

Wasserlösliche molekulare Klammern und Pinzetten zur Komplexierung von biorelevanten Molekülen



Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Chemie

der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Michael Fokkens

aus Amsterdam

Marburg/Lahn 2005

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am
angenommen.

Erstgutachter: Prof. Dr. Thomas Schrader

Zweitgutachter: Prof. Dr. Gerhard Klebe

Tag der mündlichen Prüfung am: 11. Juli 2005.

*„Man braucht nichts im Leben zu fürchten,
man muss nur alles verstehen.“*

Marie Curie

für Mina

Danksagung

Als erstes möchte ich mich bei Professor Thomas Schrader bedanken für die Möglichkeit in seinem Arbeitskreis promovieren zu können, für die Überlassung des interessanten Themas, seine Betreuung, die wertvollen Anregungen und seine stete Diskussionsbereitschaft.

Bei Professor Frank-Gerrit Klärner möchte ich mich dafür bedanken, dass ich die Möglichkeit hatte, die Synthese der Acetat-Pinzette in seiner Arbeitsgruppe lernen zu können. Ebenfalls möchte ich mich für seine wertvollen Anregungen und Diskussionen sowie seine Hilfsbereitschaft bedanken.

Bei den Professoren Gerhard Klebe, Lars-Oliver Essen und Jörg Lorberth möchte ich mich für die Übernahme des Koreferats bedanken.

Dem Arbeitskreis Schrader möchte ich für den Humor, die lustigen Kaffeepausen und die Hilfe danken.

Beim Arbeitskreis Klärner, insbesondere bei Dr. Jolanta Polkowska, Carla Verhaelen und Anke Nellesen, möchte ich mich für ihre freundliche Aufnahme in der Gruppe sowie ihre Hilfe bedanken.

Meinen Vertiefungsstudenten Christian Schuh, Sebastian Koch, Katharina Kowalski, Gero Becker, Sven Siebler und Sabrina Kille danke ich für ihr Engagement.

Bei Alphonse Mbonimana und Gert Häde von der NMR-Abteilung des Fachbereichs Chemie möchte ich für ihre Geduld beim Messen von unzähligen NMR-Titrationen bedanken. Der Masseabteilung des Fachbereichs Chemie sowie Dr. Uwe Linne danke ich für das Messen der Massen.

Jasmine Fokkens möchte ich für ihre Hilfe bei den ITC-Experimenten danken.

Bei Jasmine Fokkens, Matthias Junkers und Michael Maue möchte ich mich für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken. Ohne ihre Hilfe wären noch viel mehr Rechtschreibfehler drin.

Bei meinen Eltern möchte ich mich für ihre Unterstützung bedanken. Meinen Freunden danke ich für die Abwechslung und die lustigen Treffen. Insbesondere Edgar & Silvia Specker, Tanja Sgraja und Daniel Hahn möchte ich für die langen cocktailgetränkten Spieleabende danken.

Schließlich möchte ich mich ganz besonders bei meiner Frau Jasmine für ihre Hilfe, ihre Unterstützung und ihre Geduld mit mir bedanken und dafür, dass sie mir immer wieder Mut gemacht hat. Ich möchte ihr auch für die schöne Zeit in Marburg danken. Ihre Unterstützung war ein großer Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit.

Teile dieser Arbeit sind publiziert, eingereicht oder auf Kongressen präsentiert worden:

- [1] *NAD⁺-Erkennung in Wasser*, Michael Fokkens, Christian Jasper, Thomas Schrader, Jolanta Polkowska, Jens Panitzky, Frank-Gerrit Klärner, Poster präsentiert auf dem Symposium „Molekulare Erkennung“ des Sonderforschungsbereichs SFB 452, Essen, März **2002**.
- [2] *Neue Wirkstoffe zu Therapie, Diagnostik und Prophylaxe der Makuladegeneration*. Patentanmeldung vom 24.11.**2004**. Erfinder: Thomas Schrader, Michael Fokkens, Reza Zadmand, Christian Jasper, Frank-Gerrit Klärner, Jolanta Polkowska, Frank Bastkowski. *DE 10 2004 056 822.7*.
- [3] *Selective Complexation of N-Alkylpyridinium Salts: Binding of NAD⁺ in Water*, Michael Fokkens, Christian Jasper, Thomas Schrader, Felix Koziol, Christian Ochsenfeld, Jolanta Polkowska, Matthias Lobert, Björn Kahlert, Frank-Gerrit Klärner, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 477-494.
- [4] *A Molecular Tweezer for Lysine and Arginine*. Michael Fokkens, Thomas Schrader, Frank-Gerrit Klärner, eingereicht bei *J. Am. Chem. Soc.* **2005**.
- [5] *Inclusion of Thiamine Diphosphate and S-Adenosylmethionine at their Chemically Active Sites*. Thomas Schrader, Michael Fokkens, Frank-Gerrit Klärner, Jolanta Polkowska, Frank Bastkowski, eingereicht bei *J. Org. Chem.* **2005**.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
Nomenklatur der Aminosäuren	V
1 Einleitung und Aufgabenstellung	1
1.1 Die Natur als Vorbild	1
1.2 Molekulare Klammern und Pinzetten	2
1.3 Vorarbeiten	7
1.4 Aufgabenstellung	10
2 Durchführung und Ergebnisse	14
2.1 Synthesen	14
2.2 Bindungsexperimente mit der Bisphosphonat-Klammer	24
2.2.1 Eigenschaften der Bisphosphonat-Klammer und Durchführung der Bindungsexperimente	24
2.2.2 <i>N</i> -Alkylpyridiniumsalze und NAD ⁺	27
2.2.3 Bindungsexperimente mit Nukleinbasen	38
2.2.4 Bindungsexperimente mit Thiamin	48
2.2.5 Zusammenfassung (Bisphosphonat-Klammer)	55
2.3 Bindungsexperimente mit der Bisphosphonat-Pinzette	56
2.3.1 Eigenschaften der Bisphosphonat-Pinzette und Durchführung der Bindungsexperimente	56
2.3.2 Erste Bindungsexperimente mit <i>N</i> -Alkylpyridiniumsalzen	56
2.3.3 Bindungsexperimente mit einfachen Ammoniumsalzen	57
2.3.4 Bindungsexperimente mit basischen Aminosäuren	60
2.3.5 Bindungsexperimente mit kurzen Arginin- und Lysin-haltigen Signalpeptiden	65
2.3.6 Einfluss von von dipolaren aprotischen Kosolventien	68
2.3.7 Zusammenfassung (Bisphosphonat-Pinzette)	69
2.4 Isothermale Titrationskalorimetrie	70
2.4.1 Einleitung	70
2.4.2 Theoretische Grundlagen	71

2.4.3	ITC Messungen mit der Bisphosphonat-Klammer 24	77
2.4.4	ITC Messungen mit der Bisphosphonat-Pinzette 11	78
3	Zusammenfassung und Ausblick	79
4	Experimenteller Teil	85
4.1	Material und Methoden	85
4.2	Synthesen	88
4.2.1	Synthese des Spacers 14	88
4.2.2	Synthese der Modellverbindung	92
4.2.3	Synthese der Hydroxyklammer 21	97
4.2.4	Synthese des Phosphonatklammer Tetrabutylammoniumsalzes 10	99
4.2.5	Synthese der Lithium-phosphonatklammer 24	101
4.2.6	Synthese der Seitenwand der Pinzette 29	103
4.2.7	Synthese der Hydroxypinzette 38	108
4.2.8	Synthese des Phosphonatpinzette Lithiumsalzes 11	111
4.3	NMR-Titrationsen	113
4.3.1	Durchführung	113
4.3.2	Titrationsen mit der Bisphosphonat-Klammer	115
4.3.3	Titrationsen mit der Bisphosphonat-Pinzette	136
4.3.4	NMR Titrationsen mit Lösungsmitteln	159
4.4	Isothermale Titrationskalorimetrie	160
4.4.1	Das Messgerät	160
4.4.2	Reinigung des Messgerätes	161
4.4.3	Kalibrierung des Messgerätes	161
4.4.4	Durchführung der Messungen	162
4.4.5	Messergebnisse	164
5	Literatur	166

Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström (1 Å = 10 ⁻¹⁰ m)
abs.	absolut
Ac	Acetyl
AMD	altersbedingten Makuladegeneration
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
AZT	3'Azido-2',3'-dideoxythymidin
A2E	<i>N</i> -Retinyl- <i>N</i> -retinyliden-ethanolamin
ber.	berechnet
Bu	Butyl
CHN	Elementaranalyse
CMP	Cytidinmonophosphat
COX	Cytochrom <i>c</i> Oxidase
d	Tag(e)
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyanobenzochinon
DMAP	4-Dimethylaminophenol-Hydrochlorid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ESI	Elektronenspray Ionisierung
Et	Ethyl
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
gef.	gefunden
G	Gast
GMP	Guanosinmonophosphat
h	Stunde(n)
HOMO	<i>highest occupied molecular orbital</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HR	<i>High Resolution</i>
ITC	Isothermale Titrationskalorimetrie
k	Kilo- (10 ³)
konz.	konzentriert
L	Liter
LAH	Lithiumaluminiumhydrid

LUMO	<i>lowest unoccupied molecular orbital</i>
μ	Mikro- (10^{-6})
m	Milli (10^{-3})
M	Molarität (mol L^{-1})
Me	Methyl
min	Minute(n)
MS	Massenspektrometrie
NAD ⁺	Nikotinamidadenindinukleotid
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid
NADP	Nikotinamidadenindinukleotidphosphat
NMN	Nikotinamidmononukleotid
NMR	Kernspinresonanz (<i>Nuclear Magnetic Resonanz</i>)
NOE	<i>Nuclear Overhauser Enhancement</i>
<i>p</i>	para
Ph	Phenyl
<i>ppm</i>	<i>parts per million</i>
RT	Raumtemperatur
S	Stearinsäure
Smp.	Schmelzpunkt
THF	Tetrahydrofuran
TMP	Thymidinmonophosphat
TPP	Thiaminpyrophosphat
UMP	Uridinmonophosphat
UV	ultraviolett
verd.	verdünnt
VIS	sichtbarer Wellenlängenbereich des Lichts
W	Wirt

Nomenklatur der Aminosäuren

Aminosäure	Dreibuchstabencode	Einbuchstabencode
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asparaginsäure (Aspartat)	Asp	D
Cystein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q
Glutaminsäure (Glutamat)	Glu	E
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

1. Einleitung und Aufgabenstellung

1.1 Die Natur als Vorbild

In der Natur werden viele molekularbiologische Vorgänge durch intermolekulare, nichtkovalente Wechselwirkungen vermittelt. So beruhen unter anderem die Wechselwirkungen zwischen Enzym und Substrat oder Wirkstoff auf nichtkovalenten Wechselwirkungen. Auch Interaktionen zwischen Proteinen^[1], bei Transmembrantransporten, oder bei der Protein- und DNA-Faltung beruhen auf nichtkovalenten Wechselwirkungen.^[2-4] Trotz immer umfangreicheren Kenntnissen der biochemischen Systeme bleiben weiterhin viele Fragen in Hinblick auf die beteiligten intermolekularen Wechselwirkungen offen. Zusätzlich werden durch die immer weiter voranschreitenden Genomics- und Proteomics-Untersuchungen immer mehr Informationen gewonnen, aber auch neue Fragen aufgeworfen. Die Kenntnis, welche Gene in einem Organismus vorhanden sind und exprimiert werden können (Genomics) reicht nicht um alle biologischen Vorgänge erklären zu können. Auch die Kenntnisse darüber, welche Proteine in einem Organismus vorhanden sind (Proteomics), helfen nicht weiter. Entscheidend ist, wie die Proteine miteinander, mit kleinen Biomolekülen und mit anderen supramolekularen Verbindungen wechselwirken. Molekulare Interaktionen und chemische Umwandlungen bilden die Grundlage der Biologie.^[5]

Die supramolekulare Chemie versucht mit einem synthetischen Molekül ein anderes Molekül von Interesse über nichtkovalente Wechselwirkungen zu binden und so durch Kombination von biochemischen und organischen Methoden mehr über die Wechselwirkungen, die bei der Bildung von Komplexen relevant sind, zu erfahren.^[6] Die organische Chemie bietet dabei die Möglichkeit Modellverbindungen mit zu dem Substrat komplementären Wechselwirkungszentren zu konzipieren und zu synthetisieren.^[7, 8]

Aus der Untersuchung der Wechselwirkungseigenschaften von synthetischen Rezeptoren ergibt sich, neben der verbesserten Syntheseplanung für neue supramolekulare Komplexe auch die Möglichkeit Wechselwirkungen in biologischen Systemen genauer zu studieren. Diese Erkenntnisse können wiederum für das rationale Wirkstoffdesign benutzt werden.^[7, 9, 10] Zusätzlich bieten solche Ergebnisse eine Grundlage für die Entwicklung von neuen analytischen und diagnostischen Methoden.^[7, 11]

Mit der Formulierung des *Schlüssel-Schloss-Prinzips* legte Emil Fischer schon früh den Grundstein der supramolekularen Chemie.^[12] Das Prinzip erklärt, warum Proteine selektiv

Substrate erkennen können. Sie nehmen ausschließlich Substrate auf, die in ihrer Form und Anordnung komplementär zur Bindungsstelle im Enzym sind (Abb. 1.1).

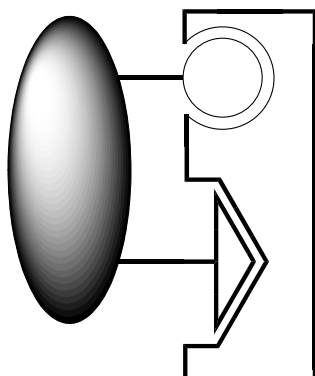


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung des Schlüssel-Schloss-Prinzips.

In den 30'er Jahren des letzten Jahrhunderts war zum ersten Mal die Rede von einem Übermolekül im Zusammenhang mit koordinativ gesättigten Komplexen.^[13] Werden Bindungsstellen für nichtkovalente Wechselwirkungen gezielt in ein Molekül eingebaut, um damit ein anderes Molekül binden zu können und so ein *Supermolekül* zu kreieren, so spricht man von der Supramolekularen Chemie.^[14] Das Supermolekül, auch Komplex genannt, besteht aus dem Wirtmolekül (meistens der größere der beiden Komplexpartner oder auch jenes Molekül, dessen Bindungsstellen bei der Bindung konvergieren) und dem Gastmolekül (das Substrat, oder auch jenes Molekül, das vom Wirt aufgenommen wird).^[15, 16]

Um eine möglichst effektive Komplexbildung zwischen Wirt und Gast zu erreichen, sollte der Wirt sowohl in Bezug auf die sterischen Eigenschaften als auch in Bezug auf die Bindungsstellen komplementär auf den Gast abgestimmt, d.h. präorganisiert werden.^[17] Eine geschickte Präorganisation soll verhindern, dass bei der Bindung des Gastes eine ungünstige Reorganisation des Wirtes stattfinden muss und damit eine entropisch ungünstige Situation entsteht.^[8]

1.2 Molekulare Klammern und Pinzetten

In den letzten Jahren hat es viele Ansätze gegeben Wirtmoleküle zu schaffen, die eine optimale Präorganisation der Bindungsstellen sowie eine günstige sterische Konfiguration zur Aufnahme von Gästen besitzen.^[18-21] Whitlock *et al.* stellten als erste einen Wirttyp vor, der als molekulare Pinzette bezeichnet wurde.^[22] Whitlock definierte eine Pinzette als ein Molekül, das zwei Bindungsstellen anbietet, die von einem Spacer in einem definierten

Abstand gehalten und fixiert werden und so einen Gast *sandwich-artig* umschließen können (Abb. 1.2). Bei den Bindungsstellen handelt es sich in der Regel um Aromaten. Später wurde die Definition um eine Eigenschaft erweitert: es sollte sich bei den angebotenen Bindungsstellen um Chromophore handeln.^[23]

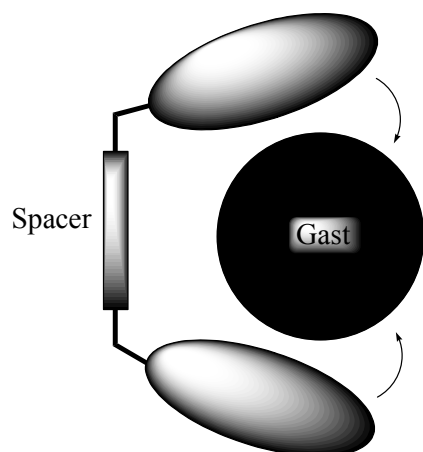


Abbildung 1.2: Schematische Darstellung der Wirkungsweise einer molekularen Pinzette.

Whitlock verwirklichte dieses Prinzip indem er zwei Koffein-Moleküle über einen Spacer miteinander verknüpfte. Durch Variation des Spacers konnte die optimale Länge ermittelt werden (Abb. 1.3). Der Einfluss der Präorganisation wird deutlich, wenn die Bindungskonstante der Pinzette **2** für die Bindung z.B. von 1,3-Dihydroxynaphthalin-2-carbonsäure mit der Bindung an das entsprechende Monomer **1** verglichen wird. Dabei lag die Bindungskonstante des Monomers **1** im günstigsten Fall ($K_a = 47400 \text{ M}^{-1}$ in einem Zweiphasensystem aus Wasser und Ethylendichlorid) um zwei Größenordnungen unter der der Pinzette.

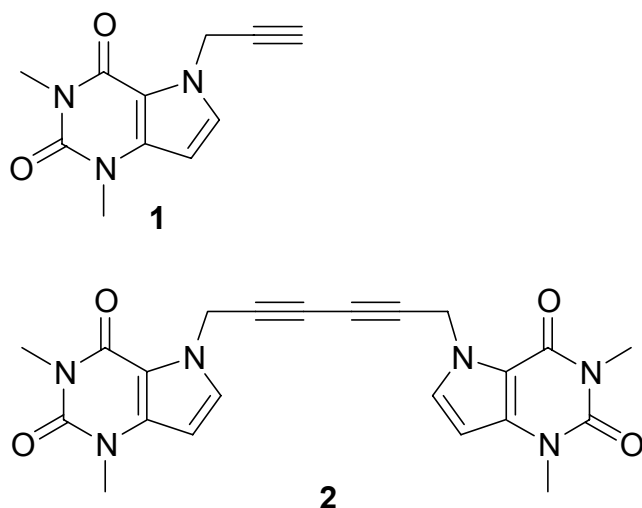


Abbildung 1.3: Die von Whitlock vorgestellte Pinzette **2** und das entsprechende Monomer **1**.

Eine der allgemeinen Forderungen an Pinzetten hatte Whitlock jedoch nicht mit seiner Pinzette erfüllt: die Bindungsstellen sind nicht fixiert. Die Koffein-Einheiten befinden sich nicht immer in der *syn*-Anordnung, sondern können unabhängig von einander rotieren.

Whitlocks Pinzette wurde zum Ursprung für viele weitere Pinzetten.^[24-31] Die Fähigkeit, den Gast über π - π -Wechselwirkungen und den hydrophoben Effekt zu binden, wird bei vielen Rezeptoren noch um die Möglichkeit erweitert, Wasserstoffbrücken zum Gastmolekül auszubilden. Als Beispiel sei hier die Rezeptorfamilie, die von Rebek *et al.* auf Basis der Kemp'schen Trisäure entwickelt wurde, genannt (Abb. 1.4).^[32]

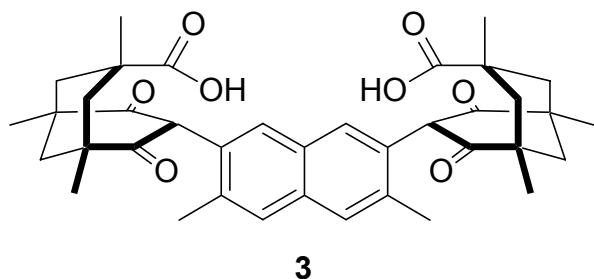


Abbildung 1.4: Ein Beispiel aus der von Rebek *et al.* auf Basis der Kemp'schen Trisäure entwickelten Pinzetten-Familie mit zusätzlichen Bindungsstellen für Wasserstoff-Brücken. Abgebildet ist ein Rezeptor für Adenin.

Das Problem der freien Rotation der beiden Seitenwände wurde bei den Systemen von Zimmerman *et al.* durch eine entsprechende Präorganisation verhindert. Die Seitenwände, die durch einen Dibenz[c,h]acridin-Spacer fixiert werden, sind in ihrer Rotation stark eingegrenzt. Aufgrund ihrer Anordnung kann der Abstand zwischen den beiden Seitenwänden zwischen 6.27 Å und 7.24 Å variieren und somit kann sich der Rezeptor optimal dem Gast anpassen.^[23]

Spätere Rezeptoren verfügten außerdem über die Möglichkeit gezielt Wasserstoffbrücken zum Gast ausbilden zu können.^[23]

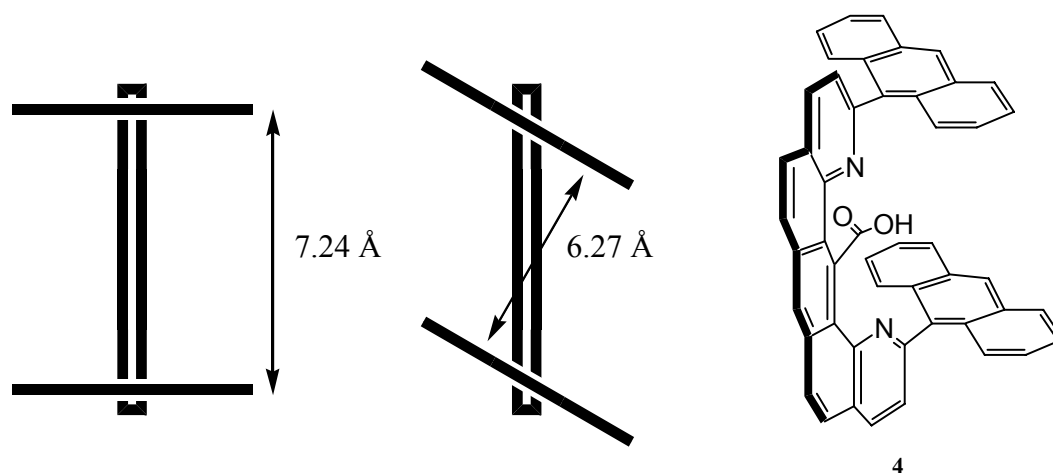


Abbildung 1.5: Schematische Darstellung der Pinzetten, die von Zimmerman *et al.* konzipiert wurden (links). Rechts: ein Beispiel für diese Anordnung.

Ein anderer Ansatz wurde von Nolte *et al.* verfolgt. Die Gruppe um Nolte synthetisierte eine Familie von Pinzetten und molekularen „Körben“ auf Basis von Glykoluril (Abb. 1.6). Dieses Molekül besitzt eine konkave Geometrie und ist damit eine gute Grundlage für größere Moleküle, die einen Hohlraum aufweisen. Diese Pinzetten dienen als Rezeptoren für 1,3-Dihydroxybenzol. Die Bindung erfolgt dabei über eine Kombination aus π - π -Stacking, Wasserstoffbrückenbindungen und dem sogenannten Kavitätseffekt.^[33-36] Der Kavitätseffekt äußert sich darin, dass es entropisch günstig ist, die Kavität des Rezeptors mit einem Gast auszufüllen und somit Lösungsmittelmoleküle zu verdrängen. Durch Variation des Aufbaus des Rezeptors konnte genau untersucht werden, wie hoch die Beiträge der π - π -Wechselwirkungen, der Wasserstoffbrücken und des Kavitätseffekts sind.^[37]

Obwohl die Rezeptoren ursprünglich als biomimetische Katalysatoren gedacht waren, stellte sich bald heraus, dass die Rezeptoren in wässriger Lösung definierte Nanopartikel bilden.^{[35,}

36]

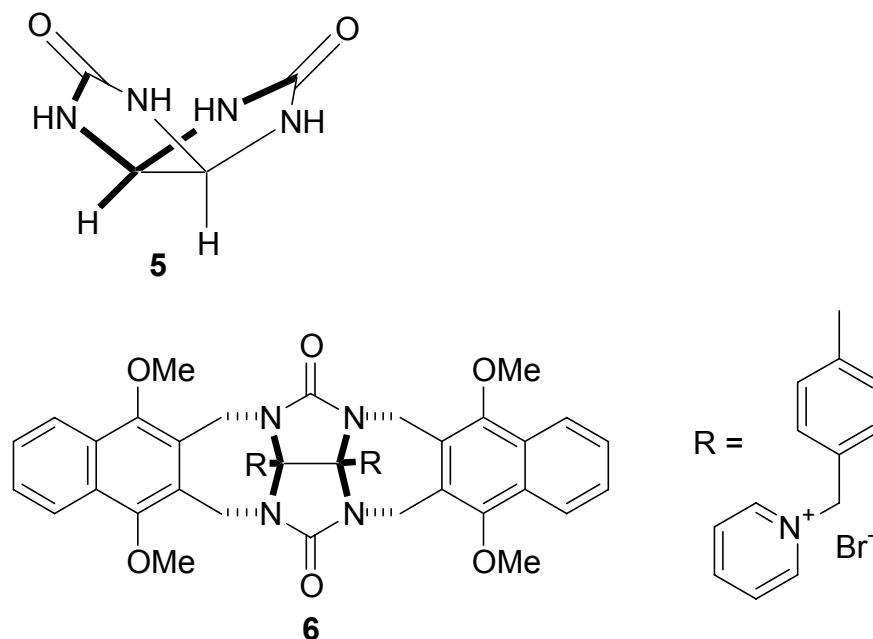


Abbildung 1.6: Beispiel einer Pinzette (unten) auf Glycoluril-Basis (oben).^[35]

Ein ähnliches Prinzip wird in den von Harmata *et al.* beschriebenen chiralen Pinzetten benutzt. Als Grundlage dient Kagan's Ether 7 (Abb. 1.7).^[38] Da die erste Pinzette dieser Familie keinen Einschluss von Gästen, sondern lediglich eine Selbstassoziation zeigte, folgten bald Derivate mit größeren Kavitäten. Diese binden Gäste über π - π -Wechselwirkungen.^[39, 40]

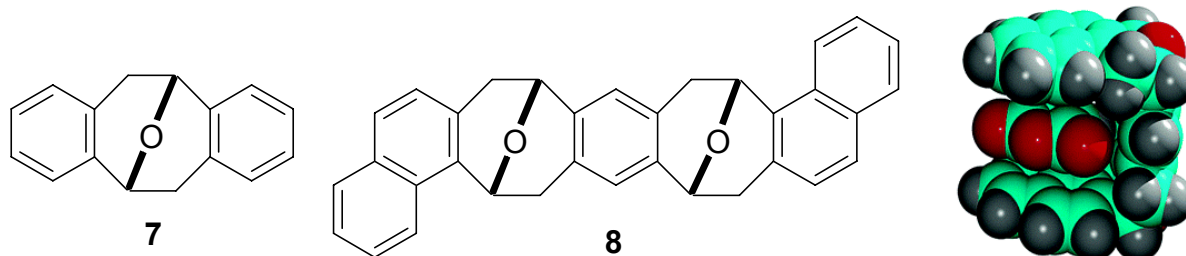


Abbildung 1.7: Kagans Ether 7 (links) und eine chirale Pinzette auf Basis von Kagans Ether (mitte) sowie eine Abbildung der Kristallstruktur des Komplexes mit Maleinsäureanhydrid zur Verdeutlichung der räumlichen Anordnung.^[40]

Ebenfalls auf einem cyclischen Ether basieren die Pinzetten von Fukazawa *et al.* (Abb. 1.8). Obwohl diese Pinzetten nicht in ihrer „U-Form“ fixiert sind, sind sie doch in der Lage elektronenarme aromatische Gäste zu binden. Aufgrund ihrer Flexibilität bilden die Pinzetten anstatt 1:1 meist Komplexe 2:1- oder 1:2-Komplexe mit dem Gast.^[41]

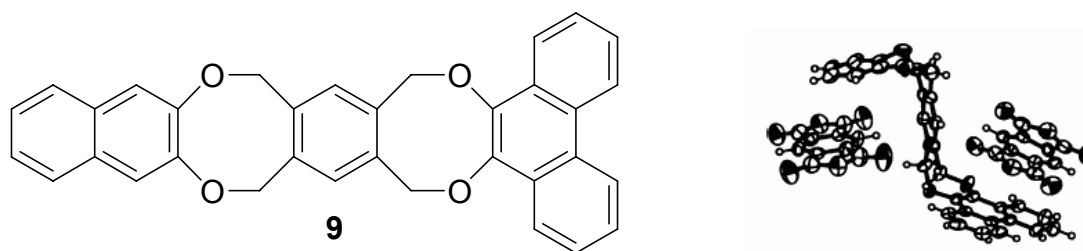


Abbildung 1.8: Beispiel einer flexiblen Pinzette nach Fukazawa *et al.* (links) und ein Beispiel für die Struktur eines 2:1-Komplexes (rechts).^[41]

In polar aprotischen Lösungsmitteln sind die Beiträge der π - π -Wechselwirkungen und π -Kation-Wechselwirkungen relativ gering.^[10, 42] In protischen Lösungsmitteln jedoch sind die π -Wechselwirkungen viel effektiver, vor allem, weil sie hier häufig mit dem hydrophoben Effekt gepaart sind, wodurch die Bindung von Gästen meist noch effektiver wird. Gleichzeitig birgt dies den Vorteil mehr über biologische Vorgänge lernen zu können und eine bessere Vergleichbarkeit von künstlichen Systemen mit biologischen Systemen erreichen zu können. Aus diesem Grund sind wasserlösliche Rezeptoren zusätzlich von besonderem Interesse. Daher liegen die Bemühungen vieler Supramolekular arbeitender Gruppen in letzter Zeit auf der Entwicklung von wasserlöslichen Rezeptoren.^[43, 44]

1.3 Vorarbeiten

Vor etwa 10 Jahren stellten Klärner *et al.* eine neue Klasse von Pinzetten vor (Abb. 1.9).^[45] Im Vergleich mit analogen Makrozyklen, die bereits zwei Jahre vorher beschrieben wurden (Abb. 1.9)^[46, 47], erlauben die Pinzetten ein ausführlicheres Gast-Portfolio, weil sie nach unten offen sind. Zusätzlich können sie sich aufgrund einer erstaunlichen Flexibilität ihrer Seitenwände besser an die Geometrie ihrer Gäste anpassen.^[45] Später wurden auf Basis der gleichen Spacer-Einheit noch molekulare Klammern entwickelt.^[48, 49] Entgegen der sonst üblichen Bezeichnungsweise bevorzugt Klärner die Bezeichnung Pinzette für ein Molekül, das die Fähigkeit besitzt (wie eine Pinzette) um den Gast herum zu greifen. Dieser Effekt wird durch die relativ geringe Energie, die zur Veränderung der Winkel zwischen Seitenwand und Spacer benötigt wird verstärkt.^[50] Moleküle mit geraden Seitenwänden werden hingegen als Klammer bezeichnet. Diese Nomenklatur wird im Folgenden beibehalten. Die Klammer besitzt im Gegensatz zu den meisten Makrozyklen eine ausgeprägte Selektivität bezüglich der Substrattopologie, da sie zwischen planaren (zyklischen) Gästen und kugelförmigen Gästen

unterscheiden kann. Letztere werden in der schlanken Klammer aus sterischen Gründen nicht eingeschlossen.

Weil viele Pinzetten und Klammern aus ein und demselben Spacer aufgebaut werden, kann man ihre Synthese auch als molekulares „Lego“ bezeichnen.^[50] Durch Variation des Spacers oder der Seitenwände kann dadurch die Geometrie des Rezeptors optimal auf den Gast angepasst werden. Damit bieten die Pinzetten und Klammern vielfältige und einzigartige Möglichkeiten. Vor kurzem wurden von Chen Iptycenchinone vorgestellt, die eine ähnliche Geometrie besitzen, aber aufgrund ihrer Synthese eine andere Modularität aufweisen.^[51]

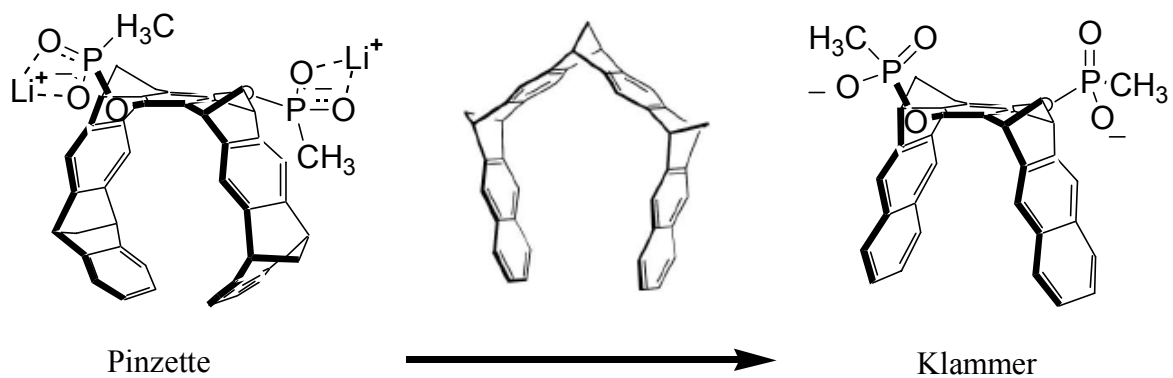


Abbildung 1.9: Von Klärner entwickelte Pinzetten und Klammern.

Die Pinzetten der Klärner-Gruppe (mit Benzol- oder Naphthalin-Spacer, Abb. 1.10) stellten sich in apolaren Lösungsmitteln schon bald als gute Rezeptoren für Kationen und elektronenarme Aromaten heraus, wie z.B. für Terephthalsäure-dinitril oder *p*-Benzochinon.^[45, 52, 53] Das Gastprofil wurde inzwischen um eine Vielzahl von elektronenarmen Aromaten erweitert. Die Bindung erfolgt dabei über dispersive Wechselwirkungen, wie z.B. π - π -, CH- π - und Kation- π -Wechselwirkungen.^[50, 54] Kürzlich konnte gezeigt werden, dass bei der Bindung von 1,2,4,5-Tetracyanobenzol eine komplexinduzierte Lumineszenz auftritt. Dabei handelt es sich hauptsächlich um eine *Charge-Transfer*-Wechselwirkung.^[55]

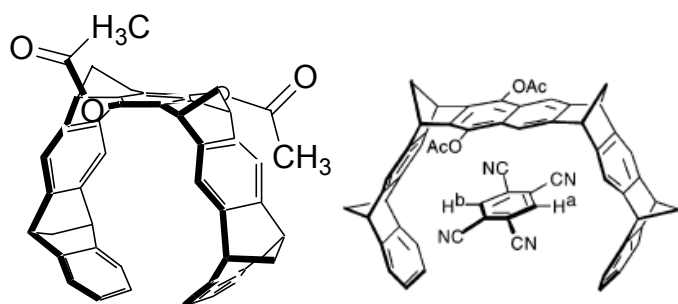


Abbildung 1.10: Pinzette mit Benzol-Spacer (links) und Naphthalin-Spacer (rechts, im Komplex mit Tetracyanobenzol).^[50]

Durch Variation der Seitenketten R' wurde der Einfluss der Substituenten auf die Bindung von Gästen in Chloroform untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass Reste wie $-OH$, $-OAc$ und $-OCONHPh$ den Gasteinschluss begünstigen, während $-OMe$ -Reste die Bindung negativ beeinflussen. Die Erklärung folgt aus einer genauen Betrachtung der elektrostatischen Oberflächenpotentiale^[56, 57] und der Röntgenstrukturen von solchen Wirt-Gast-Komplexen.^{[57,}

^{58]} Sie beruht interessanterweise weniger auf einer Änderung des elektrostatischen Oberflächenpotentials, sondern vielmehr auf den unterschiedlichen Größen und Konformationen der Substituenten. Die $-OMe$ -Reste bevorzugen eine *syn*-Anordnung zu dem Grundgerüst der Pinzette und blockieren damit die Kavität. Im Falle der Pinzette mit Benzol-Spacer wird der längere $-OCH_2COOCH_2CH_3$ -Rest sogar in die Kavität hinein gezogen und gibt damit einen Hinweis auf einen zusätzlichen Einschluss von Gästen mit Alkylketten.^[57]

Die Pinzette mit Naphthalin-Spacer eignet sich, aufgrund ihres breiten Gastprofils sehr gut für vertiefende Untersuchungen des Bindungsmodus. So konnte im Festkörper-NMR-Spektrum gezeigt werden, dass die Änderung der chemischen Verschiebung der Gast-Protonen (bis zu 3 ppm) noch größer ist als in Lösung. Außerdem ist im Festkörper-NMR-Spektrum eine Aufspaltung von in Lösung chemisch-äquivalenten Protonen sichtbar, was den, nach Betrachtung der Experimenten in Lösung, vorgeschlagenen Bindungsmodus unterstützt.^[59, 60]

Zusätzlich wurde gezeigt, dass es möglich ist, einen Wert für die chemische Verschiebung der Komplexpartner mit quantenchemischen Methoden vorherzusagen.^[59-61] Außerdem wurde der Einfluss von Druck und Temperatur auf die Komplexbildung untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass bei der Komplexbildung teilweise eine große Zunahme der Entropie stattfindet. Dies ist vermutlich auf das Freisetzen von Lösungsmittelmolekülen bei der Komplexbildung zurückzuführen.^[62] Durch kovalente Immobilisierung der Pinzette an einer stationären HPLC-Phase konnte eine für elektronenarme Aromaten selektive stationäre HPLC-Phase geschaffen werden. Die Retentionszeiten der Gäste auf der stationären Phase korrelieren mit den in Bindungsexperimenten bestimmten Bindungskonstanten.^[63]

Bis vor kurzem waren jedoch alle Pinzetten und Klammern nur in organischen Lösungsmitteln löslich. Durch die Einführung von Bisphosphonat-Substituenten an die Klammer mit Benzol-Spacer (Abb. 1.11) wurde es zum ersten Mal möglich, mit diesem wertvollen System Studien in Wasser durchzuführen.^[64, 65] Die Klammer kombiniert die Bindungseigenschaften der Kavität mit denen der Bisphosphonate. Die Erkennung von Ammonium-^[66-68] und Guanidinium-Kationen^[69, 70] durch *p*-Xylylenbisphosphonate wurde bereits von Schrader *et al.* gezeigt. Mit dieser wasserlöslichen Klammer wurde es nun möglich *N*-Alkylpyridinium-Salze, unter anderem auch NAD^+ in Wasser zu binden. Da in Wasser die π - π - und π -Kation-Wechselwirkung mit dem hydrophoben Effekt gepaart werden^[71], sind sie viel ausgeprägter als in aprotischen Lösungsmitteln und es werden höhere Bindungskonstanten erreicht. So konnte zum Beispiel für die Bindung des Kosower Salzes an der Acetat-Klammer in Chlorform eine Bindungskonstante von 137 M^{-1} beobachtet werden.^[57] Die Bindungskonstante für die Bindung desselben Gastes an der Bisphosphonat-Klammer **10** in Wasser ist über 30 mal höher ($K_a = 4500 \text{ M}^{-1}$).^[64]

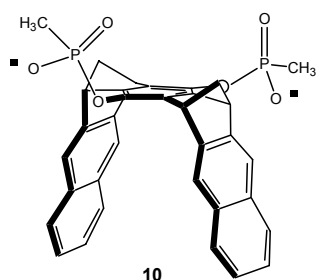


Abbildung 1.11: Die Bisphosphonat-Klammer **10**.

1.4 Aufgabenstellung

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Synthese von kleinen wasserlöslichen molekularen Klammern und Pinzetten, deren Eigenschaften und möglichen Anwendungen.

Im ersten Teil der Arbeit soll die von Christian Jasper aus der Arbeitsgruppe Schrader erstmals synthetisierte Bisphosphonat-Klammer **10** (Abb. 1.11) weiter erforscht werden. In ersten von Christian Jasper durchgeführten Bindungsexperimenten konnten bereits elektronenarme Aromaten als geeignete Gäste identifiziert werden.^[64, 65]

Mit ihrem stark negativen, elektronischen Oberflächenpotential in der konkaven Kavität ist die Klammer somit optimal für die Bindung von Gästen mit positivem elektronischem Oberflächenpotential geeignet (Abb. 1.12).

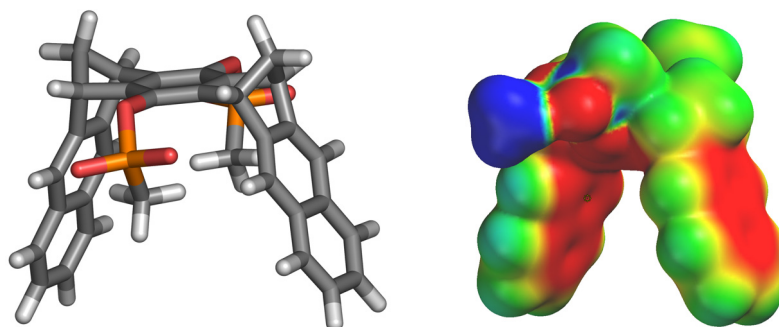


Abbildung 1.12: Links: berechnete Struktur der molekularen Klammer **10** (Monte Carlo Simulation, MacroModel 7.1, Amber*, H₂O, 2000 Schritte). Die Elemente sind mit folgenden standardisierten Farben gekennzeichnet: Kohlenstoff (blau), Wasserstoff (weiß), Sauerstoff (rot), Phosphor (orange). Rechts: berechnetes elektrostatisches Oberflächenpotential der molekularen Klammer mit NH₄⁺ als Gegenion. Die Farbskala reicht von -104.6 kJ/mol (rot) bis +104.6 kJ/mol (blau), berechnet mit AM1.^[72]

Zusätzlich zur Kavität besitzt die Bisphosphonat-Klammer die Möglichkeit, ionische Wasserstoffbrücken zum Gast ausbilden zu können. Die Phosphonate sind aufgrund ihres pK_s-Wertes von 1.8 in neutraler wässriger Lösung vollständig deprotoniert.^[66] Sie können bei der Einlagerung des Gastes wie eine Zange zugreifen, Wasserstoffbrücken zum Gast ausbilden und so die Bindung zusätzlich unterstützen. (Abb. 1.13) Außerdem führen die Bisphosphonat-Einheiten zur gewünschten Löslichkeit in polaren protischen Lösungsmitteln wie Methanol und Wasser.

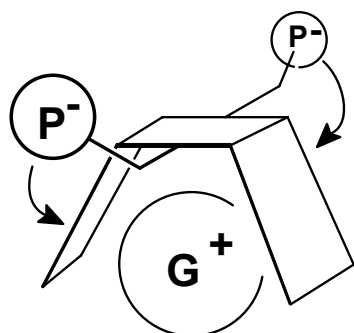


Abbildung 1.13: Komplexierung eines Gastes in der Klammer durch Wechselwirkung mit der Kavität und den Phosphonaten.

Im Rahmen dieser Arbeit soll das Komplexierungsverhalten der Bisphosphonat-Klammer **10** mit verschiedenen physikalischen Methoden näher untersucht und beschrieben werden:

- Die Bindung von NAD⁺ soll genauer untersucht werden, insbesondere die Beiträge von Teilstrukturen von NAD⁺, wie z.B. von Nicotinamidmononukleotid (NMN) und Adenosin.

- Falls eine Komplexierung von Adenosin festgestellt wird, sollen die anderen Nukleoside ebenfalls untersucht werden und mit Nukleotiden verglichen werden.
- Das Bindungsverhalten von anderen kationischen, biologisch relevanten Verbindungen, insbesondere Aminosäuren, soll überprüft werden.
- Das Gastprofil soll um weitere elektronenarme, biologisch relevante Aromaten erweitert werden und auf eventuelle Anwendungen überprüft werden.

Im zweiten Teil der Arbeit soll die von Markus Kamieth aus der Arbeitsgruppe Klärner erstmals synthetisierte molekulare Pinzette mit Benzolspacer (Abb. 1.10)^[45, 73] als Bisphosphonat-Pinzette **11** synthetisiert werden (Abb. 1.14).

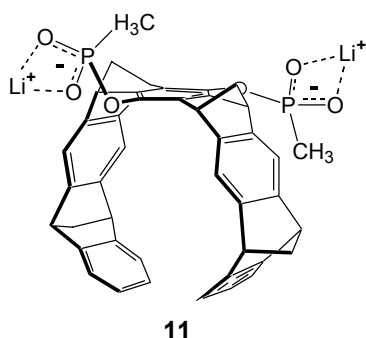


Abbildung 1.14: Die Bisphosphonat-Pinzette **11**.

Anschließend sollen die Komplexierungseigenschaften der neuen Pinzette untersucht werden. Die Pinzette besitzt genau wie die Klammer eine extrem elektronenreiche Kavität (Abb. 1.15). Diese ist im Gegensatz zur Klammer nach unten nahezu geschlossen und kann dadurch nur schlanke Gäste aufnehmen, die in ihrem Durchmesser nicht sehr anspruchsvoll sind. Experimente in organischen Lösungsmitteln haben gezeigt, dass sekundäre Amine ebenfalls von der (Acetat)-Pinzette komplexiert werden^[50] und sogar die Methyl-Gruppe der Methoxy-substituierten Pinzette in die Kavität gezogen wird.^[57] Dies sind Hinweise darauf, dass die Pinzette im Gegensatz zur Klammer ein neuer künstlicher Rezeptor für Ammonium-Kationen in Wasser sein könnte. Die Phosphonat-Gruppen können dabei wie bei der Klammer den Gast wie eine Zange umklammern.

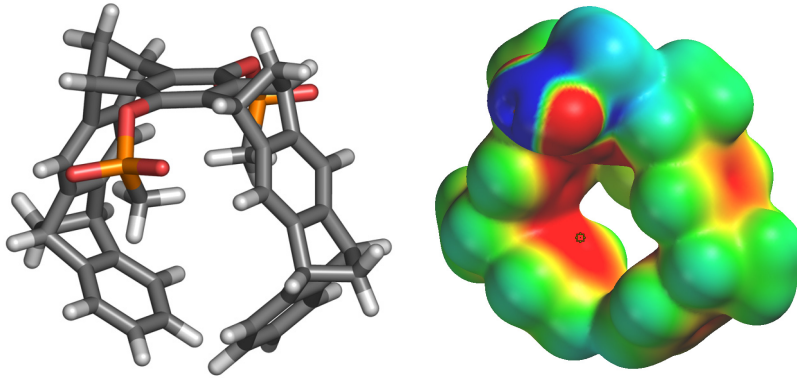


Abbildung 1.15: Links: berechnete Struktur der molekularen Pinzette **11** (Monte Carlo, MacroModel 7.1, Amber*, H₂O, 2000 Schritte). Rechts: berechnetes elektrostatisches Oberflächenpotential der molekularen Klammer mit NH₄⁺ als Gegenion. Die Farbskala reicht von -104.6 kJ/mol (rot) bis +104.6 kJ/mol (blau), berechnet mit AM1. An der Markierung beträgt das molekulare elektronische Potential -130.1 kJ/mol.^[72]

Die Untersuchung der Komplexierungseigenschaften der Pinzette soll sich neben der allgemeinen Charakterisierung des Gastprofils vor allem auf die Komplexierungsmöglichkeit von biologisch relevanten Verbindungen in wässriger Lösung konzentrieren, mit einer Betonung auf Amoniumkationen wie Adrenalin und Noradrenalin oder basischen Aminosäuren.

2 Durchführung und Ergebnisse

2.1 Synthesen

Sowohl die Acetat-Klammer **12** als auch die Acetat-Pinzette **13** besitzen die gleiche Spacer-Einheit und lassen sich modular aus dem Acetat-Spacer **14** über Diels-Alder-Reaktionen aufbauen (Abb. 2.1).^[50]

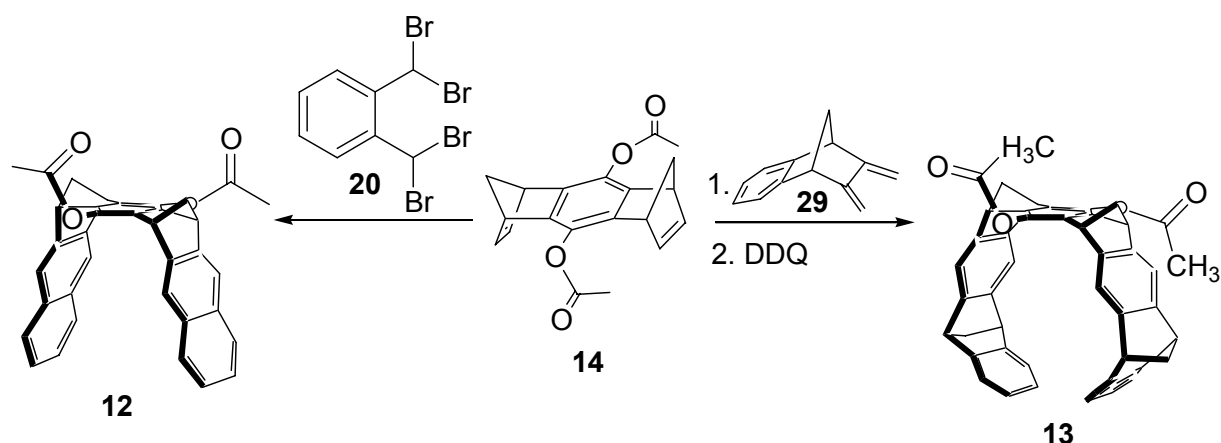


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau der Acetat-Klammer **12** und der Acetat-Pinzette **13** aus dem Acetat-Spacer.

Anschließend kann die Hydrochinon-Funktionalität geschützt und dann phosphoryliert werden. Der Spacer wird parallel dazu ebenfalls geschützt und phosphoryliert und soll in Bindungsstudien als Vergleichssubstanz dienen um nachzuweisen, dass eine eventuelle Bindung in die Rezeptoren durch Einschluss in der Kavität stattfindet.

Synthese des Spacers

Das Grundgerüst des Spacers **14** wird mit Hilfe von Diels-Alder-Reaktionen aufgebaut. Zunächst wird Cyclopentadien **15** mit *p*-Benzochinon **16** umgesetzt (Abb. 2.1).^[47] Das Produkt **17** wird mit Triethylamin umgesetzt und das *in situ* hergestellte Hydrochinon mit *p*-Benzochinon **16** oxidiert. Die darauf folgende Umsetzung mit Cyclopentadien **15** liefert das *syn*-Addukt **19a** als Hauptprodukt.^[47] Das *syn*- und das *anti*-Addukt können im ¹H-NMR voneinander unterschieden und durch Umkristallisation voneinander getrennt werden.^[48, 74] Anschließend wird das *syn*-Addukt **19a** basisch aromatisiert und die entstehenden Hydroxy-Funktionen als Acetate geschützt.^[46, 47]

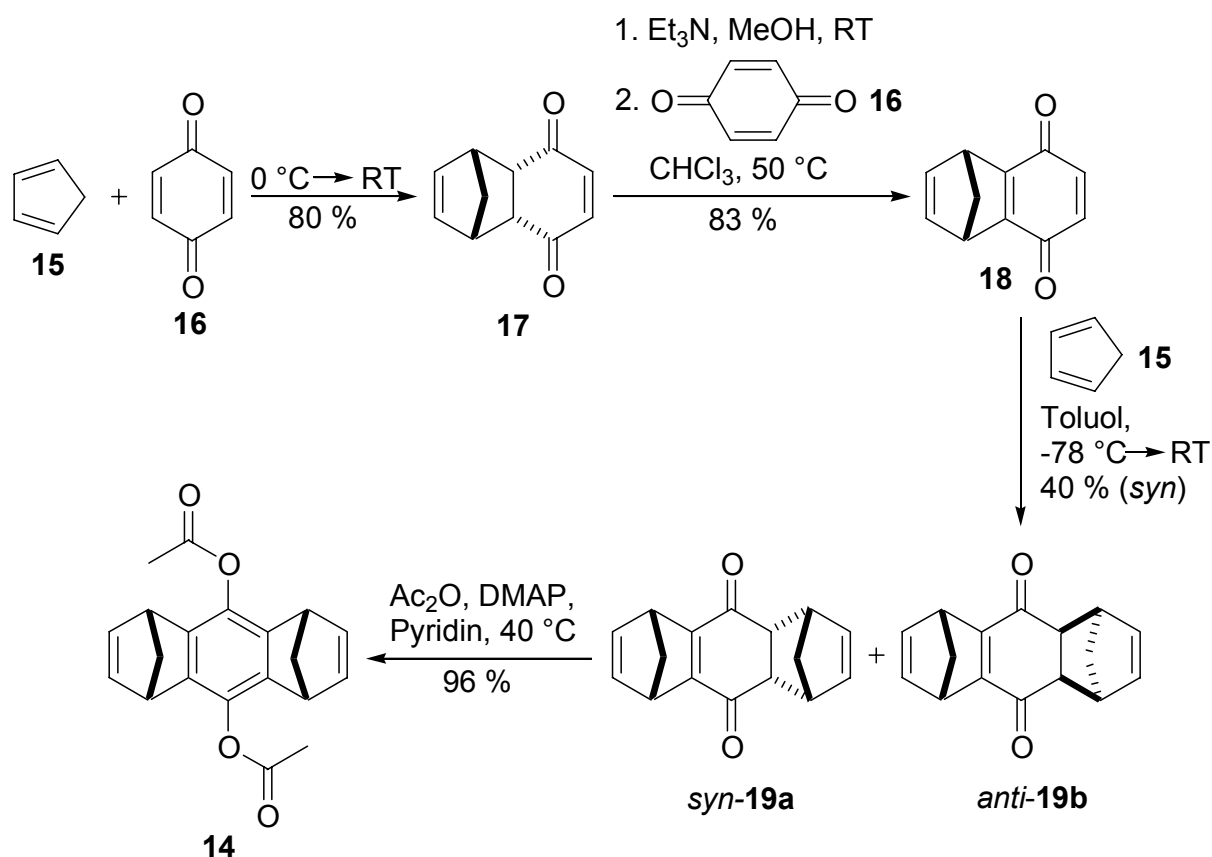


Abbildung 2.2: Synthese des Benzol-Spacers 14.

Synthese der Klammer

In einer weiteren Diels-Alder-Reaktion wird der Spacer **14** mit $\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -Tetrabrom-*ortho*-xylol umgesetzt (Abb. 2.2). Bei dieser Reaktion wird aus dem $\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -Tetrabrom-*ortho*-xylol **20** durch Eliminierung von zwei Bromatomen *in situ* ein Dien erzeugt, das anschließend mit dem Spacer **14** reagiert. Das dabei entstehende Intermediat wird durch eine weitere Eliminierung von zwei Molekülen Bromwasserstoff aromatisiert.^[48, 74] Die Acetat-Klammer **12** wird danach basisch verseift.^[48, 74] Die entstandene Hydroxy-Klammer **21** wird anschließend mit Methylphosphonsäuredichlorid phosphoryliert. Nach saurer Hydrolyse der intermediär entstandenen Methylphosphonsäurechlorid-Klammer wird die Methylphosphonsäure-Klammer **22** erhalten.^[64, 65] Da die Phosphonsäure **22** nur in sehr geringem Maße in Methanol oder Wasser löslich ist, wird durch Deprotonierung mit Tetrabutylammoniumhydroxid das in nahezu allen Lösungsmitteln gut lösliche Tetrabutylammoniumsalz **10** hergestellt.^[64, 65] Alternativ zu Tetrabutylammoniumhydroxid wurde von der Arbeitsgruppe Klärner auch Lithiumhydroxid eingesetzt, da in Bindungsexperimenten festgestellt wurde, dass das Tetrabutylammonium-Ion ebenfalls in der Kavität eingeschlossen wird und daher eine Konkurrenz für Gäste darstellt.^[75]

Aufgrund der sehr aufwendigen Aufreinigung der Phosphonsäure-Klammer **22** wurde ein alternativer Weg zur Darstellung des Phosphonatsalzes **24** entwickelt (Abb. 2.4). Dabei wird nach der Phosphorylierung mit Methylphosphonsäuredichlorid nicht wässrig, sondern mit wasserfreiem Methanol hydrolysiert. Der dabei erhaltene Methylphosphonsäuremethylester **23** ist leichter über Kieselgel zu reinigen und kann abschließend mit Lithiumbromid gespalten werden. Dieser Reaktionsweg hat außerdem den Vorteil, dass das Endprodukt nicht mehr mit sonst unvermeidlichen geringen Mengen Kieselgel verunreinigt ist.

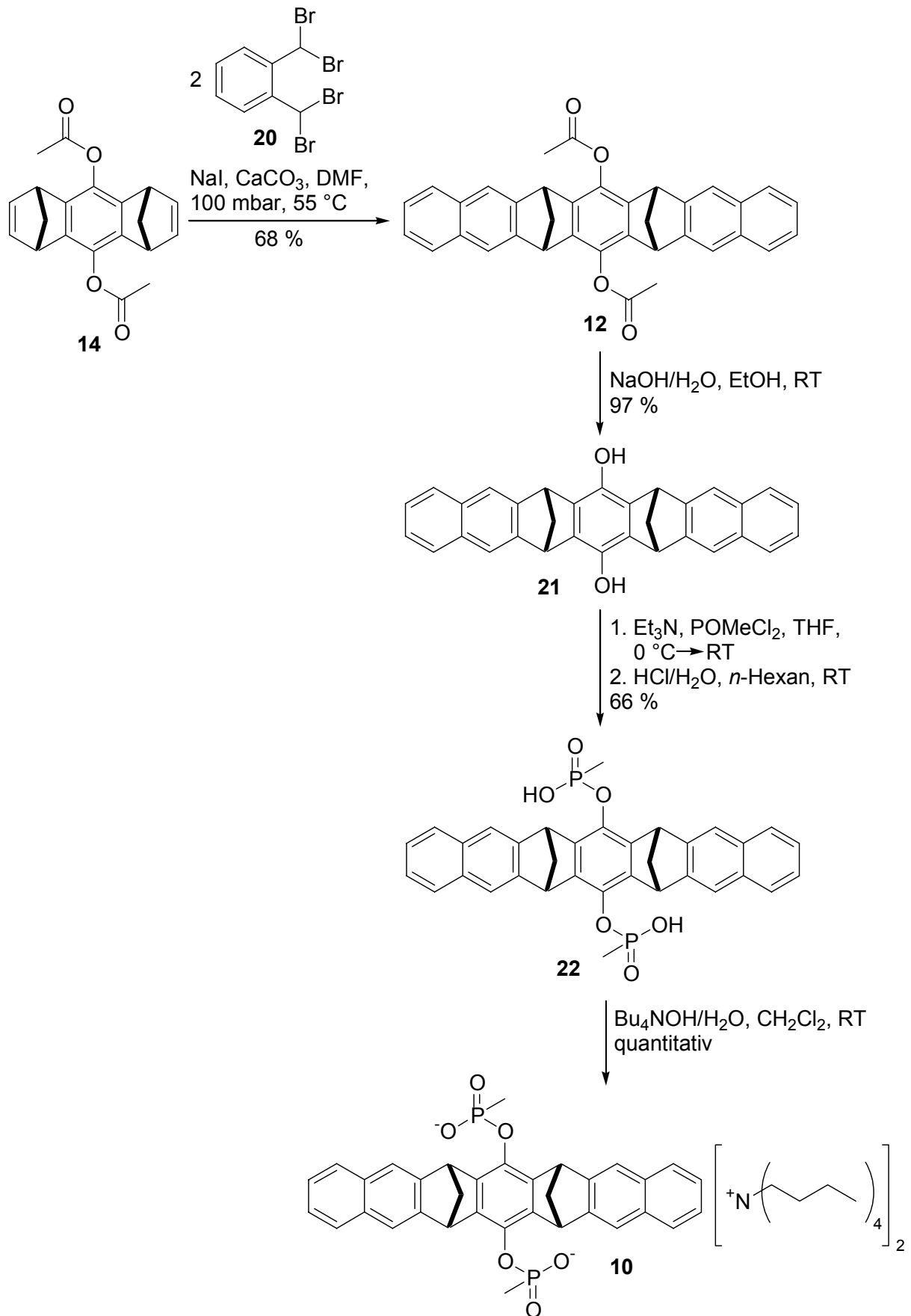


Abbildung 2.3: Synthese der Tetrabutylammonium-bisphosphonat-Klammer **10**.

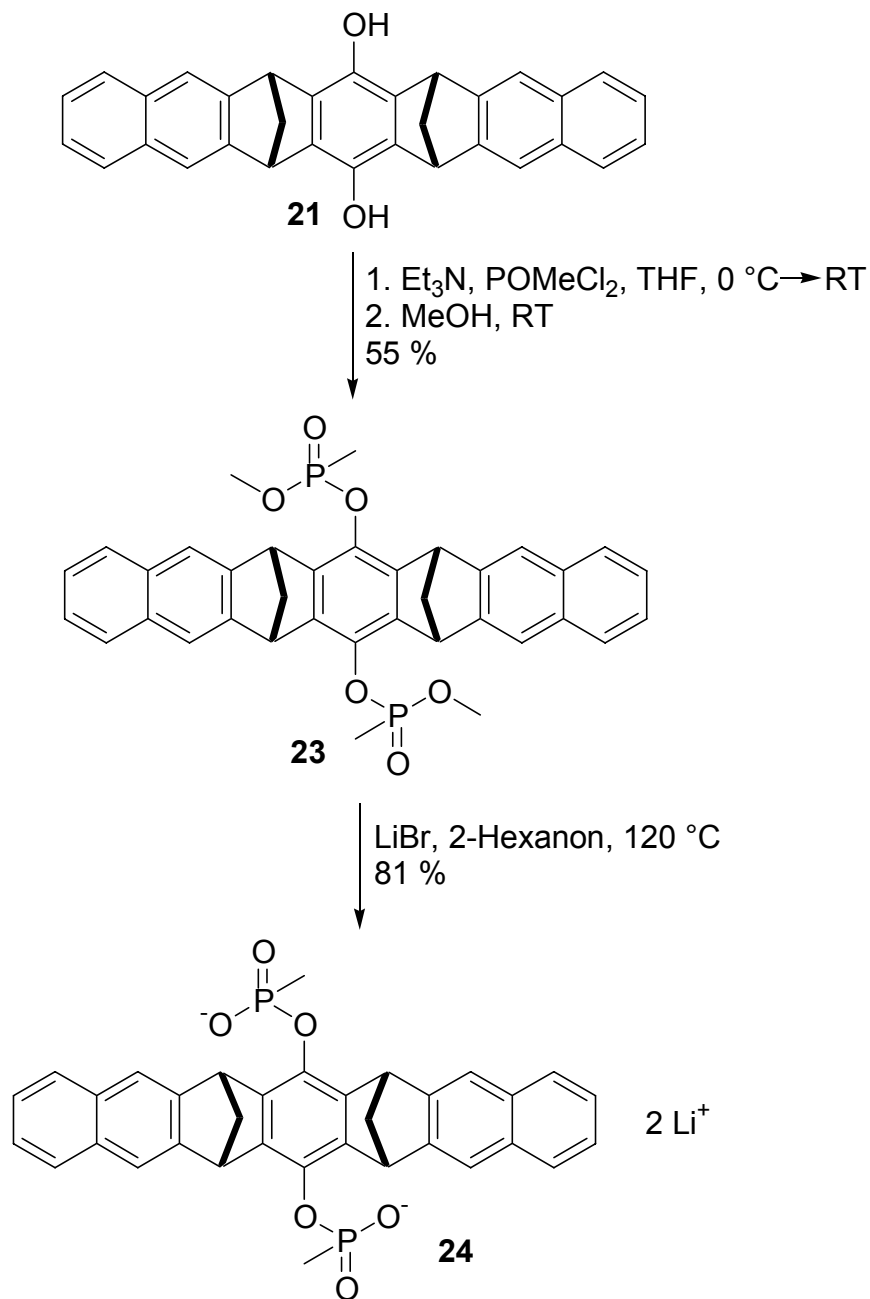


Abbildung 2.4: Alternative Synthese des Bisphosphonat-Salzes **24**.

Parallel zur Synthese der Klammer wurde nach demselben Protokoll auch der Spacer **14** phosphoryliert (Abb. 2.5). Der phosphorylierte Spacer soll in Bindungsexperimenten als Vergleichssubstanz dienen.

