

MOLEKULARE KAPSELN UND PROTEIN- REZEPTOREN AUF CALIXAREN - BASIS

Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Reza Zadmard
aus Teheran/ IRAN

Marburg/ Lahn 2003

Vom Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am 27.11.2003 angenommen.

Erstgutachter: Prof. Dr. T. Schrader

Zweitgutachter: Prof. Dr. G. Hilt

Tag der mündlichen Prüfung: 15.12.2003

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Schrader in der Zeit von September 2000 bis Dezember 2003 am Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg angefertigt.

Herrn Prof. Dr. T. Schrader danke ich herzlich für die interessante Aufgabenstellung, sein Vertrauen in mich und meine Arbeit auch in weniger erfolgreichen Zeiten und seine wertvollen Anregungen, die maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Dr. U. Linne möchte ich mich für die hervorragende Zusammenarbeit und die Korrektur dieser Arbeit herzlich bedanken.

All meinen Kollegen danke ich für viele Anregungen, Diskussionen und die unterstützende Zusammenarbeit. Stellvertretend seien hier besonders erwähnt Frau Dipl. Chem. Petra Rzepecki, Herr Dr. O. Molt, Herren Dipl. Chem. M. Arendt, Herr G. Schäfer. Vor allem bedanke ich mich bei dem gesamten Arbeitskreis für die sehr offene und freundschaftliche Atmosphäre.

Herren Dipl. Chem. M. Maue, M. Fokkens, C. Renner und M. Junkers für die Korrektur dieser Arbeit; letzterem danke ich zusätzlich für die Hilfe bei hier und da auftretenden Computerproblemen.

Bedanken möchte ich mich auch bei den analytischen Abteilungen der Philipps-Universität Marburg. Besonderer Dank gebührt der NMR-Abteilung für die Anfertigung zahlreicher Spektren. Ferner möchte ich mich bei den Arbeitskreisen *Essen*, *Marahiel* und *Klebe* für die das zur Verfügung stellen zahlreiche Proteine bedanken.

Außerdem danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung. Ebenfalls Dank gebührt dem "*Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran*" die mir ermöglicht hat in Deutschland zu promovieren.

Besonders bedanke ich mich bei meiner Frau Mahboobeh für ihre Unterstützung .

Für meine kleine Familie

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht

1. R. Zadmard, T. Schrader, T. Grawe, A. Kraft;

“Self-assembly of molecular capsules in polar solvents.”

Org. Lett. 4(10), 1687-1690, **2002**.

2. R. Zadmard, M. Junkers, T. Schrader, T. Grawe, A. Kraft;

“Capsule-like Assemblies in Polar Solvents.”

J. Org. Chem. 68 (11), 6511-6521, **2003**.

3. R. Zadmard, T. Schrader, U. Linne;

„Relative Binding Affinities of Molecular Capsules investigated by ESI-MS.“

Chem. Eur. J. **2004**, Submitted.

4. R. Zadmard, T. Schrader;

“Multipoint Recognition of Basic Proteins at a Membrane Model.”

J. Am. Chem. Soc. **2003**, in Revision.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
1.1	Selbstorganisation in der Natur	1
1.2	Künstliche Selbstorganisierte Kapseln.....	2
1.3	Selbstorganisierte molekularen Kapseln aus Calix[4]arenen	4
2	Theoretischer Teil.....	8
2.1	Vorarbeiten und Problemstellung	8
2.1.1	Vorarbeiten.....	8
2.1.1	Problemstellung.....	10
2.2	Molekulare Kapseln durch Selbstorganisation von starren kationischen und anionischen Calix[4]aren-Halbschalen.....	14
2.2.1	Calix[<i>n</i>]arene	14
2.2.2	Synthese der Calix[4]aren Bausteine	16
2.2.2.1	Calix[4]aren - Tetracarboxylat 13	18
2.2.2.2	Calix[4]aren - Tetraphosphonat 20	20
2.3	Bindungsstudien an den molekularen Kapseln	22
2.4	Bestimmung der relativen Bindungsstärken und Stabilitäten der molekularen Kapseln durch ESI-MS.....	32
2.4.1	Bestimmung der Bindungskonstanten von supramolekularen Komplexen.	32
2.4.2	Elektrospray - Ionisations - Massenspektrometrie (ESI-MS)	33
2.4.3	ESI-MS in der Supramolekularen Chemie	34
2.4.4	Bestimmung der relativen Bindungskonstanten der molekularen Kapseln durch ESI-MS.....	37
2.4.5	Bestimmung der relativen Gasphasenstabilität der molekularen Kapseln durch ESI-MS/MS	46
2.5	Gasteinlagerung in die molekularen Kapseln.....	54
2.5.1	Synthese von Calix[4]arenen mit tiefen Kavitäten.....	60
2.5.2	Kovalent verknüpfte Calix[4]arene - Dimere.....	63
2.5.2.1	Synthese der Calix[4]aren - Dimere	65
2.5.2.1.1	Positiv geladene Dimere.....	65
2.5.2.1.2	Bindungsstudien mit den positiv geladenen Calix[4]aren - Dimeren	67

2.5.2.1.3	Negativ geladene Dimere	71
2.6	Calix[4]arentetraphosphonat 20 als neuer Rezeptor in polaren Lösungsmitteln und in Stearinsäure-Monoschichten an der Wasser-Luft-Grenzschicht	74
2.6.1	Calix[4]arentetraphosphonat 20 als neuer Rezeptor für kationische Gäste	74
2.6.2	Einlagerung des Rezeptors 20 in Stearinsäuremonoschichten an der Luft/Wasser-Grenzschicht.....	80
2.6.2.1	Molekulare Erkennung in einfachen Membranmodellen.....	80
2.6.3	Untersuchung des Rezeptors 20 an der Luft/Wasser-Grenzfläche.....	83
2.6.4	Bindungseigenschaften des Rezeptors 20 in einer Stearinsäuremonoschicht..	87
2.6.4.1	Multipunkt-Wechselwirkungen an der Luft/Wasser-Grenzfläche	90
3	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	99
4	EXPERIMENTELLER TEIL.....	105
4.2	ALLGEMEINE METHODEN	106
4.3	Synthesen.....	108
5	ANHANG.....	126
5.1	¹ H-NMR-Wirt-Gast-Titrationen.....	126
5.2	Untersuchungen zur Komplexstöchiometrie nach <i>Job</i>	129
5.3	NMR-Titrationen mit Calix[4]arentetraphosphonat-Rezeptor 20.....	132
5.4	Untersuchungen zur Komplexstöchiometrie nach <i>Job</i>	134
5.5	NMR-Titrationen mit Rezeptor 32.....	137
5.6	Untersuchungen zur Komplexstöchiometrie nach <i>Job</i>	140
6	Abkürzungsverzeichnis	142
7	Literaturverzeichnis	143

1 Einleitung

1.1 Selbstorganisation in der Natur

Selbstorganisierte molekulare Container werden von der Natur in unterschiedlicher Form genutzt. Viele Biomoleküle erfüllen ihre Funktion nur in Form von Aggregaten mehrerer gleicher oder ähnlicher Kopien ihrer selbst.

Es gibt viele weitere Funktionen, die auf der Selbstorganisation einfacher Bausteine zu komplexeren Gebilden beruhen, dazu gehören beispielweise der Transport von Ionen durch die Zellmembran, die Energieversorgung der Zelle durch die ATP-Synthese und die Replikation der Erbinformation.¹

Tatsächlich benutzt die Natur für viele essentielle, komplexe Vorgänge selbstorganisierte Systeme, deren Vielfalt und Effizienz den supramolekularen Chemiearchitekten außerordentlich beeindrucken. Viren, Multienzymkomplexe und viele an der Energiegewinnung beteiligte Systeme (Atmungskette, Photosysteme etc.) sowie der gesamte Apparat der genetischen Vervielfältigung basieren wesentlich auf der intermediären Bildung definierter, selbstorganisierter Komplexe, die die grundlegenden Lebensvorgänge steuern und ermöglichen.

Der einfachste Zugang zu selbstorganisierten größeren kaspelartigen Gebilden ist die seit den sechziger Jahren bekannte Herstellung von Vesikeln aus Phospholipiden, welche allerdings relativ instabil sind und von Leber und Milz im menschlichen Körper zurückgehalten werden. In der Mitte der neunziger Jahre wurden einige Verfahren zu Darstellung von hohlen und porösen Polymerkapseln auf dem Weg der Emulsionspolymerisation oder durch Grenzflächenpolymerisation entwickelt.² Der Hauptnachteil dieser Methoden sind die für den Einschluß von empfindlichen Materialien ungeeigneten aggressiven experimentellen Bedingungen. Ein vielversprechender Ansatz besteht jedoch weiterhin in der Selbstorganisation amphiphiler Block-Copolymere mit anschließender Vernetzung der Hülle und nachträglichem Abbau des Kerns.³

1.2 Künstliche Selbstorganisierte Kapseln

Um das Verständnis solcher Selbstorganisationsprozesse anhand einfacher Systeme bemüht sich innerhalb der Supramolekularen Chemie der Zweig der molekularen Erkennung. An Modellsystemen werden die schwachen Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrücken, π - π -Stapeleffekte, Charge-Transfer Wechselwirkungen und Van-der-Waals-Kräfte untersucht, die Komplexe reversibel und geordnet zusammenbringen.

Um sehr starke Assoziate zu erhalten, wurden künstliche Rezeptormoleküle entwickelt, die gezielt polyvalente Wechselwirkungen ausnutzen. Ein klassisches Beispiel für eine solche Chelatanordnung bietet der Einsatz von Ethylendiamin in der metallorganischen Chemie. Hierbei kommt es zu einer Bindungsverstärkung zwischen Donorgruppen (wie einem Amin) und einem Metallion, da die Donorgruppen durch einen geeigneten Linker kovalent miteinander verbrückt sind. Um welchen Betrag sich die Assoziationskonstante verändert, hängt sehr von der Struktur und Geometrie der gewählten Spacer ab. Das hat zur Folge, daß die Bindungskonstante für die monovalente Wechselwirkung zwischen Methylamin und Eisen kleiner ist als die der entsprechend polyvalenten Wechselwirkung zwischen Ethylendiamin und Eisen. Eine Reihe weiterer supramolekularer Arbeiten in der Metallorganik beschäftigen sich mit der Synthese von Komplexen basierend auf dem gezielten Einsatz mehrfacher chelat Wechselwirkungen. Nach ersten Zweikomponentensystemen von Schwabacher⁴ und Deshayes⁵ für aromatische Gäste berichteten Klüfers et al. über Cyclodextrindimere, die in alkalischer Lösung am oberen Rand über multiple Chelatkoordination an Cu- oder Pb-Ionen zu geschlossenen Schalen zusammengefügt wurden.^{6,7} Fujita benutzt multiple Pyridin-Pd(II)-Koordinat ion zum Aufbau von molekularen Kapseln im Nanometer-Maßstab.^{8, 9, 10} In jüngster Zeit beschrieb er den Prototyp einer dynamischen Molekülbibliothek, aus der ein Gast eine definierte Pd(II)-verknüpfte Kapsel auswählt. Zur Anwendung in physiologischer Lösung erscheint allerdings problematisch, daß biologische starke Liganden wie Amine, Aminosäuren und Phosphate mit den zur Selbstorganisation nötigen Metallkationen um Ligandenplätze konkurrieren könnten und so die Kapsel auflösen würden.

Auch Calixarene haben in jüngerer Zeit als vielfältige Rezeptormoleküle für kleine Gäste gedient. Dabei bilden sie gerne kapselähnliche Strukturen.

Eine Zusammenfassung sieht man in der Abbildung 1. Calixarene werden unter anderem verwendet:¹¹

a als Biomimetische Rezeptor für Bioaktive Gäste wie Aminosäuren und Carbohydrate.¹²

b als Bausteine für Molekulare Kapseln.¹³

c als Bausteine für nicht-kovalente Darstellung von Nanostrukturen.¹⁴

d als Multivalente Liganden für biologische Prozesse.¹⁵

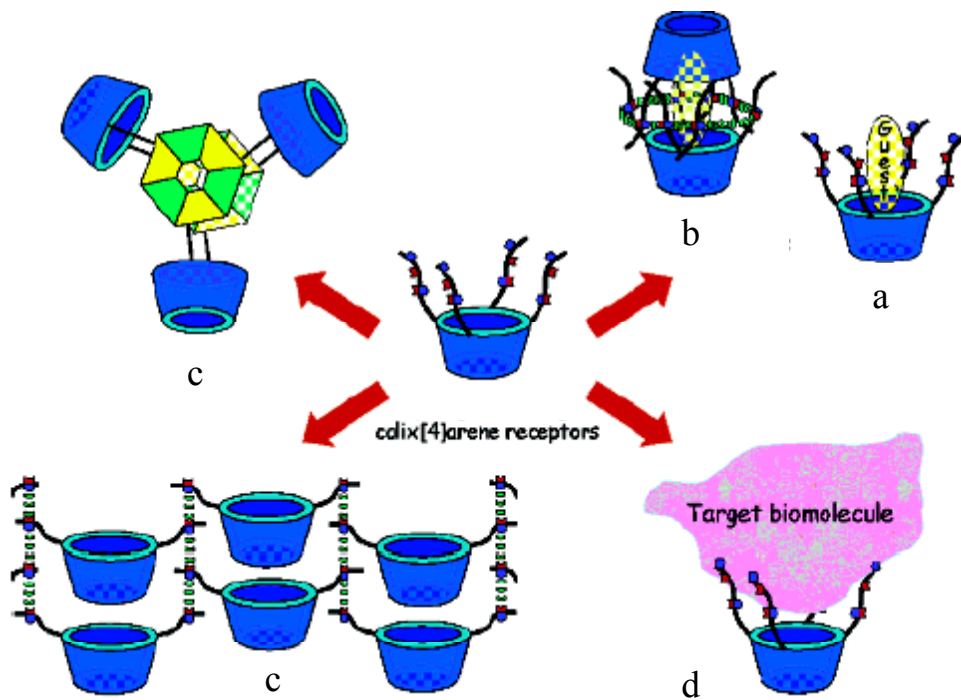


Abb. 1: Verschiedene Anwendungen von Calix[4]arendervativen.¹¹

Die Punkte a, b und d bilden das Programm für diese Arbeit.

1.3 Selbstorganisierte molekulare Kapseln aus Calix[4]arenen

Moleküle, die supramolekulare Kapseln bilden, sind durch zwei grundlegende Eigenschaften definiert: der Fähigkeit zur Selbstorganisation und zur Verkapselung von Gastmolekülen. Die Selbstorganisation beruht auf Kapselbausteinen mit komplementären funktionellen Gruppen, die reversible nicht kovalente Wechselwirkungen eingehen können. Bei den beim Aufbau von Kapseln auftretenden nichtkovalenten Kräften handelt es sich um Wasserstoff-Brücken sowie ionische und Metall-Ligand Wechselwirkungen.^{16,17,18}

Obwohl diese Kapseln mit dem ausdrücklichen Ziel hergestellt werden, Gastmoleküle vom umgebenden Lösungsmittel zu isolieren, kann man die Rolle des Lösungsmittels bei der Bildung der Kapseln nicht vernachlässigen. Das Medium darf die Wechselwirkungen, die die Bausteine der Kapseln zusammenhalten, nicht zerstören.

Kapseln, die über starke ionische und Metall-Ligand-Wechselwirkungen zusammengehalten werden, werden normalerweise durch gut koordinierende Lösungsmittel nicht aufgebrochen, sind also auch in polaren Lösungsmitteln wie Methanol oder Methanol/Wasser-Gemischen und sogar reinem Wasser stabil.¹⁷ Im Gegensatz dazu sind über Wasserstoff-Brücken aufgebaute Kapseln, außer jenen, die zusätzlich durch ionische Wechselwirkungen zusammengebaut sind, in wässrigem Medium nicht stabil.¹⁹

Die Geschichte der reversibel gebildeten kleinen, definierte zusammengesetzten molekulare Kapseln begann mit dem „Tennisball“ **1** von Rebek. Das Monomer **2** besteht aus zwei Glycoluril-Untereinheiten, die an einem zentralen aromatischen Gerüst befestigt sind, die Glycolurileinheiten sorgen für die Krümmung des Gerüsts und für das selbstkomplementäre H-Brücken-Bindungsmotiv. Diese kleine Kapseln werden von acht Wasserstoff-Brücken in unpolaren Lösungsmitteln zusammengehalten.²⁰

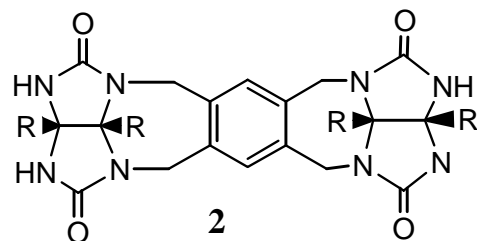
**1**

Abb. 2: Selbstorganisierte dimere Kapseln aus Glycolurileinheiten.

Calix[4]arene und Resorcin[4]arene haben sich zu sehr wertvollen Standarduntereinheiten für selbstorganisierte Kapseln entwickelt. Beide Molekülklassen können variable Konformationen einnehmen, die sich durch Derivatisierung in einer einzigen schalenförmigen Konformation, einer „Cone-Konformation“, fixieren lassen. Die konkave Gestalt einer solchen Schale bildet die eine Hälfte einer geschlossenen Hülle. Zur Dimerisierung zweier Schalen kann eine Vielfalt an funktionellen Gruppen herangezogen werden.²¹

Sekundäre Harnstoffgruppen, die am oberen, weiteren Rand von Calix[4]arenen wie **3** angebracht wurden, können in Gegenwart eines passenden Gastmoleküls zwei Calixaren-Monomere miteinander verzahnen und eine gerichtete Naht aus 16 H-Brücken entlang des Äquators einer Dimeren Kapsel bilden, die in unpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform stabil sind.²²

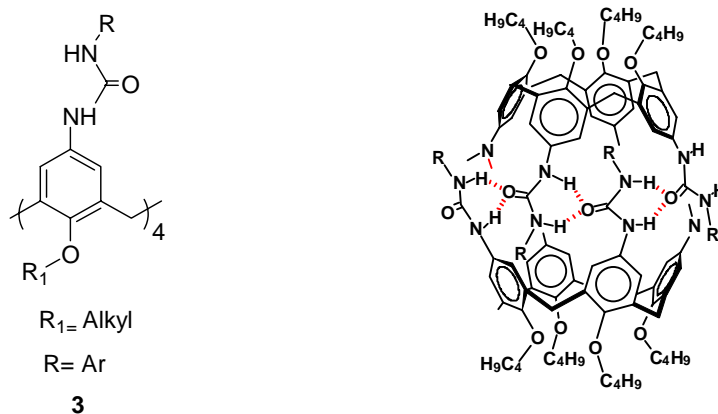


Abb. 3: Lewis-Struktur der Kapsel aus dem Calix[4]arenharnstoffderivat.

Neben der obengenannten in unpolaren Lösungsmitteln stabilen Harnstoff-Kapsel (Abb. 3), die gleichzeitig von *Rebek* und *Böhmer* genau untersucht worden ist, gibt es seit einigen Jahren eine neue Serie von molekularen Kapseln, die durch multiple ionische Wechselwirkungen auch in polaren Lösungsmitteln stabil sind.

Vor einem Jahr hat *Reinhoudt* gezeigt, dass Calix[4]arentetrasulfonat mit einem Tetrazincporphyrinat Kapseln ausbildet, die durch kooperative ionische Wechselwirkungen in polaren Lösungsmitteln (bis zu 45 mol-% Wasser) stabil sind.²³ Kurz danach hat er dieses Konzept fortentwickelt, und eine neue ionische Kapsel aus dem Calix[4]arentetrasulfonat und einem Tetraamidinium vorgestellt, die auch in polaren Lösungsmitteln stabil ist²⁴ (Abb. 4).

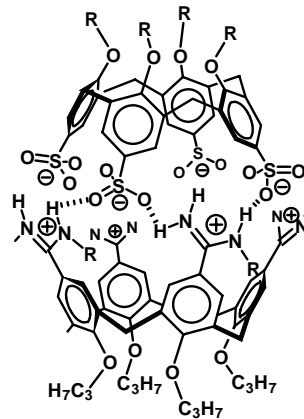


Abb. 4: Lewis-Struktur der *Reinholdt* – Kapsel.

Die Kristallstruktur der obengenannten Kapsel hat gezeigt, dass ein oder manchmal zwei Alkylgruppen der Seitenkette des Tetraamidinium-Calix[4]arens in den Hohlraum der Kapsel zeigen.²⁵

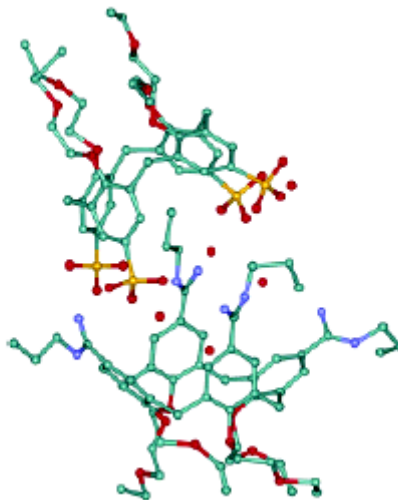


Abb. 5: Kristallstruktur der Kapsel zwischen Calix[4]arentrasulfonat und Calix[4]arentetraamidinium.

Eigentlich ist die bedeutendste Fähigkeit, die man von einer molekularen Kapsel aus Calix[4]arenen erwarten kann, die Einlagerung von kleinen Molekülen als Gästen.

Komplexe, die wegen ihrer käfigartigen Form ein Molekül als Gast einlagern können, sind in der Literatur mit dem Wort „*Container*“ verbreitet und schon seit langem bekannt.²⁶

Solche *Container* sind schon als Stabilisator für reaktive Zwischenstufen²⁷, zur Herstellung einer neuen Form von Stereoisomeren,²⁸ der Beschleunigung von Diels-Alder-Reaktionen^{28a} oder der regioselektiven 1,3 - dipolaren Cycloaddition²⁹ verwendet worden.

Rebek hat kürzlich beschrieben, wie man durch Einschluss eines Katalysators in die Kapseln auch Reaktionsgeschwindigkeiten kontrollieren kann.^{22g}

Ein Hauptziel bei der Erforschung der molekularen Erkennung ist die Steuerung der Selektivität und Maximierung der Bindungsenergien der Wirt-Gast-Komplexe. Dies wird auch durch Multivalente Erkennung in der Natur erreicht. z. B.: durch Antikörper. Antikörper sind die vielseitigen Bindungspartner natürlicher Systeme, und für die meisten Antigene verfügt das Immunsystem über Antikörper mit einer geeigneten Bindungsstelle.³⁰ Im Gegensatz zu den meisten vorstehend beschriebenen Systemen sollen in dieser Arbeit neuartige Rezeptormoleküle vorgestellt werden, die durch den Einsatz polyvalenter nichtkovalenter Wechselwirkungen verschiedene Gastmolekülklassen in polaren Lösungsmitteln, wie Methanol oder Wasser, binden.

2 Theoretischer Teil

2.1 Vorarbeiten und Problemstellung

2.1.1 Vorarbeiten

Schrader hat vor einigen Jahren über einen einfachen und äußerst flexiblen Zugang zu C_{3V} -symmetrischen kapselartigen Komplexen berichtet, die sogar in Wasser stark zusammenhalten.³¹ Dies wird ermöglicht durch Selbstorganisation von mehrfach geladenen Verbindungen über multiple, nichtkovalente Wechselwirkungen.

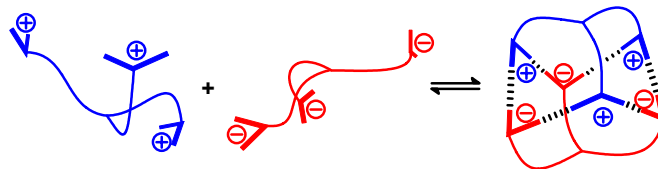


Abb. 6: Schematische Darstellung der Selbstorganisation eines kugelförmigen Komplexes.

Diese nichtkovalenten 1:1-Komplexe entstehen aus hochgeladenen komplementären Bausteinen auf der Basis von Ammonium- (oder Amidinium-) und Phosphonationen. Die kugelförmigen Komplexe sind thermodynamisch äußerst stabil und erreichen Assoziationskonstanten K_a von bis zu 10^6 M^{-1} in Methanol und in einigen Fällen sogar von mehr als 10^3 M^{-1} in Wasser.³¹ Die gemessenen K_a -Werte korrelieren gut mit dem unterschiedlichen Grad an Präorganisation der Komplexpartner.

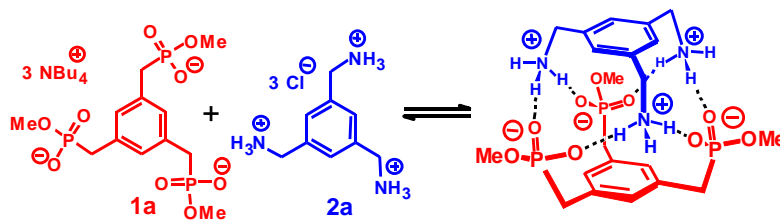


Abb. 7: Lewis-Struktur der kugelförmigen Komplexe zwischen Benzylammonium **2a** und Phosphonat **1a**.

In Rahmen dieser Vorarbeiten sind verschiedene positiv und negativ geladene Komponenten hergestellt worden, mit denen man den Einfluss der verschiedenen Effekte auf die Komplexierung studieren kann.

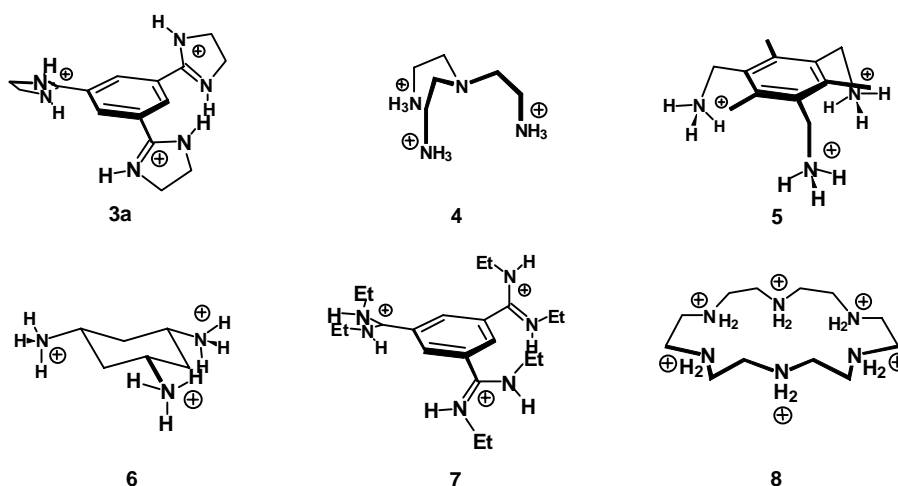


Abb. 8: Lewis-Struktur der C_{3v} -symmetrischen Triammonium-/Trisamidiniumkationen und Hexaza-18-krone-6 **8** zur Komplexierung mit Triphosphonat **1a**.

Tabelle 1: Assoziationskonstanten K_a und die freien Bindungsenthalpien $\Delta G = -RT \ln K_a$ für 1:1-Komplexe zwischen symmetrischen Trikationen und **1a** ermittelt anhand von $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsen in d_4 -Methanol bei 20 °C.

Triktion	K_a [M^{-1}]	$-\Delta G$
	in d_4 -MeOH	[kcal mol $^{-1}$]
Tren 4	1.4×10^3	4.3
Trisimidazolium 3a	1.7×10^3	4.3
Mesitylentriammonium 2	3.4×10^4	6.2
Mesitylentriammonium 5	5.8×10^4	6.5
Cyclohexantri-ammonium 6	1.9×10^5	7.1
Trisamidinium 7	2.1×10^5	7.2

Mit dem Wirtmolekül **5** wurde der Einfluss bei der zusätzlichen Einführung von drei Methylgruppen anstelle der aromatischen Protonen auf die Komplexierung untersucht. Hierbei wurde beobachtet, dass sich die Assoziation zwischen dem Phosphonat **1a** und **5** bzw. **6** um mindestens eine Größenordnung unterscheidet.

Es wurde eine starke Abhängigkeit der Bindungskonstante vom Präorganisationsgrad in den Gastmolekülen gefunden. Stark vororientierte und unflexible Moleküle wie das Trisamidin **7** und das Trisaminocyclohexan **6** zeigten um bis zu drei Größenordnungen größere Bindungskonstanten als die flexiblen und kaum vororganisierten Gastmoleküle, wie zum Beispiel das Tren **4**.³²

Molekülkarftfeld Berechnungen aller betrachteten Komplexe in unterschiedlichen Umgebungen (Gasphase, Chloroform und Wasser) ergaben jedoch reproduzierbar immer wieder die gleichen symmetrischen Komplexstrukturen. Dabei erhält man im Inneren des Komplexes eine kleine Kavität, deren Hohlraum groß genug sein könnte, um kleineren Molekülen die Einlagerung zu ermöglichen.

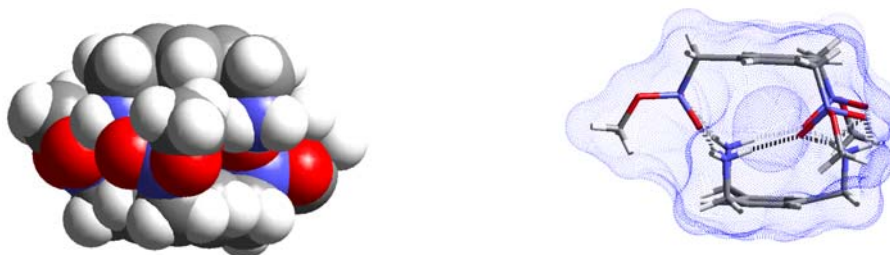


Abb. 9: Energieminimierte Struktur der Molekularen Kapseln aus Trisphosphonat **1a** und Triammoniumion **2a**; links: Kalottenmodell; rechts : Connolly-Surface.

Leider führen bereits im Modeling alle Versuche zur möglichen Einlagerung selbst von kleinen zweiatomigen Gästen zu einer Aufweitung und somit zur Destabilisierung der kugelförmigen Komplexe, womit diese Assoziat für einen Gasteinschluss zu klein erscheinen.

Die oben durchgeführten Kraftfeldrechnungen gaben jedoch Anlass zu der Hoffnung, dass größere Strukturen mit der oben diskutierten komplementären Anordnung Hohlräume ausbilden, die groß genug für die Aufnahme von Gästen sind.

2.1.2 Problemstellung

Die größeren Baueinheiten, sollten außerdem erheblich starrer sein, d.h. über ein wesentlich höheres Maß an Präorganisation verfügen. Gleichzeitig sollten im Idealfall noch mehr elektrostatische Wechselwirkungen kooperativ genutzt werden.

Bei dem Versuch, größere Strukturen zu erzeugen, konnte das Konzept der chelatartigen, präorganisierten Anordnung entgegengesetzt geladener Halbschalen erfolgreich auf die größeren, sehr rigiden Calix[4]arene übertragen werden. Dazu sollte diese in der *Cone-Konformation* fixiert werden. Dabei erhöht sich die Zahl von Salzbrücken und Wasserstoffbrücken, im 1:1-Komplex.

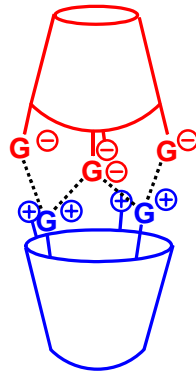


Abb. 10: Schematische Darstellung der Calix[4]arenkapseln – Selbstorganisation nach dem Reißverschlussprinzip.

Molekular Modeling - Studien mit dem Programm “*MacroModel 7.0 (Kraftfeld: Amber*, 3000 Schritte, Solvents: Wasser)*” deuten darauf hin, dass man bei Calix[4]aren-Bausteinen durch die selektive Einführung von vier negativ oder vier positiv geladenen Gruppen am oberen Rand, (*upper rim*) eine große Zahl rigider vororientierter tetraanionischer oder tetrakationischer Bausteine erhalten kann. Bei der Komplexierung können gleichzeitig alle vier Anionen und Kationen chelatartige untereinander ausbilden. Die *Cone-Konformation* kann leicht durch einen Tetraalkylether mit $C \geq 3$ am unterem Rand (*lower rim*) sicher gestellt werden.

In unserem Arbeitskreis wurden von meiner Vorgänger bereits eine negativ geladene Calix[4]arenhalbschale (Calix[4]arentetrabenzylphosphonat **9**) und drei positiv geladene Calix[4]arenhalbschalen (Tetraaniliniumcalix[4]aren **10**, Tetrabenzylammoniumcalix[4]aren **11** und Tetrapyrazoliumcalix[4]aren **12**) hergestellt. Die anionische Halbschale **9** bildet jeweils mit allen drei kationischen Halbschalen (**10**, **11**, **12**) kapselartige Assoziate, die in Methanol sehr stabil sind ($K_a = 10^3\text{-}10^5 \text{ M}^{-1}$).³² Allen Komplexen weisen eine kugelförmige auf. Sie entsteht Netzwerk multipler, fast vollständig linearer, salzartiger Wasserstoffbrücken, aus der alternierenden Anordnung gegenseitig geladener funktioneller Gruppen.

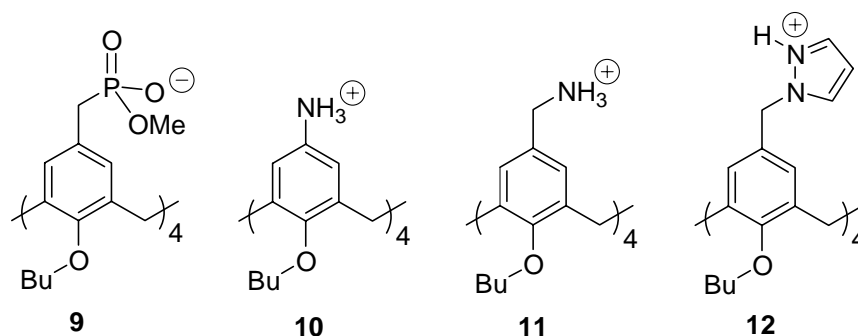


Abb. 11: Lewis-Struktur bereits vorhandenen Calix[4]aren Halbschalen.

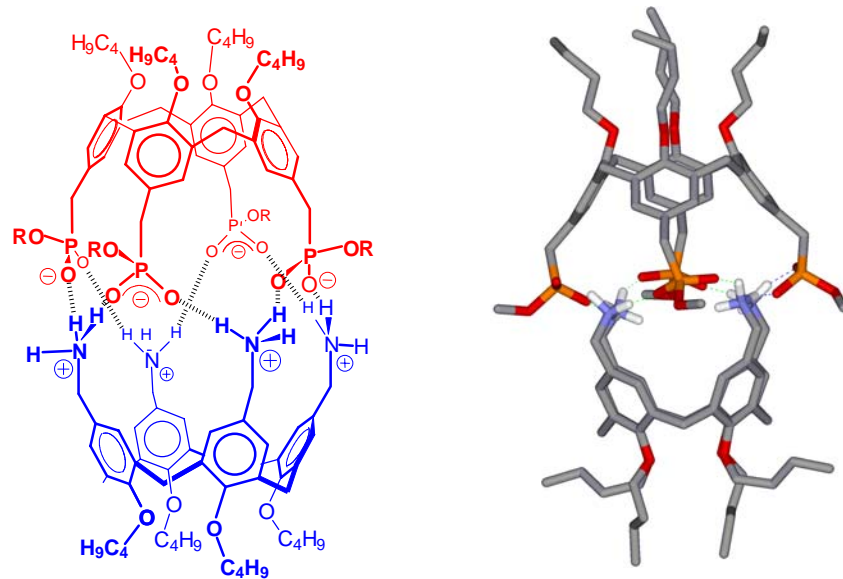


Abb. 12: links: Lewis-Struktur des Komplexes zwischen der anionischen Halbschale **9** und der kationischen Halbschale **11**; rechts: Energiemimierte Struktur des Komplexes (*Macromodel 7.0, Amber*, Wasser*).

Hierdurch wird im Inneren des Komplexes ein Hohlraum aufgespannt, der groß genug für organische Gastmoleküle sein sollte. Leider haben jedoch alle Versuche meines Vorgängers zur Gasteinlagerung von kleinen Aliphaten, Aromaten und Heteroaromaten in den Hohlraum des Komplexes (**9+11**) (Abb. 12) nicht zum Erfolg geführt.

Der Grund für den bis heute fehlenden Nachweis einer Gast-Einlagerung kann in der hohen Flexibilität der benzylichen Kapselhalbschalen **9** und **11** liegen. Kommt es zu einer schnellen Rotationsbewegung um die benzylichen Bindungen entlang der Nahtstelle, wie dies in energetisch ungünstigeren Grenzstrukturen bei Simulationen verfolgt werden konnte, wird die gebildete Kavität stark verkleinert, so dass ein Gasteinschluss zumindest mit den benzylich substituierten Calix[4]arenen schwierig wird.

Daher sollten im ersten Teil meiner Arbeit neue präorganisierte und noch rigidere (nicht benzylichen) kationische als auch anionische Calix[4]arenhalbschalen synthetisiert werden. So sollte ein Baukasten-System mit unterschiedlich großen Hohlräumen entstehen. Danach sollten Bindungs- und Einlagerungsexperimente mit den neuen Kapseln im Mittelpunkt stehen

Im zweiten Teil sollten durch Verwendung von Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) und MS/MS Methoden die Stabilität der hergestellten Kapseln untersucht werden.

Im letzten Teil werden neue Anwendung der starren Tetraphosphonatcalix[4]arenhalbschale **20**, als Rezeptor für kationische Gäste in polaren Lösungsmitteln (Kap. 2.6), als auch in

Stearinsäuremonoschichten an der Wasser-Luft-Grenzschicht (Kap. 2.6.2) vorgestellt. Auch für die Erkennung von basischen Proteinen in nanomolaren Konzentrationen in Stearinsäuremonoschichten (Kap. 2.6.3) konnte **20** verwendet werden.

2.2 Molekulare Kapseln durch Selbstorganisation von starren kationischen und anionischen Calix[4]aren-Halbschalen

2.2.1 Calix[*n*]arene

Im Namen Calixaren verbirgt sich das lateinische Wort „Calix“, welches Kelch bedeutet und damit bereits einen Hinweis auf die Konformation des Moleküls gibt. Im Grunde genommen hat man sich unter einem Calixaren einen Makrozyklus aus *n* Phenol-Einheiten vorzustellen, die über je eine Methylen-Brücke zu einem Ring miteinander verknüpft wurden. Die Zahl der Phenol-Einheiten wird in eckige Klammern gesetzt und in die Bezeichnung Calix-aren eingefügt. Am weitesten verbreitet sind in der Forschung bisher Calixarene, die aus 4, 5, 6 oder 8 verknüpften Phenolen aufgebaut sind, aber es sind auch Makrozyklen bekannt, die 7 oder mehr als 8 Phenol-Einheiten in ihrem Gerüst aufweisen.

In der Regel werden nur Calixarene am unteren bzw. oberen Rand, funktionalisiert sind. (Das ist die ortho- bzw. meta-Stellung zu den mit den Methylen-Brücken verknüpften aromatischen Kohlenstoffatomen). Im Falle der Calix[4]arene hat die Funktionalisierung des unteren Randes neben der Veränderung der Moleküleigenschaften einen Weiteren Vorteil, denn die Alkylierung der oben abgebildeten Hydroxylgruppen verhindert die Rotation der Phenoleinheiten um die verknüpfenden Methylengruppen.³³ Dadurch können Calix[4]arene in vier verschiedenen Konformationen erhalten und stabilisiert werden, nämlich der cone-, der partial cone-, der 1,2-alternate- und der 1,3-alternate-Konformation. Diese Konformationen wurden zum ersten Mal 1955 von der Arbeitsgruppe um J. W. Cornforth veröffentlicht und von C. D. Gutsche benannt.^{34,35}

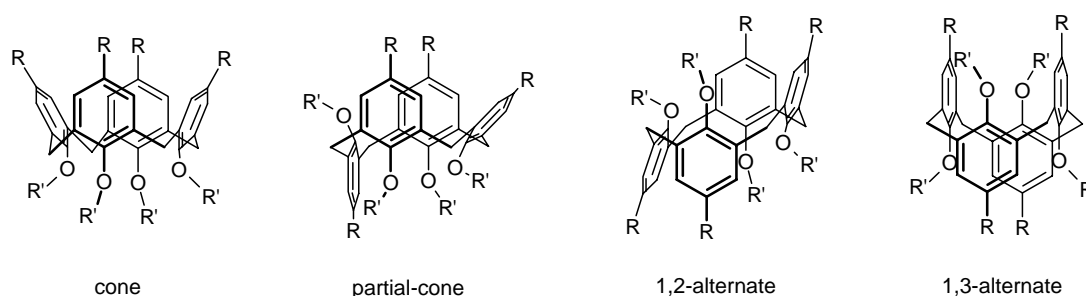


Abb. 13: Lewis-Struktur der vier Konformere eines substituierten Calix[4]arens.

Gutsche hat durch ¹H-NMR-Spektroskopie gezeigt, dass bei Calix[4]arenen mit freien Phenolgruppen Veränderungen in ihrer Konformation temperaturabhängig sind.³⁵ Aus den Daten konnte geschlossen werden, dass freie Calix[4]arene bei Raumtemperatur in Lösung

die *cone-Konformation* bevorzugen, jedoch eine Inversion dieser Konformation schnell stattfindet (150 sec^{-1}). In festem Zustand liegen die Calixarene allerdings ausschließlich in der *cone-Konformation* vor, wie durch Röntgenstruktur-Analyse gezeigt wurde.³⁶ Man nimmt an, dass die *cone-Konformation* dabei durch Wasserstoff-Brücken zwischen den Hydroxylgruppen stabilisiert wird. Diese Annahme wird untermauert durch die ungewöhnlich niedrige Frequenz der Streckschwingung der OH-Bindung im Infrarot-Spektrum (ca. 3150 cm^{-1}).³⁷ Selbst die *cone-Konformation* ist aber noch beweglich, wie von der Arbeitsgruppe D. N. Reinhoudt herausgefunden wurde: selbst O-alkylierte Calix[4]arene ($R \leq n\text{-Propyl}$) sind flexibel genug, um statt der erwarteten C_{4v} -Symmetrie (*cone-Konformation*) eine C_{2v} -symmetrische Konformation auszubilden, die „*pinched cone*“ genannt wird.³⁸ In dieser Konformation liegen zwei sich gegenüberliegende Phenol-Einheiten relativ flach, die anderen beiden sind senkrecht aufgerichtet. Darüber hinaus ist die Umwandlung der C_{2v} -symmetrischen "*pinched cones*" ineinander schneller als die NMR-Zeitskala. Möglicherweise entsteht durch Annäherung einer komplementär geladenen Halbschale über minimale Energiebarrieren automatisch die regelmäßige C_{4v} -Symmetrie.

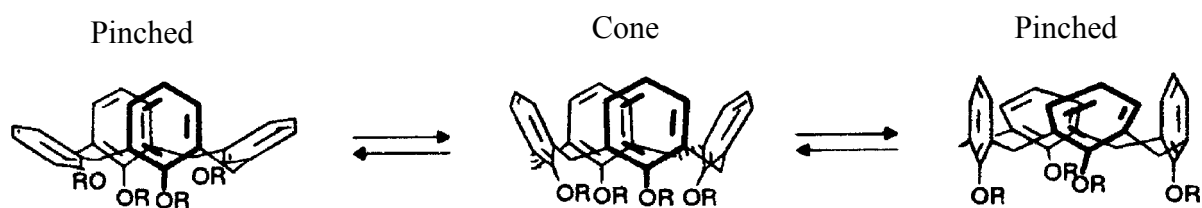


Abb. 14: Lewis-Struktur und Gleichgewicht zwischen der *Cone* und *Pinched cone*-Konformation der Calix[4]arene.

Die ersten Darstellungen von Calixarenen erfolgten bereits im Jahre 1872 durch den Chemiker A. V. Baeyer auf der Suche nach neuen polymeren Werkstoffen.³⁹ Er erzeugte durch Kondensation von Phenol mit wässrigem Formaldehyd ein nichtkristallines, harziges Produkt, dessen Struktur mit den damaligen Mitteln nicht aufgeklärt werden konnte. Später, im Jahr 1941, haben A. Zinke und E. Ziegler Calixarene synthetisiert, in dem sie baseninduziert *p*-Alkylphenole mit Formaldehyd kondensieren ließen.⁴⁰ Schließlich entdeckte Gutsche, dass der Ausgang der Kondensations-Reaktion sehr stark von den Reaktionsbedingungen abhängt.⁴¹ Heute werden alle Calixarene nach der Methode dargestellt, die von C. D. Gutsche 1986 veröffentlicht wurde.⁴² In dieser Arbeit schreibt Gutsche, dass er die besten Ergebnisse erzielt hat, wenn er *p*-*tert*-Butylphenol mit 37 %iger Formalin-Lösung umsetzt und 0.045 Äquivalente Natriumhydroxid bezogen auf das Phenol als Base verwendet.

2.2.2 Synthese der Calix[4]aren Bausteine

a) Synthese des Calix[4]aren – Grundkörpers 15

Wie bereits beschrieben kann man durch Kondensation von Formaldehyd und *p-tert.*-Butylphenol mit Hilfe von NaOH in Diphenylether das *p-tert.*-Butylcalix[4]aren **14** herstellen.⁴²

Um das Calixaren funktionalisieren zu können, muss nun die *tert*-Butylgruppe durch andere funktionelle Gruppen ersetzt werden. In einer Friedel-Crafts-Dealkylierung wird zunächst die *tert*-Butylgruppe durch ein Wasserstoffatom substituiert. Anschließend kann das Calix[4]aren durch Alkylierung der phenolischen Hydroxylgruppen am „*lower rim*“ in der *cone* - Konformation stabilisiert werden (Abb. 15).⁴³

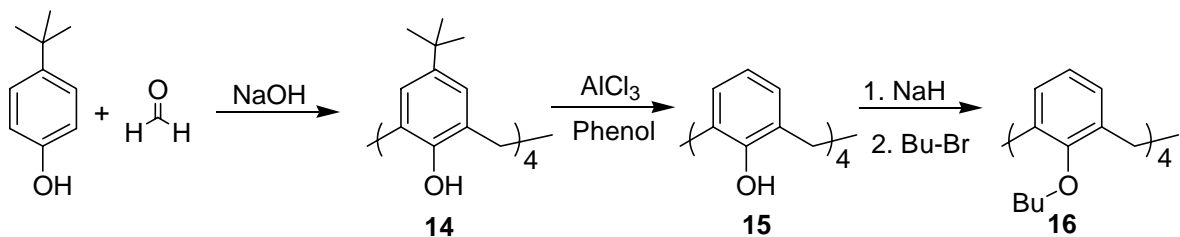


Abb. 15: Synthese des Calix[4]arengrundkörpers **16**.

b) Synthese der benzylichen Halbschalen

Nach der Synthese des Grundkörpers **16** wurde diese Verbindung am oberen Rand funktionalisiert, um die Halbschalen **9**, **11** und **12** herzustellen, die schon in unserem Arbeitskreis vorhanden waren³²(Abb. 16).

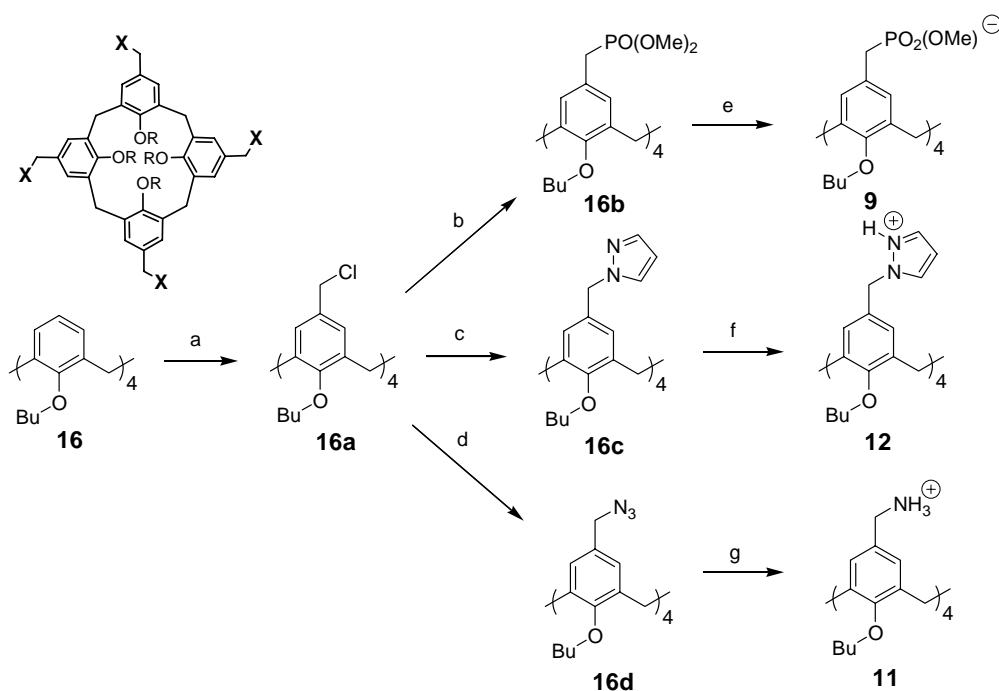


Abb. 16: Syntheserouten ausgehend von Tetrabutoxycalix[4]aren **16** a) Chloromethyloctylether, 75%; b) $P(\text{OMe})_3$, 73%; c) Pyrazol, 91%; d) NaN_3 , 86%; e) TBA hydroxid, 93%; f) HCl, 100%; g) H_2 , Pd/C, HCl, 83%.

c) Synthese der starren Bausteine

Ein offensichtlicher Vorteil der Calix[4]aren-Grundstruktur liegt in der Kontrolle über die konische Konformation bei Verwendung größerer Alkoxygruppen am unteren Rand ($R \geq n$ -Propyl).⁴⁴ *Molecular Modeling*-Studien deuten darauf hin, dass Calix[4]arene durch Einführung vier negativer oder positiver Ladungen am oberen Rand, eine rigidere und damit präorganisierte Struktur erhalten, weil alle vier Ladungen den größtmöglichen Abstand voneinander anstreben.

Um die oben genannte Ziele zu erreichen, wurden nach den Methoden, die in Abbildung 17 zusammengefasst sind, die starren Halbschalen synthetisiert.

Die Verbindungen **10a**, **10b** und **10** sind in der Literatur beschrieben, und wurden nach Literatur Vorschriften hergestellt.⁴⁵

Die Halbschalen **13** und **20** sind neu, deswegen wird in den nächsten Kapiteln ihre Synthese vorgestellt.

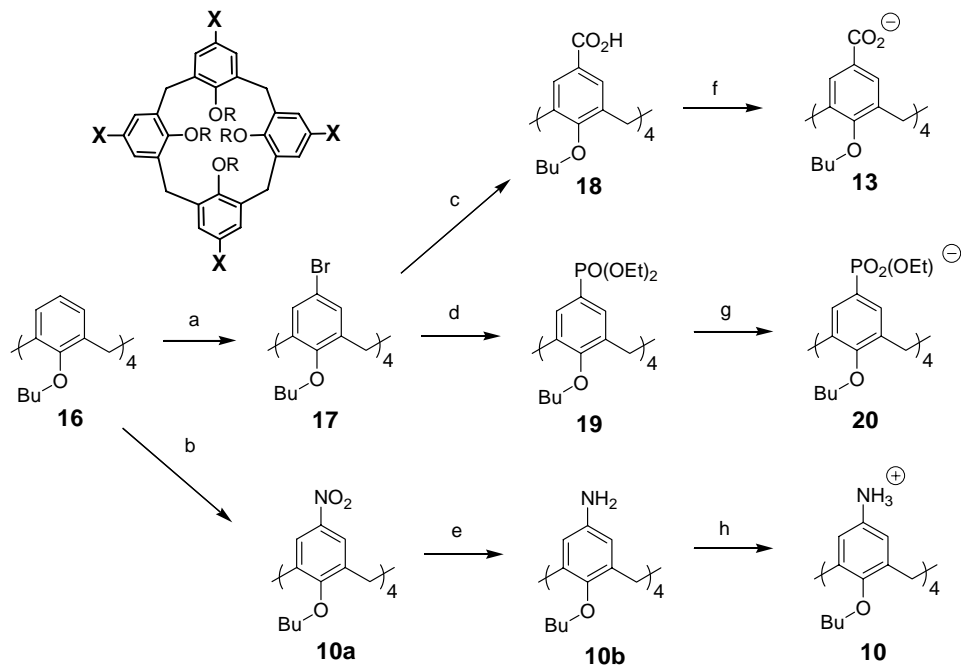


Abb. 17: Syntheserouten ausgehend von Tetrabutoxycalix[4]aren **16** a) NBS, 75%; b) HNO₃, H₂SO₄, 65%; c) *t*-BuLi, CO₂, 70%; d) NiCl₂, P(OEt)₃, 62%; e) H₂, Pd/C, 89%; f) TBA hydroxide, 90%; g) LiBr, 90%; h) HCl, 100%.

2.2.2.1 Calix[4]aren - Tetracarboxylat **13**

Es ist bereits bekannt, dass Carboxylatgruppen durch die hohe Symmetrie des planaren Carboxylatanions auch bei Rotation um die Aromat-Carboxyl-Kohlenstoffbindung nur wenig konformative Freiheit besitzen (Abb.18).

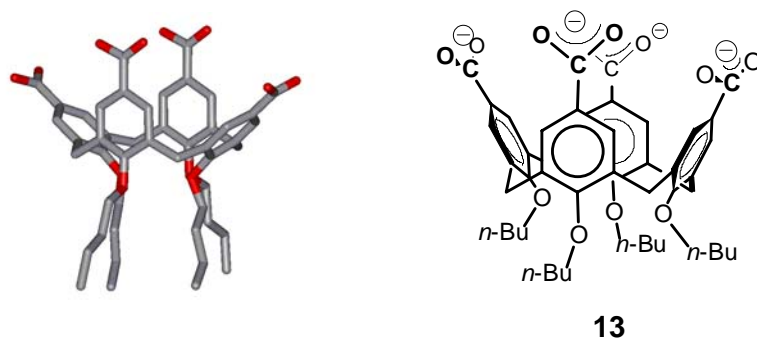


Abb.18: Calix[4]arentetracarboxylat **13**; links: Energieminimierte Struktur (Macromodel 7.0, Amber*, Wasser). rechts: Lewis-Struktur

Solche Halbschalen sollten im Gegensatz zum Tetrabenzylphosphonat **9** starrere molekulare Kapseln ausbilden (Abb. 19 und 12).

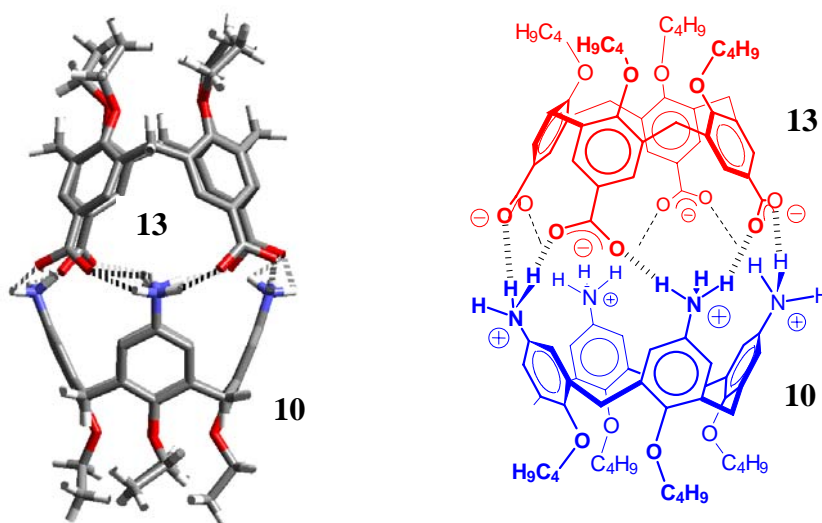


Abb. 19: Molekulare Kapsel zwischen Calix[4]aren-Tetracarboxylat **13** und Tetraammonium **10**;
links: Energiemimierte Struktur (*Macromodell 7.0, Amber*, Wasser*), rechts : Lewis-Struktur.

