingang 3, 70 °C, 10 min). Zugabe von CsF, das in der Literatur als Schutz vor Deboronierungen beschrieben wird,<sup>204</sup> zeigte keinen Nutzen, sondern eine Erhöhung der Deboronierung (**Tabelle 4-3**: Eingang 4). Das Reaktionsprotokoll mit CuBr und TBTA lieferte hingegen eine vollständige Umsetzung des Eduktes und nur einen geringen Grad an Deboronierung (**Tabelle 4-3**: Eingang 5).

Eingang	Azid	Kupfer-Quelle	<i>t</i> [min]	7 °[C]	Verhältnis <b>A/B/C</b> <sup>a</sup>
1	99	CuSO <sub>4</sub> /NaAsc	2	50	40/60/0
2	99	CuSO <sub>4</sub> /NaAsc	5	70	0/86/14
3	99	CuSO <sub>4</sub> /NaAsc	10	70	0/50/50
4	99	CuSO <sub>4</sub> /NaAsc/CsF	5	50	2/9/89
5 <sup>b</sup>	99	CuBr/TBTA	5	70	0/92%/Spuren
6	105	CuSO <sub>4</sub> /NaAsc	5	70	0/60/40
7 <sup>b, c</sup>	105	CuBr/TBTA	5	70	0/56%/26%

Tabelle4-3:VerschiedeneReaktionsbedingungenfürdiekupferkatalysierte1,3-Huisgen-CycloadditionunterMikrowellenbedingungen.DieReaktionwurdemassenspektrometrischverfolgt(ESI-MS, positiverModus)unddasVerhältnisEdukt (A), Cycloadditionsprodukt (B) und deboroniertesCycloadditionsprodukt (C) bestimmt.

<sup>a</sup> Das Verhältnis von Edukt (A), Cycloadditionsprodut (B) und deboroniertem Cycloadditionsprodukt (C) wurde aus der Reaktionslösung mittels ESI-MS (positiver Modus) bestimmt. <sup>b</sup> Die Produkte wurden mittels chromatographischer Reinigung isoliert. <sup>c</sup> Es wurde nach einer Reaktionszeit von fünf Minuten ein zweites Mal Boroxolalkin **27** zur Reaktionslösung gegeben und für weitere fünf Minuten unter Mikrowellenbedingungen gerührt.

Führt man die Reaktion mit komplexeren Aziden (hier Aminoadamantanmonoazid **105**) durch, kann sich der Anteil des deboronierten Nebenproduktes erhöhen. Dies zeigte sich für das Adamantanmonoazid **105** sowohl für die Standardbedingungen Kupfersulfat/Natriumascorbat (**Tabelle 4-3**: Eingang 6) als auch für das modifizierte Protokoll mit CuBr/TBTA (**Tabelle 4-3**: Eingang 7).

Da das Protokoll mit CuBr/TBTA für das einfache Modellsystem **99** bzw. **105** bessere Ergebnisse erzielte, als die *in-situ* Bildung von Cu(I), wurde für alle weiteren 1,3-*Huisgen*-Cyloadditionsreaktionen mit diesem Protokoll gearbeitet (MW, 7 bar, 70 °C, 5 min). Zeigte sich nach einer Reaktionszeit von fünf Minuten eine unvollständige Umsetzung des Eduktes, wurde ein zweites Mal Alkin zur Reaktionslösung gegeben und diese für weitere fünf Minuten in der Mikrowelle erhitzt. Allerdings zeigte sich hier, dass die Gefahr der Deboronierung wieder stieg.

Um die Deboronierung während der Aufarbeitung zu verhindern, wurde unter milden Bedingungen gearbeitet. Das Lösungsmittel wurde mittels Gefriertrocknung entfernt und der Rückstand chromatographisch gereinigt.

#### 4.6.2. Synthese der Bromtriazolderivate

Im Gegensatz zu den Boronsäurederivaten sind Bromtriazolderivate unempfindlich in Bezug auf Debromierung. Aus diesem Grund wurde die Reaktion mit Natriumascorbat und Kupfersulfat durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Reaktion in der Mikrowelle schneller erfolgt und bessere Ausbeuten liefert (**Schema 4-20**).



Schema 4-20: 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition mit dem Bromalkin 29 und dem Azidohomoalanin 99 unter verschiedenen Reaktionsbedingungen. Es zeigt sich, dass die mikrowellenunterstütze Reaktion bessere Ausbeuten liefert und schneller abläuft.

Generell konnten gute Ausbeuten der verschiedenen Cycloadditionsderivate erhalten werden (**108**: 87%, **110**: 85%, **30**: 65%, **Schema 4-20**, **Schema 4-21**) und lediglich das Dimer **111** zeigte eine etwas niedrigere, aber noch zufriedenstellende Ausbeute von 48% (**Schema 4-21**).



Schema 4-21: 1,3-Huisgen-Cycloadditon weiterer Bromadamantanderivate 110, 30 und 111.

#### 4.7. Reinigung der multivalenten Adamantanboronsäuren

Die Reinigung der multivalenten Adamantanboronsäuren zeigte sich als problematisch. Aufgrund des Molekulargewichts, der Polarität und Komplexität wurde die chromatographische Reinigung mittels HPLC der säulenchromatographischen Reinigung vorgezogen. Dabei wurden zunächst Standardbedingungen (RP-8, H<sub>2</sub>O/MeCN) getestet. Allerdings zeigte sich keine Trennung der

dreifachboronierten von der zweifach- bzw. einfachdeboronierten Verbindung. Die Produktsignale waren sehr verbreitert und das Produkt eluierte nur unwesentlich später als die deboronierten Nebenprodukte. Auch ein Wechsel der stationären Phase (RP 18) zeigte keine grundsätzliche Verbesserung. Dies erfolgte aber mit einem Lösungsmittelwechsel. Anstelle von Acetonitril wurde Methanol verwendet und ein Säureadditiv (0.1% Ameisensäure) hinzugefügt. Damit ergab sich eine schlechte, aber sichtbare Trennung der Produktsignale.

Generell ist die verbesserte Trennung mit Methanol als Laufmittel verwunderlich, da Boronsäuren in Gegenwart von Säure und Methanol einen Methylester bilden können (**Abbildung 4-11**). Zwischen der freien Boronsäure **112** und dem Methylester **113** herrscht ein dynamisches Gleichgewicht. Jedoch konnte bei analytischen LC-MS-Läufen ein Methylester nicht als eigenständiges Signal beobachtet werden (allerdings ist er häufig in MS-Spektren als zusätzliches Signal zu sehen).



Abbildung 4-11: Gleichgewicht der Boronsäure 112 und dem Boronsäuremethylester 113.

Teilweise eluierten die Boronsäurederivate über einen Zeitraum von 10-20 Minuten. Diese stark verbreiterten Produktsignale, besonders im semipräparativen Maßstab, sind vermutlich auf dynamische Prozesse zurückzuführen. Dabei kommt es zu starken Wechselwirkungen der Boronsäure mit der stationären Phase, aber auch mit dem Laufmittel (insbesondere Methanol). Außerdem wurden die Boronsäurederivate jeweils als Diastereomerengemische synthetisiert. Dies bedeutet, dass zwei bis vier Diastereomere (je nach Anzahl der Boronsäuregruppe) nacheinander eluierten, ohne voneinander getrennt zu werden. Es zeigte sich in LC-MS-Läufen keine Antrennung der Diastereomere, weswegen nicht weiter versucht wurde, diese voneinander zu trennen. Da die verbreiterten Signale dennoch eine saubere Trennung der Produktfraktionen ergab, wurden diese in Kauf genommen. Die Mischfraktionen sowie die deboronierten Nebenprodukte waren bei fast allen Verbindungen sehr gering und konnten somit verworfen bzw. ausgeschlossen werden.

Die Abtrennung der deboronierten Verbindungen von den entsprechenden Boronsäurederivaten war sowohl für die mono-, di- und trimeren Verbindungen erfolgreich und lieferte die gewünschten, reinen Produkte mit guten Ausbeuten (Monomer **114** 72%, Dimer **115** 57%, Trimer **116** 75%; Trimer **117** 65%, **Schema 4-22**, **Tabelle 4-4**).



Schema 4-22: 1,3-Huisgen-Cycloaddition mit den Azidoadamantanen 100, 101, 26, 102 und dem Boroxolalkin 27.

Edukt	$R^1$	R <sup>2</sup>	n	m	Produkt	R <sup>3</sup>	$R^4$	Ausbeute/%
100	Н	Н	0	2	114	Н	Н	72
101	Н	Х	0	2	115	Н	Y	57
26	Х	Х	0	2	116	Y	Y	75
102	х	х	3	0	117	Y	Y	65

Tabelle 4-4: Ausbeuten der 1,3-Huisgen-Cycloaddition verschiedener Azidoadamantane mit dem Boroxolalkin 27.

Die NMR-Spektren der gereinigten Boronsäurederivate zeigten leicht verbreiterte Signale. Ein Versuch, die Kupferreste durch Waschen mit einer leicht sauren EDTA-Lösung zu entfernen, zeigte jedoch keinen Erfolg. Stattdessen ergab sich ein Produktverlust von rund 50%. Allerdings stellt sich hier die Frage, ob der pH-Wert aufgrund des niedrigeren p $K_s$ -Wertes des Boronsäurederivates nicht zu einer vollständigen Protonierung ausreichte.

#### 4.8. Weitere Funktionalisierung der Boronolektine

Bisher konnte in Abschnitt **"4.6.1 Synthese der Benzoboroxoltriazolderivate**" gezeigt werden, dass Adamantan mit Boronsäuren funktionalisiert werden kann. Um diese einfachen Boronolektine weiter zu modifizieren, sollten einerseits Effektormoleküle und andererseits weitere funktionelle Gruppen an die Adamantanboronsäurederivate konjugiert werden.

#### 4.8.1. Konjugation an kleine Peptideinheiten

Auf der Zelloberfläche befinden sich neben Kohlenhydraten sogenannte Integrine. Diese können dazu genutzt werden, um die Spezifität der Boronolektine zu erhöhen, indem sie als zusätzliche Erkennungsmerkmale und Liganden dienen (**Abbildung 4-12**). Da bereits gezeigt wurde, dass die Aminosäuresequenz RGD an Integrine bindet, sollte sowohl GRGDS als auch GRGES als Blindprobe an das Adamantangrundgerüst geknüpft werden.



**Abbildung 4-12:** Lipiddoppelschicht mit Kohlenhydraten und Integrinen auf einer Zelloberfläche. Entsprechende Rezeptoren können die Kohlenhydrate erkennen und an diese binden. Zusätzliche Affinitäten bzw. Spezifitäten könnten über die Bindung an Integrine erreicht werden (z.B. mit der Aminosäuresequenz RGD). Damit kommt es neben der Peptid-Kohlenhydrat-Wechselwirkung auch zu einer Peptid-Peptid-Wechselwirkung.<sup>205</sup>

Dabei wurde die Peptidsequenz mittels Peptidsynthesizer hergestellt. Um am *C*-Terminus keine freie Carbonsäure zu haben, wurde ein Rink-Amid-Harz verwendet. Dieses ergibt nach vollständiger Abspaltung der Schutzgruppen ein *C*-ständiges Amid (**119**, **120**). Allerdings besitzt das geschützte Pentapeptid als Rink Amid nach der Abspaltung vom Harz eine freie Carbonsäure in der Linkerfunktion (**Schema 4-23**). Somit konnten Aktivester nicht *in-situ* in Gegenwart des geschützten Pentapeptids gebildet werden.



Schema 4-23: Abspaltung der Pentapeptide 119 und 120 vom Harz.

Zunächst stellte sich die Überlegung, die Peptid-Sequenz (sowohl das GRGDS-Rink Amid, als auch das GRGES-Rink Amid) komplett zu entschützen und anschließend die Kupplung an die Adamantanderivate durchzuführen. Allerdings stellte sich hier die Frage, inwieweit es zu Nebenreaktionen mit den Seitenketten kommen könnte. Um etwaige Probleme zu umgehen, wurde die geschützte Peptideinheit an das Adamantangrundgerüst gekuppelt. Dabei war allerdings die schon erwähnte freie Carbonsäure zu beachten. Aus diesem Grund wurden zunächst die Aminoadamantancarbonsäuren **100** und **101** in einen NHS-Ester (**121, 122**) überführt und diese mit den Peptiden **119** und **120** weiter umgesetzt. Nach der Kupplung des Pentapeptids wurde das Zwischenprodukt nicht gereinigt, sondern lediglich das Lösungsmittel entfernt. Anschließend wurde die vollständige Entschützung des Rohproduktes mit TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS/Phenol (88%/5%/2%/5%) durchgeführt. Da mit einem Überschuss des Peptides gearbeitet wurde, hätte eine Fällung mit Ether kein sauberes Produkt geliefert. Aufgrund der geringen Ansatzgröße wurde ganz auf die Fällung verzichtet und die Reinigung chromatographisch durchgeführt (Schema 4-24).



Schema 4-24: Synthese der Peptidadamantane 128, 129 und 130.

Für die monomeren Derivate **128** und **129** konnten die Adamantanpeptide mit mäßigen Ausbeuten über vier Schritte isoliert werden (25% für GRGDS **129** und 18% für GRGES **128**, vier Schritte). Im Gegensatz dazu zeigte die Synthese des Dimers eine wesentlich schlechtere Ausbeute (4%, vier Stufen). Hinzu kommt, dass die chromatographische Reinigung nur ein Gemisch aus Pentapeptid **130** und einer unbekannten Komponente lieferte, das weiter umgesetzt wurde. Dass die Synthese des Dipeptidadamantans **130** schwerer ablief als die des Monomers **129**, ist vermutlich auf den sterischen Anspruch, eine noch höhere Dichte an funktionellen Gruppen und die experimentelle Durchführung zurückführbar.

Der kritische Schritt dieser Syntheseroute ist vermutlich die Kupplung mittels NHS-Ester. So besitzen NHS-Ester eine geringere Aktivität als andere Kupplungsreagenzien. Hier wäre eine alternative Syntheseroute, mit einem anderen Pentapeptid zu arbeiten oder die Kupplungsreaktion an einem Peptidsynthesizer durchzuführen eine Möglichkeit, die Ausbeute zu erhöhen. Eine Peptidkupplung an der festen Phase ist allerdings nur für monomere Adamantanpeptide möglich, da multivalente Systeme vermutlich nicht über eine feste Phase an drei Stellen gekuppelt werden können.

Nach der Reinigung der Peptidadamantane 128, 129 und 130 konnte in einem zweiten Schritt die 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition erfolgen. Diese verlief für das Peptidadamantan **128** mit vergleichbaren Ausbeuten (58% für 131) verglichen mit den 1,3-Huisgen-Cycloadditionsreaktionen der einfachen Azidoadamantane (zwischen 50-70%). Im Gegensatz dazu zeigte das Adamantanboronsäurepeptid 132 einen hohen Anteil an deboroniertem Produkt und konnte nur in Spuren als Produktgemisch erhalten werden (Schema 4-25).



Schema 4-25: Darstellung der Boronolektine 131, 132 und 133.

Ursache für den hohen Grad der Deboronierung des Adamantanboronsäurepeptides **132** können die geringen Mengen an Edukt bewirkt haben. So konnte aufgrund der geringen Eduktmenge keine exakte Einwaage des Kupferreagenzes erfolgen, weshalb im Überschuss an Kupfer gearbeitet wurde.

Auch für das Dimer **130** konnte die 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition erfolgreich durchgeführt und das Adamantanboronsäurepeptid **133** isoliert werden. Die geringe Ausbeute von 24% bei der *Huisgen*-Cycloaddition ist vor allem auf die Verunreinigung des Edukts zurückzuführen. Weiter könnte die Dichte der funktionellen Gruppen an den Peptiden eine Ursache für die geringere Ausbeute sein. Diese können als Kupferliganden fungieren und somit Einfluss auf die Reaktion nehmen.

Dennoch konnte mit der Synthese der Mono- und Diadamantanboronsäurepeptide **131** und **133** gezeigt werden, dass Adamantan erfolgreich mit Peptiden modifiziert und in einem nächsten Schritt mit Boronsäuren funktionalisiert werden kann.

#### 4.8.2. Weitere Funktionalisierung der Boronolektine – Fluoreszenzmarkierung

Um die Bindungseigenschaften der Boronolektine überprüfen zu können und zu zeigen, ob die Boronolektine mit einem Effektormolekül funktionalisiert werden können, wurde das Amin mit einem Fluoreszenzmarker (PromoFluor-647) modifiziert (**Schema 4-26**).



Schema 4-26: Fluoreszenzmarkierung der Boronolektine 114, 115, 116 und 117.

Dazu wurde in einem ersten Schritt die Schutzgruppe abgespalten, zu einem HCI-Salz umgesalzen und ohne Reinigung weiter umgesetzt. Anschließend wurde der Fluoreszenzmarker "PromoFluor-647"<sup>XV</sup> mittels NHS-Ester Kupplung eingeführt (**Schema 4-26**). Bei dieser NHS-Ester Kupplung zeigte sich, dass der pH-Wert einen entscheidenden Einfluss auf die Kupplungsreaktion hat. Bei zu hohem pH-Wert hydrolysierte der NHS-Esters, wodurch die Reaktion nicht vollständig und nur zu einem geringen Anteil ablaufen konnte. Außerdem zeigten Testreaktionen an dem Monomer **138** und dem Dimer **139**, dass eine zu lange Reaktionszeit zu einer Zersetzung der Produkte führte. So konnten massenspektrometrisch die Produkte **138** und **139** nach einer Reaktionszeit von zwölf Stunden nachgewiesen werden. Da die Reaktion noch Edukt aufwies, wurde weitere zwölf Stunden gerührt, doch nach dieser verlängerten Reaktionszeit konnte kein Produkt mehr detektiert werden. Somit wurden die Reaktionszeiten für die folgenden Kupplungsreaktionen auf zwölf Stunden bei Raumtemperatur reduziert. Analog zu den Boronolektinen erfolgte auch die Modifikation der Brom-Modellverbindung **30** (Schema 4-27).

<sup>&</sup>lt;sup>xv</sup> Der käufliche Fluoreszenzfarbstoff "PromoFluor-647" von PromoKine absorbiert bei einer Wellenlänge von 653 nm und besitzt eine Emissionswellenlänge von 672 nm. Um die späteren Microarray-Messungen durchführen zu können, wurde dieser Farbstoff verwendet.



Schema 4-27: Fluoreszenzmarkierung der Brom-Modellverbindung 143.

Die Reinigung der Fluoreszenz-markierten Derivate **138**, **139**, **140**, **141** und **143** wurde chromatographisch durchgeführt (RP-8, 50% MeCN in H<sub>2</sub>O + 0.1% FA für das Monomer **138**, das Dimer **139** und die Modellverbindung **143** bzw. 50 auf 90% MeCN in H<sub>2</sub>O + 0.1% FA für die Trimere **140** und **141** mit Fluoreszenzdetektion, **Chromatogram 4-1**) und lieferte die gewünschten Produkte. Obwohl das Amin **136** am Kohlenstoffbrückenkopf sterisch gehinderter sein sollten als das Propylamin **137**, zeigten sich keine wesentlich schlechteren Ausbeuten (11% für **136** und 14% für **137**, **Schema 4-26**). Dies lässt darauf schließen, dass nicht allein bzw. an erster Stelle die sterischen Anforderungen des Amins den Reaktionsverlauf beeinflussen.



**Chromatogram 4-1:** Chromatogram des Fluoreszenz-markierten Bromderivates **143**. Es ist ein DAD Spektrum (500-700 nm) über einen LC-MS-Lauf (oben) sowie ein BPC-Chromatogram (Mitte) und ein MS-Spektrum (unten) gezeigt.

Die Ausbeuten liegen bei allen fünf Derivaten in einem Bereich um die 14%, die der Modellverbindung liegt mit 22% etwas höher. Eine Erklärung dieser moderaten Ausbeuten kann in der Empfindlichkeit des NHS-Esters des Farbstoffes liegen. Wie in einigen Reaktionen beobachtet werden konnte, ist dieser sehr hydrolyseempfindlich. Auch die geringe Reaktivität des NHS-Esters kann ein Grund für die geringe Ausbeute sein. Hier sollten weitere Optimierungsschritte wie ein Lösungsmittelwechsel, andere pH-Werte erfolgen sowie andere Farbstoffe zur Fluoreszenzmarkierung herangezogen werden. Nichtsdestotrotz variieren auch die Ausbeuten in der Literatur zwischen 14-80%.<sup>206</sup>

Es konnte somit gezeigt werden, dass Boronolektine weiter funktionalisiert und für verschiedene Anwendungen wie beispielsweise zum Einführen eines Effektormoleküls oder einer zusätzlichen Erkennungseinheit angepasst werden können.

## 4.9. Fluoreszenzassay

# 4.9.1.1. Qualitative Bindungseigenschaften der Boronsäuren an verschiedene Zucker

Um zu schauen, ob und inwiefern Boronsäurederivate eine Bindung an bestimmte Zucker zeigen, wurde ein Fluoreszenzassay durchgeführt. Dazu wurden verschiedene Zucker auf einem Glaschip immobilisiert.<sup>xvi</sup> Dafür wurden Glaschips mit einer Hydrogel-Oberfläche verwendet, deren Linker durch NHS-Aktivester funktionalisiert waren. In leicht basischem PBS wurden nun Aminolinker-modifizierte Zucker (**Abbildung 4-13**) über einen manuellen Spotter auf die Glasoberfläche aufgetragen. Nach einer Reaktionszeit von rund 18 Stunden wurden die Glaschips gewaschen und verbliebene freie Carbonsäuren mit Ethanolamin abgesättigt.

Somit wurden Glaschips erhalten, auf denen sieben verschiedene Zucker ( $\alpha$ -Glc,  $\alpha$ -Gal,  $\alpha$ -Man,  $\alpha$ -GlcNAc,  $\beta$ -Gal- $\alpha$ -1,4-GlcNAc,  $\alpha$ -Sia,  $\beta$ -Glc-S- $\alpha$ -1,6-Man) auf acht Feldern mit jeweils vier Replikaten immobilisiert waren. Dies ermöglichte die Analyse von acht verschiedenen Kohlenhydratrezeptoren bzw. die Möglichkeit von Mehrfachbestimmungen auf Bindungseigenschaften bezüglich der verschiedenen Zucker.

<sup>&</sup>lt;sup>xvi</sup> Dieser wurde in Kooperation mit *Elisabeth Memmel* aus der AG *Seibel* in Würzburg durchgeführt. Dabei wurden die Glaschips von *Elisabeth Memmel* mit den verschiedenen Zuckern immobilisert.



Abbildung 4-13: Zucker, die auf Glaschips immobilisiert wurden, um die Bindungsaffinitäten der Boronsäurederivate an diese Zucker zu überprüfen. Um die Immobilisierung auf den Glaschips zu ermöglichen, tragen alle als Rest einen Aminolinker.

Für die Messungen wurden die Fluoreszenz-markierten Boronsäuren **138**, **139** und **140** in Wasser und die Boronsäure **141** in Wasser/Dimethylsulfoxid (v/v 1:1) gelöst und dann auf den Glaschip pipettiert. Um ein Vermischen der Boronolektine zu vermeiden, wurden die Glaschips mit einem "Chip Clip TM"<sup>xvii</sup> fixiert und die Felder abgegrenzt (**Abbildung 4-14**).



**Abbildung 4-14:** Links ist eine Halterung für die Glaschips zu sehen, die während des Spotprozesses verwendet wird. Außerdem sieht man den manuellen Spotter. Auf dem mittleren Bild erkennt man zwei Glaschips, auf die bereits Zucker gespottet wurden. Rechts befindet sich ein Glaschip in der Halterung während der Inkubationszeit. Deutlich erkennbar ist die Abtrennung in verschiedene Felder. In ein Feld kann je ein Rezeptor mit einer bestimmten Konzentration aufgetragen werden. Dies ermöglicht das schnelle Screenen verschiedener Liganden und Rezeptoren. Die Größe eines Glaschips (Nexterion Slide H MPX (Schott)) beträgt 7.56 x 2.50 cm, wobei ein Feld 6.59 x 6.59 mm groß ist. Verwendet werden 75 µL der gelösten Rezeptoren, was die geringe benötigte Substanzmenge erklärt.<sup>xviii</sup>

Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde wurden die Glaschips einem Waschprozess unterzogen. Dieser bestand aus dreimaligen Waschen mit Wasser/Dimethylsulfoxid (v/v 1:1) und einem Waschen mit PBST-Puffer gefolgt von PBS-Puffer. Die Glaschips wurden zur Trockenheit

<sup>&</sup>lt;sup>xvii</sup> Chip Clip TM gehört zum MicroCASTER TM-Set von Schleicher & Schuell und ermöglicht eine 16-Well-Einteilung.

<sup>&</sup>lt;sup>xviii</sup> Grafiknachweis: E. Memmel (links und Mitte), D. Claes (rechts)

zentrifugiert und falls nötig ein weiteres Mal gewaschen. Im Anschluß wurde mit einem Microarrayreader die Intensität der Fluoreszenz ausgelesen (**Abbildung 4-15**).



**Abbildung 4-15:** Schematischer Ablauf der Kohlenhydratassays: In einem ersten Schritt werden Zucker auf einer Glasoberfläche immobilisiert. Der Glaschip (Schott Nexterion Slide H) besitzt eine Hydrogel-Oberfläche mit Carbonsäurelinkern. Die Säurefunktionalität ist als NHS-Ester voraktiviert und kann mit den Aminogruppen der Zucker unter leicht basischen Bedingungen zu einem Amid reagieren. Nach einem Waschprozesse und einer Absättigung freier Carbonsäuren mit Ethanolamin werden die Fluoreszenz-markierten Boronolektinen auf die Glasoberfläche gegeben und inkubiert. Nach einem erneuten Waschprozess werden die Fluoreszenzintensitäten mit einem Microarrayreader ausgelesen.

Es zeigte sich, dass alle vier Boronsäurederivate an  $\alpha$ -Gal,  $\beta$ -Gal- $\alpha$ -1,4-GlcNAc und leicht an  $\alpha$ -Man binden.  $\alpha$ -Glc,  $\alpha$ -Sia,  $\alpha$ -GlcNAc und  $\beta$ -Glc-S- $\alpha$ -1,6-Man zeigten hingegen keine Bindungsaffinitäten an die Boronsäuren (**Abbildung 4-16**). Dies entspricht den Erwartungen, dass Boronsäuren bevorzugt an *cis*-Diol-Einheiten binden, da lediglich diese drei Zucker eine *cis*-Diol-Einheit tragen.

Ein interessantes Phänomen war für die Sialinsäure zu sehen. Hier zeigte besonders das Trimer **141** eine schlechtere Bindung an den Zucker als an den Hintergrund. Bei der Bindung der Boronsäure an Kohlenhydrate wird ein Boronat-Anion ausgebildet. Die Carbonsäure der Sialinsäure kann hier eine Störung respektive eine Abstoßung des Kohlenhydratrezeptors bewirken. Gleichzeitig besitzt auch der mit Ethanolamin abgesättigte Hintergrund Hydroxygruppen, so dass die Boronsäuren bevorzugt an diese binden könnten.



**Abbildung 4-16:** Fluoreszenzassay mit Boronsäurederivaten **138**, **139**, **140** und **141** nach einer Inkubationszeit von zwei Stunden. Waagerecht wurde viermal der gleiche Zucker immobilisiert, so dass eine Vierfachbestimmung bei einer Wellenlänge von 635 nm durchgeführt werden konnte. Klar erkennbar sind die bevorzugten Bindungsaffinitäten an *cis*-1,2-Diole. Zusätzlich zeigt das Trimer **141** eine schlechtere Bindung an Sialinsäure als an den Hintergrund (weißer Pfeil). Dies bewirkt die dunkleren Flecken auf den Zuckerspots im Vergleich zu dem Hintergrund. Der Hintergrund ist mit Ethanolamin abgesättigt. Die Auflösung beträgt 5 μm.

Interessant wären auch hier weiter Studien, um diesen Effekt zu überprüfen. Generell könnte auch solch eine abstoßende Eigenschaft zur Differenzierung von Kohlenhydraten verwendet werden.

Mehrmalige Waschprozesse mit einer 100 mM Galactose-Lösung in PBST-Puffer zeigten, dass die Kohlenhydratrezeptoren wieder von den immobilisierten Zuckern abgewaschen werden konnten. Dies ist auch mit Lektinen machbar, allerdings werden für diese in der Regel längere Waschzeiten benötigt (> 12 Stunden), was auf eine höhere Bindungsaffinität hinweist.

Für die Boronolektine wurden zunächst zwei Waschschritte von je 15 Minuten durchgeführt. Diese zeigten, dass die monomere Boronsäure **138** und die dimere Boronsäure **139** nahzeu keine Fluoreszenzsignale mehr auf den Chips ergaben. Dies lässt darauf schließen, dass die Boronsäuren fast vollständig von den immobilisierten Zuckern abgewaschen worden waren (**Abbildung 4-17**).



**Abbildung 4-17:** Fluoreszenzbestimmung verschiedener Boronsäurederivate nach einer Stunde Inkubationszeit (A) und 15minütigem Waschen mit einer 100 mM Galactose-Lösung in PBST-Puffer (B) und weiteren 15 Minuten Waschen (C). Erkennbar ist, dass der fluoreszierende Hintergrund deutlich abnimmt. Doch auch die Intensitäten der Fluoreszenz für die einzelnen Boronsäuren nimmt ab. Die Auflösung beträgt 5 μm.

Im Gegensatz zu den monomeren und dimerem Boronsäurederivaten zeigten sich für die trimeren Boronsäuren **140** und **141** nach diesen je 15 Minuten Waschschritten noch deutliche Fluoreszenzintensitäten. Auch zwei weiterere Waschschritte von 15 und 30 Minuten zeigten relativ konstante Fluoreszenzsignale (**Abbildung 4-18**), was darauf deutet, dass die trimeren Boronsäuren ähnlich wie Lektine deutlich bessere Bindungsaffinitäten an die Zucker besitzen.



**Abbildung 4-18:** Vergleichbare Intensitäten für die Trimere **140** und **141** nach 45 Minuten Waschen (A) und 75 Minuten Waschen (B) mit einer 100 mMol Galactose-Lösung. Die Auflösung beträgt 5 μm.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die im Rahmen dieser Doktorarbeit synthetisierten multivalenten Boronsäuren unter physiologischen Bedingungen Bindungsaffinitäten an *cis*-Diole zeigen. Weiter zeigte sich, dass multivalente Boronsäuren eine höhere Affinität an *cis*-Diole zeigen als ihre monovalenten Analoga, da sie trotz mehrmaliger Waschprozesse noch Fluoreszenzsignale auf den Glaschips aufweisen.

#### 4.9.2. Quantitative Bestimmung der Bindungsaffinitäten

Nachdem in einer ersten Studie gezeigt werden konnte, dass die Boronelektine an verschiedene *cis*-Diole binden, sollten die Bindungsaffinitäten an Galactose bestimmt werden. Um zunächst zu überprüfen, ob ein manuelles Spotting der Zucker für die Bestimmung der Bindungsaffinitäten geeignet ist, wurde eine Quantifizierung mit dem Lektin ConA durchgeführt. Dazu wurden verschiedene Mannose-Konzentrationen (1 nM, 0.5 mM, 0.1 mM, 50  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 1  $\mu$ M) auf einen Glaschip gespottet und mit verschiedenen Lektin-Konzentrationen inkubiert (600 nM, 400 nM, 250 nM, 150 nM, 125 nM, 100 nM, 75 nM, 50 nM). Nach einem Waschprozess (PBST-Puffer, PBS-Puffer, Wasser) wurde die Fluoreszenzintensität ausgelesen und gegen die Lektin-Konzentration aufgetragen.