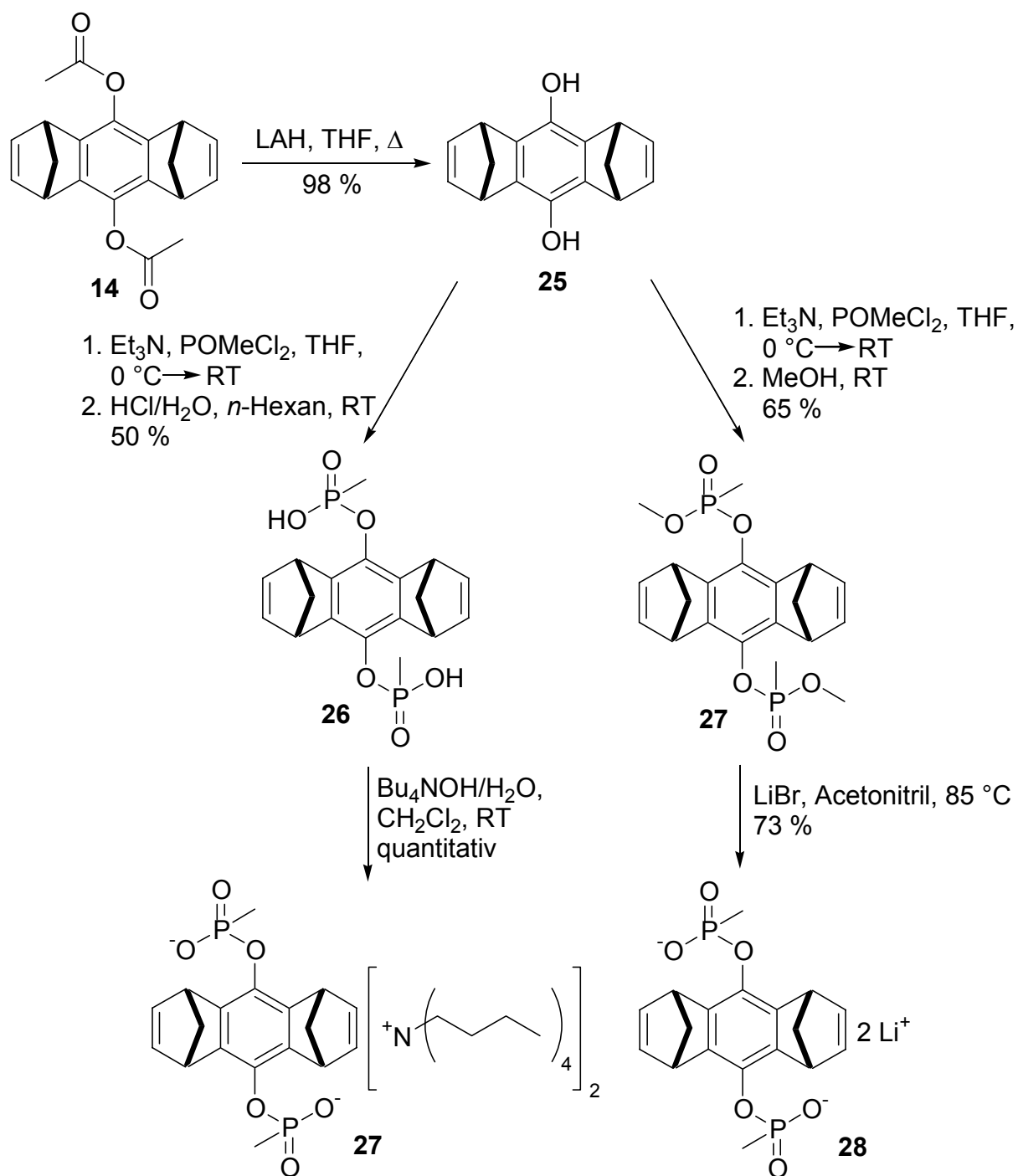


Abbildung 2.5: Phosphorylierung des Spacers.

Synthese der Pinzette

Analog zur Synthese der Klammer **12** kann auch die Pinzette **13** aus dem Spacer **14** durch Diels-Alder-Reaktionen und einem Baustein für die Seitenwand aufgebaut werden. Alternativ zur bereits bekannten Synthese des Diens **29**^[76, 77] wird eine von der Gruppe Klärner entwickelte Synthese benutzt, welche bessere Ausbeuten liefert. Die erste Stufe besteht aus einer Diels-Alder-Reaktion von Maleinsäureanhydrid **30** mit Inden **31**, welches aufgrund der

hohen Reaktionstemperatur *in situ* zum Dien umlagert (Abb. 2.6).^[73] Anschließend wird das Anhydrid **32** geöffnet und der entstandene Diester **33** basisch epimerisiert, da die nachfolgenden Reaktionen wegen der sterischen Nähe der beiden Gruppen eine erheblich geringere Ausbeute erbringen, wenn sie mit dem reinen *Endo*-Produkt **33** durchgeführt werden.^[73] Der epimerisierte Diester **34** wird danach mit Lithiumaluminiumhydrid zum Dialkohol **35** reduziert^[73] und anschließend in einer Appel-ähnlichen Reaktion chloriert.^[73, 78] Nach doppelter basischer Eliminierung wird das Dien **29** erhalten.^[73]

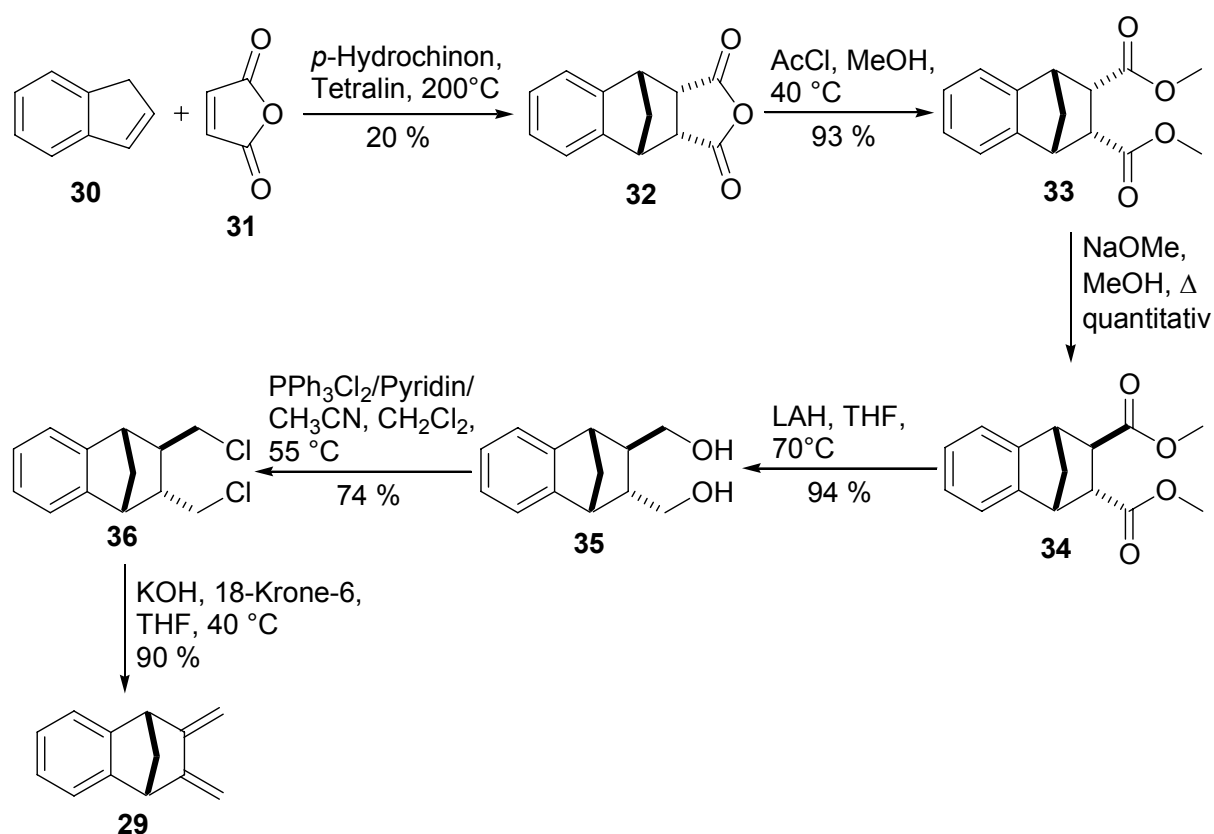


Abbildung 2.6: Synthese der Seitenwand **29** der Pinzette.

Das Grundgerüst der Pinzette wird in zwei Schlüsselschritten aufgebaut. Zuerst werden in einer Diels-Alder-Reaktion die Seitenwände **29** mit dem Spacer **14** verknüpft. Es hat sich herausgestellt, dass die Bedingungen für diese Reaktion äußerst sorgfältig eingestellt werden müssen. Die Lösung in der Ampulle soll, bevor sie zugeschmolzen wird, gründlich entgast werden und unter Vakuum abgeschmolzen werden. Das Glas der Ampulle sollte eine Wandstärke von mindestens 2 mm besitzen und die Ampulle soll maximal bis einem Drittel des Gesamtvolumens befüllt werden. Anschließend werden mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-benzochinon (DDQ) die in der letzten Reaktion gebildeten Sechsringe aromatisiert.^[53, 73]

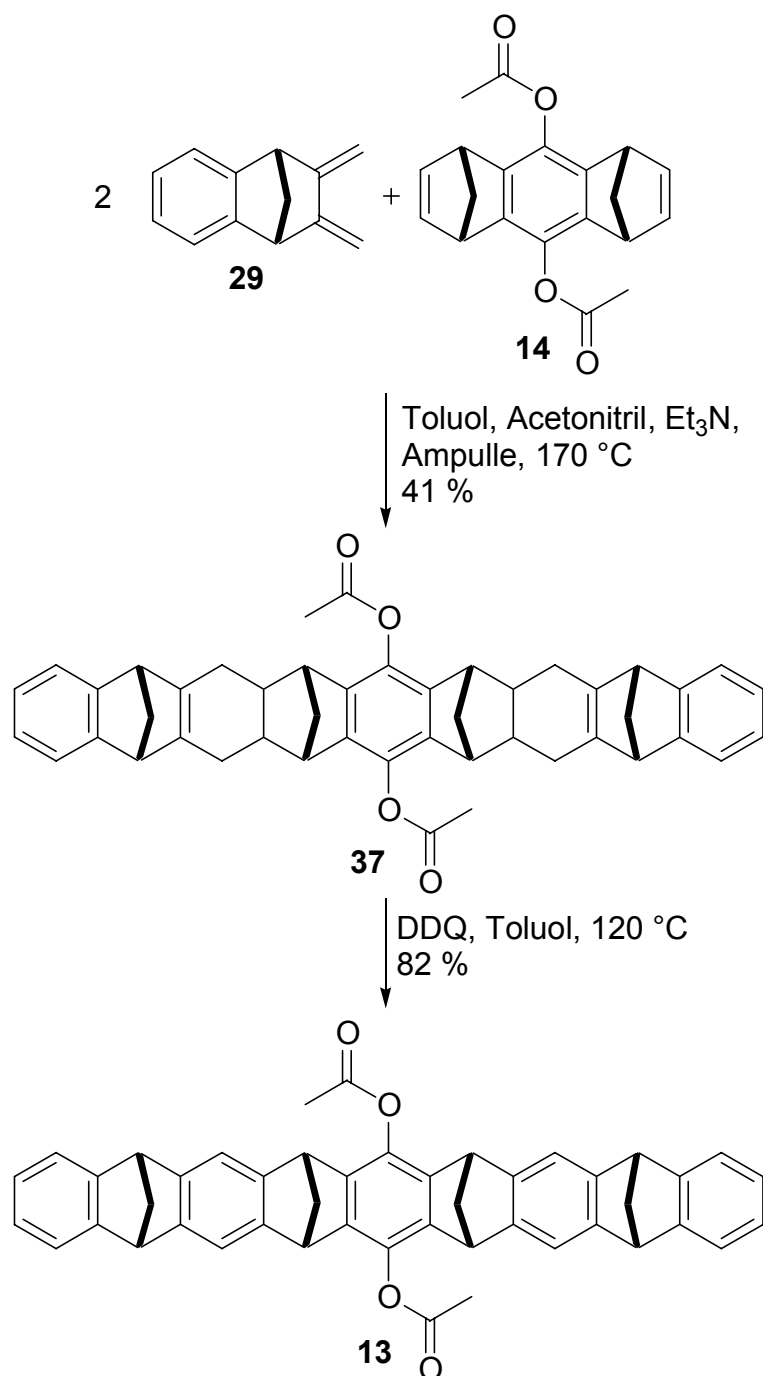


Abbildung 2.7: Darstellung des Pinzetten-Grundgerüsts.

Die Acetoxymfunktionen werden mit Lithiumaluminiumhydrid entschützt (Abb. 2.7).^[53, 73] Die darauffolgende Reaktion mit Methylphosphorsäuredichlorid und die anschließende Hydrolyse mit Salzsäure/Wasser ergab laut DC-Kontrolle zwar das Produkt, dieses konnte jedoch trotz aufwendiger Säulenchromatographie nur in sehr geringer Ausbeute und wegen des polaren Elutionsmittels immer noch stark verunreinigt isoliert werden. Deswegen wurde die Reaktion mit Methylphosphorsäuredichlorid hier mit Methanol abgebrochen (Abb. 2.8). Das Produkt 39 kann einfach über Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt werden und der als

Nebenprodukt entstandene Methylphosphonsäuredimethylester durch Trocknen im Hochvakuum bei etwa 50 °C entfernt werden. Der Methylphosphonsäuremethylester **39** wird abschließend mit Lithiumbromid gespalten. Das erhaltene Bisphosphonat-Salz **11** ist gut in polar aprotischen und protischen Lösungsmitteln wie DMSO, Acetonitril, Methanol oder Wasser löslich.

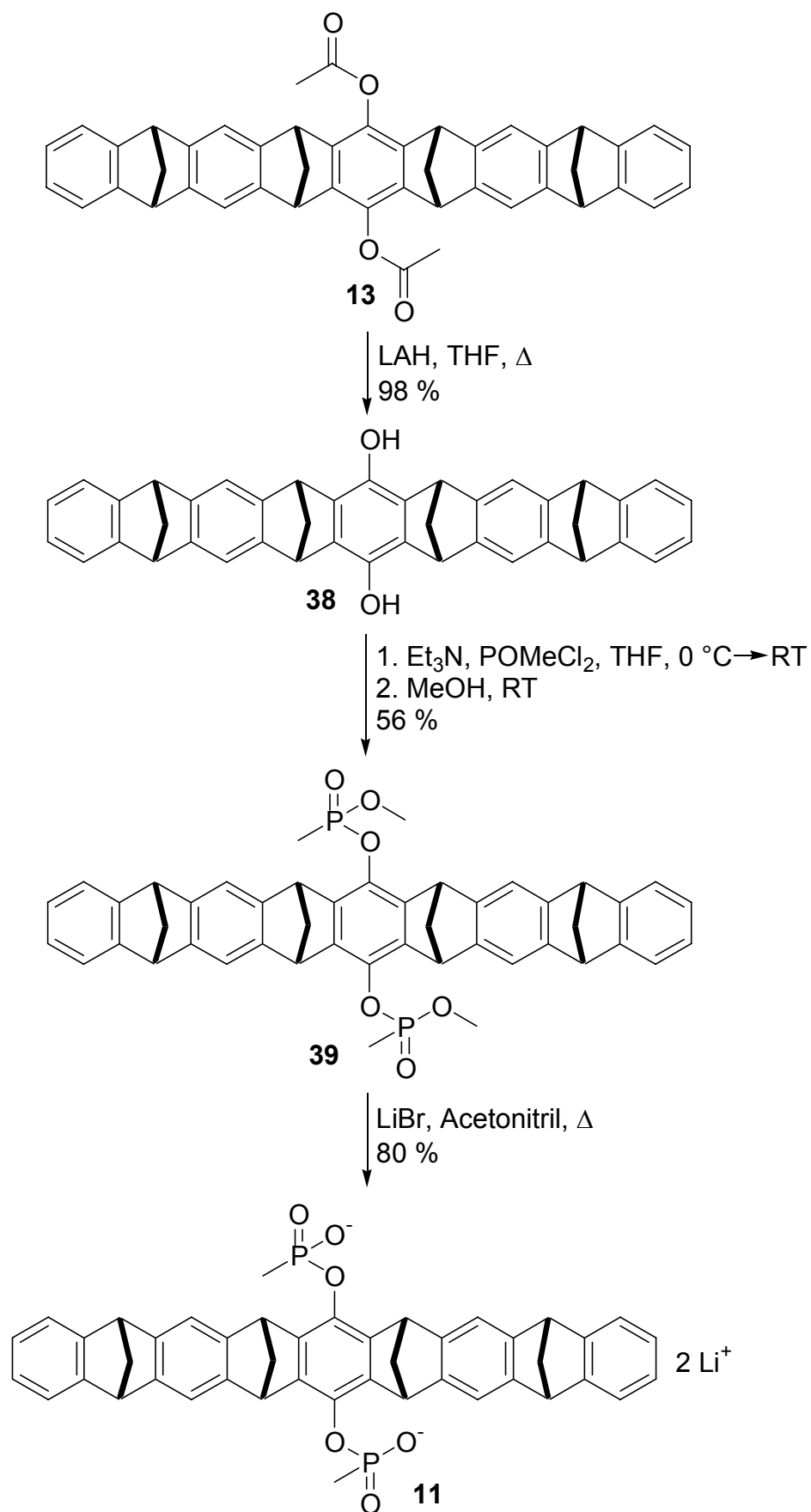


Abbildung 2.8: Synthese der Bisphosphonat-Pinzette 11.

2.2 Bindungsexperimente mit der Bisphosphonat-Klammer

2.2.1 Eigenschaften der Bisphosphonat-Klammer und Durchführung der Bindungsexperimente

Die Komplexierungseigenschaften der Klammer wurden hauptsächlich mit $^1\text{H-NMR}$ -Methoden untersucht. Um festzustellen, ob eine Komplexierung des Gastes stattfindet, wurden die chemischen Verschiebungen der Gastprotonen und der Wirtprotonen in einer 1:1-Mischung mit den chemischen Verschiebungen der reinen Wirt- und der reinen Gastprotonen verglichen. Eine markante Hochfeld-Verschiebung im Komplex im Vergleich zu den chemischen Verschiebungen der reinen Verbindungen weist auf eine Veränderung der chemischen Umgebung hin und hier spezifisch auf einen Einschluss in der Kavität. Dabei ist darauf zu achten, dass alle Lösungen die gleiche Konzentration haben, um eventuelle konzentrationsabhängige Änderungen auszuschließen.

Falls die gewünschte Änderung der chemischen Verschiebung beobachtet wird, wird die Lösung anschließend schrittweise verdünnt. Aus dieser Verdünnungstitration kann die Bindungskonstante ermittelt werden.^[79] Dabei muss allerdings beachtet werden, dass Signale, die während der Verdünnungstitration beobachtet werden, keinen konzentrationsabhängigen Shift aufweisen. Um dies sicherzustellen, wurde immer parallel zur Titration eine Probe des Gastes bei der entsprechenden Anfang- und Endkonzentration vermessen. Zeigten die beobachteten Gast-Signale einen konzentrationsabhängigen Shift, dann wurde eine konventionelle NMR-Titration durchgeführt, bei der die Konzentration der beobachteten Komponente konstant gehalten wurde, während die andere Komponente sukzessive hinzutitriert wurde.

Vor der Durchführung der Bindungsexperimente wurde die Bisphosphonat-Klammer **10** auch auf Veränderungen ihrer chemischen Verschiebungen bei Verdünnung hin überprüft. Bei einer Verdünnung um einen Faktor von über 30 wurde festgestellt, dass die aromatischen Signale der Bisphosphonat-Klammer **10** in wässriger Lösung lediglich einen nichtsignifikanten Shift von etwa 0.03 ppm zeigten. Die aliphatischen Signale des Tetrabutylammoniums jedoch zeigten einen deutlichen Hochfeld-Shift von 0.11 bis 0.14 ppm. Dies weist auf einen Einschluss des Tetrabutylammoniums in der Kavität der Klammer hin. Weiterführende Untersuchungen der Arbeitsgruppe Klärner zeigten, dass dieser Effekt geringer wird, wenn das Lösungsmittel unpolarer wird und anstatt von reinem Wasser ein Methanol/Wasser-Gemisch (1:1) oder reines Methanol verwendet wird. Außerdem ergaben direkte Vergleiche zwischen Assoziationskonstanten von Komplexen des

Tetrabutylammoniumsalzes **10** und des Lithiumsalzes **24** mit NAD^+ , dass das Tetrabutylammonium eine Konkurrenz für Gäste bei der Komplexierung darstellt.^[75] Aus diesem Grund und wegen der einfacheren Aufreinigung des Bisphosphonsäureesters **23** wurden ab diesem Zeitpunkt alle weiteren Bindungsexperimente mit dem Lithiumsalz **24** durchgeführt.

Zur quantitativen Auswertung der Bindungsexperimente wurden in der Regel die stark shiftenden Signale der Gast-Moleküle benutzt. Bei den Bindungsexperimenten mit *N*-Alkylpyridiniumsalzen und der Bisphosphonat-Klammer **10** wurden in der Regel die Signale des Wirtes zur Auswertung benutzt, um eine bessere Vergleichbarkeit mit den früheren Ergebnissen von Christian Jasper zu erhalten.

In ersten Bindungsexperimenten mit der Bisphosphonat-Klammer **10** konnte Christian Jasper beobachten, dass die Klammer in wässriger Lösung keine Wechselwirkung mit Ammonium-Verbindungen eingeht. In DMSO findet eine Bindung statt, jedoch ist diese hauptsächlich auf eine Wechselwirkung zwischen den Bisphosphonat-Einheiten und dem Ammonium-Kation zurückzuführen, wie Vergleiche zwischen der Bisphosphonat-Klammer **10** und dem Bisphosphonat-Spacer **27** zeigten. Sowohl die Bisphosphonat-Klammer **10** als auch der Bisphosphonat-Spacer **27** binden in DMSO Ammoniumkationen mit einer Bindungskonstante von etwa 10^3 M^{-1} . Außerdem wurde im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum kein Hochfeldshift der Bisphosphonat-Klammer-Signale beobachtet. Daraus lässt sich schließen, dass die Kavität hier nicht an der Bindung beteiligt ist, welche daher vor allem auf Coulomb-Wechselwirkungen zwischen den Phosphonaten und dem positiv geladenen Ammoniumkation beruht.^[64]

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Inklusion weiterer potentieller kationischer Gäste überprüft werden. Von besonderem Interesse waren dabei zunächst die basischen Aminosäuren Arginin und Histidin, da diese bei späteren Versuchen in biologischer Umgebung eine Konkurrenz zur Bindung von NAD^+ in der Klammer darstellen würden. Sowohl Arginin als auch Histidin erscheinen mit ihrer planaren kationischen Struktur prädestiniert für die Komplexierung im elektronenreichen schlanken Innenraum der Klammer. Weder Guanidiniumhydrochlorid **40** noch *C*- und *N*-terminal geschütztes Arginin **41** zeigten in wässriger Lösung jedoch eine Wechselwirkung mit der Klammer **10**.

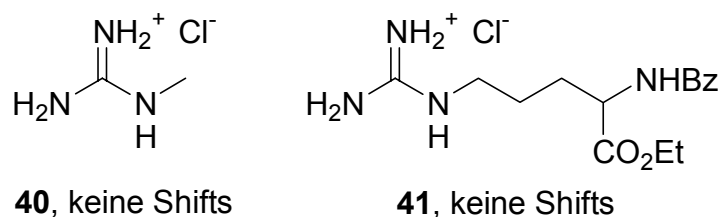


Abbildung 2.9: Mit der Bisphosphonat-Klammer **10** getestete guanidiniumhaltige Gäste.

Im Falle von Histidin wurde der Nachweis einer möglichen Komplexierung dadurch erschwert, dass der Imidazolium-Ring einen relativ niedrigen pK_s -Wert von ca. 6 hat. Aufgrund dieses niedrigen pK_s -wertes zeigen alle Imidazolium-Derivate (Abb. 2.10) eine signifikante konzentrationsabhängige Änderung der chemischen Verschiebung ihrer aromatischen Signale. Aus diesem Grund wurde stets bei gleichbleibender Konzentration titriert. Sowohl Imidazoliumhydrochlorid **42** als auch Histaminhydrochlorid **43** zeigten während der Titration zwar deutliche Shifts der aromatischen Gast-Protonen, aber die Auftragung der Shifts ergab keine Sättigungskurve. Im Vergleich dazu wurden beim C-terminal geschützten Histidin nur sehr geringe Shifts beobachtet. Das C- und N-terminal geschützte Histidin **45** zeigte zwar auch Shifts, aber es war nicht möglich hierzu eine Bindungskonstante zu bestimmen. Da die Shifts in fast allen Fällen auf eine Protonenübertragung schließen ließen, weil der Endwert der chemischen Verschiebung in der Nähe der deprotonierten Spezies lag, wurde das C- und N-terminal geschützte Histidin **45** ebenfalls in Natriumphosphatpuffer (pH 7, 65-facher Puffer-Überschuss) titriert. Auch hier waren Shifts im Histidin zu beobachten, nicht allerdings in der Bisphosphonat-Klammer **10**. Insgesamt erscheint es unwahrscheinlich, dass die beobachteten Shifts auf einen Einschluss in der Kavität zurückzuführen sind, da bei einer Komplexierung immer auch signifikante Hochfeld-Shifts der aromatischen Protonen der Bisphosphonat-Klammer auftreten.

Das *N,N'*-Dimethylimidazoliumiodid **46** ist im Gegensatz zu den anderen getesteten Imidazolium-Derivaten ein permanentes Kation – die Hydrochloride liegen immer im Gleichgewicht mit ihrer deprotonierten Form vor. **46** wird daher auch mit einer Bindungskonstante von 7940 M^{-1} in der Bisphosphonat-Klammer **10** gebunden. Hier treten wieder alle gewohnten Effekte auf.

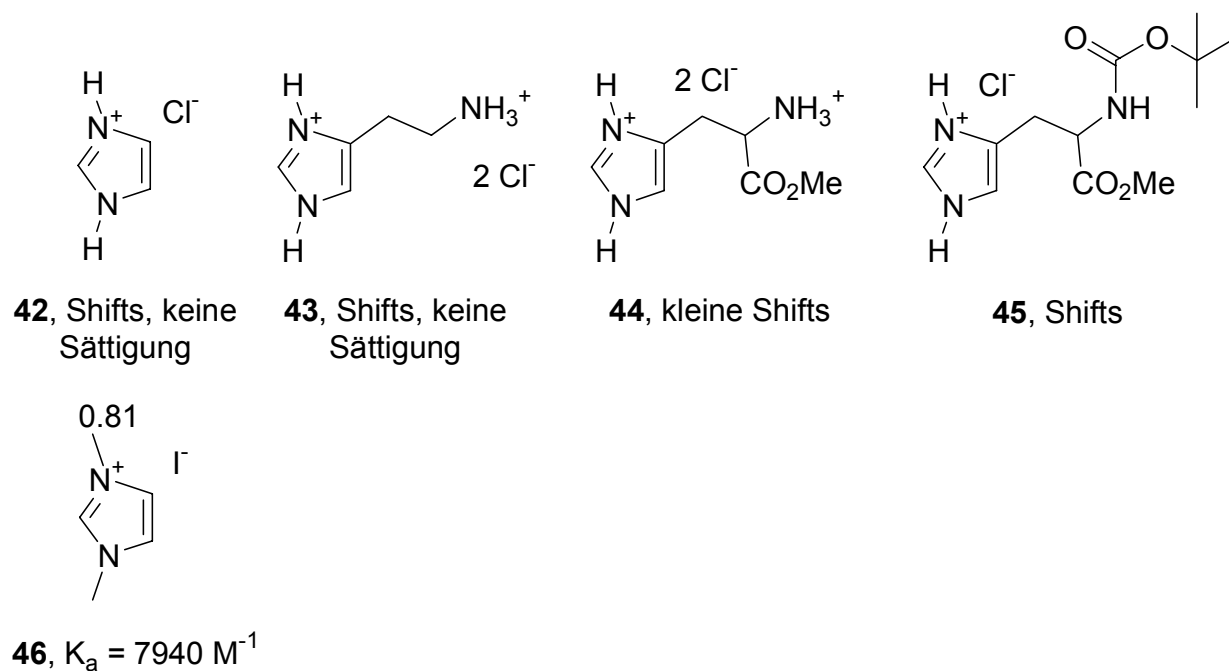


Abbildung 2.10: Mit der Bisphosphonat-Klammer **10** getestete imidazoliumhaltige Gäste. Die angegebene Bindungskonstante, sowie der $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Wert gelten für die Bindung in Wasser.

2.2.2 *N*-Alkylpyridiniumsalze und NAD^+

Im Gegensatz zu den in Wasser abgewiesenen Ammoniumkationen zeigt die Bisphosphonat-Klammer **10** eine starke Komplexierung von *N*-Alkylpyridiniumkationen und verwandten Verbindungen in ihrer Kavität. In ersten Untersuchungen, die von Christian Jasper durchgeführt wurden, stellte sich heraus, dass die Bisphosphonat-Klammer **10** *N*-Alkylpyridiniumkationen in Wasser mit einer Affinität von mindestens 10^3 bis 10^4 M^{-1} bindet. (Abb. 2.11 und 2.12).^[64, 65] Auffälligerweise werden in protischer Lösung nur permanente Kationen komplexiert, Hydrochloride wie z.B. Pyridinhydrochlorid werden nicht eingeschlossen. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass keine permanente Ladung vorhanden ist, oder eine große Solvatationshülle vorhanden ist, welche nicht von der Bisphosphonat-Klammer **10** entfernt werden kann. Von besonderem Interesse sind neben den *N*-Alkylpyridinium-Farbstoffen (Abb. 2.11) der Cofaktor NAD^+ **52** und dessen Modellverbindung *N*-Methyl-Nikotinamid **51**. (Abb. 2.12).

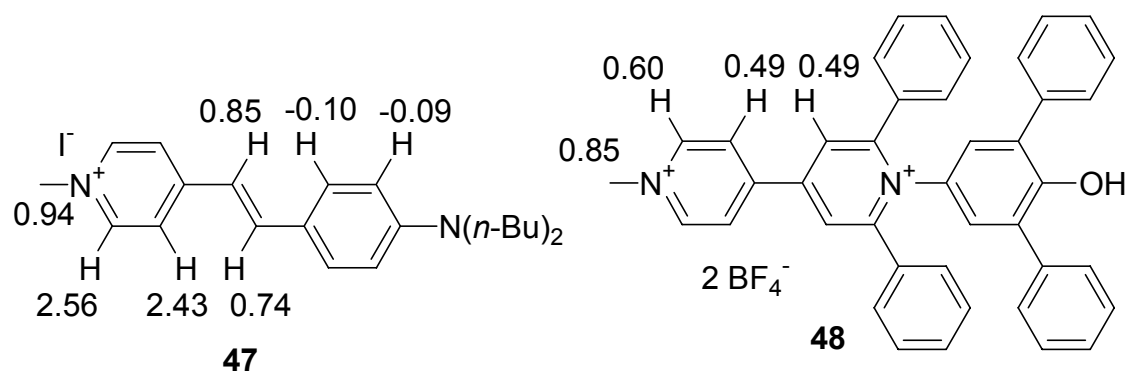


Abbildung 2.11: Getestete Farbstoffe auf *N*-Alkylpyridinium-Basis. Die Δδ_{sat}-Werte für die Bindung in Wasser sind an den Protonen vermerkt.

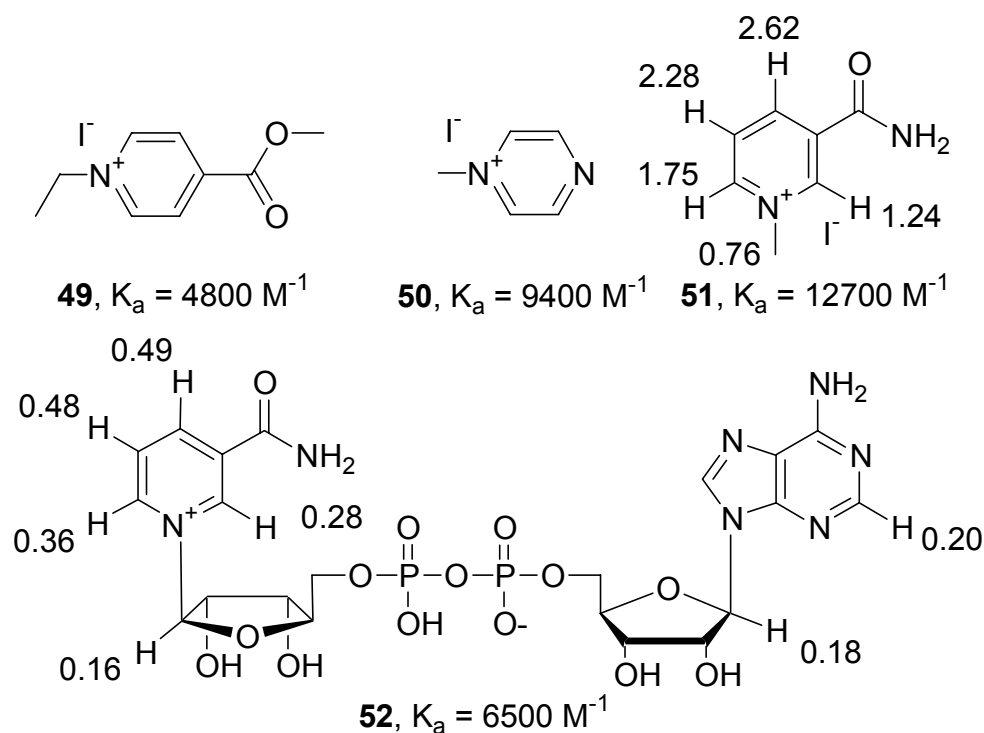


Abbildung 2.12: Getestete *N*-Alkylpyridiniumsalze und *N*-Alkylpyraziniumiodid **50**. Die angegebenen Bindungskonstanten gelten für die Bindung an die Bisphosphonat-Klammer **10** in Wasser. Beim Nikotinamid **51** und NAD⁺ **52** sind die Δδ_{max}-Werte der jeweiligen Protonen in ppm angegeben.

Im Gegensatz zu den bereits bekannten Pinzetten von Nolte *et al.* – die aufgrund ihrer Präorganisation ebenfalls flache Pyridiniumkationen binden können – erlaubt die Bisphosphonat-Klammer **10** die Untersuchung dieser Komplexierung in Wasser. Außerdem besitzt die Bisphosphonat-Klammer **10** ein selektiveres Gastprofil, das sich auf elektronenarme Aromaten zu begrenzen scheint, wohingegen Nolte's Klammer eine Vielzahl an aromatischen Gästen, wie z.B. verschiedene Phenole einschließt.^[34, 80]

Bindungsexperimente mit *N*-Alkylpyridinium-Farbstoffen

Bei der Bindung der Farbstoffe aus Abb. 2.11 in der Bisphosphonat-Klammer **10** konnten trotz eindeutiger Shifts im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine Farbänderung oder eine Änderung des UV/Vis Spektrums beobachtet werden.^[64] Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein weiterer *N*-Alkylpyridinium-Polymethin-Farbstoff **53** untersucht (Abb. 2.13). Aufgrund seiner geringen Löslichkeit wurde lediglich ein 2:1-Gemisch aus Bisphosphonat-Klammer **10** und Farbstoff betrachtet. Das Gemisch zeigt auch hier im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgrund der stark verschobenen aromatischen Signale eindeutige Hinweise auf eine Komplexierung (Abb. 2.13), jedoch trat auch in diesem Fall keine Farbänderung bei der Komplexierung auf. Möglicherweise ist der HOMO-LUMO-Abstand zwischen dem Naphthalin-Donor und dem Pyridinium-Akzeptor zu groß.

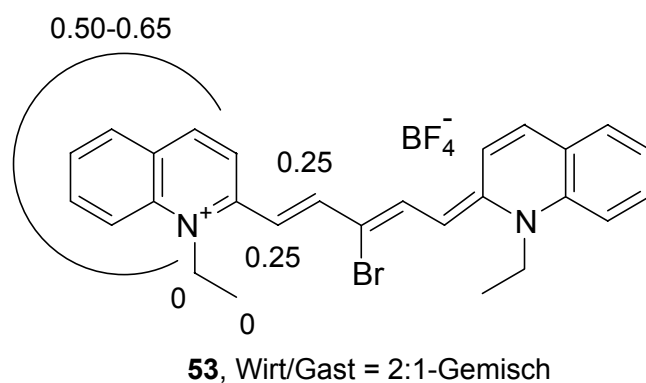


Abbildung 2.13: Beobachtete Änderungen der chemischen Verschiebung von Polymethin-Farbstoff **53** im 2:1-Gemisch mit der Bisphosphonat-Klammer **10**.

Bindungsexperimente mit NAD^+ und NAD^+ -Modellverbindungen

NAD^+ **52** und NADP **57** gehören zu den wichtigsten Cofaktoren, die in der Natur vorkommen. Bei nahezu einem Viertel aller bekannten enzymatischen Reaktionen handelt es sich um Redox-Reaktionen. Ein Großteil der beteiligten Enzyme braucht NAD^+ **52** oder NADP **57** als Cofaktor.^[81] Dehydrogenasen katalysieren z.B. mit Hilfe dieser Cofaktoren die Oxidation von Alkoholen zu den entsprechenden Carbonyl-Verbindungen.^[82-84] Außerdem spielt NAD^+ **52** eine wichtige Rolle bei der Replikation und Reparatur der DNA: die DNA-Ligase, die sowohl an der Replikation als auch an der Reparatur der DNA beteiligt ist, braucht NAD^+ **52** als Cofaktor zur Übertragung eines Adenosyl-Restes auf das 5'-Ende eines DNA-Einzelstrangbruchs.^[82, 85, 86] Im Enzym befindet sich NAD^+ häufig in der sogenannten Rossmann-Falte.^[87-89] Sowohl das Adenin als auch das Nikotinamid befinden sich in einer hydrophoben Tasche und werden dort von hydrophoben Wechselwirkungen und dispersiven Kräfte gehalten.^[90]

Die bislang bekannten künstlichen Rezeptoren für NAD^+ **52** nutzen für ihre Komplexierung die Wechselwirkung zwischen den negativ geladenen Phosphaten des NAD^+ **52** und einem makrozyklischen Anionen-Rezeptor^[91], einem acridiniumfunktionalisierten Azakronenether^[92] oder protonierten Azakronenether.^[93] Der Nikotinamidring, an dem die Katalyse stattfindet, wurde bislang jedoch nicht gezielt komplexiert.

Wegen der großen Bedeutung von NAD^+ **52** waren die anfangs noch von Christian Jasper durchgeführten Untersuchungen von besonderem Interesse. Bereits in den ersten Bindungsexperimenten mit NAD^+ **52** waren nicht nur Shifts bei den Protonen des Nikotinamids zu sehen, sondern auch bei denen des Adenins (Abb. 2.12). Diese Befunde werden von Molecular Modelling Untersuchungen unterstützt (Abb. 2.14).^[64, 65] Während das Nikotinamid sich in der Kavität befindet, orientiert sich das Adenin-Ringsystem parallel zur Naphthalin-Seitenwand der Bisphosphonat-Klammer **10**. Denkbar wäre jedoch auch eine Struktur, bei der sich das Adenosin in der Kavität befindet und das Nikotinamid außen an der Naphthalin-Seitenwand andockt. Von der Seite betrachtet befinden sich in beiden Fällen die vier Ringssysteme übereinander und können so π - π -Stapelwechselwirkungen ausbilden. Um mehr Informationen über die tatsächliche Struktur des Komplexes zu gewinnen, wurde im Rahmen dieser Arbeit die Komplexierung von Nikotinamidmononukleotid (NMN) **54** und Adenosinmonophosphat (AMP) **56** in der Bisphosphonat-Klammer **10** getrennt untersucht, um die einzelnen Beiträge der beiden Bestandteile von NAD^+ zu quantifizieren. Die verhältnismäßig niedrigen $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte des Komplexes von NAD^+ und der Bisphosphonat-Klammer **10** deuten daraufhin, dass der Nikotinamid-Ring sich nicht permanent in der Kavität befindet. Bei einer dauerhaften Komplexierung müssten die beobachtete Werte deutlich höher liegen.

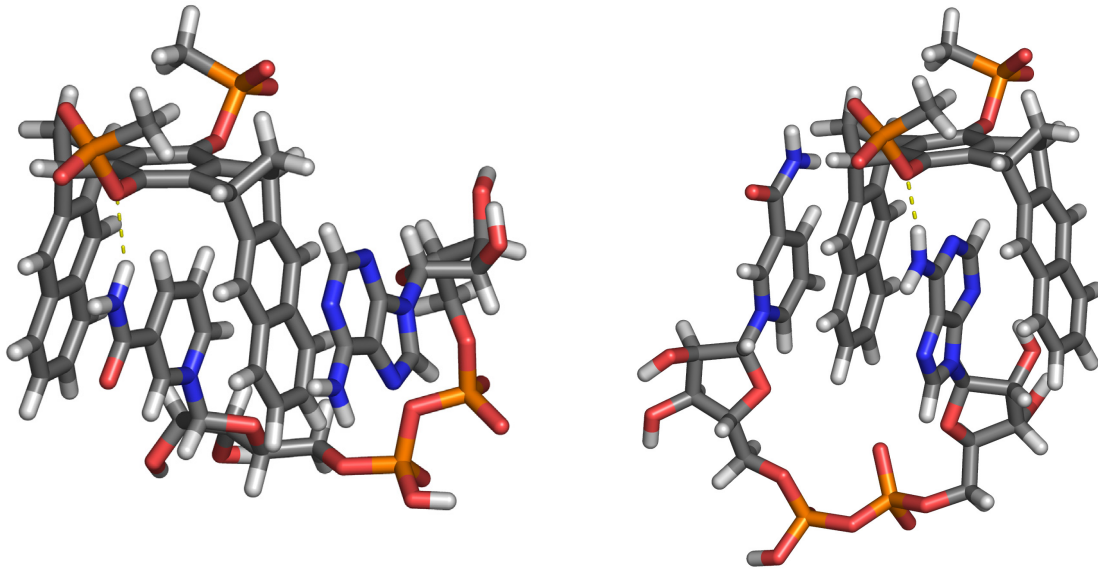


Abbildung 2.14: Berechnete Strukturen des Komplexes von NAD^+ **52** und der Bisphosphonat-Klammer **10** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, Amber*, H_2O , 5000 Schritte, Stickstoffatome sind in blau dargestellt). Zwischen den Strukturen gibt es lediglich eine Energiedifferenz von etwa 1 kJ/mol.

Wie bereits nach der Betrachtung der Molecular Modelling Ergebnisse vermutet wurde, bildet die Bisphosphonat-Klammer **10** auch Komplexe mit dem natürlichen Nucleosid 2'-Desoxyadenosin **55** oder AMP **56** aus (Abb. 2.15). 2'-Desoxyadenosin **55** wird mit einer auffällig hohen Bindungskonstante gebunden ($K_a = 5151 \text{ M}^{-1}$), während AMP **56** mit einer deutlich geringeren Bindungskonstante gebunden wird ($K_a = 1126 \text{ M}^{-1}$). Dieser Unterschied deutet darauf hin, dass sich das negativ geladene Phosphat des AMP **56** und die ebenfalls negativ geladenen Phosphonate des Wirtes **10** gegenseitig abstoßen und so die Bindung schwächen. Die im Vergleich zu NAD^+ **52** etwas schwächere Bindung von NADP **57** unterstützt diese Überlegung. Dies spiegelt sich auch in Molecular Modelling Untersuchungen der beiden Komplexe wieder (Abb. 2.16). Im Gegensatz zum 2'-Desoxyadenosin **55** ist AMP **56** unter Verzicht auf eine Ribose-OH-Phosphat-Wasserstoffbrücke so in der Kavität angeordnet, dass sein Phosphat möglichst weit von den Phosphonaten des Wirtes entfernt ist.

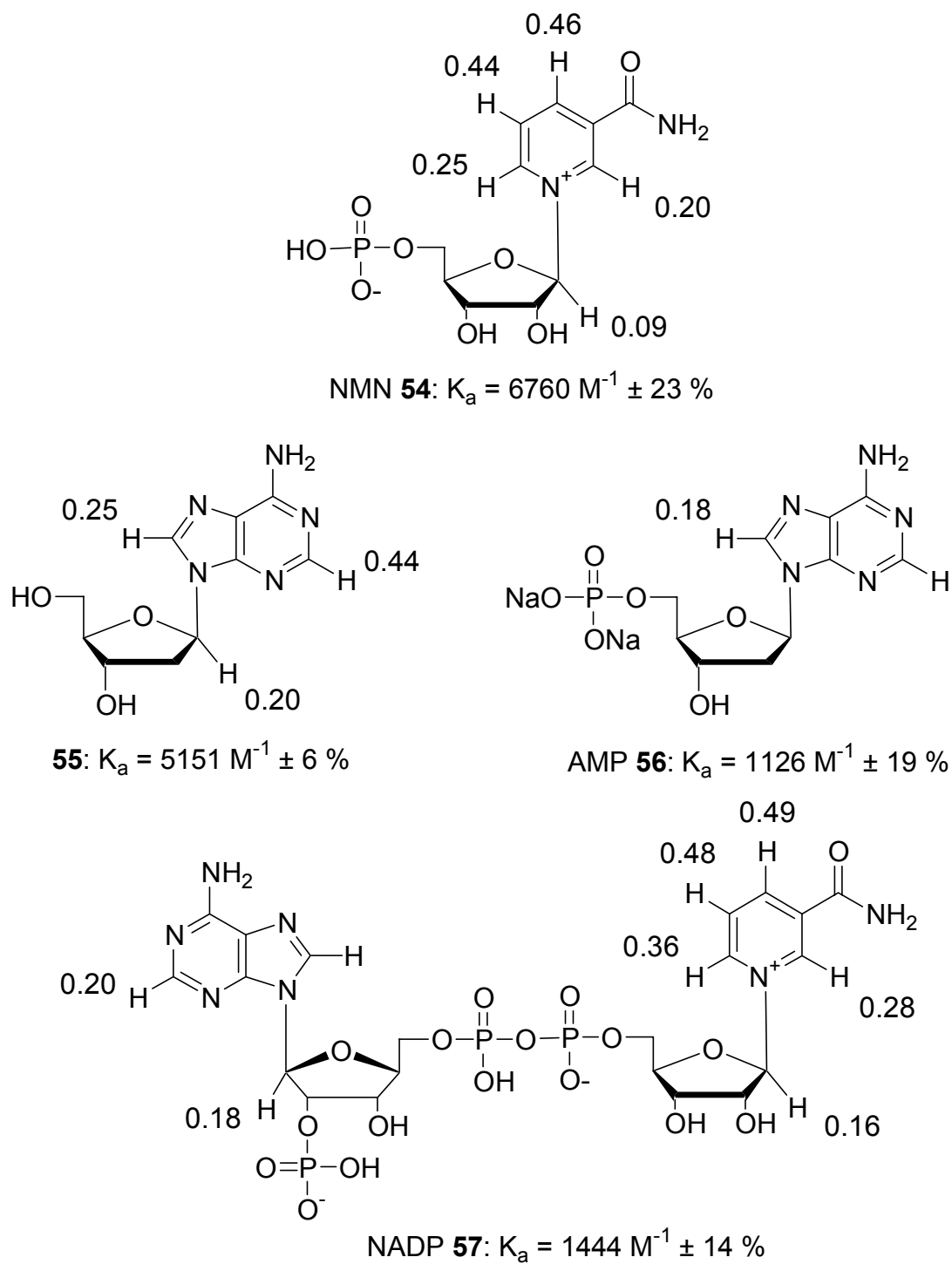


Abbildung 2.15: Bindungsexperimente mit NADP **57** und NAD⁺-Teilstrukturen. Die $\Delta\delta_{\text{max}}$ -Werte der jeweiligen Protonen sind in ppm angegeben.

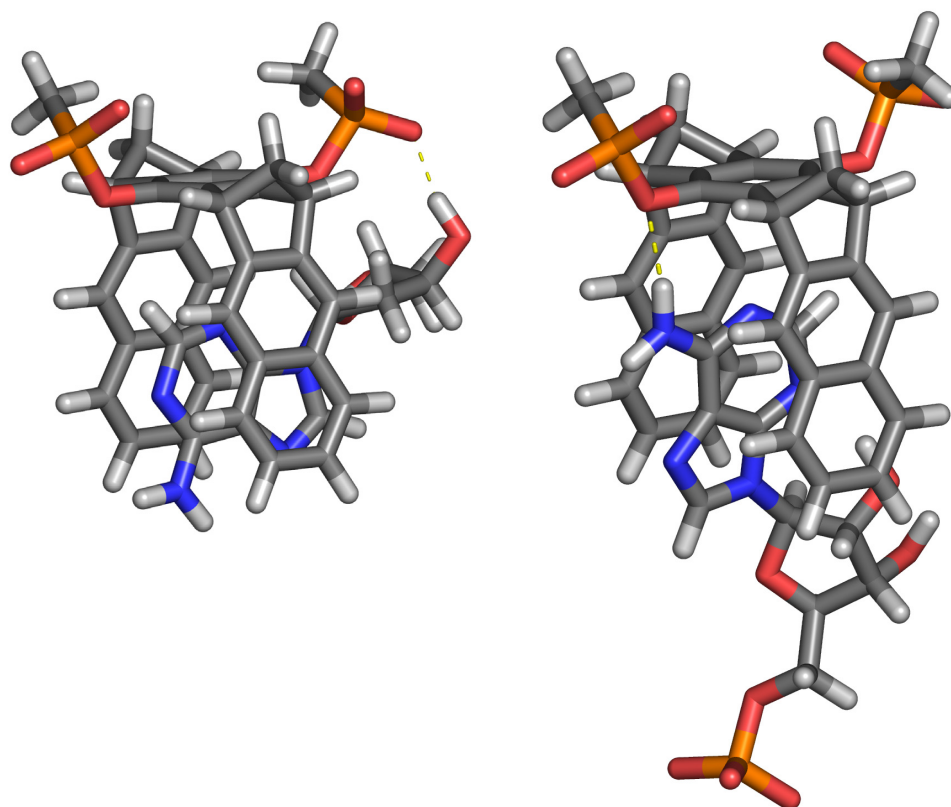


Abbildung 2.16: Berechnete Strukturen der Komplexe von 2'-Desoxyadenosin **55** (links) und AMP **56** (rechts) in der Bisphosphonat-Klammer **10** (links) in der Bisphosphonat-Klammer **56**. (Monte Carlo, Macromodel 7.1, Amber*, H₂O, 2000 Schritte).

Da AMP **56** immerhin von der Bisphosphonat-Klammer **10** gebunden wird, kann davon ausgegangen werden, dass auch der Adenin-Teil des NAD⁺ **52** in der Kavität der Klammer **10** gebunden wird. Es ist also anzunehmen, dass ein dynamisches Gleichgewicht vorliegt, in dem ein Teil der Nikotinamid-Reste und ein Teil der Adenin-Reste eingeschlossen ist. Allerdings deutet die erheblich stärkere Bindung des NMN **54** im Vergleich zum AMP **56** daraufhin, dass mehr Nikotinamid als Adenin gebunden vorliegt. Dieses Gleichgewicht muss auf der NMR-Zeitskala schnell sein, da nur gemittelte $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte ermittelt werden können und keine Aufspaltung der entsprechenden Signale beobachtet wird.

Ein Vergleich der beiden elektrostatischen Oberflächenpotentiale unterstützt diese Annahme erheblich: der Nikotinamid-Ring ist insgesamt viel positiver geladen als der Adenin-Ring (Abb. 2.17). Es sollte allerdings berücksichtigt werden, dass die elektronischen Oberflächenpotentiale in der Gasphase berechnet werden und die elektrostatische Wechselwirkung zwischen den polarisierten Aromaten in wässriger Lösung nicht allein an der Komplexierung beteiligt ist. Wenn die elektrostatische Wechselwirkung zwischen Gast- und Wirtaromat in wässriger Lösung ausschlaggebend wäre, dann würde im Falle des NAD⁺ **52** gar keine Komplexierung des Adenins stattfinden. Dies deutet daraufhin, dass andere Effekte,

wie z.B. der hydrophobe Effekt und dispersive Kräfte auch eine wichtige Rolle bei der Komplexierung spielen.

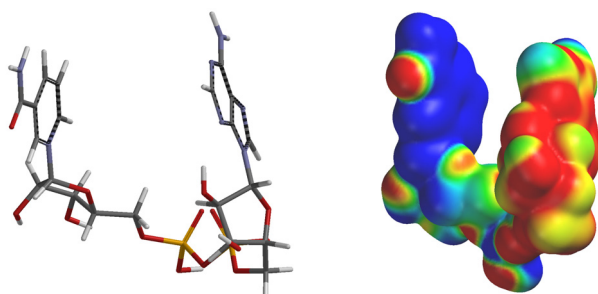


Abbildung 2.17: Die Struktur (links) und das elektrostatische Oberflächenpotential (rechts) von NAD⁺ **52**. Die Farbskala reicht von -104.6 kJ/mol (rot) bis $+104.6$ kJ/mol (blau), berechnet mit AM1 aus der Struktur von NAD⁺ im Komplex, welche aus einer Monte Carlo-Berechnung erhalten wurde.^[72]

Der Komplex von 2'-Desoxyadenosin **55** und der Bisphosphonat-Klammer **10** konnte trotz seiner relativ geringen freien Bindungsenergie zusätzlich in ESI-MS-Spektren nachgewiesen werden (Abb. 2.18).

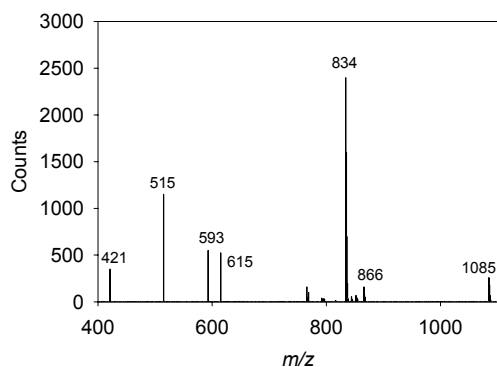


Abbildung 2.18: ESI-MS-Spektrum des Komplexes von 2'-Desoxyadenosin **55** und der Bisphosphonat-Klammer **10**. Das Spektrum wurde im negativen Bereich aufgenommen. Die berechnete Massen sind: $[\mathbf{10}+\mathbf{55}]^{2-}$: 421; $[\mathbf{10}\text{-OPOMe}]^-$: 515; $[\mathbf{10}+\text{H}^+]$: 593; $[\mathbf{10}+\text{Na}^+]$: 615; $[\mathbf{10}+\text{Bu}_4\text{N}^+]$: 834; $[\mathbf{10}+\text{Bu}_4\text{N}^++\text{Na}^+]$: 866; $[\mathbf{10}+\text{Bu}_4\text{N}^++\mathbf{55}]^-$: 1085. Über $m/z = 1100$ wurden keine Peaks gefunden.

Neuere Untersuchungen der Arbeitsgruppe Klärner haben gezeigt, dass die Komplexierung von NAD⁺ **52** stark pH-Wert abhängig ist. Bei Betrachtung des Komplexes aus NAD⁺ **52** und der Bisphosphonat-Klammer **24** in Puffer wurden wieder die gewohnten starken Hochfeld-Shifts beobachtet. Somit scheint die Komplexierung stark vom Protonierungsgrad der Phosphate abhängig zu sein.^[94]

Bindungsexperimente mit A2E

Ein weiterer Naturstoff auf *N*-Alkylpyridinium-Basis ist *N*-Retinyl-*N*-retinyliden-ethanolamin (A2E) **58** (Abb. 2.19). A2E **58** spielt eine maßgebliche Rolle bei der Entstehung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD). AMD ist eine der Hauptursachen für altersbedingte Sehstörungen.^[95, 96] Weltweit sind ca. 25% der über 75-jährigen von unterschiedlichen Stufen dieser Erkrankung betroffen. Für 5% dieser Altersgruppe hat die Krankheit eine hochgradige Sehbehinderung zur Folge.^[97] Man unterscheidet zwischen der feuchten und trockenen Form der AMD. Die feuchte Form wird durch abnorme Blutgefäß-Bildung in der Makula und unter der Retina verursacht. Die trockene Form, an der 90% der Patienten leiden, wird durch Ablagerungen auf der Makula verursacht. Dadurch kommt es zu einer Makula-Atrophie und die Funktion der Lichtrezeptoren ist stark eingeschränkt. Hauptsächlich der retinale Pigmentepithel ist von der AMD betroffen. Genaue Ursachen dieser Krankheit sind bislang weitgehend unbekannt. Therapiemöglichkeiten gibt es bis zum heutigen Tage noch nicht, aber es gibt Möglichkeiten, das Fortschreiten der Krankheit mit negativ geladenen Phospholipiden wie z.B. Phosphatidylglycerol^[98], blaues Licht filternden Molekülen wie Lutein^[98] oder durch das Implantieren von einer blaues Licht filternden Linse zu bremsen.^[99] Diese Methoden haben bislang jedoch noch keine klinische Anwendung.

A2E **58** und seine Isoform mit einer *cis*-Doppelbindung in Nachbarstellung zum Pyridinring, *iso*-A2E kommen gehäuft in den Lysosomen und Mitochondrien der Zellen der Retina vor.^[100-103] Mit steigendem Alter nimmt die Konzentration an A2E **58** in den Epithelialzellen zu.^[104] Die Überlastung der Epithelialzellen mit diesem Kation ist vermutlich die Ursache für die pathogenen Schritte. Zwar initiiert A2E **58** die Freisetzung der pro-apoptotischen Proteine Cytochrom *c* und dem Apoptose-induzierenden Faktor, aber A2E **58** ist kein generelles mitochondriales Gift. A2E **58** verhindert die kardiopinvermittelte Bindung von Cytochrom *c* an die Cytochrom *c* Oxidase (COX). Vermutlich konkurriert A2E **58** mit Kardiopin bei der Bindung an Cytochrom *c*. Dies führt zu einer Anhäufung an Cytochrom *c* in der Zelle, was einerseits eine Unterbrechung der Atmungskette der Zelle und damit die Entstehung von oxidativem Stress und andererseits die Auslösung der Apoptose zur Folge hat.^[98]

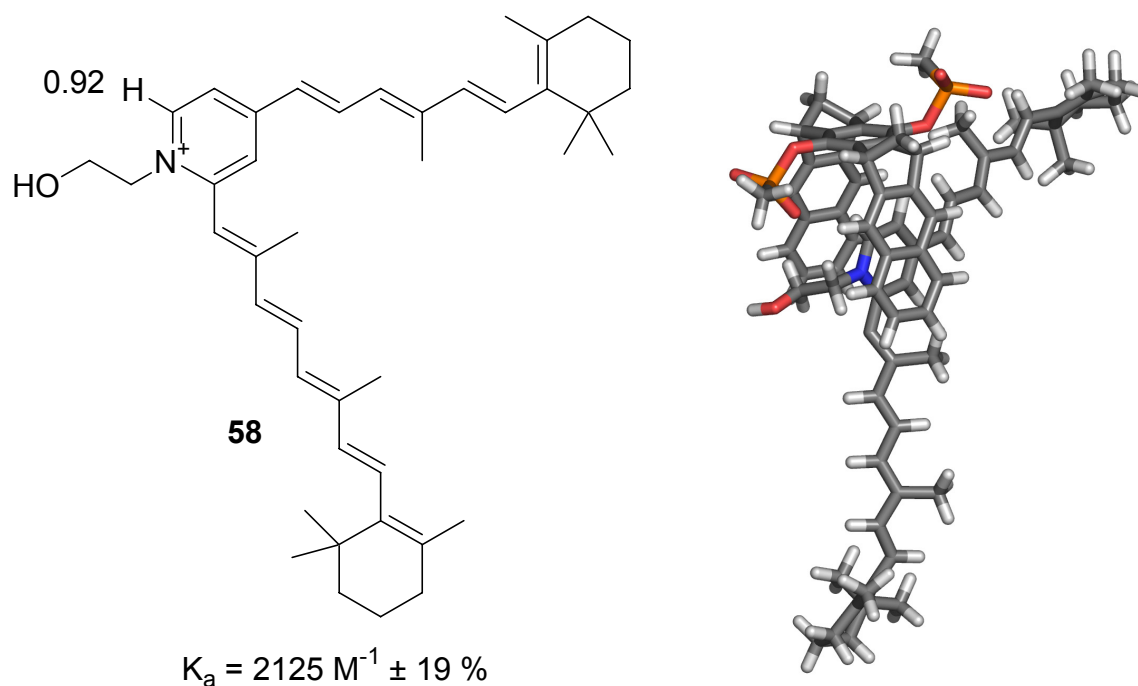


Abbildung 2.19: A2E **58** mit $\Delta\delta_{\text{max}}$ für die Bindung in Methanol- d_4 /D $_2$ O = 3:1 (links) und die berechnete Struktur für den Komplex von A2E **58** mit der Bisphosphonat-Klammer **10**. (Monte Carlo, Macromodel 7.1, Amber*, H $_2$ O, 2000 Schritte). Diese Struktur entspricht der mit einer Wasserbox berechneten (Sybyl 6.7, Tripos Kraftfeld).^[105]

Aufgrund der geringen Löslichkeit von A2E **58** in Wasser wurde die NMR-Titration mit der Bisphosphonat-Klammer **10** in einem Methanol- d_4 /D $_2$ O-Gemisch durchgeführt. Das Bindungsexperiment zeigte deutliche Hochfeld-Shifts der aromatischen Gast-Protonen, aber aufgrund der Komplexität des Spektrums war es nur möglich, für ein Proton $\Delta\delta_{\text{max}}$ zu bestimmen. Die resultierende Bindungskonstante ist vergleichbar mit denen anderer *N*-Alkylpyridiniumsalze. Im Molecular Modelling-Bild zeigt sich, warum die Bindungskonstante von etwa 2000 M^{-1} trotz sterisch relativ anspruchsvollen Substituenten am Pyridiniumring nur unwesentlich niedriger ist als bei den anderen Pyridinium-Derivate. Trotz der sperrigen Substituenten ist es immer noch möglich den Pyridinium-Ring zu komplexieren ohne dass die Substituenten dabei stören. Um den Einfluss diskreter Wassermoleküle auf die Struktur bestimmen zu können, wurde die energetisch günstigste Struktur einer Monte Carlo Simulation in einer Wasserbox minimiert. Die Wasserbox zeigte dabei keinerlei Einfluss auf die Struktur des Komplexes.

A2E **58** zeigt aufgrund seiner hydrophoben Terpen-Seitenketten eine deutliche Einlagerung in Modellmembranen.^[102, 106] Damit ist A2E **58** gut geeignet für Langmuir-Blodgett Experimente an Modellmembranen.^[107] Mit der Acetat-Pinzette **12** wurden bereits erste Versuche in Modellmembranen gemacht.^[108] Die Bisphosphonat-Klammer **10** zeigt selbst

jedoch nur relativ geringe zusätzliche p/A-Shifts bei der Einlagerung in eine monomolekulare Schicht aus Stearinsäure (Abb. 2.20). Erst beim Auftropfen von 2 Äquivalenten der Bisphosphonat-Klammer **10** auf die gespreizte Lipidschicht ist ein Zuwachs der Monoschicht um ca. 2 Å/Molekül zu beobachten. Wird dagegen eine reine Stearinsäure-Monoschicht über eine 10^{-7} M Lösung aus A2E **58** in Wasser erzeugt, so ist auch in diesem Fall ein p/A-Shift von ca. 2 Å/Molekül zu beobachten. Dies ist einen bemerkenswerter Anstieg, da Langmuir-Blodgett Experimente üblicherweise bei Konzentrationen durchgeführt werden, die um drei Größenordnungen über der hier gewählten Konzentration liegen. Die zeigt die effektive A2E-Einlagerung in der Stearinsäure-Monoschicht an. Bei der kombinierten Einlagerung der Bisphosphonat-Klammer **10** in die Stearinsäure-Monoschicht über eine Lösung von A2E **58** in Wasser wurde jedoch wieder lediglich ein Anstieg von 2 Å/Molekül beobachtet. Somit erfolgte also kein zusätzlicher Anstieg der Monoschicht, der auf die Bildung eines Komplexes hindeuten würde, welche die Monoschicht zusätzlich aufweitet (Abb. 2.20).

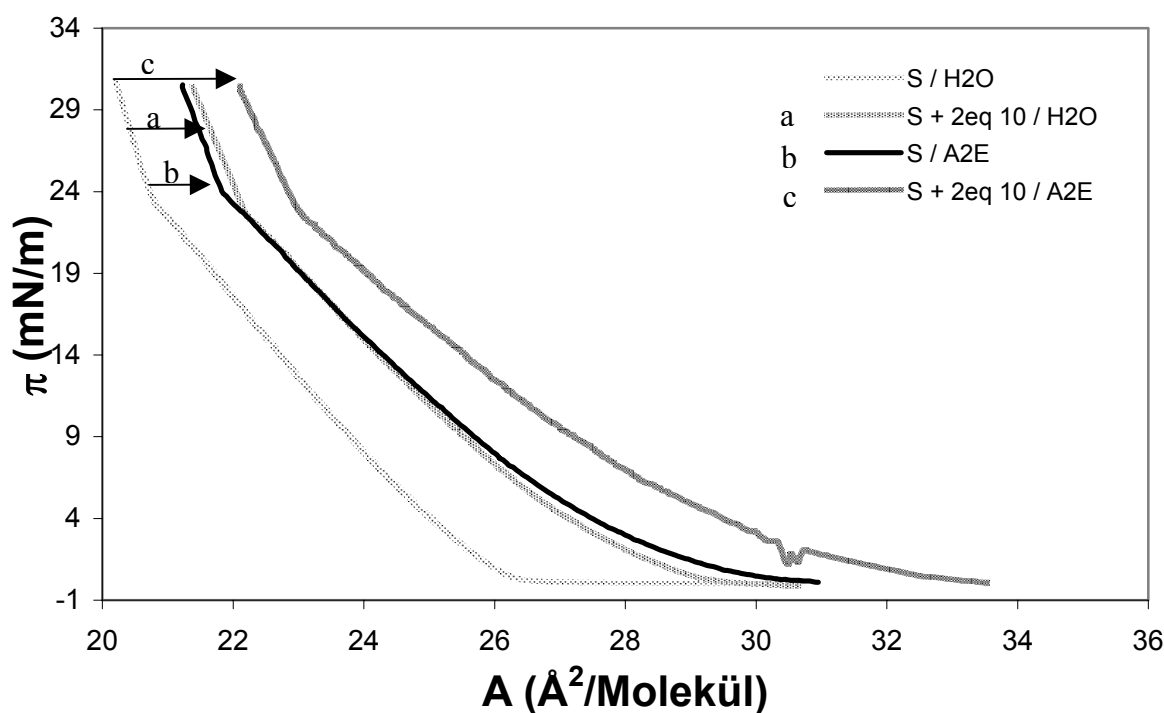


Abbildung 2.20: Druck/Fläche-Diagramm der Filmwaage-Untersuchung zur Bindung von A2E **58** an die immobilisierte Bisphosphonat-Klammer **10**. Stearinsäure wird mit S abgekürzt.