Die Einführung der Carboxylgruppe am oberen Rand des Calix[4]arens kann man durch verschiedene Methoden erreichen.

So kann das Tetracarboxycalix[4]aren **18** durch Friedel-Crafts Acylierung von Calix[4]aren am oberen Rand und folgende Haloformoxidation, oder alternativ über eine Rieche-Formylierung am oberen Rand zum Aldehyd und dessen Oxidation mit NaClO_2 hergestellt werden.^{46,47}

Am gebräuchlichsten aber ist folgende Methode:

Durch Bromierung von Calix[4]aren **16** am oberen Rand mit NBS oder elementarem Brom kann man Tetrabromcalix[4]aren **17** herstellen.³⁵ Danach wird über einen Halogen-Metall-Austausch das Bromatom durch Lithium ersetzt. Durch Einleiten von Kohlendioxid erhält man schließlich das Tetracarboxycalix[4]aren **18**.⁴⁸ Im Gegensatz zur Literatur wird der Brom-Lithium-Austausch mit *t*-Buli viel vollständiger und führt zu weit aus höheren Ausbeuten.

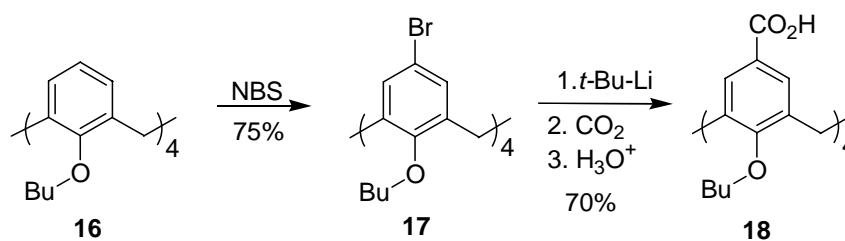


Abb. 20: Synthese des Tetracarboxycalix[4]arens **18**.

Durch Umsetzung von **18** mit 4 Äquivalenten Tetrabutylammoniumhydroxyd gelangt man zum Calix[4]arentetracarboxylat in Form des gut löslichen Tetrabutylammoniumsalzes **13**.

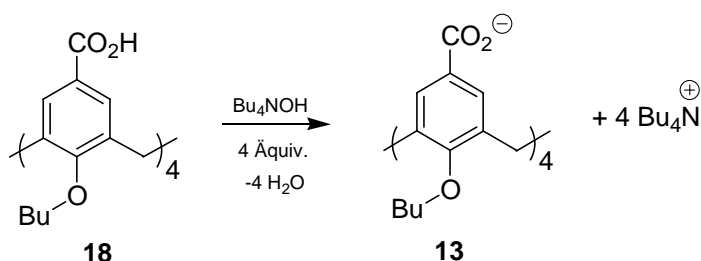


Abb. 21: Synthese des Calix[4]arentetracarboxylatsalzes **13**.

2.2.2.2 Calix[4]aren-Tetraphosphonat **20**

Für die Einführung phosphorhaltiger Gruppierungen wie z.B. Phosphaten, Phosphonaten, Phosphinoxiden oder Phosphanen in Calix[4]arenmoleküle sind bereits einige wenige Methoden bekannt. Es entstehen bevorzugt tetrasubstituierte Derivate, bei denen sich der phosphorhaltige Rest entweder nur am unteren Rand oder nur am oberen Rand befindet.^{49,50} Daneben wurden auch einige substituierte Calixarene beschrieben, die eine geringere Anzahl (<4) von Phosphorhaltigen Gruppen im Molekül enthalten.⁵¹ Bei diesen Derivaten befindet sich der Phosphorhaltige Rest immer nur am unteren Rand des Calix[4]arengerüsts. Nur ein einzige Publikation erwähnt einen Zugang zum Calix[4]arentetraphosphonat **19**, bei dem 4 Phosphonsäureestergruppen direkt am oberen Rand plaziert wurden.⁵² Die Synthese geht vom Tetrabromcalix[4]aren-Derivat **17** aus.⁵³ und führt über eine Nickel-katalysierte Phosphorylierung mit Trialkylphosphiten. Wir haben intensiv auch die an einfachen elektronenreichen Aromaten bereits erfolgreich eingesetzte Palladium-katalysierte Phosphorylierung mit Dialkylphosphiten geprüft,^{54,55} sie führte leider nur zur Mono- oder Diphosphorylierung. Anschließende Dealkylierung mit Alkalihydroxid oder milder mit LiBr führt zum Zielmolekül **20**.⁵⁶

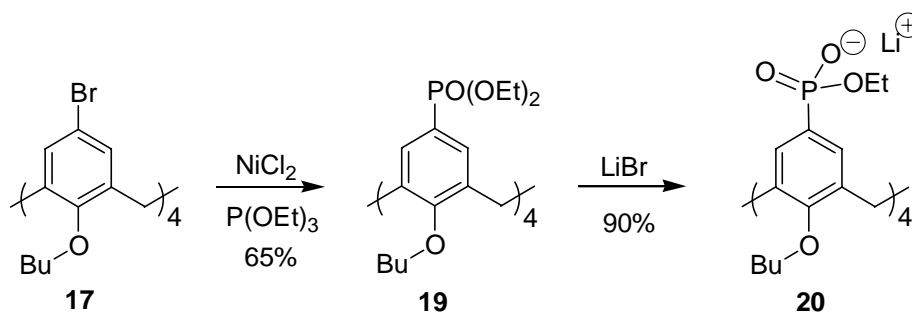


Abb. 22: Synthese des Calix[4]arentetraphosphonats **20**.

Intensive Modeling-Studien (*Macromodel 7.0*) haben gezeigt, dass die Halbschale **20** gleich mehrere Vorzüge vereint: Ein gegenüber dem Carboxylat zusätzlicher Knick in der C-P-O-Einheit erlaubt bei Rotation um die C-P-Bindung eine Konformation, bei der die Phosphonat-Sauerstoffe beide nach innen weisen. Dies erleichtert die Bildung von ionischen, starken Wasserstoffbrücken in der alternierenden Anordnung Kation-Anion-Kation (gewissermaßen auf Lücke) erheblich (Abb. 23).

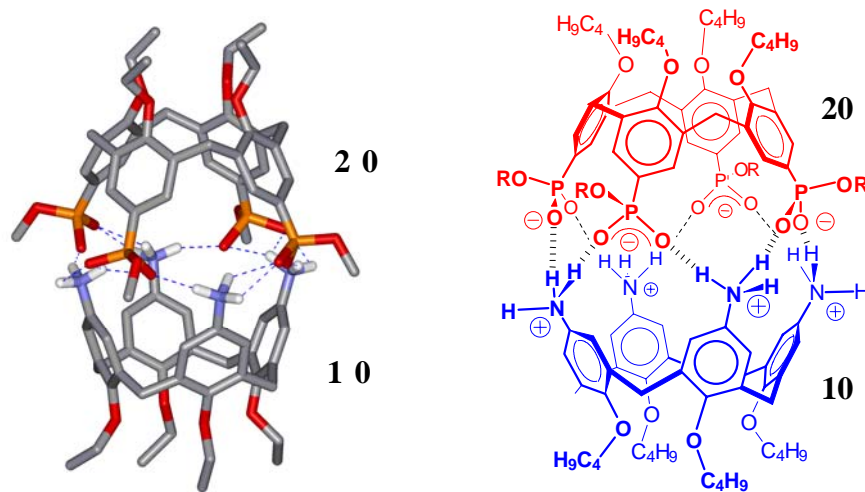


Abb. 23: Molekulare Kapsel zwischen Calix[4]aren-Tetraphosphonat **20** und Tetraammoniumsalz **10**, links: Energieminimierte Struktur (*Macromodel 7.0, Amber*, Wasser*), rechts: Lewis-Struktur.

Mit diesem 3 anionischen und 3 kationischen Calix[4]aren-Halbschalen wurden im folgenden die Bindungsexperimente zur Selbstorganisation in polaren Lösungsmitteln durchgeführt.

2.3 Bindungsstudien an den molekularen Kapseln

Aus den synthetischen vorarbeiten stehen nun je drei vierfach positiv (**10**, **11**, **12**) und negativ geladene (**9**, **13**, **20**) Calix[4]arenhalbschalen zur Verfügung.

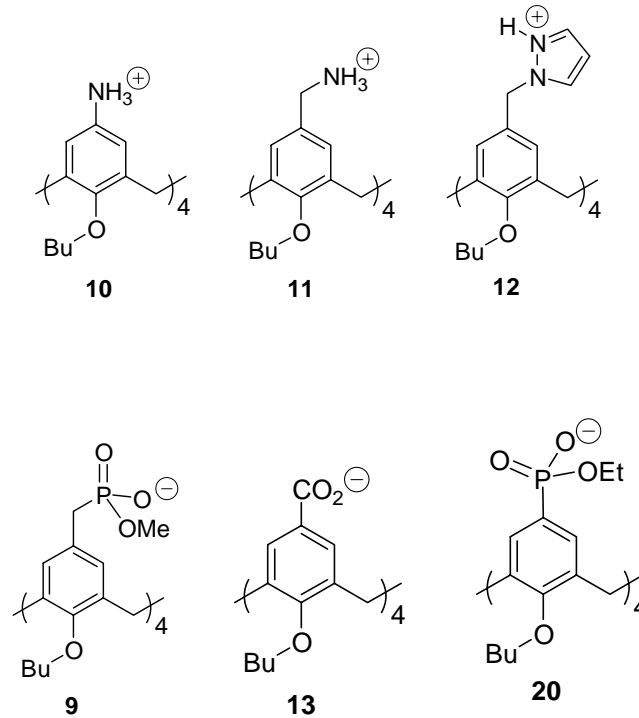


Abb. 24: Lewis-Struktur der synthetisierten Calix[4]arenhalbschalen.

Wie man in der Abbildung 25 sieht, lassen sich prinzipiell drei verschiedene Arten von molekularen Kapseln aus den oben gezeigten Calixarenhalbschalen zusammensetzen:

A: Molekulare Kapsel zwischen zwei starren Halbschalen.

B: Molekulare Kapsel zwischen einer starren Halbschale und einer flexiblen Halbschale.

C: Molekulare Kapsel zwischen zwei flexiblen Halbschalen.

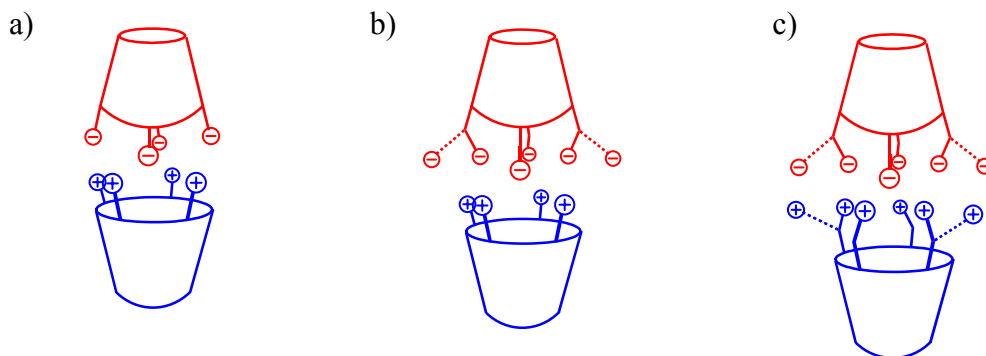


Abb. 25: Schematische Darstellung von drei möglichen Bauprinzipien von molekularen Kapseln.

Intensive Modeling-Studien haben gezeigt, dass es sowohl in der Gasphase, als auch in Chloroform und sogar in Wasser eine grosse Tendenz gibt, einen definierte 1:1 Komplex zwischen einer solchen positiv geladenen und einer negativ geladenen Halbschale auszubilden.⁵⁷

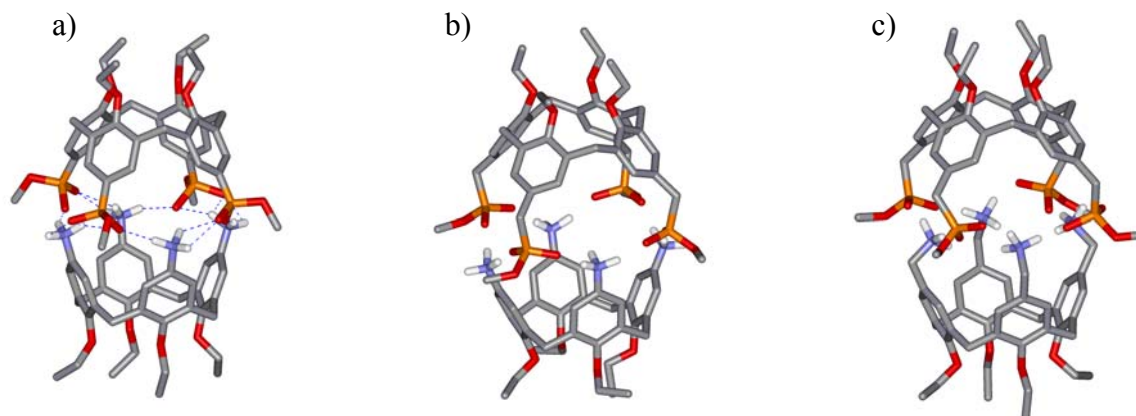


Abb. 26: Optimierte Strukturen der Kapseln: a) zwischen Calix[4]aren-Tetraphosphonat **20** und Tetraammonium **10** b) zwischen Calix[4]aren-Tetrabenzylphosphonat **9** und Tetraammonium **10** c) zwischen Calix[4]aren-Tetrabenzylphosphonat **9** und Tetrabenzylammonium **11**.

Wie in Kap. 2.1.2. beschrieben wurden in unserem Arbeitskreis bereits die Kapseln **9+10**, **9+11** und **9+12**, die nur zwei der drei postulierten Arten (Abb. 25) bilden können, studiert. Außerdem stand bislang nur das Benzylphosphonat **9** als anionische Halbschale zur Verfügung. Diese Halbschale hat den Vorteil, dass sie wegen ihres niedrigen pK_a -Wertes von etwa 1.8 bei neutralem pH in wässrigem Medium vollständig deprotoniert ist. Aber sie besitzt wegen der Methylenbrücken zwischen den rigiden Aromaten und den Phosphonatgruppen eine deutlich höhere konformationelle Flexibilität, die deswegen den Hohlraum der Kapseln zu sehr einengt, um Gäste einzulagern.

Tabelle 2. Bindungskonstanten K_a [M^{-1}] und freie Bindungsenthalpien [$kcal\ mol^{-1}$] in d_4 -Methanol bei 25 °C aus NMR-Titrationen zwischen Benzylphosphonat **9** und verschiedenen positiv geladenen Calix[4]arenhalbschalen.

1:1 Komplex ^a	Benzylphosphonat 9	ΔG
Anilinium 10	$(7 \pm 1.0) \times 10^3$	-5.2
Ammonium 11	$(4 \pm 0.4) \times 10^5$	-7.5
Pyrazolium 12 ^b	$(4 \pm 0.1) \times 10^3$	-4.8

^aFehler in K_a sind Standardabweichungen der Regressionsanalyse. ^b Ermittelt aus einer Verdünnungstitration.

Das Calix[4]arentetracarboxylat **13** hat im Vergleich zum Benzylphosphonat **9** eine stärkere Rigidität und eingeschränktere Konformation, jedoch den großen Nachteil des relativ niedrigen pK_a -Wertes von 5.0.

Eine deutliche Differenz zwischen den pK_a -Werten der Halbschalen ist sehr wichtig, um stabile Kapseln in polaren Lösungsmitteln auszubilden. Je größer die pK_a -Werte sich unterscheiden, desto stabiler sollten deshalb die gebildeten Kapseln sein.

Die Bestimmung der pK_a -Werte von Benzylammonium **11** durch potentiometrische Titration in Wasser/DMSO hat gezeigt, dass die Acidität der Halbschale von der ersten Protonierungsstufe bis zur vierten deutlich absinkt ($pK_a = 10.1, 9.4, 7.9$ und 3.7 ± 0.1). Im Vergleich zum Benzylammonium **11** haben die pK_a -Werte für das Tetraaniliniumcalix[4]aren **10** keine so große Varianz und eine relativ enge Verteilung. Die beiden ersten Protonierungsstufe-Bestimmungen durch potentiometrische Titration in Wasser/Methanol (2:1) ergeben 5.5 und 4.0 (± 0.1). Die beiden letzten liegen vermutlich zwischen 3.5 und 4.0.⁵⁸

Bei der Bestimmung der Bindungskonstante zwischen dem Calix[4]arentetracarboxylat **13** und dem Tetraaniliniumcalix[4]aren **10** durch NMR-Titration in DMSO erfolgt wegen der ungünstigen pK_a -Differenz zwischen den beiden Halbschalen ein Protonentransfer.⁵⁹ Das erkennt man u. a. daran, dass die Titrationskurve einen sehr scharfen Knick an dem Punkt zeigt, an dem gerade man ein Äquivalent **10** zugegeben hat. Die chemische Verschiebung der aromatischen Protonen bei **10** entspricht exakt der vollständig deprotonierten Form von **10**. Daher lässt sich aus dieser Kurve (Abb. 27) keine Bindungskonstante bestimmen.

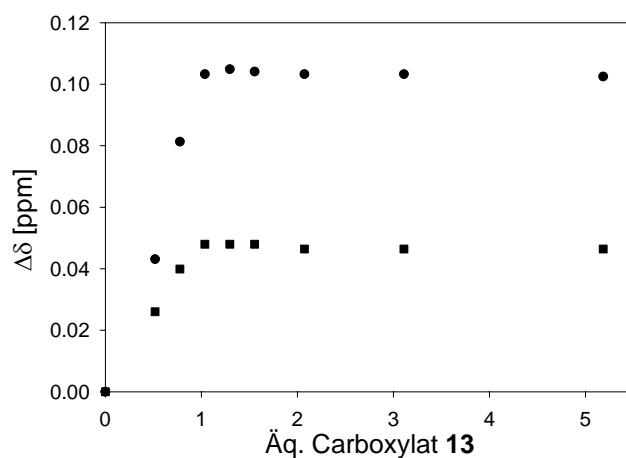


Abb. 27: Titrationskurven für die Reaktion zwischen **13** und **10** in DMSO (Protontransfer).

Nach dem Protonentransfer zwischen **13** und **10**, sind jedoch die funktionellen Gruppen am oberen Rand der Halbschalen (Carboxylgruppe bei **13** und Amingruppe bei **10**) so günstig angeordnet, dass sich über Wasserstoffbrücken gebundene Kapseln ausbilden können (Abb. 28), wie sie schon von den Pyridin-enthaltenden Calixarenen in DMSO und auch von Resorcinarenen in protischen Lösungsmitteln bekannt sind.⁶⁰ Die Bindungskonstante kann in solchen Fällen durch Verdünnungstitration bestimmt werden.

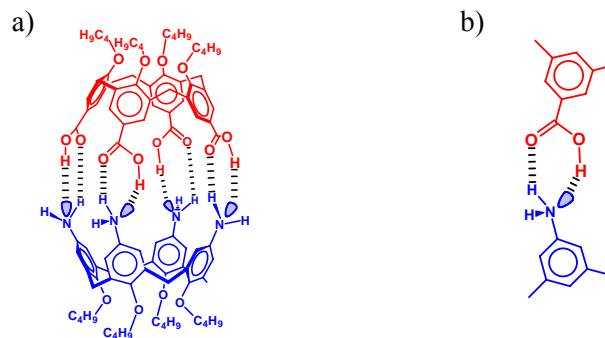


Abb. 28: a) Lewis-Struktur der Kapsel [**10+13**] nach Protonentransfer zwischen Tetracarboxylat **13** und Tetraanilinium **10** b) gebildete Wasserstoffbrücken in einem sechsgliedrigen Ring.

Die Bindungskonstante der oben genannten Kapsel beträgt in DMSO $K_a = (7 \pm 1.0) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ und in d_4 -MeOH $K_a = (8 \pm 1.0) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ wegen der größeren kompetitiven Effektes des Lösungsmittels. In beiden Fällen wurden die Komplexstöchiometrie durch NMR-Methoden nach Job als 1:1 bestimmt.⁶¹ Aus dem Tetrabenzylammoniumcalix[4]aren **11** und dem Tetracarboxylat **13** bilden sich wegen der großen $\text{p}K_a$ -Differenz zwischen den Halbschalen sehr stabile molekulare Kapseln, die in d_4 -MeOH die Assoziationskonstante $K_a = (3 \pm 1.1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ besitzen. Die Komplexstöchiometrie ist ebenfalls 1:1.

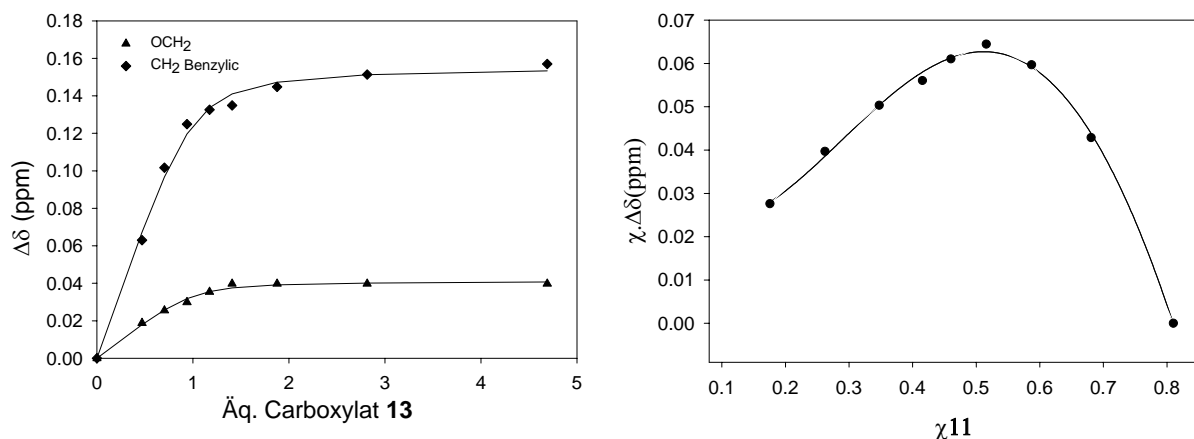


Abb. 29: Titrationskurven und *Job*-Plot für die Kapseln zwischen **11** und **13**.

Bei der NMR-Titration zwischen dem Tetracarboxylat **13** und dem Tetrapyrazolium **12** findet man keine Shifts der chemischen Verschiebungen. Auch hier findet sicher ein Protonentransfer statt.

Tabelle 3. Bindungskonstante K_a [M^{-1}] und freie Bindungsenthalpien [$kcal\ mol^{-1}$] in d_4 -Methanol bei 25 °C aus der NMR -Titration zwischen **13** und verschiedenen positiv geladenen Calix[4]arenhalbschalen.

1:1 Komplex ^a	Carboxylat 13	ΔG
Anilinium 10	$(7 \pm 1.3) \times 10^3$ ^{b,c}	-5.2
Ammonium 11	$(3 \pm 1.1) \times 10^4$	-6.0
Pyrazolium 12	Keine Shifts	–

^a Fehler in K_a sind Standardabweichung. der Regressionsanalyse. ^c Ermittelt aus einer Verdünnungstitration.

^d In DMSO- d_6 .

Calix[4]arentetraphosphonat **20** erfüllt alle Forderungen nach starker Rigidität, da es konformativ stark eingeschränkte, direkt am Aromaten gebundene Phosphonatgruppen besitzt (die Rotation um die C-P-Bindung ist entartet und bringt immer wieder den Sauerstoff in die korrekte Geometrie für die Ausbildung von Wasserstoffbrücken mit dem entsprechenden kationischen Komplexpartner). Durch ihren geringen Raumbedarf ergeben sich Molecular Modelling Berechnungen zufolge gleichmäßige alternierende Anordnungen mit dem Calix[4]arentetraanilinium **10**. Weiterhin haben Phosphonsäuren einen niedrigen pK_a -Wert von etwa 2 in Wasser, so dass sie bei neutralem pH vollständig deprotoniert vorliegen.

Leider ist das Calix[4]arentetraphosphonat **20** selbst sehr gut wasserlöslich, das Tetraaniliniumderivat **10** dagegen nicht. Allerdings sind beide Halbschalen in Wasser/Methanol (1:4) sehr gut löslich. Die Bindungskonstante aus der NMR-Titration in D_2O/d_4 -MeOH (1:4) ist als $K_a = (1 \pm 0.5) \times 10^4\ M^{-1}$ ermittelt worden (Abb. 30a). Die Komplexstöchiometrie konnte aus *Job*-Plots als 1:1 zweifelsfrei nachgewiesen werden.

Ein weiterer Hinweis auf die Komplexzusammensetzung lieferte ein in Methanol aufgenommenes Elektronenspray - Massenspektrum im positiven Massenbereich, welches aus einer $10^{-4}\ M$ Lösung erhalten werden konnte. Die berechneten Massen aus dem Spektrum (Abb. 30 b) sind: $[10 - 3H^+]^+$: 709.4693; $[20 + 5H^+]^+$: 1081.4162; $[10+20 + H^+]^+$:

1789.8777; Alle anderen Peaks ergeben sich durch H^+/Na^+ Austausch. Somit sind die Kapseln und auch die Halbschalen in der Gasphase stabil. Dies wird später zur genauen charakterisierung sehr wertvoll sein. Es ließen sich keine weiteren Molekülonenpeaks für etwaige höhere Aggregate als dem eines 1:1-Komplexes nachweisen. In den zugehörigen NMR-Spektren fand ich chemisch induzierte Verschiebungen von bis zu 0.12 ppm (für **20**), was für eine starke Bindung in Wasser/Methanol spricht.

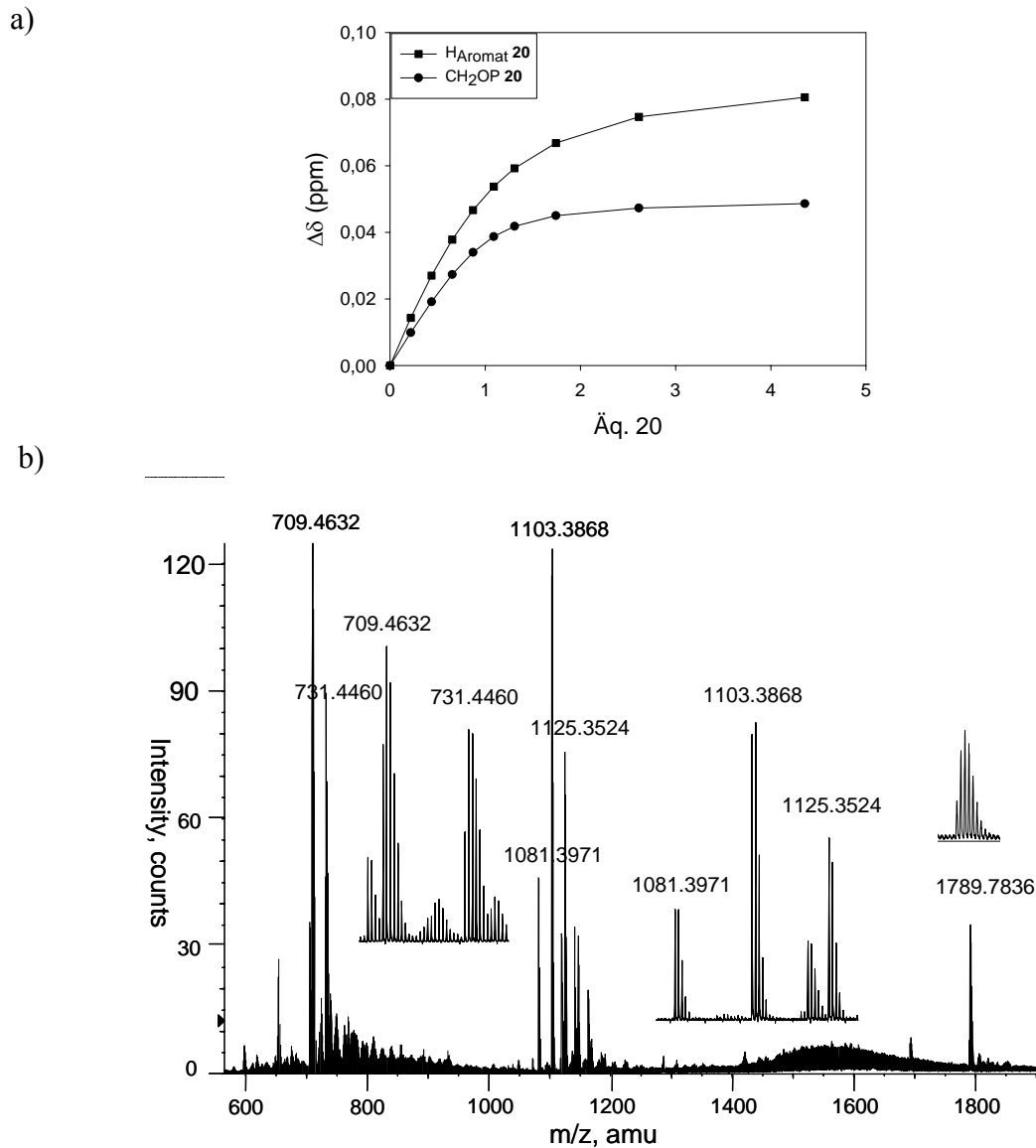


Abb. 30: a) Titrationskurve für die Kapsel **10+20** in D_2O/d_4 -MeOH(1:4). b) ESI-Massenspektrum der Kapsel **10+20**.

Mit dem Komplex zwischen Tetraphosphonat **20** und Tetraammonium **11** erhält man eine stärkere Bindung zwischen den beiden Komplexierungspartnern, obwohl die Halbschale **11**

einen flexiblen Methylenspacer zwischen dem starren Calix[4]arengrundgerüst und den bindungsaktiven funktionellen Gruppen besitzt. Im Vergleich zum Tetraanilin **10**, welches einen pK_a von ca 4.75 besitzt, hat **11** einen hohen pK_a -Wert von über 9. Dadurch können mit dem Tetrapphosponat **20** starke, salzartige Wasserstoffbrücken ausgebildet werden und man erhält in d_4 -MeOH die Bindungskonstante $K_a = (7 \pm 2.5) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$.

Das Tetrapyrazoliumcalix[4]aren **12** sollte unter den gegebenen Titrationsbedingungen, d.h. neutralem wäßrigen Milieu, unprotoniert vorliegen. In diesem Fall erfolgt wegen der ungünstigen pK_a -Differenz zwischen den Halbschalen **12** und **20** Protonentransfer. In der NMR-Titrationskurve sieht man wieder deutlich einen sehr scharfen Knick an dem Punkt, an dem man ein Äquivalent **20** zugegeben hat, und die chemische Verschiebung der Protonen am Pyrazolring bei **12** genau der vollständig deprotonierten Form **12'** entsprechen. Aus einer solchen Titrationkurve kann man wiederum keine Bindungskonstante bestimmen.

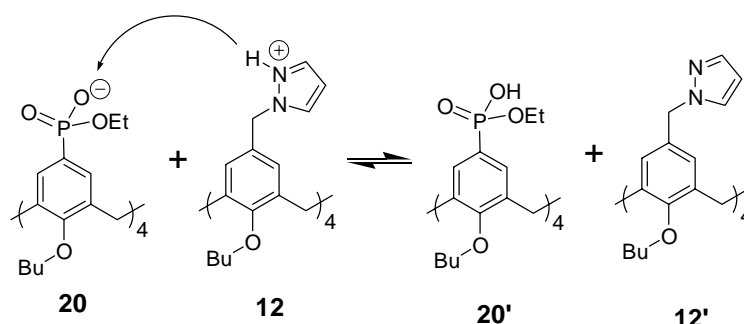


Abb. 31: Protonentransfer zwischen **12** und **20**.

Aus einer Verdünnungstitration erhält man für die wasserstoffbrückengebundene Kapsel in d_4 -MeOH eine Bindungskonstante $K_a = (2 \pm 0.6) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. Dabei ist zu berücksichtigen, dass bei Verdünnungstitrationen deutlich kleinere Shifts der chemischen Verschiebungen ($< 0.1 \text{ ppm}$) im Vergleich zu normalen NMR-Titrations auftreten. Eine weiterer Nachweis für den Protonentransfer zwischen **12** und **20** ergibt sich aus dem ESI-Massenspektrum. Wenn man eine Lösung (10^{-4} M in Methanol) der Mischung aus einem Äquivalent, Phosphonat **20** und jeweils einem Äquivalent der drei positiven Halbschalen **10**, **11** und **12** durch ESI-Massenspektrometrie im positiven Massenbereich untersucht, erhält man folgendes Massenspektrum.

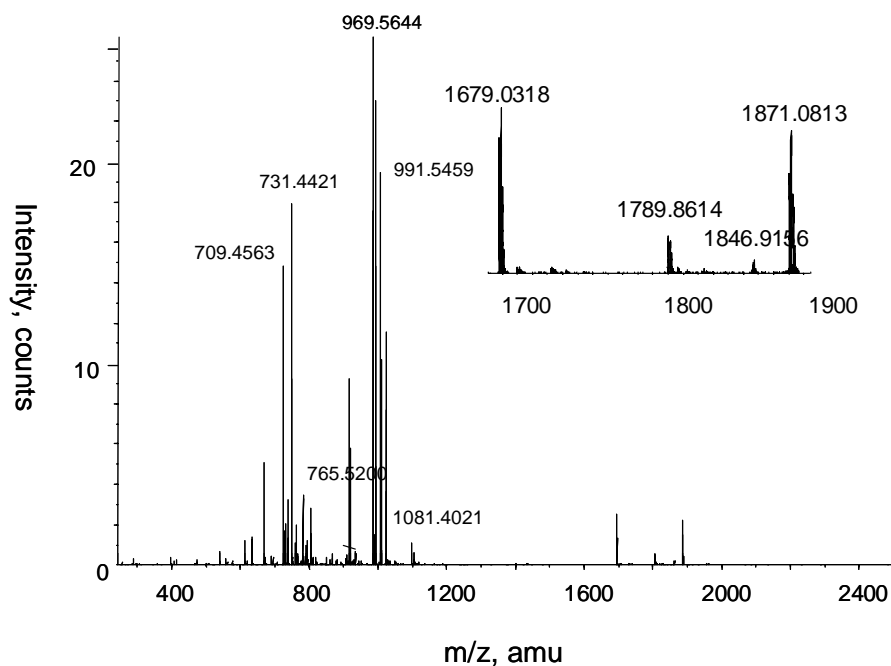


Abb. 32: ESI-MS Spektrum der Mischung aus **20** und **10**, **11** und **12**.

Alle vier Halbschalen erscheinen im Spektrum einzeln: $[\mathbf{10}\text{-}3\text{H}^+]^+$: 709.4563; $[\mathbf{11}\text{-}3\text{H}^+]^+$: 765.5200; $[\mathbf{12}\text{-}3\text{H}^+]^+$: 969.5644; $[\mathbf{20}\text{+}5\text{H}^+]^+$: 1081.4021.

Die Peakintensität der anionischen Halbschale ist kleiner als die Peakintensität der positiven Halbschalen, weil das Spektrum im positiven Massenbereich gemessen worden ist. Außer den oben definierten Peaks sieht man auch folgende: 1679.0318; für $[\mathbf{10}\text{+}\mathbf{12} - 7\text{H}^+]^+$, 1789.8614 für $[\mathbf{10}\text{+}\mathbf{20} + \text{H}^+]^+$, 1846.9156 für $[\mathbf{11}\text{+}\mathbf{20} + \text{H}^+]^+$ und 1871.0813 für $[\mathbf{12}\text{+}\mathbf{12} - 7\text{H}^+ - \text{ein Molekül Pyrazol}]^+$. Alle weiteren Peaks resultieren aus H^+/Na^+ Austausch. über $m/z = 2400$ wurden keine Peaks mehr gefunden.

Die beiden Peaks bei 1789.8614 und 1846.9156 sind Molekülionenpeaks für die schon untersuchten Kapseln $[\mathbf{10}\text{+}\mathbf{20}]$ und $[\mathbf{11}\text{+}\mathbf{20}]$, die man bereits erwarten kann. Aber man findet noch zwei weitere Peaks, zum einen bei 1679.0318, welcher der Molekülionenpeak für den ausgebildeten Komplex zwischen **10** als protonierter Form und **12** als deprotonierter Form entspricht. Ein ähnlicher Komplex zwischen einem Ammoniumion und einem Pyrazolderivat ist in der Literatur beschrieben.⁶² Dagegen war bei 1871.0813 der Molekülionenpeak für den ausgebildeten Komplex zwischen protonierter und deprotonierter Form von **12** unerwartet. Zu beachten ist, dass die letzten beiden Peaks im Massenspektrum nur dann auftreten, wenn die Pyrazoliumhalbschale **12** in der oben genannten Mischung vorhanden ist. Bei dem selben Versuch ohne **12** sind nur die Molekülionenpeaks für die beiden Kapseln $[\mathbf{10}\text{+}\mathbf{20}]$ und $[\mathbf{11}\text{+}\mathbf{20}]$ sichtbar (Kap. 2.4.4).

Tabelle 4. Bindungskonstanten K_a [M^{-1}] und freie Bindungsenthalpien [$kcal\ mol^{-1}$] in d_4 -Methanol bei 25 °C aus NMR -Titrationsen zwischen **20** und verschiedenen positiv geladenen Calix[4]arenhalbschalen.

1:1 Komplex ^a	Phosphonat 20	ΔG
Anilinium 10	$(1 \pm 0.5) \times 10^4$ ^c	-5.4
Ammonium 11	$(7 \pm 2.5) \times 10^5$	-7.8
Pyrazolium 12 ^b	$(2 \pm 0.6) \times 10^3$	-4.4

^aFehler in K_a sind Standardabweichungen der Regressionsanalyse. ^bErmittelt aus einer Verdünnungstitration. ^cIn D_2O/d_4 -MeOH (1:4).

Will man die Stabilität der hergestellten Kapseln diskutieren, muß man verschiedene Themen berücksichtigen, die eine wichtige Rolle dabei spielen könnten. Wie schon beschrieben ist, die pK_a -Wert-Differenz zwischen negativer und positiver Halbschale äußerst wichtig: je größer die Differenz, desto stabiler die Kapseln.

Ein weiterer Faktor ist der Rotationsfreiheitsgrad der ausgebildeten Kapsel, z.B. der Kapsel aus den beiden flexiblen Halbschalen [**9+11**] mit $K_a=(4 \pm 0.4) \times 10^5$, die stabiler ist als die starrere Kapsel [**10+20**] mit $K_a=(1 \pm 0.4) \times 10^4$, während beide dieselben funktionellen Gruppen am oberen Rand der Halbschale tragen. D.h. die Kapselbildung von [**9+11**] ist durch die freie Rotation über die benzylicischen Bindungen entropisch günstiger als die andere, obwohl die moleküldynamischen Berechnungen gezeigt haben, dass die starrere Kapsel thermodynamisch stabiler ist (Abb. 33).

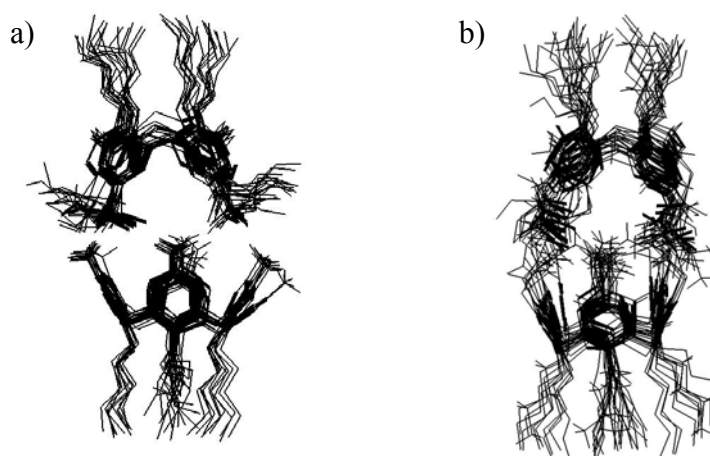


Abb. 33: Moleküldynamische Berechnungen für a) die starre Kapsel (**10+20**) und b) die flexible Kapsel (**11+9**); *MacroModel* 7.0 (Wasser, 10ps).

Um besser zu verstehen, wie die Struktur der Kapseln aussieht, sind zwei Versuche durchgeführt worden.

Bei NOESY-Experimenten mit verschiedenen Kapseln sieht man gar keine Kreuzpeaks. Daraus kann man schließen:

1. Wie schon im *Molekular Modelling* zu sehen, ist der Abstand zwischen beiden (positiv und negativ geladenen) funktionellen Gruppen am oberen Rand des Calixarens im Komplex größer als 4 Å.
2. Keine Aggregation zwischen den Halbschalen durch den Alkylrest des Calixarens oder durch π - π Wechselwirkung zwischen den Aromaten ist nachweisbar. Dies bedeutet, dass die berechnete Struktur (*Macro Model 7.0*) zuverlässig sein sollte, weil die Komplexe nur über die geladenen Ränder stabilisiert vorhergesagt worden sind.

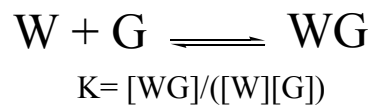
Bei einem VT-NMR-Experiment mit einer Mischung aus einem Äquivalent Phosphonat **20** und jeweils einem Äquivalent Anilium **10** und Benzylammonium **11** von 25 °C bis -30°C sieht man keinen zusätzlichen NMR-Signalsatz für das Phosphonat **20**. Da die Bindungskonstanten der beiden Kapseln in der gleichen Größenordnung liegen, kann man erwarten, dass in dieser Mischung beide Kapseln ausgebildet werden. Wegen des schnellen Austauschs sogar bei tiefen Temperaturen (-30°C) sieht man jedoch keine separaten NMR-Signale für die komplexierte und unkomplexierte Form von **20**. Im Gegensatz dazu ist dieser Prozess bei der wasserstoffgebundenen Kapsel so langsam, dass man in Rahmen der NMR-Zeitskala zwei verschiedene NMR-Signalsätze jeweils für die komplexierte Halbschale und die freie Halbschale erkennen kann.^{17c}

In diesem Kapitel wurde die Stabilität der molekularen Kapseln in methanolischer Lösung durch NMR-Spektroskopie untersucht. Im folgenden Kapitel wird um ihre Stabilität durch ESI-MS studiert.

2.4 Bestimmung der relativen Bindungsstärken und Stabilitäten der molekularen Kapseln durch ESI-MS.

2.4.1 Bestimmung der Bindungskonstanten von supramolekularen Komplexen.

Wenn man in der Supramolekularen Chemie die Gleichgewichtskonstante eines supramolekularen Komplexes zwischen einem Wirt und einem Gast diskutieren will, muß man das folgende Gleichgewicht betrachten:



Gleichung 1: Gleichgewicht zwischen Wirt, Gast und Komplex.

Heutzutage werden verschiedene Methoden für die Bestimmung von der Gleichgewichtskonstante bzw. Bindungskonstanten, K_a verwendet.

Am häufigsten sieht man in der Literatur folgende Methoden:

Wenn die Geschwindigkeit der Komplexbildung z. B. bei Biopolymeren sehr langsam ist, kann der Komplex isoliert und dessen Bindungskonstante bestimmt werden. Die Bestimmung der Bindungskonstanten der Komplexe durch spektroskopische Methoden wie UV-Vis, IR oder Fluoreszenz-Spektroskopie ist ebenfalls ausführlich in der Literatur beschrieben. Ein schönes Beispiel: aufgrund der induzierten Lactonisierung bei der Komplexbildung von Phenolphthalein als Dianion mit β -Cyclodextrin ändert Phenolphthalein seine elektronische Struktur und wird farblos. Dieser Prozess kann durch UV-Vis Spektroskopie verfolgt und entsprechende Bindungskonstanten so bestimmt werden (Abb. 34).⁶³

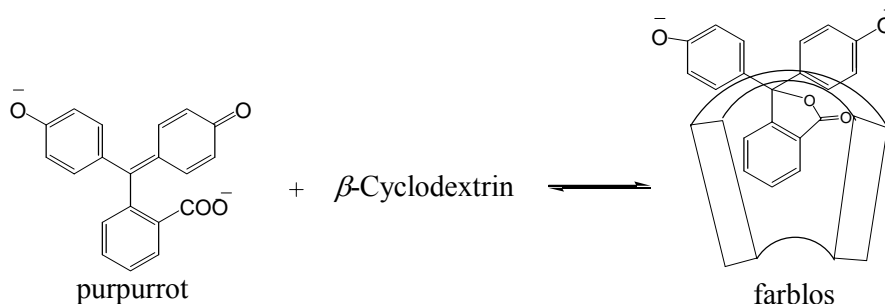


Abb34: Induzierte-Komplexierung eines Phenolphthaleindianions.

Am gebräuchlichste ist jedoch die Bestimmung von Bindungskonstanten mittels NMR-Spektroskopie.⁵⁹

Weitere Methoden wie Spektrofluorometrie, oder PR-HPLC sind ebenfalls in der letzten Zeit für die Bestimmung von Bindungskonstanten von supramolekularen Komplexen verwendet worden.⁶⁴

Massenspektrometrie ist eine Methode, die erst relativ wenig für die Bestimmung der Stabilität von supramolekularen Komplexen in der Gasphase eingesetzt wird. Häufiger ist die Analyse gelöster Biomoleküle wie Peptide und Proteine.^{65,66}

2.4.2 Elektrospray- Ionisations- Massenspektrometrie (ESI-MS)

Unter Elektrospray versteht man die Dispersion einer Flüssigkeit in kleine geladene Tröpfchen mit Hilfe eines elektrischen Feldes. Dabei wird eine durchlässige, spitz ausgezogene, mit Analytlösung gefüllte Metallkapillare oder metallbeschichtete Glaskapillare an eine Hochspannungsquelle (0.3-6 kV) angeschlossen. Im elektrischen Feld verformt sich die Flüssigkeitsoberfläche an der Austrittsstelle der Kapillaren zum sogenannten „Taylor-Konus“ (Abb. 35).

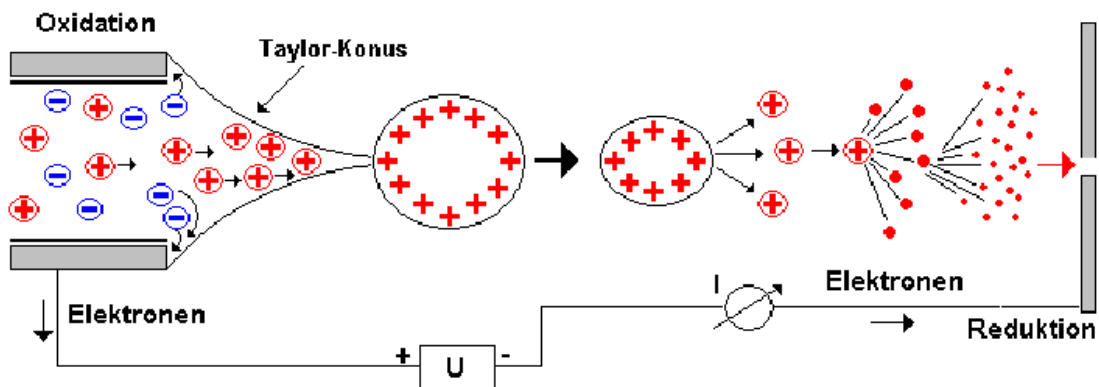


Abb. 35: Schematische Darstellung des Ionisierungsprozesses bei der ESI-MS.

Die Ionisierung erfolgt in vier Schritten:

- 1) Bildung kleiner geladener Tröpfchen aus Elektrolyten.
- 2) Verdampfen des Lösungsmittels und dadurch Zunahme der Ladungsdichte an der Tröpfchenoberfläche ($\sim 10^5$ Ladungen pro Tröpfchen).
- 3) Wiederholter Zerfall der Tröpfchen in immer kleinere Tröpfchen (Coulomb Explosion).
- 4) Transfer der Ionen in die Gasphase (Desolvatisierung).

2.4.3 ESI-MS in der Supramolekularen Chemie

Lange Zeit war es sehr schwierig, Informationen über die Molmasse eines supramolekularen Komplexes, welcher durch sehr schwache Wechselwirkungen (Wasserstoffbrücken oder van-der-Waals-Wechselwirkungen) zusammengehalten wird, zu erhalten. Die harten MS-Methoden wie EI oder CI waren unbrauchbar, weil unter EI- oder CI-Bedingungen jegliche Komplexe zwischen Wirt und Gast zerstört werden.

Nach der Entdeckung der „weichen“ Ionisierungsmethoden wie FAB-MS (*Fast-Atom-Bombardment-Massenspektrometrie*), MALDI-MS (*Matrix-Assisted Laser Desorptions Ionizations Massenspektrometrie*) und ESI-MS (*Elektrospray-Ionisations Massenspektrometrie*), wurde es möglich, solche nicht-kovalenten Komplexe mit massenspektrometrischen Techniken zu vermessen.⁶⁷

FAB-MS (*Fast-Atom-Bombardment- Massenspektrometrie*) und FD-MS (*Feld-Desorptions-Massenspektrometrie*) sind zwei Methoden, die man schon früher zum Studium der Gleichgewichtskonstanten von supramolekularen Komplexen benutzt hat. Die FAB-MS Ergebnisse von Kronen-ether-Komplexen mit alkalischen Kationen entsprechen im wesentlichen denen, die mit einer kalorimetrischen Methode gewonnen wurden.⁶⁸ In der letzten Zeit haben einige wenige Arbeitskreise MALDI-MS und ESI-MS als neue Methoden für die Charakterisierung von supramolekularen Komplexen verwendet.⁶⁹

Massenspektrometrie benötigt Ionen in der Gasphase. Manche Eigenschaften ändern sich dramatisch, wenn man aus der Lösung zur Gasphase übergeht. Es ist noch Gegenstand der aktuellen Forschung, inwieweit die Eigenschaften der Komplexe sich beim Übergang von der Lösung in die Gasphase ändern oder nicht. Manche Wechselwirkungen, wie die elektrostatischen Wechselwirkungen oder die Wasserstoffbrücken werden bei der Verdampfung des Lösungsmittels z. B. verstärkt, andere wie hydrophobe Kräfte werden schwächer.⁶⁴

In den letzten zehn Jahren wurden vermehrt Wirt-Gast Komplexe in der Gasphase durch ESI-MS studiert. Einige Studien lieferten Hinweise darauf, dass die *Elektrospray-Ionisations Massen-Spektrometrie* (ESI-MS) eine zuverlässige und eine der Lösung (NMR) vergleichbare Methode darstellen könnte, um die Bindungsselektivitäten und

Bindungskonstanten der Komplexe sehr genau bestimmen zu können.⁷⁰ Andere Studien hingegen führten zu umgekehrten Schlussfolgerungen.

Brodbelt hat folgendes gezeigt, dass wenn eine Lösung aus 18-Krone-6 mit verschiedenen Metallchloriden wie KCl, NaCl, RbCl, CsCl in Methanol durch ESI-MS vermessen wird, sinkt die Signalintensität der entsprechenden Komplexe zwischen Kronenether und den mit zunehmender Ionengröße der Metallkationen, d.h. bei großen Metallkationen wie Cs oder Rb sind die Komplexe mit Kronenethern weniger stabil. Dabei wird auch die ESI-Signalintensität kleiner.^{70e} Nach den Erfahrungen von *Kempen* sind diese Ergebnisse von ESI-MS mit anderen Methoden vergleichbar.⁷¹

Die Untersuchungen von *Shinkai* zeigen ebenfalls, dass die relativen Intensitäten der Molekülonen von Komplexen zwischen Calix[4]arenen und Tetraalkylammonium als Gast-Ionen in der Lösung und in der Gasphase vergleichbar sind.⁷²

Im Bereich der Calix[4]aren-Chemie hat *Schalley* bisher die meisten MS-Ergebnisse publiziert. Er hat die Bindungsstärken von verschiedenen kationischen Gästen in Kapseln aus Calix[4]aren-Harnstoffderivaten **21** mit ESI-MS studiert.⁷³

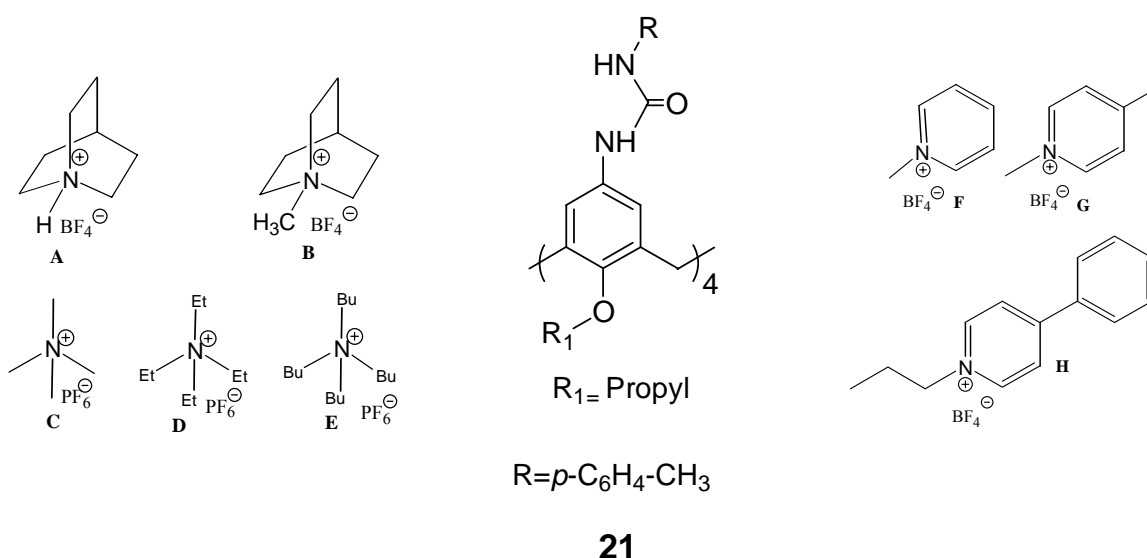


Abb. 36: Lewis-Struktur der Kapsel **21** und deren Gäste, die von *Schalley* studiert worden sind.

Zum Studium der relativen Bindungsaffinitäten zwischen den Calixarenen und verschiedenen Gästen hat *Schalley* je ein Äquivalent der zwei Gäste mit einem Äquivalent **21** in Chloroform gelöst und durch ESI-MS gemessen. Er hat so die relative Intensität der Molekülonenpeaks für die Komplexe zwischen jedem Gast und **21** miteinander vergleichen können.

Tabelle 5. Relative Intensität der Molekülionenpeaks der Einlagerungskomplexe zwischen positiv geladenen Gästen und **21** aus der Messung von einem Äquivalent **21** mit jeweils einem Äquivalent der Gäste in Chloroform durch ESI-MS.⁷³

1	G ₁ ⁺	G ₂ ⁺	I ₁	I ₂
2	A ⁺	B ⁺	9	91
3	A ⁺	C ⁺	76	24
4	A ⁺	D ⁺	<0,5	>99,5
5	A ⁺	H ⁺	>99,5	<0,5
6	B ⁺	C ⁺	97	3

Wie man aus der Tabelle 5 sieht, wählt die Kapsel (**21+21**) ihre Gäste selektiv, und zwar nach der Größe der Gäste aus (Reihe 4, Tabelle 5). *Schalley* hat dieselben Ergebnisse auch in der Lösung (NMR-Titration) ermittelt. Dieses Beispiel zeigt eine sehr gute Vergleichbarkeit zwischen Lösung und Gasphase.