Nach einer Langmuir-Isotherme wurde eine Ausgleichskurve gelegt (**Gleichung 2-1**) und aus dieser der  $K_{D,surf}$ -Wert bestimmt (**Graph 4-1**). Der so ermittelte Wert von 69.8 nM ist mit Literaturwerten vergleichbar (76.8-90.6 nM).<sup>160</sup>



**Graph 4-1:** Bestimmung des  $K_{D,surf}$ -Wertes von ConA an Mannose mit einer Auftragung der Fluoreszenz gegen die Lektin-Konzentration. Es wurden die Intensitäten bei einer Mannose-Konzentration von 50  $\mu$ M ausgewertet. Es handelt sich um eine Vierfachbestimmung.

Für die quantitative Bestimmung der Bindungsaffinitäten der Boronsäuren wurden verschiedene Konzentrationen (50 nM, 100 nM, 125 nM, 150 nM, 200 nM, 300 nM, 400 nM, 500 nM) der Boronsäuren **138**, **139**, **140** und **141** (**Abbildung 4-19**) auf einen Glaschip gegeben, auf dem Galactose in verschiedenen Konzentrationen gespottet war (1 mM, 0.5 mM, 0.1 mM, 50  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 1  $\mu$ M). Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde, einem Waschprozess (Wasser, PBST-Puffer, PBS-Puffer, Wasser) und der Trocknung der Chips (durch Zentrifugieren) wurde die Intensität der einzelnen Signale ausgelesen und gegen die Konzentration der Boronsäuren aufgetragen. Um zu überprüfen, dass nicht das Grundgerüst selbst die Bindung an Galactose bewirkt, wurde noch eine Modellverbindung **143** (**Abbildung 4-19**) auf die gleiche Art vermessen. Allerdings wurde diese in einer höheren Konzentration (1  $\mu$ M) verwendet. Die gemessenen Glaschips sind in **Abbildung 4-20** zu sehen.



Abbildung 4-19: Verbindungen, die auf ihre Bindungsaffinitäten an Galactose überprüft wurden.

Wie zu erwarten zeigten die Trimere **140** und **141** wesentlich stärkere Intensitäten, als das Monomer **138** und das Dimer **139** (Abbildung 4-20). Das Dimer **139** zeigte im Vergleich zu den anderen Verbindungen eine hohe Hintergrundfluoreszenz. Aus diesem Grund war die Auswertung etwas erschwert und nicht ganz so verlässlich. Ein zweiter Waschschritt zeigte einen starken Intensitätsverlust, der ähnlich stark auch bei dem Monomer **138** aber schwächer bei den Trimeren **140** und **141** zu sehen war. Aus diesem Grund wurden die Intensitäten nach nur einem Waschschritt bestimmt.

Die Zuckerkonzentration von 50  $\mu$ M konnte nur mit dem Trimer **140** detektiert werden, was zeigt, dass die Nachweisgrenze erreicht ist. Seltsamerweise wurde die hohe Konzentration von 1 mM auch nur in wenigen Fällen beobachtet.

Da die besten Signale bei allen Boronsäuren bei der Zuckerkonzentration 0.5 mM lagen, wurden diese Signale für die Auswertung und Bestimmung der  $K_{D,surf}$ -Werte verwendet.

	50 nM	125 nM	200 nM	400 nM	Zuckerkonz. 1 mM 0.5 mM 0.1 mM
a.	100 nM	00 nM 150 nM	300 nM	500 nM	50 μM 10 μM 5 μM 1 μM



Abbildung 4-20: a. Jeder Glaschip ist in acht Felder eingeteilt. Dabei wird jedes Feld mit einer definierten Boronsäure-Konzentration inkubiert. Welche Boronsäure-Konzentrationen benutzt wurden, zeigt sich in dem Schema links. Zusätzlich befinden sich in einem Feld verschiedene Zuckerkonzentrationen. Von oben nach unten sind die Galactose-Konzentrationen gespottet, die im Schema rechts zu sehen sind. Dabei wurde jede Konzentration für Mehrfachbestimmungen viermal nebeneinander gespottet (waagerecht). b. Glaschip, der mit der monomeren Boronsäure **138** inkubiert wurde. Es ist eine sehr schwache Intensität zu sehen. c. Glaschip, der mit der dimeren Boronsäure **139** inkubiert wurde. Auffällig ist der starke Hintergrund, der auch nach einmal Waschen nicht sehr viel geringer wurde. Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurde die Intensität des nicht gewaschenen Glaschips ausgewertet. d. Glaschip, der mit der trimeren Boronsäure **140** inkubiert wurde. Die starke Fluoreszenzintensität ist auch bei niedrigen Boronsäure- und Zuckerkonzentrationen zu sehen. e. Glaschip, der mit der trimeren Boronsäure **141** inkubiert wurde. Allerdings wurde das Feld rechts unten, das mit einem Asterix (\*) gekennzeichnet ist, mit der Modellverbindung **143** mit einer Konzentration von 10000 nM inkubiert. Obwohl es sich eigentlich um eine Negativkontrolle handelt sieht man eine schwache Bindung der hoch konzentrierten Modellverbindung.

Ein Vergleich der absoluten Signalintensität zwischen den verschiedenen Boronolektinen ist nicht möglich. Da die monomere und dimere Boronsäure leicht von den Glaschips abgewaschen werden, bewirken schon leicht längere Waschprozesse eine veränderte absolute Intensität der Fluoreszenz. Somit sollte in weiteren Studien darauf geachtet werden, dass die Glaschips für die gleiche Zeit den Waschlösungen ausgesetzt werden. Bedenkt man die geringere Empfindlichkeit der trimeren Verbindungen gegenüber den Waschprozessen, kann man die Fluoreszenzintensität von ConA mit den trimeren Boronolektinen in etwa vergleichen. Daraus ergibt sich eine qualitative Abschätzung des Assays: Die Fluoreszenzintensitäten der monomeren und dimeren Boronsäure **138** bzw. **139** sind niedriger als die der trimeren Verbindungen **140** und **141**. Somit ist die Bindungsstärke der monomeren bzw. dimeren Boronsäure **138** und **139** kleiner als die der trimeren Boronsäuren **140** und **141**. Dahingegen besitzen ConA und die trimeren Boronolektine **140** und **141** ähnliche Bindungsstärken an Mannose bzw. Galactose.

Eine Auftragung der Fluoreszenz gegen die Boronsäure-Konzentrationen zeigte den erwarteten Verlauf der Langmuir-Isotherme (**Graph 4-2**).



**Graph 4-2:** Auftragung der Fluoreszenz gegen die Boronsäure-Konzentrationen der Boronsäuren **138**, **139**, **140** und **141** bei einer Galactose-Konzentration von 0.5 mM. Die Ausgleichskurve erfolgte nach einer Langmuir-Isotherme (**Gleichung 2-1**). Es handelt sich um eine Vierfachbestimmung.

Es zeigte sich sehr deutlich, dass das Monomer erst bei wesentlich höheren Konzentrationen die maximale Fluoreszensintensität zeigte als die mulitvalenten Analoga. Für das Monomer **138** ergibt sich ein  $K_{D,surf}$ -Wert von 847.1 nM. Das Dimer **139** liegt mit einem  $K_{D,surf}$ -Wert von 184.7 nM schon wesentlich niedriger als das Monomer **138**, aber noch höher als die Trimere **140** mit 48.5 nM und **141** mit 118.9 nM. Dies wiederum bestätigt die Vermutung, dass die trimeren

Boronolektine **140** und **141** mit einer wesentlich höheren Bindungsaffinität an Galactose binden, als ihre mono- und divalenten Analoga **138** und **139**.

Betrachtet man den Verlauf der Graphen stellt man jedoch fest, dass die Messwerte stark streuen. Ursache ist die relativ schlechte Reproduzierbarkeit des manuellen Spottings, die vermutlich zu schwankender Beladung und damit auch schwankenden Fluoreszenzintensitäten nach Bindung der Boronsäuren führt. Dies erklärt auch die großen Fehlerwerte. Hier könnte ein automatisierter Spottingprozess in Zukunft Abhilfe schaffen.

Interessanterweise konnte das Trimer **140** nach einem Waschprozess von zwölf Stunden in einer 100 mM Galactose-Lösung immer noch detektiert werden (**Abbildung 4-21**). Damit benötigt man ähnlich lange Waschprozesse wie mit natürlichen Lektinen. Dies bestätigt die schon in Vorversuchen gezeigten hohen Bindungsaffinitäten.



**Abbildung 4-21:** Mit Galactose immobilisierter Glaschip, der mit dem Boronsäuretrimer **140** inkubiert wurde und zwölf Stunden mit einer 100 mM Galactose-Lösung gewaschen wurde. Es sind immer noch Fluoreszenzsignale detektierbar, was zeigt, dass das Trimer **140** mit hoher Affinität an Galactose bindet.

Zusammenfassend kann man sagen, dass sowohl die qualitativen, als auch die quantitativen Versuche sowie die Waschversuche die gleichen Ergebnisse liefern. Monomere und dimere Boronolektine **138** und **139** besitzen wesentlich geringere Bindungsaffinitäten an *cis*-Diole, als die trimeren Boronolektine **140** und **141**. Weiter liegen die Bindungsaviditäten der trimeren Boronolektine **140** und **141** an Galactose in einem ähnlichen Bereich wie die des natürlichen Lektins ConA an Mannose. Allerdings muss gesagt werden, dass insbesondere durch das manuelle Spotten recht hohe Fehler bei der Ermittlung der *K*<sub>D,surf</sub>-Werte auftreten.

Aus diesem Grund sollte in weiteren Versuchsreihen überprüft werden, ob die hohen Bindungsaffinitäten reproduzierbar mit verschiedenen Methoden gemessen werden können. Hier würden sich beispielsweise SPR-Messungen (*"surface plamson resonance"*) anbieten.<sup>207</sup> Weiter wäre es interessant zu überprüfen, ob Oligosaccharidstrukturen spezifisch gebunden werden. Tiefergehende Kenntnisse könnten mit Zellassays gewonnen werden. Bieten die Adamantanboroxole die Möglichkeit, Zucker auf Zelloberflächen zu erkennen und können sie für diagnostische Zwecke eingesetzt werden?

## 5. Resultate und Diskussion Teil 2:

#### Boroxolalkin 27 zur Desymmetrierung von meso-Diolen

Die Erkennung von Kohlenhydraten ist eine mögliche Verwendung des Boroxolalkins **27**, wie sie in Abschnitt "**4. Resultate und Diskussion Teil 1**:

**Darstellung und Evaluierung** von " beschrieben wurde. Auf ihre Fähigkeit, Diolstrukturen zu erkennen hingegen, sollte das Boroxolalkin **27** für die katalytische stereo- und regioselektive Acylierung von *meso*-Diol-Verbindungen in diesem Teil 2 getestet und beschrieben werden.<sup>xix</sup>

Für erste Studien wurde das Reaktionsprotokoll von *Taylor* verwendet.<sup>175</sup> Dazu wurde in frisch destilliertem Acetonitril ein Diol mit Diisopropylethylamin, Benzoylchlorid und katalytischen Mengen Boroxolalkin **27** für vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Für *trans*-Cyclohexandiol wurde ohne Zugabe von Boroxolalkin **27** keine Produktbildung beobachtet. Stattdessen bildete sich in Gegenwart von 10 mol% Boroxolalkin **27** das monobenzoylierte *trans*-Cyclohexandiol mit einer Ausbeute von 63%. Eine Erniedrigung der Katalysatorbeladung auf 5 mol% zeigte ebenfalls keine Produktbildung (**Schema 5-1**).



Schema 5-1: Benzoylierung von trans-Cyclohexandiol 16 mit verschiedenen Katalysatormengen.

Für die katalytische Benzoylierung von *cis*-Cyclohexandiol und *cis*-Cyclopentandiol zeigten sich noch etwas bessere Ausbeuten von 83% bzw. 92% (**Tabelle 5-1**). Erklärbar sind die leicht besseren Ausbeuten durch die bevorzugte Bindung von Boronsäuren an ein *cis*-Diol-Motiv im Gegensatz zu einer *trans*-Stellung der Hydroxygruppen.

<sup>&</sup>lt;sup>xix</sup> Die Acylierungsreaktionen (ausgenommen die enantioselektiven Versuche) wurden von *Pegah Khameghir* (Justus-Liebig-Universität Gießen, "Synthese einer modularen Phenylboronsäure zur katalytischen, regio- und stereoselektiven Acylierung von Diolen", **2011**) und *Joanna Malkusch* (Universität Hamburg, "Synthese modularer Phenylboronsäuren zur katalytischen Acylierung von Diolen", **2012**) während ihren Bachelorarbeiten durchgeführt.

Eingesetztes Diol	Katalysatormenge	Ausbeute/%
cis-Cyclopentandiol	10 mol%	92
cis-Cyclopentandiol	-	Keine Reaktion
cis-Cyclohexandiol	10 mol%	83
cis-Cyclohexandiol	-	Keine Reaktion
trans-Cyclohexandiol	10 mol%	63
trans-Cyclohexandiol	5 mol%	Keine Reaktion
trans-Cyclohexandiol	-	Keine Reaktion

 Tabelle 5-1: Ausbeuten verschiedener Diolderivate f

 genzoylierungsreaktion, die von dem Boroxolalkin 27 katalysiert

 wird.

Die Annahme, dass das Boroxolalkin **27** besser an *cis*-Diole als an *trans*-Diole bindet, wurde anhand einer kompetitiven Reaktion überprüft. Dazu wurden 0.5 Äq. *cis*-Cyclohexandiol sowie 0.5 Äq. *trans*-Cyclohexandiol in Gegenwart von 10 mol% Boroxolalkin **27** unter den Standardreaktionsbedingungen gerührt. Es zeigte sich eine Präferenz des *cis*-Diol-Motivs mit 5:1 gegenüber des *trans*-Diol-Motivs (**Schema 5-2**). Dies bestätigte, dass die Boronsäure **27**, wie andere Literatur-bekannte Boronsäuren, bevorzugt an *cis*-Diol-Motive bindet.



**Schema 5-2:** Kompetitive Benzoylierung (mit dem Boroolalkin **27** katalysiert) von *cis-/trans*-Cyclohexandiol, die eine Präferenz des *cis*-Diol-Motivs zum *trans*-Diol-Motiv von 5:1 aufweist.

Durch die Bindung der Boronsäure **XVII** an das Diol-Motiv (**XVIII**), erhöht sich dessen Nucleophilie (**XIX**). Dies bewirkt, dass eine der Hydroxygruppen aktiviert ist und somit Benzoylchlorid angreifen kann (**XXI**). Nach der Abspaltung des Katalysators, kann die Boronsäure an ein neues Substrat binden und der Katalysezyclus beginnt von vorne (**Abbildung 5-1**).



**Abbildung 5-1:** Vorgeschlagener Reaktionsmechanismus bei der Benzoylierung von Diolen mit dem Boroxolalkin **27** als Katalysator. In einem ersten Schritt bindet die Boronsäure an das Diol. Dessen Nucleophilie wird erhöht und das so aktivierte Boronat greift Benzoylchlorid an. In einem zweiten Schritt wird das benzoylierte Diol abgespalten und die Boronsäure für einen neuen Katalysezyclus regeneriert.

Nachdem in einem ersten Schritt gezeigt werden konnte, dass das Boroxolalkin **27** generell die Benzoylierung von Diolen katalysiert, sollte in einem zweiten Schritt überprüft werden, ob diese auch enantioselektiv erfolgt. Dazu wurden sowohl *cis*-Cyclohexandiol, als auch *cis*-Cyclopentandiol mit dem enantiomerenreinen Boroxolalkin **27** umgesetzt. Die Reaktions-kontrolle bzw. Bestimmung des Enantiomerenüberschusses erfolgte chromatographisch mit einer chiralen stationären Phase (IA, 10% Ethanol in Heptan, 254 nm).

Es zeigte sich, dass die Benzoylierung des Cyclohexandiols in Gegenwart des Boroxolalkinkatalysators **27** mit einem Enantiomerenüberschuss von ~14% erfolgte. Dies konnte sowohl für Enantiomer 1 (ee = -15.8%), als auch für Enantiomer 2 (ee = 14.2%) beobachtet werden (**Chromatogram 5-1**).



**Chromatogram 5-1:** *cis*-Cyclohexandiol wurde in Gegenwart des Boroxolalkins **27** benzoyliert. Im oberen Chromatogram sieht man das UV-Spektrum bei einer Wellenlänge von 254 nm nach einer Stunde Reaktionszeit. Es haben sich beide Enantiomere gebildet, wobei sich Enantiomer 2 zu einem größeren Anteil gebildet hat. Im unteren Chromatogram sieht man den gleichen Versuch, allerdings mit dem Boroxolalkin Enantiomer 2. Hier bildet sich zu einem größeren Anteil das monobenzoylierte Hexandiol Enantiomer 1.

Auch anhand des *cis*-Cyclopentandiol konnte gezeigt werden, dass die durch das Boroxolalkin **27** katalysierte Benzoylierung von Diolen enantioselektiv verläuft. Allerdings zeigte das *cis*-Cyclopentandiol lediglich einen Enantiomerenüberschuss von rund ~5%. Dies gilt sowohl für das Enantiomer 1 (*ee* = -5.8%), als auch für das Enantiomer 2 (*ee* = 4.1%), wobei erneut das entsprechend andere Enantiomer gebildet wurde.

Die Enantiomerenüberschüsse liegen mit 6% bzw. 14% sehr niedrig. Betrachtet man sich das Boroxolalkin **27** erkennt man, dass deren Stereodifferenzierung nicht ideal ist. Sie besitzt einen flachen Aromaten und ein stabförmiges Alkin. Beide funktionelle Gruppen sind wenig voluminös und somit sterisch nicht anspruchsvoll.

Schlußfolgernd kann man sagen, dass Boronsäuren vom Typ **27** in der Lage sind, enantioselektive Benzoylierungen zu katalysieren, dies jedoch nur mit einem geringen Enantiomerenüberschuss tun. Dennoch sind die ersten Ergebnisse vielversprechend. Bei einer sehr langsamen Hintergrundreaktion bieten sich eine Reihe Optimierungsmöglichkeiten an. So können die Reaktionsbedingungen einen starken Einfluss auf den Verlauf der Reaktion nehmen. Eine Erniedrigung der Reaktionstemperatur könnte bessere Enantiomerenüberschüsse bewirken. Da die Reaktion bei Raumtemperatur bereits schnell abläuft, würde die Erniedrigung der Temperatur zwar die Reaktionszeit erhöhen, doch sollte dies nicht weiter störend sein. Auch die Veränderung des Lösungsmittels, des Basenreagenzes oder der Katalysatorbeladung könnte weitere Vorteile bringen.

Eine Modifikation des Katalysators **27** scheint derzeit unausweichlich, da das Boroxolalkin **27** einen zu geringen sterischen Anspruch besitzt. Demnach sollte die Synthese sterisch anspruchsvollerer Boroxolderivate wie beispielsweise einer *tert*-Butylgruppe statt eines Alkinrestes vorangetrieben und eine anschließende enantioselektive Benzoylierung überprüft werden. Sollte sich hier ein verbesserter Enantiomerenüberschuss zeigen, könnten weitere Studien erfolgen. Inwiefern der Vorteil einer leichten Modifikation über *Huisgen*-Cycloaddition über die Alkingruppe im Sinne einer Tandemkatalyse möglich ist, kann derzeit noch nicht abgeschätzt werden. Da die Stereodifferenzierung des Boroxolalkins **27** zu gering ist, sollte in einem ersten Schritt auf die Alkineinheit verzichtet werden, um zunächst den Enantiomerenüberschuss zu verbessern.

#### 6. Zusammenfassung

#### 6.1. Darstellung multivalenter Boronsäurederivate

Ziel dieser Doktorarbeit war die modulare Synthese tripodaler Lektinmimetika auf Basis von Adamantan mit Boronsäuren als Rezeptor zur selektiven Erkennung von Kohlenhydraten.

Ausgehend von Azidoadamantanderivaten (**100**, **101**, **26**, **102**) konnte über eine 1,3-*Huisgen*-Cycloaddition ein Boroxolalkin **27** addiert werden. Beste Ergebnisse zeigte eine mikrowellenbasierte Synthese in Gegenwart eines aktivierenden Kupferliganden (TBTA) mit kurzer Reaktionszeit (fünf Minuten) und moderater Temperatur (70 °C). Die Boronolektine **114**, **115**, **116** und **117** konnten nach chromatographischer Reinigung (RP-18, Wasser/Methanol) mit guten Ausbeuten erhalten werden (57-75% Ausbeute). Neben einer Modifizierung der Anzahl der Boronsäureeinheiten (ein bis drei) konnte auch die Länge des Linkers am Adamantan mit Hilfe zweier verschiedener Grundgerüste **38** und **24** variiert werden. Zusätzlich konnten die Boronolektine mit einer zweiten funktionellen Gruppe, einer kurzen Peptidsequenz (GRGDS oder GRGES), modifiziert werden (Boronolektine **131** und **133**). Ein weiterer Syntheseschritt ermöglichte die Markierung der Boronsäurederivate mit dem Fluoreszenzfarbstoff PromoFluor-647 jedoch mit niedrigen Ausbeuten (~14%, **138**, **139** und **140**, **141**). Neben den Boronolektinen konnte erfolgreich die Brom-Verbindung **143** synthetisiert werden und mit PromoFluor-647 markiert werden (**Abbildung 6-1**).



Abbildung 6-1: Boronolektine 138, 139, 140 und 141, deren Bindungseigenschaften an Kohlenhydrate in einem Microassay überprüft wurden. Für Vergleichszwecke wurde auch die Bromverbindung 141 synthetisiert.

Um zu überprüfen, inwieweit die selektive Erkennung von Kohlenhydraten durch die Boronolektine möglich ist, wurde in Kooperation mit der AG *Seibel* von *Elisabeth Memmel* ein Microassay durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die Boronolektine -wie erwartet- lediglich Kohlenhydrate, die eine *cis*-Diol-Einheit besitzen, erkannt und erfolgreich gebunden werden können ( $\beta$ -Gal- $\alpha$ -GlcNAc,  $\alpha$  Man,  $\alpha$ -Gal). Nach einer längeren Waschphase mit einer 100 mM Galactose-Lösung ergaben sich noch gut sichtbare Fluoreszenzintensitäten für die Trimere **140** und **141**, aber nahezu keine Fluoreszenzsignale für die monomere und dimere Verbindung **138** und **139**. Eine Bestimmung der Bindungsaffinitäten zeigte für die Trimere **140** und **141** (**140**  $K_{D,surf}$  = 48.5 nM und **141**  $K_{D,surf}$  = 118.9 nM) wesentlich höhere Bindungsaffinitäten als für das Monomer **138** ( $K_{D,surf}$  = 847.1 nM) und das Dimer **139** ( $K_{D,surf}$  = 184.7 nM). Damit liegt das Trimer **140** in einem ähnlichen Affinitätsbereich wie das natürliche Lektin ConA ( $K_{D,surf}$  = 69.8 nM an Mannose). Die Modellverbindung **143** wurde ebenfalls bezüglich ihrer Bindungsaffinitäten an Galactose getestet und zeigte eine deutlich geringere Bindung an den Zucker als die vergleichbaren Benzoboroxole.

#### 6.2. Katalytische Acylierung von Diolen

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Benzoboroxolderivat **27** erfolgreich Acylierungen von Cycloalkandiolen katalysieren kann (> 60% Ausbeute). Dabei zeigte sich eine Präferenz der Benzoylierung von *cis*-Cyclohexandiol im Vergleich zu *trans*-Cyclohexandiol mit 5:1.

Eine enantioselektive Desymmetrierungsreaktion der *meso*-Cycloalkandiole zeigte, dass die Benzoboroxolderivate **27a** und **27b** mit niedrigen, aber messbaren Enantiomerenüberschüssen die Benzoylierung katalysieren. Dabei konnte für das *cis*-Cyclohexandiol ein Enantiomerenüberschuss von *ee* = ~14% und für das *cis*-Cyclopentandiol von *ee* = ~5% beobachtet werden (**Schema 6-1**).



Schema 6-1: Benzoylierungsreaktionen mit *cis*-Cyclohexandiol und *cis*-Cyclopentandiol. Beide Desymmetrierungsreaktionen werden mit einem niedrigen, aber sichtbaren *ee*-Wert von den Boronsäuren 27a bzw. 27b katalysiert.

# 7. Summary

## 7.1. Synthesis of Multivalent Boronic Acid Derivates

The aim of this doctoral thesis was the synthesis of tripodal lectinmimetics based on an adamantane scaffold combined with boronic acids as a receptor for selective recognition of carbohydrates.

Azidoadamantane derivatives (**100**, **101**, **26**, **102**) were conjugated to a boronic acid alkyne **27** in a 1,3-*Huisgen*-cycloaddition. Best results were obtained using a microwave assisted protocol with short reaction times (5 minutes) and moderate temperatures (70 °C) using the copper activating ligand TBTA. Boronolectins **114**, **115**, **116** and **117** were purified (HPLC, RP-18, water/methanol) and isolated in good yield (57-75%).

Boronolectins were modified with a second functional moiety, a short peptide sequence (GRGDS or GRGES), to give boronolectins **131** and **133**.

After a deprotection step, a fluorescence dye (PromoFluor-647) was introduced with low yield (~14%, **138**, **139** and **140**, **141**).

For binding studies, bromophenyl model compound **143** was synthesized and labelled with PromoFluor-647 to be tested in a fluorescence-based assay (**Figure 7-1**).



**Figure 7-1:** The boronolectins **138**, **139**, **140** and **141** were tested in a microarray assay towards their binding affinities to carbohydrates. For comparison, bromophenyl model compound **143** was synthesized and evaluated as well.

It was tested in a fluorescence assay in cooperation with the working group *Seibel* with *Elisabeth Memmel* to determine whether the synthesized boronolectins can be used for selective recognition of carbohydrates or not. As expected, only carbohydrates with a *cis*-diol motif were recognized and bound by these boronolectins ( $\beta$ -Gal- $\alpha$ -GlcNAc,  $\alpha$  Man,  $\alpha$ -Gal). After a washing step with a 100 mM galactose solution, visible fluorescence signals were detected for trimeric boronic acids **140** and **141** but nearly none for monomer **138** and dimer **139**. The quantitative

analysis of boronolectin-galactose interactions showed that trimeric derivates **140** and **141** (**140**  $K_{D,surf} = 48.5 \text{ nM}$  and **141**  $K_{D,surf} = 118.9 \text{ nM}$ ) have a higher affinity than dimeric boronic acid **139** ( $K_{D,surf} = 184.7 \text{ nM}$ ) or monomeric boronic acid **138** ( $K_{D,surf} = 847.1 \text{ nM}$ ). The binding affinity of the trimeric benzoboroxole **140** is comparable to natural lectins (for example ConA with  $K_{D,surf} = 69.8 \text{ nM}$  to Mannose).

The model compound 143 showed only a weak binding affinity to galactose.

#### 7.2. Catalytic Acylation of Diols

It was shown that boronic acid alkyne **27** catalyses acylations of cycloalkane diols (> 60% yield). A preference of the *cis*-diol motif over the *trans*-diol motif was observed with 5:1.

Enantioselective desymmetrization reactions of cycloalkyl diols gave a small, but measurable enantiomeric excess. *cis*-Cyclohexanediol gave an enantiomeric excess of ee = ~14% while *cis*-cyclopentanediol gave only ee = ~5% (Scheme 7-1).



**Scheme 7-1:** Benzoylation reactions with *cis*-cyclopentanediol and *cis*-cyclohexanediol. Both desymmetrization reaction catalysed by boronic acid enantiomers **27a** and **27b** gave a small, but obvious *ee* value.

#### 8. Ausblick

Die während dieser Arbeit synthetisierten haben sich als vielversprechende Bausteine für die Kohlenhydraterkennung und die enantioselektive Synthese erwiesen.

Um die Bindungseigenschaften der synthetisierten Boronolektine zu überprüfen, sollten weitere Testreihen, insbesondere mit Oligosacchariden und Zelllinien, durchgeführt werden. Hier sollte überprüft werden, ob die synthetisierten Boronolektine an bestimme Zelllinien binden und somit für diagnostische Zwecke eingesetzt werden könnten. Weitere Testreihen mit modifizierten Boronolektinen sollten es ermöglichen, Rückschlüsse auf den Einfluß von Geometrie, Abstand und Anzahl der Rezeptoreinheiten bezüglich Bindungsselektivität und –affinität zu ziehen. Hier wäre es interessant zu sehen, ob die mit Peptiden wie GRGDS modifizierten Boronolektine im Zellkontext eine höhere Affinität aufweisen als die einfachen Boronolektine ohne zusätzliche Peptideinheit oder die mit GRGES modifizierten Boronolektine, die nicht an Integrine binden sollten.Weiter wäre es interessant stereoisomerenreine Verbindungen darzustellen, um einen etwaigen Einfluss der Stereochemie auf die Bindungsaffinitäten der Boronolektine zu überprüfen.

Auch für den Nutzen der Boronsäuren in der Katalyse sind weitere Forschungen nötig, um beispielsweise die Enantiomerenüberschüsse bei stereoselektiven Acylierungen zu optimieren. Hier könnten größere Reste als Alkinylgruppen in die Boronsäuren eingeführt werden. Gleichzeitig können mit Hilfe des Alkins über 1,3-*Huisgen*-Cycloadditionen wesentlich sperrigere Reste eingeführt werden. Eine weitere interessante Anwendung könnte in axial chiralen Diolen liegen. Hier stellt sich die Frage, ob Boronsäurederivate in der Lage sind, axial chirale Diole einfach zu acylieren und so die freie Drehbarkeit der Verbindung derartig zu hindern, dass nur ein Enantiomer gebildet wird.

## 9. Experimenteller Teil

Die Verbindungen **24**,<sup>180</sup> **27**,<sup>189</sup> **32-38**,<sup>182</sup> **39-42**,<sup>180,181</sup> **44-49**,<sup>185,186</sup> **58**,<sup>188</sup> **52-54**,<sup>187</sup> **60-61**,<sup>187</sup> **72-77**,<sup>189</sup> **86**,<sup>187</sup> **89**,<sup>208</sup> **99**<sup>201</sup> wurden nach bekannten Vorschriften synthetisiert.

## 9.1. Arbeitstechnik

Die Durchführung luftempfindlicher Reaktionen geschah unter Verwendung der Schlenktechnik mit Stickstoff (5.0, Air Liquide GmbH, Stade) oder Argon (5.0, Air Liquide GmbH, Stade) als Schutzgas, absolutierten Lösungsmitteln und ausgeheizten Glasgeräten. Dabei wurden die absolutierten Lösungsmittel nach Standardmethoden getrocknet.<sup>209</sup>

Die verwendeten Chemikalien stammten von den Firmen Aldrich, Fluka, Sigma Aldrich, Merck, Acros Oganics, Roth, Iris Biotech und Lancaster. Die Qualität entsprach entweder "zur Synthese" oder "*per analysis*". Es erfolgte keine weitere Reinigung dieser Chemikalien.

#### 9.1.1. Peptidsynthese

Die Synthese des GRGDS- bzw. GRGES-Peptides erfolgte an einem CEM Liberty 12 Peptidsynthesizer nach Standardprotokollen. Als feste Phase wurde ein Fmoc-Rink-Amid-2CT Harz verwendet. Die Peptidsequenzen wurden aus den Aminosäuren Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-L-Gly-OH, Fmoc-L-Ser(*t*Bu)-OH, Fmoc-L-Asp-(*t*Bu)-OH und Fmoc-L-Glu-(*t*Bu)-OH synthetisiert. Für die Kupplung wurde HOBt in DMF, HBTU in DMF und DIPEA in NMP verwendet.

Zum Abspalten der Peptidsequenz vom Harz wurde das Peptidharz für 15 min mit  $CH_2Cl_2/TFA$  (4 mL, v/v 99:1) gerührt. Danach wurde die Lösung filtriert und das Procedere mit dem Harz dreimal wiederholt. Die vereinigten Filtrate wurden zur Trockene eingeengt und nach der Gefriertrocknung ohne Reinigung weiter eingesetzt.