Diese Beobachtung könnte auf folgende Ursache zurückzuführen sein. Gemäß ihrer Amphiphilie sollte sich die Bisphosphonat-Klammer **10** in der Monoschicht mit ihrer Öffnung nach oben ausrichten, also von der Subphase abgewandt (Abb. 2.21). Daher kann sie kein zusätzliches A2E **58** aus der Subphase aufnehmen. Obwohl dieser Zustand natürlich

dynamisch ist und in der fluiden Membran sicherlich auch Moleküle mit ihrer Kavität nach unten ausgerichtet sind, könnte die Umorientierung zuviel Energie kosten, und so die effiziente Komplexierung von A2E **58** verhindern.

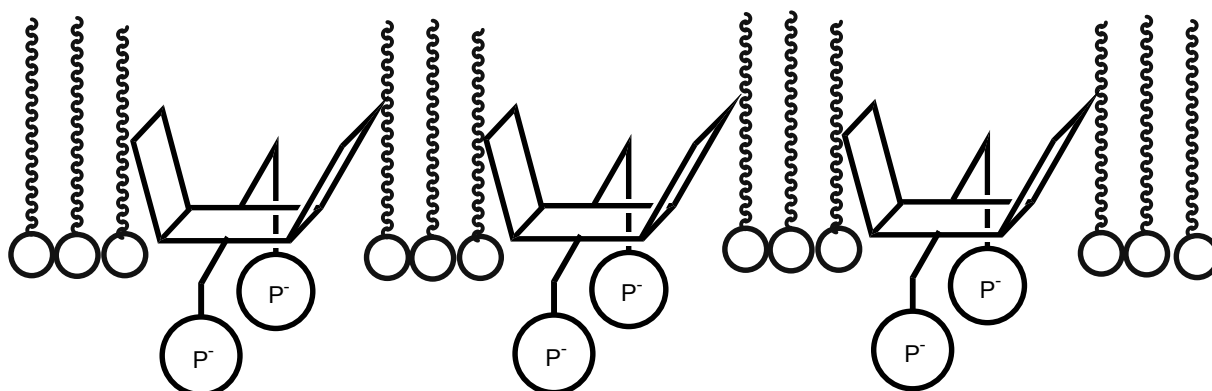


Abbildung 2.21: Schematische Darstellung der vermuteten Anordnung der Bisphosphonat-Klammer **10** in der Stearinsäure-Monoschicht.

In ersten Versuchen in Apoptose-Essays mit Epithelzellen, die von der Firma Lynkeus Biotech durchgeführt wurden, konnte beobachtet werden, dass die Bisphosphonat-Klammer **10** die Apoptose erfolgreich hemmt. Diese erfolgreiche Hemmung zeigt nicht nur das Potential der Bisphosphonat-Klammer **10**, sondern beweist auch, dass sie zellgängig ist.

2.2.3 Bindungsexperimente mit Nukleinbasen

Bei den Untersuchungen zur NAD^+ Bindung wurde überraschend festgestellt, dass nicht nur kationische Aromaten in der Bisphosphonat-Klammer **10** komplexiert werden, sondern dass auch das elektronenarme neutrale Adenosin relativ stark gebunden wird. Dieser Befund wirft die Frage auf, wie das Komplexierungsverhalten der Bisphosphonat-Klammer in Hinblick auf die anderen Nukleinbasen und verwandte Verbindungen aussieht.

Aufgrund der zentralen biologischen Bedeutung der Nukleinbasen^[82] standen sie schon früh im Mittelpunkt des Interesses supramolekularer Chemiker.^[109] Dementsprechend gibt es eine große Vielfalt an künstlichen Rezeptoren für Nukleinbasen^[24, 110-117], insbesondere für Adenin.^[118-120] Diese Rezeptoren benutzen meist eine Kombination aus Wasserstoff-Brücken und π - π -Wechselwirkungen zur Komplexierung des Gastes. Die historisch ersten Rezeptoren arbeiteten noch in organischer Lösung, aber spätere Generationen, wie z.B. Rezeptoren auf Cyclophan-Basis erkennen Nukleotide in Wasser.^[118] Mit Rezeptoren auf Phenanthridinium-Basis werden in gepufferter Lösung sogar Bindungskonstanten bis zu 10^6 M^{-1} erreicht.^[121]

Nukleoside

Bei unseren Bindungsexperimenten wurde der Schwerpunkt auf die Untersuchung der Komplexierung von Nukleosiden und Nukleotiden gelegt, da die unsubstituierten Nukleinbasen sich als sehr schwer wasserlöslich herausstellten und kaum biologische Bedeutung haben. Ein Vergleich der K_a -Werte für die Bindung von Nukleosiden in der Bisphosphonat-Klammer **10** zeigt auf den ersten Blick, dass die Bindungskonstanten alle in gleichen Größenordnung liegen (Abb. 2.22). Dabei werden die beiden Nukleotide 2'-Deoxyadenosin **55** und 2'-Deoxycytidin **62** relativ stark gebunden, während 2'-Deoxyguanosin **59**, 2'-Deoxythymidin **60** und 2'-Deoxyuridin **61** um dem Faktor zwei bis drei schwächer gebunden werden.

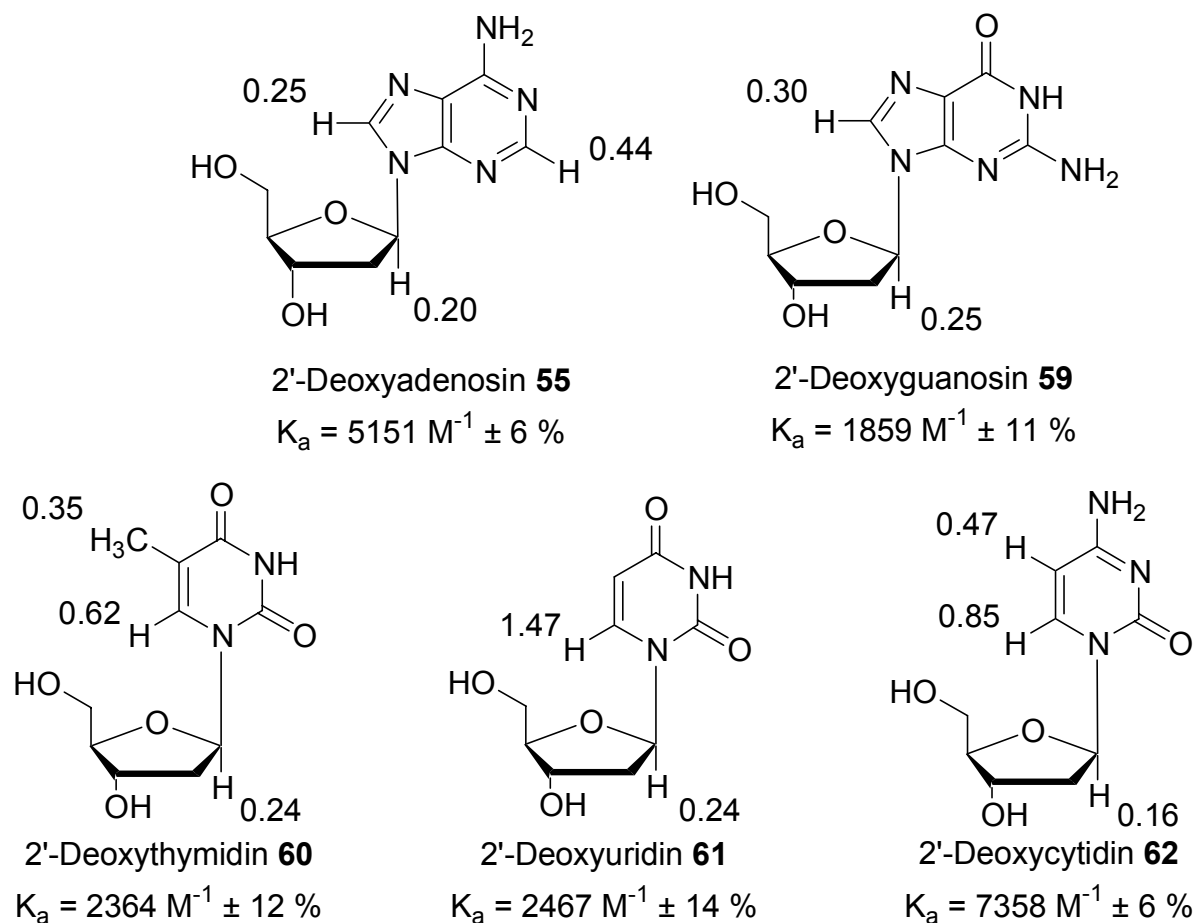


Abbildung 2.22: Ergebnisse der Bindungsstudien mit Nukleosiden. Die Bindungskonstanten für die Bindung an die Bisphosphonat-Klammer **10** in Wasser sind an den jeweiligen Nukleosiden vermerkt, ebenso wie die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte der beobachteten Signale.

Bei der Analyse der Änderungen in den chemischen Verschiebungen im Komplex fällt auf, dass die Protonen an den aromatischen Ringsystem ausnahmslos starke Hochfeldshifts aufweisen, die Fünfringe zeigen jedoch etwas geringere Shifts als die Sechsringe. Das

anomere Wasserstoffatom an der 1'-Position zeigt außerdem in allen Fällen immer noch einen deutlichen Hochfeldshift, während die anderen Protonen der Ribose nur verschwindend geringe Änderungen ihrer chemischen Verschiebung aufweisen. Dies deutet daraufhin, dass sich das elektronenarme Ringsystem der Nukleinbasen wie erwartet in der Kavität der Bisphosphonat-Klammer befindet. Besonders deutlich wird dies bei der Betrachtung der chemischen Verschiebungen des 2'-Deoxythymidins **60** und 2'-Deoxuridins **61**. Während das Thymidin eine sterisch relativ anspruchsvolle Methylgruppe besitzt, welche die Komplexierung erschwert, hat das Uridin an der gleichen Position ein Wasserstoffatom. Dadurch wird die Komplexierung erleichtert, was sich zwar nicht auf die Bindungskonstante niederschlägt, aber wohl auf den $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Wert. Dies bedeutet vermutlich, dass die Ringsysteme unterschiedlich in der Kavität angeordnet sind. Eine quantenchemische Berechnung der chemischen Verschiebungen im Komplex könnte diesbezüglich bei der Aufklärung helfen.^[61] Ein Vergleich der Bindungskonstanten mit dem elektrostatischen Oberflächenpotential der Nukleinbasen zeigt eine verhältnismäßig gute Korrelation (Abb. 2.23). Adenosin hat deutlich größere elektronenarme Flächen als Guanosin. Bei den Pyrimidin-Basen sind nur kleine Unterschiede sichtbar, welche den Selektivitätsunterschied nicht erklären.

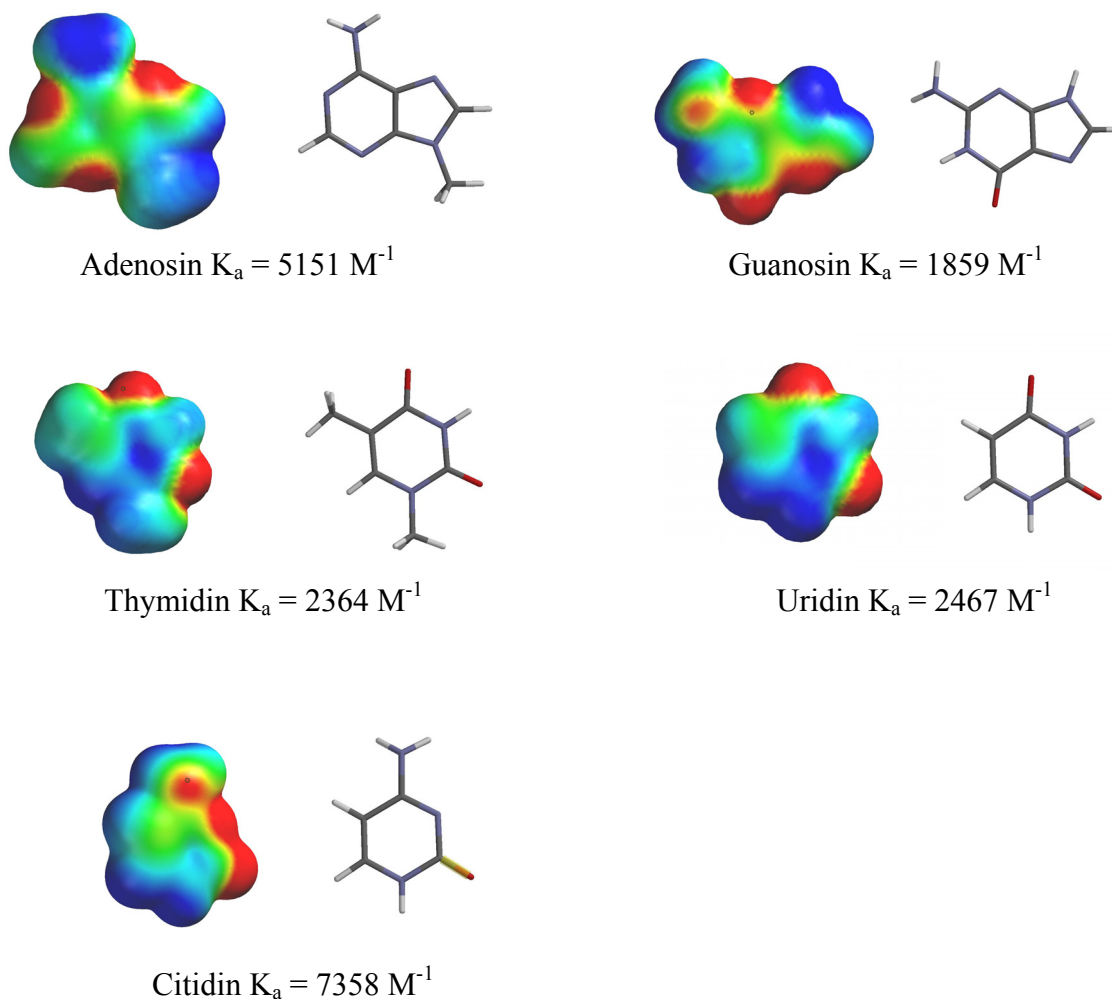


Abbildung 2.23: Die Struktur (rechts) und das elektrostatische Oberflächenpotential (links) der Nucleosiden. Die Farbskala reicht von -104.6 kJ/mol (rot) bis $+104.6 \text{ kJ/mol}$ (blau).^[72] Die Bindungskonstanten für die Bindung der entsprechenden Nucleoside an die Bisphosphonat-Klammer **10** ist bei den Nucleinbasen vermerkt.

Nucleotide

Nach den Nucleoside wurden auch die entsprechenden Nucleotide auf ihre Bindungseigenschaften hin überprüft. Bis auf das AMP **56** werden jedoch keine anderen Nucleotide von der Bisphosphonat-Klammer **10** gebunden. Alle Änderungen in Ihren chemischen Verschiebungen sind so gering ($< 0.03 \text{ ppm}$), dass eine Komplexierung ausgeschlossen werden kann. Auch Adenosintriphosphat **67** (ATP) wird nicht gebunden, wahrscheinlich generell wegen der starken Phosphonat-Phosphat-Abstoßung bei der Annäherung der Komplexpartner.

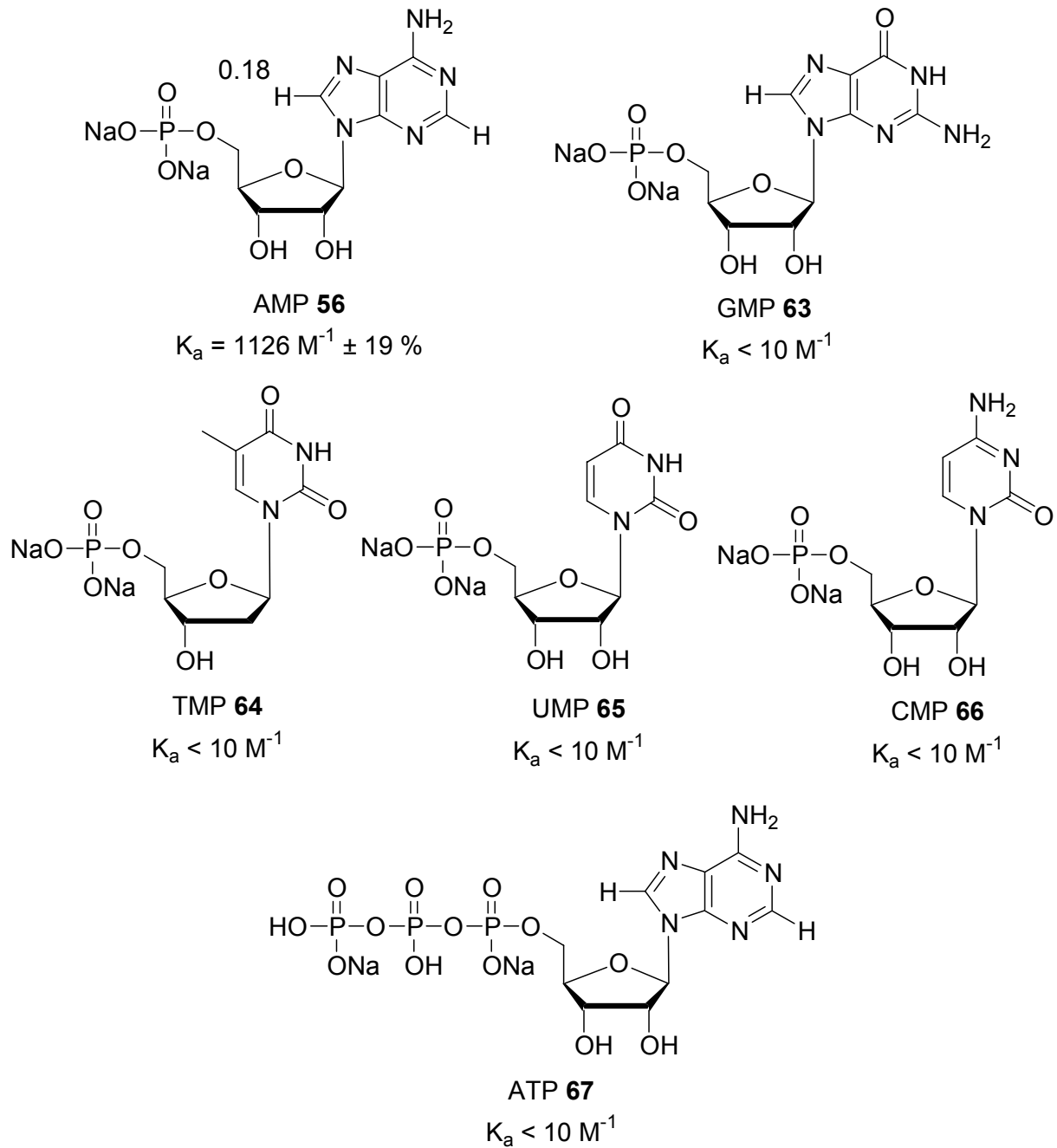


Abbildung 2.24: Ergebnisse der Bindungsstudien mit Nucleotiden. Die Bindungskonstante für die Bindung an die Bisphosphonat-Klammer **10** in Wasser ist vermerkt, ebenso wie die $\Delta\delta_{\text{sa}}$ -Werte der beobachteten Signale.

Auffälligerweise bindet auch Cytidinmonophosphat **66** (CMP) nicht in der Bisphosphonat-Klammer **10**, obwohl 2'-Deoxycytidin **59** sogar die größte Bindungskonstante unter den Nucleosiden aufweist. Die Bindung von AMP **56** ist deshalb wahrscheinlich auf die größere aromatische Fläche des Adenins im Vergleich zum Cytidin zurückzuführen.

Wirkstoffe auf Nukleosid-Basis

Da die Bisphosphonat-Klammer **10** eine starke Bindung der Nukleoside zeigt, wurde das Komplexierungsverhalten von weiteren Verbindungen auf Nukleosid-Basis überprüft. Zunächst wurden zwei Nukleosid-Analoga getestet, die (potentielle) Therapeutika sind. Das 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidin (AZT) **68** und 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidin **69** sind beide sehr effiziente Inhibitoren für das menschliche (human) Immunodefizienz-Virus (HIV).^[122] Diese besitzen jedoch eine geringe Permeabilität für die Blut-Hirn-Schranke.^[123] Aus diesem Grund ist ein synthetischer Rezeptor von besonderem Interesse, da dieser als Transportmolekül dienen könnte. Sowohl AZT **68** als auch 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidin **69** werden von der Bisphosphonat-Klammer **24** gebunden (Abb. 2.25).

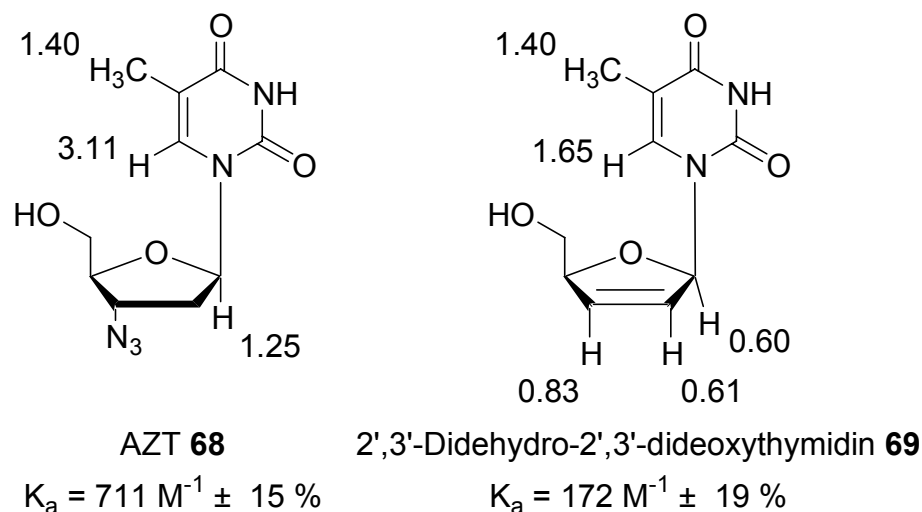


Abbildung 2.25: Ergebnisse der Bindungsstudien mit 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidin (AZT) **68** sowie 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidin **69** mit der Bisphosphonat-Klammer **24**. Die Bindungskonstante für die Bindung in Wasser ist vermerkt, ebenso wie die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte der beobachteten Signale.

Die geringere Bindungskonstante des AZT **68** im Vergleich zum 2'-Deoxythymidin **60** ist wahrscheinlich auf die Azido-Gruppe zurückzuführen. Eine Monte Carlo Untersuchung zeigt, dass diese im Komplex relativ weit entfernt von den Phosphonaten der Klammer angeordnet ist (Abb. 2.26). Die Ribose des 2',3'-Deoxythymidins **68** ist jedoch viel näher an den Phosphonaten angeordnet und somit liefert die Monte Carlo Simulation keine zufriedenstellende Begründung, warum 2',3'-Deoxythymidin **69** relativ schwach gebunden wird.

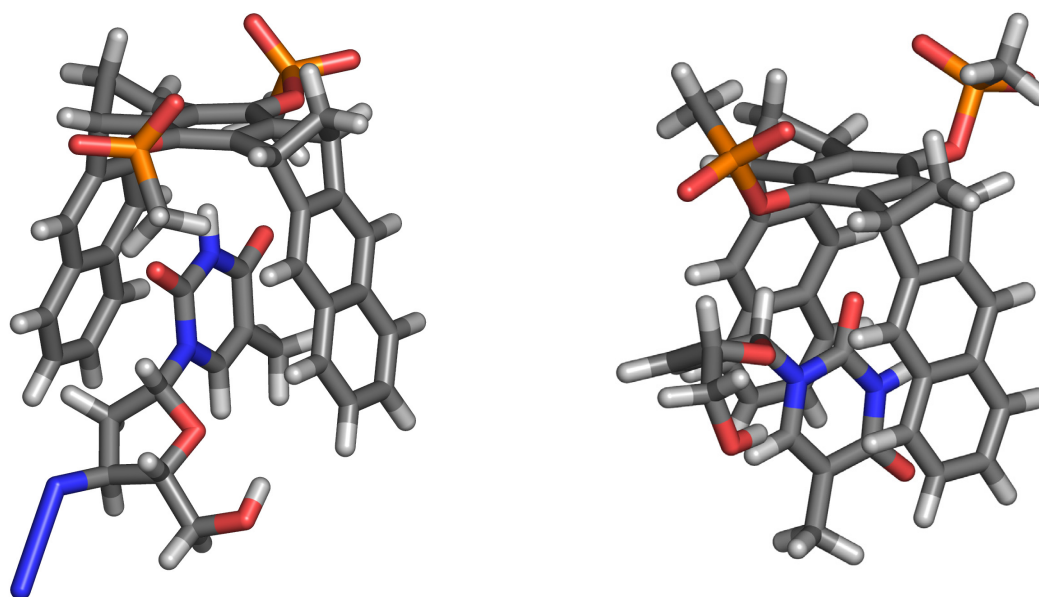
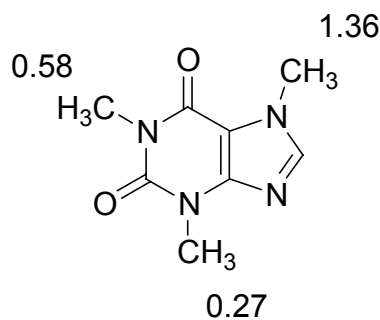


Abbildung 2.26: Links: die berechnete Struktur für den Komplex von AZT **68** mit der Bisphosphonat-Klammer **24** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, OPLS-AA, H₂O, 2000 Schritte). Rechts: die berechnete Struktur für den Komplex von 2',3'-Deoxythymidin **69** mit der Bisphosphonat-Klammer **24** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, Amber*, H₂O, 2000 Schritte).

Koffein und FAD

Eine weitere Purinbasen-analoge Verbindung ist Koffein **70**. Aufgrund seiner Bekanntheit war Koffein schon vielfach Mittelpunkt von Untersuchungen zur Wirt-Gast-Wechselwirkung. Neben ausschließlich in organischen Lösungsmitteln löslichen Systemen^[124-126], wurde in letzter Zeit auch ein wasserlöslicher Rezeptor für Koffein beschrieben.^[127]

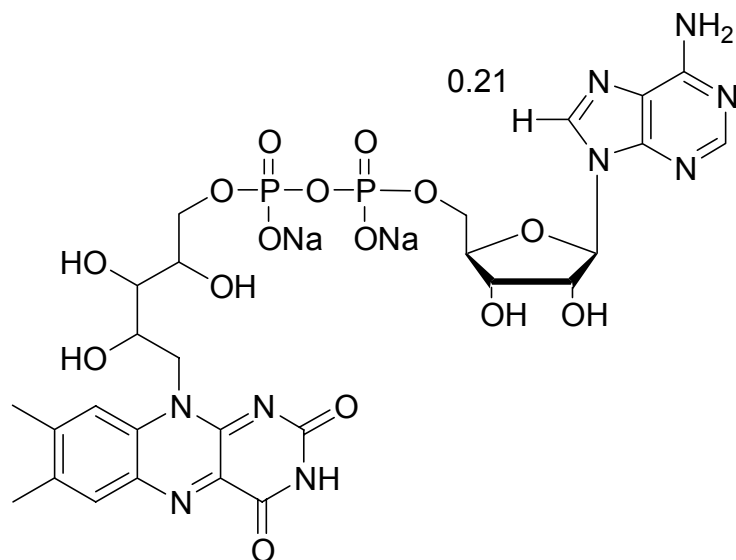
Die Bisphosphonat-Klammer **10** bindet Koffein **70** mit einer für Nukleinbasen erstaunlich hohen Bindungskonstante von 29340 M^{-1} . Damit ist die Bindungskonstante um einen Größenordnung höher, als die bislang in Wasser bekannten Bindungskonstanten.^[127] Von daher würde sich dieses Gast-Wirt-System gut für mikrokalorimetrische Messungen eignen.



70, $K_a = 29340 \text{ M}^{-1} \pm 12 \%$

Abbildung 2.27: Ergebnis der Bindungsstudien von Koffein **70** mit der Bisphosphonat-Klammer **10**. Die Bindungskonstante für die Bindung in Wasser ist vermerkt, ebenso wie die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte der beobachteten Signale.

Ein weiterer wichtiger Cofaktor, der genauso wie NAD^+ **52** eine Adenosin-Einheit enthält, ist Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) **71** (Abb. 2.28). Wie NAD^+ **52** ist FAD **71** an vielen enzymatischen Redox-Reaktionen beteiligt.^[82] Ähnlich wie beim NAD^+ **52** besitzt das FAD **71** zwei elektronenarme Ringsysteme und somit zwei mögliche Komplexierungsstellen für die Bisphosphonat-Klammer **10**. Das Bindungsexperiment zeigt jedoch nur minimale Änderungen der chemischen Verschiebung für das Flavin-Ringsystem und eine deutliche Änderung für das Adenin. Die Auswertung ergibt eine Bindungskonstante von 908 M^{-1} . Werden jedoch die Signale des Wirtes ausgewertet, ergibt sich eine Bindungskonstante von 4900 M^{-1} . Die Ursache dieser großen Diskrepanz ist jedoch unklar. Die geringe Änderung der chemischen Verschiebung für das Flavin-Ringsystem deutet daraufhin, dass dieses nicht von der Bisphosphonat-Klammer **10** komplexiert wird oder dass die beobachteten Signale sich zu weit von der Kavität entfernt sind, um einen Shift aufzuweisen.



$$71, K_a = 908 \text{ M}^{-1} \pm 14 \%$$

Abbildung 2.28: Ergebnis der Bindungsstudien von FAD **71** mit der Bisphosphonat-Klammer **10**. Die Bindungskonstante für die Bindung in Wasser ist vermerkt, ebenso wie die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte der beobachteten Signale.

Bei Monte Carlo Rechnungen wird deutlich, dass die Methyl-Protonen des Flavins, die als einzige seine Komplexierung anzeigen könnten, sich bei einer Komplexierung wahrscheinlich nicht in der Kavität befinden (Abb. 2.29, links). Analog zum Komplex mit NAD^+ **52** ist auch hier eine Struktur denkbar, bei der sich das Adenin in der Kavität befindet (Abb. 2.29, rechts). In diesem Fall orientiert sich das Flavin-Ringsystem an die Seitenwand der Bisphosphonat-Klammer. In dieser Anordnung müssten deutliche Shifts in Adenin und nur geringe in Flavin auftreten. Diese Anordnung erklärt die experimentellen Beobachtungen am besten.

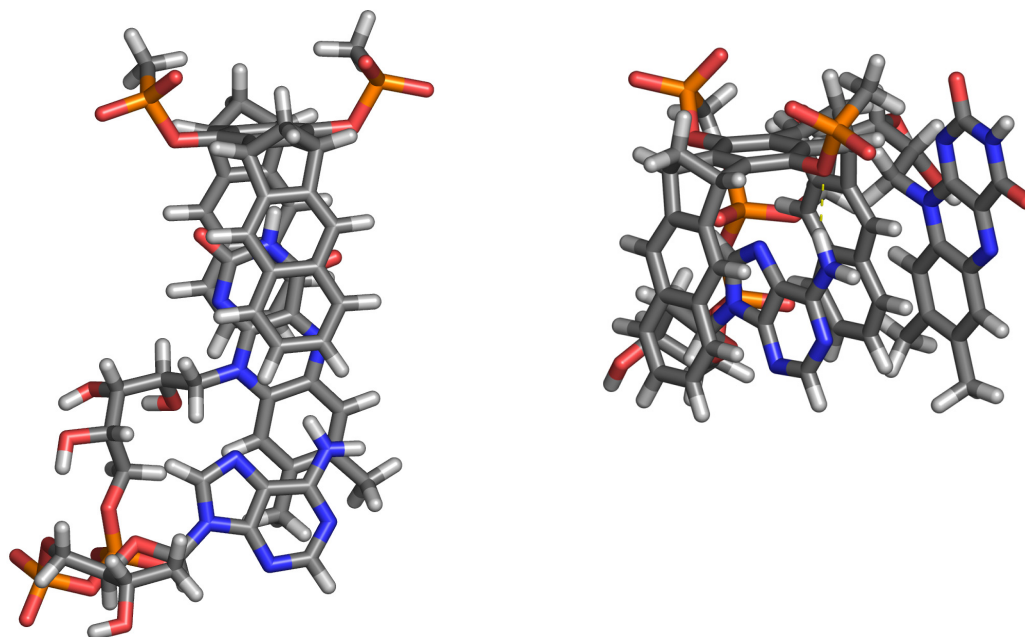
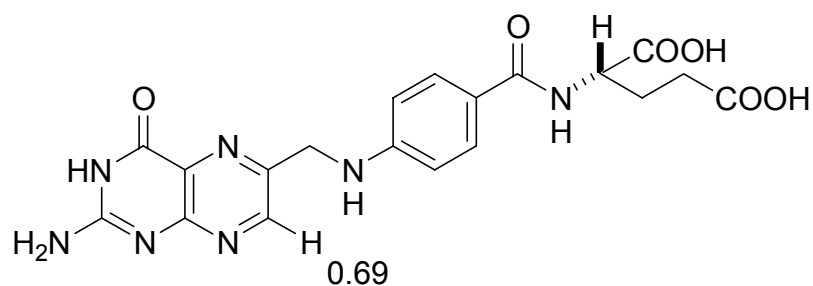


Abbildung 2.29: Die berechnete Strukturen für den Komplex von FAD **71** mit der Bisphosphonat-Klammer **10** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, Amber*, H₂O, 2000 Schritte). Links befindet sich das Flavin in der Kavität, rechts das Adenin.

Folsäure

Eine weitere elektronenarme Verbindung, deren mögliche Komplexierung in der Bisphosphonat-Klammer **10** untersucht wurde, ist Folsäure **72** (Abb. 2.30). Das Bindungsexperiment zeigt eine hohe Bindungskonstante von 20230 M^{-1} . Die Folsäure besitzt nur ein nichtacides Proton am aromatischen Ring, das als Sensor für den Komplexierungsmodus dienen kann. Die Methylenbrücke zeigt zwar eine Änderung der chemischen Verschiebung bei der Komplexierung, aber diese ist in der Titration zu unregelmäßig um sie auswerten zu können. Die anderen Protonen zeigen dagegen keine Änderung. Es wurde versucht diese Bindungskonstante mittels mikrokalorimetrische Messungen zu bestätigen, aber es stellte sich heraus, dass Folsäure in Wasser zu schlecht löslich ist um mikrokalorimetrische Messung durchführen zu können. Eine Molecular Modelling Studie des Komplexes zeigt jedoch, dass das beobachtete Proton bereits nicht mehr in der Kavität liegt ist, genauso wie die Methylenbrücke, wodurch die Beobachtungen im Bindungsexperiment unterstützt werden (Abb. 2.31).



$$72, K_a = 20230 \text{ M}^{-1} \pm 12 \%$$

Abbildung 2.30: Ergebnis der Bindungsstudien von Folsäure **72** mit der Bisphosphonat-Klammer **10**.

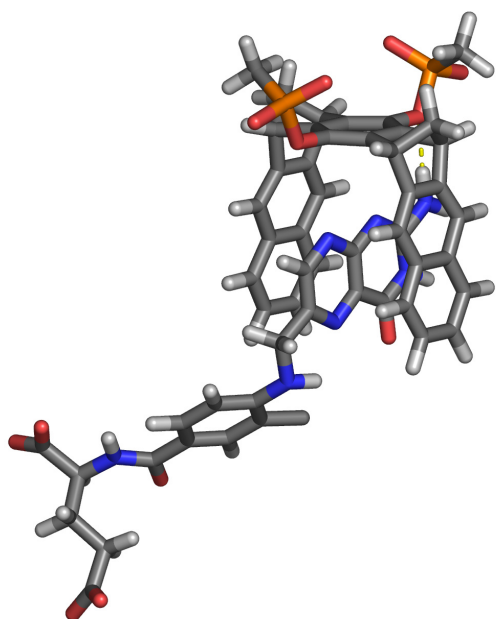


Abbildung 2.31: Die berechnete Struktur für den Komplex von Folsäure **72** mit der Bisphosphonat-Klammer **10** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, Amber*, H₂O, 2000 Schritte).

2.2.4 Bindungsexperimente mit Thiamin

Thiaminpyrophosphat (TPP) **76** ist ein wichtiger Cofaktor, der im Körper aus Thiamin (Vitamin B1) **75** aufgebaut wird.^[82] TPP **76** ist an vielen enzymatischen Reaktionen beteiligt.^[128, 129] Neben Decarboxylierungen^[130] und Oxidationen^[131] katalysiert TPP **76** Ligations-Reaktionen. In diesem Fall bildet das TPP **76** ein nukleophiles Enamin als Intermediat, welches somit als umgepoltes Acyl-Anion dient.^[132] Im Enzym ist TPP **76** in einer typischen V-Form gebunden. Diese relativ energiereiche Konformation wird von hydrophoben Wechselwirkungen mit unpolaren Aminosäuren stabilisiert. Beide Ringsysteme des Thiamins werden so stabilisiert (Abb. 2.32).^[133]

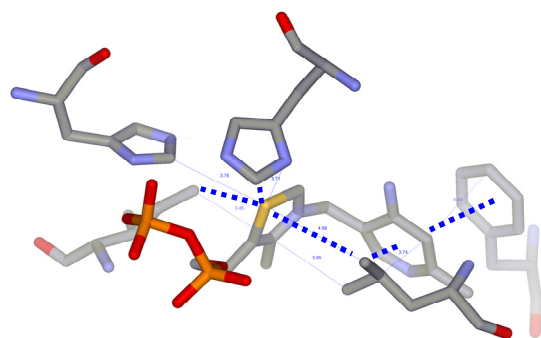


Abbildung 2.32: Ausschnitt aus der Struktur der Transketolase aus Hefe. Die V-Konformation des TPPs **76** wird an der konvexen Seite von einem Leucin stabilisiert. Zusammen mit Phenylalanin, Histidin und Isoleucin wird eine hydrophobe Tasche gebildet.^[134]

In einem ersten Bindungsexperiment mit einem Thiazolium-Salz **73** konnte Christian Jasper starke Hochfeld-Shifts der Gast-Signale beobachten (Abb. 2.33).^[64]

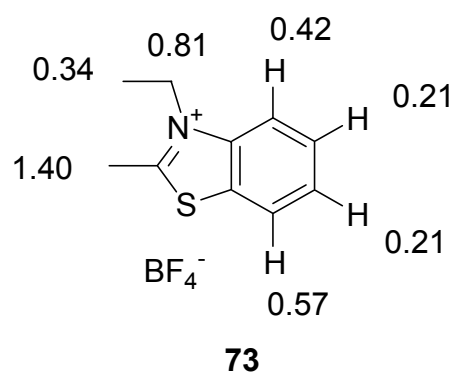


Abbildung 2.33: Beobachtete Änderungen der chemischen Verschiebung im 1:1 Komplex mit der Bisphosphonat-Klammer **10**.^[64]

Daraufhin wurde im Rahmen dieser Arbeit das Komplexierungsverhalten von *N*-Methylthiazoliumiodid **74**, Thiamin **75** und TPP **76** in der Bisphosphonat-Klammer untersucht (Abb. 2.34). Dabei wurde festgestellt, dass das *N*-Methylthiazoliumiodid **74** eine starke Bindung an die Bisphosphonat-Klammer **10** zeigt. Im Vergleich dazu zeigen Thiamin **75** und TPP **76** eine deutlich höhere Bindungskonstante. In beiden Fällen werden die höchsten komplexinduzierten Shifts an der Methylenebrücke, welche die beiden Aromaten verbindet, sowie am Proton am Pyrimidinium-Ring beobachtet. Beide liegen nahe am Mittelpunkt des Moleküls. Auch die anderen Protonen zeigen einen deutlichen Hochfeld-Shift. Lediglich die Protonen an der Alkyl-Kette zeigen einen relativ kleinen Shift. Dies deutet darauf hin, dass beide Ring-Systeme an der Bindung beteiligt sind.

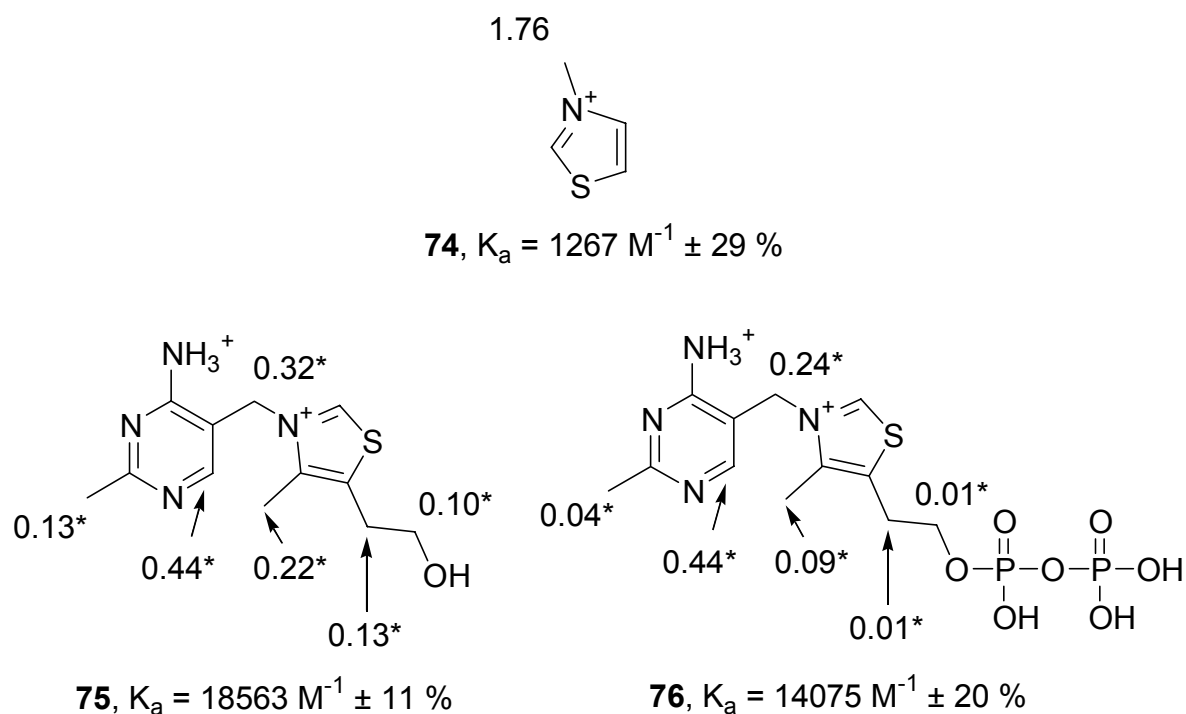


Abbildung 2.34: Ergebnisse der Bindungsstudien von Thiazolium-Salzen mit der Bisphosphonat-Klammer **10**. Die Bindungskonstanten sind an den Molekülen vermerkt, ebenso wie $\Delta\delta_{\text{sat}}$. Bei den Werte mit einem * handelt es sich um im 1:1-Komplex beobachtete Änderungen der chemischen Verschiebung.

Interessanterweise zeigt eine Monte Carlo Untersuchung eine Struktur, in der beide Ring-Systeme sich teilweise in der Kavität der Bisphosphonat-Klammer **10** befinden (Abb. 2.35). Diese Struktur erklärt die in den Bindungsstudien gefundenen komplexinduzierten Shifts sehr gut. Allerdings ist die Kavität der Bisphosphonat-Klammer in diesem Fall extrem aufgeweitet. Der Abstand der beiden Seitenwände beträgt in dieser Struktur etwa 12 Å, während in Röntgenstrukturanalyse Abstände von etwa 8 bis 11 Å beobachtet wurden.^[48] Aus Untersuchungen von weiteren Molecular Modelling Strukturen, sowie den Kristallstrukturen, zeigte sich jedoch, dass die Aufweitung der Kavität nur eine geringe Aktivierungsenergie benötigt. Diese sollte maximal etwa 4 kJ/mol betragen.^[50]

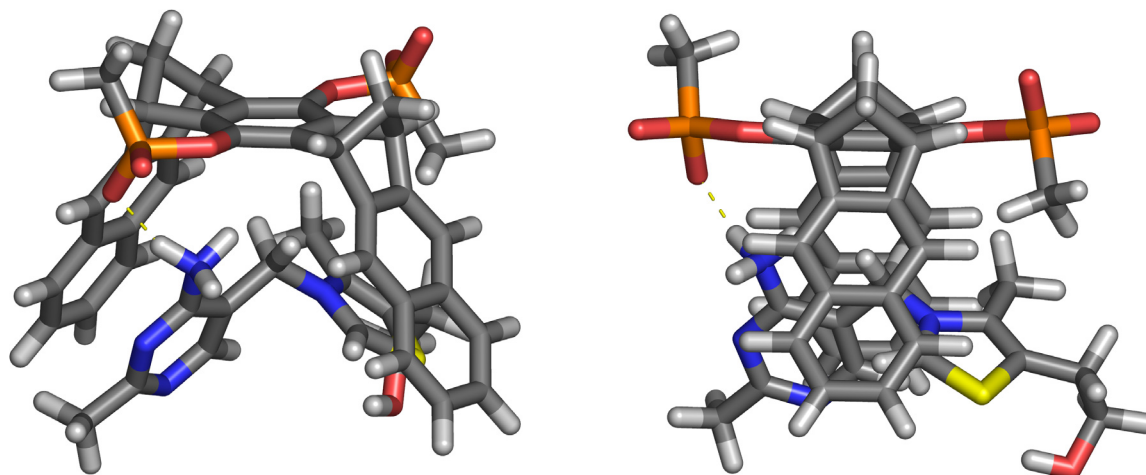


Abbildung 2.35: Die berechnete Struktur für den Komplex von Thiamin **75** mit der Bisphosphonat-Klammer **10** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, OPLS-AA, H₂O, 2000 Schritte, Schwefel ist in gelb dargestellt).

Diese Struktur wird von einem NOESY-Experiment unterstützt. Im NOESY-Experiment mit einem 1:1-Komplex aus Thiamin **75** und der Bisphosphonat-Klammer **10** sind neben starken intermolekularen NOE Crosspeaks auch schwächere intramolekulare NOE Crosspeaks sichtbar. Diese sind in Abb. 2.36 dargestellt.

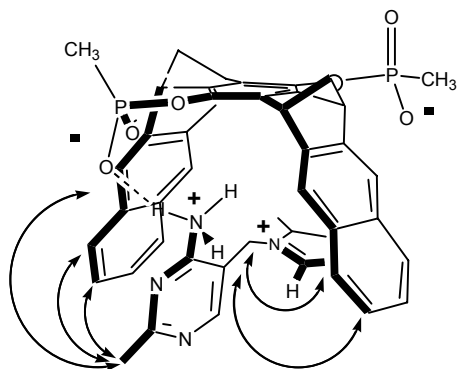


Abbildung 2.36: Beobachtete intramolekulare NOE-Crosspeaks.

Das CH-Signal des Thiazolium-Rings war bislang in den Bindungsexperimenten aufgrund seiner Acidität nicht sichtbar. Bei einer Messung des 1:1-Komplexes mit Watergate-Unterdrückung in nichtdeutertem Wasser wird das Proton bei etwa 10 ppm sichtbar.^[135] Damit ist es um ca. 1 ppm tieffeldverschoben im Vergleich zum reinen Thiamin. Auch dieser Befund deutet daraufhin, dass die aus Molecular Modelling erhaltene Struktur ein gutes Modell für den Bindungsmodus ist, da sich dieses Proton im Modell in der Kavität befindet und damit einen starken Shift zeigen sollte.

Eine Molekuldynamik-Simulation des 1:1-Komplexes aus Thiamin **75** und der Bisphosphonat-Klammer **10** zeigt, dass die vorgeschlagene Struktur keinesfalls starr ist (Abb. 2.37). Das Thiamin **75** besitzt eine große Beweglichkeit in der Kavität. Es scheint so, als würden sich die beiden Ringsysteme des Thiamins in der Kavität hin und her bewegen, so dass immer einer der beiden Aromaten eine π - π -Wechselwirkung mit einer der beiden Seitenwände der Klammer eingehen kann.

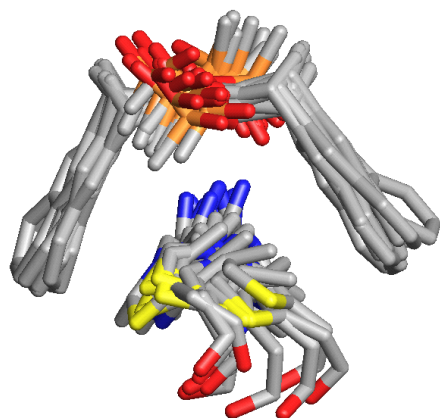


Abbildung 2.37: Eine molekulardynamische Simulation für den Komplex von Thiamin **75** mit der Bisphosphonat-Klammer **10**. (Macromodel 7.1, 298K, 10 ps, mit 1 ps Schnappschüsse.) Alle Schnappschüsse wurden übereinander projiziert und die Protonen wurden aus Gründe der Übersichtlichkeit weggelassen.

Eine ^1H -NMR-Untersuchung des Thiamin **75**/Bisphosphonat-Klammer **10** Komplexes in Methanol bei verschiedenen Temperaturen zeigt unterhalb von 0 °C eine deutliche Linienverbreiterung und eine Änderung der chemischen Verschiebungen. Bis -100 °C blieb die Lösung klar. Ein Auftrag der chemischen Verschiebung gegen die Temperatur zeigt eine deutliche Temperaturabhängigkeit für das aromatische Pyrimidin-Proton (Abb. 2.38). Dies verdeutlicht den verlangsamten Assoziations- / Dissoziationsprozess.

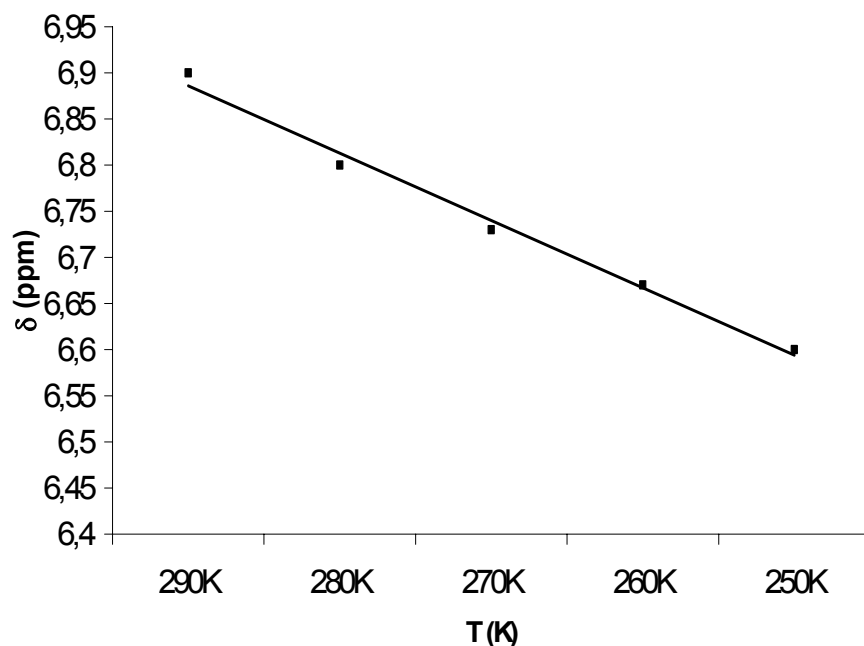


Abbildung 2.38: Temperaturabhängigkeit der chemischen Verschiebung des aromatischen Pyrimidin-Protons von Thiamin **75** im Komplex mit der Bisphosphonat-Klammer **10**.

Da die Bisphosphonat-Klammer eine Einlagerung in eine monomolekulare Stearinsäureschicht zeigt, wurde versucht eine Bindung des Thiamins **75** in der Bisphosphonat-Klammer **10** nachzuweisen.^[106] Eine Einlagerung von zwei Äquivalenten der Bisphosphonat-Klammer **10** in eine Stearinsäure-Monoschicht führt zu einer Vergrößerung der Oberfläche von ca. 2 Å/Molekül, während eine Stearinsäure-Monoschicht, die auf einer 10^{-4} M Lösung von Thiamin **75** hergestellt wird, ebenfalls eine Vergrößerung der Oberfläche um ca. 2 Å/Molekül bewirkt. Werden nun zu einer Stearinsäure-Monoschicht über einer Thiamin-Subphase zwei Äquivalente der Bisphosphonat-Klammer **10** getropft, so vergrößert sich die Oberfläche um ca. 3 Å/Molekül. Das bedeutet, dass ein zusätzlicher, komplexbedingter Anstieg der Oberfläche um ca. 1 Å/Molekül beobachtet werden konnte (Abb. 2.39). Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass sich Bisphosphonat-Klammer-Moleküle in der Subphase befinden, Thiamin **75** binden und dadurch unpolarer werden und deswegen in der Monoschicht aufgenommen werden (Abb. 2.40).

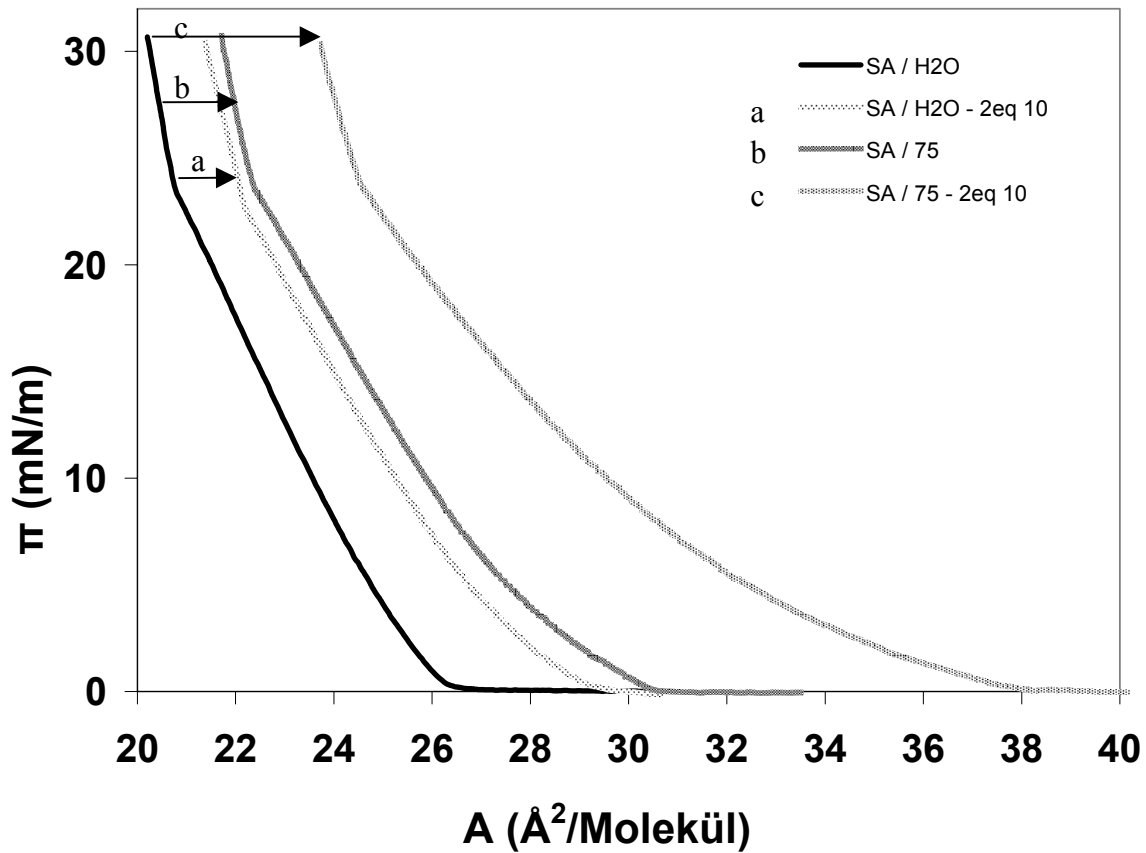


Abbildung 2.39: Ergebnisse der Filmwaage-Untersuchung von der Bindung von Thiamin **75** und der Bisphosphonat-Klammer **10**. Stearinsäure wird mit S abgekürzt.

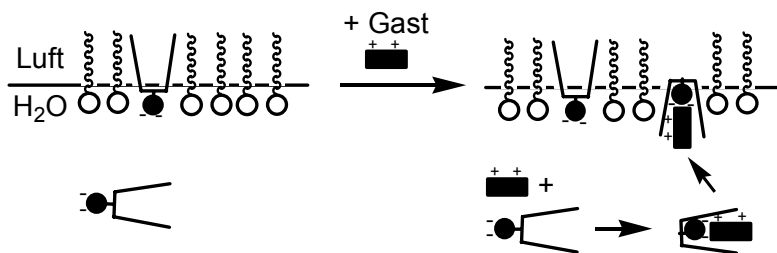


Abbildung 2.40: Darstellung der Komplexierung von Thiamin **75** in der Subphase, wodurch ein unpolarer Komplex gebildet wird. Dieser Komplex wird anschließend in der Monoschicht eingelagert.

Wegen der hohen freien Bindungsenergie eignet sich das System Thiamin **75**/Bisphosphonat-Klammer sehr gut für mikrokalorimetrische Messungen.

2.2.5 Zusammenfassung (Bisphosphonat-Klammer)

Es konnte gezeigt werden, dass die Bisphosphonat-Klammer eine hohe Affinität gegenüber *N*-alkylierten Pyridinium-Salzen hat. Von besonderem Interesse ist dabei NAD^+ . Die Untersuchung des Bindungsmodus für die Bindung von NAD^+ hat ergeben, dass sie komplizierter ist, als es auf dem ersten Blick erscheint. Scheinbar liegt ein dynamisches Gleichgewicht vor, bei dem sich abwechselnd mal der Nikotinamid-Ring und der Adenosin-Ring in der Kavität befindet. Das Gleichgewicht liegt jedoch stark auf der Seite des Nikotinamids. Aus der Untersuchung der NAD^+ -Fragmente wurde zusätzlich die Erkenntnis gewonnen, dass die Bisphosphonat-Klammer nicht nur kationische Aromaten bindet, sondern auch elektronenarme neutrale Aromaten. Damit umfasst das Gast-Portfolio der Bisphosphonat-Klammer elektronenarme neutrale und kationische Aromaten, wobei im letzten Fall jedoch ausschließlich permanente Kationen gebunden werden. Nichtpermanente Kationen wie z.B. Pyridiniumhydrochlorid oder basische Aminosäuren werden dagegen nicht gebunden. Entweder weil ein permanentes Kation für die Bindung gebraucht wird, oder weil diese Kationen so stark solvatisiert sind, dass sie nicht von der Klammer desolvatisiert werden können.

Die Bisphosphonat-Klammer bindet alle Nukleoside, aber bei den entsprechenden Nukleotiden wird lediglich AMP **56** gebunden. Die Bindungskonstante ist dabei deutlich niedriger. Somit scheint die Bisphosphonat-Klammer streng zwischen Nukleosiden und Nukleotiden zu unterscheiden. Das negativ geladene Phosphat spielt dabei anscheinend eine entscheidende Rolle. Die Abstoßung durch die Bisphosphonate der Klammer scheint für die schlechte Bindung verantwortlich zu sein. Die deutliche stärkere Bindung von NMN **54** im Vergleich zum AMP **56** deutet darauf hin, dass die π -Kation-Wechselwirkung einen entscheidenden Beitrag zur stärkeren Bindung von kationischen Gästen hat.

Die Betrachtung des Komplexes von Thiamin **75** zeigt, dass es sich beim Komplex mit der Bisphosphonat-Klammer trotz seiner hohen Bindungskonstante keinesfalls um einen starren Komplex handelt. Das Thiamin **75** wird von dispersiven Wechselwirkungen, Wasserstoffbrücken und hydrophoben Effekten in einer natürlichen V-ähnlichen Konformation gehalten, aber der Komplex scheint hochdynamisch zu sein.

2.3 Bindungsexperimente mit der Bisphosphonat-Pinzette

2.3.1 Eigenschaften der Bisphosphonat-Pinzette und Durchführung der Bindungsexperimente

Wie die Bisphosphonat-Klammer besitzt die Bisphosphonat-Pinzette **11** eine extrem elektronenreiche Kavität. Diese ist im Gegensatz zur Klammer nach unten nahezu geschlossen und kann dadurch nur schlanke Gäste aufnehmen, die in ihrem Durchmesser nicht sehr anspruchsvoll sind, wie z.B. *para*-substituierte Aromaten oder Ammonium-Salze.

Bereits die Methylphosphonsäuremethylester-Pinzette **39** zeigt, dass die Kavität eine hohe Tendenz zur Komplexierung von unpolaren Gästen besitzt. Die beiden Methylestergruppen befinden sich nämlich in einem schnellen Gleichgewicht, bei dem sich immer eine der beiden Gruppen in der Kavität der Pinzette befindet. Dadurch wird die Pinzette unsymmetrisch. Dies zeigt sich sehr deutlich im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, das aufgrund dieser Unsymmetrie eine sehr komplizierte Aufspaltung der aromatischen Signale zeigt, sowie einen starken Hochfeld-Shift des Methylestersignals um ca. 1.5 ppm. Nach der Spaltung der Methylester wird diese Unsymmetrie aufgehoben und das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt wieder das einfache Aufspaltungsmuster eines spiegelsymmetrischen Moleküls.

Die Bisphosphonat-Pinzette **11** zeigt im $^1\text{H-NMR}$ bei Verdünnung von 10^{-3} bis 10^{-5} M^{-1} einen signifikanten Shift der chemischen Verschiebung der aromatischen Protonen. Da dies auf eine Selbstassoziation hinweist, wurde versucht eine Selbstassoziationskonstante zu bestimmen, aber die Änderungen der chemischen Verschiebung lies sich nicht mit dem Fitprogramm anpassen. Diese Beobachtung bedeutet, dass eine Selbstassoziation, bzw. eine Micellen-Bildung in wässriger Lösung wahrscheinlich ist. Da diese jedoch nicht quantifiziert werden konnte, könnte dies auf eine höhere Assoziations-Stöchiometrie hinweisen. Weiterhin bedeutet dies, dass die Signale der Bisphosphonat-Pinzette nicht zur Auswertung von Titrationsen genutzt werden können.

2.3.2 Erste Bindungsexperimente mit *N*-Alkylpyridiniumsalzen

Als erste Gäste wurden *N*-alkylierte Pyridiniumsalze auf ihr Bindungsverhalten in der Bisphosphonat-Pinzette **11** überprüft, um einen Vergleich mit der Bisphosphonat-Klammer ziehen zu können.

Die Bisphosphonat-Pinzette **11** zeigt mit 1776 M^{-1} eine deutlich geringere Bindungskonstante für die Bindung von *N*-Methylnikotinamid **51** als die Bisphosphonat-Klammer **10** (Abb.

2.41).^[75] Dies ist vermutlich auf die deutlich kleinere Kavität der Pinzette zurückzuführen. Die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte scheinen diese Annahme zu unterstützen. Im Gegensatz zum Komplex von *N*-Methylnikotinamid **51** mit der Bisphosphonat-Klammer **10** sind die höchsten $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte in diesem Fall in der Umgebung der *N*-Methylgruppe zu beobachten. Dies lässt darauf schließen, dass sich nur dieser Molekülteil nahe der Methylgruppe völlig in der Kavität befindet, aber nicht das gesamte Molekül. Im Gegensatz dazu ist das *N*-Methylpyraziniumiodid **50** klein genug, um in die Kavität zu passen. Dies zeigt die mit der Bisphosphonat-Klammer **10** übereinstimmende Bindungskonstante.^[75] Das Kosower-Salz **49** zeigt beim Bindungsexperiment eine starke Verbreiterung der Signale, wodurch die Bestimmung der Bindungskonstante nicht möglich war. Die beobachtete Änderung der chemischen Verschiebung deutet jedoch darauf hin, dass auch das Kosower-Salz **49** in der Pinzette eingeschlossen wird.

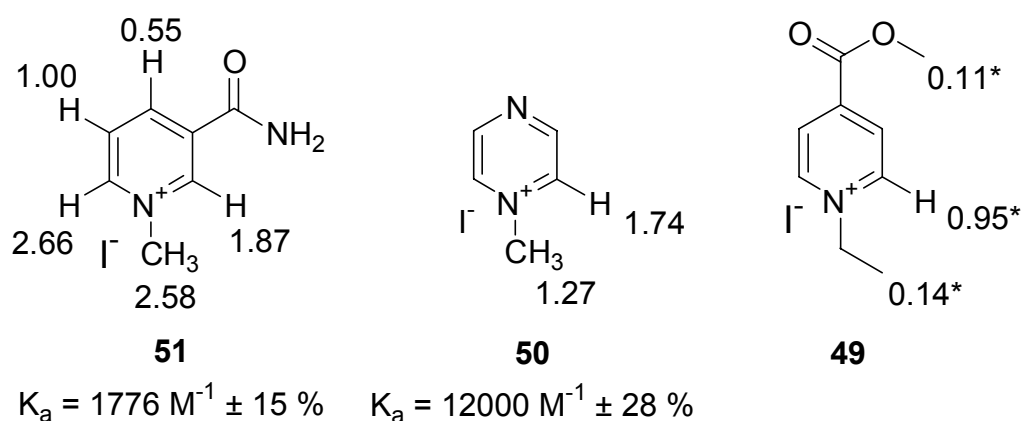


Abbildung 2.41: Ergebnisse der Bindungsexperimente mit *N*-Alkylpyridinium-Salzen und *N*-Methylpyraziniumiodid **50**. Die Bindungskonstanten sind an den Molekülen vermerkt, ebenso wie $\Delta\delta_{\text{sat}}$. Bei den Werten mit einem * handelt es sich um im 1:1-Komplex beobachtete Änderungen der chemischen Verschiebung.

2.3.3 Bindungsexperimente mit einfachen Ammoniumsalzen

Aufgrund ihrer biologischen Bedeutung wurden bei den Bindungsexperimenten mit der Pinzette der Schwerpunkt auf die Untersuchung von Ammonium-Salzen gelegt.