2.4.4 Bestimmung der relativen Bindungskonstanten der molekularen Kapseln durch ESI-MS.

Im ersten Teil der Arbeit wurden Calix[4]aren-Halbschalen hergestellt, die in polaren Lösungsmitteln wie Methanol oder Methanol/Wasser durch Selbstorganisation molekulare Kapseln bilden können.

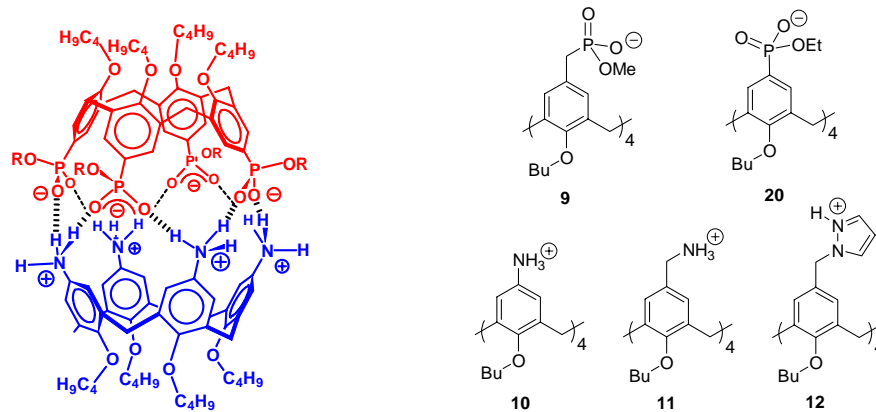


Abb. 37: links: Optimierte Struktur zwischen **10** und **20**; rechts: Lewis-Struktur der Calix[4]arenhalbschalen.

Wie weiter beschrieben, wurden die Bindungskonstanten der molekularen Kapseln durch NMR-Titration bestimmt. Da die Kapselbildungen reversible und relativ schnelle Prozesse sein können, die oftmals schneller als die NMR-Zeitskala ablaufen, sieht man im NMR-Spektrum einer Mischung oft keine neuen Signale für die gebildete Kapsel. Dadurch sind in der NMR-Spektroskopie einer Mischung aus zwei Komponenten, die miteinander einen Komplex ausbilden können, nur gemittelte Signale von komplexierten und unkomplexierten Teilchen sichtbar.⁷⁴ Genau das beobachten auch wir mit unserem ionischen Kapseln.

ESI-MS ist wesentlich schneller, empfindlicher und selektiver als NMR-Methoden. ESI-MS wurde deshalb für die Bestimmung der relativen Bindungsstärken von H-Brücken-gebundenen molekularen Kapseln in Mischungen verwendet.⁷⁵ Die Frage war zunächst, ob die Bindungskonstanten aus den NMR-Titrationen mit denen aus ESI-MS vergleichbar sind. Um diese Fragen zu beantworten, wurden die folgenden Versuche durchgeführt: Im ersten Schritt wurde von allen möglichen Kapseln, die in methanolischer Lösung stabil sind, ein ESI-Massenspektrum im positiven Massenbereich aufgenommen. Im Massenspektrum der Kapseln (**9+12**) und (**20+12**), die durch Wasserstoffbrücken gebunden sind, waren keine Signale für die Molekülionenpeaks der entsprechenden Kapseln sichtbar. Im Spektrum der Kapsel (**9+12**) waren nur die Molekülionenpeaks der beiden Halbschalen (positive und negative) sowie die negative Halbschale **9** mit vier Gegenionen

(Tetrabutylammonium) zu sehen. Im Fall der Kapsel (**20+12**) waren im Massenspektrum außer dem Molekülionenpeaks der beiden Halbschalen auch Dimere des Calix[4]arentetraphosphnats **20**, welche durch Chelatkomplexierung mit acht Lithium-Kationen ausgebildet werden, sichtbar. Ähnliche kapselartigen Komplexe aus Cyclodextrinen und verschiedenen Metallkationen sind in der Literatur bereits beschrieben.⁷⁶ In allen anderen Fällen waren sowohl die Molekülionenpeaks der Kapseln als auch die der Halbschalen in den Massenspektren zu sehen, wobei die positiven Halbschalen die größte Intensität zeigten. Sowohl Kapseln als auch Halbschalen waren meist einfach positiv geladen. Seltener waren von Kapseln (**10+20**) und (**11+20**) 2-fach positiv geladene Ionen zu sehen.

Im Folgenden wurde eine Lösung aus einem Äquivalent einer negativ geladenen Halbschalen-Lösung (10^{-4} M in Methanol), **9** oder **20**, und jeweils einem Äquivalent zweier verschiedener positiv geladener Halbschalen-Lösungen (10^{-4} M in Methanol), z. B. **10** und **11**, im Verhältnis 1:1:1 gemischt und ein Massenspektrum aufgenommen. Alle Molekülionenpeaks der Kapseln (**10+20**) und (**11+20**) als auch der Halbschalen **10**, **11**, **20** waren sehr deutlich im Massenspektrum sichtbar.

Jeder Versuch wurde dabei mindestens dreimal und unabhängig voneinander durchgeführt. Teilweise wurden auch die gleichen Proben zweimal gemessen. Die Ergebnisse derselben Proben stimmten gut überein (Tabelle 6).

Tabelle 6: Vergleich von I_{ESI} (absolute Intensitäten der M^+ Kapselpeaks) in einer äquimolaren 1:1:1 Mischung (zwei Kationen **10** und **11**, ein Phosphonat **20**). Es wurden drei unabhängige Messungen durchgeführt.

Messung	Mischung	$I_{\text{ESI}}(11+20)$	$I_{\text{ESI}}(10+20)$	$I(11+20):I(10+20)$
1	20+10+11	144	125.5	1.1:1
2	20+10+11	0.21	0.42	1:2
3	20+10+11	53.5	63.5	1:1.2

In den Versuchen Nr. 1 und 3 (Tabelle 6) waren auch doppelt geladene Molekülionenpeaks, $[10+20]^{+2}$ und $[11+20]^{+2}$ sichtbar, wobei aber die Verhältnisse zwischen $I_{\text{ESI}} [10+20]^{+2}$ und $I_{\text{ESI}} [11+20]^{+2}$ ebenfalls $\sim 1 : 1$ waren.

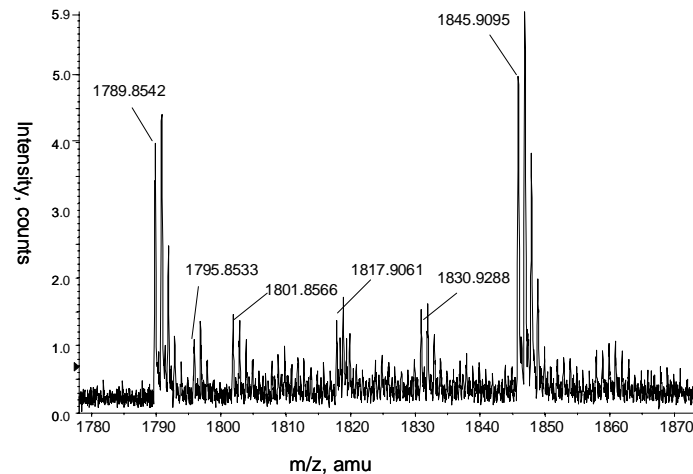


Abb. 38: ESI-Massenspektrum der Mischung aus einem Äquivalent **20** und jeweils einem Äquivalent **10** und **11**.

Alle Signale, die man in dem Spektrum der Abb. 38 sieht, können zugeordnet werden: 1789.8542: $[\mathbf{10}+\mathbf{20}+\mathbf{H}^+]^+$; 1795.8533 und 1801.8566 stammen von ein bzw. zweifachen $\mathbf{H}^+/\mathbf{Li}^+$ Austausch; 1817.9061 stellt heterodimere Kapseln dar: $[\mathbf{10}+\mathbf{20}+\mathbf{H}^+]$ $[\mathbf{11}+\mathbf{20}+\mathbf{H}^+]^{2+}$ und 1845.9095: $[\mathbf{11}+\mathbf{20}+\mathbf{H}^+]^+$.

Wenn man die I_{ESI} (absolute Intensitäten der \mathbf{M}^+)-Peaks von den beiden Kapseln miteinander vergleicht, sieht man, daß das Verhältnis zwischen $I_{\text{ESI}}(\mathbf{10}+\mathbf{20})$ und $I_{\text{ESI}}(\mathbf{11}+\mathbf{20}) \sim 1:1$ ist. Die entsprechenden mit NMR bestimmten Bindungskonstanten lagen bei $K_a(\mathbf{10}+\mathbf{20}) = 10^4 \text{ M}^{-1}$ in Methanol/Wasser (4:1); und $K_a(\mathbf{11}+\mathbf{20}) = 10^5 \text{ M}^{-1}$ in Methanol. Man muss darauf achten, dass bei den Kapseln (**10+20**) die Bindungskonstante in wässrigem Methanol gemessen worden ist. In diesem Fall darf man deshalb nicht die kompetitiven Effekte von Wasser vernachlässigen; d.h. man kann davon ausgehen, dass die Größenordnung der mittels NMR-Titrations bestimmten Bindungskonstanten ebenfalls etwa vergleichbar ist.

Das NMR-Spektrum von genau derselben Mischung sieht folgendermaßen aus (Abb. 39).

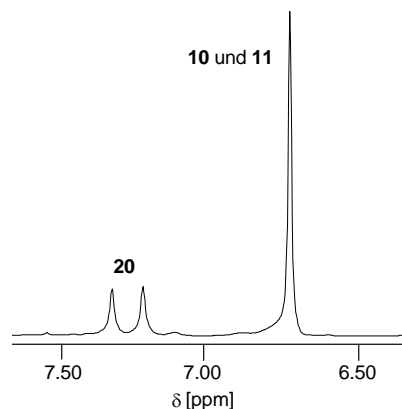


Abb. 39: Das NMR-Spektrum der Mischung aus einem Äquivalent **20** und jeweils einem Äquivalent **10** und **11**

Im NMR-Spektrum gibt es keine zusätzliche Signale für die gebildete Kapsel, sondern man sieht für jede Halbschale gemittelte Signale von komplexierten und unkomplexierten Teilchen. In diesem Spektrum findet man also wesentlich weniger Information über eine definierte Komplexbildung als im vergleichbaren Massenspektrum. Dieses Beispiel zeigt, dass bei schnellen Prozessen die NMR-Spektrometrie im Gegenteil zur Massenspektrometrie nicht für Mischungen geeignet ist.

Bei der Verwendung der anderen negativen Halbschale **9** wurden die folgenden Ergebnisse ermittelt (Tabelle 7).

Tabelle 7: Vergleich von I_{ESI} (absolute Intensitäten der M^+ Kapselpeaks) in einer äquimolaren 1:1:1 Mischung (zwei Kationen **10** und **11**, ein Benzylphosphonat **9**). Es wurden zwei unabhängige Messungen durchgeführt.

Messung	Mischung	$I_{\text{ESI}}(\mathbf{11+9})$	$I_{\text{ESI}}(\mathbf{10+9})$	$I(\mathbf{11+9}):I(\mathbf{10+9})$
1	9+10+11	90.5	22	4:1
2	9+10+11	86	21	4:1

Aus der Tabelle 7 kann man sehr deutlich entnehmen, daß $I_{\text{ESI}}(\mathbf{11+9})$ wesentlich größer ist als $I_{\text{ESI}}(\mathbf{10+9})$. Die entsprechenden mit NMR ermittelten Bindungskonstanten sind, $K_a(\mathbf{11+9}) = 4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ in Methanol und $K_a(\mathbf{10+9}) = 7 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ in Methanol. Auch sie zeigen deutlich unterschiedliche Größenordnungen der Komplexbildungskonstanten. Bei der Verwendung von zwei Äquivalenten der negativ geladenen Halbschalen (**20** oder **9**) mit jeweils einem Äquivalent der positiv geladenen Halbschalen (**10** und **11**), (2:1:1 Mischung), wurden die absoluten Intensitäten der Molekülionenpeaks der Kapseln (**10+20**) und (**11+20**) größer, aber die relative Intensitäten der beiden Kapseln haben sich praktisch nicht verändert.

Die beiden negativ geladenen Halbschalen (**9** und **20**) haben ohne entsprechende Gegenionen (Tetrabutylammonium-Kation bei **9** und Lithium-Kation bei **20**), identische Molekulargewichte, so dass die Untersuchung einer Mischung mit zwei verschiedenen negativ geladenen Halbschalen (**9** und **20**) leider unmöglich war.

Wenn man von jedoch einer Dreier-Mischung (1:1:1) aus einer negativ geladenen Halbschale **20** und zwei positiv geladenen Halbschalen **10** und **11** zu einer vierer Mischung (1:1:1:1) aus einer negativ geladenen Halbschale **20** und drei positiv geladenen Halbschalen **10**, **11** und **12** übergeht, veränderten sich die Ergebnisse und die Schwankungsbreite wird

größer. Im entsprechenden Massenspektrum wurden zwei neue Peaks sichtbar, die vorher (Tabelle 6) nicht beobachtet wurden (Abb. 40 und Tabelle 8).

Tabelle 8: Vergleich von I_{ESI} (absolute Intensitäten der M^+ Kapselpeaks) in einer äquimolaren 1:1:1:1 Mischung (drei Kationen **10**, **11** und **12**, ein Phosphonat **20**). Dargestellt sind sechs unabhängige Messungen.

Messung	Mischung	$I_{\text{ESI}}(11+20)$	$I_{\text{ESI}}(10+20)$	$I_{\text{ESI}}(12+20)$	$I(11+20):I(10+20)$
1	20+10+11+12	0.25	1.3	0	1:5
2	20+10+11+12	0.32	0.65	0	1:2
3	20+10+11+12	5	9	0	1:1.8
4	20+10+11+12	14	22.5	0	1:1.7
5	20+10+11+12	8.5	8.7	0	1:1
6	20+10+11+12	9.5	12.5	0	1:1.5

In den Massenspektren der Vierer Mischung (1:1:1:1) sind die Molekülionenpeaks von allen Halbschalen, also drei positiv geladenen, $[\mathbf{10} - 3\text{H}^+]^+$: 709.4563, $[\mathbf{11} - 3\text{H}^+]^+$: 765.5200, $[\mathbf{12} - 3\text{H}^+]^+$: 969.5644; und einer negativ geladenen $[\mathbf{20} + 5\text{H}^+]^+$: 1081.4021 sichtbar. Außerdem waren beide ionischen Kapseln, $[\mathbf{10}+\mathbf{20} + \text{H}^+]^+$: 1789.8614, und $[\mathbf{11}+\mathbf{20} + \text{H}^+]^+$: 1846.9156 sehr deutlich zu sehen. Molekülionenpeaks der nicht-ionischen, wasserstoffgebrückten Kapseln (**12+20**) konnten jedoch nicht beobachtet werden

Außer den oben beschriebenen Peaks waren zwei unbekannte Peaks zu sehen, deren Zusammensetzung mit der MS/MS-Methode (Kap. 2.4.5) aufgeklärt wurde.

Diese beiden neuen Peaks gehören ebenfalls zu Kapseln: 1679.0318; für $[\mathbf{10}+\mathbf{12} - 7\text{H}]^+$ und 1870.0813 für $[\mathbf{12}+\mathbf{12} - 7\text{H}^+ - \text{ein Molekül Pyrazol}]^+$. Alle anderen nicht diskutierten Signale sind auf den H^+/Na^+ -Austausch zurückzuführen. Es konnten keine Massensignale über $m/z = 2400$ gefunden werden (Abb. 40).

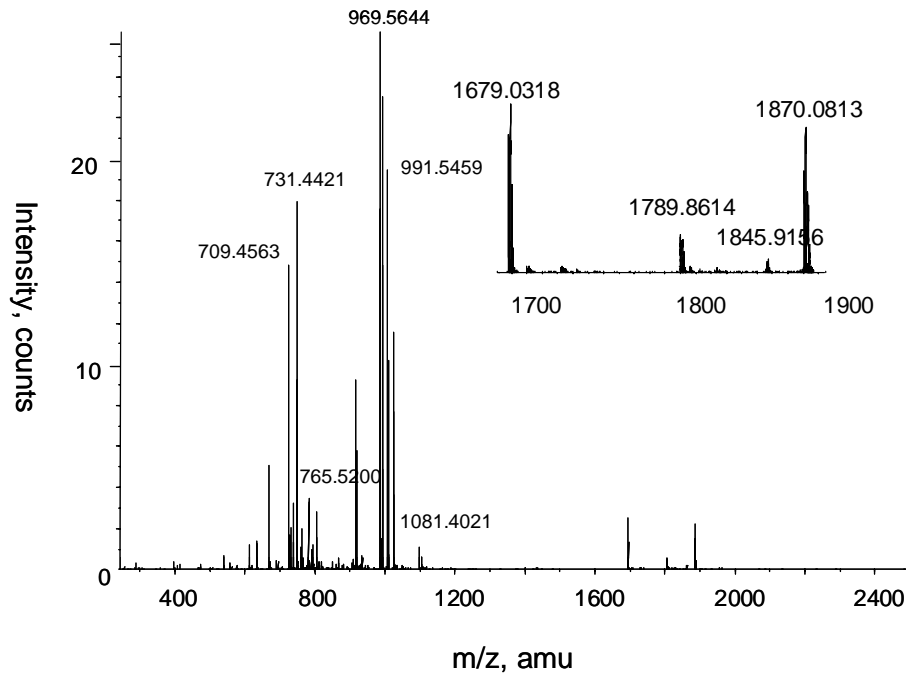


Abb. 40: ESI-MS Spektrum von der Mischung aus einem Äquivalent **20** und jeweils einem Äquivalent **10**, **11** und **12** in Methanol.

Wie in Kap. 2.3 schon beschrieben, kommt es wegen ungünstiger pK_a -Differenzen zwischen dem Phosphonat **20** und der Pyrazolium-Halbschale **12** zu einem Protonentransfer. Dadurch können die neuen kapselartigen Komplexe zwischen **10** und **12** oder der deprotonierten Form von **12** (**12'**) und **12** ausgebildet werden (Abb. 41 und 42)

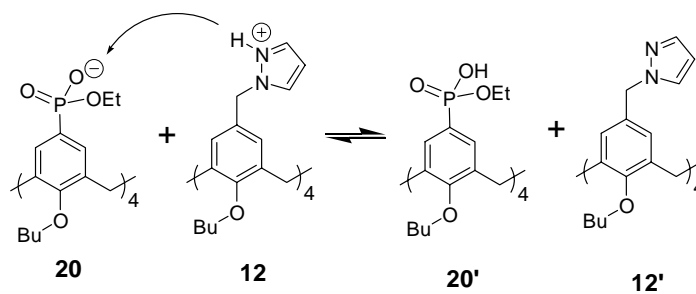


Abb. 41: Protontransfer-Reaktion zwischen **12** und **20**.

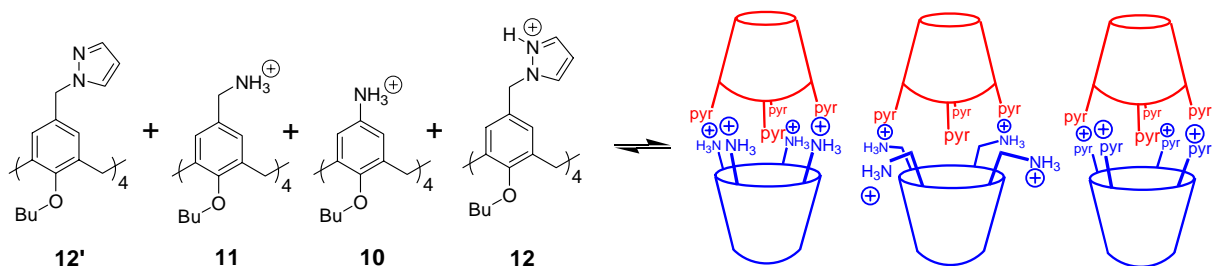


Abb. 42: Schematische Darstellung von den unerwarteten molekularen Kapseln, die durch ESI-MS/MS gefunden wurden.

Wie schon erwähnt wurde, sind Komplexe zwischen Ammonium Ionen und Pyrazol schon bekannt, aber der Komplex zwischen **12** und **12'**, der durch ESI-MS/MS entdeckt wurde, ist in der Literatur noch nicht beschrieben. Mit NMR-Experimenten ließen sich solche Komplexe nicht finden, da NMR bei Mischungen gemittelte Signale lieferte.

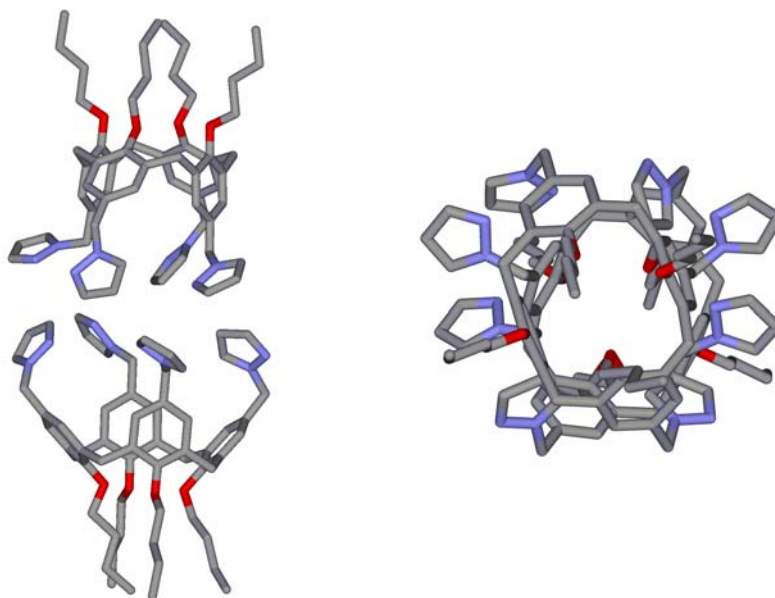


Abb. 43: Energieminimierte Struktur der neu gefundenen Kapsel (**12+12'**), (MacroModel 7.0, OPLS-AA, Wasser, 1000 Schritte).

Diese Nebenreaktion, die in der oben beschriebenen Mischung abläuft, hat einen sehr großen Einfluss auf die Konzentration der negativ geladenen Halbschale **20**. Trotzdem sind die Verhältnisse zwischen $I_{\text{ESI}}(\mathbf{10+20})$ und $I_{\text{ESI}}(\mathbf{11+20})$ in etwa mit den Ergebnissen aus der Dreier (1:1:1) Mischung vergleichbar. Ein zusätzliches Äquivalent von **20** hat keinen großen Einfluss auf die Verhältnisse der relativen Intensitäten der Molekülionenpeaks (Tabelle 9).

Tabelle 9: Vergleich von I_{ESI} (absolute Intensitäten der M^+ Kapselpeaks) in der Mischung aus drei Äquivalenten Phosphonat **20** und jeweils einem Äquivalent der drei Kationen **10**, **11** und **12** (3:1:1:1). Es wurden zwei unabhängige Messungen durchgeführt.

Messung	Mischung	$I_{\text{ESI}}(\mathbf{11+20})$	$I_{\text{ESI}}(\mathbf{10+20})$	$I_{\text{ESI}}(\mathbf{12+20})$	$I(\mathbf{11+20}):I(\mathbf{10+20})$
1	20+10+11+12	4.2	3	0	1.4:1
2	20+10+11+12	6.1	10.6	0	1:1.7

Bei Zugabe eines zusätzlichen Äquivalentes von **10** (eine positiv geladene Halbschale) zu der Mischung sahen die Ergebnisse folgendermaßen aus (Tabelle 10).

Tabelle 10: Vergleich von I_{ESI} (absolute Intensitäten der M^+ Kapselpeaks) in der Mischung aus einem Äquivalent Phosphonat **20** und jeweils einem Äquivalent von **11**, **12** und drei Äquivalenten **10** (1:1:1:3). Es wurde zwei unabhängige Messungen durchgeführt.

Messung	Mischung	$I_{\text{ESI}}(11+20)$	$I_{\text{ESI}}(10+20)$	$I_{\text{ESI}}(12+20)$	$I(11+20):I(10+20)$
1	20+10+11+12	0.07	1	0	1:14
2	20+10+11+12	3	23	0	1:7.6
3	20+10+11+12	10	30	0	1:3

Anhand der Tabellen 9 und 10 kann man sehen, daß mit der zusätzlichen Menge einer positiv geladenen Halbschale **10**, auch die Intensität der entsprechenden Kapsel größer wird. Allerdings schwanken die Ergebnisse von Messung zu Messung stark, nicht aber, wenn die gleiche Probe ein zweites Mal injiziert wurde. Das zeigt, daß die Probenvorbereitung (Einwaage) relativ kritisch ist.

Wenn man das Benzylphosphonat **9** als negativ geladene Halbschale nimmt und den oben beschriebenen Versuch (Tabelle 8) durchführt, sieht man allerdings erfreulicherweise keine Schwankung bei den Ergebnissen, weil in diesem Fall keine Nebenreaktion stattfindet (Tabelle 11).

Tabelle 11: Vergleich von I_{ESI} (absolute Intensitäten der M^+ Kapselpeaks) in einer äquimolaren 1:1:1:1 Mischung (drei Kationen **10**, **11** und **12**, ein Benzylphosphonat **9**). Es wurden zwei unabhängige Messungen durchgeführt.

Messung	Mischung	$I_{\text{ESI}}(11+9)$	$I_{\text{ESI}}(10+9)$	$I_{\text{ESI}}(12+9)$	$I(11+9):I(10+9)$
1	9+10+11+12	11.1	2.3	0	4.8:1
2	9+10+11+12	4.8	1	0	4.8:1

Aus den Daten in Tabelle 8 wird deutlich, daß eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen aus der Lösung (NMR-Titration) und den ESI-MS Ergebnissen für das Beispiel der durch Selbstorganisation aus **20** und jeweils **10**, **11** und **12** gebildeten molekularen Kapseln herrscht. Die Kapseln (**11+20**), $K_a = (7 \pm 2.5) \times 10^5$ in d_4 -MeOH und (**10+20**), $K_a = (1 \pm 0.5) \times 10^4$ in d_4 -MeOH /D₂O (4:1) besitzen eine ähnliche Stabilität in der

Lösung und lieferten auch vergleichbare Intensitäten der Molekülionenpeaks im ESI-MS selbst in der Vierermischung.

Tabelle 12: Vergleich der mittels verschiedener Methoden ermittelten Kapselstabilitäten (**11+20**, **10+20** und **12+20**), über NMR-Titration, ESI-MS und theoretische Berechnungen(*Macromodel 7.0*).

Kapsel	K_a [M^{-1}] (NMR)	I_{ESI} (ESI-MS)	ΔH [kJ/mol] (Macromodel, 7.0)
11+20	$(7\pm 2.5) \times 10^5$	~ 1	-860
10+20	$(1\pm 0.5) \times 10^4$	~ 1	-830
12+20	$(2\pm 0.6) \times 10^3$	0	-80

Denselben Zusammenhang findet man auch für die Ergebnisse aus der Lösung (NMR-Titration) und ESI-MS im Falle der Kapseln zwischen **9** und den positiv geladenen Halbschalen (Tabelle 13).

Die Kapsel (**11+9**), $K_a = (4\pm 0.4) \times 10^5$ in d_4 -MeOH, ist in der Lösung wesentlich stabiler als [**10+9**], $K_a = (7\pm 1.0) \times 10^3$ in d_4 -MeOH. Die Intensität des Molekülionenpeaks von (**11+9**) im ESI-MS ist ebenfalls wesentlich größer als die von (**10+9**).

Tabelle 13: Vergleich der mittels verschiedener Methoden ermittelten Kapselstabilitäten (**11+9**, **10+9** und **12+9**); über NMR-Titration, ESI-MS und theoretische Berechnungen(*Macromodel, 7.0*).

Kapsel	K_a [M^{-1}] (NMR)	I_{ESI} (ESI-MS)	ΔH [kJ/mol] (Macromodel, 7.0)
11+9	$(4\pm 0.4) \times 10^5$	4.8	-810
10+9	$(7\pm 1.0) \times 10^3$	1.0	-790
12+9	$(4\pm 0.1) \times 10^3$	0	-30

Zusammenfassend läßt sich somit feststellen, daß im Fall der untersuchten molekularen Kapseln, ESI-MS eine schnelle, selektive und sensitive Methode ist, um selbst in Mischungen Informationen über die relative Stabilität der Kapseln sowie über Nebenreaktionen zu erhalten.

2.4.5 Bestimmung der relativen Gasphasenstabilität der molekularen Kapseln durch ESI-MS/MS

Eine besondere Aufgabe für die Massenspektrometrie, die gerade in jüngster Zeit zunehmend in den Vordergrund tritt, ist der Nachweis spezifischer, nichtkovalent gebundener Komplexe. Diese sind in der Chemie der lebenden Natur von größter Bedeutung, da hier viele Prozesse über molekulare Erkennung, d.h. über spezifische Komplexbildung ablaufen. Bis vor etwa 15 Jahren war die Massenspektrometrie aber nicht in der Lage, größere Biomoleküle nachzuweisen, weshalb sie in der Biologie oder Biochemie nur eine geringe Rolle spielte. Aber nach der Entwicklung von milden Ionisierungsmethoden wie ESI-MS hat die Massenspektrometrie ständig an Bedeutung für die Strukturanalyse von Biomolekülen gewonnen.

Mit der Einführung von MS/MS fähigen Massenspektrometern wie Triple-Quadrupol-Instrumenten und Q-TOF-Geräten ist es möglich geworden, über die einfache Massenanalyse der Primärionen hinaus auch gezielte Strukturinformation anhand von Tochterionen zu erhalten.

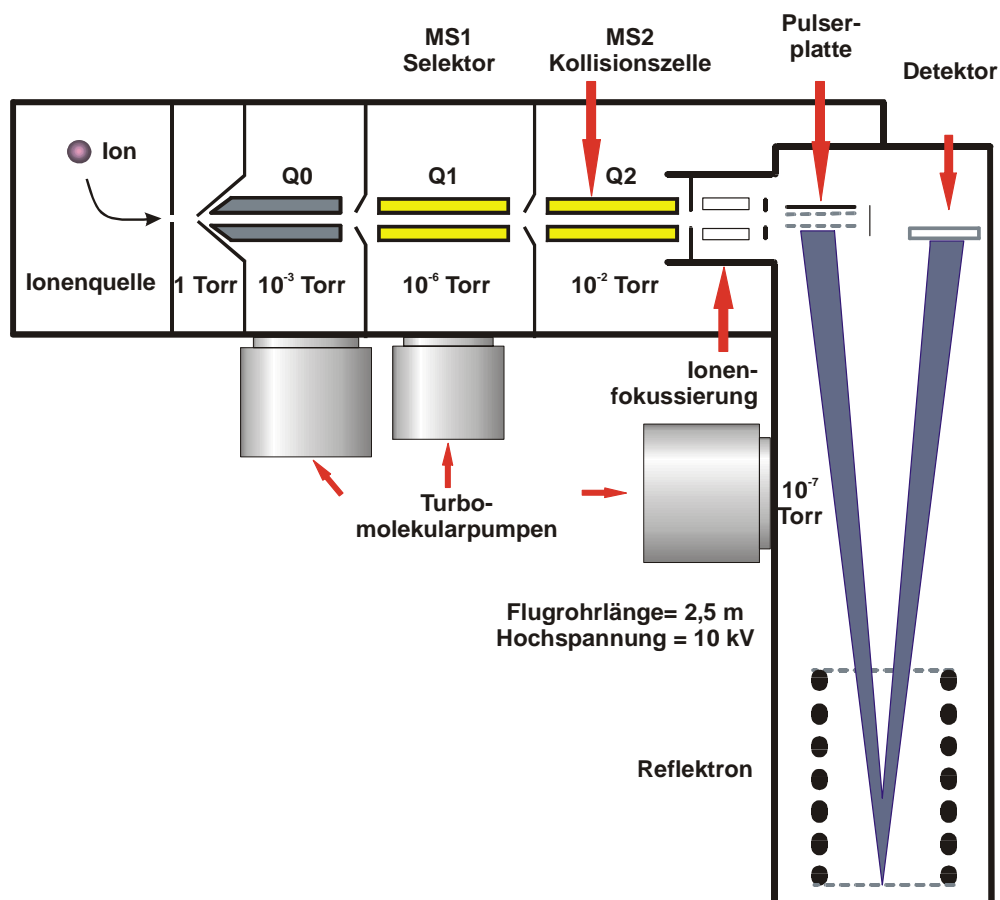


Abb.44: Schematischer Aufbau eines Q-q-TOF- Gerätes.

Wie man in der Abb. 44 sieht, gibt es im für diese Arbeit verwendeten Qstar-Gerätes drei Quadrupole (Q0-Q3) und ein Flugzeitmassenspektrometer (TOF; „*Time of flight*“) als Analysator. Der erste Quadrupol (Q0) ist eine „Hilfsquadrupol“ und dafür verantwortlich, daß die Ionen auf dem zentralen Ionenweg fokussiert werden. Q1 ist der erste Messquadrupol zum Selektieren der Ionen im MS/MS-Modus. Q2 führt die Ionen durch eine Kollisionskammer, die mit Gas (Stickstoff oder Argon) gefüllt werden kann. Durch Kollision mit den Gasmolekülen fragmentieren die Ionen. Die Fragmente werden im TOF analysiert. Die Kollisionsenergie kann dabei als Messparameter in einem gewissen Bereich variiert werden.⁷⁷

Es gibt verschiedene MS/MS Methoden vor allem Produkt-Ionen-Analyse und Vorläufer-Ionen-Analyse. Bei der Produkt-Ionen-Analyse werden die Ionen in Q1 selektiert, in Q2 fragmentiert und anschließend im TOF analysiert. Diese Methode ist die häufigste MS/MS Methode und wird z. B. für die Peptidsequenzierung (Proteomics) eingesetzt (Abb. 45).

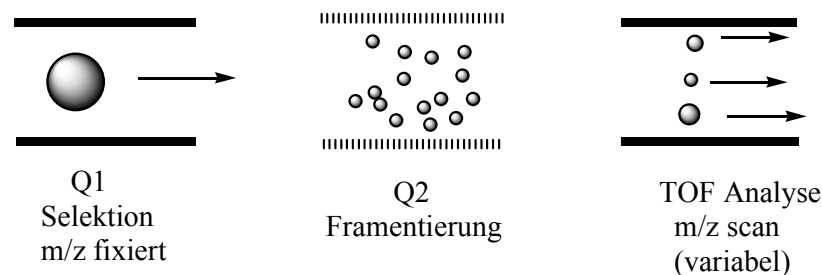


Abb. 45: Prinzip der Produkt-Ionen Analyse

Bei der Vorläufer-Ionen-Analyse findet die Zuordnung genau in der umgekehrten Richtung statt, d.h. der gesamte m/z-Bereich wurde abwechselnd durch Q1 transformiert und in Q2 fragmentiert, aber in diesem Fall ist das TOF auf eine bestimmte, ausgewählte Fragmentmasse eingestellt, so daß im TOF nur diese Ionen detektiert werden können. Diese Methode z. B. ist für das Auffinden von phosphorylierten Proteinen und Phosphorylierungsstellen sehr gut geeignet (Abb. 46).

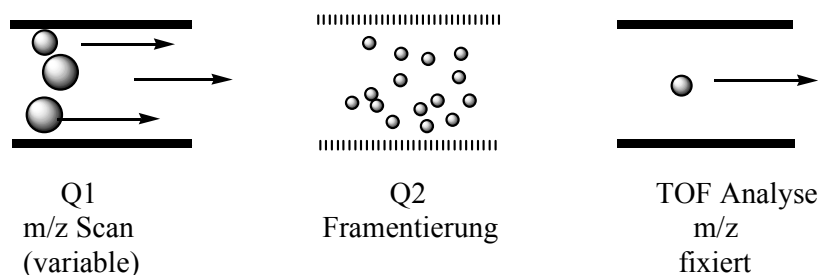


Abb. 46: Prinzip der Vorläufer-Ionen Analyse.

Wie oben erwähnt, wird MS/MS heutzutage häufig zur Bestimmung von Peptidsequenzen,⁷⁸ Identifizierung einzelner Komponenten eines Naturstoffextraktes. Strukturaufklärung von größeren Biomolekülen durch Zuordnung von Fragmentationen⁷⁹ und auch zur Metabolitidentifizierung und Quantifizierung (Pharmaforschung) verwendet⁸⁰. MS/MS ist eine der leistungsfähigsten Methoden für die Strukturaufklärung in der Gas-Phase, da man durch Fragmentierung die verschiedenen Komponenten der Komplexe, sowie eventuell deren Struktur und Stabilität sehr genau bestimmen kann.^{81,82} Im folgenden wird eine Anwendung zur Untersuchung der relativen Gasphasenstabilitäten von nicht-kovalenten molekularen Kapseln sowie die Identifizierung der Zusammensetzung neuer Kapseln beschrieben.

Die einfach positiv geladenen Kapseln wurden in Q1 selektiert und mit den verschiedenen Kollisionsenergien (*CE*-Werte von 30 Volt bis 80 Volt) in Q2 (Kollisionszelle) zur Fragmentierung auf wartende N₂-Moleküle hin beschleunigt. Danach wurden die Fragmente (Halbschalen und deren Fragmente) im TOF analysiert.

Mit der Zunahme der Kollisionsenergie (Beschleunigungsspannung) wurden die einfach positiv geladenen Molekülpeaks der Kapseln kleiner und die Intensität der entsprechenden Halbschalen und deren Fragmente größer (Abb. 47).

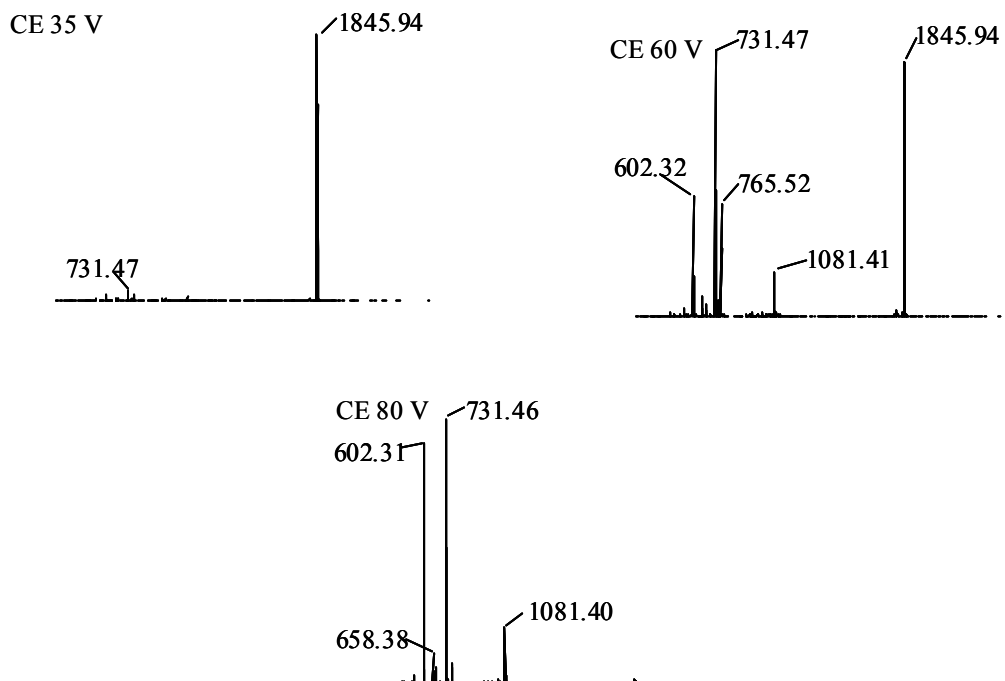


Abb. 47: MS/MS Ergebnisse der Kapseln (11+20) mit verschiedenen Kollisionsenergien (*CE*).

Bis einem CE -Wert von 30 Volt war sogar die Kapsel (**11+20**) stabil. Mit zunehmender Kollisionsenergie bis zu 35 Volt fing sie an, sich zu zersetzen und man sieht im entsprechenden Spektrum (Abb. 47, $CE = 35$ V) sehr kleine Peaks für die entsprechende positive Halbschale, $[\mathbf{11-3H^+-2 NH_3}]^+ = 731.47$. Durch eine weitere stufenweise Erhöhung der Kollisionsenergie wurden die Peaks der Halbschalen $[\mathbf{20+5H^+}]^+ = 1081.40$ und entsprechender Fragmente, $[\mathbf{11-3H^+-2 NH_3}]^+ = 731.47$, $[\mathbf{11-3H^+-3 NH_3-2 C_4H_8}]^+ = 602.32$ größer (Abb. 47, $CE = 60$ Volt) aber der Molekülionenpeak der Kapsel, (1845.94) war immer noch vorhanden.

Im letzten Spektrum (Abb. 47, $CE = 80$ Volt) ist die Kapsel vollständig fragmentiert und es sind nur die Peaks der Halbschalen und der entsprechenden Fragmente zu sehen: $[\mathbf{20+5H^+}]^+ = 1081.40$, $[\mathbf{11-3H^+-2 NH_3}]^+ = 731.40$, $[\mathbf{11-3H^+-3 NH_3-2 C_4H_8}]^+ = 602.32$.

Danach wurde der gleiche Versuch für die andere Kapsel (**10+20**) durchgeführt. Im folgenden sind einige MS/MS Spektren dazu abgebildet.

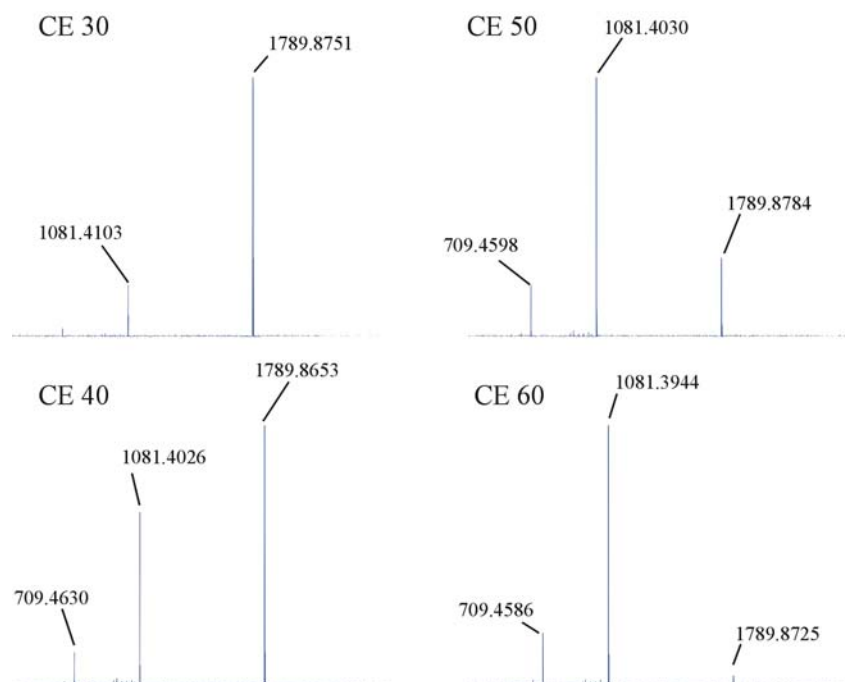


Abb. 48: MS/MS Ergebnisse der Kapselfragmentierung von (**10+20**) mit verschiedenen Kollisionsenergien (CE).

In diesem Fall wird deutlich, daß die Kapsel (**11+20**) in der Gasphase stabiler ist als die Kapsel (**10+20**), weil die letztgenannte Kapsel bei einer Kollisionsenergie von $CE = 30$ Volt bereits angefangen hat sich zu zersetzen. Die Kapsel (**11+20**) aber ist bei $CE = 30$ Volt noch nicht zerfallen (Abb. 47 und 48).

Die MS/MS Ergebnisse zeigen weiterhin, dass die Kapsel (**11+9**), die aus den beiden benzylicen Halbschalen, dem Benzylphosphonat **11** und dem Benzylammonium **9** besteht, trotz der großen Bindungskonstante von $K_a = 4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ in Lösung (NMR-Titration) in der Gasphase weniger stabil ist als (**11+20**), welche in Lösung eine Bindungskonstante von $K_a = 7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ aufweist.

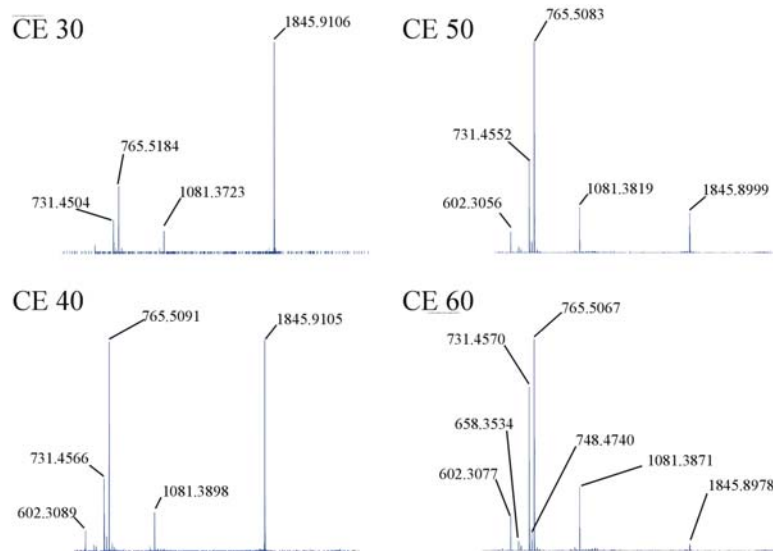


Abb. 49: MS/MS Ergebnisse der Kapselinfragmentierung [**11+9**] für verschiedene Kollisionsenergien (*CE*).

Die Kapsel (**10+9**) hat die geringste Stabilität in der Gasphase, wie in der Abbildung 50 zu sehen ist. Diese Kapsel ist nämlich bereits bei einer Kollisionsenergie von $CE = 45$ Volt komplett zerfallen. Die nächst instabilere Kapsel ist jedoch erst ab einer Kollisionsenergie von $CE = 60$ Volt komplett zerfallen, die beiden verbleibenden sind noch stabiler (Abb. 47, 48, 49 und 50).

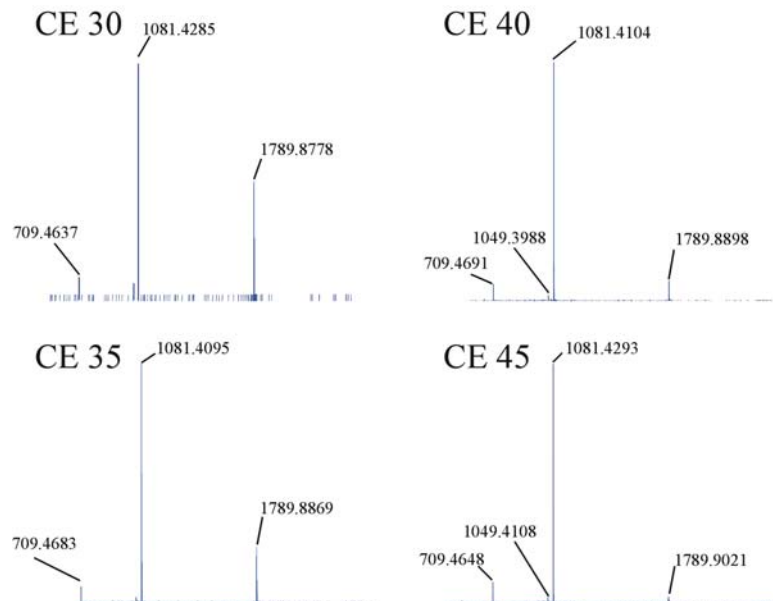


Abb. 50: MS/MS Ergebnisse der Kapselfragmentierung von (10+9) für verschiedene Kollisionsenergien (CE). Die Kollisionsenergien, die einer 50%-igen Zersetzung der Kapseln entsprechen (CE_{50}), lassen einen direkten Vergleich der relativen Gasphasenstabilitäten der Kapseln untereinander zu (Abb. 51).

Aus der zusammenfassenden Abbildung 51 ist ersichtlich, dass die Kapsel (11+20) die stabilste Kapsel in der Gasphase ($CE_{50} = 54$ Volt) ist, danach kommt Kapsel (10+20), die in der Gasphase etwas instabiler ist ($CE_{50} = 43$ Volt).

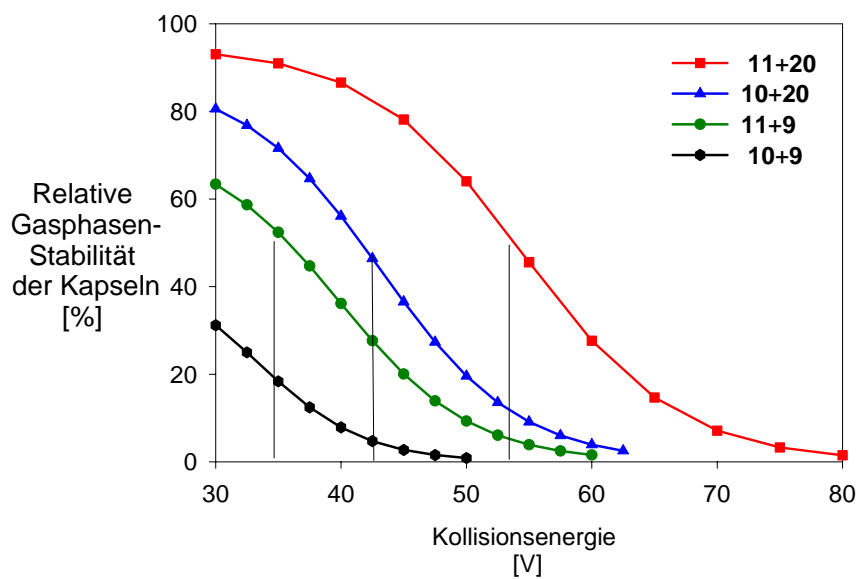


Abb. 51: Kollisionsinduzierter Zerfall der Kapseln in der Gasphase.

Die relative Intensität der Kapseln in der Gasphase (Abbildung 51) wurde dazu mit folgender Formel berechnet und ist in % angegeben:

$$R_1 = \frac{I_K}{(I_K + I_H + \sum I_F)} \times 100$$

R_1 = relative Intensität der Kapseln

$I_k = I_{ESI}$ der Kapsel;

$I_H = I_{ESI}$ der Halbschalen;

$I_F = I_{ESI}$ der Fragmente der Halbschalen.

Eine relative Intensität von 100% entspricht dabei der komplett unfragmentierten Kapsel.

Tabelle 14: Vergleich zwischen der Stabilität der Kapseln in der Lösung sowohl mit deren Stabilität in der Gasphase als auch mit theoretisch berechneten Stabilitäten.

Kapsel	K_a [M^{-1}]	CE_{50} [V]	ΔH [kJ/mol]
11+20	$(7 \pm 2.5) \times 10^5$	54	-860
10+20	$(1 \pm 0.5) \times 10^{4a}$	43	-830
12+20	$(2 \pm 0.6) \times 10^3$	n.d.	-80
11+9	$(4 \pm 0.4) \times 10^5$	37	-810
10+9	$(7 \pm 1.0) \times 10^3$	<30	-790
12+9	$(4 \pm 0.1) \times 10^3$	n.d	-30

^a Diese Titration ist in D_2O/d_4 -MeOH (1:4) durchgeführt.

Tabelle 14 zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen aus der Lösung (NMR-Titrationsen in d_4 -Methanol und d_4 -Methanol/ D_2O , zweite Spalte) und der Gasphase (MS/MS Ergebnisse, dritte Spalte) als auch mit den theoretische Berechnungen (*Macromodel 7,0*, vierte Spalte).

Die Kapseln (**11+20**) und (**10+20**) besitzen eine ähnliche Stabilität in der Lösung, K_a (**11+20**) = 7×10^5 in d_4 -MeOH; K_a (**10+20**) = 1×10^4 in d_4 -MeOH/ D_2O (1:4) und auch relativ ähnliche Stabilitäten in der Gasphase CE_{50} (**11+20**) = 54 Volt, CE_{50} (**10+20**) = 43 Volt. Die Kapseln, die durch Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen ausgebildet werden, nämlich (**12+20**) und (**12+9**), konnten durch ESI-MS niemals nachgewiesen werden. Folglich war

eine Bestimmung der Gasphasenstabilität für diese labileren Kapseln nicht möglich. Die Stabilität der neuen durch ESI-MS gefundenen Komplexe, ($10+12'$), ($11+12'$) und ($12+12'$), sind auch in Bezug auf ihre relativen Gasphasen-Stabilitäten durch MS/MS Experimente untersucht worden.

Die Ergebnisse zeigen, dass der Komplex zwischen der Pyrazoliumhalbschale **12** und deren unprotonierter Form **12'** viel stabiler ist als die anderen neuen Komplexe. (Abb. 42, Abb. 52). Die Identifizierung der neuen Komplexe gelang überhaupt erst durch MS/MS Experimente.

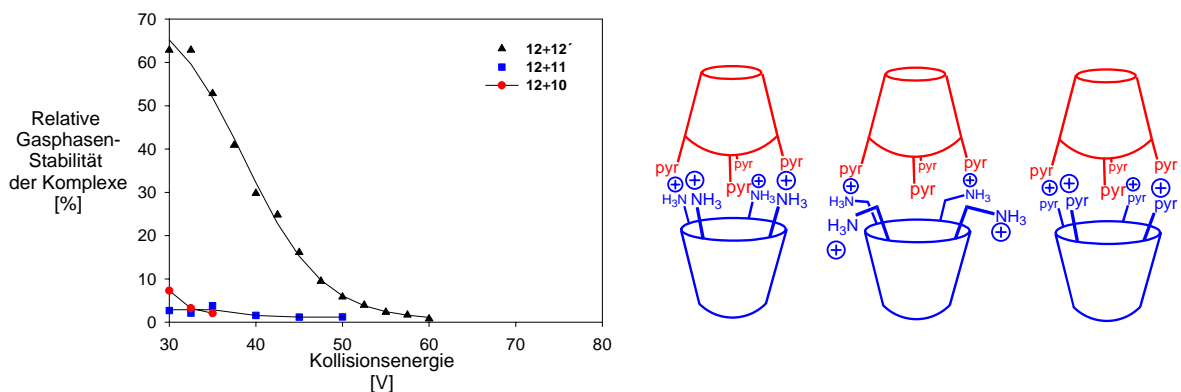


Abb. 52: links: Kollisionsinduzierter Zerfall der gefundenen Komplexe in der Gasphase; rechts: Schematische Darstellung der durch ESI-MS gefundenen Komplexe.

Um die Bindungskonstanten des neu entdeckten Komplexes, ($10+12'$) zu bestimmen, wurde eine NMR-Titration zwischen **10** und **12'** in d_4 -MeOH durchgeführt. Dabei waren aber keine Shifts in der chemischen Verschiebung zu sehen. Deswegen konnte keine Bindungskonstante ermittelt werden, obwohl der Komplex ($10+12'$) mittels ESI-MS nachgewiesen und seine Stabilität in der Gasphase durch MS/MS bestimmt worden ist (Abb. 52).

Diese MS/MS Experimente haben gezeigt, dass die Methode sehr wertvoll für die Bestimmung der relativen Stabilität der molekularen Kapseln in der Gasphase ist. Außerdem wurde eine sehr gute Übereinstimmung mit der relativen Lösungsstabilität (NMR-Titration) gefunden. Deswegen ist es wenig verwunderlich, dass auch die ESI-MS Ergebnisse (Übergang von der Lösung in die Gasphase) so gut hineinpassen.