## 9.1.2. Mikrowellenreaktor

Mikrowellenunterstützte Reaktionen wurden in einem Mikrowellenreaktor der Firma CEM GmbH, Kamp-Lintfort, durchgeführt.

#### 9.1.3. Kohlenhydratassays

Die Glaschips wurden in einer Multifuge 1 L-R der Firma Heraeus, Hanau, mit einem Einsatz für 50 mL Falcons zentrifugiert. Die Intensitäten der Fluoreszenz wurden mit einem GenePix Personal 4100 A der Firma Axon Instruments/Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, ausgelesen und mit GenePix Pro 4.1 ausgewertet.

## 9.2. Reinigung

## 9.2.1. Säulenchromatographie

Bei der säulenchromatographischen Reinigung der Produkte wurde als Trennmittel Kieselgel der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, oder der Firma Merck KGaA, Darmstadt, mit einer Korngröße von 60-200 µm verwendet. Die Reinigung erfolgte entweder isokratisch oder mit einem Gradienten.

Der Reaktionsverlauf der durchgeführten Reaktionen wurde mittels Dünnschichtchromatographie oder/und Massenspektrometrie verfolgt. Für die Dünnschichtchromatographie wurden Fluorophor-beschichtete Kieselgelplatten (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, oder der Firma Merck KGaA, Darmstadt, genutzt. Die Detektion erfolgte mit UV-Licht (254 nm, 366 nm) oder Färbereagenzien. Zum Anfärben wurden folgende Reagenzien verwendet und die Kieselgelplatten anschließend mit einem Heißluftföhn wärmebehandelt:

Cersulfat:	5 g	Ammoniummolybdat,	0.1 g	Cer(IV)sulfat,	90 mL	
	Wasser, 10 mL konz. Schwefelsäure					
Ninhydrin:	0.2% 2,2-Dihydroxy-1,3-indandion in Ethanol					
Molybdatophosphorsäure:	5 g l	Molybdatophosphorsäure	e, 100 n	nL Ethanol		

## 9.2.2. HPLC

Die semipräparative Chromatographie erfolgte an einer VWR Hitachi LaChrom Elite Anlage der Firma VWR International GmbH, Darmstadt (UV-Detektor (L-2400), einem Pumpensystem (L-2130) und einem Teledyne ISCO Foxy R1 Probensammler). Bei der Trennung fluoreszierender Verbindungen erfolgte die Detektion neben dem UV-Detektor (L-2400) mit einem Fluoreszenzdetektor (L2480).

Zur semipräparativen Trennung wurden folgende Säulen der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, verwendet:

RP-18 (Kieselgel der Marke Nucleodur, VP 250x10 mm ID, Partikelgröße 5 μm)

RP-8 (Kieselgel der Marke Nucleodur, VP 250x10 mm ID, Partikelgröße 5 μm)

Chirale Trennungen bzw. die Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen erfolgten mit Säulen der Firma Chiral Technologies Europe SAS, Cedex.

Daicel Chiralpak IA (Polysaccharidderivate auf Kieselgel, 150x4.6 mm ID, Partikelgröße 5  $\mu$ m)

Daicel Chiralpak IB (Polysaccharidderivate auf Kieselgel, semipräparativ: 250x10 mm ID, analytisch: 150x4.6 mm ID, Partikelgröße 5  $\mu$ m)

# 9.3. Analytik

# 9.3.1. NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte an einem Avance II 200 MHz "Microbay" (AV 200), an einem Avance II 400 MHz WB (AV 400) und an einem Avance III 600 MHz (AV 600) der Firma Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, bei Raumtemperatur. Zur Bestimmung neuer Substanzen wurden zweidimensionale NMR-Messungen vorgenommen.

Chemische Verschiebungen sind als  $\delta$  in ppm angegeben, kalibriert wurde auf nicht deuterierte Lösungsmittelsignale nach Literaturwerten.<sup>210</sup>

Die Auswertung der Spektren erfolgte mit den Programmen Topspin 3.1 und MestReNova. Dabei werden die Signale der Protonenspektren wie folgt angegeben: chemische Verschiebung in ppm, Multiplizität, Integral, (wenn vorhanden) Kopplungskonstanten in Hertz, Zuordnung der Protonensignale. Die Zuordnung der Multiplizitäten erfolgt mit den üblichen Abkürzungen (s: Singulett, brs: breites Singulett, d: Dublett, brd: breites Dublett, t: Triplett, q: Quartett, qu: Quintett, m: Multiplett, br: breites Signal). Da einige Verbindungen als Diastereomere dargestellt wurden, zeigen manche 13C-Signale einen doppelten/mehrfachen Signalsatz. Diese Signale werden mit C' gekennzeichnet.

Aufgrund der geringen synthetisierten Mengen zusätzlich zu Kupferresten aus der Reaktion zeigen einige Aufnahmen der 13C-Spektren nur geringe Intensitäten. In einigen Fällen konnten Kohlenstoffsignale nur über 2D-Signale zugeordnet werden, bei anderen konnten sie gar nicht beobachtet werden.

Bei den Benzoboroxolderivaten fehlt das 13C Signal des C-BOH, was jedoch literaturbekannt ist.<sup>211</sup>
Die NMR-Nummerierung der Produkte kann von der Empfehlung der IUPAC-Nomenklatur abweichen und somit nicht mit der Nomenklatur der Moleküle übereinstimmen.

Auch die Nomenklatur der Substanzen entspricht aufgrund ihrer Komplexität nicht in allen Fällen den Empfehlungen nach IUPAC.

# 9.3.2. Elementaranalyse

Die Elementaranalysen für C/H/N-Messungen wurden an einem C/H/N-Analysator Carlo Erba 1106 durchgeführt. Das Abwiegen erfolgte mittels der Mettler Toledo UMX-2.

# 9.3.3. Massenspektrometrie

Die Massenspektren wurden mit einem MicroTOF oder MicroTOF-Q der Firma Bruker Daltonik GmbH, Bremen, aufgenommen. Die Ionisation erfolgte mit Elektronenspray. Für LC-MS Messungen wurde das Massenspektrometer an eine VWR Hitachi LaChrom Elite der Firma VWR International GmbH, Darmstadt, gekoppelt (Pumpensystem (L-2130), Diode Array Detector (L-2455), Autosampler (L-2200)). Dabei wurden analytische Säulen der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, verwendet:

RP-18 (Kieselgel der Marke Nucleodur, EC 150x2 mm ID, Partikelgröße 5 μm)

RP-8 (Kieselgel der Marke Nucleodur, EC 150x2 mm ID, Partikelgröße 5 μm)

Die Massenspektren wurden mit Natriumformiat-Clustern extern kalibriert.

# 9.3.4. Röntgenstrukturanalyse

Einkristalle wurden an einem 3-Kreis-Einkristalldiffraktometer Smart Apex der Firma Bruker XRS GmbH, Karlsruhe, vermessen. Aus den ermittelten Reflektionsdaten ließen sich die im Anhang gezeigten Strukturen ableiten.

# 9.4. Allgemeine Arbeitsvorschriften

# AAV 1 TBDMS-Schützung

Der Alkohol (1.0 mmol), TBDMSCI (0.21 g, 1.2 mmol) und Imidazol (0.17 g, 2.5 mmol) wurden in DMF (5 mL) gelöst und für 24 h bei 35 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde in dest.  $H_2O$  (15 mL) und EtOAc (10 mL)

aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc (10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit dest.  $H_2O$  (10 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nachdem das Trockenmittel abfiltriert wurde, wurde die Reaktionslösung bis zur Trockene eingeengt.

# AAV 2: Boc-Schützung

Das freie Amin (1.0 mmol) wurde in dest.  $H_2O/Dioxan$  (60 mL, v/v 1:1) gelöst und mit Di-*tert*butyldicarbonat (1.8 mmol) versetzt. Mit 6 M wässriger NaOH wurde ein pH-Wert von 10 eingestellt. Die Reaktionslösung wurde bei RT für 6 d gerührt.

# **AAV 3: Darstellung eines NHS-Esters**

Die Bn-geschützte Carbonsäure (1.0 mmol) wurde zunächst in THF/H<sub>2</sub>O (10 mL, v/v 1:1) aufgenommen und mit LiOH (4 Äq. je Carbonsäure) versetzt. Die Reaktion wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt. Der Rückstand wurde in Et<sub>2</sub>O und H<sub>2</sub>O aufgenommen und die Phasen von einander getrennt. Anschließend wurde die organische Phase zweimal mit 1 M wässriger HCl (10 mL) gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit Et<sub>2</sub>O (je 10 mL) gegenextrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Die freie Carbonsäure als Rohprodukt (1.0 mmol), EDC·HCl (1.5 Äq. je Carbonsäure) und *N*-Hydroxysuccinimid (1.5 Äq. je Carbonsäure) wurden in abs. DMF (5 mL) gelöst und unter Stickstoffatmosphäre bei RT 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in EtOAc und H<sub>2</sub>O aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit H<sub>2</sub>O gewaschen und die wässrigen Phasen dreimal mit EtOAc gegenextrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und zur Trockene eingeengt.

# AAV 4: tert-Butoxycarbonyl-Entschützung

Das Boc-geschützte Amin (1.0 mmol) wurde in  $CH_2Cl_2/TFA$  (10 mL, v/v 4:1) gelöst und bei RT für 1.5 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und der Rückstand dreimal mit  $CH_2Cl_2$  koevaporiert und anschließend gefriergetrocknet.

Um das Amin als HCI-Salz zu erhalten, wurde der Rückstand in MeCN und 0.1 M wässriger HCI aufgenommen und ein weiteres Mal gefriergetrocknet.

# AAV 5: Peptidkupplung mit EDC/HOBt

Die freie Carbonsäure (1.0 mmol) und NEt<sub>3</sub> (4 Äq. je Carbonsäure) wurden in DMF (4 mL) gelöst und 10 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde EDC·HCl (1.2 Äq. je Carbonsäure) hinzugegeben und 5 min gerührt, bevor HOBt (1.2 Äq. je Carbonsäure) der Reaktionslösung hinzugefügt wurde. Es wurde weitere 10 min bei 0 °C gerührt und schließlich das freie Amin (1.2 Äq. je Carbonsäure) hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde 3 d gerührt, wobei die Temperatur von 0 °C auf RT erhöht wurde.

Die Reaktionslösung wurde zur Trockene eingeengt und in EtOAc (10 mL) aufgenommen. Es wurde je dreimal mit 1 M wässriger HCl (je 10 mL), dreimal mit ges. wässriger KHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 10 mL) und einmal mit ges. wässriger NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen. Die organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

# AAV 6: Peptidkupplung mit HATU

Die geschützte Aminoadamantancarbonsäure (1.0 mmol) wurde mit HATU (1.3 Äq. je Carbonsäure) und DIPEA (1.3 Äq. je Carbonsäure) bei 0 °C in abs. DMF (8 mL) gelöst und 10 min gerührt. Anschließend wurde das Azidoamin (1.3 mmol, 1.3 Äq. je Carbonsäure) und DIPEA (1.3 mmol) in abs. DMF (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde langsam von 0 °C auf RT erwärmt und 3 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und der Rückstand in EtOAc (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit 1 M wässriger HCl (je 10 mL) und dreimal mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 10 mL) gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel destillativ entfernt.

# AAV 7: Peptidkupplung mit einem NHS-Ester

Das freie Amin (1 mmol) wurde in abs. DMF gelöst und mit Et<sub>3</sub>N der pH-Wert auf 8 eingestellt. Danach wurde die Lösung bei 0°C für 15 min gerührt. Anschließend wurde der NHS-Ester (1.5 Äq. je Amin) zugegeben und bei RT für 24 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde zur Trockene eingeengt und der Rückstand in EtOAc (10 mL) und H<sub>2</sub>O (10 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde dreimal mit EtOAc (je 10 mL) extrahiert. Anschließend wurden die organischen Phasen vereinigt, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt.

# AAV 8: Huisgen-Cycloaddition mit Natriumascorbat

Das Azid (1.0 Äq.), das Alkin (1.3 Äq. je Azid), Natriumascorbat (0.10 Äq. je Azid) und Kupfersulfat (0.10 Äq. je Azid) wurden in mit Argon frisch entgastem *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (1.0 mL, v/v 1:1) und abs. DMF (1.5 mL) gelöst und über Nacht bei RT gerührt.

Die Reaktionslösung wurde zur Trockene eingeengt, in EtOAc (10 mL) aufgenommen und dreimal mit 0.1 M wässrige EDTA Lösung (je 5 mL) und einmal mit ges. wässriger NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und zur Trockene eingeengt.

# AAV 9: Mikrowellenunterstützte Huisgen-Cycloaddition mit Natriumascorbat

Das Azid (1.0 Äq.), das Alkin (1.3 Äq. je Azid), Natriumascorbat (0.10 Äq. je Azid) und Kupfersulfat (0.10 Äq. je Azid) wurden in mit Argon frisch entgastem *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (1.0 mL, v/v 1:1) und abs. DMF (1.5 mL) gelöst. Die Reaktion erfolgte in einer CEM Discover Mikrowelle bei 200 W, 80 °C, 10 bar und 8 min Reaktionszeit.

Die Reaktionslösung wurde zur Trockene eingeengt, in EtOAc (10 mL) aufgenommen und dreimal mit 0.1 M wässrige EDTA Lösung (je 5 mL) und einmal mit ges.wässriger NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und zur Trockene eingeengt.

# AAV 10: Huisgen-Cycloaddition mit CsF

Das Azid (1.0 mmol), das Boroxolalkin (1.0 Äq. je Azid), CsF (3 Äq. je Boroxolalkin), CuBr (0.10 mmol je Azid) und TBTA (0.10 mmol) wurden in *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (2.0 mL, v/v 1:1) und abs. DMF (3.0 mL) gelöst und 5 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde zur Trockene eingeengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

# AAV 11: Huisgen-Cycloaddition ohne CsF

Das Azid (1.0 mmol), das Boroxolalkin (1.2 Äq. je Azid), CuBr (0.10 Äq. je Azid) und TBTA (0.10 Äq. je Azid) wurden in mit Argon frisch entgastem *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (2.0 mL, v/v 1:1) und abs. DMF (3.0 mL) gelöst. Die Reaktion wurde 5 h bei RT unter Schutzgas gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde zur Trockene eingeengt, in MeOH aufgenommen und über Cellite filtriert.

# AAV 12: Huisgen-Cycloaddition, mikrowellenunterstützt

Das Azid (1.0 mmol), das Boroxolalkin (1.2 Äq. je Azid), CuBr (0.10 äq. je Azid) und TBTA (0.10 Äq. je Azid) wurden in mit Argon frisch entgastem *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (0.4 mL, v/v 1:1) und abs. DMF (0.6 mL) gelöst. Die Reaktion erfolgte in einer CEM Discover Mikrowelle bei 200 W, 70 °C, 7 bar und 5 min Reaktionszeit.

Bei unvollständiger Reaktion wurde eine zweite Portion Boronsäure (1 Äq.) zu dem Reaktionsgemisch gegeben und weitere 5 min bei gleichen Bedingungen in der Mikrowelle erhitzt.

# AAV 13: Benzylentschützung

Die Bn-geschützte Carbonsäure (1.0 mmol) wurde in THF/H<sub>2</sub>O (5 mL, v/v 1:1) gelöst und mit LiOH (4 Äq. je Carbonsäure) versetzt. Die Reaktionslösung wurde bei RT über Nacht gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel destillativ entfernt.

# AAV 14: Fluoreszenzmarkierung

Das Amin (5.0 µmol) wurde als Rohprodukt aus AAV 7 als HCl-Salz eingesetzt.

Zunächst wurde das Amin in abs. DMF (0.20 mL) gelöst und mit NEt<sub>3</sub> (~pH = 8) im N<sub>2</sub>-Gegenstrom versetzt. PromoFluor-647 als NHS-Ester (0.10 mL, c = 13 mM in DMF, 1.0 mg, 1.3 µmol) wurde bei 0 °C hinzugetropft und die Reaktionslösung vor Licht geschützt für 4 h gerührt. Anschließend wurde ein weiteres Mal PromoFluor-647 als NHS-Ester hinzugegeben (0.10 mL, c = 13 mM in DMF, 1.0 mg, 1.3 µmol) und unter Lichtausschluss über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde durch Gefriertrocknung entfernt und das Rohprodukt chromatographisch gereinigt.

# AAV 15: Benzoylierung mit Boronsäuren

Das Diol (1.0 mmol), die Boronsäure **27** (0.10 mmol), Benzoylchlorid (0.17 mL, 0.21 g, 1.5 mmol) und DIPEA (0.26 mL, 0.19 g, 1.5 mmol) wurden in frisch getrocknetem MeCN (5 mL) gelöst und 4 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit EtOAc (5 mL) und H<sub>2</sub>O (5 mL) verdünnt und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde zweimal mit H<sub>2</sub>O (5 mL) und einmal mit ges. wässriger NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit EtOAc (5 mL) gegenextrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und zur Trockene eingeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

# 9.5. Synthesen

# 9.5.1. Darstellung der Rezeptoren

tert-Butyl-2-(4-bromo-3-((tert-butyldimethyl-silyloxy)-methyl)phenoxy)-ethylcarbamat 62



Die Reaktion wurde nach AAV 1 durchgeführt (Edukte: *N-tert*-Butyl-2-[4-bromo-3-(hydroxymethyl)-phenoxy]-ethylcarbamat **53** (0.400 g, 1.15 mmol), TBDMSCI (0.209 g, 1.39 mmol), Imidazol (0.197 g, 2.88 mmol)). Die Reaktion wurde für 24 h bei 35 °C gerührt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 1:1) und das TBDMS-geschützte Produkt **62** als farbloses Öl erhalten (0.276 g, 0.580 mmol, 50%).

*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.57 (PE/EtOAc, v/v 1:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 7.36 (d, 1H,  ${}^{3}J$  = 8.6 Hz, 6-H), 7.12 (d, 1H,  ${}^{4}J$  = 3.0 Hz, 3-H), 6.66 (dd, 1H,  ${}^{3}J$  = 8.6 Hz,  ${}^{4}J$  = 3.0 Hz, 5-H), 5.00 (br, 1H, 9-H), 4.68 (s, 2H, 13-H), 4.00 (t, 2H,  ${}^{3}J$  = 5.0 Hz, 7-H), 3.54 (br, 2H,  ${}^{3}J$  = 5.0 Hz, 8-H), 1.45 (s, 9H, 12-H), 0.97 (s, 9H, 16-H), 0.14 (s, 6H, 14-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 158.3 (C4), 141.7 (C2), 132.8 (C6), 114.6 (C5), 113.7 (C3), 111.6 (C1), 77.4 (C11), 67.5 (C7), 64.7 (C13), 40.2 (C8), 28.5 (C12), 26.1 (C16), 18.6 (C15), -5.2 (C14).

#### tert-Butyl-2-(4-boron-3-((tert-butyldimethyl-silyloxy)-methyl)phenoxy)-ethylcarbamat 63



Das Carbamat **62** (0.22 g, 0.46 mmol) wurde zunächst dreimal mit abs. Toluol (10 mL) koevaporiert und anschließend in abs. Toluol (7 mL) gelöst. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C gekühlt und Isopropylmagnesiumchlorid (2.0 mL, 1.3 M in THF, 2.6 mmol) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 15 min bei 0 °C gerührt. Dann wurde *t*-BuLi (3.4 mL, 1.7 M in Pentan, 5.8 mmol) zu getropft und weitere 5 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde Triisopropylborat (1.3 mL, 5.8 mmol) hinzugefügt und die Lösung 12 h bei RT gerührt. Nach Zugabe von 0.2 M wässriger HCl (100 mL) wurde dreimal mit Et<sub>2</sub>O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Der Reaktionsverlauf wurde mittels Dünnschichtchromatographie und Ninhydrin-Anfärbung verfolgt. Anschließend wurde das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das gewünschte Benzoboroxolderivat **63** konnte als gelber Feststoff isoliert werden (0.18 g, 0.41 mmol, 90% Rohausbeute) und wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt. Im NMR zeigte sich neben dem Benzoboroxol **63** das teilweise deboronierte Produkt **64**.

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.40 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 6-H), 7.12 (d, 1H, <sup>4</sup>*J* = 2.4 Hz, 3-H), 6.79 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2.7 Hz, 5-H), 5.01 (br, 1H, 9-H), 4.73 (s, 2H, 13-H), 4.05 (t, 2H, <sup>3</sup>*J* = 5.3 Hz, 7-H), 3.48-3.56 (m, 2H, 8-H), 1.75 (brs, 2H, 17-H), 1.44 (s, 9H, 12-H), 0.86 (s, 9H, 16-H), 0.33 (s, 6H, 14-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 159.8 (C4), 156.0 (C10), 149.0 (C2), 137.9 (C6), 126.4 (C1), 113.7 (C3), 112.6 (C5), 79.7 (C11), 67.0 (C7), 65.7 (C13), 40.2 (C8), 28.5 (C12), 27.0 (C16), 17.9 (C15), -3.0 (C14).

# tert-Butyl-2-(4-brom-3-formylphenoxy)-ethylcarbamat 68



2-Brom-5-hydroxybenzaldehyd **58** (0.374 g, 1.86 mmol), 2-(Boc-amino)ethylbromid (0.623 g, 2.78 mmol) und  $K_2CO_3$  (2.57 g, 18.6 mmol) wurden in abs. DMF (15 mL) suspendiert und für 22 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung filtriert und zur Trockene eingeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: EtOAc/*n*-Hexan, v/v 1:2). Dies ergab den gewünschten Aldehyd **68** leicht verunreinigt als farbloses Öl (0.452 g, 1.31 mmol, 71%).

*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.27 (*n*-Hexan/EtOAc, v/v 2:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 10.28 (s, 1H, 13-H), 7.52 (d, 1H,  ${}^{3}J$  = 8.9 Hz, 6-H), 7.38 (d, 1H,  ${}^{4}J$  = 3.0 Hz, 3-H), 7.02 (dd, 1H,  ${}^{3}J$  = 8.9 Hz,  ${}^{4}J$  = 3.0 Hz, 5-H), 4.98 (brs, 1H, 9-H), 4.04 (t, 2H,  ${}^{3}J$  = 5.0 Hz, 7-H), 3.49-3.57 (m, 2H, 8-H), 1.44 (s, 9H, 12-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 191.7 (C13), 158.3 (C4), 155.9 (C10), 134.8 (C6), 134.1 (C2), 123.1 (C5), 118.3 (C1), 113.8 (C3), 79.8 (C11), 67.8 (C7), 40.0 (C8), 28.5 (C12).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>BrNO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 366.0311, gef. 366.0313.

# $\begin{array}{c} Br & OH 17 \\ 1 & 13 \xi & 14 \\ 6 & 2 \\ 3 & 15 Si \\ 7 & 0 \\ 9 HN \\ 10 \\ 0 \\ 0 \\ 11 \\ 12 \end{array}$

# tert-Butyl-2-(4-brom-3-(1-hydroxy-3-(trimethylsilyl)prop-2-ynyl)phenoxy)-ethylcarbamat 55

Trimethylsilylacetylen (71 µL, 49 mg, 0.50 mmol) wurde in abs. Et<sub>2</sub>O (15 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde *n*-BuLi (2.5 M in Hexan, 0.45 mmol) hinzugetropft und 15 min bei 0 °C gerührt. *tert*-Butyl-2-(4-brom-3-formylphenoxy)-ethylcarbamat **68** (0.16 mg, 0.45 mmol) wurde hinzugegeben und 2.5 h bei 0 °C gerührt. Es wurde mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (20 mL) die Reaktion beendet und dreimal mit Et<sub>2</sub>O (je 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und zur Trockene eingeengt. Es ergab sich das Bromalkin **55** als gelbes Öl (0.15 mg, 0.34 mmol, 76% Rohausbeute), das ohne Reinigung weiter umgesetzt wurde.

#### Racemat

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.42 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 8.8 Hz, 6-H), 7.32 (d, 1H, <sup>4</sup>*J* = 3.0 Hz, 3-H), 6.73 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 8.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 3.0 Hz, 5-H), 5.71 (s, 1H, 13-H), 5.00 (brs, 1H, 9-H), 3.96-4.06 (m, 2H, 7-H), 3.45-3.61 (m, 2H, 8-H), 2.75 (brs, 1H, 17-H), 1.44 (s, 9H, 12-H), 0.19 (s, 9H, 16-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 158.3 (C4), 156.0 (C10), 140.5 (C2), 133.8 (C6), 116.4 (C5), 114.7 (C3), 113.5 (C1), 103.8 (C14), 92.0 (C15), 79.8 (C11), 67.6 (C7), 64.6 (C13), 40.1 (C8), 28.5 (C12), -0.1 (C16).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>BrNO<sub>4</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup> = 464.0863, gef. 464.0869.

# *tert*-Butyl-2-(4-brom-3-(1-(*tert*-butyldimethyl-silyloxy)-3-(trimethylsilyl)prop-2-ynyl)phenoxy)ethylcarbamat 69



Die Reaktion wurde nach AAV 1 durchgeführt (Edukte: Bromalkin **55** (307 mg, 0.695 mmol), TBDMSCI (178 mg, 1.18 mmol), Imidazol (160 mg, 2.36 mmol)). Die Reaktion wurde für 14 d bei 40 °C gerührt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: *n*-Hexan/EtOAc, v/v 3:1).

Es wurde das Alkin 69 (362 mg, 0.650 mmol, 94%) als farbloses Öl erhalten.

# Racemat

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.39 (*n*-Hex/EtOAc, v/v 3:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.37 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 8.7 Hz, 6-H), 7.27 (d, 1H, <sup>4</sup>*J* = 3.0 Hz, 3-H), 6.70 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 8.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 3.0 Hz, 5-H), 5.62 (s, 1H, 13-H), 5.01 (brs, 1H, 9-H), 3.97-4.10 (m, 2H, 7-H), 3.48-3.57 (m, 2H, 8-H), 1.45 (s, 9H, 12-H), 0.93 (s, 9H, 19-H), 0.20 (s, 3H, 17a-H), 0.16 (s, 3H, 17b-H), 0.15 (s, 9H, 16-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 158.2 (C4), 156.0 (C10), 141.9 (C2), 133.4 (C6), 116.0 (C5), 114.2 (C3), 112.7 (C1), 105.4 (C14), 90.1 (C15), 79.7 (C11), 67.5 (C7), 64.9 (C13), 40.2 (C8), 28.5 (C12), 26.0 (C19), 18.4 (C18), -0.1 (C16), -4.7 (C17), -4.3 (C17).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>BrNO<sub>4</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 578.1728, gef. 578.1737.

# 1-((2-Bromphenyl)hydroxy)-prop-2-in 29



Das Bromalkin **73** (0.793 g, 2.80 mmol) wurde in H<sub>2</sub>O/THF (5 mL, v/v 1:1) gelöst und mit LiOH (0.130 g, 5.39 mmol) versetzt. Die Lösung wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (10 mL) und H<sub>2</sub>O (10 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase zweimal mit 0.1 M wässriger HCl (je 10 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde noch dreimal mit EtOAc (je 10 mL) gegenextrahiert, die organischen Phasen vereinigt und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Trockenmittel wurde abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde ein gelbes Öl erhalten, das säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wurde (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 4:1). Nach der Reinigung wurde das Bromalkin **29** (0.375 g, 1.78 mmol, 64%) als farbloser Feststoff erhalten.

#### Racemat

*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.16 (PE/EtOAc, v/v 4:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.79 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.8 Hz, 3-H), 7.57 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.1 Hz, 6-H), 7.38 (dt, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.2 Hz, 4-H), 7.21 (dt, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 5-H), 5.81 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J* = 5.4 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2.2 Hz, 7-H), 2.67 (d, 1H, <sup>4</sup>*J* = 2.2 Hz, 9-H), 2.45 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 5.5 Hz, 10-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 139.1 (C2), 133.2 (C6), 130.3 (C5), 128.6 (C3), 128.1 (C4), 122.8 (C1), 82.4 (C8), 75.1 (C9), 64.1 (C7).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>BrO [M-H]<sup>-</sup> = 208.9597, gef. 208.9597.

Elementaranalyse: gef. (ber.) [%]: C 51.49 (51.22); H 3.31 (3.34); O 7.59 (7.58).

**IR (Film):**  $\tilde{v}$  = 3378, 3294, 1468, 1435, 1192, 1023, 756 cm<sup>-1</sup>.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturwerten überein.<sup>212</sup>

# 9.5.2. Darstellung der Grundgerüste

1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3-carboxyadamantan 96



Die Reaktion erfolgte nach AAV 2 (Edukte: 3-Amino-1-adamantancarbonsäure (2.67 g, 11.5 mmol), Di-*tert*-butyldicarbonat (4.70 g, 22 mmol)). Die Reaktion wurde bei RT für 6 d gerührt.

Die gewünschte Aminoadamantancarbonsäure **96** wurde in Form eines farblosen Feststoffes (0.183 g, 0.577 mmol, 5%) erhalten.

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, DMSO-***d*<sub>6</sub>): δ (ppm) = 11.86 (br, 1H, 9-H), 6.46 (s, 1H, 10-H), 2.07 (s, 2H, 5-H), 1.91 (s, 2H, 2-H), 1.83 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 4a-H), 1.72 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 4b-H), 1.67 (s, 4H, 6-H), 1.53 (s, 2H, 7-H), 1.36 (s, 9H, 13-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ (ppm) = 177.8 (C8), 153.9 (C11), 77.2 (C12), 49.9 (C1), 42.2 (C2), 41.6 (C3), 40.4 (C4), 37.7 (C6), 35.1 (C7), 28.6 (C5), 28.3 (C13).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 318.1676, gef. 318.1665.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturwerten überein.<sup>213</sup>

# 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3-(2-(NHS)-carboxy)-adamantan 149



Die Reaktion erfolgte nach AAV 3. Allerdings wurde als Edukt die freie und nicht die Bngeschützte Carbonsäure verwendet. Deshalb wurde die basische Entschützung nicht durchgeführt (Edukte: Carbonsäure **96** (0.13 g, 0.44 mmol), EDC·HCl (0.13 g, 0.68 mmol), *N*-Hydoxysuccinimid (76 mg, 0.66 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittelgradient: Pentan/EtOAc, v/v 3:1  $\rightarrow$  1:4). Es ergab sich der NHS-Ester **149** als farbloser Feststoff (63 mg, 0.16 mmol, 36%).

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.60 (Pentan/EtOAc, v/v 1:4, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 4.44 (s, 1H, 9-H), 2.80 (s, 4H, 14-H), 2.24 (s, 4H, 2-H, 5-H), 1.94-2.04 (m, 6H, 4a-H, 6-H), 1.90 (d, 2H,  $^{2}J$  = 11.8 Hz, 4b-H), 1.67 (brs, 2H, 7-H), 1.42 (s, 9H, 12-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 171.4 (C8), 169.2 (C13), 79.2 (C11), 50.4 (C1), 42.4 (C2), 42.2 (C3), 40.8 (C4), 37.7 (C6), 35.1 (C7), 28.9 (C5), 28.6 (C12), 25.7 (C14).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 415.1840, gef. 415.1846.

# 

#### 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3-carboxyethyladamantan 50

Die Aminoadamantancarbonsäure **48** (1.26 g, 4.85 mmol) wurde in H<sub>2</sub>O/Dioxan (60 mL, v/v 1:1) gelöst. Es wurden Boc<sub>2</sub>O (1.23 g, 5.64 mmol) und Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.19 g, 11.2 mmol) zu der Reaktionslösung gegeben. Der pH-Wert wurde mit 1 M wässriger NaOH auf 10 eingestellt. Die Reaktionslösung wurde 8 h im Ultraschallbad und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach den ersten 3 h Reaktionszeit wurde ein zweites Mal Boc<sub>2</sub>O (930 mg, 4.26 mmol) hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde unter Vakuum zur Trockene eingeengt, der Rückstand in EtOAc (50 mL) und H<sub>2</sub>O (50 mL) aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase weitere zweimal mit EtOAc (je 50 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde durch Zugabe von 1 M wässriger HCl auf einen pH-Wert von 1 eingestellt und dreimal mit EtOAc (je 50 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und zur Trockene eingeengt.