Erste Experimente mit Benzylaminhydrochlorid **77** und *n*-Propylaminhydrochlorid **78** zeigten für die Komplexierung in der Bisphosphonat-Pinzette **11** zwar sehr große $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte, aber die korrespondierenden Bindungskonstanten waren geringer als erwartet (Abb. 2.41). Die Bindung in Methanol scheint dagegen eine höhere Bindungskonstante als in Wasser zu besitzen. Dieser Effekt könnte auf den höheren Beitrag der Wasserstoffbrücken zwischen den Phosphonaten und dem Gast in dem unpolaren Lösungsmittel Methanol sowie auf den

geringeren Aufwand, der betrieben werden muss um das Ammoniumkation zu desolvatisieren, zurückzuführen zu sein. Die Bindungskonstanten des Adrenalins **79** und der Adrenalinvorläufer Noradrenalin **80** und Dopamin **81** sind im Vergleich zu den einfacheren Aminen Benzylamin **77** und *n*-Propylamin **78** vermutlich aufgrund des höheren sterischen Anspruchs noch ein wenig niedriger. Damit liegen die Bindungskonstanten deutlich unter der eines bereits bekannten makrozyklischen Adrenalin-Rezeptors auf Bisphosphonat-Basis.^[136] Allerdings zeigen diese Experimente, dass die Kavität der Pinzette ausschlaggebend für die Bindung ist, da einfache aromatische Bisphosphonate Adrenalin zwar in unpolaren aprotischen Lösungsmitteln binden können, jedoch nicht in Wasser.^[67, 137, 138] Dies bedeutet, dass in wässriger Lösung π -Kation-Wechselwirkungen sowie der hydrophobe Effekt, welche die Kavität hier besonders auszeichnen, zur Komplexierung gebraucht werden.

Die Reihe Adrenalin **79**, Noradrenalin **80** und Dopamin **81** zeigt anhand der $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte deutlich, dass ein sterisch weniger anspruchsvoller Gast tiefer in die Kavität der Bisphosphonat-Pinzette **11** hineinragt. Während beim Dopamin **81** die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte deutlich zeigen, dass der Benzol-Ring teilweise noch in die Kavität hineinragt, fungiert beim Noradrenalin **80** und Adrenalin **79** die Hydroxy-Gruppe als „Stopper“. Die Protonen des Benzol-Ringes von Noradrenalin **80** und Adrenalin **79** zeigen keine Änderung der chemischen Verschiebung. Das Propanolol **82** verhält sich in methanolischer Lösung ähnlich – in wässriger Lösung fällt der Komplex dagegen als Niederschlag aus.

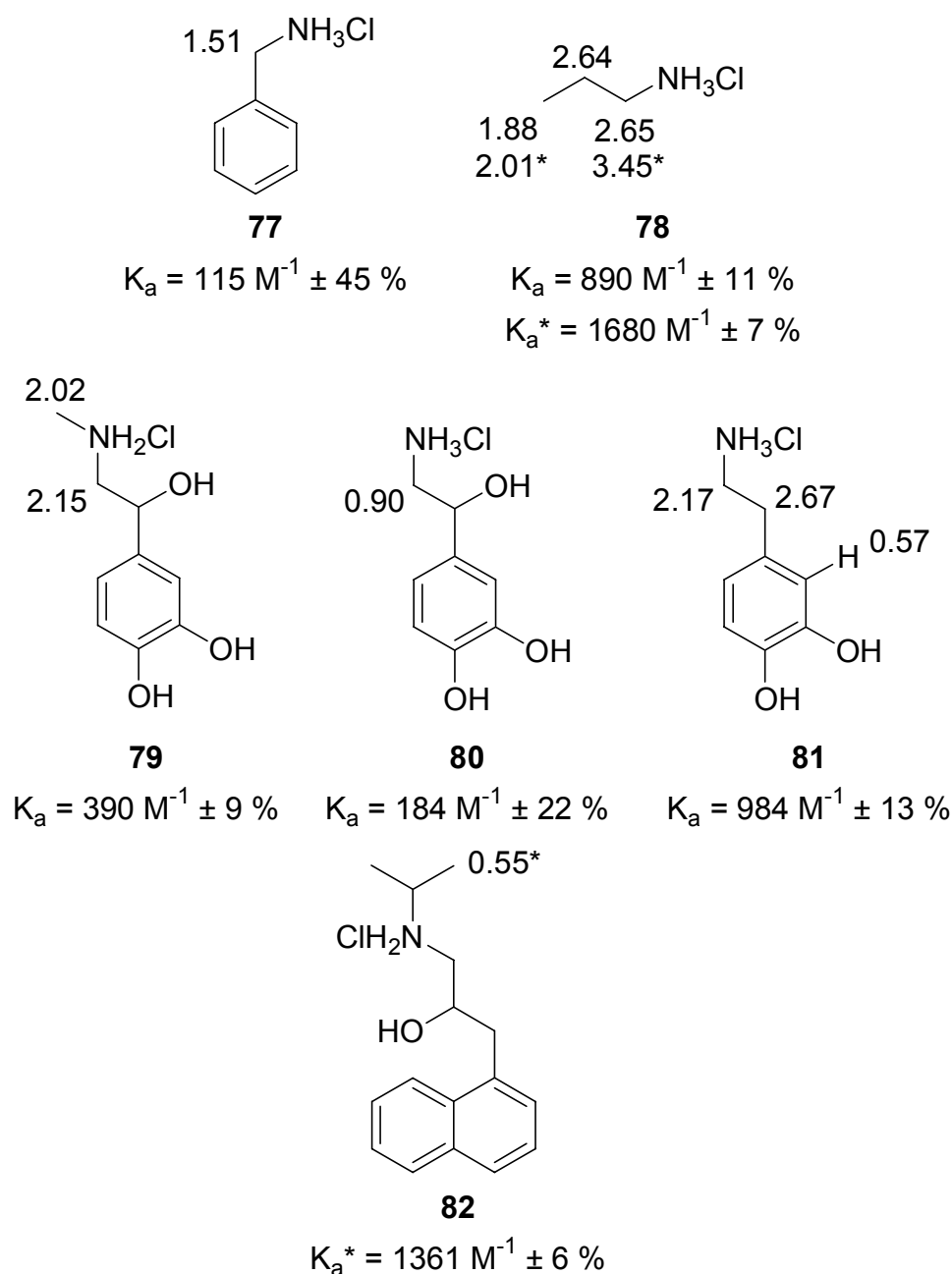


Abbildung 2.42: Ergebnisse der ersten Bindungsuntersuchungen mit Ammonium-Salzen. Die Werte mit einem * sind für die Bindung in Methanol.

Die deutliche Tendenz bezüglich der Größe von Gästen, die von den $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werten angedeutet wird, spiegelt sich auch in Molecular Modelling Untersuchungen der Komplexe wieder, auch wenn hier die Unterschiede nicht so eindeutig sind (Abb. 2.43). Im Falle des Dopamin-Komplexes befindet sich die kurze Alkylkette größtenteils in der Kavität und auch der Benzol-Ring befindet sich nahe an der Kavität. Beim Noradrenalin **80** ist der Benzol-Ring zwar weiter von der Kavität entfernt, aber die Hydroxy-Gruppe befindet sich größtenteils innerhalb der Kavität. In diesem Fall ist es fraglich, ob das Ergebnis als zuverlässig betrachtet werden kann. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass die beiden Wasserstoff-Brücken in

Wirklichkeit nicht so wichtig für die Bindung sind, wie die berechneten Strukturen vermuten lassen. Die berechnete Struktur für die Bindung von Adrenalin **79** scheint dem tatsächlichen Bindungsmodus näher zu kommen. Der Benzol-Ring ist hierbei noch weiter von der Kavität entfernt angeordnet und die Hydroxy-Gruppe befindet sich nicht in der Kavität. Sekundäre Amine wie Adrenalin **79** oder Propanolol **82** werden auch gebunden, aber vermutlich wegen ihres erhöhten sterischen Anspruchs weniger schlecht als die primären Aminen.

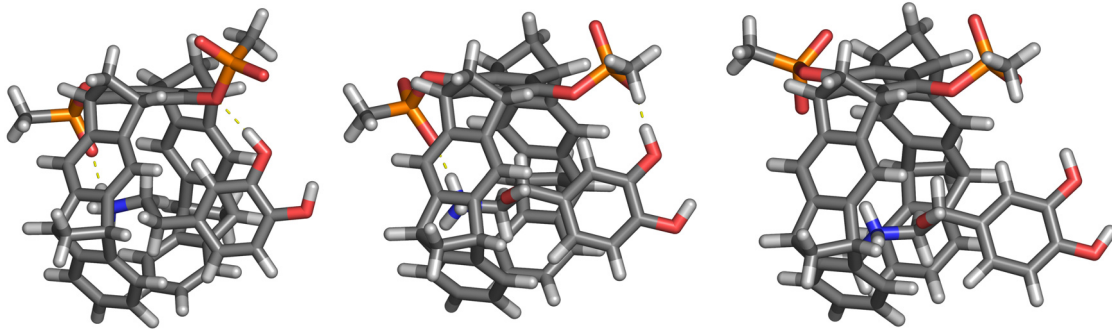


Abbildung 2. 43: Ergebnisse der Monte Carlo Simulationen der Komplexe von Dopamin **81** (Links), Noradrenalin **80** (Mitte) und Adrenalin **79** (Rechts) mit der Bisphosphonat-Pinzette **11**. (MacroModel 7.1, H₂O, 2000 Schritte).

2.3.4 Bindungsexperimente mit basischen Aminosäuren

Biologische Bedeutung von Lysin und Arginin

Lysin und Arginin sind neben ihrer Funktion als Bausteine von Proteinen von fundamentaler Bedeutung in vielen biologischen Prozessen:

- Proteine, die proteosomisch abgebaut werden sollen, werden an deren Lysin-Resten ubiquitinyliert (*Kiss of death*).^[139]
- Histone werden spezifisch am Lysin-ε-Stickstoffatom acetyliert und deacetyliert, um die Transkription zu aktivieren oder zu unterdrücken.^[140]
- Lysin ist ein bestimmender Faktor bei der Phosphorylierung von Mannose von lysosomalen Proteinen.^[141]
- Der interzelluläre Vesikel-Transport wird über Dilysin-Einheiten in Transport-Proteinen reguliert.^[142]
- Das Antibiotikum Vancomycin erkennt die Lys-D-Ala-D-Ala-Sequenz, ein wichtiger Bestandteil der bakteriellen Zellwand.^[143]
- Das Signalpeptid KTTKS aktiviert die Regeneration des Kollagens bei beschädigten Zellen. Dies ist eine wichtige Erkenntnis für die *anti aging* Technologie.^[144]

- Die Mitte der Sequenz KKLVFF im A β Protein ist die Stelle für Nukleasen, an der die Aggregation und die darauffolgende Bildung von *Plaques* anfängt. Diese verursachen wahrscheinlich die Alzheimer'sche Krankheit.^[145]
- Die RNA-Erkennungsprozesse, welche die Transkription kontrollieren, beruhen oft auf einer Komplexbildung mit argininreichen Proteinen, wie z.B. das *tat* oder *Rev* Protein.^[146]
- Der RGD-Sequenz ist von essentieller Bedeutung für die Interaktion von Integrinen mit Zellen.^[147, 148]
- Octaarginin-Tags ermöglichen es, Medikamente, die bis zu 100 mal größer sind als sie selbst, durch die Membran zu transportieren.^[149]

Aufgrund der zentralen biologischen Bedeutung von Arginin und Lysin sind künstliche Rezeptoren für diese Aminosäuren von besonderem Interesse. Bislang sind Lysin-Rezeptoren auf der Basis von Kronenethern^[150, 151], dreiarmligen Benzotrioxazolinen oder auch Calix[4]- und [5]-arenen bekannt. In wässriger Lösung sind diese Systeme allerdings meist nicht sehr effektiv.^[152, 153] Mittels einer Anordnung von Carboxylaten über einem aromatischem System ist die Bindung von Lysin und Arginin über Salzbrücken in gepufferter wässriger Lösung möglich.^[154]

Die bislang besten Arginin-Rezeptoren sind die von Dougherty *et al.* entwickelten polyanionischen Cyclophane.^[155] Die Bindung von Arginin beruht in diesem Fall fast ausschließlich auf der π -Kation-Wechselwirkung. Dagegen basiert die Komplexbildung von Arginin durch die Rezeptoren von Bell *et al.* hauptsächlich auf ionischen Wasserstoffbrücken. Diese Rezeptoren werden auch als „polyaromatisches hexagonales Gitter“ bezeichnet.^[156, 157] Daneben gibt es einige schwächere Rezeptoren auf Phosphonat- und Sulfonat-Basis.^[158] Arginin-Rezeptoren auf Xylylen-Bisphosphonat-Basis sind gute Rezeptoren in polaren aprotischen Lösungsmitteln, wo sie das Arginin über eine Kombination aus Wasserstoffbrücken und π -Kation-Wechselwirkungen binden.^[159] Der erste Rezeptor für die RGD-Sequenz nutzt ebenfalls diese Xylylen-Bisphosphonat-Einheit zur Erkennung des Arginin-Restes.^[160] Eine weitere leistungsfähige Alternative stellt die Bindung von Arginin mit hochselektiven RNA-Aptamere dar. Diese wurde durch *in vitro* Evolution erhalten.^[161]

Bindungsexperimente

Ein erstes Bindungsexperiment zwischen Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** und der Bisphosphonat-Pinzette zeigte eine starke Hochfeldverschiebung sowie eine deutliche

Verbreiterung der Lysin-Seitenketten-Signale. Die Titration in Wasser ergab eine starke Bindung von Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** (Abb. 2.44). Auch bei Tosylargininmethylesterhydrochlorid **84** traten im Bindungsexperiment starke Hochfeldverschiebungen und Verbreiterungen der Signale auf. Das Tosylargininmethylesterhydrochlorid **84** wird ebenfalls stark von der Bisphosphonat-Pinzette **11** gebunden, aber schwächer als Lysin. In beiden Fällen konnten extrem große Hochfeldshifts an allen Kohlenstoffatomen der Seitenkette beobachtet werden. Lediglich die Protonen der Schutzgruppen zeigten keinen Shift oder wenn, dann nur einen geringen Tieffeldshift.

Auch in 25 mM Natriumphosphatpuffer (pH 7, in D₂O) bindet die Bisphosphonat-Pinzette noch Acetyllysinmethylester **83** und Tosylargininmethylester **84**. Boc-Histidinmethylesterhydrochlorid **85** wird deutlich schwächer gebunden. (Aufgrund einer möglichen Protonenübertragung vom Imidazoliumion auf die Phosphonate wurden keine Experimente in reinem Wasser durchgeführt.)

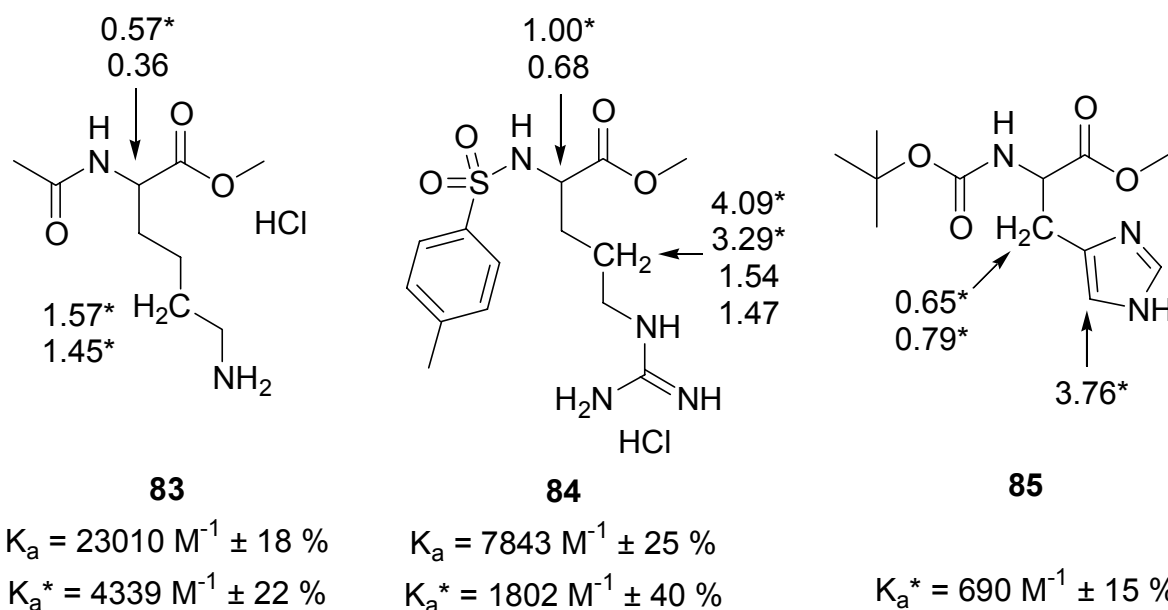


Abbildung 2.44: Ergebnisse der Bindungsstudien mit basischen Aminosäuren. Die Ergebnisse mit einem * sind für Experimente in 25 mM Natriumphosphat-Puffer pH 7 in D₂O.

Mit anderen nichtbasischen Aminosäuren zeigte die Bisphosphonat-Pinzette **11** in gepufferter Lösung keine Wechselwirkung (Abb. 2.45).

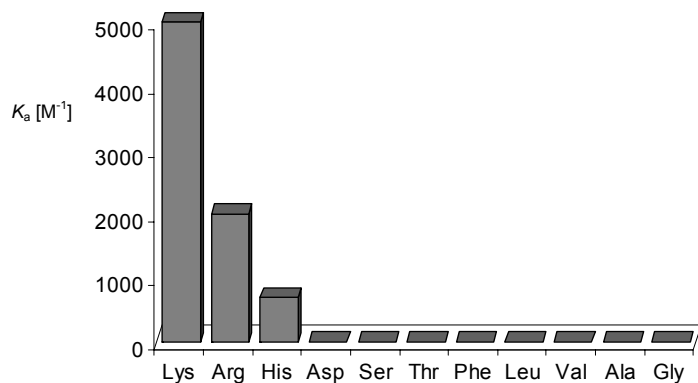


Abbildung 2.45: Selektivitätsübersicht der Bisphosphonat-Pinzette **11** gegenüber verschiedenen Aminosäuren in gepufferten wässrigen Lösungen (Natriumphosphat, pH 7, 25 mM). Aufgrund des Fehlens jeglicher Änderungen der chemischen Verschiebungen der nichtbasischen Aminosäuren wurde die Bindungskonstante auf $5 M^{-1}$ geschätzt.

Dass die Alkylketten-Protonen des Lysins und des Arginins teilweise $\Delta\delta_{\max}$ -Werte von über 3 ppm zeigten, ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass sie sich bei der Bindung in der Kavität der Bisphosphonat-Pinzette **11** befinden müssen. Im Falle des Lysins zeigten nicht nur die δ -C- und ϵ -C-Protonen hohe Shifts, sondern auch das α -C-Proton sowie die β -C- und γ -C-Protonen, wenn auch im geringeren Maß (Abb. 2.47). Beim Arginin konnte Vergleichbares beobachtet werden. Wahrscheinlich befindet sich nicht das Ammoniumkation bzw. Guanidiniumkation in der Kavität, sondern vor allem die Alkylkette (Abb. 2.46). Es wird ein Pseudorotaxan gebildet, wobei die *N*- und *C*- Schutzgruppen auf der einen Seite und das Kation auf der andere Seite als Stopper dienen. Vergleichbare Pseudorotaxane entstehen auch bei der Pinzette mit Naphthalin-Spacer mit (dendritischen) Viologen-Gästen und konnten beobachtet werden.^[52, 162] Außerdem wurde eine vergleichbare Anordnung auch bei der Bindung von Alkylammoniumsalzen durch Cucurbituril-Rezeptoren beobachtet.^[163]

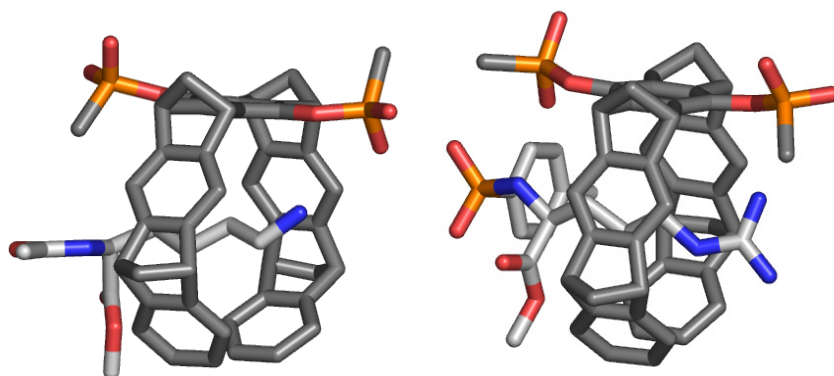


Abbildung 2.46: Ergebnisse der Monte Carlo Simulationen der Komplexe von Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** (Links, MacroModel 7.1, OPLS-AA, H₂O, 3000 Schritte) und Tosylargininmethylesterhydrochlorid **84** (Rechts, MacroModel 7.1, Amber*, H₂O, 3000 Schritte) mit der Bisphosphonat-Pinzette **11**. Die Wasserstoffatome wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit weggelassen.

Diese vorgeschlagene Struktur wurde von zusätzlichen Experimenten unterstützt. In einem NOESY-Experiment mit einer Lösung aus Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** und der Bisphosphonat-Pinzette **11** wurden NOE-Kontakte zwischen den Methylestern sowie der Acetyl-Gruppe und den Brückenköpfen der Bisphosphonat-Pinzette **11** beobachtet (Abb. 2.47). Diese Kontakte können nur auftreten, wenn das Lysin wie ein Rotaxan gebunden wird. Die Bindung ist so stark, dass sich an den Signalen der aromatischen Protonen der Bisphosphonat-Pinzette **11** eine Aufspaltung erkennen lässt. Es findet ein Chiralitätstransfer statt, wodurch die beiden Seiten der Pinzette nicht mehr magnetisch äquivalent sind.

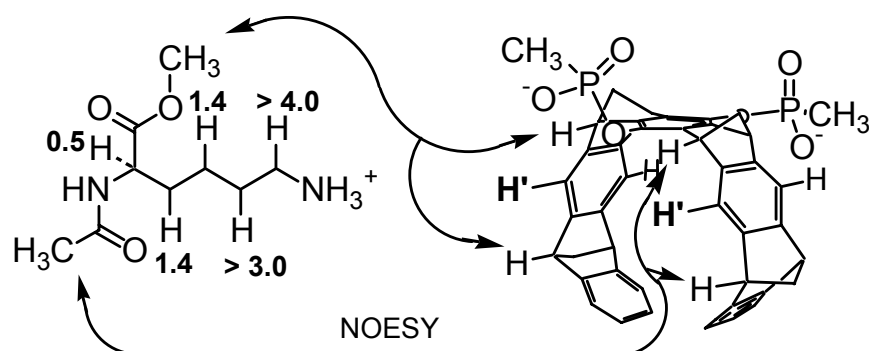


Abbildung 2.47: Beobachtete NOE-Kontakte zwischen Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** und der Bisphosphonat-Pinzette **11**. Am Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** sind die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte der Protonen vermerkt.

Beim Erwärmen auf 95 °C eines 1:1-Gemisches aus Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** und der Bisphosphonat-Pinzette **11** in Wasser konnte beobachtet werden, dass Signale, die bei Raumtemperatur noch breit waren, wieder schärfer wurden. Dies bedeutet, dass bei Raumtemperatur die Rotation des Gastes in der Kavität eingeschränkt wird.

Diese Beobachtungen deuten daraufhin, dass die Inklusion der Seitenketten der Aminosäuren in der Kavität zu starken Van-der-Waals-Wechselwirkungen führt, unterstützt von elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Phosphonaten und dem kationischen Aminosäure-Rest. Dieser Bindungsmodus bietet eine gute Erklärung für die erhöhte Affinität der Bisphosphonat-Pinzette **11** gegenüber Lysin und Arginin. Mit den oben dargelegte Bindungskonstanten gehört die Bisphosphonat-Pinzette **11** zu den besten Rezeptoren für basische Aminosäuren die bis heute bekannt sind. Lediglich die oben beschriebenen RNA-Aptamere erreichen in Puffer eine Bindungskonstante von 13000 M^{-1} .^[161] Bis heute sind keine Rezeptoren bekannt, die eine so hohe Affinität für Lysin besitzen wie die Bisphosphonat-Pinzette. Der von Bell *et al.* beschriebene selektive Lysin-Rezeptor mit einer Bindungskonstante $> 10^5 \text{ M}^{-1}$ in Methanol, zeigt in Wasser eine sehr starke Aggregation.^[157]

2.3.5 Bindungsexperimente mit kurzen Arginin- und Lysin-haltigen Signalpeptiden

Um das Gastprofil zu erweitern, wurden kurze arginin- und lysinhaltige Peptidsequenzen von biologischer Bedeutung auf ihre Bindungseigenschaften in der Bisphosphonat-Pinzette **11** überprüft. Die beiden argininhaltigen Peptide RGD **86** und GRGG **87** werden beide in neutralen gepufferten wässrigen Lösungen mit hohen Bindungskonstanten an die Bisphosphonat-Pinzette **11** gebunden (Abb. 2.48).

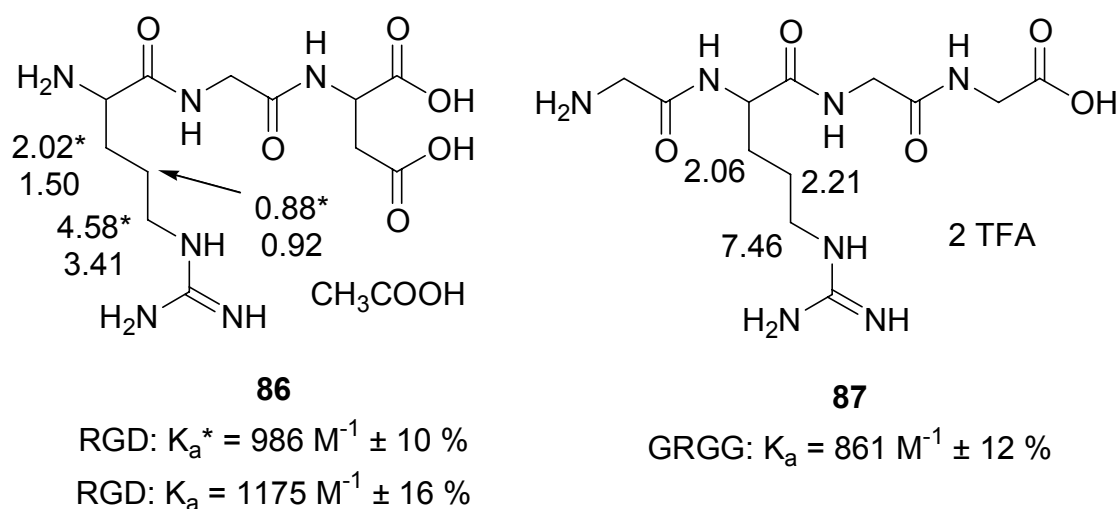


Abbildung 2.48: Bindungsexperimente mit argininhaltigen Peptidsequenzen. Die angegebenen Werte gelten für die Bindung in 25 mM Natriumphosphatpuffer pH 7 in D₂O (* reines D₂O).

Auch die lysinhaltigen Peptide KAA **88**, KTTK **89**, KTTKS **90** und KKL VFF **91** werden in neutraler gepufferter wässriger Lösung an die Bisphosphonat-Pinzette **11** gebunden (Abb. 2.49). Die Bindungskonstanten liegen, wie schon bei den einzelnen Aminosäuren, über denen der argininhaltigen Derivate. Peptide, die zwei Lysine enthalten, werden sogar deutlich besser gebunden.

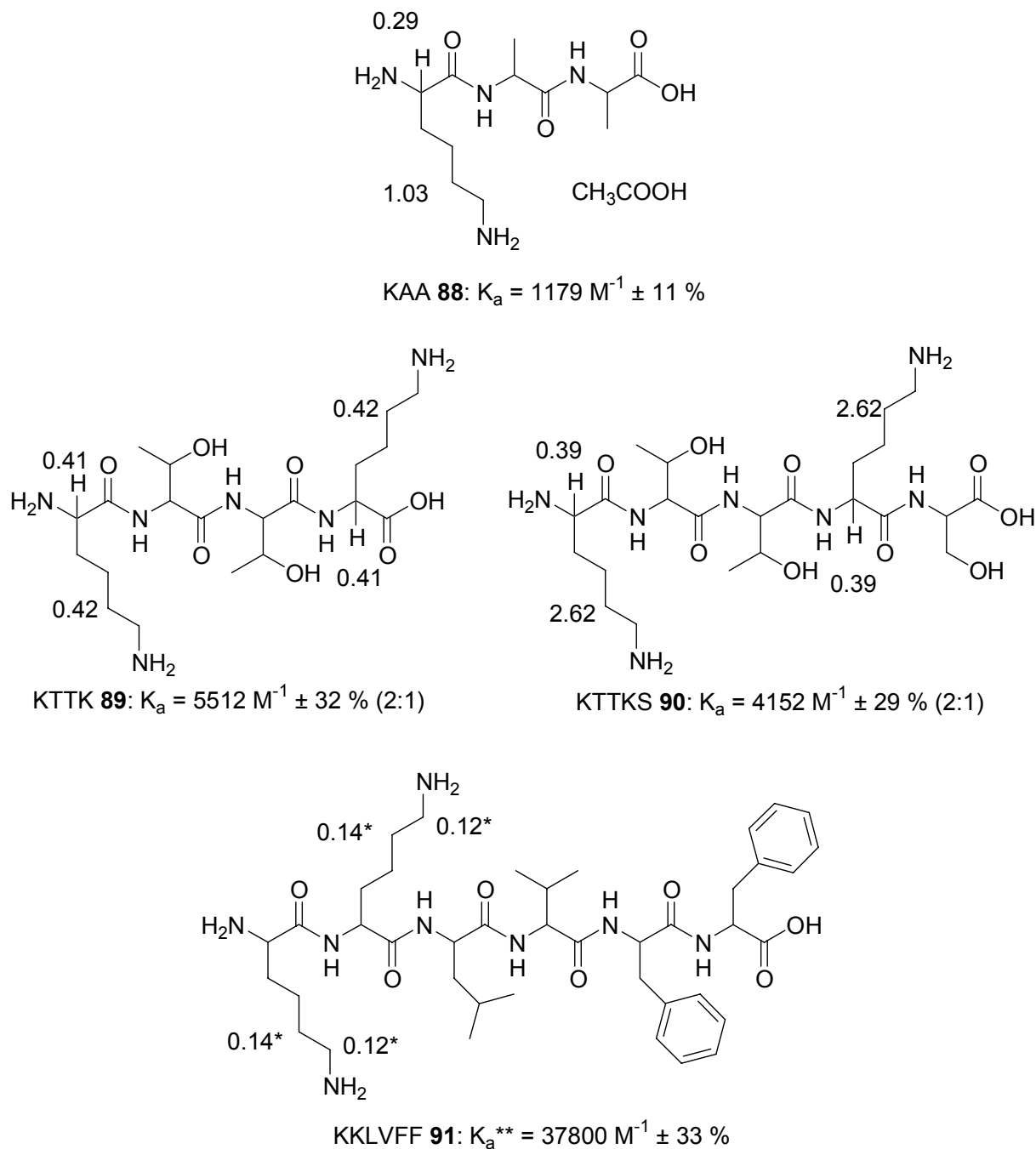


Abbildung 2.49: Bindungsexperimente mit lysinhaltigen Peptidsequenzen. Die angegebenen Werte sind für die Bindung in 25 mM Natriumphosphatpuffer pH 7 in D_2O (* 25 mM Natriumphosphatpuffer pH 7 in D_2O / Methanol- $d_4 = 1:1$). Die $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte sind an den Protonen vermerkt.

Die Werte für $\Delta\delta_{\text{sat}}$ sowie das Fehlen von Änderungen der chemischen Verschiebungen in den anderen Aminosäuren deuten daraufhin, dass der Bindungsmodus mit dem der einzelnen Aminosäuren vergleichbar ist. Die für RGD **86** im Molecular Modelling erhaltene Struktur zeigt jedoch, dass sich die Guanidinium-Einheit in der Mitte der Kavität befindet (Abb. 2.50). Allerdings wird vom *N*-Terminus zum Phosphonat eine Wasserstoffbrücke ausgebildet, die diese Anordnung, zumindestens im Modelling, energetisch günstiger erscheinen lässt. Die

chemischen Verschiebungen im Komplex deuten dagegen darauf hin, dass eine Rotaxan-ähnliche Anordnung wahrscheinlicher ist.

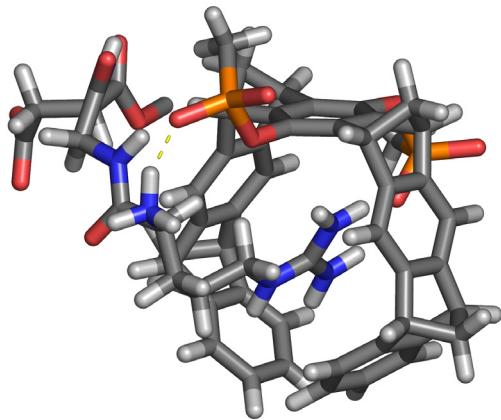


Abbildung 2.50: Ergebnis der Monte Carlo Simulation des Komplexes von RGD **86** mit der Bisphosphonat-Pinzette **11** (MacroModel 7.1, Amber*, H₂O, 3000 Schritte).

Im Fall von KTTK **89** und KTTKS **90** liegen die Bindungskonstanten über denen der Peptide, die ein Lysin oder ein Arginin enthalten. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, dass in diesen Peptiden zwei Bindungsstellen angeboten werden. Der Job-Plot bestätigt, dass es sich in diesem Fall um einen 2:1 Komplex handelt. Die chemischen Verschiebungen deuten auch hier darauf hin, dass der Bindungsmodus mit dem der einzelnen Aminosäuren vergleichbar ist. Diese Annahme wird von einer Molecular Modelling Untersuchung unterstützt (Abb. 2.51). Diese Untersuchung zeigt zusätzlich, dass wenn sich zwei Lysin-Reste nicht direkt nebeneinander befinden, ein 2:1 Komplex möglich ist ohne, dass sich zwei Bisphosphonat-Pinzetten dabei gegenseitig behindern. Zusätzlich zu den Van-der-Waals-Wechselwirkungen können in diesem Komplex einige Wasserstoffbrücken zwischen den Phosphonaten und Amonium-Kationen des Peptids ausgebildet werden.

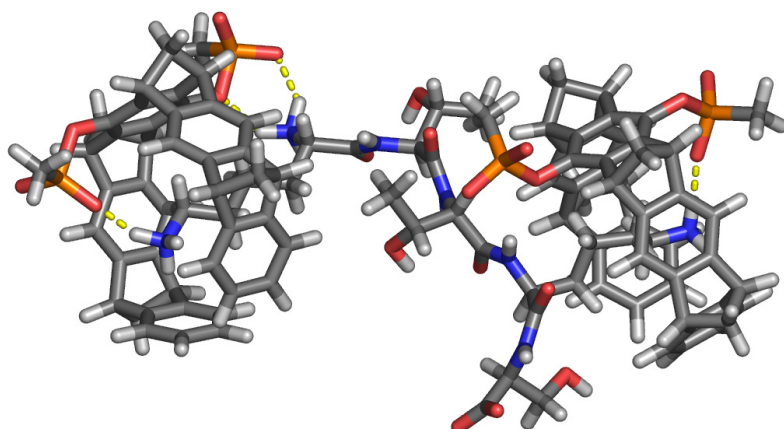


Abbildung 2.51: Ergebnis der Monte Carlo Simulation des Komplexes von KTTKS **90** mit der Bisphosphonat-Pinzette **11** (MacroModel 7.1, OPLS-AA, H₂O, 10000 Schritte).

KKLVFF **91** konnte aufgrund der geringen Löslichkeit nicht in wässrigem Puffer untersucht werden. In 25 mM Natriumphosphatpuffer pH 7 in D₂O / Methanol-*d*₄ = 1:1 zeigt sich eine sehr große Bindungskonstante, gepaart mit geringen Änderungen der chemischen Verschiebung. Zwei *N*-terminale Lysin-Reste bevorzugen in D₂O / Methanol-*d*₄ = 1:1 anscheinend eine Art Cluster mit dem Bisphosphonat, der durch Coulomb-Wechselwirkungen zusammengehalten wird.

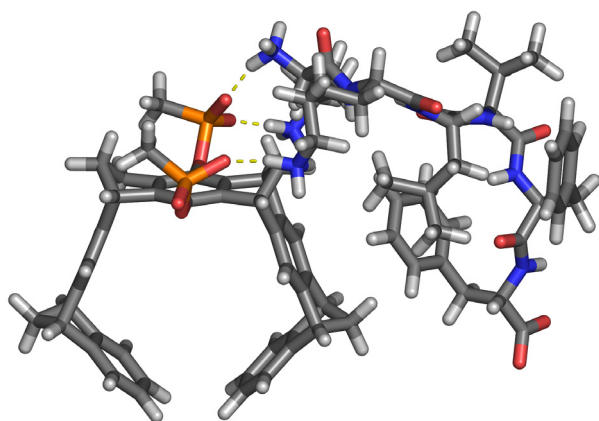


Abbildung 2.52: Ergebnis der Monte Carlo Simulation des Komplexes von KKLVFF **91** mit der Bisphosphonat-Pinzette **11** (MacroModel 7.1, Amber*, H₂O, 10000 Schritte).

2.3.6 Einfluss von dipolaren aprotischen Kosolventien

Durch Zugabe von 1000 Äquivalenten eines dipolar aprotischen Lösungsmittels wie DMSO oder Acetonitril kann die Bindung von Gästen rückgängig gemacht werden. Die chemischen Verschiebungen des Gastes kehren nach der Zugabe des Lösungsmittels komplett zu ihren

Ausgangswerten zurück. Diese Lösungsmittel konkurrieren offensichtlich mit dem Gast bei der Komplexbildung und verdrängen den Gast aus der apolaren Kavität. Ein ähnlicher Effekt konnte bereits an der festen Phase mit immobilisierten Pinzetten beobachtet werden.^[63]

2.3.7 Zusammenfassung (Bisphosphonat-Pinzette)

Die Bisphosphonat-Pinzette **11** zeigt ein breites Gastprofil. *N*-Alkylierte Pyridinium-Salze werden stark in der Pinzette gebunden. Allerdings werden nur *para*-substituierte Verbindungen stark gebunden. Wird das Substitutionsmuster geändert, findet kein effektiver Einschluss in der Kavität mehr statt. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die Kavität der Pinzette, im Gegensatz zur Kavität der Klammer, nach unten abgeschirmt ist.

Im Vergleich mit der Bisphosphonat-Klammer bindet die Bisphosphonat-Pinzette **11** auch Ammonium-Kationen. Die Bindungskonstante korreliert mit dem sterischen Anspruch der Substituenten. Je sperriger die Substituenten sind, desto niedriger wird die Bindungskonstante. Die bestimmten $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte bestätigen diese Vermutung, da in der Nähe der Substituenten in der Regel keine oder nur sehr kleine Shifts beobachtet wurden. Es werden sowohl primäre als auch sekundäre Amine gebunden, wobei jedoch primäre Amine, vermutlich aufgrund ihres geringeren sterischen Anspruch, besser gebunden werden.

Interessanterweise werden die basischen Aminosäuren Arginin und Lysin erheblich besser gebunden (bis zu 20000 M^{-1} im Vergleich zu 800 M^{-1} für einfache Amine). Die Untersuchungen haben ergeben, dass dies vermutlich auf die Ausbildung einer Pseudorotaxan-ähnlichen Struktur zurückzuführen ist. Die Aminosäure-Seitenkette wird durch die Kavität gefädelt, das Ammonium-Kation und die *N*- und *C*-terminalen Schutzgruppen dienen als Stopper. Das Ammonium-Kation wird zusätzlich von einer Wasserstoff-Brücke zum Phosphonat fixiert, während die Alkylkette starke Coulomb-Wechselwirkungen eingehen kann. Die Bindung bleibt auch in gepufferter Lösung erhalten.

Durch Versuche mit Modellpeptiden konnte gezeigt werden, dass die basischen Aminosäuren auch in peptidischer Umgebung gebunden werden und vor allem, dass andere Aminosäuren nicht gebunden werden. Zwei weitere interessante Beobachtungen wurden dabei gemacht: Wenn zwei Lysin-Reste im Peptid vorhanden sind, die durch weitere Aminosäuren voneinander getrennt sind, können beide einzeln von Bisphosphonat-Pinzetten gebunden werden (2:1-Komplex). Bei der Betrachtung von KKLVFF **91** in einem Wasser / Methanol-Gemisch fiel jedoch auf, dass in diesem Fall die Ausbildung eines Clusters mit den Bisphosphonaten bevorzugt wird. In diesem Fall ist es anscheinend günstiger

Wasserstoffbrücken von den Ammonium-Kationen zu den Bisphosphonaten auszubilden, anstatt die Lysin-Seitenketten in der Kavität einzuschließen.

2.4 Isothermale Titrationskalorimetrie

2.4.1 Einleitung

Als einzige physikalische Messmethode bietet die isothermale Titrationskalorimetrie (ITC) die Möglichkeit die globalen thermodynamischen Größen ΔH° , ΔG° , ΔS° sowie die Bindungskonstante K_a und die Stöchiometrie n eines Komplexes in einem einzigen Experiment zu bestimmen. Wenn bei verschiedenen Temperaturen gemessen wird, kann sogar die Änderung der Wärmekapazität bestimmt werden.^[164-167]

In einem ITC-Experiment wird die Energetik einer Komplexierung bei konstanter Temperatur gemessen. Das Ziel dabei ist es, eine Kurve zu erhalten, die die Sättigung des Wirtes in Bezug auf die Konzentration des zu bindenden Gastes wiedergibt, die sogenannte Bindungsisotherme.^[168, 169]

Für eine Messung werden kleine Mengen des Gastes mit Hilfe einer computergesteuerten Spritze in eine Lösung des Wirtes, welche in der Messzelle vorgelegt wird, titriert. Bei der Injektion wird vom System Wärme aufgenommen (endotherme Reaktion) oder abgegeben (exotherme Reaktion). Diese Wärme wird im Vergleich zu der nur mit Lösungsmittel gefüllten Referenzzelle gemessen. Beide Zellen befinden sich in einer adiabatischen Hülle und werden unabhängig voneinander mit Heizelementen geheizt. Thermoelemente messen die Temperaturdifferenz zwischen den beiden Zellen einerseits und den Zellen und dem adiabatischen Schild andererseits. Sie sorgen dafür, dass die Temperaturdifferenz zwischen den beiden Zellen möglichst gering ist. (Abb. 2.53)

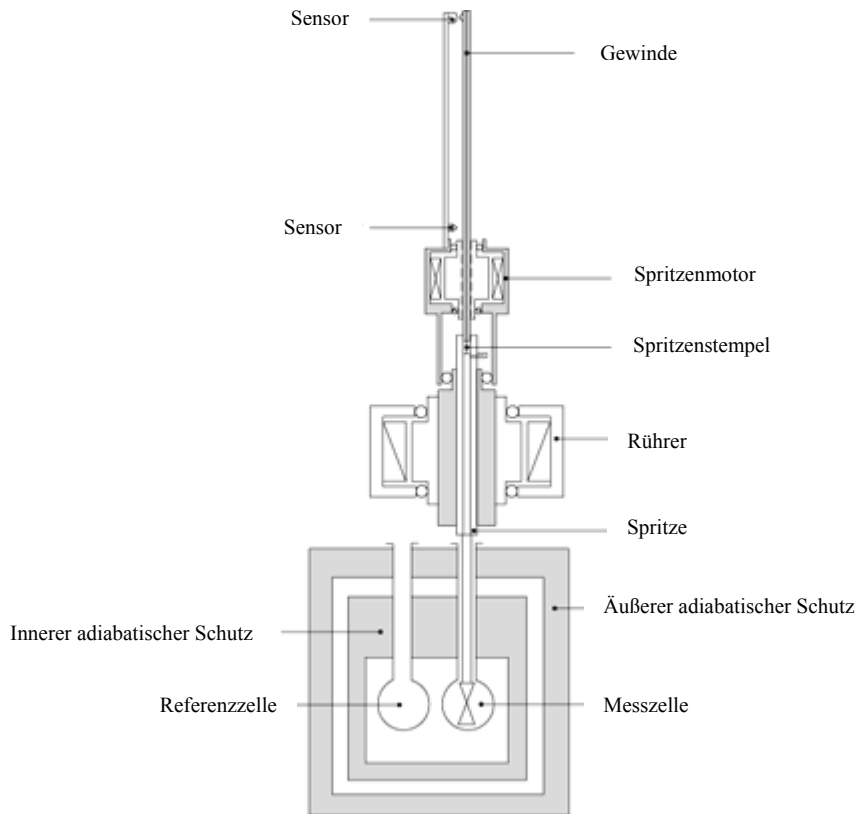


Abbildung 2.53: Schematischer Aufbau eines ITC-Gerätes.^[170]

Gemessen wird letztendlich der Unterschied der Heizleistung, die gebraucht wird um beide Zellen auf der gleichen (voreingestellten) Temperatur zu halten. Das Detektionslimit des Gerätes liegt bei ca. $0.5 \mu\text{cal}$ (ca. $2 \mu\text{J}$) und entspricht etwa einer Temperaturänderung in der Messzelle von 10^{-6} K. Eine Messung kann dann als ausreichend aufgelöst betrachtet werden, wenn die gemessene Signalhöhe mindestens $0.1 \mu\text{cal/s}$ (ca. $0.4 \mu\text{J/s}$) beträgt.^[170]

2.4.2 Theoretische Grundlagen

Für die Bildung eines Komplexes (WG) aus Gast (G) und Wirt (W) gilt das Massenwirkungsgesetz:

$$K_a = \frac{[WG]}{[W][G]} \quad \text{(Gleichung 2.1)}$$

Die Gesamtkonzentration des Wirtes $[W]_{\text{tot}}$ und des Gastes $[G]_{\text{tot}}$ sind wie folgt definiert:

$$[G]_{tot} = [G] + [WG] \quad (\text{Gleichung 2.2})$$

$$[W]_{tot} = [WG] + [W] = [WG] + \frac{[WG]}{K_A [G]} \quad (\text{Gleichung 2.3})$$

Nach Auflösen der Gleichung 2.2 nach $[G]$ und einsetzen in Gleichung 2.3 wird die folgende quadratische Gleichung erhalten:

$$[WG]^2 + [WG] \left(-[W]_{tot} - [G]_{tot} - \frac{1}{K_A} \right) + [W]_{tot} [G]_{tot} = 0 \quad (\text{Gleichung 2.4})$$

Durch ziehen der Wurzel ergibt sich aus Gleichung 2.4 folgende Lösung für die Konzentration des Wirt-Gast-Komplexes:

$$[WG] = \frac{-b - \sqrt{b^2 - 4a}}{2} \quad (\text{Gleichung 2.5})$$

mit

$$b = -[W]_{tot} - [G]_{tot} - \frac{1}{K_A} \quad (\text{Gleichung 2.6})$$

und

$$a = [W]_{tot} [G]_{tot} \quad (\text{Gleichung 2.7})$$

Nach Ableitung von Gleichung 2.5 nach der Gesamtkonzentration des Gastes $[G]_{tot}$ ergibt sich nach Umformen der erhaltenen Gleichung folgender Ausdruck:

$$\frac{d[WG]}{d[G]_{tot}} = \frac{1}{2} + \frac{1 - \frac{1+r}{2} - \frac{X_r}{2}}{\sqrt{X_r^2 - 2X_r(1-r) + (1+r)^2}} \quad (\text{Gleichung 2.8})$$

mit

$$r = \frac{1}{K_A [W]_{tot}} \quad (\text{Gleichung 2.9})$$

und

$$X_r = \frac{[G]_{tot}}{[W]_{tot}} \quad \text{(Gleichung 2.10)}$$

In einem Titrationsexperiment werden kleine Volumina der Gastlösung in die Messzelle mit der Wirtlösung eingespritzt. Bei der Einspritzung wird eine bestimmte Wärme Q freigesetzt oder absorbiert. Ziel ist es, einen Ausdruck für die Wärmemenge Q im Zusammenhang mit den Konzentrationen der vorliegenden Reaktionspartner in der Messzelle zu finden. Dabei hängt Q ab von:

- 1) dem Zellvolumen V ,
- 2) den Konzentrationen der Reaktionspartner in der Messzelle,
- 3) der Molaren Bindungsenthalpie ΔH° ,
- 4) der Stöchiometrie,
- 5) der Menge des eingespritzten Gastes.

Wird berücksichtigt, dass mit der Abnahme an unkomplexiertem Wirt die freigesetzte Wärmemenge Q verringert wird, ergibt sich die nachfolgende Gleichung 2.11. Die Änderung $d[WG]$ der Konzentration $[WG]$ ist somit proportional zur Änderung dQ der Wärmemenge Q .

$$dQ = d[WG] \cdot \Delta H^\circ \cdot V \quad \text{(Gleichung 2.11)}$$

Der Term $d[WG]$ berücksichtigt somit die Konzentrationen der Reaktionspartner in der Messzelle, die Stöchiometrie und die Menge des eingespritzten Gastes, von denen die Wärmemenge Q abhängig ist.

Durch Einsetzen von Gleichung 2.8 in Gleichung 2.11 ergibt sich für eine Bindungsreaktion zwischen einem Wirt und einem Gast im Verhältnis 1:1 folgende Gleichung:

$$\frac{1}{V} \cdot \frac{dQ}{d[G]_{tot}} = \Delta H^\circ \left\{ \frac{1}{2} + \frac{1 - \frac{1+r}{2} - \frac{X_r}{2}}{\sqrt{X_r^2 - 2X_r(1-r) + (1+r)^2}} \right\} \quad \text{(Gleichung 2.12)}$$

Während einer Messung wird die differenzielle Wärme $dQ/d[G]_{tot}$ bestimmt. Dieser Wert hängt nicht von der absoluten Konzentration des Wirtes $[W]_{tot}$ in der Messzelle ab.

In Abb. 2.54 sind Bindungskurven dargestellt, die nach Gleichung 2.12 simuliert wurden. Um die Kurven besser beschreiben zu können wird der Parameter c eingeführt, der reziprok zum Wert r aus der Gleichung 2.9 ist.

$$c = \frac{1}{r} = K_A [W]_{tot} \quad (\text{Gleichung 2.13})$$

Liegt eine sehr starke Bindung ($c = \infty$) eines Gastes an einem Wirt vor, werden alle Moleküle des Gastes sofort gebunden, bis die Sättigung des Wirtes eintritt, d.h. bis alle Bindungsstellen besetzt sind. Als Bindungskurve ergibt sich dann eine Stufenfunktion mit der Höhe ΔH° .

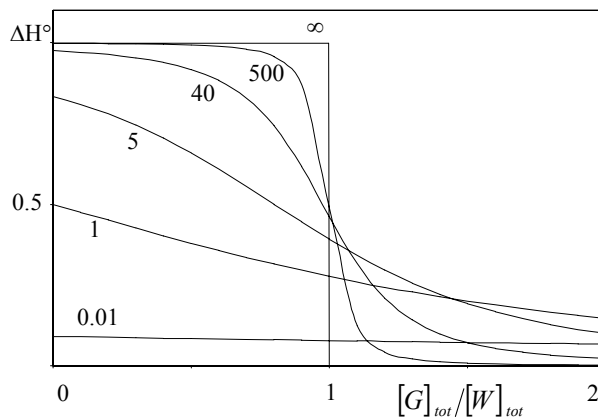


Abbildung 2.54: Simulierte Bindungsisotherme für eine endotherme Reaktion nach Gleichung 2.12 für verschiedene Parameter $c = K_A [W]_{tot}$. Die verschiedenen Werte für c sind in der Abbildung dargestellt.

Für eine relativ starke Bindung mit $c = 10 - 500$ wird aus der Stufenkurve eine sigmoidale Kurve, deren Verlauf stark von dem Parameter c abhängt. Schwache Bindungen ergeben dagegen fast horizontale Bindungskurven ($c < 5$).

Der c -Wert ist ein hilfreiches Werkzeug um Konzentrationen für Bindungsexperimente abschätzen zu können. Ist bereits über eine andere Methode eine Bindungskonstante bekannt, so kann leicht der optimale Konzentrationsbereich für eine Messung abgeschätzt werden. Die Konzentration der Komponente in der Spritze sollte das 12- bis 15-fache der Konzentration in der Messzelle betragen. Ist keine Bindungskonstante bekannt, so kann die Konzentration anhand Abb. 2.54 nachträglich geändert werden, falls die Messkurve noch nicht dem gewünschten sigmoidalen Kurvenverlauf entspricht.^[171, 172]

Wie oben beschrieben wird der Heizstrom, der zum Erwärmen der Messzelle gebraucht wird, gemessen. Das Messsignal wird, angegeben in $\mu\text{cal/s}$, gegen die Zeit aufgetragen. Es resultiert eine Kurve wie sie in der oberen Hälfte von Abbildung 2.55 dargestellt ist. Eine Integration der oberen Kurve über die Zeit ergibt die untere Kurve.

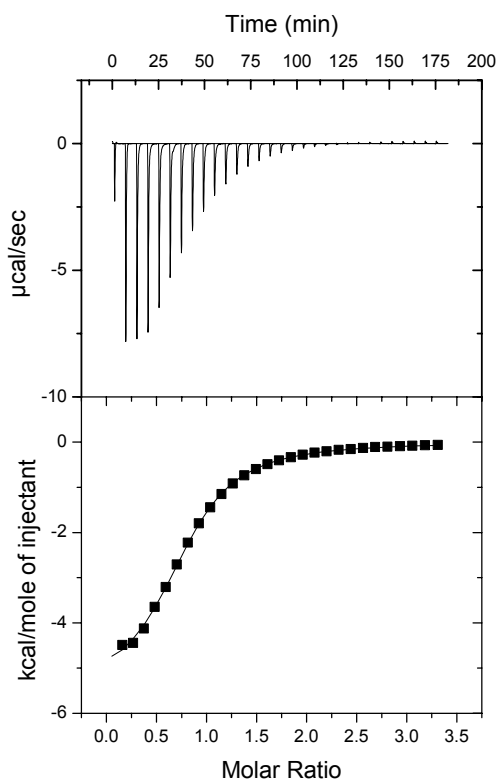


Abbildung 2.55: Eine typische ITC-Messung. Die obere Hälfte zeigt das Messergebnis, dabei steht jeder Peak für eine Injektion. Die untere Kurve entsteht durch Integration der oberen Kurve.

Die Berechnung der Kurve erfolgt vollautomatisch mit Hilfe eines Rechners und der entsprechenden Software. Anhand einer mathematischen Anpassungsfunktion (Gleichung 2.12), die eine Levenberg-Marquardt Iteration verwendet, um den sigmoidalen Kurvenverlauf zu erhalten, wird die Kurve an die erhaltenen Messpunkte angepasst. Aus dem Kurvenverlauf berechnet sich der Wert der Bindungskonstante K_A , die Stöchiometrie der Reaktion und die Enthalpie ΔH° als gesamte Wärmetönung der Reaktion. Die freie Enthalpie ΔG° und die Entropie ΔS° können anschließend daraus über Gleichung 2.14 und 2.15 berechnet werden (Abb. 2.56).^[170, 171, 173]

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_a \quad (\text{Gleichung 2.14})$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (\text{Gleichung 2.15})$$

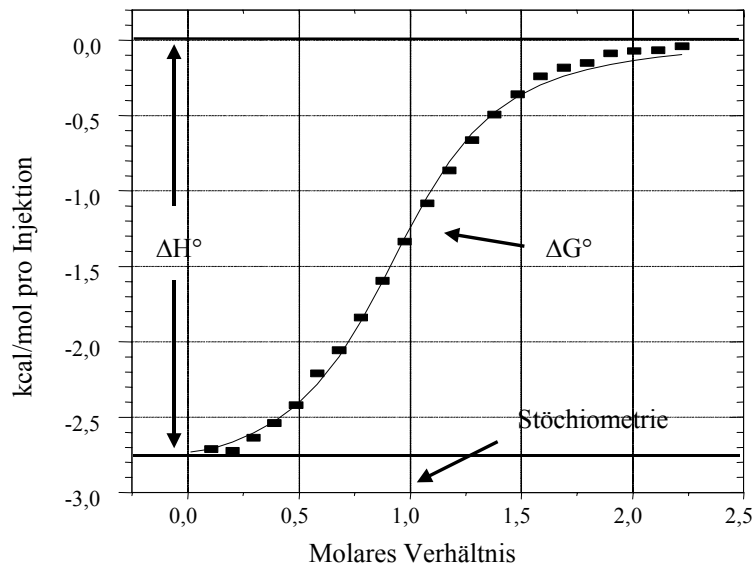


Abbildung 2.56: Ein Beispiel für eine typische ITC Messung. Die durchgezogene Kurve repräsentiert das Ergebnis der Kurvenanpassung nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate. Der Achsenabschnitt auf der Ordinate ergibt die Bindungsenthalpie ΔH° , aus dem Kurvenverlauf lässt sich die Bindungskonstante K_A und damit auch die Freie Bindungsenthalpie ΔG° bestimmen.^[171]

Bei der Bestimmung von ΔH° sollte berücksichtigt werden, dass das ΔH° , welches aus der Messung erhalten wird, die Wärmeentwicklung aller bei der Komplexbildung auftretender Effekte enthält. So können bei der Komplexbildung z.B. auch Protonenübertragungen stattfinden, die ebenfalls Wärmeentwicklung erzeugen. Diese Wärmeentwicklung sollte bei der Auswertung berücksichtigt werden.^[174]

Die Änderung der Wärmekapazität kann bestimmt werden, indem über einen größeren Temperaturbereich mehrere Messungen durchgeführt werden. Dabei wird die Änderung der Wärmekapazität erhalten, indem die Bindungsenthalpie bei mehreren Temperaturen bestimmt wird und gegen die Temperatur aufgetragen wird. Aus der Steigung des Graphen kann ΔC_p nach folgender Gleichung bestimmt werden^[166, 167, 169]:

$$\Delta C_p = \frac{\Delta H^\circ_{T_2} - \Delta H^\circ_{T_1}}{T_2 - T_1} \quad \text{(Gleichung 2.16)}$$

2.4.3 ITC Messungen mit der Bisphosphonat-Klammer 24

Die Titration von Thiamin **75** zu einer Lösung der Bisphosphonat-Klammer **24** ergab die in Abb. 2.57 abgebildete Titrationskurve.

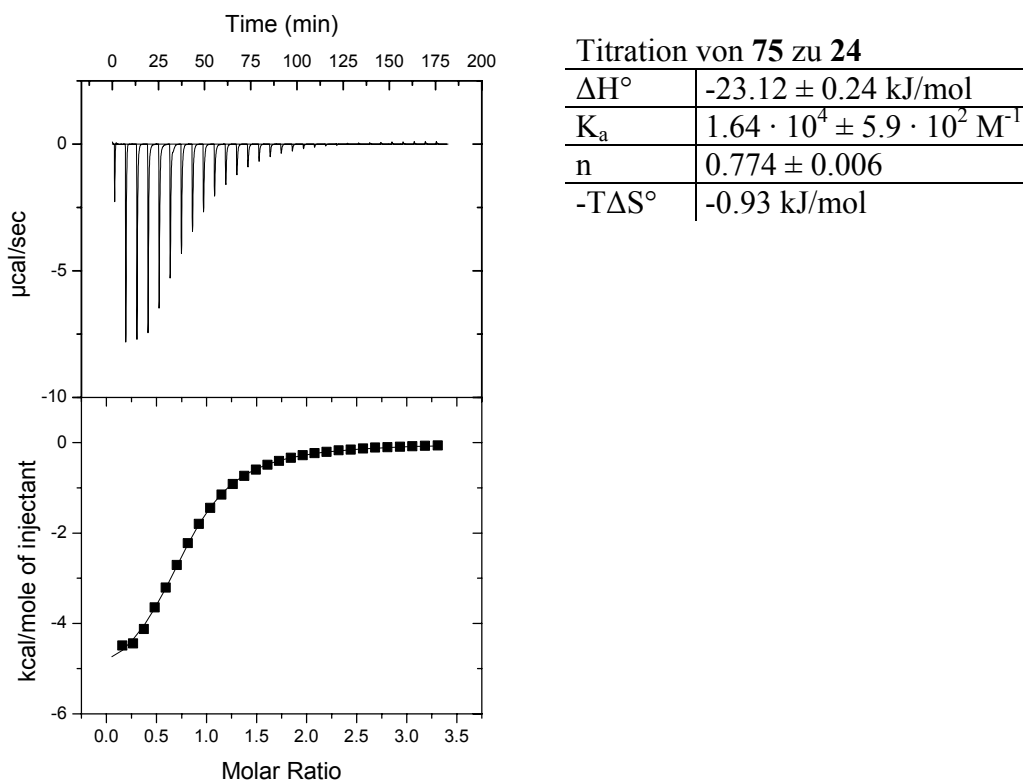
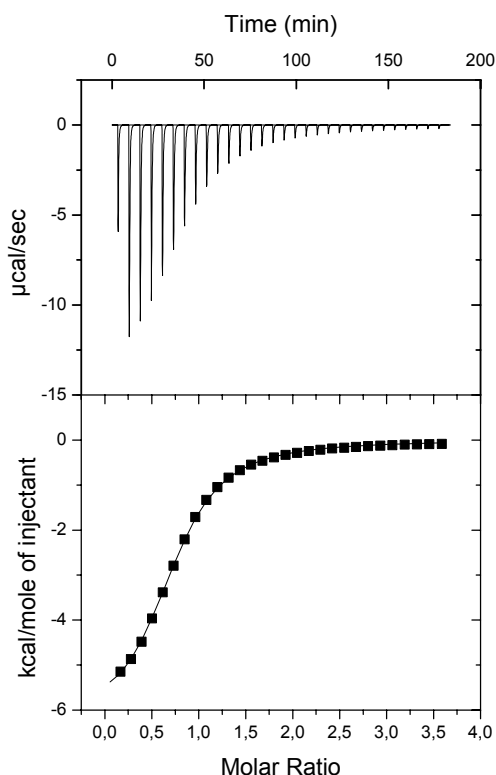


Abbildung 2.57: Ergebnisse der ITC Messung von Thiamin **75** mit der Bisphosphonat-Klammer **24**.

Die Messungen zeigen eine gute Übereinstimmung mit dem aus NMR-Titrationsen enthaltenen Ergebnis. Die Stöchiometrie erreicht annähernd eine 1:1 Stöchiometrie. Die Abweichung ist zum Teil auf die stark hygroskopische Natur des Bisphosphonates **24** zurückzuführen. Die Bindung ist nahezu ausschließlich enthalpisch getrieben, der Beitrag der Entropie ist vernachlässigbar klein. Im Gegensatz dazu konnte in Messungen von NAD^+ an die Bisphosphonat-Klammer **10** ein erheblicher entropischer Anteil beobachtet werden.^[75] Diese Ergebnisse deuten auf einen starken Beitrag von π -Kation- und π - π -Wechselwirkungen^[175] sowie auf den nicht-klassischen hydrophoben Effekt hin.^[10]

2.4.4 ITC Messungen mit der Bisphosphonat-Pinzette 11

Die Titration von Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** mit der Bisphosphonat-Pinzette **11** ergab die in Abb. 2.58 abgebildete Titrationskurve.



Titration von **83** zu **11**

ΔH°	$-26.41 \pm 0.16 \text{ kJ/mol}$
K_a	$1.70 \cdot 10^4 \pm 3.3 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}$
n	0.735 ± 0.003
$-T\Delta S^\circ$	-2.35 kJ/mol

Abbildung 2.58: Ergebnis der ITC-Messung von Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** mit der Bisphosphonat-Pinzette **11**.

Auch die Messungen mit der Bisphosphonat-Pinzette **11** zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den NMR-Titrationsen. Wie bei der Bisphosphonat-Klammer **24** ist auch hier die Abweichung der Stöchiometrie vermutlich auf den hohen hygroskopischen Charakter des Bisphosphonates zurückzuführen. Wie bereits bei der Bisphosphonat-Klammer **24** beobachtet wurde, ist auch hier der Beitrag der Entropie zur Bindung klein. Entsprechend werden auch in diesem Fall die π -Kation- und π - π -Wechselwirkungen^[175] sowie der nicht-klassische Hydrophobe Effekt^[10] die entscheidenden Wechselwirkungen bei der Komplexierung sein. Diese Ergebnisse unterstützen den oben beschriebenen Bindungsmodus.

3. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Synthese der Bisphosphonat-Klammer modifiziert, so dass nicht länger das Tetrabutylammonium-Salz aus der Synthese erhalten wird, sondern das Lithium-Salz. Dies hat den Vorteil, dass das Endprodukt nicht länger mit geringen Mengen Kieselgel verunreinigt ist. Viel wichtiger ist jedoch die Tatsache, dass Lithium als Gegenion im Gegensatz zu Tetrabutylammonium nicht in der Kavität der Klammer gebunden wird und so nicht in Konkurrenz zu den Gästen tritt. Parallel dazu gelang es erstmals die Pinzette **11** mit Bisphosphonat-Einheiten herzustellen und dadurch wasserlöslich zu machen. Sowohl die Bisphosphonat-Klammer **24** als auch die Bisphosphonat-Pinzette **11** werden syntheseökonomisch modular aus der gleichen Spacer-Einheit **14** aufgebaut.

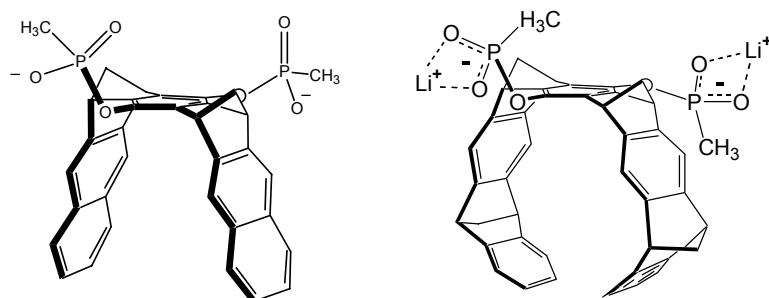


Abbildung 3.1: Die in dieser Arbeit synthetisierten Bisphosphonat-Klammern **10** (Gegenion: Tetrabutylammonium) und **24** (Gegenion: Lithium, links) und Bisphosphonat-Pinzette **11** (rechts).