Weiterhin gelang es mit MS/MS-Experimenten, die Struktur der neuen im ESI gefundenen Komplexe, aufzuklären.

2.5 Gasteinlagerung in die molekularen Kapseln

Eigentlich ist die bedeutendste Fähigkeit, die man von einer molekularen Kapsel aus Calix[4]arenen erwarten kann, die Einlagerung von kleinen Molekülen als Gästen. Komplexe, die wegen ihrer käfigartigen Form ein Molekül als Gast einlagern können, sind in der Literatur mit dem Wort „*Container*“ verbreitet und schon seit langem bekannt.⁸³ Solche *Container* sind schon als Stabilisatoren für reaktive Zwischenstufen⁸⁴, zur Herstellung einer neuen Form von Stereoisomeren,⁸⁵ der Beschleunigung von Diels-Alder-Reaktionen^{18a} oder der regioselektiven 1,3 - dipolaren Cycloaddition⁸⁶ verwendet worden. *Rebek* hat kürzlich beschrieben, wie durch Einschluss eines Katalysators in die Kapseln auch Reaktionsgeschwindigkeiten kontrolliert werden können.^{21g} Es ist bekannt, dass die Selbstorganisation ein thermodynamisch gesteuerter Prozess ist. In diesem bilden sich stets die energetisch günstigsten Aggregate. Der Gast ist nicht nur mechanisch in der Kapsel eingeschlossen, sondern tritt auch mit der Innenoberfläche der Kapsel in Wechselwirkung.⁸⁷ Statistische Analysen haben gezeigt, dass in einem optimalen Wirt-Gast-Paar etwa 55 % des Kapselinnenraums durch den Gast besetzt wurden.⁸⁸ Wenn der Gast weniger als 55 % des Kapselinnenraums erfüllen kann, erscheint dies als Nachteil, weil der Gast keine van-der-Waals - Kontakte mit der Kapsel mehr hat. Dies ist energetisch ungünstig, weil Teile der Kapselinnenwand nicht solvatisiert sind. Bei großen Gästen, die mehr als 55 % des Kapselinnenraums erfüllen können, erfolgt eine Verkapselung, wenn der Gast durch Wechselwirkungen mit der Kapsel stabiler wird als im Lösungsmittel außerhalb der Kapsel. Wenn ein großer Gast in eine voluminösere Kapsel eintreten will, müssen mehrere kleine Lösungsmittelmoleküle aus dem Innenraum der Kapsel verdrängt werden. Dieser Prozess ist entropisch begünstigt, weil sich beim Freisetzen der Lösungsmittelmoleküle die Gesamtteilchenzahl erhöht. Die Erfahrungen von *Rebek* und *Böhmer* mit wasserstoffbrückengebundenen Kapseln aus Calix[4]arenharnstoffen haben gezeigt, dass dieser Prozess langsam ist, weil die Verdrängung von Solvensmolekülen mit Wasserstoffbrückenclustern Zeit und Energie kostet.⁸⁹ Man kann die Einlagerung von Gastmolekülen in Kapseln mit verschiedenen Methoden nachweisen: am häufigsten wird die NMR-Spektroskopie benutzt, da durch die räumliche Nähe der Calixarenaromaten im Kapselinnenraum Gastprotonen in den Anisotropiekegel des Wirts gelangen sollten und dort drastisch hochfeldverschoben auftreten sollten (1-2 ppm). Fluorhaltige Gäste wie z. B. Fluorbenzol sollten denselben Effekt im ¹⁹F-NMR-Spektrum ergeben.⁹⁰ Die Dissoziationskonstanten K_a bei kinetisch stabilen Kapseln können ebenfalls

NMR-spektroskopisch durch die relative Integration von freien und eingeschlossenen Gastmolekülen bestimmt werden.⁹¹ Der Einschluss der Gastmoleküle kann auch durch Elektrospray-Massenspektrometrie nachgewiesen werden.^{16b}

Man kann zusätzlich Enthalpie- und Entropiebeiträge im Verkapselungsprozess bestimmen. Dazu bietet sich die temperaturabhängige NMR-Spektroskopie oder die noch empfindlichere Mikrokalorimetrie an.⁹² Im ersten Schritt sollte man passende Gäste zur Verkapselung auswählen. Dazu habe ich zunächst Molecular-Modelling als Hilfsmittel verwendet. Die Modelling-Studien haben gezeigt, dass kleine aliphatische und aromatische Moleküle von der Größe her die besten Gäste sein sollten. Geladene Gäste wie Tetraalkylammoniumsalze sind sowohl für wasserstoffbrückengebundene⁹³ als auch für ionische^{16b} Kapseln verwendet worden. Letztere haben den Vorteil, dass sich durch polare Gruppen von innen Wasserstoffbrücken zu den geladenen funktionellen Gruppen entlang der Nahtstelle der Kapsel ausbilden können und so den Komplex stabilisieren.

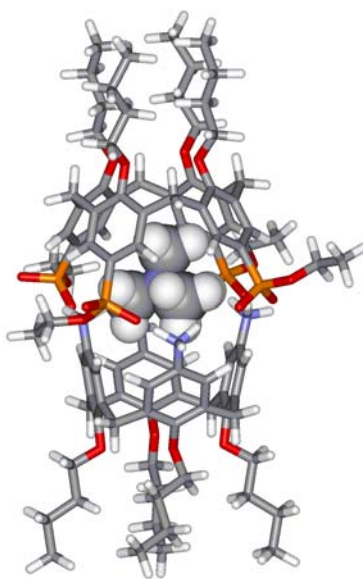


Abb. 53: Energieminimierte Struktur des Einschlusses von Tetramethylammonium in der Kapseln (**10+20**).

Zur Untersuchung der Fähigkeit unserer ionischer Calix[4]arene zur Einlagerung von Gästen wurden in den ersten Schritten verschiedene kleine, neutrale oder geladene Gäste nach Molecular-Modelling –Studien ausgewählt und in methanolischer Lösung untersucht.

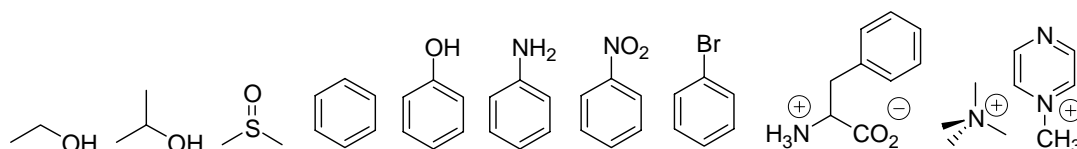


Abb. 54: Lewis-Struktur der Gastmoleküle.

In den Gasteinlagerungsversuchen habe ich die negative Halbschale **20** in Methanol (10^{-4} - 10^{-3} M) gelöst und gleichmäßig auf 10 Röhrchen verteilt. Das erste Röhrchen wurde ohne Gastzugabe vermessen. Die Gastverbindung wurde ebenfalls in Methanol gelöst und in steigenden Mengen (von 0.5 bis 50 Äquivalente) in die Röhrchen bei Raumtemperatur gegeben. Nach zwei Stunden wurden die gleichen Äquivalente an positiver Halbschale dazugegeben. Die vorbereiteten Proben wurden erst nach 24 Stunden wegen des sehr langsamen Einlagerungsprozesses^{89b} durch $^1\text{H-NMR}$ untersucht und die Bindungskonstante zwischen Gästen und Kapseln wurden bestimmt.

Table 15. Bindungskonstanten K_a [M^{-1}] in *d*₄-Methanol bei 25 °C aus NMR -Titrationen zwischen verschiedenen Gästen und verschiedenen Calix[4]arenkapseln.

Gäste Kapseln	Tetramethyl- ammonium	Benzol	Phenylalanin
10+20	480	Keine Shifts	1000
10+9	210	Keine Shifts	Keine Shifts
11+20	365	Keine Shifts	Keine Shifts
11+9	Keine Shifts	Keine Shifts	Keine Shifts

Da bei mehreren durchgeführten Versuchen die $^1\text{H-NMR}$ -Signale entweder sehr wenig (< 0.1 ppm) oder gar nicht verschoben wurden, muß man die Gasteinlagerung in den Kapseln in Frage stellen. Zusätzliche Versuche mit Hilfe der ESI-Massen-Spektroskopie, die schon als Nachweis für Gasteinlagerung in Calix[4]arenkapseln verwendet worden ist,^{16b}

zeigten keine positiven Ergebnisse. Man sieht in den ESI-MS-Spektren Molekülionenpeaks für die Kapseln, aber keine Peaks für Komplexe zwischen Kapseln mit Gästen. Auch NOESY-Experimente zeigten keine Kreuzpeaks, die man nach Gasteinlagerung zwischen Gästen und Kapseln erwarten sollte.

Nur bei den positiv geladenen Gästen (Tab. 15) wurde eine Bindung beobachtet. Im Prinzip gibt es drei Erklärungs-Möglichkeiten, für das was nach der Zugabe eines positiv geladenen Gastes zur Kapsel passieren könnten (Abb. 55).

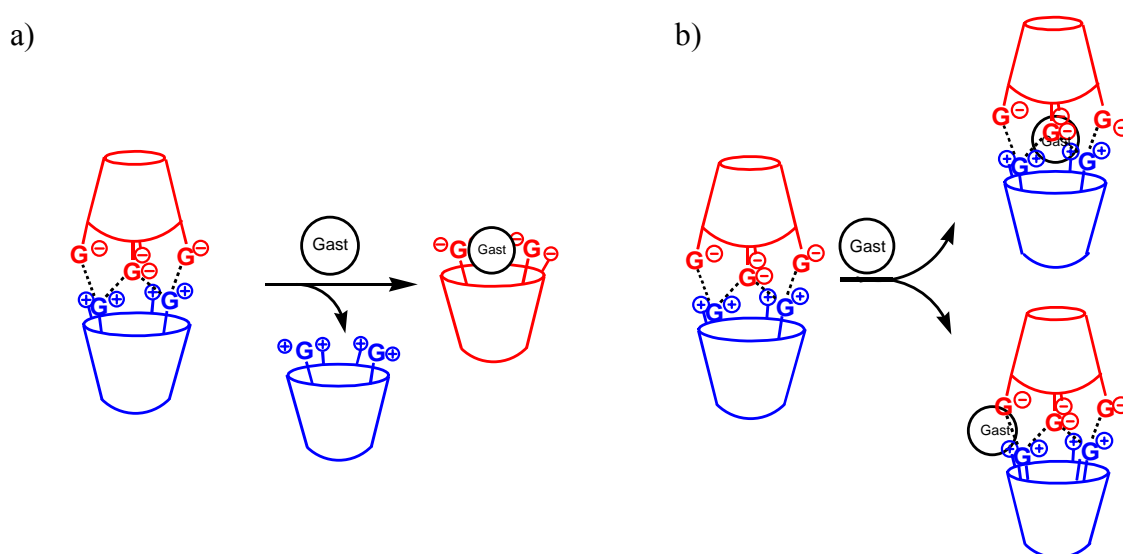


Abb. 55: Drei Möglichkeiten, der Interaktion von positiv geladenen Gästen mit den ionischen Kapseln.

Die vorgestellte Möglichkeit (a) ist die Zerstörung der Kapseln durch Gasteinlagerung in der negativ geladenen Halbschale. Sie ist jedoch unwahrscheinlich, weil die Kapseln viel stabiler sind ($K_a \sim 10^5 \text{ M}^{-1}$ in Methanol) als der Komplex zwischen dem Gast (Tetramethylammonium $K_a \leq 10^3 \text{ M}^{-1}$ in Methanol) und der negativen Halbschale ist.

Leider gibt es bisher keinen Nachweis einer Gasteinlagerung. Deswegen bleibt nur eine Möglichkeit, nämlich die, bei der der Gast auf der äußeren Seite der Kapseln irgendwie lose gebunden wird (Abb. 55b unten). Dieser Prozess geschieht offenbar viel leichter als die Gasteinlagerung in die Kapseln.⁹⁴

Ein entscheidender Versuch ergab bei der Einlagerung von *N*-Methylpyraziniumiodid und *N*-methyllyliertem Nicotinamid in das Phosphonat **20** in Methanol sehr große Hochfeldshifts ($\Delta\delta_{\text{sat}}$ bis zu - 3.2 ppm) sowohl in den aromatischen Protonen als auch in den Methylgruppen des Gastes. Nach der Zugabe von einem Äquivalent Aniliniumcalixaren **10** zu einer Lösung

des 1:1 Komplexes zwischen **20** und *N*-Methylpyraziniumiodid werden sofort die oben genannten Hochfeldshifts im Gast aufgehoben und man beobachtet nur noch die chemische Verschiebung des freien Gastes. Offensichtlich wird die sehr stabile Kapsel bevorzugt gebildet, während kein Gast in dem Phosphonathohlraum zurückbleibt (Abb. 56).

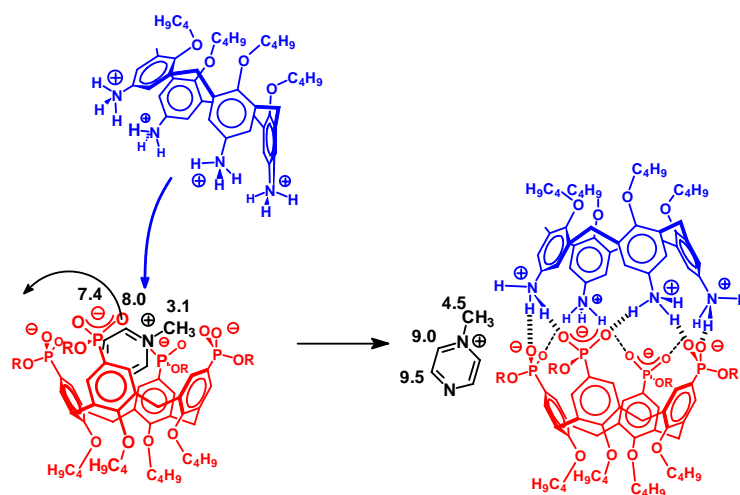


Abb. 56: Einlagerung von *N*-Methylpyraziniumiodid in **20** und folgender Ersatz durch die Aniliniumhalbschale**10**.

Wir sehen vor allem das letzte Experiment als Beweis dafür an, daß unsere Kapseln leider keine Gäste aufnehmen. Bei der flexiblen Kapsel (**11+9**) kann ein Grund für die ausbleibende Einlagerung in der hohen Flexibilität der benzyllischen Kapselhalbschalen **11** und **9** liegen. Kommt es zu einer schnellen Rotationsbewegung entlang der benzyllischen Nahtstelle, wie dies in MD-Simulationen verfolgt werden konnte, so wird die gebildete Kavität stark verkleinert, und ein Gasteinschluss durch die benzyllisch substituierten Calix[4]arene schwierig.

Bei der starren Kapsel (**10+20**) kann man jedoch davon ausgehen, dass die hochgeladene Kapsel durch das polare Lösungsmittel (Methanol) sehr gut solvatisiert ist. Wenn nun ein Gast eintreten will, müssen Lösungsmittelmoleküle aus dem Innenraum der Kapsel verdrängt werden bzw. die Kapsel muß desolvatisiert werden. Desolvatisierung von harten Säuren wie Ammoniumgruppen bei **10** und harten Basen wie den Phosphonatgruppen bei **20** ist jedoch viel schwerer als bei den weicheren Amidinium- und Sulfonatgruppen bei den *Timmerman*-Kapseln.^{16b} Dadurch bleibt möglicherweise kein freier Platz im Kapselhohlraum von (**10+20**), um Gäste einzulagern.

Zusammenfassend lässt sich damit feststellen, dass alle durchgeführte Einschlußexperimente darauf hindeuten, dass im Fall der untersuchten molekularen Kapseln, die Einlagerung der Gastmoleküle in die Kapsel nicht stattfindet.

Um einen Gasteinschluss zu erreichen, kann man folgende alternative Wege beschreiten:

- 1) Synthese von Calix[4]arenderivaten mit zusätzlichen aromatischen Gruppen am oberen Rand des Calix[4]arens, die eine tiefe Kavität besitzen, in die man große Gäste einlagern kann, ohne eine Kapsel zu bilden
- 2) Durch die kovalente Verknüpfung von zwei Calix[4]arenen könnten Calix[4]aren - Dimere synthetisiert werden, die aufgrund ihrer steifen Verknüpfung präorganisiert sind. Der dadurch gebildete relativ große Hohlraum sollte für die Einlagerung von Gastmolekülen geeignet sein.
- 3) Synthese größerer molekularer Kapseln, die größere Hohlräume zur Gasteinlagerung zur Verfügung stellen können. Eine Alternative wären z. B. Calix[5]arene. Diese Moleküle können auch in der *Cone - Konformation* stabilisiert werden. Dadurch könnte genug Platz für den Gast, eventuell sogar mit Lösungsmittel zur Verfügung stehen. Dieses Projekt wird in Zukunft in einer Kooperation mit dem AK *Böhmer* (Universität Mainz) weiter verfolgt.

Die Alternativen 1 und 2 werden in folgenden diskutiert.

2.5.1 Synthese von Calix[4]arenen mit tiefen Kavitäten.

Seit einigen Jahren haben sich besonders der Arbeitskreis von *J. Rebek* auf das Studium von Calixarenderivaten mit tiefen Kavitäten konzentriert, und diese besonders für die selektive und chirale Erkennung von Aminosäuren⁹⁵ sowie für Erkennung von bioaktiven Molekülen genutzt.

In der Literatur wurden verschiedenen Methoden wie Peptid-Kupplung,⁹⁶ Heck – Reaktion,⁹⁷ Ritter und Friedel - Crafts Reaktion,⁹⁸ Glycosylierung von Calix[4]arenderivaten⁹⁹ oder Reaktion von Tetraiodocalix[4]aren mit Organozink - Reagentien¹⁰⁰ eingesetzt, um Calix[4]arenderivate mit tiefen Kavitäten herzustellen.

Aufgrund der in unserem Arbeitskreis vorhandenen Expertise in der Peptidchemie, wurde ein Ansatz über die Synthese neuer Peptido - Calix[4]arene gewählt.

Molecular-Modelling - Studien zeigen, dass durch peptidische Verknüpfung von vier basischen oder sauren Aminosäuren an ein Calix[4]aren eine tiefe Kavität ausgebildet wird, wenn sich die zwitterionen gegenseitig anziehen. Im ersten Versuch wurde nach vielversprechenden *Modelling* - Studien *N/C*-geschützte Asparaginsäure verwendet.

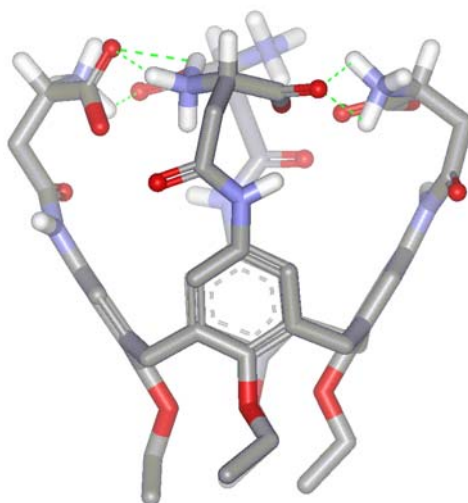


Abb. 57: Optimierte Struktur des mit Asparaginsäure verknüpften Calix[4]aren; (*Macromodel 7.0, Amber*, Wasser*). Das Wirtmolekül kann sich durch einem elektrostatisch geschriebenen Selbstorganisationsprozeß von alleine schließen.

Die Zielmolekül sollte durch Kupplung von Tetraaminocalix[4]aren **10b** und *N/C*-geschützte Asparaginsäure mit Hilfe von verschiedenen Kupplungsreagentien zugänglich werden.

Die Verwendung von PyClop als Kupplungsreagenz ergab eine Mischung aus zweifach, dreifach bzw. vierfach gekuppeltem Calix[4]aren. Nach der säulenchromatographischen

Aufreinigung wurde das vierfach substituierte Calix[4]aren **22** in sehr geringer Ausbeute isoliert.

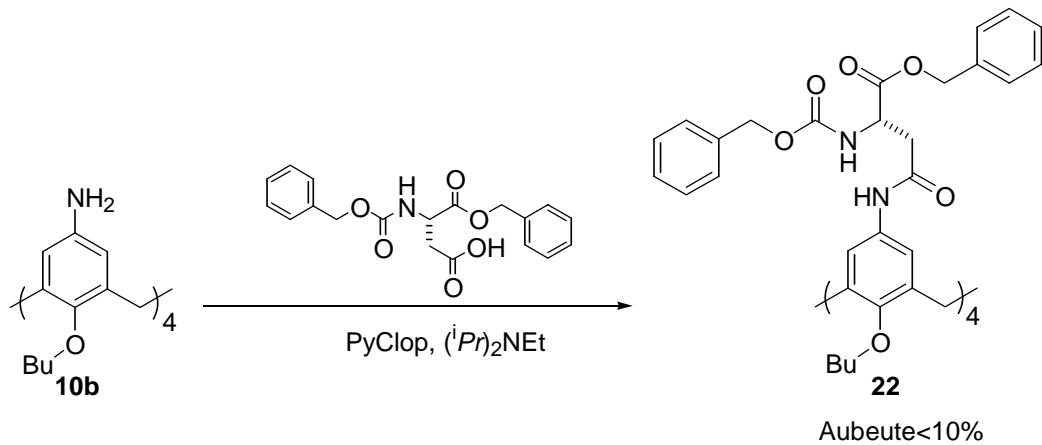


Abb.58: Synthese von **22**.

Unter Verwendung von T3P als Kupplungsreagenz wurde **22** dagegen in relativ guter Ausbeute (62%) hergestellt. Die Benzyl-Schutzgruppen können in einem Schritt durch Reduktion unter Verwendung von H₂ mit Hilfe eines Pd/C - Katalysators abgespalten werden. Nach der Abspaltung sollte sich intramolekular durch ionische Wechselwirkungen zwischen den Ammoniumionen und den benachbarten Carboxylationen ein ionisches Netz durch Selbstorganisation ausbilden (Abb. 59).

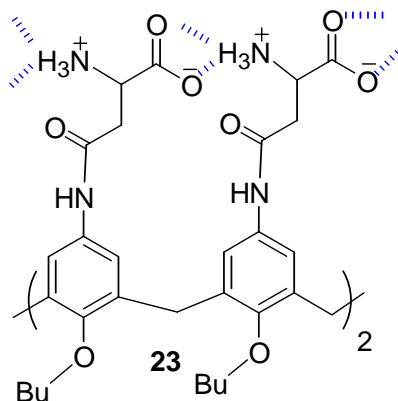


Abb. 59: Chelatartige ionische Komplexe zwischen Ammoniumionen und benachbarten Carboxylationen, die nach der Abspaltung der Schutzgruppen von **22** erwartet wurden.

Nach einer Gasteinlagerung in die tiefe Kavität von **23**, Außerdem ergäbe sich die Möglichkeit zur Schaltung: könnte so der Hohlraum durch die oben erwähnte Selbstorganisation von oben her verschlossen werden.

Solche ionischen Wechselwirkungen sind in polaren Lösungsmitteln wie Methanol oder Wasser stabil, aber durch Änderung des pH - Wertes der Lösung könnte Ammoniumionen oder Carboxylationen neutralisiert werden. Das resultierende Molekül kann nur noch schwache Wasserstoffbrücken ausbilden. Damit wurde der Hohlraum des Moleküls geöffnet und der Gast wieder freigelassen.

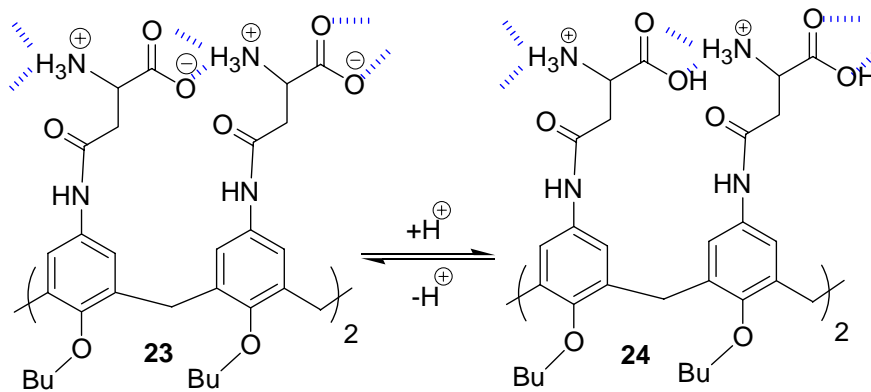


Abb.60: Protonierung von 23 zu 24 bei der Erniedrigung des pH - Werts der Lösung.

Nach der Abspaltung der Schutzgruppen war das resultierende Molekül **23** jedoch offensichtlich führt die Freisetzung der Carbonsäuren und Amingruppen zur Polymerisation oder zum kontrollierten Aggregation der Verbindung. Aus Zeitmangel wurde dieser Weg nicht verfolgt. Alternativen könnten zwitterionen mit zusätzlichen löslichkeitsvermittelnden Anionen oder Kationen sein, die eine Aggregation verhindern. Auch über Metallchelate könnte ein tiefer Cavitand nachträglich geschlossen werden.

2.5.2 Kovalent verknüpfte Calix[4]arene - Dimere

Verbrückten Calixarene sind eine alternative Route zur Einlagerung von Gästen mit höherer Wirksamkeit und Selektivität.¹⁰¹ So könnte man zwei gleichsinnig geladene Calixarene durch einen Spacer kovalent miteinander verknüpfen

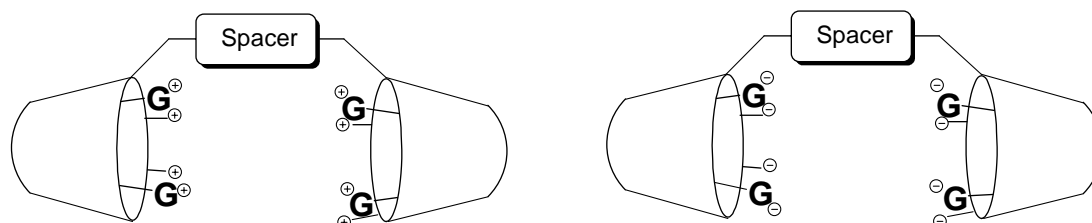


Abb. 61: Schematische Darstellung der kovalent verknüpften gleichsinnig geladenen Calix[4]arendimere.

Durch die Verwendung von geladenen präorganisierten Calix[4]arenhalbschalen könnten hochgeladene Gäste mittels ionischer Wechselwirkungen selbst in polaren Lösungsmitteln sehr stark gebunden werden. In der Literatur sind bereits verschiedene Methoden zur Synthese von spacerverbrückten Calix[4]arenen beschrieben: *Böhmer* hat die ersten Calix[4]arendimere vorgestellt.¹⁰² Danach wurde die zweite Generation von Calix[4]arendimeren durch den Arbeitskreis *Shinkai* in einer Käfigform hergestellt.¹⁰³ Die weitere Methoden zur Herstellung von Calix[4]arendimeren sind die oxidative Kupplung von Derifachbindungen,¹⁰⁴ Amid - Kupplung,¹⁰⁵ Diazo - Kupplung,¹⁰⁶ Williamson - Ethersynthese,¹⁰⁷ Sonogashira - Kupplung⁶¹ und cycloadditive Macrocylierung.¹⁰⁸

Durch das Verändern des Spacers in seiner Natur, Geometrie und Länge kann man die Orientierung und Spannweite zwischen zwei Halbschalen regulieren. Der Spacer repräsentiert dabei ein neues Kontrollelement, welcher Wirksamkeit und Selektivität einer Wirt-Gast-Bindung mitbestimmt. So verwendete *Arduini* Methylen-, Ethinyl-, Butadiinyl- und Azogruppen als Spacer, um Bindungsstudien an Wirt-Gast-Komplexen dimerer Bis(9-Krone-3)calix[4]arene mit Ammonium-, Pyridinium- und Picolinium-Kationen durchzuführen. Er fand heraus, dass die zwei Calix[4]arenhalbschalen um ihre Brücke rotieren können. Dieser Vorgang erlaubt es den beiden starren Halbschalen, sich optimal an den Gast anzupassen, um ihn so möglichst geschlossen zu binden. Des weiteren stellte er fest, dass die Orientierung und Spannweite, die den Halbschalen durch die Brücke aufgezwungen wird, verantwortlich für die unterschiedlichen Bindungsarten, ist die bei Wirt-Gast-Komplexen mit *N*-Methylpyridinium- und dem isomeren *N*-Methylpicolinium-

Kationen beobachtet werden. Alle von ihm synthetisierten dimeren Calix[4]arene sind effizienter, als die zum Vergleich herangezogene unverbrückte Bis(9-Krone-3)-calix[4]aren-Halbschale.¹⁰¹ Erfahrungen von *Shinkai* haben auch gezeigt, dass die Bindungskonstante zwischen den beiden verbrückten Halbschalen und dem Gast (*N*-Methylpyridiniumiodid) aufgrund von kooperativen Wechselwirkungen wesentlich größer ist als die entsprechende Bindungskonstante zwischen demselben Gast und einer einfachen Halbschale [K_a (Dimer, **26**) = $480 \text{ dm}^3\text{M}^{-1}$ und K_a (Monomer, **25**) = $6.9 \text{ dm}^3\text{M}^{-1}$].¹⁰⁹

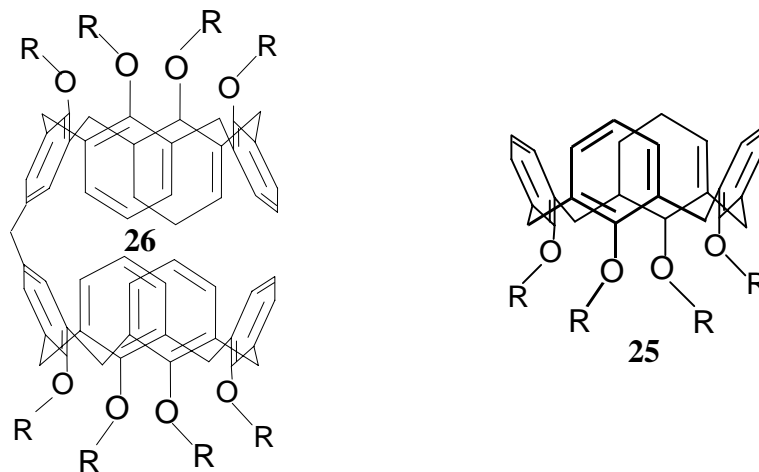


Abb. 62: Lewis-Struktur von **25** und **26**.

Meistens sind die Bindungskonstanten zwischen den verschiedenen Calix[4]arendimeren und den Gästen allerdings in unpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform, oder Chloroform mit 10-20% eines polaren Lösungsmittels wie Acetonitril bestimmt worden. Bei den Lösungsmittelgemischen waren die Bindungskonstanten natürlich noch kleiner als in reinem Chloroform.

Unsere Ziel bestand in der Ausbildung von Komplexen, die in den polaren Lösungsmitteln wie Methanol oder Wasser stabil sind. Deshalb wurden Calix[4]arendimere aus geladenen Halbschalen hergestellt, um mit diesen durch kooperative ionische Wechselwirkungen stabile Gast-Wirt-Komplexe auszubilden.

2.5.2.1 Synthese der Calix[4]aren - Dimere

Es wurden durch Verknüpfung von geladenen Halbschalen zwei neue Generationen von Dimeren synthetisiert, nämlich flexibel und steif verbrückte sechsfach positiv oder sechsfach negativ geladene Calix[4]aren - Dimere.

2.5.2.1.1 Positiv geladene Dimere

Da Ammoniumionen in positiv geladenen Halbschalen von uns schon verwendet wurden, begannen wir mit verknüpften Dimere aus Tetraaminocalix[4]aren **10b**. Im ersten Schritt wurde **10b** dreifach N-BOC geschützt¹¹⁰ (Abb. 63).

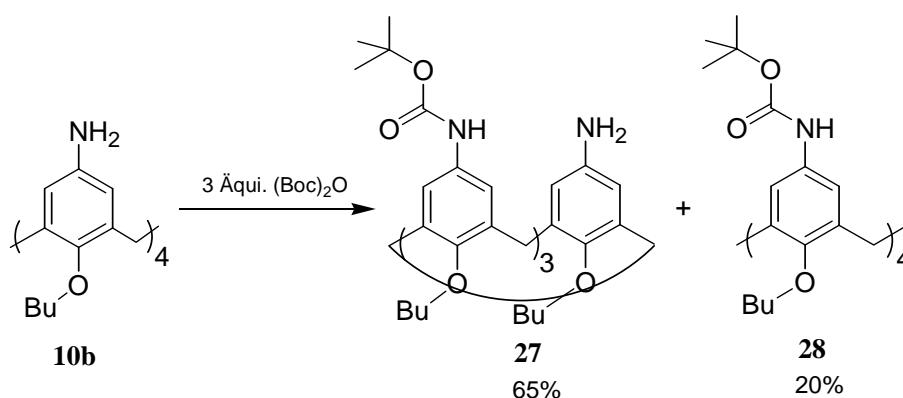


Abb. 63: Synthese von **27** und **28**.

Danach wurden zwei Moleküle **27** in 40% Ausbeute über das freie Amin mit 1,6-Diisocyanatohexan zum kovalent verknüpften Harnstoff - Dimer **29** gekuppelt (Abb. 64).

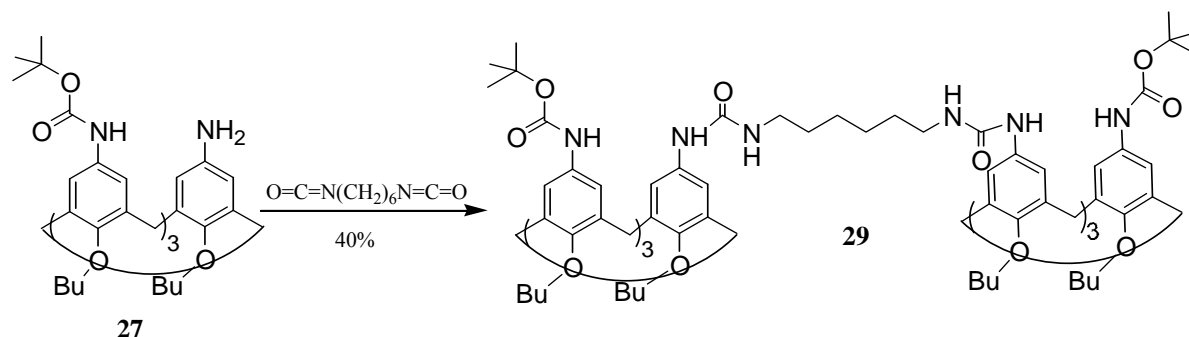


Abb. 64: Synthese von **29**.

Eine relativ häufig verwendeter Weg zur Amid - Knüpfung ist die Reaktion zwischen Amingruppen und Säurechloriden. In diesem Fall wurden zwei verschiedene

Disäuredichloride eingesetzt, um Calix[4]arendimere mit starren und flexiblem Spacer aufzubauen (Abb. 65).

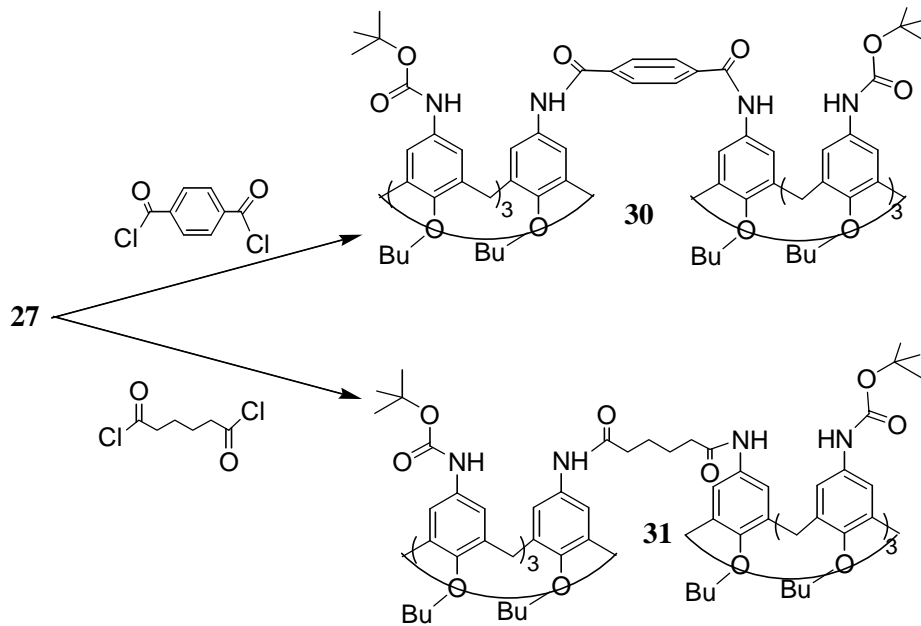


Abb. 65: Synthese von Calix[4]arendimeren **30** und **31**.

Nach der Abspaltung der Boc - Schutzgruppen mit TFA entstehen direkt die Rezeptoren.¹¹⁰

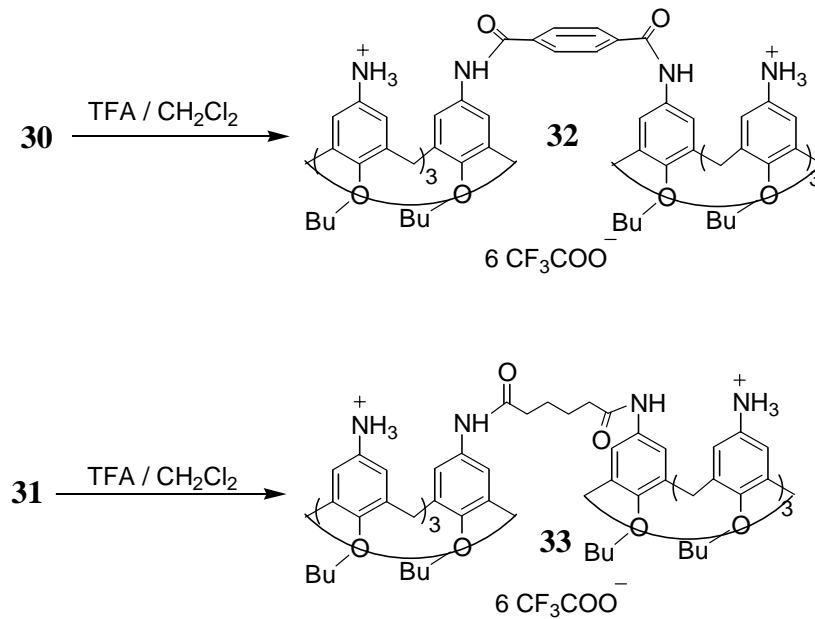


Abb. 66: Synthese der freien kationischen Calix[4]arendimer **32** und **33**.

2.5.2.1.2 Bindungsstudien mit den positiv geladenen Calix[4]aren – Dimeren

Vermutlich können die neuen Calix[4]arendimere zwei Konformationen einnehmen, nämlich Syn und Anti. Erst wenn der Gast sich nähert wird, die Syn - Konformation stabilisiert, um mit dem Gast maximale Wechselwirkungen auszubilden.¹¹¹

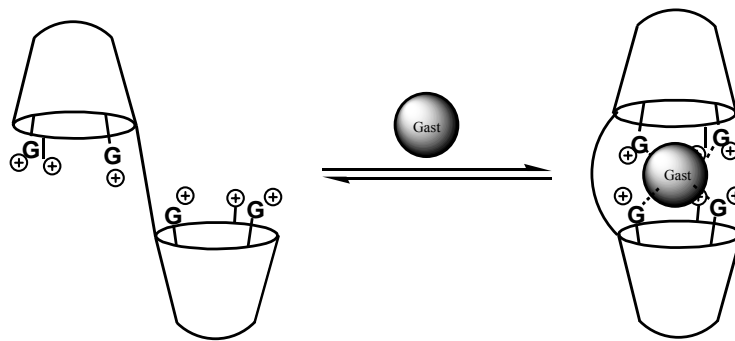


Abb. 67: Konformationsumwandlung bei der Gasteinlagerung in die Calixarendimere.

Molecular - Modeling Studien (*Macromodel 7.0*, *Amber**, *Wasser*) deuten darauf hin, dass bei unseren Dimere beide Konformationen ähnliche Enthalpiesinhalte besitzen: Das Syn - Konformer **32** hat ein ΔH_0 von $-2700.37 \text{ kJmol}^{-1}$ das Anti - Konformer ein ΔH_0 von $-2701.49 \text{ kJmol}^{-1}$. Daraus lässt sich schließen, solange kein Gast vorhanden ist, dass die beide Konformere im Gleichgewicht miteinander stehen.

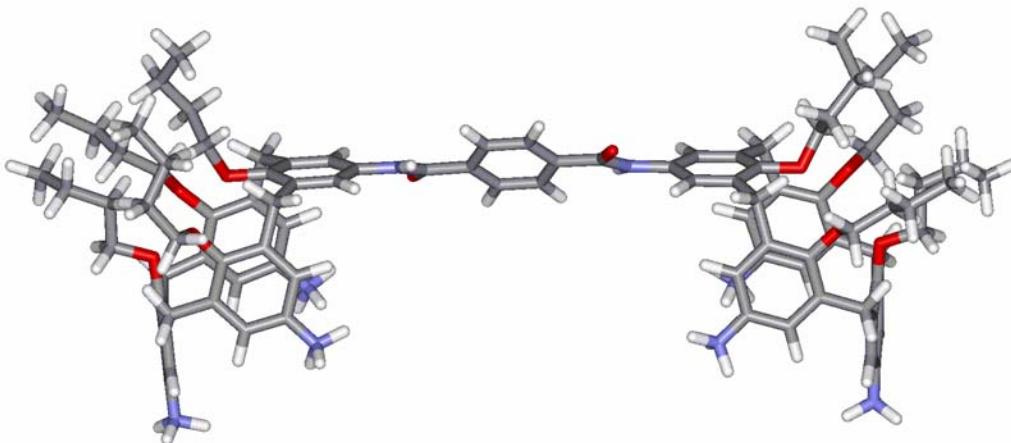


Abb. 68: Optimierte Struktur von **32** (*Macromodel 7.0*, *Amber**, *Wasser*): Syn – Konformer.

Da die Dimere positiv geladen sind, wurden vor allem Gäste untersucht, die relativ viel negative Ladungen besitzen. Die molekulare Erkennung von negativ geladenen

Aminosäuren wie Asparaginsäure in Peptiden ist in der Natur sehr wichtig. Deshalb wurde zunächst Diaspartat **34** als Gast untersucht.

Durch Untersuchung der Komplexstöchiometrie nach der *Job*-Methode, wurde hier allerdings ein 2:1 Komplex zwischen einem Molekül **32** und zwei Molekül Diaspartat **34** nachgewiesen.

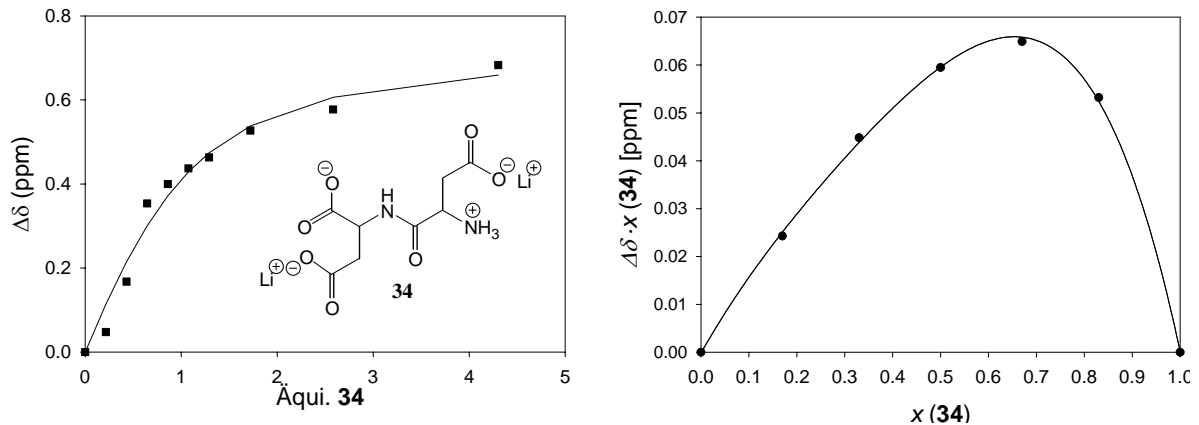


Abb. 69: Titrationskurve und *Job*-Plot für die Komplexbildung zwischen **32** und **34** in d_4 -MeOH, sowie Lewis-Struktur von **34**.

Die aufgrund dieser Stöchiometrie für jeden Einzelschritt ermittelte 1:1-Bindungskonstante betrug $K_a = 4.46 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ in d_4 -MeOH. Offensichtlich ist der Gast zu klein, um auf beiden Seiten mit den beiden Halbschalen wechselwirken zu können. Modeling-Untersuchung stützt diese Annahme. Darauf hin wurden mit *Molecular-Modeling* Studien (*Macromodel 7.0*, *Amber**, *Wasser*), neue Gäste gesucht, die groß genug sind, um in den Hohlraum des Moleküls **32** hinzupassen. Diese Studien ergeben, dass u. a. Phenolphthaleindiphosphat **35**, ATP (Adenosintriphosphat) **36** und Maltose **37** relativ gut in den Hohlraum des Moleküls **32** eingeschlossen werden können sollten.

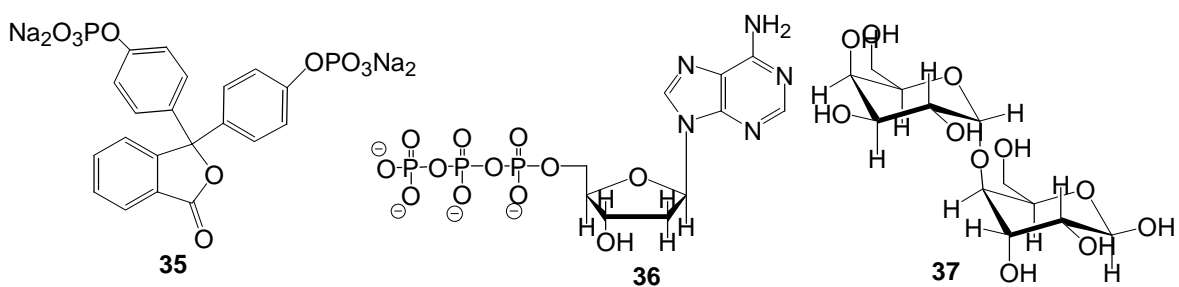


Abb. 70: Lewis-Struktur der verwendeten Gäste.

Tatsächlich fanden wir für die beiden neuen Gäste **35** und **36** eine eindeutige 1:1-Komplexstöchiometrie nach *Job*. Beim **37** wurden keine Shifts der Signallagen sowohl bei der NMR-Titration als auch beim *Job* - Plot beobachtet. Diese bedeutet, dass nur die negativ geladenen Gäste durch **32** in einem polaren Lösungsmittel wie Methanol gebunden werden können. Das dimere Calixaren ist kein Zucker - Rezeptor. Die entsprechende 1:1-Bindungskonstanten für die Komplexe lauten: K_a für **(32+35)** = $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ in d_4 -MeOH und für **(32+36)** = $6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ in d_4 -MeOH.

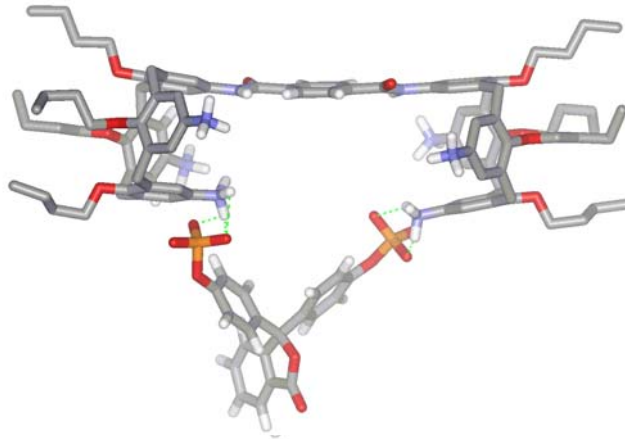


Abb. 71: Energieminimierte Struktur zwischen **32** und **35**, (*Macromodell 7.0, Amber*, Wasser*).

Zusammenfassend kann man feststellen, dass:

1. Rezeptor **32** nur negativ geladene Gäste einlagern kann.
2. **32** das Molekül ATP (Adenosintriphosphat) binden, einen der wichtigsten Energielieferanten in unserem Körper. Abb. 72 zeigt das Ergebnis der Kraftfeld-Rechnungen, nachdem der Abstand zwischen Tri-Phosphatgruppe und der Adenin-Base optimal, für eine 1:1-Einlagerung von ATP in **32** sein sollte.

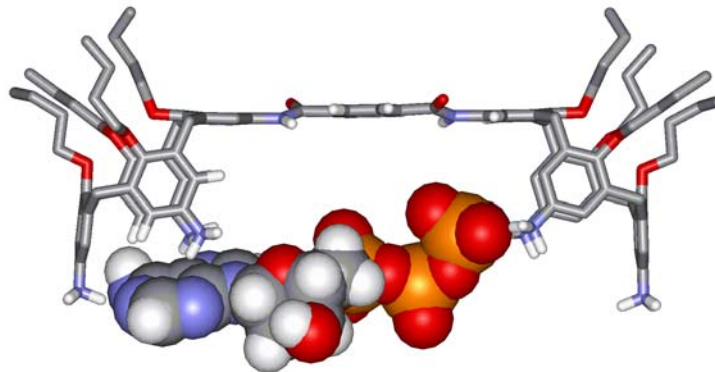


Abb. 72: Energieminimierte Struktur zwischen **32** und **36**, (*Macromodell 7.0, Amber*, Wasser*).

Es wäre interessant, kurze Nucleotide wie ADP (Adenosindiphosphat) als Gast zu prüfen, Vermutlich würde es durch **32** entweder schwächer als ATP oder gar nicht gebunden. Dies kann durch meinen Nachfolger.

3. In den letzten Jahren wurden Kompetitive Untersuchungen verwendet, um die Bindungskonstanten von Komplexen indirekt auszurechen. In diese Methode wurde ein Indikator, der bereits im Wirt gebunden ist, durch den besserbindenden Gast verdrängt. Die Änderung zwischen komplexierter und unkomplexierter Form des Indikators wurde verfolgt und dadurch die Bindungskonstante zwischen dem Wirt und den Gast bestimmt.¹¹² So etwas könnte bei der Einlagerung von **35** ausgenutzt werden. Voraussetzung wäre allerdings die Änderung des Uv-Vis-Spektrum bei der Komplexierung.

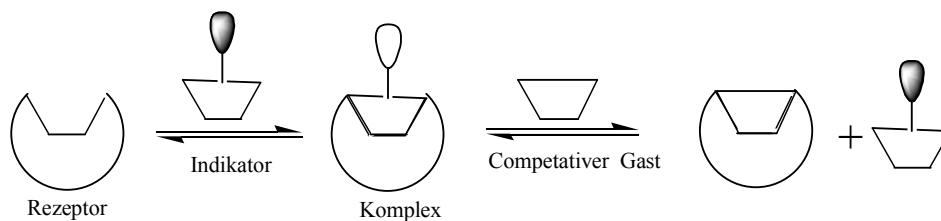


Abb. 73: Schematische Darstellung der Kompetitiven Komplexbildung zu Bestimmung von K_a^{112} .

Wie erwähnt, kann man durch Einbau eines flexiblen Spacers zwischen den beiden positiv geladenen, starren Calix[4]aren-Halbschalen einem induced fit ermöglichen, bei dem sich die Halbschalen sich optimal an den Gast anzupassen, und optimal stark mit ihm wechselwirken zu können.

2.5.2.1.3 Negativ geladene Dimere

Für die negativ geladenen Halbschalen wurden Phosphonateinheiten verwendet, da diese in unserem Arbeitskreis bereits intensiv bearbeitet wurden. Für die Verknüpfung braucht man eine freie Stelle, die nicht phosphoryliert ist.

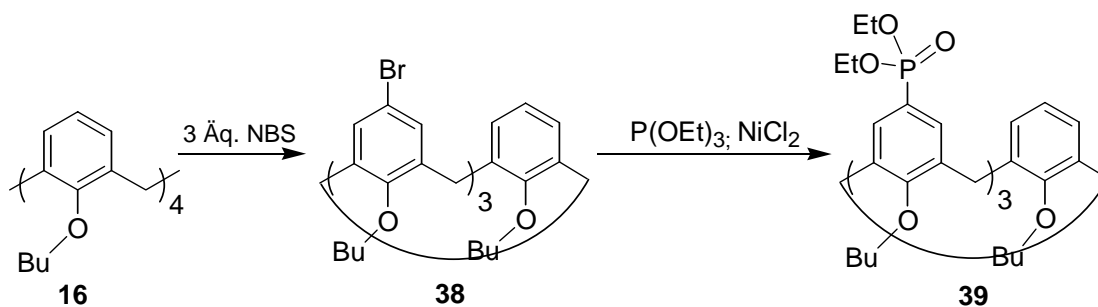


Abb. 74: Synthese des dreifach phosphorylierten Calix[4]arens **39**.

Bei der Bromierung von **16** erhält man ein Gemisch aus drei und vierfach bromierten Calix[4]arenen. Nach der Phosphorylierung konnten das dreifach phosphorylierte Calix[4]aren **39** und das vierfach phosphorylierte Calix[4]aren **19** säulenchromatographisch von einander getrennt werden. Zur Verknüpfung von zwei Molekülen **39** miteinander wurden verschiedene Methoden ausprobiert. Obwohl Calixarene durch Sonogashira-Kupplung in der Literatur kovalent miteinander gekuppelt wurden,¹⁰¹ konnte dieser Weg in unserem Fall vermutlich wegen der sterischen Hinderung der Phosphonat-Gruppen nicht durchgeführt werden. Als Produkt wurde stets Edukt **39** isoliert (Abb. 75).

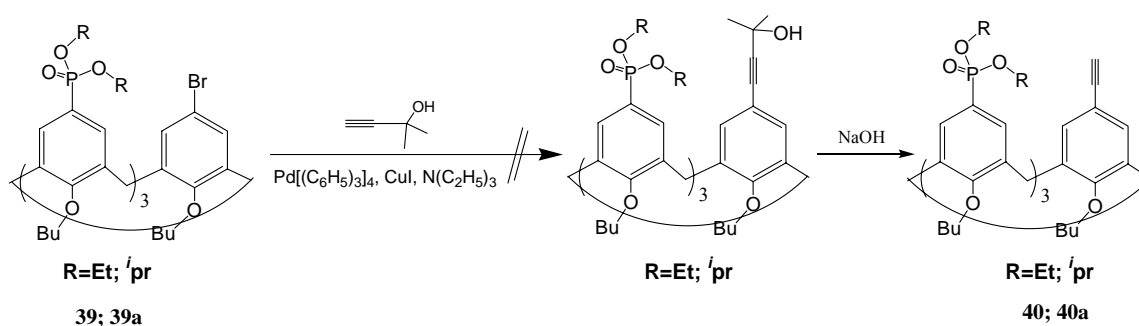


Abb. 75: Fehlgeschlagene Synthese mittels Sonogashira - Kupplung.

In der folgenden Abbildung sind weitere Versuche skizziert, die über Williamson - Ethersynthese, entweder mit geringer Ausbeute oder überhaupt nicht funktioniert haben (Abb. 76).