Die Boc-geschützte Aminoadamantancarbonsäure **50** wurde als farbloser Feststoff erhalten (450 mg, 1.39 mmol, 29%).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, DMSO-***d*<sub>6</sub>): δ (ppm) = 11.96 (brs, 1H, 11-H), 6.31 (brs, 1H, 12-H), 2.12 (t, 2H, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 9-H), 2.02 (brs, 2H, 5-H), 1.75 (brs, 4H, 6-H), 1.55 (s, 2H, 2-H), 1.47-1.53 (m, 2H, 7-H), 1.34 (s, 9H, 15-H), 1.27-1.34 (m, 6H, 4-H, 8-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ (ppm) = 175.0 (C10), 77.0 (C14), 50.3 (C1), 45.4 (C2), 40.7 (C6), 40.4 (C4), 38.0 (C8), 35.5 (C7), 33.5 (C3), 28.9 (C5), 28.3 (C15), 27.7 (C9).

**HRMS (ESI):** *m*/*z* ber. für C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 346.1988, gef. 346.1989.

# 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3,5-bis-(2-carboxyethyl)-adamantan 51



Die Reaktion erfolgte nach AAV 2 (Edukte: Amin **48** (437 mg, 148 mmol), Di-*tert*-butyldicarbonat (420 mg, 1.93 mmol)). Statt in  $H_2O/Dioxan$  wurde die Reaktion in ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung durchgeführt und solange Dioxan hinzugegeben, bis sich die Edukte gelöst haben. Mit 1 M wässriger NaOH wurde der pH-Wert auf 10 eingestellt.

Das Boc-geschützte Amin 51 (212 mg, 0.488 mmol, 33%) wurde als gelbes Öl erhalten.

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>**)**: δ (ppm) = 2.27 (t, 4H, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, 9-H), 2.14-2.20 (m, 1H, 6-H), 1.81 (brs, 2H, 7-H), 1.63 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 2a-H), 1.57 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 12.4 Hz, 2b-H), 1.46-1.54 (m, 4H, 8-H), 1.31-1.46 (m, 13H, 5-H, 14-H), 1.18 (s, 2H, 4-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>): δ (ppm) = 178.2 (C10), 79.5 (C13), 52.8 (C1), 46.8 (C4), 46.5 (C2), 41.5 (C7), 41.3 (C5), 39.3 (C8), 35.5 (C3), 31.2 (C6), 29.0 (C9), 28.9 (C14).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 418.2200, gef. 418.2210.

# Cbz-Triester 150



Das Amin (0.72 g, 1.4 mmol) wurde in Dioxan/H<sub>2</sub>O (100 mL, v/v 1:1) bei RT gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit NaHCO<sub>3</sub> (0.16 g, 1.9 mmol) versetzt. Anschließend wurden bei 0 °C über mehrere min Cbz-Cl (0.32 mL, 0.38 g, 2.2 mmol) zu getropft. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei 0 °C und anschließend 2 h bei RT gerührt. Danach wurde viermal mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit 1 M wässriger HCl gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 17:3).

Der Triester 150 konnte als farbloses Öl erhalten werden (0.18 g, 0.28 mmol, 19%).

*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.24 (PE/EtOAc, v/v 17:3, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.27-7.38 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 5.01 (s, 2H, 11-H), 2.18 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, 5-H), 1.48-1.62 (m, 12H, 2-H, 4-H), 1.43 (s, 27H, 8-H), 1.13-1.24 (m, 6H, 3-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 173.1 (C6), 154.2 (C10), 137.0 (C12), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 128.1 (C<sub>arom</sub>), 80.1 (C7), 66.1 (C11), 57.7 (C1), 35.7 (C5), 35.1 (C2), 28.2 (C8), 25.5 (C4) 22.8 (C3).

**HRMS (ESI):** m/z ber.  $C_{36}H_{59}NO_8 [M+Na]^+ = 656.4133$ , gef. 656.4130.

#### **Cbz-Tricarbonsäure 90**



Der Triester **150** (10 mg, 0.16 mmol) wurde in TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL, v/v 1:1) gelöst und 4 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung bis zur Trockene eingeengt und fünfmal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> koevaporiert. Die Tricarbonsäure **90** (72 mg, 0.16 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne Reinigung weiter umgesetzt.

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>): δ (ppm) = 7.27-7.35 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 5.01 (brs, 2H, 9-H), 2.27 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.4 Hz, 5-H), 1.52-1.59 (m, 12H, 2-H, 4-H), 1.20-1.31 (m, 6H, 3-H).

<sup>13</sup>**C-NMR (100 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>**)**: δ (ppm) = 177.6 (C6), 156.6 (C8), 138.8 (C10), 129.4 (C12), 128.8 (C13), 128.6 (C11), 66.6 (C9), 58.6 (C1), 35.6 (C2), 34.8 (C5), 26.4 (C4), 23.7 (C3).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>24</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>8</sub> [M-H]<sup>-</sup> = 464.2290, gef. 464.2308.

# 9.5.3. Darstellung des Azidolinkers

# L-Azidohomoalanin-Bn 25



Die Reaktion erfolgte nach AAV 4 (Edukt: Azid **99** (85 mg, 0.25 mmol)). Das freie Amin **25a** als TFA-Salz wurde in Form eines gelben Öls erhalten (87 mg, 0.25 mmol, quant.).

Zur Darstellung des HCI-Salzes wurde das Amin **25a** als TFA-Salz in MeCN und 0.1 M wässriger HCI aufgenommen und gefriergetrocknet. Daraus wurde das freie Amin **25b** als HCI-Salz in Form eines farblosen Feststoffes erhalten (67 mg, 0.25 mmol, quant.) und als Rohprodukt ohne Reinigung weiter umgesetzt.

# Als TFA-Salz:

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 8.58 (brs, 3H, 10-H), 7.28-7.41 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 5.24 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 12.0 Hz, 3a-H), 5.16 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 12.0 Hz, 3b-H), 4.20 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 1-H), 3.41-3.59 (m, 2H, 9-H), 2.09-2.30 (m, 2H, 8-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 169.1 (C2), 162.6 (TFA), 162.2 (TFA), 161.8 (TFA), 161.5 (TFA), 134.1 (C4), 129.2 (C<sub>arom</sub>), 128.9 (C<sub>arom</sub>), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 69.0 (C3), 51.2 (C1), 47.1 (C9), 29.3 (C8).

# Als HCI-Salz:

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 8.86 (brs, 3H, 10-H), 7.27-7.37 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 5.23 (d, 1H,  ${}^{3}J$  = 12.0 Hz, 3a-H), 5.15 (d, 1H,  ${}^{3}J$  = 12.0 Hz, 3b-H), 4.37 (t, 1H,  ${}^{3}J$  = 6.0 Hz, 1-H), 3.51-3.72 (m, 2H, 9-H), 2.22-2.43 (m, 2H, 8-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 169.3 (C2), 134.5 (C4), 128.9 (C<sub>arom</sub>), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 68.5 (C3), 51.2 (C1), 47.0 (C9), 29.6 (C8).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 235.1190, gef. 235.1194.

**IR (Film):**  $\tilde{v}$  = 3431, 2109, 1635 cm<sup>-1</sup>

# 9.5.4. Darstellung der Kupplungsprodukte

1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-monocarboxy-4-aminoethoxybrombenzol-adamantan 87



Die Reaktion erfolgte nach AAV 5 (Edukte: freie Carbonsäure **50** (51 mg, 0.17 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.10 mL, 70 mg, 0.69 mmol), EDC·HCl (40 mg, 0.21 mmol), HOBt (28 mg, 0.21 mmol), Bromphenolderivat **86** (52 mg, 0.21 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 1:1). Es ergab sich das gewünschte Monokupplungsprodukt **87** (53 mg, 0.11 mmol, 63%) als farbloser Feststoff.

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.27 (PE/EtOAc, v/v 1:1, Molybdatophosphorsäure).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 7.37 (d, 2H,  ${}^{3}J$  = 9.0 Hz, 13-H), 6.77 (d, 2H,  ${}^{3}J$  = 9.0 Hz, 14-H), 6.01-6.11 (m, 1H, 9-H), 4.44 (brs, 1H, 16-H), 3.98 (t, 2H,  ${}^{3}J$  = 5.2 Hz, 11-H), 3.63 (q, 2H,  ${}^{3}J$  = 5.2 Hz, 10-H), 2.18-2.23 (m, 2H, 5-H), 2.05 (s, 2H, 2-H), 1.96 (d, 2H,  ${}^{3}J$  = 11.5 Hz, 4a-H), 1.74-1.85 (m, 6H, 4b-H, 6-H), 1.58-1.68 (m, 2H, 7-H), 1.41 (s, 9H, 19-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 177.0 (C8), 157.8 (C12), 132.5 (C13), 116.5 (C14), 113.5 (C15), 79.2 (C18), 67.2 (C11), 50.9 (C1), 43.0 (C3), 42.8 (C2), 41.1 (C4), 38.9 (C10), 38.3 (C6), 35.5 (C7), 29.3 (C5), 28.6 (C19).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 493.1702, gef. 493.1695.

# 1-(3-*tert*-Butoxycarbonylamino)-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-4-aminoethoxybrombenzoladamantan 88



Die Reaktion erfolgte nach AAV 5 (Edukte: freie Tricarbonsäure **24** (91 mg, 0.19 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.33 mL, 0.23 g, 2.3 mmol), EDC·HCl (0.14 mg, 0.71 mmol), HOBt (96 mg, 0.71 mmol), Bromphenolderivat **86** (0.18 mg, 0.70 mmol)). Die Reaktion wurde bei RT für 7 d gerührt. Es wurde mit ges. wässriger KHSO<sub>4</sub>-Lösung (je 10 mL) bzw. ges. wässriger K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (je 10 mL) gewaschen. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittelgradient: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 1:0  $\rightarrow$  10:1). Es ergab sich das gewünschte Trikupplungsprodukt **88** leicht verunreinigt als farbloser Feststoff (0.13 mg, 0.12 mmol, 63%).

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 15:1, UV, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.37 (d, 6H, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, H<sub>arom</sub>), 6.77 (d, 6H, <sup>3</sup>*J* = 8.3 Hz, H<sub>arom</sub>), 6.07 (brs, 3H, 8-H), 4.43 (brs, 1H, 15-H), 3.98 (s, 6H, 10-H), 3.63 (s, 6H, 9-H), 2.13 (s, 6H, 5-H), 1.50 (s, 12H, 6-H, 2-H), 1.40 (s, 9H, 18-H), 0.97-1.15 (m, 6H, 4-H).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 173.7 (C7), 157.6 (C11), 132.5 (C12), 116.4 (C13), 113.7 (C14), 79.2 (C17), 67.1 (C10), 52.5 (C1), 45.5 (C2), 45.2 (C4), 39.1 (C9), 38.3 (C8), 35.1 (C3), 30.6 (C5), 29.8 (C6), 28.6 (C18).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>48</sub>H<sub>61</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 1061.2097, gef. 1061.2112.

#### Flex-1-Tribrom 91



Die Reaktion erfolgte nach AAV 5 (Edukte: Tricarbonsäure **89** (0.10 g, 0.26 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.45 mL, 0.32 g, 3.2 mmol), EDC·HCl (0.18 g, 0.95 mmol), HOBt (0.13 g, 0.95 mmol), Bromphenolderivat **86** (0.24 g, 0.95 mmol)). Bevor das Bromphenolderivat **86** zur Reaktionslösung gegeben wurde, wurde dieses 30 min bei RT gerührt und die Reaktionslösung nach Zugabe des Amins 6 d bei RT gerührt. Statt mit KHCO<sub>3</sub> wurde mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel:  $CH_2Cl_2/MeOH$ , v/v 13:0.5). Das Kupplungsprodukt **91** (90 mg, 92  $\mu$ mol, 36%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.13 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 26:1, UV, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 7.27-7.38 (m, 11H, H<sub>arom</sub>), 6-73-6.77 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 6.37 (brs, 3H, 5-H), 5.44 (brs, 1H, 12-H), 4.99 (brs, 2H, 14-H), 3.93 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, 7-H), 3.57 (q, 6H, <sup>3</sup>*J* = 5.4 Hz, 6-H), 2.18 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 3-H), 1.94 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 2-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 173.4 (C4), 171.6 (C13), 157.7 (C8), 136.8 (C15), 132.5 (C9), 128.7 (C17), 128.3 (C18), 128.1 (C16), 116.4 (C10), 113.5 (C11), 66.9 (C7), 66.4 (C14), 57.3 (C1), 39.1 (C6), 31.3 (C2), 30.8 (C3).

#### Flex-2-Tribrom 92



Die Reaktion erfolgte nach AAV 5 (Edukte: freie Tricarbonsäure **90** (72 mg, 0.15 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.26 mL, 0.19 g, 1.9 mmol), EDC·HCl (0.11 g, 0.56 mmol), HOBt (75 mg, 0.56 mmol), Bromphenolderivat **86** (0.14 g, 0.56 mmol)). Es wurde mit 1 M wässriger HCl (je 10 mL) und ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>–Lösung gewaschen.

Das Rohprodukt wurde als braunes Öl erhalten und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel:  $CH_2Cl_2/MeOH$ , v/v 13:0.5). Es wurde das Kupplungsprodukt **92** leicht verunreinigt als farbloses Öl (57 mg, 54  $\mu$ mol, 35%) erhalten.

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.13 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 13:0.5, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 7.27-7.38 (m, 11H, H<sub>arom</sub>), 6.75 (d, 6H, <sup>3</sup>*J* = 8.9 Hz, 12-H), 6.14-6.32 (m, 3H, 7-H), 4.99 (s, 2H, 16-H), 4.39 (brs, 1H, 14-H), 3.96 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 5.1 Hz, 9-H), 3.61 (q, 6H, <sup>3</sup>*J* = 5.1 Hz, 8-H), 2.14 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 6.6 Hz, 5-H), 1.48-1.57 (m, 12H, 2-H, 4-H), 1.14-1.18 (m, 6H, 3-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 173.3 (C6), 157.7 (C10), 154.3 (C15), 136.9 (C17), 132.5 (C11), 128.6 (C19), 128.2 (C20), 128.1 (C18), 116.3 (C12), 113.4 (C13), 67.1 (C9), 66.1 (C16), 57.7 (C1), 38.9 (C8), 36.4 (C5), 34.8 (C2), 25.7 (C4), 22.7 (C3).

# 9.5.5. Azidolinkerkupplungsprodukte

#### L-Azidohomoalanin-Bn-adamantan 105



Die Reaktion erfolgte nach AAV 5 (Edukt: 1-Adamantancarbonsäure (0.21 g, 1.2 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.75 mL, 0.54 g, 5.3 mmol), EDC·HCl (0.32 g, 1.7 mmol), HOBt (0.25 g, 1.7 mmol), Amin **25b** (als HCl-Salz: 0.42 g, 1.5 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4). Es wurde statt mit KHCO<sub>3</sub> mit NaHCO<sub>3</sub> gewaschen.

Das Rohprodukt wurde in Form eines gelben Öls erhalten und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 2:1). Das Monoazid **105** (0.28 g, 0.71 mmol, 60%) wurde in Form eines gelblichen Feststoffes erhalten.

*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.44 (PE/EtOAc, v/v 2:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 7.30-7.44 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 6.35 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 6-H), 5.23 (d, 1H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 11a-H), 5.16 (d, 1H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 11b-H), 4.66-4.73 (m, 1H, 7-H), 3.24-3.40 (m, 2H, 9-H), 2.10-2.22 (m, 1H, 8a-H), 2.02-2.08 (m, 3H, 1-H), 1.91-2.02 (m, 1H, 8b-H), 1.86-1.90 (m, 6H, 2-H), 1.75 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.2 Hz, 4a-H), 1.69 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.2 Hz, 4b-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 178.0 (C5), 171.9 (C10), 135.2 (C12), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 128.7 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 67.6 (C11), 50.2 (C7), 47.9 (C9), 40.8 (C3), 39.2 (C2), 36.6 (C4), 31.4 (C8), 28.2 (C1).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 419.2054, gef. 419.2047.

### 1-Boc-3-(L-Azidohomoalanin-Bn)-adamantan 97



Die Reaktion erfolgte nach AAV 5 (Edukte: Aminoadamantancarbonsäure **96** (0.11 g, 0.32 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.18 mL, 0.13 g, 1.3 mmol), EDC·HCl (73 mg, 0.38 mmol), HOBt (58 mg, 0.38 mmol), Amin **25a** (als TFA-Salz: 0.16 g, 0.59 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4). Statt mit ges. wässriger KHCO<sub>3</sub> wurde mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub> gewaschen. Das Rohprodukt wurde in Form eines roten Öls erhalten und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Et<sub>2</sub>O/Pentan, v/v 3:1). Es ergab sich das gewünschte Aminomonoazid **97** (0.12 g, 0.23 mmol, 72%) in Form eines farblosen Feststoffes.

 $R_{f}$ -Wert = 0.32 (Et<sub>2</sub>O/Pentan, v/v 3:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.31-7.40 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 6.35 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.4 Hz, 9-H), 5.20 (d, 1H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 14a-H), 5.15 (d, 1H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 14b-H), 4.65-4.71 (m, 1H, 10-H), 4.43 (s, 1H, 19-H), 3.25-3.38 (m, 2H, 12-H), 2.18-2.24 (m, 2H, 5-H), 2.09-2.18 (m, 1H, 11a-H), 2.03 (brs, 2H, 2-H), 1.95-2.01 (m, 1H, 11b-H), 1.83-1.95 (m, 4H, 6-H), 1.74-1.83 (m, 4H, 4-H), 1.56-1.69 (m, 2H, 7-H), 1.42 (s, 9H, 22-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 176.7 (C8), 171.8 (C13), 135.2 (C15), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 128.7 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 79.1 (C21), 67.7 (C14), 50.9 (C1), 50.3 (C10), 48.0 (C12), 43.0 (C2), 42.8 (C3), 41.0 (C6), 38.28 (C4), 38.26 (C'4), 35.4 (C7), 31.4 (C11), 29.3 (C5), 28.6 (C22).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 534.2687, gef. 534.2704.

**Elementaranalyse:** gef. (ber.) [%]: C 63.32 (63.39); H 7.36 (7.29); N 13.45 (13.69); O 15.55 (15.64).

# 1-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 109



Die Reaktion wurde nach AAV 6 durchgeführt (Edukte: 1-(2-Carboxylethyl)adamantan (0.50 g, 2.4 mmol), HATU (1.2 g, 3.1 mmol), DIPEA (0.42 mL, 0.31 g, 2.4 mmol), Azidoamin **25b** als Rohprodukt aus AAV 4 (als HCI-Salz: 0.85 g, 3.1 mmol), DIPEA (0.42 mL, 0.31 g, 2.4 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 3:1) und das gewünschte Adamantanmonoazid **109** als farbloses Öl erhalten (90 mg, 0.21 mmol, 9%).

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.39 (PE/EtOAc, v/v 3:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 7.28-7.44 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 6.25 (d, 1H,  ${}^{3}J$  = 7.4 Hz, 8-H), 5.20 (d, 1H,  ${}^{2}J$  = 12.1 Hz, 1H, 13a-H), 5.17 (d, 1H,  ${}^{2}J$  = 12.4 Hz, 13b-H), 4.67-4.77 (m, 1H, 9-H), 3.25-3.40 (m, 2H, 11-H), 2.08-2.24 (m, 3H, 6-H, 10a-H), 1.90-2.02 (m, 4H, 1-H, 10b-H), 1.70 (d, 3H,  ${}^{2}J$  = 12.0 Hz, 4a-H), 1.60 (d, 3H,  ${}^{2}J$  = 11.2 Hz,4b-H), 1.44-1.49 (m, 6H, 2-H), 1.36-1.44 (m, 2H, 5-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 174.0 (C7), 171.8 (C12), 135.1 (C14), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 128.7 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 67.6 (C13), 50.3 (C9), 47.8 (C11), 42.2 (C2), 39.7 (C5), 37.1 (C4), 32.1 (C3), 31.6 (C10), 30.3 (C6), 28.7 (C1).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 447.2367, gef. 447.2374.



#### 1-Boc-3-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 100

Die Reaktion wurde nach AAV 6 durchgeführt (Edukte: geschützte Aminoadamantancarbonsäure **50** (0.20 g, 0.62 mmol), HATU (0.31 g, 0.80 mmol), DIPEA (0.14 mL, 0.10 g, 0.80 mmol), Azidoamin **25b** (als HCI-Salz: 0.23 g, 0.80 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4, DIPEA (0.14 mL, 0.10 g, 0.80 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 2:1) und das gewünschte Aminoadamantanmonoazid **100** als farbloses Öl erhalten (0.24 g, 0.44 mmol), das entspricht einer Ausbeute von 71%.

# *R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.57 (PE/EtOAc, v/v 1:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.31-7.43 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 6.16 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 11-H), 5.20 (d, 1H, <sup>2</sup>*J* = 12.2 Hz, 16a-H), 5.17 (d, 1H, <sup>2</sup>*J* = 12.2 Hz, 16b-H), 4.66-4.76 (m, 1H, 12-H), 4.41 (brs, 1H, 21-H), 3.26-3.40 (m, 2H, 14-H), 2.18-2.24 (m, 2H, 9-H), 2.14-2.18 (m, 1H, 13a-H), 2.09-2.14 (m, 2H, 5-H), 1.92-2.02 (m, 1H, 13b-H), 1.77-1.90 (m, 4H, 6-H), 1.66 (brs, 2H, 2-H), 1.51-1.64 (m, 4H, 4-H), 1.45-1.51 (m, 2H, 8-H), 1.42 (s, 9H, 24-H), 1.35-1.41 (m, 2H, 7-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 173.7 (C10), 171.8 (C15), 135.1 (C17), 128.82 (C<sub>arom</sub>), 128.78 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 78.8 (C23), 67.7 (C16), 51.3 (C1), 50.3 (C12), 47.9 (C14), 46.1 (C2), 41.6 (C6), 41.1 (C7), 38.8 (C8), 36.0 (C4), 34.3 (C3), 31.6 (C13), 30.4 (C9), 29.6 (C5), 28.6 (C24).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 562.3000, gef. 562.3008.



#### 1-Amino-3-(L-Azidohomoalanin-GRGES)-carboxyethyladamantan 128

Die Reaktion wurde nach AAV 3 durchgeführt (Edukte: Aminodamantanmonoazid **100** (47 mg, 87 µmol), LiOH (7.7 mg, 0.32 mmol), EDC·HCI (23 mg, 0.12 mmol), *N*-Hydroxysuccinimid (14 mg, 0.12 mmol)). Der NHS-Ester **121** wurde als gelbes Öl erhalten und als Rohprodukt ohne Reinigung nach AAV 7 weiter umgesetzt (Edukte:  $H_2N$ -G-R(Pbf)-G-E(*t*Bu)-S(*t*Bu)-Rink-Amid (0.13 g, 0.11 mmol)). Die Reaktionslösung wurde zur Trockene eingeengt, gefriergetrocknet und ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt. Der Rückstand wurde in 4.4 mL TFA aufgenommen und mit 0.10 mL TIPS, 0.25 mL H<sub>2</sub>O und 36 mg Phenol versetzt und für 48 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel destillativ entfernt und das Rohprodukt chromatographisch gereinigt (RP-8, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O, mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min zu 80% MeCN, 5 mL/min, 210 nm). Das entschützte Adamantanpeptid **128** wurde als farbloser Feststoff erhalten (13 mg, 16 µmol, 18% über 4 Stufen).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>N<sub>14</sub>O<sub>10</sub> [M+2H]<sup>2+</sup> = 418.2303, gef. 418.2305.

**HPLC:** Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min zu 80% MeCN, 5 mL/min, 210 nm,  $t_{\rm R}$  = 12.3 min.



#### 1-Amino-3-(L-Azidohomoalanin-GRGDS)-carboxyethyladamantan 129

Die Reaktion wurde nach AAV 3 durchgeführt (Edukte: Aminodamantanmonoazid **100** (37 mg, 69  $\mu$ mol), LiOH (6.6 mg, 0.27 mmol), EDC·HCI (20 mg, 0.10 mmol), *N*-Hydroxysuccinimid (12 mg, 0.10 mmol)). Der NHS-Ester **121** wurde als gelbes Öl erhalten und als Rohprodukt ohne Reinigung nach AAV 7 weiter umgesetzt (Edukte: H<sub>2</sub>N-G-R(Pbf)-G-D(*t*Bu)-S(*t*Bu)-Rink-Amid (0.13 mg, 0.11 mmol)). Die Reaktionslösung wurde zur Trockene eingeengt, gefriergetrocknet und ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt. Der Rückstand wurde in 4.4 mL TFA aufgenommen und mit 0.10 mL TIPS, 0.25 mL H<sub>2</sub>O und 36 mg Phenol versetzt und für 48 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel destillativ entfernt und das Rohprodukt chromatographisch gereinigt (RP-18, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min zu 80% MeCN, 5 mL/min, 210 nm). Das entschützte Adamantanpeptid **129** wurde als farbloser Feststoff erhalten (16 mg, 17  $\mu$ mol, 25% über 4 Stufen).

#### Adamantanmonopeptid 129:

<sup>1</sup>**H-NMR (600 MHz, H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O/DCI):** δ (ppm) = 8.51 (t, 1H, <sup>3</sup>*J* = 6.0 Hz, 16-H/29-H), 8.45 (t, 0.5H, <sup>3</sup>*J* = 6.0 Hz, 16-H/29-H), 8.39 (t, 0.5H, <sup>3</sup>*J* = 6.0 Hz, 16-H/29-H), 8.35 (t, 1H, <sup>3</sup>*J* = 6.0 Hz, 11-H), 8.12-8.22 (m, 3H, 19-H, 32-H, 37-H), 7.16 (t, 1H, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, 24-H), 4.29-4.35 (m, 1H, 12-H), 4.22-4.29 (m, 1H, 38-H), 3.81-3.90 (m, 5H, 17-H, 30-H, 39a-H), 3.78 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J* = 12.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.2 Hz, 39b-H), 3.37-3.44 (m, 1H, 14a-H), 3.29-3.37 (m, 1H, 14b-H), 3.11 (qu, 2H, <sup>3</sup>*J* = 6.6 Hz, 23-H), 2.64 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J* = 16.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.9 Hz, 34a-H), 2.59 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J* = 16.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 34b-H), 2.15-2.27 (m, 2H, 9-H), 2.10-2.15 (m, 2H, 5-H), 1.95-2.04 (m, 1H, 13a-H), 1.84-1.91 (m, 1H, 13b-H), 1.77-1.84 (m, 1H, 20-H), 1.74 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 11.4 Hz, 6a-H), 1.64-1.71 (m, 4H, 6b-H, 21-H/22-H), 1.50-1.63 (m, 4H, 7-H, 21-H/22-H), 1.48 (s, 2H, 2-H), 1.35-2.44 (m, 4H, 4a-H, 8-H), 1.32 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 12.2, 4b-H).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>34</sub>H<sub>56</sub>N<sub>14</sub>O<sub>10</sub> [M+2H]<sup>2+</sup> = 411.2225, gef. 411.2243.

**HPLC:** Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min zu 80% MeCN, 5 mL/min, 210 nm,  $t_{R}$  = 13.4 min.





Die Reaktion erfolgte nach AAV 6 (Edukte: geschützte Aminoadamantandicarbonsäure **51** (0.33 g, 0.94 mmol), HATU (0.94 g, 2.5 mmol), DIPEA (0.43 mL, 0.32 g, 2.5 mmol), Azidoamin **25b** (als HCI-Salz: 0.79 g, 2.9 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4, DIPEA (1.3 mL, 0.96 g, 7.5 mmol)). Die Reaktion wurde von 0 °C auf RT erwärmt und 2 d bei RT gerührt. Anschließend wurde sie bei 45 °C für 12 h gerührt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 1:4). Das Kupplungsprodukt **101** (0.27 g, 0.33 mmol, 35%) wurde als farbloses Öl erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 7.30-7.40 (m, 10H, H<sub>arom</sub>), 6.33 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.3 Hz, 11-H), 5.14-5.23 (m, 4H, 16-H), 4.67-4.75 (m, 2H, 12-H), 4.47 (brs, 1H, 21-H), 3.27-3.40 (m, 4H, 14-H), 2.07-2.25 (m, 7H, 6-H, 9-H, 13a-H), 1.91-2.01 (m, 2H, 13b-H), 1.75 (brs, 2H, 7-H), 1.53-1.67 (m, 4H, 2-H), 1.46-1.53 (m, 4H, 8-H), 1.23-1.46 (m, 13H, 5-H, 24-H), 1.06-1.16 (m, 2H, 4-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 173.7 (C10), 171.9 (C15), 135.1 (C17), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 128.7 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 79.2 (C23), 67.7 (C16), 51.9 (C1), 50.3 (C12), 47.9 (C14), 45.6 (C2, C4), 41.0 (C7), 40.7 (C5), 38.4 (C8), 34.7 (C3), 31.5 (C13), 30.3 (C9), 29.7 (C6), 28.6 (C24).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>43</sub>H<sub>57</sub>N<sub>9</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 828.4403, gef. 828.4418.



1-Amino-3,5-bis-(L-Azidohomoalanin-GRGDS)-adamantan 130

Die Reaktion wurde nach AAV 3 durchgeführt (Edukte: Aminodamantandiazid **101** (60 mg, 73 µmol), LiOH (5.2 mg, 0.22 mmol), EDC·HCl (53 mg, 0.28 mmol), *N*-Hydroxysuccinimid 32 mg, 0.28 mmol)). Der NHS-Ester **122** wurde als gelbes Öl erhalten und als Rohprodukt ohne Reinigung nach AAV 7 weiter umgesetzt (Edukte:  $H_2N$ -G-R(Pbf)-G-D(*t*Bu)-S(*t*Bu)-Rink-Amid (0.17 g, 0.20 mmol). Die Reaktionslösung wurde zur Trockene eingeengt, gefriergetrocknet und ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt. Der Rückstand wurde in 8.8 mL TFA aufgenommen und mit 0.20 mL TIPS, 0.50 mL  $H_2O$  und 81 mg Phenol versetzt und für 48 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel destillativ entfernt und das Rohprodukt chromatographisch gereinigt Das entschützte Adamantanpeptid **130** wurde als farbloser Feststoff (8.0 mg, 2.7 µmol, 4% über 4 Stufen) erhalten. Eine unbekannte Verunreinigung konnte nicht abgetrennt werden.

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>58</sub>H<sub>95</sub>N<sub>27</sub>O<sub>20</sub> [M+3H]<sup>3+</sup> = 497.5847, gef. 497.5843.

**HPLC**: Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min auf 80% MeCN, 5 mL/min, 230 nm,  $t_{\rm R}$  = 11.8 min.



# 7-(*N*-Boc-3-Aminopropyl)-1,3,5-tris-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyadamantan 102

Die Reaktion wurde nach AAV 5 durchgeführt (Edukte: Adamantantricarbonsäure **38** (87 mg, 0.20 mmol), Azidoamin **25b** (als HCI-Salz: 0.21 g, 0.90 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4, EDC·HCl (0.17 g, 0.90 mmol), HOBt (0.14 mg, 0.90 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.36 mL, 0.27 g, 2.7 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Lauftmittel: PE/EtOAc, v/v 1:2) und das gewünschte Triazid **102** als farbloses Öl erhalten (28 mg, 26  $\mu$ mol, 13% Ausbeute).