Im Falle der Bisphosphonat-Klammer wurde die bereits bekannte Bindung von NAD⁺ **52** näher untersucht. Die Bindung des NAD⁺ **52** beruht auf Kation- π - und π - π -Wechselwirkungen in Kombination mit hydrophoben Effekten und elektrostatischen Wechselwirkungen. Da theoretisch zwei Bindungsmoden bei der Bindung von NAD⁺ **52** möglich sind (Abb. 3.2), wurden in der Mitte durchtrennte NAD⁺-Fragmente ebenfalls auf ihre Bindungseigenschaften hin überprüft. Dabei wurde festgestellt, dass sowohl Nikotinamidmononukleotid (NMN) **54** als auch Adenosinmonophosphat (AMP) **56** an die Bisphosphonat-Klammer **10** binden. Interessanterweise ist die Bindungskonstante von NMN **54** jedoch etwa sechs mal höher als die des AMP **56**. Eine genaue Betrachtung des elektrostatischen Oberflächenpotentials von NAD⁺ **52** zeigt, dass der Nikotinamid-Ring im Vergleich zum Adenin-Ring wesentlich stärker positiv geladen ist. Dies erklärt die unterschiedlichen Bindungskonstanten und deutet an, dass die beiden vorgeschlagenen Strukturen im Gleichgewicht vorliegen, welches deutlich auf der Seite der Inklusion des Nikotinamids liegen muss. Die Bindung von NAD⁺ **52** scheint stark

vom pH-Wert abhängig zu sein. Die geringen beobachteten $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte des Komplexes kehren zu den gewohnten hohen $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte zurück, wenn der Komplex in Puffer betrachtet wird. Die Bindung scheint somit auch vom Protonierungsgrad der Phosphate abhängig zu sein. Die genaueren Zusammenhänge sollen in der Zukunft untersucht werden.^[94]

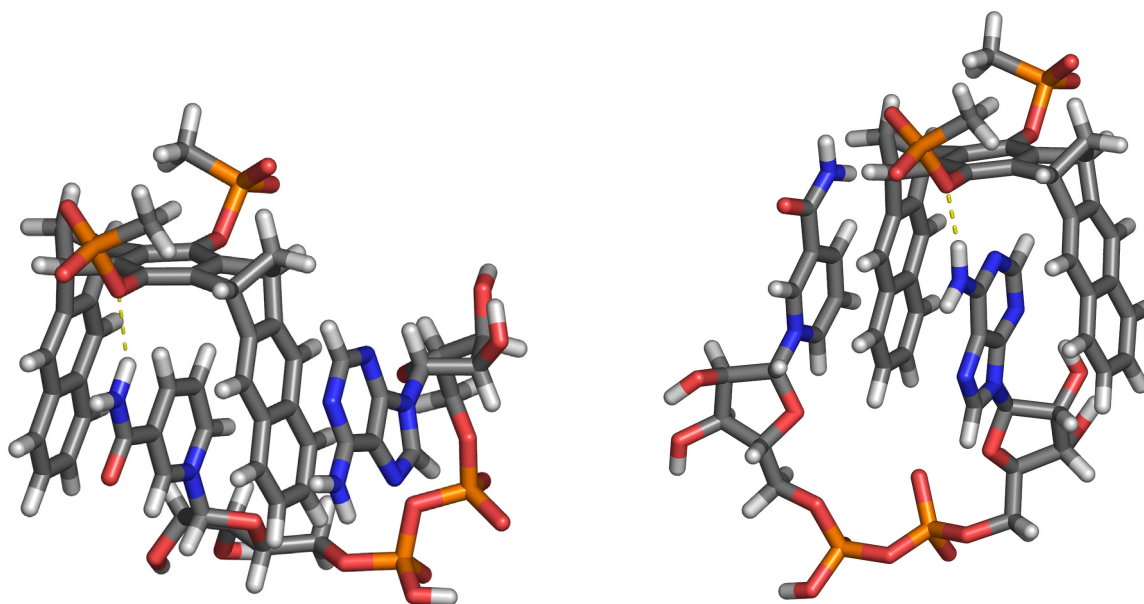


Abbildung 3.2: Berechnete Strukturen des Komplexes von NAD^+ **52** und der Bisphosphonat-Klammer **10** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, Amber*, H_2O , 5000 Schritte, Stickstoffatome sind in blau dargestellt). Links befindet sich das Nikotinamid in der Kavität, rechts das Adenin.

NMR-Messungen bei tiefen Temperaturen sollten mehr Hinweise in Hinblick auf den Bindungsmodus geben, jedoch werden diese Messungen durch die äußerst geringe Löslichkeit erschwert.

In Zukunft soll getestet werden, ob die Bisphosphonat-Klammer mit einer Erkennungseinheit für Ribosen versehen werden kann, um so eine selektivere Bindung von NAD^+ **52** zu erreichen.^[176] Eine weitere interessante Frage ist, die ob das elektrochemische Potential von NAD^+ **52** durch Komplexierung an die Bisphosphonat-Klammer **10** geändert werden kann. Das Potential wird vermutlich durch die Komplexierung abgesenkt werden. Daran schließt sich die nächste Frage an, nämlich ob durch Komplexierung des NAD^+ das Gleichgewicht von enzymatischen Reaktionen verschoben werden kann. Die Bindungskonstante für die Bindung von NAD^+ **52** in der Bisphosphonat-Klammer ist konkurrenzfähig mit der für die Bindung von NAD^+ **52** an bestimmte Alkoholdehydrogenasen. Manche Dehydrogenasen binden NAD^+ **52** mit einer Bindungskonstante von etwa 10^3 M^{-1} während NADH meist viel stärker (ca. 10^5 M^{-1}) gebunden wird.^[177]

Schließlich könnte man versuchen, aus der Bisphosphonat-Klammer, einem nichtkovalent gebundenen Zinkion, einem Alkoholat und eingeschlossenem NAD^+ **52** ein künstliches proteinfreies Enzym zu schaffen.

Weiterhin wurde festgestellt, dass die basische Aminosäure Arginin nicht an die Bisphosphonat-Klammer **10** bindet. Histidin ist vermutlich für eine Protonenübertragung auf die Phosphonate verantwortlich, wird aber ebenfalls nicht in der Kavität gebunden. Diese Erkenntnis ist äußerst wichtig für zukünftige biologische Experimente mit der Bisphosphonat-Klammer **10**. Dies bedeutet, dass Experimente mit NAD^+ -abhängigen Proteinen in Gegenwart der Klammer durchgeführt werden können, da nicht zu befürchten ist, dass die Bisphosphonat-Klammer **10** an eine der Aminosäuren des Proteins bindet und damit ihre eigene Kavität blockiert.

Die Einlagerung von *N*-Retinyl-*N*-retinyliden-ethanolamin (A2E) **58** in der Bisphosphonat-Klammer **10** eröffnet vielleicht eine Möglichkeit zur Therapie der altersbedingten Makuladegeneration (AMD). Für diese Krankheit, die im Wesentlichen von dem in der Retina gebildeten Naturstoff A2E **58** verursacht wird, gibt es bislang keine effektiven Wirkstoffe. Man kann bis heute lediglich den Krankheitsverlauf bremsen. Trotz ihrer hohen Ladung könnte die Bisphosphonat-Klammer also therapeutische Anwendungen finden. Dafür spricht, dass bereits eine Zellgängigkeit von anderen hochgeladenen Verbindungen nachgewiesen wurde.^[178] Es konnte außerdem bereits gezeigt werden, dass sich die Bisphosphonat-Klammer **10** in einfache Modellmembranen einlagert. In ersten Versuchen in Apoptose-Essays mit Epithelzellen wurde gezeigt, dass die Bisphosphonat-Klammer **10** die A2E-induzierte Apoptose erfolgreich hemmt. Diese erfolgreiche Hemmung zeigt nicht nur das Potential der Bisphosphonat-Klammer, sondern beweist auch, dass sie zellgängig ist. In Zukunft soll die Bisphosphonat-Klammer mit Resten modifiziert werden, welche die Bindung von A2E **58** verbessern sollen, wie z.B. längere Alkylsubstituenten oder auch Dendrimere am Phosphoratom, die Van-der-Waalswechselwirkungen mit den Ketten des A2Es **58** eingehen können.

Da bei der näheren Untersuchung des Komplexes von NAD^+ **52** mit der Bisphosphonat-Klammer **10** interessanterweise festgestellt wurde, dass sowohl das Adenosin-Nukleosid als auch das entsprechende -Nukleotid gebunden werden, wurde diese Eigenschaft genauer überprüft. Dabei wurde festgestellt, dass die Bisphosphonat-Klammer **10** alle 2'-Deoxy-

Nukleoside mit hohen Bindungskonstanten bindet (2000 bis 8000 M^{-1}). Die besten Bindungskonstanten wurden bei der Bindung von 2'-Deoxythymidin **60** und 2'-Deoxyadenosin **55** beobachtet. Im Gegensatz dazu wird lediglich das Nukleotid Adenosinmonophosphat (AMP) **56** schwach an die Bisphosphonat-Klammer **10** gebunden (etwa 1000 M^{-1}). Somit unterscheidet die Bisphosphonat-Klammer streng zwischen Nukleosiden und Nukleotiden. Die Ursache liegt wahrscheinlich in der Abstoßung der negativ geladenen Phosphate der Nukleotide durch die ebenfalls negativ geladenen Phosphonate der Klammer. Eine interessante Frage, die in der Zukunft geklärt werden sollte, ist die mögliche Erkennung von AMP **56** in biologischer Umgebung mit der Bisphosphonat-Klammer **10**. Wenn dies möglich ist, könnte es möglich sein, die Bisphosphonat-Klammer eventuell als Adenosin-selektiven DNA-Interkalator zu benutzen.^[179, 180]

Da auch Wirkstoffe auf Nukleosidbasis an die Bisphosphonat-Klammer **10** binden, sollte trotz der relativ geringen Bindungskonstante für AZT **68** überprüft werden, ob die Bisphosphonat-Klammer **10** als Carrier für Nukleosid-Wirkstoffe benutzt werden kann.

Um das Gastprofil der Bisphosphonat-Klammer **10** zu erweitern, wurden Thiazoliumsalze auf ihre Bindungseigenschaften hin überprüft. Dabei wurde festgestellt, dass Thiamin **75** und Thiaminpyrophosphat (TPP) **76** mit hohen Bindungskonstanten an die Bisphosphonat-Klammer **51** binden. Die Bisphosphonat-Klammer **10** ist damit der erste in der Literatur beschriebene künstliche Rezeptor für Thiamin **75**. Bei der genaueren Untersuchung des Bindungsmodus deutet vieles auf einen dynamischen Komplex hin. Das Molecular Modelling-Experiment liefert eine Struktur, die das zeitliche Mittel eines dynamischen Prozesses wiederzuspiegeln scheint (Abb. 3.3). Zusätzlich zeigt diese statische Struktur deutliche Übereinstimmungen mit der natürlichen „V-Konformation“ im Protein. Es scheint so, als würden sich die beiden Ringsysteme des Thiamins in der Kavität hin und her bewegen, so dass immer einer der beiden Aromate eine π - π -Wechselwirkung mit einer der beiden Seitenwände der Klammer eingeht. Isothermale Titrationskalorimetrie-Experimente haben gezeigt, dass die Komplexbildung sehr stark enthalpisch getrieben ist. Der entropische Beitrag ist nahezu vernachlässigbar klein. Dies könnte auf einen Beitrag von nichtklassischen hydrophoben Effekten hinweisen.

Da TPP **76** im Protein sehr stark (ca. 10^6 M^{-1}) gebunden wird, kann die Bisphosphonat-Klammer **10** hier nicht zur Beeinflussung des enzymatischen Gleichgewichts genutzt werden.^[128] Allerdings könnte im Modellexperiment versucht werden, mit Hilfe der Bisphosphonat-Klammer **10** TPP-vermittelte, enzymatische Reaktionen, wie z.B.

Umpolungsreaktionen, ohne Enzym durchzuführen.^[181] Die von der Klammer geänderte Mikroumgebung und das in der Kavität gebundenen TPP **76** sollten dies ermöglichen.^[182]

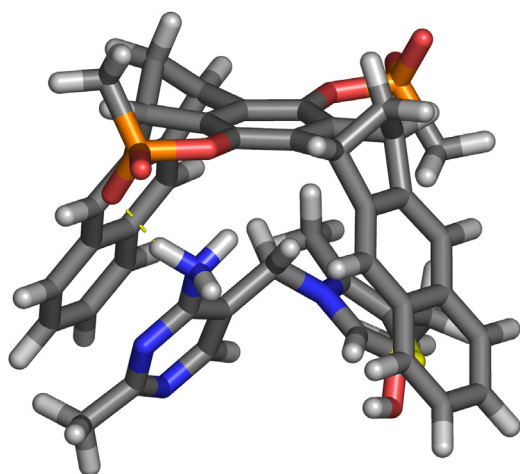


Abbildung 3.3: Die berechnete Struktur für den Komplex von Thiamin **75** mit der Bisphosphonat-Klammer **10** (Monte Carlo, Macromodel 7.1, OPLS-AA, H₂O, 2000 Schritte).

Mit der Synthese der Bisphosphonat-Pinzette **11** gelang es erstmals diese in wasserlöslicher Form herzustellen (Abb. 3.1). Nur schlanke, *para*-substituierte *N*-alkylierte Pyridiniumsalze werden sehr stark in der Bisphosphonat-Pinzette **11** gebunden. Wird allerdings das Substitutionsmuster geändert, so wird der Gast sterisch zu anspruchsvoll für die Kavität und die Bindungskonstante wird deutlich kleiner. Dies zeigt sich auch bei der Untersuchung von einfachen Ammoniumsalzen mit unterschiedlichem Substitutionsmuster.

Von besonderem Interesse ist das Bindungsverhalten der basischen Aminosäuren Arginin und Lysin. Sowohl Tosylargininmethylester **84** als auch Acetyllysinmethylester **83** werden mit hohen Bindungskonstanten in der Bisphosphonat-Pinzette **11** gebunden. Das gilt auch noch für die gepufferte Lösung. Eine Untersuchung des Bindungsmodus zeigt, dass Wirt und Gast dabei eine Pseudorotaxan-ähnliche Struktur bilden (Abb. 3.4). Dabei fungieren die Schutzgruppen sowie das Ammoniumkation jeweils als Stopper und tragen so erheblich zur höheren Bindungskonstante bei. Eine mikrokalorimetrische Untersuchung zeigte, dass genau wie bei der Bisphosphonat-Klammer **10** der Beitrag der Entropie im Vergleich zum Beitrag der Enthalpie zur Bindung sehr gering ist. Dies spricht ebenfalls für starke elektrostatische und dispersive Wechselwirkungen, evtl. unterstützt vom nichtklassischen hydrophoben Effekt. Die Effektivität der Bisphosphonat-Pinzette **11** konnte durch Bindungsexperimente mit verschiedenen Modellpeptiden gezeigt werden. Für alle Modellpeptide wurde eine starke Bindung in gepufferter wässriger Lösung gefunden. Dabei konnte auch gezeigt werden, dass andere Aminosäuren als basische nicht von der Bisphosphonat-Pinzette **11** komplexiert

werden. Durch Zugabe von DMSO oder Acetonitril kann die Bindung von Lysin z.B. wieder rückgängig gemacht werden. Bei der Untersuchung der Modellpeptide gab es außerdem Hinweise auf eine Sequenzspezifität in Hinblick auf den Abstand von mehreren Lysin-Resten. Peptide mit zwei Lysin-Resten direkt nebeneinander scheinen sich anders zu verhalten als Peptide mit zwei Lysin-Resten, die durch mehrere Aminosäuren voneinander getrennt sind.

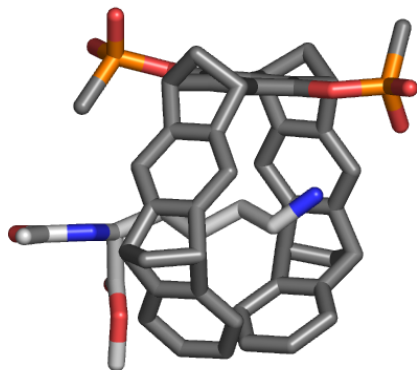


Abbildung 3.4: Ergebnis der Monte Carlo-Simulationen des Komplexes von Acetyllysinmethylesterhydrochlorid **83** (Links, MacroModel 7.1, OPLS-AA, H₂O, 3000 Schritte. Wasserstoffatome wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit weggelassen).

In Zukunft soll die Bisphosphonat-Pinzette mit einer Erkennungseinheit für Aspartat versehen werden, um so einen selektiven Rezeptor für die wichtige Peptidsequenz RGD **86** zu schaffen. Ebenso sollen andere wichtige Modell- und Signalpeptide mit hoher Selektivität angesteuert werden, so dass neuartige Sensoren oder Wirkstoffe entstehen.

4. Experimenteller Teil

4.1. Material und Methoden

Chemikalien

Die eingesetzten Chemikalien wurden bei den Firmen Acros Organics (Geel / Belgien), Aldrich Chemical Co. (Taufkirchen), Bachem (Bubendorf / Schweiz), Fluka (Taufkirchen) und Sigma (Taufkirchen) bezogen und falls nicht anders angegeben in der erhaltenen Qualität eingesetzt.

Lösungsmittel

Die verwendeten Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert und bei Bedarf nach Standardmethoden absolutiert.^[183, 184] Das benutzte Wasser war entionisiert und wurde im Bedarfsfall nochmals über eine *ELGA* Purelab UHQ Anlage entionisiert.

Chromatographie

Für dünnenschichtchromatographische Analysen kamen mit Kieselgel 60 beschichtete Aluminiumplatten der Firma Merck (Darmstadt) zum Einsatz.

Die Detektion erfolgte mit UV-Licht der Wellenlängen 254 und 366 nm und durch Anfärben mit dem CAM- und Molybdato-phosphorsäure-Reagenz und anschließender Entwicklung im Heißluftstrom.

CAM-Reagenz: 2 g Cersulfat, 50 g Ammoniummolybdat und 50 mL konz. Schwefelsäure in 400 mL Wasser gelöst.

Molybdato-phosphorsäure-Reagenz: 10%-ige Molybdato-phosphorsäure-Lösung in Ethanol.

Die präparative Säulenchromatographie wurde, wenn nicht anders angegeben, an Kieselgel 60 der Firma Merck (Darmstadt) durchgeführt. Die Laufmittelgemische und die R_F -Werte der betreffenden Substanzen sind angegeben.^[185]

NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden mit folgenden Geräten gemessen:

Bruker Advance AC-200 (^1H und ^{13}C),

Bruker Advance ARX-200 (^1H , ^{13}C und ^{31}P),

Bruker Advance AMX-300 (^1H und ^{13}C),

Bruker Advance DRX-400 (^1H und ^{13}C),

Bruker Advance DRX-500 (^1H und ^{13}C).

Die chemischen Verschiebungen δ beziehen sich in den ^1H -Spektren auf das Restprotonensignal des verwendeten deuterierten Lösungsmittels und in den ^{13}C -Spektren auf das ^{13}C -Signal des Lösungsmittels.^[186, 187] Die chemischen Verschiebungen δ sind in parts per million (ppm) angegeben. Die verwendeten Lösungsmittel sind bei den jeweiligen Spektren vermerkt.

Die Kopplungskonstanten J sind in Hertz (Hz) angegeben. Die Signalmultiplizitäten werden wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, ddd = Dublett vom Dublett vom Dublett, m = Multiplett, t = Triplett, dt = Dublett vom Triplett, q = Quartett, br = breit. Zusätzlich ist die integrierte Protonenzahl angegeben. Die Zuordnung der Signale wird durch einen kurzen Formelabschnitt gezeigt. Alle ^{13}C -NMR-Spektren wurden Breitband-entkoppelt gemessen.

NOESY-Experimente

Eine äquimolare Lösung (ca. 10^{-3} M) aus Rezeptormolekül und Gast in deuteriertem Lösungsmittel wird im Ultraschallbad entgast und anschließend vermessen.

Variable Temperatur Experimente

Von einer äquimolaren Lösung (ca. 10^{-3} M) aus Rezeptormolekül und Gast in deuteriertem Lösungsmittel (D_2O) wird im Temperaturbereich von 5 °C bis 95 °C in 10 °C Schritten ein ^1H -NMR Spektrum aufgenommen. Die temperaturabhängige Änderung der chemische Verschiebung wird anschließend beobachtet, wobei aliphatische Protonen, die keine temperaturabhängige Verschiebung zeigen, als Referenz dienen.

UV/Vis-Spektroskopie

UV/Vis-Spektren wurden mit einem *Hitachi* U-3410 bei 25 °C gemessen.

Massenspektroskopie

Die Massenspektren (inkl. Hochauflösung) wurden auf einem *Finnegan* MAT 711 (EI), auf einem *Finnegan* MAT95 S (ESI) oder auf einem *Applied Biosystems* S“Qstar Pulsar i” (ESI) gemessen. Die Messmethode wird in Klammern angegeben. Angegeben sind jeweils die

m/z-Werte der wichtigsten Signale. Als Daten sind zusätzlich die Summenformel, die berechnete Masse und die gemessene Masse angegeben.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einer KOFLER-Schmelzpunktmessapparatur Thermoplan der Firma *Reichert* gemessen und sind unkorrigiert.

Filmwaage-Experimente

Filmwaage-Experimente wurden mit einer Filmwaage *NIMA 601BAM* durchgeführt. Die Messung des Oberflächendrucks π als Funktion der Fläche A erfolgte mittels eines WILHELMY-Plättchens.^[107, 188]

Die Messungen wurden bei 25 °C über reinem Wasser ($R > 18 \text{ M}\Omega$) oder wässrigen Gastlösungen ($c = 100 \text{ }\mu\text{M}$) durchgeführt, wobei die Subphase vor jeder Messung auf fehlende Oberflächenaktivität überprüft wurde. Stearinsäuremonoschichten wurden durch Aufspreizen von 50 μL einer 3.5 mM Stearinsäure-Lösung in Chloroform auf die jeweilige Subphase erhalten. Durch zeitabhängige Messungen der Druck-Fläche Diagramme (Schrankengeschwindigkeit 50 cm^2/min) wurde zunächst der Einfluss der gelösten Gäste auf die Stearinsäuremonoschicht beobachtet. Der Rezeptor wurde dann als 3.5 mM Lösung in Methanol / Chloroform = 1:1 v/v bei einem Oberflächendruck von 15 mN/m vorsichtig auf die Oberfläche getropft. Zeitabhängige π -A-Isothermenzyklen wurden aufgenommen bis keine Änderung der Effekte mehr beobachtet werden konnten.

Molecular Modelling

Kraftfeldrechnungen wurden mit dem Programm MacroModel 7.1 der Firma *Schroedinger* durchgeführt. Verwendet wurden die Kraftfelder Amber* und OPLS-AA sowie das GB/SA-Solvatationsmodell für Wasser^[189, 190] – die verwendeten Kraftfelder sind an der entsprechenden Struktur vermerkt.

Komplex-Strukturen wurden zuerst minimiert und anschließend wurde in einer Monte-Carlo Simulation die Struktur mit der günstigsten Energie ermittelt. Monte-Carlo Simulationen wurden mit mindestens 3000 Schritte berechnet (Die Anzahl der Schritte ist an der entsprechenden Struktur vermerkt).

Moleküldynamik-Rechnungen wurden anschließend mit der aus der Monte-Carlo Simulation erhaltenen günstigsten Struktur und dem gleichen Kraftfeld durchgeführt. Die Rechnungen wurden bei 300 K über einem Zeitraum von 10 ps (wobei jede Picosekunde eine Struktur

gespeichert wurde) oder 100 ps (wobei alle 10 ps eine Struktur gespeichert wurde) durchgeführt. Alle erhaltenen Strukturen wurden übereinander abgebildet, wobei die Wasserstoffatome aus Gründen der Übersichtlichkeit weggelassen wurden.

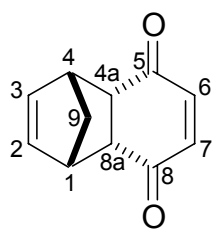
Kraftfeldrechnungen mit einer Wasserbox wurden mit dem Programm Sybyl 6.7 der Firma *Tripes* durchgeführt. Berechnungen wurden mit den aus Monte Carlo Simulationen erhaltenen energiegünstigsten Strukturen durchgeführt. Dazu wurden sie aus Marcromodel 7.2 als PDB- oder Mol2-Datei exportiert. In Sybyl 6.7 eingeladene Strukturen wurden mit GASTEIGER-MARSILLI Teilladungen^[191] versehen und anschließend wurde eine Wasserbox (0 Lösungsmittelschichten, Tripes Radien) berechnet. Danach wurde die Struktur so lange mit dem Tripes Kraftfeld^[191] minimiert, bis ein Energieminimum gefunden wurde (etwa 10000 Schritte).

Zur grafischen Darstellung der Strukturen wurde das Programm Pymol 0.97 von *DeLano Scientific LLC* verwendet.^[192]

4.2 Synthesen

4.2.1 Synthese des Spacers 14

Synthese von (1 α ,4 α ,4 β ,8 $\alpha\beta$)-Tetrahydro-1,4-methanonaphthalin-5,8-dion 17
(modifizierte Vorschrift)



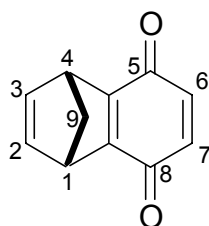
Zu einer gerührten, auf 0 °C gehaltenen Suspension aus 30 g (0.28 mol, aus Methanol umkristallisiert) *p*-Benzochinon **16** in 175 mL Methanol, werden mittels eines kühlbaren Tropftrichters 18.3 g (0.28 mol) auf -78 °C gekühltes, frisch destilliertes Cyclopentadien **15** getropft. Nach Beendigung der Zugabe wird die Reaktionsmischung im Verlauf von 16 h auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wird unter vermindertem Druck auf etwa 40 mL eingengt. Das Produkt kristallisiert dabei in Form gelbgrüner Nadeln aus.

Ausbeute: 38.6 g (0.22 mol, 80 %) gelbgrüne Nadeln.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.42$ (d, $^2J(9\text{-H}^i, 9\text{-H}^a) = 8.6$ Hz, 1 H, 9-Hⁱ), 1.54 (dd, $^2J(9\text{-H}^a, 9\text{-H}^a) = 8.6$ Hz, $^3J(9\text{-H}^a, 1\text{-H}) = 1.7$ Hz, 1 H, 9-H^a), 3.21 (d br, $^3J(1\text{-H}, 9\text{-H}^a) = 1.7$ Hz, 2 H, 1-H, 4-H), 3.54 (s, 2 H, 4a-H, 8a-H), 6.06 (s br, 2 H, 2-H, 3-H), 6.56 (s, 2 H, 6-H, 7-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[47]

Synthese von 1,4-Dihydro-1,4-methanonaphthalin-5,8-dion **18**^[48, 74]



Zu einer Lösung von 100 g (0.57 mol) **17** in 600 mL Methanol werden 1 mL Triethylamin gegeben. Dabei wird darauf geachtet, dass die Temperatur 25 °C nicht überschreitet. Nach 16 h Rühren wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit 200 mL Aceton aufgenommen. Das Lösungsmittel wird erneut unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt anschließend in 1.5 L Chloroform gelöst und nach Zugabe von 63 g (0.58) aus Methanol umkristallisiertem *p*-Benzochinon **16** 5 h bei 50 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionsmischung über eine G3-Glasfritte filtriert. Anschließend wird das Filtrat mit 800 mL einer 1%-igen wässrigen NaOH-Lösung und dreimal mit je 200 mL Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wird anschließend mit Cyclohexan als Elutionsmittel über ca. 30 g Kieselgel filtriert. Das Einengen der orangene Fraktion unter vermindertem Druck ergibt das Produkt als orangenen Feststoff.

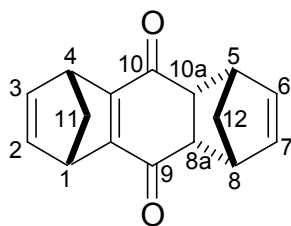
Ausbeute: 81.3 g (0.47 mol, 83 %) orangener Feststoff.

R_F-Wert: 0.06 in Cyclohexan.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.26$ (d br, $^2J(9\text{-H}^a, 9\text{-H}^i) = 7.1$ Hz, 1 H, 9-H^a), 2.32 (d br, $^2J(9\text{-H}^i, 9\text{-H}^a) = 7.1$ Hz, 1 H, 9-Hⁱ), 4.09 (t, $^3J(1\text{-H}, 2\text{-H}) = 2$ Hz, 2 H, 1-H, 4-H), 6.56 (s, 2 H, 6-H, 7-H), 6.85 (t, $^3J(2\text{-H}, 1\text{-H}) = 2$ Hz, 2-H, 3-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[48, 74]

Synthese von *syn*-(1 α ,4 α ,4 β ,5 α ,8 α ,9 α)-1,4,4a,5,8,9a-Hexahydro-1,4:5,8-dimethanoanthracen-9,10-dion **18a**^[48, 74]



Zu einer auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung von 30 g (0,19 mol) **18** in 200 mL Toluol werden mittels eines kühlbaren Tropftrichters 15 g auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühltes frisch destilliertes Cyclopentadien **15** zugetropft. Die Reaktionsmischung wird im Verlauf von 16 h auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wird die Reaktionsmischung auf 50°C erwärmt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt bis eine Trübung erkennbar ist. Dann wird (bei Raumdruck) weitergerührt und die Lösung unter starkem Rühren im Verlauf von 4 h auf Raumtemperatur abgekühlt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, getrocknet und mittels NMR auf das *syn/anti*-Verhältnis überprüft. Der Niederschlag wird anschließend in Toluol aufgelöst und auf 50°C erhitzt. Dann wird (bei Raumdruck) weitergerührt und die Lösung unter starkem Rühren im Verlauf von 4 h auf Raumtemperatur abgekühlt. Dieser Vorgang wird so oft wiederholt, bis das Verhältnis von *syn/anti* besser ist als 20:1

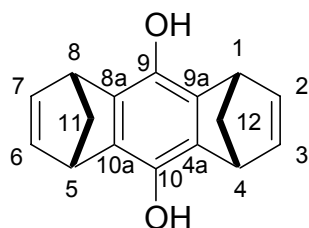
Ausbeute: 16.2 g (0.672 mol, 40 %) gelber Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.40$ (d br, $^2J(12\text{-H}^i, 12\text{-H}^a) = 8.8$ Hz, 1 H, 12-H^i), 1.48 (d br, $^2J(12\text{-H}^a, 12\text{-H}^i) = 8.5$ Hz, 1 H, 12-H^a), 2.13 (d br, $^2J(11\text{-H}^a, 11\text{-H}^i) = 7.3$ Hz, 1 H, 11-H^a), 2.21 (dt, $^2J(11\text{-H}^i, 11\text{-H}^a) = 7.3$ Hz, $^3J(11\text{-H}^i, 1\text{-H}) = 1.2$ Hz, 1 H, 11-H^i), 3.23 (dd, $^3J(8a\text{-H}, 8\text{-H}) = 2.4$ Hz, $^2J(8a\text{-H}, 7\text{-H}) = 1.5$ Hz, 2 H, $8a\text{-H}, 10a\text{-H}$), 3.46 (dd, $^3J(5\text{-H}, 6\text{-H}) = 2.0$ Hz, $^3J(5\text{-H}, 10a\text{-H}) = 1.7$ Hz, 2 H, $5\text{-H}, 8\text{-H}$), 3.96 (ddd, $^3J(1\text{-H}, 2\text{-H}) = 3.9$ Hz, $^3J(1\text{-H}, 11\text{-H}^a) = 3.1$ Hz, $^3J(1\text{-H}, 11\text{-H}^i) = 3.1$ Hz, 2 H, $1\text{-H}, 4\text{-H}$), 5.77-5.78 (m, 2 H, $6\text{-H}, 7\text{-H}$), 6.76-6.77 (m, 2 H, $2\text{-H}, 3\text{-H}$).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[74]

4.2.2 Synthese der Modellverbindung

Synthese von *syn*-9,10-Dihydroxy-(1*a*,4*a*,5*a*,8*a*)-1,4,5,8-tetrahydro-1,4:5,8-dimethanoanthracen **25** (neue Vorschrift)

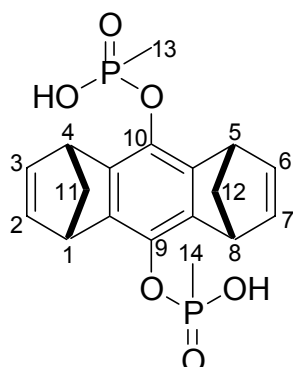


Zu einer Suspension von 200 mg (5.4 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 30 mL absolutem Tetrahydrofuran wird bei 0 °C eine Lösung aus 200 mg (0.61 mmol) **14** in 15 mL absolutem Tetrahydrofuran zugetropft. Danach wird 5 h unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf 0 °C wird mit 30 mL gesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert. Die Reaktionsmischung wird mit 2 M wässriger Salzsäure-Lösung auf pH 1 eingestellt und danach dreimal mit je 100 mL Chloroform extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden dreimal mit je 100 mL Wasser und gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird die organische Phase unter vermindertem Druck eingengt und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 143 mg (0.60 mmol, 98 %) farbloser Feststoff.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.96 (d br, $^2J(11\text{-H}^i, 11\text{-H}^a) = 6.3$ Hz, 2 H; 11-Hⁱ, 12-Hⁱ), 2.03 (d br, $^2J(11\text{-H}^a, 11\text{-H}^i) = 6.3$ Hz, 2 H; 11-H^a, 12-H^a), 3.98 (s br, 4 H, H-1, H-4, H-5, H-6), 6.69 (s br, 4 H, H-2, H-3, H-6, H-7).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[74]

Synthese von 1,4,5,8-Tetrahydro-1,4:5,8-dimethanoanthracen-9,10-bismethylphosphonsäureester 26^[65, 75]

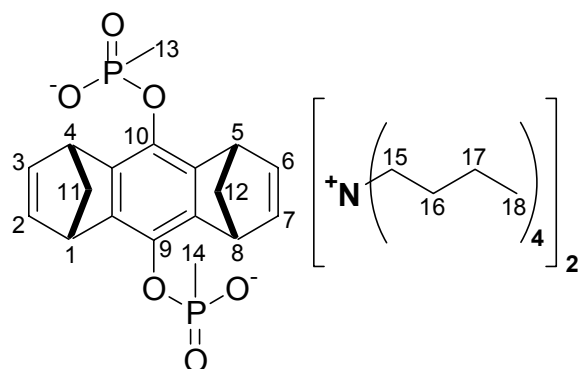
Zu einer Lösung von 100 mg (420 μmol) **25** und 150 mg (1.13 mmol) Methylphosphonsäuredichlorid in 10 mL absolutem Tetrahydrofuran werden bei 0 °C 175 μL (1.26 mmol) Triethylamin zugetropft. Nach 1 h Rühren wird der entstandene Niederschlag mittels einer Umkehrfritte abfiltriert und mit 3 mL absolutem Tetrahydrofuran gewaschen. Zum Filtrat werden 3 mL 2.5%-ige wässrige Salzsäure zugesetzt und nach 15 min Rühren werden 15 mL *n*-Hexan zugegeben. Nach 16 h Rühren bei Raumtemperatur wird der entstandene Feststoff abfiltriert, mit 3 mL 2.5%-iger wässriger Salzsäure gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 110 mg (212 μmol , 50 %) farbloser Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Methanol- d_4): 1.55 (d, $^2J(13\text{-H}, \text{P}) = 17.3$ Hz, 6 H, 13-H, 14-H), 2.18 (d br, $^2J(11\text{-H}^i, 11\text{-H}^a) = 7.0$ Hz, 2 H, 11-Hⁱ, 12-Hⁱ), 2.21 (d br, $^2J(11\text{-H}^a, 11\text{-H}^i) = 7.0$ Hz, 2 H, 11-H^a, 12-H^a), 4.11 (s br, 4 H, 1-H, 4-H, 5-H, 8-H), 6.80 (s br, 4 H, 2-H, 3-H, 6-H, 7-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[65, 75]

Synthese von Bistetrabutylammonium-1,4,5,8-tetrahydro-1,4:5,8-dimethanoanthracen-9,10-bismethylphosphonat **26**^[65, 75]



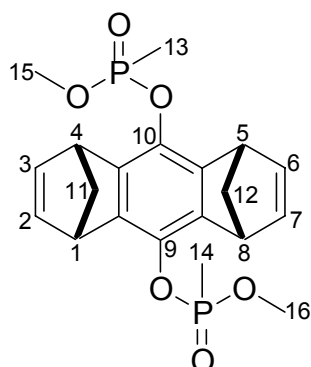
Zu einer Suspension aus 50 mg (127 μmol) **26** in 10 mL Dichlormethan werden 253 μL (253 μmol) einer 1 M wässrigen Tetra-butylammoniumhydroxid-Lösung gegeben. Anschließend wird die Reaktionsmischung 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 111 mg (127 μmol , quantitativ) farbloser Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): $\delta = 0.92$ (t, $^3J(18\text{-H}, 17\text{-H}) = 7.3$ Hz, 24 H, 18-H), 1.28-1.37 (m, 16 H, 17-H). 1.34 (d, $^2J(13\text{-H}, \text{P}) = 15.9$ Hz, 6 H, 13-H, 14-H), 1.55-1.70 (m, 16 H, 16-H), 2.13 (d br, $^2J(11\text{-H}^i, 11\text{-H}^a) = 7.3$ Hz, 2 H, 11-Hⁱ, 12-Hⁱ), 2.20 (d, br, $^2J(11\text{-H}^a, 11\text{-H}^i) = 7.3$ Hz, 2 H, 11-H^a, 12-H^a), 3.13-3.20 (m, 16 H, 15-H), 4.08 (s, br, 4 H, 1-H, 4-H, 5-H, 8-H), 6.82 (s br, 4 H, 2-H, 3-H, 6-H, 7-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[65, 75]

Synthese von 9,10-*O,O'*-Bis(methylmethoxyphosphoryloxy)-(1 α ,4 α ,5 α ,8 α)-1,4,5,8-tetrahydro-1,4:5,8-dimethanoanthracen 27



Zu einer Lösung aus 200 mg (0.85 mmol) **25** und 297 mg (2.27 mmol) Methylphosphonsäuredichlorid in 15 mL absolutem Tetrahydrofuran werden bei 0 °C 350 μ L (2.50 mmol) Triethylamin langsam zugetropft. Nach 1 h rühren bei 0 °C und anschließend eine weitere Stunde bei Raumtemperatur werden 10 mL absolutem Methanol zugegeben und weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch mit Chloroform / Aceton = 2:1 v/v gereinigt.

Ausbeute: 234 mg (0.56 mmol, 65 %) weißer Feststoff.

R_F-Wert: 0.25 in Chloroform / Aceton = 2:1 v/v.

Schmelzpunkt: 139 °C.

¹H-NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄): δ = 1.68 (d, ²*J*(13-H, P) = 17.3 Hz, 6 H, 13-H, 14-H), 2.19 (d br, ²*J*(11-Hⁱ, 11-H^a) = 7.0 Hz, 2 H, 11-Hⁱ, 12-Hⁱ), 2.25 (d, ²*J*(11-H^a, 11-Hⁱ) = 7.0 Hz, 2 H, 11-H^a, 12-H^a), 3.75 (d, ³*J*(15-H, P) = 11.3 Hz, 6 H, 15-H, 16-H), 4.11 (d br, ³*J*(1-H, 2-H) = 1.7 Hz, 4 H, 1-H, 4-H, 5-H, 8-H), 6.83 (d br, ³*J*(2-H, 1-H) = 1.7 Hz, 4 H, 2-H, 3-H, 6-H, 7-H).

³¹P-NMR (81 MHz, CDCl₃): δ = 29.33 (s).

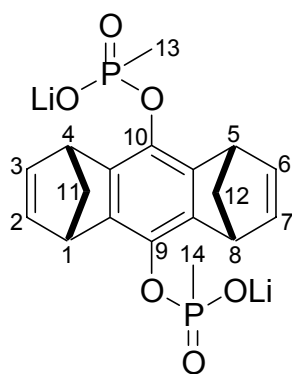
¹³C-NMR (50.3 MHz, CDCl₃): δ = 10.8 (d, ¹*J*(C, P) = 144.3 Hz, C-13, C-14), 48.1 (d, C-1, C-4, C-5, C-8), 52.7 (d, ²*J*(C, P) = 5.4 Hz, C-15, C-16), 70.0 (s, C-11, C-12), 136.2 (d, C-4 α , C-8 α , C-9 α , C-10 α), 142.3-142.8 (m, C-2, C-3, C-6, C-7, C-9, C-10).

MS (ESI, MeOH); *m/z*: 423 [M + H]⁺, 445 [M + Na]⁺.

HR-MS: ber. für C₂₀H₂₄O₆NaP₂: 445.0946; gef. 445.0940.

CHN: ber. für $C_{20}H_{24}Li_2O_6P_2 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ [%]: C: 55.69; H: 5.84; gef [%]: C: 55.15; H: 5.55. Der Wassergehalt kann variieren.

Synthese von Bis(lithium)-1,4,5,8-tetrahydro-1,4:5,8-dimethanoanthracen-9,10-bismethylphosphonat 28



Eine Lösung aus 50.0 mg (1.18 mmol) **27** und 20.5 mg (2.36 mmol) trockenem Lithiumbromid in 10 mL absolutem Acetonitril wird 16 h bei 85 °C gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abzentrifugiert, dreimal mit 3 mL absolutem Acetonitril gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 35 mg (0.86 mmol, 73%) weißer Feststoff.

Schmelzpunkt: >230 °C.

¹H-NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ = 1.27 (d, $^2J(13\text{-H}, P) = 16.5$ Hz, 6 H, 13-H, 14-H), 2.15 (s br, 4 H, 11-H, 12-H), 4.16 (s br, 4 H, 1-H, 4-H, 5-H, 8-H), 6.78 (s br, 4 H, 2-H, 3-H, 6-H, 7-H).

³¹P-NMR (81.0 MHz, Methanol-*d*₄): δ = 25.3 (s).

¹³C-NMR (125.8 MHz, Methanol-*d*₄): δ = 13.3 (d, $^1J(C, P) = 138.3$ Hz, C-13, C-14), 70.6 Hz (s, C-11, C-12), 139.6 (d, $^2J(C, P) = 6.1$ Hz, C-9, C-10), 143.3 (s, C-4a, C-8a, C-9a, C-10a), 144.1 (s, C-2, C-3, C-6, C-7).

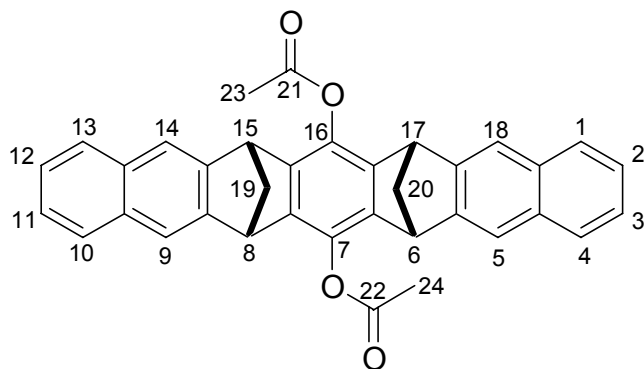
MS (ESI, MeOH); *m/z*: 196 $[M - 2Li^+]^{2-}$, 393 $[M - 2Li^+ + H^+]^-$, 399 $[M - Li^+]^-$.

HR-MS: ber. für $C_{18}H_{18}O_6Li_2P_2$: 399.0733; gef. 399.0709.

CHN: ber. für $C_{18}H_{18}Li_2O_6P_2 \cdot 2H_2O$ [%]: C: 48.89; H: 5.01; gef [%]: C: 49.10; H: 5.00.

4.2.3 Synthese der Hydroxyklammer 21

Synthese von **7,16-Diacetoxy-(6 α ,8 α ,15 α ,17 α)-6,8,15,17-tetrahydro-6,17:8,15-dimethanoheptacen 12**^[48, 74]



Eine Mischung aus 2.0 g (6.2 mmol) **14**, 20.0 g (47.8 mmol) $\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -Tetrabrom-*ortho*-xylol **20**, 46.0 g (326 mmol) wasserfreiem Natriumiodid und 10.0 g (100 mmol) wasserfreiem Calciumcarbonat in 150 mL wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (DMF) wird 30 min unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung 5 h bei 55 °C und 100 mbar (Membranpumpe mit vorgeschalteter KOH-Säule) gerührt. Danach wird die noch warme Reaktionsmischung auf 600 g Eis gegossen. Zum entstandenen Gemisch wird gesättigte wässrige NaHSO₃-Lösung gegeben bis die Farbe von braunrot nach gelb umschlägt. Nach Zugabe von 300 mL Wasser und 400 mL Dichlormethan wird das Gemisch kräftig durchmischt und anschließend filtriert. Danach wird die wässrige Phase dreimal mit je 200 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit 200 mL gesättigter wässriger NaHCO₃-Lösung und viermal mit je 400 mL Wasser gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wird der verbleibende Feststoff chromatographisch über Kieselgel gereinigt (Cyclohexan / Ethylacetat = 3:1 v/v).

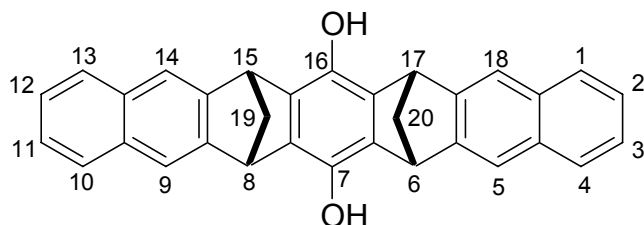
Ausbeute: 2.2 g (4.2 mmol, 68 %) hellbrauner Feststoff.

R_F-Wert: 0.27 in Cyclohexan / Ethylacetat = 3:1 v/v.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.42 (d br, ²*J*(19-Hⁱ, 19-H^a) = 8.3 Hz, 2 H, 19-Hⁱ, 20-Hⁱ), 2.48 (s, 6 H, 23-H, 24-H), 2.66 (d br, ²*J*(19-H^a, 19-Hⁱ) = 8.3 Hz, 2 H, 19-H^a, 20-H^a), 4.29 (s br, 4 H, 6-H, 8-H, 15-H, 17-H), 7.23-7.27 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 11-H, 12-H), 7.52 (s, 4 H, 5-H, 9-H, 14-H, 18-H), 7.56-7.59 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 10-H, 13-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[48, 74]

Synthese von 7,16-Dihydroxy-(6 α ,8 α ,15 α ,17 α)-6,8,15,17-tetrahydro-6,17:8,15-dimethanoheptacen 21^[48, 74]



Zu einer entgasten Suspension von 200 mg (0.38 mmol) **12** und 50 μ L Phenylhydrazin in 15 mL Ethanol wird unter Argon 500 μ L einer 15%igen wässrigen entgasten Natriumhydroxid-Lösung gegeben. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wird 1.0 mL einer 15%igen wässrigen HCl-Lösung zugegeben. Nach Zugabe von 50 mL Eiswasser wird der entstandene Feststoff abfiltriert, mit 10 mL Wasser gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

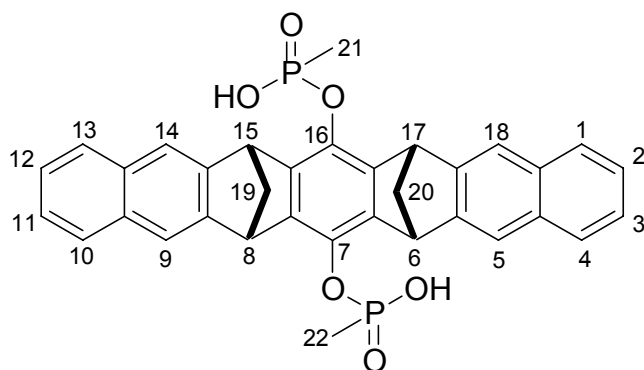
Ausbeute: 160 mg (0.37 mmol, 97 %) hellbrauner Feststoff.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.51 (d br, ²J(19-Hⁱ, 19-H^a) = 8.3 Hz, 2 H, 19-Hⁱ, 20-Hⁱ), 2.56 (d br, ²J(19-H^a, 19-Hⁱ) = 8.3 Hz, 2 H, 19-H^a, 20-H^a), 4.46 (s br, 4 H, 6-H, 8-H, 15-H, 17-H), 7.23-7.29 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 11-H, 12-H), 7.53 (s, 4 H, 5-H, 9-H, 14-H, 18-H), 7.54-7.58 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 10-H, 13-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[48, 74]

4.2.4 Synthese des Phosphonatklammer Tetrabutylammoniums Salzes **10**

Synthese von **6,8,15,17-Tetrahydro-6,17:8,15-dimethanoheptacen-7,16-bismethylphosphonsäureester 22**^[65, 75]



Zu einer Lösung aus 100 mg (228 μmol) **21** und 80 mg (600 μmol) Dichlormethylphosphonsäure in 10 mL absolutem Tetrahydrofuran werden bei 0 °C 80 μL (0.58 μmol) Triethylamin zugetropft. Anschließend wird zuerst 1 h bei 0 °C und dann eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach werden 3 mL 2.5%-ige wässrige HCl-Lösung zugegeben. Nach 20 min rühren werden 5 mL *n*-Hexan zugegeben und weitere 16 h gerührt. Die organische Phase wird mit 3 mL 2.5%-iger wässriger HCl-Lösung gewaschen und ohne vorheriges Trocknen unter vermindertem Druck bis zum Trockenen eingeeengt. Das Rohprodukt wird anschließend säulenchromatographisch über Florisil (60-100 mesh) mit Dichlormethan / Methanol = 3:1 \rightarrow 2:1 v/v gereinigt.

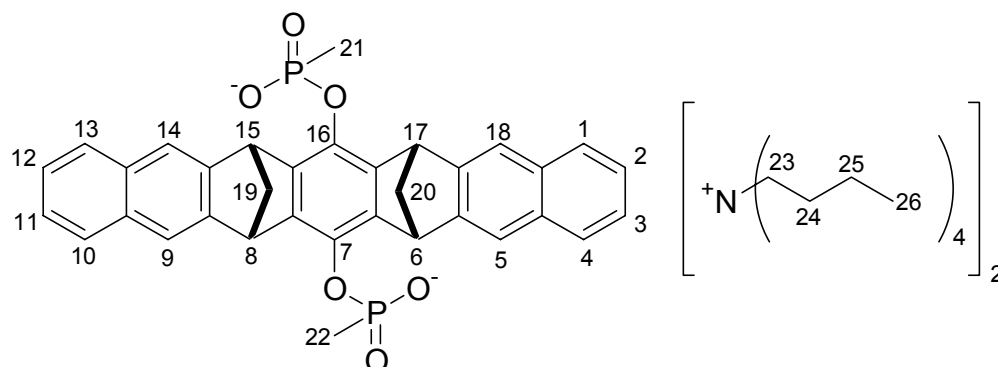
Ausbeute: 90 mg (150 μmol , 66 %) leicht bräunlicher Feststoff (mit Kieselgel verunreinigt).

R_F-Wert: 0.02 in Dichlormethan / Methanol = 2:1 v/v

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ = 1.48 (d, ²*J*(21-H, P) = 16.6 Hz, 6 H, 21-H, 22-H), 2.37 (d br, ²*J*(19-Hⁱ, 19-H^a) = 8.0 Hz, 2 H, 19-Hⁱ, 20-Hⁱ), 2.63 (d br, ²*J*(19-H^a, 19-Hⁱ) = 8.0 Hz, 2 H, 19-H^a, 20-H^a), 4.65 (s, 4 H, 6-H, 8-H, 15-H, 17-H), 6.93-6.97 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 11-H, 12-H), 7.21-7.24 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 11-H, 12-H), 7.42 (s, 4 H, 5-H, 9-H, 14-H, 18-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[65, 75]

Synthese von Bistetrabutylammonium-6,8,15,17-tetrahydro-6,17:8,15-dimethanoheptacen-7,16-bismethylphosphonat 10^[65, 75]



Eine Suspension aus 51.8 mg (87.1 μmol) **22** in 10 mL Dichlormethan werden 135 μL (135 μmol) einer 1 M wässrigen Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung zugesetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Methanol aufgenommen. Die Lösung wird über einen Membranfilter (Porengröße 0.2 μm) filtriert und unter vermindertem Druck wieder eingengt. Nach Überprüfung der Stöchiometrie mittels der Signalintensitäten im $^1\text{H-NMR}$ wird – falls das Verhältnis Phosphonat : Tetrabutylammonium nicht 1:1 ist – entweder mehr **22** oder Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung zugesetzt und anschließend wieder membranfiltriert.

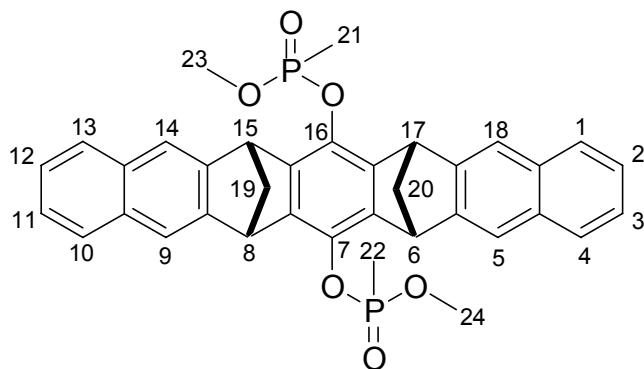
Ausbeute: 59 mg (67,3 μmol , quantitativ bezogen auf Tetrabutylammoniumhydroxid) hellbrauner Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): $\delta = 0.81$ (t, $^3J(26\text{-H}, 25\text{-H}) = 6.6$ Hz, 24 H, 26-H), 1.05-1.25 (m, 32 H, 24-H, 25-H), 1.52 (d, $^2J(21\text{-H}, \text{P}) = 16.3$ Hz, 6 H, 21-H, 22-H), 2.41 (d br, $^2J(19\text{-H}^i, 19\text{-H}^a) = 8.9$ Hz, 2 H, 19-Hⁱ, 20-Hⁱ), 2.55-2.70 (s br, 16 H, 23-H), 2.66 (d br, $^2J(19\text{-H}^a, 19\text{-H}^i) = 8.9$ Hz, 2 H, 19-H^a, 20-H^a), 4.69 (s, 4 H, 6-H, 8-H, 15-H, 17-H), 7.26-7.30 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 11-H, 12-H), 7.63-7.66 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 10-H, 13-H), 7.65 (s, 4 H, 5-H, 9-H, 14-H, 18-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[65, 75]

4.2.5 Synthese der Lithium-phosphonatklammer **24**

Synthese von **7,16-O,O'-Bis(methylmethoxyphosphoryloxy)-6,8,15,17-tetrahydro-6,17:8,15-dimethanoheptacen **23****



Zu einer Lösung aus 330 mg (0.75 mmol) **21** und 264 mg (1.98 mmol) Methylphosphonsäuredichlorid in 33 mL absolutem Tetrahydrofuran werden bei 0 °C 264 μ L (1.91 mmol) Triethylamin langsam zugetropft. Nach einigen Sekunden fällt ein Niederschlag aus. Die Suspension wird 1 h bei 0 °C und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden 15 mL absolutes Methanol zugegeben und die Lösung wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch über Kieselgel mit Chloroform / Aceton = 10:1 v/v als Elutionsmittel gereinigt.

Ausbeute: 260 mg (0.41 mmol, 55 %) farbloser Feststoff.

R_F-Wert: 0.41 in Chloroform / Aceton = 3:1 v/v.

Schmelzpunkt: 110 °C.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.65 (d, ²J(P-CH₃) = 17.3 Hz, 6 H; P-CH₃), 2.47 (d br, ²J(19-Hⁱ, 19-H^a) = 8.3 Hz, 2 H; 19-Hⁱ, 20-H^j), 2.60-2.70 (m, 2 H; 19-H^a, 20-H^a), 3.55, 3.56 (2 d, ³J(P-OCH₃) = 11.23 Hz, 6 H; P-OCH₃), 4.66, 4.70 (2 s, 4 H; 6-H, 8-H, 15-H, 17-H), 7.20-7.35 (m, 4 H; 2-H, 3-H, 11-H, 12-H), 7.59 (dd, ³J(H-2, H-1) = 9.5 Hz, ⁴J(H-2, H-4) = 2.4 Hz, 4 H; 1-H, 4-H, 10-H, 13-H), 7.62, 7.66 (2 s, 4 H; 5-H, 9-H, 14-H, 18-H), (diastereomere).

³¹P-NMR (81 MHz, CDCl₃): δ = 29.48 (s).

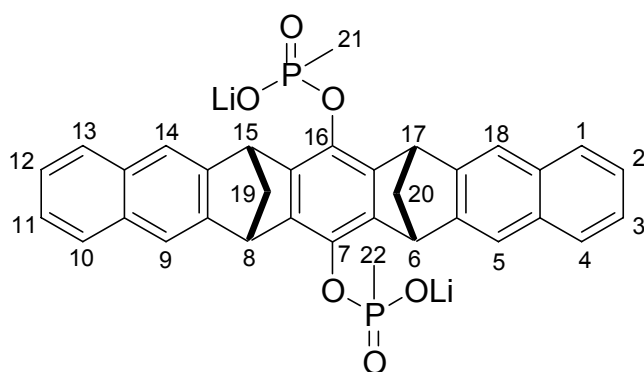
¹³C-NMR (75,47 MHz, CDCl₃): δ = 11.3 (d, ¹J(C, P) = 144.1 Hz; C-21, C-22), 48.5 (s, C-6, C-8, C-15, C-17), 53.1 (d, ²J(P, C) = 6.8 Hz), 65.2 (s, C-19, C-20), 120.6 (d, C-aromatisch),

125.5 (s, C-aromatisch), 127.7, 127.8 (2 d, C-aromatisch), 132.2, 141.5, 146.3 (3 s, C-aromatisch).

MS (ESI, MeOH); m/z : 623 $[M + H]^+$, 645 $[M + Na]^+$, 661 $[M + K]^+$.

HR-MS: ber. für $C_{36}H_{32}O_6P_2$: 622.1674; gef. 622.1590.

Synthese von Bis(lithium)-6,8,15,17-tetrahydro-6,17:8,15-dimethanoheptaceny-7,16-bismethylphosphonat **24**



Eine Lösung aus 20 mg (32 μmol) **23** und 6.1 mg (71 μmol) wasserfreiem Lithiumbromid in 3 mL 2-Hexanon wird 16 h bei 120 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der entstandene Niederschlag abzentrifugiert, dreimal mit 2 mL wasserfreiem Acetonitril gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 16 mg (26 μmol , 81 %) hellbrauner Feststoff.

Schmelzpunkt: > 230 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): δ = 1.34 (d, $^2J(\text{P-CH}_3)$ = 16.3 Hz, 6 H; P-CH₃) 2.36 (d, $^2J(19\text{-H}^i, 19\text{-H}^a)$ = 7.6 Hz, 2 H; 19-Hⁱ, 20-Hⁱ), 2.64 (d, $^2J(19\text{-H}^a, 19\text{-H}^i)$ = 7.9 Hz, 2 H; 19-H^a, 20-H^a) 4.79 (s, 4 H; 6-H, 8-H, 15-H, 17-H), 7.19 (dd, $^3J(\text{H-1}, \text{H-2})$ = 9.3 Hz, $^4J(\text{H-4}, \text{H-2})$ = 2.7 Hz, 4 H; 2-H, 3-H, 11-H, 12-H), 7.55 (dd, $^3J(\text{H-2}, \text{H-1})$ = 9.3 Hz, $^4J(\text{H-4}, \text{H-2})$ = 3.0 Hz, 4 H; 1-H, 4-H, 10-H, 13-H), 7.61 (s, 4 H; 5-H, 9-H, 14-H, 18-H).

$^{31}\text{P-NMR}$ (81 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): δ = 26.04 (s).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75,47 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): δ = 13.4 (d, $^1J(\text{P,C})$ = 137.9 Hz; C-21, C-22), 65.7 (s, C-19, C-20), 120.8 (s, C-aromatisch), 125.9 (s, C-2, C-3, C-11, C-12), 128.6 (s, C-aromatisch), 133.5 (2 s, C-aromatisch), 142.1 (s, C-aromatisch), 148.8 (s, C-aromatisch), C-6, C-8, C-15, C17: erwartet unter dem $\text{MeOH-}d_4$ -Signal.

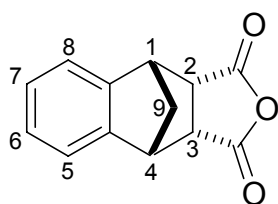
UV/Vis (H₂O): $\lambda = 218.6$ nm ($\log \varepsilon = 9.93$).

MS (ESI, MeOH); *m/z*: 296 [M - 2Li⁺]²⁻, 593 [M - 2Li⁺ + H⁺]⁻, 599 [M - Li⁺]⁻, 615 [M - 2Li⁺ + Na⁺]⁻.

HR-MS: ber. für C₃₄H₂₆O₆LiP₂: 599.1359; gef. 599.1330.

4.2.6 Synthese der Seitenwand der Pinzette 29

Synthese von 1,4-Dimethano-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin-2,3-dicarbonsäureanhydrid **32** (modifizierte Vorschrift)



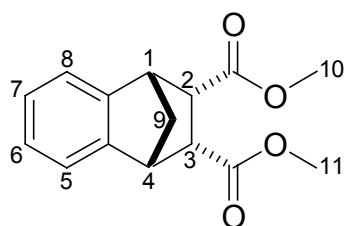
Eine Lösung von 80 g (0.69 mol) Inden **31** (techn.), 69 g (0.70 mol) Maleinsäureanhydrid **30** und 10 g 1,4-Hydrochinon in 100 mL 1,2,3,4-Tetrahydronaphthalin wird unter Argon 3.5 h mit einem auf 200 °C vorgeheiztem Ölbad zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf 80-90 °C wird die Reaktionsmischung unter kräftigem Rühren in 500 mL 60 °C warmes Toluol gegossen. Der entstandene Niederschlag wird warm abdekantiert und bei Bedarf warm abfiltriert. Die Lösung wird 16 h bei -18 °C ruhen gelassen und der entstandenen Feststoff abfiltriert. Falls notwendig wird das Produkt aus Ethylacetat / Ether umkristallisiert.

Ausbeute: 30 g (0.14 mol, 20 %) farblose Kristalle.

NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.94$ (d, $^2J(9-H^i, 9-H^a) = 9.5$ Hz, 1 H, 9-Hⁱ), 2.14 (d, $^2J(9-H^a, 9-H^i) = 9.5$ Hz, 1 H, 9-H^a), 3.78 (s br, 2 H, 2-H, 3-H), 3.91 (s, 2 H, 1-H, 4-H), 7.19-7.30 (m, 4 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

Synthese von **5-endo,6-endo-Bis-(methoxycarbonyl)-1,4-dimethano-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin 33**^[73]



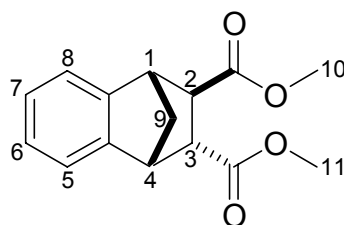
Zu einer Suspension von 30 g (0.14 mol) **32** in 400 mL absolutem Methanol werden bei 0 °C 2 mL Acetylchlorid zugegeben. Anschließend wird die Reaktionsmischung 20 h bei 40 °C gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 35 g (0.13 mol, 93 %) farbloser Feststoff.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.74 (d br, $^2J(9\text{-H}^i, 9\text{-H}^a) = 8.9$ Hz, 1 H, 9-Hⁱ), 1.88 (dd, $^2J(9\text{-H}^a, 9\text{-H}^i) = 8.9$ Hz), $^3J(9\text{-H}^a, 1\text{-H}) = 1.7$ Hz, 1 H, 9-H^a), 3.47 (s, 6 H, 10-H, 11-H), 3.48 (d, $^3J(2\text{-H}, 1\text{-H}) = 1.7$ Hz, 2 H, 2-H, 3-H), 3.63 (s br, 2 H, 2-H, 3-H), 7.10-7.14 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 7.24-7.28 (m, 2 H, 5-H, 8-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

Synthese von **trans-5,6-Bis-(methoxycarbonyl)-1,4-dimethano-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin 34**^[73]



Zu einer Lösung aus 35 g (0.13 mol) **33** in 500 mL absolutem Methanol werden 15 g (0.28 mol) Natriummethylat gegeben und anschließend 5 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wird mit 500 mL Diethylether aufgenommen und zweimal mit je 150 mL 2 M HCl-Lösung, zweimal

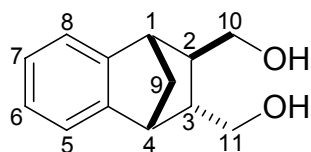
mit je 150 mL gesättigter NaHCO_3 -Lösung und einmal mit 150 mL gesättigter NaCl -Lösung gewaschen. Nach Trocknen mit Natriumsulfat wird die organische Phase unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 34,5 g (0.13 mol, quantitativ) brauner Feststoff.

NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.84 (d, $^2J(9\text{-H}^i, 9\text{-H}^a) = 9.5$ Hz, 1 H, 9-Hⁱ), 1.96 (d, $^2J(9\text{-H}^a, 9\text{-H}^i) = 9.3$ Hz, 1 H, 9-H^a), 2.85-2.86 (m, 1 H, 2-H), 3.53 (s, 3 H, 11-H), 3.61-3.65 (m, 2 H, 1-H, 2-H), 3.70 (s br, 1 H, 4-H), 3.75 (s, 3 H, 10-H), 7.05-7.14 (m, 3 H, 5-H, 6-H, 7-H), 7.24-7.26 (m, 1 H, 8-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

Synthese von *trans*-2,3-Bis(hydroxymethyl)-1,4-methano-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin **35**^[73]



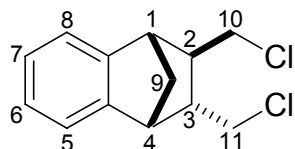
Zu einer Suspension aus 12 g (315 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 800 mL absolutem Tetrahydrofuran werden bei 0 °C unter Absolutbedingungen 34 g (130 mmol) **34** in 200 mL absolutem Tetrahydrofuran zugetropft. Anschließend wird die Reaktionsmischung 16 h unter Rückfluss gerührt. Danach werden bei 0 °C 60 mL gesättigte wässrige Magnesiumsulfat-Lösung zugetropft. Der entstandene Niederschlag wird anschließend abfiltriert und dreimal mit je 300 mL Diethylether für 30 min unter Rühren zum Sieden erhitzt. Die vereinten etherischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt.

Ausbeute: 25 g (122 mmol, 94 %) hellbrauner Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.34-1.42 (m, 1 H, 3-H), 1.81 (d br, $^2J(9\text{-H}^i, 9\text{-H}^a) = 9.6$ Hz, 1 H, 9-Hⁱ), 1.84 (d br, $^2J(9\text{-H}^a, 9\text{-H}^i) = 9.6$ Hz, 1 H, 9-H^a), 2.12-2.20 (m, 3 H, 2-H, 11-H), 2.68 (dd, $^2J(10\text{-H}, 10\text{-H}) = 9.6$ Hz, $^3J(10\text{-H}, 2\text{-H}) = 9.3$ Hz, 1 H, 10-H), 3.11 (s, 1 H, OH), 3.31 (s, 1 H, -OH), 3.45-3.51 (m, 1 H, 4-H), 3.56 (dd, $^2J(10\text{-H}, 10\text{-H}) = 9.6$ Hz, $^3J(10\text{-H}, 2\text{-H}) = 9.9$ Hz, 1 H, 10-H), 3.86-3.91 (m, 1 H, 1-H), 7.05-7.16 (m, 4 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

Synthese von *trans*-2,3-Bis(chlormethyl)-1,4-methano-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin **36**^[78]



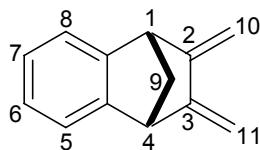
Zu einer Lösung von 26.5 g (390 mmol) Imidazol in 75 mL Acetonitril und 75 mL Pyridin wird bei 0°C eine Lösung aus 61.0 g (189 mmol) Triphenylphosphindichlorid in 150 mL Dichlormethan zugetropft. Nach 20 min rühren werden bei Raumtemperatur 10 g (49 mmol) **35** zugegeben und anschließend 5 h bei 55°C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur werden 200 mL eines 1:1 v/v Gemisches aus halbkonzentrierter Salzsäure und Eis zugegeben. Nach Zugabe von 200 mL Dichlormethan wird die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 200 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit je 200 mL 2 M wässriger Salzsäure, Wasser und gesättigter wässriger NaHCO₃-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 mL Diethylether suspendiert und 5 min im Ultraschallbad behandelt. Danach wird der Niederschlag abfiltriert und noch zweimal mit Diethylether aufgenommen und im Ultraschallbad behandelt. Die vereinten Etherphasen werden unter vermindertem Druck auf 50 mL eingeeengt und anschließend über 60 g Kieselgel chromatographisch mit Diethylether als Elutionsmittel gereinigt. Einengen der ersten, hellgelben Phase unter vermindertem Druck ergibt das Produkt.

Ausbeute: 8.6 g (36 mmol, 74%) gelbes Öl.

R_F-Wert: 0.90 in Diethylether.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 1.36-1.42 (m, 1 H, 3-H), 1.80-1.97 (m, 2 H, 9-H), 2.20-2.35 (m, 1 H, 2-H), 2.66 (t, 1 H, 10-H), 3.21-3.30 (m, 2 H, 4-H, 10-H), 3.49-3.52 (m, 1 H, 11-H), 3.64-3.70 (m, 2 H, 1-H, 11-H), 7.10-7.31 (m, 4 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

Synthese von 2,3-Bisexomethylen-1,4-methano-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin 29^[53, 73]

Zu einer Lösung aus 10 g (42 mmol) **SS015** und 2.4 g (9 mmol) 18-Krone-6 in 100 mL absolutem Tetrahydrofuran werden bei 0 °C 40 g (710 mmol) gepulvertes Kaliumhydroxid portionsweise zugegeben. Anschließend wird 24 h bei 40 °C gerührt. Danach wird die Reaktionsmischung in 100 mL Eiswasser gegeben. Nach Zugabe von 100 mL *n*-Hexan wird die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase 3 mal mit je 100 mL *n*-Hexan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit je 100 mL Wasser und gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird die Lösung unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeeengt. Der gelbe Rückstand wird mit 50 mL *n*-Hexan aufgenommen und über Kieselgel mit *n*-Hexan als Elutionsmittel filtriert.

Ausbeute: 6.3 g (37 mmol, 90 %) farbloser Feststoff.

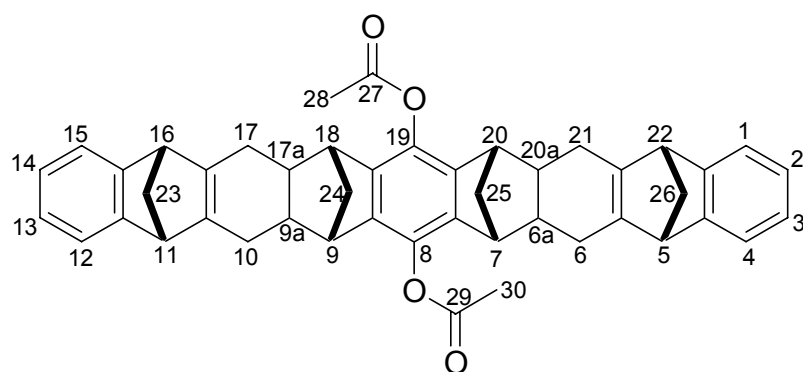
R_F-Wert: 0.29 in *n*-Hexan.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.94 (dd, $^2J(9\text{-H}^i, 9\text{-H}^a) = 8.6$ Hz, $^3J(9\text{-H}^i, 1\text{-H}) = 1.7$ Hz, 1 H, 9-Hⁱ), 2.11 (d br, $^2J(9\text{-H}^a, 9\text{-H}^i) = 8.6$ Hz, 1 H, 9-H^a), 3.83 (s br, 2 H, 1-H, 4-H), 5.06 (s br, 2 H, 10-Hⁱ, 11-Hⁱ), 5.19 (s br, 2 H, 10-H^a, 11-H^a), 7.05-7.08 (m, 2 H, 5-H, 8-H), 7.20-7.23 (m, 2 H, 6-H, 7-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[73]

4.2.7 Synthese der Hydroxypinzette **38**

Synthese von **8,19-Diacetoxy-(5 α ,6 $\alpha\alpha$,7 α ,9 α ,9 $\alpha\alpha$,11 α ,16 α ,17 $\alpha\alpha$,18 α ,20 α ,20 $\alpha\alpha$,22 α)-5,6,6 α ,7,9,9 α ,10,11,16,17,17 α ,18,20,20 α ,21,22-hexadecahydro-5,22:7,20:9,18:11,16-tetramethanononacen **37**^[53, 73]**



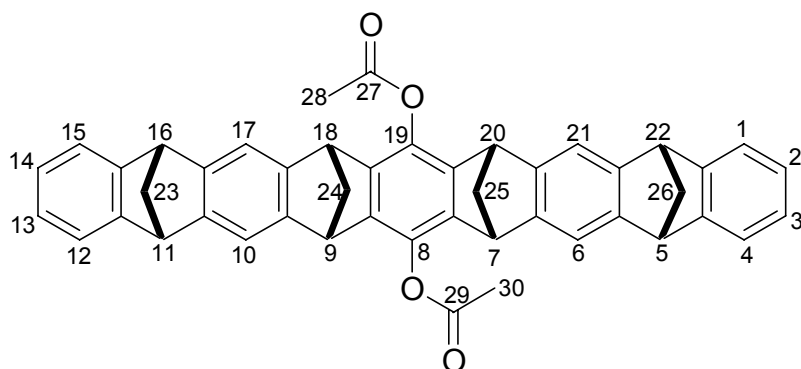
Eine Lösung aus 750 mg (2.33 mmol) **14**, 1.50 g (8.93 mmol) **29** und 300 μ L Triethylamin in 15 mL absolutem Toluol und 7.5 mL absolutem Acetonitril wird in einer Glasampulle dreimal unter Argon auf -78 °C gekühlt, unter Hochvakuum entgast und geschlossen auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend abgeschmolzen. Das Glas der Ampulle sollte eine Wandstärke von mindestens 2 mm besitzen und die Ampulle soll maximal bis einem Drittel des Gesamtvolumens befüllt werden. Die Ampulle wird 4 Tage bei 170 °C in einem Röhrenofen erhitzt. Danach wird die Reaktionsmischung unter vermindertem Druck auf etwa 5 mL eingeeengt. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert und zweimal mit je 5 mL kaltem Cyclohexan gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 630 mg (0.94 mmol, 41 %) weißer Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.55 (d br, $^2J(24\text{-H}^i, 24\text{-H}^a) = 6.3$ Hz, 2 H, 24-Hⁱ, 25-Hⁱ), 1.67 (d br, $^2J(24\text{-H}^a, 24\text{-H}^i) = 6.3$ Hz, 2 H, 24-H^a, 25-H^a), 1.90-2.35 (m, 16 H, 6-H, 6 α -H, 9 α -H, 10-H, 12 α -H, 17-H, 20 α -H, 21-H, 26-H), 2.29 (s, 6 H, 28-H, 30-H), 2.85 (s, 4 H, 7-H, 9-H, 18-H, 20-H), 3.54 (s, 4 H, 5-H, 11-H, 16-H, 22-H), 6.80-6.84 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 13-H, 14-H), 7.09-7.12 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 12-H, 15-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[53, 73]

Synthese von 8,19-Diacetoxy-(5 α ,7 α ,9 α ,11 α ,16 α ,18 α ,20 α ,22 α)-5,7,9,11,16,18,20,22-octahydro-5,22:7,20:9,18:11,16-tetramethanononacen 13^[53, 73]



Eine Lösung aus 0.4 g (0.6 mmol) **37** und 1.0 g (4.4 mmol) 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-*p*-Benzochinon (DDQ) in 15 mL absolutem Toluol werden unter Argon in einem auf 120 °C vorgeheiztem Ölbad 2 h unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf etwa 60 °C werden 0.3 mL 1,4-Cyclohexadien zugegeben und 5 min bei 60 °C gerührt. Das entstandene DDQH₂ wird abfiltriert und zweimal mit 2 mL Methylenchlorid gewaschen. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird in 3 mL Methylenchlorid aufgenommen und säulenchromatographisch über Kieselgel mit Cyclohexan / Ethylacetat = 3:1 v/v als Elutionsmittel gereinigt.

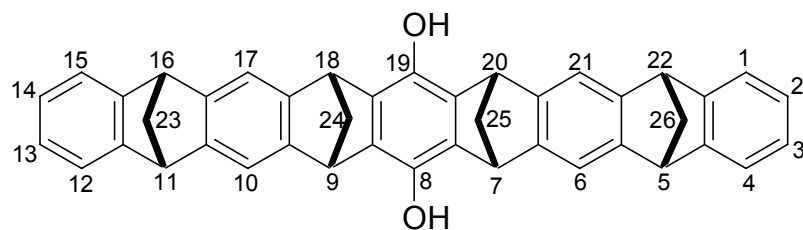
Ausbeute: 0.32 g (0.5 mmol, 82 %) farbloser Feststoff.

R_F-Wert: 0.38 in Cyclohexan / Ethylacetat = 3:1 v/v.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.30-2.53 (m, 8 H, 23-H, 24-H, 25-H, 26-H), 2.35 (s, 6 H, 28-H, 30-H), 3.99 (s, 4 H, 5-H, 11-H, 16-H, 22-H), 4.06 (s, 4 H, 7-H, 9-H, 18-H, 20-H), 6.68-6.78 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 13-H, 14-H), 7.05-7.10 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 12-H, 15-H), 7.14 (s, 4 H, 28-H, 30-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[53, 73]

Synthese von 8,19-Dihydroxy-(5 α ,7 α ,9 α ,11 α ,16 α ,18 α ,20 α ,22 α)-5,7,9,11,16,18,20,22-octahydro-5,22:7,20:9,18:11,16-tetramethanononacen 38^[53, 73]



Zu einer Suspension aus 100 mg (2.7 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 15 mL absolutem Tetrahydrofuran wird bei 0 °C eine Suspension aus 210 mg (0.32 mmol) **13** in 15 mL absolutem Tetrahydrofuran zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 5 h unter Rückfluss gerührt. Danach werden unter Argon bei 0 °C 15 mL gesättigte wässrige Ammoniumchlorid-Lösung zugetropft. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit 1 M wässriger Salzsäure auf pH 1 eingestellt und dreimal mit 50 mL Chloroform extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit je 50 mL Wasser und gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt.

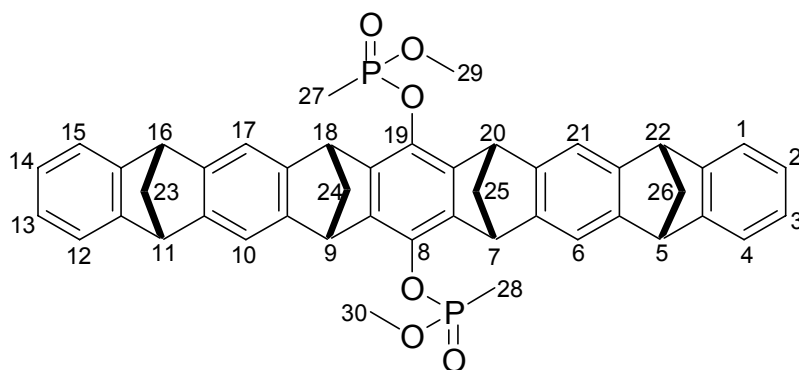
Ausbeute: 180 mg (0.32 mmol, 98 %) farbloser Feststoff.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.30-2.44 (m, 8 H, 23-H, 24-H, 25-H, 26-H), 4.06 (s, 4 H, 5-H, 11-H, 16-H, 22-H), 4.17 (s, 4 H, 7-H, 9-H, 18-H, 20-H), 6.70-6.78 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 13-H, 14-H), 7.04-7.08 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 12-H, 15-H), 7.13 (s, 4 H, 6-H, 10-H, 17-H, 21-H).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[53, 73]

4.2.8 Synthese des Phosphonatpinzette Lithiumsalzes 11

Synthese von **8,19-*O,O'*-Bis(methylmethoxyphosphoryloxy)-(5 α ,7 α ,9 α ,11 α ,16 α ,18 α ,20 α ,22 α)-5,7,9,11,16,18,20,22-octahydro-5,22:7,20:9,18:11,16-tetramethanononacen 39**



Zu einer Lösung aus 82 mg (0.144 mmol) **38** und 48 mg (0.36 mmol) Methylphosphonsäuredichlorid in 10 mL absolutem Tetrahydrofuran werden bei 0 °C 0.60 mL (0.43 mmol) Triethylamin zugetropft. Nach 1 h Rühren bei 0 °C und 1 h Rühren bei Raumtemperatur werden 3 mL absolutes Methanol zugegeben und danach 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung unter vermindertem Druck eingengt und der Rückstand säulenchromatographisch mit Chloroform / Aceton = 20:1 v/v an Kieselgel gereinigt. Eventuell im Produkt verbleibende Reste an Methylphosphonsäuredimethylester werden durch Trocknen unter Hochvakuum bei 50 °C entfernt.

Ausbeute: 60 mg (0.080 mmol, 56 %) weißer Feststoff.

R_F-Wert: 0.62 in Chloroform / Aceton = 3:1 v/v.

¹H-NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄): δ = 1.62 (d, $^2J(27\text{-H}, \text{P}) = 17.9$ Hz, 6 H, 27-H, 28-H), 2.30-2.40 (m, 8 H, 23-H, 24-H, 25-H, 26-H), 2.52, 2.54 (2 d, $^3J(29\text{-H}, \text{P}) = 11.3$ Hz, 6 H, 29-H, 30-H), 4.04, 4.07 (2 d, $^3J(5\text{-H}, 26\text{-H}) = 7.0$ Hz, 4 H, 5-H, 11-H, 16-H, 22-H), 4.26, 4.36 (2 d, $^3J(7\text{-H}, 25\text{-H}) = 4.3$ Hz, 4 H, 7-H, 9-H, 18-H, 20-H), 6.66-6.82 (m, 4 H, 2-H, 3-H, 13-H, 14-H), 6.95-7.08 (m, 4-H, 1-H, 4-H, 12-H, 15-H).

³¹P-NMR (81 MHz, CDCl₃): 29.07 (s).

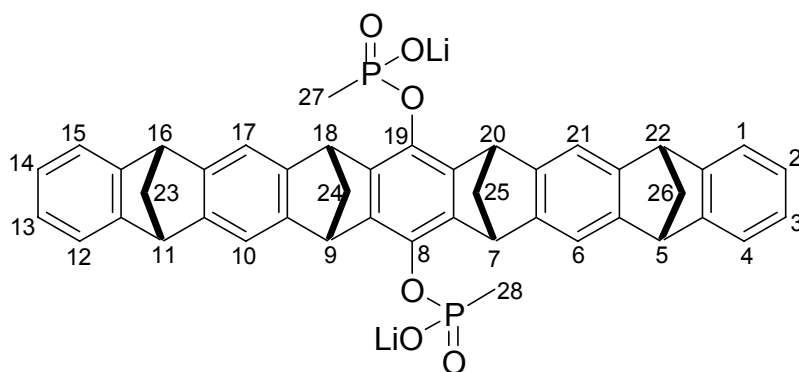
¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ = 11.5 (2 d, $^1J(\text{C}, \text{P}) = 148.1$ Hz, C-27, C-28), 48.7, 48.9 (2 d, C-7, C-9, C-18, C-20), 51.2 (s br, C-29, C-30), 52.1, 52.2 (2 s, C-5, C-11, C-16, C-22),

67.8 (m, C-24, C-25), 68.9 (m, C-23, C-26), 116.7, 117.6 (2 d, C-6, C-10, C-17, C-21), 121.0, 121.1 (2 d, C-1, C-4, C-12, C-15), 124.6, 124.8 (2 d, C-2, C-3, C-13, C-14), 136.3 (s, C-8, C-19), 142.2, 142.4 (2 d, $^3J(\text{C}, \text{P}) = 17.0 \text{ Hz}$, C-7a, C-8a, C-18a, C-19a).

MS (ESI, MeOH); m/z : 752 $[\text{M} + \text{H}^+]^+$, 773 $[\text{M} + \text{Na}^+]^+$, 789 $[\text{M} + \text{K}^+]^+$.

HR-MS: ber. für $\text{C}_{46}\text{H}_{41}\text{O}_6\text{P}_2$: 751.2373; gef. 751.2374.

Synthese von Bis(Lithium)-(5 α ,7 α ,9 α ,11 α ,16 α ,18 α ,20 α ,22 α)-5,7,9,11,16,18,20,22-octahydro-5,22:7,20:9,18:11,16-tetramethanonacen-8,19-bismethylphosphonat 11



Eine Lösung aus 30.0 mg (39.9 μmol) **39** und 10 mg (115 μmol) trockenem Lithiumbromid in 10.0 mL absolutem Acetonitril wird 16 h unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der entstandene Niederschlag abzentrifugiert, dreimal mit 2 mL absolutem Acetonitril gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Sollte die Spaltung der Methylester noch nicht vollständig sein, wird das Produkt erneut 16 h mit 10 mg (115 μmol) trockenem Lithiumbromid umgesetzt.

Ausbeute: 23.4 mg (31.9 μmol , 80 %) weißer Feststoff.

Schmelzpunkt: $>230 \text{ }^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): $\delta = 1.30$ (d, $^2J(27\text{-H}, \text{P}) = 16.2 \text{ Hz}$, 6 H, 27-H, 28-H), 2.31 (d, $^2J(24\text{-H}^a, 24\text{-H}^i) = 8.0 \text{ Hz}$, 2 H, 24-H^a, 25-H^a), 2.33-2.36 (m, 4 H, 23-H, 26-H), 2.47 (d, $^2J(24\text{-H}^i, 24\text{-H}^a) = 7.6 \text{ Hz}$, 2 H, 24-Hⁱ, 25-Hⁱ), 4.16 (s, 4 H, 5-H, 11-H, 16-H, 22-H), 4.38 (s, 4 H 7-H, 9-H, 18-H, 20-H), 6.29 (s br, 2-H, 3-H, 13-H, 14-H), 7.01-7.04 (m, 4 H, 1-H, 4-H, 12-H, 15-H), 7.29 (s, 4 H, 6-H, 10-H, 17-H, 21-H).

$^{31}\text{P-NMR}$ (81.0 MHz, D_2O): $\delta = 25.99$ (s).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.6 MHz, Methanol- d_4): $\delta = 13.4$ (d, $^1J(\text{C}, \text{P}) = 138.4 \text{ Hz}$, C-27, C-28), 50.0 (s, C-7, C-9, C-18, C-20), 52.4 (s, C-5, C-11, C-16, C-22), 68.9 (s, C-24, C-25), 69.4 (s, C-23,

C-26), 117.3 (s, C-6, C-10, C-17, C-21), 122.0 (s, C-1, C-4, C-12, C-15), 125.8 (s, C-2, C-3, C-13, C-14), 138.9 (d, $^2J(\text{C}, \text{P}) = 8.1 \text{ Hz}$, C-8, C-19), 142.8 (s, C-7a, C-8a, C-18a, C-19a), 148.6 (s, C-6a, C-9a, C-17a, C-20a), 149.3 (s, C-5a, C-10a, C-16a, C-21a), 152.0 (s, C-4a, C-11a, C-15a, C-22a).

MS (ESI, MeOH); m/z : 360 $[\text{M} - 2\text{Li}^+]^{2-}$, 727 $[\text{M} - \text{Li}^+]$.

HR-MS: ber. für $\text{C}_{44}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{LiP}_2$: 727.1985; gef. 727.1985.

4.3 NMR-Titrationsen

4.3.1 Durchführung

NMR-Titrationsen mit gleichbleibender Gast-Konzentration

Zehn NMR-Röhrchen werden mit der gleichen Menge einer Lösung des Gastes in deuteriertem Lösungsmittel befüllt. Danach wird die Wirt-Lösung (ebenfalls in deuteriertem Lösungsmittel) in Schritten mit steigenden Volumina zu den Röhrchen Nr. 2-10 zutitriert. Anschließend werden alle Röhrchen mit Lösungsmittel auf das gleiche Endvolumen aufgefüllt, um eventuelle Verdünnungseffekte des Gastes auszuschließen. Das Röhrchen Nr. 1 dient als Referenz. Die Konzentration des Gastes sollte idealerweise etwa dem Kehrwert der zu bestimmende Bindungskonstante entsprechen.

Zusätzlich wurde immer ein Röhrchen mit einem 1:1 Gemisches des Gastes der Modellverbindung **27** oder **29** in dem gleichen deuterierten Lösungsmittel und dem gleichen Konzentrationsbereich vermessen, um eine eventuelle Wechselwirkung ausschließen zu können.

Die NMR Spektren wurden immer auf das Restprotonen-Signal des benutzten deuterierten Lösungsmittels kalibriert.

Die Bindungskonstanten und $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte der beobachteten Signale wurden über nicht lineare Regression erhalten.^[79]

Falls eine Titration mit gleichbleibender Gast-Konzentration durchgeführt wurde, sind unten die Konzentrationen der Gast- und der Wirt-Lösung, die jeweiligen zutitrierten Volumina, sowie die zusätzlich zugegebene Menge Lösungsmittel und die beobachteten Signale aufgelistet. Die berechneten Bindungskonstanten sind ebenso wie die berechneten $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte bei den beobachtete Signale vermerkt.

Verdünnungstitrationen

Wirt und Gast werden in annähernd 1:1 Äquivalenten in deuteriertem Lösungsmittel gelöst. Von der Lösung wird ein NMR-Spektrum aufgenommen. Anschließend wird die Lösung mit deuteriertem Lösungsmittel mehrmals verdünnt. Von einer Wirt- sowie einer Gast-Lösung mit gleicher Konzentration wie die Komplex-Lösung wird ebenfalls ein NMR-Spektrum aufgenommen und auf Shifts der Signale auf Grund der Verdünnung überprüft. Es können nur Signale ausgewertet werden, die keinen Shift bei der Verdünnung zeigen. Auch im Falle einer Verdünnungstitration wird eine 1:1 Mischung vom Gast und der Modellverbindung **27** oder **29** in dem gleichen deuterierten Lösungsmittel vermessen, um eine eventuelle Wechselwirkung ausschließen zu können.

Die NMR Spektren wurden immer auf das Restprotonen-Signal des benutzten deuterierten Lösungsmittels kalibriert.

Die Bindungskonstanten und $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte der beobachteten Signale wurden über nicht lineare Regression erhalten.^[79]

Falls eine Verdünnungstitration durchgeführt wurde, sind unten die Einwaagen des Gastes und Wirtes aufgeführt, die Verdünnungsschritte der Stammlösung (Probe Nr. 1) mit der Menge Lösungsmittel mit der verdünnt wurde, sowie die beobachteten Signale. Die berechneten Bindungskonstanten sind ebenso wie die berechneten $\Delta\delta_{\text{sat}}$ -Werte bei den beobachteten Signale vermerkt.

JOB-Plots

Der Molenbruch des Gastes wurde aus den Konzentrationen der entsprechenden NMR-Titration berechnet und aufgetragen gegen den Molenbruch des Gastes multipliziert mit $\Delta\delta$.^[79, 193, 194]

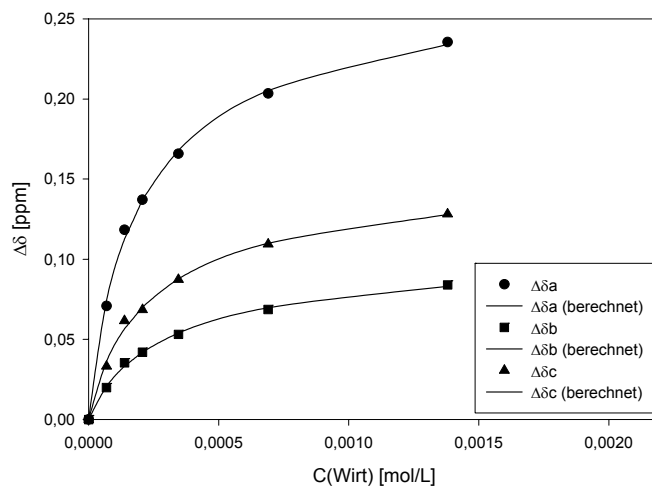
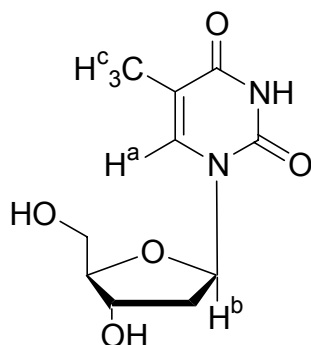
4.3.2 Titrationsen mit der Bisphosphonat-Klammer

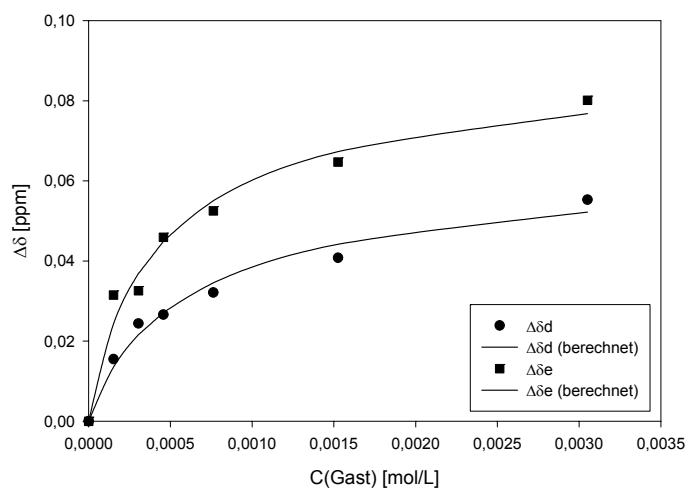
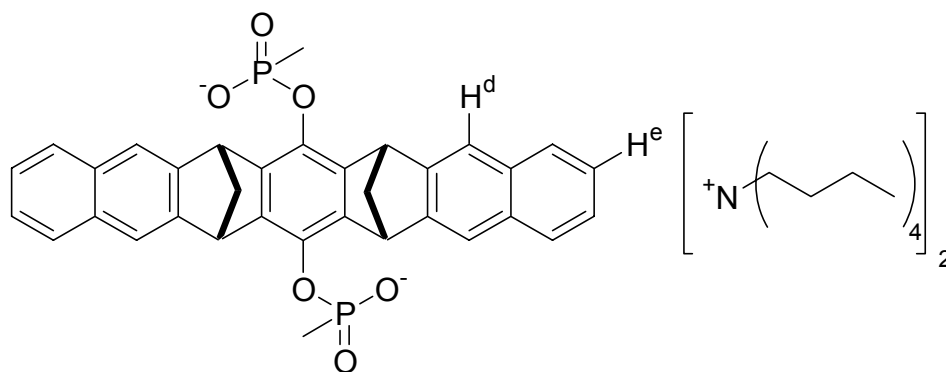
Verdünnungstitration von Wirt **10** mit 2'-Deoxythymidin **60**

Stammlösung: 0.745 mg (0.690 μmol) Wirt **10** und

0.370 mg (1.526 μmol) 2'-Deoxythymidin **60** in 500 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)	δ_d (ppm)	δ_e (ppm)
0	Referenz	500	$3.05 \cdot 10^{-3}$	$1.38 \cdot 10^{-3}$	7.6106	6.2600	1.8545	7.6747	7.3326
1	25	500	$1.53 \cdot 10^{-4}$	$6.90 \cdot 10^{-5}$	7.5398	6.2401	1.8213	7.6592	7.3011
2	50	500	$3.05 \cdot 10^{-4}$	$1.38 \cdot 10^{-4}$	7.4923	6.2246	1.7929	7.6503	7.3000
3	75	500	$4.58 \cdot 10^{-4}$	$2.07 \cdot 10^{-4}$	7.4735	6.2180	1.7860	7.6481	7.2867
4	125	500	$7.63 \cdot 10^{-4}$	$3.45 \cdot 10^{-4}$	7.4448	6.2069	1.7672	7.6426	7.2801
5	250	500	$1.53 \cdot 10^{-3}$	$6.90 \cdot 10^{-4}$	7.4072	6.1914	1.7451	7.6339	7.2679
6	500	500	$3.05 \cdot 10^{-3}$	$1.38 \cdot 10^{-3}$	7.3751	6.1760	1.7263	7.6194	7.2525
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.6184	0.2379	0.3495	0.0617	0.0869
					$\pm 2\%$	$\pm 2\%$	$\pm 3\%$	$\pm 5\%$	$\pm 5\%$
K_a (mol/L)					2701	1707	2184	2162	3064
					$\pm 6\%$	$\pm 7\%$	$\pm 10\%$	$\pm 16\%$	$\pm 21\%$



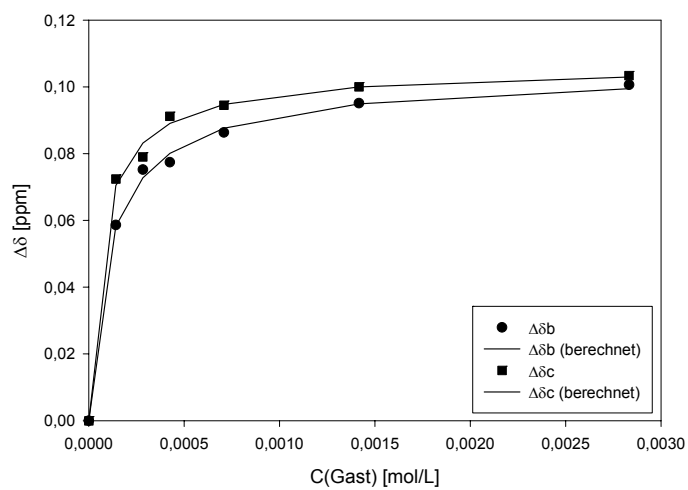
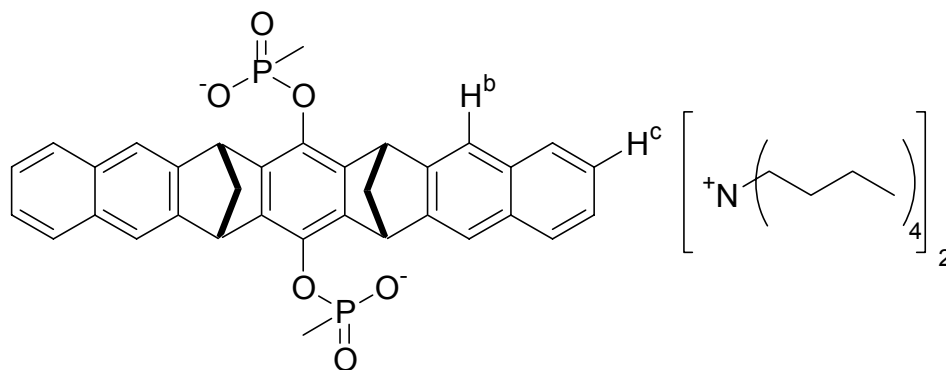
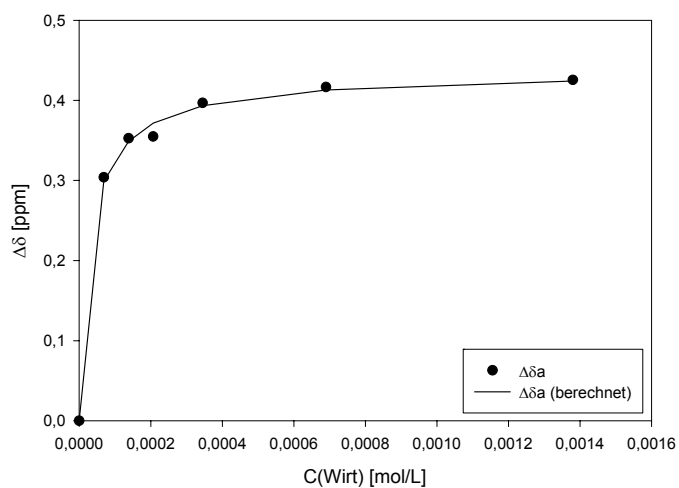
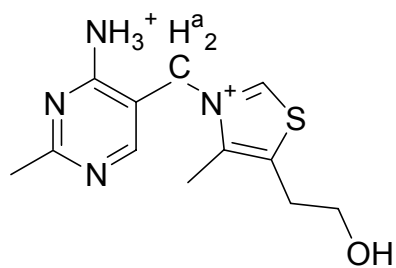


Verdünnungstitration von Wirt **10** mit Thiaminhydrochlorid **75**

Stammlösung: 0.600 mg (0.818 μmol) Wirt **10** und

0.078 mg (0.818 μmol) Thiaminhydrochlorid **75** in 500 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	Referenz	500	$2.83 \cdot 10^{-3}$	$1.38 \cdot 10^{-3}$	5.5294	7.6747	7.3326
1	25	500	$1.42 \cdot 10^{-4}$	$6.90 \cdot 10^{-5}$	5.2255	7.6161	7.2602
2	50	500	$2.83 \cdot 10^{-4}$	$1.38 \cdot 10^{-4}$	5.1768	7.5995	7.2536
3	75	500	$4.25 \cdot 10^{-4}$	$2.07 \cdot 10^{-4}$	5.1746	7.5973	7.2414
4	125	500	$7.08 \cdot 10^{-4}$	$3.45 \cdot 10^{-4}$	5.1326	7.5884	7.2381
5	250	500	$1.42 \cdot 10^{-3}$	$6.90 \cdot 10^{-4}$	5.1127	7.5796	7.2326
6	500	500	$2.83 \cdot 10^{-3}$	$1.38 \cdot 10^{-3}$	5.1039	7.5741	7.2292
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.8954	0.1048	0.1063
					$\pm 2\%$	$\pm 2\%$	$\pm 2\%$
K_a (mol/L)					23100	12120	20470
					$\pm 12\%$	$\pm 9\%$	$\pm 13\%$

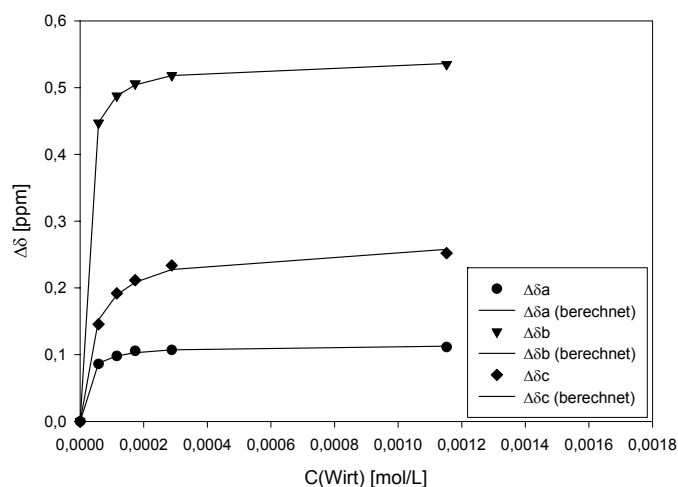
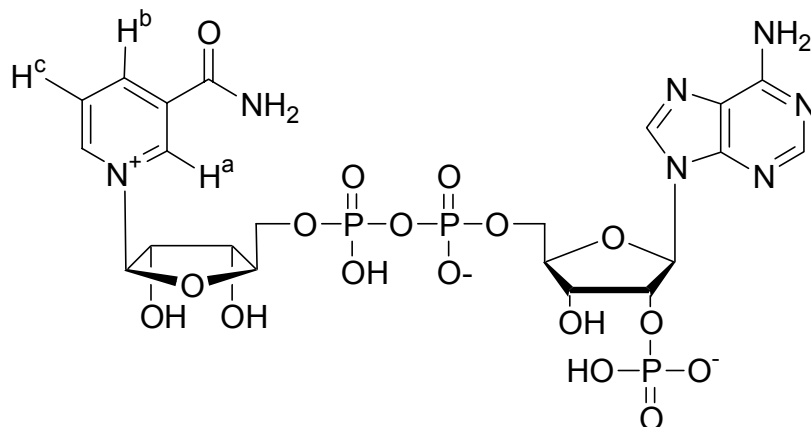


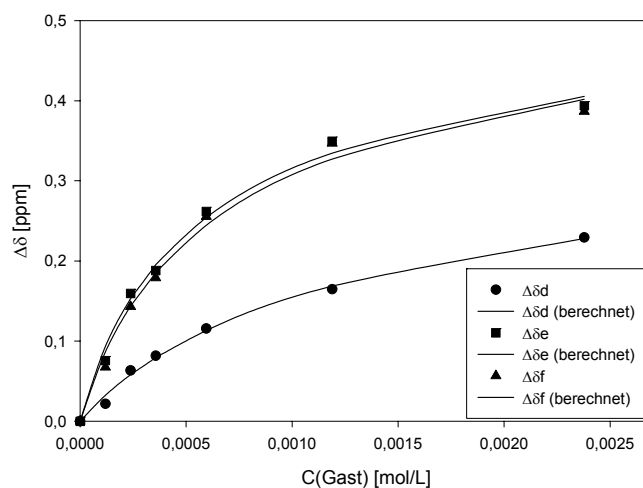
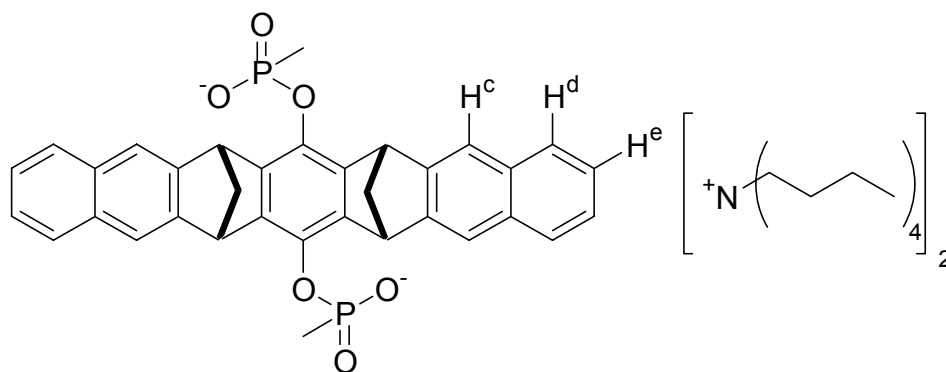
Verdünnungstitration von Wirt 10 mit NADP 57

Stammlösung: 0.745 mg (0.690 μmol) Wirt 10 und

1.061 mg (1.427 μmol) NADP 57 in 600 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)	δ_d (ppm)	δ_e (ppm)	δ_f (ppm)
0	Referenz	600	$2.38 \cdot 10^{-3}$	$1.15 \cdot 10^{-3}$	9.4309	9.2695	8.2991	7.6957	7.6747	7.3326
1	30	600	$1.19 \cdot 10^{-4}$	$5.76 \cdot 10^{-5}$	9.3447	8.8223	8.1535	7.6741	7.5990	7.2653
2	60	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$1.15 \cdot 10^{-4}$	9.3330	8.7818	8.1071	7.6323	7.5154	7.1895
3	90	600	$3.57 \cdot 10^{-4}$	$1.73 \cdot 10^{-4}$	9.3252	8.7635	8.0875	7.6140	7.4867	7.1536
4	150	600	$5.95 \cdot 10^{-4}$	$2.88 \cdot 10^{-4}$	9.3238	8.7511	8.0653	7.5801	7.4129	7.0772
5	300	600	$1.19 \cdot 10^{-4}$	$5.76 \cdot 10^{-4}$	-	-	-	7.5311	7.3255	6.9857
6	600	600	$2.38 \cdot 10^{-3}$	$1.15 \cdot 10^{-3}$	9.3193	8.7347	8.0470	7.4665	7.2811	6.9460
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.2375	1.120	0.5602	0.4002	0.5461	0.5575
					$\pm 1\%$	$\pm 0\%$	$\pm 2\%$	$\pm 7\%$	$\pm 5\%$	$\pm 7\%$
K_a (mol/L)					41840	66450	14750	769	1893	1669
					$\pm 12\%$	$\pm 2\%$	$\pm 12\%$	$\pm 13\%$	$\pm 14\%$	$\pm 16\%$



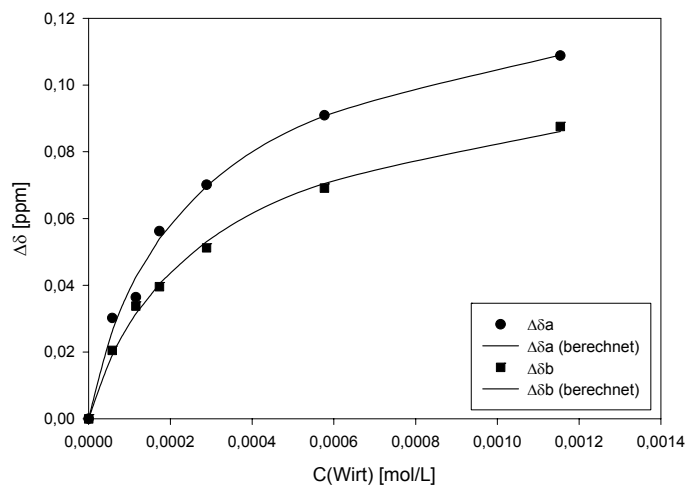
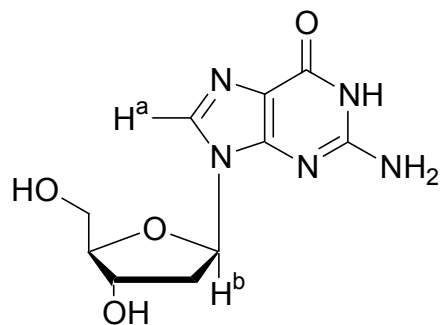


Verdünnungstitration von Wirt **10** mit 2'-Deoxyguanosin **59**

Stammlösung: 0.745 mg (0.690 μmol) Wirt **10** und

0.416 mg (1.459 μmol) 2'-Deoxyguanosin **59** in 600 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	Referenz	600	$2.43 \cdot 10^{-3}$	-	8.0212	6.3408
1	30	600	$1.22 \cdot 10^{-4}$	$5.77 \cdot 10^{-5}$	7.9910	6.3203
2	60	600	$2.43 \cdot 10^{-4}$	$1.15 \cdot 10^{-4}$	7.9848	6.3070
3	90	600	$3.65 \cdot 10^{-4}$	$1.73 \cdot 10^{-4}$	7.9650	6.3012
4	150	600	$6.08 \cdot 10^{-4}$	$2.89 \cdot 10^{-4}$	7.9511	6.2896
5	300	600	$1.22 \cdot 10^{-3}$	$5.77 \cdot 10^{-4}$	7.9303	6.2717
6	600	600	$2.43 \cdot 10^{-3}$	$1.12 \cdot 10^{-3}$	7.9124	6.2532
					$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)	0.3033
						$\pm 5\%$
					K _a (mol/L)	2000
						$\pm 13\%$
						$\pm 4\%$

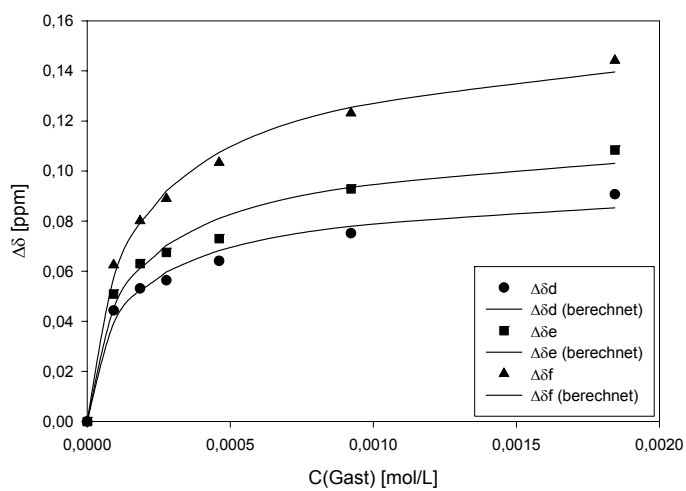
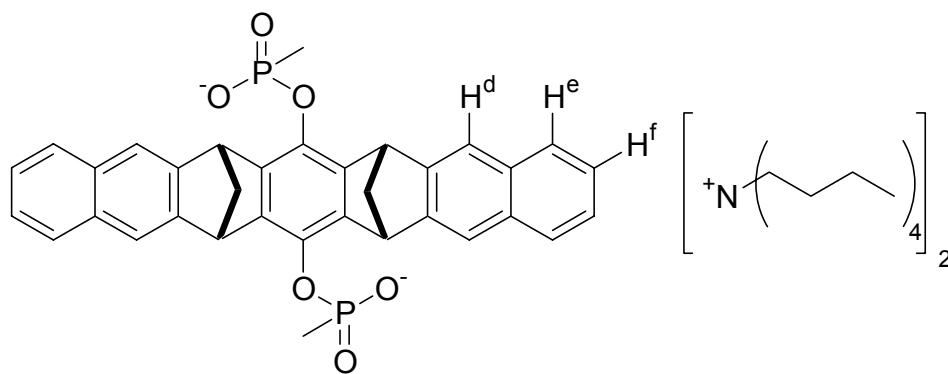
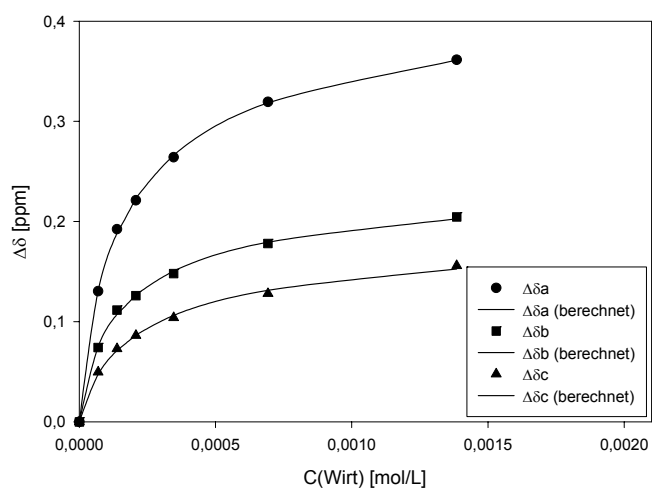
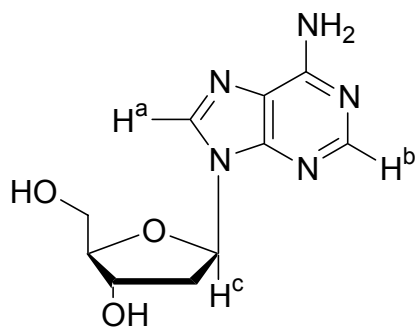


Verdünnungstitration von Wirt 10 mit 2'-Deoxyadenosin 55

Stammlösung: 0.745 mg (0.690 μmol) Wirt 10 und

0.239 mg (0.922 μmol) 2'-Deoxyadenosin 55 in 500 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)	δ_d (ppm)	δ_e (ppm)	δ_f (ppm)
0	Referenz	500	$1.84 \cdot 10^{-3}$	$1.38 \cdot 10^{-3}$	8.2903	8.2096	6.4556	7.6957	7.6747	7.3326
1	25	500	$9.22 \cdot 10^{-5}$	$6.90 \cdot 10^{-5}$	8.1599	8.1355	6.4059	7.6514	7.6238	7.2701
2	50	500	$1.84 \cdot 10^{-4}$	$1.38 \cdot 10^{-4}$	8.0980	8.0980	6.3826	7.6426	7.6117	7.2525
3	75	500	$2.77 \cdot 10^{-4}$	$2.07 \cdot 10^{-4}$	8.0836	8.0692	6.3694	7.6393	7.6072	7.2436
4	125	500	$4.61 \cdot 10^{-4}$	$3.45 \cdot 10^{-4}$	8.0615	8.0261	6.3517	7.6316	7.6017	7.2292
5	250	500	$9.22 \cdot 10^{-4}$	$6.90 \cdot 10^{-4}$	8.0316	7.9709	6.3275	7.6205	7.5818	7.2094
6	500	500	$1.84 \cdot 10^{-3}$	$1.38 \cdot 10^{-3}$	8.0051	7.9289	6.2997	7.6050	7.5663	7.2884
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.5955	0.3318	0.2660	0.1308	0.1602	0.1662
					$\pm 1\%$	$\pm 2\%$	$\pm 3\%$	$\pm 6\%$	$\pm 6\%$	$\pm 4\%$
K_a (mol/L)					5771	6068	4115	10300	9076	7710
					$\pm 3\%$	$\pm 6\%$	$\pm 8\%$	$\pm 25\%$	$\pm 25\%$	$\pm 14\%$

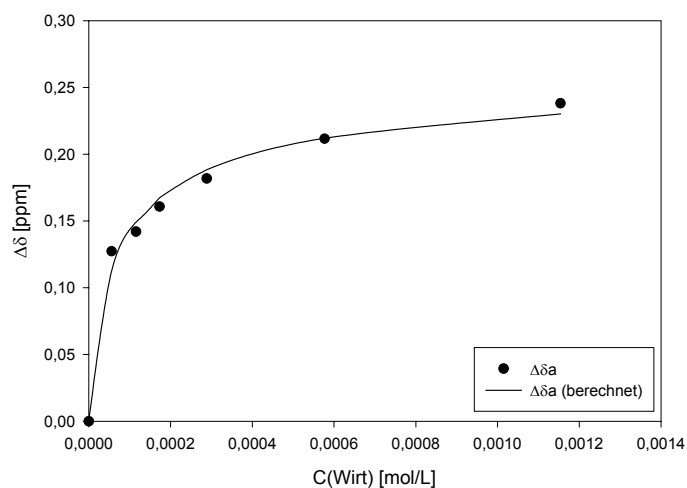
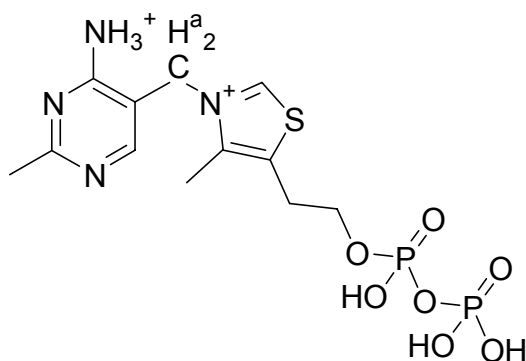


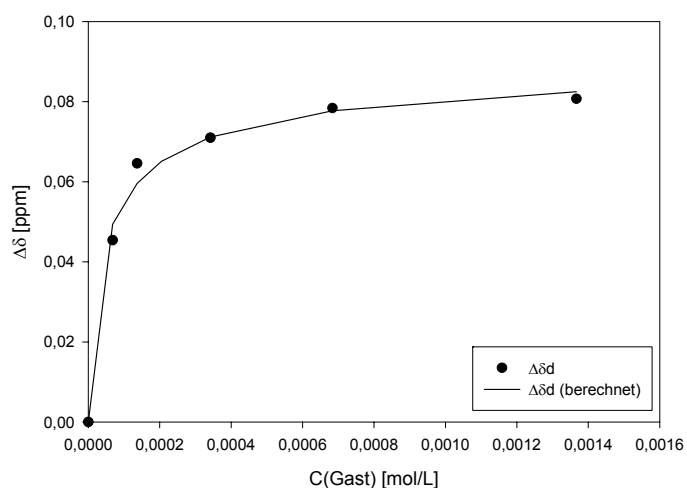
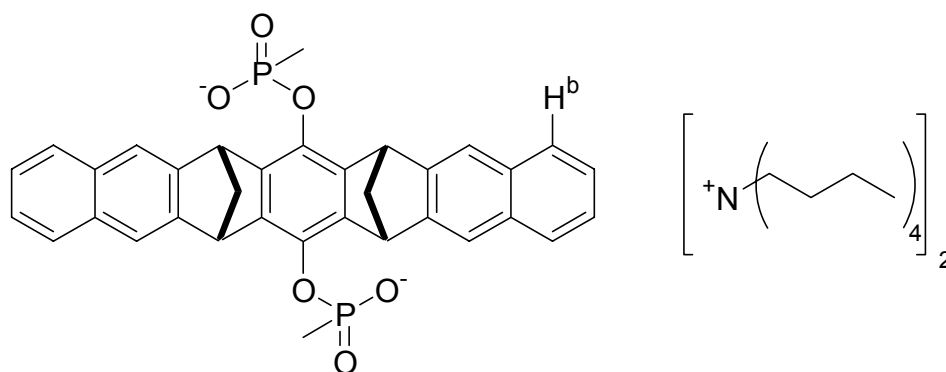
Verdünnungstitration von Wirt 10 mit Thiaminpyrophosphat 76

Stammlösung: 0.745 mg (0.690 μmol) Wirt 10 und

0.378 mg (0.820 μmol) Thiaminpyrophosphat 76 in 600 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	Referenz	600	$1.38 \cdot 10^{-3}$	$1.15 \cdot 10^{-3}$	5.5147	7.6747
1	30	600	$1.38 \cdot 10^{-3}$	$5.58 \cdot 10^{-5}$	5.3874	7.6293
2	60	600	$1.38 \cdot 10^{-3}$	$1.15 \cdot 10^{-4}$	5.3727	7.6101
3	90	600	$1.38 \cdot 10^{-3}$	$1.73 \cdot 10^{-4}$	5.3539	-
4	150	600	$1.38 \cdot 10^{-3}$	$2.29 \cdot 10^{-4}$	5.3329	7.6037
5	300	600	$1.38 \cdot 10^{-3}$	$6.58 \cdot 10^{-4}$	5.3031	7.5963
6	600	600	$1.38 \cdot 10^{-3}$	$1.15 \cdot 10^{-3}$	5.2765	7.5940
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.3144	0.1308
					$\pm 5\%$	$\pm 6\%$
K_a (mol/L)					17850	10300
					$\pm 22\%$	$\pm 25\%$



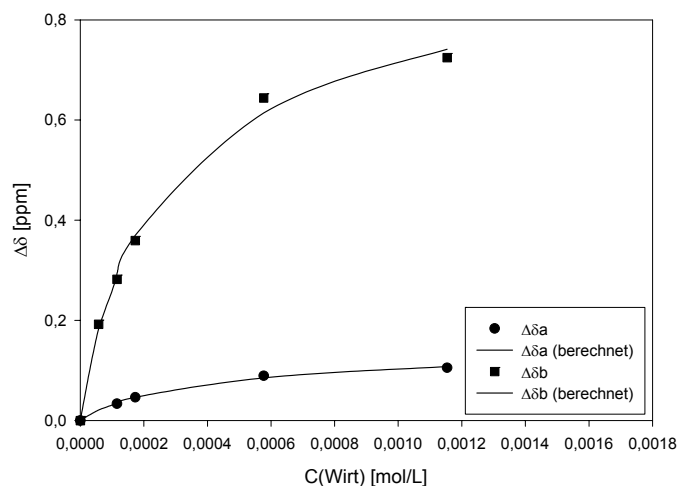
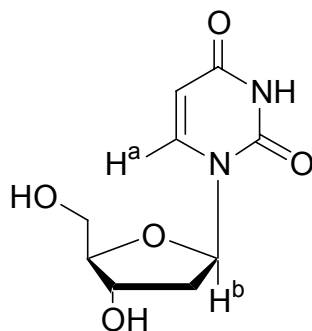


Verdünnungstitration von Wirt **10** mit 2'-Deoxyuridin **61**

Stammlösung: 0.745 mg (0.690 μmol) Wirt **10** und

0.220 mg (0.965 μmol) 2'-Deoxyuridin **61** in 700 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ _a (ppm)	δ _b (ppm)
0	Referenz	600	1.61·10 ⁻³	-	6.2339	5.8324
1	30	600	8.05·10 ⁻⁵	5.77·10 ⁻⁵	-	5.6402
2	60	600	1.61·10 ⁻⁴	1.15·10 ⁻⁴	6.2005	5.5505
3	90	600	2.41·10 ⁻⁴	1.73·10 ⁻⁴	6.1877	5.4730
4	300	600	8.04·10 ⁻⁴	5.77·10 ⁻⁴	6.1446	5.1885
5	600	600	1.61·10 ⁻³	1.12·10 ⁻³	6.1286	5.1079
Δδ _{sat} (ppm)					1.465	0.2384
					± 5%	± 6%
K _a (mol/L)					3012	1922
					± 12%	± 16%

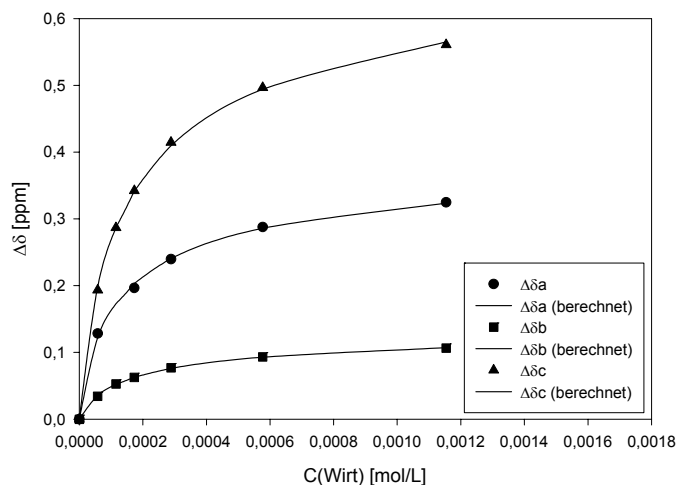
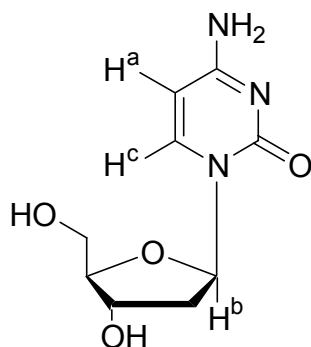


Verdünnungstitration von Wirt 10 mit 2'-Deoxycytidin 59

Stammlösung: 0.745 mg (0.690 μmol) Wirt **10** und

0.194 mg (0.793 μmol) 2'-Deoxycytidin **59** in 600 μL D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	Referenz	600	$1.32 \cdot 10^{-3}$	-	7.8492	6.3008	6.0741
1	30	600	$6.61 \cdot 10^{-5}$	$5.77 \cdot 10^{-5}$	7.7209	6.2665	5.8807
2	60	600	$1.32 \cdot 10^{-4}$	$1.15 \cdot 10^{-4}$	-	6.2481	5.7873
3	90	600	$1.98 \cdot 10^{-4}$	$1.73 \cdot 10^{-4}$	7.6527	6.2381	5.7319
4	250	600	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$2.89 \cdot 10^{-4}$	7.6096	6.2239	5.6595
5	300	600	$6.61 \cdot 10^{-4}$	$5.77 \cdot 10^{-4}$	7.5615	6.2074	5.5775
6	600	600	$1.32 \cdot 10^{-3}$	$1.15 \cdot 10^{-3}$	7.5244	6.1945	5.5133
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.4738	0.1646	0.8499
					$\pm 2\%$	$\pm 1\%$	$\pm 1\%$
K_a (mol/L)					8545	6332	7197
					$\pm 8\%$	$\pm 4\%$	$\pm 3\%$

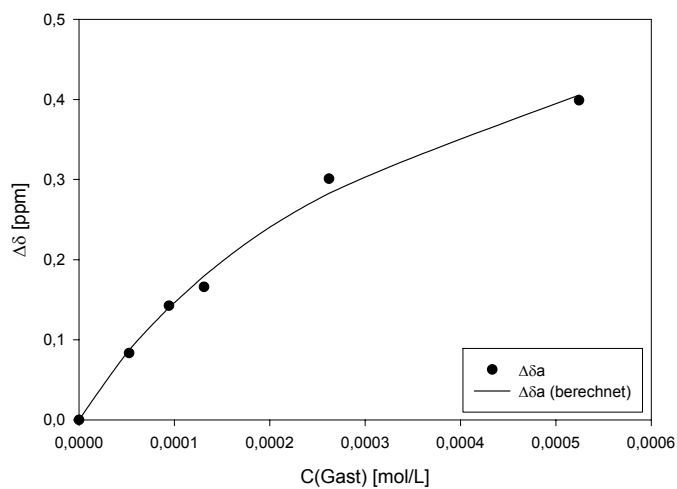
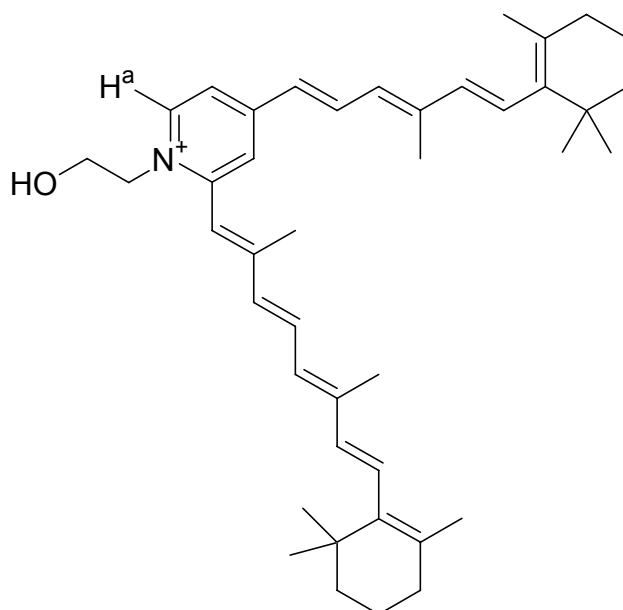


Verdünnungstitration von Wirt 10 mit A2E 58

Stammlösung: 0.564 mg (0.690 μmol) Wirt **10** und

0.350 μmol A2E **58** in 1000 μL Methanol- d_4 / D_2O = 3:1 v/v.

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	Referenz	1000	$3.50 \cdot 10^{-4}$	-	8.6523
1	100	1000	$3.50 \cdot 10^{-5}$	$5.24 \cdot 10^{-5}$	8.5689
2	150	1000	$6.29 \cdot 10^{-5}$	$9.44 \cdot 10^{-5}$	8.5098
3	250	1000	$8.74 \cdot 10^{-5}$	$1.31 \cdot 10^{-4}$	8.4864
4	500	1000	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$2.62 \cdot 10^{-4}$	8.3513
5	1000	1000	$3.50 \cdot 10^{-4}$	$5.24 \cdot 10^{-4}$	8.2533
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.9207
					$\pm 10\%$
K_a (mol/L)					2125
					$\pm 19\%$

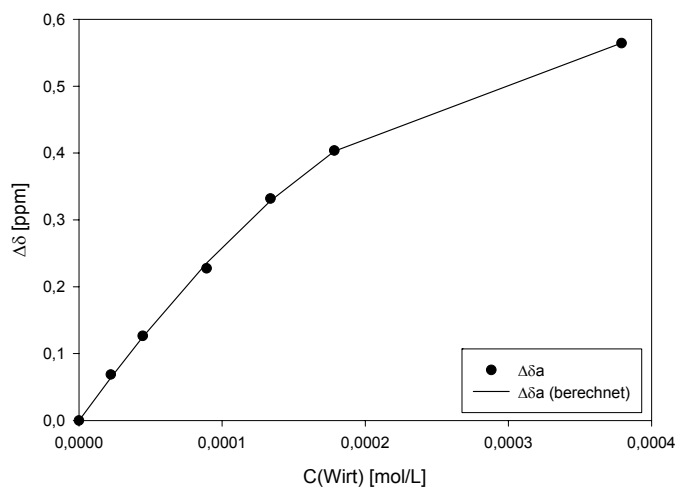
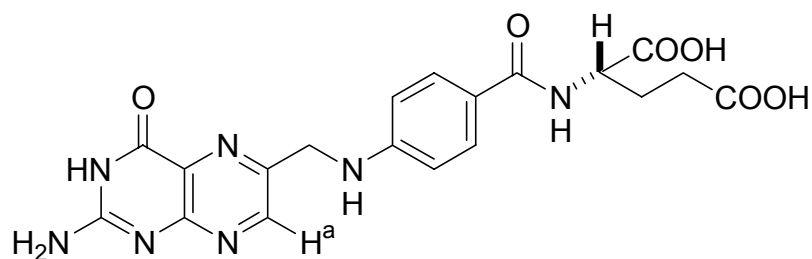


Titration von Wirt 10 mit Folsäure 72

Wirtlösung: 0.768 mg ($0.714 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **10** in 400 μL D_2O .