Die Einführung von Hydroxylgruppen statt Brom ist in der Calix[4]arene - Chemie zwar bekannt,⁹⁷ aber in diesem Fall konnte kein Lithium - Halogen - Austausch durchgeführt werden, da die Phosphonatgruppen durch das n-BuLi nucleophil angegriffen wurden. Auch der Diphenolat-Angriff am Calixarenmonobenzylchlorid fand nicht statt.

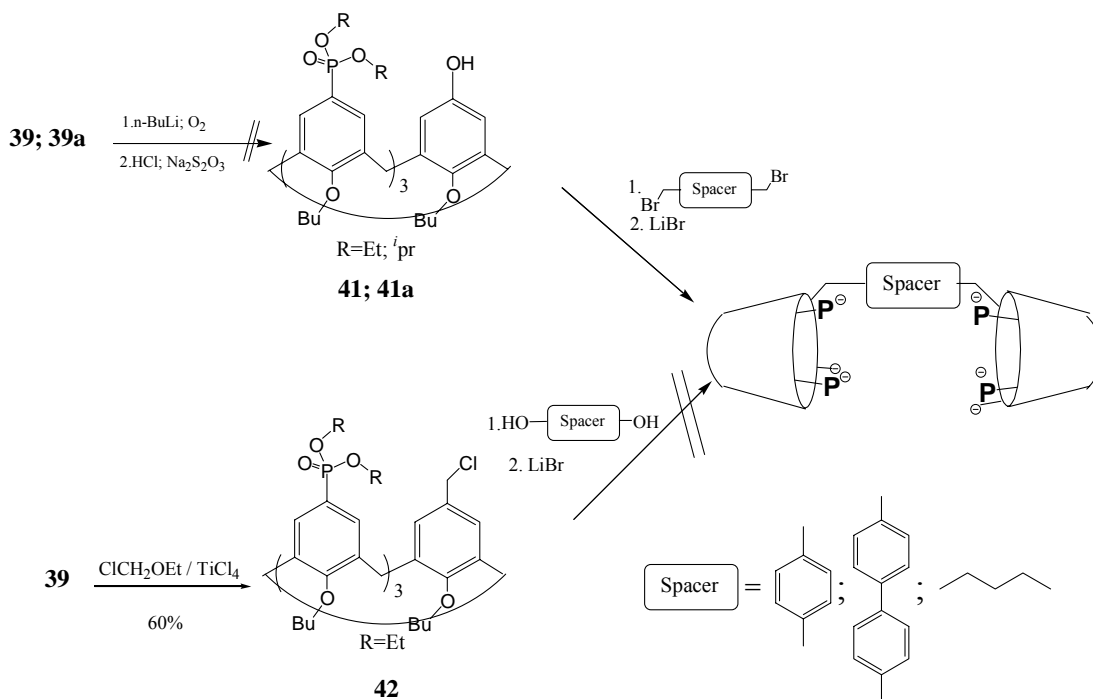


Abb. 76: Versuchte Synthese des Dimer-Bausteins.

Die Amid - Verknüpfung erweist sich als die beste Methode zur Synthese des Hexakisphosphonat-Dimer - Bausteins⁹⁵ (Abb. 77).

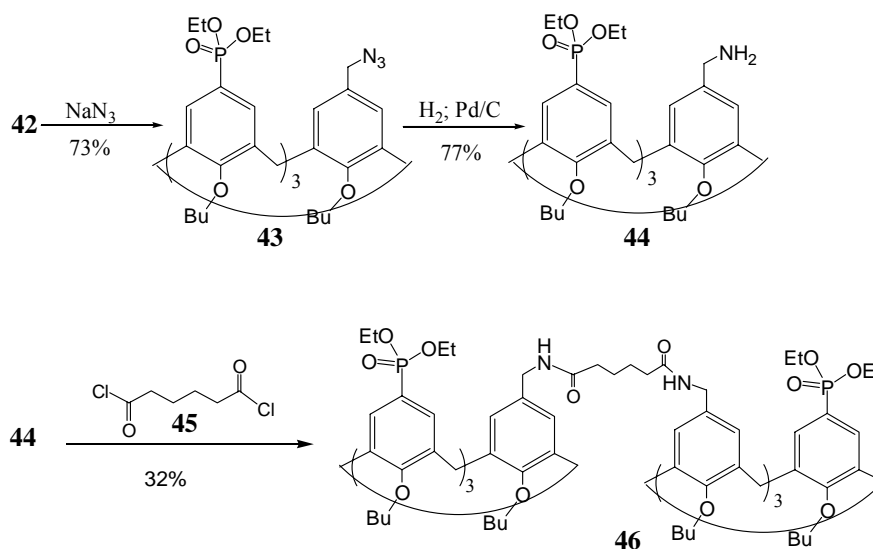


Abb. 77: Synthese des Dimer - Bausteins **46**.

Nach der Herstellung von **42** durch Chlormethylierung von **39** kann das Chloratom in **42** durch Azidionen in einer S_N2 -Reaktion substituiert werden. Die Reduktion von Azidgruppe zu einer Aminogruppe ist bekannt und verläuft relativ glatt. Anschließende Amid-Kupplung mit Hilfe eines Disäuredichlorids in diesem Fall *Adipinsäuredichlorid* **45** führte zum Dimer **46**.

Die anschließende Spaltung der Phosphonsäureethylesters verlief bis jetzt noch nicht quantitativ. Daher konnten mit dem neuen anionischen dimeren Rezeptor noch keine Bindungsexperimente durchgeführt werden. Auch das sollte durch meinen Nachfolger untersucht werden.

2.6 Calix[4]arentetraphosphonat **20** als neuer Rezeptor in polaren Lösungsmitteln und in Stearinsäure-Monoschichten an der Wasser-Luft-Grenzschicht

2.6.1 Calix[4]arentetraphosphonat **20** als neuer Rezeptor für kationische Gäste

Der Trend in der Entwicklung neuartiger Rezeptoren bewegt sich eindeutig zu selektiveren und effektiveren Systemen hin. Ein wichtiges Ziel ist die Bindung von Biomolekülen in physiologischer Lösung.

Calix[4]arene sind sowohl in geladener als auch in ungeladener Form für die Erkennung von kleinen kationen, Aminosäuren, Peptiden, Proteinen, Cholin oder Acetylcholin in polaren Lösungsmitteln untersucht worden.¹¹³

Eine selektive Erkennung von Biomolekülen wie Aminosäuren oder Zuckern, die in der Natur eine große Rolle spielen, ist immer noch herausforderndes Gebiet der Supramolekularen Chemie und Bioorganischen Chemie.¹¹⁴

Außer kleinen Biomolekülen wurden bislang vor allem kleine Kationen wie Ammoniumionen und Iminiumionen als Gäste für Calix[4]arene verwendet.¹¹⁵ Wie das in dieser Arbeit vorgestellte Calix[4]arentetraphosphonat **20** bildet durch Selbstorganisation mit drei positiv geladenen Halbschalen (Tetraanilinium **10**; Tetrabenzylammonium **11** und Tetrapyrazolium **12**), molekulare Kapsel, welche selbst in polaren Lösungsmitteln sehr stabil sind.

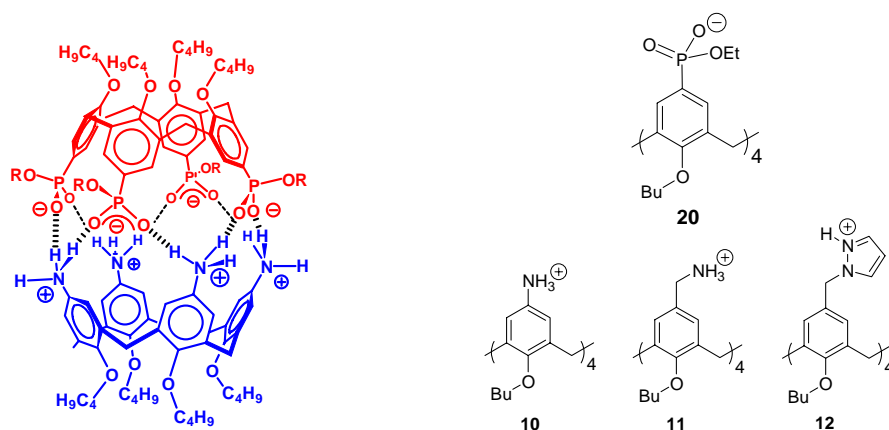


Abb. 78: links: Lewis-Struktur zwischen **10** und **20** , rechts: Lewis-Struktur einiger Calix[4]arenhalbschalen.

Wenn schon die Kapseln selbst keine Gäste einschließen, erhebt sich die Frage, ob eventuell die Einzelteile gute Rezeptoren sind.

Um die Fähigkeit des Calix[4]arentetraphosphonates **20** zur selektiven Bindung kationischer Gäste in polaren Lösungsmitteln zu studieren, wurde als erstes Tetramethylammoniumchlorid **47** als Gast verwendet. Die Bindungskonstante K_a betrug in d_4 -Methanol $\sim 1000 \text{ M}^{-1}$.

In der Literatur gibt es verschiedene Calix[4]arenrezeptoren für Tetraalkylammoniumsalze. Das Bindungsmotiv zwischen Tetramethylammonium **47** und **20** sollte sich allerdings von Bindungsmotiven anderer Calix[4]arenerezeptoren mit **47** unterscheiden. Bei den meisten Konventionellen Calix[4]arenrezeptoren lagert sich **47** in den Hohlraum des Rezeptors ein und es kommt zu C-H... π Wechselwirkungen zwischen den polarisierten Methylprotonen von **47** und den aromatischen π -Elektronene der Calixarenrezeptoren. Dies führt zu einem großen Hochfeldshift der chemischen Verschiebung der Methylprotonen von **47** ($\Delta\delta = 1.5 \text{ ppm}$)¹¹⁶. Die dazugehörige Bindungskonstante beträgt in $\text{CDCl}_3 \sim 4000 \text{ M}^{-1}$.

Im unserem Fall wurde zwar nur ein kleiner Hochfeldshift der chemischen Verschiebung der Methylprotonen von **47** ($\Delta\delta = 0.08 \text{ ppm}$) beobachtet. Andererseits sieht man auf der Rezeptorseite eine Veränderung der chemischen Verschiebung der Ethylgruppen an den Phosphonat von **20**. Die relativ hohe Bindungskonstante zwischen **20** und **47** in einem polaren Lösungsmittel wie Methanol kann vermutlich durch starke Ionische Wechselwirkungen zwischen den Phosphonationen von **20** und **47** erklärt werden.

Danach wurden flache kationische Gäste, wie *N*-Alkylpyridiniumsalze studiert. Ihre Erkennung durch künstliche Rezeptoren in polaren Lösungsmitteln ist wegen ihrer wichtige Rolle in der Natur (NAD^+ , NADP) sehr spannend.¹¹⁷

N-Methylpyraziniumiodid **48** bindet aufgrund ionischer Wechselwirkungen an **20** mit einer Bindungskonstante von $K_a = 4.761 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ in d_4 -MeOH. Interessanterweise erreicht das Calix[4]arene **49**, das keine Ladungen am oberen Rand trägt, mit *N*-Methylpyridiniumiodid lediglich eine sehr kleine Bindungskonstante von $K_a = 82 \text{ M}^{-1}$ in CDCl_3 . Diese Bindungskonstante wurde nach der Zugabe eines relativ polaren Lösungsmittels wie Acetonitril noch schwächer: $K_a = 22 \text{ M}^{-1}$ in $\text{CDCl}_3 / \text{CD}_3\text{CN}$ (3: 2).¹¹⁸

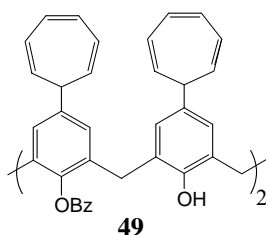


Abb. 79: Lewis-Struktur des Rezeptors **49**.

Bei der Komplexierung von **48** mit **20** findet man einen ausgeprägten Hochfeldshift der Methylprotonen in **48** ($\delta = -0.65$ ppm) und einem extrem großen Shift der aromatischen Protonen ($\Delta\delta = -2$ ppm). Dieser bereits literaturbekannte Effekt deutet daraufhin, dass **48** in dem Hohlraum des Rezeptors **20** rotieren kann.¹¹⁹

Bei der Komplexierung von 1-Methylnicotinamidiodid **50** und **20** ermittelt man eine Bindungskonstante in derselben Größenordnung: $K_a = 4.392 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ in d_4 -MeOH. Demnach stört die Einführung einer zusätzlichen Gruppe im meta-Stellung des Aromaten die Komplexbildung nicht.

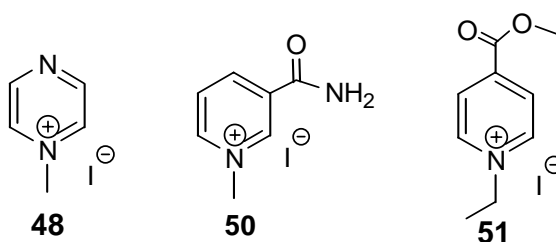
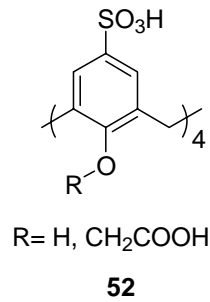


Abb. 80: Lewis-Struktur von **48**, **50** und **51**.

Eine p-ständige Gruppe bzw. ein größerer *N*-Alkylrest dagegen stören die Komplexierung. Die Bindungskonstante von *N*-Ethyl-4-carbomethoxypyridiniumiodid **51** beträgt nach NMR-Titration $K_a = 4.034 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ in d_4 -MeOH. Die ionischen Wechselwirkungen zwischen dem positiv geladenen Stickstoff in **51** und den negativ geladenen Phosphonaten in **20** werden durch die sterische Hinderung der Ethylgruppe und des p-ständigen Esters offenbar geschwächt.

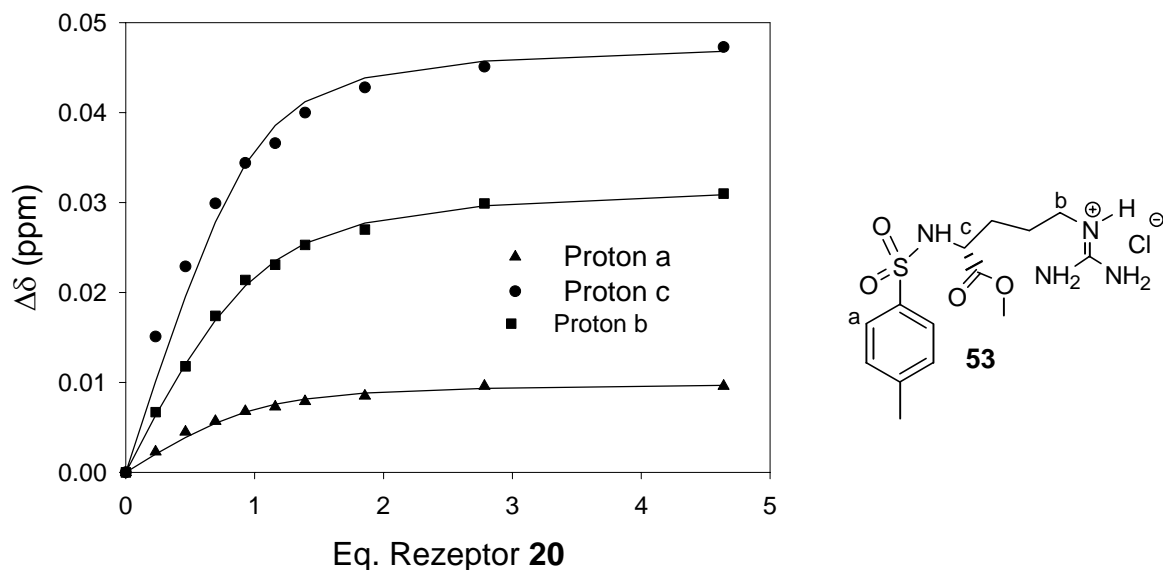
Im Wasser fällt die Bindungskonstante zwischen **48** und **20** stark auf, $K_a = 350 \text{ M}^{-1}$. Dies ist ein guter Hinweis für ionische Wechselwirkungen zwischen **48** und **20**, weil diese in einem polarerem Lösungsmittel besonders kompetitiv geschwächt werden.

Im nächsten Schritt wurden Aminosäuren als Gäste für **20** verwendet. Calix[4]arene sind bereits mehrfach als Rezeptoren für Aminosäuren in unpolaren und polaren Lösungsmitteln untersucht worden. Die Erkennung von Aminosäuren mit unpolaren Seitenketten wie Valin, Phenylalanin, oder ungeladenen polaren Seitenketten wie Tyrosin durch das Tetrasulfonatocalix[4]aren **52** wurde bereits in der Literatur beschrieben.

Abb.81: Lewis-Struktur des Tetrasulfonatocalix[4]arens **52**.

Rezeptor **52** hat eine relativ gute Selektivität für die verschiedenen Aminosäuren; z.B: K_a (Valin) = 16 M^{-1} in D_2O , und K_a (Leucin) = 50 M^{-1} in D_2O .¹²⁰ *p*-Sulfonatocalix[4]aren (**52**, R = H) kann auch die Aminosäuren mit positiv geladenen Seitenketten wie Arginin oder Lysin in Wasser erkennen.¹²¹ **52** hat eine etwa bessere Affinität zu Arginin als zu Lysin [K_a (Arginin) = 1520 M^{-1} in D_2O und K_a (Lysin) = 750 M^{-1} in D_2O]. In diesem Fall geht man davon aus, dass die Aminosäuren in den Hohlraum des Calixarens **52** eingelagert werden, da ein großer Hochfeld-Shift der chemischen Verschiebung der Protonen an den Seitenketten der Aminosäuren beobachtet wurde.

Bei der Erkennung von geschützten Argininderivaten, wie *N*_α-Tosyl-L-arginin methylester-HCl **53** durch **20** in *d*₆-DMSO beträgt die Bindungskonstante $K_a = 8.63 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$. Die Bindungskonstante zwischen **53** und **20** sinkt bei Verwendung eines polarerer Lösungsmittel wie MeOH auf $K_a = 2.298 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.

Abb. 82: links: NMR-Titrationskurven zwischen **53** und **20** in *d*₄-MeOH; rechts: Lewis-Struktur von **53**.

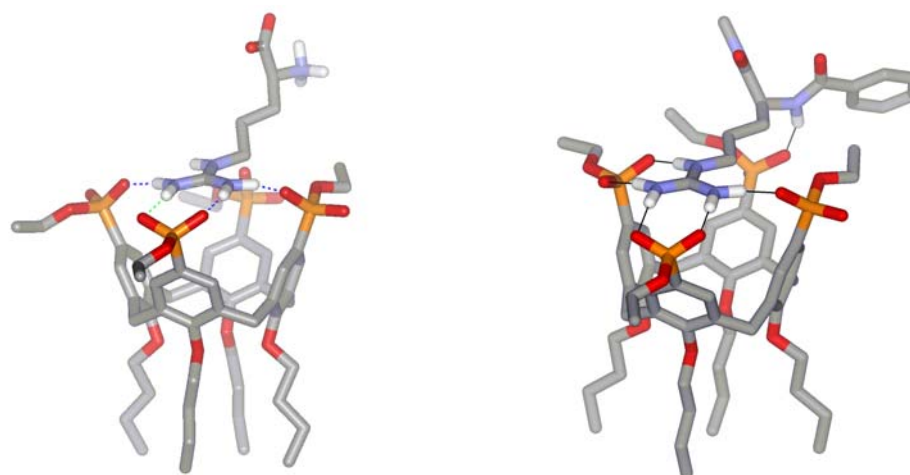


Abb. 83: Optimierte Komplexe; links: zwischen **20** und **54**; rechts: zwischen **20** und **53** und; Monte-Carlo Simulation in Wasser (*MacroModel 7.0*, OPLS-AA, 3000 Schritten).

Um besser zu verstehen, wie das Bindungsmuster zwischen **53** und **20** aussieht, wurde auch L-Arginin·HCl **54** als Gast in *d*₄-MeOH verwendet. Die entsprechende Bindungskonstante lautet $K_a = 800 \text{ M}^{-1}$. Die Senkung der Bindungskonstante gegenüber *N/C*-geschützten Arginin kann durch die Abstoßungskraft zwischen der freien Carboxylatgruppe in **54** und der Phosphonatgruppen in **20** erklärt werden (Abb. 83).

Man kann davon ausgehen, dass in diesem Fall das Bindungsmotiv ähnlich der berechneten Struktur (Abb. 83) sein sollte. Bei der entsprechenden NMR-Titration wurden dementsprechend keine großen Änderungen der chemischen Verschiebung beobachtet, wie sie bei der Einlagerung des Arginins in der Hohlräum des Tetrasulfonato-Calix[4]arens **52** auftraten. Solche chelattartigen Komplexe zwischen *N/C*-geschützten Argininderivaten und Phosphonatgestützten Rezeptoren sind bereits in der Literatur bekannt.¹²²

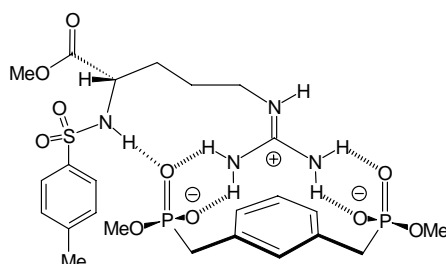


Abb. 84: Literaturbekannte Struktur zwischen *N/C*-geschütztem Arginin und einem Bisphosphonatrezeptor.¹²²

Der Austausch der geladenen Seitenketten von Guanidinium (Arginin **53** und **54**) gegen Ammonium (Lysin) hat gezeigt, dass der Rezeptor **20** eine hohe Affinität zur *N/C*-geschützten Argininderivaten hat (Tabelle 16).

Tabelle 16: Vergleich zwischen Bindungskonstanten von Arginin- und Lysin-Derivaten mit **20**.

Gast	K_a [M^{-1}] in d_4 -MeOH	ΔG [kcal/mol]	Komplex- Stöchi.
Ts-Arg-OMe 53	2.298×10^4	- 5.9	1:1
L-Arginin·HCl 54	8×10^2	- 4.0	1:1
Ac-Lys-OMe 55	7×10^2	- 3.9	1:1
H-Lys-OH 56	3×10^3	- 4.8	1:1

Wie man aus den Werten der Tabelle 1 sehen kann, bindet Rezeptor **20** das *N/C*-Geschützte Arginin **53** wesentlich besser als das *N/C*-Geschützte Lysin **55**. Dies kann durch einen effektiven chelatartigen Komplex zwischen den Argininderivaten und **20** erklärt werden. (Abb. 83, 84 und 85).

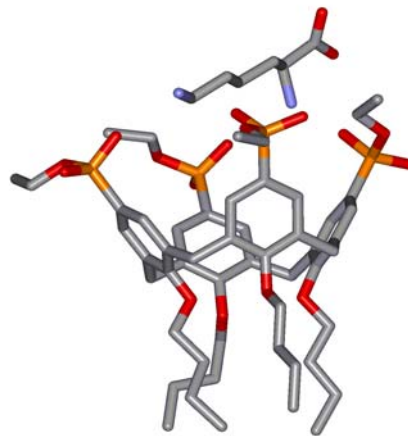


Abb.85: Optimierte Struktur zwischen **56** und **20**. Monte-Carlo Simulation in Wasser (*MacroModel 7.0*, 3000 Schritten).

Bei dem Komplex zwischen freien Lysin **56** und **20** gibt es dagegen eine zusätzliche Salzbrücke zwischen dem freien Ammoniumion des Lysins und zwei Phosphonatgruppen von **20**. Deswegen ist vermutlich diese Bindungskonstante für (**56+20**) ca. viermal größer als für(**55+20**).

2.6.2 Einlagerung des Rezeptors 20 in Stearinsäuremonoschichten an der Luft/Wasser-Grenzschicht

2.6.2.1 Molekulare Erkennung in einfachen Membranmodellen

Membrane haben die Aufgabe biologische Prozesse zu regulieren, in dem sie diese kompartimentieren. Biologische Membranen sind hochorganisierte Aggregate von Lipiden und Proteinen mit geringen Kohlenhydratanteilen. Dennoch sind sie für den Stoffaustausch keine undurchlässigen Barrieren. Sie kontrollieren vielmehr die Zusammensetzung des intrazellulären Milieus, indem sie den Transport von Nahrungsstoffen, Abfallprodukten, Ionen etc. in die Zelle hinein bzw. aus ihr heraus steuern.¹²³ In wässrigen Lösungen bilden amphiphile Moleküle wie Stearinsäure sog. *Micellen*, in denen hydrophobe und hydrophile Gruppen optimal miteinander wechselwirken können. Die Monomolekulare Monoschichten aus amphiphilen Molekülen wie Detergentien an der Luft/Wasser-Grenzfläche sind die einfachsten Aggregate und daher auch am besten untersucht.¹²⁴ Die Lipidmoleküle orientieren sich an der Luft/Wasser-Grenzfläche mit ihrem hydrophoben Schwanz in die Luft, während der polare Kopf im Wasser gelöst ist. Die polaren Kopfgruppen können dann im Wasser gelöste Gäste über Wasserstoffbrücken oder Coulomb-Wechselwirkungen erkennen. Verschiedene biologisch aktive Molekülen wie Nucleinbasen, Nucleotide, Aminosäuren, Peptide und Zucker, wurden schon durch amphiphile Wirte an der Grenzfläche erkannt.¹²⁵

Die Erkennung der oben genannten Moleküle in reinem Wasser ist durch einen Rezeptor, der seinen Gast mit schwachen Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrücken bindet, äußerst schwierig zu erreichen.¹²⁶ An der Grenzfläche ist jedoch die Dielektrizitätskonstante des reinen Wassers ($\epsilon_r = 78$) wesentlich verringert.¹²⁷ Die molekulare Erkennung in Monoschichten findet also in einem Bereich mit mittlerer Dielektrizitätskonstante statt, wo die polaren nicht-kovalenten Wechselwirkungen weniger stark gestört werden als in reinem Wasser. Durch quantenchemische Berechnungen wurde diese Erklärung für die starke Bindung an der Luft/Wasser-Grenzfläche gestützt.¹²⁸ Die Monoschichten oberflächenaktiver Verbindungen können durch Druck-Fläche-Diagramme und mikroskopische Methoden wie die Brewster-Angle-Mikroskopie (BAM)¹²⁹ oder nach Immobilisierung auf Trägern mit *Langmuir-Blodgett-Techniken*¹³⁰ durch Epifluoreszenz-Mikroskopie¹³¹ untersucht werden. Guanidinium- und Phosphationen binden einander in biologischen Systeme durch electrostatische und Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen sehr stark.¹³² Ein einfacher

amphiphiler Rezeptor aus Guanidiniumderivaten kann z. B. Adenosin-Monophosphat (AMP) und Adenosin-Triphosphat (ATP) an der Luft/Wasser-Grenzfläche mit Bindungskonstante von $3.2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ für AMP und $1.7 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ für ATP erkennen. Die entsprechende Bindungskonstanten in reinem Wasser betragen dagegen nur 1.4 M^{-1} . Die Bindungskonstanten sind an der Luft/Wasser-Grenzfläche also 10^7 -fach größer als in reinem Wasser.¹²⁵

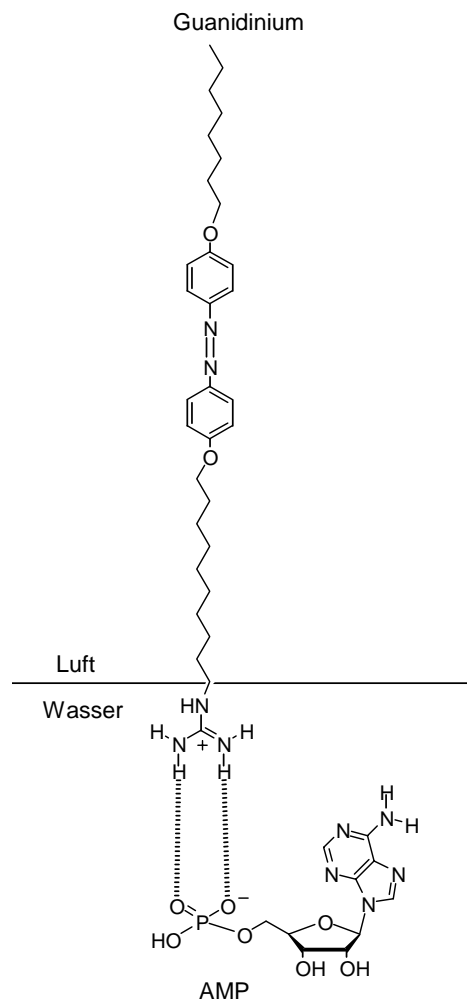


Abb. 86: AMP-Bindung an der Luft/Wasser-Grenzfläche durch einen amphiphilen Wirt aus Guanidinium-Basis.¹²⁵

Biologische Rezeptoren benutzen normalerweise Multipunkte - Wechselwirkungen bei der Erkennung ihrer Substrate. Dies hat den Vorteil, dass die polyvalenten Wechselwirkungen viel stärker sind als die Summe der schwachen monovalenten Wechselwirkungen. Multipunkte Wechselwirkungen an der Luft/Wasser-Grenzfläche sind auch in der Literatur schon beschrieben worden.¹²⁵ In der letzten Zeit wurden einige einfache Calixarenderivate als amphiphile Rezeptoren an der Luft/Wasser-Grenzfläche verwendet.¹³³ Die meisten dieser Calixarene waren dabei am unteren Rand funktionalisiert.

5,11,17,23-Tetra-*tert*-butyl-25,27-bis (2-guanidinoethoxy)-26,28-dihydroxycalix[4]aren **57** bindet z. B. $5'$ -AMP⁻ und $5'$ -GMP²⁻ an der Luft/Wasser-Grenzfläche. Mit Bindungskonstanten von $K_a = 1.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ für $5'$ -AMP⁻ und $K_a = 1.1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ für $5'$ -GMP²⁻.^{133b}

Die Erkennung von Phosphonatgruppen verschiedener Nucleotide durch am unteren Rand mit Alkyguanidiniumionen funktionalisierte Calix[4]arenderivate **57** ist kürzlich realisiert worden. Die entsprechenden Bindungskonstanten betragen $\sim 10^6 \text{ M}^{-1}$.^{133a}

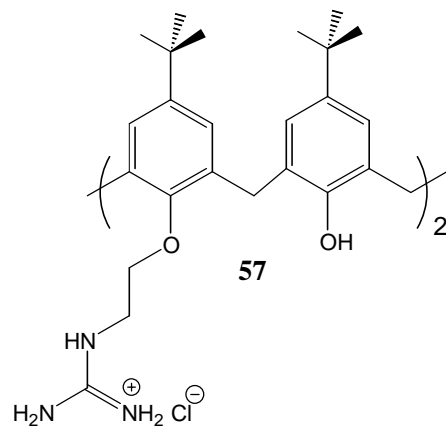


Abb. 87: Lewis-Struktur von **57**

Vor kurzem hat *Vollhardt* gezeigt, dass ein am oberen Rand funktionalisiertes Calix[4]arenbisphosphonat an der Luft/Wasser-Grenzfläche verschiedene Kationen wie Na⁺, Cd²⁺, Eu³⁺ und Th⁴⁺ bei einer Konzentration von $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ voneinander unterscheiden kann.¹³⁴

2.6.3 Untersuchung des Rezeptors **20** an der Luft/Wasser-Grenzfläche

Das Tetrakisphosphonat **20** hat stark amphiphile Eigenschaften. Es sollte sich mit O-Buthylgruppen in die Luft hin ausrichten und seine polaren Phosphonate ins Wasser strecken.

Um die Fähigkeit des Rezeptors **20** an dieser Grenzfläche zu studieren, wurde eine Filmwaage nach *Langmuir* verwendet (Abb. 88).

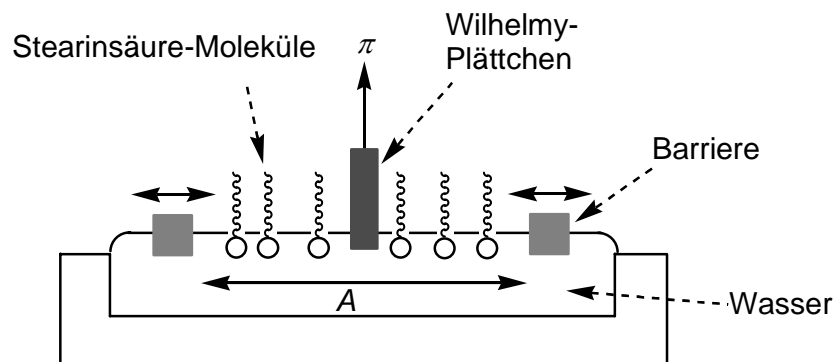


Abb. 88: Schematischer Aufbau einer *Langmuir*-Filmwaage.

Bei den Versuchen wird eine Lösung des Rezeptors in einem wasserunlöslichen organischen Lösungsmittel mit relativ niedrigen Siedepunkt hergestellt. Danach wird diese Lösung langsam auf der wässrigen Phase (Subphase), die sich schon in einem Teflontrog befindet, aufgespreizt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wird die Größe der Oberfläche A durch zwei bewegliche Barrieren verändert. Dabei der Oberflächendruck π ändert sich abhängig von der Fläche. Er wird durch ein *Wilhelmy*-Plättchen, das in das Wasser getaucht ist, gemessen. Der Oberflächendruck π ist die Differenz zwischen Oberflächenspannung der reinen (σ^*) und der belegten (σ) Wasseroberfläche: $\pi = \sigma^* - \sigma$. Bei den Messungen wird der Fläche A langsam verkleinert. Dabei erhält man ein sogenanntes Druck-Fläche-Diagramm.

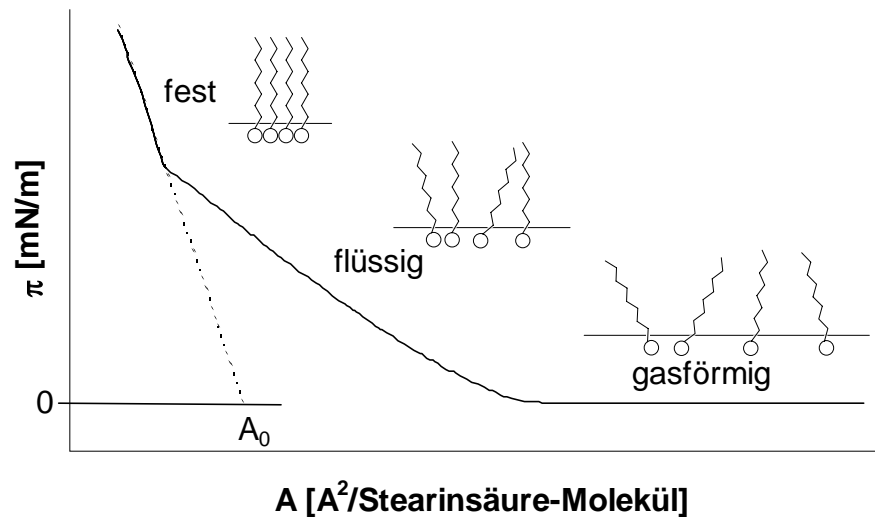


Abb. 89: Typisches Druck-Fläche-Diagramm.

Wie man in der Abbildung 89 sieht, gibt es drei charakteristische Bereiche in einem Druck-Fläche-Diagramm. In der *gasförmigen Phase* sind die Moleküle wie ein zweidimensionales Gas auf der Oberfläche zufällig verteilt. Bei der Komprimierung der Fläche wird die *flüssig-expandierte Phase* erreicht, in der die hydrophoben Schwänze des Stearinsäuremoleküls anfangen, sich zu ordnen. In dieser Zeit steigt der Oberflächendruck an. Bei weiterer Flächenverkleinerung erreicht man die *flüssig-kondensierte* oder *quasi-feste Phase*. Da sind die Moleküle dicht gepackt mit einer sehr guten Ordnung, deswegen gibt es in dem Diagramm einen praktisch linearen, steilen Kurvenverlauf. Bei weiterer Komprimierung der Fläche wird der sog. Kollapsdruck π_c erreicht, bei welchem die Monoschicht irreversibel zerstört wird.¹³⁵

Bei der Extrapolation der Steigung der quasi-festen Phase auf $\pi=0$ erhält man eine quantitative Informationen über die Moleküldimensionen. Die molekulare Fläche A_0 (Abb. 89) ist die hypothetische Fläche, die ein Molekül in der festen Phase bei einem Druck von 0 mN/m hat.

Es wurden bereits gute Erfahrungen in unserem Arbeitskreis mit eingelagerten Rezeptoren in der Stearinsäuremonoschicht gemacht.¹³⁶ Stearinsäure bildet sehr stabile Monoschichten aus. Der hydrophile Carbonsäurekopf geht in der Regel keine oder nur sehr geringe Wechselwirkungen mit kationischen Gästen ein.

Die Stearinsäure kann als Chloroform-Lösung eine stabilere und größere Monoschicht (A_0 -Wert von ca. $21 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$) bilden als gelöst in einer Methanol/Chloroform-Lösung (1:1) ($A_0 \approx 9 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$). Aus der Chloroform-Lösung lagern sich die

Stearinsäuremoleküle vollständig auf der Wasser-Oberfläche an, dagegen wird aus der Methanol/Chloroform- Lösung (1:1) selbst die wasserunlösliche Stearinsäure zum Großteil in die Subphase gerissen. Der Rezeptor **20** ist in polaren Lösungsmitteln (MeOH, H₂O, DMSO) gut löslich, aber in unpolaren organischen Lösungsmitteln (z.B. CHCl₃, Et₂O, Hexan), die man zur Aufspreizung verwenden sollte, praktisch unlöslich. Zum schnelleren Verdampfen des Lösungsmittels auf der Subphase wurde der Rezeptor **20** deshalb in MeOH/CHCl₃ 1:1 ($c = 4.6 \text{ mM}$) gelöst und zum Auftragen auf der Wasseroberfläche verwendet.

Nachdem vorsichtigen Auftropfen der Rezeptor-Lösung auf eine Stearinsäure-Monoschicht in der flüssig Phasen ($\pi = 15 \text{ mN/m}$) verschiebt sich der π - A -Isotherme zu größeren Flächen, was durch die Einlagerung des Rezeptors erklärt werden kann.

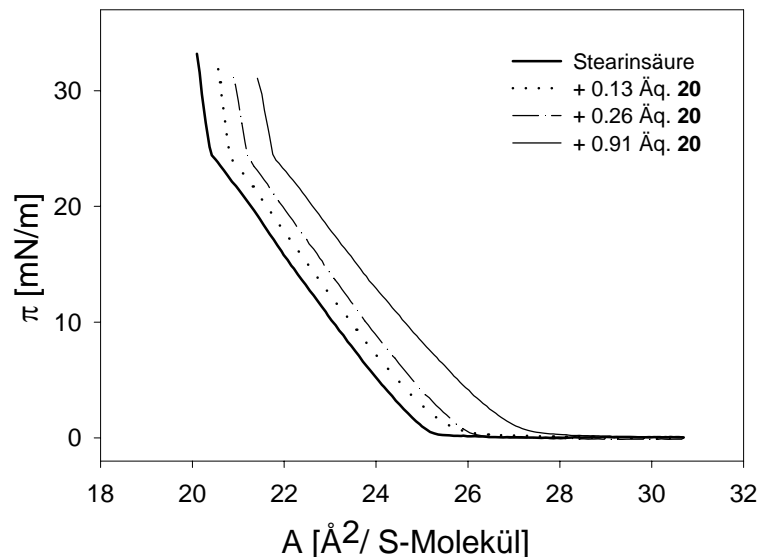


Abb. 90: Einlagerung des Rezeptors **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über Wasser.

Der Shift ist abhängig von der zugegebenen Rezeptormenge, ca. in diesem Fall 0.8 \AA^2 pro 0.13 \AA Äquivalent angebotenen Rezeptor (Abb. 90). Man sollte nicht vernachlässigen, dass der Rezeptor **20** viel größer als Stearinsäure ist. Bei der vollständigen Einlagerung des Rezeptors erwartet man daher eine viel größere Aufweitung. Da der Rezeptor **20** sehr gut wasserlöslich ist, wurde nur ein geringer Teil davon, nämlich weniger als 4% in die Stearinsäureschicht eingelagert. Der Rest liegt gelöst in der Subphase vor. Trotz dieser kleinen eingelagerten Rezeptor Mengen sind die π - A -Isothermen reproduzierbar ($\pm 0.2 \text{ \AA}^2$). Nach der Zugabe des Rezeptors dauert es nur 30 min, bis sich eine stabile Monoschicht gebildet hat.

Man kann mittels Brewster-Angle-Mikroskopie dünne Filme auf transparenten Oberflächen sehr genau beobachten.

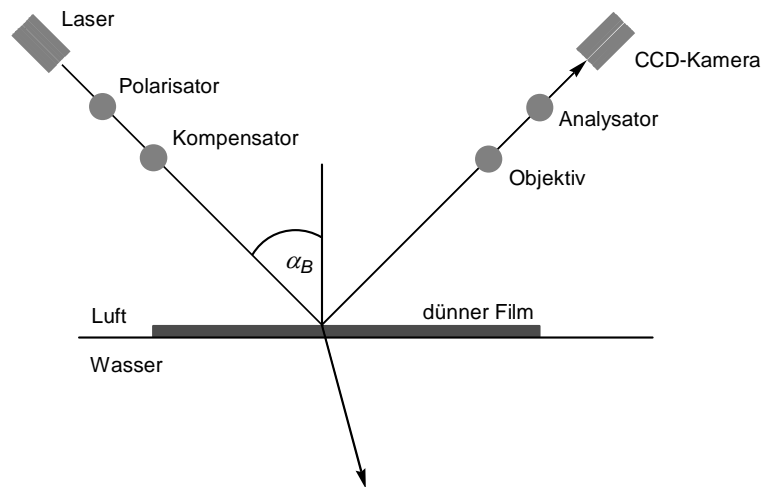


Abb. 91: Schematischer Aufbau eines Brewster-Angle-Mikroskops.

Es ist bekannt, dass ein nicht-polarisierter Lichtstrahl beim Auftreffen auf ein transparentes Material wie Wasser vollständig gebrochen wird. Bei dem Einfallswinkel α_B (Brewster-Winkel, Abb. 91) wird jedoch ein Teil davon reflektiert. Das Brewster-Angle-Mikroskop (BAM) funktioniert nun so, daß der polarisierte Laserstrahl, wenn er unter dem Brewster-Winkel auf die Monoschicht trifft, von ihr reflektiert wird (Abb. 91). Der reflektierte Laserstrahl wird dann mittels einer CCD aufgezeichnet. Veränderungen in der Monoschicht ergeben Veränderungen im BAM-Bild.

Die BAM-Aufnahmen haben sich durch die Einlagerung des Rezeptors **20** im Vergleich zu den Aufnahmen der reinen Stearinsäure kaum verändert. Dies spricht für eine gleichmäßige Verteilung des Rezeptors in der Stearinsäureschicht, wie man es von einem Tetraanion auch erwarten würde.

2.6.4 Bindungseigenschaften des Rezeptors 20 in einer Stearinsäuremonoschicht

Nach den NMR-Untersuchungen der Bindungseigenschaften des Rezeptors **20** in polaren Lösungsmitteln (Kap. 2.6.1), wurden im nächsten Schritt die Bindungseigenschaften an der Luft/Wasser-Grenzfläche untersucht.

Die verschiedenen kationischen Gäste, deren Bindungskonstanten schon in der Lösung studiert worden sind, wurden in Wasser ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ M) gelöst und als Subphase verwendet. Durch die Wechselwirkungen zwischen den Gästen und dem eingelagerten Rezeptor **20** erwartet man eine Veränderung bzw. Aufweitung der Monoschicht, die man im π - A -Diagramm beobachten kann. Als erster Gast wurde L-Arginin·HCl **54** gewählt (Abb. 92).

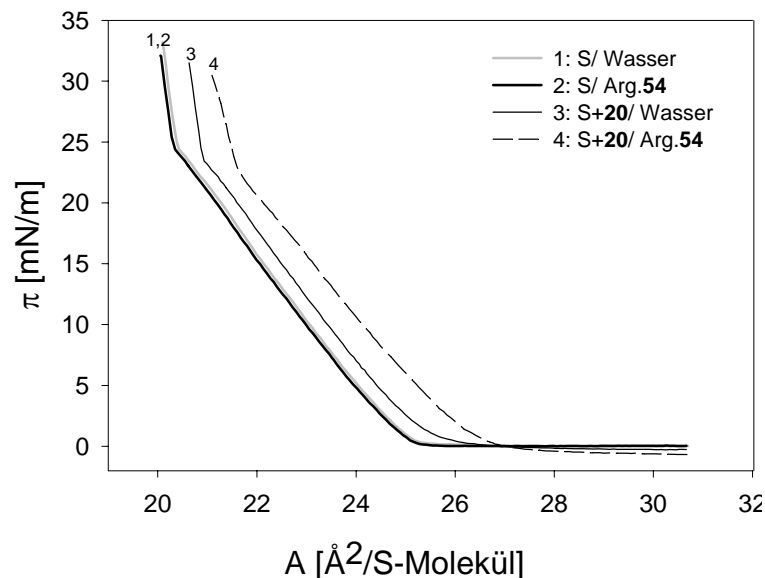


Abb. 92: π - A -Diagramme der Einlagerung von 0.13 Äq Rezeptor **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über einer L-Arginin·HCl (Arg.)-Subphase ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ M). Die Vergleichskurven 1 und 3 stammen aus einer anderen Messung.

Wie Abbildung 92 zeigt, gibt es keine Wechselwirkung zwischen der Monoschicht aus reiner Stearinsäure und der L-Arginin·HCl - Lösung ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ M) in der Subphase. Die zeigen identischen Verlauf. Kurven 1 (Stearinsäure über Wasser) und 2 (Stearinsäure über L-Arginin·HCl **54**). Nach Zugabe des Rezeptors **20** verschieben sich jedoch die Kurven zu größeren Flächen (Kurven 3 und 4). Man kann deutlich sehen, dass durch Wechselwirkungen zwischen dem eingelagerten Rezeptor **20** und H-Arg-OH **54** eine A_0 -Vergrößerung von 21.5 \AA^2 auf 22.8 \AA^2 eintritt.

Bei der Verwendung von N_α -Tosyl-L-arginin methylester·HCl **53** als Subphase wurde im π - A -Diagramm ein Plateau beobachtet. Dies kann dahingehend erklärt werden, dass die

Gastmoleküle wegen deren sehr großen und lipophilen Schutzgruppen mit der Stearinsäureschicht wechselwirken.

Danach wurden die anderen Gäste studiert, die schon per NMR-Titration in Lösung untersucht wurden. Die Gäste wurden in eine, wäßrigen Lösung ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ M) als Subphase verwendet. Bei allen untersuchten Gästen wurde sichergestellt, dass keine Wechselwirkung mit der reinen Stearinsäure stattfindet, und nach Rezeptorzugabe wurde so lange gemessen, bis keine weitere Aufweitung der Monoschicht mehr erfolgte. Die diskutierten Shifts ΔA_0 beziehen sich auf die Flächendifferenzen zwischen rezeptorhaltigen Monoschichten über der jeweiligen Gastlösung und über reinem Wasser.

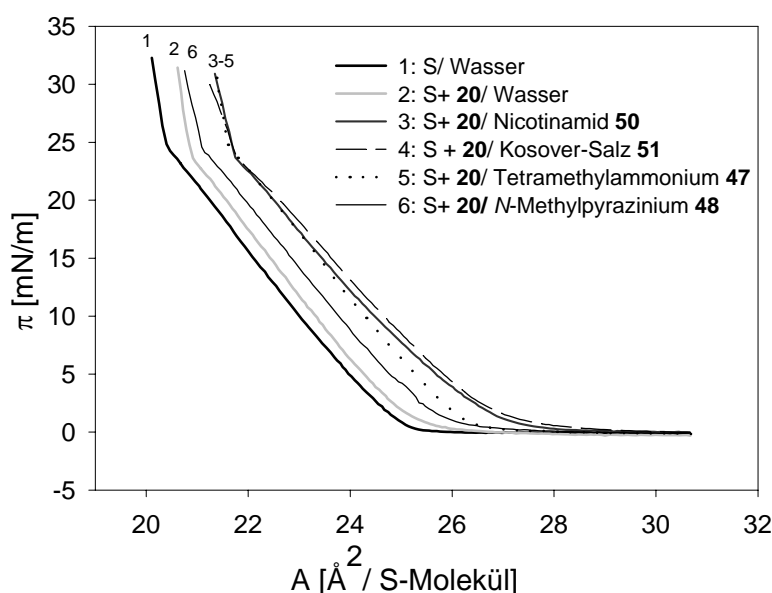


Abb. 93: π -A-Diagramme der Einlagerung von 0.13 \AA^2 Rezeptor **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über verschiedenen Gastlösungen ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ M) nach Gleichgewichtseinstellung (Kurven 3-6) sowie die Vergleichskurven 1 und 2.

Tabelle 17: π -A-Diagramme der Einlagerung von 0.13 \AA^2 Rezeptor **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über verschiedenen Gastlösungen ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ M) nach Gleichgewichtseinstellung (Kurven 3-6) sowie die Vergleichskurven 1 und 2. ^a Entsprechende Bindungskonstante mit Rezeptor **20** in d_4 -MeOH

Monoschicht	Subphase	^a K_a [M^{-1}]	ΔA_0	Kurve
Stearinsäure (S)	Wasser	-----	-	1
S + 20	Wasser	-----	0	2
S + 20	Nicotinamid 50	4.392×10^4	1.7	3
S + 20	<i>N</i> -Methylpyrazinium 48	4.761×10^4	0.3	6
S + 20	Kosover-Salz 51	4.034×10^3	1.7	4
S + 20	Tetramethylammonium 47	1.0×10^3	1.7	5

Trotz der geringen Konzentration der Gäste (10^{-4} M) sind deutliche Veränderungen in den π - A -Diagrammen sichtbar. Allerdings belegt Tabelle 17, dass Rezeptor **20** relativ ähnliche A_0 -Vergrößerungen bei allen Gästen hervorruft außer bei *N*-Methylpyrazinium **48** mit $\Delta A_0 = 0.3 \text{ \AA}^2$. Dies korreliert mit dem großen NMR-Shifts, die andeuten, dass der Gast in dem Hohlraum des Rezeptors gebunden werden kann. Solche ein Bindungsmodus führt naturgemäß nur zu einer geringen Oberflächeaufweitung.

Die Erkennung von den Aminosäuren in Wasser ist immer noch ein interessantes und stark umforschtes Thema. Deswegen wurde eine Lösung aus Ac-Lys-OMe **55** und H-Lys-OH **56** als Subphase verwendet. Die π - A -Diagramme sehen folgendermaßen aus.

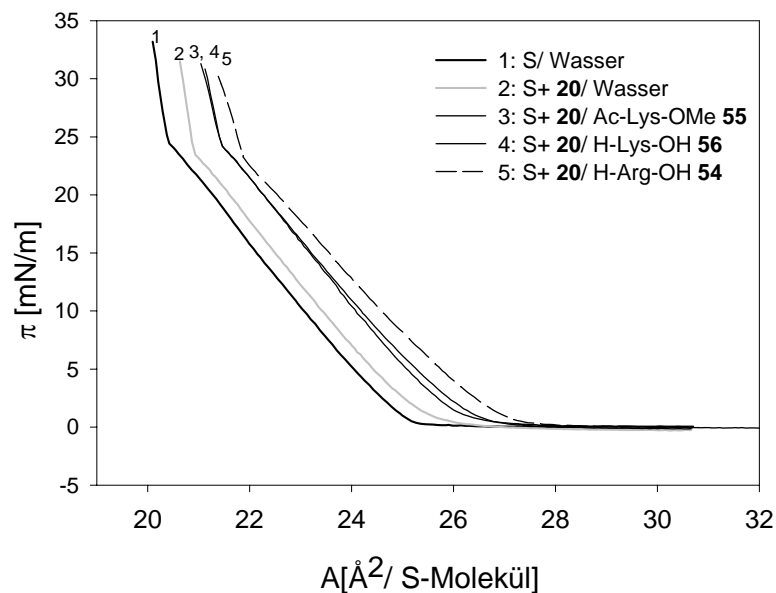


Abb. 94: π - A -Diagramme der Einlagerung von 0.13 \AA^2 Rezeptor **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über verschiedenen Gastlösungen ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ M) nach Gleichgewichtseinstellung (Kurven 3-5) sowie die Vergleichskurven 1 und 2.

Wie man sieht, ist die Filmwaagetechnik sensitiv genug, um Aminosäuren in relativ niedrigen Konzentration in Wasser nachzuweisen. Zwischen den einzelnen Aminosäuren gibt es aber keinen signifikanten Unterschied der A_0 -Vergrößerung, d.h. mit dieser Methode kann man die untersuchten Aminosäuren nicht unterscheiden.

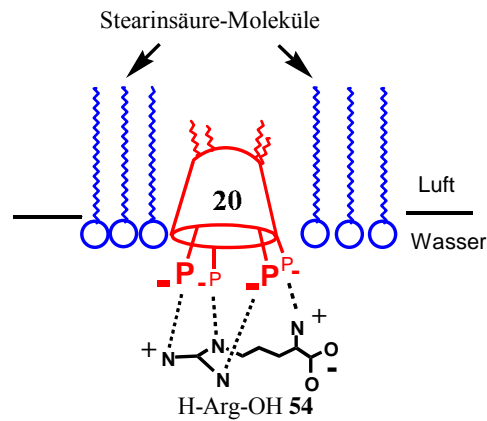


Abb. 95: Schematische Darstellung des Komplexes von eingelagertem **20** mit H-Arg-OH **54** in einer Stearinsäure-Monoschicht.

2.6.4.1 Multipunkt-Wechselwirkungen an der Luft/Wasser-Grenzfläche

Es ist bekannt, dass in der Natur häufig polyvalente Wechselwirkungen (Mehrfach-Wechselwirkungen) genutzt werden.¹³⁷ Viele biologische Systeme wechselwirken gleichzeitig über mehrere Kontaktstellen.

In der molekularen Biochemie ist dies zu einem neuen Schwerpunkt der Forschung geworden, nachdem sich die Bedeutung von Wechselwirkungen abgezeichnet hat, bei denen mehrere Rezeptor- und Gastmoleküle beteiligt sind. Polyvalente Wechselwirkungen zeichnen also ganz allgemein sich dadurch aus, daß gleichzeitig mehrere Gastmoleküle einer biologischen Einheit, eines Moleküls oder einer Oberfläche an mehrere Rezeptorstellen einer zweiten Einheit gebunden werden.

Um Multipunkt-Wechselwirkungen an der Luft/Wasser-Grenzfläche zu studieren, wurden solche Gäste, die für eine effiziente Erkennung zwei oder mehr Rezeptormoleküle brauchen, in der Subphase gelöst. Die eingelagerten Rezeptoren können sich nun in der Monoschicht frei und in allen Richtungen bewegen. Dadurch kann an der Luft/Wasser-Grenzfläche durch polyvalente Wechselwirkungen eine Selbstorganisation stattfinden.¹³⁸

Wenn man in der Subphase Diarginin **58** und Triarginin **59** löst, ist bereits eine starke Aufweitung der Oberfläche im π -A-Diagramm zu sehen.

Diese Methode ist so sensitiv, dass man Diarginin **58** in Konzentrationen von 10^{-6} M und Triarginin **59** in sehr niedrigen Konzentration unterhalb 10^{-7} M in Wasser mit nur 0.13 Äquivalent eingelagertem **20** in der Stearinsäuremonoschicht erkennen kann. Damit gehört dieser Verfahren zu den bisher sensitivsten für die Erkennung von Dipeptiden und Tripeptiden in Wasser.