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.43 (PE/EtOAc, v/v 1:2, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.29-7.48 (m, 15H, H<sub>arom</sub>), 6.43 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, 13-H), 5.21 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 18a-H), 5.15 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 18b-H), 4.65-4.75 (m, 3H, 14-H), 4.53 (brs, 1H, 8-H), 3.32 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 6.6 Hz, 16-H), 2.99-3.15 (m, 2H, 7-H), 2.09-2.19 (m, 3H, 15a-H), 1.89-2.02 (m, 9H, 4-H, 15b-H), 1.54 (s, 6H, 2-H), 1.36-1.51 (m, 11H, 6-H, 11-H), 1.18-1.26 (m, 2H, 5-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 175.7 (C12), 171.5 (C17), 155.1 (C9), 135.1 (C19), 128.81 (C<sub>arom</sub>), 128.77 (C<sub>arom</sub>), 128.59 (C<sub>arom</sub>), 79.3 (C10), 67.7 (C18), 50.5 (C14), 47.9 (C16), 42.6 (C2), 42.4 (C7), 42.3 (C3), 40.1 (C5), 39.4 (C4), 34.2 (C1), 31.3 (C15), 28.5 (C11), 23.5 (C6).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>54</sub>H<sub>67</sub>N<sub>13</sub>O<sub>11</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 1074.5156, gef. 1074.5171.



#### 1,3,5-tris-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 151

Die Synthese erfolgte nach AAV 6 (Edukte: geschützte Adamantancarbonsäure **40** (0.20 g, 0.57 mmol), HATU (0.78 g, 2.0 mmol), DIPEA (0.36 mL, 0.27 g, 2.0 mmol), Azidoamin **25b** (als HCI-Salz: 0.59 g, 2.0 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4, DIPEA (0.36 mL, 0.27 g, 2.0 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 1:1) und das gewünschte Adamantantriazid **151** als farbloses Öl erhalten (0.12 g, 0.12 mmol, 21%).

*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.31 (PE/EtOAc, v/v 1:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.28-7.42 (m, 15H, H<sub>arom</sub>), 6.46 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, 8-H), 5.20 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.4 Hz, 13a-H), 5.16 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 13b-H), 4.68-4.78 (m, 3H, 9-H), 3.24-3.42 (m, 6H, 11-H), 2.15-2.23 (m, 6H, 6-H), 2.10-2.15 (m, 3H, 10a-H), 2.03-2.10 (m, 1H, 1-H), 1.88-2.03 (m, 3H, 10b-H), 1.38-1.52 (m, 6H, 5-H), 1.30 (brs, 6H, 2-H), 1.12 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 11.7 Hz, 4a-H), 1.05 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 11.9 Hz, 4b-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 173.8 (C7), 172.0 (C12), 135.2 (C14), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 128.7 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 67.7 (C13), 50.3 (C9), 47.9 (C11), 46.2 (C4), 41.2 (C2), 38.9 (C5), 33.5 (C3), 31.5 (C10), 30.3 (C6), 29.2 (C1).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>52</sub>H<sub>64</sub>N<sub>12</sub>O<sub>9</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 1023.4811, gef. 1023.4842.



### 1-Boc-3,5,7-tris-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 26

#### Variante 1:

Die Reaktion erfolgte nach AAV 5 (Edukte: geschützte Aminoadamantancarbonsäure **24** (0.12 g, 0.25 mmol), EDC·HCl (0.17 g, 0.92 mmol), HOBt (0.14 g, 0.92 mmol), NEt<sub>3</sub> (0.42 mL, 0.30 g, 3.0 mmol), Azidoamin **25a** (als TFA-Salz: 0.22 g, 0.94 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 1:3) und das gewünschte Aminoadamantantriazid **26** als farbloses Öl erhalten (64 mg, 57  $\mu$ mol, 23%). Als Nebenprodukt entstand TFA-L-Azidohomoalanin-Bn **98** (farbloses Öl, 74 mg, 0.22 mmol, 24% bezogen auf die eingesetzte Menge Azidoamin **25b**).

# Variante 2:

Die Reaktion erfolgte nach AAV 6 (Edukte: geschützte Aminoadamantancarbonsäure **24** (90 mg, 0.19 mmol), HATU (0.47 g, 1.2 mmol), DIPEA (0.22 mL, 0.16 g, 1.2 mmol), Azidoamin **25a** (als HCl-Salz: 0.35 g, 1.2 mmol) als Rohprodukt aus AAV 4, DIPEA (0.22 mL, 0.16 g, 1.2 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: PE/EtOAc, v/v 1:3) und das gewünschte Aminoadamantantriazid **26** als farbloses Öl erhalten (0.11 g, 98  $\mu$ mol, 52%).

# **R**<sub>f</sub>-Wert = 0.42 (PE/EtOAc, v/v 1:3, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>**)**: δ (ppm) = 7.27-7.42 (m, 15H, H<sub>arom</sub>), 5.18 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.2 Hz, 13a-H), 5.13 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.2 Hz, 13b-H), 4.50-4.57 (m, 3H, 9-H), , 3.32-3.46 (m, 6H, 11-H), 2.15-

2.30 (m, 6H, 6-H), 2.02-2.15 (m, 3H, 10a-H), 1.85-1.97 (m, 3H, 10b-H), 1.53 (s, 6H, 2-H), 1.44-1.51 (m, 6H, 5-H), 1.42 (s, 9H, 21-H), 1.13 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4a-H), 1.04 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4b-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 177.0 (C7), 172.9 (C12), 137.1 (C14), 129.6 (C<sub>arom</sub>), 129.4 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 79.3 (C20), 68.1 (C13), 53.4 (C1), 51.5 (C9), 49.0 (C11), 46.4 (C4), 46.0 (C2), 39.8 (C5), 36.1 (C3), 31.6 (C10), 30.8 (C6), 28.9 (C21).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>57</sub>H<sub>73</sub>N<sub>13</sub>O<sub>11</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 1138.5488, gef. 1138.5445.

### Nebenprodukt: TFA-L-Azidohomoalanin-Bn 98



*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.48 (PE/EtOAc, v/v 2:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.33-7.43 (m, 5H, H<sub>arom</sub>), 7.11-7.24 (m, 1H, 10-H), 5.25 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, 3a-H), 5.22 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, 3b-H), 4.73 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 1-H), 3.37 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, 9-H), 2.17-2.24 (m, 1H, 8a-H), 2.04-2.11 (m, 1H, 8b-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 170.1 (C2), 157.1 (d, 37.7 Hz, C11), 134.6 (C4), 129.1 (C<sub>arom</sub>), 128.9 (C<sub>arom</sub>), 128.7 (C<sub>arom</sub>), 115.7 (q, <sup>2</sup>J<sub>C-F</sub> = 287.7 Hz, C12), 68.4 (C3), 51.0 (C1), 47.5 (C9), 30.8 (C8).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 353.0837, gef. 353.0839.

**IR (Film):**  $\tilde{v}$  = 3390, 3330, 2956, 2103, 1750, 1723, 1553, 1456, 1180, 728, 698 cm<sup>-1</sup>.

# 9.5.6. Darstellung der Brom-Modellverbindungen



# Boc-L-Triazolbenzobbromphenyl-homoalanin-Bn 108

# Variante 1:

Die Reaktion wurde nach AAV 8 durchgeführt (Edukte: Azid **99** (0.17 g, 0.50 mmol), Bromalkin **29** (0.12 g, 0.57 mmol), Natriumascorbat (10 mg, 50 μmol), Kupfersulfat (8.0 mg, 50 μmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Lauftmittel: PE/EtOAc, v/v 1:2) und das gewünschte Bromtriazolderivat **108** als farbloser Feststoff erhalten (90 mg, 0.17 mmol, 33% Ausbeute).

# Variante 2:

Die Reaktion wurde nach AAV 9 durchgeführt (Edukte: Azid **99** (0.18 g, 0.54 mmol), Bromalkin **29** (0.15 g, 0.71 mmol), Natriumascorbat (11 mg, 55 μmol), Kupfersulfat (9.0 mg, 56 μmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Lauftmittel: PE/EtOAc, v/v 1:2) und das gewünschte Bromtriazolderivat **108** als farbloser Feststoff erhalten (0.26 mg, 0.47 mmol, 87% Ausbeute).

#### **Mischung zweier Diastereomere**

**R**<sub>f</sub>-Wert = 0.35 (PE/EtOAc, v/v 1:2, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.70 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.6 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.46 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.9 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.21-7.35 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 7.18 (s, 1H, 9-H), 7.06-7.14 (dt, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, H<sub>arom</sub>), 6.28 (s, 1H, 7-H), 5.36-5.59 (m, 1H, 13-H), 5.00-5.09 (m, 2H, 18-H), 4.16-4.38 (m, 3H, 10-H, 12-H), 2.28-2.44 (m, 1H, 11a-H), 2.06-2.25 (m, 1H, 11b-H), 1.36 (s, 9H, 16-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 171.4 (C17), 155.5 (C14), 149.86 (C8), 149.83 (C'8), 141.2 (C<sub>arom</sub>), 135.0 (C19), 132.62 (C<sub>arom</sub>), 132.61 (C'<sub>arom</sub>), 129.2 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 128.4

(C<sub>arom</sub>), 128.30 (C<sub>arom</sub>), 128.29 (C'<sub>arom</sub>), 127.8 (C<sub>arom</sub>), 122.3 (C9), 122.2 (C'9), 80.4 (C15), 67.49 (C7), 67.46 (C18), 51.3 (C12), 46.7 (C10), 32.9 (C11), 28.2 (C16).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 567.1214, gef. 567.1203.

#### 1-(L-Triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 110



Die Reaktion wurde nach AAV 8 durchgeführt (Edukte: Azid **109** (55 mg, 0.13 mmol), Bromalkin **29** (36 mg, 0.17 mmol), Natriumascorbat (2.6 mg, 13 μmol), Kupfersulfat (2.1 mg, 13 μmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Lauftmittel: PE/EtOAc 1:2) und das gewünschte Bromtriazolderivat **110** als farbloser Feststoff erhalten (72 mg, 0.11 mmol, 85%).

# **Mischung zweier Diastereomere**

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.26 (PE/EtOAc, v/v 1:2, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 7.63 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.45 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.16-7.32 (m, 7H, H<sub>arom</sub>), 7.05-7.13 (m, 1H, H<sub>arom</sub>), 6.37-6.48 (m, 1H, 8-H), 6.20-6.27 (m, 1H, 20-H), 5.02 (d, 2H, <sup>4</sup>*J* = 3.8 Hz, 11-H), 4.49-4.62 (m, 1H, 9-H), 4.15-4.33 (m, 2H, 17-H), 2.31-2.45 (m, 1H, 16a-H), 2.12-2.26 (m, 1H, 16b-H), 2.03-2.12 (m, 2H, 6-H), 1.86 (s, 3H, 1-H), 1.62 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 11.9 Hz, 4a-H), 1.52 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 11.9 Hz, 4b-H), 1.33-1.40 (m, 6H, 2-H), 1.24-1.33 (m, 2H, 5-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 174.5 (C7), 171.3 (C10), 149.87 (C19), 149.76 (C'19), 141.18 (C<sub>arom</sub>), 141.15 (C'<sub>arom</sub>), 135.0 (C12), 132.8 (C<sub>arom</sub>), 129.5 (C<sub>arom</sub>), 128.82 (C<sub>arom</sub>), 128.78 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 128.36 (C<sub>arom</sub>), 128.33 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 122.3 (C18), 67.90 (C20), 67.89 (C'20), 67.81 (C11), 50.07 (C9), 50.11 (C'9), 46.98 (C17), 46.95 (C'17), 42.2 (C2), 39.7 (C5), 37.2 (C4), 33.0 (C16), 32.1 (C3), 30.2 (C6), 28.7 (C1).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 635.2225, gef. 635.2213.


#### 1-Boc-3-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 30

Die Reaktion wurde nach AAV 9 durchgeführt (Edukte: Azid **100** (34 mg, 63 μmol), Bromalkin **29** (17 mg, 82 μmol), Natriumascorbat (2.6 mg, 13 μmol), Kupfersulfat (2.2 mg, 14 μmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Lauftmittel: PE/EtOAc, v/v 1:2) und das gewünschte Bromtriazolderivat **30** als farbloser Feststoff erhalten (31 mg, 41  $\mu$ mol, 65% Ausbeute).

#### **Mischung zweier Diastereomere**

**R**<sub>f</sub>-Wert = 0.22 (PE/EtOAc, v/v 1:2, Cersulfat).

(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7.70 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.27-7.42 (m, 7H, H<sub>arom</sub>), 7.17 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, H<sub>arom</sub>), 6.29-6.38 (m, 1H, 17-H), 6.24 (brs, 1H, 11-H), 5.09-5.13 (m, 2H, 25-H), 4.62-4.70 (m, 1H, 12-H), 4.26-4.38 (m, 2H, 14-H), 3.49-3.78 (m, 1H, 30-H), 2.42-2.54 (m, 1H, 13a-H), 2.23-2.35 (m, 1H, 13b-H), 2.14-2.20 (m, 2H, 9-H), 2.11 (s, 2H, 5-H), 1.73-1.90 (m, 4H, 6-H), 1.63-1.73 (m, 2H, 2-H), 1.48-1.63 (m, 2H, 7-H), 1.44-1.48 (m, 2H, 8-H), 1.33-1.44 (m, 13H, 4-H, 33-H).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 174.0 (C10), 171.2 (C24), 149.8 (C<sub>arom</sub>), 141.3 (C<sub>arom</sub>), 135.0 (C<sub>arom</sub>), 132.9 (C<sub>arom</sub>), 129.5 (C<sub>arom</sub>), 128.9 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 128.3 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 122.31 (C<sub>arom</sub>), 122.29 (C<sub>arom</sub>), 78.3 (C32), 68.0 (C17), 67.9 (C25), 51.3 (C12), 50.3 (C1), 47.1 (C14), 44.5 (C2), 41.2 (C6), 41.0 (C4), 38.7 (C8), 36.0 (C7), 34.3 (C3), 32.9 (C13), 30.3 (C9), 29.6 (C5), 28.6 (C33).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 772.2680, gef. 772.2680.

#### 1-Promofluor-3-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 143



Aminoadamantanmonobromtriazol **30** (5.3 mg, 7.1  $\mu$ mol) wurde nach AAV 4 umgesetzt. Das freie Amin **142** (4.9 mg, 7.1  $\mu$ mol, quant.) wurde als farbloser Fesstoff erhalten und ohne Reinigung nach AAV 14 weiter umgesetzt (Edukte: Amin **142** (4.9 mg, 7.1  $\mu$ mol), PromoFluor-647 als NHS-Ester (0.20 mL, c = 13 mM in DMF, 2.0 mg, 2.6  $\mu$ mol), NEt<sub>3</sub> (15  $\mu$ L, 11 mg, 0.11 mmol)).

Nach der chromatographischen Reinigung (RP-8, 50% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm) wurde das Promofluor gekuppelte Bromtriazol **143** (0.74 mg, 0.58  $\mu$ mol, 22%) als blauer Feststoff erhalten.

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>65</sub>H<sub>76</sub>BrN<sub>7</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub> [M-2H]<sup>2-</sup> = 636.7039, gef. 636.7078.

**HPLC**: Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 50% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm,  $t_{R}$  = 19.5 min.



#### 1-Boc-3,5-bis-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 111

Die Reaktion erfolgte nach AAV 8 (Edukte: Diazid **101** (0.10 g, 0.12 mmol), Bromalkin **29** (67 mg, 0.32 mmol), CuSO<sub>4</sub> (6.2 mg, 25  $\mu$ mol) und Natriumascorbat (4.3 mg, 25  $\mu$ mol)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 80% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 230 nm). Das Bromtriazol **111** (73 mg, 58  $\mu$ mol, 48%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

#### **Mischung vierer Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>): δ (ppm) = 7.70-7.75 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.64 (d, 2H, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.51-7.56 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.37-7.44 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.28-7.37 (m, 10H, H<sub>arom</sub>), 7.20 (dt, 2H, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, H<sub>arom</sub>), 6.24 (s, 2H, 23-H), 5.07-5.15 (m, 4H, 16-H), 4.42 (t, 4H, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 14-H), 4.34-4.39 (m, 2H, 12-H), 2.39-2.51 (m, 2H, 13a-H), 2.22-2.29 (m, 2H, 13b-H), 2.16-2.22 (m, 4H, 9-H), 2.11-2.16 (m, 1H, 6-H), 1.78 (brs, 2H, 7-H), 1.52-1.63 (m, 4H, 2-H), 1.49-1.35, (m, 15H, 5a-H, 8-H, 33-H), 1.31 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 5b-H), 1.13 (s, 2H, 4-H).

**HRMS (ESI)**: m/z ber. für  $C_{61}H_{71}Br_2N_9O_{10}[M+H]^+ = 1250.3753$ , gef. 1250.3744.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 80% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 230 nm,  $t_{\rm R}$  = 15.4 min.



#### 1-Amino-3,5-bis-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 152

Die Synthese erfolgte nach AAV 4 (Edukt: Adamantandibromtriazol **111**, 10 mg, 8.0 µmol). Die Entschützung verlief quantitativ und lieferte das Aminodibromtriazol **152** als farblosen Feststoff (9.5 mg, 8.0 µmol).

#### **Mischung vierer Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>): δ (ppm) = 7.72 (d, 2H,  ${}^{3}J$  = 7.7 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.70 (d, 2H,  ${}^{3}J$  = 6.1 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.54 (dd, 2H,  ${}^{3}J$  = 7.9 Hz,  ${}^{4}J$  = 3.7 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.40 (t, 2H,  ${}^{3}J$  = 7.6 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.29-7.37 (m, 10H, H<sub>arom</sub>), 7.20 (t, 2H,  ${}^{3}J$  = 7.6 Hz, H<sub>arom</sub>), 6.24 (s, 2H, 23-H), 5.06-5.17 (m, 4H, 16-H), 4.40-4.47 (m, 4H, 14-H), 4.28-4.36 (m, 2H, 12-H), 2.40-2.51 (m, 2H, 13a-H), 2.16-2.31 (m, 7H, 6-H, 9-H, 13b-H), 1.70-1.80 (m, 2H, 7-H), 1.46-1.60 (m, 8H, 2-H, 8-H), 1.36-1.46 (m, 4H, 5-H), 1.27 (d, 1H, {}^{2}J = 12.9 Hz, 4a-H), 1.18 (d, 1H,  ${}^{2}J$  = 12.4 Hz, 4b-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 176.6 (C10), 172.5 (C15), 143.1 (C<sub>arom</sub>), 137.1 (C<sub>arom</sub>), 133.8 (C<sub>arom</sub>), 130.5 (C<sub>arom</sub>), 129.6 (C<sub>arom</sub>), 129.4 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 124.4 (C<sub>arom</sub>), 123.3 (C<sub>arom</sub>), 68.6 (C23), 68.2 (C16), 54.3 (C1), 51.4 (C12), 48.0 (C14), 45.5 (C2), 42.9 (C4/C7), 42.4 (C4/C7), 40.4 (C5), 39.2 (C8), 36.0 (C3), 32.6 (C13), 30.7 (C6), 30.5 (C9).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>56</sub>H<sub>63</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>9</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 1150.3224, gef. 1150.3223.

#### Darstellung der Benzoboroxolderivate

#### Boc-L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn 104



#### Variante 1:

Die Reaktion erfolgte nach AAV 10 (Edukte: Boroxolalkin **27** (31 mg, 0.20 mmol), Azid **99** (73 mg, 0.22 mmol), CsF (91 mg, 0.60 mmol), CuBr (2.9 mg, 21 µmol), TBTA (11 mg, 21 µmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittelgradient:  $CH_2Cl_2/MeOH$ , v/v 96:4  $\rightarrow$  80:20) gereinigt.

Das gewünschte Benzoboroxoltriazolderivat **104** (20 mg, 43  $\mu$ mol, 21%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Als die Reaktion ein zweites Mal durchgeführt wurde, konnte nur das deboronierte Triazolderivat **103** (71 mg, 0.15 mmol, 76%) als farbloser Feststoff isoliert werden.

#### Variante 2:

Die Reaktion erfolgte nach AAV 11 (Edukte: Boroxolalkin **99** (32 mg, 0.20 mmol), Azid **27** (70 mg, 0.21 mmol), CuBr (2.9 mg, 20 µmol), TBTA (11 mg, 21 µmol)). Im NMR zeigte sich kein deboroniertes Nebenprodukt, weswegen das Benzoboroxoltriazolderivat **104** nicht weiter gereinigt wurde (Rohausbeute: 0.13 mg, 0.25 mmol).

Variante 3:

Die Reaktion erfolgte nach AAV 12 (Edukte: Azid **27** (57 mg, 0.17 mmol), Boroxolalkin **27** (35 mg, 0.22 mmol), CuBr (2.4 mg, 17 µmol), TBTA (9.0 mg, 17 µmol)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 65% MeOH in  $H_2O$  mit 0.1% FA, 5 mL/min, 230 nm) und das gewünschte Benzoboroxoltriazolderivat **104** (77 mg, 0.16 mmol, 92%) als farbloser Feststoff erhalten.

#### Cycloadditionsprodukt 104:

#### **Mischung zweier Diastereomere**

Rf-Wert = 0.16 (MeOH, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.76 (d, 1H, <sup>4</sup>*J* = 7.1 Hz, 9-H), 7.42-7.50 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.27-7.41 (m, 7H, H<sub>arom</sub>), 6.41 (s, 1H, 7-H), 5.29-5.51 (m, 1H, 13-H), 5.05-5.11 (m, 2H, 18-H), 4.22-4.44 (m, 3H, 10-H, 12-H), 2.34-2.52 (m, 1H, 11a-H), 2.12-2.29 (m, 1H, 11b-H), 1.41 (s, 9H, 16-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 171.4 (C17), 155.12 (C8), 155.08 (C'8), 148.4 (C<sub>arom</sub>), 135.1 (C19), 131.5 (C<sub>arom</sub>), 130.7 (C9), 128.81 (C<sub>arom</sub>), 128.77 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 122.58 (C<sub>arom</sub>), 122.56 (C'<sub>arom</sub>), 121.9 (C<sub>arom</sub>), 80.4 (C15), 76.7 (C7), 67.7 (C18), 51.4 (C12), 46.9 (C10), 33.2 (C11), 28.4 (C16).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 515.2078, gef. 515.2086.

**HPLC:** Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 65% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 230 nm,  $t_{\rm R}$  = 13.8 min.

#### deboroniertes Cycloadditionsprodukt 103:

#### Mischung zweier Diastereomere

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.35 (d, 2H, <sup>4</sup>J = 7.6 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.12-7.29 (m, 11H, H<sub>arom</sub>, CHCl<sub>3</sub>), 5.92 (s, 1H, 5-H), 5.33-5.43 (m, 1H, 11-H), 5.00 (s, 2H, 16-H), 4.14-4.33 (m, 3H, 8-H, 10-H), 3.79-4.14 (m, 1H, 21-H), 2.27-2.41 (m, 1H, 9a-H), 2.05-2.19 (m, 1H, 9b-H), 1.33 (brs, 9H, 14-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 171.4 (C15), 155.6 (C12), 142.2 (C<sub>arom</sub>), 135.0 (C<sub>arom</sub>), 129.1 (C<sub>arom</sub>), 128.71 (C<sub>arom</sub>), 128.66 (C'<sub>arom</sub>), 128.56 (C<sub>arom</sub>), 128.48 (C<sub>arom</sub>), 128.1 (C<sub>arom</sub>), 127.9 (C<sub>arom</sub>), 126.5 (C<sub>arom</sub>), 80.5 (C13), 68.9 (C5), 67.6 (C16), 51.3 (C10), 46.7 (C8), 33.0 (C9), 28.3(C14).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 489.2108, gef. 489.2094.

#### L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn 94



Die Reaktion erfolgte nach AAV 4 (Edukte: Booxoltriazol **104** (10 mg, 20 μmol). Das gewünschte Boronsäuretriazolderivat **94** wurde als farbloser Feststoff als Rohprodukt erhalten (als TFA-Salz: 10 mg, 20 μmol), das entspricht einer quantitativen Ausbeute.

#### **Mischung zweier Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>): δ (ppm) =7.75 (s, 1H, H<sub>arom</sub>), 7.72 (d, 1H,  ${}^{3}J$  = 7.1 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.47 (dt, 1H,  ${}^{3}J$  = 7.5 Hz,  ${}^{4}J$  = 1.2 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.29-7.43 (m, 7H, H<sub>arom</sub>), 6.37 (s, 1H, 7-H), 5.16-5.27 (m, 2H, 15-H), 4.49-4.64 (m, 2H, 10-H), 4.08-4.15 (m, 1H, 12H), 2.40-2.60 (m, 2H, 11-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 169.6 (C14), 156.3 (C<sub>arom</sub>), 149.4 (C<sub>arom</sub>), 132.3 (C<sub>arom</sub>), 131.4 (C<sub>arom</sub>), 129.93 (C<sub>arom</sub>), 129.87 (C<sub>arom</sub>), 129.78 (C<sub>arom</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 124.2 (C<sub>arom</sub>), 123.3 (C<sub>arom</sub>), 77.0 (C7), 69.5 (C15), 51.4 (C12), 47.1 (C10), 31.8 (C11).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 393.1729, gef. 393.1732.

#### 1-(L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-adamantan 107



Die Reaktion erfolgte nach AAV 12 (Edukte: Adamantanmonoazid **105** (76 mg, 0.19 mmol), Boroxolalkin **27** (33 mg, 0.19 mmol), CuBr (2.8 mg, 20 μmol), TBTA (10 mg, 19 μmol)). Nach einer Reaktionszeit von 5 min wurde ein zweites Mal Boroxol-Alkin **27** (10 mg, 63 μmol) zur Reaktionslösung gegeben. Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 70% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 203 nm) und das gewünschte Benzoboroxoltriazolderivat **107** als farbloser Feststoff erhalten (59 mg, 0.11 mmol, 56%). Neben dem gewünschten Produkt konnte das deboronierte Cycloadditionsprodukt **106** (14 mg, 26  $\mu$ mol, 26%) isoliert werden.

#### Cycloadditionsprodukt 107

#### **Mischung zweier Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** *δ* (ppm) = 7.72-7.80 (m, 1H, 16-H), 7.26-7.48 (m, 9H, H<sub>arom</sub>), 6.46-6.53 (m, 1H, 6-H), 6.38 (s, 1H, 18-H), 5.01-5.13 (m, 2H, 11-H), 4.57-4.70 (m, 1H, 7-H), 4.23-4.34 (m, 2H, 9-H), 2.38-2.52 (m, 1H, 8a-H), 2.20-2.33 (m, 1H, 8b-H), 2.00 (brs, 3H, 1-H), 1.82 (brs, 6H, 2-H), 1.60 (m, 6H, 4-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 178.8 (C5), 171.34 (C10), 171.28 (C'10), 155.12 (C17), 155.08 (C'17), 148.7 (C19), 135.0 (C12), 131.4 (C<sub>arom</sub>), 130.7 (C16), 128.79 (C<sub>arom</sub>), 128.78 (C'<sub>arom</sub>), 128.57 (C<sub>arom</sub>), 128.54 (C'<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 122.5 (C<sub>arom</sub>), 121.9 (C<sub>arom</sub>), 76.11 (C18), 76.09 (C'18), 67.86 (C11), 67.79 (C'11), 50.02 (C7), 50.01 (C'7), 46.9 (C9), 40.9 (C3), 39.1 (C2), 36.5 (C4), 32.84 (C8), 32.78 (C'8), 28.1 (C1).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>31</sub>H<sub>35</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 577.2598, gef. 577.2610.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 70% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 203 nm,  $t_{\rm R}$  = 27.8 min.

#### deboroniertes Cycloadditionsprodukt 106

#### **Mischung zweier Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.42-7.47 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.27-7.38 (m, 9H, H<sub>arom</sub>), 6. 37 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 6-H), 5.98-6.02 (m, 1H, 18-H), 5.06-5.10 (m, 2H, 11-H), 4.59-4.66 (m, 1H, 7-H), 4.29 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 9-H), 2.43-2.54 (m, 1H, 8a-H), 2.24-2.35 (m, 1H, 8b-H), 2.00-2.05 (m, 3H, 1-H), 1.80-1.84 (brs, 6H, 2-H), 1.74 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 4a-H), 1.68 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 4b-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 178.4 (C5), 171. 4 (C10), 151.3 (C<sub>arom</sub>), 141.9 (C<sub>arom</sub>), 135.0 (C<sub>arom</sub>), 128.8 (C<sub>arom</sub>), 128.7 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 128.16 (C<sub>arom</sub>), 128.15 (C<sub>arom</sub>), 126.6 (C<sub>arom</sub>), 126.5 (C<sub>arom</sub>), 69.4 (C18), 67.8 (C11), 49.9 (C7), 46.9 (C9), 40.9 (C3), 39.2 (C2), 36.5 (C4), 32.9 (C8), 28.2 (C1).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für  $C_{31}H_{36}N_4O_4$  [M+Na]<sup>+</sup> = 551.2629, gef. 551.2642.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 70% MeOH in Wasser mit 0.1% FA, 5 mL/min, 203 nm,  $t_{\rm R}$  = 15.6 min.



#### 1-(L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 153

Die Reaktion erfolgte nach AAV 12 (Edukte: Adamantanmonoazid **109** (83 mg, 0.20 mmol), Boroxolalkin **27** (40 mg, 0.25 mmol), CuBr (2.8 mg, 20 μmol), TBTA (10 mg, 19 μmol)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 75% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 220 nm) und das gewünschte Benzoboroxoltriazolderivat **153** als farbloser Feststoff erhalten (79 mg, 0.14 mmol, 68%). Neben dem gewünschten Produkt konnte das deboronierte Nebenprodukt in Spuren massenspektrometrisch beobachtet werden.

#### **Mischung zweier Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-** $d_4$ **)**:  $\delta$  (ppm) = 7.78 (brs, 1H, 8-H), (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.41-7.48 (m, 1H, H<sub>arom</sub>), 7.26-7.41 (m, 8H, H<sub>arom</sub>), 6.33 (s, 1H, 20-H), 5.09 (s, 2H, 11-H), 4.44 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 17-H), 4.36-4.42 (m, 1H, 9-H), 2.41-2.54 (m, 1H, 16a-H), 2.20-2.33 (m, 1H, 16b-H), 2.11-2.20 (m, 2H, 6-H), 1.92 (brs, 3H, 1-H), 1.73 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 4a-H), 1.64 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 4b-H), 1.45-1.50 (m, 6H, 2-H), 1.31-1.38 (m, 2H, 5-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 177.4 (C7), 172.3 (C10), 156.0 (C<sub>arom</sub>), 149.2 (C<sub>arom</sub>), 137.0 (<sub>Carom</sub>), 131.3 (C<sub>arom</sub>), 129.6 (C<sub>arom</sub>), 129.4 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 128.9 (C<sub>arom</sub>), 124.1 (C<sub>arom</sub>), 123.3 (C<sub>arom</sub>), 76.9 (C20), 68.2 (C11), 51.3 (C9), 48.2 (C17), 43.2 (C2), 41.1 (C5), 38.1 (C4), 33.1 (C3), 32.6 (C16), 30.6 (C6), 30.1 (C1).

**HRMS (ESI)**: m/z ber. für C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 605.2906, gef. 605.2914.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 75% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 220 nm,  $t_{\rm R}$  = 38.8 min.



#### 1-Boc-3-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 114

Die Reaktion erfolgte nach AAV 12 (Edukte: Aminoadamantanmonoazid **100** (50 mg, 93 μmol), Boroxolalkin **27** (20 mg, 0.13 mmol), CuBr (1.3 mg, 9.3 μmol), TBTA (5.0 mg, 9.3 μmol)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 75% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 210 nm) und das gewünschte Benzoboroxoltriazolderivat **114** als farbloser Feststoff erhalten (47 mg, 64  $\mu$ mol, 72%). Neben dem gewünschten Produkt konnte das deboronierte Nebenprodukt in Spuren massenspektrometrisch beobachtet werden.