Gastlösung: 0.457 mg ($1.036 \cdot 10^{-6}$ mol) Folsäure **72** in 4200 μL D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	600	0	800	$1.85 \cdot 10^{-4}$	0	8.7840
1	600	10	800	$1.85 \cdot 10^{-4}$	$2.23 \cdot 10^{-5}$	8.7154
2	600	20	800	$1.85 \cdot 10^{-4}$	$4.46 \cdot 10^{-5}$	8.6575
3	600	40	800	$1.85 \cdot 10^{-4}$	$8.92 \cdot 10^{-5}$	8.5564
4	600	60	800	$1.85 \cdot 10^{-4}$	$1.34 \cdot 10^{-4}$	8.4522
5	600	80	800	$1.85 \cdot 10^{-4}$	$1.78 \cdot 10^{-4}$	8.3804
6	600	170	800	$1.85 \cdot 10^{-4}$	$3.79 \cdot 10^{-4}$	8.2195
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.6875
						$\pm 2\%$
K_a (mol/L)						20230
						$\pm 12\%$

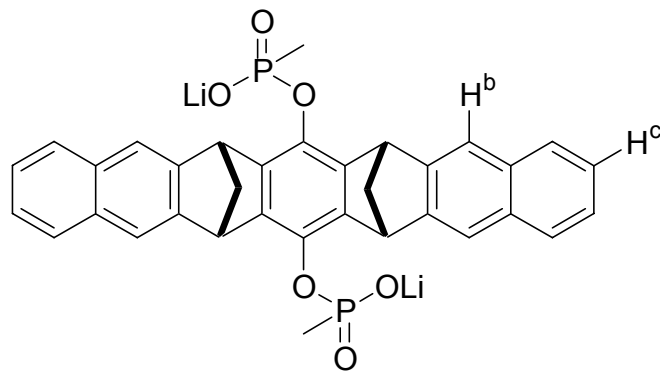
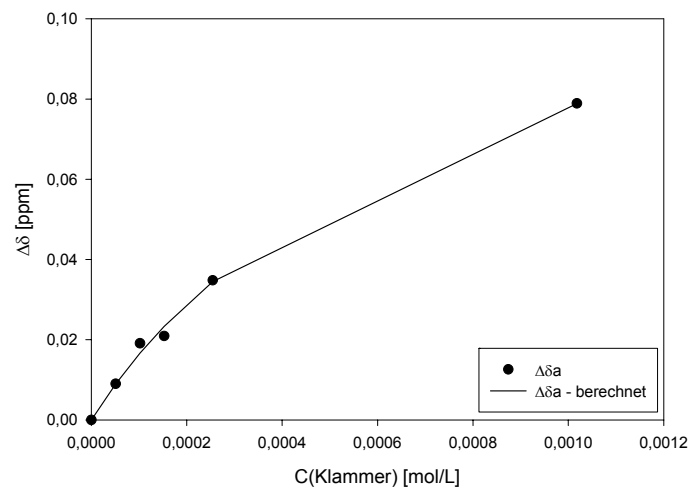
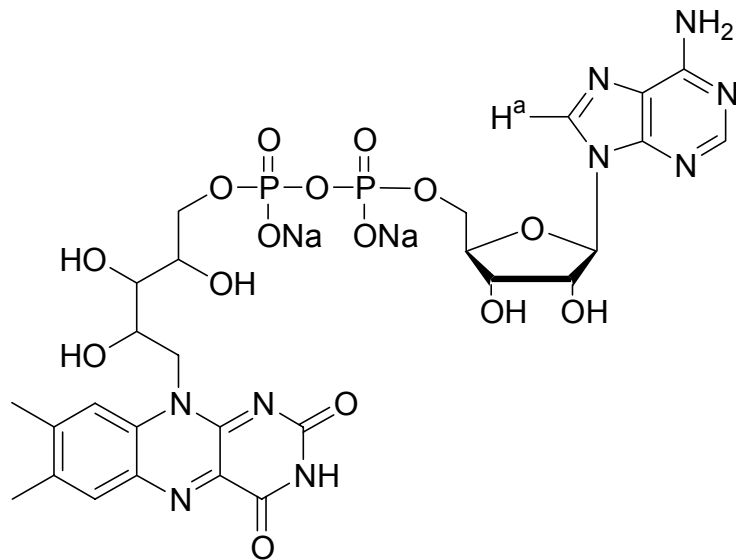


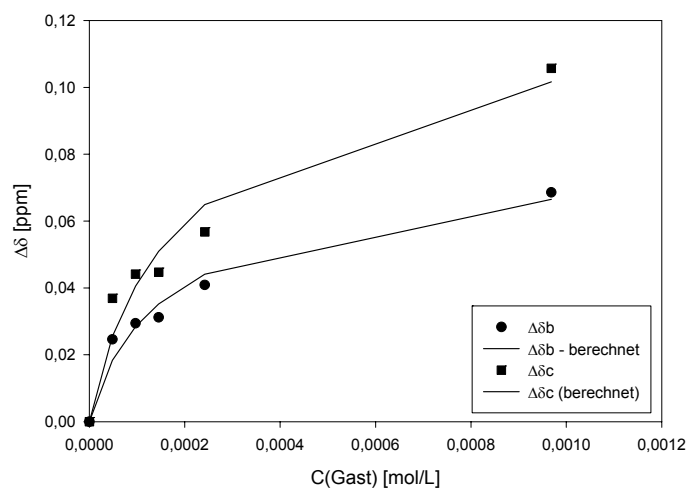
Verdünnungstitration von Wirt 10 mit FAD 71

Stammlösung: 0.768 mg (0.713 μmol) Wirt **10** und

0.587 mg (0.678 μmol) FAD **71** in 700 μL D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	Referenz	700	$9.68 \cdot 10^{-4}$	$1.02 \cdot 10^{-3}$	7.8393	7.6957	7.3326
1	35	700	$4.84 \cdot 10^{-5}$	$5.09 \cdot 10^{-5}$	7.8303	7.6711	7.2957
2	70	700	$9.68 \cdot 10^{-5}$	$1.02 \cdot 10^{-4}$	7.8202	7.6663	7.2885
3	105	700	$1.45 \cdot 10^{-4}$	$1.53 \cdot 10^{-4}$	7.8184	7.6645	7.2879
4	175	700	$2.42 \cdot 10^{-4}$	$2.52 \cdot 10^{-4}$	7.8045	7.6548	7.2758
5	700	700	$9.68 \cdot 10^{-4}$	$1.02 \cdot 10^{-3}$	7.7604	7.6271	7.2269
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.2112	0.1048	0.1672
					$\pm 8\%$	$\pm 11\%$	$\pm 15\%$
K_a (mol/L)					908	5378	4435
					$\pm 14\%$	$\pm 30\%$	$\pm 38\%$



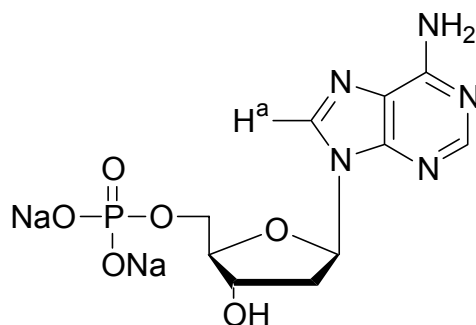


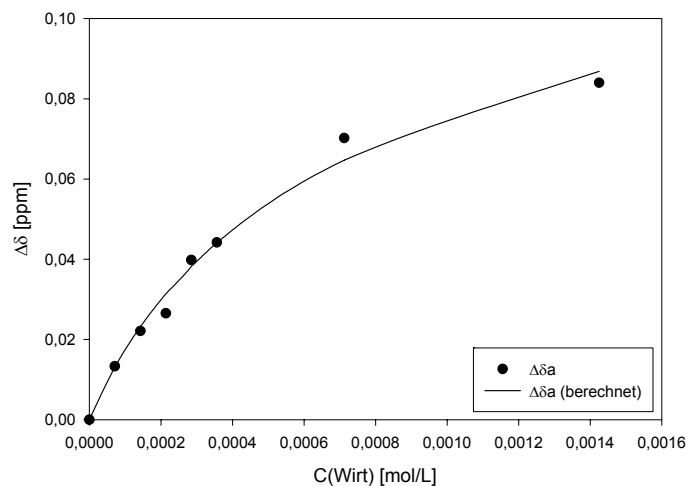
Verdünnungstitration von Wirt **10** mit AMP **\$G026**

Stammlösung: 0.768 mg (0.713 μmol) Wirt **10** und

0.281 mg (0.718 μmol) AMP **\$G026** in 500 μL D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	Referenz	500	$1.44 \cdot 10^{-3}$	-	8.2317
1	25	500	$7.18 \cdot 10^{-5}$	$7.13 \cdot 10^{-5}$	8.2184
2	50	500	$1.44 \cdot 10^{-4}$	$1.43 \cdot 10^{-4}$	8.2096
3	75	500	$2.15 \cdot 10^{-4}$	$2.14 \cdot 10^{-4}$	8.2052
4	100	500	$2.87 \cdot 10^{-4}$	$2.85 \cdot 10^{-4}$	8.1919
5	125	500	$3.59 \cdot 10^{-4}$	$3.56 \cdot 10^{-4}$	8.1875
6	250	500	$7.18 \cdot 10^{-4}$	$7.13 \cdot 10^{-4}$	8.1615
7	500	500	$1.44 \cdot 10^{-3}$	$1.43 \cdot 10^{-4}$	8.1477
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.1881
					$\pm 10\%$
K_a (mol/L)					1126
					$\pm 19\%$



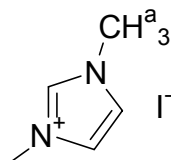


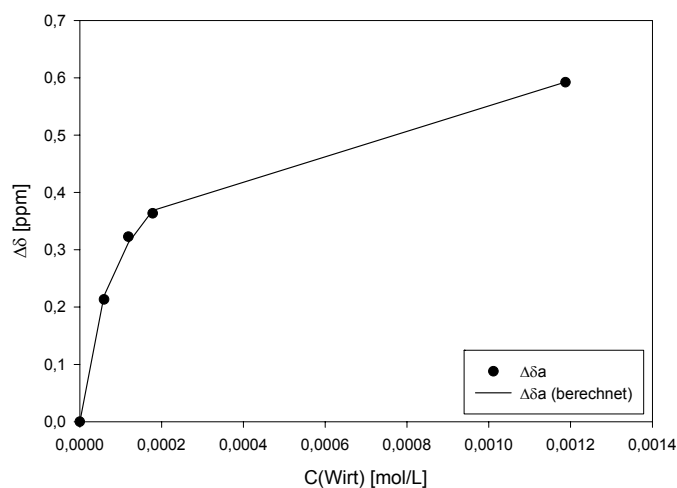
Verdünnungstitration von Wirt **10** mit *N,N'*-Dimethylimidazoliumiodid **46**

Stammlösung: 0.768 mg (0.713 μmol) Wirt **10** und

0.281 mg (0.718 μmol) *N,N'*-Dimethylimidazoliumiodid **46** in 600 μL D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	Referenz	600	$1.20 \cdot 10^{-3}$	-	3.8472
1	30	600	$6.02 \cdot 10^{-5}$	$5.94 \cdot 10^{-5}$	3.6339
2	60	600	$1.20 \cdot 10^{-4}$	$1.19 \cdot 10^{-4}$	3.5245
3	90	600	$1.80 \cdot 10^{-4}$	$1.78 \cdot 10^{-4}$	3.4836
4	300	600	$6.02 \cdot 10^{-4}$	$5.94 \cdot 10^{-4}$	3.2493
5	600	600	$1.20 \cdot 10^{-3}$	$1.19 \cdot 10^{-3}$	3.2548
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.8087
					$\pm 7\%$
K_a (mol/L)					7940
					$\pm 22\%$



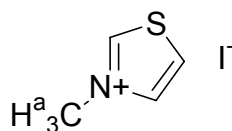


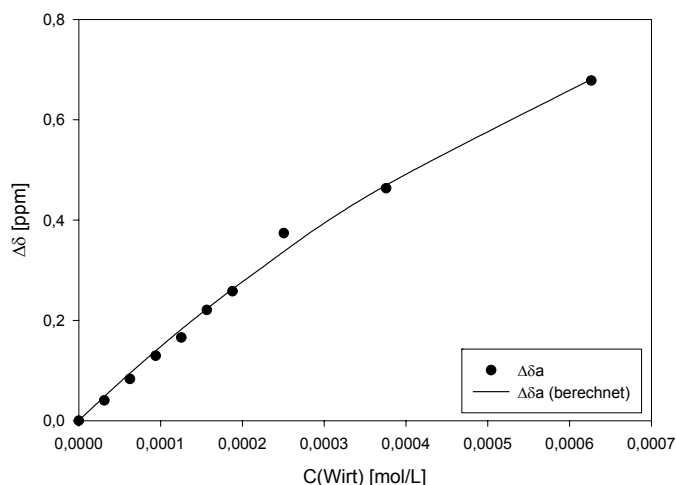
Titration von Wirt **10** mit *N*-Methylthiazoliumiodid **74**

Wirtlösung: 1.535 mg ($1.425 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **10** in 650 μL D_2O .

Gastlösung: 0.524 mg ($2.307 \cdot 10^{-6}$ mol) *N*-Methylthiazoliumiodid **74** in 250 μL D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	25	0	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	0	4.2960
1	25	10	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$3.13 \cdot 10^{-5}$	4.2556
2	25	20	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$6.27 \cdot 10^{-5}$	4.2128
3	25	30	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$9.40 \cdot 10^{-5}$	4.1667
4	25	40	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$1.25 \cdot 10^{-4}$	4.1302
5	25	50	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$1.57 \cdot 10^{-4}$	4.0752
6	25	60	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$1.88 \cdot 10^{-4}$	4.0381
7	25	80	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$2.51 \cdot 10^{-4}$	3.9222
8	25	120	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$3.76 \cdot 10^{-4}$	3.8326
9	25	200	700	$3.30 \cdot 10^{-4}$	$6.27 \cdot 10^{-4}$	3.5176
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						1.758 $\pm 17\%$
K_a (mol/L)						1267 $\pm 29\%$



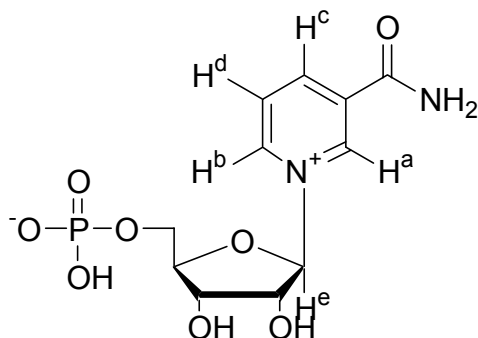


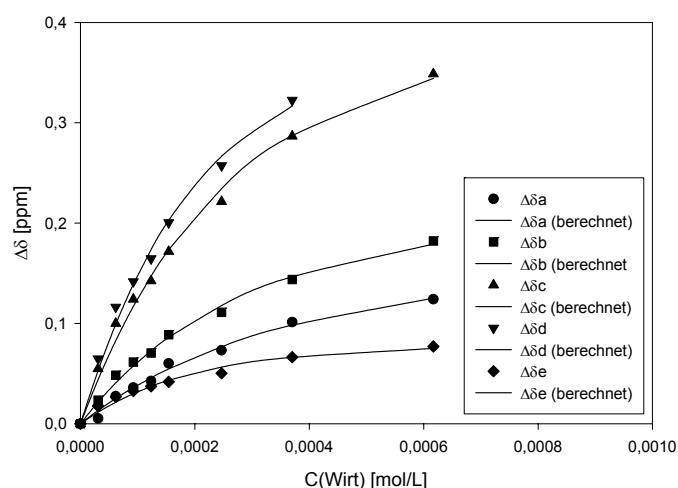
Titration von Wirt 10 mit NMN 54

Wirtlösung: 1.512 mg ($1.404 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **10** in 650 μL D_2O .

Gastlösung: 0.314 mg ($0.939 \cdot 10^{-6}$ mol) NMN **54** in 1000 μL D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)	δ_d (ppm)	δ_e (ppm)
0	100	0	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	0	9.5766	9.3565	9.0371	8.3429	6.2418
1	100	10	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$3.09 \cdot 10^{-5}$	9.5714	9.3330	8.9823	8.2782	6.2242
2	100	20	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$6.17 \cdot 10^{-5}$	9.5492	9.3082	8.9372	8.2266	6.2151
3	100	30	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$9.26 \cdot 10^{-5}$	9.5407	9.2951	8.9130	8.2012	6.2092
4	100	40	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$1.23 \cdot 10^{-4}$	9.5341	9.2860	8.8948	8.1783	6.2046
5	100	50	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$1.54 \cdot 10^{-4}$	9.5165	9.2677	8.8654	8.1424	6.2001
6	100	80	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$2.47 \cdot 10^{-4}$	9.5034	9.2455	8.8157	8.0856	6.1916
7	100	120	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$3.70 \cdot 10^{-4}$	9.4754	9.2128	8.7504	8.0203	6.1756
8	100	200	700	$1.34 \cdot 10^{-4}$	$6.17 \cdot 10^{-4}$	9.4525	9.1743	8.6884	-	6.1648
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.1970	0.2494	0.4572	0.4442	0.0890
						$\pm 10\%$	$\pm 6\%$	$\pm 6\%$	$\pm 10\%$	$\pm 9\%$
K_a (mol/L)						3277	4882	5912	9043	10690
						$\pm 22\%$	$\pm 16\%$	$\pm 17\%$	$\pm 29\%$	$\pm 33\%$

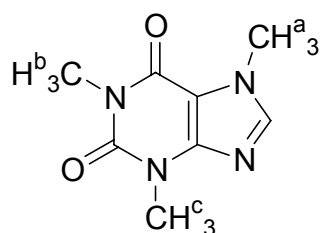


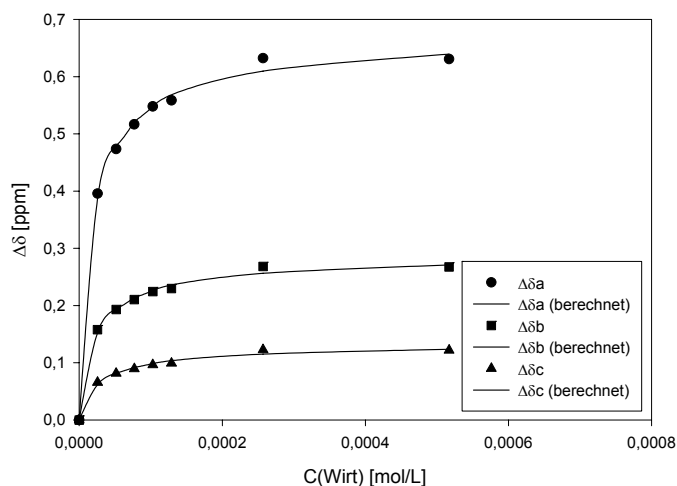


Verdünnungstitration von Wirt 10 mit Koffein 70

Stammlösung: 0.390 mg (0.362 μmol) Wirt **10** und
0.143 mg (0.736 μmol) Koffein **70** in 700 μL D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	Referenz	700	$1.05 \cdot 10^{-3}$	-	3.9895	3.5712	3.3889
1	35	700	$5.26 \cdot 10^{-5}$	$2.57 \cdot 10^{-5}$	3.5940	3.4134	3.3231
2	70	700	$1.05 \cdot 10^{-4}$	$5.17 \cdot 10^{-5}$	3.5160	3.3783	3.3073
3	105	700	$1.58 \cdot 10^{-4}$	$7.71 \cdot 10^{-5}$	3.4730	3.3608	3.2994
4	140	700	$2.10 \cdot 10^{-4}$	$1.03 \cdot 10^{-4}$	3.4415	3.3468	3.2924
5	175	700	$2.63 \cdot 10^{-4}$	$1.29 \cdot 10^{-4}$	3.4309	3.3415	3.2898
6	350	700	$5.26 \cdot 10^{-4}$	$2.57 \cdot 10^{-4}$	3.3573	3.3029	3.2661
7	700	700	$1.05 \cdot 10^{-3}$	$5.17 \cdot 10^{-4}$	3.3590	3.3038	3.2670
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					1.364	0.5839	0.2717
					$\pm 2\%$	$\pm 2\%$	$\pm 3\%$
K_a (mol/L)					36800	29730	21490
					$\pm 9\%$	$\pm 11\%$	$\pm 15\%$



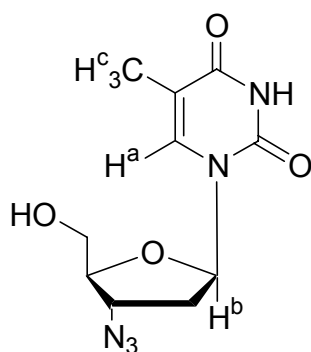


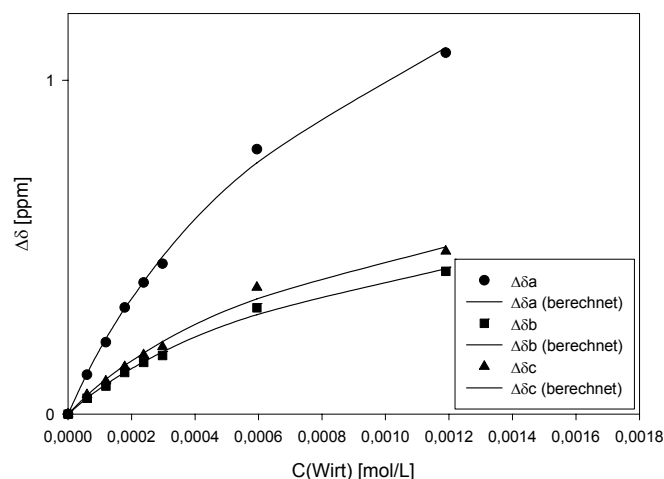
Verdünnungstitration von Wirt 24 mit AZT 68

Stammlösung: 0.433 mg (0.714 μmol) Wirt 24 und

0.190 mg (0.717 μmol) AZT 68 in 600 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	Referenz	600	$1.20 \cdot 10^{-3}$	-	7.6200	6.1936	1.6839
1	30	600	$5.98 \cdot 10^{-5}$	$5.95 \cdot 10^{-5}$	7.5022	6.1461	1.8059
2	60	600	$1.20 \cdot 10^{-4}$	$1.19 \cdot 10^{-4}$	7.4050	6.1096	1.7650
3	90	600	$1.79 \cdot 10^{-4}$	$1.79 \cdot 10^{-5}$	7.3011	6.0688	1.7219
4	120	600	$2.39 \cdot 10^{-4}$	$2.38 \cdot 10^{-4}$	7.2259	6.0389	1.6865
5	150	600	$2.98 \cdot 10^{-4}$	$2.98 \cdot 10^{-4}$	7.1696	6.0179	1.6622
6	300	600	$5.98 \cdot 10^{-4}$	$5.95 \cdot 10^{-4}$	6.8269	5.8752	1.4842
7	600	600	$1.20 \cdot 10^{-3}$	$1.19 \cdot 10^{-3}$	6.2464	5.7659	1.3759
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					3.116	1.245	1.400
					$\pm 6\%$	$\pm 8\%$	$\pm 11\%$
K_a (mol/L)					707	696	730
					$\pm 11\%$	$\pm 14\%$	$\pm 19\%$



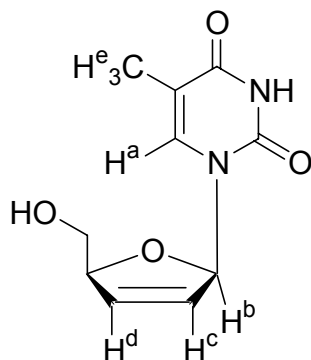


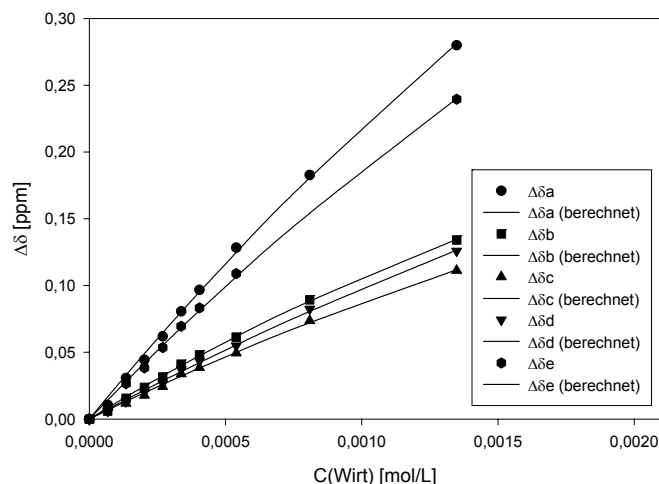
Titration von Wirt **24** mit 2',3'-Deoxythymidin **69**

Wirtlösung: 1.593 mg ($2.629 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **24** in 650 μL D_2O .

Gastlösung: 0.435 mg ($1.944 \cdot 10^{-6}$ mol) 2',3'-Deoxythymidin **69** in 750 μL D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_{a} (ppm)	δ_{b} (ppm)	δ_{c} (ppm)	δ_{d} (ppm)	δ_{f} (ppm)
0	75	0	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	0	7.6417	6.9692	6.4877	5.9824	1.8810
1	75	10	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$6.74 \cdot 10^{-5}$	7.6312	6.9632	6.4790	5.9765	1.8719
2	75	20	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$1.35 \cdot 10^{-4}$	7.6110	6.9536	6.4758	5.9693	1.8545
3	75	30	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$2.02 \cdot 10^{-4}$	7.5973	6.9454	6.4699	5.9623	1.8426
4	75	40	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$2.70 \cdot 10^{-4}$	7.5798	6.9376	6.4634	5.9559	1.8274
5	75	50	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$3.37 \cdot 10^{-4}$	7.5611	6.9280	6.4538	5.9453	1.8114
6	75	60	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$4.04 \cdot 10^{-4}$	7.5450	6.9211	6.4492	5.9389	1.7977
7	75	80	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$5.39 \cdot 10^{-4}$	7.5133	6.9078	6.4383	5.9275	1.7720
8	75	120	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$8.09 \cdot 10^{-4}$	7.4589	6.8799	6.4140	5.9000	-
9	75	200	600	$3.24 \cdot 10^{-4}$	$1.35 \cdot 10^{-3}$	7.3618	6.8350	6.3764	5.8565	1.6415
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						1.645	0.6014	0.6108	0.8318	1.399
						$\pm 17\%$	$\pm 9\%$	$\pm 18\%$	$\pm 19\%$	$\pm 20\%$
K_{a} (mol/L)						160	226	174	138	160
						$\pm 20\%$	$\pm 12\%$	$\pm 21\%$	$\pm 23\%$	$\pm 20\%$





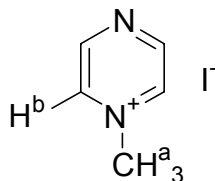
4.3.3 Titrationsen mit der Bisphosphonat-Pinzette

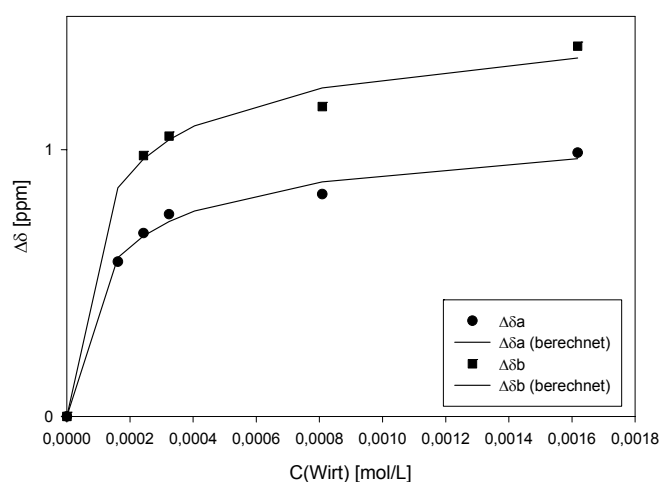
Verdünnungstitration von Wirt 11 mit *N*-Methylpyraziniumiodid 50.

Stammlösung: 0.713 mg (0.971 μmol) Wirt 11 und

0.234 mg (1.052 μmol) *N*-Methylpyraziniumiodid 50 in 600 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	Referenz	600	$1.75 \cdot 10^{-3}$	-	4.4827	9.3911
1	60	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$1.62 \cdot 10^{-4}$	3.9025	-
2	90	600	$2.63 \cdot 10^{-4}$	$2.43 \cdot 10^{-4}$	3.7953	8.4130
3	120	600	$3.50 \cdot 10^{-4}$	$3.24 \cdot 10^{-4}$	3.7246	8.3400
4	300	600	$8.75 \cdot 10^{-4}$	$8.09 \cdot 10^{-4}$	3.6494	8.2295
5	600	600	$1.75 \cdot 10^{-3}$	$1.63 \cdot 10^{-3}$	3.4936	8.0029
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					1.270	1.737
					$\pm 5\%$	$\pm 6\%$
K_a (mol/L)					11070	12930
					$\pm 22\%$	$\pm 34\%$



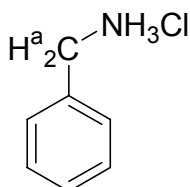


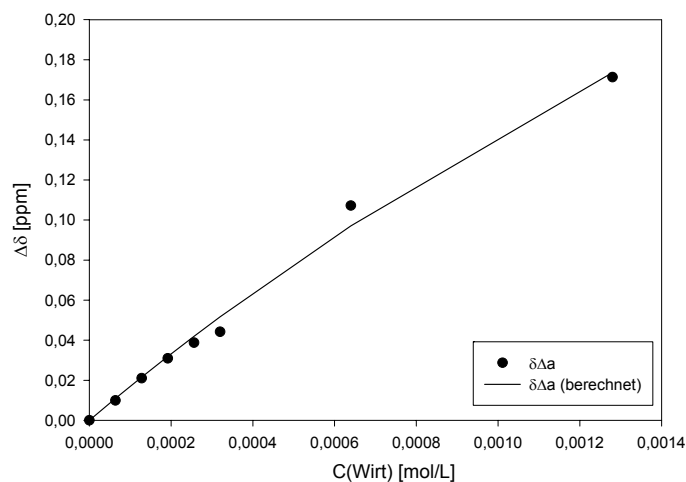
Verdünnungstitration von Wirt 11 mit Benzylaminhydrochlorid 77

Stammlösung: 0.531 mg (0.640 μmol) Wirt **11** und

0.083 mg (0.640 μmol) Benzylaminhydrochlorid **77** in 500 μL D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	Referenz	500	$1.28 \cdot 10^{-3}$	-	4.1611
1	25	500	$6.40 \cdot 10^{-5}$	$6.40 \cdot 10^{-5}$	4.1412
2	50	500	$1.28 \cdot 10^{-4}$	$1.28 \cdot 10^{-4}$	4.1401
3	75	500	$1.92 \cdot 10^{-4}$	$1.92 \cdot 10^{-4}$	4.1302
4	100	500	$2.56 \cdot 10^{-4}$	$2.56 \cdot 10^{-4}$	4.1224
5	125	500	$3.20 \cdot 10^{-4}$	$3.20 \cdot 10^{-4}$	4.1169
6	250	500	$6.40 \cdot 10^{-4}$	$6.40 \cdot 10^{-4}$	4.0539
7	500	500	$1.28 \cdot 10^{-3}$	$1.28 \cdot 10^{-3}$	3.9898
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					1.510
					$\pm 38\%$
K_a (mol/L)					115
					$\pm 45\%$



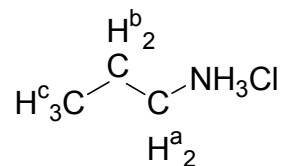


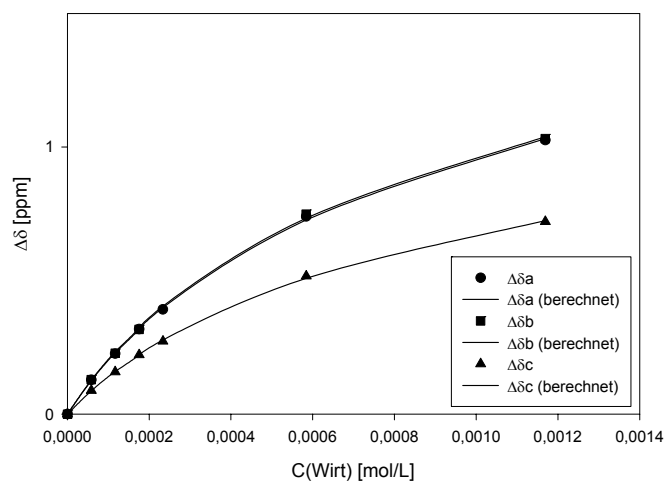
Verdünnungstitration von Wirt 11 mit *n*-Propylaminhydrochlorid 78

Stammlösung: 0.600 mg (0.818 μmol) Wirt 11 und

0.078 mg (0.818 μmol) *n*-Propylaminhydrochlorid 78 in 700 μL D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	Referenz	700	$1.17 \cdot 10^{-3}$	-	2.9908	1.7049	1.0022
1	35	700	$5.84 \cdot 10^{-5}$	$5.84 \cdot 10^{-5}$	2.8628	1.5761	0.9136
2	70	700	$1.17 \cdot 10^{-4}$	$1.17 \cdot 10^{-4}$	2.7646	1.4771	0.8444
3	105	700	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$1.75 \cdot 10^{-4}$	2.6725	1.3878	0.7803
4	140	700	$2.34 \cdot 10^{-4}$	$2.34 \cdot 10^{-4}$	2.5989	-	0.7295
5	350	700	$5.84 \cdot 10^{-4}$	$5.84 \cdot 10^{-4}$	2.2508	0.9566	0.4857
6	700	700	$1.17 \cdot 10^{-3}$	$1.17 \cdot 10^{-3}$	1.9649	0.6734	0.2814
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					2.651	2.642	1.884
					$\pm 2\%$	$\pm 3\%$	$\pm 2\%$
K_a (mol/L)					891	912	867
					$\pm 4\%$	$\pm 6\%$	$\pm 22\%$



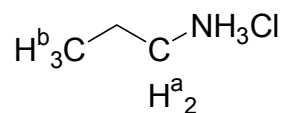


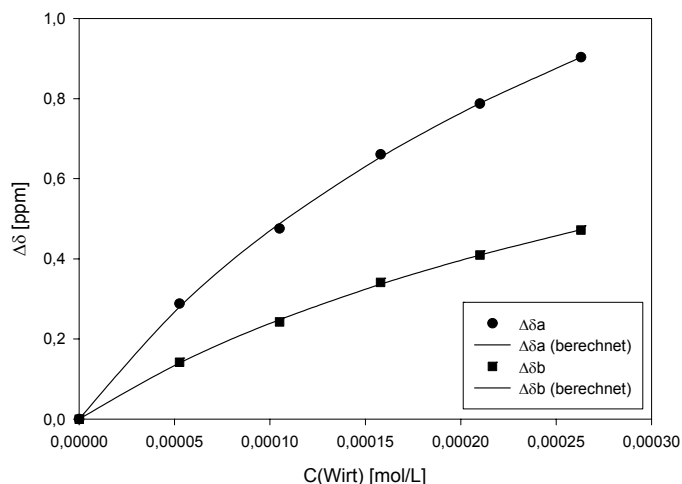
Verdünnungstitration von Wirt **11** mit *n*-Propylaminhydrochlorid **78**

Stammlösung: 0.539 mg (0.734 μmol) Wirt **11** und

0.070 mg (0.734 μmol) *n*-Propylaminhydrochlorid **78** in 700 μL Methanol- d_4 .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	Referenz	700	$1.05 \cdot 10^{-3}$	-	2.8821	1.0199
1	35	700	$5.26 \cdot 10^{-5}$	$5.26 \cdot 10^{-5}$	2.5940	0.8779
2	70	700	$1.05 \cdot 10^{-4}$	$1.05 \cdot 10^{-4}$	2.4066	0.7771
3	105	700	$1.58 \cdot 10^{-4}$	$1.58 \cdot 10^{-4}$	2.2215	0.6787
4	140	700	$2.10 \cdot 10^{-4}$	$2.10 \cdot 10^{-4}$	2.0947	0.6104
5	175	700	$2.63 \cdot 10^{-4}$	$2.63 \cdot 10^{-4}$	1.9788	0.5481
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					3.451	2.006
					$\pm 6\%$	$\pm 5\%$
K_a (mol/L)					1826	1534
					$\pm 8\%$	$\pm 6\%$



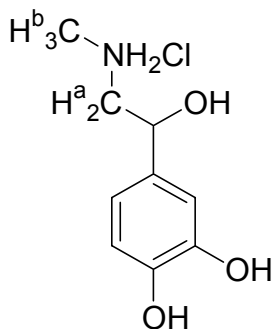


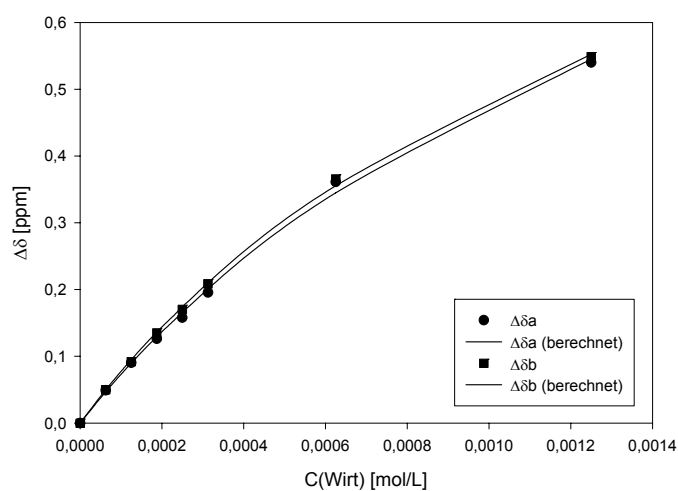
Verdünnungstitration von Wirt 11 mit D-/L-Adrenalinhydrochlorid 79

Stammlösung: 0.689 mg (0.938 μmol) Wirt **11** und

0.206 mg (0.938 μmol) D-/L-Adrenalinhydrochlorid **79** in 750 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	Referenz	750	$1.25 \cdot 10^{-3}$	-	3.3029	2.7961
1	37.5	750	$6.25 \cdot 10^{-5}$	$6.25 \cdot 10^{-5}$	3.2538	2.7462
2	75	750	$1.25 \cdot 10^{-4}$	$1.25 \cdot 10^{-4}$	3.2126	2.7041
3	112.5	750	$1.88 \cdot 10^{-4}$	$1.88 \cdot 10^{-4}$	3.1767	2.6611
4	150	750	$2.50 \cdot 10^{-4}$	$2.50 \cdot 10^{-4}$	3.1451	2.6260
5	187.5	750	$3.13 \cdot 10^{-4}$	$3.13 \cdot 10^{-4}$	3.1074	2.5875
6	375	750	$6.25 \cdot 10^{-4}$	$6.25 \cdot 10^{-4}$	2.9417	2.4305
7	750	750	$1.17 \cdot 10^{-3}$	$1.17 \cdot 10^{-3}$	2.7628	2.2472
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					2.149	2.017
					$\pm 8\%$	$\pm 4\%$
K_a (mol/l)					364	416
					$\pm 11\%$	$\pm 6\%$



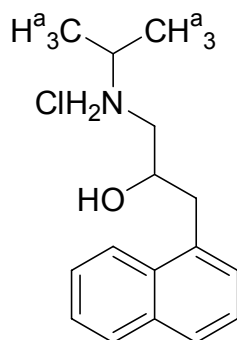


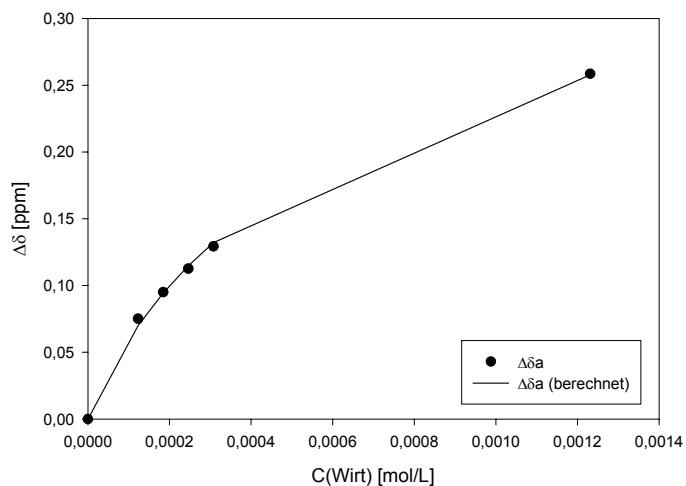
Verdünnungstitration von Wirt **11** mit Propanololhydrochlorid **82**

Stammlösung: 0.633 mg (0.862 μmol) Wirt **11** und

0.255 mg (0.862 μmol) Propanololhydrochlorid **82** in 700 μL Methanol- d_4 .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	Referenz	600	$1.23 \cdot 10^{-3}$	-	1.3719
1	60	600	$1.23 \cdot 10^{-4}$	$1.23 \cdot 10^{-4}$	1.2968
2	90	600	$1.85 \cdot 10^{-4}$	$1.85 \cdot 10^{-4}$	1.2769
3	120	600	$2.46 \cdot 10^{-4}$	$2.46 \cdot 10^{-4}$	1.2592
4	150	600	$3.08 \cdot 10^{-4}$	$3.08 \cdot 10^{-4}$	1.2426
5	600	600	$1.23 \cdot 10^{-3}$	$1.23 \cdot 10^{-3}$	1.1133
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.5482
					$\pm 3\%$
K_a (mol/L)					1361
					$\pm 6\%$



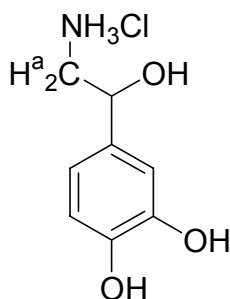


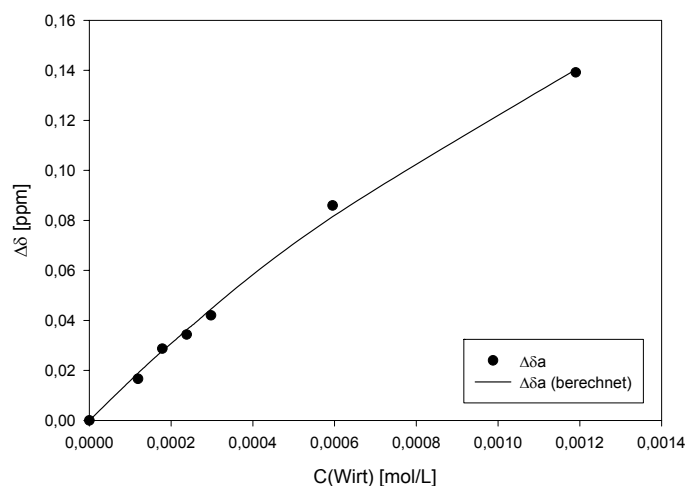
Verdünnungstitration von Wirt **11** mit D-/L-Noradrenalinhydrochlorid **80**

Stammlösung: 0.612 mg (0.833 μmol) Wirt **11** und

0.171 mg (0.833 μmol) D-/L-Adrenalinhydrochlorid **80** in 700 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ _a (ppm)
0	Referenz	700	1.25·10 ⁻³	-	3.2084
1	70	700	1.19·10 ⁻⁵	1.19·10 ⁻⁵	3.1918
2	105	700	1.79·10 ⁻⁴	1.79·10 ⁻⁴	3.1797
3	140	700	2.38·10 ⁻⁴	2.38·10 ⁻⁴	3.1741
4	175	700	2.98·10 ⁻⁴	2.98·10 ⁻⁴	3.1664
5	350	700	5.95·10 ⁻⁴	5.95·10 ⁻⁴	3.1225
6	700	700	1.19·10 ⁻⁴	1.19·10 ⁻⁴	3.0692
Δδ _{sat} (ppm)					0.9012
					± 17%
K _a (mol/L)					184
					± 22%



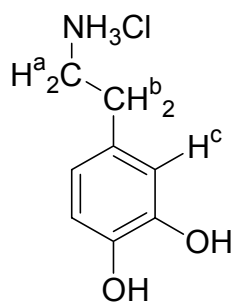


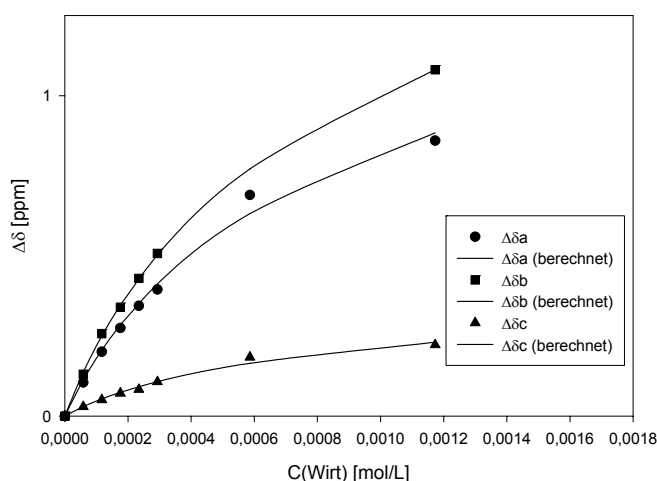
Verdünnungstitration von Wirt **11** mit Dopaminhydrochlorid **81**

Stammlösung: 0.603 mg (0.821 μmol) Wirt **11** und

0.156 mg (0.821 μmol) Dopaminhydrochlorid **81** in 700 μL D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μL)	V _{Total} (μL)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	Referenz	700	$1.17 \cdot 10^{-3}$	-	2.9058	3.2562	6.8726
1	35	700	$5.86 \cdot 10^{-5}$	$5.84 \cdot 10^{-5}$	2.8010	3.1257	6.8433
2	70	700	$1.17 \cdot 10^{-4}$	$1.17 \cdot 10^{-4}$	2.7051	2.9988	6.8217
3	105	700	$1.76 \cdot 10^{-4}$	$1.75 \cdot 10^{-4}$	2.6308	2.9169	6.8012
4	140	700	$2.35 \cdot 10^{-4}$	$2.34 \cdot 10^{-4}$	2.5618	2.8262	6.7897
5	175	700	$2.93 \cdot 10^{-4}$	$2.93 \cdot 10^{-4}$	2.5109	2.7484	6.7655
6	350	700	$5.86 \cdot 10^{-4}$	$5.84 \cdot 10^{-4}$	2.2161	-	6.6889
7	700	700	$1.17 \cdot 10^{-3}$	$1.17 \cdot 10^{-3}$	2.0464	2.1757	6.6503
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					2.169	2.670	0.5658
					$\pm 9\%$	$\pm 2\%$	$\pm 12\%$
K_a (mol/L)					989	975	988
					$\pm 16\%$	$\pm 3\%$	$\pm 21\%$



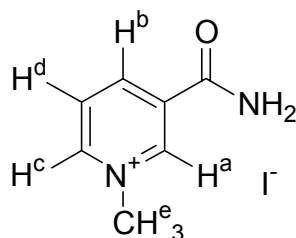


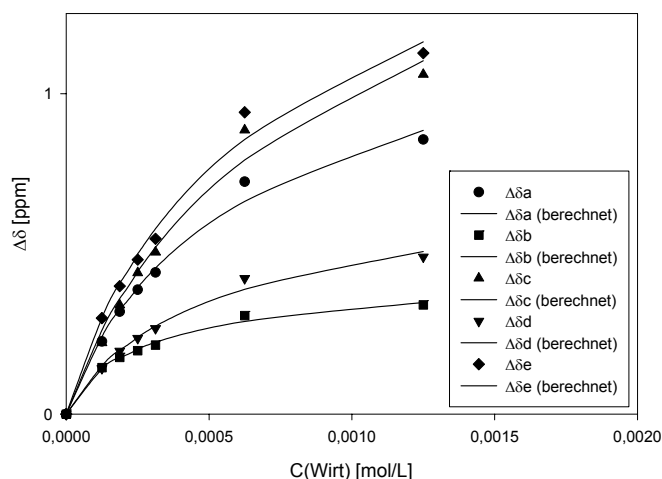
Verdünnungstitration von Wirt **11** mit *N*-Methylnicotinamidiodid **51**

Stammlösung: 0.642 mg (0.875 μ mol) Wirt **11** und

0.231 mg (0.875 μ mol) *N*-Methylnicotinamidiodid **51** in 700 μ L D₂O.

Nr.	V _{Stammlösung} (μ L)	V _{Total} (μ L)	C _{Gast} (mol/L)	C _{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)	δ_d (ppm)	δ_e (ppm)
0	Referenz	700	$1.25 \cdot 10^{-3}$	-	9.2629	8.9567	8.8860	8.1565	4.4540
1	70	700	$1.25 \cdot 10^{-4}$	$1.25 \cdot 10^{-4}$	9.0363	8.8119	8.6638	8.0140	4.1545
2	105	700	$1.88 \cdot 10^{-4}$	$1.88 \cdot 10^{-4}$	8.9435	8.7799	8.5456	7.9598	4.0550
3	140	700	$2.50 \cdot 10^{-4}$	$2.50 \cdot 10^{-4}$	8.8749	8.7589	8.4450	7.9200	3.9721
4	175	700	$3.13 \cdot 10^{-4}$	$3.13 \cdot 10^{-4}$	8.8208	8.7412	8.3809	7.8891	3.9069
5	350	700	$6.25 \cdot 10^{-4}$	$6.25 \cdot 10^{-4}$	8.5378	8.6495	7.9996	7.7332	3.5124
6	700	700	$1.25 \cdot 10^{-3}$	$1.25 \cdot 10^{-3}$	8.4063	8.6163	7.8261	7.6658	3.3278
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					1.870	0.5524	2.657	1.001	2.576
					$\pm 9\%$	$\pm 5\%$	$\pm 13\%$	$\pm 8\%$	$\pm 10\%$
K_a (mol/L)					1364	3685	969	1667	1195
					$\pm 18\%$	$\pm 15\%$	$\pm 5\%$	$\pm 18\%$	$\pm 20\%$



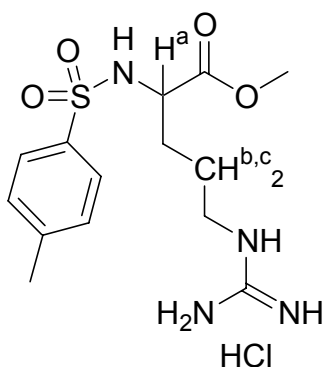


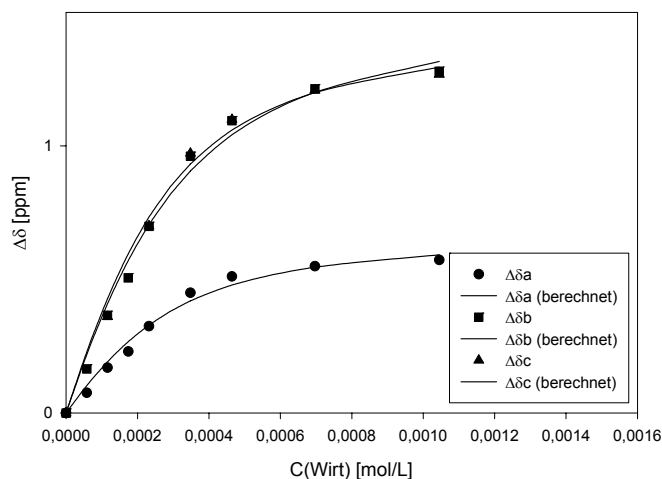
Titration von Wirt 11 mit *N*-Tosyl-(*S*)-argininmethylesterhydrochlorid 84

Wirtlösung: 1.940 mg ($2.642 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL D_2O .

Gastlösung: 0.632 mg ($1.667 \cdot 10^{-6}$ mol) *N*-Tosyl-(*S*)-argininmethylesterhydrochlorid **84** in 700 μL D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	70	0	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	0	3.9983	1,8159	1.6721
1	70	10	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$5.81 \cdot 10^{-5}$	3.9228	1.6510	1.3134
2	70	20	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$1.16 \cdot 10^{-4}$	3.8290	1.4500	1.3177
3	70	30	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$1.74 \cdot 10^{-4}$	3.7685	1.3099	1.3099
4	70	40	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$2.32 \cdot 10^{-4}$	3.6738	1.1170	0.9724
5	70	60	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$3.48 \cdot 10^{-4}$	3.5484	0.8549	0.7000
6	70	80	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$4.65 \cdot 10^{-4}$	3.4871	0.7216	0.5734
7	70	120	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$6.97 \cdot 10^{-4}$	3.4485	0.6024	0.4638
8	70	180	600	$2.38 \cdot 10^{-4}$	$1.05 \cdot 10^{-3}$	3.4257	0.5366	0.4042
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.6808	1.547	1.472
						$\pm 7\%$	$\pm 6\%$	$\pm 5\%$
K_a (mol/L)						7988	6778	8762
						$\pm 29\%$	$\pm 23\%$	$\pm 24\%$



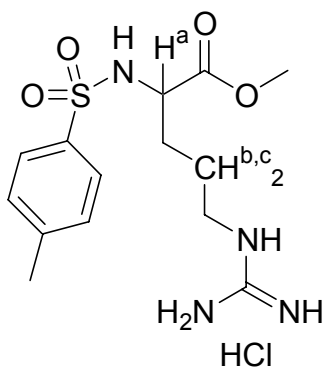


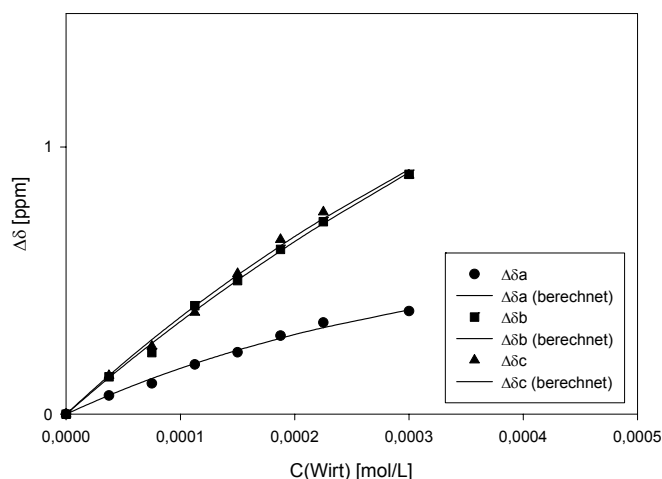
Titration von Wirt 11 mit *N*-Tosyl-(*S*)-argininmethylesterhydrochlorid **84**

Wirtlösung: 1.074 mg ($1.463 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL 25 mmol/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.379 mg ($1.000 \cdot 10^{-6}$ mol) *N*-Tosyl-(*S*)-argininmethylesterhydrochlorid **84** in 400 μL 25 mmol/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	40	0	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	0	3.9943	1.8119	1.6900
1	40	10	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$3.75 \cdot 10^{-5}$	3.9251	1.6726	1.5453
2	40	20	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$7.50 \cdot 10^{-5}$	3.8797	1.5819	1.4362
3	40	30	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.13 \cdot 10^{-4}$	3.8087	1.4060	1.3093
4	40	40	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.50 \cdot 10^{-4}$	3.7629	1.3121	1.1641
5	40	50	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.88 \cdot 10^{-4}$	3.7011	1.1953	1.0363
6	40	60	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$2.25 \cdot 10^{-4}$	3.6516	1.0913	0.9332
7	40	160	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$3.00 \cdot 10^{-4}$	3.6086	0.9144	0.7958
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						1.002	4.093	3.292
						$\pm 25\%$	$\pm 26\%$	$\pm 27\%$
K_a (mol/L)						2811	1077	1519
						$\pm 44\%$	$\pm 36\%$	$\pm 40\%$



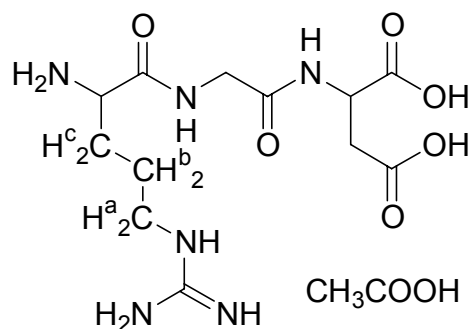


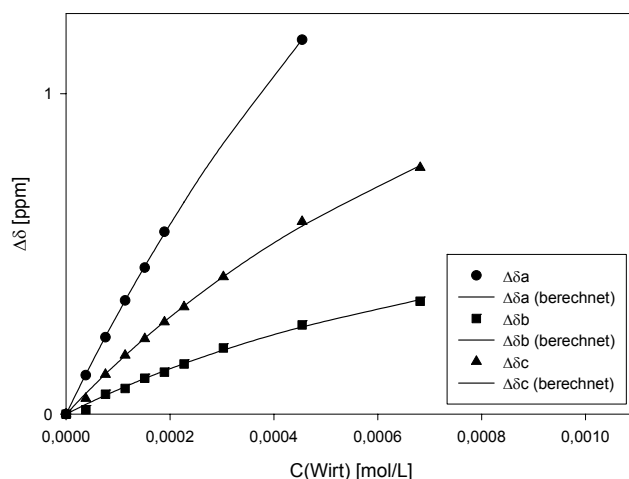
Titration von Wirt 11 mit (S)-Argininy-(S)-glyciny-(S)-aspartat (RGD) 86

Wirtlösung: 1.084 mg ($1.477 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL D_2O .

Gastlösung: 0.419 mg ($1.048 \cdot 10^{-6}$ mol) RGD **86** in 400 μL D_2O (RGD 86.5%).

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	40	0	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	0	3.2772	1.9855	1.7361
1	40	10	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$3.79 \cdot 10^{-5}$	3.1561	1.9719	1.6872
2	40	20	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$7.57 \cdot 10^{-5}$	3.0376	1.9236	1.6124
3	40	30	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$1.14 \cdot 10^{-4}$	2.9229	1.9056	1.5528
4	40	40	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$1.52 \cdot 10^{-4}$	2.8204	1.8734	1.5010
5	40	50	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$1.89 \cdot 10^{-4}$	2.7083	1.8547	1.4488
6	40	60	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$2.27 \cdot 10^{-4}$	-	1.8289	1.4017
7	40	80	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$3.03 \cdot 10^{-4}$	-	1.7793	1.3077
8	40	120	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$4.54 \cdot 10^{-4}$	2.1092	1.7071	1.1357
9	40	180	600	$1.75 \cdot 10^{-4}$	$6.82 \cdot 10^{-3}$	-	1.6330	0.7692
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						4.578	0.8838	2.022
						$\pm 3\%$	$\pm 11\%$	$\pm 6\%$
K_a (mol/L)						836	1109	1012
						$\pm 4\%$	$\pm 17\%$	$\pm 9\%$



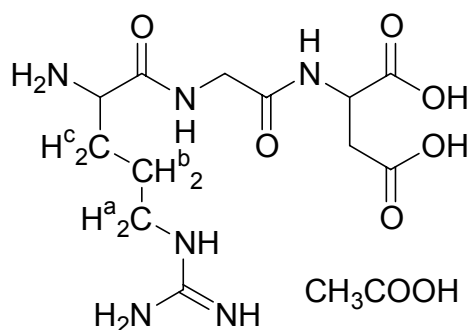


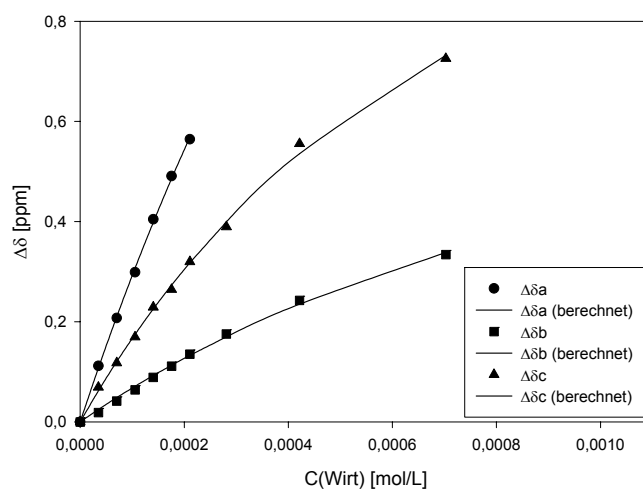
Titration von Wirt 11 mit (S)-Argininy-(S)-glyciny-(S)-aspartat (RGD) 86

Wirtlösung: 1.006 mg ($1.370 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL in 1000 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.400 mg ($1.000 \cdot 10^{-6}$ mol) RGD **86** in 1000 μL in 1000 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O . (RGD 86.5%).

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	100	0	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	0	3.2682	1.9320	1.7291
1	100	10	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$3.51 \cdot 10^{-5}$	3.1562	1.9134	1.6600
2	100	20	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$7.03 \cdot 10^{-5}$	3.0608	1.8904	1.6113
3	100	30	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.05 \cdot 10^{-4}$	2.9693	1.8680	1.5595
4	100	40	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.41 \cdot 10^{-4}$	2.8637	1.8430	1.5000
5	100	50	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.76 \cdot 10^{-4}$	2.7773	1.8206	1.4648
6	100	60	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$2.11 \cdot 10^{-4}$	2.7037	1.7969	1.4091
7	100	80	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$2.81 \cdot 10^{-4}$	-	1.7566	1.3394
8	100	120	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$4.22 \cdot 10^{-4}$	-	1.6894	1.1736
9	100	200	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$7.03 \cdot 10^{-3}$	-	1.5979	1.0034
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						3.413	0.9234	1.502
						$\pm 22\%$	$\pm 10\%$	$\pm 5\%$
K_a (mol/L)						1092	901	1532
						$\pm 28\%$	$\pm 15\%$	$\pm 5\%$



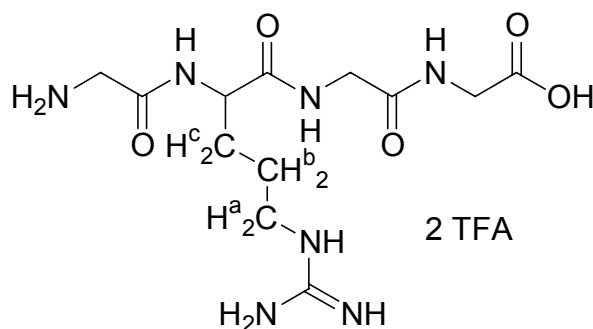


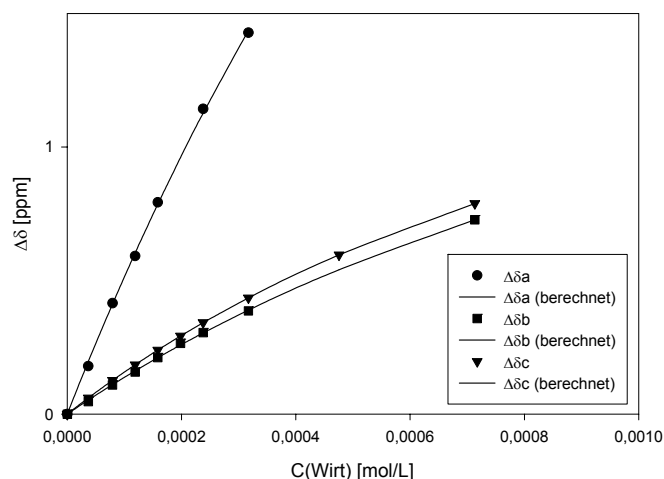
Titration von Wirt 11 mit (*S*)-Glycyl-(*S*)-argininyl-(*S*)-glycyl-(*S*)-glycin (GRGG) **87**

Wirtlösung: 1.135 mg ($1.546 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.673 mg ($1.175 \cdot 10^{-6}$ mol) GRGG·2TFA **87** in 1000 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	100	0	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	0	3.2543	1.9241	1.8525
1	100	10	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$3.96 \cdot 10^{-5}$	3.0751	1.8770	1.7914
2	100	20	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$7.93 \cdot 10^{-5}$	2.8394	1.8150	1.7279
3	100	30	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$1.19 \cdot 10^{-4}$	2.6627	1.7663	1.6724
4	100	40	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$1.59 \cdot 10^{-4}$	2.4618	1.7121	1.6101
5	100	50	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$1.98 \cdot 10^{-4}$	-	1.6590	1.5521
6	100	60	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$2.38 \cdot 10^{-4}$	2.1114	1.6187	1.5015
7	100	80	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$3.17 \cdot 10^{-4}$	1.8265	1.5377	-
8	100	120	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$4.76 \cdot 10^{-4}$	-	-	1.2746
9	100	180	600	$1.96 \cdot 10^{-4}$	$7.13 \cdot 10^{-3}$	-	1.1964	1.0569
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						7.461	2.213	2.058
						$\pm 15\%$	$\pm 4\%$	$\pm 7\%$
K_a (mol/L)						857	755	972
						$\pm 20\%$	$\pm 5\%$	$\pm 10\%$



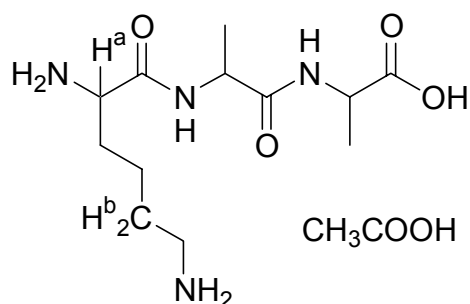


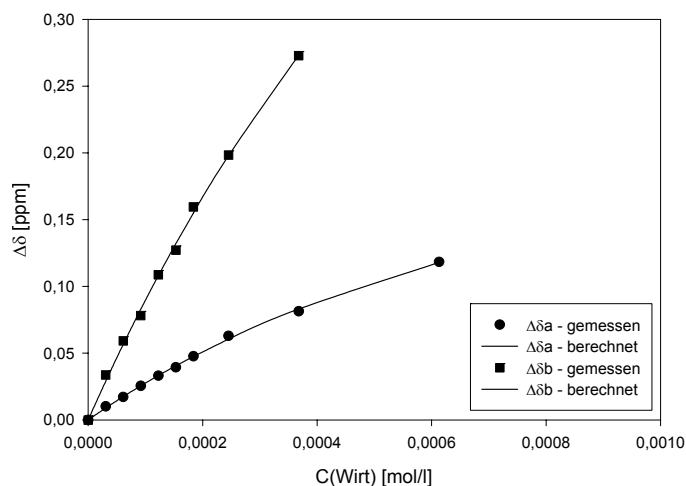
Titration von Wirt 11 mit (S)-Lysinyl-(S)-alaninyl-(S)-alanin (KAA) **88**

Wirtlösung: 0.878 mg ($1.196 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.406 mg ($1.000 \cdot 10^{-6}$ mol) $\text{KAA} \cdot \text{CH}_3\text{COOH}$ **88** in 200 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O (KAA 71%).