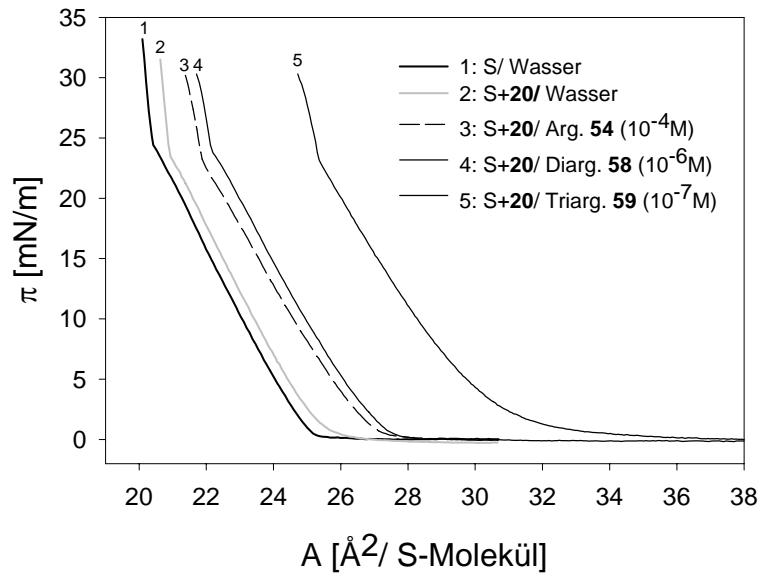


Abb. 96: π -A-Diagramme der Einlagerung von 0.13 Äq. Rezeptor **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über Arginin ($10^{-4}M$), Diarginin **58** ($10^{-6}M$) und Triarginin **59** ($10^{-7}M$) nach Gleichgewichtseinstellung (Kurven 3-5) sowie die Vergleichskurven 1 und 2.

Beim Vergleich von Monoarginin **54** mit Diarginin **58** und Triarginin **59** fällt auf, daß Diarginin **58** und Triarginin **59** im Vergleich zu Monarginin **54** in viel geringeren Konzentrationen verwendet wurden. Trotzdem wurden für Diarginin **58** bzw. Triarginin **59** ähnliche bzw.soger größere Effekte beobachtet als für das Monomer. Dies läßt sich nun durch Multipunkt-Wechselwirkungen zwischen den Gästen und Rezeptor **20** erklären (Abb. 97).

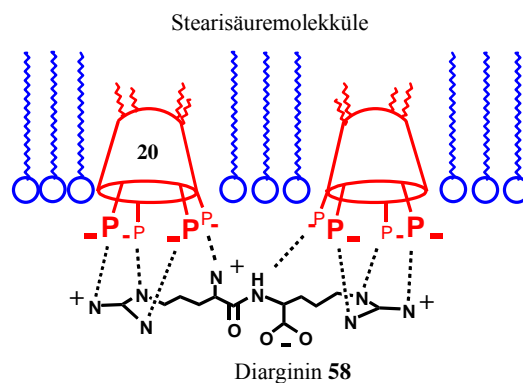


Abb. 97: Schematische Darstellung von eingelagertem **20** in einer Stearinsäure-Monoschicht und seinem Multipunkt-Wechselwirkungen bei der Erkennung von Diarginin an der Luft/Wasser-Grenzfläche.

Die relativ große Zunahme der Oberfläche bei Anwesenheit des Dipeptids und Tripeptids (ΔA_0 bis 6 \AA^2), kann so erklärt werden, dass die in der Subphase gelösten Rezeptormoleküle mit den Gästen Komplexe bilden, die aufgrund des Ladungsausgleichs lipophiler als die freien Rezeptoren sind und daher in die unpolare Monoschicht diffundieren. Die

Vergrößerung der Oberfläche ist also nicht nur auf bereits vorher eingelagerte Rezeptormoleküle, sondern auch auf zusätzlich eingelagerte Rezeptor-Gast-Komplexe zurückzuführen.

Synthetische Rezeptoren, die Proteinoberflächen erkennen und dadurch biologisch wichtige Wechselwirkungen zwischen Proteinen unterbinden können, gehören zu den bedeutendsten Problemen der Bioorganischen Chemie, die bis lang nicht richtig gelöst werden konnten.¹³⁹ *Hamilton* hat gezeigt, dass ein Calix[4]aren-Rezeptor mit vier anionischen Peptidschleifen am oberen Rand die Oberfläche von Cytochrom *c* in einer ähnlichen Weise wie das natürliche Protein binden kann.¹⁴⁰ Dieser Rezeptor kann auch an α -Chymotrypsin andocken, weil es aufgrund mehrerer Lysin- und Argininreste eine positiv geladene Oberfläche hat.¹⁴¹

Tetracarboxyphenylporphyrin und seine Derivate können ebenfalls Cytochrom *c* binden. Vermutlich kann dieser Rezeptor ebenfalls durch seine Carboxylatgruppen die positiv geladenen Aminosäuren (Arginin und Lysin), die auf die sich Oberfläche der Cytochrom *c* befinden, binden¹⁴²(Abb. 98). Zusätzlich wird die Bindung durch hydrophobe Anziehungskräfte zwischen dem Porphyrin und der hydrophoben Bindungstasche des Enzyms verstärkt.

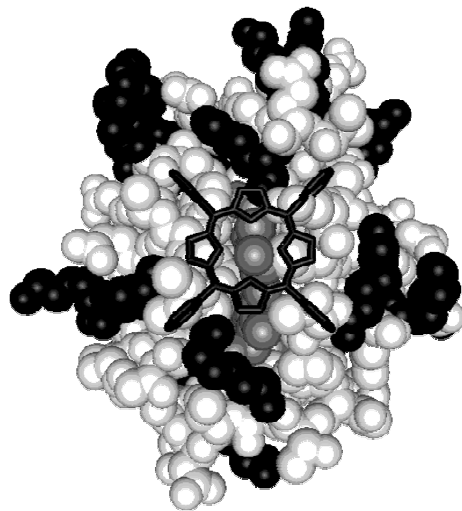


Abb. 98: Schematische Darstellung der Komplexbildung zwischen Cytochrom *c* aus dem Herz des Pferdes und Tetracarboxyphenylporphyrin.⁹⁸

Calix[6]arene, die am unteren Rand durch Carboxylgruppen funktionalisiert sind, können Cytochrom *c* sogar aus wässriger Lösung extrahieren. Dies geschieht ebenfalls durch ionische Wechselwirkungen zwischen den Carboxylatgruppen des Calix[6]arens und den

NH_3^+ - Gruppen der Aminosäure Lysin, die an der Oberfläche des Cytochrom *c* exponiert sind.¹⁴³

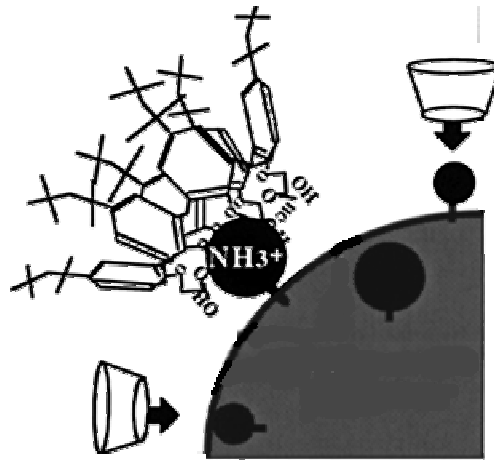


Abb. 99: Schematische Darstellung der Komplexbildung zwischen Cytochrom *c* und Tetracarboxycalix[6]aren.¹⁴³

Calixarene wurden also bereits mehrfach zur Erkennung von Proteinoberflächen verwendet. Deswegen habe ich auch nach den guten Erfahrungen mit kationischen Dipeptiden und Tripeptiden größer Peptide bzw. Proteine untersucht, die auf ihrer Oberfläche viele positiv geladene Aminosäuren wie Arginin oder Lysin tragen.

Rezeptor **20** sollte nun wegen der relativ großen Oberfläche der Proteine, mit zahlreichen Aminosäuren (Arginin oder Lysin), auf dieser Oberfläche gleichzeitig wechselwirken. Da der eingelagerte Rezeptor **20** sich in der Monoschicht frei bewegen kann, ist so die Möglichkeit zur Ausbildung starker Multipunkt-Wechselwirkungen gegeben. Das erste kleine, basische Protein war das Histon *HI*. Diese Proteine haben einen hohen Gehalt an basischen Aminosäuren Arginin und Lysin (ein Viertel Aminosäuren). Das verwendete Histon *HI* hat 29,5% Lysin und 1,3% Arginin in seiner Struktur, die meisten auf seiner Oberfläche.

Argininreiche Proteine wie Cytochrom *c* zeigen denselben Effekt wie Histon *HI* an der Luft/Wasser-Grenzfläche: Man beobachtet eine extreme starke Fläche Vergrößerung.

Diese Methode, die zum erstenmal in unserem Arbeitskreis zum Proteinnachweis verwendet worden ist, ist so empfindlich, dass Proteine selbst in nanomolaren Konzentration in Wasser (Subphase) einen relativ großen Shift der π -A-Diagramme bewirken. Auch in der Natur benötigen Proteine wirksame Protein-Protein Wechselwirkungen, um bereits in nanomolaren Konzentrationen Komplexe einzugehen.

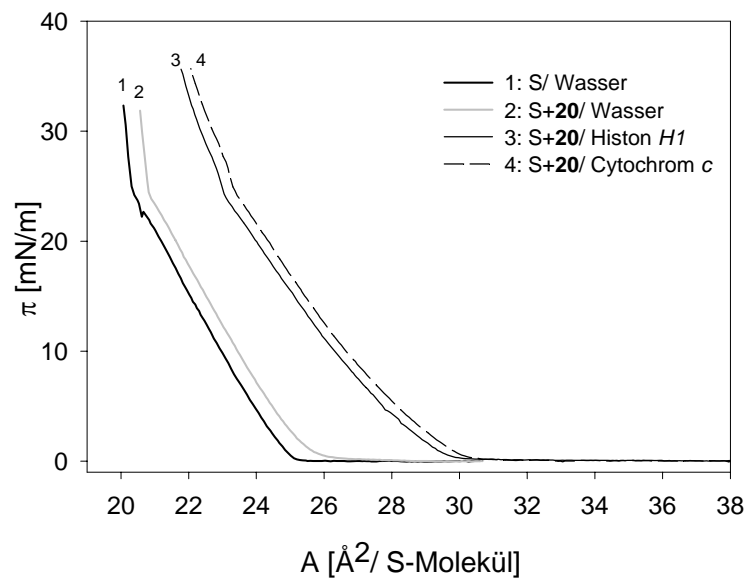


Abb. 100: π -A-Diagramme der Einlagerung von 0.13 Äq. Rezeptor **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über Histon *H1* (10^{-8} M) und Cytochrom *c* (10^{-8} M) nach Gleichgewichtseinstellung (Kurven 3, 4) sowie die Vergleichskurven 1 und 2.

Die ersten untersuchten Proteine zeigten dabei keine Wechselwirkungen mit der Stearinsäure-Monoschicht.

Obwohl die gleichen Konzentrationen an Cytochrom *c* und Histon *H1* verwendet wurden zeigt Cytochrom *c* überraschenderweise den größeren Shift in dem π -A-Diagramm (Abb. 100). Der Rezeptor **20** bindet nun solche positiv geladenen Aminosäuren, die auf der Oberfläche der Proteinen zur Verfügung stehen, daher sollte die Größe der Protein-Oberfläche ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Erkennung der Proteinen an der Luft/Wasser-Grenzfläche spielen.

Die solvatisierfähige Oberfläche eines Proteins kann durch die sog. Connolly - Methode bestimmt werden.¹⁴⁴

Aus dieser Darstellung lassen sich auch die Proteinoberflächen für Cytochrom *c*: 6.3 kÅ^2 und für Histon *H1*: 4.3 kÅ^2 berechnen. Es ist offensichtlich, dass Cytochrom *c* im Vergleich zum Histon *H1* eine größere Oberfläche zur Verfügung stellen kann, und deswegen möglicherweise zu einer größeren Aufweitung der Oberfläche führt (Abb. 101).

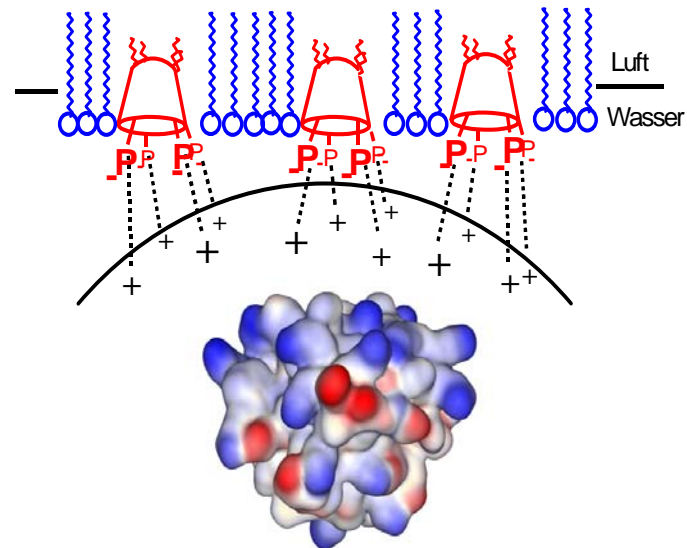


Abb. 101: Schematische Darstellung der Multipunkt-Wechselwirkungen zwischen dem eingelagerten Rezeptor in der Stearinsäure-Monoschicht und den positiven Bereichen an der Connolly - Oberfläche des Proteins (Cytochrom *c*). Blaue Bereiche haben positives elektrostatischen Potential, rote ein negatives.

Die Proteine wurden, bezogen auf die enthaltenden Aminosäuren in drei verschiedene Klassen eingeteilt:

1. basische Proteine mit einer überwiegenden Anzahl basischer Aminosäuren; $IEP > 7.0$.
2. neutrale Proteine, mit ausgewogener Anzahl basischer und saurer Aminosäuren; $IEP = 7.0$
3. Saure Proteine mit einer überwiegenden Anzahl von sauren Aminosäuren; $IEP < 7.0$

Um die Bindungselektivität des eingelagerten Rezeptors zu studieren, wurden verschiedene Protein - Lösungen mit unterschiedlichen IEP - Werten als Subphase ($c \sim 10^{-8} M$) verwendet. Die durchgeführte Versuche haben gezeigt, dass Rezeptor **20** insgesamt eine ausgeprägte Vorliebe für basische Proteine hat, d.h. er führt zu dem stärksten Effekten bei basischen Proteinen, die neutralen Proteine werden mäßig gebunden während die sauren Proteine praktisch keine Zunahme des A - Wertes bewirken (Abb. 102).

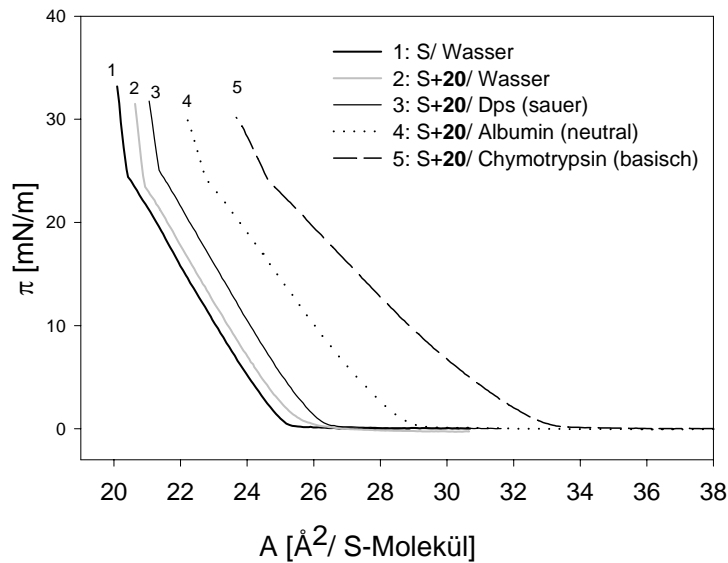


Abb. 102: π -A-Diagramme der Einlagerung von 0.13 Äq. Rezeptor **20** in eine Stearinsäure (S)-Monoschicht über Verschiedene Proteinen (10^{-8}M) nach Gleichgewichtseinstellung (Kurven 3-5) sowie die Vergleichskurven 1 und 2.

Wie in der Abbildung 102 sichtbar ist, zeigte Chymotrypsin, ein basisches Protein (IEP = 8), die größte Aufweitung in dem π -A-Diagramm ($\Delta A_0 = 6 \text{ \AA}^2$). Albumin (IEP = 6) bewirkt eine mäßige Änderung der Oberfläche ($\Delta A_0 = 2 \text{ \AA}^2$). Albumin zeigte schon mit der Stearinsäure-Monoschicht deutliche Wechselwirkungen. Am schwächsten wurde Dps (*DNA-protecting protein from starved cells*; IEP = 5.5) gebunden ($\Delta A_0 = 1 \text{ \AA}^2$).

Wie am Beispiel aus Abb. 101 gezeigt wurde, darf man den Einfluss der Oberflächengröße der Proteine nicht vernachlässigen. Die Oberfläche des Chymotrypsins beträgt $11,2 \text{ k\AA}^2$, die des Albumins 37 k\AA^2 und des Dps-proteins, normalerweise eine Dodecamer Struktur, sogar 75 k\AA^2 . Die Filmwaage-Effekte der Proteine müssen also auf ihre Oberfläche bezogen werden. Dps ist ~ 7 mal größer als Chymotrypsin, zeigt aber viel kleinere Effekte an der Luft/Wasser-Grenzfläche, weil es im Gegensatz zum Chymotrypsin nur wenige positiv geladene Aminosäuren auf seiner Oberfläche trägt.

Albumin ist ~ 3 mal größer als Chymotrypsin, allerdings sollte beachtet werden, dass Albumin zahlreiche negativ geladene Aminosäuren wie Glutaminsäure und Asparaginsäure auf seiner Oberfläche hat, die keine Wechselwirkungen mit dem Rezeptor **20** ausbilden können.

Um den Einfluss der Oberflächegröße zu berücksichtigen, wurde anhand der folgenden Formel eine korrigierte Konzentration bezogen auf eine normierte Oberflächegröße von $10 \text{ k}\text{\AA}^2$ berechnet:

$$C_{\text{kor.}} = (C_{\text{Protein}} \cdot \text{Connolly} - \text{Oberfläche}) / 10 \text{ k}\text{\AA}^2$$

Tabelle 18 : Vergleich zwischen verschiedenen Proteinen an der Luft/Wasser-Grenzfläche, abhängig von ihrer Oberfläche und ihrem IEP.

Versuch	Protein	$c_{\text{Korr.}}$ [M] ^a	$\Delta A_{S\text{-Matrix}}$ [\AA^2]	ΔA_{Rez} [\AA^2]	IEP	MW [kDa]	Oberfläche [$\text{k}\text{\AA}^2$]
1	Histone <i>H1</i>	$4 \cdot 10^{-9}$	0	5	10.4	7.7	4.3
2	Cytochrom <i>c</i>	$6 \cdot 10^{-9}$	0	5	9.5	12.3	6.3
3	Proteinase K	10^{-8}	1	6	8.1	38.4	11.0
4	Chymotrypsin	10^{-8}	1	5	8.0	28.2	11.2
5	Thrombin	10^{-9}	1	2	7.5	32.0	15.5
6	Albumine (BSA)	$4 \cdot 10^{-9}$	2	2	6.0	86.3	37.0
7	Dps (12mer)	$7 \cdot 10^{-9}$	1	1	5.9	190.0	75.0
8	Ferritin (24mer)	10^{-8}	1	2	5.5	455.3	175.5
9	Acylcarrierprotein	10^{-8}	1	1	4.2	8.4	4.7

Wie man an der Tabelle 18 sieht, zeigen die basischen Proteine, mit $\text{IEP} > 7$ (Versuche 1-4) die stärksten Effekte im π -A Diagramm. Die neutralen Proteine, $\text{IEP} \sim 7$ bewirken schwache Veränderungen der π -A Diagramme. Die schwächsten Effekte bewirken die sauren Proteine, $\text{IEP} < 7$.

In der vierten Spalte wurde der Einfluss der Stearinsäure - Monoschicht aufgeführt, denn manche Proteine wechselwirken auch mit der Stearinsäure – Monoschicht. Teilweise können diese Effekte so erklärt werden, dass die Proteine auf ihrer Oberfläche hydrophobe Bereiche haben, die mit der unpolaren Stearinsäure wechselwirken. Für Albumin ist eine wirksame Komplexierung von Fettsäuren charakteristisch. Die freien Fettsäuren werden in den Blutkreislauf abgegeben und binden an das Protein Albumin, ein lösliches Monomer von $\sim 70 \text{ kDa}$, das ca. die Hälfte des Gesamtproteins im Plasma ausmacht. In Abwesenheit von Albumin beträgt die maximale Löslichkeit freier Fettsäuren nur ungefähr 10^{-6} mol/L . Oberhalb dieser Konzentration bilden die Fettsäuren Micellen aus, die als Detergentien wirken. Diese könnten im schlimmsten Fall die Struktur von Proteinen und Membranen zerstören und folglich toxisch wirken. Die effektive Löslichkeit von Fettsäuren im Komplex mit Albumin kann dagegen bis zu 2 mmol/L betragen.

In physiologischer Lösung liegen Proteine gepuffert vor. Daher wurden die von uns untersuchten Proteine anstatt in Wasser auch in Puffer gelöst als Subphase in der Filmwaage verwendet.

Als Puffer - Lösung wurde ein HEPES-Puffer (pH-Wert um 7) verwendet. Die Konzentration der Puffer - Lösung wurde dabei von 0.5 - 50 mM variiert. In allen Fällen war der Effekt zwischen **20** und den Proteinen unverändert. Das bedeutet, dass selbst die hochgeladenen Salze des Puffers die Wechselwirkungen zwischen eingelagertem Rezeptor und den gelösten Gästen nicht schwächen konnten. Außerdem wurde die Verwendung von NaCl - Lösungen in Konzentrationen von 0.5 - 150 mM getestet. Trotz des bereits in der Literatur beschriebenen schwächenden Einflusses der erhöhten Ionenstärke bei elektrostatischen Wechselwirkungen werden auch bei 150 mM Salz Fracht Proteine bis zu nanomolaren Konzentration heraberkant.¹⁴⁵

Zusammenfassend ist festzustellen, dass durch die Einlagerung des Rezeptors **20** in eine Stearinsäure - Monoschicht eine biomimetisches Membranmodell aufgebaut wurde. Dadurch können basische Proteine mit hohem IEP bis zu nanomolaren Konzentrationen in Wasser, Puffer - Lösung und auch Salz - Lösung nachgewiesen werden.

3 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Im Rahmen dieser Dissertation wurden molekulare Kapseln durch Selbstorganisation zweier Halbschalen in polarer Lösung hergestellt und detailliert untersucht. Dazu das Konzept einer chelatartigen, präorganisierten Anordnung entgegengesetzt geladener Halbschalen erfolgreich auf große, rigiden und präorganisierte Calix[4]arene übertragen. Viele nichtkovalente Wechselwirkungen, wie Elektrostatik und Wasserstoffbrücken wirken hier kooperativ zusammen und führen zu stabilen Aggregaten.

Auch hier konnte von einer annähernd kugelförmigen Komplexgeometrie ausgegangen werden, bei der es aufgrund multipler elektrostatischer Wechselwirkungen und gerichteter Wasserstoffbrücken zur Ausbildung eines supramolekularen Netzwerkes kommt. Hierdurch wird im Inneren des Komplexes ein Hohlraum aufgespannt, der zur Gasteinlagerung fähig sein sollte.

Daher wurden im ersten Teil meiner Arbeit neue präorganisierte, kationische und anionische Calix[4]arenhalbschalen synthetisiert, um eine möglichst große Variationsbreite unterschiedlich großer Hohlräumen, in dem Selbstorganisierten Containern zu erzielen.

Die drei starren direkt am Aromaten funktionalisierten Calixarene wurden (**10**, **13**, **20**) jeweils in siebenstufigen Synthesesequenzen, mit positiven oder negativen Ladungen am oberen Rand des Calix[4]arens hergestellt (Abb. 103).

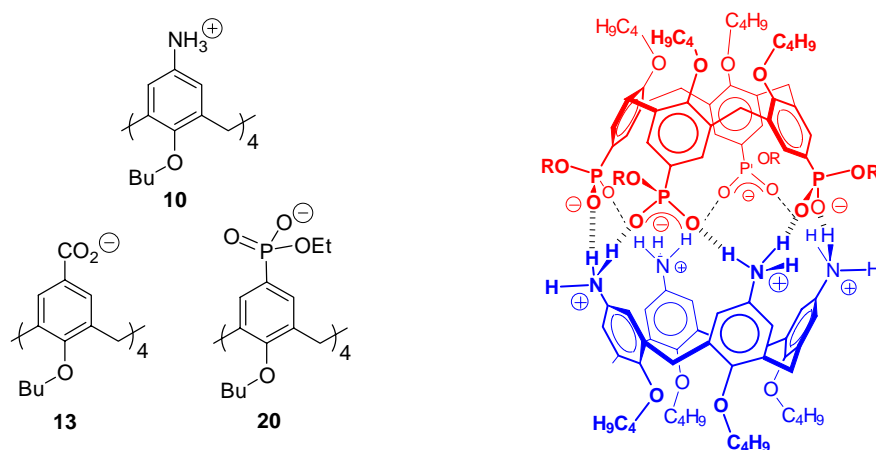


Abb. 103: links: Lewis-Struktur der neuen Calix[4]aren Halbschalen; rechts: Lewis-Struktur des Komplexes zwischen **10** und **20**.

Anschließend wurden die Bindungskonstanten der ausgebildeten kapselartigen Komplexe durch NMR-Titrations in polaren Lösungsmitteln wie Methanol und Methanol/Wasser (4:1) ermittelt. In allen Fällen wurde eine 1:1 Komplexstöchiometrie zwischen den

Halbschalen ermittelt, entweder durch *Job* - Plot oder ESI-MS. Die Kapseln bilden sich in Methanol mit K_a - Werte zwischen 10^3 und 10^6 M^{-1} .

Bei der Kapselbildung ist eine deutliche Differenz zwischen den $\text{p}K_a$ - Werten der Halbschalen sehr wichtig, um einen Protontransfer auszuschließen. Je größer die $\text{p}K_a$ - Werte sich unterscheiden, desto stabiler sind in der Regel die gebildeten Kapseln vermutlich, weil alle funktionellen Gruppen geladen sind (*vide infra*).

Wenn die $\text{p}K_a$ - Werte der Halbschalen zu nahe beieinander liegen, erfolgt ein Protontransfer zwischen den beiden Halbschalen. Dadurch entsteht trotzdem eine Wasserstoffbrücken-gebundene Kapsel, wie (**10+13**), die allerdings schwächer zusammenhält.

Da bei NOESY - Experimenten keine Kreuzpeaks sichtbar waren, und außerdem keine Shifts im unteren Bereich der Calixarene auftreten, kann man folgern:

1. Der Abstand zwischen beiden (positiv und negativ geladenen) funktionellen Gruppen am oberen Rand des Calixarens im Komplex ist größer als 4 Å.
2. Keine unspezifische Aggregation zwischen den Halbschalen über den O-Alkylrest des Calixarens oder durch π - π Wechselwirkung zwischen den Aromaten ist nachweisbar.

Die Kapseln wurden weiterhin durch ESI-MS charakterisiert. Zum erstenmal gelang uns die Bestimmung der relativen Stabilität der selbstorganisierten Kapseln in Lösung. Bei den von uns untersuchten molekularen Kapseln steht ESI-MS eine schnelle, selektive und sensitive Methode dar, die im Gegensatz zur langsamen NMR-Spektroskopie selbst in Mischungen von Gästen und Wirten Informationen über die relative Stabilität verschiedener gleichzeitig gebildeter Aggregate liefert.

Unsere Ergebnisse belegen eine relativ gute Übereinstimmung zwischen Bindungskonstanten aus der Lösung (NMR-Titration) und absoluten Peakintensitäten in den ESI-MS Spektren (I_{ESI}).

Über MS/MS-Experimente gelang darüberhinaus die Bestimmung der Stabilität der molekularen Kapseln in der Gasphase (Abb.104).

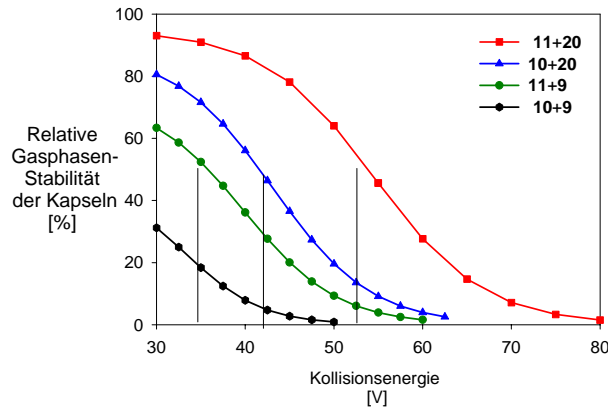


Abb. 104: Kollisionsinduzierter Zerfall der Kapseln in der Gasphase.

Auch hier wurde eine sehr gute Übereinstimmung mit der Lösungsstabilität (NMR-Titration) gefunden. Die zu Dissoziation der Kapseln nötige Energie beträgt bis zu $CE_{50} = 50$ V und zeigt ihre enorme Stabilität.

Interessanterweise wurden über MS/MS-Experimente neue, über Protontransfer in der Lösung gebildete Kapseln gefunden und charakterisiert.

Bevor der Gast sich in den Hohlraum der Kapseln einlagert, müssen Lösungsmittelmoleküle aus dem Innenraum der Kapsel verdrängt werden (Desolvatisierung). Vermutlich kostet diese Desolvatisierung von harten Säuren wie Ammoniumgruppen bei **10** und harten Basen wie Phosphonatgruppen bei **20** zu viel Energie. In der Fall unserer ionischen Kapseln konnte leider trotz zahlreicher systematischer Versuche mit vielen Gästen bei unterschiedlichen Bedingungen keine Gasteinlagerung nachgewiesen werden (NMR, ESI).

Um dennoch einem Gasteinschluss zu erreichen, werden drei verschiedene Möglichkeiten diskutiert:

1. Synthese größerer Bausteine, nämlich Calix[5]arene. Hier könnten sich die Gäste bei gleichzeitiger Anwesenheit von der Wassermolekülen wegen des relativ großen verfügbaren Hohlräume einlagern. Dieses Projekt wird in Zusammenarbeit mit dem AK *Böhmer* an der Universität Mainz durchgeführt.
2. Durch Übergang auf ein Calix[4]arenderivat, welches eine tiefe Kavität besitzt, könnte man die Einlagerung von großen Gästen ermöglichen. Dieses Thema ist am Anfang und könnte eventuell von meinem Nachfolger fortgesetzt werden. Erste Versuch zur Herstellung Selbstorganisierter tiefer Kavitäten werden beschrieben.

3. Kovalent - Verknüpfte Calix[4]aren-Dimere sind eine weitere Möglichkeit, um die z. B. größere biologisch aktive Gäste einzulagern. Im Rahmen dieser Arbeit wurden sechsfach positiv geladene Calix[4]aren-Dimere synthetisiert, die durch verschiedene Spacer zusammengehalten werden. Nach den ersten NMR-Titrations-Ergebnisse binden diese Calix[4]aren-Dimere, **32** mehrfachnegativgeladene Gäste wie Diaspartat **34**, Phenolphthaleindiphosphat **35** und ATP (Adenosin triphosphat) **36** in polaren Lösungsmitteln wie Methanol. Die größeren Gäste bilden definierte 1:1-Komplexe, lagen also offensichtlich in beiden Halbschalen hinein.

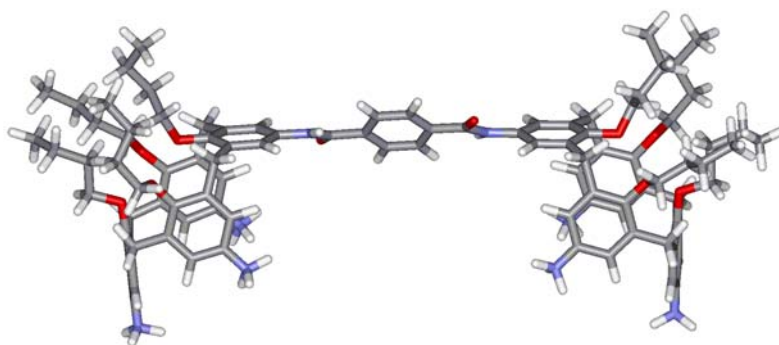


Abb. 105: Optimierte Struktur von **32** (*Macromodel 7.0, Amber*, Wasser*) in der produktive Syn - Anordnung.

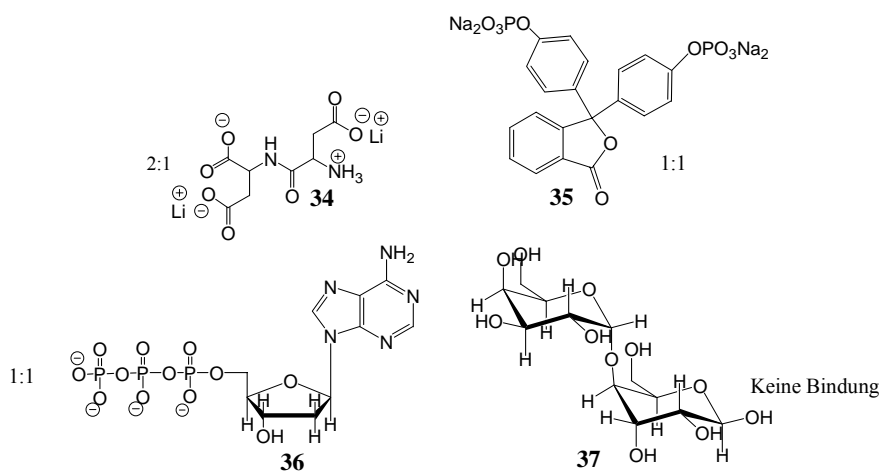


Abb. 106: Lewis-Struktur der verwendeten Gäste und Komplex - Stöchiometrie.

Keine Bindung wurde bei Disaccharid **37**, einem ungeladenen Gast beobachtet, so dass wahrscheinlich negative Ladungen der Gäste essentiell sind.

Calix[4]arentetraphosphonat **20** selbst kann ebenfalls verschiedene kationische Gäste wie Tetramethylammonium und *N*-Alkylpyridiniumsalze mit einer 1:1 Komplexstöchiometrie in Methanol mit hohen Bindungskonstanten ($K_a = 10^3$ - 10^4 M^{-1}) einschließen. Dabei wurden ionische Wechselwirkungen zwischen den Gästen und **20** nachgewiesen, denn in Wasser

sank die Bindungskonstante zwischen **48** und **20** um dem Faktor Hundert ($K_a = 350 \text{ M}^{-1}$ in D_2O). Auch Aminosäuren mit geladenen Seitenketten wie Arginin oder Lysin wurden durch **20** in Methanol erkannt. Rezeptor **20** hat eine besonders hohe Affinität für die geschützte Form der Aminosäure Arginin. Dies wurde im folgenden zur effizienten Proteinerkennung an Monoschichten ausgenutzt.

Wegen des amphiphilen Charakters von Calix[4]arentetraphosphonat **20**, konnte es in eine Stearinsäure - Monoschicht an der Luft/Wasser-Grenzfläche eingelagert werden. Obwohl nur weniger als 4% des Rezeptors in die Monoschicht hineingehen, kann man in dem gemessenen Druck (π)-Fläche (A)-Diagrammen einer Filmwaage ein reproduzierbaren Verschiebung ΔA_0 der Isothermen zu größeren Flächen sehr gut beobachten. Anschließend wurden in der Subphase einfachen kationische Gäste gelöst und man beobachtet ein mäßige, zusätzliche Aufweitung in den π - A -Diagrammen. Wenn aber Dikationen oder Trikationen als Subphase eingesetzt wurden, wuchsen die Shifts in den π - A -Diagrammen extrem an. Dies kann durch Multipunkt Wechselwirkungen zwischen **20** und Diarginin bzw. Triarginin erklärt werden.

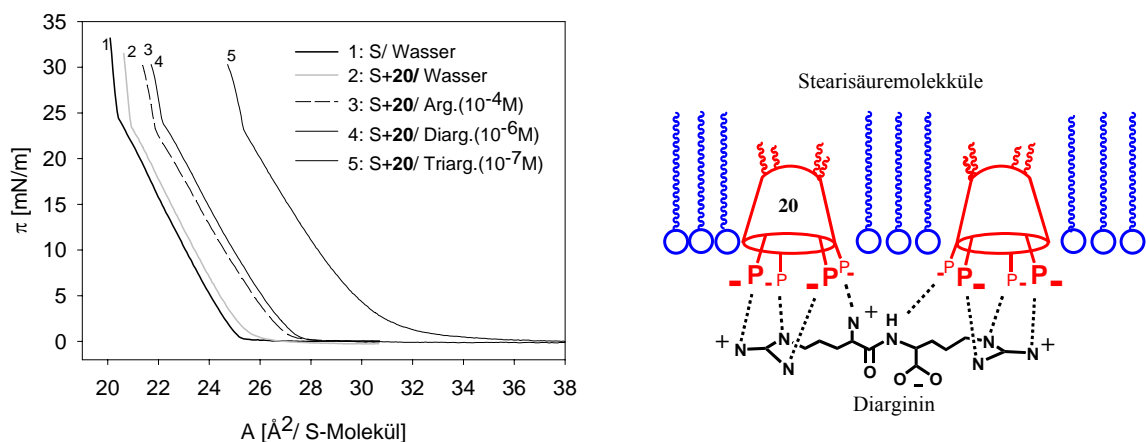


Abb. 107: Ausgewählte π - A -Diagramme verschiedener Gäste (links). und schematische Einlagerung des Rezeptors **20** in eine Stearinsäure-Monoschicht über Diarginin (rechts).

Schließend gingen wir auf basischen Proteine über die auf ihrer Oberfläche relativ viele positiv geladene Aminosäuren wie Arginin oder Lysin besitzen, und beobachteten erneut sehr große Shifts in den π - A -Diagrammen. Bei dieser Methode führten Proteine, wie Histon *H1*, Cytochrom *C* oder Chymotrypsin, die viele positiv geladene Aminosäuren auf die Oberfläche tragen, IEP 's (isoelektrische Punkte) von > 7.0 besitzen, zu einer sehr starken Aufweitung der Monoschicht.

Neutrale Proteine (IEP ~ 7) haben einen mäßigen Einfluss auf die π -A Diagramme. Am schwächsten sind saure Proteine mit IEP < 7 . Die Wechselwirkung der meisten Proteine mit der Stearinsäure-Schicht ist sehr gering.

Einige Versuche wurden in Puffer - Lösung (HEPES - Puffer, 0.5-50 mM) und auch in NaCl - Lösung (0.5-150 mM) durchgeführt. Dabei wurden die gleichen Verschiebung der π -A-Isotherme durch die Proteine beobachtet.

Insgesamt haben wir durch Einlagerung des Rezeptors **20** in der Stearinsäure - Monoschicht ein biomimetisches Membrane - Modell mit darin befindlichen mobilem Rezeptoren aufgebaut. Dadurch können Proteine je nach *IEP* in bis zu nanomolaren Konzentrationen in Wasser, Puffer - Lösung bzw. Salz - Lösung nachgewiesen werden.

Da Membranproteine aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaften besonders schwierig in geordnete dreidimensionale Kristallgitter einzubauen, sind, gibt es nun wenige strukturell charakterisierten Membranproteinen. Wir beabsichtigen, die Filmwaage-Technik in Zusammenarbeit mit dem AK *Essen* an der Universität Marburg für die Kristallisation von Membranproteinen auszubauen.

4 EXPERIMENTELLER TEIL

4.1 Verwendete Geräte

¹ H-NMR-Spektroskopie:	<i>Bruker Avance ARX-200, AMX-300, DRX-400 und DRX-500</i>
¹³ C-NMR-Spektroskopie:	<i>Bruker Avance AC-200, AMX-300, DRX-400 und DRX-500</i>
³¹ P-NMR-Spektroskopie:	<i>Bruker Avance ARX-200</i>
Massenspektrometrie:	<i>MAT 711 Finnigan (EI)</i> <i>MAT 95 S Finnigan (ESI)</i> <i>QSTAR PULSAR (für HRMS und MS/MS Experimente)</i>
Schmelzpunktbestimmung:	<i>KOFLER-Apparatur Thermophan von Reichert (nicht korrigiert)</i>
Elementaranalysen:	<i>Varian Elementar vario von Elementar Analysensysteme GmbH</i>
Filmwaage:	<i>NIMA 601BAM (700 x 100 mm²)</i>
Brewster-Angle-Mikroskop:	<i>MiniBAM von Nanofilm</i>
Wasserreinigung:	<i>ELGA Purelab UHQ</i>
Säulenchromatographie:	<i>Kieselgel 60 (230-400 Mesh ASTM) von Merck</i>
Dünnschichtchromatographie:	<i>Kieselgel60 F₂₅₄ auf Aluminiumfolie von Merck</i>

4.2 Allgemeine Methoden

Lösungsmittel und Reagenzien

Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert. Die folgenden absoluten Lösungsmittel wurden über den angegebenen Substanzen getrocknet und destilliert: Dimethylformamid (Calciumhydrid oder Magnesiumsulfat), Dichlormethan (Calciumhydrid), Chloroform (Phosphorpentoxid), Tetrahydrofuran (Natrium oder Lithiumaluminiumhydrid), Pyridin (Kaliumhydroxid), Tetrachlorkohlenstoff (Molekularsieb 4Å), Acetonitril (Calciumchlorid). Alle käuflichen Reagenzien wurden wie geliefert ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Kernresonanzspektroskopie

Die Kernresonanzspektren wurden an den oben genannten Geräten bei Raumtemperatur aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind als δ in ppm angegeben und beziehen sich in ^1H -NMR-Spektren auf den internen Standard Tetramethylsilan ($\delta = 0.00$ ppm). Multiplizitäten werden durch s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), m (Multipllett), br (breites Singulett) charakterisiert. ^{13}C -NMR-Spektren wurden breitbandenkoppelt aufgenommen und auf das jeweilige Lösungsmittelsignal kalibriert.

Filmwaagen-Experimente

Eine Filmwaage NIMA 601BAM mit WILHELMY-Plättchen wurde zur Messung des Oberflächendrucks π als Funktion der Fläche A verwendet. Die Messungen wurden über reinem Wasser (Ultrahochqualität, $R > 18 \text{ M}\Omega$) oder wässrigen Gastlösungen ($c = 1\text{-}100 \text{ }\mu\text{M}$ bei der kationischen Gäste und $c = 1\text{-}10 \text{ nM}$ bei der Proteinen) durchgeführt, wobei die Subphasen vor jeder Messung auf fehlende Oberflächenaktivität überprüft wurden. Lipidmonoschichten wurden durch Aufspreizen von $50 \text{ }\mu\text{L}$ einer 3.5 mM Stearinsäure-Lösung in Chloroform auf die jeweilige Subphase erhalten. Durch zeitabhängige Messungen der Druck-Fläche-Diagramme (Schrankengeschwindigkeit: $50 \text{ cm}^2/\text{min}$) wurde zunächst der Einfluß der gelösten Gäste auf die Fettsäuremonoschicht untersucht. Der Rezeptor wurde dann als Chloroform und Methanolische Lösungen (1:1) ($c = 4.6 \text{ mM}$) bei einem Oberflächendruck von 15 mN/m vorsichtig auf die Oberfläche getropft. Zeitabhängige π - A -Isothermenzyklen wurden aufgenommen bis keine Effekte mehr beobachtet werden konnten.

Molecular-Modelling-Untersuchungen

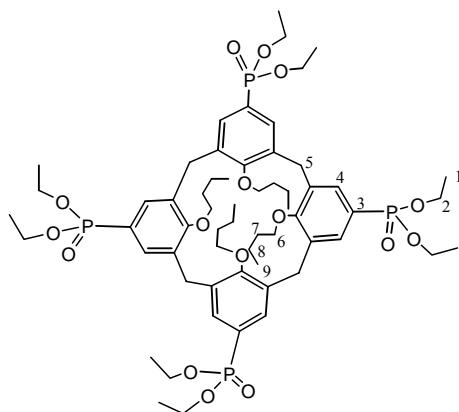
Kraftfeldrechnungen wurden mit dem Programm *MacroModel* V 7.2 der Firma *Schroedinger Inc.* durchgeführt. Verwendet wurden die Kraftfelder *OPLS-AA* oder *AMBER** und das *GB/SA*-Solvatationsmodell für Wasser.¹⁴⁶¹⁴⁷ *MonteCarlo*-Simulationen wurden mit 3000 Schritten gerechnet. Anschließende Moleküldynamik-Rechnungen wurden 10 ps bei 300 K durchgeführt und durch Überlagerung der jede Picosekunde gespeicherten Strukturen abgebildet. Dabei wurden alle nicht-acidischen Protonen aus Gründen der Übersichtlichkeit weggelassen.

4.3 Synthesen

4.3.1 5,11,17,23-Tetrakis(diethoxyphosphoryl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **19**

Zu einer Lösung von 5,11,17,23-Tetrabromo-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **17** (0.52 g, 0.50 mmol) und NiCl₂ (0.03 g, 0.25 mmol) in Benzonitril (3 mL) wurde unter Argon bei ca. 180°C tropfweise einer Lösung von P(OEt)₃ (0.70 g, 0.83 mmol) in Benzonitril (2 mL) gegeben, danach wurde für 1 h gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in Toluol gegossen (100 mL), 5 mal mit 5%-iger wässriger NH₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Bei 70-80°C und 0.01 mbar wurde der Überschuss von P(OEt)₃ und Benzonitril ganz entfernt; das zurückbleibende Öl wurde durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit Essigsäureethylester / Methanol = 1:1 (v/v) (R_f = 0.08) gereinigt.

Ausbeute: 380 mg (0.32 mmol; 62 %).

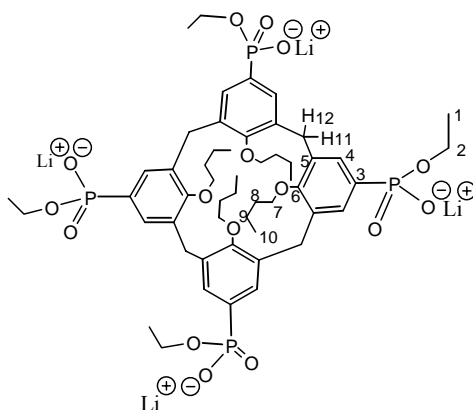


¹H-NMR (d₆-DMSO, 300 MHz): δ = 0.96 (t, 12 H, *J* = 7.3 Hz, H-9); 1.07 (t, 24 H, *J* = 7.0 Hz, H-1); 1.40 (m, 8 H, *J* = 7.6 Hz, H-8); 1.91 (m, 8 H, *J* = 7.6 Hz, H-7); 3.46 (d, 4 H, *J* = 12.9 Hz, H-5); 3.76 (dq, 16 H, *J* = 7.0 Hz, H-2); 3.91 (t, 8 H, *J* = 7.6 Hz, H-6); 4.34 (d, 4 H, *J* = 12.9 Hz, H-5); 7.17 (d, 8 H, *J*_{P-H} = 12.9 Hz, H-4). **¹³C-NMR (d₆-DMSO, 75 MHz):** δ = 14.2 (C-9), 16.3 (d, *J* = 5.6 Hz, C-1), 19.1 (C-8), 30.0 (C-7), 32.1 (C-6), 61.7 (d, *J* = 5.6 Hz; C-2), 73.6 (C-5), 120.9 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 132.1 (d, *J* = 10.7 Hz, C-Ar), 134.7 (d, *J* = 15.8 Hz, C-Ar), 159.6 (d, *J* = 3.9 Hz, C-Ar). **³¹P NMR (d₆-DMSO, 81 MHz)** δ = 23.8 (s). **Schmelzpunkt:** 154 - 156°C **MS (FD):** *m/z* = 1215 (M + Na⁺). **Elementaranalyse:** Berechnet für C₆₀H₉₄O₁₆P₄ + 4H₂O: C 56.95; H 7.97; Gefunden: C 57.17; H 8.36.

4.3.2 5,11,17,23-Tetrakis(hydroxyethylphosphoryl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren, tetra-lithiumsalz **20**.

5,11,17,23-Tetrakis(diethoxyphosphoryl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **19** (100 mg, 0.08 mmol) und LiBr (28.6 mg, 0.33 mmol) wurden in 2-Hexanon (10 mL) unter Argon bei 130°C gerührt. Nach 1.5 h fällt ein weißer Feststoff aus. Dieser wird abfiltriert, zehnmal mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 83 mg (0.075 mmol; 90 %).



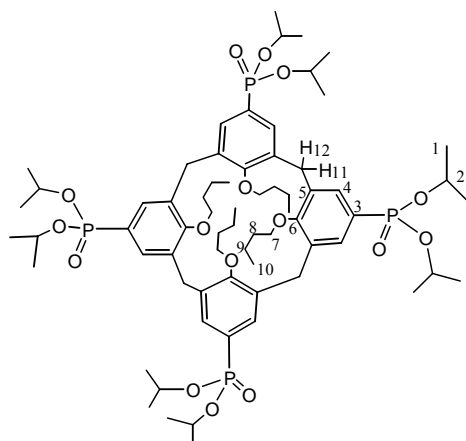
¹H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 0.52 (t, 12 H, J = 6.97 Hz, H-10), 0.79 (t, 12 H, J = 6.96 Hz, H-1), 1.25 (m, 8 H, J = 7.29 Hz, H-9), 1.80 (m, 8 H, J = 7.63 Hz, H-8), 3.14 (d, 4 H, J = 13.27 Hz, H-11), 3.18 (m, 8 H, J = 7.63 Hz, H-2), 3.78 (t, 8 H, J = 7.62 Hz, H-7), 4.27 (d, 4 H, J = 12.60 Hz, H-12), 7.03 (d, 8 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12.60 Hz, H-4). **¹³C-NMR (DMSO, 75 MHz):** δ = 14.3 (C-10), 16.0 (d, J = 5.65 Hz, C-1), 19.8 (C-9), 29.8 (C-8), 32.3 (C-7), 61.3 (d, J = 5.66 Hz, C-2), 75.5 (C-11), 121.1, 125.3, 132.2 (d, J = 10.74 Hz), 134.9 (d, J = 15.82 Hz) alle C-Ar. **³¹P NMR (*d*₆-DMSO, 81MHz):** δ = 18.2 (s). **Schmelzpunkt:** >255°C. **MS (ESI neg., MeOH):** m/z = 1097 [M - Li⁺]⁻, 545 [M-2Li⁺]²⁻. **HRMS (ESI-neg.):** berechnet für C₅₂H₁₈O₁₆P₄+3H⁺: m/z = 1079.4011, gefunden: m/z = 1079.3973.

4.3.3 5,11,17,23-Tetrakis(diisopropoxyphosphoryl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **19a**

Zu einer Lösung von 5,11,17,23-Tetrabrom-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **17** (0.52 g, 0.50 mmol) und NiCl₂ (0.03 g, 0.25 mmol) in Benzonitril (3 mL) wurde tropfenweise eine Lösung von P(O^{*i*}Pr)₃ (0.70 g, 0.83 mmol) in Benzonitril (2 mL) unter Argon bei 180°C

gegeben, und danach wurde für 1 h bei 180°C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in Toluol gegossen (100 mL), fünf mal mit 5%iger wässrige NH₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Bei 70-80°C und 0.01 mbar wurde der Überschuss von P(O^{*i*}Pr)₃ und Benzonitril ganz entfernt; das übrige Feststoff wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit Essigsäureethylester / Methanol = 3:1 (v/v) (R_f = 0.05) gereinigt.

Ausbeute: 457 mg (0.35 mmol; 65 %).



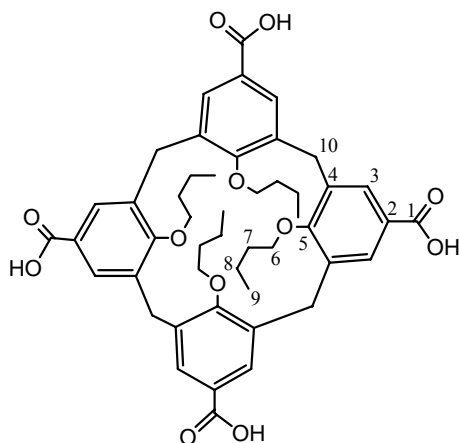
¹H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ = 0.97 (t, 12 H, J = 7.29 Hz, H-10), 1.14 (d, 24 H, J = 6.3 Hz, H-1), 1.28 (d, 24 H, J = 6.3 Hz, H-1), 1.36 (m, 8 H, J = 7.6 Hz, H-9), 1.91 (m, 8 H, J = 7.63 Hz, H-8), 3.46 (d, 4 H, J = 12.93 Hz, H-11), 3.76 (m, 8 H, J = 6.3 Hz, H-2), 3.92 (t, 8 H, J = 7.62 Hz, H-7), 4.40 (d, 4 H, J = 12 Hz, H-12), 7.16 (d, 8 H, $J_{\text{P-H}}$ = 13.26 Hz, H-4). **¹³C-NMR (DMSO, 75 MHz):** δ = 18.9 (C-10), 23.8 (d, J = 5.65 Hz, C-1), 28.7 (C-9), 28.7 (C-8), 35.1 (C-7), 72.0 (d, J = 5.66 Hz, C-2), 79.9 (C-11), 126.7, 130.5, 136.7 (d, J = 10.74 Hz), 137.0 (d, J = 15.82 Hz), 139.0 (d, J = 3.96 Hz) alle C-Ar. **³¹P NMR (d₆-DMSO, 81MHz):** δ = 21.8 (s). **Schmelzpunkt:** 154-156°C. **MS (FD):** m/z = 1326 (M + Na⁺). **Elementaranalyse:** Berechnet für C₆₈H₁₀₈O₁₆P₄: C 62.56; H 8.34; Gefunden: C 62.51; H 8.45.

4.3.4 5,11,17,23-Tetrakis(hydroxycarbonyl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **18**.

5,11,17,23-Tetrabrom-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **17** (2.0 g, 2.07 mmol) werden bei -78°C in abs. THF (50 mL) unter Argon gelöst. Innerhalb von 45 min wird eine 60%ige-Lösung *tert*-BuLi in Pentan (11 mL, 20 mmol) zugetropft. Die Lösung wird 90 min gerührt. Dann wird 3 h mit konz. H₂SO₄ getrocknetes CO₂- Gas eingeleitet, anschliessend

noch eine weitere Stunde unter Argon gerührt und dann auf RT erwärmt. Die Reaktionsmischung wird mit 6 M HCl-Lösung (20 mL) versetzt. Die Lösung wird anschliessend bis zur Trockene eingedunstet und der Feststoff in heissem Ethanol gelöst. Der nach dem Abkühlen auf RT ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und verworfen. Die Lösung wird auf die Hälfte des Volumens eingedunstet und mit 200 mL H₂O versetzt. Dabei fällt bei der Kühlung ein weisser Feststoff aus. Dieser wird im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.19 g (1.44 mmol; 70 %).