#### **Mischung zweier Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.78 (d, 1H, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 15-H), 7.27-7.48 (m, 9H, H<sub>arom</sub>), 6.53 (br, 1H, 11-H), 6.36 (s, 1H, 17-H), 5.08 (d, 2H, <sup>2</sup>*J* = 3.4 Hz, 25-H), 4.60-4.74 (m, 1H, 12-H), 4.40 (brs, 1H, 30-H), 4.22-4.40 (m, 2H, 14-H), 2.36-2.55 (m, 1H, 13a-H), 2.22-2.36 (m, 1H, 13b-H), 2.11-2.22 (m, 2H, 9-H), 2.08 (brs, 2H, 5-H), 1.70-1.93 (m, 4H, 6-H), 1.46-1.68 (m, 4H, 2-H, 7-H), 1.43 (s, 9H, 33-H), 1.22-1.41 (m, 6H, 4-H, 8-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 174.4 (C10), 171.2 (C24), 155.1 (C16), 148.6 (C<sub>arom</sub>), 135.0 (C<sub>arom</sub>), 131.5 (C<sub>arom</sub>), 130.8 (C15), 128.82 (C<sub>arom</sub>), 128.78 (C'<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 128.04 (C<sub>arom</sub>), 128.00 (C'<sub>arom</sub>), 122.54 (C<sub>arom</sub>), 122.46 (C'<sub>arom</sub>), 122.0 (C<sub>arom</sub>), 79.1 (C32), 76.11 (C17), 76.06 (C'17), 67.79 (C25), 67.75 (C'25), 51.3 (C1), 50.3 (C12), 47.2 (C14), 47.1 (C'14), 45.9 (C2), 41.5 (C6), 41.1 (C4), 38.8 (C8), 35.9 (C7), 34.2 (C3), 32.7 (C13), 32.6 (C'13), 30.2 (C9), 29.6 (C5), 28.6 (C33).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>BN<sub>5</sub>O<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 720.3546, gef. 720.3550.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 75% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min,210 nm,  $t_{R}$  = 23.4 min.



#### 1-(L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 134

Die Reaktion wurde nach AAV 4 durchgeführt (Edukt: Aminoadamantanbenzoboroxoltriazol **114** (9.0 mg, 13  $\mu$ mol)). Allerdings wurde die Reaktion in H<sub>2</sub>O/TFA (0.5 mL, v/v 4:1) durchgeführt und MeCN bis zur vollständigen Lösung des Eduktes hinzugetropft. Die Reaktionsmischung rührte bei RT für drei Tage. Nach der Gefriergetrocknung wurde die Aminoadamantanmonoboronsäure **134** als farbloser Feststoff erhalten (als HCI-Salz: 8.2 mg, 13  $\mu$ mol, quant.) und ohne Reinigung weiter umgesetzt.

#### **Mischung zweier Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>): δ (ppm) = 7.72 (d, 1H,  ${}^{3}J$  = 7.3 Hz, 15-H), 7.21-7.53 (m, 9H, H<sub>arom</sub>), 6.41 (d, 1H,  ${}^{4}J$  = 5.2 Hz, 17-H), 5.11 (s, 2H, 25-H), 4.50-4.58 (m, 2H, 14-H), 4.33-4.42 (m, 1H, 12-H), 2.46-2.58 (m, 1H, 13a-H), 2.28-2.36 (m, 1H, 13b-H), 2.19-2.28 (m, 4H, 5-H, 9-H), 1.76-1.88 (m, 4H, 4-H), 1.64-1.70 (m, 2H, 7-H), 1.57-1.62 (m, 2H, 2-H), 1.44-1.57 (m, 6H, 6-H, 8-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ): δ (ppm) = 176.2 (C10), 171.6 (C24), 155.2 (C<sub>arom</sub>), 148.7 (C<sub>arom</sub>), 137.1 (C<sub>arom</sub>), 132.4 (C<sub>arom</sub>), 131.5 (C15), 129.6 (C<sub>arom</sub>), 129.4 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 129.2 (C<sub>arom</sub>), 125.2 (C<sub>arom</sub>), 123.5 (C<sub>arom</sub>), 76.2 (C17), 68.2 (C25), 53.6 (C1), 51.3 (C12), 51.1 (C'12), 50.0 (C2), 48.6 (C14), 41.1 (C7), 41.0 (C4), 39.6 (C8), 39.5 (C'8), 35.8 (C3), 35.52 (C6), 35.50 (C'6), 32.2 (C13), 30.60 (C5), 30.58 (C'5), 30.46 (C9), 30.44 (C'9).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>BN<sub>5</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 598.3201, gef. 598.3207.



#### 1-Amino-3-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-GRGES)-carboxyethyladamantan 131

Die Reaktion erfolgte nach AAV 12 (Edukte: Azid **128** (13 mg, 16 µmol), Boroxolalkin **27** (3.2 mg, 20 µmol), TBTA (Spatelspitze), CuBr (Spatelspitze)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-8, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min auf 80% MeCN, 5 mL/min, 250 nm) und die gewünschte Boronsäure **131** als farbloser Feststoff erhalten (9.0 mg, 9.1  $\mu$ mol, 58%).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>44</sub>H<sub>65</sub>BN<sub>14</sub>O<sub>12</sub> [M-H<sub>2</sub>O+2H]<sup>2+</sup> = 488.2523, gef. 488.2544.

**HPLC**: Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min auf 80% MeCN, 5 mL/min, 250 nm,  $t_{R}$  = 16.0 min.



#### 1-Promofluor-3-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 138

Die Reaktion erfolgte nach AAV 14 (Edukte: Benzoboroxolamin **134** (3.8 mg,6.0  $\mu$ mol), PromoFluor-647 als NHS-Ester (0.20  $\mu$ L, c = 13 mM in DMF, 2.0 mg, 2.6  $\mu$ mol), NEt<sub>3</sub> (15  $\mu$ L, 11 mg, 0.11 mmol)).

Nach der chromatographischen Reinigung (RP-8, 50% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm) wurde das Promofluor gekuppelte Benzoboroxolmonomer **138** (0.44 mg, 0.36  $\mu$ mol, 14%) als blauer Feststoff erhalten.

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>65</sub>H<sub>76</sub>BN<sub>7</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub> [M-2H]<sup>2-</sup> = 609.7476, gef. 609.7481.

**HPLC**: Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 50% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm,  $t_{R}$  = 11.1 min.

#### 1-Boc-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 115



Die Reaktion wurde nach AAV 12 durchgeführt (Edukte: Benzoboroxolalkin **27** (39 mg, 0.24 mmol), Diazid **101** (76 mg, 92 μmol), TBTA (9.8 mg, 18 μmol), CuBr (2.6 mg, 18 μmol)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 80% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 230 nm). Das Dibenzoboroxol **115** (60 mg, 53  $\mu$ mol, 57%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

#### **Mischung vierer Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>**)**: δ (ppm) = 7.74 (d, 2H, <sup>4</sup>*J* = 3.8 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.69 (d, 2H, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.41-7.48 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.28-7.39 (m, 14H, H<sub>arom</sub>), 6.34 (s, 2H, 23-H), 5.09 (s, 4H, 16-H), 4.44 (t, 4H, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 14-H), 4.36-4.41 (m, 2H, 12-H), 2.41-2.53 (m, 2H, 13a-H), 2.21-2.32 (m, 2H, 13b-H), 2.14-2.21 (m, 4H, 9-H), 2.09-2.14 (m, 1H, 6-H), 1.77 (s, 2H, 7-H), 1.52-1.62 (m, 4H, 2-H), 1.33-1.48 (m, 15H, 5a-H, 8-H, 33-H), 1.26-1.33 (m, 2H, 5b-H), 1.05-1.17 (m, 2H, 4-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 177.1 (C10), 172.4 (C15), 156.4 (C<sub>arom</sub>), 149.3 (C<sub>arom</sub>), 137.0 (C<sub>arom</sub>), 132.3 (C<sub>arom</sub>), 131.4 (C<sub>arom</sub>), 129.6 (C<sub>arom</sub>), 129.44 (C<sub>arom</sub>), 129.36 (C<sub>arom</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 124.2 (C<sub>arom</sub>), 123.4 (C<sub>arom</sub>), 79.3 (C32), 76.9 (C23), 68.2 (C16), 52.8 (C1), 51.4 (C12), 48.2 (C14), 46.9 (C4), 46.4 (C2), 41.6 (C7), 41.4 (C5), 40.0 (C8), 35.7 (C3), 32.5 (C13), 31.1 (C6), 30.8 (C9), 28.9 (C33).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>61</sub>H<sub>71</sub>B<sub>2</sub>N<sub>9</sub>O<sub>12</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 1144.5487, gef. 1144.5491.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 80% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 230 nm,  $t_{\rm R}$  = 17.7 min.



#### 1-Amino-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-adamantan 154

Die Synthese erfolgte nach AAV 4 (Edukt: Dibenzoboroxolderivat **115**, 10 mg, 8.7 µmol). Die Entschützung verlief quantitativ und lieferte das Aminodibenzoboroxolderivat **154** als farblosen Feststoff (9.4 mg, 8.7 µmol).

#### **Mischung vierer Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>**)**: δ (ppm) = 7.77 (brs, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.68-7.72 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.42-7.48 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.29-7.40 (m, 14H, H<sub>arom</sub>), 6.34 (s, 2H, 23-H), 5.10 (s, 4H, 16-H), 4.46 (t, 4H, <sup>3</sup>*J* = 6.8 Hz, 14-H), 4.32-4.40 (m, 2H, 12-H), 2.42-2.53 (m, 2H, 13a-H), 2.16-2.32 (m, 7H, 6-H, 9-H, 13b-H), 1.74 (brs, 2H, 4-H), 1.47-1.59 (m, 8H, 2-H, 8-H), 1.36-1.47 (m, 4H, 5-H), 1.11-1.29 (m, 2H, 7-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 176.6 (C10), 172.5 (C15), 135.8 (C<sub>arom</sub>), 132.4 (C<sub>arom</sub>), 131.5 (C<sub>arom</sub>), 129.7 (C<sub>arom</sub>), 129.5 (C<sub>arom</sub>), 129.4 (C<sub>arom</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 124.2 (C<sub>arom</sub>), 123.4 (C<sub>arom</sub>), 76.9 (C23), 68.2 (C16), 54.4 (C1), 51.4 (C12), 48.2 (C14), 45.6 (C2), 42.2 (C7), 40.5 (C4), 39.9 (C5), 36.2 (C8), 36.0 (C13), 30.7 (C6), 30.5 (C9).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>56</sub>H<sub>63</sub>B<sub>2</sub>N<sub>9</sub>O<sub>10</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 1044.4957, gef. 1044.4989.



#### 1-Amino-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-GRGDS)-carboxyethyladamantan 133

Die Synthese erfolgte nach AAV 12 (Edukte: Dipeptid **130** (3.8 mg, 1.3  $\mu$ mol), Benzoboroxolalkin **27** (1.5 mg, 9.5  $\mu$ mol), CuBr (Spatelspitze), TBTA (Spatelspitze)). Nach chromatographischer Reinigung (RP-8, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 min auf 80% MecN, 5 mL/min, 230 nm) wurde das modifizierte Dibenzoboroxol **133** (0.56 mg, 0.31  $\mu$ mol, 24%) als farbloser Feststoff erhalten.

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>76</sub>H<sub>109</sub>B<sub>2</sub>N<sub>27</sub>O<sub>24</sub> [M-H<sub>2</sub>O+3H]<sup>3+</sup> = 596.9487, gef. 596.9509.

**HPLC**: Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 2% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 min halten, in 20 Minuten auf 80% MeCN, 5 mL/min, 230 nm,  $t_{\rm R}$  = 13.4 min.

#### 1-Promofluor-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan



Die Reaktion erfolgte nach AAV 14 (Edukte: Benzoboroxolamin **135** (9.4  $\mu$ g, 8.7  $\mu$ mol), PromoFluor-647 als NHS-Ester (0.20 mL, c = 13 mM in DMF, 2.0 mg, 2.6  $\mu$ mol), NEt<sub>3</sub> (15  $\mu$ L, 11 mg, 0.11 mmol)).

Nach der chromatographischen Reinigung (RP-8, 50% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm) wurde das Promofluor gekuppelte Benzoboroxoldimer **139** als blauer Feststoff (0.49 mg, 0.29  $\mu$ mol, 11%) erhalten.

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>88</sub>H<sub>99</sub>B<sub>2</sub>N<sub>11</sub>O<sub>17</sub>S<sub>2</sub> [M-2H]<sup>2-</sup> = 832.8364, gef. 832.8385.

**HPLC**: Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 50% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm,  $t_{R}$  = 23.2 min.

# 7-(N-Boc-3-Aminopropyl)-1,3,5-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyadamantan

117



Die Reaktion wurde nach AAV 12 durchgeführt (Edukte: Adamantantriazid **102** (28 mg, 26 μmol), Azid **27** (16 mg, 0.10 mmol), CuBr (1.1 mg, 7.7 μmol), TBTA (4.1 mg, 7.7 μmol)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 80% MeOH in  $H_2O$  mit 0.1% FA, 5 mL/min, 220 nm) und die gewünschte Triboronsäure **117** als farbloser Feststoff erhalten (30 mg, 19  $\mu$ mol, 75%).

#### **Mischung vierer Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>**)**: δ (ppm) = 7.71-7.75 (m, 3H, H<sub>arom</sub>), 7.66 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 17-H), 7.24-7.75 (m, 24H, H<sub>arom</sub>), 6.31 (s, 3H, 19-H), 5.05-5.10 (m, 6H, 27-H), 4.33-4.48 (m, 9H, 14-H, 16-H), 3.00 (t, 2H, <sup>3</sup>*J* = 6.8 Hz, 7-H), 2.46-2.59 (m, 3H, 15a-H), 2.26-2.40 (m, 3H, 15b-H), 1.84 (s, 6H, 4-H), 1.44-1.53 (m, 6H, 2-H), 1.39-1.44 (m, 11H, 6-H, 11-H), 1.13-1.21 (m, 2H, 5-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 179.1 (C12), 172.4 (C26), 149.4 (C<sub>arom</sub>), 137.0 (C<sub>arom</sub>). 132.2 (C<sub>arom</sub>), 131.4 (C17), 129.6 (C<sub>arom</sub>), 129.43 (C<sub>arom</sub>), 129.36 (C<sub>arom</sub>), 128.9 (C<sub>arom</sub>), 123.4 (C<sub>arom</sub>), 80.0 (C10), 76.9 (C19), 68.2 (C27), 51.5 (C14), 48.1 (C16), 43.7 (C3), 43.1 (C2), 42.0 (C7), 41.4 (C5), 40.3 (C4), 32.0 (C15), 28.8 (C11).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>81</sub>H<sub>88</sub>N<sub>13</sub>B<sub>3</sub>O<sub>17</sub> [M+Na]<sup>+</sup> = 1570.6626, gef. 1570.6647.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 80% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 220 nm,  $t_{\rm R}$  = 22.7 min.



#### 7-(Aminopropyl)-1,3,5-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyadamantan 137

Die Reaktion wurde nach AAV 4 durchgeführt (Edukte: Aminoadamantantriboronsäure **117** (8.0 mg, 5.2 μmol)) und die gewünschte Aminoadamantantriboronsäure **137** als farbloser Feststoff erhalten (als HCI-Salz: 7.7 mg, 5.2 μmol, quant.).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7.74-7.84 (m, 3H, H<sub>arom</sub>), 7.68 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.25-7.39 (m, 24H, H<sub>arom</sub>), 6.33 (s, 3H, 16-H), 5.07-5.11 (m, 6H, 24-H), 4.36-4.50 (m, 9H, 11-H, 13-H), 2.90 (t, 2H, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 7-H), 2.46-2.61 (m, 3H, 12a-H), 2.31-2.46 (m, 3H, 12b-H), 1.83-1.95 (m, 6H, 4-H), 1.53 (brs, 6H, 2-H), 1.23-1.33 (m, 4H, 5-H, 6-H).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>76</sub>H<sub>80</sub>B<sub>3</sub>N<sub>13</sub>O<sub>15</sub> [M+2H]<sup>2+</sup> = 724.8161, gef. 724.8186.

# 7-(Promofluor-3-aminopropyl)-1,3,5-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)carboxyadamantan 141



Die Reaktion erfolgte nach AAV 14 (Edukte: Benzoboroxolamin **137** (10 mg, 7.0  $\mu$ mol), PromoFluor-647 als NHS-Ester (0.20 mL, c = 13 mM in DMF, 2.0 mg, 2.6  $\mu$ mol), NEt<sub>3</sub> (15  $\mu$ L, 11 mg, 0.11  $\mu$ mol)).

Nach der chromatographischen Reinigung (RP-8, 50% auf 90% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm) wurde das Promofluor gekuppelte Benzoboroxoltrimer **141** (0.75 mg, 0.36  $\mu$ mol, 14%) als blauer Feststoff erhalten.

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>108</sub>H<sub>116</sub>B<sub>3</sub>N<sub>15</sub>O<sub>22</sub>S<sub>2</sub> [M-2H]<sup>2-</sup> = 1034.9017, gef. 1034.9059.

**HPLC**: Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 50% auf 90% MeCN in 5 min in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm,  $t_R$  = 23.4 min.



#### 1-Boc-3,5,7-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 116

Die Reaktion erfolgte nach AAV 12 (Edukte: Aminoadamantantriazid **26** (56 mg, 48 μmol), Boronsäure **27** (31 mg, 0.20 mmol), CuBr (2.2 mg, 15 μmol), TBTA (8.0 mg, 15 μmol)).

Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, 80% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 210 nm) und das gewünschte Boronsäuretriazolderivat **116** als farbloser Feststoff (50 mg, 31  $\mu$ mol, 65%) erhalten.

#### **Mischung vierer Diastereomere**

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-***d*<sub>4</sub>**)**: δ (ppm) = 7.74 (d, 3H, <sup>4</sup>*J* = 2.4 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.69 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 7.4 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.25-7.48 (m, 24H, H<sub>arom</sub>), 6.34 (s, 3H, 14-H), 5.08 (s, 6H, 22-H), 4.43 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 6.9 Hz, 11-H), 4.35-4.41 (m, 3H, 9-H), 2.40-2.53 (m, 3H, 10a-H), 2.21-2.32 (m, 3H, 10b-H), 2.14-2.21 (m, 6H, 6-H), 1.52 (s, 6H, 2-H), 1.45 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, 5-H), 1.40 (s, 9H, 30-H), 1.11 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.0 Hz, 4a-H), 1.02 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.0 Hz, 4b-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  (ppm) = 176.7 (C7), 171. 5 (C21), 155.5 (C<sub>arom</sub>), 149.5 (C<sub>arom</sub>), 136.9 (C<sub>arom</sub>), 132.1 (C<sub>arom</sub>), 131.3 (C<sub>arom</sub>), 129.4 (C<sub>arom</sub>), 128.9 (C<sub>arom</sub>), 123.9 (C<sub>arom</sub>), 123.1 (C<sub>arom</sub>), 122.6 (C<sub>arom</sub>), 79.2 (C29), 76.7 (C14), 68.0 (C22), 53.9 (C1), 51.2 (C9), 47.8 (C11), 46.4 (C4), 45.9 (C2), 39.6 (C5), 35.7 (C3), 32.2 (C10), 30.7 (C6), 28.8 (C30).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>84</sub>H<sub>94</sub> B<sub>3</sub>N<sub>13</sub>O<sub>17</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 1590.7243, gef. 1590.7280.

**HPLC**: Nucleodur RP-18, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 80% MeOH in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 5 mL/min, 210 nm,  $t_{\rm R}$  = 22.9 min.



#### 1-Amino-3,5,7-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 136

Die Reaktion wurde nach AAV 4 durchgeführt (Edukte: Aminoadamantantriboronsäure **116** (10 mg, 6.3 μmol)) und die gewünschte Aminoadamantantriboronsäure **136** (als HCI-Salz: 9.1 mg, 6.3 μmol, quant.) als farbloser Feststoff erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>): δ (ppm) = 7.85 (brs, 3H, H<sub>arom</sub>), 7.69 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.25-7.48 (m, 24H, H<sub>arom</sub>), 6.35 (s, 3H, 14-H), 5.09 (s, 6H, 22-H), 4.42-4.55 (m, 6H, 11-H), 4.28-4.42 (m, 3H, 9-H), 2.40-2.57 (m, 3H, 10a-H), 2.17-2.34 (m, 9H, 6-H, 10b-H), 1.52 (s, 6H, 2-H), 1.46-1.58 (m, 12H, 5-H), 1.10-1.23 (m, 6H, 4-H).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>79</sub>H<sub>86</sub>B<sub>3</sub>N<sub>13</sub>O<sub>15</sub> [M+2H]<sup>2+</sup> = 1490.6750, gef. 1490.6713.



#### 1-Promofluor-3,5,7-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 140

Die Reaktion erfolgte nach AAV 14 (Edukte: Benzoboroxolamin **136** (7.6 mg, 5.0  $\mu$ mol), PromoFluor-647 als NHS-Ester (0.20 mL, c = 13 mM in DMF, 2.0 mg, 2.6  $\mu$ mol), NEt<sub>3</sub> (15  $\mu$ L, 11 mg, 0.11  $\mu$ mol)).

Nach der chromatographischen Reinigung (RP-8, 50% auf 90% MeCN in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm) wurde das Promofluor gekuppelte Benzoboroxoltrimer **140** als blauer Feststoff (0.59 mg, 0.28  $\mu$ mol, 11%) erhalten.

**HRMS (ESI)**: *m*/*z* ber. für C<sub>111</sub>H<sub>122</sub>B<sub>3</sub>N<sub>15</sub>O<sub>22</sub>S<sub>2</sub> [M-2H]<sup>2-</sup> = 1055.9252, gef. 1055.9292.

**HPLC:** Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 50% auf 90% MeCN in 5 min in H<sub>2</sub>O mit 0.1% FA, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm,  $t_R$  = 37.1 min.

### 9.6. Durchführung des Fluoreszenzassays

# 9.6.1.1. Qualitative Bestimmung der Bindungseigenschaften an verschiedene Zucker

Auf einem Glaschip wurden von *Elisabeth Memmel*, AG *Seibel* Universität Würzburg, verschiedene Kohlenhydrate (GlcSMan, Sia, LacNac, GlcNAc, Man, Glc, Gal) immobilisiert.

Die PromoFluor-647 markierten Boronsäuren **138**, **139** und **140** wurden in H<sub>2</sub>O, die Boronsäure **141** in H<sub>2</sub>O/DMSO (v/v 1:1) gelöst. Anschließend wurden die Boronsäure-Lösungen (75  $\mu$ L) auf den Glaschip gegeben. In einer gesättigten NaCl-Umgebung wurden die Glaschips für eine Stunde inkubiert. Die überstehende Lösung wurde abpipettiert und der Chip dreimal mit H<sub>2</sub>O/DMSO (75  $\mu$ L, v/v 1:1) gewaschen. In einem zweiten Waschschritt wurden die Chips zunächst einmal mit PBST Puffer (0.05% Tween 20), einmal mit PBS-Puffer und dann einmal mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Die Chips wurden für 2 min bei 2000 Umdrehungen zur vollständigen Trockenheit zentrifugiert.

Die Intensität der Fluoreszenz wurde mit einem Microarray Reader bei 635 nm ausgelesen.

Anschließend wurde der Glaschip für 15 min mit einer 100 mM Galactose-Lösung in PBST-Puffer behandelt, einmal mit PBST-Puffer, einmal mit PBS-Puffer und einmal mit H<sub>2</sub>O gewaschen und zur Trockenheit zentrifugiert. Die Intensität der Fluoreszenz wurde bestimmt und das Procedere noch zweimal wiederholt. Beim vierten Mal wurde der Glaschip 30 min mit der Galactose-Lösung behandelt, ehe die Abschluss-Intensität der Fluoreszenz bestimmt wurde.

#### 9.6.2. Quantitative Bestimmung der Bindungseigenschaften

Für die quantitative Bestimmung der Bindungskonstanten an Galactose wurde eine Vierfachbestimmung durchgeführt. Dazu wurde Galactose mit verschiedenen Konzentrationen auf einem Glaschip immobilisiert (zur Auswertung wurde eine die Konzentration von 0.5 mM verwendet) und mit verschiedenen Boronsäure-Konzentrationen der in H<sub>2</sub>O gelösten Borononlektine **138**, **139**, **140** und **141** für eine Stunde in der Dunkelheit und in einer gesättigten NaCl-Umgebung inkubiert. Die überstehende Lösung wurde abpipettiert, mit H<sub>2</sub>O und PBST-Puffer gewaschen. Nach einem weiteren Waschvorgang mit PBST-Puffer, PBS-Puffer und H<sub>2</sub>O wurde der Glaschip für 2 min bei 2000 Umdrehungen bis zur Trockenheit zentrifugiert.

Die Intensität der Fluoreszenz wurde mit einem Microarray-Reader bei 635 nm ausgelesen und der Median-Wert bestimmt. Dazu wurde ein Mittelwert über vier Messungen bestimmt. Eine Auftragung der Boronsäure-Konzentration gegen die Fluoreszenzintensität ergab eine Kurve mit einem Verlauf nach einer Langmuir-Isotherme.

#### 9.7. Acylierungsreaktionen von Diolen

Trennung der Boroxolalkin-Enantiomere 27a und 27b



Die Enantiomere des Boroxolalkins **27** wurden chromatographisch getrennt (Daicel Chiraltek IB, 250x10 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 2% *i*-PrOH in Hexan, 2.5 mL/min, 265 nm, 10 mg/Injektion, "stacked injection" nach je 8 min).

Enantiomer 1:  $t_{\rm R}$  = 8.86 min

Enantiomer 2:  $t_R$  = 12.17 min

#### Spezifischer Drehwinkel

Enantiomer 1:  $[\alpha]_{\lambda}^{23}$  = +81.5

Enantiomer 2:  $[\alpha]_{\lambda}^{23} = -108.2$ 

#### (S)-Diethanol-1-phenylethylamin 84



(*S*)-1-Phenylethylamin **82** (0.50 g, 4.2 mmol) wurde in EtOH/H<sub>2</sub>O (v/v 1:1, 10 mL) gelöst und Essigsäure (0.71 mL, 12 mmol) hinzugegeben. Unter Kühlung wurde in das Reaktionsgemisch im Überschuss Ethylenoxid **83** (ca. 3-6 mL) gegeben und in einem druckstabilen Reaktionsgefäß 72 h bei RT gerührt. Überschüssiges Ethylenoxid sowie das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: *i*-PrOH/EtOAc,

v/v 1:4  $\rightarrow$  MeOH/EtOAc, v/v 1:4  $\rightarrow$  MeOH/EtOAc, v/v 1:4 mit 1% NEt<sub>3</sub>). Das gewünschte Diol **84** wurde als farbloses Öl (0.73 g, 3.5 mmol, 84%) erhalten. Allerdings zeigte das NMR Rückstände von Ethylenglycol.

*R***<sub>f</sub>-Wert =** 0.23 (*i*-PrOH/EtOAc, v/v 1:4, Ninhydrin).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.35-7.41 (m, 2H, 6-H), 7.28-7.34 (m, 2H, 7-H), 7.19-7.26 (m, 1H, 8-H), 3.99 (q, 1H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 3-H), 3.59 (s, Ethylenglycol), 3.55 (t, 4H, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz 1-H), 2.70-2.80 (m, 2H, 2a-H), 2.55-2.67 (m, 2H, 2b-H), 1.99 (s, Essigsäure), 1.42 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 4-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>):  $\delta$  (ppm) = 144.1 (C5), 129.2 (C6), 129.1 (C7), 128.1 (C8), 64.3 (Ethylenglycol), 61.5 (C3), 61.3 (C1), 54.0 (C2), 16.8 (C4).

**HRMS (ESI):** m/z ber. für C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> = 210.1489, gef. 210.1491.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturwerten überein.<sup>199</sup>

#### Kompetitive Benzoylierung von *cis-/trans*-Cyclohexandiol



Die Reaktion wurde nach AAV 15 durchgeführt (Edukte: *cis*-Cyclohexandiol **13** (58 mg, 0.50 mmol), *trans*-Cyclohexandiol **16** (58 mg, 0.50 mmol), Benzoylchlorid (0.17 mL, 0.21 g, 1.5 mmol), Boroxolalkin **27** (8.0 mg, 50 µmol)). Die Reaktion wurde fünf Stunden gerührt und die Produktverhältnisse des benzoylierten *cis*-Cyclohexandiols **147** bzw. *trans*-Cyclohexandiols **146** aus dem Rohprodukt mittels NMR-Spektroskopie bestimmt. Es zeigte sich eine Selektivität des monobenzoylierten *cis*-Produktes von 5:1 gegenüber dem monobenzoylierten *trans*-Produkt.

#### cis-2-Hydroxycyclohexylbenzoat 146



#### Katalysator als Enantiomerengemisch:

Die Reaktion wurde nach AAV 15 durchgeführt (Edukt: *cis*-Cyclohexandiol **13** (0.12 g, 1.0 mmol), Benzoylchlorid **154** (0.17 mL, 0.21 g, 1.5 mmol), Boroxolalkin **27** (16 mg, 0.10 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Pentan/EtOAc, v/v 9:1) und das monoacylierte Produkt **146** (0.15 mg, 0.68 mmol, 68%) in Form eines gelben Öles isoliert.

#### Enantiomerengemisch

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.24 (Pentan/EtOAc, v/v 9:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 8.03-8.08 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.53-7.59 (m, 1H, H<sub>arom</sub>), 7.41-7.47 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 5.19-5.25 (m, 1H, 1-H), 3.93-4.00 (m, 1H, 6-H), 2.12 (brs, 1H, 7-H), 1.80-2.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.61-1.80 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.35-1.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 166.4 (C8), 133.2 (C<sub>arom</sub>), 130.5 (C<sub>arom</sub>), 129.8 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 74.8 (C1), 69.8 (C6), 30.6 (CH<sub>2</sub>), 27.6 (CH<sub>2</sub>), 21.9 (CH<sub>2</sub>), 21.7 (CH<sub>2</sub>).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturwerten überein.<sup>175</sup>

#### Enantiomer 1/2:

Die Reaktion wurde nach AAV 15 durchgeführt (Edukte: *cis*-Cyclohexandiol **13** (29 mg, 0.25 mmol), Benzoylchlorid **154** (43  $\mu$ L, 53 mg, 0.38 mmol), Boroxolalkin **27** Enantiomer 1/2 (4.0 mg, 25  $\mu$ mol)).

Allerdings wurde im Abstand von je 1 h ein Aliquot (20  $\mu$ L) entnommen, das Lösungsmittel mit Argon abgedampft und mittels HPLC (Daicel Chiraltek IA, 150x4.6 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 10%

EtOH in Heptan, 0.5 mL/min, 250 nm) der Enantiomerenüberschuss bestimmt ( $R_{t1}$  =11.9 min,  $R_{t2}$  = 15.1 min).

Es ergaben sich folgende Enantiomerenüberschüsse:

Enantiomer 1: -15.8%

Enantiomer 2: 14.2%

#### trans-2-Hydroxycyclohexylbenzoat 147



Die Reaktion wurde nach AAV 15 durchgeführt (Edukt: *trans*-Cyclohexandiol **16** (0.12 g, 1.0 mmol), Benzoylchlorid **154** (0.17 mL, 0.21 g, 1.5 mmol), Boroxolalkin **27** (16 mg, 0.10 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Pentan/EtOAc, v/v 4:1) und das monoacylierte Produkt **147** (0.14 mg, 0.63 mmol, 63%) in Form eines gelben Feststoffes isoliert.

#### Enantiomerengemisch

*R*<sub>f</sub>-Wert = 0.22 (Pentan/EtOAc, v/v 4:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>**H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 8.04-8.09 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.54-7.60 (m, 1H, H<sub>arom</sub>), 7.42-7.48 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 4.81-4.90 (m, 1H, 1-H), 3.70-3.79 (m, 1H, 6-H), 2.08-2.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.72-1.82 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.28-1.51 (m, 4H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 166.9 (C8), 133.2 (C<sub>arom</sub>), 130.4 (C<sub>arom</sub>), 129.8 (C<sub>arom</sub>), 128.5 (C<sub>arom</sub>), 78.9 (C1), 73.0 (C6), 33.1 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (C5), 24.1 (CH<sub>2</sub>), 23.9 (CH<sub>2</sub>).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturwerten überein.<sup>214</sup>

#### cis-2-Hydroxycyclopentylbenzoat 148



#### Katalysator als Enantiomerengemisch:

Die Reaktion wurde nach AAV 15 durchgeführt (Edukt: *cis*-Cyclopentandiol **147** (0.11 g, 1.1 mmol), Benzoylchlorid **154** (0.19 mL, 0.23 g, 1.7 mmol), Boroxolalkin **27** (18 mg, 0.11 mmol)).