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	20	0	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	0	3.9096	1.8894
1	20	10	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$3.69 \cdot 10^{-5}$	3.8994	1.8557
2	20	20	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$7.93 \cdot 10^{-5}$	3.8924	1.8302
3	20	30	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$1.19 \cdot 10^{-4}$	3.8841	1.8112
4	20	40	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$1.59 \cdot 10^{-4}$	3.8765	1.7807
5	20	50	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$1.98 \cdot 10^{-4}$	3.8702	1.7622
6	20	60	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$2.38 \cdot 10^{-4}$	3.8619	1.7298
7	20	80	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$3.17 \cdot 10^{-4}$	3.8466	1.6910
8	20	120	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$4.76 \cdot 10^{-4}$	3.8282	1.6166
9	20	200	600	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$7.13 \cdot 10^{-3}$	3.7913	-
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.2920	1.030
						$\pm 6\%$	$\pm 14\%$
K_a (mol/L)						1242	1116
						$\pm 9\%$	$\pm 19\%$



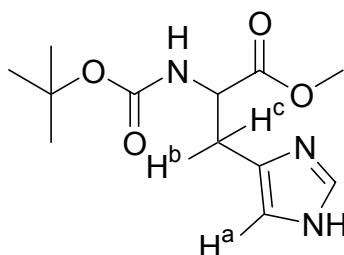


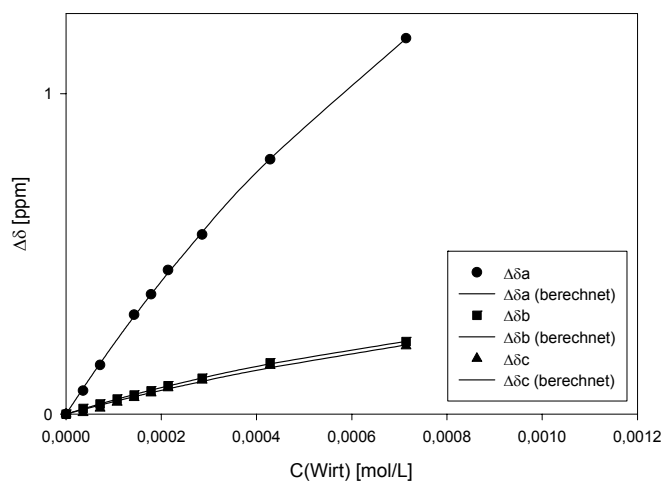
Titration von Wirt 11 mit *tert.*-Butyloxycarbonyl-(*S*)-Histidinmethylester 85

Wirtlösung: 1.022 mg ($1.392 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μ L 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.295 mg ($1.094 \cdot 10^{-6}$ mol) *tert.*-Butyloxycarbonyl-(*S*)-Histidinmethylester **85** in 500 μ L 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_{b} (ppm)	δ_{d} (ppm)	δ_{e} (ppm)
0	100	0	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	0	7.0658	3.1722	3.0421
1	100	10	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$3.57 \cdot 10^{-5}$	6.9926	3.1545	3.0376
2	100	20	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$7.14 \cdot 10^{-5}$	6.9124	3.1406	3.0238
3	100	30	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$1.07 \cdot 10^{-4}$	-	3.1254	3.0054
4	100	40	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$1.43 \cdot 10^{-4}$	6.7555	3.1128	2.9909
5	100	50	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$1.79 \cdot 10^{-4}$	6.6920	3.0995	2.9764
6	100	60	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$2.14 \cdot 10^{-4}$	6.6162	3.0837	2.9606
7	100	80	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$2.86 \cdot 10^{-4}$	6.5057	3.0604	2.9366
8	100	120	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$4.28 \cdot 10^{-4}$	6.2708	3.0124	2.8905
9	100	180	600	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$7.14 \cdot 10^{-4}$	6.8932	2.9461	2.8299
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						3.764	0.6543	0.7925
						$\pm 4\%$	$\pm 5\%$	$\pm 24\%$
K_{a} (mol/L)						688	817	565
						$\pm 5\%$	$\pm 7\%$	$\pm 33\%$





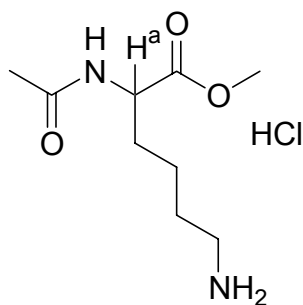
Verdünnungstitration von Wirt **11** mit Acetyl-(*S*)-Lysinmethylesterhydrochlorid **83**

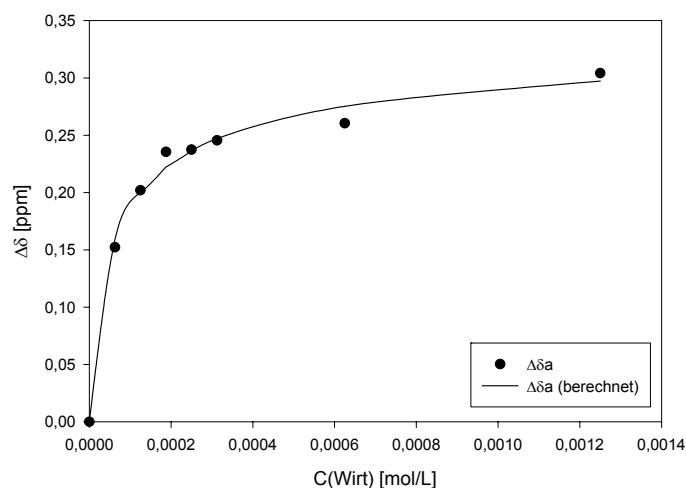
Stammlösung: 0.642 mg (0.875 μmol) Wirt **11** und

0.208 mg (0.875 μmol) Acetyl-(*S*)-Lysinmethylesterhydrochlorid **83** in 700 μL

D_2O .

Nr.	$V_{\text{Stammlösung}}$ (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)
0	Referenz	700	$1.25 \cdot 10^{-3}$	-	4.4285
1	35	700	$6.25 \cdot 10^{-5}$	$6.25 \cdot 10^{-5}$	4.2762
2	70	700	$1.25 \cdot 10^{-4}$	$1.25 \cdot 10^{-4}$	4.2266
3	105	700	$1.88 \cdot 10^{-4}$	$1.88 \cdot 10^{-4}$	4.1930
4	140	700	$2.50 \cdot 10^{-4}$	$2.50 \cdot 10^{-4}$	4.1911
5	175	700	$3.13 \cdot 10^{-4}$	$3.13 \cdot 10^{-4}$	4.1830
6	350	700	$6.25 \cdot 10^{-4}$	$6.25 \cdot 10^{-4}$	4.1680
7	700	700	$1.25 \cdot 10^{-3}$	$1.25 \cdot 10^{-3}$	4.1244
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)					0.3580
					$\pm 4\%$
K_a (mol/L)					23010
					$\pm 18\%$



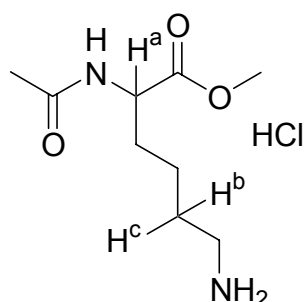


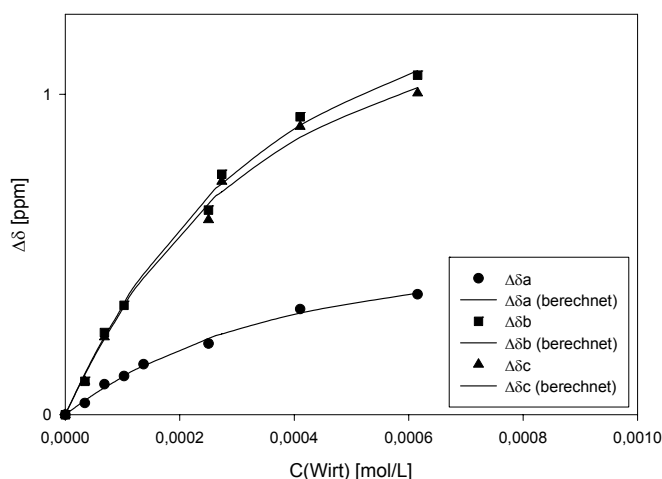
Titration von Wirt 11 mit Acetyl-(S)-Lysinmethylesterhydrochlorid 83

Wirtlösung: 1.130 mg ($1.540 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.239 mg ($1.001 \cdot 10^{-6}$ mol) Acetyl-(S)-Lysinmethylesterhydrochlorid **83** in 500 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)	δ_c (ppm)
0	50	0	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	0	4.4199	1.9278	1.8000
1	50	10	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$3.42 \cdot 10^{-5}$	4.3837	1.8238	1.6960
2	50	20	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$6.84 \cdot 10^{-5}$	4.3250	1.6714	1.5572
3	50	30	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.03 \cdot 10^{-4}$	4.2994	1.5865	-
4	50	40	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.37 \cdot 10^{-4}$	4.2627	-	-
5	50	60	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$2.05 \cdot 10^{-4}$	4.1981	1.2892	1.1921
6	50	80	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$2.74 \cdot 10^{-4}$	-	1.1774	1.0718
7	50	120	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$4.10 \cdot 10^{-4}$	4.0905	0.9978	0.9007
8	50	200	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$6.16 \cdot 10^{-3}$	4.0442	0.8682	0.7963
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.5677	1.572	1.454
						$\pm 8\%$	$\pm 8\%$	$\pm 10\%$
K_a (mol/L)						3993	4295	4730
						$\pm 20\%$	$\pm 19\%$	$\pm 27\%$



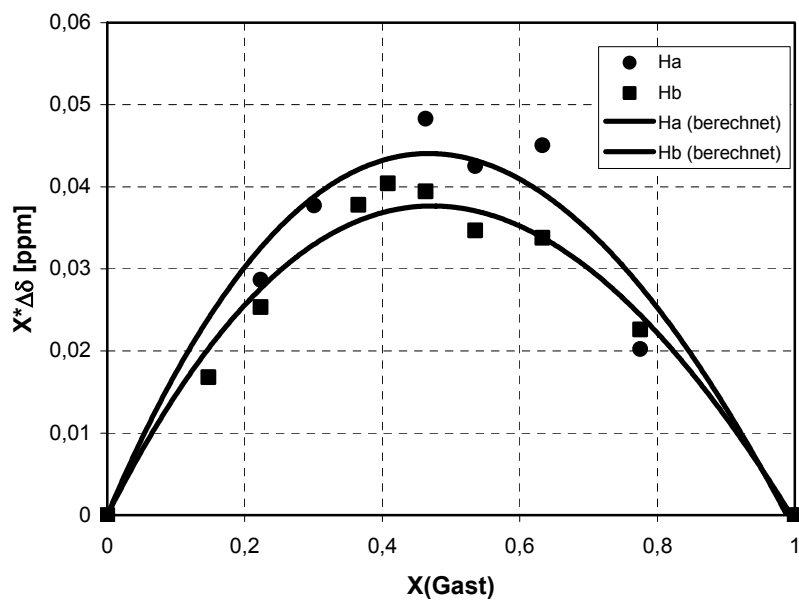
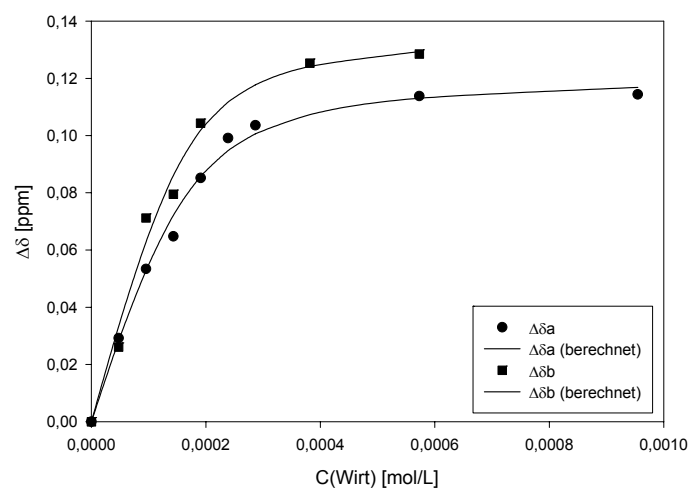
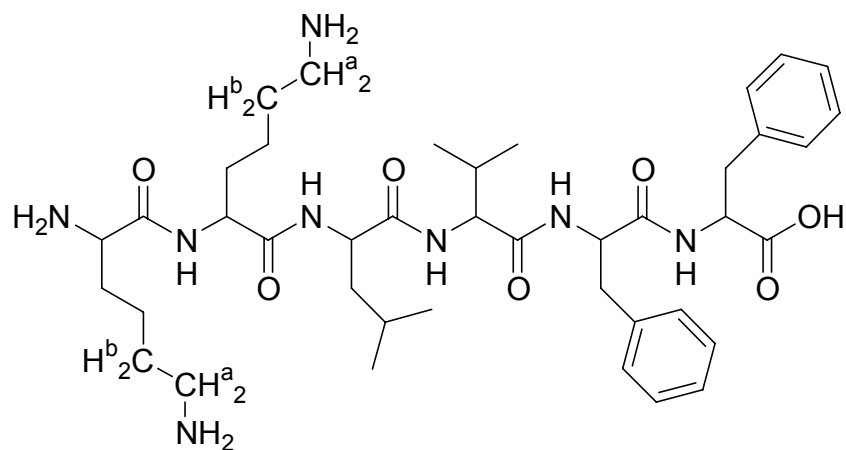


Titration von Wirt **11** mit (S)-Lysinyl-(S)-lysiny-(S)-leuciny-(S)-valiny-(S)-phenylalaniny-(S)-phenylalanin (KKLVFF) **91**

Wirtlösung: 1.367 mg ($1.013 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL [25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O] / Methanol- d_4 = 1:1 v/v.

Gastlösung: 1.107 mg ($9.883 \cdot 10^{-7}$ mol) KKLFFF \cdot 3TFA **91** in 2000 μL [25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O] / Methanol- d_4 = 1:1 v/v.

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	200	0	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	0	2.9643	1.6809
1	200	10	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$3.51 \cdot 10^{-5}$	2.9351	1.6548
2	200	20	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$7.03 \cdot 10^{-5}$	2.9109	1.6097
3	200	30	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.05 \cdot 10^{-4}$	2.8995	1.6014
4	200	40	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.41 \cdot 10^{-4}$	2.8791	1.5766
5	200	50	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$1.76 \cdot 10^{-4}$	2.8652	-
6	200	60	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$2.11 \cdot 10^{-4}$	2.8607	-
7	200	80	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$3.81 \cdot 10^{-4}$	-	1.5556
8	200	120	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$4.22 \cdot 10^{-4}$	2.8505	1.5524
9	200	200	600	$1.67 \cdot 10^{-4}$	$7.03 \cdot 10^{-4}$	2.8499	-
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.1214	0.1365
						$\pm 3\%$	$\pm 6\%$
K_a (mol/L)						32290	43310
						$\pm 21\%$	$\pm 45\%$

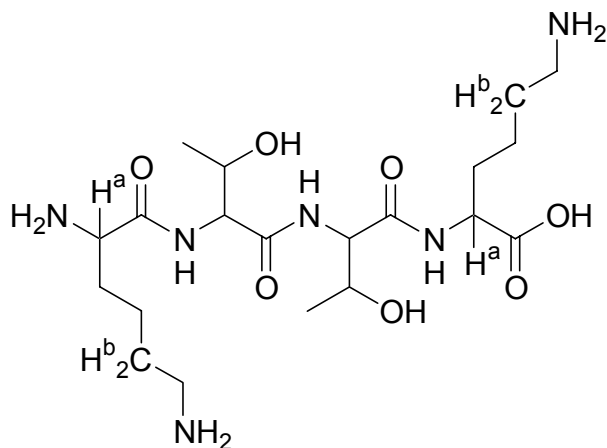


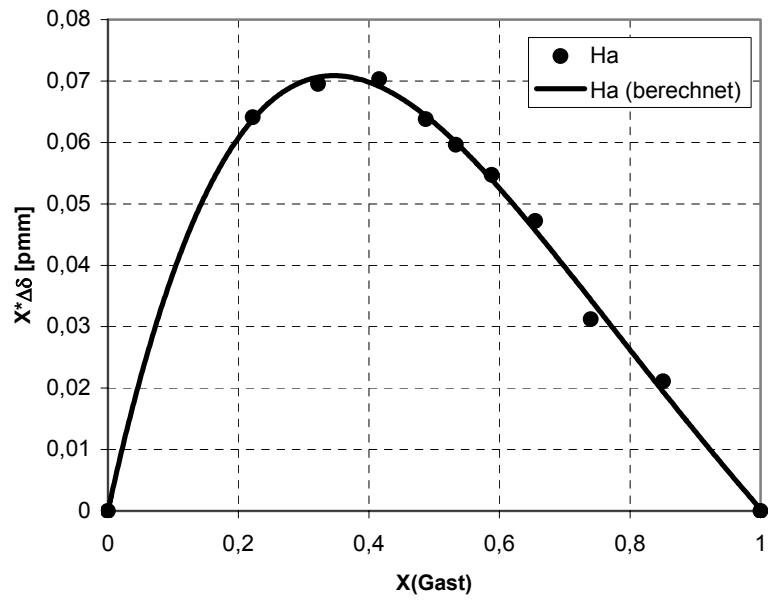
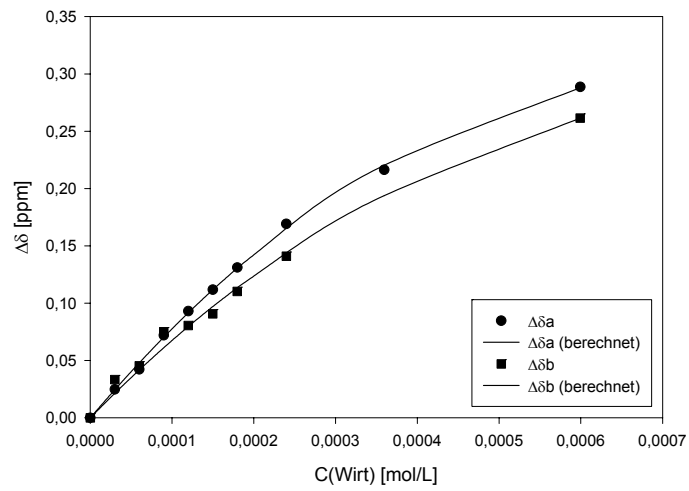
Titration von Wirt 11 mit (S)-Lysinyl-(S)-threoninyl-(S)-threoninyl-(S)-lysin (KTTK) 89

Wirtlösung: 0.859 mg ($1.169 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.837 mg ($1.026 \cdot 10^{-6}$ mol) KTTK \cdot 3TFA **89** in 1750 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	175	0	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	0	3.9847	1.8700
1	175	10	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$3.51 \cdot 10^{-5}$	3.9599	1.8366
2	175	20	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$7.03 \cdot 10^{-5}$	3.9425	1.8247
3	175	30	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$1.05 \cdot 10^{-4}$	3.9127	1.7949
4	175	40	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$1.41 \cdot 10^{-4}$	3.8917	1.7894
5	175	50	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$1.76 \cdot 10^{-4}$	3.8729	1.7793
6	175	60	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$2.11 \cdot 10^{-4}$	3.8536	1.7597
7	175	80	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$3.81 \cdot 10^{-4}$	3.8156	1.7290
8	175	120	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$4.22 \cdot 10^{-4}$	3.7684	1.7010
9	175	200	600	$3.42 \cdot 10^{-4}$	$7.03 \cdot 10^{-4}$	3.6961	1.6085
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.4061	0.4217
						$\pm 5\%$	$\pm 16\%$
K_a (mol/L)						6821	4205
(2:1 Komplex)						$\pm 18\%$	$\pm 45\%$



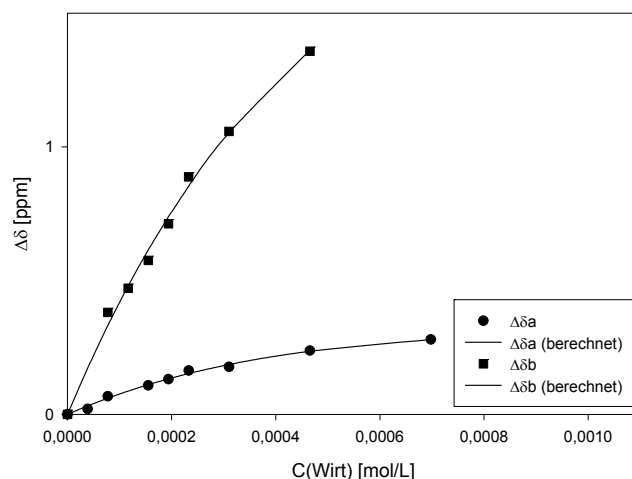
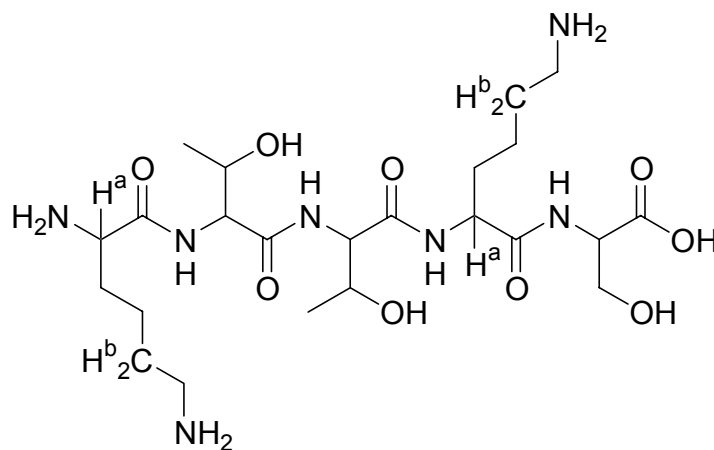


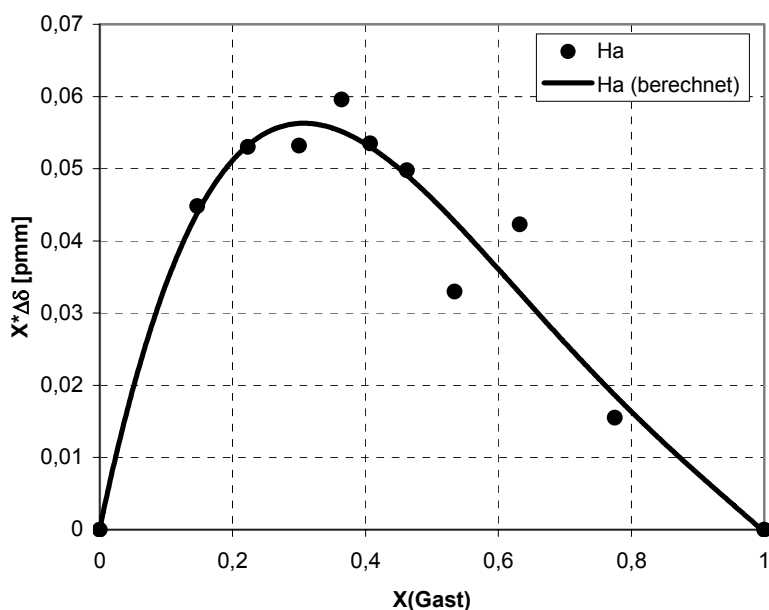
Titration von Wirt **11** mit (S)-Lysinyl-(S)-threoninyl-(S)-threoninyl-(S)-lysinyl-(S)-serin (KTTKS) **90**

Wirtlösung: 1.111 mg ($1.513 \cdot 10^{-6}$ mol) Wirt **11** in 650 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Gastlösung: 0.724 mg ($8.001 \cdot 10^{-7}$ mol) KTTKS \cdot 3TFA **90** in 750 μL 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer (pH 7) in D_2O .

Nr.	V_{Gast} (μL)	V_{Wirt} (μL)	V_{Total} (μL)	C_{Gast} (mol/L)	C_{Wirt} (mol/L)	δ_a (ppm)	δ_b (ppm)
0	75	0	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	0	3.9518	1.4881
1	75	10	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$1.94 \cdot 10^{-5}$	3.9318	-
2	75	20	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$3.88 \cdot 10^{-5}$	3.8848	1.1067
3	75	30	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$5.82 \cdot 10^{-5}$	-	1.0165
4	75	40	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$7.76 \cdot 10^{-5}$	3.8439	0.9121
5	75	50	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$9.70 \cdot 10^{-5}$	3.8204	0.7755
6	75	60	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$1.16 \cdot 10^{-4}$	3.7882	0.6000
7	75	80	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$1.55 \cdot 10^{-4}$	3.7746	0.4300
8	75	120	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$2.33 \cdot 10^{-4}$	3.7136	0.1300
9	75	180	600	$2.66 \cdot 10^{-4}$	$3.49 \cdot 10^{-4}$	3.6722	-
$\Delta\delta_{\text{sat}}$ (ppm)						0.3903	2.620
						$\pm 8\%$	$\pm 15\%$
K_a (mol/L)						4998	3307
(2:1 Komplex)						$\pm 24\%$	$\pm 33\%$





4.3.4 NMR Titrations mit Lösungsmitteln

10, 100, 1000, 10000 und 10900 Äquivalente deuteriertes DMSO werden zu 600 μL einer äquimolaren Lösung aus Wirt **11** und Acetyl-(*S*)-Lysinmethylesterhydrochlorid **83** in 25 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -Puffer (pH 7) in D_2O gegeben ($2 \cdot 10^{-4}$ M), sowie zu eine Referenzlösung, die nur Acetyl-(*S*)-Lysinmethylesterhydrochlorid **83** enthält (gleiche Konzentration). Die kleinen Veränderungen der chemischen Verschiebung in der Referenzlösung wurden von den größeren Effekten im Gast/Wirt-Gemisch abgezogen. Diese Ergebnisse werden in der unten gezeigten Tabelle als $\Delta\delta_{\text{obs}}$ angegeben. Um die Auswirkung von Acetonitril und Methanol vergleichen zu können, wurden zu den oben genannten Proben mit 10 und 100 Äquivalenten jeweils 200 μL deuteriertes Acetonitril beziehungsweise 200 μL deuteriertes Methanol zugegeben.

zugegebenes Lösungsmittel	Äquivalente	$\Delta\delta_{\text{obs.}} (^{\circ}\text{CH}_2)$	$\Delta\delta_{\text{obs.}} (^{\beta}\text{CH}_2)$
DMSO- d_6	10	nicht sichtbar (breites Signal)	-0.52
DMSO- d_6	100	nicht sichtbar (breites Signal)	-0.47
DMSO- d_6	1000	nicht sichtbar (breites Signal)	-0.13
DMSO- d_6	10000	-0.01	-0.01
DMSO- d_6	10900	< -0.01	< -0.01
Acetonitril- d_3	16000	< -0.01	< -0.01
Methanol- d_4	20600	-0.35	-0.10

4.4 Isothermale Titrationskalorimetrie

4.4.1 Das Messgerät

Die Messungen wurden mit einem VP-ITC der Firma *MicroCal* durchgeführt. Gesteuert wird das Gerät mit der WINDOWS™-Software *MicroCal VPViewer*. Die für die Messung verwendete Spritze (250 μL) ist eine Spezialanfertigung der Firma *MicroCal*. Am unteren Ende der langen Nadel geht die Spritze in einen kleinen Rührer über, um durch die Drehung der Spritze die Durchmischung der Lösung in der Messzelle zu gewährleisten. Das Volumen der Messzelle beträgt 1.4211 mL. Die Messzelle lässt sich mit einer Hamilton-Spritze mit entsprechend langer Kanüle befüllen. Die Spritze für das Messgerät wird mit Hilfe eines kleinen Schlauches und einer weiteren Spritze befüllt.

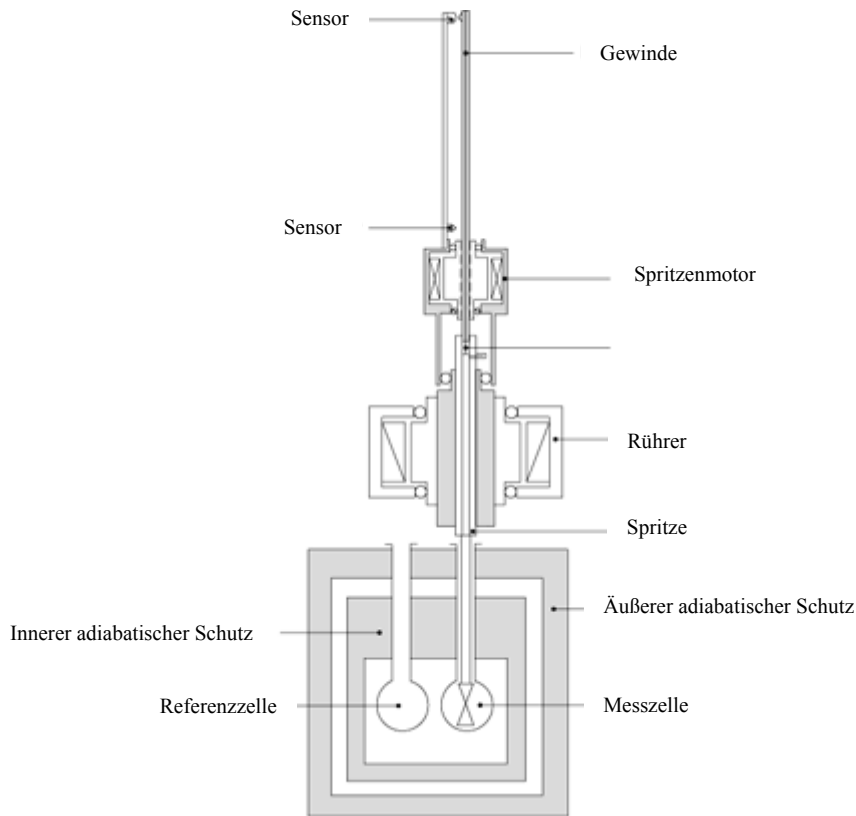


Abb. 4.1 Schematischer Aufbau eines ITC-Gerätes.^[170]

4.4.2 Reinigung des Messgerätes

Die Messzelle muss regelmäßig zuerst mit 200 mL Triton[®]X100-Lösung (1:100 verdünnt) und anschließend mit 1 L Wasser gespült werden. Bei stärkeren Verschmutzungen (wie z. B. bei ausgefallenen Substanzen) kann optional eine Reinigung mit 500 mL 2 %iger SDS-Lösung und anschließend 1.5 L Wasser durchgeführt werden. Die Spritze für die Messungen muss immer gründlich mit Wasser gespült werden. Für die Hamilton-Spritzen empfiehlt es sich noch zusätzlich mit Ethanol zu spülen und anschließend zu trocknen.

4.4.3 Kalibrierung des Messgerätes

Das Kalorimeter muss halbjährlich kalibriert werden, wobei die Kalibrierung mittels einer Reihe elektrischer Standardpulse erfolgt. Die beiden Zellen müssen dazu mit Wasser gefüllt sein. Zur Anpassung der Kalibrierungskonstanten dient ein Mittelwert, der aus den Verhältnissen von gemessener Wärmemenge zu theoretisch zu erwartender Wärmemenge über alle Wärmeimpulse gebildet wird. Die neue Kalibrierungskonstante $const_{neu}$ wird dabei

durch Multiplikation der alten Konstante $const_{alt}$ mit dem durchschnittlichen Verhältnis von erwarteter zu gemessener Wärmemenge erhalten.

$$const_{neu} = const_{alt} \cdot \frac{\sum \frac{W_{erwartet}}{W_{gemessen}}}{Anzahl\ der\ Pulse} \quad (\text{Gleichung 4.1})$$

Diese Anpassung der Kalibrierungskonstante ist allerdings nur notwendig, falls die gemessenen Wärmemengen um mehr als 1 % von den erwarteten Wärmemengen abweichen. Eine Abweichung wurde bisher noch nicht gefunden.

4.4.4 Durchführung der Messungen

Alle Messungen wurden bei 298 K durchgeführt. Dazu wurde das Thermostat des Kalorimeters auf 25°C eingestellt. Um zu verhindern, dass die gemessenen Reaktionswärmen nicht von Mischungseffekten von verschiedenen Lösungsmittel oder von Verdünnungseffekten des Puffers überlagert werden, ist es sehr wichtig sowohl den Gast als auch den Wirt in den gleichen Lösungsmittel (gegebenenfalls mit gleichen Pufferkonzentrationen) zu lösen.

Bevor die Lösungen in die Messzelle bzw. in die Spritze gefüllt werden können, müssen sie unter vermindertem Druck und Rühren entgast werden. Mit einer Hamiltonspritze wird die Protein-Lösung langsam und ohne Luftblasen in die Messzelle gefüllt, die vorher mit dem gleichen Lösungsmittel vorgespült wurde. Beim Befüllen der Spezialspritze mit der Ligandlösung ist ebenfalls darauf zu achten, keine Luftblasen in die Spritze zu bekommen. Da sich durch Luftblasenbildung störende Effekte ergeben können, empfiehlt es sich, bei der ersten Einspritzung nur eine geringe Menge (5 µL) zu verwenden und erst danach mit der eigentlichen Messung zu beginnen.

Nach dem das Gerät die Lösungen in der Zelle vollständig thermostatisiert und die Heizleistung equilibriert hat kann die eigentliche Messung beginnen. Es wurden bis zu 30 Einspritzungen eines Aliquots von je 10 µL durchgeführt. Die Wartezeit zwischen zwei Einspritzungen hängt hauptsächlich davon ab, wie lange das System braucht, um nach einer Einspritzung die Basislinie wieder zu stabilisieren, d.h. die Temperaturdifferenz zwischen Mess- und Referenzzelle auszugleichen. Im vorgliegenden Fall liegt dieser Zeitraum bei einer Rührgeschwindigkeit von 240 Umdrehungen pro Minute bei etwa 300 bis 360 s. Das verwendete Volumen pro Einspritzung hängt von einigen unterschiedlichen Faktoren ab, wie z.B. Gast- und Wirtkonzentration, erwarteter Wärmetönung und Bindungskonstante K. Bei

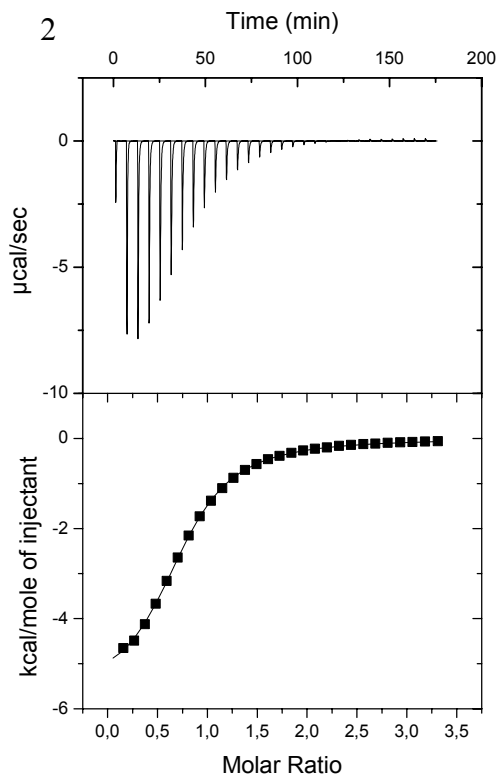
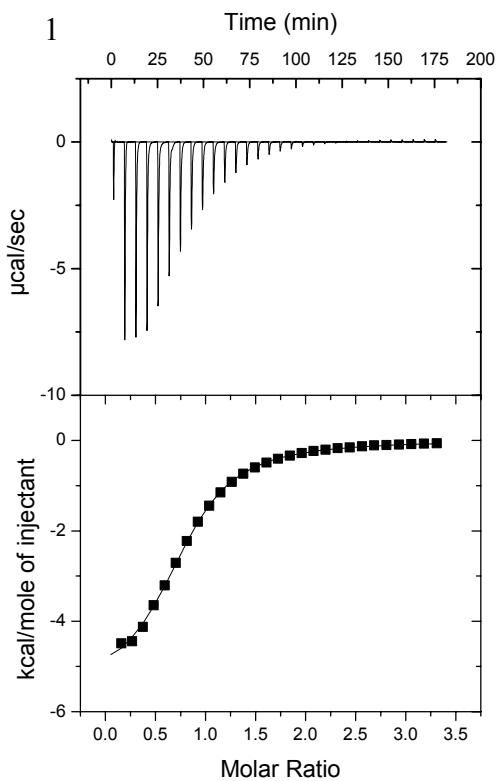
einer 1:1 Bindung müssen die Konzentrationen so gewählt werden, dass die Gesamtkonzentration des Gastes in der Messzelle am Ende der Messung mindestens zweimal so groß ist wie die Gesamtkonzentration an Wirt. Das bedeutet, dass die letzten Signale, die beträchtlich hinter dem Äquivalenzpunkt liegen, nur noch aufgrund von Verdünnungseffekten des Liganden oder unspezifischen Bindungsvorgängen zustande kommen sollten, da zu diesem Zeitpunkt bereits eine nahezu vollständige Sättigung vorliegen sollte. Diese Verdünnungswärme muss daher von der eigentlichen Bindungsisothermen subtrahiert werden. Deswegen sollten für jedes Experiment drei Messungen durchgeführt werden. Einmal nur mit Gast, der in das Lösungsmittel titriert wird, einmal mit Lösungsmittel und Wirtlösung und einmal die eigentliche Titration von der Gast-Lösung in die Wirt-Lösung. Die gemessenen Wärmen der ersten beiden Titrationsen werden zur Bestimmung der eigentlichen Komplexierungswärme von der dritte Titration abgezogen.

Die Anpassung der Bindungsisothermen an die Messpunkte erfolgte nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate (least squares fit). Dabei wurde jede Messung mehrmals durchgeführt, bis mindestens zwei exakt gleiche Kurven erhalten wurden. Für die endgültige Bestimmung der thermodynamischen Parameter des Gast-Wirt-Komplexes wurde der Durchschnitt dieser Messungen verwendet. Die Abweichung zwischen den Messungen betrug maximal 10 %.

4.4.5 Messergebnisse

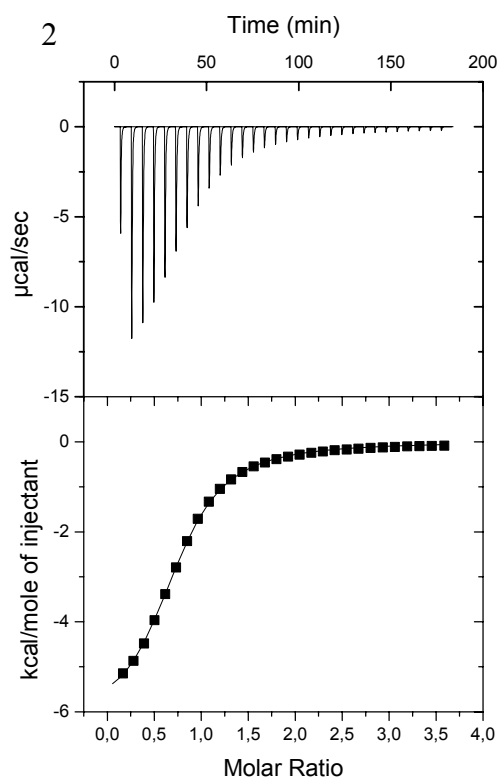
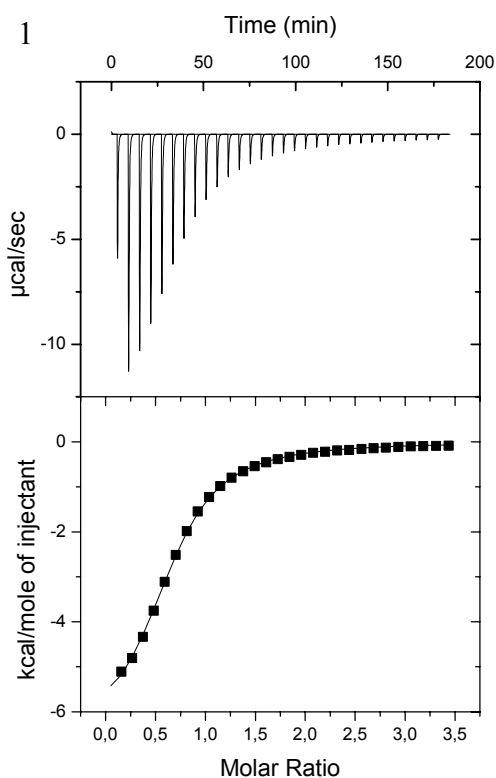
Titration von Wirt **24** ($5.0 \cdot 10^{-4}$ M) mit Thiaminhydrochlorid **75** ($7.5 \cdot 10^{-3}$ M) in Wasser.

Nr.	ΔH° [kJ/mol]	K_a [M^{-1}]	n	$-T\Delta S^\circ$ [kJ/mol]
1	-23.12 ± 0.24	$1.64 \cdot 10^4 \pm 5.9 \cdot 10^2$	0.774 ± 0.006	-0.93
2	-24.07 ± 0.16	$1.60 \cdot 10^4 \pm 3.5 \cdot 10^2$	0.740 ± 0.004	0.10



Titration von Wirt **11** ($5.0 \cdot 10^{-4}$ M) mit Acetyl-(S)-lysinmethylesterhydrochlorid **83** ($7.5 \cdot 10^{-3}$ M) in Wasser.

Nr.	ΔH° [kJ/mol]	K_a [M^{-1}]	n	$-T\Delta S^\circ$ [kJ/mol]
1	-27.48 ± 0.34	$1.50 \cdot 10^4 \pm 5.5 \cdot 10^2$	0.651 ± 0.006	-3.73
2	-26.41 ± 0.16	$1.70 \cdot 10^4 \pm 3.3 \cdot 10^2$	0.735 ± 0.003	-2.35



5. Literatur

- [1] A. D. Robertson, *Trends in Biochem. Sci.* **2002**, *27*, 521-526.
- [2] H. Dugas, *Bioorganic Chemistry*, Springer Verlag, New York, **1996**.
- [3] J.-M. Lehn, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 91-116.
- [4] R. Breslow, *J. Chem. Educ.* **1998**, *75*, 705-718.
- [5] H. Waldmann, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3045-3051.
- [6] S. C. Zimmerman, A. D. Hamilton, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 711-713.
- [7] H.-J. Schneider, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1419-1439.
- [8] R. Breslow, *Isr. J. Chem.* **1979**, *18*, 187-191.
- [9] H.-J. Böhm, G. Klebe, H. Kubinyi, *Wirkstoffdesign*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1996**.
- [10] E. A. Meyer, R. K. Castellano, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1244-1287.
- [11] M. Maue, T. Schrader, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2305-2310.
- [12] E. Fischer, *Chem. Ber.* **1894**, *27*, 2985-2993.
- [13] K. L. Wolf, H. Frahm, H. Harms, *Z. Phys. Chem. (B)* **1937**, *36*, 237-287.
- [14] J.-M. Lehn, *Pure & Appl. Chem.* **1979**, *50*, 871-892.
- [15] D. J. Cram, J. M. Cram, *Science* **1974**, *183*, 803-809.
- [16] E. P. Kyba, R. C. Helgeson, K. Madan, G. W. Gokel, T. L. Tarnowski, S. S. Moore, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2564-2571.
- [17] D. J. Cram, M. deGrandpre, C. B. Knobler, K. N. Trueblood, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3286-3292.
- [18] F. Diederich, B. Felber, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 4778-4781.
- [19] A. V. Davis, R. M. Yeh, K. N. Raymond, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 4793-4796.
- [20] J. Sherman, *Chem. Commun.* **2003**, 1617-1623.
- [21] A. Mulder, J. Huskens, D. N. Reinhoudt, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409-3424.
- [22] C.-W. Chen, H. W. Whitlock, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4921-4922.
- [23] S. C. Zimmerman, *Top. Curr. Chem.* **1993**, *165*, 71-102.
- [24] J. C. Adrian, C. S. Wilcox, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8055-8057.
- [25] D. Mink, G. Deslongschamps, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7035-7038.
- [26] L. J. D'Souza, U. Maitra, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9494-9502.
- [27] P. Magnus, J. C. Morris, V. Lynch, *Synthesis* **1997**, 506-508.
- [28] T. Haino, M. Yanase, Y. Fukazawa, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1044-1046.
- [29] F. C. Krebs, M. Jørgensen, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6169-6173.

- [30] O. Molt, D. Rübeling, T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12086-12087.
- [31] H. M. Colquhoun, Z. Zhu, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5150-5155.
- [32] J. Rebek, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 261-272.
- [33] R. P. Sijbesma, R. J. M. Nolte, *Top. Curr. Chem.* **1995**, *175*, 26-56.
- [34] A. E. Rowan, J. A. A. W. Elemans, R. J. M. Nolte, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 995-1006.
- [35] J. A. A. W. Elemans, A. E. Rowan, R. J. M. Nolte, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2000**, *39*, 3419-3428.
- [36] J. N. H. Reek, J. A. A. W. Elemans, R. de Gelder, P. T. Beurskens, A. E. Rowan, R. J. M. Nolte, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 175-185.
- [37] J. N. H. Reek, A. H. Priem, H. Engelkamp, A. E. Rowan, J. A. A. W. Elemans, R. J. M. Nolte, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9956-9964.
- [38] M. Harmata, T. Murray, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3761-3763.
- [39] M. Harmata, C. L. Barnes, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5655-5657.
- [40] M. Harmata, *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 862-873.
- [41] H. Kurebayashi, T. Haino, S. Usui, Y. Fukazawa, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8667-8674.
- [42] C. A. Hunter, K. R. Lawson, J. Perkins, C. J. Urch, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2001**, 651-669.
- [43] L. Sharma, *J. Incl. Phen. Macrocycl. Chem.* **1998**, *31*, 161-167.
- [44] H. Nemoto, T. Kawano, N. Ueji, N. Sakamoto, T. Araki, N. Miyoshi, I. Suzuki, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 551-553.
- [45] F.-G. Klärner, J. Benkhoff, R. Boese, U. Burkert, M. Kamieth, U. Naatz, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1195-1198.
- [46] J. Benkhoff, R. Boese, F.-G. Klärner, A. E. Wigger, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 73-76.
- [47] J. Benkhoff, R. Boese, F.-G. Klärner, *Liebigs Ann./Recueil* **1997**, 501-516.
- [48] F.-G. Klärner, J. Panitzky, D. Bläser, R. Boese, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3673-3697.
- [49] F.-G. Klärner, B. Kahlert, R. Boese, D. Bläser, A. Juris, F. Marchioni, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3363-3374.
- [50] F.-G. Klärner, B. Kahlert, *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 919-932.
- [51] X.-Z. Zhu, C.-F. Chen, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 917-924.
- [52] M. Kamieth, F.-G. Klärner, *J. Prakt. Chem.* **1999**, *34*, 245-251.
- [53] F.-G. Klärner, U. Burkert, M. Kamieth, R. Boese, J. Benet-Buchholz, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1700-1707.

- [54] M. Kamieth, F.-G. Klärner, F. Diederich, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3497-3500.
- [55] F. Marchioni, A. Juris, M. Lobert, U. P. Seelbach, B. Kahlert, F.-G. Klärner, *New J. Chem.* **2005**, *29*, 780-784.
- [56] F.-G. Klärner, J. Panitzky, D. Preda, L. T. Scott, *J. Mol. Model.* **2000**, *6*, 318-327.
- [57] F.-G. Klärner, J. Polkowska, J. Panitzky, U. P. Seelbach, U. Burkert, M. Kamieth, M. Baumann, A. E. Wigger, R. Boese, D. Bläser, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1405-1423.
- [58] F.-G. Klärner, U. Burkert, M. Kamieth, R. Boese, *J. Phys. Org. Chem.* **2000**, *13*, 604-611.
- [59] S. P. Brown, T. Schaller, U. P. Seelbach, F. Koziol, C. Ochsenfeld, F.-G. Klärner, W. H. Spiess, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 740-743.
- [60] C. Ochsenfeld, F. Koziol, S. P. Brown, T. Schaller, U. P. Seelbach, F.-G. Klärner, *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **2002**, *22*, 128-153.
- [61] C. Ochsenfeld, J. Kussmann, F. Koziol, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4585-4589.
- [62] R. Ruloff, U. P. Seelbach, A. E. Merbach, F.-G. Klärner, *J. Phys. Org. Chem.* **2002**, *15*, 189-196.
- [63] M. Kamieth, U. Burkert, P. S. Corbin, S. J. Dell, S. C. Zimmerman, F.-G. Klärner, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2741-2749.
- [64] C. Jasper, Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg (Marburg), **2001**.
- [65] C. Jasper, T. Schrader, J. Panitzky, F.-G. Klärner, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1411-1415.
- [66] T. Schrader, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2816-2818.
- [67] T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11816-11817.
- [68] M. Herm, T. Schrader, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 47-53.
- [69] T. Schrader, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1537-1541.
- [70] T. Schrader, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 517-520.
- [71] J. C. Ma, D. A. Dougherty, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1303-1324.
- [72] Die elektrostatischen Oberflächenpotentiale wurden von Prof. F.-G. Klärner (Universität Duisburg-Essen, Essen) berechnet.
- [73] M. Kamieth, Dissertation, Universität Essen (Essen), **1998**.
- [74] J. Panitzky, Dissertation, Universität Essen (Essen), **2001**.
- [75] M. Fokkens, C. Jasper, T. Schrader, F. Koziol, C. Ochsenfeld, J. Polkowska, M. Lobert, B. Kahlert, F.-G. Klärner, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 477-494.
- [76] D. N. Butler, R. A. Snow, *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, 256-262.
- [77] B. Atasoy, F. Bayramoglu, T. Hökelek, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 5753-5764.

- [78] C. Verhaelen, Essen, **2002**, Persönliche Mitteilung.
- [79] L. Fielding, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6151-6170.
- [80] J. A. A. W. Elemans, M. B. Claase, P. P. M. Aarts, A. E. Rowan, A. Schenning, R. J. M. Nolte, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7009-7016.
- [81] C. T. Lauhon, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1246-1257.
- [82] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1994**.
- [83] A. Ferscht, *Enzyme Structure and Mechanism*, W. H. Freeman and Company, New York, **1985**.
- [84] L. Gorton, E. Domínguez, in *Bioelectrochemistry* (Eds.: A. J. Bard, M. Stratmann, G. S. Wilson), Wiley-VCH GmbH, Weinheim, **2002**.
- [85] A. Wilkinson, J. Day, R. Bowater, *Mol. Microbiol.* **2001**, *40*, 1241-1248.
- [86] J. Y. Lee, C. Chang, H. K. Song, J. Moon, J. K. Yang, H.-K. Kim, S.-T. Kwon, S. W. Suh, *EMBO J.* **2000**, *19*, 1119-1129.
- [87] M. G. Rossmann, D. Moras, K. W. Olsen, *Nature* **1974**, *250*, 194-199.
- [88] A. M. Lesk, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, *5*, 775-783.
- [89] C. A. Bottoms, P. E. Smith, J. J. Tanner, *Protein Sci.* **2002**, *11*, 2125-2137.
- [90] S. Ramaswamy, M. ElAhmad, O. Danielsson, H. Jörnvall, H. Eklund, *Protein Sci.* **1996**, *5*, 663-671.
- [91] F. P. Schmidtchen, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 597-607.
- [92] H. Fenniri, M. W. Hosseini, J.-M. Lehn, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 786-803.
- [93] A. Doménech, E. García-España, J. A. Ramírez, B. Celda, M. C. Martínez, D. Monleón, R. Tejero, A. Bencini, A. Bianchi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1999**, 23-32.
- [94] F.-G. Klärner, Essen, **2005**, Persönliche Mitteilung.
- [95] S. Ben-Shabat, C. A. Parish, M. Hashimoto, J. Liu, K. Nakanishi, J. R. Sparrow, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1533-1540.
- [96] G. Wolf, *Nutrition Rev.* **2003**, *61*, 342-346.
- [97] C. N. Keilhauer, B. H. F. Weber, *BIOspektrum* **2003**, Heft 1, 1-4.
- [98] H. Shaban, C. Borrás, J. Viña, C. Richter, *Exp. Eye Res.* **2002**, *75*, 99-108.
- [99] J. R. Sparrow, A. S. Miller, J. Zhou, *J. Cataract. Refract. Surg.* **2004**, *30*, 873-878.
- [100] C. A. Parish, M. Hashimoto, K. Nakanishi, J. Dillon, J. R. Sparrow, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *95*, 14609-14613.
- [101] M. Suter, C. Remé, C. Grimm, A. Wenzel, M. Jäättela, P. Esser, N. Kociok, M. Leist, C. Richter, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 39625-39630.

- [102] S. De, T. Sakmar, *J. Gen. Physiol.* **2002**, *120*, 147-157.
- [103] S. Ben-Shabat, Y. Itagaki, S. Jockusch, J. R. Sparrow, N. J. Turro, K. Nakanishi, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 842-845.
- [104] J. R. Sparrow, N. Fishkin, J. Zhou, B. Cai, Y. P. Jang, S. Krane, Y. Itagaki, K. Nakanishi, *Vision Res.* **2003**, *43*, 2983-2990.
- [105] Das A2E wurde uns freundlicherweise von Dr. Christoph Richter (ETH Zürich) zur Verfügung gestellt.
- [106] K. Ariga, T. Kunitake, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 371-378.
- [107] P. W. Atkins, *Physical Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, **1994**.
- [108] H. Rehage, B. Achenbach, F.-G. Klärner, *Langmuir* **2002**, *18*, 7115-7119.
- [109] S. Sivakova, S. J. Rowan, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 9-21.
- [110] A. D. Hamilton, N. Pant, A. Muehldorf, *Pure & Appl. Chem.* **1988**, *60*, 533-538.
- [111] B. Askew, P. Ballester, C. Buhr, K. S. Jeong, S. Jones, K. Parris, K. Williams, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1082-1090.
- [112] K. Williams, B. Askew, P. Ballester, C. Buhr, K. S. Jeong, S. Jones, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1090-1094.
- [113] S. C. Zimmerman, W. Wu, Z. Zeng, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 196-201.
- [114] A. V. Eliseev, H.-J. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6081-6088.
- [115] O. F. Schall, G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6089-6100.
- [116] V. Král, A. Cattani, A. Sinica, F. P. Schmidtchen, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 7829-7834.
- [117] M. Takase, M. Inouye, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1134-1137.
- [118] M. C. Rotger, J. F. González, P. Ballester, P. M. Deyà, A. Costa, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4501-4505.
- [119] Y. Kato, M. M. Conn, J. Rebek, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1995**, *92*, 1208-1212.
- [120] R. Luo, M. K. Gilson, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2934-2927.
- [121] P. Cudic, M. Žinic, V. Tomišić, V. Simeon, J.-P. Vigneron, J.-M. Lehn, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1073-1075.
- [122] J. Balzarini, P. Herdewijn, E. De Clercq, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 6127-6133.
- [123] D. Wu, J. G. Clement, W. M. Pardridge, *Brain Res.* **1998**, *791*, 313-316.
- [124] P. Ballester, M. A. Barceló, A. Costa, P. M. Deyà, J. Morey, M. Orell, C. A. Hunter, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3849-3853.
- [125] S. R. Waldvogel, R. Fröhlich, C. A. Schalley, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2580-2583.
- [126] S. Goswami, A. K. Mahapatra, R. Mukherjee, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 2717-2726.

- [127] R. Fiammengo, M. Crego-Calama, P. Timmerman, D. N. Reinhoudt, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 784-792.
- [128] F. Jordan, *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 184-201.
- [129] C. K. Singleton, P. R. Martin, *Curr. Mol. Med.* **2001**, *1*, 197-207.
- [130] A. Schellenberger, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, *1385*, 177-186.
- [131] L. Reed, *Acc. Chem. Res.* **1974**, *7*, 40-46.
- [132] M. Pohl, B. Lingen, M. Müller, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 5288-5295.
- [133] F. Guo, D. Zhang, A. Kahyaoglu, R. S. Farid, F. Jordan, *Biochemistry* **1998**, *37*, 13379-13391.
- [134] S. König, A. Schellenberger, H. Neef, G. Schneider, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 10879-10882.
- [135] V. Sklenar, M. Piotto, R. Leppik, V. Saudek, *J. Magn. Res. (A)* **1993**, *102*, 241-245.
- [136] O. Molt, D. Rübeling, G. Schäfer, T. Schrader, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4225-4232.
- [137] T. Schrader, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 264-272.
- [138] T. Schrader, *J. Incl. Phen. Macrocycl. Chem.* **1999**, *34*, 117-129.
- [139] A. M. Burger, A. K. Seth, *Eur. J. Cancer* **2004**, *40*, 2217-2229.
- [140] R. N. Dutnall, S. T. Tafrov, R. Sternglanz, V. Ramakrishnan, *Cell* **1998**, *94*, 427-438.
- [141] J. W. Cuzzo, G. G. Sahagian, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 14490-14496.
- [142] J.-S. Yang, S. Y. Lee, M. Gao, S. Bourgoïn, P. A. Randazzo, R. T. Premont, V. W. Hsu, *J. Cell Biol.* **2002**, *159*, 69-78.
- [143] D. H. Williams, B. Bardsley, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1264-1286.
- [144] C. Guttman, *Dermatology Times*, 1. September **2002**.
- [145] L. O. Tjernberg, C. Lilliehöök, D. J. E. Callaway, J. Näslund, S. Hahne, J. Thyberg, L. Tereius, C. Nordstedt, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 12601-12605.
- [146] G. Varani, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 189-195.
- [147] R. O. Hynes, *Cell* **1992**, *69*, 11-25.
- [148] A. E. Aplin, A. Howe, S. K. Alahari, R. L. Juliano, *Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 197-263.
- [149] E. Eiríksdóttir, H. Myrberg, M. Hansen, Ü. Langel, *Drug Design Rev. - Online* **2004**, *1*, 164-173.
- [150] K. Fuji, K. Tsubaki, K. Tanaka, N. Hayashi, T. Otsubo, T. Kinoshita, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3807-3808.
- [151] C. P. Mandl, B. König, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 670-674.

- [152] N. Douteau-Guével, F. Perret, A. W. Coleman, J.-P. Morel, N. Morel-Desrosiers, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2002**, 524-532.
- [153] G. Cafeo, G. Gattuso, F. H. Kohnke, A. Notti, S. Occhipinti, S. Pappalardo, M. F. Parisi, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2226-2230.
- [154] S. E. Thompson, D. B. Smithrud, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 442-449.
- [155] S. M. Ngola, P. C. Kearney, S. Mecozzi, K. Russell, D. A. Dougherty, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1192-1201.
- [156] T. W. Bell, A. B. Khasanov, M. G. B. Drew, A. Filikov, T. L. James, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2705-2709.
- [157] T. W. Bell, A. B. Khasanov, M. G. B. Drew, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14092-14103.
- [158] K. A. Schug, W. Lindner, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 67-113.
- [159] S. Rensing, M. Arendt, A. Springer, T. Grawe, T. Schrader, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5814-5821.
- [160] S. Rensing, T. Schrader, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2161-2164.
- [161] M. Famulok, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1698-1706.
- [162] F.-G. Klärner, C. Verhaelen, C. A. Schalley, U. Hahn, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 481-485.
- [163] C. A. Burnett, D. Witt, J. C. Fettinger, L. Isaacs, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6184-6191.
- [164] M. L. Doyle, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1997**, *8*, 31-35.
- [165] M. J. Blandamer, P. M. Cullis, J. B. F. N. Engberts, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1998**, *94*, 2261-2267.
- [166] I. Jelesarov, H. R. Bosshard, *J. Mol. Recognit.* **1999**, *12*, 3-18.
- [167] G. A. Holdgate, *BioTechniques* **2001**, *30*, 164-184.
- [168] T. Wiseman, S. Williston, J. F. Brandts, L.-N. Lin, *Anal. Biochem.* **1989**, *179*, 131-137.
- [169] J. E. Ladbury, B. Z. Chowdhry, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 791-801.
- [170] *VP-ITC MicroCalorimeter User's Manual*, Microcal LLC, Northampton, MA, USA.
- [171] J. Fokkens, Dissertation, Philipps-Universität Marburg (Marburg), **2005**.
- [172] W. B. Turnbull, A. H. Daranas, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14859-11486.
- [173] M. J. Blandamer, P. M. Cullis, P. T. Gleeson, *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*, 264-267.
- [174] F. Dullweber, M. T. Stubbs, Đ. Musil, J. Stürzebecher, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **2001**, *313*, 593-614.
- [175] J. P. Gallivan, D. A. Dougherty, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 870-874.

- [176] T. L. James, K. Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2038-2050.
- [177] K. Dalziel, in *The Enzymes, Vol. XI* (Ed.: P. D. Boyer), Academic Press, New York, **1975**.
- [178] S. P. Vincent, J.-M. Lehn, J. Lazarte, C. Nicolau, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2825-2834.
- [179] L. S. Lerman, *J. Mol. Biol.* **1961**, *3*, 18-30.
- [180] K. E. Erkkila, D. T. Odom, J. K. Barton, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2777-2795.
- [181] A. Takaki, K. Utsumi, T. Kajiki, T. Kuroi, T. Nabeshima, Y. Yano, *Chem. Lett.* **1997**, 75-76.
- [182] V. Gramlich, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1066-1095.
- [183] H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghänel, J. Faust, M. Fischer, F. Gentz, K. Gewalt, R. Gluch, R. Mayer, K. Müller, D. Pavel, H. Schmidt, K. Schollberg, K. Schwetlick, E. Seiler, G. Zeppenfeld, *Organikum*, J. A. Barth Verlag, Heidelberg, **1996**.
- [184] D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, Pergamon Press, New York, **1988**.
- [185] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.
- [186] H. E. Gottlieb, V. Kotyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.
- [187] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, Thieme, Stuttgart, **1995**.
- [188] T. G. Ruardy, J. M. Schakenraad, H. C. van der Mei, H. J. Busscher, *Surface Science Reports* **1997**, *29*, 1-30.
- [189] W. C. Still, A. Tempczyk, R. C. Hawley, T. Hendrickson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6127-6129.
- [190] A. R. Leach, *Molecular Modelling*, Pearson Education Limited, Harlow, **2001**.
- [191] *Tripod Sybyl Force Field Manual Version 6.6*, St. Louis, Missouri, **1999**.
- [192] W. L. DeLano, *Pymol 0.97*, DeLano Scientific LLC, San Carlo, California, **2004**, <http://www.pymol.org>
- [193] P. Job, *Compt. Rend.* **1925**, *180*, 928-930.
- [194] P. Job, *Compt. Rend.* **1927**, *185*, 113-135.

Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation

Wasserlösliche molekulare Klammern und Pinzetten zur Komplexierung von biorelevanten Molekülen

selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den 10. Juni 2005

(Michael Fokkens)

LEBENS LAUF MICHAEL MILAN FOKKENS

10. Juni 1976 Geboren in Amsterdam (NL).
- Juli 1988 Abschluss der Grundschule *De Emmausschool*, Arnhem (NL).
- Juni 1995 Erreichen des *Diploma voorbereidend wetenschappelijke onderwijs (VWO)* am *Thomas a Kempis College*, Arnhem (NL).
- Oktober 1998 Erreichen des Vordiploms in Chemie an der Universität Karlsruhe (TH).
- März – April 2000 Bayer AG, Leverkusen, Angestellt in der Zentralen Forschung.
- Januar 2001 Diplomprüfung des Chemiestudiums an der Universität Karlsruhe (TH), in den Fächer Anorganische Chemie, Physikalische Chemie, Organische Chemie und Biochemie.
- September 2001 Abgabe der Diplomarbeit in der Organischen Chemie zum Thema: „*Neuartige Inhibitoren der Rezeptor-Tyrosin-Kinasen*“ in dem Arbeitskreis von Prof. Athanassios Giannis an der Universität Karlsruhe (TH).
- Juli 2005 Ende der Promotion mit dem Thema „*Wasserlösliche molekulare Klammern und Pinzetten zur Komplexierung von biorelevanten Molekülen*“ in dem Arbeitskreis von Prof. Thomas Schrader an der Philipps-Universität Marburg.