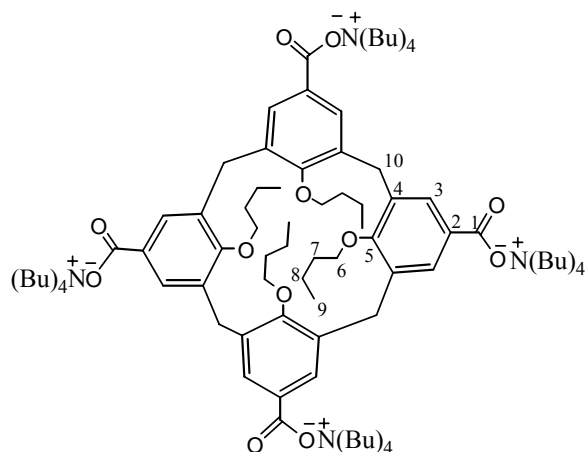


¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ = 0.97 (t, 12 H, J = 7.29 Hz, H-9), 1.42 (m, 8 H, H-8), 1.87 (m, 8 H, H-7), 3.37 (d, 4 H, J = 13 Hz, H-10), 3.91 (t, 8 H, J = 7.3 Hz, H-6), 4.32 (d, 4 H, J = 13 Hz, H-10), 7.32 (s, 8 H, H-3), 12.34 (s, 4H, OH); **¹³C NMR (75 MHz, DMSO):** δ = 14.2 (C-9), 19.1 (C-8), 30.4 (C-7), 32.1 (C-6), 75.1 (C-10), 124.9, 130.0, 134.9, 160.2 alle C-Ar, 167.13 (C-1). **Schmelzpunkt:** >255°C. **MS (FD):** m/z = 824 (M ; 100%). **Elementaranalyse:** Berechnet für C₄₈H₅₆O₁₂: C 69.88, H 6.84; Gefunden: C 70.13, H 6.83.

4.3.5 5,11,17,23-Tetrakis(hydroxycarbonyl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren, tetrabutylammoniumsalz **13**.

5,11,17,23-tetrakis(hydroxycarbonyl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **18** (82.5 mg, 0.1 mmol) wird in Methanol (10 mL) gelöst. Zu dieser Lösung werden genau 4 Äq. Tetrabutylammoniumhydroxid (1 M in H₂O) hinzugefügt. Anschliessend wird 1 h gerührt und danach Methanol unter verminderten Druck entfernt. Der Feststoff wird im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 161 mg (90 mmol; 90%)

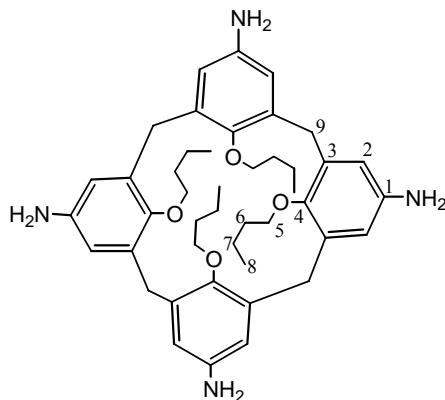


^1H NMR (300 MHz, MeOD): δ = 0.96 - 1.03 (m, 60 H, C-9 und CH_3 (Bu)); 1.33 - 1.41 (m, 40 H, C-8 und CH_2 (Bu)); 1.62 - 1.73 (m, 40 H, C-7 und CH_2 (Bu)); 1.85 - 2.01 (m, 40 H, CH_2 (Bu)); 3.38 (d, 4 H, J = 12.6 Hz, H-10); 4.01 (t, 8 H, J = 8.6 Hz, H-6); 4.51 (d, 4 H, J = 12.6 Hz, H-10); 7.61 (s, 8 H, H-3); **^{13}C NMR (75 MHz, MeOD):** δ = 14.2, 14.9, 19.1, 21.0, 21.1, 26.1, 30.4, 32.7, 76.2, 124.6, 130.7, 135.0, 160.2, 168.1; **Schmelzpunkt** : $>255^\circ\text{C}$; **MS (FD):** m/z = 1790 (M^+).

4.3.6 5,11,17,23-Tetraamino-25,26,27,28-tetrabutylcalix[4]aren 10b

5,11,17,23-Tetranitro-25,26,27,28-tetrabutylcalix[4]aren **10a** (4.48 g, 5.41 mmol) und 0.504 g (10 Gewichts-%) Pd/C werden in 150 ml Methanol gelöst und bei RT unter Wasserstoff atmosphäre hydriert. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme wird die Lösung über Celite filtriert und unter vermindertem Druck bis zum Feststoff eingengt.

Ausbeute: 3.82 g (5,40 mmol; 100 %)

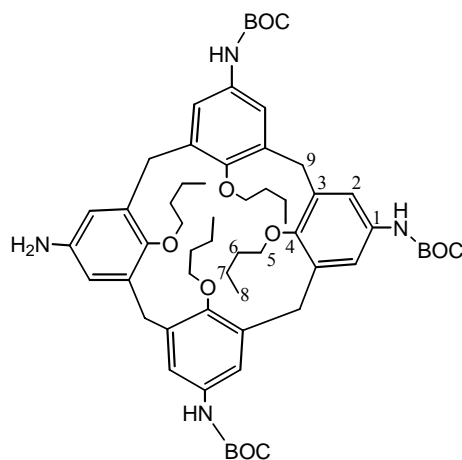


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.96 (t, 12 H, J = 7 Hz, H-8), 1.42 (m, 8 H, J = 7 Hz, H-7), 1.84 (m, 8 H, J = 7 Hz, H-6), 2.88 (d, 4 H, J = 13 Hz, H-9), 3.22 (s, 8 H, NH₂); 3.76 (t, 8 H, J = 7 Hz, H-5), 4.27 (d, 4 H, J = 13 Hz, H-9), 6.06 (s, 8 H, H-2). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃):** δ 14.8(C-8), 20.8 (C-7), 31.9 (C-6), 33.8 (C-5), 77.1 (C-9), 124.8, 126.3, 138.1, 158.4 alle C-Ar. **MS (FD):** m/z = 708 (M⁺), 731 (M+Na)⁺.

4.3.7 5,11,17-Tris[(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]-23-amino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren 27

5,11,17,23-Tetraamino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **10b** (2.0 g, 2.6 mmol) werden in abs. Methylenchlorid (150 mL) gelöst. Innerhalb von 30 min werden Di-*tert*-butylcarbonat (1.73 g, 7.84 mmol) in 20 mL abs. Methylenchlorid hinzugegeben. Die Lösung wird 16h bei RT gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das zurückbleibende Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Essigester/*n*-Hexan 1:3 (v/v) gereinigt (R_f = 0.10).

Ausbeute: 1.35 g (4.81 mmol; 50 %)

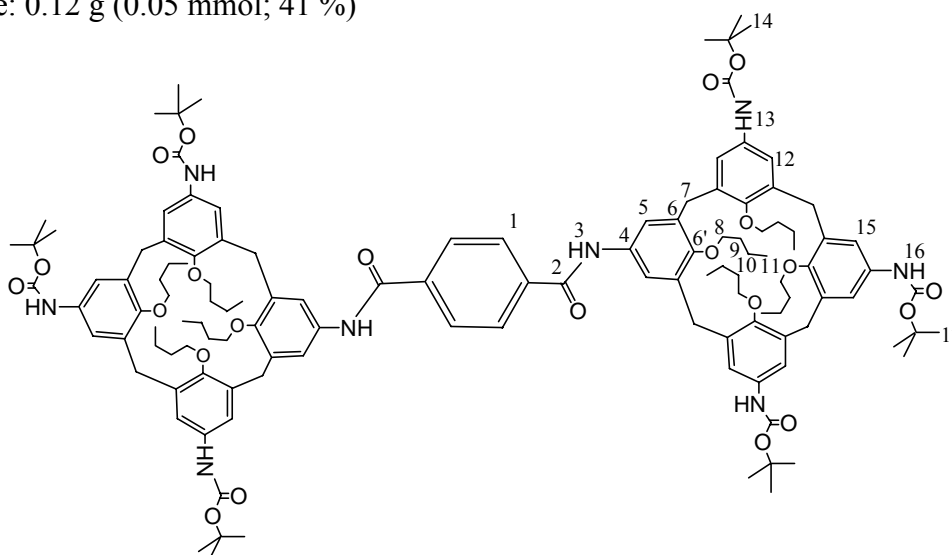


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.94 (m, 12 H, H-8), 1.25 (m, 4 H, J = 7 Hz, H-7), 1.42 (s, 9 H, BOC-Gruppe), 1.53 (s, 8 H, BOC-Gruppe), 1.53 (m, 4 H, H-7), 1.78 (m, 8 H, J = 7 Hz, H-6), 3.04 (zwei d, 4 H, J = 13 Hz, H-9), 3.63 (m, 4H, H-5); 3.89 (m, 4 H, H-5), 4.27 (d, 4 H, J = 13 Hz, H-9), 4.35 (d, 4 H, J = 13 Hz, H-9), 5.68, 6.04, 6.34, 6.81, 7.11, 7.51 (fünf s, je 2 H) alle H-Ar und NH-protonen. **Schmelzpunkt** : 128°C (Lit.: 130-131°C); **MS (FD):** m/z (%) = 1008 (M ; 100%).

4.3.8 Terephthalsäure-bis-(5,11,17-tris[(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren-23-amid) 30

5,11,17-tris[(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]-23-amino-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren **27** (0.13g, 0.13 mmol) wird in einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Kolben in 40 mL abs. Methylenchlorid gelöst und dann im mit 35 μ L *N*-Ethyl-diisopropylamin und einer kat. Menge 4-(Dimethylamino)pyridin versetzt. Zu der dunkelroten Suspension wird dann langsam eine Lösung von Terephthaloylchlorid (13.7 mg, 0.07 mmol) in 2 mL abs. Methylenchlorid zugegeben. Die Lösung wird 24 h bei RT gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das zurückbleibende Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Essigester/*n*-Hexan 1:3 (v/v) gereinigt ($R_f = 0.24$).

Ausbeute: 0.12 g (0.05 mmol; 41 %)

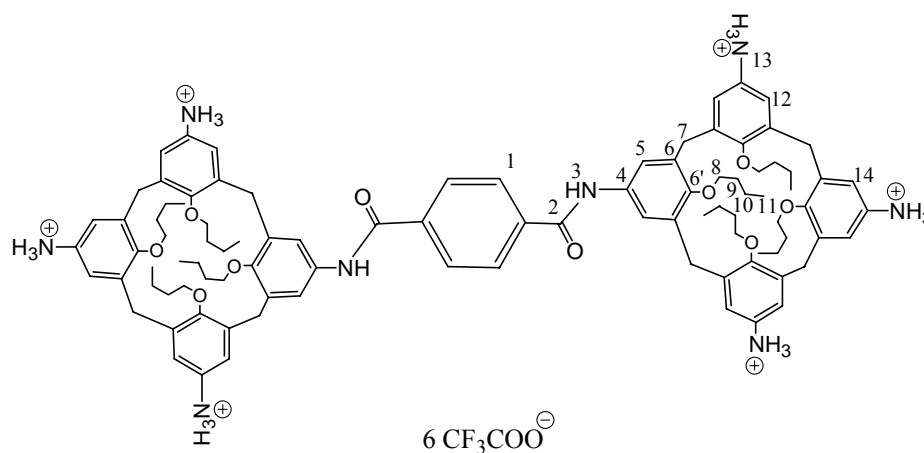


^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.97$ (m, 24 H, H-11), 1.25 (m, 16 H, H-10); 1.38 (s, 18 H, H-17), 1.48 (s, 36 H, H-14), 1.86 (m, 16 H, H-9), 3.06, 3.13 (zwei d, je 4 H, $J = 13.5\text{Hz}$, H-7); 3.77 (m, 8 H, H-8), 3.88 (t, 8 H, $J = 7.5\text{Hz}$, H-8), 4.36 (d, 4 H, $J = 13.5\text{Hz}$, H-7), 4.40 (d, 4 H, $J = 13.5\text{Hz}$, H-7), 6.19 (s, 4 H, H-5), 6.47 (s, 4 H, H-15), 6.72 (sb, 8 H, H-13, H-16), 6.78 (s, 8 H, H-12), 7.60 (b, 2 H, H-3), 7.90 (s, 4 H, H-1). **^{13}C NMR (126 MHz, MeOD):** $\delta = 14.2, 14.2, 19.4, 19.5, 28.5, 28.6, 31.3, 32.2, 32.4, 75.0, 80.2, 119.8, 120.0, 120.2, 121.3, 127.6, 132.2, 155.2, 153.4$. **Schmelzpunkt:** $>350^\circ\text{C}$; **MS (ESI-pos., MeOH):** $m/z = 2170$ $[\text{M}+\text{Na}^+]^+$. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für $\text{C}_{128}\text{H}_{170}\text{N}_8\text{O}_{22}+\text{Na}^+$: $m/z = 2170.2430$, gefunden: $m/z = 2170.2378$.

4.3.9 Terephthalsäure-bis-{5,11,17-tri-amino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren-23-amid}-hexa-(trifluoracetat) 32

Eine Suspension von 0.12 g **30** (56 μmol) in 10 mL trockenem Methylenchlorid wird unter Feuchtigkeitsausschluss mit 10 mL Trifluoressigsäure versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden die flüchtigen Komponenten unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende Feststoff wird ohne weitere Aufarbeitung verwendet.

Ausbeute: 0.12 g (mmol, 99%).

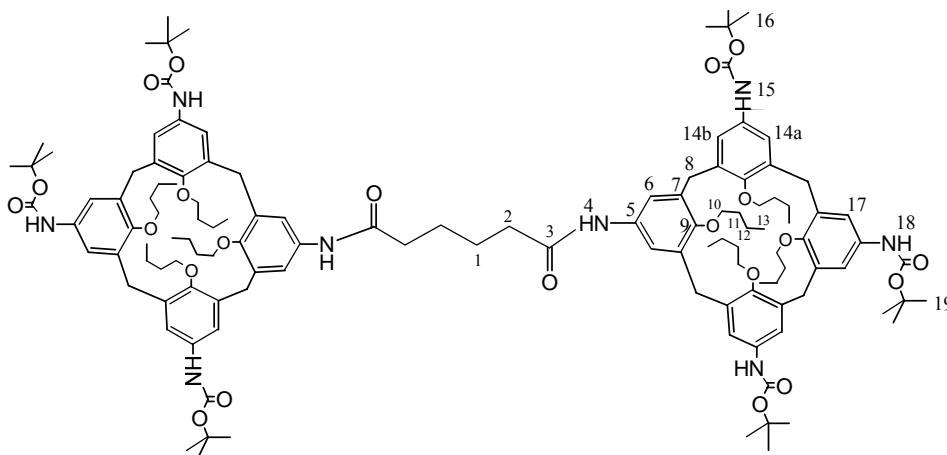


¹H NMR (500 MHz, *d*₄-MeOH): δ = 1.05 (m, 24 H, H-11); 1.35 (m, 8 H, H-10); 1.66 (m, 8H, H-10); 1.88 (m, 16 H, H-9); 3.10 (d, 4 H, *J* = 13.5 Hz, H-7); 3.22 (d, 4 H, *J* = 13.5 Hz, H-7); 3.74 (t, 8 H, *J* = 7.5 Hz, H-8); 4.02 (t, 8 H, *J* = 7.5 Hz, H-8); 4.41 (d, 4 H, *J* = 13.5 Hz, H-7); 4.48 (d, 4 H, *J* = 13.5 Hz, H-7); 5.95 (s, 4 H, H-14); 6.02 (s, 4 H, H-12); 6.85 (s, 4H, H-12); 7.51 (s, 4H, H-5); 8.12 (s, 4 H, H-1). **¹³C NMR (100 MHz, MeOD):** δ = 14.3, 14.5, 20.2, 20.3, 20.7, 31.8, 32.0, 33.3, 33.4, 33.6, 76.5, 80.2, 121.3, 121.7, 123.5, 123.7, 128.1, 128.8, 130.6, 133.8, 136.4, 137.1, 137.5, 139.2, 155.4, 155.9, 158.1, 162.8, 163.2, 167.8. **¹⁹F NMR (188 MHz, MeOD):** δ -73.44 (s). **Schmelzpunkt:** Zers. 280°C; **MS (ESI-pos., MeOH):** *m/z* = 1548 [M-5H⁺-6CF₃COO⁻]⁺. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für [C₉₆H₁₂₈N₈O₁₀-5H⁺]⁺: *m/z* = 1547.9353, gefunden: *m/z* = 1547.9469.

4.3.10 Hexandicarbonsäure-bis-[5,11,17-tris(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren-23 amid] 31

5,11,17-tris{(*tert*-butoxycarbonyl)-amino}-23-amino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **27** (0.10 g, 0.099 mmol) wird in einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Kolben in 25 mL abs. Methylenchlorid gelöst und dann mit 25 μ L *N*-Ethyl-diisopropylamin und einer kat. Menge 4-(Dimethylamino)-pyridin versetzt. Zu der dunkelroten Suspension wird dann langsam eine Lösung von Adipinsäuredichlorid (9.04 mg, 0.049 mmol) in 2 mL abs. Methylenchlorid zugetropft. Die Lösung wird 24 h bei RT gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das zurückbleibende Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Essigester/*n*-Hexan 2:1 (v/v) gereinigt ($R_f = 0.06$).

Ausbeute: 0.08 g (0.04 mmol; 40 %)

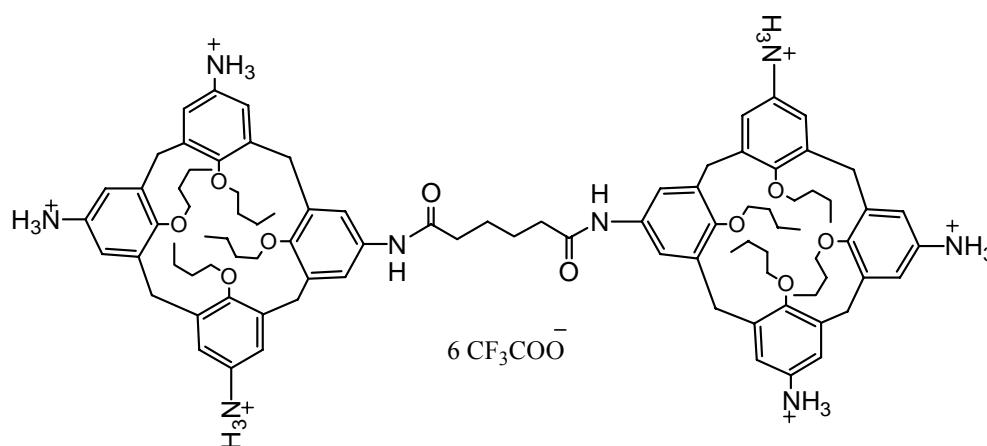


$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.96$ (m, 24 H, H-13); 1.29 (m, 16 H, H-12); 1.44 (s, 18 H, H-19); 1.50 (s, 36 H, H-16); 1.80 (m, 20 H, H-11 und H-1); 2.28 (t, 4H, $J = 7$ Hz, H-2); 3.01 (d, 4 H, $J = 13.5$ Hz, H-8); 3.07 (d, 4 H, $J = 13.5$ Hz, H-8); 3.71 (t, 8 H, $J = 7.5$ Hz, H-10); 3.86 (t, 8 H, $J = 7.5$ Hz, H-10); 4.30 (d, 8 H, $J = 13.5$ Hz, H-8); 6.31 (s, 4 H, H-17); 6.41 (b, 6 H, H-6 und 18); 6.47 (sb, 4 H, H-15); 6.76 (s, 4 H, H-14a); 6.80 (s, 4 H, H-14b); 7.33 (sb, 2 H, H-4). **$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3):** $\delta = 14.1, 14.2, 19.3, 19.6, 25.1, 28.2, 28.3, 28.5, 28.6, 31.2, 32.1, 32.4, 36.9, 74.9, 80.1, 119.9, 120.9, 131.7, 132.0, 132.1, 134.6, 136.2, 152.6, 153.2, 153.4, 153.5, 153.8, 171.3$. **Schmelzpunkt:** 192-194°C; **MS (ESI pos., MeOH):** m/z 2151 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für $\text{C}_{124}\text{H}_{174}\text{N}_8\text{O}_{22}+\text{Na}^+$: $m/z = 2150.2743$, gefunden: $m/z = 2150.3278$.

4.3.11 Hexandicarbonsäure-bis-{5,11,17-tri-amino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren-23-amid }-hexa (trifluoracetat) **33**

Eine Suspension von **31** (58 mg, 28 μmol) in 5 mL trockenem Methylenchlorid wird unter Feuchtigkeitsausschluss mit 5 mL Trifluoressigsäure versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden die flüchtigen Komponenten unter verminderten Druck entfernt und der zurückbleibende Feststoff wird ohne weitere Aufarbeitung verwendet.

Ausbeute: 60 mg (27 μmol ; 98 %)



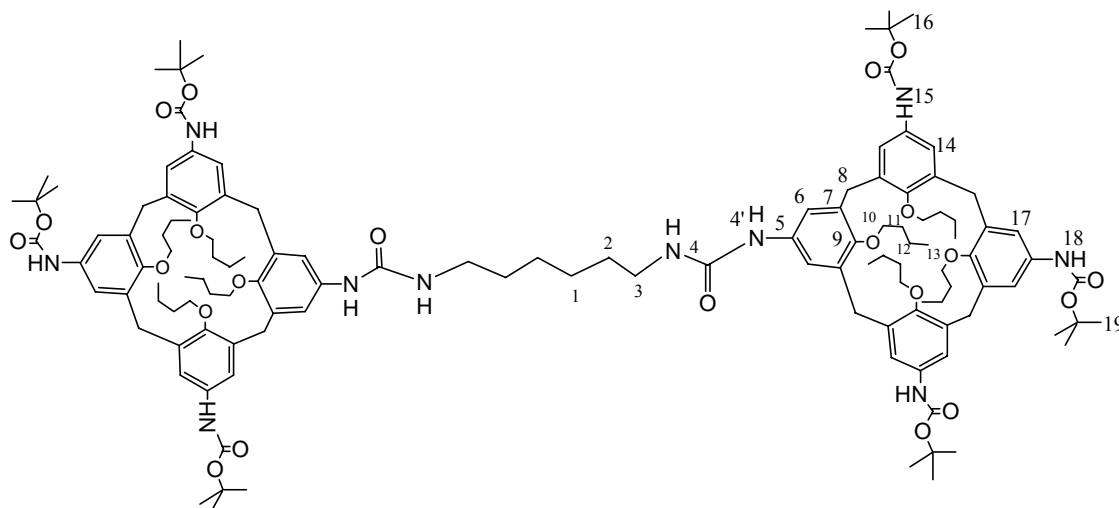
^1H NMR (500 MHz, d_4 -MeOH): δ = 0.85 (m, 24 H); 1.18 (m, 8 H); 1.39 (m, 8 H); 1.69 (m, 20 H); 2.2 (t, 4H, J = 6.5 Hz); 2.96, 3.05 (zwei d, je 4 H, J = 13.5 Hz); 3.63 (t, 8 H, J = 7.5 Hz); 3.82 (m, 8 H, J = 7.5 Hz); 4.23, 4.30 (zwei d, je 4 H, J = 13.5 Hz); 6.23, 6.30 (zwei d, je 4 H, J = 3.5 Hz); 6.78 (s, 4 H); 6.94 (s, 4 H). **^{13}C NMR (100 MHz, MeOD):** δ = 14.17, 14.23, 19.42, 19.55, 28.53, 28.60, 31.33, 32.19, 32.41, 75.03, 80.19, 119.82, 120.03, 120.18, 121.35, 127.65, 132.18, 155.24, 153.44. **^{19}F NMR (188 MHz, MeOD):** δ -73.19 (s). **Schmelzpunkt:** $>350^\circ\text{C}$. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für $[\text{C}_{94}\text{H}_{132}\text{N}_8\text{O}_{10}-5\text{H}^+]^+$: m/z = 1527.966, gefunden: m/z = 1527.9194.

4.3.12 1,6-bis-[5,11,17-tris(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]-23-carboxylamino]-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4] hexamethyldiamid **29**

5,11,17-tris{(*tert*-butoxycarbonyl)-amino}-23-amino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **27** (0.20 g, 0.19 mmol) wird in abs. Methylenchlorid (50 mL) gelöst. Innerhalb von 30 min wird 1,6-Diisocyanatohexan (16.8 mg, 0.099 mmol) in 2 mL abs. Methylenchlorid hinzuge tropft. Die Lösung wird 16 h bei RT gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das

zurückbleibende Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Essigester/*n*-Hexan 1:3 (v/v) gereinigt ($R_f = 0.1$).

Ausbeute: 0.17 g (4,81 mmol; 40 %)



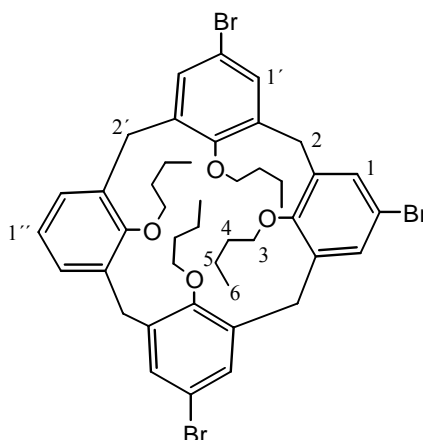
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.94$ (m, 24 H, H-13); 1.32 (m, 16 H, H-12); 1.44 (s, 18 H, H-19); 1.51 (s, 36 H, H-16); 1.67(m, 8 H, H-1 und 2); 1.80 (m, 16 H, H-11); 2.96 (d, 4 H, $J = 13.5\text{Hz}$, H-8); 3.02 (d, 4 H, $J = 13.5\text{ Hz}$, H-8); 3.17 (t, 4 H, $J = 7\text{Hz}$, H-3); 3.69 (t, 8 H, $J = 7.5\text{ Hz}$, H-10); 3.87 (t, 8 H, $J = 7.5\text{ Hz}$, H-10); 4.29 (d, 4 H, $J = 13.5\text{ Hz}$, H-8); 4.35 (d, 4 H, $J = 13.5\text{ Hz}$, H-8); 4.91 (sbr, 2H, H-4); 6.23 (s, 4 H, H-17); 6.59 (sbr, 6 H, H-6 und H-18); 6.82 (sbr, 4 H, H-15); 6.88 (s, 4 H, H-14); 6.90 (s, 4 H, H-14). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 13.8, 13.9, 19.0, 19.3, 19.4, 28.3, 28.4, 28.8, 31.1, 31.8, 32.3, 36.9, 74.6, 79.9, 119.6, 120.9, 131.8, 132.1, 134.5, 134.6, 135.9, 152.6, 153.0, 153.3, 153.5, 153.83, 171.3$. **Schmelzpunkt:** $>350^\circ\text{C}$; **MS (ESI-pos., MeOH):** m/z 2208 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für $\text{C}_{126}\text{H}_{180}\text{N}_{10}\text{O}_{22}+\text{Na}^+$: $m/z = 2208.3274$, gefunden: $m/z = 2208.1585$.

4.3.13 5,11,17-Tribrom-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren 38

25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren **16** (2.50 g, 3.85 mmol) werden in 60 mL 2-Butanon gelöst, dann wird *N*-Bromsuccinimid (2.06 g, 11.56 mmol) dazugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden 20 mL 10 %-iger Natriumhydrogensulfidlösung zugeben, das Gemisch wird kräftig gemischt und dann 45 min stehen gelassen. Die Lösung zweimal mit je 50 mL Methylenchlorid extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit 30 mL Wasser gewaschen, über

Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt. Der gelbe Feststoff wird aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester 20 : 1(v/v) umkristallisiert.

Ausbeute: 1.46 g (1.65 mmol; 43 %)

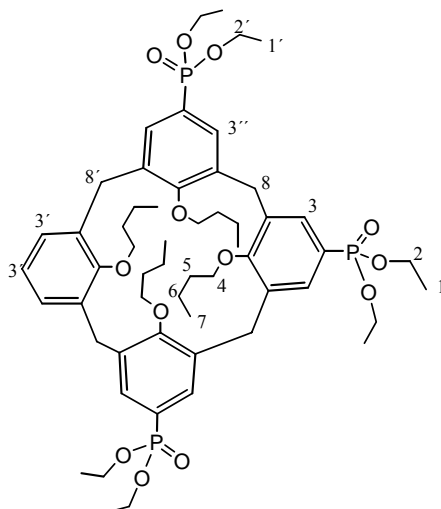


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.95-1.01 (m, 12 H, H-3); 1.33-1.48 (m, 8 H; H-4); 1.79-1.89 (m, 8 H; H-5); 3.03 (d, 2 H, J = 13.5 Hz, H-2); 3.15 (d, 2 H, J = 13.5 Hz; H-2'); 3.76-3.93 (m, 8 H; H-3); 4.23 (d, 2 H, J = 13.5 Hz; H-2); 4.30 (d, 2 H, J = 13.5 Hz; H-2); 6.95-6.81 (m, 9H, H-1, H-1' und H-1''). **^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3):** δ = 14.4, 19.6, 31.1, 32.5, 75.45, 115.1, 123.1, 128.5, 131.2, 134.1, 136.5, 137.4, 138.5, 155.6, 156.6, **Schmelzpunkt:** 158°C; **MS (EI-pos.):** m/z 886 $[\text{M}]^+$.

4.3.14 5,11,17- Tris(diethoxyphosphoryl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren 39

Zu einer Lösung von 5,11,17-Tribrom-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren **38** (2.26 g, 2.56 mmol) und NiCl_2 (0.16 g, 1.28 mmol) in Benzonitril (3 mL) wird unter Argon bei 180°C tropfweise einer Lösung von $\text{P}(\text{O}^i\text{Pr})_3$ (2.65g, 16 mmol) in Benzonitril (2 mL) gegeben und danach 1 h gerührt. Die Reaktionsmischung wird in Toluol gegossen (100 mL), fünf mal mit 5%-iger wässrige NH_3 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingengt. Bei 70-80°C und 0.01 mbar wird der Überschuss von $\text{P}(\text{O}^i\text{Pr})_3$ und Benzonitril ganz entfernt; der übrige Feststoff wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit Essigsäureethylester / Methanol = 10:1(v/v) (R_f = 0.14) gereinigt.

Ausbeute: 1.48 g (1.4 mmol, 55 %)

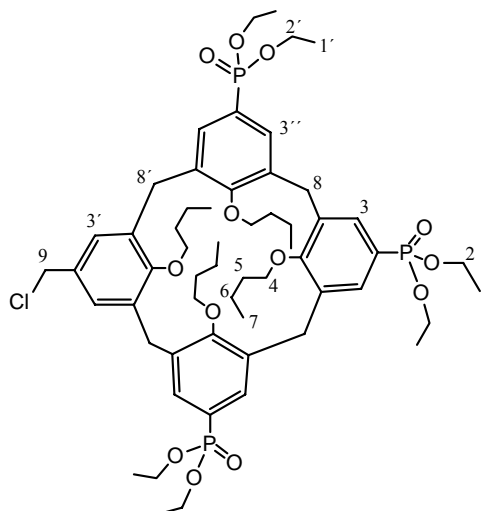


$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO, 300 MHz): δ = 0.99 (m, 18 H, H-1 und H-1'); 1.23 (m, 12 H, H-7); 1.34 (m, 4 H, H-6); 1.56 (m, 4 H, H-6); 1.85 (m, 8 H, H-5); 3.41 (d, 4 H, J = 12.9 Hz, H-8); 3.68 (m, 8 H, J = 6.3 Hz, H-4); 3.97 (m, 12 H, H-2); 4.32 (d, 4 H, J = 12 Hz, H-8); 6.19 (m, 3H; H-3'); 6.62 (d, 2H, $J_{\text{P-H}}$ = 15 Hz, H-3); 7.49 (dd, 4 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3'). **$^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 -DMSO, 75 MHz):** δ = 14.1, 14.2 (d, J = 5.6 Hz); 16.5, 16.6, 18.8, 31.9, 61.3, 61.7, 61.8 (d, J = 5.6 Hz); 74.9, 115.1, 118.0, 118.9, 123.2, 126.9, 127.2, 128.74, 129.0, 131.9, 132.2, 132.7, 133.0, 150.8, 154.3, 156.8, 156.8. **$^{31}\text{P NMR}$ (d_6 -DMSO, 81MHz) :** δ = 23.82 (s); 24.23 (s). **Schmelzpunkt:** 154-156°C. **MS (FD):** m/z = 1057 (M)⁺.

4.3.15 5,11,17-Tris(diethoxyphosphoryl)-23-chloromethyl-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren 42

5,11,17-Tris(diethoxyphosphoryl)-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren **39** (1.0 g, 0.94 mmol) werden in abs. CHCl_3 (20 mL) unter Argon gelöst. Dann wird Chlormethylethylether (0.88 g, 9.4 mmol) dazugegeben. Die Reaktionsmischung wird auf -10°C gekühlt; dann werden Zinntetrachlorid (1.22 g, 4.7 mmol) dazugegeben. Die Lösung wird 1 h bei RT gerührt. Danach wird zweimal je mit 50 mL Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet, das zurückbleibende Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Essigester / MeOH 10:1 (v/v) gereinigt (R_f = 0.31).

Ausbeute: 0.62 g (0.56 mmol; 60 %)

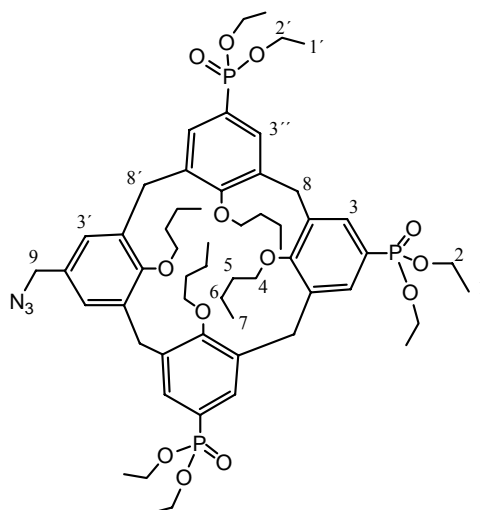


$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 0.94 (m, 12 H, H-7); 1.12 (t, 6 H, J = 12 Hz, H-1); 1.28 (t, 12H, J = 9 Hz; H-1'); 1.50 (m, 4 H, H-6); 1.53 (m, 4 H, H-6); 1.80 (m, 8 H, H-5); 3.16 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-8); 3.20 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-8'); 3.68 (t, 4 H, J = 6.3 Hz, H-4); 3.80 (m, 4 H; H-4); 3.92 (s, 2 H, H-9); 4.09 (m, 12 H, H-2 und 2'); 4.35 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-8); 4.39 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-8); 6.61 (s, 2 H, H-3'); 6.64 (d, 2 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3); 7.46 (d, 4 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3''); 7.50 (d, 4 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3'). **$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz):** δ = 14.3, 14.5 (d, J = 5.6 Hz); 16.6, 16.7, 16.8, 19.3, 19.9 (d, J = 5.6 Hz); 31.1 (d, J = 36 Hz); 31.2, 32.4, 46.6, 62.2, 62.3 (d, J = 7.6 Hz); 62.5, 75.5 (d, J = 5.6 Hz); 120.5, 123.1, 128.4, 131.5 (d, J = 42 Hz); 132.0, 132.9 (d, J = 39 Hz); 133.5, 133.7 (d, J = 66 Hz); 136.5 (d, J = 66 Hz); 137.0 (d, J = 66 Hz); 132.7, 133.0, 150.8, 154.3, 156.8, 156.8. **$^{31}\text{P NMR}$ (CDCl_3 , 81MHz):** δ = 19.5 (s), 20.2 (s). **Schmelzpunkt:** 151-153°C. **MS (FD):** m/z = 1127 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für $\text{C}_{57}\text{H}_{84}\text{ClO}_{13}\text{P}_3 + \text{H}$: m/z = 1105.4813, gefunden: m/z = 1105.4655.

4.3.16 5,11,17-Tris(diethoxyphosphoryl)-23-azidomethyl-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren 43

5,11,17-Tris(diethoxyphosphoryl)-23-chlormethyl-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren **42** (0.10g , 0.09 mmol) werden zusammen mit Natriumazid (6 mg, 0.09 mmol) 48 h bei 80°C in 20 mL DMF gerührt. Anschließend wird das DMF im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Essigester/Methanol 10:1 gereinigt (R_f = 0.33).

Ausbeute: 0.75 mg (0.07 mmol; 76 %)

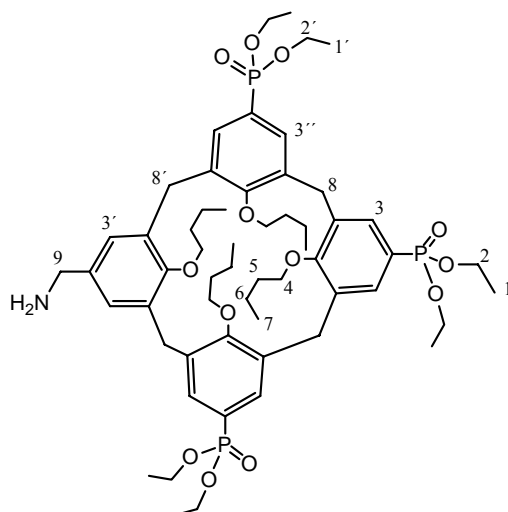


¹H-NMR (*d*₆-DMSO, 300 MHz): δ = 0.95 (m, 12 H; H-7); 1.12 (t, 6 H, J = 12 Hz, H-1); 1.28 (t, 12H, J = 9 Hz, H-1'); 1.51 (m, 4 H, H-6); 1.54 (m, 4 H, H-6); 1.92 (m, 8 H, H-5); 3.40 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-8); 3.49 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-8); 3.65 - 4.05 (m, 22 H, H-2, H-4, H-9); 4.32 (d, 4 H, J = 12 Hz, H-8) 6.38 (s, 2 H, H-3'); 6.81 (d, 2 H, J_{P-H} = 12 Hz, H-3); 7.40 (dd, 4 H, J_{P-H} = 12 Hz, H-3''). **¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz):** δ = 13.7, 13.8, 16.0, 18.6, 18.9 (d, J = 20-Hz); 29.6 (d, J = 10 Hz); 31.2, 53.4, 61.0 (d, J = 24 Hz), 61.3 (d, J = 16 Hz), 74.7, 122.4, 127.4, 129.2, 130.9, 131.0, 133.3 (d, J = 11 Hz), 133.8, 135.3 135.7 (d, J = 6 Hz), 155.0, 158.7, 159.9. **³¹P NMR (CDCl₃, 81MHz):** δ = 23.7 (s), 24.0 (s) . **Schmelzpunkt:** 154-156°C. **MS (FD):** m/z = 1134 [M+Na⁺]⁺. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für C₅₇H₈₄ClO₁₃P₃+Na: m/z = 1134.5217, gefunden: m/z = 1134.4279.

4.3.17 5,11,17-Tris(diethoxyphosphoryl)-23-aminomethyl-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren 44

5,11,17-Tris(diethoxyphosphoryl)-23-azidomethyl-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren **43** (0.30 g, 0.27 mmol) und 0.03 g (10 Gewichts-%) Pd/C werden in 25 ml Methanol gelöst, und in RT unter Wasserstoff atmosphäre hydriert. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme wird die Lösung über Celite filtriert und die Lösung bis zur Trockene eingengt.

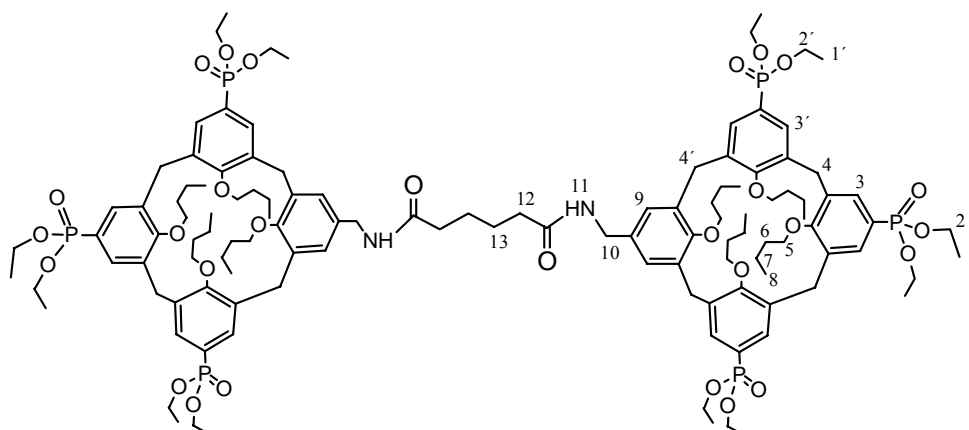
Ausbeute: 0.25 g (0.23 mmol; 85 %)



$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO, 300 MHz): δ = 0.98 (m, 12 H, H-7); 1.15 (t, 6 H, J = 12 Hz, H-1); 1.30 (t, 12H, J = 9Hz, H-1'); 1.43 (m, 4 H, H-6); 1.52 (m, 4 H, H-6); 1.92 (m, 8 H; H-5); 3.40(d, 2 H, J = 12 Hz, H-8); 3.49 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-8); 3.65 - 4.05 (m, 22 H, H-4, H-2, H-9); 4.32 (d, 4 H, J = 12 Hz, H-8); 6.45 (s, 2 H, H-3'); 6.85 (d, H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3); 7.29 (d, 4 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3''). **$^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 -DMSO, 75 MHz):** δ = 13.7, 14.2, 16.7, 16.8, 20.2, 20.6 (d, J = 35 Hz); 31.6 (d, J = 80 Hz); 33.4, 33.6 (d, J = 30 Hz); 63.4 (d, J = 20 Hz); 63.6, 76.4, 76.8, 121.3, 122.9, 128.5, 132.6 (d, J = 40 Hz); 133.5, 133.7 (d, J = 35 Hz); 134.6, 137.5, 138.2 (d, J = 50 Hz); 154.7, 156.4, 160.8, 162.35 (d, J = 15 Hz). **$^{31}\text{P NMR}$ (d_6 -DMSO, 81MHz):** δ = 23.9 (s); 24.1 (s). **MS (EI):** m/z = 1086 $[\text{M}+\text{H}]^+$. **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für $\text{C}_{57}\text{H}_{84}\text{ClO}_{13}\text{P}_3 + \text{H}$: m/z = 1086.5312, gefunden: m/z = 1086.5192.

4.3.18 Hexandicaronsäure-bis-[5,11,17-Tris(diethoxyphosphoryl)-23-aminomethyl-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren] 46

5,11,17 - Tris(diethoxyphosphoryl)-23-aminomethyl-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren **44** (0.10 g, 0.09 mmol) werden in einem ausgeheizten Kolben in 25 mL abs. Methylenchlorid gelöst und dann mit (0.138 mmol, 24 μL) *N*-Ethyl-diisopropylamin und einer kat. Menge 4-(Dimethylamino)-pyridin versetzt. Zu der dunkelroten Suspension wird dann langsam eine Lösung von Adipinsäuredichlorid (8.4 mg, 0.046 mmol) in 2 mL abs. Methylenchlorid zugetropft. Die Lösung wird 72 h bei RT gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das zurückbleibende Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Essigester/Methanol 4:1 (v/v) gereinigt (R_f = 0.13).
Ausbeute: 67.3 mg (0.03 mmol; 32 %).



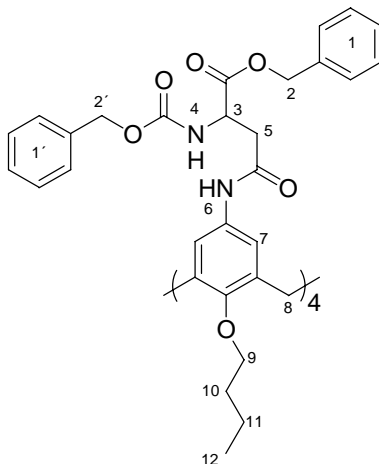
$^1\text{H-NMR}$ ($d_4\text{-MeOH}$, 300 MHz): δ = 1.04 (m, 12 H, H-8); 1.19 (t, 6 H, J = 7.2 Hz; H-1); 1.31 (t, 12H, J = 8Hz, H-1'); 1.42 (m, 4 H, H-7); 1.59 (m, 6 H, H-7 und H-13); 1.92 (m, 8 H, H-6); 2.15 (t, 2 H, J = 7 Hz, H-13); 3.28 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-4); 3.38 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-4'); 3.79-3.99 (m, 10 H, H-5 und H-12); 4.00-4.28 (m, 12 H, H-2 und H-2'); 4.48 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-4); 4.54 (d, 2 H, J = 12 Hz, H-4'); 6.35 (s, 2H, H-10); 6.87 (d, 2 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3); 7.47 (dd, 4 H, $J_{\text{P-H}}$ = 12 Hz, H-3'). **$^{13}\text{C-NMR}$ ($d_4\text{-MeOH}$, 75 MHz):** δ = 14.4 (d, J = 10 Hz), 14.5, 16.7 (d, J = 24 Hz), 20.3, 20.6 (d, J = 36 Hz), 26.5, 31.6 (d, J = 84 Hz), 33.4, 33.6 (d, J = 32 Hz); 36.6, 43.7, 63.4 (d, J = 20 Hz), 63.7, 76.5, 76.78 121.1 (d, J = 88 Hz), 122.9 (d, J = 96 Hz), 128.5, 132.7 (d, J = 40 Hz), 133.4 (d, J = 44 Hz), 133.8 (d, J = 52 Hz), 134.4, 135.5, 137.4, 138.1 (d, J = 64 Hz), 156.2, 160.8, 162.3 (d, J = 15 Hz), 175.2. **$^{31}\text{P NMR}$ ($d_4\text{-MeOH}$, 81MHz):** δ = 24.0 (s), 24.4 (s). **HRMS (ESI-pos., MeOH):** berechnet für $\text{C}_{120}\text{H}_{178}\text{N}_2\text{O}_{28}\text{P}_6 + \text{Na}$: m/z = 2304.0992, gefunden: m/z = 2304.1506.

4.3.19 5,11,17,23-Tetrakis(*N*-benzyloxycarbonyl-asparagylaminobenzylester)- 25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren 22

5,11,17,23-Tetraamino-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren **10b** (0.11 g, 0.16 mmol) werden in abs. Methylenchlorid (20 mL) gelöst. Danach werden *N*-Benzoxycarbonyl-asparaginsäure benzylester (0.23 g, 0.64 mmol) und T3P (0.43 mL, 0.64 mmol) und *N*-Methylmorpholin (0.38 mL, 0.64 mmol) zugegeben. Die Lösung wird 16h bei RT gerührt. Die Reaktionsmischung wird viermal mit 1N HCl und dann mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung, mit gesättigter NaCl-Lösung und am Ende mit dem Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach dem entfernen des Lösungsmittels wird das zurückbleibende

Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Chloroform/Aceton 6:1 (v/v) gereinigt ($R_f = 0.29$).

Ausbeute: 0.20 g (0.096 mmol; 62 %)



$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO, 300 MHz): $\delta = 0.96$ (t, $J = 7$ Hz, 12 H, H-12); 1.43 (m, 8 H, H-11); 1.87 (m, 8H, H-10); 2.74 (m, 8 H, H-5); 3.03 (d, 4 H, $J = 12$ Hz, H-8); 3.81 (t, $J = 7$ Hz, 8 H, H-9); 4.30 (d, 4 H, $J = 12$ Hz, H-8); 4.52 (m, 4 H, H-3); 5.02 (s, 8H, H-2); 5.08 (s, 8H, H-2'); 6.86 (s, 4H, H-7); 6.96 (s, 4H, H-7); 7.28 (s, 20H, H-1); 7.30 (s, 20 H, H-1'); 7.73 (d, $J = 8$ Hz, 4 H, H-4); 9.60 (s, 4H, H-6). **$^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 -DMSO, 125 MHz):** $\delta = 13.8, 18.8, 30.7, 31.6, 49.3, 50.6, 62.8, 65.5, 66.0, 74.5, 126.3, 126.5, 127.5, 127.6, 127.7, 127.8, 127.9, 128.2, 128.3, 134.0, 135.7, 136.7, 151.9, 155.8, 166.8, 171.4$. **Schmelzpunkt:** 105-107°C. **MS (FD):** $m/z = 2067$ $[\text{M}+\text{H}^+]^+$.

5 ANHANG

5.1 $^1\text{H-NMR}$ -Wirt-Gast-Titrationen

Die Gastverbindung (negative Halbschale) wurde in der angegebenen Lösungsmittelmenge gelöst und gleichmäßig auf 10 Röhrchen verteilt. Das erste Röhrchen wurde ohne Wirtzugabe (positive Halbschale) vermessen. Die Wirtverbindung wurde ebenfalls in der angegebenen Lösungsmittelmenge gelöst und in steigenden Mengen in die Röhrchen gegeben, so dass man Lösungen mit folgenden Wirtäquivalenten erhält: 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 2.00, 3.00, 5.00 Äquivalente Wirt zu Gast. Die Proben wurden am 400 oder 500 MHz Spektrometer vermessen und auf das Lösungsmittelsignal kalibriert. Zur Auswertung wurden die chemischen Verschiebungen der Gastprotonen verfolgt. Die Bestimmung der Assoziationskonstanten K_a und des Shifts $\Delta\delta_{\text{sat}}$ bei vollständiger Komplexierung aus den $\Delta\delta$ -Werten erfolgte durch nicht-lineare Regression mit SigmaPlot 2000.

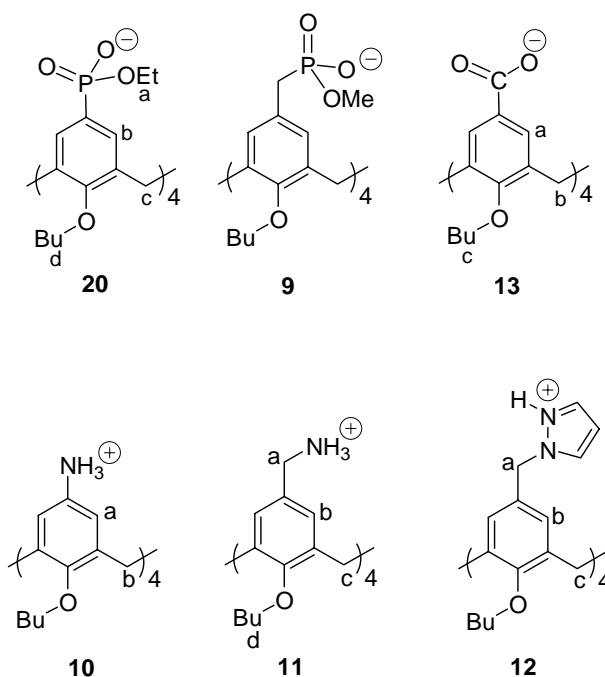


Abb. 108: Übersicht der titrierten Halbschalen

In den folgenden Tabellen sind neben den genauen Einwaagen der Verbindungen die für die verschiedenen Gastprotonen (siehe Abb. 108) beobachteten Signale der Proben 0 (0 eq Wirt) und 9 (5 eq Wirt) sowie die daraus berechneten Werte K_a und $\Delta\delta_{\text{sat}}$ angegeben.

5.1.1 NMR-Titrationsen zwischen 5,11,17,23-Tetrakis(hydroxyethylphosphoryl)25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren tetra-lithiumsalz **20 (negative Halbschale) und verschiedene positiven Halbschalen**

5.1.1.1 Gegen 5,11,17,23-Tetraamino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren tetrahydrochlorid **10 in D₂O/*d*₄-MeOH 1:4**

Einwaage: 1.79 mg **10** in 6.0 mL D₂O/*d*₄-MeOH 1:4

5.04 mg **20** in 1.0 mL D₂O/*d*₄-MeOH 1:4

Proton	K_a [M ⁻¹]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20a	15000 ± 62%	3.9210	3.9698	0.0528 ± 15%
20b	9295 ± 51%	7.1807	7.2656	0.0901 ± 10%

5.1.1.2 Gegen 5,11,17,23-Tetrakis(aminomethyl)25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]arentetrahydrochlorid **11 in *d*₄-MeOH**

Einwaage: 4.58 mg **20** in 6.0 mL *d*₄-MeOH

1.69 mg **11** in 1.0 mL *d*₄-MeOH

Proton	K_a [M ⁻¹]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
11c	4,369·10 ⁶ ± 21%	3.7727	3.5814	0.2077 ± 3%
11d	9,927·10 ⁵ ± 17%	3.9000	3.8457	0.0540 ± 3%
11a	6,921·10 ⁵ ± 36%	4.4545	4.3712	0.0817 ± 3%

5.1.1.3 Gegen 5,11,17,23-Tetrakis(1*N* pyrazolylmethyl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren tetrahydrochlorid **12 in *d*₄-MeOH (*Verdünnungstitration*)**

In diesem Fall gibt es Protontransfer zwischen **20** und **12** und deswegen wurde eine Verdünnungstitration durchgeführt.

Bei Verdünnungstitrationen wurden circa äquimolare Mengen der Wirt- und der Gastverbindung in 0.5 mL deuteriertem Lösungsmittel gelöst. Die Probe wurde vermessen und diente anschließend als Stammlösung für weitere Experimente. Hierzu wurden 250, 125, 75, 50 und 25 µL entnommen, auf 0.5 mL aufgefüllt, und ebenfalls vermessen.

Zur Auswertung wurden Signale herangezogen, die sich eindeutig zuordnen ließen und in allen Proben eindeutig abgelesen werden konnten. Die chemischen Verschiebungen sind in

δ -Werten (ppm) angegeben und beziehen sich in allen ^1H -NMR-Spektren auf die deuteriumgekoppelten Lösungsmittelsignale. Die Bestimmung der Komplexbildungskonstanten K aus der komplexbildungsinduzierten Verschiebung $\Delta\delta$ erfolgte durch nichtlineare Regression der gemessenen

Einwaage: 2.39 mg **20** in 0.5 mL d_4 -MeOH

2.49 mg **12** in 0.5 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_{ver} [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20c	$2028 \pm 31\%$	4.0019	3.9950	$0.0170 \pm 13\%$
20d	$1500 \pm 45\%$	4.5114	4.5094	$0.0040 \pm 30\%$

5.1.2 NMR-Titrationen zwischen 5,11,17,23-Tetrakis(hydroxycarbonyl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren-tetrabutylammoniumsalz **13** (negative Halbschale) und verschiedene positiven Halbschalen

5.1.2.1 Gegen 5,11,17,23-Tetraamino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren tetrahydrochlorid **10** in d_4 -MeOH (Protontransfer)

Einwaage: 10.62 mg **13** in 8.0 mL d_4 -MeOH

26.93 mg **10** in 1.0 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
13b	$1.535 \cdot 10^6 \pm 12\%$	3.8170	3.9195	$0.1046 \pm 1\%$
13c	$9.98 \cdot 10^5 \pm 13\%$	4.3205	4.3669	$0.0484 \pm 2\%$

5.1.2.1.2 Gegen 5,11,17,23-Tetraamino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren tetrahydrochlorid **10** in d_6 -DMSO (Verdünnungstitration)

Einwaage: 1.79 mg **13** in 0.5 mL d_6 -DMSO

1.00 mg **10** in 0.5 mL d_6 -DMSO

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_{ver} [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
10c	$7000 \pm 35\%$	3.9960	3.9737	$0.0223 \pm 3\%$
10b	$10630 \pm 17\%$	4.1490	4.1633	$0.0343 \pm 5\%$

5.1.2.2 Gegen 5,11,17,23-Tetrakis(aminomethyl)-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]aren tetrahydrochlorid **11** in d_4 -MeOH

Einwaage: 7.88 mg **13** in 6.0 mL d_4 -MeOH

3.00 mg **11** in 1.0 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
13b	$3.030 \cdot 10^4 \pm 31\%$	3.7261	3.5691	$0.1560 \pm 2\%$
13c	$3.127 \cdot 10^4 \pm 28\%$	3.9118	3.8720	$0.0413 \pm 3\%$

5.1.2.3 Gegen 5,11,17,23-Tetrakis(1*N*-pyrazolylmethyl)-25,26,27,28-tetrabutoxy-calix[4]aren tetrahydrochlorid **12** in d_4 -MeOH

Es konnten keine Signalshifts beobachtet und ausgewertet werden. (Kein shift!)