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Pentan/Et<sub>2</sub>O, v/v 3:1) und das monobenzoylierte Produkt **148** (0.21g, 1.0 mmol, 91%) in Form eines gelben Öls isoliert.

#### Enantiomerengemisch

 $R_{f}$ -Wert = 0.11 (Pentan/Et<sub>2</sub>O, v/v 3:1, Cersulfat).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 8.03-8.08 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.55-7.61 (m, 1H, H<sub>arom</sub>), 7.42-7.49 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 5.21-5.27 (m, 1H, 1-H), 4.29-4.34 (m, 1H, 5-H), 2.06-2.14 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.92-2.00 (m, 3H, CH<sub>2</sub>), 1.75-1.82 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.61-1.68 (m, 1H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 166.6 (C7), 133.3 (C<sub>arom</sub>), 130.3 (C<sub>arom</sub>), 129.8 (C<sub>arom</sub>), 128.6 (C<sub>arom</sub>), 77.6 (C1), 73.6 (C5), 31.1 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 19.7 (CH<sub>2</sub>).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturwerten überein.<sup>215</sup>

#### Enantiomer 1/2:

Die Reaktion wurde nach AAV 15 durchgeführt (Edukt: *cis*-Cyclopentandiol **147** (26 mg, 0.25 mmol), Benzoylchlorid **154** (43  $\mu$ L, 53 mg, 0.38 mmol), Boroxolalkin **27** Enantiomer 1/2 (4.0 mg, 25  $\mu$ mol)).

Allerdings wurde im Abstand von je 15 min ein Aliquot (20  $\mu$ L) entnommen, das Lösungsmittel mit Argon abgedampft und mittels HPLC (Daicel Chiraltek IA, 150x4.6 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 10%

EtOH in Heptan, 0.5 mL/min, 250 nm) der Enantiomerenüberschuss bestimmt ( $R_{t1}$  =12.0 min,  $R_{t2}$  = 15.9 min).

Es ergaben sich folgende Enantiomerenüberschüsse:

Enantiomer 1: -5.8%

Enantiomer 2: 4.1%

# 10. Anhang

# 10.1. Röntgenkristallstrukturdaten

TMS-geschütztes Boroxolalkin 74



Table 10-1: Crystal data and structure refinement

Empirical formula	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> BO <sub>2</sub> Si	
Formula weight	230.14	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P2(1)/c	
Unit cell dimensions	a = 15.491(2) Å	α= 90°
	b = 6.5225(9) Å	β= 98.916(2)°
	c = 12.7234(17) Å	γ = 90°
Volume	1270.0(3) Å <sup>3</sup>	
Z	4	
Density (calculated)	1.204 Mg/m <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.167 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	488	
Crystal size	0.300 x 0.180 x 0.030 mm <sup>3</sup>	
Theta range for data collection	2.66 to 27.00°	
Index ranges	-19<=h<=19, -8<=k<=8, -16<=l<=15	
Reflections collected	13850	
Independent reflections	2713 [R(int) = 0.0277]	
Completeness to theta = 27.00°	97.7 %	

Absorption correction	None
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	2713 / 0 / 148
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.048
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0361, wR2 = 0.0906
R indices (all data)	R1 = 0.0440, wR2 = 0.0961
Largest diff. peak and hole	0.377 and -0.253 e.Å <sup>-3</sup>

**Table 10-2:** Atomic coordinates  $(x10^4)$  and equivalent isotropic displacement parameters ( $Å^2x10^3$ ). U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U<sup>ii</sup> tensor.

	х	у	Z	U(eq)
Si(1)	3644(1)	1080(1)	8113(1)	19(1)
O(1)	686(1)	1942(2)	9655(1)	18(1)
O(2)	159(1)	1526(2)	11327(1)	21(1)
B(1)	589(1)	2619(3)	10676(1)	18(1)
C(1)	1055(1)	4723(2)	10870(1)	17(1)
C(2)	1197(1)	6136(2)	11712(1)	20(1)
C(3)	1662(1)	7912(2)	11596(1)	21(1)
C(4)	1993(1)	8311(2)	10650(1)	22(1)
C(5)	1855(1)	6932(2)	9810(1)	20(1)
C(6)	1385(1)	5163(2)	9932(1)	17(1)
C(7)	1158(1)	3453(2)	9124(1)	17(1)
C(8)	1947(1)	2553(2)	8796(1)	18(1)
C(9)	2613(1)	1936(2)	8531(1)	20(1)
C(10)	4562(1)	2439(3)	8952(1)	28(1)
C(11)	3774(1)	-1741(3)	8320(1)	27(1)
C(12)	3594(1)	1743(3)	6682(1)	30(1)

Table 10-3: Bond lengths [Å] and angles [°]

	х	у	Z	U(eq)
Si(1)	3644(1)	1080(1)	8113(1)	19(1)
O(1)	686(1)	1942(2)	9655(1)	18(1)
O(2)	159(1)	1526(2)	11327(1)	21(1)
B(1)	589(1)	2619(3)	10676(1)	18(1)
C(1)	1055(1)	4723(2)	10870(1)	17(1)
C(2)	1197(1)	6136(2)	11712(1)	20(1)

C(3)	1662(1)	7912(2)	11596(1)	21(1)
C(4)	1993(1)	8311(2)	10650(1)	22(1)
C(5)	1855(1)	6932(2)	9810(1)	20(1)
C(6)	1385(1)	5163(2)	9932(1)	17(1)
C(7)	1158(1)	3453(2)	9124(1)	17(1)
C(8)	1947(1)	2553(2)	8796(1)	18(1)
C(9)	2613(1)	1936(2)	8531(1)	20(1)
C(10)	4562(1)	2439(3)	8952(1)	28(1)
C(11)	3774(1)	-1741(3)	8320(1)	27(1)
C(12)	3594(1)	1743(3)	6682(1)	30(1)

**Table 10-4:** Anisotropic displacement parameters ( $Å^2x10^3$ ). The anisotropic displacement factor exponent takes the form:  $-2p^2$  [  $h^2 a^{*2}U^{11} + ... + 2h k a^* b^* U^{12}$  ]

				2.2	10	40
	$U^{11}$	U <sup>22</sup>	U <sup>33</sup>	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$
Si(1)	18(1)	24(1)	16(1)	0(1)	5(1)	2(1)
O(1)	19(1)	20(1)	16(1)	1(1)	7(1)	-2(1)
O(2)	23(1)	22(1)	18(1)	-1(1)	8(1)	-3(1)
B(1)	16(1)	21(1)	16(1)	1(1)	3(1)	3(1)
C(1)	16(1)	20(1)	15(1)	2(1)	3(1)	4(1)
C(2)	19(1)	25(1)	15(1)	1(1)	3(1)	5(1)
C(3)	24(1)	22(1)	16(1)	-3(1)	1(1)	5(1)
C(4)	22(1)	19(1)	23(1)	1(1)	1(1)	-1(1)
C(5)	21(1)	22(1)	16(1)	3(1)	4(1)	1(1)
C(6)	16(1)	20(1)	14(1)	1(1)	2(1)	4(1)
C(7)	18(1)	20(1)	15(1)	1(1)	5(1)	-1(1)
C(8)	22(1)	19(1)	14(1)	1(1)	2(1)	-2(1)
C(9)	23(1)	21(1)	17(1)	0(1)	5(1)	-1(1)
C(10)	25(1)	32(1)	28(1)	-2(1)	5(1)	-4(1)
C(11)	24(1)	27(1)	31(1)	-2(1)	5(1)	3(1)
C(12)	25(1)	47(1)	21(1)	4(1)	7(1)	5(1)

## Boroxolalkin 27 Enantiomer 1



Table 10-5: Crystal data and structure refinement

,		
Empirical formula	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> BO <sub>2</sub>	
Formula weight	157.96	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P1	
Unit cell dimensions	a = 4.661(6) Å	α= 85.049(14)°
	b = 8.321(11) Å	β= 78.448(10)°
	c = 10.809(14) Å	γ = 89.151(15)°
Volume	409.2(9) Å <sup>3</sup>	
Z	2	
Density (calculated)	1.282 Mg/m <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.088 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	164	
Crystal size	0.440 x 0.220 x 0.030 mm <sup>3</sup>	
Theta range for data collection	1.93 to 22.48°	
Index ranges	-4<=h<=4, -8<=k<=8, -10<=l<=11	
Reflections collected	1707	
Independent reflections	1523 [R(int) = 0.0250]	
Completeness to theta = 22.48°	90.8 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	
Data / restraints / parameters	1523 / 3 / 221	

Goodness-of-fit on F <sub>2</sub>	1.048
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0606, wR2 = 0.1422
R indices (all data)	R1 = 0.0729, wR2 = 0.1484
Absolute structure parameter	0(3)
Extinction coefficient	0.052(17)
Largest diff. peak and hole	0.265 and -0.242 e.Å <sup>-3</sup>

**Table 10-6:** Atomic coordinates  $(x10^4)$  and equivalent isotropic displacement parameters  $(\text{\AA}^2 x10^3)$ . U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U<sup>ii</sup> tensor.

	х	у	Z	U(eq)
O(1)	2902(10)	6675(5)	4895(4)	39(1)
O(2)	4550(9)	8559(5)	6085(4)	35(1)
O(3)	3217(10)	1647(5)	5266(4)	40(1)
O(4)	1553(9)	3812(5)	4051(4)	37(1)
B(1)	4376(16)	6963(9)	5812(7)	32(2)
B(2)	1730(17)	2126(9)	4335(7)	37(2)
C(1)	7066(14)	6941(7)	7441(6)	33(2)
C(2)	6030(14)	5875(8)	6729(6)	31(2)
C(3)	6590(13)	4201(8)	6883(6)	36(2)
C(4)	8261(15)	3664(8)	7813(6)	38(2)
C(5)	9245(14)	4755(8)	8544(6)	37(2)
C(6)	8683(13)	6406(8)	8376(6)	39(2)
C(7)	6213(15)	8706(8)	7099(6)	34(2)
C(8)	4436(16)	9506(8)	8148(7)	36(2)
C(9)	2953(17)	10140(9)	8974(7)	45(2)
C(10)	74(15)	1274(8)	3478(6)	33(2)
C(11)	-1011(15)	2510(7)	2721(6)	34(2)
C(12)	-2566(14)	2186(8)	1795(6)	32(2)
C(13)	-3121(14)	602(9)	1650(6)	41(2)
C(14)	-2117(14)	-664(8)	2393(7)	44(2)
C(15)	-501(14)	-353(8)	3306(6)	36(2)
C(16)	-236(15)	4175(7)	3062(6)	34(2)
C(17)	1461(14)	5209(8)	2011(6)	35(2)
C(18)	2750(15)	6074(8)	1139(7)	41(2)

O(1)-B(1)	1.353(9)
O(1)-H(1)	0.84
O(2)-B(1)	1.392(9)
O(2)-C(7)	1.477(8)
O(3)-B(2)	1.361(9)
O(3)-H(3)	0.84
O(4)-B(2)	1.415(9)
O(4)-C(16)	1.492(8)
B(1)-C(2)	1.590(10)
B(2)-C(10)	1.540(11)
C(1)-C(2)	1.375(9)
C(1)-C(6)	1.416(9)
C(1)-C(7)	1.549(9)
C(2)-C(3)	1.416(10)
C(3)-C(4)	1.428(9)
C(3)-H(3)	0.95
C(4)-C(5)	1.392(10)
C(4)-H(4)	0.95
C(5)-C(6)	1.398(9)
C(5)-H(5)	0.95
C(6)-H(6)	0.95
C(7)-C(8)	1.467(11)
C(7)-H(7)	1
C(8)-C(9)	1.174(10)
С(9)-Н(9)	0.95
C(10)-C(11)	1.410(9)
C(10)-C(15)	1.419(10)
C(11)-C(12)	1.394(9)
C(11)-C(16)	1.530(9)
C(12)-C(13)	1.376(10)
C(12)-H(12)	0.95
C(13)-C(14)	1.401(9)
C(13)-H(13)	0.95
C(14)-C(15)	1.399(10)
C(14)-H(14)	0.95
C(15)-H(15)	0.95
C(16)-C(17)	1.466(10)

Table 10-7: Bond lengths [Å] and angles [°]
C(16)-H(16)	1
C(17)-C(18)	1.198(9)
C(18)-H(18)	0.95
B(1)-O(1)-H(1)	109.5
B(1)-O(2)-C(7)	111.6(5)
B(2)-O(3)-H(3)	109.5
B(2)-O(4)-C(16)	110.3(5)
O(1)-B(1)-O(2)	117.1(6)
O(1)-B(1)-C(2)	135.0(6)
O(2)-B(1)-C(2)	107.9(5)
O(3)-B(2)-O(4)	115.7(6)
O(3)-B(2)-C(10)	135.7(7)
O(4)-B(2)-C(10)	108.6(6)
C(2)-C(1)-C(6)	121.4(6)
C(2)-C(1)-C(7)	112.2(6)
C(6)-C(1)-C(7)	126.4(6)
C(1)-C(2)-C(3)	121.3(6)
C(1)-C(2)-B(1)	105.0(6)
C(3)-C(2)-B(1)	133.6(6)
C(2)-C(3)-C(4)	117.2(6)
C(2)-C(3)-H(3)	121.4
C(4)-C(3)-H(3)	121.4
C(5)-C(4)-C(3)	120.8(6)
C(5)-C(4)-H(4)	119.6
C(3)-C(4)-H(4)	119.6
C(4)-C(5)-C(6)	121.3(6)
C(4)-C(5)-H(5)	119.4
C(6)-C(5)-H(5)	119.4
C(5)-C(6)-C(1)	118.0(6)
C(5)-C(6)-H(6)	121
C(1)-C(6)-H(6)	121
C(8)-C(7)-O(2)	110.5(6)
C(8)-C(7)-C(1)	114.9(5)
O(2)-C(7)-C(1)	103.3(5)
C(8)-C(7)-H(7)	109.3
O(2)-C(7)-H(7)	109.3
C(1)-C(7)-H(7)	109.3
C(9)-C(8)-C(7)	178.3(7)

C(8)-C(9)-H(9)	180
C(11)-C(10)-C(15)	118.6(6)
C(11)-C(10)-B(2)	106.0(6)
C(15)-C(10)-B(2)	135.3(6)
C(12)-C(11)-C(10)	122.2(6)
C(12)-C(11)-C(16)	126.7(5)
C(10)-C(11)-C(16)	111.1(6)
C(13)-C(12)-C(11)	118.3(6)
C(13)-C(12)-H(12)	120.9
C(11)-C(12)-H(12)	120,9
C(12)-C(13)-C(14)	121.3(6)
C(12)-C(13)-H(13)	119.3
C(14)-C(13)-H(13)	119.3
C(15)-C(14)-C(13)	120.9(6)
C(15)-C(14)-H(14)	119.6
C(13)-C(14)-H(14)	119.6
C(14)-C(15)-C(10)	118.6(6)
C(14)-C(15)-H(15)	120.7
C(10)-C(15)-H(15)	120.7
C(17)-C(16)-O(4)	109.2(5)
C(17)-C(16)-C(11)	115.0(5)
O(4)-C(16)-C(11)	103.9(5)
C(17)-C(16)-H(16)	109.5
O(4)-C(16)-H(16)	109.5
C(11)-C(16)-H(16)	109.5
C(18)-C(17)-C(16)	177.5(7)
C(17)-C(18)-H(18)	180

**Table 10-8:** Anisotropic displacement parameters ( $Å^2 x 10^3$ ). The anisotropic displacement factor exponent takes the form:  $-2p^2[h^2 a^{*2}U^{11} + ... + 2h k a^* b^* U^{12}]$ 

	$U^{11}$	U <sup>22</sup>	U <sup>33</sup>	U <sup>23</sup>	U <sup>13</sup>	$U^{12}$
O(1)	41(3)	30(3)	56(3)	0(2)	-33(3)	11(3)
O(2)	42(3)	23(3)	50(3)	-3(2)	-29(2)	7(2)
O(3)	45(3)	33(3)	47(3)	1(2)	-27(2)	5(3)
O(4)	37(3)	26(3)	52(3)	1(2)	-23(2)	4(2)
B(1)	30(5)	36(5)	31(5)	-4(3)	-9(4)	4(4)
B(2)	37(5)	31(5)	42(5)	-3(4)	-4(4)	0(4)

C(1)	27(4)	31(4)	42(4)	-4(3)	-6(3)	1(4)
C(2)	20(4)	29(4)	46(4)	-7(3)	-13(3)	5(3)
C(3)	22(4)	42(5)	48(4)	0(3)	-18(4)	7(4)
C(4)	39(5)	31(4)	47(4)	-2(3)	-17(4)	5(4)
C(5)	31(4)	36(5)	47(4)	5(3)	-20(3)	5(3)
C(6)	27(4)	38(5)	56(5)	-10(3)	-16(4)	6(4)
C(7)	25(4)	39(5)	40(4)	-2(3)	-13(4)	-2(3)
C(8)	35(4)	28(4)	53(5)	-3(4)	-27(4)	4(4)
C(9)	51(5)	41(5)	52(5)	-7(4)	-30(4)	14(4)
C(10)	25(4)	37(5)	39(4)	-11(3)	-11(3)	5(3)
C(11)	37(4)	32(4)	33(4)	1(3)	-12(3)	4(3)
C(12)	23(4)	34(5)	41(4)	-3(3)	-10(3)	15(3)
C(13)	29(4)	54(5)	45(4)	0(4)	-20(3)	1(4)
C(14)	28(4)	39(4)	69(5)	2(4)	-18(4)	2(4)
C(15)	29(4)	39(5)	39(4)	-6(3)	-6(4)	8(4)
C(16)	37(4)	30(4)	41(4)	-2(3)	-21(4)	9(3)
C(17)	31(4)	30(4)	49(4)	-5(4)	-21(4)	14(3)
C(18)	38(4)	38(4)	51(4)	5(4)	-20(4)	4(4)

# **10.2.** NMR und LC-MS<sup>xx</sup> Spektren

# tert-Butyl-2-(4-bromo-3-((tert-butyldimethyl-silyloxy)-methyl)phenoxy)-ethylcarbamat 62



<sup>&</sup>lt;sup>xx</sup> LC-MS Läufe zeigen bei LS-MS-Läufen ein *"spectral background substtracted chrmoatogram"* zusätzlich zu dem MS-Spektrum



#### tert-Butyl-2-(4-boron-3-((tert-butyldimethyl-silyloxy)-methyl)phenoxy)-ethylcarbamat 63







# tert-Butyl-2-(4-brom-3-(1-hydroxy-3-(trimethylsilyl)prop-2-ynyl)phenoxy)-ethylcarbamat 55



# *tert*-Butyl-2-(4-brom-3-(1-(*tert*-butyldimethyl-silyloxy)-3-(trimethylsilyl)prop-2-ynyl)phenoxy)ethylcarbamat 69



#### 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3-carboxyadamantan 96





### 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3-(2-(NHS)-carboxy)-adamantan 149

190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 ppm



#### 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3-carboxyethyladamantan 50



# 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3,5-bis-(2-carboxyethyl)-adamantan 51

**Cbz-Triester 150** 



**Cbz-Tricarbonsäure 90** 





#### L-Azidohomoalanin-Bn 25b





#### 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-monocarboxy-4-aminoethoxybrombenzol-adamantan 87

10 ppm



# 1-(3-tert-Butoxycarbonylamino)-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-4-aminoethoxybrombenzol-





Flex-2-Tribrom 92



#### L-Azidohomoalanin-Bn-adamantan 105





1-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 109



# 1-Amino-3-(L-Azidohomoalanin-GRGES)-carboxyethyladamantan 128





# 1-Amino-3-(L-Azidohomoalanin-GRGDS)-carboxyethyladamantan 129







10. Anhang





1-Amino-3,5-bis-(L-Azidohomoalanin-GRGDS)-adamantan 130





#### 7-(N-Boc-3-Aminopropyl)-1,3,5-tris-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyadamantan 102



### 1,3,5-tris-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 151



1-Boc-3,5,7-tris-(L-Azidohomoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 26





#### Boc-L-Triazolbenzobbromphenyl-homoalanin-Bn 108



#### 1-(L-Triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 110


### 1-Boc-3-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 30

# 1-Promofluor-3-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 143







## 1-Boc-3,5-bis-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 111



#### 1-Amino-3,5-bis-(L-triazolbromphenyl-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 152







#### L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn 94



#### 1-(L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-adamantan 107





### 1-(L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 153



### 1-Boc-3-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 114

190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 ppm



### 1-(L-Triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 134

## 1-Amino-3-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-GRGES)-carboxyethyladamantan 131





# 1-Promofluor-3-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 138







### 1-Boc-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 115



### 1-Amino-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-adamantan 154

# 1-Amino-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-GRGDS)-carboxyethyladamantan 133





# 1-Promofluor-3,5-bis-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan

139







# $\label{eq:linear} 7-(\textit{N-Boc-3-Aminopropyl})-1,3,5-tris-(\textit{L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn})-carboxyadamantan$





## 7-(Aminopropyl)-1,3,5-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyadamantan 137

# 7-(Promofluor-3-aminopropyl)-1,3,5-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)carboxyadamantan 141







### 1-Boc-3,5,7-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 116





## 1-Amino-3,5,7-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 136

1-Promofluor-3,5,7-tris-(L-triazolbenzoboroxol-homoalanin-Bn)-carboxyethyladamantan 140











### trans-2-Hydroxycyclohexylbenzoat 147





# 10.3. Gefahrstoffverzeichnis

Chemikalie	Gefahrensymbol	H-Sätze	P-Sätze
Acetonitril	Gefahr F !	225-302- 312-319-332	210-233-240-241-242-243- 261-264-280-301+312- 302+352-303+361-304+340- 305+351-322-330-337+313- 370+378-403+235-501
Acrylnitril	Gefahr F C T L N	25-301-311- 315-317- 318-331- 335-350-411	201-202-210-240-241-242- 243-261-264-273-280-281- 301+310-302+352-303+361- 304+340-305+351+338- 308+313-321-330-333+313- 370+378-391-403+233- 403+235-405-501
Adamantan	-	-	-
AIBN	Gefahr F !	424-302- 332-412	210-220-234-261-264-273- 280-301+312-304+340-330- 370+378-403+235-411-420- 501
Aluminiumtribromid	Gefahr C !	314-302- EUH014	260-264-280-301+330+331- 305+351+338-310
Ameisensäure	Gefahr C	314	260-264-280-301+330+331- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321-405- 501
Ammoniummolybdat	Achtung	315-302- 335-319	261-280-301+312-302+352- 305+351+338
Benzol	Gefahr F ! L	225-304- 315-319- 340-350-372	201-202-210-233-240-241- 242-243-260-264-280-281- 301+310-302+352-303+361- 305+351+338-308+313-321- 331-332+313-337+313- 370+378-403+235-405-501
Benzoylchlorid	Gefahr C	302+312- 314-317-332	260-264-280-301+312- 301+330-302+352- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321- 333+313-405-501
Benzylchlorformiat	Gefahr C N	314-410	260-264-273-280-

			301+330+331-303+361+353- 304+340-305+351+338-310- 321-391-405-501
2-(Boc-amino)ethylbromid	Achtung	315-335-319	261-280-302+352- 305+351+338
Brom	Gefahr C T N	314-330-400	260-264-273-280-284- 301+330+331-303+361+353- 304+340-305+351+338-310- 320-391-403+233-405-501
2-Brombenzaldehyd	Achtung	302-315- 319-335	280-301+312-305+351+338
2-Brom-5- hydroxybenzaldehyd	Achtung	315-319-335	261-264-280-302+352- 304+340-305+351+338-312- 321-332+313-337+313-362- 403+233-405-501
<i>tert</i> -Butanol	Gefahr F	225-319- 332-335	210-240-241-242-243-261- 280-303+361+353-304+340- 305+351+338-312-337+313- 370+378-403+233-403+235- 405-501
tert-Butyldimethylsilylchlorid	Gefahr F C	314-228- EUH029- EUH014	280-301+330+331- 305+351+338-310-402
<i>n</i> -Butyllithium	Gefahr F C! L N	314-304- 336-373- 411-361f- 260-250- EUH014	210-260-273-280- 305+351+338-310
<i>t</i> -Butyllithium	Gefahr F C! L N	411-304- 336-314	210-223-260-280- 305+351+338-310
Cer(IV)sulfat	Gefahr C O	314-272	210-280-301+330+331- 303+361+353-305+351+338- 310
<i>cis</i> -Cyclohexandiol	-	-	-
trans-Cyclohexandiol	-	-	-
cis-Cyclopentandiol	-	-	-
Cäsiumfluorid	Gefahr C T	311-318- 315-331-	280-301+310-301+330+331- 302+350-304+340-

		301-EUH032	305+351+338
Dichlormethan	Achtung L	351	201-202-281-308+313-405- 501
Diethanolamin	Gefahr C ! L	302-315- 318-373	260-264-280-301+312- 302+352-305+351+338-310- 321-330-332+313-362-501
Diethylether	Gefahr F !	EUH019- EUH066- 224-302-336	210-233-240-241-242-243- 264-280-301+312- 303+361+353-330-370+378- 403+235-501
1,4-Dioxan	Gfahr F ! L	EUH019- EUH066- 225-319- 335-351	201-202-210-240-241-242- 243-261-264-280-281- 303+361+353-304+340- 305+351+338-308+313-312- 337+313-370+378-403+233- 403+235-405-501
N, N-Diisopropylethylamin	Gefahr F C !	302-314- 412-225	210-273-280-301+330- 331+305+351+338-308-313
Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat	Gefahr F T	315-319- 335-317- 330-228	210-261-280-302+352- 305+351+338
N, N-Dimethylformamid	Gefahr ! L	312-319- 332-360D	201-202-261-264-280-281- 302+352-304+340- 305+351+338-308+313-312- 322-337+313-363-405-501
Dimethylsulfoxid	-	-	-
Eisen	-	-	-
Essigsäure	Gefahr F C	226-314	210-233-240-241-242-243- 260-264-280-301+330+331- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321- 370+378-403+235-405-501
N-Ethyl-N'(3- dimethylaminopropyl) carbodiimid hydrochlorid	Gefahr C !	318-335- 302-315	261-280-302+352-304+340- 305+351+338-310
Ethylendiamintetraessigsäure	Achtung !	319	264-280-305+351+338- 337+313

Ethanol	Gefahr F	225	210-233-240-241-242-243- 280-303+361+353-370+378- 403+235-501
Ethylacetat	Gefahr F !	EUH066- 225-319-336	210-233-240-241-242-243- 264-280-303+361+353- 305+351+338-337+313- 370+378-403+235+501
Ethylenoxid	Gefahr F T L	220-315- 319-331- 335-340-350	201-202-210-261-264-280- 281-302+352-304+340- 305+351-308+313-311-321- 332+313-337+313-362-377- 381-403+233-405-501
Fluorbenzol	Gefahr F	225	210-240
Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH	Achtung !	315-319-335	261-264-280-302+352- 304+340-305+351+338-312- 321-332+313-337+313-362- 403+233-405-501
Fmoc-L-Asp( <i>t</i> Bu)-OH	-	-	-
Fmoc-L-Glu( <i>t</i> Bu)-OH	-	-	-
Fmoc-L-Gly-OH	-	-	-
Fmoc-L-Ser( <i>t</i> Bu)-OH	-	-	
2-Formylphenylboronsäure	Achtung !	315-319-335	261-280-302+352- 305+351+338
Galactose	-	-	-
ΗΑΤU	Gefahr F !	228-315- 319-335	210-241-261-264-280
Heptan	Gefahr F ! L N	225-304- 315-336-410	210-233-240-241-242-243- 264-273-280-301+310-302- 352-303+361+353-321-331- 332+313-370+378-391- 403+235-405-501
<i>n</i> -Hexan	Gefahr F ! L N	225-304- 315-336- 361f-373- 411	210-202-210-233-240-241- 242-243-260-264-273-280- 281-301+310-302+352- 303+361+353-308+313-321- 331-332+313-370+378-391- 403+235-405-501

HOBt	Gefahr E	203	210-230-240-250-280- 370+380-372-373-401-501
N-Hydroxysuccinimid	Achtung !	315-319-335	261-280-302+352- 305+351+338
Imidazol	Gefahr C ! L	302-314- 360D	280-281-301+312- 301+330+331-305+351+338- 310
Isopropanol	Gefahr F !	225-319-336	210-233-240-241-242-243- 264-280-303+361+353- 305+351+338-337+313- 370+378-403+235-501
Isopropylmagnesiumchlorid	Gefahr F C !	314-225- 260-335- EUH014- EUH019	210-260-264-280- 305+351+338-310
Kaliumcarbonat	Achtung !	320-335- 315-319	280-305+351+338
Kaliumhydrogencarbonat	-	-	-
Kaliumhydrogensulfat	Gefahr C !	314-335	260-264-280-301+330+331- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321-403- 405-501
Kupfer(I)bromid	Achtung	302-315- 335-319	261-280-301+312-302+352- 305+351+338
Kupfersulfat	Achtung ! N	302-315- 319-410	264-273-280-301+312- 302+352-305+351+338-321- 330-332+313-362-391-501
Lithiumhydroxid	Gefahr C !	314-302-412	273-280-301+312- 301+330+331-305+351+338
Methanol	Gefahr F T L	225-301- 311-331-370	210-240-241-242-243-260- 264-280-301+310-302+352- 303+361-304+340-307+311- 321-330-370+378-403+233- 403+235-405-501
Magnesiumsulfat	-	-	
Molybdatophosphorsäure	Gefahr O C	314-272	210-280-301+330+331- 305+351+338-310

Natriumchlorid	-	-	-
Natriumcarbonat	Achtung !	319	264-280-305+351+338- 337+313
Natriumhydrogencarbonat	-	-	-
Natriumhydroxid	Gefahr C	314	260-264-280-301+330+331- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321-405- 501
Natriumsulfat	-	-	-
Natriumascorbat	-	-	-
Ninhydrin	Achtung !	319-315- 302-335	261-280-301+312-302+352- 305+351+338
N-Methyl-2-pyrrolidon	Gefahr ! L	315-319- 335-360D	201-202-261-264-280-281- 302+352-304-340- 305+351+338-308+313-312- 321-332+313-337+313-362- 403+233-405-501
Orthoperiodsäure	Gefahr O C	314-272	210-280-301+330+331- 305+351+338-310
Petrolether 50-70	Gefahr F ! L N	225-304- 315-336-411	210-233-240-241-242-243- 264-273-280-301+310- 302+352-303+361+353-321- 331-332+313-370+378-391- 403+235-405-501
Pentan	Gefahr F ! L N	EUH066- 225-304- 336-411	210-233-240-241-242-243- 273-280-301+310- 303+361+353-331-370+378- 391-403+235-405-501
Phenol	Gefahr C T L	301-311- 314-331- 341-373	201-202-260-264-280-281- 301+310-301+330+331- 302+352-303+361+353- 304+340-305+351+338- 308+313-321-403+233-405- 501
(S)-1-Phenylethylamin	Gefahr C !	314-312- 318-302	280-301+312-301+330+331- 302+352-305+351+338-310
Pinacol	Achtung !	335-315-319	261-280-302+352-
			305+351+338
----------------------------	--------------	--	---
Platin(IV)-oxid	Gefahr O C	315-318-272	210-280-302+352- 305+351+338-310
PromoFluor-647 (NHS-Ester)	Reizend	R 41	S22-S26-S39
Rutheniumtrichlorid	Gefahr C !	412-314- 318-302	273-280-301+312- 301+330+331-305+351+338- 310
Salzsäure	Gefahr C !	314-335-290	234-280-305+351+338-310- 390
ТВТА	-	-	-
Tetrabromkohlenstoff	Achtung !	319-312- 315-332- 335-302	261-280-301+312-302+352- 304+340-305+351+338
Tetrabutylammoniumbromid	Achtung !	315-335-319	261-280-302+352- 305+351+338
Tetrachlorkohlenstoff	Gefahr T L	EUH059- 301-311- 331-351- 372-412-420	201-202-260-264-273-280- 281-301+310-230+352- 304+340-308+313-321-330- 361-403+233-405-501-502
Tetrahydrofuran	Gefahr F ! L	EUH019- 225-319- 335-351	201-202-210-240-241-242- 243-261-264-280-281- 303+361+353-304+340- 305+351+338-308+313-312- 337+313-370+378-403+233- 403+235-405-501
Toluol	Gefahr F ! L	225-304- 315-336- 361d-373	201-202-210-233-240-241- 242-243-260-264-280-281- 301+310-302+352- 303+361+353-308+313-321- 331-332+313-370+378- 403+235-405-501
Tributylzinnhydrid	Gefahr T L N	301-312- 315-319- 372-410	260-264-273-280-301+310- 302+352-305+351+338-321- 330-332+313-337+313-362- 391-405-501
Trichlormethan	Achtung ! L	302-315- 350-373-	201-202-260-264-280-281- 301+312-302+352-308+313- 321-330-332+313-362-405-

			501
Triethylamin	Gefahr F C !	225-302- 312-314-332	210-233-240-241-242-243- 260-264-280-301+312- 301+330+331-302+352- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321- 370+378-403+235-405-501
Trifluoressigsäure	Gefahr C !	314-332-412	260-264-273-280- 301+330+331-303+361+353- 304+340-305+351+338-310- 321-405-501
Triisopropylborat	Gefahr F	225	210-240
Triisopropylsilan	Achtung F !	319-335- 315-226	210-261-280-302+352- 305+351+338
Trimethylsilylacetylen	Gefahr F	225	210-240
Schwefelsäure	Gefahr C	314	260-264-280-301+330+331- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321-405- 501

## 11. Literatur

- (1) Rees, D. A. *Biochem. J.* **1972**, *126*, 257.
- (2) Service, R. F. *Science* **2012**, *338*, 321.
- (3) Lindhorst, T. K. *Chem. unserer Zeit* **2000**, *34*, 38.
- (4) Roseman, S. J. Biol. Chem. 2001, 276, 41527.
- (5) Gabius, H. J. *Naturwissenschaften* **2000**, *87*, 108.
- Laine, R. A. The Information-Storing Potential of the Sugar Code. In *Glycosciences: Status and Perspectives*; Gabius, H.-J.; Gabius, S., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2008; pp 1-14.
- (7) McAnalley, B. H.; Vennum, E. *GlycoScience & Nutrition* **2000**, *1*, 1.
- (8) Rambourg, A.; Leblond, C. P. J. Cell Biol. **1967**, 32, 27.
- (9) Ebong, E. E.; Macaluso, F. P.; Spray, D. C.; Tarbell, J. M. Arterioscler., Thromb. Vasc. Biol. 2011, 31, 1908.
- (10) Murray, R. K.; Granner, D. K.; Mayes, P. A. *Harper's Biochemistry*; 5th ed.; Appleton and Lange: Stamford, **2000**.
- (11) Pries, A. R.; Secomb, T. W.; Gaehtgens, P. *Pflug. Arch. Eur. J. Phy.* **2000**, *440*, 653.
- (12) Ho, S. B.; Kim, Y. S. Semin. Cancer Biol. **1991**, *2*, 389.
- (13) Hilkens, J.; Ligtenberg, M. J. L.; Vos, H. L.; Litvinov, S. V. *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17*, 359.
- (14) Dube, D. H.; Bertozzi, C. R. Nat. Rev. Drug Discov. 2005, 4, 477.
- (15) Kubik, S. Angew. Chem. 2009, 121, 1750; Angew. Chem., Int. Ed. 2009, 48, 1722.
- (16) Linden, S. K.; Sutton, P.; Karlsson, N. G.; Korolik, V.; McGuckin, M. A. *Mucosal Immunol.* **2008**, *1*, 183.
- (17) Ohtsubo, K.; Marth, J. D. *Cell* **2006**, *126*, 855.
- (18) Varki, A. *Nature* **2007**, *446*, 1023.
- (19) Salmon, A. H. J.; Satchell, S. C. J. Pathol. **2012**, 226, 562.
- (20) van Teeffelen, J. W.; Brands, J.; Stroes, E. S.; Vink, H. *Trends Cardiovas. Med.* **2007**, *17*, 101.