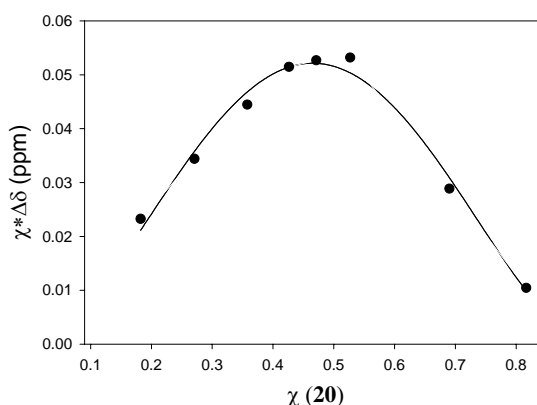
5.2 Untersuchungen zur Komplextöchiometrie nach *Job*

Die Komplextöchiometrien wurden mit *Job*'s Methode der kontinuierlichen Variation bestimmt. Hierzu wurden äquimolare Mengen von Gast- und Wirtverbindung in dem entsprechenden Lösungsmittel gelöst. Diese Lösungen wurden dann so auf acht NMR-Röhrchen verteilt, dass in allen Proben die Gesamtkonzentration gleich war und sich der Molenbruch der Einzelkomponenten in definierter Weise änderte. Die Proben wurden am 400 MHz oder 500 MHz Spektrometer vermessen und auf das Lösungsmittelsignal kalibriert. Zur Auswertung wurden die chemischen Verschiebungen der Gastprotonen verfolgt und multipliziert mit dem entsprechenden Molenbruch gegen den Molenbruch aufgetragen (*Job*-Plot).

5.2.1 Halbschale **20** und Halbschale **10** in D_2O/d_4 -MeOH 1:4

Einwaage: 5.98 mg **20** (7 μ mol) in 4 mL D_2O/d_4 -MeOH 1:4

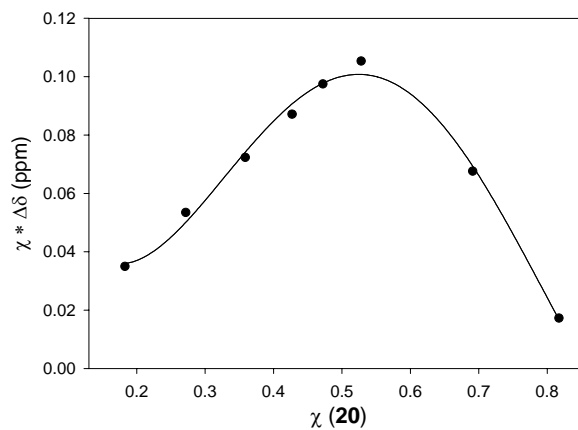
7.70 mg **10** (7 μ mol) in 4 mL D_2O/d_4 -MeOH 1:4



5.2.2 Halbschale 20 und Halbschale 11 in d_4 -MeOH

Einwaage: 5.98 mg **20** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH

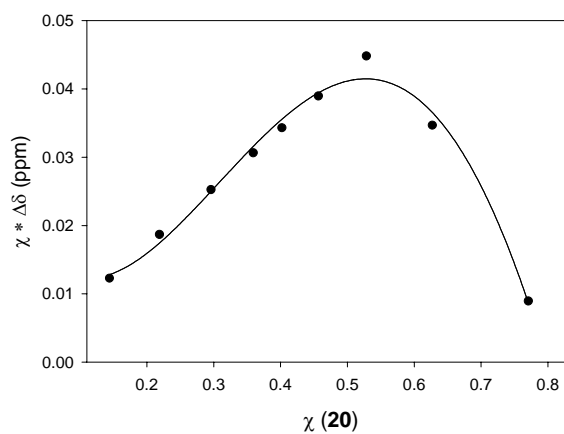
7.73 mg **11** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.2.3 Halbschale 20 und Halbschale 12 in d_4 -MeOH

Einwaage: 3.34 mg **20** (3 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH

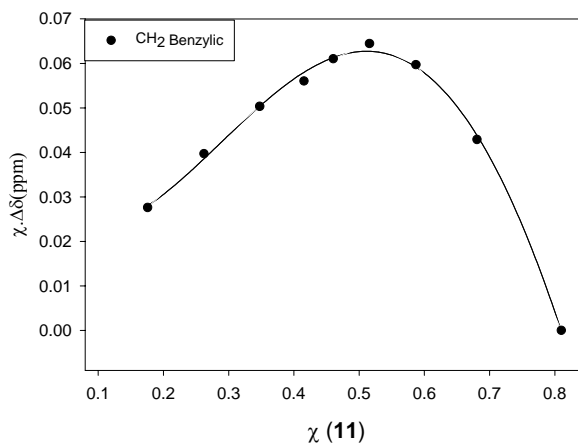
3.31 mg **12** (3 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.2.4 Halbschale 13 und Halbschale 11 in d_4 -MeOH

Einwaage: 12.53 mg **13** (7 μmol) in 4 mL d_4 -MeOH

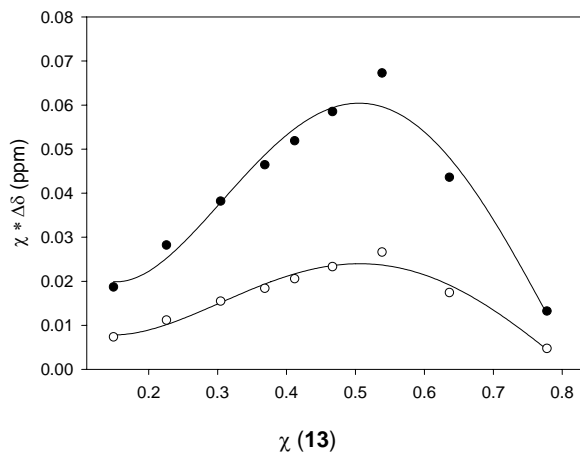
6.37 mg **11** (7 μmol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.2.5 Halbschale 13 und Halbschale 12 in d_4 -MeOH

Einwaage: 3.34 mg **13** (3 μmol) in 4 mL d_4 -MeOH

5.37 mg **12** (3 μmol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.3 NMR-Titrationsen mit Calix[4]arentetraphosphonat-Rezeptor **20**

In den folgenden Tabellen sind neben den genauen Einwaagen der Verbindungen die für die verschiedenen Gastprotonen (siehe Abb. 109) beobachteten Signale der Proben 0 (0 eq Wirt) und 9 (5 eq Wirt) sowie die daraus berechneten Werte K_a und $\Delta\delta_{sat}$ angegeben.

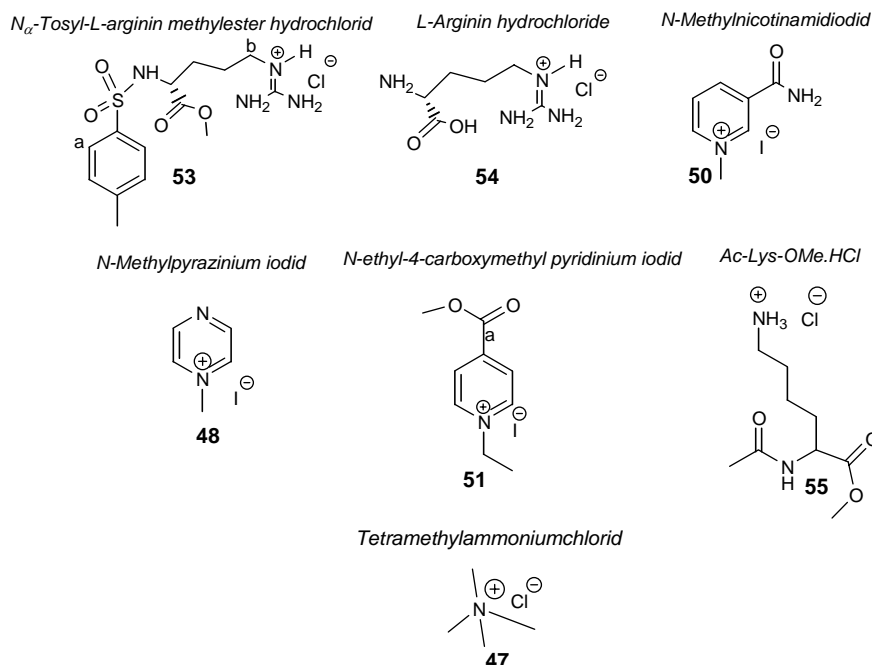


ABB. 109: ÜBERSICHT DER TITRIERTEN GÄSTE

5.3.1 Rezeptor **20** gegen N_α -Tosyl-L-arginin methylester·HCl **53** in d_4 -MeOH

Einwaage: 1.19 mg **53** in 6.00 mL d_4 -MeOH
 8.05 mg **20** in 1.00 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
53a	$2.298 \cdot 10^4 \pm 41\%$	3.8927	3.8454	$0.0482 \pm 5\%$
53b	$1.221 \cdot 10^4 \pm 12\%$	3.1786	3.2096	$0.0322 \pm 2\%$

5.3.2 Rezeptor **20** gegen L-Arginin·HCl **54** in d_4 -MeOH

Einwaage: 2.94 mg **20** in 6.00 mL d_4 -MeOH
 1.09 mg **54** in 0.61 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20a	$803 \pm 28\%$	3.7214	3.6766	$0.0754 \pm 14\%$

5.3.3 Rezeptor **20** gegen *N*-Methylnicotinamidiodid **50** in *d*₄-MeOH

Einwaage: 3.26 mg **20** in 6.00 mL *d*₄-MeOH
1.51 mg **50** in 0.61 mL *d*₄-MeOH

Proton	K_a [M ⁻¹]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20a	$4.392 \cdot 10^4 \pm 41\%$	3.9985	4.0874	$0.0899 \pm 3\%$
20b	$1.317 \cdot 10^4 \pm 30\%$	7.3097	7.3289	$0.0192 \pm 3\%$

5.3.3.1 Rezeptor **20** gegen *N*-Methylnicotinamidiodid **50** in D₂O

Einwaage: 3.56 mg **20** in 6.00 mL D₂O
1.86 mg **50** in 0.61 mL D₂O

Proton	K_a [M ⁻¹]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20a	$280 \pm 25\%$	3.5362	3.5847	$0.0112 \pm 16\%$
20d	$438 \pm 39\%$	4.0795	4.0987	$0.0361 \pm 3\%$

5.3.4 Rezeptor **20** gegen 1-Methylpyraziniumiodid **48** in *d*₄-MeOH

Einwaage: 3.26 mg **20** in 6.00 mL *d*₄-MeOH
1.51 mg **48** in 0.61 mL *d*₄-MeOH

Proton	K_a [M ⁻¹]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20a	$1.061 \cdot 10^5 \pm 41\%$	3.9941	4.0240	$0.0299 \pm 3\%$
20a'	$4.761 \cdot 10^4 \pm 30\%$	1.0984	1.1681	$0.0697 \pm 3\%$

5.3.5 Rezeptor **20** gegen *N*-Ethyl-4-carbomethoxy pyridiniumiodid **51** in *d*₄-MeOH

Einwaage: 3.60 mg **20** in 6.00 mL *d*₄-MeOH
1.40 mg **51** in 0.61 mL *d*₄-MeOH

Proton	K_a [M ⁻¹]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20a	$4,034 \cdot 10^3 \pm 35\%$	3.7080	3.7203	$0.0145 \pm 3\%$

5.3.6 Rezeptor **20** gegen Ac-Lys-OMe.HCl **55** in d_4 -MeOH

Einwaage: 3.08 mg **20** in 6.00 mL d_4 -MeOH

1.00 mg **55** in 0.61 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20a	$700 \pm 41\%$	7.3084	7.1956	$0.2279 \pm 24\%$

5.3.7 Rezeptor **20** gegen Tetramethylammoniumchlorid **47** in d_4 -MeOH

Einwaage: 3.08 mg **20** in 6.00 mL d_4 -MeOH

1.00 mg **47** in 1.00 mL d_4 -MeOH

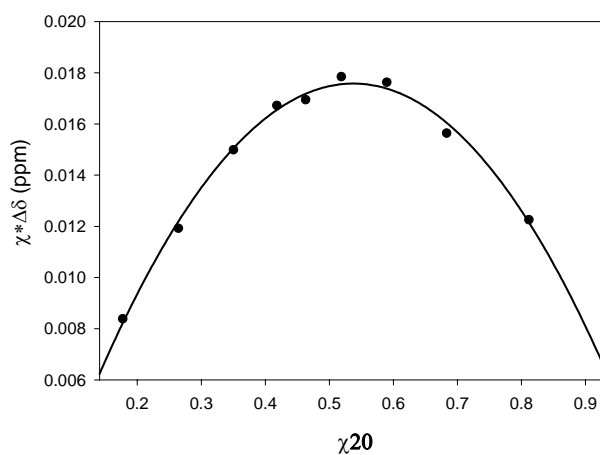
Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
20b	$1.03 \cdot 10^3 \pm 12\%$	3.7214	3.7365	$0.0283 \pm 5\%$
20c	$916 \pm 12\%$	7.3083	7.3294	$0.0211 \pm 2\%$

5.4 Untersuchungen zur Komplextöchiometrie nach *Job*

5.4.1 Rezeptor **20** und N_α -Tosyl-L-arginine methylester·HCl **53** in d_4 -MeOH

Einwaage: 7.73 mg **20** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH

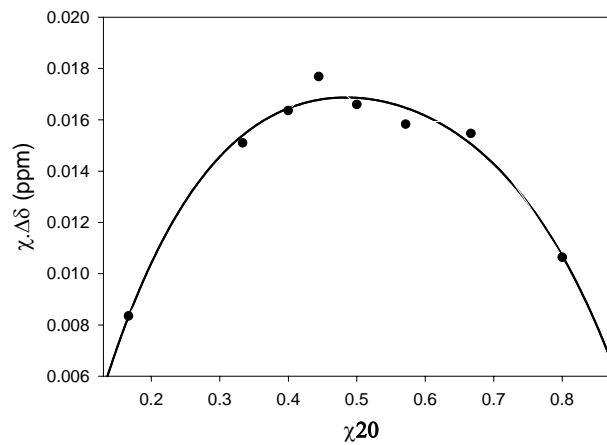
2.65 mg **53** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.4.2 Rezeptor **20** und L-Arginine·HCl **54** in d_4 -MeOH

Einwaage: 7.73 mg **20** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH

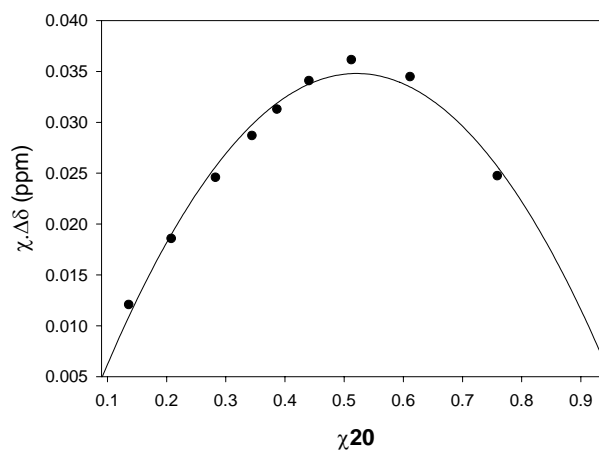
1.47 mg **54** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.4.3 Rezeptor **20** und N-Methylnicotinamid iodid **50** in d_4 -MeOH

Einwaage: 7.73 mg **20** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH

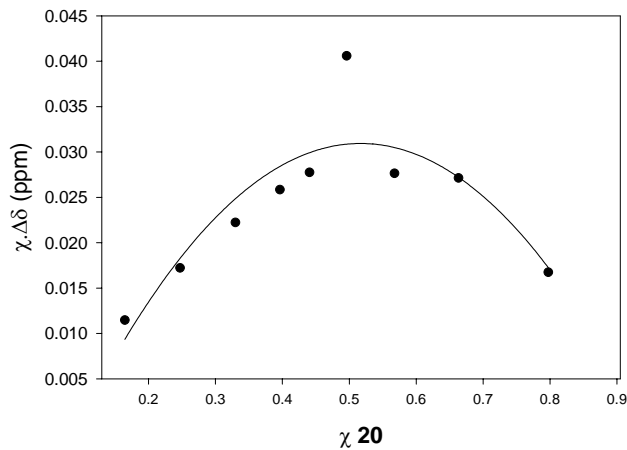
1.85 mg **50** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.4.4 Rezeptor **20** und 1-Methylpyraziniumiodid **48** in d_4 -MeOH

Einwaage: 7.73 mg **20** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH

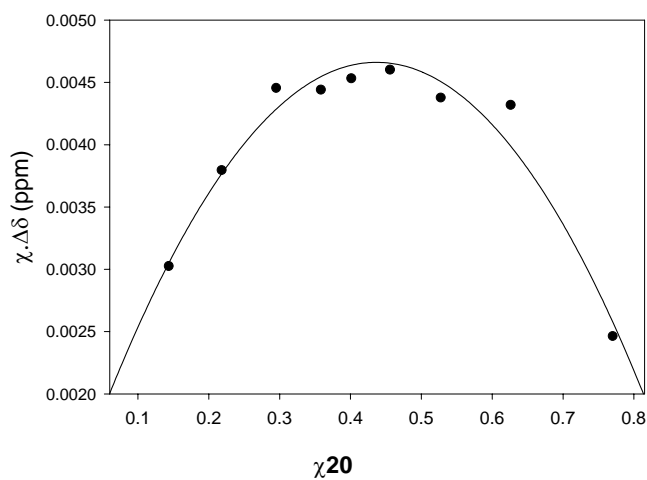
1.55 mg **48** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.4.5 Rezeptor **20** und Tetramethylammoniumchlorid **47** in d_4 -MeOH

Einwaage: 7.73 mg **20** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH

0.76 mg **47** (7 μ mol) in 4 mL d_4 -MeOH



5.5. NMR-Titrationen mit Rezeptor **32**

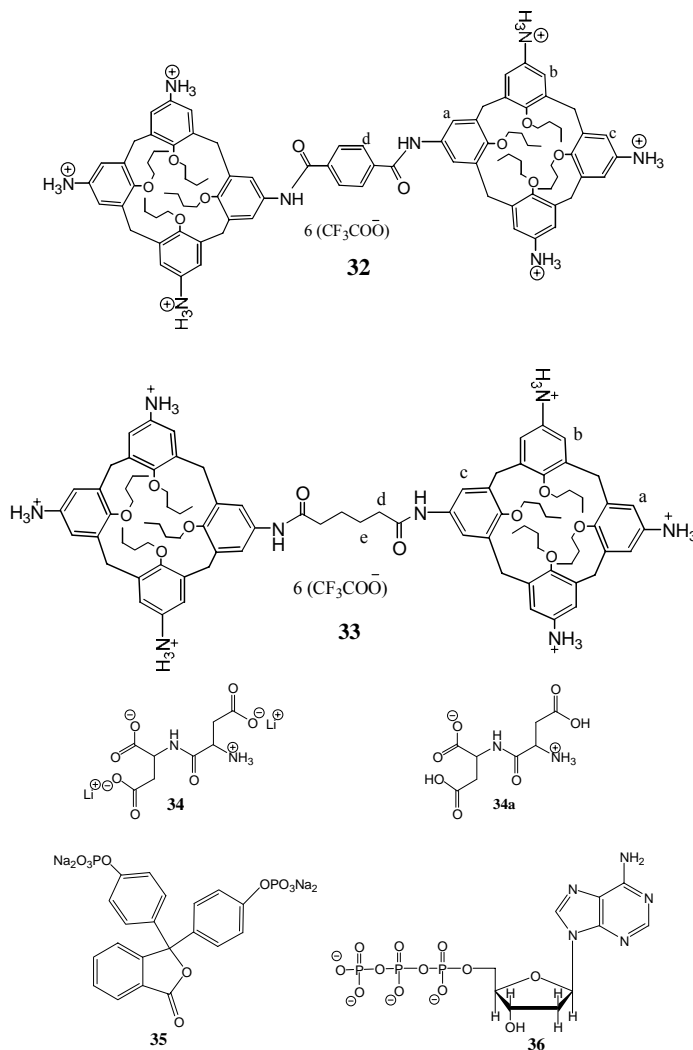
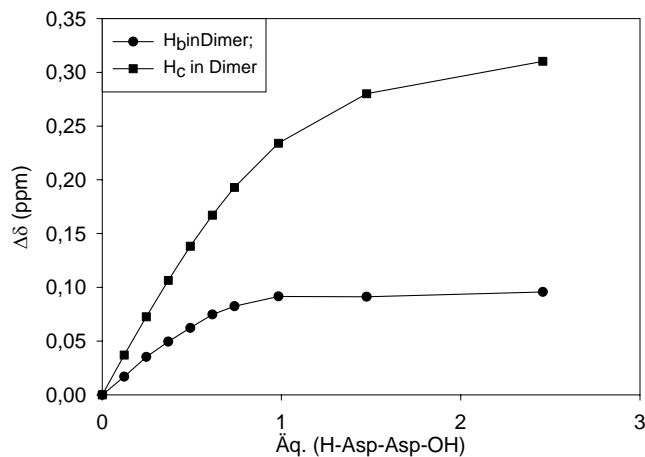


Abb. 110: Lewis-Struktur die beiden Rezeptoren (**32** und **33**) und der titrierten Gäste

5.5.1 Rezeptor **32** gegen H-Asp-Asp-OH **34a** in *d*₄-MeOH

Einwaage: 8.75 mg **32** in 6.00 mL *d*₄-MeOH
 1.46 mg **34a** in 0.61 mL *d*₄-MeOH

Proton	K_a [M ⁻¹]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
32b	$7.45 \cdot 10^3 \pm 25\%$	6.0554	5.9597	$0.1 \pm 4\%$
32c	$1.07 \cdot 10^3 \pm 20\%$	6.9070	6.5448	$0.45 \pm 12\%$

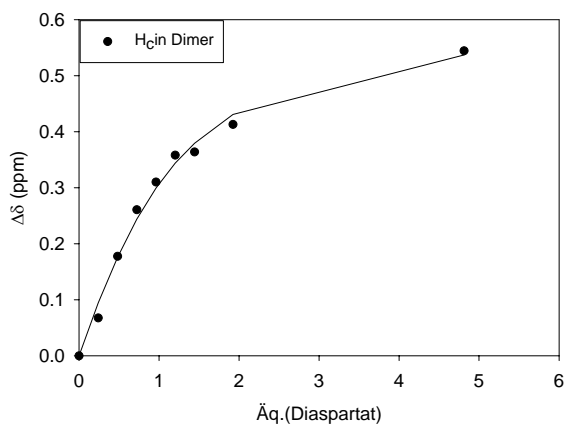


5.5.2 Rezeptor **32** gegen Diaspartat **34** in d_4 -MeOH

Einwaage: 6.00 mg **32** in 6.00 mL d_4 -MeOH

0.98 mg **34** in 0.61 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
32c	$4.47 \cdot 10^3 \pm 20\%$	6.9052	6.3610	$0.62 \pm 5\%$

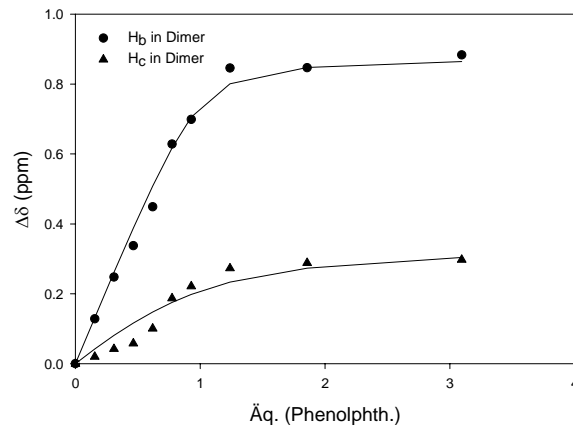


5.5.3 Rezeptor **32** gegen Phenolphthaleindiphosphat **35** in d_4 -MeOH

Einwaage: 3.11 mg **32** in 6.00 mL d_4 -MeOH

1.49 mg **35** in 0.61 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
32b	$1.72 \cdot 10^3 \pm 60\%$	5.9363	6.2340	$0.5 \pm 12\%$
32c	$4.45 \cdot 10^3 \pm 27\%$	6.9290	6.0458	$1.10 \pm 12\%$

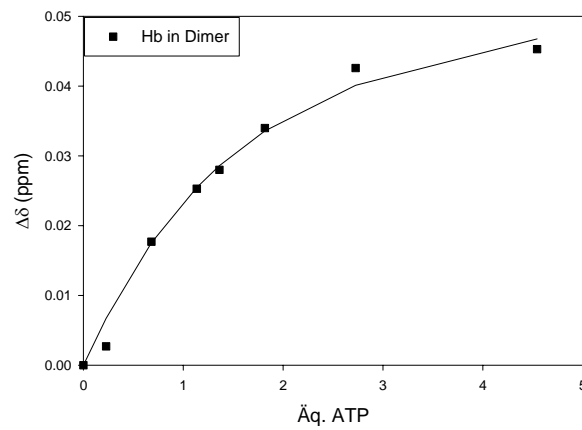


5.5.4 Rezeptor **32** gegen ATP **36** in d_4 -MeOH

Einwaage: 2.51 mg **32** in 6.00 mL d_4 -MeOH

0.93 mg **36** in 0.61 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
32b	$4.95 \cdot 10^3 \pm 30\%$	6.0092	5.9639	$0.06 \pm 10\%$

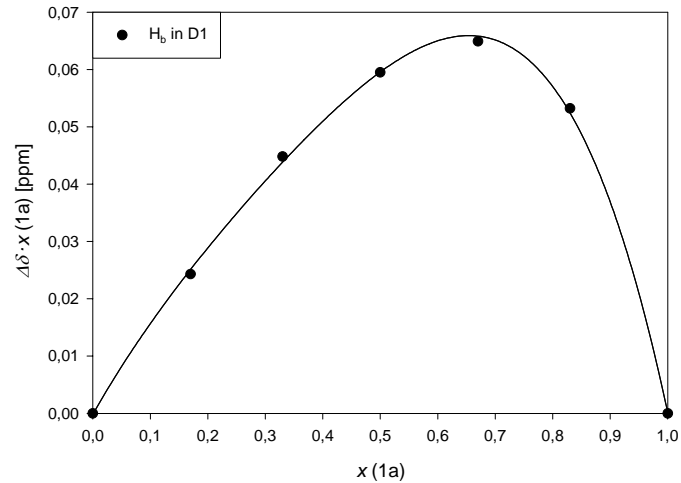


5.6 Untersuchungen zur Komplexstöchiometrie nach Job

5.6.1 Rezeptor 32 und H-Asp-Asp-OH 34 in d_4 -MeOH

Einwaage: 8.92 mg **32** (4 μmol) in 3.5 mL d_4 -MeOH

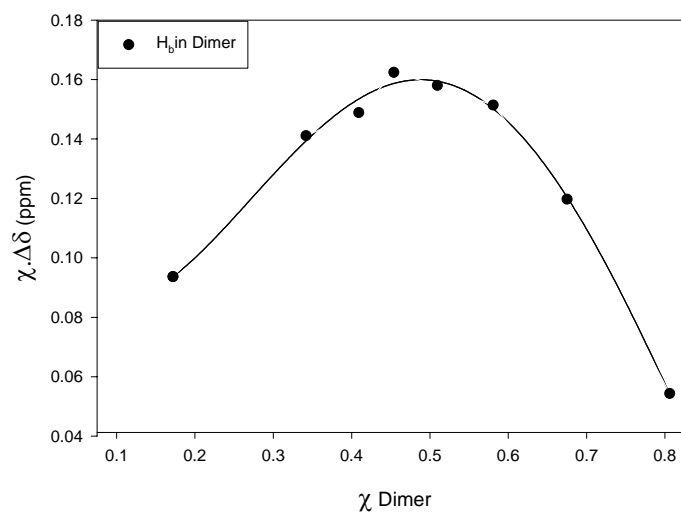
0.99 mg **34** (4 μmol) in 3.5 mL d_4 -MeOH



5.6.2 Rezeptor 32 und Phenolphthaleindiphosphat 35 in d_4 -MeOH

Einwaage: 6.69 mg **32** (3 μmol) in 3.5 mL d_4 -MeOH

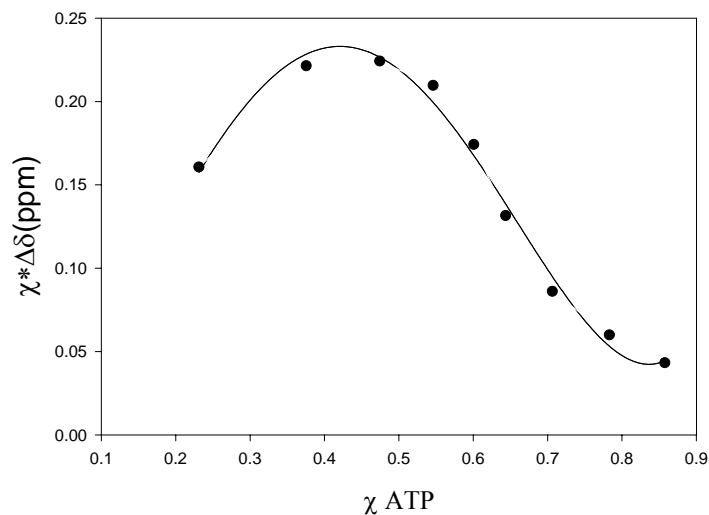
1.69 mg **35** (3 μmol) in 3.5 mL d_4 -MeOH



5.6.3 Rezeptor 32 gegen ATP 36 in d_4 -MeOH

Einwaage: 6.69 mg **32** (3 μ mol) in 3.5 mL d_4 -MeOH

1.65 mg **36** (3 μ mol) in 3.5 mL d_4 -MeOH



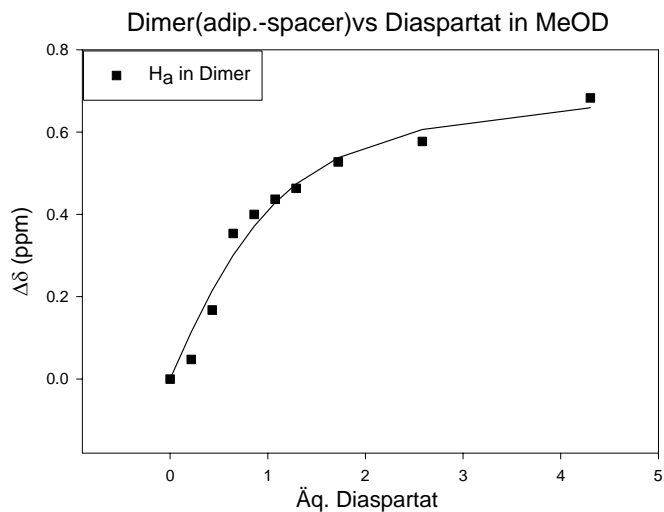
5.7 NMR-Titrationsen mit Rezeptor 33

5.6.1 Rezeptor 33 gegen Diaspartat 34 in d_4 -MeOH

Einwaage: 6.26 mg **33** in 6.00 mL d_4 -MeOH

0.91 mg **34** in 0.61 mL d_4 -MeOH

Proton	K_a [M^{-1}]	δ_0 [ppm]	δ_9 [ppm]	$\Delta\delta_{sat}$ [ppm]
33a	$6.21 \cdot 10^3 \pm 25\%$	7.0051	6.3220	$0.75 \pm 9\%$



6 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
Äq	Äquivalent
n-BuLi	n-Butyllithium
BOC	'Butyloxy-carbonyl
BOC ₂ O	Di-tert.-butyldicarbonat
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ESI	Elektronensprayionisation
FD	Felddesorption
HRMS	hochaufgelöste (high resolution) Massenspektrometrie
h	Stunde
IEP	Isoelektrische Punkte
kat.	katalytisch
m	Multipllett
MeOH	Methanol
ppm	parts per million
pyCloP	Chlorotripyrrolidinphosphonium Hexafluorophosphat
q	Quartett
R _F	Verhältnis der Laufstrecke der Substanz zu der des Laufmittels (engl. ratio of fronts)
RT	Raumtemperatur (entspricht etwa 25 C)
s	Singulett
sb	breites Singulett
t	Triplett
TBA	Tetrabutylammonium
TFA	Trifluoressigsäureanhydrid
T3P	Tris-Propylphosphonsäureanhydrid
Zers.	Zersetzung

7 LITERATURVERZEICHNIS

- ¹ C. A. Schalley; *Chemie in unserer Zeit* **2001**, 3, 166.
- ² Übersicht: E. Donath, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1999**, 47, 400-404 und darin zitierte Literatur, z.B. X. Z. Kong, C. Y. Kan, H. H. Li, D. Q. Yu, Q. Yuan, *Polym. Adv. Technol.* **1997**, 8, 267.
- ³ K. B. Thurmond, T. Kowalewski, K. L. Wooley, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 6656
- ⁴ A. W. Schwabacher, J. Lee, H. Lei, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 7597.
- ⁵ K. L. Cole, M. A. Farran, K. Deshayes, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 599.
- ⁶ R. Fuchs, N. Habermann, P. Klüfers, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 852.
- ⁷ P. Klüfers, J. Schuhmacher, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 1863.
- ⁸ M. Fujita, S. Nagao, K. Ogura, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 1649.
- ⁹ M. Fujita, D. Oguro, M. Miyazawa, H. Oka, K. Yamaguchi, K. Ogura, *Nature* **1995**, 378, 469.
- ¹⁰ N. Takeda, K. Umemoto, K. Yamaguchi, M. Fujita, *Nature* **1999**, 398, 794.
- ¹¹ A. Castani, F. Sansone, R. Ungaro; *Acc. Chem. Res.* **2003**, 36, 246.
- ¹² a) F. Sansone, M. Segura, R. Ungaro, *Calixarenes in Bioorganican and Biomimetic Chemistry. In Calixarenes* **2001**; b) Z. Asfari, V. Böhmer, J. Harrowfield, J. Vicens, Eds.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands **2001**; Chapter 27.
- ¹³ J. Rebek, *Chem. Commun.* **2000**, 637.
- ¹⁴ a) L. Prins, D. N. Reinhoudt, P. Timmerman, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2001**, 40, 2383. b) D. N. Reinhoudt, M. Crego-Calama, *Science* **2002**, 295, 2403.
- ¹⁵ H. Soon Park, Q. Lin, A. D. Hamilton, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, 99, 5105.
- ¹⁶ a) R. Zadnard; T. Schrader; T. Grawe; A. Kraft, *Org. Lett.* **2002**, 4, 1687-1690. b) F. Corbellini; R. Fiammengo; P. Timmerman; M. Crego-Calama; K. Versluis; A. J. R. Heck; I. Luyten; D. N. Reinhoudt, D. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 6569-6575.
- ¹⁷ a) K. Koh; K. Araki; S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8255-8258. b) A. M. A. van Wageningen, Verboom; D. N. Reinhoudt, *Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 1273-1277. c) O. Mogck; V. Böhmer; W. Vogt, *Tetrahedron* **1996**, 52, 8489-8496. d) L. J. Prins; J. Huskens; F. de Jong; P. Timmerman; D. N. Reinhoudt *Nature* **1999**, 398, 498-502. e) L. J. Prins; P. Timmerman; D. N. Reinhoudt *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 10153-10163. f) V. Böhmer; M. O. Vysotsky; *Aust. J. Chem.* **2001**, 54, 671-677. g) A. M. Rincón; P. Prados; J. de Mendoza, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3493-3498.
- ¹⁸ a) J. Kang; J. Rebek, *Nature* **1997**, 385, 50-52. b) S. H. Ma; D. M. Rudkevich; J. Rebek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2600-2602. c) S. Hiraoka; M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10239-10240. d) P. Klüfers; J. Schuhmacher, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 1863-1865.
- ¹⁹ a) E. L. Piatnitski; R. A. Flowers; K. Deshayes, *Chem. Eur. J.* **2000**, 999-1006. b) M. O. Vysotsky; I. Thondorf; V. Böhmer, *Chem. Commun.* **2001**, 1890-1891. c) A. Shivanyhuk; J. Rebek, *Chem. Commun.* **2001**, 2374-2375. d) J. L. Atwood; L. J. Barbour; A. Jerga, *Chem. Commun.* **2001**, 2376-2377. e) R. E. Brewster; S. B. Shuker, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 7902-7903.
- ²⁰ J. Rebek, Jr., *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 278.
- ²¹ a) Heinz, T.; Rebek, J. *Nature* **1998**, 394, 764-767. b) Martín, T.; Obst, U.; Rebek, J. *Science* **1998**, 281, 1842-1845. c) Hof, F.; Nuckolls, C.; d) Craig, S. L.; Martín, T.; Rebek, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 10991-10996. e) Rivera, J. M.; Craig, S. L.; Martín, T.; Rebek, J.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2130-2132. f) Rebek, J. *Chem. Commun.* **2000**, 637. g) Chen, J.; Körner, S.; Craig, S. L.; Rudkevich, D. M.; Rebek, J., *Nature* **2002**, 415, 385-386.
- ²² K. D. Shimizu, J. Rebek, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 12403.
- ²³ a) R. Fiammengo, P. Timmerman, J. Huskens, K. Versluis, A. J. R. Heck; D. N. Reinhoudt, *Tetrahedron* **2002**, 58, 757. b) R. Fiammengo, P. Timmerman, F. de Jong; D. N. Reinhoudt, *Chem Commun.* **2002**, 313. F. Corbellini; R. Fiammengo; P. Timmerman; M. Crego-Calama; K. Versluis; A. J. R. Heck; I. Luyten; D. N. Reinhoudt, D. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 6569-6575.
- ²⁵ F. Corbellini; L. Di Costanzo; M. Crego-Calama; S. Geremia; D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9946.
- ²⁶ D. J. Cram, J. M. Cram; *Container Molecules and their Guests*; **1994**; RSC, Cambridge, MA.
- ²⁷ R. Warmuth; *Angew. Chem. Int. Edn Engl.* **1997**; 36; 1347.
- ²⁸ P. Timmerman et al.; *Angew. Chem. Int. Edn Engl.* **1994**; 33; 2345.
- ²⁹ J. Chen, J. Rebek; *Org. Lett.* **2002**, 4, 327.
- ³⁰ K. N. Houk, A. G. Leach, S. P. Kim, X. Zhang; *Angew. Chem.* **2003**, 115, 5020.
- ³¹ T. Grawe, T. Schrader, M. Gurrath, A. Kraft, F. Osterod, *Org. Lett.* **2000**, 2, 29-32.

- 32 T. Grawe, Dissertation, Düsseldorf, **2001**
- 33 K. Araki, K. Iwamoto, S. Shinkai, T. Matsuda, *Chem. Lett.* **1989**, 1747.
- 34 J. W. Cornforth, P. D'Acry Hart, G. A. Nicholls, R. J. W. Rees, J. A. Stock, *Br. J. Pharmacol.* **1955**, 10, 73.
- 35 C. D. Gutsche, B. Dhawan, J. A. Levine, K. H. No, L. J. Bauer, *Tetrahedron* **1983**, 39, 409.
- 36 a) G. D. Andreetti, R. Ungaro, A. Pochini, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1979**, 1005.
b) G. D. Andreetti, R. Ungaro, A. Pochini, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1983**, II, 1773.
- 37 C. D. Gutsche, L. J. Bauer, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 6052.
- 38 D. N. Reinhoudt et al., *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 3476.
- 39 C. D. Gutsche et al., *Org. Synth.* **1990**, 68, 234.
- 40 A. Zinke, E. Ziegler, *Ber.* **1941**, 74, 1729.
- 41 C. D. Gutsche, B. Dhawan, K. H. No, R. Muthukrishnan, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 3782.
- 42 C. D. Gutsche, M. Iqbal, D. Stewart, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 742.
- 43 H. Mohindra Chawla, K. Srinivas; *Indian J. of Chem.* **1993**, Vol. 32 B, 1162.
- 44 Pochini, A.; Ungaro, R., Vögtle, F. "in *Comprehensive Supramolecular Chemistry*", (Ed.), Pergamon Press, Oxford, **1996**, Vol. 2, p. 103.
- 45 Jakobi, R. A., Böhmer, V., Grüttner, C. Kraft, D., Vogt, W., *New J. Chem.* **1996**, 20, 493.
- 46 M. Conner, V. Janout, S. L. Regen, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3744.
- 47 F. Sansone et al., *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 897.
- 48 M. Larsen, M. Jorgensen, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 6651.
- 49 a) V. I. Kalchenko et al., *Zh. Obshch. Khim.* **1990**, 60, 2811; b) Z. Goren, S. E. Biali, *J. Chem., Soc., Perkin Trans. I* **1990**, 1484. c) V. I. Kalchenko et al., *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 6057.
- 50 a) M. Almi, A. Arduini, A. Casnati, A. Puchini, R. Ungaro, *Tetrahedron* **1989**, 45, 2177; b) V. I. Kalchenko et al., *Zh. Obshch. Khim.* **1992**, 62, 2623.
- 51 a) F. Grynszpa, Z. Gore, S. E. Biali, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 532; b) D. N. Reinhoudt et al., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1432.
- 52 V. I. Kalchenko; L. I. Atamas; V. V. Markovskii, *J. Gen. Chem. USSR (Engl. Transl.)* **1992**, 62, 2161-2162.
- 53 C. Nuckolls, F. Hof, T. Martin, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10281.
- 54 A. Lutzen, A. R. Renslo, C. A. Schalley, B. M. O'Leary, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7455.
- 55 P. Desos, J. M. Lepagnol, P. Morain, P. Lestage, A. A. Cordi, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 197-206.
- 56 a) R. Karaman, A. Goldblum, E. J. Breuer, *Chem. Perkin Trans.* **1989**, 765; b) Krawczyk, *Synthetic Communications* **1997**, 27, 3151-3161.
- 57 MacroModel 7.0, Schrödinger Inc. **2000**, Force field: Amber*, water.
- 58 A. Kraft; *J. Chem. Educ.* **2003**, 80, 554.
- 59 L. Fielding; *Tetrahedron* **2000**, 56, 6151.
- 60 a) R. H. Vreekamp, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 4282; b) K. Koh, K. Araki, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8255.
- 61 a) P. Job, *Compt. Rend.* **1925**, 180, 928; b) M. T. Blanda, J. H. Horner, M. Newcomb, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 4626.
- 62 J. Chin, C. Walsdorff, B. Stranix, J. Oh, H. J. Chung, S. M. Park, K. Kim, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2756-2759.
- 63 K. Taguchi; *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1992**, 2, 17
- 64 a) O. I. Kalchenko, F. Perret, N. Morel-Desrosiers, A. W. Coleman; *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, 2, 258. b) S. Kunsagi-Mate, G. Nagy, P. Jurecka, L. Kollar; *Tetrahedron* **2002**, 58, 5119.
- 65 a) C. M. Whitehouse, R. N. Dreyer, M. Yamashita, J. B. Fenn, *Anal. Chem.* **1985**, 57, 675. b) J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong and C. M. Whitehouse, *Science* **1989**, 246, 64
- 66 a) V. J. Nesatyy, *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, 221, 147-161; b) V. J. Nesatyy, J. Laskin, *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, 221, 245-262B. c) N. Pramanik, P. L. Bartner, U. A. Mirza, Y.-Hui Liu, A. K. Ganguly; *J. Mass Spectrom.* **1998**, 33, 911.
- 67 C. Schalley; *Mass Spec. Rev.* **2001**, 20, 253.
- 68 G. Bonas, C. Bosso, M. R. Vignon; *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* **1998**, 2, 88.
- 69 a) A. A. P. M. de Brouwer, C. Versluis, J. Westerman, B. Roelofsen, A. J. R. Heck, and K. W. A. Wirtz; *Biochemistry* **2002**, 41, 8013-8018. b) C. A. Schalley, J. M. Rivera, T. Martin, J. Santamaria, G. Siuzdak, J. Rebek, Jr.; *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1325.
- 70 a) S. M. Blair, E. C. Kempen, J. S. Brodbelt; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1989**, 9, 1049. b) S. M. Blair, J. S. Brodbelt, A. P. Marchand, K. A. Kumar, H. S. Chong; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 2433. c) E. C. Kempen, J. S. Brodbelt, A. R. Bartsch, M. T. Blanda, D. B. Farmer; *Anal. Chem.* **2001**, 73, 384. d) E. C. Kempen, J. S. Brodbelt; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 5411. e) C. L. Sherman, J. S. Brodbelt; *Anal. Chem.* **2003**, 75, 1828. f) M. Vincenti; *J. Mass Spectroscopy* **1995**, 30, 925.
- 71 E. C. Kempen, J. S. Brodbelt, R. A. Bartsch, Y. Jang, J. S. Kim, *Anal. Chem.* **1999**, 71, 5493.

- 72 F. Inokuchi, K. Araki, and S. Shinkai; *Chem. Lett.* **1994** 1383.
- 73 C. A. Schalley, R. K. Castellano, M. S. Brody, D. M. Rudkevich, G. Siuzdak, J. Rebek, Jr.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4568.
- 74 H. J. Schneider, C. S. Wilcox; *Frontiers in Supramolecular Chemistry*; Verlag Chemie, Weinheim, **1991**, s. 123-143.
- 75 F. W. McLafferty; *Science* **1981**, *214*, 280.
- 76 R. Fuchs, N. Habermann, P. Klüfers, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 852.
- 77 F. Lottspeich, H. Zorbass; *Bioanalytik*; Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg, **1998**.
- 78 a) A. Shevchenko, M. Wilm, O. Vorm, M. Mann; *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 850. b) Shevchenko, M. Wilm, M. Mann; *J. Protein Chem.* **1997**, *16*, 481.
- 79 a) JR. Johnson, F. Meng, AJ. Forbes, BJ. Cargile, NL. Kelleher; *Electrophoresis* **2002**, *23*, 3217. b) F. Meng, BJ. Cargile, SM. Patrie, JR. Johnson, SM. McLoughlin, NL. Kelleher, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 2923. c) NL. Kelleher, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 37.
- 80 A. P. M. de Brouwer, C. Versluis, J. Westerman, B. Roelofsen, A. J. R. Heck, K. W. A. Wirtz; *Biochemistry* **2002**, *41*, 8013.
- 81 a) R. B. Cole, *Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, Wiley : Newyork, **1997**. b) G. Siuzdak, Y. Ichikawa, B. Munoz, T. J. Caulfield, C.-H. Wong, K. C. Nicolaou; *J. Am. Soc.* **1993**, *115*, 2877.
- 82 a) C. A. Schalley, J. M. Rivera, T. Martí'n, J. Santamaría; G. Siuzdak, J. Rebek, Jr. *Eur. J. Org. Chem.*, in Druck. b) C. A. Schalley, T. Martí'n, U. Obst, U. J. Rebek; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2133.
- 83 D.J. Cram, J. M. Cram; *Container Molecules and their Guests* **1994**; RSC, Cambridge, MA.
- 84 R. Warmuth; *Angew. Chem. Int. Edn Engl.* **1997**; *36*; 1347.
- 85 P. Timmerman et al.; *Angew. Chem. Int. Edn Engl.* **1994**; *33*; 2345.
- 86 J. Chen, J. Rebek; *Org. Lett.* **2002**, *4*, 327.
- 87 J. Rebek; *Chem. Soc. Rev.* **1996**, 225.
- 88 S. Mecozzi, J. Rebek; *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1016.
- 89 a) K. D. Shimizu; J. Rebek, Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, *92*, 12403-12407. b) B. C. Hamann; K. D. Shimizu; J. Rebek, Jr. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1326-1329.
- 90 B.C. Hamann; K. D. Shimizu; J. Rebek Jr.; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1425.
- 91 N. Branda; R. Wyler; J. Rebek, Jr. *Science* **1994**, *263*, 1267-1268.
- 92 R. Meissner; X. Garcias; S. Mecozzi; J. Rebek, Jr.; *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 77-85.
- 93 M. O. Vysotsky; A. Pop; F. Broda; I. Thondorf; V. Böhmer; *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 4403.
- 94 C. A. Schalley; T. Martin; U. Obst; J. Rebek Jr.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2133.
- 95 F. Sansone, S. Barbosa, A. Casnati, D. Sciotto, R. Ungaro; *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4741.
- 96 C. C. Zeng, Q. Y. Zheng, Y. L. Tang, Z. T. Huang; *Tetrahedron* **2003**, *95*, 2539.
- 97 T. Gu, P. Ceroni, G. Marconi, N. Armaroli, J. F. Nierengarten; *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6432.
- 98 E. Pinkhassik, V. Sidorvo; I. Stibor; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6432.
- 99 A. Dondoni, M. Kleban, X. Hu, A. Marra, H. D. Banks; *J. Org. Chem.*, **2003**, in Druck.
- 100 A. Arduini, G. Giorgi, A. Pochini, A. Secchi, F. Ugozzoli; *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8302.
- 101 A. Arduini, A. Pochini, A. Secchi, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2325-2334.
- 102 V. Böhmer, H. Goldmann, W. Vogt, J. Vicens, Z. Asfari; *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1391.
- 103 K. Araki, K. Sisido, K. Hisaichi, S. Shinkai, ; *Tetrahedron Lett.* **1993**, *51*, 8297.
- 104 S. Kanamathareddy, C. D. Gutsche, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6070.
- 105 a) C. Fischer, M. Nierger, O. Mogck, V. Böhmer, R. Ungaro, F. Vögle, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 155. b) O. Mogck, P. Parzuchowski, M. Nissinen, V. Böhmer, G. Rokicki, K. Rissanen, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 10053. c) J. M. C. Kerckhoffs, T. Ishi-i. V. Paraschiv, P. Timmerman, M. C. Calama, S. Shinkai, D. N. Reinhoudt; *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 2596.
- 106 V. Kovalev, E. Shokova, Y. Luzikov, *Synthesis* **1998**, 1003.
- 107 J. Budka, M. Dudic, P. Lhotak, I. Stibor; *Tetrahedron* **1999**, *55*, 12647.
- 108 G. T. Hwang, B. H. Kim; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9019.
- 109 K. Araki, K. Hisaichi, T. Kannai, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1995**, 569.
- 110 M. Saadioui, A. Shivanyuk, V. Böhmer, W. Vogt; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3774.
- 111 J. Wang, S. G. Bodige, W. H. Watson, C. D. Gutsche; *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8260.
- 112 S. C. McClesky, A. Metzger, C. S. Simmons, E. V. Anslyn; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 621.
- 113 O. Kalchenko, J. Poznanski, A. Marcinowicz, S. Cherenok; A. Solovyov, W. Zielenkiewicz, V. Kalchenko; *J. Phy. Org. Chem.* **2003**, *16*, 246.
- 114 H. Chen, W. S. Weiner, A. D. Hamilton; *Curr. Opinion Chem. Biol.* **1997**, *1*, 458.
- 115 W. Abraham; *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chem.* **2002**, *34*, 159.
- 116 a) A. Arduini, G. Giorgi, A. Pochini, A. Secchi, F. Ugozzoli; *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8302. b) J. L. Atwood; A. Szumna; *Chem. Commun.* **2003**, 940.
- 117 C. Jaspas, T. Schrader, J. Panitzky, F. G. Klärner; *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1411.

- ¹¹⁸ M. Orda-Zgadzaj, V. Wendel; M. Fehlinger, B. Ziemer; W. Abraham; *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1549.
- ¹¹⁹ G. Arena, A. Casnati, A. Contino, G. G. Lombardo, D. Sciott; R. Ungaro; *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 738.
- ¹²⁰ G. Arena, A. Contino, F. G. Gulino, A. Margi, F. Sansone, D. Sciotto, R. Ungaro; *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1597.
- ¹²¹ a) N. Douteau-Guevel, A. W. Coleman, J. P. Morel, N. Morel-Desrosiers; *J. Phys. Org. Chem.* **1998**, *11*, 63. b) N. Douteau-Guevel, A. W. Coleman, J. P. Morel, N. Morel-Desrosiers : *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1999**, *2*, 629.
- ¹²² S. Rensing, M. Arendt, A. Springer, T. Grawe, T. Schrader; *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5814.
- ¹²³ D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH, **1994**, S. 264-275.
- ¹²⁴ A. W. Adamson, *Chemistry of Surfaces* **1990**, 5th edn., Wiley, Newyork.
- ¹²⁵ K. Agira, T. Kunitake, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 371.
- ¹²⁶ Ts'o, P. O. P. *In Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry*; Ts'o, P. O. P., Ed.; **1974**, Academic: New York, Vol I, Chapter 6.
- ¹²⁷ M. Sakurai, H. Tamagawa, Y. Inoue, K. Ariga, T. Kunitake, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 4810-4817.
- ¹²⁸ U.A: H. Tamagawa, M. Sakurai, Y. Inoue, K. Ariga, T. Kunitake, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 4817.
- ¹²⁹ a) D. Hönig, D. Möbius, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 4590; b) D. Hönig, D. Möbius, *Thin Solid Films* **1992**, *210/ 211*, 64; c) J. Meunier, *Coll. Surf. A* **2000**, *171*, 33.
- ¹³⁰ G. Wedler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, 4. Aufl., Wiley-VCH, **1997**.
- ¹³¹ a) M. Shimomura, F. Nakamura, K. Ijiro, H. Taketsuna, M. Tanaka, H. Nakamura, K. Hasebe, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2341; b) M. Lösche, E. Sackmann, H. Möhwald, *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.* **1983**, *87*, 848.
- ¹³² a) B.Springs, P. Haake, *Bioorg. Chem.* **1977**, *6*, 181. b) D. J. Weber, E. H. Serpersu, D. Shortle, A. S. Mildvan, *Biochemistry* **1990**, *29*, 8652. c) F. A. Cotton, VU. W. Day, E. E. Hazen, E. E., Jr.; S. Larsen, S. T. K. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 4471.
- ¹³³ a) F. Liu, G. Y. Lu, W. J. He, M. H. Liu, L. G. Zhu, H. M. Wu; *New J. Chem.* **2002**, *26*, 601–606. b) F. Liu, G. y. Lu, W. j. He, M. h. Liu, L.g. Zhu; *Thin Solid Films* **2002**, *414*, 72–77. c) A. R. Esker, L. H. Zhang, C. E. Olsen, K. No, H. Yu; *Langmuir* **1999**, *15*, 1716.
- ¹³⁴ D. Vollhardt, J. Gloede, G. Weidemann, R. Rudert; *Langmuir* **2003**, *19*, 4228-4234.
- ¹³⁵ P. Martin, M. Szablewski, *Tensiometers and Langmuir-Blodgett Troughs*, 5. Aufl., Nima Technology Ltd., **1999**.
- ¹³⁶ O. Molt; Dissertationsschrift, **2003**, Marburg.
- ¹³⁷ M. Mamman, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908.
- ¹³⁸ A. Ulman, *An Introduction to Ultrathin Organic Films from Langmuir-Blodgett to Self-assembly*, Academic Press, New York, **1991**.
- ¹³⁹ Eine allgemeine Diskussion findet über Protein – Protein Erkennungsstellen findet sich bei: J. Janin, C. Chotia, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 16027.
- ¹⁴⁰ Q. Lin, H. S. Park, Y. Hamuro, C. S. Lee, A. D. Hamilton; *Biopolymers (Peptide Science)* **1998**, *Vol. 47*, 285–297
- ¹⁴¹ H. S. Park, Q. Lin, A. D. Hamilton; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8.
- ¹⁴² R. K. Jain, A. D. Hamilton; *Org. Ltt.* **2000**, *12*, 1721.
- ¹⁴³ T. Oshima, M. Goto, S. Furusaki; *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 438.
- ¹⁴⁴ a) Connolly, M. L. *Science* **1983**, *221*, 709; b) Connolly, M. L. *J. Appl. Crystal.* **1983**, *16*, 548.
- ¹⁴⁵ P. Shahgaldian, A. Coleman, *Langmuir* **2001**, *17*, 6851-6854.
- ¹⁴⁶ D.Q. McDonald, W.C. Still, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7743-6.
- ¹⁴⁷ W.C. Still, A. Tempczyk, R.C. Hawley, T. Hendrickson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6127.