- Broekhuizen, L. N.; Lemkes, B. A.; Mooij, H. L.; Meuwese, M. C.; Verberne, H.;
   Holleman, F.; Schlingemann, R. O.; Nieuwdorp, M.; Stroes, E. S. G.; Vink, H.
   *Diabetologia* 2010, *53*, 2646.
- (22) Kim, Y.; Varki, A. *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 569.
- (23) Meezan, E.; Wu, H. C.; Black, P. H.; Robbins, P. W. *Biochemistry* **1969**, *8*, 2518.
- (24) Dennis, J. W.; Laferte, S.; Waghorne, C.; Breitman, M. L.; Kerbel, R. S. Science 1987, 236, 582.
- (25) Sell, S. Hum. Pathol. **1990**, *21*, 1003.
- (26) Gabius, H. J. Acta Histochem. Suppl. **1988**, 36, 209.
- (27) Taylor-Papadimitriou, J.; Epenetos, A. A. Trends Biotechnol. 1994, 12, 227.
- (28) Astronomo, R. D.; Burton, D. R. Nat. Rev. Drug Discov. 2010, 9, 308.
- (29) Jørgensen, T.; Berner, A.; Kaalhus, O.; Tveter, K. J.; Danielsen, H. E.; Bryne, M. *Cancer Res.* **1995**, *55*, 1817.
- (30) Idikio, H. A. *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 875.
- (31) Zhang, S.; Cordon-Cardo, C.; Zhang, H. S.; Reuter, V. E.; Adluri, S.; Hamilton, W. B.; Lloyd, K. O.; Livingston, P. O. *Int. J. Cancer* **1997**, *73*, 42.
- (32) Zhang, S.; Zhang, H. S.; Cordon-Cardo, C.; Reuter, V. E.; Singhal, A. K.; Lloyd, K. O.; Livingston, P. O. *Int. J. Cancer* **1997**, *73*, 50.
- (33) Demetriou, M.; Nabi, I. R.; Coppolino, M.; Dedhar, S.; Dennis, J. W. J. Cell Biol.
   **1995**, 130, 383.
- (34) Gorelik, E.; Galili, U.; Raz, A. Cancer Metast. Rev. 2001, 20, 245.
- (35) Hollingsworth, M. A.; Swanson, B. J. Nat. Rev. Cancer 2004, 4, 45.
- (36) Seeberger, P. H.; Werz, D. B. Nat. Rev. Drug Discov. 2005, 4, 751.
- (37) Lis, H.; Sharon, N. Chem. Rev. 1998, 98, 637.
- (38) Li, W.-w.; Yu, J.-y.; Xu, H.-l.; Bao, J.-k. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, *414*, 282.
- (39) http://www.rcsb.org/pdb/images/2fk0\_bio\_r\_500.jpg(abgerufen am 12.10.2013).
- Le Trong, I.; Aprikian, P.; Kidd, B. A.; Forero-Shelton, M.; Tchesnokova, V.;
   Rajagopal, P.; Rodriguez, V.; Interlandi, G.; Klevit, R.; Vogel, V.; Stenkamp, R. E.;
   Sokurenko, E. V.; Thomas, W. E. *Cell* **2010**, *141*, 645.

- (41) Liakatos, A.; Kunz, H. Curr. Opin. Mol. Ther. 2007, 9, 35.
- (42) Gabius, H.-J.; Siebert, H.-C.; André, S.; Jiménez-Barbero, J.; Rüdiger, H. *ChemBioChem* **2004**, *5*, 740.
- (43) van Kooyk, Y.; Rabinovich, G. A. *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 593.
- (44) Degn, S. E.; Thiel, S. Scand. J. Immunol. 2013, 78, 181.
- (45) Weis, W. I.; Drickamer, K. Structure 1994, 2, 1227.
- (46) Turner, M. W. Immunol. Today **1996**, *17*, 532.
- (47) Wallis, R. *Immunobiology* **2002**, *205*, 433.
- (48) Emsley, J.; White, H. E.; O'Hara, B. P.; Oliva, G.; Srinivasan, N.; Tickle, I. J.; Blundell, T. L.; Pepys, M. B.; Wood, S. P. *Nature* 1994, *367*, 338.
- (49) Ferrand, Y.; Crump, M. P.; Davis, A. P. Science 2007, 318, 619.
- (50) Quiocho, F. A. Pure Appl. Chem. 1989, 61, 1293.
- (51) Lemieux, R. U. Chem. Soc. Rev. 1989, 18, 347.
- (52) Gabius, H.-J.; André, S.; Jiménez-Barbero, J.; Romero, A.; Solís, D. *Trends Biochem. Sci.* **2011**, *36*, 298.
- (53) Muraki, M.; Harata, K.; Sugita, N.; Sato, K.-i. *Biochemistry* **1999**, *39*, 292.
- (54) Takahashi, O.; Kohno, Y.; Nishio, M. Chem. Rev. 2010, 110, 6049.
- (55) Grootenhuis, P. D. J.; van Boeckel, C. A. A. J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 2743.
- (56) Sharon, N. Trends Biochem. Sci. 1993, 18, 221.
- (57) Weis, W. I.; Drickamer, K. Annu. Rev. Biochem. **1996**, 65, 441.
- (58) Mazik, M. ChemBioChem **2008**, *9*, 1015.
- Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M. Angew. Chem. 1998, 110, 2908;
   Angew. Chem., Int. Ed. 1998, 37, 2754.
- (60) Lindhorst, T. Artificial Multivalent Sugar Ligands to Understand and Manipulate Carbohydrate-Protein Interactions. In *Host-Guest-Chemistry*; Penadés, S., Ed.; Springer Berlin: Heidelberg, **2002**; Vol. 218, pp 201-235.
- (61) Kiessling, L. L.; Gestwicki, J. E.; Strong, L. E. Curr. Opin. Chem. Biol. 2000, 4, 696.
- (62) Lundquist, J. J.; Toone, E. J. Chem. Rev. 2002, 102, 555.
- (63) Mulder, A.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. Org. Biomol. Chem. 2004, 2, 3409.
- (64) Huskens, J.; Mulder, A.; Auletta, T.; Nijhuis, C. A.; Ludden, M. J. W.; Reinhoudt, D.
   N. J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 6784.

- (65) Hunter, C. A.; Anderson, H. L. *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7624; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 7488.
- (66) Ercolani, G.; Schiaffino, L. Angew. Chem. 2011, 123, 1800; Angew. Chem., Int. Ed.
   2011, 50, 1762.
- (67) Deniaud, D.; Julienne, K.; Gouin, S. G. Org. Biomol. Chem. 2011, 9, 966.
- (68) Barnard, A.; Smith, D. K. Angew. Chem. 2012, 124, 6676; Angew. Chem., Int. Ed. 2012, 51, 6572.
- (69) Mammen, M.; Shakhnovich, E. I.; Deutch, J. M.; Whitesides, G. M. J. Org. Chem.
   **1998**, 63, 3821.
- Nielsen, B. B.; Kastrup, J. S.; Rasmussen, H.; Holtet, T. L.; Graversen, J. H.;
   Etzerodt, M.; Thøgersen, H. C.; Larsen, I. K. *FEBS Lett.* **1997**, *412*, 388.
- (71) Pavan, G. M.; Danani, A.; Pricl, S.; Smith, D. K. J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 9686.
- Jones, S. P.; Pavan, G. M.; Danani, A.; Pricl, S.; Smith, D. K. Chem. Eur. J. 2010, 16, 4519.
- (73) Verez-Bencomo, V.; Fernández-Santana, V.; Hardy, E.; Toledo, M. E.; Rodríguez, M. C.; Heynngnezz, L.; Rodriguez, A.; Baly, A.; Herrera, L.; Izquierdo, M.; Villar, A.; Valdés, Y.; Cosme, K.; Deler, M. L.; Montane, M.; Garcia, E.; Ramos, A.; Aguilar, A.; Medina, E.; Toraño, G.; Sosa, I.; Hernandez, I.; Martínez, R.; Muzachio, A.; Carmenates, A.; Costa, L.; Cardoso, F.; Campa, C.; Diaz, M.; Roy, R. *Science* 2004, *305*, 522.
- (74) Slovin, S. F.; Keding, S. J.; Ragupathi, G. Immunol. Cell Biol. 2005, 83, 418.
- (75) Cipolla, L.; Peri, F.; Airoldi, C. Anti-Cancer Agents Med. Chem. 2008, 8, 92.
- (76) Macdonald, J. S. Semin. Oncol. 1999, 26, 556.
- (77) Peracaula, R.; Tabarés, G.; Royle, L.; Harvey, D. J.; Dwek, R. A.; Rudd, P. M.; de Llorens, R. *Glycobiology* **2003**, *13*, 457.
- (78) Basu, P. S.; Majhi, R.; Batabyal, S. K. *Clin. Biochem.* **2003**, *36*, 373.
- (79) Davis, A. P. *Nature* **2010**, *464*, 169.
- (80) Davis, A. P. Org. Biomol. Chem. 2009, 7, 3629.
- (81) Sookcharoenpinyo, B.; Klein, E.; Ferrand, Y.; Walker, D. B.; Brotherhood, P. R.; Ke,
  C.; Crump, M. P.; Davis, A. P. Angew. Chem. 2012, 124, 4664; Angew. Chem., Int.
  Ed. 2012, 51, 4586.

- (82) Carrero, P.; Ardá, A.; Alvarez, M.; Doyagüez, E. G.; Rivero-Buceta, E.; Quesada, E.;
   Prieto, A.; Solís, D.; Camarasa, M. J.; Peréz-Pérez, M. J.; Jiménez-Barbero, J.; San-Félix, A. Eur. J. Org. Chem. 2013, 2013, 65.
- (83) Davis, A. P.; Wareham, R. S. Angew. Chem. 1999, 111, 3160; Angew. Chem., Int. Ed. 1999, 38, 2978.
- (84) Walker, D. B.; Joshi, G.; Davis, A. Cell. Mol. Life Sci. 2009, 66, 3177.
- (85) Aoyama, Y.; Tanaka, Y.; Toi, H.; Ogoshi, H. J. Am. Chem. Soc. **1988**, 110, 634.
- (86) Aoyama, Y.; Tanaka, Y.; Sugahara, S. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 5397.
- (87) Bhattarai, K. M.; Bonar-Law, R. P.; Davis, A. P.; Murray, B. A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 752.
- (88) Huang, C. Y.; Cabell, L. A.; Lynch, V.; Anslyn, E. V. J. Am. Chem. Soc. **1992**, *114*, 1900.
- (89) Das, G.; Hamilton, A. D. J. Am. Chem. Soc. **1994**, 116, 11139.
- (90) Bonar-Law, R. P.; Sanders, J. K. M. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1995, 3085.
- (91) Bonar-Law, R. P.; Sanders, J. K. M. J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 259.
- (92) Jiao, Y.; Zhang, J.; Zhang, L.; Lin, Z.; He, C.; Duan, C. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6022.
- (93) Nishio, M.; Umezawa, Y.; Hirota, M.; Takeuchi, Y. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8665.
- (94) Aoyama, Y.; Nagai, Y.; Otsuki, J.-i.; Kobayashi, K.; Toi, H. Angew. Chem. 1992, 104, 785; Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1992, 31, 745.
- (95) Ferguson, S. B.; Seward, E. M.; Diederich, F.; Sanford, E. M.; Chou, A.; Inocencio-Szweda, P.; Knobler, C. B. J. Org. Chem. **1988**, *53*, 5593.
- (96) Reenberg, T.; Nyberg, N.; Duus, J. Ø.; van Dongen, J. L. J.; Meldal, M. Eur. J. Org. Chem. 2007, 5003.
- (97) Rusin, O.; Král, V. Tetrahedron Lett. 2001, 42, 4235.
- (98) Striegler, S.; Tewes, E. Eur. J. Inorg. Chem. 2002, 487.
- (99) Král, V.; Rusin, O.; Charvátová, J.; Anzenbacher Jr., P.; Fogl, J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 10147.
- (100) Král, V.; Rusin, O.; Schmidtchen, F. P. Org. Lett. 2001, 3, 873.
- (101) Abe, H.; Aoyagi, Y.; Inouye, M. Org. Lett. 2004, 7, 59.
- (102) Schmuck, C.; Schwegmann, M. Org. Lett. 2005, 7, 3517.

- (103) Cacciarini, M.; Cordiano, E.; Nativi, C.; Roelens, S. J. Org. Chem. 2007, 72, 3933.
- (104) Nativi, C.; Cacciarini, M.; Francesconi, O.; Vacca, A.; Moneti, G.; Ienco, A.; Roelens,
   S. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 4377.
- (105) Nativi, C.; Francesconi, O.; Gabrielli, G.; Vacca, A.; Roelens, S. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 4814.
- (106) Nativi, C.; Francesconi, O.; Gabrielli, G.; De Simone, I.; Turchetti, B.; Mello, T.;
  Mannelli, L. D. C.; Ghelardini, C.; Buzzini, P.; Roelens, S. *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 5064.
- (107) Ardá, A.; Venturi, C.; Nativi, C.; Francesconi, O.; Gabrielli, G.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J.; Roelens, S. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 414.
- (108) Mazik, M.; Bandmann, H.; Sicking, W. Angew. Chem. 2000, 112, 562; Angew. Chem., Int. Ed. 2000, 39, 551.
- (109) Mazik, M. RSC Adv. 2012, 2, 2630.
- (110) Mazik, M.; Hartmann, A. Beilstein J. Org. Chem. 2010, 6, 9.
- (111) Mazik, M.; König, A. J. Org. Chem. 2006, 71, 7854.
- (112) Mazik, M.; Hartmann, A.; Jones, P. G. Chem. Eur. J. 2009, 15, 9147.
- (113) Yanagihara, R.; Tominaga, M.; Aoyama, Y. J. Org. Chem. 1994, 59, 6865.
- (114) Davis, A. P.; James, T. D. Carbohydrate Receptors. In *Functional synthetic receptors*; Schrader, T., Hamilton, A. D., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, **2005**; pp 45-109.
- (115) Fukuhara, G.; Inoue, Y. Chem. Commun. 2010, 46, 9128.
- (116) James, T. D.; Sandanayake, K. R. A. S.; Shinkai, S. Angew. Chem. 1996, 108, 2038;
   Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1996, 35, 1910.
- (117) James, T. D.; Shinkai, S. Top. Curr. Chem. 2002, 218, 159.
- (118) Franzen, S.; Ni, W.; Wang, B. J. Phys. Chem. B 2003, 107, 12942.
- (119) Ni, W.; Kaur, G.; Springsteen, G.; Wang, B.; Franzen, S. *Bioorg. Chem.* **2004**, *32*, 571.
- (120) Zhu, L.; Shabbir, S. H.; Gray, M.; Lynch, V. M.; Sorey, S.; Anslyn, E. V. J. Am. Chem.
   Soc. 2006, 128, 1222.
- (121) Kuivila, H. G.; Keough, A. H.; Soboczenski, E. J. J. Org. Chem. 1954, 19, 780.
- (122) Lorand, J. P.; Edwards, J. O. J. Org. Chem. 1959, 24, 769.

- James, T. D.; Phillips, M. D.; Shinkai, S. In *Boronic acids in saccharide recognition*; Stoddart, J. F.; RSC Publishing: Cambridge: 2006.
- (124) Collins, B. E.; Anslyn, E. V. Chem. Eur. J. 2007, 13, 4700.
- (125) Tsukagoshi, K.; Shinkai, S. J. Org. Chem. 1991, 56, 4089.
- (126) Yoon, J.; Czarnik, A. W. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 5874.
- (127) Bérubé, M.; Dowlut, M.; Hall, D. G. J. Org. Chem. 2008, 73, 6471.
- (128) Sugihara, J. M.; Bowman, C. M. J. Am. Chem. Soc. 1958, 80, 2443.
- (129) Burgemeister, T.; Grobeeinsler, R.; Grotstollen, R.; Mannschreck, A.; Wulff, G. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3403.
- (130) Wulff, G. Pure Appl. Chem. 1982, 54, 2093.
- (131) Hoeg-Jensen, T. QSAR Comb. Sci. 2004, 23, 344.
- (132) Dowlut, M.; Hall, D. G. J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 4226.
- (133) Wang, J.; Jin, S.; Lin, N.; Wang, B. Chem. Biol. Drug Des. 2006, 67, 137.
- (134) Bielecki, M.; Eggert, H.; Norrild, J. C. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 1999, 449.
- (135) Heinrichs, G.; Schellentrager, M.; Kubik, S. Eur. J. Org. Chem. 2006, 4177.
- (136) Wright, A. T.; Zhong, Z. L.; Anslyn, E. V. Angew. Chem. 2005, 117, 5828; Angew. Chem., Int. Ed. 2005, 44, 5679.
- (137) Li, M.; Lin, N.; Huang, Z.; Du, L.; Altier, C.; Fang, H.; Wang, B. J. Am. Chem. Soc.
   2008, 130, 12636.
- (138) Zou, Y.; Broughton, D. L.; Bicker, K. L.; Thompson, P. R.; Lavigne, J. J. *ChemBioChem* **2007**, *8*, 2048.
- (139) Yan, J.; Fang, H.; Wang, B. Med. Res. Rev. 2005, 25, 490.
- (140) Yan, J.; Springsteen, G.; Deeter, S.; Wang, B. Tetrahedron 2004, 60, 11205.
- (141) Angyal, S. J. Angew. Chem. 1969, 5, 172; Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1969, 8, 157.
- (142) Shao, M.; Zhao, Y. Tetrahedron Lett. 2010, 51, 2508.
- (143) Jin, S.; Zhu, C.; Cheng, Y.; Li, M.; Wang, B. Bioorg. Med. Chem. 2010, 18, 1449.
- (144) Pal, A.; Bérubé, M.; Hall, D. G. Angew. Chem. 2010, 122, 1534; Angew. Chem., Int.
   Ed. 2010, 49, 1492.
- (145) Jin, S.; Cheng, Y.; Reid, S.; Li, M.; Wang, B. Med. Res. Rev. 2010, 30, 171.
- (146) Takeuchi, M.; Imada, T.; Shinkai, S. J. Am. Chem. Soc. **1996**, *118*, 10658.

- (147) Ryan, T. J.; Lecollinet, G.; Velasco, T.; Davis, A. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4863.
- (148) Velasco, T.; Lecollinet, G.; Ryan, T.; Davis, A. P. Org. Biomol. Chem. 2004, 2, 645.
- (149) Fielding, L. Tetrahedron 2000, 56, 6151.
- (150) Shinmori, H.; Takeuchi, M.; Shinkai, S. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 1893.
- (151) Takeuchi, M.; Taguchi, M.; Shinmori, H.; Shinkai, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1996**, *69*, 2613.
- (152) Benesi, H. A.; Hildebrand, J. H. J. Am. Chem. Soc. 1949, 71, 2703.
- (153) Springsteen, G.; Wang, B. Chem. Commun. 2001, 1608.
- (154) Springsteen, G.; Wang, B. Tetrahedron 2002, 58, 5291.
- (155) James, T. D.; Linnane, P.; Shinkai, S. Chem. Commun. 1996, 281.
- (156) Yamamoto, M.; Takeuchi, M.; Shinkai, S. Tetrahedron 1998, 54, 3125.
- (157) Schena, M.; Heller, R. A.; Theriault, T. P.; Konrad, K.; Lachenmeier, E.; Davis, R. W. *Trends Biotechnol.* **1998**, *16*, 301.
- (158) Houseman, B. T.; Mrksich, M. Chem. Biol. 2002, 9, 443.
- (159) LaFratta, C. N.; Walt, D. R. Chem. Rev. 2008, 108, 614.
- (160) Liang, P.-H.; Wang, S.-K.; Wong, C.-H. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 11177.
- (161) Park, S.; Shin, I. Org. Lett. 2007, 9, 1675.
- (162) Hjerten, S.; Yi-Ming Li, Y.; Liao, J.-L.; Mohammad, J.; Nakazato, K. i.; Pettersson, G. Nature 1992, 356, 810.
- (163) Li, H.; Wang, H.; Liu, Y.; Liu, Z. Chem. Commun. 2012, 48, 4115.
- (164) Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437.
- (165) Georgiou, I.; Ilyashenko, G.; Whiting, A. Acc. Chem. Res. 2009, 42, 756.
- (166) Zheng, H.; Hall, D. G. Tetrahedron Lett. 2010, 51, 3561.
- (167) Georgiou, I.; Whiting, A. Eur. J. Org. Chem. 2012, 4110.
- (168) Zheng, H.; Lejkowski, M.; Hall, D. G. Chem. Sci. 2011, 2, 1305.
- (169) Hu, X.-D.; Fan, C.-A.; Zhang, F.-M.; Tu, Y. Q. Angew. Chem. 2004, 13, 1734; Angew. Chem., Int. Ed. 2004, 43, 1702.
- (170) Stinson, S. C. Chem. Eng. News Archive 2000, 78, 55.
- (171) Roth, K. Chem. unserer Zeit 2005, 39, 212.

- (172) Ruffolo, R. R.; Spradlin, T. A.; Pollock, G. D.; Waddell, J. E.; Murphy, P. J. J. *Pharmacol. Exp. Ther.* **1981**, *219*, 447.
- (173) Dalko, P. I.; Moisan, L. Angew. Chem. 2001, 113, 3840; Angew. Chem., Int. Ed. 2001, 20, 3726.
- (174) Müller, C. E.; Schreiner, P. R. *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 6136; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 6012.
- (175) Lee, D.; Taylor, M. S. J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 3724.
- (176) Chan, L.; Taylor, M. S. Org. Lett. 2011, 13, 3090.
- (177) Lee, D.; Williamson, C. L.; Chan, L.; Taylor, M. S. J. Am. Chem. Soc. **2012**, 134, 8260.
- (178) Humblet, V.; Misra, P.; Bhushan, K. R.; Nasr, K.; Ko, Y. S.; Tsukamoto, T.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 544.
- (179) Lamoureux, G.; Artavia, G. Curr. Med. Chem. 2010, 17, 2967.
- (180) Maison, W.; Frangioni, J. V.; Pannier, N. Org. Lett. 2004, 6, 4567.
- (181) Pannier, N.; Maison, W. Eur. J. Org. Chem. 2008, 1278.
- (182) Nasr, K.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. J. Org. Chem. 2008, 73, 1056.
- (183) Franzmann, E.; Khalil, F.; Weidmann, C.; Schröder, M.; Rohnke, M.; Janek, J.;
   Smarsly, B. M.; Maison, W. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 8596.
- (184) Fleck, C.; Franzmann, E.; Claes, D.; Rickert, A.; Maison, W. Synthesis 2013, 1452.
- (185) Pannier, N. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen, 2008.
- (186) Claes, D.; Holzapfel, M.; Pannier, N.; Maison, W. Eur. J. Org. Chem. 2013, 6361.
- (187) Wienhold, F. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen, 2010.
- (188) Matos Beja, A.; Paixão, J. A.; Ramos Silva, M.; Alte da Veiga, L.; Rocha Gonsalves, A. M. d. A.; Serra, A. C. Acta Crystallogr. C 2000, 56, 354.
- (189) Wienhold, F.; Claes, D.; Graczyk, K.; Maison, W. Synthesis 2011, 24, 4059.
- (190) Borja, G.; Pleixats, R.; Shafir, A.; Parella, T. Arkivoc 2010, iii, 169.
- (191) Rettig, S. J.; Trotter, J. Can. J. Chem. 1977, 55, 3071.
- (192) Zhdankin, V. V.; Persichini Iii, P. J.; Zhang, L.; Fix, S.; Kiprof, P. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 6705.
- (193) Jezierska, A.; Panek, J. J.; Żukowska, G. Z.; Sporzyński, A. *J. Phys. Org. Chem.* **2010**, *23*, 451.

- (194) Adamczyk-Woźniak, A.; Cyrański, M. K.; Jakubczyk, M.; Klimentowska, P.; Koll, A.;
   Kołodziejczak, J.; Pojmaj, G.; Żubrowska, A.; Żukowska, G. Z.; Sporzyński, A. J.
   *Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 2324.
- (195) Sun, J.; Perfetti, M. T.; Santos, W. L. J. Org. Chem. 2011, 76, 3571.
- (196) Roy, C. D.; Brown, H. C. Monatsh. Chem. 2007, 138, 879.
- (197) Morrison, J. D.; Grandbois, E. R.; Howard, S. I.; Weisman, G. R. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 2619.
- (198) Fielden, J.; Speldrich, M.; Besson, C.; Kögerler, P. Inorg. Chem. 2012, 51, 2734.
- Bianchini, C.; Farnetti, E.; Glendenning, L.; Graziani, M.; Nardin, G.; Peruzzini, M.;
   Rocchini, E.; Zanobini, F. *Organometallics* 1995, *14*, 1489.
- (200) Mothana, S.; Grassot, J.-M.; Hall, D. G. Angew. Chem. 2010, 122, 2945; Angew. Chem., Int. Ed. 2010, 49, 2883.
- (201) Roth, S.; Thomas, N. R. Synlett 2010, 607.
- (202) Lam, P. Y. S.; Clark, C. G.; Saubern, S.; Adams, J.; Winters, M. P.; Chan, D. M. T.; Combs, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2941.
- (203) Chan, D. M. T.; Monaco, K. L.; Li, R.; Bonne, D.; Clark, C. G.; Lam, P. Y. S. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3863.
- (204) Jin, S.; Choudhary, G.; Cheng, Y.; Dai, C.; Li, M.; Wang, B. *Chem. Commun.* **2009**, 5251.
- (205) Mager, M. D.; LaPointe, V.; Stevens, M. M. Nat. Chem. 2011, 3, 582.
- (206) Humblet, V.; Misra, P.; Bhushan, K. R.; Nasr, K.; Ko, Y.-S.; Tsukamoto, T.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. J. Med. Chem. 2008, 52, 544.
- (207) Mann, D. A.; Kanai, M.; Maly, D. J.; Kiessling, L. L. J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 10575.
- (208) Khalil, F. Dissertation, Universität Hamburg, 2013.
- (209) Organic solvents: physical properties and methods of purification, 4th ed.; Riddick, J. A.; Bunger, W. B.; Sakano, T. K., Eds.; Wiley: New York, **1970**.
- (210) Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. J. Org. Chem. 1997, 62, 7512.
- (211) Boronic Acids: Preparation, Applications in Organic Synthesis and Medicine (Volume 1 and 2); Hall, D. G., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, **2005**.
- (212) Curran, D. P.; Liu, H.; Josien, H.; Ko, S.-B. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 11385.

- (213) Wanka, L.; Cabrele, C.; Vanejews, M.; Schreiner, P. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 2007, 1474.
- (214) Iwasaki, F.; Maki, T.; Onomura, O.; Nakashima, W.; Matsumura, Y. J. Org. Chem.
   2000, 65, 996.
- (215) Kündig, E. P.; Enriquez Garcia, A.; Lomberget, T.; Perez Garcia, P.; Romanens, P. *Chem. Commun.* **2008**, 3519.

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift mit dem Titel

"Boronolektine auf Basis von Adamantan zur Erkennung von Kohlenhydraten"

selbständig angefertigt und ohne fremde Hilfe verfasst habe.

Andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel habe ich nicht verwandt und die wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Ich erkläre außerdem, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegt habe.

Ich habe früher außer mit den im Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, den

Unterschrift